

文章编号:1000-5404(2014)07-0631-05

论著

Frizzled4 在小鼠毛囊周期中的表达

陈 年,伍津津,邱伟明,唐 辉,唐书谦 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所皮肤科)

[摘要] 目的 探讨 Wnt 蛋白的受体分子 Frizzled4 在小鼠毛囊周期中的表达、功能及其意义。方法 利用实时定量 PCR、RT-PCR、Western blot 和免疫荧光等技术分别检测 Frizzled4 mRNA 和蛋白在毛囊生长期(P1d、P3d、P8d)、退化期(P16d)和静止期(P21d)中的表达。免疫荧光技术检测 Frizzled4 在小鼠皮肤上皮细胞 JB6 cl30-7b 中的定位,MTT 检测用抗 Frizzled4 抗体处理 JB6 cl30-7b 细胞后的增殖情况。结果 在毛囊生长期早期,Frizzled4 mRNA 和蛋白在 P1d 的小鼠背部皮肤中表达明显,膜表达于 Bulge、毛囊外根鞘及毛球外侧。在 P3d,Frizzled4 蛋白表达明显上调,主要表达于 Bulge、毛囊外根鞘、内根鞘、precortex、部分毛球外侧。在生长中期(P8d),Frizzled4 蛋白的表达最强,集中在毛囊 Bulge、外根鞘上段及内根鞘。当毛囊进入退化期(P16d),Frizzled4 mRNA 和蛋白的表达显著降低($P < 0.05$),此时主要定位于 Bulge。而在静止期,Frizzled4 mRNA 和蛋白表达最低($P < 0.05$),只有少量 Frizzled4 阳性细胞出现在毛囊 Bulge。免疫荧光技术检测 Frizzled4 蛋白同样也在 JB6 cl30-7b 细胞膜中表达。MTT 结果显示与对照组相比,10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的抗 Frizzled4 抗体处理 JB6 cl30-7b 细胞后光密度值明显降低($P < 0.05$),而 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的抗 Frizzled4 抗体处理后的光密度值降到最低($P < 0.05$)。结论 Frizzled4 在毛囊周期中的表达具有时空特异性。伴随着毛囊的生长,Frizzled4 的 mRNA 和蛋白水平都呈现高表达,随着毛囊的退化而表达降低,直至静止期维持低表达水平。拮抗 Frizzled4 蛋白的作用促使细胞增殖受到明显抑制,提示 Frizzled4 的表达与毛囊细胞的增殖和分化相关。

[关键词] Frizzled4;毛囊;小鼠;Wnt;抗体

[中图分类号] R322.991; R329.28; R394.2

[文献标志码] A

Expression profile of Frizzled4 during hair follicle cycle

Chen Nian, Wu Jinjin, Qiu Weiming, Tang Hui, Tang Shuqian (Department of Dermatology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression and function of Frizzled4, a receptor of Wnt proteins, during mouse hair follicle cycle. **Methods** Q-PCR, Western blotting and immunostaining were used to detect the mRNA and protein expression of Frizzled4 in mouse hair follicle cycle at 5 time points: the first day after birth (P1d), P3d, P8d, P16d, and P21d. Immunostaining was used to detect the protein expression of Frizzled4 in mouse skin epithelium cell line JB6 cl30-7b. MTT assay was used to detect proliferation of JB6 cl30-7b cells after treatment of anti-Frizzled4 antibody. **Results** At P1d, mRNA and protein of Frizzled4 were both detected in mouse skin and Frizzled4 was expressed in the Bulge, out root sheath (ORS) and lateral hair bulb. At P3d, protein expression of Frizzled4 was up-regulated in the Bulge, ORS, inner root sheath (IRS), precortex and part of lateral hair bulb. And at middle anagen (P8d), protein of Frizzled4 was expressed at the highest level in the Bulge, ORS, IRS and pre-cortex. And then at catagen (P16d), expression of Frizzled4 was decreased significantly ($P < 0.05$) and mainly located in the Bulge while little in ORS and IRS. When hair follicles were at telogen, expression of Frizzled4 reduced to the lowest level ($P < 0.05$) and was restricted in the Bulge. Frizzled4 was expressed on cell membranes of JB6 cl30-7b cells. After treatment of 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ anti-Frizzled4 antibody, OD values decreased significantly compared with that of controls ($P < 0.05$). After treatment of 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ anti-Frizzled4 antibody, OD values dropped to the lowest level ($P < 0.05$). **Conclusion** Expression of Frizzled4 is specific and spatiotemporal during hair follicle cycle. It is significantly high at anagen, reduces at catagen and maintains at a lowest level at telogen. Antagonism of

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863计划,2012AA020504-4);国家自然科学基金(30070701)

[通信作者] 伍津津,电话:(023)68757591, E-mail:wjij@163.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140219.1113.010.html>(2014-02-19)

Frizzled4 inhibits significantly proliferation of keratinocytes. These results indicate that the expression of Frizzled4 is associated with the growth and differentiation of hair follicles.

[Key words] Frizzled4; hair follicle; mice; Wnt; antibody

Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program, 2012AA020504-4) and the National Natural Science Foundation of China (30070701). Corresponding author: Wu Jinjin, Tel: 86-23-68757591, E-mail: wjjj@163.com

毛囊是皮肤重要的附属器官,生产毛发,发挥着保暖、感觉、吸引异性等重要作用。毛囊周期性的生长、退化和静止引起毛发的生长和退化。而毛囊异常与脱发、多毛症甚至肿瘤的发生相关^[1-3]。因而对毛囊生长调控的研究具有很重要的科学意义。Wnt 信号是调控毛囊周期最重要的信号之一^[4]。目前对于 Wnt 信号中的受体 Frizzled 家族成员在毛囊中的表达及作用尚不十分清楚。作为 Frizzled 家族中的一员,Frizzled4 与配体 Wnt 蛋白共同作用介导 Wnt 信号通路下游信号^[5-6],在机体中发挥着重要作用。已报道 Frizzled4 调控卵泡、黄体的形成,并和外周眼的发育相关^[5,7-8],但是目前仍未有报道 Frizzled4 在整个毛囊周期中的表达。本研究将利用实时定量 PCR、RT-PCR、Western blot 和免疫荧光技术从 mRNA 和蛋白水平检测 Frizzled4 的表达,并以细胞皮肤上皮细胞 JB6 cl30-7b 为细胞模型,利用 MTT 技术检测抗 Frizzled4 抗体处理 JB6 cl30-7b 细胞后的增殖情况,以期为进一步研究毛囊的周期性调控提供一定的基础。

1 材料与方法

1.1 材料

参照赖向东等^[9]的研究中对小鼠毛囊周期的形态特征描述,从第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心选取生长期早期:出生后 1d(P1d)和 P3d,生长期中期 P8d,退化期 P16d 和静止期 P21d 的 C57BL/6 雌性小鼠各 3 只。小鼠皮肤上皮细胞 JB6 cl30-7b 购买于 ATCC。

1.2 主要试剂及实验仪器

Trizol (Invitrogen, 美国), 反转录第一链 cDNA 合成试剂盒 (Roche, 瑞士), Light Cycler[®] 480 DNA SYBR Green I Master (Roche, 瑞士), PCR Mixer (天根, 中国), 山羊抗 Frizzled4 抗体 (Santa cruz, 美国), 山羊 IgG (碧云天, 中国), RIPA、PMSF (碧云天, 中国), GAPDH (康成, 中国), HRP 标记的山羊抗小鼠 (中衫, 中国), HRP 标记的驴抗山羊 (中衫, 中国), Cy3 标记的驴抗山羊 (碧云天, 中国), DAPI (碧云天, 中国)。垂直电泳仪、湿转仪 (Bio-Rad, 美国), 石蜡切片机 (Leica, 德国), 实时荧光定量 PCR 仪 (Stratagene, 美国), 凝胶成像仪 (Bio-Rad, 美国), 荧光显微镜 (Olympus, 日本)。

1.3 方法

1.3.1 C57BL/6 小鼠背部皮肤样本的获得 分别将 P1d、P3d、P8d、P16d、P21d 的 C57BL/6 小鼠断颈处死,用眼科剪剪去背部毛发后取得小鼠背部皮片,准备用于后续实验。

1.3.2 实时定量 PCR 和 RT-PCR 检测小鼠背部皮肤中 Friz-

zled4 mRNA 的表达 RNA 的提取:在加有液氮的研钵中将获得的小鼠皮片分别磨碎,随后加入 Trizol 提取 RNA。分别取 1.0 μg mRNA 作为模板进行逆转录反应获得 cDNA,具体条件参照罗氏公司的逆转录反应步骤。实时定量 PCR 反应体系包括:总体积 25 μL, Mixer 12.5 μL, 上游引物 (浓度为 10 μmol/L) 0.75 μL, 下游引物 (浓度为 10 μmol/L) 0.75 μL, cDNA 200 ng, 加 ddH₂O 补足 25 μL。反应条件为 95 °C 预变性 10 min, 95 °C 30 s, 58 °C 1 min, 72 °C 30 s, 反应 40 个循环。每次每个样本重复 3 个复管,将采集到的信号做统计学分析。RT-PCR 反应体系包括:总体积 20 μL, PCR Mixer 10 μL, 上游引物 (浓度为 10 μmol/L) 1 μL, 下游引物 (浓度为 10 μmol/L) 1 μL, cDNA 1 μg, 加 ddH₂O 补足 20 μL。反应条件为 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 30 s, 58 °C 1 min, 72 °C 30 s, 反应 30 个循环, 72 °C 延伸 10 min 后 4 °C 保存。将所得的 DNA 产物跑 1% 琼脂糖凝胶电泳,在凝胶成像仪下采集图像。

Frizzled4 的引物序列:上游 5'-TGACAACCTTCACGCCGCTC-3', 下游 5'-TACAAGCCAGCATCGTAGCCACAC-3'。内参 GAPDH 的引物序列:上游 5'-ACCACAGTCCATGCCATCAC-3', 下游 5'-TCCACCACCCTGTGCTGTA-3'。

1.3.3 Western blot 检测小鼠背部皮肤中 Frizzled4 蛋白的表达

蛋白提取:在加有液氮的研钵中将小鼠皮片分别研碎,依照每 20 mg 组织加 200 μL 裂解液的比例加入含 1 mmol/L PMSF 的 RIPA 裂解液,将组织粉末裂解完全后 12 000 × g 离心 10 min,收集上清液。利用考马斯亮蓝法测定蛋白浓度,蛋白在 100 °C 变性 5 min。配好 SDS-PAGE 后将各蛋白样品上样 25 μg,电泳后电转到 PVDF 膜上,用 TBST 漂洗 PVDF 膜,在 6% 脱脂奶粉溶液中室温封闭 1~2 h,置 4 °C 冰箱过夜。用 PBS 洗 15 min × 1 次, 5 min × 4 次。用 3% BSA 按照 1:300 稀释抗 Frizzled4 抗体, 1:10 000 稀释抗 GAPDH 抗体,室温孵育 1 h。PBS 漂洗 15 min × 1 次, 5 min × 4 次。用 3% BSA 30 mL 依照 1:2 500 稀释 HRP 标记的抗山羊和抗鼠二抗,将膜在室温条件下孵育 1 h。PBS 漂洗 15 min × 1 次, 5 min × 4 次。配置好发光显色液后显色 1 min,用胶片曝光并采集图片。

1.3.4 免疫荧光检测 Frizzled4 蛋白在毛囊和 JB6 cl30-7b 细胞中的定位 将小鼠皮片用 4% 多聚甲醛于 4 °C 固定过夜,然后用梯度酒精脱水、二甲苯透明,再浸蜡 4 h 后包埋,在石蜡切片机上将石蜡块制作成 5 μm 的切片。将制作好的石蜡切片放入二甲苯中脱蜡、梯度酒精中水合,随后微波修复 7 min,自然冷却后用 PBS 漂洗 5 min × 2 次, 5% BSA 室温封闭 1.5 h 后滴加一抗, 4 °C 孵育过夜,然后用 PBS 漂洗 5 min × 5 次,滴加 Cy3 标记的驴抗山羊荧光二抗后再用 DAPI 染色 7 min,然后用 PBS 漂洗 5 min × 5 次后用抗荧光淬灭剂封片,最后在荧光显微镜下采集图片。

取对数生长期细胞,调整密度为 2 × 10⁴/mL,制备细胞爬片。常规培养 24 h 后,用 4% 多聚甲醛室温固定 10 min, PBS 洗

涤3次,加0.1%的Triton孵育5 min, PBS漂洗5 min × 3次, 3% BSA封闭30 min,加Frizzled4抗体(1:100),4℃过夜。次日, PBS洗3次,加入驴抗山羊红色荧光二抗,室温孵育1 h, PBS漂洗5 min × 3次, DAPI染核30 min, PBS漂洗5 min × 3次,封片,荧光显微镜下观察。

1.3.5 MTT法检测抗Frizzled4抗体处理JB6 c130-7b细胞后的增殖情况 将小鼠皮肤上皮细胞JB6 c130-7b用含10%的胎牛血清高糖DMEM培养基培养。选对数生长期的细胞以 1×10^5 /mL的细胞密度铺板。待细胞贴壁后24 h,分别加入终浓度为20 μg/mL同型IgG抗体和5、10、20 μg/mL抗Frizzled4抗体,另设调零组(只加培养液)。将96孔板置于37℃、5% CO₂培养箱在培养24 h后,每孔加入5 mg/mL MTT试剂20 μL继续培养4 h,用移液器小心吸除上清液,每孔加入二甲亚砜150 μL,放于摇床上震荡15 min后,用酶标仪(波长490 nm)测每孔光密度值。

1.4 统计学分析

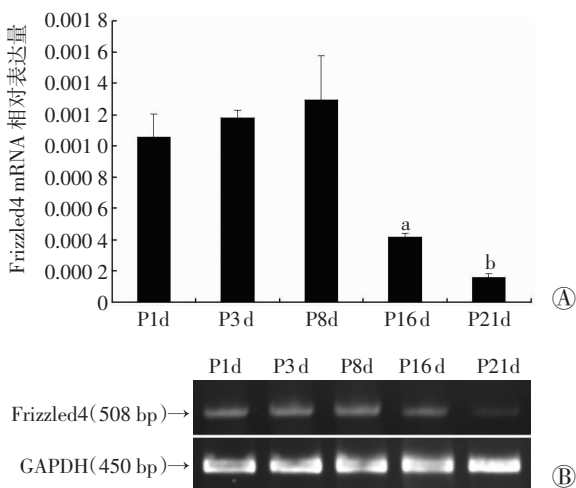
采用SPSS 16.0统计软件对数据进行单因素方差分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 Frizzled4 mRNA在小鼠毛囊周期背部皮肤中的表达

实时定量PCR检测结果显示(图1A):Frizzled4 mRNA高表达于毛囊生长期早期和中期的小鼠背皮中,早期和中期的表达水平之间并无显著性差异。而在退化期Frizzled4 mRNA的表达明显下调($P < 0.05$)。等到静止期,其表达水平与退化期的表达水平相比,明显降低($P < 0.05$)。

RT-PCR检测结果显示(图1B):与实时定量PCR检测的结果保持相同的趋势,Frizzled4 mRNA高表达于生长期,在退化期表达降低,在静止期表达最低。



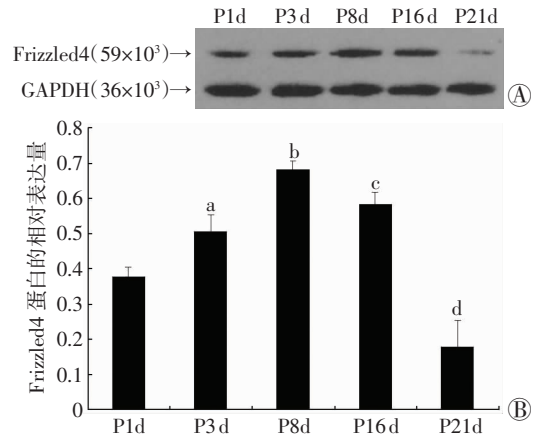
A: 实时定量PCR检测结果;a: $P < 0.05$,与P8d比较;b: $P < 0.05$,与P16d比较;B: RT-PCR检测结果

图1 实时定量PCR和RT-PCR检测Frizzled4 mRNA在小鼠毛囊周期背部皮肤中的表达

2.2 Frizzled4蛋白在小鼠毛囊周期背部皮肤中的表达

Western blot结果显示(图2):Frizzled4蛋白在小鼠出生后

第1天的背部皮肤中表达就较明显,在第3天Frizzled4蛋白表达明显上调($P < 0.05$),与P3d相比,P8d小鼠背部皮肤中Frizzled4蛋白的表达继续上调($P < 0.05$)。随后在退化期,Frizzled4蛋白表达下调显著($P < 0.05$),等到毛囊进入静止期,小鼠背部皮肤中Frizzled4蛋白表达微弱,明显低于P1d、P3d、P8d、P16d($P < 0.05$)。



A: Western blot检测结果;B: 相对光密度值;a: $P < 0.05$,与P1d比较;b: $P < 0.05$,与P3d比较;c: $P < 0.05$,与P8d比较;d: $P < 0.05$,与P16d比较

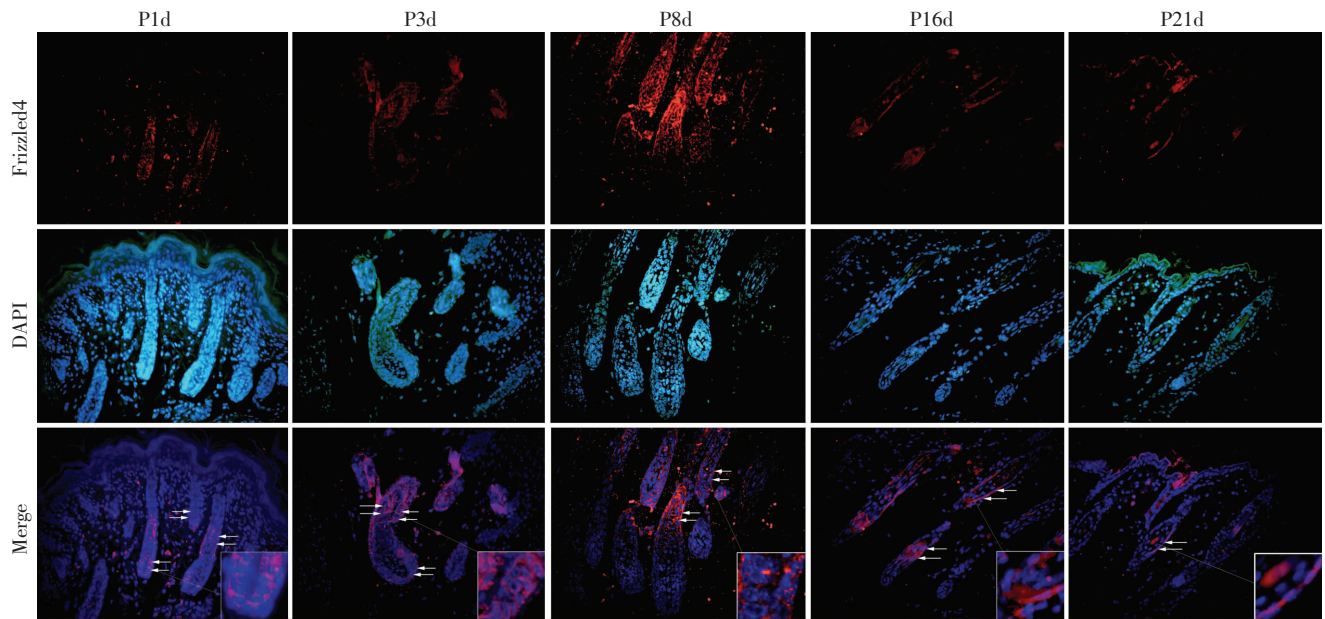
图2 Western blot检测Frizzled4蛋白在小鼠毛囊周期背部皮肤中的表达

2.3 Frizzled4蛋白在小鼠毛囊周期毛囊中的定位

免疫荧光结果显示(图3):Frizzled4蛋白膜表达在毛囊生长期(P1d,P3d,P8d)以及毛囊退化期(P16d)的毛囊中,在静止期没有检测到明显的Frizzled4蛋白表达。毛囊生长期早期(P1d),Frizzled4蛋白定位在Bulge、毛囊外根鞘及毛球外侧。随着毛囊的继续生长,在P3d,Frizzled4蛋白在Bulge、毛囊外根鞘、内根鞘、precortex、毛球外侧的部分细胞中表达。在P8d,Frizzled4蛋白在毛囊中的表达部位又发生了一定变化,主要集中在外根鞘上段及内根鞘。随着毛囊进入退化期(P16d),Frizzled4蛋白主要定位于Bugle,在毛囊外根鞘上段、内根鞘内可见少量Frizzled4的表达。而在静止期,少量Frizzled4阳性细胞出现在毛囊Bulge。

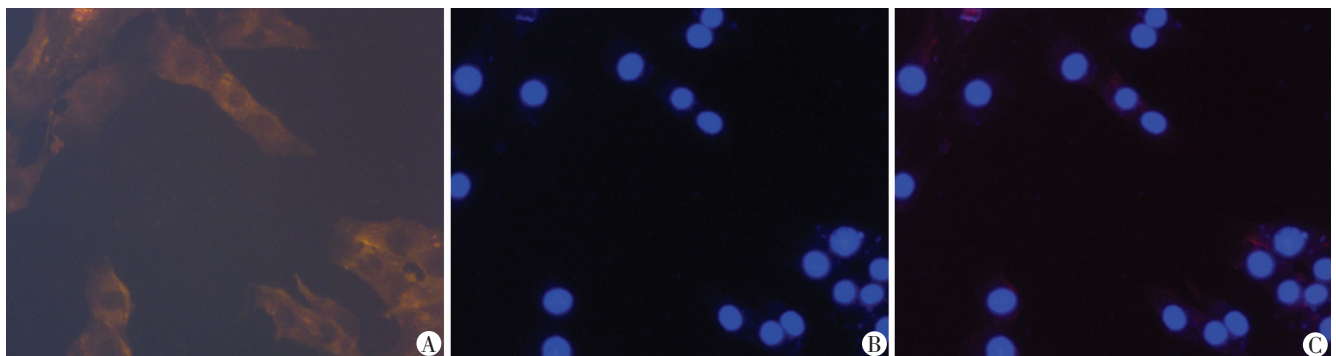
2.4 Frizzled4蛋白调控小鼠皮肤上皮细胞JB6 c130-7b的增殖

为了进一步探讨Frizzled4蛋白在小鼠毛囊中的功能,以小鼠皮肤上皮细胞JB6 c130-7b作为研究对象,我们首先利用免疫荧光技术检测了Frizzled4蛋白在JB6 c130-7b中的表达情况,结果显示Frizzled4蛋白表达于细胞膜上。接着在JB6 c130-7b细胞中分别加入5、10 μg/mL和20 μg/mL的Frizzled4抗体,以相同浓度的同型IgG作为实验对照,24 h后利用MTT检测光密度值,结果发现与对照组相比,5 μg/mL抗Frizzled4抗体处理的细胞光密度值没有显著变化,而10 μg/mL抗Frizzled4抗体处理后光密度值明显降低($P < 0.05$)。随着抗Frizzled4抗体的浓度增加到20 μg/mL,细胞的光密度值降到最低($P < 0.05$)。结果表明抗Frizzled4抗体促使JB6 c130-7b细胞增殖能力降低,且随着抗Frizzled4抗体浓度的增加,JB6 c130-7b细胞增殖的抑制更加明显。见图4、5。



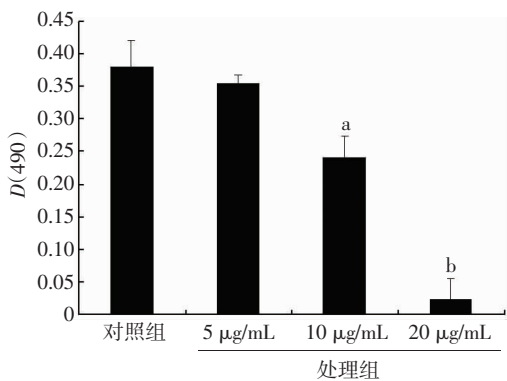
箭头示阳性结果

图3 免疫荧光检测 Frizzled4 蛋白在小鼠毛囊周期毛囊中的定位 (×200)



A: Frizzled4; B: DAPI; C: Frizzled4 与 DAPI 合并

图4 荧光检测 Frizzled4 蛋白在 JB6 CL30-7B 细胞中的表达 (×400)



a: $P < 0.05$, 与对照组和 5 $\mu\text{g/mL}$ 处理组比较; b: $P < 0.05$, 与对照组, 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ 处理组比较

图5 MTT 检测不同浓度的抗 Frizzled4 抗体干扰后 JB6 CL30-7B 细胞的增殖

3 讨论

Frizzled4 作为 Frizzled 家族蛋白中的一员, 是一类 G 蛋白偶联受体, 目前已知有 10 个 Frizzled 蛋白, 作为 Wnt 信号通路中的受体, 影响细胞极性、胚胎发育、细胞增殖和分化等功能。Wnt 信号通路是毛囊生长主调控信号之一, 同样其受体 Frizzled 蛋白在毛囊中也发挥着重要作用。已有研究发现 Frizzled1、2、3、5、6、7、10 在毛囊生长期中表达^[10-12], 但对其在毛囊周期中的变化未做进一步研究。而且 Frizzled7 介导的 Wnt 信号还参与活化毛囊干细胞^[4]。但目前对于 Frizzled4 在毛囊周期中的表达及功能尚未见报道。先前的研究发现果蝇中 Wnt8 结合 Frizzled4 激活下游信号, 参与调控内耳和视网膜的血管发育^[13]; Wnt2b 与 Frizzled4

共同激活在虹膜的背侧,决定背侧玻璃体的形成^[5]。由此提示毛囊中 Wnt 信号通路也可能通过 Frizzled4 发挥重要作用。由此我们利用实时定量 PCR、Western blot 和免疫荧光技术,发现 Frizzled4 确实在毛囊中表达,其表达呈现出时空特异性。

在毛囊生长早期,位于次级毛芽的毛囊干细胞受到来自 DP 的包括 Wnt 在内的信号的刺激首先被激活^[14],在不断增殖的同时开始分化并向下迁移形成毛芽,此时 Frizzled4 mRNA 和蛋白表达开始上调,并且定位于毛囊外根鞘和毛球部外侧,说明 Frizzled4 可能与毛囊干细胞活化相关。随着毛囊的继续生长,出现毛母质,在此毛囊细胞开始分化形成内根鞘和毛干^[15], Frizzled4 mRNA 和蛋白表达继续上调,表达范围开始扩大,定位于毛囊干细胞巢-Bulge、外根鞘、内根鞘、precortex,但毛球部外侧只有部分细胞表达 Frizzled4,提示 Frizzled4 不仅与毛囊干细胞活化相关还参与了毛囊的分化。等到毛囊形态发育完整,毛囊进入生长期,Frizzled4 mRNA 和蛋白表达最强,表达于 Bulge、外根鞘上段、内根鞘以及 precortex,未见于毛球部。综合 Frizzled4 在毛囊生长期的毛球部的表达情况,提示 Frizzled4 随着毛囊发育完成而表达降低,且局限于毛囊干细胞的部位——毛囊 Bulge 及外根鞘上段,进一步表明 Frizzled4 可能参与毛囊干细胞活性的控制,以及毛囊的分化。之后 Bulge 下段的大部分毛囊角质形成细胞发生凋亡^[9],此时 Frizzled4 mRNA 和蛋白表达明显降低,主要表达于 Bulge、外根鞘上段、部分内根鞘。最后凋亡剩下的少许细胞回到 Bulge^[9],毛囊进入静止期,此时 Frizzled4 mRNA 和蛋白的表达最低,主要在毛囊 Bulge 处。这些结果提示 Frizzled4 的表达伴随着毛囊的生长而增强,退化而降低,可能参与调控毛囊干细胞的活化以及毛囊的分化。以 JB6 cl30-7b 细胞为体外研究模型,检测到 Frizzled4 表达在细胞膜上,这与在体实验的结果相一致。随后利用抗 Frizzled4 抗体拮抗 Frizzled4 蛋白发挥作用后,JB6 cl30-7b 细胞的增殖明显被抑制,且这种抑制表现出浓度依赖的方式。体外实验的结果进一步表明 Frizzled4 调控毛囊细胞的增殖。

综上所述,Frizzled4 在毛囊周期中的表达具有时空特异性,其分布和表达强度与毛囊周期密切相关,尤其是在生长期表达最强,Frizzled4 在细胞水平被拮抗后增殖得到明显抑制,因此 Frizzled4 在调控毛囊生长过程中参与调控毛囊增殖。而对于 Frizzled4 调控毛

囊增殖及分化的具体机制,仍需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Hawryluk E B, English J C 3rd. Female adolescent hair disorders[J]. J Pediatr Adolesc Gynecol, 2009, 22(4): 271-281.
- [2] Unluhizarci K, Karaca Z, Kelestimur F. Hirsutism—from diagnosis to use of antiandrogens [J]. Front Horm Res, 2013, 40: 103-114.
- [3] Grachtchouk M, Pero J, Yang S H, et al. Basal cell carcinomas in mice arise from hair follicle stem cells and multiple epithelial progenitor populations [J]. J Clin Invest, 2011, 121(5): 1768-1781.
- [4] Myung P S, Takeo M, Ito M, et al. Epithelial Wnt ligand secretion is required for adult hair follicle growth and regeneration [J]. J Invest Dermatol, 2013, 133(1): 31-41.
- [5] Ohta K, Ito A, Kuriyama S, et al. Tsukushi functions as a Wnt signaling inhibitor by competing with Wnt2b for binding to transmembrane protein Frizzled4 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(36): 14962-14967.
- [6] Kerr G E, Young J C, Horvay K, et al. Regulated wnt/beta-catenin signaling sustains adult spermatogenesis in mice [J]. Biol Reprod, 2014, 90(1): 3.
- [7] Hsieh M, Boerboom D, Shimada M, et al. Mice null for Frizzled4 (Fzd4 -/-) are infertile and exhibit impaired corpora lutea formation and function [J]. Biol Reprod, 2005, 73(6): 1135-1146.
- [8] Descamps B, Sewduth R, Ferreira-Tojais N, et al. Frizzled 4 regulates arterial network organization through noncanonical Wnt/planar cell polarity signaling [J]. Circ Res, 2012, 110(1): 47-58.
- [9] 赖向东,白秀峰,余裕,等. 毛囊周期性中肿瘤坏死因子受体1的表达 [J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(14): 1437-1441.
- [10] Reddy S T, Andl T, Lu M M, et al. Expression of Frizzled genes in developing and postnatal hair follicles [J]. J Invest Dermatol, 2004, 123(2): 275-282.
- [11] Hung B S, Wang X Q, Cam G R, et al. Characterization of mouse Frizzled-3 expression in hair follicle development and identification of the human homolog in keratinocytes [J]. J Invest Dermatol, 2001, 116(6): 940-946.
- [12] Kandyba E, Leung Y, Chen Y B, et al. Competitive balance of intra-bulge BMP/Wnt signaling reveals a robust gene network ruling stem cell homeostasis and cyclic activation [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(4): 1351-1356.
- [13] Smallwood P M, Williams J, Xu Q, et al. Mutational analysis of Norrin-Frizzled4 recognition [J]. J Biol Chem, 2007, 282(6): 4057-4068.
- [14] Enshell-Seiffers D, Lindon C, Kashiwagi M, et al. beta-catenin activity in the dermal papilla regulates morphogenesis and regeneration of hair [J]. Dev Cell, 2010, 18(4): 633-642.
- [15] 石家仲,杨恬,雷明星,等. gasdermin3 在小鼠同步化毛囊周期中的表达 [J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(5): 459-462.

(收稿:2013-11-09;修回:2014-01-19)

(编辑 邓强庭)