

黄芪甲苷延缓肾脏衰老的作用及其机制*

张紫媛^{1,2}, 方敬爱¹, 李苏芬³, 胡雅玲¹, 刘文媛¹, 刘学军^{4△}

(1. 山西医科大学第一医院肾内科, 太原 030001; 2. 山西医科大学, 太原 030001; 3. 山西医科大学第一医院病理科, 太原 030001; 4. 山西医科大学第一医院老年科, 太原 030001)

【摘要】 目的: 探讨黄芪甲苷是否通过调控 SIRT1/p53 信号通路而发挥抑制细胞凋亡, 延缓大鼠肾脏衰老的作用。**方法:** SPF 级健康雄性 SD 大鼠, 随机分为正常对照组(生理盐水 5 ml/(kg·d)灌胃)、衰老模型组(生理盐水 5 ml/(kg·d)灌胃)、黄芪甲苷组和 SRT1720 组(在造模基础上分别施于黄芪甲苷 40 mg/(kg·d)和 SRT1720 20 mg/(kg·d)灌胃), 每组各 10 只。饲养 8 周后收集大鼠血清、肾脏组织标本。ELISA 法检测血清中肾功能(肌酐、尿素氮)和衰老相关分泌表型(TGF-β、IL-6)的水平;肾脏组织进行 HE 染色、Masson 染色;RT-PCR 及 Western blot 分别检测 SIRT1、p53、Bcl-2、Bax、p21、pRb 基因和蛋白水平表达。**结果:** 衰老模型组大鼠血清肌酐、尿素氮水平较正常组升高, 但各组之间比较差异无统计学意义($P>0.05$);衰老模型组大鼠血清中 TGF-β、IL-6 水平较正常组显著升高($P<0.05$), 黄芪甲苷组及 SRT1720 组大鼠血清 TGF-β、IL-6 水平较模型组显著下降($P<0.05$), 且黄芪甲苷组与 SRT1720 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与正常组相比, 衰老模型组大鼠的肾小管扩张, 局部萎缩, 肾间质炎性细胞浸润, 胶原纤维增生;黄芪甲苷组及 SRT1720 组较模型组减轻。与正常组相比, 衰老模型组大鼠肾脏组织中 SIRT1、pRb 蛋白及 mRNA 表达均显著下降, Bcl-2 蛋白表达显著下降($P<0.05$), p53、p21 蛋白及 mRNA 表达显著升高, Bax 蛋白表达显著升高($P<0.05$)。与衰老模型组相比, 黄芪甲苷组及 SRT1720 组上述指标的水平均有显著逆转($P<0.05$)。**结论:** 黄芪甲苷可能通过调控 SIRT1/p53 信号通路延缓大鼠肾脏衰老。

【关键词】 黄芪甲苷; SIRT1/p53 信号通路; 肾脏; 衰老; 细胞凋亡

【中图分类号】 R57-2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1000-6834(2024)01-064-006

【DOI】 10.12047/j.cjap.6300.2022.084

Effects of astragaloside IV on delaying kidney aging and its mechanisms

ZHANG Zi-yuan^{1,2}, FANG Jing-ai¹, LI Su-fen², HU Ya-ling¹, LIU Wen-yuan¹, LIU Xue-jun^{3△}

(1. Department of Nephrology, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001; 2. Shanxi Medical University, Taiyuan 030001; 3. Department of Pathology, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001; 4. Department of Geriatrics, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

【ABSTRACT】 Objective: To investigate the mechanisms of Astragaloside IV on inhibiting apoptosis and delaying kidney aging in rats by regulating SIRT1/p53 signaling pathway. **Methods:** The aging model was established by subcutaneous injection of D-galactose 200 mg/(kg·d). SPF-grade healthy male SD rats were randomly divided into 4 groups: normal control group (intra-gastric infusion of 5 ml/(kg·d) normal saline), aging model group (intra-gastric infusion of 5 ml/(kg·d) normal saline), Astragaloside IV group (intra-gastric infusion of 40 mg/(kg·d) Astragaloside IV), and SRT1720 group (intra-gastric infusion of 20 mg/(kg·d) SRT1720), with 10 rats in each group. After 8 weeks, the serum samples of rats were collected to detect the levels of renal function (creatinine and urea nitrogen) and senescent associated secretory phenotype (TGF-β and IL-6) by ELISA. The renal tissues of rats were obtained for HE and Masson staining. The protein and mRNA expressions of SIRT1, p53, Bcl-2, Bax, p21 and pRb were detected by Western blot and RT-PCR. **Results:** Serum creatinine and urea nitrogen levels in the aging model group were higher than those in the normal group, but there was no significant difference in each group ($P>0.05$). The serum levels of TGF-β and IL-6 in the aging model group were higher than those in the normal group ($P<0.05$), and which in the Astragaloside IV group and SRT1720 group were lower than those in the model group ($P<0.05$). There was no significant differences between Astragaloside IV group and SRT1720 group ($P>0.05$). The results of pathological staining of renal tissues showed that, compared with the normal group, the renal tubules dilated, local atrophy, infiltration of inflammatory cells and proliferation of collagen fibers were observed in the aging model group. Compared with the aging model group, the pathological changes were alleviated in Astragaloside IV group and SRT1720 group. The results of Western blot and RT-PCR showed that, compared with the normal group, the protein and mRNA expressions of SIRT1 and pRb in the renal tissue of the aging group were decreased, the protein expression of Bcl-2 was decreased ($P<0.05$), and the protein and mRNA expressions of p53 and p21 were increased, the protein expression of Bax was increased ($P<0.05$). Compared with the aging group, Astragaloside IV and SRT1720 improved the above-mentioned indexes ($P<0.05$). **Conclusion:** Astragaloside IV can delay kidney aging by regulating the SIRT1/p53 signaling pathway.

【KEY WORDS】 astragaloside IV; SIRT1/p53 signaling pathway; kidney; aging; apoptosis

衰老是机体组织、器官的形态结构和生理功能逐步衰退的复杂过程^[1]。肾脏是机体衰老的重要器官之一^[2],肾脏衰老后病理表现为肾脏纤维化^[3],逐渐出现肾小球滤过率下降,对于药物的肾毒性易感性增加,损伤后恢复能力下降^[4],促进慢性肾脏病的发生^[5]。

黄芪是中医传统的补气药,黄芪甲苷是黄芪的主要活性成分之一。现代药理学研究发现,黄芪甲苷具有抗氧化、抗衰老、抗纤维化等作用,有望成为延缓衰老的重要药物。沉默信息调节因子2相关酶1(silent matingtype information regulation 2 homolog 1, SIRT1)是一种依赖于NAD⁺的去乙酰化酶,可以去乙酰化p53,从而影响与细胞应激、代谢和衰老相关的重要信号通路,被认为是调节衰老的关键因子^[6]。有研究发现,衰老的发生机制与细胞凋亡有密切关系^[7],黄芪甲苷可以通过调节SIRT1/p53通路减少线粒体依赖性细胞凋亡的发生^[8],但其在肾脏衰老中的作用尚不明确。本研究将进一步探讨黄芪甲苷是否通过调控SIRT1/p53信号通路以延缓肾脏衰老,为黄芪的临床应用提供实验数据。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级雄性SD大鼠共40只,体重(200±15)g,动物购买于山西医科大学动物实验中心,合格证号:SCXK(晋)2019-0004。动物饲养和实验均在山西医科大学动物实验中心进行。

1.2 主要试剂

肌酐、尿素氮试剂盒购自南京建成生物工程研究所,TGF-β、IL-6试剂盒购自江苏麦莎实业有限公司,D-(+)-半乳糖及SIRT1激活剂SRT1720购自Sigma公司,黄芪甲苷购自大连美仑生物技术有限公司,小鼠抗SIRT1抗体、小鼠抗p53抗体、小鼠抗p21抗体及兔抗pRb抗体购自Cell Signaling Technology公司,兔抗Bcl-2抗体及兔抗Bax抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司,反转录试剂盒及qPCR试剂盒购自Promega生物技术有限公司。

1.3 实验分组及其处理

大鼠适应性饲养1周后,根据电脑计数随机分

为4组:(1)正常对照组:等体积9 mg/ml生理盐水皮下注射,生理盐水5 ml/(kg·d)灌胃;(2)衰老模型组:D-半乳糖200 mg/(kg·d)皮下注射,生理盐水5 ml/(kg·d)灌胃;(3)黄芪甲苷组:D-半乳糖200 mg/(kg·d)皮下注射,黄芪甲苷40 mg/(kg·d)灌胃;(4)SRT1720组:D-半乳糖200 mg/(kg·d)皮下注射,SRT1720 20 mg/(kg·d)灌胃。D-半乳糖溶于生理盐水至100 mg/ml,黄芪甲苷及SRT1720溶于0.5%的羧甲基纤维素钠溶液至10 mg/ml,于无菌环境下过滤器过滤灭菌后使用。每组10只大鼠,饲养8周后处死所有大鼠。术前禁食禁水12 h,10%水合氯醛以350 mg/kg腹腔注射麻醉后固定于操作台,留取腹主动脉血及肾脏组织标本后处死大鼠。

1.4 肾功能检测

采用ELISA法,按照试剂盒说明书检测肌酐、尿素氮水平。

1.5 衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)检测

采用ELISA法,按照试剂盒说明书测定各组大鼠血清中TGF-β、IL-6水平。

1.6 肾脏病理

收集各组大鼠肾脏组织,石蜡包埋切片,HE、Masson染色,Panoramic Viewer2.2数字玻片扫描系统(3DHISTECH,匈牙利)观察并采集图像。

1.7 RT-PCR

收集各组肾脏组织匀浆后采用Trizol法提取RNA,反转录成cDNA后进行qPCR。引物由Invitrogen有限公司合成,序列如下:SIRT1 forward:5'-AGGGAACCTCTGCCTCATCT-3', reverse:5'-TGGCATACTCGCCACCTAAC-3';p53 forward:5'-GGTTCGTGTTTGTGCCTGTC-3', reverse:5'-GTGCTCTCTTTGCACTCCCT-3';p21 forward:5'-GAGAACTGGGAGGGCTTTC-3', reverse:5'-TCCTGAGCCTGTTTCGTGTC-3';Rb forward:5'-GAAGTTTGCTAGCGCTGTGG-3', reverse:5'-CA-GAATCCACGGGAAGGACA-3';β-actin forward:5'-GAACCTAAGGCCAACCCTGAA-3', reverse:5'-TACGTACATGGCTGGGGTG-3'。测定各基因CT值,计算2^{-ΔΔCT},得出mRNA的相对表达量。

1.8 Western blot检测

提取肾脏组织蛋白,BCA法检测蛋白浓度,将蛋白样品缓慢加入上样孔中,选择90 V恒压电泳

*【收稿日期】2022-03-04【修回日期】2022-08-10

△【通讯作者】Tel: 13754825118; E-mail: liuxuejun_2020@163.com

30 min, 120 V 电泳 1 h。将胶、PVDF 膜、滤纸制备“三明治”放入转印槽中, 4℃ 冰箱中用 200 mA 电转 1.5 h。于 5% 脱脂牛奶封闭液中室温封闭 1 h。加入 5% 脱脂牛奶稀释的一抗(1 : 1 000), 4℃ 孵育过夜。TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min。加入 HRP 标记的二抗(1 : 500), 室温下孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min。滴加 ECL 发光液, 接触 1 min 后将膜放入成像系统的暗箱中进行曝光, 采用 Image J 软件对目的蛋白和内参蛋白条带进行灰度值分析。

1.9 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。计量数据若服从正态分布, 以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较使用 LSD-t 检验。

2 结果

2.1 黄芪甲苷对衰老大鼠一般情况及肾功能的影响

衰老模型组大鼠的毛发无光泽, 行动迟缓, 血清肌酐及尿素氮水平较正常组升高, 但差异无统计学意义($P>0.05$); 黄芪甲苷组及 SRT1720 组大鼠的毛发及行动较模型组改善, 血清肌酐及尿素氮水平较模型组下降, 但差异无统计学意义($P>0.05$, 表 1)。

Tab. 1 Serum creatinine and urea nitrogen levels of rats ($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Group	Scr ($\mu\text{mol/L}$)	BUN (mmol/L)
Normal group	43.02±0.56	3.29±0.40
D-Gal group	46.32±0.98	3.74±0.49
D-Gal+AS-IV group	45.53±0.19	3.08±0.15
D-Gal+SRT1720 group	44.90±0.45	3.57±0.20

Scr: Serum creatinine; BUN: Urea nitrogen; Gal: D-Galactose; AS-IV: Astragaloside IV

2.2 黄芪甲苷对衰老大鼠衰老分泌表型的影响

衰老模型组大鼠血清中 TGF- β 、IL-6 水平较正常组显著升高($P<0.05$), 黄芪甲苷组及 SRT1720 组大鼠血清 TGF- β 、IL-6 水平较衰老模型组显著下降($P<0.05$, 表 2), 黄芪甲苷组与 SRT1720 组相比, 差异无统计学意义($P>0.05$)。

Tab. 2 TGF- β and IL-6 levels of rats (pg/ml, $\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Groups	TGF- β	IL-6
Normal group	130.74±5.28	56.98±0.31
D-Gal group	165.81±9.13*	73.98±0.59*
D-Gal+AS-IV group	122.84±0.89 [#]	65.83±1.11* [#]
D-Gal+SRT1720 group	122.05±0.29 [#]	63.01±1.23* [#]

D-Gal: D-Galactose; AS-IV: Astragaloside IV

* $P<0.05$ vs normal group; [#] $P<0.05$ vs D-Galactose group

2.3 黄芪甲苷对衰老大鼠肾脏病理的影响

HE 染色结果显示, 与正常组比较, 衰老模型组大鼠的肾小管扩张, 局部萎缩, 炎性细胞在间质浸润, 部分胶原纤维增生; 黄芪甲苷组及 SRT1720 组大鼠肾脏病理改变与衰老模型组相比, 肾小管扩张程度减轻, 间质炎性细胞数量减少, 胶原纤维增生明显减少。Masson 染色结果显示, 与正常组相比, 衰老模型组大鼠肾脏的胶原纤维增多; 黄芪甲苷组及 SRT1720 组肾脏组织中的胶原纤维较衰老模型组减少(图 1)。

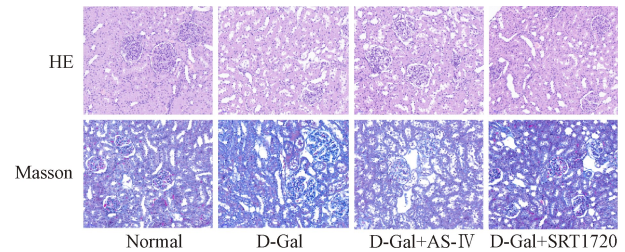


Fig. 1 HE and Masson staining of renal tissues ($\times 200$)

D-Gal: D-Galactose; AS-IV: Astragaloside IV

2.4 黄芪甲苷对衰老大鼠肾脏组织 SIRT1、p53、p21、pRb 蛋白和基因表达的影响

研究结果显示, 与正常组相比, 衰老模型组大鼠肾脏组织中 SIRT1、pRb 蛋白及 mRNA 表达显著下降($P<0.05$), p53、p21 表达显著升高($P<0.05$); 与衰老模型组大鼠相比, 黄芪甲苷组及 SRT1720 组肾脏组织中 SIRT1、pRb 蛋白及 mRNA 表达显著升高($P<0.05$), p53、p21 表达显著下降($P<0.05$, 图 2, 表 3、4)。

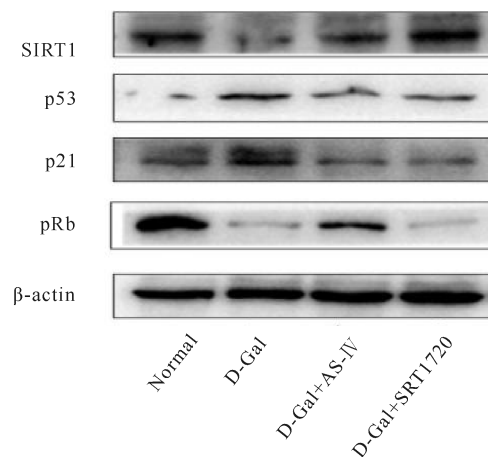


Fig. 2 The protein and mRNA expressions of SIRT1, p53, p21 and pRb in renal tissues of rats

D-Gal: D-Galactose; AS-IV: Astragaloside IV

Tab. 3 The expressions of SIRT1, p53, p21 and pRb protein in each group($\bar{x}\pm s, n=3$)

Group	SIRT1	p53	p21	pRb
Normal group	0.84±0.10	0.11±0.01	0.53±0.01	1.51±0.04
D-Gal group	0.36±0.03*	0.56±0.01*	0.76±0.04*	0.38±0.04*
D-Gal+AS-IV group	0.51±0.01** [#]	0.33±0.02** [#]	0.24±0.02** [#]	0.69±0.01** [#]
D-Gal+SRT1720 group	0.67±0.04** [#] [▲]	0.32±0.02** [#]	0.25±0.02** [#]	0.28±0.04** [#] [▲]

D-Gal: D-Galactose; AS-IV: Astragaloside IV

* $P<0.05$ vs normal group; [#] $P<0.05$ vs D-Galactose group; [▲] $P<0.05$ vs Astragaloside IV group

Tab. 4 The expressions of SIRT1, p53, p21 and pRb mRNA in each group($\bar{x}\pm s, n=3$)

Group	SIRT1	p53	p21	pRb
Normal group	1	1	1	1
D-Gal group	0.70±0.09*	1.19±0.08*	1.17±0.06*	0.34±0.01*
D-Gal+AS-IV group	0.91±0.06 [#]	0.48±0.03** [#]	0.70±0.06** [#]	0.74±0.04** [#]
D-Gal+SRT1720 group	1.45±0.06** [#] [▲]	0.52±0.04** [#]	0.64±0.13** [#]	0.57±0.06** [#] [▲]

D-Gal: D-Galactose; AS-IV: Astragaloside IV

* $P<0.05$ vs normal group; [#] $P<0.05$ vs D-Galactose group; [▲] $P<0.05$ vs Astragaloside IV group

2.5 黄芪甲苷对衰老大鼠肾脏组织 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响

研究结果显示,与正常组相比,衰老模型组大鼠肾脏组织中 Bcl-2 蛋白表达显著下降($P<0.05$), Bax 表达显著升高($P<0.05$)。与衰老模型组大鼠相比,黄芪甲苷组及 SRT1720 组肾脏组织中 Bcl-2 蛋白表达显著升高($P<0.05$), Bax 表达显著下降($P<0.05$,图 3,表 5)。

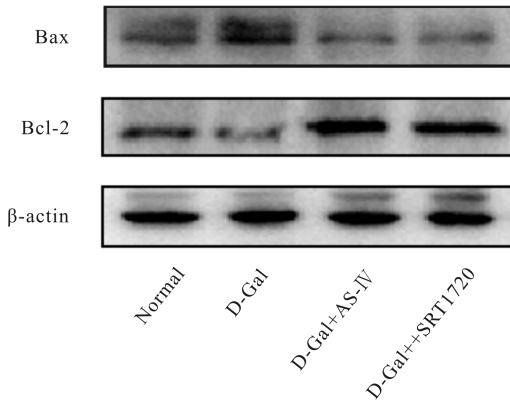


Fig. 3 The protein and mRNA expressions of Bcl-2 and Bax in renal tissues of rats

D-Gal: D-Galactose; AS-IV: Astragaloside IV

Tab. 5 The expressions of Bax and Bcl protein in each group ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Group	Bax	Bcl
Normal group	0.48±0.01	0.62±0.06
D-Gal group	0.61±0.02*	0.35±0.01*
D-Gal+AS-IV group	0.36±0.01** [#]	1.06±0.08** [#]
D-Gal+SRT1720 group	0.38±0.01** [#]	1.08±0.07** [#]

D-Gal: D-Galactose; AS-IV: Astragaloside IV

* $P<0.05$ vs normal group; [#] $P<0.05$ vs D-Galactose group

3 讨论

随着年龄增长,全身器官脏器的功能开始逐渐下降,肾脏衰老是导致老年人肾脏疾病较高发病率的重要原因^[9]。细胞衰老是机体衰老的基础,也是组织器官衰老过程中的重要机制之一^[10],针对细胞衰老的研究有助于揭示衰老和衰老相关疾病的发病机制。

肾脏衰老主要是由于肾脏固有细胞衰老引起功能减退所致。细胞衰老过程中表现为细胞周期阻滞于 G1 期、 β -半乳糖苷酶表达增加、DNA 损伤不能复制,以及出现衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 的变化等^[11]。SASP 既是衰老细胞的标志,也可以通过自分泌和旁分泌的方式,促进周围细胞衰老^[12,13],包括白细胞介素、各种趋化因子、TGF- β 等^[14]。衰老细胞通过分泌 SASP 因子引发慢性炎症反应是导致器官纤维化的主要机制之一^[15]。有研究显示^[7,16],衰老细胞丧失对缺血损伤的保护作用,其机制与细胞凋亡有关。

D-半乳糖致大鼠衰老是经典的衰老模型之一,具有与机体自然衰老相似的特征。本研究结果显示,大鼠皮下注射 D-半乳糖 8 周后,出现行动缓慢,反应迟钝,毛发色泽枯萎等自然衰老的现象,血清 SASP 因子 TGF- β 、IL-6 升高,肾脏病理表现出肾小管扩张,炎症细胞浸润,胶原纤维生成增多,表明肾脏衰老复制模型成功。

黄芪甲苷是中药黄芪的主要活性成分之一,研究显示^[17],黄芪甲苷可能通过调节 p53-p21 和 p16-Rb 的表达,抑制细胞周期阻滞,拮抗辐射诱导的脑细胞衰老。尽管在理论上推测其具有良好的延缓肾

脏衰老的作用,但尚缺乏充足的实验依据。本研究结果显示,衰老大鼠给予黄芪甲苷及 SIRT1 激活剂干预后,一般状况良好,血清 SASP 的 TGF- β 、IL-6 水平降低,肾脏病理改变减轻,提示黄芪甲苷可改善衰老肾脏的病理改变,具有延缓肾脏衰老的作用。

SIRT1 是近年来发现调控衰老的重要基因,通过上调 SIRT1 的表达可以延缓衰老的进程^[6]。p53 蛋白是重要的细胞周期、凋亡调节因子,还是调节细胞衰老的重要因子^[18,19]。有研究显示^[20],SIRT1 通过去乙酰化 p53 蛋白,调控细胞凋亡,延缓细胞衰老。研究表明,p53 水平降低可产生 SASP^[21],去乙酰化 p53 可下调 Bax 表达,上调 Bcl-2 表达,抑制细胞凋亡^[22]。抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 可相互作用调控细胞凋亡引起衰老的发生^[23]。p21 是 p53 下游的靶基因之一,通过抑制 CDK 家族蛋白的活性,激活细胞周期检查点,导致细胞周期发生阻滞,直接参与细胞衰老的激活过程^[24]。p21 还可通过抑制 Rb 磷酸化,使细胞周期停滞。有研究发现^[25],SIRT1 的激活和 p53 去乙酰化可减轻过早衰老和由此导致的肾脏纤维化。本研究结果显示,衰老模型组的肾脏组织中 SIRT1、Bcl-2、pRb 的表达较正常组下降,p53、p21、Bax 的表达较正常组升高。黄芪甲苷及 SIRT1 激活剂灌胃可上调 SIRT1、Bcl-2、pRb 的表达,下调 p53、p21、Bax 的表达。提示黄芪甲苷可通过 SIRT1/p53 信号通路,抑制细胞周期阻滞及细胞凋亡,延缓肾脏衰老。

综上,黄芪甲苷可减轻衰老肾脏病理损伤,延缓肾脏衰老,其机制可能与激活 SIRT1/p53 信号通路,降低 SASP 水平,抑制细胞凋亡有关。此研究为今后黄芪甲苷延缓肾脏衰老的开发应用,以及为中药黄芪的临床应用提供实验依据。

【参考文献】

- [1] Musso CG, Jauregui JR. How to differentiate renal senescence from chronic kidney disease in clinical practice [J]. *Postgrad Med*, 2016, 128(7): 716-721.
- [2] Irie J, Itoh H. Aging and homeostasis. Age-associated diseases and clinical application of NMN (Nicotinamide Mononucleotide) [J]. *Clinical calcium*, 2017, 27(7): 983-990.
- [3] Zeisberg M, Neilson EG. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(11): 1819-1834.
- [4] 张伟光,贾林沛,白雪源. 肾脏衰老的功能变化及发生机制 [J]. *老年医学与保健*, 2016, 22(6): 329-331.
- [5] 王倩,梁艳,杨胜楠,等. 细胞衰老在老年小鼠急性肾损伤慢性化中的作用与机制研究 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2018, 34(1): 44-51.
- [6] 张继彬,马赛,范利,等. 去乙酰化酶 Sirtuins 和细胞衰老与动脉粥样硬化的研究进展 [J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2018, 17(5): 378-382.
- [7] 冯子奕,李雪蕊,陈龙,等. T16Ainh-A01 对耳蜗血管纹毛细血管内皮细胞凋亡及衰老的影响 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2020, 36(5): 385-389.
- [8] Ben Y, Hao J, Zhang Z, et al. Astragaloside IV inhibits mitochondrial-dependent apoptosis of the Dorsal root ganglion in diabetic peripheral neuropathy rats through modulation of the SIRT1/p53 signaling pathway [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2021, 14(14): 1647-1661.
- [9] Okamura DM, Pennathur S. The balance of powers: Redox regulation of fibrogenic pathways in kidney injury [J]. *Redox Biol*, 2015, 12(6): 495-504.
- [10] Carrero JJ, Hecking M, Ulasi I, et al. Chronic kidney disease, gender, and access to care: A global perspective [J]. *Semin Nephrol*, 2017, 37(3): 296-308.
- [11] Borghesan M, Hoogaars WMH, Varela-Eirin M, et al. A senescence-centric view of aging: Implications for longevity and disease [J]. *Trends Cell Biol*, 2020, 30(10): 777-791.
- [12] Herranz N, Gil J. Mechanisms and functions of cellular senescence [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(4): 1238-1246.
- [13] Kadota T, Fujita Y, Yoshioka Y, et al. Emerging role of extracellular vesicles as a senescence-associated secretory phenotype: Insights into the pathophysiology of lung diseases [J]. *Mol Aspects Med*, 2018, 60(4): 92-103.
- [14] Schafer MJ, White TA, Iijima K, et al. Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease [J]. *Nat Commun*, 2017, 23(8): 14532.
- [15] Wiley CD, Velarde MC, Lecot P, et al. Mitochondrial dysfunction induces senescence with a distinct secretory phenotype [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(2): 303-314.
- [16] 孙伟铭,张源洲,温馨,等. 外源性 H₂S 恢复缺氧后适应对衰老 H9C2 细胞的保护作用及机制 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2018, 34(4): 289-293.
- [17] 尚书英. 黄芪甲苷对辐射诱导脑细胞抗衰老机理的初探 [D]. 兰州大学, 2019.
- [18] Chen Q, Sun X, Luo X, et al. PIK3R3 inhibits cell senescence through p53/p21 signaling [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9): 798.
- [19] Yamada K, Yoshida K. Mechanical insights into the regulation of programmed cell death by p53 via mitochondria [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(5): 839-848.

【参考文献】

- [1] Umanath K, Lewis JB. Update on diabetic nephropathy: Core curriculum 2018 [J]. *Am J Kidney Dis*, 2018, 71(6): 884-895.
- [2] Tang SCW, Yiu WH. Innate immunity in diabetic kidney disease [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2020, 16(4): 206-222.
- [3] Liu X Q, Jiang L, Lei L, et al. Carnosine alleviates diabetic nephropathy by targeting GNMT, a key enzyme mediating renal inflammation and fibrosis [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2020, 134(23): 3175-3193.
- [4] Yaribeygi H, Atkin SL, Sahebkar A. Interleukin-18 and diabetic nephropathy: A review [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5): 5674-5682.
- [5] Sun L, Kanwar YS. Relevance of TNF- α in the context of other inflammatory cytokines in the progression of diabetic nephropathy [J]. *Kidney Int*, 2015, 88(4): 662-665.
- [6] She H, He Y, Zhao Y, et al. Release the autophagy brake on inflammation: The MAPK14/p38 α -ULK1 pedal [J]. *Autophagy*, 2018, 14(6): 1097-1098.
- [7] Levine B, Kroemer G. Biological functions of autophagy genes: A disease perspective [J]. *Cell*, 2019, 176(1-2): 11-42.
- [8] Magee C, Grieve DJ, Watson CJ, et al. Diabetic nephropathy: a tangled web to unweave [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2017, 31(5-6): 579-592.
- [9] Ghosh S, Basak P, Dutta S, et al. New insights into the ameliorative effects of ferulic acid in pathophysiological conditions [J]. *Food Chem Toxicol*, 2017, 103: 41-55.
- [10] Ambothi K, Prasad N R, Balupillai A. Ferulic acid inhibits UVB-radiation induced photocarcinogenesis through modulating inflammatory and apoptotic signaling in Swiss albino mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2015, 82: 72-78.
- [11] 王旭焘, 潘定一, 郭 玮, 等. 阿魏酸对糖尿病大鼠肾脏足细胞 nephrin、podocin 蛋白表达的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2017, 33(6): 564-567.
- [12] 万金艳, 龙 宇, 张羽璐, 等. PI3K/Akt 信号通路在糖尿病肾病中的作用及中药干预的研究进展 [J]. 中草药, 2021, 52(12): 3705-3716.
- [13] Ferrucci L, Fabbri E. Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2018, 15(9): 505-522.
- [14] Du Q, Fu YX, Shu AM, et al. Loganin alleviates macrophage infiltration and activation by inhibiting the MCP-1/CCR2 axis in diabetic nephropathy [J]. *Life Sci*, 2021, 272: 118808.
- [15] 郭亚净, 任 静, 刘 寒, 等. MCC950 对脑出血大鼠神经损伤的作用 [J]. 中国应用生理学杂志, 2022, 38(1): 11-16.
- [16] Wu M, Han W, Song S, et al. NLRP3 deficiency ameliorates renal inflammation and fibrosis in diabetic mice [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2018, 478: 115-125.
- [17] Yamahara K, Yamahara M, Kume S. Role of autophagy in diabetic nephropathy [J]. *Nihon Jinzo Gakkai Shi*, 2017, 59(2): 50-57.
- [18] 吕栋辉, 安方玉, 颜春鲁, 等. 中风胶囊对脑缺血/再灌注损伤模型鼠脑组织自噬相关蛋白表达的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2022, 38(1): 25-31.
- [19] Zhang P, Fang J, Zhang J, et al. Curcumin inhibited podocyte cell apoptosis and accelerated cell autophagy in diabetic nephropathy via regulating Beclin1/UVRAG/Bcl2 [J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2020, 13: 641-652.
- [20] Choi ME. Autophagy in kidney disease [J]. *Annu Rev Physiol*, 2020, 82: 297-322.

(上接第 68 页)

- [20] Chen C, Zhou M, Ge Y, et al. SIRT1 and aging related signaling pathways [J]. *Mech Ageing Dev*, 2020, 187(4): 111215.
- [21] Johmura Y, Sun J, Kitagawa K, et al. SCF(Fbxo22)-KDM4A targets methylated p53 for degradation and regulates senescence [J]. *Nat Commun*, 2016, 12(7): 10574.
- [22] Zhou H, Du W, Li Y, et al. Effects of melatonin on fatty liver disease: The role of NR4A1/DNA-PKcs/p53 pathway, mitochondrial fission, and mitophagy [J]. *J Pineal Res*, 2018, 64(1): 12450.
- [23] Zhang Y, Yang X, Ge X, et al. Puerarin attenuates neurological deficits via Bcl-2/Bax/cleaved caspase-3 and Sirt3/SOD2 apoptotic pathways in subarachnoid hemorrhage mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109(5): 726-733.
- [24] Kreis NN, Sanhaji M, Rieger MA, et al. p21Waf1/Cip1 deficiency causes multiple mitotic defects in tumor cells [J]. *Oncogene*, 2014, 33(50): 5716-5728.
- [25] Li C, Xie N, Li Y, et al. N-acetylcysteine ameliorates cisplatin-induced renal senescence and renal interstitial fibrosis through sirtuin1 activation and p53 deacetylation [J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 130(1): 512-527.