研究报告

葛根素预防雌激素缺乏性骨质疏松的机制探讨

刘　浩[1],李斌斌[2]

(1. 北京大学口腔医学院,口腔医院中心实验室,北京　100081;
2. 北京大学口腔医学院,口腔医院病理研究室,北京　100081)

【摘要】　目的　观察葛根素对去卵巢大鼠股骨骨密度、颌骨骨密度和血清中肿瘤坏死因子(TNF-α)、C 反应蛋白(CRP)及雌二醇(E_2)水平的影响。**方法**　3 月龄雌性 SD 大鼠随机分为假手术组 (sham group) 、单纯去势组(OVX group)、去势 + 雌二醇治疗组(OVX-estrogen group)和去势 + 葛根素治疗组(OVX-puerarin group)。给药 3 个月后测量各组大鼠股骨和颌骨骨密度,血清中 TNF-α 和 CRP 及雌二醇(E_2)水平。**结果**　OVX-puerarin 组较 sham 组体重明显增加($P < 0.01$);较 OVX-estrogen 组的 TNF-α($P < 0.01$)、CRP($P < 0.05$)及 E_2($P < 0.01$)水平显著下降;其下颌骨和股骨远端骨密度与 OVX 组、sham 组之间无显著性差异,但其股骨近端骨密度较 OVX-estrogen 组明显增加($P < 0.05$)。**结论**　葛根素作为抗炎因子,能够显著降低 TNF-α 和 CRP 的水平,但并不会提高雌激素的水平;葛根素对卵巢切除所致的骨质疏松症有一定的治疗作用,但会明显提高机体体重。

【关键词】　葛根素;去卵巢大鼠;骨代谢
【中图分类号】R332　　**【文献标识码】**A　　**【文章编号】**1671-7856(2012)06-0016-04
doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.06.005

Effect of Puerarin on the Osteoporosis Resulted from Ovariectomy in Rats

LIU Hao[1], LI Bin-bin[2]

(1. Central Laboratory, Peking University School and Hospital of Stomatology, Beijing 100081, China;
2. Department of Oral Pathology, Peking University School and Hospital of Stomatology, Beijing 100081, China)

【Abstract】　Objective　To comparatively evaluate the therapeutic effect of puerarin on bone mineral density of the mandible and femur in ovariectomized rats, and to investigate the association between TNF-α, CRP and E_2. **Methods**　40 female 3-month old SD rats were divided into 4 groups randomly: sham operation group (sham), ovariectomized (OVX) group, ovariectomized group with injection of estrogen (OVX-estrogen) and ovariectomized group with injection of puerarin. After 3 months, TNF-α, CRP and E2 in the serum were tested. Meanwhile, the bone mineral density of the mandible and femur was measured. **Results**　The body weight of OVX-puerarin group was signficantly higher than that of sham group ($P < 0.01$). Compared with OVX-estrogen group, the TNF-α, CRP and E_2 serum level of OVX-puerarin group was significantly lower (respectively $P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$). As to mandible and distal femur bone mineral density, there were no significant difference among OVX-puerarin group, sham group and OVX group, but the proximal femur bone mineral density of OVX-puerarin group was significantly higher than that of OVX-estrogen group ($P < 0.05$). **Conclusion**　As an anti-inflammatory factor, puerarin can significantly reduce the level of TNF-α and CRP in the serum, but can't promote the level of E_2 in the serum in ovariectomized rats. Puerarin has some therapeutic effect on the ovariectomy-induced osteoporosis, but can significantly increase the body weight of ovariectomized rats.

[基金项目]国家自然科学基金项目(30901671)。
[作者简介]刘浩(1985 -),男,研究实习员,研究方向:颌骨骨吸收防治。
[通讯作者]李斌斌,副主任医师,研究方向:颌骨骨吸收防治。E-mail: kqlibinbin@yahoo.com.cn。

【Key words】 Puerarin; Ovariectomized rats; Bone metabolism

葛根素(puerarin)是中药葛根(radix pueraria)的主要有效成分,属于植物雌激素的一种,具有雌激素样活性,但副作用却少得多[1]。国内外研究表明葛根素在防治骨质疏松方面具有巨大的价值[2-5]。本课题组前期结果也提示,葛根素对原代大鼠成骨细胞的增殖无明显的刺激作用,但能够促进成骨细胞合成分泌碱性磷酸酶,从而促进成骨细胞的分化。同时,葛根素造成体外培养的破骨细胞空泡性变,骨吸收陷窝面积减少和培养液上清中 Ca^{2+} 含量的下降[6]。鉴于以上葛根素对成骨细胞和破骨细胞作用的体外结果,本研究拟利用骨质疏松大鼠模型,以股骨和颌骨骨密度及骨代谢指标为研究对象,观察葛根素对整体动物模型是否具有抗骨质疏松的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物及试剂

40 只 3 月龄雌性 SPF 级 SD 大鼠,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供(生产许可证号为:SCXK(京)2006-0009),体重 210 ± 10 g。饲养于北京大学口腔医学院实验动物中心(使用许可证号为:SYXK(京)2011-0012)SPF 环境。葛根素由北京四环制药厂生产。苯甲酸雌二醇(1 mg/mL)由天津金耀氨基酸有限公司出品。

1.2 动物分组及给药方法

动物分组及处理如下:假手术组(sham group):仅开腹切除卵巢周围的脂肪组织约 3g,不摘除卵巢;单纯去势组(OVX group):摘除大鼠双侧卵巢(经病理切片鉴定);去势 + 雌二醇治疗组(OVX-estrogen group):摘除大鼠双侧卵巢,术后一周后按 1 mL/kg 的剂量腹腔注射雌二醇,每日给药,连续 12 周。去势 + 葛根素治疗组(OVX-puerarin group):摘除大鼠双侧卵巢,术后一周开始腹腔注射葛根素,给药剂量为 5mg/kg,给药体积为 10mL/kg,连续 12 周;OVX 组和 sham 组腹腔注射 0.5mL 生理盐水,给药时间与治疗组相同。各种动物在同等 SPF 级环境下饲养,自由饮食、饮水。每周称重,调整给药剂量。

1.3 观察指标与方法

1.3.1 大体观察 各组动物手术后,观察动物术后状态,创口愈合程度、饮食等指标并按时称量记录动物体重。

1.3.2 血清标本收集 10 g/L 的戊巴比妥钠腹腔注射麻醉(40 mg/kg),腹腔静脉取血置于室温,待血凝后离心取上清液,-20℃保存备用。C 反应蛋白(CRP)采用免疫比浊法,HITA-CHI7060 全自动生化分析仪测定,单位为 μg/mL;肿瘤坏死因子(TNF-α)及血中雌二醇(E_2)均采用放射免疫(RIA)法测定,试剂盒由北京华英生物技术研究所提供,按试剂盒说明书操作,单位均为 pg/mL。

1.3.3 骨密度测定 取大鼠一侧下颌骨和股骨,去除软组织,10%(体积分数)中性甲醛溶液固定,备骨密度测定用。骨密度测量采用 NORLAND NL XR-46 型双能 X 线骨密度仪(诺兰德公司生产),误差≦3%。测量部位为下颌骨最后磨牙后 1 mm 处;股骨近端下 1 cm 和远端上 1 cm 处。

1.4 统计学分析

采用 SPSS11.5 统计软件分析,结果以($\bar{x} \pm s$ 表示。通过单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA)分析,组间 t 检验,$P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 大鼠体重变化

3 个月的治疗期内,4 组大鼠体重均显著增加,体重增长率:OVX-puerarin 组 > OVX 组 > OVX-estrogen 组 > sham 组。其中,第 12 周末,OVX 组体重与 sham 组相比有显著增加($P < 0.05$),尤其 OVX-puerarin 组增加更为明显($P < 0.01$)。(表 1)

2.2 大鼠血清中 TNF-α 和 CRP 水平

给药 12 周后,OVX-puerarin 组大鼠血清中 TNF-α 水平较 OVX-estrogen 组下降了 42.5%[(14.249 ± 3.830) *vs.* (8.191 ± 2.328) pg/mL, $P < 0.01$];而 OVX-estrogen 组大鼠血清中 TNF-α 水平较 sham 组($P < 0.01$)和 OVX 组有显著增加($P < 0.01$)。从 CRP 水平上看,OVX-puerarin 组大鼠血清中 CRP 水平较 sham 组和 OVX-estrogen 组分别下降了 26.4%[(298.192 ± 69.610) *vs.* (376.990 ± 66.747) pg/mL, $P < 0.05$]和 33.9%[(298.192 ± 69.610) *vs.* (399.375 ± 50.511) pg/mL, $P < 0.05$];OVX-estrogen 组大鼠血清中 CRP 水平较 OVX 组显著增加($P < 0.01$);OVX 组大鼠血清中 CRP 水平较 sham 组明显下降($P < 0.05$)。(表 2)

表 1 4 组大鼠体重变化比较

Tab. 1 Comparison of body weight among four groups

组别 Group	0 周体重 Body weight at 0 week(g)	12 周体重 Body weight at 12 weeks(g)	体重增长率 The rate of body weight(%)
假手术组 Sham group	202.6 ± 8.8	307.7 ± 22.3	51.9 ± 8.1
单纯去势组 OVX group	217.5 ± 19.7 *	354.8 ± 42.6 **	65.6 ± 32.5
去势 + 雌二醇组 OVX- Estrogen group	208.1 ± 17.6	332.6 ± 13.3	62.6 ± 14.4
去势 + 葛根素组 OVX-Puerarin group	209.1 ± 16.2	362.4 ± 51.5 **	75.2 ± 30.0

注：* $P < 0.05$，** $P < 0.01$，与假手术组比较

Note: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *vs.* sham group

表 2 4 组大鼠血清中 TNF-α 及 CRP 水平比较

Tab. 2 Comparison of TNF-α and CRP among four groups

组别 Group	肿瘤坏死因子 TNF-α(pg/mL)	C 反应蛋白 CRP(μg/mL)
假手术组 Sham group	5.408 ± 3.389	376.990 ± 66.747
单纯去势组 OVX group	6.965 ± 3.712	280.821 ± 94.737 *
去势 + 雌二醇组 OVX- Estrogen group	14.249 ± 3.830 * * MYMMYM	399.375 ± 50.511MYMMYM
去势 + 葛根素组 OVX-Puerarin group	8.191 ± 2.328##	298.192 ± 69.610 * #

注：* $P < 0.05$，* * $P < 0.01$，与假手术组比较；#：$P < 0.05$，## $P < 0.01$，与去势 + 雌二醇组比较；MYMMYM：$P < 0.01$，与单纯去势组比较

Note: * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$, *vs.* sham group; #: $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, *vs.* OVX-estrogen group; MYMMYM: $P < 0.01$, *vs.* OVX group

2.3 大鼠血清中雌激素(E_2)水平

大鼠给药 6 周时，OVX-puerarin 组大鼠血清中雌激素水平较 sham 组和 OVX-estrogen 组分别下降了 95.7%［(35.1 ± 18.2) *vs.* (68.7 ± 25.2) pg/mL，$P < 0.05$］和 142.7%［(35.1 ± 18.2) *vs.* (85.2 ± 33.3) pg/mL，$P < 0.01$］。OVX-estrogen 组大鼠血清中雌激素水平较 OVX 组明显增加($P < 0.05$)。(表 3)

大鼠给药 12 周时，OVX-puerarin 组大鼠血清中雌激素水平较 OVX-estrogen 组下降了 201.1%［(9.3 ± 3.5) *vs.* (28.0 ± 9.6) pg/mL，$P < 0.01$］；OVX-estrogen 组大鼠血清中雌激素水平较 sham 组($P < 0.01$)和 OVX 组($P < 0.01$)均显著增加；OVX 组大鼠血清中雌激素水平较 sham 组显著下降($P < 0.01$)。(表 3)

表 3 4 组大鼠血清中雌激素(E_2)水平比较

Tab. 3 Comparison of E_2 among four groups

组别 Group	治疗 0 周 Treatment for 0 weeks	治疗 6 周 Treatment for 6 weeks	治疗 12 周 Treatment for 12 weeks
假手术组 Sham group	41.8 ± 38.3	68.7 ± 25.2	17.4 ± 12.0
单纯去势组 OVX group	55.4 ± 32.6	51.5 ± 15.5	5.0 ± 3.4 * *
去势 + 雌二醇组 OVX- Estrogen group	35.3 ± 30.9	85.2 ± 33.3MYM	28.0 ± 9.6 * * MYMMYM
去势 + 葛根素组 OVX-Puerarin group	18.5 ± 13.2	35.1 ± 18.2 * ##	9.3 ± 3.5##

注：* $P < 0.05$，* * $P < 0.01$，与假手术组比较；## $P < 0.01$，与去势 + 雌二醇组比较；MYM $P < 0.05$，MYMMYM：$P < 0.01$，与单纯去势组比较

Note: * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$, *vs.* sham group; ## $P < 0.01$, *vs.* OVX-estrogen group; MYM $P < 0.05$, MYMMYM $P < 0.01$, *vs.* OVX group

表 4 4 组大鼠下颌骨和股骨近端、远端骨密度

Tab. 4 The bone mineral density (BMD) of mandible, proximal femur and distal femur among four groups

组别 Group	颌骨 Mandible	股骨近端 Proximal femur	股骨远端 Remote femur
假手术组 Sham group	0.1079 ± 0.0120	0.2032 ± 0.0344	0.1783 ± 0.0154
单纯去势组 OVX group	0.0934 ± 0.0099 * *	0.1731 ± 0.0368 *	0.1797 ± 0.0126
去势 + 雌二醇组 OVX- Estrogen group	0.1044 ± 0.0086MYM	0.1940 ± 0.0312	0.1870 ± 0.0066
去势 + 葛根素组 OVX-Puerarin group	0.0986 ± 0.0090	0.2073 ± 0.0169#	0.1857 ± 0.0103

注：* $P < 0.05$，* * $P < 0.01$，与假手术组比较；# $P < 0.05$，与去势 + 雌二醇组比较；MYM $P < 0.05$，与单纯去势组比较

Note: * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$, *vs.* sham group; # $P < 0.05$, *vs.* OVX-Estrogen group; MYM $P < 0.05$, *vs.* OVX group

2.4 大鼠下颌骨和股骨近端、远端骨密度比较

OVX-puerarin 组下颌骨和股骨远端骨密度与 OVX 组、sham 组之间无显著性差异，但其股骨近端骨密度较 OVX-estrogen 组增加 1.07 倍[（0.2073 ± 0.0169）*vs.*（0.1940 ± 0.0312）pg/mL，$P < 0.05$]；OVX-Eestrogen 组下颌骨骨密度较 OVX 组明显增加（$P < 0.05$），但其股骨近端和远端骨密度与 OVX 组、sham 组无显著差异；OVX 组下颌骨（$P < 0.01$）和股骨近端骨密度（$P < 0.05$）分别较 sham 组明显下降，但两者之间股骨远端骨密度无显著差异。（表 4）

3 讨论

3.1 葛根素对去卵巢大鼠骨密度的改善作用

国内外多项研究提示葛根素在实验动物体内对骨强度有改善作用。黄彤等[7]报道葛根素对去卵巢大鼠的骨密度和骨强度有较好的改善作用；王新祥等[8]报道葛根素可以完全抑制雄激素缺乏导致的骨密度和骨量下降；Wong R 等[9]用动物实验证实葛根素可促进骨缺损处的新骨形成。这表明葛根素不仅对雌性或雄性动物的骨密度均有改善作用，而且其还可以促进动物骨损伤的修复。本研究也发现葛根素可显著提高去卵巢大鼠股骨近端的骨密度，与以上研究结果一致。

不仅如此，本研究选取最接近牙槽骨且容易测量的磨牙后 1 mm 的位点进行检测，结果发现虽然 OVX-puerarin 组大鼠下颌骨骨密度略高于 OVX 组，但与 OVX 组、sham 组之间的差异并无统计学意义。这可能是由于颌骨本身的骨密度比较高，导致各组之间的差异并不明显。虽然国内金为旭等[10]报道局部应用葛根素可抑制剩余牙槽嵴吸收并保存牙槽嵴高度，但由于其与本文的研究对象不同（前者的研究对象是剩余牙槽嵴吸收，而本文的研究对象是雌激素缺乏性牙槽骨骨质疏松），故结论有所不同。另外，前者是通过 X 线片用图像处理程序进行骨密度的间接分析，而本文采用双能 X 线直接测定骨密度。

3.2 葛根素的雌激素样活性

研究表明，葛根素有一定的雌激素样活性，但这种作用并不依赖于血清雌二醇水平的提高。Malaivijitnond 等[11]通过给去卵巢大鼠连续 14 d 注射 0.7mg/kg·d 葛根素发现葛根素不增加子宫重量，但会增加子宫腺体的数量。白东义等[12]也报道葛根素对摘除卵巢小鼠血清雌二醇和催乳素含量无明显影响，但能影响摘除卵巢小鼠血清中的孕酮含量，使之基本恢复到摘除卵巢前的水平。本研究通过多时间点动态观测到葛根素并不增加去卵巢大鼠的雌激素水平，与之前学者的结论一致。

3.3 葛根素的抗炎效应

近年来随着分子免疫学的发展，炎性细胞因子在原发性骨质疏松发病机制中的作用逐渐被发现。与骨代谢有关的细胞因子，如 IL-1、IL-6、IL-11、TNF、转化生长因子（transforming growth factor，TGF）和细胞集落刺激因子等，通过自分泌和旁分泌作用，影响成骨细胞和破骨细胞的分化、增殖和成熟，从而调节了骨质重建[13]。其中，TNF-α 属于刺激骨吸收的因子之一。CRP 也属于炎性因子之一，虽然其与骨质疏松关系的机制尚不清楚，但 Sinigaglia 等[14]认为 CRP 持续较高是早期类风湿关节炎患者骨密度的最好预测指标之一，抑制疾病的活动度可稳定骨代谢。Yang 等[15]的研究数据认为葛根素作为一种抗炎因子，通过抑制 NF-kB 信号通路来减少 CRP 蛋白的表达。本研究也发现去卵巢大鼠在应用葛根素后，血清内 CRP 含量降低。不仅如此，在 OVX-puerarin 组的大鼠血清中，炎症因子 TNF-α 也出现了显著性降低，TNF-α 表达水平的降低是否与 CRP 蛋白表达水平降低有关，其机制仍然值得我们继续深入研究。

3.4 葛根素能显著增加机体体重

本研究发现葛根素能够增加去卵巢大鼠的体重，但是机制并不清楚。Lee 等[16]认为这种现象是由于葛根素上调 PPARγ 和脂联素的表达引起的。此现象的机制值得我们进一步研究。

参考文献：

[1] 郑高利，张信岳，郑经伟，等. 葛根素和葛根总异黄酮的雌激素样活性[J]. 中药材，2002，25(8)：566－568.

[2] 黄延玲，石凤英. 葛根素对去卵巢大鼠骨密度和骨代谢生化指标的影响[J]. 中国临床康复，2004，8(12)：2307－2309.

[3] 李俊华，潘子毅. 葛根素对绝经后骨质疏松症患者血清 IL-4、IL-6、IL-10 和雌激素水平的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志，2007，15(5)：28－29.

[4] Zhang Yun，Zeng Xiang-hui，Zhang Le，et al. Stimulatory effect of Puerarin on bone formation through activation of PI3K/Akt pathway in rat calvaria osteoblasts[J]. Planta Med，2007，73(4)：341－347.

[5] Jonathan G Mun，Michael D Grannan，Pamela J Lachcik，et al. Tracking deposition of a ^{14}C-radiolabeled kudzu hairy root-derived isoflavone-rich fraction into bone[J]. Exp Biol Med，

2010,235(10):1224 - 1235.
[6] 李斌斌,于世凤. 葛根素调控骨代谢的体外实验研究[J]. 北京大学学报(医学版),2003,35(1):74 - 77.
[7] 黄彤,金邦荃,孙桂菊,等. 葛根素对去卵巢大鼠骨密度和骨强度的改善[J]. 现代预防医学,2010,37(20):3894 - 3896.
[8] 王新祥,张允岭,吴坚,等. 葛根对睾丸切除骨质疏松模型大鼠骨密度和骨构造的作用[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2010,14(7):1262 - 1266.
[9] Wong R, Rabie B. Effect of puerarin on bone formation[J]. Osteoarthritis Cartilage,2007,15(8):894 - 899.
[10] 金为旭,苗波. 局部注射葛根素对鼠拔牙后剩余牙槽嵴吸收影响的实验研究[J]. 北京口腔医学,2010,18(2):77 - 79.
[11] Malaivijitnond S, Tungmunnithum D, Gittarasanee S, et al. Puerarin exhibits weak estrogenic activity in female rats[J]. Fitoterapia,2010,81(6):569 - 576.
[12] 白东义,韩慧,佟春玲,等. 葛根素对摘除卵巢大鼠血清激素含量的影响[J]. 中国兽医杂志,2010,46(3):90 - 92.
[13] Ozmen B, Kirmaz C, Aydin K, et al. Influence of the selective oestrogen receptor modulator (raloxifene hydrochloride) on IL - 6, TNF - alpha, TGF - beta1 and bone turnover markers in the treatment of postmenopausal osteoporosis[J]. Eur Cytokine Netw, 2007,18(3) : 148 - 153.
[14] Sivas F, Barca N, Onder M, et al. The relation between joint erosion and generalized osteoporosis and disease activity in patients with rheumatoid arthritis[J]. Rheumatol Int, 2006, 26 (10):896 - 899.
[15] Yang Xiangjun, Hu Wenzhi, Zhang Qin, et al. Puerarin inhibits C - reactive protein expression via suppression of nuclear factor kappaB activation in lipopolysaccharide - induced peripheral blood mononuclear cells of patients with stable angina pectoris [J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol,2010,107(2):637 - 642.
[16] Lee OH, Seo DH, Park CS, et al. Puerarin enhances adipocyte differentiation, adiponectin expression, and antioxidant response in 3T3 - L1 cells[J]. Biofactors,2010,36(6):459 - 467.

〔修回日期〕2012-03-05

(上接第 15 页)

3 讨论

通过组织切片,在显微镜下观察皮肤组织的病理变化,已被广泛用于皮肤毒理学研究。皮肤组织病理学检查相对客观、准确,可发现肉眼不能观察到的变化和鉴别可能存在的假阴性,提供皮肤变化的真实材料,提高皮肤刺激反应评估的分辨率和准确度。本实验中,通过在光学显微镜下的大体观察,判定 SD 大鼠和巴马小型猪两种动物的皮肤组织学结构存在着明显差异。与 SD 大鼠相比,巴马小型猪的皮肤与人类皮肤更为接近。这对毒理病理工作者今后皮肤毒性病理工作的开展具有一定的实用价值。

另外,目前啮齿类动物大鼠被广泛应用于建立人类疾病的动物模型;但是啮齿类与人类之间存在极大的种属差异,巴马小型猪体型小,操作容易,遗传稳定,个体差异小,虽是一种理想的实验动物,但国内小型猪的实验动物化工作还刚刚起步,还有大量的基础研究工作要做,巴马香猪作为中国独特的实验用小型猪种之一,缺乏系统而完整的基础资料,制约了巴马香猪在医学生物学中的应用。

参考文献:

[1] 肖斌. 组织工程皮肤研究进展[J]. 中国美容医学,2001 ,10(4) :356 - 3581.
[2] Gray GM, Yardely HJ. Lipid composition of cell isolated from pig, human and rat epidermis[J]. J Lipid Res, 1975, 16: 434 - 440.
[3] Vardaxis NJ. Brans TA, Boon ME, et al. Confocal laser scaning microscopy of porcine skin: implications for human wound healing studies[J]. J Anat,1997,190:601 - 611.
[4] Morris GM, Hopewell JW. Epidermal cell kinetics of the pig: a review[J]. Cell Tissue Kinetics,1990,23:271 - 282.
[5] Marcarian HQ, Calhoun ML. Mocroscopic anatomy of the integument of adult swine[J]. Am J Vet Res, 1966, 27: 765 - 772.
[6] Forbes PD. Vascular supply of the skin and hair in swine. In: Montagna W, Dobson RL. editors. Advances in the biology of skin: Hair growth. Vol. 9. Oxford: Pergamon, 1969:419 - 432.
[7] Nicolaides N, Fu HC, Rice GR. The skin surface lipids of man compared with those of eighteen species of animals[J]. J Invest Derm,1968,51:83 - 89.
[8] Gray GM, White RJ, Williams RH, et al. Lipid composition of the superficial stratum comeum of pig epidermis[J]. Br J Dermatol,1982,106:59 - 63.
[9] Wollina U, Berger U, Mahrle G. Immunohistochemistry of porcine skin[J]. Acta Histochem,1991,90:87 - 91.
[10] 陈俊颖,胡俊西,魏泓. 人与巴马香猪皮肤的比较生物学研究[J]. 中国比较医学杂志,2006(5): 288 - 290.

〔修回日期〕2012-03-28