

人类早衰症的发病机制及干预方法*

王泽华^{1)**} 李洪宇^{2)**} 曲静^{1,3)***} 张维绮^{2,3)***} 刘光慧^{2,3)***}

¹⁾ 中国科学院动物研究所, 干细胞与生殖生物学国家重点实验室, 北京 100101;

²⁾ 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;

³⁾ 中国科学院干细胞与再生创新研究院, 北京 100101)

摘要 衰老是一种在细胞和组织水平逐渐发生功能衰退的过程。早衰症是一类罕见的人类遗传性疾病, 以加速衰老为特征。对早衰症的研究有助于理解人类衰老的生理过程, 对衰老相关疾病的防治具有借鉴意义。成人早衰症和儿童早衰症是两种著名的人类早衰症, 本文将综述这两种早衰症的发病机制及干预方法。

关键词 人类, 早衰, 成人早衰症, 儿童早衰症, 机制, 干预
学科分类号 Q2

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0199

衰老是一种在细胞和组织水平逐渐发生功能衰退的过程。衰老是许多常见疾病如心血管疾病、神经退行性疾病、癌症等的主要危险因素, 但人们对衰老过程如何促进这些疾病发生发展的理解还处于初级阶段^[1]。

早衰症是一类罕见的人类遗传性疾病, 患者表现为加速衰老。一些早衰症是由于编码 DNA 修复蛋白的基因发生突变所致, 如成人早衰症(Werner syndrome, WS)、Bloom 综合征(Bloom syndrome, BS)、Cockayne 综合征(Cockayne syndrome, CS)等, 还有一些早衰症是由于编码 A 型核纤层蛋白或核纤层蛋白加工酶相关的基因发生突变所致, 如儿童早衰症(Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS)和限制性皮肤病(restrictive dermopathy, RD)^[2]。

WS 和 HGPS 是迄今为止研究得最为广泛的两种人类早衰症, 这两种疾病近年来一直是衰老领域研究的热点。因为患者的临床特征与生理性衰老相似, 可从中理解人类生理性衰老的过程^[3], 这对与年龄相关疾病的防治及健康老龄化的研究具有借鉴意义。因此本文将重点介绍 WS 和 HGPS 这两种人类早衰症的发病机制, 及目前已经应用或者具有潜在应用价值的干预方法。

1 人类早衰症的发病机制

1.1 成人早衰症

成人早衰症(Werner syndrome, WS), 是一种罕见的常染色体隐性遗传病, 患者通常在进入青春期之前正常发育^[4]。据统计, 全球每 100 万~1 000 万例新生儿中有一例患有该病; 但在日本, 每 10 万例新生儿中就有一例患有该病。由于它与生理性衰老的相似性, WS 在衰老领域得到了广泛的研究, 并被认为是研究人类生理性衰老的最佳疾病模

* 中国科学院战略性先导科技专项 (XDA16010100), 国家重点基础研究发展计划 (973) (2015CB964800, 2017YFA0103304, 2017YFA0102802, 2014CB910503, 2014CB964600, 2018YFA0107203), 国家自然科学基金 (91749202, 31471394, 31671429, 91749123, 81625009, 81330008, 81371342, 81471414, 81422017, 81601233, 81671377, 31601109, 31601158, 81771515, 81701388, 31571533, 31621004, 81822018)资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

Tel: 010-64889970

曲静. E-mail: qujing@ioz.ac.cn

张维绮. E-mail: weiqizhang@aliyun.com

刘光慧. E-mail: ghliu@ibp.ac.cn

收稿日期: 2018-07-17, 接受日期: 2018-08-03

型之一^[5]。WS 的诊断标准于 1994 年首次提出并在最近得到更新^[5], 患有 WS 的个体在出生后 10 年内的发育是正常的, 患者的第一个临床症状表现为缺乏青春期的突然生长过程; 患者在 20~30 多岁开始出现皮肤皱缩、肌肉萎缩、头发灰白和脱落等衰老相关特征; 患者 40 多岁出现双侧白内障、异常的葡萄糖和脂质代谢、性腺机能减退、皮肤溃疡和骨骼畸形, 除此以外还可观察到脂肪肝、骨质疏松症和跟腱钙化等。此外, WS 患者还具有较高的癌症发病率, 易患软组织肉瘤和骨肉瘤等。WS 患者最常见的死因是癌症和心肌梗塞, 平均死亡年龄为 47 岁^[6]。

经典的 WS 是由 *WRN* 基因发生纯合(或复合杂合)的功能缺失突变引起的^[4]。DNA 解旋酶 RecQ 家族在 DNA 修复、复制和(或)重组途径中发挥作用, *WRN* 蛋白是家族中的 5 个成员之一^[5]。在来自世界各地的经典 WS 患者中已经鉴定出 70 多种不同的致病突变^[7-8]。这些致病突变主要包括: 终止密码子提前形成、插入/缺失突变或剪接突变, 上述突变导致 *WRN* 蛋白 C 端的核定位信号丢失和(或)产生无义突变 mRNA(不能翻译出 *WRN* 蛋白); *WRN* 蛋白的外切核酸酶结构域内的 2 个氨基酸取代突变 p.Lys125Asn(第 125 位的赖氨酸变为天冬酰胺)和 p.Lys135Glu(第 135 位的赖氨酸变为谷氨酸)使 *WRN* 蛋白不稳定, 这也属于 *WRN* 基因的功能缺失突变^[9]。因此, 临床确诊的 WS 患者中几乎所有突变的 *WRN* 基因都属于功能无效的基因。*WRN* 蛋白参与从 DNA 复制、转录、修复、重组到端粒和着丝粒区异染色质的维持等一系列细胞过程, 提示 WS 的发病机制与基因组和表观基因组的不稳定性有关^[10]。分离自 WS 患者的成纤维细胞具有染色体断裂增加、体外培养过程中过早衰老及端粒加速缩短等衰老表型^[11]。

1.2 儿童早衰症

儿童早衰症 (Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS) 是一种罕见的散发性常染色体显性遗传病^[12]。全球每 400 万~800 万例新生儿中会有 1 例患有该病^[13]。患儿出生时正常, 但在出生后很快就表现出许多特殊的临床症状, 如严重的生长迟缓^[14]、全身脱发、皮下脂肪及骨骼肌的丢失、皮肤皱缩、关节僵硬、骨密度降低和视力丧失等^[15]。随着年龄的增长, 患者会患有动脉粥样硬化、骨骼畸形和心血管疾病^[16], 患者通常在平均年龄 13 岁

时由于心血管疾病或中风而死亡^[12, 15]。

LMNA 基因编码核纤层蛋白 lamin A 和 lamin C, 其中 lamin A 的前体是 prelamins A。prelamin A 经过一系列加工, 变成它的最终形式 lamin A^[17]。正常情况下, 在细胞质中产生 prelamins A 后, 法尼基转移酶将一个法尼基基团连接到 prelamins A 的 C 端。法尼基化的 prelamins A 经过核孔转运到细胞核内^[18]。法尼基基团的存在使 prelamins A 暂时附着于内层核膜内表面。一旦蛋白质附着, 它就被蛋白酶 ZMPSTE24(FACE1)切割, 从而去除 C 端的法尼基基团及邻近的几个氨基酸。在被蛋白酶切割后, prelamins A 变为成熟的 lamin A^[19]。lamin A 与 lamin B、lamin C, 三者共同组成核纤层, 为细胞核提供结构支撑, 同时调节染色质的结构和基因的表达^[20]。

经典的 HGPS 是由于 *LMNA* 基因发生 C1824T 杂合突变引起的, 即 *LMNA* 基因第 1824 位的碱基发生了由胞嘧啶 C 变为胸腺嘧啶 T 的点突变 (C1824T)。该突变位点位于 *LMNA* 基因第 11 号外显子内, 这种突变激活了 mRNA 前体的一个剪接位点, 导致产生的 prelamins A 的 mRNA 缺失了 150 个碱基。这种异常的 mRNA 翻译产生 lamin A 蛋白的突变体, 称作 progerin, 其近 C 端发生了 50 个氨基酸的缺失, 其中包含蛋白酶 ZMPSTE24 (FACE1)的切割位点。结果, progerin 不能被蛋白酶 ZMPSTE24(FACE1)切割, 从而永久保留 C 端的法尼基基团, 导致它与内层核膜稳定结合而发生蓄积^[2], 进而导致各种细胞缺陷, 包括核结构的异常、异染色质的丢失、DNA 修复和氧化还原稳态的失衡等^[21]。(图 1)

2 人类早衰症的干预方法

2.1 WS 的干预方法

2.1.1 干细胞

干细胞的耗竭是机体衰老的原因之一^[22]。2013 年, Singh 等^[23]向 WS 早衰小鼠长期移植年轻的野生型小鼠间充质前体细胞, 发现可以延缓 WS 小鼠的衰老表型, 并能延长其寿命、改善健康状况。Wang 等^[24]发现, 与野生型人间充质干细胞(human mesenchymal stem cell, hMSC)相比, 转录因子 ATF6 在复制性衰老的 hMSC 和 WS 早衰的 hMSC 中表达下调, 并证实 ATF6 与 hMSC 的衰老有关, 在敲除 ATF6 的 hMSC 中表达 ATF6-CA

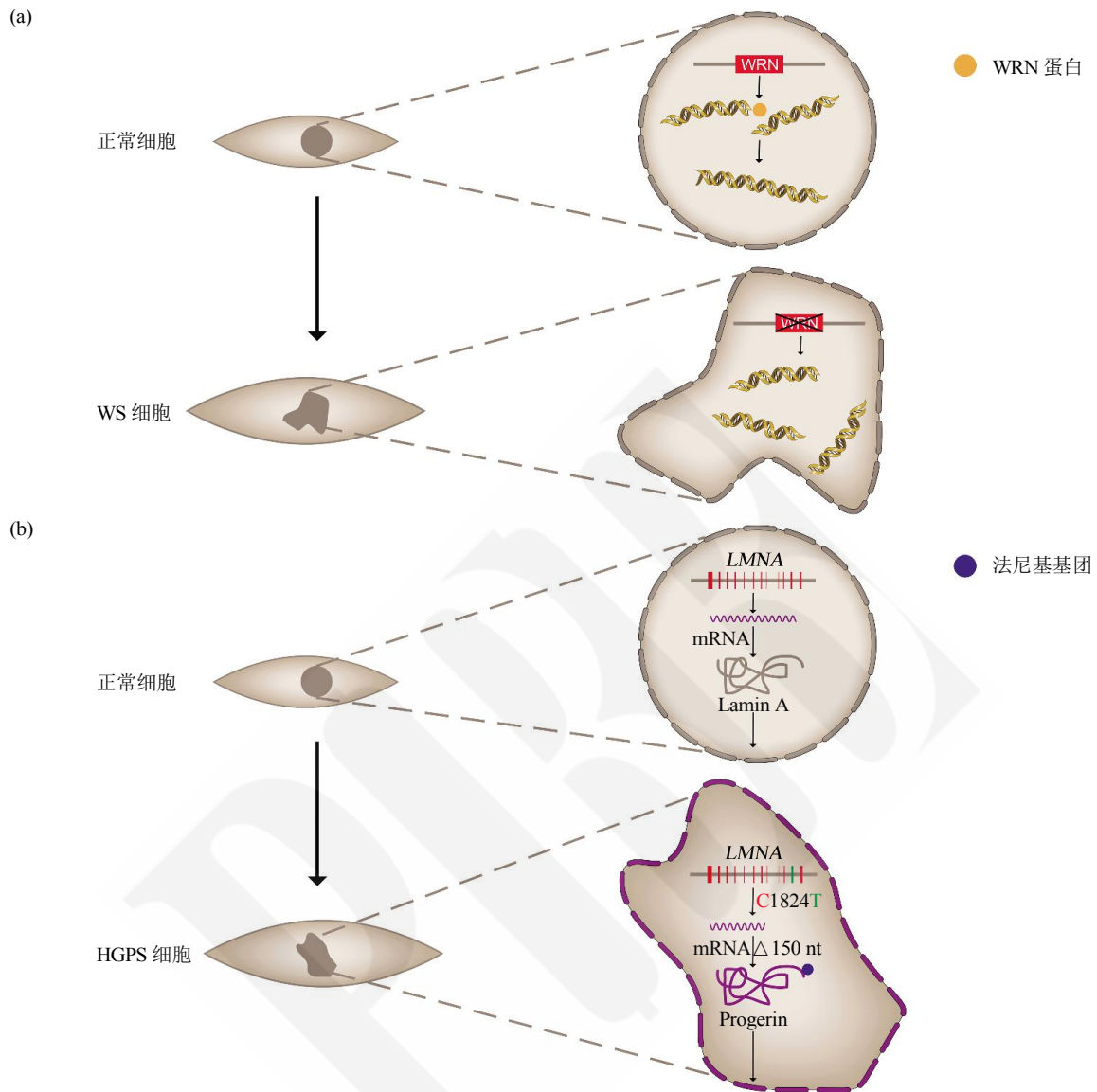


Fig. 1 The pathogenesis of WS and HGPS

图 1 WS 与 HGPS 的发病机制

正常细胞、WS 细胞、HGPS 细胞及其核的模式图。衰老细胞的胞体变大、核变大、核结构异常。(a) 正常成体细胞中，WRN 基因表达 WRN 蛋白，修复受损的 DNA，维持基因组的稳定性。WS 病人的细胞中，由于 WRN 基因突变，导致 WRN 蛋白缺失或无功能，基因组不稳定性增加，表现为 WS。(b) 正常人的细胞中，lamin A 蛋白由 LMNA 基因表达，与 lamin B 和 lamin C 一起形成核纤层。HGPS 病人的细胞中，由于 LMNA 基因发生 C1824T 点突变，导致其 lamin A 蛋白的 mRNA 丢失一段 150nt 的核酸，进而产生异常的 lamin A(progerin)蛋白，progerin 锚定于内层核膜，导致 HGPS 的发生。

(constitutively active version of ATF6)，能够部分恢复衰老细胞的增殖能力。Yang 等^[25]通过对 WS 的人胚胎干细胞模型的 NRF2 基因进行单碱基突变，并将其分化得到 hMSC(WS-hMSC)，获得了“遗传增强型干细胞”。WS-hMSC 经遗传增强后，自我更新能力增强，抵抗应激能力提高，延缓了 WS-hMSC 的细胞衰老和功能衰退，并具有更高的体内植入效率和功能再生效果，对 WS 和其他早衰

症的治疗具有很好的应用前景。

2.1.2 维生素 C

早在 2003 年，人们就发现利用抗坏血酸磷酸酯镁盐 (ascorbic acid phospholic ester magnesium salt, APM) 作为抗氧化剂处理正常人成纤维细胞和 WS 患者成纤维细胞，都可以延长细胞的复制寿命。APM 通过抑制细胞内的氧化压力，降低端粒的缩短速率来延长细胞的复制寿命^[26]。2010 年，

Massip 等^[27]发现维生素 C 可以逆转 WRN 基因突变小鼠寿命的缩短, 并且逆转了小鼠脂肪异常、基因组不稳定和炎症等衰老相关表型. 维生素 C 可以使正常在 WRN 基因突变小鼠中表达水平升高的 NF- κ B、蛋白激酶 C δ 和 Hif-1 α 的表达水平下降, 并可以使肥胖小鼠中一些与脂肪去分化和组织损伤反应相关的基因表达上调. 同时维生素 C 可以使小鼠的血清羟脯氨酸和纤溶酶原激活物抑制剂 1 (PAI-1)等心血管疾病 / 炎症的标记物表达下调. 维生素 C 作为还原性物质, 又起着抵抗细胞内氧化压力的作用, 从而延缓 WS 小鼠的加速衰老. 维生素 C 还可影响染色质凝聚、细胞周期调控、DNA 复制、DNA 损伤修复等过程相关基因的表达, 从而延缓 WS 小鼠间充质干细胞的衰老^[28].

除了动物模型之外, 维生素 C 在人类干细胞模型中也同样具有缓解 WS 表型的作用, 用维生素 C 处理 WS 患者的间充质干细胞, 发现维生素 C 缓解了多种细胞衰老表型, 如活性氧升高、端粒缩短、炎症因子过度分泌、异染色质解聚等, 同时还增强了 WS 患者的间充质干细胞在小鼠体内的生存能力^[29]. 因此维生素 C 可作为潜在药物治疗 WS.

2.1.3 槲皮素

槲皮素(quercetin)是一种常见的黄酮醇, 存在于许多水果和蔬菜中, 如苹果、浆果、洋葱等^[30]. Geng 等^[31]利用 WS-hMSC 进行抗衰老天然药物的筛选, 发现槲皮素具有很好的延缓细胞衰老的作用. 槲皮素通过促进 WS-hMSC 的自我更新和分化以及重塑其异染色质结构来延缓 WS-hMSC 的衰老. RNA-seq 结果显示, 槲皮素通过调节与细胞周期、染色质凝聚和抗氧化相关的细胞过程使 WS-hMSC 恢复活力, 这些是槲皮素和维生素 C 缓解 WS-hMSC 衰老表型的共性机制. 接受衰老细胞注射的年轻小鼠表现出多种身体功能受损, Xu 等^[32]对注射了衰老细胞的年轻小鼠联合使用达沙替尼(dasatinib)和槲皮素两种药物, 发现两种药物的联合使用选择性地杀死衰老细胞, 并延缓了这些接受衰老细胞注射的小鼠在步行速度、耐力和握力上的恶化. 此外, 槲皮素对 HGPS 及生理性衰老的 hMSC 也有延缓衰老的作用^[31].

2.1.4 mTOR 通路抑制剂

2014 年, Saha 等^[33]利用 shRNA 产生了第一个 WRN 蛋白表达降低的纤维母细胞系(WRN 蛋白含量下降至正常水平的 15%), 由于补偿作用, WRN 被敲低后的细胞自噬水平会提高, 而用雷帕霉素

(rapamycin)进行处理后, 则会进一步提高细胞的自噬水平. mTOR 途径会对细胞自噬产生抑制作用, 雷帕霉素可以抑制 mTOR 途径, 从而使自噬体的降解速度加快, 使细胞内蛋白质聚集体得以清除. WRN 蛋白敲低的细胞用雷帕霉素长期处理后, 由于雷帕霉素的刺激, 细胞自噬水平增强, 清除了细胞内大量的蛋白质聚集体, 从而减少了对 DNA 的损伤, 细胞核的异常形态也得到了恢复^[33]. 与雷帕霉素的作用类似, 用 NaHS(硫化氢钠)处理也可以抑制 WS 细胞的 mTOR 途径, 激活细胞自噬, 清除细胞内聚集的蛋白质, 从而缓解了 WS 细胞的早衰表型^[34].

2.1.5 p38 通路抑制剂

基因组的不稳定使胞内应激水平提高, 导致应激激酶 p38 MAPK 的激活, 进而加速细胞衰老. SB203580、VX-745、RO3201195、UR-13756 和 BIRB 796 等小分子是 p38 MAPK 信号通路的抑制剂, 利用这些抑制剂对 WS 细胞进行处理则可以逆转 WS 细胞的早衰表型^[35]. 例如, p38 的抑制剂 SB203580 可以有效地延长 WS 患者皮肤成纤维细胞的复制性寿命, 同时改善细胞的衰老表型, 而 p38 下游的 MAPKAPK2(MK2)的抑制剂也有逆转 WS 细胞表型的效果, 如其中的一种抑制剂 MK2. III 对于细胞衰老表型的逆转效率与 SB203580 几乎相同, MK2. III 对细胞复制寿命的延长效果要差一些, 但敲除 p38 的小鼠致死, MK2 抑制剂的安全性可能比 p38 抑制剂更高^[36]. 同时, 由于 SB203580 除抑制 p38 通路外还会抑制其他激酶, 所以 SB203580 具有较大的体内毒性. 后来又发展了一些更安全的 p38 抑制剂, 例如 BIRB796、VX702、SCIO-469 和 RO3201195. 此外, JNK 通路可能是提高细胞氧化应激水平的一个候选通路, JNK 抑制剂与 MK2 抑制剂的开发应用, 都是未来治疗 WS 比较有潜力的发展方向^[37-38].

2.2 HGPS 的干预方法

2.2.1 抑制 progerin 的法尼基化

2006 年, Fong 等^[39]第一次利用一种叫做 ABT-100 的法尼基转移酶抑制剂(farnesyltransferase inhibitor, FTI)对 HGPS 的早衰小鼠模型进行处理, 发现可以延长小鼠的寿命并改善早衰小鼠的健康状况. 之后, Capell 等^[40]利用另一种法尼基转移酶抑制剂 tipifarnib 对 HGPS 小鼠进行处理, 发现 FTI 可以有效地预防小鼠心血管疾病的发生.

FTI 最初被作为抗癌药使用, 由于在细胞培养

中发现 FTI 对 HGPS 患者来源的成纤维细胞的衰老具有非常明显的逆转效果, 且 FTI 对于儿童的副作用较小, 故将其用于治疗 HGPS. 用 FTI 治疗了两年的 HGPS 儿童表现出体重增加、头痛减轻等方面的改善^[41]. 由于末端半胱氨酸带有永久的法尼基基团, 导致 progerin 在内层核膜累积, 造成了细胞核形态的异常, 这是 HGPS 病人细胞的主要缺陷之一, 因此抑制法尼基化的过程可以缓解 HGPS 的症状^[42].

普伐他汀等他汀类药物抑制 HMG-CoA 还原酶的活性, 唑来膦酸等二磷酸盐抑制焦磷酸法尼酯合成酶的活性, 而这两种酶都在 progerin 法尼基化的途径中发挥重要作用. 因此利用他汀类药物、二磷酸盐以及 FTI 都可以抑制 progerin 的法尼基化过程, 从而缓解 HGPS 的症状^[43]. 2016 年, Gordon 等^[44]对 37 名 HGPS 志愿者采用洛那法尼(lonafarnib)、普伐他汀(pravastatin)和唑来膦酸(zoledronic acid)三种药物联合治疗的方法进行临床试验, 取得了初步进展. 患者经治疗后症状有所改善, 表现为体重增长、骨密度显著增加等. 在临床上, 利用 FTI、他汀类药物和二磷酸盐的混合治疗仍然是目前最好的方法, 但只能延长 HGPS 患者平均 1.6 年的生命^[45], 因此仍需开发疗效更好的药物用于治疗 HGPS.

2.2.2 NRF2 激动剂

SIRT6 基因是哺乳动物的长寿基因, 其产物 SIRT6 蛋白是 Sir2 组蛋白去乙酰化酶家族在哺乳动物中的同源蛋白质, SIRT6 缺失会导致与年龄相关的中胚层组织退化, SIRT6 缺失的 hMSC 呈现类似于早衰症细胞的加速衰老. 核因子 E2 相关因子(nuclear factor E2 related factor 2, NRF2)调节的靶基因是抗氧化基因 *HO-1*, Pan 等^[46]在 SIRT6 缺失的 hMSC 中发现, 过表达 *HO-1* 能够逆转 SIRT6 缺失的 hMSC 的衰老表型, 证明了 SIRT6 是 NRF2 的共激活因子, 激活 NRF2 可以逆转 SIRT6 缺失的 hMSC 的早衰表型.

2016 年, Kubben 等^[21]发现, 在 HGPS 患者来源的 iPSC 分化得到的 hMSC 中, progerin 会导致 NRF2 的错误定位, 致使 NRF2 转录活性被削弱、细胞内氧化压力增加, 进而产生 HGPS 的早衰症状, 并通过高通量药物筛选发现奥替普拉(oltpipraz, 一种 FDA 批准药物)等能激活 NRF2 通路的化合物可以通过增强 NRF2 通路活性来缓解 HGPS 疾病表型.

2.2.3 ICMT 小干扰 RNA

2013 年, Ibrahim 等^[47]在 HGPS 小鼠模型中利用 shRNA 抑制了异戊烯半胱氨酸羧甲基转移酶(isoprenylcysteine carboxyl methyltransferase, ICMT)的表达后, 发现小鼠的 AKT-mTOR 通路信号增强, 并且缓解了小鼠的早衰表型; 在 HGPS 患者成纤维细胞中利用 shRNA 对 ICMT 的表达进行抑制, 同样可以增强 AKT-mTOR 通路信号, 并延缓了 HGPS 患者成纤维细胞的老化, 但并不能使异常形态的细胞核恢复正常.

2.2.4 ROCK 抑制剂

在 2017 年, Kang 等^[48]利用 HGPS 病人的纤维母细胞进行高通量药物筛选, 筛选得到 Rho 相关蛋白激酶(rho-associated protein kinase, ROCK)的抑制剂 Y-27632, 其可以降低 HGPS 细胞内活性氧(ROS)的水平. 在细胞中, ROCK 会使 Rac1b 蛋白的第 71 位丝氨酸磷酸化, 从而加强 Rac1b 与细胞色素 c 之间的互作, 而 Rac1b 与细胞色素 c 之间互作加强会导致细胞内 ROS 水平的上升, 同时也会影响细胞色素氧化酶的活性, 从而对细胞的氧化磷酸化产生影响, 而用 Y-27632 处理之后, HGPS 细胞内的 ROCK 被抑制, 使细胞内 ROS 水平显著下降, 从而降低了 DNA 的损伤水平, 同时可使 HGPS 细胞异常的细胞核形态得到恢复. 因此, Y-27632 可作为一种用于治疗 HGPS 的潜在方法.

2.2.5 白藜芦醇

2012 年, Liu 等^[49]发现白藜芦醇(resveratrol)能够缓解 HGPS 小鼠的衰老表型. *SIRT1* 基因的产物 SIRT1 蛋白是 Sir2 组蛋白去乙酰化酶家族在哺乳动物中的同源蛋白质. 在哺乳动物细胞中, lamin A 是 SIRT1 的激活因子, SIRT1 蛋白通过与 lamin A 蛋白的 C 末端互作而被激活; 而在 HGPS 的细胞中, lamin A 的突变体 progerin 末端带有的法尼基基团干扰了二者结合, 导致 progerin 与 SIRT1 的互作非常弱, SIRT1 与核基质间的联系因此而减弱, SIRT1 的去乙酰化酶活性也随之减弱. 在服用白藜芦醇后, HGPS 小鼠的 SIRT1 与 lamin A 的互作得到增强, 从而增强了 SIRT1 的活性, 其去乙酰化酶活性也随之增强, 并挽救了 HGPS 小鼠模型中成体干细胞(如骨髓间充质干细胞)的减少. 服用白藜芦醇使 HGPS 小鼠的衰老表型得到缓解, 如体重丢失减少, 骨结构和骨密度的改善, 并显著延长了小鼠的寿命. 白藜芦醇在小鼠模型中的研究对人类 HGPS 早衰症具有一定的借鉴意义.

2.2.6 萝卜硫素

萝卜硫素(sulforaphane, SFN)是一种由植物产生的异硫氰酸盐. HGPS 细胞中 progerin 的蓄积打破了细胞核蛋白质组的稳态, 影响了蛋白质的降解途径、蛋白酶体活性和细胞自噬途径, 细胞内的 ATP 含量也大幅下降. 用 SFN 对 HGPS 患者皮肤成纤维细胞进行处理后, HGPS 细胞的生存率与对照组相比得到了提高, 细胞增殖能力得到改善, 胞内 ROS 水平降低, ATP 水平得到提高, DNA 损伤修复能力加强, 异染色质蛋白 HP1 α (为细胞核内异染色质的形成和维持所必需)水平得到恢复. SFN 还能提高细胞内蛋白酶体亚基、热激蛋白 HSP27 以及蛋白质降解途径相关蛋白质的表达水平, HGPS 细胞经 SFN 处理后, 细胞内蛋白酶体的活性和细胞的自噬水平也得到了明显提高, 继而提升了 HGPS 细胞中蓄积的 progerin 的清除速率, 降低了 progerin 的水平, 且对正常的 lamin A/C 无明显影响^[50-52].

2.2.7 1, 25 二羟维生素 D3

在 HGPS 患者体内, 维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)不断丢失. 而维生素 D 的代谢物——1, 25 二羟维生素 D3(1 α , 25-dihydroxyvitamin D3, 1, 25D)可以阻止 VDR 的不断丢失, 并缓解 HGPS 的多种早衰表型. 1, 25D 可以通过 VDR 来调节 LMNA 基因的表达水平从而降低细胞内

progerin 的水平. 在体外用 1, 25D 对 HGPS 患者来源的皮肤成纤维细胞进行持续处理后, 细胞内 progerin 的含量大大降低, 从而改善了 DNA 损伤修复能力、减轻了细胞核形态的异常, 进而延缓了 HGPS 细胞的早衰表型^[53]. 除上述化合物外, 全反式视黄酸、维甲酸、MG132 等化合物也可以降低 progerin 的表达或者清除 progerin, 从而缓解 HGPS 的症状^[54-55].

2.2.8 针对 progerin 的 RNA 疗法

在 2005 年, Scaffidi 和 Misteli^[56]使用与 progerin 的异常剪接位点互补的长 25 个碱基的的吗啉代反义寡核苷酸(morpholino antisense oligonucleotide)来抑制这个异常剪接位点的激活, 从而抑制了 mRNA 前体的错误剪接, 阻碍了错误剪接的发生从而逆转了 HGPS 患者来源的成纤维细胞的疾病表型. Osorio 等^[57]利用这个方法使 HGPS 小鼠模型的体重得到增加, 一些早衰症状也得到改善. 同时, 也可以利用 siRNA 来抑制 progerin 的 mRNA 产生, 从而达到缓解 HGPS 症状的目的^[41, 58]. 在 2016 年, Lee 等^[59]利用对 LMNA 基因第 11 号外显子设计的反义寡核苷酸序列(长度 20nt)来调控 HGPS 细胞 mRNA 的选择性剪接从而抑制 progerin 的产生, 减轻了 progerin 对细胞的毒性, 并且成功地减轻了 HGPS 小鼠模型中动脉的病理性变化. (表 1)

Table 1 The therapeutic interventions of WS and HGPS
表 1 WS 与 HGPS 的干预方法

WS		HGPS	
干预手段	机制	干预手段	机制
体内植入 GES 细胞	<i>NRF2</i> 基因经单碱基突变得遗传增强型干细胞.	FTI, 他汀类药物和二磷酸盐	抑制 progerin 的法尼基化过程.
APM	抗氧化剂, 降低胞内 ROS 水平.	奥普替拉等激活 <i>NRF2</i> 途径的化合物	激活 <i>NRF2</i> 通路.
维生素 C	抗氧化剂, 降低胞内 ROS 水平, 调节相关基因表达.	ICMT 抑制剂	抑制 progerin 合成过程的羧甲基化, 增强 AKT-mTOR 通路活性.
槲皮素	调节细胞周期, 染色质凝聚和抗氧化相关的过程.	ROCK 抑制剂	抑制 ROCK 通路, 降低胞内 ROS 水平.
雷帕霉素, 巯氢化钠等 mTOR 通路抑制剂	抑制 mTOR 通路, 增强细胞自噬水平.	槲皮素	可能为激活 <i>NRF2</i> 通路.
p38 抑制剂	抑制 p38 通路活性.	白藜芦醇	协同 lamin A 增强对 SIRT1 的激活效果.
MK2. III 等 MK2 抑制剂	抑制 p38 通路下游的 MK2 通路.	萝卜硫素	提高自噬水平, 清除 progerin, 减少其积累.
JNK 通路抑制剂	抑制 JNK 通路活性.	1, 25 D	阻止 VDR 丢失, 并通过 VDR 调节 LMNA 基因表达.
		RNA 疗法	阻止 mRNA 错误剪接的发生或降解错误剪接的 mRNA.

3 总结与展望

WS 和 HGPS 是两种著名的人类早衰症，两者都是由于某一基因发生突变导致的罕见遗传类疾病。最初，Davis 等^[60]提出，能够特异性阻止衰老的炎症途径的药物可以作为干预和治疗早衰症的方法和手段。虽然人们开发了多种对抗早衰症的方法，但至今为止仍然没有一种方法可以完全治愈早衰症。目前的方法通常是抑制早衰过程的某一通路，或者通过提高细胞自噬等手段减少错误蛋白质的合成。

WS 和 HGPS 都属于罕见病，病例的少发性给这两种典型的人类早衰症的早期研究带来了较大的困难，由于实验材料来源有限(WS 一般只利用敲低 WRN 蛋白表达来进行模拟)，一直都没有很好的人类细胞模型来进行研究。随着干细胞技术和基因编辑技术的发展，人为地建立起 WS 和 HGPS 的人类干细胞模型才使得人们有足够的实验材料开展更深入的研究。2011 年，Liu 等^[61]利用携带有 OCT4、SOX2、KLF4 和 c-MYC 的逆转录病毒转染 HGPS 病人的成纤维细胞，成功获得了 HGPS 患者来源的 iPSCs(HGPS-iPSCs)，随后 Wu 等^[62]又利用基因编辑技术产生了 HGPS 的胚胎干细胞系 HGPS-ESCs。而对于 WS 的细胞系而言，2014 年，Cheung 等^[63]和 Shimamoto 等^[64]分别独立建立了 WS 患者来源的 iPSCs，2015 年，Zhang 等^[10]利用 HDAdV 技术成功获得了 WS-ESCs 细胞系，从而建立了两种早衰症的亚全能干细胞系，使得利用干细胞定向分化技术大量获得早衰症的细胞成为可能。Liu 等^[65]利用 HDAdV 技术成功修复了 HGPS-iPSCs 的 LMNA 基因突变，将经基因矫正过的 HGPS-iPSCs 体外定向分化为血管平滑肌细胞，发现 HGPS 血管平滑肌细胞的疾病表型和 progerin 均消失，细胞恢复活力。上述研究为早衰症的干预治疗提供了新的思路。

参 考 文 献

- [1] Kubben N, Misteli T. Shared molecular and cellular mechanisms of premature ageing and ageing-associated diseases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2017, **18**(10): 595–596
- [2] Vidak S, Foisner R. Molecular insights into the premature aging disease progeria. *Histochemistry & Cell Biology*, 2016, **145**(4): 401–417
- [3] Coppède F. Premature aging syndrome. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 2012, **724**: 317–331
- [4] Oshima J, Sidorova J M, Jr M R. Werner syndrome: clinical features, pathogenesis and potential therapeutic interventions. *Ageing Research Reviews*, 2016, **33**: 105–114
- [5] Shamanna R A, Croteau D L, Lee J H, *et al.* Recent advances in understanding werner syndrome. *F1000 Research*, 2017, **6**(F1000 Faculty Rev): 1779
- [6] Mohaghegh P, Hickson I D. Premature aging in RecQ helicase-deficient human syndromes. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2002, **34**(11): 1496–1501
- [7] Friedrich K, Lee L, Leistriz D F, *et al.* WRN mutations in Werner syndrome patients: genomic rearrangements, unusual intronic mutations and ethnic-specific alterations. *Human Genetics*, 2010, **128**(1): 103–111
- [8] Uhrhammer N A, Lafarge L, Dos S L, *et al.* Werner syndrome and mutations of the WRN and LMNA genes in France. *Human Mutation*, 2006, **27**(7): 718–719
- [9] Huang S, Lee L, Hanson N B, *et al.* The spectrum of WRN mutations in Werner syndrome patients. *Human Mutation*, 2006, **27**(6): 558–567
- [10] Zhang W, Li J, Suzuki K, *et al.* A Werner syndrome stem cell model unveils heterochromatin alterations as a driver of human aging. *Science*, 2015, **348**(6239): 1160–1163
- [11] Melcher R, Von G R, Steinlein C, *et al.* Spectral karyotyping of Werner syndrome fibroblast cultures. *Cytogenetic & Genome Research*, 2000, **91**(1–4): 180–185
- [12] Mohammed S. Phenotype and course of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *New England Journal of Medicine*, 2008, **358**(6): 592–604
- [13] Pollex R L, Hegele R A. Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Clinical Genetics*, 1978, **71**(7): 877–879
- [14] Copped & Xe F. The epidemiology of premature aging and associated comorbidities. *Clinical Interventions in Aging*, 2013, **8**(default): 1023–1032
- [15] Hennekam R C. Hutchinson-Gilford progeria syndrome: review of the phenotype. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 2006, **140**(23): 2603–2624
- [16] Mehta I S, Eskiw C H, Arican H D, *et al.* Farnesyltransferase inhibitor treatment restores chromosome territory positions and active chromosome dynamics in Hutchinson-Gilford progeria syndrome cells. *Genome Biology*, 2011, **12**(8): R74
- [17] Musich P R, Zou Y. Genomic instability and DNA damage responses in progeria arising from defective maturation of prelamin A. *Aging*, 2009, **1**(1): 28–37
- [18] Korf B. Hutchinson-Gilford progeria syndrome, aging, and the nuclear lamina. *New England Journal of Medicine*, 2008, **358**(6): 552–555
- [19] Gonzalo S, Kreienkamp R, Askjaer P. Hutchinson-Gilford progeria syndrome: a premature aging disease caused by LMNA gene mutations. *Ageing Research Reviews*, 2017, **33**: 18–29
- [20] Dittmer T A, Misteli T. The lamin protein family. *Genome Biology*, 2011, **12**(5): 1–14
- [21] Kubben N, Zhang W, Wang L, *et al.* Repression of the antioxidant NRF2 pathway in premature aging. *Cell*, 2016, **165**: 1361–1374
- [22] Lópezotín C, Blasco M A, Partridge L, *et al.* The hallmarks of

- aging. *Cell*, 2013, **153**(6): 1194–1217
- [23] Singh L, Brennan T A, Kim J H, *et al.* Long-term functional engraftment of mesenchymal progenitor cells in a mouse model of accelerated aging. *Stem Cells*, 2013, **31**(3): 607–611
- [24] Wang S, Hu B, Ding Z, *et al.* ATF6 safeguards organelle homeostasis and cellular aging in human mesenchymal stem cells. *Cell Discovery*, 2018, **4**(1):1-19
- [25] Yang J, Li J, Suzuki K, *et al.* Genetic enhancement in cultured human adult stem cells conferred by a single nucleotide recoding. *Cell Research*, 2017, **27**(9): 1178–1181
- [26] Kashino G, Kodama S, Nakayama Y, *et al.* Relief of oxidative stress by ascorbic acid delays cellular senescence of normal human and Werner syndrome fibroblast cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003, **35**(4): 438–443
- [27] Massip L, Garand C, Paquet E R, *et al.* Vitamin C restores healthy aging in a mouse model for Werner syndrome. *FASEB Journal*, 2010, **24**(1): 158–172
- [28] Auilley L, Dubois M J, Garand C, *et al.* Impact of vitamin C on the cardiometabolic and inflammatory profiles of mice lacking a functional Werner syndrome protein helicase. *Experimental Gerontology*, 2015, **72**: 192–203
- [29] Li Y, Zhang W, Chang L, *et al.* Vitamin C alleviates aging defects in a stem cell model for Werner syndrome. *Protein & Cell*, 2016, **7**(7): 478–488
- [30] Costa L G, Garrick J M, Roquè P J, *et al.* Mechanisms of neuroprotection by quercetin: counteracting oxidative stress and more. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, **2016**(7): 2986796.
- [31] Geng L, Liu Z, Zhang W, *et al.* Chemical screen identifies a geroprotective role of quercetin in premature aging. *Protein & Cell*, 2018. DOI: 10.1007/s13238-018-0567-y
- [32] Xu M, Pirtskhalava T, Farr J N, *et al.* Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nature Medicine*, 2018. DOI: 10.1038/s41591-018-0092-9
- [33] Saha B, Cypro A, Martin G M, *et al.* Rapamycin decreases DNA damage accumulation and enhances cell growth of WRN-deficient human fibroblasts. *Aging Cell*, 2014, **13**(3): 573–575
- [34] Talaei F, Van Praag V M, Henning R H. Hydrogen sulfide restores a normal morphological phenotype in Werner syndrome fibroblasts, attenuates oxidative damage and modulates mTOR pathway. *Pharmacological Research*, 2013, **74**: 34–44
- [35] Bagley M C, Davis T, Murziani P G S, *et al.* Use of p38 MAPK inhibitors for the treatment of werner syndrome. *Pharmaceuticals*, 2010, **3**(6): 1842–1872
- [36] Davis T, Davis M J, Bagley M C, *et al.* The effect of small-molecule inhibition of MAPKAPK2 on cell ageing phenotypes of fibroblasts from human Werner syndrome. *Chemistry Central Journal*, 2013, **7**(1): 18
- [37] Davis T, Wyllie F S, Rokicki M J, *et al.* The role of cellular senescence in Werner syndrome: toward therapeutic intervention in human premature aging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2007, **1100**: 455–469
- [38] Bagley M C, Davis T, Dix M C, *et al.* Microwave-assisted synthesis of 5-aminopyrazol-4-yl ketones and the p38MAPK inhibitor RO3201195 for study in Werner syndrome cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2008, **18**(13): 3745–3748
- [39] Fong LG, Frost D, Meta M, *et al.* A protein farnesyltransferase inhibitor ameliorates disease in a mouse model of progeria. *Science*, 2006, **311**(5767): 1621–1623
- [40] Capell B C, Olive M, Erdos M R, *et al.* A farnesyltransferase inhibitor prevents both the onset and late progression of cardiovascular disease in a progeria mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(41): 15902–15907
- [41] Gordon L B, Rothman F G, López-Otín C, *et al.* Progeria: a paradigm for translational medicine. *Cell*, 2014, **156**(3): 400–407
- [42] Bikkul M U, Clements C S, Godwin L S, *et al.* Farnesyltransferase inhibitor and rapamycin correct aberrant genome organisation and decrease DNA damage respectively, in Hutchinson-Gilford progeria syndrome fibroblasts. *Biogerontology*, 2018. doi: 10.1007/s10522-018-9758-4
- [43] Gordon L B, Massaro J, D'agostino R B, *et al.* Impact of farnesylation inhibitors on survival in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Circulation*, 2014, **130**(1): 27–34
- [44] Gordon L B, Kleinman M E, Massaro J, *et al.* Clinical trial of protein farnesylation inhibitors lonafarnib, pravastatin and zoledronic acid in children with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Circulation*, 2016, **134**(2): 114–125
- [45] Gordon L B, Kleinman M E, Miller D T, *et al.* Clinical trial of a farnesyltransferase inhibitor in children with Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, **109** (41): 16666-16671
- [46] Pan H, Di G, Liu X, *et al.* SIRT6 safeguards human mesenchymal stem cells from oxidative stress by coactivating NRF2. *Cell Research*, 2016, **26**(2): 190–205
- [47] Ibrahim M X, Sayin V I, Akula M K, *et al.* Targeting isoprenylcysteine methylation ameliorates disease in a mouse model of progeria. *Science*, 2013, **340**(6138): 1330–1333
- [48] Kang H T, Park J T, Choi K, *et al.* Chemical screening identifies ROCK as a target for recovering mitochondrial function in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Aging Cell*, 2017, **16**(3): 541–550
- [49] Liu B, Ghosh S, Yang X, *et al.* Resveratrol rescues SIRT1-dependent adult stem cell decline and alleviates progeroid features in laminopathy-based progeria. *Cell Metabolism*, 2012, **16** (6): 738–750
- [50] Gabriel D, Roedl D, Gordon L B, *et al.* Sulforaphane enhances progerin clearance in Hutchinson-Gilford progeria fibroblasts. *Aging Cell*, 2015, **14**(1): 78–91
- [51] Gan N, Wu Y C, Brunet M, *et al.* Sulforaphane activates heat shock response and enhances proteasome activity through Up-regulation of Hsp27. *Journal of Biological Chemistry*, 2010, **285**(46): 35528–35536
- [52] Viteri G, Chung Y W, Stadtman E R. Effect of progerin on the accumulation of oxidized proteins in fibroblasts from Hutchinson

- Gilford progeria patients. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2010, **131**(1): 2–8
- [53] Kreienkamp R, Croke M, Neumann M A, *et al.* Vitamin D receptor signaling improves Hutchinson-Gilford progeria syndrome cellular phenotypes. *Oncotarget*, 2016, **7**(21): 30018–30031
- [54] Cicero A L, Jaskowiak A L, Egesipe A L, *et al.* A high throughput phenotypic screening reveals compounds that counteract premature osteogenic differentiation of HGPS iPSC-derived mesenchymal stem cells. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 34798
- [55] Harhoury K, Navarro C, Depetris D, *et al.* MG132-induced progerin clearance is mediated by autophagy activation and splicing regulation. *EMBO Molecular Medicine*, 2017, **9**(9): 1294–1313
- [56] Scaffidi P, Misteli T. Reversal of the cellular phenotype in the premature aging disease Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature Medicine*, 2005, **11**(4): 440–445
- [57] Osorio F G, Navarro C L, Cadiñanos J, *et al.* Splicing-directed therapy in a new mouse model of human accelerated aging. *Science Translational Medicine*, 2011, **3**(106): 106–107
- [58] Huang S, Chen L, Libina N, *et al.* Correction of cellular phenotypes of Hutchinson-Gilford Progeria cells by RNA interference. *Human Genetics*, 2005, **118**(3–4): 444–450
- [59] Lee J M, Nobumori C, Tu Y, *et al.* Modulation of LMNA splicing as a strategy to treat prelamin A diseases. *Journal of Clinical Investigation*, 2016, **126**(4): 1592–1602
- [60] Davis T, Kipling D. Werner Syndrome as an example of inflamm-aging: possible therapeutic opportunities for a progeroid syndrome?. *Rejuvenation Research*, 2006, **9**(3): 402–407
- [61] Liu G H, Barkho B Z, Ruiz S, *et al.* Recapitulation of premature aging with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*, 2011, **472**(7342): 221–225
- [62] Wu Z, Zhang W, Song M, *et al.* Differential stem cell aging kinetics in Hutchinson-Gilford progeria syndrome and Werner syndrome. *Protein & Cell*, 2018, **9**(4): 333–350
- [63] Cheung H H, Liu X, Canterel-Thouennon L, *et al.* Telomerase protects werner syndrome lineage-specific stem cells from premature aging. *Stem Cell Reports*, 2014, **2**(4): 534–546
- [64] Shimamoto A, Kagawa H, Zensho K, *et al.* Reprogramming suppresses premature senescence phenotypes of Werner syndrome cells and maintains chromosomal stability over long-term culture. *Plos One*, 2014, **9**(11): e112900
- [65] Liu G H, Suzuki K, Qu J, *et al.* Targeted gene correction of laminopathy-associated LMNA mutations in patient-specific iPSCs. *Cell Stem Cell*, 2011, **8**(6): 688–694

Premature Aging Disorders: Mechanisms and Potential Therapeutic Interventions*

WANG Ze-Hua^{1)**}, LI Hong-Yu^{2)**}, QU Jing^{1,3)***}, ZHANG Wei-Qi^{2,3)***}, LIU Guang-Hui^{2,3)***}

¹⁾ State Key Laboratory of Stem Cell and Reproductive Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

²⁾ National Laboratory of Biomacromolecules, Institute of Biophysics, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China;

³⁾ Institute of Stem cell and Regeneration, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract Aging is a process of gradual functional deterioration at the cellular and organismal level. Progeroid syndromes represent a group of rare genetic disorders with features of premature aging. Werner syndrome (WS) and Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS) are two of the best characterized human progeroid syndromes. The study of premature aging is helpful to understand the physiological processes of human aging and is useful for the prevention and treatment of aging-related diseases. This review focuses on the mechanisms and potential therapeutic interventions of these two progeroid diseases.

Key words human, premature aging, progeroid syndrome, WS, HGPS, mechanism

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0199

* This work was supported by grants from The Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA16010100), The National Basic Research Program of China (2015CB964800, 2017YFA0103304, 2017YFA0102802, 2014CB910503, 2014CB964600, 2018YFA0107203), and the National Natural Science Foundation of China (91749202, 31471394, 31671429, 91749123, 81625009, 81330008, 81371342, 81471414, 81422017, 81601233, 81671377, 31601109, 31601158, 81771515, 81701388, 31571533, 31621004, 81822018).

**These authors contributed equally to this work.

***Corresponding author. Tel: 86-10-64889970

QU Jing. E-mail: qujing@ioz.ac.cn

ZHANG Wei-Qi. E-mail: weiqizhang@aliyun.com

LIU Guang-Hui. E-mail: ghliu@ibp.ac.cn

Received: July 17, 2018 Accepted: August 3, 2018