

# 大花红景天介导 PI3K/AKT-HDAC2 轴对人胚肺成纤维二倍体细胞衰老的调控作用

许志连, 杨惠卿, 洪顺福, 阮菲(浙江中医药大学附属杭州市中医院药剂科, 杭州 310007)

**摘要:** 目的 探究大花红景天中杞柳苷(salipurposide, Sali)、红景天苷(salidroside, Sal)、异柳糖苷(isotachioside, Isota)对人胚肺成纤维二倍体细胞(2BS)衰老调控作用及可能机制。方法 显微镜下观察并选取年轻 28 代龄 2BS(28PD)细胞和衰老 50 代龄 2BS(50PD)细胞。MTT 试验测定 1.25, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sal, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sali 以及 Isota 对 50PD 细胞活性的影响。根据 MTT 结果, 5.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sal 和 10.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sali、Isota 用于进行后续实验。28PD 和 50PD 细胞分为 28PD 组、50PD 组、50PD+Sali 组、50PD+Sal 组、50PD+Isota 组, 各组相应药物干预 24 h。测定细胞衰老相关  $\beta$ -半乳糖苷酶(senescence associated-beta-galactosidase, SA- $\beta$ -gal)表达情况, 细胞丙二醛(malondialdehyde, MDA)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量以及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)活性情况, 实时荧光定量 PCR 和蛋白质印迹法分别测定细胞磷脂酰肌醇三羟基激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、蛋白激酶 B(AKT)、组蛋白去乙酰化酶 2(histone deacetylase 2, HDAC2)的 mRNA 表达以及 PI3K、磷酸 AKT(p-AKT)、HDAC2 蛋白表达情况。结果 与 28PD 组比较, 50PD 组细胞 SA- $\beta$ -gal 表达增加, MDA、ROS 含量增加, SOD、GSH-PX 活性降低, PI3K、AKT、HDAC2 的 mRNA 以及相应蛋白表达降低( $P<0.01$ )。50PD 细胞经 Sali、Sal、Isota 干预后, SA- $\beta$ -gal 表达显著降低( $P<0.01$ ), MDA、ROS 含量显著降低( $P<0.01$ ), SOD、GSH-PX 活性显著提高( $P<0.01$ ), PI3K、AKT、HDAC2 的 mRNA 以及相应蛋白表达均显著增加( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。结论 大花红景天中 Sali、Sal、Isota 能降低 50PD 细胞 SA- $\beta$ -gal 表达, 其作用可能与抑制氧化应激、调控 PI3K/AKT-HDAC2 轴表达有关。

**关键词:** 细胞衰老; 大花红景天; 衰老相关  $\beta$ -半乳糖苷酶; 组蛋白去乙酰化酶 2; PI3K/AKT

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)18-2512-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20230850

引用本文: 许志连, 杨惠卿, 洪顺福, 等. 大花红景天介导 PI3K/AKT-HDAC2 轴对人胚肺成纤维二倍体细胞衰老的调控作用[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(18): 2512-2518.

## Regulatory Effect of *Rhodiola Crenulata* on Senescence of Human Embryo Lung Fibroblasts Diploid Cells Through PI3K/AKT-HDAC2 Axis

XU Zhilian, YANG Huiqing, HONG Shunfu, RUAN Fei(Department of Pharmacy, Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the regulatory effect and mechanism of salipurposide(Sali), salidroside(Sal) and isoflavone(Isota) from *Rhodiola crenulata* on senescence of human embryo lung fibroblast diploid cells(2BS). **METHODS** Observing and selecting young 28 generations 2BS(28PD) cells and senescence 50 generations 2BS(50PD) cells under the microscope. MTT method was used to determine the effects of 1.25, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sal, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sali and Isota on the activity of 50PD cells. The 5.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sal, 10.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sali and Isota were used for the following experiments according to MTT results. 28PD and 50PD cells were divided into 28PD group, 50PD group, 50PD+Sali group, 50PD+Sal group, 50PD+Isota group, intervention for 24 h. The senescence associated-beta-galactosidase(SA- $\beta$ -gal); malondialdehyde(MDA), reactive oxygen species(ROS), superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSH-PX) levels of cells were measured with the test kits; the mRNA expression of phosphatidylinositol-3-kinase(PI3K), protein kinase B(AKT), histone deacetylase 2(HDAC2) and the protein expression of PI3K, p-AKT, HDAC2 were detected by qRT-PCR and Western blotting respectively. **RESULTS** Compared with the 28PD group, 50PD group cell SA- $\beta$ -gal expression was increased, the content of MDA and ROS were increased, the activity of SOD and GSH-PX were decreased, the mRNA expression of PI3K, AKT, HDAC2 and related protein expression were decreased( $P<0.01$ ). 50PD cells after intervention with Sali, Sal, and Isota, SA- $\beta$ -gal expression were decreased( $P<0.01$ ), the content of MDA and ROS were decreased significantly( $P<0.01$ ), the activity of SOD and GSH-PX were increased( $P<0.01$ ), the mRNA expression of PI3K, AKT, HDAC2 and related protein expression were

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2022ZA121); 杭州市医学重点学科—临床药学

作者简介: 许志连, 女, 硕士, 主管药师 E-mail: zhilian0101@sina.com

significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **CONCLUSION** Sali, Sal and Isota from *Rhodiola crenulata* can reduce the expression of SA- $\beta$ -gal of 50PD cells, its effect may related to the inhibition of oxidative stress and regulation of expression of PI3K/AKT-HDAC2 axis.

**KEYWORDS:** cellular senescence; *Rhodiola crenulata*; senescence associated-beta-galactosidase; histone deacetylase 2; PI3K/AKT

人口老龄化已成为世界各国日益突出的社会问题, 据统计, 中国 60 周岁以上老龄人群占比逐渐增加, 所伴随的衰老相关疾病发病率也逐年增加<sup>[1]</sup>。机体衰老可有对外界应答能力下降, 机体内环境失衡, 年龄相关慢性疾病风险增加等表现<sup>[2]</sup>。细胞衰老是驱动机体衰老的主要因素之一<sup>[3]</sup>。细胞衰老可使衰老表型因子分泌增加, 引起细胞增殖、凋亡、炎症反应, 导致机体组织的修复能力减弱<sup>[4-5]</sup>。靶向衰老相关分子, 延缓细胞衰老是治疗衰老相关疾病的一种重要策略<sup>[6]</sup>。

大花红景天(*Rhodiola crenulata*)为景天科红景天属植物, 在体外可抵御紫外线对皮肤的促衰老作用<sup>[7]</sup>。笔者所在课题组前期基于网络药理学分析手段从大花红景天中筛选出的杞柳苷(salipurposide, Sali)、红景天苷(salidroside, Sal)、异柳糖苷(isotachioside, Isota)3 种主要活性成分, 及细胞衰老表型调控基因组蛋白去乙酰化酶 2(histone deacetylase 2, HDAC2)<sup>[8]</sup>。基于此, 本研究通过体外实验初步探究 Sali、Sal、Isota 是否能够通过介导 PI3K/AKT-HDAC2 信号轴调控人胚肺成纤维二倍体(2BS)细胞衰老, 以期为其作为抗衰老中药开发提供理论可行性依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 药品及试剂

**1.1.1 药品** Sali(20 mg, 批号: N26A9C57834; 纯度 $\geq 98\%$ )、Sal(250 mg, 批号: R14C0C59840; 纯度 $\geq 98\%$ )、Isota(5 mg, 批号: Y35C9E59740; 纯度 $\geq 95\%$ )均购自上海源叶生物科技有限公司。

**1.1.2 试剂** 2BS 细胞(西安基恩科生物科技有限公司, 批号: GC-C-005); DMEM 高糖培养基(Gibco 公司, 批号: 2130493); 四唑盐(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT, 批号: 112020210209)、活性氧(reactive oxygen species, ROS, 批号: 101121220128)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性检测试剂盒(批号: 121121220215)、衰老相关 $\beta$ -半乳糖苷酶(senescence associated-beta-galactosidase, SA- $\beta$ -gal)染色试剂盒(批号: 052521220128)、二喹林甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒

(批号: 120219200721)均购自碧云天试剂有限公司; 丙二醛(malondialdehyde, MDA, 批号: 20220314)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX, 批号: 20220424)测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所有限公司; 磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)抗体(批号: 54f8512)、磷酸化-蛋白激酶 B(phosphor-protein kinase B, p-AKT)抗体(批号: 34d5362)、HDAC2 抗体(批号: 78p5366)均购自 Affinity 抗体公司。

**1.1.3 仪器** BB150 型细胞培养箱、Micro17R 型低温高速离心机均购自德国 Thermo 公司; CMaxPlus 型酶标仪(美国 MD 公司); ICX41 型光学显微镜(中国舜宇仪器公司); 610020-9Q 型化学发光仪(中国勤翔公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞及培养鉴定** 2BS 细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM 低糖培养基于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养。制备单细胞悬液进行 96 孔板接种(每孔 3 000 细胞)进行培养。参照文献方法<sup>[9]</sup>, 计数细胞, 进行细胞代龄计算。按照文献报道, 选取 <30 代龄的年轻细胞和 50 代龄的衰老细胞进行后续实验<sup>[10]</sup>。

**1.2.2 MTT 检测不同浓度 Sali、Sal、Isota 对 50PD 细胞活性的影响** 50PD 细胞加入 96 孔板中, 分别加入 Sal(1.25, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), Sali(2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )和 Isota(2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )处理 24 h, 对照细胞加入等量空白溶剂处理。每孔细胞中加入 MTT 试剂, 在培养箱内孵育 2 h。酶标仪测定 450 nm 处的各孔细胞吸光度值, 按照计算公式计算细胞活性: 细胞活性 = (实验组 A 值 - 空白调零 A 值) / (对照组 A 值 - 空白调零 A 值)  $\times 100\%$ , 计算不同浓度 Sal、Sali、Isota 对 PD50 细胞活性的影响。选取最适浓度进行后续实验。

**1.2.3 细胞分组和处理** 50PD 细胞分为 50PD 组、50PD+Sali 组、50PD+Sal 组、50PD+Isota 组, 另设 28PD 组作为对照。28PD、50PD 组细胞加等量空白溶剂, 余下各组加入最适剂量 Sali、Sal、

Isota(10.0, 5.0, 10.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), 处理 24 h, 进行相关实验指标检测。

#### 1.2.4 检测指标

**1.2.4.1 细胞 SA- $\beta$ -gal 表达检测** 调整细胞浓度至每毫升  $1\times 10^5$  个。1 mL 细胞悬浮液加至 12 孔板中。PBS 洗涤, 1 mL SA- $\beta$ -gal 染色固定液室温下固定 15 min。吸除染色固定液, PBS 清洗 3 遍, 加入 1 mL SA- $\beta$ -gal 染色工作液, 保鲜膜封锁, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。取出后光学显微镜下观察并计数 SA- $\beta$ -gal 阳性表达细胞, 计算细胞比例。

**1.2.4.2 细胞氧化应激相关指标检测** 收集各组细胞, 振荡, 离心, 收集上清液。根据试剂盒内的操作说明书测定 MDA、ROS、SOD、GSH-PX 水平。

**1.2.4.3 实时荧光定量 PCR 检测细胞 PI3K、HDAC2、AKT mRNA 表达** Trizol 提取细胞质 RNA。逆转录 PCR 进行 DNA 扩增, 实时荧光定量 PCR 检测 PI3K、AKT、HDAC2 mRNA 表达。反应条件为变性 95  $^{\circ}\text{C}$ , 10 min, 扩增反应, 95  $^{\circ}\text{C}$  15 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  60 s, 40 次, 溶解曲线, 95  $^{\circ}\text{C}$  15 s, 60  $^{\circ}\text{C}$  60 s, 95  $^{\circ}\text{C}$  15 s。采用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  法对结果进行相对定量分析。引物序列见表 1。

表 1 引物序列

Tab. 1 Primer sequence

基因(ID)	正向引物	反向引物
PI3K(5290)	GAAGAGCCCCGAGC GTTTCT	GTCCAGAAGTTCCATA GCCTGT
HDAC2(3066)	ATGGCGTACAGTCA AGGAGG	TGCGGATTCTATGAGGC TTCA
AKT(207)	CCTCCACGACATCG CACTG	TCACAAAGAGCCCTCC ATTATCA
GAPDH(2597)	TGTGGGCATCAATG GATTGG	ACACCATGTATTCCGGG TCAAT

**1.2.4.4 Western blotting 检测细胞 PI3K、HDAC2、p-AKT 蛋白表达** 裂解细胞, 离心后提取上清液。BCA 试剂盒测定细胞总蛋白含量。转膜, 封闭。加入稀释的 PI3K(1 : 1 000)、p-AKT(1 : 1 000)、HDAC2(1 : 1 000)、GAPDH(1 : 5 000)抗体, 4  $^{\circ}\text{C}$  下摇床振荡孵育过夜。隔天室温下振荡 30 min, 将上层液体轻轻吸出, TBST 清洗 3 遍。封闭, 孵育二抗。化学发光显影, GAPDH 作为内参对照, 计算各蛋白相对表达含量。

#### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析, 多组间数据比较采用 One-way-ANOVA 单因素方差分析, 组间两两比较采用 Tukey 检验。所有数据以

$\bar{x} \pm s$  表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同代龄 2BS 细胞鉴定结果

光学显微镜下各代龄细胞形态见图 1。左为年轻 2BS 细胞(28PD): 细胞饱满竖状排列、界限清晰、立体感强、折光度好; 右为衰老 2BS 细胞(50PD): 细胞排列紊乱、形状短圆、胞内颗粒物聚集、折光度下降。

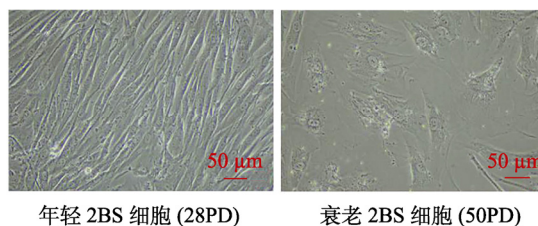


图 1 年轻 2BS 细胞(28PD)与衰老 2BS 细胞(50PD)形态(200 $\times$ )

Fig. 1 Morphology of young 2BS cells(28PD) and senescent 2BS cells(50PD)(200 $\times$ )

### 2.2 实验浓度确定

50PD 细胞活性较 28PD 细胞显著降低 ( $P < 0.01$ ), 而各浓度 Sali、Sal、Isota 处理后 50PD 细胞活性均有不同程度提高。其中与 50PD 组比较, 10.0, 12.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sali 可显著增加 50PD 细胞活性 ( $P < 0.01$ ); 除 1.25  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sal 外, 与 50PD 组比较, 各 Sal 浓度可显著增加 50PD 细胞活性 ( $P < 0.01$ ), 以 5.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sal 对 50PD 细胞活性增加效果最为明显; 与 50PD 组比较, 7.5, 10.0, 12.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Isota 均可显著增加 PD50 细胞活性 ( $P < 0.01$ ), 7.5, 10.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Isota 的效果相近。本研究随后根据 MTT 结果采用 5.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Sal 和 10.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 Sali、Isota 对细胞进行处理。MTT 试验结果见图 2。

### 2.3 Sali、Sal、Isota 对 50PD 细胞 SA- $\beta$ -gal 表达的影响

SA- $\beta$ -gal 染色结果见图 3。28PD 细胞 SA- $\beta$ -gal 表达极微弱, 且细胞形态学观察细胞结构正常, 而 50PD 细胞 SA- $\beta$ -gal 表达明显增加, 细胞形态萎缩, Sali、Sal、Isota 干预后 50PD 细胞 SA- $\beta$ -gal 表达均下降, 以 50PD+Sal 组的效果最明显。SA- $\beta$ -gal 阳性细胞结果见表 2, 与 28PD 组相比, 50PD 组 SA- $\beta$ -gal 阳性细胞比例显著增加 ( $P < 0.01$ )。与 50PD 组相比, 50PD+Sali、50PD+Sal、50PD+Isota 组 SA- $\beta$ -gal 阳性细胞比例显著减少 ( $P < 0.01$ )。

## 2.4 Sali、Sal、Isota 对 50PD 细胞氧化应激指标的影响

与 28PD 组相比, 50PD 组细胞 MDA、ROS 含量均显著升高( $P<0.01$ ), 而 SOD、GSH-PX 活性

均显著降低( $P<0.01$ )。与 50PD 组相比, 50PD+Sali、50PD+Sal、50PD+Isota 组细胞 MDA、ROS 含量均显著下降( $P<0.01$ ), SOD、GSH-PX 活性均显著上升( $P<0.01$ )。结果见图 4。

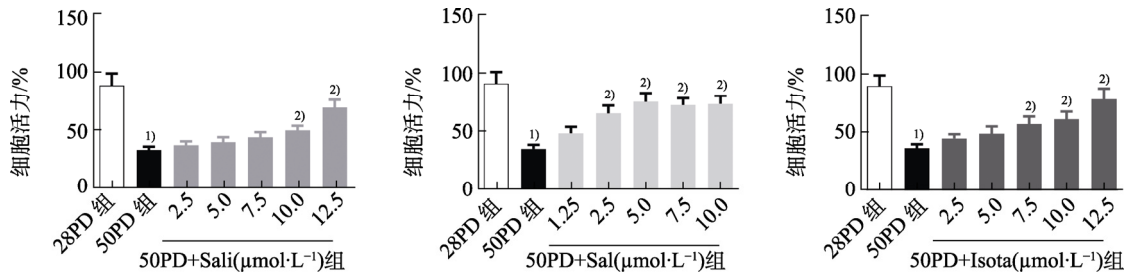


图 2 不同浓度 Sali、Sal、Isota 对 50PD 细胞活性的影响  
与 28PD 组相比,  $^1)P<0.01$ ; 与 50PD 组相比,  $^2)P<0.01$ 。

Fig. 2 Effect of various concentrations of Sali, Sal, Isota on the activity of 50PD cells  
Compared with 28PD group,  $^1)P<0.01$ ; compared with 50PD group,  $^2)P<0.01$ .

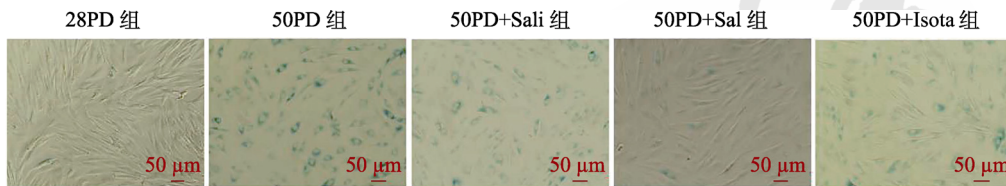


图 3 SA-β-gal 染色结果(200×)

Fig. 3 Results of SA-β-gal staining(200×)

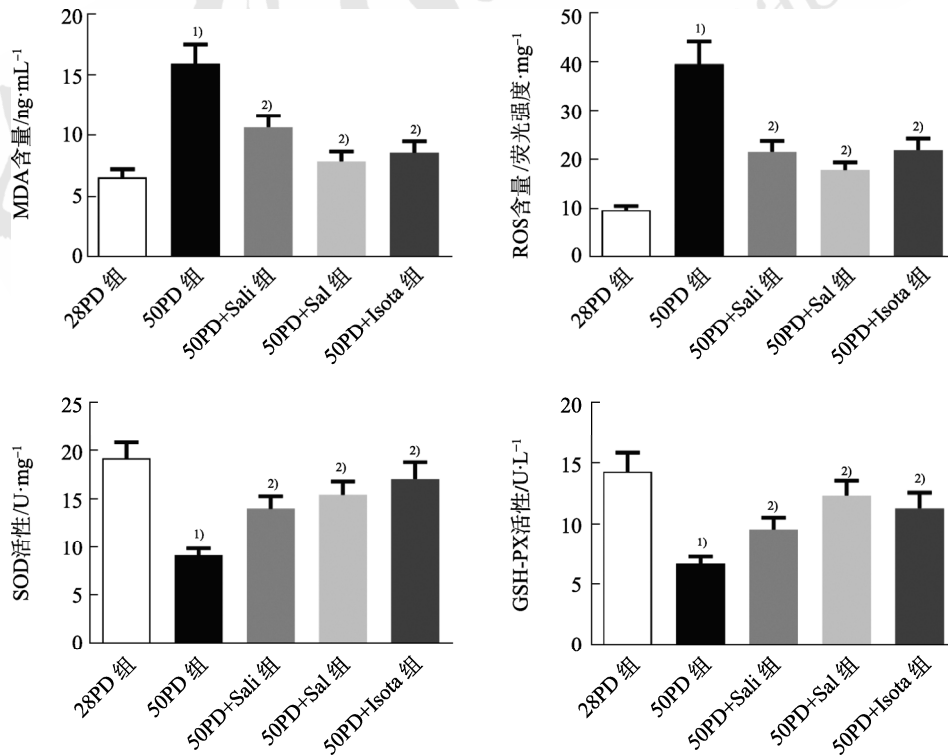


图 4 各组细胞氧化应激情况( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )  
与 28PD 组相比,  $^1)P<0.01$ ; 与 50PD 组相比,  $^2)P<0.01$ 。

Fig. 4 Oxidative stress of cells in each group( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )  
Compared with 28PD group,  $^1)P<0.01$ ; compared with 50PD group,  $^2)P<0.01$ .

表 2 各组 SA-β-gal 阳性细胞情况( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Tab. 2 SA-β-gal positive cells in each group( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

组别	SA-β-gal 阳性细胞/%
28PD 组	5.23±0.98
50PD 组	62.12±4.82 <sup>1)</sup>
50PD+Sali 组	34.83±3.82 <sup>2)</sup>
50PD+Sal 组	19.02±1.50 <sup>2)</sup>
50PD+Isota 组	30.48±4.01 <sup>2)</sup>

注:与 28PD 组相比, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ;与 50PD 组相比, <sup>2)</sup> $P<0.01$ 。

Note: Compared with 28PD group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with 50PD group, <sup>2)</sup> $P<0.01$ .

## 2.5 Sali、Sal、Isota 对 50PD 细胞 PI3K、HDAC2、AKT mRNA 表达的影响

与 28PD 组相比,50PD 组细胞 PI3K、HDAC2、AKT 的 mRNA 相对表达量均显著降低( $P<0.01$ )。与 50PD 组相比,50PD+Sali、50PD+Sal、50PD+Isota 组细胞 PI3K、HDAC2、AKT 的 mRNA 相对表达量均显著上升( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。结果见图 5。

## 2.6 Sali、Sal、Isota 对 50PD 细胞 PI3K、HDAC2、AKT 蛋白表达的影响

与 28PD 组相比,50PD 组细胞 PI3K、HDAC2、AKT 蛋白相对表达量均显著降低( $P<0.01$ )。与 50PD 组相比,50PD+Sali、50PD+Sal、50PD+Isota 组细胞 PI3K、HDAC2、AKT 蛋白相对表达均显著上升( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。结果见图 6。

## 3 讨论

细胞衰老是指细胞执行生命活动过程中,细胞增殖与分化的能力以及其他生理功能发生衰退的过程<sup>[11]</sup>。细胞衰老具有细胞周期停滞、衰老表型表达、大分子损伤及代谢等典型特征<sup>[12-14]</sup>。而“衰老自由基理论”提出衰老是氧化应激损伤累积的结果<sup>[15]</sup>。许多中药可通过抑制细胞脂质过氧化,改善细胞能量代谢等发挥抗衰老作用<sup>[16]</sup>。其中,红景天提取物具有较高的抗氧化活性,可提高线

虫的各项健康生命指标,表明其具有良好的抗衰老应用前景<sup>[17]</sup>。

SA-β-gal 是常用的识别细胞衰老标志物之一<sup>[18]</sup>。本研究中,50PD 细胞的 SA-β-gal 表达显著升高,而 Sal、Sali、Isota 干预则能显著减少细胞 SA-β-gal 表达,表明 3 种大花红景天成分具有调控细胞衰老表型表达的作用。研究证实,在氧化应激条件下,Sal 可抑制内皮细胞 ROS 水平<sup>[19]</sup>。在体内,Sal 可通过增加组织 SOD、GSH-PX 水平,降低 MDA、ROS 含量,起到减轻组织损伤的作用<sup>[20]</sup>。本研究发现 50PD 细胞 MDA、ROS 水平升高,SOD、GSH-PX 活性降低,而 Sal 抑制 MDA、ROS 水平,提高 SOD、GSH-PX 活性,Sali 和 Isota 也具有相同作用。

PI3K/AKT 信号通路表达与细胞周期改变、凋亡有关,其在衰老动物模型组织内表达降低<sup>[21]</sup>。研究表明,Sal 可通过介导 PI3K/AKT 信号转导以减轻脑衰老损伤<sup>[22]</sup>。HDAC 是一类调节细胞组蛋白乙酰化和甲基化的功能蛋白,HDAC2/HDAC1 两者协同在稳定线粒体内稳态、DNA 修复以及抗细胞衰老、氧化应激等方面发挥进化保守的作用<sup>[23-24]</sup>。在早衰诱导的骨骼肌细胞中 HDAC2 表达降低,而逆转 HDAC2 蛋白下降水平可减少骨骼肌细胞早衰,提示 HDAC2 的表达可能具有抗衰老作用<sup>[25-26]</sup>。PI3K/AKT 可上调 HDAC2 参与细胞周期改变<sup>[27]</sup>。本研究发现 50PD 细胞 PI3K、AKT、HDAC2 mRNA 表达下降,PI3K、p-AKT、HDAC2 蛋白表达降低,而 Sal、Sali、Isota 处理则能上调细胞中 PI3K、AKT、HDAC2 转录,促进相应蛋白表达,因此推测 Sal、Sali、Isota 或通过激活 PI3K/AKT-HDAC2 信号轴干预细胞衰老。

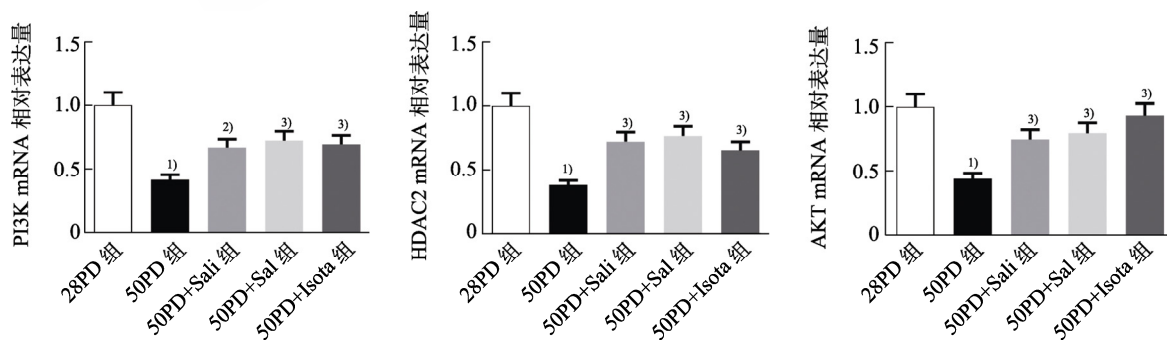


图 5 各组细胞 PI3K、HDAC2、AKT mRNA 表达情况( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

与 28PD 组相比, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ;与 50PD 组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ 。

Fig. 5 mRNA expression of PI3K, HDAC2 and AKT in cells of each group( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )

Compared with 28PD group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with 50PD group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ .

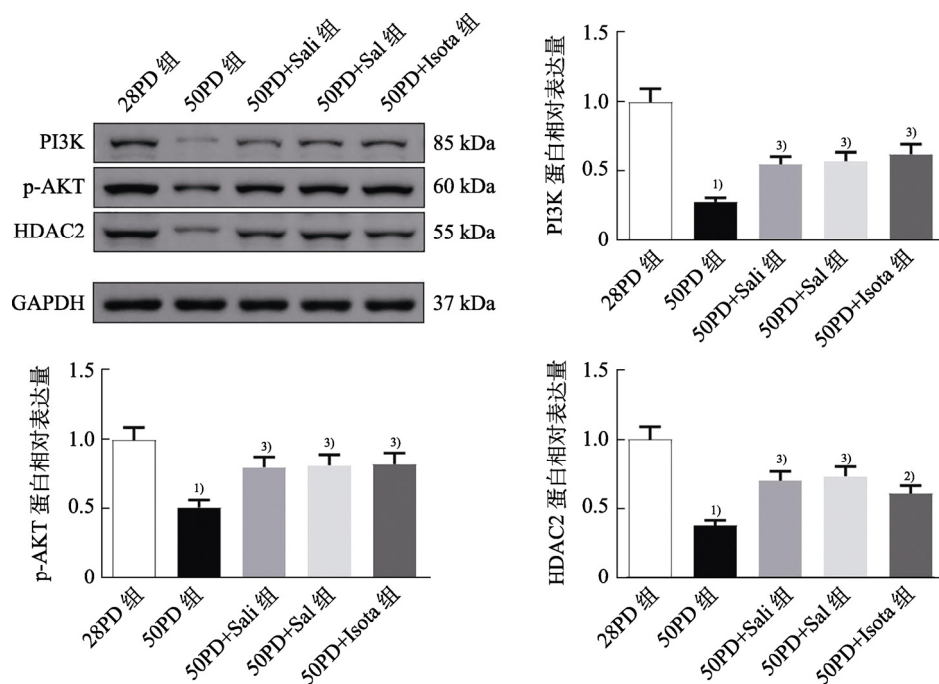


图6 各组细胞 PI3K、HDAC2、AKT 蛋白表达情况( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ )与 28PD 组相比, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与 50PD 组相比, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ 。

Fig. 6 Protein expression of PI3K, HDAC2 and AKT in cells of each group( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=3$ ) Compared with 28PD group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with 50PD group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ .

综上所述, 本研究发现大花红景天中的 Sal、Sali、Isota 可降低衰老 2BS 细胞 SA- $\beta$ -gal 表达, 其作用与其能够抑制氧化应激, 调控 PI3K/AKT-HDAC2 信号轴有关。

## REFERENCES

- [1] CHEN H, LIU D. Basic researches on aging and intervention strategies[J]. J Bengbu Med Coll(蚌埠医学院学报), 2018, 43(10): 1261-1265.
- [2] MOHAMAD KAMAL N S, SAFUAN S, SHAMSUDDIN S, et al. Aging of the cells: Insight into cellular senescence and detection Methods[J]. Eur J Cell Biol, 2020, 99(6): 151108.
- [3] SHEN G, DAI M, WANG J, et al. Cellular senescence and intervention strategies[J]. Chin J Clin Healthc(中国临床保健杂志), 2022, 25(4): 446-449.
- [4] CHILDS B G, DURIK M, BAKER D J, et al. Cellular senescence in aging and age-related disease: From mechanisms to therapy[J]. Nat Med, 2015, 21(12): 1424-1435.
- [5] CHEN M Y, MENG A M. Cellular senescence and age-related diseases[J]. Chin Bull Life Sci(生命科学), 2017, 29(5): 485-488.
- [6] WANG H Y, DING Y N, WEI Z Y, et al. The role of targeting cell senescence in vascular diseases and its potential application[J]. Sci Sin(中国科学: 生命科学), 2022, 52(5): 682-690.
- [7] ZHOU S S, JIANG J G. Anti-aging effect of *Rhodiola* on the HSF and HaCaT cell[J]. Mod Food Sci Technol(现代食品科技), 2018, 34(8): 16-23.
- [8] WARNON C, BOUJAR K, NINANE N, et al. HDAC2 and 7

down-regulation induces senescence in dermal fibroblasts[J]. Aging, 2021, 13(14): 17978-18005.

- [9] CAI X, GAO X J, ZHANG P, et al. Diverse senescence of human fibroblasts cultured *in vitro* of different passages[J]. Chin J Clin Rehabil(中国临床康复), 2005, 9(26): 60-62, 275.
- [10] NIE A T, MA B, OU J X, et al. Study of biological indicators of cellular senescence degree of human embryo lung diploid cells[J]. J Henan Univ Sci Technol(河南科技大学学报: 医学版), 2016, 34(3): 161-164.
- [11] ZHANG W, WANG H F, XU B H. Overview of the main molecular mechanisms of biological aging[J]. Curr Biotechnol(生物技术进展), 2023, 13(2): 228-233.
- [12] XU S, CUI H J, ZHAO W, et al. Research progress on molecular mechanism of cell aging[J]. J Guangdong Med Univ(广东医科大学学报), 2020, 38(1): 1-10.
- [13] RHINN M, RITSCHKA B, KEYES W M. Cellular senescence in development, regeneration and disease[J]. Development, 2019, 146(20): dev151837.
- [14] ZHAO J Q, YE T Y, QI D M, et al. Research progress of role of cellular senescence in the pathogenesis and treatment of Alzheimer's disease[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2022, 39(9): 1235-1246.
- [15] PIETRI P, STEFANADIS C. Cardiovascular aging and longevity[J]. J Am Coll Cardiol, 2021, 77(2): 189-204.
- [16] WANG Y Y, WANG F L, MAO Z W, et al. Advances in research on active ingredients and mechanism of action of traditional Chinese medicine with anti-aging effects[J]. J Liaoning Univ Tradit Chin Med(辽宁中医药大学学报), 2021, 23(5): 142-148.
- [17] JIANG S Q. Study on anti-aging activity and mechanism of rhodiola extract[D]. Guangzhou: South China University of

- Technology, 2021.
- [18] ZHAN Y B, LIU X P, XU W X, et al. Expression of histone deacetylase 9 in bone marrow mesenchymal stem cells during senescence[J]. *Chin J Tissue Eng Res(中国组织工程研究)*, 2022, 26(30): 4762-4766.
- [19] XU M C. From the relationship between HIF-1 $\alpha$  and oxidative stress, the mechanism of rhodiola sachalinensis inhibiting atherosclerosis was discussed[D]. Shanghai: Fudan University, 2013.
- [20] QIN N N, SHEN Y K, CHENG J F, et al. Study on the protective effect of salidroside on memory impairment in mice under high altitude hypoxia[J]. *Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报)*, 2023, 39(1): 65-70.
- [21] FU Y, WU W, WAN Y G, et al. Effect and mechanism of Dahuang Zhechong pills in improving liver aging in rats by regulating ROS-mediated PI3K/Akt/FoxO4 signaling pathway[J]. *China J Chin Mater Med(中国中药杂志)*, 2023-04-06. <https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcmm.20230403.401>.
- [22] CHEN H I, OU H C, CHEN C Y, et al. Neuroprotective effect of *Rhodiola crenulata* in D-galactose-induced aging model[J]. *Am J Chin Med*, 2020, 48(2): 373-390.
- [23] YAO H W, RAHMAN I. Role of histone deacetylase 2 in epigenetics and cellular senescence: Implications in lung inflammaging and COPD[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2012, 303(7): L557-L566.
- [24] SHAO L W, PENG Q, DONG M Y, et al. Histone deacetylase HDA-1 modulates mitochondrial stress response and longevity[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 4639.
- [25] LIU W T, SU W Y, YANG X, et al. Cigarette smoke extract induces senescence of murine skeletal muscle cells by oxidative stress-induced down-regulation of histone deacetylase 2[J]. *Chin J Cell Mol Immunol(细胞与分子免疫学杂志)*, 2015, 31(5): 630-633, 638.
- [26] DENG Z H, LI C, ZHENG G X, et al. Protective effect of resveratrol against senescence in skeletal muscle cells induced by cigarette smoke extract and its mechanism[J]. *Chin J Gerontol(中国老年学杂志)*, 2021, 41(9): 1881-1885.
- [27] ZHAO H, WANG Y, YANG C, et al. EGFR-vIII downregulated H2AZK4/7AC through the PI3K/AKT-HDAC2 axis to regulate cell cycle progression[J]. *Clin Transl Med*, 2020, 9(1): 10.

收稿日期: 2023-03-31  
(本文责编: 陈怡心)