

## · 基础研究 ·

# 鹿茸多肽对抗骨关节炎软骨细胞氧化损伤作用的实验研究

李振华<sup>1</sup>, 赵文海<sup>1</sup>, 周秋丽<sup>2</sup>

(1. 长春中医药大学附属医院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学药学院)

**【摘要】目的:**研究鹿茸多肽对骨关节炎软骨细胞的氧化损伤的逆转作用,探讨鹿茸多肽保护软骨细胞的主要作用机制。**方法:**选 15 只 5 月龄日本大耳白兔,采用内侧副韧带、前后交叉韧带切断并切除内半月板的 Hulth 骨性关节炎动物模型制作方法,体外分离培养软骨细胞。以假手术组细胞为正常对照组细胞,造模组细胞为骨关节炎软骨细胞,分别加入 6.25、12.5、25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  鹿茸多肽低、中、高剂量,从第 9 周(2 个月)开始,每周处死 1 组动物,分离培养软骨细胞。连续 8 周,DCFH-DA 法检测细胞内活性氧水平,Griess 法测定细胞培养上清中 NO、SOD 和 GSH-Px 含量。**结果:**DCFH-DA 法检测细胞内活性氧水平,对照组平均  $5.46\pm 0.46$ ,模型组平均  $12.08\pm 0.74$ ,两组比较, $P<0.001$ ;鹿茸多肽低、中、高剂量组分别为  $(9.81\pm 0.59)$ 、 $(7.83\pm 0.63)$  和  $(6.89\pm 0.71)$ ,与模型组比较,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。骨关节炎模型组中  $\text{NaNO}_2$ 、SOD、GSH-Px 分别为  $(5.60\pm 0.45)$   $\mu\text{M}$ 、 $(38.56\pm 12.53)$  U/ml 和  $(151.90\pm 25.60)$  U,与对照组比较,差异均有统计学意义( $P<0.001$ , $P<0.05$ )。 $\text{NaNO}_2$  水平鹿茸多肽低剂量组  $(4.34\pm 0.39)$   $\mu\text{M}$ ,中剂量组  $(3.67\pm 0.36)$   $\mu\text{M}$ ,高剂量组  $(3.20\pm 0.27)$   $\mu\text{M}$ ,与模型组比较差异均有统计学意义( $P<0.01$ );SOD 水平鹿茸多肽低剂量组  $(49.91\pm 5.77)$  U/ml,中剂量组  $(54.05\pm 5.27)$  U/ml,高剂量组  $(57.44\pm 5.70)$  U/ml,与模型组比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ );GSH-Px 水平鹿茸多肽低剂量组  $(172.50\pm 18.65)$  U,中剂量组  $(202.10\pm 21.60)$  U,高剂量组  $(315.80\pm 10.50)$  U,中剂量组及高剂量组与模型组比较差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。**结论:**鹿茸多肽对骨关节炎软骨细胞的氧化损伤有逆转作用,且在一定范围内呈现剂量依赖性。鹿茸多肽这种抗氧化损伤作用,具有研发成为骨性关节炎治疗药物的潜能。

**【关键词】** 鹿茸多肽; 骨性关节炎; 软骨细胞; 氧化损伤; 动物实验

DOI: 10.3969/j.issn.1003-0034.2011.03.020

**Experimental study of velvet antler polypeptides against oxidative damage of osteoarthritis cartilage cells** LI Zhen-hua, ZHAO Wen-hai\*, ZHOU Qiu-li. \*The Affiliated Hospital of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, Changchun 130021, Jilin, China

**ABSTRACT Objective:** To study reverse effect of the oxidative damage on cartilage cells of velvet antler polypeptides (VAPS), and to investigate the main mechanism of VAPS to protect cartilage cells through antioxidant. **Methods:** Fifteen Japanese white rabbits of 5-month-old were selected in this study. Animal model was established by method of Hulth osteoarthritis animal model. The anterior and posterior cruciate ligament and medial collateral ligament were cut off and medial meniscus were cut, articular cartilage cell cultured in vitro. Cells in the sham operation group was the normal control group, osteoarthritis cartilage cells in the model groups were added VAPS 6.25, 12.5, 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  respectively. A group of animals were sacrificed every week from the ninth weeks (two months) and the cartilage cells were isolated and cultured. For 8 weeks, the reactive oxygen species level in chondrocytes were detected by DCFH-DA, the content of NO, SOD and GSH-Px in cell culture supernatant were detected by Griess method. **Results:** DCFH-DA detection of intracellular reactive oxygen species was  $(5.46\pm 0.46)$  in the control group,  $(12.08\pm 0.74)$  in the model groups. The model group compared with the control group by *t* test with the *P* value less than  $<0.001$ . DCFH-DA detection of intracellular reactive oxygen species was  $(9.81\pm 0.59)$  in VAPS 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  group,  $(7.83\pm 0.63)$  in the VAPS 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  group,  $(6.89\pm 0.71)$  in the VAPS 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  group, as compared with model group there were statistically significant difference ( $P<0.05$ ). The content of  $\text{NaNO}_2$ , SOD and GSH-Px in osteoarthritis model group was  $(5.60\pm 0.45)$   $\mu\text{M}$ ,  $(38.56\pm 12.53)$  U/ml and  $(151.90\pm 25.60)$  U, as compared with control group there were statistically significant difference ( $P<0.001$ ,  $P<0.05$ ); The content of  $\text{NaNO}_2$  was  $(4.34\pm 0.39)$   $\mu\text{M}$  in VAPS 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  group,  $(3.67\pm 0.36)$   $\mu\text{M}$  in the VAPS 12.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  group,  $(3.20\pm 0.27)$   $\mu\text{M}$  in the VAPS 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  group, as compared with model group there were statistically significant difference ( $P<0.01$ ). The content of SOD was  $(49.91\pm 5.77)$  U/ml in VAPS 6.25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  group,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 30472224)

Fund programs: Supported by National Natural Science Foundation of China (No: 30472224)

通讯作者: 赵文海 E-mail: 86177252@163.com

(54.05±5.27) U/ml in the VAPS 12.5 μg/ml group, (57.44±5.70) U/ml in the VAPS 25 μg/mL group, as compared with model group there was statistically significant ( $P<0.05$ ). The content of GSH-Px was (172.50±18.65) U in VAPS 6.25 μg/ml group, (202.10±21.60) U in the VAPS 12.5 μg/ml group, (315.80±10.50) U in the VAPS 25 μg/ml group, the VAPS 12.5 μg/mL group and VAPS 25 μg/ml group was compared with model group, there were statistically significant difference ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** The VAPS have anti-oxidative damage effect of osteoarthritis cartilage cells within a certain range and dose-dependent manner. It may be the main mechanism for velvet antler polypeptides to treat osteoarthritis.

**KEYWORDS** Velvet antler polypeptides; Osteoarthritis; Chondrocytes; Oxidative damage; Animal experimentation

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2011, 24(3):245-248 www.zggszz.com

虽然目前对骨关节炎(OA)的研究已比较深入,但其发病机制尚不明确。随着分子生物学、遗传学、免疫学的发展,骨关节炎动物模型的建立,研究表明氧化损伤在骨性关节炎发病过程中起着重要作用<sup>[1]</sup>。关节软骨细胞中氧自由基与 NO 之间的平衡状态是决定软骨细胞死亡转归的重要因素,高水平的 NO 使软骨细胞凋亡,而氧自由基过高则引起软骨细胞坏死。我们的研究发现鹿茸多肽抑制骨关节炎软骨细胞早期凋亡比例增高<sup>[2]</sup>,但其作用机制是否同氧化损伤相关尚需进一步的实验研究证实。

**1 材料与方法**

**1.1 材料与试剂** 15 只 5 月龄日本大耳白兔,雌雄各半,由吉林大学白求恩医学部动物实验中心提供(动物合格证号:0024449)。主要化学试剂:活性氧检测试剂盒、一氧化氮检测试剂盒为上海碧云天试剂公司产品;IL-1β、TNF-α 放免试剂盒为解放军总医院放免所产品;低熔点琼脂为 Sigma 公司产品;鹿茸多肽由吉林大学药学院提供。

**1.2 动物分组及动物模型建立** 将 15 只家兔分为 5 组,即正常对照组、模型组、鹿茸多肽低剂量组、鹿茸多肽中剂量组、鹿茸多肽高剂量组,每组 3 只。兔骨性关节炎动物模型的建立采用内侧副韧带、前后交叉韧带切断并切除内侧半月板改良 Hulth 法<sup>[3]</sup>。模型组动物用水合氯醛(10%,1 ml/kg)麻醉,仰卧位,四肢固定于自制手术台上,脱毛,碘伏消毒,铺无菌洞布,取双后膝关节内侧横切口约 1.5 cm,逐层打开关节腔,切断内侧副韧带,探查关节腔无原发病变后,切断前交叉韧带,全部切除内侧半月板造模,逐层缝合切口。假手术组动物操作同前,但不切断前交叉韧带和切除内侧半月板。术后每天肌注青霉素 20 万 U,共 1 周,预防感染。术后采用一笼一兔喂养,造模 1 周后每日驱赶兔子来回行走约 0.5 h。每周制作一组模型,连续 8 周。从第 9 周(2 个月)开始,每周处死一组动物,分离培养软骨细胞,测定相关指标,连续 8 周。

正常对照组由假手术动物分离获得,10%IMDM 培养液培养;骨关节炎模型组分 4 组,由造模组动物分离获得,模型组 10%IMDM 正常培养;鹿茸多肽低

剂量组加入 6.25 μg/ml 鹿茸多肽,鹿茸多肽中剂量组加入 12.5 μg/ml 鹿茸多肽,鹿茸多肽高剂量组加入 25.0 μg/ml 鹿茸多肽。鹿茸多肽用含 10%血清 IMDM 培养基配制成 1 mg/ml 的溶液,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤无菌后,首先稀释 40 倍成为 25.0 μg/ml 药液,再取部分 25.0 μg/ml 药液 2 倍稀释得到 12.5 μg/ml 药液,最后取部分 12.5 μg/ml 药液 2 倍稀释,得到 6.25 μg/ml 的药液。

**1.3 观测指标与方法**

**1.3.1 软骨细胞提取与培养** 将家兔固定,空气栓塞处死,剥皮暴露膝关节。截取膝关节,粗略修剪后浸入无菌 D-Hank's 液体中,带入超净工作台,手术刀片取关节表面软骨,放入 10 ml 无菌玻璃平皿,倒入 D-Hank's 液掩盖标本。软骨切碎约为 1 mm<sup>2</sup> 的小块,D-Hank's 漂洗软骨小块 3 次,放入至 10 cm<sup>2</sup> IMDM 培养液瓶中。移入离心筒中,1 400 r/min 离心 5 min。收集全部切碎软骨,加入 0.25%胰酶(含 0.04% EDTA),37 °C 消化 30 min。吸出胰酶,加入 4 ml 0.2% II 型胶原酶,置 CO<sub>2</sub> 培养箱中 37 °C 消化 4 h,每 0.5 h 取出振摇 3 min。收集上清液,1 400 r/min 离心 10 min,弃上清,悬浮细胞于 16 ml IMDM 培养液中,200 目过滤至一新无菌离心筒中。5×10<sup>4</sup> 接种于培养瓶中,置 CO<sub>2</sub> 培养箱中 37 °C 培养。

**1.3.2 软骨细胞中活性氧(ROS)的测定** DCFH-DA 法检测细胞内活性氧水平。具体步骤:按照 1:1 000 用无血清培养液稀释 DCFH-DA,终浓度为 10 μM。细胞收集后悬浮于稀释好的 DCFH-DA 中,控制细胞浓度在 1~20×10<sup>6</sup>/ml,37 °C,20 min。每隔 3~5 min 颠倒混匀一下,使探针和细胞充分接触。无血清培养液洗 3 次,充分去除未进入细胞内的 DCFH-DA。PBS 重悬,流式细胞仪 488 nm 光激发,检测 525 nm 发射光强度,计数 10 000 个细胞,以检测细胞内平均荧光强度反应活性氧水平。

**1.3.3 细胞培养上清中 NO、SOD 和 GSH-Px 含量的测定** 分离获取软骨细胞并分组,按 5×10<sup>4</sup>/ml,每孔 0.5 ml 接种于 24 孔板,每组 6 个复孔,培养 60 h 待细胞贴壁后,依据分组更换正常培养液或含不同浓度鹿茸多肽的培养液,继续培养 48 h,收集细胞培

养上清, 5 000 r/min, 离心 10 min, 取上清-20 °C 冻存待测。

NO 检测: 鉴于 NO 性质极不稳定, 在体内体外均能很快生成亚硝酸盐和硝酸盐, 因此测定标本中亚硝酸盐和硝酸盐浓度可以作为衡量 NO 水平的指标。检测采用经典 Griess 法, 操作按照说明书进行。步骤如下: 96 孔板中依次加入样品 50 μl, Reagent1 和 Reagent2 各 50 μl, 酶标仪 540 nm 检测吸光度值, 以系列浓度 NaNO<sub>2</sub>(0, 1, 2, 5, 10, 20, 60 μM) 为标准品, 计算上清中亚硝酸盐的浓度, 亦代表了 NO 的水平。SOD 和 GSH-Px 检测按照说明书进行。

**1.4 统计学方法** 用 SPSS 10.0 统计软件包进行统计分析, 数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 空白对照组与模型组比较采用成组设计定量资料的 *t* 检验, 模型组与鹿茸多肽各剂量组比较采用单因素方差分析, 对于多个样本均数间两两比较采用 *Q* 检验。

**2 结果**

**2.1 软骨细胞中 ROS 水平的变化** 空白对照组平均 5.46±0.46, 模型组平均 12.08±0.74, 两组比较, *t*=13.1595, *P*<0.001, 说明骨关节炎软骨细胞中确实存在氧化损伤。鹿茸多肽低、中、高剂量组分别为 (9.81±0.59)、(7.83±0.63)、(6.89±0.71), 与模型组比较, 采用方差分析, 组间比较采用 *Q* 检验(Newman-Keuls 法)。模型组与鹿茸多肽低剂量组比较, *Q*=8.296 5, *P*<0.01; 模型组与鹿茸多肽中剂量组比较, *Q*=15.533 1, *P*<0.01; 模型组与鹿茸多肽高剂量组比较, *Q*=18.968 6, *P*<0.01; 鹿茸多肽低剂量组与高剂量组比较, *Q*=7.236 6, *P*<0.01; 鹿茸多肽低剂量与中剂量组比较, *Q*=10.672 1, *P*<0.01; 鹿茸多肽中剂量组与高剂量组比较, *Q*=3.435 5, *P*<0.05。

实验结果说明加入不同剂量的鹿茸多肽后, 降低了骨关节炎软骨细胞中活性氧的水平, 并且随着鹿茸多肽浓度的增加, 抗氧化损伤作用增强, 呈一定剂量依赖性。

**2.2 软骨细胞培养上清中 NO、SOD 和 GSH-Px 水平变化** 见表 1-2。NaNO<sub>2</sub> 检测结果, 模型组与鹿茸多肽低剂量组比较, *Q*=8.270 1, *P*<0.01; 模型组与鹿茸多肽中剂量组比较, *Q*=12.667 7, *P*<0.01; 模型组与鹿茸多肽高剂量组比较, *Q*=15.752 5, *P*<0.01; 鹿茸多肽低剂量组与中剂量组比较, *Q*=4.397 6, *P*<0.05; 鹿茸多肽低剂量组与高剂量组比较, *Q*=7.482 5, *P*<0.01; 鹿茸多肽中剂量组与高剂量组比较, *Q*=3.084 9, *P*>0.05。SOD 检测结果, 模型组与鹿茸多肽低剂量组比较, *Q*=3.512 8, *P*<0.05; 模型组与鹿茸多肽中剂量组比较, *Q*=4.794 1, *P*<0.05; 模型组与鹿茸多肽高剂量组比较, *Q*=5.843 3, *P*<0.01; 鹿茸多肽低剂量组与

鹿茸多肽中剂量组比较, *Q*=1.281 3, *P*>0.05; 鹿茸多肽低剂量组与鹿茸多肽高剂量组比较, *Q*=2.330 5, *P*>0.05; 鹿茸多肽中剂量组与鹿茸多肽高剂量组比较, *Q*=1.049 2, *P*>0.05。GSH-Px 检测结果, 模型组与鹿茸多肽低剂量组比较, *Q*=2.538 9, *P*>0.05; 模型组与鹿茸多肽中剂量组比较, *Q*=6.187 0, *P*<0.01; 模型组与鹿茸多肽高剂量组比较, *Q*=20.200 3, *P*<0.01; 鹿茸多肽低剂量组与鹿茸多肽中剂量组比较, *Q*=3.648 1, *P*<0.05; 鹿茸多肽低剂量组与鹿茸多肽高剂量组比较, *Q*=17.661 4, *P*<0.01; 鹿茸多肽中剂量组与鹿茸多肽高剂量组比较, *Q*=14.013 2, *P*<0.01。

**表 1 骨关节炎模型组软骨细胞培养上清中 NO、SOD 和 GSH-Px 水平的变化 ( $\bar{x} \pm s$ )**

**Tab.1 Level of NO, SOD and GSH-Px in cartilage cell culture supernatant in control and model groups ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	孔数(孔)	NaNO <sub>2</sub> (μM)	SOD(U/ml)	GSH-Px(U)
对照组	6	2.40±0.22	56.15±3.35	297.40±17.78
模型组	6	5.60±0.45	38.56±12.53	151.90±25.60
<i>t</i> 值	-	11.065 2	2.349 0	8.085 5
<i>P</i> 值	-	0.000 2	0.039 3	0.000 6

**表 2 鹿茸多肽对软骨细胞培养上清中 NO、SOD 和 GSH-Px 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )**

**Tab.2 Effect of velvet antler polypeptides on the level of NO, SOD and GSH-Px in cartilage cell culture supernatant ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	孔数(孔)	NaNO <sub>2</sub> (μM)	SOD(U/ml)	GSH-Px(U)
模型组	6	5.60±0.45	38.56±12.53	151.90±25.60
鹿茸多肽低剂量组	6	4.34±0.39	49.91±5.77	172.50±18.65
鹿茸多肽中剂量组	6	3.67±0.36	54.05±5.27	202.10±21.60
鹿茸多肽高剂量组	6	3.20±0.27	57.44±5.70	315.80±10.50

与正常对照组比较, 骨关节炎软骨细胞培养上清中 NO 水平升高。NO 是一种自由基, NO 水平的升高, 表明骨关节炎软骨细胞存在氧化损伤。鹿茸多肽处理软骨细胞上清中的 NO 含量有不同程度降低, 差异有统计学意义, 说明鹿茸多肽能够减轻骨关节炎软骨细胞的氧化损伤。与正常对照组比较, 骨关节炎软骨细胞培养上清中 SOD、GSH-Px 含量降低, 说明骨关节炎软骨细胞的抗氧化能力减弱。当鹿茸多肽浓度为 6.25 μg/ml 时, 培养上清中 SOD 和 GSH-Px 有升高趋势; 当浓度继续增加, SOD 和 GSH-Px 的升高与模型组比较差异有统计学意义, 提示鹿茸多肽能够提高骨关节炎软骨细胞的抗氧化能力。

**3 讨论**

骨性关节炎(osteoarthritis, OA)是临床中常见疾病, 对于骨性关节炎的发病机制一直是研究的热点, 鹿茸多肽作为生长因子类药物, 其促进再生和加速

创伤愈合功能<sup>[4-5]</sup>给人们留下了深刻的印象。研究发现,鹿茸多肽具有较强的促进骨折愈合的功能<sup>[6]</sup>;体外研究发现鹿茸多肽具有抗软骨细胞老化的功能<sup>[7]</sup>。我们的研究发现鹿茸多肽抑制骨关节炎软骨细胞早期凋亡的比例增高,但其作用机制尚有待进一步探讨。

所谓活性氧,是指机体内或者自然环境中由氧组成,含氧并且性质活泼的物质总称;主要有一种激发态的氧分子,即一重态氧分子或称单线态氧分子( $O_2^1$ );3种含氧的自由基,即超氧阴离子自由基( $O_2^-$ )、羟自由基(OH)和氢过氧自由基( $HO_2$ )等;2种过氧化物,即过氧化氢( $H_2O_2$ )和过氧化脂质(ROOH)以及一种含氮的氧化物(NO)等。活性氧以其高反应性在生命活动中扮演了重要的角色,是近年来细胞信号转导领域研究的热点<sup>[8]</sup>,本研究中,骨关节炎软骨细胞中SOD、GSH-Px以及NO的变化情况也说明骨关节炎软骨细胞存在着氧化损伤。鹿茸多肽给药组的细胞这些指标均有逆转,且在一定范围内呈现剂量依赖性,说明鹿茸多肽对骨关节炎的治疗作用可能是通过抗氧化损伤机制实现的。

NO对细胞产生损伤主要是通过两条途径:其一是抑制线粒体呼吸;其二是引起超氧化物阴离子 $O_2^-$ 生成ONOO<sup>-</sup>,酸性条件下分解为OH<sup>-</sup>和NO<sub>2</sub><sup>-</sup>自由基,产生氧化损伤。在骨性关节炎患者,滑膜和关节软骨是产生NO的重要来源。过量NO可增加胶原酶和MMPS的活性,抑制基质蛋白多糖的合成,增加Ⅱ型胶原的裂解,从而造成关节软骨的损伤。

本研究中,骨关节炎软骨细胞中SOD、GSH-Px以及NO的变化,表明骨关节炎软骨细胞存在着氧化损伤。鹿茸多肽对骨关节炎软骨细胞的氧化损伤有逆转作用,且在一定范围内呈现剂量依赖性,提示抗氧化损伤可能是鹿茸多肽保护软骨细胞、治疗骨性关节炎的主要作用机制。

#### 参考文献

[1] 梁静,邓廉夫,朱雅萍,等. 氧环境影响关节软骨细胞表型的相

关研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2009, 17(23): 1811-1814.

Liang J, Deng LF, Zhu YP, et al. Effect of oxygen tension on chondrocytic phenotype in vitro[J]. Zhongguo Jiao Xing Wai Ke Za Zhi, 2009, 17(23): 1811-1814. Chinese.

[2] 李振华, 赵文海, 周秋丽, 等. 鹿茸多肽对兔骨性关节炎软骨细胞增殖及凋亡调节作用的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4(10): 701-703.

Li ZH, Zhao WH, Zhou QL, et al. Experimental research of velvet antler polypeptides on chondrocytes proliferation and apoptosis in osteoarthritis rabbits[J]. Shi Jie Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2009, 4(10): 701-703. Chinese.

[3] 刘献祥, 李西, 周江涛. 改良 Hulth 造模法复制膝骨性关节炎的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(12): 1104-1108.

Liu XX, Li X, Zhou JT. Experimental study on replicating knee osteoarthritis by modified Hulth's modeling method[J]. Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 2005, 25(12): 1104-1108. Chinese.

[4] 李立军, 路来金, 陈雷, 等. 鹿茸多肽促进大鼠坐骨神经再生的实验研究[J]. 辽宁中医杂志, 2004, 31(4): 343-344.

Li LJ, Lu LJ, Chen L, et al. Experimental study of velvet antler polypeptides on promoting rat sciatic nerve regeneration[J]. Liao Ning Zhong Yi Za Zhi, 2004, 31(4): 343-344. Chinese.

[5] 翁梁, 周秋丽, 王丽娟, 等. 鹿茸多肽促进表皮和成纤维细胞增殖及皮肤创伤愈合[J]. 药学学报, 2001, 36(11): 817-820.

Weng L, Zhou QL, Wang LJ, et al. Velvet antler polypeptides promoted proliferation of epidermic cells and fibroblasts and skin wound healing[J]. Yao Xue Xue Bao, 2001, 36(11): 817-820. Chinese.

[6] 周秋丽, 王丽娟, 郭颖杰, 等. 鹿茸多肽对实验性骨折的治疗作用及机理研究[J]. 白求恩医科大学学报, 1999, 25(5): 586-588.

Zhou QL, Wang LJ, Guo YJ, et al. Therapeutic effect of pilose antler polypeptides(PAP) on experimental fracture and its mechanism[J]. Bethune Yi Ke Da Xue Xue Bao, 1999, 25(5): 586-588. Chinese.

[7] 陈晓东, 林建华. 鹿茸多肽抗鼠软骨细胞老化的机制初探[J]. 中国骨伤, 2008, 21(8): 617-620.

Chen XD, Lin JH. The initial mechanism's investigation of pilose antler polypeptides resisting replicative senescence of rat chondrocyte[J]. Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2008, 21(8): 617-620. Chinese with abstract in English.

[8] Le Bras M, Clement MV, Pervaiz S, et al. Reactive oxygen species and the mitochondrial signaling path way of cell death[J]. Histol Histopathol, 2005, 20(1): 205-219.

(收稿日期: 2010-08-24 本文编辑: 连智华)