

Advances in Research on Senescence in Health and Diseases

Xiaoyu Tian Na Lu

China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu, 210000, China

Abstract

Senescence is a state in which the cell's functional characteristics are gradually deteriorating, in which the cell is at a sustained low level of replication and is accompanied by an increase in the expression of the cell cycle inhibitor p16INK4a. The production of senescent cells occurs throughout life and plays key roles in various physiological and pathological processes. These non-proliferating cells occupy key cellular niches and produce senescence-associated secretory phenotype (SASP) which contributes to aging-related diseases progress. Therefore, the search for Senolytics has become the focus of research in the field of anti-aging.

Keywords

cellular senescence; SASP; aging-related disease; anti-senescence; senolytics

细胞衰老与衰老相关疾病研究进展

田潇雨 卢娜

中国药科大学, 中国·江苏·南京 210000

摘要

衰老 (Senescence) 是细胞功能逐渐退化的一种状态, 在这种状态下细胞几乎丧失复制能力, 并且细胞周期抑制基因 p16INK4a 的表达升高。细胞衰老贯穿生物个体的整个生命过程, 在各种生理以及病理过程中发挥重要的作用。一方面, 衰老的细胞能够促进胚胎发育, 伤口愈合和宿主免疫反应以及抑制肿瘤发生发展等。另一方面, 随着年龄增长而在体内积累的衰老细胞也会对机体带来有害的影响。这些不能增殖的细胞产生衰老相关分泌表型 (Senescence-Associated Secretory Phenotype, SASP), 促进衰老相关疾病 (Aging-related Disease) 的发生发展, 而清除衰老细胞能够减缓衰老相关疾病的症状。因此寻找能够特异性杀死衰老细胞的药物 (Senolytics) 成为了抗衰老领域的研究重点。

关键词

细胞衰老; 衰老相关分泌表型; 衰老相关疾病; 抗衰老; Senolytics

1 引言

越来越多的证据表明, 细胞衰老 (Cellular Senescence) 是多种衰老相关疾病的直接原因。虽然细胞衰老不能解释所有机体衰老的表型, 但大量衰老相关疾病直接或间接地与细胞衰老相关联。本文讨论了衰老细胞的一些重要特征, 其中一些可能有利于机体生理或病理进程, 而另外一部分则可能具有相反的作用。最后我们讨论了衰老细胞在人体健康与疾病中发挥的重要作用以及抗衰老治疗的相关进展。

2 细胞衰老

细胞衰老是指细胞处于潜在致癌应激环境下发生的不可逆的细胞增殖阻滞。由于衰老细胞增殖阻滞的持久性, 细胞衰老可以抑制癌症的发展。虽然通过特定的分子生物学操作, 例如持续地沉默特定的抑癌基因能够使得衰老细胞重新开始

增殖, 但是在自然条件下, 衰老细胞的增殖阻滞是相当严格且不可逆的, 因为尚未发现能够使得衰老细胞重新进入细胞周期的生理性刺激。现已证实细胞中存在至少两条主要的抑癌通路: p53/p21 通路与 p16INK4a/pRB 通路, 这两种通路强烈地抑制恶性肿瘤的形成。而细胞在经历许多潜在的致癌刺激后会发生衰老, 这种现象与上述观点相一致。

除了增殖阻滞外, 衰老细胞还存在其他一些显著特征。这些特征包括: ①细胞形态变大呈铺开状; ②衰老相关半乳糖苷酶 (Senescence-Associated β -galactosidase, SA- β -gal) 的表达上升; ③产生衰老相关异染色质灶 (Senescence-Associated Heterochromatin Foci, SAHF); ④衰老细胞会分泌多种促炎的细胞因子、趋化因子、生长因子以及蛋白酶, 这一特征称为衰老相关分泌表型 (SASP)。SASP 的成分复杂, 它的生物学效应也非常广泛, 例如: SASP 中的 GROs 蛋白可以

刺激细胞增殖, VEGF 可以刺激血管生成。又由于许多 SASP 组分直接或间接促进炎症, 使得衰老细胞在衰老相关疾病中扮演了重要角色^[1]。

3 细胞衰老在健康与疾病中的作用

细胞衰老在不同环境下的生物效应是不同的。虽然到现在为止我们对于衰老细胞功能的了解并不透彻, 但大体而言他们对于宿主的生理学及病理学存在有利的一面, 同时也存在不利的一面。

3. 1 发育过程中的细胞衰老

研究显示胚胎发育过程中会出现具有衰老特征的细胞, 这些细胞在胚胎形成器官时发挥重要作用。这些细胞几乎丧失复制能力并且表达 SA- β -gal。胚胎发育过程中发生的细胞衰老是程序化的, 它由旁分泌信号诱导, 并被细胞周期抑制因子 p21 介导, 而不是依赖于 DNA 损伤以及 p53 与 p16INK4a 发生周期阻滞^[2]。

3. 2 伤口愈合

研究发现在成年动物的各种伤口模型中 p16INK4a 的表达显著升高。Demaria 等人运用 p16INK4a 报告基因小鼠, 在小鼠组织创伤后的 2-3 天内观察到 p16INK4a 启动子的激活, 在 4-7 天之间 p16INK4a 的表达达到峰值, 随后在 2-3 周内消退。除了 p16INK4a 的表达外, 在伤口部位同样能观察到衰老细胞其他的特征, 包括 NF- κ B 的激活与 SASP 的表达等。这些细胞对于伤口愈合是至关重要的, 因为清除表达 p16INK4a 的细胞后, 伤口愈合速度会减慢^[9,11]。另有研究表明 p16INK4 缺陷动物的伤口愈合能力没有变化, 这说明 p16INK4a 本身并不会促进伤口愈合, 而是表达 p16INK4a 的细胞中的一些其他分子参与了这一过程。这些分子可能是衰老细胞分泌的 SASP。Demaria 等人发现衰老成纤维细胞与衰老内皮细胞产生的 PDGF-AA 促进伤口愈合。Gudkov 等人发现一些位于损伤组织内的表达 p16INK4a 的细胞可以经由炎症信号募集特殊的巨噬细胞。Hall 等人发现含有 SASP 组分的珠子能够吸引巨噬细胞。新生肿瘤中的一些骨髓来源细胞以及受到紫外线损伤的骨髓来源细胞可能也会表达 p16INK4a, 并且这些细胞会随着人体老化而积累。这些巨噬细胞是预先存在的还是由 SASP 诱导产生的目前尚不清楚; 并且这些细胞是否确实衰老或是否仅代表对损

伤暂时的反应目前没有定论。然而很明显的是, 许多非巨噬细胞 (如黑色素细胞, 胰腺 B 细胞, 脂肪细胞和 T 细胞) 通过细胞衰老预防恶性肿瘤并且衰老的细胞随着人体老化而积累^[3]。

3. 3 肿瘤抑制

近年来的研究表明在哺乳动物中细胞衰老比细胞死亡可能对于肿瘤抑制更加重要。比如细胞凋亡缺陷的小鼠并不会增加小鼠患肿瘤的几率, 然而对衰老机制进行轻微的干扰便会显著影响癌症的易感性。缺失 p53 或 p16INK4a 一个拷贝的小鼠更加容易患肿瘤, 而增加它们的拷贝则使小鼠患癌几率下降。全基因组分析显示, 人类癌症中经常发生 p53 或 p16INK4a 的缺失, 这表明大部分的癌症可能均会干扰细胞衰老的进程。在进化上, 凋亡比衰老更加原始, 因此细胞衰老的出现表明细胞衰老可能在抑癌方面比细胞凋亡更具进化上的优势, 例如处理损伤细胞。与凋亡不同, 衰老不会直接杀死细胞, 而是阻断细胞分裂。凋亡会降低克隆多样性, 然而这种多样性对于一些机体的生理功能是必不可少的。例如衰老的记忆性 T 淋巴细胞会携带过去感染的基本信息, 这些细胞的凋亡性死亡会导致这些记忆丧失^[4]; 此外, 发生凋亡的细胞可能需要通过剩余细胞的过度增大来补偿, 或通过成体干细胞的增殖来代替, 但是细胞过度增大导致的肥大症与许多器官 (例如心脏) 的组织功能障碍有关, 而干细胞增殖的增加会耗尽其有限的复制潜力, 导致干细胞衰竭^[5]。

最后, 衰老细胞可以产生持久的癌症应激信号, 从而促进机体对于癌细胞的免疫监视。近年来出现的清除衰老细胞的治疗法 (Senolysis) 促进衰老细胞死亡, 这将导致衰老细胞的肿瘤抑制功能丧失, 因此这种治疗方法的使用需要仔细斟酌。

3. 4 宿主免疫

衰老在细胞免疫与先天免疫中起着复杂的作用。老化组织中的 T 细胞表达高水平的 p16INK4a 以及部分 SASP 因子, 伴随着机体老化或慢性 HIV 病毒感染出现的衰老 T 细胞会导致 T 细胞多样性的缺失。病毒感染可通过诱导细胞融合或 DNA 损伤直接诱导细胞衰老, 也可间接通过旁分泌效应 (如干扰素和肿瘤坏死因子) 诱导附近细胞发生衰老。Reddel 等人发现, 由于病毒依赖宿主细胞的增殖进行复制, 细胞衰老可能具有抗病毒能力。Baz-Martínez 等人发现病毒的复制能力在衰老细胞中是受损的, 并且衰老细胞能募集先天免疫细

胞阻止病毒的进一步感染侵袭。为了破坏衰老机制，某些病毒产生癌蛋白以抑制 RB 和 / 或 p53 途径。因此，衰老被认为是能够作为防御某些感染的机制（例如，通过限制宿主细胞增殖）或作为激活先天免疫的手段^[6,7]。

3. 5 动脉粥样硬化

除了能够抑制肿瘤细胞增殖外，衰老还可以抑制一些其他的与疾病相关的细胞增殖。例如，CDKN2A/B（编码 p16INK4a, ARF 和 p15INKR4b）表达的增加与动脉粥样硬化的易感性降低有关。通过全基因组关联研究（GWASs）发现，人类基因组中调控 CDKN2A/B 表达的核苷酸多态性是动脉粥样硬化最常见的影响因素^[8]。虽然目前有观点认为动脉粥样硬化块内膜巨噬细胞中 CDKN2A/B 表达的增加限制了巨噬细胞的增殖与积累，进而限制了斑块增长，但是其内在机制目前尚不清楚。尽管激活 CDKN2A 可以防止动脉粥样硬化斑块的形成，但也有研究表明衰老细胞的积累似乎有助于动脉粥样硬化斑块的形成。Childs^[9] 等人发现，在小鼠模型中清除动脉粥样硬化病变区域中表达 p16INK4a 的巨噬细胞能够减小斑块大小。这些结果表明，细胞衰老的增殖抑制能力对于动脉粥样硬化是有益的，而衰老其他方面的特征（例如，表达 SASP）对动脉粥样硬化是有害的。

3. 6 二型糖尿病

与动脉粥样硬化相同，GWASs 分析表明 CDKN2A/B 基因座附近的单核苷酸多样性（Single-nucleotide polymorphism, SNP）与二型糖尿病相关联。与动脉粥样不同的是二型糖尿病中 SNPs 对于 CDKN2A/B 表达的影响尚未得到证实。Krishnamurthy^[10] 等人发现，在衰老小鼠中，p16INK4a 在胰岛 β 细胞中高度表达，并且 p16INK4a 的缺失与 β 细胞复制的增强有关。由此可以推断，胰岛 β 细胞中 p16INK4a 表达增加会使得胰岛 β 细胞复制能力下降，并能增加患二型糖尿病的风险。相应地，携带 p16INK4a 的亚等位基因的人患黑色素瘤的风险增加，这也与胰腺胰岛素分泌能力增强有关。最近的研究表明，老年人或衰老小鼠体内表现出衰老特征的 β 细胞的占比增加。然而 Gonza' lez-Navarro^[11] 等人的研究显示与非衰老 β 细胞相比，衰老 β 细胞分泌的胰岛素的能力增强。用相同浓度的葡萄糖刺激后，衰老 β 细胞分泌的胰岛素更多。因此，衰老可能通过对 β 细胞以及组织胰岛素抗性的影响而影响糖尿病易感性。

3. 7 疲劳 (Fatigue)

化疗诱导的疲劳或虚弱（asthenia），是治疗癌症时常见的副作用。Campisi 等使用多种诱导 DNA 受损的化疗药物在小鼠中诱导组织衰老，进而研究衰老细胞在化疗的细胞毒性中的作用。当这些衰老细胞被清除掉时，化疗的副作用得到改善。值得注意的是，衰老细胞被清除的小鼠较少出现虚弱的症状，并且这些小鼠的活力恢复到了与未接受化疗的小鼠相同的水平^[12]。老年个体相较于年轻个体更加容易虚弱，然而 p16INK4a 整体水平较高的年轻个体也同样容易虚弱。这个结果显示，衰老细胞的总体负担的增加可能导致疲劳且与年龄无关。

4 抗衰老治疗 (Anti-aging Treatment)

衰老相关的疾病是全世界疾病负担的主要原因，研究表明减缓人体衰老的进程可以延缓衰老相关疾病的发生。衰老细胞促进机体衰老的观点在几十年前就已经被提出，虽然这个观点最初并不可靠，但是近年来它已经获得越来越多的实验支持。如上所述，衰老的特征在许多疾病中呈指数增加，这些疾病本质上是退行性和增生性的，越来越多的证据表明，衰老细胞促进这两种与年龄相关的病理学特征。Van Deursen 等人于 2011 年采用遗传学方法研究发现清除早衰小鼠中衰老细胞有利于小鼠健康^[13]，并在之后用正常衰老小鼠进行了类似的实验。迄今为止，越来越多的证据表明清除衰老细胞有利于一些疾病的治疗。例如，通过清除衰老的管状刷状缘上皮细胞能够缓解老年小鼠的肾小球硬化和肾功能下降；用 ABT-263 清除衰老细胞能够改善由于机体衰老而造成的造血干细胞与骨骼肌干细胞功能衰退^[14]；清除衰老的内膜泡沫细胞能够延缓动脉粥样硬化病变的进程^[15]；清除衰老细胞能够延缓多种类型癌症的发作并且延长小鼠寿命。因此寻找能够特异性杀死衰老细胞的药物（Senolytics）成为了抗衰老领域的研究重点。Baar 等人运用 FOXO4-DRI 特异性杀死小鼠体内衰老细胞使得由于化疗导致的衰老表型减少，并且恢复了组织内稳态^[16]。

虽然这些研究成果大大增加了我们对机体中细胞衰老的了解，但是也提出一些问题。例如，如果健康机体中存在生理性的衰老细胞清除机制，这种天然的机制是否可以人为加强以达到临床治疗目的？目前认为，衰老细胞的清除可以由

适应性或先天性免疫激活,后者是由于衰老细胞产生的配体表达增加使得NK细胞选择性将其杀死而导致的。因此,增强细胞免疫或增强NK细胞功能在某些情况下可能对衰老治疗是有利的。

5 展望

细胞衰老为宿主提供了明显的益处,它可以使癌症和某些其他因为过度增殖而导致的疾病的发病率降低,并且促进伤口愈合。然而,随着年龄的增长衰老细胞的积累会产生有害的影响,表现为从损伤中恢复的能力降低和对某些与年龄相关疾病的易感性增加。这可以在临床上预测个体对某些疾病的易感性,例如,通过GWAS将CDNK2A/B与各种衰老相关疾病相联系。此外,通过测量体内衰老细胞的数量可以测量“分子年龄”,从而可以预测人类特定年龄最有可能发展的病理。最后,人们有希望通过清除衰老细胞来治疗某些常见的疾病状态。传统的抗衰老治疗是一种通过改变生活方式以及运用一些药物减缓年龄引起的机体衰老的预防范式。但是从临床研究的观点来看,这种预防范式可能会出现一些实质性的问题,例如治疗时间长,且考虑到病人对药物的耐受程度,这种治疗方案可能会受到限制。令人兴奋的是,随着我们对细胞衰老在人类疾病中的作用的了解,通过药理学或免疫学方法来清除积累的衰老细胞可能可以用于治疗与老龄化相关的疾病。从临床的角度来看,这样的治疗更加简单,并且为人们提供了一种能够降低由于在人类机体衰老过程中增加的衰老细胞而导致的病理变化的手段。

参考文献

- [1] Campisi J, d'Adda di Fagagna F. 2007. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8:729–40
- [2] Coppe JP, Patil CK, Rodier F, Krtolica A, Beausejour C, et al. 2010. A human-like senescence-associated secretory phenotype is conserved in mouse cells dependent on physiological oxygen. *PLoS ONE* 5: e9188
- [3] Demaria, M., Ohtani, N., Youssef, S.A., Rodier, F., Toussaint, W., Mitchell, J.R., Laberge, R.M., Vijg, J., Van Steeg, H., Dolle, M.E., et al. (2014). An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Dev. Cell* 31, 722–733.
- [4] Akbar, A.N., and Henson, S.M. (2011). Are senescence and exhaustion intertwined or unrelated processes that compromise immunity? *Nat. Rev. Immunol.* 11, 289–295.
- [5] Ruzankina, Y., and Brown, E.J. (2007). Relationships between stem cell exhaustion, tumour suppression and ageing. *Br. J. Cancer* 97, 1189–1193.
- [6] Coppe, J.P., Patil, C.K., Rodier, F., Sun, Y., Munoz, D.P., Goldstein, J., Nelson, P.S., Desprez, P.Y., and Campisi, J. (2008). Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor. *PLoS Biol.* 6, 2853–2868.
- [7] Baz-Martínez, M., Da Silva-Alvarez, S., Rodríguez, E., Guerra, J., El Motiam, A., Vidal, A., García-Caballero, T., González-Barcia, M., Sánchez, L., MuñozFontela, C., et al. (2016). Cell senescence is an antiviral defense mechanism. *Sci. Rep.* 6, 37007.
- [8] Holdt, L.M., and Teupser, D. (2012). Recent studies of the human chromosome 9p21 locus, which is associated with atherosclerosis in human populations. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 32, 196–206.
- [9] Childs, B.G., Baker, D.J., Wijshake, T., Conover, C.A., Campisi, J., and van Deursen, J.M. (2016). Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 354, 472–477.
- [10] Krishnamurthy, J., Ramsey, M.R., Ligon, K.L., Torrice, C., Koh, A., Bonner-Weir, S., and Sharpless, N.E. (2006). p16INK4a induces an age-dependent decline in islet regenerative potential. *Nature* 443, 453–457.
- [11] González-Navarro, H., Vinuesa, A., Sanz, M.J., Delgado, M., Pozo, M.A., Serrano, M., Burks, D.J., and Andrés, V. (2013). Increased dosage of Ink4/Arf protects against glucose intolerance and insulin resistance associated with aging. *Aging Cell* 12, 102–111.
- [12] Demaria, M., O'Leary, M.N., Chang, J., Shao, L., Liu, S., Alimirah, F., Koenig, K., Le, C., Mitin, N., Deal, A.M., et al. (2017). Cellular senescence promotes adverse effects of chemotherapy and cancer relapse. *Cancer Discov.* 7, 165–176
- [13] Baker, D.J., Wijshake, T., Tchikonia, T., LeBrasseur, N.K., Childs, B.G., van de Sluis, B., Kirkland, J.L., and van Deursen, J.M. (2011). Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479, 232–236.
- [14] Chang, J., Wang, Y., Shao, L., Laberge, R.M., Demaria, M., Campisi, J., Janakiraman, K., Sharpless, N.E., Ding, S., Feng, W., et al.

- (2016). Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat. Med.* 22, 78–83.
- [15] Childs, B.G., Baker, D.J., Wijshake, T., Conover, C.A., Campisi, J., and van Deursen, J.M. (2016). Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 354, 472–477.
- [16] Baar M P, Brandt R M, Putavet D A, et al. Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging[J]. *Cell*, 2017, 169(1): 132–147.