

缺氧对雄性大鼠面部皮肤雌激素受体 mRNA 表达的影响

杨进清, 王虚步(重庆市江津区中心医院皮肤科 402260)

【摘要】 目的 观察雄性大鼠缺氧后头颈部真皮雌激素受体 mRNA 表达的变化。**方法** 成年雄性 Wistar 大鼠置于缺氧舱中, 每天缺氧处理 4 h, 分别缺氧处理 1、5、10、15、20、30 d。采用逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR), 检测面部真皮雌激素受体(ER) α 、 β mRNA 表达。**结果** 缺氧处理后, ER β mRNA 的表达则表现为缺氧后 1 天略有升高, 但差异无统计学意义, 5 d 后 ER β mRNA 表达明显升高($P < 0.05$), 10 d 后 ER β mRNA 表达有所回落; 15、20 d 后 ER β mRNA 表达再次升高, 其中 20 d 的表达与对照组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。缺氧 30 d 后 ER β mRNA 表达再次下降至对照组水平。**结论** 缺氧可在转录水平上影响大鼠面部真皮 ER β mRNA 表达。

【关键词】 缺氧; 雌激素受体; 面部皮肤

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.17.024 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)17-2258-02

Effect of hypoxia on estrogen receptor mRNA in facial skin of male rat YANG Jin-qing, WANG Xu-bu (Department of Dermatology, Centre Hospital of Jiangjin District, Jingjin, Chongqing 402260, China)

【Abstract】 Objective To observe the expression of estrogen receptor (ER) mRNA in male rat facial skin exposed to hypoxia. **Methods** Adult male Wistar rats were exposed to hypoxia module for 4 h everyday for 1, 5, 10, 15, 20 and 30 days. Levels of ER α and ER β mRNA in facial skin tissue were measured by using semi-quantitative real-time polymerase chain reaction. **Results** The expression of ER β mRNA increased since the 1st day, but was not significant. While, after the 5th day, the expression level significantly increased ($P < 0.05$). Level of ER β mRNA began to decrease after 10 days, but increased again after 15 and 20 days of treatment, and was significantly higher than control group after 20 days ($P < 0.01$). After treatment of 30 days, level of ER β mRNA were decreased again.

Conclusion Hypoxia might affect the transcription of ER β in male adult rat facial skin.

【Key words】 hypoxia; estrogen receptor; facial skin

雌激素受体(ER)属于类固醇受体超家族的核受体, 有 α 、 β 两种亚型, 在人类的面部皮肤、头皮及上臂皮肤中均发现这两种受体的表达, 但 ER 在不同部位皮肤中的表达存在差异^[1]。缺氧是临床上常见的一种病理过程, 会导致机体组织的代谢、功能甚至结构发生异常改变。本文通过观察缺氧后雄性大鼠面部皮肤雌激素受体 mRNA 表达的变化, 试图初步揭示缺氧对雌性大鼠面部皮肤雌激素受体的影响规律。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 二级清洁级雄性成年 Wistar 大鼠, 体重(200 $\pm$ 20)g, 由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供, 自由进食; 随机分为对照组、缺氧组。缺氧组又分别取缺氧处理 1、5、10、15、20、30 d 后 6 个时相点, 对照组及缺氧组各时相点均为 10 只大鼠。

1.2 缺氧模型 有机玻璃舱中缓慢输入氧气和氮气混合气体, 自动仪器调控舱内氧浓度, 使测氧仪监测到的 O₂ 浓度始终保持在(10 $\pm$ 0.3)%, 然后放入大鼠, 每天 4 h; 对照组大鼠在相同容器中通入空气, 每天 4 h。

1.3 标本采集 将对照组和缺氧后各组 10 只动物活杀, 即腹腔注射 2% 戊巴比妥(30 mg/kg)麻醉且无动物死亡, 小心分离出面部皮肤真皮, 编号后立即放入液氮罐中保存待用。

1.4 半定量 RT-PCR 引物设计: ER α 引物 5'-CAG CAG CGA GAA GGG AAA CA-3', 5'-GGG CGG GGC TAT TCT TCT TA-3' (NM_012689, 1, 约 425bp); ER β 引物 5'-TTC CCG GCA GCA CCA GTA ACC-3', 5'-CAC GAT GGA GGG GCC GGA CTC ATC-3' (U57439, 1, 约 262 bp); 以上引物均由上海

生物工程技术服务有限公司合成。从液氮罐中取真皮, 小心分割 100 mg 真皮组织加入 1 mL Trizol 于匀浆管中匀浆, 氯仿抽提, 乙醇沉淀, 提取总 RNA。比色测定 260 nm、280 nm 处吸光度值, 计算出 OD_{260/280} 值以及 RNA 浓度。然后取 2 μ g RNA, 0.5 μ g oligo(dt)15(500 μ g/mL)于 RNase-free 的离心管中, 用三蒸水补至 15 μ L, 70 $^{\circ}$ C 5 min 后依次加入 5 μ L M-MLV 5 $\times$ buffer、1.25 μ L dNTPs (10 nM)、0.65 μ L RNA 酶抑制剂、1 μ L M-MLV-RT, 37 $^{\circ}$ C 水浴作用 1 h, 反转录合成第一链 cDNA。各组样本用 1.5 μ L cDNA 加 23 μ L 反应混合液(包含 Taq 酶、10 $\times$ buffer、dNTPs、MgCl₂、三蒸水以及 ER α 、ER β 特异引物)95 $^{\circ}$ C 5 min 预变性, 然后 ER α 94 $^{\circ}$ C 30 s、56 $^{\circ}$ C 30 s 和 72 $^{\circ}$ C 60 s 反复循环 35 次, ER β 94 $^{\circ}$ C 30 s、55 $^{\circ}$ C 30 s 和 72 $^{\circ}$ C 60 s 反复循环 35 次, 所得产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, BioRad Doc Gel2000(USA)凝胶成像系统对 ER α 、ER β 扩增条带进行定量分析, 得出 ER α 、ER β mRNA 的表达水平。

1.5 统计学方法 所有数据均采用 SPSS 统计软件分析。

2 结果

2.1 ER α 的 mRNA 表达变化 与对照组比较, 缺氧组雄性大鼠面部皮肤 ER α mRNA 表达没有显著变化(见表 1 和图 1)。

2.2 ER β 的 mRNA 表达变化 雄性大鼠面部皮肤 ER β 的 mRNA 表达在缺氧 1 d 后与对照组比较略有升高, 但无显著性差异, 缺氧 5 d 后 ER β mRNA 表达明显升高($P < 0.05$), 缺氧 10 d 后 ER β mRNA 表达有所回落; 缺氧 15、20 d 后 ER β mRNA 表达再次升高, 其中 20 d 的表达与对照比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。缺氧 30 d 后 ER β mRNA 表达再次下降至与对

照组水平(见表 1 和图 2)。

表 1 缺氧处理后雄性大鼠面部真皮 ERα、ERβmRNA 表达(±s)

项目	<i>n</i>	缺氧组						
		1 d	5 d	10 d	15 d	20 d	30 d	
ER α	10	102 $\pm$ 12.6	101.2 $\pm$ 18.5	97.0 $\pm$ 12.0	98.3 $\pm$ 15.5	95.8 $\pm$ 14.5	96.9 $\pm$ 12.3	102.3 $\pm$ 15.6
ER β	10	101 $\pm$ 10.2	108.2 $\pm$ 16.7	121.9 $\pm$ 9.6 *	99.7 $\pm$ 22.3	123.6 $\pm$ 23.7	131.2 $\pm$ 10.1 $^{\Delta}$	104.1 $\pm$ 17.3

注:与对照组比较,*P<0.05;△P<0.01。

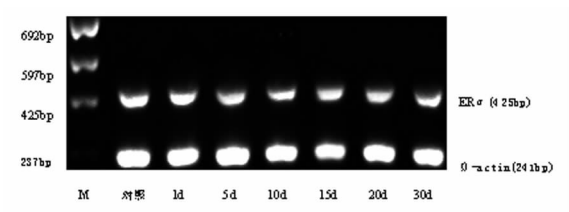


图 1 缺氧处理后大鼠海马 ERαmRNA 表达变化

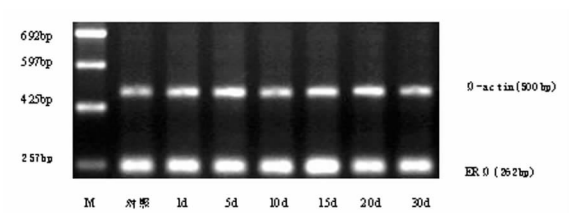


图 2 缺氧处理后大鼠真皮 ERβmRNA 表达变化

3 讨 论

男性雌激素主要来源于肾上腺、脂肪、毛囊和神经组织等, 睾丸内也形成少量的雌激素, 约占血浆总量的 15%~25%^[2]。雌激素主要通过 ER 结合发挥作用, ER 属于类固醇受体超家族的核受体, 具有 α、β 两种亚型。ER 广泛分布于人体的许多系统, 特别是生殖、神经、心血管及运动系统。皮肤是雌激素敏感器官, 在人类的面部皮肤、头皮及上臂皮肤中均发现这两种受体的表达, 但不同类型皮肤细胞在生理或病理条件下对雌激素的反应不同, 提示不同细胞中 ER 可能存在数量上的差异^[1]。女性面部皮肤中 ERα 只表达在皮脂腺细胞, 而 ERβ 则广泛表达^[3]。

ER 具有膜、核双重分布特征, 雌激素可通过其核受体 ERα、ERβ 的介导, 激活 DNA 上特异的反应元件, 从而调节靶基因的表达^[4], 也可通过调节 AP1 增强子与转录因子 Fos 和 Jnu 之间的相互作用实现^[5]。

缺氧是临床上常见的病理过程, 会导致机体组织的代谢、功能甚至结构发生异常改变。研究表明, 雌激素对在缺氧条件下的心血管^[6]、肺功能^[7]、脑缺血^[8]等具有保护作用, 这种保护作用主要是以 ER 介导的效应。皮肤在缺氧条件下, ER 的变化尚未见文献报道。本实验发现, 在雄性大鼠面部真皮中, ERα 的 mRNA 表达在缺氧处理后并无显著性改变, 而 ERβ 的 mRNA 表达呈现双峰态, 即缺氧 1、5 d 后 ERβmRNA 表达升高, 以 5 d 为显著(P<0.05); 缺氧 10 d 后 ERβ 的 mRNA 表达有所回落; 缺氧 15、20 d 后 ERβ 的 mRNA 表达再次升高, 以 20 d 的表达为显著(P<0.01); 到 30 d 时, ERβ 的 mRNA 表

达再次下降至对照组水平。已有的研究表明, ERβ 而不是 ERα 在应激时能受肾上腺皮质酮作用而上调^[9], 这提示在缺氧的应激情况下, ERβ 也可能受到肾上腺皮质酮的调节而表达增强。

缺氧处理后, 面部真皮 ERβmRNA 呈现双峰态, 可能也与肾上腺皮质酮有关, 应激反应表现为交感神经激活, 肾上腺素释放到一定水平后则会逐渐下降至稳态; 而应激本身一直处于活动状态, 超过一定阈值的生理刺激将会使其活动进一步加强。另外还有可能与雌激素受体的磷酸化以及协同因子的相互作用有关。其机制尚待进一步研究。

参考文献

[1] 朱焱,宋智琦,赵春晖,等. 雌激素受体在抗皮肤老化过程中的多效性[J]. 生物技术通讯,2012,23(4):606-609.

[2] Carreau S,Bouraima-Lelong H,Delalande C. Estrogens in male germ cells[J]. Spermatogenesis,2011,1(2):90-94.

[3] 康尔恂,吕全兴. 雌激素受体在女性面部皮肤的表达[J]. 中国麻风皮肤病杂志,2010,26(3):178-179.

[4] Avvakumov GV,Cherkasov A,Muller YA,et al. Structural analyses of sex hormone-binding globulin reveal novel ligands and function[J]. Mol Cell Endocrinol,2010,316(1):13-23.

[5] Levy N,Tatomer D,Herber CB,et al. Differential regulation of native estrogen receptor-regulatory elements by estradiol, tamoxifen, and raloxifene [J]. Mol Endocrinol, 2008,22(2):287-303.

[6] 吴芹,孙红. 雌激素对缺血性心脏病的保护作用[J]. 心血管病学进展,2008,29(1):81-84.

[7] 孙思庆,林勇,朱晓莉,等. 雌激素及其受体对低氧性肺血管重建的作用[J]. 中国病理生理杂志,2007,23(1):76-80.

[8] 吴雅玲,王清江,宋文杰,等. 雌激素对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠的保护作用[J]. 实用儿科临床杂志,2008,23(24):1914-1915.

[9] Wilson ME, Westberry JM. Regulation of oestrogen receptor gene expression: new insights and novel mechanisms[J]. J Neuroendocrinol,2009,21(4):238-242.