

中医药延缓衰老分子机制研究进展

★ 刘琳琳 周坤福 (南京中医药大学基础医学院 南京 210029)

关键词: 中医药; 延缓衰老; 分子机制; 研究进展; 综述

中图分类号: R 259 文献标识码: A

衰老又称老化, 分生理性衰老与病理性衰老两类, 我们这里所指的是生理性衰老。现从分子水平对中医药延缓衰老的研究进展作以下综述。

1 对衰老相关基因的影响

1.1 细胞周期调控基因 p16 基因是一种细胞周期负调控因子, 它通过抑制细胞周期蛋白质依赖激酶 CDK4 和 CDK6 使细胞周期阻滞于 G1 期, 在人类细胞衰老过程中持续高表达, 甚至高出年轻细胞的 10~20 倍。近年来国际上越来越多的学者认为 p16 基因是人类可分裂细胞中控制衰老进程的主导基因, 过程是借助于信号转导途径实现的^[3]。金建生等^[4]将 WI-38 细胞从第 24 代开始与人参皂苷 Rg1 共同培养, 按人参皂苷 Rg1 不同的终作用浓度将细胞分为 4 组: 单纯 t-BHP 处理组; 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 预处理组; 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 预处理组; 20 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Rg1 预处理组。所有细胞从第 30 代开始, 每 2 代用 100 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ t-BHP 诱导作用 1 小时, 共作用 4 次, 诱导细胞衰老。采用免疫印迹技术对 P16、CDK4、CyclinD1 等表达情况进行检测。结果: 用 Rg1 预处理后, p16、CyclinD1 表达水平降低, CDK4 表达水平增加。结论: Rg1 可能通过改变细胞周期调控因子的表达而发挥其延缓 t-BHP 诱导的 WI-38 细胞衰老作用。

1.2 原癌基因 陈智松等^[5]采用老年小鼠和目前应用得较成熟的 D-半乳糖致衰老小鼠模型, 应用半定量逆转录聚合酶链式反应技术(RT-PCR)检测小鼠骨髓 c-myc 表达的变化及枸杞多糖对其的作用。发现老年及模型小鼠骨髓 c-myc 表达水平明显高于青年小鼠, 表明随着年龄的增长, 其 c-myc 表达逐渐升高, c-myc 的高表达诱导了细胞凋亡, 促使机体衰老。给予枸杞多糖后老年小鼠骨髓 c-myc 表达水平

明显下降(在 D-半乳糖致衰老小鼠模型中甚至不表达), 说明枸杞多糖的作用机理之一可能是通过抑制 c-myc 的表达, 从而抑制细胞凋亡, 最终达到延缓衰老, 提高机体生命力的目的。固真方具有补肾益精、延缓衰老的作用, 姚明忠等^[6]用 Northern Blot 方法观察了固真方对大鼠肝组织中某些与增殖密切相关的原癌基因(c-fos、c-jun)和 β -微管蛋白(β -tubulin)基因表达的影响, 结果显示: 老年对照组较青年对照组的表达分别降低了 14.5%、85%、90.8%, 而老年用药组则较老年对照组的表达分别增高了 0.32、5.56、6.09 倍, 表明固真方的作用与它对原癌基因和 β -微管蛋白基因表达的调节有关。补肾生血药是由熟地、山茱萸、枸杞子、何首乌等 11 味中药组成的延缓衰老方剂。陈智松等^[7]采用上述方法与技术进行了研究, 结果老年和模型小鼠骨髓 c-myc 表达量同样明显高于青年小鼠和正常对照小鼠($P < 0.01$), 给药后则可明显得到抑制($P < 0.05 \sim 0.01$)。结论: 抑制 c-myc 表达是补肾生血药延缓衰老分子机制之一。

1.3 抗癌基因 p53 是目前研究比较多的抗癌基因, 胡建成等^[8]应用逆转录病毒转导系统将温度敏感型 p53(p53val135)基因导入 NIH3T3 细胞中, 并由此建立了稳定表达 p53Val135 的细胞株。发现该细胞株在 32 $^{\circ}\text{C}$ 培养条件下迅速表现出与衰老相关的形态特征和生化特征。这可能是 p53 过量表达激活了 NIH3T3 细胞内在的衰老机制从而诱导细胞进入衰老状态。钱汝红等^[9]为了进一步从分子生物学角度探讨首乌延缓衰老的机理, 用 Northern 杂交和 Western 印迹法观察了首乌对老年小鼠脾组织中 p53 基因转录产物 mRNA 相对含量及翻译产物 p53 蛋白相对含量的变化的影响。结果表明小鼠脾

组织中 p53 基因的 mRNA 相对含量及蛋白质相对含量随增龄而增多,用药组 mRNA 相对含量较老年组下降 4.9 倍,接近青年组水平,p53 蛋白表达电泳显示较老年组明显变浅。为首乌补肾益精、延缓衰老作用提供了分子生物学依据。

1.4 细胞凋亡相关基因 近年来研究细胞凋亡与衰老的关系成为一个热点,细胞凋亡是一种程序化的细胞死亡,受基因调控,如 bcl-2 与 bax 等的表达变化与细胞凋亡高度相关。朱健等^[10]用 TUNEL 法及流式细胞仪观察衰老鼠的神经细胞凋亡,并用免疫组织化学法检测相关基因表达变化。以丹参注射液干预衰老的大鼠模型,观察了丹参对衰老鼠神经细胞凋亡的作用。结果:衰老鼠海马细胞有典型的凋亡特征,与丹参组比较海马细胞的凋亡率有明显差异,衰老鼠 bcl-2 表达下调,而 bax 的表达量明显增加,基因表达变化与流式细胞仪测定的细胞凋亡率相一致。

2 保护机体抗氧化系统

“妙奥春颗粒剂”是选用首乌、淫羊藿、薏苡仁等常用的延缓衰老中药组成的新中药复方,姚晓喻等^[11]用 ESR 方法证实具有直接清除·OH 和 O₂⁻的作用,并具有明显的量效关系,这对于清除体内活性氧自由基做为衰老效应的启动因子提供了实验依据。李晓斌等^[12]实验研究表明:槲寄生提取液能明显提高老年大鼠血清 CAT、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,降低老年大鼠脑组织 MDA 含量、脑和肝组织 LF 含量,并可提高老年大鼠下丘脑 SOD 活性。贺松其等^[13]探讨了二陈汤理气化痰延缓衰老的作用机理。观察二陈汤对小鼠脑、胸腺、脾、肝、肾指数及自由基代谢指标血清 SOD、MDA 的影响,结果表明:D-半乳糖模型组小鼠血清 SOD 活性比正常对照组显著降低($P<0.01$),MDA 含量显著升高($P<0.01$);二陈汤中药组小鼠血清 SOD 活性较模型组明显提高($P<0.05$),说明二陈汤具有抗自由基损伤(提高 SOD 活性、降低 MDA 含量)作用,为理气化痰延缓衰老提供了实验基础。七宝美髯丹是中医延缓衰老的著名方剂,具有益肝血、滋肾水之功,李承哲等^[14]以该方为基础方,适当配伍益气健脾药、补肾药、活血通下药,通过动物实验观察其对 D-半乳糖衰老大鼠的血清 SOD、MDA、GSH-Px 的影响,结果显示:七宝美髯丹能明显提高 SOD 活性,配伍补肾药或活血通下药后在降低 MDA 值的同时,还分别能提高 GSH-Px 活力及 SOD 活性。王新玲等^[15]探讨了中药经方金匱肾气丸的延缓衰老作用及其机制,结论:金匱肾气丸能够

显著提高大鼠血液 SOD 活性,抑制自由基生成并降低 MDA 水平,这些作用可能是金匱肾气丸延缓衰老作用的重要的机制之一。王丹等^[16]研究发现,马齿苋水提液能显著提高衰老模型小鼠心肌线粒体内的 SOD 及 Ca²⁺-ATP 酶活性($P<0.01$),显著降低 MDA 含量($P<0.01$)。故认为该途径可能是马齿苋延缓衰老的重要机制之一。陈红等^[17]运用血清药理学方法和离体神经细胞培养技术,取新生 SD 大鼠海马神经元进行体外培养,以维生素 E 作为阳性对照、生理盐水作为空白对照,检测各组 SOD、MDA、LF 水平。结果茯苓生脉饮能提高 SOD 活性、降低 MDA 水平、抑制 LF 形成,以延缓衰老。

3 对 DNA 的影响

3.1 防止 DNA 损伤 周坤福等^[18]以小鼠活体骨髓 MN 和 SCE 为指标,对滋阴补肾、延缓衰老方六味地黄丸进行延缓 DNA 损伤作用的实验研究。结果表明,六味地黄丸具有良好的延缓 DNA 损伤作用,提示其提高机体延缓 DNA 损伤是延缓衰老作用的主要机理所在。张遵真等^[19]通过臭氧照射雄性小鼠制造衰老模型,用针灸和中药(丹参、芦荟)处理实验组小鼠,然后用彗星试验测量肝细胞和脾细胞的 DNA 损伤情况,结果与对照组比较,模型组的肝、脾细胞拖尾率和尾长显著增加。提示其在 DNA 损伤指标上显示出一定延缓衰老作用。

3.2 对端粒及端粒酶的影响 伍倩等^[20]通过研究六味地黄汤及其补泻组分对 D-半乳糖小鼠衰老模型脑和性腺组织端粒酶活性的影响,结果:其三补组分能提高衰老小鼠组织端粒酶活性,结论:六味地黄汤及其补、泻组分通过不同途径提高机体延缓衰老能力。

4 提高免疫力

张延英等^[21]以 D-半乳糖复制衰老模型,观察锁阳蜜对 IL-2 水平的影响。结果:锁阳蜜能明显提高血清 IL-2 的水平。周京华等^[22]探讨了山茱萸水提物延缓衰老的机制,检测了在免疫网络中起重要作用的 NK 细胞活性,IL-2 水平,观察 CS 对老年小鼠 NK 细胞活性,IL-2 活性及 IL-2mRNA 表达的影响。实验表明,CS 给药后,显著提高 24 月龄老年小鼠淋巴细胞的活性,与老年对照组相比,NK 细胞的活性提高了 30.6%,IL-2 活性增加了 14.9%,而 CS 能够提高老年小鼠的 IL-2mRNA 水平,提示山茱萸水溶物能提高老龄小鼠 IL-2 活性。

5 结语

从上述内容可以看到,目前中医药延缓衰老在分子水平的研究上既取得了很大的进展,也存在不

少局限,如:

(1)目前研究主要集中在抗氧化系统方面,这标志着自由基理论的成熟和完善,但就其指标来说,多为 LPO、MDA、SOD 等。提高免疫力延缓衰老、防止 DNA 损伤也是研究较多的方面,都需要进一步深入。

(2)近年来对细胞凋亡和端粒的研究成为衰老理论中的一个热点,但中医药对此的研究较少,其发展前景不容忽视。我们认为,中医药有可能通过调控端粒长度的机制来延缓衰老。

(3)随着衰老基因学说的提出,势必在延缓衰老领域掀起一股新的热潮,将在今后得到更大的发展。

参考文献

- [1] 翟延晖,张六通,梅家俊,等. 益寿康等延缓衰老中西药对 MRC-5 人胚肺二倍体细胞传代次数的影响[J]. 中国中医药科技, 1998,5(2):97-98
- [2] 高学敏,靳莉,汪锦邦,等. 大豆皂甙延缓衰老作用的研究 1. 生命实验的研究[J]. 食品工业科技,1999,21:28-30
- [3] 郑文健,童坦君,张宗玉. 细胞衰老的重要通路: p16INK4a /Rb 和 p19ARF /p53/p21Cip1 信号途径[J]. 生命的化学,2002,22(4):314-316
- [4] 金建生,赵朝晖,陈晓春,等. 人参皂苷 Rg1 延缓衰老作用可能与改变 P16, cyclinD, CDK4 的表达有关[J]. 中国临床药理学与治疗学,2004,9(1):29-34
- [5] 陈智松,农志飞,吴志奎,等. 枸杞多糖对衰老小鼠原癌基因 c-myc 表达的影响[J]. 中成药,2001,23(5):356-359
- [6] 姚明忠,原文聪,丁卫,等. 固真方对老年大鼠肝脏增殖有关基因表达的影响[J]. 中国中医药科技,1996,3(3):17-18
- [7] 陈智松,吴志奎,潘苏庭,等. 补肾生血药对衰老小鼠原癌基因 c-myc 表达的影响[J]. 实用老年医学,2001,15(2):97-98
- [8] 胡建成,雷颖,洪夏,等. P53 的过量表达能迅速诱导 NIH3T3 细

- 胞衰老[J]. 科学通报,2000,45(21):2306-2310
- [9] 钱汝红,丁维发,严军,等. 首乌对老年小鼠脾组织中抗癌基因 P53 表达的影响[J]. 中国中医药科技,1999,6(2):89-91
- [10] 朱健,蔡文伟,陈朝婷,等. 丹参对衰老小鼠海马神经细胞凋亡作用的研究[J]. 中国老年学杂志,2001,21(1):46-48
- [11] 姚晓喻,杨勇,闫滨,等. 妙奥春颗粒剂抗氧化作用及改善老年动物性激素水平实验研究[J]. 中华实用中西医杂志,2004,4(17):870-874
- [12] 李晓斌. 槲寄生提取物的延缓衰老实验研究[J]. 云南中医学院学报,2001,24(1):13-14
- [13] 贺松其,文彬,刘永源,等. 二陈汤对亚急性衰老小鼠血自由基及脑超微结构的影响[J]. 中华实用中西医杂志,2003,3(16):1069-1071
- [14] 李承哲,曾常春,李劲平,等. 七宝美髯丹对衰老大鼠自由基及免疫指标的影响[J]. 广州中医药大学学报,2003,20(1):66-68
- [15] 王新玲,李月彩,侯颖春,等. 金匱肾气丸抗自由基和细胞凋亡的作用[J]. 第四军医大学学报,2000,21(10):1209-1211
- [16] 王丹,江旭东,王明富,等. 马齿苋水提液对衰老模型小鼠心肌线粒体氧化损伤的保护作用[J]. 黑龙江医药科学,2003,26(6):18-19
- [17] 陈红,杜家经. 茯苓生脉饮对离体大鼠海马神经元 SOD, MDA, LF 水平的影响[J]. 中国中医急症,2003,12(1):62-63
- [18] 周坤福,王明艳,赵凤鸣,等. 六味地黄丸延缓衰老作用机理的实验研究[J]. 江苏中医,1999,20(1):44-45
- [19] 张遵真,陈波,鹿伟,等. 针灸和丹参、芦荟抗衰老作用的实验研究[J]. 中国老年学杂志,2002,22(9):406-407
- [20] 伍倩,董淳. 六味地黄汤及其补、泻组分的延缓衰老作用及机制[J]. 中药药理与临床,2003,19(3):6-8
- [21] 张延英,李广远,吴红彦,等. 锁阳蜜对小鼠延缓应激及延缓衰老的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2004,10(2):33-34
- [22] 周京华,李春生,李电东. 山茱萸水溶物对老年小鼠 NK 细胞活性、IL-2 活性及 IL-2mRNA 表达的影响[J]. 中国药理学杂志,2000,35(9):618-618

(收稿日期:2005-07-18)

首次全国特色医疗名医学术交流会 《当代中国特色医疗名医》(画册) 征稿通知

首次全国特色医疗名医学术交流会(2006 年 5 月中下旬在厦门市召开): 中医、西医、中西医结合医、民间医生、乡村医生治疗各科常见病、多发病、疑难杂症等方面的特色疗法及临床经验总结。论文要求打印, 每文 2000 字左右, 另附 200 字以内的作者简介, 论文经评审后择优参加会议交流, 并安排在《中国民间医学》杂志(国家级刊物)上发表或择优入编《中国医药科技优秀论文荟萃》(大型文集)。论文作者必须是医德医风良好、享誉一方的名医。会议将颁发“中国特色疗法证书”、“发展中国特色医疗学术贡献奖”奖杯或奖牌、“中国特色医疗名医证书”、国家级医学继续教育学分证书, 征稿截止: 2006 年 4 月 10 日。

《当代中国特色医疗名医》(大型彩色画册): 图文并茂, 介绍 400 位特色医疗名医。凡医德医风良好、享誉一方的中医、西医、中西医结合各科名医及乡村医生、民间医生中的名医均可投稿入编。来稿请提供: (1) 1 寸彩色登记相片 2 张(反面写上姓名), 彩色工作照或生活照 2-3 张(附说明); (2) 以第三人称写的医疗特色简介 300 字以内, 附联系地址、邮编、电话、手机号码。(照片请自留底版及底稿, 不退稿)。截稿时间 2006 年 5 月 1 日。

来稿请寄: 北京市 100036-98 信箱(海淀区) 北京盛世康医药学术交流中心江玲主任收; 邮编: 100036; 联系电话: 010-87013859, 51848355, 信封上请注明“会议征文”或“画册征稿”。