

人参皂苷 R_{g1} 对 D-半乳糖所致衰老小鼠海马的保护机制

向 玥, 陈黎波, 姚 辉, 陈雄斌, 刘 颖, 汪子铃, 熊丽溶, 王 璐, 王顺和*, 王亚平*

重庆医科大学 干细胞与组织工程研究室, 重庆 400016

摘要: 目的 探讨人参皂苷 R_{g1} 对 D-半乳糖 (D-gal) 所致衰老小鼠海马的保护机制。方法 6~8 周龄雄性 C57BL/6J 巢蛋白 (Nestin)-绿色荧光蛋白 (GFP) 转基因小鼠随机分为 4 组, 每组 10 只, 分别为对照组、人参皂苷 R_{g1} 对照组、人参皂苷 R_{g1} 治疗组、模型组。衰老模型建立与给药完成后第 2 天, 水迷宫实验检测小鼠空间学习记忆能力; 取小鼠海马制备冷冻组织切片, 观察海马区神经干细胞 Nestin 荧光强度; 衰老相关 β -半乳糖苷酶 (SA- β -gal) 染色法检测海马细胞衰老; 酶标比色法检测海马组织匀浆中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、总抗氧化能力 (T-AOC) 和丙二醛 (MDA) 的量; ELISA 检测海马组织匀浆中白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6 与肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的量; 蛋白印迹法检测海马组织中 p53、p21 蛋白表达。结果 与模型组比较, 人参皂苷 R_{g1} 对照组和人参皂苷 R_{g1} 治疗组小鼠空间学习记忆能力明显增强; 海马齿状回 (DG 区) Nestin 荧光强度增高; 海马齿状回 (CA3 区) SA- β -gal 染色阳性细胞百分比显著降低; 海马组织匀浆中 SOD 活性与 T-AOC 显著增加、MDA 量下降; IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 量减少; p53、p21 蛋白表达降低。结论 人参皂苷 R_{g1} 具有拮抗 D-gal 所致衰老小鼠海马损伤和延缓海马衰老的作用, 其机制可能与抑制氧化应激及下调其下游 p53-p21 信号通路有关。

关键词: 人参皂苷 R_{g1}; D-半乳糖; 衰老模型; Nestin-GFP 转基因小鼠; 海马; 抗氧化

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)18-3789-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.18.019

Protective mechanism of ginsenoside R_{g1} on hippocampus of aging mice induced by D-galactose

XIANG Yue, CHEN Lin-bo, YAO Hui, CHEN Xiong-bin, LIU Ying, WANG Zi-ling, XIONG Li-rong, WANG Lu, WANG Shun-he, WANG Ya-ping

Laboratory of Stem Cells and Tissue Engineering, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Abstract: **Objective** To investigate the protective mechanism of ginsenoside R_{g1} on hippocampus of aging mice induced by D-galactose. **Methods** Forty nestin-green fluorescent protein (GFP) transgenic mice, aged 6—8 weeks, were randomly divided into four groups: control group, ginsenoside R_{g1} control group, ginsenoside R_{g1} therapy group, and model group. Learning and memory abilities were measured by Morris water maze after the modeling completed. Frozen sections were made to survey the hippocampus fluorescence intensity. Senescence-associated β -galactosidase (SA- β -Gal) staining was used to detect the aging level of hippocampus. The activities of superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (T-AOC), and contents of malonaldehyde (MDA) in hippocampus were tested by chromatometry. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to test the levels of interleukin (IL)-1 β , IL-6, and tumor necrosis factor (TNF)- α proinflammatory cytokines in hippocampus. The levels of p53 and p21 were detected by Western blotting. **Results** The learning and memory capacities of the aging model group were decreased compared with those of the drug therapy group; The fluorescence intensity in the dentate gyrus (DG) of hippocampus of the drug therapy group was increased compared with that of the model group; The SA- β -Gal positive granules in section of brain tissue of the aging model group were increased compared with those of the drug group and drug therapy group; The activities of SOD and T-AOC of the drug therapy group were increased compared with those of the aging model group while the content of MDA was decreased. The levels of IL-1 β , IL-6, and TNF- α were decreased in the drug therapy group compared with those in the aging model group. The levels of p53 and p21 were

收稿日期: 2017-04-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81673748); 国家教育部博士导师基金 (20125503110006)

作者简介: 向 玥 (1990—), 女, 重庆市万州区人, 在读硕士研究生, 研究方向为神经干细胞衰老的调控机制。

Tel: 15870589822 E-mail: 1527741927@qq.com

*通信作者 王亚平 (1956—), 男, 博士生导师, 教授, 研究方向为干细胞衰老与疾病研究。Tel: 13101206763 E-mail: ypwang@aliyun.com
王顺和 (1962—), 男, 硕士生导师, 教授, 研究方向为神经干细胞衰老生物学。Tel: 13883058811 E-mail: wangshunhe120@gmail.com

decreased in the drug therapy group compared with those in the aging model group. **Conclusion** Ginsenoside Rg₁ can antagonistic *D*-galactose and delay the aging of hippocampus. In addition, improvement of anti-oxidant ability and regulation of the level of p53-p21 pathway may be the underlying anti-aging mechanism of ginsenoside Rg₁.

Key words: ginsenoside Rg₁; *D*-galactose; aging model; Nestin-green fluorescent protein transgenic mice; hippocampus; anti-oxidant

脑衰老已成为当今衰老生物学领域的重点研究课题。研究证明,脑衰老将引起诸多中枢神经系统退行性疾病,如帕金森病、阿尔茨海默病等^[1]。人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 是中医临床补气要药,人参皂苷是其主要药效成分,其中人参皂苷 Rg₁ 已经被证明是人参的抗衰老单体成分^[2]。课题组前期研究发现,人参皂苷 Rg₁ 能调控神经干细胞衰老,提高衰老小鼠学习记忆能力,但其机制尚不清楚^[3]。本实验采用 *D*-半乳糖 (*D*-gal) 制备巢蛋白-绿色荧光蛋白 (Nestin-GFP) 转基因小鼠衰老模型,探讨人参皂苷 Rg₁ 保护和延缓小鼠海马衰老与调控氧化应激损伤的可能机制,为寻找延缓脑衰老的新方法提供理论与实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

6~8 周龄 Nestin-GFP 雄性 C57BL/6J 转基因小鼠,体质量 19~27 g,购自广州赛业生物科技有限公司,合格证号 SYXK (粤) 2008-0090。于重庆医科大学实验动物中心 SPF 级实验动物间饲养,饲养条件控制为 20~25 °C,规律照明,自由饮食。

1.2 药品与试剂

人参皂苷 Rg₁ (吉林宏久生物有限公司,质量分数 > 98%); *D*-gal (北京索莱宝科技有限公司,批号 D8310,质量分数 > 99%); β -半乳糖苷酶 (SA- β -gal)、超氧化物歧化酶 (SOD)、总抗氧化能力 (T-AOC)、丙二醛 (MDA) 和 BCA 蛋白定量检测试剂盒,DAPI, p53、p21 单克隆抗体均购于碧云天生物技术研究所; β -actin 鼠单克隆抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司); 山羊抗鼠二抗 (北京中杉金桥生物技术有限公司); 白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 检测 ELISA 试剂盒 (欣博盛生物技术有限公司)。

1.3 仪器

Vs-1300L-U 洁净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); TS100 倒置荧光相差显微镜 (日本 Nikon 公司); DP71 光学显微镜 (Olympus 公司); VCX150 超声破碎仪 (美国 Sonics 公司); 酶标仪 (美国 Thermo Fisher 公司); DB-211 电热鼓风干燥箱 (成

都天宇实验设备有限责任公司); 移液枪 (Eppendorf 公司); 垂直电泳仪、ECL 化学发光仪 (Bio-Rad 公司); Leica CM1850 冰冻切片机 (徕卡公司)。

2 方法

2.1 衰老小鼠动物模型制备

Nestin-GFP 转基因小鼠随机分为 4 组,每组 10 只。模型组小鼠 sc *D*-gal (200 mg/kg, 每天 1 次,共 42 d); 人参皂苷 Rg₁ 对照组小鼠 sc 生理盐水 (200 mg/kg, 每天 1 次,共 42 d),从第 17 天起 ip 人参皂苷 Rg₁ (40 mg/kg, 每天 1 次,共 26 d); 人参皂苷 Rg₁ 治疗组小鼠 sc *D*-gal (200 mg/kg, 每天 1 次,共 42 d),从第 17 天起 ip 人参皂苷 Rg₁ (40 mg/kg, 每天 1 次,共 26 d); 对照组小鼠 sc 生理盐水 (200 mg/kg, 每天 1 次,共 42 d)^[4]。给药结束后第 2 天进行相关实验。

2.2 小鼠空间学习记忆能力测定

给药结束后第 2 天开始 Morris 水迷宫实验,检测小鼠的空间学习记忆能力。获得性训练:固定隐形平台位置,按照随机选择顺序将各组小鼠沿池壁从 4 个定点依次放入水池,记录每只小鼠在 120 s 内寻找隐形平台的时间 (逃避潜伏期) 及运动轨迹。若超过 120 s 则记为 120 s,并引导小鼠回到隐形平台停留 10 s,共训练 6 d。探查实验:Morris 水迷宫实验结束后撤去隐形平台,从离隐形平台较远的 2 个象限放入小鼠并记录其在 120 s 内运动轨迹,计算设定时间内小鼠穿越原始平台位置的次数及在原始平台象限停留时间百分比。

2.3 小鼠海马 DG 区 Nestin-GFP 荧光强度检测

10%水合氯醛 ip 麻醉小鼠 (10 mL/kg),依次灌注生理盐水、4%多聚甲醛和 30%蔗糖后取全脑置于液氮中冷冻,Leica 切片机制备 20 μ m 脑组织冠状切片,置于 -80 °C 冰箱保存。取脑组织冷冻切片复温 30 min,加 DAPI 染液避光染色 5 min,荧光显微镜下观察海马 DG 区 Nestin-GFP 荧光强度,Image-Pro Plus 5.1 软件检测 20 个视野下的荧光强度。

2.4 小鼠海马组织中衰老细胞百分率检测

取脑组织冷冻切片复温 30 min,按照 SA- β -gal 染色检测试剂盒说明书方法操作,荧光显微镜下观察海马 CA3 区,Image-Pro Plus 5.1 软件检测 20 个

视野下 SA- β -gal 染色阳性细胞的吸光度 (A) 值。

2.5 小鼠海马组织匀浆中 SOD、T-AOC 与 MDA 量检测

制备 10% 小鼠海马组织匀浆, 3 500 r/min 离心 10 min, 收集上清, 按试剂盒说明书检测 SOD 活性, T-AOC 及 MDA 的量。

2.6 小鼠海马组织匀浆中 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 量检测

按“2.5”项下方法制备小鼠海马组织匀浆上清液。将上清稀释 10 倍后按说明书方法操作, ELISA 法测定 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 的量, 酶标仪测定 450 nm 处 A 值。

2.7 Western blotting 法检测衰老小鼠海马组织中 p53、p21 蛋白表达量

取冷冻海马组织制备蛋白样品, BCA 蛋白浓度试剂盒检测各组蛋白浓度。蛋白定量后调整其浓度, 每泳道上样 40 μ g。SDS-PAGE 凝胶分离, PVDF 膜进行转膜, 5% 脱脂奶粉溶液 (1 $\times$ TBST 配制) 封闭。一抗 p21、p53 (1:500) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 山羊抗鼠二抗 (1:3 000) 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h, 洗膜, ECL 发光系统显色, ImageJ 软件计算目的蛋白与内参蛋白 β -actin 比值。

2.8 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析, 各组间数据比较用 One-way ANOVA。

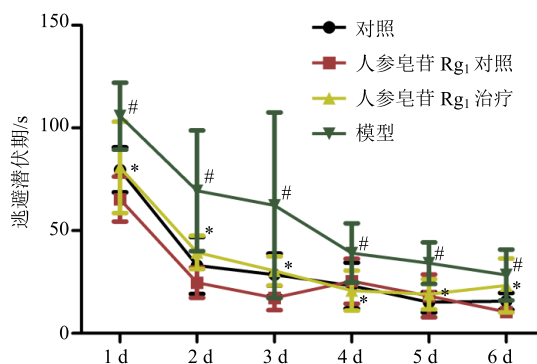
3 结果

3.1 小鼠衰老动态情况观察

小鼠 sc D -gal (200 mg/kg) 共 42 d, 小鼠毛色逐渐晦暗、易脱落, 皮肤弹性差, 精神萎靡、倦怠嗜睡, 进食明显减少, 体质量增加缓慢, 呈现明显自然衰老体征。而对照组、人参皂苷 Rg_1 对照组和人参皂苷 Rg_1 治疗组小鼠无明显相关体征。

3.2 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠空间记忆学习能力的影响

获得性训练结果表明, 与对照组比较, 模型组小鼠寻找隐形平台的逃避潜伏期明显延长 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 人参皂苷 Rg_1 治疗组小鼠寻找隐形平台的逃避潜伏期显著缩短 ($P < 0.05$, 图 1)。探查实验结果表明, 与对照组比较, 模型组小鼠穿越原始平台位置次数及在原始平台象限停留时间百分比降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 人参皂苷 Rg_1 治疗组穿越原始平台位置次数及小鼠在原始平台象限停留时间百分比提高 ($P < 0.05$, 图 2)。



与对照组比较: $\#P < 0.05$; 与模型组比较: $*P < 0.05$, 下同
 $\#P < 0.05$ vs control group; $*P < 0.05$ vs model group, same as below

图 1 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠获得性训练的影响

Fig. 1 Effects of ginsenoside Rg_1 on acquired training of aging mice

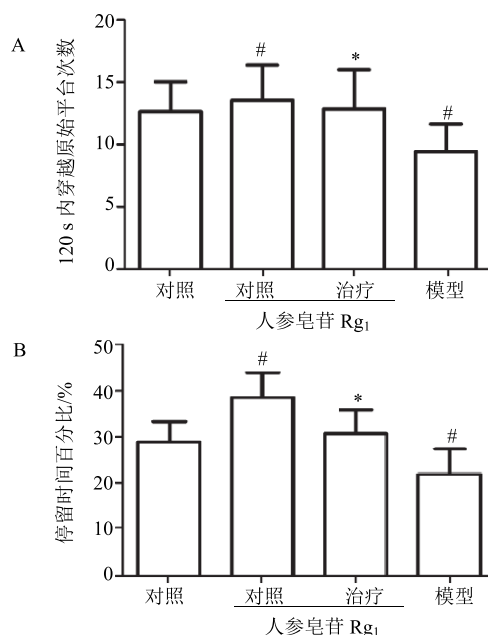


图 2 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠穿越平台数 (A) 与原始平台所在象限停留时间百分比 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 2 Effect of ginsenoside Rg_1 on target zone frequency (A) and percentage of time in target zone (B) of aging mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

3.3 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠海马 DG 区神经干细胞的影响

与对照组比较, 模型组小鼠海马 DG 区 Nestin-GFP 荧光强度明显降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 人参皂苷 Rg_1 治疗组荧光强度增加 ($P < 0.05$, 图 3)。结果说明人参皂苷 Rg_1 有拮抗 D -gal 致衰老小鼠海马 DG 区神经干细胞损伤的作用。

3.4 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠海马 CA3 区细胞的影响

与对照组比较, 模型组小鼠海马 CA3 区

SA- β -gal 染色阳性颗粒数明显增高 ($P<0.05$)。与模型组相比,人参皂苷 Rg_1 治疗组 SA- β -gal 染色阳性颗粒数明显减少 ($P<0.05$, 图4)。

3.5 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠海马区抗氧化能力的影响

模型组小鼠海马组织匀浆中 SOD 及 T-AOC 活性较对照组降低,MDA 量升高 ($P<0.05$); 人参皂苷 Rg_1 治疗组海马组织匀浆中 SOD 及

T-AOC 活性较模型组升高,MDA 量降低 ($P<0.05$, 图5)。

3.6 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠海马区 IL-1 β 、IL-6 以及 TNF- α 量的影响

模型组小鼠海马匀浆中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 量较对照组明显升高 ($P<0.05$), 人参皂苷 Rg_1 治疗组小鼠海马区 IL-1 β 、IL-6 以及 TNF- α 量较模型组显著减少 ($P<0.05$, 图6)。

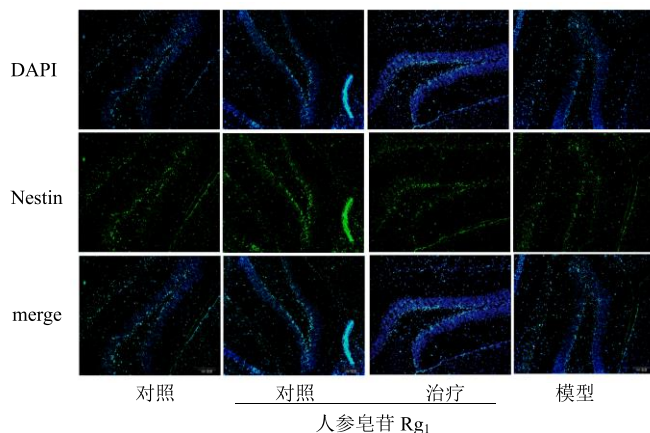


图3 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠海马 DG 区神经干细胞的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Effect of ginsenoside Rg_1 on fluorescence intensity of nestin-GFP in DG of hippocampus in aging mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

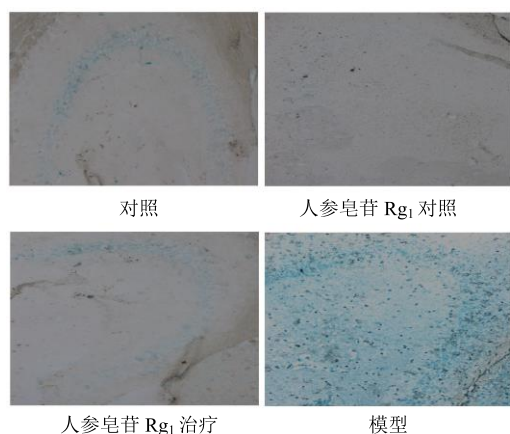


图4 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠海马 CA3 区 SA- β -gal 阳性细胞的影响 ($\times 100$)

Fig. 4 Effect of ginsenoside Rg_1 on hippocampus SA- β -gal positive cells in CA3 area of aging mice ($\times 100$)

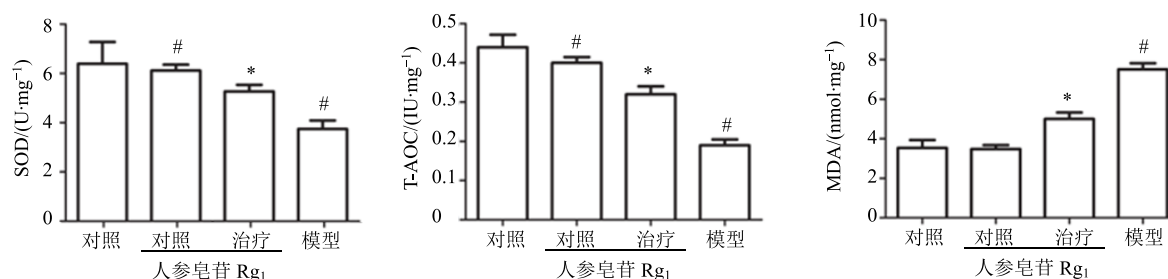


图5 人参皂苷 Rg_1 对衰老小鼠海马区抗氧化能力影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 5 Effect of Rg_1 on antioxidant capacity in hippocampus of aging mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

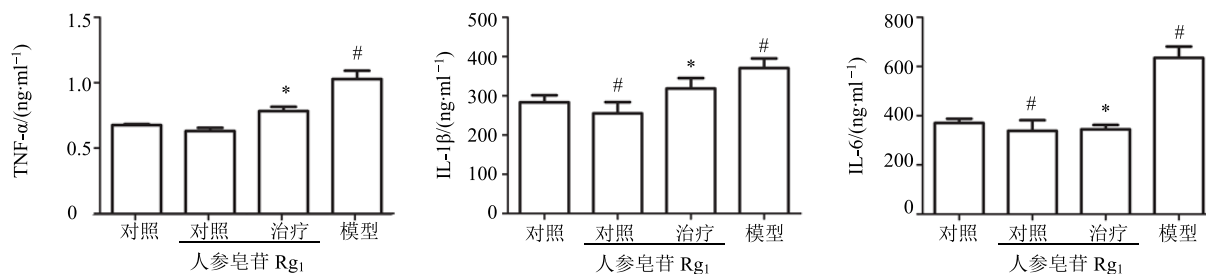


图 6 人参皂苷 Rg₁ 对衰老模型小鼠海马区 IL-1β、IL-6 以及 TNF-α 量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 6 Effect of Rg₁ on inflammation cytokines IL-1β, IL-6 and TNF-α in hippocampus of aging mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

3.7 人参皂苷 Rg₁ 对衰老小鼠海马区 p53、p21 蛋白表达的影响

与对照组比较, 模型组小鼠海马区 p53、p21 蛋白量明显升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, Rg₁ 治疗组小鼠海马区 p53、p21 蛋白量明显减少 ($P < 0.05$, 图 7)。

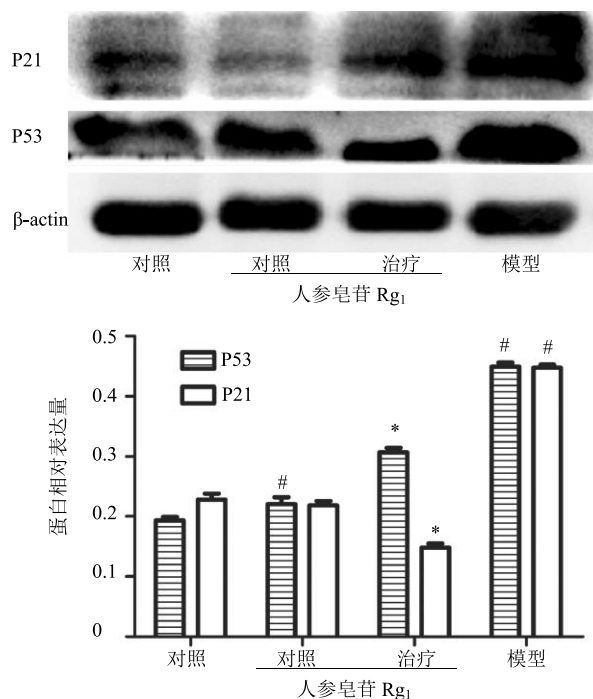


图 7 人参皂苷 Rg₁ 对衰老小鼠海马区 p53、p21 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 7 Effect of Rg₁ on expression of p53 and p21 in hippocampus of aging mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

4 讨论

中枢神经系统退行性疾病的发生与脑衰老密切相关^[5]。随着全球人口老龄化进程的加快, 如何防治衰老所致的神经系统退行性疾病、延缓脑衰老是备受关注的问题。人参是中医临床补气要药, 人参皂苷 Rg₁ 是人参重要的抗衰老单体成分, 具有延缓

机体细胞衰老作用。课题组前期工作表明, 人参皂苷 Rg₁ 能拮抗抗致衰剂对神经干细胞的损伤, 有延缓脑衰老作用, 但其具体机制仍不清楚。本实验通过制备衰老小鼠模型, 探讨了人参皂苷 Rg₁ 拮抗 D-gal、保护小鼠海马、提高学习记忆能力的机制。

D-gal 是目前研究公认的氧化损伤致衰剂, 用 D-gal 制备的动物衰老模型与自然衰老相似^[6]。小鼠连续 sc D-gal, 成功制备了小鼠衰老模型, 小鼠呈现明显自然衰老体征。学习记忆能力是评价脑衰老的重要指标^[7]。本研究采用水迷宫实验测定小鼠学习记忆能力, 发现与对照组相比, 模型组小鼠找到隐形平台逃避潜伏期明显延长, 穿越原始平台位置次数与小鼠在原始平台象限停留时间百分比明显降低, 提示模型组小鼠表现出脑衰老的行为学表现。与对照组相比, 人参皂苷 Rg₁ 对对照组小鼠寻找隐形平台的逃避潜伏期缩短, 穿越原始平台位置次数及小鼠在原始平台象限停留时间百分比提高。与模型组比较, 人参皂苷 Rg₁ 治疗组小鼠寻找隐形平台的逃避潜伏期显著缩短, 穿越原始平台位置次数及小鼠在原始平台象限停留时间百分比提高。实验结果说明人参皂苷 Rg₁ 能够干预衰老进程, 不仅能延缓正常小鼠衰老, 还可以显著拮抗 D-gal 对小鼠学习记忆功能的损伤。

海马结构及功能与学习记忆能力密切相关, 研究证明海马神经元衰老或丢失将严重影响学习与记忆能力, 而海马神经干细胞对海马结构与功能的维持至关重要^[8-9]。Nestin 是神经干细胞的特征性标志物, 其在海马齿状回神经干细胞中表达, 随着神经干细胞的分化及迁移, Nestin 逐渐消失, 可以借助该特征性标志追踪神经干细胞的增殖与分化^[10]。本实验采用 Nestin-GFP 转基因小鼠研究人参皂苷 Rg₁ 对海马的保护作用与海马神经干细胞关系, 从干细胞角度阐释其作用机制。本实验利用 Nestin 绿色荧

光转基因小鼠在荧光显微镜下直接观察神经干细胞^[11]。研究证明,与对照组比较,模型组小鼠海马 DG 区 Nestin-GFP 荧光强度降低,而人参皂苷 Rg₁ 治疗组小鼠海马 DG 区 Nestin-GFP 荧光强度较模型组增高,提示人参皂苷 Rg₁ 有拮抗 *D*-gal 对海马神经干细胞损伤的作用。SA- β -gal 染色是目前公认的检测细胞衰老的方法^[12]。海马 CA3 区被证明与空间学习记忆能力相关^[13]。本实验发现模型组小鼠海马 CA3 区细胞 SA- β -gal 染色阳性颗粒数较对照组明显升高,而药物治疗组小鼠海马 CA3 区细胞 SA- β -gal 染色阳性颗粒数较模型组明显降低,提示人参皂苷 Rg₁ 保护或增强小鼠学习记忆能力与拮抗 *D*-gal 对海马神经干细胞致衰作用密切相关,可用于防治神经系统退行性疾病。同时发现人参皂苷 Rg₁ 对照组小鼠海马 DG 区 Nestin-GFP 荧光强度较对照组明显升高,CA3 区细胞 SA- β -gal 染色阳性颗粒数明显减少,进一步证明了人参皂苷 Rg₁ 对正常小鼠的抗衰老作用。

氧化应激损伤与自由基学说是衰老的重要学说^[14]。SOD 是氧化还原系统中重要的抗氧化酶,能有效抑制氧化应激^[15]。T-AOC 反映机体对活性氧的总抵抗力。氧化还原系统中 MDA 水平的高低反映了机体脂质氧化程度,是评价细胞受氧化损伤程度重要指标^[16]。本实验发现,人参皂苷 Rg₁ 治疗组海马组织匀浆中 SOD 及 T-AOC 活性较模型组显著升高,而 MDA 量降低,提示 Rg₁ 拮抗 *D*-gal 对神经干细胞损伤与降低细胞氧化应激损伤相关。氧化应激反应可以通过诱导炎症因子释放,从而造成细胞衰老与损伤,其中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 是炎性衰老的血清学标志之一^[17]。本实验发现,模型组小鼠海马组织匀浆中 IL-1 β 、IL-6 以及 TNF- α 量较对照组明显升高,说明 *D*-gal 所致的衰老小鼠海马处于炎症反应状态。而人参皂苷 Rg₁ 治疗组小鼠海马区 IL-1 β 、IL-6 以及 TNF- α 量较模型组明显减少,进一步证明人参皂苷 Rg₁ 能拮抗致衰剂导致的海马神经干细胞的氧化应激及炎症反应,从而延缓海马衰老保护学习与记忆功能。

氧化应激调控下游 p53-p21 信号通路是促进细胞衰老的重要机制之一^[18]。p53 是一种应激蛋白,研究发现氧化应激能增强 p53 磷酸化,增强其活性及稳定性^[19]。p53 能激活下游 p21 基因表达,促进 p21 蛋白的产生增多,从而产生周期阻滞,抑制细胞生长并引起细胞衰老^[20]。本实验结果表明,模型

组小鼠海马区 p53、p21 蛋白量较对照组明显升高,提示 *D*-gal 制备的衰老小鼠海马组织中 p53-p21 信号通路处于被激活状态,而人参皂苷 Rg₁ 治疗组小鼠海马区 p53、p21 蛋白量较模型组明显减少,推测 Rg₁ 可能通过减轻氧化应激损伤从而抑制下游 p53-p21 信号通路,进而保护海马神经干细胞,延缓海马衰老。

综上所述,人参皂苷 Rg₁ 能延缓正常小鼠脑衰老,并能够改善衰老小鼠学习与记忆能力,其可能机制与人参皂苷 Rg₁ 拮抗致衰剂对海马神经干细胞的氧化应激损伤及调节其下游 p53-p21 信号通路密切相关。

参考文献

- [1] Glorioso C, Sibille E. Between destiny and disease: Genetics and molecular pathways of human central nervous system aging [J]. *Prog Neurobiol*, 2011, 93(2): 165-181.
- [2] Attele A. S, Wu J A, Yuan C S. Ginseng pharmacology: Multiple constituents and multiple actions [J]. *Biochem Pharmacol*, 1999, 58(11): 1685-1693.
- [3] 李成鹏. 人参皂苷 Rg₁ 延缓脑衰老机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4442-4447.
- [4] Zhu J, Mu X, 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): e101291.
- [5] Amaducci L, Tesco G. Aging as a major risk for degenerative diseases of the central nervous system [J]. *Curr Opin Neurol*, 1994, 7(4): 283-286.
- [6] Song X, Bao M, Li D, et al. Advanced glycation in *D*-galactose induced mouse aging model [J]. *Mech Ageing Dev*, 1999, 108(3): 239-251.
- [7] Nyberg L, Lovden M, Riklund K, et al. Memory aging and brain maintenance [J]. *Trends Cogn Sci*, 2012, 16(5): 292-305.
- [8] Abdel-Salam O M. Stem cell therapy for Alzheimer's disease [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2011, 10(4): 459-485.
- [9] Yamasaki T R, Blurton-Jones M, Morrisette D A, et al. Neural stem cells improve memory in an inducible mouse model of neuronal loss [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(44): 11925-11933.
- [10] Mignone J L, Kukekov V, Chiang A S, et al. Neural stem and progenitor cells in nestin-GFP transgenic mice [J]. *J Comp Neurol*, 2004, 469(3): 311-324.
- [11] Stojnik T, Rosland G. V, Sakariassen P O, et al. Neural stem cell markers, nestin and musashi proteins, in the progression of human glioma: Correlation of nestin with prognosis of patient survival [J]. *Surg Neurol*, 2007,

- 68(2), 133-143.
- [12] Itahana K, Itahana Y, Dimri G P. Colorimetric detection of senescence-associated β galactosidase [J]. *Methods Mol Biol*, 2013, doi: 10.1007/978-1-62703-239-1_8.
- [13] Rebola N, Carta M, Mulle C. Operation and plasticity of hippocampal CA3 circuits: Implications for memory encoding [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2017, 18(4): 208-220.
- [14] Floyd R A, Hensley K. Oxidative stress in brain aging. Implications for therapeutics of neurodegenerative diseases [J]. *Neurobiol Aging*, 2002, 23(5): 795-807.
- [15] Finkel T, Holbrook N J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing [J]. *Nature*, 2000, 408(6809): 239-247.
- [16] Apel K, Hirt H. Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2004, doi: 10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701.
- [17] Chung H Y, Kim H J, Kim K W, *et al.* Molecular inflammation hypothesis of aging based on the anti-aging mechanism of calorie restriction [J]. *Microsc Res Technol*, 2002, 59(4): 264-272.
- [18] Zhao H, Song L, Huang W, *et al.* Total flavonoids of Epimedium reduce ageing-related oxidative DNA damage in testis of rats via p53-dependent pathway [J]. *Andrologia*, 2017, doi: 10.1111/and.12756.
- [19] Yang H, Xie Y, Yang D, *et al.* Oxidative stress-induced apoptosis in granulosa cells involves JNK, p53 and Puma [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15): 25310-25322.
- [20] Garner E, Raj K. Protective mechanisms of p53-p21-pRb proteins against DNA damage-induced cell death [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(3): 277-282.