

领域前沿 · 中国



刘光慧, 中国科学院生物物理研究所研究员。2002年本科毕业于北京大学医学部; 2007年毕业于中国科学院生物物理研究所, 获得理学博士学位; 2007~2011年分别在美国斯科利普斯(Scripps)研究所和索尔克(Salk)生物学研究所从事博士后研究; 2011年回国, 在中国科学院生物物理研究所任研究员。2012年入选中国国家青年千人计划并于同年获得国家自然科学基金委优秀青年基金; 2013年获贝时璋青年生物物理学家奖。主要研究领域是基于多能干细胞的人类疾病模型和精准治疗体系以及人类健康衰老(healthy aging)的分子遗传学基础。迄今已在Nature、Science、Cell、Cell Stem Cell、Cell Metab等刊物发表论文(包括研究论文或综述)65篇, 其中, 通讯(包括并列通讯)作者文章45篇, 研究工作多次受到Nature、Science、Cell、F1000等权威杂志的积极评价。申请发明专利(第一发明人)6项, 现已授权2项。多次应邀在国际学术会议上做大会报告。

人类衰老的遗传和表观遗传信息解码

张维绮 刘光慧*

(中国科学院生物物理研究所, 生物大分子国家重点实验室, 北京 100101)

摘要 2050年, 中国将有三分之一的人口年龄超过60岁。衰老是老年相关疾病发生最主要的危险因素。衰老个体大多罹患心血管疾病、神经退行性疾病及恶性肿瘤等, 为社会和家庭带来了巨大的负担。因此, 对衰老的深入研究迫在眉睫。该文就衰老的研究现状, 特别是近年来利用干细胞研究衰老所取得的最新进展作一简要阐述, 并展望未来人类衰老研究的方向与趋势。

关键词 人类衰老; 干细胞; 早衰症; 遗传学与表观遗传学

Genetic and Epigenetic Aspects in Decoding Human Ageing

Zhang Weiqi, Liu Guanghui*

(National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract By 2050, people older than 60 years will account for more than one third of Chinese population. Specifically, age is a major risk factor for ageing-related diseases, such as cardiovascular disease, neurodegenerative diseases and cancer, which will bring great challenge to our society. Ageing, therefore, remains an important area of research. Here we review the recent progress in human ageing studies, especially the research based on stem cell technology. Additionally, future directions of ageing research are discussed.

Keywords human ageing; stem cell; progeria; genetics and epigenetics

*通讯作者。Tel: 010-64888315, E-mail: ghliu@ibp.ac.cn

*Corresponding author. Tel: +86-10-64888315, E-mail: ghliu@ibp.ac.cn

网络出版时间: 2015-08-19 14:32:35

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150819.1432.001.html>

1 研究人类衰老的新思路

最近,衰老的九大分子特征被归纳为:基因组的不稳定性、端粒的损耗、表观遗传学的改变、蛋白质稳态的失衡、营养感受失调、线粒体异常、细胞衰老、干细胞耗竭和细胞间通讯改变^[1]。这些因素相互交织影响着衰老进程。人类的衰老漫长而复杂,目前尚无有效的研究手段。另一方面,由于种属差异,实验室中基于模式生物的研究尚不能直接用于临床转化。刘光慧课题组率先提出利用多能干细胞技术研究和治疗人类衰老相关疾病的新思路。实验室相继建立儿童早衰症(Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS)、帕金森病(Parkinson's disease, PD)、镰刀形细胞贫血症、范可尼贫血症(Fanconi Anemia, FA)和成年早衰症(Werner syndrome, WS)等一系列人类干细胞疾病模型;在基因组靶向矫正方面,率先突破了人类致病基因靶向矫正的技术瓶颈,迄今已在不同种疾病干细胞中修复6种致病基因突变,并首次证明了HDAdV(helper-dependent adenovirus vector)和TALEN(transcription activator-like effector nucleases)基因靶向矫正工具的安全性,同时发展出高效安全的基因矫正载体telHDAdV。

2 基于多能干细胞技术的人类衰老相关疾病模型和药物筛选系统

2.1 利用诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSCs)技术揭示儿童早衰症患者发生血管病变的分子机理

儿童早衰症是一种非常罕见的人类早老性疾病,由Lamin A基因在G608位点发生单点突变所致。该突变导致其剪切突变体progerin在细胞核内发生异常聚集,引起衰老相关的细胞改变。该疾病表现出许多正常衰老所伴随的组织和细胞学特征。HGPS病人几乎毫无例外地于十余岁死于血管动脉粥样硬化,这种动脉粥样硬化的病理特征同生理性衰老相关的动脉粥样硬化非常类似^[2]。针对HGPS发病机制的深入研究无疑会对人类衰老所伴随的血管病变的研究提供重要的线索。然而,生物学家们无法利用如此罕见的人体样品(如血管细胞)进行人类衰老机制的研究。

2011年,刘光慧等^[3]成功将HGPS病人的皮肤成纤维细胞重编程为诱导多能干细胞(HGPS-iPSCs)。

令人兴奋的是,重编程有效地将细胞衰老的时钟拨回至发育的原点,重设了HGPS体细胞中缺陷的核膜结构、表观遗传参数和基因表达谱。HGPS-iPSCs在形态和功能上与野生型iPSC并无显著差别,其主要原因是在HGPS-iPSCs中Lamin A基因发生转录沉默。将HGPS-iPSCs定向诱导分化为血管平滑肌细胞(简称为HGPS-VSMC)后,Lamin A得到重新激活,继而重新产生其突变产物progerin。更为重要的是,HGPS-VSMC随着体外培养出现加速老化的特征,因此揭示了HGPS病人过早发生动脉粥样硬化的细胞学基础,即血管平滑肌细胞加速老化。此外,利用MudPIT(multidimensional protein identification technology)蛋白质组学技术鉴定出DNA修复相关蛋白激酶DNAPKcs是progerin的新型结合蛋白,并发现DNAPKcs的表达同progerin的含量呈负相关。与HGPS-VSMC类似,在野生型VSMC中敲低DNAPKcs也能诱导细胞发生早衰性状,同时DNAPKcs在正常衰老组织中其表达量也出现下调^[3]。这些研究不仅明确了血管衰老是动脉粥样硬化的重要诱因,更重要的是,为血管衰老和动脉粥样硬化的防治提供了重要的药物筛选和评价体系。

2.2 利用多能干细胞技术揭示帕金森病(PD)患者的神经干细胞病理并探索其新型干预方式

PD是一类与衰老密切相关的人类神经系统退行性疾病。即使对于家族遗传性PD而言,其发病也是进入中老年之后才出现。该疾病不仅表现为运动神经系统的受损,还表现出抑郁、嗅觉丧失、认知功能下降等非运动神经系统表型。由于小鼠和人在衰老和神经生物学方面具有较大的差异,因此,目前的小鼠模型尚不能很好地重现人类PD的疾病表型。建立PD的人类疾病模型、探索衰老因素在疾病发生发展中的作用、寻找干预PD的分子靶标将极大地促进帕金森病的早期诊断、预防与治疗。

刘光慧团队^[4]2012年的研究发现,携带LRRK2(G2019S)基因突变的PD患者iPSC或胚胎干细胞(embryonic stem cell, ESC)所衍生的神经干细胞在体外培养过程中会出现B型Lamin蛋白在核膜局部缺失以及细胞干性渐进性消失的现象。MudPIT蛋白质组学分析发现,突变的LRRK2能同B型Lamin相互作用,并使得后者的磷酸化增强。Lamin B2在野生型神经干细胞中的敲减可以重现PD神经干细胞的表型。从PD病脑的组织学分析也可以发现海马

神经干细胞富集区的异常细胞核膜表型。此工作为PD患者认知功能衰退等非运动神经系统临床表征提供了有效的解释。更为重要的是, 此工作首次利用iPSC疾病模型揭示了LRRK2小分子抑制剂(IN-1)对PD特定表型的“治疗”作用, 并提示通过靶向修复PD患者神经前体细胞致病突变从而实现细胞移植治疗的可能性。

2.3 阐明范可尼贫血症的新型干细胞病理

范可尼贫血症属于先天再生障碍性贫血, 是一种严重的常染色体隐性遗传疾病, 由一系列DNA修复蛋白的编码基因突变所致, 其临床表现为骨髓造血功能衰竭、多发性先天畸形以及肿瘤易感性增加。该疾病虽不表现出系统性机体衰老的特征, 但基因组稳定性的降低可能是造成骨髓造血细胞过早衰竭的原因。刘光慧团队^[5]最早利用非基因组整合技术实现了FA成纤维细胞的表观遗传重编程, 获得了FA-iPSC。同时, 还突破了DNA同源重组效率低下的技术障碍, 在FA-iPSC中成功实现了对致病基因*FANCA*的靶向矫正。研究还揭示了FA患者发生严重再生障碍性贫血的根源, 即不仅归因于造血干细胞的过早衰竭, 还与骨髓造血微环境间充质干细胞的加速衰老密切相关。此研究不仅在人类组织干细胞水平揭示了FA的新型病因学基础, 而且为FA的干

预和治疗提供了全新的研究平台和解决方案。实验结果显示, 靶向矫正*FANCA*基因突变可以从根本上逆转FA的病理表型。这样, 经遗传修复的造血干细胞可能在将来被应用于自体移植, 以治疗FA患者的骨髓衰竭和再障性贫血。更为重要的是, 此研究利用人类疾病模型成功地筛选到可抑制FA干细胞加速衰老或衰竭的新型小分子化合物。药理学实验显示, 这些化合物具有抑制FA细胞表达炎性因子和促凋亡因子的活性。

3 发现表观遗传改变是人类细胞衰老的关键驱动力

成年早衰症是一种罕见的常染色体隐性遗传病, 由*WRN*基因突变引起。WS患者自青春期开始便提前启动衰老程序, 迅速呈现出许多衰老表型并伴随有大多数老年性疾病(如骨质疏松和动脉粥样硬化等)。因此, 针对成年早衰症机理的研究对于探索人类自然衰老的机理及实现衰老相关疾病的干预有着不寻常的指导意义。

刘光慧团队^[6]首先提出“组织干细胞的加速衰老可能是WS病因”这一科学假设, 并通过基因组靶向编辑技术使得人类间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)中的*WRN*基因发生缺失突变, 在实

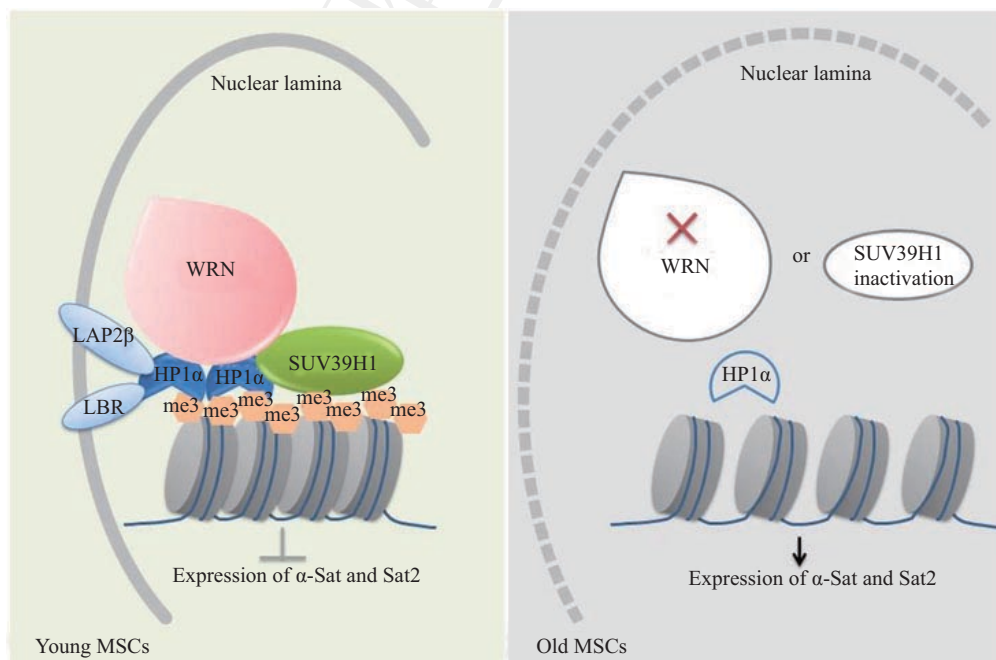


图1 WRN缺失导致细胞异染色体的异常(修改自参考文献[6])

Fig.1 Deficiencies of WRN leads to loss of heterochromatin in human mesenchymal stem cell (modified from reference [6])

实验室创建了人类早衰症特异的MSC。通过对一系列衰老相关参数的分析发现,早衰症MSC不仅表现出生长速度迟缓、DNA损伤反应加剧和分泌大量炎症因子等细胞衰老的特征,而且表现出内层核膜蛋白以及核周异染色质的加速缺失。通过对组蛋白修饰、DNA甲基化和基因表达谱进行全基因组扫描,发现早衰症干细胞的异染色质发生了显著的结构退化(disorganization),主要表现为端粒和着丝粒附近H3K9me3“山脉(mountains)”的缺失。进一步研究发现,WRN蛋白同内层核膜蛋白LAP2 β 、异染色质蛋白SUV39H1和HP1 α 共存于一个蛋白复合物中,该复合物对于维持MSC核膜和异染色质的稳定性以及阻止细胞衰老具有重要的作用。WRN的缺失导致SUV39H1和HP1 α 水平的降低,进而诱发MSC的衰老。通过比较健康老年人和年轻人体内分离的MSC,也可见WRN水平的下调以及核膜和异染色质结构的异常,提示异染色质的退化也可能是正常干细胞衰老的驱动力。最后,研究发现,过表达异染色质蛋白HP1 α 能有效地抑制早衰症细胞的加速衰老,因此,为未来干预人类干细胞的衰老提供了可能的分子靶标(图1)。

4 未来研究方向

机体、组织及细胞衰老是一个复杂的过程。对人类细胞衰老表观遗传基础的发现暗示了衰老过程具有可调控性。如何减缓机体及器官衰老进程,并在早期预防和治疗衰老相关疾病是目前和未来生物医学研究领域的热点之一。最近的研究发现,将年轻小鼠和年老小鼠的循环系统连接起来,年老小鼠骨骼肌和肝脏前体细胞得到明显改善,大脑中的海马体的新生细胞也显著增加^[7]。此外,将年轻小鼠的血清注射给老年小鼠,老年小鼠的大脑海马神经

细胞就会发生同样的变化,衰老小鼠心肌肥厚的症状也有所缓解。虽然何种因子起关键作用还存在较大的争议^[8],但是这些现象提示,在年轻个体的血液巾存在着促进细胞新生的活性因子,为后续延缓衰老的研究提供了可能性。刘光慧团队综合利用干细胞、模式生物、基因编辑、基因组范围筛选和多层次组学(如基因组学、表观遗传学、蛋白质组学和代谢组学)揭示衰老发生发展的关键信号调控网络,发现和鉴定未知的延缓衰老进程的分子靶标,致力于推动衰老的基础和转化医学研究领域的发展。

参考文献 (References)

- 1 Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell* 2013; 153(6): 1194-217.
- 2 Kudlow BA, Kennedy BK, Monnat RJ Jr. Werner and Hutchinson-Gilford progeria syndromes: Mechanistic basis of human progeroid diseases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8(5): 394-404.
- 3 Liu GH, Barkho BZ, Ruiz S, Diep D, Qu J, Yang SL, *et al.* Recapitulation of premature ageing with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature* 2011; 472(7342): 221-5.
- 4 Liu GH, Qu J, Suzuki K, Nivet E, Li M, Montserrat N, *et al.* Progressive degeneration of human neural stem cells caused by pathogenic LRRK2. *Nature* 2012; 491(7425): 603-7.
- 5 Liu GH, Suzuki K, Li M, Qu J, Montserrat N, Tarantino C, *et al.* Modelling Fanconi anemia pathogenesis and therapeutics using integration-free patient-derived iPSCs. *Nat Commun* 2014; 5: 4330.
- 6 Zhang W, Li J, Suzuki K, Qu J, Wang P, Zhou J, *et al.* Aging stem cells. A Werner syndrome stem cell model unveils heterochromatin alterations as a driver of human aging. *Science* 2015; 348(6239): 1160-3.
- 7 Katsimpardi L, Litterman NK, Schein PA, Miller CM, Loffredo FS, Wojtkiewicz GR, *et al.* Vascular and neurogenic rejuvenation of the aging mouse brain by young systemic factors. *Science* 2014; 344(6184): 630-4.
- 8 Brun CE, Rudnicki MA. GDF11 and the mythical fountain of youth. *Cell Metab* 2015; 22(1): 54-6.