

# 梅花鹿鹿茸生长速度、骨化程度与睾酮、雌二醇、碱性磷酸酶关系的研究

高志光

(吉林林学院)

李春义 刘钟安

(中国农科院特产所)

杜玉川

(北京农业大学)

## 摘 要

为了进一步阐明鹿茸生长发育机制,以5头雄性梅花鹿为材料,测定了从脱盘到生长停止期间的鹿茸生长速度、相对骨质密度(RBM),血清睾酮,雌二醇含量及碱性磷酸酶(AKP)活力。并对这些因素之间的关系作了分析。

测定结果表明,鹿茸从脱盘到停止生长约为120天。在此期间,所测各值变化均显著( $P < 0.01$ )。在前75天,鹿茸生长速度、AKP活力迅速上升,并达到高峰。RBM缓慢上升,虽与最低值比较差异显著( $P < 0.01$ ),但上升幅度与75天以后相比则小得多。睾酮含量处于平稳期( $P > 0.05$ ),雌二醇含量在脱盘后15天出现高峰,到75天降到最低,该期应属于鹿茸生长期。75天以后,鹿茸生长速度、AKP活力迅速下降,RBM、睾酮和雌二醇含量快速上升,该期应属于鹿茸骨化期。在生长期和骨化期,生长速度与AKP活力呈正相关( $r = 0.8$ );在骨化期,生长速度与RBM呈负相关( $r = -0.9$ ),与睾酮、雌二醇含量呈负相关( $r = -0.9$ ),RBM与睾酮、雌二醇含量呈正相关( $r = 0.9$ )。

## 引 言

鹿茸角是雄鹿额骨骨膜和头皮的衍生物,每年周期性脱落和再生一次。在此周期中,药用鹿茸的生长期只有70天左右,以后就迅速骨化、脱皮变成鹿角。骨化既阻碍鹿茸生长,又降低鹿茸的药用价值。已有研究证明,睾酮、雌二醇是控制鹿茸生长和骨化的主要因素[1~4],碱性磷酸酶(AKP)也参与骨化[5]。但这些研究只是根据对鹿茸组织切片或外部形态变化(如骨痘出现情况)的观察来确定骨化进程,却不能确切反映鹿茸的骨化程度。因此只是一些定性研究。Brown用x-射线法,首次定量地研究了活体鹿茸在不同生长时期的骨化程度及其与睾酮的关系[6]。本研究以梅花鹿为材料,在采用科学方法确定鹿茸在不同生长时期的骨化程度的同时,尽可能全面地测定影响鹿茸骨化因素的变化。以期在阐明鹿茸骨化与影响因素的定量关系的基础上,为推迟鹿茸骨化期,并提高鹿茸产量提供必要的依据。

\* 本研究承蒙董伟教授指导,特此致谢。

\*\* 本文于1987年1月24日收稿。

## 材 料 与 方 法

**一、试验动物** 选用5头8周龄、且脱盘时间相近的健康雄性梅花鹿。供试鹿均来自中国农科院特产所鹿场,整个试验期的饲养管理与非试验鹿相同,除两头(299、166号)左侧茸保留至生长停止,其余鹿茸均按三叉茸规格收取。

**二、血样采集** 1、时间:1985年4月22日至8月16日为试验期,每隔10天左右采血一次。每次采血均在早晨5时左右进行。2、方法:给鹿肌注静松灵(100mg/头),使鹿镇静后,用保定器保定,颈静脉采血10ml,常温下放置一小时后,在3000rpm下离心30分钟所得血清一部分装入安瓶中,滴加0.01%硫柳汞防腐,并置-40℃冰箱中待测性激素;另一部分当即测定AKP活力。

**三、AKP活力测定法** AKP活力测定采用4-氨基安替比林法<sup>[7]</sup>,比色用上海产721一分光光度计。

**四、睾酮、雌二醇含量测定法** 睾酮、雌二醇含量测定采用放射免疫测定法<sup>[8]</sup>。所用药盒均由上海内分泌所提供。最高结合率为32.5~43.5%。变异系数睾酮批内为4.1~5.2%,批间为2.3%;雌二醇批内为8.6~9.8%,批间为9.4%。测定的灵敏度:睾酮为70pg/ml,雌二醇为10pg/ml。回收率为98.5%。测定仪器为LKB-1215型液体闪烁仪,采用对数转换法计算测定结果。

**五、鹿茸主干长度生长速度测定法** 每次采血时,测定左侧茸主干长度,并根据相邻两次测值 $h_1$ 和 $h_2$ 及间隔天数 $t$ ,求得这段时间的平均日生长速度  $V = \frac{h_2 - h_1}{t}$ 。

**六、鹿茸相对骨质密度(RBM)测定法** RBM测定采用x-射线标准楔测定法<sup>[9]</sup>。

(一)标准楔:将厚0.05cm,宽1.5cm的铝片用704硅橡胶叠粘而成。梯宽0.5cm,相邻梯度差0.05cm,共30个梯,楔长15cm。

(二)拍片:当鹿茸长到约10cm时,开始在每次采血之前对左侧茸基部上3cm处拍片。拍片时将底片盒平行贴于茸后侧,标准楔竖于茸侧并贴于底片盒上,使x-射线垂直于底片盒并对准茸基部上3cm处。用卡尺测量该部x-射线方向的茸直径(D)。所用x-射线机为上海产10mA携提式x-射线机组。点焦距90cm。投照条件:65KVP, 3mAS,电源电压220V。暗室操作:18℃显影5分钟,快速水洗后定影30分钟,显影底片见图1。

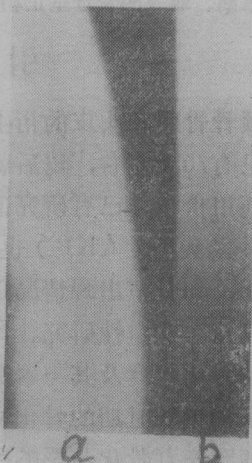


图1 鹿茸及标准楔x-射线显影底片

a: 鹿茸

b: 标准楔

(三)光密度测定及RBM计算:光密度测定使用仪器为岛津UV-240。使用波长630nm。对标准楔底片扫描,测定每一梯度的光密度值 $X$ 。设相对应的梯度厚为 $Y$ ,得一直线方程 $Y = a + bX$ 。扫描曲线见图2。测定底片鹿茸中部光密度值 $x_1$ ,再测空白底片光密度值 $x_2$ ,则鹿茸单位厚度

的光密度值为  $x = \frac{x_2 - x_1}{D}$ , 代入直线方程得:  $y = a + b \cdot \frac{x_2 - x_1}{D}$ 。y 是单位厚度, 鹿茸相当于铝片的厚度, 即 RBM。该值随鹿茸骨化程度增大而增大。

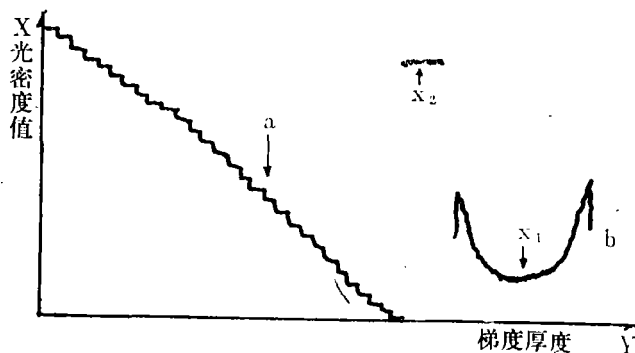


图2 鹿茸及标准楔底片扫描曲线

a-标准楔 b-鹿茸  $x_1$ -鹿茸中部光密度值  $x_2$ -空白底片光密度值

## 结果与讨论

### 一、鹿茸生长速度

测定结果表明, 鹿茸从脱盘萌发到停止生长约120天。鹿茸萌发后, 生长逐渐加快, 到脱盘后75天达高峰(1.14cm/天), 以后生长减慢, 到脱盘后120天降到0.08cm/天, 基本停止生长。其中, 二杠茸收获期(脱盘后45天)生长速度为0.63cm/天, 显著低于峰值( $P < 0.01$ ), 三叉茸收获期(脱盘后65天)为1.04cm/天, 与峰值差异不显著( $P > 0.05$ )。生长速度变化见图3。

### 二、RBM及其与生长速度的关系

鹿茸从脱盘到停止生长, RBM变化显著( $P < 0.01$ )。从首次测定到脱盘后58天 RBM较低(0.37→0.42), 虽有升高, 但差异不显著( $P > 0.05$ )。到脱盘后75天, RBM已达0.48, 显著高于最低值( $P < 0.01$ )。以后RBM迅速升高, 到鹿茸停止生长时达0.86, 相当于脱落的同种鹿角RBM(0.92)的94%。在脱盘75天以后, RBM与鹿茸生长速度呈负相关( $r = -0.9$ )。RBM变化曲线见图3。

生长与骨化是鹿茸形成的两个方面, 生长是指鹿茸体积的增大, 骨化是指鹿茸组织由软骨向骨转化, 其中包括矿物质的沉积。Tzalkin将鹿茸从脱角萌发到停止生长分为生长期和骨化期<sup>[10]</sup>。研究表明, 脱盘后75天是梅花鹿鹿茸生长期和骨化期的分界线。在骨化期内鹿茸迅速骨化, 沉积大量矿物质, 是阻碍鹿茸生长的主要原因。

鹿茸的药用价值受骨化程度的影响, 而与茸形无关。现行生产中主要收取两种规格(二杠和三叉)商品茸, 对茸形要求很高。而二杠茸骨化程度低, 生长潜力大。若适当延期收取, 能在不影响药效的基础上提高鹿茸产量。

### 三、AKP活力变化及其与鹿茸生长速度、RBM的关系

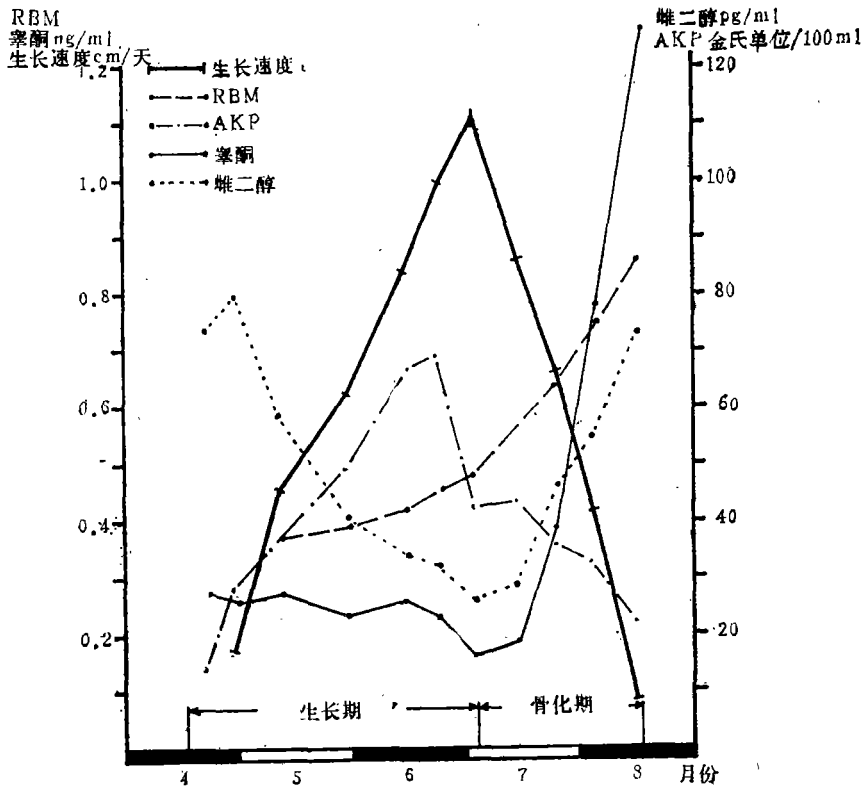


图3 鹿茸生长速度、RBM及血清睾酮、雌二醇、AKP变化曲线

从脱盘到鹿茸停止生长, 外周血清AKP活力变化显著 ( $P < 0.01$ )。在脱盘后5天, AKP活力最低 (12.94金氏单位/100ml)。以后AKP活力升高, 到脱盘后67天达高峰 (69.25金氏单位/100ml), 显著高于最低值 ( $P < 0.01$ )。以后AKP活力下降, 到鹿茸停止生长时降到20.67金氏单位/100ml, 与最低值差异不显著 ( $P > 0.05$ )。AKP活力变化与鹿茸生长速度呈正相关 ( $r = 0.8$ )；在骨化期, AKP活力与RBM呈负相关 (见图3)。

Kuhlman报道, 鹿茸成骨细胞分泌AKP<sup>[11]</sup>。可能因为鹿茸在生长期成骨细胞多, 所分泌的AKP也多；而骨化期成骨细胞多已转化为骨细胞, 所以AKP活力下降。另外, 锯掉生长期的鹿茸对血清AKP活力有显著影响。从图3可以看出, AKP活力在鹿茸达到生长高峰之前就突然下降, 这是锯茸造成的。如果不锯茸, AKP活力可能继续上升到鹿茸生长顶点, 然后才下降。AKP在鹿茸骨化中的作用可能是促进钙、磷沉积形成骨盐<sup>[12]</sup>。

#### 四、睾酮、雌二醇含量及其与鹿茸生长速度、RBM的关系

从脱盘到鹿茸停止生长, 外周血清睾酮、雌二醇含量变化显著 ( $P < 0.01$ )。在生长期, 睾酮含量一直处于低水平 (均值0.24ng/ml), 各次测定值间差异不显著 ( $P > 0.05$ )。骨化期, 睾酮含量迅速升高, 到鹿茸停止生长时达1.26ng/ml, 显著高于

生长期的平均值 ( $P < 0.01$ , 见图3)。在脱盘后13天雌二醇含量出现高峰 ( $80.20 \text{ pg/ml}$ ), 以后下降, 到脱盘后75天降到最低值 ( $25.23 \text{ pg/ml}$ ), 二者差异显著 ( $P < 0.01$ )。骨化期雌二醇含量迅速升高, 到鹿茸生长停止时达  $73.21 \text{ pg/ml}$ , 与最低值差异显著 ( $P < 0.01$ ), 但与生茸期峰值差异不显著 ( $P > 0.05$ , 见图3)。在骨化期内, 睾酮、雌二醇含量均与RBM呈正相关 ( $r = 0.9$ ); 睾酮含量与生长速度呈负相关 ( $r = -0.9$ )。从脱盘到鹿茸生长停止, 雌二醇含量与生长速度呈负相关 ( $r = -0.9$ )。

本试验所得睾酮、雌二醇含量变化模式与有关报道相一致<sup>[4]</sup>, 但量上有所不同。这可能是由于每次采血的时间不同和使用血清(前试验用血浆)所致。关于睾酮、雌二醇与鹿茸骨化的关系, 前人已有报道<sup>[2-4]</sup>。本试验表明, 睾酮和雌二醇含量的最低值均出现在脱盘后75天—鹿茸生长期和骨化期分界线处, 以后两者快速升高, 鹿茸骨化程度急剧增大, 而生长却骤然减慢。若能在脱盘后75天的关键期, 人为控制睾酮和雌二醇含量上升, 则能抑制鹿茸的骨化速度, 提高鹿茸产量。

### 参 考 文 献

- [1] Wislocki, G. B. et al., 1947. The effects of gonadectomy and administration of testosterone propionate on the growth of antlers in male and female deer. *Endocrinology*. 40: 202-224.
- [2] Bubenik, G. B. et al., 1975. The role of sex hormones in the growth of antler bone tissue. I. Endocrine and metabolic effects of antiandrogen therapy. *J. Exp. Zool.* 194: 349-385.
- [3] Bubenik, G. A. et al., 1978. The role of sex hormones in the growth of antler bone tissue. Influence of antiestrogen therapy. *Saugetierkund.* 26: 234-291.
- [4] 李春义, 1987, 梅花鹿茸角生长发育各阶段血浆睾酮、雌二醇含量(摘要)。特产科学实验, 1: 56.
- [5] Graham, E. A. et al., 1962. Biochemical investigations of deer antler growth part 1. Alterations of deer blood chemistry resulting from antlerogenesis. *J. Bone and Joint Surg.* 44: 482-488.
- [6] Brown, R. D. et al., 1978. Correlation between antler and long bone relative bone mass and circulating androgens in white-tailed deer. *Am. J. Vet. Res.* 39(6): 1053-1056.
- [7] 福州部队总医院编, 1978, 临床医学检验, 320. 上海科学技术出版社。
- [8] 肖祥熊等编著, 1985, 实用放射免疫分析及其临床意义, 168-172. 同济大学出版社。
- [9] Schraer, H., 1966. Quantitative radiography of the skeleton in living systems in Jenkin DW. Neumann WF. Whedon, G(ed). progress in development of methods in bone Densitometry. Washington. DC. NASA. AP-64: 11-20.
- [10] Chapman, D. I., 1975. Antler-bones of contentions. *Mammal. Review.* 5: 137.
- [11] Kuhlman, R. E. et al., 1963. Biochemical investigations of deer antler growth part 2. Quantitative microchemical changes associated with antler bone formation. *J. Bone It. Surg., Am.* Vol. 45A: 345-350.
- [12] 森内幸子他, 1979, 骨代谢, 12: 16.

THE STUDY ON THE RELATIONSHIP BETWEEN ANTLER'S GROWTH  
RATE, RELATIVE BONE MASS AND CIRCULATING TESTOSTERONE,  
ESTRADIOL, AKP IN SIKA DEER (CERVUS NIPPON HORTULORUM)

Gao Zhiguang

(Jilin Forestry College)

Li Chunyi, Liu Zhongan

(Institute of Special Products, Chinese Academy  
of Agricultural Science)

Du Yuchuan

(Beijing Agricultural University)

Abstract

In order to make further study on the developmental mechanism of antler, antler's growth rate, relative bone mass (RBM), serum testosterone and estradiol level as well as AKP value were measured during the period from antler shedding to stopping growth with 5 adult male man-chou sika deer. The relationship among the results was analysed.

The results showed that the period from antler shedding to stopping growth was about 120 days. During the period, all the parameters measured fluctuated significantly ( $P < 0.01$ ). During the 75 days after antler casting, antler's growth rate, AKP value increased obviously and reach peak value. Although the difference was very significant in comparison with the lowest value ( $P < 0.01$ ), RBM increased slower during this period than that of after 75 days; testosterone value was low and there was no difference among the values ( $P > 0.05$ ). Estradiol peak value was found at the 15 days after antler casting and after that the value decreased to the lowest at the 75 days. The 75 day period after antler casting was therefore called antler's growth period. After the 75 days antler's growth rate, AKP value decreased quickly; RBM, testosterone and estradiol values increased quickly simultaneously. The period after 75 days was therefore called antler's ossification period. During the antler's growth and ossification periods, the correlation of growth rate to AKP value was positive ( $r = 0.8$ ). During the antler's ossification period, the correlation of growth rate to RBM was negative ( $r = -0.9$ ). Testosterone, estradiol values to RBM were positively correlated (both  $r = 0.9$ ), but to growth rate were negatively correlated ( $r = -0.9$ ).