文章编号:1000-5404(2008)01-0043-03

论著

淋巴增强因子-1 在大鼠触须毛囊生长周期中的表达

施春英[1],张 艺[2],陈 伟[2],郭燕燕[2],杨 恬[2],杨 力[1] ([1]重庆大学生物工程学院,国家"111 计划"基地,重庆 400044;[2]第三军医大学基础医学部细胞生物学教研室,重庆 400038)

摘 要:目的 研究淋巴增强因子(lymphoid enhancer factor-1, LEF-1)在大鼠触须毛囊生长周期中表达及其重要作用。**方法** 选取处于毛发周期各阶段的触须毛囊,采用免疫组织化学的方法检测 LEF-1 在各时期毛囊中的表达及变化。**结果** 生长期,LEF-1 主要表达于毛囊的毛母质和外根鞘的细胞核内,随着生长的推进,核表达逐渐转化为细胞质表达 退化期,LEF-1 表达明显减弱,毛母质中弱表达,外根鞘内表达消失 静止期,LEF-1 重新出现在 bulge 区的外侧,在内根鞘中的表达明显增强。**结论** LEF-1 参与毛干和内根鞘的分化,并且在毛囊周期的维持中起到重要的作用。

关键词:毛发周期;LEF-1 表达
中图法分类号:R322.995;R329.28;R392.11 **文献标识码:**A

Role of lymphoid enhancer factor-1 in the cycle of rat whisker hair follicle

SHI Chun-ying[1], ZHANG Yi[2], CHEN Wei[2], GUO Yan-yan[2], YANG Tian[2], YANG Li[1] ([1] College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044; [2] Department of Cell Biology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the expression of lymphoid enhancer factor-1 (LEF-1) in the growth cycle of rat whisker hair follicle and explore its role in the process. Methods Cheek skin samples of SD rats at different ages were collected, fixed and sectioned. LEF-1 expression at different periods was detected by immunohistochemistry. Results In anagen, LEF-1 was expressed in the nucleus of bulb and outer root sheath (ORS) of the hair follicle cells, and then with further growth, this nuclear expression pattern gradually converted into cytoplasm expression. In catagen, the staining of LEF-1 became weaken obviously, and disappeared in ORS. In telogen, the expression of LEF-1 appeared in the lateral of bulge again and was strong in IRS. Conclusion LEF-1 may regulate the differentiation of hair shaft and inter root sheath (IRS), and play an important role in the cycle of hair follicle.

Key words: hair cycle; expression of LEF-1

淋巴增强因子-1(lymphoid enhancer factor-1, LEF-1)是 WNT/β-catenin 信号通路的一种关键核内转录因子。在毛囊、乳腺、牙齿等一系列上皮性来源的组织中,LEF-1 通过调节上皮细胞和间充质细胞间的相互作用,促进其正常发育形成[1]。研究显示 LEF-1 基因敲除后小鼠触须毛囊完全消失,背皮毛囊生长停止 而 LEF-1 基因过表达时同样影响到触须和毛发的正常生长[1,2]。因此,LEF-1 因子在毛囊的发育和生长的过程中起到重要的调节作用。本研究通过观察 LEF-1 因子在不同毛发周期中表达的变化,初步探索 LEF-1 在触须毛囊生长周期中的变化及可能的作用,从而阐明 LEF-1 因子在维持触须毛囊周期中的重要性。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SD 大鼠购自第三军医大学实验动物中心,雄雌不拘,分别取 1、7、20、28 d 各 4 只,体质量分别为 4.5~6.5、25~35、150~200、200~250 g。

1.2 主要试剂及主要仪器

羊抗 LEF-1 多克隆抗体(santa cruze 公司),免疫组化试剂盒 SP-9003 (北京中山生物技术公司),DAB 显色试剂盒(北京中山生物技术公司)。

1.3 方法

1.3.1 取材、固定及石蜡切片 各鼠龄 SD 大鼠,脱颈椎法

基金项目:国家自然科学基金(30671888);高等学校学科创新引智计划("111")(B06023);重庆市科委自然科学基金(2003BB5007)
Supported by National Natural Science Foundation of China(30671888), the Innovation and Attracting Talent Foundation For Colleges and Universities ("111 Project") and the Natural Science Foundation of Scientific Committee of Chongqing (2003BB5007)

作者简介 施春英,女,山东省青岛市人,硕士研究生,主要从事毛囊干细胞方面的研究。电话:(023)68752259。E-mail:schy1116@sohu.com
通信作者 杨 力,电话:(023)65111802,E-mail:liyang@cqu.edu.cn
杨 恬,电话:(023)68752260,E-mail:tiany@163.net

收稿日期:2007-05-17;修回日期:2007-08-20

处死，取其腮部皮肤，4% 多聚甲醛 4 ℃固定 12 h，常规脱水，二甲苯透明，浸蜡包埋，6 μm 石蜡切片，分别选择处于生长早期，中后期，退化期和静止期的触须毛囊切片。

1.3.2 免疫组织化学 常规脱蜡，梯度乙醇水合，3% H_2O_2 去离子水室温孵育 10 min，PBS 清洗 5 min×3，微波抗原修复 10 min，冷却至室温，PBS 清洗 5 min×3。用 ABC 试剂盒（北京中山）中的正常血清室温封闭 15 min，倾去，勿洗。加入羊抗兔 LEF-1 抗体（santa cruze）（工作浓度 1∶100），4 ℃孵育过夜，另以 PBS 代替一抗作为空白对照组。PBS 清洗 5 min×3，加入二抗 37 ℃孵育 30 min，PBS 清洗 5 min×3，加入三抗 37 ℃孵育 30 min，PBS 清洗 5 min×3，DAB（北京中山）显色。苏木精复染，乙醇梯度脱水，二甲苯透明，中性树脂封片。

2 结果

2.1 在生长期前期 LEF-1 因子的表达

在生长期的初期，LEF-1 在毛球部的毛母质中表达强烈，呈现明显的核表达，在毛球部上方的外根鞘 ORS 中表达最强烈，但沿 ORS 向上表达逐渐减弱，仍为核表达，内根鞘 IRS 阳性表达不明显（图 1A）。

2.2 生长期中后期 LEF-1 因子的表达

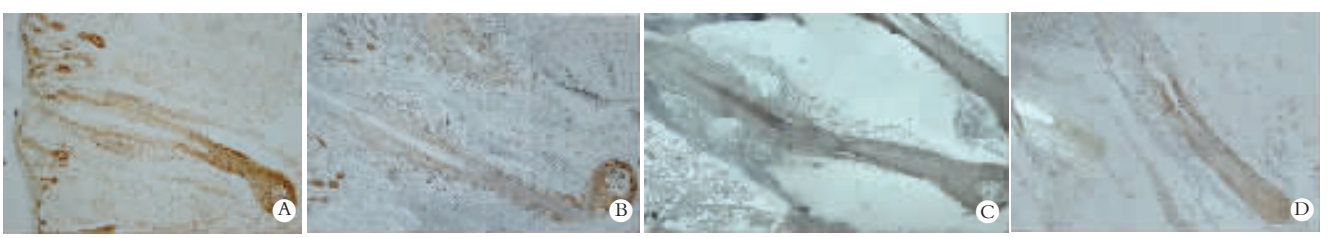
在生长期的中后期，LEF-1 在毛球部表达依然强烈，但与生长期前期毛囊相比开始减弱，沿毛球部向上这种减弱更为明显，逐渐由细胞核转移到细胞质中表达，IRS 中表达不明显（图 1B）。

2.3 退化期 LEF-1 因子的表达

当毛囊进入退化期时，LEF-1 在毛球部中的表达较弱，大部分为细胞质表达，少数核颗粒的染色可见，沿毛球部向上在 ORS 中表达消失，IRS 亦无表达（图 1C）。

2.4 静止期 LEF-1 因子的表达

静止期时，LEF-1 重新表达于杵状毛的底部的细胞核内，在毛囊的上段，LEF-1 集中于 bulge 区的最外层细胞内，而且 bulge 区以下的 IRS 中表达明显增强（图 1D）。



A：生长前前期；B：生长期中后期；C：退化期；D：静止期

图 1 各个时期毛囊中 LEF-1 的表达 （ABC×100）

3 讨论

毛发的维持是毛囊以一种干细胞依赖的方式而进行的周期性再生。毛发的周期包括三个阶段：生长期（Anagen）、退化期（Catagen）以及静止期（Telogen）[3,4]。毛发的生长和其周期变化涉及一系列多能上皮干细胞与其邻近的间充质细胞的相互作用[5,6]，从间充质细胞中发出的活化的信号指导多能干细胞的迁移和分化，从而维持毛囊生长及其周期推进。许多研究显示 WNT/β-catenin 信号通路在毛囊发育、周期维持以及毛囊干细胞的分化调节中发挥重要的作用[6,7]。然而，以往有关 WNT 信号通路对毛囊作用的研究主要集中于其关键因子 β-catenin 上，已知 β-catenin 从细胞质内转入细胞核内，与核内的转录因子结合共同启动 WNT 信号通路的活性。目前对与 β-catenin 相互作用的核内转录因子 LEF-1 作用的研究不多，本实验主要研究 LEF-1 在大鼠触须毛囊周期中的定位变化和表达变化，以阐明它在大鼠触须毛囊毛发周期维持中的可能的作用。

我们在研究中发现，随着毛发周期的进程发生，LEF-1 的表达也发生变化。在生长期的初期，LEF-1 在毛母质中的表达强烈，呈现明显的核表达，沿毛球部向上在 ORS 中的表达稍微减弱，但仍为核表达。LEF-1是一种核转录因子，它在组织的核内明显表达，说明该处转录十分活跃。在出生第 1 天时，毛囊并未发育成熟，在毛球部由毛基质逐渐分化为毛干的各层和 IRS，并且要不断的向下伸长。LEF-1 在毛母质中呈强烈的核表达，说明 LEF-1 在毛基质分化成为毛干和 IRS 的过程中起到重要的调节作用，沿毛球部向上在 ORS 中也为核表达说明它能够调节干细胞向下迁移，促进毛囊的向下生长。在生长期的中后期，LEF-1 在毛母质和 ORS 内表达开始呈减弱趋势，说明此时毛囊的向下生长已经停止，而毛干的分化也即将完成。当毛囊进入退化期时，LEF-1 的表达很明显的减弱，在 ORS 内表达消失，我们推断可能在毛发已经生长成熟时它不再发挥其信号转导的作用。在静止期时，毛囊正准备向下一个生长周期转化，LEF-1 的表达在 bulge 区的最外层出现，而且在 bulge 区以下的 IRS 中其表达亦明显增强，与干细胞标记物的定位很相似，这提示我们此时 LEF-1 可能启动了干细胞的再活化，指导干细胞迁移和再次分化。

同时，在研究中我们发现伴随着毛囊的生长，LEF-1 在胞内表达的部位也发生变化。在生长期 LEF-1 的表达强烈，大部分均为核表达，但随着生长的推进，其表达逐渐变弱，且逐渐由核表达转变为细胞质表达，直至进入静止期。当毛囊准备向下一个生长周

期推进时，LEF-1 表达增强并重新转入核内。这似乎与 LEF-1 行使其核内转录因子的功能是密切相关的。在 WNT 信号通路中，当 WNT 信号活化后经过一系列信号转导作用，抑制了 β-catenin 的胞内降解，使 β-catenin 易位入核，与核内的 LEF-1/TCF 家族相互作用，调节其下游目标基因的转录。结合我们以往的实验结果可见 β-catenin 与 LEF-1 的核表达的部位呈一致性。因此可能只有 β-catenin 与 LEF-1 同时在核内存在时候，它们才能发挥其信号转导的作用。那么 β-catenin 与 LEF-1 是怎么样相互作用的呢？一些观点认为：在 WNT 信号存在的时候，β-catenin 与 LEF-1/TCF 形成复合的转录因子发挥其信号转导的作用[8]；另外又有人认为：β-catenin 选择性的与 LEF-1/TCF 相结合，将他们从核内运送至细胞质并活化，进而调节其下游基因的转录[9]。β-catenin 易位入核与 LEF-1 的结合是在 WNT 信号通路关键步骤，本研究从免疫组织化学角度说明了 LEF-1 在毛发周期中的表达变化，为研究 LEF-1 与 β-catenin 在此过程中的相互作用打下基础。

参考文献：

[1] Boras-Granic K, Chang H, Grosschedl R, *et al*. Lef1 is required for the transition of Wnt signaling from mesenchymal to epithelial cells in the mouse embryonic mammary gland[J]. Dev Biol, 2006, 295(1): 219 – 231.

[2] Liu X, Driskell R R, Luo M, *et al*. Characterization of LEF-1 promoter segments that facilitate inductive developmental expression in skin [J]. J Invest Dermatol, 2004, 123(2): 264 – 274

[3] Alonso L, Fuchs E. The hair cycle[J]. J Cell Sci, 2006, 119(Pt 3): 391 – 393

[4] 李远宾，王 韵，杨 恬，等. 雄激素受体在大鼠触须毛囊干细胞中的表达研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(9)：889 – 891.

[5] Rendl M, Lewis L, Fuchs E. Molecular dissection of mesenchymal-epithelial interactions in the hair follicle[J]. PLoS Biol, 2005, 3(11): e331.

[6] Shimizu H, Morgan B A. Wnt signaling through the beta-catenin pathway is sufficient to maintain, but not restore, anagen-phase characteristics of dermal papilla cells[J]. J Invest Dermatol, 2004, 122(2): 239 – 245.

[7] Lowry W E, Blanpain C, Nowak J A, *et al*. Defining the impact of beta-catenin/Tcf transactivation on epithelial stem cells[J]. Genes Dev, 2005, 19(13): 1596 – 1611.

[8] Tutter A V, Fryer C J, Jones K A. Chromatin-specific regulation of LEF-1-beta-catenin transcription activation and inhibition in vitro[J]. Genes Dev, 2001, 15(24): 3342 – 3354.

[9] Chan S K, Struhl G. Evidence that Armadillo transduces wingless by mediating nuclear export or cytosolic activation[J]. Cell, 2002, 111(2): 265 – 280.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2008)01-0045-01

个案与短篇

丘疹样汗斑 1 例

田 蓉[1]，焦 锐[2]（[1]空军总医院皮肤科，北京 100036；[2]高平市河西医院皮肤科，山西 高平 048400）

1 临床资料

患者，男，36 岁，因胸、腹部及双上肢近端黄褐色丘疹 3 年，于 2007 年 9 月 27 日来我院就诊。患者 3 年前无诱因胸、腹部及双上肢出现多个绿豆大小圆形扁平状白色丘疹，无痒感，在我院就诊，真菌镜检阳性，外用抗真菌药物治疗 1 周后，皮疹全部消退，此后患者病情多次复发，多与闷热环境有关。近 3 个月因天气闷热，类似皮疹再次出现。患者病程中无体重减轻、发热，精神饮食睡眠大小便均正常。既往及家族史无特殊。体格检查：系统检查未见异常。皮肤科检查：胸腹部及双上肢近端泛发性黄褐色斑丘疹，类圆形，绿豆大小，皮疹略高出皮面，上附细小鳞屑，边界清楚，均匀分布，互不融合（图 1）。查真菌镜检阳性。皮肤组织病理结果：PAS 染色阳性。



图 1 患者胸腹部及双上肢近端丘疹

作者简介：田 蓉，女，陕西省西安市人，博士，主治医师，主要从事皮肤、性病临床诊治等方面的研究。电话：(010) 66928074，E-mail：tianrongr@sina.com

收稿日期：2007-09-18；修回日期：2007-12-12

（下转 48 页）