

文章编号 :1001- 4721(2009)01- 0001- 04

通过组织移植揭示鹿生茸区骨膜与鹿茸形态关系的研究

高志光^{1,2} 杨福合¹ 邢秀梅¹ 李春义^{1*}

(1.中国农业科学院特产研究所,吉林 吉林 132109; 2.北华大学,吉林 吉林 132013)

摘要 鹿生茸区骨膜是角柄和初角茸生长的组织基础,然而,控制鹿茸生长形状的信息存在于何处目前尚不清楚,本研究利用鹿生茸区骨膜移植试验来揭示这一问题。结果表明,在角柄发生前将鹿生茸区骨膜移植到鹿的前额皮下后,第1年诱发生长了角柄或单枝鹿茸,第2年再生了具有眉枝的典型二杠茸。这一结果表明,控制鹿茸形状的信息存在于鹿生茸区骨膜中,而不是所谓的鹿中枢系统的“鹿茸生长中心”中。

关键词 鹿茸;生茸区骨膜;鹿茸形态;组织移植

中图分类号 S825 R622^{+.9} **文献标识码** A

Studies of the Relationship between Antlerogenic Periosteum and Deer Antler Shape Revealed by Antlerogenic Periosteum Transplantation

GAO Zhi- guang^{1,2}, YANG Fu- he¹, XING Xiu- mei¹, LI Chun- yi^{1*}(1.Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, CAAS., Jilin 132109, China ;
2.Beihua University, Jilin 132013, China)

Abstract It is known that antlerogenic periosteum is the histological bases for pedicle and antler formation. However, whether antler shape was controlled by antlerogenic periosteum or by so called “Antler Growth Centre” which was hypothesized to be located in the central nerve system was unknown. This study took tissue transplantation approach to elucidate this mechanism. The results showed that ectopically transplanted antlerogenic periosteum could form typical species- specific two- branched antlers. Consequently, we tentatively conclude that antler shape is controlled by antlerogenic periosteum itself.

Key words: Deer antler; Antlerogenic periosteum; Antler morphology; Tissue transplantation

鹿茸是雄性鹿的第二性征,其生长发育由体内雄激素水平的变化所控制^[1,2]。鹿茸是唯一能再生的哺乳动物器官,为我们提供了一个难得的研究哺乳动物器

官再生的模型^[3]。近年来,鹿茸生物学家们对这一模型进行了深入的研究。Li等^[4]发现鹿角柄的骨膜是鹿茸再生的组织基础,特别是角柄的骨膜细胞是鹿茸再生的

收稿日期 2009- 01- 09

基金项目 国家科技支撑计划项目(2006BAD06B06)

作者简介 高志光(1960-),男,吉林省吉林市人,北华大学教授,在读博士研究生,从事特种经济动物饲养的教学和研究。

*通讯作者 李春义(1959-),男,新西兰国籍,研究员,受聘于 AgResearch Invermay Agricultural Centre, Private Bag 50034, Mosgiel, New Zealand.

干细胞。究其原因,有限的角柄骨膜细胞之所以能够导致整个鹿茸的完全再生,是由于角柄的骨膜细胞来源于鹿未来生茸区的骨膜干细胞。

在鹿茸发生前,若将未来生茸区的骨膜切除,鹿将终生不能在生茸区生长出角柄和鹿茸;若将该骨膜移植到鹿体其他部位皮下的骨骼上,则会在该处生长异位的鹿茸^[5-6]。这些试验说明,角柄和鹿茸发生的关键信息包含在生茸区骨膜的细胞中。但由于异位生长的鹿茸在移植当年只生成不分权的单枝,没有种的特异性,所以 Bubenik^[7]提出鹿茸的形状是由鹿大脑的中枢神经系统所控制的,这种控制是通过中枢神经的某一部位与鹿生茸区骨膜建立的神经联系而实现的。他将中枢神经中的这一假定部位称为“鹿茸生长中心”^[8]。Bubenik 对这一现象的解释是,异位生长的鹿茸之所以是单枝,是由于移植的生茸区骨膜已与位于中枢神经系统中的“鹿茸生长中心”失去了神经联系的结果。但迄今为止,“鹿茸生长中心”论还未能得到试验的证实。本试验的目的是通过将生茸区骨膜移植到鹿的前额区,并对其异位生长的鹿茸进行 2 年的观察,来确定鹿茸的形态是由鹿的中枢神经控制,还是由生茸区骨膜本身来控制。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

试验动物是由中国农业科学院特产所实验鹿场选出 3 只(311 号、335 号、223 号)1 岁龄的、尚未鼓包的(还未发生角柄的)雄性东北梅花鹿。整个试验在圈养的条件下进行。试验鹿的饲养管理于非试验鹿相同。鹿眠宝、鹿醒宝由东北农业大学提供,批号 20060126。

1.2 方法

1.2.1 手术时间 2006 年 5 月,在生茸前、生茸区刚刚鼓包的时候进行。

1.2.2 手术 手术是在全麻醉(注射鹿眠宝,1.2 mL/只)的状态下进行的。手术前,将未来生茸区部位的毛刮净,用酒精和碘酒彻底消毒。以鹿头部额外脊为标志,在生茸区的内侧用手术刀做半月形切开,将切开的皮肤外翻以暴露生茸区骨膜。用手术刀和鼠牙镊子取下直径为 2.5cm 的骨膜(图 1A)。将切开的皮肤用丝绸线缝合。其后,用手术刀沿着两眼间最短距离切开一 20cm 长的横向切口,用镊子通过切口朝前下方将头皮与额骨分开,形成“兜”状,为生茸区骨膜植入做准备。用手术刀将“兜”内骨膜刮掉,然后将所取生茸区骨膜按原位方向(保持骨膜在原位的方向)植入(图 1B),并将皮肤缝合。最后解除麻醉(注射鹿醒宝,1.2 mL/只)将

鹿苏醒。



图 1A 骨膜的摘取

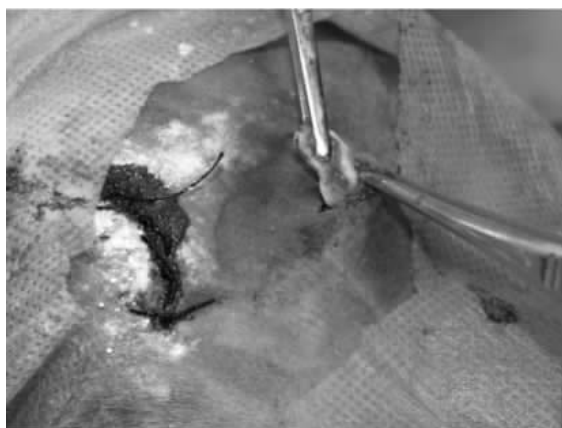


图 1B 骨膜的移植

1.2.3 观察 手术后每周观察 1 次并照相,直到角柄生长停止。然后,改为每 2 周观察 1 次并照相,直到鹿茸停止生长为止。骨角期每月观察 1 次,直到第 2 年春天脱角生茸,再回到每周 1 次并照相,观察到鹿茸生长停止时结束。

1.2.4 测量 在鹿茸生长结束时进行,将鹿只用以上同样的方法完全麻醉。测量内容,包括角柄和鹿茸的长度、分权的长度和基部的围度。

2 结果

2.1 第 1 年异位、原位鹿茸生长情况

在第 1 年试验结束时(表 1),311 号鹿在移植部位生长了 12cm 长的角柄和鹿茸(图 2A),335 号鹿在移植的部位生长了 4cm 长的角柄和鹿茸(图 2B),而 223 号鹿只生长了 1 个组织包(图 2C)。因此可以看出,异位角柄和初生鹿茸的大小并不完全取决于移植生茸区鼓膜面积的大小,异位角柄和初生鹿茸都显著小于原位的角柄和初生鹿茸。所以,这些衍生物的大小有可能还要依赖血液的供应情况。

表 1	第 1 年鹿茸生长情况 (2006 年)		
鹿号	位点	鹿茸生长停止时高度(cm)	形态
311	异位	12	不分杈
311	原位	22	不分杈
335	异位	4	不分杈
335	原位	18	不分杈
223	异位	仅有鼓包	
223	原位	17	不分杈



图 2A 311 号鹿第 1 年鹿茸生长状况



图 2B 335 号鹿第 1 年鹿茸生长状况

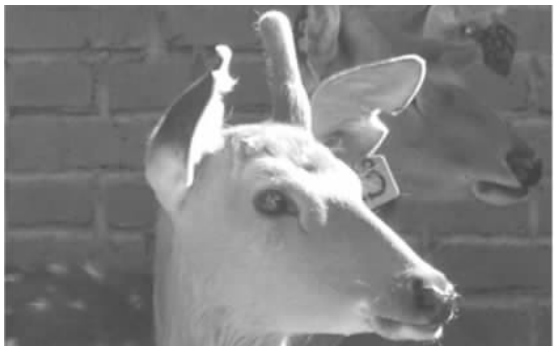


图 2C 223 号鹿第 1 年鹿茸生长状况

2.2 第 2 年异位、原位鹿角脱落和生长情况

实验结果表明 无论是第 1 年生长初角茸与否 第 2 年在移植部位都能正常脱盘 并且生长了比较典型的二杠茸(表 2 和图 3)。

表 2		第 2 年鹿茸生长情况		(2007 年)
鹿号	位点	脱盘时间(月.日)	形态	主干长度 (cm)
311	异位	5.12	二杠	21
311	原位	5.10	三杈	26
335	异位	5.15	二杠	18
335	原位	5.12	二杠	24
223	异位	5.25	二杠	15
223	原位	5.19	三杈	25



图 3A 311 号鹿第 2 年鹿茸生长状况



图 3B 335 号鹿第 2 年鹿茸生长状况



图 3C 223 号鹿第 2 年鹿茸生长状况

3 讨论

近年来,随着再生医学领域的迅猛发展,人类逐渐意识到靠自己本身的潜能有可能实现组织和器官(包括肢体)的再生,而不仅仅是愈合的最终结果为伤疤的形成。再生医学的科学家们很清楚,要挖掘人类这种潜能行之有效的措施之一是揭示自然界已存在的再生模型^[9]。这种模型虽然在自然界中不乏其例,如蝶螈、蜥蜴等,但这些都是低等动物,其再生机制能否适应于人类尚有待进一步探讨。鹿茸角是唯一能完全再生的哺乳动物器官,与人类的亲缘关系比低等生物更近,为我们提供了一个独特的哺乳动物器官再生的研究模型^[7]。

最近的研究证明,鹿茸的完全再生是干细胞依赖性再生,和低等动物的胚芽依赖性再生有着本质的区别^[8,9]。研究发现,鹿茸再生的干细胞存在于角柄的骨膜中^[3,10],而角柄的骨膜是由生茸区骨膜直接分化而来^[11]。虽然现在已经清楚生茸区骨膜是角柄和鹿茸发生的组织基础,但控制鹿茸形状信息的储存点尚未定论。Bubenik 提出鹿茸形状是由鹿大脑中枢的特定部位,即“鹿茸生长中心”所控制^[6],但至今未能得到实验的证实。本实验采用骨膜移植的手段证明移植的生茸区骨膜能够在异位诱发生长出典型的带有眉枝的二杠茸,说明控制鹿茸形状的信息储存在生茸区骨膜组织本身,而不是在所谓的“鹿茸生长中心”中。我们认为移植的骨膜不可能通过与“鹿茸生长中心”建立起新的神经联系来控制异位鹿茸的形态。理由是:1)什么神经末梢能重新分布到自体移植的组织上是随机的,因此要使同位移植的自体组织恢复其原来(甚至是部分)的功能都要进行神经断端的人工搭桥手术^[12]2)在我们的实验中,异位(在重新建立神经联系上要比同位移植困难得多)移植的生茸区骨膜都再生出了典型的二杠茸,这就意味着异位移植的生茸区骨膜在没有人工搭桥手术的帮助下都与大脑中的“鹿茸生长中心”建立起了完整的功能性联系。

总之,本实验结果不支持 Bubenik 提出的“鹿茸生长中心”论,即鹿茸形态由鹿大脑中枢神经所控制;相反,鹿茸的形态信息全部存在于局部生茸区骨膜本身。揭示复杂的鹿茸形态信息是如何储存在如此简单(仅 2 mm 左右厚的薄膜)和有限面积(直径约 2.5 cm)的骨膜中,将对生物医学研究领域有重要意义。

本实验结果还表明,即使是同样大的生茸区骨膜(直径 2.5cm)移植到同一部位(鹿的前额),不同鹿个体生长异位鹿茸的大小也不同。如 311 号鹿在第 1 年生长长期结束时,发育了正常的初角茸,而 223 号鹿只在移植的部位生长了个包形物。究其原因,异位鹿茸的大小可能取决于生茸区骨膜及其衍生组织在移植部位所重建的血液循环的成功程度,而与移植骨膜所含鹿茸干细胞的总数关系不大。重建的血液循环程度越高,营养

供应就会越充分,异位鹿茸生长的就会越大。如果重建的血液循环非常成功,异位生长的鹿茸有可能在其后的年份中形成有特异的三杈鹿茸。而移植骨膜所含鹿茸干细胞的总数有可能足以提供鹿一生中鹿茸生长所需的干细胞数,至少原位的生茸区骨膜是这样。这个理论同样可以解释本试验中所观察到的另一种现象,即异位生长的角柄和鹿茸总是小于原位的角柄和鹿茸。另外,我们还观察到异位角柄的长度明显短于原位角柄,从理论上讲,异位角柄的再生鹿茸的潜力可能会小于原位角柄。

参 考 文 献

- [1] 李春义,杜玉川.梅花鹿茸角生长发育各阶段血浆睾酮、雌二醇含量[J].特产科学实验,1987(1):56.
- [2] 高志光,李春义,刘钟安,等.梅花鹿鹿茸生长速度、骨化程度与睾酮、雌二醇、碱性磷酸酶关系的研究[J].畜牧兽医学报,1988,19(3):171.
- [3] Li C, Yang F, Li G, Gao X, Wei H, Deng X & Clark C. Antler regeneration: A dependent process of stem tissue primed via interaction with its enveloping skin. *Cell and Tissue Research* [J]. *J. Exp. Zool*, 2007, 307A:95-105.
- [4] Hartwig H & Schrudde J. Experimentelle Untersuchungen zur Bildung der primären Stirnauswuchse beim Reh (*Capreolus capreolus*) [J]. *Z. Jagdwiss*, 1974, 20:1-13.
- [5] Li C & Suttie JM. Deer antlerogenic periosteum: a piece of postnatally retained embryonic tissue? [J] *Anat Embryol(Berl)*, 2001, 204:375-388.
- [6] Bubenik G.A. Endocrine regulation of the antler cycle. In "Antler Development in Cervidae", (R. D. Brown Ed.), Caesar Kleberg Wildl [J]. Res. Inst., Kinsville, TX, 1983, 73-107.
- [7] Goss RJ & Powel RS. Induction of deer antlers by transplanted periosteum. I. Graft size and shape [J]. *The Journal of Experimental Zoology*, 1985, 235:359-373.
- [8] Li C, Suttie JM, Clark DE. Morphological observation of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *J Morphol*, 2004, 262(3):731-740.
- [9] Li C, Suttie JM, Clark DE. Histological examination of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 2005, 282(2):163-174.
- [10] Li C, Yang F, Xing X, Gao X, Deng X, Mackintosh C, Suttie JM. Role of heterotypic tissue interactions in deer pedicle and first antler formation- revealed via a membrane insertion approach [J]. *J Exp Zool B Mol Dev Evol*, 2008, 310B(3):267-277.
- [11] 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.
- [12] IJkema- Paassen J, Jansen K, Gramsbergen A, Meek MF. Transection of peripheral nerves, bridging strategies and effect evaluation [J]. *Biomaterials*. 2004, 25(9):1583-1592.