



鹿角生长发育与再生机制研究进展

刘芮佳^{1,2#}, 张盼^{1*#}, 白加德¹, 钟震宇¹,
郭青云¹, 程志斌¹, 单云芳¹, 张博², 张浩²

(1. 北京市科学技术研究院, 北京麋鹿生态实验中心, 北京, 100076;
2. 中国农业大学动物科学技术学院, 北京, 100193)

稿件运行过程

收稿日期: 2023-08-18
修回日期: 2023-09-08



关键词: 鹿角发育;
鹿角再生;
骨骼再生机制;
鹿科动物

Key words: Antler development;
Antler regeneration;
Skeletal regeneration mechanisms;
Cervidae

中图分类号: Q958

文献标识码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-02-0421-09

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240223

摘要

鹿科(Cervidae)动物是反刍动物的一大类群,中国拥有世界上最丰富的鹿科动物种质资源。与其他反刍动物相比,鹿科动物最独特的特点是拥有能够定期再生的器官性骨质角。不同品种的鹿角形态具有较大差异,大部分复杂的大型鹿角主要用于求偶期的争斗,开展鹿角功能与演化的研究对动物遗传学、行为学和生态学有极高价值。鹿角生长发育受多种因素调控,因每年定期再生与快速生长机制,使鹿角成为研究哺乳动物器官再生的理想模型,同时鹿角快速增殖却极少产生癌变的特性也为癌症治疗研究提供了新的视野。有关鹿角生长发育和再生机制的研究近年来取得诸多重要成果,本文对鹿角的生物学特征和初生发育、成熟脱落与再生过程的研究进展进行综述,以为鹿科动物种质资源保护利用和深入解析鹿角独特性质遗传机制提供理论依据。

Advancements in the Study of Antler Growth, Development, and Regeneration Mechanisms

LIU Ruijia^{1,2#}, ZHANG Pan^{1*#}, BAI Jiade¹,
ZHONG Zhenyu¹, GUO Qingyun¹, CHENG Zhibin¹,
SHAN Yunfang¹, ZHANG Bo², ZHANG Hao²

基金项目: 北京市财政资金项目(23CB063)

第一作者简介: 刘芮佳(2001—),女,硕士研究生;主要从事动物遗传育种研究。E-mail:s20233040754@cau.edu.cn

*共同第一作者: 刘芮佳; 张盼

*通信作者: 张盼, E-mail: zhangpan95@163.com

(1. Beijing Academy of Science and Technology, Beijing Milu Ecological Research Center,
Beijing, 100076, China;

2. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing, 100193, China)

Abstract: Cervidae, a major group of ruminant mammals, and China has the richest deer germplasm resources in the world. Compared with other ruminants, the most unique feature of Cervidae is the possession of organogenic bony horns that can regenerate periodically. The morphology of antlers varies greatly among different deer species, with the complex and large antlers primarily used for male competition during the mating season. Investigating the function and evolution of antlers is of great value to animal genetics, behavioral, and ecological studies. The growth and development of antlers are regulated by numerous factors. The annual regeneration and rapid growth mechanism of deer antlers make them an ideal model for studying organ regeneration in mammals. Furthermore, the rapid proliferation of antler cells with minimal occurrence of cancer provides a new perspective for cancer research. Research on the mechanisms of antler growth, development and regeneration mechanisms has yielded many important results in recent years. This article provides an overview of biological characteristics and research progress on the initial development, maturation, shedding, and regeneration processes of antlers, aiming to lay a theoretical foundation for the protection and utilization of germplasm resources of Cervidae, as well as the in-depth analysis of the genetic mechanism of antlers' unique properties.

鹿科(Cervidae)动物归属于鲸偶蹄目(Cetartiodactyla),共有3个亚科,19个属,51种^[1],分布于除南极洲、澳大利亚、非洲中部和南部、马达加斯加以及新西兰外的所有地区^[2]。中国是鹿类资源最丰富的国家之一,鹿种占全球的41.7%^[3]。具有再生能力、能够稳定更换的鹿角是鹿科动物特有的标志^[4]。大多数哺乳动物的器官或器官附属不具备完整的再生能力,而多数雄性鹿科动物的角作为一个能够稳定再生的骨骼结构器官^[5],是研究哺乳动物长骨发育及器官修复、再生的理想模型。鹿角每年会经历一次生长与脱落的完整过程,在鹿角周期性更替的过程中有两个明显阶段,一个是有茸皮覆盖的鹿角生长阶段(医药学和养鹿业将此阶段的鹿角称为“鹿茸”),另一个是在茸皮脱落后鹿角成为完全的骨角,标志着鹿角成熟的阶段。有茸皮覆盖的鹿角作为传统中药材具有较高的药用价值,其代谢产物中的多种物质被认为与抗衰老和再生机制相关^[6-7]。成为完全骨角的成熟鹿角在交配季节中对雄鹿争夺交配权具有决定性作用。但鹿角的发育再生这一动态过程机制尚不明确,本文通过对鹿角生长发育及再生过程研究进展进行综述,旨在讨论鹿角这一独特器官的再生机制。

1 鹿角的特点

鹿是唯一能够长有再生骨质角的动物,除驯鹿(*Rangifer tarandus*)外,通常仅有雄鹿拥有鹿角。鹿角由角柄处长出,每年脱落与再生,这也是区别于鲸偶蹄目其他动物角最显著的特点^[8]。牛角是由永久性的骨质角芯和角质鞘组成,不会发生周期性更换^[9];羚羊(*Taurotragus oryx*)角骨质部分是被皮肤所覆盖的额骨突起,表皮产生的角质能够每年更换^[10];长颈鹿(*Giraffa camelopardalis*)角则不包括角质部分,仅包括表皮所覆盖的额骨突起骨质^[11]。鹿角只有在生长过程中被皮肤覆盖,鹿角上生长的皮肤才被称为茸皮。茸皮与头部其他区域的皮肤有所不同,茸皮较体表皮肤更厚,且毛囊缺乏立毛肌并拥有丰富的皮脂腺^[12-13]。茸皮生长速度与皮下的鹿骨角生长速度保存一致^[14]。Wang等^[8]对反刍动物头带的比较基因组学的研究发现,鹿角与牛角的基因表达谱相似,角的发育源于相同的神经嵴。此外,有研究发现*RXP2*基因在反刍动物角的发育中有重要作用^[15-16],在不同的反刍动物类群中产生了趋同进化。鹿角是完整的动物器官,在完全骨化前含有皮肤、神经、血管、软骨和骨组织,是“活”的角,区别于由间充质干细胞(mesenchymal stemcell, MSC)分泌

的角质所组成“死”的角质角。

鹿角的形状和大小在种间存在巨大差异。鹿角按照形状可分为:无分枝角,如赤鹿(*Muntiacus vaginalis*)、小麋(*M. reevesi*);掌状角,如驯鹿、驼鹿(*Alces alces*);枝状角,如梅花鹿(*Cervus nippon*)、麋鹿(*Elaphurus davidianus*)。在现存鹿科动物中,普渡鹿(*Pudu pudu*)的无分枝角长度仅为5~9 cm^[17],成年驼鹿的分叉掌状角则长达108 cm^[18]。已知最大的鹿角是已灭绝的巨大角鹿(*Megaloceros giganteus*)的鹿角,雄性鹿角横宽可达3.6 m,总质量可达40~45 kg^[19]。鹿角的骨骼形式类似于哺乳动物的长骨,和四肢的发育一样,鹿角也有3个轴:近端-远端轴、前后轴和背腹轴^[20]。鹿角的力学性质从根部到尖端有所不同,这种变化与骨组织微观结构和矿化的综合效应相关。鹿角骨骼的生成在很短的生长期完成(4~5个月)^[21],形成的骨骼被茸皮覆盖。茸皮脱落后,其中的血管和神经退化,骨骼形成和矿化停止,鹿角骨骼死亡^[22]。

鹿角有分叉,这也是鹿角区别于其他反刍动物角的重要特点。大多数鹿在夏季完成鹿角的骨化并进入求偶期,雄鹿会产生圈群行为,鹿角具有展示以及武器的作用^[23]。带有分支的鹿角使雄鹿在求偶期争斗时能够互相锁定和推挤,拥有比其他有角反刍动物更复杂的争斗方式^[24]。求偶季节雄鹿激烈的争斗使鹿角容易发生折损,有学者认为,根据缺损的部分进行修补可能比重新按照遗传物质生长成完整的鹿角更加复杂,定期脱落与再生能够保证雄鹿每年拥有完整的鹿角参与求偶过程^[25-27]。

2 鹿角的生长发育

鹿角发育始于角柄上的芽基,鹿角柄是额骨上的一个固定突出,成对存在^[27]。角柄发育源于眼眶上缘向后内侧延伸的低骨脊后部区域的额顶缝。新生鹿在出生后的第1年,其角柄在睾酮水平上升的刺激下^[28],在角柄上长出芽基,因此,通过对雄性鹿进行早期阉割能够抑制角的生长^[29]。新生鹿初始鹿角的形成(通常为无分枝的尖角)是角柄生长的延续,不是角的再生事件。

2.1 鹿角的新生

鹿角的最初发育依赖于鹿角生长位置上方的额骨附属骨膜,即生茸骨膜(antlerogenic periosteum, AP),将其切除后会阻止鹿角的生长^[30],而将AP自

体移植到身体其他部位会导致异位带有茸皮的鹿角生长^[31-32]。这些异位鹿角都被特殊的茸皮覆盖,并经历脱落和再生过程。AP不仅在移植部位诱导了鹿角骨生长,还形成了特定的茸皮^[30]。同时,试验也表明鹿皮转换为茸皮的能力在鹿的不同部位皮肤中广泛存在^[30]。移植试验结果表明,AP细胞在角柄和鹿角形成中起决定性作用^[32-33]。哺乳动物额骨是由头部神经嵴细胞分化而来,AP分化过程可能在神经嵴细胞还未迁移或正在迁移时就已完成,或在颅骨生长过程中稍后完成^[34]。AP与其他颅盖区域的骨膜相比要厚得多,AP细胞中富含的糖原被认为是快速增殖的能量来源,研究表明其具有胚胎干细胞的特点^[35]。此外,AP还携带了鹿角轴向定向形态发生的信息,当AP在原位旋转180°时,随后形成的鹿角显示其前后轴的反转,鹿角形态发生的决定性调控主要存在于AP前内侧部分^[30]。通过对鹿和多种反刍动物头带区域转录组及基因组的分析发现,鹿角生长的骨膜早期发育自神经嵴,筛选到的*OTOP3*和*OLIG1*基因变化可能在反刍动物头带的演化和发育中起关键作用^[8]。鉴定到的*SNAI2*、*TWIST1*、*SOX9*和*HOXD*基因,以及其调控元件可能在重编程神经嵴细胞发育成头饰方面发挥作用,而*RXFP2*基因在无角的鹿科动物中发生了趋同假基因化^[16,36],因此*RXFP2*可能是决定鹿角生长的关键基因^[8]。鹿角在早期发育过程中依赖神经、骨骼和皮肤组织的基因募集,对AP来源细胞进行基因编辑发现TGF- β 1是鹿角快速生长的调控因子,并且BMP信号通路可能发挥关键作用^[37-38]。另外一项对比小鼠和鹿软骨细胞的研究发现,鹿TGF- β 1和小鼠TGF- β 1蛋白存在结构差异,且鹿TGF- β 1可能比小鼠TGF- β 1具有更强的功能^[39]。

在外观上,在第1对鹿角形成过程中,角柄处皮肤变成鹿茸皮是可见的转化过程^[22]。鹿角再生的初始时期,脱落的角柄残留部分皮肤伤口会产生无疤痕的再生性愈合^[40],研究认为这个过程中机械压力的变化是诱导这一过程产生的原因^[14]。在鹿皮变化为茸皮的过程中,毛囊立毛肌和汗腺会退化,大型双叶或多叶皮脂腺会增加,这种变化是皮肤对周期性激素水平诱导信号的特定反应。茸皮下层的MSC来源于鹿角柄处的骨膜^[41],茸皮进入快速生长阶段后面积不断扩大,当茸皮与鹿皮的边界移动到角柄基部时,标志着鹿角柄的成熟和角生长的正式开始,

茸皮被激活与鹿茸芽基的再生是一个同步的过程^[42-43]。

2.2 鹿角的发育成熟

鹿角生长速度极快,马鹿(*Cervus elaphus*)角平均生长速度为1.7 cm/d^[28],加拿大马鹿(*C. canadensis*)角最快生长速度可达2.75 cm/d,而已灭绝的巨大角鹿可能拥有更快的鹿角生长速度^[44]。每年重新生成鹿角需要补充大量的钙磷,而在鹿角快速生长期仅通过食物摄入矿物质无法满足角生长的钙磷需求^[45]。研究显示,在鹿角快速生长期会发生类似于雌性哺乳期动物的骨质动员现象,会在肋骨等部位发生骨吸收,使鹿产生周期性的骨质疏松。这种全身钙磷的动员可能是影响鹿角大小的主要因素^[26]。

鹿角成熟是软骨内骨化的结果^[46]。对不同鹿科物种未成熟初生鹿角和再生鹿角的组织学结构以及正在发育的鹿角骨化过程进行研究,结果表明鹿角生长是持续性的^[47-48],而哺乳动物长骨生长的特征,如生长板和次生骨化中心在生长的鹿角中并不存在^[49]。鹿角属于顶端生长,在不同区段之间有逐渐过渡的不明确边界^[40]。远心端的鹿角部分比近心端的年轻,成熟鹿角纵向轴上的组织结构^[50]可以证明这一特点。另外,对不同区段鹿角蛋白质组学的分析发现,鹿角尖端表达的蛋白质主要与抗氧化代谢机制、蛋白质形成和Wnt信号通路有关,鹿角中段表达的蛋白质与血液有关^[51]。位于茸皮真皮层下面的是软骨膜,由大量低分化程度细胞组成,也被称为增生软骨膜,其与鹿角周围的鹿角骨膜细胞(antler periosteal cells, AnPC)相连,鹿角软骨细胞在AnPC膜内实现骨化^[32]。细胞体外培养试验证明,鹿角尖端MSC增殖受Ras/Raf/MEK/ERK通路调节,并通过Gab1/Grb2和PI3K/AKT通路调节细胞的迁移^[52]。软骨膜下方致密细胞层被称为增殖带,即增生区,其从远端到近端依次细分为3个亚区,即储备间充质、前软骨层和软骨层^[15],后2个亚区也被称为软骨前区。储备间充质的特点是有丝分裂活性高,细胞凋亡水平高,存在丰富神经血管网络^[53]。紧随其后的是软骨细胞或软骨区,由透明软骨组成,在该区域内,软骨细胞经历成熟和肥大,且软骨基质开始矿化^[54]。在软骨前区,细胞经历了软骨分化的第1个步骤^[48],在软骨前区中特异性高表达的基因主要与Wnt通路相关^[38],该信号通路可能参与干细胞向软骨形成的

早期分化,OPN基因受启动子DNA甲基化水平的调控,主要通过调控软骨前组织和软骨组织的生长来促进鹿角早期生长发育^[55]。比较前软骨层和软骨层细胞DNA甲基化水平的研究也显示,软骨细胞的DNA甲基化水平明显更高,这表明DNA去甲基化可能参与了鹿角快速软骨分化^[56]。软骨区也含有许多血管。在软骨层中高表达的基因与软骨发育(如SOX6和SOX9)以及细胞外基质组织生长发育(如COL2A1)有关^[57]。肥大软骨层中高表达的基因,如MMP16与软骨细胞矿化有关^[58]。该区域内软骨细胞排列成相互连接的垂直小梁,形成一个围绕富含血管化梁间组织的空间网络^[53]。软骨的骨化从小梁中央向外围扩散。在接近软骨区的位置,存在一个具有软骨吸收、骨吸收和成骨活性共存的广泛区域,呈现出海绵状特征。在这个区域内,软骨被大量软骨吸收细胞侵蚀,骨组织沉积在变薄的软骨小梁表面^[59]。随着软骨吸收和成骨化,软骨网络被完全矿化,骨小梁系统逐渐被替代。在某些部位,新形成的骨组织也被骨吸收细胞侵蚀^[60],尤其是在鹿角远端位置,软骨在被替代过程中并未完全被吸收,这些组织残留物可以在坚硬的鹿角骨小梁中央被找到^[61]。

在鹿角四周,骨化结构逐渐沉积并压实,形成一个紧密的表面,环绕内部松质部分。鹿角骨化过程还包括软骨周围的钙化。因此,沿着鹿角外缘,通过直接从软骨周围或骨膜(鹿角顶端)骨化而形成了一个光滑骨套^[62]。这一过程可能也是形成某些鹿种鹿角表面特征突起的原因^[63]。鹿角生长随睾酮水平的升高而终止,在茸皮脱落时血液流动停止,骨骼形成和矿化停止,形成成熟的骨质角^[21]。

3 鹿角的脱落再生

鹿角在茸皮脱落前后,其中的血管神经逐渐退化成硬骨角,在交配季节过后鹿角自然脱落,第2年开始在角柄上长出新的鹿茸角,即鹿角的再生。关于鹿角的周期性脱落与再生的原因有多种猜测,如发育期的鹿角神经血管丰富不适于打斗,成熟已死亡的鹿角无法对在发情期争斗中出现的骨折进行自我修复,而定期的鹿角再生能确保雄鹿每个发情季节都有一套全新的“武器”。再如初生鹿角通常只有简单的无分叉结构,随着每年鹿角的脱落和再生,随后生长的鹿角尺寸和复杂性才有可能增加^[23]。也有观点认为,鹿可能发源于温带,富含神经血管且表面

积较大,有永久性皮肤覆盖的鹿角很容易被冻坏,定期的再生有利于每年保存完整的鹿角^[64-65]。

3.1 鹿角的骨化与脱落

雄性鹿的鹿角再生周期与它们的繁殖周期密切相关,栖息在较高纬度的鹿科物种,其生殖周期受光周期的严格控制^[66-67]。鹿角的生长启动发生在睾酮水平较低的阶段^[68]。求偶期前睾酮浓度的增加导致鹿角迅速骨化并伴随茸皮脱落,有研究认为 *CALR* 基因很可能是雄性激素触发鹿角再生的下游介质^[69]。早期鹿角生长中主要的营养供应来源于鹿角柄处及鹿角根部的血管,随着鹿角的快速生长,远端鹿角主要依靠茸皮丰富的血管网络提供营养^[70]。茸皮脱落导致位于茸皮中的血管无法继续为鹿角提供营养,鹿角内部的血管也逐渐死亡,最终导致裸露骨质鹿角的死亡^[25]。随后,在求偶期间,裸露的骨质鹿角被用于雄性之间的求偶争斗。

发情期过后,循环睾酮水平下降,引发角柄骨膜(pedicle periosteum, PP)附近的破骨细胞骨吸收^[59],破骨细胞再吸收也发生在骨柄的骨膜表面,导致角柄上方环状沟的形成^[60]。这两个过程导致角柄和鹿角之间的连接逐渐减弱,最后导致鹿角从角柄上断裂^[71],形成新的鹿角在鹿角柄上开始以年为周期的脱落和再生过程^[72]。有证据表明,在鹿角局部睾酮转化为雌激素后会影响鹿角的生长发育,注射雌激素会抑制再生鹿角的生长,而促进鹿角过早骨化和茸皮脱落^[73]。睾酮对鹿角的影响在某种程度上是间接的^[30]。

3.2 鹿角的再生

鹿角脱落后,会在角柄残基顶部发生短暂的膜内成骨^[74],弥补了之前部分角柄骨的缺失^[40,75]。尽管PP会发生骨质修复,但是随着鹿年龄的增大,PP会逐渐变薄,由于角柄基部会发生骨质堆积,因此在鹿的整个生命周期中,骨柄厚度在增加^[76]。鹿角脱落时伴随着角柄附近血管的断裂,但之后伤口表面迅速被皮肤覆盖,皮肤下面形成了一团再生组织,即鹿茸芽^[76]。鹿茸芽在角柄残端顶部形成一个再生芽状物,此过程类似于其他脊椎动物附肢的表皮再生过程。在鹿角再生期间,鹿角最下方的分叉很早就开始发育,在鹿茸芽中已经可以识别出主梁和眉叉的分别增殖区域^[77],都位于鹿角中央部位,是鹿角的生长中心^[74]。在分叉鹿角再生过程中,主梁尖端的生长中心反复不对称地分裂为一个较大的生长中心

成为主梁,以及一个较小的生长中心用于长出相应的分叉角^[78]。

鹿角再生是一个基于干细胞再生不依赖于去分化的周期性激活过程^[41]。PP是负责启动鹿角柄和第1个鹿角生长AP的衍生物^[76]。有研究表明,AP和PP细胞具有干细胞属性^[69]。来自AP、PP和鹿角生长中心的细胞统称为鹿角干细胞(antler stem cells, ASCs),ASCs是鹿角再生的基础,其可在体外被诱导分化为软骨细胞、骨细胞和脂肪细胞^[79]。通过对分离自鹿角不同位置的ASCs、AnPC和PP细胞进行体外培养,发现培养的AnPC表达经典的MSC标记物,与PP细胞一致。然而,AnPC上的MSC标记物强度明显弱于PP。AnPC的增殖率在连续传代后逐渐降低,而PP细胞的增殖率保持不变,与PP细胞相比,AnPC的分化程度更高。全基因分析也揭示了两者的基因表达模式的不同。鹿角再生过程中,AnPC主要起促进血管生成、神经生长和骨膜内骨形成的作用,PP则可能主要参与雄激素信号受体途径和PI3K/AKT信号通路,起干细胞更新的作用^[32]。另一项对鹿角再生的研究利用单细胞测序技术建立了鹿角再生的时空细胞图谱,从鹿角尖部分离鉴定出了鹿角芽基祖细胞(antler blastema progenitor cells, ABPCs),这类细胞能够直接促进鹿角再生,相比人类骨髓干细胞(bone marrow stromal cells, BMSCs),其有更强的自我更新能力,以及更显著的成软骨和成骨的能力^[57]。鹿角的快速细胞增殖需要刺激细胞快速增殖的因子,以及ABPCs的干细胞特性控制细胞周期。ABPCs高度表达的标记基因 *PRRX1*、*TNC*、*DLX5*、*PTN*和 *SOX4* 在小鼠长骨快速发育中也存在,这些基因可能在哺乳动物骨骼发育中起到重要作用且具有物种间的保守性^[57]。在ABPCs中检测到的大量与血管合成相关的基因也符合鹿角软骨血管高度密集的特征^[70,80],证明ABPCs在鹿角再生过程中起到多种作用。此外,ABPCs样细胞也存在于处于再生过程中的哺乳动物器官中,但不存在于哺乳动物非再生组织,也不存在于蝾螈(*Ambystoma mexicanum*)和斑马鱼(*Danio rerio*)的再生组织中,这提示哺乳动物与其他非哺乳动物存在不同的再生机制,而ABPCs或许在哺乳动物的附肢再生中发挥重要作用^[48]。在ASCs中添加褪黑素(melatonin, MLT)能够加速干细胞分化,并且MLT通过MT2结合介导 *YAP1* 的转录来调节 *Colla* 的表达,MLT通过抑制STAT5/IL-6信号

通路激活依赖于 *SOX9* 表达的 AKT/CREB 通路,能够有效抑制血管内皮生长因子 (vascular endothelial-derived growth factor, VEGF) 诱导的鹿角软骨细胞变性^[81]。目前对于鹿角再生过程中多种 ASCs 的研究主要集中于寻找启动再生的细胞类群,而对于不同类群细胞协同参与,相关分子机制的验证以及在临床上的应用还有待进一步探索。

鹿角再生过程中涉及的各类干细胞研究对于临床上的骨骼修复和恒牙再造领域有极高的应用前景。ABPCs 特异表达相关基因的研究也有助于加深对于干细胞的认识,ABPCs 可能在骨损伤或肢体再生的再生医学中被利用。

4 结语及展望

鹿角周期性再生是哺乳动物器官再生的典型案例,是研究骨骼、神经和血管损伤再生的理想模型。鹿角再生过程不同于两栖类动物的去分化再生过程,它是一种周期性干细胞控制的重生长^[80]。茸皮无疤痕修复机制对于疤痕修复、皮肤再生研究也有很重要的研究意义。另外,鹿角在快速增长过程中很少发生癌变^[53],其具体机制有助于理解癌症的发生和研究抑制、治疗癌症的手段。我国拥有丰富的鹿种资源,研究鹿角这种独特的器官对于保护我国鹿种资源具有重要作用。随着组学技术的快速发展,通过宏基因组研究鹿对钙磷的消化代谢,可为牛羊等反刍动物的饲料营养研究提供新的观点;基于单细胞测序技术、空间转录组测序技术等新手段对鹿角生长发育机制进行研究,对于理解再生医学有重大意义,尤其是可为人类四肢的断肢修复治疗提供重要思路^[20]。

参考文献:

- [1] ROSKOV Y, OWER G, ORRELL T, *et al.* Species 2000 & ITIS Catalogue of Life [EB/OL]. [2023-08-18]. <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/7XR>.
- [2] PRICE J S, ALLEN S, FAUCHEUX C, *et al.* Deer antlers: A zoological curiosity or the key to understanding organ regeneration in mammals? [J]. *Journal of Anatomy*, 2005, 207(5): 603-618.
- [3] 刘汇涛,董依萌,王磊,等. 中国鹿类动物分类及系统进化研究进展 [J]. *野生动物学报*, 2017, 38(3): 514-523.
LIU H T, DONG Y M, WANG L, *et al.* Research progress on taxonomy and phylogeny of deer in China [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2017, 38(3): 514-523.
- [4] RÖSSNER G E, COSTEUR L, SCHEYER T M. Antiquity and fundamental processes of the antler cycle in Cervidae (Mammalia) [J]. *The Science of Nature*, 2021, 108(1): 3.
- [5] FELEKE M, BENNETT S, CHEN J Z, *et al.* New physiological insights into the phenomena of deer antler: a unique model for skeletal tissue regeneration [J]. *Journal of Orthopaedic Translation*, 2020, 27: 57-66.
- [6] GUAN M Q, PAN D A, ZHANG M, *et al.* Deer antler extract potentially facilitates xiphoid cartilage growth and regeneration and prevents inflammatory susceptibility by regulating multiple functional genes [J]. *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 2021, 16(1): 208.
- [7] LIU Z P, LI W, GENG L L, *et al.* Cross-species metabolomic analysis identifies uridine as a potent regeneration promoting factor [J]. *Cell Discovery*, 2022, 8: 6.
- [8] WANG Y, ZHANG C Z, WANG N N, *et al.* Genetic basis of ruminant headgear and rapid antler regeneration [J]. *Science*, 2019, 364(6446): eaav6335.
- [9] DEMIGUEL D, AZANZA B, MORALES J. Key innovations in ruminant evolution: a paleontological perspective [J]. *Integrative Zoology*, 2014, 9(4): 412-433.
- [10] CAPPELLI J, GARCÍA A J, KOTRBA R, *et al.* The bony horn-core of the common eland (*Taurotragus oryx*): composition and mechanical properties of a spiral fighting structure [J]. *Journal of Anatomy*, 2018, 232(1): 72-79.
- [11] NASOORI A. Formation, structure, and function of extra-skeletal bones in mammals [J]. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 2020, 95(4): 986-1019.
- [12] SINHA S, SPARKS H D, LABIT E, *et al.* Fibroblast inflammatory priming determines regenerative versus fibrotic skin repair in reindeer [J]. *Cell*, 2022, 185(25): 4717-4736. e25.
- [13] LI C, SUTTIE J M. Histological studies of pedicle skin formation and its transformation to antler velvet in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *The Anatomical Record*, 2000, 260(1): 62-71.
- [14] LI C Y, YANG F H, LI G Y, *et al.* Antler regeneration: A dependent process of stem tissue primed via interaction with its enveloping skin [J]. *Journal of Experimental Zoology Part A, Ecological Genetics and Physiology*, 2007, 307(2): 95-105.
- [15] WANG D T, BERG D, BA H X, *et al.* Deer antler stem cells are a novel type of cells that sustain full regeneration of a mammalian organ: deer antler [J]. *Cell Death & Disease*, 2019, 10: 443.
- [16] BA H X, WANG X, WANG D T, *et al.* Single-cell transcriptome reveals core cell populations and androgen-*RFXP2* axis involved in deer antler full regeneration [J]. *Cell Regeneration*, 2022, 11(1): 43.
- [17] BUBENIK G A, REYES E, SCHAMS D, *et al.* Effect of antiandrogen cyproterone acetate on the development of the antler cycle in southern Pudu (*Pudu puda*) [J]. *The Journal of Experimental Zoology*, 2002, 292(4): 393-401.

- [18] CLUTTON-BROCK T H, ALBON S D, HARVEY P H. Antlers, body size and breeding group size in the Cervidae[J]. Nature, 1980, 285: 565–567.
- [19] GOULD S J. The origin and function of “bizarre” structures: antler size and skull size in the “Irish elk,” *Megaloceros giganteus* [J]. Evolution, 1974, 28(2): 191–220.
- [20] LI C Y, ZHAO H P, LIU Z, *et al.* Deer antler: a novel model for studying organ regeneration in mammals [J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2014, 56: 111–122.
- [21] CURREY J D, LANDETE-CASTILLEJOS T, ESTEVEZ J, *et al.* The mechanical properties of red deer antler bone when used in fighting[J]. The Journal of Experimental Biology, 2009, 212 (Pt 24): 3985–3993.
- [22] LI C Y. Histogenetic aspects of deer antler development [J]. Frontiers in Bioscience (Elite Edition), 2013, 5(2): 479–489.
- [23] SMOLKO P, GARAJ P, LEBOCKÝ T, *et al.* Soil nutrients and deer density affect antler size of the Carpathian red deer [J]. Mammalian Biology, 2022, 102(1): 119–130.
- [24] PETERS L, HUISMAN J, KRUIK L E B, *et al.* Genomic analysis reveals a polygenic architecture of antler morphology in wild red deer (*Cervus elaphus*) [J]. Molecular Ecology, 2022, 31 (4): 1281–1298.
- [25] LANDETE-CASTILLEJOS T, KIERDORF H, GOMEZ S, *et al.* Antlers-Evolution, development, structure, composition, and biomechanics of an outstanding type of bone [J]. Bone, 2019, 128: 115046.
- [26] CEACERO F. Long or heavy? Physiological constraints in the evolution of antlers[J]. Journal of Mammalian Evolution, 2016, 23(2): 209–216.
- [27] LI C, LITTLEJOHN R P, CORSON I D, *et al.* Effects of testosterone on pedicle formation and its transformation to antler in castrated male, freemartin and normal female red deer (*Cervus elaphus*) [J]. General and Comparative Endocrinology, 2003, 131 (1): 21–31.
- [28] SUTTIE J M, FENNESSY P F, LAPWOOD K R, *et al.* Role of steroids in antler growth of red deer stags[J]. The Journal of Experimental Zoology, 1995, 271(2): 120–130.
- [29] KIERDORF U, KIERDORF H, SCHULTZ M, *et al.* Histological structure of antlers in castrated male fallow deer (*Dama dama*) [J]. The Anatomical Record Part A, discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology, 2004, 281 (2): 1352–1362.
- [30] GAO Z G, YANG F H, MCMAHON C, *et al.* Mapping the morphogenetic potential of antler fields through deleting and transplanting subregions of antlerogenic periosteum in sika deer (*Cervus nippon*) [J]. Journal of Anatomy, 2012, 220(2): 131–143.
- [31] GOSS R J, POWEL R S. Induction of deer antlers by transplanted periosteum. I. Graft size and shape [J]. The Journal of Experimental Zoology, 1985, 235(3): 359–373.
- [32] WEI G N, QIN T, LI X S, *et al.* Constructing the *in vitro* culture system of the sika deer (*Cervus nippon*) antler periosteal cell to detect its function on antler regeneration [J]. Frontiers in Bioscience (Landmark Edition), 2022, 27(2): 69.
- [33] ZHANG W, KE C H, GUO H H, *et al.* Antler stem cells and their potential in wound healing and bone regeneration [J]. World Journal of Stem Cells, 2021, 13(8): 1049–1057.
- [34] ROTH D M, BAYONA F, BADDAM P, *et al.* Craniofacial development: neural crest in molecular embryology [J]. Head and Neck Pathology, 2021, 15(1): 1–15.
- [35] LI C, SUTTIE J M. Electron microscopic studies of antlerogenic cells from five developmental stages during pedicle and early antler formation in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. The Anatomical Record, 1998, 252(4): 587–599.
- [36] LUAN Y Y, WU S J, WANG M K, *et al.* Identification of critical genes for ovine horn development based on transcriptome during the embryonic period [J]. Biology, 2023, 12(4): 591.
- [37] LIU M X, HAN X Y, LIU H Y, *et al.* The effects of CRISPR-Cas9 knockout of the TGF- β 1 gene on antler cartilage cells *in vitro* [J]. Cellular & Molecular Biology Letters, 2019, 24: 44.
- [38] ZHANG Z X, HE C X, BAO C H, *et al.* MiRNA profiling and its potential roles in rapid growth of velvet antler in Gansu red deer (*Cervus elaphus kansuensis*) [J]. Genes, 2023, 14(2): 424.
- [39] ZHOU Z W, ZHONG J H, ZHANG J C, *et al.* Comparative transcriptome analysis provides insight into the molecular targets and signaling pathways of deer TGF-1 regulating chondrocytes proliferation and differentiation [J]. Molecular Biology Reports, 2023, 50(4): 3155–3166.
- [40] LI C Y, SUTTIE J M, CLARK D E. Morphological observation of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. Journal of Morphology, 2004, 262(3): 731–740.
- [41] LI C Y, CHU W H. The regenerating antler blastema: the derivative of stem cells resident in a pedicle stump [J]. Frontiers in Bioscience (Landmark Edition), 2016, 21(3): 455–467.
- [42] ROLF H J, KIERDORF U, KIERDORF H, *et al.* Localization and characterization of STRO-1 cells in the deer pedicle and regenerating antler [J]. PLoS One, 2008, 3(4): e2064.
- [43] LI C Y. Deer antler regeneration: a stem cell-based epimorphic process [J]. Birth Defects Research Part C, Embryo Today: Reviews, 2012, 96(1): 51–62.
- [44] KLINKHAMER A J, WOODLEY N, NEENAN J M, *et al.* Head to head: the case for fighting behaviour in *Megaloceros giganteus* using finite-element analysis [J]. Proceedings Biological Sciences, 2019, 286(1912): 20191873.
- [45] LOPEZ N, STANKOWICH T. Sizing up swords: correlated evolution of antlers and tusks in ruminants [J]. Journal of Mammalian Evolution, 2023, 30(1): 231–244.
- [46] SUN H M, YANG F H, CHU W H, *et al.* Lentiviral-mediated

- RNAi knockdown of *Cbfa1* gene inhibits endochondral ossification of antler stem cells in micromass culture [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47367.
- [47] BA H X, WANG D T, YAU T O, *et al.* Transcriptomic analysis of different tissue layers in antler growth center in sika deer (*Cervus nippon*) [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20(1): 173.
- [48] CLARK D E, LI C Y, WANG W Y, *et al.* Vascular localization and proliferation in the growing tip of the deer antler [J]. *The Anatomical Record Part A, Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, 2006, 288(9): 973–981.
- [49] SZUWART T, KIERDORF H, KIERDORF U, *et al.* Ultrastructural aspects of cartilage formation, mineralization, and degeneration during primary antler growth in fallow deer (*Dama dama*) [J]. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 1998, 180(6): 501–510.
- [50] GOMEZ S, GARCIA A J, LUNA S, *et al.* Labeling studies on cortical bone formation in the antlers of red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Bone*, 2013, 52(1): 506–515.
- [51] LÓPEZ-PEDROUSO M, LORENZO J M, LANDETE-CASTILLEJOS T, *et al.* SWATH-MS quantitative proteomic analysis of deer antler from two regenerating and mineralizing sections [J]. *Biology*, 2021, 10(7): 679.
- [52] WANG M, LIN C, JIA X D, *et al.* HGF/c-Met signaling promotes the migration and proliferation of deer antler MSCs [J]. *Scientific Reports*, 2023, 13: 11121.
- [53] LI X S, SHI W W, WEI G N, *et al.* Galectin-1 promotes angiogenesis and chondrogenesis during antler regeneration [J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2023, 28(1): 40.
- [54] LI C Y, CLARK D E, LORD E A, *et al.* Sampling technique to discriminate the different tissue layers of growing antler tips for gene discovery [J]. *The Anatomical Record*, 2002, 268(2): 125–130.
- [55] XING H H, ZHANG F R, HAN R B, *et al.* DNA methylation pattern and mRNA expression of OPN promoter in sika deer antler tip tissues [J]. *Gene*, 2023, 868: 147382.
- [56] YANG C, GAO Z Z, WANG Y K, *et al.* Genome-wide DNA methylation analysis reveals layer-specific methylation patterns in deer antler tissue [J]. *Gene*, 2023, 884: 147744.
- [57] QIN T, ZHANG G K, ZHENG Y, *et al.* A population of stem cells with strong regenerative potential discovered in deer antlers [J]. *Science*, 2023, 379(6634): 840–847.
- [58] WU J, YANG F, WU X Y, *et al.* Comparison of genome-wide DNA methylation patterns between antler precartilaginous and cartilage [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2023, 298(2): 343–352.
- [59] KIERDORF U, GOMEZ S, STOCK S R, *et al.* Bone resorption and formation in the pedicles of European roe deer (*Capreolus capreolus*) in relation to the antler cycle: a morphological and microanalytical study [J]. *Journal of Anatomy*, 2023, 243(5): 842–859.
- [60] KIERDORF U, SCHULTZ M, KIERDORF H. The consequences of living longer: effects of an experimentally extended velvet antler phase on the histomorphology of antler bone in fallow deer (*Dama dama*) [J]. *Journal of Anatomy*, 2021, 239(5): 1104–1113.
- [61] KIERDORF U, STOCK S R, GOMEZ S, *et al.* Distribution, structure, and mineralization of calcified cartilage remnants in hard antlers [J]. *Bone Reports*, 2022, 16: 101571.
- [62] KIERDORF U, FLOHR S, GOMEZ S, *et al.* The structure of pedicle and hard antler bone in the European roe deer (*Capreolus capreolus*): a light microscope and backscattered electron imaging study [J]. *Journal of Anatomy*, 2013, 223(4): 364–384.
- [63] KIERDORF U, KIERDORF H, SZUWART T. Deer antler regeneration: cells, concepts, and controversies [J]. *Journal of Morphology*, 2007, 268(8): 726–738.
- [64] GOSS R J. Tumor-like growth of antlers in castrated fallow deer: an electron microscopic study [J]. *Scanning Microscopy*, 1990, 4(3): 715–720; discussion 720–721.
- [65] KIERDORF U, KIERDORF H, KNUTH S. Effects of castration on antler growth in fallow deer (*Dama dama* L.) [J]. *The Journal of Experimental Zoology*, 1995, 273(1): 33–43.
- [66] WELDENEGODGUAD M, POKHAREL K, MING Y, *et al.* Genome sequence and comparative analysis of reindeer (*Rangifer tarandus*) in northern Eurasia [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 8980.
- [67] LIN Z S, CHEN L, CHEN X Q, *et al.* Biological adaptations in the Arctic cervid, the reindeer (*Rangifer tarandus*) [J]. *Science*, 2019, 364(6446): eaav6312.
- [68] AKHTAR R W, LIU Z, WANG D T, *et al.* Identification of proteins that mediate the role of androgens in antler regeneration using label free proteomics in sika deer (*Cervus nippon*) [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2019, 283: 113235.
- [69] GUO Q Q, ZHENG J J, BA H X, *et al.* Calreticulin identified as one of the androgen response genes that trigger full regeneration of the only capable mammalian organ, the deer antler [J]. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 2022, 10: 862841.
- [70] LEHOCZKY J A, ROBERT B, TABIN C J. Mouse digit tip regeneration is mediated by fate-restricted progenitor cells [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(51): 20609–20614.
- [71] GOSS R J, VAN PRAAGH A, BREWER P. The mechanism of antler casting in the fallow deer [J]. *The Journal of Experimental Zoology*, 1992, 264(4): 429–436.
- [72] GASPAR-LÓPEZ E, LANDETE-CASTILLEJOS T, ESTEVEZ J A, *et al.* Biometrics, testosterone, cortisol and antler growth cycle in Iberian red deer stags (*Cervus elaphus hispanicus*) [J]. *Reproduction in Domestic Animals = Zuchthygiene*, 2010, 45

- (2): 243–249.
- [73] PRICE J, ALLEN S. Exploring the mechanisms regulating regeneration of deer antlers [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2004, 359(1445): 809–822.
- [74] LI C Y, MACKINTOSH C G, MARTIN S K, *et al.* Identification of key tissue type for antler regeneration through pedicle periosteum deletion[J]. *Cell and Tissue Research*, 2007, 328(1): 65–75.
- [75] KIERDORF U, KIERDORF H. Bilateral antler sequestration above the coronet in a red deer (*Cervus elaphus*) stag: insights into the process of antler casting[J]. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 2021, 50(2): 422–428.
- [76] LI C Y, SUTTIE J M, CLARK D E. Histological examination of antler regeneration in red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *The Anatomical Record Part A, Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology*, 2005, 282(2): 163–174.
- [77] YAO B J, WANG C N, ZHOU Z W, *et al.* Comparative transcriptome analysis of the main beam and brow tine of sika deer antler provides insights into the molecular control of rapid antler growth[J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2020, 25: 42.
- [78] LI C Y, SUTTIE J. Morphogenetic aspects of deer antler development [J]. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, 2012, 4(5): 1836–1842.
- [79] SEO M S, PARK S B, CHOI S W, *et al.* Isolation and characterization of antler-derived multipotent stem cells [J]. *Cell Transplantation*, 2014, 23(7): 831–843.
- [80] KIERDORF U, KIERDORF H. Antler regrowth as a form of epimorphic regeneration in vertebrates- a comparative view [J]. *Frontiers in Bioscience (Elite Edition)*, 2012, 4(5): 1606–1624.
- [81] SUNX Y, GUX Y, LIK K, *et al.* Melatonin promotes antler growth by accelerating MT1-mediated mesenchymal cell differentiation and inhibiting VEGF-induced degeneration of chondrocytes[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(2): 759.
-