

文章编号: 1001- 4721(2008) 02- 0064- 05

鹿茸发育研究进展

鲍加荣, 杨福合, 荣敏, 李春义

(中国农业科学院特产研究所, 吉林 吉林 132109)

摘要: 综述鹿茸再生和干细胞的研究成果, 为鹿茸发育的进一步研究提供技术支持和奠定理论基础, 以促进器官再生和干细胞研究。

关键词: 鹿茸发育; 再生医学; 干细胞; 生物医学模型

中图分类号: S825; Q813

文献标识码: A

Research Progress in Deer Antlers Development

BAO Jia- rong, YANG Fu- he, RONG Min, LI Chun- yi

(Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, CAAS., Jilin, China, 132109)

Abstract: This article reviewed what are currently known about the field of deer antler regeneration and stem cell research. It can provide technical support and lay the theoretical foundation for further studies of antler development. The mechanism underlying deer antler regeneration and stem cell research should boost the organ regeneration and human stem cell research in general.

Key words: Deer antler development; Regeneration medicine; Stem cell; Biomedical model

鹿茸是鹿的第二性征, 在一定的生理条件下, 在额骨部长出的骨质性组织, 从初角茸生长后, 每年周期性地生长发育, 它的生长发育受特定的分子机理调控。经国内外研究者^[1]的长期研究发现, 鹿茸再生与肢体再生有其相似之处, 并且鹿茸组织的生长发育依赖于干细胞的增殖分化。鹿茸的生长速度主要取决于其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, 但是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机制, 有可能为揭示癌变机制提供线索。鹿茸的研究对现代医学和干细胞

以及癌症等科学领域的研究具有重要价值。本文对鹿茸发育机理和干细胞研究进行综述, 以促进鹿茸作为人类再生医学模型的发展和干细胞的研究。

1 鹿茸的发育机理

一直以来, 很多学者都认为鹿茸再生是割处再生, 旧的鹿茸角脱落后, 在几小时内形成血痂, 一些间充质细胞进入到表皮与裸露的角柄骨之间, 很像两栖动物蝾螈的肢体再生^[2]。但是, 最近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: 伤口表皮下的内在组织发生去组织化, 细胞去分

收稿日期: 2008- 03- 26

基金项目: 国家 973 前期专项 2007BAD07B07)

作者简介: 鲍加荣(1981-), 男, 安徽安庆人, 在读硕士, 从事特种经济动物遗传育种研究。Email:rong9@126.com

通讯作者: 杨福合(1956-), 男, 研究员, 博士生导师, 从事特种经济动物遗传育种研究。Email:yangfh@126.com

化,形成了具有胚胎干细胞特性的干细胞^[3]。这些去分化的细胞重新进入细胞循环,进行细胞分裂慢慢形成再生胚基。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^[3-7]。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^[8]研究显示,鹿茸再生是一个基于干细胞的过程,该过程是由于角柄末梢的骨膜干细胞受到激活。

组织学研究表明,鹿茸来源于额骨特定区域的骨膜^[9,10],该区域的骨膜称为生茸骨膜,生茸骨膜的存在已通过一系列移植试验得到了证实。将被覆于幼鹿角柄表面的骨膜移植到鹿鼻或前腿上也能长出异位角柄和茸。生茸骨膜可能由角柄周围的额骨膜再生而来的,对失去骨膜的角柄研究发现,新的角柄骨膜于角柄周围的额骨骨膜处完全再生。这些新再生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^[11]。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。表皮与裸露的角柄芽基间充质细胞来源于角柄骨膜^[12],进一步证明了再生的鹿茸组织主要来源于再生的角柄骨膜。Li等^[13]通过试验证明,芽基间充质细胞生长发育成鹿茸,是需要各组织之间的相互作用,如鹿茸表皮对鹿茸生长点的机械力的作用。Li等^[12,14]还对赤鹿生茸骨膜及初角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,起始和维持着组织发生和器官发生^[15]。

1.1 组织发生

鹿茸的组织发生就是鹿茸的再生,可以分成2个阶段:1.鹿角脱落和伤口愈合;2.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^[16]。在组织学上,鹿角的脱落和伤口愈合包括3个阶段,这些阶段包括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2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。

角柄和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,它经历了骨化的3个阶段^[16]而形成的。茸角的表皮形成从组织学上也可分为3个阶段^[14]:在鹿茸生长发育过程中,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;由

于机械张力,茸皮发生转变,而这种机械张力又源于其皮下的骨软骨组织的快速生长^[14]。

1.2 器官发生

鹿茸开始生长很像胚胎发育中某些器官的形成,如肢体形成^[12]。肢体的伸长是由顶端外胚层嵴(上皮组织)和嵴下间充质通过扩散的分子相互作用。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^[13]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,通过机械张力使得鹿茸生长,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。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^[13]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。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。

许多证据充分支持了初角茸的形成模型可以用来研究器官形成。利用此模型,胚胎学家可能会揭示无肢综合症的未知机理。这种无肢综合症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。在鹿茸的发育过程中,角柄也是先发生短暂的生长,出生前就停止生长,出生后角柄又重新开始发育,形成鹿茸。如果我们能够弄清楚角柄在出生后重新开始生长形成鹿茸的未知机理,就可以攻克无肢综合症。

1.3 调控

角柄和鹿茸的形成是受雄性生长激素控制的,鹿茸生长发育的周期性与鹿的性激素水平变化相一致。鹿的初角茸在翌年春天,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:高水平的雄性激素起始并维持角柄的生长。Suttie等^[17]报道过角柄的形成与血液中睾酮水平升高有很大的关系。如果在角柄发生时去势,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^[18]。Wislocki等^[19]曾经对2只去势白尾鹿补给外源的雄性激素,它们不仅长出了角柄,而且长出了初角茸。Li等^[20,21]对阉割的公鹿和年轻的母鹿持续地注射睾酮,待茸长到5cm高时,停止注射,成功地使阉割的公鹿和正常的母鹿产生初角茸。推测睾酮自身就能够刺激角柄和鹿

茸的生长。雄性激素能直接作用在鹿茸再生骨膜上的睾酮特定结合位点,起始角柄生长,也会引起鹿茸的骨化和老化。当雄鹿长到青春期中,芽基开始发育,并逐渐再生形成成熟的分枝茸。在秋天接近繁殖季节时,鹿血浆睾酮含量升高,鹿茸开始发生骨化,被覆在其表面的绒状皮肤逐渐脱落,留下坚硬的骨附着在角柄上。导致鹿茸骨化的主要因素是睾丸酮和雌二醇的含量,生茸期的鹿外周血中出现的雌二醇高峰没能使茸角骨化。而当鹿茸进入骨化时期,给茸鹿施以抗雌处理,使高含量雌二醇失去作用,或者单独给茸鹿施以抗雄处理,使外周血中高含量的睾丸酮失去作用,都可以使鹿茸不能完全骨化。因此,在鹿茸生长过程中,只有 1 种性激素含量上升不能引起鹿茸完全骨化,必须要有睾丸酮和雌二醇这 2 种性激素同时上升,才能导致茸角完全骨化。关于鹿茸角脱落的机理,目前还不清楚。研究表明,血液循环系统内睾酮含量降低与鹿茸角脱落过程密切相关,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 2~3 周内脱落^[2]。鹿茸角通常在 1d 内完成脱落过程,角柄与鹿茸角界面处产生的一些因子可促进破骨祖细胞的增殖及分化,而血浆睾酮含量降低可诱导这些因子的产生,活化的破骨细胞可吸收存在于角柄与鹿茸角界面处大量的基质,该过程可能也受一些激素的调控^[2]。

Suttie 等^[23]曾报道过 IGF1 的季节性变化与鹿茸的生长速度的变化很一致,骨膜细胞在睾酮的刺激下并不增殖,表现出 IGF1 的浓度依赖性,不同生长期的鹿茸生长中心细胞对胰岛素样生长因子-I 刺激的敏感度不同,生长期为 60d 尤为显著,鹿茸增殖区的间充质和软骨细胞的增殖依赖于 IGF1 的浓度^[24-26]。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,使增殖区细胞在鹿茸生长期对 IGF1 更敏感。后来,这个结论被 Li 等^[27]的研究结果——“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”所支持。还有视黄酸受体 (RAR) 和视黄醇类 X 受体 (RXR) 等视黄酸类物质,神经生长因子、血管内皮(细胞)生长因子、神经营养因子、骨形态结合蛋白等许多因子及其受体,EGFR,PTH/PTHrP,细胞周期循环基因 PEDF 和 CDKN1C 等通过信号通路如 Wnt 信号通路)参与鹿茸发育的调控^[28-34]。

鹿茸发育机理很复杂,有些现象还不能很好地解释。除了雄性激素与鹿茸的生长有关外,有一些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,共同作用于鹿茸生长发育的信号通路。

2 鹿茸干细胞

干细胞能自我更新和分化成各种不同类型的细胞,主要进行组织修复和再生。鹿茸干细胞是鹿茸顶端的分生组织,即间充质组织,这部分的细胞是鹿茸生长发育的干细胞。Price 等^[2]对鹿茸干细胞的生长发育模式进行了深入地研究,但是使之成为干细胞研究模型仍需进一步研究。骨膜是原始干细胞组织,具有胚胎组织的特性,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、异种移植得到了证实^[12,13]。除了鹿茸生物学描述的那种自我分化能力,骨膜还含有鹿茸形成的信息图式。Goss 等^[35]运用外科手术把 1 片骨膜翻过来,后来,从这片骨膜上长出的茸前后端相反。当把左边的骨膜移植到右边,则能从右边的部分长出正常的鹿茸。当把骨膜剪成条状,然后再移回原来的位置,仍然能从这个碎骨膜移植的位置上长出组织结构完好的茸。非常奇怪的是,这么小的 1 片骨膜组织能承载所有鹿茸生长的信息图式,同时这些模式信息能够自我调控。

3 问题和展望

鹿茸如何再生成一个完整的器官?鹿茸生长组织的快速增殖是如何调控的?其分子机理、调控机制至今仍不清楚。近来许多科学家利用分子生物学、细胞生物学、组织胚胎学等专业技术从基因、蛋白质、细胞等各个方面研究这些机理。研究显示,基于干细胞的鹿茸再生与肢体发育有着相似的机制,研究者都盼望有一天人类医学也能够对损伤的、患有疾病、癌症的和切除的器官进行重建。如果能够了解鹿茸的发育、细胞的更新、修复发育成完整的器官等原理,我们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的信号通路也很重要,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,但在鹿茸中有着特殊角色。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,它是研究再生基本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,及重要器官提供新的治疗方法^[36]。

总之,鹿茸的生长可以作为很多新的生物医学研究模型。如果我们能诠释鹿茸再生的分子机理,能更好地促进了肢体再生等器官再生研究,将对人类大有裨益。

参 考 文 献

- [1] Price J, Fauchaux C, Allen S. Deer antlers as a model of Mammalian regeneration [J]. *Curr Top Dev Biol*, 2005, 67: 1- 48.
- [2] Price J, Allen S. Exploring the mechanisms regulating regeneration of deer antlers. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* [J]. 2004, 359(1445):809- 822.
- [3] Han M, Yang X, Taylor G, Burdsal CA, et al. Limb regeneration in higher vertebrates: Developing a roadmap [J]. *Anat Rec B*, 2005, 287(1):14- 24.
- [4] Mescher AL. The cellular basis of limb regeneration in urodeles [J]. *Int J Dev Biol*, 1996, 40(4):785- 795.
- [5] Brockes JP, Kumar A. Plasticity and reprogramming of differentiated cells in amphibian regeneration [J]. *Nature Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3:566- 574.
- [6] Brockes JP, Kumar A. Appendage regeneration in adult vertebrates and implications for regenerative medicine [J]. *Science*, 2005, 310:1919- 1923.
- [7] Odelberg SJ. Cellular plasticity in vertebrate regeneration. *Anat Rec B* 2005, 287(1):25- 35.
- [8] Kierdorf U, Kierdorf H, Szuwart T. Deer antler regeneration: cells, concepts, and controversies [J]. *J Morphol*, 2007, 268(8):726- 38.
- [9] Kierdorf U, Stoffels E, Stoffels D, et al. Histological studies of bone formation during pedicle restoration and early antler regeneration in roe deer and fallow deer [J]. *Anat Rec A*, 2003, 273(2):741- 751.
- [10] Li C, Suttie JM, Clark DE. Histological examination of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Anat Rec*, 2005, 282A(2):163- 174.
- [11] Li C, Mackintosh CG, Martin SK, Clark DE. Identification of key tissue type for antler regeneration through pedicle periosteum deletion [J]. *Cell Tissue Res*, 2007, 328(1):65- 75.
- [12] Li C, Suttie JM. Deer antlerogenic periosteum: a piece of postnatally retained embryonic tissue [J]. *Anat Embryol (Berl)*, 2001, 204(5):375- 88.
- [13] Li C, Harris AJ, Suttie JM. Tissue interactions and antlerogenesis: new findings revealed by a xenograft approach [J]. *J Exp Zool*, 2001, 290(1):18- 30.
- [14] Li C, Suttie JM. Histological studies of pedicle skin formation and its transformation to antler velvet in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Anat Rec*, 2000, 260(1):62- 71.
- [15] Li C, Yang F, Li G, Gao X, et al. Antler regeneration: a dependent process of stem tissue primed via interaction with its enveloping skin [J]. *J. Exp. Zoo*, 2007, 307(2): 95- 105.
- [16] Li C and J.M.Suttie. Light microscopic studies of pedicle and early first antler development in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Anat. Rec*, 1994, 239(2):198- 215.
- [17] Suttie, J. M., P. F. Fennessy, et al. Temporal changes in LH and testosterone and their relationship with the first antler in red deer (*Cervus elaphus*) stags from 3 to 15 months of age [J]. *J Endocrinol*, 1991, 131(3): 467- 74.
- [18] Li C, Littlejohn RP, Corson ID, Suttie JM. 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.
- [19] Wislocki, G. B., J. C. Aub, et al. The effects of gonadectomy and the administration of testosterone propionate on the growth of antlers in male and female deer [J]. *Endocrinology*, 1947, 40: 202- 224.
- [20] Li, C., G. Bing, et al. Measurement of testosterone specific binding (receptor) content of antlerogenic site periosteum in male and female sika deer [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 1990, 21(1): 11- 14.
- [21] Li, C., A. J. Harris, et al. Autoradiographic localization of androgen-binding in the antlerogenic periosteum of red deer (*Cervus elaphus*). Third International Congress on the Biology of Deer [C]. Edinburgh Scotland, 1998, Pp 220.
- [22] Huber S, Palme R, Arnold W. Effects of season, sex, and sample collection on concentrations of fecal cortisol metabolites in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Gen Comp Endocrinol*. 2003, 130(1):48- 54.
- [23] Suttie, J. M., P. D. Gluckman, et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) antler-stimulating hormone [J]. *Endocrinology*, 1985, 116(2):846- 8.
- [24] Elliott, J. L., J. M. Oldham, et al. Presence of insulin-like growth factor-I receptors and absence of growth hormone receptors in the antler tip [J]. *Endocrinology*, 1992, 130(5): 2513- 20.
- [25] Sadighi, M., S. R. Haines, et al. Effects 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.
- [26] Suttie, J. M., G. A. Lincoln, et al. Endocrine control of antler growth in red deer stags [J]. *J Reproduction & Fertility*, 1984, 71(1): 7- 15.
- [27] Li, C., R. P. Littlejohn, et al. Effects of insulin-like growth factor 1 and testosterone on the proliferation of antlerogenic cells in vitro [J]. *J Exp Zool*, 1999, 284(1): 82- 90.
- [28] Allen SP, Maden M, Price JS. A role for retinoic acid in regulating the regeneration of deer antlers [J]. *Dev Biol*. 2002, 251(2):409- 23.

(下转第 72 页)

- 土壤对三七根腐病复合症的防治效果[J].上海农业学报, 2006(1): 1- 5.
- [27] 薛继承,毕德义,李家金,等.保护地栽培蔬菜生理障碍的土壤因子与对策[J].土壤肥料, 1994, 1: 4- 9.
- [28] 杨依军,武侠,等.人参西洋根病的生物防治[J].特产研究, 1997(1): 30- 33.
- [29] K.F.E.植物病原菌的生物防治[M].北京: 农业出版社, 1984: 1- 61.
- [30] 鲁素云.植物病害生物防治[M].北京: 北京农业大学出版社, 1993: 25- 39.
- [31] 吴凤芝,赵凤艳.根系分泌物与连作障碍[J].东北农业大学学报, 2003, 34(1): 114- 118.
- [32] 张福锁,等.土壤与植物营养研究新动态 第一卷[M].北京: 北京农业大学出版社.1992: 1- 64.
- [33] 章家恩,徐琪.土壤与生物多样性及其保护对策[J].资源科学, 1998, (1): 49- 53.

(上接第 63 页)

- [32] Ziegler T, Hodges K, Winkler P, et al. Hormonal correlates of reproductive seasonality in wild female hanuman langurs (*Presbytis entellus*) [J]. American Journal of Primatology, 2000, 51: 119- 134.
- [33] Lynch J W, Khan M Z, Altmann J, et al. Concentrations of four fecal steroids in wild baboons: short-term storage conditions and consequences for data interpretation [J]. General and Comparative Endocrinology, 2003, 132: 264- 271.
- [34] Brockman D K, Whitten P L. Reproduction in free-ranging *Propithecus verreauxi*: estrus and the relationship between multiple partner matings and fertilization [J]. American Journal of Physical Anthropology, 1996, 100: 57- 69.
- [35] Brockman D K, Whitten P L, Richard A F, et al. Reproduction in free-ranging male *Propithecus verreauxi*: the hormonal correlates of mating and aggression [J]. American Journal of Physical Anthropology, 1998, 105(2): 137- 151.
- [36] Cristobal- Azkarate J, Chavira R, Boeck L, et al. Testosterone levels of free-ranging resident mantled howler monkey males in relation to the number and density of solitary males: a test of the challenge hypothesis [J]. Hormones and Behavior, 2006, 49(2): 261- 267.
- [37] Garniera J N, Green D I, Pickard A R, et al. Non-invasive diagnosis of pregnancy in wild black rhinoceros (*Diceros bicornis minor*) by faecal steroid analysis [J]. Reproduction, Fertility, and Development, 1998, 10(6): 451- 458.
- [38] Schoenecker K A, Lyda R O, Kirkpatrick J. Comparison of three fecal steroid metabolites for pregnancy detection used with single sampling in bighorn sheep (*Ovis canadensis*) [J]. Journal of Wildlife Diseases, 2004, 40(2): 273- 281.

(上接第 67 页)

- [29] Barling PM, Lai AK, Nicholson LF. Distribution of EG and its receptor in growing red deer antler. Cell Biol Int. 2005, 29(3):229- 36.
- [30] Barling PM, Liu H, Matich J, et al. Expression of PTHrP and the PTH/PTHrP receptor in growing red deer antler [J]. Cell Biol Int. 2004, 28(10):661- 73.
- [31] Mount JG, Muzylak M, Allen S, et al. Evidence that the canonical Wnt signalling pathway regulates deer antler regeneration [J]. Dev Dyn. 2006, 235(5):1390- 9.
- [32] Lord EA, Martin SK, Gray JP, et al. Cell cycle genes PEDF and CDKN1C in growing deer antlers [J]. Anat Rec (Hoboken). 2007, 290(8):994- 1004.
- [33] 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.
- [34] Clark DE, Lord EA, Suttie JM. Expression of VEGF and pleiotrophin in deer antler [J]. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol. 2006, 288(12):1281- 93.
- [35] Goss, R. J. "Induction of deer antlers by transplanted periosteum: III. Orientation [J]. J Exp Zool, 1991, 259: (2) 246- 251.
- [36] J.S. Price, S. Allen, C. Fauchaux, et al. Deer antlers: A zoological curiosity or the key to understanding organ regeneration in mammals [J]. J Anat, 2005, 207(5):603- 18.