

• 药理与临床 •

SIRT1/NF- κ B 信号轴在人参皂苷 Rg₁ 延缓 D-半乳糖致衰老模型大鼠造血干/祖细胞衰老过程中的作用

李 渊¹, 周 玥^{1*}, 王亚平², 王建伟², 何颖红¹, 丁继超¹, 赵文珍¹, 杨勇琴¹, 王慧杰¹

1. 大理大学 组织学与胚胎学教研室, 云南省细胞生物学重点实验室, 云南 大理 671000

2. 重庆医科大学 干细胞与组织工程研究室, 组织学与胚胎学教研室, 重庆 400016

摘要: 目的 探讨 SIRT1/NF- κ B 信号轴在人参皂苷 Rg₁ 对抗衰老模型大鼠造血干/祖细胞衰老中的作用。方法 6~8 周雄性 SD 大鼠 50 只, 随机分为对照组、模型组、人参皂苷 Rg₁ 对照组、人参皂苷 Rg₁ 治疗组和人参皂苷 Rg₁ 预防组, 每组 10 只。以连续 42 d sc D-半乳糖 (D-gal) 制备衰老动物模型, 人参皂苷 Rg₁ 各组 ip 给药不同时间, 药物注射完成第 2 天, 免疫磁性分选法分离纯化各组 Sca-1⁺造血干/祖细胞 (HSC/HPC), 衰老相关 β -半乳糖苷酶 (SA- β -Gal) 染色、流式细胞周期分析和造血祖细胞混合集落 (CFU-Mix) 培养观察人参皂苷 Rg₁ 对 Sca-1⁺ HSC/HPC 抗衰老的生物学作用。荧光定量 PCR 及 Western blotting 检测衰老调控分子 SIRT1、NF- κ B mRNA 及蛋白的表达。结果 与模型组比较, 人参皂苷 Rg₁ 治疗组和预防组 SA- β -Gal 染色阳性率、G₀/G₁ 期细胞比例下降, 生成 CFU-Mix 数增高, SIRT1 mRNA 及蛋白表达上调, NF- κ B mRNA 及蛋白表达下调; 人参皂苷 Rg₁ 预防组各指标变化均较人参皂苷 Rg₁ 治疗组明显。结论 SIRT1/NF- κ B 信号轴在人参皂苷 Rg₁ 对抗 D-gal 致衰老模型大鼠 HSC/HPC 衰老过程中发挥重要作用, 人参皂苷 Rg₁ 具有抗 HSC/HPC 衰老作用。

关键词: 人参皂苷 Rg₁; 去乙酰化酶沉默调节因子 1; 核转录因子- κ B; 造血干/祖细胞; 衰老

中图分类号: R 329.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2016)22-4016-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2016.22.014

Effect of SIRT1/NF- κ B signal axis on delaying hematopoietic stem cell and progenitor cell senescence with ginsenoside R₁ in aging model rat induced by D-galactose

LI Yuan¹, ZHOU Yue¹, WANG Ya-ping², WANG Jian-wei², HE Ying-hong¹, DING Ji-chao¹, ZHAO Wen-zhen¹, YANG Yong-qin¹, WANG Hui-jie¹

1. Key Laboratory of Cell Biology, Department of Histology and Embryology, Dali University, Dali 671000, China

2. Laboratory of Stem Cell and Tissue Engineering, Department of Histology and Embryology, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: Objective To investigate the effect of SIRT1/NF- κ B signal axis on delaying hematopoietic stem cell and progenitor cell senescence with ginsenoside Rg₁ in ageing model rat induced by D-galactose. **Methods** Male SD rats ($n = 40$) aging from 6 to 8 weeks old were randomly divided into control group, aging model group, positive control group, Rg₁ treated group, and Rg₁ prevented group ($n = 10$). The aging rat model was prepared by sc D-galactose for continuous 42 d, then ginsenoside Rg₁ was given in different time. After 2 d of the treatment, the Sca-1⁺ HSC/HPC was isolated by magnetic cell sorting (MACS). The changes of cells observed by senescence-associated β -galactosidase (SA- β -Gal) staining, cell cycle analysis and culture of mixed hematopoietic progenitor cell were used to investigate the treated aging effect of ginsenoside Rg₁. The expression of senescence associated SIRT1, NF- κ B mRNA and protein was examined by real time fluorescence quantitative PCR (FQ-PCR) and Western blotting. **Results** In ginsenoside Rg₁ treated group and ginsenoside Rg₁ prevented group, the percentage of positive cells expressed SA- β -Gal and the number of cells entering G₀/G₁ phase were lower than that of aging model group, but the number of CFU-Mix was increased than aging model group. Compared with aging model

收稿日期: 2016-04-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660731, 81673748, 81202785); 云南省教育厅科学研究基金资助性项目 (2016YJS118)

作者简介: 李 渊 (1993—), 男, 硕士研究生, 主要从事中药调控干细胞衰老的相关信号通路研究。

Tel: (0872)2257140 E-mail: 835700201@qq.com

*通信作者 周 玥 E-mail: zhoyue_120@sina.com

group, the expression of SIRT1 mRNA and protein was upregulated and the expression of NF- κ B mRNA and protein was downregulated in Rg₁ treated group and prevented group. Changes in Rg₁ prevented group were more than those in Rg₁ treated group. **Conclusion** SIRT1/NF- κ B signal axis may play a key role in the anti-aging effect of Rg₁ to Sca-1⁺ HSC/HPC senescence in ageing model rat induced by *D*-galactose.

Key words: ginsenoside Rg₁; SIRT1; NF- κ B; Sca-1⁺ HSC/HPC; senescence

细胞衰老被认为是细胞和组织损伤的累积所导致,其中活性氧(ROS)是引起细胞损伤最主要的原因,去乙酰化酶 SIRT1(沉默调节因子1)在线粒体调控及清除 ROS 过程中发挥重要功能, SIRT1 通过抑制核转录因子- κ B(NF- κ B)通路,缓解细胞内 ROS 的负荷而延缓细胞的衰老^[1-2]。

人参皂苷 Rg₁ 是人参重要的活性成分,具有补气生血、延缓衰老等功效^[3],本课题组前期研究发现人参皂苷 Rg₁ 在体内、外均具有延缓造血干/祖细胞(HSC/HPC)衰老的作用,但其靶向调控分子仍不清楚。本研究将人参皂苷 Rg₁ 作用于 *D*-半乳糖(*D*-gal)致大鼠衰老模型,检测人参皂苷 Rg₁ 对衰老模型大鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的作用,探讨 SIRT1/NF- κ B 信号轴在人参皂苷 Rg₁ 延缓 HSC/HPC 衰老中的调控作用,为探寻延缓 HSC 衰老及机体衰老的途径提供理论及实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

雄性 SD 大鼠,3 月龄,体质量 210~250 g,由重庆医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(渝)2007-0001。

1.2 药品与试剂

人参皂苷 Rg₁ (吉林宏久生物科技有限公司,质量分数>95%,批号 060427),*D*-gal (Amresco 公司);IMDM、胎牛血清、马血清 (Gibco 公司);Anti-Sca-1⁺ Micro Bead Kit (Miltenyi 公司);衰老相关 β -半乳糖苷酶(SA- β -Gal)染色试剂盒(Cell Signaling 公司);Trizol、荧光定量 PCR 试剂、sybr green I(TaKaRa 公司),PCR 引物(Invitrogen 公司);t-BHP、Ficoll 分离液、*L*-谷氨酰胺、甲基纤维素(Sigma 公司);重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(rhGM-CSF)、重组人促红细胞生成素(rhEPO),麒麟鲲鹏生物药业有限公司, SIRT1、NF- κ B 一抗、HRP 二抗(SantaCruz 公司);蛋白裂解液(Applygen 公司);BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术研究所有);ECL 发光试剂盒(Pierce 公司)。

1.3 仪器

7900HT 荧光定量 PCR 仪 (ABI, 美国);

MiniPROTEAN 3 垂直凝胶电泳槽 (Bio Rad, 美国); 165-8001 印迹电泳转移系统 (Bio Rad, 美国); GelDoc It TS2 凝胶成像和分析系统 (Bio Rad, 美国)。

2 方法

2.1 实验分组、造模及给药

雄性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、人参皂苷 Rg₁ 对照组、人参皂苷 Rg₁ 治疗组和人参皂苷 Rg₁ 预防组,每组 10 只。对照组:大鼠颈背部 sc 生理盐水 0.2 mL/只,每天 1 次,连续 42 d;模型组:大鼠颈背部 sc *D*-gal 120 mg/kg,每天 1 次,连续 42 d;人参皂苷 Rg₁ 对照组:大鼠颈背部 sc 生理盐水 0.2 mL/只,每天 1 次,连续 7 d,然后 ip 人参皂苷 Rg₁ (20 mg/kg^[4]),连续 35 d;人参皂苷 Rg₁ 治疗组:大鼠颈背部 sc *D*-gal 120 mg/kg,每天 1 次,连续 42 d,第 8 天起 ip 人参皂苷 Rg₁ (20 mg/kg),连续 35 d;人参皂苷 Rg₁ 预防组:大鼠先 ip 给予人参皂苷 Rg₁ (20 mg/kg) 预处理,连续 7 d,接着颈背部 sc *D*-gal 120 mg/kg,每天 1 次,连续 42 d,于 *D*-gal 注射后第 8 天起 ip 人参皂苷 Rg₁ (20 mg/kg),连续 35 d。模型构建及药物注射完成 2 d 后,免疫磁性分选法^[5]提取各组大鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC 进行相关检测。

2.2 SA- β -Gal 染色

收集各组 Sca-1⁺ HSC/HPC,按照 SA- β -Gal 染色试剂盒方法操作,染色后离心甩片,70%甘油封片镜检。每张甩片随机计数 400 个细胞,观察和计数阳性细胞的百分比。

2.3 流式细胞术分析细胞周期

收集各组 Sca-1⁺ HSC/HPC 细胞, PBS 洗 1 次, 70%冰乙醇固定过夜, PBS 洗涤 2 次,加入 100 μ L 牛胰核糖核酸酶 (1 mg/mL), 37 $^{\circ}$ C 水浴孵育 30 min;加入碘化丙啶染色液 (50 μ g/mL) 避光反应 30 min,流式细胞仪检测, Multicycle 软件 (日本 PHENIX 公司) 分析各组细胞的细胞周期时相。

2.4 造血祖细胞混合集落 (CFU-Mix) 培养

参照文献方法^[6]改进,依次加入 2-巯基乙醇 (0.1 mmol/L)、3% *L*-谷氨酰胺、马血清、rhEPO、白细胞介素-3 (IL-3)、rhGM-CSF、 1×10^4 个各组

细胞、2.7%甲基纤维素，总体积 2 mL，充分混匀后接种于 96 孔板(0.2 mL/孔)，在 37 °C、含 5% CO₂ 饱和湿度的培养箱中培养 7 d，根据种植 Sca-1⁺ HSC/HPC 数与形成 CFU-Mix 数评价各组细胞形成 CFU-Mix 能力与多向分化潜能。

2.5 荧光定量 PCR 检测 SIRT1、NF-κB mRNA 的表达

收集各组 Sca-1⁺ HSC/HPC，Trizol 裂解，分别

提取各组细胞总 RNA。逆转录为相应的 cDNA，逆转录反应条件：42 °C、30 min，99 °C、5 min，5 °C、5 min。以 RNA 反转录得到的 cDNA 为模板，扩增 SIRT1、NF-κB，以 β-actin 为内参照。引物序列见表 1。PCR 扩增条件：94 °C、4 min；94 °C、20 s，60 °C、30 s，72 °C、30 s，35 个循环；72 °C 检测信号。应用 Quantity One (Bio Rad) 软件进行数据处理，分析结果。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 Primers sequence of FQ-PCR

引物	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')	产物大小/bp
SIRT1	CAAGGGATGGTATTTATGCTCG	CAAGGCTATGAATTTGTGACAGAG	173
NF-κB (p65)	GTGGGGACTACGACCTGAATG	CTGCACCTTGTCACACAGTAGG	215
β-actin	TGACGTGGACATCCGCAAAG	CTGGAAGGTGGACAGCGAGG	205

2.6 Western blotting 检测 SIRT1、NF-κB 蛋白的表达

收集各组 Sca-1⁺ HSC/HPC，分别提取总蛋白，按 BCA 蛋白浓度测定试剂盒方法测定总蛋白浓度。取等量总蛋白经 SDS-PAGE 电泳分离后转移至 PVDF 膜；5%脱脂奶粉封闭 2 h，加入兔抗鼠 SIRT1、NF-κB 一抗 (1:200)，4 °C 过夜；TBST 缓冲液充分漂洗后加入辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗 (1:5 000)，室温反应 2 h；TBST 充分洗膜 3 次，ECL 增强发光试剂显色后，于凝胶成像系统曝光，显影定影后观察结果。

2.7 统计学处理

运用 SPSS 11.0 软件进行实验数据统计学处理，采用析因设计、单因素方差分析方法，数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 对 Sca-1⁺ HSC/HPC SA-β-Gal 染色阳性率的影响

与对照组比较，模型组 SA-β-Gal 染色阳性细胞百分比显著增高 ($P < 0.05$)，人参皂苷 Rg₁ 对照组与对照组之间无统计学差异；人参皂苷 Rg₁ 治疗组及预防组 SA-β-Gal 染色阳性细胞百分比低于模型组 ($P < 0.05$)，且人参皂苷 Rg₁ 预防组 SA-β-Gal 阳性细胞百分比较人参皂苷 Rg₁ 治疗组低 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.2 对 Sca-1⁺ HSC/HPC 形成 CFU-Mix 能力的影响

与对照组比较，模型组形成 CFU-Mix 数量减少 ($P < 0.05$)，人参皂苷 Rg₁ 对照组形成 CFU-Mix 数量增加 ($P < 0.05$)；与模型组比较，人参皂苷 Rg₁

表 2 人参皂苷 Rg₁ 对 Sca-1⁺ HSC/HPC SA-β-Gal 染色阳性率和 CFU-Mix 形成的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effect of Rg₁ on percentage of SA-β-Gal staining positive cells and number of CFU-Mix forming of Sca-1⁺ HSC/HPC ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	SA-β-Gal 染色阳性率/%	CFU-Mix 数量 (1×10 ⁴ 个细胞)
对照	—	6.42 ± 2.67	28.64 ± 2.76
模型	—	51.20 ± 3.84*	8.79 ± 3.17*
人参皂苷 Rg ₁ 对照	20	5.67 ± 2.62	34.12 ± 3.02*
人参皂苷 Rg ₁ 治疗	20	40.72 ± 3.81 [#]	14.33 ± 2.45 [#]
人参皂苷 Rg ₁ 预防	20	34.57 ± 2.96 ^{#△}	19.65 ± 2.36 ^{#△}

与对照组比较：* $P < 0.05$ ；与模型组比较：[#] $P < 0.05$ ；与人参皂苷 Rg₁ 治疗组比较：[△] $P < 0.05$ ，表 3 同

* $P < 0.05$ vs control group；[#] $P < 0.05$ vs model group；[△] $P < 0.05$ vs ginsenoside Rg₁ treatment group, Table 3 is same

治疗及预防组形成 CFU-Mix 数量增加 ($P < 0.05$)，人参皂苷 Rg₁ 预防组变化较人参皂苷 Rg₁ 治疗组显著 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 对 Sca-1⁺ HSC/HPC 细胞周期分布的影响

与对照组比较，模型组 G₀/G₁ 期比例明显增高 ($P < 0.05$)，S 期比例减少 ($P < 0.05$)，S+G₂/M 比例明显降低；人参皂苷 Rg₁ 对照组 G₀/G₁ 期比例低于对照组 ($P < 0.05$)，S+G₂/M 比例高于对照组；与模型组相比，人参皂苷 Rg₁ 治疗组及预防组 G₀/G₁ 期比例明显降低 ($P < 0.05$)，S+G₂/M 比例显著增高，其中人参皂苷 Rg₁ 治疗组变化最为明显 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 人参皂苷 Rg₁ 对 Sca-1⁺ HSC/HPC 细胞周期分布的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Effect of Rg₁ on distribution of cell cycle to Sca-1⁺ HSC/HPC ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

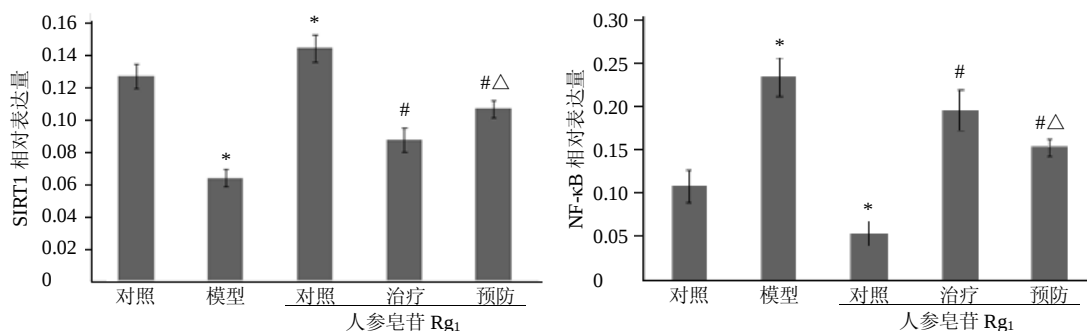
组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	G ₀ /G ₁ 期/%	G ₂ /M 期/%	S 期/%
对照	—	61.28 ± 4.47	7.09 ± 1.42	30.48 ± 4.02
模型	—	84.56 ± 3.92*	9.37 ± 2.86*	6.09 ± 3.88*
人参皂苷 Rg ₁ 对照	20	52.82 ± 3.65*	7.96 ± 1.21*	39.28 ± 3.67*
人参皂苷 Rg ₁ 治疗	20	71.93 ± 2.13 [#]	16.49 ± 2.49 [#]	11.60 ± 2.74 [#]
人参皂苷 Rg ₁ 预防	20	78.20 ± 2.24 ^{#△}	7.23 ± 1.95 ^{#△}	14.57 ± 3.06 ^{#△}

3.4 对 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT1 和 NF-κB mRNA 表达的影响

与对照组比较, 人参皂苷 Rg₁ 对照组 SIRT1 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$), NF-κB mRNA 表达下降 ($P < 0.05$); 模型组 SIRT1 mRNA 表达低于对照组 ($P < 0.05$), NF-κB mRNA 表达高于对照组 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 人参皂苷 Rg₁ 治疗组及预防组 SIRT1 mRNA 表达上调 ($P < 0.05$), NF-κB mRNA 表达下调 ($P < 0.05$), 人参皂苷 Rg₁ 预防组各指标变化较治疗组显著 ($P < 0.05$)。见图 1。

3.5 对 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT1、NF-κB 蛋白表达的影响

与对照组比较, 模型组 SIRT1 蛋白表达下降 ($P < 0.05$), NF-κB 蛋白表达增高 ($P < 0.05$), 人参皂苷 Rg₁ 对照组较对照组 SIRT1 蛋白表达增高 ($P < 0.05$), NF-κB 蛋白表达下降 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 人参皂苷 Rg₁ 治疗及预防组 SIRT1 蛋白表达上调 ($P < 0.05$), NF-κB 蛋白表达下调 ($P < 0.05$); 其中 Rg₁ 预防组变化较治疗组更为显著 ($P < 0.05$)。见图 2。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与人参皂苷 Rg₁ 治疗组比较: [△] $P < 0.05$, 图 2 同
* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [△] $P < 0.05$ vs ginsenoside Rg₁ treatment group, Figure 2 is same

图 1 人参皂苷 Rg₁ 对 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT1 和 NF-κB mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of Rg₁ on expression of Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT1 and NF-κB mRNA of aging model rat ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

4 讨论

现代药理学研究发现^[7-8], 人参皂苷 Rg₁ 是人参延缓衰老的主要活性成分, 人参皂苷 Rg₁ 具有延缓成纤维细胞衰老的作用, 能延长老年大鼠的存活时间, 并可显著改善老年大鼠衰退的行为活动功能。本课题组既往研究^[9]发现人参皂苷 Rg₁ 在体外可通过调控细胞周期调控分子 (p16^{INK4a}、p19^{Arf}、p53、p21^{Cip1/Waf1}) 发挥其延缓小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的作用。但人参皂苷 Rg₁ 延缓 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的机制仍不清楚, 人参皂苷 Rg₁ 延缓 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的靶向调控分子是目前关注的热点问题。

本实验将人参皂苷 Rg₁ 作用于 D-Gal 诱导的大

鼠衰老模型, 结果提示人参皂苷 Rg₁ 治疗及预防处理后, Sca-1⁺ HSC/HPC G₀/G₁ 期细胞比例及形成 CFU-Mix 数量高于模型组, SA-β-Gal 染色阳性率低于模型组, 提示人参皂苷 Rg₁ 增强了 Sca-1⁺ HSC/HPC 自我更新及多向分化潜能增强, 人参皂苷 Rg₁ 具有延缓 D-Gal 诱导的大鼠衰老模型中 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的作用。

NF-κB 是与衰老密切相关的调节因子, NF-κB 过表达引起培养细胞出现衰老表型, 抑制 NF-κB 表达, 将诱发小鼠胚胎成纤维细胞产生逃避衰老的能力, 从而延缓细胞衰老发生^[10-11]。活性氧 (ROS) 是引起细胞累积性损伤, 致细胞衰老最主要的原

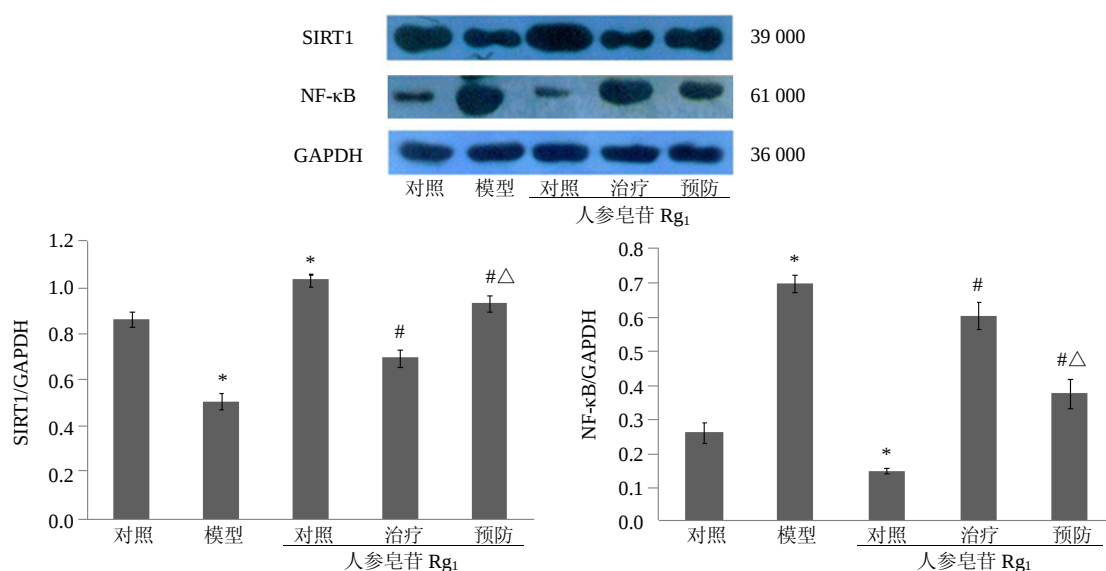


图 2 人参皂苷 Rg₁ 对 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT1 和 NF-κB 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effect of Rg₁ on expression of Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT1 and NF-κB protein of aging model rat ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

因。去乙酰化酶家族是营养代谢循环过程中重要调控因子,其中 SIRT1 在线粒体调控及清除 ROS 过程中发挥重要功能,SIRT1 可通过抑制 NF-κB 通路缓解细胞内 ROS 的负荷从而发挥延缓细胞衰老的功能^[12];研究发现^[13]SIRT1 可增强正常 HSCs 线粒体的稳定性及清除 ROS 的能力,SIRT1 可上调衰老的 HSCs 自我更新潜能,发挥延缓 HSCs 衰老的作用。本研究发现模型组 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT1 表达下降,NF-κB 表达增高,这与细胞衰老过程中 SIRT1 与 NF-κB 表达改变一致。人参皂苷 Rg₁ 作用于衰老模型后,SIRT1 表达上调,NF-κB 表达下调,说明人参皂苷 Rg₁ 增强了 Sca-1⁺ HSC/HPC 内 SIRT1 的表达,增高的 SIRT1 抑制了下游调控分子 NF-κB 的表达。该结果提示人参皂苷 Rg₁ 可通过调控 SIRT1-NF-κB 信号通路发挥延缓 D-Gal 诱导的大鼠衰老模型中 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的作用。

参考文献

- [1] Ulkan K, Ozlem G, Ufuk E, *et al.* A remarkable age-related increase in SIRT1 protein expression against oxidative stress in elderly: SIRT1 gene variants and longevity in human [J]. *PLoS One*, 2015, 10(3): 1-19.
- [2] Hubbard B P, Sinclair D A. Small molecule SIRT1 activators for the treatment of aging and age-related diseases [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2014, 35(3): 146-154.
- [3] Xu F T, Li H M, Yin Q S, *et al.* Effect of ginsenoside Rg₁ on proliferation and neural phenotype differentiation of human adipose-derived stem cells *in vitro* [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2014, 92(6): 467-475.
- [4] 彭 彬, 陈茂山, 蒲 莹, 等. 人参皂苷 Rg₁ 延缓 D-半

乳糖大鼠脑衰老作用及机制的初步研究 [J]. 重庆医科大学学报, 2011, 6(4): 419-422.

- [5] Challen G A, Sun D, Mayle A, *et al.* Dnmt3a and Dnmt3b have overlapping and distinct functions in hematopoietic stem cells [J]. *Cell Stem Cell*, 2014, 15(3): 350-364.
- [6] Wang J, Sun Q, Morita Y, *et al.* A differentiation checkpoint limits hematopoietic stem cell self-renewal in response to DNA damage [J]. *Cell*, 2012, 148(5): 1001-1014.
- [7] Chu S F, Zhang J T. New achievements in ginseng resrarch and its future prospects [J]. *Chin J Integr Med*, 2009, 15(6): 403-408.
- [8] Zhu J H, Mu X Y, Zeng J, *et al.* Ginsenoside Rg₁ prevents cognitive impairment and hippocampus senescence in a rat model of D-galactose-induced aging [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6): 1-12.
- [9] 周 玥, 杨 斌, 姜 蓉, 等. 人参皂苷 Rg₁ 延缓造血干细胞衰老及其相关机制 [J]. 中华医学杂志, 2010, 90(48): 3421-3425.
- [10] Wang Y, Liu Y, Zhang X Y, *et al.* Ginsenoside Rg₁ regulates innate immune responses in macrophages through differentially modulating the NF-κB and PI3K/Akt/mTOR pathways [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 23(1): 77-84.
- [11] Tanaka Y T, Tanaka K, Kojima H, *et al.* Cynaropicrin from *Cynara scolymus* L. suppresses photoaging of skin by inhibiting the transcription activity of nuclear factor-κB [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(2): 518-523.
- [12] Brownl K, Xie S, Qiu X L, *et al.* SIRT3 reverses aging-associated degeneration [J]. *Cell Rep*, 2013, 3(2): 319-327.
- [13] Kaamiranta K, Kauppinen A. Crosstalk between oxidative stress and SIRT1: Impact on the aging process [J]. *Antero Salminen Int J Mol Sci*, 2013, 14(2): 3834-3859.