

生命奥秘

LifeOmics

2017年 11月刊 总第100期

清除衰老 细胞

——永葆青春健康？



细胞之间的“悄悄话”

晨鸣可促使迁徙的麻雀换羽

无奇不有
生命世界
解读生命
走进科学

目录 : CONTENTS

专 题 —— 清除衰老细胞——永葆青春健康？

前言	01
一、衰老细胞的定义及功能	02
二、衰老细胞的清除	08
三、清除衰老细胞后组织活力的恢复	17
四、抗衰老疗法的里程碑式研究进展	23
五、抗衰老研究的前景与展望	27

下一期（2017年12月刊）预告：液态活检

下一期《生命奥秘》将以《液态活检》为专题。该专题主要介绍如何利用不同形式的液态活检来指导患者的诊疗工作，从而最终将其纳入临床实践，并重点关注目前临床上最先进的方法——ctDNA液态活检技术。

热点

细胞之间的“悄悄话”	31
------------------	----

百态

晨鸣可促使迁徙的麻雀换羽	38
新生小猪能在8小时内形成身体协调能力	41



专题

清除衰老细胞 ——永葆青春健康？

特约编辑：叶景佳，女，博士，研究方向：肿瘤生物治疗及发病机制

前言

老龄化是社会进步的表现，也是不可逆转的世界性趋势。虽然我国经济发展水平尚处于世界中下游水平，但老龄人口的比重和增速均超过了世界平均水平，面临着“未富先老”的巨大压力。随着老龄化的加速，各种年龄相关疾病，如阿尔兹海默病、糖尿病和肿瘤等发病率都随之上升。为应对老龄化相关的经济和社会压力，我们需要充分了解机体老化的过程和机制，深入研究衰老过程中的种种反应和变化，帮助人们利用其益处，抑制其弊端，为衰老相关疾病制定和优化治疗策略，以达到延长健康的使用寿命的目的。本文将介绍通过清除衰老细胞（senescent cell），以实现延长生命、促进健康（尤其是生命后期的健康）的最新研究，同时还梳理了衰老细胞与衰老过程及各种衰老相关疾病发生、发展的关系及其作用机制，希望藉此我们能明确目前清除衰老细胞的主要研究策略、最新进展及未来的发展方向。

一、衰老细胞的定义及功能

1 细胞衰老与衰老细胞

老化（aging）是发生在机体和细胞层面的，一个多步骤、多影响因素的复杂过程。它受到各种内、外因素的影响。这些因素包括表观遗传学改变、基因突变和失活、大分子缺损及代谢废物积累、激素分泌模式变化、机体对自由基防御功能下降、细胞增殖及自噬能力下降，以及环境因素等。由于老化的发生过程和机制错综复杂，所以关于机体老化的根本原因有各种不同的理论。多数情况下，这些理论可以互相补充参照，但有时也会互相矛盾。

细胞衰老（cellular senescence）是目前最被广泛接受的老化因素，它最初被定义为一种不可逆的周期阻滞过程。该过程由端粒缩短引起——当端粒缩短到临界值时，DNA损伤应答机制就会启动，进而诱导依赖p53的G1/S细胞周期停滞，由此端粒不仅可以保护染色体末端不受损伤，还能作为评估细胞老化的指标。而“衰老”（senescence）一词最早由Hayflick和Moorhead提出，用于描述人类二倍体细胞在体外培养连续传代后出现的不可逆的生长停滞现象。这种特定形式的衰老又被称为复制型衰老（replicative senescence）。有一种假说认为衰老现象的产生是为了防止受损细

胞无限扩增，从而对机体产生不利影响。复制型衰老的现象支持了这种假说。

后续研究发现，除了端粒长度，各种应激因素，包括原癌基因也可以引起细胞衰老，这提示细胞衰老可能不像研究者最初推测的那样，仅仅是由复制能力耗竭而引起的。新的研究结果还支持细胞衰老在对抗肿瘤发生中的重要性，它是阻止潜在肿瘤细胞增殖的重要机制。

除此之外，2011年以来的研究表明，细胞衰老过程还参与了各种复杂的生理反应，包括生长发育、伤口愈合、组织修复、衰老及年龄相关疾病、肿瘤抑制和肿瘤促进等。对衰老现象的这些新认识揭示了细胞衰老并不是一个静态的终点，而是细胞生长停滞中获得的一系列从进展到表型都各不相同的细胞状态。对这些细胞状态进行研究，了解其行使的各种功能，以及在不同的生理作用背后的机制，已成为目前衰老相关研究的热点。

机体的衰老与细胞的衰老和死亡密不可分，随着年龄增长，衰老细胞日渐积累。一部分发生衰老的细胞会被机体自身清除，另一部分则可能通过分泌或释放有害物质来损

伤相邻细胞的功能，从而引起组织衰退或肿瘤发生。这些衰老细胞往往拥有特定的标志物，如表达 $p16^{Ink4a}$ 及拥有改变了的分泌表型。尽管目前还未发现一种仅在衰老细胞内表达的通用标志物，但大部分衰老细胞都能表达 $p16^{Ink4a}$ 。 $p16^{Ink4a}$ 是周期蛋白依赖性激酶抑制因子及肿瘤抑制因子，能通过激活抑癌基因RB（retinoblastoma gene）而造成细胞生长停滞。在几种啮齿动物和人类组织中， $p16^{Ink4a}$ 的表达随着年龄增长而增加；此外，衰老细胞可形成有固定组成的各种分泌表型——衰老相关分泌表型（senescence-associated secretory phenotype, SASP）。SASP包含了各种在衰老过程和衰老相关疾病中起重要作用的蛋白质。虽然研究发现在许多年龄相关疾病中都存在大量的衰老细胞，但长久以来人们还是无法确认这些衰老细胞究竟是引起疾病的原因，还是特定病理状态的产物。

最近，Baker等人在构建小鼠衰老模型中获得的最新研究进展为解答上述问题提供了线索。简单地说，Baker等人的研究表明，在小鼠模型中，选择性地清除部分衰老细胞后，动物们可以活得更长久，并且在衰老过程中更能保持相对健康。这说明衰老细胞是引起老化相关表型的原因。清除衰老细胞能够预防或延缓组织功能障碍，并延长健康寿命。鉴于此，业界出现了寻找可靶向治疗衰老药物的“淘金热”，人们甚至希望这些药物在某些情况下可以治疗其它疾病。近年来在该领域取得的几项重要的研究成果，为抗衰老疗法的实现奠定了基础。

本文将关注近年衰老研究领域的新发现和新进展，尤其是一些里程碑式的研究成果，并关注衰老机制分析与抗衰老治疗策略的相互影响，以及衰老细胞被选择性地消除的基础、时机和安全性等问题

2 健康和疾病状态下的衰老细胞

深入彻底地理解衰老过程中的种种反应和变化，如健康和疾病状态下的衰老过程、衰老现象背后的分子机制，以及认识衰老细胞的发展和功能等，可帮助人们根据需要用其益处，抑其弊端，为衰老相关的疾病制定新的治疗策略，从而延长健康的生命期限。

衰老现象可被描述成健康细胞在面对一些不可抵御的应激的持续作用时产生的一种持久性损伤反应。各自独立的p16^{Ink4a}和p21^{Cip1}作用可以诱导细胞出现不可逆的分子水平变化，从而造成永久性的细胞周期阻滞。p21^{Cip1}是第一个被定义为细胞周期素依赖性激酶（cyclin/CDK）的抑制因子，属于cip/kip家族成员，它可抑制CDK活性、阻滞周期进程、防止肿瘤细胞增殖。在大部分病例中，衰老细胞可形成具有固定组成的各种分泌表型SASP。SASP包含了各种不同的蛋白质，其中有不少蛋白质在衰老过程和衰老相关疾病中发挥了重要的作用。这些蛋白质包括以MMP3为代表的各种金属蛋白酶、生长因子、以CCL2和CCL11为代表的趋化因子、重要的白介素分子（interleukin, IL，如IL1、IL6及IL8等）。

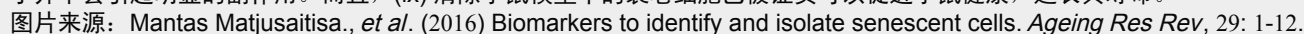
细胞衰老也是参与胚胎发育过程，帮助组织模式化的一个机制。从进化的角度看，在生命早期出现衰老（senescence）要比出现凋亡（apoptosis）更好，因为后者会引起组织功能的下降和体型变小。这一现象已在一些极速恶化的小鼠早衰模型中得到了证实。而衰老细胞可存活更久，并保留部分细胞功能。与凋

亡模型相比，一些衰老模型（如Xpd^{TTD/TTD}、BubR1^{H/H}及Polg^{D257A}）小鼠相对没有那么虚弱，体重也更高。此外，在发育完成之后，衰老现象也可能是有益的。例如在皮肤穿孔小鼠模型中，衰老过程有利于伤口愈合，并能限制急性损伤导致的纤维化。由此可见，衰老过程在机体的早期发育和损伤后的过渡状态中都有积极作用。

尽管细胞衰老存在一定的积极作用，并被认为是机体在进化过程中发展起来的一种防止损伤细胞积累而产生肿瘤的保护机制（图1），但无论如何，在组织中积累的衰老细胞对机体仍是有害的，因为这些丧失了功能的细胞直接或间接地损害了周围的正常细胞。这种损害包括：衰老细胞会占据一些原本由感受态细胞来行使功能的位点、分泌各种有害的成分（SASP）、促进肿瘤形成，以及诱发各种年龄相关疾病（如动脉粥样硬化等）。尤其在生命后期，衰老细胞会迅速增加，进而引起各种健康问题。与衰老细胞积累相关的疾病包括代谢类疾病（如肥胖和糖尿病）、神经病学类疾病（如阿尔茨海默病和帕金森病）、肌肉类、骨骼类以及软骨相关疾病（如肌肉减少症、关节炎、驼背及椎间盘突出）或组织功能失调相关类疾病（如肺气肿、肾功能障碍和动脉粥样硬化）。值得一提的是，细胞衰老可由包括化疗或器官移植过程中的缺血再灌注等医疗手段诱发。

衰老细胞的长期积累会损害器官组织，而

除此之外，我们还可通过另外几种标志物和形态学上的变化，将衰老细胞与其它不再分裂的细胞（如静止细胞或终末分化细胞）区分开来，这些都为鉴别和定向清除衰老细胞提供了便利和参考作用。这些标志物和形态学上的特征包括增殖标记的缺失、衰老相关的 β -半乳糖苷酶（ β -Galactosidase）活性、表达肿瘤抑制因子和细胞周期抑制因子，通常还包括 DNA 损伤标志、结构异染色质核位点以及显著分泌的信号分子。尽管不是所有的衰老细胞都同时表达这些标志物，甚至有时其它细胞也能表达其中的一些，但衰老细胞表达了这些标志物中的大多数。



3 衰老细胞是机体老化的主要原因

为证实衰老细胞就是引起衰老相关功能失调的原因，以及清除衰老细胞是否有益健康，科学家们设计了各种实验和动物模型。例如，Baker等人基于一种名为FAT-ATTAC（fat apoptosis through targeted activation of caspase）的小鼠模型，利用衰老生物标志p16^{Ink4a}，重新设计并构建了早衰小鼠模型。有了这个模型，研究人员便可通过小分子药物AP20187的诱导来消除p16^{Ink4a}阳性的衰老细胞。结果显示，与载体对照组相比，经AP20187处理能延长两种不同遗传背景的小鼠（包括雌鼠和雄鼠）的平均寿命。清除p16^{Ink4a}阳性的细胞可以在没有明显副作用的情况下，延迟肿瘤发生，并减缓衰老相关的多种器官，包括肾脏、心脏和脂肪组织的功能退化。在这些组织中，p16^{Ink4a}阳性细胞被清除后分别保留了肾小球、保护心脏的ATP敏感性钾通道（K_{ATP}）以及脂肪细胞的功能。而且，在整个生命周期中去除表达p16^{Ink4a}的阳性细胞，可延缓老化相关表型的出现；在生命晚期去除这些细胞，也能减轻衰老相关的各种失调症状，延缓已经出现的衰老进程。由此可见，在成长过程中积累的p16^{Ink4a}阳性细胞对寿命和多种器官内发生的老龄化相关的功能衰退有负面作用，而治疗性消除这些细胞则是延长健康寿命的一个非常有吸引力的研究进展。综上，细胞衰老与衰老表型的产生存在因果关系，去除衰老细胞可以防止或延缓组织功能失调、延长健康生

存期限。

晚期动脉粥样硬化病变中也含有衰老细胞，但人们对其在动脉粥样硬化形成中的作用还不甚了解。在具有动脉粥样硬化倾向的低密度脂蛋白受体缺陷型（Ldlr^{-/-}）小鼠中，研究人员通过转基因或药物来清除衰老细胞，结果显示这些衰老细胞在整个发病机制中都起到负面作用。Childs等人发现，带有衰老细胞标志的泡沫状巨噬细胞（foamy macrophages）在动脉粥样硬化的起始过程中会积聚到内皮下空间，并在此通过增加导致粥样硬化的关键因子和促炎症的趋化因子的表达而促进细胞病变。在晚期损伤中，衰老细胞通过增加金属蛋白酶产物含量，促进（动脉粥样硬化）斑块出现不稳定迹象，包括弹力纤维降解和纤维帽减薄。这些结果都表明衰老细胞在动脉粥样硬化的形成和发展中是一个非常关键的驱动因素，提示我们利用抗衰老药物选择性清除这类细胞（p16^{Ink4a}阳性细胞），在治疗动脉粥样硬化方面有很大的应用前景。

以上述研究为代表的靶向衰老细胞，带来的健康和长寿益处的工作入选了《科学》（*Science*）杂志的2016十大进展。此外，最近的研究还展示了一种新的治疗策略，即筛选小分子药物，通过靶向抗凋亡的BCL-2蛋白家族成员来诱导衰老细胞凋亡，从而选择性地清除衰老细胞。例如Chang等人在野生型小鼠中，利用小分子药物选择性杀死衰老细胞，达

到了恢复造血干细胞活力的目的。

虽然各种最新的研究都提供了对抗衰老的策略和方法，但目前还没有一种方法能在人体中实现这个目标，而人们对衰老现象的机制及各种相关因素及关键因子的了解还有待深入。接下来的章节将介绍细胞衰老背后的机制，包

括衰老细胞如何干扰自身所处环境、特定类型的衰老细胞是否可以被特异性识别和作用，以及清除了衰老细胞之后如何诱导组织反应等，同时我们还会梳理相关研究的发展脉络和最新的研究方向。

资讯 · 频道

www.LifeOmics.com



二、衰老细胞的清除

1 衰老细胞引起组织机能障碍的各种机制

衰老可以被理解为因健康细胞长期承受各种应激而造成的持久性损伤。这些应激通过不同途径，诱导出不可逆的分子改变，进而引起永久性的细胞周期阻滞。

关于细胞衰老机制的研究目前尚不完善，其中多数研究结论都来自体外实验。尽管如此，梳理目前已明确的机制，将有助于制定抗衰老疗法的策略以及筛选作用靶点等。除了端粒缩短之外，多种肿瘤相关的应激，包括特定的DNA损伤及活性氧自由基/反应（reactive oxygen species, ROS）都能在体外引起衰老相关的生长抑制。这两种应激和端粒损伤的共同点是它们都能激活DNA损伤反应（DNA damage response, DDR）——该信号传导途径可在ATM或ATR激酶的作用下，通过稳定p53和激活细胞周期素激酶（cyclin-dependent kinase, Cdk）抑制因子p21来阻断细胞周期进程。活化的原癌基因也能显著地诱导衰老现象。例如致癌的*Ras*基因在抑制核苷酸代谢的同时过表达Cdc6，引起DNA复制异常，形成双链DNA断裂（double stranded

DNA breaks, DSBs），从而激活DDR途径。此外，由E2F3被活化或原癌基因c-Myc受抑制而引起的衰老是不需要经由DDR途径的，它与p19^{Arf}和p16^{Ink4a}相关。BRAF（V600E）也无需依赖DDR途径，只需通过线粒体丙酮酸脱氢酶来上调相关的代谢机制，便可诱导衰老现象（图2）。多项研究揭示衰老过程与代谢变化存在密切的联系，而且有多种抑癌基因在失活时能触发衰老相关的生长停滞。这些抑癌基因包括RB、PTEN（gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten）、NF1（neurofibromatosis type 1）和VHL（von Hippel-Lindau）。其中只有RB的失活与DDR关系密切，其它基因都不依赖于DDR途径，仅通过p19^{Arf}和p16^{Ink4a}发挥作用。这里还存在一个值得注意的种属特异性差异——相比人类细胞的衰老途径，小鼠细胞的衰老途径更依赖p19^{Arf}。

机体长期暴露于β干扰素下也会出现衰老，这表明来自肿瘤转化环境外的长期存在的有丝分裂信号也能刺激细胞衰老。此外还

存在一些尚未被广泛研究的细胞衰老诱导因素，包括源自表观遗传学的、核仁的及有丝分裂纺锤体的应激因子等（图2）。例如，全基因组染色质在组蛋白脱乙酰酶抑制因子的作用下解压时，可通过p21依赖的机制触发衰老过程。一个非常关键的表观遗传学应激作用靶点是INK4a/ARF。该位点在增殖细胞中通过多梳基因家族发挥作用的H3K27甲基化及H2A-K119泛素化所抑制。来自RNA聚合酶I抑制因子的核仁应激可触发一种强劲的、由p53介导的衰老反应。衰老还有可能由一些没有达到理想表达水平的、参与纺锤体形成或有丝分裂查核点控制的蛋白引起。这些蛋白包括人TACC3蛋白和鼠BubR1、Bub3和Rae1蛋白，它们都不依赖DDR途径，可直接与p53和p21发生反应，并且通常与p16^{Ink4a}结合。当然还可能存在一些尚未被发现的、可以引起细胞衰老的其它应激和生理机制。无论是由应激因子，还是由其它机制引起的衰老，衰老细胞中都能产生促炎症因子和趋化因子，这是它们的共同特征（图2）。

尽管p53-p21和p16^{Ink4a}-RB效应途径在生长抑制过程中所发挥的作用取决于机体遭受的应激类型，但其最根本的原因可能还是与持续的衰老过程相关。例如，DNA损伤应激最初通过p53诱导的p21作用来停止细胞周期的进程，但假如损伤持续下去，它就会转而通过p38丝裂原活化蛋白激酶（p38-MAPK）介导的线粒体功能失调和ROS的生成来激活p16^{Ink4a}。迄今为止，这些在体外实验中被发现的衰老过程效应机制尚未在体内研究中得到广泛验证。BubR1早衰小鼠的脂肪、骨骼肌和眼中p19^{Arf}、p53、p21及p16^{Ink4a}的表达水平都有所升高，而且都是早熟功能衰退的结果。研究者利用各种肿瘤抑

制因子的基因敲除株系来进行遗传学实验，剖析了衰老细胞如何在组织内积聚，并引起组织功能退化的机制，从而确认了p16^{Ink4a}就是一个衰老和老龄化的效应器。然而，在对p19^{Arf}、p53和p21的体内研究中发现（与它们的体外实验结果相反），这些蛋白可阻止衰老过程及老龄化相关的各种病理状态。这些与预期不符的结果引出了一个“辅助”细胞周期（‘assisted’ cell cycling）的概念——类似于辅助生存——即老化细胞为应对日益增长的大分子损伤和其它各种慢性的负担，在一段时间内维持细胞增殖潜能，同时设法通过增加细胞周期的长度，来为修复细胞损伤提供额外的时间。这些额外的时间通过p21依赖的方式提供，而细胞修复则利用代偿机制或修复作用来实现（图2）。尽管这个概念（即体外培养的人类原代细胞在传代过程中，细胞周期时间有显著的增加）在体外研究中得到了证实，但还需要更多的研究结果来验证，并确认其普遍性。抑制p21的活性可在基因突变（端粒缩短）小鼠中增加干细胞在肠隐窝和骨髓中的功能，该结果揭示当不可逆的损伤发生，并诱导了持续而强劲的p53发生反应时，p21可通过执行衰老进程来促进组织退化。

一直以来，人们开展细胞衰老体外研究时总是单独采用一个衰老诱导因子（高剂量辐射或抑癌基因）（图2）。但是由于在有机体老化的体内环境中，每个细胞都受到了多重应激，包括各种遗传毒性、蛋白毒性以及有丝分裂等，所以为了增进人们对这些过程的了解，我们有必要对不同衰老因素的组合、下游效应途径的作用，以及引起的衰老表型的特征进行研究。

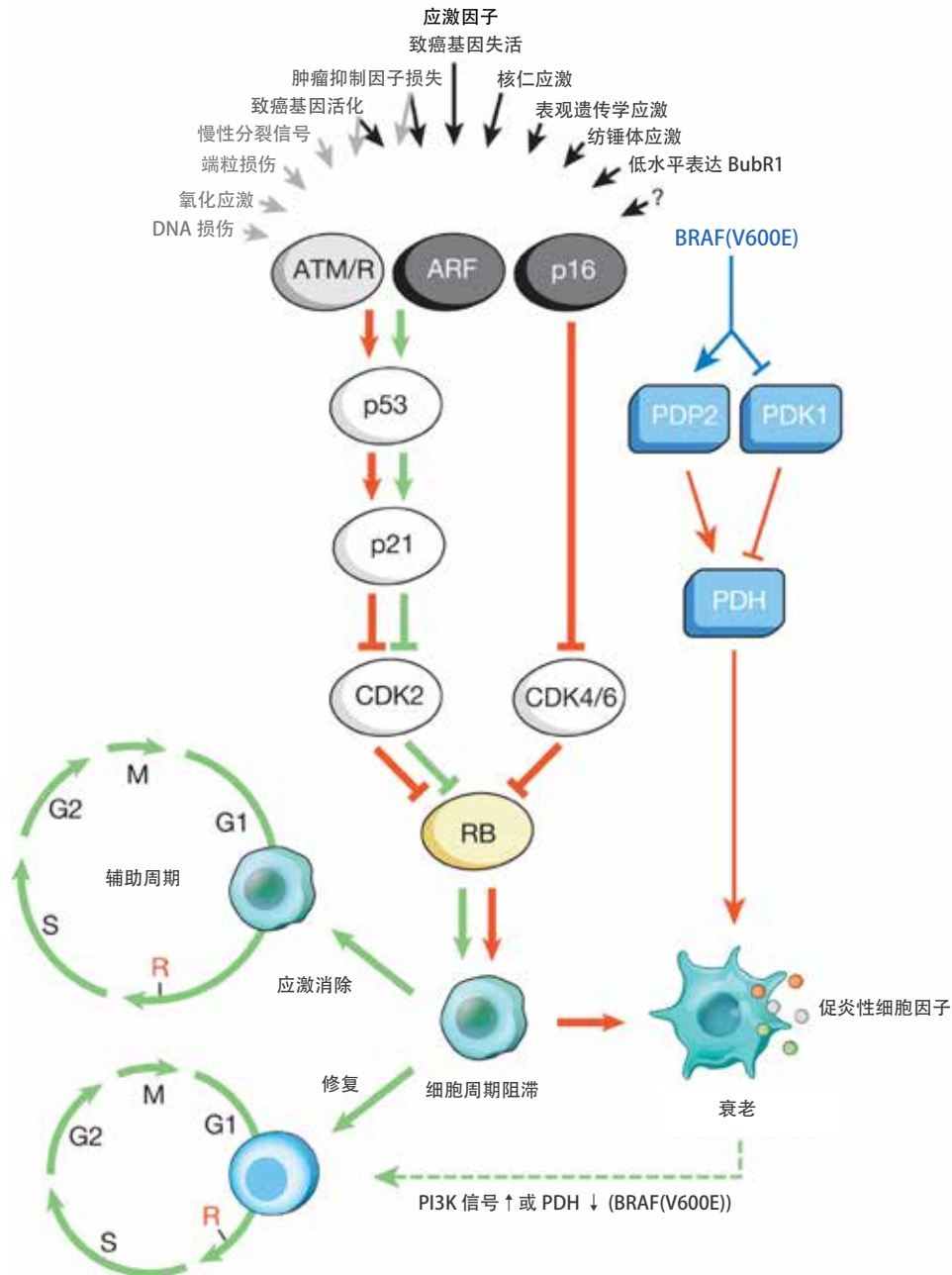


图2 衰老诱导刺激因子和主要效应途径。大量细胞内外的应激因子都可以激活细胞的衰老程序。这些应激因子可参与多条信号途径的调节,但最终激活的是 p53 或 p16^{Ink4a}, 或同时激活这两者。通过 DDR 信号途径激活 p53 的应激因子由灰色字体及箭头表示 (ROS 通过扰乱基因转录和 DNA 复制引起 DDR, 这与端粒缩短的效应相同)。活化的 p53 诱导 p21, 后者通过抑制细胞周期蛋白复合物 cyclin E-Cdk2 来引起暂时性周期停滞。尽管 p16^{Ink4a} 也能抑制细胞周期进程, 但它是通过与细胞周期蛋白 cyclin D 竞争性结合 Cdk4 和 Cdk6 来实现的。p21 和 p16^{Ink4a} 都能阻止 RB 失活, 使其与转录因子 E2F 保持结合状态, 使细胞无法进入 S 期。在强烈应激作用下 (红色箭头), 暂时性周期抑制的细胞通过某些目前尚未明确的机制进入衰老相关的生长停滞阶段。当细胞遭受一些较温和的、可被修复的损伤, 就有可能重新开始正常的细胞周期进程。当细胞遭受一些长期的或造成永久损伤的中度应激, 则可能需要通过一些应激支撑途径 (stress support pathways) (绿色箭头) 来恢复增殖。这种现象 (称为辅助周期) 可以通过 p53 介导的 p21 活化来实现。由此, p53-p21 途径依赖于应激的种类和程度, 它在衰老过程中既能对抗, 又能协同 p16^{Ink4a} 的作用。BRAF (V600E) 通过代谢效应途径诱导衰老的情况比较罕见。BRAF (V600E) 能通过诱导 PDP2 及抑制 PDK1 来表达活化线粒体的丙酮酸脱氢酶 (pyruvate dehydrogenase, PDH), 促使糖酵解向氧化磷酸化反应转变, 造成可引起衰老的氧化还原应激。不论诱导衰老的应激因素是什么 (彩色小点代表各种 SASP 因子), 经历衰老过程的细胞都可以诱导炎症因子表达。红色和绿色虚线分别代表“加速衰老”和“抗衰老”现象, 它们的粗细代表了相对重要的程度。绿色虚线代表的是“衰老逆转”机制。

图片来源: Jan M van Deursen. (2014) The role of senescent cells in ageing. *Nature*, 509(7501): 439-446.

而且，当细胞衰老被确认为一种体内的肿瘤抑制机制时，其不可逆性就成为了一个有争议的论题。然而，有很多引人注目的新证据指出，**BRAF (V600E)** 原癌基因诱发的衰老 (OIS) 可以通过上调磷酸肌醇3-激酶 (phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K) 信号或抑制PDH来逆转 (图2)。此外，还有研究

报道称人们已成功将衰老细胞去分化为多潜能干细胞。

尽管衰老的相关机制研究还有许多空白有待填补，但是目前已有的研究成果还是让我们在对衰老细胞的治疗方案研究方面取得了令人瞩目的成就。



百态 · 频道

www.LifeOmics.com

2 清除衰老细胞的方案

在清除衰老细胞的问题上，由于许多治疗靶点会同时在健康细胞内表达，所以一个亟待解决的问题是，在保证安全的前提下靶向清除衰老细胞，同时不影响健康细胞。为设计一个最佳的衰老细胞治疗方案，人们首先需要理解衰老过程及SASP是如何使相邻的细胞、分子或效应物失调的，并弄清是否存在一些特殊的、比其它同类细胞更适合成为靶点的衰老细胞。为此，我们需要更好地理解引起衰老过程和SASP的分子机制。这里有一个非常微妙的问题——虽然衰老细胞广泛存在的观点已被人们接受，但相关定义却比较模糊。该问题的复杂性源于只有极少数的分子标志物同时存在于所有类型的衰老细胞中，同时这些标志物不仅仅只存在于衰老细胞中。例如，尽管所有的衰老细胞都是永久停滞的，但却并非都表达p16^{Ink4a}或p21^{Cip1}；而且后者更常被暂时性激活，或不依赖于衰老起始的诱因。与此类似，不同类型的衰老细胞的SASP表达往往并不相同，甚至有可能不表达。另外，在与衰老几乎不相干的条件下（如急性炎症），细胞也可能产生许多独立的因子。其它衰老细胞标志物也有类似情况。例如，DNA压缩伴随生长停滞的现象只会在一部分表达p16^{Ink4a}的衰老细胞中出现。此外，非经典的SASP-分泌因子，如高迁移率族蛋白B1（high mobility group B1）的

分泌依赖于衰老细胞p53途径的活化。该途径活化后能调节p21^{Cip1}的表达，但该途径却并非在所有衰老细胞中都能被活化。

考虑到SASP在组织功能上的重要性及其在治疗反应方面的潜能，加深对衰老细胞如何调节分泌表型的了解非常重要。这种调节可能是随机的，也有可能是被精密调控的。细胞衰老诱导时期的生物周期节律或细胞周期状态很可能决定了SASP的发展，而非后续事件。

SASP建立起来后，也仍有可能处在活化的蛋白质质量控制机制（protein quality-control mechanisms）的调节下。事实上，通过干扰未折叠蛋白反应而增强的蛋白应激能够增强SASP的表达。类似的效应也出现在对蛋白质转换（protein turnover）进行自噬抑制这一过程中。然而近来研究发现，雷帕霉素等自噬启动物质可减弱SASP的表达。使问题更加复杂的是，所有这些过程都有可能受到外部因素调控。

综上，尽管以半遗传方式清除衰老细胞的模式已被证明可以有效延缓衰老，但是设计抗衰老的治疗方案仍是一件非常复杂的事情，因其涉及多个方面。为保证治疗的有效性和安全性，研究者需要更好地理解影响衰老细胞分泌表型的机制，以及它们是如何影响治疗响应的。现在，研究并定义各种不同的衰老亚型变

得日益重要。一刀切的治疗方法也许有效，但更具吸引力的疗法是为不同类型的衰老细胞定制各不相同的治疗方案，以靶向去除真正有害的衰老细胞。

至于治疗时机的选择，虽然从动物实验的结果来看，在整个生命周期给予抗衰老治疗都有助于延长生命、保持健康，但在生命晚期进行衰老治疗是更为合适的。在生命晚期，衰老水平呈指数级别上升，继而引发一系列健康问题。随着年龄的增长，整个机体的SASP因子，例如IL6等表达上升。当表达超过一定的临界值，这些因子就会明显地抑制组织功能。与物质成瘾性相比，衰老细胞中的慢性SASP

分泌还会抑制相邻细胞的功能。因此，衰老细胞被认为是引起炎症的主要因素。有一种理论认为低水平的、慢性的炎症是引起衰老相关的功能失调的起动因子。与此一致的是，衰老表型和SASP的水平在一些小鼠的早衰模型中都有升高的迹象，而且清除衰老细胞之后，健康组织功能失调现象得到了延缓——这也验证了上述理论。综上所述，衰老现象各种相互矛盾的作用被定义为衰老的拮抗多效性，其在生命的早期和暂时性的损伤修复中有益，但在生命晚期发挥长期作用时有害。鉴于此，在生命的晚期进行靶向治疗更有优势。

3 衰老相关研究手段（工具箱） 方面的进展

3.1. 研究衰老现象的动物模型

衰老现象主要出现在高等真核动物中，在酵母、蝇类和线虫等模式生物中几乎不存在。如果要研究衰老过程对人类年龄相关疾病的影响，那么使用小鼠模型可得到相对理想的效果。近年来这方面的研究已取得了不小的进展，研究人员已构建了一系列可用于衰老研究的动物模型（表1）。在这些模型中，衰老细胞可被纵向追踪和特异性清除。另外，清除这些模型中的衰老细胞可以让自然衰老的小鼠恢复健康，并延长它们的寿命。这些工作为后续研究奠定了坚实的基础。

目前使用的动物模型主要遵循两个设计方向：

(1) 追踪和消灭衰老现象

虽然我们可以通过衰老细胞群表达的标志物组合来检测它们，但如前所述，许多衰老标志物的表达并不局限于衰老细胞（如SASP因子、警报素或DNA损伤标志物），或或者不会在这些衰老细胞群中同时表达。所有衰老细胞共有的表型是持续的生长抑制，这个现象可以被细胞周期抑制因子p16^{Ink4a}或p21^{Cip1}分别诱导和维持。其中p21^{Cip1}可以被暂时性损伤或非衰老相关因素激活，而p16^{Ink4a}则只能被衰老细胞激活。因此，近来构建的用于追踪和消除衰老细胞的小鼠模型采用的都是p16^{Ink4a}的不同长度的启动子。出于成像的考虑，生物发光和荧光

素基因也被置于该启动子调控下表达。此外，人们还设计了两个模型，分别是INK-ATTAC和p16::3MR，从而能让药物诱导型自杀基因可在任意时间内选择性地清除p16^{Ink4a}阳性的衰老细胞。p16^{Ink4a}已被看作老化的生物标志物，而且通过这些模型，研究人员还确认了p16驱动的衰老现象会随年龄的增长而增加。

不幸的是，对研究人员来说，在现阶段长期追踪单个衰老细胞仍然是十分困难的，但我们可以通过利用报告基因追踪定位细胞来解决这个问题。例如，我们可以利用p16^{Ink4a}驱动近红外成像探针来进行活体成像操作等，这可能是未来研究的一个可行的发展方向。

(2) 研究（加速）老化模型中的衰老现象

要研究衰老现象对老龄化及年龄相关疾病的影响，最合适的做法就是追踪和消除自然老化小鼠的衰老细胞。但这样的实验耗时又昂贵，而且，与人类相似，动物的老化速率也各不相同，个体差异导致研究的“背景噪音”偏大，干扰了人们对相关现象的观察研究。快速老化小鼠模型为此提供了一个解决方案，它让实验可以快速进行，成本更低，并且衰老的发生速率更加接近。更为重要的是，我们应该使用主要由衰老相关表型，而不是其它机制（如凋亡）引起的组织功能退化的小鼠。出于这方面的考虑，那些极速老化的动物模型，如Ercc1^{Δ/-}、Csb^{-/-}/Xpa^{-/-}，以及Xpg^{-/-}有可能不是

那么理想，因为它们的表型与高水平凋亡相关。更温和的快速老化小鼠模型也许更合适，这些模型包括BubR1^{H/H}和Polg^{D257A}，它们都显示了高水平的衰老，并且能够从消除衰老细胞的半遗传学方法获益。

其它继发过程可能也会影响疾病的发展，对此我们必须认真考虑。这些过程包括在BubR1^{H/H}小鼠中出现的异倍性现象，以及在Polg^{D257A}动物中发生的线粒体功能紊乱，导致独特的分泌表型等现象。拥有相对正常的寿命，但疾病的发展却更能促进衰老的动物模型，如Xpd^{TTD/TTD}在未来可能有非常好的应用前景。

3.2 抗衰老研究中面临的临床困境及突破方向

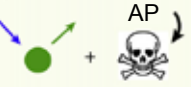
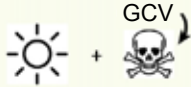
在生命后期，衰老细胞的积累会引发各种健康问题。究其原因，我们可以发现这些问题不仅与一系列疾病的发生相联系，还与疾病治

疗过程中使用的各种医疗手段（包括化疗或缺血再灌注等）相关联。

通过小鼠模型，我们已确认衰老现象是许多病理现象的起因。鉴于此，抗衰老治疗和研究力图通过靶向衰老细胞来对抗这些病理状况。另外，因为衰老细胞的特异性标志物以及SASP现象具有不确定性，所以精确靶向衰老细胞，并降低脱靶毒性对于抗衰老治疗的临床转化非常关键，但目前这一点尚未能实现。

细胞穿透肽（cell-Penetrating Peptide, CPP）是一类具有特殊穿膜作用的短肽，它们大约由5-30个氨基酸组成。理论上CPP可以靶向任何暴露在表面的蛋白间的相互作用，并通过这个途径特异性调节下游信号途径。目前人们已证明CPP对人类是安全有效的。因此可将它们作为日后抗衰老复合物设计的备选因子，以用于选择性地削弱对不同衰老细胞生存能力至关重要的信号途径。

表 1 在鼠老化模型中检测和消除衰老细胞的工具的比较

	发现和消除衰老的工具
	+ 优势 /- 注意事项
p16::FLUC 	+FLUC 被克隆进 p16 编码基因的外显子区域，从而使内源性 p16 检测成为可能 + 可在全身观察到 p16 驱动的 FLUC 表达 - 内源基因被破坏，从而影响内源性 p16 表达和寿命 - 不能进行基于荧光的检测或细胞分选 - 只能检测 p16，不能清除 p16 阳性细胞
p21::FLUC 	+FLUC 被克隆进 p21 编码基因的外显子区域，从而使内源性 p21 检测成为可能 + 可在全身观察到 p21 驱动的 FLUC 表达 + 能和基于 p16 的重组体联合使用 -p21 不仅与衰老现象相关，还与其它现象相关，而且它作为分子标记不如 p16 理想 - 破坏内源基因会影响内源性 p21 的表达 - 只能检测 p21，不能清除 p21 阳性细胞
p16::ATTAC (eGFP-CASP8) 	+ eGFP 的功能允许利用荧光进行细胞分选 + 整合多重构造，可有效地检测 p16 的表达 -AP20187 通过 CASP8 诱导细胞死亡，代价高昂 - 小鼠寿命被缩短（源自与内源性基因进行竞争？） - 采用 p16 编码基因的启动子短片段（2.6kb）可能会遗漏内源性调节因子
p16::3MR (RLUC-RFP-TK) 	+Ganciclovir 通过胸苷激酶（thymidine kinase, TK）诱导细胞死亡的方法成本较低 + 单独构造，接近内源性检测 p16 表达 + 相对正常的寿命 -RFP 无功能或表达量极低 -RLUC 在检测较远位点或末端时不如 FLUC 理想 - 启动子片段的大小（50kb）会刺激许多相关因子的表达
	加速衰老及老化的动物模型
	+ 优势 /- 注意事项
BubR1 ^{H/H}	+ 基因证据显示该模型的许多健康问题都是由衰老引起的 + 可迅速建立病理状况 - 死因与衰老无关
Polg ^{D257A}	+ 扰乱线粒体信号途径，导致出现一个独特的分泌表型 -MiDAS - 不能建立一个经典的 SASP
Ercc1 ^{Δ/-}	+ 寿命很短，非常适用于寿命研究 + 造成各种各样的健康问题 - 可在较温和的程度上检测到衰老 - 鉴于凋亡水平较高，所以衰老过程的病理作用不明确
Xpd ^{TTD/TTD}	+ 健康寿命被缩短，但较长的寿命仍可用于衰老疗法的纵向研究 + 造成一系列健康问题 + 容易在各器官内检测到衰老表型 - 不是特别适用于寿命研究

该表对所选的可用于衰老细胞检测及消除的各种工具进行了比较，并梳理了它们在老龄化研究中的重要性。上半部分（发现和消除衰老的工具）：对于在小鼠模型中检测和消除衰老细胞的重组体作了概览，该设计围绕主要编码 p16^{ink4a} 和 p21^{Cip1} 的衰老基因启动子区域。下半部分（加速衰老及老化的动物模型）：列举了衰老和老龄化过程加速（伴随其它并发症），且靶向治疗衰老可带来健康收益的动物模型。eGFP（enhanced green fluorescent protein）：增强型绿色荧光蛋白；FLUC（firefly luciferase）：萤火虫荧光素酶；RFP（red fluorescent protein）：红色荧光蛋白；RLUC（Renilla luciferase）：海肾荧光素酶。

表格来源：de Keizer PL. (2017) The Fountain of Youth by Targeting Senescent Cells? *Trends Mol Med*, 23(1): 6-17.

三、清除衰老细胞后组织活力的恢复

1 衰老细胞被清除后组织微环境发生的变化

1.1 衰老相关分泌表型SASP的变化和作用

继抗衰老疗法被成功开发出来后，下一步的工作重点便是考虑衰老细胞被移除之后会发生的事情，包括损伤修复和组织再生等。为了了解这一点，我们需要理解衰老，尤其是SASP是如何损伤局部的细胞微环境的。其中一种解释是它们可能通过阻断损失细胞的更新来干扰组织恢复活力。目前已有多项研究结果支持这种解释——SASP分子可以影响干细胞信号传导途径及分化。例如，长期白介素1（IL1）暴露可通过阻碍干细胞分化，而导致造血系统出现老化迹象。IL1 α 和IL1 β 是SASP的主要调节因子，它们可诱导包括IL6在内的一系列下游因子的表达。IL6已被研究人员证明在诱导和保持干细胞多潜能性的过程中具有重要作用。通常SASP因子，如IL6通过调节多潜能性维持因子，如Nanog的表达来促进更多的干细胞样（stem-like）细胞出现。

1.2 与组织再生相关的各类因子的变化及相互作用

事实上，最近有研究表明衰老现象可在体内引发组织重编程，从而导致衰老组织周围的Nanog阳性细胞增多。衰老细胞可能由此启动相邻细胞的重编程，以形成更多的多潜能性细胞。而且，因为SASP因子（如IL6）的释放有延续性，能有效地使这种变化固定下来，保持附近这些被作用的细胞处于持久性的干细胞样状态，从而阻止组织更新。

我们可以用一种“衰老-干性锁定模型”（senescence-stemlock model）来解释衰老是如何降低细胞更新的能力，并促进老化（图3）的。一方面，拥有少量衰老细胞的年轻组织可以通过瞬时SASP响应修复损伤细胞，引起暂时性细胞重新编程及随后的增殖、分化反应。

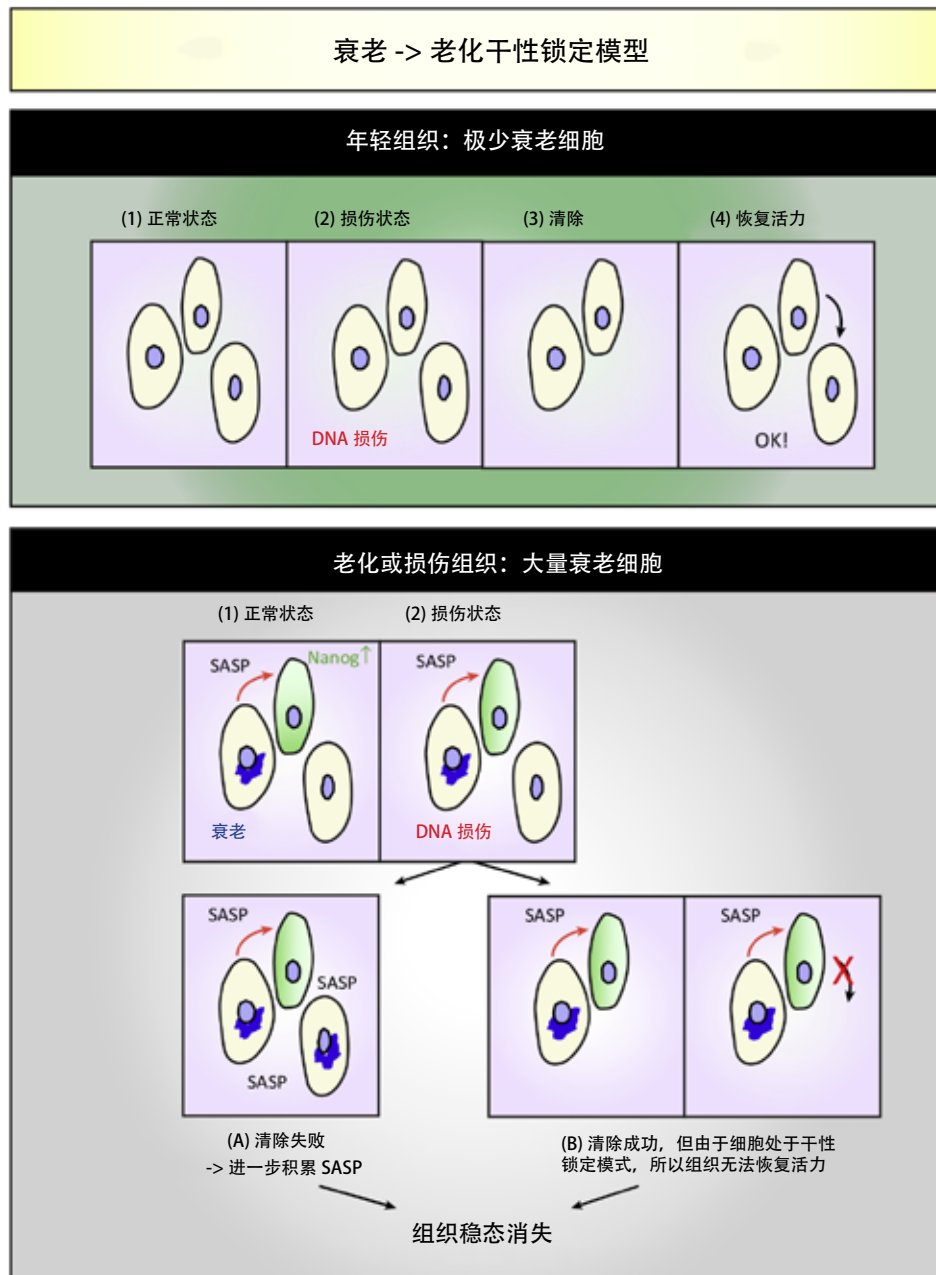


图3 在衰老过程中影响组织活力恢复的“衰老 - 干性锁定模型”。上图：当细胞损伤达到一定程度需要被更新时，可通过干细胞分化恢复组织活力。在年轻组织中，几乎没有衰老细胞介入该过程。下图：在老化组织或承受高度应激——例如化疗或缺血再灌注损伤等医疗程序——的组织中，衰老水平大幅提高。这些衰老细胞分泌 SASP 因子，诱导附近细胞重编程进入多潜能性状态，这种状态以多潜能转录因子 Nanog 的表达为特征。假如 SASP 分泌是稳定的，这些细胞就会被“锁定”在多潜能状态，无法轻易实现分化来补充损失的细胞，以完成组织修复。当衰老组织周围的细胞受到损伤时，有可能出现两种情况：A，损伤细胞无法像在年轻组织中那样快速更新；B，若要更新受损细胞，就需要组织恢复活力，但此时衰老细胞周围的细胞却因为被“锁定”在干性状态，难以取代受损的细胞。无论是损伤细胞存活期间的延长，还是补充受损细胞的能力的缺失，都会导致组织功能下降。理想的抗衰老治疗应在靶向清除衰老细胞的同时，促进组织活力的恢复。

图片来源：de Keizer PL. (2017) The Fountain of Youth by Targeting Senescent Cells? *Trends in Mol Med*, 23(1): 6-17.

另一方面，老化组织拥有大量衰老细胞，可长期释放SASP分泌物，能在相邻细胞中造成永久性重编程。通过这种方式，它们将这些细胞“锁定”在去分化状态，从而阻止组织恢复活力，也防止损失的细胞被再次补充。要探究这个模型是否合适，我们需要探究体内衰老过程及其细胞的清除过程对干细胞的功能及组织再生的影响机制。从正在进行的研究来看，我们应该很快就能明确衰老细胞是否就是通过

Nanog或其它因子启动组织重编程的源头。这些研究成果对于我们确定衰老在老龄化中的作用及制定优化治疗策略具有重大意义。这就好比，在修理车辆时，仅仅拆除损坏的部件而不装上新的零件是没有意义的。这个道理同样适用于抗衰老治疗。靶向清除衰老细胞可清除器官出了故障的部分，但激活干细胞分化则可补充损失的细胞，后者是抗衰老治疗不可或缺的一部分。

2 提高衰老细胞作用的靶向性

2.1 靶向衰老细胞、恢复组织活力——FOXO的应用

组织功能失调最理想的治疗方案是在靶向清除衰老细胞的同时激活组织再生。就这一功能而言，叉头转录因子家族（forkhead box O family, FOXO）成员也许比较合适。

FOXO是重要的细胞周期抑制因子，它在线虫、果蝇和哺乳动物的寿命持续过程中扮演了重要角色，并且充当胰岛素/胰岛素样生长因子1通路的重要靶标，同时介导抗氧化剂反应及DNA损伤修复。此外，FOXO在细胞周期调节、细胞存活及干细胞信号传导中还具有多种不同的作用。

FOXO可与p53相互作用，从而激活细胞周期素依赖性激酶抑制因子p21^{Cip1}。p21^{Cip1}在细胞衰老过程中表达水平会上升。有文献报道p21^{Cip1}具有促存活（prosurvival）功能，而p53介导的p21^{Cip1}衰老反应可以有力地抑制凋亡作用。此外，p53-p21^{Cip1}（途径）还能阻断重编程，并表达干细胞样标志物，如Nestin。

与p21^{Cip1}的情况相似，FOXO能抑制细胞分化，并削弱β-catenin的功能，从而导致“干性”信号表达损失，抑制干细胞信号传导。最近研究人员发现FOXO/β-catenin复合

物生成的共有信号与p21^{Cip1}的表达有关，进一步揭示了这些信号传导途径之间存在联系。

FOXO与p53可直接相互作用，这种联系给我们提供了一种特殊的治疗策略。要达到这个目标，我们一方面需要了解FOXO与p53是如何联合起来影响衰老过程的；另一方面，还需要明确FOXO/β-catenin如何影响衰老组织的多潜能性和分化过程。据此建立的双重靶向的治疗方案可同时针对两个目标——既清除衰老细胞，又能激活组织修复。虽然该方案前景美好，但却困难重重。值得指出的是，由于细胞穿透肽（cell-penetrating peptide, CPP）能特异性地干扰特定的蛋白质相互作用，因此尤其适用于这种治疗目标。

2.2 细胞穿透肽：对抗衰老的疗法？

目前人们尚不清楚衰老细胞停留在周期阻滞状态的相关机制。一旦明确它们如何保持生存能力，也许就能更有针对性地开发抗衰老药物，从而避免影响非衰老细胞。其中一种限制脱靶毒性的抗衰老疗法策略是：在设计抗衰老复合物时，不但要求具有较高的衰老细胞选择性（相对正常细胞而言），而且还要特别针对衰老细胞中对机体真正有害的细胞亚群。鉴于

此，抗衰老药物的特异性必须非常明显。细胞穿透肽也许可以满足这样的需求。

CPP可以模拟表面暴露蛋白间结合模式，其构造非常容易被细胞摄取。常见的摄取介质是一段带大量正电荷的序列，例如HIV的TAT序列。与其它抑制因子相比，CPP具有不少优势，这使它们成为了令人关注的抗衰老治疗的备选药物。首先，CPP一个最大的优点是，其反应不限于酶反应区域，如大量激酶抑制因子所依赖的ATP-结合盒（ATP-binding cassettes）。因此，它们可以被设计成通过竞争性结合内源配体，以靶向特定的蛋白间相互作用。这种方法可以有效地干扰细胞信号途径，如最近报道的用于调节酶活性的FOXO相关叉头蛋白——FOXM1。在这个过程中，CPP不需要抑制靶蛋白的全部功能，只需控制部分下游信号，令其传导至需要的方向，而不需要同时影响其余部分。这非常有利于降低脱靶毒性。

其次，CPP并不仅限于预先设计的结合区域，其可供选择的靶向区域非常多。这一点相对于通常用于降低激酶活性的宽范围抑制因子来说，是另一个优势，即它可以安全地调控关

键信号通路。

最后，由于携带正电荷，CPP通常具有亲水特性。该性质使它们适用于静脉全身给药治疗。不过需要注意的是，全身性给药疗法需要高浓度的多肽，人们担心这会引发毒性。幸运的是，鉴于CPP在体内和体外都能被细胞迅速摄入，所以无需担心上述问题。

D-JNKi是一个c-Jun氨基末端激酶（c-Jun N-terminal kinase, JNK）靶向的CPP，也是首批成功被应用于体内的多肽之一，而且已被证明可在啮齿动物模型全身给药后发挥神经保护作用。目前研究人员已成功开展多项应用CPP的临床试验，以进一步探索其应用潜能。例如，D-JNKi在眼部炎症患者全身或局部用药的1期临床试验中耐受性非常好，并在听觉丧失的随机双盲2期临床试验中被证实有效。此外，在对抗实体瘤的1期临床试验中，人们将一种靶向p53的CPP（名为p28）进行全身给药后，发现其耐受性良好，且有抗肿瘤效果。由此CPP的全身给药已被证明是安全和有效的。这表明，CPP可能可以有效阻断一些对衰老细胞存活至关重要的信号途径。

特约编辑招聘启事

为了及时收集生命科学最新资讯、提高《生命奥秘》办刊质量，现面向从事生命科学或对这学科有浓厚兴趣的科研人员、学生诚聘特约编辑（兼职）。

岗位职责：

独立完成《生命奥秘》专题的策划：对基因组学、蛋白组学、生物信息学和细胞生物学等学科的发展以及生物医学领域相关技术（例如基因诊断技术、干细胞和克隆技术、生物芯片技术等）的应用进行翻译及深入评述。

选题要求内容新颖、评述精辟、注重时效和深入浅出。尤其欢迎以自身系统研究为基础的高水平译述与评论，结合所从事的科研工作提出自己的见解、今后设想或前瞻性展望。

要求：

- 1.具备基因组学、蛋白组学、生物信息学、细胞生物学等生命科学学科背景；
- 2.具备良好的生命科学前沿触觉；
- 3.具备较高的外文文献翻译、编译水平；
- 4.具备较强的选题策划、资料搜集、组织能力，以及专业稿件撰写能力；
- 5.具有高级职称；或者拥有（正在攻读）该领域的最高学位。

有意者请将个人简历发送至 editor@lifeomics.com

四、抗衰老疗法的里程碑式研究进展

衰老（senescence）的概念从提出至今，人们对抗衰老的研究已开展了约半个世纪。通过仔细梳理，其研究过程至少经历了概念的证明、安全疗法的提出，以及病理学意义上的逆转这三个阶段。抗衰老疗法要成为对抗老龄化的现实手段，必须经历和超越这三个最基本的研究阶段：(i) 证明衰老细胞是否会引起老龄化，并且消除衰老细胞是否能够阻断这个过程。(ii) 明确衰老细胞是否可以被药物选择性作用，同时健康细胞不受影响。(iii) 确认清除衰老细胞是否可用于抵消已经出现的老化特征。以下将简单介绍解决这些问题的标志性研究成果。

1 抗衰老疗法的概念验证

抗衰老疗法第一个里程碑式进展是Baker等人的实验，即将早衰小鼠模型（BubR1^{H/H}）与清除了p16阳性细胞的小鼠（INK-ATTAC）模型杂交。该实验证明了衰老细胞是引起衰老过程的原因，并且消除衰老细胞可以阻断衰老过程。由此，抗衰老治疗研究的理论基础得以确立。BubR1是编码有丝分裂检查点的一个核心成员。这是一种监督机制，在存在大量未结合的染色体的情况下，BubR1可以通过抑制Cdc20来激活后期促进复合物（Cdc20-activated anaphase-promoting complex, APC Cdc20）的泛素连接酶的活性，从而确保有丝分裂过程中染色体精确分离。BubR1^{H/H}小鼠不但生命周期缩短，而且还表现出大量年龄相关病理表型。另外，在表现出这些年龄相关病理

表型的特定组织中出现了特异性地积累p16^{Ink4a}阳性细胞的现象。研究人员改进了FAT-ATTAC模型，进而构建出INK-ATTAC小鼠模型（图4）。

在FAT-ATTAC模型中，脂肪细胞特异性启动子（Fabp4 promoter）可调控ATTAC基因的表达。ATTAC基因编码了由FK506（一种免疫抑制剂）的结合蛋白（FK506-binding-protein, FKBP）和Caspase8（CASP8，一种细胞凋亡蛋白）组成的融合蛋白。在豆蔻酸的作用下，该融合蛋白被酯化并被牵引到细胞膜上，再经合成药物AP20187作用形成二聚体，从而激活CASP8引发凋亡，导致脂肪细胞被选择性清除。研究人员将其中原有的脂肪特异启动子（Fabp4 promoter），替换成p16^{Ink4a}的启动子

(2617 bp)。该启动子仅在衰老细胞中具有转录活性。

此外，研究人员还在融合基因后部增加了一段内部核糖体进入位点序列（internal ribosome entry site, IRES）和编码增强型绿色荧光蛋白（enhanced green fluorescence protein, EGFP）的开放阅读框（open reading frame, ORF），以用于检测和收集p16^{Ink4a}阳性的衰老细胞。研究人员将这个重组基因产物注射到小鼠受精卵里，结果获得了9个株系的INK-ATTAC转基因小鼠模型（图4）。

紧接着，他们再将它与早衰小鼠模型

BubR1^{H/H}杂交，进而得到BubR1^{H/H}；INK-ATTAC小鼠模型。这些小鼠能迅速呈现出一系列相关症状，若p16^{Ink4a}基因被敲除，则能缓解这些症状。与这个结果一致的是，清除（p16^{Ink4a}驱动的）衰老细胞也可延缓病理进程，这表明衰老过程的确是疾病出现的一个根本原因。很明显，在自然衰老小鼠中清除衰老细胞可以延长寿命，且寿命可延长超过18%。鉴于此，从衰弱动物体内清除正在运作的细胞可能在初期会有危险，但随后被证明是有益的。这些结果明确证实细胞衰老是引起老龄化的原因之一。

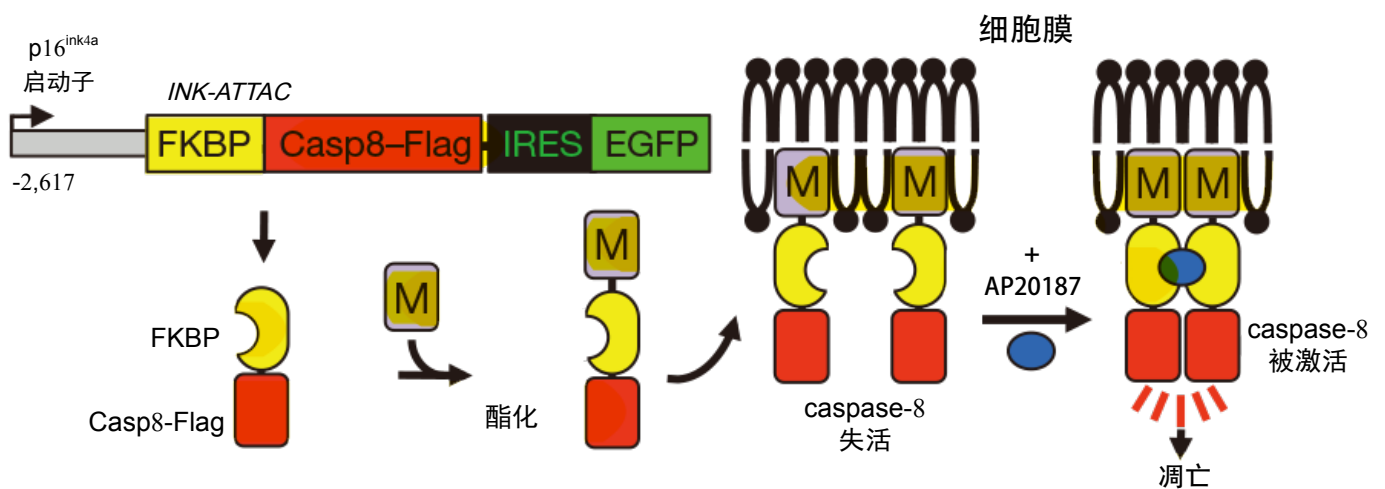


图4 INK-ATTAC 构造和凋亡激活机制图解。FKBP：FK506-binding-proteinFK506（抗器官移植排斥的免疫抑制剂）结合蛋白；Casp8-Flag：带Flag标签的caspase-8蛋白；M：豆蔻酸；AP20187：一种合成药物，可以诱导膜结合的酰化FKBP-Casp8融合蛋白形成二聚体。

图片来源：D. J. Baker., *et al.* (2012) Clearance of p16^{Ink4a}-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature*, 479(7372): 232–236.

2 安全性的考量

抗衰老治疗必须确保衰老细胞可以被选择性地发挥作用，同时不会影响健康细胞。抗衰老疗法第二个里程碑式进展是，人们通过筛选现有化合物而初步建立了一个安全的、靶向衰老细胞的疗法。目前研究人员报道了两种清除衰老细胞的方法：(i)单独或组合使用槲皮黄酮/达沙替尼来处理细胞；(ii)用pan-BCL-细胞淋巴瘤抑制因子ABT-263/ABT-737来处理细胞。槲皮黄酮之前就被人们发现能对抗衰老。由于这种抗衰老物质通常都可以从水果蔬菜中发现并获取，所以这一方法令人们非常激动。达沙替尼是Src激酶家族抑制因子，人们将其用于治疗特定类型的肿瘤，如急性骨髓及淋巴白血病。不过这两种化合物在稍后都被发现并非衰老细胞特异性药物，甚至药效也不依赖于细胞种类。鉴于此，即使它们能治疗其它疾病，但实际上在对抗衰老引起的疾病方面所能起的作用非常有限。

另一方面，大多数研究人员都发现pan-BCL抑制因子可选择性地对抗衰老。它们能抑制BCL家族的所有蛋白，包括BCL-2、BCL-XL和BCL-W，但似乎只通过后两者靶向衰老细胞。由于pan-BCL抑制因子已被成功应用于

抗肿瘤治疗，例如用于对抗小细胞肺癌，所以这些药物已经历了人体试验。不过，一个非常明显的缺点是，BCL蛋白，尤其是BCL-2是主要的凋亡抑制因子。此外，由于BCL家族蛋白能广泛表达，所以pan-BCL抑制因子也会影响其它类型的细胞。事实证明，这类药物至少在胃肠道组织、免疫系统及造血系统中引起了脱靶毒性。pan-BCL抑制因子的另一个缺点是引起器官功能衰退，例如它们会导致血液中天冬氨酸转氨酶的水平升高，这意味着肝脏过滤能力下降。老龄化相关疾病可能是一个沉重的负担，不过它们大部分并不致命，至少不是立即致死。对于像晚期肿瘤这种马上就能威胁生命的病症来说，脱靶毒性也许还能接受，但对于短期内不会致命的老龄化相关疾病来说，这一点就不能接受了。所以，考虑到剂量限制效应问题，这一类抑制剂在使用上应局限于一些比较严重的适应症，如晚期癌症等，并且最好不要用于老龄化相关疾病。无论如何，就目前的应用潜能来看，确认是否能进一步优化或提高靶向性来克服这些抑制因子的应用瓶颈，将会是很有意义的工作。

3 有效性的证实

抗衰老治疗第三个里程碑式的进展是评估消除衰老细胞能否逆转已有的衰老表型。延缓机体退化的过程和逆转急性损伤的影响，与逆转一生中积累的各种损伤的复杂性各不相同。前文提及的化合物可以对抗辐射造成的损伤，这表明它们在早衰小鼠模型中具有边际表型的健康效益。然而，首先，人们目前还不确定健康情况的改善是否是由衰老细胞的清除而带来的（此时，衰老细胞半遗传法清除可以作为一

个关键的对照）。其次，人们仍然需要确认自然衰老引起的组织内稳态消失及老龄化相关疾病是否能得到恢复。未来的研究工作也许能确定情况是否如此。在这种环境下，我们尤其需要认识到，接受治疗的模型动物和最终应用该疗法的病人可能都处于非常糟糕的条件中，此时药物安全性至关重要。

图5列举了迄今为止在对抗衰老的研究中，一些标志性成果发表的时间。

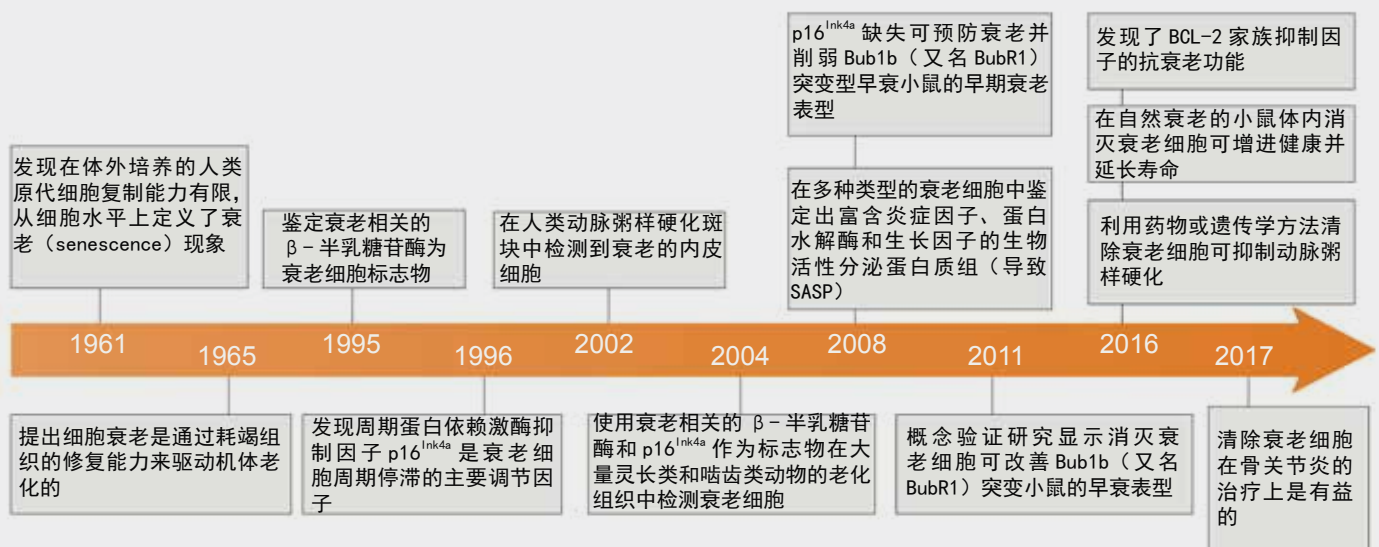


图5 衰老治疗相关重要成果发表时间轴。图中所列举的都是在不断发展的衰老治疗领域中一些至关重要的成果。

图片来源：B. G. Childs., *et al.* (2017) Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nature Reviews Drug Discovery*, doi: 10.1038/nrd.2017.116. [Epub ahead of print]

五、抗衰老研究的前景与展望

最终，大部分人都会遭受年龄相关疾病的困扰。随着平均寿命的增加，老龄化越发成为全球需要共同面对的问题和挑战。目前发达国家国民的平均寿命比上世纪70年代增加了10年。中国人的平均寿命则由1970年的稍高于60岁，增至2013年的75.4岁。中国已然进入老龄化社会，并且即将步入超级老龄化社会。若要缓解社会压力，提高老年人的生活质量，那么除了依赖相关政策的调整外，还必须加快对衰老相关机制以及对抗衰老相关疾病的治疗方案的研究和应用进程。

鉴于该领域最近发表了一系列备受瞩目的研究结果，人们认为通过靶向清除衰老细胞，以对抗机体老化的模式是可行的。但是，奇怪的是，尽管衰老现象自被发现至今已有半个世纪，同时现代研究也开展了几十年，但是人们几乎还没能发明一种可以通过靶向清除衰老细胞来促进健康的药物。尽管如此，随着研究工作的开展和深入，在衰老相关机制和抗衰老研究方面还是有不少前所未有的进展的。这些进展包括构建适用于衰老研究的各种动物模型；筛选药物，以靶向清除衰老细胞、恢复组织活

力；针对不同的衰老诱因来设计治疗方案，以清除衰老细胞等。Marjolein等人的最新研究也表明，FOXO4肽段可选择性地清除衰老细胞，并通过靶向衰老细胞来刺激组织再生（图6）。尽管如此，我们仍然有必要澄清现实和理想之间的差距，以降低不切实际的期望。靶向清除衰老细胞也许并不是恢复青春的秘方，但抗衰老治疗已是目前人们在延长寿命、在机体老化过程中恢复失去的健康这一道路上走得最远的一步。

从目前的研究来看，衰老细胞能在何种程度上将周围的细胞锁定在干细胞样状态，以及靶向清除衰老细胞能否影响组织再生都将变得明确。随着研究的进展，FOXO等作为治疗靶点的前景也将越来越清晰。在未来的研究中，人们有可能可以建立起对抗衰老的一整套疗法。这套疗法将包括衰老细胞的示踪定位、抗衰老药物的筛选、基于不同疾病、不同信号传导途径来设计特异性抗衰老策略等。毫无疑问，未来数年将会出现更令人兴奋的研究成果。

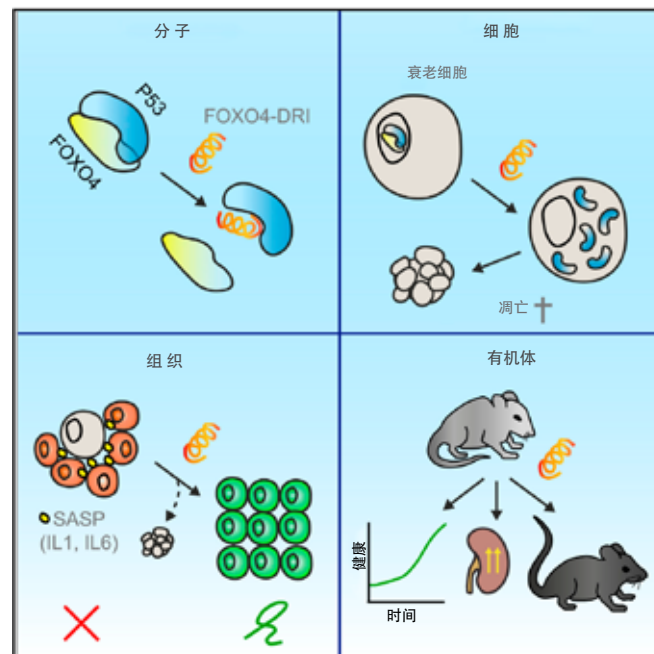


图 6 可选择性地引起衰老细胞凋亡的 FOXO4 肽段逆转了由化疗药物和年龄增长所引起的不良效应。FOXO4-DRI 为 FOXO4 肽的 D-retro inverso 异构型 (D-retro inverso isoform, DRI) 左上: 分子水平——FOXO4-DRI 肽段可与 P53 结合, 从而阻止后者与 FOXO4 的结合。右上: 细胞水平——在衰老细胞中, FOXO4-DRI 肽段与 p53 结合后将活性 P53 释放到细胞质中, 诱导细胞通过内在途径凋亡, 从而实现靶向诱导衰老细胞凋亡 (targeted apoptosis of senescent cell, TASC)。左下: 组织水平——在小鼠肝脏中, TASC 可中和阿霉素治疗引起的药物毒性。右下: 机体水平——在快速衰老小鼠和自然老化小鼠中, TASC 都能促进机体恢复健康、提高毛发密度和恢复肾功能。DRI: 用 D 型氨基酸取代 L 型氨基酸, 并按序列的倒序组装, 所得肽段的原始空间定向不变。它能保留原始肽段的生物活性, 而且在体内不易被蛋白酶分解。

图片来源: Marjolein P. Baar., *et al.* (2017) Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging. *Cell*, 169: 132–147.

原文检索:

1. D. J. Baker., *et al.* (2011) Clearance of p16^{Ink4a}-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature*, 479(7372): 232-236.
2. D. J. Baker., *et al.* (2016) Naturally occurring p16^{Ink4a}-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature*, 530(7589): 184-189.
3. B. G. Childs., *et al.* (2016) Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science*, 354(6311): 472-477.
4. Francis Rodier & Judith Campisi. (2011) Four faces of cellular senescence. *Journal of Cell Biology*, 192(4): 547-556.
5. Peter L.J. de Keizer. (2017) The Fountain of Youth by Targeting Senescent Cells? *Trends in Molecular Medicine*, 23(1): 6-17.
6. Jan M. van Deursen. (2014) The role of senescent cells in ageing. *Nature*, 509(7501): 439-446.
7. Mantas Matjusaitis., *et al.* (2016) Biomarkers to identify and isolate senescent cells. *Ageing Research Reviews*, 29: 1-12.
8. B. G. Childs., *et al.* (2017) Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nature Reviews Drug Discovery*, doi: 10.1038/nrd.2017.116. [Epub ahead of print]
9. Marjolein P. Baar., *et al.* (2017) Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging. *Cell*, 169: 132-147.

没有验证过的引物，不是好引物

现场定制验证引物，低至100元，3个工作日内到货，提供验证报告

活动截止日期：2017年11月30日

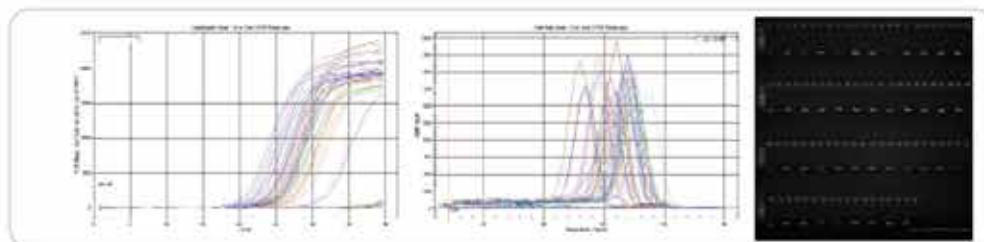
- 10000+条人、小鼠、大鼠编码基因验证引物
- 5000+条miRNA验证引物：覆盖miRBase 21
- 大量SCI文献引用

产品名称	产品描述	产品货号	规格	目录价	优惠价
All-in-One™ miRNA qPCR 内参引物	miRNA内参引物	各异，官网可查	20μl × 100次	¥100	¥80
All-in-One™ miRNA qPCR Primer	miRNA验证引物		20μl × 100次	¥200	¥160
All-in-One™ qPCR 内参引物	mRNA内参引物		20μl × 100次	¥100	¥60
All-in-One™ qPCR Primer	mRNA验证引物		20μl × 100次	¥200	¥120

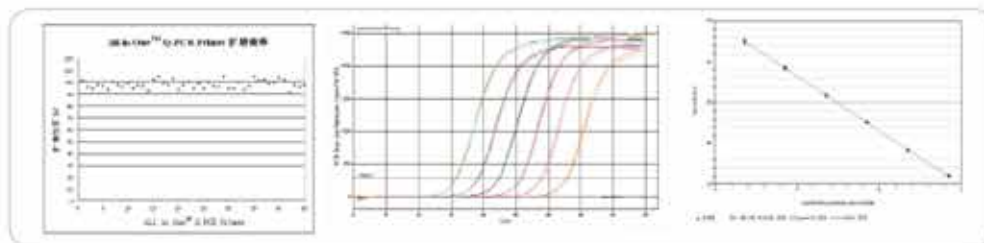
产品优势

- ✓ 可信范围广：高特异性和高灵敏性确保了在宽线性范围内进行精确定量
- ✓ 反应条件均一：引物Tm值和扩增片段性质均一，所有引物可采用同一条件
- ✓ 方便、经济：低成本，设计、合成及验证一次完成，无需再次验证，仅需参考验证报告即可进行实验

- ✓ 特异性强：
无非特异性扩增，
不形成引物二聚体



- ✓ 扩增效率高



客户发表文章举例：

- ◆ Inhibition of miR-25 improves cardiac contractility in the failing heart. 2014.
Nature, IF 40.137. All-in-One miRNA qRT-PCR Detection Kit & primers for miR-25 and Rnu6.
- ◆ Epigenetic silencing of miR-137 induces drug resistance and chromosomal instability by targeting AURKA in multiple myeloma. 2016.
Leukemia, IF 11.702. All-in-one miRNA qRT-PCR detection kit and validated primers for mature miRNAs for miR-137 and RNU6B.
- ◆ FMRP regulates an ethanol-dependent shift in GABABR function and expression with rapid antidepressant properties. 2016.
Nature Communications, IF 12.124. primers for GABABR1 (cat#MQP031832), GABABR2 (cat#MQP026008), CaMKIIa (cat#MQP028785), and Cacna2δ2 (cat#MQP032309).

qPCR 试剂

灵敏度高、特异性强、性价比高

活动截止日期：2017年11月30日

miRNA 定量检测 Hot !

产品名称	货号	规格	目录价	优惠价
All-in-One™ miRNA qRT-PCR Detection Kit	QP015	20RT+200qPCR	¥2380	¥1904
	QP016	60RT+600qPCR	¥5920	¥4736
All-in-One™ miRNA First-Strand cDNA Synthesis Kit	QP013	20RT	¥1380	¥1104
	QP014	60RT	¥3160	¥2528
All-in-One™ miRNA qPCR Kit	AMPR-0200	20µl × 200rxns	¥1100	¥880
	AMPR-0600	20µl × 600rxns	¥3135	¥2508
	AMPR-1200	20µl × 1200rxns	¥5940	¥4762
RNAzol RT RNA Isolation Reagent	E01010A	50ml	¥800	¥640
miRNA Universal Adaptor PCR Primer(下游通用引物)	P01011A	20µl × 250 次	¥660	¥528

mRNA 定量检测 Hot !

产品名称	货号	规格	目录价	优惠价
All-in-One™ First-Strand cDNA Synthesis Kit	A0RT-0020	20rxns RT	¥360	¥216
	A0RT-0060	60rxns RT	¥795	¥477
All-in-One™ qPCR Mix	QP001	20µl x 200rxns	¥555	¥333
	QP002	20µl x 600rxns	¥1580	¥948
	QP003	20µl x 1200rxns	¥2997	¥1798

客户发表文章:

- ◆ Epstein-Barr virus-encoded microRNA BART1 induces tumour metastasis by regulating PTEN-dependent pathways in nasopharyngeal carcinoma. 2015. Nature Communications, IF 12.124. All-in-One miRNA qRT-PCR Detection Kit.
- ◆ Extracellular matrix scaffolding guides lumen elongation by inducing anisotropic intercellular mechanical tension. 2016. Nature Cell Biology, IF 20.06. All-in-One qPCR Mix.
- ◆ A mouse model of MYCN-driven retinoblastoma reveals MYCN-independent tumor reemergence. 2016. Journal of Clinical Investigation, IF 12.784. All-in-One qPCR Mix.





热点

细胞之间的“悄悄话”

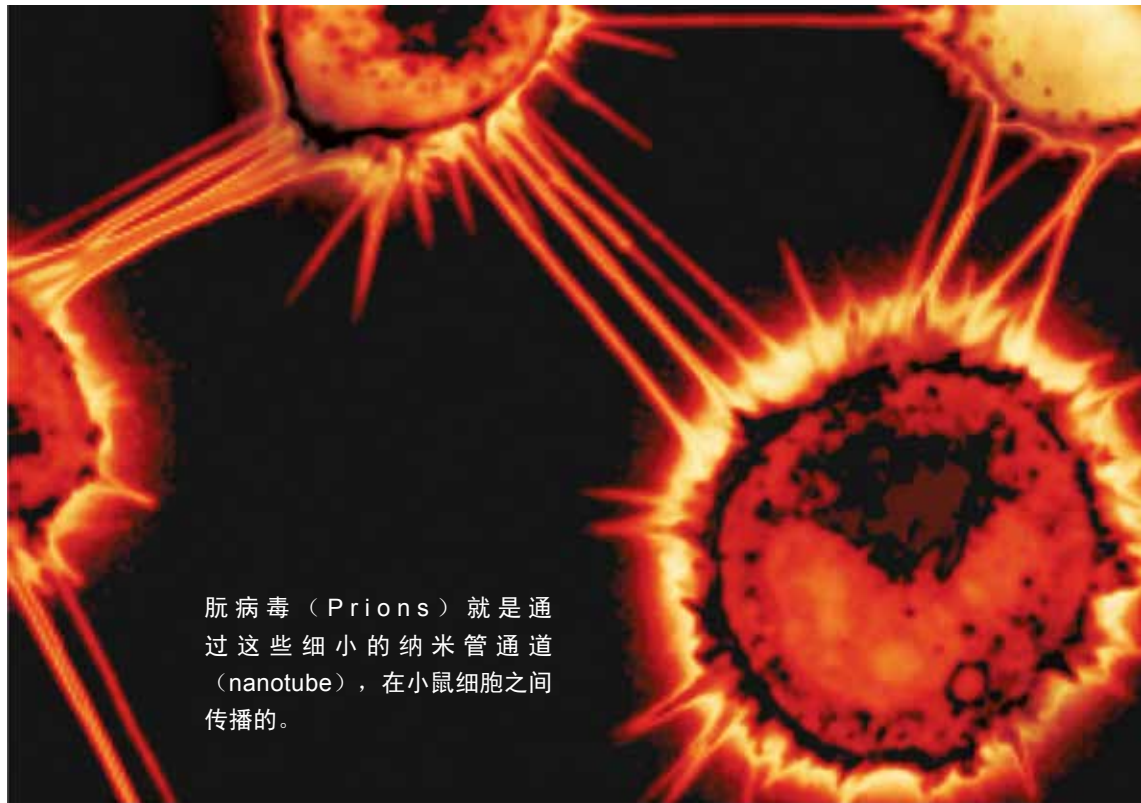
一种之前没有引起我们重视的细胞间的沟通渠道（cell-to-cell communication）可能就是帮助肿瘤细胞和病原体在人体内播散的原因。

美国密歇根大学安娜堡分校（University of Michigan in Ann Arbor）的发育生物学家 Yukiko Yamashita 认为，她已彻底认识了果蝇的睾丸。不过5年前，在她刚开始决定研究这个器官，同时做一系列实验来了解果蝇睾丸时，她还是毫无头绪的。

Yamashita 的课题组一直在研究果蝇是如何维持精子供应（sperm supply）这个问题的，她们也对能够表达某些特异性蛋白的细胞进行了人工改造。不过奇怪的是，这些被改造过的细胞并没有发生什么变化，反倒是这些细

胞表达的蛋白却对其它未被改造的细胞造成了影响。

Yamashita 和她的博士后 Mayu Inaba 将这种奇怪的现象称作“神奇的走私（mysterious trafficking）”。这个实验结果是确定无误的，但是其中的机制还不得而知。随后 Yamashita 暂停了这个实验，直到一年多之后的某天，Inaba 给 Yamashita 看了几幅照片。这些照片清楚地显示了细胞间某些细小的管道互相联通的现象，这也许就是那些蛋白质的“走私渠道”。



对于这个结果，Yamashita还是持怀疑态度的，于是她决定看看她自己在12年前做博士后期间的实验记录。结果发现，在她以前的实验记录里也看到了细胞之间这些细小的突起。Yamashita当时大吃了一惊。2015年，她们发表了这项研究成果，指出这种纳米管可能就是帮助睾丸细胞与邻近细胞进行精准交流的通道。Yamashita表示，她们过去也认为蛋白质是可以在细胞间转移的，只是当时并没有想到，细胞之间存在这样的联通管道。

Yamashita等人发现的这种纳米管又给细胞间的“神秘通道（cryptic conduits）”家族增添了一名新的成员。在哺乳动物细胞之间的、更长的通道似乎不仅可以传递分子信号，也可以传递病毒颗粒、朊病毒、线粒体等更

大的“货物”。德国海德堡大学（University of Heidelberg in Germany）的神经生物学家Amin Rustom认为，这些研究成果表明，细胞间存在着我们还不能充分认识和了解的沟通机制。大约20年前，Rustom当时还只是一名研究生，当时他就发现了这些管道，这也让他成为了发现细胞间管道的第一人。如果这些研究成果得到证实，那么将彻底改变医学和生物学的现状，因为这将彻底改变我们看待组织的方式。

不过美国北卡罗来纳大学教堂山分校（University of North Carolina in Chapel Hill）的细胞生物学家Richard Cheney则比较谨慎。他一直关注这个研究方向，也曾经与Rustom的博士指导老师合作过。Cheney指

出，毫无疑问，这些细长的管道无处不在。可问题是它们的作用是什么？是在细胞需要的时候给其它细胞传递信息，还是开启一个传递物质的通道？Cheney认为，它们的作用应该还是以传递信息为主。

需要指出的是，对这些管道开展科学研究是非常困难的。要证明这些管道的存在就已经非常不容易了，更别说确定它们的功能了。Yamashita等人采用遗传工程学的方法，并使用已经被明确证明了功能的果蝇基因进行了实验，结果发现这些管道可以在细胞间传递信息。但是从事哺乳动物细胞间相关研究的科研人员可就没有这么好的实验基础和条件了。目前已经有许多科研人员错误地将细胞培养皿上的划痕当作了细胞间的纳米管通道。迄今为止，能够证明在哺乳动物细胞间也存在这些通道的实验证据还非常少。

不过无论如何，这个研究领域最近已经成为了一个热门的研究方向。英国葛兰素史克制药公司（GlaxoSmithKline in Stevenage, UK）新兴研究平台部门的负责人George Okafo就是其中之一。Okafo认为，细胞之间的这些通道可以解释阿尔茨海默病、帕金森氏症、疟疾、HIV和朊病毒感染等难治性疾病的相关机制。还有很多机制是我们传统药物没有涉及到的，比如疾病在细胞之间传播的机制。

2016年9月，Okafo召集GSK的部分工作人员和大约40名相关领域的科研人员一起召开了一场小型会议。2017年3月，NIH也要求那些研究细胞间通道对于应激细胞、或者肿瘤细胞间的沟通有何作用的科研人员提交基金申请，这些都说明细胞间的联通这个研究领域正在逐渐兴起。今年12月，美国细胞生物学学会

（American Society for Cell Biology）还将在他们今年的年会上设立一个专场讨论环节，以讨论这方面的问题。

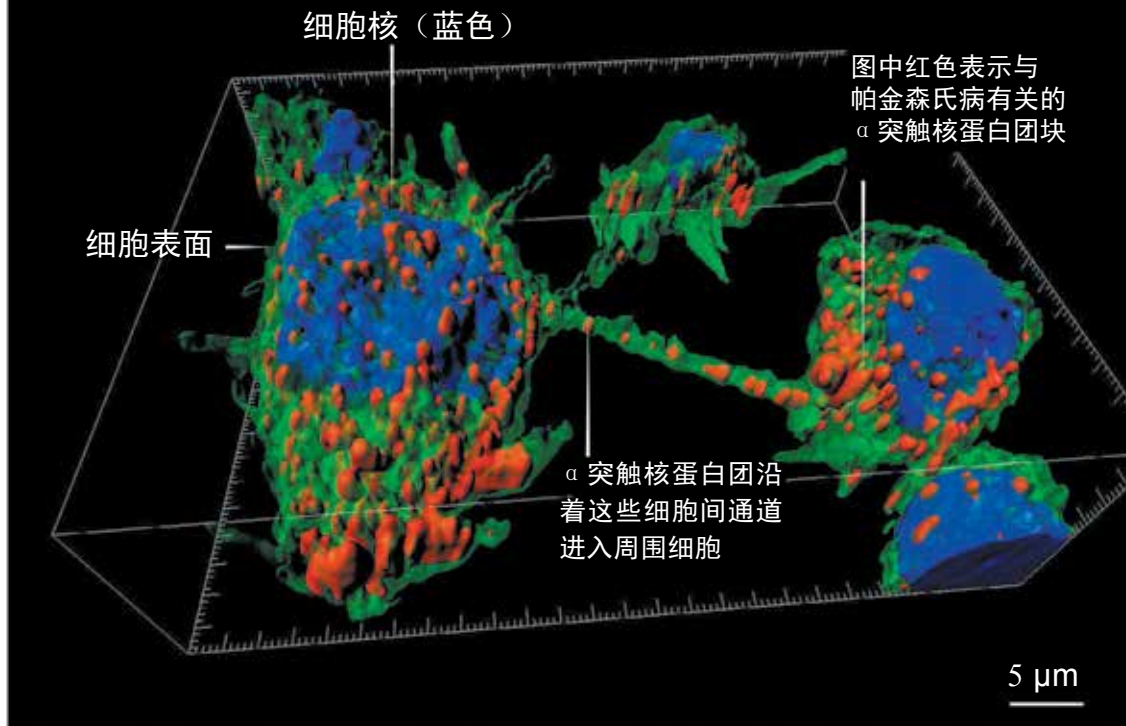
细长的通道

科研人员们早已发现，很多细胞表面都会长出天线一样的突起，这些暂时出现的伪足可以帮助细胞迁移。直到1999年，美国加州大学旧金山分校（University of California, San Francisco）的细胞生物学家Thomas Kornberg的一个发现才让我们意识到，这些“天线”可能还具有其它非常重要的作用。Kornberg当时正在研究蝇蛆（fly larvae）翅膀的发育过程。他观察到翅芽（wing bud）处长出了很多细丝状突起，而且这些突起全都朝向对于生长至关重要的信号中心（signalling centre）。Kornberg用“细胞线（cytoneme）”这个词来形容这种结构。他认为，我们过去发现的一些细胞间的沟通（cellular chatter）可能就是这些细胞线的作用，而过去我们认为那可能就是信号在细胞间的弥散（diffusion）作用。Kornberg提出的这个观点在当时还是比较新颖的，接受这个观点的人并不多，但是到了今天，这已经是被写进教科书的理论了。

2004年，两个科研团队都发现了在哺乳动物细胞间存在纳米管的实验证据，而且这些管道还可以在细胞间双向运送细胞器或囊泡等大型“货物”。Rustom研究的是体外培养的大鼠细胞。有一次他在做实验时忘记了洗涤步骤，结果在细胞间发现了细细的、笔直的管道样结构。

细胞天线

在体外培养的小鼠神经元细胞（图中三维结构）试验中发现，细胞间由大约200纳米宽纳米管相连， α 突触核蛋白团块等细胞内容物可以通过这些细胞管道在细胞之间转移和输送。



于是他和他当时在德国海德堡大学的导师 Hans-Hermann Gerdes 对细胞进行了遗传学改造，使细胞可以表达荧光蛋白，结果真的看到了这些荧光蛋白在细胞之间的“流动”。他们将这个偶然的发现发表在了《科学》（*Science*）杂志上，并且在文章中将这种细胞间的通道称作“纳米管高速公路”。有些人认为，他们之所以选择“纳米管”这个词，就是为了蹭热点，因为当时“纳米”是非常流行的一个概念。

英国帝国理工学院（Imperial College London）的 Daniel Davis 也在2004年发

现了“细胞膜纳米管系统（membrane nanotubes）”，即从细胞膜上向外伸展出的细长的、长度可以达到细胞直径好几倍的管道，而且这些管道在不同免疫细胞之间起到了联通作用——一个细胞产生的脂质成分可以通过这些管道到达其它细胞。Davis 认为，他们之所以能够取得这一研究成果，是因为他们整个团队都有不放过眼前任何一点蛛丝马迹，一定要追查到底的科研精神。也就是说，他们不仅发现了这些管道，而且会不断深挖下去。Davis 团队又陆续发现了好几种不同的纳米管道，其中一些能够转运线粒体和细胞内的囊泡

等物质，还有一些管道甚至可以转运细菌这些庞然大物。

还有一些实验室也在神经细胞、上皮细胞、间充质干细胞、免疫细胞和肿瘤细胞等不同的细胞之间发现了这种连接管道，也发现了不同种类的管道。2010年，**Gerd**等人又发现，有一些管道在细胞间的缝隙连接（**gap junction**）处中断了。我们知道，这些缝隙连接可以让神经元细胞更快地传递神经电信号，也可以传递肽段和**RNA**等生物分子。**Yamashita**怀疑，这些连接可能就是神经突触（**synapses**）。她指出，神经元细胞可能首先就是让它们的细胞膜突起，然后升级成更高级的器官，比如形成突触等。通过这种方式，神经元细胞获得了特定的功能。

大多数研究这些细胞通道的科研人员并不太关注这些通道的起源和发育过程，他们更关注的是这些通道对于人体健康和人类疾病的作用和意义。到了2015年，德国海德堡大学的肿瘤研究人员**Frank Winkler**终于得到了足够的证据证明，这些细胞间的通道与人体疾病的确有关系。与其他科研人员一样，**Winkler**等人也并不局限于这些细胞膜上的突起结构，他们对神经胶质瘤（**gliomas**）细胞的生长也进行了系统的研究。首先，将人体神经胶质瘤细胞注入试验小鼠脑内，同时在小鼠头部也开一个骨窗（用透明的玻璃取代了一部分头骨），然后对小鼠颅内的肿瘤细胞直接进行活体观察。

结果发现，在这些肿瘤细胞不断向周围侵蚀的过程中，第一步就是细胞膜往侵蚀方向形

成突起结构。更进一步的观察发现，这些突起就是将细胞间的缝隙连接联系起来的细小管道。彼此联系起来之后，这些细胞对放射线照射的耐受能力获得大幅提高，这很有可能就是因为这些通道的作用，让某种“抗性因子”能够在不同的细胞之间交流和沟通。当放射线照射杀死了这些肿瘤细胞之后，其中的细胞核也会通过这些管道转移到其它地方，形成新的肿瘤灶。研究人员在肿瘤病人的活检标本中也发现了这些“肿瘤微管（**tumour microtube**）”，而且如果这些微管越长、越密，那么患者的治疗效果就越差，预后也更差。**Winkler**认为，如果能够开发出这种微管的抑制剂，那么这将会是一种疗效非常不错的抗癌新药。紫杉醇（**paclitaxel**）的抗癌药理作用可能就是抑制了这种微管。**Winkler**等人为一种药物申请了专利，该药物通过干扰神经胶质瘤细胞形成微管，从而达到治疗神经胶质瘤的效果。

这项工作需要很多想象力。**Okafo**认为，这是一篇非常伟大的论文。在此之前，对于是否真的存在细胞间通道还存在不少的质疑。但是科研人员们还不太清楚，**Winkler**的研究结论是否同样适用于其它细胞。我们知道，多种脑细胞在生长和增殖时都可以伸出这种细胞膜突起。**Winkler**等人观察到的这些通道要比**Gerd**发现的常规意义上的细胞间纳米管大许多。而与之前报道过的纳米管不同的是，**Winkler**发现的这些通道里含有微管（**microtubule**），它可以利用纤丝让物质在细

胞中移动。可是，Winkler认为他们发现的这些通道也属于纳米管样通道。他指出，在体外培养环境下，这些通道不太可能长得和在体内环境中一样大，而且他自己在实验中观察到的通道就是大小不一的。Winkler还回忆起2013年时与Gerdes进行的一场讨论，据Winkler介绍，当时Gerdes觉得这才是我们这个领域一直期待的研究成果。这也证实了Winkler之前的想法。

在其他研究领域，这些纳米管也同样备受关注。比如在美国罗格斯新泽西医学院（Rutgers New Jersey Medical School in Newark）研究HIV病毒的Eliseo Eugenin就认为，被HIV病毒感染的细胞也可以通过这些细胞间的管道将病毒传播给其它健康细胞。但是这种传播方式的效率不太高，所以并不会导致病毒在短时间内大量扩增，以致这与感染初发时的情况不太吻合。Eugenin指出，这个时候，数学公式是不起作用的。他认为，其他科研人员不太认可纳米管是因为他们不相信细胞之间一直在不停地进行物质，包括遗传物质的交换。因为这样一来，整个关于细胞的概念就被彻底颠覆了。所以大家都不接受细胞间纳米管这个事实，除非我们先修改细胞的定义。

对立的观点

如果细胞的定义被颠覆了，那么对纳米管的质疑声就会小很多。美国明尼苏达大学（University of Minnesota in Minneapolis）的肿瘤研究者Emil Lou 就介绍了他们申请的课

题。他们计划在人体肿瘤细胞上寻找这种纳米管，并对其进行鉴定，可是却受到了评审专家的嘲笑，因为他们根本就不相信存在这种纳米管。

还有一部分研究人员认为只有在体外培养的条件下才会出现这种纳米管。比如英国牛津大学的免疫学家Michael Dustin 就表示，他们在培养皿里的确观察到了这种纳米管，但是他们还是认为，如果是在紧实的器官里，是不会有存在这种结构的。比如，白细胞产生抗体时会在培养皿里形成非常漂亮的、牛眼样的对称图案，但是在体内时却是另外一副杂乱无章的、混乱的样子。

除此之外，还有一些“机械方面的”问题。有一些科研人员就认为，这些纳米管的两端都是开口的，因为只有这样，物质才可以在细胞间流通。比如美国霍华德休斯医院研究院（Howard Hughes Medical Institute Janelia Research Campus in Ashburn, Virginia）的细胞生物学家Jennifer Lippincott-Schwartz 就担心，这样一来，细胞彼此之间就会混为一体，最终导致细胞融合。她认为，那些相信存在纳米管的人首先需要向生物物理学家们咨询一下。按照Lippincott-Schwartz的观点，细胞间的膜突起只会有非常少的接触，使其刚刚碰到细胞，并且其中的内容物被胞吞进去就够了。

法国巴斯德研究所（Pasteur Institute in Paris）的细胞生物学家Chiara Zurzolo 认为，目前存在的这些不同的意见使这个研究领域变

得更加的不严谨了。Zurzolo就发现，朊病毒和神经退行性变蛋白都可以通过这些纳米管来传输。据Zurzolo介绍，很多论文都没有探讨纳米管的末端是开放的，还是关闭的问题，也没有涉及这些纳米管是否与物质在其中的运输有关的问题。随着新报道的纳米管种类的不断增多，命名的增多，我们更加难以探讨这个问题了。所以Zurzolo认为，首先就必须在命名上规范起来，因为现在的命名实在是太乱了。

但是美国加州大学尔湾分校（University of California, Irvine）的细胞生物学家Ian Smith 指出，我们现在最需要的就是对整个过程有一个清晰的认识。然而，要获得一幅活细胞的清晰图片非常困难。大部分显微镜技术都不能获得清晰的、正在运输物质的纳米管的图像，哪怕是对体外培养的细胞进行拍摄也是非常困难的。Smith 正在开发一种可以观察细胞

纳米管的显微镜，他主要使用的是点阵光片显微镜技术（lattice light-sheet microscopy）。该技术可以将多层图像重建成为三维立体图像。Smith 希望能够利用这种技术捕捉到物质在细胞间转移的图像证据。同时他也承认，尽管这个研究方向比较冒险，但是他还是愿意试一试。

让Lou感到比较振奋的是，对于纳米管的质疑声正在慢慢减少。最开始，人们都认为这些“管道”只不过是显微镜下的假象。后来，大家的说法慢慢开始变成——就算在培养皿里有这些管道，也不代表它们就一定具备生物学意义。再后来大家的态度又变成：“你很可能弄错了吧。”不过Lou对这个研究方向还是非常感兴趣的，他认为，我们应该非常认真地将其当作一个治疗靶点来研究这个问题。不过五年前他也没有这种想法。

原文检索：

Monya Baker. (2017) LINES OF COMMUNICATION. *Nature*, 549: 322-324.

Eason/编译



百态

晨鸣可促使迁徙的麻雀换羽

长途旅行前夕，总有不少事情需要安排打点。迁徙的鸟类也不例外，它们为启程所做的准备集中于锻炼肌肉和储存脂肪。不过，由于鸟儿的最终目的地就是繁殖后代的场所，因而雌鸟还必须提早做好安排，以确保它们一到栖居地就能进入繁殖的最佳状态。而留鸟则更多地关注它们孵蛋的周围环境。对此，来自美

国加利福尼亚大学戴维斯分校（University of California, Davis）的Helen Chmura表示，研究动物如何选择繁殖环境的科学家们提出的假说认为，候鸟和留鸟会利用周围环境的不同信息，为产卵孵化做好身体上的准备。众所周知，昼长的增加能够激发候鸟开始启程前的准备。



纳塔尔白冠雀幼鸟。

但是否还有其它因素对鸟类的繁殖准备起到微调作用呢？某些信号对于进入繁殖期前的留鸟（相对于候鸟）而言是不是更有意义？这些问题都是Chmura、John Wingfield和Thomas Hahn计划研究的部分。

Chmura和Hahn将研究目标锁定于加州北部的白冠雀（white-crowned sparrows），并捕捉了一些雌鸟，它们分别来自两个亲缘关系很近的家族成员——坎贝尔白冠雀（Gambel's white-crowned sparrows，向北迁徙，在华盛顿北部、加拿大及阿拉斯加繁殖）和纳托尔白冠雀（Nuttall's white-

crowned sparrows，爱家典范，全年都待在加利福尼亚）。回到实验室后，两人在大型助手团的帮助下，将有迁徙习性的坎贝尔白冠雀与纳托尔白冠雀分隔开来。自二月初到四月末，他们每天给候鸟型雌雀播放本族雄性美妙的歌声，也给留鸟型雌雀倾听家乡“帅哥”的鸣唱，以此来模拟麻雀晨鸣对雌鸟的影响。对此，Chmura的解释是，定居的麻雀也有属于本地的“民歌”，因此分组是必要的。同时，他们还设了两个对照组，不播放任何声音，只模拟每天的日出日落。接着，Chmura、Hahn和Simone Meddle监测了上述几组鸟儿的生殖

激素、卵巢发育和羽毛生长情况（假定它们换毛），以此来观察雄鸟的歌声是否会对两种雌鸟的备孕产生影响。

可是，当研究组把雌鸟的生殖系统发育情况进行对照之后，失望地发现，雄鸟的鸣唱录音对雌鸟的生殖准备没有任何影响。尽管留鸟（纳托尔白冠雀）的备孕时间比候鸟（坎贝尔白冠雀）更早，但雄鸟的鸣唱并未对它们（纳托尔白冠雀）的备孕产生进一步的微调影响。而当研究组把听歌候鸟组和看日出候鸟组的羽毛进行对照时，发现雄雀的晨鸣能促使雌雀换

羽，为迁徙做准备。

因此，结果表明，雄性白冠雀的鸣唱不会促使雌鸟（无论候鸟还是留鸟）进入备孕期：原因可能是由于它们根本不听那些鸣唱录音，或者即便是听了也不会留意其中的信息。但是，麻雀的“晨鸣”却有助于候鸟型白冠雀更快进行换羽，以备迅速启程。对此，Chmura提出，了解两种白冠雀对环境信号的利用和应答的相似点非常重要，其中的某些差异常常可用于进一步明确地预测鸟儿如何应对气候变化。

原文检索：

Chmura, H. E., Meddle, S. L., Wingfield, J. C. and Hahn, T. P. (2017). Effects of a social cue on reproductive development and pre-alternate molt in seasonally breeding migrant and resident female songbirds (*Zonotrichia leucophrys*). *J. Exp. Biol.* 220, 2947-2956.

文佳/编译

新生小猪能在8小时内 形成身体协调能力

小猪崽们的生活也不是那么容易的，在出生数分钟之内，它们就必须得设法站起来，才能跟众多兄弟姐妹竞争，抢到妈妈的奶水。对此，比利时安特卫普大学（University of Antwerp）的Charlotte Vanden Hole、Peter Aerts和Chris Van Ginneken等人很感兴趣，他们想知道新生猪崽在出生后控制腿部站立能力的程度，以及这种控制能力是否会在出生后短短几个小时内得到改善。

解决这个问题应该不难。正好有7头刚出生的小猪崽，Vanden Hole、Van Ginneken和Sara Prims马上将它们从分娩的母猪身边抱来，拍摄下这些小家伙们沿着挡板做的通道完成的蹒跚步伐。然而，不过一个小时的功夫，所有的小猪似乎都能够较好地控制四肢了。然后，研究小组继续拍摄它们生命中的头96个小时，观察每一个进展。

接着，研究小组调整了观察角度。为了进

行对照，假定每头小猪的年龄和体型相同，分析它们出生之后的几个小时内步态的改善情况。在Jana Goyens和Erik Fransen的帮助下，Vanden Hole发现在小猪出生后的4个小时内，其协调能力发生了显著的改善。当然，直至出生后8个小时，它们的动作才达到完全协调的水平，但这已经足够令人感到惊讶了。Vanden Hole表示，小猪四肢的内部协调能力似乎并不完全是与生俱来的。但是，小猪最初的步调并未因其逐渐协调而发生变化——这在本质上与成年猪相同。研究小组还注意到，小猪在走每一步时，与地面的接触时间占比相对较长，而摆动腿部的时间较短。对此，Van Ginneken和Aerts表示，他们认为，在刚出生的几个小时内，小猪采取的运动方法是尽可能地提高能量利用的效率，以充分利用它们有限的可利用能量。那么，其中一个解决办法就是限制腿部摆动的持续时间。



不过，虽然小猪刚出生就能够完成明显的移动动作，并且步态能够在头4个小时内获得迅速改善，以使它们能围在妈妈身边，找到属于自己的美食，但其控制行动的神经回路仍未发育完全。

原文检索：

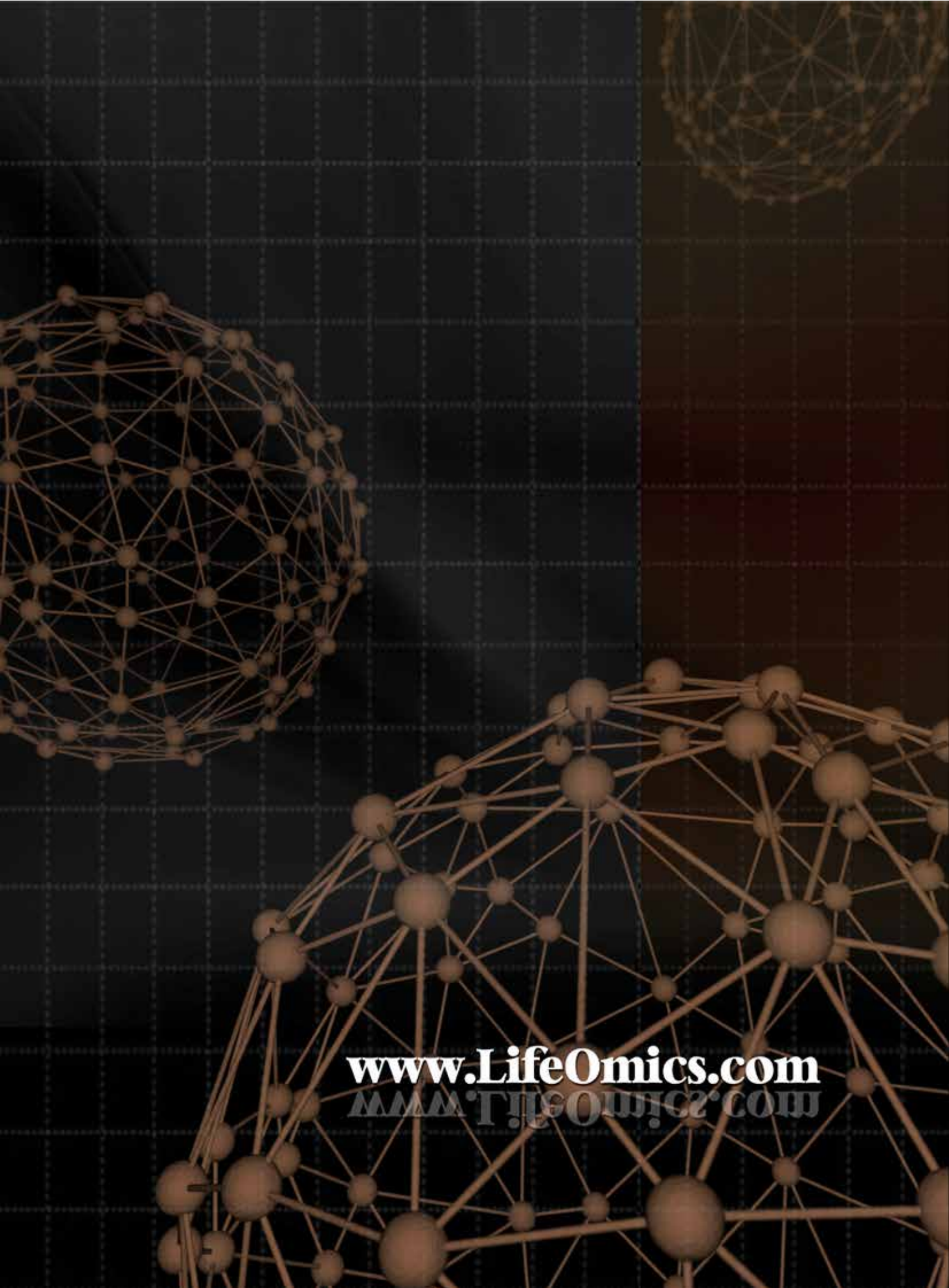
Vanden Hole, C., Goyens, J., Prims, S., Fransen, E., Ayuso Hernando, M., Van Cruchten, S., Aerts, P. and Van Ginneken, C. (2017). How innate is locomotion in precocial animals? A study on the early development of spatio-temporal gait variables and gait symmetry in piglets. *J. Exp. Biol.* 220, 2706-2716.

文佳/编译

A group of people are forming a human pyramid against a cloudy sky with a bright sun. The pyramid consists of four people standing on the ground, three people standing on their shoulders, and one person at the very top. The people are wearing dark clothing. The background is a bright, cloudy sky with a large, bright sun in the upper left corner.

合办专题专刊
网站广告合作
邮件群发推广

请致电 (020) 32051255



www.LifeOmic.com
www.LifeOmic2.com