

文章编号: 1001-6325(2022)08-1288-04

短篇综述

干细胞衰老的研究进展

祝思路, 罗丹*

(南昌大学 基础医学院, 江西 南昌 330006)

摘要:干细胞在许多领域具有广泛的治疗潜力,成为再生医学和组织工程研究中的重要种子细胞,但干细胞衰老会影响其临床应用。通过对衰老的干细胞进行有效的治疗干预,干细胞将为临床带来更大的希望。为积极探索延缓干细胞衰老的方法和机制提供干预措施,将有助于开发新的合理治疗策略。

关键词:干细胞;干细胞衰老;抗衰老

中图分类号:R34 文献标志码:A

DOI:10.16352/j.issn.1001-6325.2022.08.1288

Research progress of stem cells aging

ZHU Si-lu, LUO Dan*

(School of Basic Medicine, Nanchang University, Nanchang 330006, China)

Abstract: Stem cells have broad therapeutic potential in many fields and have been used as seed cells in regenerative medicine and tissue engineering research. However, stem cell aging is a challenge to their clinical applications. By performing effective therapeutic interventions for aging stem cells, stem cells will bring greater hope for clinical practice. This review summarizes the latest advances in stem cells biology, so to delay aging of stem cells by potential intervention to the aging process. The results of research in this field will contribute to the development of new rational treatment strategies.

Key words: stem cells; stem cell aging; anti-aging

干细胞(stem cell)是一类具有自我复制能力的多潜能细胞,是一种未充分分化,尚不成熟的细胞,具有再生各种组织器官和人体的潜在功能,医学界称为“万用细胞”。在一定条件下,它可以分化成多种功能细胞。根据干细胞所处的发育阶段分为胚胎干细胞(embryonic stem cell, ES cell)和成体干细胞(somatic stem cell),最具特征的成体干细胞是造血干细胞。虽然干细胞有能够自我更新并分化为组织内多种细胞类型的能力,但仍然易于损伤累积。

干细胞在细胞谱系中的位置使其功能障碍比其他类型的细胞更具影响力^[1],干细胞衰老会导致干细胞丧失其谱系特异性,并产生无功能的分化产物,即使干细胞的数量可能不受影响,也会导致组织完整性的丧失和生理功能的下降,干细胞也可能失去自我更新的能力。

1 干细胞衰老模型的建立

干细胞衰老模型对研究衰老的组织特异性和机

收稿日期:2021-05-17 修回日期:2021-10-09

基金项目:国家自然科学基金(81860642)

*通信作者(corresponding author):thinker_20080502@126.com

制具有重要价值,衰老的研究要么在系统水平上使用动物建立衰老模型,要么在细胞水平上使用哺乳动物的细胞或酵母建立衰老模型。

1.1 干细胞衰老的动物模型

加速衰老的小鼠模型虽不是人类自然衰老的完美模型,但是,为模拟人类衰老而生成的小鼠模型具有转化潜力,可以发现人类衰老相关疾病的治疗方法。有研究表明,在经环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX2)改造后的转基因小鼠模型中,与野生型同窝仔相比,COX2转基因小鼠的寿命显著降低,所有的COX2转基因小鼠都表现出至少一种过早衰老的表型,这暗示了COX2作为控制年龄相关疾病的潜在靶标^[2]。高脂饮食(high fat diet, HFD)会缩短小鼠的寿命,并且也是诱发人类多种疾病的危险因素。对HFD的小鼠肺上皮和干细胞及其与衰老相互作用的研究发现,HFD不仅加重了老年小鼠的某些衰老变化,而且在幼龄小鼠中也引起了“衰老样”变化。此外,HFD诱导了小鼠肺部的一些炎症反应和功能变化,并加剧了衰老引起的肺部炎症反应和线粒体退化,包括线粒体数量和功能的降低^[3]。另外,性别也是重要的考虑因素,有实验比较了雄性和雌性Apc Min/+小鼠对含雷帕霉素饮食慢性治疗的反应,发现慢性雷帕霉素在野生型小鼠中延长寿命具有性别依赖性,雌性获得最大益处^[4]。

1.2 干细胞衰老的细胞模型

通常,建立干细胞衰老的细胞模型有两种方式。一种方式是,细胞逐渐达到其增殖极限,并在复制性衰老后在体外停止分裂。另一种方式是,干细胞暴露于任一微环境急剧变化的体内或体外,导致过早衰老,称为诱导衰老。诱导方式有高糖诱导、H₂O₂诱导、辐射诱导、特定药物诱导等。其中H₂O₂诱导最为普遍,且对于多种细胞均有效,而高糖诱导更具临床意义。有研究用50、100和150 μmol/L不同浓度的H₂O₂处理脂肪干细胞并评估细胞活力,发现在150 μmol/L时细胞活力急剧降低,表现出致命的氧化应激。相反,在50 μmol/L下的存活力与对照细胞相当,表明氧化应激最小。但在100 μmol/L时细胞增殖却被抑制了50%~60%,确定为引起衰老而不引起细胞凋亡的最佳浓度^[5]。此外,有研究比较了来自非糖尿病(nondiabetic adipose-tissue-derived mesenchymal stem cells, nASCs)和糖尿病(di-

abetic adipose-tissue-derived mesenchymal stem cells, dASCs)供体的脂肪组织来源的间充质干细胞(adipose tissue-derived mesenchymal stem cells, ASCs)的葡萄糖代谢,数据表明,葡萄糖升高会降低dASC和nASC的增殖能力。另外,高糖环境也影响了牙周膜干细胞(periodontal ligament stem cells, PDLSCs)的成骨能力^[6]。

2 加速及延缓干细胞衰老的因素

干细胞衰老本质上是复杂的,对不同层次上发生的变化较为敏感,极易受害。内部原因包括端粒缩短、基因组的不稳定、线粒体DNA突变等。外部原因如高脂高糖、炎症反应,涉及信号通路的表观遗传反应等。干细胞衰老是机体衰老和各种相关疾病发生的重要驱动力,探明干细胞衰老因素有助于逆转器官和机体功能的退化。

2.1 加速干细胞衰老

除了自然老化之外,在病理条件下,不利的微环境也可能导致干细胞衰老。干细胞的功能障碍与肥胖,代谢综合征和炎症反应有关。细胞损伤和炎症损伤会导致衰老细胞的积累,氧化应激是各种病理生理过程的重要因素,氧化应激状况可能是由于活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)形成增加或抗氧化剂活性降低,或两者兼而有之。由于ROS和炎症反应紧密地交织在一起,因此中等程度的氧化应激会导致细胞功能障碍和行为改变,而明显的氧化应激通常会导致细胞死亡^[7]。有研究表明,肥胖会诱导细胞衰老^[8],衰老中炎症细胞因子产生的慢性活化作用会直接影响HSC功能,HSC长期暴露在促炎细胞因子IL-1的环境中会导致早熟的骨髓分化,严重损害HSC功能。此外,还有某些疾病如Werner综合征(Werner syndrome, WS),是由WRN基因突变引起的,导致WRN表达或功能丧失,WRN的丧失促进了间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的过早衰老。

2.2 延缓干细胞衰老

尽管干细胞的某些功能性变化是固有发生的,但其他一些则是由于微环境或生态位的年龄相关性变化而引起的。在基因组,表观基因组和蛋白质组学水平上观察到的内在变化,其中一些变化是潜在可逆的,可使老化的干细胞恢复活力。ASCs在体外

传代过程中使用具有抗衰老和干细胞保护特性的低剂量抗氧化剂(谷胱甘肽和褪黑激素)进行处理。发现谷胱甘肽和褪黑激素可以通过抑制 ASCs 长期扩增过程中的 ROS 生成,来延缓细胞衰老和促进细胞迁移,以及保留干细胞多向分化潜能^[9]。干细胞生态位包括细胞-细胞相互作用,细胞-细胞外基质相互作用,以及大量的可溶性信号传导因子,这些相互作用影响干细胞的各种功能^[10]。代谢在干细胞衰老中的作用近来已成为广泛研究的焦点,越来越多的证据表明代谢信号通路与干细胞衰老密切相关。热量限制(caloric restriction, CR)对干细胞维持和组织再生具有有益作用,CR 可以通过作用于干细胞的生态位和主要的能量信号通路来维持静止的干细胞并增强干细胞的增殖。减少热量摄入而无营养不良或减慢能量代谢途径可减少细胞损伤和细胞内 ROS 的产生,并为干细胞提供有利的微环境以维持其种群和功能^[11]。Klotho 是一种抗衰老基因,编码单程跨膜蛋白 klotho,是一种与干细胞衰老和端粒酶活性有关的蛋白质^[12],可通过多种机制如抗氧化、抗衰老、抗自噬和多种信号通路的调节,包括胰岛素样生长因子和 Wnt 的调节充当衰老抑制剂。干细胞与抗衰老基因一起在延缓衰老过程中起着至关重要的作用,研究表明,当 KL 过表达时,小鼠的寿命会延长,相反,KL 缺乏会引起早衰。在 klotho 缺陷小鼠中观察到,干细胞数量减少,祖细胞衰老增加,皮肤中 Wnt 蛋白和信号传导活性急剧增加,表明维持干细胞数量和功能都需要 klotho^[13]。

3 干细胞衰老的重要主导机制

基因组不稳定性,端粒磨损,表观遗传改变,细胞衰老,干细胞衰竭,线粒体功能障碍,营养感应失调,蛋白稳态丧失和细胞间通讯改变是导致细胞衰老的重要因素。ROS 引起的 DNA 损伤在衰老中最重要方面是 DNA 甲基化水平,它随年龄的变化而变化,通常认为 DNA 低甲基化是衰老过程的一个典型方面^[14]。因此,更好地保持 DNA 甲基化水平,减慢细胞代谢以及通过表观遗传机制改善信号传导的控制可能是人类长寿的关键过程。干细胞的长期再生潜力取决于静止、自我更新和分化之间的微妙平衡,所有这些因素都可能受 ROS 水平影响。ROS 介导的氧化还原反应在细胞信号传导中起着关键作

用,因此,细胞氧化还原状态的改变可以直接调节氧化还原反应转录因子的活性,氧化应激可以触发干细胞的衰老^[15]。干细胞中由炎症反应引起的 ROS 导致其性能下降,从而改变组织的更新或再生。病理性 ROS 的产生可以通过多个步骤来诱导,并且抗氧化剂系统的功能障碍是主要原因^[16]。当干细胞中产生过多的 ROS 时,将直接导致组织更新和再生的恶化。过量的 ROS 会损害干细胞的自我更新,分化能力和增殖^[17]。

4 不同干细胞衰老的区别

根据干细胞定义,所有组织特异性干细胞均具有自我更新的潜力,不同干细胞衰老的机制和对环境改变的反应不尽相同,不同组织中的干细胞是否具有相似的衰老能力还有待研究。将肠道干细胞与造血系统的干细胞进行比较时,发现似乎在这两个组织中衰老有很大不同。在造血系统中,干细胞周转率非常低,而肠中的增殖率却很高^[18]。此外,与骨髓间充质干细胞相比,ADSCs 的增殖和成骨分化能力受年龄和传代的影响较小。

5 抑制干细胞衰老的重要性

干细胞有许多医疗用途,从理论上讲,干细胞或其衍生物可用于恢复因疾病或受伤而丢失或损坏的体内任何组织。目前在研究的潜在疗法的例子包括:联合移植间充质干细胞和内皮祖细胞可以还原阴茎海绵体神经损伤相关的勃起功能障碍^[19],脂肪干细胞可以抑制糖基化介导的炎症级联反应使软骨组织恢复活力,从而促进糖尿病环境中的膝关节完整性^[20]。干细胞是多细胞生命的再生单位,干细胞衰老可能是导致机体衰老和疾病的主要原因。造血干细胞衰竭导致贫血,间充质干细胞下降导致骨质疏松症和骨折,肠上皮干细胞耗竭导致肠功能下降。可见抑制干细胞衰老具有重要意义,在没有损伤的情况下,组织中干细胞以自然增殖速率维持组织稳态来应对伤害。但是,急性损伤后,干细胞的反应会更加强烈。干细胞必须自我更新以重新建立其数量,并必须通过替换丢失的细胞来分化以再生组织。

6 问题与展望

干细胞功能的变化或细胞数量的减少会促进或

加速衰老,植入干细胞以补充新的功能干细胞是减轻与年龄相关疾病的一种手段。衰老研究中的紧迫问题之一是探索维持干细胞功能并延缓衰老过程的分子机制,为基础科研人员提供较为全面的信息,共

同在于干细胞衰老领域发现的问题,更好的找到解决方法,并对临床应用干细胞治疗策略的制定给予一些线索。

参考文献:

- [1] Schultz MB, Sinclair DA. When stem cells grow old: phenotypes and mechanisms of stem cell aging[J]. *Development*, 2016,143;3-14.
- [2] Kim J, Vaish V, Feng M, *et al.* Transgenic expression of cyclooxygenase-2 (COX2) causes premature aging phenotypes in mice[J]. *Aging*, 2016,8:2392-2406.
- [3] Hegab AE, Ozaki M, Meligy FY, *et al.* High fat diet activates adult mouse lung stem cells and accelerates several aging-induced effects [J]. *Stem Cell Res*, 2018, 33: 25-35.
- [4] Parihar M, Dodds SG, Javors M, *et al.* Sex-dependent lifespan extension of FAP mice by chronic mTOR inhibition [J]. *Aging Pathobiol Ther*, 2020,2:187-194.
- [5] Yu X, He Y, Chen Z, *et al.* Autologous decellularized extracellular matrix protects against H₂O₂-induced senescence and aging in adipose-derived stem cells and stimulates proliferation *in vitro* [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39: BSR20182137. doi:10.1042/BSR20182137.
- [6] Zhang K, Liu F, Jin D, *et al.* Autophagy preserves the osteogenic ability of periodontal ligament stem cells under high glucose conditions in rats[J]. *Arch Oral Biol*, 2019, 101:172-179.
- [7] Emmi G, Mannucci A, Argento FR, *et al.* Stem-cell-derived circulating progenitors dysfunction in behçet's syndrome patients correlates with oxidative stress[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2877. doi: 10.3389/fimmu.2019.02877.
- [8] Ogrodnik M, Zhu Y, Langhi LGP, *et al.* Obesity-induced cellular senescence drives anxiety and impairs neurogenesis[J]. *Cell Metab*, 2019,29:1061-1077.
- [9] Liao N, Shi Y, Zhang C, *et al.* Antioxidants inhibit cell senescence and preserve stemness of adipose tissue-derived stem cells by reducing ROS generation during long-term *in vitro* expansion [J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019,10;306.doi:10.1186/s13287-019-1404-9.
- [10] Singh A, Yadav CB, Tabassum N, *et al.* Stem cell niche: dynamic neighbor of stem cells [J]. *Eur J Cell Biol*, 2019,98;65-73.
- [11] Maharajan N, Vijayakumar K, Jang CH, *et al.* Caloric restriction maintains stem cells through niche and regulates stem cell aging[J]. *J Mol Med*, 2020,98;25-37.
- [12] Ullah M, Sun Z. Klotho deficiency accelerates stem cells aging by impairing telomerase activity [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2019,74:1396-1407.
- [13] Bian A, Neyra JA, Zhan M, *et al.* Klotho, stem cells, and aging[J]. *Clin Interv Aging*, 2015,10:1233-1243.
- [14] de Haan G, Lazare SS. Aging of hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 2018,131:479-487.
- [15] Tan DQ, Suda T. Reactive oxygen species and mitochondrial homeostasis as regulators of stem cell fate and function[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018,29:149-168.
- [16] Onodera Y, Teramura T, Takehara T, *et al.* miR-155 induces ROS generation through downregulation of antioxidant-related genes in mesenchymal stem cells [J]. *Aging Cell*, 2017,16:1369-1380.
- [17] Denu RA, Hematti P. Effects of oxidative stress on mesenchymal stem cell biology [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016,2016:2989076.doi:10.1155/2016/2989076.
- [18] Keyes BE, Fuchs E. Stem cells: aging and transcriptional fingerprints [J]. *J Cell Biol*, 2018,217:79-92.
- [19] Fang JF, Huang XN, Han XY, *et al.* Combined transplantation of mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells restores cavernous nerve injury-related erectile dysfunction [J]. *J Sex Med*, 2018,15:284-295.
- [20] Dubey NK, Wei HJ, Yu SH, *et al.* Adipose-derived stem cells attenuates diabetic osteoarthritis via inhibition of glycation-mediated inflammatory cascade [J]. *Aging Dis*, 2019,10;483-496.