

· 论 坛 ·

关于延长“健康寿命”这一老龄社会新医学模式的探索

沈自尹 张新民 黄建华 蔡外娇 陈伟华

随着人类寿命的延长,高龄但多病的老人增长迅速^[1]。在中国,到 2020 年,老年人口占总人口的比例将达到 17.17%,约 2.48 亿^[2]。在这一人口基数巨大的老年群体中,肿瘤、高血压病、心脏病、糖尿病、神经退行性病变等各种老年病患病率已接近 50%^[3]。干预衰老,增强机体应激能力,延长无疾病有功能的健康寿命(healthspan)成为老年社会的医疗新模式^[4]。

寻找能够延长健康寿命的药物或手段为现今老龄化社会所急需。目前,限制饮食(dietary restriction, DR)、雷帕霉素和白藜芦醇是国际认同的延长寿命药物,但能否延长健康寿命质疑重重^[5-7]。因 DR 在人类推行存在许多实际的困难并且已经证实不能延长灵长类动物的寿命^[5];雷帕霉素为免疫抑制剂,具有明显的毒副作用^[6];白藜芦醇已被证实不能延长正常饮食的小鼠寿命^[7]。寻找可靠的、能够推广的延长健康寿命的手段亟待解决。

中医学强调“延年益寿”,与现代生物医学研究的延长健康寿命的核心理念一致。本课题组在肾虚证相关研究中发现衰老与肾虚表现相似,而传统延缓衰老的方药又以补肾药为主,因此,自 1982 年起课题组开展了补肾法延缓衰老的系列研究。早期研究发现,衰老与肾虚具有相同的神经内分泌免疫(NEI)网络功能紊乱低下^[8,9]。经过补肾药与非补肾药、单味药与复方的筛选,又发现补肾药淫羊藿的主要成分淫羊藿总黄酮(EF)及其有效单体淫羊藿苷(ICA)可以代表几个温肾复方(补肾益寿片、温阳片、右归饮)调整提高 NEI 网络功能^[10]。在此基础上,课题组进行了 EF、ICA 延长健康寿命的基础研究。课题历时 30 余年,选择了人二倍体成纤维细胞衰老模型、低等模式生物秀丽线虫及果蝇、哺乳动物小鼠、大鼠作为实验模型,利

用基因芯片、代谢组学、数学模型等多种手段,分三个主要部分对补肾药组份 EF 及 ICA 干预健康寿命的效果和机制进行了探索。

1 补肾药淫羊藿组分 EF 及 ICA 能延长多种模式生物的健康寿命 EF 含药血清、EF 及 ICA 能显著提高细胞衰老模型人二倍体成纤维细胞的传代次数并延缓端粒缩短^[11]。EF、ICA 能显著延长低等模式生物秀丽线虫及果蝇的寿命并能显著改善老年线虫健康寿命相关指标、降低老年果蝇自由基生成、提高自由基清除酶系的转录表达^[12]。2007 年起,课题组以线虫为研究模型进行了一组健康寿命相关的实验,发现 EF 及 ICA 不损害线虫的生殖能力、能显著提高线虫的热压力应急和氧化压力应激能力、显著改善老年期线虫运动能力的衰退、抑制老年线虫肌肉细胞的流失、显著延缓 PolyQ 及 β_1-42 聚集蛋白毒性介导的瘫痪表型的发生发展^[13,14]。

ICA 能显著延长小鼠的平均寿命、提高老年小鼠股骨骨密度、改善老年小鼠的神经肌肉协调性及认知学习功能。在细胞衰老模型以及简单模式生物上确认了 EF 及 ICA 延长寿命的效果后,课题组启动了哺乳动物的寿命实验。发现 EF、ICA 能够减轻老年相关性改变,提高老年时期的生活质量,且 ICA 的作用能够代替 EF 的作用,甚至在提高骨密度方面其作用优于 EF 和限食的作用。

2 EF、ICA 能够显著逆转机体在基因组、代谢组、单个信号通路的增龄性改变 在 7 个组织共得到 199 个基因表达具有年龄依赖特征,EF 对其中大部分基因具有逆转作用,对这些基因的功能分析表明相当一部分基因为神经内分泌相关基因,如 GABA、TRH、TSH、GnRH、PRL 等。还发现代谢相关的基因如 CytochromeP450、NADH dehydrogenase、Glucose-6-phosphatase 等随着年龄增加而表达下调,EF 对此有显著的逆转作用^[15,16]。对血清代谢组数据分析发现,17 个代谢物随增龄而差异表达,其中大部分为脂肪酸类物质,如亚麻仁油酸、棕榈酸、油酸等,主要变化趋势是随增龄而降低,EF 能显著提高这类代谢物水平^[17,18]。

对 NF- κ B 信号通路相关基因表达进行分析发现,

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)资助项目(No. 2010CB530400);卫生局中医处中医药三年行动计划辉氏中西医汇通派

作者单位:复旦大学附属华山医院中西医结合研究所(上海 200040)

通讯作者:沈自尹, Tel: 021 - 52888223, E-mail: ziyinshen@126.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2014. 10. 1157

NF- κ B 通路芯片基因共含基因 125 个, 104 个基因在组间差异表达, 表明 NF- κ B 信号通路在衰老进程中变化显著。研究各组基因表达的整体水平, 发现随着增龄, 芯片的平均荧光强度显著下降, 表明基因表达的整体水平随着增龄而下降; EF 作用之后上升, 其中与淋巴细胞增殖和抗凋亡相关的基因如 MAPK1、NF- κ B、AKT、Fos、Jun、IL-1、IL-2、Rel 1 等表达随增龄显著降低, 而 EF 使其显著上调^[19,20]。

对全基因组数据建立衰老神经网络数学模型, 结果显示 EF 能将 24 月龄大鼠的代谢物水平重置到 18 月龄水平, 而能将老龄鼠 NF- κ B 信号通路基因表达逆转到 10.5 月龄水平, 表明 EF 对该信号通路基因表达具有明显的逆转效果^[15,16]。

3 EF 和 ICA 可能通过提高基因组的稳定性延长健康寿命 基因组不稳定是衰老发生过程的核心环节。减少 DNA 损伤、增加基因组稳定性可延长寿命并改善老年时期的身体适应性^[21], 因此本研究进一步探讨 EF、ICA 对小鼠自然衰老过程中基因组稳定性的影响, 进行了一组包括超氧化物歧化酶(SOD)、膜脂过氧化产物丙二醛(MDA)、DNA 双链断裂(DSBs)、DNA 损伤反应功能分类芯片以及长寿因子 SIRT6 的检测, 发现 EF、ICA 能够降低机体氧化损伤、减少体内 DSBs 的发生。ICA 能在体外激活长寿因子去乙酰化酶 SIRT6, 并提高老年小鼠体内的 SIRT6 蛋白表达。长寿因子 SIRT6 有利于 DNA 双股螺旋解链与碱基同源配对重组, 从而促进 DNA 末端碱基切除修复, 维持基因组的稳定性^[22]。在早期的衰老研究中, 科学家认为纯粹的衰老研究应与衰老相关疾病严格区分开来。衰老相关疾病一般指伴随衰老其发病率增加的疾病。目前认为的衰老相关疾病主要为心血管疾病、肿瘤、风湿、骨质疏松症、白内障、2 型糖尿病、高血压病及老年痴呆等^[4,23]。但随着研究的推进, 众多证据支持衰老进程本身是衰老相关疾病的基本风险因子^[4,23]。因此, 如何降低衰老相关疾病, 提高老年人晚年生活质量, 延长无疾病有功能的健康寿命成为衰老研究的热点^[23,24]。

健康寿命的概念在 21 世纪初出现, “健康寿命”英文“healthspan”由两个词语“health”与“lifespan”组合而成。课题组对此的研究方法主要采取中医传统的“以药测证”。“以药测证”是神农尝百草以辨别中药性味的延续, 而且运用在造模的动物实验中, 通过对证的干预, 可以观察到中药干预后“证”的变化轨迹以及测定中药对于证干预的效验。其评价要点包括: (1) 改善衰老相关退化, 如肌肉萎缩、行动能力减

退、认知学习能力减退及主要脏器退化; (2) 推迟或防治衰老相关疾病的发生发展, 如神经退行性病变和骨质疏松; (3) 增强机体应激能力、神经肌肉协同能力等^[21,24]。依据此, 课题组设计了一系列实验, 先在细胞衰老模型及低等模式生物秀丽线虫及果蝇中确定补肾药 EF 及其主要成分 ICA 干预健康寿命的效果, 进而在哺乳动物小鼠及大鼠中进行验证, 利用不同模式生物的优势证实了 EF 及 ICA 能够延长多种生物的健康寿命。

衰老是多细胞生物最为复杂的生物过程之一, 是长期发展, 逐渐积累而形成, 因此通过衰老的时间依赖规律的研究对揭示衰老的本质可能更有价值; 另外, 衰老时组成机体的各种组织、各个系统、各个层次都在发生变化, 因此需要研究不同层面的衰老规律是否有组织特异性或层次特异性, 并需要从整体观角度来审视机体衰老时不同层面基因与代谢变化的规律。在本课题组研究中, 设置 4、10、18、24 月龄的时间序列, 观察基因组、代谢组、单个信号通路等不同层面的变化, 用数学模型来整合数据和预测行为, 并且用前期研究证明延缓衰老有效的 EF 进行干预。结果发现 EF 能够在基因组、代谢组、单个信号通路等 3 个层面上逆转大鼠的增龄性改变。这组实验不仅从整体角度证实 EF 能改善健康状态, 也在不同分子层面上有力地佐证了 EF 能延长健康寿命。

基因组不稳定是衰老发生过程的核心环节。机体细胞大分子物质经常暴露于体内外的各种损伤。体外的损伤包括有紫外线的照射和环境中的其他有毒物质, 而体内的损伤主要是来自活性氧(ROS)和自发水解作用。渐进的、不可逆的损伤累积损害机体功能, 增加发病率, 从而影响衰老的进程。细胞核 DNA 是细胞的主要遗传物质, 贯穿细胞的整个生命过程, 如果 DNA 损伤累积超过了 DNA 修复机制的清除能力, 将导致细胞的老化或凋亡, 从而促进衰老过程。因此, 我们进一步探讨 EF 及其单体成分 ICA 对小鼠自然衰老过程中基因组稳定性的影响, 发现 EF 及 ICA 能显著提高机体的抗氧化能力与基因组不稳定的检测能力。进一步, 我们检测了 ICA 对 NAD⁺ 依赖的组蛋白去乙酰化酶 SIRT6 的作用。研究证实, SIRT6 有利于 DNA 双股螺旋解链与碱基同源配对重组, 从而促进 DNA 末端碱基切除修复, 维持基因组的稳定性。

自由基攻击大分子 DNA, 容易造成 DNA 损伤, 而 DNA 损伤积累可促使炎症细胞因子过表达, 造成基因组的不稳定性。端粒长度是维持基因组稳定的重要因素, 去乙酰化酶 SIRT6 在维持端粒和促进 DNA

修补方面起着关键作用。综合研究结果,推测 EF 和 ICA 通过对抗自由基、减轻 DNA 损伤与炎症、延缓端粒缩短、增强 SIRT6 的活性从而提高基因组的稳定性以延长健康寿命。

中西医结合医学是我国特有的医疗保健体系。中医学“延年益寿”的核心概念与现代医学“健康寿命(healthspan)”的理念一致,如能将两者融合在一起,中西医结合老年医学必定能在老年医学领域走出一条简单、实用、高效、经济的中国特色老年医学模式的路径,极大缓解我国面临的老龄化压力。

参 考 文 献

- [1] 冷晓. 美国老年医学的理念和实践[J]. 中国实用内科杂志, 2011, 31(1): 31-33.
- [2] 沈悌. 21 世纪我国老年医学发展方向[J]. 中国实用内科杂志, 2011, 31(1): 6-7.
- [3] Hadley EC, Lakatta EG, Morrison-Bogorad M, et al. The future of aging therapies[J]. Cell, 2005, 120(4): 557-567.
- [4] Butler RN, Miller RA, Perry D, et al. New model of health promotion and disease prevention for the 21st century[J]. BMJ, 2008, 8: 337.
- [5] Mattison JA, Roth GS, Beasley TM, et al. Impact of caloric restriction on health and survival in rhesus monkeys from the NIA study[J]. Nature, 2012, 489(7415): 318-321.
- [6] Hughes JK, Kennedy BK. Rapamycin paradox resolved[J]. Science, 2012, 335(6076): 1578-1579.
- [7] Baur JA, Pearson KJ, Price NL, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet[J]. Nature, 2006, 444(7117): 337-342.
- [8] 王文健, 沈自尹, 张新民, 等. 补肾法对老年男性下丘脑-垂体-性腺轴作用的临床和实验研究[J]. 中医杂志, 1986, 27(4): 32-36.
- [9] 张新民, 沈自尹, 王文健, 等. 补肾中药对老年神经-内分泌和免疫系统作用机理的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1994, 14(11): 686-688.
- [10] 沈自尹, 陈瑜, 黄建华, 等. EF 延缓 HPAT 轴衰老的基因表达谱研究[J]. 中国免疫学杂志, 2004, 20(1): 59-62.
- [11] 胡作为, 沈自尹, 黄建华. 淫羊藿总黄酮保护衰老细胞端粒长度缩短的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(12): 1094-1097.
- [12] 沈自尹, 袁春燕, 黄建华, 等. 淫羊藿总黄酮延长果蝇寿命及其分子机制[J]. 中国老年学杂志, 2005, 25(9): 1061-1063.
- [13] 蔡外娇, 张新民, 黄建华, 等. 淫羊藿总黄酮延缓秀丽隐杆线虫衰老的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(6): 522-525.
- [14] Cai WJ, Huang JH, Zhang SQ, et al. Icaritin and its derivative icariside II extend health span via insulin/IGF-1 pathway in *C. elegans* [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28835
- [15] 黄建华, 沈自尹, 吴斌, 等. 从基因表达谱和代谢组学角度探讨淫羊藿总黄酮延缓衰老的效应及机制[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(1): 47-50.
- [16] Wang Q, Huang J, Zhang X, et al. The spatial association of gene expression evolves from synchrony to asynchrony and stochasticity with age [J]. PLoS One, 2011, 6(9): e24076.
- [17] Wu B, Yan S, Lin Z, et al. Metabonomic study on ageing: NMR-based investigation into rat urinary metabolites and the effect of the total flavone of *Epimedium* [J]. Mol Biosyst, 2008, 4(8): 855-861.
- [18] Yan S, Wu B, Lin Z, et al. Metabonomic characterization of aging and investigation on the anti-aging effects of total flavones of *Epimedium* [J]. Mol Biosyst, 2009, 5(10): 1204-1213.
- [19] 刘小雨, 沈自尹, 黄建华, 等. 淫羊藿总黄酮经由核因子- κ B 相关信号转导途径调控免疫衰老机制[J]. 中国中西医结合杂志, 2006, 26(7): 620-624.
- [20] Liu XY, Wang Q, Xia SJ, et al. Characteristics of lymphocyte nuclear factor- κ B signal transduction kinase expression in aging process and regulatory effect of epimedium flavonoids [J]. Chin J Integr Med, 2011, 17(9): 704-709.
- [21] Aguilera Andrés, García-Muse T. Causes of genome instability [J]. Ann Rev Genetics, 2013, 47: 1-32.
- [22] Beauharnois JM, Bolívar BE, Welch JT. Sirtuin 6: a review of biological effects and potential therapeutic properties [J]. Mol Bio Syst, 2013, 9(7): 1789-1806.
- [23] Kirkland JL, Peterson C. Health span, translation, and new outcomes for animal studies of aging [J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2009, 64(2): 209-212.
- [24] Iwasa H, Yu S, Xue J, et al. Novel EGF pathway regulators modulate *C. elegans* health span and lifespan via EGF receptor, PLC- γ , and IP3R activation [J]. Aging Cell, 2010, 9(4): 490-505.

(收稿: 2013-11-05)