

刘艺萍,张冕,石小娟,等. 基于 miRNA 转录组学和蛋白质组学探究金银花延缓肾衰老的作用及机制[J]. 中国实验动物学报, 2026, 34(3): 398-410.

LIU Y P, ZHANG M, SHI X J, et al. Role and mechanisms of *Lonicera japonica* in alleviating renal aging determined by miRNA transcriptomics and proteomics [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2026, 34(3): 398-410.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2026.03.008

基于 miRNA 转录组学和蛋白质组学探究 金银花延缓肾衰老的作用及机制

刘艺萍,张冕,石小娟,吴延军,唐杰,张杰*

(贵州中医药大学,贵阳 550025)

【摘要】 目的 本研究旨在探索金银花延缓肾衰老的作用及机制。**方法** 采用 D-半乳糖(D-gal)腹腔注射构建小鼠肾衰老模型,同时给予金银花水煎液灌胃。行为学实验结束后采集各组小鼠肾组织,进行酶联免疫吸附测定实验(ELISA)和 β -半乳糖苷酶染色实验(SA- β -gal)检验造模情况和金银花的作用,然后进行 miRNA 转录组学和蛋白质组学测序,鉴定出具有统计学意义的差异表达 miRNA(DEMs)和差异表达蛋白质(DEPs),并利用 GO、KEGG 数据库对这些 DEMs 和 DEPs 进行功能注释和通路分析。**结果** 水迷宫和负重游泳实验结果表明,与对照组相比,模型组小鼠表现出学习记忆能力下降及运动耐力降低等衰老相关特征($P < 0.05$),金银花干预后,衰老相关特征显著改善($P < 0.05$);ELISA 和 SA- β -gal 染色结果表明,模型组小鼠肾 IL-6 含量及 SA- β -gal 染色阳性面积百分比均显著增加($P < 0.001$),金银花干预后,小鼠肾 IL-6 含量及 SA- β -gal 染色阳性面积百分比均显著减少($P < 0.01$)。通过 miRNA 转录组学和蛋白质组学筛选出 11 个显著 DEMs 和 8 个显著 DEPs,对这些 DEMs 和 DEPs 的靶基因进行交集处理后,发现 miR-146b-3p/Tmprss13 是 1 对关键互作分子,miR-150-3p/Brpf1、miR-1934-5p/Cln8 是两对同时受金银花下调的 miRNA 和蛋白质。GO 和 KEGG 富集分析结果显示,金银花可能通过激活 MAPK 通路中具有显著差异表达的基因 *Lonicera japonica-regulated Ecsit*(*LjREcsit*)来干扰肾衰老进程。**结论** 金银花能显著延缓 D-gal 所诱导的小鼠肾衰老,其机制可能是通过抑制 miR-146b-3p 进一步激活 Tmprss13 或下调 miR-150-3p/Brpf1、miR-1934-5p/Cln8 以延缓肾衰老,*LjREcsit* 介导的 MAPK 信号通路的调控也是金银花延缓肾衰老的关键。

【关键词】 金银花;肾衰老;miRNA 转录组学;蛋白质组学

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2026)03-0398-13

Role and mechanisms of *Lonicera japonica* in alleviating renal aging determined by miRNA transcriptomics and proteomics

LIU Yiping, ZHANG Mian, SHI Xiaojuan, WU Yanjun, TANG Jie, ZHANG Jie*

(Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

Corresponding author: ZHANG Jie. E-mail: 1393227376@qq.com

【基金项目】 贵州省基础研究计划面上项目(黔科合基础 MS[2026]649),贵州省科技计划项目(黔科合基础 ZK[2024]一般 360),贵州中医药大学博士启动基金(2019[145])。

Funded by Guizhou Province Basic Research Program General Project (Qiankehe Jichu MS[2026]649), Guizhou Province Science and Technology Program Project (Qiankehe Jichu ZK[2024] General 360), Doctoral Startup Fund of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine (2019[145])。

【作者简介】 刘艺萍,女,在读硕士研究生,研究方向:中医养生学。Email:1047241124@qq.com

【通信作者】 张杰,男,博士,副教授,研究方向:中医养生学。Email:1393227376@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects and underlying mechanisms of *Lonicera japonica* in delaying renal aging. **Methods** A mouse model of renal aging was established via intraperitoneal injection of D-galactose (D-gal), with concurrent administration of *Lonicera japonica* decoction by oral gavage. Following behavioral assessments, kidney tissues were collected from each group for enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and senescence-associated β -galactosidase (SA- β -gal) staining to evaluate model induction and the protective effects of *Lonicera japonica*. Integrated microRNA (miRNA) transcriptomic and proteomic sequencing analyses were conducted to identify significantly differentially expressed miRNA (DEMs) and protein (DEPs). Functional annotation and pathway enrichment of these DEMs and DEPs were performed using gene ontology (GO) and kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) databases. **Results** Behavioral tests, including the Morris water maze and forced swimming test, revealed significant impairments in learning, memory, and exercise endurance in model mice compared with controls ($P < 0.05$). *Lonicera japonica* markedly ameliorated these aging-related deficits ($P < 0.05$). Renal interleukin (IL)-6 levels and the percentage of SA- β -gal-positive area were significantly elevated in the model group relative to the control group ($P < 0.001$), and both were significantly reduced following *Lonicera japonica* intervention ($P < 0.01$). Integrated omics analysis identified 11 significant DEMs and eight significant DEPs. Intersection analysis of target genes revealed miR-146b-3p/Tmprss13 as a key regulatory pair, while miR-150-3p/Brpf1 and miR-1934-5p/Cln8 were identified as miRNA-protein pairs concurrently downregulated by *Lonicera japonica*. GO and KEGG enrichment analyses indicated that *Lonicera japonica* may delay renal aging by activating *Lonicera japonica*-regulated *Ecsit* (*LjREcsit*), a differentially expressed gene involved in the mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway. **Conclusions** *Lonicera japonica* attenuates D-gal-induced renal aging in mice, possibly via mechanisms involving inhibition of miR-146b-3p leading to activation of Tmprss13, or coordinated downregulation of miR-150-3p/Brpf1 and miR-1934-5p/Cln8. Modulation of the MAPK signaling pathway via *LjREcsit* also represents a critical mechanism through which *Lonicera japonica* exerts its renoprotective and anti-aging effects.

【Keywords】 *Lonicera japonica*; renal aging; miRNA transcriptomics; proteomics
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

在衰老过程中,肾会出现功能逐渐衰退以及宏观和微观组织学上的变化^[1]。肾是代谢高度活跃的器官,也是衰老过程中典型的靶器官之一,相比于机体其他关键器官,肾衰老更易发生内部结构和功能的变化,导致多种肾疾病的发生^[2],与年龄相关的肾功能损害已成为临床实践中的一大难题。近些年来,全球对肾疾病的关注主要集中在免疫球蛋白 A (immunoglobulin A, IgA) 肾病、糖尿病肾病、高血压肾病等病理学研究上,对衰老引起的肾功能改变的研究较少,以至于目前关于肾衰老的机制并未完全阐明,因此揭示肾衰老的病理生物学机制至关重要。

D-半乳糖(D-galactose, D-gal)是一种还原糖,其诱导的细胞损伤和自然衰老有相似之处,D-gal诱导的衰老小鼠模型是目前研究衰老的经典动物模型。最新研究表明,D-gal可有效诱导小鼠肾衰老^[3],因此本研究选取 D-gal 为造模药物,以深入剖析金银花和肾衰老之间的关系。

随着后基因组学的快速发展,转录组学和蛋

白质组学测序的研究方法和技术已日趋成熟,被广泛应用于破译药物治疗疾病的作用机制研究中。miRNA 是 22 个核苷酸的小单链 RNA 分子,可调节蛋白质的转录和翻译,miRNA 在转录后水平上调节基因表达,通常通过互补碱基配对与其靶 mRNA 的 3' 非翻译区结合^[4],并通过调控基因表达参与多种疾病的生理病理过程,包括肾衰老。miRNA 通过对炎症、纤维化、自噬和氧化应激等通路进行调控,在肾衰老中扮演着促衰或抗衰的双重角色。未来研究聚焦于基于 miRNA 的生物标志物开发或靶向治疗,为延缓肾衰老提供新策略。

金银花为忍冬科植物忍冬的干燥花蕾或带初开的花,是我国传统医药中常用的清热解毒类中药。迄今为止,金银花中已分离出 600 多种成分,它们具有抗炎、抗病毒、抗菌、抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等作用^[5]。金银花中槲皮素等黄酮类化合物、多酚类化合物^[6]及金银花多糖^[7]还具有延缓衰老的作用。研究表明,金银花能减弱活化

中性粒细胞的炎症反应^[8],金银花中的绿原酸、咖啡酸、花青素、皂苷、槲皮素、木犀草素等均表现出显著的抗炎特性,部分成分还具有强大的抗氧化能力^[9]。金银花中提取所得的獐牙菜苷能够与钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II δ (calcium/calmodulin-dependent protein kinase II δ , CaMK II δ) 结合来抑制心肌细胞中活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 介导的核因子 κ B/核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nuclear factor κ B/NLR family pyrin domain containing 3, NF- κ B/NLRP3), 从而达到抗炎及抗氧化效果^[10],金银花水提取物的抗炎作用则受信号转导及转录激活因子/核因子 κ B (signal transducer and activator of transcription/nuclear factor κ B, STAT/NF- κ B) 通路的调控^[11]。炎症和氧化是加速衰老的两大元凶,目前对金银花抗炎和抗氧化作用的研究已趋于成熟,且金银花中诸多核心成分已被证实具有抗衰老潜力,但其延缓肾衰老的具体机制尚未有报道。因此,本研究基于 D-gal 诱导的肾衰老模型,利用 miRNA 转录组学和 4D-FastDIA 蛋白质组学,分析金银花作用下 D-gal 模型小鼠的基因表达变化和相关通路变化,旨在从多组学整合视角揭示金银花延缓肾衰老的潜在靶点与通路机制,为阐释其药理作用提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级 8 周龄 KM 小鼠共 18 只(雌雄各半),体质量(30 ± 2)g,由斯贝福(苏州)生物技术有限公司提供【SCXK(苏)2022-0006】。在昼夜交替光照各 12 h、室温(22 ± 2)℃、湿度 40% ~ 70% 的环境条件下,于贵州中医药大学实验动物研究所小鼠实验动物房常规饮食饲养【SYXK(黔)2021-0005】。本实验经贵州中医药大学动物伦理委员会审批(2024055)。

1.1.2 主要试剂与仪器

贵州遵义绥阳产金银花(批号 220101)、D-gal (Sigma, G5388)、生化试剂涵盖 OCT 包埋剂 (Sakura, 4583)、 β -半乳糖苷酶 (senescence-associated β -galactosidase, SA- β -gal) 染色试剂盒 (Servicebio, G1073)、中性树胶(国药集团化学试

剂有限公司, 10004160)、小鼠白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 试剂盒(欣博盛, EMC004)、磷酸盐缓冲盐水 (phosphate buffered saline, PBS) (Servicebio, G4202)。冰冻切片 (Thermo, CRYOSTAR NX50)、正置光学显微镜(日本尼康, NIKON ECLIPSE E100)、成像系统(日本尼康, NIKON DS-U3)、立式冷藏陈列柜(星星, LSC-316C)、高速组织研磨仪(Servicebio, SWE-EP)、高速冷冻离心机(大龙, D3024R)、酶标检测仪 (BioTeK, Epoch) 等。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备

将 18 只小鼠随机分为 3 组:对照组、模型组和金银花组,每组 6 只,雌雄各半。模型组和金银花组腹腔注射 D-gal 500 mg/(kg · d) 构建肾衰老模型^[12],对照组每天注射等剂量 0.9% 氯化钠溶液。同时对金银花组进行灌胃 1.95 g/(kg · d) 金银花水煎液,对照组和模型组灌胃等剂量 0.9% 氯化钠溶液,连续 8 周。

1.2.2 金银花水煎液的制备与给药

金银花水煎液按照传统中药制备方法进行煎制,100 g 金银花中加入 500 mL 纯净水,冷水浸泡 30 min,大火加热煎煮至 150 mL 后用纱布过滤药渣,再用文火将药液浓缩为 100 mL 的流浸膏,用 50 mL 离心管分装并冻存于 -20℃ 冰箱中,每天取出 1 管置于 -4℃ 冰箱备用,100 g 生药制成 100 mL 定为 100% 浓度^[13]。金银花水煎液的剂量计算参考钟赣生^[14]主编《中药学》选择金银花用量为 15 g,结合徐叔云^[15]主编《药理实验方法学》,用体表面积换算,剂量为人常用剂量乘以人与小鼠的换算系数 0.0026,最终确认小鼠灌胃剂量为 1.95 g/(kg · d)。

1.2.3 水迷宫实验

水迷宫实验分为定位航行实验和空间探索测试。将水迷宫划分为 4 个象限,平台置于第 3 象限,注水没过平台 1 cm。前 5 d 进行定位航行实验,将小鼠分别从无平台的 3 个象限放入,即刻开始计时,小鼠找到平台则停止计时,记录小鼠的逃避潜伏期,若小鼠 1 min 内未找到平台,则计为 60 s 并引导至平台停留 15 s 后取出。实验第 6 天实施空间探索测试,移除平台后,将小鼠放入原平台对侧象限,记录各组小鼠 60 s 内穿越平台

次数和目标象限停留时间^[16]。

1.2.4 负重游泳实验

将质量为小鼠体质量 5% 的铁坠系于小鼠尾部后 1/3 处,小鼠放置于水温(25 ± 2)℃ 的游泳箱后即刻计时,至小鼠力竭停止计时,力竭标准为小鼠鼻尖被水淹没超过 5 s,记录小鼠负重游泳时间^[17]。

1.2.5 小鼠衰老评估

记录小鼠初始体质量及行为学测试前的体质量,并计算 6 周间小鼠体质量的差值,以评估各组小鼠体质量增长情况。观察并记录小鼠剃毛记号处的毛发生长速度、小鼠活跃度、粪便情况、精神状态、毛色光泽度、皮肤弹性及饮食情况^[18],评估小鼠衰老模型构建情况。

1.2.6 小鼠取材

第 7 周进行行为学测试完成后,小鼠经 20% 乌拉坦麻醉处死。取出各组小鼠双肾,将肾纵切分为两半,每个样本随机选取半个肾采用 OCT 包埋剂包埋处理,用于后续的 SA-β-gal 染色实验。剩余样品部分用于酶联免疫吸附测定实验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测,部分密封放置于干冰中,用于后续的转录组学和蛋白质组学检测,余下样品均置于-80℃ 超低温冰箱保存待用。

1.2.7 ELISA

肾组织用 PBS 冲洗并在组织研磨仪中均质化后,将样品在 4℃ 离心机中以 12 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,根据 ELISA 试剂盒说明书测量肾组织中 IL-6 的含量。每个样品一式 3 份运行,炎症因子的最终浓度由样品浓度和总蛋白含量的比值计算。

1.2.8 肾 SA-β-gal 染色实验

取出小鼠肾后,将肾组织用手术刀修理平整,进行 OCT 包埋处理,于冰冻切片机上进行切片,切片厚度为 8 ~ 10 μm,随后根据 SA-β-gal 染色试剂盒说明书进行固定、染色和脱水,封片后于正置光学显微镜下拍照记录。每个样品一式 3 份运行,蓝染面积百分比通过 Image J 1.53a 软件处理计算得到。

1.2.9 全转录组学测序

转录组学测序由中科新生命进行,每组 3 个平行样本。在进行样品制备与检测后,构建文库

并通过先进分析技术公司和定量聚合酶链式反应(quantitative polymerase chain reaction, qPCR)进行库检,把不同文库按照有效浓度及目标下机数据量的需求 pooling 后进行测序。使用高通量测序技术对样本 miRNA 进行测序和表达定量,从而解析 miRNA 及其相应靶序列。测序原始数据质控后,进行 Clean reads 长度分布统计,使用 bowtie 1.0.1 软件将长度筛选后的 sRNA 定位到参考序列上,分析 small RNA 在参考序列上的分布情况,并对已知 miRNA 和 ncRNA 分析,进行重复序列、外显子、内含子比对。使用 miREvo v1.1 和 mirdeep2_0_0_5 软件进行新 miRNA 预测(有参考基因组),对已知 miRNA 和新 miRNA 进行碱基编辑分析和家族分析,统计其表达量后用每百万转录本(transcripts per million, TPM)进行表达量归一化处理,筛选出差异表达 miRNA(differentially expressed miRNAs, DEMs)(筛选条件为: padj ≤ 0.05)。使用 miRanda-3.3a 和 RNAhybrid v2.0 软件预测 miRNA 的靶基因,并取交集作为最终靶向结果,根据 miRNA 与其靶基因间的对应关系,对每组 DEMs 靶基因的集合分别进行基因本体论(gene ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)富集分析。

1.2.10 基于 4D-FastDIA 的定量蛋白质组学分析

蛋白质组学测序由中科新生命进行,每组 3 个平行样本。在进行样品制备、蛋白质酶解后,将从液相色谱-串联质谱法或液相色谱-质谱-质谱联用技术(liquid chromatography/tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)分析获得的 DIA 原始数据导入查库软件进行分析。以表达倍数 > 1.5 倍(上调 > 1.5 倍或下调 < 0.67 倍)且 $P < 0.05$ (T -test 或其他)为筛选差异表达蛋白质(differentially expressed proteins, DEPs)的标准。使用 Blast2Go v4.0 软件对显著的 DEPs 进行 GO 功能注释,采用 Fisher 精确检验对这些 DEPs 进行 GO 功能富集分析。并将所有显著的 DEPs 与参考物种的全部蛋白质(或实验鉴定到的所有蛋白质)以 KEGG 的注释结果进行对照比较,通过 Fisher 精确检验得出两者差异的显著性,从而找到所有 DEPs 富集的通路类别。

1.2.11 组学的联合分析

在获得显著 DEMs 与 DEPs 后,研究人员首先通过 Venny 2.1.0 对 DEMs 的预测靶基因与 DEPs 的靶基因进行交集分析,以筛选出由共同靶基因关联的高度相关 miRNA-蛋白质。随后,对各组学中 KEGG 富集程度前 20(top20) 的通路再次通过 Venny 取交集,从而确定关键作用通路。通过 KEGG 通路图并结合两组学数据的交集验证,最终筛选出此通路中的核心调控基因。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 26.0 和 Graphpad Pism 9.5 统计分

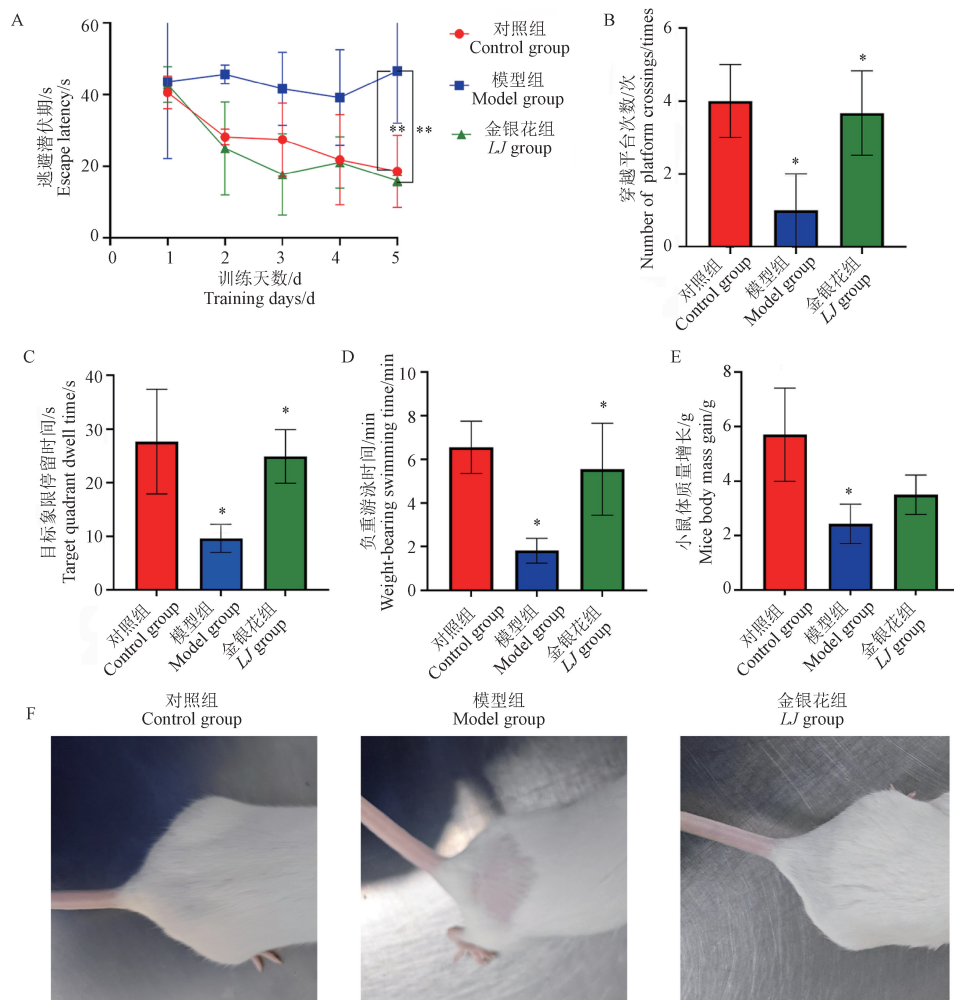
析软件进行数据处理与绘图,数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。当数据同时符合正态分布及方差齐性要求时,执行方差分析。 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 金银花对 D-gal 模型小鼠的行为学影响

2.1.1 水迷宫实验

定位航行实验结果表明(见图 1),随着训练天数的增加,模型组小鼠的逃避潜伏期较对照组显著增加($P < 0.01$),金银花组小鼠的逃避潜伏



注:A:水迷宫小鼠逃避潜伏期;B:水迷宫小鼠穿越平台次数;C:水迷宫小鼠目标象限停留时间;D:小鼠负重游泳时间;E:小鼠体质量增长情况;F:小鼠毛发生长情况;与模型组相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。(下图同)

图1 小鼠衰老相关行为学评估

Note. A. Escape latency of mice in the water maze. B. Number of platform crossings by mice in the water maze. C. Time spent by mice in the target quadrant of the water maze. D. Weight-bearing swimming time in mice. E. Growth of body mass in mice. F. Mice hair growth condition. Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 1 Behavioral assessment of aging-related changes in mice

期较模型组显著减少(图 1A) ($P < 0.01$)。空间探索测试结果表明,平台移除后,与对照组相比,模型组小鼠的穿越平台次数减少(图 1B) ($P < 0.05$),目标象限停留时间也相应缩短(图 1C) ($P < 0.05$),与模型组相比,金银花组小鼠的穿越平台次数增加($P < 0.05$),目标象限停留时间也相应增多($P < 0.05$)。

2.1.2 负重游泳实验

如图 1D 所示,模型组小鼠的负重游泳时间较对照组减少($P < 0.05$),而金银花组小鼠的负重游泳时间较模型组有所增加($P < 0.05$),表明模型组小鼠出现了体力下降的衰老特征,而金银花缓解了衰老所导致的小鼠体力下降。

2.1.3 其它衰老相关行为评估

在 6 周的一般行为学观察中,对照组小鼠精神状态良好、反应灵敏、行动自如、毛色光亮、润泽柔顺、皮肤弹性好、饮食正常、体质量呈匀速增长。随着体内 D-gal 的累积,模型组小鼠逐渐出现精神萎靡、倦怠嗜睡、反应迟钝、少动、喜蜷缩、毛色枯黄、皮肤松弛、弹性下降、饮食减少、体质量增长较对照组减少(图 1E) ($P < 0.05$)、剃毛处

毛发生长缓慢(图 1F)等衰老特征。与模型组相比,经金银花水煎液灌胃后,小鼠相应衰老体征均有所改善,剃毛处毛发生长速度较模型组明显变快,但体质量增长情况改善不佳,同时出现大便增多的情况。

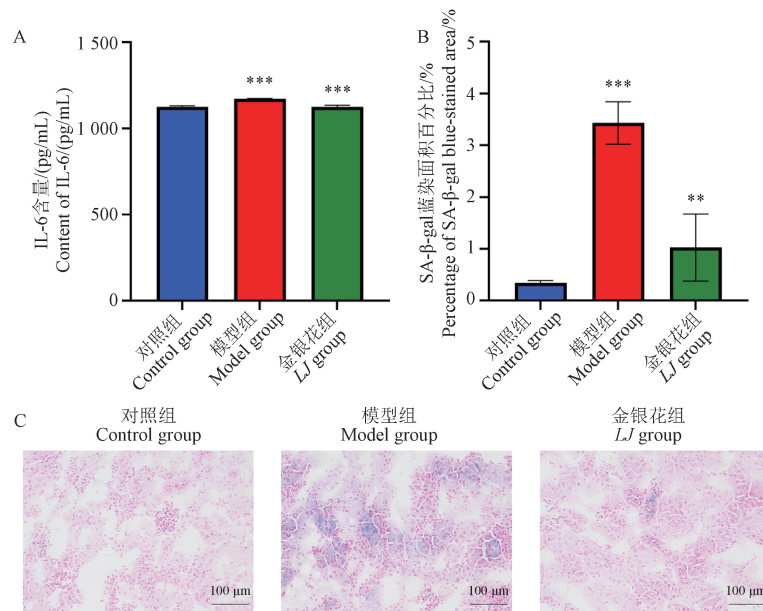
2.2 金银花对 D-gal 模型小鼠肾衰老的延缓作用

2.2.1 ELISA 检测肾组织中 IL-6 含量

ELISA 结果表明(图 2A),与对照组相比,模型组小鼠肾组织中的 IL-6 活性显著升高($P < 0.001$),与模型组相比,金银花组小鼠肾组织中的 IL-6 活性显著降低($P < 0.001$),表明模型组小鼠的肾组织发生了炎症反应,金银花干预后小鼠肾组织中的炎症明显缓解,提示金银花具有延缓肾衰老的潜力。

2.2.2 SA- β -gal 染色鉴定肾衰老情况

SA- β -gal 染色结果显示(图 2B),与对照组相比,模型组小鼠肾切片 SA- β -gal 染色的蓝染面积百分比显著升高($P < 0.001$),与模型组相比,金银花组 SA- β -gal 染色的蓝染面积百分比显著降低($P < 0.01$),如图 2C 所示,模型组小鼠的肾切片



注:A:小鼠肾组织 IL-6 含量;B:小鼠肾切片 SA- β -gal 蓝染面积百分比;C:小鼠肾切片 SA- β -gal 染色图;与模型组相比, *** $P < 0.001$ 。

图 2 ELISA 和 SA- β -gal 染色结果

Note. A. IL-6 content in mice kidney tissue. B. Percentage of SA- β -gal blue-stained area in mice kidney sections. C. SA- β -gal staining images of mice kidney sections. Compared with model group, *** $P < 0.001$.

Figure 2 Results of ELISA and SA- β -gal staining

出现明显蓝染,对照组和金银花组小鼠的肾切片蓝染面积较小,表明模型组小鼠对比对照组和金银花组小鼠出现了明显的肾衰老情况。

2.3 miRNA 转录组学分析

基于以上结果,研究人员选择了 3 组各 3 个重复样本用于随后的 miRNA 转录组学和蛋白质组学测序,以探究金银花延缓肾衰老的机制,结果见图 3。在 miRNA 转录组学中,对所有 miRNA 进行表达量归一化处理后,对照组和模型组鉴定出了 32 个显著 DEMs(以 $P \leq 0.05$ 且 $|\log_2(\text{Fold Change})| \geq 0$ 为筛选标准),其中 27 个显著上调,5 个显著下调(图 3A)。同时,模型组和金银花组之间还鉴定出 47 个显著 DEMs,包括 10 个上调的 DEMs 和 37 个下调的 DEMs(图 3B)。通过 Venny 对 3 组的 DEMs 进行了重叠分析,鉴定出 11 个显著 DEMs(图 3C):miR-130b-3p、miR-146b-3p、miR-146b-5p、miR-150-3p、miR-1934-5p、miR-467a-5p、miR-467b-5p、miR-467c-5p、miR-6978-3p、miR-7649-3p、novel_309。

在根据 DEMs 预测其靶基因后,对每组 DEMs 靶基因的集合分别进行了包括分子功能(molecular function, MF)、细胞成分(cellular component, CC)和生物过程(biological process, BP)3 个方面的 GO 和 KEGG 富集分析($P < 0.05$),以明确这些靶基因所涉及的生物学功能和途径。GO 分析结果显示,模型组和对照组(图 3D)及金银花组和模型组(图 3E)在 3 个方面主要与图中各生物过程有关。通过 venny 取得两组交集后,可知 DEMs 的靶基因在 MF 方面主要与 GTPase binding、actin binding、protein serine/threonine kinase activity、enzyme activator activity、actin filament binding、GTPase regulator activity、nucleoside-triphosphatase regulator activity、GTPase activator activity 8 个方面有关(图 3F),在 CC 方面主要与 neuron-to-neuron synapse、postsynaptic specialization、postsynaptic density、asymmetric synapse、actin cytoskeleton、glutamatergic synapse、cell leading edge、dendritic spine 8 个方面有关(图 3G),在 BP 方面主要与 Regulation of GTPase activity 和 regulation of cell morphogenesis involved in differentiation 相关(图 3H)。通过 KEGG 通路进行分析,得到模型组和对照组(图 3I)以及金银

花组和模型组(图 3J)之间 top20 的信号通路,将各组的信号通路使用 venny 取交集后,得到 8 条显著表达的信号通路:synaptic vesicle cycle、glutamatergic synapse、apelin signaling pathway、insulin resistance、MAPK signaling pathway、Ras signaling pathway、dopaminergic synapse、axon guidance(图 3K)。

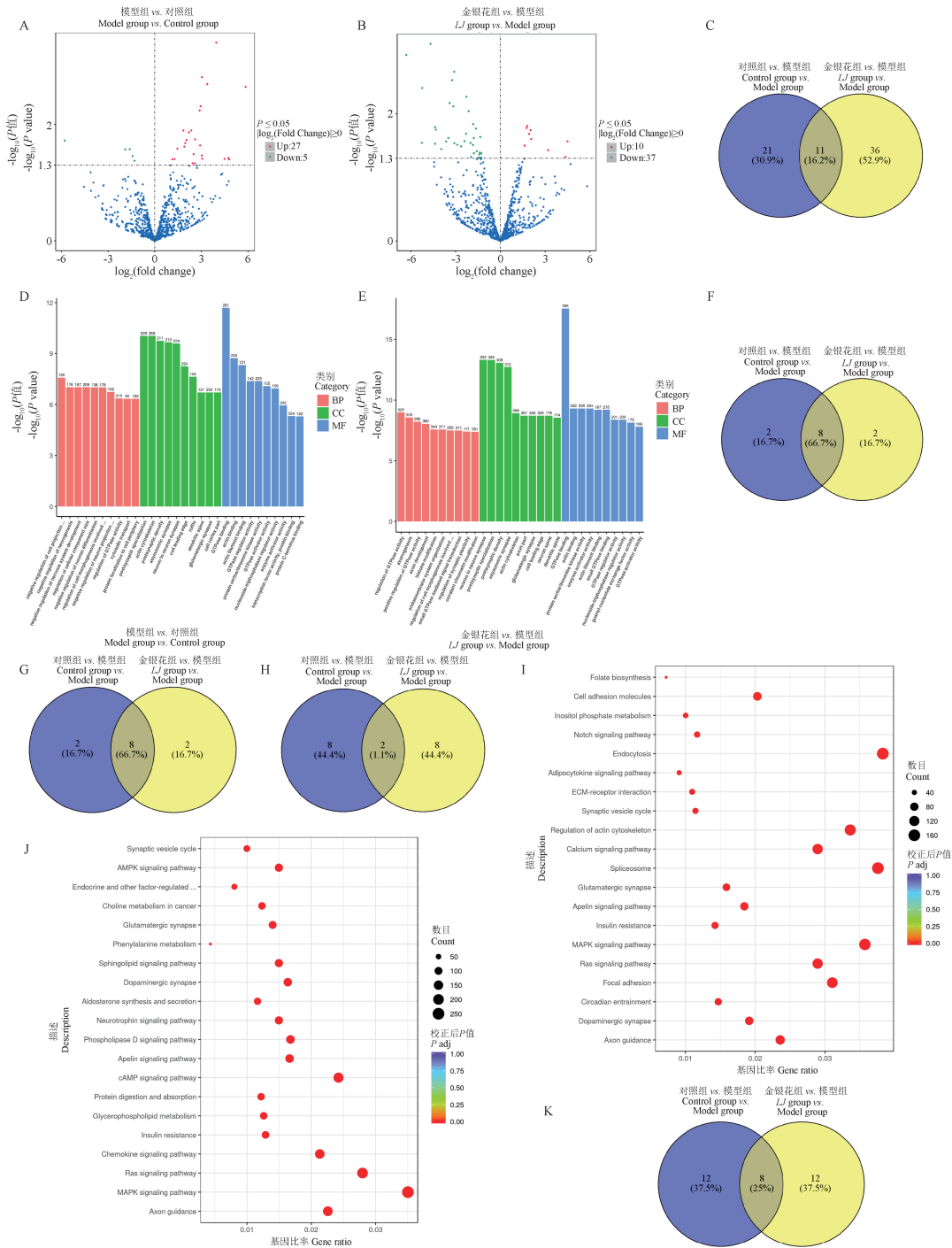
2.4 蛋白质组学分析

蛋白质组学通过统计各样本肽段数和蛋白数后(图 4A),以 Venny 获取 3 组的 7741 个重叠蛋白(图 4B)。主成分分析(principal component analysis, PCA)整合各样本的蛋白表达轮廓相似度,发现前 3 个主成分累计解释率约为 62%,表明样本具有一定的聚集度,数据相对稳定可靠(图 4C)。皮尔逊相关系数(Pearson correlation coefficient, PCC)结果显示,各样本间相关性均接近于 1(图 4D),表明样本相关性高。通过对小鼠肾组织进行 4D-FastDIA 定量蛋白质组学分析,表征了对照组、模型组和金银花组引起的蛋白质改变,对照组和模型组鉴定出了 63 个 DEPs,其中 35 个显著上调,28 个显著下调,模型组和金银花组之间鉴定出了 64 个 DEPs,包括 30 个上调 DEPs 和 34 个下调 DEPs(图 4E)。通过 Venny 对对照组与模型组和模型组与金银花组之间的显著 DEPs 进行重叠分析,发现了 8 个显著性差异的 DEPs: Dennd4a、Mcf2、Ctps2、Hat1、Brpf1、Cln8、Smim26、Tmprss13(图 4F)。

为了探索 3 个不同组的 DEPs 参与的通路,研究人员还对这些 DEPs 进行了包括 MF、CC 和 BP 3 个方面的 GO 富集分析以及 KEGG 通路分析。在 MF 方面,这些 DEPs 主要在 catalytic activity 上起到关键作用,在 CC 方面主要作用于 cellular anatomical entity 和 protein-containing complex,在 BP 方面主要参与了 cellular process 和 biological regulation 的过程(图 4G)。KEGG 通路分析结果表明,这些 DEPs 参与的信号通路主要为: pathways of neurodegeneration-multiple diseases、Alzheimer disease、pathway in cancer 及 MAPK signaling pathway 等(图 4H)。

2.5 组学的联合分析

将蛋白质组学筛选出的 8 个显著 DEPs 的靶基因与 miRNA 转录组学筛选出的 11 个 DEMs 的

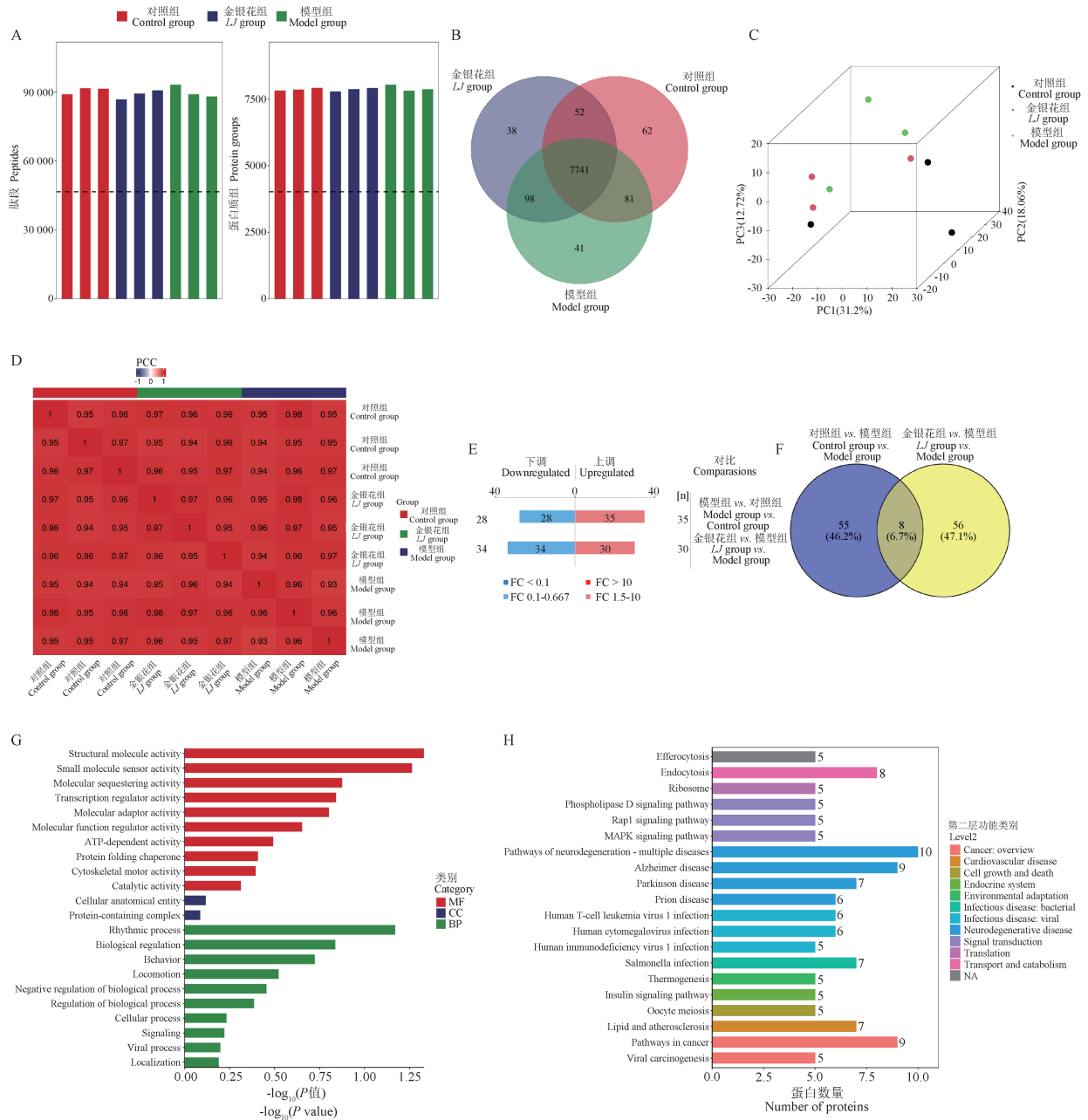


注:A:对照组和模型组之间的 DEGs;B:模型组和金银花组之间的 DEGs;C:Venny 取交集后 3 组间的 DEGs;D:对照组和模型组间的 GO 富集;E:模型组和金银花组之间的 GO 富集;F:GO 富集的 MF 分析;G:GO 富集的 CC 分析;H:GO 富集的 BP 分析;I:对照组和模型组间的 KEGG 富集;J:模型组和金银花组之间的 KEGG 富集;K:Venny 取交集后 3 组间 KEGG 富集。

图 3 miRNA 转录组学分析

Note. A. DEGs between the control group and the model group. B. DEGs between the model group and the LJ group. C. DEGs among the three groups after Venny intersection. D. GO enrichment analysis between the control group and the model group. E. GO enrichment analysis between the model group and the LJ group. F. MF analysis of GO enrichment. G. CC analysis of GO enrichment. H. BP analysis of GO enrichment. I. KEGG pathway enrichment analysis between the control group and the model group. J. KEGG pathway enrichment analysis between the model group and the LJ group. K. KEGG enrichment among the three groups after Venny intersection.

Figure 3 miRNA transcriptomics analysis



注:A:样本肽段数和蛋白数;B:各组的重叠蛋白数;C:PCA;D:PCC分析;E:各组间显著DEPs的数量;F:Venny取交集后的显著DEPs;G:GO富集分析;H:KEGG富集分析。

图4 蛋白质组学分析

Note. A. Number of identified peptides and proteins in the sample. B. Number of overlapping proteins per group. C. PCA. D. PCC analysis. E. Number of significant DEPs among group. F. Significant DEPs after Venny intersection. G. GO enrichment analysis. H. KEGG enrichment analysis.

Figure 4 Proteomics analysis

靶基因取交集后,得到3对高度关联的DEMs和DEPs: miR-146b-3p/Tmprss13、miR-150-3p/Brpf1和miR-1934-5p/Cln8。通过KEGG富集分析发现MAPK信号通路在两个组学中均显著表达,同时,在蛋白质组学中筛选出5个在MAPK通路中显

著表达的基因,在miRNA转录组学中筛选出141个在MAPK通路中显著表达的基因(如表1)。组学结果显示,D-gal可抑制肾组织中*Lonicera japonica-regulated Ecsit* (*LjREcsit*)的表达,而金银花逆转了D-gal对*LjREcsit*的抑制。

表 1 各组学中 MAPK 通路的差异表达基因

Table 1 Differentially expressed genes of the MAPK pathway in each omics group

组学名称 Omics name	差异表达基因 Differentially expressed genes
蛋白质组学 Proteomics	<i>Hspa11, Map2k6, Casp3, Hras, Ecsit</i>
MiRNA 转录组学 MiRNA transcriptomics	<i>Pdgfb, Akt2, Cacna1e, Cacna1i, Mapk8ip3, Map4k2, Egf, Mknk1, Irak1, Mapkapk3, Map2k2, Cacna1c, Map3k5, Gm16560, Gm38086, Gm37185, Map3k4, Cacna1h, Rasgrp4, Fgfr1, Crkl, Akt1, Cacna1b, Pgf, Eph2, Met, Cacna2d2, Arrb1, Dusp6, Cacna1g, Vegfa, Hras, Elk4, Mapkapk5, Myd88, Cacnb2, Taok2, Mapk1, Gm10849, m12661, Gna12, Mapk7, Map2k1, Tek, Nf1, Map3k14, Rps6ka2, Map4k4, Atf2, Pdgfra, Flt1, Ptpn5, Kdr, Ecsit, Hspa1b, Hspa1a, Gm5575, Map3k12, Map3k7, Flna, Ptpn7, Rac2, Mapk10, Igf2, Prkcb, Gm49394, Ngfr, Fgf23, Relb, Cacnb3, Map3k11, Ikbkg, Mapk13, Cdc42, Sdk4, Igf1, Egfr, Fgf17, Mapk12, Nr4a1, Pdgfrb, Rela, Nfkb2, Cdc25b, Efna3, Artn, Map3k6, Cacna1f, Mras, Rasgrp2, Gng12, Map4k1, Rras, Map2k5, Irak4, Arrb2, Mapk3, Gm15546, Gm16159, Ppm1b, Pspn, Hspa8, Map3k8, Cna1a, Mknk2, Flt3l, Tgfa, Rps6ka6, ps, Map3k1, Pdgfa, Traf2, Ppp3ca, Tradd, Fgfr4, Tgfr1, Cacnb1, Rasa1, Map3k9, Dusp3, Igf1r, Mef2c, Ppm1a, Gadd45g, Tab1, Csf1r, Il1b, Rps6ka3, Gm28042, Fgf1, Pla2g4e, Gm16282, Lamtor3, Pla2g4b, Gm50394, Pla2g4f, Ntf5, Fgf8, Ntrk2, Taok3, E230016M11Rik</i>

3 讨论

本研究通过 D-gal 诱导的小鼠肾衰老模型,结合 miRNA 转录组学和蛋白质组学,探讨了金银花延缓肾衰老的作用及机制。

通过水迷宫实验、负重游泳实验和小鼠一般行为学观察,表明了金银花能够显著延缓 D-gal 诱导的衰老。此外,金银花干预后小鼠体质量增长缓慢且大便增多,这可能源于金银花润肠通便的作用^[19]。IL-6 的表达增加是衰老相关分泌表型 (senescence-associated secretory phenotype, SASP) 的作用特征之一^[20],因此通过 ELISA 检测小鼠肾中 IL-6 的表达可反映其肾衰老状况,经 D-gal 诱导的小鼠肾中 IL-6 水平显著升高,金银花干预后 IL-6 水平显著降低,验证了 D-gal 的造模效果和金银花延缓肾衰老的作用。SA-β-gal 的活性被评估为衰老的标志物,SA-β-Gal 染色则是衰老检测的经典方法之一^[21],金银花干预后小鼠肾切片蓝染面积百分比模型组明显减少,表明金银花有效延缓了 D-gal 诱导的肾衰老。

研究表明,沉默 miR-146b-3p 可通过负向调节 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMGCR) 抑制肿瘤坏死因子-α 诱导的过度增殖和炎症^[22]。HMGCR 是 p38MAPK 的上游调节因子,抑制 HMGCR 可激活 p38 MAPK 通路^[23]。也就是说,抑制 miR-146b-3p 可上调 HMGCR 的表达以抑制 p38 MAPK 通路,此外,miR-146b-3p 介导的增殖和炎症也与衰老密切相关。MURRAY

等^[24]发现,跨膜丝氨酸蛋白酶 13 (transmembrane serine protease 13, TMPRSS13) 在细胞表面主要呈磷酸化形式,其具体激酶虽未明确,但生物信息学分析提示,其胞内域多个丝氨酸残基可能被 c-Jun N 末端激酶 (Jun N-terminal kinase, JNK)、p38 MAPK、ERK1 等 MAPK 家族成员及其他激酶磷酸化,表明 TMPRSS13 磷酸化与 MAPK 通路活化相关。细胞衰老是衰老的重要驱动因素^[25],其标志是生长和复制停滞^[26],细胞衰老过程中增殖也受到影响^[27],而 TMPRSS13 表达沉默可减少增殖,表明 TMPRSS13 与衰老密切相关。组学分析表明,金银花能显著下调 D-gal 诱导的衰老小鼠肾中 miR-146b-3p 的表达,并进一步上调 Tmprss13 的表达,它们受同一个靶基因的调控。通过以上研究表明,miR-146b-3p 与 Tmprss13 均与 MAPK 信号通路中的 p38 MAPK 信号通路有关^[22-25],因此提出:金银花通过抑制 miR-146b-3p 的表达进一步激活 Tmprss13 以延缓肾衰老,MAPK 信号通路或也参与了这个过程,具体机制有待进一步研究发现。

ABDEL-LATIF 等^[28]研究发现,miR-150-3p 参与 MAPK 信号通路的调节,抑制 miR-150-3p 通过抑制 MAPK 信号通路以减轻炎症反应。最近研究表明,miR-150-3p 是由氧化应激触发的^[29],炎症和氧化应激都是衰老的诱因,在衰老小鼠的肾中,炎症和氧化应激水平显著增加^[30]。因此,抑制 miR-150-3p 可通过减轻 MAPK 信号通路介导的炎症反应以延缓肾衰老。CHENG 等^[31]通过转录组学测序,确定了含溴结构域和 PHD 指蛋白

1 (bromodomain and PHD finger containing 1, BRPF1) 可参与细胞衰老, 而细胞衰老是衰老的标志^[32]。在对 Brpf1 的研究中发现, Brpf1 拥有 N-糖基化、蛋白激酶 C 磷酸化、酪氨酸激酶磷酸化、酪蛋白激酶磷酸化等位点, 这些位点与 MAPK 通路的调控密切相关, 它们通过直接激活或抑制通路组分或间接影响信号传导, 可知 Brpf1 与衰老密切相关, 与 MAPK 通路也有所联系^[33]。本研究发现, 金银花通过下调 miR-150-3p 和 Brpf1, 从而影响衰老相关基因的表达, 其相关机制和通路需进一步进行研究, MAPK 信号通路在其中的作用也有待探索。

miR-1934-5p 由 miR-1934 前体 (pre-miR-1934) 的 5' 端加工而来, miR-1934 是一种重要的抗炎因子, LIU 等^[34]研究表明, miR-1934 在脂肪细胞中发挥抗炎作用, 且在包括肾在内的多脏器中检测到了 miR-1934 的表达, 因此, miR-1934 与炎症介导的肾衰老相关。CLN8 跨膜内质网及内质网-高尔基体中间室蛋白 (CLN8 transmembrane ER and ERGIC protein, CLN8) 是一种内质网货物受体和溶酶体生物发生的调节因子, 其功能丧失会导致神经元蜡样脂褐质沉积症, MARCHESE 等^[35]首次提出: CLN8 功能障碍会损害自噬。自噬是介导溶酶体中蛋白质和细胞器降解的重要细胞过程, 在衰老中具有核心作用, 不同类型自噬的细胞功能的多样性以及自噬与其他衰老决定因素的相互作用, 使自噬成为衰老过程的中心^[36]。目前对于 miR-1934-5p 和 Cln8 相关的研究较少, 但现有研究表明它们均与衰老有关, 本研究的组学结果显示, 金银花能通过下调 miR-1934-5p 和 Cln8 的表达延缓肾衰老, 其机制尚不明确, 炎症和自噬或是重要因素。

MAPK 通路是一种关键的炎症途径, 研究表明, 金银花中的绿原酸对 MAPK 中 JNK 的活性存在抑制作用^[37]。JNK 的激活会增加促炎细胞因子和其他炎症介质的产生^[38]。炎症会引起慢性肾病、急性肾损伤等肾衰老相关疾病的发生^[39], 加速肾衰老的进程。氧化应激对肾衰老具有双向调节作用, 它被确定为促进肾衰老过程的关键因素, 在衰老的肾中, SASP 的分泌会加剧氧化应激^[40], 因此, MAPK 信号通路可通过调控炎症和氧化应激来影响肾衰老。此外, MAPK 信号通路

可控制基因表达、细胞分裂、增殖和细胞凋亡等多种生物过程^[41], 衰老会导致 MAPK 的激活不平衡, 扰乱细胞代谢, 破坏自噬和其他看家作用, 抑制细胞分裂, 诱导炎症和免疫衰老, 导致干细胞耗竭并诱导衰老、细胞凋亡或癌症^[42], 可见 MAPK 信号通路在肾衰老中发挥重要作用。Ecsit 是炎症基因表达的正调节因子, 在 SOLER-LÓPEZ 等^[43]对阿尔兹海默症的研究中, ECSIT 作为氧化应激、炎症和线粒体功能障碍之间的整合中心而存在。最近研究表明, ECSIT 的表达会随着年龄的增长而降低^[44]。在眼移植抗宿主病小鼠角膜中, ECSIT 参与了 MAPK 信号传导^[45]。ECSIT 的缺失会降低 ATP 产生, 并增加线粒体 ROS^[46]。“衰老自由基理论”指出, 与年龄相关的线粒体功能障碍导致 ROS 的产生增加, 随后的氧化应激条件导致细胞损伤, 从而促进衰老表型和年龄相关疾病的发展^[47]。本研究通过 miRNA 转录组学和蛋白质组学分析筛选出 *LJREcsit* 是 MAPK 信号通路中的关键调控因子, 金银花可能通过激活 *LJREcsit* 抑制 MAPK 信号通路以延缓肾衰老。

综上所述, 金银花可能通过调控关键的 miRNA-蛋白质互作网络或调控 *LjREcsit*-MAPK 调控轴, 以延缓 D-gal 诱导的肾衰老。这些发现不仅揭示了金银花在延缓肾衰老方面的潜力, 还拓宽了对中药干预年龄相关性肾疾病的理解, 为衰老引发的肾疾病提供了新型治疗策略。

参 考 文 献 (References)

- [1] FANG Y, GONG A Y, HALLER S T, et al. The ageing kidney: molecular mechanisms and clinical implications [J]. Ageing Res Rev, 2020, 63: 101151.
- [2] HA S, KIM H W, KIM K M, et al. PAR2-mediated cellular senescence promotes inflammation and fibrosis in aging and chronic kidney disease [J]. Aging Cell, 2024, 23 (8): e14184.
- [3] SUN L, XU L, DUAN T, et al. CAV1 exacerbates renal tubular epithelial cell senescence by suppressing CaMKK2/AMPK-mediated autophagy [J]. Aging Cell, 2025, 24 (5): e14501.
- [4] JAIN A, JUNG H J, AUBEE J, et al. Role of NHERF1 in microRNA landscape changes in aging mouse kidneys [J]. Biomolecules, 2024, 14 (9): 1048.
- [5] ZHENG S, LIU S, HOU A, et al. Systematic review of *Lonicerae Japonicae* Flos: a significant food and traditional Chinese medicine [J]. Front Pharmacol, 2022,

- 13; 1013992.
- [6] WARNSMANN V, HAINBUCH S, OSIEWACZ H D. Quercetin-induced lifespan extension in *Podospora anserina* requires methylation of the flavonoid by the O-methyltransferase PaMTH1 [J]. Front Genet, 2018, 9: 160.
- [7] ZHU J, JIA Y, WANG C, et al. *Lonicera japonica* polysaccharides improve longevity and fitness of *Caenorhabditis elegans* by activating DAF-16 [J]. Int J Biol Macromol, 2023, 229: 81–91.
- [8] LAI K H, CHEN Y L, LIN M F, et al. *Lonicerae Japonicae* Flos Attenuates neutrophilic inflammation by inhibiting oxidative stress [J]. Antioxidants, 2022, 11(9): 1781.
- [9] MURO P, JING C, ZHAO Z, et al. The emerging role of honeysuckle flower in inflammatory bowel disease [J]. Front Nutr, 2025, 12: 1525675.
- [10] WANG D, YU X, GAO K, et al. Sweroside alleviates pressure overload-induced heart failure through targeting CaMK II δ to inhibit ROS-mediated NF- κ B/NLRP3 in cardiomyocytes [J]. Redox Biol, 2024, 74: 103223.
- [11] LIN H W, LEE Y J, YANG D J, et al. Anti-inflammatory effects of *Flos Loniceræ Japonicæ* water extract are regulated by the stat/nf- κ b pathway and ho-1 expression in virus-infected RAW_{264.7} cells [J]. Int J Med Sci, 2021, 18(11): 2285–2293.
- [12] GAO Q, CHEN F, ZHANG L, et al. Inhibition of DNA methyltransferase aberrations reinstates antioxidant aging suppressors and ameliorates renal aging [J]. Aging Cell, 2022, 21(1): e13526.
- [13] 张莹莹, 王银环, 史亚, 等. 金银花水煎剂对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的抗氧化作用 [J]. 浙江中医药大学学报, 2014, 38(3): 321–326.
- ZHANG Y Y, WANG Y H, SHI Y, et al. Antioxidant effect of *Lonicera japonica* extract in D-galactose induced aging model mice [J]. J Zhejiang Chin Med Univ, 2014, 38(3): 321–326.
- [14] 钟赣生. 中药学 [M]. 3 版. 北京: 中国中医药出版社; 2012.
- ZHONG G S. Chinese materia medica [M]. 3rd ed. Beijing: China Press of Traditional Chinese Medicine; 2012.
- [15] 徐叔云. 药理实验方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2002.
- XU S Y. Pharmacological experimental methodology [M]. Beijing: People's Medical Publishing House; 2002.
- [16] QU Y, GUO Y, LI W, et al. The improvement of *Coreopsis tinctoria* essential oil on learning and memory impairment of d-galactose-induced mice through Nrf2/NF- κ B pathway [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 994705.
- [17] SUN K, YANG P, ZHAO R, et al. Matrine attenuates D-galactose-induced aging-related behavior in mice via inhibition of cellular senescence and oxidative stress [J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 7108604.
- [18] 彭腾腾, 王信, 李海燕, 等. 紫斑牡丹花粉对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的影响 [J]. 中国药理学通报, 2024, 40(4): 730–739.
- PENG T T, WANG X, LI H Y, et al. Effects of *Paeonia rockii* pollen on D-galactose aging model mice [J]. Chin Pharmacol Bull, 2024, 40(4): 730–739.
- [19] 陈雪茹, 丁鹏鹏. 中和医派优质护理干预腹腔镜下阑尾炎手术患者临床研究 [J]. 光明中医, 2024, 39(14): 2915–2918.
- CHEN X R, DING P P. High-quality nursing interventions on patients undergoing laparoscopic appendectomy based on Zhonghe medical school [J]. Guangming J Chin Med, 2024, 39(14): 2915–2918.
- [20] LEE H J, FELIERS D, BARNES J L, et al. Hydrogen sulfide ameliorates aging-associated changes in the kidney [J]. Geroscience, 2018, 40(2): 163–176.
- [21] ESPOSITO P, PICCIOTTO D, VERZOLA D, et al. SA- β -gal in kidney tubules as a predictor of renal outcome in patients with chronic kidney disease [J]. J Clin Med, 2024, 13(2): 322.
- [22] MA L, LIU H, SHAO P, et al. Upregulated miR-146b-3p predicted rheumatoid arthritis development and regulated TNF- α -induced excessive proliferation, motility, and inflammation in MH7A cells [J]. BMC Immunol, 2024, 25(1): 36.
- [23] POKHREL R H, ACHARYA S, AHN J H, et al. AMPK promotes antitumor immunity by downregulating PD-1 in regulatory T cells via the HMGB1/p38 signaling pathway [J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 133.
- [24] MURRAY A S, VARELA F A, HYLAND T E, et al. Phosphorylation of the type II transmembrane serine protease, TMPRSS13, in hepatocyte growth factor activator inhibitor-1 and-2-mediated cell-surface localization [J]. J Biol Chem, 2017, 292(36): 14867–14884.
- [25] BI Y, QIAO X, CAI Z, et al. Exosomal miR-302b rejuvenates aging mice by reversing the proliferative arrest of senescent cells [J]. Cell Metab, 2025, 37(2): 527–541.
- [26] WALKER K A, BASISTY N, WILSON D M, et al. Connecting aging biology and inflammation in the omics era [J]. J Clin Investig, 2022, 132(14): e158448.
- [27] ANCER-RODRÍGUEZ J, GOPAR-CUEVAS Y, GARCÍA-AGUILAR K, et al. Cell proliferation and apoptosis—key players in the lung aging process [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(14): 7867.
- [28] ABDEL-LATIF G A, ELWAHAB A H A, HASAN R A, et

- al. A novel protective role of sacubitril/valsartan in cyclophosphamide induced lung injury in rats; impact of miRNA-150-3p on NF- κ B/MAPK signaling trajectories [J]. Sci Rep, 2020, 10: 13045.
- [29] WAN Y, CUI R, GU J, et al. Identification of four oxidative stress-responsive microRNAs, miR-34a-5p, miR-1915-3p, miR-638, and miR-150-3p, in hepatocellular carcinoma [J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 5189138.
- [30] MARQUEZ-EXPOSITO L, TEJEDOR-SANTAMARIA L, VALENTIJN F A, et al. Oxidative stress and cellular senescence are involved in the aging kidney [J]. Antioxidants, 2022, 11(2): 301.
- [31] CHENG C L, TSANG F H, WEI L, et al. Bromodomain-containing protein BRPF1 is a therapeutic target for liver cancer [J]. Commun Biol, 2021, 4: 888.
- [32] ZHANG L, PITCHER L E, YOUSEFZADEH M J, et al. Cellular senescence: a key therapeutic target in aging and diseases [J]. J Clin Invest, 2022, 132(15): e158450.
- [33] 苏宪礼. Brpf1 和 Brpf2 基因产物的结构与功能的初步研究 [D]. 广州: 暨南大学; 2011.
- SU X L. Primary research on the structures and functions of Brpf1 and Brpf2 gene products [D]. Guangzhou: Jinan University; 2011.
- [34] LIU L, LI Q, XIAO X, et al. miR-1934, downregulated in obesity, protects against low-grade inflammation in adipocytes [J]. Mol Cell Endocrinol, 2016, 428: 109–117.
- [35] MARCHESE M, BERNARDI S, OGI A, et al. Targeting autophagy impairment improves the phenotype of a novel CLN8 zebrafish model [J]. Neurobiol Dis, 2024, 197: 106536.
- [36] KAUSHIK S, TASSET I, ARIAS E, et al. Autophagy and the hallmarks of aging [J]. Ageing Res Rev, 2021, 72: 101468.
- [37] TIAN L, SU C P, WANG Q, et al. Chlorogenic acid: a potent molecule that protects cardiomyocytes from TNF- α -induced injury via inhibiting NF- κ B and JNK signals [J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(7): 4666–4678.
- [38] AZIZ A, GANESAN NATHAN K, KAMARUL T, et al. The interplay between dysregulated metabolites and signaling pathway alterations involved in osteoarthritis: a systematic review [J]. Ther Adv Musculoskelet Dis, 2024, 16: 1759720X241299535.
- [39] YOSHIKAWA T, YANAGITA M. Single-cell analysis provides new insights into the roles of tertiary lymphoid structures and immune cell infiltration in kidney injury and chronic kidney disease [J]. Am J Pathol, 2025, 195(1): 40–54.
- [40] ALMALKI W H, SALMAN ALMUJRI S. Oxidative stress and senescence in aging kidneys: the protective role of SIRT1 [J]. EXCLI J, 2024, 23: 1030–1067.
- [41] ZHAO X, HAN D, ZHAO C, et al. New insights into the role of Klotho in inflammation and fibrosis: molecular and cellular mechanisms [J]. Front Immunol, 2024, 15: 1454142.
- [42] TABIBZADEH S. Signaling pathways and effectors of aging [J]. Front Biosci, 2021, 26(1): 50–96.
- [43] SOLER-LÓPEZ M, BADIOLA N, ZANZONI A, et al. Towards Alzheimer's root cause: ECSIT as an integrating hub between oxidative stress, inflammation and mitochondrial dysfunction. Hypothetical role of the adapter protein ECSIT in familial and sporadic Alzheimer's disease pathogenesis [J]. Bioessays, 2012, 34(7): 532–541.
- [44] TIMMONS J A, VOLMAR C H, CROSSLAND H, et al. Longevity-related molecular pathways are subject to midlife “switch” in humans [J]. Aging Cell, 2019, 18(4): e12970.
- [45] ASAI K, LEE H K, SATO S, et al. The necroptosis pathway is upregulated in the Cornea in mice with ocular graft-versus-host disease [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2024, 65(10): 38.
- [46] MARQUES-CARVALHO A, SARDÃO V A, KIM H N, et al. ECSIT is essential for RANKL-induced stimulation of mitochondria in osteoclasts and a target for the anti-osteoclastogenic effects of estrogens [J]. Front Endocrinol, 2023, 14: 1110369.
- [47] BOLDUC J A, COLLINS J A, LOESER R F. Reactive oxygen species, aging and articular cartilage homeostasis [J]. Free Radic Biol Med, 2019, 132: 73–82.

[收稿日期] 2025-09-05