

## 个体衰老与干细胞应用 颠覆传统理论,揭示衰老原因

黄必录

福建省尤溪县新阳镇下桥村医疗站 365118

### 一、个体衰老的原因

只要找到个体衰老的原因,就能实现阻止和逆转个体衰老的梦想,同时也能根治与增龄有关的各种绝症。

个体是由非干细胞和干细胞组成的,衰老的端粒学说认为,细胞衰老与端粒缩短有关,但在一些不再分裂的终末细胞,如神经元、骨骼肌等非干细胞的衰老端粒并没有缩短。非干细胞的衰老死亡可以与DNA突变、代谢废物积累、干细胞衰老的联动等有关。但从个体水平来说,无论非干细胞是怎样衰老死亡的,也不是导致个体衰老的原因,因为衰老死亡的非细胞可以由干细胞分化补充,因此,在了解个体衰老的原因时,并不需要完全了解非干细胞衰老死亡的确切机制。成体干细胞因各种原因死亡也不是造成个体衰老的原因,因为死亡掉的干细胞可以由干细胞通过自我复制来补充。

必须注意的是:随着年龄的增长,免疫功能会不断下降,因此对突变的细胞的清除率也会不断下降,以致使组织中突变的细胞比例上升,这是由于免疫功能下降导致的突变的细胞的积累也不能把它看作是个体衰老的原因,而只能看作是衰老过程中的一种伴生现象,因为免疫功能的下降是由细胞特别是干细胞的衰老造成的。同样,神经系统、内分泌系统等系统的功能下降或紊乱也只能看作是衰老的伴生现象。就如郑集教授说的:“原因不等于机制”。

成体干细胞由于会不断分裂,代谢废物和突变mtDNA也不易在细胞内积累,nDNA突变的细胞株也会被免疫细胞清除,事实上,人体每

天都有大量的干细胞和非干细胞因各种原因而老化死亡,同时也有相应数量的细胞新生。这种细胞的新生能力归功于成体干细胞的强大的自我复制的能力。但是,已证明,骨髓等组织中的干细胞的数量和增殖能力会随着年龄的增长或分裂次数的增加而下降。

细胞分化与细胞增殖是处于对立统一的平衡状态,如果分化率大于增殖率,干细胞就会减少,如果分化率小于增殖率,干细胞就会增加。从造血干细胞研究中发现,随着分裂次数增多,分化率就会逐渐大于增殖率,因此,导致组织中的干细胞减少的原因是干细胞的自我复制率下降。但是,组织中的干细胞的减少并不是导致个体衰老的原因,就如年轻的癌症患者并没有因放疗引起的干细胞减少而加速人体衰老或很快出现大量白发等衰老的现象,只是干细胞的减少会使人变的虚弱(虚弱不等于衰老)而已。

每种生物的生长发育都有一个相对固定的时间表,例如,人类大约在十六七岁时就开始长胡须,五六十岁开始大量出现白发等等,这是一种程序,贯穿整个生命周期的程序,我称它为“生命周期程序”,这就是60年代Hayflick等提出的衰老的遗传程序学说;在细胞分子水平上,生命周期程序的表达方式是以“基因群的程序化活动”的。1984年,李振刚等人提出发育就是不同基因群的程序活动的理论,称“基因群程序活动模型”,基因群的程序化活动使细胞分化和个体发育得以循序进行。以肝为例(这里我只列出一个一个的基因活动,实际上是一群一群的基因):肝细胞的一生会依次逐渐切换式地表

达甲胎蛋白——白蛋白——尿蛋白。当甲胎蛋白基因表达逐渐关闭时,白蛋白基因的表达量开始逐渐上升;当白蛋白基因的表达开始逐渐关闭时,尿蛋白的基因的表达量就开始上升。

就像白蛋白基因逐渐关闭一样,如果制造毛发黑色素的基因逐渐关闭,就会开始逐渐出现白发;老年人因白蛋白基因的逐渐关闭和尿蛋白基因的逐渐表达而使肝功等一些相关的功能逐渐丧失,当这些重要的生理功能丧失到一定程度时,虽然此时在细胞水平上,端粒还剩一定长度,离体培养还能继续分裂数次,但由于基因群程序的表达已由生命中期模式切换到晚期的模式,就会导致个体衰老死亡。综上所述我认为,细胞分化、细胞衰老、个体的发育和个体衰老的原因就是基因群程序表达模式的切换造成的。

虽然衰老期大多数基因表达能力下降,但也有一部分基因表达能力上升,主要是对细胞和个体有益的基因逐渐关闭,而有害的基因的表达却逐渐上升,以此达到破坏细胞和个体有序的生理功能,据此认为,衰老是生命周期程序末尾的一段有意的编程,是生物进化选择的结果。

生命周期程序就是个体发育程序或基因顺序表达程序。这种程序是设置在染色体的DNA的分子链上的(是如何设置的我们暂时不管)。我们知道,计算机的程序在早期是设置在纸带上,后来改为磁带、磁盘(又称软盘)、硬盘、光盘。为了使程序能够程序化地表达(或称顺序读取),就必须要有—种动力来驱动程序运转,驱动计算机程序的装置称驱动器,其中驱动软盘的称软驱;驱动硬盘的称硬驱;驱动光盘的称光驱。同样原理,要使细胞中的生命周期程序能够循序地表达,也必须要有—种驱动装置(具体是如何构造和驱动的我们暂时不管)。

自从1991年,Harley等提出细胞衰老的端粒假说以来,现在多数人认为细胞衰老是由端

粒缩短造成的,由于细胞分化、细胞衰老、个体发育和个体衰老的原因是由基因群程序表达模式的切换造成的,因此可以说端粒就是生命周期程序驱动器的主要部分,端粒缩短可以产生—种驱动程序循序表达的驱动力;端粒缩短是造成干细胞的增殖潜能和横向分化潜能缩小的原因。

成年或老年人的肝细胞的甲胎蛋白等基因已停止了表达,但在生长因子或致癌物的作用下,又会重新表达,因为生长因子或致癌物能够激活端粒酶,使衰老的细胞又回复到幼稚的胚细胞状;与衰老相关的 $\beta$ -半乳糖苷酶是公认的细胞衰老的生物标志,1998年,Bordner等利用端粒酶催化亚基基因导入已表达 $\beta$ -半乳糖苷酶的已经衰老或接近衰老的视网膜色素上皮细胞,发现又停止了表达 $\beta$ -半乳糖苷酶,细胞出现年轻化的表形,据此可以认为,端粒就是细胞中的生命周期程序驱动器的驱动物质,端粒的缩短或延伸可以驱使细胞中的生命周期程序前进或后退。

既然端粒是生命周期程序驱动器产生驱动力的东西,那么,生殖细胞必须要把已缩短的端粒延长到所有细胞最长,以供将来个体的生长发育的消耗。1881年,魏斯曼(Weismann)提出“体细胞必死而生殖细胞永生”学说。1981年Medvedev在纪念魏斯曼学说提出100周年时,给予了该学说现代科学解释:将要发育为配子的生殖细胞必须返老还童,否则它们将会把双亲的年龄传到下一代,使该物种很快就灭绝了。现已证明,精原细胞经过减数分裂,端粒会从10KB以下突然跳到15KB。

当然,为了维持个体能够向前正常地发育,体细胞必须要有—套能够防止端粒延长或停止缩短的防御机制,用以防止生命周期程序开倒车,使细胞分化和个体发育不至于停止或逆转。因此,在含有较高活性的端粒酶的干细胞,还是没有阻止端粒缩短的作用,而最多只有延缓端

粒缩短,以便增加干细胞的分裂次数(惟有生殖细胞中的端粒酶才能特别有效地延长端粒);激活端粒酶的同时会成正比地激活另一些能够抑制端粒延伸的因子,使每次细胞分裂,端粒酶最多只能延伸端粒 15bp,而缩短是 50—100bp,以此防止端粒延长,使生命周期程序不会开倒车。比如,黄河等发现,能够抑制端粒延伸的端粒结合蛋白 TRF1 的表达量与肿瘤组织中端粒酶活性呈正相关;端粒的重复序列 TTAGGG 就是以端粒酶组份中的 hTR 为模板复制,但端粒酶活性可以上升 100—2000 倍,而 hTRmRNA 最多仅提高 2 倍,这就是为什么端粒酶催化亚基因引入细胞的研究已有 10 年,但都没见到端粒有延长现象,撤去端粒酶催化亚基因后细胞也没有出现返老还童的表形;以及含有高活性端粒酶的大多数癌细胞的端粒为什么比正常的细胞还要短的原因。

端粒重复 DNA 是使细胞年轻化的成分,而端粒酶中的 hTR 和它有着几乎相同的序列,因此,hTR 和端粒 DNA 可能具有异曲同工的作用,这可能是很多含有高活性端粒酶的癌细胞的端粒虽然比正常的细胞还短,却不会出现衰老的表形,而且更像幼稚的胚胎细胞的原因。

## 二、干细胞优点与问题

干细胞的体积较小,也具有游走性,容易穿过各种组织屏障。特别是增殖和横向分化潜能很大的造血干细胞,天天跟着血液在个体的所有组织中巡逻,在巡逻过程中,发现那里需要修补或更新的,造血干细胞就会分化成相应的组织细胞或相应的组织干细胞,例如,有人发现造血干细胞能够通过血脑屏障进入大脑组织,并分化成脑细胞。据此可以设想利用干细胞的横向分化潜能和游走性,只要移植少数几种干细胞就能实现个体的年轻化;干细胞很稚嫩,很容易受到机械损伤或自由基等化学损伤,比如干细胞在移植过程中,会因分离纯化和移植等操作而大量死亡,这可能是心肌中的干细胞很

少的原因,因为心脏要不停地做机械运动;同样,脑组织和肝组织中的干细胞很少也可能与大脑或肝组织的代谢活动和自由基反应较强有关。由于干细胞很稚嫩,大量的干细胞都躲藏在由坚固的骨骼保护的骨髓中,就像很容易受到损伤的脑组织必须躲藏在坚固的颅骨中一样。由于有的组织中的组织干细胞非常少,据此推测,来自骨髓中的干细胞可能会分化成相应的组织干细胞,如 Avital 等从人和大鼠的骨髓中分离到一种干细胞,在体内外均可分化成肝细胞,认为这种细胞可能是骨髓中的肝干细胞;卵圆细胞是肝干细胞,Peterson 等实验证实,骨髓中的干细胞能够分化成卵圆细胞。

干细胞有着强大的倍增潜能:一个干细胞分化成祖细胞,祖细胞再分化成相应的组织细胞,经过了几次倍增,就能产生大量的各种组织细胞,因此,组织中的干细胞的数量就不需要很多,这就是组织中的成体干细胞很少的原因,例如,在干细胞含量丰富的在骨髓组织中,干细胞的含量不到千分之一,在其它的组织中的数量就更少了。组织中的成体干细胞的数量很少,既是坏事也是好事,对于想从组织中提取干细胞的人来说,太少是坏事,但对于移植来说,因为组织中干细胞数量很少,意味着只要移植方法得当和所移植的干细胞的倍增潜能足够大,只要移植少量干细胞就可以达到预期的疗效。

一群成体干细胞可能包含有很多 DNA 异常的细胞株,移植这样端粒修复到预期长度的一群成体干细胞的个体,只要个体免疫功能正常,其中 DNA 异常的细胞株在个体内会被免疫细胞清除,因此不存在突变的细胞积累的问题。

端粒赋予了干细胞的倍增潜能和横向分化潜能,是细胞活力的源泉,因此很多人设想修复干细胞的端粒。把端粒酶催化亚基因引入细胞的研究已有 10 年,不但没有出现过返老还童,而且有癌变的倾向。原因我认为:一、端粒酶活性上升会成正比地激活另一些能够抑制端粒

## 羰基应激:血液储存过程中血液粘度上升机制之一

颜晗,李国林,印大中

(湖南师范大学生命科学院,中国 长沙 410081)

**目的:**血液在储存过程中,血液质量下降,同时血液粘度会随着储存时间的延长逐渐上升,然而其具体生化机制仍不明了。为了探索这种血液粘度升高的机制,作者探索了血液储存过程中硫醇、TBARS 水平、红细胞膜蛋白羰基化程度以及蛋白质荧光强度的变化。**方法:**从血站购买新鲜全血(采血后 5 日内),在血液存储的 20 天内,每隔 5 天取血液测定其各项生理指标。主要实验流程如下:1、用 DV-Ⅲ 锥板式粘度计测定血液不同剪切率(100-400s<sup>-1</sup>)下的表观粘度,并由 Rheocalc32 软件记录和处理相关数据;2、将红细胞低渗后离心提取红细胞膜,用生理盐水稀释,再用 Bradford 法测定蛋白含量后置于-20℃冰箱中备用;3、采用改良 TBA 法,用紫外分光光度计测量血清中硫代巴比妥酸反应产

物(TBARS)水平;4、采用 Beutler 等建立的 DTNB 比色法测定血液中巯基含量;5、用荧光分光光度计检测膜蛋白氨基酸残基荧光变化;6、采用 DNPH 法测定红细胞膜蛋白中的羰基含量。结果:随着存储时间的延长,血液粘度升高、MDA 含量上升、巯基含量显著降低、膜蛋白色氨酸残基荧光强度减弱、膜蛋白羰基化程度增加。结论:在氧化应激与羰基毒化刺激下,红细胞上的膜蛋白发生了一系列的损伤反应,以至于在血液的储存过程和长途运输过程中,以及在各种疾病和紧张状态和年龄增长的情况下,血液粘度的升高总是伴随着 TBARS 水平以及蛋白羰基化水平的升高。所以,实验结果表明:羰基应激是血液储存过程中血液粘度上升的原因之一。

基金项目:国家科技计划 863 项目(2008AA02Z411),国家自然科学基金(30800207),湖南省科技计划重点项目(06FJ3001),湖南师范大学特聘教授基金

延伸的因子,得不偿失;二、由于端粒酶是导致细胞年轻化或癌化的原因,端粒酶激活物的无节制地激活,细胞就会出现癌细胞的生化 and 表形,但是,一旦撤去端粒酶激活物,细胞就会马上出现衰老的表形,而不会变成癌细胞。

今年初,“细胞”(CELL)杂志有一专刊,其中有专家论及干细胞衰老,设想把端粒长度控制在分裂 20 次左右可保持不生癌,我认为这种设想是错误的。其实,癌症发病率是与 DNA 的突变率和机体的免疫力有关,因此,体外培养的干细胞的情况不能说明在体内的情况,因为体内

多了一道免疫防线。有证据表明,端粒长的年轻细胞对突变的 DNA 修复率高于端粒短的衰老细胞;年轻人的免疫力高于老人,因此,老年人的癌症的发病率远远高于年轻人。

癌基因本是正常细胞不可缺少的组成部分,是细胞周期中调控细胞分裂的一类基因,正常细胞的癌变原因都是因为癌基因被某种原因无节制地激活,以致细胞分裂失控而变成癌细胞。但是,免疫功能正常的个体能够及时地消灭处于萌芽状态的癌细胞,因此可以说,免疫功能不足才是导致个体产生肿瘤的主要原因。