

人参皂苷 Rg₁ 基于 SIRT6/NF- κ B 信号通路对辐射致造血干/祖细胞衰老的保护作用

李 渊¹, 周 玥^{1*}, 王亚平^{2*}, 何颖红¹, 丁继超¹, 韩艳军¹, 王翠丽¹

1. 大理大学 组织胚胎学教研室, 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, 组织胚胎学教研室, 重庆 400016

摘要: 目的 探讨去乙酰化酶 SIRT6/核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路在人参皂苷 Rg₁ 抗辐射致造血干/祖细胞 (Sca-1⁺ HSC/HPC) 衰老中的作用。方法 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组和人参皂苷 Rg₁ 组。给予模型组和人参皂苷 Rg₁ 组小鼠全身一次性 6.5 Gy ⁶⁰Co γ 线照射, 人参皂苷 Rg₁ 组于照射前 ip 人参皂苷 Rg₁ 20 mg/kg, 每天 1 次, 连续给药 7 d, 照射后继续 ip 等剂量人参皂苷 Rg₁ 7 d。给药结束后第 2 天, 外周血血象指标检测确定人参皂苷 Rg₁ 促进造血恢复情况; 免疫磁性分选法分离纯化各组 Sca-1⁺ HSC/HPC, 造血祖细胞混合性集落 (CFU-Mix) 培养、细胞周期分析和衰老相关 β -半乳糖苷酶 (SA- β -Gal) 染色分析人参皂苷 Rg₁ 抗辐射损伤致 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的生物学作用; 荧光定量 PCR 及 Western blotting 法检测衰老调控分子 SIRT6、NF- κ B mRNA 及蛋白的表达。结果 辐射后, 与对照组相比, 模型组小鼠外周血象恢复缓慢, Sca-1⁺ HSC/HPC 出现细胞衰老特征, G₀/G₁ 期细胞比例及 SA- β -Gal 染色阳性率增高, CFU-Mix 数量下降, SIRT6 mRNA 及蛋白表达下调, NF- κ B mRNA 及蛋白表达上调。与模型组比较, 人参皂苷 Rg₁ 组小鼠白细胞 (WBC)、红细胞 (RBC)、血小板 (PLT) 数量增高, Sca-1⁺ HSC/HPC G₀/G₁ 期细胞比例及 SA- β -Gal 染色阳性率下降, CFU-Mix 数量升高, SIRT6 mRNA 及蛋白表达上调, NF- κ B mRNA 及蛋白表达下调。结论 人参皂苷 Rg₁ 可通过调控 SIRT6/NF- κ B 信号通路发挥抗辐射致 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的作用。

关键词: 人参皂苷 Rg₁; 辐射; 造血干/祖细胞; 抗衰老; SIRT6; 核转录因子- κ B

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2017)21-4497-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.21.021

Effect of ginsenoside Rg₁ on delaying radiation-induced senescence of hematopoietic stem cell and progenitor cell based on SIRT6/NF- κ B signal pathway

LI Yuan¹, ZHOU Yue¹, WANG Ya-ping², HE Ying-hong¹, DING Ji-chao¹, HAN Yan-jun¹, WANG Cui-li¹,

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

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

Abstract: Objective To investigate the effect of SIRT6/NF- κ B signal axis on delaying radiation-induced senescence of hematopoietic stem cell and progenitor cell with ginsenoside Rg₁. **Methods** C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group and ginsenoside Rg₁ group. The mice in model and ginsenoside Rg₁ groups were exposed to total body irradiation with 6.5 Gy ⁶⁰Co γ , the mice in ginsenoside Rg₁ group were intraperitoneal injected with ginsenoside Rg₁ (20 mg/kg) for 7 d before and after radiation. On day after taking medicine, the indicators in peripheral blood were observed to definite the information of hematopoietic reconstruction and the effect of ginsenoside Rg₁ on it. Sca-1⁺ HSCs/HPCs were isolated and purified by magnetic activated cell sorting (MACS). The effect of ginsenoside Rg₁ on delaying radiation-induced senescence of hematopoietic stem cell and progenitor cell was evaluated by mixed hematopoietic progenitor cell culture, cell cycle assay and senescence-associated β -galactosidase (SA- β -gal) staining. The expression of senescence associated SIRT6 and NF- κ B mRNA and protein was examined by realtime fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) and Western blotting. **Results** After radiation, the indicator in peripheral blood of model group was decreased compared with control group. Sca-1⁺ HSC/HPC appeared aging character: The number of cells entered G₀/G₁ phase, the percentage of SA- β -gal positive cells was increased, the expressing of SIRT6 mRNA and protein were down regulated and NF- κ B

收稿日期: 2017-04-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660731, 81673748)

作者简介: 李 渊 (1993—), 男, 山西运城人, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。E-mail: 835700201@qq.com

*通信作者 周 玥 (1979—), 女, 硕士生导师, 教授, 研究方向为中药药理学。E-mail: zhoyue_120@sina.com

mRNA and protein were up regulated, and the number of CFU-Mix was decreased. Compared with the model group, the number of white blood cells (RBC), red blood cells (RBC), and platelet (PLT) in mice were increased, the number of cells entered G₀/G₁ phase and the percentage of SA- β -gal positive cells were decreased, and the number of CFU-Mix was increased in Sca-1⁺ HSC/HPC from the ginsenoside Rg₁ group. Moreover, the expression of SIRT6 mRNA and protein were up regulated, and NF- κ B mRNA and protein were down regulated in the ginsenoside Rg₁ group. **Conclusion** SIRT6/NF- κ B signal axis may play a key role in the antiaging effect of ginsenoside Rg₁ to Sca-1⁺ HSC/HPC senescence induced by radiation.

Key words: ginsenoside Rg₁; radiation; hematopoietic stem cell and progenitor cell; antiaging; SIRT6; NF- κ B

辐射可抑制或破坏造血干细胞增殖能力,致机体造血功能低下或衰竭,这是临床放射治疗面临的重要问题,因此寻找能够在放射治疗过程中有效防治造血系统辐射损伤的药物具有重要意义^[1]。人参皂苷 Rg₁ 是人参中重要的药理活性成分,其抗辐射、抗衰老的作用已有文献报道^[2]。去乙酰化酶 SIRT6 是细胞寿命的关键调控蛋白, SIRT6 通过抑制核转录因子- κ B (NF- κ B) 调控端粒非依赖的有机体细胞的衰老。本研究探讨 SIRT6/NF- κ B 信号通路在人参皂苷 Rg₁ 抗辐射损伤致造血干/祖细胞 (Sca-1⁺ HSC/HPC) 衰老中的作用,旨在为人参皂苷抗辐射致 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老机制的研究提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级 C57BL/6 小鼠, 6~8 周龄, 雌雄兼用, 体质量 20~25 g, 由重庆市医学实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK (渝) 2007-0001。

1.2 试剂与仪器

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); IMDM 培养基、胎牛血清、马血清 (Gibco 公司, 美国); Anti-Sca-1⁺ Micro Bead Kit (Miltenyi 公司, 美国); SA- β -半乳糖苷酶 (SA- β -gal) 染色试剂盒 (Cell Signaling 公司, 美国); Trizol、荧光定量 PCR 试剂、SYBR Green I 染料 (TaKaRa 公司, 日本); PCR 引物 (Invitrogen 公司, 美国); Ficoll 分离液、L-谷氨酰胺、甲基纤维素、牛胰核糖核酸酶、白细胞介素-3 (IL-3) 均购自 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) 均购于麒麟鲲鹏生物药业有限公司; SIRT6、NF- κ B、GAPDH 一抗、HRP 二抗 (SantaCruz 公司, 美国); 蛋白裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司); ECL 发光试剂盒 (Pierce 公司, 美国); 直线加速器 (Philips 公司, 英国); KX-21 血细胞

分析仪 (西森美康公司, 日本); BX53 荧光显微镜 (奥林巴斯公司, 日本); 7900HT 荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司, 美国)。

2 方法

2.1 动物分组及处理

C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组和人参皂苷 Rg₁ 组 (以下简称 Rg₁ 组), 每组 30 只。模型组与 Rg₁ 组小鼠全身一次性照射 ⁶⁰Co γ 线, 照射距离 75 cm, 剂量率 57.28 cGy/min, 照射面积 20 cm $\times$ 20 cm, 照射总剂量为 6.5 Gy。Rg₁ 组于照射前 ip 人参皂苷 Rg₁ 20 mg/kg^[3], 每天 1 次, 连续给药 7 d, 照射后继续 ip 同剂量 Rg₁ 7 d; 模型组于照射前 ip 等量生理盐水连续 7 d, 照射后继续 ip 等剂量生理盐水 7 d; 对照组小鼠处理同模型组, 但不照射。

2.2 造血恢复情况检测

给药结束后, 各组小鼠摘眼球取血, 用血细胞分析仪检测血常规 [白细胞 (WBC)、红细胞 (RBC)、血小板 (PLT)]。

2.3 SA- β -gal 染色

免疫磁性分选法^[3]分离纯化各组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC, 用 PBS 离心洗涤细胞 2 次, 按照 SA- β -Gal 染色试剂盒方法操作, 在 37 °C、无 CO₂ 条件下孵育染色 12 h。孵育后离心甩片, 使每张甩片的细胞数为 1 $\times$ 10⁴ 个, 70%甘油封片镜检。每张甩片随机计数 400 个细胞, 观察和计算阳性细胞的百分比。

2.4 造血祖细胞混合集落 (CFU-Mix) 培养

参照文献方法^[4-5], 将 2-巯基乙醇 (1 $\times$ 10⁻⁴ mol/L)、3% L-谷氨酰胺、马血清、rhEPO、IL-3、rhGM-CSF、1 $\times$ 10⁴ 个分离纯化的各组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC、2.7%甲基纤维素, 总体积 2 mL, 充分混匀后接种于 96 孔板中 (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造血祖细胞集落能力与多向分化潜能。

2.5 流式细胞术分析细胞周期

分离纯化各组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC, 经 70%冰

乙醇固定过夜,加入 100 μL 牛胰核糖核酸酶,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min,碘化丙啶染色 30 min,流式细胞术检测各组细胞的细胞周期时相。

2.6 qRT-PCR 检测 SIRT6、NF- κB mRNA 的表达

收集各组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC, Trizol 裂解,提取各组细胞总 RNA。逆转录为相应的 cDNA,逆

转录反应条件为 42 $^{\circ}\text{C}$ 、30 min, 99 $^{\circ}\text{C}$ 、5 min, 5 $^{\circ}\text{C}$ 、5 min。以 cDNA 为模板,扩增 SIRT6、NF- κB mRNA,以 β -actin 为内参照。引物序列见表 1。PCR 扩增条件为 94 $^{\circ}\text{C}$ 、4 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 、20 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 35 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 检测信号。应用 Quantity One 软件 (Bio Rad) 进行数据处理并分析结果。

表 1 荧光定量 PCR 引物序列

Table 1 Primers of qRT-PCR

引物	正向引物 (5'→3')	反向引物 (5'→3')	产物大小/bp
SIRT6	CACCATTCTGGACTGGGAGG	GTGGCAAGGGGCAGGTTC	138
NF- κB	GTGGAGGCATGTTCGGTAGTG	TCTTGGCACAATCTTTAGGGC	195
β -actin	GAGACCTTCAACACCCCAGC	ATGTCACGCACGATTTC	263

2.7 Western blotting 法检测 SIRT6、NF- κB 蛋白的表达

收集各组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC, 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 SIRT6、NF- κB 一抗 (1:200), 4 $^{\circ}\text{C}$ 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。

2.8 统计学处理

采用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理。采用析因设计、单因素方差分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果

3.1 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠外周血象的影响

辐射后,模型组和 Rg₁ 组小鼠外周血 WBC、RBC 和 PLT 均低于对照组 ($P < 0.01$),与模型组比较,人参皂苷 Rg₁ 能够促进辐射后小鼠外周血的恢复,外周血 WBC、RBC 和 PLT 均显著增加 ($P < 0.05$),结果见表 2。

表 2 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠外周血象的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 2 Effect of ginsenoside Rg₁ on peripheral blood of radiation mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	WBC/($\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$)	RBC/($\times 10^{12} \cdot \text{L}^{-1}$)	PLT/($\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1}$)
对照	8.67 $\pm$ 0.45	11.34 $\pm$ 1.02	1 708.00 $\pm$ 72.56
模型	1.06 $\pm$ 0.54**	3.87 $\pm$ 0.92**	524.62 $\pm$ 67.44**
Rg ₁	3.24 $\pm$ 1.26**#	5.09 $\pm$ 0.74**#	612.07 $\pm$ 102.67**#

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ vs model group

3.2 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SA- β -gal 染色阳性率的影响

模型组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SA- β -gal 阳性细胞比例为 (24.68 $\pm$ 2.36) %, Rg₁ 组为 (10.47 $\pm$ 1.89) %,均高于对照组 (4.27 $\pm$ 0.52) % ($P < 0.05$); Rg₁ 组小鼠阳性细胞比例显著低于模型组 ($P < 0.05$)。

3.3 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC CFU-Mix 形成能力的影响

模型组小鼠 1×10^4 个 Sca-1⁺ HSC/HPC 形成 CFU-Mix 数量为 (4.89 $\pm$ 0.82) 个, Rg₁ 组 1×10^4 个 Sca-1⁺ HSC/HPC 形成 CFU-Mix 数量为 (9.49 $\pm$ 1.06) 个,均显著低于对照组 [(19.34 $\pm$ 1.57) 个] ($P < 0.05$), Rg₁ 组形成 CFU-Mix 数量显著高于模型组 ($P < 0.05$)。

3.4 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC 细胞周期分布的影响

与对照组比较,模型组和 Rg₁ 组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC G₀/G₁ 细胞比例增高,增殖指数 (PI) 降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, Rg₁ 组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC G₀/G₁ 细胞比例降低,PI 升高 ($P < 0.05$),结果见表 3。

3.5 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT6、NF- κB mRNA 表达的影响

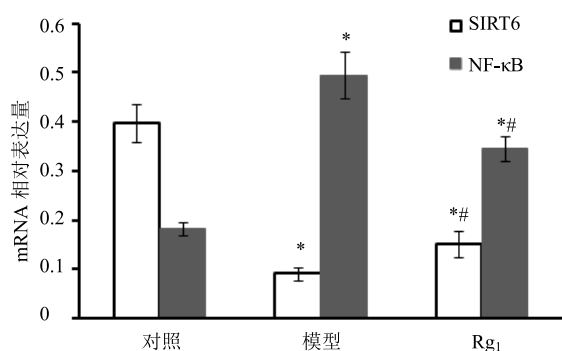
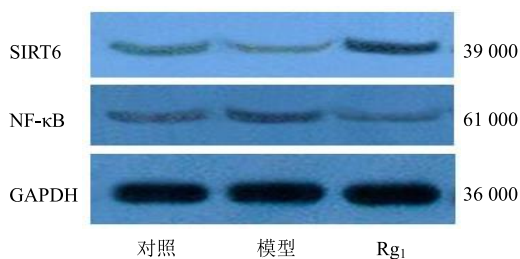
与对照组比较,辐射后,模型组和 Rg₁ 组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT6 mRNA 表达下降, NF- κB mRNA 表达升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, Rg₁ 组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT6 mRNA 表达上调, NF- κB mRNA 表达下调 ($P < 0.05$),结果见图 1。

3.6 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT6、NF- κB 蛋白表达的影响

由图 2 结果可知,与对照组比较,辐射后,模

表 3 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠细胞周期分布的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 3 Effect of ginsenoside Rg₁ on distribution of cell cycle to Sca-1⁺ HSC/HPC of radiation mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	周期分布/%			
	G ₀ /G ₁	G ₂ /M	S	PI
对照	58.74 ± 6.04	17.39 ± 3.48	23.87 ± 7.60	41.26 ± 6.24
模型	74.36 ± 5.60*	10.44 ± 3.06*	15.20 ± 6.51*	25.64 ± 4.12*
Rg ₁	66.41 ± 4.72*#	13.33 ± 5.14*#	20.26 ± 5.71*#	33.59 ± 3.78*#

与对照组比较: * $P < 0.05$, 与模型组比较, # $P < 0.05$, 图 1、2 同* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.01$ vs model group, same as Fig. 1 and 2图 1 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT6, NF-κB mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Fig. 1 Effect of ginsenoside Rg₁ on expression of SIRT6 and NF-κB mRNA to Sca-1⁺ HSC/HPC of radiation mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)图 2 人参皂苷 Rg₁ 对辐射小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT6, NF-κB 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)Fig. 2 Effect of ginsenoside Rg₁ on expression of SIRT6 and NF-κB protein to Sca-1⁺ HSC/HPC of radiation mice ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

型组和 Rg₁ 组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT6 蛋白表达下降, NF-κB 蛋白表达升高; 与模型组比较, Rg₁ 组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SIRT6 蛋白表达上调, NF-κB 蛋白表达下调 ($P < 0.05$)。

4 讨论

辐射损伤是临床放射治疗面临的重要问题, 辐射可引起机体多组织和器官损伤, 造血系统对辐射损伤尤为敏感, 是辐射致死的主要原因。辐射可抑

制或破坏 HSC 增殖能力, 诱导 HSC 衰老, 致机体造血功能低下或衰竭, WBC、RBC 和 PLT 数量减少, 诱发感染、贫血、出血等并发症^[6-8]。因此, 寻找有效的在放射治疗过程中防治造血系统辐射损伤的药物具有重要意义。

传统医学认为, 放射线具有“火热毒邪”的特点, 辐射损伤致机体出现热毒炽盛、气血两虚和阴阳失调等症状, 具有清热解毒、活血化瘀、补血益气的多种中医药均具有不同程度的抗辐射、抗诱变作用^[9-10]。人参是祖国医学“补气生血”的君药, 人参皂苷 Rg₁ 是人参主要药效成分, 具有促进造血功能、抗衰老、抗辐射损伤等作用。研究发现, 人参皂苷 Rg₁ 能明显延长老年大鼠的存活时间, 并可明显改善老年大鼠衰退的行为活动功能; 在适当浓度人参皂苷 Rg₁ 的培养体系中, 二倍体成纤维细胞生长速度增加, 细胞的寿命延长。人参皂苷 Rg₁ 能促进造血细胞增殖分化, 并能延缓辐射致造血干细胞的损伤^[11-12]。

本实验将人参皂苷 Rg₁ 作用于经 6.5 Gy ⁶⁰Coγ 线全身一次性辐射的小鼠, 结果显示人参皂苷 Rg₁ 促进辐射后小鼠造血功能的恢复, 人参皂苷 Rg₁ 组小鼠血液中 WBC、RBC、PLT 数量高于对照组, 且 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老相关生物学指标改变均得到改善。人参皂苷 Rg₁ 组小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC SA-β-gal 阳性细胞比例和 G₀/G₁ 细胞比例低于模型组, 形成 CFU-Mix 数量高于模型组, 提示人参皂苷 Rg₁ 促进辐射后小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC 自我更新及增殖分化能力的增强, 降低了辐射致 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的作用。

在衰老调控网络中, SIRT6 和 NF-κB 在衰老进程中扮演了重要角色, SIRT6 可减弱 NF-κB 信号通路, 与 NF-κB RELA 亚单位结合, 促进 NF-κB 靶基因启动子 H3K9 脱乙酰作用而发挥其延缓衰老进程

的功能,而增强 NF- κ B 信号通路可促进早衰和正常衰老的发生^[13-14]。本实验也发现,辐射可致小鼠 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老,辐射后 Sca-1⁺ HSC/HPC 中的 SIRT6 表达下降, NF- κ B 表达增高,与衰老进程中 SIRT6/NF- κ B 信号轴的改变一致。将人参皂苷 Rg₁ 作用于辐射后的小鼠, Sca-1⁺ HSC/HPC 中的 SIRT6 表达上调, NF- κ B 表达下调。该结果提示人参皂苷 Rg₁ 可通过调控 SIRT6/NF- κ B 信号通路发挥抗辐射损伤致 Sca-1⁺ HSC/HPC 衰老的作用。

参考文献

- [1] Milano F, Merriam F, Nicoud I, *et al.* Notch-expanded murine hematopoietic stem and progenitor cells mitigate death from lethal radiation and convey immune tolerance in mismatched recipients [J]. *Stem Cells Transl Med*, 2017, 6(2): 566-575.
- [2] Chu S F, Zhang J T. New achievements in ginseng research and its future prospects [J]. *Chin J Integr Med*, 2009, 15(6): 403-408.
- [3] 陈 萃, 孙 可, 耿 珊, 等. 人参皂苷 Rg₁ 对辐射致造血干/祖细胞衰老的影响及其机制 [J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 26(11): 1604-1616.
- [4] Farese A M, Hunt P, Grab L B, *et al.* Combined administration of recombinant human megakaryocyte growth and development factor and granulocyte colony-stimulating factor enhances multilineage hematopoietic reconstitution in nonhuman primates after radiation-induced marrow aplasia [J]. *J Clin Invest*, 1996, 97(9): 2145-2151.
- [5] Kobari L, Giarratana M C, Poloni A, *et al.* Flt3 Ligand, MGDF, Epo and G-CSF enhance *ex vivo* expansion of hematopoietic cell compartments in the presence of SCF, IL-3 and IL-6 [J]. *Bone Marrow Transplant*, 1998, 21(8): 759-767.
- [6] Wen S, Dooner M, Cheng Y, *et al.* Mesenchymal stromal cell-derived extracellular vesicles rescue radiation damage to murine marrow hematopoietic cells [J]. *Leukemia*, 2016, 30(11): 2221-2231.
- [7] Gläser K, Rohland M, Kleine-Ostmann T, *et al.* Effect of radiofrequency radiation on human hematopoietic stem cells [J]. *Radiat Res*, 2016, 186(5): 455-465.
- [8] Vandevoorde C, Vral A, Vandekerckhove B, *et al.* Radiation sensitivity of human CD34(+) cells versus peripheral blood T lymphocytes of newborns and adults: DNA repair and mutagenic effects [J]. *Radiat Res*, 2016, 185(6): 580-590.
- [9] Asadullina N R, Usacheva A M, Gudkov S V. Protection of mice against X-ray injuries by the post-irradiation administration of inosine-5'-monophosphate [J]. *J Radiat Res*, 2012, 53(2): 211-216.
- [10] Mansour H H, Hafez H F. Protective effect of Withania somnifera against radiation-induced hepatotoxicity in rats [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2012, 80(1): 14-19.
- [11] Shen L H, Zhang J T. Ginsenoside Rg₁ promotes proliferation of hippocampal progenitor cells [J]. *Neurol Res*, 2004, 26(4): 422-428.
- [12] Fan Y, Xia J, Jia D, *et al.* Mechanism of ginsenoside Rg₁ renal protection in a mouse model of D-galactose-induced subacute damage [J]. *Pharm Biol*, 2016, 54(9): 1815-1821.
- [13] Kang L, Hu J, Weng Y, *et al.* Sirtuin 6 prevents matrix degradation through inhibition of the NF- κ B pathway in intervertebral disc degeneration [J]. *Exp Cell Res*, 2017, 352(2): 322-332.
- [14] Choi Y J, Moon K M, Chung K W, *et al.* The underlying mechanism of proinflammatory NF- κ B activation by the mTORC2/Akt/IKK α pathway during skin aging [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(33): 52685-52694.