

综述

蜕膜细胞早熟衰老与早产

马珍子 李世杰 严云勤* 马兴红*

(东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

摘要 世界范围内, 5%~18%的妊娠与早产相关, 早产是导致新生儿死亡的最主要原因。每年大约有1 500万早产儿降生, 由早产导致的新生儿死亡每年超过100万。尽管已发现许多因素与早产有关, 但对早产的发病机制仍认识不深, 临床上仍然缺乏有效的预防与治疗手段。细胞衰老在各种生物学过程中发挥重要作用。最近的研究表明, 子宫蜕膜衰老可能决定分娩的时机, 蜕膜早熟衰老是早产的重要诱因。该文总结了最近关于细胞衰老的最新观点, 综述了蜕膜细胞早熟衰老与早产关系的最新研究进展。

关键词 蜕膜化; 细胞衰老; 早产

Premature Decidual Senescence and Preterm Birth

Ma Zhenzi, Li Shijie, Yan Yunqin*, Ma Xinghong*

(College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract Preterm birth accounts for 5% to 18% of pregnancies worldwide and is a leading cause of infant morbidity and mortality. Each year, about 15 million preterm neonates are born and over 1 million neonatal deaths happen. Although several risk factors were found to contribute to this disorder, the mechanisms underlying preterm birth are still not well understood and the effective prevention and treatment are not quite available. Cellular senescence is implicated in several biological processes. Recent studies suggest that decidual senescence may determine the timing of birth, and the premature decidual senescence may be the common cause of preterm birth. In this paper, we summarize the current understanding of cellular senescence and review advances relevant to the relationship between preterm birth and decidual senescence.

Keywords decidualization; cellular senescence; preterm birth

世界卫生组织(WHO)定义, 早产是指发生在妊娠37周之前的分娩, 或者从最后一次月经的第1天起少于259天的分娩^[1]。世界范围内大约5%~18%的妊娠会发生早产, 每年大约有1 500万早产儿诞生^[2]。我国报告的早产发生率在5%~8%之间^[3]。早产是导

致新生儿死亡的最主要原因, 也是导致儿童在5岁之前死亡的第二位因素^[2]。早产不仅是一个严重的医学问题, 同时也是严重的公众健康和社会问题。早产儿由于在生理发育尚未完成之前出生, 常常需要特殊的护理。早产幸存者经常发生生长发育迟缓和

收稿日期: 2015-02-04 接受日期: 2015-04-17

国家自然科学基金(批准号: 31271601)和黑龙江省教育厅海外学人科研资助项目(批准号: 1253HQ016)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0451-55191309, E-mail: yanyunqin@sohu.com, xinghongma@neau.edu.cn

Received: February 4, 2015 Accepted: April 17, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31271601) and the Scientific Research Foundation for the Returned Overseas Chinese Scholars, Education Department of Heilongjiang Province (Grant No.1253HQ016)

*Corresponding author. Tel: +86-451-55191309, E-mail: yanyunqin@sohu.com, xinghongma@neau.edu.cn

网络出版时间: 2015-07-03 15:58 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150703.1558.005.html>

长期的器官功能障碍。早产者面临一生脑瘫、智能障碍、慢性肺疾病、听力和视力丧失等巨大威胁, 给其家庭和社会带来巨大的负担^[4]。

早产是由多种病理学过程引起的综合征, 涉及遗传因素、感染/炎症、氧化应激、多胎引起的子宫过度膨胀、子宫颈异常以及孕酮拮抗等多种因素^[5]。三分之二的早产是自发性早产, 其余三分之一则是由于母源或胎儿的并发症引起的治疗性早产, 比如先兆子痫和子宫内生长抑制等^[6]。尽管临床上利用抑制子宫收缩的药物、抗生素和手术环扎术等各种方法努力降低早产的发生, 但收效甚微。每年, 仅美国耗费在早产上的费用就高达2 600万美元, 而且呈逐年上升趋势^[7]。因此, 应用临床相关的模型进行更加深入的基础研究对于解决早产问题至关重要。

自从1961年Hayflick等^[8]提出细胞衰老(cellular senescence)的概念以来, 关于细胞衰老的研究有了长足的进展, 细胞衰老在各种生理和病理过程中发挥着重要的作用^[9]。近年来, 通过基因敲除小鼠构建了模拟人早产的临床前模型。临床前模型研究表明, 细胞衰老也在分娩过程中发挥重要作用^[10]。本文综述了细胞衰老的发现、特征、分类、分子机制和生理功能以及子宫蜕膜细胞衰老和早产关系的最新研究进展, 为进一步研究早产的分子机理和临床实践提供参考。

1 细胞衰老的发现和特征

细胞衰老最早是指Hayflick和Moorhead发现的正常人成纤维细胞在体外培养一段时间后会进入不可逆的生长停滞状态^[8]。细胞衰老通常伴随着细胞形态学的改变, 体外培养的细胞衰老时通常会变大、变平、空泡化, 偶尔会出现多核化。但体内衰老的细胞由于组织结构的限制, 通常形态正常。无论体内或体外衰老的细胞都具有一些分子标记。最常用的衰老标记是在pH6条件下组织冰冻切片的 β -半乳糖苷酶活性, 称为衰老相关的 β -半乳糖苷酶活性(senescence-associated β -galactosidase activity, SA β GAL)^[11]。最近也有报道称, 苏丹黑(Sudan Black B)染料可标记石蜡切片中的衰老细胞^[12]。细胞衰老是稳定的细胞周期阻滞, 因此缺乏增殖细胞的特征标记(如Ki67染色阳性和BrdU复制参入)是判定细胞处于衰老状态的必要条件。经典的细胞衰老标志分子还包括细胞周期抑制分子和肿瘤抑制因子, 如p15、

p16、ARHF、p53、p21、p27和低磷酸化的RB^[13]。在一些衰老的细胞尤其是原癌基因诱导的衰老细胞中, 会形成衰老相关的异染色质集落(senescence-associated heterochromatic foci, SAHF), 包含异染色质标志分子组蛋白赖氨酸三甲基化(H3K9me3)、异染色质蛋白1- γ (heterochromatin protein 1 homologue- γ , HP1 γ)和异型组蛋白macro-H2A^[14-15]。

衰老的细胞虽然永久地失去了增殖能力, 但仍然能在很长的一段时间内保持代谢活性和蛋白质合成能力。衰老细胞的分泌组(secretome)出现了显著的改变, 分泌一系列的细胞外分子, 被称为衰老相关的分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)^[16]。这些细胞外分子包括促炎症细胞因子(白介素-6和白介素-8)、炎症趋化因子(单核细胞趋化蛋白MCPs和巨噬细胞炎症蛋白MIPs)、生长因子(TGF β 和巨噬细胞粒细胞集落刺激因子GM-CSF)和蛋白酶类等^[16-22]。

需要注意的是, 这些标志分子并不仅仅在衰老细胞中表达, 也没有哪个标志分子能够单独证明细胞处于衰老状态^[13]。所以, 只能通过一系列标志分子组合来共同确定细胞处于衰老状态。

2 细胞衰老的种类

细胞衰老从诱因上可分为损伤诱导的细胞衰老和生理过程中自然发生的细胞衰老两大类(图1)。

2.1 损伤诱导的细胞衰老

损伤诱导的细胞衰老包括复制性细胞衰老和早熟性细胞衰老。

2.1.1 复制性细胞衰老(replicative cellular senescence) 随着DNA复制的进行, DNA末端的端粒不断缩短直至达到最短的阈值时便会激活肿瘤抑制因子p53, 活化的p53能够激活它下游的靶标p21, 并引发细胞衰老^[23]。

2.1.2 早熟性细胞衰老(premature cellular senescence) 在端粒没有任何缩短或功能存在任何障碍时, 仍然有许多因素可以诱导细胞衰老, 这种在端粒缩短之前就已经发生的细胞衰老被称为早熟性细胞衰老^[13]。早熟性细胞衰老又分为应激诱导的细胞衰老、癌基因诱导的细胞衰老、肿瘤抑制因子缺失诱导的细胞衰老。活性氧(reactive oxygen species, ROS)能够通过激酶MKK3、MKK6和它们下游的激酶受体p38来激活p16和p53, 进而引发细胞衰老, 称为应激诱导的

细胞衰老^[24]。癌基因(如*RAS*)的激活和抑癌基因(如*PTEN*和*VHL*)的失活等也可诱发细胞衰老,许多研究表明,细胞通过细胞衰老可以限制癌症的早期发展^[25-27]。

2.2 生理过程中的细胞衰老

生理过程中的细胞衰老是指在生物体的正常生理过程中所必经的衰老过程,是由非外界因素引起的自然发生的衰老。在胚胎发育过程和成体组织中均发现大量的细胞衰老现象。

2.2.1 胚胎发育中的细胞衰老 最近的研究发现,细胞衰老在整个胚胎发育过程中十分普遍,如在胚胎中肾衰退过程中的中肾管、内耳的内淋巴囊、肢顶外胚层嵴、闭合中的神经管都发现存在细胞衰老现象^[9,28-29]。发育衰老与损伤诱导的衰老具有一些相同的调控通路,但与损伤诱导的衰老相比,发育衰老又有它独特的特征。在经历发育衰老的组织中并不存在DNA损伤标志,发育衰老并不激活p16或p19,并不被p53或DNA损伤激活,而是由p21通过不依赖于p53的途径介导的。TGF β /SMAD和PI3K/FOXO信号途径参与调节发育中的细胞衰老^[28]。

2.2.2 成体中发生的细胞衰老 细胞衰老不仅在胚胎发育中存在,也在成体组织中自然发生。例如,对于巨核细胞和胎盘合体滋养层来说衰老是它们

自然成熟的一个必经过程^[30-31]。巨核细胞的衰老与发育衰老相似,主要依赖于p21通路^[30]。而人类胎盘合体滋养层细胞中有明显的SA β GAL活性,并表达DNA损伤标志分子p16、p21和p53^[31]。通过细胞融合形成的成肌细胞也有明显的SA β GAL活性^[32]。此外,在母胎界面存在大量的NK细胞,NK细胞通过重塑胎盘母体血管在维持妊娠中发挥巨大作用。蜕膜NK细胞具有明显的细胞衰老特征,包括SA β GAL染色、DDR标志分子、HP1 γ 、p21和SASP分泌特征^[33]。

3 细胞衰老的机制与作用

多种诱导因素通过各种信号途径导致细胞衰老(图1)。这些信号途径的绝大部分最后激活细胞周期依赖的激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)抑制因子p15(也称作INK4B,由*CDKN2B*基因编码)、p16(也称作INK4A,由*CDKN2A*基因编码)、p21(也称作WAF1,由*CDKN1A*基因编码)和p27(由*CDKN1B*基因编码),从而抑制CDK-cyclin复合物的功能,进一步导致RB磷酸化降低,细胞周期停滞^[23,34-39]。

细胞衰老和细胞凋亡在某些情况下能够相互补偿^[40]。与细胞凋亡类似,细胞衰老普遍的生物学意义是清除机体不需要的细胞,参与组织重塑。细

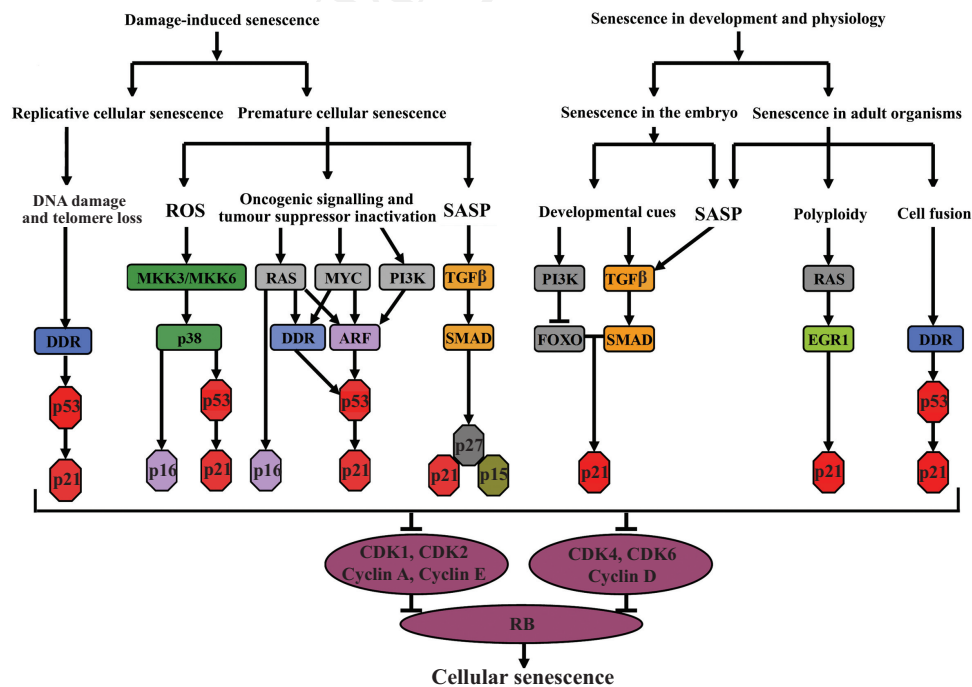


图1 细胞衰老的种类和分子途径(根据参考文献[9]修改)

Fig.1 The types and molecular pathways of cellular senescence (modified from reference [9])

细胞衰老的作用模式可通过以下几个阶段: 首先, 使细胞处于稳定的细胞周期阻滞状态; 然后, 通过细胞衰老相关的分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)分泌各种因子招募免疫细胞(包括辅助T细胞和巨噬细胞等), 进而清除衰老的细胞; 最后再动员附近的前体细胞参与组织重塑^[9]。通过细胞衰老-清除-重建(senescence-clearance-regeneration)这种模式实现组织重塑的过程可能因年龄增加等因素, 在衰老细胞的清除或重建环节受到削弱, 以致影响组织的功能。

4 蜕膜化与蜕膜细胞衰老

蜕膜化是子宫基质成纤维细胞分化为具有特殊分泌功能的蜕膜细胞的过程。子宫蜕膜在妊娠早期胚胎营养提供和免疫耐受方面发挥重要作用^[41]。最近的研究表明, 子宫蜕膜在识别着床的胚胎的质量及控制妊娠的进程中也发挥了重要作用^[42]。在小鼠中, 蜕膜化由正在着床的胚胎诱导; 而人可以在没有胚胎诱导的情况下, 子宫内膜发生周期性地自发蜕膜化^[42]。

4.1 蜕膜细胞多倍化与蜕膜细胞衰老

蜕膜化的一个显著特点是一些子宫基质细胞通过内分裂复制(endoreduplication)方式产生终末分化的多倍化蜕膜细胞^[43]。许多证据表明, 多倍化能引起细胞衰老。正常细胞和癌细胞通过内源逆转录病毒蛋白ERVWE1或麻疹病毒(measles virus, MV)这样的促融剂进行细胞融合后会表现出细胞衰老的特征。ERVWE1转染后的多核细胞变平、变大, SA- β -gal活性明显增加, CDK抑制因子p21和p16在蛋白和mRNA水平都有所升高, 与SASP相关的细胞因子如IL-6、IL-8、CXCL1和CCL-5的分泌增加^[31,44]。生理情况下, ERVWE1在发育胚胎的合胞体滋养层中表达, 它能介导细胞滋养层细胞融合成合胞体滋养层^[45-46]。合胞体滋养层具有许多细胞衰老的特征, 在多核的合胞体滋养层中能检测到SA- β -gal活性, 但是在基底单核细胞、血管细胞、结缔组织或胎盘的其他细胞层中则检测不到。合胞体滋养层细胞中表达p16和p21, 表明衰老的主要通路在这些细胞中都被激活。另一个衰老标志分子DCR2也被激活, 它能保护衰老的细胞不发生细胞凋亡。细胞衰老对胎盘的功能具有重要作用: 从结构上看, 衰老细胞具有典型的扁平扩大的细胞形态, 这可能有助于营养物质在

母胎界面的运输^[31,44]。细胞周期停滞是细胞衰老的主要特征, 而细胞融合能导致细胞周期停滞^[47]。将HeLa细胞和人的二倍体成纤维细胞相互融合得到的杂交细胞中大部分都不能无限增殖^[48]。将正常的人成纤维细胞和人类能无限增殖的细胞相互融合得到的杂合细胞的寿命是有限的^[49]。高倍化的形成能使癌细胞发生衰老, 当肿瘤细胞与正常的二倍体细胞相融合时, 致癌性会受到抑制^[50-51]。多倍化状态和其他衰老信号共同诱导多倍化的血管平滑肌细胞具有衰老表型^[52]。多倍体细胞会发生大量细胞骨架的改变, 这些改变能激活p53和pRB通路, 细胞骨架的改变可能是导致融合细胞衰老的原因之一^[53-54]。巨核细胞与合胞体滋养层细胞这两种天然的多倍化细胞存在细胞衰老现象, 无亲缘关系的不同类型细胞相互融合也会导致细胞衰老, 表明多倍化可能是引发衰老的因素^[30-32]。蜕膜细胞衰老在蜕膜化的早期就已经启动, 随着蜕膜化的进行, 多倍化的蜕膜细胞逐渐增加, 蜕膜化过程伴随的细胞衰老可能是由蜕膜细胞多倍化引发的^[55]。多倍体化和细胞融合通过DDR、p53和RAS诱导早期生长反应蛋白1(early growth response protein 1, EGR1)的活化, 进而上调p21, 导致细胞衰老^[9]。有趣的是, 最近有研究表明, EGR1也在蜕膜化中发挥重要作用^[56-57], 关于EGR1在蜕膜细胞多倍化和衰老过程中的作用值得进一步研究。

4.2 蜕膜细胞衰老与多倍化蜕膜细胞清除

多倍化的细胞能增强生物合成, 有利于在早期妊娠过程中胚胎和母体建立胎盘联系之前支持胚胎生长发育。多倍化也限制了细胞的寿命, 蜕膜在持续增大一段时间后开始变薄, 为发育的胚胎提供足够的空间, 使胎盘得以扩展和发育。长期以来, 研究者认为蜕膜变薄是由多倍化的蜕膜细胞发生细胞凋亡引起的。但最近的研究表明, 多倍化的蜕膜细胞并没有发生细胞凋亡^[58-59]。

大量的证据表明, 损伤诱导的衰老细胞通常通过免疫介导的过程得以清除^[60-62]。通过蜕膜化过程, 子宫基质细胞分化为多倍化的蜕膜细胞, 多倍化诱发蜕膜细胞衰老。是否衰老的蜕膜细胞可能通过衰老相关的分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)分泌一些炎症因子、趋化因子及生长因子, 招募各种免疫细胞, 招募来的免疫细胞进而清除衰老的多倍化细胞、重建子宫蜕膜组织, 值得进一步的研究。

4.3 蜕膜细胞衰老与分娩时机

蜕膜细胞衰老在妊娠早期启动^[55], 接近分娩时子宫蜕膜细胞衰老逐渐增强, 当蜕膜细胞衰老达到某一阈值, 分娩启动^[63]。因此, 蜕膜细胞衰老可看作是分娩的“细胞或分子钟”, 适时适度的蜕膜细胞衰老决定分娩的正确时机。

5 蜕膜细胞早熟衰老(premature decidual senescence)与早产

理想的早产动物模型对于更好地理解自然早产机理及发展更有效的预防和治疗方法至关重要。目前, 普遍应用的早产模型是利用炎症因子如LPS和RU-486等诱导小鼠早产^[64-65]。但这些模型也不理想, 因为在这些模型中, 分娩的启动是由于卵巢黄体溶解导致了血清孕酮(P4)水平降低引发的, 但在人类的分娩过程中黄体并未发生溶解, 血清孕酮的水平也未降低。最近发现, p53蛋白(transformation related protein 53, Trp53)敲除鼠似乎是用来研究人类自然早产机制的一个理想模型, 这种模型鼠发生高比率的自然早产, 但血清孕酮水平并不降低^[55]。

5.1 Trp53子宫特异性敲除小鼠诱发蜕膜早衰、模拟人自发早产

肿瘤抑制因子Trp53在各种癌症的发生发展中具有重要作用, 最近研究发现, 它在生殖过程中也发挥着重要作用。Hu等^[66]发现, 全身敲除Trp53的小鼠在妊娠第4 d由于子宫内白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)的下调导致着床失败。Dey实验室^[55]通过使floxed Trp53小鼠(Trp53^{loxP/loxP})与孕酮受体驱动的Cre重组酶(PR-Cre)转基因小鼠进行杂交, 构建了子宫条件性敲除Trp53的小鼠Trp53^{loxP/loxP}Pgr^{Cre/+}(本文记为Trp53^{d/d})。与全身敲除Trp53不同, 子宫条件性敲除Trp53并没有引起子宫或其他器官形成肿瘤。子宫条件性敲除Trp53的雌鼠其排卵、受精、植入前胚胎发育和植入都正常^[55]。尽管如此, 研究发现, 50%以上的条件性敲除Trp53的雌鼠会发生自发早产并伴有难产和新生鼠的死亡。有意思的是, 其血清孕酮水平在分娩时并未下降^[55]。在子宫条件性敲除Trp53的小鼠中, 蜕膜细胞的PI3K-AKT信号途径上调、mTOR信号途径上调、p21表达升高、 β -半乳糖苷酶染色增强、蜕膜COX2表达升高以及PGF_{2 α} 水平升高^[55,63]。这些变化表明, 敲除Trp53的小鼠蜕膜细胞此时处于衰老状态。

5.2 PI3K-AKT-mTORC1-p21信号途径诱导蜕膜早衰

mTOR信号通路能够抑制细胞周期的进行, 许多类型的细胞衰老都与mTOR信号通路有关, 包括复制性衰老、癌基因诱导的衰老和SASP等^[67]。PI3K-AKT信号通路能够增强mTOR通路^[67], 诱导细胞衰老^[68]。在Trp53^{d/d}小鼠妊娠第16 d蜕膜中, PI3K催化亚基p110 α 表达上调, 蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/Akt)磷酸化水平升高; 同时, mTORC1表达量增加, mTORC1下游效应分子S6磷酸化水平上调, β -半乳糖苷酶染色增强^[55,63]。这些结果表明, Trp53^{d/d}小鼠在妊娠第16 d时, 蜕膜中PI3K-AKT-mTORC1信号通路被激活, 从而诱导蜕膜细胞早熟性衰老。在妊娠第16 d, 低剂量的mTORC1信号抑制剂雷帕霉素(Rapamycin)处理能够抑制mTORC1信号通路, 减弱蜕膜早熟性衰老的进程, 进而挽救了Trp53^{d/d}雌鼠的早产^[63]。Trp53的缺失同时也降低子宫蜕膜抗氧化能力, 使氧化应激反应(oxidative stress, OS)升高^[69], OS也能激活mTOR信号通路。

p21在子宫蜕膜中是mTORC1的下游信号分子^[63], 能够诱导细胞周期阻滞和细胞衰老。在Trp53^{d/d}妊娠第16 d子宫蜕膜中, p21表达上调, 雷帕霉素处理能抑制p21的上调。p21单独敲除小鼠生殖表型正常, 有意思的是, 在Trp53^{d/d}小鼠中再敲除p21, 得到的p53和p21双敲除的小鼠能挽救Trp53^{d/d}小鼠的早产表型, 蜕膜衰老相关的 β -半乳糖苷酶活性也下降^[63]。在雷帕霉素处理的Trp53^{d/d}小鼠或者p53和p21双敲除的小鼠中, COX2和PGFS水平均下调, 表明mTORC1和p21是COX2的上游信号, 雷帕霉素处理和p21敲除挽救p53敲除小鼠的早产是通过COX2介导的^[63](图2)。

5.3 蜕膜早衰通过COX2-PGFS-PGF_{2 α} 途径诱发早产

在许多物种中, 前列腺素(prostaglandins, PGs)如PGE₂和PGF_{2 α} 在分娩中作为收缩性的调节因子发挥作用^[70]。PGF_{2 α} 通过同步子宫肌层收缩来控制分娩时机^[71]。环氧合酶COX(COX1和COX2)是催化从花生四烯酸合成PGs的限速酶。已知COX1催化合成的PGs影响小鼠的分娩^[72]。然而, 在Trp53^{d/d}和Trp53^{loxP/loxP}雌鼠妊娠第16 d的子宫蜕膜中, COX1的表达水平没有差别; 而在Trp53^{d/d}雌鼠中, COX2的表达水平明显上调, PGFS和PGF_{2 α} 的水平也增加, 表明在Trp53^{d/d}雌鼠妊娠第16 d的子宫蜕膜中由COX2-

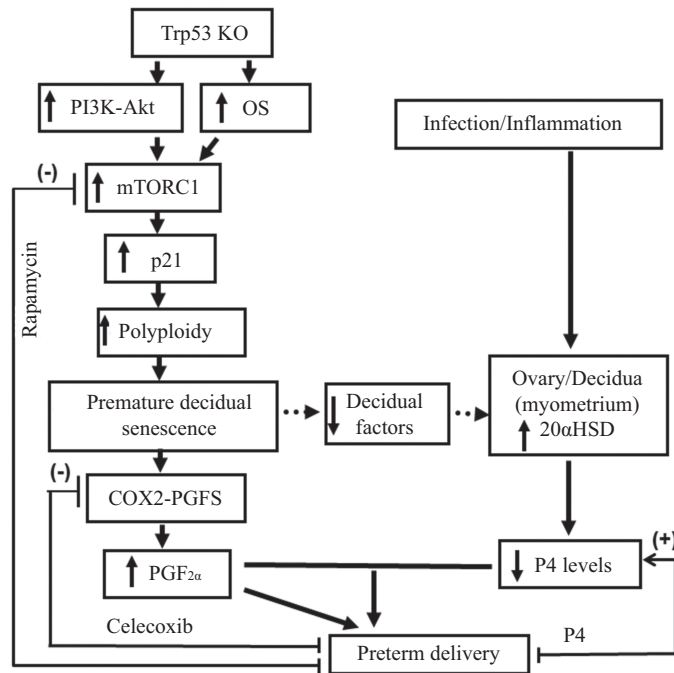


图2 早产中的基因与环境相互作用示意图(根据参考文献[10,55,63,73]修改)

Fig.2 Schematic representation of gene-environment interaction in preterm birth (modified from references [10,55,63,73])

PGFS途径催化合成的 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 通过旁分泌的方式作用于子宫肌层,引起子宫肌层收缩,启动分娩^[55]。有研究表明, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 还能作用于卵巢FP受体,诱导黄体溶解,进而降低P4水平,而P4水平的降低也能够诱导分娩。但是, $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 鼠的 E_2 与P4水平与 $\text{Trp53}^{\text{loxP/loxP}}$ 鼠的相似,而且在妊娠的第16 d并没有发生黄体溶解,表明 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 鼠的早产是由于子宫中COX2诱导的 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 水平升高引发的子宫肌层收缩反应引起的。在妊娠第16 d,通过灌胃使 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 小鼠摄取COX2抑制剂塞来西布(Celecoxib),能够挽救早产和新生鼠死亡。值得注意的是, $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 鼠的妊娠第16 d子宫颈并未成熟,这表明 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 鼠的难产可能是由于子宫收缩和子宫颈成熟不同步所致^[55]。

以上研究表明,PI3K/AKT-mTORC1-p21-COX2-PGFS信号通路在 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 小鼠早产中发挥重要的作用,有意思的是在发生早产的妇女中同样也观察到蜕膜早熟性衰老并伴随有mTORC1信号和COX2表达增强这一特征^[73]。培养的人蜕膜细胞对LPS、P4和雷帕霉素也具有同小鼠蜕膜细胞同样的反应^[73]。

5.4 早产中的遗传与环境相互作用

长期以来,研究者认为早产是遗传与环境相互作用的结果。利用 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 小鼠研究显示,当内在的遗传倾向性与外界的刺激因素(如炎症反应)叠加时早产的几率会明显增加^[73]。 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 雌鼠在遗传上易

感(50%以上的小鼠发生早产),给 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 的雌鼠较弱的炎症反应刺激(不引起 $\text{Trp53}^{\text{loxP/loxP}}$ 小鼠发生早产的剂量),能100%的诱导 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 雌鼠发生早产,而且同时伴随着蜕膜早熟性衰老、卵巢黄体溶解与P4水平下调^[73]。蜕膜能够分泌催乳素来维持黄体寿命,而黄体能够分泌P4。 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 鼠由于蜕膜早衰不能完成维持黄体寿命的任务,增加了黄体对外界刺激的敏感性,这也有可能是导致P4水平下降的一个因素。通过利用雷帕霉素抑制mTORC1信号和额外补充P4能够缓解 $\text{Trp53}^{\text{d/d}}$ 雌鼠蜕膜早熟性衰老,进而治疗早产^[73]。

5.5 早产的综合机制

综合以上研究表明,早产是一个复杂的疾病,除了来自子宫和卵巢的因素,遗传与环境相互作用也发挥着重要的影响。子宫蜕膜的早熟性衰老能够引发早产;卵巢黄体溶解,P4水平下降也能引起早产。通过 $p53$ 子宫特异性敲除小鼠的研究表明,子宫条件性敲除 Trp53 能够增加mTORC1信号通路的水平,促进子宫基质细胞的终末分化,使其进入早熟性衰老状态;衰老的蜕膜细胞又上调了COX2的表达,进而使蜕膜中 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 浓度增加、并通过旁分泌方式来促进子宫肌层的收缩,开启分娩过程,进而导致早产。当机体同时又受到损伤或炎症反应刺激时,损伤或炎症反应能够使卵巢黄体溶解,降低血清中的P4水平,而P4水平的降低减弱了对早产的抑制作用,使机体发生早

产。如果蜕膜早衰、来自蜕膜的黄体营养因子不足,则进一步增加了黄体对外界溶黄体刺激因素的敏感性,加剧早产。引起早产的来自子宫和卵巢的因素既相互独立,在某些情况下又互相影响。遗传因素与环境的相互作用能够增加早产的几率,同时针对子宫和卵巢的因素进行干预可有效阻止早产的发生(图2)。

6 结语与展望

年龄的增加易导致细胞衰老^[35],细胞衰老能引起早产^[55]。人类流行病学证据显示,母源的年龄增加与早产密切相关^[74-75]。另有研究表明,通过辅助生殖技术怀孕的高龄产妇,即使从年轻女性那里获得卵母细胞进行移植,早产的几率仍然较高^[76-77]。这些结果表明,妇女由于年龄的增加,子宫衰老加之外界因素(如炎症、压力等)的影响很可能是导致早产的原因之一。

关于子宫蜕膜细胞衰老还有许多问题值得研究,如蜕膜化如何启动细胞衰老;衰老的细胞如何被清除,以利于胚胎进一步发育;在蜕膜化过程中细胞衰老与细胞凋亡的关系;细胞衰老是否在分娩后的子宫内膜再生中发挥作用;子宫蜕膜细胞SASP与蜕膜化的关系;子宫蜕膜细胞SASP如何影响卵巢功能;在细胞衰老方面,胚胎、卵巢和子宫三者之间如何协调来调节分娩的时机等。回答这些问题需要更加深入的研究。目前,针对一些疾病的抗细胞衰老和促进细胞衰老的治疗方法都取得了较好的效果。例如,CDK4的抑制剂(可以看作是P16的类似物)能够诱导许多人类癌细胞系发生细胞衰老(而不是细胞凋亡)^[78-80]。CDK4抑制剂palbociclib(PD-033299, Pfizer)在外套细胞淋巴瘤^[81]、脂肪肉瘤^[82]、乳腺癌^[83]及肾脏纤维化^[84]治疗中均表现出令人鼓舞的结果。CDK4的抑制剂LEE011(Novartis)在神经母细胞瘤显示了良好的临床前效果^[80]。抗细胞衰老的药物如mTOR抑制剂雷帕霉素除了在本文中能挽救Trp53^{dd}小鼠早产,还能通过抑制细胞衰老用于促进口腔纤维化治疗^[85]。因此,对于蜕膜化过程中细胞衰老以及蜕膜细胞衰老和早产的关系的深入研究,将会极大地促进对早产的临床干预和治疗。

参考文献 (References)

- 1 WHO. Born too soon: the global action report on preterm birth. World Health Organization 2012.
- 2 Liu L, Johnson HL, Cousens S, Perin J, Scott S, Lawn JE, *et al.*

- Global, regional, and national causes of child mortality: An updated systematic analysis for 2010 with time trends since 2000. *Lancet* 2012; 379(9832): 2151-61.
- 3 魏克伦, 杨于嘉, 姚裕家, 杜立中, 孙吉平. 中国城市早产儿流行病学初步调查报告. 中国当代儿科杂志(Wei Kelun, Yang Yujia, Yao Yujia, Du Lizhong, Sun Jiping. An initial epidemiologic investigation of preterm infants in cities of China. *Chin J Contemp Pediatr* 2005; 7(1): 25-8.
- 4 Moster D, Lie RT, Markestad T. Long-term medical and social consequences of preterm birth. *N Engl J Med* 2008; 359(3): 262-73.
- 5 Romero R, Dey SK, Fisher SJ. Preterm labor: One syndrome, many causes. *Science* 2014; 345(6198): 760-5.
- 6 Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* 2008; 371(9606): 75-84.
- 7 In: Behrman RE, Butler AS, eds. Preterm birth: Causes, consequences, and prevention. Washington (DC): National Academies Press (US), 2007.
- 8 Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 1961; 25: 585-621.
- 9 Munoz-Espin D, Serrano M. Cellular senescence: From physiology to pathology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(7): 482-96.
- 10 Cha J, Hirota Y, Dey SK. Sensing senescence in preterm birth. *Cell Cycle* 2012; 11(2): 205-6.
- 11 Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, *et al.* A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(20): 9363-7.
- 12 Georgakopoulou EA, Tsimaratou K, Evangelou K, Fernandez Marcos PJ, Zoumpourlis V, Trougakos IP, *et al.* Specific lipofuscin staining as a novel biomarker to detect replicative and stress-induced senescence. A method applicable in cryo-preserved and archival tissues. *Aging (Albany NY)* 2013; 5(1): 37-50.
- 13 Kuilman T, Michaloglou C, Mooi WJ, Peeper DS. The essence of senescence. *Genes Dev* 2010; 24(22): 2463-79.
- 14 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.
- 15 Zhang R, Poustovoitov MV, Ye X, Santos HA, Chen W, Daganzo SM, *et al.* Formation of MacroH2A-containing senescence-associated heterochromatin foci and senescence driven by ASF1a and HIRA. *Dev Cell* 2005; 8(1): 19-30.
- 16 Coppe JP, Patil CK, Rodier F, Sun Y, Munoz DP, Goldstein J, *et al.* Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol* 2008; 6(12): 2853-68.
- 17 Evan GI, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: Hot or what? *Curr Opin Genet Dev* 2009; 19(1): 25-31.
- 18 Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu Rev Physiol* 2013; 75: 685-705.
- 19 Coppe JP, Desprez PY, Krtolica A, Campisi J. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol* 2010; 5: 99-118.
- 20 Kuilman T, Peeper DS. Senescence-messaging secretome: SMS-ing cellular stress. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(2): 81-94.
- 21 Acosta JC, O'Loughlen A, Banito A, Guijarro MV, Augert A, Raguz S, *et al.* Chemokine signaling via the CXCR2 receptor

- reinforces senescence. *Cell* 2008; 133(6): 1006-18.
- 22 Kuilman T, Michaloglou C, Vredeveld LC, Douma S, van Doorn R, Desmet CJ, *et al.* Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network. *Cell* 2008; 133(6): 1019-31.
- 23 Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: When bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(9): 729-40.
- 24 Sun P, Yoshizuka N, New L, Moser BA, Li Y, Liao R, *et al.* PRAK is essential for ras-induced senescence and tumor suppression. *Cell* 2007; 128(2): 295-308.
- 25 Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D, Lowe SW. Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell* 1997; 88(5): 593-602.
- 26 Alimonti A, Nardella C, Chen Z, Ciohessy JG, Carracedo A, Trotman LC, *et al.* A novel type of cellular senescence that can be enhanced in mouse models and human tumor xenografts to suppress prostate tumorigenesis. *J Clin Invest* 2010; 120(3): 681-93.
- 27 Young AP, Schlisio S, Minamishima YA, Zhang Q, Li L, Grisanzio C, *et al.* VHL loss actuates a HIF-independent senescence programme mediated by Rb and p400. *Nat Cell Biol* 2008; 10(3): 361-9.
- 28 Munoz-Espin D, Canamero M, Maraver A, Gomez-Lopez G, Contreras J, Murillo-Cuesta S, *et al.* Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell* 2013; 155(5): 1104-18.
- 29 Storer M, Mas A, Robert-Moreno A, Pecoraro M, Ortells MC, Di Giacomo V, *et al.* Senescence is a developmental mechanism that contributes to embryonic growth and patterning. *Cell* 2013; 155(5): 1119-30.
- 30 Besancenot R, Chaligne R, Tonetti C, Pasquier F, Marty C, Lecluse Y, *et al.* A senescence-like cell-cycle arrest occurs during megakaryocytic maturation: Implications for physiological and pathological megakaryocytic proliferation. *PLoS Biol* 2010; 8(9): e1000476.
- 31 Chuprin A, Gal H, Biron-Shental T, Biran A, Amiel A, Rozenblatt S, *et al.* Cell fusion induced by ERVWE1 or measles virus causes cellular senescence. *Genes Dev* 2013; 27(21): 2356-66.
- 32 Kopp HG, Hooper AT, Shmelkov SV, Raffi S. Beta-galactosidase staining on bone marrow. The osteoclast pitfall. *Histol Histopathol* 2007; 22(9): 971-6.
- 33 Rajagopalan S, Long EO. Cellular senescence induced by CD158d reprograms natural killer cells to promote vascular remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(50): 20596-601.
- 34 Chicas A, Wang X, Zhang C, McCurrach M, Zhao Z, Mert O, *et al.* Dissecting the unique role of the retinoblastoma tumor suppressor during cellular senescence. *Cancer Cell* 2010; 17(4): 376-87.
- 35 Collado M, Blasco MA, Serrano M. Cellular senescence in cancer and aging. *Cell* 2007; 130(2): 223-33.
- 36 Collado M, Serrano M. Senescence in tumours: Evidence from mice and humans. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(1): 51-7.
- 37 Gorgoulis VG, Halazonetis TD. Oncogene-induced senescence: The bright and dark side of the response. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22(6): 816-27.
- 38 van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing. *Nature* 2014; 509(7501): 439-46.
- 39 Salama R, Sadaie M, Hoare M, Narita M. Cellular senescence and its effector programs. *Genes Dev* 2014; 28(2): 99-114.
- 40 Childs BG, Baker DJ, Kirkland JL, Campisi J, van Deursen JM. Senescence and apoptosis: Dueling or complementary cell fates? *EMBO Rep* 2014; 15(11): 1139-53.
- 41 Nancy P, Tagliani E, Tay CS, Asp P, Levy DE, Erlebacher A. Chemokine gene silencing in decidual stromal cells limits T cell access to the maternal-fetal interface. *Science* 2012; 336(6086): 1317-21.
- 42 Gellersen B, Brosens JJ. Cyclic decidualization of the human endometrium in reproductive health and failure. *Endocr Rev* 2014; 35(6): 851-905.
- 43 Das SK. Cell cycle regulatory control for uterine stromal cell decidualization in implantation. *Reproduction* 2009; 137(6): 889-99.
- 44 Gal H, Krizhanovsky V. Cell fusion induced senescence. *Aging (Albany NY)* 2014; 6(5): 353-4.
- 45 Mi S, Lee X, Li X, Veldman GM, Finnerty H, Racie L, *et al.* Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature* 2000; 403(6771): 785-9.
- 46 Blond JL, Lavellette D, Cheynet V, Bouton O, Oriol G, Chapel-Fernandes S, *et al.* An envelope glycoprotein of the human endogenous retrovirus HERV-W is expressed in the human placenta and fuses cells expressing the type D mammalian retrovirus receptor. *J Virol* 2000; 74(7): 3321-9.
- 47 Duelli D, Lazebnik Y. Cell-to-cell fusion as a link between viruses and cancer. *Nat Rev Cancer* 2007; 7(12): 968-76.
- 48 Larizza L, Tenchini ML, Mottura A, De Carli L, Colombi M, Barlati S. Expression of transformation markers and suppression of tumorigenicity in human cell hybrids. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1982; 18(9): 845-51.
- 49 Pereira-Smith OM, Robetorye S, Ning Y, Orson FM. Hybrids from fusion of normal human T lymphocytes with immortal human cells exhibit limited life span. *J Cell Physiol* 1990; 144(3): 546-9.
- 50 Larsson LI, Bjerregaard B, Wulf-Andersen L, Talts JF. Syncytin and cancer cell fusions. *ScientificWorldJournal* 2007; 7: 1193-7.
- 51 Mosieniak G, Sikora E. Polyploidy: the link between senescence and cancer. *Curr Pharm Des* 2010; 16(6): 734-40.
- 52 Yang D, McCrann DJ, Nguyen H, St Hilaire C, DePinho RA, Jones MR, *et al.* Increased polyploidy in aortic vascular smooth muscle cells during aging is marked by cellular senescence. *Aging Cell* 2007; 6(2): 257-60.
- 53 Campisi J, di Fagagna FD. Cellular senescence: When bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(9): 729-40.
- 54 Ganem NJ, Pellman D. Limiting the proliferation of polyploid cells. *Cell* 2007; 131(3): 437-40.
- 55 Hirota Y, Daikoku T, Tranguch S, Xie H, Bradshaw HB, Dey SK. Uterine-specific p53 deficiency confers premature uterine senescence and promotes preterm birth in mice. *J Clin Invest* 2010; 120(3): 803-15.
- 56 Guo B, Tian XC, Li DD, Yang ZQ, Cao H, Zhang QL, *et al.* Expression, regulation and function of Egr1 during implantation and decidualization in mice. *Cell Cycle* 2014; 13(16): 2626-40.
- 57 Liang XH, Deng WB, Li M, Zhao ZA, Wang TS, Feng XH, *et al.* Egr1 protein acts downstream of estrogen-leukemia inhibitory factor (LIF)-STAT3 pathway and plays a role during implantation through targeting Wnt4. *J Biol Chem* 2014; 289(34): 23534-45.

- 58 Yue L, Daikoku T, Hou X, Li M, Wang H, Nojima H, *et al.* Cyclin G1 and cyclin G2 are expressed in the periimplantation mouse uterus in a cell-specific and progesterone-dependent manner: Evidence for aberrant regulation with Hoxa-10 deficiency. *Endocrinology* 2005; 146(5): 2424-33.
- 59 Ma X, Gao F, Rusie A, Hemingway J, Ostmann AB, Sroga JM, *et al.* Decidual cell polyploidization necessitates mitochondrial activity. *PLoS One* 2011; 6(10): e26774.
- 60 Xue W, Zender L, Miething C, Dickins RA, Hernando E, Krizhanovsky V, *et al.* Senescence and tumour clearance is triggered by p53 restoration in murine liver carcinomas. *Nature* 2007; 445(7128): 656-60.
- 61 Hoenicke L, Zender L. Immune surveillance of senescent cells—biological significance in cancer- and non-cancer pathologies. *Carcinogenesis* 2012; 33(6): 1123-6.
- 62 Kang TW, Yevsa T, Woller N, Hoenicke L, Wuestefeld T, Dauch D, *et al.* Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development. *Nature* 2011; 479(7374): 547-51.
- 63 Hirota Y, Cha J, Yoshie M, Daikoku T, Dey SK. Heightened uterine mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) signaling provokes preterm birth in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(44): 18073-8.
- 64 Elovitz MA, Mrinalini C. Animal models of preterm birth. *Trends Endocrinol Metab* 2004; 15(10): 479-87.
- 65 Renthall NE, Chen CC, Williams KC, Gerard RD, Prange-Kiel J, Mendelson CR. miR-200 family and targets, ZEB1 and ZEB2, modulate uterine quiescence and contractility during pregnancy and labor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(48): 20828-33.
- 66 Hu W, Feng Z, Teresky AK, Levine AJ. p53 regulates maternal reproduction through LIF. *Nature* 2007; 450(7170): 721-4.
- 67 Xu S, Cai Y, Wei Y. mTOR signaling from cellular senescence to organismal aging. *Aging Dis* 2014; 5(4): 263-73.
- 68 Chen Z, Trotman LC, Shaffer D, Lin HK, Dotan ZA, Niki M, *et al.* Crucial role of p53-dependent cellular senescence in suppression of Pten-deficient tumorigenesis. *Nature* 2005; 436(7051): 725-30.
- 69 Burnum KE, Hirota Y, Baker ES, Yoshie M, Ibrahim YM, Monroe ME, *et al.* Uterine deletion of Trp53 compromises antioxidant responses in the mouse decidua. *Endocrinology* 2012; 153(9): 4568-79.
- 70 Challis JR, Lye SJ, Gibb W. Prostaglandins and parturition. *Ann NY Acad Sci* 1997; 828: 254-67.
- 71 Ratajczak CK, Muglia LJ. Insights into parturition biology from genetically altered mice. *Pediatr Res* 2008; 64(6): 581-9.
- 72 Gross GA, Imamura T, Luedke C, Vogt SK, Olson LM, Nelson DM, *et al.* Opposing actions of prostaglandins and oxytocin determine the onset of murine labor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95(20): 11875-9.
- 73 Cha J, Bartos A, Egashira M, Haraguchi H, Saito-Fujita T, Leishman E, *et al.* Combinatory approaches prevent preterm birth profoundly exacerbated by gene-environment interactions. *J Clin Invest* 2013; 123(9): 4063-75.
- 74 Roberts CL, Algert CS, March LM. Delayed childbearing—are there any risks? *Med J Aust* 1994; 160(9): 539-44.
- 75 Cnattingius S, Forman MR, Berendes HW, Isotalo L. Delayed childbearing and risk of adverse perinatal outcome. A population-based study. *JAMA* 1992; 268(7): 886-90.
- 76 Krieg SA, Henne MB, Westphal LM. Obstetric outcomes in donor oocyte pregnancies compared with advanced maternal age in *in vitro* fertilization pregnancies. *Fertil Steril* 2008; 90(1): 65-70.
- 77 Nelson SM, Lawlor DA. Predicting live birth, preterm delivery, and low birth weight in infants born from *in vitro* fertilisation: A prospective study of 144,018 treatment cycles. *PLoS Med* 2011; 8(1): e1000386.
- 78 Feng Z, Hu W, Teresky AK, Hernando E, Cordon-Cardo C, Levine AJ. Declining p53 function in the aging process: A possible mechanism for the increased tumor incidence in older populations. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(42): 16633-8.
- 79 Thangavel C, Dean JL, Ertel A, Knudsen KE, Aldaz CM, Witkiewicz AK, *et al.* Therapeutically activating RB: Reestablishing cell cycle control in endocrine therapy-resistant breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18(3): 333-45.
- 80 Rader J, Russell MR, Hart LS, Nakazawa MS, Belcastro LT, Martinez D, *et al.* Dual CDK4/CDK6 inhibition induces cell-cycle arrest and senescence in neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19(22): 6173-82.
- 81 Leonard JP, LaCasce AS, Smith MR, Noy A, Chirieac LR, Rodig SJ, *et al.* Selective CDK4/6 inhibition with tumor responses by PD0332991 in patients with mantle cell lymphoma. *Blood* 2012; 119(20): 4597-607.
- 82 Dickson MA, Tap WD, Keohan ML, D'Angelo SP, Gounder MM, Antonescu CR, *et al.* Phase II trial of the CDK4 inhibitor PD0332991 in patients with advanced CDK4-amplified well-differentiated or dedifferentiated liposarcoma. *J Clin Oncol* 2013; 31(16): 2024-8.
- 83 Guha M. Blockbuster dreams for Pfizer's CDK inhibitor. *Nat Biotechnol* 2013; 31(3): 187.
- 84 DiRocco DP, Bisi J, Roberts P, Strum J, Wong KK, Sharpless N, *et al.* CDK4/6 inhibition induces epithelial cell cycle arrest and ameliorates acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2014; 306(4): F379-88.
- 85 Iglesias-Bartolome R, Patel V, Cotrim A, Leelahavanichkul K, Molinolo AA, Mitchell JB, *et al.* mTOR inhibition prevents epithelial stem cell senescence and protects from radiation-induced mucositis. *Cell Stem Cell* 2012; 11(3): 401-14.