

综述

靶向核因子E2相关因子2信号通路的抗衰老中药研究进展

徐嘉怡¹, 闫亮文¹, 唐慎康^{1,2}, 刘朋飞^{1,*}

¹西安交通大学第二附属医院生物诊断治疗国家地方联合工程研究中心, 西安 710004; ²陕西中医药大学附属医院肿瘤科, 咸阳 712000

摘要: 机体的氧化还原稳态失衡是衰老的主要特征, 也是多种衰老相关疾病的主要发病机制。作为机体氧化还原稳态的调控中枢, 转录因子核因子E2相关因子2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2)可通过激活多种抗氧化酶的转录缓解氧化应激压力。我国是中药的发源地, 也是世界中药材应用最广泛、药源最丰富的国家, 从古至今, 中药均在临床上广泛应用, 其在抗衰老方面的应用也日渐被人们所接受。本文以NRF2信号通路为核心, 总结了多种抗衰老中药与NRF2调节的相关性, 并结合NRF2信号网络系统分析了中药在抗衰老过程中的共性关键机制。

关键词: 核因子E2相关因子2; 中药; 抗衰老; 中药单体

Traditional Chinese medicine used as anti-aging agent by targeting nuclear factor erythroid 2-related factor 2 signaling pathway

XU Jia-Yi¹, YAN Liang-Wen¹, TANG Shen-Kang^{1,2}, LIU Peng-Fei^{1,*}

¹National and Local Joint Engineering Research Center for Biological Diagnosis and Treatment, Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China; ²Department of Oncology, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712000, China

Abstract: The imbalance of redox homeostasis is a major characteristic of aging and contributes to the pathogenesis of various aging-related diseases. As a regulatory hub of redox homeostasis, nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) can attenuate oxidative stress by activating the transcription of many antioxidant enzymes. China is the birthplace of traditional Chinese medicine (TCM) which has been widely used as medicine for thousands of years. Recently, TCM as anti-aging medicine has attracted enormous attention. Focusing on the NRF2 signaling pathway, this paper summarizes the correlation between various anti-aging TCM and the NRF2 signaling, and discusses the common key mechanisms by which TCM slows the aging process by targeting the NRF2 signaling network.

Key words: nuclear factor erythroid 2-related factor 2; Chinese medicine; anti-aging; herb monomer

人口老龄化已经成为一个全球性的健康问题, 也是各种退行性疾病的重要危险因素, 随着年龄的增长, 机体的生理功能逐渐恶化, 其特征是器官、组织和细胞的结构和功能下降^[1], 这些病理生理学变化是癌症、神经退行性疾病和2型糖尿病等与年

龄有关疾病发展的基础, 老龄化的影响正变得越来越重要。1956年Denham Harman提出氧化应激(自由基)老化理论, 认为内源性产生的活性氧化剂对大分子造成累积性氧化损伤, 从而导致衰老表型^[2]。氧化应激的增加是衰老过程中的重要环节, 人体对

This work was supported by Innovation Capability Support Program of Shaanxi Province (No. 2023KJXX-033), Key Research and Development Program of Shaanxi Province (No. 2022-LL-JB-30), and Medical “Base-Clinic” Integrated Innovation Project of Xi'an Jiaotong University (No. YXJLRH2022058).

*Corresponding author. Tel: +86-29-87679687; E-mail: liupengfei@xjtu.edu.cn

氧化应激的适应性反应随着年龄的增长而不断下降^[3]。研究表明,与年龄相关的氧化损伤包括氧化剂产生的增加、抗氧化能力的下降,以及蛋白酶体和线粒体 Lon 蛋白酶活性的降低,导致细胞内和线粒体内氧化和交联蛋白聚集体的积累^[4-6]。为了应对氧化损伤,机体配备了一个有效的防御系统,可以排毒和消除有害化学物质,并使活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 失活。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, NRF2) 是多种抗氧化酶的主要调控因子,它通过与启动子区域的抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 结合,调控多种下游抗氧化和解毒酶,如超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、血红素加氧酶 -1 (heme oxygenase-1, HO-1)、谷胱甘肽还原酶、硫氧还蛋白还原酶、铁蛋白和 NAD(P)H: 醌氧化还原酶 1 (NADPH:quinone oxidoreductase 1, NQO1)^[7, 8], 但是 NRF2 的转录激活能力会随着衰老而逐渐减弱,进而导致老年生物体的慢性氧化状态^[9, 10]。越来越多的证据表明,抗氧化剂对氧化刺激适应性反应的下降,特别是 NRF2/EpRE 信号系统的下降,也在衰老过程中氧化损伤的积累中起着关键作用^[11-13]。这也为 NRF2 作为抗衰老的靶点奠定基础。中药有着悠久的历史,在中国经常被用于治疗与衰老有关的疾病。因此, NRF2 激活可能是抗衰老中药的共性关键机制。

1 NRF2信号通路与衰老的相关性

近年来, NRF2 信号通路作为抗氧化应激的主要调控因子受到了广泛关注,负责外源解毒的抗氧化酶和因子在与靶基因启动子中的 ARE 序列结合后,被 NRF2 信号激活^[14]。NRF2 调节大约 250 个参与细胞稳态的基因,包括抗氧化蛋白、解毒酶、药物转运蛋白和许多细胞保护蛋白,增强抗氧化酶的活性,减少 ROS 的产生,防止氧化应激介导的细胞衰老和死亡。此外, NRF2 通过降低白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、IL-1 β 和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 等促炎因子水平来减轻炎症,这有利于防止细胞衰老和提高细胞活力;衰老被认为是一种慢性低度炎症状态^[15, 16]。在 NRF2 敲除小鼠的模型上可观察到炎症加剧,与野生型小鼠相比, NRF2 缺失的小鼠在炎症期间持续存在中性粒细胞组织侵袭,同时巨噬细胞的募集受

到抑制;在香烟烟雾诱导的小鼠肺气肿模型中, NRF2 敲除小鼠在香烟烟雾暴露 8 周后,肺中性粒细胞炎症和肺通透性损伤显著增强并出现肺气肿现象,16 周时相关病理症状进一步加重,而在野生型小鼠上未观察到显著病理异常^[17, 18]。此外,有研究表明,在慢性炎症组织中, NRF2 通路的激活可以重建氧化还原平衡,促进细胞修复,同时限制自由基的产生和肿瘤坏死因子诱导的炎症^[19]。从这个意义上说,转录因子 NRF2 已经成为衰老的关键调节因子,这主要体现在多种与衰老相关的疾病当中 (图 1)。

1.1 NRF2信号通路抗心血管衰老

血管钙化是一种常见的与衰老相关的健康问题,与氧化应激、炎症和循环钙蛋白颗粒 (calcioprotein particle, CPP) 有关。硫化氢是一种具有抗氧化特性的内源性信号分子,具有开发成为针对氧化还原信号的药物的潜力。研究显示, CPP 导致细胞相关钙的显著积累,从而加速血管衰老,而硫化物以浓度依赖的方式减少了钙的积累,延缓了血管衰老。硫化物处理减弱了 CPP 诱导的过氧化氢生成和促炎/氧化应激相关基因表达特征的增强;沉默 KEAP1 (NRF2 核活性抑制剂) 会增强 NQO1 的表达,而 NRF2 沉默可下调 NQO1 的表达并消除硫化物的钙化抑制活性,表明硫化物通过 KEAP1-NRF2 氧化还原传感/应激反应系统增强 NQO1 表达,在体外减弱 CPP 诱导的血管平滑肌细胞钙化,从而减缓血管衰老^[20]。

血管老化是一个复杂的多方面过程,表现出功能和结构的改变,内皮细胞衰老是导致血管老化的主要机制之一,研究显示,七肽血管紧张素 [angiotensin (1-7), ANG-(1-7)] 有对抗人内皮细胞衰老的能力, ANG-(1-7) 激活细胞保护性 NRF2/HO-1 通路,而 HO-1 抑制剂锡原卟啉 IX 可抑制 ANG-(1-7) 引起的抗衰老作用,提示 ANG-(1-7) 可能是一种抗衰老肽,可激活 NRF2/HO-1 通路, ANG-(1-7) 模拟药物可能有助于预防内皮细胞衰老及其相关血管并发症^[21]。

1.2 NRF2信号通路保护骨破坏

类风湿性关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种病因尚未明了的慢性全身性炎症性疾病,以关节炎和关节外病变为主要表现,这种慢性炎症会加速人体衰老的发生。研究显示, ROS 增加在 RA 的发病机制中起重要作用, NRF2 在关节炎小鼠和 RA

患者的关节中被激活,但不能完全逆转RA的进展,而NRF2敲除小鼠软骨损伤更严重,氧化损伤更严重;同时,NRF2靶基因HO-1、 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶(γ -glutamylcysteine synthetase, γ -GCS)和硫氧还蛋白基因的表达在RA期间上调,保护关节免受进一步破坏,而NRF2敲除小鼠这些基因没有显著变化^[22]。这表明氧化应激在关节炎的软骨降解中起着重要作用,功能性NRF2基因的表达限制关节软骨的破坏,是延缓衰老的重要因子。

1.3 NRF2信号通路保护缺血性脑损伤

缺血性中风通常会造造成不可逆转的脑损伤,加速中风患者衰老,细胞炎症反应在缺血性脑损伤中起重要作用,抗炎治疗对脑卒中患者延缓衰老有益。研究显示,二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)通过减少行为障碍、脑梗死、水肿和血脑屏障破坏,发挥对缺血性缺陷的神经保护作用,作用机制是DHA抑制脑缺血后巨噬细胞/小胶质细胞活化、白细胞浸润、促炎细胞因子表达和外周血白细胞活化,并且减轻脑卒中后氧化应激、c-Jun 氮末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)磷酸化、c-Jun磷酸化和活化蛋白-1(activated protein-1, AP-1)的激活,进一步上调缺血诱导的NRF2和HO-1的表达,表明DHA对缺血性脑损伤具有神经保护和抗炎作用,并且这些作用伴随着氧化应激和JNK/AP-1信号的降低以及NRF2/HO-1表达的上调^[23]。

2 抗衰老中药与NRF2的相关性

中医药具有显著的多靶点、多途径、多效益的特点,能够有效地弥补西医的不足之处。近年来,中药的抗衰老作用得到了广泛而深入的研究,下文从主要的衰老病理特征出发,就中药抗衰老作用以及NRF2的相关性研究进展作一总结(图2)。

2.1 延缓神经系统衰老的中药

紫杉叶素(taxifolin, TAX)是在落叶松、花旗松等松科植物中提取出来的一种化学物质,属于生物黄酮类,具有抗癌、抗菌、清除自由基等作用。研究表明,TAX对衰老过程具有延迟效应。Liu等用D-半乳糖(D-galactose)诱导小鼠脑组织衰老,同时每天灌胃TAX(20和40 mg/kg),用八臂迷宫实验对衰老小鼠进行认知测试,结果显示,TAX处理显著恢复衰老小鼠空间学习和记忆能力,而且TAX可降低ROS和丙二醛(malondialdehyde, MDA)水平,提高抗氧化酶水平,显著减轻氧化应激损伤;此外,

TAX通过调节磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)、蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)的磷酸化水平,激活NRF2、核HO-1和NQO1,最大限度地减轻D-半乳糖诱导后发生的氧化应激损伤,从而减少衰老大脑的细胞凋亡^[24]。

黄芩为唇形科、黄芩属植物,多年生草本,是一味清热燥湿药。创伤性脑损伤(traumatic brain injury, TBI)后的治疗和管理对于减少患者损伤和改善长期预后至关重要,Feng等建立大鼠TBI模型,并用黄芩提取物汉黄芩素(wogonin)治疗,结果显示,汉黄芩素可提高TBI大鼠CA1区抗氧化因子谷胱甘肽、SOD和过氧化氢酶水平,显著抑制MDA和ROS的产生;汉黄芩素通过下调NOX2蛋白水平发挥抗氧化活性,上调TBI大鼠海马CA1区Bcl-2蛋白的表达,抑制Caspase-3和Bax蛋白;此外,汉黄芩素上调TBI大鼠海马中磷酸化AKT、NRF2和HO-1的表达,延缓TBI后损伤的进展;在给予PI3K抑制剂LY294002后,汉黄芩素对NOX2、Caspase-3、Bax和Bcl-2的上调作用被部分逆转^[25]。此外,另有研究显示,黄芩苷(baicalin)可显著改善大鼠神经行为功能,减轻脑水肿,减少凋亡阳性细胞,黄芩苷还可恢复损伤后脑皮层MDA含量、GSH-Px、SOD水平,显著增强NRF2向细胞核的易位,也激活其下游抗氧化酶NQO1和HO-1^[26]。

小地榆是蔷薇科多年生草本植物,羽状复叶丛生,小地榆提取物(*Sanguisorba minor* extract, SME)在传统医学中用于治疗出血、湿疹、腹泻等疾病。研究表明,SME具有多种生物活性,包括抗炎、抗菌、抗病毒、抗氧化、神经保护和抗癌特性^[27, 28]。Mirzavi等研究显示,SME可显著上调衰老大鼠NRF2和HO-1基因表达,减轻肝脏和脑组织的氧化损伤和病理改变,提示SME可能通过NRF2改善衰老相关的脑和肝损伤^[29]。

槲皮素(Quercetin)是一种安全剂量范围内的天然无毒类黄酮,具有抗氧化、抗细胞凋亡和抗炎作用,在治疗衰老相关疾病中发挥重要作用^[30, 31],存在于许多植物的花、叶、果实中,多以甙的形式存在。研究显示,6-羟多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)单侧病变引起大鼠明显的运动活动损失,而槲皮素(25和50 mg/kg, p.o.)单独给药和槲皮素(25 mg/kg, p.o.)与胡椒碱(2.5 mg/kg, p.o.)联合给药可显著减轻6-OHDA引起的大鼠行为、神经炎症和神经递质改变,改善运动协调性,槲皮素的神经保护和神经调

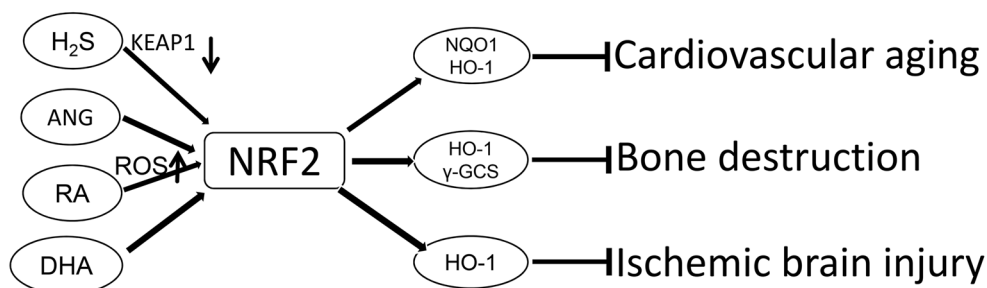


图 1. 核因子E2相关因子2 (NRF2)信号网络在抗衰老中的重要性

Fig. 1. The importance of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) in anti-aging. Different factors are involved in the regulation of NRF2 signaling network, which shows protective effects against the occurrence and development of aging-related diseases. H₂S, hydrogen sulfide; ANG, angiotensin; RA, rheumatoid arthritis; DHA, docosahexaenoic acid; NQO1, NADPH:quinone oxidoreductase 1; HO-1, heme oxygenase-1; γ-GCS, γ-glutamylcysteine synthetase.

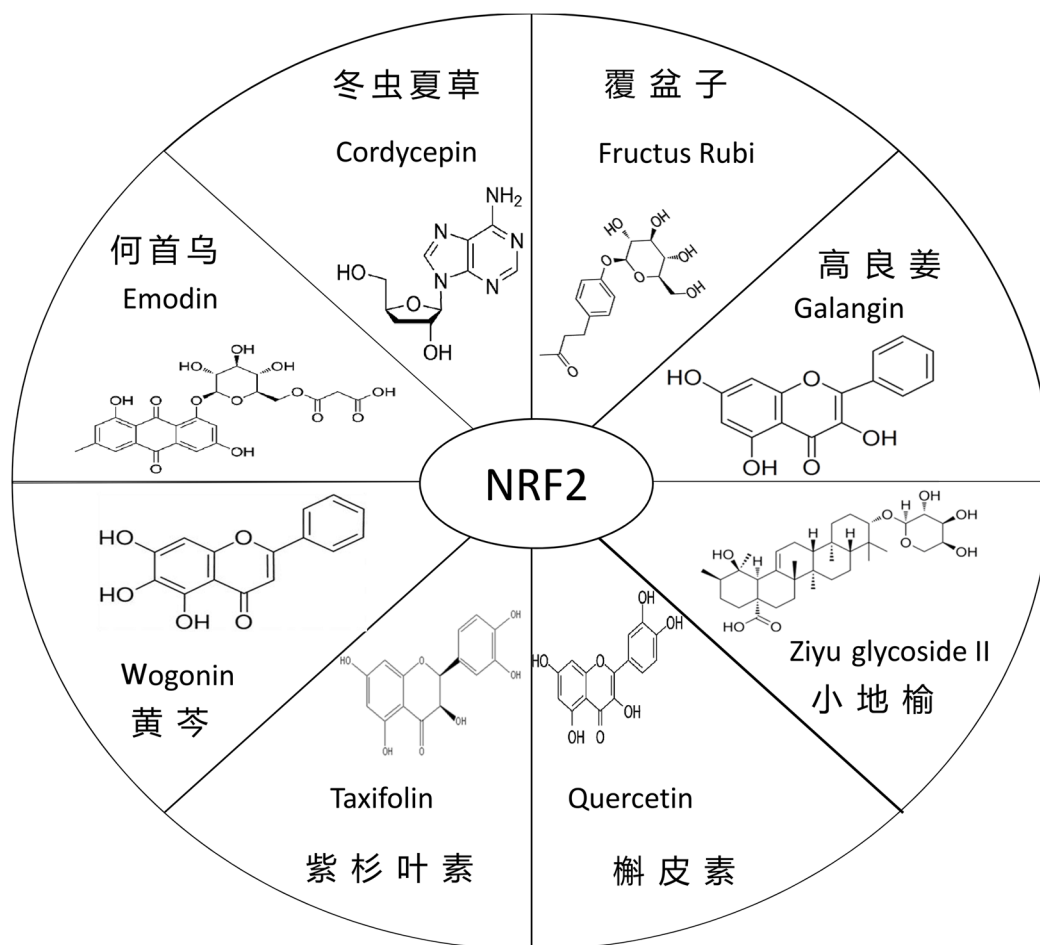


图 2. 核因子E2相关因子2 (NRF2)在传统中药及活性单体抗衰老中的重要性

Fig. 2. The importance of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) in anti-aging effect of traditional Chinese medicine and active monomers. Many kinds of traditional Chinese medicines and their monomers serve as NRF2 activators and play an important role in aging-related diseases in different tissues and organs.

节作用可能是通过抗氧化、抗炎和清除自由基等机制实现的^[32]。

2.2 延缓皮肤衰老的中药

高良姜为姜科植物高良姜的干燥根茎，含有一

种类黄酮, 具有抗氧化和抗炎的潜力。研究显示, 高良姜素 (galangin) 可减轻 H_2O_2 /UVB 诱导的细胞活力降低、皮肤老化和 SIRT1/PGC-1 α /NRF2 信号激活。此外, 高良姜素除了抑制 NRF2 降解外, 还增强了 NRF2 的激活和核积累^[33]。高良姜素处理后 ARE 荧光素酶活性上调, 表明 NRF2 转录激活; 然而, siRNA 敲低 NRF2 可逆转高良姜素的抗氧化和抗衰老作用; 体内实验进一步表明, 12 和 24 mg/kg 剂量的高良姜素作用于裸鼠背部皮肤细胞, 可显著减少 UVB 诱导的表皮增生和皮肤衰老^[33]。

冬虫夏草可补肾益肺, 止血化痰, 治疗腰膝酸痛, 久咳虚喘, 冬虫夏草素 (cordycepin) 是从蛹虫草培养液中分离出来的一种天然核苷类似物, 已被证明具有多种生物学功能, 包括抗肿瘤、抗病毒、抗氧化和抗炎活性^[34]。研究显示, 冬虫夏草素可以通过增加 NRF2 核表达 (主要用于皮肤) 来阻止大鼠/小鼠辐射溃疡 (皮肤、肠道、舌头) 的细胞衰老, 这些有益的作用是通过促进 p62 依赖的 KEAP1 的自噬降解来实现的^[35]。

UVB 辐射产生的 ROS 会扰乱正常的氧化还原平衡, 导致高度氧化应激, 从而促进特定蛋白质群的羰基化, 导致生理功能障碍。研究表明覆盆子提取物对 UVB 引起的人表皮角质形成细胞损伤具有预防作用, 覆盆子提取物可以预防 UVB 引起的细胞死亡, 保护皮肤免受 UVB 暴露损伤 (表现为起皱、结垢、晒黑、失水和表皮增厚), 还能有效地消除 DNA 的氧化损伤, 降低蛋白质的羰基化水平, 这归因于 SOD、NRF2 及其靶基因 HO-1 的激活; 此外, 红覆盆子提取物可抑制细胞凋亡, 并减弱 UVB 诱导的 NF- κ B 和环氧合酶-2 (cyclooxygenase-2, COX-2) 的活化; 红覆盆子提取物可通过 ROS 清除剂和抗炎反应来减轻 UVB 暴露对皮肤的直接光损伤, 这可能有助于开发新的 UVB 辐射下皮肤保护策略^[36]。

2.3 延缓代谢性衰老的中药

大黄素 (emodin) 是从何首乌中提取的一种蒽醌类物质, 具有潜在的抗炎和抗氧化应激作用, 脓毒症是一种复杂的器官功能障碍, 由宿主对感染的功能障碍反应引起。研究显示, 大黄素可通过维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR)/NRF2/HO-1 信号通路减轻败血症相关肠道屏障损伤, 提示 VDR 可能是大黄素治疗肠屏障损伤的潜在靶点^[37]。肺损伤是急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 的常见并发症, 可导致急性呼吸窘迫综合征的发展, 并导致高死亡

率。AP 相关性肺损伤的主要治疗方法是药物治疗。研究表明, 大黄素是治疗 AP 相关性肺损伤的潜在候选药物, 大黄素可减轻 AP 大鼠的胰腺和肺损伤; 大黄素可抑制促炎细胞因子的产生, 下调 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 的表达, 抑制 NF- κ B 在肺中的核积累; 此外, 大黄素增加 NRF2 核易位, 上调 HO-1 表达, NRF2 抑制剂 ML385 可阻断大黄素的抗炎作用, 提示大黄素可能通过抑制 NRF2/HO-1 通路介导的 NLRP3 炎性体激活来减轻 AP 相关肺损伤^[38]。

3 基于NRF2调节的中药抗衰老信号网络

NRF2 信号在对抗氧化应激方面发挥着重要作用, NRF2 通过与启动子区域的 ARE 结合, 调控多种下游抗氧化和解毒酶, 这也为 NRF2 作为抗衰老的靶点奠定基础 (图 3)。循证医学数据显示, 中药及其有效成分在治疗疾病方面已显示出安全性^[39], 其作用机制已被证明与调节 NRF2 及其通路预防损伤有关。因此, 利用中药靶向干预 NRF2 及其信号轴抗氧化应激具有重要价值。

3.1 经典NRF2下游基因网络

人参作为一种补品在中医中已被使用了数千年, 以提高耐力和活力。人参皂苷 Rg1 是一种从人参中分离出来的纯化皂苷, 近年来许多研究认为其是最有效的抗脑卒中候选药物之一。氧化应激与缺血/再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 损伤的病理进展密切相关, 而 I/R 损伤是由 ROS 过量产生或降解不足引起的。NRF2 作为抗氧化应激的主要调控因子之一, 与细胞核中的 ARE 结合, 促进一系列抗氧化基因的表达, 可能对 I/R 损伤具有减轻作用, 研究表明 NRF2/ARE 通路在体外和体内均被 Rg1 处理激活, Rg1 处理显著激活 NRF2 下游基因 NQO1、HO-1、谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚基 (glutamate-cysteine ligase, catalytic subunit, GCLC) 和谷氨酸-半胱氨酸连接酶修饰亚基 (glutamate-cysteine ligase, modifier subunit, GCLM), 而抑制 NRF2 显著降低 Rg1 的作用; 有趣的是 miRNA-144 与 NRF2 相互作用, 并参与这一调节过程, 而不是 KEAP1^[40]。此外, 研究还显示 miRNA-144 的表达不依赖于 NRF2 的激活, 这表明 miRNA-144 在 I/R 损伤中是 NRF2 的上游调节剂。抑制 miRNA-144 在体内消除了 Rg1 的抗 I/R 作用以及 NRF2/ARE 通路的激活^[40]。以上这些结果表明, Rg1 通过抑制 miRNA-144 活性, 在翻译后水平促进 NRF2/ARE 通路的抗氧化应激防

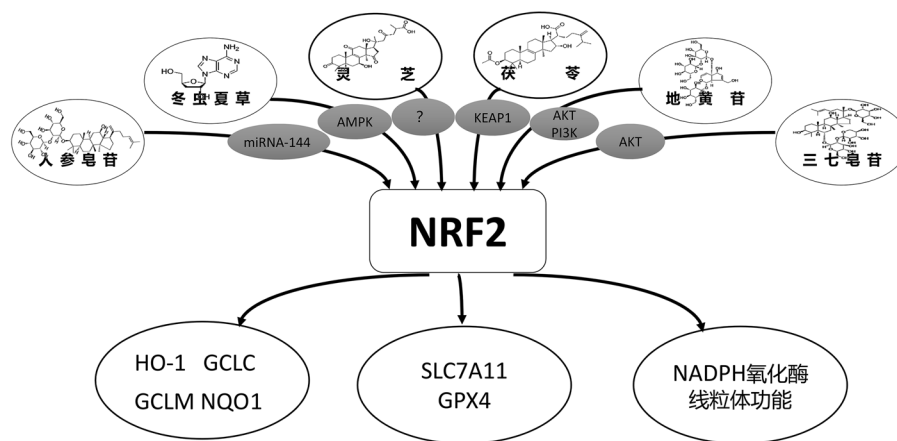


图 3. 不同抗衰老中药与NRF2信号网络的相关性

Fig. 3. The relationship between different anti-aging Chinese medicines and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) signal network. Different anti-aging herbs act on the NRF2 signal network, and activate NRF2 downstream antioxidant genes, suppressing the progression of aging-related diseases. NQO1, NADPH:quinone oxidoreductase 1; HO-1, heme oxygenase-1; GCLC, glutamate-cysteine ligase catalytic subunit; GCLM, glutamate-cysteine ligase modifier subunit; GPX4, glutathione peroxidase 4; SLC7A11, solute carrier family 7, member 11.

御, 从而减轻 I/R 后的氧化应激, 这为 Rgl 应用于缺血性脑卒中的潜在治疗提供了新的药物开发靶点^[40]。

灵芝 (*Ganoderma lucidum*) 作为一种传统草药已被广泛使用多年, 研究发现, 灵芝乙醇提取物 (ethanol extract of *Ganoderma lucidum*, EGL) 对氧化应激的细胞具有保护作用, EGL 可有效抑制 H_2O_2 诱导的损伤和 ROS 的产生^[41]。EGL 显著抑制 H_2O_2 诱导的彗星样 DNA 形成和组蛋白 H2AX 丝氨酸的磷酸化, 表明 EGL 可以阻止 H_2O_2 诱导的 DNA 损伤; 此外, EGL 可诱导 C2C12 成肌细胞中 NRF2 和 HO-1 的表达, 以及 NRF2 磷酸化和核易位^[41]。然而, HO-1 抑制剂原卟啉 IX 显著抑制 EGL 对 H_2O_2 诱导的 ROS 积累的保护作用, 并降低了细胞生长。值得注意的是, 短暂转染 NRF2 特异性 siRNA 减弱了 EGL 对细胞的保护作用 and HO-1 的诱导作用, 表明 EGL 以 NRF2 依赖的方式诱导 HO-1 的表达^[41]。

皮肤老化是由内在因素 (ROS、线粒体应激和细胞衰老) 和 / 或外在因素 (紫外线和吸烟) 引起的自然过程。这些因素通过增加胶原降解、弹性蛋白积累、氧化应激和炎症标志物的表达来影响皮肤功能^[41]。茯苓在我国广泛种植, 具有抗炎作用, 在中医中用于治疗记忆力减退、焦虑、不安、疲劳、紧张、紧张、头晕、咳嗽、排尿问题、液体滞留、失眠、脾肿大、胃病、腹泻和肿瘤。它也被用作治疗胃肠道出血、腹泻、肾炎和耳鸣的综合草药。Fang 等用

H_2O_2 刺激 Hs68 人真皮成纤维细胞, 再用茯苓提取物处理细胞 24 h, 发现茯苓提取物显著抑制 H_2O_2 诱导的细胞死亡与衰老, 茯苓处理后细胞 NRF2 表达呈剂量依赖性增加, HO-1 和 KEAP1 表达水平上调, 表明茯苓通过上调 NRF2 减轻 H_2O_2 诱导的皮肤细胞氧化应激^[42]。

冬虫夏草素是腺苷的天然衍生物, 具有多种药理活性, 包括抗氧化、抗肿瘤、抗炎症、神经保护和防止骨质流失^[43-45]。研究表明, 冬虫夏草素是一种通过增加 NRF2 核表达防止细胞衰老来阻断大鼠 / 小鼠放射性溃疡 (皮肤、肠道、舌头) 的强效药物 (主要用于皮肤)。冬虫夏草素通过与 AMPK 自抑制区域附近的 α 1 和 γ 1 亚基结合激活 AMPK, 进而促进 p62 依赖性 KEAP1 的自噬降解, 诱导 NRF2 从 KEAP1 解离并转运到细胞核中^[35], 表明冬虫夏草素通过 NRF2 和 AMPK 抑制啮齿动物细胞衰老来预防辐射溃疡, 因此激活 AMPK 或 NRF2 可能是预防细胞衰老和辐射溃疡的治疗靶点。急性肺损伤 (acute lung injury, ALI) 是脓毒症或感染患者常见的严重并发症, 多种细胞因子和炎症介质参与了 ALI 的发生和发展, 包括 TNF- α 、IL-1、IL-6、高迁移率蛋白 B1 (high mobility group box-1, HMGB1)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS)、NO。研究表明, iNOS/NO 在 ALI 的病理过程中起重要作用, 冬虫夏草素可提高 ALI 大鼠 HO-1 的表达和酶活性, 并通过诱导 NRF2 从细胞

质向细胞核的易位激活 NRF2; 冬虫夏草素通过 HO-1 调节 TNF- α 、IL-6、IL-10 的分泌, 并通过诱导 HO-1 的表达抑制 ALI 大鼠肺组织炎症反应; HO-1 在冬虫夏草素下调肺组织超氧化物水平中发挥重要作用, 还影响血浆亚硝酸盐和硝酸盐浓度及肺组织 iNOS 蛋白表达, 因此, 冬虫夏草素对肺组织损伤有一定减轻作用^[46]。

3.2 NRF2与铁死亡信号网络

地黄苷 A 来源于地黄, 在中国广泛用于治疗动脉硬化、老年性中风、痴呆等“肾虚”疾病, 是多种中药的重要成分。近年来的研究证明, 地黄和地黄苷 A 可以提高记忆能力, 减轻神经损伤^[47]。研究表明, 地黄苷 A 抑制铁死亡可能与提高 PI3K/AKT 蛋白水平, 促进 NRF2 进入细胞核, 上调 SLC7A11 和 GPX4 表达有关; 地黄苷 A 可上调脑卒中大鼠和 SH-SY5Y 细胞中 NRF2 和 HO-1 的蛋白表达, PI3K 抑制剂显著削弱 NRF2 核积累, 而地黄苷 A 增强核 NRF2 蛋白, 证实地黄苷 A 触发 NRF2 核易位; 而 NRF2 抑制剂 (ML385) 抑制地黄苷 A 对 H₂O₂ 诱导神经元中 NRF2 和 HO-1 蛋白表达的促进作用, 表明地黄苷 A 可通过抑制铁死亡和激活 PI3K/AKT/NRF2 和 SLC7A11/GPX4 信号通路减轻脑缺血损伤, 具有一定的神经保护作用^[48]。

3.3 NADPH与线粒体信号网络

三七皂苷 R1 (Notoginsenoside R1, NGR1) 是从三七中分离得到的一种新型植物雌激素。最近研究显示, 在体内和体外, NGR1 通过上调 ER α 、ER β 、磷酸化 AKT、磷酸化 GSK3 β 、核 NRF2 和 HO-1 的表达, 诱导内质网依赖性的 AKT/NRF2 通路活化; NGR1 在体内和体外均对脑 I/R 损伤具有神经保护作用; NGR1 神经保护的机制包括通过雌激素受体激活 AKT/NRF2 通路抑制 NADPH 氧化酶活性和线粒体功能障碍^[49]。

4 中药经典方剂与NRF2

中国古代很早已使用单味药物治疗疾病。经过长期的医疗实践, 古人又学会将几种药物配合起来, 经过煎煮制成汤液, 即是最早的方剂。古今方剂对消化系统、呼吸系统、心血管系统、泌尿生殖系统、运动系统、精神神经系统等疾病以及传染病、肿瘤、艾滋病等都有较显著的疗效。在实验研究方面, 为提高方剂疗效, 减少毒副作用, 在中医理论指导下, 运用现代科学手段, 对方剂的理论及复方药理、药

效等进行了系统研究, 目的在于阐明复方的作用机制, 剖析药物的配伍关系, 提高对复方立法组方的理论认识, 以发现古方的新用途, 促进新方的创制。基于中药通过 NRF2 的抗衰老作用, 下文总结了相关中药方剂。

八子补肾方在临床上具有抗精神疲劳、延缓衰老的作用, 是中国国家市场监督管理总局批准的中国专利药品。研究显示, 八子补肾方改善 D- 半乳糖和 NaNO₂ 诱导衰老小鼠的大脑功能, 包括记忆、认知和运动功能。此外, 八子补肾方可维持衰老小鼠氧化还原稳态, 减轻免疫衰老, 维持端粒酶活性和端粒长度。八子补肾方的治疗与快速衰老小鼠大脑中 P53、Caspase-3、Bax 表达的下降以及 Sirt6、p-HO-1、p-NRF2、PGC-1 α 和 Bcl-2 表达的上调有关, 调控这种变化的机制可能与 Sirt6/NRF2/HO-1 和 Sirt6/P53-PGC-1 α -TERT 信号通路的激活有关, 八子补肾方可为对抗衰老和年龄相关疾病提供一种新的策略^[50]。中药血栓心脉宁片 (XXT) 在治疗心血管疾病中被广泛应用, 流行病学研究证实了抗氧化应激在保护血管内皮细胞中的重要作用^[51]。研究显示, XXT 通过抑制人脐静脉内皮细胞 (human umbilical vein endothelial cells, HUVECs) 中 H₂O₂ 诱导的 ROS 产生, 表现出强大的抗氧化活性, XXT 增强了 KEAP1、NRF2 及 NRF2 介导的 GCLM、NQO1、HO-1、GSH-Px 等基因在 HUVECs 中的表达^[52]。综上所述, XXT 强烈激活 NRF2 及其下游调控基因, 这可能与 XXT 的抗氧化和血管内皮细胞保护活性有关。

5 未来展望

随着年龄的增长, 各种来源的氧化剂产生增加, 同时抗氧化防御功能发生障碍, 导致老化细胞中蛋白质、核苷酸和脂质累积氧化损伤。氧化还原信号在氧化刺激的适应性反应中起关键作用, 在衰老过程中发生变化。本文总结了中药在抗衰老药物中的应用, 以及靶向 NRF2 中药在抗衰老过程中的作用, 还总结了一些与 NRF2 相关的中药抗衰老方剂, 这可能为基于 NRF2 信号通路开发抗衰老中药药物提供了一条潜在的途径, 但本文中提到的某些药物仅在初步药理研究中进行了评估, 主要集中在改善临床症状、抗氧化、清除自由基、改善血管内皮功能和细胞凋亡、预防 DNA 损伤等。其中, 抗氧化和自由基清除作用最大, 未来需要继续研究这些候选分子通过靶向 NRF2/HO-1 信号通路的抗衰老机制及

应用。但我们对于 NRF2 分子研究的重点是以正常或者健康细胞为基础, 阐明防止人类衰老的机制, 或者以衰老疾病为基础, 通过 NRF2 调控有效地延缓衰老, 缓解相关疾病, 而靶向 NRF2 的相关中药是否对于衰老细胞有清除的效果, 目前尚未见相关报道, 仍需进一步研究。目前中药抗衰老作用的研究主要停留在早期阶段, 临床试验较少且缺乏足够的严谨性和详细记录, 因此我们需要更多令人信服的研究来证实中草药的疗效, 并详细阐明其在人体内的药代动力学、毒性、标准化和治疗剂量。中医药在衰老相关疾病中的临床意义尚不清楚, 因此, 我们需要充分利用多种现代技术, 探索中药多组织、多指标的调节作用。解决衰老和与年龄有关的疾病是一项非常重要的医学研究课题, 需要在基础和临床研究方面做出巨大的努力, 旨在确定和验证新的药物靶点和新药开发。

参考文献

- Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu Rev Physiol* 2013; 75: 685–705.
- Sohal RS, Orr WC. The redox stress hypothesis of aging. *Free Radic Biol Med* 2012; 52(3): 539–555.
- Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408(6809): 239–247.
- Sitte N, Merker K, Von Zglinicki T, Grune T, Davies KJ. Protein oxidation and degradation during cellular senescence of human BJ fibroblasts: part I--effects of proliferative senescence. *FASEB J* 2000; 14(15): 2495–2502.
- Ngo JK, Pomatto LC, Davies KJ. Upregulation of the mitochondrial Lon Protease allows adaptation to acute oxidative stress but dysregulation is associated with chronic stress, disease, and aging. *Redox Biol* 2013; 1(1): 258–264.
- Pickering AM, Linder RA, Zhang H, Forman HJ, Davies KJA. Nrf2-dependent induction of proteasome and Pa28 α -phabeta regulator are required for adaptation to oxidative stress. *J Biol Chem* 2012; 287(13): 10021–10031.
- Sajadimajd S, Khazaei M. Oxidative stress and cancer: The role of Nrf2. *Curr Cancer Drug Targets* 2018; 18(6): 538–557.
- Yuan H, Xu Y, Luo Y, Wang NX, Xiao JH. Role of Nrf2 in cell senescence regulation. *Mol Cell Biochem* 2021; 476(1): 247–259.
- Sykietis GP, Bohmann D. Stress-activated cap'n/collar transcription factors in aging and human disease. *Sci Signal* 2010; 3(112): re3.
- Miura Y, Endo T. Survival responses to oxidative stress and aging. *Geriatr Gerontol Int* 2010; 10 Suppl 1: S1–S9.
- El Assar M, Angulo J, Rodriguez-Manas L. Oxidative stress and vascular inflammation in aging. *Free Radic Biol Med* 2013; 65: 380–401.
- Volonte D, Liu Z, Musille PM, Stoppani E, Wakabayashi N, Di YP, Lisanti MP, Kensler TW, Galbiati F. Inhibition of nuclear factor-erythroid 2-related factor (Nrf2) by caveolin-1 promotes stress-induced premature senescence. *Mol Biol Cell* 2013; 24(12): 1852–1862.
- Gounder SS, Kannan S, Devadoss D, Miller CJ, Whitehead KJ, Odelberg SJ, Firpo MA, Paine R 3rd, Hoidal JR, Abel ED, Rajasekaran NS. Impaired transcriptional activity of Nrf2 in age-related myocardial oxidative stress is reversible by moderate exercise training. *PLoS One* 2012; 7(9): e45697.
- Itoh K, Chiba T, Takahashi S, Ishii T, Igarashi K, Katoh Y, Oyake T, Hayashi N, Satoh K, Hatayama I, Yamamoto M, Nabeshima Y. An Nrf2 small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236(2): 313–322.
- Prattichizzo F, De Nigris V, Spiga R, Mancuso E, La Sala L, Antonicelli R, Testa R, Procopio AD, Olivieri F, Ceriello A. Inflammageing and metaflammation: The yin and yang of type 2 diabetes. *Ageing Res Rev* 2018; 41: 1–17.
- Kobayashi E, Suzuki T, Yamamoto M. Roles Nrf2 plays in myeloid cells and related disorders. *Oxid Med Cell Longev* 2013; 2013: 529219.
- Itoh K, Mochizuki M, Ishii Y, Ishii T, Shibata T, Kawamoto Y, Kelly V, Sekizawa K, Uchida K, Yamamoto M. Transcription factor Nrf2 regulates inflammation by mediating the effect of 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J₂. *Mol Cell Biol* 2004; 24(1): 36–45.
- Iizuka T, Ishii Y, Itoh K, Kiwamoto T, Kimura T, Matsuno Y, Morishima Y, Hegab AE, Homma S, Nomura A, Sakamoto T, Shimura M, Yoshida A, Yamamoto M, Sekizawa K. Nrf2-deficient mice are highly susceptible to cigarette smoke-induced emphysema. *Genes Cells* 2005; 10(12): 1113–1125.
- Rushworth SA, Shah S, MacEwan DJ. TNF mediates the sustained activation of Nrf2 in human monocytes. *J Immunol* 2011; 187(2): 702–707.
- Aghagolzadeh P, Radpour R, Bachtler M, van Goor H, Smith ER, Lister A, Odermatt A, Feelisch M, Pasch A. Hydrogen sulfide attenuates calcification of vascular smooth muscle cells via KEAP1/NRF2/NQO1 activation. *Atherosclerosis* 2017; 265: 78–86.
- Romero A, San Hipolito-Luengo A, Villalobos LA, Vallejo S, Valencia I, Michalska P, Pajuelo-Lozano N, Sanchez-Perez I, Leon R, Bartha JL, Sanz MJ, Erusalimsky JD, Sanchez-Ferrer CF, Romacho T, Peiro C. The angiotensin-(1-7)/Mas receptor

- axis protects from endothelial cell senescence via klotho and Nrf2 activation. *Aging Cell* 2019; 18(3): e12913.
- 22 Wruck CJ, Fragoulis A, Gurzynski A, Brandenburg LO, Kan YW, Chan KM, Hassenpflug J, Freitag-Wolf S, Varoga D, Lippross S, Pufe T. Role of oxidative stress in rheumatoid arthritis: insights from the Nrf2-knockout mice. *Ann Rheum Dis* 2011; 70(5): 844–850.
- 23 Chang CY, Kuan YH, Li JR, Chen WY, Ou YC, Pan HC, Liao SL, Raung SL, Chang CJ, Chen CJ. Docosahexaenoic acid reduces cellular inflammatory response following permanent focal cerebral ischemia in rats. *J Nutr Biochem* 2013; 24(12): 2127–2137.
- 24 Liu XL, Zhao YC, Zhu HY, Wu M, Zheng YN, Yang M, Cheng ZQ, Ding CB, Liu WC. Taxifolin retards the D-galactose-induced aging process through inhibiting Nrf2-mediated oxidative stress and regulating the gut microbiota in mice. *Food Funct* 2021; 12(23): 12142–12158.
- 25 Feng Y, Ju Y, Yan Z, Ji M, Yang M, Wu Q, Wang L, Sun G. Protective role of wogonin following traumatic brain injury by reducing oxidative stress and apoptosis via the PI3K/Nrf2/HO-1 pathway. *Int J Mol Med* 2022; 49(4): 53.
- 26 Fang J, Wang H, Zhou J, Dai W, Zhu Y, Zhou Y, Wang X, Zhou M. Baicalin provides neuroprotection in traumatic brain injury mice model through Akt/Nrf2 pathway. *Drug Des Devel Ther* 2018; 12: 2497–2508.
- 27 Zhao ZF, He XR, Zhang Q, Wei XY, Huang LH, Fang JC, Wang XX, Zhao MM, Bai YJ, Zheng XH. Traditional uses, chemical constituents and biological activities of plants from the Genus *Sanguisorba* L. *Am J Chin Med* 2017; 45(2): 199–224.
- 28 Cirovic T, Barjaktarevic A, Ninkovic M, Bauer R, Nikles S, Brankovic S, Markovic M, Jovanovic VS, Ilic M, Milovanovic O, Kojicic K, Cupara S. Biological activities of *Sanguisorba minor* L. extracts *in vitro* and *in vivo* evaluations. *Acta Pol Pharm* 2020; 77(5): 745–758.
- 29 Mirzavi F, Rajabian A, Boroumand-Noughabi S, Hosseini A, Boroushaki MT, Hassanzadeh S. Standardized extract of *Sanguisorba minor* attenuates injury in aging rat model via the Nrf2/HO-1 pathway. *Acta Neurobiol Exp (Wars)* 2022; 82(4): 433–441.
- 30 Dong QH, Chen L, Lu QW, Sharma S, Li L, Morimoto S, Wang GY. Quercetin attenuates doxorubicin cardiotoxicity by modulating Bmi-1 expression. *Br J Pharm* 2014; 171(19): 4440–4454.
- 31 Chen S, Jiang HM, Wu XS, Fang J. Therapeutic effects of quercetin on inflammation, obesity, and type 2 diabetes. *Mediators Inflamm* 2016; 2016: 9340637.
- 32 Singh S, Kumar P. Piperine in combination with quercetin halt 6-OHDA induced neurodegeneration in experimental rats: Biochemical and neurochemical evidences. *Neurosci Res* 2018; 133: 38–47.
- 33 Lee JJ, Ng SC, Hsu JY, Liu H, Chen CJ, Huang CY, Kuo WW. Galangin reverses H₂O₂-induced dermal fibroblast senescence via SIRT1-PGC-1 α /Nrf2 signaling. *Int J Mol Sci* 2022; 23(3): 1387.
- 34 Xu J, Huang Y, Chen XX, Zheng SC, Chen P, Mo MH. The mechanisms of pharmacological activities of *Ophiocordyceps sinensis* fungi. *Phytother Res* 2016; 30(10): 1572–1583.
- 35 Wang Z, Chen Z, Jiang Z, Luo P, Liu L, Huang Y, Wang H, Wang Y, Long L, Tan X, Liu D, Jin T, Wang Y, Wang Y, Liao F, Zhang C, Chen L, Gan Y, Liu Y, Yang F, Huang C, Miao H, Chen J, Cheng T, Fu X, Shi C. Cordycepin prevents radiation ulcer by inhibiting cell senescence via NRF2 and AMPK in rodents. *Nat Commun* 2019; 10(1): 2538.
- 36 Wang PW, Cheng YC, Hung YC, Lee CH, Fang JY, Li WT, Wu YR, Pan TL. Red raspberry extract protects the skin against UVB-induced damage with antioxidative and anti-inflammatory properties. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 9529676.
- 37 Shang L, Liu Y, Li J, Pan G, Zhou F, Yang S. Emodin protects sepsis associated damage to the intestinal mucosal barrier through the VDR/Nrf2/HO-1 pathway. *Front Pharmacol* 2021; 12: 724511.
- 38 Gao Z, Sui J, Fan R, Qu W, Dong X, Sun D. Emodin protects against acute pancreatitis-associated lung injury by inhibiting NLPR3 inflammasome activation via Nrf2/HO-1 signaling. *Drug Des Devel Ther* 2020; 14: 1971–1982.
- 39 Zhao JN, Lan X, Liu Y, Liu YF, Xian YF, Lin ZX, Xu FQ. Anti-aging role of Chinese herbal medicine: an overview of scientific evidence from 2008 to 2018. *Ann Palliat Med* 2020; 9(3): 1230–1248.
- 40 Chu SF, Zhang Z, Zhou X, He WB, Chen C, Luo P, Liu DD, Ai QD, Gong HF, Wang ZZ, Sun HS, Feng ZP, Chen NH. Ginsenoside Rg1 protects against ischemic/reperfusion-induced neuronal injury through miR-144/Nrf2/ARE pathway. *Acta Pharmacol Sin* 2019; 40(1): 13–25.
- 41 Lee YH, Kim JH, Song CH, Jang KJ, Kim CH, Kang JS, Choi YH, Yoon HM. Ethanol extract of *Ganoderma lucidum* augments cellular anti-oxidant defense through activation of Nrf2/HO-1. *J Pharmacopuncture* 2016; 19(1): 59–69.
- 42 Fang CL, Paul CR, Day CH, Chang RL, Kuo CH, Ho TJ, Hsieh DJ, Viswanadha VP, Kuo WW, Huang CY. *Poria cocos* (Fuling) targets TGF β /Smad7 associated collagen accumulation and enhances Nrf2-antioxidant mechanism to exert anti-skin aging effects in human dermal fibroblasts. *Environ Toxicol* 2021; 36(5): 729–736.
- 43 Dou C, Cao Z, Ding N, Hou TY, Luo F, Kang F, Yang XC, Jiang H, Xie Z, Hu M, Xu JZ, Dong SW. Cordycepin

- prevents bone loss through inhibiting osteoclastogenesis by scavenging ROS generation. *Nutrients* 2016; 8(4): 231.
- 44 Olatunji OJ, Feng Y, Olatunji OO, Tang J, Ouyang Z, Su ZL. Cordycepin protects PC12 cells against 6-hydroxydopamine induced neurotoxicity via its antioxidant properties. *Biomed Pharmacother* 2016; 81: 7–14.
 - 45 Li Y, Li K, Mao L, Han XG, Zhang K, Zhao CQ, Zhao J. Cordycepin inhibits LPS-induced inflammatory and matrix degradation in the intervertebral disc. *PeerJ* 2016; 4: e1992.
 - 46 Qing R, Huang Z, Tang Y, Xiang Q, Yang F. Cordycepin alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury via Nrf2/HO-1 pathway. *Int Immunopharmacol* 2018; 60: 18–25.
 - 47 Lee B, Shim I, Lee H, Hahm DH. Ameliorates scopolamine-induced learning and memory impairment in rats. *J Microbiol Biotechnol* 2011; 21(8): 874–883.
 - 48 Fu C, Wu Y, Liu S, Luo C, Lu Y, Liu M, Wang L, Zhang Y, Liu X. Rehmannioside A improves cognitive impairment and alleviates ferroptosis via activating PI3K/AKT/Nrf2 and SLC7A11/GPX4 signaling pathway after ischemia. *J Ethnopharmacol* 2022; 289: 115021.
 - 49 Meng X, Wang M, Wang X, Sun G, Ye J, Xu H, Sun X. Suppression of NADPH oxidase- and mitochondrion-derived superoxide by Notoginsenoside R1 protects against cerebral ischemia-reperfusion injury through estrogen receptor-dependent activation of Akt/Nrf2 pathways. *Free Radic Res* 2014; 48(7): 823–838.
 - 50 Li L, Zhang H, Chen B, Xia B, Zhu R, Liu Y, Dai X, Ye Z, Zhao D, Mo F, Gao S, Orekhov AN, Prentki M, Wang L, Guo S, Zhang D. BaZiBuShen alleviates cognitive deficits and regulates Sirt6/NRF2/HO-1 and Sirt6/P53-PGC-1 α -TERT signaling pathways in aging mice. *J Ethnopharmacol* 2022; 282: 114653.
 - 51 Fiorelli S, Porro B, Cosentino N, Di Minno A, Manega CM, Fabbicocchi F, Niccoli G, Fracassi F, Barbieri S, Marenzi G, Crea F, Cavalca V, Tremoli E, Eligini S. Activation of Nrf2/HO-1 pathway and human atherosclerotic plaque vulnerability: An *in vitro* and *in vivo* study. *Cells* 2019; 8(4): 356.
 - 52 Xiong L, Xie J, Song C, Liu J, Zheng J, Liu C, Zhang X, Li P, Wang F. The activation of Nrf2 and its downstream regulated genes mediates the antioxidative activities of Xueshuan Xin-maining tablet in human umbilical vein endothelial cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2015; 2015: 187265.