

p21 基因与哺乳动物器官再生相关性研究进展

郭倩倩^{1,2}, 王大涛², 褚文辉², 赵海平², 孙红梅², 李春义²

(1. 江苏科技大学, 江苏镇江 212018; 2. 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国家重点实验室, 吉林长春 130112)

摘要:自然界中很多低等无脊椎动物及有尾目两栖动物都存在组织或附属器官再生现象, 而哺乳动物中这种能力却是少见的。近年来随着具有器官再生能力的 MRL 试验小鼠的发现, 越来越多的试验证实哺乳动物也具有器官再生能力, 这为临床上的损伤修复和肢体再生带来了新希望。组织、器官的再生离不开细胞增殖, 细胞增殖离不开细胞周期, p21 蛋白作为细胞周期的重要调控因子, 在最新研究中发现, 普通试验小鼠敲除 p21 基因后具有了同 MRL 试验小鼠一样的器官再生能力, 确定了 p21 蛋白与再生有着密切联系。文章对 p21 基因与哺乳动物再生的关系作一综述。

关键词:再生; p21 基因; 哺乳动物; MRL

中图分类号: Q78

文献标识码: A

文章编号: 1671-7236(2014)05-0171-05

许多生物体都具有器官再生能力, 这种能力在低等无脊椎动物中很常见, 如水螅、海绵及涡虫等, 它们均可由身体的一小部分而再生出整个身体。在脊椎动物中最典型的再生模型是有尾目两栖类蝾螈附肢的再生, 对低等脊椎动物再生机制的研究已越来越深入, 相对而言, 对于哺乳动物再生的研究却举步维艰, 这主要是因为哺乳动物器官再生能力在自然界中少见。主要的哺乳动物再生模型有周期性再生的鹿茸及近年来发现的具有再生能力的 MRL 试验小鼠(Clark 等, 1998)。最新研究发现去除 p21 基因后普通小鼠具有了与 MRL 小鼠相同的再生能力, 尽管仅仅 1 个基因的去除便可导致再生表型的原因尚不清楚, 但这一发现为哺乳动物再生机制的研究提供了新希望。文章结合相关研究最新报道, 综述了 p21 基因与哺乳动物器官再生的相关性。

1 再生

1.1 概述 再生是生物体对失去的结构重新自我修复和替代的过程, 狭义的讲是指生物体的器官损伤后, 剩余部分长出与原来形态功能相同结构的现象。生物界广泛存在着再生现象, 且对生物体生存与延续都具有非常重要的意义。若在人类器官或和肢体受损后, 能通过生物医学手段完成受损器官的

原位自然再生, 则将是人类史上的一大里程碑, 因此对再生机制的研究一直都是一个热点话题。再生在动物研究中主要分为 4 类, 即伤口愈合、生理性再生、代偿性再生及割处再生, 其中几乎所有动物都具有前 3 种再生能力, 而只有少数种类能完成割处再生。割处再生是器官再生中最令人惊奇的一种, 自然界中不乏具有很强割处再生能力的低等动物, 如水螅、蚯蚓、涡虫、蜥蜴及蝾螈。目前, 对于割处再生的了解主要来自对两栖动物的研究, 而近年来 MRL 试验小鼠的发现及对鹿茸再生的研究为人们更好的了解哺乳动物再生能力提供了机会。现代细胞生物学、分子生物学的发展, 为在分子水平上对再生过程进行深入了解提供了技术支持。

1.2 哺乳动物再生的研究 哺乳动物再生是再生生物学和再生医学的制高点, 以前普遍认为只有低等动物具有再生能力, 而哺乳动物几乎不具有这种能力。McGann 等(2001)在研究报道中指出, 当在体外诱导分化的蝾螈 A1 细胞及小鼠 C2C12 细胞形成的肌小管中加入蝾螈再生芽基的提取物时, 二者都出现了去分化现象, 结果表明哺乳动物本身并不缺乏去分化所需的内源性信号通路, 而是缺乏引发去分化的外源性信号, 所以造成哺乳动物不能再生。

1.2.1 哺乳动物再生模型——MRL 品系小鼠与鹿茸再生 Clark 等(1998)发现了 MRL 品系小鼠具有再生器官的能力, 被穿孔的耳洞可在短期内完成软骨、毛囊等的完美再生, 从而闭合穿孔的耳洞, 且这种多组织的完美再生伴随着类似两栖类动物再生中芽基状物质的形成(Brockes 等, 2005; Gardiner 等, 1996; Stocum, 1984)。两栖类动物肢体再生与

收稿日期: 2013-11-12

作者简介: 郭倩倩(1989—), 女, 山东人, 硕士生, 研究方向: 鹿茸分子生物学。

通信作者: 李春义, 博士, 研究员, 博士生导师, 主要从事鹿茸生长发育机制与鹿茸基因工程学研究。E-mail: lichunyi1959@163.com

基金项目: 973 前期研究专项(2011CB111500); 吉林省自然科学基金(20101575)。

哺乳动物的耳洞再生过程具有多种共同点,如伤口处的上皮形成、表皮与真皮之间基膜的去除、类芽基的形成、软骨与毛囊的再生,且都未伴随疤痕的形成。

MRL品系小鼠的耳洞闭合这一现象为在基因水平的研究提供了一个很好的平台,使对这个过程的研究可在遗传水平进行。伤口愈合的能力是数量遗传的,最近已对18种与耳洞闭合相关的数量性状基因定位进行了鉴定(Norgard等,2010),这有利于对候选基因的集中分析,通过进一步缩小这些基因定位,以及利用基因敲除来检测候选基因,将最终鉴定出与耳洞闭合这一性状相关的基因。MRL品系小鼠不仅能进行耳部的再生,其他组织器官也具有治愈能力。如MRL品系小鼠心脏部分的再生(Leferovich等,2001)、中枢神经系统干细胞及组织的再生(Baker等,2006)等。有报道指出MRL小鼠在背部皮肤伤口的治愈力与对照组无不同,甚至更糟(Beare等,2006),但一个最近的研究报道指出,若进行同源或同种异体的皮肤移植,则MRL品系小鼠表现出比对照组更好的治愈效果(Tolba等,2010),可见在不同的系统中治愈能力是不同的,因此损伤部位及损伤类型在MRL小鼠治愈性能中是需要考虑的。

MRL试验小鼠虽具有令人惊奇的器官再生能力,但作为一个基因突变的产物,作为哺乳动物器官再生模型,某些方面还是存在一些弊端,与之相比,作为动物体本身的固有器官,可周期性再生的鹿茸无疑是一个更加完美的哺乳动物器官再生研究模型。

鹿茸作为哺乳动物中唯一可完全再生的附属器官,每年都会进行周期性的脱落与完全再生。Li等(2004,2005,2011)通过组织学与形态学研究,阐述了鹿茸再生的详细过程,并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,发现皮肤与生茸组织之间的机械作用引发角柄的形成,并进一步证明了鹿茸再生不是基于芽基的再生,而是基于一种干细胞的割处再生。这显然区别于传统的再生模型,因此对鹿茸再生机制的研究也将越来越成为人们研究的重点。

1.2.2 再生细胞特点 与普通动物相比,具有器官再生能力的动物细胞是否具有不一样的特性,Bedelbaeva等(2010)对MRL小鼠与不具有再生能力小鼠进行了细胞周期比较,发现再生细胞在G2/M期有异常积累,这种积累一个可能的解释是DNA

损伤应答,MRL小鼠中增强的p53反应支持了这一猜测, γ H2AX及TopBP1在MRL品系小鼠细胞中含量的增高也进一步证明了这一点。其中 γ H2AX是一种磷酸化组蛋白,与TopBP1一样都对DNA损伤做出应答。通过彗星试验检测DNA损伤,发现对照组细胞仅5%有损伤,而与之相比,MRL细胞90%出现损伤,其中既有单链损伤,也有双链损伤。另外,DNA损伤修复蛋白RAD51在治愈细胞中含量增高,结果表明其进行了无误的同源重组。DNA损伤的原因目前尚清楚,但可确定的是G2/M期细胞的积累与再生有关,从水螅到两栖动物到哺乳动物肝脏的相关报道都证明了这一点。水螅中有很多再生细胞,如间质腺细胞、上皮细胞等,这些细胞都表现出G2/M积累的特殊细胞周期(Schmidt等,1986)。有尾目两栖类动物蝾螈能再生组织,重新获得细胞周期,通过增殖分化形成新肢体,在体外培养中,来自于蝾螈的肌小管能被血清刺激进入S期,并止于G2期(Stocum等,2011)。在再生的哺乳动物肝脏中,细胞周期阻滞在G2期是肝脏再生过程一个主要特点(Celton-Morizur等,2010)。因此,细胞周期的变化可能是具有再生能力动物的一种共性,Suzuki等(2012)发现随着年龄的增长,受损的肝脏再生能力减弱主要是由于细胞周期阻滞在G1期或G1/S期。

在MRL耳部细胞有如此广泛的DNA损伤,那细胞多积累于G2/M期,而不是G1/S期,由此说明细胞周期的变化可能是引起再生的一个重要因素,这使人们开始了对细胞周期调控蛋白的研究。研究结果发现在这些培养的细胞中细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂p21蛋白表达被抑制(El-Deiry等,1993)。来自于沉默p21基因的普通小鼠的耳部细胞表现出与MRL小鼠细胞相同的表型,包括增长的DNA损伤、 γ H2AX表达及G2/M期细胞的积累,且这些小鼠能完全闭合穿孔的耳洞,与MRL品系小鼠一样具有再生能力(Bedelbaeva等,2010),仅仅是单一基因p21的去除便能使普通小鼠完成与MRL品系一样的完全割处再生,这一发现有力的说明p21基因与再生有着密不可分的联系。

2 p21基因与再生

p21蛋白是一种细胞周期的重要调控因子,在真核细胞中调控细胞周期,早期研究已检测到了p21在哺乳动物肝脏中的作用。为了解p21在肝脏细胞生长过程中的作用,Albrecht等(1997)对小鼠肝脏再生中p21基因的表达及调控做了研究,结果

表明,p21 蛋白通过 p53 依赖性途径或 p53 非依赖性调控机制在肝脏再生中起作用。在 Wu 等(1996)的研究中过表达 p21 蛋白的转基因小鼠出现了具有较大的多倍核的肝脏细胞,且肝脏再生能力停止。Torbenon 等(2002)通过试验指出 STAT-3 过表达后能导致 p21 表达上调,也可影响肝脏再生。与此相一致的是,Stepniak 等(2006)发现抑制 p21 表达能加强肝脏再生。Lehmann 等(2012)发现去除 p21 基因的小鼠在进行大范围肝脏切除术后,恢复了肝脏再生能力,结果表明肝脏切除后的肝脏再生能力受损主要是由于细胞周期阻滞,并能通过抑制 p21 基因表达克服。但 Arioka 等(2013)发现在保证动物体存活的情况下给 p21 基因去除的小鼠施以强烈损伤刺激,虽然肝脏细胞可持续增殖,但同时也促进肿瘤的发生。这些早期研究结果已初步表明 p21 与再生的关系。

2.1 p21 基因概述 p21 蛋白是周期蛋白依赖性激酶抑制剂(CKI)中的一员,在正常细胞中,p21 蛋白与多种周期蛋白(cyclin)、周期蛋白依赖性激酶(CDK)及增殖细胞核抗原(PCNA)组成四聚体,在细胞 DNA 受损时,被 p53 诱导产生,抑制 DNA 复制,增强 DNA 修复以消除由 DNA 损伤的积累而引起肿瘤发生的隐患(Waga 等,1994)。Weymann 等(2009)通过 RNA 干扰技术,沉默 p21 基因,加强了溶瘤腺病毒的抗肿瘤细胞活性,结果表明 p21 基因在调节溶瘤病毒的 DNA 复制方面有重要作用。Chen 等(2011)也发现肝脏细胞生长因子能通过提高 p21 的表达抑制人类骨髓干细胞增殖。

p21 蛋白作为细胞周期主要调控蛋白,能阻滞细胞周期,Radhakrishnan 等(2004)研究结果表明,p21 的过表达能使细胞阻滞在 G1、G2 或 S 期。Perucca 等(2009)的研究中,人类成纤维细胞去除 p21 后,观察到了与再生表型中类似的细胞增殖与 p53 表达上调。p21 蛋白主要作用于 G1/S 检测点,若 DNA 损伤发生在 G1 期,则 p21 通过抑制 CDK 活性阻碍细胞进入 S 期;若损伤发生于 S 期,则可通过使 PCNA 失活而停止 DNA 合成,PCNA 是 DNA 聚合酶的附属分子,因此,p21 通过与 PCNA 结合,使 PCNA 不能与 DNA 聚合酶形成复合物,从而影响 DNA 的复制。若 p21 缺乏则会使细胞周期跳过 G1 检查点直接进入 G2 期。因此,没有 p21 蛋白,则 G1 检查点不能完全起作用,导致对 G2 检查点的依赖,从而导致特殊的细胞周期(Bedelbaeva 等,2010)。

2.2 p21 基因功能及在再生中的作用机制 p21 蛋白可抑制细胞增殖、促进分化及细胞老化,p21 蛋白现在已是一个研究的很成熟的分子,研究发现其参与了多种细胞反应,如当细胞受到 DNA 损伤、氧化应激、分裂素、肿瘤病毒等刺激后做出的反应,且根据细胞类型具有肿瘤抑制活性(Cazzalini 等,2010;Weiss,2003),如 p21 受 p53 调控转录,并能通过抑制 cyclin-CDK 复合物及 PCNA(能导致分化、凋亡、衰老)抑制细胞周期进程,p21 蛋白还能调控基因表达及其他细胞进程。因此在 p21^{-/-}小鼠再生中哪个功能起作用,对其他再生模型的体外研究给了我们提示。如成年有尾目两栖类能再生肢体,主要过程包括去分化、重新进入细胞周期、细胞增殖、芽基形成、分化及最终形成成年组织(Nye 等,2003)。而其中使成熟的组织去分化重新进入细胞周期是最关键的一步,在两栖动物骨骼肌再生的体外模型中,被 CDK4/6 磷酸化的视网膜母细胞瘤蛋白即 Rb 蛋白在重新进入细胞周期中起了重要作用(Tanaka 等,1997)。在这个过程中,通过血清刺激后 Rb 高度磷酸化,这将导致 Rb 失活,处于静止期的多核肌小管进入 S 期(Tanaka 等,1999)。与其相符的是,在哺乳动物细胞研究报道中,来自于 Rb^{-/-}小鼠的多核肌小管通过血清刺激能重新进入细胞周期(Schneider 等,1994)。因此,Rb 的失活在两栖类动物与哺乳动物体外再生中都是重要的。

p21 蛋白作为一个主要的 CDK 抑制物,能通过抑制 Rb 磷酸化及细胞周期调控增殖蛋白的转录抑制增殖。p21 蛋白与 cyclin-CDK 复合物结合,便会抑制其激酶作用,既而就不能磷酸化 Rb,Rb 就继续与 E2F 结合,即有效地阻止 E2F 作用,E2F 是一个与生殖相关的转录因子。因此,p21 蛋白活动直接导致细胞周期过程受阻,而 p21 的丢失会促进 E2F 的活动,从而加强 DNA 的合成、潜在的导致去分化。因此,就以上研究来看,Rb 应直接被 p21 蛋白活动影响。

2.3 p21 基因在器官再生中的分子调控

2.3.1 p21 与 p53 基因 p21 基因是 p53 基因最重要的下游基因之一,p21 基因上游 24 kb 处含有一个 p53 蛋白的特异性结合位点。当细胞受到来自体内、外的各种刺激及损伤时,p53 蛋白诱导 p21 基因表达,从而发挥其生物学功能。Cornils 等(2011)发现 NDR 激酶能通过磷酸化控制 p21 蛋白的稳定性。最新研究结果发现,在 MRL 品系小鼠耳部尽管缺乏 p21 蛋白,但 p53 蛋白却是上调的,那在再生

过程中 p53 是否起作用,与 p21^{-/-}鼠不同的是, p53^{-/-}鼠并未表现出再生能力(Arthur 等,2010),这一发现确定了再生中 p21 基因的 p53 非依赖性。然而,MRL 与 p53^{-/-}的杂交小鼠却表现出与 MRL 一样甚至更好的治愈效果,且在软骨与脂肪形成中加强了分化,p53 基因的主要功能是作为基因组的守护者,能对 DNA 损伤及细胞刺激做出反应,通过抑制细胞周期从而调控 DNA 损伤修复,且还与细胞凋亡、衰老、分化等有关,但目前还不清楚哪一个功能或缺失其中哪个功能会加强 MRL/p53^{-/-}杂交鼠的分化作用。一项研究结果表明,在一个缺乏修复机制的小鼠中,p53 基因的去除会造成高水平 DNA 损伤细胞的积累,这会延迟毛囊恢复及再生(Ruzankina 等,2009;Schoppy 等,2010),然而在 MRL/p53^{-/-}小鼠中研究者观察到了毛囊形成(Arthur 等,2010)。因此还需对不同组织类型进一步研究,来确定 p53 基因在再生中是否发挥作用,又是如何与 p21 基因发生作用而完成器官再生的。

2.3.2 p21 基因与 TGF- β 1 p21 基因发挥作用除受 p53 基因调控外,另一个重要的调控因子是转化生长因子 TGF- β 1,能诱导 p21 基因表达,抑制细胞周期,主要在抗增殖及分化中起作用。TGF- β 1 能通过 Smad3 途径调控胚胎及成年组织中的增殖、分化、迁移及凋亡。在对缺少 TGF- β 1/Smad3 途径的突变小鼠的研究中,出现了再生表型:缺少 TGF- β 1 的小鼠加强了伤口闭合能力及上皮形成(Koch,2000),缺少 Smad3 的转基因小鼠增强了上皮形成与组织再生(Ashcroft,1999),且 Smad7 过表达导致了 Smad3 下调,并通过 TGF- β /Smad3/p21 途径加强了肝脏再生(Zhong 等,2010),Smad3 已被选作 MRL 品系遗传图谱研究的一个候选基因。与这些结果相反的是,其他有关缺少 TGF- β 1 的转基因小鼠的研究中,在修复切除的背部皮肤伤口方面并未表现出明显治愈效果,TGF- β 1/Rag1 都敲除后的小鼠具有部分治愈能力(Arthur 等,2010)。目前对于 TGF- β 1 与 p21 基因在器官再生中是如何相互联系及相互作用仍尚不明确,还需进一步研究。

3 小结

器官再生机制一直是人们努力研究的热点,但多年来困扰我们的最大难题是控制器官再生能力的分子信号一直难以找到,而 MRL 小鼠再生能力的发现及 p21 基因在再生方面的初步研究为我们带来了新希望。对去除 p21 基因的小鼠的研究也作为唯一能完全再生的哺乳动物附属器官鹿茸的研

究提供了新方向,利用 MRL 小鼠模型及鹿茸再生模型,围绕 p21 基因,有望发现更多控制器官再生的基因与分子信号,这将使人类肢体再生向前迈进一步。

p21 的缺失可能以多种途径加强再生反应,如引起 DNA 损伤及检查点反应,从而导致增殖;能减少 TGF- β 信号分子,从而减少疤痕的形成;且还能改变分化模式,如在诱导的多能干细胞形成中见到的一样,保证祖先细胞的稳定性。p21 基因哪个功能对再生有影响,或 p21 基因缺乏后通过哪些途径引起的再生能力,MRL 品系小鼠中是通过哪些关键途径来导致 p21 基因下调及再生,且作为哺乳动物中唯一可完全再生的附属器官,鹿茸再生过程中 p21 基因对再生有无影响,假如又有又是如何影响的,这些问题都将成为以后研究的重点,为最终了解哺乳动物再生的分子机制打下基础,最终实现人类的组织、器官再生。

参 考 文 献

- 1 Albrecht J H, Meyer A H, Hu M Y. Regulation of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 (WAF1/Cip1/Sdi1) gene expression in hepatic regeneration[J]. Hepatology, 1997, 25(3): 557~563.
- 2 Arioka M, Takahashi-Yanaga F, Sasaki M, et al. Acceleration of bone development and regeneration through the Wnt/beta-catenin signaling pathway in mice heterozygously deficient for GSK-3beta[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 440(4): 677~682.
- 3 Arthur L M, Demarest R M, Clark L, et al. Epimorphic regeneration in mice is p53-independent[J]. Cell Cycle, 2010, 9(8): 3667~3673.
- 4 Ashcroft G S. Mice lacking Smad3 show accelerated wound healing and an impaired local inflammatory response[J]. Nat Cell Biol, 1999, 1(5): 260~266.
- 5 Baker K L, Daniels S B, Lenington J B, et al. Neuroblast protruberances in the subventricular zone of the regenerative MRL/MpJ mouse[J]. J Comp Neurol, 2006, 498(6): 747~761.
- 6 Beare A H, JMetcalfe A D, Ferguson M W. Location of injury influences the mechanisms of both regeneration and repair within the MRL/MpJ mouse[J]. J Anat, 2006, 209(4): 547~559.
- 7 Bedelbaeva K, Snyder A, Gourevitch D, et al. Lack of p21 expression links cell cycle control and appendage regeneration in mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107(13): 5845~5850.
- 8 Brockes J P, Kumar A. Appendage regeneration in adult vertebrates and implications for regenerative medicine[J]. Science, 2005, 310(5756): 1919~1923.
- 9 Cazzalini O, Scovassi A I, Savio M, et al. Multiple roles of the cell cycle inhibitor p21 (CDKN1A) in the DNA damage response[J]. Mutat Res, 2010, 704(1~3): 12~20.

- 10 Celton-Morizur S, Desdouets C. Polyploidization of liver cells[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 676: 123~135.
- 11 Chen K, Perez-Stable C, D'Ippolito G, et al. Human bone marrow-derived stem cell proliferation is inhibited by hepatocyte growth factor via increasing the cell cycle inhibitors p53, p21 and p27[J]. *Bone*, 2011, 49(6): 1194~1204.
- 12 Clark L D, Clark R K, Heber-Katz E. A new murine model for mammalian wound repair and regeneration[J]. *Clin Immunol Immunopathol*, 1998, 88(1): 35~45.
- 13 Cornils H, Kohler R S, Hergovich A, et al. Human NDR kinases control G(1)/S cell cycle transition by directly regulating p21 stability[J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(7): 1382~1395.
- 14 el-Deiry W S, Tokino T, Velculescu V E, et al. WAF1, a potential mediator of p53 tumor suppression [J]. *Cell*, 1993, 75(4): 817~825.
- 15 Gardiner D M, Bryant S V. Molecular mechanisms in the control of limb regeneration: The role of homeobox genes[J]. *International Journal of Developmental Biology*, 1996, 40(4): 797~805.
- 16 Koch R M. Incisional wound healing in transforming growth factor-beta1 null mice[J]. *Wound Repair Regen*, 2000, 8(3): 179~191.
- 17 Leferovich J M, Bedelbaeva K, Samulewicz S, et al. Heart regeneration in adult MRL mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(17): 9830~9835.
- 18 Lehmann K, Tschuor C, Rickenbacher A, et al. Liver failure after extended hepatectomy in mice is mediated by a p21-dependent barrier to liver regeneration [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(6): 1609~1619.
- 19 Li C, Harris A J, Suttie J M. Tissue interactions and antlerogenesis: New findings revealed by a xenograft approach[J]. *J Exp Zool*, 2001, 290(1): 18~30.
- 20 Li C, Suttie J M, Clark D E. Morphological observation of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *J Morphol*, 2004, 262(3): 731~740.
- 21 Li C, Suttie J M, Clark D E. Histological examination of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol*, 2005, 282(2): 163~174.
- 22 McGann C J, Odelberg S J, Keating M T. Mammalian myotube dedifferentiation induced by newt regeneration extract[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24): 13699~13704.
- 23 Norgard E A, Lawson H A, Pletscher L S, et al. Genetic factors and diet affect long-bone length in the F34 LG, SM advanced intercross[J]. *Mamm Genome*, 2010, 22(3~4): 178~196.
- 24 Nye H L, Cameron J A, Chernoff E A, et al. Regeneration of the urodele limb: A review [J]. *Dev Dyn*, 2003, 226(2): 280~294.
- 25 Perucca P, Cazzalini O, Madine M, et al. Loss of p21 CDKN1A impairs entry to quiescence and activates a DNA damage response in normal fibroblasts induced to quiescence[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(1): 105~114.
- 26 Radhakrishnan S K, Feliciano C S, Najmabadi F, et al. Constitutive expression of E2F-1 leads to p21-dependent cell cycle arrest in S phase of the cell cycle[J]. *Oncogene*, 2004, 23(23): 4173~4176.
- 27 Ruzankina Y, Schoppy D W, Asare A, et al. Tissue regenerative delays and synthetic lethality in adult mice after combined deletion of Atr and Trp53 [J]. *Nat Genet*, 2009, 41(10): 1144~1149.
- 28 Schmidt T, David C N. Gland cells in Hydra: Cell cycle kinetics and development[J]. *J Cell Sci*, 1986, 85: 197~215.
- 29 Schneider J W, Gu W, Zhu L, et al. Reversal of terminal differentiation mediated by p107 in Rb-/-muscle cells[J]. *Science*, 1994, 264(5164): 1467~1471.
- 30 Schoppy D W, Ruzankina Y, Brown E J. Removing all obstacles: A critical role for p53 in promoting tissue renewal[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(7): 1313~1319.
- 31 Stepniak E, Ricci R, Eferl R, et al. c-Jun/AP-1 controls liver regeneration by repressing p53/p21 and p38 MAPK activity[J]. *Genes Dev*, 2006, 20(16): 2306~2314.
- 32 Stocum D L. The urodele limb regeneration blastema: Determination and organization of the morphogenetic field[J]. *Differentiation*, 1984, 27(1): 13~28.
- 33 Stocum D L, Desdouets C. Looking proximally and distally: 100 years of limb regeneration and beyond[J]. *Dev Dyn*, 2011, 240(5): 943~968.
- 34 Suzuki A, Sakaguchi T, Inaba K, et al. Impact of cell cycle disruption on impaired hepatic regeneration in aged livers with ischemic insult[J]. *J Surg Res*, 2012, 173(2): 267~277.
- 35 Tanaka E M, Gann A A, Gates P B, et al. Newt myotubes reenter the cell cycle by phosphorylation of the retinoblastoma protein[J]. *J Cell Biol*, 1997, 136(1): 155~165.
- 36 Tanaka E M, Drechsel D N, Brockes J P. Thrombin regulates S-phase re-entry by cultured newt myotubes[J]. *Curr Biol*, 1999, 9(15): 792~799.
- 37 Tolba R H, Schildberg F A, Decker D, et al. Mechanisms of improved wound healing in Murphy Roths Large (MRL) mice after skin transplantation[J]. *Wound Repair Regen*, 2010, 18(6): 662~670.
- 38 Torbenson M, Yang S Q, Liu H Z, et al. STAT-3 overexpression and p21 up-regulation accompany impaired regeneration of fatty livers[J]. *Am J Pathol*, 2002, 161(1): 155~161.
- 39 Waga S, Hannon G J, Beach D, et al. The p21 inhibitor of cyclin-dependent kinases controls DNA replication by interaction with PCNA[J]. *Nature*, 1994, 369(6481): 574~578.
- 40 Weiss R H. p21Waf1/Cip1 as a therapeutic target in breast and other cancers[J]. *Cancer Cell*, 2003, 4(6): 280~294.
- 41 Weymann A, Hartman E, Gazit V, et al. p21 is required for dextrose-mediated inhibition of mouse liver regeneration [J]. *Hepatology*, 2009, 50(1): 207~215.
- 42 Wu H, Wade M, Krall L, et al. Targeted *in vivo* expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 halts hepatocyte cell-cycle progression, postnatal liver development and regeneration[J]. *Genes Dev*, 1996, 10(3): 245~260.
- 43 Zhong Z, Tsukada S, Rehman H, et al. Inhibition of transforming growth factor-beta/Smad signaling improves regeneration of small-for-size rat liver grafts[J]. *Liver Transpl*, 2010, 16(2): 181~190.

β -伴大豆球蛋白在仔猪胃肠组织中的分布规律的研究

李进杰¹, 宋志甫²

(1. 河南农业职业学院, 河南中牟 451450; 2. 临颖县动物卫生监督所, 河南临颖 462600)

摘要: 本试验旨在研究 β -伴大豆球蛋白在仔猪胃肠组织中的分布规律。选用母本品种、胎次相同及体重相近的 28 日龄健康的杜×长×大断奶仔猪 20 头, 随机分为 2 组, 每组 2 个重复, 每个重复 5 头仔猪。对照组饲喂不含大豆抗原蛋白的基础日粮, 试验组饲喂含 4% β -伴大豆球蛋白的日粮。试验期 5 d。结果表明, 在仔猪消化道内, 仔猪空肠后段中 β -伴大豆球蛋白含量最高, 而胃和小肠前半段的含量较低, 且胃、十二指肠黏膜中 β -伴大豆球蛋白含量显著高于胃肠组织 ($P < 0.05$)。

关键词: β -伴大豆球蛋白; 仔猪; 胃肠组织; 分布规律

中图分类号: S828

文献标识码: A

文章编号: 1671-7236(2014)05-0176-04

大豆中含有多种较高水平的抗营养因子, 如大豆蛋白酶抑制因子、大豆抗原蛋白、大豆凝集素等均能对猪产生不良影响, 降低猪的生产性能。其中热稳定性好的大豆抗原蛋白、大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白是大豆及其加工制品中的主要致敏蛋白(胡文琴等, 2004; 石慧等, 2006; 李德发, 2003), 均能引起动物腹泻, 破坏动物消化道尤其是小肠的正常结

构和功能, 并可导致动物和人的过敏反应, 危害动物和人类健康(李德发, 2003)。就仔猪而言, 由于断奶仔猪具有消化器官和免疫器官不发达、消化机能不完善、消化道中酶和胃酸的分泌量不足、正常的肠道微生态系统尚未建立等缺点, 大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白对仔猪的生长发育和健康造成的危害尤为严重。目前, 有关大豆抗原蛋白在猪胃肠道吸收机制方面的研究才刚刚开始, 最新的研究是采用免疫组织化学法研究 2 种大豆抗原蛋白在仔猪小肠内的分布规律(张兵, 2009; 鲍男, 2007), 且比较了蒸汽处理前后 β -伴大豆球蛋白在小肠中的分布差异, 初步

收稿日期: 2013-11-08

作者简介: 李进杰(1967—), 男, 河南人, 硕士, 讲师, 研究方向: 动物营养与饲料科学。

基金项目: 郑州市科技攻关项目(131PPTGG424)。

Research Progress of Relationship between *p21* Gene and Mammalian Regeneration

GUO Qian-qian^{1,2}, WANG Da-tao², CHU Wen-hui², ZHAO Hai-ping²,
SUN Hong-mei², LI Chun-yi²

(1. Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212018, China; 2. State Key Laboratory for Molecular Biology of Special Wild Economic Animals, Institute of Special Animal and Plant Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China)

Abstract: Animals' capability of regenerating multiple tissue types, organs, and appendages after injury are common among invertebrates and urodele amphibians, but notably such regenerative capacity is rare in mammals. Recently, accumulating evidence has proved that mammals may also have regenerative property with the discovery of MRL mouse, and it brings new hope for clinical therapies. The regeneration of appendages depends on cells proliferation, at the same time, cells proliferation depends on cell cycle, so as one of the cell cycle regulatory proteins, we found the deletion of *p21* gene could actually result in full MRL epimorphic regeneration phenotype in a new study, providing a firm link between *p21* protein and tissue regeneration. This article reviewed the fields of tissue regeneration and *p21* protein, and introduced the relationship between tissue regeneration and *p21* protein.

Key words: regeneration; *p21* gene; mammals; MRL