

• 综 述 •

衰老过程中端粒、线粒体及干细胞功能的相关性*

熊 娟 综述,徐笑红[△] 审校
(浙江省肿瘤医院检验科,杭州 310022)

关键词:端粒; 线粒体; 干细胞; 衰老

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.08.027

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)08-1082-03

医学的进步将人类预期寿命延长了近一倍,但揭示衰老进程的细节仍面临很多挑战。人类衰老进程一方面受外部因素(如饮食摄入)及内源性应激[如活性氧自由基(ROS)及端粒损耗]的影响,另一方面亦受调控 DNA 修复的遗传因子影响^[1],如通过 DNA 有效修复及抗氧化机制保持基因组完整性,p53 抑癌通路的激活,线粒体储备和功能的稳健性等。但目前对上述途径和进程如何共同促进或延缓了衰老的进程仍不清楚。越来越多的证据提示,推动衰老、干细胞储备凋亡性损耗,及增龄性组织变性的核心要素是端粒介导的 DNA 损伤信号。本综述将端粒损伤与干细胞和线粒体功能紊乱联系起来。虽然机体各组织类型不同、增殖特征各异,但均可针对端粒如何影响衰老这一命题,提供相关依据。

1 端 粒

1.1 端粒与衰老 端粒是人类染色体末端起修饰作用的特殊结构,早期发现端粒最重要的作用是维持染色体的完整性,而这种核蛋白帽结构的维持有赖于端粒酶,充分的端粒酶活性和稳定的端粒长度,对细胞的复制潜能和生物体衰老过程具有重要意义^[2]。对成纤维细胞的研究中发现,细胞分裂过程伴随端粒逐渐损耗,在经过有限次的细胞分裂后,最终进入增殖停止状态(或称细胞衰老状态),这种限制称为 Hayflick 极限。若超越 Hayflick 极限,将促使端粒进一步损耗,进入染色体断裂-融合-断裂桥的事件循环,引发严重的染色体不稳定状态,并最终引起复制性衰老或凋亡^[3]。

数项突破性进展开创了端粒研究体系,在体外培养的人成纤维细胞中高度表达端粒酶催化亚基-端粒酶逆转录酶(TERT),细胞可保持端粒长度及无限的复制潜能,而无恶变特性^[4]。Cawthon 等^[5]对 60 岁以上的人群研究中发现,外周血白细胞端粒缩短的个体具有较高的死亡率,而 Honig 等^[6]对该观点持保留意见,但认为端粒长度确实与健康生活年限存在正相关,这一结论也得到了 Atzmon 等^[7]的证实,在对百岁老人及其后代的研究中发现,端粒长度与长寿之间亦为正相关,特别是端粒较长者总体健康状况(如增龄性疾病、认知功能和血脂水平)较对照组为佳。该观点在转基因小鼠的动物模型中得到进一步证实,Bär 等^[8]对 TERT 转基因小鼠模型中(该小鼠引入了野生型 p53 基因位点的额外拷贝)发现,TERT 过表达导致中位寿命增加,并伴年轻化的特征,如表皮增厚、皮炎减轻、胃炎和肠炎减轻伴体内肠黏膜屏障功能改善,以及离体表皮干细胞克隆活性增强,这提示 TERT 过表达可稳定表皮干细胞的端粒,且野生型端粒长度可影响干细胞活性。针对一系列的遗传性退行性疾病的研究推测,端粒对保持人群寿命具有重要意义。Kirwan 等^[9]对先天性角化不良症研究发现,该

病患者携带负责编码 RNA 模板的端粒酶 RNA 组分(TERC)或 TERT 突变,其端粒长度和寿命均缩短,且具有衰老加速征象,伴发的骨髓衰竭可增加致命性感染风险。沃纳综合征是罕见的常染色体隐性遗传疾病,也是一种早老综合征,Kudlow 等^[10]发现沃纳综合征患者成纤维细胞显示端粒损耗加速和早衰,并可通过促进 TERT 的表达来缓解这一现象,该患者青春期前发育正常,青春期则生长停滞,并开始出现多种进行性早老病变,预期的中位寿命缩短为 47~48 岁,这些均提示端粒与衰老进程相关。除了遗传性疾病,端粒也与获得性退行性疾病相关,最突出的是肝硬化,该病表现为端粒储备进行性下降,而肝细胞更新加快,导致肝细胞持续增殖中止并凋亡,最终肝功能衰竭^[11]。关于端粒在疾病中的作用,另一个突出的表现是,端粒长度的保持与心理应激水平及精神疾病风险相平行^[12]。在 20~50 岁女性,心理应激水平最高者,其外周血白细胞端粒长度最短,端粒酶活性最低,表明该组人群处于最高水平的氧化应激^[13]。耐人寻味的是,对于慢性心理应激者寿命则较短,典型增龄性疾病(如心血管疾病、免疫功能低下)发病较早^[13]。而自主神经内分泌系统的激活,促使糖皮质激素诱导 ROS 增加,可能是造成端粒损耗加速和端粒直接损伤的根本原因,进一步的推论认为,受损端粒无法有效修复的原因可能在于端粒酶活性较低,且端粒固有的屏蔽效应可阻止 DNA 修复机制^[14]。故受损端粒可能成为持续性 DNA 损伤信号的会合点,继发 p53 持续激活,导致衰老或癌症的发生。

1.2 端粒酶基因敲除小鼠 通过 TERT 或 TERC 基因敲除小鼠的制备和鉴定,从体内角度确定了端粒与衰老、退行性疾病和癌症发生的相关性及具有的特定功能。值得注意的是,TERT 或 TERC 基因敲除小鼠的健康状况和表型似乎未受影响,推测端粒酶活性对小鼠生存并无大碍^[15]。端粒酶基因敲除小鼠第 1 代(G1)可完全存活,染色体完整,并拥有长端粒,因此较少有生理异常表现,这可能与端粒储备尚足以维持端粒加帽的功能有关;而在衰老过程中,G1 小鼠退行性症状的发生要早于同龄 TERC 野生型小鼠。将端粒酶基因敲除小鼠杂交产生的后代小鼠进行分析,TERT^{-/-}小鼠第 2 代(G2)则表现为端粒的极度缩短和染色体末端-末端融合。后代(G3 及以后)的 TERT^{-/-}小鼠的寿命缩短、机体衰退、繁殖能力下降、组织萎缩伴器官功能受损^[16]。TERT^{-/-}后代小鼠的上述退行性表型的严重程度与端粒功能紊乱相平行;端粒功能可通过测定染色体融合和分裂后期桥体的数目加以判断,亦可通过测定端粒部位 DNA 损伤位点数目实现^[17]。这些小鼠衰老过程中会出现多种退行性病症,寿命缩短,且癌症发生有所增加,进一步强化了端粒与衰老进程存在相关性的观点。

* 基金项目:浙江省医药卫生科技项目(2016KYA044)。

[△] 通信作者,E-mail:zjhzzxh@163.com。

2 组织干细胞

2.1 组织干细胞与衰老 人体终生具有非凡的能力,以保持广泛和持续的组织更新,这种持续的自我更新能力源于组织干细胞库的维护。在衰老和再生研究领域,组织干细胞日益受到重视;越来越多的证据表明,增龄性生理衰退会同时伴有增殖反应削弱和驻留组织干细胞异向分化^[18]。下面以典型的造血干细胞(HSCs)为例进行详述,HSCs 随着年龄的衰老,细胞内源性和外源性因素会共同导致衰老 HSCs 的整体功能衰退,发生再生潜能降低和分化失调。虽然老年 HSCs 的自我更新能力可能会增强,但其再生能力下降,特别在应激条件下。重要的是,衰老 HSCs 分化程序的改变导致淋巴系祖细胞(CLP)生成减少,而年轻 HSCs 则以相同的速率生成髓系祖细胞(CMP)。这与临床上的研究结论类似,临床上将 CLP、成熟 B 细胞和 T 细胞数量的减少称为免疫衰老。与 HSCs 功能相关的外源性因素可能包括细胞基质组分和细胞因子谱的改变,从而启动定向分化程序,引发诸如淋巴细胞生成增加,髓细胞生成减少等变化;其他增龄性变化也可能会影响成骨细胞和血管内皮细胞,并显示可调节 HSCs 功能。同时,上述可更新的干细胞库中,有研究发现某些细胞可能有恶化倾向,从而对衰老个体造成负面影响^[19]。

2.2 端粒与干细胞稳态 端粒功能紊乱所致的 DNA 损伤可表现为早衰和寿命缩短,致各组织干细胞储备近乎枯竭,并见广泛的组织萎缩,其主因在于 DNA 损伤引起 p53 介导的细胞增殖抑制、衰老和/或凋亡消除效应^[15]。端粒在退行性疾病和癌症中的作用,目前研究多源于端粒酶基因敲除小鼠,且聚焦于端粒帽的功能;而在干细胞生物学研究中有关端粒酶功能的新证据,已不再涉及其端粒维持功能。在某项转基因研究中,促使 TERT 基因在皮肤中的高表达,显示可激活静态毛囊干细胞,刺激毛发生长;这种 TERT 诱导的干细胞激活效应与 TERT 的经典的端粒合成功能并无关联,因为在端粒酶缺陷(TERC-/-)或酶失活型 TERT 转基因背景下,TERT 的这一功能同样存在^[20]。Maida 等^[21]研究指出 TERT 可与线粒体 RNA 处理核糖核酸内切酶(RMRP)的 RNA 部分结合生成 dsRNA,这种作用独立于其使端粒伸长的能力,这种 TERT 的端粒非依赖性功能在组织干细胞稳态中可实现,TERT 在此领域的研究受到高度重视。这是由于 RMRP 复合体涉及广泛的细胞和线粒体功能,且 RMRP 突变患者可表现为软骨-毛发发育不全(一种遗传性矮小症),以多器官功能衰竭为特征,主要见于高度增殖器官,与可能的干细胞衰竭相一致。因此,针对 TERT 越来越多的关注已经超越其端粒维持功能,而在于其可能与线粒体和干细胞的功能优化相关,进而影响到增龄性进程。

3 线粒体

3.1 线粒体与衰老 人们逐渐认识到,线粒体功能完整对于干细胞的维护至关重要;已证实在线粒体 DNA 聚合酶 γ 基因突变小鼠中,由于线粒体 DNA 突变增加,导致 HSCs 功能受损、严重贫血及淋巴细胞减少^[22]。最新证据还表明,B 细胞特异性单克隆鼠白血病病毒整合位点基因 1(BMI1)缺失,可致线粒体功能降低,表现为电子传递流量降低,引发 ROS 浓度增加和干细胞受损^[23]。而在转录因子叉头框蛋白(FOXO)缺陷致氧化防御功能缺失的情况下,证实 ROS 可加速端粒缩短,并激活 p53-p21 轴,同时调节必要的信号通路以保持机体干细胞的稳定^[24]。Kolesar 等^[25]对小鼠早衰模型的研究中发现,这些小鼠均具有过量的线粒体 DNA 突变,或缺乏线粒体生物合成和代谢的主调因子过氧化物酶体增殖活化受体 Y 辅助活化因

子 1(PGC-1),导致线粒体功能衰退,细胞 ATP 生成不足,最终发生器官萎缩和功能衰退。

3.2 端粒与线粒体 受损端粒所致的基因毒性应激是造成增龄性功能衰退的基础,笔者提出一种模型,来描述存在于端粒、线粒体及干细胞功能间的相关机制:即线粒体功能紊乱是导致基因毒性损害循环加重的基础,该循环可能为 p53 激活、端粒损耗、线粒体功能紊乱、ROS 浓度增加,再进一步损伤 DNA^[1]。特别是线粒体储备减少和功能降低可见老年人群,导致 ROS 生成增加,基因毒性损害增加造成端粒迅速损耗,继发持续的 p53 激活,线粒体功能进一步衰退,又会产生更多的 ROS,如此恶性循环^[24]。如图 1 所示,以端粒为核心,其与衰老过程中几乎所有的重要遗传成分均能实现结合。首先,其可解释端粒功能紊乱并见早衰表型的原因。其次,可解释线粒体与关键衰老因子(如 PGC-1、FOXO 蛋白及 BMI1)之间的联系;小鼠若缺乏编码这些蛋白的基因,则发生组织变性加速及线粒体功能紊乱^[25]。以“衰老轴”为核心,线粒体与之融为一体,然而其精确的分子机制仍有待揭示。在端粒酶基因敲除小鼠,其大量的有丝分裂后器官可见明显的功能衰退,故我们推测端粒介导的 DNA 损伤信号的激活可能会通过某种未知机制,导致线粒体生物合成和(或)其功能衰退,一旦连接该机制的特异性分子组成得以确定,将使衰老中心轴的基础相统一。

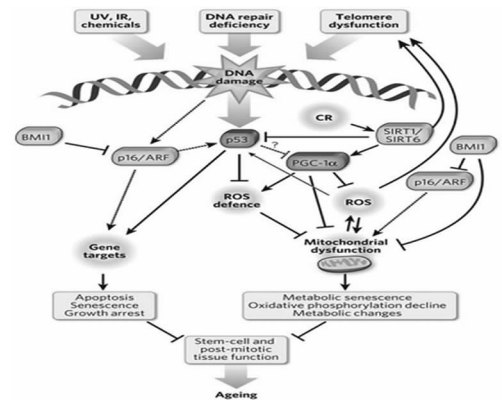


图 1 衰老过程中端粒损伤、线粒体及干细胞功能紊乱间的作用模型

4 结 语

综上所述,人类退行性疾病的研究证据均指向了端粒,其作为关键性的发病因素促成退行性病变、增加癌症风险,并且缩短寿命。端粒储备容量、持续性损害水平,以及端粒帽的状态测定值,均可能成为疾病进展的生物标志物,另方面通过短暂时激活体细胞内源性端粒酶来补充或修复端粒可能提供新的契机以实现主动干预衰老或癌症治疗手段。

参考文献

- [1] Kenyon C. The plasticity of aging: Insights from long-lived mutants[J]. Cell, 2005, 120(4): 449-460.
- [2] Martinez P, Blasco MA. Telomeric and extra-telomeric roles for telomerase and the telomere-binding proteins[J]. Nat Rev Cancer, 2011, 11(3): 161-176.
- [3] Maciejowski J, Li YL, Bosco N, et al. Chromothripsis and kataegis induced by telomere crisis[J]. Cell, 2015, 163(7): 1641-1654.
- [4] Mackenzie KL, Franco S, May C, et al. Mass cultured human fibroblasts overexpressing hTERT encounter a growth crisis following an extended period of proliferation

- [J]. *Exp Cell Res*, 2000, 259(2): 336-350.
- [5] Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, et al. Association between telomere length in blood and mortality in People aged 60 years or older[J]. *Lancet*, 2003, 361(9355): 393-395.
- [6] Honig LS, Kang MS, Schupf N, et al. Association of shorter leukocyte telomere repeat length with dementia and mortality[J]. *Arch Neurol*, 2012, 69(10): 1332-1339.
- [7] Atzmon G, Cho M, Cawthon RM, et al. Evolution in health and medicine Sackler colloquium: Genetic variation in human telomerase is associated with telomere length in Ashkenazi centenarians[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(Suppl 1): 1710-1717.
- [8] Bär C, Blasco MA. Telomeres and telomerase as therapeutic targets to prevent and treat age-related diseases[J]. *F1000 Research*, 2016, 5: F1000 Faculty Rev-89.
- [9] Kirwan M, Dokal I. Dyskeratosis congenita, stem cells and telomeres[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1792(4): 371-379.
- [10] Kudlow BA, Kennedy BK, Monnat J. Werner and Hutchinson-Gilford progeria syndromes: mechanistic basis of human progeroid diseases[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(5): 394-404.
- [11] Carulli L, Anzivino C. Telomere and telomerase in chronic liver disease and hepatocarcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(20): 6287-6292.
- [12] Elvsashagen T, Vera E, Boen E, et al. The load of short telomeres is increased and associated with lifetime number of depressive episodes in bipolar II disorder[J]. *J Affect Disord*, 2011, 135(1/3): 43-50.
- [13] Epel ES, Lin J, Wilhelm FH, et al. Cell aging in relation to stress arousal and cardiovascular disease risk factors[J]. *Psychoneuroendocrinology*, 2006, 31(3): 277-287.
- [14] Latorrepellicer A, Morenoloshuertos R, Lechugavieco AV, et al. Mitochondrial and nuclear DNA matching shapes metabolism and healthy ageing[J]. *Nature*, 2016, 535(7613): 561.
- [15] Farazi PA, Glickman J, Horner J, et al. Cooperative interactions of p53 mutation, telomere dysfunction, and chronic liver damage in hepatocellular carcinoma progression[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(9): 4766-4773.
- [16] Liu L, Blasco M, Trimarchi J, et al. An essential role for functional telomeres in mouse germ cells during fertilization and early development[J]. *Dev Biol*, 2002, 249(1): 74-84.
- [17] Rai R, Chang S. Monitoring the DNA Damage Response at Dysfunctional Telomeres [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1343: 175-180.
- [18] Mandal PK, Blanpain C, Rossi DJ. DNA damage response in adult stem cells: pathways and Consequences[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2011, 12(3): 198-202.
- [19] Balakumaran A, Mishra PJ, Pawelczyk EA, et al. Bone marrow skeletal stem/progenitor cell defects in dyskeratosis congenita and telomere biology disorders[J]. *Blood*, 2015, 125(5): 793-802.
- [20] Sarin KY, Cheung P, Gilson D, et al. Conditional telomerase induction causes proliferation of hair follicle stem cells [J]. *Nature*, 2005, 436(753): 1048-1052.
- [21] Maida Y, Yasukawa M, Furuuchi M, et al. An RNA-dependent RNA polymerase formed by TERT and the RM-RP RNA[J]. *Nature*, 2009, 461(7261): 230-U104.
- [22] Chen ML, Logan TD, Hochberg ML, et al. Erythroid dysplasia, megaloblastic anemia, and impaired lymphopoiesis arising from mitochondrial dysfunction[J]. *Blood*, 2009, 114(19): 4045-4053.
- [23] Liu J, Cao L, Chen JC, et al. Bmi1 regulates mitochondrial function and the DNA damage response pathway[J]. *Nature*, 2009, 459(7245): 387-U100.
- [24] Passos JF, Saretzki G, Von Zglinicki T. DNA damage in telomeres and mitochondria during cellular senescence; is there a connection[J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(22): 7505-7513.
- [25] Kolesar JE, Safdar A, Abadi A, et al. Defects in mitochondrial DNA replication and oxidative damage in muscle of mtDNA mutator mice[J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 75(75): 241-251.

(收稿日期: 2016-09-16 修回日期: 2016-11-17)

• 综述 •

循环肿瘤细胞的检测及临床应用*

李亚男¹综述, 余秋波^{2△}审校

(1. 重庆医科大学附属第一医院中西医结合科, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学分子医学检测中心, 重庆 400016)

关键词: 循环肿瘤细胞; 检测方法; 临床应用

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2017. 08. 028

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)08-1084-04

恶性肿瘤目前已成为威胁全世界人民健康的主要疾病之一, 肿瘤的高病死率不得不引起我们的重视, 其中我国以肺癌、

胃癌、直肠癌、乳腺癌、前列腺癌等高发。虽然近年来在肿瘤的诊断、治疗上已有了很大的进步, 但是肿瘤的高复发、高转移率

* 基金项目: 重庆市科委社会事业与民生保障科技创新专项(cstc2015shmszx120049)。

△ 通信作者, E-mail: yqb76712@gmail. com。