

基于秀丽隐杆线虫模型的棉子糖抗衰老作用研究

高雅婷, 陈旭, 范潇晓, 郑天宇, 刘永刚*, 张园园*

北京中医药大学 中药学院, 北京 100029

摘要: 目的 研究棉子糖抗衰老活性并探讨其作用机制。方法 棉子糖 (150、200、250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 加到大肠杆菌中孵育秀丽隐杆线虫后, 显微镜下观察线虫身体弯曲频率、头尾摆动频率、体长, 观察热应激刺激下线虫的存活时间; 通过脂褐素荧光强度检测评价棉子糖对线虫抗衰老能力的影响; 采用DAF-16核定位测定和超氧化物歧化酶-3 (SOD-3) 表达测定研究其抗衰老的相关机制。结果 与对照组比较, 棉子糖3个浓度均使线虫的身体弯曲频率加快 ($P < 0.001$); 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棉子糖使线虫头尾摆动频率加快 ($P < 0.01$); 体长测试结果显示棉子糖3个浓度均对线虫生长发育无毒害作用。热应激测试中, 与对照组比较, 棉子糖3个浓度均显著延长线虫在热应激条件下的存活时间 ($P < 0.05$)。脂褐素测试中, 与对照组比较, 棉子糖3个浓度均使线虫体内脂褐素含量显著降低 ($P < 0.01$)。DAF-16核定位测定中, 棉子糖3个浓度均促进DAF-16蛋白入核表达。SOD-3表达测定中, 与对照组比较, 棉子糖250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度组的SOD-3蛋白表达水平显著上升 ($P < 0.05$), 与DAF-16核定位测定一并说明棉子糖抗衰老活性依赖IIS分子信号通路。结论 棉子糖能够促进线虫的活动能力, 对其生长发育无毒害性, 并能延缓线虫的衰老速度, 促进DAF-16蛋白入核表达, 提高SOD-3蛋白表达水平, 其抗衰老机制依赖IIS分子信号通路。

关键词: 棉子糖; 秀丽隐杆线虫; 脂褐素; 抗衰老; DAF-16; 超氧化物歧化酶-3

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2024) 02-0339-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.02.014

Study on anti-aging effect of raffinose based on model of *Caenorhabditis elegans*

GAO Yating, CHEN Xu, FAN Xiaoxiao, ZHENG Tianyu, LIU Yonggang, ZHANG Yuanyuan

School of Traditional Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract: Objective To study the anti-aging activity of raffinose and to explore its anti-aging mechanism. **Methods** Raffinose (150, 200, and 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) was added to *Escherichia coli* to incubate *Caenorhabditis elegans*, the body bending frequency, head and tail swinging frequency, and body length of the nematodes were observed under a microscope, and the survival time of the *Caenorhabditis elegans* under heat stress stimulation was observed. The effect of raffinose on the anti-aging ability of nematode was evaluated by lipofuscin, and the anti-aging mechanism was determined by DAF-16 nuclear localization and SOD-3 expression. **Results** In the body bending test, the three concentration groups of raffinose accelerated the body bending frequency of *Caenorhabditis elegans* compared with control group ($P < 0.001$). In the head-tail swing test, the raffinose of 200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ concentration group accelerated the head-tail swing frequency of nematodes compared with control group ($P < 0.01$). In the body length test, the three concentration groups of raffinose had no toxic effect on the growth and development of nematode. In the heat stress test, the three concentration groups of raffinose prolonged the survival time of *Caenorhabditis elegans* under heat stress ($P < 0.05$). In the lipofuscin test, the three concentration groups of raffinose decreased the content of lipofuscin in *Caenorhabditis elegans*. In DAF-16 nuclear localization assay, raffinose at three concentrations promoted the expression of DAF-16 protein into the nucleus. In the determination of SOD-3 expression, the level of SOD-3 protein expression increased in raffinose 250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ group, which together with DAF-16 nuclear localization assay showed that raffinose's anti-aging activity depended on IIS molecular signal pathway. **Conclusion** Raffinose can promote the activity of *Caenorhabditis elegans*, has no toxicity to its growth and development, and can delay the senescence of *Caenorhabditis elegans*, promote the expression of DAF-16 protein into nucleus and increase the expression level of SOD-3 protein. The anti-aging mechanism of raffinose depends on IIS molecular signal pathway.

Key words: raffinose; *Caenorhabditis elegans*; lipofuscin; anti-aging effect; DAF-16; SOD-3

收稿日期: 2023-08-07

第一作者: 高雅婷(1996—), 女, 山西临汾人, 硕士研究生, 研究方向为中药化学。E-mail: 18035799221@163.com

*共同通信作者: 刘永刚, 教授, 研究方向为中药药效物质基础。E-mail: liuyg0228@163.com

张园园, 副教授, 研究方向为天然产物合成与结构修饰。E-mail: choenen@163.com

棉子糖又称蜜三糖、蜜里三糖、棉实糖或棉籽糖,是自然界中最知名的一种三糖,由半乳糖、果糖和葡萄糖结合而成,人们熟知的功能性低聚糖——大豆低聚糖中的主要功效成分之一就是棉子糖。棉子糖具有良好理化性能和生理活性,如促进双歧杆菌增殖,改善肠胃、保护肝脏、降低血液胆固醇、增强免疫力、抗癌、抗氧化等,是各类功能性低聚糖中的佼佼者^[1]。

人体内的每一次新陈代谢都会发生氧化还原反应,进而产生自由基。当细胞中自由基产生过多,抗氧化酶不足时,自由基不能被及时清除,会引起细胞凋亡和组织损伤。自由基衰老学说被认为是引起机体衰老的根本原因。所以,一些学者认为,从外界摄入可以对抗自由基的抗氧化物,能够保护细胞免受损伤^[2]。抗氧化和抗衰老部分重叠,但又互不包含。

秀丽隐杆线虫生物具有构造简单、生长周期短、易于观察和操作等优点。其基因序列中有60%~80%的人类同源基因,是药物活性筛选和毒理研究常用的模式生物^[3-4]。本研究首次以秀丽隐杆线虫为模式生物,研究棉子糖对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用并探究其机制,为棉子糖及其相关制剂应用于抗衰老领域提供参考。

1 材料

1.1 菌株与线虫品系

E. coli OP50 大肠杆菌、野生型秀丽隐杆线虫株 N₂; 线虫株 TJ356, 基因型为 *zls356[daf-16p::daf-16a/b::GFP+rol-6(su1006)]*, 绿色荧光蛋白 GFP 融合 DAF-16 蛋白; 线虫株 CF1553, 基因型为 *muls84[(pAD76)sod-3p::GFP+rol-6(su1006)]*, 绿色荧光蛋白 GFP 融合超氧化物歧化酶-3(SOD-3)蛋白, 均由中国科学院遗传与发育生物学研究所惠赠。

1.2 药物及主要试剂

棉子糖(北京伊诺凯科技有限公司,批号 5014H02X,规格 10 g,质量分数 99%);胰蛋白胨、酵母提取物(赛默飞世尔 Oxoid 公司);蛋白胨、琼脂粉(北京奥博星生物技术有限公司);胆固醇(北京博奥拓达科技有限公司);氢氧化钠、氯化钠、磷酸二氢钾、无水氯化钙(天津市大茂化学试剂厂);无水硫酸镁(天津市光复科技发展有限公司);3%过氧化氢溶液(厦门安永博科技有限公司);次氯酸钠溶液(天津福晨化学试剂有限公司)。

1.3 主要仪器

生化培养箱(北京科伟永兴仪器有限公司);

BSA124S-CW 万分之一电子天平(赛多利斯公司);VORTEX-7 迷你混合仪和 LX-300 迷你离心机(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);D-LH/LC 荧光倒置显微镜(日本 Nikon 公司);XFH-50CA 高压灭菌锅(浙江新丰医疗器械有限公司)。

2 方法

2.1 培养基及相关溶液配制

线虫生长培养基(NGM, 500 mL): 486 mL 去离子水 + 1.5 g NaCl + 1.25 g 蛋白胨 + 8.5 g 琼脂 + 0.5 mL 5 mg·mL⁻¹胆固醇乙醇液 + 0.5 mL 1 mol·L⁻¹ CaCl₂ + 0.5 mL 1 mol·L⁻¹ MgSO₄ + 12.5 mL 1 mol·L⁻¹ K₃PO₄。

LB 液体培养基(200 mL): 200 mL 去离子水 + 2 g 胰蛋白胨 + 1 g 酵母提取物 + 2 g NaCl。

M9 缓冲液(400 mL): 2.32 g Na₂HPO₄ + 1.2 g KH₂PO₄ + 0.2 g NaCl + 0.4 g NH₄Cl + 0.4 L H₂O。

线虫裂解液: 取 200 μL 的 NaClO 溶液, 加入 4 mol·L⁻¹ NaOH 溶液 400 μL, 混匀后吸出混合液 400 μL, 加入 2.8 mL M9 缓冲液, 即配成 3.2 mL 裂解液。

线虫麻醉液(1 mL): 13 μL 1-苯氧基-2-丙醇 + 1 mL M9 缓冲液。

以上试剂除 M9 缓冲液、麻醉液外均为现用现配;除线虫裂解液和麻醉液,其余均需高温高压灭菌锅灭菌后使用,条件为 121 °C 灭菌 20 min。

2.2 线虫的培养及同步化

600 μL 大肠杆菌在无菌条件下接种于培养基中,并放置在 22 °C 生化培养箱中培养 1 d。秀丽隐杆线虫在涂有大肠杆菌的培养基上生长发育,每天观察线虫的生长情况和培养基情况,并 3~4 d 转 1 次板。取具有良好生长发育状态的线虫,使用 M9 缓冲液,用移液器将培养基上的线虫小心地冲洗至 1.5 mL 无菌 EP 管中,冲洗 2~3 次,静置 1 min,吸出上清液;再加入 M9 缓冲液于 EP 管中,静置 1 min 后吸出上清液,此操作重复 3 次。然后加入 1 mL 线虫裂解液,使用涡旋震荡器涡旋 6 min,并在离心机中以 10 000 r·min⁻¹ 离心 90 s,丢弃上清液,再加入 1 mL M9 缓冲液,10 000 r·min⁻¹ 离心 90 s,重复 3 次。最后 1 次冲洗,弃去上清液,加入 1 mL M9 缓冲液,将线虫置于无菌 EP 管中,置于 22 °C 培养箱内,待卵全部孵成 L1 期小虫后,离心,吸出上清液,用移液枪将沉淀的小虫滴加至新的涂有大肠杆菌的培养基中,为了防止污染,不要将线虫直接滴加在大肠杆菌上。30~40 h 可培育出新的处于 L4

时期的线虫。

2.3 身体弯曲频率

分别涂布不加药(对照组)和添加棉子糖(150、200、250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的含大肠杆菌的LB液体培养基600 μmol 至NGM中,等其变干后,将随机挑取的同步到L4期的N2线虫放置于其中,每组30条。培养2 d后,将线虫挑至不含食物的培养基中,在显微镜下添加1滴灭菌的M9缓冲液,并记录20 s内线虫身体弯曲频率。成功的身体弯曲被定义为以身体形成的S型中轴线为轴,并且以正弦波形向前移动的过程。

2.4 头尾摆动频率

给药操作同“2.3”项,培养2 d后,倾斜添加了1.0~1.5 mL灭菌后的M9缓冲液的每组NGM培养基,并拍摄20 s的清晰视频记录线虫头部或尾部从左到右摆动频率。

2.5 体长测定

给药操作同“2.3”项,培养1 d后,将各组线虫挑至加有线虫麻醉液的载玻片上,静置3 min待虫体不动后,在倒置荧光显微镜下观察并拍照。使用Image J软件对图像进行分析,并对各组线虫的体长进行统计。

2.6 热应激测试^[4]

给药操作同“2.3”项,给药5 d后,将线虫置于37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中进行观察,每小时计算死亡线虫的数量,直到所有线虫死亡。

2.7 脂褐素沉积

给药操作同“2.3”项,给药5 d的L4期线虫放在载玻片上,加入1滴线虫麻醉液麻醉。待虫体不动,将载玻片放在倒置荧光显微镜下。观察倒置荧光显微镜下的线虫,固定曝光时间和强度,激发波长设置为380 nm,发射波长设置为420 nm,拍摄荧光图像。使用Image J软件分析每组中30条线虫的荧光强度,并进行统计。

2.8 DAF-16核定位测定

在TJ356转基因线虫中,GFP荧光蛋白基因与daf-16基因融合。DAF-16蛋白的分布可以通过荧光显微镜观察到。同步到L4期的TJ356线虫给药操作同“2.3”项,培养3 d后,线虫转移到载玻片上,滴1滴线虫麻醉液,虫体不动后,在倒置荧光显微镜(激发波长485 nm,发射波长530 nm)下拍照后,统计每组发生核转位的线虫比例。

2.9 SOD-3蛋白表达测定

在CF1553转基因线虫中,GFP荧光蛋白基因与

sod-3基因融合,可以通过倒置荧光显微镜直接观察到SOD-3蛋白的表达。将随机挑取的同步到L4期的CF1553线虫放置于不加药(对照组)和添加棉子糖(250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)的NGM中,每组30条。3 d后,将线虫挑选到载玻片上,加入麻醉液麻醉。线虫不动后,在倒置荧光显微镜下拍摄荧光照片。使用Image J软件处理图像来计算不同线虫组的荧光强度。

2.10 统计学方法

统计分析使用Graphpad Prism 8.0统计软件进行,结果用 $\bar{x}\pm s$ 表示。当数据符合正态分布且方差齐时,多组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),不符合正态分布的采用Wilcoxon秩和检验。

3 结果

3.1 棉子糖对秀丽隐杆线虫身体弯曲频率的影响

如图1所示,给药2 d,与对照组比较,150、200、250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棉子糖组秀丽隐杆线虫身体弯曲频率显著增快,差异有统计学意义($P<0.001$),且呈一定的剂量相关性。

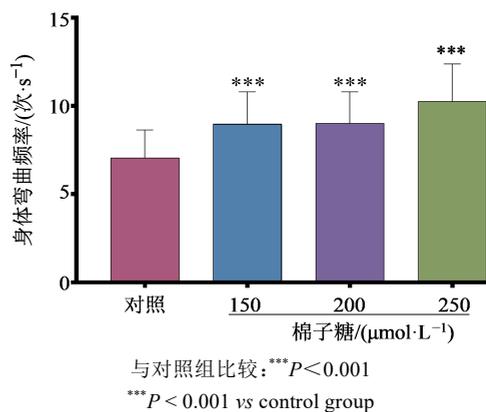


图1 棉子糖对秀丽隐杆线虫身体弯曲频率的影响($\bar{x}\pm s$, $n=30$)

Fig 1 Effect of raffinose on body bending frequency of *C. elegans* ($\bar{x}\pm s$, $n=30$)

3.2 棉子糖对秀丽隐杆线虫头尾摆动的影响

结果如图2所示,给药2 d,与对照组比较,150、250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棉子糖均不能使秀丽隐杆线虫头尾摆动频率显著增快;棉子糖200 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度能使秀丽隐杆线虫头尾摆动频率明显增快,差异有统计学意义($P<0.01$)。

3.3 棉子糖对秀丽隐杆线虫体长的影响

结果如图3所示,给药1 d,与对照组比较,150、200、250 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棉子糖均不能使秀丽隐杆线虫体长增长,差异无统计学意义。结果提示棉子

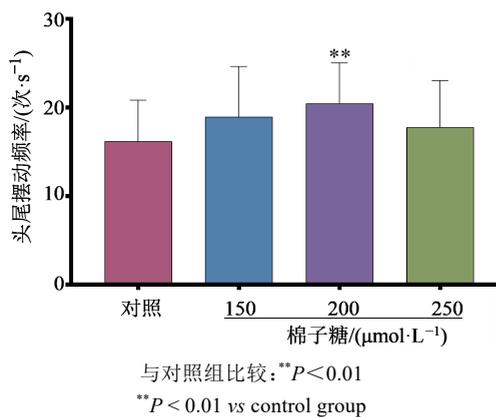


图2 棉子糖对秀丽隐杆线虫头尾摆动频率的影响 ($\bar{x} \pm s, n=30$)

Fig. 2 Effect of raffinose on head and tail swing frequency of *C. elegans* ($\bar{x} \pm s, n=30$)

糖对秀丽隐杆线虫的生长发育并无毒害作用。

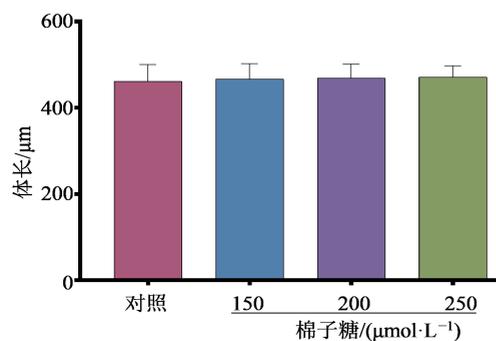


图3 棉子糖对秀丽隐杆线虫体长的影响 ($\bar{x} \pm s, n=30$)

Fig. 3 Effect of raffinose on body length of *C. elegans* ($\bar{x} \pm s, n=30$)

3.4 棉子糖对秀丽隐杆线虫抗热应激能力的影响

给药5 d, 37 °C热处理后,与对照组比较,150、200、250 μmol·L⁻¹棉子糖均能显著延长秀丽隐杆线虫在热应激刺激下的存活时间,抑制环境变化对机体造成的热损伤。从生存曲线图4可见,棉子糖各浓度组能使秀丽隐杆线虫生存曲线明显右移,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

3.5 棉子糖对秀丽隐杆线虫脂褐素沉积的影响

结果如图5所示,给药5 d,与对照组比较,在150、200、250 μmol·L⁻¹棉子糖的处理下,脂褐素含量均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01, 0.001$)。

3.6 棉子糖对秀丽隐杆线虫体内DAF-16蛋白核转位的影响

秀丽隐杆线虫体内DAF-16蛋白核转位如图6、7所示,DAF-16可调节线虫的抗逆性和持久性,其核定位对激活下游基因至关重要。TJ356线虫细胞内DAF-16::GFP的荧光表达主要分为细胞质定位,

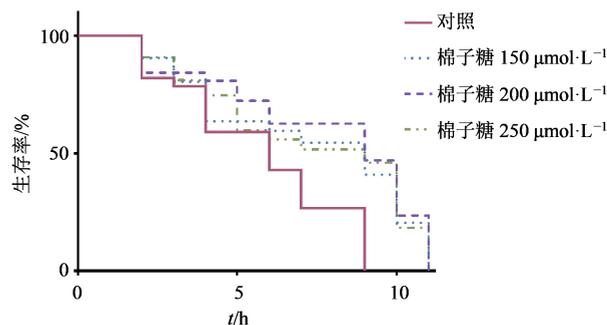


图4 棉子糖对秀丽隐杆线虫抗热应激能力的影响 ($n=30$)

Fig. 4 Effect of raffinose on heat stress resistance of *C. elegans* ($n=30$)

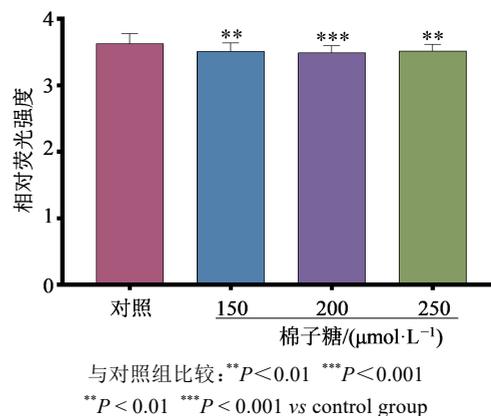


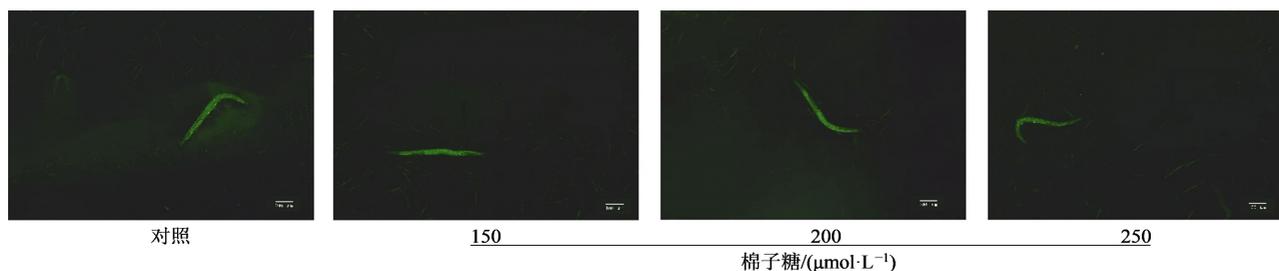
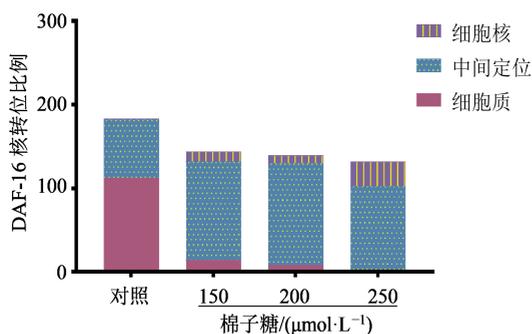
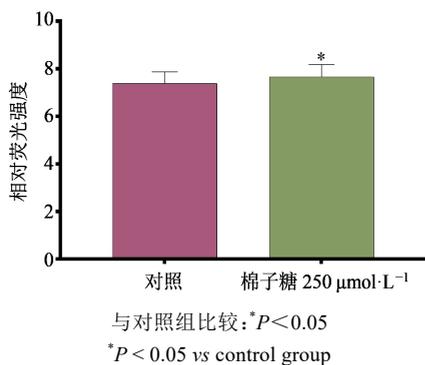
图5 棉子糖对秀丽隐杆线虫脂褐素沉积的影响 ($\bar{x} \pm s, n=30$)

Fig. 5 Effect of raffinose on lipofuscin deposition of *C. elegans* ($\bar{x} \pm s, n=30$)

中间定位以及细胞核定位。TJ356转基因线虫给药3 d后,结果显示,对照组DAF-16::GFP荧光细胞质定位的比例为61.20%,中间定位的比例为38.25%,细胞核定位的比例为0.55%;150 μmol·L⁻¹棉子糖组DAF-16::GFP荧光细胞质定位的比例为9.72%,中间定位的比例为81.95%,细胞核定位的比例为8.33%;200 μmol·L⁻¹组DAF-16::GFP荧光细胞质定位的比例为5.76%,中间定位的比例为87.77%,细胞核定位的比例为6.47%;250 μmol·L⁻¹组DAF-16::GFP荧光细胞质定位的比例为0%,中间定位的比例为78.03%,细胞核定位的比例为21.97%。结果表明棉子糖能促进DAF-16向细胞核的迁移。

3.7 棉子糖对秀丽隐杆线虫体内SOD-3蛋白表达的影响

秀丽隐杆线虫体内SOD-3蛋白表达水平如图8所示,*sod-3*是DAF-16的靶基因,其转录直接受DAF-16调控。当DAF-16蛋白的转录活性增加时,其下游的*sod-3*因子表达将上调。为了进一步确定棉子糖是否影响DAF-16蛋白的转录活性,使用

图6 荧光显微镜下DAF-16::GFP的定位图($\times 40$)Fig. 6 DAF-16::GFP localization map under fluorescence microscope ($\times 40$)图7 DAF-16核转位比例($n=30$)Fig. 7 Ratio of DAF-16 nuclear location ($n=30$)图8 SOD-3蛋白表达水平($\bar{x}\pm s, n=30$)Fig. 8 SOD-3 protein expression level ($\bar{x}\pm s, n=30$)

CF1553线虫检测SOD-3蛋白的表达水平。结果显示,与对照组比较,棉子糖 $250\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 能显著上调线虫体内SOD-3蛋白表达水平,差异有统计学意义($P<0.05$)。

4 讨论

本研究以秀丽隐杆线虫为动物模型,研究棉子糖对秀丽隐杆线虫抗衰老作用的影响。线虫在生长发育中随着时间的延长,其运动能力会逐渐降低,而棉子糖组较对照组可优化秀丽隐杆线虫的健康体征,对其体长无影响,但身体弯曲、头尾摆动频率加快,在不影响其生长发育的前提下可增强其活动能力。脂褐素是一种公认的衰老标志物,会随年龄的增长在细胞中逐渐积累,而脂褐素的过量积累

会加速线虫的衰老,所以降低脂褐素的含量可以反映出来其抗衰老能力,本研究结果表明棉子糖3个浓度均可显著降低线虫体内脂褐素沉积水平,说明棉子糖可发挥对秀丽隐杆线虫的抗衰老作用。当秀丽隐杆线虫受到外界热压力的作用时,会对线虫的组织结构造成损害^[5],而棉子糖提高了线虫在热应激损伤下的耐受力。*daf-16*作为与衰老相关的核心基因,是包括IIS通路在内的多个衰老相关信号通路的下游靶点^[6]。DAF-16蛋白可以调节一系列寿命、压力、代谢和蛋白质稳态因子的表达,当它迁移到细胞核后,可以激活相关基因的表达,增强线虫的抗逆性。TJ356株系的线虫包含着DAF-16::GFP一种结合蛋白,在它们的健康生长和发育过程中,其外表为一片均匀的绿色,但一旦DAF-16受到刺激,它们就会从细胞质上开始,形成一个从细胞质向细胞核的转变。在荧光显微镜下,可看到一系列点状的绿色荧光^[7],本实验中 $250\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棉子糖组呈现出了明显的点状绿色荧光,表明棉子糖可以激活DAF-16的表达,从而激活其下游靶点。DAF-16会同下游相关基因如*sod-3*基因进行表达,来抵抗外界胁迫。*sod-3*是DAF-16的靶基因,其转录直接受DAF-16调控。当DAF-16蛋白的转录活性增加时,其下游的*sod-3*因子表达将上调^[8]。本实验使用CF1553线虫检测SOD-3蛋白的表达, $250\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 棉子糖组SOD-3蛋白表达明显上调,表明棉子糖影响了DAF-16蛋白的转录活性,进而确定棉子糖的抗衰老机制通过IIS通路来完成。

棉子糖具有抗衰老作用,其作用机制可能是通过激活IIS信号通路上的靶点DAF-16的转录,促进其入核表达,进而使其下游靶点SOD-3蛋白表达上调,从而延长了线虫的寿命。本研究初步证明了棉子糖抗衰老的作用通路,为阐明棉子糖抗衰老机制提供了思路,也为棉子糖作为抗衰老药物的开发和应用奠定了基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 徐大专, 李振. 棉籽糖对大鼠免疫功能及抗氧化作用的影响 [J]. 中国兽医杂志, 2019, 55(2): 36-38.
Xu D Z, Li Z. Effect of raffinose on immune function and antioxidant activity in SD rats [J]. Chin J Vet Med, 2019, 55(2): 36-38.
- [2] 高强. 抗氧化能抗衰老吗? [J]. 食品与健康, 2021, 33(11): 47.
Gao Q. Can anti-oxidation resist aging? [J]. Food Health, 2021, 33(11): 47.
- [3] Wyss-Coray T. Ageing, neurodegeneration and brain rejuvenation [J]. Nature, 2016, 539(7628): 180-186.
- [4] Suhyeon Pa, Bo-Kyoung K, Sang-Kyu P, Supplementation with phosphatidylethanolamine confers anti-oxidant and anti-aging effects via hormesis and reduced insulin/IGF-1-like signaling in *C. elegans* [J]. Mech Age Dev, 2021, 197: 111498.
- [4] 周玉枝, 闫明亮, 高丽, 等. 衰老动物模型的研究及其在抗衰老药物活性筛选中的应用 [J]. 中草药, 2017, 48(6): 1061-1071.
Zhou Y Z, Yan M L, Gao L, et al. Study on aging animal models and its application in activity screening of anti-aging drugs [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2017, 48(6): 1061-1071.
- [5] 李孝丽. 香椿子不同部位提取物对秀丽隐杆线虫热应激的防护作用研究 [D]. 阜阳: 阜阳师范大学, 2021.
Li X L. Studies on the protective effects of extracts from different parts of *Toona sinensis* on heat stress of *C. elegans* [D]. Fuyang: Fuyang normal University, 2021.
- [6] Stroustrup N, Anthony W E, Nash Z M, et al. The temporal scaling of *Caenorhabditis elegans* ageing [J]. Nature, 2016, 530(7588): 103-107.
- [7] Zhi D J, Wang D, Yang W Q, et al. Dianxianning improved amyloid β -induced pathological characteristics partially through DAF-2/DAF-16 insulin like pathway in transgenic *C. elegans* [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 11408.
- [8] Zheng S Q, Liao S T, Zou Y X, et al. Ins-7 Gene expression is partially regulated by the DAF-16/IIS signaling pathway in *Caenorhabditis elegans* under celecoxib intervention [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e100320.

[责任编辑 兰新新]