

# 肾精、端粒酶与血管老化

刘 欣 郭春雨 王景尚 孙明月 潘玉婷 张 森 殷惠军

**摘 要** 在人生、长、壮、老、死过程中,中医的肾精起着决定性作用,而中医对肾精描述与性激素作用很相似。随着现代医学发展,老龄化是医学领域重要的研究课题,衰老尤其是血管老化备受医学研究者重视。为此,中国老年学学会衰老与抗衰老科学委员会发布了 2013 年的《中国衰老与抗衰老专家共识》,呼吁国家加大对衰老与抗衰老研究的基金投入。近年来抗衰老的研究主要集中在增加端粒酶活性方面,力求通过延缓端粒缩短,从而实现抗机体衰老的目的。本文就肾精、性激素、端粒酶三者的关系进行阐述,对衰老的防治具有重要的理论意义。

**关键词** 肾精 性激素 端粒酶 血管老化

[中图分类号] R2 [文献标识码] A

随着老龄人口的不断增加,针对老年病的防治观念,从原先的“治”逐渐转变为“防”。衰老尤其是血管老化备受研究者的重视,延缓细胞衰老,成为近年来研究的热点。祖国医学认为,肾精亏虚是人体衰老的根本原因。现代医学认为,肾精-肾与性激素-性腺轴有密切的联系。肾精对人体的作用与性激素对人体的作用相似。60 岁以上男性及女性血清睾酮及雌二醇水平明显降低,动脉硬化的程度也较年轻男性及女性皆有不同程度的增加,性激素对于血管老化具有明显的保护作用。在关于衰老机制的诸多学说中,端粒-端粒酶系统作为调节细胞寿命的重要机制,在炎症、氧化应激等导致血管老化的过程中起着关键作用。

## 一、肾精与性激素的关系

针对肾精的盛亏与人寿命及衰老的关系,祖国医学对其有详细的记载。《素问·上古天真论》曰:“女子七岁,肾气盛……;二七而天癸至,……月事以时下……;……七七……天癸竭,地道不通,故形坏而无子也”。又“丈夫八岁,肾气实……,二八肾气盛,天癸至,精气溢泻,阴阳和,故能有子;……七八……天癸竭,精少,肾脏衰,形体皆极”。肾中精气来源于父母的生殖之精,又受后天水谷之精的滋养而逐渐充盛,肾精是决定人的生、长、壮、老、死生命活动的主要条

件,主宰着人的寿命和生命质量。而“天癸”是什么呢?天癸来源于肾精,是肾中精气充盛到一定程度所出现的一种促进并维持生殖功能的物质。当人体发育到青春期时,体内便产生了天癸,天癸促进男性性腺发育,睾丸产生精子,同时促进女性卵巢排卵,出现月经周期。天癸的产生,标志着男女性机能发育成熟,并有生殖能力。由此可见,天癸即肾气在主导性与生殖方面的精微体系,也是肾气在育龄阶段产生的特殊内涵,是肾气的一个重要分支。以后随着肾中精气由充盛逐渐转向衰退,“天癸”的生成减少直至耗竭,生殖能力下降,以至消失,人也就从中年而转入老年,出现骨枯髓减脑空,身矮背驼、腰酸耳鸣、齿摇发白等老态。可见“肾气衰”“天癸竭”是人体衰老的原因,正如虞抟(《医学正传》)曰:“肾元盛则寿延,肾元衰则寿失”。

目前学术界普遍认为,祖国医学中的“天癸”与现代医学中的“性激素”有密切联系,针对这一联系的认识起源于中医学“肾”与西医学的“性腺轴”的内在联系。下丘脑产生具有高度生物活性的促性腺素释放激素,通过垂体门脉系统的循环,进入垂体前叶,促使垂体分泌卵泡成熟激素和促黄体生成激素,作用于女性卵巢则分泌雌激素、孕激素,调控排卵,受孕及月经的产生;作用于男性睾丸则分泌睾丸酮,调控精子的产生。由此可以推断《内经》所谓“天癸”即指生殖腺,所谓“天癸至”,即指性腺之成熟。《内经》所谓“任脉通,太冲脉盛,月事以时下,故有子”。这一系列生理上的发育过程,其主要关键就在于天癸,这里的天癸自然是指性激素。同时,临床研究也可验证这一点,更年期后,人体性激素水平下降,表现为肾虚

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81173584);北京市自然科学基金资助项目(7122157);中国博士后特别基金资助项目(2012150201)

作者单位:100091 北京,中国中医科学院西苑医院(刘欣、郭春雨、王景尚、孙明月、张森、殷惠军);甘肃中医学院(潘玉婷)

通讯作者:殷惠军,电子邮箱:huijunyin@yeah.net

的症状。通过对不同年龄阶段各种生殖系统疾病和其他病中肾虚与卵巢轴、睾丸轴的功能活动关系的研究,发现肾虚时存在睾丸轴、卵巢轴各环节不同程度的功能紊乱;给予补肾中药,能够填精益髓,调节性腺功能,从而改善由于肾虚导致的各种疾病,从此也能看出“肾主生殖”与下丘脑-垂体-性腺轴调控生殖功能原理相吻合。

## 二、端粒酶与血管老化

1. 端粒-端粒酶系统:端粒是位于真核细胞染色体末端的重重复 TTAGGG 序列结构,能够维持染色体稳定性、基因完整性。端粒随着细胞的不断分裂增殖而逐渐变短,当达到临界长度时,染色体失去其稳定性,细胞不能够继续进行分裂增生而最终走向衰老和死亡,这种缩短标志着细胞的衰老,因此,端粒也被称为细胞的生命钟。端粒酶是一种反转录酶,由端粒酶 RNA 模板 (telomerase RNA template, TR)、端粒酶催化亚基 (telomerase reverse transcriptase, TERT) 和端粒酶相关蛋白-1 (telomerase-associated protein 1, TEP-1) 组成,它以自身 RNA 结构为模板复制 DNA 片段,修复被损伤的端粒并使其延长。端粒酶的活性是由 hTERT 在转录水平上调控的。hTERT 启动子含有转录因子,包括 MycPMad (E-box)、Sp1、雌激素和 NF- $\kappa$ B 的结合基序。hTERT 由蛋白激酶 B (Akt) 的磷酸化和核易位也是调控端粒酶活性的机制。

2. 血管老化:衰老是指机体生长发育成熟后,机体的生理功能逐渐下降,组织器官逐步发生退行性改变,并最终走向死亡的过程,在细胞水平表现为有丝分裂的二倍体细胞持续的生长停滞。当衰老的细胞进入不可逆的生长停滞过程后,主要表现为:细胞体积增大,胞体扁平 and 胞质内颗粒增多;细胞周期多停滞在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期; $\beta$  半乳糖苷酶活性明显增强;细胞端粒缩短,端粒酶活性降低及衰老基因的表达增加等现象。因此,现常将  $\beta$ -半乳糖苷酶当作一种组织化学标志用于推测细胞的衰老程度,也可以通过检测端粒长度来推测体内内皮细胞衰老的发生。血管老化常常与内皮功能紊乱、血管修复缺陷、血管再生受损以及动脉粥样硬化的进展有关。随着年龄增长,内皮依赖性血管舒张功能降低,动脉内皮的结构变化和功能失调,引起血管内膜增厚血管顺应性下降血管硬化程度增加以及动脉血压的改变<sup>[1]</sup>。内外环境诸如辐射、缺氧、过氧化、高糖、高血脂等情况都可以导致衰老。众多因素可以调控衰老进而影响血管功能,这些

因素包括有丝分裂原、炎症分子、血管紧张素 II、氧化剂和抗氧化剂、一氧化氮、高糖晚期糖化终产物 (AGEs) 和线粒体,而大多数的影响因素主要通过两种途径:细胞内氧化应激水平的改变或端粒酶活性的调节<sup>[2]</sup>。血管在多种致病因素作用下,内皮细胞更新加快,引起端粒长度缩短,进一步造成内皮细胞老化及功能异常,在此基础上最终形成动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS)<sup>[3]</sup>。AS 斑块中获得的血管细胞的形态较与正常血管细胞相比呈明显衰老状态,如细胞体积增大胞体变平细胞内出现脂褐素等异常物质沉积的衰老特征,在培养中表现出较弱的生长力。

3. 端粒酶活性的调节与血管老化:(1) 内皮细胞有丝分裂原与端粒酶活性的调节:内皮细胞的稳定和血管新生对端粒酶的活性和细胞衰老会产生影响。纤维母细胞生长因子-2 (FGF-2) 能够上调人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 的端粒酶的活性,且是通过增加 hTERT 的 mRNA 的表达及 hTERT 基因反式激活因子 Sp1 的表达而实现的,由此发挥内皮细胞抗衰老的作用,然而血管内皮生长因子 (VEGF) 在一定浓度时具有 FGF-2 类似的有丝分裂原效应,但对 hTERT 的水平或活性不产生影响。血管紧张素酶抑制剂 (ACEI) 能够上调内皮型一氧化氮合酶 (eNOS), FGF-2, 以及 TERT 的 mRNA 的表达从而发挥其对血管内皮细胞抗氧化损伤及抗衰老的作用<sup>[4]</sup>。(2) 一氧化氮与端粒酶活性的调节:端粒酶的活性与 eNOS 的表达及 PI<sub>3</sub>K/Akt 信号通路有关。高糖能够诱导 HUVECs  $\beta$ -半乳糖苷酶水平增加,端粒酶活性降低;硝苯地平能够降低  $\beta$ -半乳糖苷酶水平,而增加端粒酶活性,且这一作用是通过增加 eNOS 的活性来实现的;加入 eNOS 抑制剂,或是转染针对 eNOS mRNA 的 siRNA 使 eNOS mRNA 表达沉默,硝苯地平的抗衰老作用都会减弱。SIRT1 (sirtuin type 1) 是一种 NAD<sup>+</sup> 依赖性脱乙酰基蛋白酶,参与了能量代谢的调节、应激和细胞生存。SIRT1 的过表达抑制了氧化应激导致的细胞衰老,这可能使与促进脱乙酰基,抑制了 p53 的活性有关<sup>[5]</sup>。SIRT1 通过使 eNOS 去乙酰化从而提高其活性, SIRT1 也可能介导了能量限制和白藜芦醇 (RSV) 导致的 eNOS 活性的增加,而且 SIRT1 和 eNOS 之间的反馈调节可能改善了由氧化应激引发的 NO 生物利用度的降低<sup>[6]</sup>。而 SIRT1 抑制剂——miRNA217 在衰老的 HUVECs 中表达增加,内皮细胞衰老可能与 miRNA217 抑制 SIRT1 功能有关<sup>[7]</sup>。SIRT1 能够通过增加端粒酶的表达而抑制端粒的缩

短,从而发挥抗衰老作用<sup>[8]</sup>。调节 SIRT1 的表达改善细胞衰老是如今研究的热点。(3)氧化应激与端粒酶活性的调节:活性氧(ROS)和活性氮(RNS),作为一种生物强氧化剂,主要包括超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、一氧化氮(NO)和过氧亚硝基阴离子( $ONOO^-$ ),它们在血管生理和病理中发挥着重要作用,而血管老化的特征之一则是氧化应激增加。增加 ROS 的生成可促进 TERT 从胞核到胞质的转位,从而抑制了端粒酶到达端粒。白介素-8(interleukin-8, IL-8)能够通过上调 hTERT 的表达增加端粒酶的活性,发挥对  $H_2O_2$  氧化损伤的 HUVECs 的保护作用,且这一保护作用与 IL-8 减少细胞周期调节蛋白的表达以及抑制 p38 和 NF- $\kappa$ B 信号通路有关<sup>[9]</sup>。此外,某些诱导氧化应激从而导致动脉粥样硬化的物质,如 THF- $\alpha$  和氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)在内皮细胞中通过抑制 PI<sub>3</sub>K/Akt 通路减弱端粒酶的活性。(4)炎症与端粒酶活性的调节:在自然衰老的人和动物血管中,大量促炎细胞因子和趋化因子表达增加。AS 不稳定斑块中炎性细胞的端粒酶活性增高,致斑块炎性细胞衰老延迟,在斑块中持续作用,导致斑块的不稳定性增加及其病理演进的加速。代谢综合征的患者循环外周血单核细胞的端粒酶活性增高,伴随着 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 ADMA 的增高<sup>[10]</sup>。LPS、ox-LDL、TNF- $\alpha$  及 IL-1 $\beta$  都能够通过 NF- $\kappa$ B 信号通路引起人巨噬细胞 TERT 基因的表达,从而使端粒酶活性增加;动脉粥样硬化时,巨噬细胞的 TERT 表达增加,端粒酶活性也是增加的,由此,巨噬细胞不会因衰老而失去参与免疫反应的能力<sup>[11]</sup>。然而,也有研究表明,在动脉粥样硬化斑块的內皮细胞及平滑肌细胞中,端粒酶的活性是降低的。

### 三、性激素、端粒酶与血管老化

性激素水平的高低直接影响血管老化的进程。研究表明,60 岁以上的男性,血清睾酮水平明显降低,且中老年男性内源性睾酮水平与多种增龄相关性疾病,如冠心病、AS 等发生率及预后呈负相关。女性 45 岁以后,体内雌激素的水平也伴随着绝经期的到来而降到了低谷,女性雌激素对血管內皮细胞具有较好的保护作用,能够显著减轻血管老化、抗动脉粥样硬化。健康女性行子宫切除术术后比同龄的健康女性更易患动脉硬化<sup>[12]</sup>。外源性生理剂量的睾酮延缓小鼠主动脉衰老进程。雄激素能够通过增高 SOD 的水平,减少氧自由基的形成,减弱氧化应激反应,又能够减少线粒体损伤,从而发挥其抗血管老化的作用,且

这种作用有可能是通过 p53-p21-pRb 和 p16ink4 $\alpha$ /pRb 途径来调节的。睾酮具有延缓  $H_2O_2$  诱导 HUVECs 衰老的趋势,能够明显降低氧化损伤內皮的  $\beta$ -半乳糖苷酶的含量,而且睾酮还呈剂量相关性调节  $H_2O_2$  诱导 HUVECs 的 ER 表达增加,这一生物学效应是部分通过转化为雌激素后,作用于雌激素受体实现的。內皮功能紊乱是內皮细胞衰老的重要原因,脱氢表雄酮及雌激素能够通过上调 NO 及 eNOS 的表达调节內皮细胞功能,改善內皮依赖性的血管舒张功能。生殖系统中,性激素与端粒酶的关系早有研究,而性激素针对血管內端粒酶活性的影响的研究尚少。现研究发现,端粒酶的激活途径可能包括 MYC 途径、HPV-E6/MYC 途径、雌激素/受体途径和 APC/MYC 途径等。雌激素( $17\beta$ -estradiol,  $E_2$ )能够与雌激素受体(ER $\alpha$ )形成复合物,在 eNOS 的协同作用下,直接与 TERT 基因启动子区域内的退化雌激素反应元件(estrogen response element, ERE)结合反式激活端粒酶。

### 四、中医药防治血管老化

现代中医药防治血管老化的研究主要分为两类,一类是益气活血中药的抗衰老研究,一类是补肾中药的抗衰老研究。补精益髓,延缓衰老的观点为补肾中药提供理论支持。Ang II 可诱导 HUVECs 衰老。灵芝多糖(GLP)可抑制 Ang II 致 HUVECs 衰老。GLP 对 Ang II 致內皮细胞衰老的作用可能与增强 eNOS 蛋白表达、抑制小凹蛋白-1(caveolin-1)蛋白表达进而调节 eNOS 活性,从而促进 NO 的产生有关。枸杞多糖能够抑制 Ang II 诱导 HUVECs 衰老,其作用机制可能是通过下调 P53 及 P16 的表达而实现的<sup>[18]</sup>。虫草提取物对损伤內皮具有保护作用其机制可能与促进 SIRT1mRNA 表达,减轻细胞氧化应激损伤,抑制 p21 mRNA 表达,促进內皮细胞生长增殖有关。人参、三七、川芎提取物能够改善衰老小鼠主动脉形态学衰老变化,降低血管组织中活性氧的生成,减少 AGEs 生成,抑制 MMP-2 的活性,调节 MMP-2/TIMP-2 的平衡,从而最终降低衰老小鼠血管的僵硬程度,减少血管重构,延缓小鼠血管老化的发生。另外,还有研究证实,银杏叶提取物通过 PI<sub>3</sub>K/Akt 信号途径,提高端粒酶活性,进而促进內皮祖细胞(EPC)增殖及延缓其衰老。钩藤总生物碱改善血管內皮形态,使內皮细胞排列整齐,表面光滑,减少內皮细胞脱落,减轻內膜损伤。且其能降低大鼠胸主动脉內皮  $\beta$ -半乳糖苷酶表达和內皮端粒酶活性相对表达量,从而具有保护血

管内皮、抑制细胞衰老的作用。另一项研究也表明,钩藤总生物碱可剂量依赖性地抑制 Ang II 的促内皮细胞增生效应,对 D-半乳糖介导的内皮细胞衰老具有明显的抑制作用。在钩藤总生物碱作用下,D-半乳糖诱导的大鼠主动脉内皮细胞处于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞数减少,S 期细胞数增多。

## 五、展 望

近年来,随着对衰老和内皮功能障碍机制、预防和治疗的不断深入研究,其重要性及必要性越来越受到国内外研究人员的重视。在诸多衰老机制中,由于端粒的缩短、功能紊乱所导致的血管老化越来越引起研究者的重视。纵观针对调节端粒酶活性从而起到抗衰老的研究中,大多研究都集中在对端粒酶 hTERT 的调节,增加端粒酶活性这一方面。又有研究者发现肝 X 受体(LXRs)与其特殊配体结合后能够引起  $\beta$ -半乳糖苷酶的活性降低及端粒酶的活性升高。过氧化物酶体增生物激活受体  $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ )的缺乏与氧化应激,线粒体结构异常以及端粒酶活性降低密切相关,也将成为治疗衰老性疾病(动脉粥样硬化)的新的作用靶点。补肾中药在延缓血管老化方面比其他类中药有着显著的优势,对于补肾中药的抗血管衰老的研究很少涉及对端粒酶的影响,而且是否补肾中药作为一种植物类性激素调控血管内皮细胞及平滑肌细胞功能仍需进一步研究。补肾中药从端粒途径调控血管细胞老化的作用机制,为探讨老年病从肾论治,以及建立基于血管老化的老年心脑血管疾病的中医临床防治策略提供理论依据。

## 参考文献

- Lee HY, Oh BH. Aging and arterial stiffness[J]. Circ J, 2010, 74(11): 2257-2262
- Erusalimsky JD. Vascular endothelial senescence: from mechanisms to pathophysiology[J]. J Appl Physiol, 2009, 106(1): 326-332
- Edo MD, Andrés V. Aging, telomeres, and atherosclerosis[J]. Cardiovasc Res, 2005, 66(2): 213-221
- Donnini S, Terzuoli E, Ziche M, et al. Sulfhydryl angiotensin-converting enzyme inhibitor promotes endothelial cell survival through nitric-oxide synthase, fibroblast growth factor-2, and telomerase cross-talk[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2010, 332(3): 776-784
- Ichikia T, Miyazakia R, Kamiharaguchi A, et al. Resveratrol attenuates angiotensin II-induced senescence of vascular smooth muscle cells[J]. Regul Pept, 2012, 177(13): 35-39
- Yang J, Wang N, Zhu Y, et al. Roles of SIRT1 in high glucose induced endothelial impairment: association with diabetic atherosclerosis[J]. Arch Med Res, 2011, 42(5): 354-360
- Menghini R, Casagrande V, Cardellini M, et al. MicroRNA 217 modulates endothelial cell senescence via silent information regulator 1[J]. Circulation, 2009, 120(15): 1524-1532
- Palacios JA, Herranz D, De Bonis ML, et al. SIRT1 contributes to telomere maintenance and augments global homologous recombination[J]. J Cell Biol, 2010, 191(7): 1299-1313
- Shen XH, Xu SJ, Jin CY, et al. Interleukin-8 prevents oxidative stress-induced human endothelial cell senescence via telomerase activation[J]. Int Immunopharmacol, 2013, 16(2): 261-267
- Rentoukas E, Tsarouhas K, Kaplanis I, et al. Connection between telomerase activity in PBMC and markers of inflammation and endothelial dysfunction in patients with metabolic syndrome[J]. PLoS One, 2012, 7(4): e35739
- Gizard F, Heywood EB, Findeisen HM, et al. Telomerase activation in atherosclerosis and induction of telomerase reverse transcriptase expression by inflammatory stimuli in macrophages[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31: 245-252
- Gavin KM, Jankowski C, Kohrt WM, et al. Hysterectomy is associated with large artery stiffening in estrogen-deficient postmenopausal women[J]. Menopause, 2012, 19(9): 1000-1007
- 刘凌, 王雪妮, 刘泽, 等. 枸杞多糖对血管紧张素 II 诱导的血管内皮细胞衰老及 P53 和 P16 表达的影响[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(7): 1212-1215
- 阮景明, 叶章正, 黄华玮, 等. 虫草提取物对高糖诱导的脐静脉内皮细胞损伤模型的保护作用[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2013, 10(15): 1067-1071
- 雷燕, 杨静, 赵浩, 等. 人参三七川芎提取物延缓衰老小鼠血管老化的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 9(30): 946-950
- 张蕴慧, 李运伦, 赵婧, 等. 钩藤总生物碱对自发性高血压大鼠血管内皮细胞  $\beta$ -半乳糖苷酶和端粒酶活性的影响[J]. 山西中医, 2011, 8(27): 44-50
- Hayashi T, Kotani H, Yamaguchi T, et al. Endothelial cellular senescence is inhibited by liver X receptor activation with an additional mechanism for its atheroprotection in diabetes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(3): 1168-1173
- Xiong S, Salazar G, Patrushev N, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  is a central negative regulator of vascular senescence[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2013, 33(5): 988-998

(收稿日期: 2014-05-22)

(修回日期: 2014-05-30)