



大豆异黄酮和维生素 E 提高衰老小鼠肝脏抗氧化能力比较

刘思彤¹, 刘亚辉¹, 尹学哲², 金 明¹

(1. 延边大学 医学院, 吉林 延吉 133002; 2. 延边大学附属医院, 吉林 延吉 133000)

摘 要:为比较大豆异黄酮和维生素 E 对衰老小鼠肝脏抗氧化能力的作用,采用皮下注射 D-半乳糖方法制备衰老模型小鼠,设置正常组、衰老模型组、维生素 E 组及大豆异黄酮组处理,采用 ELISA 法测定小鼠血清 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)含量,比色法检测小鼠肝组织超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)、单胺氧化酶(MAO)、ATP 酶的活性和丙二醛(MDA)含量,采用蛋白印迹法检测 Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达,苏木素-伊红(HE)染色观察小鼠肝组织病理学改变。结果显示:衰老模型小鼠在大豆异黄酮和维生素 E 的作用下,血清 8-OHdG 含量均显著降低;肝组织中 SOD、GSH-Px、CAT 及线粒体 ATP 酶的活性均升高,MDA 的含量及 MAO 的活性均显著降低;肝脏 Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达水平均显著提高。表明大豆异黄酮和维生素 E 均可缓解衰老模型小鼠肝组织病变。除 SOD、MAO 活性及 MDA 含量,大豆异黄酮和维生素 E 组间其它指标均无显著差异,维生素 E 抗氧化能力强于大豆异黄酮,二者抗氧化机制可能与 Nrf2 和 HO-1 调控有关。

关键词:大豆; 异黄酮; 抗衰老; 抗氧化能力; D-半乳糖

Comparation on the Effects of Soy Isoflavones and Vitamin E on Hepatic Antioxidant Capacity of Aging Mice

LIU Si-tong¹, LIU Ya-hui¹, YIN Xue-zhe², JIN Ming¹

(1. Medical College, Yanbian University, Yanji 133002, China; 2. Yanbian University Hospital, Yanji 133000, China)

Abstract: To compare the effects of soy isoflavones and vitamin E on hepatic antioxidant capacity of D-galactose-induced aging mice, we prepared the aging model mice by subcutaneous injection of D-galactose. The mice were randomly divided into 4 groups, including normal group, aging model group, vitamin E group and soy isoflavone group. Then the content of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine(8-OHdG) in serum was measured by ELISA. The activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase(GSH-Px), catalase (CAT), monoamine oxidase (MAO), ATPase, and content of malondialdehyde (MDA) in liver tissues were detected by the colorimetric method. The protein expression of Nrf2 and HO-1 were detected with western blotting assay. The pathological changes of liver tissues were detected with hematoxylin-eosin (HE) staining. The results showed that soy isoflavones and vitamin E decreased 8-OHdG content in serum significantly. Soy isoflavones and vitamin E increased the activities of SOD, GSH-Px, CAT and mitochondrial ATPase significantly, decreased MAO activity and MDA content, and up-regulated the protein expression of Nrf2 and HO-1 in aging mice significantly. In conclusion, soy isoflavones and vitamin E alleviated structure damages of liver cells during aging. Except for SOD, MAO and MDA level, there was no significant difference in other indexes between soy isoflavone and vitamin E groups. Soy isoflavones and vitamin E could elevate the hepatic antioxidant capacity of aging mice induced by D-galactose, and the mechanism may be related to the regulation of Nrf2 and HO-1.

Keywords: Soybean; Isoflavones; Anti-aging; Antioxidant capacity; D-galactose

衰老是生物体随着年龄增大而发生的一系列退化现象^[1]。在衰老进程中,自由基、抗氧化酶及氧化酶、脂质过氧化等发挥着重要作用。机体正常代谢会产生一系列活性氧簇(Reactive Oxygen Species, ROS),ROS 极易与其它物质反应从而生成新的自由基,它们可诱发机体内不饱和脂肪酸的一系列脂质氧化连锁反应,造成生物膜结构和功能损伤,进而可能诱发组织器官老化^[2-4]。机体内一些

氧化酶能够促进自由基的产生,如单胺氧化酶(monoamine oxidase, MAO)能够催化芳香族单胺类失去电子脱去氨基生成 H₂O₂^[5];而机体内抗氧化酶类,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶(catalase, CAT)与抗氧化剂组成一个抗氧化防御体系,以清除体内过多的自由基。SOD 可清除单线态氧,CAT 和 GSH-Px 可清除

收稿日期:2020-03-13

基金项目:国家自然科学基金(82060537,81760695)。

第一作者简介:刘思彤(1993-),女,硕士,主要从事中药药理学研究。E-mail:875701603@qq.com。

通讯作者:金明(1972-),女,博士,副教授,主要从事中药药理学研究。E-mail:jinning@ybu.edu.cn。

H₂O₂,从而减轻和阻断脂质过氧化反应,减少脂质过氧化产物丙二醛(malondialdehyde,MDA)的产生^[6]。线粒体是产生自由基的主要场所,在线粒体氧化磷酸化生成ATP的过程中可产生ROS^[7]。研究表明,大量自由基使位于线粒体内膜的Na⁺-K⁺-ATP酶(Na⁺-K⁺-ATPase)和Ca²⁺-Mg²⁺-ATP酶(Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase)活性降低,导致细胞内外离子稳定失衡进而造成细胞损伤^[8]。减轻自由基对线粒体的损伤、可有效保护线粒体功能,延缓细胞衰老^[9]。核因子E2相关因子2(Nrf2)/血红素氧合酶1(HO-1)通路是机体内最重要的抗氧化系统之一^[10-11]。基础条件下,Nrf2与骨架相关蛋白Keap1以二聚体形式结合在细胞浆内,当机体ROS水平升高时,Keap1与Nrf2解离,使Nrf2转位到细胞核,促进HO-1、SOD、CAT等的转录和表达,提高机体清除ROS的能力^[12-14]。HO-1是细胞内的抗氧化酶,通过催化血红素分解释放胆绿素,并进一步代谢为抗氧化活性更强的胆红素实现抗氧化作用^[15]。研究表明,增强机体内源性抗氧化酶的活性,减少机体过量自由基生成,减少细胞和组织损伤,可维持机体健康和延缓衰老^[16-17]。

大豆异黄酮是黄酮类化合物,是大豆胚轴中的主要活性成分,主要包含染料木黄酮、黄豆苷元、大豆黄素及相应的糖苷结合物^[18]。大豆异黄酮具有广泛的生物学活性,如增强机体免疫、抗癌、抗氧化、防治心血管疾病等^[19-20]。近年来探索大豆异黄酮抗氧化作用的研究,发现其具有清除自由基、增强机体抗氧化能力等作用^[21-22]。维生素E是具有抗氧化作用的经典药物,常作为衰老研究的阳性对照^[23-24]。本研究以D-半乳糖作为诱导剂,建立衰老模型,比较大豆异黄酮和维生素E对肝组织抗氧化能力的影响,旨在为大豆异黄酮在抗衰老中的应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

昆明小鼠,雌雄各半,体重(20±2)g,由延边大学实验动物中心提供。大豆异黄酮(纯度≥80%,华北制药股份有限公司);维生素E(上海恒信化学试剂有限公司);D-半乳糖(江苏鹏翔生物医药有限公司);8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy-2'-deoxyguanosine,8-OHdG)试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司);线粒体提取试剂盒、SOD试剂盒、MDA试剂盒、CAT试剂盒、Na⁺-K⁺-ATPase和

Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase试剂盒(南京建成生物工程研究所);MAO试剂盒、GSH-Px试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);Nrf2抗体(美国Abcam公司);HO-1抗体、β-肌动蛋白(β-actin)抗体(美国CST公司)。

1.2 主要仪器与设备

722型分光光度计(上海棱光技术有限公司);低温超速离心机(日本日立公司);RT-2100型酶标仪(深圳雷社公司);垂直板电泳仪(DYCZ-24DN型)(北京市六一仪器厂);化学发光成像分析仪(美国UVP公司)。

1.3 试验设计

选取出生98d的健康SPF级昆明小鼠40只,随机分成4组,每组10只,分别为正常组、衰老模型组、大豆异黄酮组和维生素E组。除正常组皮下注射300mg·kg⁻¹的0.9%氯化钠溶液外,其余各组均皮下注射300mg·kg⁻¹的D-半乳糖以构建小鼠衰老模型,连续注射49d。在注射D-半乳糖构建小鼠衰老模型的同时,正常组和衰老模型组用同体积的0.9%氯化钠溶液灌胃,大豆异黄酮组和维生素E组分别给予大豆异黄酮(100mg·kg⁻¹)和维生素E(50mg·kg⁻¹)灌胃。大豆异黄酮及维生素E剂量参照尹学哲等研究结果^[22,24]。试验期间动物均自由进食饮水,室内温度为18~20℃,每日记录其生长情况。末次灌胃后禁食不禁水,24h后对小鼠进行断颈处死。处死小鼠后立即采集各组小鼠血液及肝脏。

1.4 方法

1.4.1 血清指标检测 小鼠血液静置后于4℃低温3000r·min⁻¹离心15min,分离血清,利用8-羟基脱氧鸟苷试剂盒,采用ELISA法检测8-OHdG含量。

1.4.2 肝组织生化指标检测 取部分肝脏组织称重,加0.9%的氯化钠溶液制成10%的肝匀浆,3500r·min⁻¹离心10min后分离上清液,采用比色法,利用相应试剂盒测定SOD、GSH-Px、CAT、MAO的活性和MDA含量。另取部分肝脏组织,利用线粒体提取试剂盒提取线粒体,采用比色法,利用相应试剂盒检测肝线粒体Na⁺-K⁺-ATPase、Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase的活性及MDA含量。

大豆异黄酮和维生素E对各指标的提高率计算公式^[6]为:提高率(%)=(给药组-衰老模型组)/(正常组-衰老模型组)×100;抑制率计算公式^[6]为:抑制率(%)=(衰老模型组-给药组)/

(衰老模型组 - 正常组) × 100。

1.4.3 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平检测 采用蛋白印迹技术,将取出的肝脏组织用预冷的 0.9% NaCl 冲洗后加入裂解液研磨制备成肝匀浆,低温离心后取上清液,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度,按每孔 30 μg 蛋白上样,进行 SDS-PAGE 电泳,电转移至聚偏二氟乙烯膜(PVDF),室温封闭 2 h,4 ℃ 孵育相应一抗过夜,漂洗后用相应二抗室温孵育 2 h,ECL 显色后拍照采集图片,进行灰度分析。

1.4.4 肝组织形态学检测 取部分肝脏组织置于 4% 的多聚甲醛溶液中,室温固定 48 h,进行脱水、透明、浸蜡、包埋和切片后 HE 染色,每张切片随机取 6 个视野拍照,在光学显微镜下观察小鼠肝脏组织的病理变化。

1.5 数据分析

利用 SPSS 26.0 软件进行数据分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析进行多组间比较,采用 SNK 方法进行多重比较,以 $P < 0.05$ 差异为有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 大豆异黄酮和维生素 E 对血清 8-OHdG 的影响

如表 1 所示,与正常组相比,衰老模型组小鼠血清 8-OHdG 含量显著升高 ($P < 0.05$);与衰老模型组相比较,大豆异黄酮组和维生素 E 组小鼠血清 8-OHdG 含量显著降低 ($P < 0.05$)。大豆异黄酮组和维生素 E 组间 8-OHdG 含量无显著差异 ($P >$

0.05)。大豆异黄酮组血清 8-OHdG 含量抑制率为 82%,接近维生素 E 组的 85%,两组间数据差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。说明大豆异黄酮和维生素 E 均可减轻 D - 半乳糖衰老模型小鼠的氧化应激损伤,增强 D - 半乳糖衰老模型小鼠肝脏的抗氧化能力。

表 1 不同处理组小鼠血清 8-OHdG 含量
Table 1 8-OHdG content in mice serum

of different treatments (ng·mL ⁻¹)	
组别 Group	含量 Content
正常组 Normal group	0.70 ± 0.08
衰老模型组 Aging model group	2.10 ± 0.14 [*]
维生素 E 组 Vitamin E group	0.91 ± 0.06 [#]
大豆异黄酮组 Soy isoflavone group	0.95 ± 0.07 [#]

^{*}:与正常组相比在 $P < 0.05$ 水平存在显著差异;[#]:与衰老模型组相比在 $P < 0.05$ 水平存在显著差异。

^{*}: There is significant difference at $P < 0.05$ level compared with the normal group; [#]: There is significant difference at $P < 0.05$ level compared with the aging model group.

2.2 大豆异黄酮和维生素 E 对肝组织抗氧化体系的影响

如表 2 所示,与正常组相比,衰老模型组小鼠肝组织中的 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性显著降低,MAO 活性和 MDA 含量显著升高 ($P < 0.05$);与衰老模型组相比,大豆异黄酮组和维生素 E 组小鼠肝组织中的 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性显著升高,MAO 活性和 MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$)。

表 2 不同处理组小鼠肝组织 SOD、GSH-Px、CAT、MAO 活性和 MDA 含量

Table 2 The SOD, GSH-Px, CAT, MAO activity and MDA content in mice liver tissues of different treatments					
组别 Group	SOD/(U·mg ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	MAO/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
正常组 Normal group	143.08 ± 9.87	142.39 ± 2.14	41.94 ± 0.52	136.60 ± 9.45	44.95 ± 4.60
衰老模型组 Aging model group	72.92 ± 3.14 [*]	110.99 ± 9.72 [*]	34.66 ± 1.60 [*]	267.42 ± 9.43 [*]	102.87 ± 2.01 [*]
维生素 E 组 Vitamin E group	123.25 ± 2.96 [#]	132.22 ± 13.23 [#]	40.61 ± 3.28 [#]	156.97 ± 7.23 [#]	50.47 ± 2.03 [#]
大豆异黄酮组 Soy isoflavone group	102.74 ± 4.80 ^Δ	141.12 ± 4.00 [#]	41.36 ± 3.76 [#]	181.40 ± 6.09 ^Δ	72.37 ± 3.20 ^{#Δ}

^{*}:与正常组相比在 $P < 0.05$ 水平存在显著差异;[#]:与衰老模型组相比在 $P < 0.05$ 水平存在显著差异;^Δ:与维生素 E 组相比在 $P < 0.05$ 水平存在显著差异。

^{*}: There is significant difference at $P < 0.05$ level compared with the normal group; [#]: There is significant difference at $P < 0.05$ level compared with the aging model group; ^Δ: There is significant difference at $P < 0.05$ level compared with the vitamin E group.

与衰老模型组相比大豆异黄酮组 SOD 活性提高率为 43%,明显低于维生素 E 组的 72% ($P < 0.05$);大豆异黄酮组 GSH-Px 及 CAT 活性提高率分别为 95% 和 92%,高于维生素 E 组的 69% 和 82%,但两组间数据差异无统计学意义 ($P > 0.05$);大豆异黄酮组 MAO 活性和 MDA 含量抑制率分别为 66% 和 53%,明显低于维生素 E 组的 85% 和 90% ($P < 0.05$)。说明大豆异黄酮和维生素 E 均可增强 D-半乳糖衰老模型小鼠肝脏的抗氧化能力,大豆异黄酮部分抗氧化指标弱于维生素 E。

2.3 大豆异黄酮和维生素 E 对肝细胞线粒体氧化应激的影响

如表 3 所示,与正常组相比,衰老模型组小鼠肝细

胞线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 的活性显著降低,MDA 的含量显著升高 ($P < 0.05$);与衰老模型组相比,大豆异黄酮组和维生素 E 组小鼠肝细胞线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性显著升高,MDA 的含量显著降低 ($P < 0.05$)。大豆异黄酮组肝线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性分别提高 80% 和 85%,低于维生素 E 组的 85% 和 95%;肝线粒体 MDA 含量抑制率为 65%,低于维生素 E 组的 75%,但两组间各数据差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。表明大豆异黄酮和维生素 E 均可提升衰老模型小鼠肝细胞线粒体抗氧化的能力,二者能力无显著差异。

表 3 不同处理组小鼠肝细胞线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性和 MDA 含量
Table 3 The $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ activity and MDA content in mice liver mitochondria of different treatments

组别 Group	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}/(\text{U} \cdot \text{mg}^{-1})$	$\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}/(\text{U} \cdot \text{mg}^{-1})$	MDA/ $(\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1})$
正常组 Normal group	8.00 ± 3.09	7.609 ± 2.57	2.033 ± 1.04
衰老模型组 Aging model group	3.63 ± 1.49 [*]	3.727 ± 1.84 [*]	38.164 ± 8.59 [*]
维生素 E 组 Vitamin E group	7.33 ± 0.93 [#]	7.434 ± 0.84 [#]	11.323 ± 3.24 [#]
大豆异黄酮组 Soy isoflavone group	7.14 ± 1.22 [#]	7.029 ± 1.54 [#]	14.525 ± 5.23 [#]

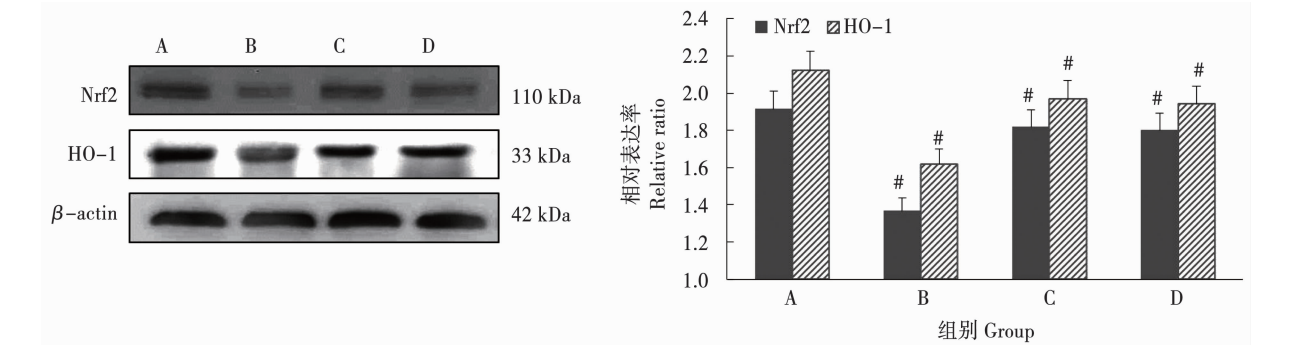
*:与正常组相比在 $P < 0.05$ 水平存在显著差异; #:与衰老模型组相比在 $P < 0.05$ 水平存在显著差异。
*: There is significant difference at $P < 0.05$ level compared with the normal group; #:There is significant difference at $P < 0.05$ level compared with the aging model group.

2.4 大豆异黄酮和维生素 E 对 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达的影响

如图 1 所示,与正常组相比,衰老模型组小鼠肝脏中的 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$);与衰老模型组比较,大豆异黄酮组和维生素 E 组 Nrf2 和 HO-1 的表达水平显著增加 ($P < 0.05$)。大豆异黄酮组和维生素 E 组 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达无显著差异 ($P > 0.05$)。说明大豆异黄酮和维生素 E 提高小鼠肝脏抗氧化能力的机制可能与上调 Nrf2 和 HO-1 蛋白的表达有关。

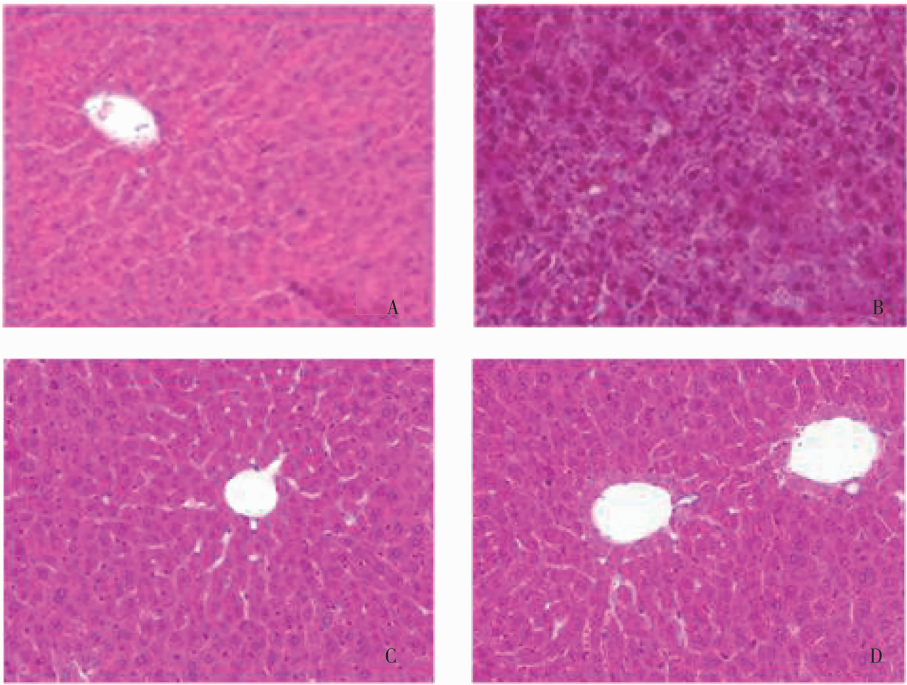
2.5 大豆异黄酮和维生素 E 对小鼠肝组织形态的影响

小鼠肝组织 HE 染色结果表明,正常组小鼠肝小叶中细胞排列整齐、形态正常,肝细胞索排列规则,肝脏中央静脉轮廓清楚,肝窦排列规范、呈放射状。与正常组比较,D-半乳糖衰老模型组肝细胞肿胀,肝细胞界限不清,个别细胞出现双核,细胞核深染,肝细胞索紊乱,肝脏中央静脉闭合,肝窦扩张。与衰老模型组比较,大豆异黄酮组及维生素 E 组肝细胞排列较整齐,肝细胞索排列较规则,肝脏中央静脉轮廓较清晰(图 2)。



A: 正常组; B: 衰老模型组; C: 维生素 E 组; D: 大豆异黄酮组。#: 与衰老模型组相比在 $P < 0.05$ 水平存在显著差异。
A: Normal group; B: Aging model group; C: Vitamin E group; D: Soy isoflavones group. #: There is significant difference at $P < 0.05$ level compared with the aging model group.

图 1 不同处理组小鼠肝脏 Nrf2、HO-1 蛋白表达情况
Fig. 1 Protein expression of Nrf2 and HO-1 in mice liver tissues of different treatments



A: 正常组; B: 衰老模型组; C: 维生素 E 组; D: 大豆异黄酮组。
A: Normal group; B: Aging model group; C: Vitamin E group; D: Soy isoflavones group.

图 2 不同处理下小鼠肝脏组织形态学检测 (400 ×)
2 Effect of soy isoflavones and vitamin E on the morphology of mice liver tissues (400 ×)

3 讨论

D - 半乳糖诱导的动物衰老模型是研究衰老机制及筛选抗衰老药物的理想模型。正常剂量的 D - 半乳糖可在肝脏代谢为葡萄糖,过量的 D - 半乳糖可引起实验动物体内半乳糖醇大量累积而导致细胞产生大量的自由基,引发机体和器官功能减退,因此常用于衰老的抗氧化机制研究中^[25-26]。8-OHdG 作为自由基损伤 DNA 的产物,因其含量随年龄的增大而增多,常作为衰老的标志物^[27]。本研究中衰老模型组 8-OHdG 含量高于正常组,而大豆异黄酮和维生素 E 组 8-OHdG 含量低于衰老模型组,说明大豆异黄酮和维生素 E 对 D - 半乳糖诱导小鼠

衰老有延缓作用,且可能与减轻氧化应激损伤有关。抗氧化作用对延缓衰老具有重要意义,抗氧化酶 SOD、GSH-Px、CAT、氧化酶 MAO 和脂质过氧化产物 MDA 可以客观地反映机体氧化损伤的程度以及衰老的程度^[28]。本研究中,D - 半乳糖引起小鼠肝脏 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性下降,MAO 活性和 MDA 含量升高,表明衰老小鼠肝脏存在一定程度氧化应激损伤。而大豆异黄酮和维生素 E 组 SOD、GSH-Px 和 CAT 活性上升,MAO 活性和 MDA 含量降低,表明大豆异黄酮和维生素 E 均可通过清除自由基,阻断自由基连锁反应,抑制过氧化脂质反应,延缓肝脏衰老过程。大豆异黄酮组 SOD 活性提高率和 MAO 活性、MDA 的含量抑制率低于维生素 E

组,考虑去除二者药物浓度的影响,大豆异黄酮和维生素 E 亦可能存在不相同的抗氧化调控方式^[22,24]。

本研究中 D-半乳糖处理使小鼠肝细胞线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性降低、MDA 的含量升高,说明衰老小鼠肝细胞有一定程度的能量代谢障碍和离子泵活性降低情况,存在线粒体氧化应激和功能损伤。而大豆异黄酮和维生素 E 干预可升高衰老小鼠肝细胞线粒体 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ 活性、降低 MDA 的含量,表明大豆异黄酮和维生素 E 通过抑制小鼠肝脏线粒体氧化应激,减少线粒体损伤达到延缓肝组织衰老作用。

为了明确大豆异黄酮提高小鼠肝脏抗氧化功能的机制,本研究检测了肝组织中 Nrf2 和 HO-1 蛋白表达情况。结果显示衰老模型组小鼠肝组织中 Nrf2、HO-1 蛋白表达下降,表明 D-半乳糖可能通过抑制 Nrf2 而影响下游 HO-1 等因子的转录和表达,降低 SOD 和 CAT 等蛋白活性,增加细胞氧化应激损伤,加重细胞和组织的破坏,促进肝脏衰老。大豆异黄酮和维生素 E 干预后,Nrf2 和 HO-1 蛋白表达上升表明大豆异黄酮和传统抗衰老药物维生素 E 有相同的作用,二者均可能通过促进小鼠肝脏 Nrf2 蛋白表达增加 HO-1 蛋白表达,增强抗氧化酶活性,降低脂质过氧化物的产生,减缓肝细胞形态和结构的破坏,延缓小鼠肝脏衰老。

4 结 论

大豆异黄酮和维生素 E 均可增强 D-半乳糖衰老模型小鼠肝脏的抗氧化能力,维生素 E 抗氧化能力强于大豆异黄酮,二者抗氧化机制可能与 Nrf2 和 HO-1 的调控有关,但具体调控机制还需进一步研究。

参考文献

[1] Johnson F B, Sinclair D A, Guarente L. Molecular biology of aging[J]. Cell,1999,96(2): 291-302.

[2] Yang H, Hua J L, Wang C. Anti-oxidation and anti-aging activity of polysaccharide from Malus micromalus Makino fruit wine[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 121: 1203-1212.

[3] Pamela M, Giulia A, Omar G, et al. SOD1 and DJ-1 converge at Nrf2 pathway: A clue for antioxidant therapeutic potential in neurodegeneration [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2013;836760.

[4] Shafique E, Choy W C, Liu Y, et al. Oxidative stress improves coronary endothelial function through activation of the pro-survival kinase AMPK[J]. Aging, 2013, 5(7): 515-530.

[5] 李睿,贾德云,贾会,等. 龙血竭总黄酮对 D-半乳糖致衰老大鼠脑内神经递质改变及抗氧化作用的实验研究[J]. 中国药理学杂志, 2018, 53(23): 2008-2013. (Li R, Jia D Y, Jia Y, et al. Changes of neurotransmitter in rats brain and antioxidation in

rats with D-galactose induced by sanguis draconis flavones[J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2018, 53(23): 2008-2013.)

[6] 王玉娇, 赵文玺, 金梅花, 等. 大豆皂苷对四氯化碳所致肝损伤小鼠肝细胞氧化应激的干预作用[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(6): 633-638. (Wang Y J, Zhao W X, Jin M H, et al. Intervention effect of soyasaponins on hepatic oxidative stress of mice with liver injury induced by carbon tetrachloride [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2013, 32(6): 633-638.)

[7] 赵保路. 自由基、营养、天然抗氧化剂与衰老[J]. 生物物理学报, 2010, 26(1): 26-36. (Zhao B L. Free radical, nutrition, natural antioxidants and aging[J]. Acta Biophysica Sinica, 2010, 26(1): 26-36.)

[8] 陈雷, 王丽纯, 张晓菲, 等. 丙酮酸乙酯对急性胰腺炎组织细胞线粒体功能的影响[J]. 广州医学院学报, 2013, 41(4): 26-29. (Chen L, Wang L C, Zhang X F, et al. Effect of ethyl pyruvate on mitochondrial function in acute pancreatitis [J]. Academic Journal of Guangzhou Medical College, 2013, 41(4): 26-29.)

[9] 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. (Zhang D Y, Lin J Z, Wang Y Y, et al. Effect of resveratrol on aging of mesenchymal stem cells and its mechanism[J]. Journal of Zhejiang University: Medical Sciences, 2019, 48(6): 617-624.)

[10] Khodir A E, Said E, Atif H, et al. Targeting Nrf2/HO-1 signaling by crocin: Role in attenuation of AA-induced ulcerative colitis in rats[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2019, 110: 389-399.

[11] Song Y, Huang L, Yu J. Effects of blueberry anthocyanins on retinal oxidative stress and inflammation in diabetes through Nrf2/HO-1 signaling[J]. Journal of Neuroimmunology, 2016, 301: 1-6.

[12] 徐玮, 梁文意, 郭彩娟, 等. 白果内酯通过 Nrf2/HO-1 信号通路改善氧化应激所致体外血脑屏障损伤的研究[J]. 广东药科大学学报, 2019, 35(1): 69-75. (Xu W, Liang W Y, Guo C J, et al. Bilobalide attenuates *in vitro* blood-brain barrier damage caused by oxidative stress via Nrf2/HO-1 signaling pathway[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2019, 35(1): 69-75.)

[13] Park C, Hong S, Shin S, et al. Activation of the Nrf2/HO-1 signaling pathway contributes to the protective effects of sargassum serratifolium extract against oxidative stress-induced DNA damage and apoptosis in SW1353 human chondrocytes [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2018, 15(6): 1173.

[14] Li L, Dong H, Song E, et al. Nrf2/ARE pathway activation, HO-1 and NQO1 induction by polychlorinated biphenyl quinone is associated with reactive oxygen species and PI3K/AKT signaling [J]. Chemico-Biological Interactions, 2014, 209: 56-67.

[15] Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: An evolutionarily conserved mechanism [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2016, 73(17): 3221-3247.

[16] López-Otín C, Blasco M A, Partridge L, et al. The hallmarks of aging[J]. Cell, 2013, 153(6): 1194-1217.

[17] 何志坚, 施旻, 刘海云. 菟丝子提取物对 D-半乳糖所致衰老小鼠的抗衰老作用[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(19): 5444-5446. (He Z J, Shi M, Liu H Y. Anti-aging effect of

dodder extract on D-galactose-induced aging mice [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2015, 35(19): 5444-5446.)

[18] 罗舒蕾, 张树冰. 大豆的有效成分及其作用[J]. 湖南农业科学, 2019(12): 103-107. (Luo S L, Zhang S B. Effective soybean's components and their functions[J]. Hunan Agricultural Sciences, 2019(12): 103-107.)

[19] 李紫微, 曹庸, 苗建银. 大豆异黄酮及其苷元的研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(20): 348-355. (Li Z W, Cao Y, Miao J Y. Research progress of soy isoflavones and aglycones [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(20): 348-355.)

[20] 郑峰, 崔香丹, 朱洁波, 等. 大豆异黄酮对小鼠肝癌移植瘤血管生成的抑制作用[J]. 大豆科学, 2018, 37(1): 101-104. (Zheng F, Cui X D, Zhu J B, et al. Anti-angiogenic effect of soy isoflavones in h22-transplanted mice[J]. Soybean Science, 2018, 37(1): 101-104.)

[21] 颜端, 王恬. 大豆异黄酮抗氧化作用研究进展[J]. 家畜生态学报, 2010, 31(4): 96-100. (Yan R, Wang T. Advanced research of soybean isoflavones on antioxidation of animals [J]. Acta Ecologiae Animalis Domastici, 2010, 31(4): 96-100.)

[22] 尹学哲, 赵文玺, 金爱花, 等. 大豆异黄酮对四氯化碳致小鼠肝脏氧化应激和 DNA 损伤的干预作用[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 214-218. (Yin X Z, Zhao W X, Jin A H, et al. Intervention effect of soy isoflavones on hepatic oxidative stress and DNA damage induced by carbon tetrachloride in mice [J]. Food Science, 2014, 35(1): 214-218.)

[23] 阙国仕, 顾先良, 陈红漫, 等. 胡萝卜多糖与维生素 E 抗衰老作用比较研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(11): 340-342. (Kan G S, Gu X L, Chen H M et al. Study on anti-aging effects of polysaccharides of carrot[J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(11): 340-342.)

[24] 刘凯, 王博文, 周倩倩, 等. 当归补血汤超滤物延缓大鼠心脏衰老作用及机理研究[J]. 时珍国医国药, 2015, 26(4): 833-835. (Liu K, Wang B W, Zhou Q Q, et al. Effect of ultra-filtration extract from danggui buxue decoction on the result and mechanism of anti-aging in the natural aging rat myocardial tissue [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2015, 26(4): 833-835.)

[25] Puukila S, Bryan S, Laakso A, et al. Secoisolariciresinol diglucoside abrogates oxidative stress-induced damage in cardiac iron overload condition[J]. PLoS One, 2015, 10(3): 1-16.

[26] Yu Y, Bai F, Wang W, et al. Fibroblast growth factor 21 protects mouse brain against D-galactose induced aging via suppression of oxidative stress response and advanced glycation end products formation [J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2015, 133: 122-131.

[27] 樊艳玲, 夏婕好, 贾道勇, 等. 当归多糖对 D-半乳糖致小鼠肾脏亚急性损伤的保护作用及机制[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(21): 4229-4233. (Fan Y L, Xia J Y, Jia D Y, et al. Protective effect of *Angelica sinensis* polysaccharides on subacute renal damages induced by D-galactose in mice and its mechanism [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2015, 40(21): 4229-4233.)

[28] 王岚, 梁日欣, 杨滨, 等. 黄芩及红花水提取物对快速老化模型小鼠的抗衰老作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 159-161, 166. (Wang L, Liang R X, Yang B, et al. Research on anti-senile action of aqueous extract of scutellaria and carthamus tinctorius in senescence accelerated mouse[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2010, 16(13): 159-161, 166.)

立足黑龙江 辐射全中国 聚焦大农业 促进快发展

2021 年《黑龙江农业科学》征订启事

《黑龙江农业科学》是黑龙江省农业科学院主办的综合性科技期刊,是全国优秀期刊、黑龙江省优秀期刊。现已被中国核心期刊(遴选)数据库、中国学术期刊综合评价数据库等多家权威数据库收录。

月刊,每月 10 日出版,国内外公开发行。国内邮发代号 14 - 61,每期定价 25.00 元;国外发行代号 M8321,每期定价 25.00 美元。

热忱欢迎广大农业科研工作者、农业院校师生、国营农场及农业技术推广人员、管理干部和广大农民群众踊跃订阅。全国各地邮局均可订阅,漏订者可汇款至本刊编辑部补订。汇款写明订购份数、收件人姓名、详细邮寄地址及邮编。

另有合订本珍藏版欢迎订购。2007 年合订本每册定价 80.00 元,2008 - 2009 年合订本每册定价 90.00 元,2010 - 2018 年合订本每册定价 180.00 元,邮费各 10.00 元,售完为止。

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

地址:哈尔滨市南岗区学府路 368 号《黑龙江农业科学》编辑部
邮编:150086
电话:0451 - 86668373
唯一投稿网址: <http://hljnykx.haasep.cn>

