紫山药多糖对*D*-半乳糖衰老模型大鼠肝、脑的影响

张丽梅[1,2]，程永强[1,*]，宋曙辉[3]
（1.中国农业大学食品科学与营养工程学院，植物源功能食品北京市重点实验室，北京 100083；
2.新时代健康产业（集团）有限公司，北京 102206；3.国家蔬菜工程技术研究中心，北京 100080）

摘 要：目的：探讨紫山药多糖对*D*-半乳糖所致衰老模型大鼠的抗衰老作用及其作用机理。方法：以*D*-半乳糖建立大鼠衰老模型，灌胃紫山药多糖（20、100、500 mg/（kg·d）） 45 d后，检测大鼠肝、脑组织中总抗氧化能力（total antioxidant capacity，T-AOC）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）活力，检测谷胱甘肽（glutathione，GSH）及过氧化终产物丙二醛（malondialdehyde，MDA）含量，应用免疫印迹实验评价肝、脑中p53、p21蛋白的表达。结果：100 mg/（kg·d）紫山药多糖可显著提高*D*-半乳糖衰老模型大鼠肝、脑中T-AOC、GSH-Px活力、GSH含量，降低过氧化产物MDA含量，抑制衰老基因*p53*、*p21*的蛋白表达。结论：紫山药多糖具有显著的抗大鼠肝、脑衰老损伤的作用，作用机理可能与p53/p21信号通路有关。

关键词：紫山药多糖；衰老；p53蛋白；p21蛋白

Effect of Purple Yam Polysaccharide on the Liver and Brain of *D*-Galactose Induced Aging Rats

ZHANG Limei[1,2], CHENG Yongqiang[1,*], SONG Shuhui[3]
(1. Beijing Key Laboratory for Functional Foods from Plant Resources, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China; 2. New Era Health Industry (Group) Co. Ltd., Beijing 102206, China; 3. National Engineering Research Center for Vegetables, Beijing 100080, China)

Abstract: Objective: To study the anti-aging effect and mechanism of purple yam polysaccharide (PYP) on *D*-galactose induced aging model rats. Methods: The aging rat model was established by *D*-galactose injection for 45 days and administered simultaneously with PYP at 20, 100 and 500 mg/(kg·d), and total antioxidant capacity (T-AOC), glutathione peroxidase (GSH-Px) activities and glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) contents in brain and liver tissues were detected after the administration. The expression of p53 and p21 protein was evaluated using Western blot. Results: PYP at 100 mg/(kg·d) could improve T-AOC, GSH-Px and GSH contents in liver and brain tissues of *D*-galactose induced aging rats, decrease the production of MDA, and down-regulate the expression of p53 and p21 protein. Conclusion: Purple yam polysaccharide has a significant effect on defending against liver and brain aging in rats via a mechanism related to p53/p21 signaling pathways.

Key words: purple yam polysaccharide; aging; p53 protein; p21 protein
DOI:10.7506/spkx1002-6630-201713032
中图分类号：TS201.4 文献标志码：A 文章编号：1002-6630（2017）13-0196-05
引文格式：
张丽梅, 程永强, 宋曙辉. 紫山药多糖对*D*-半乳糖衰老模型大鼠肝、脑的影响[J]. 食品科学, 2017, 38(13): 196-200. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201713032. http://www.spkx.net.cn
ZHANG Limei, CHENG Yongqiang, SONG Shuhui. Effect of purple yam polysaccharide on the liver and brain of *D*-galactose induced aging rats[J]. Food Science, 2017, 38(13): 196-200. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201713032. http://www.spkx.net.cn

紫山药（*Dioscorea alata* L.），又名紫茆药、紫淮山、脚板薯、参薯，是薯蓣科植物薯蓣的干燥根茎，形如纺锤或圆柱，表皮紫褐色，肉质柔滑，紫色亮丽，因而得“紫山药”一名，在我国云南、贵州、江苏、浙江、河南等地都有大面积种植[1]。

紫山药味甘、性平，含有大量的蛋白质、多糖、淀

收稿日期：2016-05-24
基金项目：北京市农林科学院科技创新能力建设专项（KJCX20140111；KJCX20150201）
作者简介：张丽梅（1979—），女，高级工程师，硕士研究生，研究方向为食品科学及工艺。E-mail：zhanglimei219@126.com
*通信作者：程永强（1972—），男，教授，博士，研究方向为食品科学与工艺。E-mail：chengyq@cau.edu.cn

粉、多种维生素、胆碱等营养物质[2]，特别是含有8 种花色苷类化合物[3-6]，使其具备了高于普通山药数倍的全面高质的营养价值。紫山药应用历史悠久，据《本草纲目》记载，紫山药有滋肺益肾、健脾止泻功能，对脾虚腹泻、久痢不愈、虚痨咳嗽、肾虚遗精、小便频繁等病症有一定的食疗作用，且食味鲜美。经常食用紫山药，可以增加人体的抵抗力，调节血压、血糖，抗衰益寿等，现已列入《抗癌中草药大辞典》。

紫山药多糖（purple yam polysaccharide，PYP）是紫山药的主要功效成分，到目前为止，关于紫山药多糖的研究还很少，生物活性尚未得到充分验证。作为紫山药多糖的同种类物质，山药多糖抗衰老、抗氧化的研究较多，并充分验证了山药类多糖优质的抗衰老活性。如梁亦龙[7]、刘帅[8]等以野生型黑腹果蝇为实验对象，观察山药多糖对其抗氧化能力和寿命的影响，发现高剂量山药多糖组在提高抗氧化酶活性的同时可延长果蝇寿命7～12 d，证明山药多糖具有突出的延缓衰老能力；Ju Ying[9]、Yang Weifang[10]等的研究发现，山药多糖通过调节体内抗氧化酶系统活力达到延缓小鼠器官衰老的作用。由此可以推测，紫山药多糖具备抗氧化和延缓衰老的活性。本实验通过注射*D*-半乳糖建立衰老大鼠模型，观察评价紫山药多糖对衰老模型大鼠肝、脑组织的抗氧化酶活性及p53、p21蛋白表达的影响，验证紫山药多糖的抗衰老作用。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

50 只健康成年SD大鼠，平均体质量（150.0±2.4）g，购自军事医学科学院实验动物中心，批准号为SCXK（军）2012004。

紫山药鲜品购自江西省万载县辉明有机农业科技开发有限公司；紫山药去皮，切块，冻干，粉碎成粉，过60 目筛。

谷胱甘肽（glutathione，GSH）、谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase，GSH-Px）、总抗氧化能力（total antioxidant capacity，T-AOC）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）检测试剂盒　南京建成生物科技公司；丙烯酰胺、甘氨酸、甲叉双丙烯酰胺、丽春红美国Sigma-Aldrich公司；抗兔二抗　美国Santa Cruz生物技术有限公司；*D*-半乳糖　北京化学试剂公司。

1.2 仪器与设备

CR-GIII高速冷冻离心机　日立（中国）有限公司；Hei-VAP Advantage 13dcabQX旋转蒸发仪　德国海道尔夫集团；万分之一天平　德国赛多利斯集团；TS-92摇床其林贝尔仪器制造有限公司；TGL-16台式冷冻离心机湖南湘仪离心机仪器有限公司；165-8004电泳仪、170-3935转膜仪　美国Bio-Rad公司。

1.3 方法

1.3.1 紫山药多糖制备

称取紫山药冻干粉100 g，加入8 倍体积的80%乙醇溶液，常温条件下搅拌提取2 h，8 000 r/min离心去除上清液。取沉淀，加入20 倍体积的水，80 ℃水浴2 h，间歇搅拌，冷却，于8 000 r/min离心30 min，取上清液进行浓缩，浓缩液加入4 倍体积的无水乙醇进行醇沉，静置过夜，离心并将沉淀冻干，得到紫山药粗多糖样品。

1.3.2 大鼠模型建立及实验设计

D-半乳糖诱导衰老大鼠模型按如下方式操作：50 只健康成年SD大鼠随机分为5 组：对照组、模型组，紫山药多糖低（PYP-L，20 mg/（kg·d），以体质量计，后同）、中（PYP-M，100 mg/（kg·d））、高（PYP-H，500 mg/（kg·d））剂量组。对照组每天注射生理盐水，模型组注射*D*-半乳糖400 mg/（kg·d），紫山药多糖组每天按不同剂量饲喂，连续45 d。所有动物饲养于具备换气装置的专用动物饲养房内，温度保持在（23±1）℃，相对湿度（60±5）%，12 h昼夜循环。45 d后，宰杀所有大鼠，肝、脑组织取出，液氮保存备用。

1.3.3 肝、脑中T-AOC、GSH-Px活力、GSH含量、MDA含量检测

精确称取大鼠脑组织质量，按照1∶9（*m*/*V*）的比例加入0.86%预冷生理盐水，匀浆器匀浆，冰水浴中进行，2 500 r/min离心10 min，取上清液待用。T-AOC、GSH-Px活力、GSH含量、MDA含量的测定均严格按试剂盒说明书进行。

1.3.4 大鼠肝、脑中p53、p21蛋白表达

大鼠肝、脑中p53、p21蛋白表达水平采用Western blot法测定。称取部分肝（脑）组织，加入蛋白裂解液，依次匀浆，离心，提取总蛋白。将每个样本等量进行电泳分离，然后转膜，并依次孵育一抗和二抗，检测p53和p21蛋白在肝、脑中的表达情况。

1.4 数据统计分析

所有数据均表示为$\bar{x}\pm s$，使用SPSS 19.0软件进行处理分析。组间比较采用Turkey检验，$P<0.05$表示数据具有统计学显著差异，$P<0.01$表示具有统计学极显著差异。

2 结果与分析

2.1 紫山药多糖对大鼠肝脏中T-AOC、GSH-Px活力及GSH、MDA含量的影响

表 1 紫山药多糖对衰老模型大鼠肝脏中T-AOC、GSH-Px活力及GSH、MDA含量变化的影响

Table 1 Effect of PYP on T-AOC and GSH-Px activities and GSH and MDA contents in liver of aging model rats

组别	GSH含量/（mg/g）	GSH-Px活力/（U/mg）	T-AOC/（U/mg）	MDA含量/（nmol/mg）
对照组	3.787±0.833$^{\Delta\Delta}$	852.768±56.609$^{\Delta\Delta}$	2.643±0.087$^{\Delta\Delta}$	2.829±1.295
模型组	2.744±0.121**	702.821±69.168**	2.271±0.265**	3.665±0.955
PYP-L	3.035±0.757*	705.032±57.682**	2.665±0.268$^{\Delta\Delta}$	3.030±0.899
PYP-M	3.495±0.289$^{\Delta}$	792.557±50.104	2.688±0.089$^{\Delta\Delta}$	2.009±0.995$^{\Delta\Delta}$
PYP-H	3.003±0.423*	717.945±45.165**	2.715±0.108$^{\Delta\Delta}$	3.108±0.866

注：*. 与对照组比较差异显著（$P<0.05$）；**. 与对照组比较差异极显著（$P<0.01$）；Δ. 与模型组比较差异显著 $P<0.05$）；ΔΔ. 与模型组比较差异极显著（$P<0.01$）。表 2 同。

由表1可知，紫山药多糖能恢复衰老大鼠肝脏中的GSH含量和GSH-Px活力，尤其是PYP-M组，几乎可以恢复至对照组水平，与模型组对比有显著差异（$P<0.05$）。紫山药多糖对*D*-半乳糖诱导的衰老大鼠肝脏中的T-AOC影响尤其明显，低、中、高剂量组与模型组比较皆有极显著的差异（$P<0.01$）。紫山药多糖对减少衰老大鼠肝脏中MDA产生有一定的作用，可减少其产生量，其中PYP-M组与模型组比较具有极显著性差异（$P<0.01$）。

2.2 紫山药多糖对大鼠脑中T-AOC、GSH-Px活性及GSH、MDA含量的影响

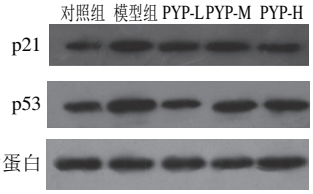
表 2 紫山药多糖对衰老模型大鼠脑中T-AOC、GSH-Px活力及GSH、MDA含量变化的影响

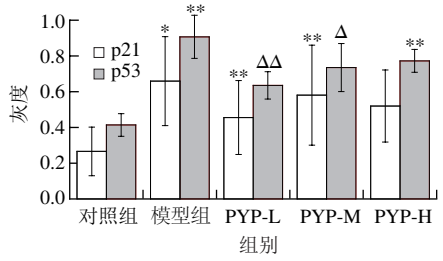
Table 2 Effect of PYP on T-AOC and GSH-Px activities and GSH and MDA contents in brain of aging model rats

组别	GSH含量/（mg/g）	GSH-Px活力/（U/mg）	T-AOC/（U/mg）	MDA含量/（nmol/mg）
对照组	4.474±0.590$^{\Delta\Delta}$	1 961.053±268.246$^{\Delta\Delta}$	1.461±0.234$^{\Delta\Delta}$	4.023±1.412
模型组	3.168±0.390**	1 294.933±168.174**	0.840±0.252**	5.554±1.392
PYP-L	3.261±0.372**	1 531.601±257.502**	1.159±0.328	4.157±0.903
PYP-M	3.948±0.658$^{\Delta}$	1 663.796±253.174$^{\Delta}$	1.251±0.314$^{\Delta}$	4.050±1.299
PYP-H	3.757±0.855	1 510.815±349.364**	1.119±0.299	4.892±1.326

由表2可知，与模型组相比，大鼠脑中GSH含量、GSH-Px活力、T-AOC在紫山药多糖的低、中、高剂量组都有回升，尤其在PYP-M组中，3 个指标与模型组比较皆有显著回升（$P<0.05$）。衰老大鼠脑中MDA产生量比较对照组上升很多，在应用紫山药多糖喂饲后都有所回落，但未达到显著差异。

2.3 紫山药多糖对大鼠肝脏中p21、p53蛋白表达的影响





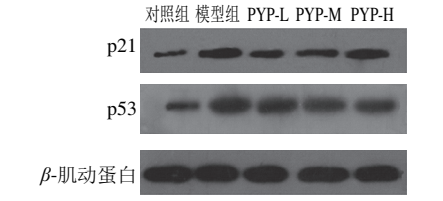
*.与对照组比较差异显著（$P<0.05$）；**.与对照组比较差异极显著（$P<0.01$）；Δ.与模型组比较差异显著（$P<0.05$）；ΔΔ.与模型组比较差异极显著（$P<0.01$）。图2同。

图 1 紫山药多糖对衰老大鼠肝脏中p21、p53蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of PYP on p21 and p53 expression in liver of aging rats

从图1可以看出，*D*-半乳糖诱导的大鼠衰老可以导致其肝脏细胞中p21、p53蛋白表达量的显著上升（$P<0.05$，$P<0.01$）。紫山药多糖具有下调蛋白表达量的作用，尤其是对p53，PYP-M组与模型组比较有显著差异（$P<0.05$），PYP-L组与模型组比较有极显著差异（$P<0.01$）。结果说明，紫山药多糖的抑制衰老作用可能与p53/p21信号通路有关。

2.4 紫山药多糖对大鼠脑中p21、p53蛋白表达的影响



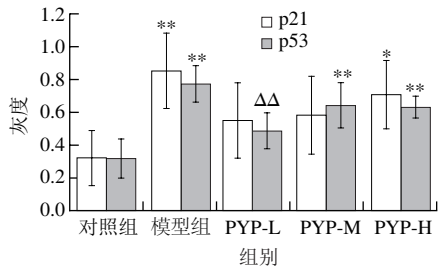


图 2 紫山药多糖对衰老大鼠脑中p21、p53蛋白表达的影响

Fig. 2 Effect of PYP on p21 and p53 protein expression in brain of aging rats

从图2可以看出，紫山药多糖可以下调大鼠脑中p21、p53蛋白的表达，且与模型组比较，PYP-L组对p53蛋白表达具有极显著差异（$P<0.01$）。

3 讨 论

大量的研究证明，小鼠接受皮下注射*D*-半乳糖（50～500 mg/（kg·d））6～8 周可导致神经元丢失、氧化损伤和线粒体功能，从而表征出认知功能障碍

和记忆障碍等衰老体征，这种衰老与正常脑老化过程相似[11-12]。本研究证明，经45 d喂养后，对照组及紫山药多糖各处理组大鼠饮食正常、活泼好动、皮肤弹性好，模型组大鼠在造模后，逐渐表现出四肢无力、少动、毛色发黄、无光泽甚至脱毛现象，同时，*D*-半乳糖所致的衰老大鼠各指标均显著区别于对照组，表明大鼠长期注射*D*-半乳糖可成功地建立一个动物脑老化或抗衰老药理研究模型。

机体衰老的本质是自由基的过量产生和链式反应。过量的自由基可以攻击位于线粒体内膜上的脂类、蛋白质等，影响线粒体功能，导致细胞受损、衰老和疾病发生[13-14]。GSH-Px等抗氧化酶，是机体内天然衰老防御系统，GSH是一种由3 个氨基酸组成的小分子肽，它作为体内重要的抗氧化剂和自由基清除剂，能与自由基、重金属等结合，从而把机体内有害的毒物转化为无害的物质，排泄出体外。GSH-Px能特异性催化谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应，起到保护细胞膜的作用[15-18]。本研究中，*D*-半乳糖组大鼠肝脑中GSH含量及GSH-Px活力较对照组明显降低，但经过紫山药多糖饲喂后，肝脑组织中的抗氧化酶活性得到了明显的恢复，尤其是PYP-M组的GSH含量与GSH-Px活力恢复至对照组的87%～93%。同时T-AOC数据表明，内源抗氧化系统在紫山药多糖处理后都得到了增强。

MDA是脂质过氧化的重要产物之一，是衡量机体内自由基代谢的敏感指标，客观反映体内自由基的水平[19-22]。本研究中*D*-半乳糖致衰老模型组大鼠肝、脑组织中GSH-Px活力、GSH含量、T-AOC显著降低，而MDA含量增加，说明在持续高糖环境下，大鼠机体抗氧化酶系统受到了破坏，机体抗氧化能力减弱，氧化应激增强，过量自由基诱发脂质过氧化损伤，进而促使了细胞甚至器官的损伤和衰老，而紫山药多糖处理后，衰老大鼠肝脑中的MDA含量明显降低。所有结果表明，紫山药多糖具有增强抗氧化酶活性，抵制衰老的功效。紫山药多糖的延缓衰老机制可能与对抗氧化损伤，提高氧自由基清除能力有关。

现代研究发现，衰老受某些基因的控制，而氧化应激引发细胞衰老的各种途径都涉及*p53*、*p21*基因表达的改变，由此可见， p53、p21在细胞衰老调控通路中的核心作用[23]。当细胞衰老时，p21的表达量会显著上升。p21是一类重要的细胞周期抑制因子，具有抑制细胞周期蛋白依赖激酶复合物的活性、调节细胞周期与DNA修复关系的作用。p21引发细胞衰老和活性氧簇有关，有研究发现p21可以增加正常纤维细胞中活性氧簇的水平[24-25]。p53与细胞衰老的关系则较为复杂，p53可以通过激活p21引起细胞衰老，而大量的p53会促进凋亡因子Puma和Bax等的表达，诱导细胞凋亡[26-28]。大量研究发现，p53对氧化应激衰老的这种行为可能是机体一种高度进化的自我保护机制，p53应激表达、修复细胞损伤，但如果损伤难以修复，持续表达的p53便大量累积，于是机体选择了以累积的p53作为不可修复损伤的信号来诱导细胞衰老甚至凋亡，衰老的细胞代谢减缓并退出细胞周期，阻止损伤的恶化及携带受损、错误信号的细胞复制，以保护机体[29-30]。本研究中，紫山药多糖具有明显地降低*D*-半乳糖诱发的p53、p21蛋白的过度表达，说明紫山药多糖可以通过下调衰老基因的表达水平，从而延缓机体衰老，p53/p21信号通路可能是其延缓衰老能力的主要机制。

本研究成功建立了*D*-半乳糖大鼠衰老模型，并喂饲紫山药多糖，结果表明紫山药多糖可以增强机体抗氧化酶系统的活力，调整肝脑组织中衰老基因*p53*、*p21*的表达。所有这些评价可以得出如下结论：紫山药多糖可明显抵抗氧化应激诱发的衰老，是一种潜在的功能抗氧化剂，有可能成为新型的健康食品原料。

参考文献：

[1] 黄和平, 高山林, 黄鹏, 等. 中国薯蓣属块状茎组的分布、分类与药用资源分析[J]. 海峡医学, 2010, 22(1): 64-66.

[2] 于东, 林跃伟. 紫山药营养成分分析研究[J]. 营养学报, 2010, 32(2): 190-192.

[3] 王哲, 徐皓. 不同产地紫山药中花色苷含量分析[J]. 北方园艺, 2013(3): 49-51.

[4] 倪勤学, 高前欣. 紫山药色素的提取工艺及抗氧化性能研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012(24): 229-233. DOI:10.3969/j.issn.1001-6880.2012.02.023.

[5] 傅婧. 紫山药皮中色素的提取纯化和稳定性研究及结构鉴定[D]. 南昌: 南昌大学, 2011: 27-69.

[6] FANG Z X, WU D, YÜ D, et al. Phenolic compounds in Chinese purple yam and changes during vacuum frying[J]. Food Chemistry, 2011, 128(4): 943-948. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.03.123.

[7] 梁亦龙, 曾垂省, 王允, 等. 山药多糖的抗衰老作用研究[J]. 广东化工, 2010, 37(11): 37-38. DOI:10.3969/j.issn.1007-1865.2010.11.017.

[8] 刘帅, 杨小兰, 张晓云. 山药粗多糖对果蝇抗衰老作用的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(4): 339-341.

[9] JU Ying, ZHAI Qingzhi, WANG Xiaohong. Antioxidant Chinese yam polysaccharides and its pro-proliferative effect on endometrial epithelial cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 66: 81-85. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2014.01.070.

[10] YANG Weifang, WANG Ying, LI Xiuping, et al. Purification and structural characterization of Chinese yam polysaccharide and its activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117: 1021-1027. DOI:10.1016/j.carbpol.2014.09.082.

[11] GONG Y S, GUO J, HUA K, et al. Ameliorative effect of lotus seedpod proanthocyanidins on cognitive impairment and brain aging induced by *D*-galactose[J]. Experimental Gerontology, 2016, 74: 21-28. DOI:10.1016/j.exger.2015.11.020.

[12] ZHOU X X, YANG Q, XIE Y H, et al. Protective effect of tetrahydroxystilbene glucoside against *D*-galactose induced aging process in mice[J]. Phytochemistry Letters, 2013, 6(3): 372-378. DOI:10.1016/j.phytol.2013.05.002.

[13] 林富桢. 抗衰老医药学[M]. 台北: 合计出版社, 2002: 51-59.

[14] HALLIWELL B. The wanderings of a free radical[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2009, 46(5): 531-542. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2008.11.008.

[15] ARENAS-RÍOS E, ROSADO G A, CORTÉS-BARBERENA E, et al. Reactive oxygen species production and antioxidant enzyme activity during epididymal sperm maturation in *Corynorhinus mexicanus* bats[J]. Reproductive Biology, 2016, 16(1): 78-86. DOI:10.1016/j.repbio.2016.01.001.

[16] LEI L H, OU L J, YU X Y. The antioxidant effect of *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. shoot in *D*-galactose induced mice aging model and *in vitro*[J]. Journal of the Chinese Medical Association, 2016, 79(4): 205-211. DOI:10.1016/j.jcma.2015.06.023.

[17] PRIYA S, NIGAM A, BAJPAI P, et al. Diethyl maleate inhibits MCA+TPA transformed cell growth via modulation of GSH, MAPK, and cancer pathways[J]. Chemico-Biological Interactions, 2014, 219: 37-47. DOI:10.1016/j.cbi.2014.04.018.

[18] DAGA M, ULLLIO C, ARGENZIANO M. et al. GSH-targeted nanosponges increase doxorubicin-induced toxicity "*in vitro*" and "*in vivo*" in cancer cells with high antioxidant defenses[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2016, 97: 24-37. DOI:10.1016/j.freeradbiomed.2016.05.009.

[19] SHEN Y N, ZHANG H, CHENG L L. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of polyphenols extracted from black highland barley[J]. Food Chemistry, 2016, 194(1): 1003-1012. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.08.083.

[20] 刘蕾, 刘富岗, 杨云, 等. 忍冬藤多糖抗氧化活性研究[J]. 中华中医药杂志, 2014(6): 1826-1829.

[21] 高璐, 王滢, 饶胜其, 等. 葡萄籽原花青素提取物对衰老模型小鼠抗氧化作用[J]. 食品科学, 2014, 35(23): 253-256. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201423049.

[22] 王岚, 梁日欣, 杨滨, 等. 黄芩及红花水提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. DOI:10.3969/j.issn.1005-9903.2010.13.048.

[23] GUO R, OERMAN M, CHATTERJEE D, et al. Berrant expression of p53, p21, cyclin D1, and Bcl2 and their clinicopathological correlation in ampullary adenocarcinoma[J]. Human Pathology, 2014, 45(5): 1015-1023. DOI:10.1016/j.humpath.2013.12.016.

[24] CORNILS H, KOHLER R S, HERGOVICH A, et al. Downstream of human NDR kinases:impacting on c-myc and p21 protein stability to control cell cycle progression[J]. Cell Cycle, 2011, 10(12): 1897-1904. DOI:10.4161/cc.10.12.15826.

[25] JUNG Y S, QIAN Y, CHEN X. Examination of the expanding pathways for the regulation of p21 expression and activity[J]. Cell Signal, 2010, 22(7): 1003-1012. DOI:10.1016/j.cellsig.2010.01.013.

[26] KOIKE M, YUTOKU Y, KOIKE A. Accumulation of p21 proteins at DNA damage sites independent of p53 and core NHEJ factors following irradiation[J]. Biochemical Biophysical Research Communication, 2011, 412(1): 39-43. DOI:10.1016/j.bbrc.2011.07.032.

[27] PANENI F, OSTO E, COSTANTINO S, et al. Deletion of the activated protein-1 transcription factor JunD induces oxidative stress and accelerates age-related endothelial dysfunction[J]. Circulation, 2013, 127(11): 1229-1240. DOI:10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000826.

[28] REINHARDT H C, SCHUMACHER B. The p53 network: cellular and systemic DNA damage responses in aging and cancer[J]. Trends in Genetics, 2012, 28(3): 128-136. DOI:10.1016/j.tig.2011.12.002.

[29] CHTOUROU Y, AOUEY B, KEBIECHE M, et al. Protective role of naringin against cisplatin induced oxidative stress, inflammatory response and apoptosis in rat striatum via suppressing ROS-mediated NF-κB and P53 signaling pathways[J]. Chemico-Biological Interactions, 2015, 239: 76-86. DOI:10.1016/j.cbi.2015.06.036.

[30] YOUSEF M I, HUSSIEN H M. Cisplatin-induced renal toxicity via tumor necrosis factor-α, interleukin 6, tumor suppressor P53, DNA damage, xanthine oxidase, histological changes, oxidative stress and nitric oxide in rats: protective effect of ginseng[J]. Food and Chemical Toxicology, 2015, 78: 17-25. DOI:10.1016/j.fct.2015.01.014.