

基因组不稳定性与衰老关系研究进展

张素琴 陈晓亮

衰老是指随着年龄增长而产生的一系列生理和解剖学方面的变化,亦是人体对内外环境适应能力逐渐减退的表现,是生物体在其生命后期阶段所出现的进行性、全身性、多因素共同作用的循序渐进的退化过程,是生命过程的必然规律。目前有关衰老的学说很多,包括自由基学说、遗传程序学说、差错灾难学说、交联学说、脂褐素累积学说、内分泌功能减退学说、细胞凋亡学说、遗传基因衰老学说等,分别从不同的角度探讨了衰老发生的机制和对策。但概括起来主要包括以下两个理论:衰老是机体生活过程中发生损伤累积的结果,所以通过损伤修复体系,也许有可能延长寿命或改善老年时期的身体适应性;另一理论认为衰老是由遗传确定的一个有程序的过程,是由基因调控的,遗传学规律可能影响损伤累积的速度及其功能损失的速度。而基因组的不稳定性可以将衰老的两大理论联系起来,被认为是衰老发生过程中的核心环节^[1]。本文就基因组不稳定性与衰老的关系做一综述。

一、DNA 损伤与衰老

基因组是携带有控制细胞生长、分化、发育等重要生命信息的生物高分子。维持基因组结构、功能的相对稳定是物种得以生存、延续的前提与保障。DNA 是一重要的分子,它编码有关细胞结构和功能的重要信息。其作用的不可替代性也使得它是衰老变化的重要靶标。近年来大量的证据表明 DNA 损伤是细胞复制性衰老和细胞过早老化的一个共同介质。细胞高分子物质经常暴露于体内外的各种损伤。体外的损伤包括紫外线的照射和其他环境中的有毒物质,而体内的损伤主要包括活性氧(ROS)和自发水解作用。ROS 是在正常的细胞代谢过程特别是线粒体呼吸所产生的,当 ROS 产物超过了机体的解毒能力,就会对高分子物质包括 DNA 造成氧化损伤。衰老的 DNA

损伤理论认为,随增龄而发生的机体功能下降的主要原因是 DNA 损伤累积和由此而造成的细胞结构、功能变化和组织动态平衡的破坏。因此有一个共识就是渐进的和不可逆的 DNA 损伤累积造成机体功能损害,增加发病率,从而影响衰老的过程^[2]。尽管细胞内其他高分子的损伤可能也会影响衰老,但是这些物质更新很快,可能不会造成损伤的累积,因此也不会造成很严重的后果;但是 DNA 是细胞的主要信息分子,特别是核 DNA 必须贯穿整个细胞的生命时间,所以 DNA 损伤对细胞功能造成了一个重大威胁^[3]。如果 DNA 损伤很严重或者损伤累积超过了 DNA 修复机制的清除能力,将会造成细胞老化或者凋亡,从而促进了衰老过程。目前研究提示在衰老过程中可能随着 ROS 产物的增加和机体 DNA 损伤修复能力的减退,DNA 损伤累积也随之增加,基因突变或者断裂增加了 DNA 的损伤,从而导致过早衰老。如大部分的早衰综合征是由于 DNA 修复基因缺陷造成 DNA 损伤和修复的失衡,从而导致衰老进程的加速^[4]。通过对年轻和老年个体来源的培养淋巴细胞的 HPRT 基因座的突变研究中发现人类和小鼠都存在随着年龄增长的突变累积^[5,6]。通过转基因小鼠的研究发现点突变随年龄增加而增加,而且在老年动物中突变率更高^[7]。老年个体不仅突变增加,而且表现出特征性的突变类型和基因重排类型^[8]。多项研究已表明在老年机体中存在更高负荷的 DNA 损伤^[9-11]。

端粒缩短是引起基因组不稳定的重要原因,是衰老的生物标记。染色体天然末端就如两顶帽子一样盖在线形 DNA 的末端,虽然不含功能基因,但具有维持染色体稳定性和基因组完整性的功能。研究显示,正常人的组织和细胞在复制过程中均有端粒 DNA 的丢失,正常体细胞在体内分裂或体外传代过程中,细胞每分裂 1 次,端粒 DNA 减少 50 ~ 200bp,当端粒缩短到一定程度时,便不能维持染色体的稳定,因此细胞失去了分裂增殖能力而进入衰亡过程。因此端粒缩短被认为是触发细胞衰老的分子钟,可作为衰老的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81102681)

作者单位:310015 杭州师范大学附属医院(杭州市第二人民医院)干部科

通讯作者:陈晓亮,主任医师,电子信箱:shhai123@yahoo.cn

生物标记。正常情况下,端粒随细胞分裂次数增加而不断缩短,这是复制性衰老细胞的一种 DNA 损伤反应^[12]。在老化的人成纤维细胞中检测到与 DNA 损伤诱导的相同分子标志物,同时缺失了大部分端粒重复序列的端粒可以促发 DNA 损伤灶的形成,最终导致细胞周期阻滞,确实证明进入临界长度的端粒可以被认为 DNA 损伤^[13]。

二、DNA 修复系统与衰老

为了防止 DNA 损伤,细胞具有精细的 DNA 修复机制。这些途径包括碱基切除修复(base excision repair, BER)、核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)、错配修复(mismatch repair, MMR)、非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)和同源重组(homologous recombination, HR)等。DNA 修复系统功能下降是引起年龄相关基因组不稳定的重要原因^[14]。DNA 修复系统缺陷导致的 DNA 损伤累积亦是衰老过程的重要中间环节^[15]。BER 途径主要参与不引起 DNA 螺旋破坏的碱基损伤和脱碱基位点的修复,被认为是 DNA 氧化损伤中主要的修复途径^[16]。目前已有足够证据证明 BER 活性水平随增龄而降低,如有多项研究发现 BER 途径中的关键分子 Pol β 、Pol γ 的活性随增龄而下降^[17~19]。Chen 等^[20]的研究提示 D-半乳糖致衰老小鼠的 BER 修复能力下降导致线粒体 DNA 损伤增加。线粒体 DNA 损伤累积在衰老过程中起到重要作用,而线粒体 DNA 修复机制特别是 BER 途径是维持线粒体 DNA 完整性的重要机制。和 BER 相比,NER 主要修复 DNA 螺旋的损伤,如由紫外线形成的二聚体等。人类 NER 途径的遗传缺陷将导致 3 种不同早衰综合征即:着色性干皮病(xeroderma pigmentosum, XP),科凯恩综合征(ckayne's syndrome, CS),毛发硫营养不良(trichothiodystrophy, TTD)。在小鼠研究中发现 NER 基因的多个突变将急剧加速老化表型。当细胞中的 BER 和 NER 功能同时丧失时,细胞就会出现突变、高频重组等遗传上的不稳定,胞内的 ROS 升高, DNA 出现多倍体,激活检验点途径等类似于癌细胞的特征,说明 BER 和 NER 途径在细胞抗氧化胁迫,维持基因组稳定性方面发挥着重要的作用。错配修复(MMR)几乎可以纠正所有的错配,此外,对插入/删除引起的 DNA 链中多出 1~3 个多余核苷酸时也有修复作用。在 DNA 的氧化损伤修复中,MMR 被认为是 BER 途径的一个重要的候补修复途径,主要负责修复新复制合成的 DNA 链。有研究利用错配诱

导剂干预不同传代次数的老年人 T 细胞克隆,然后检测其错配概率,结果显示 MMR 随着传代次数的增加而降低,而 MMR 功能与大量的微卫星不稳定有关,提示微卫星不稳定性随衰老而增加可能与 MMR 功能随增龄而降低密切相关。重组修复主要修复 DNA 单/双链的断裂,同时它也参与氧化 DNA 损伤和脱碱基位点的修复过程,当细胞内的 BER 途径受到破坏时,细胞倾向于利用重组修复来处理 DNA 损伤。DNA 双链断裂作为最严重的损伤形式,主要激活同源重组(HR)和非同源末端连接(NHEJ)途径。研究表明在老化过程中 NHEJ 效率下降且错误机率增加。KU70 是一种 DNA 修复蛋白,在 NHEJ 中起核心作用,研究发现随年龄增长,人类造血干细胞和祖细胞中 KU70mRNA 的表达明显下降。同时有研究还发现 KU70 蛋白水平和 MER11 蛋白水平(另一种 NHEJ 途径中的 DNA 修复蛋白)都随增龄而显著下降。

三、DNA 损伤检验点体系与衰老

DNA 损伤检验点体系在细胞的抗氧化胁迫,维持基因组稳定性方面发挥着重要的作用。DNA 损伤检验点体系是一个复杂的网络体系,其功能主要是感受 DNA 损伤及异常 DNA 结构的存在,并把这种损伤信号传递给下游的效应因子,使细胞对 DNA 损伤或其他影响 DNA 复制的应力做出各种反应,即在 DNA 损伤的情况下,它不但可以延迟甚至终止细胞周期的转换,而且还启动 DNA 修复系统,激活相关基因的转录,维持染色体端粒的正常结构。因此 DNA 损伤检验点通过对基因组完整性的监视,帮助细胞对各种 DNA 损伤做出终止细胞周期以准许细胞有足够的时间来修复损伤,或最终让细胞进入衰老或凋亡的决定。DNA 损伤检验点途径包括损伤感应、信号传递和信号效应。当细胞 DNA 发生损伤,感受蛋白级联(HUS1, RAD1, RAD9, RAD17, RAD26)通过 ATR 将损伤信号传递给 CHK1;或其他感受蛋白级联(NBS1, BRCA1, RAD50, 53Bp1 等)通过 ATM 将损伤信号传递给 CHK2。其中 ATM 主要参与由 DNA 双链断裂损伤引发的信号反应,而 ATR 则主要参与由 DNA 复制叉受阻或许多其他引起 DNA 损伤的信号反应。因为许多 DNA 损伤在直接改变 DNA 结构的同时,还会影响 DNA 复制叉的稳定,因此在 DNA 损伤存在情况下,ATM 和 ATR 大多会协同作用来起始这个检验点反应途径。

对人类某些遗传病以及模式动物小鼠的研究中发现, DNA 损伤修复(DNA damage repair)系统的缺

陷可以大大加快衰老的进程,在这一过程中,DNA 损伤检验点(DNA damage checkpoint)系统可能发挥着关键作用。如果这些检验点被破坏或失活,则会导致细胞在基因组损伤的情况下仍继续分裂增殖,最终引起整个染色体结构的改变而大大增加基因组不稳定性。目前研究发现衰老机体可能存在 DNA 损伤检验点功能下降,如 Suchismit Panda 等发现与 3 月龄小鼠比较,22 月龄小鼠肝组织 p-ATM 蛋白的表达明显降低;Feng 等发现老年小鼠 ATM 激酶功能降低,对各种压力应激的反应能力下降。新近的研究发现参与 ATM 起始信号途径的衔接因子 53BP1 在人类细胞和啮齿类动物细胞表达的差异影响到这两类细胞的基因组稳定性,可能是这两类细胞寿限差异的重要原因。提示 DNA 损伤检验点功能随增龄而下降,从而导致随增龄而发生的 DNA 损伤不能被有效修复,不断累积,是造成基因组不稳定的重要原因。

综上所述,基因组不稳定性在衰老发生过程中起到重要作用。而基因组不稳定又与 DNA 修复体系功能和 DNA 损伤检验点功能随增龄而发生的变化密切相关。染色体 DNA 的损伤累积及端粒缩短造成的基因组不稳定性在衰老进程中起到重要的作用;减少 DNA 损伤,增强 DNA 修复能力,从而增加基因组稳定性,也许有可能延长寿命或改善老年时期的身体适应性。

参考文献

- 1 Vijg J, Suh Y. Ageing: chromatin unbound [J]. Nature, 2006, 440 (7086): 874-875
- 2 Kregel KC, Zhang HJ. An integrated view of oxidative stress in aging: basic mechanisms, functional effects, and pathological considerations [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2007, 292(1): R18-R36
- 3 Lombard DB. DNA repair, genome stability, and aging [J]. Cell, 2005, 120(4): 497-512
- 4 de Magalhaes JP, Faragher RG. Cell divisions and mammalian aging: integrative biology insights from genes that regulate longevity [J]. Bioessays, 2008, 30(6): 567-578
- 5 Gorbunova V, Seluanov A. Making ends meet in old age: DSB repair and aging [J]. Mech Ageing Dev, 2005, 126(6-7): 621-628
- 6 Finette BA. Determination of hpv mutant frequencies in T-lympho-

- cytes from a healthy pediatric population: statistical comparison between newborn, children and adult mutant frequencies, cloning efficiency and age [J]. Mutat Res, 1994, 308(2): 223-231
- 7 Woodruff RC, Thompson JN. The role of somatic and germline mutations in aging and a mutation interaction model of aging [J]. J Anti Aging Med, 2003, 6(1): 29-39
- 8 Stuart GR, Glickman BW. Through a glass, darkly: reflections of mutation from lacI transgenic mice [J]. Genetics, 2000, 155(3): 1359-1367
- 9 Chevanne M. Comparative levels of DNA breaks and sensitivity to oxidative stress in aged and senescent human fibroblasts: a distinctive pattern for centenarians [J]. Biogerontology, 2003, 4(2): 97-104
- 10 Sedelnikova OA. Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unreparable double-strand breaks [J]. Nat Cell Biol, 2004, 6(2): 168-170
- 11 Mladinic M. Genomic instability in a healthy elderly population: a pilot study of possible cytogenetic markers related to ageing [J]. Mutagenesis, 25(5): 455-462
- 12 Kim NW. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer [J]. Science, 1994, 266(5193): 2011-2015
- 13 Herbig U. Telomere shortening triggers senescence of human cells through a pathway involving ATM, p53, and p21 (CIP1), but not p16 (INK4a) [J]. Mol Cell, 2004, 14(4): 501-513
- 14 Salmon TB. Biological consequences of oxidative stress-induced DNA damage in Saccharomyces cerevisiae [J]. Nucleic Acids Res, 2004, 32(12): 3712-3723
- 15 Diderich K, Alanazi M, Hoeijmakers JH. Premature aging and cancer in nucleotide excision repair-disorders [J]. DNA Repair (Amst), 2011, 10(7): 772-780
- 16 Maynard S. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging [J]. Carcinogenesis, 2009, 30(1): 2-10
- 17 Rao KS. DNA repair in aging rat neurons [J]. Neuroscience, 2007, 145(4): 1330-1340
- 18 Krishna TH. Reduced DNA gap repair in aging rat neuronal extracts and its restoration by DNA polymerase beta and DNA-ligase [J]. J Neurochem, 2005, 92(4): 818-823
- 19 Graziewicz MA, Longley MJ, Copeland WC. DNA polymerase gamma in mitochondrial DNA replication and repair [J]. Chem Rev, 2006, 106(2): 383-405
- 20 Chen B. Increased mitochondrial DNA damage and decreased base excision repair in the auditory cortex of D-galactose-induced aging rats [J]. Mol Biol Rep, 2011, 38(6): 3635-3642

(收稿:2011-07-04)

(修回:2011-09-26)