

鹿茸再生及其蛋白质组学研究进展

董 振, 褚文辉, 赵海平, 刘 振, 王桂武, 李春义 (特种动物分子生物学国家重点实验室; 中国农业科学院特产研究所, 吉林省长春市 130000)

文章亮点:

- 1 此问题的已知信息: 鹿茸是目前已知的惟一个可以完全再生的高等动物附属器官, 并且这种再生基于角柄骨膜中的干细胞。角柄骨膜所覆盖的皮肤提供了相应的干细胞被诱导所需的微环境, 一些蛋白类物质或小分子多肽类物质作为两者间信息交流的信使。
- 2 课题增加的新信息: 蛋白类物质与小分子多肽类物质对于揭开鹿茸独特生物学活性与再生机制具有重要的作用。本文是第一篇针对鹿茸和角柄骨膜蛋白质组方面进行综述的文章, 主要从蛋白质的两种分离方法即利用凝胶原理(如双向电泳等)与非凝胶原理(如在线二维色谱技术等)来展开, 并且提出了目前鹿茸蛋白质组研究所存在的问题与建议。
- 3 提供临床借鉴的价值: 鹿茸的再生过程中有大量的未知机制等待着被发掘出来, 尤其是承担着重要作用的蛋白多肽类物质, 它们能够促使鹿茸完全再生、分化出多个组织类型、快速生长却不发生癌变。如果能够找到具有相关作用的某个或某些活性物质, 研发出相应的药物, 可以为人类的骨伤愈合、皮肤再生等多个医学难题提供有力的解决方案。所以将鹿茸作为一种重要的生物医学模型来研究能够为人类组织工程的发展起到促进作用。

关键词:

组织构建; 组织工程; 干细胞; 培养; 鹿茸干细胞; 鹿茸; 角柄骨膜; 再生; 蛋白质组; 双向电泳; 色谱; 质谱; 国家自然科学基金

主题词:

干细胞; 骨膜; 再生; 蛋白质类; 生物学

基金资助:

国家 863 项目(2011AA100603); 国家自然科学基金(31170950)

摘要

背景: 鹿茸是目前已知的惟一可以周期性再生的哺乳动物器官。这是一种来源于角柄骨膜并基于干细胞的再生过程。鹿茸又以角柄骨膜致敏区的干细胞作为再生基础, 鹿茸及角柄骨膜中的蛋白质组, 对于揭开鹿茸所具有的独特生物学活性以及再生机制具有重要的意义。

目的: 综述鹿茸再生和目前鹿茸蛋白质组研究的两种主要途径与研究现状等。

方法: 应用计算机在 PubMed 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) 与 CNKI 数据库 (<http://www.cnki.net/>) 中进行检索。在 PubMed 数据库中的检索词为“deer antler, antler regeneration, antler proteome”; 在 CNKI 数据库中的检索词为“鹿茸再生, 鹿茸蛋白质组”。将涉及到鹿茸再生组织学与形态学, 鹿茸干细胞以及鹿茸蛋白质组研究相关的文章找出来, 内容无关与重复的文章排除掉, 最后纳入 43 条文献进行综述。

结果与结论: 在 PubMed 与 CNKI 数据库中通过初检与筛选共找到了 43 篇文献。鹿茸是能够周期性再生的, 并且通过组织学等相关实验表明这种再生是来源于角柄骨膜干细胞的, 而角柄骨膜分为致敏区与休眠区, 两者是通过与皮肤接触的紧密程度来划分的。正是致敏区骨膜与其所覆盖皮肤的相互作用才最终促使角柄骨膜干细胞发育成完整的鹿茸组织。同时, 鹿茸及角柄骨膜中的蛋白质组在这些过程中起着重要作用。通过还原蛋白质谱的完整情况并进一步通过基因工程等后续手段来研究未知蛋白的功能对于了解鹿茸具有的独特生物学活性与再生作用奠定重要基础, 同时对于相关蛋白质在哺乳动物器官再生中所具有的调节作用提供参考。

董振, 褚文辉, 赵海平, 刘振, 王桂武, 李春义. 鹿茸再生及其蛋白质组学研究进展[J]. 中国组织工程研究, 2013, 18(24):3931-3936.

Antler regeneration and its proteomics research

Dong Zhen, Chu Wen-hui, Zhao Hai-ping, Liu Zhen, Wang Gui-wu, Li Chun-yi (State Key Laboratory for Molecular Biology of Special Animals; Institute of Special Animal and Plant Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130000, Jilin Province, China)

Abstract

BACKGROUND: Deer antlers are the only known mammalian organs that can periodically regenerate, and antler regeneration is known as a stem cell-based process. The stem cells locate in the potentiated region of pedicle

董振, 男, 1989 年生, 吉林省白城市人, 汉族, 中国农业科学院特产研究所读硕士, 主要从事鹿茸干细胞及蛋白质组学研究。

通讯作者: 李春义, 博士, 研究员, 中国农业科学院特产研究所吉林省特种动物分子生物学重点实验室, 吉林省长春市 130000

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.

2014.24.026

[<http://www.crter.org>]

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2014)24-03931-06

稿件接受: 2014-03-12

Dong Zhen, Studying for master's degree, State Key Laboratory for Molecular Biology of Special Animals; Institute of Special Animal and Plant Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130000, Jilin Province, China

Corresponding author: Li Chun-yi, M.D., Investigator, State Key Laboratory for Molecular Biology of Special Animals; Institute of Special Animal and Plant Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130000, Jilin Province, China

Accepted: 2014-03-12

periosteum, and form the basis for deer antler regeneration. Study on the proteome in deer antler and pedicle periosteum is of great importance for revealing biological activity and the mechanism underlying deer antler regeneration.

OBJECTIVE: To summarize research progress in antler regeneration, as well as the major approaches and the status of antler proteomics research.

METHODS: A computer-based online search of PubMed and CNKI databases was performed for acquiring the articles in English and Chinese by using the key words of "deer antler; antler regeneration; antler proteome". The searched articles are all related with antler regeneration histology and morphology, antler stem cells and proteome studies. Repetitive studies or articles that are unrelated to the search criteria were excluded. A total of 43 papers were included for review.

RESULTS AND CONCLUSION: After preliminary screening in PubMed and CNKI database, 43 articles were finally selected. The literature showed that, based on the histological experiments, deer antlers can periodically regenerate and antler regeneration is a stem cell-based process. The pedicle periosteum is divided into potentiated region and dormant region, which are distinguished by the degree of contacting with the skin. The interactions between potentiated region and its covering skin prompts antler stem cells to develop into a complete antler. And the proteomes in antler and pedicle periosteum play important roles in regulating the regeneration. Getting a complete protein map and using genetic engineering to study the function of unknown proteins can establish significant foundation for understanding unique biological activities and regeneration of deer antler. And it can provide a reference in the regulation effect of related proteins in the regenerative mammalian organs.

Subject headings: stem cells; periosteum; regeneration; proteins; biology

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 31170950; the National "863" Program of China, No. 2011AA100603

Dong Z, Chu WH, Zhao HP, Liu Z, Wang GW, Li CY. Antler regeneration and its proteomics research. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2014;18(24):3931-3936.

0 引言 Introduction

鹿茸是迄今为止所发现的惟一个具有完全再生能力的哺乳动物附属器官^[1-2]。这种再生是以年为周期而进行的^[3-4],每年春天鹿角从角柄上脱落并随即引发下一轮鹿茸再生;夏天,鹿茸会快速生长,新生的鹿茸由茸皮所覆盖;到了秋天,已长成的鹿茸便会迅速骨化并伴随茸皮脱落;进入冬天,骨化的鹿角又会与其角柄紧密连接从而等待新一轮的鹿茸再生。再生周期中鹿茸的生长十分迅速^[5-8],可在几个月内快速生长发育,这需要强大的血管系统供给营养才能完成,而鹿茸的这种生长速度远远超过癌细胞的分裂速度,令人惊奇的是其不会发生癌变^[9-10]。

鹿茸从新生到凋亡是各种活性蛋白因子共同作用的结果,这些有生物活性的物质可能为鹿茸的再生过程起到重要调节作用。由此可知,把鹿茸作为生物学模型,深入研究其独特的再生分子调节机制和找寻生物活性蛋白物质对于揭开鹿茸所具有的独特生物学活性有重要的意义,对于揭开哺乳动物器官再生之谜同样具有重要的意义。

蛋白质组的概念最先由Marc Wilkins提出,指由一个基因组,或一个细胞、组织表达的所有蛋白质。蛋白质组学本质上指的是在大规模水平上研究蛋白质的特征,包括蛋白质的表达水平、翻译后的修饰、蛋白与蛋白相互作用等,由此获得蛋白质水平上的关于疾病发生、细胞代谢等过程的整体而全面的认识。本文将对鹿茸再生和鹿茸蛋白质组学研究的主要途径与研究现状等作一综述。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 文献来源

检索人:由第一作者及通讯作者应用计算机进行文献检索。

检索数据库:应用计算机在PubMed数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)与CNKI数据库(<http://www.cnki.net/>)中进行检索。

检索词:在PubMed数据库中的检索词为“deer antler; antler regeneration; antler proteome”。在CNKI数据库中的检索词为“鹿茸再生,鹿茸蛋白质组”。

1.2 资料筛选及评价

纳入标准:将涉及到鹿茸再生组织学与形态学,鹿茸干细胞以及鹿茸蛋白质组学研究相关的文章筛选出来。

排除标准:内容与文章主题不相干或重复的文章排除掉。

1.3 资料提取与文献质量评价 在PubMed与CNKI数据库中通过初检与筛选共找到了43篇相关文献。文献的主题主要与鹿茸再生与鹿茸蛋白质组研究有关,包括综述、研究论文与学位论文等,通过整理与仔细阅读后进行综述。

2 结果 Results

2.1 纳入文献基本情况 文献[1-10]研究了鹿茸周期性再生的过程;文献[11-21]研究了鹿茸基于干细胞再生的依据;文献[22-26]研究了鹿角柄骨膜致敏区与休眠区的发现并证实了鹿茸再生源于角柄骨膜致敏区中的干细

胞;文献[27-38]研究了基于凝胶系统的鹿茸蛋白质组学进展;文献[39-43]研究了基于非凝胶电泳的鹿茸蛋白质组学进展。

2.2 鹿茸生物学

2.2.1 鹿茸基于干细胞再生 鹿茸再生的整个过程包括生长、骨化、茸皮脱落以及鹿角脱落等^[11-12]。与人们所熟知的具有再生功能的物种如蝾螈(基于胚芽的再生)不同的是鹿茸的再生是基于干细胞的割处再生过程^[3],是哺乳类动物中惟一有能力自切、脱落和再生的动物附属器官。

鹿茸每年从额前部永久性残桩-角柄上再生,随着年龄增长,角柄逐渐变短。实验证实,鹿茸再生源于覆盖角柄的骨膜^[3]。这类细胞就是角柄骨膜细胞。鹿茸每年周期性再生都源于角柄骨膜。随后Li等^[3]发现角柄骨膜细胞能表达干细胞标记物CD9抗原。与此同时,3个具有多潜能性的基因即POU结构域的家族成员Oct4, Nanog和Sox2也在其中表达^[13-14]。另外发现这种细胞中的端粒酶以及核干细胞因子的表达量也较高^[3]。端粒酶能增强细胞的自我更新作用而核干细胞因子具有控制干细胞的增殖作用^[15-16]。Li等^[17-21]还发现角柄骨膜细胞具有向其他类型细胞分化的多潜能性。

2.2.2 角柄骨膜致敏区与休眠区 鹿茸再生组织学基础表明其周期性再生来源于角柄骨膜中的干细胞。但角柄高度如梅花鹿与赤鹿在5 cm左右^[22],那么是整个角柄骨膜都具有再生能力还是只有其中的部分组织承担此任务呢?针对此, Li等^[23]通过组织学与形态学研究发现,角柄骨膜根据与皮肤接触的紧密程度有一个比较明显的分界,即远心端大约1/3部分骨膜与皮肤是紧密接触的;而近心端大约2/3部分骨膜与皮肤之间存在大量的疏松结缔组织使得两者没有紧密接触。发现此现象后, Li等^[24]进一步进行插膜实验表明茸皮的生长是依赖角柄骨膜的刺激作用的,并且前者可以长出无皮的鹿茸组织,这表明茸皮对于该部分角柄骨膜仅起到引发其生长的作用;而后者则不会生长出鹿茸组织。由此Li等将远心端角柄骨膜与皮肤紧密接触部分称为角柄骨膜致敏区,相应的近心端角柄骨膜与皮肤非紧密接触部分称为角柄骨膜休眠区。另外, Wang等^[25]曾表明没有覆盖物的体外组织是不能存活的,但此插膜实验说明鹿茸却是个例外。

Hsueh等^[26]研究表明,干细胞的更新,分化与成熟均与其周围的微环境有关。Li等^[24]认为鹿角柄皮肤应该为角柄骨膜干细胞提供了这个微环境。目前的实验证明是骨组织相应成分包括角柄骨膜引起的鹿茸再生。骨组织在与其所覆盖的皮肤相互作用后,会被诱导并具有潜在的再生能力^[3]。

2.3 鹿茸蛋白质组学研究进展 蛋白质组学的研究是生命科学进入后基因组时代的特征。蛋白质组学对于治疗

人类疾病,寻找特效药物等解决方案上起着至关重要的作用。

再生生物学特别是割处再生是近年来研究的重点,鹿茸是迄今为止所发现的惟一可以割处完全再生的哺乳动物附属器官,以鹿茸为模型研究哺乳动物器官再生机制具有明显优势^[1]。而在整个鹿茸再生的过程中,大量具有生物活性的蛋白类物质与小分子多肽类物质承担着重要的生物学作用。所以为了能够全面了解在鹿茸加速生长过程中所涉及的分子机制并找到潜在的信号分子,对于鹿茸蛋白质谱的分析鉴定就显得十分必要了。

目前国内外对鹿茸蛋白质组学的研究从分离方法上可分为两类,其一是基于凝胶系统进行蛋白分离(如双向电泳等);其二是基于非凝胶系统进行蛋白分离(如在线二维色谱技术等)。

2.3.1 基于凝胶系统的鹿茸蛋白质组学研究 赵东^[27-28]与刘华森等^[29]利用双向电泳技术分别对梅花鹿二杠茸与梅花鹿茸的不同生长部位进行了蛋白质组分析。赵东^[27]通过整理质谱鉴定结果共得到了177种单一蛋白。其中结构蛋白31种,具有酶活性的蛋白65种,抑制和激活因子5种,信号通道蛋白30种,免疫蛋白3种,与蛋白折叠有关的蛋白13种,与复制转录及翻译有关的蛋白14种,血液蛋白10种,与肿瘤发生有关的蛋白6种(图1)。因为器官再生和肿瘤发生相类似,从结果中可以看出鹿茸中有多个与信号通路和肿瘤发生相关的蛋白,这些蛋白有可能在促使鹿茸具有甚至超过癌症细胞的生长速度的同时又被精确的进行调控生长的整个过程中起到重要作用。

丁倩南等^[30]同样对不同部位的鹿茸进行了双向电泳最终共找到了18个蛋白差异点,实验结果为区分鉴定鹿茸的级别建立了有效的方法。同时因鹿茸顶端活性较强,其中特有的蛋白点可能是潜在的生物活性物质,具体机制有待进一步验证。

Park等^[31]利用双向电泳技术研究赤鹿鹿茸蛋白质组。他将鹿茸尖端与血浆组织进行比对发现两者蛋白质组的匹配度高达43%,这个结果证实了先前的组织学实验即鹿茸组织中确实包含了一个发达的血管系统来为其提供充足的血液以及供给养分(足以支撑其比癌细胞发育还要快速的生长速度)直到鹿茸脱落^[32]。并且鹿茸中含有大量的新陈代谢酶类,与基因表达调控有关的蛋白以及信号通路相关蛋白等。其中发现了调控细胞生长的信号通路因子如PKC β 与MAPK1;也发现了一些核受体蛋白如雌激素受体,维生素D3受体以及甲状腺激素受体等。与此同时,鹿茸尖端的蛋白质组一共发现了800多个蛋白点,但质谱鉴定等只得到了130个左右的蛋白,可以看出鹿茸中还含有大量的未知蛋白是目前数据库中所没有收录的,这部分蛋白很有可能是鹿茸所独有的

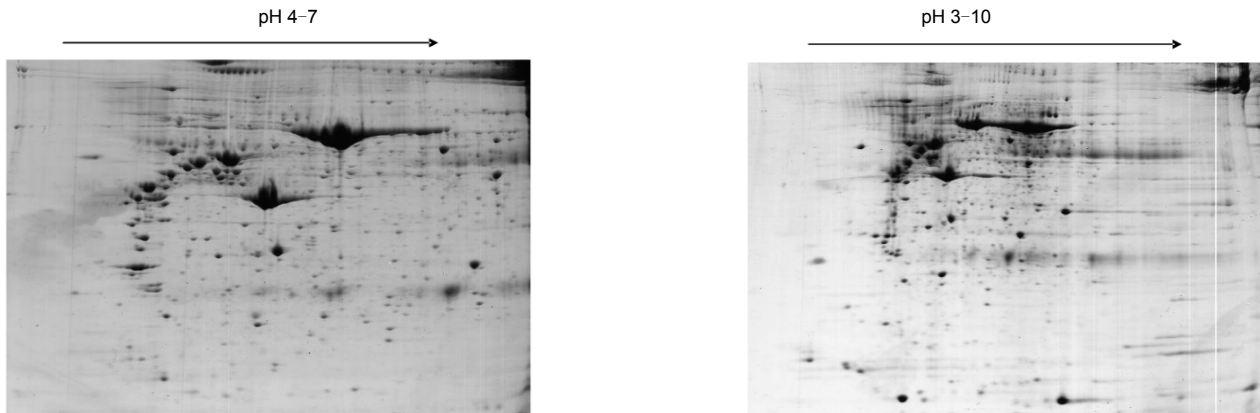


图1 梅花鹿鹿茸蛋白组双向电泳图谱^[27]

图注: 图中 A 为梅花鹿鹿茸蛋白(17 cm, pH 4-7)双向电泳图谱; B 为梅花鹿鹿茸蛋白(17 cm, pH 3-10)双向电泳图谱。共鉴定成功 177 种单一蛋白, 其中结构蛋白 31 种, 具有酶活性的蛋白 65 种, 抑制和激活因子 5 种, 信号通道蛋白 30 种, 免疫蛋白 3 种, 与蛋白折叠有关的蛋白 13 种, 与复制转录及翻译有关的蛋白 14 种, 血液蛋白 10 种, 与肿瘤发生有关的蛋白 6 种。

或特异性很强的且具有重要生物活性的蛋白, 有必要对这些未知蛋白进一步分析研究。但需注意的是, 通过组织提取得到的鹿茸蛋白质组可能有来源于血浆中的蛋白进而干扰实验结果, 所以需要考虑血浆蛋白的纯化以还原最真实的鹿茸蛋白质谱。

以上是二维凝胶电泳技术在鹿茸中的研究进展, 这些研究有助于发现鹿茸中的生物活性物质。而对于探究鹿茸的再生机制需对鹿角柄骨膜(细胞)进行相应的蛋白质组学研究。

徐代勋等^[33-34]对角柄骨膜休眠区与致敏区的蛋白质组进行比较分析与鉴定, 共检测出 47 个蛋白, 其中有 6 个与再生相关, 即 PKM2、MAPK1、PEDF、peroxiredoxin 4、Hsp90 α 、fibulin5, 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。值得注意的是, 其中 PEDF 具有促细胞分化、抑制肿瘤生长、抑制新生血管形成等作用^[35]; fibulin 5 是血管生成抑制剂^[36], 并与原弹性蛋白表达有关, 他们在肿瘤所需血管生成中扮演重要角色。由此可知 PEDF 与 fibulin 5 可能对鹿茸快速生长而不引发癌变起到调节作用。另外皮肤与角柄骨膜之间存在相互作用而促使角柄骨膜干细胞分化^[3], 而 Lord 等^[37]研究发现 PEDF 在鹿茸真皮的皮脂腺与毛囊等部位中不能检测到, 仅能在成纤维细胞中检测到。PEDF 存在于角柄骨膜却不存在于皮肤某些关键组织中, 那么其是否在两者相互作用中起到信使作用, 具体机制有待进一步研究验证。

Li 等^[11]利用双向电泳分别对鹿生茸区骨膜、角柄骨膜以及面部骨膜三种骨膜细胞的蛋白质组进行分析。结果表明生茸区骨膜细胞中鉴定得到了 66 种蛋白而角柄骨膜细胞中鉴定得到了 98 种蛋白。同时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。并找到了胚胎干细胞的特异性标记物 POU5F1, SOX2, NANOG 和

MYC, 从而推测鹿茸干细胞可能是一种介于成体干细胞与胚胎干细胞之间的间性干细胞类型。其中值得注意的是 Li 等^[11]与徐代勋等^[33]均在角柄骨膜中发现了 Hsp90 α 。而近期清华大学罗永章等研究发现分泌型 Hsp90 α 能促进肿瘤侵袭与转移, 且其在血液中含量与肿瘤恶性程度成正相关。该蛋白在细胞外促进了肿瘤细胞的侵袭与转移, 并在癌症发生与转移过程中几乎参与了全部活动。该蛋白在肿瘤细胞中的含量达到 2%-7%^[38]。罗永章认为该蛋白可作为一种稳定的肿瘤标志物并研制出了相应的 Hsp90 α 定量试剂盒用于临床诊断。那么在角柄骨膜中发现相关蛋白到底意味着什么, 鹿茸组织与肿瘤到底有怎样的关系还有待进一步的研究。另外罗永章所发现的蛋白是一种分泌型蛋白, 在角柄骨膜细胞中该类蛋白是否为分泌型还需要对其培养基中的蛋白进行检测, 所以下一步应该找角柄骨膜细胞培养基中是否存在相关蛋白。

2.3.2 基于非凝胶电泳的鹿茸蛋白质组学研究 虽然目前利用双向电泳技术研究鹿茸蛋白质组学已取得了重要进展, 但是双向电泳有较多缺陷, 比如灵敏度低、重复性差、蛋白易变性、并且对于极大极小极酸极碱类的蛋白分离能力有限。基于此, 部分学者采用诸如在线二维色谱技术等非凝胶系统进行鹿茸蛋白质组学研究^[39-42], 这类方法的最大优点是蛋白有活性; 自动化程度高; 具有浓缩富集作用; 另外应用相应的顺序抽提法对不同性质蛋白的提取具有互补效果, 如依次使用盐、酸、碱、STD 溶液进行蛋白提取保证了极酸极碱极大极小等蛋白的分离与提取。

以 Sui 等^[43]为例, 其应用顺序抽提法对鹿茸总蛋白进行提取, 共鉴定得到了 1 423 种蛋白, 这个结果远超过了凝胶系统的分离能力。并发现大多数蛋白定位于细胞内部, 其中有较多膜蛋白。与凝胶系统鉴定结果类似, 也同样发现了大量促进生物代谢与生长发育的分子物质。

然而,可看出他们所采用的技术并非某种固定色谱技术而是多种色谱技术的组合,如高亮等^[39]利用基于在线二维弱阴离子交换色谱-反相液相色谱(2D-WAX-RPLC)系统来进行蛋白质分离,并采用基于串联柱的微柱反相液相色谱-电喷雾串联质谱(μ RPLC-ESI-MS/MS)系统对所得肽段分离鉴定。而Sui等^[41]利用钠升级液相色谱-电喷雾串联质谱(NanoRPLC-ESI-MS/MS)联用技术对顺序抽提法所得的蛋白进行分离鉴定。可见这种方法需要依不同情况对不同的色谱技术进行整合,而这对于技术要求很高,另外对于填料的选择与装填要求也很高。虽然其分离与鉴定效果比双向电泳好,但源于此这种技术并不能成为主流蛋白质组学分析技术。

目前鹿茸蛋白质组学研究主要基于上述两个途径,可以看出两种技术各有优缺点。正如高亮通过比对与Park等^[31]的实验结果表明的那样,前者所应用的在线二维色谱技术与后者的双向电泳技术所分离鉴定的蛋白质中仅有28个蛋白点是一致的,从中可以看出两种技术是能够互相补充的。但因双向电泳技术本身固有的缺陷,若使用荧光差异显示凝胶电泳(DIGE)^[38],即用3种荧光染料分别标记不同的蛋白样品(包括内标),并在同一块凝胶上进行双向电泳,最后所得凝胶依次用3种不同波长的激光进行扫描成像,根据荧光间的差异来对蛋白质进行定量分析。并与在线二维色谱技术相互结合可极大限度的还原鹿茸或鹿茸干细胞的蛋白表达谱的真实情况,从而为揭开鹿茸的高效生物活性和鹿茸再生之谜奠定重要基础。

3 讨论 Discussion

综上所述,目前对于鹿茸蛋白质组学的相关研究仍处于初级阶段,特别是角柄骨膜研究方面由于材料珍贵不易获得,限制了进一步的研究。另外,蛋白质组学后续对所得结果进行怎样的分析与功能验证是接下来亟待解决的问题。

蛋白质组学的研究结果是建立在蛋白已知且数据库中收录的情况下,而对于那些未知的蛋白,质谱结果会直接忽略过去。然而,个人觉得这些数据库中没有涉及的蛋白也具有重要的研究价值,也许某些独特的生物学功能正是由这些未知蛋白所承担的,并且这也可能是发现新蛋白的有效途径之一。可通过对这些未知蛋白质的N端与C端测序后设计引物通过反转录PCR或者从基因组文库与cDNA文库中获得所需的序列并通过基因工程表达相关蛋白从而进行进一步的功能研究,这应该是蛋白质组学后续研究的一个方向。

正像PARK等^[26]的实验结果所显示的那样800多个点中只有130个左右是数据库中已收录的,而剩余的600多个蛋白可能都是未知蛋白,对这些蛋白的进一步研究

对于揭开鹿茸再生之谜应该具有重要的意义。并且可以肯定的是研究鹿茸(干细胞)的蛋白质组学将会对很多学科产生深远影响,尤其是对于再生医学会挖掘出更多的相关调控机制。把鹿茸作为生物医学模型并加大蛋白质组学后续研究一定能够为鹿茸产业乃至人类的健康事业做出巨大贡献。

作者贡献: 董振和李春义一并构思并设计本综述,实施为董振与褚文辉,评估为赵海平与王桂武,董振撰写本文,刘振审校,董振对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

伦理要求: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

学术术语: 蛋白质组学-是研究与基因对应的蛋白质组的学科,指一种基因组所表达的全套蛋白,即包括一种细胞乃至一种生物所表达的全部蛋白。需注意的是,同一基因组在不同细胞、不同组织中表达情况不同,是一个在空间与时间上动态变化的整体。

作者声明: 文章为原创作品,无抄袭剽窃,无泄密及署名和专利争议,内容及数据真实,文责自负。

4 参考文献 References

- [1] Sunwoo HH, Nakano T, Hudson RJ, et al. Isolation, characterization and localization of glycosaminoglycans in growing antlers of wapiti (Cervus elaphus). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*. 1998;120(2):273-283.
- [2] Sunwoo HH, Nakano T, Sim JS. Isolation and characterization of proteoglycans from growing antlers of wapiti (Cervus elaphus). 1998;121(4):437-442.
- [3] Li C, Yang F, Sheppard A. Adult stem cells and mammalian epimorphic regeneration-insights from studying annual renewal of deer antlers. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2009; 4(3): 237-251.
- [4] Li C, Pearson A, McMahon C. Morphogenetic mechanisms in the cyclic regeneration of hair follicles and deer antlers from stem cells. *Biomed Res Int*. 2013;2013:643601.
- [5] Gao Z, Li C. The study on the relationship between antler's growth rate, relative bone mass and circulation testosterone, estradiol, AKP in sika deer. *Acta Vet Zootech Sin*. 1988;19: 224-231.
- [6] Unsal C, Oran M, Tureli HO, et al. Detection of subclinical atherosclerosis and diastolic dysfunction in patients with schizophrenia. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2013;9:1531-1537.
- [7] Garcia M, Charlton BD, Wyman MT, et al. Do Red Deer Stags (Cervus elaphus) Use Roar Fundamental Frequency (F0) to Assess Rivals? *PLoS One*. 2013;8(12):e83946.
- [8] 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.
- [9] Li C. Deer antler regeneration: a stem cell-based epimorphic process. *Birth Defects Res C Embryo Today*. 2012;96(1): 51-62.
- [10] Kierdorf U, Kierdorf H, Szuwart T. Deer antler regeneration: cells, concepts, and controversies. *J Morphol*. 2007;268(8): 726-738.

- [11] Li C, Harper A, Puiddick J, et al. Proteomes and signalling pathways of antler stem cells. *PLoS One*. 2012;7(1): e30026.
- [12] Price JS, Allen S, Fauchaux C, et al. Deer antlers: a zoological curiosity or the key to understanding organ regeneration in mammals? *J Anat*. 2005;207(5):603-618.
- [13] Li W, Ding S. Converting mouse epiblast stem cells into mouse embryonic stem cells by using small molecules. *Methods Mol Biol*. 2013;1074:31-37.
- [14] Zhou H, Li W, Zhu S, Joo JY, et al. Conversion of mouse epiblast stem cells to an earlier pluripotency state by small molecules. *J Biol Chem*. 2010;285(39):29676-2980.
- [15] Yang C, Przyborski S, Cooke MJ, et al. A key role for telomerase reverse transcriptase unit in modulating human embryonic stem cell proliferation, cell cycle dynamics, and in vitro differentiation. *Stem Cells*. 2008;26(4):850-863.
- [16] Beekman C, Nichane M, De Clercq S, et al. Evolutionarily conserved role of nucleostemin: controlling proliferation of stem/progenitor cells during early vertebrate development. *Mol Cell Biol*. 2006;26(24):9291-9301.
- [17] Li C, Yang F, Sheppard A. Adult stem cells and mammalian epimorphic regeneration-insights from studying annual renewal of deer antlers. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2009;4(3):237-251.
- [18] Rolf HJ, Kierdorf U, Kierdorf H, et al. Localization and characterization of STRO-1 cells in the deer pedicle and regenerating antler. *PLoS One*. 2008;3(4):e2064.
- [19] Berg DK, Li C, Asher G, et al. Red deer cloned from antler stem cells and their differentiated progeny. *Biol Reprod*. 2007;77(3):384-394.
- [20] Kierdorf U, Kierdorf H. Deer antlers - a model of mammalian appendage regeneration: an extensive review. *Gerontology*. 2011;57(1):53-65.
- [21] Kierdorf U, Li C, Price JS. Improbable appendages: Deer antler renewal as a unique case of mammalian regeneration. *Semin Cell Dev Biol*. 2009;20(5):535-542.
- [22] Li C. Exploration of the mechanism underlying neogenesis and regeneration of postnatal mammalian skin-deer antler velvet. *Int J Med Biol Front*. 2010;11/12(16):1-19.
- [23] Li C, Suttie JM. Tissue collection methods for antler research. *Eur J Morphol*. 2003;41(1):23-30.
- [24] Li C, Yang F, Li G, et al. Antler regeneration: a dependent process of stem tissue primed via interaction with its enveloping skin. *J Exp Zool A Ecol Genet Physiol*. 2007;307(2):95-105.
- [25] Wang P, Zhang C, Zhu Y, et al. The resolution and regeneration of a cointegrate plasmid reveals a model for plasmid evolution mediated by conjugation and oriT site-specific recombination. *Environ Microbiol*. 2013;15(12): 3305-3318.
- [26] Hsueh YY, Chang YJ, Huang TC, et al. Functional recoveries of sciatic nerve regeneration by combining chitosan-coated conduit and neurosphere cells induced from adipose-derived stem cells. *Biomaterials*. 2014;35(7):2234-2244.
- [27] 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]. 江苏科技大学, 2012.
- [28] 赵东, 梅花鹿鹿茸总蛋白提取方法对双向电泳图谱的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(7):25-28.
- [29] 刘华森, 邢秀梅, 杨福合. 梅花鹿鹿茸双向电泳蛋白提取条件筛选[J]. 特产研究, 2013, (02):5-6+22.
- [30] 丁倩南, 王春梅, 戴俊东, 等. 梅花鹿鹿茸不同部位蛋白双向电泳图谱比较[J]. 中药材, 2013, 36(4):521-525.
- [31] Park HJ, Lee DH, Park SG, et al. Proteome analysis of red deer antlers. *Proteomics*. 2004;4(11):3642-3653.
- [32] Price J, Fauchaux C, Allen S. Deer antlers as a model of Mammalian regeneration. *Curr Top Dev Biol*. 2005;67:1-48.
- [33] 徐代勋. 梅花鹿鹿茸角柄骨膜不同部位差异蛋白的筛选[D]. 江苏科技大学, 2011.
- [34] 徐代勋, 王桂武, 赵海, 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.
- [35] 祁伟祥, 姚阳, 沈赞. 色素上皮衍生因子抗肿瘤治疗的研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2011, 38(8):477-480.
- [36] 文灿, 余汇洋. Fibulin-5与肿瘤的研究进展[J]. 局解手术学杂志, 2006, 15(5):337-338.
- [37] Lord EA, Martin SK, Gray JP, et al. Cell cycle genes PEDF and CDKN1C in growing deer antlers. *Anat Rec (Hoboken)*. 2007;290(8):994-1004.
- [38] Wang X, Song X, Zhuo W, et al. The regulatory mechanism of Hsp90alpha secretion and its function in tumor malignancy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(50):21288-21293.
- [39] 高亮, 乔晓强, 梁振, 等. 基于在线二维色谱的不同生长时期鹿茸的比较蛋白质组分析[J]. 色谱, 2010, 28(2):146-151.
- [40] Gao L, Tao D, Shan Y, et al. HPLC-MS/MS shotgun proteomic research of deer antlers with multiparallel protein extraction methods. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2010;878(32):3370-3374.
- [41] Sui Z, Yuan H, Liang Z, et al. An activity-maintaining sequential protein extraction method for bioactive assay and proteome analysis of velvet antlers. *Talanta*. 2013;107: 189-194.
- [42] 高亮, 鹿茸蛋白质的提取及差异研究[D]. 中国科学院研究生院, 2010.
- [43] Unlü M, Morgan ME, Minden JS. Difference gel electrophoresis: a single gel method for detecting changes in protein extracts. *Electrophoresis*. 1997;18(11):2071-2077.