

·学科进展与展望·

国家自然科学基金资助老年医学领域 衰老基础研究概述

洪微¹ 刘竞丽²

(1 国家自然科学基金委员会生命科学部, 北京 100085;

2 广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021)

[摘要] 概述了2003—2007年度国家自然科学基金在老年医学领域的申请与资助情况,并对有关衰老研究资助项目取得的主要成果和重要研究进展进行了概述。

[关键词] 老年医学, 衰老, 自然科学基金, 资助项目, 成果

对衰老的探究是人类长期以来的课题,早在13世纪培根发表了《延年益寿与保持青春》;1909年Nascher提出老年病学(Geriatrics)概念;1942年美国创立了世界上第一个老年医学学会;在我国中华医学会于1981年成立了老年医学学会。

国家自然科学基金委员会(以下简称基金委)自1986年成立以来一直资助老年医学领域的研究,20多年来围绕该领域的热点与难点资助了大量、系统的研究工作,对国内老年医学基础研究的发展起到了推动作用。

近年来,随着人口的老齡化、老年退行性疾病年轻化趋势,老年医学研究日益得到重视,“衰老相关疾病的发生和发展机理”已被列为基金委“十一五”优先发展领域。

以最近的5年为例(2003—2007年),申请老年医学领域国家自然科学基金资助项目的总数是1004项,其中批准资助225项,资助经费3480万元,申请项目数和资助项目数均呈递增趋势。获资助项目研究方向分布主要是:衰老机理研究、老年退行性疾病的机制和防治。科学基金资助项目类型呈现多样化,从面上项目、重点项目、海外及港澳学者合作研究基金、重大国际合作研究项目等均有资助。2007年基金委设立了“衰老机理与老年退行性疾病的基础研究”重点项目立项领域,体现了老年医学发展的热点趋势和国家自然科学基金优先资助老年医学研究的导向。

衰老是老年病百病之源,衰老机理与老年退行性疾病间关系的研究是新时期老年医学的重要和热点课题。本文仅就最近5年自然科学基金资助老年医学领域有关衰老研究主要成果和重要进展做一概述。

1 老年医学领域衰老基础研究进展

人类对衰老的认识和探索经历了从微观到宏观的历程,主要包括3个部分。第一,分子水平,包括DNA的损伤与修复功能的障碍、转录后损坏或化学修饰导致的蛋白质改变、衰老相关基因研究等;第二,细胞水平,细胞是生物衰老的基本单位,包括端粒酶的复制衰老假说、分化障碍、细胞信号转导通路变化;第三,整体水平,包括神经内分泌紊乱、代谢改变以及免疫机制学说。但对人类的整体衰老研究存在诸多限制:模式生物与人类相距甚远,难以完全体现并反映人体衰老;内、外环境等因素可通过遗传物质或其产物而影响衰老进程。目前有关衰老的假说约有数十种,有一些被大量的实验所证实,但也存在着缺陷。目前尚无一个学说能全面地阐明细胞和多细胞组成复杂生命个体,尤其是人类衰老发生的机制。科研人员一直在探究,能够阐释多种衰老的典型表象、并将分子、细胞、整体的现象联结、贯穿的衰老机制学说。

1.1 体外细胞复制衰老机理的研究

有关衰老机制的研究,多年来在细胞、分子水平

本文于2008年1月25日收到。

主要从自由基、DNA 损伤、线粒体 DNA 突变、端粒片段长度及端粒酶活性、p53/pRB 通路等对细胞复制性衰老的机理展开研究,先后提出了错误积累学说、自由基学说、有限细胞复制的 Hayflick 学说、端粒/端粒酶学说等,尝试对细胞和多细胞组成的复杂生物体衰老发生的机理进行解析。

北京大学童坦君教授和张宗玉教授课题组自 1986 年始连续获得多项自然科学基金资助,在衰老的分子机理和生物年龄指征方面进行了系列研究。运用人胚肺二倍体成纤维细胞,已陆续建立了线粒体 DNA 片段缺失、端粒长度、增殖速度、DNA 修复能力、糖基化终末产物水平、 β -半乳糖苷酶染色等衰老生物学指征的测定方法^[1-3]。由于单一的衰老相关指标难以准确、特异地评估衰老程度,该课题组在自然科学基金的连续资助下,进一步研究低代龄与高代龄基因的表达差异,筛查衰老时表达水平发生重大变动的基因。在 4096 条人类基因中筛出年轻和衰老细胞中表达变化相差 5 倍以上的 6 种基因作进一步筛选,经多代龄检测,发现表达变化大、变化量与代龄变化相关性好的 α_2 巨球蛋白基因可作为“细胞衰老标志基因”,建立了细胞“年龄”综合指征,相关结果已发表在 *Biol Chem*, *FASEB J* 等期刊上^[4,5]。还从年轻和衰老细胞中发现片段 *orc*(286 pb)和 *ycrc*(235bp)分别与衰老和年轻相关,*ycrc* 在维持细胞年轻状态可能有调节作用^[6];并报道了 *RBM4*、*FBXO7* 和 *TOM1* 等基因在细胞衰老时的表达变化,证明体外培养与个体的衰老变化过程有一定相似性;克隆到一个 *CSIG* 基因,该基因可抑制细胞衰老并延长细胞寿命^[7];对 *p16* 基因与衰老的关系进行了系列研究,发现 *p16INK2a* 是细胞衰老的主导基因,反义 *p16FN2A* 可使成纤维细胞寿命延长,且 *P16* 能降低成纤维细胞凋亡的敏感性^[8];抑制 *PBKs* 能诱导成纤维细胞衰老改变,其作用可能是通过 *p16INK4* 和 *P21cip1* 介导^[9],从而成功阐明 *p16* 基因是人类细胞衰老的主导基因^[10]。这一研究成果标志着我国在细胞复制衰老的共同机理研究方面进入了世界前沿。

1.2 从器官水平对衰老机理的研究

衰老是以器官功能障碍为表现来影响生命的质量和寿命的,以体外单细胞复制衰老模型所获得的细胞衰老机理来解释多细胞组成的复杂器官的衰老,虽带有普遍性,但也有很大局限性;且组成不同器官的细胞结构与功能不同,必然存在某一器官所特有的衰老机理。因此,从器官水平去阐明衰老发

生的机理,才能揭示衰老及其导致的器官病理改变的本质。近年来再生医学的研究发现:衰老导致器官中的细胞内、外环境变化所呈现的衰老表型不利于组织与器官的再生,损伤的老年骨骼肌如果移植入年青的受体或置于年青的系统环境能较好地再生和修复,但如果把年青的骨骼肌移植入年老受体或置于年老系统环境,却不能较好地再生和修复。上述发现提示:组成器官的细胞内环境及表面分子的衰老表型是器官结构与功能退行性改变和老年器官再生能力下降的重要原因。从 2007 年度申报老年医学领域“衰老机理与老年退行性疾病的基础研究”重点立项的项目来看,国内研究者也正在围绕器官衰老、细胞内环境对细胞的作用等方向,探索衰老的机制。研究已经证明骨髓干细胞衰老-逆转不仅受细胞内基因调控,还受其生存的衰老环境的影响,干细胞的微环境是决定其衰老-逆转的关键^[11]。

2006 年资助的科学基金面上项目“骨髓基质液微环境调控 MSCs 衰老及其逆转的研究”,在前期研究中发现:纯化的乳鼠骨髓基质干细胞(Marrow Mesenchymal Stem Cells, MSCs)培养在 D-半乳糖培养基和鼠龄为 25 月龄的老年骨髓液培养基中,乳鼠骨髓 MSCs 表现出衰老;而将衰老的 MSCs 培养在乳鼠骨髓培养基中,细胞增殖能力降低。提示老年骨髓液的微环境能诱导 MSCs 衰老,骨髓基质液中存在诱导干细胞衰老-逆转的物质。该项目拟对老年、青年、乳鼠等不同发育阶段骨髓液及相应的 MSCs 运用比较蛋白组学、生物信息学及基因芯片技术筛选骨髓中调控干细胞衰老-逆转的关键成分和 MSCs 应答的关键因子,研究它们在决定 MSCs 衰老-逆转中的作用及其机制。目前初步发现,乳鼠、青年鼠和老年鼠骨髓基质液蛋白质表达谱有明显差异。

1.3 衰老与老年退行性疾病关系的研究

衰老伴随着老年退行性疾病的发病机会增加,严重危害人类生命和健康的多种重大疾病,如:缺血性心、脑血管疾病等,均与相应组织和器官的衰老密切相关。对衰老和老年退行性疾病的基础研究已有较多,但缺乏对两者之间关系的整合研究。目前对两者内在联系的分子基础正日益引起关注,寻找两者相互作用的关键分子机制,有利于将衰老与老年退行性疾病间的关系从分子、细胞和整体水平串联起来。

衰老是影响冠心病发病率和死亡率的主要独立危险因素^[12],衰老的心脏对缺血/再灌注损伤敏感

性高^[13]、梗死面积大^[14]、病人预后差^[15],且溶栓治疗和预后处理对老年心梗病人的收效远不如青年人^[16],其机制仍不清楚。山西医科大学刘慧荣教授课题组在自然科学基金资助下,正在研究衰老时心肌缺血再灌注损伤中活性氮簇(Reactive Nitrogen Species, RNS)的作用。针对心肌缺血/再灌注后凋亡是心肌细胞死亡的主要形式,且随衰老明显加重,活性氧簇(Reactive Oxygen Species, ROS)在衰老和缺血后心肌细胞凋亡过程中均起重要作用,但临床抗氧化治疗的试验结果并不令人满意,提示除ROS外还有其他因素存在。根据初步实验结果,提出源于一氧化氮(NO)的RNS可能是衰老心脏对心肌细胞凋亡性死亡敏感性增加的关键因素的假设。通过研究发现:正常成年大鼠和衰老大鼠心肌组织中活性氮代谢物产生的相关重要酶诱导型一氧化氮合酶(iNOS)含量明显增高,内皮型一氧化氮合酶(eNOS)含量下降;由于iNOS与过量活性氮代谢物生成有关,而过量的活性氮代谢物会造成心肌组织损伤,提示:衰老过程中随着iNOS含量增加,心肌组织损伤程度加重;与此相反,eNOS属于原生型NOS,生理状态下产生少量NO,参与机体正常生理活动,衰老过程中其表达量下降,正常生理活动受到抑制,同样表现为心肌损伤。同时还发现,心肌缺血/再灌注时,衰老大鼠左室舒张压较成年大鼠下降明显,其心肌组织发生细胞凋亡较成年大鼠明显,提示衰老大鼠对心肌缺血/再灌注损伤更敏感;衰老大鼠心肌组织中S-亚硝基化蛋白质含量明显下降,总一氧化氮(NO_x)含量增加、过氧亚硝基(ONOO⁻)的标志物硝基酪氨酸(NT)含量增加,提示NO生物利用度下降。

复旦大学神经生物学研究所孙安阳教授课题组,研究“衰老与阿尔茨海默病关键分子”,获得2007年国家自然科学基金资助。肽类丙酰异构酶Pin1是进化过程中保守的小分子蛋白,参与一系列磷酸化/脱磷酸化细胞信号通路的调节。他们在前期研究中发现,阿尔茨海默病(Alzheimer Disease, AD)患者多个脑区Pin1水平与神经纤维变性负相关;Pin1可与磷酸化tau蛋白的丝氨酸/苏氨酸(pS/T)区域结合,恢复磷酸化tau蛋白的微管结合功能^[17];Pin1基因敲除小鼠脑内神经元可出现tau磷酸化水平相分离的情况;Pin1还可与淀粉样蛋白前体蛋白(APP)的磷酸化苏氨酸668-脯氨酸功能域结合,参与AD病理过程中的重要分子APP处理和A β 生成的调节,Pin1基因敲除后,APP酶切发生改

变,不溶性A β 42在神经元多胞体内聚集,脑内A β 42含量增高^[18]。但目前并不清楚Pin1是否在体内也影响AD病理过程的进展。近来他们发现Pin1可能涉及衰老过程:发现Pin1基因敲除小鼠脑内神经突触结构与功能出现异常变化,多个脑区神经元胞体显著减小、树突棘形态转为瘦长,这与老年小鼠某些脑区神经元树突呈现类似的变化^[19];此外,Pin1在幼年和青年小鼠脑内水平较高;Pin1基因敲除小鼠在成年后期或老年初期脑内呈现大量lipofuscin颗粒,而同月龄的野生型对照小鼠则几乎无此现象,并呈现生殖系统退化的表型。基于上述前期研究结果:Pin1可能参与衰老的发生,并同时参与AD的重要病理分子tau蛋白与APP的调控,从而提出Pin1是否是两者相互联系的分子基础的假设,拟进一步探讨衰老过程对AD产生的促进作用。运用AD转基因小鼠、加速衰老小鼠(SAMP8)模型,观察AD病理过程的进展速度和学习记忆功能的改变;分析遗传因素在衰老促进AD中的作用;探讨Pin1在自然衰老和加速衰老小鼠模型中的变化及其调节的分子机制,分析Pin1在联系衰老、AD之间的作用。该课题可能为衰老和AD间的相互联系提供新的理论。

2 结语

综上所述,我国在衰老机制的基础研究领域,从细胞、分子水平取得了一些重要成果和进展,但在老年退行性疾病发病机制研究方面,多数项目还没有形成自己稳定的研究方向,未能坚持在某一领域开展长期系列研究,因而研究缺乏系统性;尤其缺乏从衰老的角度,探讨退行性疾病的机制。

随着对衰老机理和老年性疾病研究的深入,将衰老机理研究与老年性疾病防治有机地结合起来,探索衰老与疾病的相关问题是老年医学发展的前沿。我国老年医学研究者在国家自然科学基金的资助下,已经开始了这一方向的探索。

参 考 文 献

- [1] Zeng Z H, Zhang Z Y, Yu H S et al. Mitochondrial DNA deletions are associated with ischemia and aging in balb/c mouse brain. *Cell Biochem*, 1999, 73: 545—553.
- [2] 张宗玉, 范新青, 童坦君. 人胚肺二倍体成纤维细胞端区长度的代龄变化. *生物化学杂志*, 1997, 13: 43—45.
- [3] 张宗玉, 范新青, 童坦君. 中国人外周血白细胞端区长度随增龄缩短. *生物化学杂志*, 1997, 13: 605—607.
- [4] Duan J M, Zhang Z Y, Tong T J. Senescence delay of human diploid fibroblast induced by anti-sense p16^{INK4a} expression. *Biol Chem*, 2001, 276: 48325—48331.

- [5] Zhao L, Zhang Z Y, Tong T J. Expression of the Leol-like domain of replicative senescence down-regulated Leol-like (RDL) protein promotes senescence of 2BS fibroblasts. *FASEB*, 2005, 19:521—532.
- [6] 杨东丽, 刘新文, 童坦君等. 年轻与衰老 2BS 细胞中差异表达基因片段的筛选及特征分析. *中国生物化学与分子生物学报*, 2002, 18 (4):456—460.
- [7] 郭淑贞, 张宗玉, 童坦君. 衰老相关新基因 CSIG 的 cDNA 克隆和功能. *中国生物化学与分子生物学报*, 2003, 19 (5): 612—617.
- [8] 韩晓琳, 孙英, 张宗玉等. P16 降低二倍体成纤维细胞的凋亡敏感性. *中国生物化学与分子生物学报*, 2004, 20 (2): 241—246.
- [9] Li Shuping, ZHANG Zhongyu and Tong Tanjun. Phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor, LY294002, induced senescence-like changes in human diploid fibroblasts. *Chinese Medical Journal*, 2003, 116(6):901—905.
- [10] Zheng W J, Wang H Y, Xue L X et al. Regulation of cellular senescence and p16 INK4A expression by Id1 and E37 proteins in human diploid fibroblast. *Biol Chem*, 2004, 279: 31524—31532.
- [11] Christine Fehrer, Günter Lepperdinger. Mesenchymal stem cell aging. *Experimental Gerontology*, 2005, 40:926—930.
- [12] Lakatta E G, Levy D. Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises: Part I: Aging Arteries: A "Set Up" for Vascular Disease. *Circulation*, 2003;107:139—146.
- [13] Azhar G, Gao W, Liu L et al. Ischemia-reperfusion in the adult mouse heart influence of age. *Exp Gerontol*, 1999, 34: 699—714.
- [14] Gould K E, Taffet G E, Michael L H et al. Heart failure and greater infarct expansion in middle-aged mice: a relevant model for postinfarction failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 282:H615—H621.
- [15] White H D, Barbash G I, Califf R M et al. Age and outcome with contemporary thrombolytic therapy. Results from the GUSTO-I trial. *Global Utilization of Streptokinase and TPA for Occluded coronary arteries trial*. *Circulation*, 1996, 94: 1826—1833.
- [16] Abete P, Testa G, Ferrara N et al. Cardioprotective effect of ischemic preconditioning is preserved in food-restricted senescent rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002; 282: H1978—H1987.
- [17] Lu P J, Wulf G, Zhou X et al. Prolyl isomerase Pin1 restores the function of Alzheimer-associated phosphorylated tau protein. *Nature*, 1999; 399(6738):784—8.
- [18] Pastorino L, Sun A Y, Lu P J et al. The prolyl isomerase Pin1 regulates amyloid precursor protein processing and A β production. *Nature*, 2006, 440:538—534.
- [19] Liu Y, Sun A Y, Ryo A et al. Role of the prolyl isomerase Pin1 in protecting against age-dependent neurodegeneration. *Nature*, 2003;424: 556—561.

OVERVIEW AND ANALYSIS OF PROJECTS IN GERATOLOGY FUNDED BY NSFC DURING 2003—2007

Hong Wei¹ Liu Jingli²

(1 National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085;

2 Department of Neurology, the First Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021)

Abstract This paper overviews the fundamental research projects on aging funded by National Natural Science Foundation of China from 2003 to 2007, and introduces the experimental results, progresses and prospects on mechanisms of aging and correlation of it with some important senile diseases.

Key words geratology, aging, NSFC, projects funded, production

·资料·信息·

国家自然科学基金委员会第三届监督委员会委员组成

主任:朱道本

副主任:白以龙、岳忠厚

委员(以下按姓氏笔划排序):

王子健、刘治国、寿成超、张建、李曙光、陆则慰、

陈荣秋、周青、林惠民、金祖亮、姚祝军、赵学文、谈振辉、黄大昉。

(转自国科金发人[2008]12号文)