

中药抑制间充质干细胞衰老的作用及机制

潘小龙¹, 樊飞燕¹, 应春苗¹, 刘飞祥², 张运克^{1, 2}<https://doi.org/10.12307/2023.756>

投稿日期: 2022-11-08

采用日期: 2022-12-26

修回日期: 2023-01-11

在线日期: 2023-02-01

中图分类号:

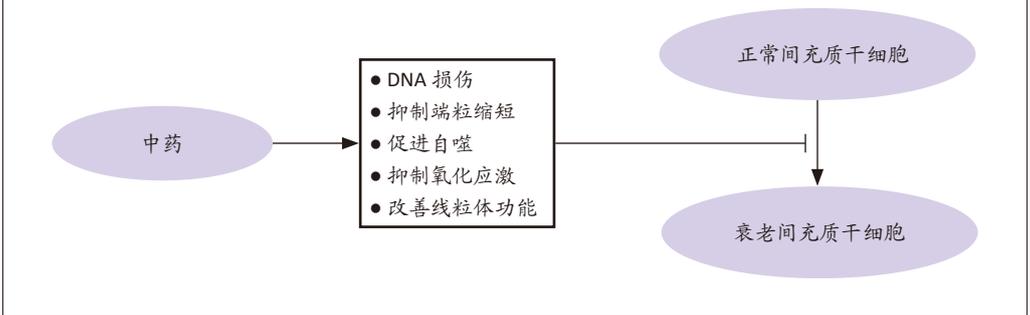
R453; R363; R285

文章编号:

2095-4344(2024)07-01091-08

文献标识码: A

文章快速阅读: 中药抑制间充质干细胞衰老



文题释义:

间充质干细胞: 是一种来源于中胚层的成体干细胞, 存在于骨髓、脂肪、脐带脐血和胎盘等多种组织, 具有多向分化潜能, 它们易于分离和扩增, 免疫原性低, 很少引起伦理问题, 是组织工程的理想种子细胞。

细胞衰老: 由应激性损伤和某些生理过程触发的一种细胞状态, 其特征是长期且通常不可逆的细胞周期停滞, 伴随分泌特征、大分子损伤和新陈代谢改变。

摘要

背景: 间充质干细胞的衰老严重影响其临床应用并且是衰老相关疾病发生的主要诱因之一, 中药具有良好的抗衰老作用, 可抑制间充质干细胞衰老从而促进其在组织工程中的应用并防治衰老相关疾病。

目的: 综述中药抑制间充质干细胞衰老的作用及机制。

方法: 检索中国知网和PubMed数据库2012–2022年关于中药抑制间充质干细胞衰老的文献, 以“中药, 间充质干细胞, 衰老”为中文检索词, 以“traditional chinese medicines, mesenchymal stem cells (MSCs), aging”为英文检索词, 最终共纳入92篇文献进行分析。

结果与结论: ①文章总结了当前间充质干细胞衰老的5个主要机制: 包括DNA损伤、端粒缩短、氧化应激、自噬障碍及线粒体功能障碍。②文章梳理了衰老间充质干细胞的表型特征, 主要包括细胞体积增大、增殖和多向分化能力下降、 β -半乳糖苷酶活性增加、p21及p16通路激活等。③文章总结了当前中药抑制间充质干细胞衰老的主要机制, 包括抑制Wnt通路激活、抑制线粒体活性氧产生、促进沉默信息调节因子2同系物1、磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B、腺苷酸活化蛋白激酶及核因子E2相关因子2通路激活、促进端粒酶反转录酶表达等。④目前在中药抑制间充质干细胞衰老的研究中以对骨髓间充质干细胞研究最多, 效果较好。⑤左归丸、补肾调肝方、白藜芦醇及黄芪等中药均可通过促进衰老间充质干细胞增殖及成骨分化起到防治骨质疏松作用, 但对中药通过抑制间充质干细胞衰老改善间充质干细胞旁分泌功能及防治其他衰老相关疾病的机制仍需进一步探究。

关键词: 中药; 间充质干细胞; 衰老; 端粒; 氧化应激; 自噬; 线粒体

Effect and mechanism of traditional Chinese medicine on inhibiting the aging of mesenchymal stem cells

Pan Xiaolong¹, Fan Feiyan¹, Ying Chunmiao¹, Liu Feixiang², Zhang Yunke^{1, 2}

¹Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China; ²First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China

Pan Xiaolong, Master, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China

Corresponding author: Zhang Yunke, Chief physician, Professor, Doctoral supervisor, Post-doctoral cooperative supervisor, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China; First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, Henan Province, China

Abstract

BACKGROUND: The aging of mesenchymal stem cells is one of the main causes of aging-related diseases, and seriously affects its clinical application. Traditional Chinese medicine has a good anti-aging effect, and it can inhibit the aging of mesenchymal stem cells to promote its application in tissue engineering and prevent and treat aging-related diseases.

¹河南中医药大学, 河南省郑州市 450046; ²河南中医药大学第一附属医院, 河南省郑州市 450046

第一作者: 潘小龙, 男, 1997年生, 河南省人, 汉族, 硕士, 主要从事中医药防治脑血管疾病的研究。

通讯作者: 张运克, 二级主任医师, 教授, 博士生导师, 博士后合作导师, 河南中医药大学, 河南省郑州市 450046; 河南中医药大学第一附属医院, 河南省郑州市 450046

<https://orcid.org/0000-0002-3513-2519>(潘小龙); <https://orcid.org/0000-0003-1500-1535>(张运克)

基金资助: 国家自然科学基金(81974564), 项目负责人: 张运克; 国家自然科学基金(82104730), 项目负责人: 刘飞祥; 中原英才计划—科技创新领军人才项目(224200510027), 项目负责人: 张运克。

引用本文: 潘小龙, 樊飞燕, 应春苗, 刘飞祥, 张运克. 中药抑制间充质干细胞衰老的作用及机制[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(7):1091-1098.



OBJECTIVE: To review the effect and mechanism of traditional Chinese medicine on inhibiting the aging of mesenchymal stem cells. **METHODS:** We searched CNKI and PubMed for the literature on inhibiting mesenchymal stem cell aging with traditional Chinese medicine from 2012 to 2022. The keywords were "traditional Chinese medicine, mesenchymal stem cells (MSCs), aging" in Chinese and English, respectively. Finally, 92 articles were included for further review.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) We summarized five main mechanisms of the aging of mesenchymal stem cells: DNA damage, telomere shortening, oxidative stress, autophagy disorder and mitochondrial dysfunction. (2) This paper reviewed the phenotypic characteristics of senescent mesenchymal stem cells, including increases in cell volume, decreases in proliferation and multi-directional differentiation, increases in β -galactosidase activity, and activation of p21 and p16 pathways, and so on. (3) We summarized the main mechanisms of Chinese medicine inhibiting the senescence of mesenchymal stem cells at present, including inhibiting the activation of the Wnt pathway, inhibiting the production of mitochondrial reactive oxygen species, promoting the silencing of information regulator factor 2 homolog 1, phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase and nuclear factor E2 related factor 2 pathway activation, and promoting the expression of telomerase reverse transcriptase. (4) At present, bone marrow mesenchymal stem cells are the most widely studied in the research of traditional Chinese medicine to inhibit the aging of bone marrow mesenchymal stem cells, and the effect is better. (5) *Zuogui Wan*, *Bushen Tiaogan* Formula, resveratrol, *Astragalus membranaceus* and other traditional Chinese medicines can prevent and treat osteoporosis by promoting the proliferation and osteogenic differentiation of aging mesenchymal stem cells. However, the mechanism of Chinese medicine in improving the paracrine function of mesenchymal stem cells and preventing other aging-related diseases by inhibiting the aging of mesenchymal stem cells needs to be further explored.

Key words: traditional Chinese medicine; mesenchymal stem cell; aging; telomere; oxidative stress; autophagy; mitochondria

Funding: the National Natural Science Foundation of China, No. 81974564 (to ZYK); the National Natural Science Foundation of China, No. 82104730 (to LFX); the Zhongyuan Talent Program - Science and Technology Innovation Leading Talent Project, No. 224200510027 (to ZYK)

How to cite this article: PAN XL, FAN FY, YING CM, LIU FX, ZHANG YK. Effect and mechanism of traditional Chinese medicine on inhibiting the aging of mesenchymal stem cells. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2024;28(7):1091-1098.

0 引言 Introduction

间充质干细胞具有多向分化潜能，它们易于分离和扩增，免疫原性低、很少引起伦理问题，是组织工程应用最多的干细胞类型之一^[1]。随着对间充质干细胞研究的不断深入，间充质干细胞用于治疗人类疾病的安全性已被充分验证，但其临床疗效却并不尽如人意，这可能与间充质干细胞移植后归巢率低、存活率低及分化能力差有关^[2]，但大量的研究表明间充质干细胞的衰老是影响其移植疗效的重要原因。由于间充质干细胞在体内含量较低，常需要体外扩增后应用于临床，传代次数的增加或者供体年龄增长导致移植前间充质干细胞发生衰老，而且移植到体内的间充质干细胞也容易受到体内恶劣微环境的损伤而衰老^[3]。衰老的间充质干细胞不仅免疫调节和再生能力受损，而且产生的衰老相关分泌因子可能恶化周围组织微环境，加重炎症相关疾病，严重影响间充质干细胞的移植疗效^[4-5]，所以，延缓甚至逆转间充质干细胞的衰老对促进间充质干细胞在组织工程中的应用至关重要。

除了影响间充质干细胞在组织工程中的应用，间充质干细胞随着年龄的增加发生衰老从而导致其功能障碍可能是骨质疏松、骨关节炎、肺纤维化及心脑血管疾病等多种衰老相关疾病发生的原因之一^[6-7]。2013年《Cell》杂志概括人体衰老的9个标志分别是：营养感应失调、蛋白质稳态失衡、基因组不稳定、线粒体功能障碍、端粒缩短、表观遗传学改变、细胞间通讯改变、胞衰老和干细胞耗竭^[8]。抑制间充质干细胞衰老、避免其耗竭可能是延缓机体衰老、防治衰老相关疾病的有效措施之一，但目前尚缺乏在体内外抑制间充质干细胞衰老的有效药物。

大部分研究发现，中药具有良好的抑制间充质干细胞衰老的作用，尤其是补肾类中药。中医学中肾精(包括先天之精和后天之精)化生肾气，肾精和肾气主司生长发育，主持生殖功能，是人体生命活动的根本，其损耗被认为是人体衰老的核心。早在《素问·上古天真论》中就提到“五八肾气衰，发堕齿槁”等，强调肾精亏损促进了人体衰老。而现代学者徐德成等^[9]研究发现肾精分藏于各脏腑为脏腑之精与西医中机体干细胞通过增殖分化形成构成组织器官的所有成熟细胞极其相似，中医“肾精”的现代医学本质主要体现为人体中所有干细胞及其周围微环境中的细胞外基质、细胞间信号分子和组织液等构成的有机集合，所以中医学中肾精耗损导致的机体衰老的现代科学含义可能指西医学中干细胞衰老后耗竭导致的机体衰老，而中药良好的抗衰老作用亦可能与抑制干细胞衰老相关。

虽然既往研究已经对中药通过调控间充质干细胞增殖、分化与凋亡等提高间充质干细胞移植疗效的机制进行过详论^[10]，但却忽视了间充质干细胞衰老这一重要因素在中药提高间充质干细胞移植疗效中的作用。文章首次综述中药抑制间充质干细胞衰老的作用及机制，以期为促进间充质干细胞在组织工程中的应用和衰老相关疾病的防治提供新的参考。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 资料来源

- 1.1.1 检索人及检索时间 第一作者在2022年12月进行检索。
- 1.1.2 检索文献时限 文献重点检索时间范围为2012年1月至2022年12月，同时纳入少量远期经典文献。
- 1.1.3 检索数据库 中国知网和PubMed数据库。
- 1.1.4 检索词 以“中药，间充质干细胞，衰老”和“traditional Chinese medicine, mesenchymal stem cells (MSCs), aging”分别为中、英文检索词检索。
- 1.1.5 检索文献类型 研究原著、综述和荟萃分析。
- 1.1.6 手工检索情况 无。
- 1.1.7 检索策略 以PubMed数据库检索策略为例，见图1。

```
#1 traditional Chinese medicine and mesenchymal stem cells [Title/Abstract]
#2 traditional Chinese medicine and aging [Title/Abstract]
#3 mesenchymal stem cells and aging [Title/Abstract]
#4 traditional Chinese medicine and mesenchymal stem cells and aging [Title/Abstract]
#5 #1 OR #2 OR #3 OR #4
```

图1 | PubMed数据库检索策略图

- 1.1.8 检索文献量 计算机初检得到中国知网数据库中文文献1036篇，PubMed数据库英文文献1439篇。

1.2 入组标准

- 1.2.1 纳入标准 ①关于中药抑制间充质干细胞衰老的文献；②间充质干细胞衰老相关的论著和综述；③具有创新性的文章。
- 1.2.2 排除标准 ①与研究内容不相关的文献；②内容重复性文献；③陈旧无参考价值的文献。

- 1.3 文献质量评估和数据的提取 经资料收集者互相评估纳入文献的有效性和适用性，通过阅读文题和摘要进行初步筛选；排除中英文文献重复性研究、内容不相关的文献；最后纳入92篇文献进行综述，其中来源于中国知网数据库中文文献35篇，PubMed数据库英文文献57篇。文献筛选流程见图2。

2 结果 Results

2.1 间充质干细胞的特征及临床应用 人间充质干细胞主要有两个主要来源：成人和围产期，成人来源指人体内可以分离间充质干细胞的特定组织，包括骨髓、脂肪组织、骨髓、外周血、月经血和肌肉等，围产期间充质干细胞的来源包括脐带成分，如脐带、华通氏胶、脐血以及胎盘结构，如胎膜、羊膜、绒毛膜和羊水等^[11]。作为一种多能干细胞，间充质干细胞可以分化为中胚层细胞系，如肌细胞、软骨细胞、脂肪细胞和基质层成纤维细胞；还有内胚层和外胚层，如干细胞、神经元和胶质



图 2 | 文献检索流程图

细胞, 从而补充组织中丧失的细胞^[12]。但越来越多的研究发现旁分泌功能才是间充质干细胞治疗人类疾病的核心功能, 其通过分泌生长因子、细胞因子、趋化因子、细胞外基质成分和代谢产物等在疾病治疗过程中发挥免疫调节、组织重塑和细胞稳态等功能^[13]。

目前, 间充质干细胞的临床试验已经涉及骨骼系统、神经系统及呼吸系统等多种系统疾病。HOANG 等^[11]最近通过对间充质干细胞用于临床疾病治疗的研究进行综述, 发现不同来源的间充质干细胞 (主要是临床应用最广泛的来源于骨髓、脂肪和脐带的间充质干细胞^[14]) 可能对特定器官的疾病具有倾向性, 如骨髓间充质干细胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs) 可能对脑及脊髓的疾病具有较好疗效, 脐带间充质干细胞可能对肺部疾病具有较好疗效, 而脂肪间充质干细胞 (adipose tissue-derived stem cells, ADSCs) 可能是内分泌、生殖系统和烧伤疾病的理想种子细胞。而与不同间充质干细胞对特定器官具有倾向性相对应的是中医自古就强调中药的归经特性。归经是指中药对机体某脏腑经络的选择性作用。研究发现引经药可通过基质细胞衍生因子 1/CXCR4 受体 4 及单核细胞趋化蛋白 1/CCR2 受体 2 等信号轴促进间充质干细胞向特定器官的归巢^[15]。所以, 课题组认为未来根据不同疾病选择针对性的间充质干细胞种类及中药无疑具有提高间充质干细胞临床疗效的巨大潜力。

通讯作者观点评述:

间充质干细胞的临床研究已有数百项, 但目前的临床疗效依然不能使人满意, 所以, 通过各种措施提高间充质干细胞临床疗效的研究一直是研究热点, 包括基因工程及联合应用等, 使用中药提高间充质干细胞的临床疗效一直是该课题组的研究内容。而根据不同疾病和间充质干细胞的特性选择合适的针对疾病的间充质干细胞种类无疑是提高间充质干细胞临床疗效的一种措施, 但在这方面的研究并不多, 而中医自古就有根据脏腑疾病选取引经药, 这两方面的结合可能为后续中药调控干细胞相关研究选取间充质干细胞类别和中药时提供参考。

2.2 间充质干细胞衰老的机制 有研究首次提出了细胞衰老的概念^[16], 最初是观察到正常的二倍体细胞在有限的分裂次数 (Hayflick 极限) 后停止增殖。随后对细胞衰老的研究不断深入, 2019 年国际细胞衰老协会将细胞衰老定义为由应激性损伤和某些生理过程触发的一种细胞状态, 其特征是长期且通常不可逆的细胞周期停滞, 伴随分泌特征、大分子损伤和新陈代谢改变^[17]。间充质干细胞在体外扩增主要经历复制衰老, 而移植入体内的间充质干细胞主要经历应激诱导的衰老。导致间充质干细胞衰老的机制目前尚不完全清楚, 但 DNA 损伤、端粒缩短、氧化应激、自噬障碍和线粒体功能障碍在间充质干细胞衰老中发挥了关键作用, 是间充质干细胞衰老的主要公认机制^[18-19]。

2.2.1 DNA 损伤 DNA 损伤包括端粒缩短、自发的脱氨基、水解、单链及双链断裂等^[20]。由于大量的外源性和内源性基因毒素, DNA 损伤在间充质干细胞生命中持续发生, DNA 的完整性只有通过不断修复才能得以维持。但即使修复了大部分的 DNA 损伤, 仍有一些逃脱了检测或者无法修复 (主要是 DNA 双链断裂) 导致细胞凋亡或衰老, 而在细胞凋亡和衰老之间的抉择主要取决于 DNA 损伤的程度和持续时间, 短期的剧烈 DNA 损伤常导致细胞凋亡, 而长期的轻度 DNA 损伤常导致细胞衰老^[21]。长期的 DNA 损伤主要通过激活 p53/p21 和 p16 通路造成细胞周期停滞和衰老^[22-23]。

2.2.2 端粒缩短 每一次有丝分裂都会降低干细胞的增殖能力, 导致它们复制衰老, 而端粒缩短是间充质干细胞复制衰老的核心机制。哺乳动物细胞的端粒由数千个被 Shelterin 复合体覆盖的 TTAGGG 重复序列串联

组成, 该复合体有助于形成套索状结构 (t 环) 以保护端粒 DNA 暴露的染色体末端免受 DNA 损伤。但由于 DNA 的半不连续复制以及核酸酶和活性氧等有害因子的危害, 端粒在每一次细胞分裂后都会发生缩短^[24]。端粒缩短导致端粒 DNA 环失稳和端粒脱帽, 未受保护的端粒类似于持续性 DNA 双链断裂, 导致 DNA 损伤反应以及下游 p53 通路的激活, 造成细胞周期停滞和衰老^[25], 而通过促进端粒反转录酶表达等增加端粒长度可延缓间充质干细胞衰老^[26]。

2.2.3 氧化应激 活性氧是导致细胞氧化损伤的主要原因, 其主要由线粒体氧化磷酸化过程中的电子泄漏产生, 低水平的活性氧对于维持细胞的增殖、分化和存活是必要和有利的, 而且细胞可以通过产生超氧化物歧化酶、谷胱甘肽等内源性抗氧化剂清除活性氧, 但在多种应激情况下, 细胞活性氧产生过多或清除障碍导致细胞内活性氧的积累^[27]。过多的活性氧主要通过以下两种途径造成细胞衰老^[28]: ①造成 DNA 损伤和端粒缩短, 激活 DNA 损伤反应及其下游 p53 通路激活; ②激活核因子 κB 信号通路促进白细胞介素 1β、肿瘤坏死因子 α 等衰老相关分泌表型因子分泌, 造成细胞自分泌和旁分泌衰老。研究发现通过激活核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) 信号通路等抑制氧化应激可抑制间充质干细胞衰老^[29]。

2.2.4 自噬障碍 自噬可降解受损细胞器和蛋白质聚集体, 维持细胞在饥饿和应激状态下的新陈代谢, 与细胞衰老、凋亡等生理病理过程密切相关^[30]。自噬主要包括巨自噬、微自噬及伴侣介导的自噬三种类型, 而巨自噬 (以下简称自噬) 是细胞内最有效的细胞降解途径, 也是目前研究最多的自噬类型。自噬包括吞噬泡的形成和延伸、自噬体的形成、自噬体与溶酶体融合以形成自噬溶酶体, 最后通过溶酶体内一系列的水解酶将所包裹的细胞质底物进行降解, 进而实现细胞对自身代谢所需原料的再利用^[31]。衰老的间充质干细胞自噬水平降低, 促进自噬可通过提高细胞内蛋白质及细胞器质量控制抑制间充质干细胞衰老^[32]。

2.2.5 线粒体功能障碍 线粒体作为细胞内氧化磷酸化和三磷酸腺苷合成的主要场所, 是细胞的动力工厂, 线粒体功能障碍是诱导细胞衰老的主要原因之一。线粒体形态及功能障碍导致细胞衰老的机制主要包括 4 个方面^[33]: ①线粒体代谢障碍导致氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸/还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸比例降低从而导致 p53 通路的激活; ②线粒体自噬障碍导致线粒体质量控制下降, 功能障碍的线粒体在体内聚集导致活性氧生成增加; ③线粒体动态失调导致线粒体过度偏向融合, 产生过多拉长的线粒体导致活性氧过度生成; ④线粒体细胞内通讯障碍导致线粒体接纳来自内质网的钙增多, 线粒体内过多的钙导致活性氧生成过多。研究发现使用光生物调节疗法等改善线粒体功能可抑制间充质干细胞衰老^[34]。

通讯作者观点评述:

间充质干细胞在体外扩增过多或者供者年龄较大均会导致移植前的间充质干细胞衰老。而衰老的间充质干细胞无疑会导致疗效的降低甚至产生负面影响, 所以, 抑制间充质干细胞的衰老对提高间充质干细胞的疗效具有积极作用, 在开发有效药物之前首先要搞清间充质干细胞衰老的机制。目前间充质干细胞衰老的机制尚不完全清楚, 但 DNA 损伤、氧化应激、端粒、自噬及线粒体功能障碍是导致细胞衰老的公认机制, 这在选取中药的作用靶点时可能要优先考虑。

2.3 间充质干细胞衰老的表型特征 衰老的间充质干细胞具有多种表型特征, 主要包括形态及结构改变、功能改变及细胞衰老相关标志物的增高^[35-40], 见表 1。

表 1 | 间充质干细胞衰老的表型特征

| 特征 | 具体表型特征 |
|----|--|
| 形态 | 细胞体积增大、扁平及细胞核变大等 ^[35] |
| 功能 | (1) 增殖能力减弱 ^[36] ; (2) 对生物和机械刺激的反应降低, 迁移和归巢能力降低 ^[36] ; (3) 多向分化能力降低: 如成骨分化减弱、倾向于成脂肪分化 ^[37] ; (4) 免疫调节等能力受损 ^[38] |
| 标志 | (1) 细胞周期停滞: 集落形成能力降低及 p21, p16 等细胞周期停滞相关通路激活 ^[39] ; (2) 溶酶体改变: pH 为 6.0 时 β-半乳糖苷酶活性增加 ^[39] ; (3) DNA 损伤反应: γ-H2AX 和 SAHF 等 DNA 损伤标志物升高 ^[39] ; (4) 端粒磨损 ^[40] ; (5) 衰老相关分泌表型改变: 促炎等细胞因子分泌增加等 ^[36] |

表注: γ-H2AX 为磷酸化的组蛋白 H2AX; SAHF 为衰老相关异染色质灶

间充质干细胞衰老表型特征改善是评价中药抑制间充质干细胞衰老作用的指标,但目前并没有鉴定间充质干细胞衰老的特异性指标,在研究中常需要2个或以上的指标证明中药抑制间充质干细胞衰老的作用。

通讯作者观点评述:

间充质干细胞衰老的表型特征是鉴定间充质干细胞衰老的主要依据,目前并没有鉴定间充质干细胞衰老的特异性指标,所以在鉴定间充质干细胞衰老及评价中药抑制间充质干细胞衰老的作用时最好选取2个及以上的指标。间充质干细胞衰老的表型特征部分是根据间充质干细胞衰老的机制选取的,如DNA损伤和端粒缩短等,所以在研究的时候有必要对表型特征改变的背后机制进行探讨,单把部分表型特征的改变作为机制探讨是不够完善的,后续的研究需要注意并不断完善。

2.4 中药抑制间充质干细胞衰老机制 中药抑制间充质干细胞衰老的具体机制见图3,4。

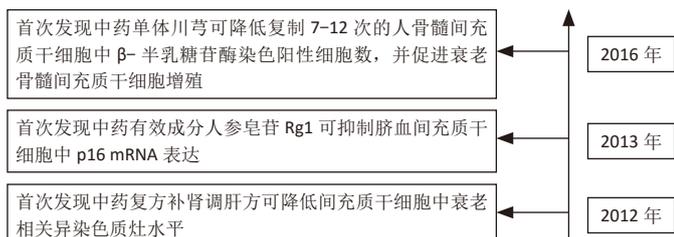
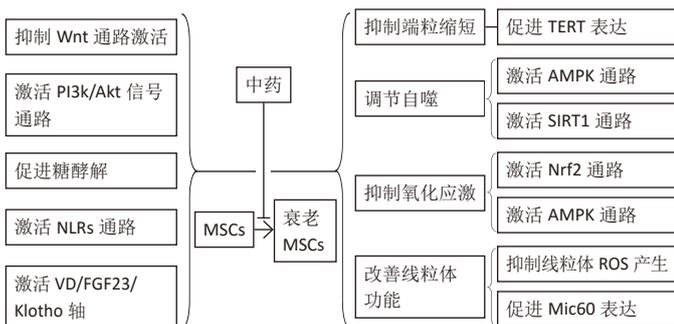


图3 | 中药抑制间充质干细胞衰老的机制研究时间脉络图



图注: MSCs为间充质干细胞; TERT为端粒酶反转录酶; PI3k为磷脂酰肌醇3-激酶; Akt为蛋白激酶B; AMPK为腺苷酸活化蛋白激酶; SIRT1为沉默信息调节因子2同系物1; NLRs为核苷酸结合寡聚结构域样受体; Nrf2为核因子E2相关因子2; VD为维生素D; FGF23为成纤维细胞生长因子23; Klotho为Klotho蛋白; ROS为活性氧; Mic60为线粒体内膜蛋白Mic60

图4 | 中药抑制间充质干细胞衰老机制图

2.4.1 中药复方

健骨二仙丸:由龟板、鹿角胶、党参、枸杞子、续断及山药组成,具有补肾填精益气功效,可促进骨髓间充质干细胞成骨^[41]。郭柏铭^[42]研究发现H₂O₂处理后的骨髓间充质干细胞出现体积增大、细胞扁平、核变大、β-半乳糖苷酶染色阳性率增高及p53、p21和p16 mRNA表达升高等一系列衰老特征,而健骨二仙丸和金匱肾气丸含药血清可抑制骨髓间充质干细胞衰老,显著改善衰老骨髓间充质干细胞代谢活力和增殖能力。

补肾化痰生新方:由熟地黄、巴戟天、川芎、当归、石斛、肉桂和甘草组成,具有补肾活血功效。补肾化痰生新方在体外对骨髓间充质干细胞的复制衰老及D-半乳糖和缺血缺氧微环境导致的衰老均具有抑制作用,并可促进衰老骨髓间充质干细胞增殖^[43-45]。而在体内,研究发现补肾化痰生新方联合骨髓间充质干细胞静脉移植相较于单纯骨髓间充质干细胞静脉移植可显著降低D-半乳糖诱导的衰老大鼠脑、心脏、肺脏及肝脏中p16、p53和p21 mRNA表达,说明补肾化痰生新方可提高骨髓间充质干细胞移植的抗衰老作用^[46]。

左归丸:由熟地黄、山药、枸杞、山茱萸、川牛膝、鹿角胶、龟板胶及菟丝子组成,具有补肾填精功效,是当前抑制间充质干细胞衰老的代表性中药复方。研究发现左归丸不仅可改善衰老骨髓间充质干细胞形

态和结构,促进其增殖和成骨分化,而且对D-半乳糖导致的衰老骨髓间充质干细胞中β-半乳糖苷酶活性、磷酸化的组蛋白H2AX等细胞衰老相关标志的升高具有明显抑制作用,作用机制可能与抑制Wnt通路激活相关^[47-50]。

补肾调肝方:由骨碎补、狗脊、白芍、柴胡、郁金、当归、玫瑰花、川楝子、川芎、白术、合欢皮、菊花、菖蒲和甘草组成。研究发现补肾调肝方水提液可改善衰老骨髓间充质干细胞形态,促进其增殖和成骨分化,降低衰老骨髓间充质干细胞中衰老相关异染色质水平,作用机制可能与抑制HIRA和ASF1a基因蛋白表达相关^[51-52]。

独活寄生汤:由独活、桑寄生、杜仲、川牛膝、细辛、秦艽、茯苓、肉桂、防风、川芎、人参、甘草、当归、芍药和地黄组成,具有补益肝肾、祛风止痛的功效。WANG等^[53]研究发现独活寄生汤及其组成药物川芎不仅可通过激活Smad蛋白1/5/8和细胞外调节蛋白激酶信号通路增强骨髓间充质干细胞的成骨分化,而且可降低复制7-12代的骨髓间充质干细胞中衰老细胞数,促进衰老骨髓间充质干细胞增殖。

文章总结了抑制间充质干细胞衰老的相关中成药^[42-53],见表2。

表2 | 中药复方抑制间充质干细胞衰老的作用及机制研究汇总

| 中药 | 间充质干细胞种类 | 抑制间充质干细胞衰老的主要实验指标 | 作用机制 | 信号通路 |
|----------------------------|-----------|--|-----------------------------------|---------|
| 健骨二仙丸 ^[42] | 鼠骨髓间充质干细胞 | 降低p53、p21mRNA表达 | 未描述 | 未描述 |
| 金匱肾气丸 | 鼠骨髓间充质干细胞 | 降低β-gal活性;抑制p53、p21及p16蛋白及mRNA表达 | 未描述 | 未描述 |
| 补肾化痰生新方 ^[43-45] | 鼠骨髓间充质干细胞 | 降低β-gal活性;抑制p16、p21、p53、γ-H2AX、HMGB1、MMP3和IL-6蛋白表达 | 促进GSK-3β蛋白磷酸化和β-catenin、c-Myc蛋白表达 | 抑制Wnt通路 |
| 左归丸 ^[47-50] | 鼠骨髓间充质干细胞 | 降低衰老相关异染色质灶水平 | 抑制HIRA、ASF1a蛋白表达 | 未描述 |
| 补肾调肝方 ^[51-52] | 鼠骨髓间充质干细胞 | 降低衰老相关异染色质灶水平 | 未描述 | 未描述 |
| 独活寄生汤 ^[53] | 人骨髓间充质干细胞 | 降低β-gal活性 | 未描述 | 未描述 |

表注: β-gal为β-半乳糖苷酶; γ-H2AX为磷酸化的组蛋白H2AX; HMGB1为高迁移率族蛋白B1; MMP3为基质金属蛋白酶3; IL-6为白细胞介素6; GSK-3β为糖原合成酶激酶3β; β-catenin为β-连环素蛋白; c-Myc为c-Myc基因; HIRA为HIRA基因; ASF1a为ASF1a基因

2.4.2 中药有效成分

白藜芦醇:是虎杖等多种中药的有效成分,具有抗炎、抗氧化和抗衰老等多种药理作用^[54]。改善线粒体功能是当前白藜芦醇抑制间充质干细胞衰老和改善衰老间充质干细胞功能的主要机制。张大勇等^[55]发现白藜芦醇可降低骨髓间充质干细胞线粒体活性氧产生及线粒体膜通透开放水平,通过改善线粒体功能抑制骨髓间充质干细胞衰老。LV等^[56]研究发现白藜芦醇可显著改善衰老骨质疏松SAMP6小鼠的成骨能力,体外研究进一步发现来自于4月龄SAMP6小鼠的骨髓间充质干细胞表现出β-gal阳性率增高及成骨分化能力减弱等衰老特征,而白藜芦醇可通过促进骨髓间充质干细胞中线粒体内膜蛋白Mic60表达改善衰老骨髓间充质干细胞线粒体功能,促进其成骨分化,这可能是白藜芦醇防治骨质疏松的机制所在。除了改善线粒体功能,HE等^[57]研究发现藜芦醇作为一种天然的沉默信息调节因子2同系物1(silent information regulator 2 homolog 1, SIRT1)激动剂可通过抑制V-Rel网状内皮增生病毒癌基因同源物A活性促进衰老骨髓间充质干细胞中SIRT1蛋白表达,通过调控V-Rel网状内皮增生病毒癌基因同源物A/SIRT1信号轴抑制骨髓间充质干细胞衰老。LEI等^[58]发现白藜芦醇可通过促进Pim-1激酶的表达抑制脂肪间充质干细胞衰老并恢复衰老脂肪间充质干细胞的旁分泌作用,增强衰老脂肪间充质干细胞培养基对大鼠胰岛细胞瘤细胞胰岛素分泌的促进作用,而衰老脂肪间充质干细胞中Pim-1激酶的表达增加可能与磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinases, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, Akt)通路激活相关。ZHOU等^[59]发现白藜芦醇可通过激活腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase, AMPK)信号通路抑制活性氧的产生从抑制骨髓间充质干细胞衰

老, 增强衰老骨髓间充质干细胞的细胞活力及成骨分化能力。

姜黄素: 是姜黄和石菖蒲等中药的主要有效成分之一, 具有抗氧化、抗炎、抗动脉粥样硬化及抗肿瘤等多种药理作用^[60]。姜黄素主要通过提高端粒酶反转录酶活性抑制间充质干细胞衰老。PIRMORADI 等^[61] 研究发现姜黄素可通过促进端粒酶反转录酶 mRNA 表达显著降低第 5 和 7 次传代的脂肪间充质干细胞中衰老细胞数量, 促进衰老脂肪间充质干细胞增殖。但姜黄素水浴后治疗效果较差, SERATI-NOURI 等^[62] 将负载姜黄素的介孔二氧化硅纳米颗粒集成到电纺聚己内酯/明胶纳米纤维支架中, 实现姜黄素的两阶段释放相较于游离姜黄素可进一步促进脂肪间充质干细胞中端粒酶反转录酶蛋白及 mRNA 表达, 增加复制衰老脂肪间充质干细胞的端粒长度, 抑制脂肪间充质干细胞复制衰老。除此之外, DENG 等^[63] 研究发现姜黄素可通过促进自噬抑制间充质干细胞衰老。

甘草活性成分: 甘草具有补脾益气 and 缓急止痛等功效, 现代研究发现甘草中含有三萜类、黄酮类、多糖类及香豆素类等多种活性成分, 具有抗氧化、抗肿瘤和抗衰老等多种药理作用^[64]。目前, 至少已有 7 种甘草活性成分被证明具有抑制间充质干细胞衰老的作用, 其中以黄酮类化合物研究较为深入。MAHARAJAN 等^[65] 发现甘草查尔酮 D 可通过上调 AMPK 介导的自噬激活抑制 H₂O₂ 诱导的骨髓间充质干细胞衰老。WU 等^[66] 研究发现复制 9 代之后的脂肪间充质干细胞表现出括体积增大和 p16 蛋白表达增加等明显衰老特征, 而甘草查尔酮 A 可通过促进脂肪间充质干细胞中甘油醛-3-磷酸脱氢酶和磷酸果糖激酶等糖酵解相关基因转录激活糖酵解从而抑制脂肪间充质干细胞复制衰老, 促进衰老脂肪间充质干细胞增殖和成骨分化。除了黄酮类化合物, 降瑞焯等^[67] 研究发现甘草中的 5 中活性成分甘草酸、甘草苷、异甘草苷、芹糖甘草苷和芹糖异甘草苷均可抑制脂肪间充质干细胞衰老, 其中以甘草酸的抗衰老效果最佳, 其次是甘草苷和芹糖异甘草苷, 作用机制可能与抑制活性氧产生相关。

灵芝酸-D: 是中药灵芝的主要活性成分之一, 研究发现灵芝酸 D 可增加 D-半乳糖诱导的衰老人羊膜间充质干细胞中 14-3-3 蛋白家族中 14-3-3e 蛋白表达^[68-69], 而 14-3-3e 蛋白的过表达可通过激活钙调蛋白/2 型钙调蛋白激酶/Nrf2 信号轴抑制人羊膜间充质干细胞衰老, 促进其增殖。

人参皂苷 Rg1: 是益气中药人参的主要活性成分之一, 具有抗衰老、抗氧化和保护神经功能等多种药理作用, 可促进间充质干细胞的增殖和分化^[70]。汪子铃^[71] 发现人参皂苷 Rg1 可通过激活 PI3K/Akt/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白信号通路增强 D-半乳糖诱导的骨髓间充质干细胞中 p62 依赖性细胞自噬, 而自噬的增强可通过激活 Nrf2 通路抑制骨髓间充质干细胞衰老。王爽^[72] 发现人参皂苷 Rg1 可通过提高 p16 和 T-box 转录因子 2 mRNA 表达抑制 D-半乳糖导致的人脐血间充质干细胞衰老, 促进衰老人脐血间充质干细胞成骨分化, 抑制其向脂肪细胞分化。

淫羊藿苷: 是补肾中药淫羊藿的主要活性成分之一, 具有良好的促进骨髓间充质干细胞成骨分化的作用^[73]。王鹏珍等^[74] 研究发现淫羊藿苷和碱性成纤维细胞生长因子单独应用均可降低体外培养大鼠外周血间充质干细胞中 β -gal 染色阳性细胞数, 促进大鼠外周血间充质干细胞增殖及干性维持, 且两者联合作用显著优于单独应用。

樟脑醌: 是中药樟脑的主要活性成分。MAHARAJAN 等^[75] 研究发现樟脑醌可通过促进 AMPK/SIRT1 通路激活增加 H₂O₂ 诱导的衰老骨髓间充质干细胞中膜型微管相关蛋白 1 轻链 3 / 胞浆型微管相关蛋白 1 轻链 3 比率 and 自噬相关蛋白 Beclin1 表达, 降低 p62 蛋白表达, 通过促进自噬抑制骨髓间充质干细胞衰老。

表没食子儿茶素没食子酸酯: 主要存在于绿茶中, 具有抗菌、抗肿瘤及抗炎等多种药理作用^[76]。SHIN 等^[77] 发现表没食子儿茶素没食子酸酯可通过促进 Nrf2 核移位逆转 H₂O₂ 导致的骨髓间充质干细胞中 p53 和 p21 蛋白水平升高, 抑制骨髓间充质干细胞衰老。

当归多糖: 是补血活血中药当归的主要活性成分, 可通过激活 PI3K/Akt 和 Wnt/ β -连环蛋白等信号通路促进间充质干细胞增殖和分化^[78]。耿珊^[79] 研究发现来自白血病患者骨髓间充质干细胞相较于来源于健康人骨髓间充质干细胞的集落形成能力和多向分化能力明显降低, 细胞中超氧化物歧化酶及总谷胱甘肽明显降低, 而 β -半乳糖苷酶染色阳性率及 p16、p53 及 p21 mRNA 则明显升高, 表现出典型的衰老表型特征, 而当归多糖不仅可显著改善来源于白血病患者骨髓间充质干

细胞的上述表型特征, 促进其增殖, 并且可增强衰老骨髓间充质干细胞对白血病干细胞增殖的抑制作用, 起到防治白血病的作用。

黄芪多糖: 是益气中药黄芪的主要有效成分之一, 具有修复甲酰胺毒人骨髓间充质干细胞的 DNA 损伤的作用^[80]。YANG 等^[81] 发现黄芪多糖可通过抑制线粒体活性氧产生逆转柠檬酸铁导致的骨髓间充质干细胞衰老, 提高衰老骨髓间充质干细胞内多能基因 Nanog、Sox2 和 Oct4 mRNA 表达, 改善衰老骨髓间充质干细胞增殖能力。

柚皮素: 存在于石斛及枳实等多种中药中, 具有抗氧化、抗炎等多种药理作用^[82]。吴雅廷等^[83] 发现柚皮素可降低体外培养脂肪间充质干细胞中活性氧及 p16 蛋白表达, 降低 β -gal 染色阳性细胞, 抑制脂肪间充质干细胞衰老, 促进脂肪间充质干细胞的增殖, 这可能是柚皮素激活核苷酸结合寡聚结构域受体信号通路上调超氧化物歧化酶基因的表达的结果。

蒙花苷: 存在于密蒙花、野菊花及薄荷等多种中药中, 具有抗氧化、抗炎及抗骨质疏松等多种药理作用^[84]。崔直等^[85] 发现蒙花苷处理后, D-半乳糖诱导的衰老骨髓间充质干细胞中衰老相关蛋白 p16、p21 的 p53 表达明显降低, DNA 损伤相关细胞核内磷酸化组蛋白 H2AX 阳性细胞明显减少, 说明蒙花苷具有抑制骨髓间充质干细胞衰老的作用。

大麻二酚: 是药用植物大麻的活性成分之一, 具有具有抗惊厥、抗焦虑、抗炎及神经保护等多种药理作用^[86]。李琳等^[87] 发现大麻二酚可通过促进自噬相关蛋白膜型微管相关蛋白 1 轻链 3B 表达抑制 D-半乳糖诱导的骨髓间充质干细胞衰老, 促进衰老骨髓间充质干细胞成骨分化。

文章总结了中药有效成分抑制间充质干细胞衰老的作用及机制^[55-87], 见表 3。

2.4.3 中药单体

艾叶: 具有温经止血和散寒止痛等功效, 现代研究发现其含有挥发油、酚酸、黄酮和多糖等多种活性成分, 具有抗炎和抗肿瘤等多种药理作用^[88]。HO 等^[89] 研究发现艾叶水提取物不仅可通过抑制线粒体活性氧产生抑制阿霉素诱导的脂肪间充质干细胞衰老, 而且可明显改善老年大鼠的前肢握力、记忆力和心脏功能, 具有良好抗衰老作用。

黄芪: 具有补气升阳、益气固表及敛疮生肌等功效, 现代研究发现黄芪含有多糖、黄酮类和三萜类等多种有效成分, 具有抗肿瘤和神经保护等多种药理作用^[90]。研究发现黄芪可通过调节维生素 D / 成纤维细胞生长因子 23/Klotho 轴抑制 D 半乳糖导致的骨髓间充质干细胞衰老, 促进衰老骨髓间充质干细胞成骨分化, 从而起到防治骨质疏松的作用^[91-92]。

通讯作者观点评述:

河南中医药大学张金生教授团队曾经探讨过补肾化痰生新方对间充质干细胞衰老的作用。目前对中药抑制间充质干细胞衰老的研究并不算多, 对作用机制的研究主要集中在自噬和氧化应激。近些年, 研究者们也在探索中药抑制间充质干细胞衰老的新的机制。除了紧扣抗衰老中药, 目前研究较多的提高间充质干细胞疗效的药物, 如补阳还五汤等均纳入考虑范围。而对于作用机制, 除了目前相对明朗的自噬和氧化应激外, 其他的机制均具有进一步探讨的价值, 但细胞外囊泡等在中药抑制间充质干细胞衰老中的作用可能具有较高的研究价值。

3 总结与展望 Summary and prospects

3.1 既往他人在该领域研究的贡献和存在的问题 从中药抑制间充质干细胞衰老的主要机制、代表性间充质干细胞类型、代表性中药复方、代表性中药有效成分、衰老间充质干细胞功能改善及衰老相关疾病 6 个方面对当前中药抑制间充质干细胞衰老的作用及机制进行总结。① 中药可通过多种途径抑制间充质干细胞衰老, 而抑制 Wnt 通路激活、抑制线粒体活性氧产生、促进 SIRT1、PI3K/Akt、AMPK 及 Nrf2 通路激活、促进端粒酶反转录酶表达是目前中药抑制间充质干细胞衰老的主要机制。② 中药可以抑制来源于骨髓、脂肪、羊膜、脐带脐血及外周血等多种组织的间充质干细胞衰老, 其中对抑制骨髓间充质干细胞衰老研究最多, 效果较好。包括健骨二仙丸、金匱肾气丸、补肾化痰生新方、左归丸、补肾调肝方、独活寄生汤、白藜芦醇、姜黄素、甘草查尔酮 D、人参皂苷 Rg1、樟脑醌、表没食子儿茶素没食子酸酯、当归多糖、黄芪多糖、蒙花苷、大麻二酚及黄芪在内的中药均可抑制骨髓间充质干细胞衰老, 作用机制主要包括: 抑制 Wnt 通路激活、抑制线粒体活性氧产生、促进 SIRT1、AMPK 及 Nrf2 通路激活等。③ 当前用于抑制间充质干细胞衰老的中药复方以补肾方药为主, 这可能与中医学中肾精亏损是机体衰老的主要原因

表 3 | 中药有效成分抑制间充质干细胞衰老的作用及机制研究汇总

| 中药 | 间充质干细胞种类 | 抑制间充质干细胞衰老的主要实验指标变化 | 作用机制 | 信号通路 |
|--|-------------------------------|--|--|-------------------------|
| 白藜芦醇 | 鼠骨髓间充质干细胞 ^[55] | 降低 β -gal 活性; 抑制 p53、p16 及 γ -H2AX 蛋白表达 | 降低线粒体 ROS 产生及膜通道开放水平 | 未描述 |
| | 小鼠骨髓间充质干细胞 ^[56] | 降低 β -gal 活性 | 促进线粒体内膜蛋白 Mic60 表达 | 未描述 |
| | 骨髓间充质干细胞 ^[57] | 降低 β -gal 活性 | 抑制 RELA 活性、促进 SIRT1 蛋白表达 | 调控 RELA/ SIRT1 通路 |
| | 鼠脂肪间充质干细胞 ^[58] | 降低 β -gal 活性及 p53、p21、Cyclin D1 及 IL-6 mRNA 表达; 增加端粒长度及 SIRT1 mRNA 表达 | 促进 p-Akt 和 Pim-1 激酶蛋白表达 | 激活 PI3K/Akt 通路 |
| 姜黄素 | 小鼠骨髓间充质干细胞 ^[59] | 降低 β -gal 活性及 p16 mRNA 表达 | 促进 AMPK 磷酸化; 抑制 ROS 产生 | 激活 AMPK/ROS 通路 |
| | 鼠 / 人脂肪间充质干细胞 ^[61] | 降低 α -L- 岩藻糖苷酶活性; 增加端粒长度 | 促进端粒酶反转录酶 mRNA 表达 | 未描述 |
| | 人脂肪间充质干细胞 ^[62] | 降低 β -gal 活性; 增加端粒长度 | 促进端粒酶反转录酶 mRNA 表达 | 未描述 |
| | 犬骨髓间充质干细胞 ^[63] | 降低 β -gal 活性及 p21、p16、TNF- α 和 IL-6 mRNA 表达; 增强集落形成能力及多能基因 SOX-2 和 NANOG mRNA 表达; | 促进自噬相关基因 5 和 7、LC3 和 Unc-51 样激酶 1mRNA 表达; 促进 LC3- I 向 LC3- II 转化及 p62 降解 | 未描述 |
| 甘草查尔酮 D | 人骨髓间充质干细胞 ^[65] | 降低 β -gal 活性及 p53、p21 及 p16 蛋白表达 | 提高 AMPK 活性及 p62 蛋白降解; 促进 LC3 及 BECN1 蛋白表达 | 激活 AMPK 通路 |
| 甘草查尔酮 A | 人脂肪间充质干细胞 ^[66] | 降低 β -gal 活性; 抑制 ROS 及 p16、p21 蛋白表达 | 促进甘油醛-3- 磷酸脱氢酶和磷酸果糖激酶蛋白及 mRNA 表达 | 未描述 |
| 甘草酸、甘草苷、人脂肪间充质干细胞 ^[67] 芹糖异甘草苷 灵芝酸-D | 人羊膜间充质干细胞 ^[68-69] | 降低 β -gal 活性及 p16 mRNA 表达 | 降低 ROS 水平 | 未描述 |
| 人参皂苷 Rg1 | 小鼠骨髓间充质干细胞 ^[71] | 降低 β -gal 活性及 p53、p21、 γ -H2AX、IL-6、IL-1 β 、MMP3 蛋白表达; 增强集落形成能力及 SOD2 和 HO-1 蛋白表达 | 抑制 CaM 和 p-CaMKII 的蛋白表达; 促进 14-3-3 ϵ 、Nrf2 和 HO-1 和 NQO1 蛋白表达 | 调控 CaM/CaMKII/Nrf2 通路 |
| | 人脐血间充质干细胞 ^[72] | 降低 β -gal 活性及 p16 mRNA 表达 | 增强 Akt 活性及 Nrf2、HO-1 蛋白表达; 降低 mTOR 活性及 p62、Keap1 蛋白表达 | 调控 PI3K/Akt 及 Nrf2 信号通路 |
| 淫羊藿苷 | 鼠外周血间充质干细胞 ^[74] | 促进增殖细胞核抗原及多能基因 Nanog、Oct4 蛋白表达; 抑制 p53、p21 及 p16 蛋白表达 | 未描述 | 未描述 |
| | 人骨髓间充质干细胞 ^[75] | 降低 β -gal 活性及 p16、p21 和 p53 蛋白表达 | 促进 T-box 转录因子 2 mRNA 表达 | 未描述 |
| 表没食子儿茶素没食子酸酯 | 人骨髓间充质干细胞 ^[77] | 降低 β -gal 活性及乙酰化 p53 和 p21 蛋白表达 | 增加 LC3- II /LC3- I 比率和 AMPK、SIRT1、BECN1 蛋白表达; 抑制 p62 蛋白表达 | 激活 AMPK/SIRT1 通路 |
| 当归多糖 | 人骨髓间充质干细胞 ^[79] | 降低 β -gal 活性及丙二醛、ROS、p16、p21 蛋白表达; 促进超氧化物歧化酶、总谷胱甘肽表达 | 促进 Nrf2 蛋白核移位; | 激活 Nrf2 通路 |
| 黄芪多糖 | 小鼠骨髓间充质干细胞 ^[81] | 降低 β -gal 活性; 促进多能基因 Nanog、Sox2 和 Oct4 mRNA 表达 | 未描述 | 未描述 |
| 柚皮素 | 人脂肪间充质干细胞 ^[83] | 降低 β -gal 活性及 p16 蛋白水平 | 抑制线粒体 ROS 产生 | 未描述 |
| 蒙花苷 | 鼠骨髓间充质干细胞 ^[85] | 抑制 p16、p21、p53 及 γ -H2AX 蛋白表达 | 促进 NLRs 和 SOD2 mRNA 表达; 降低 ROS 表达 | 激活 NLRs 通路 |
| 大麻二酚 | 鼠骨髓间充质干细胞 ^[87] | 抑制 p16 及 p21 mRNA 表达 | 未描述 | 未描述 |

表注: β -gal 为 β 半乳糖苷酶; γ -H2AX 为磷酸化的组蛋白 H2AX; ROS 为活性氧; RELA 为 V-Rel 网状内皮增生病毒癌基因同源物 A; SIRT1 为沉默信息调节因子 2 同系物 1; Cyclin D1 为细胞周期蛋白 D1; IL-6 为白细胞介素 6; p-Akt 为磷酸化蛋白激酶 B; Akt 为蛋白激酶 B; AMPK 为腺苷酸活化蛋白激酶; TNF- α 为肿瘤坏死因子 α ; LC3 为微管相关蛋白 1 轻链 3; BECN1 为自噬相关蛋白 Beclin1; CaM 为钙调蛋白; p-CaMKII 为磷酸化 2 型钙调蛋白激酶; 14-3-3 ϵ 为 14-3-3 ϵ 蛋白; Nrf2 为核因子 E2 相关因子 2; HO-1 为血红素加氧酶 1; NQO1 为醌氧化还原酶 1; MMP3 为基质金属蛋白酶 3; SOD2 为锰超氧化物歧化酶; mTOR 为哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; Keap1 为 Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1; NLRs 为核苷酸结合寡聚结构域样受体

有关,其中以左归丸研究较多,效果较好,而左归丸主要通过抑制 Wnt 通路激活抑制间充质干细胞衰老。④目前,在诸多抑制间充质干细胞衰老的中药有效成分中,对白藜芦醇的研究较多,效果较好。白藜芦醇可通过促进线粒体内膜蛋白 Mic60 表达及 RELA/SIRT1、PI3K/Akt、AMPK/活性氧通路激活抑制间充质干细胞衰老。⑤在中药通过抑制间充质干细胞衰老改善老年间充质干细胞功能方面主要以促进老年间充质干细胞增殖及成骨分化为重,这也导致骨质疏松是目前中药通过抑制间充质干细胞衰老防治的主要衰老相关疾病。包括左归丸、补肾调肝方、白藜芦醇、人参皂苷 Rg1、当归多糖及黄芪等多种中药均可促进老年间充质干细胞增殖及成骨分化,说明应用中药抑制间充质干细胞衰老是提高间充质干细胞移植疗效及防治骨质疏松等衰老相关疾病的有效措施。

然而,当前研究仍存在一些不足:①文章中部分研究只观察了中药抑制间充质干细胞衰老的作用,并未深入讨论抑制间充质干细胞衰老的机制,如独活寄生汤、淫羊藿苷及蒙花苷等,在未来需要进一步探讨中药抑制间充质干细胞衰老的机制。②虽然 β - 半乳糖苷酶染色阳性被认为是目前鉴定衰老细胞的金标准,但并不是鉴定衰老细胞的特异性指标,在鉴定老年间充质干细胞时推荐至少使用 2 个衰老细胞相关标志。部分研究,如白藜芦醇、黄芪等在判断间充质干细胞衰老程度时只凭借 β - 半乳糖苷酶活性是不太合适的,未来在评价中药抑制间充质干细胞衰老的作用时应选取足够的证据。③目前应用于抑制间充质干细胞衰老的中药复方以补肾药为主,对其他药物的研究不够充分,未来需要进一步深入研究。④旁分泌功能是间充质干细胞移植治疗人类疾病的主要功

能,但目前对中药通过抑制间充质干细胞衰老改善间充质干细胞旁分泌功能的机制研究较少,未来需要进一步研究。⑤目前对中药通过抑制间充质干细胞衰老防治骨质疏松的研究较多,但对其他衰老相关疾病的研究不够充分;⑥尚缺乏中药通过抑制间充质干细胞衰老提高其疗效和抑制衰老相关疾病的临床研究以供参考。

3.2 作者综述区别于他人他篇的特点 既往的研究已经对间充质干细胞衰老的机制及表型特征进行过论述,而且中药抗衰老及提高间充质干细胞移植疗效的研究也被论述过,但尚未对中药通过抑制间充质干细胞衰老提高其移植疗效和防治衰老相关疾病进行综述。文章首次从间充质干细胞衰老的机制出发综述中药提高间充质干细胞疗效及防治衰老相关疾病的作用。

3.3 综述的局限性 文章以间充质干细胞衰老的机制为主线布局,对文中所涉及到的中药的最新研究报道不够,而且文章主要综述基础实验研究,缺少临床试验结果的支撑。

3.4 综述的重要意义 间充质干细胞是组织工程的种子细胞,但是其临床推广却受到重重阻碍,最主要的原因是疗效缺乏说服力,进一步提升其疗效对间充质干细胞的应用意义重大。抑制间充质干细胞衰老可能是提高间充质干细胞移植疗效的有效措施之一,但目前尚缺乏有效药物,文章为中药作为抑制间充质干细胞衰老有效药物提供参考,为提高间充质干细胞移植疗效和衰老相关疾病的防治提供思路。同时,中医自古就注重养生,提倡未衰先防,而中药也具有有良好的抗衰老作用,文章为中药在抗衰老方面的现代机制提供新的思路。

3.5 课题专家组对未来的建议 衰老、细胞衰老、间充质干细胞是近几年的研究热点，间充质干细胞衰老的中医药对策未来几年可能仍是研究前研。细胞外囊泡是间充质干细胞旁分泌作用的核心。衰老间充质干细胞分泌的细胞外囊泡是影响其疗效的主要因素之一，同时也是间充质干细胞旁分泌衰老主要因素之一。中药通过调节间充质干细胞分泌的细胞外囊泡抑制间充质干细胞衰老的研究在未来值得进一步探讨。

作者贡献：张运克负责文章构思设计。潘小龙负责文献收集和文章写作总结。樊飞燕和应春苗负责文章校对。张运克和刘飞祥负责项目指导。全体作者都阅读并同意最终的文本。

利益冲突：文章的全部作者声明，在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明：这是一篇开放获取文章，根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款，在合理引用的情况下，允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展，同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献，并为之建立索引，用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让：文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范：文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 声明)；出版前经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次文字和图表查重；经小同行外审专家双盲审稿，同行评议认为符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- CHUNG JW, CHANG WH, BANG OY, et al. Efficacy and safety of intravenous mesenchymal stem cells for ischemic stroke. *Neurology*. 2021;96(7):e1012-e1023.
- SZYDLAK R. Biological, chemical and mechanical factors regulating migration and homing of mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells*. 2021;13(6):619-631.
- PENG X, ZHOU X, YIN Y, et al. Inflammatory microenvironment accelerates bone marrow mesenchymal stem cell aging. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022;10:870324.
- LEHMANN J, NARCISI R, FRANCESCHINI N, et al. WNT/beta-catenin signalling interrupts a senescence-induction cascade in human mesenchymal stem cells that restricts their expansion. *Cell Mol Life Sci*. 2022;79(2):1-19.
- WANG B, LIU Z, CHEN VP, et al. Transplanting cells from old but not young donors causes physical dysfunction in older recipients. *Aging cell*. 2020;19(3):e13106.
- GANGULY P, EL-JAWHARI JJ, GIANNODIS PV, et al. Age-related changes in bone marrow mesenchymal stromal cells: a potential impact on osteoporosis and osteoarthritis development. *Cell Transplant*. 2017;26(9):1520-1529.
- LIU Y, CHEN Q. Senescent mesenchymal stem cells: disease mechanism and treatment strategy. *Curr Mol Biol Rep*. 2020;6(4):173-182.
- LÓPEZ-OTÍN C, BLASCO MA, PARTRIDGE L, et al. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194-1217.
- 徐德成, 马迎民, 范吉平. 中医“肾精”的现代医学内涵 [J]. *中医杂志*, 2017,58(22): 1891-1897.
- 方健康, 周轶平, 李玛琳. 中药对骨髓间充质干细胞增殖、凋亡及分化的影响研究进展 [J]. *中国中药杂志*, 2014,39(15):2834-2837.
- HOANG DM, PHAM PT, BACH TQ, et al. Stem cell-based therapy for human diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1):1-41.
- 陈娜, 王晓含, 张运克. 间充质干细胞对衰老相关性缺血性卒中的作用及机制 [J]. *中国组织工程研究*, 2022,26(24):3914-3920.
- HAN Y, YANG J, FANG J, et al. The secretion profile of mesenchymal stem cells and potential applications in treating human diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1):1-19.
- ZHOU T, YUAN Z, WENG J, et al. Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells. *J Hematol Oncol*. 2021;14(1):1-24.
- 李应福, 谢兴文, 李宁, 等. 引经理论与骨髓间充质干细胞、信号通路的相关性 [J]. *中医杂志*, 2019,60(6):477-481.
- HAYFLICK L, MOORHEAD PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res*. 1961;25:585-621.
- GORGOLIS V, ADAMS PD, ALIMONTI A, et al. Cellular senescence: defining a path forward. *Cell*. 2019;179(4):813-827.
- ERMOLAEVA M, NERI F, ORI A, et al. Cellular and epigenetic drivers of stem cell ageing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2018;19(9):594-610.
- AL-AZAB M, SAFI M, IDIATULLINA E, et al. Aging of mesenchymal stem cell: machinery, markers, and strategies of fighting. *Cell Mol Biol Lett*. 2022;27(1):1-40.
- SCHUMACHER B, POTHOF J, VIJG J, et al. The central role of DNA damage in the ageing process. *Nature*. 2021;592(7856):695-703.
- PETROVA NV, VELICHKO AK, RAZIN SV, et al. Small molecule compounds that induce cellular senescence. *Aging Cell*. 2016;15(6):999-1017.
- BLACKFORD AN, JACKSON SP. ATM, ATR, and DNA-PK: the trinity at the heart of the dna damage response. *Mol Cell*. 2017;66(6):801-817.
- WENG Z, WANG Y, OUCHI T, et al. Mesenchymal stem/stromal cell senescence: hallmarks, mechanisms, and combating strategies. *Stem Cells Transl Med*. 2022;11(4):356-371.
- LUPATOV AY, YARYGIN KN. Telomeres and telomerase in the control of stem cells. *Biomedicine*. 2022;10(10):2335.
- 营孙阳, 熊加秀, 麦洪旭, 等. 端粒酶调控研究进展 [J]. *遗传*, 2016,38(4):289-299.
- ZHAO Q, WANG XY, YU XX, et al. Expression of human telomerase reverse transcriptase mediates the senescence of mesenchymal stem cells through the PI3K/AKT signaling pathway. *Int J Mol Med*. 2015;36(3):857-864.
- OH J, LEE YD, WAGERS AJ. Stem cell aging: mechanisms, regulators and therapeutic opportunities. *Nat Med*. 2014;20(8):870-880.
- VARESI A, CHIRUMBOLO S, CAMPAGNOLI L IM, et al. The role of antioxidants in the interplay between oxidative stress and senescence. *Antioxidants*. 2022;11(7):1224.
- ZHONG L, DENG J, GU C, et al. Protective effect of MitoQ on oxidative stress-mediated senescence of canine bone marrow mesenchymal stem cells via activation of the Nrf2/ARE pathway. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2021;57(7):685-694.
- LI A, GAO M, LIU B, et al. Mitochondrial autophagy: molecular mechanisms and implications for cardiovascular disease. *Cell Death Dis*. 2022;13(5):1-15.
- GRIFFEY CJ, YAMAMOTO A. Macroautophagy in CNS health and disease. *Nat Rev Neurosci*. 2022;23(7):411-427.
- 邓嘉强, 李韦瑶, 钟丽君, 等. 自噬与间充质干细胞衰老的关系研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2022,42(3):55-61.
- GHOSH-CHOUDHARY SK, LIU J, FINKEL T. The role of mitochondria in cellular senescence. *FASEB J*. 2021;35(12):e21991.
- EROGLU B, GENOVA E, ZHANG Q, et al. Photobiomodulation has rejuvenating effects on aged bone marrow mesenchymal stem cells. *Sci Rep*. 2021;11(1):1-18.
- OJA S, KOMULAINEN P, PENTTILÄ A, et al. Automated image analysis detects aging in clinical-grade mesenchymal stromal cell cultures. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9(1):1-13.
- WONG PF, DEVI MD, RAMASAMY TS. Senotherapeutics for mesenchymal stem cell senescence and rejuvenation. *Drug Discov Today*. 2022;28(1):103424.
- MA Y, QI M, AN Y, et al. Autophagy controls mesenchymal stem cell properties and senescence during bone aging. *Aging cell*. 2018;17(1):e12709.
- LUNYAK VV, AMARO-ORTIZ A, GAUR M. Mesenchymal stem cells secretory responses: senescence messaging secretome and immunomodulation perspective. *Front Genet*. 2017;19(8):220.
- HERNANDEZ-SEGURA A, NEHME J, DEMARIA M. Hallmarks of cellular senescence. *Trends Cell Biol*. 2018;28(6):436-453.
- GÜNEŞLİOL BE, KARACA E, AĞAGÜNDÜZ D, et al. Association of physical activity and nutrition with telomere length, a marker of cellular aging: a comprehensive review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021;23:1-19.
- 程志安, 韩凌, 危建安, 等. 六味地黄丸、金匮肾气丸及健骨二仙丸含药血清对 BMSCs 成脂、成骨细胞分化相关基因的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2013,33(2): 261-265.
- 郭柏铭. 氧化应激对间充质干细胞老化的作用及补肾法的调控 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- 张宝霞, 张金生, 惠小珊, 等. 补肾化瘀生新方改善缺血缺氧性微环境延缓骨髓间充质干细胞衰老的作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020,26(16):87-92.
- 朱慧芳. 补肾化瘀生新方对骨髓间充质干细胞 β -半糖苷酶活性调控作用的实验研究 [D]. 郑州: 河南中医学院, 2015.

[45] 张阳阳. 基于衰老相关基因探讨补肾化痰生新方延缓骨髓间充质干细胞衰老的机制 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2016.

[46] 张宝霞, 张金生, 许二平, 等. 补肾化痰生新法协同静脉注射骨髓间充质干细胞对延缓大鼠衰老作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018,24(24): 116-121.

[47] KANG X, CHEN L, YANG S, et al. Zuogui Wan slowed senescence of bone marrow mesenchymal stem cells by suppressing Wnt/ β -catenin signaling. *J Ethnopharmacol.* 2022;10:294:115323.

[48] 丁富平, 张晨, 张玉卓, 等. 左归丸水煎液对衰老 MSCs 的影响 [J]. 转化医学电子杂志, 2017,4(4):11-15.

[49] 詹菲, 张晨, 黄进, 等. 左归丸对衰老大鼠骨髓 MSC 形态学影响的研究 [J]. 时珍国医国药, 2015,26(3):513-515.

[50] 黄进, 徐志伟, 詹菲, 等. 左归丸对衰老大鼠骨髓间充质干细胞成骨和成脂分化的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2015,26(1):5-8.

[51] 梁祖建, 吴春飞, 张百挡. 补肾调肝方诱导衰老 BMSCs 成骨分化的实验研究 [J]. 中国骨质疏松杂志, 2013,19(3):212-216.

[52] 梁祖建. 补肾调肝方治疗高龄原发性骨质疏松症的理论和临床与实验研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.

[53] WANG JY, CHEN WM, WEN CS, et al. Du-Huo-Ji-Sheng-Tang and its active component Ligusticum chuanxiong promote osteogenic differentiation and decrease the aging process of human mesenchymal stem cells. *J Ethnopharmacol.* 2017;198:64-72.

[54] ALMATROODI SA, ALSAHLI M, S M ALJOHANI A, et al. Potential therapeutic targets of resveratrol, a plant polyphenol, and its role in the therapy of various types of cancer. *Molecules.* 2022;27(9):2665.

[55] 张大勇, 林九洲, 王雅艳, 等. 白藜芦醇通过保护线粒体功能延缓骨髓间充质干细胞衰老 [J]. 浙江大学学报 (医学版), 2019,48(6):617-624.

[56] LV YJ, YANG Y, SUI BD, et al. Resveratrol counteracts bone loss via mitofilin-mediated osteogenic improvement of mesenchymal stem cells in senescence-accelerated mice. *Theranostics.* 2018;12(12):5334.

[57] HE S, ZHOU M, ZHENG H, et al. Resveratrol inhibits the progression of premature senescence partially by regulating v-rel avian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A (RELA) and sirtuin 1 (SIRT1). *Ren Fail.* 2022;44(1):171-183.

[58] LEI LT, CHEN JB, ZHAO YL, et al. Resveratrol attenuates senescence of adipose-derived mesenchymal stem cells and restores their paracrine effects on promoting insulin secretion of INS-1 cells through Pim-1. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2016;20(6):1203-1213.

[59] ZHOU T, YAN Y, ZHAO C, et al. Resveratrol improves osteogenic differentiation of senescent bone mesenchymal stem cells through inhibiting endogenous reactive oxygen species production via AMPK activation. *Redox Rep.* 2019; 24(1):62-69.

[60] RACZ LZ, RACZ CP, POP LC, et al. Strategies for improving bioavailability, bioactivity, and physical-chemical behavior of curcumin. *Molecules.* 2022; 27(20):6854.

[61] PIRMORADI S, FATHI E, FARAHZADI R, et al. Curcumin affects adipose tissue-derived mesenchymal stem cell aging through TERT gene expression. *Drug Res (Stuttg).* 2018;68(4):213-221.

[62] SERATI-NOURI H, RASOULPOOR S, POURPIRALI R, et al. In vitro expansion of human adipose-derived stem cells with delayed senescence through dual stage release of curcumin from mesoporous silica nanoparticles/electrospun nanofibers. *Life Sci.* 2021; 285:119947.

[63] DENG J, OUYANG P, LI W, et al. Curcumin alleviates the senescence of canine bone marrow mesenchymal stem cells during in vitro expansion by activating the autophagy pathway. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):11356.

[64] 李娜, 张晨, 钟赣生, 等. 不同品种甘草化学成分、药理作用的研究进展及质量标志物 (Q-Marker) 预测分析 [J]. 中草药, 2021,52(24):7680-7692.

[65] MAHARAJAN N, GANESAN CD, MOON C, et al. Licochalcone d ameliorates oxidative stress-induced senescence via ampk activation. *Int J Mol Sci.* 2021;22(14):7324.

[66] WU Y, WANG H, ZHU J, et al. Licochalcone A activation of glycolysis pathway has an anti-aging effect on human adipose stem cells. *Aging (Albany NY).* 2021;13(23):25180-25194.

[67] 降瑞婵, 刘海亮. 甘草中 5 种活性物质对人脂肪间充质干细胞的抗衰老作用 [J]. 同济大学学报 (医学版), 2021,42(2):179-186.

[68] XU Y, YUAN H, LUO Y, et al. Ganoderic acid D protects human amniotic mesenchymal stem cells against oxidative stress-induced senescence through the PERK/NRF2 signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;27: 8291413.

[69] YUAN H, XU Y, LUO Y, et al. Ganoderic acid D prevents oxidative stress-induced senescence by targeting 14-3-3 ϵ to activate CaM/CaMKII/NRF2 signaling pathway in mesenchymal stem cells. *Aging cell.* 2022;21(9): e13686.

[70] 周春根, 江滨, 倪敏, 等. 人参皂苷 Rg1 对间充质干细胞作用的研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2021,39(4):130-132, 293.

[71] 汪子铃. 人参皂苷 Rg1 调控 Keap1-NRF2-ARE 通路延缓骨髓间充质干细胞衰老的机制研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2021.

[72] 王爽. 人参皂苷 Rg1 对体外培养人脐带间充质干细胞衰老的影响 [D]. 遵义: 遵义医学院, 2013.

[73] 张锦明, 田滢舟, 赵玲, 等. 淫羊藿苷促进骨髓间充质干细胞成骨分化缓解小鼠骨质疏松的机制 [J]. 中国组织工程研究, 2022,26(19): 2991-2996.

[74] 王鹏珍, 孟庆奇, 陈松生, 等. 淫羊藿苷联合碱性成纤维细胞生长因子促进外周间充质干细胞自我更新 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2021,37(12):1667-1674.

[75] MAHARAJAN N, CHO GW. Camphorquinone promotes the antisenescence effect via activating AMPK/SIRT1 in stem cells and D-galactose-induced aging mice. *Antioxidants.* 2021;10(12):1916.

[76] 韩晓阳, 陈悦, 杨洋, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯的抗感染作用研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2021,38(20):2616-2620.

[77] SHIN JH, JEON HJ, PARK J, et al. Epigallocatechin-3-gallate prevents oxidative stress-induced cellular senescence in human mesenchymal stem cells via Nrf2. *Int J Mol Med.* 2016;38(4):1075-1082.

[78] XIE X, LIU M, MENG Q. Angelica polysaccharide promotes proliferation and osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells by regulation of long non-coding RNA H19: an animal study. *Bone Joint Res.* 2019;8(7):323-332.

[79] 耿珊. 当归多糖调控 CML 患者骨髓间充质干细胞衰老抑制白血病干细胞增殖的机理研究 [D]. 重庆: 重庆医科大学, 2016.

[80] 舍雅莉, 刘永琦, 孙少伯, 等. 黄芪多糖对甲醛染毒人骨髓间充质干细胞 DNA 损伤的保护作用 [J]. 中草药, 2019,50(12):2928-2933.

[81] YANG F, YAN G, LI Y, et al. Astragalus polysaccharide attenuated iron overload-induced dysfunction of mesenchymal stem cells via suppressing mitochondrial ROS. *Cell Physiol Biochem.* 2016;39(4):1369-1379.

[82] NOR MUHAMAD ML, EKEUKU SO, WONG SK, et al. A scoping review of the skeletal effects of naringenin. *Nutrients.* 2022;14(22):4851.

[83] 吴雅廷, 刘海亮. 柚皮素对脂肪间充质干细胞增殖的影响 [J]. 同济大学学报 (医学版), 2021,42(1):3-10.

[84] YANG Y, CHENG R, LIU J, et al. Linarin protects against cadmium-induced osteoporosis via reducing oxidative stress and inflammation and altering RANK/RANKL/OPG pathway. *Biol Trace Elem Res.* 2022;200(8):3688-3700.

[85] 崔直, 王珮琳, 滕松松, 等. 蒙花苷消除衰老骨髓间充质干细胞的衰老表型发挥抗衰老作用 [J]. 现代生物医学进展, 2020,20(18):3407-3412.

[86] 段婷, 瞿鹏飞, 翟浩, 等. 大麻二酚干预药物成瘾研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2020,36(8):1059-1062.

[87] 李琳, 朱彪, 田萧羽, 等. 大麻二酚对衰老小鼠骨髓间充质干细胞成骨分化影响的体外细胞实验 [J]. 解放军医学院学报, 2022,43(1):75-80, 120.

[88] SU SH, SUNDHAR N, KUO WW, et al. Artemisia argyi extract induces apoptosis in human gemcitabine-resistant lung cancer cells via the PI3K/ MAPK signaling pathway. *J Ethnopharmacol.* 2022;299:115658.

[89] HO TJ, GOSWAMI D, KUO WW, et al. Artemisia argyi exhibits anti-aging effects through decreasing the senescence in aging stem cells. *Aging (Albany NY).* 2022;14(15):6187-6201.

[90] 马艳春, 胡建辉, 吴文轩, 等. 黄芪化学成分及药理作用研究进展 [J]. 中医药学报, 2022,50(4):92-95.

[91] 王焕珍, 田永松, 杨殿忠, 等. 黄芪含药血清对 D-半乳糖诱导大鼠衰老骨髓间充质干细胞维生素 D-FGF23-Klotho 轴的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020,31(8):1833-1836.

[92] 李文, 顾春松, 管连城, 等. 陈云志, 柴艺汇. 黄芪对 D-半乳糖诱导骨髓间充质干细胞钙结节数、骨钙素 mRNA 及蛋白表达水平的影响 [J]. 时珍国医国药, 2020,31(11):2586-2590.

(责任编辑: WJ, ZN, QY, ZM)