

衰老的表观遗传机制研究进展

尹献辉¹ 刘佳¹ 李雪芹¹ 王优雅¹ 胡静仪¹ 王子梅^{1*} 周中军²¹深圳大学医学院, 深圳 518060; ²香港大学李嘉诚医学院, 香港 999077)

摘要 近年来, 关于衰老的表观遗传学机制的研究逐渐成为分子生物学研究的热点之一。表观遗传修饰在衰老进程中发生了复杂的变化, 而这种变化可能是衰老的决定因素之一。该文从基因组DNA甲基化、组蛋白H3、H4特殊位点甲基化、乙酰化及其相应修饰酶变化、染色质结构状态改变、端粒功能和非编码RNA调节等方面总结近几年来关于衰老进程中发生的表观遗传学修饰改变的研究情况, 为衰老发生机制和抗衰老研究提供依据。

关键词 衰老; 表观遗传; DNA甲基化; 组蛋白甲基化; 组蛋白乙酰化; 染色质重塑; 细胞衰老

Progress in Epigenetic Mechanism Research of Aging

Yin Xianhui¹, Liu Jia¹, Li Xueqin¹, Wang Youya¹, Hu Jingyi¹, Wang Zimei^{1*}, Zhou Zhongjun²¹Shenzhen University School of Medicine, Shenzhen 518060, China; ²Department of Biochemistry, LKS Faculty of Medicine, the University of Hong Kong, Hong Kong 999077, China)

Abstract The study on epigenetic mechanism of aging is becoming one of the hotspots in the field of molecular biology in recent years. Epigenetic modifications undergo complex changes during the process of aging, and that is supposed to be one of the decisive factors of aging. Here, we summarize the research on the alteration of epigenetic modifications, such as the hypo- and hyper-methylation of genomic DNA, the variation of the histone modification including some particular sites methylation and acetylation of the histone proteins and the related enzymes, the remodeling of chromatin structure, function changes of telomere, as well as the role of microRNA during the process of aging, to provide some theoretical basis for further research about the mechanism of aging and its potential application of anti-aging.

Key words aging; epigenetics; DNA methylation; histone methylation; histone acetylation; chromatin remodeling; senescence

1 前言

绝大多数高等多细胞动物的正常体细胞都有有限的增殖生命周期。当细胞生命接近或超过这一周期, 就会发生生长停滞、机能衰退等衰老现象^[1]。平均寿命不同的物种其体细胞在离体培养时生命周期也不同, 因此人们认为基因在一定程度上影响着生

命周期。虽然基因型决定了不同物种各自的平均寿命, 但是同一物种不同个体间的寿命差异则主要受其他一些因素的影响^[2]。对一些双胞胎以及长寿家族的研究发现, 人类寿命长短的不同只有20%~30%受基因因素决定, 而有70%~80%是受随机事件的影响, 如环境以及其他一些非基因因素^[3]。在细胞水平

收稿日期: 2013-02-25 接受日期: 2013-04-20

国家自然科学基金(批准号: 81070270)和深圳市科技基金基础研究计划(批准号: JC201005280552A)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0755-86671902, E-mail: wangzm@szu.edu.cn

Received: February 25, 2013 Accepted: April 20, 2013

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81070270) and Science and Technology Bureau of Shenzhen City Grants (Grant No.JC201005280552A)

*Corresponding author. Tel: +86-755-86671902, E-mail: wangzm@szu.edu.cn

网络出版时间: 2013-06-08 11:28 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130608.1128.003.html>

的研究发现, 各种外界压力如电离辐射、紫外照射、氧化反应、营养失衡, 甚至是没有最优化的培养条件都可以引发细胞衰老。而这些因随机事件或环境因子所引发的衰老大多都伴随着表观遗传学修饰的改变^[4-5]。因此, 近年来人们逐渐倾向于认为表观遗传学修饰改变是造成衰老表型的最主要因素之一。

表观遗传学改变指的是由非DNA序列发生变化所导致的表型或者基因表达的改变^[6]。对表观遗传学的研究主要集中于DNA和组蛋白的共价修饰和一些非共价修饰。共价修饰主要包括DNA的甲基化与组蛋白的甲基化、乙酰化、磷酸化等, 具体来说是指组蛋白尾部精氨酸残基的甲基化; 赖氨酸残基的甲基化、乙酰化; 丝氨酸和苏氨酸残基的磷酸化等。非共价修饰包括染色质重塑、非编码RNA(noncoding RNAs, ncRNA)对基因表达的调控以及端粒的变化等, 它们都可以通过影响染色体结构从而对基因表达进行调控^[5]。越来越多的证据表明, 很大一部分衰老进程中基因表达的改变是由于影响基因表达的表观遗传学修饰改变所引起的。以下为近几年来表观遗传学修饰在衰老进程中改变的研究进展情况。

2 DNA甲基化在衰老进程中的改变

DNA甲基化是研究最多的表观遗传学修饰, 它能进行稳定且可遗传的表观遗传学调控。DNA甲基化不仅是正常发育所必需的, 且对已分化细胞在生物整个生命过程中的存活以及发挥相应功能也是必不可少的。以往研究报道, 哺乳动物细胞在衰老进程中经历了DNA甲基化的漂变, 5-甲基胞嘧啶的分布在全基因组范围内发生改变, 引起与衰老相关的基因组DNA甲基化水平降低^[7]。深入研究发现, DNA甲基化水平降低主要发生在重复序列区域(如Alu序列)和组成性异染色质区域, 是由异染色质DNA被动去甲基化造成的, 主要为DNA甲基转移酶1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)效能缺失或辅因子错误定位靶目标的结果^[8]。DNMT1^{+/-}小鼠由于DNA甲基化不足表现出免疫衰老(immunosenescence)的症状^[9]。而近期更多的研究发现, 衰老过程中某些特异基因位点表现为DNA甲基化水平升高, 例如一些代谢调节关键基因启动子区域CpG岛DNA高甲基化, 从而降低该类基因的表达, 导致机体一系列与衰老相关的代谢改变^[10-11]。核纤层蛋白

A(lamin A)以及金属蛋白酶ZMPSTE24缺陷相关早老症与正常衰老有相似机制, 是研究衰老发生机制的很好模型^[12-13]。在*Zmpste24*金属蛋白酶基因缺陷的早老小鼠模型中, 基因组DNA甲基化水平虽然并无明显改变, 但rDNA(能量依赖的核仁沉默复合体)呈现高甲基化状态, 造成核糖体基因转录水平明显降低, 相应早老小鼠代谢水平也下降。应用DNA甲基转移酶抑制剂可以逆转这一现象, 表明特定位点高甲基化在早老表型的发生中也有重要作用^[14]。此外, 最近发现在衰老进程中, DNA特异位点高甲基化的基因包括肿瘤抑制基因*COX7A1*、*LOX*、*RUNX3*、*TIG1*、*p16INK4A*、*RASSF1*等, 生长发育基因*IGF2*、*cFos*, 参与DNA损伤修复基因*MLH1*以及一些信号传递基因*FZD1*和*FZD7*等, 这些改变与衰老的临床病理表现具有明显相关性, 如肿瘤、神经退行性病变、心血管疾病等^[15-16]。在有关干细胞衰老的研究中, Bocker等^[17]对比了脐带血中造血干细胞与成人供体造血干细胞(HPCs)中CpGs位点甲基化的差异, 发现成体HPCs中的CpGs有350个位点低甲基化, 192个位点高甲基化, 而且高甲基化位点大多数位于PRC2(polycomb repressive complex 2)靶基因的CpG岛, 导致基因沉默。PRC2作为甲基化因子已证实存在于体细胞衰老与肿瘤发生中都起着重要作用, 这一研究揭示了DNA甲基化的改变是成体干细胞分化能力的降低的可能原因之一, 这也为干细胞衰竭引发衰老的学说提供了分子水平的支持。

3 组蛋白修饰在衰老进程中的改变

组蛋白的修饰与基因的活化和抑制相关。组蛋白尾部和球体部分的修饰联合在一起, 决定着特定DNA区域染色质状态的开放或闭合, 因此也决定着基因转录活性的强弱。组蛋白的修饰方式主要有组蛋白甲基化和去甲基化、组蛋白乙酰化与去乙酰化等。组蛋白修饰的改变在衰老进程中是一个重要事件^[5]。

3.1 组蛋白甲基化在衰老中的改变

组蛋白以不同的甲基化形式与相应蛋白进行特定联系, 并以此起到促进或抑制基因转录活性的作用。组蛋白甲基化调节一些最基本的生理过程, 如异染色质形成、X染色体失活、基因组印迹、转录调控以及DNA损伤修复。在组蛋白中, 精氨酸的甲基化一般与转录活化相关联, 而赖氨酸的甲基

化既可能导致转录激活也可以导致转录抑制, 如H3K4Me3主要与基因表达相关, 而H3K27Me3则主要与转录抑制相关, 这取决于发生甲基化的特定赖氨酸残基^[5]。

在衰老过程中组蛋白的甲基化形式发生了改变。在大鼠组织中, H4K20的甲基化水平不仅在整体上随着年龄的增长而上升, 而且其甲基化形式也有改变。在正常大鼠的肾脏和肝脏中, H4K20的双甲基化是其主要的甲基化形式, 其单甲基化形式存在的数量很少, 三甲基化形式则更少。然而在老年动物体细胞中, 其三甲基化形式有明显增加, 而单甲基化和双甲基化的形式则没有明显变化^[5]。在核纤层蛋白A缺陷的早老症(hutchinson-gilford progeria syndrome, HGPS)患者细胞中也发现了H4K20的三甲基化水平H4K20me3升高, 同时还伴随着其他组蛋白修饰的改变, 如H3K27Me3和H3K9Me3减少^[18], 这种改变主要通过影响相关区域基因表达导致衰老。此外, 调节组蛋白甲基化水平的甲基化酶在生物衰老过程中也有重要作用。H3K79的甲基化酶DOT1L参与调节细胞增殖和分化调节, 酶活性缺失造成细胞周期阻滞在G₁期, 染色质结构紊乱, 导致细胞衰老^[19-20]。以前研究认为, H3K4Me3的甲基转移酶对生物的发育及其干细胞功能有重要作用。最近研究则发现, ASH-2、WDR-5以及H3K4Me3的甲基转移酶SET-2复合物还可以影响线虫寿命。敲除这些基因可以显著增加线虫寿命。而如果敲除

H3K4Me3的去甲基化酶RBR-2, 则会导致H3K4Me3水平升高, 线虫寿命缩短; 过表达RBR-2则可降低H3K4Me3水平, 且可以延长线虫寿命。H3K4的另一种去甲基化酶LSD1亦有类似作用^[21]。H3K4Me3的甲基转移酶在哺乳动物寿命中的作用目前还不清楚, 但是人们在人类脑部已经观察到了其与年龄相关的表达水平的变化^[22]。其具体作用, 则还有待进一步研究。

3.2 组蛋白乙酰化与衰老进程的关系

组蛋白N末端赖氨酸残基的乙酰化可以中和正电荷, 因此可以减弱组蛋白和DNA之间基于电荷的相互作用。这有利于染色质的解聚, 促使RNA聚合酶和转录因子与启动子的结合。乙酰化的赖氨酸可以被特定转录调节因子或含有特殊蛋白结构域的重塑酶识别并作为靶点而起作用。在大多数情况下, 组蛋白的乙酰化可以增强转录作用, 而组蛋白的去乙酰化则抑制转录。

对衰老动物模型的研究发现, *Zmpste24*金属蛋白酶基因缺陷的早老小鼠中存在组蛋白H4乙酰化下降的现象, 尤其是H4K16位点的乙酰化H4K16Ac降低最为明显, 同时催化H4K16乙酰化的乙酰基转移酶MOF减少, 而MOF与细胞增殖、染色质结构和DNA损伤修复等有密切关系(图1)。过表达MOF或抑制H4K16去乙酰化, 都可改善早老症状。这有力地说明了组蛋白乙酰化与衰老之间的相关机制。随后的研究发现, 在正常衰老的野生型小鼠中也存在

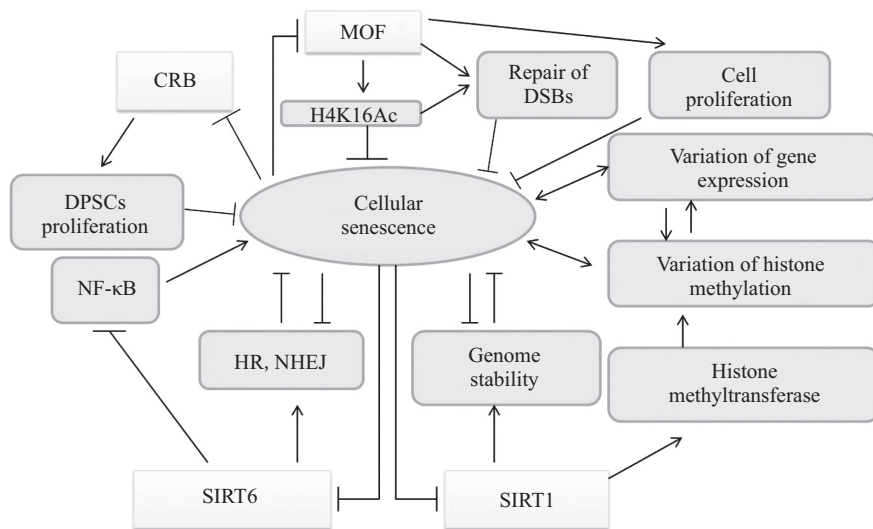


图1 组蛋白化学修饰与细胞衰老调节网络

Fig.1 The complex regulatory networks of histone modifications during cellular senescence

类似的组蛋白H4乙酰化下降情况^[23]。

组蛋白的乙酰化水平受组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDACs)的催化平衡影响。HATs和HDACs均包含多种家族成员。在HATs中,除上述提到的MOF表达降低与早老相关外,对CREB-结合蛋白(CBP)和P300的研究也较多。它们与数百种不同转录因子相互作用,并参与了多种功能调节。干细胞衰老的研究发现, CBP可以调控干细胞或祖细胞的增殖和分化,对干细胞的自我更新有重要作用。而在衰老哺乳动物组织中p300和CBP的表达水平与活性降低有关^[5,24](图1)。这与受其影响的组蛋白乙酰化水平在衰老进程中的降低也是一致的。HDAC有两个重要的家族:经典的HDACs家族和NAD⁺依赖的HDACs(Sir2家族)。Sir2家族的活性与不同生物的生命周期控制有直接联系,因此受到广泛关注。Sir2蛋白及其同源类似物还可将机体能量代谢和基因表达调控相偶联,通过赖氨酸去乙酰化改变相关蛋白质的活性和稳定性,从而调节衰老进程^[25]。在哺乳动物中发现了酵母菌中Sir2的七种直系同源基因,被称作去乙酰化酶(SIRT1-7)。其中,SIRT1和SIRT6是衰老生物学家特别感兴趣的两个基因。在小鼠和人成纤维细胞中,SIRT1水平与增殖代数有明显的相关性。在小鼠中,随着年龄的增加,组织中(如胸腺与睾丸)SIRT1的水平降低,其有丝分裂活性也降低^[26]。人体中,SIRT1可以将H3K9Ac、H4K16Ac、H1K26Ac去乙酰化,促进异染色质的形成,在维持有丝分裂中染色体组的整倍性等方面有重要作用^[27]。而在衰老的细胞中,SIRT1活性降低,导致基因组非整倍性和不稳定性增加^[28](图1)。此外,最近人们还发现SIRT1与核纤层蛋白A之间有相互作用,在*Zmpste24*-缺陷早老小鼠中,由于核纤层蛋白A异常导致SIRT1在核内分布异常和活性下降,参与了早老发生机制。应用SIRT1激活剂白藜芦醇(Resveratrol)可以增加SIRT1酶的活性,提高SIRT1与核纤层蛋白的结合能力,减轻早老小鼠成体干细胞的下降趋势,同时延长早老小鼠寿命^[29]。值得一提的是,以往研究认为在酵母菌中*Sir2*以及在多细胞动物(如线虫及果蝇)的同源物*sirtuins*的过表达可以延长动物的寿命周期。但Burnett等^[30]的最新研究发现,将实验条件标准化(用于实验的线虫和果蝇的遗传背景一致化)之后,在线虫和果蝇中*sirtuins*的过表

达并不能像先前实验结论那样延长其寿命^[31]。从而对以往的实验结果提出了质疑和更正,从侧面反映了衰老是一个复杂的过程。另外,SIRT6与衰老关系的研究成为近两三年的热点。SIRT6主要定位于细胞核,它是NAD⁺依赖的H3K9Ac和H3K56Ac去乙酰化酶,能够特异结合于染色质端粒区域。阻断SIRT6活性可导致端粒功能丧失,染色质末端融合以及细胞衰老,并产生类似于Werner早老综合征的表现^[32]。进一步研究揭示,SIRT6可以通过逆转NF- κ B作用参与机体抗衰老过程。我们知道,应激导致的NF- κ B途径激活可以加速衰老,而SIRT6可结合NF- κ B的RELA亚基,引起NF- κ B靶基因启动子H3K9位点去乙酰化,抑制了靶基因的转录活性^[33]。此外,SIRT6还是DNA依赖的蛋白激酶组分,在双链DNA损伤时募集到损伤位点,直接参与DNA损伤的同源重组(HR)和非同源末端连接(NHEJ)修复过程,对维持基因组稳定性和抑制衰老进程起到重要作用^[34]。

4 染色质结构和状态与衰老的关系

染色质结构决定着所有需要接近DNA序列的反应进程,其状态与细胞功能的维持有密切关系。染色质可以功能性地分为常染色质和异染色质。常染色质结构相对松弛,多包含一些活性表达的基因;而异染色质结构紧密,抑制基因表达并在维持基因组稳定性方面具有重要作用。常染色质和异染色质的结构并不是一成不变的,而是具有高度的可变性,这种变化还与发育和年龄有相关性。2003年发表在*Cell*杂志上的研究发现,人体成纤维细胞体外培养发生复制性衰老或由原癌基因*Ras*诱导的细胞衰老时会形成“衰老相关异染色质聚集灶(senescence-associated heterochromatin foci, SAHF)”,可以被DAPI深染,被认为是细胞衰老新的生物学标志^[35]。SAHF的主要成分包括异染色质结合蛋白1(HP1)、组蛋白变体macroH2A、H3.3以及基因沉默标记物H3K9Me3等。SAHF的形成是由多种组蛋白伴侣因子(HIRA、ASF1a、HMGA等)参与、经肿瘤抑制基因p16-pRb和p53通路介导的复杂过程^[36]。最新研究又发现,SAHF是异染色质在空间位置上的分层重新组合,即特定的high-order chromatin structures(HOCS),并不涉及H3K9Me3的甲基化改变^[37],这一研究为染色质高级结构变化与衰老的关系翻开了新的一页。在HGPS早老症和正常老人细胞中尚未观察到SAHF

现象, 说明SAHF的形成具有特殊性, 有待进一步深入探讨。但已有研究表明, 正常老年人和HGPS早老症患者皮肤成纤维细胞中核结构异常, 染色质结构趋向松散, 核周异染色质丧失^[12,18], *Zmpste24*-缺陷早老小鼠胚胎成纤维细胞核膜内陷或突起, 核骨架异常并且HP1表达升高^[29,38], 从另一侧面说明衰老细胞中存在染色质结构紊乱的现象, 染色质尤其是异染色质高级结构异常是导致衰老的重要原因。

染色质结构还可以影响DNA损伤的修复, 而DNA损伤的累积可导致细胞衰老^[39]。多种有早老表现的综合征皆是由于DNA解螺旋酶和DNA损伤修复相关蛋白基因缺陷或突变所造成的, 包括Werner Syndrome(WS)、Bloom Syndrome(BS, BLS)、Cockayne Syndrome(CS)、Xeroderma Pigmentosum(XP)和Ataxia telangiectasia(AT)等。另外, 在核纤层蛋白A异常的早老症(HGPS, *Zmpste24*金属蛋白酶基因缺陷小鼠)研究中, 人们发现病人组织细胞也对DNA损伤敏感, DNA损伤标记物 γ H2AX表达增加, DNA损伤修复因子53BP1等募集到DNA损伤位点的时间明显延迟, 存在DNA损伤修复障碍的问题, 有明显的基因组不稳定性特征, 与衰老表型的产生密切相关^[40]。如前所述, 染色质结构决定着所有需要靠近DNA的反应进程, 其中DNA损伤的修复也会受其影响。DNA损伤后, 染色质重塑机制首先松弛局部染色质的高级结构, 使得DNA修复因子能够募集到DNA损伤位点展开修复功能, 完成修复后再恢复染色质高级结构^[41]。BRG1和hSNF5(又称INI1/BAF47/SmrcB1)分别是ATP依赖染色质重塑复合物SWI/SNF的核心亚基组分, 它们在人类癌细胞系中过表达都可以诱导细胞衰老, BRG1介导SAHF的形成^[42], hSNF5直接在转录水平调节衰老分子标志物*p21*和*p16^{INK4a}*基因表达^[43]。而另一类编码SWI/SNF亚基的*ERCC8*、*ERCC6*基因突变, 可以引发Cockayne综合征, 表现为明显的早老症、对紫外线敏感、骨骼畸形、侏儒、神经退行性病变等^[44]。这也许是因为这些突变影响了ATP依赖的染色质重塑复合物对染色质的重塑作用。此外, 酵母双杂交筛选实验发现, HGPS细胞中核小体重塑和脱乙酰基酶(nucleosome remodeling and deacetylase, NURD)复合物中RBBP4/RBBP7、HDAC1和MTA3等组分含量明显降低, 阻断NURD功能可引起HP1、H3K9me3等异染色质标志物水平升高, 同时伴随DNA损伤灶明显增加。将

衰老引起的染色质结构改变进行反向处理后, 可延长细胞寿命^[45-46]。这些研究都说明了染色质结构和衰老之间存在密切联系。

5 其他影响衰老的表观遗传学调节与表观遗传网络调控

端粒是由不含基因的TTAGGG重复序列与特异蛋白复合体结合而成的核蛋白复合结构, 可保护染色体免遭DNA损伤因子的破坏。在大多数人类细胞中, 端粒会随着细胞分裂代数的增加而不断损耗, 最终不能有效保护染色体, 进而影响细胞的正常增殖。因此人们认为端粒的缩短是影响人类寿命的主要因素^[47]。哺乳动物的端粒含有一些表观遗传学标志, 受表观遗传修饰机制的调节, 如HP1亚基的绑定、H3K9和H4K20的三甲基化形式、还有低水平的H3和H4的乙酰化形式^[48-49]。这些表观遗传标志和端粒长度的调节之间存在紧密联系, 其修饰形式的变化与端粒长度相关的紊乱有关, 显示端粒结构可被表观遗传机制所调节^[48]。此外, 人类SIRT6蛋白具有NAD⁺依赖的H3K9去乙酰化酶作用, 且与端粒相互联系。在Werner综合征中, SIRT6的损耗可以导致端粒的功能紊乱, 并导致细胞早老表型^[32]。端粒的损耗缩短在衰老进程中具有重要作用, 且伴随着端粒区域的表观遗传学修饰的改变, 暗示由端粒损耗所引起的衰老与表观遗传机制相互联系、但是其详细机制仍有待进一步研究^[48-49]。非编码RNAs(non-coding RNA, ncRNAs)是不编码蛋白质, 但广泛参与细胞生物学功能调节的一大类RNA分子, 分为组成性表达ncRNAs和调节性ncRNAs, 前者包括rRNA、tRNA、小核RNAs(snRNAs)、小核仁RNAs(snoRNAs)等, 后者大多为近年来的研究热点, 包括微小RNAs(MicroRNAs, miRNAs)、Piwi-interacting RNAs(piRNAs)、小干扰RNAs(siRNAs)、长非编码RNAs(lncRNAs)、启动子相关RNAs(PARs)和增强子RNAs(eRNA)等。调节性ncRNAs介导基因转录和转录后沉默, 在控制细胞分化、细胞周期、染色体结构、能量代谢和表观记忆等方面起到重要作用^[50]。目前, 与衰老和寿命密切相关的ncRNAs研究进展主要集中于miRNAs。miR-34a作为p53通路的效应因子在衰老细胞中表达升高, 它能抑制E2F、c-Myc、SIRT1、Cdk4和Cdk6等参与的细胞周期捕获、肿瘤抑制和衰老^[51]。miR-24与miR-15b、miR-

25、miR-141等联合作用抑制p16活性,在衰老细胞中表达降低是激活衰老信号通路p16/RB的重要原因^[52]。此外,多种miRNAs参与了衰老相关基因的表达调节,如miR-23a、miR-26a、miR-30a抑制HMGA2蛋白生成,是引发MSC干细胞衰老的原因之一;miR-29和miR-30靶向抑制B-Myc表达,而B-Myc过量表达可以阻止*Ras*癌基因诱导的细胞衰老^[53];在*Zmpste24*-缺陷早老小鼠中也发现有miR-1和miR-29高表达^[54]。参与衰老调节的miRNAs数量众多,并且不断有新发现,它们调节衰老的过程仍有待深入研究^[53]。另外,IncRNAs在染色质结构、肿瘤发生和干细胞多能性维持等多方面的功能为人们打开了一个新领域,它被认为参与了肿瘤与细胞衰老的平衡点调节机制。由INK4位点附近转录的IncRNA(ANRIL)可以直接与Polycomb家族蛋白PRC1和PRC2结合,并在INK4b-ARF-INK4a位点周围形成异染色质区域,抑制p15(INK4b)、p14(ARF)和p16(INK4a)的表达,有助于干细胞或祖细胞越过细胞衰老屏障,维持细胞群的增殖能力和分化能力^[55]。

DNA甲基化,组蛋白的甲基化、乙酰化,还有miRNA等表观遗传学调控通路,在衰老进程中不仅单独起作用,相互之间还有影响(图2)。DNA甲基化与其他表观遗传学通路有重要联系,如SUV39H1介导的H3K9的三甲基化形式(H3K9Me3)对某些特定位点的DNA甲基化有重要作用。而如前所述H3K9Me3在衰老进程中表达升高、分布异常,这势必引起相应位点DNA甲基化的改变^[56]。此外,多梳蛋白抑制复合物1和2(PRC1/PRC2)的活化对DNA甲基化有重要作用,而一些对染色质重塑有作用的蛋白家族(如SWI/SNF)以及HDACs和DNMTs则加强DNA的甲基化作用和多梳蛋白抑制复合物对靶点的抑制作用^[5,57]。miRNA和组蛋白乙酰化以及DNA甲基化也有相互作用。在小鼠细胞中,miR-34-(miRNA)以HDACs为靶点起作用,通过抑制SIRT1活性来诱导衰老,进而影响组蛋白及非组蛋白如p53乙酰化水平,在miR-34、SIRT1和p53之间形成正反馈调节环路,共同加强细胞衰老调控^[58]。反之,miRNA基因的转录也受DNA甲基化和组蛋白乙酰化改变的表观遗传学调控。在衰老进程中,不但DNA甲基化和组蛋白乙酰化发生了变化,许多miRNA的表达也发生了改变^[59]。

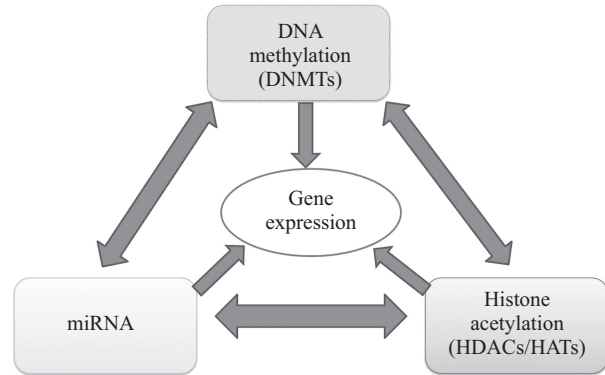


图2 衰老相关的表观遗传学通路间的相互作用
Fig.2 The interactions of different epigenetic pathways during aging

6 结论与展望

表观遗传学通路(包括DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质结构和状态、端粒维持以及miRNA调节等)相互交叉、相互作用,共同控制着细胞命运和疾病状态。细胞中包括衰老在内的许多重要事件都要受这些表观遗传调控因子在时空上的共同调节。体现了环境和随机事件引发生物体衰老现象的重要性。表观遗传学机制对衰老的影响不仅是复杂的而且是双向的。表观遗传学改变比遗传学改变的可逆性更强,对这些可逆性的研究对一些衰老相关疾病,如癌症、老年神经性病变、免疫功能缺陷、骨质疏松等许多其他衰老相关疾病有着潜在的治疗价值。在衰老的表观遗传学机制领域,还有更多的未知等着人们去发现。

参考文献 (References)

- Hayflick L. The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1965; 37(3): 614-36.
- Frag MF. Genetic and epigenetic regulation of aging. *Curr Opin Immunol* 2009; 21(4): 446-53.
- Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Setien F, Ballestar ML, *et al*. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102(30): 10604-9.
- Di Bernardo G, Cipollaro M, Galderisi U. Chromatin modification and senescence. *Curr Pharm Des* 2012; 18(13): 1686-93.
- Muñoz-Najar U, Sedivy JM. Epigenetic control of aging. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14(2): 241-59.
- Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: A landscape takes shape. *Cell* 2007; 128(4): 635-8.
- Fuke C, Shimabukuro M, Petronis A, Sugimoto J, Oda T, Miura K, *et al*. Age related changes in 5-methylcytosine content in human peripheral leukocytes and placentas: An HPLC-based study. *Ann Hum Genet* 2004; 68(3): 196-204.

- 8 Casillas MA Jr, Lopatina N, Andrews LG, Tollesbol TO. Transcriptional control of the DNA methyltransferases is altered in aging and neoplastically-transformed human fibroblasts. *Mol Cell Biochem* 2003; 252(1/2): 33-43.
- 9 Liu L, van Groen T, Kadish I, Li Y, Wang D, James SR, *et al.* Insufficient DNA methylation affects healthy aging and promotes age-related health problems. *Clin Epigenetics* 2011; 2(2): 349-60.
- 10 Hernandez DG, Nalls MA, Gibbs JR, Arepalli S, van der Brug M, Chong S, *et al.* Distinct DNA methylation changes highly correlated with chronological age in the human brain. *Hum. Mol. Genet* 2011; 20(6): 1164-72.
- 11 Heyn H, Li N, Ferreira HJ, Moran S, Pisano DG, Gomez A, *et al.* Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(26): 10522-7.
- 12 Scaffidi P, Misteli T. Lamin A-dependent nuclear defects in human aging. *Science* 2006; 312(5776): 1059-63.
- 13 Dreesen O, Stewart CL. Accelerated aging syndromes, are they relevant to normal human aging? *Aging* 2011; 3(9): 889-94.
- 14 Madrigano J, Baccarelli A, Mittleman MA, Sparrow D, Vokonas PS, Tarantini L, *et al.* Aging and epigenetics: Longitudinal changes in gene-specific DNA methylation. *Epigenetics* 2012; 7(1): 63-70.
- 15 Gentilini D, Mari D, Castaldi D, Remondini D, Ogliaari G, Ostani R, *et al.* Role of epigenetics in human aging and longevity: Genome-wide DNA methylation profile in centenarians and centenarians' offspring. *Age* 2012; doi: 10.1007/s11357-012-9463-1.
- 16 Winnefeld M, Lyko F. The aging epigenome: DNA methylation from the cradle to the grave. *Genome Biol* 2012; 13(7): 165.
- 17 Bocker MT, Hellwig I, Breiling A, Eckstein V, Ho AD, Lyko F. Genome-wide promoter DNA methylation dynamics of human hematopoietic progenitor cells during differentiation and aging. *Blood* 2011; 117(19): e182-9.
- 18 Shumaker DK, Dechat T, Kohlmaier A, Adam SA, Bozovsky MR, Erdos MR, *et al.* Mutant nuclear lamin A leads to progressive alterations of epigenetic control in premature aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(23): 8703-8.
- 19 de Vos D, Frederiks F, Terweij M, van Welsem T, Verzijlbergen KF, Iachina E, *et al.* Progressive methylation of ageing histones by Dot1 functions as a timer. *EMBO Rep* 2011; 12(9): 956-62.
- 20 Kim W, Kim R, Park G, Park JW, Kim JE. Deficiency of H3K79 histone methyltransferase Dot1-like protein (DOT1L) inhibits cell proliferation. *J Biol Chem* 2012; 287(8): 5588-99.
- 21 Shuo Han, Anne Brunet. Histone methylation makes its mark on longevity. *Trends Cell Biol* 2012; 22(1): 42-9.
- 22 Cheung I, Shulha HP, Jiang Y, Matevossian A, Wang J, Weng Z, *et al.* Developmental regulation and individual differences of neuronal H3K4me3 epigenomes in the prefrontal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(19): 8824-9.
- 23 Krishnan V, Chow MZ, Wang Z, Zhang L, Liu B, Liu X, *et al.* Histone H4 lysine 16 hypoacetylation is associated with defective DNA repair and premature senescence in Zmpste24-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(30): 12325-30.
- 24 Pollina EA, Brunet A. Epigenetic regulation of aging stem cells. *Oncogene* 2011; 30(28): 3105-26.
- 25 刘 玢, 陈维春, 刘新光, 周中军. Sirtuin在热量限制延长寿命机制中的研究进展. *生物化学与生物物理进展*(Liu Fen, Chen Weichun, Liu Xinguang, Zhou Zhongjun. *Advances in sirtuin* on the mechanism of calorie restriction on lifespan. *Progress in Biochemistry and Biophysics*) 2012; 39(1): 5-13.
- 26 Sasaki T, Maier B, Bartke A, Scrable H. Progressive loss of SIRT1 with cell cycle withdrawal. *Aging Cell* 2006; 5(5): 413-22.
- 27 Vaquero A, Sternglanz R, Reinberg D. NADP-dependent deacetylation of H4 lysine 16 by class III HDACs. *Oncogene* 2007; 26(37): 5505-20.
- 28 Fatoba ST, Okorokov AL. Human SIRT1 associates with mitotic chromatin and contributes to chromosomal condensation. *Cell Cycle* 2011; 10(14): 2317-22.
- 29 Liu B, Ghosh S, Yang X, Zheng H, Liu X, Wang Z, *et al.* Resveratrol rescues SIRT1-dependent adult stem cell decline and alleviates progeroid features in laminopathy-based progeria. *Cell Metab* 2012; 16(6): 738-50.
- 30 Burnett C, Valentini S, Cabreiro F, Goss M, Somogyvári M, Piper MD, *et al.* Absence of effects of Sir2 overexpression on lifespan in *C. elegans* and *Drosophila*. *Nature* 2011; 477(7365): 482-5.
- 31 Lombard DB, Pletcher SD, Cantó C, Auwerx J. Ageing: Longevity hits a roadblock. *Nature* 2011; 477(7365): 410-1.
- 32 Michishita E, McCord RA, Berber E, Kioi M, Padilla-Nash H, Damian M, *et al.* SIRT6 is a histone H3 lysine 9 deacetylase that modulates telomeric chromatin. *Nature* 2008; 452(7186): 492-6.
- 33 Kawahara TL, Michishita E, Adler AS, Damian M, Berber E, Lin M, *et al.* SIRT6 links histone H3 lysine 9 deacetylation to NF-kappaB-dependent gene expression and organismal life span. *Cell* 2009; 136(1): 62-74.
- 34 Mao Z, Hine C, Tian X, van Meter M, Au M, Vaidya A, *et al.* SIRT6 promotes DNA repair under stress by activating PARP1. *Science* 2011; 332(6036): 1443-6.
- 35 Narita M, Nunez S, Heard E, Narita M, Lin AW, Hearn SA, *et al.* Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence. *Cell* 2003; 113(6): 703-16.
- 36 Ye X, Zerlanko B, Zhang R, Somaiah N, Lipinski M, Salomoni P, *et al.* Definition of pRB- and p53- dependant and independent steps in HIRA/ASF1a-mediated formation of senescence-associated heterochromatin foci. *Mol Cell Biol* 2007; 27(7): 2452-65.
- 37 Chandra T, Narita M. High-order chromatin structure and the epigenome in SAHF. *Nucleus* 2013; 4(1): 23-8.
- 38 刘 佳, 周光前, 尹献辉, 刘宝华, 郑慧玲, 李雪芹, 等. HP1 α 在 Zmpste24缺陷早老小鼠胚胎成纤维细胞中表达和磷酸化水平升高. *中国生物化学与分子生物学报*(Liu Jia, Zhou Guangqian, Yin Xianhui, Liu Baohua, Zheng Huiling, Li Xueqin, *et al.* HP1 α expression and phosphorylation are up-regulated in Zmpste24-deficient premature aging mice embryonic fibroblasts. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*) 2012; 28(7): 22-7.
- 39 Kirkwood TB. Understanding the odd science of aging. *Cell* 2005; 120(4): 437-47.
- 40 Liu B, Wang J, Chan KM, Tjia WM, Deng W, Guan X, *et al.* Genomic instability in laminopathy-based premature aging. *Nat Med* 2005; 11(7): 780-5.
- 41 Krishnan V, Liu B, Zhou Z. "Relax and Repair" to restrain aging. *Aging (Albany NY)* 2011; 3(10): 943-54.
- 42 Tu Z, Zhuang X, Yao YG, Zhang R. BRG1 is required for

- formation of senescence-associated heterochromatin foci induced by oncogenic RAS or BRCA1 loss. *Mol Cell Biol* 2013; 33(9): 1819-29.
- 43 Chai J, Charboneau AL, Betz BL, Weissman BE. Loss of the hSNF5 gene concomitantly inactivates p21CIP/WAF1 and p16INK4a activity associated with replicative senescence in A204 rhabdoid tumor cells. *Cancer Res* 2005; 65(22): 10192-8.
- 44 Zhang X, Horibata K, Saijo M, Ishigami C, Ukai A, Kanno S, *et al.* Mutations in UVSSA cause UV-sensitive syndrome and destabilize ERCC6 in transcription-coupled DNA repair. *Nat Genet* 2012; 44(5): 593-7.
- 45 Feser J, Tyler J. Chromatin structure as a mediator of aging. *FEBS Lett* 2011; 585(13): 2041-8.
- 46 Pegoraro G, Kubben N, Wickert U, Göhler H, Hoffmann K, Misteli T. Ageing-related chromatin defects through loss of the NURD complex. *Nat Cell Biol* 2009; 11(10): 1261-7.
- 47 Flores I, Cayuela ML, Blasco MA. Effects of telomerase and telomere length on epidermal stem cell behavior. *Science* 2005; 309(5738): 1253-6.
- 48 Ottaviani A, Gilson E, Magdinier F. Telomeric position effect: From the yeast paradigm to human pathologies. *Biochimie* 2008; 90(1): 93-107.
- 49 Benetti R, García-Cao M, Blasco MA. Telomere length regulates the epigenetic status of mammalian telomeres and subtelomeres. *Nat Genet* 2007; 39(2): 243-50.
- 50 Grillari J, Grillari-Voglauer R. Novel modulators of senescence, aging, and longevity: Small non-coding RNAs enter the stage. *Exp Gerontol* 2010; 45(4): 302-11.
- 51 Christoffersen NR, Shalgi R, Frankel LB, Leucci E, Lees M, Klausen M, *et al.* p53-independent upregulation of miR-34a during oncogene induced senescence represses MYC. *Cell Death Differ* 2010; 17(2): 236-45.
- 52 Lal A, Kim HH, Abdelmohsen K, Kuwano Y, Pullmann R Jr, Srikantan S, *et al.* p16(INK4a) translation suppressed by miR-24. *PLoS One* 2008; 3(3): e1864.
- 53 Gorospe M, Abdelmohsen K. Micro-regulators come of age in senescence. *Trends Genet* 2011; 26(6): 233-41.
- 54 Ugalde AP, Español Y, López-Otín C. Micromanaging aging with miRNAs: New messages from the nuclear envelope. *Nucleus* 2011; 2(6): 549-55.
- 55 Aguilo F, Zhou MM, Walsh MJ. Long noncoding RNA, polycomb, and the ghosts haunting INK4b-ARF-INK4a expression. *Cancer Res* 2011; 71(16): 5365-9.
- 56 Harnicarová Horáková A, Galiová G, Legartová S, Kozubek S, Matula P, Bártová E. Chromocentre integrity and epigenetic marks. *J Struct Biol* 2010; 169(1): 124-33.
- 57 Myant K, Stancheva I. LSH cooperates with DNA methyltransferases to repress transcription. *Mol Cell Biol* 2008; 28(1): 215-26.
- 58 Yamakuchi M, Lowenstein CJ. MiR-34, SIRT1 and p53: the feedback loop. *Cell Cycle* 2009; 8(5): 712-5.
- 59 Smith-Vikos T, Slack FJ. MicroRNAs and their roles in aging. *J Cell Sci* 2012; 125(Pt 1): 7-17.