

衰老机理的分子生物学研究进展

Progress in the Research of Molecular Biology of Ageing Mechanism

张宗玉 童坦君

(北京医科大学生化与分子生物学系, 北京 100083)

健康与长寿是生命科学永恒的主题。子女的寿命常与双亲的寿命有关,各种动物的平均寿命和最高寿命都相当稳定。由此看来物种的寿命主要决定于遗传物质。衰老过程可能与分化、发育过程相似,系由早已安排好的遗传程序控制。生物成年后,基因组内“衰老基因”开放,其表达产物可能特异地决定生物的寿命。随着分子生物学的发展,研究者已从多个物种找到了与衰老有关的基因,但有关衰老基因产物的功能还了解甚少。此外,某些现象与衰老关系密切,他们与衰老的因果关系正在研究。

一、“衰老基因”、“长寿基因”及其本质

衰老过程存在着遗传程序控制,这一学说具有有力的证据。至于生物体内是否存在专门引起衰老的“衰老基因”或专使寿命延长的“长寿基因”,近年来在生命科学界也进行了某些探索。

1. 真 菌

研究者研究了粗糙脉孢菌的抗氧化酶与寿命的关系。结果表明,超氧化物歧化酶、过氧化氢酶及谷胱甘肽过氧化物酶的活性与其寿命高度相关。而且发现短寿突变菌株缺乏细胞色素 C 过氧化物酶及抗坏血酸自由基还原酶。由此可见,抗氧化酶类的缺乏可能是其短寿的分子基础。

雅格温斯基(Jagwinski)发现衰老的啤酒酵母不能表达一种在年轻细胞中活跃表达的基因 lag-1,如在衰老细胞中使该基因重新活跃,可使酵母寿命延长 1/3。但该基因蛋白质产物是什么、起何作用还不清楚。

2. 蠕 虫

线虫 *C. elegans* 属自交雌雄同体类,易于获得纯合子突变种。约翰逊(Johnson)氏发现一种突变株比原种(野生型)的寿命长 70%,该突变株含有丰富的超氧化物歧化酶、过氧化氢酶。

3. 昆 虫

谢泼德(Shepherd)(1989)报道,果蝇衰老时,

其延长因子(EF)1a 的活性下降,如用 EF1a 基因转化果蝇生殖细胞,使其所含 EF1a 基因增多,可使培养所得的新品种比其他果蝇的寿命长 40%。此外,加州大学的罗斯(Rose)培养出了一种寿命几乎两倍于野生型的果蝇。此种果蝇体脂与糖原储存较多,含有活性很高的超氧化物歧化酶。以上关于“衰老基因”的研究综合来看,氧自由基似确有加速衰老的作用,而消除氧自由基的酶类似有一定的延缓衰老作用。

4. 哺乳类

据报道中华田鼠 X 染色体中含一个以上衰老基因,衰老基因的丢失和失活可引起细胞永生性。

5. 人 类

人第 4 号染色体可使永生化的 HeLa 细胞发生衰老。苏加瓦拉(Sugawara)(1990)与克莱因(klein)(1991)则分别报道人第 1 号染色体长臂与 X 染色体含有促进细胞衰老的基因。

维斯特罗姆(Wistrom)(1992)从人二倍体成纤维细胞(MRE-5)筛选出了一种衰老协同基因(简称 SAG)。SAG 在衰老细胞中的表达比年轻细胞高 3 倍,而且它的增高程度与细胞生长能力的降低密切相关。SAG 在多种组织中存在,在永生细胞中表达很低。这一基因似与衰老的相关性较高,有可能是引起其细胞生长停滞的原因。

此外,多年来已知限食可延长多种动物的寿命。限食动物的体重可比普通动物低 1/4。限食动物显得较为年轻,表现为组织对激素敏感性较高,胶原交联的现象较少,肝与肌肉的蛋白酶活性较高。节食导致长寿的原因之一,可能因其使葡萄糖水平降低,过多葡萄糖可引起生物大分子的非酶促葡萄糖基化。近来报道给予褪黑素(melatonin)可使小鼠寿命延长 20%,褪黑素由松果体分泌,可抑制垂体分泌促性腺激素,并使黑色素细胞褪色。但对人的寿命似无影响。

总之,目前要确定长寿基因或衰老基因还为时尚早。但不妨认为消除氧自由基的某些酶类基因及

与细胞生长调控有关的某些基因,可能与此有关。

二、细胞生长停滞现象

旺(Wang)等认为衰老细胞的胞核中存在一种生长停滞蛋白(Statin),可阻止DNA合成及细胞由G1期进入S期。生长停滞蛋白的克隆化DNA序列分析表明,它与前述EF1 α 相似。但EF1 α 与细胞从增殖状态进入非增殖状态并无直接联系。生长停滞蛋白并非衰老细胞所特有。近年旺(Wang)等人(1994)发现细胞中存在一类终末蛋白(Termin protein, Tp)。该蛋白质有三种分子形式:Tp90、Tp60、Tp30。Tp60存在于衰老细胞中,Tp90与Tp30分别存在于增殖细胞与凋亡细胞中。

细胞衰老时DNA合成受阻,似乎存在DNA合成的抑制因子。史密斯(Smith)(1992)从衰老细胞获得了一种称为SDI-1的DNA合成抑制蛋白(Senescent cell derived inhibitor of DNA synthesis)的克隆。在衰老细胞中其mRNA水平比生长状态的年轻细胞高10~20倍。现已发现该蛋白质即为抑癌基因P53产物诱导生成的P21蛋白。该蛋白质可抑制细胞周期的多种蛋白激酶。细胞衰老的生长停滞现象可能是器官衰老的根本原因之一。细胞衰老时对多种生长因子和生长激素的反应性下降。人成纤维细胞在培养中对表皮生长因子(EGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)的反应性随细胞代龄上升而下降的趋势甚为显著。

细胞生长能力的减退是衰老的重要表现。衰老时机体的多种组织出现退行性变,细胞生长缓慢,机能减退。细胞生长能力减退与组织、器官的衰老因果交替,是引起生物衰老诸因素中极为重要的一环。

染色体端粒(telomere)消失可能是人类细胞丧失复制能力的原因之一。端粒是真核生物染色体末端的特殊结构。人类染色体端粒由DNA重复序列TTAGGG组成,由端聚酶(telomerase)合成。端粒可保护染色体,防止染色体的端间融合。体细胞的端粒随年龄增高而缩短,导致其染色体稳定性下降。人体内成纤维细胞的端粒每年约缩短14~18碱基对。我室研究表明国人外围血淋巴细胞每年平均缩短35碱基对,与国外资料(33碱基对)相近,男女略有差别。男性端粒长度缩短略快于女性。人胚肺二倍体成纤维细胞,每增加一代龄,端粒长度减少约49碱基对(国外资料50碱基对)。

三、DNA损伤的累积与修复能力减退

有人认为生物衰老是因修复DNA损伤的能力下降,致使损伤的DNA积累,进而引起基因及其表

达异常。目前人们对DNA损伤修复能力重要性的认识已与日俱增。人体的免疫功能负责对机体实行整体水平的监管,而DNA修复功能则负责基因DNA水平的监管。因而促进或调节DNA修复能力不仅关系到延缓衰老,而且将成为预防与治疗许多疾病的手段。哈特(Hart)及塞特洛(Setlow)研究了动物的最高寿限与其细胞的DNA修复能力相关性,对7种哺乳类动物(象、牛、犬、小鼠、人等)的研究表明,其皮肤的成纤维细胞对紫外线诱导的DNA修复合成效率与动物最高寿限有着良好的线性关系。为了排除DNA修复合成能力的类族间差异,哈特研究了两种寿命相差2.5倍小鼠的DNA修复合成能力,发现长寿小鼠(*Peromyscus leucopus*)的DNA修复合成能力较短寿家鼠(*Mus musculus*)高2.2倍。内特(Nette)及肯普(Kemp)分别测定了人上皮角化细胞及小鼠成纤维细胞的DNA修复合成能力,发现其修复能力随细胞供者年龄的增长而降低。许多研究者也得到了相似结果。

线粒体是体内产生氧自由基的重要场所,其DNA是裸露的,不像染色体DNA为蛋白质所包绕,所以易受损伤,损伤后又缺乏自我修复能力。已发现人心肌、骨骼肌与脑线粒体有随增龄的细胞色素氧化酶基因DNA片段低水平丢失现象。

人线粒体DNA总长度为16500碱基对,常见的DNA片段丢失为5000碱基对、7400碱基对及3800碱基对。动物实验也证实线粒体DNA有随年龄增加丢失的频率升高现象。动物实验还证实,DNA的内源性氧化损伤可产生大量8氧-7.8二氢脱氧鸟苷(O8dG)。O8dG是线粒体DNA脱氧鸟苷与氧自由基的加成物,可作为线粒体DNA氧化损伤的指标。大鼠线粒体DNA的O8dG水平16倍于细胞核DNA,且随增龄而增加。在衰老过程中线粒体DNA中O8dG产生的速度增加3倍。线粒体DNA的损伤可以影响能量(ATP)产生,进而影响细胞的能量供给,导致所在器官功能的减退。老年期多种退行性疾病与线粒体DNA损伤有关。线粒体DNA的异常可引起呼吸功能减退,使心、脑细胞遭受损害。阿尔采默(Alzheimer)病、老年性糖尿病、冠状动脉粥样硬化性心脏病有关组织中皆曾发现其线粒体DNA片段丢失现象。

四、基因调控能力减退

高等动物的遗传物质存在于染色质中,衰老时染色质转录活性明显下降,活性基因减少,表现为染色质对DNA酶I消化敏感性下降。DNA酶I能识别活性染色质的结构,它可优先水解活性基因。衰老时染色质活性出现显著变化,起基因表达调控作用的核内蛋白质的磷酸化与甲基化也发生明显改

变。高等生物的染色质由DNA、组蛋白、非组蛋白及少量RNA组成。一般认为组蛋白仅非特异地抑制DNA的转录作用,而某些非组蛋白与基因表达的正调节有关。这些蛋白质常处于转录活性较高的染色质部位。肝、脑等染色质中非组蛋白成分随增龄降低。非组蛋白中有一类电泳时移动较快的蛋白质,即所谓高迁移率蛋白质(HMG)。此类蛋白质中的HMG14与HMG17,在衰老时含量减少。活性染色质的DNA酶I高敏感部位的形成,即与DNA和这两种蛋白质的结合有关。

组蛋白与非组蛋白均可被磷酸化、乙酰化、ADP核糖基化及甲基化。衰老时染色体蛋白质与DNA结合较紧密,修饰作用较难进行,从而影响染色质活性构象的形成,削弱多种组织内转录的启动,致使其功能逐渐下降。

衰老细胞中某些基因的可诱导性亦有所下降。如用表皮生长因子(EGF)诱导人成纤维细胞,其HER-2基因(一种EGF受体同源基因)、视网膜母细胞瘤易感(Rb)基因(一种抑癌基因)与转化生长因子(TGF) β 基因的表达都有明显增高现象,而高年龄的衰老细胞此种可诱导性明显降低。

DNA甲基化水平对基因表达调控亦有重要影响,DNA甲基化可使某些特异基因表达水平改变。生物衰老时DNA甲基化程度降低,有利于DNA以Z型DNA构型存在。威尔逊(Wilson)等人发现DNA的5甲基胞嘧啶含量随细胞传代增加而降低。DNA甲基化程度降低,使细胞的可分裂次数减少。这表明DNA甲基化与细胞衰老有一定关系。DNA

甲基化可改变染色质结构及DNA与蛋白质的相互作用,是基因表达调控机制之一。

除转录水平外,基因调控亦可在转录后水平、翻译水平及翻译后水平进行。生物衰老时,细胞内转录、翻译及翻译后过程都可出现变化。研究表明,合成DNA复制原料脱氧胸腺嘧啶核苷酸的酶、胸苷激酶,在衰老细胞中的活性较低。其原因不仅是其转录生成mRNA前体及mRNA成熟过程的速率有所下降,而且其mRNA的翻译速率同时下降。衰老过程中翻译速率为何下降?对果蝇啮齿类动物的研究都表明蛋白质合成的延长阶段在老年动物的体内显著延长。进一步研究发现,衰老的人成纤维细胞中延长因子EFla含量及活性明显下降,分别下降45%与35%。据报道EFla活性与其赖氨酸的甲基化有关。

五、结 语

不同物种,同一个体不同组织细胞衰老速率有所不同。遗传与环境因素都影响着衰老过程。孰主孰次,虽待阐明,但遗传控制起主导作用已显端倪。看来衰老并非单一基因决定,而是一连串基因激活与阻抑,及其通过各自产物相互作用的结果。DNA(特别是线粒体DNA)并非原先想像那样稳定,包括基因在内的遗传控制体系可受内、外环境,特别是氧自由基等损伤因素的影响,加速衰老进程,因而在延缓衰老方面,人类仍大有可为。

(责任编辑 王宏章)

(上接第52页)

成立“三江”流域资源勘探开发领导小组,统一协调和管理好包括玉龙铜矿在内的“三江”流域资源开发。从资源勘探、开采、加工利用、储运、环境保护到基础设施、城镇建设、“菜篮子”工程及后勤保障服务等诸多方面,应全盘考虑,合理分工与布局,统筹规划。

3. 发挥各自优势、扬长避短、融合发展

玉龙铜矿开发要带动昌都地区的经济发展,关键是加强协调。地方与中央及各部门都应站在战略高度,树立通力协作、共同发展的思想。融合式发展的根本目的就是要避免“飞地式”开发所形成的“孤岛效应”,要求开发资源与发展地方经济、帮助群众脱贫致富相结合。一些重大基础设施建设,如川藏公路、滇藏公路改造甚至进藏铁路的修建,除需要国家投资外,还应充分调动地方的积极性。目前昌都地区已为玉龙铜矿开发的水、电、路及通信等作好充分准备,今后在建矿期和建矿后仍应作好各方

面的配套服务。中央及有关部门应发挥其技术、人才等优势,与地方合作办厂、开矿,帮助地方发展相关产业。

4. 引进新机制、深化管理体制变革

开发玉龙铜矿必须推行现代企业制度,明晰资源产权,实行资源勘探权、开采权许可证制度,做到资源有偿占用和转让。推行投资股份制和经营多元化、集团化发展模式,深化管理体制变革,保证公平竞争和有效的管理与协调。

5. 综合利用资源、保护生态环境

玉龙铜矿地处青藏高原,生态环境脆弱,一旦被破坏就难以治理和恢复。必须高度重视并切实抓好综合利用资源和保护生态环境的工作。为此,在资源勘探、开采和加工各个环节,要严格遵守环境保护的各项法规,做到开发资源、发展昌都经济与保护生态环境有机的结合。(责任编辑 肖庆山)