

# 牦牛胎儿皮肤毛囊的形态发生及 E 钙黏蛋白的表达和定位

余平昌<sup>1,2</sup>, 梁春年<sup>1,2</sup>, 裴杰<sup>1,2</sup>, 褚敏<sup>1,2</sup>, 郭宪<sup>1,2</sup>, 阎萍<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 兰州 730050; 2. 甘肃省牦牛繁育工程重点实验室, 兰州 730050)

**摘要:** 拟研究牦牛毛囊的形态发生过程及胎儿毛囊发生的起始部位, 分析 E-cadherin(CDH1)对毛囊发育的作用。采取牦牛胚胎头部皮肤制备组织切片, 观察毛囊的形态发生过程; 利用免疫组织化学技术, 定位 E-cadherin 蛋白在毛囊中的表达; 使用 qRT-PCR 方法, 比较不同胎龄胎儿头部皮肤中 *E-cadherin* mRNA 转录水平。结果表明, 毛囊黑色素颗粒在牦牛胎儿皮肤中不同部位先后聚集, 牦牛胎儿头部皮肤在胎龄 60~70 d 时初级毛囊开始形成毛芽, 胎龄 130 d 时形成毛球结构。次级毛囊在胎龄 80~90 d 时从初级毛囊中分化出来; 并且毛囊的发育可能最先是从头部开始的, 其中唇部、眉毛、睫毛、角缘发育最明显; E-cadherin 蛋白定位于头部皮肤的表皮、真皮及毛囊中, 在表皮中表达较高, 在毛囊中呈中等阳性表达; *E-cadherin* mRNA 在牦牛不同胎龄皮肤毛囊中相对转录水平整体呈上升趋势, 而在 90 d 时转录量较低, 显著低于 70、120 和 130 d 时 ( $P < 0.05$ )。牦牛头部毛囊在 60~70 d 时开始形成毛芽, 毛囊发育的起始部位可能是从头部开始的。 *E-cadherin* 基因可能参与了牦牛毛囊的发育。

**关键词:** 牦牛; 毛囊; E-cadherin; 形态发生; qRT-PCR; 免疫组织化学

中图分类号: S852.1

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2016)02-0397-07

## Fetal Skin Hair Follicle Morphogenesis and E-Cadherin Expression of the Yak

SHE Ping-chang<sup>1,2</sup>, LIANG Chun-nian<sup>1,2</sup>, PEI Jie<sup>1,2</sup>, CHU Min<sup>1,2</sup>, GUO Xian<sup>1,2</sup>, YAN Ping<sup>1,2\*</sup>

(1. Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences of CAAS, Lanzhou 730050, China;

2. Key Laboratory of Yak Breeding Engineering of Gansu Province, Lanzhou 730050, China)

**Abstract:** The objective of this study was to observe yak hair follicle morphogenesis and fetal hair follicle original sites, study the importance of E-cadherin (CDH1) in the development of hair follicles. Skin tissue sections of the Yak embryo head were observed, and the hair follicle morphogenesis was studied. The melanin granules of fetal skin at different month and the development of hair follicle original sites were detected. The expression of E-cadherin protein was analyzed by using immunohistochemistry. The mRNA transcription levels of *E-cadherin* gene in different month fetal head skin was tested by using qRT-PCR method. Results showed that the fetal head skin begins to form primary hair buds in embryonic age of 60-70 days, and form the hair bulbs structure in the embryonic age of 130 days. Secondary hair follicles differentiate out from primary hair follicles in gestational age of 80-90 days; The parts of the fetal skin melanin gathering situations in different periods were observed, the hair follicles differentiation was started from head, of which lower, eyebrows, eyelashes, and horn site were the most obvious; E-cadherin protein was located on the epidermis, dermis and hair follicles, and showed high expression in epidermis, and moderate positive expression in hair follicles. *E-cadherin* gene mRNA transcription were uptrend in differ-

收稿日期: 2015-05-13

基金项目: 牦牛遗传资源与育种(CAAS-ASTIP-2014-LIHPS-01); 科技部科技支撑计划(2012BAD13B05)

作者简介: 余平昌(1989-), 男, 云南普洱人, 硕士生, 主要从事家畜分子生物学研究, E-mail: sheemail@163.com

\* 通信作者: 阎萍, 研究员, 博士生导师, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, E-mail: pingyanlz@163.com

ent embryonic age of yak skin hair follicle, but was lower at the embryonic age of 90 days, it was obviously below those at 70 days, 120 days and 130 days ( $P < 0.05$ ). Yak head hair follicle is developed in the embryonic age of 60-70 days to form hair buds, and hair follicle development is likely forms from head. *E-cadherin* gene is most likely involved in the development of yak hair follicles.

**Key words:** yak; hair follicle; *E-cadherin*; morphogenesis; qRT-PCR; immunohistochemistry

牦牛 (*Bos grunniens*) 是青藏高原及毗邻山区的特色宝贵特殊畜种, 为牧民提供肉、奶、毛、役力、燃料等生产生活资料, 对改善牧民生活水平具有重要的意义。为了适应高寒的生存环境, 牦牛身上的被毛较为厚密, 按长短分为短毛和长毛, 裙毛为牦牛特有的长毛, 可长达 50 cm, 被广泛运用于假发生产; 按粗细可分为粗毛和绒毛, 能够提供较好的纺用材料和工业材料<sup>[1]</sup>。基于此, 作者对牦牛毛囊的形态发生及毛囊发生的调控因子进行研究, 了解牦牛毛囊发育规律及相关调控因子, 拟为牦牛的分分子育种和利用牦牛毛发资源提供科学依据。人类的毛囊发育最先是从小鼠的研究中将其划分为八个阶段<sup>[6-7]</sup>, 分为基板前期、基板期、毛芽期、毛钉期、毛囊期几个时期。很多因子参与了毛囊的形成和发展,  $\beta$ -catenin、Wnt 信号通路具有重要作用<sup>[8-9]</sup>, 骨形态发生蛋白 (BMPs) 对皮肤附属物及细胞的增殖也具有调控作用<sup>[10]</sup>。E 钙黏蛋白 (*E-cadherin*) 是钙黏蛋白超家族的一员, 存在于胚胎和正常组织中, 通过介导同种细胞黏附而发挥作用。其介导的信号途径主要包括, Wnt 信号转导途径、Rho-GTP 激酶系统及与受体酪氨酸激酶的互作。*E-cadherin* 对哺乳动物胚胎期上皮的维护和功能具有重要作用, 是多细胞上皮发育的关键因素<sup>[11]</sup>。同时它还参与细胞的维护和转移, *E-cadherin* 功能的丢失可能导致癌症的发生<sup>[12]</sup>。在毛囊的相关研究中, *E-cadherin* 是毛囊发育期黑色素形成的关键因素之一, 其与钙黏蛋白家族的 P-cadherin、H-cadherin 共同完成黑色素细胞与角质细胞的粘连<sup>[13]</sup>, 同时 *E-cadherin* 还具有粘连表皮和毛囊并参与毛囊更新的作用<sup>[14]</sup>。目前对人类、小鼠和羊等的毛囊研究较多<sup>[15-18]</sup>, 而对牦牛毛囊形态发生、发生部位和发育调控因子的研究很少。作者通过组织切片观察牦牛毛囊形态发生及 *E-cadherin* 的表达定位, 为探究牦牛毛囊发育规律及发育调控因子提供理论基础, 从而促进

牦牛分子育种、品种资源的开发和保护。

## 1 材料与方法

在国家大通种牛场屠宰场牦牛的屠宰期中采集胎龄各个时期胎儿的额部皮肤样品, 液氮保存, 并对其全身进行拍照, 测量其顶臀长, 根据胎儿顶臀长与胎龄的线性关系推算胎龄<sup>[19]</sup>。后期试验在中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所牦牛繁育工程重点实验室进行。

### 1.1 毛囊发育形态学观察

皮肤样品修整至长宽厚 1.5 cm × 1.5 cm × 3 mm 大小后, 滤纸吸干水分, OCT 包埋剂 (日本樱花) 包埋, -80 °C 30 min。冰冻切片 (莱卡 CM1950) 25 °C, 10  $\mu$ m 切片。AAF 固定液 (乙醇 85%, 冰乙酸 5%, 甲醛 10%) 固定 5 min, 纯净水洗 10 s, 苏木素 (碧云天) 染色 5 min, 水洗 6 min, 分化 5 s, 返蓝, 梯度乙醇脱水 2 min, 伊红 (碧云天) 染色 50 s, 梯度乙醇涮洗 10 s, 显微镜 (莱卡) 观察。

### 1.2 *E-cadherin* 蛋白的表达定位

冰冻组织切片方法同上, 冰冻切片于 4 °C 丙酮中固定 30 min, 3%  $H_2O_2$  甲醇溶液温室处理 30 min, 蒸馏水洗 3 次 × 5 min, 滴加 5% BSA 封闭液, 室温作用 20 min 后甩去多余液体。滴加兔抗 *E-cadherin* 多克隆抗体 (博士德产品), 湿盒内 4 °C 过夜, PBS 冲洗 2 次, 每次 3 min, 滴加羊抗兔 IgG, 37 °C 孵育 20 min 后 PBS 冲洗 5 次 × 3 min, 滴加 SABC, 37 °C 作用 20 min 后 PBS 冲洗 4 次 × 5 min, DAB 显色, 苏木素复染, 观察, 拍照, 记录结果。

### 1.3 *E-cadherin* mRNA 的 qRT-PCR

1.3.1 RNA 的提取及 cDNA 的合成 Trizol 法提取不同胎龄牦牛头部皮肤的总 RNA, 按照 TaKaRa 公司试剂盒 Prime Script RT reagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time) 说明书合成 cDNA。

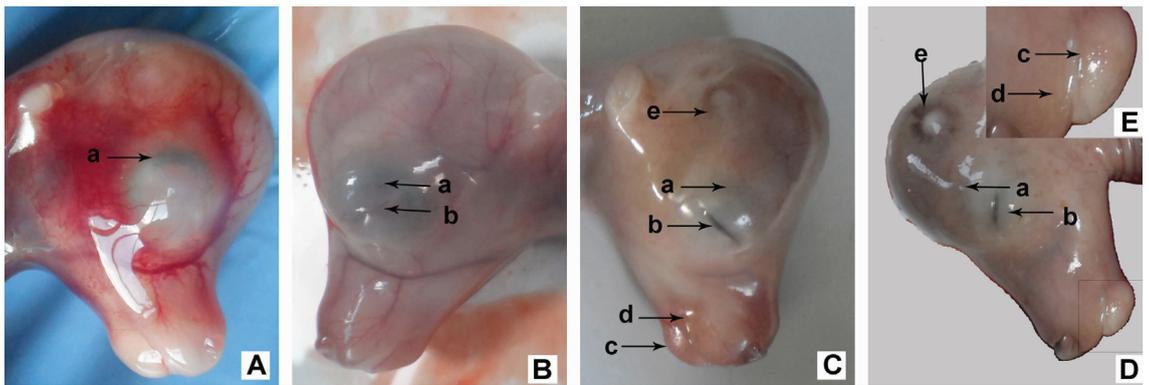
1.3.2 荧光定量 PCR 参照 K. Nganvongpanit 等<sup>[20]</sup> 的研究设计 *E-cadherin* 基因的上下游引物, F: 5'-GTACACCTTCATCGTCCAGAGCTAA-3',

R: 5'-GCTCTTCAATGGCTTGTCCATTTGA-3'。根据 GenBank 中黄牛 *GAPDH* 基因序列(EU195062.1)用 Primer Premier 5.0 软件设计上下游引物 F: 5'-CACCTCAAGATTGTCAGC-3', R: 5'-TCATA-AGTCCCTCCACGAT-3'。引物由上海英骏生物公司合成。产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

定量 PCR (CFX96) 反应使用 25  $\mu$ L 体系: SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II (Tli RNaseH Plus) 12.5  $\mu$ L, 上下游引物各 1  $\mu$ L, cDNA 2  $\mu$ L, dH<sub>2</sub>O 8.5  $\mu$ L。荧光定量 PCR 的反应程序: 95  $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 95  $^{\circ}$ C 变性 5 s, 60  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 40 个循环; 之后进行熔解曲线分析, 程序: 65~95  $^{\circ}$ C 逐渐升温, 每 0.5  $^{\circ}$ C 读板一次。每个时期三个个体重复, 每个样本重复三次。反应结束后以熔解曲线来判定 qRT-PCR 反应的特异性; 获得每个样品的 *C<sub>t</sub>* 值, 运用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算相对转录水平。

#### 1.4 图像数据处理

莱卡显微镜观察, PS 图像标记处理, Excel 统计



A. 胚胎 70 d 胎儿头部; B. 胚胎 90 d 胎儿头部; C. 胚胎 105 d 胎儿头部; D. 胚胎 140 d 胎儿头部; E. 唇部放大观察; a. 眉毛; b. 睫毛; c. 下唇; d. 上唇; e. 角基

A. Head at 70 days of fetal period; B. Head at 90 days of fetal period; C. Head at 105 days of fetal period; D. Head at 140 days of fetal period; E. Lip enlarged view; a. Eyebrow; b. Eyelash; c. Lower lip; d. Upper lip; e. Horn site

图 1 牦牛胚胎毛囊发育起始部位的观察

Fig. 1 Observation of Yak hair follicle original sites

#### 2.2 毛囊的形态发生

毛囊的形成是表皮细胞和真皮细胞之间通过一系列的信号分子来促进细胞群体的增殖分化完成的。通过观察牦牛额头皮肤的组织切片发现, 在胎龄 55 d 之前看到表皮结构较薄, 但已经形成, 没有出现细胞的聚集(图 2-A)。胎龄 60~70 d 时, 表皮增厚, 表皮周围开始出现大量细胞聚集, 开始形成毛芽(图 2-B-c)。胎龄 75~80 d 时上皮成角质细胞大量增殖, 毛芽继续向真皮深入, 并形成较宽阔的圆柱形(图 2-C), 圆柱形末端形成一个圆形真皮毛乳头

及 SAS 进行 One-way ANOVA 分析, 用 Origin 作图。

## 2 结果

### 2.1 毛囊发育起始部位的观察

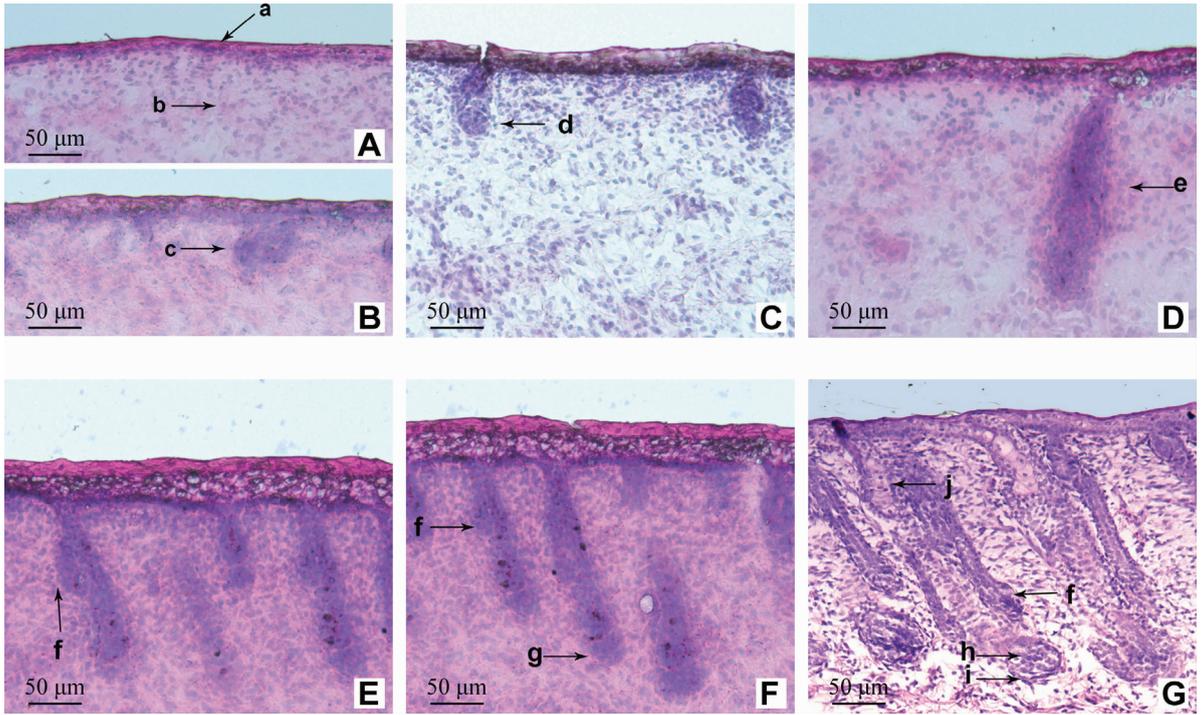
对于有色毛来说, 黑色素的合成只发生在毛囊形成期, 黑色素的多少及分布决定了毛发的颜色及分布。通过对比发现, 在牦牛胎龄 70 d 的时候可见眉毛处有黑色素颗粒细胞(MC)的聚集(图 1-A-a), 在胎龄 90 d 的时候观察到牦牛的眉毛及睫毛出现 MC 聚集的情况(图 1-B-a、图 1-B-b), 胎龄 105 d 时可以明显的看到胎儿嘴部周围及额头有明显变黑的 MC 聚集毛囊发育的迹象(图 1-C)。胎龄 140 d 时已经能够非常明显的看到胎儿的头部已经全面有毛囊的发育(图 1-D), 通过细节(图 1-E)发现其中胎儿的下唇部已经有毛孔的出现(图 1-E-c)。同时发现胎儿角部周围的毛囊聚集特别明显(图 1-C-e 图 1-D-e), 说明牛角的形成可能与周围毛囊的作用有关系。

(图 2-C-d)。胎龄 80~90 d 时毛囊逐渐向真皮深入, 变长变粗, 已经延长成一个实心立体柱状结构(图 2-D), 由围绕中心轴排列的多层成角质细胞组成, 毛囊侧面形成一个膨大部, 为次级毛囊原细胞(图 2-D-e)。发育到胎龄 95~105 d 时表皮增厚, 毛囊顶端与表皮下层形成伞状连接(图 2-E), 在初级毛囊的侧面可以观察到次级毛囊毛芽的出现(图 2-E-f)。胎龄 110~120 d, 毛乳头被毛母质包围形成近似球形(图 2-F-g)。胎龄 130 d 时毛囊继续发育, 毛乳头被毛母质包围(图 2-G-h, i), 形成毛球, 同时

可见皮脂腺的形成(图 2-G-j)。

次级毛囊的观察。次级毛囊(SF)是绒毛初始的基本机构,它的发育相对初级毛囊(PF)晚,SF 的变化过程与 PF 的变化过程基本相同,它的分化是由 PF 靠近皮肤的一端分化出来的。胎龄 85 d 时当

PF 发育到毛钉期时,毛囊靠近皮肤的一端出现膨大部(图 2-D-e),这个膨大部就是 SF 的毛芽,而后和 PF 以同样的发育顺序向真皮深入,当胎龄 130 d 时,SF 已经发育形成真皮乳头(图 2-G-f),随后继续发育形成完整的毛囊结构。



A. 胚胎 55 d 头部皮肤;B. 胚胎 65 d 头部皮肤;C. 胚胎 75 d 头部皮肤;D. 胚胎 85 d 头部皮肤;E. 胚胎 100 d 头部皮肤;F. 胚胎 115 d 头部皮肤;G. 胚胎 130 d 头部皮肤;a. 表皮;b. 真皮;c. 毛芽前体;d. 真皮乳头;e. 次级毛囊原细胞;f. 次级毛囊;g. 毛球;h. 乳头;i. 毛母质;j. 皮脂腺

A. Head skin at 55 days of fetal period; B. Head skin at 65 days of fetal period; C. Head skin at 75 days of fetal period; D. Head skin at 85 days of fetal period; E. Head skin at 100 days of fetal period; F. Head skin at 115 days of fetal period; G. Head skin at 130 days of fetal period; a. Epidermis; b. Dermis; c. Precursor of hair germ; d. Dermal papilla; e. The hair germ of original secondary follicles; f. Secondary hair follicle; g. Hair bulb; h. Dermal papilla; i. Hair matrix; j. Sebaceous gland

图 2 牦牛毛囊形态发生过程(HE)

Fig. 2 Changeable process of hair follicle morphogenesis of the Yak in the fetal period (HE)

### 2.3 E-cadherin 蛋白的表达定位

为了观察 E-cadherin 蛋白的表达位置,选取胎龄 120 d 毛囊发育较明显的皮肤组织做免疫组化试验。根据染色程度,可将 E-cadherin 染色结果分为 4 个等级:阴性:无着色;弱阳性:染色弱,呈淡黄色;中等阳性:中等染色,呈黄褐色;强阳性:染色强,呈棕褐色。结果显示,E-cadherin 在毛囊、表皮及真皮层中都有表达(图 3-B、C)。E-cadherin 在皮下组织无着色为阴性(图 3-B-c),毛囊中 E-cadherin 阳性产物呈黄褐色(图 3-B-b),为中等阳性,而毛囊中的毛球部位比毛球以上的毛囊部位具有更多的阳性产物。而在真皮层部分呈淡黄色(图 3-B-d),为弱阳

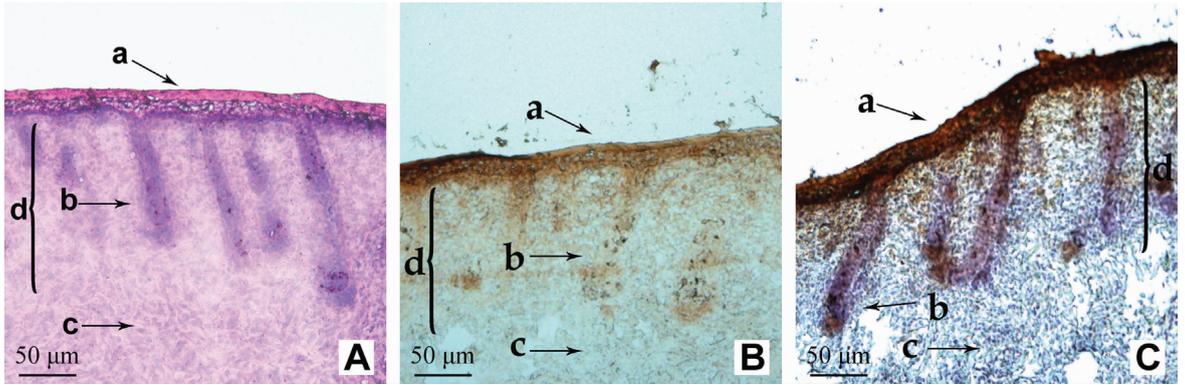
性。在皮肤的表皮层有较多的阳性产物的存在,呈现棕褐色(图 3-C-a),为强阳性。

### 2.4 不同时期 E-cadherin mRNA 转录水平变化

为了观察 E-cadherin mRNA 在毛囊发育各个时期的相对转录水平,选择了胎龄 70、90、120 和 130 d 样本做荧光定量试验。半定量 RT-PCR 扩增,2%琼脂糖凝胶电泳检测发现 E-cadherin mRNA 在头部皮肤中有表达。溶解曲线分析发现,E-cadherin 基因的 PCR 产物均呈较为锐利的单一峰(图 4-B),排除了形成引物二聚体和非特异性产物对结果带来影响的可能,同时说明引物有很好的特异性。通过扩增曲线可知,E-cadherin 基因及

*GADPH* 内参的扩增效果较好,内参最先达到荧光阈值(图 4-A)。检测结果发现,*E-cadherin* mRNA 在牦牛头部皮肤的相对转录量整体呈上升趋势(图

5),而在胎龄 90 d 时转录量最低,显著低于 70、120 和 130 d( $P < 0.05$ ),极显著低于 130 d( $P < 0.01$ );胎龄 70 d 转录量也较低,显著低于 130 d( $P < 0.05$ )。

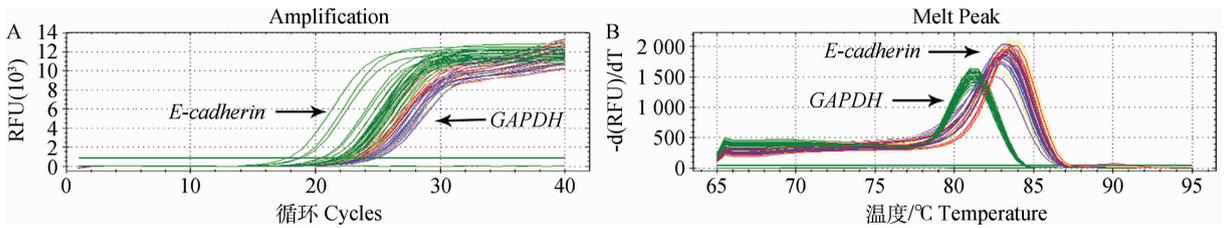


A. HE 染色;B. *E-cadherin* 的免疫组织化学;C. *E-cadherin* 的免疫组织化学苏木精复染;a. 表皮;b. 毛囊;c. 皮下组织;d. 真皮

A. HE staining;B. Immunohistochemical staining of *E-cadherin*;C. Immunohistochemical staining of *E-cadherin* and hematoxylin counterstain;a. Epidermis;b. Hair follicle;c. Subcutaneous tissue;d. Dermis

图 3 *E-cadherin* 在牦牛胚胎 120 d 皮肤中的免疫组化染色

Fig. 3 The immunohistochemical stains of *E-cadherin* in the Yak skin at 120 days of fetal period

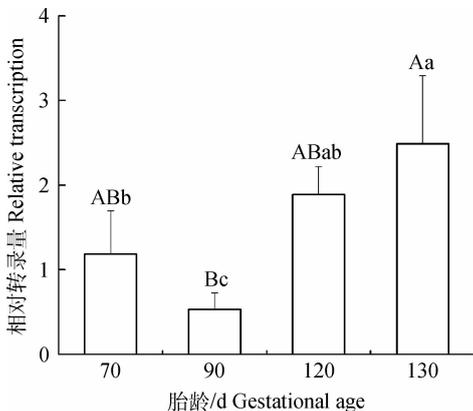


A. 扩增曲线;B. 熔解曲线

A. Amplification plots;B. Melt curve

图 4 *E-cadherin* mRNA qRT-PCR 的扩增曲线和熔解曲线

Fig. 4 qRT-PCR amplification plots and melt curve of *E-cadherin* mRNA transcription



不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P < 0.01$ )

Lowercase letter indicates significant differences ( $P < 0.05$ ),capital letter indicates highly significant differences ( $P < 0.01$ )

图 5 牦牛毛囊不同发育阶段 *E-cadherin* mRNA 的转录水平  
Fig. 5 Analysis of the relative transcription of *E-cadherin* in different developmental stages of hair follicle

### 3 讨论

关于毛囊发育部位顺序的研究发现,牦牛毛囊的发育首先是从头部开始的,其中以下唇部、眉毛、睫毛、角缘发育最明显。对于有色毛发来说,黑色素合成只发生于毛囊生长期,毛球部的黑色素细胞合成黑色素颗粒,转运到毛干皮质细胞。黑色素颗粒的多少、颗粒性状以及分布决定毛发的颜色<sup>[21]</sup>。K. A. Holbrook 等<sup>[2]</sup>在人类的研究中发现,人类的毛囊发育始于头部,最先从眉毛、睫毛及下唇缘开始逐渐扩展到整个胚胎。在这一点上牦牛和人类是类似的。但是为什么毛囊的发育是从头部开始的,又是怎么从头部开始的呢?毛囊的发育沿着头部到臀部这条轴线展开<sup>[3]</sup>,头部的毛囊在基底细胞的诱导下形成并极化形成电磁感应现象,推动毛囊发育波浪式展开。毛囊发育部位的研究对于探索毛囊发育规

律及动物毛发资源的利用都具有很大的意义,本研究中通过观察有色毛囊黑色素颗粒的聚集形式来观察毛囊发育顺序,但是这种观察方法是有局限性的不能准确定位各部位发育的先后。

关于毛囊的形态发生的研究发现,牦牛胚胎额头皮毛囊在胎龄 60~70 d 的时候开始发育,胎龄 130 d 时发育形成毛球结构,次级毛囊在胎龄 80~90 d 时从初级毛囊中分化出来。动物毛囊的发育是由胚胎干细胞在经历一系列刺激的作用下分化完成的<sup>[4,22]</sup>,根据小鼠模型可分为基板期、毛芽期、毛钉期及毛囊期几个时期<sup>[23]</sup>。在草食动物中,M. H. Hardy 等<sup>[24]</sup>在 1955 年对绵羊的毛囊发育做了系统的分析。本研究中,牦牛的额头皮在胎龄 55 d 前观察不到毛囊发育的迹象,此阶段可能是毛囊发育的准备期,细胞接受相关刺激朝着一定的方向进化。胎龄 60~70 d 时,毛芽开始出现,与内蒙古的绒山羊相比要晚<sup>[25]</sup>,这可能与物种的差异性、妊娠期及动物的耐低温都有一定的关系。而后毛芽继续发育在胎龄 130 d 时已经基本形成完整的毛囊结构。次级毛囊的发育在初级毛囊毛钉时期开始,次级毛囊是牦牛等耐寒动物御寒的基础,也是产毛量多少的基础。次级毛囊的形成是在初级毛囊的一侧支生出来的,时期大约在胎龄 85 d 左右。本研究发现头部的毛囊毛芽是从胎龄 60~70 d 的时候开始的,说明牦牛毛囊的发育比较早,而躯干及四肢毛囊的发育可能会比额头要晚 5~20 d,而形成这一差异的调控因子需进行深入研究。

关于 E-cadherin 蛋白表达和定位的研究发现,E-cadherin 表达于牦牛额头皮毛囊中的表皮、真皮及毛囊中,在真皮中表达较弱,而在表皮及毛囊中表达较高。E-cadherin mRNA 在牦牛头部的相对转录水平整体呈上升趋势,而在 90 d 时转录量较低,显著低于 70、120 和 130 d ( $P < 0.05$ ),极显著低于 130 d ( $P < 0.01$ );胎龄 70 d 转录量也较低,显著低于 130 d ( $P < 0.05$ )。钙黏蛋白超家族是一种钙离子依赖性跨膜糖蛋白。通过介导同种细胞间发生黏附而发挥作用。存在于胚胎组织和正常组织的上皮细胞中。钙黏蛋白(E-cadherin)主要通过三条介导信号通路:一是 Wnt 信号转导途径,主要是通过 Beta-catenin 的作用;二是 Rho-GTP 激酶系统通过 Rho 蛋白的竞争来调节 E-cadherin 的黏附活力;三是通过与受体酪氨酸激酶的作用来调节细胞黏附,E-cadherin 对毛囊黑色素形成、毛囊与表皮的黏

附都具有重要作用<sup>[11-14]</sup>。J. Kishimoto 等<sup>[26]</sup>发现 E-cadherin 通过 Wnt 信号通路对哺乳动物胚胎期毛囊的发育具有调控作用。同时 E-cadherin 可以促进细胞间的黏附聚集以及维持细胞极性、上皮细胞结构的完整性,并参与细胞发育调节组织的发育及形成,抑制细胞迁移,维护正常细胞间的选择和极性,而且对细胞发育、生长、肿瘤转移、细胞运动起主要作用,这可能是导致 E-cadherin 在表皮中较高表达的原因。S. Müller-Röver 等<sup>[27]</sup>研究发现在小鼠脱毛后毛发再生的过程中 E-cadherin 基因转录量较低,推测 E-cadherin 基因对毛囊发育具有负调节作用;本研究中在胎龄 90 d 时 E-cadherin 基因转录量显著低于 70、120 和 130 d,可能是 E-cadherin 基因对毛囊发育具有调节作用。K. Nganvongpanit 等<sup>[20]</sup>发现 E-cadherin 在黄牛的毛囊发育中有表达,D. L. Gay 等<sup>[28]</sup>也在人类的毛囊中发现了它的表达,同时它又是一种信号转导因子<sup>[29]</sup>;毛囊的发育是由上皮细胞及位于下层的间充质细胞相互作用刺激分化的,同时 E-cadherin 又在细胞黏附及黑色素生成中具有重要作用。由此推测,E-cadherin 可能参与牦牛毛囊的发育。

## 4 结 论

牦牛胎儿头部皮肤在胎龄 60~70 d 时毛囊开始形成毛芽,胎龄 130 d 时形成毛球结构,次级毛囊在胎龄 80~90 d 时从初级毛囊中分化出来。毛囊的发育可能是从头部开始的。E-cadherin 蛋白表达于牦牛额头皮毛囊中的表皮、真皮及毛囊中,在表皮中表达较高,在毛囊中呈中等阳性表达。E-cadherin mRNA 在牦牛头部皮肤的转录水平整体呈上升趋势,而在 90 d 时转录量较低,显著低于 70、120 和 130 d。推测 E-cadherin 基因可能参与了牦牛毛囊的发育。

## 参考文献(References):

- [1] 张容昶. 中国的牦牛[M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,1989.  
ZHANG R C. China: The yak[M]. Lanzhou: Gansu Science and Technology Publishing House, 1989. (in Chinese)
- [2] HOLBROOK K A, MINAMI S I. Hair follicle embryogenesis in the human. Characterization of events *in vivo* and *in vitro* [J]. *Ann NY Acad Sci*, 1991, 642:

- 167-196.
- [3] DEVENPORT D, FUCHS E. Planar polarization in embryonic epidermis orchestrates global asymmetric morphogenesis of hair follicles[J]. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(11):1257-1268.
- [4] CHRISTIANO A M. Epithelial stem cells: stepping out of their niche[J]. *Cell*, 2004, 118(5):530-532.
- [5] SIEBER-BLUM M, GRIM M, HU Y F, et al. Pluripotent neural crest stem cells in the adult hair follicle[J]. *Dev Dyn*, 2004, 231(2):258-269.
- [6] MCELWEE K, HOFFMANN R. Growth factors in early hair follicle morphogenesis[J]. *Eur J Dermatol*, 2000, 10(5):341-350.
- [7] PAUS R, MÜLLER-RÖVER S, VAD DER VEEN C, et al. A comprehensive guide for the recognition and classification of distinct stages of hair follicle morphogenesis[J]. *J Invest Dermatol*, 1999, 113(4):523-532.
- [8] MOU C, JACKSON B, SCHNEIDER P, et al. Generation of the primary hair follicle pattern[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(24):9075-9080.
- [9] ANDL T, REDDY S, GADDAPARA T, et al. WNT signals are required for the initiation of hair follicle development[J]. *Dev Cell*, 2002, 2(5):643-653.
- [10] BOTCHKAREV V A, KISHIMOTO J. Molecular control of epithelial-mesenchymal interactions during hair follicle cycling[J]. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 2003, 8(1):46-55.
- [11] LARUE L, OHSUGI M, HIRCHENHAIN J, et al. E-cadherin null mutant embryos fail to form a trophectoderm epithelium[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91(17):8263-8267.
- [12] PERL A K, WILGENBUS P, DAHL U, et al. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma[J]. *Nature*, 1998, 392(6672):190-193.
- [13] KUPHAL S, BOSSERHOFF A K. E-cadherin cell-cell communication in melanogenesis and during development of malignant melanoma[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2012, 524(1):43-47.
- [14] YOUNG P, BOUSSADIA O, HALFTER H, et al. E-cadherin controls adherens junctions in the epidermis and the renewal of hair follicles[J]. *EMBO J*, 2003, 22(21):5723-5733.
- [15] SCHMIDT-ULLRICH R, PAUS R. Molecular principles of hair follicle induction and morphogenesis[J]. *Bioessays*, 2005, 27(3):247-261.
- [16] NOWAK J A, POLAK L, PASOLLI H A, et al. Hair follicle stem cells are specified and function in early skin morphogenesis[J]. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(1):33-43.
- [17] ADELSON D L, CAM G R, DESILVA U, et al. Gene expression in sheep skin and wool (hair)[J]. *Genomics*, 2004, 83(1):95-105.
- [18] GAT U, DASGUPTA R, DEGENSTEIN L, et al. De novo hair follicle morphogenesis and hair tumors in mice expressing a truncated  $\beta$ -catenin in skin[J]. *Cell*, 1998, 95(5):605-614.
- [19] LIU B, CUI Y, YANG B, et al. Morphometric analysis of yak placentomes during gestation[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2010, 293(11):1873-1879.
- [20] NGANVONGPANIT K, MÜLLER H, RINGS F, et al. Targeted suppression of E-cadherin gene expression in bovine preimplantation embryo by RNA interference technology using double-stranded RNA[J]. *Mol Reprod Dev*, 2006, 73(2):153-163.
- [21] SLOMINSKI A, TOBIN D J, SHIBAHARA S, et al. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation[J]. *Physiol Rev*, 2004, 84(4):1155-1228.
- [22] MATSUZAKI T, YOSHIKATO K. Role of hair papilla cells on induction and regeneration processes of hair follicles[J]. *Wound Repair Regen*, 1998, 6(6):524-530.
- [23] PAUS R, COTSARELIS G. The biology of hair follicles[J]. *N Engl J Med*, 1999, 341(7):491-497.
- [24] HARDY M H, LYNE A G. The pre-natal development of wool follicles in Merino sheep[J]. *Aust J Biol Sci*, 1956, 9(3):423-441.
- [25] 张燕军, 尹俊, 李长青, 等. 内蒙古阿尔巴斯绒山羊胎儿期皮肤毛囊发生发育规律研究[J]. *畜牧兽医学报*, 2006, 37(8):761-768.
- ZHANG Y J, YIN J, LI C Q, et al. Study on development of skin and hair follicle from fetal Inner Mongolian Arbas cashmere goats[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Simica*, 2006, 37(8):761-768. (in Chinese)
- [26] KISHIMOTO J, BURGESSON R E, MORGAN B A. Wnt signaling maintains the hair-inducing activity of the dermal papilla[J]. *Genes Dev*, 2000, 14(10):1181-1185.
- [27] MÜLLER-RÖVER S, TOKURA Y, WELKER P, et al. E- and P-cadherin expression during murine hair follicle morphogenesis and cycling[J]. *Exp Dermatol*, 1999, 8(4):237-246.
- [28] GAY D L, YANG C C, PLIKUS M V, et al. CD133 expression correlates with membrane beta-catenin and E-cadherin loss from human hair follicle placodes during morphogenesis[J]. *J Invest Dermatol*, 2015, 135(1):45-55.
- [29] JAMORA C, DASGUPTA R, KOCIENIEWSKI P, et al. Links between signal transduction, transcription and adhesion in epithelial bud development[J]. *Nature*, 2003, 422(6929):317-322.