

外源褪黑激素对绒山羊皮肤脱碘酶活性的影响

岳春旺¹, 孙茂红¹, 朱晓萍², 张 微², 孔祥浩¹, 贾志海²

(1 河北北方学院 动物科技学院, 河北 张家口 075131; 2 中国农业大学 动物科技学院, 北京 100193)

【摘 要】 【目的】探讨褪黑激素(MT)促进山羊绒毛生长的机理。【方法】选择 16 只(15±1)月龄、平均体质量(33.1±2.9) kg、产绒量相近的内蒙古白绒山羊羯羊, 随机分为 2 组, 其中 1 组每隔 2 个月皮下埋植 1 次 MT(2 mg/kg), 共埋植 3 次, 另 1 组作为对照组不埋植 MT; 所有试验羊均在相同时间采集血样和皮样, 分别用于激素浓度和脱碘酶(MD)活性测定。【结果】与对照组相比, MT 埋植组绒山羊血浆 MT 质量浓度差异显著($P<0.01$); 羊绒生长速度在 7 和 8 月极显著高于对照组($P<0.01$), 在 9 月显著高于对照组($P<0.05$)。7、8 月份 MT 埋植组绒山羊皮肤组织中的 MDⅡ 活性水平明显高于对照组($P<0.05$); MT 埋植组 MDⅢ 与 MDⅡ 活性的比值在 7、8 月份显著低于对照组($P<0.05$), 表明 MT 在调控皮肤脱碘酶(MD)活性上有重要作用。【结论】MT 埋植后 2 个月内能够刺激羊绒生长, 这可能是通过改变皮肤组织中的 MD 活性来实现的。

【关键词】 绒山羊; 褪黑激素; 脱碘酶

【中图分类号】 S827.4⁺9

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2011)06-0049-06

Effect of melatonin on the monodeiodinase activity in skin of Cashmere Goats

YUE Chun-wang¹, SUN Mao-hong¹, ZHU Xiao-ping²,
ZHANG Wei², KONG Xiang-hao¹, JIA Zhi-hai²

(1 College of Animal Science and Technology, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075131, China;

2 College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: 【Objective】 The study was made to reveal the cashmere proven mechanism of melatonin (MT), which can promote the growth of cashmere fibre. 【Method】 Sixteen half-sib Inner Mongolia cashmere wethers were allocated randomly to two groups ($n=8/\text{group}$). One group was implanted subcutaneously with the melatonin implants (2 mg/kg BW) while another group was not implanted as the control group. Blood sample and the dermatoid were gathered at the same time to determine the hormone density and the MD activeness separately. 【Result】 The results showed the plasma melatonin concentration presented significant differences ($P<0.01$) between the implant group (M) and the control group (C). The cashmere fibre growth rate of the M was higher than that of the C in July ($P<0.01$) and August ($P<0.001$). During July and August, the monodeiodinase type Ⅱ (MDⅡ) activity for the M group was higher ($P<0.05$) than that of the C group. The ratio of the monodeiodinase type Ⅲ (MDⅢ) and MDⅡ for the M group was lower ($P<0.05$) than that of the C group in July and August. The results demonstrated that melatonin plays an important role in the regulation of skin MD activity. 【Conclusion】 Simultaneously the melatonin stimulated cashmere fibre elongation, which may result from enhanced MDⅡ activity after melatonin treatment.

* [收稿日期] 2010-11-24

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2009BADA5B04)

[作者简介] 岳春旺(1969—), 男, 河北宣化人, 副教授, 博士, 主要从事反刍动物研究。E-mail: yuechunwang@126.com

[通信作者] 贾志海(1951—), 男, 北京人, 教授, 博士生导师, 主要从事反刍动物及养羊科学研究。E-mail: jzh331@cau.edu.cn

Key words: cashmere goat; melatonin(MT); monodeiodinase(MD)

研究表明,绒山羊体内一些激素浓度存在明显的季节性变化,其与毛囊活性、绒毛生长和脱落紧密相关^[1]。然而,后来的研究发现,毛囊的活性并不是由体内激素变化直接控制的^[2],并推断激素调控绒毛生长可能是通过皮肤中其他生理途径实现的,其有可能是通过调控皮肤组织中某些酶的活性,来完成对绒毛生长生理的调控。

Ⅱ型单克隆脱碘酶(MDⅡ)和Ⅲ型单克隆脱碘酶(MDⅢ)存在于绒山羊皮肤中^[3]。已有研究表明,山羊皮肤中脱碘酶(MD)的表达有明显的季节性变化规律,MDⅡ在长光照季节活性较低,在短光照季节活性水平明显升高;而 MDⅢ活性水平在长光照季节最高,在短光照季节最低,这一规律可能与羊绒生长规律有某种关联^[3]。国外的研究者推断,不同个体和不同基因型绒山羊的毛囊活性差异及羊绒纤维生长有可能与皮肤组织中 MD 活性的高低有关^[4]。

有研究显示,外源褪黑激素(MT)能够使山羊绒开始萌发生长,并能增加绒产量^[5-7]。山羊皮肤组织学研究表明,MT 埋植后开始启动了绒纤维的生长^[8]。然而 MT 刺激绒山羊绒毛生长是否通过调控皮肤组织中 MD 的活性来完成的,至今尚没有定论。本试验在生绒期到来之前,于绒山羊皮下埋植 MT,通过分析其刺激山羊绒生长过程中皮肤组织 MD 活性的变化,研究 MT 刺激绒毛生长的机理,即其是否是通过改变皮肤 MD 的活性来起作用,进而为探讨 MT 促生绒机理提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 选择 16 只(15±1)月龄、体质量(33.1±2.9) kg、产绒量相近的内蒙古白绒山羊半同胞羯羊为试验羊。试验羊由内蒙古自治区鄂托克旗内蒙古白绒山羊场(北纬 39°06′;东经 107°59′)提供。

1.1.2 试剂 盐酸普鲁卡因(批号 H1402212),购自药店;MT 埋植剂,东北林业大学毛皮动物研究所生产;MT ELISA 试剂盒(IBL, Cat. No: RE 54021),产自德国;考马斯亮蓝 G-250 试剂,来自中国农科院原子能所。

1.2 方法

试验于 2009 年 6—12 月在内蒙古自治区鄂托

克旗内蒙古白绒山羊场进行,将供试的 16 只白绒山羊随机分为 2 组,每组 8 只。其中 1 组为处理组,耳后皮下埋植 MT(2 mg/kg)3 次(第 1 次在 06-21 采样后进行埋植),每次间隔 2 个月;另 1 组作为对照组,皮下不埋植 MT。

1.2.1 绒纤维生长速度测定 于试验开始前(06-21),在试验羊体侧中部使用人用染发剂(CCP-N6)将被毛染成黑色。试验期间于每月 21 日用直尺测量新长出来(未被染色)的绒纤维长度,按照 Rhind 等^[9]的方法计算绒纤维生长速度。

1.2.2 血浆 MT 质量浓度的测定 试验期间,对所有试验动物于每月 21 日采集 1 次血液样品(6 月样品在 MT 埋植前采集),由于同 1 只动物在不同时间段体内 MT 质量浓度差异很大,所以本试验每次采样均在上午 10:00 通过静脉穿刺采集完成,血样采集后(乙二胺四乙酸抗凝,EDTA)立即 4 000 r/min 离心 15 min,吸取血浆于一 20℃ 备用。血浆 MT 质量浓度的测定使用 MT ELISA 试剂盒进行。

1.2.3 皮肤组织中 MDⅡ和 MDⅢ活性的测定 于每月 21 日,在供试羊只未被染色的另一侧体中部,用盐酸普鲁卡因进行局部麻醉,采取约 1 cm² 皮肤样品(6 月样品在 MT 埋植前采集),迅速冷冻于液氮中,然后于一 70℃ 保存备用。MDⅡ和 MDⅢ活性测定按照 Villar 等^[3]的方法步骤进行,其中上清液蛋白浓度用考马斯亮蓝 G-250 试剂和紫外分光光度计测定。

1.3 数据统计分析

试验数据利用 SAS 8.1 软件包(The SAS System for Windows V8)中的 ANOVA 过程进行方差分析,采用邓肯氏法(Duncan's multiple range test)进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 绒纤维生长速度

由图 1 可看出,对照组羊绒纤维从 7 月底开始萌发,之后生长速度逐渐增大,7—11 月各月间差异显著($P<0.05$);与对照组相比,处理组 7、8 月份绒纤维生长速度与对照组的差异已达到极显著水平($P<0.01$),9 月份与对照组差异达显著水平($P<0.05$),10—12 月两间组差异不显著。

2.2 血浆褪黑激素(MT)的质量浓度

试验期间,供试绒山羊 6—11 月血浆质量浓度

的测定结果见图 2。由图 2 可知,处理组血浆 MT 质量浓度自埋植 MT 后迅速升高,而对照组血浆 MT 质量浓度的升高趋势则比较平缓;与对照组相

比,处理组埋植 MT 后血浆 MT 质量浓度在 7、8 和 9 月份均显著高于对照组($P<0.01$),而 10—11 月两组间差异不显著($P>0.05$)。

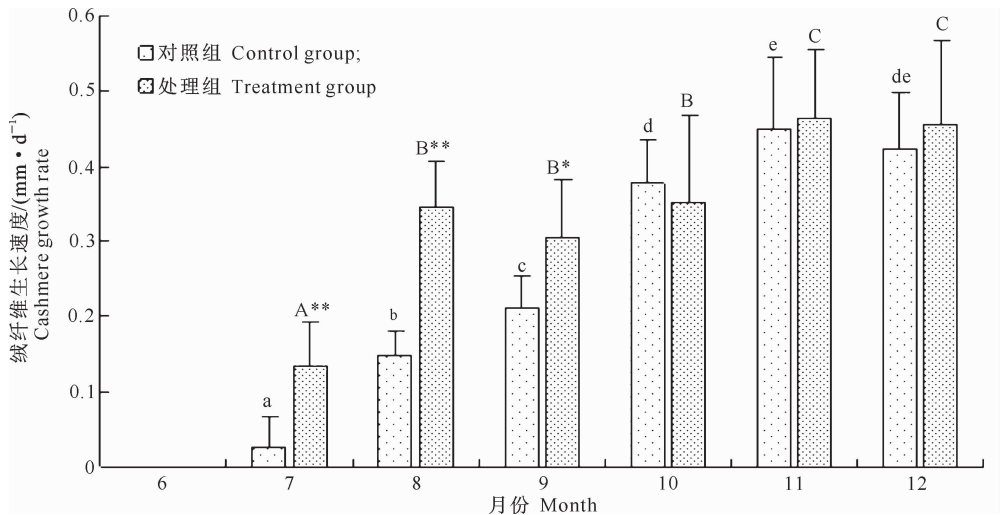


图 1 埋植 MT 对绒山羊绒纤维生长速度的影响

同一组标不同字母表示差异显著($P<0.05$);组间比较,*表示差异显著($P<0.05$),**表示差异极显著($P<0.01$),下图同。

Fig. 1 Effect of cashmere fibre growth rate after implanting MT

Values with different letters are significantly different ($P<0.05$) in the same group; Two groups of comparisons, values with * are significantly different ($P<0.05$). With ** are significantly different ($P<0.01$). The same blow.

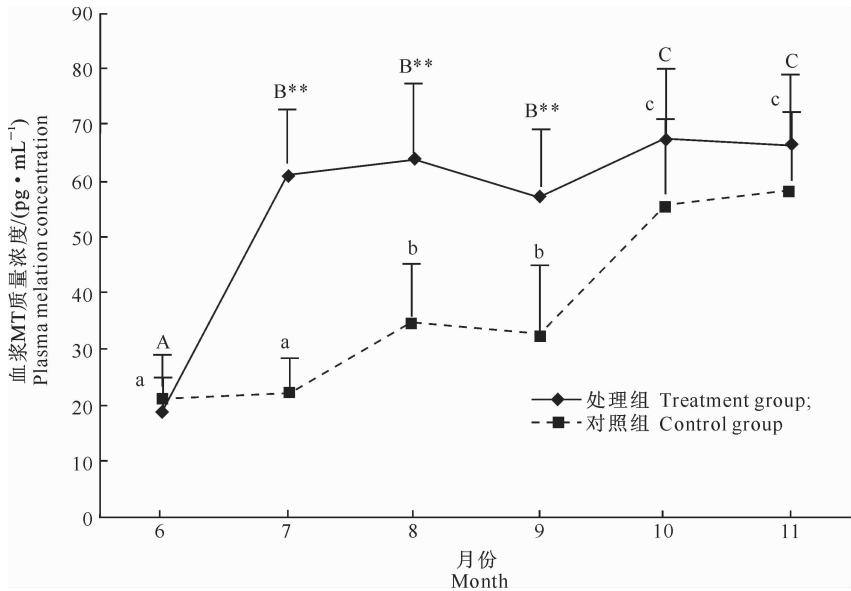


图 2 埋植 MT 对绒山羊血浆 MT 质量浓度的影响

Fig. 2 Effect of plasma melatonin concentration of cashmere goats after implanting MT

2.3 皮肤组织的脱碘酶(MD)活性

由图 3 可以看出,在同一组内,MD II 活性均随处理时间的延长而逐渐升高;两试验组间相比,埋植 MT 处理组绒山羊 7 月皮肤组织中的 MD II 活性显著高于对照组 ($P<0.05$),8 月份 MD II 活性极显著高于对照组 ($P<0.01$),其余各月两组间差异不显

著($P>0.05$)。

由图 4 可见,对照组 10、11 月份皮肤组织中的 MD III 活性均较 6、7、8 月份显著降低($P<0.05$);埋植 MT 处理组绒山羊 10、11 月份皮肤组织中的 MD III 活性较 6 和 8 月份显著降低($P<0.05$);两组间相比,各月份皮肤组织中的 MD III 活性没有明显的

差异($P>0.05$)。

由图 5 可知,埋植处理组和对照组 MDⅢ与 MDⅡ活性的比值在 6—11 月均呈逐渐降低的趋势,前 4 个月(6—9 月)的降幅较大($P<0.05$),而 9 月之后降

幅逐渐不再明显($P>0.05$)。处理组 7 和 8 月 MDⅢ与 MDⅡ活性的比值显著低于对照组($P<0.05$),这表明皮下埋植 MT 后 2 个月内,其能够显著降低绒山羊皮肤组织中 MDⅢ与 MDⅡ活性的比值。

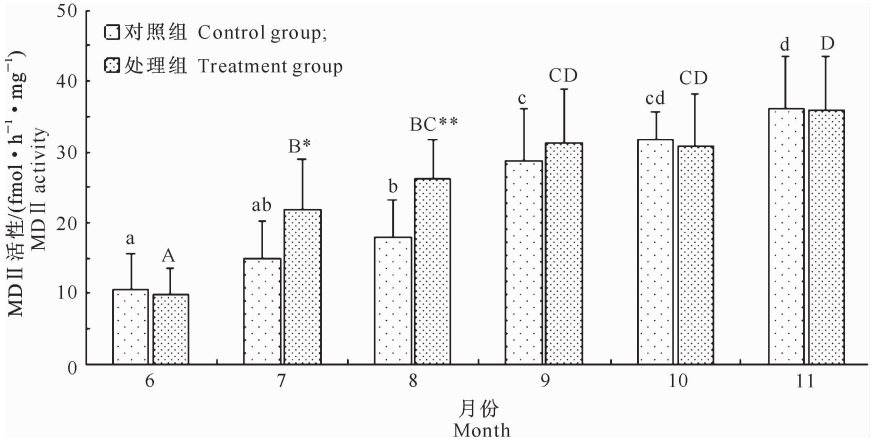


图 3 埋植 MT 对绒山羊皮肤组织中 MDⅡ活性的影响

Fig. 3 Effect of MDⅡ activity in skin organization of cashmere goats after implanting MT

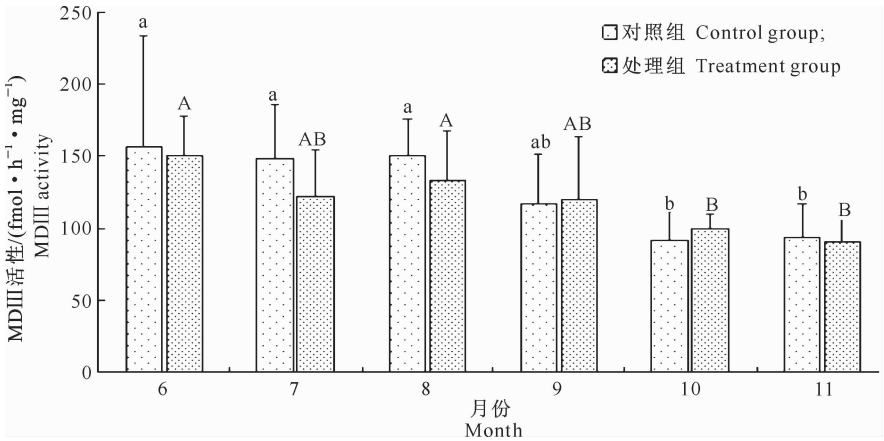


图 4 埋植 MT 对绒山羊皮肤组织中 MDⅢ活性的影响

Fig. 4 Effect of MDⅢ activity in skin organization of cashmere goats after implanting MT

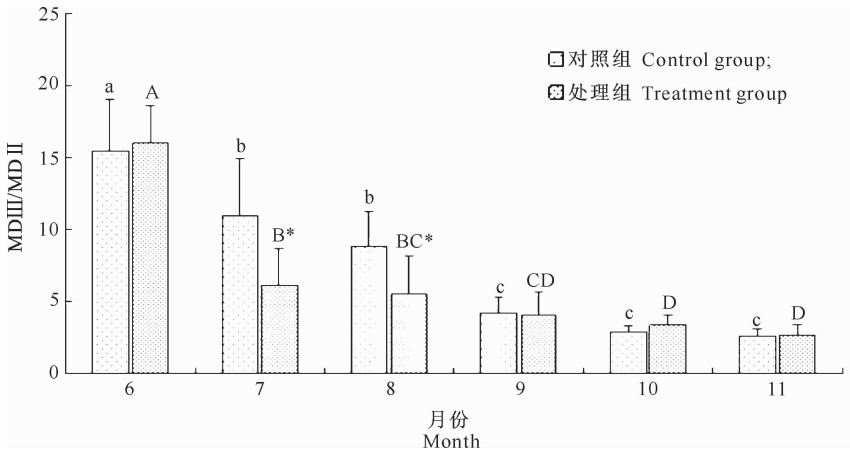


图 5 埋植 MT 对绒山羊皮肤组织 MDⅡ活性与 MDⅢ活性比值的影响

Fig. 5 Effect of mean MDⅢ/MDⅡ ratios in skin organization of cashmere goats after implanting MT

3 讨论

3.1 绒纤维生长速度

在自然状态下,内蒙古白绒山羊绒毛的生长规律是:大约7月末羊绒开始萌发生长,在翌年2月停止生长,主要生长时期是在9到12月,于4月份绒毛开始脱落。本研究显示,7月仅有少量绒山羊个体的绒纤维开始萌发并长出体表,随后生长速度逐渐加快,10—12月羊绒的生长达到最快速度,这一结果与牛一兵等^[10]的结果相一致。但是外源MT埋植打破了绒毛的自然生长规律,埋植后的绒山羊从7月开始绒纤维快速长出,一直到9月其生长速度均大于对照组。当绒纤维生长进入旺盛期之后(10、11和12月),MT埋植处理组与对照组之间没有显著差异,MT对生绒旺盛期绒纤维生长速度没有明显的影响。出现这种结果原因,可能是由于自然状态下绒山羊进入生绒旺盛期,其血浆MT质量浓度上升到一定水平后,绒毛的生长再不会因MT质量浓度的增加而加快,因此对照组与埋植处理组间没有太大的差异。

3.2 褪黑激素(MT)的质量浓度

MT在哺乳动物中的一个主要作用,就是通过光周期的改变调节动物体内某些生理活动季节性变化规律的改变。在长光照时(如夏天)其血浆MT质量浓度相对较低,短光照期间MT质量浓度升高,在一昼夜当中,白天血浆MT质量浓度相对较低,而夜间相对较高^[11]。本研究结果表明,内蒙古白绒山羊血浆MT质量浓度呈现季节性变化,从6月下旬(夏至)到11月下旬(从长光照到短光照),埋植MT处理组绒山羊血浆MT质量浓度逐渐升高,这一结果与Garcangiua等^[12]的研究结果相近。本研究发现,MT埋植处理组绒山羊从7月(MT埋植1个月)以后,血浆MT质量浓度显著升高,而对照组试验羊血浆MT质量浓度遵循自然规律,二者的差异表明,埋植MT之后这一自然规律被打破,血浆MT质量浓度的升高使埋植处理组绒山羊提前接收到短光照信号,从而发生了相应的生理响应,导致绒纤维提前萌发;但是7—9月其血浆MT质量浓度没有再度提高,这可能是机体为了维持其正常的生理活动,启动了负反馈调节机制,使血浆MT维持在正常生理能够耐受的范围之内;10和11月时,2组间血浆MT质量浓度差异不显著,这是由于对照组绒山羊此期间的血浆MT质量浓度自然上升到较高水平所致。

3.3 脱碘酶(MD)的活性

MDⅡ的功能是将低生理活性的T4转换为高生理活性的T3,MDⅢ的功能是将T3转换成T2及将T4转换为反T3(rT3)^[13],可见MDⅡ与MDⅢ拥有相反的生理功能。当MDⅡ活性升高时,组织中具有高生理活性的T3增加而T4减少,相反当组织中MDⅢ活性升高时,T3减少而T4增加。本试验发现,从夏至到11月份,2组供试山羊皮肤MDⅡ活性随季节的变化而升高,而MDⅢ活性逐渐降低,这一结果与Rhind等^[4]的研究结果一致,说明MDⅡ活性随着山羊绒毛的生长而发生相应变化。

从MDⅢ与MDⅡ活性比可以看出,自然状态下MDⅢ与MDⅡ也具有明显的季节性变化规律,2组试验羊MDⅢ与MDⅡ活性比率从6月到9月呈现出逐渐降低的趋势,尤其是在绒毛生长前期(6—8月)其降幅最为明显。同时,从本研究结果可以看出,在MT埋植后的2个月之内(7、8月),MDⅢ与MDⅡ活性比值明显降低,与对照组差异显著,表明皮下埋植MT之后2个月内,其能够显著降低绒山羊皮肤MDⅢ与MDⅡ活性的比值。这一结果进一步表明,绒山羊在绒毛生长启动及生长初期其体内MD的确发生了改变。

4 结论

埋植MT后2个月内能够使皮下MDⅡ活性显著升高、MDⅢ活性及MDⅢ与MDⅡ活性比显著降低,同时也刺激了绒纤维的萌发和生长。因此,埋植MT之后改变了绒山羊皮肤组织中不同类型MD的活性,这可能是MT调控山羊绒生长的途径之一。

[参考文献]

- [1] Villar D,McMillen S R,Dicks P,et al. The effects of bovine somatotropin on hair follicle activity and cashmere fibre growth in goats [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1999,50:1365-1373.
- [2] Villar D,McMillen S R,Dicks P,et al. The roles of thyroid hormones and prolactin in the control of fibre moult and associated changes in hair follicle activities in cashmere goats [J]. Australian Journal of Agricultural Research,2000,51:407-414.
- [3] Villar D,Nicol F,Arthur J R,et al. Type Ⅱ and type Ⅲ mono-deiodinase activities in the skin of untreated and propylthiouracil-treated cashmere goats [J]. Research in Veterinary Science, 2000,68:119-123.
- [4] Rhind S M,Kyle C E. Skin deiodinase profiles and associated patterns of hair follicle activity in cashmere goats of contrasting genotypes [J]. Australian Journal of Agricultural Research,

- 2004,55;443-449.
- [5] Rhind S M, Kyle C E, Duff E I, et al. Effects of season and of manipulation of circulating prolactin concentrations on deiodinase activity in cashmere goat skin [J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2004, 55: 211-221.
- [6] Kloten W R L, Norton B W. Melatonin and fleece growth in Australian cashmere goats [J]. *Small Ruminant Research*, 1995, 17(2): 179-185.
- [7] 贾志海, 安民. 山羊绒生长机理研究进展 [J]. *草食家畜*, 1996(1): 2-6.
- Jia Z H, An M. Research development on ashmere growth mechanism [J]. *Grass-feeding Livestock*, 1996(1): 2-6. (in Chinese)
- [8] 柳建昌, 尹协镇, 方天祺. 褪黑素对中国绒山羊在非生绒期促绒生长与绒产量的影响 [J]. *动物学杂志*, 1998, 33(3): 8-12.
- Liu J C, Yin X Z, Fang T Q. Effect of melatonin of the cashmere growth and production of Chinese white goats [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 1998, 33(3): 8-12. (in Chinese)
- [9] Rhind S M, McMillen S R. Seasonal changes in systemic hormone profiles and their relationship to patterns of fibre growth and moulting in goats of contrasting genotypes [J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 1995, 46: 1273-1283.
- [10] 牛一兵, 贾志海, 卢德勋, 等. 放牧条件下绒山羊绒毛季节性生长变化规律的研究 [J]. *动物营养学报*, 2005, 17(2): 33-37.
- Niu Y B, Jia Z H, Lu D X, et al. Study on dynamic change of cashmere growth of grazing cashmere goats [J]. *Acta Zoonutrimenta Sinica*, 2005, 17(2): 33-37. (in Chinese)
- [11] Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action [J]. *Physiological Reviews*, 1998, 78: 687-721.
- [12] Carcangiu V G, Vacca A, Parmeggiani M C, et al. Blood melatonin levels relating to the reproductive activity of Sarda does [J]. *Small Ruminant Research*, 2005, 59: 7-13.
- [13] Beckett G J, Arthur J R. The iodothyronine deiodinases and 5'-deiodination [J]. *Baillière's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 1994, 8: 285-304.
-
- (上接第 48 页)
- [12] Athanasas P S, Hoskin M J, Rolfe B E, et al. A mono-clonal antibody to an early pregnancy factor 2 induced suppressor factor (EPF-S1) disrupts implantation in mice [J]. *Am J Reprod Immunol*, 1995, 33: 159-166.
- [13] 夏其昌. 蛋白质化学研究技术与进展 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 99.
- Xia Q C. Advances in protein chemistry technology and research [M]. Beijing: Science and Technology Press, 1997. (in Chinese)
- [14] 孙文东, 张坚, 赵丽霞, 等. 早孕因子生物学活性的研究现状和应用前景 [J]. *中华临床医药*, 2004, 5(17): 56-58.
- Sun W D, Zhang J, Li L X, et al. Biological activity and prospects of early pregnancy factor [J]. *Journal of Chinese Clinical Medicine*, 2004, 5(17): 56-58. (in Chinese)
- [15] 权凯, 张改平. 应用 Ea 玫瑰花环抑制试验检测奶牛血清 EPF 活性 [J]. *中国奶牛*, 2008(6): 29-31.
- Quan K, Zhang G P. The biological characteristics and application in animal reproduction field of EPF [J]. *China Dairy Cattle*, 2008(6): 29-31. (in Chinese)
- [16] Fan X, Yan L, Jia S, et al. A study of early pregnancy factor activity in the sera of woman with trophoblastic tumor [J]. *Am J Reprod Immunol*, 1999, 41(3): 204.
- [17] Wilson S, McCarthy R, Clarke F. In search of early pregnancy factor: Isolation of active polypeptides from pregnant ewes' sear [J]. *J Reprod Immunol*, 1983, 5(5): 275-286.
- [18] Cavanagh A C. An update on the identity of early pregnancy factor and its role in early pregnancy [J]. *Assist Reprod Gene*, 1997, 14(9): 492-495.
- [19] Mehta A R, Eessalu T E, Aggarwal B B. Purification and characterization of early pregnancy factor from human pregnancy sera [J]. *J Biol Chem*, 1989, 264(4): 2266-2271.
- [20] Cavanagh A C. Identification of early pregnancy factor as chaperonin 10: Implication for understanding its role [J]. *Review of Reproduction*, 1996, 1: 28-32.