

雌二醇对体外培养绒山羊初级毛囊的影响

李蘅, 李金泉*, 曹贵芹, 张文² (1. 内蒙古农业大学生物工程学院, 内蒙古呼和浩特010018; 2. 内蒙古农业大学动物科学与医学学院, 内蒙古呼和浩特010018)

摘要 [目的] 初步探讨雌二醇对绒山羊初级毛囊形态及生长的影响。[方法] 在 Williams E 无血清培养基中分别添加不同剂量的 $17-\text{E}_2$ (0.1、1.0、10.0、100.0 nmol/L), 观测毛囊体外培养过程中生长速度及形态结构的变化。[结果] 0.1 nmol/L $17-\text{E}_2$ 组与对照组生长速度基本相当, 而1.0、10.0 和100.0 nmol/L $17-\text{E}_2$ 对毛囊的生长均有不同程度的抑制; 毛囊形态也表现出相应的变化。[结论] 该研究为探明雌激素对绒山羊毛囊生长的调控机制奠定了一定的基础。

关键词 绒山羊; 初级毛囊; 体外培养; $17-\text{E}_2$

中图分类号 S827 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)01-00151-02

Effects of Estradiol on Culture in vitro of Cashmere Goat Primary Hair Follicles

LI Heng et al (Boengineering College, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018)

Abstract [Objective] The aim of this study is to preliminarily explore the effects of estradiol on morphology and growth of cashmere goat primary hair follicles. [Method] Cashmere goat primary hair follicles were cultured in serum-free Williams E supplemented with different doses of $17-\text{E}_2$ (0.1, 1.0, 10.0, 100.0 nmol/L), and their growth rates and morphological changes were observed. [Result] The growth rate of 0.1 nmol/L $17-\text{E}_2$ group is quite comparable with that of the control group, but the concentrations of 1.0, 10.0 and 100.0 nmol/L $17-\text{E}_2$ displayed different degrees of inhibition on the growth of hair follicles. Different morphological changes of hair follicles could also be discovered in different concentration treatments. [Conclusion] The study laid a certain foundation for exploring the regulation mechanism of estradiol on growth of cashmere goat hair follicles.

Key words Cashmere goat; Primary hair follicle; Culture in vitro; $17-\text{E}_2$

绒山羊皮肤组织结构和毛囊性状决定着羊绒的品质和产量, 体外培养绒山羊毛囊, 对于探讨与其生长相关的因子、激素等的作用机理, 改善羊绒品质, 提高产绒量具有长远的经济意义。毛囊是一种具有周期特性的皮肤附属器官, 经历生长期(anagen)、退行期(catagen)和休止期(telogen)。毛囊不同周期阶段的转换和循环再生是由毛囊角质形成细胞和毛乳头成纤维细胞的双向信号传导控制的, 许多生长刺激因子和抑制因子参与其发育的调节及周期性活动的控制^[1]。雌激素对毛囊周期调节具有重要影响。在人体内, 雌激素可通过增加细胞增殖率和推迟生长—退行期转化来延长头皮毛发生长周期^[2]。最新研究指出, 鼠皮肤经雌激素处理后可显著加速毛囊向退行期发展, 表明雌激素可直接诱导退行期开始^[3]。该研究将雌二醇应用于离体培养的绒山羊初级毛囊模型中, 排除体内其他因素的干扰, 也去除了毛囊周围其它细胞和基质的作用, 旨在观察其对离体培养绒山羊毛囊的影响。

1 材料与方 法

1.1 标本来源 绒山羊皮肤取自内蒙古阿尔巴斯种羊场健康成年试验用羊。

1.2 主要仪器 医用超净工作台、 CO_2 细胞培养箱(Thermo)、倒置显微镜(Zeiss)、解剖显微镜(Olympus)、显微外科器械。

1.3 培养基与试剂 Williams E 无血清培养基: Williams E (Gibco)、胰岛素(Sigma) 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、转铁蛋白(Sigma) 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、氢化可的松(Sigma) 10 ng/ml 、亚硒酸钠(国产) 10 ng/ml 、L-谷氨酰胺(国产) 2 mmol/L 、青霉素(国产) 100 U/ml 、链霉素(国产) 100 U/ml 。 $17-\text{E}_2$ (Sigma)。

1.4 游离毛囊的分离及培养 应用显微解剖法^[4] 分离获得

大量完整的单个毛囊。具体操作参照文献^[5]。选择完整无损的毛囊, 小心转移至24孔板内, 每孔1根, 加 Williams E 无血清培养基0.5 ml, 置于31 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、一定湿度的培养箱中培养。24 h 后选择生长明显的毛囊120根, 随机分成5组, 依次为在 Williams E 无血清培养基中添加0、0.1、1.0、10.0、100.0 nmol/L $17-\text{E}_2$ 。

1.5 观测指标及分析方法 每天定时在装有目镜测微尺的倒置显微镜下测量毛囊的生长长度并及时拍照, 直至毛囊不再延长, 记录其生长天数; 观察毛囊的形态学改变和毛囊周围细胞长出的时间。计算出毛囊前10 d 的生长速度, 采用 SAS 6.12 软件包中的 ANOVA 过程进行方差分析, 多重比较用 Duncan 法。

2 结果与分析

2.1 $17-\text{E}_2$ 对绒山羊初级毛囊体外培养生长速度的影响

由表1可见, 不同浓度的 $17-\text{E}_2$ 对绒山羊体外培养初级毛囊生长的影响不同, 其中0.1 nmol/L 组前4 d 毛囊平均生长速度为0.082 mm/d , 与0 nmol/L 组(对照组)生长速度(0.083 mm/d)基本相同, 无显著差异($P > 0.05$), 前10 d 毛囊平均生长速度(0.083 mm/d)无明显变化, 仍维持在此水平, 并略高于对照组(0.075 mm/d)。1.0 nmol/L 组和10.0 nmol/L 组生长速度均低于对照组, 对毛囊的生长有一定抑制, 但2组间差异不大($P > 0.05$)。从第6天开始, 毛囊的生长速度减缓, 当培养到第8天时1.0 nmol/L 组和10.0 nmol/L 组生长速度显著低于0.1 nmol/L 组($P < 0.05$)。100.0 nmol/L 组明显抑制了毛囊的生长, 前3 d 毛囊生长速度仅为0.058 mm/d , 与其他各组差异显著($P < 0.05$)。可见, $17-\text{E}_2$ 对毛囊的生长有明显的抑制作用, 随浓度的增加毛囊生长速度降低。

2.2 $17-\text{E}_2$ 对绒山羊初级毛囊形态的影响

在倒置显微镜下观察毛囊形态, 在培养1~4 d 时未见明显改变, 主要表现为毛根与内外根鞘的延长, 而结缔组织鞘则始终无明显变化(图1a)。毛囊内根鞘、外根鞘和结缔组织鞘层次清楚, 毛乳头和毛母质界限分明, 且距离较近, 毛乳头清晰可见, 呈锥形

基金项目 国家自然科学基金地区重点项目(39969002); 内蒙古自治区自然科学基金重大项目(200408020401)。

作者简介 李蘅(1976-), 女, 内蒙古呼和浩特人, 在读博士, 从事动物遗传育种方面的研究。* 通讯作者。

收稿日期 2008-10-29

嵌入其内(图1b)。但1.0、10.0和100.0 nmol/L组中毛乳头已开始逐渐变小。随着培养时间的延长(培养6 d后),毛囊球部结构逐渐模糊,毛母质呈杵状与毛乳头远离,毛乳头下降变小直至分辨不出,部分毛囊下端弯曲,结构层次始终可

辨,毛囊底部与毛根之间的距离增加(图1c),且10.0 nmol/L组毛球结构不规则(图1d),100.0 nmol/L组毛囊整体变暗,有贴壁迹象(图1e)。

表1 17-E₂对毛囊生长速度的影响

Table 1 Effects of 17-E₂ on the growth of hair follicles

浓度 Concentration nmol/L	平均生长速度 Average growth rate mm/d									
	第1天 1 st d	第2天 2 nd d	第3天 3 rd d	第4天 4 th d	第5天 5 th d	第6天 6 th d	第7天 7 th d	第8天 8 th d	第9天 9 th d	第10天 10 th d
0	0.071 a	0.084 a	0.086 a	0.090 a	0.060 ab	0.100 a	0.060 a	0.083 ab	0.081 b	0.034 ab
0.1	0.077 a	0.083 a	0.079 a	0.087 a	0.085 a	0.077 a	0.063 a	0.093 a	0.143 a	0.039 a
1.0	0.061 a	0.064 a	0.074 a	0.074 a	0.063 ab	0.054 ab	0.032 ab	0.037 bc	0.034 bc	0.029 ab
10.0	0.074 a	0.071 a	0.071 a	0.075 a	0.055 ab	0.054 ab	0.031 ab	0.037 bc	0.036 bc	0.017 bc
100.0	0.072 a	0.064 a	0.039 b	0.026 b	0.028 b	0.013 b	0.012 b	0.002 c	0.001 c	0 c

注:同列小写字母不同表示差异显著(P<0.05)。

Note: Different lowercases in the same column mean significant difference (P<0.05).



注:a. 0 nmol/L(第4天); b. 0.1 nmol/L(第4天); c. 1.0 nmol/L(第6天); d. 10.0 nmol/L(第6天); e. 100.0 nmol/L(第6天)。

Note: a. 0 nmol/L(4th d); b. 0.1 nmol/L(4th d); c. 1.0 nmol/L(6th d); d. 10.0 nmol/L(6th d); e. 100.0 nmol/L(6th d)。

图1 不同浓度17-E₂中培养的初级毛囊形态(50×)

Fig.1 The morphologies of the primary hair follicles in different concentrations of 17-E₂ (50×)

3 讨论

毛囊是雌激素的靶器官,正常人头皮毛囊的外皮根鞘和毛乳头都存在雌激素受体(ER)。目前关于雌激素对毛发影响的研究主要集中在对毛发周期的调节上。对一些小型哺乳动物的研究发现,雌激素使毛囊停留在休止期,而雌激素受体(ER)拮抗剂能促进休止期-生长期的转换。研究表明,应用雌二醇培养人毛乳头细胞可促进血管内皮生长因子(VEGF)的分泌,而VEGF是调控毛囊周期生长的主要因子之一^[6]。而Kondo等发现雌激素与雄激素对试管内培养的人头皮毛囊有相同的生长抑制作用^[7],与该试验结果基本一致,即17-E₂对绒山羊初级毛囊的生长无促进作用,随着17-E₂浓度的增加毛囊生长受到抑制。其作用机制应排除体内免疫因素和血供营养因素的影响,可能是因为高浓度的雌激素使毛囊表皮生长因子受体(EGFR)水平升高^[8],而EGFR介导表皮生长因子(EGF)可抑制毛发生长;也可能是雌激素对毛囊具有直接抑制作用,具体作用机制有待于进一步研究。

参考文献

- [1] SIENK S, PAUS R. Contrds of hair follicle cycling[J]. *Physiol Rev*, 2001, 81(1): 449-494.
- [2] 杨壮群, 屠军波, 姚天华, 等. NGF与雌激素对离体培养的人头皮毛囊影响的实验研究[J]. *中华整形外科杂志*, 2004, 20(1): 48-50.
- [3] CHNEMS U, UENALAN M, CONRAD F, et al. Hair cycle control by estrogens: catagen induction via estrogen receptor(ER)-alpha is checked by ER beta signaling[J]. *Endocrinology*, 2005, 146(3): 1214-1225.
- [4] PHILPOTT MP, GREEN MR, KEALEY T. Human hair growth in vitro[J]. *J Cell Sci*, 1990, 97: 33-471.
- [5] LI H, LI J Q, GAO G F, et al. Effects of different culture condition in vitro on growth of cashmere goat primary hair follicles[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2008, 9(5): 43-46.
- [6] HOFFMANN R, NIYAMA S, HUTH A, et al. 17alpha-estradiol induces aromatase activity in intact human anagen hair follicles ex vivo[J]. *Exp Dermatol*, 2002, 11(4): 376-380.
- [7] KONDO S, HOZUMI Y, ASO K. Organ cultured of human scalp hair follicles effect of testosterone and oestrogen on hair growth[J]. *Arch Dermatol Res*, 1990, 282: 442.
- [8] MUKKU V R, STANCEL G M. Regulation of epidermal growth factor receptor by estrogen[J]. *J Biochem*, 1985, 260: 9820-9824.
- [9] 李金英, 李万财. 高原兔部分脏器的组织结构观察[J]. *中国兽医科技*, 2003, 33(11): 73-75.
- [10] 俞红贤. 藏羊肺组织形态测量指标及其与高原低氧的关系[J]. *中国兽医科技*, 1999, 29(7): 15-16.
- [11] 贾荣莉. 不同海拔绵羊肺部血管的比较观察[J]. *中国兽医科技*, 1997, 27(2): 43-44.
- [12] HARRIS P, HEATH D, SMITH P, et al. Pulmonary circulation of the llama high and low altitudes[J]. *Thorax*, 1982, 37: 38-45.
- [13] 常兰, 李金英, 李万财. 高原兔部分脏器的组织结构观察[J]. *中国兽医*

(上接第145页)