

鹿茸再生及干细胞研究进展[○]

鲍加荣¹, 李春义^{○2}, 邢秀梅¹, 杨福合¹

Research progress in deer antler regeneration and stem cells

Bao Jia-rong¹, Li Chun-yi^{○2}, Xing Xiu-mei¹, Yang Fu-he¹

Abstract: Deer antlers are the unique mammalian organs that can be periodically regenerated, i.e., they hold interest for researchers on stem cells and regenerative medicine, and have the potential to become an excellent biomedical research model. Deer antler regeneration may use stem cells. Antler growth appears to involve specific stimulation of the necessary stem cells present in the locality, and involves similar mechanisms to those used in limb development, unlike the regenerative process in the newt. Development regulation of antler and growth mechanism of antler stem cells have significance in limb regenerated medicine and stem cell research. Many scientists have carried out thorough research on the deer antlers development, thus, have drawn many concepts. This article reviews the field of deer antlers development such as antler regeneration and stem cells, and introduces research technique of antler development and relevant theories.

Bao JR, Li CY, Xing XM, Yang FH. Research progress in deer antler regeneration and stem cells. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu 2008;12(51):10163-10166(China) [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要: 鹿茸是哺乳动物中惟一能再生的器官,也是再生医学和干细胞研究的热点领域,将成为一个很好的生物医学研究模型。鹿茸的再生是基于干细胞,自身的干细胞受到刺激而发生增殖与分化,与肢体发育有相似之处的发育模式,不同于蝾螈的再生。鹿茸发育的调控模式、鹿茸干细胞生长机制对于肢体再生医学、干细胞研究具有重要的意义。很多科学家对鹿茸进行了深入的研究,提出了很多理论假说。文章对鹿茸发育领域鹿茸再生和鹿茸干细胞的研究成果进行汇总分析,介绍了鹿茸发育领域的研究技术及其相关理论基础。

关键词: 鹿茸发育; 割处再生; 再生医学; 干细胞; 生物医学模型

鲍加荣, 李春义, 邢秀梅, 杨福合. 鹿茸再生及干细胞研究进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(51):10163-10166 [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

鹿茸是哺乳动物中惟一能完全再生的器官,从初角茸开始生长后,鹿茸从角柄发育再生,每年周期性进行再生发育。在鹿茸的再生发育过程中,由哪些信号通路传递这些信号,其再生发育过程及调控的信号系统未能阐明,其内在的分子机制至今未知^[1]。长期研究发现,鹿茸的快速生长主要取决于顶端生长中心细胞的分裂增殖速度,其速度比癌细胞还要快30几倍^[2]。但是在这样快速情况下形成的鹿茸组织竟然有条不紊,没有任何出现癌变的迹象。所以揭示鹿茸生长的调控秘密能为揭示癌变机制提供线索。鹿茸的研究对现代再生医学和干细胞以及癌症等科学领域的研究具有重要价值。

1 学术背景

鹿茸的生长发育与人的肢体发育模式极为相似,都是从胚胎就开始发育,但中间有一停

滞期,后来才开始继续生长发育。这使得鹿茸能够成为很好的肢体再生模型。另外,鹿茸的再生是由干细胞起始,在发育过程中,鹿茸干细胞的生长速度非常快,很像癌细胞,但得到了很好的调控。所以研究鹿茸干细胞也能探索癌细胞的发育模式,从而了解癌细胞的调控网络。因此,越来越多科学家对鹿茸的再生产生了浓厚的兴趣,英国、德国等国家投入了大量的财力、物力研究鹿茸的再生及鹿茸干细胞的发育机制和调控机制。而中国对鹿茸的机制性研究也刚刚开始,研究机构很少,主要就是中国农业科学院特产研究所,但其对鹿茸的研究处于国际同等水平。从外在形态的变化到分子水平调控,许多科学家对鹿茸的生长发育进行了深入研究,提出了很多学说。

2 目的

总结近年来鹿茸再生和干细胞研究进展,对鹿茸再生机制和鹿茸干细胞的研究成果进行综述。促进鹿茸作为人类再生医学模型和干细胞研究的发展。

¹Biotechnique Laboratory, Institute of Special Wild Economic Animal and Plant, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Jilin 132109, Jilin Province, China; ²AgResearch Invermay Agricultural Centre, Mosgiel 50034, New Zealand

Bao Jia-rong★, Studying for master's degree, Biotechnique Laboratory, Institute of Special Wild Economic Animal and Plant, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Jilin 132109, Jilin Province, China rong9@126.com

Correspondence to: Yang Fu-he, Investigator, Tutor of doctor, Biotechnique Laboratory, Institute of Special Wild Economic Animal and Plant, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Jilin 132109, China fhyang@mail.jl.cn

Received:2008-04-11 Accepted:2008-06-05

¹ 中国农业科学院特产研究所生物技术室,吉林省吉林市 132109; ² 新西兰因沃梅农业研究中心,新西兰 50034

鲍加荣,男,1981年生,安徽省安庆市人,汉族,中国农业科学院在读硕士,主要从事特种经济动物遗传育种的研究。rong9@126.com

通讯作者:杨福合,研究员,博士生导师,中国农业科学院特产研究所生物技术室,吉林省吉林市 132109 fhyang@mail.jl.cn

中图分类号:R394.2
文献标识码:A
文章编号:1673-8225 (2008)51-10163-04

收稿日期:2008-04-11
修回日期:2008-06-05
(54200803170015/Y·Q)

3 资料和方法

3.1 文献检索

检索人及检索时间:于2008-03由第一作者进行检索。

检索文献时限:1990-01/2008-03。

检索数据库:PubMed数据库
(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>。

检索关键词:deer antler regeneration; antler stem cell。

检索文献类型:研究原著、综述。

检索文献量:得到51篇相关文献。其中鹿茸再生相关研究44篇,鹿茸干细胞研究15篇,与两者皆有关8篇。

3.2 检索方法

纳入标准:选取针对性强,相关度高的文献。对同一领域的文献选择近期发表或权威杂志的文献。

排除标准:排除重复研究和综述文章。

文献选择:34篇文献被选用。

文献质量评价:所选文章全部是近十年来的研究成果,皆为本领域的最新的研究成果和最新综述文章,囊括了世界鹿茸再生和干细胞研究领域的最新理论成果。

4 文献证据综合提炼

4.1 鹿茸再生

鹿茸的再生机制:近来很多研究结果表明鹿茸的再生不同于蝾螈肢体再生。蝾螈肢体再生的重要过程是:伤口表皮下的内在肢体组织细胞发生去分化。截肢后,残肢的成熟组织发生去组织化。残肢的顶端区域的细胞失去原来的分化的特征,形成了具有胚胎干细胞特征干细胞^[3]。这些去分化的细胞慢慢形成了再生胚基,重新进入细胞循环、细胞分裂。因而,再生胚基是一个间充质生长区域,从形态上来说,近似于胚胎时期的肢芽。而鹿茸再生并没有出现细胞的去分化,也没有由去分化细胞形成的胚基。Kierdorf等^[5]研究显示鹿茸再生是从角柄上发育,基于干细胞的过程,该过程取决于角柄末梢的骨膜干细胞受到的周期性的激活。鹿茸再生的干细胞又从何而来呢?组织学研究表明,角柄骨膜由角柄周围的额骨骨膜再生,对失去骨膜的角柄所进行的解剖检查发现,新的角柄骨膜已于角柄周围的额骨骨膜处完全再生^[6]。这些新生成的角柄骨膜还生长出了一层疏松骨组织,后者已有机地结合到了原有的角柄骨质上。另外,再生角柄骨膜所生成的骨小梁组织与再生鹿茸的骨小梁组织是连续的。该试验还表明,再生鹿茸组织是再生角柄骨膜的直接衍生物,表皮与裸露的角柄骨间的芽基间充质细胞来源于角柄骨膜^[7]。进一步证明再生的鹿茸组织主要来源于再生的角柄骨膜。Li等^[7-8]对赤鹿生茸骨膜及鹿茸的发育进行了大量的研究,他们认为,由

于生茸骨膜具有极强的自我分化能力,是鹿茸再生的干细胞组织。鹿茸再生是由干细胞组织介导的,与外表皮相互作用的过程,在激素和一些其他的因素调控作用下,促使了组织发生和器官发生^[9]。

鹿茸组织的发生:鹿茸的组织发生就是鹿茸的再生,可以分成2个阶段:鹿角脱落和伤口愈合;前后端生长中心的形成。生长中心一旦形成,茸角的再生就像初角茸一样生长。在组织学上,鹿角的脱落和伤口愈合包括3个阶段。这些阶段经历角柄和鹿茸接合处的吸收,老角的脱落和伤口愈合。前后端生长中心的形成包括两个阶段,首先通过膜内成骨启动了生长中心的形成,然后通过软骨内成骨继续延伸而形成前后端生长中心。鹿茸的生长轴是由内(骨软骨组织)、外(表皮)两部分组成。角柄的内部是骨软骨组织(骨和软骨混合组织),它提供了鹿茸生长区的骨膜细胞层,它是经历了骨化的3个阶段^[10]。鹿茸是一种骨质性器官,再生发育后,间充质细胞,前软骨细胞,软骨细胞,成骨细胞,破骨细胞进行分化和增殖,在软骨处发生着破骨细胞的分化,各层组织的细胞也相互转化,处在一个动态的平衡中,维持着鹿茸的生长发育^[11]。Fauchoux等^[12]发现,鹿茸的骨组织再生中,甲状旁腺激素相关多肽调控着破骨细胞的分化,完成骨的完整再生。甲状旁腺激素相关多肽和其受体激活子NF-kappaB配体刺激着破骨细胞的形成。

在鹿茸的生长过程中,茸皮也参与其中,发挥了很重要的作用。茸角的表皮形成也是通过从组织学上可分的3个阶段。在顶端角柄表皮与其下的鹿茸再生组织结合紧密时,角柄表皮转变成鹿茸的茸皮。这种过渡包括立毛肌和汗腺的减少,出现大量的二叶和多叶皮脂腺。在这个过程中,生长的角柄和茸角的顶端表皮的上皮细胞层变得越来越厚。茸皮的转变是由于机械张力,而这种机械张力又源于其皮下的骨软骨组织的快速生长^[8]。在鹿茸再生中的骨骼发育,骨生长和骨重塑中,细胞程序性死亡是必要的生理活动。在鹿茸的生长区,即间充质,有着很活跃细胞凋亡和增殖活动,比其他的成体组织细胞活动水平更高。大量的细胞死亡也反映着在鹿茸生长中发生着形态发生和组织重塑。体内外的因素控制着鹿茸组织细胞生长和凋亡的平衡^[9,13]。

鹿茸器官的发生:像鹿茸这种在动物出生后才生长的附肢,是哺乳动物中独一无二的。鹿茸开始生长很像胚胎发育中某些器官的形成,例如肢体发育^[9]。但鹿茸的生长与肢体的生长是否具有相同或相似的机制,至今未知。在初角茸的形成中,顶端的上皮和顶端的肉芽软骨细胞层就相当于上皮和间充质。上皮和间充质的相互作用是否在初角茸的形成中起作用呢?Li等^[14]用电子显微镜检测了上皮和真皮之间的基膜的完整性,研究结果表明在角柄的生长期,顶端表皮的基膜保持了很好的完整性。但在鹿茸增殖生长的早期,顶端表皮的基膜严重

断裂。通过上皮和间充质的相互作用,在鹿茸形成中,这种相互作用的距离有1.0~2.0 mm,这是新的诱导物和应答物作用机制,他们之间相互作用,通过表皮张力使得鹿茸生长,扩散的分子一定经过软骨的纤维层、皮下结缔组织和真皮,到达相应的靶组织,反之亦然。这是一种独一无二的机会研究内在的组织作用机制,很好地支持了“上皮和间充质的相互作用影响了鹿茸的形成”学说。Li等^[9]又做插膜试验,结果说明了顶端茸皮的上皮和及其下的软骨是通过扩散的分子相互作用的。因为插入膜的孔径有效地阻止了细胞与细胞、细胞与细胞外基质的相互作用,但能允许分子的通过。Yang等^[15-16]从鹿茸组织中提取一种刺激造血干细胞的分子,并进行了结构测定,有重要的临床意义。鉴定和分离出这些假定的扩散分子,将有很大医学应用价值。

许多研究支持了鹿茸的生长模型可以用来研究器官形成。胚胎学家可能会揭示无肢综合征的未知机制。这种无肢综合征的早期,肢体发育是正常的,但后来肢的顶端外胚层嵴消失,发育停止。如果能够弄明白角柄在出生后重新开始生长形成鹿茸的未知机制,就可以攻克无肢综合征,使胳膊和腿能够再生。

鹿茸再生的调控:鹿茸的形成是受雄性生长激素控制的,每年的鹿茸周期受血液中雄性激素季节性的变化所控制。鹿茸在第2年春天当血浆睾酮含量降低时脱落,接着暴露的角柄表面形成芽基,茸芽和鹿茸对雄性激素的刺激有不同的反应。如果在角柄发生时去势,鹿茸的正常生长受到影响,只出现了很多的骨突,没能生长出鹿茸,骨重塑和骨矿化过程受到阻抑,角柄或鹿茸的生长就会停滞。但给去势的鹿补上外源的睾酮,也能克服体内睾酮的缺乏,启动角柄的生长,起始鹿茸的生长当激素很少时,鹿茸的生长就会停下来^[17-18]。当血液中的激素水平很高时,鹿茸骨化和茸皮脱落。鹿角的脱落和后来的鹿茸再生是在激素水平很低时才发生^[17]。血液循环系统内睾酮含量降低与骨化、鹿角脱落过程密切相关。但关于鹿茸角脱落的机制,目前还不清楚,给鹿注射高剂量的睾酮或雌激素,可导致鹿茸角不脱落;而阉割可导致鹿茸角在两三周内脱落^[1]。体外培养研究表明培养的骨膜细胞在睾酮的刺激下并不增殖,而表现出胰岛素样生长因子1的浓度依赖性。鹿茸再生发育过程中,胰岛素样生长因子1有着不同的分布和表达水平,胰岛素样生长因子1系统对软骨细胞和破骨细胞和再生过程有着重要的作用,调控着鹿茸的快速生长^[19]。鹿茸本身的生长并不需要睾酮,如果考虑到营养因素,睾酮对增殖区细胞产生地影响是主要的,增殖区细胞在鹿茸生长期对胰岛素样生长因子1更敏感。在无血清的情况下,睾酮并不能促进角柄或初角茸的骨膜细胞进行有丝分裂^[20]。还有其他的信号通路调控着鹿茸生长,Allen等^[21]研究视黄酸受体和视黄醇类X受体在鹿茸生长中特殊

的表达,认为视黄酸类物质在调控鹿茸的再生过程中起重要的作用。Barling等^[22]研究了表皮生长因子受体在鹿茸中的表达模式,认为鹿茸生长主要以自分泌为主等。在鹿茸生长的过程中,甲状旁腺激素/甲状旁腺激素相关多肽及其受体对细胞分裂和分化的调控中起着重要的作用^[23]。Mount等^[24]研究表明经典的Wnt信号通路调控着鹿茸再生。再生鹿茸有神经生长因子 mRNA表达,主要在鹿茸生长顶端的动脉和小动脉的平滑肌中表达,再生轴突围绕血管,位于表皮和间充质的接合处分布。促进血管发生^[25]。还有资料报道,影响着细胞的增殖与分化的细胞周期循环基因色素上皮衍生因子和CDKN1C,在鹿茸中都有表达^[26]。血管内皮(细胞)生长因子,神经营养因子,骨形态发生蛋白等许多因子及其受体表达^[25,27]。雄性激素控制鹿茸生长的机制很复杂,有些现象还不能很好的解释。除了性激素调控外,有很多非生殖性的因素参与这个过程,营养、光照、各种生长因子及其受体也与其相关,调控鹿茸生长发育的信号通路有许多。

4.2 鹿茸干细胞 鹿茸再生没有出现去分化的状态,是一种基于干细胞的过程。骨膜是很好的鹿茸干细胞组织,它是一种后生组织,有很强的自我分化能力,这种干细胞组织的自我分化能力已通过体内骨膜进行自体移植、同种异体移植、异种移植进行了研究研究。利用鹿茸干细胞模型和最先进技术,如激光显微解剖镜、微阵列分析等方法,发现新基因和控制干细胞自我分化的特异调控通路。Park等^[2]从鹿茸生长顶端组织(干细胞组织)筛选出大量的细胞生长和信号转导相关调控因子。用鹿茸干细胞组织模型来研究这些信号中心如何起始和调控这些干细胞组织是非常有意义。

干细胞组织:鹿茸的生长是由于骨膜干细胞受到刺激。Li等^[7]利用遗传标记来追踪骨膜细胞系,证明了角柄和鹿茸是来源于骨膜,角柄和鹿茸内部所有类型的细胞都是由骨膜细胞分化来的。因此,鹿茸是由骨膜细胞生长发育来的,骨膜细胞就是真正的鹿茸干细胞。从组织学上看,骨膜很像体细胞,由内部的细胞层和外部的纤维层组成。然而此处骨膜的细胞层比躯体骨膜的细胞层厚。在马鹿中,细胞层的厚度是面部骨膜的3.7倍。从超显微结构上来说,细胞层的细胞含有丰富的糖原等。这些细胞很像胚胎细胞。这些细胞内的糖原在前成骨细胞中主要作为能量的来源和合成细胞内黏性物质,当把这些骨膜细胞分离后进行体外培养时,可形成大的骨瘤,组织诊断表明这些瘤具有很好的器官结构,像角柄或正在生长的鹿茸的骨小梁结构。这个骨瘤中间有更多分化的细胞并且分泌细胞外基质,包括胶原,而周围很少有分化的细胞^[7]。Berg等^[29]体外培养来源于未分化的骨膜细胞,利用这些多能干细胞及其分化的后代克隆鹿,通过微卫星DNA技术检测表明获得后代与进行核移植的细胞在遗传上是一致的。

快速生长组织:鹿茸的生长中心在鹿茸的顶端,称为顶端分生组织或间充质组织。从组织学上看,鹿茸顶部从顶端到基部是增殖区、成熟区、增生区、骨化区。鹿茸的快速生长是由于增殖区细胞的快速增殖。鹿茸顶端生长组织(间充质)与鹿茸顶端临近的和其他类型的组织有很大不同,表达许多细胞生长和信号相关的特有的蛋白^[28]。为了揭示鹿茸快速生长的分子水平的机制, Li等^[30-31]对增殖区的不同类型的组织进行了研究,增殖区的各种组织层经过组织学处理后能够清楚地被分开,并提出了一套适用的标准步骤处理鹿茸的快速生长组织样品的采样技术,满足在体外研究基因表达的样品处理要求。这些步骤已被组织学检查和经过Northern杂交的鹿茸顶端组织的EST序列的探针所确定是可行的。Gyurján等^[32]对鹿茸的间充质和软骨进行了基因研究,找出了间充质和前软骨中表达的基因,和软骨发育中的上调基因。鹿茸细胞进行特有的细胞分化,在鹿茸的间充质组织中有大量连接蛋白,显示透明质烷在顶端的形态发生中起着重要作用,且在鹿茸的快速生长区表达Matrilin蛋白和其他细胞外基质蛋白^[33]。

5 结论

鹿茸干细胞如何受到激活,又如何终止的?自身或环境的因素又是如何影响鹿茸干细胞的生长发育的信号通路?哪些信号调控网络参与其中?近来许多研究显示基于干细胞的鹿茸再生与肢体发育有着相似机制。如能了解鹿茸发育,细胞更新,修复发育成完整的器官等原理,就有可能攻克人类损伤组织的再生问题。鹿茸再生的干细胞生长发育信号通路也很重要,鹿茸生长可能并没有什么特殊的分子作用,这些分子所有的哺乳动物都有,但是为什么在鹿茸生长起着特殊的作用。性激素和环境因素相互作用控制着鹿茸干细胞的生长发育信号通路。鹿茸再生是生物学种的奥秘,它是研究再生过程的一个天然的模型。如果能够了解这种机制,对人类健康和人类组织和器官工程有很大的意义。干细胞能够发育成各种不同类型的细胞,可以修复自生的系统。干细胞可以为现在无法治疗的疾病,如老年痴呆症等神经系统类疾病,还有重要器官的治疗提供新的治疗方法^[34]。

总之,鹿茸的生长可以作为很多新的生物医学研究模型。如果能诠释鹿茸再生的分子机制,将能更好地促进了人类肢体的部分、全部再生的研究。相信生物医学研究者利用这个非常好的鹿茸模型,将对人类大有裨益。

6 参考文献

- Price J, Allen S. Exploring the mechanisms regulating regeneration of deer antlers. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2004;359(1445):809-822
- Price J, Fauchaux C, Allen S. Deer antlers as a model of Mammalian regeneration. *Curr Top Dev Biol* 2005;67:1-48

- Han M, Yang X, Taylor G, et al. Limb regeneration in higher vertebrates: Developing a roadmap. *Anat Rec B* 2005;287(1):14-24
- Brookes JP, Kumar A. Plasticity and reprogramming of differentiated cells in amphibian regeneration. *Nature Rev Mol Cell Biol* 2002;3:566 - 574
- Kierdorf U, Kierdorf H, Szuwart T. Deer antler regeneration: cells, concepts, and controversies. *J Morphol* 2007;268(8):726-738
- Li C, Mackintosh CG, Martin SK, et al. Identification of key tissue type for antler regeneration through pedicle periosteum deletion. *Cell Tissue Res* 2007;328(1):65-75
- Li C, Suttie JM. Deer antlerogenic periosteum: a piece of postnatally retained embryonic tissue? *Anat Embryol (Berl)* 2001;204(5):375-388
- Li C, Suttie JM. Histological studies of pedicle skin formation and its transformation to antler velvet in red deer (*Cervus elaphus*). *Anat Rec* 2000;260(1):62-71
- 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* 2007;307(2):95-105
- Li C, Suttie JM, Clark DE. Histological examination of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*). *Anat Rec* 2005;282A:163 - 174
- Fauchaux C, Nesbitt SA, Horton MA, et al. Cells in regenerating deer antler cartilage provide a microenvironment that supports osteoclast differentiation. *J Exp Biol* 2001;204(Pt 3):443-455
- Fauchaux C, Horton MA, Price JS. Nuclear localization of type I parathyroid hormone/parathyroid hormone-related protein receptors in deer antler osteoclasts: evidence for parathyroid hormone-related protein and receptor activator of NF-kappaB-dependent effects on osteoclast formation in regenerating mammalian bone. *J Bone Miner Res* 2002;17(3):455-464
- Colitti M, Allen SP, Price JS. Programmed cell death in the regenerating deer antler. *J Anat* 2005;207(4):339-351
- Li C, Harris AJ, Suttie JM. Tissue interactions and antlerogenesis: new findings revealed by a xenograft approach. *J Exp Zool* 2001;290(1):18-30
- Yang HO, Park JS, Cho SH, et al. Stimulatory effects of monoacyldiglycerides on hematopoiesis. *Biol Pharm Bull* 2004;27(7):1121-1125
- Yang HO, Kim SH, Cho SH, et al. Purification and structural determination of hematopoietic stem cell-stimulating monoacyldiglycerides from *Cervus nippon* (deer antler). *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2004;52(7):874-878
- Li C, Littlejohn RP, Corson ID, et al. Effects of testosterone on pedicle formation and its transformation to antler in castrated male, freemartin and normal female red deer (*Cervus elaphus*). *Gen Comp Endocrinol* 2003;131(1):21-31
- Kierdorf U, Kierdorf H, Schultz M, et al. Histological structure of antlers in castrated male fallow deer (*Dama dama*). *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004;281(2):1352-1362
- Gu L, Mo E, Yang Z, et al. Expression and localization of insulin-like growth factor-I in four parts of the red deer antler. *Growth Factors* 2007;25(4):264-279
- Ditchkoff SS, Spicer LJ, Masters RE, et al. Concentrations of insulin-like growth factor-I in adult male white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*): associations with serum testosterone, morphometrics and age during and after the breeding season. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001;129(4):887-895
- Allen SP, Maden M, Price JS. A role for retinoic acid in regulating the regeneration of deer antlers. *Dev Biol* 2002;251(2):409-423
- Barling PM, Lai AK, Nicholson LF. Distribution of EGF and its receptor in growing red deer antler. *Cell Biol Int* 2005;29(3):229-236
- Barling PM, Liu H, Matich J, et al. Expression of PTHrP and the PTH/PTHrP receptor in growing red deer antler. *Cell Biol Int* 2004;28(10):661-673
- Mount JG, Muzylak M, Allen S, et al. Evidence that the canonical Wnt signalling pathway regulates deer antler regeneration. *Dev Dyn* 2006;235(5):1390-1399
- Li C, Stanton JA, Robertson TM, et al. Nerve growth factor mRNA expression in the regenerating antler tip of red deer (*Cervus elaphus*). *PLoS ONE* 2007;2(1):e148
- Lord EA, Martin SK, Gray JP, et al. Cell cycle genes PEDF and CDKN1C in growing deer antlers. *Anat Rec (Hoboken)* 2007;290(8):994-1004
- Clark DE, Lord EA, Suttie JM. Expression of VEGF and pleiotrophin in deer antler. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2006;288(12):1281-1293
- Park HJ, Lee DH, Park SG, et al. Proteome analysis of red deer antlers. *Proteomics* 2004;4(11):3642-3653
- Berg DK, Li C, Asher G, et al. Red deer cloned from antler stem cells and their differentiated progeny. *Biol Reprod* 2007;77(3):384-394
- Li C, Clark DE, Lord EA, et al. Sampling technique to discriminate the different tissue layers of growing antler tips for gene discovery. *Anat Rec* 2002;268(2):125-130
- Li C, Suttie JM. Tissue collection methods for antler research. *Eur J Morphol* 2003;41(1):23-30
- Gyurján J Jr, Molnár A, Borsy A, et al. Gene expression dynamics in deer antler: mesenchymal differentiation toward chondrogenesis. *Mol Genet Genomics* 2007;277(3):221-235
- Korpos E, Molnár A, Papp P, et al. Expression pattern of matrilins and other extracellular matrix proteins characterize distinct stages of cell differentiation during antler development. *Matrix Biol* 2005;24(2):124-135
- Price JS, Allen S, Fauchaux C, et al. Deer antlers: A zoological curiosity or the key to understanding organ regeneration in mammals? *J Anat* 2005;207(5):603-618