

鹿茸再生相关蛋白研究进展

王权威 董振 王桂武 杨福合 刘慧 李春义

(中国农业科学院特产研究所 特种动物分子生物学国家重点实验室, 长春 130112)

摘要：鹿茸是迄今为止发现的唯一能够周期性再生的哺乳动物器官，它的生长速度极快却没有发生癌变。而蛋白质是生命活动的体现者，是生命活动的功能执行者，鹿茸相关蛋白的研究是揭开鹿茸再生秘密的重要途径。综述了鹿茸再生相关蛋白的筛选、血管生成相关蛋白、软骨形成相关蛋白、神经再生相关蛋白以及其他与鹿茸再生相关蛋白的研究进展，旨在为从蛋白质水平上揭示鹿茸再生过程提供基础资料。

关键词：鹿茸再生相关蛋白；血管生成；软骨形成；神经再生

DOI: 10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2015.08.004

Research Progress on Proteins Related to Deer Antler Regeneration

Wang Quanwei Dong Zhen Wang Guiwu Yang Fuhe Liu Hui Li Chunyi

(State Key Lab for Molecular Biology of Special Animals/Institute of Special Animal and Plant Sciences, Chinese Academy of Agricultural Science, Changchun 130112)

Abstract: Deer antler is an only known mammalian organ that can periodically regenerate, and grow very rapidly without going cancerous. Proteins are the carrier and the function executor of life activities, the research of proteins related to deer antler is an important measure to unlock the secrets of antler's regeneration. The proteins involved in angiogenesis, cartilage formation, nerve regeneration and other functions during antler regeneration are reviewed which aims at providing basic data for revealing antler regeneration process at the protein level.

Key words: proteins related to deer antler regeneration; angiogenesis; cartilage formation; nerve regeneration

鹿茸是迄今为止发现的唯一能够完全再生的哺乳动物附属器官^[1]，生长速度极快却没有癌变。组织形态学研究发现^[2, 3]角柄骨膜(Pedicle periosteum, PP)是鹿茸再生必需的，鹿茸再生的生长中心也是由角柄骨膜细胞分化而来。而PP是由最初的生茸区骨膜(Antlerogenic periosteum, AP)直接衍生出来的。鹿茸发生的组织基础是生茸区骨膜，即AP^[4, 5]。AP细胞和PP细胞不仅表现出了胚胎干细胞的一些特性，也具有多潜能性^[4-8]。因此，AP细胞和PP细胞都是鹿茸干细胞，它们分别驱动了鹿茸发生和鹿茸再生。

研究发现，角柄骨膜远心端1/3部分与皮肤结合紧密，受到角柄皮肤的作用而处于致敏状态，正常生理条件下能够发育成完整的鹿茸组织，Li等^[9]称之为角柄骨膜致敏区(Potential pedicle periosteum, PPP)；相应的近心端2/3与皮肤结合疏松部分并没有被皮肤作用而处于休眠状态，正常生理条件下不能再生出完整的鹿茸组织，Li等称之为角柄骨膜休眠区(Distal pedicle periosteum, DPP)。因此，对于休眠区和致敏区的组织功能差异性研究是揭开鹿茸再生之谜的重要途径。

虽然鹿茸周期性再生过程的组织学研究已经有

收稿日期：2014-11-03

基金项目：国家科技支撑计划(2011BAI03B02)，国家“973”计划(2012CB722907)，吉林省自然科学基金项目(201115129)，吉林省科技支撑重点项目(20120965)

作者简介：王权威，男，硕士研究生，研究方向：鹿茸干细胞膜蛋白质组学；E-mail: wangquanwei@yahoo.com

通讯作者：王桂武，男，博士，副研究员，研究方向：特种经济动物遗传育种；E-mail: wangguiwu2005@163.com

杨福合，男，博士，研究员，研究方向：特种经济动物种质资源及遗传育种；E-mail: yangfh@126.com

较好的基础,但是鹿茸周期性再生的具体分子机制尚不清楚,激活鹿茸再生的关键蛋白或信号调控网络尚未可知。因此,本文将从鹿茸再生相关蛋白筛选、血管生成相关蛋白、软骨形成相关蛋白、神经再生相关蛋白以及其他鹿茸再生相关蛋白等几方面对鹿茸再生相关蛋白研究进展作一综述,旨在为从蛋白质水平上揭示鹿茸再生过程提供基础资料。

1 鹿茸再生相关蛋白的筛选

鹿茸再生相关蛋白的筛选是找出鹿茸再生相关蛋白从蛋白质水平上揭示鹿茸再生分子机制的基础。目前,鹿茸再生相关蛋白筛选的主要途径是鹿茸蛋白质组学研究。Li等^[10]对鹿茸APC细胞(APC)、PP细胞(PPC)以及面部骨膜细胞(FPC)3种细胞的蛋白质组进行分析。结果表明在APC中鉴定得到了66种蛋白,而PPC中鉴定得到了98种蛋白。其中可能与鹿茸发生相关的蛋白有钙结合蛋白(S100A4)、SPARC蛋白、转移生长因子-1、COL1A1、白细胞介素8(IL8)、COL6A1、凝溶胶蛋白(GSN)、丝切蛋白1(CFL1)、原肌球蛋白(TPM2)、原肌球蛋白(TPM3)、POU5F1、SOX2、NANOG蛋白等。对结果进行生物信息学分析发现PI3K/Akt、ERK/MAPK、p38/MAPK等细胞信号通路在鹿茸干细胞增殖时起作用。

徐代勋等^[11, 12]对DPP与PPP的蛋白质组进行比较分析与鉴定,发现PP1/3中存在着大量与生长和分化相关的生命活动。其中有6个与再生相关,即PKM2、MAPK1、PEDF、PRDX4、HSP90a和FBLN5,这些蛋白可能参与了鹿茸再生的相关分子调节与信号通路转导。

赵东^[13]和Gao等^[14]也分别用不同蛋白提取方法对不同鹿茸组织进行了蛋白质学研究,筛选出诸多鹿茸再生相关蛋白。

鹿茸蛋白质组学研究已经起步,为找到鹿茸再生关键蛋白奠定了基础。但同时可以看出,不同时期、不同部位、不同样品制备方法和不同分离鉴定技术所筛选出的与鹿茸生长发育相关蛋白的差异是很大的,这为寻找鹿茸再生关键蛋白带来了一定的困难。而如何对筛选出的进一步的分析、筛选并验证出鹿茸再生最关键的蛋白也是相关科研工作者必

须面临的问题。

2 鹿茸再生相关蛋白

2.1 血管生成相关蛋白

在一头赤鹿的生茸周期中有数百万角柄骨膜细胞的参与^[15]。鹿茸生长最快的时候,能够在两个月内生长发育为多种生理功能的成熟器官。这个过程中需要机体提供大量的营养物质,排除代谢产物,这就要求鹿茸组织内部必须含有强大的血管系统。研究已证实鹿茸中有一个完善的血管系统^[16],其血管来自于浅层颞颥动脉的分支。

2.1.1 成纤维细胞生长因子2 成纤维细胞生长因子2(Fibroblast growth factor 2, FGF-2)也称碱性成纤维细胞生长因子,活性FGF-2可以通过肝素硫酸盐蛋白多糖与酪氨酸激酶受体性质的FGFR结合,激活PKC、Ras/Raf/MEK/ERK、JAK/STAT和PI3K等信号传导通路,而这些信号通路之间也有相互作用,同时FGF-2对这些信号通路的激活也受到一些细胞因子的调节,以上过程形成了复杂的网络调节机制,参与调节细胞增殖、分化、恶性转化、损伤的修复以及血管发生等生理过程。在牛黄体溶解过程中,FGF-2抑制血小板反应蛋白(THBS1)的表达^[17],而血小板反应蛋白是抑制血管生成的,因此FGF-2能够通过抑制THBS1的表达间接促进血管生成。Lai等^[18]研究发现FGF-2能够通过诱导VEGF的表达,刺激和维持鹿茸中的血管形成和血管新生。

2.1.2 血管生长因子和多效生长因子 血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)在机体内分布广泛,有6个为亚型,在正常机体、病理性和肿瘤新生血管形成过程中起重要作用。其中VEGF-D可以作为诊断恶性肿瘤转移性胸腔积液的一种标记物^[19]。

多效生长因子(Pleiotrophin, PTN)是肝素结合蛋白超家族的成员。其在正常止血、血管再生、维持髓系和淋巴组织再生的平衡过程中起重要的调控作用,在血管老化的过程中,PTN能够诱导血管新生^[20, 21]。

鹿茸的前软骨区和软骨区内均有VEGF的表达,在前软骨区的内皮细胞中发现了VEGF受体,在前软骨区和血管平滑肌细胞有PTN的表达^[22]。目前

研究认为 VEGF 参与了鹿茸内血管生成, 而前软骨区 PTN 基因的高表达表明 PTN 可能参与了血管生成和软骨形成。前软骨区均有 VEGF 和 PTN 的表达, 它们在鹿茸血管再生过程中是否存在协同作用有待验证。

2.1.3 血管生成素 血管生成素 (Angiopoietin, Ang) 是一个重要的促血管生成因子家族。在梅花鹿中有 Ang-1 和 Ang-2 的表达, Ang-1 在间充质层和前软骨层、真皮层和过渡层、软骨层内的表达量逐次递减, 而 Ang-2 在真皮层和间充质层内表达量很高。因此, 血管生成素可能在鹿茸的快速生长、鹿茸内血管的快速形成、鹿茸软骨的发育成熟等方面起重要调节作用。Li 等^[23] 研究发现剪应力可以通过 wnt 信号通路激活血管内皮细胞中的 Ang-2, 进一步通过 Wnt-Ang-2 信号通路参与斑马鱼胚胎的血管发育和修复过程。VEGF 和 Ang 在促进血管生成的同时, 也会导致炎症反应。不同的炎性细胞间通过自分泌或旁分泌作用与 VEGF 或 Ang 结合, 反过来又可以为血管生成和成熟提供一个适宜的微环境^[24]。

此外, 在鹿茸和角柄骨膜中也存在着动物半乳糖凝集素 1 (Galectin-1) 和色素上皮衍生因子 (Pigment epithelium-derived factor, PEDF)。Galectin-1 参与血管生成过程, 而 PEDF 则被认为能够抑制血管生成。

2.2 软骨形成相关蛋白

鹿茸再生过程包括鹿茸发生、生长、血管生成、神经再生及软骨形成等过程。最初间质细胞快速增殖, 发育到一定程度以后间质细胞开始分化为前软骨细胞, 前软骨细胞再分化为软骨细胞, 至软骨形成。

2.2.1 甲状旁腺素相关肽 甲状旁腺素相关肽 (Parathyroid hormone-related protein, PTHrP) 是一种碱性单链多肽。Kronenberg 等^[25] 研究发现, PTHrP 能在发育的骨骼调控软骨细胞的分化。研究证实 PTHrP 在鹿茸的软骨膜、间充质层、软骨祖细胞和鹿茸软骨的血管周围组织细胞中均有很高水平的表达, 在覆盖在骨组织上的骨膜和软骨膜中也有表达, 甚至被认为是鹿茸祖细胞的一个表型标记分子。在鹿茸中, PTHrP 能够抑制软骨细胞的分化却促进其

增殖, 这就可以防止鹿茸软骨细胞过早的肥大, 保持增殖状态, 这对鹿茸软骨的生长发育非常重要。在鹿茸再生过程中, PTHrP 还能够刺激鹿茸破骨细胞的形成。因此, PTHrP 对不同类型鹿茸细胞的分化均有调控作用。

2.2.2 转化生长因子 转化生长因子 (Transforming growth factor, TGF) 主要存在于成纤维细胞及上皮细胞内。在骨的形成和重建中, TGF- β 1 能够协调骨形成和重建中间充质细胞、成骨细胞以及破骨细胞的活动。鹿茸顶部存在 TGF- β 1 和 TGF- β 2 的表达, 鹿茸 TGF 能够提高大鼠试验性骨折的愈合速度, TGF 可能参与了鹿茸再生过程中的软骨细胞增殖和生长。此外, TGF- β 能够与经典及非经典 Wnt 信号通路协同诱导激活上皮细胞向间质细胞转化, 使之维持间质细胞状态^[26]。而鹿茸组织中软骨细胞形成的最初阶段就是间质细胞的快速增殖, 因此 TGF- β 信号通路在鹿茸软骨组织快速形成过程的分子机制及作用有待研究。

2.2.3 骨形态发生蛋白 骨形态发生蛋白 (Bone morpho-genetic proteins, BMPs) 是一类与胚胎骨骼形成有关的生长分化因子家族, 是促进成骨的主要因子, 对骨原细胞的分化起决定性作用。研究发现驯鹿中 BMPs 具有较高的骨形成活性^[27], 且一定量的驯鹿 BMPs 和重组人骨形态发生蛋白能够有效诱导兔子桡骨骨折的愈合^[28]。因此, BMPs 可能参与了鹿茸再生过程中软骨组织的生长发育。而 BMPs 又能够诱导间充质细胞分化为骨和软骨, 软骨是鹿茸中最大的组织且鹿茸软骨形成的初始过程就是间充质细胞的快速增殖和分化, 因此 BMPs 可能在鹿茸软骨形成过程中发挥重要作用。

此外, 表皮生长因子 (Epidermal growth factor, EGF)、神经生长因子 (Nerve growth factor, NGF) 等多种生长因子也参与了鹿茸软骨生成和发育过程。

2.3 神经再生相关蛋白

鹿茸再生除了茸皮转化、血管生成和软骨形成外, 还包括神经组织的快速生长, 神经组织的生长速度甚至能够达到 1 cm/d。在鹿茸组织中, 血管生成的区域一般都伴有神经生成。

2.3.1 神经生长因子 神经生长因子 (Nerve growth

factor, NGF) 是神经元再生、生长发育过程中的重要调控因子。NGF 在赤鹿茸主干顶部、中部和根部 3 个部位均有表达, 且含量递减^[29]。在赤鹿鹿茸中也发现了神经生长因子-3 (Neurotrophin 3, NT-3) 的表达^[30], 且 NT-3 在鹿茸中的分布特点与神经在鹿茸中的分布特点一致, 即顶部表皮层高表达, 软骨层低表达。因此, NT-3 可能与鹿茸再生过程中的神经组织快速生长发育有关。此外, NGF 主要存在于新生鹿茸的动脉和小动脉的平滑肌内。在新生鹿茸神经轴突形成以前, NGF 能够促进和维持血管生成, 还能指引神经组织中的定向延伸^[31]。因此, 是否 NGF 就是导致鹿茸中神经组织伴随血管生成的主要因子有待进一步的研究。

2.3.2 可溶性半乳糖凝集素结合蛋白 1 可溶性半乳糖凝集素结合蛋白 1 (LGALS1) 是一种糖结合蛋白, 是肿瘤发生的标志和治疗靶标, 具有调节骨骼肌生长和促进神经组织生长等作用。研究发现 LGALS1 在 APC 和 PPC 中均有表达^[10]。由于鹿茸中没有肌肉组织, 所以 LGALS1 在鹿茸再生中可能参与了神经组织生长过程。LGALS1 的表达受许多因子的影响, 包括视黄酸 (Retinoic acid, RA)。RA 可以影响鹿茸再生的生长速度及位置信息, 它在鹿茸再生中起着重要的作用。因此, LGALS1 可能在鹿茸再生中起到重要作用。LGALS1 蛋白可能调控 MYC、MYCN 和 NANOG 的表达等或者被其所调控, 但有待证实。

此外, 表皮生长因子能够促进神经干细胞生长分化。动物半乳糖凝集素 1、色素上皮衍生因子和多效生长因子参与神经修复、神经营养、神经系统发育等过程。从鹿茸中提取出的一些多肽, 如 PAP、CNTF-I、CNTF-II、CNTF-III 和 CNT14 等在促进神经生长发育等过程起到一定作用。Garcia-Gutierrez 等^[32] 研究发现 PTN 能够间接提高诱导神经元分化水平。

3 其他鹿茸再生相关蛋白

3.1 动物半乳糖凝集素 1

动物半乳糖凝集素 (Galectin-1, GAL-1) 是动物半乳糖凝集素家族中的一员, 可能参与了鹿茸再生的软骨形成、血管再生以及神经再生修复等过程。

体外培养时, GAL-1 在 APC 和 PPC 中的表达量远高于 FPC^[33]。同时, 研究发现 GAL-1 也存在于鹿茸尖端, GAL-1 还在胚胎干细胞中起着重要的作用。因此, GAL-1 是否在激活鹿茸发生和年复一年的再生过程中起作用是一个非常值得探究的命题。人体内过表达一般会引发癌症, 鹿茸干细胞中 GAL-1 高表达却并未引起鹿茸组织癌变, GAL-1 在鹿茸干细胞中的研究至关重要。对其在鹿茸再生过程和肿瘤发生过程中的作用机制进行比对, 将为肿瘤研究、预防和治疗等方面提供新的理论指导。

3.2 胰岛素样生长因子 1

胰岛素样生长因子家族 (Insulin-like growth factors, IGF) 包括 IGF-1 和 IGF2, 是一类具有多种生理功能的因子, 能够介导生长激素的生长活性的启动, 对绝大多数的组织及特定类型的细胞生长、分化和分化后功能的维持进行调节。在快速生长的鹿茸中, IGF-1 的表达水平也上升。IGF1 不但与鹿茸生长有关, 还与角柄的形成及鹿茸的骨化有关^[34]。因此, IGF1 可能参与了鹿茸再生的激活。Sadighi^[35] 证实了 IGF 具有刺激细胞分裂、促进细胞合成以及控制鹿茸生长的作用。IGF 参与鹿茸生长发育、细胞增殖分化等诸多生理过程, 是鹿茸再生过程中刺激其生长的主要生长因子。

3.3 色素上皮衍生因子和周期素依赖性蛋白激酶抑制物

Lord 等^[36] 在快速生长的鹿茸茸尖中发现了两个显著的细胞周期调控因子: 色素上皮衍生因子 (Pigment epithelium-derived factor, PEDF) 和周期素依赖性蛋白激酶抑制物 (Cyclin dependent protein kinase inhibitor, CDKN1)。其中, 在皮肤、软骨和骨软骨内成骨等发育过程中均检测到 PEDF 的 mRNA, 但只在前软骨内的不成熟的软骨细胞中检测到了 CDKN1C 的 mRNA 的表达。

PEDF 参与神经营养、抑制新生血管、抗肿瘤^[37] 等生理过程, 具有抗炎以及抑制细胞凋亡等抗氧化活性。鹿茸在快速生长过程中, 产生大量的活性氧簇代谢产物, 不及时清除可能会导致组织和细胞的死亡, PEDF 的存在可以清除这些代谢产物, 保证鹿茸正常的生长发育。

周期素依赖性蛋白激酶抑制物 (CDKN1) 是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂家族中的重要成员, 又作 P21。CDKN1C 是胶原类型 X 表达所必需的调控因子, 可能对软骨细胞分化具有直接作用。软骨细胞增殖时, CDKN1C 表达量下降, 刺激 PTHrP 表达, 进而刺激软骨细胞的增殖。此外, CDKN1 还具有细胞增殖分化、抗衰老和调控细胞凋亡的功能, 能够抑制癌症发生。PEDF 和 CDKN1C 是鹿茸生长过程中参与细胞增殖和分化的重要蛋白。

4 结语

鹿茸周期性再生的组织学基础已经有了答案, 但是激活鹿茸再生的关键蛋白或信号网络仍不得而知。从技术手段上看, 蛋白质组学最新技术手段仍没有运用到鹿茸上; 相关蛋白质组学研究也没能从鹿茸 APC、PPP 细胞、DPP 细胞和 FPC 等方面进行全面的研究。信号通路网络是解释分子机制的重要途径, 研究鹿茸再生分子机制也可以从信号通路研究入手。对于已筛选出的可能与鹿茸再生相关蛋白质的进一步分析、筛选以及功能验证也是科研工作者需要面临的问题。

对鹿茸再生过程各阶段起重要作用的蛋白已有一些研究发现, 但从鹿茸再生的各阶段看, 激活和诱导血管及神经的生成, 以及迁移过程的主要蛋白尚未找到。鹿茸中血管生成的区域一般都伴有神经再生, 所以神经再生与血管生成的分子机制的关系有待研究。鹿茸中软骨是主要组织, 许多学者也找到了其调控过程的诸多蛋白, 但是这些蛋白的具体分子机理和相互作用机制仍待进一步研究。

参考文献

- [1] 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*) [J]. Gen Comp Endocrinol, 2003, 131 (1): 21-31.
- [2] Li C, Suttie JM. Deer antlerogenic periosteum: a piece of postnatally retained embryonic tissue? [J]. Anat Embryol (Berl), 2001, 204 (5): 375-388.
- [3] 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.
- [4] Li C. Development of deer antler model for biomedical research [J]. Recent Adv Res Updates, 2003, 4: 256-274.
- [5] 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, 3 (4): e2064.
- [6] Beekman C, Nichane M, De Clercq S, et al. Evolutionarily conserved role of nucleostemin: controlling proliferation of stem/progenitor cells during early vertebrate development [J]. Mol Cell Biol, 2006, 26 (24): 9291-9301.
- [7] Maki N, Takechi K, Sano S, et al. Rapid accumulation of nucleostemin in nucleolus during newt regeneration [J]. Dev Dyn, 2007, 236 (4): 941-950.
- [8] Berg DK, Li C, Asher G, et al. Red deer cloned from antler stem cells and their differentiated progeny [J]. Biol Reprod, 2007, 77 (3): 384-394.
- [9] Li C, Suttie JM. Tissue collection methods for antler research [J]. Eur J Morphol, 2003, 41 (1): 23-30.
- [10] Li C, Harper A, Puddick J, et al. Proteomes and signalling pathways of antler stem cells [J]. PLoS One, 2012, 7 (1): e30026.
- [11] 徐代勋. 梅花鹿鹿茸角柄骨膜不同部位差异蛋白的筛选 [D]. 镇江: 江苏科技大学, 2011.
- [12] 徐代勋, 王桂武, 赵海平, 等. 梅花鹿角柄骨膜蛋白质组学初步研究 [J]. 特产研究, 2011, 33 (1): 1-4.
- [13] 赵东. 梅花鹿鹿茸双向电泳体系建立及蛋白质组学的研究 [D]. 镇江: 江苏科技大学, 2012.
- [14] Gao L, Tao D, Shan Y, et al. HPLC-MS/MS shotgun proteomic research of deer antlers with multiparallel protein extraction methods [J]. Journal of Chromatography B, 2010, 878 (32): 3370-3374.
- [15] Li C, Suttie JM, Clark DE. Morphological observation of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. J Morphol, 2004, 262 (3): 731-740.
- [16] Park HJ, Lee DH, Park SG, et al. Proteome analysis of red deer antlers [J]. Proteomics, 2004, 4 (11): 3642-3653.
- [17] Farberov S, Meidan R. Functions and transcriptional regulation of thrombospondins and their interrelationship with fibroblast growth factor-2 in bovine luteal cells [J]. Biol Reprod, 2014, 91 (3): 58.
- [18] Lai AK, Hou WL, Verdon DJ, et al. The distribution of the growth

- factors FGF-2 and VEGF, and their receptors, in growing red deer antler [J]. *Tissue and Cell*, 2007, 39 (1): 35-46.
- [19] Maa HC, Chao TT, Wang CY, et al. VEGF-D as a Marker in the aid of malignant metastatic pleural effusion diagnosis [J]. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*, 2014, 23 (3): 209-214.
- [20] Istvanffy R, Kröger M, Eckl C, et al. Stromal pleiotrophin regulates repopulation behavior of hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 2011, 118 (10): 2712-2722.
- [21] Besse S, Comte R, Fréchault S, et al. Pleiotrophin promotes capillary-like sprouting from senescent aortic rings [J]. *Cytokine*, 2013, 62 (1): 44-47.
- [22] Clark DE, Lord EA, Suttie JM. Expression of VEGF and pleiotrophin in deer antler [J]. *Anat Rec*, 2006, 288A: 1281-1293.
- [23] Li R, Beebe T, Jen N, et al. Shear stress-activated wnt-angiopoietin-2 signaling recapitulates vascular repair in zebrafish embryos [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34 (10): 2268-2275.
- [24] Sinnathamby T, Yun TJ, Clavet-Lanthier ME, et al. VEGF and angiopoietins promote inflammatory cell recruitment and mature blood vessel formation in murine sponge/Matrigel model [J]. *J Cell Biochem*, 2014, 116 (1): 45-57.
- [25] Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate [J]. *Nature*, 2003, 423: 332-336.
- [26] Scheel C, Eaton EN, Li SH. Paracrine and autocrine signals induce and maintain mesenchymal and stem cell states in the breast [J]. *Cell*, 2011, 145 (6): 926-940.
- [27] Jortikka L, Martinen A, Lindholm TS. Partially purified reindeer (*Rangifer tarandus*) bone morphogenetic protein has a high bone-forming activity compared with some other artiodactyls [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1993, 207: 31-35.
- [28] Pekkarinen T, Jämsä T, Määttä M, et al. Reindeer BMP extract in the healing of critical-size bone defects in the radius of the rabbit [J]. *Acta Orthop*, 2006, 77 (6): 952-959.
- [29] 郝林琳, 刘松财, 张明军, 等. 鲜马鹿茸不同部位多肽的提取及含量比较 [J]. *吉林农业大学学报*, 2007, 29 (4): 378-80, 383.
- [30] Garcial RL. Expression of NT-3 in the growing valver antler of the red deer cervus elaphus [J]. *J Mol Endocrinol*, 1997, 19 (2): 173-182.
- [31] Li C, Stanton JA, Robertson TM, et al. Nerve growth factor mRNA expression in the regenerating antler tip of red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *PLoS One*, 2007, 2 (1): e148-155.
- [32] Garcia-Gutierrez P, Juarez-Vicente F, Wolgemuth DJ, et al. Pleiotrophin antagonizes Brd2 during neuronal differentiation [J]. *J Cell Sci*, 2014, 127 (11): 2554-2564.
- [33] Harper A, Li C. Identifying ligands for S100A4 and galectin-1 in antler stem cells. Queenstown Molecular Biology Meetings: Q35 [C]. New Zealand: The Queenstown Molecular Biology Meeting Society Inc, 2009.
- [34] Boudignon BM, Bikle DD, Kurimoto P, et al. Insulin-like growth factor 1 stimulates recovery of bone lost after a period of skeletal unloading [J]. *J Appl Physiol*, 2007, 103 (1): 125-131.
- [35] Sadighi M. Effect of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-II on the growth of antler cells *in vitro* [J]. *J Endocrinol*, 1994, 143 (3): 461-469.
- [36] Lord EA, Martin SK, Gray JP, et al. Cell cycle genes PEDF and CDKN1C in growing deer antlers [J]. *The Anatomical Record*, 2007, 290: 994-1004.
- [37] Hong H, Zhou T, Fang S, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) inhibits breast cancer metastasis by down-regulating fibronectin [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2014, 148 (1): 61-72.

(责任编辑 狄艳红)