



教育学院培训专题 肽科研成果

国药肽谷有限公司

人参肽—引领21世纪营养革命

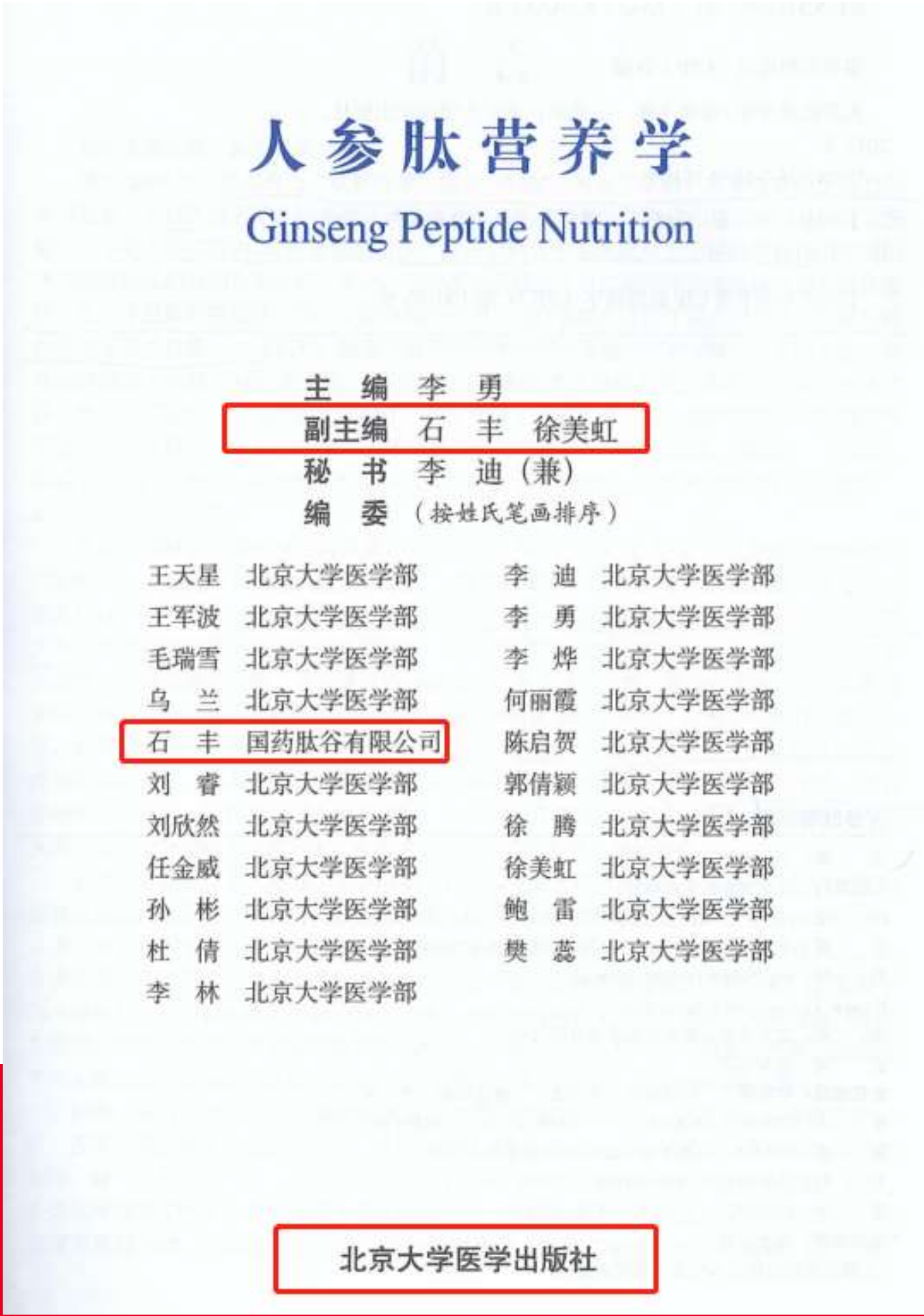
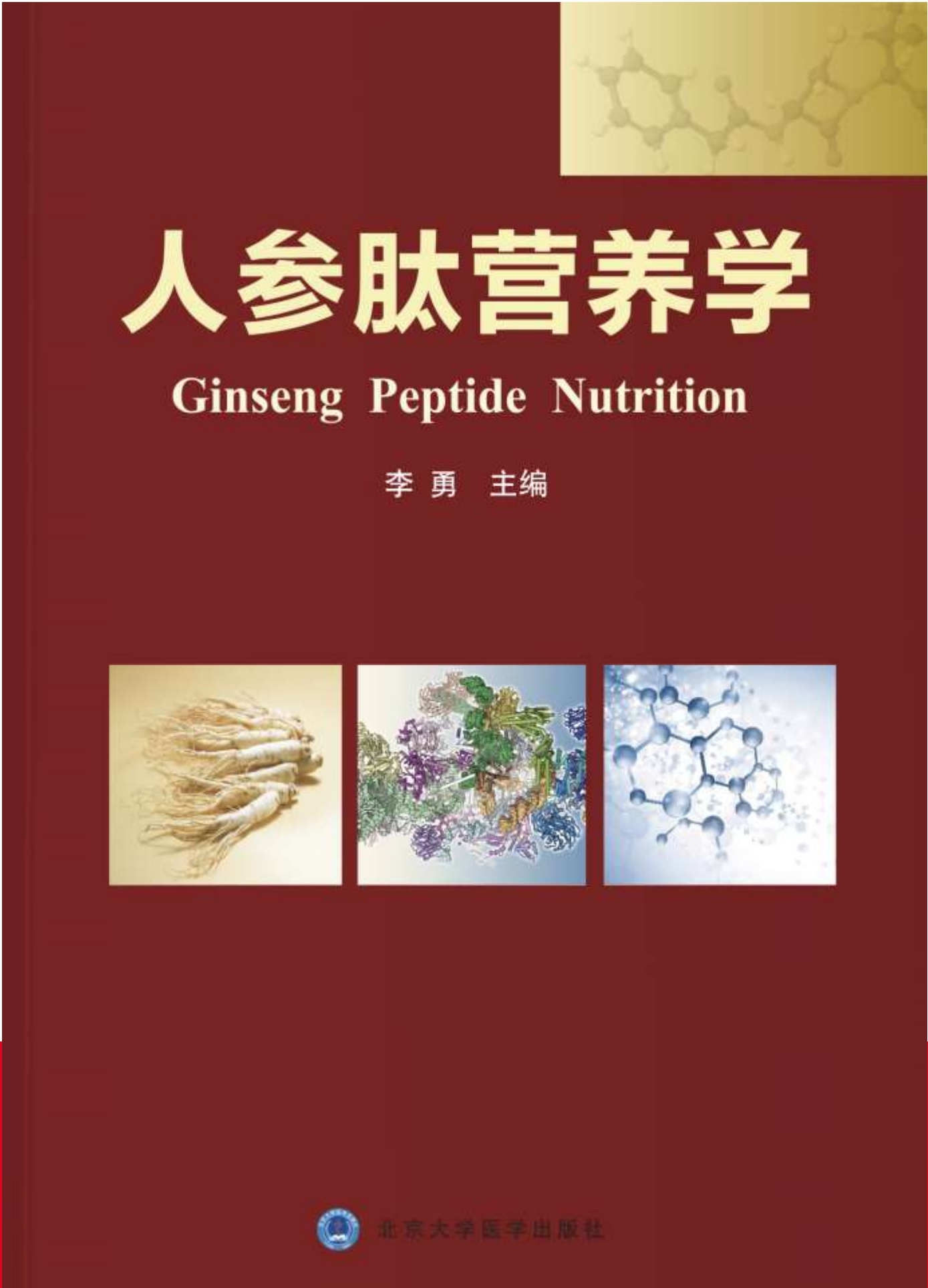


(一)

《人参肽营养学》 科研解读



世界首部单体肽专著震撼问世



《人参肽营养学》

2014年，北大医学部人参肽课题组对国药肽谷人参肽产品进行了包括食品安全性评价、抗氧化、抗辐照、抗疲劳、提高免疫力、提高缺氧耐受力在内的60余项科研论证。亲自参与科研的6位博士、12位硕士，历时多年，编纂出全球第一本单体肽营养学专著。

》 人参肽提高免疫力的作用

表 6-2-1 GOP 对小鼠体重和免疫器官相对重量的影响 (x̄±s, n=10)

	剂量 (mg/kg)	初始体重/g	终末体重/g	脾指数(mg/g ⁻¹)	胸腺指数(mg/g ⁻¹)
空白对照组	0	18.86±0.44	20.17±0.58	4.31±0.16	1.92±0.16
乳清蛋白组	150	19.04±0.39	20.57±0.54	4.46±0.20	1.90±0.16
GOP 1 组	37.5	19.03±0.40	20.29±0.50	4.51±0.21*	1.99±0.19
GOP 2 组	75	19.05±0.46	20.43±0.44	4.28±0.23	1.88±0.11
GOP 3 组	150	19.03±0.31	20.60±0.83	4.46±0.29	2.07±0.19*
GOP 4 组	300	18.91±0.45	20.14±0.48	4.52±0.12*	2.09±0.16*#
GOP 5 组	600	18.88±0.46	20.17±0.60	4.28±0.16	2.03±0.17

提高
4.8%

提高
1.1倍

结论1：

人参肽各组与对照组相比，脾脏指数和胸腺指数分别最大提高4.8%和10%。

表 6-2-5 GOP 对小鼠NK 细胞活性的影响 (x̄±s, n=10)

组别	剂量(mg/kg)	NK 细胞活性(%)
空白对照组	0	37.16±8.10
乳清蛋白组	150	41.02±13.96
GOP 1 组	37.5	57.39±16.52*#
GOP 2 组	75	58.36±14.84*#
GOP 3 组	150	51.94±16.89
GOP 4 组	300	40.12±18.78
GOP 5 组	600	39.07±8.17

升高
42.3%

结论2：

人参肽各组与乳清蛋白组相比，小鼠NK细胞活性最多提高42.3%。

表 6-2-4 GOP 对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的影响 (x̄±s, n=10)

组别	剂量(mg/kg)	碳廓清指数(α)	巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力	
			吞噬率%	吞噬指数
空白对照组	0	7.37±0.57	19.98±3.37	0.42±0.06
乳清蛋白组	150	7.84±0.28*	18.59±3.89	0.43±0.10
GOP 1 组	37.5	7.76±0.49	21.40±3.76	0.44±0.09
GOP 2 组	75	8.06±0.27*	24.14±3.51*#	0.53±0.08*#
GOP 3 组	150	7.89±0.37*	22.48±3.85*#	0.49±0.11*
GOP 4 组	300	8.27±0.58*#	25.00±1.93*#	0.58±0.08*#
GOP 5 组	600	8.58±0.23*#	21.10±2.57	0.48±0.06

提高
34.5%

结论3：

人参肽各组与乳清蛋白组相比，巨噬细胞吞噬率最多提高34.5%。

》 人参肽抗氧化的作用

表 5-2-1 GOP对过氧化损伤模型大鼠血清、肝脏脂质氧化产物含量的影响 (x̄±s, n=10)

组别	剂量/ (g/kg m ₀)	血清		肝脏MDA浓度/ (nmol/L)
		8-表氢氧异前列腺素 质量浓度/ (pg/mL)	MDA浓度/ (nmol/L)	
空白对照组	0	70.1±7.7	2.67±0.30	3.22±0.37
模型对照组	0	73.7±7.4	3.19±0.36 ^{a*}	3.49±0.14
乳清蛋白组	0.250 0	67.1±5.1	3.23±0.22	3.21±0.27
GOP A组	0.062 5	66.0±8.1	2.84±0.27 ^{bc}	3.06±0.27 ^{bc*}
GOP B组	0.125 0	67.5±9.1	3.11±0.35	2.94±0.43 ^{b*}
GOP C组	0.250 0	62.5±3.0 ^{b*}	3.21±0.22	3.30±0.25
GOP D组	0.500 0	65.2±11.6 ^b	2.82±0.40 ^{bc}	3.15±0.18 ^b
GOP E组	1.000 0	68.3±12.2	2.95±0.49	3.23±0.38
GOP F组	2.000 0	72.9±6.4	2.84±0.27 ^{bc}	2.48±0.25 ^{ab^{bc}*c*}

下降
11.6%

结论1：

人参肽各组与模型对照组相比，小鼠血清中氧化产物MDA浓度明显下降，最多下降11.6%。

表 5-2-3 GOP对过氧化损伤模型大鼠血清、肝组织抗氧化酶活力的影响 (x̄±s, n=10)

组别	剂量/ (g/kg m ₀)	血清		肝脏	
		SOD活力/ (U/L)	GSH-Px浓度/ (pmol/ml)	SOD活力/ (U/L)	GSH-Px浓度/ (pmol/ml)
空白对照组	0.000 0	141.8±18.4	22.3±2.90	142.4±19.4	23.8±1.77
模型对照组	0.000 0	127.5±14.5	24.7±2.51	132.9±15.0	24.8±2.05
乳清蛋白组	0.250 0	136.3±19.6	23.1±2.13	137.0±10.2	25.8±3.81
GOP A组	0.062 5	123.0±11.6	26.2±1.86 ^{***}	134.7±14.7	25.5±2.40
GOP B组	0.125 0	132.4±17.7	23.2±2.00	140.4±6.5	26.2±2.51
GOP C组	0.250 0	141.7±19.5	25.2±2.58 ^a	148.7±7.7 ^b	22.9±2.11 ^c
GOP D组	0.500 0	133.1±18.4	25.3±2.93	150.3±9.7	28.1±3.15
GOP E组	1.000 0	162.3±15.1 ^{ab*} ^{c*}	25.4±3.49 ^a	139.9±14.8	26.6±3.95 ^a
GOP F组	2.000 0	129.8±17.7	26.3±3.23 ^{a^c}	150.8±10.4 ^{bc}	28.2±1.46 ^{a^{bc}}

提高
27.3%

提高
6.5%

结论2：

人参肽各组与模型对照组相比，血清中GSH-Px和SOD活力均显著提高，最多提高了6.5%和27.3%。

表 5-2-4 GOP对过氧化损伤模型大鼠血清、肝脏抗氧化物质含量的影响 (x̄±s, n=10)

组别	剂量/ (g/kg m ₀)	血清GSH质量浓度/(ng/L)	肝脏GSH质量浓度/(ng/L)
空白对照组	0	415.2±45.1	425.9±64.7
模型对照组	0	424.5±79.2	416.8±109.5
乳清蛋白组	0.250 0	413.3±28.0	423.5±28.5
GOP A组	0.062 5	367.7±80.9	436.4±93.2
GOP B组	0.125 0	429.1±60.4	416.9±61.7
GOP C组	0.250 0	502.9±55.2 ^{abc}	434.0±105.8
GOP D组	0.500 0	423.6±94.6	458.7±67.1
GOP E组	1.000 0	429.9±92.4	372.5±102.0
GOP F组	2.000 0	399.1±58.3	443.0±75.0

提高
18.5%

提高
10%

结论3：

人参肽各组与模型对照组相比，血清中和肝脏中GSH含量均显著升高，最多提高了18.5%和10%。

注：数据来自于《人参肽营养学》

》 人参肽提高性能力的作用

表 15-2-1 吉林人参低聚肽对小鼠性器官脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s$ n=12)

组别	剂量 (g/kgbw)	脏器指数	
		睾丸	精囊+前列腺
空白对照组	0.00	0.83±0.10	0.59±0.13
乳清蛋白对照组	0.50	0.70±0.09	0.55±0.08
GOP 1 组	0.125	0.78±0.12	0.71±0.19
GOP 2 组	0.25	0.79±0.15	0.77±0.23
GOP 3 组	0.50	0.76±0.11	0.81±0.21
GOP 4 组	1.00	0.82±0.11	0.70±0.20
GOP 5 组	2.00	0.77±0.08	0.76±0.18

结论1：
人参肽各组与乳清蛋白组相比，雄性小鼠附性器官指数均显著提高，最多提高了**47.3%**。

表 15-2-2 吉林人参低聚肽对小鼠血清中 NO 和 睾酮含量的影响 ($\bar{x} \pm s$ n=12)

组别	剂量 (g / kgbw)	血清 NO 浓度 (μmol / L)	血清中睾酮浓度 (μg / L)
空白对照组	0.00	7.32±1.33	0.36±0.15
乳清蛋白对照组	0.50	7.60±2.50	0.41±0.24
GOP 1 组	0.125	10.10±3.85	1.35±0.65
GOP 2 组	0.25	13.31±2.59	1.52±0.70
GOP 3 组	0.50	16.35±4.16**	2.69±1.30
GOP 4 组	1.00	12.08±1.55	1.12±0.92
GOP 5 组	2.00	10.82±4.37	0.42±0.27

结论2：
人参肽各组与乳清蛋白组相比，血清中NO浓度、睾酮浓度均明显提高，最多分别提高了**2.2倍**、**6.6倍**。

表 15-2-3 吉林人参低聚肽对小鼠交配潜伏期及20min内交配次数的影响 ($\bar{x} \pm s$ n=12)

组别	剂量 (g / kgbw)	交配潜伏期 (min)	交配次数
空白对照组	0.00	7.39±2.17	2.47±1.92
乳清蛋白对照组	0.50	7.29±3.16	2.33±1.67
GOP 1 组	0.125	5.19±1.65	4.20±1.57
GOP 2 组	0.25	3.41±1.00	5.47±2.07
GOP 3 组	0.50	3.16±0.91	8.07±2.25
GOP 4 组	1.00	4.51±1.58	7.21±2.26
GOP 5 组	2.00	4.90±1.42	5.71±3.31

结论3：
人参肽各组与乳清蛋白组相比，交配潜伏期均明显缩短，最多下降**2.3倍**。人参肽各组与乳清蛋白组相比，20min之内的交配次数均明显增多，最多提高到**3.5倍**。

》 人参肽的抗疲劳功能研究进展

表 8-2-2 GOPs对小鼠游泳时间的影响 ($\bar{x} \pm s$ n=12)

组别	剂量 (g / k gbw)	游泳时间
空白对照组	0.00	14.06±5.49
乳清蛋白对照组	0.50	14.20±4.07
GOP 1 组	0.125	17.18±4.45
GOP 2 组	0.25	25.40±6.57*
GOP 3 组	0.50	20.94±6.81
GOP 4 组	1.00	18.78±5.82
GOP 5 组	2.00	15.98±4.70

表 8-2-5 GOPs对小鼠肝糖原含量的影响 ($\bar{x} \pm s$ n=12)

组别	剂量 (g / k gbw)	肝糖原含量 (g/mg)
空白对照组	0.00	17.64±5.63
乳清蛋白对照组	0.50	17.77±5.31
GOP 1 组	0.125	22.86±4.80
GOP 2 组	0.25	28.35±9.12**
GOP 3 组	0.50	24.15±9.87*
GOP 4 组	1.00	22.98±9.59
GOP 5 组	2.00	19.81±6.24

表 8-2-4 GOPs对小鼠乳酸的影响 ($\bar{x} \pm s$ n=12)

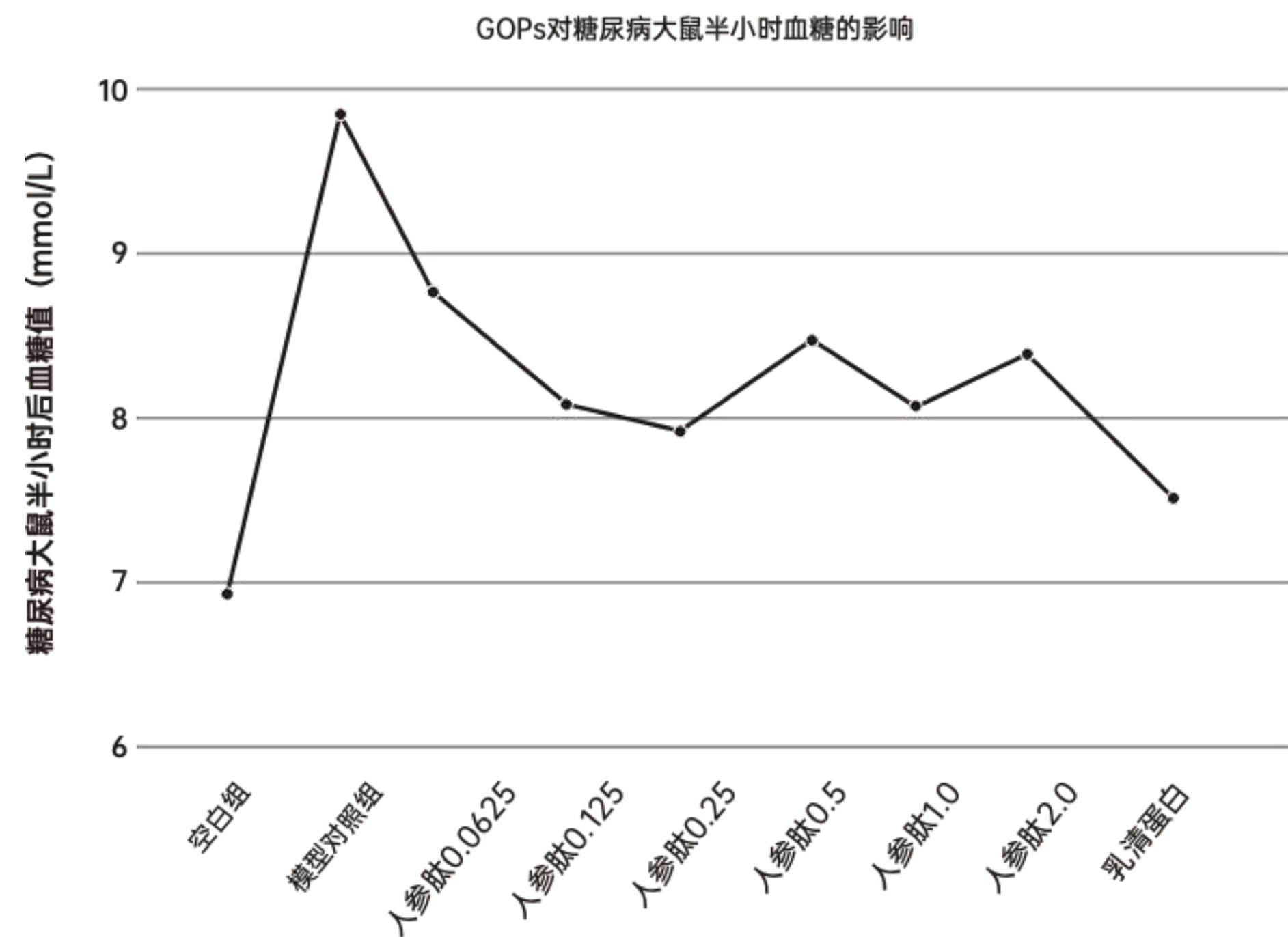
组别	剂量 (g / k gbw)	游泳前 (mg/L)	游泳后0min (mg/L)	游泳后20min (mg/L)	曲线下面积 (mg/L)
空白对照组	0.00	195.51±40.54	439.81±57.16	339.29±46.88	10967.52±1198.17
乳清蛋白对照组	0.50	197.84±40.46	438.65±49.79	331.18±33.66	10880.75±1070.04
GOP 1 组	0.125	191.45±42.94	389.01±41.40	272.99±49.61*	9522.27±941.87*
GOP 2 组	0.25	186.96±32.68	345.91±45.59**	246.77±48.35**	8591.06±970.75**
GOP 3 组	0.50	197.38±32.31	379.49±40.39*	277.12±33.25*	9450.43±899.52*
GOP 4 组	1.00	189.66±30.24	389.01±51.69	290.23±49.83	9685.70±937.76*
GOP 5 组	2.00	190.73±36.81	423.49±33.00	297.05±24.33	10276.58±397.11

结论:

- ① 适当剂量人参肽可提高小鼠运动耐力，延长负重游泳时间，最高提高78.9%。
- ② 人参肽与对照组相比，可显著减少小鼠游泳后乳酸堆积，游泳后0min，游泳后20min最高减少21.4%和27.7%，减少运动后疲劳的状况！
- ③ 人参肽与对照组相比，可显著提高小鼠肝糖原的储存能力，糖原含量可作为机体抗疲劳的重要指标，最高提高59.5%。提高小鼠耐力，有效延缓疲劳效果。

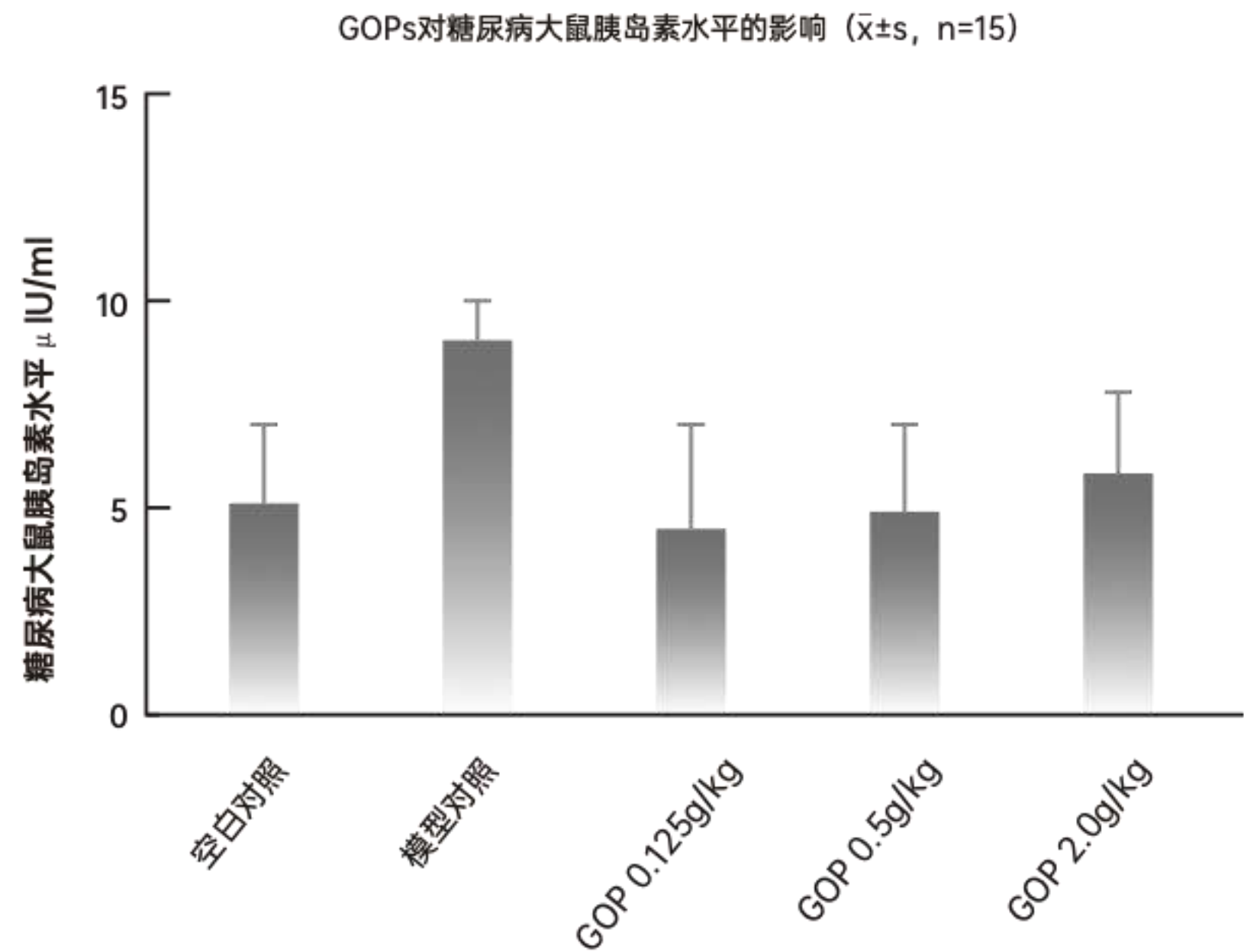
注：数据来自于《人参肽营养学》 人参寡肽与运动疲劳

》 人参肽辅助降血糖的作用



结论1:

人参肽各组与模型对照组相比，餐后半小时血糖均显著降低且差异具有显著性 ($P < 0.05$)。



结论2:

结合餐后半小时血糖的数据，在血清胰岛素水平较低的情况下，人参肽能有效抑制餐后血糖的升高，说明适宜剂量的GOPs能提高胰岛素敏感性。

注：数据来自于《人参肽营养学》

》 人参肽抗动脉粥样硬化作用

表 13-2-3 GOPs对高脂模型大鼠血清NO、NOS水平的影响 （ $\bar{x} \pm s$ n=12）

组别	剂量 (g / k gbw)	NO (μ mol/L)	NOS (μ mol/L)
空白对照组	0	46.64±1.93	43.89±1.40
模型对照组	0	20.80±1.99a*	17.50±1.93a*
乳清蛋白对照组	0.2500	43.10±1.28b*	37.56±1.08b*
GOPs A 组	0.0625	37.66±1.92b*c*	36.57±1.91b*
GOPs B 组	0.1250	44.30±2.00b*	38.17±1.58b*
GOPs C 组	0.2500	44.79±1.71b*c	40.97±1.29b*c*
GOPs D 组	0.5000	44.23±1.95b*	37.80±1.86b*
GOPs E 组	1.0000	40.27±1.89b*c*	36.60±1.70b*
GOPs F 组	2.0000	41.50±1.27b*	37.02±1.68b*

结论：
与模型对照组相比，人参肽各组大鼠血清NO和NOS水平均分别**提高2.2倍和2.3倍**，说明人参肽可以提高高脂模型大鼠血清NO和NOS水平，来保护血管内皮细胞功能，从而发挥抗AS的作用。

注：数据来自于《人参肽营养学》

》 人参肽提高缺氧耐受力的作用

表 9-2-2 GOPs对小鼠常压耐缺氧存活时间的影响

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg bw)	存活时间 (min)	延长率 (%)
空白对照组	10	0	36.67±3.86	--
乳清蛋白对照组	10	0.150	39.91±3.99	8.8
GOPs A 剂量组	10	0.075	45.66±3.49ab	24.5
GOPs B 剂量组	10	0.150	51.89±3.06ab	41.5
GOPs C 剂量组	10	0.300	54.03±4.05ab	47.3
GOPs D 剂量组	10	0.600	56.42±8.23ab	53.8

表 9-2-3 GOPs对小鼠亚硝酸钠中毒所致缺氧存活时间的影响

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg bw)	存活时间 (min)	延长率 (%)
空白对照组	10	0	18.56±1.37	--
乳清蛋白对照组	10	0.150	21.44±2.32	15.5
GOPs A 剂量组	10	0.075	21.46±1.29	15.6
GOPs B 剂量组	10	0.150	22.94±5.19a	23.6
GOPs C 剂量组	10	0.300	26.25±4.92ab	41.4
GOPs D 剂量组	10	0.600	27.08±5.73ab	45.9

表 9-2-4 GOPs对小鼠急性脑缺血性缺氧存活时间的影响

组别	动物数 (只)	剂量 (g/kg bw)	存活时间 (min)	延长率 (%)
空白对照组	10	0	20.00±0.67	--
乳清蛋白对照组	10	0.150	20.10±0.88	0.5
GOPs A 剂量组	10	0.075	20.90±0.88a	4.5
GOPs B 剂量组	10	0.150	22.20±0.92ab	11.0
GOPs C 剂量组	10	0.300	22.20±1.48ab	11.0
GOPs D 剂量组	10	0.600	21.80±0.92ab	9.0



结论:

- ① 人参肽各组与空白对照组和乳清蛋白组相比，小鼠常压耐缺氧存活时间显著提高，最多提高了53.8%;
- ② 人参肽各组与空白对照组和乳清蛋白组相比，小鼠亚硝酸钠中毒存活时间显著提高，最多提高了45.9%;
- ③ 人参肽各组与空白对照组和乳清蛋白组相比，小鼠急性脑缺血性缺氧存活时间显著提高，最多提高了11.1%。

注：数据来自于《人参肽营养学》

》 人参肽抗辐照损伤的作用

表 7-2-3 GOPs对辐照后14天小鼠肝抗氧化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$ n=12)

组别	SOD(U/L)	GSH-Px(U/L)	MDA(nmol/L)
空白对照组	162.14±15.02	658.78±58.23	3.52±0.32
模型对照组	134.85±13.43*	570.07±51.25*	4.48±0.46*
乳清蛋白对照组	150.37±15.44	661.97±51.12#	3.57±0.35#
GOPs 0.15g/kg bw组	189.68±16.03*#△	698.17±66.02#	3.21±0.32*#△
GOPs 0.30g/kg bw组	190.41±17.18*#△	698.81±63.55#	3.18±0.32*#△
GOPs 0.60g/kg bw组	178.32±16.87*#△	679.06±56.31#	3.22±0.31*#△



表 7-2-1 GOPs对辐射小鼠外周血白细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s$ n=12)

组别	白细胞数 (×10 ⁹ /L)		
	辐照前	辐照后第3天	辐照后第14天
空白对照组	10.37±2.80	8.88±1.50	10.99±2.51
模型对照组	10.59±2.44	1.44±0.26*	1.75±0.45*
乳清蛋白对照组	12.32±3.66	2.26±0.41*#	1.94±0.45*
GOPs 0.15g/kg bw组	11.64±1.97	2.33±0.41*#	2.05±0.44*#
GOPs 0.30g/kg bw组	12.21±2.26	1.59±0.11*△	2.12±0.18*#
GOPs 0.60g/kg bw组	12.11±1.83	1.77±0.45*#△	2.77±0.29*#△

结论:

- ① 人参肽各组与模型对照组相比，血清SOD和GSH-Px活性均显著提高，分别提高了41.2%和22.6%；
- ② 人参肽各组与模型对照组相比，显著提高了辐照后第3天和第14天小鼠外周白细胞数目，特别是到第14天，人参肽各组的小鼠白细胞数量均显著增高，最高提高了58.3%，且随着人参肽用量的加大，增高白细胞的作用越明显。说明人参肽可显著提高小鼠的外周白细胞数目，有助于血液系统的修复。说明人参肽可显著增强小鼠辐照后血清抗氧化指标，起到抗辐射损伤的作用。

注：数据来自于《人参肽营养学》

》 人参肽对酒精性肝损伤的保护作用

GOP 对急性酒精性肝损伤大鼠血清 ALT、AST 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量 [g/(kg·BW)]	ALT(U/L)	AST(U/L)
空白对照组	0.000 0	51.27 ± 10.11	211.60 ± 25.99
模型对照组	0.000 0	89.00 ± 12.37 ^{a*}	296.30 ± 58.65 ^a
乳清蛋白对照组	0.250 0	66.60 ± 17.26 ^{ab*}	253.50 ± 62.33 ^{ab}
GOP 1 组	0.062 5	68.92 ± 13.82 ^{ab*}	232.33 ± 31.16 ^{b*}
GOP 2 组	0.125 0	66.38 ± 9.24 ^{ab*}	224.70 ± 36.73 ^{b*}
GOP 3 组	0.250 0	64.46 ± 16.75 ^{ab*}	246.40 ± 49.56 ^b
GOP 4 组	0.500 0	58.92 ± 12.89 ^{ab*}	228.30 ± 35.20 ^{b*}

注: a 与空白对照组相比 P < 0.05; a* 与空白对照组相比 P < 0.01; b 与模型对照组相比 P < 0.05; b* 与模型对照组相比 P < 0.01

GOP 对急性酒精性肝损伤大鼠肝脏 SOD、GSH 和 GSH - PX 含量的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量 [g/(kg·BW)]	SOD(U/L)	GSH(ng/L)	GSH-PX(pmol/ml)
空白对照组	0.000 0	235.25 ± 10.59	797.13 ± 39.14	36.65 ± 1.79
模型对照组	0.000 0	107.84 ± 12.72 ^{a*}	407.86 ± 38.99 ^{a*}	22.24 ± 2.61 ^{a*}
乳清蛋白对照组	0.250 0	108.65 ± 10.95 ^{a*}	496.17 ± 30.48 ^{a*}	34.16 ± 1.75 ^{ab*}
GOP 1 组	0.062 5	126.91 ± 20.99 ^{a* bc}	508.31 ± 44.46 ^{a* b*}	25.19 ± 2.03 ^{a* b* c*}
GOP 2 组	0.125 0	127.86 ± 12.22 ^{a* bc}	467.43 ± 32.91 ^{a* b}	26.92 ± 2.02 ^{a* b* c*}
GOP 3 组	0.250 0	131.28 ± 28.71 ^{a* b* c*}	872.10 ± 42.76 ^{a* b* c*}	38.14 ± 2.65 ^{ab* c*}
GOP 4 组	0.500 0	196.65 ± 28.41 ^{a* b* c*}	843.25 ± 42.36 ^{a* b* c*}	47.36 ± 1.88 ^{a* b* c*}

结论1:

人参肽各组与模型对照组相比, 血清ALT、AST含量均显著降低, 最多下降33.8%和24.16%。

结论2:

人参肽各组与模型对照组相比, 肝脏中SOD含量显著提高, 最多提高了82.35%; 人参肽组GSH含量显著增高, 最多提高了1.14倍。GOPs各剂量干预组在各个时间点的血乙醇浓度均低于对照组, 在120min时, 低剂量组、高剂量组与对照组相比血乙醇浓度有显著性差异, 在180min时, 中剂量组和高剂量组血乙醇浓度与对照组相比有显著性差异, 说明人参肽具有解酒作用。

》 人参肽与急性酒精中毒

表11-2-2 GOPs 对SD大鼠爬网时间的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	体重 (g)	爬网时间 (min)	瘫软只数
对照组	6	384.74±17.26	0.36±.11	1
低剂量组	6	369.52±18.23	0.38±.12	0
中剂量组	6	377.12±24.60	1.29±0.22***	0
高剂量组	6	376.12±17.13	2.15±10.23***	0

结论1:

人参肽各组与对照组相比，爬网时间显著延长 ($P<0.001$)，且随着GOPs剂量加大，爬网时间随之延长。

表11-2-4 GOPs 对SD大鼠血中乙醇消除的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	血中乙醇浓度 (mg/ml)			
		30min	60min	120min	180min
对照组	6	3.02±.94	3.49±.1.26	5.42±1.44	6.17±1.05
低剂量组	6	2.32±1.05	2.78±0.46	3.98±1.01*	4.37±1.94
中剂量组	6	2.70±1.01	3.16±.49	4.71±0.40	4.28±1.16*
高剂量组	6	2.52±0.92	2.64±0.94	2.85±0.71**	2.66±1.14**

结论2:

人参肽各组与对照组相比，血清乙醇浓度均低于对照组，且随着时间的延长和人参肽用量的加大，在180min时，血清乙醇浓度与对照组相比下降了57.89%，说明人参肽具有解酒作用。

(二)

《人参肽延缓细胞衰老实验》

》 人参肽对神经退行性变的改善作用

人参肽延缓细胞衰老作用实验报告

一、GOP 对神经退行性变的改善作用

(一) 实验方法

1. 实验细胞

PC-12 细胞（大鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞），购自浙江美森细胞科技有限公司。将细胞培养于含 1%青霉素/链霉素 10%胎牛血清的 DMEM 高糖完全培养基中，在 5% CO₂ 培养箱 37℃ 饱和湿度条件下培养。

2. 神经退行性模型的建立

PC-12 细胞生长贴壁后，根据实验要求用不同浓度的过氧化氢进行干预，浓度分别为 50μmol/L，100μmol/L，200μmol/L，400μmol/L，800μmol/L，孵育 4h 后弃掉含有过氧化氢的培养基，加入正常完全培养基孵育 24h，使用 CCK-8 细胞活性试剂盒检测细胞活性。根据检测结果选取 200μmol/L 的过氧化氢进行后续实验。

3. 细胞分组

将细胞分为空白对照组、模型对照组、GOP25、50、100μg/mL 剂量组共 5 组。空白对照组将生长状态良好的 PC-12 细胞培养于正常完全培养基中；模型对照组将生长贴壁后的细胞用含有 200μmol/L 过氧化氢的完全培养基培养 4h，弃掉含有过氧化氢的培养基后，加入正常完全培养基孵育；不同 GOP 剂量组将生长贴壁后的细胞用含有 200μmol/L 过氧化氢+25、50、100μg/mL GOP 的完全培养基培养 4h，弃掉含有过氧化氢的培养基后，加入含有 25、50、100μg/mL GOP 的完全培养基培养 24h。

4. 检测指标

4.1 细胞活性检测

将 100μl/孔细胞（约 1×10⁴）培养于 96 孔细胞培养板，根据实验要求处理不同组别后，向各孔加入 10μl 的 CCK-8 检测溶液，37℃ 下孵育 1~4h，采用酶标仪在 450nm 波长处检测每孔的吸光度。

(二) 实验结果

1. GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞活力的影响

与正常对照组比较，神经退行性变的 PC-12 细胞活力显著降低($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP 显著增强了 PC-12 细胞活力 ($p<0.05$) (图 7A)。

2. GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞凋亡水平的影响

与正常对照组比较，神经退行性变的 PC-12 细胞凋亡水平显著增加($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP 显著降低了神经退行性变的 PC-12 细胞凋亡水平 ($p<0.05$) (图 7B)。

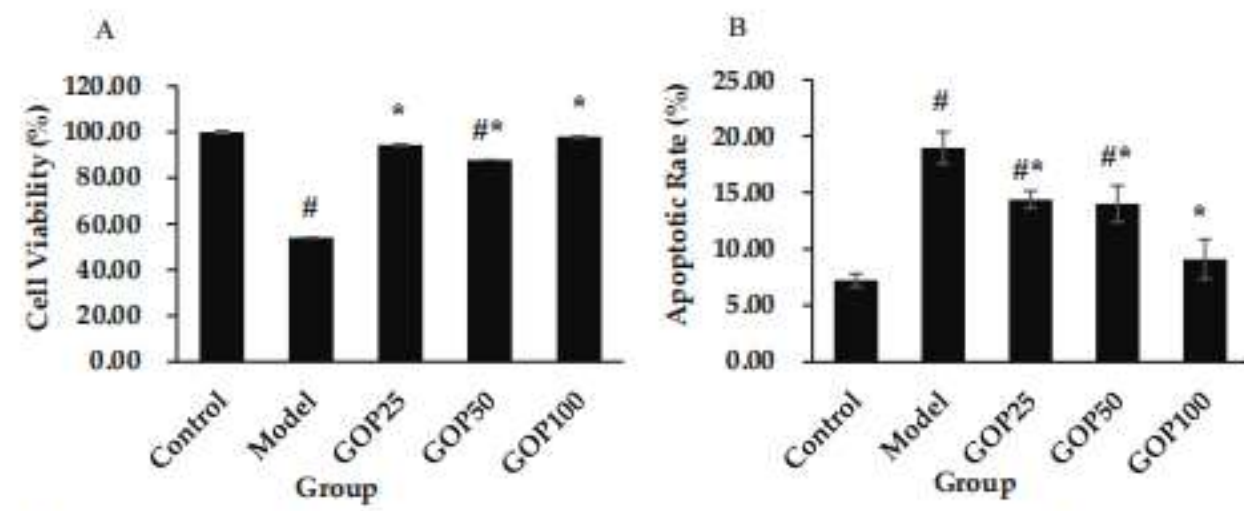


图 7 GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞活力和凋亡水平的影响。A: GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞活力的影响；B: GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞凋亡水平的影响。

3. GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞氧化应激水平的影响

与正常对照组比较，神经退行性变 PC-12 内 ROS 含量显著增加($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP100 剂量组显著降低神经退行性变 PC-12 内 ROS 含量 ($p<0.05$) (图 8A)。

与正常对照组比较，神经退行性变 PC-12 细胞 GSH-Px 活性有降低趋势，但是差异无显著性 ($p>0.05$)；与模型对照组相比，GOP 各剂量组有增强神经退行性变 PC-12 细胞内 GSH-Px 活性的趋势，但差异没有显著性 ($p>0.05$) (图 8B)。

与正常对照组比较，神经退行性变 PC-12 细胞 SOD 活性显著降低($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP 各剂量组显著增强了 SOD 活性 ($p<0.05$) (图 8C)。

与正常对照组比较，神经退行性变 PC-12 细胞 MDA 含量显著增加($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP 显著降低神经退行性变 PC-12 内 MDA 含量 ($p<0.05$) (图 8D)。

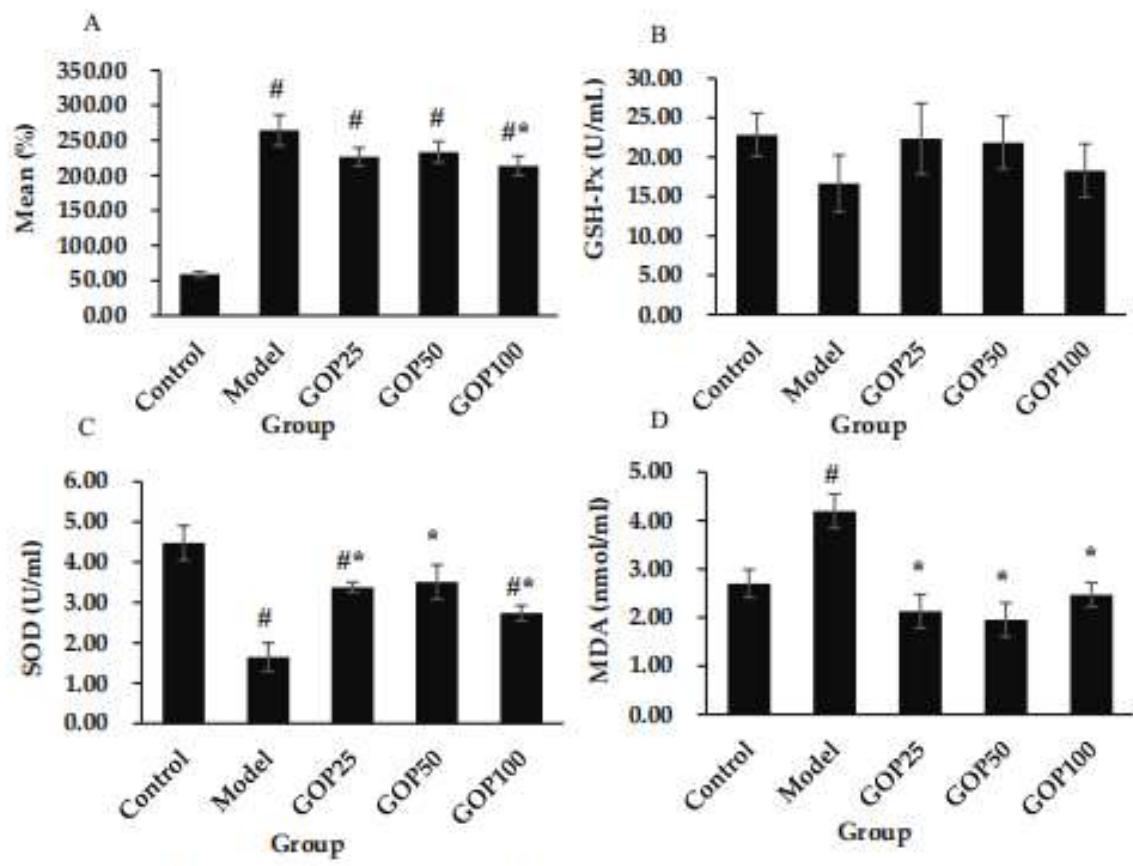


图 8 GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞氧化应激水平的影响。A: GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞内 ROS 含量的影响；B: GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞 GSH-Px 活性的影响；C: GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞 SOD 活性的影响；D: GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞 MDA 水平的影响。

》 人参肽对神经退行性变线粒体和细胞衰老分泌表型的影响

4. GOP 对神经退行性变 PC-12 小鼠线粒体损伤的影响

与正常对照组比较，神经退行性变 PC-12 细胞线粒体膜电位显著降低 ($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP50 和 GOP100 剂量组显著增强了神经退行性变 PC-12 细胞线粒体膜电位 ($p<0.05$) (图 9A)。

与正常对照组比较，神经退行性变 PC-12 细胞 ATP 产生显著降低，GOP100 剂量组 ATP 产生能力显著升高 ($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP25 和 GOP100 剂量组 ATP 产生能力显著升高 ($p<0.05$) (图 9B)。

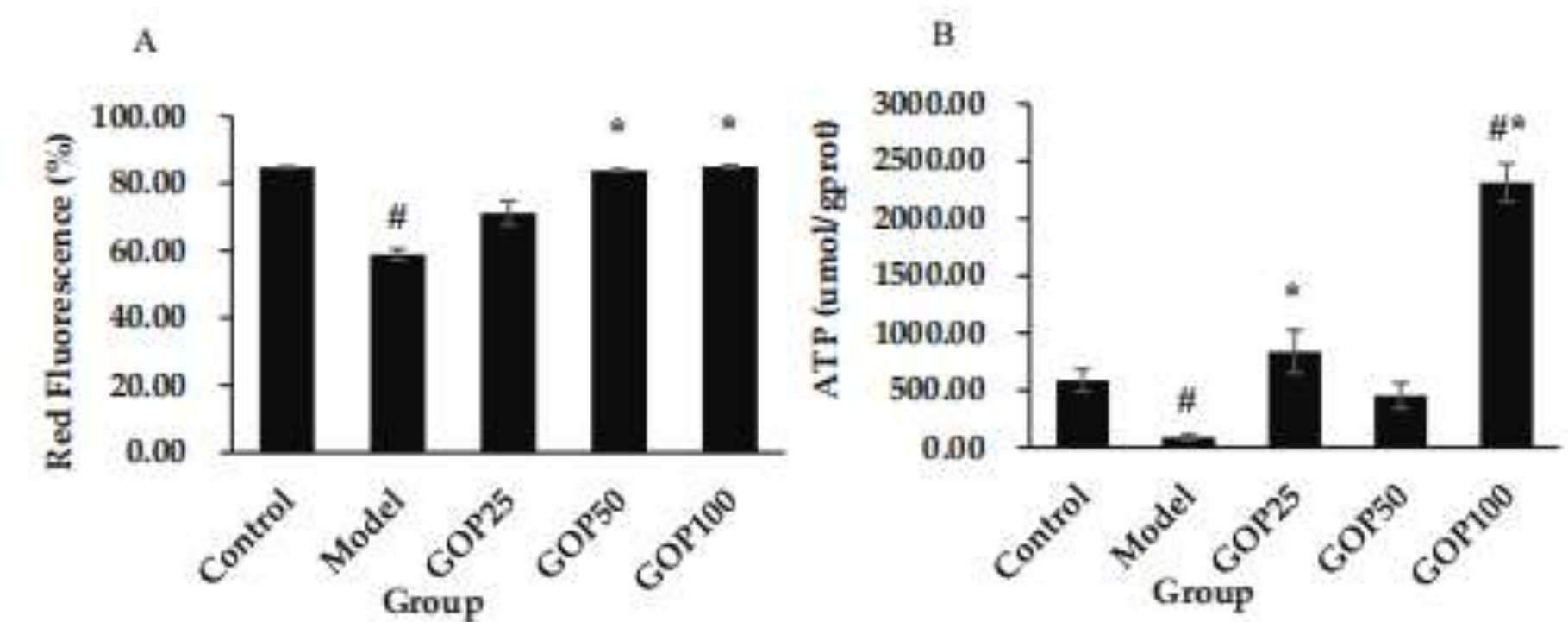


图 9 GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞线粒体损伤的影响。A：GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞线粒体膜电位的影响；B：GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞 ATP 产生能力的影响。

5. GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞衰老分泌表型的影响

与正常对照组比较，神经退行性变 PC-12 细胞 IL-1 β 、IL-6、MMP-3 及 ICAM-1 等炎症因子水平显著升高 ($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP 显著降低神经退行性变 PC-12 细胞 IL-1 β 和 MMP-3 水平，GOP25 和 GOP50 剂量组 IL-6 水平显著降低，GOP50 和 GOP100 剂量组 ICAM-1 水平显著升高 ($p<0.05$) (图 10)。

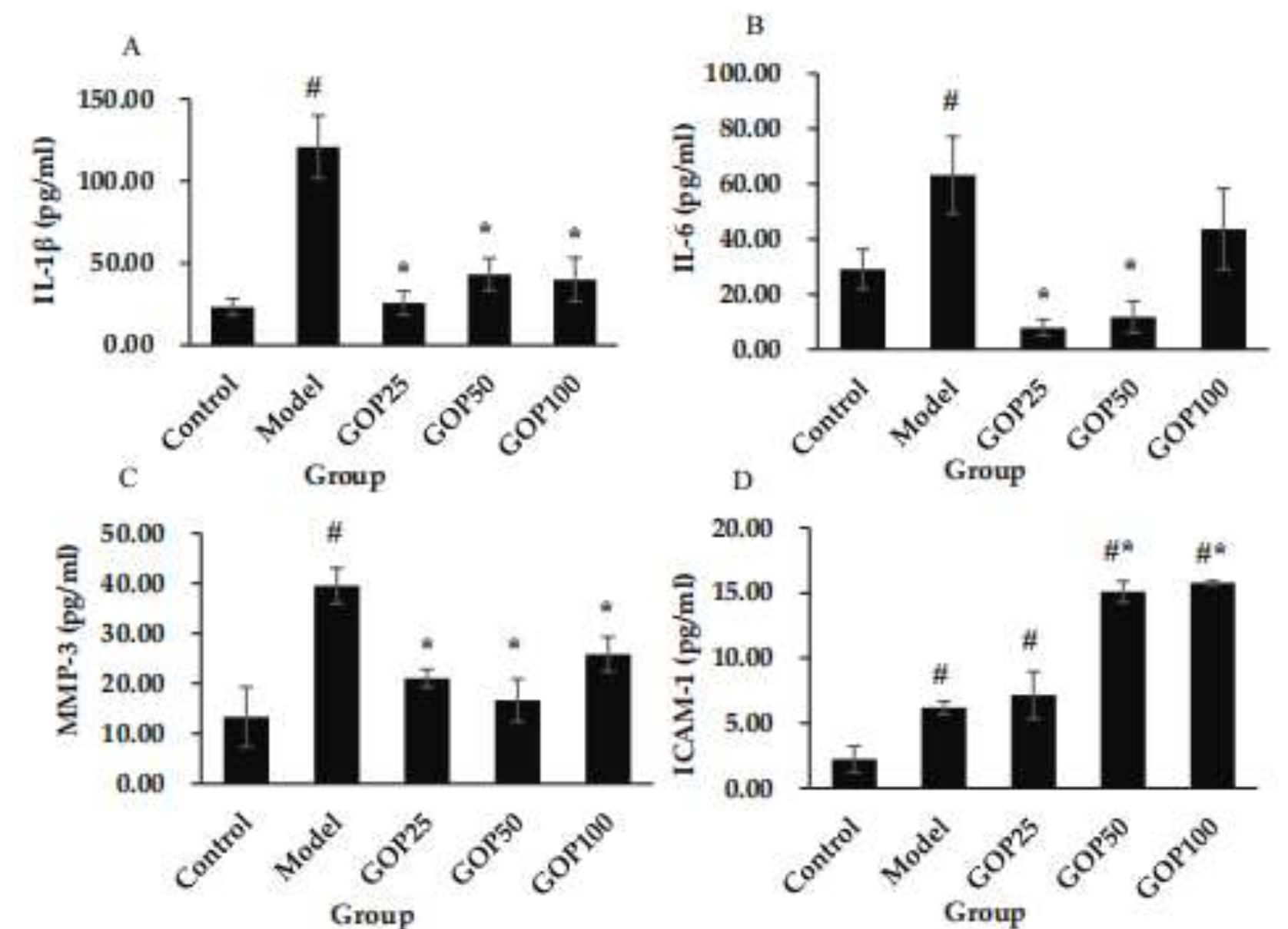


图 10 GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞衰老分泌表型的影响。A：GOP 对神经退行性变 PC-12 细胞 IL-1 β

》 人参肽延缓细胞衰老的作用机制

二、GOP 延缓细胞衰老作用——成纤维细胞

（一）实验方法

1. 实验细胞

小鼠胚胎成纤维细胞 NIH/3T3，购自武汉普诺赛生命科技有限公司。将细胞培养于含 1%青霉素/链霉素 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中，在 5% CO₂ 培养箱 37℃饱和湿度条件下培养。

2. 细胞衰老模型的建立

NIH/3T3 细胞生长贴壁后，根据实验要求用不同浓度的过氧化氢进行干预，浓度分别为 50μmol/L，100μmol/L，200μmol/L，400μmol/L，800μmol/L，孵育 4h 后弃掉含有过氧化氢的培养基，加入正常完全培养基孵育 24h，使用 CCK-8 细胞活性试剂盒检测细胞活性，western blot 法检测衰老标志物 P16^{INK4A} 和 P21^{Waf1/Cip1} 的表达情况。根据检测结果选取 200μmol/L 的过氧化氢进行后续实验。

3. GOP 干预剂量的确定

将生长贴壁后的细胞用含有 200μmol/L 过氧化氢+1、10、50、100、200 和 400μg/mL GOP 的完全培养基培养 4h，弃掉含有过氧化氢的培养基后，加入含有 1、10、50、100、200 和 400μg/mL GOP 的完全培养基培养 24h，使用 CCK-8 细胞活性试剂盒检测细胞活性，western blot 法检测衰老标志物 P16^{INK4A} 和 P21^{Waf1/Cip1} 的表达情况。根据检测结果 50μg/mL 为最佳的干预浓度。

4. 细胞分组

将细胞分为空白对照组、模型对照组、GOP25、50、100μg/mL 剂量组共 5 组。空白对照组将生长状态良好的 NIH/3T3 细胞培养于正常完全培养基中；模型对照组将生长贴壁后的细胞用含有 200μmol/L 过氧化氢的完全培养基培养 4h，弃掉含有过氧化氢的培养基后，加入正常完全培养基孵育；不同 GOP 剂量组将生长贴壁后的细胞用含有 200μmol/L 过氧化氢+25、50、100μg/mL GOP 的完全培养基培养 4h，弃掉含有过氧化氢的培养基后，加入含有 25、50、100μg/mL GOP 的完全培养基培养 24h。

（二）实验结果

1. GOP 对衰老成纤维细胞活力的影响

与正常对照组比较，衰老成纤维细胞活力显著降低 ($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP50 和 GOP100 剂量组显著增强了衰老成纤维细胞活力 ($p<0.05$) (图 13A)。

2. GOP 对衰老成纤维细胞周期的影响

与正常对照组比较，衰老成纤维细胞发生 G1 期阻滞，S 期细胞比例显著减少 ($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP 显著降低了衰老成纤维细胞 G1 期阻滞，增加了 S 期细胞比例 ($p<0.05$) (图 13B)。

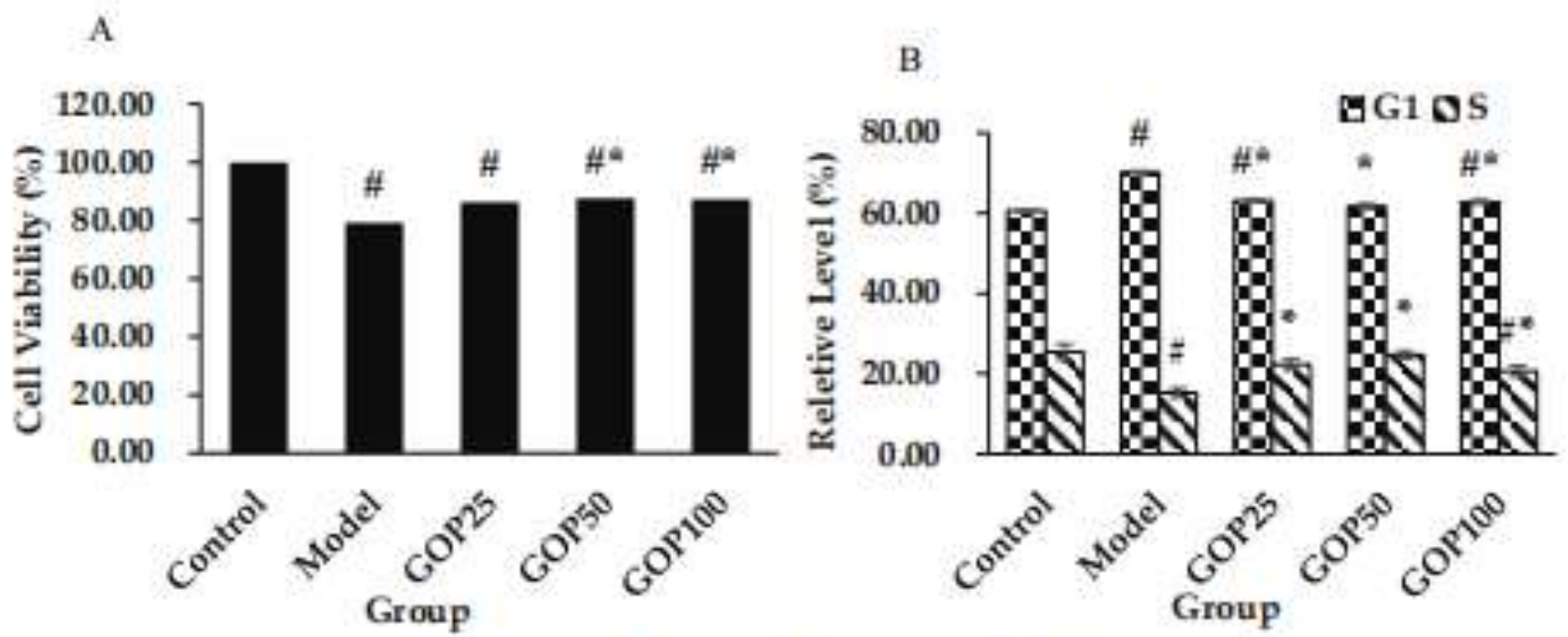


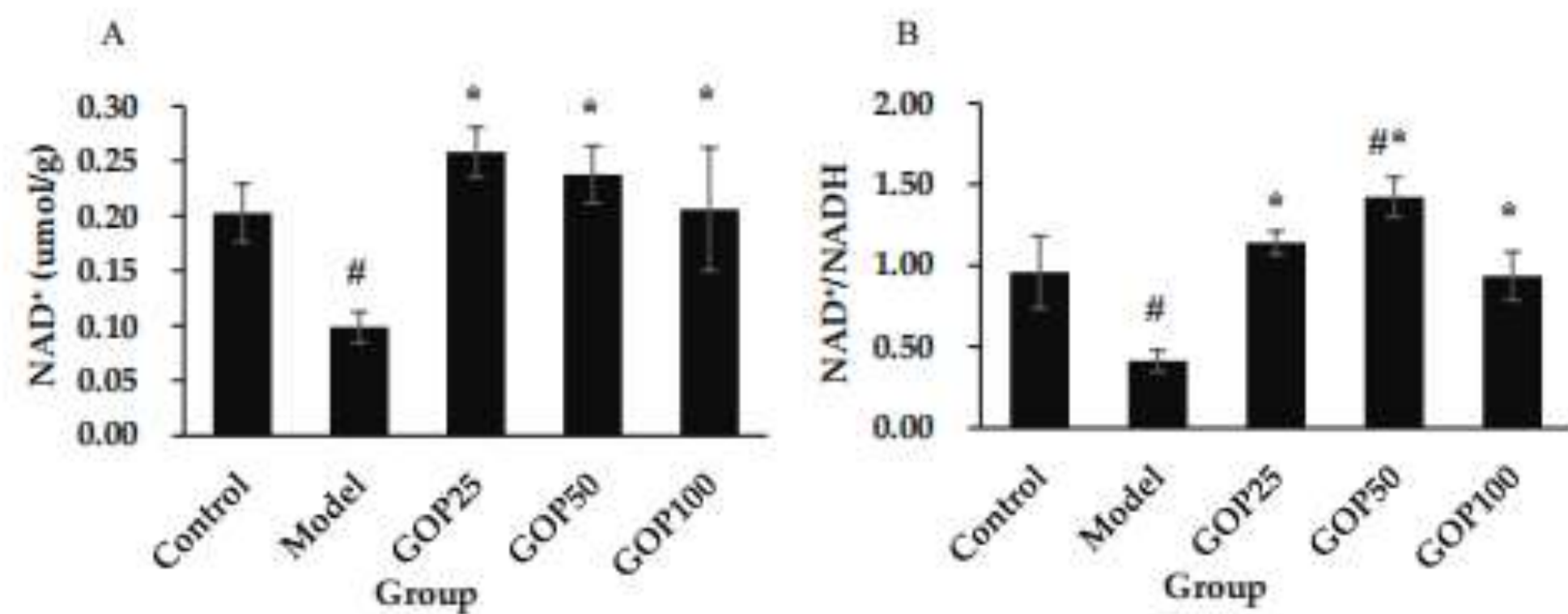
图 13 GOP 延缓成纤维细胞衰老。A: GOP 对衰老成纤维细胞活力的影响；B: GOP 对衰老成纤维细胞周期的影响

》 人参肽对NDA+水平和NDA+/NDAH+和端粒酶的影响

5. GOP 对衰老成纤维细胞 NAD⁺水平和 NAD⁺/NADH 的影响

与正常对照组比较，衰老成纤维细胞 NAD⁺水平显著降低 ($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP 各剂量组显著升高 NAD⁺水平 ($p<0.05$) (图 16A)。

与正常对照组比较，衰老成纤维细胞 NAD⁺/NADH 显著降低 ($p<0.05$)；与模型对照组比较，GOP 各剂量组显著升高该比值 ($p<0.05$) (图 16B)。



7. GOP 对衰老成纤维细胞端粒酶活性的影响

本实验衰老成纤维细胞模型未影响端粒酶活性，GOP50 和 GOP100 剂量组显著升高端粒酶活性 ($p<0.05$) (图 17B)

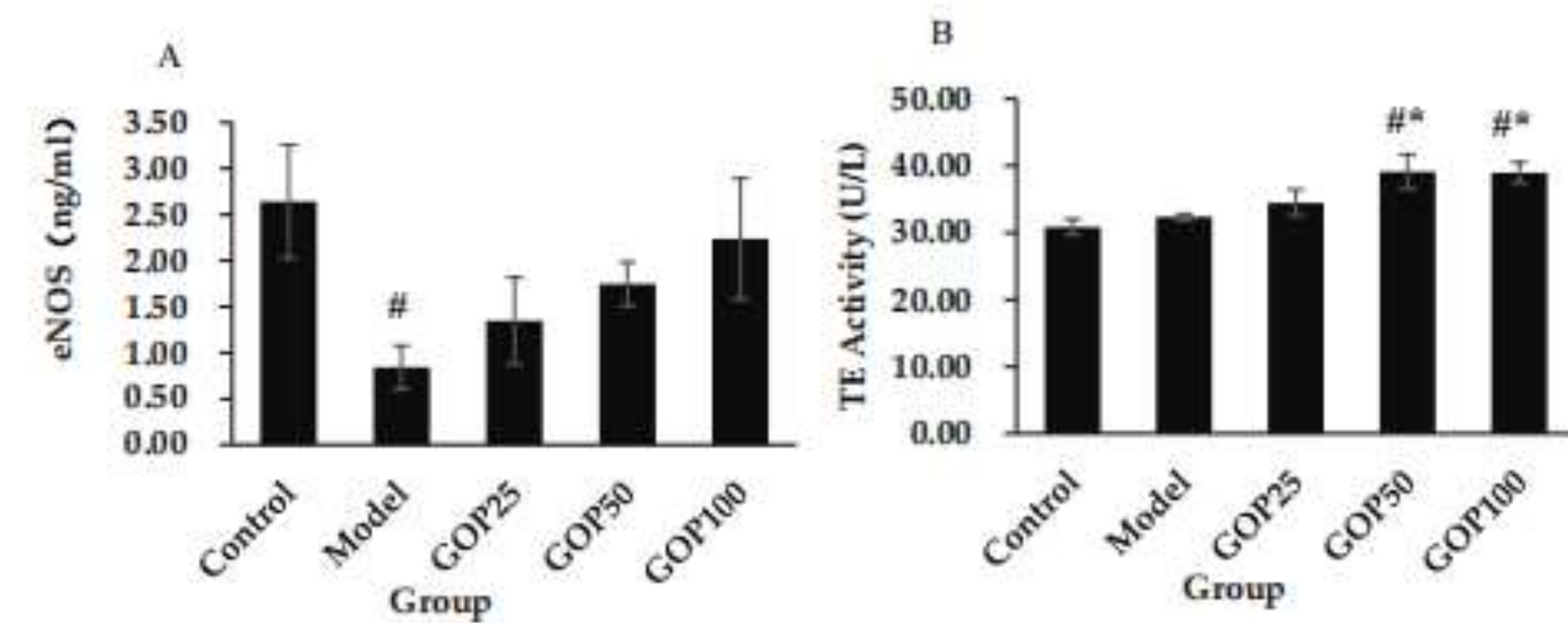


图 17 GOP 对衰老成纤维细胞 eNOS 和端粒酶活性的影响。A: GOP 对衰老成纤维细胞 eNOS 水平的影响；B: GOP 对衰老成纤维细胞端粒酶活性的影响。

》 人参肽延缓血管系统衰老作用

人参肽 (Ginseng Peptides, GOP) 延缓血管系统衰老作用

实验报告

(一) 实验方法

1. 实验细胞

人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cell, HUVEC), 购自浙江美森细胞科技有限公司。将细胞培养于含 1%青霉素/链霉素 10%胎牛血清的 DMEM 高糖完全培养基中, 在 5% CO₂ 培养箱 37℃ 饱和湿度条件下培养。

2. 细胞衰老模型的建立

HUVEC 细胞生长贴壁后, 根据实验要求用不同浓度的过氧化氢进行干预, 浓度分别为 50μmol/L, 100μmol/L, 200μmol/L, 400μmol/L, 800μmol/L, 孵育 4h 后弃掉含有过氧化氢的培养基, 加入正常完全培养基孵育 24h, 使用 CCK-8 细胞活性试剂盒检测细胞活性, western blot 法检测衰老标志物 P16^{INK4A} 和 P21^{WAF1/Cip1} 的表达情况。根据检测结果选取 200μmol/L 的过氧化氢进行后续实验。

3. 细胞分组

将细胞分为空白对照组、模型对照组、GOP25、50、100μg/mL 剂量组共 5 组。空白对照组将生长状态良好的 HUVEC 细胞培养于正常完全培养基中; 模型对照组将生长贴壁后的细胞用含有 200μmol/L 过氧化氢的完全培养基培养 4h, 弃掉含有过氧化氢的培养基后, 加入正常完全培养基孵育; 不同 GOP 剂量组将生长贴壁后的细胞用含有 200μmol/L 过氧化氢+25、50、100μg/mL GOP 的完全培养基培养 4h, 弃掉含有过氧化氢的培养基后, 加入含有 25、50、100μg/mL GOP 的完全培养基培养 24h。

4. 检测指标

4.1 细胞周期检测

将细胞培养于 6 孔细胞培养板, 根据实验要求处理不同组别后, 用胰酶消化细胞, 1000r/5min 离心弃上清, 冰浴预冷 PBS 洗涤细胞两次, 收集 1~5×10⁵ 细胞; 加入 1ml 冰浴预冷 70%乙醇将细胞吹打混匀, 4℃固定过夜; 1000r/5min 离心弃上清, 冰浴预冷 PBS 洗涤细胞两次, 加入 500μl 碘化丙啶染色液重悬细胞;

(二) 实验结果

1. GOP 对衰老血管内皮细胞活力的影响

与正常对照组比较, 衰老内皮细胞活力显著降低 ($p<0.05$); 与模型对照组相比, GOP25 剂量组显著增强了衰老内皮细胞活力 ($p<0.05$) (图 1A)。

2. GOP 对衰老血管内皮细胞周期的影响

与正常对照组比较, 衰老内皮细胞发生 G1 期阻滞, S 期细胞比例显著减少 ($p<0.05$); 与模型对照组相比, GOP 显著降低了衰老内皮细胞 G1 期阻滞, 并显著增加了 S 期细胞比例 ($p<0.05$) (图 1B)。

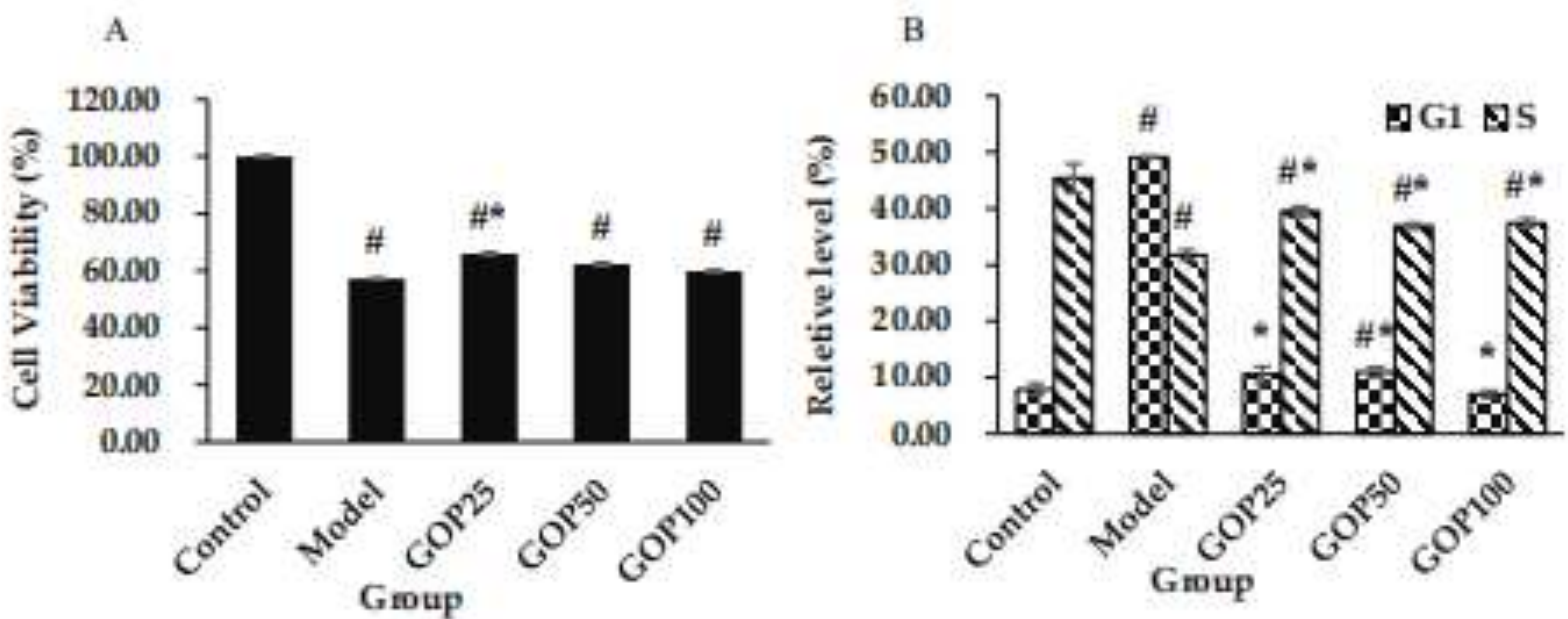


图1 GOP 延缓血管内皮细胞衰老。A: GOP 对衰老血管内皮细胞活力的影响; B: GOP 对衰老血管内皮细胞周期的影响。

》 人参肽对衰老血管内皮细胞线粒体损伤的影响

4. GOP 对衰老血管内皮细胞线粒体损伤的影响

与正常对照组比较，衰老内皮细胞线粒体膜电位显著降低 ($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP 显著增强了衰老血管内皮细胞线粒体膜电位 ($p<0.05$) (图 3A)。

与正常对照组比较，衰老内皮细胞 ATP 产生能力有降低趋势，差异无显著性 ($p>0.05$)；与模型对照组相比，GOP 各剂量组显著增加了衰老血管内皮细胞 ATP 产生能力 ($p<0.05$) (图 3B)。

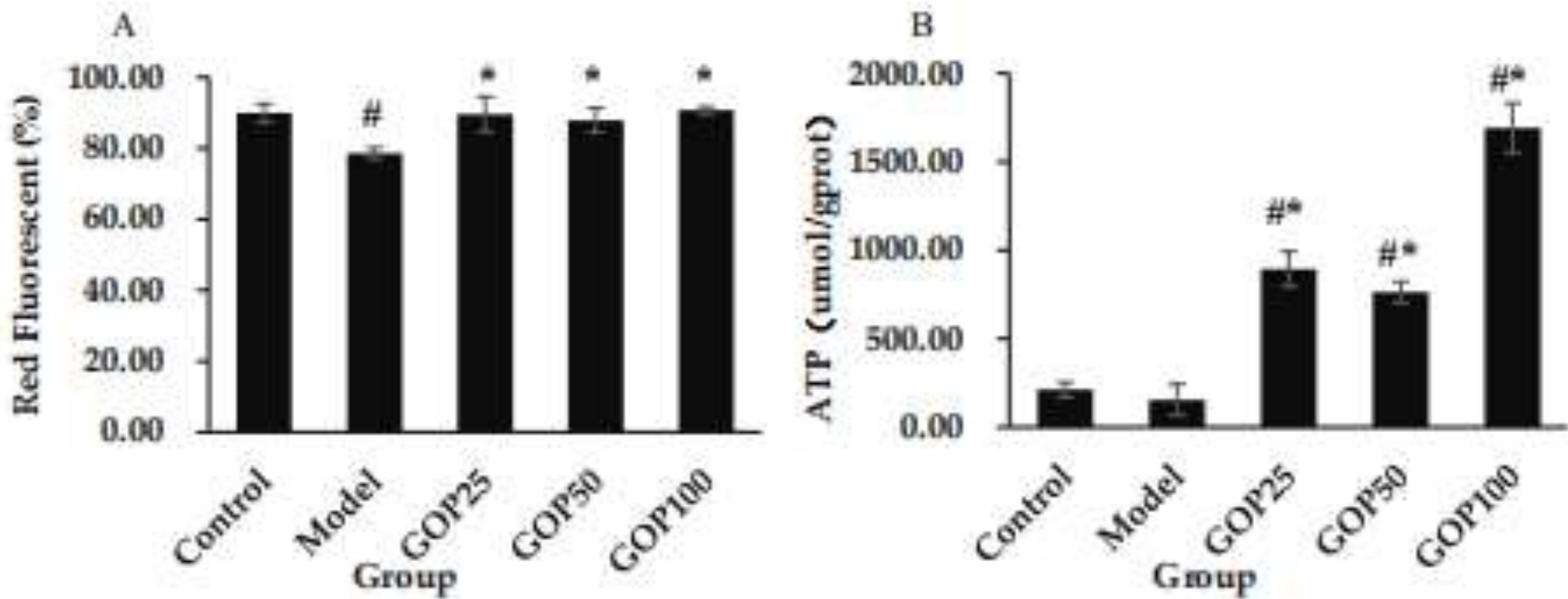


图3 GOP 对衰老内皮细胞线粒体损伤的影响。A：GOP 对衰老血管内皮细胞线粒体膜电位的影响；B：GOP 对衰老血管内皮细胞 ATP 产生能力的影响。

7. GOP 对衰老血管内皮细胞 eNOS 水平的影响

与正常对照组比较，衰老血管内皮细胞 eNOS 显著降低 ($p<0.05$)；与模型对照组相比，GOP50 剂量组显著增强了衰老血管内皮细胞 eNOS 水平 ($p<0.05$) (图 6A)。

8. GOP 对衰老血管内皮细胞端粒酶活性的影响

本实验衰老血管内皮细胞模型未影响端粒酶活性 ($p>0.05$)，GOP50 和 GOP100 剂量组显著增强了端粒酶活性 ($p<0.05$) (图 6B)。

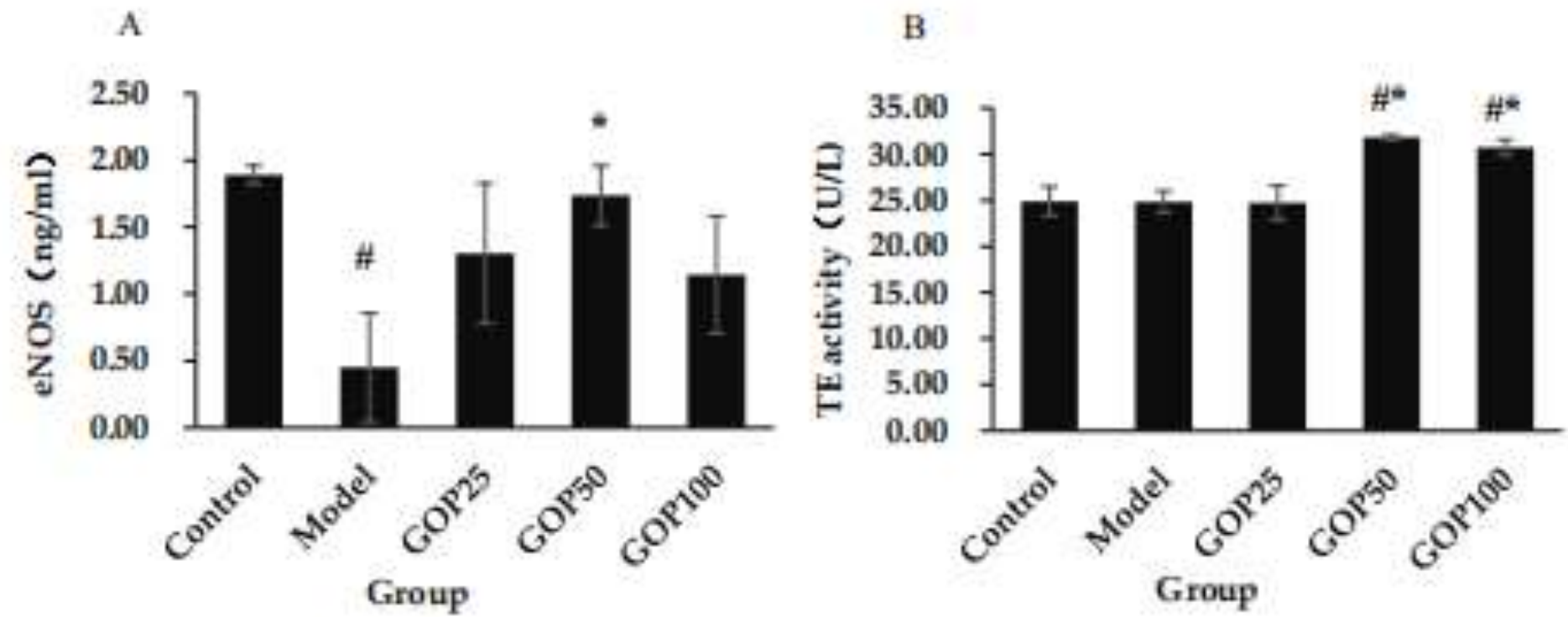


图6 GOP 对衰老血管内皮细胞 eNOS 和端粒酶活性的影响。A：GOP 对衰老血管内皮细胞 eNOS 水平的影响；B：GOP 对衰老血管内皮细胞端粒酶活性的影响。

(三)

美国哈佛大学医学院科研成果



美国生物肽研究院



美国生物肽研究院院长 何丽霞 博士后

哈佛大学医学院 博士后研究员

曾在重要学术期刊上发表:

《吉林人参低聚肽的免疫调节作用》

《海参寡肽：免疫调节作用及机制研究》

并参与编纂《人参寡肽与免疫抑制》等书籍



Article

Combined Effects of Oligopeptides Isolated from *Panax ginseng* C.A. Meyer and *Ostrea gigas* Thunberg on Sexual Function in Male Mice

Di Li¹, Jinwei Ren², Lixia He³, Jingqin Sun², Peng Liu¹ and Yong Li^{2*}

¹ Department of Clinical Nutrition, Peking University People's Hospital, Beijing 100044, China; lidipku@bjmu.edu.cn (D.L.); liupengku@bjmu.edu.cn (P.L.)

² Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China; 0062046170@bjmu.edu.cn (J.R.); sunjingjin@ihcams.ac.cn (J.S.)

³ Division of Molecular and Cellular Oncology, Harvard Medical School, Boston, MA 02215, USA;

libia_ho@dfci.harvard.edu

Abstract: Male sexual debility affects patients' confidence and damages the relationship between the couples and thus affects the stability of the family. This study aimed to investigate the effects of oligopeptides isolated from ginseng and oyster (GOPs and OOPs), separately and in combination, on sexual function in male mice. In the first experiment, male mice were randomly divided into five groups: vehicle control group; whey protein (125.0 mg kg⁻¹ group); and GOPs 62.5, 125.0, and 250.0 mg kg⁻¹ groups. In the second experiment, male mice were randomly divided into five groups: vehicle control group, whey protein (160.0 mg kg⁻¹) group, and OOPs 80.0, 160.0, and 320.0 mg kg⁻¹ groups. In the third experiment, male mice were randomly divided into six groups: vehicle control group, whey protein (222.5 mg kg⁻¹) group, and GOPs + OOPs 62.5 + 160.0, 62.5 + 320.0, and 125.0 + 160.0, 125.0 + 320.0 mg kg⁻¹ groups. Test substances were given by gavage once a day for 30 days. The sexual behavior parameters, serum nitric oxide (NO), testosterone, cyclic guanosine monophosphate (cGMP), and phosphodiesterase-5 (PDE5) concentrations were detected. We found that GOPs at 250.0 mg kg⁻¹ improved male sexual behavior, NO, and testosterone content, whereas GOPs at 62.5 and 125.0 mg kg⁻¹ and OOPs at 80.0, 160, and 320 mg kg⁻¹ did not have significant effects. The combination of 62.5 mg kg⁻¹ GOPs + 160.0 mg kg⁻¹ OOPs and the combination of 125.0 mg kg⁻¹ GOPs + 320.0 mg kg⁻¹ OOPs improved male sexual behavior, serum NO, testosterone, and cGMP contents and decreased PDE5 content. The combination of 62.5 mg kg⁻¹ GOPs and 160.0 mg kg⁻¹ OOPs had the best effects among four combined groups. These results suggested that GOPs in combination with OOPs had the synergistic effects of enhancing male sexual function, probably via elevating serum testosterone, NO, and corpus cavernosum cGMP level and decreasing the corpus cavernosum PDE5 level. GOPs and OOPs could be novel natural agents for improving male sexual function.

Keywords: ginseng; oyster; oligopeptide; sexual; male

1. Introduction

Male sexual debility is caused by the degenerative diseases in testicles. Male sexual debility is diagnosed when the general level of blood testosterone is below $3 \mu\text{g L}^{-1}$ [1]. With the quickening pace of modern life, the fierce competition of society, drug abuse, speedy increase of the aged population, and a variety of other reasons, the morbidity of male sexual debility is increasing steadily. Although this disease does not endanger the patient's life, it can seriously lower the quality of life of the patients, affect the patients' confidence, and damage the relationship between couples and thus affect the stability of

Citation: Li, D.; Ren, J.; He, L.; Sun, J.; Liu, P.; Li, Y. Combined Effects of Oligopeptides Isolated from *Parazigocera* C. A. Meyer and *Ostrea gigas* Thunberg on Sexual Function in Male Mice. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2021, 18, 2349. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052349>

Academic Editor: Paul R. Tchounwou

Received: 8 February 2021
Accepted: 24 February 2021
Published: 28 February 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Int. J. Environ. Res. Public Health 2021, 18, 2349. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052349>www.mdpi.com/journal/jerph

[View Article Online](#)
[View Journal](#)

Ginseng (*Panax ginseng* Meyer) oligopeptides regulate innate and adaptive immune responses in mice *via* increased macrophage phagocytosis capacity, NK cell activity and Th cells secretion

Li-Xia He,^{a,b,c} Jin-Wei Ren,^{a,b} Rui Liu,^{a,b} Qi-He Chen,^{a,b} Jian Zhao,^d Xin Wu,^{a,b}
Zhao-Feng Zhang,^{a,b} Jun-Bo Wang,^{a,b} Giuseppe Pettinato^c and Yong Li[✉]^{a,b}

Traditionally used as a restorative medicine, ginseng (*Panax ginseng* Meyer) has been the most widely used and acclaimed herb in Chinese communities for thousands of years. To investigate the immunemodulating activity of ginseng oligopeptides (GOP), 420 healthy female BALB/c mice were intragastrically administered distilled water (control), whey protein (10.5 g per kg body weight (BW)), and GOP 0.0375, 0.075, 0.15, 0.3 and 0.6 g per kg BW for 30 days. Blood samples from mice were collected from the ophthalmic venous plexus and then sacrificed by cervical dislocation. Seven assays were conducted to determine the immunomodulatory effects of GOP on innate and adaptive immune responses, followed by flow cytometry to investigate spleen T lymphocyte sub-populations, multiplex sandwich immunoassays to investigate serum cytokine and immunoglobulin levels, and ELISA to investigate intestinally secreted immunoglobulin to study the mechanism of GOP affecting the immune system. Our results showed that GOP was able to enhance innate and adaptive immune responses in mice by improving cell-mediated and humoral immunity, macrophage phagocytosis capacity and NK cell activity. Notably, the use of GOP revealed a better immune-modulating activity compared to whey protein. We conclude that the immune-modulating activity might be due to the increased macrophage phagocytosis capacity and NK cell activity, and the enhancement of T and Th cells, as well as IL-2, IL-6 and IL-12 secretion and IgA, IgG1 and IgG2b production. These results indicate that GOP could be considered a good candidate that may improve immune functions if used as a dietary supplement, with a dosage that ranges from 0.3 to 0.6 g per kg BW.

ne system has been associated with environmental factors and stress, more vulnerable to infections. It has become a widely applied and the immune system, including the responses, and to ameliorate the diseases. With low molecular

weight and being easily absorbable and digestible, food-derived bioactive peptides, as specific protein fragments and acting as sources of nitrogen and amino acids as well, have numerous potential physiological functions, which include antimicrobial, antioxidant, cholesterol-lowering, cyto- or immunomodulatory activities.¹⁻³ Furthermore, most peptides exhibit multifunctional properties.⁴ As result, many food-derived bioactive peptides are receiving increasing attention in the fields of therapeutics and nutritional interventions.

For thousands of years, ginseng (*Panax ginseng* C. A. Mey.) has been an acclaimed herb used traditionally as a restorative medicine in Chinese communities, and its medical applications were officially recorded in the "Compendium of Materia Medica (Bencao Gangmu)" in 1758.⁵ In recent years, some countries, such as America, Canada and Japan, have been considering ginseng as a food, while in some countries, especially Korea, it is sold as a food. Since 2002, the Ministry of Health in China has included ginseng in the "Further Regulating Health Care Product Raw Materials Management

Department of Public Health,
Jiangsu University,
Zhenjiang 212013, China
E-mail: jiangsu@163.com
177
Research and Risk Assessment for Road
Noise
Jiangsu Medical Center,
Nanjing 210005, China
Jiangsu University, Nanjing 210005,

ernistry 2017

Food Funct.

》》 GOPs和OOPs联合应用对雄性小鼠NO和睾酮含量的影响

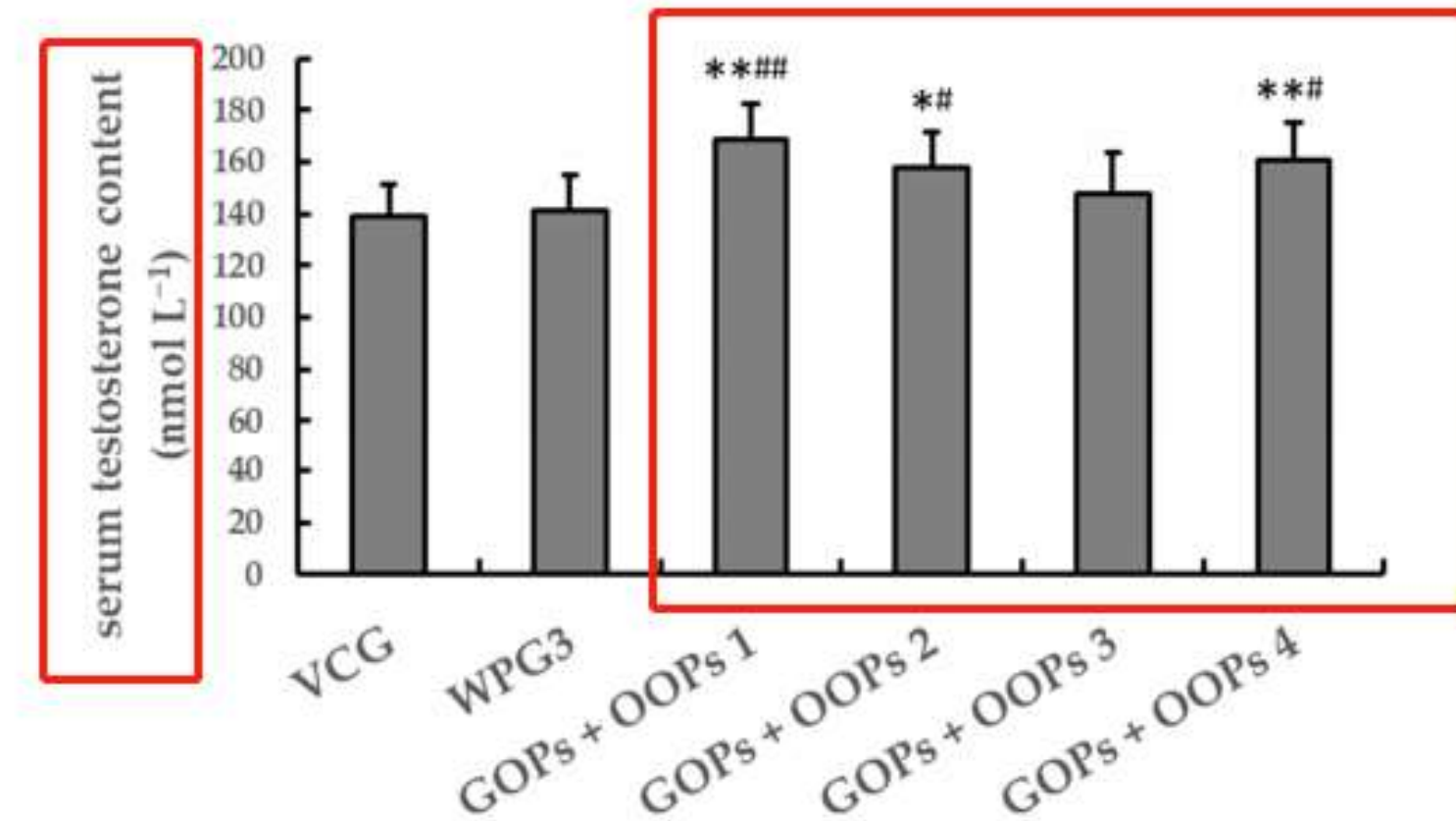
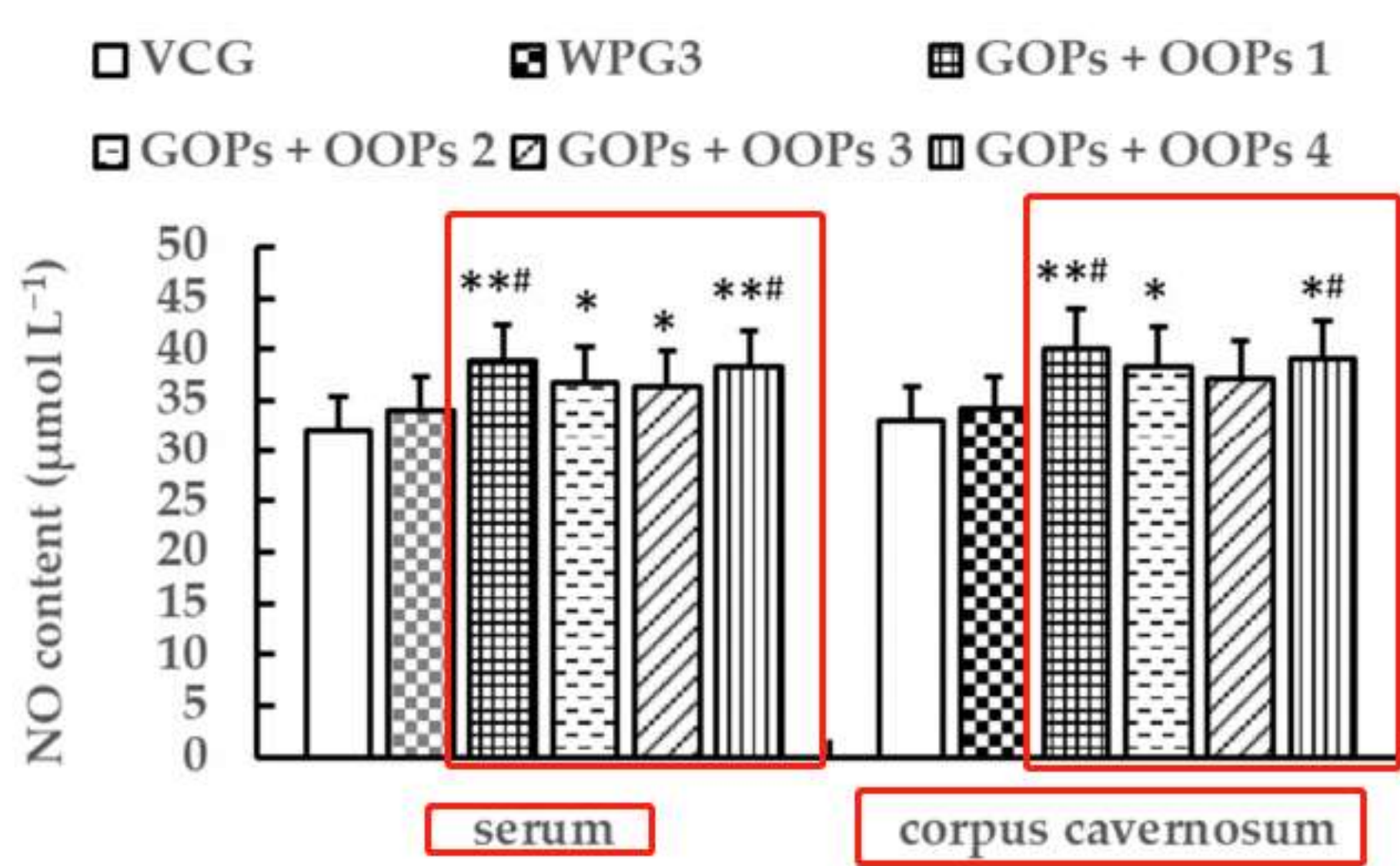
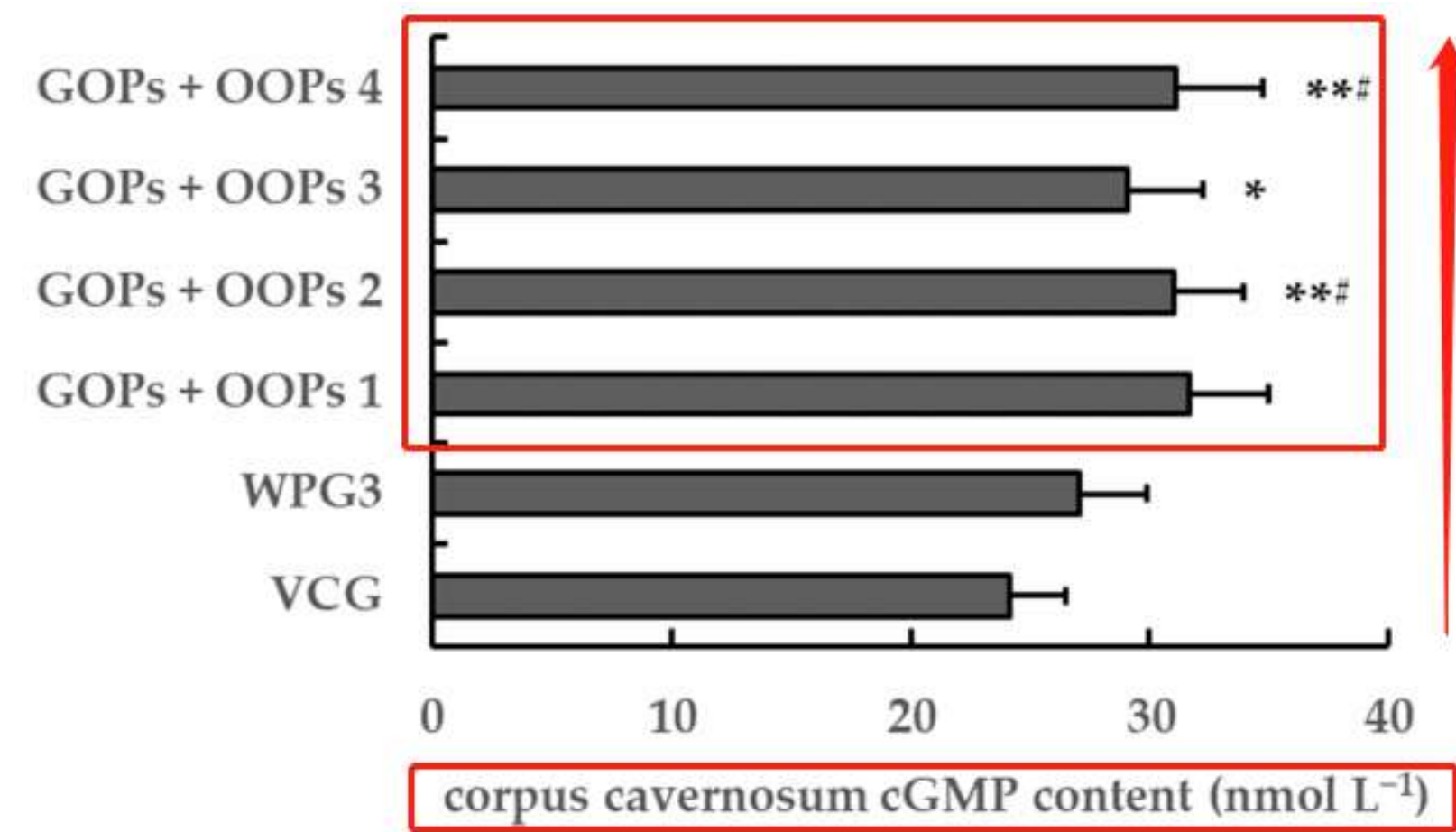


Figure 9. Combined effects of GOPs and OOPs on NO and testosterone content in male mice. Data are presented as means \pm SD ($n = 10$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus VCG; # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ versus WPG3. VCG, vehicle control group; WPG3, whey protein 222.5 mg kg⁻¹; GOPs + OOPs 1, 62.5 + 160.0 mg kg⁻¹; GOPs + OOPs 2, 62.5 + 320.0 mg kg⁻¹; GOPs + OOPs 3, 125.0 + 160.0 mg kg⁻¹; GOPs + OOPs 4, 125.0 + 320.0 mg kg⁻¹.

After 30 days of treatment, the testosterone and NO contents showed no significant differences between VCG and WPG3 ($p > 0.05$, Figure 9). The serum testosterone content of mice in GOPs + OOPs 1, GOPs + OOPs 2, and GOPs + OOPs 4 was higher than that in VCG and WPG3 ($p < 0.05$). The serum and corpus cavernosum NO contents of mice in GOPs + OOPs 1 and GOPs + OOPs 4 were higher than those in VCG and WPG3 ($p < 0.05$). The NO content in GOPs + OOPs 2 and GOPs + OOPs 3 increased in serum in comparison with VCG ($p < 0.05$), and increased corpus cavernosum NO content was found in GOPs + OOPs 3 when compared to VCG ($p < 0.05$).

We also found that GOPs and OOPs had no interaction effects on serum and corpus cavernosum NO contents ($p = 0.134$, $p = 0.298$) but had significant interaction effects on serum testosterone content ($p = 0.049$). As shown in Table 5, GOPs had significant simple effects on serum testosterone content when the dose of OOPs was 160 mg kg⁻¹ ($p = 0.016$) but had no significant simple effects when the dose of OOPs was 320 mg kg⁻¹ ($p = 0.739$). In addition, OOPs had no significant simple effects on serum testosterone content when the dose of GOPs was 62.5 mg kg⁻¹ ($p = 0.189$) or 125.0 mg kg⁻¹ ($p = 0.127$) (Table 6).

》》 GOPs和OOPs联合作用对雄性小鼠海绵体cGMP和PDE5含量的影响



No significant differences were found in the corpus cavernosum cGMP and PDE5 content between VCG and WPG3 after 30 days of treatment ($p > 0.05$, Figure 10). However, the corpus cavernosum cGMP content in GOPs + OOPs 1, GOPs + OOPs 2, and GOPs + OOPs 4 was higher than that in VCG and WPG3 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) and increased corpus cavernosum cGMP content was found in GOPs + OOPs 3 in comparison with VCG ($p < 0.05$). Additionally, the corpus cavernosum PDE5 content in GOPs + OOPs 1 and GOPs + OOPs 4 was significantly lower than that in VCG and WPG3 ($p < 0.01$, $p < 0.05$) and it was decreased significantly in GOPs + OOPs 2 compared with VCG ($p < 0.05$).

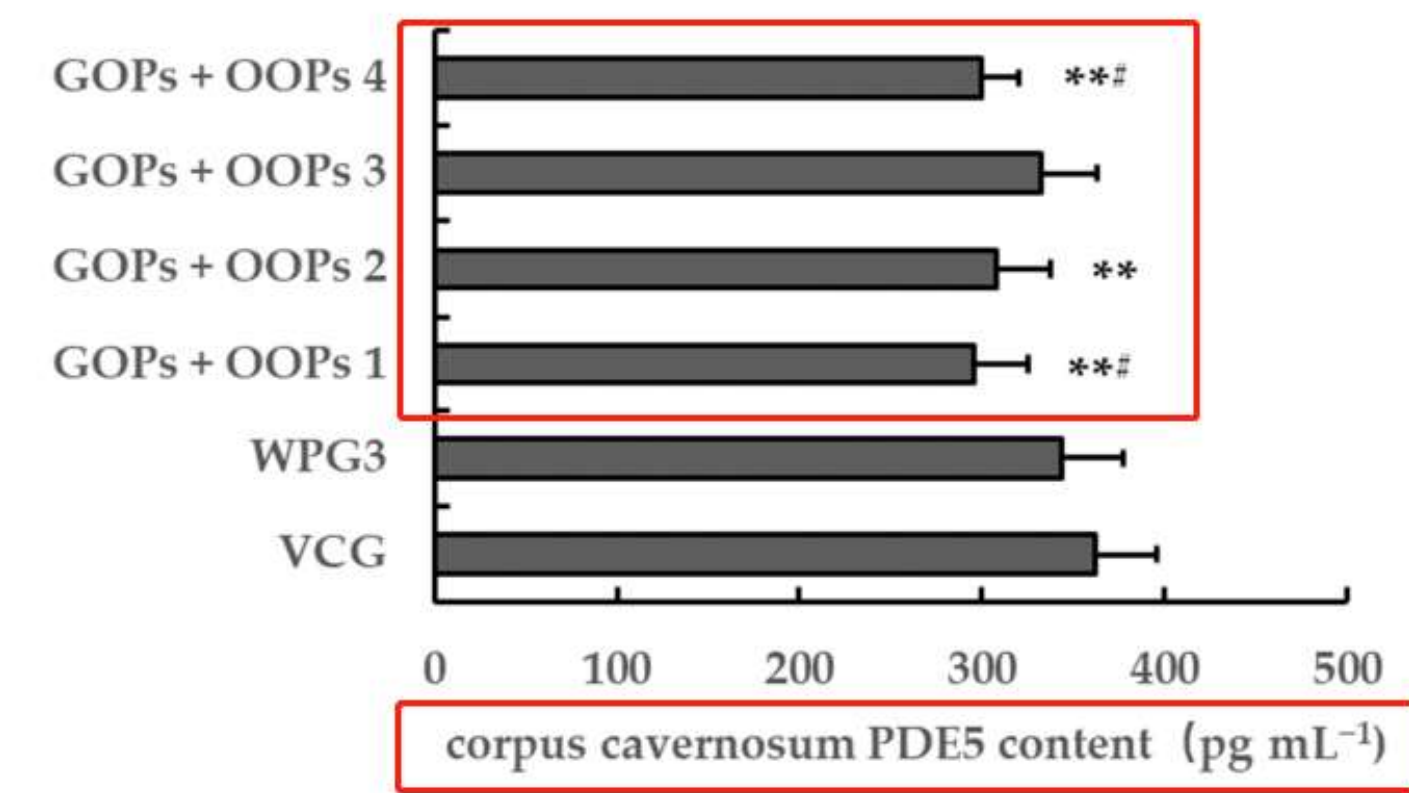


Figure 10. Combined effects of GOPs and OOPs on corpus cavernosum cGMP and PDE5 content in male mice. Data are presented as means \pm SD ($n = 10$). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus VCG; # $p < 0.05$ versus WPG3. VCG, vehicle control group; WPG3, whey protein 222.5 mg kg⁻¹; GOPs + OOPs 1, 62.5 + 160.0 mg kg⁻¹; GOPs + OOPs 2, 62.5 + 320.0 mg kg⁻¹; GOPs + OOPs 3, 125.0 + 160.0 mg kg⁻¹; GOPs + OOPs 4, 125.0 + 320.0 mg kg⁻¹.

(四)

《联合北大国际医院开展牛骨肽临床实验》



一、动物实验

牛骨胶原低聚肽对小鼠术后
伤口愈合的干预效果



牛骨胶原低聚肽对皮肤切口模型小鼠皮肤抗张力强度的影响

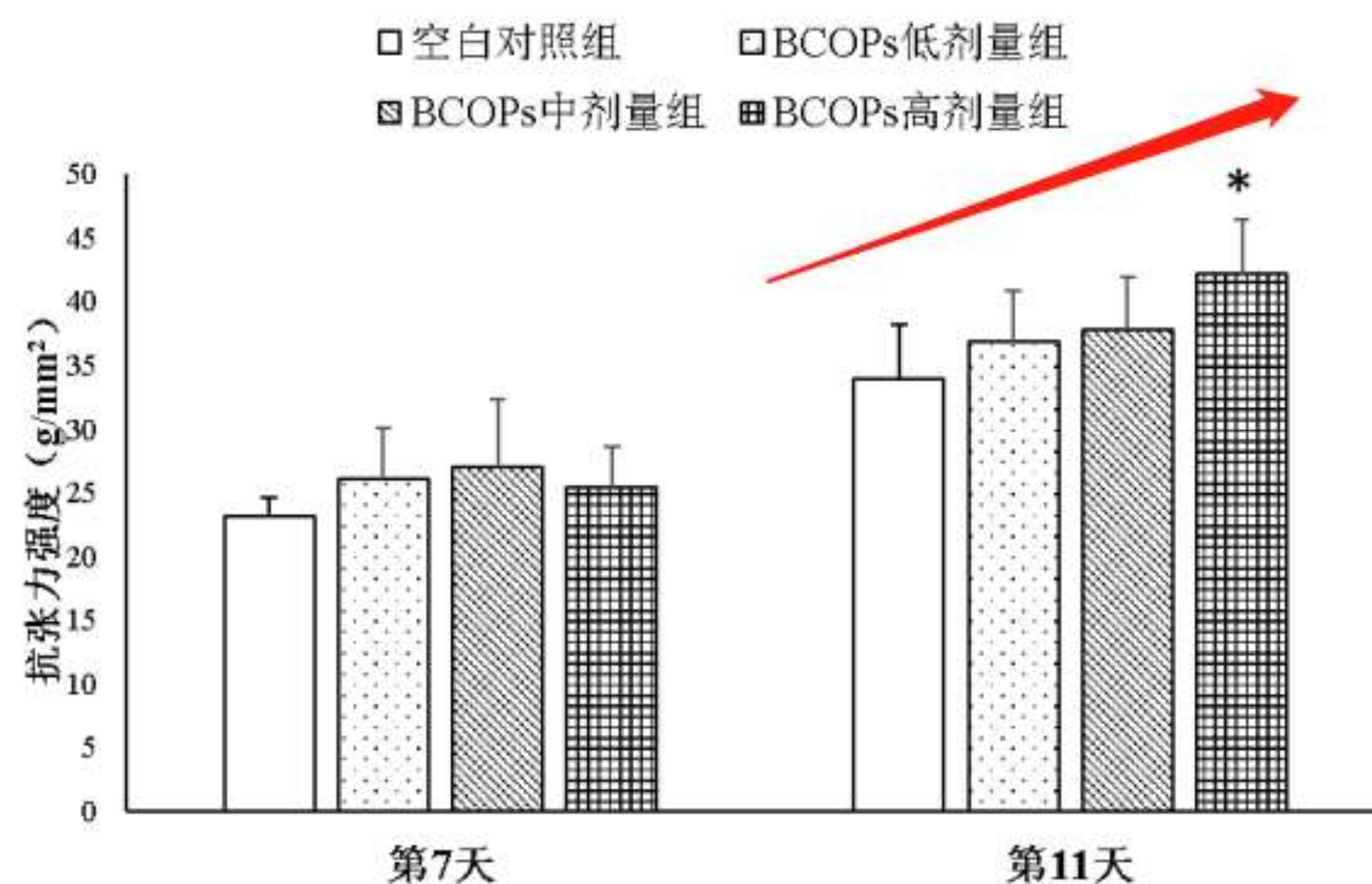


图1 牛骨胶原低聚肽对各组小鼠皮肤抗张力强度的影响

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$

如图1所示，

在术后第7天，BCOPs各剂量组小鼠皮肤抗张力强度均高于空白对照组，但结果无统计学差异

（ $p>0.05$ ）；而在术后第11天，BCOPs各剂量组小鼠抗张力强度均高于对照组，其中高剂量组与空白对照组相比，抗张力强度结果具有统计学差异（ $p<0.05$ ）。

此结果提示BCOPs可以有效促进小鼠术后伤口愈合，其中高剂量组效果最明显。

牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型小鼠伤口愈合的影响

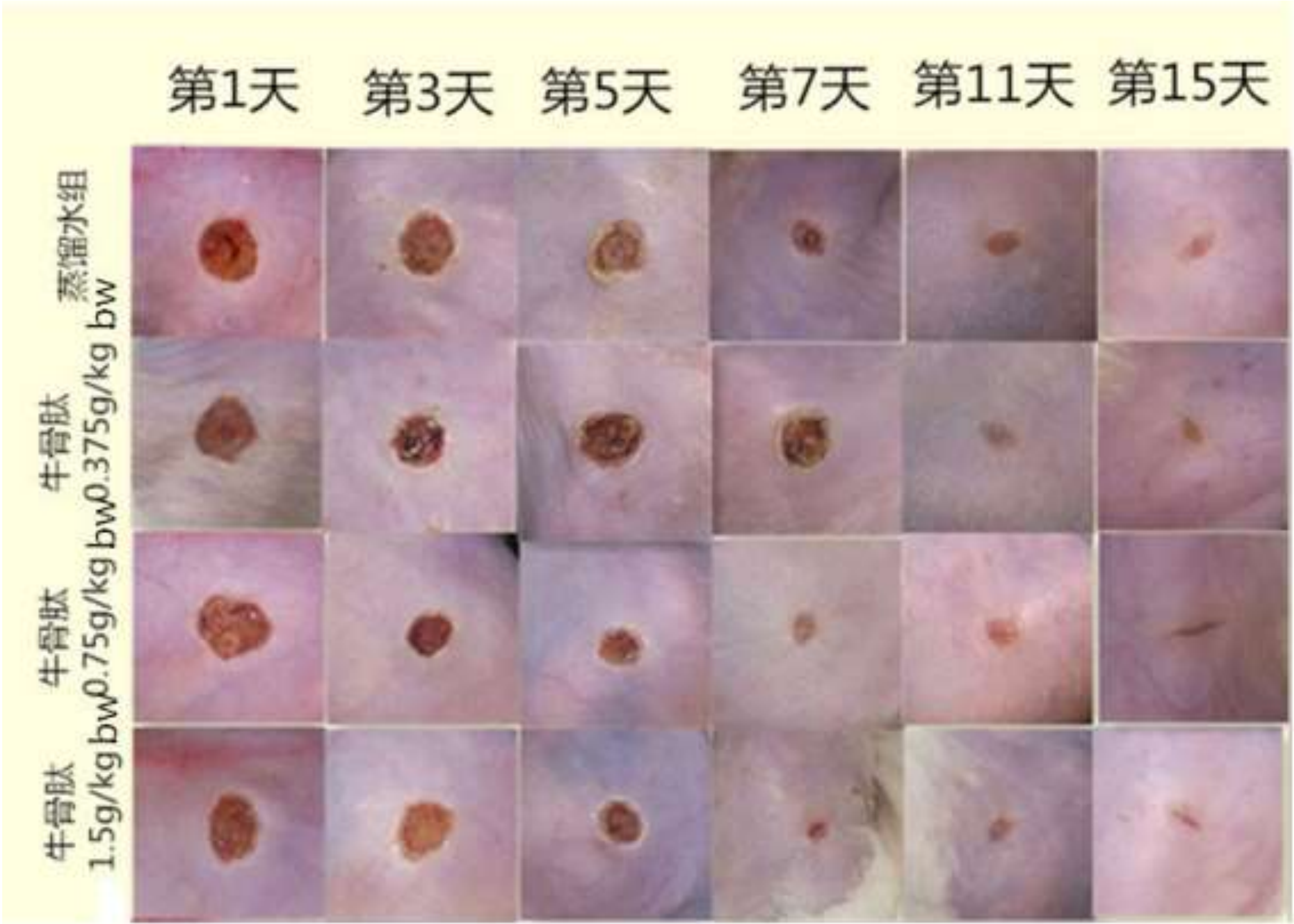


图 2 皮肤打孔手术模型伤口愈合肉眼观察

表 1 皮肤打孔手术模型小鼠术后不同时间点伤口剩余面积 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	伤口剩余面积 (mm^2)					
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天	第 11 天	第 15 天
空白对照组	10.44±1.13	8.20±1.28	5.42±0.87	4.65±1.10	1.88±0.16	1.56±0.33
BCOPs (0.375)	10.09±2.76	6.23±1.65*	5.35±1.35	1.90±0.46*	1.82±0.20	1.24±0.25*
BCOPs (0.75)	10.39±1.74	6.54±1.26*	4.70±1.00	2.14±0.43*	1.78±0.13	1.27±0.35*
BCOPs (1.5)	10.98±1.48	5.89±1.14*	5.37±1.43	2.21±0.27*	1.52±0.24	1.02±0.16*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$

实验过程中各组小鼠伤口愈合良好，未出现红肿、积血、积液等不良反应，伤口愈合的平均时间为16 d。肉眼观察结果由摄像机记录，如图2所示，可明显看出伤口愈合良好，BCOPs低剂量组出现痂下愈合方式，BCOPs高剂量组伤口愈合速度快于其他各组。同时，我们对皮肤打孔手术模型小鼠的伤口剩余面积进行了测量，结果如表3所示。在第5和第11天牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠伤口剩余面积均小于对照组，但差异没有统计学意义 ($p>0.05$)。而在第3、7和15天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠伤口剩余面积均小于对照组，且差异具有统计学意义 ($p<0.05$)，提示牛骨胶原低聚肽可以引起胶原纤维活跃，对于伤口愈合具有促进作用。

组织病理学观察 皮肤切口手术模型HE染色结果

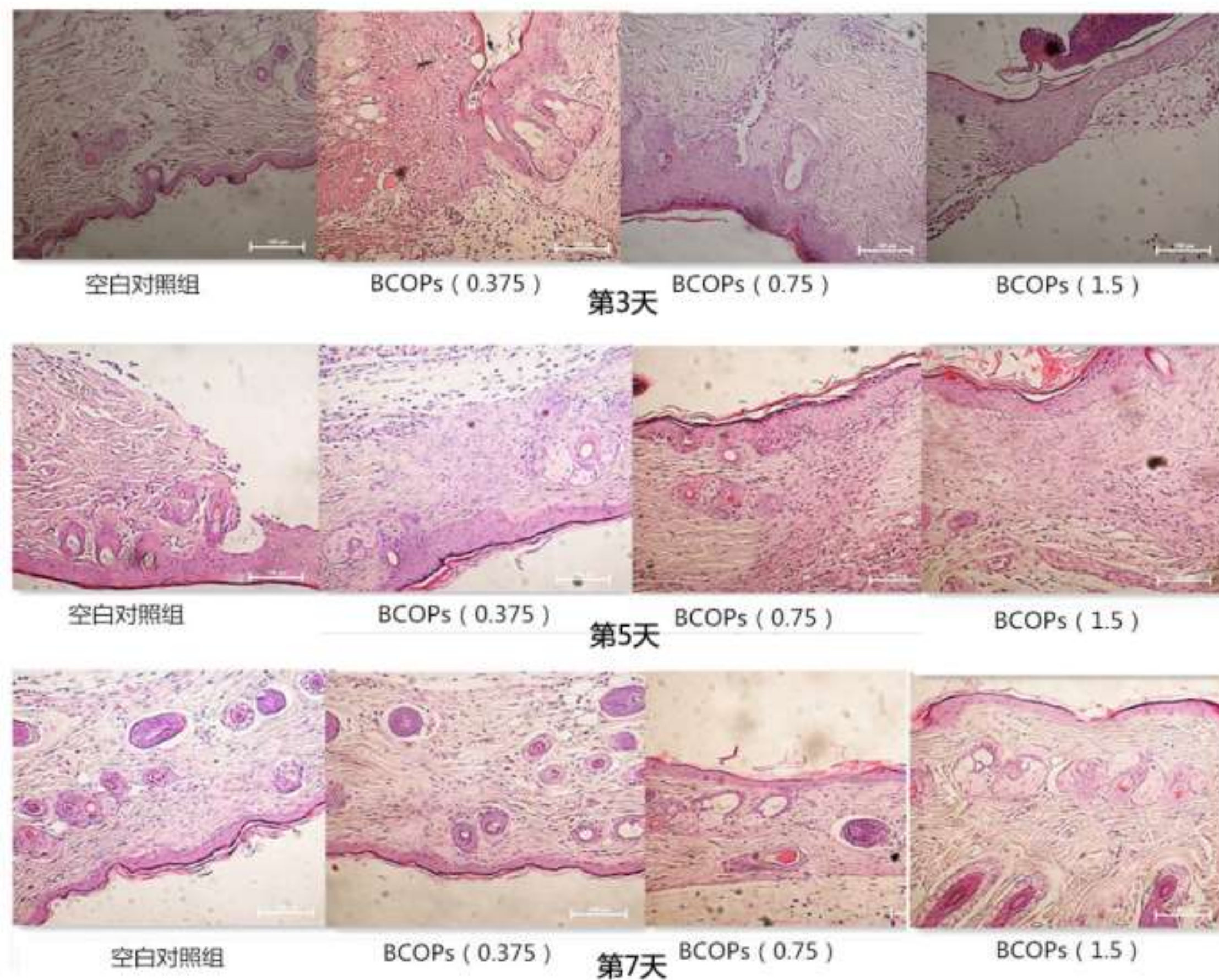


图3 皮肤切口手术模型小鼠皮肤组织第3、7和11天组织形态 (HE染色, 200×)

图3为皮肤切口手术模型小鼠在术后3天、7天和11天时的HE染色结果。

第3天，镜下可见空白对照组表皮连接，真皮层断裂，依稀可见炎性细胞；剂量组表皮连接，且表皮层厚度较对照组高，伤口处可见炎性细胞浸润，BCOPs低和高剂量组可见真皮层连接。

第7天，空白对照组表皮层增厚，真皮层断裂，而各剂量组真皮层均已连接，BCOPs低和中剂量组可见炎性细胞浸润，BCOPs高剂量组可见纤维母细胞分化增生，胶原排列不整齐。

第11天，空白对照组表皮层与真皮层均已连接，镜下可见纤维母细胞和毛细血管，BCOPs低和中剂量组可见毛囊等附属器官，胶原、排列趋于整齐，BCOPs高剂量组愈合良好，伤口处与正常组织相差不大。

组织病理学观察 皮肤打孔手术模型HE染色结果

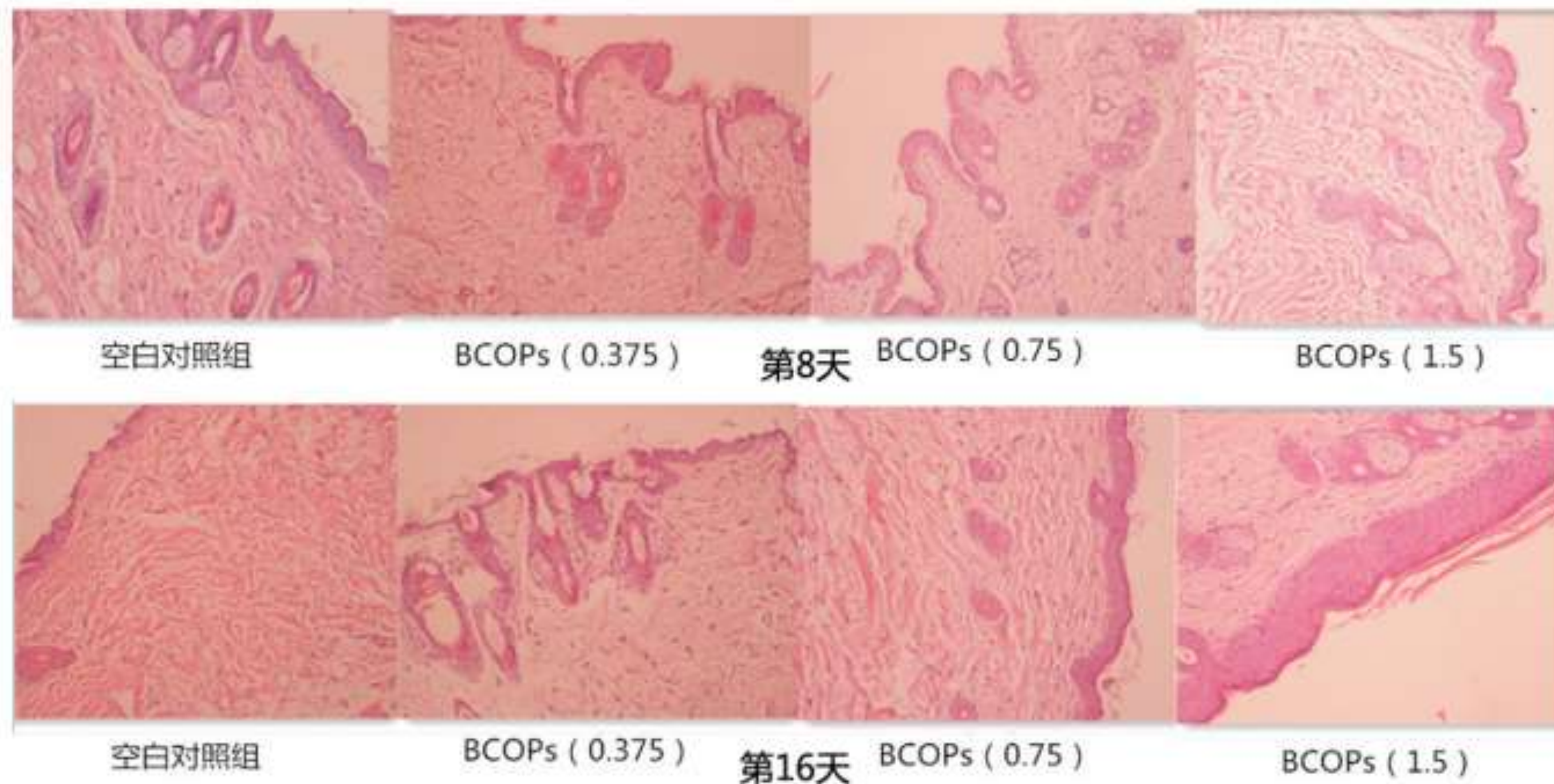


图 4 皮肤打孔手术模型小鼠皮肤组织第 8 和 16 天组织形态 (HE 染色, 200×)

第8天，空白对照组伤口上皮化较差，皮肤表皮层断裂不连续，同时纤维母细胞增生较少，血管数量较少；BCOPs低剂量组皮肤表皮连续，表皮层增厚，纤维母细胞数量增多；BCOPs中剂量组镜下可见纤维母细胞分化，胞浆较少，核变长，血管较多；BCOPs高剂量组镜下可见基底细胞紧密排列，真皮层胶原纤维趋于整齐。

第16天，空白对照组表皮层较薄但是连续，镜下可见纤维母细胞，肌肉组织排列紊乱；BCOPs低剂量组可见纤维母细胞分化，表皮层并不连续；BCOPs中和高剂量组可见上皮化良好，表皮层较厚，散在有血管生成，真皮层组织整齐有序排列。

»

牛骨胶原低聚肽对小鼠术后营养状况的影响

牛骨胶原低聚肽对皮肤切口手术模型小鼠血清中ALB和PA浓度的影响

表 2 牛骨胶原低聚肽对各组小鼠血清 ALB 浓度的影响 ($\bar{X} \pm s$, n=8)

组别	血清 ALB 浓度 ($\mu\text{g/L}$)		
	第 3 天	第 7 天	第 11 天
空白对照组	267.96±21.46	275.15±35.98	279.89±45.88
BCOPs 低剂量组	510.24±39.43*	371.56±50.74*	381.95±56.89*
BCOPs 中剂量组	389.65±32.79*	376.91±43.89*	393.46±35.59*
BCOPs 高剂量组	356.56±61.32	439.56±35.32*	458.89±38.56*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

表 3 牛骨胶原低聚肽对各组小鼠血清 PA 浓度的影响 ($\bar{X} \pm s$, n=8)

组别	血清 PA 浓度($\mu\text{g/mL}$)		
	第 3 天	第 7 天	第 11 天
空白对照组	31.36±2.57	35.07±4.35	20.56±3.32
BCOPs 低剂量组	45.93±2.08*	37.97±3.55	26.54±3.56*
BCOPs 中剂量组	46.69±3.44*	41.01±3.26*	28.49±3.49*
BCOPs 高剂量组	41.11±3.07*	45.07±3.59*	39.96±3.95*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

如表2和表3所示

术后第3天，BCOPs低剂量和中剂量组小鼠血清中ALB浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)，各剂量组小鼠血清PA浓度均明显高于空白对照组 ($p<0.05$)；

术后第7天，BCOPs各剂量组小鼠血清ALB浓度明显高于空白对照组 ($p<0.05$)，中剂量和高剂量组小鼠血清中PA浓度明显高于空白对照组 ($p<0.05$)；

术后第11天，BCOPs各剂量组小鼠血清中ALB和PA浓度均明显高于空白对照组 ($p<0.05$)。

» 牛骨胶原低聚肽对小鼠术后营养状况的影响

牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型小鼠血清中ALB和PA浓度的影响

表 4 牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型各组小鼠血清 ALB 浓度的影响（ $\bar{X} \pm s$ ，n=8）

组别	血清 ALB 浓度（ $\mu\text{g/L}$ ）		
	第 4 天	第 8 天	第 12 天
空白对照组	266.45±32.69	215.66±32.25	214.72±38.30
BCOPs 低剂量组	315.76±32.75	289.75±37.20*	358.30±43.45*
BCOPs 中剂量组	351.73±25.43*	345.52±31.36*	381.85±32.90*
BCOPs 高剂量组	372.35±21.89*	373.90±30.95*	445.32±55.51*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

表 5 牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型各组小鼠血清 PA 浓度的影响（ $\bar{X} \pm s$ ，n=8）

组别	血清 PA 浓度($\mu\text{g/mL}$)		
	第 4 天	第 8 天	第 12 天
空白对照组	17.86±3.11	16.36±3.09	22.75±2.75
BCOPs 低剂量组	21.85±2.91*	23.75±3.21*	25.99±2.56
BCOPs 中剂量组	26.75±2.23*	28.50±3.74*	27.76±3.22*
BCOPs 高剂量组	31.42±2.19*	32.45±3.35*	35.11±3.75*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

如表4和表5所示

术后第4天，BCOPs中剂量和高剂量组小鼠血清中ALB浓度均明显高于对照组（ $p<0.05$ ），各剂量组小鼠血清PA浓度均明显高于空白对照组（ $p<0.05$ ）；

术后第8天，BCOPs各剂量组小鼠血清ALB浓度明显高于空白对照组（ $p<0.05$ ），各剂量组小鼠血清中PA浓度明显高于空白对照组（ $p<0.05$ ）；

术后第12天，BCOPs各剂量组小鼠血清中ALB浓度均明显高于空白对照组（ $p<0.05$ ），BCOPs中剂量和高剂量组小鼠血清中PA浓度均明显高于对照组（ $p<0.05$ ）。

>> 牛骨胶原低聚肽对小鼠术后炎症相关指标的影响

牛骨胶原低聚肽对皮肤切口手术模型小鼠血清IL-8、IL-10的影响

表 6 牛骨胶原低聚肽对皮肤切口手术模型小鼠血清 IL-8 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	血清 IL-8 浓度 (pg/mL)		
	第 3 天	第 7 天	第 11 天
空白对照组	90.90±9.57	84.41±11.42	114.61±7.54
BCOPs 低剂量组	55.61±9.74*	51.99±11.40*	96.08±10.59*
BCOPs 中剂量组	79.24±10.19	112.01±9.87*	81.77±9.29*
BCOPs 高剂量组	102.91±9.09	110.29±7.86*	93.27±10.12*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

表 7 牛骨胶原低聚肽对各组小鼠血清 IL-10 浓度的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	血清 IL-10 浓度(pg/mL)		
	术后第 3 天	术后第 7 天	术后第 11 天
空白对照组	510.57±70.12	534.89±85.45	498.87±77.45
BCOPs 低剂量组	801.18±100.05*	634.56±84.56	510.89±65.35
BCOPs 中剂量组	827.89±115.49*	709.56±58.17*	565.45±74.45*
BCOPs 高剂量组	899.58±95.01*	733.89±84.45*	745.89±74.65*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

如表6所示

第3天，BCOPs低剂量组小鼠血清中IL-8浓度明显低于对照组 ($p<0.05$) ；

第7天，BCOPs低剂量组小鼠血清中IL-8浓度明显低于对照组 ($p<0.05$) ，BCOPs中剂量和高剂量组小鼠血清中IL-8浓度明显高于对照组 ($p<0.05$) ；

第11天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠血清中IL-8浓度均明显低于对照组 ($p<0.05$) 。

如表7所示

术后第3天，BCOPs各剂量组小鼠血清IL-10浓度明显高于空白对照组 ($p<0.05$) ；

术后第7天，BCOPs中剂量和高剂量组小鼠血清IL-10浓度明显高于空白对照组 ($p<0.05$) ；

术后第11天，BCOPs中剂量和高剂量组小鼠血清IL-10浓度明显高于空白对照组 ($p<0.05$) 。

»

牛骨胶原低聚肽对小鼠术后炎症相关指标的影响

牛骨胶原低聚肽对皮肤切口手术模型小鼠血清TNF-α的影响

表 8 牛骨胶原低聚肽对各组小鼠血清 TNF-α浓度的影响（ $\bar{X} \pm s$ ，n=8）

组别	血清 TNF-α浓度(ng/L)		
	术后第 3 天	术后第 7 天	术后第 11 天
空白对照组	488.48±43.82	624.89±68.92	612.15±64.75
BCOPs 低剂量组	410.56±77.64	520.45±74.13*	500.45±55.22*
BCOPs 中剂量组	490.56±43.71	455.89±60.98*	367.99±57.45*
BCOPs 高剂量组	471.48±77.54	516.12±65.45*	565.45±51.79

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

表8所示，

术后第3天，各剂量组TNF-α浓度与空白对照组相比无显著性差异（ $p>0.05$ ）；

术后第7天，各剂量组小鼠血清TNF-α浓度均明显低于空白对照组（ $p<0.05$ ）；

术后第11天，BCOPs低剂量和中剂量组小鼠血清TNF-α浓度均明显低于空白对照组（ $p<0.05$ ）。

»

牛骨胶原低聚肽对小鼠术后炎症相关指标的影响

牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型小鼠血清IL-8、IL-10的影响

表 9 牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型小鼠血清 IL-8 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	血清 IL-8 浓度(pg/mL)			
	第 4 天	第 8 天	第 12 天	第 16 天
空白对照组	50.16 ± 7.88	47.42 ± 6.39	59.77 ± 9.44	47.56 ± 8.49
BCOPs 低剂量组	75.27 ± 6.55*	81.87 ± 6.94*	54.42 ± 7.42	76.88 ± 9.27*
BCOPs 中剂量组	74.86 ± 10.90*	86.07 ± 4.70*	79.16 ± 6.66*	65.68 ± 11.75*
BCOPs 高剂量组	101.16 ± 6.82*	82.42 ± 8.05*	87.14 ± 8.60*	108.76 ± 8.86*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

表9所示：第4天，BCOPs各剂量组小鼠血清中IL-8浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)；第8天，BCOPs各剂量组小鼠血清中IL-8浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)；第12天，除了BCOPs低剂量组血清中IL-8浓度略低于对照组之外，其余各剂量组血清IL-8浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)；第16天，BCOPs各剂量组小鼠血清中IL-8浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)。

表 10 牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型小鼠血清 IL-10 的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	血清 IL-10 浓度(pg/mL)			
	第 4 天	第 8 天	第 12 天	第 16 天
空白对照组	467.06 ± 58.82	413.71 ± 72.52	368.09 ± 48.56	395.54 ± 50.09
BCOPs 低剂量组	605.52 ± 64.22*	553.12 ± 45.85*	419.84 ± 49.89*	569.15 ± 57.64*
BCOPs 中剂量组	734.99 ± 48.56*	569.36 ± 32.72*	514.99 ± 61.87*	488.09 ± 62.32*
BCOPs 高剂量组	761.16 ± 64.16*	559.42 ± 70.00*	560.72 ± 50.02*	532.57 ± 38.78*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

表10所示：第4天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠血清中IL-10浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)；第8天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠血清中IL-10浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)；第12天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠血清中IL-10浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)；第16天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠血清中IL-10浓度均明显高于对照组 ($p<0.05$)。

»

牛骨胶原低聚肽对小鼠术后炎症相关指标的影响

牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型小鼠血清TNF-α的影响

表 11 牛骨胶原低聚肽对皮肤打孔手术模型小鼠血清 TNF-α的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=8)

组别	血清 TNF-α浓度 (ng/L)			
	第 4 天	第 8 天	第 12 天	第 16 天
空白对照组	369.64±60.60	342.92±47.18	278.77±39.76	320.62±56.70
BCOPs 低剂量组	482.35±38.17*	407.86±45.52*	291.69±44.45	380.15±44.29*
BCOPs 中剂量组	453.33±56.60*	425.05±47.34*	411.37±24.24*	389.01±49.29*
BCOPs 高剂量组	563.44±59.38*	552.41±56.18	423.96±41.19*	519.25±43.99*

注：*表示与空白对照组相比有显著性差异， $p<0.05$ 。

表11所示：第4天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠血清TNF-α浓度均明显高于对照组（ $p<0.05$ ）；第8天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠血清TNF-α浓度均明显高于对照组（ $p<0.05$ ）；第12天，除BCOPs低剂量组血清TNF-α浓度略高于对照组之外，其余各牛骨胶原低聚肽剂量组血清TNF-α浓度均明显高于对照组（ $p<0.05$ ）；第16天，牛骨胶原低聚肽各剂量组小鼠血清TNF-α浓度均明显高于对照组（ $p<0.05$ ）。

二、人群实验

牛骨胶原低聚肽对消化道肿瘤患者 术后伤口愈合的干预效果



» 受试者基本情况

(1) 受试者基本情况

最终完成试验的常规对照组受试者 86 人，其中肝癌患者 51 人，肠癌 20 人，胃癌 14 人，食管癌 1 人；牛骨胶原低聚肽干预组 85 人，其中肝癌患者 51 人，肠癌 22 人，胃癌 11 人，食管癌 1 人。统计分析两组受试者性别、年龄、身高、体重、BMI、教育程度、吸烟饮酒情况及每日能量摄入情况均无统计学差异 ($p>0.05$)，因此两组受试者具有可比性。

» 两组受试者伤口愈合情况及住院天数评价

(2) 两组受试者伤口愈合情况及住院天数评价

实验过程中对两组受试者伤口愈合情况进行评价并记录愈合等级，愈合等级分为“甲、乙、丙”三个等级，其中对照组受试者甲级愈合人数 78 人，占比 90.70%；牛骨胶原低聚肽干预组受试者甲级愈合人数 82 人，占比 96.47%；牛骨胶原低聚肽干预组受试者甲级愈合人数显著高于常规对照组 ($p<0.05$)。对照组受试者住院天数为 21.69 ± 7.62 天，牛骨胶原低聚肽干预组受试者住院天数为 18.69 ± 4.73 天，两组住院天数差异无统计学意义 ($p>0.05$)。

» 牛骨胶原低聚肽对术后患者营养指标的影响

表 12 牛骨胶原低聚肽对术后患者营养指标的影响 ($\bar{x}\pm s$)

	例数	术后 1 天	术后 7 天	差值
总蛋白 (g/L)				
对照组	86	55.52±9.70	60.01±6.38	4.49±7.96
BCOPs 干预组	85	55.66±7.78	62.77±7.37	7.11±8.87
白蛋白 (g/L)				
对照组	86	33.01±5.57	35.94±2.73	2.93±4.92
BCOPs 干预组	85	33.15±4.90	38.00±4.49	4.84±4.97
前白蛋白 (mg/L)				
对照组	86	156.14±59.04	155.97±44.86	-0.17±51.04
BCOPs 干预组	85	186.06±58.34	198.54±42.50*	12.49±34.31*
血红蛋白 (g/L)				
对照组	86	108.78±17.35	105.61±13.31	-3.17±12.12
BCOPs 干预组	85	119.97±23.16	121.37±22.75*	1.40±16.91*

注：*表示与对照组相比有显著性差异 ($p<0.05$)，BCOPs，牛骨胶原低聚肽。

分别于术后1天及7天对两组患者取血样并检测血清总蛋白、白蛋白、前白蛋白及血红蛋白水平。

结果如表12所示，两组患者血清总蛋白、白蛋白、前白蛋白及血红蛋白水平在术后1天差异无统计学意义 ($p>0.05$) ；

术后7天，牛骨胶原低聚肽干预组受试者血清总蛋白、白蛋白、前白蛋白及血红蛋白水平均高于对照组，其中前白蛋白及血红蛋白水平差异具有统计学意义 ($p<0.05$) 。

牛骨胶原低聚肽对术后患者淋巴细胞和超敏C反应蛋白的影响

表 13 牛骨胶原低聚肽对术后患者淋巴细胞和超敏 C 反应蛋白的影响 (x̄±s)

	例数	术后 1 天	术后 7 天	差值
淋巴细胞 (10 ⁹ /L)				
对照组	86	2.02±5.56	1.96±4.34	-0.06±1.34
BCOPs 干预组	85	1.20±1.35	1.38±0.94	0.18±0.85
hs-CRP (mg/L)				
对照组	86	41.70±53.50	39.88±58.14	1.62±79.21
BCOPs 干预组	85	39.88±58.14	31.55±28.01	-16.91±40.62

注：BCOPs，牛骨胶原低聚肽；hs-CRP，超敏 C 反应蛋白。

结果如表13所示，两组患者淋巴细胞和超敏C 反应蛋白水平在术后1天和术后7天差异无统计学意义 (p>0.05)；与对照组相比，牛骨胶原低聚肽干预组受试者血清淋巴细胞数平均值有所增加，超敏C反应蛋白平均值有所下降，但差异无统计学意义 (p>0.05)。

表 14 牛骨胶原低聚肽对术后患者血中炎症因子水平的影响 (x̄±s, n=50)

	术后 1 天	术后 7 天	差值
IL-6 (pg/mL)			
对照组	36.56±51.99	17.22±14.72	-19.33±47.48
BCOPs 干预组	36.61±54.45	21.40±20.52	-15.22±36.01
IL-8 (pg/mL)			
对照组	71.44±65.32	66.44±63.82	-4.99±25.54
BCOPs 干预组	85.40±173.09	75.64±126.31	-9.76±52.33
TNF-α (pg/mL)			
对照组	20.19±5.60	18.15±1.80	-2.05±5.19
BCOPs 干预组	35.18±48.45*	31.94±44.69*	-3.24±7.14

注：*表示与对照组相比有显著性差异 (p<0.05)。BCOPs，牛骨胶原低聚肽；IL-6，白介素-6；IL-8，

结果如表14所示，两组患者IL-6、IL-8水平在术后1天和术后7天差异无统计学意义 (p>0.05)，而牛骨胶原低聚肽患者血中TNF-α水平均显著高于对照组 (p<0.05)；牛骨胶原低聚肽干预组受试者血中IL-6含量差值低于对照组，IL-8 和TNF-α含量差值高于对照组，但差异无统计学意义 (p>0.05)。

三、细胞实验

牛骨胶原低聚肽对成纤维细胞 增殖和功能影响的实验研究



牛骨胶原低聚肽对成纤维细胞活性及细胞凋亡的影响

表 15 牛骨胶原低聚肽对各组细胞活性的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=8)

组别	OD 值
空白对照组	0.3761±0.0281
BCOPs 低剂量组	0.3944±0.0429
BCOPs 中剂量组	0.4586±0.0512**
BCOPs 高剂量组	0.5634±0.0604**

**表示与空白对照组相比有显著性差异 ($p<0.01$)

表 16 牛骨胶原低聚肽对各组细胞凋亡和坏死率的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=8)

组别	细胞凋亡和坏死率 (%)
空白对照组	7.57±0.63
BCOPs 低剂量组	7.26±0.56
BCOPs 中剂量组	5.81±0.55*
BCOPs 高剂量组	4.56±0.43*

*表示与空白对照组相比有显著性差异 ($P<0.05$)

见表15，与空白对照组相比，BCOPs各剂量组活细胞数均有一定的增加，其中中剂量和高剂量组的差异具有显著性 ($p<0.01$)，因此BCOPs可以有效促进成纤维细胞活性。

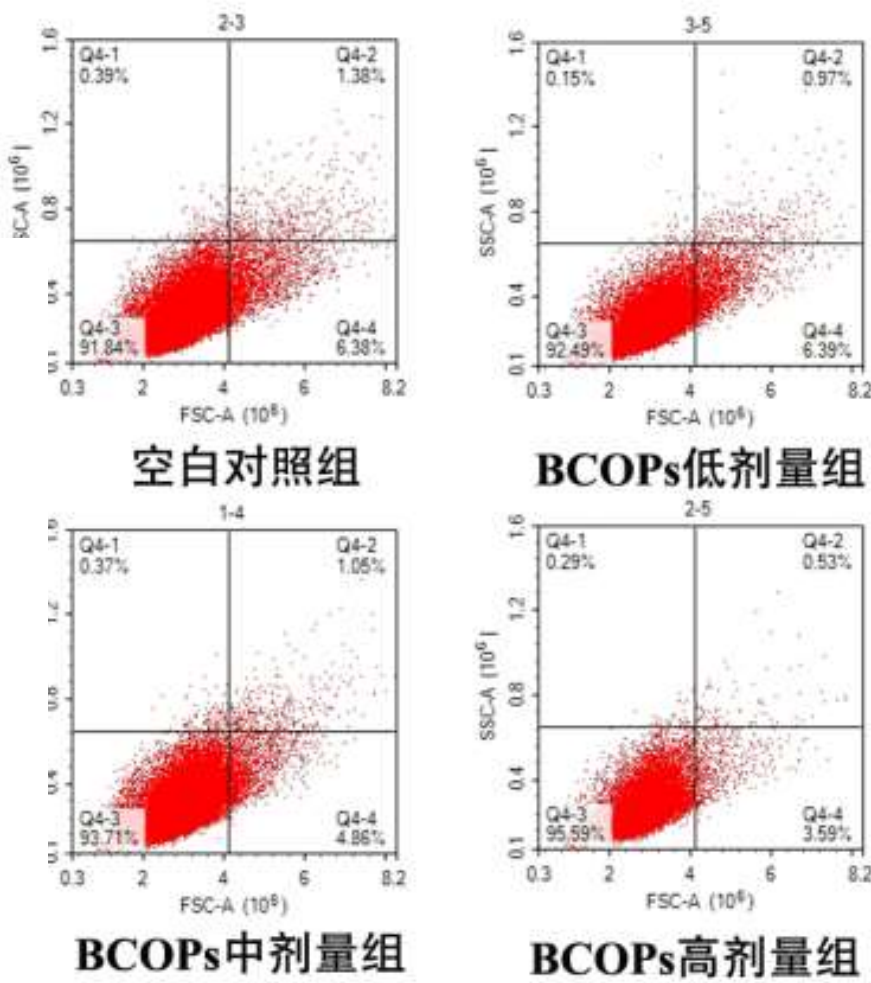


图 5 流式细胞法检测各组细胞凋亡情况

如图5和表16所示，与空白对照组相比，BCOPs各剂量组细胞凋亡和坏死率均明显下降，且差异具有显著性 ($p<0.01$)。

>> 牛骨胶原低聚肽对体外细胞伤口愈合的影响

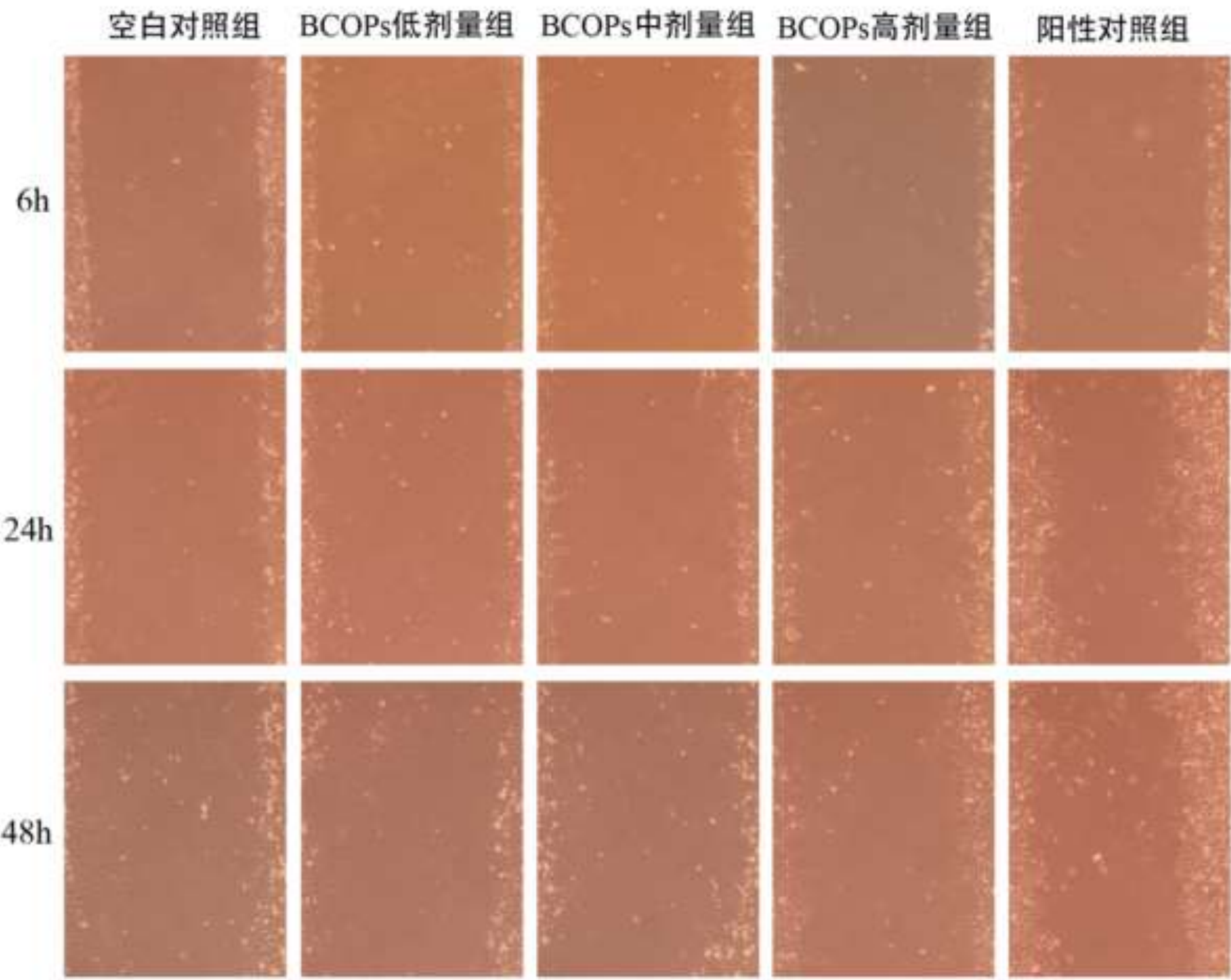


图 6 各组细胞迁移结果（200X）

表 17 牛骨胶原低聚肽对体外细胞伤口迁入细胞数的影响（ $\bar{x} \pm s$, n=6, 个/视野）

组别	6 h	24 h	48 h
空白对照组	4.17±0.75	35.83±4.07	106.17±10.03
BCOPs 低剂量组	4.33±1.03	35.50±3.99	107.00±11.56
BCOPs 中剂量组	4.50±1.05	42.00±5.62	125.00±26.84**
BCOPs 高剂量组	5.33±1.51	51.67±5.79**	145.67±16.02**
bFGF 阳性对照组	7.17±2.32##	67.50±9.09##	200.33±19.73##

**表示与空白对照组相比有显著性差异（ $p<0.01$ ）

##表示与 BCOPs 各剂量组相比有显著性差异（ $p<0.01$ ）

划痕实验（体外细胞伤口实验）结果以相同作用时间进入创口的细胞数表示，在观察bFGF的各个时相上，BCOPs对体外细胞伤口愈合的影响结果见图6和表17。结果显示BCOPs和bFGF阳性对照组均能使较多的NIH3T3细胞进入各自创口，分别与空白对照组相比有显著性差异（ $p<0.01$ ），其中bFGF组愈合速度最快，与同时相的BCOPs干预组相比亦有显著性差异（ $p<0.01$ ）。

牛骨胶原低聚肽对成纤维细胞胶原合成的影响

牛骨胶原低聚肽对成纤维细胞炎症相关指标的影响

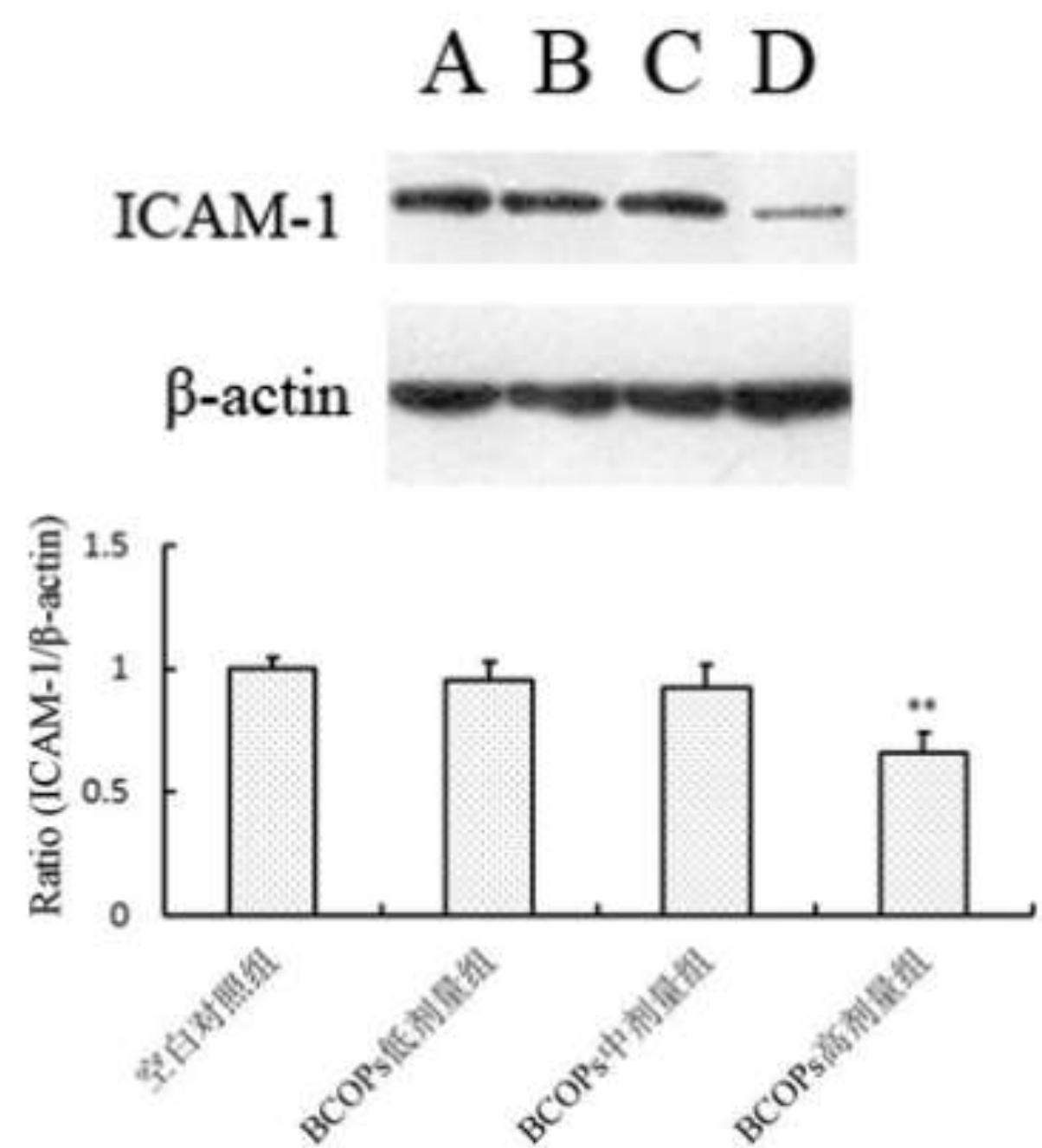


图 7 牛骨胶原低聚肽对各组细胞 ICAM-1 表达的影响

注：**表示与空白对照组相比有显著性差异 ($p<0.01$)。 (A) 空白对照组； (B) BCOPs 低剂量组； (C) BCOPs 中剂量组； (D) BCOPs 高剂量组

表 18 牛骨胶原低聚肽对各组细胞胶原合成的影响 ($\bar{x}\pm s$, n=10)

组别	羟脯氨酸浓度 ($\mu\text{g/ml}$)
空白对照组	3.54 ± 1.53
<u>BCOPs</u> 低剂量组	5.49 ± 2.01
<u>BCOPs</u> 中剂量组	$6.75\pm5.40^*$
<u>BCOPs</u> 高剂量组	$12.37\pm3.34^{**}$

*表示与空白对照组相比有显著性差异 ($p<0.05$)

**表示与空白对照组相比有显著性差异 ($p<0.01$)

表18：与空白对照组相比，BCOPs各剂量组羟脯氨酸浓度均明显增加，其中低剂量组无显著性差异 ($p>0.05$)，中剂量和高剂量组均有显著性差异 ($p<0.05$ 和 $p<0.01$)，说明牛骨胶原低聚肽对成纤维细胞的胶原蛋白合成具有促进作用。

图7：高剂量组ICAM-1表达量显著低于空白对照组，且差异具有显著性 ($p<0.05$)。因此，牛骨胶原低聚肽对炎症反应具有一定的抑制作用。

牛骨胶原低聚肽对成纤维细胞氧化应激相关指标的影响

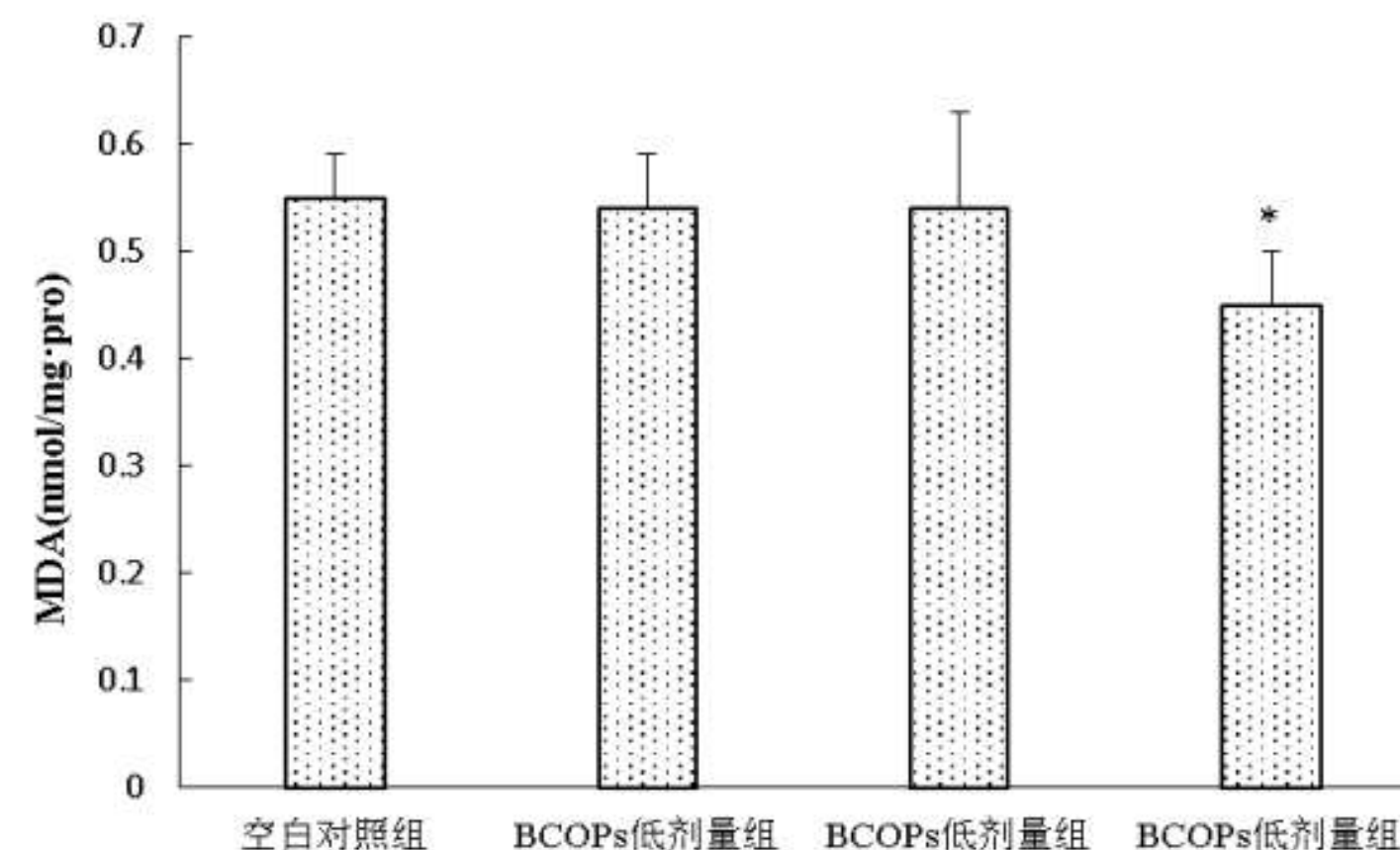
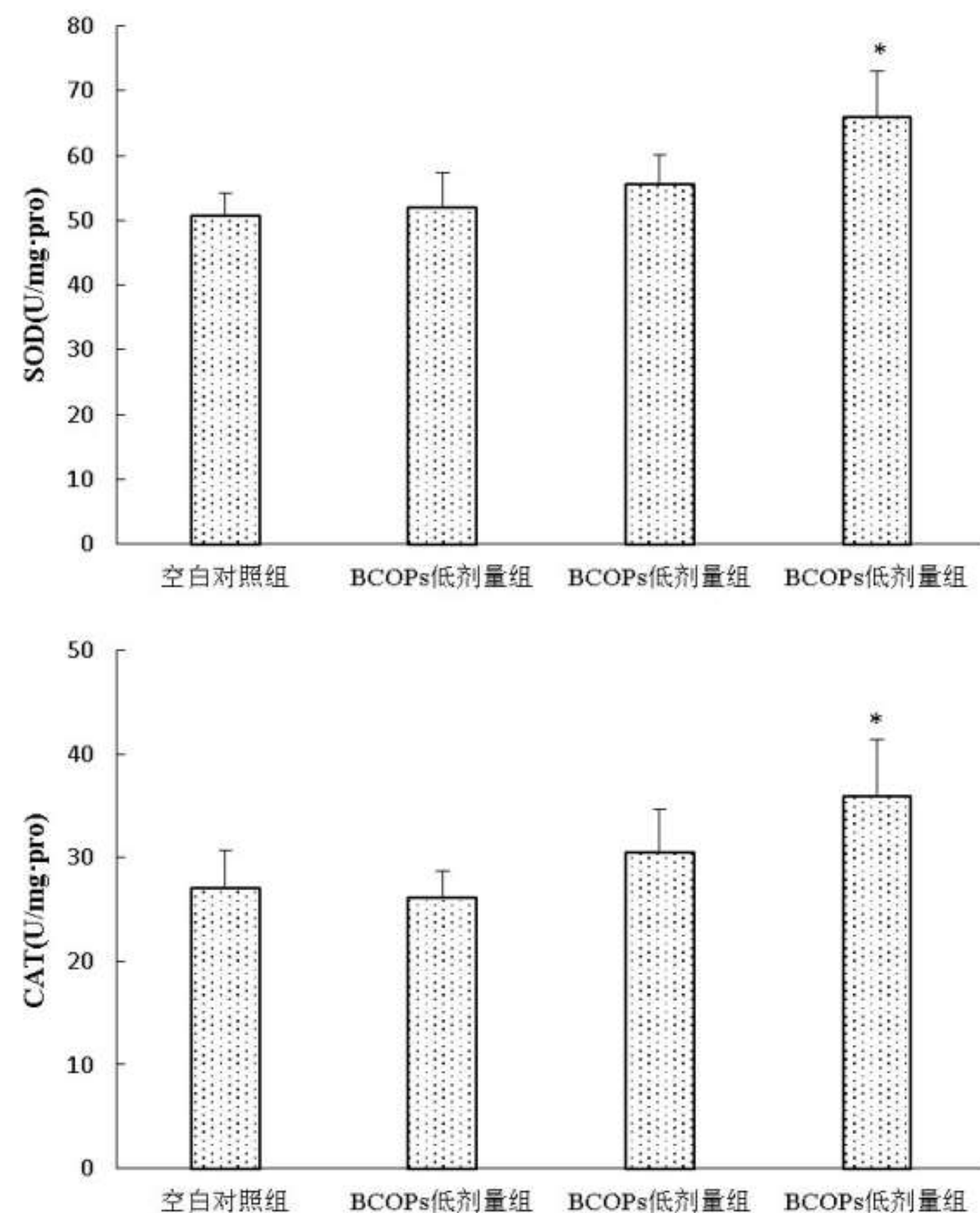


图8 牛骨胶原低聚肽对成纤维细胞氧化应激相关指标的影响

本部分采用试剂盒检测各组细胞中超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化氢酶（CAT）和丙二醛（MDA）的活性。结果显示，与空白对照组相比，低剂量和中剂量牛骨胶原低聚肽干预后成纤维细胞SOD和CAT活性均有一定程度的升高，MDA含量略下降，但差异无显著性；而高剂量牛骨胶原低聚肽干预组成纤维细胞SOD和CAT活性显著高于空白对照组（ $p<0.05$ ），MDA含量显著降低（ $p<0.05$ ）（见图8）。

由此可见，牛骨胶原低聚肽具有一定的抗氧化功能，可以有效抑制成纤维细胞中氧化应激的发生。

牛骨胶原低聚肽对成纤维细胞中PI3K/AKT/mTOR信号传导通路的影响

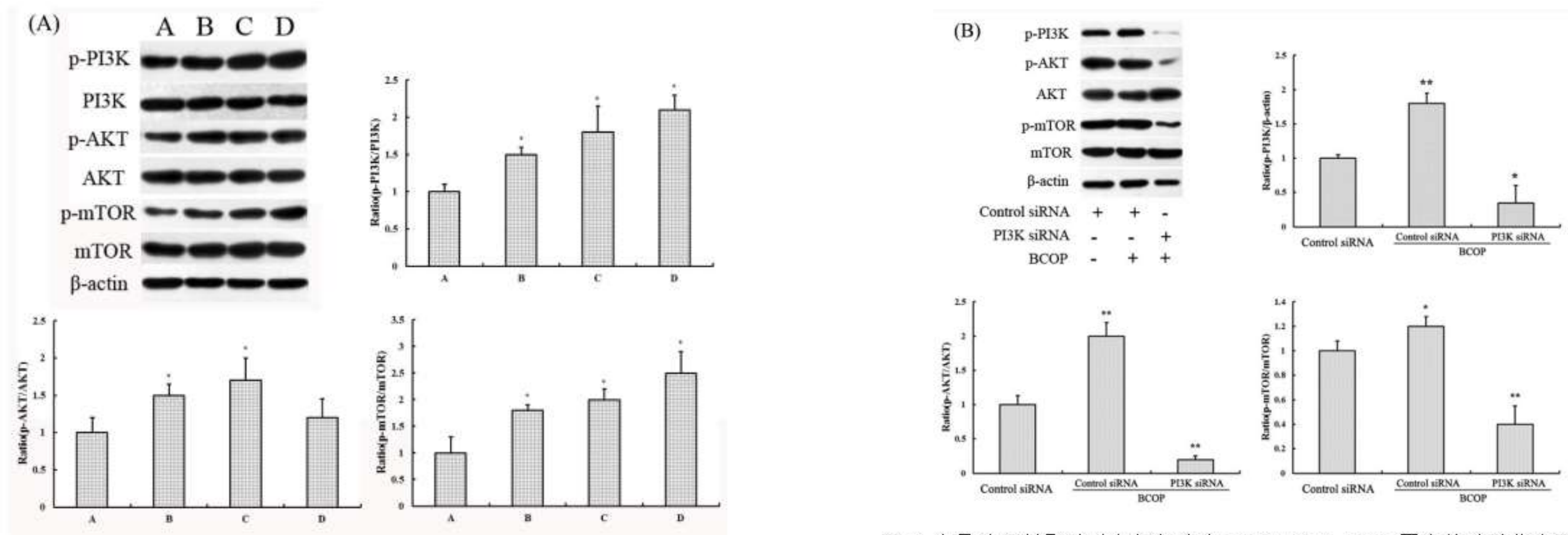


图 9 牛骨胶原低聚肽对各组细胞中 PI3K/AKT/mTOR 蛋白的磷酸化水平影响

本部分通过western blot方法检测细胞PI3K、p-PI3K、AKT、p-AKT、mTOR及p-mTOR蛋白表达水平的改变。结果显示，与空白对照组相比，牛骨胶原低聚肽各剂量组成纤维细胞中PI3K、mTOR 蛋白的磷酸化水平明显增加（ $p<0.05$ ），牛骨胶原低聚肽低剂量和中剂量组成纤维细胞中AKT蛋白的磷酸化水平明显增加（ $p<0.05$ ）（图9）。PI3K siRNA转染实验发现，沉默PI3K能够抑制牛骨胶原低聚肽对PI3K/Akt/mTOR信号通路的影响（图9B）。因此，牛骨胶原低聚肽可以有效激活成纤维细胞中PI3K/AKT/mTOR信号传导通路，这可能是其促进成纤维细胞增殖，进而促进伤口愈合的机制之一。

【（A）牛骨胶原低聚肽对各组细胞中p-PI3K, PI3K, p-AKT, AKT, p-mTOR和mTOR影响；（B）PI3K siRNA转染后牛骨胶原低聚肽对各组细胞中PI3K/AKT/mTOR蛋白的磷酸化水平的影响；注：*表示与空白对照组相比有显著性差异（ $p<0.05$ ）。】



生物活性肽科技创新中心



北京协和医院

联合北京协和医院开展人参肽临床实验：
单中心实验，机制验证，检测干预前后免疫指标、肠道菌群及肥胖相关代谢指标等。

谢谢观看！

