

视黄酸诱导动物再生研究进展

肖能文^{1,2}, 戈峰^{2*}, 李俊生¹

(1. 中国环境科学研究院, 北京 100012 2. 中国科学院 动物研究所 农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101)

摘要: 综述了视黄酸的概念及其衍生物的特征, 探讨了视黄酸对脊椎动物再生作用模式和“超再生”的影响, 分析了视黄酸对水螅、蚯蚓、扁形动物和节肢动物等无脊椎动物再生能力的影响, 并进一步分析了视黄酸对无脊椎动物发育和再生模式的作用。

关键词: 视黄酸; 动物; 再生; 诱导; 超再生

中图分类号: Q418 文献标识码: A 文章编号: 1001-8581(2009)11-0127-05

Research Progress in Animal Regeneration Induced by Retinoic Acid

XIAO Neng-wen^{1,2}, GE Feng^{2*}, LI Jun-sheng¹

(1. Chinese Academy of Environmental Sciences Beijing 100012, China 2. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences Beijing 100101, China)

Abstract This article summarized the concept of retinoic acid and the characteristics of its derivatives, discussed the influence of retinoic acid on the regeneration model and super-regeneration of vertebrate, analyzed the effect of retinoic acid on the regeneration capacity of hydra, earthworms, arthropods, flat animals and other invertebrates, and further analyzed the function of retinoic acid on the development and regeneration model of invertebrates.

Key words Retinoic acid, Animal Regeneration, Inducement, Super-regeneration

1 前言

再生现象在动物界普遍存在, 且不同动物的再生能力也不同, 无脊椎动物的再生能力一般要强于脊椎动物^[1,2]。动物再生主要是通过无性繁殖再生出因受伤、捕食或自割而丢失的器官, 如腕、外附属物(棘和叉棘)及内脏(消化管和生殖腺等等)。在脊椎动物中, 两栖动物和爬行动物的再生能力较强, 能再生失去的肢、尾和趾; 而其他动物的再生能力相对有限, 很少能再生出完整器官。无脊椎动物再生能力更强, 再生器官甚至整个身体的情况非常普遍, 一些种类的动物以自切方式逃避敌害和环境压力, 而另一些无脊椎动物以再生作为一种无性生殖方式^[3]。

动物以 2 种方式再生受损部分: 一种为整体再生, 如涡虫和水螅, 一生中拥有一定数量的干细胞, 当身体受损时, 干细胞分裂分化再生形成失去的部分, 其中水螅的再生能力相当惊人, 几乎身体的每一个细胞都能再生成一个个体; 还有一些动物是部分再生, 如蝶螈、斑马鱼、节肢动物和环节动物等, 通过成体细胞去分化形成芽基而再生。另一种是诱导再生, 广泛应用于医学研究等领域, 在心肌、老人痴呆症 (Alzheimer's), 帕金森症、糖尿病胰岛细胞和中风后运动神经疾病等神经退化损伤疾病神经细胞的再生中受到关注^[4,5]。视黄酸 (Retinoic Acid, RA)

作为一种信号分子, 对动物的正常发育和保持上皮组织、软骨的正常性具有重要作用, 同时, 视黄酸及其衍生物对诱导动物的再生能力和改变再生模式等方面也发挥了重要的作用^[6]。

2 视黄酸的概念

视黄酸是脊椎动物胚胎和成体的内源分子, 是维生素 A 的生物活性代谢物, 分子量低, 一般为 300 Da, 属于亲脂性分子, 作用于细胞核基因转录水平。成体维生素 A 从动物性食物和植物 β -胡萝卜素中获得, 在血液中以视黄醇结合蛋白形式运输, 胚胎和成体细胞从血液中获得视黄酸。在细胞内, 视黄醇首先通过视黄醇脱氢酶或乙醇脱氢酶 (ADH) 转换成视黄醛, 然后通过视黄醛脱氢酶 (RALDHs) 转换成 RA^[7]。视黄醇、视黄醛和视黄酸统称为类视黄醇 (Retinoid)。RA 有 2 种异构体: 全反式视黄酸和 9-顺式视黄酸, 它们通过不同的受体起作用。RA 能被细胞色素 P₄₅₀ 中 Cyp26 进一步代谢成无活性产物, 如 4-羧基-RA、4-羟基-RA、18-羟基-RA 和 5, 18-环氧-RA, 最后排出体外^[8,9]。

一旦视黄酸在细胞中合成, 就进入细胞核, 通过结合到受体激活转录因子而改变基因作用模式。转录因子有 2 类: 视黄酸受体 (RARs) 和视黄醇 X 受体 (RXRs)。在人类、小鼠和大鼠中, RARs 有 3 种亚型 RAR- α 、RAR

收稿日期: 2009-08-31

基金项目: 国家自然科学基金国际合作项目 (96-920-13-03); 国家科技基础条件平台建设项目 (2005DKA21404); 国家博士后基金 (20060390524)。

作者简介: 肖能文 (1973-), 男, 湖南桃江人, 副研究员, 博士, 研究方向: 生态毒理学和土壤动物学。* 通讯作者: 戈峰。

- β 和RAR- γ 每一种亚型又有多种异构体。RXR_s也3种亚型:RXR- α 、RXR- β 和RXR- γ ,同样每种亚型又有多种异构体^[10]。RAR_s和RXR_s构成视黄酸受体异二聚体,如RAR α /RXR β ,并与RA受体基因上游启动子-视黄酸反应元件(RAREs)有相同序列。由于这些特征,视黄酸能随意进入细胞核并诱导新基因活动,因此,视黄酸能改变再生模式的形成并诱导组织和器官的再生。

3 视黄酸对脊椎动物再生的作用

发育过程通常是新基因的首次表达,是一种有性过程;而再生起始于已分化的环境中已分化的细胞或未分化的细胞(如干细胞),是一种无性过程。再生过程中新结构的形成是新细胞分裂、重排和已有细胞重新分化的结果。人们普遍认为再生与个体发育具有相同的途径,并不是新基因表达的一种独特现象。但是这并不能解释为什么水螅能再生整个个体而人不能再生四肢,脊椎动物肢体受伤后不能再生,通常形成伤疤,说明再生有特殊性。视黄酸能很好地解释再生与发育的差异,组织器官不能正常再生是因为RA某一成分缺陷所致,如果补充这种成分,可能诱导正常再生,以下例子就是通过RA诱导再生的。

3.1 视黄酸改变再生模式和引起肢芽的“超再生”在两栖动物和哺乳动物中,许多种类在切除肢和尾后能完整再生失去的部分。当用视黄酸处理时,能诱导器官的“超再生(Super-regeneration)”,即在已经再生部分重新指定位置信息,再生出额外的骨骼系统和可预测、重复的变化。

Nazi和Sanexa(1978年)最先报道了视黄醇棕榈酸盐能引起美洲蟾蜍(*Bufo andersoni*)蝌蚪肢再生的模式复制^[11]。之后,Maden(1982年)详细描述了视黄醇在美西螈(*Ambystoma mexicanum*)肢再生模式形成中的作用,此后大量的研究工作集中于探讨视黄酸如何影响动物再生模式的形成^[12]。

视黄酸诱导再生组织量沿肢体远近轴向增加,这种改变与视黄酸浓度有关^[13]。在美西螈中,当沿桡骨和尺骨中部切除时,对照能再生失去部分;而用低浓度视黄醇处理切断部位时,却再生额外的桡骨和尺骨;用更高剂量处理时,出现额外的肘关键;当更高浓度处理时,能从切断部分再生完整的肢,从桡骨切断时也出现这种现象^[12]。另外的物种,如林蛙(*Rana temporaria*)、黑点蝾螈(*Notophthalmus*)、欧洲蝾螈(*Platyrhynchus*)、斑纹蝾螈(*Triturus*)和爪蟾(*Xenopus*)都有这种现象^[11-14]。最有意思的例子是,视黄酸能从以前存在的肢芽基细胞和已经分化的器官中诱导完整肢的再生,这首先在狭口蛙(*Uperodon systema*)和林蛙(*Rana temporaria*)中被发现,当沿蝌蚪尾任何位置切断后,都能完整再生,但切后用RA处理时能再生出9个后肢,这种诱导作用与RA浓度和处理时间

有关,并仅在变态前甲状腺激素水平升高时发生^[15-16]。

视黄酸同样能对鸡翼和斑马鱼尾鳍的发育和再生产生影响。视黄酸在发育的鸡翼芽基的适当位置处理时,能产生数字模式的复制,生成正常数字模式(234)的镜像对称模式(432234)^[17]。RA处理斑马鱼尾鳍时,可引起尾鳍分叉减少,重新指定尾鳍再生模式^[18]。

以上现象反映了应用外源RA改变肢发育和再生中模式的形成。内源视黄酸是否影响再生呢?当美西螈肢芽基用戒酒硫(一种抑制RA合成的化合物)处理时,肢的发育暂时停止^[19]。Scadding^[20](1999年)用柠檬醛(抑制RA合成的化合物)处理美西螈幼体再生中的肢,肢再生变得极其不规则,并有严重的模式缺陷,长骨缩短或再生完全被抑制。Tanaka等(1996年)用柠檬醛处理再生中的鸡翅,同样出现长骨缩短,腕骨、掌骨和指骨数量减少等畸形^[21]。说明内源RA参与正常数字模式形成,对再生具有重要作用。

3.2 内源视黄酸浓度梯度决定再生数字模式视黄酸的分布和浓度的精确控制保证了其行使正常的功能,其合成与代谢受到酶的调节,视黄酸合成酶与分解酶的共同作用决定了局部视黄酸的浓度,视黄醛脱氢酶在胚胎发育过程中最早表达,是最关键的RA合成酶^[22]。RA在改变和诱导两栖动物肢和尾的“超再生”时,视黄酸是怎样指定这种位置信息呢?如果内源RA决定模式形成,它应该在再生和发育的肢芽中分布且不均匀,存在浓度梯度,根据RA浓度梯度来决定分化和再生的位置。Thaller和Eichele(1987年)在鸡翼芽基中,用高效液相色谱仪直接测量了RA的浓度,他们把翼芽基分成2部分:后端1/4和前端3/4,发现RA在后端1/4鸡翼芽基中的含量为49 mol/L,前端的含量为19 mol/L,存在1.5倍的差异,这说明RA在翼芽中形成一个浓度梯度^[22]。Scadding(1994年)用HPLC在美西螈测到后部1/4肢再生芽基中的RA浓度是前1/4的5倍多,在桡骨和尺骨中的浓度是肱骨的2.5倍^[23]。

视黄酸作用并不仅仅依赖于浓度梯度,而是与其他成分共同作用。细胞视黄酸结合蛋白(CRABP)在控制类视黄醇浓度梯度中有重要作用。在鸡翼和美西螈中,用抗体染色时发现细胞视黄酸结合蛋白呈现与RA相反的浓度梯度,最高浓度出现在前部,而CRABP能加大内源RA的浓度梯度。

视黄酸浓度梯度能决定HOM-C₂HOM基因的表达^[24-25],该基因在生物体沿前后轴形成身体各部分同一性的决定中起着重要的作用,而且进化保守。近来的研究表明,在鸡翼芽基再生中经视黄酸处理后,H α D13基因表达发生时间和空间上的变化^[24]。

3.3 视黄酸对动物器官再生的影响视黄酸在神经系统再生中具有重要的作用。在胚胎发育中,中枢神经系统脊髓具有最高浓度的内源视黄酸,当去除胚胎发育中

的视黄酸时,产生视黄酸缺失胚胎^[19],中枢神经发育不正常。Nagashima等(2009年)研究表明:在金鱼受损视神经再生中,视黄醇连接蛋白可促进视黄醇转变为视黄酸,视神经受损7~10 d后,视黄酸信号连续上调,视黄酸信号传导在视神经再生中起重要作用^[26]。Yee和Rawson(2000年)认为,小鼠嗅神经损伤后,视黄酸能加速嗅神经的恢复^[27]。由此,视黄酸对神经系统再生的作用逐步应用于临床医学,Hernández-Pedro等(2008年)研究认为,视黄酸能减缓糖尿病性神经病小鼠机体超微结构的变化,促进神经系统的再生^[28]。

临床上器官再生最成功的例子是视黄醇诱导肺泡的再生,在小鼠肺泡形成过程中,视黄酸是肺泡开始发育的必需物质;在小鼠肺泡分割期,用HPLC分离到视黄酸峰,但视黄醇峰值下降,这表明视黄醇被转化利用^[29]。

4 视黄酸对无脊椎动物再生的作用

关于视黄酸对无脊椎动物再生影响的研究很少,仅在水螅、涡虫和蟹等无脊椎动物中有过研究,但其作用机理仍然不清楚。外源RA的影响一般可概括为再生模式的改变,包括头部结构的缺失和干扰、延迟再生。

4.1 视黄酸对水螅再生的影响 视黄酸通过对空间结构和转导信号作用,干扰水螅(*Hydractinia echinata*)的模式定位。Müller(1984年)用低剂量脉冲处理,能使水螅发育出更多的触手,水螅体变短,而水螅根数减少,水螅根变长;而用高剂量($10^{-6} \sim 10^{-5}$ mol/L)并较长时间处理时,水螅头部结构减少,最终都变形为水螅根^[30],说明维生素A类物质能改变近轴端和远轴端两个方向的模式形成机制。

视黄酸能干扰信号系统对空间结构和时间周期及转导信号的作用模式。RA能减弱信号强度,这些信号控制身体长度,当信号强度降低到某一阈值时,身体近轴端细胞迁移到水螅根,使之延长,用高浓度RA处理并延长处理时间时,能使信号减小到零。

4.2 视黄酸对扁形动物再生的影响 涡虫是再生研究的常用材料,再生包括2个过程:形成再生芽基和模式重建。身体切除后,全能干细胞从剩下体躯分裂产生大量细胞,并迁移到受伤表面形成再生芽基。把它横切为两半,再生立即从切面开始,未分化和去分化的细胞在切面聚集形成再生芽基,芽基经有丝分裂产生新细胞,发育成失去部分的各种组织,前半段重新形成后半段,后半段则发育出新的前半段,恢复成两个形态和功能都完整的新涡虫^[31]。

视黄酸可干扰涡虫正常再生。Romero(2001年)利用单克隆分子抗体(mAb)TCEN-49观察RA对涡虫(*Girardia tigrina*)再生的影响,用 0.5×10^{-3} mol/L的RA处理不同部位切断的涡虫,结果表明:从头部切断时能再生出尾部;从躯干切断时能再生出正常的尾部,但不能再生出头部;而从尾部切断时,不能再生出正常的头部和躯干

部。涡虫再生头部,发生于再生的6~24 h中,RA敏感期与头部决定期严格同步^[32]。在脊椎动物趾再生中,对外源RA最敏感期为细胞去分化期,细胞开始形成芽基和再生失去结构期,RA对涡虫干扰期与脊椎动物一致。

4.3 视黄酸对节肢动物再生的影响 大多数甲壳类动物,无论是幼虫还是虫体,其附肢失去或被截断后,伤口即由几丁质封闭,并在其下形成一个再生芽,然后逐渐发育成一条新的附肢。由于有老的几丁质层覆盖,新生的比较小的附肢要经过一次蜕皮才能显露。经过几次蜕皮后才能长到原来的大小^[33]。蟹作为甲壳类动物,其足再生有2个阶段—基础生长和蜕皮前期生长,在基础生长的早期,表皮细胞分泌甲壳素,迁移到失去肢的受伤部位,经RA处理的蟹步行足芽基,许多肢甲壳素分泌模式受干扰,生长变慢并常出现畸形。Hopkins(1995年)把切除步行足的蟹(*Uca pugnator*)浸入0.05 mmol/L RA海水溶液中,经过7~10 d的RA处理,某些芽基既能观察到额外的厚甲壳,也能观察到表皮内包(Cuticular In-foldings),切后3周,RA处理的足大部分至少有一个基节受RA的影响,许多足形成畸形,大约比对照推迟2 d左右并生长更慢。蜕皮时,RA可显著减小左第三步行足芽基大小,蜕皮后的足畸形变异很大,有多余的变形体节或严重扁形的体节^[34]。RA对蟹的影响与脊椎动物相似,干扰肢芽再生和发育时的模式形成,从而干扰正常体节的形成模式和表皮分化。

4.4 视黄酸对蚯蚓再生的影响 蚯蚓由于其快速和不断更新的能力而被认为是研究再生的最佳材料,因此它是研究动物发育、细胞生长分化和模式形成的模式动物。早期的研究主要集中在蚯蚓再生体节数和各体段再生能力的差异。蚯蚓从一定体节切除后,既能再生头部又能再生尾部,再生尾部时,赤子爱胜蚓(*Eisenia fetida*)再生节数取决于剩下的身体长度,再生能力从身体前到身体后逐渐降低^[35,36]。视黄酸对蚯蚓再生有明显的干扰,能延迟和干扰再生,从而影响头部的形成。肖能文等(2005年)用视黄酸处理从不同体节切断的蚯蚓,并观察其再生情况,发现视黄酸对无头有尾的蚯蚓体段再生影响很大,与对照相比有明显的差异;而对有头无尾的体段影响较小,与对照差异不大。视黄酸在影响蚯蚓头部的形成中,其影响再生的作用方式可能是通过干扰前后体轴的形成,从而影响蚯蚓再生模式的形成^[37];而柠檬醛能干扰蚯蚓再生头部的形成,而且还影响再生头尾体轴的形成^[38]。

4.5 视黄酸对无脊椎动物的作用机理 动物的再生机理一直被分为表变态再生和变形再生两种。其中,在表变态再生中,未分化细胞(干细胞或脱分化细胞)通过增殖形成增殖活跃的不连续中心—干细胞原基,这是再生所需细胞的“干细胞库”,用于形成新生组织;而变形再生则是残存组织通过细胞的脱分化和迁移,并发生局部

增殖,经再分化后形成新生组织,且常会发生组织重排^[32]。目前,视黄酸对无脊椎动物发育和再生模式的影响还不清楚,从少数例子中可以看出,其作用时间、作用方式与脊椎动物相似。在无脊椎动物中同样有内源视黄酸的存在,并在再生中起着重要的作用。在蟹足芽基中分离到类视黄醇物质,在切除4 d后,在芽基中能检测到全反式RA和9-顺式RA^[39]。

无脊椎动物在再生过程中有特殊受体参加。把切除步行足的蟹浸入RA中几天后,UpRXR mRNA在芽基中的含量显著提高,在受伤表皮细胞核内能够发现免疫反应UpRXR(UcaRXR)蛋白,并分离到蟹的U ψ (U ψ transpirack,类视黄醇受体家族成员)同系物并克隆和测序^[40],它的结合区与脊椎动物RXR配体连接区极为相似。另外,在壁虱(*Amblyomma americanum*)中分离和鉴定到类RXR受体,说明脊椎动物与无脊椎动物的形态建成机制相同。视黄酸对无脊椎动物发育和再生模式的影响可以看出,作用时间和作用方式与脊椎动物相似^[41]。视黄酸能改变再生模式,对无脊椎动物的再生有延迟和干扰作用,视黄酸作用时期非常严格,在贝螭中作用于变态的第一阶段,在涡虫中RA敏感期与头部决定期严格同步,软体动物胚胎发育原肠胚期对RA最敏感并使发育停止于担轮幼虫阶段^[31]。

在无脊椎动物再生中,视黄酸同样调节Hox基因的表达,在再生中起着重要的作用。Osborne等(2009年)研究表明:在文昌鱼(*Branchiostoma floridae*)再生中,用视黄酸或者视黄酸拮抗剂处理后,PardHox基因表达发生改变,神经系统中的Amphiox表达发生改变,Amphiox和AmphCdx基因头尾轴向发生改变,视黄酸能有差异地调节文昌鱼PardHox基因的表达^[25]。

5 结语

近年来,动物再生得到了越来越多研究者的重视,在再生过程中伤口的愈合、生长、形态发生以及分化等方面均取得了可喜的研究进展。但对动物的再生研究仍远远落后于在其胚胎发育方面所取得的成就,许多基本问题仍未得到解决,尤其是在细胞和分子水平上的调控机制。因此,仍然需要做大量而深入的研究工作以全面解决动物再生中的一些关键问题,如再生过程是如何开始的、再生所需细胞的确切来源、再生过程中有哪些基因和因子参与以及它们是如何调控生长、形态发生以及分化来保证生物体结构及功能恢复等。

视黄酸是与形态建成特征有关的位置化学介质,能影响和诱导脊椎动物肢和尾的再生,视黄酸能改变芽基细胞的记忆,重新定位前后轴向的再生模式。以前关于再生的研究多集中在对具有再生能力的各种动物再生过程的观察和描述上,而现代分子生物学、细胞生物学和再生医学的发展使我们有可能在分子水平上对再生过程中的细胞去分化、再生结构重新定位等问题进行深入了解。

再生在分子水平上与发育具有同样的基因通道^[42],我们可以通过认识那些发育依赖于RA的器官,来认识视黄酸诱导的再生。而大剂量的外源视黄酸致畸作用被认为是视黄酸在时间和空间上不适当地激活胚胎时期形态发生相关的发育控制基因。近年来,随着RA对再生影响和作用方式研究的深入,以及在一些肿瘤治疗上的成功,丰富了视黄酸的作用机制,同时也促进了类视黄醇类新药的设计与筛选。

视黄酸对无脊椎动物的影响虽然尚不清楚,但视黄酸能延迟再生和干扰正常的再生,其作用时间和作用途径与脊椎动物相似。研究视黄酸对其他无脊椎动物,如环节动物的再生过程及再生机理,将有利于探索视黄酸对无脊椎动物的再生过程、再生机理及其调控机制。

参考文献

- [1] Goss R J Principles of Regeneration[M]. London London Academic Press 1969
- [2] Blum N, Begmann G. P019 Retinoic Acid Signaling in Vertebrate Appendage Regeneration[J]. Mechanisms of Development 2009 126(1): 296~297
- [3] McCurdy D G. A Sexual Reproduction in *Pygospio elegans* Claparede (Annelida Polychaeta) in Relation to Parasitism by *Lipocercadium setiferoides* (Miller and Northup) (Platyhelminthes Trematoda)[J]. Biol Bull, 2001 201(1): 45~51
- [4] Koltka G. Is Tyrosine the Key to Growth Control? [J]. Science 1983 (219): 377~378
- [5] 齐莉萍,戈峰.再生研究与再生医学[J].生命的化学,2003,23(3): 201~203
- [6] Demling S J, Drysdale T A. Retinoic Acid Regulates Anterior-posterior Patterning within the Lateral Plate Mesoderm of *Xenopus* [J]. Mechanisms of Development 2009 126(10): 913~923
- [7] Duester G. Families of Retinoid Dehydrogenases Regulating Vitamin A Function—Production of Visual Pigment and Retinoic Acid [J]. Eur J Biochem, 2000 (267): 4315~4324
- [8] Raner G M, Vaz A D, Coon M J. Metabolism of All-trans 9-cis and 13-cis Isomers of Retinal by Purified Isozymes of Microsomal Cytochrome P450 and Mechanism-based Inhibition of Retinoid Oxidation by Cital[J]. Mol Pharmacol, 1996 49(3): 515~522
- [9] Fujii H, Sato T, Kaneko S et al. Metabolic Inactivation of Retinoic Acid by a Novel P450 Differentially Expressed in Developing Mouse Embryos[J]. EMBO J, 1997, (16): 4163~4173.
- [10] Kliewer S A, Umesono K, Evans R M, et al. The Retinoid X Receptor Modulators of Multiple Hormonal Signaling Pathways [A]. Bonhoff R. Vitamin A in Health and Disease[M]. New York Marcel Dekker Inc, 1994 239~255.
- [11] Niaz I A, Saxena S. Abnormal Hind Limb Regeneration in Tadpoles of the Toad Bufo and Erythrin Exposed to Excess Vitamin A [J]. Folia Biol, 1978 (26): 1~8
- [12] Maden M. Vitamin A and Pattern Formation in the Regenerating Limb [J]. Nature, 1982, (295): 672~675

- [13] Lewandoski M, Mackem S. Limb Development The Rise and Fall of Retinoic Acid [J]. *Current Biology*, 2009, 19(14): 558~ 561.
- [14] Thoms S D, Socum D L. Retinoic acid Induced Pattern Duplication in Regenerating Urodele Limbs [J]. *Dev Biol*, 1984 (103): 319~ 328.
- [15] Maden M, Corcoran J. Role of Thyroid Hormone and Retinoid Receptors in the Homeotic Transformation of Tails into Limbs in Frogs [J]. *Dev Genet*, 1996 (19): 85~ 93.
- [16] Mohanty-Hejnadi P, Dutta S K, Mahapatra P. Limbs Generated at Site of Tail Amputation in Mabled Ballon Frog after Vitamin A Treatment [J]. *Nature*, 1992 (355): 352~ 353.
- [17] Tickle C, Alberts B, Wolpert L, et al. Local Application of Retinoic Acid to the Limb Bud Mimics the Action of the Polarizing Region [J]. *Nature* 1982, 296(5857): 564~ 566.
- [18] White J A, Boffa M B, Jones B, et al. A Zebrafish Retinoic Acid Receptor Expressed in the Regenerating Caudal Fin [J]. *Development* 1994, 120(7): 1861~ 1872.
- [19] Maden M. Retinoids as Endogenous Components of the Regenerating Limb and Tail [J]. *Wound Rep Reg*, 1998, (6): 358~ 365.
- [20] Scadding S R. Citral, an Inhibitor of Retinoic Acid Synthesis, Modifies Pattern Formation during Limb Regeneration in the Axolotl *Ambystoma mexicanum* [J]. *Can J Zool* 1999 (77): 1835~ 1837.
- [21] Tanaka M, Tamura K, Ide H. Citral, an Inhibitor of Retinoic Acid Synthesis, Modifies Chick Limb Development [J]. *Dev Biol*, 1996, 175(2): 239~ 247.
- [22] Thaller C, Eichele G. Identification and Spatial Distribution of Retinoids in the Developing Chick Limb Bud [J]. *Nature*, 1987, 327(18): 625~ 628.
- [23] Scadding S R, Maden M. Retinoic Acid Gradients during Limb Regeneration [J]. *Dev Biol*, 1994, (162): 608~ 617.
- [24] Hayashi T E, Bryant S V. Reciprocal Changes in *Hox D13* and *RAR-beta 2* Expression in Response to Retinoic Acid in Chick Limb Buds [J]. *Dev Biol*, 1994, 166(1): 123~ 132.
- [25] Osborne P W, Benoit G, Laudet V, et al. Differential Regulation of *ParHox* Genes by Retinoic Acid in the Invertebrate Chordate *Amphioxus (Branchiostoma floridae)* [J]. *Developmental Biology* 2009, 327(1): 252~ 262.
- [26] Nagashima M, Sakurai H, Mawatari K, et al. Involvement of Retinoic Acid Signaling in Goldfish Optic Nerve Regeneration [J]. *Neurochemistry International* 2009, 54(3~ 4): 229~ 236.
- [27] Yeek K K, Rawson N E. Retinoic Acid Enhances the Rate of Olfactory Recovery after Olfactory Nerve Transection [J]. *Developmental Brain Research* 2000, 124(1~ 2): 129~ 132.
- [28] Hernández- Pedro N, Ordóñez G, Ortiz- Plata A, et al. All-trans Retinoic Acid Induces Nerve Regeneration and Increases Serum and Nerve Contents of Neural Growth Factor in Experimental Diabetic Neuropathy [J]. *Translational Research*, 2008, 152(1): 31~ 37.
- [29] Hind M, Corcoran J, Maden M. Alveolar Proliferation, Retinoid Synthesizing Enzymes and Endogenous Retinoids in the Postnatal Mouse Lung: Different Roles for *Aldehyde Dehydrogenase 1* and *Raldh-2* [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2002 (26): 67~ 73.
- [30] Müller W A. Retinoids and Pattern Formation in a Hydroid [J]. *J Embryol Exp Morph*, 1984 (81): 253~ 271.
- [31] Christen B, Beck C W, Lombardo A, et al. Regeneration-Specific Expression Pattern of Three Posterior *Hox* Genes [J]. *Developmental Dynamics* 2003 (226): 349~ 355.
- [32] Romero R, Bueno D. Distal-Proximal Regional Determination and Intercalary Regeneration in Planarians Revealed by Retinoic Acid Induced Disruption of Regeneration [J]. *Int J Dev Biol*, 2001, (45): 669~ 673.
- [33] Hopkins P M, Chung A C, Durica D S. Limb Regeneration in the Fiddler Crab *Uca pugilator*: Histological, Physiological and Molecular Considerations [J]. *Amer Zool* 1999 (39): 513~ 526.
- [34] Hopkins P M, Durica D S. Effects of All-trans Retinoic Acid on Regenerating Limbs of the Fiddler Crab, *Uca Pugilator* [J]. *J Exp Zool* 1995, (272): 455~ 463.
- [35] Gates G E. Regeneration in an Earthworm, *Eisenia foetida* (Savigny) 1826. I. Anterior Regeneration [J]. *Boil Bull*, 1949 (96): 129~ 139.
- [36] Gates G E. Regeneration in an Earthworm *Eisenia foetida*. II. Posterior Regeneration [J]. *Boil Bull*, 1950 (98): 36~ 45.
- [37] 肖能文, 齐莉萍, 刘向辉, 等. 柠檬醛对赤子爱胜蚓 (*Eisenia foetida*) 再生的影响 [J]. *应用与环境生物学报*, 2005, 11(2): 192~ 197.
- [38] 肖能文, 戈峰, 刘向辉. 视黄酸影响赤子爱胜蚓 (*Eisenia foetida*) 再生头尾轴形成 [J]. *生态学杂志*, 2005, 24(8): 913~ 916.
- [39] Hopkins P M. Limb Regeneration in the Fiddler Crab *Uca pugilator*: Hormonal and Growth Factor Control [J]. *Amer Zool* 2001 (41): 389~ 398.
- [40] Chung A C, Durica D S, Clifton S W, et al. Cloning of Cnustacean Ecdysteroid Receptor and Retinoid-X Receptor Gene Homologs and Elevation of Retinoid-X Receptor mRNA by Retinoic acid [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1998, 139(1~ 2): 209~ 227.
- [41] Palmer M J, M A H, Ammon, V, Laudet. Characterization of EDR and RXR homologues in the Kodoid Tick *Amblyomma americanum* (L) [J]. *Amer Zool* 1999 (39): 747~ 757.
- [42] Pecorino L, Entwistle A, Brockes J P. Activation of a Single Retinoic Acid Receptor Isoform Mediates Proximal Distal Respecification [J]. *Curr Biol*, 1996, (6): 563~ 569.