文章编号:1000-5404(2013)14-1437-05

论著

毛囊周期性中肿瘤坏死因子受体1的表达

赖向东[1],白秀峰[2],余 裕[2],王丽娟[1],杨 恬[2],杨 力[1],连小华[2],钟 莉[1] (400044 重庆,重庆大学生物工程学院,国家"111计划"基地[1];400038 重庆,第三军医大学基础医学部细胞生物学教研室[2])

[摘要] **目的** 探讨肿瘤坏死因子受体1(TNFR-1)在毛囊周期中表达的规律及意义。**方法** 采用石蜡切片免疫荧光、Western blot、RT-PCR检测小鼠毛囊生长期(出生后8、15 d,P8d、P15d)、退化期(出生后18 d,P18d)和静止期(出生后24 d,P24d)各时期TNFR-1的表达情况;免疫荧光检测毛囊细胞分化标记物AE13的周期性表达;TUNEL检测毛囊周期中的细胞凋亡情况。**结果** 在4个时相点的皮肤中TNFR-1都存在不同强度的表达,RT-PCR与Western blot检测结果呈现出一致的规律,即从生长期中期(P8d)到生长期末期(P15d)呈现高表达趋势,退化期(P18d)和静止期(P24d)表达减弱并维持较低水平表达。免疫荧光的结果显示:TNFR-1表达在生长期主要表达于表皮层,毛囊的毛干和内根鞘以及毛母质,生长末期在外根鞘还出现明显表达;退化期在外根鞘、毛干及表皮层有表达,在次级毛芽出现很强的特异性表达;在静止期表皮层及杵状毛中呈现弱表达。AE13在生长期主要表达于表皮层以及毛干的皮质和毛小皮;退化期在毛干尤其是毛干基部端(即角质化区域和杵状毛形成区)强表达;在静止期弱表达于表皮层及杵状毛中。TUNEL检测凋亡结果显示:在生长期TUNEL阳性染色主要出现在表皮层,毛囊的毛干、内根鞘以及毛母质,生长末期还出现在外根鞘;在退化期出现在外根鞘、表皮层以及毛干基部端;在静止期P24d出现在表皮层、杵状毛、bulge区和皮脂腺。**结论** TNFR-1表达于毛囊的各个时期,生长期中期到生长期末期呈现高表达趋势,退化期和静止期表达减弱并维持较低水平表达,其表达与毛囊细胞终末分化和凋亡有关。

[关键词] 肿瘤坏死因子受体1;毛囊周期;表达;小鼠
[中图法分类号] R322.995;R329.25;R394.2 [文献标志码] A

Expression profile of TNFR-1 during hair follicle cycle

Lai Xiangdong[1], Bai Xiufeng[2], Yu Yu[2], Wang Lijuan[1], Yang Tian[2], Yang Li[1], Lian Xiaohua[2], Zhong Li[1] ([1]"111" Project Laboratory of Biomechanics and Tissue Repair, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing, 400044; [2]Department of Cell Biology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression profile of TNFR-1 in the hair follicles of mice at different phase and explore its importance. **Methods** RT-PCR, Western blot analysis and immunofluorescence staining with paraffin section were adopted to detect the expression and distribution of TNFR-1 in mouse hair follicles at 4 time points, P8d, P15d, P18d and P24d respectively. Hair shaft differentiation marker AE13 was tested by immunofluorescence staining. The apoptosis of the hair follicle was detected by TUNEL staining. **Results** The expression intensity of TNFR-1 were distinct in all 4 time points in the skin. The results of Western blot analysis were consistent with those of RT-PCR, showing that from the middle anagen to very late anagen, TNFR-1 presented high expression. In the catagen and telogen, the expression of TNFR-1 was becoming lower than that of very late anagen, and stayed at a very low level. Immunofluorescence staining showed that in the anagen, TNFR-1 was mainly distributed in the epidermis, matrix, inner root sheath (IRS) and hair shaft. In the very late anagen phase, there was significant expression of TNFR-1 in the outer root sheath (ORS). In the catagen phase, TNFR-1 was distributed in the epidermis and ORS, and expressed specifically and highly in the second hair germ. There was very low expression of TNFR-1 in the epidermis and club hair in the telogen phase. AE13 was expressed in the epidermis, hair cortex and hair cuticle in the anagen. In the catagen, there was a specific and high expression of AE13 in the hair shaft, especially in the proximal end of the hair shaft, that is, in the area of keratinization and club hair formation. During the telogen, there was a low expression of

[基金项目] 国家自然科学基金(30872270);高等学校学科创新引智计划("111计划")(B06023)
[通信作者] 钟 莉,电话:(023)65111632, E-mail: jlzhong@cqu.edu.cn
连小华,电话:(023)68752260, E-mail: 129hx@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130321.1424.038.html(2013-03-21)

AE13 in the epidermis and hair club. Through TUNEL staining, apoptotic cells were found in the epidermis, hair shaft, IRS and hair matrix during the anagen. In addition, apoptotic cells were observed in the ORS during late anagen, in the epidermis, ORS and proximal end of the hair shaft during catagen, and in the epidermis, hair club, bulge and sebaceous gland during the telogen. **Conclusion** TNFR-1 is expressed specifically and spatiotemporally in the hair follicle cycle, and its expression is significantly high in the middle anagen to very late anagen, and reduced and maintained in a mild level in the catagen and telogen phase, which is involved in cell differentiation and pro-apoptosis of hair follicle.

[**Key words**] TNFR-1; hair follicle cycle; expression; mice

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30872270) and the Innovation and Attracting Talent Foundation for Colleges and Universities (111 Project, B06023). Corresponding author: Zhong Li, Tel: 86-23-65111632, E-mail: jlzhong@cqu.edu.cn; Lian Xiaohua, Tel: 86-23-68752260, E-mail: 129hx@163.com

毛囊是表皮重要的附属器官,控制着毛发的生长,对动物的生存有重要的作用[1]。在动物的一生中,毛囊都会经历生长期、退化期和静止期的周期性的循环变化来实现毛发生长和更新[2-4]。在生长期,毛母质细胞会迅速增殖分化形成内根鞘和毛干毛囊得以向下生长,与此同时,部分毛囊细胞也发生一定程度的细胞凋亡,以此避免细胞的过度增殖;退化期,毛囊因其下段细胞发生大量凋亡而变短,且毛乳头逐渐上移;在毛乳头上移至毛囊隆突区 bulge 下方时毛囊即进入静止期。在使毛囊发生凋亡的各种信号通路中,肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)信号通路在毛囊凋亡的发生中起着重要作用。TNFα 通过与细胞膜上的受体结合,激活 Caspase 相关的细胞凋亡信号通路,引发细胞凋亡[5-7]。

TNFα 有 TNFR-1 和 TNFR-2 两种受体[8-9]。TNFR-2 主要表达于免疫细胞和内皮细胞,而 TNFR-1 表达于大多数细胞类型[10-11],但 TNFR-1 在出生后的小鼠毛囊周期中的表达部位及在小鼠毛囊周期中的表达规律尚缺乏系统的研究。本研究通过多种实验技术探寻 TNFR-1 在小鼠毛囊周期中的表达变化规律,旨在为进一步研究其在毛囊中的功能提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

根据 Muller-Rover 等[12]的小鼠毛囊周期分期标准,选取出生后 P8d(生长中期)、P15d(生长末期)、P18d(退化期)、P24d(静止期)的雌性 C57BL/6 小鼠各 36 只,均来自于第三军医大学实验动物中心。

1.2 主要试剂及仪器

兔抗 TNFR-1 多克隆抗体(北京博奥森),鼠抗 AE13 单克隆抗体(由孙同天院士惠赠),TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(Roche),Cy3 标记山羊抗兔荧光二抗(碧云天),DAPI(碧云天),RIPA 强裂解液(碧云天),BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天),GAPDH 抗体(上海康成),脱脂蛋白封闭干粉(武汉博士德),辣根酶标记山羊抗兔 IgG(北京中杉),辣根酶标记山羊抗鼠 IgG(北京中杉),First Strand cDNA Synthesis Kit (日本 TOYOBO),PCR mix 试剂盒(天根),TNFR-1(上海英俊),GAPDH 引物(上海英俊),蛋白定量仪(Bio-Rad),PAGE 垂直电泳仪(Bio-Rad),湿转仪(Bio-Rad),扫描仪(GS-800),凝胶成像系统(Bio-Rad),紫外分光光度计(Beckman),PCR 仪(Bio-Rad),琼脂糖凝胶电泳仪(Bio-rad),石蜡切片机(Leica),荧光显微镜(Nikon)。

1.3 RT-PCR 检测 TNFR-1 mRNA 在小鼠背部全层皮肤中的表达

总 RNA 提取:取各鼠龄的 C57BL/6 鼠,脱颈椎法处死小鼠,立即取全层皮肤(1 cm×1 cm)置于液氮,在液氮中研磨呈粉末状后按照天根 RNA simple Kit 提取总 RNA,测量 RNA 浓度。TNFR-1 的引物为:上游 5′-GCCCGAAGTCTACTCCATCAT-3′,下游 5′-CCATCCACCACAGCATACAGA-3′,退火温度 58 ℃,产物长度 372 bp;GAPDH 的引物为:上游 5′-CAGTGGCAAAGTGGAGATTGTTG-3′,下游 5′-ACAGTCTTCTGGGTGGCAGTGAT-3′,退火温度为 58 ℃,产物长度 492 bp。

逆转录(RT)反应:每个样本均取 0.8 μg RNA,按照 TOYOBO 公司试剂盒说明书逆转录。

PCR 反应体系:根据天根 PCR mix 试剂盒,取 cDNA 模板 1 μL,上下游引物各 1 μL (10 μmol/L),PCR Mix 12.5 μL,ddH_2O 9.5 μL 共 25 μL。反应条件:94 ℃预变性3 min,94 ℃ 30 s, 58 ℃30 s,72 ℃ 1 min,28 个循环,最后 72 ℃延伸 5 min。取 5 μL PCR 产物进行琼脂糖(1%)凝胶电泳(120 V,20 min),凝胶成像仪成像。

1.4 Western blot 检测 TNFR-1 在小鼠背部皮肤中的表达

总蛋白提取:用液氮研磨取得各时相点皮肤组织粉末,将约 20 mg 粉末移入 200 μL RIPA 强裂解液中,旋涡振荡器最高速度振荡至混匀,然后置于冰上裂解 10 min,14 000×*g*,4 ℃离心 5 min,吸取上清即可得到总蛋白, −80 ℃保存。

Western blot 检测:BCA 法测定蛋白浓度,取 30 μg 蛋白样品加入上样缓冲液,再于 100 ℃沸水浴变性 5 min,冷却后上样电泳,5% 浓缩胶(60 V,30 min),10% 分离胶(120 V,90 min),用甲醇处理 PVDF 膜 30 s 后再浸泡于转移缓冲液,切下胶后于 180 mA 恒流湿转 1.5 h 至 0.22 μm PVDF 膜, TBST 洗膜 3 min×3,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,一抗 4 ℃孵育过夜,TBST 漂洗 10 min×5,二抗室温孵育 1.5 h,TBST 漂洗 10 min×5,化学发光试剂盒显色,在暗室里进行胶片曝光,最后扫描仪成像。

1.5 石蜡切片的制备

将小鼠断颈处死,剪毛,用眼科剪剪取大小约 0.5 cm×

0.5 cm背部全层皮肤,PBS清洗后平铺于定性滤纸上使其自然伸展(切勿用力拉拽组织以免组织变形),沿组织边缘剪下定性滤纸做支持物后于4%多聚甲醛固定过夜(取材固定要迅速不超过3 min),梯度酒精(50%、75%、85%、95%各1.5 h,100%、100%各1 h)脱水,二甲苯透明(2×15 min)视皮肤厚度可调整时间,浸蜡(60 ℃, 5~12 h), 包埋,切片(5 μm),烤片(60 ℃, 4 h)。

1.6 免疫荧光检测TNFR-1和AE13在小鼠背皮毛囊中的表达

二甲苯脱蜡(2×10 min),梯度酒精复水(100%、100%、95%、85%、75%、50%,各3 min), 蒸馏水(2×3 min),微波抗原修复(柠檬酸盐缓冲液,维持沸腾8 min)后冷却至室温,PBS(3×3 min)洗,封闭(5% BSA,37 ℃30 min),一抗4 ℃孵育过夜(空白对照组以PBS代替一抗);PBS漂洗(3×10 min),荧光二抗37 ℃孵育1 h,DAPI染核,PBS漂洗3×10 min,抗荧光淬灭封片液封片后于荧光显微镜下取像。

1.7 TUNEL法检测细胞凋亡

石蜡切片如1.6中常规脱蜡复水,双氧水封闭内源性过氧化物酶,PBS漂洗(3×3 min),蛋白酶K处理,PBS漂洗(3×3 min),含0.1%(体积分数)Triton X-100的PBS漂洗(3×3 min),PBS漂洗(3×3 min),加50 μL TUNEL反应混合液(阴性对照组仅加50 μL dUTP液)于标本上(37 ℃,1 h),PBS漂洗(3×3 min),加50 μL converter-POD于标本上(37 ℃,30 min),PBS漂洗(3×3 min),加DAB底物显色,PBS漂洗3次,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片后在光学显微镜下观察并拍照。

1.8 数据采集与统计学分析

用Quantity One软件处理RT-PCR与Western blot图片,采集各条带的光密度值,以目的条带光密度与内参条带光密度的比值作为相对表达量,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用SPSS 13.0统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 TNFR-1 mRNA在小鼠背部皮肤中的表达

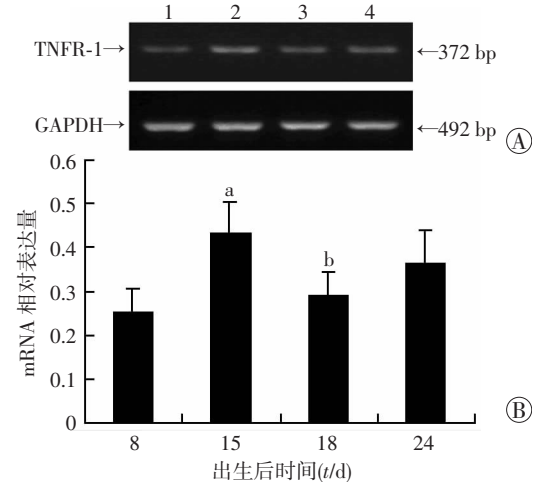
RT-PCR检测结果显示,在毛囊周期的4个时相点皮肤组织中都能检测到目的条带TNFR-1 mRNA的存在(图1A)。生长期中期(P8d)到生长期末期(P15d)TNFR-1 mRNA表达量升高到较高水平,退化期(P18d)和静止期(P24d)TNFR-1 mRNA表达维持在较低水平(图1B)。

2.2 TNFR-1蛋白在小鼠背部皮肤中的表达

Western blot检测结果显示,在毛囊周期各时相点的皮肤组织中都能检测到TNFR-1蛋白表达(图2A)。与RT-PCR的结果相符,TNFR-1蛋白的表达在生长期中期(P8d)和生长期末期(P15d)表达最强,而退化期(P18d)到静止期(P24d)表达减弱至维持较弱的水平(图2B)。

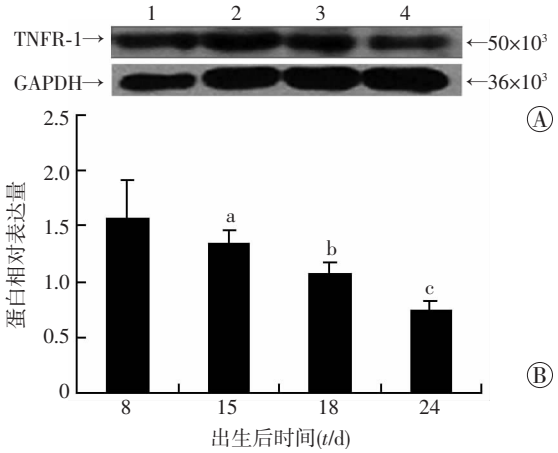
2.3 TNFR-1蛋白在小鼠背皮毛囊中的表达分布

TNFR-1在出生后小鼠一个完整毛囊周期中的表达定位见图3,结果与Western blot相符。从形态上看,毛囊结构与其所处相应周期阶段是一致的。TNFR-1在生长中期(P8d)主要表达于表皮层,毛囊的毛干和内根鞘以及毛母质,在外根鞘无表达;生长末期(P15d)在毛干和内外根鞘以及毛母质均有表达,在表皮层中有表达且表皮层变薄;在退化期后期(P18d)由于毛囊下段发生凋亡导致毛囊变短和毛乳头上移,TNFR-1在外根鞘、毛干及表皮层有表达,在次级毛芽出现很强的特异性表达;在静止期(P24d)主要表达于表皮层及柞状毛中,且表达很弱。



A:RT-PCR电泳结果 1:P8d;2:P15d;3:P18d;4:P24d; B:半定量分析 a:$P<0.01$,与P8d比较;b:$P<0.05$,与P15d比较

图1 RT-PCR检测TNFR-1 mRNA在小鼠背部皮肤中的表达



A:Western blot结果 1:P8d;2:P15d;3:P18d;4:P24d; B:半定量分析 a:$P<0.01$,与P24d比较;b:$P<0.05$,c: $P<0.01$,与P8d比较

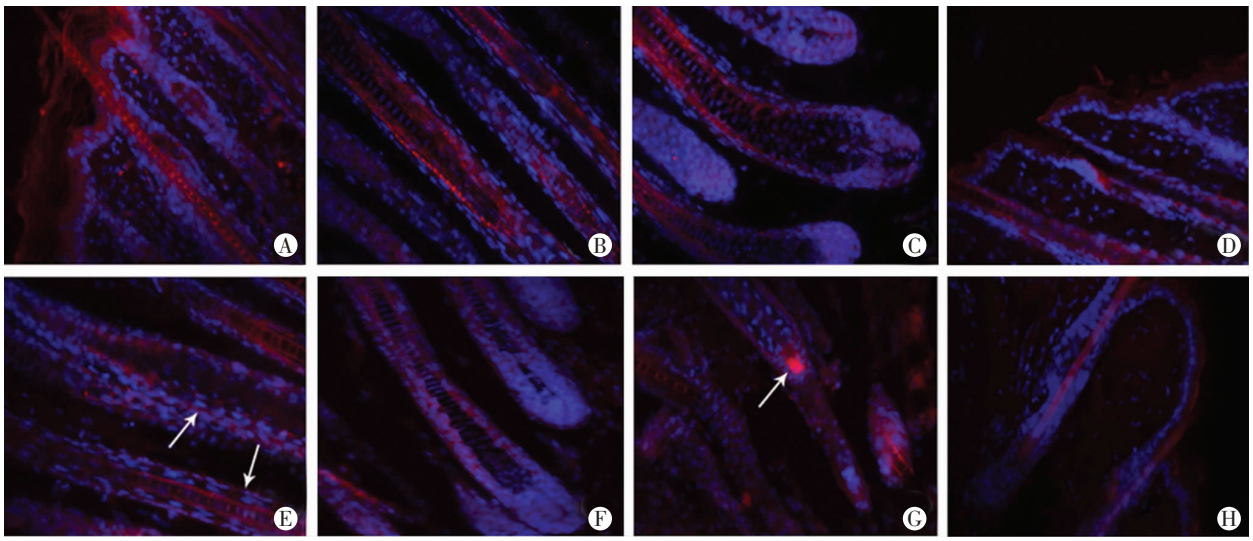
图2 Western blot检测TNFR-1蛋白在小鼠背部皮肤中的表达

2.4 AE13在小鼠背皮毛囊中的表达分布

AE13在出生后小鼠的一个完整毛囊周期中的表达定位情况见图4。AE13在生长中期(P8d)主要表达于毛干的皮质和毛小皮,表皮层最厚且强表达于表皮基底层;生长末期(P15d)表达于毛干的皮质和毛小皮,在表皮层有表达且表皮层变薄;退化期(P18d)在表皮层弱表达,在毛干尤其是毛干基部端(即角质化区域和柞状毛形成区)强表达;在静止期(P24d)弱表达于表皮层及柞状毛中。

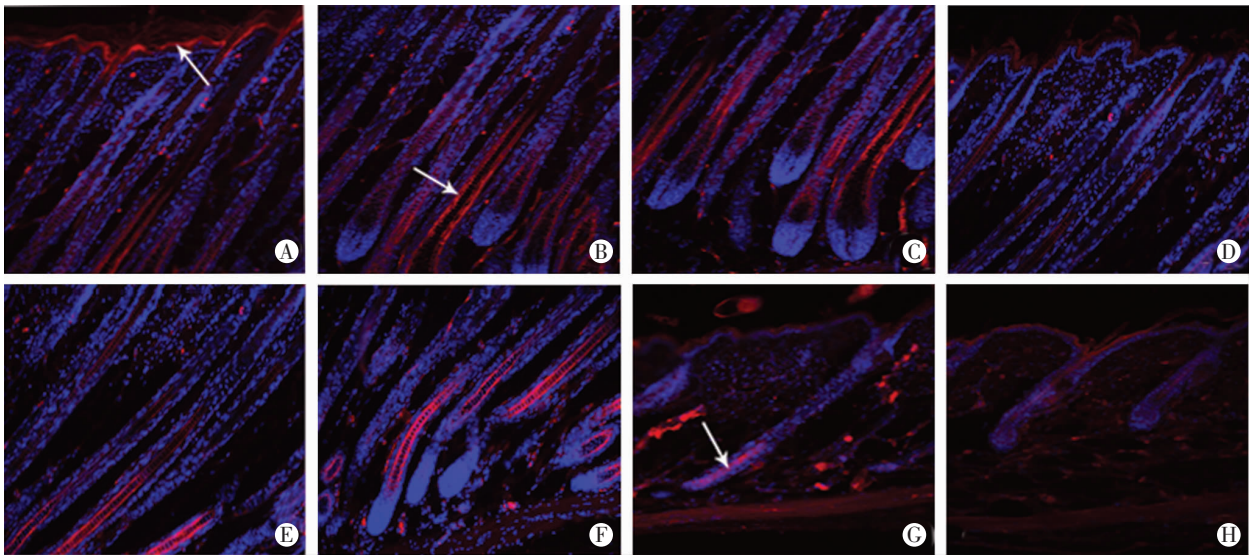
2.5 TUNEL法检测小鼠背皮毛囊细胞凋亡

结果见图5。在生长期TUNEL阳性染色细胞主要出现在表皮层,毛囊的毛干、内根鞘以及毛母质,生长末期还出现在外根鞘;在退化期(P18d)出现在外根鞘、表皮层以及毛干基部端;在静止期(P24d)出现在表皮层、柞状毛、bulge区和皮脂腺。



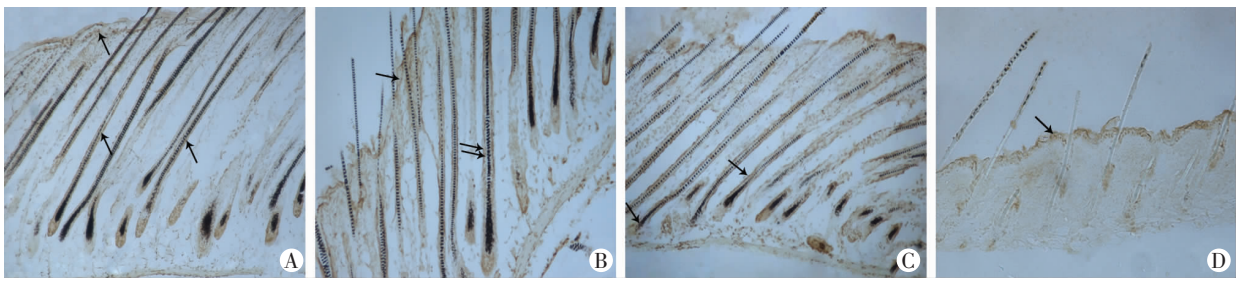
A、B、C:生长期中期(P8d)上、中、下段毛囊;D、E、F:生长期末期(P15d)上、中、下段毛囊;G:退化期(P18d);H:静止期(P24d);红色荧光示TNFR-1表达;蓝色染核,箭头示TNFR-1阳性染色

图3 免疫荧光检测TNFR-1蛋白在毛囊周期中的表达 (荧光显微镜 ×400)



A、B、C:生长期中期(P8d)上、中、下段毛囊;D、E、F:生长期末期(P15d)上、中、下段毛囊;G:退化期(P18d);H:静止期(P24d);红色荧光示AE13表达;蓝色染核;箭头示AE13阳性染色

图4 免疫荧光检测AE13蛋白在毛囊周期中的表达 (荧光显微镜 ×200)



A:生长期中期(P8d);B:生长期末期(P15d);C:退化期(P18d);D:静止期(P24d) 箭头示阳性染色

图5 TUNEL法检测毛囊周期中细胞凋亡 (×200)

3 讨论

目前对于TNFR-1在出生后小鼠毛囊周期中的表达部位及在小鼠毛囊周期中的表达规律尚没有系统的研究。Seiberg等[13]仅运用RT-PCR从mRNA水平检测TNFR-1在毛囊周期中的表达;Lindner等[14]将TNFR-1作为一个凋亡检测指标,检测到小鼠毛囊退化期各亚期TNFR-1的表达。本研究通过RT-PCR、Western

blot、免疫荧光等方法探寻 TNFR-1 在小鼠毛囊生长期到退化期和静止期一个完整周期中的表达,发现 TNFR-1 表达于毛囊的各个时期,从生长期中期到生长期末期呈现高表达趋势,退化期和静止期表达减弱并维持较低水平。本实验结果不仅印证了已有的研究,而且从蛋白和 mRNA 两个不同水平,对一个完整毛囊周期中 TNFR-1 的表达进行了系统和全面的研究。

Western blot 与免疫荧光的结果显示,在毛囊生长中期和生长末期 TNFR-1 蛋白水平呈现高表达,退化期略有将低,静止期表达最弱。TNFR-1 mRNA 从生长期中期到生长期末期表达量升高到较高水平,退化期和静止期表达维持在较低水平,其表达趋势与蛋白水平相符。RT-PCR 和 Western blot 检测 TNFR-1 的表达均采用小鼠全层皮肤组织,既包括表皮和毛囊,也包含真皮结构。除了 RT-PCR 和 Western blot 半定量分析之外,还采用免疫荧光进行定位分析以区分 TNFR-1 在毛囊及非毛囊组织间的表达差异,结果显示真皮结构中未发现有显著的 TNFR-1 表达。

P8d 毛囊处于生长中期,毛母质细胞迅速增殖分化形成内根鞘和毛干,在表皮层细胞也由基底层增殖分化形成角质层[2-3,15]。本研究显示,生长中期表皮层最厚,TNFR-1 和 AE13 在此部位均出现强表达,且表皮层出现 TUNEL 阳性染色;生长中期在毛干中也出现 TNFR-1 和 AE13 的表达以及 TUNEL 阳性染色。提示 TNFR-1 的表达与毛囊细胞终末分化相关的凋亡有关,细胞迅速增殖分化的同时部分毛囊细胞也发生一定程度的细胞凋亡,以此避免细胞的过度增殖。

在毛囊生长末期(P15d),毛囊形态学上虽未发生显著改变,但在分子水平上凋亡相关因子已经表达,此时细胞增殖和凋亡平衡发生改变,凋亡逐渐占据主导地位[12,14]。本研究发现,P15d 毛球变小,内根鞘和毛干开始萎缩,表皮层也变薄,值得关注的是外根鞘细胞出现 TNFR-1 明显表达的同时也出现 TUNEL 阳性染色细胞,而 P8d 外根鞘细胞无 TNFR-1 表达、无 TUNEL 阳性染色。推测此时 TNFR-1 的表达与退化期凋亡驱动的毛囊表皮细胞成分清除有关。

在毛囊退化期(P18d),凋亡完全占据主导因素,毛囊下段发生凋亡使毛囊变短和毛乳头上移[12,16]。本研究发现,P18d 毛囊形态学上发生显著的改变,出现退化期毛囊典型结构;在外根鞘有 TNFR-1 表达以及出现 TUNEL 阳性细胞说明 TNFR-1 在毛囊凋亡变短中发挥作用;在毛干、次级毛芽表达 TNFR-1,同时在毛干尤其是毛干基部端 AE13 的表达及 TUNEL 阳性细胞的出现说明:TNFR-1 的作用可能与杵状毛的形成有关。

P24d 毛囊处于静止期,TNFR-1 主要表达于表皮层及杵状毛中,且表达最弱,均低于生长期和退化期;此时毛囊是相对静寂的,但不是真正静止,只是毛囊细胞增殖和生物化学活性处于最低[17]。仅表皮层和杵状毛弱表达 TNFR-1 和 AE13 及其 TUNEL 阳性细胞出现,表明此时表皮层细胞有终末分化及与其终末分化相关的凋亡活动,以维持皮肤角质层的更新,而毛囊细胞的增殖分化和凋亡活动均不明显。

综上所述,在毛囊周期中,TNFR-1 的表达具有高度的时空特异性,其表达与毛囊细胞终末分化和凋亡相关。对于 TNFR-1 如何时空特异性的精确调控毛囊细胞的终末分化和凋亡来维持毛囊的内环境稳态和毛囊的周期性活动的相关机制,还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Yang L, Peng R. Unveiling hair follicle stem cells[J]. Stem Cell Rev, 2010, 6(4): 658-664.
[2] Fuchs E. Scratching the surface of skin development[J]. Nature, 2007, 445(7130): 834-842.
[3] Alonso L, Fuchs E. The hair cycle[J]. J Cell Sci, 2006, 119(Pt 3): 391-393.
[4] Blanpain C, Fuchs E. Epidermal homeostasis: a balancing act of stem cells in the skin[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(3): 207-217.
[5] Cabal-Hierro L, Lazo P S. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors[J]. Cell Signal, 2012, 24(6): 1297-1305.
[6] Botchkareva N V, Ahluwalia G, Shander D. Apoptosis in the hair follicle[J]. J Invest Dermatol, 2006, 126(2): 258-264.
[7] Chen G, Goeddel D V. TNF-R1 signaling: a beautiful pathway[J]. Science, 2002, 296(5573): 1634-1635.
[8] Chu W M. Tumor necrosis factor[J]. Cancer Lett, 2013, 328(2): 222-225.
[9] Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games[J]. Immunology, 2005, 115(1): 1-20.
[10] Grell M, Wajant H, Zimmermann G, *et al*. The type 1 receptor (CD120a) is the high-affinity receptor for soluble tumor necrosis factor[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998, 95(2): 570-575.
[11] Grell M. Tumor necrosis factor (TNF) receptors in cellular signaling of soluble and membrane-expressed TNF[J]. J Inflamm, 1995-1996, 47(1/2): 8-17.
[12] Muller-Rover S, Handjiski B, van-der-Veen C, *et al*. A comprehensive guide for the accurate classification of murine hair follicles in distinct hair cycle stages[J]. J Invest Dermato, 2001, 117(1): 3-15.
[13] Seiberg M, Marthinuss J, Stenn K S. Changes in expression of apoptosis-associated genes in skin mark early catagen[J]. J Invest Dermatol, 1995, 104(1): 78-82.
[14] Lindner G, Botchkarev V A, Botchkareva N V, *et al*. Analysis of apoptosis during hair follicle regression (catagen)[J]. Am J Pathol, 1997, 151(6): 1601-1617.
[15] Legue E, Nicolas J F. Hair follicle renewal: organization of stem cells in the matrix and the role of stereotyped lineages and behaviors[J]. Development, 2005, 132(18): 4143-4154.
[16] Stenn K S, Paus R. Controls of hair follicle cycling[J]. Physiol Rev, 2001, 81(1): 449-494.
[17] Paus R, Foitzik K. In search of the "hair cycle clock": a guided tour[J]. Differentiation, 2004, 72(9/10): 489-511.

(**收稿**:2012-12-07;**修回**:2013-01-06)
(编辑 张 维)