- Chem, 1996, 271(2): 603~ 606
- 4 周爱儒, 郑卫, 邢德智, 等. 分子搭桥术-VEGF 基因治疗闭塞性血管病的实验研究. 中华医学杂志, 1996, 76(9): 662~ 666
- 5 Isner J F, Tischer E, Pieczek A, et al. Arterial gene therapy for therapeutic angiogenesis in patients with peripheral artery disease. Circulation, 1995, 91: 2687~ 2692
- 6 Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning, 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989
- 7 Satoshi T, Zheng L P, Isner J M. Therapeutic angiogenesis: a single intraarterial bolus of vascular endothelial growth factor augments revascularization in a rabbit ischemic hind limb model. J Clin Invest, 1994, 93: 662~ 670
- 8 Banai S, Jaklitsch M T, Shou M, et al. Angiogenic-induced enhancement of collateral blood flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs. Circulation, 1994, 89: 2183~ 2190
- 9 张曼, 周爱儒, 朱国英, 等. 血管内皮生长因子基因治疗兔髂动脉内膜损伤的实验研究. 中华医学杂志, 1998, 78: 749~ 752
- 10 张继峰, 秦阳君, 付爱华, 等. 电针介导的基因转移. 中国科学, C 辑, 1998, 28(5): 555~ 560
- 11 Hiroyuki Aihara, Jurri ichi Miyazaki. Gene transfer into muscle by electroporation in vivo. Nature Biotechnology, 1998, 16: 887~ 890
- 12 Wolff J A, Dowty M E, Jiao S S, et al. Expression of naked plasmids by cultured myotubes and entry of plasmids into tubules and caveolae of mammalian skeletal muscle. Science, 1992, 103: 1249~ 1257
- 13 Yukio Tsurumi, Satoshi Takeshita, Dongfen Chen, et al. Direct intramuscular gene transfer of naked DNA encoding vascular endothelial growth factor augments collateral development and tissue perfusion. Circulation, 1996, 94: 3281~ 3290

(1998-09-01 收稿, 1998-11-19 收修稿稿)

小鼠胸腺髓质上皮细胞系 MTEC1 对 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质 细胞亚群的作用

葛青 陈慰峰

(北京医科大学免疫系, 北京 100083)

摘要 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞是 CD4 单阳性(SP) 胸腺细胞中的亚群之一, 表型为 TCR $\alpha\beta$ ⁺ CD69^{lo} HSA^{med/lo}, 可接受 Con A 刺激产生增殖应答和细胞因子分泌. 所分泌的细胞因子以 Th2 型为主, 还有少量 IFN γ 存在, 是处于 CD4SP 成熟过程的中后期, Th0 向 Th2 转化的过渡型细胞. 为探讨胸腺微环境中基质细胞对这一亚群细胞的作用, 在研究体系中加入一株胸腺髓质型上皮细胞系 MTEC1, 发现 MTEC1 可促进 Con A 刺激的 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞增殖和 IL-6 分泌, 但 IL-4 及 IL-10 的产生部分地受到抑制, 不增加 IFN γ 分泌, 亦不诱导 IL-2 产生.

关键词 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞 胸腺基质细胞 细胞因子

单阳性(SP) 胸腺细胞在胸腺髓质内经历 9~ 14d 的分化成熟, 最终成为表型和功能成熟的 T 细胞, 由胸腺迁出, 在外周执行辅助或杀伤功能^[1]. 由胸腺髓质中多种类型的基质细胞以及它们所分泌的多种细胞因子, 构成了胸腺髓质微环境. SP 胸腺细胞正是在这样的微环境中完成它们的最终成熟. 但是, 这一微环境是如何辅助胸腺细胞成熟, 它的必要性和辅助机制, 还远未得到阐明, 甚至有报道说, 单阳性胸腺细胞不需髓质即可发育成熟^[2]. 我室曾发现 MTEC1

对 CD4SP 的 Q α 2 分子表达具有诱导作用^[3]. 利用髓质基质细胞系在体外与 SP 胸腺细胞亚群共育, 研究其对胸腺细胞表型和功能的影响, 是研究微环境对 SP 功能成熟作用的模型之一.

根据 Hayakawa 等人的报道^[4] 及我室对 CD4SP 表型的研究, 我室成功分离得到 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞亚群. 该亚群具有 TCR α ^β⁺ CD69^{lo} HSA^{med/lo} 的表型特点及可接受 Con A 刺激产生增殖应答和细胞因子分泌的功能特点, 其细胞因子分泌类型以 Th2 型为主, 但仍有少量 IFN γ 存在, 是处于 CD4SP 成熟过程的中后期, Th0 向 Th2 转化的过渡型细胞. 为了解胸腺微环境基质细胞能否诱导这-Th0 向 Th2 转化的细胞亚群进一步分化, 本文报道一株我室所建小鼠胸腺髓质上皮细胞株 MTEC1 对这群细胞功能的影响, 并详细分析胸腺基质细胞作用在 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞功能成熟中的意义.

1 材料与方 法

(1) 实验动物. BALB/c 鼠, 6~8 周龄, 雌雄均可, 购自中国科学院遗传研究所.

(2) 单克隆抗体(mAb)和补体. 抗 CDS(3.155)、抗 CD4(GK1.5)、抗 IL-4(11B11)系杂交瘤细胞(购自美国 ATCC)接种裸鼠收获的腹水. 抗 3G11(SM3G11)、抗 6C10(SM6C10)杂交瘤细胞由美国丁林娜博士惠赠. 抗 IL-4(Bud24G2-3-Biotin)、抗 IL-10(2A5, Sxc-Biotin)由美国刘英惠赠, 荧光抗体: PE-抗 CD4、-抗 CD8 为 PharMingen 公司产品. FITC-羊抗大鼠 IgG 抗体购自 Sigma. 补体取自成年豚鼠(400~500g/只)血清, 经 BALB/C 小鼠胸腺、脾、肝细胞吸收, 用前滴定效价, 分装, -70℃冷冻保存.

(3) 小鼠胸腺基质细胞系. 小鼠胸腺髓质上皮细胞系(MTEC1)为本室所建, 7TD1: IL-6 依赖细胞株, 用于 IL-6 活性检测. HT-2: IL-2 依赖细胞株, 用于 IL-2 活性检测, L929 细胞: 用于 IFN 活性检测.

(4) 缓冲液、培养基和主要试剂. 缓冲液, 2% NCS-BSS (mouse isotonic HEPES-balance saltsolution) 和不含 2-ME 的 2% NCS-RPMI 1640 用于细胞洗涤和细胞亚群分离; 内含 0.1% NaN₃ 的 2% NCS-BSS 用于细胞荧光染色; pH=9.6, 0.05mol/L Tris-HCl 缓冲液用于 panning 法中抗体包被. 培养基, DMEM(GIBCO, BRL.), 配成含抗菌素, 10% NCS 的完全培养基. 主要试剂, Con A (Pharmacia), 丝裂霉素 C(MMC, 日本 Kyowa), MIT(Fluka Chemie, AG), ³H-TdR, 比活性 22mCi/mmol, 上海原子核所产品, 1.090g/cm³ 的细胞分层液, 用 60% 的泛影葡胺(中国信谊药厂)和 40% Ficoll(上海试剂二厂).

(5) 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺细胞的分离. 胸腺单个细胞悬液中加入抗 CD8(3.155)、抗 3G11(SM3G11)、抗 6C10(SM6C10)单克隆抗体, 4℃孵育 45min 后, 加入适当浓度的补体, 37℃, 30min. 用比重 1.090 的聚蔗糖-泛影葡胺密度梯度离心, 分离出活细胞. 重复上述步骤一次, 分离出活细胞. 抗 CD4(GK1.5)单抗腹水以 1:100 稀释作为包被液, 包被 Maxisorp 聚苯乙烯培养盘(Nunc 公司), 37℃, 2h. 含 2% NCS 的 PBS 洗 6 次, 加入经 2 次补体杀伤后的胸腺细胞, 4℃, 15min, 弃去不贴壁细胞, 并以 2% NCS-BSS 洗 10 次, 至显微镜下观察无悬浮细胞. 冲下贴壁细胞, 经 PE-抗 CD4 和 FITC-抗 CD8 荧光染色, FACS 分析其纯度达 98%.

(6) 细胞增殖试验. 胸腺细胞(10⁵/孔)单独或在含 20% MTEC1-SN 或 mMTEC1(10⁴/孔)存在下, 经 Con A(2.5 μ g/mL)刺激, 37℃, 5% CO₂ 孵箱培养 72h, 并设无 Con A 刺激的对照组. 细胞收获前 8~12h 加入 ³H-TdR, 0.5 μ Ci/孔, 于 Beckman 液闪仪测定闪烁计数(计数/min).

(7) 细胞因子的诱导. 在 Con A(2.5 μ g/mL)存在下, 胸腺细胞单独或胸腺细胞+ mMTEC1

于 37℃, 5% CO₂ 条件下培养 48 h, 离心收获上清, -20℃ 保存待检.

(8) 细胞因子检测. IL-2, 用样品支持 HT-2 细胞增殖的 MTT 法测定. IL-6, 用样品支持 7TD1 细胞增殖的 MTT 法测定. IL-4 和 IL-10, 细胞因子双抗夹心 ELISA 法测定. 包被 IL-4 (IL-10) 抗体 11B11(2A5) 50μL/孔于 ELISA 板, 4℃ 过液, 以 PBS/Tween-20/20% NCS 封闭, 室温 2~3h. 标准品及样品 50μL/孔, 室温 1h, 生物素标记的 Bud24G2-3(SXC1), 50μL/孔, 室温 1h. SA-HRP, 50μL/孔, 室温 45min. 各步骤间均用 PBS/Tween-20 洗涤. ABTS 过氧化物酶, 50μL/孔, 405 和 490 nm 检测. IFN 的测定, 测上清降低水疱性口膜炎病毒(VSV) 液过 L929 细胞的致病变程度, 方法见文献^[5], 按能降低 50% 细胞致病变率样品最大稀释度的倒数, 计算 IFN 单位.

2 结果

2.1 MTEC1 对 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞体外存活能力的影响

3G11-6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞与 MTEC1 共同培养 3d, 其存活率有轻微的增强(图 1), 比单纯 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞培养, 其存活率提高了 1 倍. MTEC1-SN 没有明显的维持 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞存活的作用.

2.2 MTEC1 对 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞增殖能力的影响

在 Con A 存在下, 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 细胞单独或与 MTEC1-SN 或 mMTEC1 培养 72 h, 细胞增殖活性测定结果见表 1. 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 细胞能够接受 Con A 刺激进行增殖, 但应答水平低于 MTEC1-SN 和 mMTEC1 刺激组. 分别低 1.4 和 1.9 倍, 比较 mMTEC1 和 MTEC1-SN 试验组, 前者协同 Con A 刺激细胞的增殖活性是后者的 1.4 倍. 提示 MTEC1 通过细胞间的相互作用, 明显增强这一胸腺细胞亚群对 Con A 刺激的增殖应答. MTEC1 所分泌的细胞因子也能提高这一亚群细胞的增殖水平, 但程度低于细胞间的相互作用.

图 1 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺细胞在体外的存活能力

表 1 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞对 Con A 刺激的增殖能力

试验组	³ H-TdR 掺入值(计数/min, 均值 ± SD)	
	培养基	Con A
3G11 ⁻ 6C10 ⁻ CD4 ⁺ CD8 ⁻ 胸腺细胞	93.2 ± 4.2	24 760.5 ± 2 409.1
3G11 ⁻ 6C10 ⁻ CD4 ⁺ CD8 ⁻ + MTEC1-SN	121.7 ± 20.2	34 664.4 ± 3 512.6
3G11 ⁻ 6C10 ⁻ CD4 ⁺ CD8 ⁻ + mMTEC1	612.5 ± 68.5	47 044.6 ± 3 146.2
mMTEC1	398.5 ± 53.3	412.6 ± 2.6

2.3 胸腺基质细胞对 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺髓质细胞分泌 IL-6 的影响

3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁺ 胸腺细胞单独或在 mMTEC1 存在下, Con A 刺激 48h, 分析培养上清中的 IL-6 的水平, 如表 2 所示, 3G11⁻ 6C10⁻ CD4⁺ CD8⁻ 胸腺细胞无 Con A 活化不能自发分泌细胞因子. Con A 的刺激可以促使细胞分泌 IL-6, 但是水平显著低于 mMTEC1 刺激组 ($P <$

0.01), 后者 IL-6 水平是前者的 5.7 倍. 表明胸腺基质细胞的作用可促进 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺细胞对 Con A 的应答, 增强其合成 IL-6 的能力. 由于 MTEC1 自身可产生 IL-6, 为排除干扰, 将 MTEC1 用丝裂霉素 C 处理. 处理后的 mMTEC1 上清只含有很微量的 IL-6, 不影响分析其对此亚群细胞分泌 IL-6 的作用. 另外, 由于采用 MTT 法检测 IL-6 依赖株 7TD1 的 DNA 合成水平, 我们也观察了 Con A 的存在对 7TD1 的影响. 这些结果均肯定 MTEC1 确实可以显著增强胸腺细胞 IL-6 的分泌.

表 2 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺细胞 Con A 刺激产生 IL-6 的能力(单位: U/mL)

试验组	培养基	Con A
$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$	< 2	45.3
$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^- + mMTEC1$	19.2	256
mMTEC1	11.3	18.4

2.4 胸腺基质细胞对 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺髓质细胞分泌 IL-4 的影响

Con A 的刺激还可促使细胞分泌 IL-4(表 3). 与 IL-6 不同的是, 无胸腺基质细胞共育组的 IL-4 水平高于共育组 0.3 倍($P < 0.05$).

表 3 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺细胞 Con A 刺激产生 IL-4 的能力(单位: pg/mL)

试验组	培养基	Con A
$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$	< 20	1500
$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^- + mMTEC1$	< 20	1136
mMTEC1	< 20	< 20

2.5 胸腺基质细胞对 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺髓质细胞分泌 IL-10 的影响

Con A 的刺激还可促使细胞分泌 IL-10(表 4), 并且与 IL-4 类似, 无胸腺基质细胞共育组的 IL-10 水平高于共育组 0.7 倍($P < 0.05$).

表 4 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺细胞 Con A 刺激产生 IL-10 的能力(单位: pg/mL)

试验组	培养基	Con A
$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$	< 100	625
$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^- + mMTEC1$	< 100	373
mMTEC1	< 100	< 100

2.6 胸腺基质细胞对 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD^-$ 胸腺髓质细胞分泌 IL-2/IFN γ 的影响

Con A 不能刺激 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺髓质细胞分泌 IL-2, 且 IFN γ 的分泌也处于低水平(表 5). 并且胸腺基质细胞不能协同 Con A 促使细胞分泌这两种细胞因子.

表 5 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺细胞 Con A 刺激产生 IL-2/IFN γ 的能力(单位: U/mL)

试验组	IL-2	IFN γ
$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$	< 2	8
$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^- mMTEC1$	< 2	8
mMTEC1	< 2	< 2

3 讨论

我室从小鼠 CD4SP 胸腺细胞中分离得到 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺细胞亚群, 表型为 $TCR\alpha\beta^+ CD69^{lo} HSA^{med/lo}$, Con A 刺激可使之增殖并分泌细胞因子, 提示已具有一定免疫功能.

为了解胸腺微环境主要是胸腺基质细胞对该亚群胸腺细胞的影响, 我们将一株我室所建的胸腺髓质上皮细胞 MTEC1 加入到体外培养体系当中. MTEC1 可分泌多种细胞因子^[6], 其中 IL-1, IL-6 和 IL-7 是 CD4SP 细胞的生长因子^[7], 并且, MTEC1 细胞表面还含有多种表面粘附分子. 试验表明 MTEC1 的培养上清可提高这一亚群胸腺细胞对 Con A 的增殖应答; MTEC1 本身通过细胞间相互作用, 可产生一定的维持胸腺细胞在体外存活的作用, 并可明显提高这一亚群胸腺细胞对 Con A 刺激的增殖水平, 最显著的作用是增强此亚群细胞 IL-6 的合成能力, 使培养上清中 IL-6 含量提高了 4 倍多.

胸腺基质细胞的这种功能促进作用, 有两种可能的机制: (1) 细胞因子的作用. 试验已证实, MTEC1 的培养上清不能支持这一亚群胸腺细胞的存活, 但却显示出协同 Con A 刺激增殖的作用, 说明 MTEC1 分泌的细胞因子虽然不能维持这群细胞的存活, 但却能对细胞接受刺激后的增殖起到一定促进作用. (2) 细胞表面分子的作用. 经丝裂霉素 C 处理后的 mMTEC1, 通过细胞间相互作用, 对该亚群胸腺细胞有一定的维持细胞存活作用, 对胸腺细胞亚群 Con A 刺激的应答, 包括增殖和 IL-6 分泌, 具有明显的促进作用. 这些提示胸腺髓质上皮细胞 MTEC1 对此亚群胸腺细胞的促进作用, 以细胞间相互作用为主. 但是, 参与此种相互作用的细胞表面分子还有待进一步分析. 研究表明, $CD3^{hi}$ SP 胸腺细胞高表达 CD28 分子, CD28 单抗的作用可提供第二信号, 促进 TCR/CD3 途径对 $CD3^+$ 胸腺细胞的促增殖作用^[8]. 由此推测, CD28/B7 可能参与了 MTEC1 的功能促进作用.

$3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺细胞是一群以分泌 Th2 型细胞因子为主, Th0 向 Th2 转化的细胞. MTEC1 的存在不能改变其 IL-2 不分泌的事实, 也不能增强 IFN γ 的产生, 但是可以促进 Th2 型细胞因子 IL-6 的合成, 提示 MTEC1 可能促进该群细胞向 Th2 方向转化, 因而导致 IL-6 的大量产生.

值得注意的是, 虽然 IL-6 与 IL-4, IL-10 同属 Th2 型细胞因子, 但 MTEC1 的存在对该亚群胸腺细胞 IL-4 和 IL-10 的产生具有抑制作用, 不似 IL-6 那样起促进作用, 即对胸腺细胞的细胞因子产生具有分离现象. 国际上尚未见报道胸腺基质细胞系对胸腺细胞亚群分泌不同因子具有不同的作用. 此现象的原因可能在于: (1) $CD4^+$ T 细胞所分泌的多种 Th2 型细胞因子, 可能是多细胞分泌的综合结果, 每一细胞克隆产生细胞因子种类可能并不一致^[9]. 由于此亚群胸腺细胞尚未最终成熟, 另一种可能性是不同发育阶段的 CD4SP 胸腺细胞以不同种类细胞因子的产生为主, 因此基质细胞的作用也不相同. (2) 试验只涉及了一种胸腺髓质上皮细胞系的作用, 而单一的 MTEC1 可能对此亚群胸腺细胞所产生的诱导作用是不全面的, 不能促进其分泌完整的 Th2 型细胞因子. 这种完整的诱导作用必须由多种胸腺基质细胞共同完成. (3) 胸腺基质细胞对胸腺细胞的细胞因子产生可能不仅仅是诱导作用, 更重要的是调节作用, 调节胸腺细胞亚群不同细胞因子的产生水平. 这些可能性, 究竟以哪种为主, 还需进一步的试验分析.

由此, 胸腺髓质基质细胞系 MTEC1 对 $3G11^- 6C10^- CD4^+ CD8^-$ 胸腺细胞的促增殖和促 IL-6 分泌及基对细胞存活的影响, 对探讨胸腺髓质微环境的作用及基分子机制, 具有很大的意义.

致谢 本工作为国家自然科学基金(批准号: 39730410)重点课题资助项目.

参 考 文 献

- 1 Scollay R, Godfrey D I. Thymic emigration: conveyor belts or lucky dips? *Immunology Today*, 1995, 16: 268~ 273
- 2 DeKoning J, DiMolfetto L, Teilly C, et al. Thymic cortical epithelium is sufficient for the development of mature T cells in *relB*-deficient mice. *J Immunol*, 1997, 158(6): 2 558~ 66
- 3 Lu L S, Chen W F. Functional maturation of mouse $CD4^+ CD8^-$ thymocytes induced by medullary-type thymus epithelial cells. *Science in China, Series C*, 1996, 39(4): 427~ 439
- 4 Hayakawa K, Hrdy R R. Murine $CD4^+$ T-cell subsets. *Immunol Rev*, 1991, 123: 145~ 150
- 5 刘祝公, 陈慰峰, 曹良弦, 等. 小鼠胸腺树突状细胞系自发分泌多种类型细胞因子. *实验生物学报*, 1994, 27: 91~ 98
- 6 Chen W F, Fan W, Cao L X, et al. Multiple types of cytokines constitutively produced by an established murine thymic epithelial cell line. *Eur Cytokine Netw*, 1992, 3: 43~ 52
- 7 Wilson A, Petrie H T, Scollay R, et al. The acquisition of CD4 and CD8 during the differentiation of early thymocytes in short-term culture. *Inter Immunol*, 1989, 1: 605~ 612
- 8 Turda L A, Ledbetter J A, Lee K, et al. CD2 is an inducible T cell surface antigen that transduces proliferative signal in $CD3^+$ mature thymocytes. *J Immunol*, 1990, 144: 1646~ 1653
- 9 Mosman T R, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today*, 1996, 17: 138~ 142

(1998-09-11 收稿, 1998-12-28 收修改稿)

妊娠大鼠卵巢卵泡无甾体激素合成能力

陈毅军 高洪娟 刘以训*

(中国科学院动物研究所生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080. * 联系人)

摘要 在整个妊娠期间大鼠卵巢中都可见到有腔卵泡. 这些卵泡具“生理”上的不成熟性, 即使在 hCG 诱导下也不能排卵. 实验意欲探讨妊娠大鼠卵巢卵泡细胞是否具有甾体激素合成能力. 而甾体激素合成灵敏调节蛋白 StAR 是甾体激素合成的关键调节因子. 用 StAR 反义 RNA 探针和抗 StAR 兔血清通过原位杂交和免疫组化检测妊娠各期大鼠卵巢中卵泡 StAR 的表达情况, 以直接证实这些卵泡是否能合成甾体激素. 结果表明, 正常性周期中动情前期或动情期有腔卵泡的膜细胞和靠膜颗粒细胞表达 StAR mRNA 和蛋白质, 而妊娠期间卵泡的颗粒细胞和膜细胞均不表达. 这证实妊娠期间的卵泡没有甾体激素合成能力.

关键词 妊娠卵巢卵泡 甾体激素合成灵敏调节蛋白 促黄体素受体 原位杂交

甾体激素合成灵敏调节蛋白(StAR, Steroidogenic acute regulatory protein)是甾体激素合成的关键调节因子^[1]. 甾体激素的合成需要将胆固醇从细胞质转运到位于线粒体内膜的胆固醇侧链切除复合体上, 这是甾体激素合成的限速步骤. 它依赖于 StAR 的从头合成^[2]. StAR 前体合成后, 在其信号肽的牵引下穿膜进入线粒体, 然后信号肽被切除, 成为 StAR 成熟体. 在这一过程中线粒体内外膜粘合到一起, 胆固醇从粘合位点进入线粒体中. 现已证实, 所有具有甾体激素合成能力的组织都有 StAR 表达, 而且, 只有合成甾体激素的组织才表达 StAR. 在时间上, 也只有在合成甾体激素时这些组织才表达 StAR^[3,4]. StAR 基因发生突变的人甾体激素的合成能力严重缺损^[5], 形成所谓先天性肾上腺性征综合征(lipoid CHA). 剔除 StAR 基因的小

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb1999-44-9-963>