

血管化鹿茸软骨组织与骨组织修复

付晶¹, 褚文辉², 孙红梅², 李春义², 马丽娟³(¹吉林农业大学中药材学院, 吉林省长春市 130000; ²中国农业科学院特产研究所, 吉林省长春市 130000; ³吉林农业科技学院, 吉林省吉林市 132000)

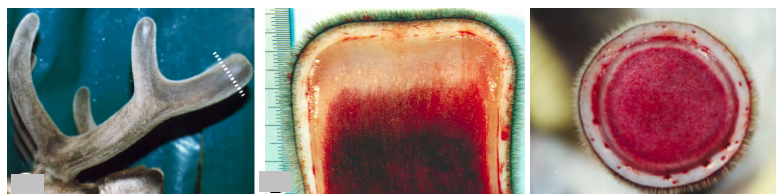
引用本文: 付晶, 褚文辉, 孙红梅, 李春义, 马丽娟. 血管化鹿茸软骨组织与骨组织修复[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(46): 6970-6977.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.46.018

ORCID: 0000-0002-2190-0265(马丽娟)

文章快速阅读:

鹿茸血管化软骨组织



鹿茸软骨内含有丰富的血管, 是一种非常特殊的软骨组织, 它可以在自然条件下自我修复再生, 并且速度惊人。鹿茸可为研究哺乳动物软骨组织快速生长及血管化提供一个良好的模型。

付晶, 女, 1992年生, 吉林省吉林市人, 汉族, 吉林农业大学中药材学院在读硕士, 主要从事特种经济动物饲养方面的研究。

通讯作者: 马丽娟, 硕士生导师, 吉林农业科技学院, 吉林省吉林市 132000

中图分类号: R318

文献标识码: A

文章编号: 2095-4344

(2016)46-06970-08

稿件接受: 2016-09-14

文题释义:

鹿茸: 鹿茸是惟一一个可以完全周期性再生的哺乳动物器官。软骨是机体内特殊的一种组织, 这种组织只含单一细胞(即软骨细胞), 并且没有血管分布。而鹿茸软骨内含有丰富的血管, 是一种非常特殊的软骨组织, 它可以在自然条件下自我修复再生, 并且速度惊人。

骨组织工程: 主要有3个重要因素, 包括种子细胞、生长因子和生物载体支架, 其中以种子细胞和支架材料在修复骨缺损中取得了一定的成功, 但仅限于无血管的小范围缺损修复, 对于哺乳动物来说, 较大范围的软骨缺损由于缺乏充足的血液提供, 组织工程材料在体内不能很快的与机体建立起良好有效的血液循环, 导致成骨效果不稳定, 进而发生坏死现象。血管不仅能向组织供给充沛的营养物质, 还能将组织修复所需的种子运输到损伤部位, 因此, 血管生成是决定骨组织工程成功与否的一个重要因素。

摘要

背景: 鹿茸是惟一可以周期性再生的哺乳动物类器官, 其软骨组织内富含血管。研究鹿茸血管化的软骨, 对于揭开鹿茸独特的生物学特性以及对骨组织修复和再生医学有重要的意义。

目的: 综述鹿茸软骨组织中血管的分布、鹿茸中血管的发生过程及机制探索、影响鹿茸血管生成的细胞因子, 分析鹿茸模型对于骨组织工程的独特优势, 为组织工程中骨组织的修复提供医学参考。

方法: 检索PubMed与CNKI数据库。在PubMed中的检索词为 deer antler, Bone tissue engineering, vascularized cartilage; 在CNKI数据库中的检索词为鹿茸, 骨组织工程, 鹿茸血管化软骨。纳入涉及鹿茸组织学与形态学、鹿茸软骨、血管化软骨以及骨组织工程研究的相关文章, 排除与内容无关和重复文章。

结果与结论: 通过初检与筛选共纳入51篇文献; 鹿茸是一种可以周期性再生的软骨/骨组织, 与关节软骨不同鹿茸的软骨组织内含有丰富的血管, 且生长速度极快可达2.7 cm/d; 目前国内外学者已经对鹿茸软骨组织的血管化进行了初步研究, 并取得了一定的研究成果。通过探讨鹿茸软骨组织中血管的分布, 鹿茸中血管的发生过程与机制, 以及影响鹿茸血管生成的细胞因子, 分析鹿茸模型对于骨组织工程的独特优势, 对利用鹿茸软骨组织血管化机制在临床上进行工程软骨血管化提供参考。

关键词:

组织构建; 骨组织工程; 鹿茸; 血管; 血管化; 细胞因子; 软骨组织; 骨修复; 综述; 吉林省自然科学基金

主题词:

新生血管化, 生理性; 细胞因子类; 软骨; 组织工程

基金资助:

吉林省自然科学基金(20140101139JC)

Fu Jing, Studying for master's degree, Medicinal Materials College of Jilin Agricultural University, Changchun 130000, Jilin Province, China

Corresponding author: Ma Li-juan, Master's supervisor, Jinlin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132000, Jilin Province, China

Vascularized antler cartilage and bone tissue repair

Fu Jing¹, Chu Wen-hui², Sun Hong-mei², Li Chun-yi², Ma Li-juan³ (¹Medicinal Materials College of Jilin Agricultural University, Changchun 130000, Jilin Province, China; ²Institute of Special Animal and Plant Sciences of CAAS, Changchun 130000, Jilin Province, China; ³Jinlin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132000, Jilin Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Deer antlers are the only known mammalian organ that can regenerate periodically, and its cartilage is rich in blood vessels. Study on deer antler vascularized cartilage can uncover the antler biological characteristics and is of vital significance for bone repair and regenerative medicine.

OBJECTIVE: To review the distribution of blood vessels in antler cartilage tissue, the generating process and mechanism of blood vessels, cytokines influencing angiogenesis, and to analyze the features of deer antler models in bone tissue engineering, providing medical reference for bone repair.

METHODS: A computer-based online search of PubMed and CNKI databases was performed using the keywords of "deer antler, bone tissue engineering, vascularized cartilage" in English and Chinese, respectively. Articles concerning antler histology, morphology, antler cartilage and vascularized cartilage and bone tissue engineering were enrolled and repetitive studies and irrelevant articles were excluded.

RESULTS AND CONCLUSION: Fifty-one eligible articles were selected finally. Deer antler is a kind of periodic regenerative bone, and antler cartilage is different from normal cartilage that is rich in blood vessels with the growth speed of 2.7 cm/day. Scholars have studied the vascularization of antler cartilage tissue, and obtained some achievements. Exploring the distribution of antler blood vessels in cartilage tissue, the generating process and mechanism of antler blood vessels, the cytokines acting on antler angiogenesis, as well as analyzing the advantages of deer antler model for bone tissue engineering provide a reference for tissue-engineered cartilage vascularization.

Subject headings: Neovascularization, Physiologic; Cytokines; Cartilage; Tissue Engineering

Funding: the Natural Science Foundation of Jilin Province, No. 20140101139JC

Cite this article: Fu J, Chu WH, Sun HM, Li CY, Ma LJ. Vascularized antler cartilage and bone tissue repair. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(46):6970-6977.

0 引言 Introduction

目前在国内由于创伤和各种疾病引起的骨缺损的患者数在逐年递增。骨组织自身的修复能力差,由于交通事故,意外伤害及疾病等原因造成骨质缺损后,原有的骨组织内形成较大间隙,尤其是大段骨组织缺损后,机体自身往往无法修复,或者仅能形成有限的修复,严重的需要截肢给病人和社会带来极大的负担和不便。早期采用自体或异体骨移植等传统的修复方法治疗骨缺损,这些方法不仅对机体有较大的损伤且效果并不理想;之后利用人工合成骨替代物来进行修复,但是这种方法存在很多的不足,如生物相容性差、在体内降解慢、机械性能低等,所以并没有被广泛推广;近些年骨组织工程的出现为骨缺损的修复带来新希望,尤其为大段骨缺损的临床治疗提供了可能^[1-7]。与之前的方法相比骨组织工程存在许多优点,可以减轻自体、异体骨移植带来的手术区疼痛、降低术后感染的风险、减少免疫排斥反应的发生等一系列不利因素^[8]。骨组织工程相比于传统的骨修复手段,其优势在于可以用少量组织或细胞对

大面积组织的缺损进行修复。

骨组织工程的出现为骨修复带来希望,骨组织工程主要有3个重要因素,包括种子细胞、生长因子和生物载体支架^[9],其中以种子细胞和支架材料构建的工程骨在骨组织工程修复中取得了一定的成功,但仅限于无血管的小范围缺损修复,对于哺乳动物来说,较大范围的骨缺损由于缺乏充足的血液提供,组织工程材料在体内不能很快的与机体建立起良好有效的血液循环,导致成骨效果不稳定,进而发生坏死现象。血管不仅能向组织供给充沛的氧气及营养物质,还能将组织修复所需的种子运输到损伤部位,因此,血管生成是决定骨组织工程成功与否的一个重要因素^[10-12]。提出血管化组织工程来修复骨的方案一方面是基于成功的临床实践经验,另一方面是为更切合生理学要求的组织工程骨的构建奠定基础。因此,如何提高工程骨的存活效率,构建适合于工程骨存活的循环系统即构建血管化骨组织是目前组织工程领域中的一个研究焦点。

鹿茸为构建血管化工程骨提供了有益的借鉴。鹿

茸是一种天然软骨/骨复合组织,其周期性的生长与长骨的延长类似,通过软骨内成骨完成。与长骨不同的是,软骨内成骨过程中鹿茸内部的软骨组织中富含血管,且这些血管系统极其发达贯穿于整个鹿茸组织。另一方面,鹿茸的生长速度极快,在某些鹿种中生长期的鹿茸生长速度可以达到 $2.7\text{ cm/d}^{[13]}$ 。这在哺乳动物组织中是绝无仅有的,有研究者推测血管化的鹿茸组织为鹿茸的快速生长提供了必要的物质基础。因此,鹿茸提供了一个良好的模型来研究血管化软骨组织与骨组织快速生长之间的关系。

组织学研究发现,在纵向切面上,鹿茸的内部组织从远端到近端可划分为:间充质层、前软骨层、过渡区、软骨及骨质层^[14]。这一结构与长骨的生长板类似,即间充质层对应着生长板的静止层,前软骨层对应着生长板的增殖层,过渡区对应着生长板的肥大细胞层,其下是软骨层。除了组织结构与生长板类似,鹿茸的生长方式也与生长板一样都是通过软骨内成骨完成。在生长期内,鹿茸内部组织快速增殖、分化并且生长中伴随着旺盛的新陈代谢^[15],这都需要充足的营养供给。正常的软骨组织中并没有血管,营养及代谢物的运输只能通过软骨基质的渗透方式进行。虽然软骨的基质具有良好的渗透性,但是有效的渗透距离还是非常有限的^[16],软骨中央区域的细胞由于与软骨膜的距离超出基质的有效渗透距离,所以不能获得充足的养分供给。因此,如果鹿茸的生长是通过典型的软骨内成骨方式进行的,那么它们的生长速度也将会相当有限。在漫长的进化过程中,鹿科动物为适应短时间内(鹿茸的生长期只有大约15周)快速形成鹿茸组织而进化出了一种富含血管的软骨组织^[17]。鹿茸中的动脉由基部到顶部沿着茸干上行,主要位于真皮层及软骨膜之间,也称之为血管层。在鹿茸的顶部,动脉形成平行的分支,然后由远端向近段穿过鹿茸核心。鹿茸软骨的血管化是绝无仅有的,研究鹿茸软骨组织的血管化过程,探索刺激鹿茸血管生成的相关因子,可以为骨组织修复提供有益的借鉴。

因此,鹿茸可作为一个很好的生物学模型来研究骨组织工程的血管化。文章综述了鹿茸血管化相关内容。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源 由第一作者检索PubMed(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)与CNKI(<http://www.cnki.net/>)数据库。检索时间范围:自建库以来至2015年7月。在PubMed中的检索词为deer antler, Bone tissue engineering, vascularized cartilage;在CNKI数据库中的检索词为鹿茸,骨组织工程,鹿茸血管化软骨。

1.2 资料筛选及评价

纳入标准:筛选涉及到鹿茸组织学、形态学、血管化软骨、影响血管化细胞因子、骨组织工程修复相关的文章。

排除标准:不相关内容和重复内容。

1.3 资料提取与文献质量评价

通过初检共得到68篇中英文文献,筛选后保留51篇文献。主要为与鹿茸软骨、血管化软骨和骨组织工程研究有关的文献,包括综述、实验性论文等,仔细阅读后进行归类整理,最后进行总结综述。文献检索流程图见图1。

通过初检共得到68篇国内外文献,筛选后留下51篇文献。

12篇文献探讨骨组织工程的现状和发展。
28篇文献探讨鹿茸软骨的独特。
8篇文献探讨目前骨修复的方法与现状。
3篇文献探讨鹿茸模型的优势。

图1 血管化鹿茸软骨组织与骨组织修复文献检索流程图

2 结果 Results

2.1 纳入文献基本情况 文献[1-8]研究了目前骨组织工程中骨修复的进展现状和存在的不足之处,文献[9-12]介绍了目前骨组织工程中血液供应的重要性,文献[13-17]研究了鹿茸血管化软骨的独特之处,文献[18-28]研究了组织学层面上鹿茸血管化软骨组织的特点,文献[29-40]研究了分子学层面上鹿茸血管生成的特点,文献[41-48]研究了目前有效的骨修复方法和存在的不足,文献[49-51]研究了鹿茸在骨组织修复中的应用。

2.2 组织学层面独特之处

2.2.1 鹿茸血管分布特点 鹿茸中血管的分布有其

自身的特点, Clark等^[18]通过血管造影发现动脉位于鹿茸的外层,即真皮层底与软骨膜之间的区域,也就是所谓的血管层。这些血管在茸干部位,穿行于真皮内几乎不分叉,在鹿茸尖部它们开始变弯曲并开始分叉插入到鹿茸组织内部。鹿茸与其他哺乳动物的血管系统不同,鹿茸的动脉位于浅层,紧贴皮肤,主要定位于角柄和鹿茸皮肤与骨质的夹层,即所谓的血管层。鹿茸中位于血管层的血管与骨膜非常贴近,而在角柄中血管紧紧贴到皮肤真皮的内表面。这导致了角柄骨具有光滑的表面,而鹿茸骨上布满了由血管留下的脊线和细槽。

2.2.2 鹿茸血管的结构特点 在组织结构上,鹿茸的血管也有其特点。解剖学研究发现,鹿茸血管来源于角柄血管,角柄血管与体血管类似,管壁薄,管腔大。而鹿茸血管结构与角柄血管不同,主要表现为管壁厚,管腔小。Waldo等^[19]发现鹿茸中动脉管壁和一般动脉的管壁结构差别很大,不但没有明显的弹性内膜和外膜,也不含一般的中间层,而是由韧性很强的肌肉和弹性胶原相互交融在一起而构成的。Clark等^[20]研究发现 α -平滑肌肌动蛋白在鹿茸的血管壁中大量表达。血管壁的支持细胞为二至三层,在血管壁的周围分布并不均匀。鹿茸的血管呈椭圆或不规则形状,在鹿茸的血管层中,主要血管的管壁都由复杂的肌肉构成。这样的动脉壁与一般的动脉壁相比,既厚又结实,即抗压又抗碰,且在破损时可以通过收缩血管达到止血的目的。鹿茸动脉的这种肌肉性结构很可能是进化选择的结果,生长期鹿茸富含血管且非常柔嫩。在自然条件下,鹿在觅食和逃避天敌的过程中,鹿茸一旦出现表皮缺损能够立即关闭破损伤口处血管,防止大出血的情况发生。在生产实践中,收割鹿茸后残桩断面可以很快地自动止血,也支持了这一推论。

2.2.3 鹿茸血管的发生 在其他成软骨系统中,血管的生成通常是伴随着钙化的进行。众所周知的是,鹿茸是惟一的特例,其特别之处在于鹿茸血管的生成与钙化没有直接的关联^[18]。血管的形成主要通过2种方式进行,一种是血管新生来源于成血管祖细胞,另一种是血管生成来源于已存在的血管组织^[21]。血管生成可能的机制是骨髓间充质的祖细胞诱导生血管萌芽,淋巴管生成,细胞增大性生长及内皮细胞生成。鹿茸的血管组织来源于角柄,角柄的血管主要来源于浅层颞颥动脉^[22]。这些动脉血管沿着角柄皮肤和茸皮的最

内层上行,构成角柄和鹿茸的血管层。在鹿茸的顶端,鹿茸血管层的动脉分枝形成大量的吻合,在鹿茸生长中心附近构成一个动脉丛,以保证这里有充足的血液供应。在生长点的中央,大量新形成的毛细血管网向下进入间充质层的中部形成传出小动脉,传出小动脉汇入前骨化带的髓窦。在鹿茸生长的早期,鹿茸基部的一部分髓窦与骨质角柄内的静脉管道相通。在鹿茸的深层还偶尔能见到小动脉,即使在鹿茸的基部完全变成密质骨后,仍有小动脉和小静脉存在,这些血管与角柄的小动脉和小静脉有着局部的联系。研究发现,鹿角基部皮质中存在纵向管腔和窦隙^[23]。组织学检查发现,黏鹿完全骨化的鹿角内部仍存在一个血管系统,这个系统通过角柄与鹿体的血管系统相连。荧光染料示踪的结果进一步支持了这个发现,荧光染料不但通过角柄中血管运输到鹿角的内部,它还能运输到离鹿角基部62 cm的骨质中^[24-25]。

2.2.4 鹿茸血管发生机制 与其他软骨组织相比,鹿茸软骨中含有大量的血管。研究表明,鹿茸软骨内血管的形成是鹿茸生长期高速代谢水平的需要。鹿在进化的过程中,以鹿茸角作为第二性征,为了在发情季节使用鹿角作为争夺配偶的武器,鹿必须在有限的时间内,即大约15周的生长期,完成鹿茸的生长并迅速骨化为鹿角^[26]。骨组织的形成有膜内成骨及软骨内成骨2种方式,膜内成骨方式形成骨质的速度非常缓慢,例如膜内成骨形成皮质骨每周的速度大约是10-15 μm 。因此,鹿茸的生长是通过软骨内成骨方式进行。但是正常的软骨内成骨形成的软骨组织没有血管,只能通过基质扩散的方式获得营养。在正常机体中绝大多数组织/细胞都是通过血液的渗透作用来获取氧气和养料的,但有效的范围仅局限于血管四周100-200 μm 内的细胞,即血管只能通过渗透作用保证其附近100-200 μm 组织的正常生长^[27]。因此,如果鹿茸的生长是通过正常的软骨内成骨方式进行,鹿茸的间充质细胞必须以绝对快的速度增殖,然后分化成软骨并肥大随之血管侵入并导致软骨的重建和新骨的生成,这样就需要软骨重建和成骨替换过程保持同步,以保证深层的软骨细胞获得充足的营养和氧气。

然而,鹿茸却是不同的,它血管侵入的过程与钙化并没有直接关系,鹿茸间充质细胞首先增殖分化形成含有血管的前软骨组织,然后再被骨组织所代替。这个过程并不经历一般骨组织形成所必须经历的血

管侵入的过程。鹿茸的软骨形成中心与血管形成中心在空间上是分开的。前者出现在间充质层,后者定位于前软骨层,但是在前软骨层并未发现血管生成的前体细胞或起源细胞^[28]。因此,推测可能是间充质细胞在软骨形成中心低氧的环境分化成血管生成前体细胞,从而形成血管系统的,这样不仅保证了软骨的快速形成,同时也不会影响到软骨重建和骨替换的过程,从而保证了鹿茸惊人的生长速度。因此,鹿茸软骨中血管的形成很可能是鹿茸完成快速生长所必需的。

2.3 分子学层面独特之处

2.3.1 直接影响鹿茸血管生成的因子 研究发现,多种细胞生长因子能够促进血管的形成,以加快血供速度。例如,血管内皮生长因子、碱性成纤维细胞生长因子等都能够促进组织的血管化^[29],这些生长因子能够直接地促进血管内皮细胞的游走,使新生血管快速生成。其中血管内皮生长因子已被证实可在体内外实验中都促进血管内皮细胞的再生、增殖、迁移^[30],是目前已知的能够促新生血管生成的最关键的因子之一^[31-32]。另外,有研究表明其在骨形成和愈合中也起着十分重要的作用。目前血管内皮生长因子已经发现的受体有3种: Fl-t1、KDR、Fl-t4。这3种受体主要分布于内皮细胞上且都属酪氨酸激酶受体。

国内外有几篇论文报告了鹿茸中含有多种血管相关因子,如血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子2、pleotrophin、胸腺素 β 10、神经生长因子等。Lai等^[33]对成纤维细胞生长因子2、血管内皮生长因子及其受体在鹿茸顶部表达分布以及功能的研究发现,成纤维细胞生长因子2、血管内皮生长因子及其受体成纤维细胞生长因子受体1、成纤维细胞生长因子受体2、成纤维细胞生长因子受体3及血管内皮生长因子受体2信号系统在鹿茸软骨组织中大量表达。在鹿茸软骨快速发育时期,成纤维细胞生长因子2可诱导产生血管内皮生长因子,从而诱导血管生成。神经生长因子能够在组织损伤后通过刺激血管内皮生长因子的表达来促进血管生成。神经生长因子对血管生成的作用在Reimer等^[34]的实验中得到了进一步的证明。也有研究表明,鹿茸中存在血管内皮生长因子121和血管内皮生长因子165,并且在鹿茸的前软骨层和软骨层中检测到了血管内皮生长因子mRNA的存在^[35],这一发现与血管内皮生长因子在鹿茸中有促血管

生长作用相吻合。有人推测正是鹿茸这种血管化的软骨才使得其不同于去细胞化的完全再生^[36]。此外,对鹿茸组织的转录组和小RNA测序、功能聚类分析表明,鹿茸再生初始确实有很多因子参与了血管生成。**2.3.2 间接影响鹿茸血管生成的因子** 已有的研究表明,鹿茸软骨组织的血管化是适应鹿茸快速生长的需要,即鹿茸组织生长越快血管化越快。研究发现,在生长的鹿茸组织内存在多种细胞因子与鹿茸细胞快速增殖相关。例如,在鹿茸的快速生长期,类胰岛素生长因子在鹿茸尖端的各个分层(表皮/真皮层、间充质层、前软骨层、软骨层)都有表达,但是表达量存在着一些差异。在这些分层中,真皮/表皮层中的类胰岛素生长因子1的含量是4个分层中最高的^[37]。研究发现,锯茸后鹿血浆中类胰岛素生长因子1的浓度急速升高^[38-39],这表明其在鹿茸中存在特异性结合位点,其他组织产生的类胰岛素生长因子通过血液循环刺激生长期的鹿茸快速生长。研究发现,睾酮是鹿茸快速生长的另一刺激因子,鹿茸快速生长阶段其血浆内睾酮处于低水平^[40],当生长进入缓慢期时,其浓度会上升10 $\mu\text{g/L}$ 。但是,在体外的无血清培养基中,无论是添加正常的生理水平还是添加低水平睾酮,它们都不会促进鹿茸间充质细胞的增殖。因此,睾酮如何调控鹿茸的快速生长依然需要探索。

2.4 鹿茸有效血管化优势 骨组织工程中想要得到充沛的血液供给,可以通过植入预成血管的方法来创造一个血管系统,这个独立的血管系统可以使骨替代物更有效更直接的血管化^[41-43]。即预先将血管植入骨替代物中,再进行移植。但是此方法只适用于小面积缺损和创伤的修复,并且该方法存在手术次数多,周期长,会损坏供血区等问题。虽然使用诱导血管生成的生物因子可以在体内促进血管生成^[44],但是因半衰期相对较短,局部应用后效果并不是很理想^[45]。对于鹿茸而言,鹿茸有作为组织工程骨替代物材料的潜力,其软骨组织中富含血管并且存在多种诱导血管生成的生长因子,不需要重新移植血管的过程,可避免很多不必要的损伤。本研究组利用鹿茸间充质层组织构建脱细胞支架材料(研究内容未发表),在裸鼠移植实验中具有很好的组织相容性,且接种间充质干细胞后可诱导血管新生,因此开发利用鹿茸组织制作脱细胞基质材料,具有极佳的应用前景。

目前,将具有血管形成能力的细胞与成骨性细胞

联合应用的方法是血管化组织工程骨最有前景的方法之一。特别是血管内皮前体细胞的出现^[46],打破了血管形成的传统理念。血管内皮前体细胞的出现证明了血管萌生现象也会存在于发育成熟后的机体中^[47-48],这为缺血性疾病的治疗提供了新思路。虽然使用血管内皮前体细胞在一些动物模型的实验研究中取得了一定的成功,但血管内皮前体细胞存在一个缺点,就是其细胞数量较少,所以不适合用于大面积缺损的修复。目前惟一解决方法就是使用血管内皮生长因子基因修饰血管内皮前体细胞来弥补其数量的不足,因为血管内皮生长因子不仅可以趋化血管内皮前体细胞至缺损处,其本身也是血管生成的直接诱导因子。对于这一点鹿茸也存在潜在的优势,因为鹿茸内存在多种促血管形成的生长因子,并且也不存在细胞数量有限的问题。

综上所述,鹿茸有作为血管化组织工程材料的潜力,并有很多独特的优势。

3 结论 Conclusion

由创伤和各种疾病引起的骨缺损的患者数在逐年递增。由于骨细胞自身的增殖潜力差,并且缺乏血管系统供应营养,因此,导致骨组织自身修复能力极低^[49]。骨组织工程中,也因为新移植的支架不能诱导血管生成导致血液提供的营养不足,从而成骨效果不稳定,进而发生坏死现象。由此可见,血管是骨损伤修复和再生过程中的一个重要因素^[50-51]。因此,在骨组织工程研究中如何实现移植与机体血管系统的联系,是该领域的一个难点,同时也是热点之一。鹿茸为解决这一问题提供了一个良好的生物医学模型。

鹿茸这一模型具有如下优势: 周期性再生的骨质附属器官。鹿茸是一种特殊的骨质附属器官,其成骨方式与胚胎长骨的生长类似,同为软骨内成骨。另一方面,鹿茸又是惟一能够周期性完全再生的哺乳动物器官。因此,以鹿茸为研究模型可以在同一个体上重复进行观察研究,保证了实验的重复性和连续性; 天然血管化软骨/骨组织研究模型。众所周知,正常软骨组织内只含一种细胞(即软骨细胞)并且没有血管分布,因此软骨组织在损伤后,自身很难修复。鹿茸软骨则不同,其软骨组织内部存在丰富的血管网络系统。鹿茸内部的血管来源于穿行于真皮层的动脉,其在鹿茸顶部分叉形成平行的

分支插入鹿茸内部,并贯穿整个鹿茸组织。丰富的血管保证了鹿茸生长所需的养分供给及代谢物运输。然而,目前对于鹿茸软骨血管化的机制没有明确的解释,鹿茸内部的血管是同通过何种方式:血管生成还是血管新生形成不得而知。探索鹿茸软骨血管化的机制,可以为骨组织的修复提供新的理论及技术支持; 快速生长的骨软骨组织。研究发现,鹿茸在生长期生长速度非常快,在60 d内可以从只含有三百万个细胞的生茸区骨膜组织发育成数十公斤重的鹿茸组织。在某些鹿种中,鹿茸的生长速度可以达到2.7 cm/d。在动物组织中生长最快的就是肿瘤,而鹿茸生长速可以媲美肿瘤,但是鹿茸并不发生癌变。研究发现,鹿茸中含有多种生长因子如血管内皮生长因子、类胰岛素生长因子1、神经生长因子等这些因子具有明显的刺激细胞增殖及分化的能力。然而,由于研究深度有限鹿茸内部生长因子尚未充分发掘。随着研究内容的深入,将会进一步揭示哺乳动物器官快速生长的机制。

鹿茸为研究哺乳动物软骨组织快速生长及血管化提供了一个良好的模型,可以从以下几个方面来丰富和发展这个模型: 鹿茸软骨血管化机制探索。探索鹿茸软骨组织中血管的生成机制,将有助于揭示鹿茸软骨血管化之谜,并进一步开发相关蛋白药物,进行骨组织修复及再生; 鹿茸快速生长机制研究。鹿茸快速生长的许多生物学特性都与动物组织中的肿瘤类似,且并不发生癌变,所以对鹿茸快速生长机制的研究有助于对肿瘤特性的研究; 鹿茸组织脱细胞基质材料开发。鹿茸中富含血管和多种促血管生长因子,可以通过组织工程的方法,运用脱细胞技术将鹿茸软骨组织开发为生物支架材料,应用于临床骨组织工程进行骨组织的修复。

综上所述,鹿茸在骨修复领域是一个有巨大潜力的动物模型,可以在鹿茸上模拟疾病的发生和发展过程,采取人为的方法进行实验和治疗,当完全了解这些措施的安全性、有效性和临床实用性后,其最终成果将应用于人类,并为人类骨修复方面的再生医学带来新希望。

致谢: 感谢吉林农业大学中药材学院与中国农业科学院特产研究所在课题中提供的帮助。

作者贡献: 第一作者构思并设计综述,通讯作者审校,所有作者共同起草。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容无相关利益冲突。

伦理问题: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审, 符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] Redman SN, Oldfield SF, Archer CW. Current strategies for articular cartilage repair. *Eur Cells Mater.* 2005; 9: 23-32.
- [2] Mano JF, Reis RL. Osteochondral defects: present situation and tissue engineering approaches. *J Tissue Eng Regen Med.* 2007; 1: 261-273.
- [3] Laurencin C, Khan Y, El-Amin SF. Bone graft substitutes. *Exp Rev Med Dev.* 2006;3:49-57.
- [4] Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury.* 2005;36 suppl 3: S20-27.
- [5] DeCoster TA. Low morbidity reported after iliac bone-graft harvesting. *J Bone Joint Surg Am.* 2012; 94(18): e139.
- [6] De Long WG, Einhorn TA, Koval K, et al. Bone grafts and bone graft substitutes in orthopaedic trauma surgery: a critical analysis. *J Bone Joint Surg.* 2007;89(3): 649-658.
- [7] Toolan BC. Current concepts review: orthobiologics. *Foot Ankle Int.* 2006;27:561-566.
- [8] 曹谊林. 骨组织工程在骨科的应用[J]. *临床外科杂志*, 2008, 16(1): 21-24.
- [9] Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science.* 1993;260:920-926.
- [10] Laurencin C, Khan Y, El-Amin SF. Bone graft substitutes. *Exp Rev Med Dev.* 2006;3:49-57.
- [11] Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury.* 2005;36(Suppl 3): s20-27.
- [12] Linsley CS, Wu BM, Tawil B. Mesenchymal stem cell growth on and mechanical properties of fibrin - based biomimetic bone scaffolds. *J Biomed Mater Res A.* 2016. doi: 10.1002/jbm.a.35840.
- [13] Ozkanlar S, Akcay F. Antioxidant vitamins in atherosclerosis--animal experiments and clinical studies. *Adv Clin Exp Med.* 2012;21(1):115-123.
- [14] 李光凤, 赵丽红, 郭斌, 等. 梅花鹿鹿茸生长顶端的组织结构[J]. *中国畜牧兽医学动物解剖学及组织胚胎学分会第十五次学术研讨会论文集*, 2008.
- [15] Banks WJ, Newbrey JW. Antler development as a unique modification of mammalian endochondral ossification. *Antler development in Cervidae*, Caesar Kleberg Wildlife Research Institute Kingsville, Texas, 1983;1:279-306.
- [16] Stockwell RA. *Biology of cartilage cells*. CUP Archive, 1979.
- [17] Li CY, Yang FH, Sheppard A. Adult stem cells and mammalian epimorphic regeneration--insights from studying annual renewal of deer antlers. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2009; 4:237-251.
- [18] Clark DE, Li C, Wang W, et al. Vascular localization and proliferation in the growing tip of the deer antler. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2006;288(9):973-981.
- [19] Waldo CM, Wislocki GB, Fawcett DW. Observations on the blood supply of growing antlers. *Am J Anat.* 1949; 84:27-61.
- [20] 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.
- [21] 张志, 姚敏, 许伟石. 组织工程血管化的研究进展[J]. *中华烧伤杂志*, 2004, 20(5): 318-320.
- [22] Suttie JM, Fennessy PF, Mackintosh CG, et al. Sequential cranial angiography of young deer stags. In: Fennessy PF, Drew KR, editors. *Biology of deer production*. Upper Hutt: Wright and Carman, 1985: 263-268.
- [23] Bubenik GA, Morris JM, Schams D, et al. Photoperiodicity and circannual levels of LH, FSH, and testosterone in normal and castrated male, white-tailed deer. *Can J Physiol Pharmacol.* 1982;60(6):788-793.
- [24] Rolf HJ, Fischer K, Düwel FW, et al. Histomorphology and physiology of "living" hard antlers: evidence for a substance transport into polished antlers via the vascular system. *Antl Sci Prod Technol.* 2001:97-108.
- [25] Rolf HJ, Enderle A. Hard fallow deer antler: a living bone till antler casting. *Anat Rec.* 1999;255(1):69-77.
- [26] Li C, Suttie JM, Clark DE. Histological examination of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*). *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol.* 2005.
- [27] Beier JP, Horsch RE, Arkudas A, et al. De novo generation of axially vascularized tissue in a large animal model. *Microsurgery.* 2009;29:42-51.

- [28] 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.
- [29] Richardson TP, Peters MC, Ennett AB, et al. Polymeric system for dual growth factor delivery. *Nat Biotechnol.* 2001;19:1029-1034.
- [30] Madeddu P. Therapeutic angiogenesis and vasculogenesis for tissue regeneration. *Exp Physiol.* 2005;90(3):315-326.
- [31] Vico L. VEGF and bone formation: New perspectives. *Eur Cells Mater.* 2007;14:32.
- [32] Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.* 2003;9:669-676.
- [33] 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. *Tissue Cell.* 2007; 39:35-46.
- [34] Reimer MK, Mokshagundam SP, Wyler K, et al. Local growth factors are beneficial for the autonomic reinnervation of transplanted islets in rats. *Pancreas.* 2003;26:392-397.
- [35] 褚文辉,王大涛,李春义,等.基于干细胞的器官再生研究模型-鹿茸[J].中国组织工程研究, 2013, 17(45): 7961-7967.
- [36] Call MK, Tsonis PA. Vertebrate limb regeneration. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* New York: Oxford University Press, 2005:93:67-81.
- [37] Francis SM, Suttie JM. Detection of growth factors and proto-oncogene mRNA in the growing tip of red deer (*Cervus elaphus*) antler using reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *J Exp Zool.* 1998; 281(1):36-42.
- [38] Suttie JM, Gluckman PD, Butler JH, et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) antler-stimulating hormone. *Endocrinology.* 1985;116(2):846-848.
- [39] Suttie JM, Fennessy PF, Gluckman PD, et al. Elevated plasma IGF 1 levels in stags prevented from growing antlers. *Endocrinology.* 1988;122(6): 3005-3007.
- [40] Suttie JM, Gluckman PD, Butler JH, et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) antler-stimulating hormone. *Endocrinology.* 1985;116(2):846-848.
- [41] 曾宪利,裴国献,金丹,等.血管化组织工程骨修复猕猴胫骨缺损模型的建立及初步观察[J].中华创伤骨科杂志, 2005, 7(4): 353-357.
- [42] 王学明,裴国献,金丹,等.磁共振灌注成像监测组织工程骨血管化的实验研究[J].南方医科大学学报, 2006, 26(7): 931-935.
- [43] 唐光辉,裴国献,陈滨,等.血管铸型方法检测组织工程骨修复羊胫骨缺损的远期血管化[J]. 中华骨科杂志, 2007, 27(8): 614-618.
- [44] Richardson TP, Peters MC, Ennett AB, et al. Polymeric system for dual growth factor delivery. *Nat Biotechnol.* 2001;19(11): 1029-1034.
- [45] 宋晓彬. VEGF及BMP2基因修饰对血管化组织工程骨的影响及机制研究[D]. 山东大学, 2012.
- [46] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997;275(5302): 964-966.
- [47] Asahara T, Murohara T, Sullivan A, et al. Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science.* 1997;275:964-967.
- [48] Tremblay PL, Hudon V, Berthod F, et al. Inosculation of Tissue - Engineered Capillaries with the Host's Vasculature in a Reconstructed Skin Transplanted on Mice. *Am J Transplant.* 2005;5(5): 1002-1010.
- [49] Benders KE, van Weeren PR, Badylak SF, et al. Extracellular matrix scaffolds for cartilage and bone regeneration. *Trends Biotechnol.* 2013;31(3): 169-176.
- [50] Hsiong SX, Mooney DJ. Regeneration of vascularized bone. *Regen Med.* 2007;2(5):831-837.
- [51] Kanczler JM, Oreffo RO. Osteogenesis and angiogenesis: the potential for engineering bone. *Eur Cell Mater.* 2008;2(15):100-114.