

DOI:10.14188/j.ajsh.2023.01.002

秀丽隐杆线虫模型在抗衰老研究中的应用

孟艺伟^{1†}, 赵燕秋^{1†}, 孟庆洲¹, 吴清华¹, 曲昆玉¹, 赵佩佩¹, 王盟盟¹, 赵祥祥¹, 代焕琴²,
殷欣^{1*}, 夏雪奎^{1*}

(1. 齐鲁工业大学(山东省科学院)生物研究所, 山东 济南 250103;
2. 中国科学院微生物研究所 真菌学国家重点实验室, 北京 100101)

摘要: 随着人口老龄化问题的凸显, 衰老相关的研究越来越被重视。秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)是抗衰老研究领域非常重要的生物模型, 具有生命周期短、易于培养和观察等优点, 但与其他哺乳动物模型相比仍有一些局限性, 如DNA甲基化的缺乏等。本文主要综述了秀丽隐杆线虫模型在抗衰老研究和药物筛选中的应用, 包括抗衰老药物对线虫寿命和抗性的测定与评估、药物筛选以及健康衰老研究中的应用, 并概括了该模型的优势和局限性, 为秀丽隐杆线虫模型在抗衰老研究中的应用提供理论依据。

关键词: 秀丽隐杆线虫; 抗衰老; 基因; 应用

中图分类号: R383.1

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2023)01-0009-07

Application of *Caenorhabditis elegans* model in anti-aging research

MENG Yiwei^{1†}, ZHAO Yanqiu^{1†}, MENG Qingzhou¹, WU Qinghua¹, QU Kunyu¹, ZHAO Peipei¹,
WANG Mengmeng¹, ZHAO Xiangxiang¹, DAI Huanqin², YIN Xin^{1*}, XIA Xuekui^{1*}

(1. Biology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, Shandong, China;
2. State Key Laboratory of Mycology, Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: With the aging of population, more and more attention has been paid to the research on aging. *Caenorhabditis elegans* is a very important biological model in the field of anti-aging research. It has the advantages of short life cycle, easy cultivation and observation, but it still has some limitations compared with other mammalian models, such as the lack of DNA methylation. This paper mainly reviews the application of the model of *C. elegans* in anti-aging research and drug screening, including the measurement and evaluation of anti-aging drugs against nematode longevity and resistance, drug screening, and the application of healthy aging research, and summarizes the advantages and limitations of the model. This paper provides a theoretical basis for the application of *C. elegans* model in anti-aging research.

Key words: *Caenorhabditis elegans*; anti-aging; gene; application

收稿日期: 2022-10-11 修回日期: 2023-01-03 接受日期: 2023-02-20

作者简介: 孟艺伟(1993-), 女, 研究实习生, 研究方向为生物活性评价, E-mail: mengyiwei@sdas.org; 赵燕秋(1999-), 女, 硕士生, 研究方向为生物活性物质的活性机制研究, E-mail: yqzhao9@163.com。† 对本文有相同的贡献, 为共同第一作者

* 通讯联系人: 殷欣(1986-), 女, 助理研究员, 研究方向为活性物质的抗衰老研究, E-mail: yinxin@sdas.org; 夏雪奎(1980-), 男, 研究员, 研究方向为生物活性物质的挖掘及活性评价, E-mail: xiakk@sdas.org

基金项目: 山东省自然科学基金(ZR2021LSW022; ZR2021QB173; ZR2022QC186); 山东省“泰山青年学者”计划(tsqn202103100); 济南市“新高校20条”资助项目(2021GXRC062); 高端外国专家引进计划(G2021023002L); 齐鲁工业大学(山东省科学院)科教产融合创新试点工程项目(2022GH024)

引用格式: 孟艺伟, 赵燕秋, 孟庆洲, 等. 秀丽隐杆线虫模型在抗衰老研究中的应用[J]. 生物资源, 2023, 45(1): 9-15.

Meng Y W, Zhao Y Q, Meng Q Z, et al. Application of *Caenorhabditis elegans* model in anti-aging research [J]. Biotic Resources, 2023, 45(1): 9-15.

0 引言

衰老是一个普遍的生理过程,伴随着代谢和信号转导通路改变引起的细胞结构完整性的系统性变化^[1]。衰老机制的研究经历了从宏观到微观的变化,即从整体水平、器官水平发展到细胞水平和分子水平。研究表明,机体稳态失衡和疾病的发生与衰老密切相关,如肿瘤、阿尔茨海默症、帕金森病、慢性纤维化、严重动脉粥样硬化、糖尿病、骨关节炎和最终死亡等^[2,3]。目前在衰老研究中应用的模型包括小鼠、果蝇、线虫、斑马鱼和非人灵长类等。其中,秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)具有全基因组已知、遗传背景清晰、成本低、生命周期短、繁殖迅速且育雏数多、基因资源丰富、行为反应模式稳定、结果灵敏可靠等优势,已被广泛用于衰老和神经退行性疾病的急性 and 慢性实验的研究,是模式生物中的“优等生”^[4~7]。同时,秀丽隐杆线虫的研究具有伦理问题少,对人体不易产生危害,没有法规限制等优点^[8]。本文将综述秀丽隐杆线虫模型在抗衰老研究中的应用。

1 秀丽隐杆线虫中与衰老相关的基因和通路

目前已经报道了800多个参与调节秀丽隐杆线虫(以下简称线虫)寿命的基因,这些基因主要与胰岛素信号通路(II S)、雷帕霉素受体信号通路(TOR)、饮食限制(DR)、线粒体和氧化应激、自噬和生殖等过程相关^[9]。与II S相关的研究主要涉及*age-1*和*daf-2*基因,它们的基因突变不仅可以扩展成熟期,而且还可以延长线虫寿命2~4倍。受*daf-2*影响的734个基因中,29种基因与癌细胞生长相关,约有一半基因同时对线虫延寿产生影响,促进肿瘤生长的基因会加速线虫衰老,而抑制肿瘤生长的基因则有利于延长线虫寿命^[10]。*daf-16*、*ins-7*、*daf-28*、*ist-1*、*pdk-1*、*akt-1*以及*akt-2*等基因都与此通路相关。TOR信号通路中的基因突变和敲除都可以延长线虫寿命,包括*let-363*、*daf-15*、*rsks-1*、*ife-2*和*ifg-1*等基因^[11]。DR已被证明可以延长不同物种的寿命^[12]。不同通路中的许多因子都可以介导DR诱导的延寿,而细胞能量传感器AMPK是影响DR的重要因素。*vrk-1*基因编码的体细胞核激酶VRK-1通过直接磷酸化激活AMPK促进线虫长寿^[13]。与其他通路相关的基因还包括线粒体相关的*bax-2*、*set-6*基因^[14],个体衰老速率差异相关的*rgba-1*、*npr-28*基因(涉及线粒体和生殖)^[15],蛋白泛素化相关的*ifb-2*、*eps-8*基因^[16],*elpc-2*、*cyc-2.1*以及25个芽殖酵母和

线虫共有的寿命基因等^[17~20]。基因和通路间相互影响,依托不同通路开发多种线虫模型,将有助于开发新的抗衰老药物。

2 秀丽隐杆线虫在抗衰老评价及药物筛选中的应用

2.1 寿命测定中的应用

秀丽隐杆线虫实验中,常用线虫生长培养基(NGM)在20~25℃环境中进行线虫培养、传代和同期化。其中,寿命测定实验包括固体培养和液体培养两种方式,同期化线虫生长至L4期进行给药测试,期间可向培养基中添加抗性和氟尿嘧啶(FUDR)防止杂菌污染和抑制线虫产卵^[21~23]。FUDR在不影响成虫的发育和衰老情况下能够抑制线虫繁殖,但是,最近有报道指出FUDR会改变某些基因型线虫的寿命,并诱导线虫对热和蛋白毒性应激的抗性^[5,24~27]。在线虫的不同生长阶段给药,药物对线虫的寿命影响也不相同。如在线虫生殖成熟期时加入猪毛蒿提取物(SCO)可以使线虫延寿37%~41%;在成年中期给药,线虫延寿20%。同时,秀丽隐杆线虫生物模型可用于不同来源的单体化合物和提取物的寿命评价实验^[28]。已报道的具有线虫延寿作用的单体化合物包括乙酰半胱氨酸、二甲双胍、白藜芦醇、水飞蓟素等。提取物包括植物来源的白藜寄生提取物、猪毛蒿提取物、黄花蒿提取物以及海参来源的胰蛋白酶和木瓜蛋白酶组合酶解产物AjPH等^[29~32]。同时,线虫模型可以使用自动化寿命检测技术,可以更高效和更客观地评价药物的延寿作用。

2.2 抗性评估中的应用

2.2.1 氧化应激

活性氧(ROS)通过引起氧化应激,导致细胞损伤,在衰老过程中发挥重要作用。ROS不仅可以由病原体、紫外线、辐射等细胞外因素引发炎症产生,也可以由细胞内因素如细胞代谢产生^[33,34]。ROS积累可损伤蛋白质和脂质或使DNA发生突变,特别是线粒体DNA,导致年龄相关疾病,如糖尿病、癌症和神经退行性疾病,包括帕金森病和阿尔茨海默病^[35]。百草枯、胡桃醌和H₂O₂是线虫氧化应激实验中常用的强氧化剂,它们均能使机体产生大量ROS。延缓衰老的物质大都可以介导线虫体内相关蛋白/酶的过表达,从而清除体内的ROS,提高机体抗氧化损伤能力。例如,线虫内源性谷胱甘肽和抗氧化酶,如超氧化物歧化酶(SOD),过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)对ROS的解毒起重要作用^[36]。研究发现百草枯诱导的氧化应激实验中,线

虫经辣木提取物处理后有效地降低了体内 ROS 的含量^[37]。其他类似能提高氧化应激能力的物质还有姜黄素、齐墩果酸、喹啉类药物等^[5,38,39]。

2.2.2 热应激

秀丽隐杆线虫适宜的生长温度为 20~25℃,而在 30~42℃ 环境下,线虫通常发生热应激反应。研究发现,线虫生命的早期给以一次热刺激使其寿命延长了 20%。在线虫整个生命周期中,多次轻微的热刺激使其寿命延长了 50% 左右^[40]。参与线虫热应激调节的主要物质是热休克蛋白(HSP)和热休克因子(HSF)。其中,HSF 是一种转录因子,通过激活下游的热休克蛋白基因来调节蛋白质的稳态和寿命,这些基因编码蛋白酶和分子伴侣,以应对热休克等外部应激^[41]。HSF 包括 4 种亚型(HSF-1~到 HSF-4),线虫等无脊椎动物通常只含有一种亚型,即 HSF-1。绿原酸通过诱导自噬、激活 HSF-1 和 HSP 增强秀丽隐杆线虫对热胁迫的抗性^[42]。因此,对线虫进行适宜的热刺激处理能增加线虫对应激反应的耐受能力并且延长寿命。

2.2.3 辐射应激反应

长寿和抗压能力的提高之间存在着相当大的相关性^[43]。紫外辐射是人类生命过程中不可避免的一种环境压力。研究表明,UVB 辐射约占太阳紫外线辐射到达地球表面的 5%,是最有害的紫外线,直接激活 DNA 分子并产生光产物(如环丁烷嘧啶二聚体),进一步激活细胞表面的受体,从而调节细胞增殖、分化和衰老^[44]。UVB 辐射还可诱导 ROS 的产生,从而导致细胞内脂质过氧化、DNA 断裂和蛋白质破坏。紫外线辐射造成的损伤可以通过生物活性化合物修复,比如柚皮素、橙提取物等^[45]。随着研究的深入,秀丽隐杆线虫是辐射应激与衰老研究的优选模型。例如,经马齿苋提取物处理的线虫,其抗 UVB 照射能力明显增强,与对照组相比,平均寿命增加了 38.14%~64.22%^[46]。

2.2.4 药物筛选

秀丽隐杆线虫模型在筛选候选药物时具有优势。这对于早期药物筛选来说尤其重要,因为早期药物筛选需要相对较小的空间、较低的成本和耗时。线虫可以廉价地大量培养,而秀丽隐杆线虫相对较短的寿命确保了这种生物体可以进行抗衰老药物的高通量筛选。此外,药物的作用可以在整个有机体中直接测试,这样可以迅速排除对有害化合物的开发。线虫还可以用于遗传分析和化学干预长寿研究。目前,已经利用线虫模型筛选评价了多种抗衰老化合物^[47,48]。其中,应用于线虫抗衰老研究的物

质中,化学药占比约为 80%,植物来源的单体占比约为 15%,植物提取物占比约为 5%^[49]。目前已经筛选到的具有老化调节作用的候选化合物对线虫延寿的影响通常是通过 IIS, DR 等上述基因和通路完成的,包括二甲双胍(用于激活 AMPK 的双胍类降糖剂),雷帕霉素(免疫抑制剂和 mTOR 抑制剂),白藜芦醇(多酚和 sirtuin 激活剂),亚精胺(多胺和自噬诱导剂),阿司匹林(COX 抑制剂、抗血栓形成和抗氧化剂),马索罗酚(具有抗氧化和抗炎特性的邻苯二酚)^[50]和姜黄素(SIRT1 的活性增强剂)等^[51]。

2.3 健康衰老中的应用

秀丽隐杆线虫是研究衰老的理想模型,除基因通路相关的生化指标和寿命与抗性相关的生理指标外,线虫的个体发育、生殖能力、运动能力、吞咽和排便以及脂褐质等也是其健康衰老研究的重要组成部分。随着机体的衰老,线虫个体会慢慢变小,全身褶皱,最后运动能力慢慢降低,但采用二甲双胍干预过的线虫身体的变小速度和起皱速度明显下降,减缓衰老速度并重新恢复健康状态^[52]。线虫衰老状态时出现的运动能力下降的现象可能与 SLO-1 分子相关,在成年中期阻断 SLO-1,线虫运动功能和寿命都得到改善,让线虫在健康状态下衰老^[53,54]。有学者发现线虫在生殖方面表现出与人类相似的中年衰老过程中的卵子数量和质量下降,阻断 cathepsin B 蛋白表达后有效提高了线虫卵子质量,延缓生殖能力丧失^[55]。磷脂酰乙醇胺可以增加线虫对氧化应激的抗性并显著延长寿命,但却降低了生育能力^[56]。饮食限制也已被证明可以促进不同物种的寿命,并推迟与衰老相关疾病的发生。线虫可以通过减少咽部的蠕动次数限制饮食从而延缓寿命,特别是限制幼虫的进食会导致发育停滞,细胞和器官会处于停止老化的静止状态,当食物供应恢复后,线虫会正常发育且寿命延长。内源性自发荧光物质脂褐质主要沉积于神经、心肌、肝脏组织等衰老细胞中,因此又被称为“年龄斑块”。线虫中的脂褐质只分布在肠道附近,随着线虫衰老诱发的脂褐质积累而产生自发荧光。用银杏提取物处理线虫后,虫体内的脂褐质积累情况得到有效改善^[57]。

3 秀丽隐杆线虫模型的优势和局限性

3.1 优势

秀丽隐杆线虫由于其独特的特性,已被证明是一种合理的衰老生物学研究模式生物^[58]。秀丽隐杆线虫虽然解剖结构简单,但其肌肉、神经系统、胃肠道、性腺等组织器官与高等动物相似^[59]。此外,秀丽

隐杆线虫至少 38% 的蛋白编码基因与人类基因组具有同源性,60%~80% 的人类基因与秀丽隐杆线虫基因组具有同源性,以及 40% 已知与人类疾病相关的基因与秀丽隐杆线虫基因组具有明确同源性,信号通路与人类相似^[60,61]。与人类和其他高等哺乳动物一样,它的行为变化和生理指标下降都伴随着年龄的增长。此外,有高度进化保守的机制控制生理现象,如发育、衰老和疾病。在高等动物和秀丽隐杆线虫中发现了与代谢有关的主要酶、基因和转录因子的同源或功能相似的形式^[62]。例如,在果蝇、线虫、啮齿动物和人类中都存在着重要的转录因子 FOXO,它与长寿、抗逆性和新陈代谢有关^[63]。因此,秀丽隐杆线虫被广泛应用于天然生物活性物质的筛选^[64]。目前已有许多与线虫寿命和衰老相关的转基因和突变体。目前,大多数具有抗衰老活性的生物活性物质都是通过线虫作为模式生物首次发现的。自 Brenner 首次将线虫作为遗传学研究的工具以来,该模型已被应用于许多其他研究领域,如发育、疾病建模、代谢、医学、筛选等。线虫较短的生命周期使其成为研究衰老的理想模型(见表 1)^[65],同时线虫还具有体积小,实验成本低,在实验室中易于维护,透明的身体便于解剖观察;全基因组序列信息开放;具有保守的生物分子反应;高生育率,可用分子生物学工具编辑;适用于急慢性的毒性实验等优点。此外,秀丽隐杆线虫实验无需考虑伦理和法规问题。利用线虫的这些优势,在衰老研究领域取得了许多突破性的发现^[66]。

3.2 局限性

秀丽隐杆线虫具有许多值得研究的特性,但作为一种模式生物与其他哺乳动物相比仍有一些局限性。首先,秀丽隐杆线虫缺乏哺乳动物的某些解剖特征,包括血液运输系统、血脑屏障、肝脏的首程代谢过程和肾脏的血液过滤,这些可能是特定的信号通路或表观遗传效应^[67]。作为预测人类研究结果的模型系统,DNA 甲基化的缺乏是线虫的另一个局限性。DNA 甲基化是一种表观遗传标签,在哺乳动物中可能比在线虫中更具功能^[60]。此外,由于缺乏长程转录调控,不适合在其他动物物种中进行相关机制的研究;但对于信号映射机制的研究,建议将其作为一种简化模型^[60]。

4 结论与展望

本文综述了秀丽隐杆线虫作为动物模型在衰老研究中的优势。预计秀丽隐杆线虫模型在研究中的应用将会扩展到不同的领域,并对这些领域有一定

表 1 秀丽隐杆线虫在不同温度下的发育过程
Table 1 Development of *C. elegans* at different growth temperatures

阶段	(16±0.3)°C	(20±0.5)°C	(25±0.2)°C
产卵	0 h	0 h	0 h
孵化/h	16~18	10~12	8~9
第一次蜕皮	36.5 h	26 h	18 h
第二次蜕皮	48 h	34.5 h	25.5 h
第三次蜕皮	60 h	43.5 h	31 h
第四次蜕皮	75 h	56 h	39 h
产卵开始	~90 h	~65 h	~47 h
产卵峰值	~140 h	~96 h	~62 h
产卵结束	~180 h	~128 h	~88 h
第一次蜕皮时的长度/μm	360	370	380
第二次蜕皮时的长度/μm	490	480	510
第三次蜕皮时的长度/μm	650	640	620
第四次蜕皮时的长度/μm	900	850	940
开始产卵时的长度/μm	1 150	1 060	1 110
最大产卵速率/h	5.4	9.1	8.1
产卵数	275	280	170

的借鉴意义。作为一个模型系统,线虫可以用于研究遗传方法,以了解衰老过程、年龄相关疾病、长寿机制,以及药物筛选延长寿命的化合物。对这种低等生物的长寿研究已经帮助我们提供了一个关于复杂生物体中衰老和预测其行为的信号通路的大纲。然而,哪些分子途径是致病的,哪些是伴随衰老的需要进一步研究。此外,与衰老相关的遗传调控机制仍在进一步阐明中。在未来,包括秀丽隐杆线虫在内的疾病模型肯定会对衰老过程提出进一步的见解。

参考文献

[1] 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.

[2] Childs B G, Baker D J, Wijshake T, *et al.* Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis [J]. *Science*, 2016, 354(6311): 472-477.

[3] Amor C, Feucht J, Leibold J, *et al.* Senolytic CAR T cells reverse senescence-associated pathologies [J]. *Nature*, 2020, 583(7814): 127-132.

[4] Lublin A L, Link C D. Alzheimer's disease drug discovery: *in vivo* screening using *Caenorhabditis elegans* as a model for β -amyloid peptide-induced toxicity [J]. *Drug Discov Today Technol*, 2013, 10(1): e115-e119.

[5] Zhang J L, Lu L L, Zhou L J. Oleanolic acid activates

- daf-16* to increase lifespan in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(4): 843-849.
- [6] Gonzalez-Moragas L, Roig A, Laromaine A. *C. elegans* as a tool for *in vivo* nanoparticle assessment [J]. *Adv Colloid Interface Sci*, 2015, 219: 10-26.
- [7] Baumeister R, Ge L M. The worm in us-*Caenorhabditis elegans* as a model of human disease [J]. *Trends Biotechnol*, 2002, 20(4): 147-148.
- [8] Shen P Y, Yue Y R, Zheng J, *et al.* *Caenorhabditis elegans*: a convenient *in vivo* model for assessing the impact of food bioactive compounds on obesity, aging, and alzheimer's disease [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2018, 9: 1-22.
- [9] Campisi J, Kapahi P, Lithgow G J, *et al.* From discoveries in ageing research to therapeutics for healthy aging [J]. *Nature*, 2019, 571(7764): 183-192.
- [10] Pinkston-Gosse J, Kenyon C. DAF-16/FOXO targets genes that regulate tumor growth in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Nat Genet*, 2007, 39(11): 1403-1409.
- [11] 王敏, 高亚琴, 汪瑾. 秀丽线虫寿命的调控机制[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(20): 10514-10515.
- Wang M, Gao Y Q, Wang J. Regulation mechanism of life-span of *Caenorhabditis elegans* [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2010, 38(20): 10514-10515.
- [12] Piper M D W, Partridge L, Raubenheimer D, *et al.* Dietary restriction and aging: a unifying perspective [J]. *Cell Metab*, 2011, 14(2): 154-160.
- [13] Park S, Artan M, Han S H, *et al.* VRK-1 extends life span by activation of AMPK via phosphorylation [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(27): eaaw7824.
- [14] Yuan J, Chang S Y, Yin S G, *et al.* Two conserved epigenetic regulators prevent healthy aging [J]. *Nature*, 2020, 579(7797): 118-122.
- [15] Yin J A, Gao G, Liu X J, *et al.* Genetic variation in glia-neuron signalling modulates ageing rate [J]. *Nature*, 2017, 551(7679): 198-203.
- [16] Koyuncu S, Loureiro R, Lee H J, *et al.* Rewiring of the ubiquitinated proteome determines ageing in *C. elegans* [J]. *Nature*, 2021, 596(7871): 285-290.
- [17] Kawamura K, Maruyama I N. Forward genetic screen for *Caenorhabditis elegans* mutants with a shortened locomotor healthspan [J]. *G3 (Bethesda)*, 2019, 9(8): 2415-2423.
- [18] Lan J F, Rollins J A, Zang X, *et al.* Translational regulation of non-autonomous mitochondrial stress response promotes longevity [J]. *Cell Rep*, 2019, 28(4): 1050-1062. e6.
- [19] Ghosh B, Guidry H J, Johnston M, *et al.* A fat-promoting botanical extract from *Artemisia scoparia* exerts geroprotective effects on *Caenorhabditis elegans* life span and stress resistance [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2022, 77(6): 1112-1120.
- [20] Smith E D, Tsuchiya M, Fox L A, *et al.* Quantitative evidence for conserved longevity pathways between divergent eukaryotic species [J]. *Genome Res*, 2008, 18(4): 564-570.
- [21] Chen Y J, Onken B, Chen H Z, *et al.* Mechanism of longevity extension of *Caenorhabditis elegans* induced by pentagalloyl glucose isolated from *Eucalyptus* leaves [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(15): 3422-3431.
- [22] Guha S, Cao M, Kane R M, *et al.* The longevity effect of cranberry extract in *Caenorhabditis elegans* is modulated by *daf-16* and *osr-1* [J]. *Age (Dordr)*, 2013, 35(5): 1559-1574.
- [23] Solis G M, Petrascheck M. Measuring *Caenorhabditis elegans* life span in 96 well microtiter plates [J]. *J Vis Exp*, 2011(49): 2496.
- [24] Mitchell D H, Stiles J W, Santelli J, *et al.* Synchronous growth and aging of *Caenorhabditis elegans* in the presence of fluorodeoxyuridine [J]. *J Gerontol*, 1979, 34(1): 28-36.
- [25] Taira N, Nguyen B C Q, Tu P T B, *et al.* Effect of Okinawa *Propolis* on PAK1 activity, *Caenorhabditis elegans* longevity, melanogenesis, and growth of cancer cells [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(27): 5484-5489.
- [26] Zheng S Q, Huang X B, Xing T K, *et al.* Chlorogenic acid extends the lifespan of *Caenorhabditis elegans* via insulin/IGF-1 signaling pathway [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2017, 72(4): 464-472.
- [27] Angeli S, Klang I, Sivapatham R, *et al.* A DNA synthesis inhibitor is protective against proteotoxic stressors via modulation of fertility pathways in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Aging*, 2013, 5(10): 759-769.
- [28] Ghosh B, Guidry H J, Johnston M, *et al.* A fat-promoting botanical extract from *Artemisia scoparia* exerts geroprotective effects on *Caenorhabditis elegans* life span and stress resistance [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2022, 77(6): 1112-1120.
- [29] Seung- II O H, Kim J S, Kim C K, *et al.* *Artemisia annua* increases resistance to heat and oxidative stresses, but has no effect on lifespan in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Food Sci Technol*, 2016, 36(2): 356-361.
- [30] Guo K X, Su L N, Wang Y C, *et al.* Antioxidant and anti-aging effects of a sea cucumber protein hydrolyzate and bioinformatic characterization of its composing peptides [J]. *Food Funct*, 2020, 11(6): 5004-5016.

- [31] Desjardins D, Cacho-Valadez B, Liu J L, *et al.* Antioxidants reveal an inverted U-shaped dose-response relationship between reactive oxygen species levels and the rate of aging in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(1): 104-112.
- [32] Lee S H, An H S, Jung Y W, *et al.* Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract extends the lifespan of nematodes and fruit flies [J]. *Biogerontology*, 2014, 15(2): 153-164.
- [33] Larsen P L. Aging and resistance to oxidative damage in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(19): 8905-8909.
- [34] Lushchak V I. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification [J]. *Chem Biol Interact*, 2014, 224: 164-175.
- [35] Kittimongkolsuk P, Roxo M, Li H M, *et al.* Extracts of the tiger milk mushroom (*Lignosus rhinocerus*) enhance stress resistance and extend lifespan in *Caenorhabditis elegans* via the DAF-16/FoxO signaling pathway [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2021, 14(2): 93.
- [36] MatÉs J M, Pérez-Gómez C, De Castro I N. Antioxidant enzymes and human diseases [J]. *Clin Biochem*, 1999, 32(8): 595-603.
- [37] Chauhan A P, Chaubey M G, Patel S N, *et al.* Extension of life span and stress tolerance modulated by DAF-16 in *Caenorhabditis elegans* under the treatment of *Moringa oleifera* extract [J]. *3 Biotech*, 2020, 10(12): 504.
- [38] Liao V H C, Yu C W, Chu Y J, *et al.* Curcumin-mediated lifespan extension in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Mech Ageing Dev*, 2011, 132(10): 480-487.
- [39] Salgueiro W G, Xavier M C D F, Duarte L F B, *et al.* Direct synthesis of 4-organylsulfonyl-7-chloro quinolines and their toxicological and pharmacological activities in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 75: 448-459.
- [40] Zhou K I, Pincus Z, Slack F J. Longevity and stress in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Aging*, 2011, 3(8): 733-753.
- [41] Xiong L, Deng N, Zheng B S, *et al.* HSF-1 and SIR-2.1 linked insulin-like signaling is involved in goji berry (*Lycium* spp.) extracts promoting lifespan extension of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Food Funct*, 2021, 12(17): 7851-7866.
- [42] Carranza A D V, Saragusti A, Chiabrando G A, *et al.* Effects of chlorogenic acid on thermal stress tolerance in *C. elegans* via HIF-1, HSF-1 and autophagy [J]. *Phyto-medicine*, 2020, 66: 153132.
- [43] Kuchmenko E B, Petukhov D N, Donchenko G V, *et al.* The effect of complexes of precursors and modulators of coenzyme Q biosynthesis on the functional state of heart mitochondria of old rats [J]. *Biochem Moscow Suppl Ser B*, 2009, 3(4): 386-392.
- [44] Hiraku Y, Ito K, Hirakawa K, *et al.* Photosensitized DNA damage and its protection via a novel mechanism [J]. *Photochem Photobiol*, 2007, 83(1): 205-212.
- [45] Wang J, Deng N, Wang H, *et al.* Effects of orange extracts on longevity, healthspan, and stress resistance in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Molecules*, 2020, 25(2): 351.
- [46] Zhang W W, Zheng B S, Deng N, *et al.* Effects of ethyl acetate fractional extract from *Portulaca oleracea* L. (PO-EA) on lifespan and healthspan in *Caenorhabditis elegans* [J]. *J Food Sci*, 2020, 85(12): 4367-4376.
- [47] Hertweck M, Hoppe T, Baumeister R. *C. elegans*, a model for aging with high-throughput capacity [J]. *Exp Gerontol*, 2003, 38(3): 345-346.
- [48] Gill M S, Olsen A, Sampayo J N, *et al.* An automated high-throughput assay for survival of the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 35(6): 558-565.
- [49] 薛晓利, 张建琴, 宋少娟, 等. 秀丽隐杆线虫衰老与衰老相关神经退行性疾病模型及药物筛选研究进展[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2017, 31(5): 429-438.
- Xue X L, Zhang J Q, Song S J, *et al.* Aging and aging related neurodegenerative disease models and drug screening based on *Caenorhabditis elegans*: research progress [J]. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 2017, 31(5): 429-438.
- [50] Pan H H, Finkel T. Key proteins and pathways that regulate lifespan [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(16): 6452-6460.
- [51] Kayashima Y, Katayanagi Y, Tanaka K, *et al.* Alkylresorcinols activate SIRT1 and delay ageing in *Drosophila melanogaster* [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 43679.
- [52] De Haes W, Frooninckx L, Van Assche R, *et al.* Metformin promotes lifespan through mitohormesis via the peroxiredoxin PRDX-2 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111(24): E2501-E2509.
- [53] Hall D H, Altun Z F. *C. elegans* atlas [M]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2008.
- [54] Li G, Gong J K, Liu J, *et al.* Genetic and pharmacological interventions in the aging motor nervous system slow motor aging and extend life span in *C. elegans* [J]. *Sci Adv*, 2019, 5(1): eaau5041.
- [55] Templeman N M, Luo S J, Kaletsky R, *et al.* Insulin signaling regulates oocyte quality maintenance with age via cathepsin B activity [J]. *Curr Biol*, 2018, 28(5): 753-760. e4.

- [56] Park S, Kim B K, Park S K. Supplementation with phosphatidylethanolamine confers anti-oxidant and anti-aging effects via hormesis and reduced insulin/IGF-1-like signaling in *C. elegans* [J]. Mech Ageing Dev, 2021, 197: 111498.
- [57] Shen N, Zeng W, Leng F, *et al.* Ginkgo seed extract promotes longevity and stress resistance of *Caenorhabditis elegans* [J]. Food Funct, 2021, 12(24): 12395-12406.
- [58] Guarente L, Kenyon C. Genetic pathways that regulate ageing in model organisms [J]. Nature, 2000, 408(6809): 255-262.
- [59] Jorgensen E M, Mango S E. The art and design of genetic screens: *Caenorhabditis elegans* [J]. Nat Rev Genet, 2002, 3(5): 356-369.
- [60] Corsi A K, Wightman B, Chalfie M. A transparent window into biology: a primer on *Caenorhabditis elegans* [J]. Genetics, 2015, 200(2): 387-407.
- [61] The *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology [J]. Science, 1998, 282(5396): 2012-2018.
- [62] Chen W, Müller D, Richling E, *et al.* Anthocyanin-rich purple wheat prolongs the life span of *Caenorhabditis elegans* probably by activating the DAF-16/FOXO transcription factor [J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(12): 3047-3053.
- [63] Martins R, Lithgow G J, Link W. Long live FOXO: unraveling the role of FOXO proteins in aging and longevity [J]. Aging Cell, 2016, 15(2): 196-207.
- [64] Ye Y L, Gu Q Y, Sun X L. Potential of *Caenorhabditis elegans* as an antiaging evaluation model for dietary phytochemicals: a review [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2020, 19(6): 3084-3105.
- [65] Byerly L, Cassada R C, Russell R L. The life cycle of the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. Dev Biol, 1976, 51(1): 23-33.
- [66] David D C, Ollikainen N, Trinidad J C, *et al.* Widespread protein aggregation as an inherent part of aging in *C. elegans* [J]. PLoS Biol, 2010, 8(8): e1000450.
- [67] Weinhouse C, Truong L, Meyer J N, *et al.* *Caenorhabditis elegans* as an emerging model system in environmental epigenetics [J]. Environ Mol Mutagen, 2018, 59(7): 560-575.

□

(编辑: 杨晓翠)