

阉割对猪甲状腺转录因子-1、2(TTF-1, 2) 基因表达的影响

王 颖, 张立凡, 蔡兆伟, 陈 哲, 蒋晓玲, 周红梅, 华绪川, 徐宁迎*

(浙江大学动物科学学院, 杭州 310029)

摘 要: 为了研究阉割对甲状腺转录因子-1、2(TTF-1, 2)基因的影响,本研究采用荧光定量 PCR 技术分析阉割与非阉割金华猪甲状腺组织中 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因在 60、90 和 120 日龄时的表达水平。结果表明:非阉割猪 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因在不同生长阶段的表达量呈稳步上升趋势,阉割猪 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因的表达基本稳定。*TTF-1* 与 *TTF-2* mRNA 的表达量均是在 60、90 日龄时阉割组高于非阉割组;在 120 日龄时,阉割组 *TTF-1* 与 *TTF-2* mRNA 的表达量均低于非阉割组,但差异不显著($P>0.05$)。结果,建立的 SYBR-Green 荧光定量 PCR 方法可以有效地用于 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因的表达分析;另外,阉割使得猪甲状腺 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因在 60、90 日龄的表达量升高,且 *TTF-1* 基因的表达与猪部分肉质性状存在显著的相关性。

关键词: 猪;阉割;荧光定量 PCR;甲状腺转录因子-1(TTF-1);甲状腺转录因子-2(TTF-2)

中图分类号:S828;Q344.13

文献标识码:A

文章编号:0366-6964(2011)01-0001-07

Influence of Castration on Porcine Thyroid Transcription Factor -1,2 (TTF-1, 2) Gene Expression

WANG Ying, ZHANG Li-fan, CAI Zhao-wei, CHEN Zhe, JIANG Xiao-ling, ZHOU Hong-mei, HUA Xu-chuan, XU Ning-ying*

(College of Animal Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: In order to investigate the effect of castration on expression of *TTF-1* and *TTF-2* genes, real-time fluorescence quantitative PCR was applied to investigate the developmental expression patterns of *TTF-1* and *TTF-2* genes from the thyroid tissue of castrated and uncastrated Jinhua pigs on the age of 60, 90 and 120 days. The results showed that the expression of *TTF-1* and *TTF-2* genes increased slightly in uncastrated pigs, while they were relatively stable in castrated pigs. The expression level of *TTF-1* and *TTF-2* mRNA in castrated Jinhua pigs on 60 and 90 days were higher than that of uncastrated pigs, while the expression level of *TTF-1* and *TTF-2* on 120 days were lower than that of uncastrated pigs, but no significant difference ($P>0.05$). The results indicated that the real-time PCR method was faithful for detecting the expression analysis of *TTF-1* and *TTF-2* genes, and the expression of *TTF-1* and *TTF-2* mRNA increased after castration. Furthermore, there was a significant correlation between *TTF-1* gene expression and meat quality traits.

Key words: pig; castration; real-time PCR; thyroid transcription factor 1 (TTF-1); thyroid transcription factor 2 (TTF-2)

甲状腺激素(thyroid hormone, TH)在个体发育、维持内环境稳定、细胞增殖和分化等方面均有广

收稿日期:2010-01-19

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(2006CB102100);国家自然科学基金项目(30972078)

作者简介:王 颖(1982-),女,山西太原人,博士生,主要从事动物遗传育种研究,E-mail:wangying111507@yahoo.com.cn

* 通讯作者:徐宁迎,教授,博士生导师,E-mail:nyxu@zju.edu.cn

泛的作用。甲状腺过氧化物酶(thyroid peroxidase, TPO)通过在甲状腺球蛋白(thyroglobulin, TG)的酪氨酸残基上碘化及碘化酪氨酸的耦联,从而合成四碘甲腺原氨酸(L-tetraiodothyronine, T₄)和三碘甲腺原氨酸(L-triiodothyronine, T₃)^[1-2]。TPO和TG的表达受甲状腺特异性的转录因子所调控,比如:甲状腺转录因子-1(thyroid transcription factor-1, TTF-1)和甲状腺转录因子-2(thyroid transcription factor-2, TTF-2)^[3-4]。TTF-1因含NKX2基因家族核转录蛋白同源域,又被命名为NKX2-1(NK2 homeobox 1)。人类的TTF-1基因位于14q13,共有3个外显子和2个内含子,编码42 ku蛋白质。TTF-1能识别TG基因启动子中的DNA特异序列,又能与TPO增强子结合,具有调节TG、TPO基因和甲状腺滤泡细胞的促甲状腺激素受体(TSHR)基因等功能^[5]。TTF-2属于叉头/螺旋翼结构的转录因子家族,因此又被称为Foxe1(forkhead box E1)。人类TTF-2基因定位于9q22,只含一个外显子,其编码蛋白由N端区域、高度保守的forkhead区域、 α 螺旋多聚丙氨酸通道和独特的C端残基组成。TTF-2为识别TG和TPO特定启动子DNA序列的甲状腺特异性核蛋白^[6]。

公猪阉割后,基础代谢降低,脂肪沉积量增加,使得肉质细嫩肥美。阉割使公畜丧失了产生精子和分泌雄性激素(睾酮)的机能,通过下丘脑—垂体—性腺轴,必然要引起一系列复杂的生理性变化。而阉割是否会对TTF-1和TTF-2基因的表达产生影响,从而调控下游的TG和TPO基因,继而作用于甲状腺激素的合成;另外这种影响与猪的生长发育又存在怎样的联系,关于这方面的研究还鲜有报道。本研究以地方品种金华猪为研究对象,采用荧光实时定量PCR技术,分析60、90和120日龄时猪甲状腺组织中TTF-1和TTF-2基因的表达情况及阉割对TTF-1和TTF-2基因表达的影响,同时结合肌

内脂肪、肌内蛋白和肌内水分的变化,以期从分子水平揭示阉割后TTF-1和TTF-2基因表达的变化与猪生长及肉质的相关性。

1 材料与方法

1.1 实验材料及性状测定

于同一时间以配对形式选取18头来自全同胞家系的金华公猪,28日龄断奶,40日龄时对其中9头进行阉割,采用相同营养水平和饲喂方式,于60、90和120日龄分别屠宰(阉割和非阉割各3头),屠宰时采集甲状腺组织,立即投入液氮冷冻,随后保存于-80℃冰箱。其中背最长肌肌内脂肪、肌内蛋白、肌内水分的测定采用Antaris傅立叶变换近红外光谱仪(美国Thermo Electron公司)。

1.2 总RNA提取和cDNA合成

利用Trizol(Invitrogen)法对甲状腺样品的总RNA进行提取,并用分光光度计测定260和280 nm下的吸光度,计算RNA的浓度和纯度。经琼脂糖凝胶电泳检测RNA的完整性。

按照TaKaRa PrimeScript™反转录试剂盒操作说明进行反转录得到一链cDNA。反应体系为:5×PrimeScript™ Buffer 2 μ L, PrimeScript™ RT Enzyme Mix 0.5 μ L, Oligo dT Primer(50 μ mol·L⁻¹)0.5 μ L, Random 6 mers(100 μ mol·L⁻¹)0.5 μ L, 加DEPC水至10 μ L。37℃反应15 min, 85℃5 s灭活, -20℃保存待用。

1.3 PCR引物的设计及合成

根据GenBank中已公布的小鼠和人的TTF-1(NM009385, NM001079668), TTF-2(XM001473447, NM004473)的基因序列,使用Clustal X软件分析判断保守区域,参照基因的保守区域设计特异性引物;并选择猪肌动蛋白 β (beta-actin, ACTB)(AY550069)作为内参基因,设计特异性引物,交由上海英骏生物技术有限公司合成。

表1 定量RT-PCR目的基因引物的相关信息

Table 1 Information on the primers of the target genes used for real-time RT-PCR

引物名称 Primer	引物序列(5'→3') Primer sequence	退火温度/℃ Annealing temperature	产物大小/bp Products size
TTF-1 real-time PF	TGGGTGATTCAGATGGGTTT	60	214
TTF-1 real-time PR	GTCAGTGGCAAGTGGGTTCT		
TTF-2 real-time PF	TCCGAGGCGAAAATTCATAG	60	241
TTF-2 real-time PR	CTCCCGGTAATGTCAGAGA		
ACTB real-time PF	ACTGGGACGACATGGAGAAGA	60	112
ACTB real-time PR	TTGGCTTTGGGGTTTCAGG		

1.4 标准曲线的制作及 *TTF-1* 和 *TTF-2* 的荧光定量 PCR 检测

随机取一个体的 cDNA 样本以 10 倍浓度梯度进行稀释后,分别取 $1 \mu\text{L}$ 1×10^{-1} 、 1×10^{-2} 、 1×10^{-3} 、 1×10^{-4} 浓度的稀释产物作为标准品模板,使用 ABI StepOnePlus™ PCR 仪按照以下条件进行荧光定量 PCR。反应体系为:SYBR Premix Ex Taq™ 10 μL , PCR Forward Primer ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 0.4 μL , PCR Reverse Primer ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 0.4 μL , ROX Reference Dye 0.4 μL , cDNA 1 μL 加 dH₂O 至 20 μL 。反应条件为:95 °C 预变性 30 s;95 °C 5 s,60 °C 34 s,40 个循环。取各样本 cDNA 与相应的引物按照以上条件混合后进行 PCR 扩增,每个样本重复 3 次,以均值来表示结果。

1.5 统计学分析

采用 $2^{\Delta\Delta\text{Ct}}$ 来计算定量数据,用 SPSS(16.0)GLM 程序进行统计分析,均数间的多重比较采用 Duncan 法;相关分析采用性状间的简单相关分析(以 Spearman 相关系数来衡量变量间的相关程度)。

2 结 果

2.1 RNA 的纯度与完整性

所提取的 RNA 样本经琼脂糖凝胶电泳鉴定,可见 28S 和 18S 条带清晰,无明显降解(图略);各样本经紫外分光光度计检测 $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 均在 1.8 ~ 2.0 之间。

2.2 标准曲线和溶解曲线分析

将 cDNA 以 10 倍梯度稀释作为模板,以优化后反应条件进行荧光定量 PCR 扩增,所得的标准曲线线性关系良好,3 个基因标准曲线的 R^2 值均超过 0.997 9(图 1A、1C 和 1E)。溶解曲线显示为单峰,表明引物特异性良好(图 1B、1D 和 1F)。

2.3 *TTF-1* 和 *TTF-2* mRNA 的表达变化

将所有样本 cDNA 进行荧光定量 PCR 扩增,均得到呈“S”形的动力学曲线, C_T 值都落在准确的定量范围以内(图 2)。经 SPSS 16.0 分析,结果如图 3。金华猪非阉割组甲状腺中 *TTF-1* 与 *TTF-2* mRNA 的表达量的变化趋势一致,均是在 60 日龄时表达量较低,在 90 日龄时缓慢升高,在 120 日龄时达到最高。阉割组 *TTF-1* 表达量在 60 ~ 120 日龄均缓慢升高,在不同日龄间总体差异不显著($P >$

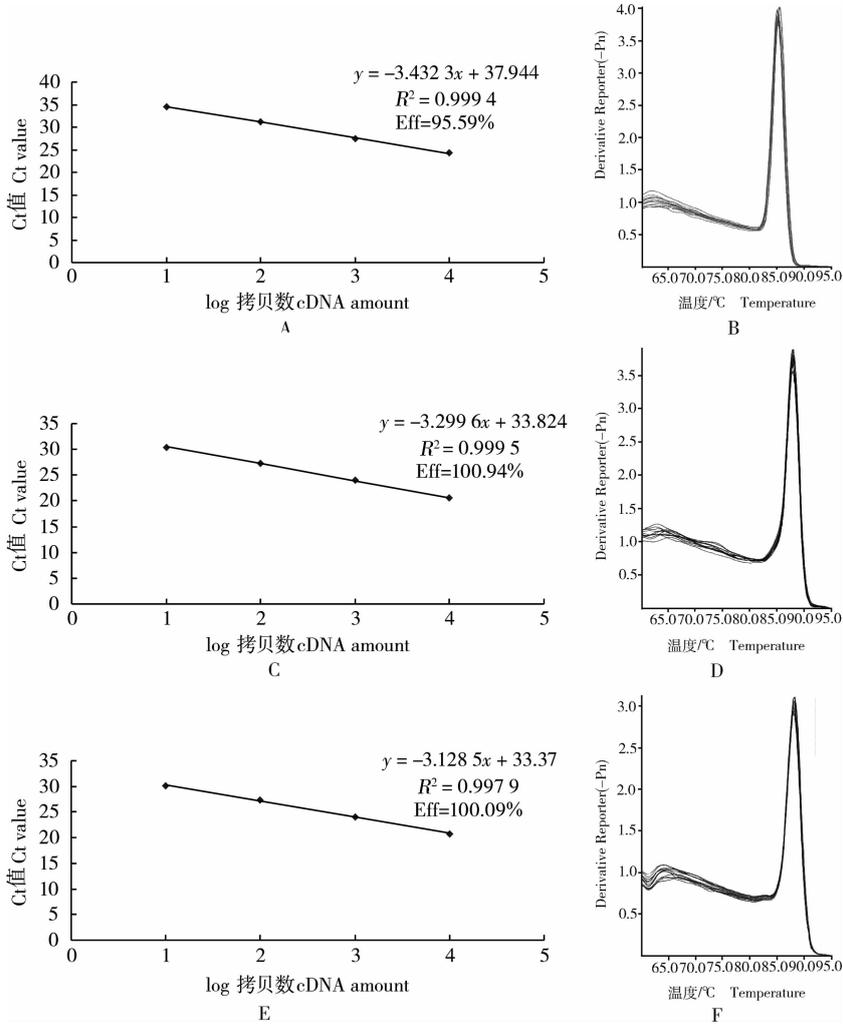
0.05)。阉割组 *TTF-2* 表达量呈现先下降后上升的趋势,在 60 日龄时表达量最高,90 日龄时最低,到 120 日龄时,表达量又逐渐升高,但不同日龄间总体差异不显著($P > 0.05$)。阉割组和非阉割组比较,*TTF-1* 与 *TTF-2* mRNA 的表达量均是在 60、90 日龄时阉割组高于非阉割组;且在 60 日龄时,阉割组 *TTF-2* 的表达量显著高于非阉割组($P < 0.05$);在 120 日龄时,阉割组 *TTF-1* 与 *TTF-2* mRNA 的表达量均低于非阉割组,但差异不显著($P > 0.05$)。

2.4 阉割和非阉割金华猪日增体质量、肌肉脂肪、肌肉蛋白、肌肉水分的发育变化

阉割组和非阉割组金华猪在不同生长阶段的日增体质量、肌肉脂肪、肌肉蛋白、肌肉水分的变化见表 2。由表可见,阉割猪和非阉割猪在 3 个阶段的日增体质量发育性变化是相同的,都是在 60 ~ 90 日龄这一阶段的日增体质量最高,90 ~ 120 日龄阶段的日增体质量最低。阉割组在 60 ~ 90 日龄和 90 ~ 120 日龄这 2 个阶段的日增体质量高于非阉割组,但在同一阶段不同组中的差异不显著($P > 0.05$)。非阉割组在 60、90 和 120 日龄的肌肉脂肪含量呈现先下降后上升的趋势;而在阉割组中,随着日龄增加肌肉脂肪含量呈现先上升后下降的趋势。同一日龄组间比较显示阉割组的肌肉脂肪含量始终高于非阉割组,且在 90 日龄时,阉割组与非阉割组差异显著($P < 0.05$)。阉割组和非阉割组肌肉蛋白含量随着日龄的增加呈现缓慢上升的趋势。非阉割组中不同日龄间的差异不显著($P > 0.05$);而在阉割组中,90 和 120 日龄的肌肉蛋白含量显著高于 60 日龄($P < 0.05$)。同一日龄组间比较显示,阉割组 60 日龄的肌肉蛋白含量低于非阉割组,90 和 120 日龄时的肌肉蛋白含量高于非阉割组,但差异不显著($P > 0.05$)。阉割组和非阉割组的肌肉水分含量随着日龄的增加呈现缓慢下降的趋势,且非阉割组在 60、90 和 120 日龄均高于阉割组,但差异不显著($P > 0.05$)。

2.5 阉割与非阉割金华猪 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因与生长肉质性状的相关性分析

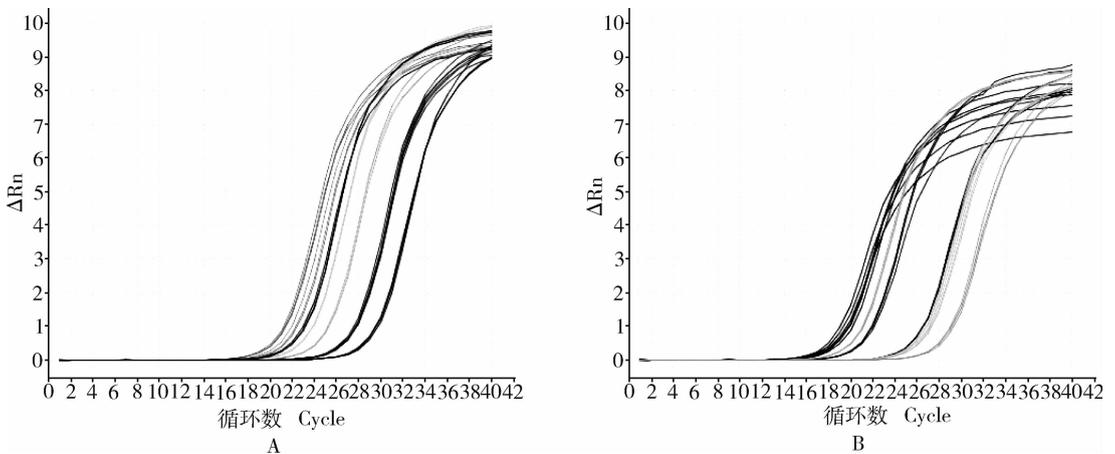
阉割和非阉割组金华猪 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因与日增体质量、肌肉脂肪、肌肉蛋白和肌肉水分的相关性分析结果见表 3。表明 *TTF-1* 基因的表达与肌肉蛋白、肌肉水分存在显著相关。



A、C 和 E 分别为 *TTF-1*、*TTF-2* 和 *ACTB* 的标准曲线；B、D 和 F 分别为 *TTF-1*、*TTF-2* 和 *ACTB* 的熔解曲线
A, C and E. Standard curves of *TTF-1*, *TTF-2* and *ACTB*, respectively; B, D and F. Melt curves of *TTF-1*, *TTF-2* and *ACTB*, respectively

图 1 荧光定量 PCR 标准曲线及熔解曲线

Fig. 1 Standard curves and melt curves of fluorescent quantitative PCR

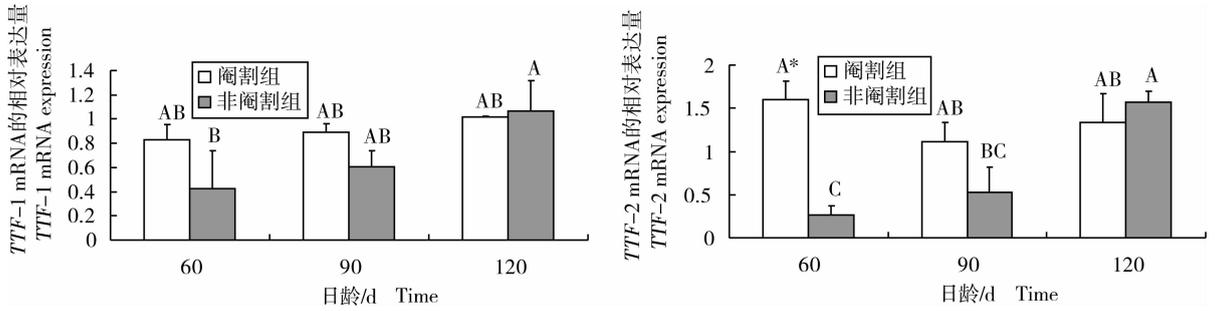


A. *TTF-1* 的扩增曲线；B. *TTF-2* 的扩增曲线

A. Amplification plot of *TTF-1*；B. Amplification plot of *TTF-2*

图 2 荧光定量 PCR 扩增曲线

Fig. 2 Amplification plots of fluorescent quantitative PCR



同组日龄间相同大写字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著;同日龄不同组间 * 表示差异显著

Among the ages in the same group, values with the same letter were not significant ($P > 0.05$), values with the different letters were significant ($P < 0.05$). In same age between groups, * mean significant difference at the level of 0.05

图3 金华猪阉割和非阉割组 *TTF-1* 和 *TTF-2* mRNA 表达的发育变化

Fig. 3 Developmental patterns of *TTF-1* and *TTF-2* mRNA in castrated and uncastrated Jinhua pigs

表2 阉割和非阉割金华猪日增体质量、肌内脂肪、肌内蛋白、肌内水分的发育变化模式

Table 2 Development patterns of average daily gain (ADG), intramuscular fat (IMF), intramuscular protein (IMP), intramuscular water (IMW) in castrated and uncastrated Jinhua pigs

组别	日龄/d	日增体质量/(g·d ⁻¹)	肌内脂肪/%	肌内蛋白/%	肌内水分/%
Group	Day	ADG	IMF	IMP	IMW
非阉割组 Uncastrated group	60	0.304±0.01 ^{ab}	1.29±0.09 ^b	20.11±1.46 ^{ab}	7.80±1.42
	90	0.388±0.24 ^{ab}	1.12±0.23 ^b	21.25±1.04 ^{ab}	7.72±1.24
	120	0.098±0.06 ^b	1.62±0.63 ^{ab}	22.10±0.08 ^a	7.60±0.62
阉割组 Castrated group	60	0.249±0.16 ^{ab}	1.70±0.02 ^{ab}	19.63±0.84 ^b	7.68±2.07
	90	0.463±0.01 ^a	2.31±0.14 ^a	22.09±0.07 ^a	7.57±0.42
	120	0.192±0.06 ^{ab}	1.84±0.28 ^{ab}	22.42±1.34 ^a	7.57±1.9

以上数值为均值±标准误;表中的日增体质量分别表示 40~60、60~90、90~120 日龄的日增体质量;相同字母表示差异不显著($P > 0.05$),不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

The above represents the mean ± standard error. The daily gain in the table represents the average daily gain of 40-60, 60-90, 90-120 days, respectively. Values with the same letter are not significant ($P > 0.05$), values with the different letters are significant ($P < 0.05$)

表3 金华猪阉割和非阉割 *TTF-1, 2* 基因 mRNA 的表达水平和生长肉质性状的相关性分析 (n=18)

Table 3 Correlation between the growth and meat traits and the mRNA expression level of *TTF-1, 2* in castrated and uncastrated Jinhua pigs (n=18)

基因	指标	Pearson 相关系数	显著水平
Gene	Index	Pearson correlation	Sig. (2-tailed)
<i>TTF-1</i>	肌内脂肪 IMF	0.22	0.512
	肌内蛋白 IMP	0.731	0.01**
	肌内水分 IMW	-0.62	0.04*
	日增体质量 ADG	-0.025	0.936
<i>TTF-2</i>	肌内脂肪 IMF	0.384	0.218
	肌内蛋白 IMP	0.342	0.277
	肌内水分 IMW	-0.316	0.317
	日增体质量 ADG	-0.485	0.079

*、** 分别表示相关性在 0.05 和 0.01 水平上显著和极显著(双尾)

*, ** mean correlation is significantly different at the level of 0.05 and 0.01, respectively

3 讨论

TTF-1 主要分布于甲状腺、间脑和呼吸道上皮,是甲状腺胚胎期分化、发育、增殖的主要因子,在胎盘形成过程中起提高转录活性的作用^[7],也是出生后甲状腺功能维持的主要因子^[8]。研究表明,鼠胚甲状腺的发育起于妊娠第 8.5 天,此时 *TTF-1*、*TTF-2* 及 *Pax 8* 在原始咽底部的甲状腺前体细胞中表达,调控甲状腺细胞的增殖、介导甲状腺形态发生及甲状腺的迁移,至妊娠第 13 天甲状腺迁移至气管前方(正常位置),到妊娠第 14 天迁移完全结束后,甲状腺细胞开始分化,表达 *TG*、*TPO*、*TSHR* 及 *NIS*^[9]。在正常甲状腺组织中,*TTF-1* 主要在甲状腺滤泡的 C 细胞和甲状旁腺的主细胞中表达。*TTF-1* 对于维护和保持 *TG*、*TPO* 和 *TSHR* 的活性起着重要作用^[10]。研究还发现 90% 以上的原发性小细胞肺癌 *TTF-1* 表达阳性,因此,目前有关 *TTF-1* 在肺及其肿瘤中的表达报道较多^[11]。*TTF-2* 调控甲状腺的迁移,参与抑制 *TTF-1* 及 *Pax 8* 的活性,以便能在迁移结束后才开始甲状腺的分化、特异的基因表达^[12]。*TTF-1* 和 *Pax 8* 的协同作用具有甲状腺器官特异性,其功能的正常发挥是甲状腺分化、增生、功能维持的重要基础^[13]。现阶段,*TTF-1* 和 *TTF-2* 基因在猪上的研究还相当少。

本研究发现,非阉割组的猪 *TTF-1* 和 *TTF-2* 的表达在不同的生长阶段都是呈缓慢增长的趋势,且非阉割组 *TTF-1* 的表达量在 60 和 120 日龄时差异显著($P < 0.05$)。有研究显示:血液中的睾酮水平是睾丸分泌和肝脏代谢分解动态平衡的结果,随着睾丸的发育,从睾丸分泌到血液的睾酮增多,肝脏中睾酮的分解代谢速率减小,血清睾酮水平升高。对二花脸公猪的研究也发现,血清中睾酮的水平在 90 日龄前均维持在较低水平,在 90~180 日龄保持显著的持续升高($P < 0.01$)^[14]。本研究中华猪初情期在 75 日龄左右,60~120 日龄是金华猪性器官逐步发育成熟的阶段,而非阉割组 *TTF-1* 和 *TTF-2* 在 60~90 日龄之间的表达量是呈逐渐增长的趋势,这一趋势与血清中睾酮的水平变化是完全一致的。阉割组 *TTF-1* 基因的表达呈现基本平稳的趋势,在不同阶段的差异不显著($P > 0.05$)。*TTF-2* 基因的瞬时表达量呈现先下降后上升的趋势,且在 60 日龄时与非阉割组差异显著($P < 0.05$)。目前,关于公畜阉割对甲状腺组织影响,国内外仍鲜有

报道。但我们推断:阉割之后,失去了雄性激素的刺激,必然会对甲状腺滤泡细胞内雄激素受体(*androgen receptor, AR*)的表达造成影响,*AR* 的表达变化影响到甲状腺细胞中 *TTF-1*、*TTF-2* 的表达。有研究显示:*AR* 广泛分布在生殖系统的各种组织中,如睾丸、卵巢、前列腺、输精管、男女外生殖器;另外发现非生殖系统的组织中也有 *AR* 广泛表达,其中就包括甲状腺组织^[15]。*AR* 在不同组织中表达水平不同;即使同一组织,处于不同发育阶段或在病理状态下,*AR* 表达水平也不一致。雄激素作为 *AR* 的配体,是调节 *AR* 表达水平的主要因素之一。有研究显示雄激素对 *AR* 的调节有双重性,可以从多个层次、多个水平对其受体进行调节^[16]。可见,雄激素的变化对甲状腺组织内 *AR* 受体调控机制相当复杂,还有待于我们去深入研究。此项研究我们还发现了 *TTF-1* 表达与肌内蛋白存在显著的正相关($P < 0.05$),与肌内水分存在显著的负相关($P < 0.05$),肌内蛋白和水分的含量对肉质嫩度有一定的影响,可见 *TTF-1* 和 *TTF-2* 的表达可能与肉质性状存在一定的相关性。总之,阉割会使得下丘脑-垂体-性腺轴发生一系列的变化,作用于下丘脑-垂体-甲状腺轴,调控 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因的转录和翻译,继而影响甲状腺激素的分泌,从而对动物的生长发育造成影响。

本研究选用实时荧光定量 PCR 技术来进行核酸的定量分析,通过条件优化和设置标准品,得到了较理想的标准曲线和检测效果。2 个目的基因 *TTF-1* 和 *TTF-2* 的扩增效率分别为 95.59%、100.94%,与参照基因 *ACTB* 的扩增效率 100.09% 接近,证明可使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 算法对结果进行分析。标准曲线的一致性系数 R^2 在 0.99 以上,故试验的过程和数据具有很高的可信度。本研究构建的 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因荧光定量 PCR 方法具有很好的灵敏性和可靠性,试验结果能准确反映表达拷贝数与荧光信号强度的关系。

4 结论

综上所述,本研究为检测 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因表达建立了一套标准的 SYBR-Green 荧光定量 PCR 检测方法,比较了阉割组与非阉割组公猪不同发育时期 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因表达的变化,证实阉割使得 60、90 日龄猪 *TTF-1* 和 *TTF-2* 基因的表达量升高,且 *TTF-1* 基因的表达与猪生长和肉质性

状存在显著的相关性。

参考文献:

- [1] MAGNUSSON R P, GESTAUTAS J, SETO P, et al. Isolation and characterization of a cDNA clone for porcine thyroid peroxidase[J]. *Febs Lett*, 1986, 208: 391-396.
- [2] RAMOS A M, HELM J M, ZHANG Y D, et al. Linkage and physical mapping of the porcine thyroglobulin (TG) gene [J]. *Anim Genet*, 2002, 33: 228-229.
- [3] DAMANTE G, LAURO R D. Thyroid-specific gene expression[J]. *Biochem Biophys Acta*, 1994, 1218: 255-266.
- [4] ZANNINI M, AVANTAGGIATO V, BIFFALI E, et al. *TTF-2*, a new forkhead protein, shows a temporal expression in the developing thyroid which is consistent with a role in controlling the onset of differentiation[J]. *EMBO J*, 1997, 16(11):3185-3197.
- [5] GUAZZI S, PRICE M, DE FELICE M, et al. Thyroid nuclear factor 1 (*TTF-1*) contains a homeodomain and displays a novel DNA binding specificity [J]. *EMBO J*, 1990, 9: 3631-3639.
- [6] CLIFTON-BLIGH R J, WENTWORTH J M, HEINZ P, et al. Mutation of the gene encoding human *TTF-2* associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia[J]. *Nat Genet*, 1998, 19: 399-401.
- [7] AGOFF S N, LAMPS L W, PHILIP A T, et al. Thyroid transcription factor-1 is expressed in extrapulmonary small cell carcinomas but not in other extrapulmonary neuroendocrine tumors [J]. *Mod Pathol*, 2000, 13: 238-242.
- [8] BOGGARAM V. Thyroid transcription factor-1 (*TTF-1/Nkx2.1/TITF1*) gene regulation in the lung [J]. *Clinical Sci*, 2009, 116: 27-35.
- [9] POSTIGLIONE M P, PARLATO R, RODRIGUEZ M, et al. Role of the thyroid-stimulating hormone receptor signaling in development and differentiation of the thyroid gland [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(24): 15462-15467.
- [10] ROS P, ROSSI D L. Thyroid-specific gene expression in the multi-step process of thyroid carcinogenesis [J]. *Biocimie*, 1999, 81: 389-396.
- [11] BAI X Y, SHEN H. Mutational analysis of thyroid transcription factor-1 gene (*TTF-1*) in lung carcinomas [J]. *In Vitro Cell Dev Biol-Animal*, 2008, 44: 17-25.
- [12] PERRONE L, DI MAGLIANO M P, ZANNINI M, et al. The thyroid transcription factor 2 (*TTF-2*) is a promoter-specific DNA-binding independent transcriptional repressor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 275: 203-208.
- [13] ALTMANN A, SCHULZ R B, GLENSCH G, et al. Effects of Pax8 and *TTF-1* thyroid transcription factor gene transfer in hepatoma cells: Imaging of functional protein-protein interaction and iodide uptake [J]. *JNM*, 2005, 46: 831-839.
- [14] 李发弟. 生长轴激素在猪睾丸表达的发育性变化及其对睾酮分泌的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2003.
- [15] 汤玮, 何金, 冯晓云, 等. Graves病患者甲状腺组织雄激素受体表达的研究[J]. 第二军医大学学报, 2007, 28(7): 768-771.
- [16] 张子彦, 李殿青. 雄激素受体的研究进展[J]. 国外医学·分子生物学分册, 2002, 24(2): 87-89.

(编辑 郭云雁)