

基础研究

不同年龄大鼠终板软骨细胞抗氧化能力研究

黄晓东, 叶晓健, 王 洋, 王伟恒, 徐立璋, 马 俊, 邓国英

(第二军医大学附属长征医院脊柱外科 200433 上海市)

【摘要】目的:通过研究不同年龄大鼠的终板软骨细胞氧化应激的差异,探讨衰老对终板软骨细胞抗氧化能力的影响。**方法:**原代培养获取 SD 大鼠 2 个月、18 个月来源的终板软骨细胞鉴定后,使用第三代细胞进行实验。实验分为两组,A 组为 2 个月大鼠来源的终板软骨细胞,B 组为 18 个月大鼠来源的终板软骨细胞。待 A、B 两组细胞贴壁后,通过 β -半乳糖脱氢酶染色和 RT-PCR 对端粒酶长度进行检测,比较两组细胞衰老的差异;通过总抗氧化能力试剂盒检测两组细胞总抗氧化能力的不同。以浓度为 200 μ mol/L 过氧化氢对细胞进行 2.5h 的处理,RT-PCR 法检测处理前后两组细胞 II 型胶原、蛋白聚糖、caspase-3 及 B 淋巴细胞瘤-2(B-cell lymphoma-2, bcl-2)的 mRNA 表达情况,使用流式细胞仪检测两组细胞的凋亡情况。对 II 型胶原、蛋白聚糖、caspase-3 及 bcl-2 的相对表达量进行组间 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。**结果:**未使用过氧化氢处理时,A、B 两组终板软骨细胞的在 β -半乳糖脱氢酶染色、II 型胶原、蛋白聚糖表达及凋亡率无明显差异 ($P > 0.05$),而 B 组在端粒酶的相对长度 ($T/S = 10 \pm 2$)及总抗氧化能力 (0.72 ± 0.18)较 A 组 ($T/S = 135 \pm 5, 1$)显著降低 ($P < 0.05$)。在相同条件的过氧化氢刺激后,B 组终板软骨细胞的 II 型胶原 (0.60 ± 0.16)、蛋白聚糖 (0.75 ± 0.22)表达明显低于 A 组细胞 ($P < 0.05$),而凋亡率显著高于 A 组细胞 ($P < 0.05$)。**结论:**不同年龄大鼠终板软骨细胞衰老及抗氧化能力存在差异,衰老越明显的终板软骨细胞,总抗氧化能力越低,抵抗过氧化损伤的能力越差。

【关键词】终板软骨细胞;总抗氧化能力;衰老;凋亡

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2016.03.11

中图分类号:Q813.1 文献标识码:A 文章编号:1004-406X(2016)-03-0264-06

Study on antioxidant capacity of endplate chondrocytes from different ages in rats/HUANG Xiaodong, YE Xiaojian, WANG Yang, et al//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2016, 26(3): 264-269

【Abstract】Objectives: To explore the antioxidant capacity of aging on the endplate chondrocytes' oxidative stress action in rats. **Methods:** Two kinds of endplate cartilage cells in primary generation were cultured. Cells were tested and passaged to the third generation for experiments. The cells were divided into two groups: group A was endplate chondrocytes from two-month rats; group B was endplate chondrocytes from 18-month rats. β -galactose dehydrogenase staining and PCR test on the relative length of telomere were used to compare their age difference. The total antioxidant capacity of the cell was determined by the total antioxidant capacity kits. Cells were intervened by a concentration of 200 μ mol/L of hydrogen peroxide for 2.5 hours. Before and after intervention by the same dose of hydrogen peroxide, RT-PCR was used to detect the expression of type II collagen, proteoglycans, caspase-3 and bcl-2. Apoptosis of two different cells were compared by flow cytometry. The relative expressions of type II collagen, proteoglycans, caspase-3 and bcl-2 were statistically analyzed by t test between two groups, $P < 0.05$ meant statically significant. **Results:** Before intervention by the same dose of hydrogen peroxide, β -galactose dehydrogenase staining, expressions of type II collagen, proteoglycans and apoptosis rate had no significant differences between 2 groups of endplate cartilage cells. The relative length of telomere was found significantly shorten in the aging rat origin and total antioxidant capacity was found significantly lower in group B. After the same dose of hydrogen peroxide stimulation, the expressions of type II collagen and proteoglycans in group B were significantly lower than thoses in group A and the level of apoptosis rate was significantly higher than that in group A. **Conclusions:**

第一作者简介:男(1991-),医学硕士,研究方向:脊柱外科

电话:(021)81886807 E-mail:498419163@qq.com

通讯作者:叶晓健 E-mail:yexj2012@126.com

Endplate cartilage cell under different ages has different antioxidant capacities. The older of the endplate cartilage cells, the lower ability to resist peroxidation.

【Key words】 Endplate chondrocytes; Antioxidant capacity; Ageing; Apoptosis

【Author's address】 Department of Spine Surgery, the Second Affiliated Hospital of Second Military Medical University, Shanghai, 200433, China

脊柱退变性疾病已成为世界性的难题^[1],是成人腰痛^[2]及颈肩痛^[3]的主要原因之一,给个人及社会带来严重的经济负担^[1,4]。椎间盘的结构及营养供应具有特殊性^[5],是人体最大的无血管组织,血运少承压重,较易发生退变。终板软骨的退变是椎间盘退变的重要因素^[6]。目前对于终板软骨在椎间盘退变中的作用引起广泛关注^[7],但其机制还有待进一步研究。在不同年龄阶段,终板软骨的形态及功能各有差异^[8],已有研究表明氧化应激在终板软骨退变损伤中起到重要作用^[9],但对不同年龄阶段终板软骨细胞抗氧化能力的变化未见报道。因此,本实验拟研究不同年龄阶段的终板软骨细胞在衰老、总抗氧化能力及抵抗过氧化损伤等方面的差异,从氧化应激角度阐释终板软骨细胞的衰老及抗炎化能力变化对椎间盘退变的影响。

1 材料与实验方法

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠:2 月龄,18 月龄,由第二军医大学动物中心提供,动物在 SPF 级饲养室喂养,其温度为 $22\pm 1^{\circ}\text{C}$,光照 12h/d,实验动物经过第二军医大学伦理委员会批准。

1.2 终板软骨细胞的分离培养

参照已有的原代终板软骨细胞提取方法^[10]:取目标年龄阶段雄性 SD 大鼠各 3 只,处死后无菌条件下取出胸腰段脊柱,切除其附着韧带及结缔组织。显微镜下分离终板软骨,剪碎后用 0.3% II 型胶原酶 37°C 消化 45min,然后加入 5 倍于胶原酶的血清中和后 1000rpm 离心 5min,重悬后经 200 目滤网过滤,接种于 T75 培养瓶内。每隔 3d 换一次培养液,每隔 7d 进行传代。本实验中所使用软骨细胞均为第三代细胞,使用前经蛋白聚糖及 II 型胶原免疫荧光染色进行鉴定。

1.3 不同年龄阶段终板软骨细胞的鉴定

细胞分为 A、B 两组,A 组为 2 月龄大鼠终板软骨细胞,B 组为 18 月龄大鼠终板软骨细胞,所

有细胞培养至第 3 代接种于 6 孔板内,调整细胞密度为每孔 1×10^5 个,待贴壁完全后,进行 β -半乳糖苷酶染色,并收集细胞提取总 RNA,按照 PCR 的操作步骤检测检测细胞的端粒酶长度。端粒酶相对长度检测方法参照已有文献^[11], β -半乳糖苷酶(碧云天)染色检测细胞衰老情况,严格按照产品说明书进行操作。

1.4 不同年龄阶段终板软骨细胞所分泌的蛋白聚糖及 II 型胶原的比较

分别收集第三代 A 组和 B 组细胞,提取总 RNA,按照已有文献方法 PCR 检测细胞中蛋白聚糖及 II 型胶原的含量。将第三代 A 组和 B 组细胞以 1×10^5 个每孔接种于 6 孔板内,待贴壁后无血清条件下以浓度为 $200\mu\text{mol/L}$ 过氧化氢处理 2.5h,收集刺激后的细胞按照上述方法 PCR 检测刺激后蛋白聚糖及 II 型胶原的含量的变化。II 型胶原(201bp):上游序列: TGTGACATTGCAC-CCATGG;下游引物序列为: CAGCCATTTCAGT-GCAGATCC;蛋白聚糖(114bp)上游序列: CT-GTCTATCTGCACGCCAAC;下游引物序列为: GATGTCCTCTTCACCACCCA。

1.5 不同年龄阶段终板软骨细胞总抗氧化能力及凋亡情况

取第三代终板软骨细胞,以 0.25% 胰酶消化,中和,离心重悬后,调整细胞密度 1×10^5 个每孔接种于 6 孔板内,待其贴壁后,以总抗氧化能力试剂盒检测试剂盒(碧云天)检测不同年龄来源的终板软骨细胞抗氧化能力的差异。

按照上述方法接种细胞于 6 孔板中,贴壁后无血清条件下以浓度为 $200\mu\text{mol/L}$ 过氧化氢进行 2.5h 处理,收集细胞,严格按流式凋亡检测试剂盒说明书通过流式细胞仪检测两种细胞凋亡情况。另外收集处理前后的细胞,提取总 RNA,按照 PCR 检测方法检测凋亡基因 caspase-3 和 Bcl-2 在处理前后的表达情况,引物设计及实验方法同前。

1.6 统计方法

用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析处理,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 终板软骨细胞的分离培养与鉴定

分离培养得到的第三代终板软骨细胞,经蛋白聚糖和 II 型胶原免疫荧光染色鉴定,可见绝大部分细胞染色阳性(图 1),证明分离所得到的细胞经三代培养后绝大多数为表达蛋白聚糖和 II 型胶原的终板软骨细胞。

2.2 不同年龄阶段终板软骨细胞鉴定

通过 β -半乳糖苷酶染色,衰老细胞可被染成绿色。染色结果表明:不同年龄大鼠来源的终板软骨细胞均有不同程度的衰老,但 B 组细胞排列较乱,细胞尾端分叉较多,被染成绿色的比例较高,衰老较为严重(图 2)。细胞端粒酶相对长度的检测也表明 B 组细胞端粒酶相对长度 (10 ± 2) 明显短于 A 组 135 ± 5 ,差异具有统计学意义 ($P = 0.0356$)。

2.3 不同年龄阶段终板软骨细胞所分泌的蛋白聚糖及 II 型胶原的比较

RT-PCR 检测显示:两种细胞所分泌的蛋白

聚糖及 II 型胶原在刺激前后分泌量有所不同。刺激前两组间蛋白聚糖及 II 型胶原表达无明显差异 ($P = 0.0925, 0.0915$),刺激后 B 组所分泌的蛋白聚糖及 II 型胶原明显减少,两组间差异显著 ($P = 0.0356, 0.0248$, 表 2)。

2.4 不同年龄阶段终板软骨细胞总抗氧化能力的比较

试剂盒检测显示两种细胞总抗氧化能力差异明显 ($P = 0.0328$),即 B 组细胞的总抗氧化能力 (0.72 ± 0.18) 较 A 组细胞(1)低。

2.5 不同年龄阶段终板软骨细胞凋亡的比较

经相同剂量过氧化氢刺激后, B 组细胞的 caspase -3 及 bcl -2 表达量较高 ($P = 0.0285, 0.0428$),凋亡率较高 ($P < 0.05$) (表 3、4)。

3 讨论

终板软骨是一种没有血管分布^[8]的,其主要成分包括蛋白多糖、胶原、和水等^[12]的结构。椎间盘的营养物质代谢是通过渗透作用实现的^[13],随着年龄的增长,椎间盘的结构及功能发生改变^[14]。水分及蛋白多糖减少,其根本原因是细胞外基质合成酶减少,降解因素如凝血酶-4(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin mo-

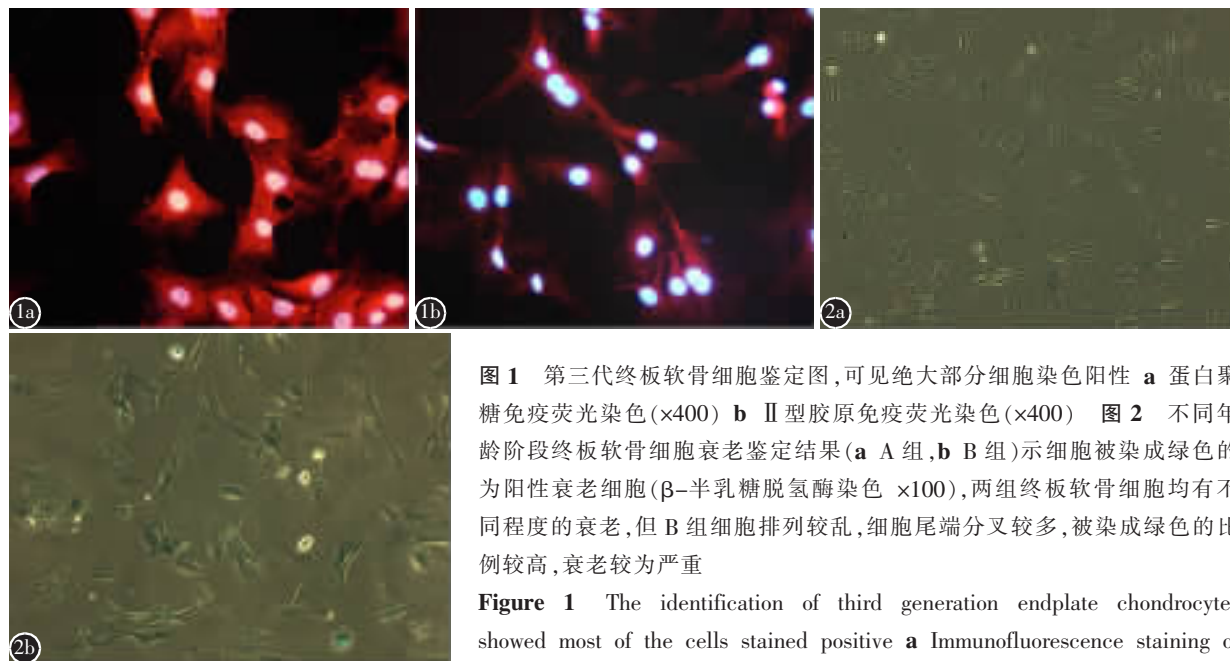


Figure 1 The identification of third generation endplate chondrocytes showed most of the cells stained positive **a** Immunofluorescence staining of proteoglycans ($\times 400$) **b** Immunofluorescence staining of type II collagen

Figure 2 The identification of different endplate chondrocytes' aging(**a** group A, **b** group B), the green part was positive of aging(β -galactose dehydrogenase staining $\times 100$), the cartilage cells had different degrees of aging in two groups, but the cells in group B arranged in disorder, had more forked tail, a higher proportion of dyed green, aging is more serious

表 1 引物序列

名称 Name	引物序列 Primer sequence
GAPDH	F:5'-GAAGGCTGGGCTCATTG-3' R:5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTCPF-3'
caspase-3	F:5'-CATGCACATCCTCACTCGTG-3' R:5'-CCCACTCCCACTCAATTCCTT-3'
Bcl-2	F:5'-CTTCAGGGATGGGCTGAACT-3' R:5'-CAGCCTCCGTTATCTGGAT-3'
端粒酶引物 Telomerase primers	F:5'-GCTTTTTCAGGGTGAGGCTGAGGCTGAGGCTGAGGCT-3' R:5'-TCCCGACTATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTA-3'

表 2 过氧化氢处理前后两组细胞蛋白聚糖及 II 型胶原表达情况 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

	蛋白聚糖的表达 Expression of proteoglycans		II 型胶原的表达 Expression of type II collagen	
	刺激前 Before stimulation	刺激后 After stimulation	刺激前 Before stimulation	刺激后 After stimulation
A组 Group A	1	1	1	1
B组 Group B	0.95±0.25	0.75±0.22	0.97±0.22	0.60±0.16

表 3 过氧化氢处理前后两组细胞 caspase-3 及 bcl-2 相对表达情况 (n=5, $\bar{x} \pm s$)

	caspase-3 的表达 Expression of caspase-3		bcl-2 的表达 Expression of bcl-2	
	刺激前 Before stimulation	刺激后 After stimulation	刺激前 Before stimulation	刺激后 After stimulation
A组 Group A	1	1	1	1
B组 Group B	1.42±0.24	5.53±1.97	1.11±0.39	4.87±1.37

表 4 过氧化氢处理后各组细胞凋亡率情况

	早期凋亡 Early apoptosis	晚期凋亡 Late apoptosis	总凋亡 Apoptosis in all
A组 Group A	7.24±1.34	8.59±1.87 ^①	15.83±3.21
B组 Group B	11.36±2.62	13.58±1.22 ^①	24.94±3.84

注:①与早期凋亡比较, $P < 0.05$ Note: ①Compare with early apoptosis, $P < 0.05$

tifs, ADAMTS)、ADAMTS-5、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 分泌增多^[15]。正是由于随着年龄的变化, 椎间盘合成与分解代谢

不同, 所具有的生理功能也有所不同, 这就是这篇文章研究的理论依据。

在很多种疾病如心血管类, 牙科类等疾病的发生发展中抗氧化能力起到重要的作用^[16]。虽然活性氧簇(ROS)在信号转导和抗菌方面起着重要的作用^[17]。但它对很多细胞也有杀伤作用^[18]。生理条件下, 在抗氧化系统的作用下, ROS 维持动态平衡, 但在病理条件下, 会使其失去平衡。随着年龄的增长, 终板软骨抗氧化能力也随之变化。

本实验结果显示两种不同年龄来源终板软骨组织所提取的细胞有所不同。首先在细胞状态上来讲, 2 月龄的细胞细胞生长速度更快, 传代时间更短, 光镜下, 细胞形态佳, 分支少, 活性强。且经 β -半乳糖脱氢酶染色, 显示大龄鼠来源的终板软骨细胞阳性率更高, 衰老更明显。且经 PCR 检测端粒酶相对长度, 大龄鼠来源的细胞端粒酶长度相对更短, 同生理状况的衰老相一致, 可以一定程度上反应体内终板软骨的情况。然而, PCR 检测未刺激前不同年龄的终板软骨细胞的蛋白聚糖和二型胶原的 mRNA 含量没有明显的差异, 其可能的原因是, 体外的特殊环境将终板软骨细胞功能分泌的蛋白的表达差异弱化, 其表达多有所弱化。因此, 采用不同年龄终板组织来源的终板软骨细胞可以较准确地对来自不同年龄阶段的终板终板组织的差异性进行评估^[19]。

而对不同年龄阶段所取得的终板软骨细胞经相同浓度的过氧化氢处理后, 通过 PCR 检测得到 18 月来源的终板软骨细胞的二型胶原、蛋白聚糖含量明显减少, 与 2 个月来源的终板软骨细胞具有统计学意义; 其可能原因是氧化应激通过盘状结构域受体(discoidin domain receptors, DDRs)通路氧化应激产生单链 DNA 损伤信号激活共济失调毛细血管扩张突变 (ataxia telangiectasia mutated, ATM) 激酶活性促进受损 DNA 附近组蛋白磷酸化, 上调 p53/p21 的活性, 引发细胞衰老^[20], 氧化应激可以上调 caspase-3、caspase-7, 下调 bcl-2^[21], 还可以破坏 DNA 双螺旋结构^[22], 导致软骨退变, 从而细胞分泌功能降低。18 月来源的终板软骨细胞的 bcl-2、caspase-3 含量明显增加, 与 2 个月来源的终板软骨细胞具有统计学意义。其可能原因氧化应激通过使终板软骨细胞细胞膜发生脂质过氧化, 引起细胞膜通透性增加, 细胞水肿, 从而造成细胞凋亡。通过检测细胞刺激前后细

胞功能、细胞凋亡的差异,进而反应不同年龄的来源的细胞抗氧化能力的不同。

衰老指标的评价中,体外培养不同年龄来源的终板软骨细胞 β -半乳糖脱氢酶染色上有所差异,但量化较难,但 PCR 端粒酶相对长度检测可见显著。两种检测方法都说明了不同年龄来源的细胞衰老的不同。 β -半乳糖脱氢酶染色,原理在于损伤 DNA 的测定,而端粒酶相对长度,评价的是染色体端粒酶长度。在客观上,DNA 损伤受到多种因素影响,而端粒酶相对长度较为稳定。原代所提取细胞,均为相对活性较高,分裂能力较强。体外培养,所使用条件相对优越,因此在以 DNA 损伤为指标的 β -半乳糖脱氢酶染色中,差异可能并不明显,染色的差异变现说明问题能力较弱。因此,从年龄越大的个体中取得的原代细胞,不一定必然伴随 DNA 损伤的显著增加,这可能是由于 P38 等 DNA 修复^[23]及抗凋亡基因上调^[24]等保护因素有关。年老细胞对氧化应激抵抗能力降低的原因可能是由于相关基因 GPR48(G 蛋白偶联受体 48)表达降低^[25],保护性蛋白(泛素化蛋白)产生减少^[26],造成的氧化应激及抗氧化缓冲体系功能降低,在总抗氧化能力指标上,具有明显差异。同时凋亡同退变关系密切。脊椎退行性病变可引起软骨下骨髓血管的分布减少,管腔变细,导致椎间盘内营养的减少及代谢物的淤积,使椎间盘内的 PH 值、氧分压、渗透压等微环境异常变化,导致终板软骨细胞的凋亡^[27]。椎体终板软骨的凋亡可引起椎间盘供养障碍而诱发和加速椎间盘退变^[28]。因此,普遍存在的氧化应激刺激,对衰老细胞带来的高凋亡现象,在退变性疾病中可能扮演着重要作用

本次实验比较了来自不同年龄阶段大鼠来源的终板软骨细胞抗氧化能力的差异,证明了年老大鼠所获得的细胞中端粒酶相对长度较短,在体外相同培养条件下,对过氧化氢损伤的抵抗能力较低,刺激后凋亡情况更严重。细胞实验因其可操控性强,可有效的控制混杂因素,能够明确各因素间的关系。但因不能完全模拟体内微环境,故最终需要回归大体进行评价,需进一步研究予以明确。

总之,基于以上细胞实验,可以明确的是:随着年龄的增加,细胞对于氧化应激损伤的抵抗能力降低,细胞受到氧化应激刺激后更易发生凋亡。这一现象,或对解释衰老在相关退变性疾病中的

作用具有一定意义。

4 参考文献

1. Goetzel RZ, Hawkins K, Ozminkowski RJ, et al. The health and productivity cost burden of the "top 10" physical and mental health conditions affecting six large U.S. employers in 1999[J]. J Occup Environ Med, 2003, 45(1): 5-14.
2. Walker BF. The prevalence of low back pain: a systematic review of the literature from 1966 to 1998[J]. J Spinal Disord, 2000, 13(3): 205-217.
3. Leijon O, Wahlstrom J, and Mulder M. Prevalence of self-reported neck-shoulder-arm pain and concurrent low back pain or psychological distress: time-trends in a general population, 1990-2006[J]. Spine, 2009, 34(17): 1863-1868.
4. Katz JN. Lumbar disc disorders and low-back pain: socioeconomic factors and consequences [J]. J Bone Joint Surg Am, 2006, 88(Suppl 2): 21-24.
5. Urban JP, Smith S, and Fairbank JC. Nutrition of the intervertebral disc[J]. Spine, 2004, 29(23): 2700-2709.
6. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing[J]. Nature, 2000, 408(6809): 239-247.
7. Ariga K, Miyamoto S, Nakase T, et al. The relationship between apoptosis of endplate chondrocytes and aging and degeneration of the intervertebral disc[J]. Spine, 2001, 26(22): 2414-2420.
8. Nachemson A, Lewin T, Maroudas A, et al. In vitro diffusion of dye through the end-plates and the annulus fibrosus of human lumbar inter-vertebral discs [J]. Acta Orthop Scand, 1970, 41(6): 589-607.
9. Lee SW, Song YS, Shin SH, et al. Cilostazol protects rat chondrocytes against nitric oxide-induced apoptosis in vitro and prevents cartilage destruction in a rat model of osteoarthritis[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(3): 790-800.
10. Yonenaga K, Nishizawa S, Fujihara Y, et al. The optimal conditions of chondrocyte isolation and its seeding in the preparation for cartilage tissue engineering [J]. Tissue Eng Part C Methods, 2010, 16(6): 1461-1469.
11. Samsonraj RM, Raghunath M, Hui JH, et al. Telomere length analysis of human mesenchymal stem cells by quantitative PCR[J]. Gene, 2013, 519(2): 348-355.
12. Komosinska-Vashev K, Olczyk P, Winsz-Szczotka K, et al. Plasma biomarkers of oxidative and AGE-mediated damage of proteins and glycosaminoglycans during healthy ageing: a possible association with ECM metabolism [J]. Mech Ageing Dev, 2012, 133(8): 538-548.
13. Roberts S, Urban JP, Evans H, et al. Transport properties of the human cartilage endplate in relation to its composition and calcification[J]. Spine, 1996, 21(4): 415-420.
14. Bernick S and Cailliet R. Vertebral end-plate changes with aging of human vertebrae[J]. Spine, 1982, 7(2): 97-102.
15. Bachmeier BE, Nerlich A, Mittermaier N, et al. Matrix

- metalloproteinase expression levels suggest distinct enzyme roles during lumbar disc herniation and degeneration[J]. Eur Spine J, 2009, 18(11): 1573-1586.
16. Fibach E, Ginsburg I. The antioxidant effect of fermented papaya preparation in the oral cavity [J]. Phytother Res, 2015. doi: 10.1002/ptr.5381. [Epub ahead of print].
17. Holmstrom KM, Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(6): 411-421.
18. Avery SV. Molecular targets of oxidative stress[J]. Biochem J, 2011, 434(2): 201-210.
19. Jorgensen PB, Fedder J, Koelvraa S, et al. Age-dependence of relative telomere length profiles during spermatogenesis in man[J]. Maturitas, 2013, 75(4): 380-385.
20. Rai P, Onder TT, Young JJ, et al. Continuous elimination of oxidized nucleotides is necessary to prevent rapid onset of cellular senescence[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(1): 169-174.
21. Maneiro E, Lopez-Armada MJ, de Andres MC, et al. Effect of nitric oxide on mitochondrial respiratory activity of human articular chondrocytes[J]. Ann Rheum Dis, 2005, 64(3): 388-395.
22. Orihuela Pérez I. Response by the author on "pre-surgical nursing visit: effectiveness of pre-operative education in reducing anxiety in surgical patients"[J]. Enferm Clin, 2012, 22(1): 60-61.
23. Chatterjee N, Eom HJ, Choi J. Effects of silver nanoparticles on oxidative DNA damage-repair as a function of p38 MAPK status: a comparative approach using human Jurkat T cells and the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Environ Mol Mutagen, 2014, 55(2): 122-133.
24. Arora S, Tyagi N, Bhardwaj A, et al. Silver nanoparticles protect human keratinocytes against UVB radiation-induced DNA damage and apoptosis: potential for prevention of skin carcinogenesis[J]. Nanomedicine, 2015, 11(5): 1265-1275.
25. Zhu J, Hou Q, Dong XD, et al. Targeted deletion of the murine *Lgr4* gene decreases lens epithelial cell resistance to oxidative stress and induces age-related cataract formation[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119599.
26. Perez VI, Buffenstein R, Masamsetti V, et al. Protein stability and resistance to oxidative stress are determinants of longevity in the longest-living rodent, the naked mole-rat [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(9): 3059-3064.
27. Jackson AR, Huang CY, Gu WY. Effect of endplate calcification and mechanical deformation on the distribution of glucose in intervertebral disc: a 3D finite element study [J]. Comput Methods Biomech Biomed Engin, 2011, 14(2): 195-204.
28. Mousa SA, Shaqura M, Brendl U, et al. Involvement of the peripheral sensory and sympathetic nervous system in the vascular endothelial expression of ICAM-1 and the recruitment of opioid-containing immune cells to inhibit inflammatory pain [J]. Brain Behav Immun, 2010, 24(8): 1310-1323.
- (收稿日期: 2015-10-12 修回日期: 2016-03-03)
(英文编审 蒋欣/贾丹彤)
(本文编辑 彭向峰)

消息

欢迎订阅 2016 年《中国脊柱脊髓杂志》

《中国脊柱脊髓杂志》是由国家卫生和计划生育委员会主管,中国康复医学会与中日友好医院主办,目前国内唯一以脊柱脊髓为内容的国家级医学核心期刊。及时反映国内外脊柱脊髓领域的科研动态、发展方向、技术水平,为临床医疗、康复及基础研究工作者提供学术交流场所。读者对象为从事脊柱外科、骨科、神经科、康复科、肿瘤科、泌尿科、放射科、基础研究及生物医学工程等及相关学科的专业人员。

本刊为中国科技信息中心“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”,中科院中国科学计量评价研究中心“中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊”,“中国精品科技期刊”,入选北京大学“中文核心期刊要目总览”,已分别入编 Chinainfo(中国信息)网络资源系统(万方数据)及以中国学术期刊光盘版为基础的中国期刊网(中国知网),影响因子名列前茅。

2016 年本刊仍为月刊,大 16 开,正文 96 页,每月 25 日出版。全册铜版纸彩色印刷。每册定价 20 元,全年 240 元。全国各地邮局均可订阅,邮发代号 82-457。国外读者订阅请与中国国际图书贸易总公司中文报刊科联系(100044,北京市车公庄西路 35 号),代号:BM6688。

本刊经理部可随时为国内外读者代办邮购(免邮寄费)。地址:北京市朝阳区樱花园东街中日友好医院内,邮编:100029。经理部电话:(010)84205510。