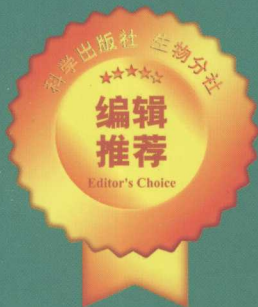


生命科学名著

[美] Leonard P. Guarente 等 编著
李电东 主译



衰老分子生物学

Molecular Biology
of Aging



科学出版社

www.sciencep.com

生命科学名著

衰老分子生物学

Molecular Biology of Aging

〔美〕 Leonard P. Guarente 等 编著

李电东 主译

科学出版社

北京

图字:01-2009-0228号

内 容 简 介

本书是50余位专家学者联合编写的《衰老分子生物学》英文版的译本。全书共分20章,体现了当前研究人员从分子、细胞、组织和整体水平上对衰老的理解。本书介绍了针对模式生物进行的衰老遗传和分子生物学研究;在饮食、代谢和寿命之间的相互联系上,重点强调氧化应激、线粒体功能及如何防治衰老的相关的主要疾病,如老年性痴呆、糖尿病、心血管疾病等;部分章节集中讲述了细胞老化、端粒、DNA损伤与修复、干细胞和癌症。

本书不仅适合分子生物学领域的科研、教学人员使用,也适用于研究衰老相关疾病及其防治药物的医药学领域的科研、教学人员,对该领域的初学者也具有参考价值。

Originally published in English as *Molecular Biology of Aging* by Leonard P. Guarente, Linda Partridge and Douglas C. Wallace © 2008 Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York, USA
2009 Science Press. Printed in China.

Authorized Simplified Chinese translation of the English edition © 2008 Cold Spring Harbor Laboratory Press. This translation is published and sold by permission of Cold Spring Harbor Press the owner of all right to publish and sell the same.

图书在版编目(CIP)数据

衰老分子生物学/(美)Guarente, L. P. 等编者. 李电东主译. —北京:科学出版社, 2009

(生命科学名著)

书名原文: *Molecular Biology of Aging*

ISBN 978-7-03-024692-9

I. 衰… II. ①G…②李… III. 衰老-分子生物学 IV. Q419 Q7

中国版本图书馆CIP数据核字(2009)第090715号

责任编辑:李 晓 陈珊珊/责任校对:朱光光

责任印制:钱玉芬/封面设计:陈 敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

科学印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009年6月第一版 开本:787×1092 1/16

2009年6月第一次印刷 印张:25 插页:1

印数:1—2 000

字数:575 000

定价:99.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

中译版序

健康与长寿是生命科学永恒的主题。深入理解衰老本质，了解衰老连锁反应的发生及其根源，改善生物体内生理过程，将为延缓衰老，健康老龄化，延长人类寿命以及了解生命的本质做出贡献。衰老机理复杂，涉及面广，相关学说虽多，却不外乎遗传与环境两个方面。本书介绍的正是衰老研究领域的重要生长点。

目前对某些老年病的相关基因已有所了解，但要确定人类长寿相关基因或衰老相关基因仍为时尚早。衰老相关基因绝非一种，有可能是一个基因群。长寿相关基因与衰老相关基因，既相互联系，又相互制约。因而寻找人类衰老相关基因的工作，任重道远，需多角度、多途径进行探索。这些基因是通过哪些信号通路影响衰老进程的？衰老相关基因的表达状态是如何被确定的？环境影响衰老进程时，与衰老相关基因有何联系？这些都是有待解决的问题。

该书着重介绍基础研究的成果，专业性极强，具有前沿性和先进性，在国内外同类书籍中属于顶级水平，是当今衰老研究领域理论性最强的读物之一。

遗传与环境是衰老的两大动因。基因与膳食可影响衰老，它们的分子基础是什么？过去十多年，与其有关的知识出现了爆发性增长。该书将衰老研究的这一历史瞬间再现在读者面前。目前与衰老相关的知识，从分子、细胞、组织乃至整体水平，已可编织成一张知识网，该书所选各章从分子生物学角度体现了这一知识网的重要脉络。

人口老龄化是全球性的趋势，我国老年人群日益庞大，但衰老的基础研究仍很薄弱。基础研究是科技力量的储备，是发展应用研究的源泉。该书着力于介绍衰老基础研究的前沿课题，其内容有利于推动我国老年学的基础研究和应用研究。

全书共 20 章，由 50 位衰老生物学研究一线的作者编写完成，其中包括十多位衰老研究领域的国际著名专家。其第一主编，美国麻省理工学院 L. P. Guarente 教授是这一领域的杰出专家。他曾率先发现酵母的沉默调控基因 *SIR2*，并证明该基因有延长寿命的功能，随后在人类细胞中也发现同类基因，它们对衰老进程有重要影响。

中国协和医科大学博士生导师、抗衰老药理学著名专家李电东教授，早年留学美国伊利诺伊州州立大学，历任中国老年学学会衰老与抗衰老科学委员会主任委员等职务，中、英文著述丰厚，其有关衰老生物学指标和模型的研究及在医药学研究中的应用等成果曾荣获国家及省部级奖项多次。今科学出版社邀请李电东教授任本书主译，可谓适得其人。在李教授亲自指导下，通过翻译团队的努力，原书将更臻完善，书中的精髓必将为推动我国老年学的基础研究和应用研究做出重要贡献。

童坦君

中国科学院院士
北京大学衰老研究中心主任
2009 年春于北京

译者的话

《衰老分子生物学》一书是一部由 50 余位专家联合编写的科技专著，原英文版由美国冷泉港实验室出版社出版。它全新、生动和权威地综述了当前科学界在分子、细胞、组织和整体水平上对衰老的理解，所选篇章代表了当前衰老研究中的许多重要思路和科学契机，将会引起该领域专家的思考，也是对此领域感兴趣读者或准备进军衰老研究领域的学者的首选读物。我们有幸对其进行了翻译。

衰老是人类生命过程的必然规律，是不可抗拒的，但推迟衰老的发生、发展是十分必要的，也是完全可能的。如能将“衰”字与“老”字略加分离，老而不衰，减慢人类因老而衰的过程，延长其健康期，缩短其带病期，不仅可减少因老而疾，造福个人和家庭，促进社会和谐，而且能解放生产力，使有声望、有能力的社会各界老龄人士免除疾病困扰，能有充分回报社会的机会。因此研究衰老分子生物学的根本目的是延缓衰老。只要人们能顺应身体生长规律并采取相应对策，就有可能使衰老进程放慢，老而不衰，从而健康长寿。

承担本书翻译和审校任务的王真、陈淑珍、邓洪斌等都是本研究所从事延缓衰老及衰老相关代谢性疾病防治药物分子机理研究的博士，他们富有实践经验，在相关研究工作中积累了丰富的经验，有胜任此项任务的能力。在此，我们谨向所有参加译校的学者表示崇高的敬意，谨向不断给予我们帮助并提高翻译质量的科学出版社的李晓编辑表示衷心的感谢。我们还要感谢中国科学院院士、北京大学衰老研究中心主任童坦君教授在百忙之中为本书作序。

因时间紧迫这部译著难免存在疏忽与错漏之处。希望同行专家和读者批评指正，万分感激。

李电东

中国医学科学院 中国协和医科大学 医药生物技术研究所教授
中国老年学学会理事、衰老与抗衰老科学委员会主任委员

2009 年 2 月

原版前言

过去十多年，我们对衰老过程的分子基础及其基因和饮食调控方面的认识，取得了迅猛进展。本书便是在衰老研究史上这一令人兴奋的时刻，展现其各研究领域的成果。所选篇章代表了许多重要的研究思路，体现了当前我们从分子、细胞、组织和整体水平上对衰老的理解。

本书用了部分篇幅集中介绍近年使用的模式生物，这些模式生物一直用来进行衰老的遗传和分子生物学研究，它们包括酵母、线虫、果蝇和小鼠。关于每种模式生物的优点和不足本书都有分析，并详细描述了借此取得的重要进展。在这些模式生物中所发现的几条通路在进化上趋于保守，因此，也成为人类衰老调控的候选信号。本书还讨论了应激（stress）耐受及 DNA 修复的作用，以及当今研究模式生物和人类衰老所使用的基因组系统和群体遗传学方法。人类衰老区别于其他模式生物的独特特性，在本书中也有论述。

本书的一个主题是饮食、代谢和寿命之间的相互联系。早在约 75 年前人们就知道了热量限制（calorie restriction, CR），低热量饮食能够延长啮齿类动物和越来越多的其他生物的使用寿命。本书介绍了与其相关的最新生理学和群体研究成果。近年来，CR 的生理学和延寿效应受到高度调节，而其非被动过程的事实已经愈发清楚。书中详细介绍了 CR 的候选调节信号，包括 sirtuin 和胰岛素/IGF 信号。

在啮齿类动物中，人们早已知道 CR 能够延缓或减轻多数衰老相关的疾病，新近发现的引起寿命延长的单基因突变也具备类似效应。因此，我们对 CR 和其他可延缓衰老的分子机制的理解所产生的有意义结果便是如何预防衰老相关的主要疾病发生。书中详细介绍了阿尔茨海默症和癌症方面的研究。

本书强调的一个重要领域是氧化应激和线粒体功能。氧化损伤导致衰老是最早出现的理论，能够解释至少一部分衰老退行性疾病，也仍是当前主流的理论。最近，一些此类主题汇合到一起，凸显了其在衰老中的重要性。例如，CR 常常诱导线粒体的生物合成，这可减少氧化损伤而产生保护性效应。

衰老研究的另一个重要领域涉及衰老过程中细胞分裂的控制，以及细胞周转率与衰老的相互作用。部分章节集中讲述了细胞老化、端粒、DNA 损伤与修复、干细胞和癌症，这些相互交汇的领域更全面地将衰老过程呈现给读者。

最后，书中介绍了衰老的创新性观点，以及其如何解释在不同机体中所观察到的衰老进程。综上所述，本书涵盖了衰老各个领域的内容。本书不拘泥于传统研究，将重点放在新近的分子发现上，以帮助我们更好地理解衰老。看来药理学将很快会把这些发现转变成新的治疗手段，来防治衰老和其相关疾病。

我们非常感谢各章节的作者，他们全新、生动和权威性的综述很好地传达了当前衰老研究的兴奋点和科学契机。本书会引发该领域专家思考，也是对此领域感兴趣读者或准备进军衰老研究领域的学者的首选。我们也非常感谢冷泉港实验室出版社的各位同

仁, John Inglis、Alex Gann、Patricia Barker、Kaaren Hegquist、Lauren Heller 和 Joan Ebert, 感谢他们的专业协助和鼓励, 使本书得以顺利完成。

LENNY GUARENTE
LINDA PARTRIDGE
DOUG WALLACE

目 录

中译版序

译者的话

原版前言

1 人类衰老和衰老相关疾病的线粒体及病理生理学	1
2 Sirtuin: NAD、代谢以及衰老之间的普遍联系	20
3 低等生物的热量限制	38
4 衰老研究中的进化理论	50
5 衰老生物学概述: 人类的视角	59
6 p53、癌症和长寿	66
7 秀丽新小杆线虫的衰老进程	79
8 细胞老化——肿瘤抑制和器官老化的桥梁	94
9 衰老基因网络的基因组全景	107
10 哺乳动物的干细胞和其他自我更新组分的衰老	117
11 衰老研究的模式生物——果蝇	131
12 DNA 损伤修复与衰老	147
13 小鼠 GH/IGF-1 轴活性的降低与寿命的延长	167
14 阿尔茨海默症	177
15 热量限制如何延长哺乳动物寿命	194
16 多种应激的协同耐受决定衰老速度	202
17 衰老的分子机理: 出芽酵母的深入研究	229
18 超长寿的遗传学	246
19 哺乳动物衰老中的代谢变化	261
20 衰老和肿瘤形成中端粒和端粒酶的作用	276

各章参考文献

图版

1 人类衰老和衰老相关疾病的线粒体及病理生理学

Douglas C. Wallace

Director, Center for Molecular and Mitochondrial Medicine and Genetics
University of California, Irvine
Irvine, California 92697

在过去十几年中，人们对线粒体功能失调在衰老及其相关疾病病因学中的作用越来越感兴趣（Wallace 1992b）。然而，由于解剖学和孟德尔定律在西医中占主导地位，线粒体在衰老中潜在的重要性还不十分清楚，尽管二者分别能够成功解释组织特异性症状和孟德尔遗传疾病，但在阐明多系统、衰老相关疾病的病因学方面相对乏力。

衰老影响很多系统，不同个体表现程度有所差异。而且，相对于孟德尔遗传学中所论述的遗传特征由等位基因决定，即为量子化（+ / +，+ / -，- / -）标准，衰老相关症状表现出进行性的衰退，这说明衰老的遗传学特征为定量的，而非量子化的。

利用线粒体能量理论和遗传定律对解剖学和孟德尔定律进行补充，可对此进行解释。线粒体为机体产生能量，而不同组织对线粒体能量的依赖程度各异。然而，每个细胞都有上百个线粒体和上千个线粒体 DNA（mtDNA），每个 mtDNA 都编码相同的 13 个蛋白质，这 13 个蛋白质对于线粒体能量生产过程十分重要。mtDNA 也具有很高的突变率，组织中的 mtDNA 突变随着时间进行累积。这导致能量输出下降，最后降至能量最低阈值，导致细胞死亡、组织功能紊乱，出现症状。

为什么我们有母系遗传的 mtDNA

细胞的生命来自于结构、能量以及信息之间的相互作用。大约 20 亿年前，每个真核细胞都是两个独立生命形式相加形成的一个共生体。一种生命形式为现在的细胞核以及细胞质，这部分机体的信息位于染色体的核 DNA（nDNA）中。另一种生命形式是线粒体，其基因位于 mtDNA 上。起初，这两种生命形式均编码自主细胞的所有信息。然而，随共生现象的进化，两个机体的 DNA 开始各有专属，nDNA 编码所有结构基因，而 mtDNA 保留了生产能量的重要基因。最初由 mtDNA 编码的结构基因转由 nDNA 编码，在其上，含有许多 N 端带正电荷的导向肽段信息。线粒体导向肽段指导着蛋白质合成，并与带负电荷的线粒体基质共同组装成线粒体。但是，mtDNA 仍保留了 13 个蛋白质的信息，这 13 个蛋白质对电子和质子传导（通路）十分重要。因此，如果说 nDNA 含有建造房子的建筑蓝图信息，则 mtDNA 含有给房子提供能量的线路图信息（Wallace 2005b, 2007）。

线粒体的生化和生理学

mtDNA 编码的 13 个蛋白质是线粒体的能量产生通路——氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation, OXPHOS) 的整个组成成分。另外, 人类 mtDNA 还编码对线粒体蛋白合成系统十分重要的 22S tRNA 和 12S rRNA、16S rRNA 成分 (Wallace 1983)。

OXPHOS (图 1-1) 通过人类呼吸中的 O_2 氧化食物中的糖或脂肪的氢或还原等价物转变成水 (H_2O)。释放的能量用于维持人类的体温, 产生 ATP。食物糖类中的电子被三羧酸循环 (TCA) 提取, 而脂肪中的电子则被 β -氧化过程提取。这些还原等价物被转运至 NAD^+ 产生 $NADH+H^+$ 或者转运至 FAD 产生 $FADH_2$ 。接着电子被电子传递链 (ETC) 氧化。ETC 由以下复合物起始: 复合物 I (NADH 脱氢酶), 从 NADH 收集电子; 复合物 II (琥珀酸脱氢酶), 从三羧酸循环中的琥珀酸收集电子或从电子传递黄素蛋白 (ETF) 中收集电子; 以及通过 ETF 脱氢酶, 从脂肪酸酰基辅酶 A 脱氢酶中收集电子。所有这些起始复合物均将电子转运至辅酶 Q_{10} (CoQ), 继而将 CoQ 从泛醌 (无电子) 转变成泛半醌 (一个电子) 以及泛醇 (两个电子)。通过泛醇, 两个电子

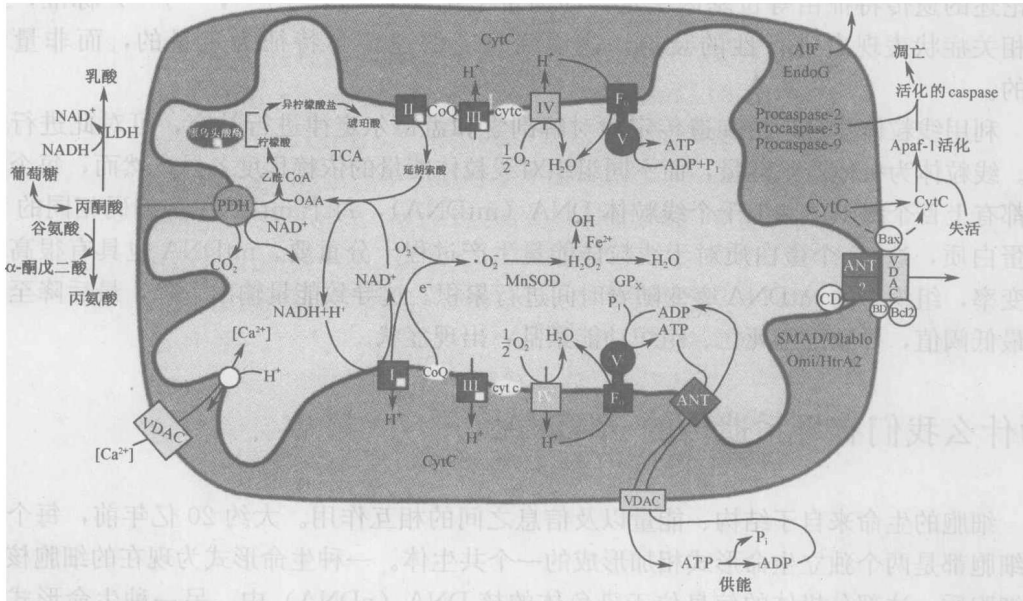


图 1-1 线粒体能量产生以及对疾病的病理生理学的反应。线粒体代谢的三个特征是常见的衰老相关性疾病病理生理学的核心: (1) 能量通过氧化磷酸化 (OXPHOS) 产生; (2) 氧自由基 (ROS) 作为 OXPHOS 的毒副产物产生; (3) 透过激活线粒体通透性转运孔 (mtPTP) 调节细胞凋亡。(ADP 或 ATP) 二磷酸腺苷或三磷酸腺苷; (ANT) 腺苷酸转运体; (CytC) 细胞色素 c; (GPx) 谷胱甘肽过氧化物酶-1; (LDH) 乳酸脱氢酶; (MnSOD) 锰超氧化物歧化酶或 SOD2; (NADH) 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; (TCA) 三羧酸循环; (VDAC) 电压依赖阴离子通道; (I、II、III、IV 和 V) OXPHOS 复合物 I~V。复合物 I 由 45 个多肽组成, 其中 7 个 (ND1、2、3、4L、4、5、6) 由哺乳动物 mtDNA 编码; 复合物 II 由 4 个 nDNA 编码的多肽组成; 复合物 III 由 11 个多肽组成, 其中 3 个 (COI、II、III) 由 mtDNA 编码; 复合物 IV 大约由 17 个多肽组成, 其中 2 个 (ATP6、8) 由 mtDNA 编码。[Wallace 2005b (© Annual Reviews) and MITOMAP 2006 (© mitomap.org)]

被转移至复合物 III (bc_1 复合物), 继而转移至细胞色素 c, 然后转移至复合物 IV (细胞色素 c 氧化酶), 细胞色素 c 氧化酶利用电子将 $\frac{1}{2}O_2$ 还原, 转变成 H_2O 。在 ETC 上游至下游传递电子的过程中, 释放出能量, 用以将复合物 I、II 和 IV 产生的质子从线粒体基质中穿越内膜泵出来, 形成电化学梯度 ($\Delta P = \Delta\psi + \Delta\mu^{H^+}$)。这个生物学电容器提供势能来源驱动复合物 V (ATP 合成酶) 将 $ADP + Pi$ 转变为 ATP。线粒体 ATP 与细胞质中的 ADP 通过腺苷酸转运体 (ANT) 穿越线粒体内膜相互交换。 ΔP 转化成 ATP 的效率称为 OXPHOS 的“偶联效率”。紧密偶联的 OXPHOS 产生最大的 ATP 和最小的热量, 而松散偶联的 OXPHOS 产生 ATP 较少, 但产生的热量更多 (Wallace 1999, 2001; Wallace et al. 2001; Wallace and Lott 2002)。

细胞内大部分活性氧分子 (ROS) 也是由 OXPHOS 产生。这是由于环绕在 CoQ 周围的电子在 ETC 的早期将电子传递给 O_2 , 产生超氧阴离子。超氧阴离子具有高反应活性, 但可被线粒体的锰超氧化物歧化酶 (MnSOD) 解毒, 形成过氧化氢 (H_2O_2)。 H_2O_2 相对稳定。然而, 还原性过渡金属存在时, H_2O_2 可被进一步还原成羟自由基 ($\cdot OH$), 这是活性最强的氧自由基。 H_2O_2 可被谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx1) 还原成 H_2O 或被过氧化氢酶转变成 H_2O 和 O_2 (图 1-1)。GPx1 可使电子在谷胱甘肽硫醇 (G-SH) 和 (或) 二硫化物 (G-S-S-G) 氧化还原循环中进行传递。谷胱甘肽还原酶利用 NADPH 还原 GSH/GSSG, NADPH 是 NADH 通过烟酰胺核苷酸转氢酶 (NNT) 传递还原等价物产生的, 而 ΔP 提供能量 (Freeman et al. 2006; Huang et al. 2006)。GSH/GSSG 系统与半胱氨酸 (Cys) 和 (或) 胱氨酸 (CySS) 氧化还原系统核质 (nuclear-cytosol), 以及线粒体的硫氧还蛋白-1,2 [Trx1-(SH) $_2$] 和 (或) 硫氧还蛋白-1,2 (Trx1-SS) 氧化还原系统相偶联。这些氧化还原系统通过氧化还原活化蛋白-1 (AP-1, Fos/Jun)、NF- κ B、无嘌呤无嘧啶内切核酸酶 (APE-1)、PAX、HIF-1 α 、p53 以及许多激酶 [Src 激酶、蛋白激酶 C、有丝分裂原活化的蛋白激酶 (MAPK) 以及受体酪氨酸] 中重要的硫醇键调解细胞生长、休眠以及死亡 (Evans et al. 2000; McCord 2000; Kelley and Parsons 2001; Hansen et al. 2006; Jones 2006)。

正常情况下, 线粒体氧自由基 (ROS) 在线粒体和细胞核的联系中起到十分重要的作用 (Hansen et al. 2006; Jones 2006)。然而, ROS 也能氧化以及破坏细胞脂质、蛋白质和核酸。当 ETC 被过度还原时, 这些 ROS 的毒性则增强。在这些情况下, 剩余的电子累积于电子载体, 加速电子传递至 O_2 , 增加了 $\cdot O_2^-$ 的量。ETC 或多余饮食热量的有效利用受到抑制会导致 ETC 载体还原过度, 而使 ROS 增加。ETC 抑制可由 mtDNA 或 nDNA 等线粒体基因突变引起, 基因突变后可改变 OXPHOS 某个复合物的动力学参数而抑制 ETC 中电子的传递。另外, 摄取额外的热量可为 ETC 提供更多的热量, 当超过产生 ATP 的所需时, 也可还原电子载体, 而增加 ROS 的产生。线粒体蛋白、脂质以及核酸被 ROS 所损伤后, 可进一步抑制 OXPHOS 并且加剧 ROS 的产生。最后, 线粒体损伤到一定程度, 不能够为细胞产生足够的能量, 丧失功能的细胞则通过凋亡而被组织清除 (Wallace 1999, 2001; Wallace et al. 2001; Wallace and Lott 2002)。

线粒体功能出现问题的细胞通过激活线粒体通透性转运孔 (mtPTP) 发生凋亡, 从而被消灭。尽管 mtPTP 的结构还存在争议, 但人们普遍认同一个模型, 即它的组分

包括电压依赖阴离子通道 (VDAC) 蛋白组构成的外膜, ANT 构成的内膜, 凋亡蛋白前体, 抗凋亡蛋白 Bcl2-Bax 家族蛋白以及亲环蛋白 D。这些复合物感知线粒体 ΔP 、腺嘌呤核苷酸、ROS 以及 Ca^{2+} 的变化, 当这些因子失衡到一定水平, mtPTP 即被激活, 细胞质和基质之间的通道开放。去极化的 ΔP 导致线粒体肿胀, 将线粒体膜内空间中的蛋白质释放至细胞质中。释放的蛋白质包括细胞色素 c、caspase 9 前体、凋亡起始因子 (AIF) 以及内源性核酸酶 G。细胞色素 c 与细胞质内的 Apaf-1 相互作用并将其激活, 进而将 caspase 9 前体转化成活化的 caspase。caspase 9 激活 caspase 2 和 caspase 3 的前体, 它们能够降解胞质和线粒体中的蛋白质。AIF 和内源性核酸酶 G 可被转运至细胞核, 降解 nDNA, 细胞被消化, 从组织中清除 (图 1-1) (Wallace 2005b, 2007)。

mtDNA 遗传学

13 个 mtDNA 蛋白质基因分别编码复合物 I 的 45 个亚基中的 7 个蛋白质 (ND1、2、3、4L、4、5、6), 复合物 III 的 11 个亚基中的 1 个蛋白质 (Cytb), 复合物 IV 的 13 个亚基中的 3 个蛋白质 (COI、II、III) 以及复合物 V 的 17 个亚基中的 2 个蛋白质 (ATP6、8)。由于 mtDNA 位于细胞中, 所以它遗传自卵母细胞的细胞质, 因此, 为绝对母系遗传 (Giles et al. 1980)。另外, 每个细胞含有数千个 mtDNA, 因此, 一旦 mtDNA 发生突变, 将产生细胞内正常以及突变相混合的 mtDNA, 即所谓的异质体。当异质体细胞分裂时, 突变和正常的 mtDNA 随机分布到子代细胞中, 因此, mtDNA 的基因型随着有丝分裂复制的进行会出现漂移, 最后各自成为纯突变型或野生型 mtDNA (同质体) 细胞质。

由于常期暴露于 ROS, mtDNA 具有非常高的突变率, mtDNA 基因没有内含子或非编码序列, 因此, 高突变率会影响基因功能。由于 mtDNA 在有丝分裂细胞和减数分裂细胞中均进行复制, 突变可以在母系中进行传递。这种母系遗传的差异主要来自两个范畴: 远古多态性和近期突变。线粒体和 mtDNA 也在有丝分裂后期细胞中进行传递, 因此, mtDNA 必须持续复制, 结果导致有丝分裂后期组织中 mtDNA 突变随时间而发生累积。

mtDNA 突变可能是有害的、无意义的或者有益的。由于 mtDNA 仅编码能量相关基因, 有害的 mtDNA 突变会产生能量损失, 可被选择性清除, 表现出多系统退行性病。疾病的性质以及严重程度受患者能量产生过程受损程度的影响, 而这取决于细胞、组织或个体的 mtDNA 突变的严重程度和突变率。由于有害的突变很快就被选择性清除, 那些人群中存在的有害的突变必然是最近出现的。首先, 这些有害的突变影响那些最依赖线粒体能量产生的系统: 中枢神经系统、心脏、肌肉、肾脏以及内分泌系统。其次, 这些系统在衰老过程中也受到影

由于 OXPHOS 是热量利用和环境对细胞产 ATP (或热能) 的中介, 一些改变 OXPHOS 偶联效率的 mtDNA 改变, 有利于机体适应环境的需求。然而, 这样的适应性突变很少, 因此, 大部分适应性突变在相对远古的时期发生。而且由于远古的适应性突变是有益的, 因此, 自然选择可对其进行富集。结果使得具有这种突变的 mtDNA 在某些特殊的生态环境下得以富集 (Wallace 2005b, 2007)。

mtDNA 编码完整的电路组分

OXPPOS 利用储存在线粒体中的电化学梯度产生的势能进行所有能量的转换, 这些产生、维持和利用这些梯度的过程必须是电平衡的, 否则, 生物电容器将出现短路。改变此电路并保持组分电平衡的唯一途径是将每个新的突变增加在已存在的各个不同的 mtDNA 组分上, 通过自然选择检验新的化合物。因此, 只有在此生态环境下有利的突变才被保留下来。由于不同的 mtDNA 序列被不同的生态环境所优化, 在不同 mtDNA 之间进行重组很可能产生不相容的线粒体循环组分的化合物。这种短路非常有害。因此, 必须避免重组。避免重组是通过单系遗传完成的, 这可阻断适应于不同生态环境下的 mtDNA 发生混合 (Wallace 2007)。

对所有 mtDNA 功能序列进行比较基因组学分析, 证明 mtDNA 编码与电子传递和质子泵相偶联的电相关组分。分析显示, 所有的 mtDNA 均保留 COI 和 Cytb 基因, 大部分保留了 COII 和 COIII 基因, 这些是与电子传递和质子泵过程偶联的复合物 III 和 IV 的核心蛋白, 因此, 这 4 个蛋白质对于产生和维持线粒体电梯度十分必要。大部分 mtDNA 保留了复合物 V 中的电子和质子传递线路蛋白, 包括 ATP6 和 ATP8 基因, 部分也保留了 ATP9 基因。如果该线粒体利用 NADH 脱氢酶泵出质子, 则其 mtDNA 也保留了复合物 I 的 ND1、2、3、4L、4、5 和 6 基因。动物的 mtDNA 基本上保留了所有这些基因 (Wallace 2007)。

这些编码核心 OXPPOS 蛋白的 mtDNA 的突变可调节泵出质子与被氧化电子的比率。例如, 在复合物 III 中电子传递通过“Q 循环”与质子泵相偶联。这个循环包括两个 CoQ 结合位点, 一个在线粒体内膜的内部, 另一个在线粒体内膜的外部。这两个 CoQ 结合位点均位于细胞色素 b 蛋白上, 在北部气候下, 存在一个重要的适应性突变, 即这两个位点中的一个或另一个出现失活。细胞色素 b CoQ 结合位点的突变会打破 Q 循环, 允许电子通过复合物 III 而不泵出质子。这意味着必须水解更多的热量才能产生同量的 ATP, 因此, 偶联效率降低。热量氧化增加可导致热量产生增加, 对机体适应寒冷的气候十分有利。然而由于该突变降低了单位热量中 ATP 的产生, 故在温暖气候下对机体是不利的。因此, 改变偶联效率的 mtDNA 突变是根据不同生态环境所进行的适应性突变。因此, 母系遗传的 OXPPOS 偶联蛋白 mtDNA 高突变率可为动物提供一个非常好的适应生态环境变化的适应系统 (Wallace 2007)。

人类机体的 mtDNA 差异的起源和适应性

由于 mtDNA 为母系遗传, 具有高突变率, 所以 mtDNA 突变以一定的比率在历史性人类事件中随母系遗传代数而累积。因此, mtDNA 差异是研究远古雌性个体重组以及迁徙的一个重要工具。然而, 当前 mtDNA 谱系的分布受随机突变 (基因漂移) 以及适应性选择共同影响。因此, mtDNA 关乎人类祖先迁移和努力生存的过程。

利用 mtDNA 差异追寻人类祖先的迁移过程

大致上, 任何两个来源于同一个母系祖先的 mtDNA 之间的核酸差异与时间的推移

呈比例关系。因此, 通过将土著人群的地理学分布同 mtDNA 基因分布相关联起来, 很可能推测出女性的线粒体进化历史 (图 1-2)。由于 mtDNA 不断累积, 所发现的特殊 mtDNA 谱系的差异体可定义 mtDNA 进化树的进化支, 即这些差异体来自于同一组相关单倍型, 即所谓一个单倍组 (Wallace et al. 1999; Wallace 2005b)。

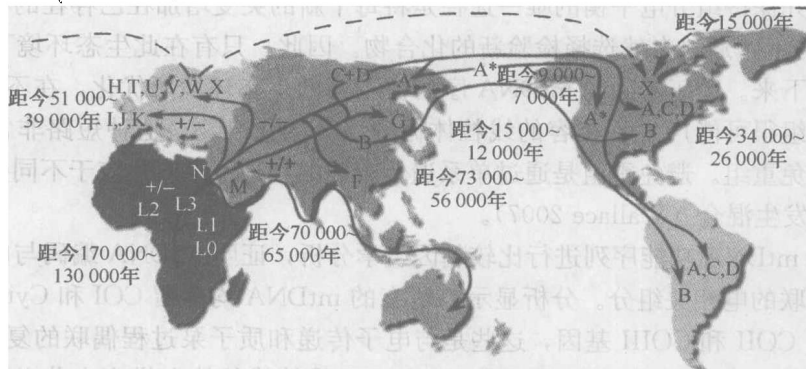


图 1-2 人类 mtDNA 单倍组的迁移历史。人类 mtDNA 在距今 200 000~150 000 年前的非洲出现, 第一个非洲特异性的单倍组分支为 L0, 继而出现了单倍组 L1、L2 和 L3。在非洲东北, 单倍组 L3 又出现两个新谱系 M 和 N。单倍组 M 和 N 的特点是在核苷酸 10394 处出现 *DdeI* 的限制性位点多态性 (核苷 10398 位 A 转变成 G) 以及在核苷 10397 处出现 *AluI* 的限制性位点多态性 (核苷 10400 位 C 转变成 T): M 为 +/+ , N 为 +/- 和 -/-。只有单倍组 M 和 N 的 mtDNA 才能在距今 65 000 年前成功离开非洲, 移民至欧洲。在欧洲, N 出现了单倍组 H、I、J、K、T、U、V、W 以及 X。在亚洲, M 和 N 出现了多种多样的 mtDNA 谱系, 包括 N 出现的单倍组 A、B 以及 F, M 出现的单倍组 C、D 以及 G。单倍组 A、C 和 D 在东北西伯利亚富集, 在距今 30 000~20 000 年前穿越白令大陆桥, 即为古印度人。在距今 15 000 年前, 单倍组 X 穿越了寒冷的南极到达加拿大中心, 或者也可能迁移自亚洲, 其遗迹如今并不清楚。在距今 15 000~12 000 年前, 单倍组 B 进入美洲, 途经西伯利亚和北极, 很可能沿白令海峡进行迁移。接着, 在距今 9000~7000 年前, 一次从东北西伯利亚至西北北美洲的迁移产生了一个发生改变的单倍组 A, 成为加拿大西海岸土著人 (Athebaskins、Dogrib、Apaches 和 Navajos)。最后, 相对距今较近的时间, 单倍组 A 和 D 的后代沿北极圈迁移, 成为爱斯基摩人。这些观察发现在 mtDNA 差异体中存在两个主要的纬度中断: 一个存在非洲单倍组 L, 欧洲单倍组 M 和 N 的后代之间; 另一个存在于中心亚洲的多血症 mtDNA 谱系, 东北西伯利亚地区只存在 A、C 和 D 谱系之间, 后者孕育了原始美洲的迁移。由于这些不连续性与从热带和亚热带至温带, 从温带至极地的纬度改变相对应, 因此, 我们认为这是气候对 mtDNA 突变选择的结果, 这些突变使某些母系谱系在越来越冷的北寒带得以繁衍生存。[Wallace 2005b (© Annual Reviews) and MITOMAP 2006 (© mitomap.org)]

对 mtDNA 的差异进行分析表明, 非洲女性在距今 200 000 年前出现, 在非洲大陆繁衍了 150 000 年。这产生了 4 个主要的亚撒哈拉沙漠非洲单倍组: L0、L1、L2 和 L3 (Chen et al. 2000)。大约距今 65 000 年前, 两个 L3 的新谱系在非洲东北大陆出现: 单倍组 M 和 N。只有这两个谱系离开了非洲, 迁移到世界的其他地方。一批移民携带单倍组 N 谱系向北迁移到欧洲, 出现了欧洲特异的单倍组 H、I、K、T、U、V、W 和 X (Wallace 2005b)。另外, 单倍组 N 和 M 繁衍至亚洲, N 衍生出许多单倍组, 包括单倍组 A、B 及 F, M 衍生出多血症的单倍组包括 C、D、E、G、Y 和 Z (Schurr and Wal-

lace 2002)。

亚洲单倍组中,在最靠东北方的西伯利亚地区仅出现了单倍组 A、C 和 D,因此,当白令大陆桥在距今 20 000 年前出现时,只有这些 mtDNA 的人群能穿越白令大陆桥,成为最早的美本土谱系。继而,单倍组 B 在距今 15 000~12 000 年前沿亚洲海岸迁移到达美洲,在热带以及温带同单倍组 A、C 和 D 混杂。欧洲或亚洲的移民在距今 15 000 年前携带单倍组 X 迁移至北美的五大湖地区 (Brown et al. 1998)。继而在距今 9000~7000 年前 Okhostk 海区的移民携带单倍组 A 进行迁移,衍生出北美的纳-德内语人。最后,最近的携带单倍组 A 和 D 的迁移是从科特卡迁移过来的,衍生出爱斯基摩人和阿留申人 (Starileovskaya et al. 1998; Wallace et al. 2000; Derbeneva et al. 2002)。在白令大陆桥消失后, G、Y 和 Z 单倍组在亚洲出现并迁移到 Okhostk 地区。

mtDNA 差异和人类适应性

从历史遗传学重建来看,人类 mtDNA 差异主要出现以下两个中断:①非洲 mtDNA 具有巨大多样性,而所有的欧洲 mtDNA 仅有两个 mtDNA 谱系 (M 和 N);②亚洲多血症来源的 mtDNA 具有 M 和 N 两个谱系,而在偏远的东北西伯利亚具有 A、C、D 和 G 单倍组。这些 mtDNA 在地理位置上差异的中断是以纬度 (即气候) 进行划分。所以,可以假设 mtDNA 突变改变了偶联效率,即改变了 ATP 和热量产生的相对水平,这使人类在从非洲迁移至北部时,能够适应越来越寒冷的生态环境。

对包括热带非洲、温带欧洲、北极的西伯利亚和北美在内的 104 个 mtDNA 的全部序列进行分析,其 mtDNA 蛋白序列的差异结果支持这个假说。这个分析发现 mtDNA ATP6 蛋白序列在北极西伯利亚和北美的 mtDNA 之间差别很大, Cytb 在温带欧洲的 mtDNA 之间差别很大,而 COI 在热带非洲的 mtDNA 之间差异最大 (Mishmar et al. 2003)。

通过集中 1125 个 mtDNA 编码的所有序列,并利用其推测全部的人类 mtDNA 进化史,包括在序列突变树下的所有的核酸变化,上述假说得以进一步验证。分析表明,从热带非洲,到温带欧洲至北极西伯利亚和北美 mtDNA 谱系中缬氨酸取代突变率逐渐增加。而且许多温带和北极的 mtDNA 谱系中,存在独特的、高保守的氨基酸取代突变,能影响 ETC 的质子泵或 ATP 的产生效率。因此,影响偶联效率的 mtDNA 突变是在人们迁移出非洲时出现的 (Ruiz-Pesini et al. 2004)。

许多 mtDNA 单倍组与多种常见的退行性疾病症状以及寿命相关。欧洲单倍组 J 和 Uk 可抵御阿尔茨海默症 (AD) 和帕金森病 (PD),延长寿命。这种联系是非常显著的,因为欧洲单倍组 J1 和 Uk 的细胞色素 b 均在核酸 14798C 上出现突变 (Ivanova et al. 1998; Chagnon et al. 1998; De Benedictus et al. 1999; Ross et al. 2001; Niemi et al. 2003; van der Walt et al. 2003, 2004)。这个突变在复合物 III 的一个 CoQ 结合位点出现,该突变十分保守,在所分析的人类中,79% 出现改变。而且,单倍组 H 的个体对脓血症更具抵抗性 (Baudouin et al. 2005),在双向疾病的个体中单倍组 T 呈现富集 (McMahon et al. 2000),单倍组 J 的个体一旦出现导致遗传性视神经病变 (LHON) 的轻度突变后,更易出现失明 (Brown et al. 1997, 2002; Torroni et al. 1997)。

在 mtDNA 蛋白质 (Ruiz-Pesini et al. 2004)、tRNA 以及 rRNA (Ruiz-Pesini et

al. 2004) 基因上都发现了可能的适应性 mtDNA 突变。由于未偶联的线粒体可以进行更多氧化作用, 这样可产生更少的 ROS, 因此, 更多未偶联的 mtDNA 可以降低线粒体的氧化压力。这可以保持线粒体和细胞功能, 延长有丝分裂后期细胞的存活时间 (Ruiz-Pesini et al. 2004)。所以, 使人类的祖先适应寒冷环境的 mtDNA 差异体却令个体对一些现代病和衰老更为易感。

由于 mtDNA 不能重组, 当 mtDNA 发生有益的突变时, 如果恰巧 mtDNA 也发生了无意义的突变, 那么这个无意义的突变可以通过适应性选择遗传至下一代, 因此, 存在着 mtDNA 差异体的阵列。

退行性疾病中线粒体发生的突变

在线粒体基因组中 mtDNA 和 nDNA 均可以发生有害的突变。由于 mtDNA 包含了电子传递通路的蓝图信息, 而 nDNA 编码特异的线粒体结构蛋白, mtDNA 或 nDNA 基因突变或二者同时发生突变可导致线粒体疾病 (Wallace 2005b, 2007)。

在遗传性疾病中 mtDNA 的突变

致病性 mtDNA 替代突变能改变多肽基因或者 rRNA 和 tRNA 基因。例如, mtDNA 多肽基因突变会导致 LHON 患者中年突发失明。复合物 I 几种基因中的任何一个出现错义突变即可导致 LHON, 包括在核酸 G11778A (Wallace et al. 1988a)、G3460A (Huoponen et al. 1991)、T14484C (Johns et al. 1992)、T10663C (Brown et al. 2002) 和 A14459G (Jun et al. 1994) 位置上的突变。

一个 mtDNA 蛋白合成基因突变的例子是 tRNA^{Lys} A8344G 位突变, 这个突变会导致 MERRF 综合征。MERRF 综合征是一种多系统神经肌肉病变, 其极端形式会导致阵挛性癫痫和粗糙红色纤维疾病。然而, 异种组织突变百分率的差异能导致多种多样的临床症状, 包括从感觉神经的听力丧失到癫痫症, 从肌肉疾病到心肌病变, 甚至痴呆 (Wallace et al. 1988b; Shoffner et al. 1990)。

迄今为止, 已经发现了超过 229 个致病性取代突变, 这些突变导致了许多疾病症状, 中枢神经系统病变导致视力和听力丧失, 运动和平衡问题以及记忆丧失; 肌肉进展性无力和肌痛, 出现肌肉消耗, 心肌功能失调导致肥厚性以及扩张性心肌病; 内分泌系统失调导致糖尿病、肾脏衰竭等。这些报道的疾病突变列于 MITOMAP 网站 (Wallace 2005b; MITOMAP 2006) 以及一篇最近发表的综述 (Wallace et al. 2007)。

将氯霉素抗性 (CAP^R) 的 T2433C 位点突变的 mtDNA 16S rRNA 导入小鼠种系后, 发现突变的小鼠出现了线粒体肌病和心肌病, 证明 mtDNA 的碱基取代突变可导致退行性疾病。氯霉素抗性的小鼠培养细胞去核后, 将含有突变 mtDNA 的胞质片段与雌性胚胎干细胞 (ES) 相融合, 这些 ES 细胞通过用线粒体毒性罗丹明 6G 处理, 已敲除了常规 mtDNA。CAP^R 雌性 ES 细胞的胞质杂合体注射入小鼠细胞中, 筛选出嵌合动物, 进行表型鉴定, 喂养子代动物, 结果 CAP^R mtDNA 以同质体或异质体的形式遗传至子代。对这些嵌合动物进行表型分析, 发现它们出现了白内障、视网膜病、头部视神经错构瘤。CAP^R 后代的小鼠, 在出生几个月内死于心肌病和线粒体肌