

文章编号: 1001—4721 (2014)01—0061—03

鹿茸发育的组织来源及其相互作用机制研究进展

鲁晓萍, 王大涛, 孙红梅, 褚文辉, 赵海平, 章秀婷, 李春义^{*}

(中国农业科学院特产研究所吉林省特种经济动物分子生物学省部共建实验室, 长春 130112)

摘要: 本综述介绍了鹿茸发育的组织来源及其相互作用机制的研究进展, 阐明了鹿茸发育的组织细胞特性, 进一步分析了鹿茸发育机制中待解决的问题。

关键词: 鹿茸; 皮肤; 骨膜; 组织; 干细胞

中图分类号: Q954.61

文献标识码: A

Tissue Sources and Interaction Mechanism of Antler Development

LU Xiao—ping, WANG Da—tao, SUN Hong—mei, CHU Wen—hui,
ZHAO Hai—ping, ZHANG Xiu—ting, LI Chun—yi^{*}

(State Key Laboratory of Special Economic Animal Molecular Biology Institute of Special Wild Economic Animals and Plants, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China)

Abstract: This review introduces the tissue sources and interaction mechanism of velvet antler development, illuminates the cell properties of these tissue types further analyzes the problems to be solved in the deer antler development mechanism.

Key words: velvet antler; deer skin; periosteum; tissue; stem cells

鹿茸为雄性鹿头盖骨部分的附属器官, 不同于其他反刍动物中空的角组织, 其为皮肤包裹的骨组织, 富含血管、神经。鹿茸是唯一一个能够每年周期性和完全再生的哺乳动物器官。鹿茸再生过程伴随着皮肤、血管、神经的再生, 生长速度为 $1\text{ cm/d} \sim 2\text{ cm/d}$ 且无癌变发生。鹿茸再生的过程中, 鹿角脱落面无伤疤形成, 同时鹿茸作为鹿头部表面附属器官方便观察和获取, 发育和再生在同一机体上产生有利于比较, 发育和再生过程可以人工诱导等优势, 因此将成为一个很好的再生医学研究模型。为了更好地发展鹿茸这一再生医学模型, 必须对鹿茸发育机制进行更深的研究。鹿茸发育过程包括发生和再生 2 个阶段, 鹿茸再生重演鹿茸发生的过程。鹿茸发生过程包括角柄形成和鹿茸发育 2 个过程。鹿茸角柄和鹿茸都是由外部皮肤和内部骨组织 2 部分组成, 其中富含神经和血管。鹿茸发育过程先

有内部骨组织形成变化, 然后外部鹿茸角柄远端皮肤由鹿皮转变为茸皮。鹿茸的发育、再生是基于鹿茸生茸区骨膜 (antlerogenic periosteum, AP) 和角柄骨膜 (pedicle periosteum, PP) 同其上覆盖的皮肤相互作用的过程。实验证明这个相互作用过程是基于干细胞的分裂、分化过程, AP 细胞为鹿茸干细胞^[1], 是鹿出生后遗留的胚胎组织^[2]。鹿茸发育的机制受多种因素的调控, 如光照、生长因子、激素等调控。本文就目前鹿茸发育的组织来源、组织细胞特性及其组织间的相互作用的研究现状作一综述。

1 调控鹿茸发生和再生的组织来源

鹿茸发生时不是直接生长于额骨上, 而是从角柄 (永久性骨桩组织) 上长出, 角柄不是与生俱来的, 角柄来源于额外脊上的生茸区骨膜 (AP)。母鹿和公鹿额骨处都有 AP, 但是在大多鹿种中只有雄鹿生茸, 而母鹿不能生茸, 这是因为鹿茸的生成需要有雄

收稿日期: 2013—07—01

基金项目: 国家 863 课题 (2011AA100603—01); 973 前期研究专项 (2011CB111500); 国家自然科学基金 (31070878); 吉林省自然科学基金 (20101575)

作者简介: 鲁晓萍 (1981—), 女, 山东临沂人, 研究实习员, 硕士, 从事鹿茸生物学研究。

^{*} 通讯作者: 李春义, E-mail: chunyi_li1959@163.com.

激素的刺激^[3]。组织学观察和遗传标记追踪细胞分裂趋向证明角柄和鹿茸都来源于 AP 细胞的分裂和分化^[4]。此外组织学实验证明鹿茸发生和再生来源于角柄骨膜,经过 PP 全部和部分切除实验证实 PP 为鹿茸再生组织,PP 由 AP 分化而来^[5]。骨膜异位移植实验证实了 AP 具备胚胎组织的特性,在体外培养时,具有巨大的再生潜力,AP 细胞表面富含糖原^[6]。通过实验方法切除掉 AP 导致角柄不能发生,将 AP 进行自体异位移植将产生异位角柄和鹿茸,AP 切除和移植实验证实了诱导鹿茸发生的 AP 阈值面积是 15mm^2 ,AP 细胞可以分化成鹿茸,同时 AP 包含有鹿茸形态生成的信息^[7],将 AP 分成前、后、中间、侧边 4 个部分进行异位移植进一步证实了 AP 包含有鹿茸形态的信息^[8]。

异位移植 AP 需要与覆盖其上的鹿额外脊皮肤相互作用,才能使鹿茸发生和皮肤转变为茸皮。但是鹿的鼻子、脊背部、尾巴腹侧 3 个部位的皮肤不可以和 AP 进行这种相互作用,因为这 3 个部位缺少毛囊细胞^[9]。通过在皮肤和 AP 之间插入不透膜实验证实了异位移植 AP 需要与相应的皮肤相互作用才能导致鹿茸的生成和鹿皮肤类型的转变^[10]。只有皮肤和骨膜接触紧密时,骨膜才能和皮肤相互作用^[11],内部不断生长的角柄由雄性激素刺激,不同鹿种这 2 种组织达到紧密接触的时间不同,因此生长出鹿茸时,角柄的高度也不一样^[12]。PP 组织发育成鹿茸时,只有角柄主干远端与皮肤紧密接触,该区域大约为角柄高度的 $1/3$ (称为致敏区)部分能够诱导鹿茸产生,而近端与皮肤松散接触,该区域大约为角柄高度的 $2/3$ (称为休眠区)部分不能诱导鹿茸产生^[13],并且这 2 个区域的划分是个动态过程,伴随着年龄增长,角柄变短,依旧是角柄主干远端大约 $1/3$ 处同皮肤接触紧密,角柄主干近端大约 $2/3$ 处同皮肤接触松散。插膜实验同样证实了鹿茸再生过程也需要 PP 和覆盖的皮肤相互作用,鹿茸发生和再生均需要 AP、PP 和其上的皮肤发生紧密接触后才能诱导鹿茸的发生和再生^[13]。

研究证实鹿茸再生过程和鹿茸发生过程相似,鹿茸再生基因表达研究表明鹿茸再生分子机制重演鹿茸发生的过程^[14,15]。细胞水平上的研究表明鹿茸发育和再生过程都依赖于 AP 和 PP 中的细胞群^[16],鹿茸发育和再生过程都是由皮肤和骨膜的相互作用激发的^[17],首先骨膜导致鹿皮肤转化为茸皮,然后茸皮反馈激发骨膜细胞分裂增值,形成鹿茸组织。因此,鹿茸发生和再生的组织来源于 AP、PP 及其与它们紧密接触的皮肤。

2 AP、PP 细胞特性及其与覆盖皮肤组织相互作用的机制

AP 骨膜为直径大约 2.5cm 、厚度约为 $2.5\sim 3.0\text{mm}$ 的组织片,大约 500 万个细胞维持着鹿茸季节性再生。在短短的 60d 时间内,AP 大约提供 300 万个细胞,生长出大约 10kg 鹿茸组织。AP 细胞和 PP 细胞都具有巨大的增生潜力。研究证实 AP 和 PP 组织细胞表面表达标记干细胞群的 CD9 抗原,标记多潜能细胞的 Oct4、Nanog 等抗原,此 2 种组织具有很高的端粒酶活性(与细胞自我更新有关)和表达核干细胞因子(控制干细胞分裂和蝶螈肢体再生)。PP 细胞表达 *stro-1*,为间充质祖细胞的标志。AP 和 PP 表达标记的性质和范围都表明 AP 和 PP 细胞具有胚胎干细胞性质。AP 和 PP 细胞在分别有地塞米松和抗坏血酸盐的微粒体培养时均能被诱导成软骨细胞、成骨细胞,AP 和 PP 在形成角柄和鹿茸时分裂出软骨细胞和成骨细胞是必须的。当 AP 和 PP 细胞在有亚油酸或者免血清的介质中培养时它们均能分化成脂肪细胞。这些都证明了这些细胞群为成体干细胞,具有多潜能分化特性^[18,19]。

AP 移植实验证实:在鹿茸的皮肤转变为茸皮前除掉 AP 将中断鹿茸皮肤类型转变和鹿茸形成,皮下移植 AP 诱导鹿的皮肤向天鹅绒茸皮肤转变和鹿茸生成^[9]。异位移植 AP 和其上的皮肤,并且除掉皮下结缔组织(SLCT),证实了 SLCT 和部分皮肤在茸皮转变过程中不是必须的,在移植的 AP 和上层皮肤之间插入半透膜 2 年后正常鹿皮转变为典型的茸皮,然而插入不透膜的鹿茸皮肤依旧没有转变。这个实验说明皮肤转变需要 AP 的参与^[10],是 AP 分化过程中的分子诱导作用促使了鹿茸皮肤类型的转变^[19]。这些分子通过长距离旁分泌途径作用于皮肤组织的毛囊根部,这些被诱导的皮肤毛囊细胞通过旁分泌或者近分泌途径释放小分子物质同其上的其他部分皮肤组织相互作用,诱导皮肤转变为茸皮。反过来,类型转变的皮肤组织释放小分子物质反馈作用于 AP 细胞层,诱导鹿茸发生。在鹿茸的再生过程中,通过 PP 剥离实验^[5]、PP 和皮肤之间的插膜实验^[10]证实了 PP 是鹿茸再生不可缺少的组织,PP 和其上的皮肤组织也是通过小分子物质的扩散进行相互作用的。由此看来诱导 AP、PP 同覆盖其上的皮肤组织相互作用的小分子物质在鹿茸发生和再生过程中具有重要意义,因此分离这些小分子物质并研究其作用机制将能更好地理解鹿茸发育机制,更好地应用于伤口愈合和人类组织再生,将对再生医学有重大的影响。

3 鹿茸发育研究现状及待解决的问题

研究证实鹿茸再生过程是由于 PP 同其上覆盖的皮肤相互作用诱导的,诱导这种作用的物质不能透过一定厚度的纤维滤膜,主要是一些小肽物质(暂

称为小分子物质), 这种小分子物质是通过细胞旁分泌途径进行的, 因此分离这些小分子物质将成为研究鹿茸发育机制的重点。因为这些小分子物质是通过旁分泌的途径进行的, 因此可以在培养液中将这些小分子物质通过生物技术的方法进行分离。细胞共培养技术是将不同的细胞共培养于同一个环境中, 这种技术可以模拟体内生成的微环境, 便于更好地观察细胞与细胞、细胞与培养环境之间的相互作用。目前我室的科研人员已建立了鹿 PP 细胞同 PP 毛囊细胞进行共培养的平台, 为分离这些有效小分子物质做了良好的铺垫, 同样的细胞共培养方法可以将刺激鹿茸血管、神经再生的物质进行分离。

PP 来源于 AP, 鹿茸再生过程和鹿茸发生过程相似, 但是 PP 组织不同于 AP 组织, AP 导致了角柄的产生, PP 导致了鹿茸的发生, 皮下移植 PP 不能导致异位茸发生^[16], 然而皮下移植 AP 能导致异位角柄和茸发生, 但是该研究没有进一步将角柄主干致敏区和休眠区的骨膜分别进行异位移植, 以及将 AP 异位移植到角柄骨组织上面, 只是初步证实 AP 一旦分化成 PP 就不具备鹿茸发育的能力, PP 只能局限于再生。因此 AP 组织和 PP 组织在诱导鹿茸再生能力方面有巨大的不同。这种不同是由于 PP 位于角柄而 AP 位于额外脊处这种物理位置造成的生物力学效应导致 PP 再生能力改变还是由于 AP 转变为 PP 时细胞信号通路发生改变导致的, 或者是因为 PP 包括致敏区和休眠区 2 个异质的部分, 而整个 AP 区域与皮肤的相连的紧密程度没有明显的不同导致的这些都需要进一步地研究, 此外角柄主干致敏区和休眠区的骨膜分别进行异位移植将会有什么不同也需要进一步地验证, 这些机制的研究将为如何将 PP 诱导成 AP, 然后进行异位移植产生更多的鹿茸打下基础。

导致鹿茸发育和再生的 AP 和 PP 细胞具有干细胞特性, 干细胞在调控鹿茸发育和再生的过程中具有复杂的机制, 目前我们已经明确地了解了鹿茸发育和再生的组织来源及其相互作用机制, 需要进一步将生物力学、生物电学、分子生物学及细胞生物学等学科进行结合, 从而更有力地去挖掘鹿茸发育和再生机制中的未知领域。

参考文献

- [1] Li C, Yang F, Sheppard A. Adult stem cells and mammalian epimorphic regeneration—insights from studying annual renewal of deer antlers[J]. *Curr Stem Cells Res Ther*, 2009, (4): 237—251.
- [2] Li C, Suttie JM. Deer antlerogenic periosteum: A piece of postnatally retained embryonic tissue[J]. *Anat Embryol*, 2001, (204): 375—388.
- [3] Suttie JM, Fennessy PF, Lapwood KR, et al. Role of steroids in antler growth of red deer stag[J]. *Exp Aool*, 1995, 271: 120—130.
- [4] Li C, Suttie JM. Light microscopic studies of pedicle and early first antler development in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Anat Rec* 1994, 239: 198—215.
- [5] Li C, Mackintosh CG, Martin SK, et al. Identification of key tissue type for antler regeneration through pedicle periosteum deletion[J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 328: 65—75.
- [6] Li C, Bing G, Zhang X, et al. Measurement of testosterone specific-binding (receptor) content of antlerogenic site periosteum in male and female sika deer[J]. *Acta Vet Zoo—technicasinica*, 1990, 21: 11—14.
- [7] Goss RJ, Powel RS. Induction of deer antlers by transplanted periosteum. I. Graft size and shape[J]. *Exp Zool*, 1985, 235: 359—373.
- [8] Gao Z, Yang F, Chris M, et al. Mapping the morphogenetic potential of antler fields through deleting and transplanting subregions of antlerogenic periosteum in sika deer (*cervus Nippon*) [J]. *Anat*, 2012, 220: 131—143.
- [9] Goss RJ. Induction of deer antlers by transplanted periosteum. II. regional competence for velvet transformation in ectopic skin [J]. *Exp Zool*, 1987, 244: 101—111.
- [10] Li C, Yang F, Xing X, et al. Role of heterotypic tissue interactions in deer pedicle and first antler formation—revealed via a membrane insertion approach[J]. *Exp Zool B Mol Dev Evol*, 2008, 310: 267—277.
- [11] Li C, Suttie J. Histological studies of pedicle skin formation and its transformation to antler velvet in red deer (*cervus elaphus*) [J]. *Anat Rec*, 2000, 260: 62—71.
- [12] Li C. Development of deer antler model for biomedical research [J]. *Recent advances and research updates*, 2003, (4): 256—274.
- [13] Li C, Yang F, Li G, et al. Antler regeneration: A dependent process of stem tissue primed via interaction with its enveloping skin [J]. *Exp Zool Part A Ecol Genet Physiol*, 2007, 307: 95—105.
- [14] Fauchoux C, Nicholls BM, Allen S, et al. Recapitulation of the parathyroid hormone-related peptide—indian hedgehog pathway in the regenerating deer antler[J]. *Dev Dyn*, 2004, 231: 88—97.
- [15] Mount JG, Muzylak M, Allen S, et al. Evidence that the canonical Wnt signaling pathway regulates deer antler regeneration[J]. *Dev Dyn*, 2006, 235: 1390—1399.
- [16] Li C, Mackintosh CG, Martin SK, et al. Identification of key tissue type for antler regeneration through pedicle periosteum deletion[J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 328: 65—75.
- [17] Li C, Yang F, Li G, et al. Antler regeneration: A dependent process of stem tissue primed via interaction with its enveloping skin[J]. *Exp Zool A Ecol Genet Physiol*, 2007, 307: 95—105.
- [18] Rolf HJ, Kierdorf U, Kierdorf H, et al. Localization and characterization of STRO-1 cells in the deer pedicle and regenerating antler[J]. *PLoS one*, 2008, 34: 2064.
- [19] Li C. Exploration of the mechanism underlying neogenesis and regeneration of postnatal mammalian skin deer antler velvet[J]. *IJMBE*, 2012, (16): 129—138.