

DOI: 10.13376/j.cblls/2016119

文章编号: 1004-0374(2016)08-0888-07



刘光慧, 中科院生物物理研究所研究员, 国家重大科学研究计划(973)项目“干细胞衰老的细胞分子机理及转化应用研究”首席科学家。现担任中国老年医学学会基础与转化医学分会副会长, 中国老年学和老年医学学会衰老与抗衰老科学委员会副主任委员, 中国老年保健医学研究会老年健康与转化医学分会常务委员, 中国细胞生物学学会干细胞生物学分会委员, 中国生物物理学会理事, *Protein & Cell* 杂志副主编。近年来一直致力于人类衰老及衰老相关疾病的基础和转化医学研究。主要集中于以下两个方向: (1) 基于人类多能干细胞技术的衰老相关疾病模型建立、机制研究及药物筛选; (2) 基于干细胞的基因治疗。研究成果分别发表在包括 *Nature*、*Science*、*Cell*、*Cell Stem Cell*、*Nat Commun* 和 *Cell Res* 等刊物上。

利用多能干细胞技术研究和治疗衰老相关疾病

刘尊鹏¹, 赵洋², 曲静^{1*}, 张维琦^{2*}, 刘光慧^{2*}

(1 中国科学院动物研究所, 干细胞与生殖发育国家重点实验室, 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)

摘要: 人类衰老是复杂的生物学过程, 主要表现为组织、器官的功能性衰退以及衰老相关疾病风险的增加。多能干细胞(PSC)是指具有多向分化潜能的细胞, 主要包括胚胎干细胞(ESC)和诱导多能干细胞(iPSC)。多能干细胞技术的飞速发展和广泛应用为衰老及老年性疾病的科学研究和药物筛选提供了重要的平台。同时, 日新月异的基因靶向编辑技术为衰老及相关疾病的干预及治疗提供了可行性。基于人类干细胞和基因编辑技术的衰老基础研究及应用具有重要的科学意义和社会价值。

关键词: 衰老; 干细胞; 药物发现; 基因编辑

中图分类号: Q813; R339.3+8 **文献标志码:** A

Using pluripotent stem cell technique to study and treat aging-related diseases

LIU Zun-Peng¹, ZHAO Yang², QU Jing^{1*}, ZHANG Wei-Qi^{2*}, LIU Guang-Hui^{2*}

(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)

Abstract: Aging is a complex biological process, embodied by functional decline of organs and tissues, and the increasing risk of aging-related diseases. Pluripotent stem cells (PSC) including embryonic stem cells (ESC) and induced pluripotent stem cells (iPSC), have the capacity of self-renewal and to differentiate into multiple types of cells. The blooming PSC technologies open up a new prospect for studying human aging and aging-related diseases,

收稿日期: 2016-04-05

基金项目: 中国科学院“干细胞与再生医学研究”战略性先导科技专项(XDA01020312), 国家重大科学研究计划(2015CB964800), 国家重大科学研究计划(2014CB910503)

*通信作者: 曲静, E-mail:qujing@ioz.ac.cn; 张维琦, E-mail:weiqizhang@aliyun.com; 刘光慧, E-mail:ghliu@ibp.ac.cn

as well as developing relevant treatment. Additionally, gene editing techniques provide the feasibility of intervention of aging and age-associated diseases. Development in individualized treatment of human aging based on stem cell and gene editing techniques has broad scientific significance and social value.

Key words: aging; stem cell; drug discovery; gene editing

截至 2015 年, 中国 60 岁以上的人口已超过 2.2 亿, 占比 16.1%。更为严峻的是, 中国的人口老龄化现象正逐步加剧。机体老化是心血管疾病、糖尿病和神经退行性疾病等许多慢性疾病的重要致病因素^[1]。这些疾病不仅影响老年人口的生活质量, 无疑也为中国的社会、经济、医疗等诸多方面带来沉重的负担。衰老及老年性疾病的研究不仅有利于加深对衰老这一生物学过程的认识, 也为预防和治疗衰老相关疾病, 主动干预衰老进程和实现健康老龄化提供科学依据。

衰老是指随着年龄增长, 生命有机体的形态、结构和功能发生退行性变化的过程。随着现代生命科学与医学的发展, 人们对衰老及其机制有了初步的认识。衰老生物学理论主要被归为两类, 即程序化理论 (programmed theories) 和损伤理论 (damage or error theories)。程序化理论认为, 某些特定基因的差异表达是影响生长发育过程的主要动力。损伤理论则强调内外环境因素造成有机体损伤的积累是衰老的主要诱因^[2]。

多能干细胞是指具有自我更新和分化为多种细胞潜能的特殊细胞类型, 包括胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC) 和诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC)。ESC 是指哺乳动物囊胚内细胞团中获得的一种在体外具有持续增殖能力的细胞; iPSC 是指将特定的转录因子导入体细胞后诱导产生的一类具有多向分化潜能和无限增殖能力的细胞^[3-4]。由于 iPSC 可从患者自身体细胞直接诱导而获得, 保留了疾病基因组的遗传信息, 可分化为任意细胞类型, 并在体外模拟衰老及疾病的病理进程与表型。iPSC 的衍生物用于细胞移植治疗时亦可规避异体移植所带来的免疫排斥反应。因此, 探索基于 iPSC 和基因靶向编辑技术的个体化治疗具有重大的科学研究和临床应用价值。近年来, iPSC 疾病模型的研究领域进展迅速, 科学家们已经建立衰老以及衰老相关疾病 (包括神经系统疾病、血液系统疾病和代谢系统疾病在内) 的多种 iPSC 研究模型^[5-15]。本文将围绕基于多能干细胞体系研究和治疗早衰类疾病以及神经退行性疾病的研究展开综述。

1 利用多能性干细胞研究人类早衰症

一直以来, 科学家们主要借助酵母、线虫、果蝇、鼠等模式生物开展衰老的生物学研究。但由于人类在遗传背景、衰老的信号通路和靶标等方面与模式生物存在差异, 以模式生物为基础的衰老生物学研究无法真实和全面地揭示人类衰老及衰老相关疾病的分子机理, 也无法为衰老及衰老相关疾病的干预提供精准的靶标^[14]。然而, 人类衰老是一个复杂的漫长过程, 且受限于人类细胞取材、体外培养、伦理等问题, 以人类为研究对象的衰老生物学研究具有难度大、耗时长等缺点。因此, 基于人多能干细胞体系开展以人类加速衰老性疾病为基础的研究具有重大的意义。

早衰类疾病包括儿童早衰症 (Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS)、Werner 综合征 (Werner syndrome, WS) 和 Cockayne 氏综合征 (Cockayne syndrome, CS) 等^[16]。其中 HGPS 是一种罕见的常染色体显性遗传性疾病, 由基因 *LMNA* C1824T 突变所致。这种突变引起核纤层蛋白前体 (Prelamin A) 的异常剪切, 产生缺失 50 个氨基酸的截短突变体, 被称为 Progerin。Progerin 的累积引起细胞核膜结构异常并引起细胞及机体的早衰^[17-19]。2011 年, Liu 等^[15]和 Zhang 等^[20]分别成功地将 HGPS 患者的皮肤成纤维细胞重编程为 iPSC, 并建立了 HGPS-iPSC 疾病模型。*LMNA* 基因在 iPSC 水平转录沉默, 重编程有效拨回细胞衰老的时钟, 重新设定了 HGPS 缺陷的核膜结构、表观遗传参数和基因表达谱。HGPS-iPSC 定向诱导分化为血管平滑肌细胞和成纤维细胞后, Lamin A 及其突变产物 Progerin 重新表达, 同时上述细胞也表现出加速衰老的特征。此外, Liu 等还发现 DNA 依赖的蛋白激酶催化亚基 (DNAPKcs/PPKDC) 与 Progerin 相互作用, Progerin 的累积引起 DNAPKcs 的下调并诱发细胞衰老, 揭示了 HGPS 患者发生动脉粥样硬化的细胞及分子基础。随后, Liu 等^[13]利用 HDAdV 介导的基因靶向编辑技术, 在儿童早衰症的 iPSC 中成功实现了 *LMNA* C1824T 的靶向矫正, 经过基因矫正的 HGPS-iPSC 再经定向分化至血管平滑肌细胞后, 疾病表型和基

因突变产物 Progerin 蛋白消失, 血管平滑肌细胞恢复至年轻态。上述研究为儿童早衰症的靶点发现以及干预和治疗提供了新的策略和思路。

Werner 综合征是由 *WRN* 基因突变所导致的常染色体隐性遗传性疾病, 自青春期开始提前启动衰老程序, 呈现加速衰老的表征并伴发多种老年性疾病, 临床表征为双眼退行性病变、头发灰白脱落、肌肉萎缩、骨质疏松、动脉粥样硬化和智力下降等^[21-22]。由于 WS 患者的临床表征和生理性衰老过程十分类似, 因此 WS 被认为是研究人类生理性衰老的最佳疾病模型之一。大量研究表明, *WRN* 参与 DNA 的复制和修复^[23]、端粒维持和保护^[24]、基因组稳定^[25]、细胞周期控制^[26]等多种分子调控网络。2014年, Cheung 等^[27]和 Shimamoto 等^[28]两个独立的团队分别建立了 WS-iPSC 模型。WS-iPSC 定向分化获得的间充质干细胞表现出一系列加速衰老的表型, 包括端粒缩短和 P16、P21、P53 的高表达。2015年, Zhang 等^[29]通过基因编辑技术在人 ESC 中成功实现了 *WRN* 基因的缺失突变, 并将其定向诱导分化获得 WS-MSK。这些早衰症 MSK 表现出内层核膜蛋白及核周异染色质缺失的表型。*WRN* 蛋白同异染色质维持蛋白 SUV39H1 和 HP1 共存于一个蛋白质复合物中, 该复合物具有维持异染色质稳定性以及抑制 MSK 衰老的作用。该工作证明异染色质的结构失序是人类细胞衰老的驱动力之一。该模型的建立不仅为衰老的生物学机制及衰老相关疾病致病机理的研究提供了理想的平台, 更为靶向于表观遗传的干预衰老药物的研发提供了理论依据。

2 利用多能性干细胞研究和治疗人类神经退行性疾病

衰老是多种疾病的重要诱因之一。随着年龄的增长, 细胞内活性氧、代谢产物等有害物质不断累积, 引发蛋白质错误折叠、细胞膜系统损伤、DNA 损伤以及基因组不稳定性等现象, 这些因素进一步导致机体生理功能的衰退和疾病易感性的增加^[14]。神经退行性疾病是一类最为典型的退行性疾病, 主要包括阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD)、帕金森氏症 (Parkinson's disease, PD)、肌萎缩性侧索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS)、亨廷顿病 (Huntington's disease, HD)、白内障以及视网膜黄斑变性病等。

2.1 帕金森氏症

帕金森氏症 (PD) 是与衰老密切相关的人类神

经系统退行性疾病。该病不仅表现为运动神经系统受损, 其早期还表现为抑郁、嗅觉丧失、认知功能下降等非运动神经系统表型^[30]。PD 的病理学特征是脑黑质致密区多巴胺能神经元 (dopaminergic neurons) 的功能衰退、数目减少或死亡, 路易小体的产生等。5%~7% 的帕金森氏症与家族遗传有关, 致病基因包括 α -突触核蛋白 (α -synuclein, SNCA)、富亮氨酸重复激酶 2 (leucine-rich repeat kinase 2, LRRK2)、PARK2 (Parkin) 以及 PTEN 诱导激酶 1 (PTEN-induced kinase 1, PINK1) 等^[31]。

富亮氨酸重复激酶 2 (leucine-rich repeat kinase 2, LRRK2) 是最为常见的可以导致家族型 PD 的显性突变基因。2011年, Nguyen 等^[32]获得了携带 LRRK2G2019S 突变的 PD 患者 iPSC, 并将其定向诱导分化为多巴胺能神经元。利用该体系, 发现疾病 iPSC 衍生的神经元中关键的氧化应激基因以及 α -突触核蛋白都显著上调, 验证了氧化应激压力是 PD 的重要致病因素。2012年, Sanchez-Danes 等^[33]在 LRRK2G2019S-iPSC 诱导产生的多巴胺能神经元细胞中也看到了类似表型, 同时发现该细胞的形态异常、自噬小体累积, 暗示了自噬在帕金森氏症致病机理中的潜在作用。2012年, Liu 等^[8]利用 iPSC 和 ESC 体系获得了 LRRK2G2019S 的多巴胺能神经元以及神经干/前体细胞, 并利用 HDAdV 介导的基因编辑技术获得了同基因型 (isogenic) 的无 LRRK2G2019S 突变的对照细胞。由于 PD 发病和年龄呈正相关, 为模拟衰老相关的应激条件, Liu 等在非优化 (suboptimal) 的体外培养体系中对细胞进行急性应激处理和 (或) 多次传代。结果显示, LRRK2G2019S 神经干/前体细胞对蛋白酶体抑制剂引起的细胞应激更为敏感; 并且随着体外传代次数增多, LRRK2G2019S 神经干/前体细胞逐渐表现出 LRRK2 下游磷酸化蛋白底物的激活, 以及克隆扩增和分化成神经元能力的降低, 并伴随着核膜形态的异常。这种核膜结构的改变在 PD 病脑的神经干细胞聚集区得以验证, 提示 LRRK2 突变引起神经干细胞核膜缺陷可能作为 PD 疾病的早期标记物。利用该体系, Liu 等发现了可缓解 PD-NSC 异常表型的小分子化合物。上述研究证明了基于人多能干细胞体系开展的人类衰老相关疾病研究不仅可以证实已知的疾病表型, 还能为新型疾病机制的发掘提供平台与思路, 同时为针对特定表型的药物筛选或评价提供了可能。

SNCA 是第一个发现的常染色体显性遗传的家

族性 PD 的致病基因。目前已鉴定的 *SNCA* 点突变主要有 A53T、A30P、E46K 及 H50Q 等^[30]。2013 年, Chung 等^[34] 成功获得携带 SNCAA53T 突变的患者 iPSC。定向分化所得的神经元细胞表现出亚硝化应激 (nitrosative stress), 内质网相关降解底物 (ER-associated degradation substrates) 的累积并引发内质网应激反应 (ER stress)。小分子药物 NAB2 处理可以缓解上述表型。另一项研究发现, SNCAA53T 神经元中 MEF2C-PGC1 α 信号通路参与调控线粒体功能紊乱和细胞凋亡, 而异恶唑处理可以有效激活 MEF2 转录, 从而抑制 SNCAA53T 神经元发生凋亡^[35]。Devine 等^[36] 和 Byers 等^[37] 分别建立了 SNCA 三拷贝重复的 PD-iPSC 疾病模型, 并在体外重现了多巴胺能神经元的病理表型。

基因靶向编辑和干细胞技术的有机结合为 PD 致病基因的矫正提供了可能。Soldner 等^[38] 利用锌指核酸内切酶 (Zinc finger nuclease, ZFN) 介导的基因靶向编辑技术在人 iPSC 水平成功矫正了 *SNCA* 突变。Liu 等^[8] 通过 HDAdV 介导的基因编辑技术原位矫正了 *LRRK2* 突变。更为重要的是, 动物脑内移植实验进一步证实了干细胞治疗帕金森氏症的可行性^[39]。Rhee 等^[39] 将 iPSC 定向分化形成的多巴胺能神经元细胞移植到受损的小鼠纹状体脑区时, 明显缓解了其运动缺陷等症状。同样, Sundberg 等^[40] 将 NCAM+/CD29^{low} 细胞移植到 6-羟多巴诱导损伤的小鼠脑内 16 周后, 部分恢复了其运动功能。

2.2 阿尔茨海默氏症

阿尔茨海默氏症 (Alzheimer's disease, AD) 是一种渐进性神经退行性疾病。主要病理表征包括: 神经细胞内神经纤维的异常缠结以及胞外淀粉样 β 蛋白 (amyloid β , A β) 的聚集。在过去的三十多年里, 针对 AD 发生发展的疾病机制研究取得了许多突破性进展^[41]。家族性 AD 主要是由早老蛋白 (presenilin, PS)、淀粉样前体蛋白 (amyloid precursor protein, APP)、载脂蛋白 E (apolipoprotein E, APOE) 等致病基因的突变所造成。此外, 2011 年, 多国科学家协同攻关发现了与 AD 相关的新基因, 分别为 ABCA7、MS4A6A/MS4A4E、CD2AP、CD33 和 EPHA1, 这为 AD 的研究和治疗提供了新的线索^[42-43]。目前尚没有好的方法预防和治疗 AD, 基于多能干细胞的 AD 研究为这一领域提供了崭新的思路。2011 年, Yagi 等^[44] 率先建立了 PS1A246E 突变和 PS2N141I 突变的 iPSC, 并在其定向分化的神经元细胞中发现 A β 42 的分泌明显增多, 在该体系中 γ -分泌酶抑制剂对

A β 42 外泌的抑制获得验证, 提示了其潜在的药用前景。此后, Koch 等^[45] 建立了 PS1L166P 突变的 AD 多能干细胞研究体系, 并发现非甾体类抗炎药能有效降低神经元细胞中 A β 42/40 的比例。Woodruff 等^[46] 分别建立了 PS1 Δ E9 突变的 AD 多能干细胞模型, 并阐述该突变只影响 PS1 的依赖于 γ -分泌酶的相关功能, 而不影响其与 γ -分泌酶不相关的功能。

APP 基因突变也与 AD 发生密切相关。2012 年, Israel 等^[47] 建立了 *APP* 多拷贝 iPSC 模型 (APPDp-iPSC)。将 APPDp-iPSC 定向分化为神经元细胞后发现, A β (1-40)、磷酸化的 Tau 蛋白以及激活的糖原合成酶激酶-3 β (active glycogen synthase kinase-3 β , aGSK-3 β) 等 AD 相关的病理学标记物的表达上调。当用 β 分泌酶抑制剂处理时, 磷酸化的 Tau 蛋白和糖原合成酶激酶-3 β 显著减少。这提示了 APP 的加工过程和 GSK-3 β 的激活以及 Tau 蛋白的磷酸化反应有直接联系。2013 年, Kondo 等^[48] 在 APPE693 Δ -iPSC 定向分化的神经元细胞中发现 A β 低聚物, 及其引起的神经元内质网压力和氧化应激, 并发现二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA) 能有效缓解这种由 A β 低聚物聚集所引起的压力。总之, 多种 AD-iPSC 疾病模型的建立不仅有助于加深对 AD 发生发展机制的理解, 也为发现预防和治疗 AD 的新型药物提供了理想的平台^[49-51]。

2.3 肌萎缩侧索硬化症

ALS 主要是由大脑皮质、脑干和脊髓的上下运动神经元退行性病变引起的一类神经退行性疾病^[52]。目前的研究表明, 铜锌超氧化物歧化酶 (Cu/Zn superoxide dismutase, SOD1)、*C9ORF72*、反式激活反应 DNA 结合蛋白 (TAR DNA-binding protein, TARBP/TDP) 等的基因突变与该病密切相关。虽然近年来 ALS 的遗传学研究有了显著的进展, 但其潜在疾病机制尚不清晰, 缺乏有效的治疗方法。

2014 年, Chen 等^[53] 制作了 SOD1A4V 和 SOD1D90A 特异的 ALS-iPSC 细胞系, 并将其定向分化为运动神经元 (motor neuron, MN), 突变的 SOD1 与神经丝 (neurofilament, NF) 亚基 NF-L 的 mRNA 3'UTR 结合, 降低了其 mRNA 的稳定性, 神经丝亚基比例失调导致 MN 中神经丝缠结。在 *SOD1* 突变的 MN 中条件表达 NF-L, 可以缓解 NF 聚合和神经突退化等疾病表现。Kiskinis 等^[54] 综合利用干细胞和转录组测序技术发现, SOD1 蛋白的突变会导致 MN 氧化应激和内质网应激、线粒体功能紊乱、胞

内运输受阻等。2015年, Isobe等^[55]建立了不同SOD1突变(A4V、G85R、G93A)的ALS人类胚胎干细胞模型,发现由其诱导获得的MN神经突触的长度变短,并发现不同SOD1突变类型的ALS-MN对药物的敏感性不同。他们认为基于MN对药物的反应差异可对SOD1突变引起的ALS进行分类,并以此确定药物研发和临床试验的策略。

C9ORF72的六核苷酸重复扩张(hexanucleotide repeat expansion, HRE)是ALS和额颞痴呆(frontotemporal dementia, FTD)这两种疾病的重要致病因素。Haeusler等^[56]通过研究发现, C9ORF72六核苷酸重复扩张可引起DNA和RNA形成了G-四联体(G-quadruplex)的二级结构,影响核酸的正常功能,并发现在ALS-iPSC分化产生的MN中,核仁蛋白分散于整个细胞核。这项研究揭示了HRE可能影响了核酸以及核仁蛋白的重要功能,从而引起上述疾病。Almeida等^[57]将C9ORF72六核苷酸重复度高达1000的患者皮肤成纤维细胞诱导产生iPSC及MN,发现MN内RNA聚集所引起的细胞毒性是ALS和FTD的重要诱因。多个研究团队证明,反义寡核苷酸可有效缓解C9ORF72重复扩张引起的ALS表型,包括细胞核内RNA的聚集、RNA结合蛋白的功能异常、基因的正常表达以及谷氨酸兴奋毒性的敏感性异常等^[58-59]。

Egawa等^[60]建立了TDP-43(TAR DNA-binding protein 43)不同突变(Q343R、M337V和G298S)的ALS-iPSC细胞,并将其分化为ALS-MN。ALS-MN表现出TDP-43异常聚集、神经突触退化、氧化应激敏感等一系列疾病相关表型。利用该体系开展药物筛选发现,组蛋白乙酰转移酶抑制剂能够减缓ALS运动神经元疾病表型的出现。Burkhardt等^[61]基于散发型ALS产生了相应iPSC及MN,发现包括地高辛在内的四种化合物能有效抑制疾病运动神经元中TDP-43的聚集。Serio等^[62]在ALS-iPSC定向分化的星形胶质细胞体系中进行了相关研究,发现TDP-43也发生了显著地上调表达和聚集, TDP-43的亚细胞定位出现错误,细胞活力也明显下降。

2.4 亨廷顿氏症

亨廷顿氏症(Huntington's disease, HD)是一种常染色体显性的神经退行性疾病,由四号染色体的亨廷顿基因(Huntingtin, HTT)的CAG三联体重复所导致。多拷贝CAG导致HTT蛋白N端谷氨酰胺多聚化(polyglutamine),影响蛋白的正确折叠从而引

起该蛋白的异常积累,导致患者纹状体细胞死亡^[63]。2011年, Camnasio等^[64]建立了HTT纯合及杂合突变的HD-iPSC。利用该体系证明了,在HD-iPSC及其分化的神经细胞中溶酶体活性显著增加。2012年, NINDS(National Institutes of Neurological Disorders and Stroke)研究所HD-iPSC研究联盟建立了不同拷贝数CAG重复的HD-iPSC^[65]。当进一步分化为神经干细胞及神经元时,发现HD-NSC的基因和蛋白表达模式与对照明显不同, CAG拷贝数越高,差异越显著,对氧化应激等细胞压力/毒性也越敏感。HD神经元细胞表现出与疾病相关的表型,包括电生理异常、细胞死亡、代谢和细胞黏附的变化。

基于HD-iPSC的研究为亨廷顿病的治疗提供了许多有价值的信息。2012年, An等^[66]利用同源重组的策略成功地校正了HTT基因的CAG多拷贝突变。校正后HTT相关的信号通路恢复正常,包括脑源性神经营养因子(BDNF)的转录增加、线粒体功能缺陷的缓解、细胞死亡的抑制等。

3 展望

随着世界人口老龄化的加剧,衰老相关疾病的发病率逐年攀升,这严重影响了人类的健康和生活质量。多能干细胞技术的发展和应用于研究人类衰老的生物学机制,探究衰老相关疾病的发病机理带来了曙光,也为人为干预衰老、预防和治疗老年性疾病带来了可能。一方面,干细胞模型的建立为研究人类衰老及衰老相关疾病提供了理想的体系,使得在体外模拟重现人类衰老的过程、研究衰老及其相关疾病的机理成为可能。另一方面,基于衰老干细胞模型的小分子药物筛选为衰老及相关疾病的干预提供了崭新的思路。最后,基因编辑技术和干细胞技术的有机结合也提示了靶向矫正致病基因的个体化治疗的广阔前景。这些新技术的运用必将有效推动衰老的基础和转化医学研究的发展。

[参 考 文 献]

- [1] Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, et al. The hallmarks of aging. *Cell*, 2013, 153: 1194-217
- [2] Jin KL. Modern biological theories of aging. *Aging Dis*, 2010, 1: 72-4
- [3] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126: 663-76
- [4] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by

- defined factors. *Cell*, 2007, 131: 861-72
- [5] Fu L, Xu X, Ren R, et al. Modeling xeroderma pigmentosum associated neurological pathologies with patients-derived iPSCs. *Protein Cell*, 2016, 7: 210-21
- [6] Duan S, Yuan G, Liu X, et al. PTEN deficiency reprogrammes human neural stem cells towards a glioblastoma stem cell-like phenotype. *Nat Commun*, 2015, 6: 10068
- [7] Ding Z, Sui L, Ren R, et al. A widely adaptable approach to generate integration-free iPSCs from non-invasively acquired human somatic cells. *Protein Cell*, 2015, 6: 386-9
- [8] Liu GH, Qu J, Suzuki K, et al. Progressive degeneration of human neural stem cells caused by pathogenic LRRK2. *Nature*, 2012, 491: 603-7
- [9] Pan H, Guan D, Liu X, et al. SIRT6 safeguards human mesenchymal stem cells from oxidative stress by coactivating NRF2. *Cell Res*, 2016, 26: 190-205
- [10] Pan H, Cai N, Li M, et al. Autophagic control of cell 'stemness'. *EMBO Mol Med*, 2013, 5: 327-31
- [11] Liu GH, Suzuki K, Li M, et al. Modelling fanconi anemia pathogenesis and therapeutics using integration-free patient-derived iPSCs. *Nat Commun*, 2014, 5: 4330
- [12] Xu X, Duan S, Yi F, et al. Mitochondrial regulation in pluripotent stem cells. *Cell Metab*, 2013, 18: 325-32
- [13] Liu GH, Suzuki K, Qu J, et al. Targeted gene correction of laminopathy-associated LMNA mutations in patient-specific iPSCs. *Cell Stem Cell*, 2011, 8: 688-94
- [14] Liu GH, Ding Z, Izpisua Belmonte JC. iPSC technology to study human aging and aging-related disorders. *Curr Opin Cell Biol*, 2012, 24: 765-74
- [15] Liu GH, Barkho BZ, Ruiz S, et al. Recapitulation of premature ageing with iPSCs from Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*, 2011, 472: 221-5
- [16] Burtner CR, Kennedy BK. Progeria syndromes and ageing: what is the connection? *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11: 567-78
- [17] Worman HJ, Ostlund C, Wang Y. Diseases of the nuclear envelope. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2: a000760
- [18] Eriksson M, Brown WT, Gordon LB, et al. Recurrent *de novo* point mutations in lamin A cause Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nature*, 2003, 423: 293-8
- [19] Sandre-Giovannoli AD, Bernard R, Cau P, et al. Lamin A truncation in Hutchinson-Gilford progeria. *Science*, 2003, 300: 2055
- [20] Zhang J, Lian Q, Zhu G, et al. A human iPSC model of Hutchinson Gilford Progeria reveals vascular smooth muscle and mesenchymal stem cell defects. *Cell Stem Cell*, 2011, 8: 31-45
- [21] Cheung HH, Pei D, Chan WY. Stem cell aging in adult progeria. *Cell Regen (Lond)*, 2015, 4: 6
- [22] Goto. Werner syndrome: a changing pattern of clinical manifestations in Japan (1917-2008). *BioScience Trends*, 2013, 7: 13-22
- [23] Croteau DL, Popuri V, Opresko PL, et al. Human RecQ helicases in DNA repair, recombination, and replication. *Annu Rev Biochem*, 2014, 83: 519-52
- [24] Edwards DN, Machwe A, Chen L, et al. The DNA structure and sequence preferences of WRN underlie its function in telomeric recombination events. *Nat Commun*, 2015, 6: 8331
- [25] Rossi ML, Ghosh AK, Bohr VA. Roles of Werner syndrome protein in protection of genome integrity. *DNA Repair: Amst*, 2010, 9: 331-44
- [26] Saha B, Cypro A, Martin GM, et al. Rapamycin decreases DNA damage accumulation and enhances cell growth of WRN-deficient human fibroblasts. *Aging Cell*, 2014, 13: 573-5
- [27] Cheung HH, Liu X, Canterel-Thouennon L, et al. Telomerase protects Werner syndrome lineage-specific stem cells from premature aging. *Stem Cell Rep*, 2014, 2: 534-46
- [28] 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: e112900
- [29] Zhang WQ, Li JY, Suzuki K, et al. A Werner syndrome stem cell model unveils heterochromatin alterations as a driver of human aging. *Science*, 2015, 348: 1160-3
- [30] Badger JL, Cordero-Llana O, Hartfield EM, et al. Parkinson's disease in a dish - Using stem cells as a molecular tool. *Neuropharmacology*, 2014, 76 Pt A: 88-96
- [31] Spatola M, Wider C. Genetics of Parkinson's disease: the yield. *Parkinsonism Relat Disord*, 2014, 20: S35-8
- [32] Nguyen HN, Byers B, Cord B, et al. LRRK2 mutant iPSC-derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress. *Cell Stem Cell*, 2011, 8: 267-80
- [33] Sanchez-Danes A, Richaud-Patin Y, Carballo-Carbajal I, et al. Disease-specific phenotypes in dopamine neurons from human iPS-based models of genetic and sporadic Parkinson's disease. *EMBO Mol Med*, 2012, 4: 380-95
- [34] Chung CY, Khurana V, Auluck PK, et al. Identification and rescue of α -synuclein toxicity in parkinson patient-derived neurons. *Science*, 2013, 342: 983-7
- [35] Ryan SD, Dolatabadi N, Chan SF, et al. Isogenic human iPSC Parkinson's model shows nitrosative stress-induced dysfunction in MEF2-PGC1 α transcription. *Cell*, 2013, 155: 1351-64
- [36] Devine MJ, Ryten M, Vodicka P, et al. Parkinson's disease induced pluripotent stem cells with triplication of the α -synuclein locus. *Nat Commun*, 2011, 2: 440
- [37] Byers B, Cord B, Nguyen HN, et al. SNCA triplication Parkinson's patient's iPSC-derived DA neurons accumulate α -synuclein and are susceptible to oxidative stress. *PLoS One*, 2011, 6: e26159
- [38] Soldner F, Laganieri J, Cheng AW, et al. Generation of isogenic pluripotent stem cells differing exclusively at two early onset Parkinson point mutations. *Cell*, 2011, 146: 318-31
- [39] Rhee YH, Ko JY, Chang MY, et al. Protein-based human iPS cells efficiently generate functional dopamine neurons and can treat a rat model of Parkinson disease. *J Clin Invest*, 2011, 121: 2326-35
- [40] Sundberg M, Bogetofte H, Lawson T, et al. Improved cell

- therapy protocols for Parkinson's disease based on differentiation efficiency and safety of hESC-, hiPSC-, and non-human primate iPSC-derived dopaminergic neurons. *Stem cells*, 2013, 31: 1548-62
- [41] Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell*, 2012, 148: 1204-22
- [42] Hollingworth P, Harold D, Sims R, et al. Common variants at ABCA7, MS4A6A/MS4A4E, EPHA1, CD33 and CD2AP are associated with Alzheimer's disease. *Nat Genet*, 2011, 43: 429-35
- [43] Naj AC, Jun G, Beecham GW, et al. Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nat Genet*, 2011, 43: 436-41
- [44] Yagi T, Ito D, Okada Y, et al. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Hum Mol Genet*, 2011, 20: 4530-9
- [45] Koch P, Tamboli IY, Mertens J, et al. Presenilin-1 L166P mutant human pluripotent stem cell-derived neurons exhibit partial loss of γ -secretase activity in endogenous amyloid- β generation. *Am J Pathol*, 2012, 180: 2404-16
- [46] Woodruff G, Young JE, Martinez FJ, et al. The presenilin-1 δ E9 mutation results in reduced γ -secretase activity, but not total loss of PS1 function, in isogenic human stem cells. *Cell Rep*, 2013, 5: 974-85
- [47] Israel MA, Yuan SH, Bardy C, et al. Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature*, 2012, 482: 216-20
- [48] Kondo T, Asai M, Tsukita K, et al. Modeling Alzheimer's disease with iPSCs reveals stress phenotypes associated with intracellular A β and differential drug responsiveness. *Cell Stem Cell*, 2013, 12: 487-96
- [49] Muratore CR, Rice HC, Srikanth P, et al. The familial Alzheimer's disease APPV717I mutation alters APP processing and Tau expression in iPSC-derived neurons. *Hum Mol Genet*, 2014, 23: 3523-36
- [50] Yahata N, Asai M, Kitaoka S, et al. Anti-A β drug screening platform using human iPS cell-derived neurons for the treatment of Alzheimer's disease. *PLoS One*, 2011, 6: e25788
- [51] Xu X, Lei Y, Luo J, et al. Prevention of β -amyloid induced toxicity in human iPS cell-derived neurons by inhibition of cyclin-dependent kinases and associated cell cycle events. *Stem Cell Res*, 2013, 10: 213-27
- [52] Thomsen GM, Gowing G, Svendsen S, et al. The past, present and future of stem cell clinical trials for ALS. *Exp Neurol*, 2014, 262 Pt B: 127-37
- [53] Chen H, Qian K, Du Z, et al. Modeling ALS with iPSCs reveals that mutant SOD1 misregulates neurofilament balance in motor neurons. *Cell Stem Cell*, 2014, 14: 796-809
- [54] Kiskinis E, Sandoe J, Williams LA, et al. Pathways disrupted in human ALS motor neurons identified through genetic correction of mutant SOD1. *Cell Stem Cell*, 2014, 14: 781-95
- [55] Isobe T, Tooi N, Nakatsuji N, et al. Amyotrophic lateral sclerosis models derived from human embryonic stem cells with different superoxide dismutase 1 mutations exhibit differential drug responses. *Stem Cell Res*, 2015, 15: 459-68
- [56] Haeusler AR, Donnelly CJ, Periz G, et al. C9orf72 nucleotide repeat structures initiate molecular cascades of disease. *Nature*, 2014, 507: 195-200
- [57] Almeida S, Gascon E, Tran H, et al. Modeling key pathological features of frontotemporal dementia with C9ORF72 repeat expansion in iPSC-derived human neurons. *Acta Neuropathol*, 2013, 126: 385-99
- [58] Sareen D, O'Rourke JG, Meera P, et al. Targeting RNA foci in iPSC-derived motor neurons from ALS patients with a C9ORF72 repeat expansion. *Sci Transl Med*, 2013, 5: 208ra149
- [59] Donnelly CJ, Zhang PW, Pham JT, et al. RNA toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 expansion is mitigated by antisense intervention. *Neuron*, 2013, 80: 415-28
- [60] Egawa N, Kitaoka S, Tsukita K, et al. Drug screening for ALS using patient-specific induced pluripotent stem cells. *Sci Transl Med*, 2012, 4: 145ra104
- [61] Burkhardt MF, Martinez FJ, Wright S, et al. A cellular model for sporadic ALS using patient-derived induced pluripotent stem cells. *Mol Cell Neurosci*, 2013, 56: 355-64
- [62] Serio A, Bilican B, Barnada SJ, et al. Astrocyte pathology and the absence of non-cell autonomy in an induced pluripotent stem cell model of TDP-43 proteinopathy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 4697-702
- [63] Ross CA, Tabrizi SJ. Huntington's disease: from molecular pathogenesis to clinical treatment. *Lancet Neurol*, 2011, 10: 83-98
- [64] Camnasio S, Delli Carri A, Lombardo A, et al. The first reported generation of several induced pluripotent stem cell lines from homozygous and heterozygous Huntington's disease patients demonstrates mutation related enhanced lysosomal activity. *Neurobiol Dis*, 2012, 46: 41-51
- [65] Consortium HD. Induced pluripotent stem cells from patients with Huntington's disease show CAG-repeat-expansion-associated phenotypes. *Cell Stem Cell*, 2012, 11: 264-78
- [66] An MC, Zhang N, Scott G, et al. Genetic correction of Huntington's disease phenotypes in induced pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell*, 2012, 11: 253-63