

细胞衰老在阿尔茨海默病发病机制及防治中的作用研究进展

赵珺琦^a, 叶田园^b, 齐冬梅^b, 程肖蕊^{b*} (山东中医药大学, a.中医学院, b.中医药创新研究院, 济南 250355)

摘要: 衰老是导致神经退行性疾病发生的最重要因素。细胞衰老会导致细胞和分子损伤的累积, 从而引发机体整体修复机制的失败, 最终导致了机体的老化。已有研究结果表明, 星形胶质细胞、小胶质细胞、少突胶质细胞祖细胞、少突胶质细胞、神经干细胞、神经元以及内皮细胞、先天免疫细胞和适应性免疫细胞的衰老在神经退行性疾病阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的发病机制中发挥重要作用, 通过清除衰老细胞、调节衰老相关的分泌表型可有效改善 AD。本文综述细胞衰老在 AD 发病机制中的作用, 及针对其细胞衰老的治疗研究进展, 以期为进一步揭示 AD 发病机制和研发防治药物提供参考。

关键词: 细胞衰老; 阿尔茨海默病; 衰老相关分泌表型; 衰老相关的半乳糖苷酶; 脂褐素

中图分类号: R965.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2022)09-1235-12

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.09.019

引用本文: 赵珺琦, 叶田园, 齐冬梅, 等. 细胞衰老在阿尔茨海默病发病机制及防治中的作用研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(9): 1235-1246.

Research Progress of Role of Cellular Senescence in the Pathogenesis and Treatment of Alzheimer's Disease

ZHAO Junqi^a, YE Tianyuan^b, QI Dongmei^b, CHENG Xiaorui^{b*} (Shandong University of Chinese Medicine, a.School of Chinese Medicine, b.Chinese Medicine Innovation Research Institute, Jinan 250355, China)

ABSTRACT: Senescence is the most important factor that leading to neurodegenerative diseases. Cellular senescence will cause the accumulation of cellular and molecular damage, which leads to the failure of the overall repair of the body, ultimately leading to the failure of the body's aging. Many studies showed that senescence plays an important role in the pathogenesis of Alzheimer's disease(AD), such as the senescence of astrocyte, microglia, oligodendrocyte progenitor cell, oligodendrocyte, neural stem cell, neurons and endothelial cell, innate immune cell and adaptive immune cell. It is beneficial for AD therapy to eliminate senescent cells and to regulate senescence-related secretory phenotypes. This paper reviewed the role of cell senescence in the pathogenesis of AD and the research progress in the treatment of cell senescence. This may provide clues for further revealing the pathogenesis and studying the prevention and treatment of AD.

KEYWORDS: cell senescence; Alzheimer's disease; senescence-associated secretory phenotype; senescence-associated β -galactosidase; lipofuscin

1961 年, 在体外人类成纤维细胞研究中, “复制性衰老”的概念被首次提出^[1], 是指细胞进入一种不可逆转的、不分裂的、细胞周期永久停滞, 但依旧能存活的状态。除了“复制性衰老”还有“应激性衰老”, 即由致癌基因激活、诱导癌基因失活导致细胞周期阻滞, 从而引起细胞衰老。衰老细胞的生物学功能是对抗不受控制的细胞增殖, 以及促进受损细胞或不再需要的细胞的清除, 从而避免肿瘤的形成, 这是细胞衰老的益处。但细胞衰老也会加剧机体衰老, 并且和年龄相关疾病的发病机制紧密相关^[2], 这便是细胞衰老所带来的负面影响。近年来, 细胞衰老在神经退行性疾病阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)发病机

制中的研究受到了重视, 靶向治疗策略也取得了一些进展, 本文在概述细胞衰老研究进展的基础上, 综述细胞衰老在 AD 发病机制中的作用及其防治研究进展, 为本领域研究提供借鉴。

1 细胞衰老研究进展概述

1.1 细胞衰老的机制

迄今为止对于细胞衰老机制的认识仍然不足。这是因为细胞衰老是一个十分复杂的过程, 其可以被不同的刺激激活, 并可以产生多种不同的反应^[3-4]。目前已有研究结果表明, 诱发细胞衰老的刺激有端粒缩短^[5]、DNA 损伤^[6]、线粒体功能障碍^[7]、氧化应激、肿瘤基因活化、溶酶体改变等。其中大多数的刺激会导致端粒或非端粒 DNA

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2021QH157)

作者简介: 赵珺琦, 男, 硕士生 E-mail: dzzlian2@163.com

*通信作者: 程肖蕊, 女, 博导, 研究员 E-mail: cxr916@163.com

损伤,或染色质结构改变,通常会激活 DNA 损伤反应^[8-9]。DNA 被损伤后,激活共济失调-毛细血管扩张突变基因(ataxia telangiectasia mutated, ATM)及共济失调-毛细血管扩张与 Rad3 相关蛋白(ataxia telangiectasia and Rad3-related protein, ATR)。接着 ATM 和 ATR 能够激活检查点激酶 CHK1 和 CHK2^[10-11],最终导致 p53 的激活^[12]。活化的 p53 促进细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 p21^{CIP1} 的转录, p21^{CIP1} 反过来阻断细胞周期蛋白依赖性激酶 2 的活性,导致视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)过度磷酸化和细胞周期的停滞^[13-14],以上是导致细胞周期停滞的途径之一。而 INK4-ARF 基因去抑制是另一种衰老激活机制,在正常细胞中,INK4-ARF 位点受到多梳蛋白和表观遗传因子的抑制,但激活后促进 ARF 和 p16^{INK4A} 的表达,从而抑制 CDK4 和 CDK6,并导致 RB 过度磷酸化和细胞周期的停滞。在 DNA 损伤和 INK4-ARF 位点去抑制这 2 个途径组成的衰老级联作用下,导致细胞周期停滞,发生细胞衰老^[15]。

1.2 细胞衰老的特征

衰老的细胞会表现出很多细胞形态和分子上的变化,但这些变化并不具有特异性,这是因为衰老细胞分子特征的改变,取决于触发衰老刺激和受到刺激的细胞类型的影响^[16]。尽管缺乏特异性,但是根据目前的很多研究,找到了一些最常见的细胞衰老的特征。

细胞衰老的关键特性是衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP),主要包括转化生长因子- β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α);趋化因子-1(chemokine-1, CXCL-1)、趋化因子-3(chemokine-3, CXCL-3);细胞因子如白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6);生长因子如胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF);金属蛋白酶如基质金属蛋白酶抑制剂、基质金属蛋白酶^[17]。在衰老过程中,当衰老细胞的积累超过了免疫细胞的清除能力时,剩余过多的衰老细胞,持续分泌 SASP 相关分子,将导致组织的慢性衰退^[18]。

衰老细胞会出现永久性的细胞周期阻滞,这是由 p16^{INK4A} 和 p53-p21-RB 通路调控的。p16^{INK4A} 通过抑制 CDK4 和 CDK6 介导永久细胞周期阻滞,导致 RB 低磷酸化,并阻止进入 S 期^[19-20]。p16^{INK4A} 的水平上升是一个典型的细胞衰老标记^[21-22]。

细胞衰老与细胞代谢的变化有关,复制衰老的细胞代谢变化特征一般表现为从氧化磷酸化到糖酵解的转变,这一转变包括了溶酶体衰老相关的半乳糖苷酶(senescence-associated β -galactosidase, SA- β -gal)的上调^[23]。在衰老和年龄依赖性疾病的发展中,由蛋白质氧化引起的蛋白酶抑制紊乱和蛋白酶体系统的损害,会导致高度交联且不可降解的聚集体积累,如脂褐素的累积^[24]。脂褐素聚集体由氧化蛋白、脂质降解残基和溶酶体酶无法降解的金属阳离子组成^[25]。现在脂褐素积累已被报道为细胞衰老的一个关键特征,可用于确定衰老细胞^[26-27]。

另外,线粒体功能障碍也是衰老细胞的重要特征之一。随着细胞的衰老,线粒体自噬(细胞通过自噬清除受损线粒体的能力)功能会受到损伤,这可能会导致在细胞衰老过程中线粒体功能障碍的积累^[28]。线粒体功能障碍主要通过氧化应激诱导端粒损伤和 SASP 的释放,同时线粒体活性氧(reactive oxygen, ROS)还可以诱导端粒磨损及其功能障碍^[27,29-31],功能障碍的线粒体通过影响细胞代谢的改变而促进细胞衰老^[32]。几种表观遗传修饰在细胞衰老中也很常见,如组蛋白修饰和特异性 DNA 甲基化改变,包括甲基化酶活性的改变^[33],这些 DNA 甲基化和组蛋白修饰的变化会改变染色质结构^[34],见图 1。

2 细胞衰老在 AD 发病机制中的作用

AD 认知能力下降与细胞外淀粉样斑块的弥散形成、细胞内由过度磷酸化的 Tau 蛋白组成的神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFTs)以及神经元和突触的丢失有关^[35]。衰老也是 AD 的一个关键风险因素,然而细胞衰老与 AD 在衰老过程中是如何相互影响的,细胞衰老是 AD 病程中的一种反应还是引起 AD 的触发器,目前尚无定论。本文概述了不同细胞衰老的证据,以及衰老细胞与 AD 病理之间相互影响的关系。

2.1 星形胶质细胞

星形胶质细胞是大脑中最丰富的胶质细胞类型,其会在各种刺激和中枢神经系统疾病的影响下被激活,并发生一系列形态和功能改变。A1 样激活性星形胶质细胞与衰老星形胶质细胞有许多相似的表型,例如细胞形态学变化和促炎因子的分泌,所以这就意味着之前很多对激活的星形胶质细胞研究,实际上可能是在对衰老星形胶质细

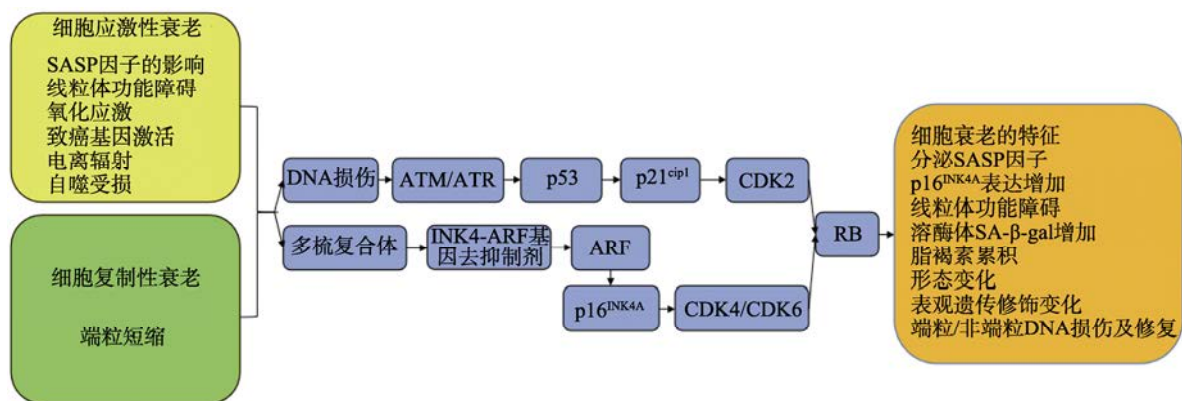


图1 细胞衰老的机制与特征

Fig. 1 Mechanisms and characteristics of cellular senescence

胞的研究^[36]。但是, Cohen 等^[37]已经阐明了激活的星形胶质细胞和衰老星形胶质细胞是不同的, 星形胶质细胞被激活后, 星形胶质细胞变得肥大, 许多促炎和抗炎细胞因子、趋化因子和生长因子分泌增多, 这与衰老星形胶质细胞的特征是一样的。星形胶质细胞在衰老的过程中, 会有溶酶体质量增加, 从而导致半乳糖苷酶活性上升, 它们分泌促炎细胞因子、趋化因子和生长因子, 并且这些因子可以由核转录因子 B(nuclear factor kappa B, NF-κB)调控, 此时这些因子被称为 SASP^[37]。现在有关星形胶质细胞衰老的证据已经越来越多, 大量研究表明, 在过度的复制、氧化应激、蛋白酶体抑制及 HIV 感染的影响下, 星形胶质细胞也会表现出细胞衰老的一般特征^[36]。衰老的星形胶质细胞的关键特征有永久性的细胞周期阻滞、形态学改变、胶质纤维酸性蛋白和波形蛋白的增加、染色质改变、衰老相关异染色质聚集、高迁移率族蛋白的表达增高、核纤层蛋白 B1 表达降低、神经营养生长因子的下调、SASP 因子及 SA-β-gal 的上调^[38-42]。

在 1 项衰老的星形胶质细胞在 AD 中作用的研究中, 应用 Aβ₄₂ 处理体外培养的人体星形胶质细胞, 星形胶质细胞表现出经典的细胞衰老表型, 如 SA-β-gal 活性增强和 p16^{INK4A} 表达上调^[43]。另外, 在 AD 患者的额叶皮层组织中, 不仅表达高水平 p16^{INK4A} 的星形胶质细胞会随着年龄的增长而增加, 而且与年龄匹配的对照组中的非病变组织相比, AD 患者的脑组织中衰老的星形胶质细胞会进一步增多^[44]。此外, 有 1 项研究将 INK-ATTAC 转基因小鼠与 PS19 菌株杂交, 使用诱导剂去除 p16 阳性衰老细胞, 获得小鼠菌株(PS19/ATTAC),

通过使用 Senolytic 药物或基因剔除的方法来去除衰老的星形胶质细胞和小胶质细胞, 可防止或抑制 NFTs 的形成; 另外该研究通过新物体识别实验发现, 在测试阶段去除衰老细胞的小鼠对新气味的察觉更敏感, 小鼠的短期记忆得到了改善^[45-46]。由此笔者认为星形胶质细胞衰老可能参与 AD 的发病机制。

衰老的星形胶质细胞在 Tau 蛋白过度磷酸化和 NFTs 形成中发挥重要作用^[45-46]。其产生的 SASP 可诱导细胞萎缩及促进 Tau 蛋白过度磷酸化, 导致细胞沉积和 NFTs 形成^[45]。神经元会释放谷氨酸, 但衰老的星形胶质细胞无法将其从突触中清除, 从而导致细胞外具有兴奋性毒性谷氨酸的积累^[47-49]。在衰老的星形胶质细胞中神经营养生长因子及 IGF-1 分泌减少, 将导致神经元生成的减少或神经元丢失增加^[44]; 衰老的星形胶质细胞分泌 SASP 因子 IFN、IL-6, 激活小胶质细胞, 并限制小胶质细胞对 Aβ 的吸收^[50-51]; SASP 因子也破坏内皮细胞的紧密连接, 诱导白细胞迁移, 导致血脑屏障破坏^[52-54]。

2.2 少突胶质细胞祖细胞(oligodendrocyte progenitor cells, OPCs)

OPCs 是中枢神经系统中的一种新型细胞, 能够自我更新, 产生神经元及多种胶质细胞, 特异性表达神经元抗原(neuron-glia antigen 2, NG2), 可分化为少突胶质细胞, 有助于神经损伤后再髓鞘化。研究表明, 将 OPCs 从新生的大鼠视神经中纯化出来, 在不含甲状腺激素(thyroid hormone, TH)的血小板衍生生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)的无血清培养基中培养它们, 以避免分化和阻滞细胞周期检查反应点被激活, 在此情

况下少突胶质细胞前体细胞可以无限增殖,不经历复制衰老^[55]。但 OPCs 保持着较高的端粒酶活性和细胞周期检查点反应,在血清中培养或遗传毒性药物诱导下,它们依然能获得衰老样表型^[55]。 $A\beta$ 的积累会在人和小鼠的大脑中诱发 OPCs 的衰老,OPCs 在 AD 患者的下顶叶皮层淀粉样斑块附近聚集,并表现出衰老样表型,即产生 CDKN1A 和 CDKN2A 的表达。这些发现在 APP/PS1 转基因小鼠中得到了证实,在衰老 OPCs 积累的内嗅皮层和海马中表现出高度的 $A\beta$ 沉积。APP/PS1 转基因小鼠的大脑 $A\beta$ 高度聚集的环境中,发现了表达 OPCs 标记物少突胶质细胞转录因子和特异性表达神经元胶原抗原衰老的 OPCs,但在缺乏 $A\beta$ 的区域没有发现衰老的 OPCs,这表明高度聚集的 $A\beta$ 足以触发 OPCs 的衰老。接着对 AD 小鼠进行 Senolytic 治疗,即选择性地从 $A\beta$ 聚集的环境中去除了衰老的 OPCs,可以减少促炎细胞因子 IL-1 β 和 TNF- α 的分泌,减少 $A\beta$ 聚集,改善小鼠的空间学习与记忆能力^[56]。

2.3 少突胶质细胞

少突胶质细胞是有丝分裂后末期分化的细胞,其功能是形成有轴突的髓鞘。少突胶质细胞极易受到氧化应激的影响^[57]。DNA 氧化损伤和 SA- β -gal 增多表明,在衰老个体中少突胶质细胞会在多种应激因素的刺激下而衰老^[58]。

AD 通常被认为是一种脑灰质疾病。然而,过去近十年的神经影像学研究表明,脑白质的异常与 AD 发病有关,白质由轴突和髓磷脂组成,髓磷脂是由少突胶质细胞产生的脂肪鞘,能增加轴突电导,对神经元信号传导至关重要。脑白质的异常和髓鞘脱失也可能是 AD 重要的病理特征^[59-61]。少突胶质细胞在生成髓鞘的生理过程中,会发生与年龄相关的 DNA 损伤,这一过程可能导致髓鞘丢失^[62-63]。对发生白质病变的老年患者去世后进行检验分析显示,少突胶质细胞核 DNA 存在氧化损伤(8-OHdG 免疫反应性),这些细胞具有 SA- β -gal 衰老标志物^[58]。

2.4 小胶质细胞

小胶质细胞是中枢神经系统的主要免疫细胞,对中枢神经系统的损伤与修复发挥重要作用^[64]。在中枢神经系统疾病中,小胶质细胞会被慢性激活,可能发生过度的神经元或免疫相关的损伤^[65]。被激活的小胶质细胞会释放细胞因子,包括抗炎因

子白细胞介素-4(interleukin-4, IL-4)、IL-10、IL-13 和肿瘤坏死因子- β (tumor necrosis factor- β , TNF- β)及促炎因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 、TNF- γ ^[65]。2008 年,在老年人的大脑中通过形态学和免疫组织化学鉴定,首次发现了小胶质细胞衰老的证据,其特点是营养不良的形态,即缩短、生节、形成珠状、形成球状体和细胞质的破裂^[66],这种衰老(营养不良)的小胶质细胞,在某些方面与其激活状态是相似的,既能分泌细胞因子,同时也失去了保护神经元的作用^[66]。

这种衰老(营养不良)的小胶质细胞在 AD 等神经退行性疾病中更为丰富,甚至可能先于神经退行性变的发生,提示小胶质细胞衰老与神经退行性变之间可能存在因果关系^[67-68]。正如前文所阐述的,在 PS19/ATTAC 小鼠模型中,通过清除衰老的星形胶质细胞和小胶质细胞,几乎能够完全阻止 Tau 蛋白的过度磷酸化和 NFTs 的沉积,从而改善短期记忆能力^[45]。

小胶质细胞作为大脑中的主要吞噬细胞,在 AD 病程中,对于清除 $A\beta$ 发挥着重要作用。然而,这种清除能力会在老化过程中下降^[69]。有研究表明,与年轻小鼠相比,老年 APP/PS1 转基因小鼠的小胶质细胞所表达的清道夫受体 A、CD36 和晚期糖基化终产物受体这 3 种清道夫受体是比较低的,而来自年轻 APP/PS1 转基因小鼠组的小胶质细胞,则表达出较高水平的促炎细胞因子 IL-1 β 和 TNF- α ,这表明对 $A\beta$ 的清除越多,促炎细胞因子的产生就越少,两者之间成反比关系。

随着年龄的增长,髓鞘碎片会过量累积,小胶质细胞通过吞噬髓鞘碎片及自噬来降解髓鞘,在小胶质细胞内会产生溶酶体损伤,产生不溶性溶酶体脂褐素包体,其可触发小胶质细胞衰老和老化中的免疫激活^[70]。小胶质细胞衰老的激活有 2 种负面结果,衰老的小胶质细胞炎症效应被激活导致其他类型的细胞受损,如少突胶质细胞和 OPCs,另一个结果是小胶质细胞功能的丧失,这将导致 $A\beta$ 和髓鞘碎片的大量积累。此外,髓鞘碎片的积累可以通过影响少突胶质细胞向轴突的招募和通过抑制 OPCs 向少突胶质细胞分化所需的小胶质源性因子来削弱髓鞘再形成过程^[15]。缺乏 TREM2 的小鼠不能清除髓鞘碎片,并在注射铜素(已知可诱导成熟 OPCs 凋亡)后出现神经退行性病变^[71]。髓鞘破裂可能是引发小胶质细胞衰老的

又一因素,虽然未在 AD 患者或 AD 转基因动物模型中进行相关实验来证明,但已有证据表明,AD 患者的小胶质细胞衰老要早于正常人。这意味着小胶质细胞的衰老,可能在 AD 发病机制中发挥重要作用,但是其机制目前尚不清楚。

2.5 神经干细胞(neural stem cell, NSCs)

NSCs 是神经系统中恒定存在的可进行自我更新及多向分化的原始细胞,可以分化为神经元、少突胶质细胞、星形胶质细胞等多种细胞。与 NSCs 相比,在特定环境下,OPCs 等一些胶质细胞仍可表现出部分干细胞特性。在发育和成年脑中,OPCs 也能发挥 NSCs 的作用^[72]。虽然 NSCs 具有多项分化潜能和极强的自我更新能力,但越来越多的研究表明,NSCs 也容易衰老。1 项研究从缺乏端粒酶 RNA 成分的小鼠体内,分离出成熟 NSCs 及新生 NSCs 进行体外增殖,发现在缺少端粒酶活性的情况下,端粒受到侵蚀且 p53 蛋白表达水平增加,最终导致成熟的 NSCs 丧失增殖能力^[73]。在另外一项研究中,使用低剂量的 A β 42,体外培养从成年小鼠的海马中分离出的 NSCs,结果发现 NSCs 可以表现出衰老的特征,如形态变大变平,SA- β -gal 和 p16^{INK4A} 升高。该实验在确定了 A β 42 能在体外诱导 NSCs 衰老后,又对在 APP/PS1 转基因小鼠海马齿状回中的 A β 沉积进行了检测,通过与野生型的小鼠对比,结果发现在 APP/PS1 小鼠的海马齿状回中,衰老 NSCs 数量增加更显著^[74]。另有研究发现,在 BUBR1 KO 小鼠中,细胞衰老损害了体内的成体神经再生^[75]。

2.6 神经元

神经元是有丝分裂后的细胞,不能进入衰老状态。然而,研究表明老年小鼠的神经元呈现出类似衰老的表型。有 1 项研究将皮质神经元从大鼠的胚胎中分离,并对其进行为期 30 d 的培养,培养时观察经过 MAP2 蛋白染色鉴定的神经元细胞,为了测试 DNA 损伤反应激活可能导致神经元 SA- β -gal 活性增加的假设,用阿霉素处理神经元,并测量 SA- β -gal 活性及 p53BP1 的病灶数。与未处理的神经元相比,经过处理的神经元中 p53BP1 病灶的数量显著增加。并在 24 月龄小鼠的海马区中观察到 SA- β -gal 明显增多^[76]。这与其他发现一致,即 DNA 损伤会持续激活存活神经元使其具有多种与细胞衰老一致的特征,包括代谢失调、线粒体功能障碍以及促氧化、促炎和基因重构因子的

过量产生^[77]。大约 20%~80%的 32 月龄小鼠成熟的神经元表现出类似衰老的表型,DNA 损伤水平、异染色质化、SA- β -gal、p38MAPK 激活和 SASP 相关介质(ROS 和 IL-6)的产生均有所增加^[78]。关于衰老样神经元的功能活动的数据很少。然而,源于睡眠-觉醒周期细胞核的神经元似乎特别容易随着年龄的增长而产生脂褐素的积累,产生脂褐素的神经元会表现出较少的树突分支及减少神经递质的产生,这表明其功能受到损害^[79]。此外来源于雷特综合征患者的重编程成纤维细胞的神经元,出现了双链 DNA 损伤和 p53 介导的 SASP,这为人类细胞衰老和 AD 之间的联系提供了体外证据^[80]。

2.7 外周细胞

2.7.1 内皮细胞 越来越多的证据表明,血管功能障碍在 AD 的发生发展中也起着关键作用,一部分是由于内皮细胞功能障碍而起作用的^[81]。Tau 病理导致衰老相关的转录组改变^[45,82-83]及小鼠皮层的血管改变,包括间歇性的毛细血管阻塞^[83]。在 AD 的 APP/PS1 转基因小鼠模型中,这种间歇性毛细血管阻塞是由白细胞黏附在内皮细胞引起的^[84]。而导致毛细血管阻塞的原因在于衰老的内皮细胞分泌的因子可吸引外周血白细胞^[85-86]和上调表面白细胞黏附分子^[87-90]。1 项研究从 16 例 AD 患者和 12 名对照组受试者的前额叶皮层中分离出微血管,并定量内皮衰老和白细胞黏附相关基因的表达,包括 SERPINE1 (PAI-1)、CXCL8 (IL-8)、CXCL1、CXCL2、ICAM-2 和 TIE1,在调整了性别和脑血管病理后,这些基因在 AD 患者的微血管中显著上调。尤其是在调整性别、脑血管病理和死亡年龄后,与衰老相关的分泌表型基因 SERPINE1 和 CXCL8 的表达在 AD 患者微血管中上调了 2 倍以上^[81]。

2.7.2 先天免疫细胞 单核细胞巨噬细胞与 A β 结合非常有效,共聚焦显微镜显示 MHC-II/A β ₄₂ 复合物仅存在于 AD 单核细胞或巨噬细胞上^[91]。被激活的巨噬细胞会依局部环境形成 2 种表型,即 M1 和 M2^[92]。M1 产生促炎因子,M2 与调节因子或抗炎因子的产生有关^[93]。正常人的 M1 和 M2 是平衡的,但在炎症衰老的情况下,存在一种不平衡,导致了年龄相关疾病的发展^[94]。研究人员提出巨噬细胞是诱导和维持炎症的关键细胞^[95]。在 A β 的诱导下,巨噬细胞由 M2 型变为 M1 型,

产生 IL-1 β 和 TNF- α 。巨噬细胞、小胶质细胞和 A β 相互作用,是细胞因子和 ROS 炎症产生,从而导致神经元损失和凋亡的因素^[96]。

自然杀伤(natural killer, NK)细胞与 T 细胞和 B 细胞都不同,它被定义为先天的细胞毒性淋巴细胞^[97]。根据表型和功能标志物的表达情况, NK 细胞分为 CD56bright 和 CD56dim 2 种类型^[98]。

1 项研究发现 3 $\times$ Tg-AD 小鼠在 4 月龄时出现了过早的免疫衰老,因此白细胞的趋化、吞噬和淋巴增殖等功能下降;谷胱甘肽含量降低和黄嘌呤氧化酶活性升高。此外, NK 细胞百分率和细胞毒活性、CD25+B 和 naive CD8 T 细胞百分率、GSSG/GSH 比值、GSH 含量在 AD 发病前 2 月龄就已经发生了变化,这些早于 A β 的形成和认知障碍的出现^[99]。在健康老年人中, NK 细胞的分布没有差异,但在失忆型的轻度认知障碍(AD 早期)的患者中, NK 细胞的表型和功能发生了改变,表现为激活状态及细胞因子分泌过度^[100]。NK 细胞的变化可能是 AD 临床前期或前驱期的外周标志物之一^[101]。还有一项研究表明, NK 细胞可以在人和小鼠衰老大脑的齿状回中率先积累,而老年人和老年小鼠的齿状回内衰老的神经母细胞,能释放 SASP 因子 IL-27,使得 NK 细胞进一步在齿状回内积累,并增强 NK 细胞的细胞毒性。NK 细胞在衰老脑中的大量聚集能够损害神经的再生及学习功能。使用抗体介导的方法来消除 NK 细胞,能让正常衰老 C57BL/6 小鼠的神经再生和空间学习能力得到改善^[102]。

2.7.3 适应性免疫细胞 T 细胞及其分泌的细胞因子对维持脑功能稳态有重要作用。一系列的研究证实了 CD4⁺T 细胞维持 C57BL/6 小鼠空间认知能力^[103-105]。脑膜中的 CD4⁺Th1 细胞所产生的 IFN- γ ,能够支持神经回路,这对于 C57BL/6 小鼠的空间学习和记忆能力非常重要^[106]。CD4⁺Th2 产生的 IL-4 能调节脑膜树突状细胞,刺激星形胶质细胞产生脑源性神经营养因子,促进空间学习和记忆能力^[107]。

体外研究表明,老年小鼠的 CD4⁺幼稚 T 细胞增殖活性降低,分泌细胞因子的能力发生改变,对 T 细胞抗原受体刺激的反应性降低^[108]。T 细胞免疫衰老的另一个重要特征是,巨细胞病毒等慢性病毒刺激的高分化记忆 CD8⁺细胞增多^[108]。处于终末期分化的衰老 T 细胞会扩张,以及过度表

达细胞因子和促炎因子,将导致机体的高炎症反应^[96]。通过与中年对照组相比, AD 患者和健康老年人的外周血中很容易检测到 A β 反应性 T 细胞^[109]。脾脏是最大的外周免疫器官,值得注意的是,老龄 APP^{swe}/PSEN1dE9 转基因小鼠的脾细胞中有更高频率的调节性 T 细胞^[110]。在 5 $\times$ FAD 小鼠中,通过使 Foxp3 调节性 T 细胞的短暂消耗,或对其活性进行抑制,可以清除 A β ,并缓解神经炎症反应及逆转空间认知能力的下降;该研究进一步表明, Treg 的短暂耗竭可以影响大脑脉络丛,脉络丛是免疫细胞转运到中枢神经系统的选择性通道,并与将巨噬细胞和 Treg 免疫调节细胞募集到脑斑块病理部位的过程有关系^[111]。该研究表明可以通过靶向 Treg 介导的全身免疫抑制来治疗 AD。

B 细胞免疫衰老的特点是受体多样性减少,向记忆 B 细胞转化的能力减弱,对抗原的抗体反应减弱^[112]。对于 B 细胞是否参与 AD 发病机制的研究很少。1 项研究分析了不同类型痴呆外周免疫系统的变化,使用流式细胞术测定全血中几种先天和适应性免疫细胞群, AD 患者 B 淋巴细胞的频率由对照组的 4.4%下降至 3.2%,这表明 AD 患者外周血 B 细胞亚群数量有所减少^[113]。错误折叠的 A β 多肽已被证明可诱导 B 细胞介导的免疫反应,在脑脊液和血液中产生针对 A β 的自身抗体^[114]。这些自身抗体似乎共享构象特异性结合表位,并促进由小胶质细胞介导的淀粉样斑块清除^[115]。在健康的个体中有针对不同形式的 A β 的抗体,这些抗体水平随着正常的衰老而下降。此外,随着 AD 的加重,下降趋势更加明显^[116],细胞衰老在 AD 病程中的作用见表 1。

3 靶向细胞衰老治疗 AD 的研究

靶向抑制或清除衰老的细胞,是治疗 AD 的一个很有前途的治疗策略,但现在处于初级阶段。目前抗衰老方法有 Senolytics,即选择性地清除衰老细胞,使细胞凋亡,以减轻衰老细胞对组织的负担,或者是 Senomorphics,即调节衰老细胞,以中和衰老细胞在组织中的有害影响来阻断 SASP 或 SASP 特定介质的表达。Senolytics 和 Senomorphics 在神经退行性疾病中起到的作用是防止细胞丢失和组织破坏,从而最终阻止疾病进展^[117]。下面就这 2 种策略分别进行综述,抗细胞衰老以治疗 AD 的潜在药物见表 2。

表 1 细胞衰老在 AD 病程中的作用

Tab. 1 Role of cellular senescence in the course of AD

细胞种类	细胞	细胞衰老的特征	在 AD 中的作用
神经细胞	神经元	p16、p21、SASP、SA-β-gal 升高	神经递质的产生减少
	星形胶质细胞	p16、p21、SASP、SA-β-gal 升高	分泌 SASP 加剧 Tau 蛋白的过度磷酸化及 NFTs 形成、毒性谷氨酸的积累、神经元生成的减少或神经元丢失增加
	小胶质细胞	营养不良的形态、p16、p21、SASP、SA-β-gal 升高	分泌 SASP 加剧 Tau 蛋白的过度磷酸化、Aβ 的沉积
	少突胶质细胞	DNA 损伤、SA-β-gal 升高	髓鞘丢失
	少突胶质细胞祖细胞	p16、p21、SASP、SA-β-gal 升高	分泌 SASP 加剧 Aβ 的沉积、再髓化能力下降
	神经干细胞	p16、SA-β-gal 升高	损害成年神经再生
外周细胞	内皮细胞	p21、SASP 升高	血脑屏障破坏
	自然杀伤细胞	白细胞的趋化, 吞噬和淋巴增殖等功能下降; 谷胱甘肽含量降低和黄嘌呤氧化酶活性升高。	NK 细胞在衰老脑中的大量聚集能够损害神经再生及学习功能
	T 细胞	老年小鼠的 CD4+幼稚 T 细胞增殖活性降低, 分泌细胞因子的能力发生改变, 对 T 细胞抗原受体刺激的反应性降低, 衰老 T 细胞会扩张, 以及过度表达促炎因子	维持脑功能稳态的能力下降
	B 细胞	体多样性减少, 向记忆 B 细胞转化的能力减弱, 对抗原的抗体反应减弱	产生针对 Aβ 抗体的能力下降

表 2 抗细胞衰老以治疗 AD 的潜在药物

Tab. 2 Potential drugs against cellular senescence to treat AD

治疗方法	治疗药物	作用靶点	在 AD 病程中的作用
清除衰老细胞	达沙替尼联合槲皮素	清除衰老的小胶质细胞、少突胶质细胞祖细胞	减少 Aβ 聚集, 改善 APP/PS1 小鼠的空间学习与记忆能力
	AP20187	清除衰老的星形胶质细胞	防止或抑制 NFTs 的形成; 改善 PS19/ATTAC 小鼠的短期记忆能力
调节 SASP	人参皂苷 F1	抑制 p38 ^{MAPK} 的激活, 降低 NF-κB 活性	减少 IL-6、IL-8、MCP-1 等 SASP 因子的分泌
	阿达木单抗	直接与 TNF-α 结合, 阻断受体结合, 抑制 TNF-α 的活性	显著减轻注射 Aβ ₁₋₄₀ 小鼠的神经元损伤和神经炎症
	雷帕霉素	增加衰老细胞的 Nrf2 基因, 激活自噬通路, 调节细胞周期; 抑制 STAT3 通路和选择性抑制 IL-1A 的翻译, 以降低 SASP 因子的分泌	雷帕霉素能够减少 Aβ 沉积、减少 Tau 蛋白的磷酸化和神经纤维缠结、恢复脑血流、脑微血管密度、保持血脑屏障完整性、防止 Tau 蛋白诱导的神经元丢失、改善空间记忆与学习能力

3.1 清除衰老细胞

2011 年, Baker 等^[118]首次报道了体内清除衰老细胞可以延长寿命以及延缓衰老相关疾病, 其利用衰老细胞高表达 p16^{INK4A} 的特点建立了一种 INK-ATTAC 转基因小鼠, 该转基因小鼠在 AP20187 给药后会导致 p16^{INK4A} 阳性的衰老细胞发生凋亡。从小鼠 3 周龄开始, 每隔 3 d 给它们进行 AP20187 治疗, 可以延缓与年龄相关疾病的发展, 如肌少症、白内障和脂肪组织的减少^[118]。2016 年 Baker 等^[119]又利用 12, 18 月龄 INK-ATTAC 转基因小鼠进行了相关研究, 发现衰老细胞可导致肾小球硬化、肾功能不全, 经 AP20187 治疗后 SA-β-gal 阳性细胞数量降低, 肾小球硬化程度减轻、血尿素氮水平下降, 且硬化肾小球数量明显降低, 另外心脏衰老细胞能诱导心肌老化, 导致老年性心肌肥大和心肌应激耐受性丧失。经

AP20187 治疗后 SA-β-gal 阳性细胞数量减少、心肌细胞较小, 因此治疗组心肌耐受力增强^[119], 证明了通过清除衰老细胞可以治疗疾病的观点。

目前将 Senolytic 疗法应用到治疗衰老相关的神经退行性疾病中已被证实, 其中, 达沙替尼加槲皮素(D+Q)是其典型的代表。一项研究证实, 在 APP/PS1 转基因小鼠, 使用 D+Q 疗法可以清除脑内衰老的 OPCs, 该实验通过对 5 月龄 APPPS1/ZsGreen 小鼠进行连续 9 d 的 D+Q 灌胃给药后, 发现在 ZsGreen 中 Aβ 的表达量下降及白介素-6 蛋白水平降低。此外, 该实验对 3.5 月龄 APP/PS1 AD 小鼠(♀)进行了长期间歇性治疗, 即每周接受 1 次 D+Q 治疗, 共 11 周。结果发现与 9 d 治疗相比, 长期间歇性治疗可以改善小鼠 AD 病程中的 Aβ 病理和小鼠的空间学习记忆能力^[56]。这 2 种治疗策略都只在小胶质细胞群体中导致 p16^{INK4A} 的降低, 并

且可以减少小胶质细胞的激活和 SASP 因子表达^[120]。该研究还通过石头 T-迷宫,证明了经 AP20187 或 D+Q 治疗后的 INK- ATTAC 小鼠,其空间学习记忆能力可以得到显著改善^[120]。

3.2 调节 SASP

细胞衰老进程中, SASP 的分泌是一个动态过程。首先在 DNA 损伤后开始产生,并持续 36 h,但无法导致衰老;其次是“早期”SASP 的形成:在诱发细胞衰老后数天,出现最重要的 SASP 因子,例如 IL-1;最终是“成熟”SASP 的形成:在接下来的 4~10 d 内,通过正反馈回路对转录进行调控,使大多数因子的分泌增加,最终形成“成熟”的 SASP^[121]。衰老细胞在体内大量积累导致炎症因子水平增加,促进疾病发生^[122]。因此,衰老细胞分泌的 SASP 是机体衰老的重要指标,也是多种年龄相关疾病的诱发因素。SASP 存在高度异质性,主要受到以下 3 种途径的调节:表观基因修饰、转录水平和转录后水平^[123]。所以很多调节 SASP 的药物,都是通过调节以上 3 种途径的各自通路来实现的。

在 AD 中,衰老的星形胶质细胞会高度表达 SASP 因子,导致大脑功能下降。1 项研究通过体外细胞因子抗体芯片证实了衰老星形胶质细胞表达 SASP 的特性^[124];人参皂苷 F1 在体外培养的星形胶质细胞中,可以通过减少 p38MAPK 的激活,降低 NF- κ B 活性,从而减少 IL-6、阿达木单抗是抗 TNF- α 单克隆抗体,在 1 项研究中,注射阿达木单抗的 A β ₁₋₄₀ 小鼠与单独注射 A β ₁₋₄₀ 的小鼠相比,其空间记忆能力得到了显著改善, β 分泌酶-1 蛋白的表达和 A β ₁₋₄₀ 斑块也减少了。此外,阿达木单抗可显著减轻注射 A β ₁₋₄₀ 小鼠的神经元损伤和神经炎症,并且使脑衍生神经营养因子(brain derived neurotrophic factor, BDNF)的表达升高。这项实验还进一步证实了阿达木单抗的作用是由 NF- κ B 的 p65 信号通路介导的^[125]。

雷帕霉素是雷帕霉素靶蛋白(mammalian target rapamycin, mTOR)的抑制剂, mTOR 是一种营养和生长因子应答激酶^[126]。在细胞内,雷帕霉素与 FK506 结合蛋白 12(FKBP12)结合,FKBP12-雷帕霉素复合物抑制 mTOR 复合物 1 的活性。一方面,雷帕霉素通过增加衰老细胞的 Nrf2 基因,激活自噬通路,调节细胞周期停滞来延缓衰老。另一方面,通过抑制 STAT3 通路和选择性抑制 IL-1A 的翻译,

可以降低 SASP 因子如 IL-1、IL-6、IL-8、MMP-3、MMP-13、TNF- α 的表达^[127]。雷帕霉素除了具有抑制衰老的作用外,在几种不同的 AD 小鼠模型中也被证明具有有益的作用。在 3 $\times$ Tg-AD 小鼠、P301S tau 小鼠、PDAPP[hAPP(J20)]小鼠、hAPP(J20)小鼠、ApoE 小鼠及基于病毒载体的 tau P301LAD 小鼠模型的研究中,雷帕霉素能够减少 A β 沉积、减少 Tau 蛋白的磷酸化和 NFTs、恢复脑血流、脑微血管密度、保持血脑屏障完整性、防止 Tau 蛋白诱导的神经元丢失、改善空间记忆与学习能力^[127-134]。

4 结语

随着人体年龄的增长,体内平衡能力下降,不同促进细胞衰老的应激源在人体积累,导致细胞的衰老。这些应激源包括氧化应激、致癌基因激活、自噬受损,在神经系统中也可能包括鞘磷脂的破碎。在衰老细胞不能被及时清除的情况下而不断积累,触发慢性炎症反应,导致慢性低级别炎症。神经细胞也是如此,各种衰老神经细胞积累所产生的 SASP 会促使 tau 蛋白聚集和淀粉样斑块沉积,导致 AD 的发生。由此来看,细胞衰老是 AD 的病因。但是,在 AD 病程中,其病理 tau 蛋白聚集和 A β 斑块沉积也会促进胶质细胞和 NSCs 的衰老。没有被及时清除的衰老胶质细胞与 NSCs 的积累,同样又会触发慢性炎症反应,进一步加剧 AD 的病理,使得认知功能下降。这样来看 AD 又是细胞衰老的诱因。所以细胞衰老与 AD 发病之间的因果关系,目前还没有充分的证据予以证明。将细胞衰老与 AD 发病机制联系起来,还需要进一步研究。而如何准确地在体外和体内确定衰老细胞的存在,是促进人们认识理解不同类型细胞衰老对 AD 的发病所产生影响的首要条件。本文阐述了衰老相关的半乳糖苷酶、脂褐素等目前较为可靠的可用于确定细胞衰老的标志物。尽管细胞衰老在 AD 发病机制中的作用尚不明确,但根据最新的研究显示,神经系统中衰老的细胞是可以被清除的,而且能够缓解 AD 病理,并改善 AD 小鼠的认知功能,这意味着细胞衰老可能是一个可靠治疗 AD 的靶点。而调节衰老相关的分泌表型的药物,可以成为一种新的神经保护剂。

REFERENCES

- [1] HAYFLICK L. The limited *in vitro* lifetime of human diploid cell strains[J]. Exp Cell Res, 1965(37): 614-636.
- [2] KÜLTZ D. Molecular and evolutionary basis of the cellular

- stress response[J]. *Annu Rev Physiol*, 2005(67): 225-257.
- [3] SHARPLESS N E, SHERR C J. Forging a signature of *in vivo* senescence[J]. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15(7): 397-408.
 - [4] HERNANDEZ-SEGURA A, DE JONG T V, MELOV S, et al. Unmasking transcriptional heterogeneity in senescent cells[J]. *Curr Biol*, 2017, 27(17): 2652-2660.
 - [5] AZARM K, BHARDWAJ A, KIM E, et al. Persistent telomere cohesion protects aged cells from premature senescence[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3321. Doi: 10.1038/s41467-020-17133-4.
 - [6] MIZI A, ZHANG S, PAPANTONIS A. Genome folding and refolding in differentiation and cellular senescence[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2020(67): 56-63.
 - [7] BELLEI B, PICARDO M. Premature cell senescence in human skin: Dual face in chronic acquired pigmentary disorders[J]. *Ageing Res Rev*, 2020(57): 100981. Doi: 10.1016/j.arr.2019.100981.
 - [8] NAKAMURA A J, CHIANG Y J, HATHCOCK K S, et al. Both telomeric and non-telomeric DNA damage are determinants of mammalian cellular senescence[J]. *Epigenetics Chromatin*, 2008, 1(1): 6. Doi: 10.1186/1756-8935-1-6.
 - [9] RODIER F, CAMPISI J. Four faces of cellular senescence[J]. *J Cell Biol*, 2011, 192(4): 547-556.
 - [10] D'ADDA DI FAGAGNA F. Living on a break: Cellular senescence as a DNA-damage response[J]. *Nat Rev Cancer*, 2008, 8(7): 512-522.
 - [11] BUSCEMI G, PEREGO P, CARENINI N, et al. Activation of ATM and Chk2 kinases in relation to the amount of DNA strand breaks[J]. *Oncogene*, 2004, 23(46): 7691-7700.
 - [12] SMITS V A, REAPER P M, JACKSON S P. Rapid PIKK-dependent release of Chk1 from chromatin promotes the DNA-damage checkpoint response[J]. *Curr Biol*, 2006, 16(2): 150-159.
 - [13] MARTÍNEZ-ZAMUDIO R I, ROBINSON L, ROUX P F, et al. SnapShot: cellular senescence pathways[J]. *Cell*, 2017, 170(4): 816-816.
 - [14] HERRANZ N, GIL J. Mechanisms and functions of cellular senescence[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(4): 1238-1246.
 - [15] SAEZ-ATIENZAR S, MASLIAH E. Cellular senescence and Alzheimer disease: The egg and the chicken scenario[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2020, 21(8): 433-444.
 - [16] BANIMOHAMAD-SHOTORBANI B, KAHROBA H, SADEGHZADEH H, et al. DNA damage repair response in mesenchymal stromal cells: From cellular senescence and aging to apoptosis and differentiation ability[J]. *Ageing Res Rev*, 2020(62): 101125. Doi: 10.1016/j.arr.2020.101125.
 - [17] COPPÉ J P, DESPREZ P Y, KRTOLICA A, et al. The senescence-associated secretory phenotype: The dark side of tumor suppression[J]. *Annu Rev Pathol*, 2010(5): 99-118.
 - [18] BIRAN A, PERELMUTTER M, GAL H, et al. Senescent cells communicate via intercellular protein transfer[J]. *Genes Dev*, 2015, 29(8): 791-802.
 - [19] KRENNING L, FERGINGA F M, SHALTIEL I A, et al. Transient activation of p53 in G2 phase is sufficient to induce senescence[J]. *Mol Cell*, 2014, 55(1): 59-72.
 - [20] STEIN G H, DRULLINGER L F, SOULARD A, et al. Differential roles for cyclin-dependent kinase inhibitors p21 and p16 in the mechanisms of senescence and differentiation in human fibroblasts[J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(3): 2109-2117.
 - [21] BURD C E, SORRENTINO J A, CLARK K S, et al. Monitoring tumorigenesis and senescence *in vivo* with a p16INK4a-luciferase model[J]. *Cell*, 2013, 152(1/2): 340-351.
 - [22] KRISHNAMURTHY J, TORRICE C, RAMSEY M R, et al. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(9): 1299-1307.
 - [23] LEE B Y, HAN J A, IM J S, et al. Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase[J]. *Aging Cell*, 2006, 5(2): 187-195.
 - [24] HÖHN A, GRUNE T. Lipofuscin: formation, effects and role of macroautophagy[J]. *Redox Biol*, 2013(1): 140-144.
 - [25] JUNG T, BADER N, GRUNE T. Lipofuscin: formation, distribution, and metabolic consequences[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2007(1119): 97-111.
 - [26] GEORGAKOPOULOU E A, TSIMARATOU K, EVANGELOU K, et al. Specific lipofuscin staining as a novel biomarker to detect replicative and stress-induced senescence. A method applicable in cryo-preserved and archival tissues[J]. *Aging: Albany NY*, 2013, 5(1): 37-50.
 - [27] EVANGELOU K, LOUGIAKIS N, RIZOU S V, et al. Robust, universal biomarker assay to detect senescent cells in biological specimens[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(1): 192-197.
 - [28] GARCÍA-PRAT L, MARTÍNEZ-VICENTE M, PERDIGUERO E, et al. Autophagy maintains stemness by preventing senescence[J]. *Nature*, 2016, 529(7584): 37-42.
 - [29] TAKAHASHI Y, KARBOWSKI M, YAMAGUCHI H, et al. Loss of Bif-1 suppresses Bax/Bak conformational change and mitochondrial apoptosis[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(21): 9369-9382.
 - [30] CORREIA-MELO C, PASSOS J F. Mitochondria: Are they causal players in cellular senescence?[J]. *Biochim et Biophys Acta*, 2015, 1847(11): 1373-1379.
 - [31] PASSOS J F, SARETZKI G, VON ZGLINICKI T. DNA damage in telomeres and mitochondria during cellular senescence: Is there a connection?[J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35(22): 7505-7513.
 - [32] ZIEGLER D V, WILEY C D, VELARDE M C. Mitochondrial effectors of cellular senescence: Beyond the free radical theory of aging[J]. *Aging Cell*, 2015, 14(1): 1-7.
 - [33] VANYUSHIN B F, NEMIROVSKY L E, KLIMENKO V V, et al. The 5-methylcytosine in DNA of rats[J]. *Gerontology*, 1973, 19(3): 138-152.
 - [34] TSURUMI A, LI W X. Global heterochromatin loss: A unifying theory of aging?[J]. *Epigenetics*, 2012, 7(7): 680-688.
 - [35] SELKOE D J, HARDY J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years[J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(6): 595-608.
 - [36] HAN X, ZHANG T, LIU H, et al. Astrocyte senescence and Alzheimer's disease: A review[J]. *Front Aging Neurosci*, 2020(12): 148. Doi: 10.3389/fnagi.2020.00148.
 - [37] COHEN J, TORRES C. Astrocyte senescence: Evidence and significance[J]. *Aging Cell*, 2019, 18(3): e12937. Doi: 10.1111/acer.12937.
 - [38] BITTO A, SELL C, CROWE E, et al. Stress-induced senescence in human and rodent astrocytes[J]. *Exp Cell Res*, 2010, 316(17): 2961-2968.
 - [39] BOCCARDI V, PELINI L, ERCOLANI S, et al. From cellular senescence to Alzheimer's disease: The role of telomere shortening[J]. *Ageing Res Rev*, 2015(22): 1-8.
 - [40] CHINTA S J, WOODS G, RANE A, et al. Cellular senescence

- and the aging brain[J]. *Exp Gerontol*, 2015(68): 3-7.
- [41] BOISVERT M M, ERIKSON G A, SHOKHIREV M N, et al. The aging astrocyte transcriptome from multiple regions of the mouse brain[J]. *Cell Rep*, 2018, 22(1): 269-285.
 - [42] TURNQUIST C, BECK J A, HORIKAWA I, et al. Radiation-induced astrocyte senescence is rescued by $\Delta 133p53$ [J]. *Neuro Oncol*, 2019, 21(4): 474-485.
 - [43] BHAT R, CROWE E P, BITTO A, et al. Astrocyte senescence as a component of Alzheimer's disease[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e45069. Doi: 10.1371/journal.pone.0045069.
 - [44] TURNQUIST C, HORIKAWA I, FORAN E, et al. p53 isoforms regulate astrocyte-mediated neuroprotection and neurodegeneration[J]. *Cell Death Differ*, 2016, 23(9): 1515-1528.
 - [45] BUSSIAN T J, AZIZ A, MEYER C F, et al. Clearance of senescent glial cells prevents tau-dependent pathology and cognitive decline[J]. *Nature*, 2018, 562(7728): 578-582.
 - [46] MENDELSON A R, LARRICK J W. Cellular senescence as the key intermediate in tau-mediated neurodegeneration[J]. *Rejuvenation Res*, 2018, 21(6): 572-579.
 - [47] DANBOLT N C. Glutamate uptake[J]. *Prog Neurobiol*, 2001, 65(1): 1-105.
 - [48] CROWE E P, TUZER F, GREGORY B D, et al. Changes in the transcriptome of human astrocytes accompanying oxidative stress-induced senescence[J]. *Front Aging Neurosci*, 2016(8): 208. Doi: 10.3389/fnagi.2016.00208.
 - [49] GONZÁLEZ-REYES R E, NAVA-MESA M O, VARGAS-SÁNCHEZ K, et al. Involvement of astrocytes in Alzheimer's disease from a neuroinflammatory and oxidative stress perspective[J]. *Front Mol Neurosci*, 2017(10): 427. Doi.org/10.3389/fnmol.2017.00427.
 - [50] TAYLOR J M, MOORE Z, MINTER M R, et al. Type-I interferon pathway in neuroinflammation and neurodegeneration: Focus on Alzheimer's disease[J]. *J Neural Transm*: Vienna, 2018, 125(5): 797-807.
 - [51] BLASKO I, STAMPFER-KOUNTCHEV M, ROBATSCHER P, et al. How chronic inflammation can affect the brain and support the development of Alzheimer's disease in old age: The role of microglia and astrocytes[J]. *Aging Cell*, 2004, 3(4): 169-176.
 - [52] ABBOTT N J. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability[J]. *J Anat*, 2002, 200(6): 629-638.
 - [53] HORNG S, THERATTIL A, MOYON S, et al. Astrocytic tight junctions control inflammatory CNS lesion pathogenesis[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(8): 3136-3151.
 - [54] SPAMPINATO S F, MERLO S, SANO Y, et al. Astrocytes contribute to A β -induced blood-brain barrier damage through activation of endothelial MMP9[J]. *J Neurochem*, 2017, 142(3): 464-477.
 - [55] TANG D G, TOKUMOTO Y M, APPERLY J A, et al. Lack of replicative senescence in cultured rat oligodendrocyte precursor cells[J]. *Science*, 2001, 291(5505): 868-871.
 - [56] ZHANG P S, KISHIMOTO Y, GRAMMATIKAKIS I, et al. Senolytic therapy alleviates A β -associated oligodendrocyte progenitor cell senescence and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(5): 719-728.
 - [57] GIACCI M K, BARTLETT C A, SMITH N M, et al. Oligodendroglia are particularly vulnerable to oxidative damage after neurotrauma *in vivo*[J]. *J Neurosci*, 2018, 38(29): 6491-6504.
 - [58] AL-MASHHADI S, SIMPSON J E, HEATH P R, et al. Oxidative glial cell damage associated with white matter lesions in the aging human brain[J]. *Brain Pathol*, 2015, 25(5): 565-574.
 - [59] BRICKMAN A M. Contemplating Alzheimer's disease and the contribution of white matter hyperintensities[J]. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 2013, 13(12): 415.
 - [60] GOUW A A, VAN DER FLIER W M, FAZEKAS F, et al. Progression of white matter hyperintensities and incidence of new lacunes over a 3-year period: The Leukoaraiosis and Disability study[J]. *Stroke*, 2008, 39(5): 1414-1420.
 - [61] ERTEN-LYONS D, WOLTJER R, KAYE J, et al. Neuropathologic basis of white matter hyperintensity accumulation with advanced age[J]. *Neurology*, 2013, 81(11): 977-983.
 - [62] TSE K H, HERRUP K. DNA damage in the oligodendrocyte lineage and its role in brain aging[J]. *Mech Ageing Dev*, 2017, 161(Pt A): 37-50.
 - [63] TSE K H, HERRUP K. Re-imagining Alzheimer's disease-the diminishing importance of amyloid and a glimpse of what lies ahead[J]. *J Neurochem*, 2017, 143(4): 432-444.
 - [64] MORRIS G P, CLARK I A, ZINN R, et al. Microglia: A new frontier for synaptic plasticity, learning and memory, and neurodegenerative disease research[J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2013(105): 40-53.
 - [65] POLAZZI E, MONTI B. Microglia and neuroprotection: From *in vitro* studies to therapeutic applications[J]. *Prog Neurobiol*, 2010, 92(3): 293-315.
 - [66] LOPES K O, SPARKS D L, STREIT W J. Microglial dystrophy in the aged and Alzheimer's disease brain is associated with ferritin immunoreactivity[J]. *Glia*, 2008, 56(10): 1048-1060.
 - [67] CONDE J R, STREIT W J. Microglia in the aging brain[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2006, 65(3): 199-203.
 - [68] STREIT W J, BRAAK H, XUE Q S, et al. Dystrophic (senescent) rather than activated microglial cells are associated with tau pathology and likely precede neurodegeneration in Alzheimer's disease[J]. *Acta Neuropathol*, 2009, 118(4): 475-485.
 - [69] NJIE E G, BOELEN E, STASSEN F R, et al. *Ex vivo* cultures of microglia from young and aged rodent brain reveal age-related changes in microglial function[J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(1): 195. Doi: 10.1016/j.neurobiolaging.2010.05.008.
 - [70] SAFAIYAN S, KANNAIYAN N, SNAIDERO N, et al. Age-related myelin degradation burdens the clearance function of microglia during aging[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(8): 995-998.
 - [71] POLIANI P L, WANG Y, FONTANA E, et al. TREM2 sustains microglial expansion during aging and response to demyelination[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(5): 2161-2170.
 - [72] DIMOU L D, GÖTZ M. Glial cells as progenitors and stem cells: New roles in the healthy and diseased brain[J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 709-737.
 - [73] FERRÓN S, MIRA H, FRANCO S, et al. Telomere shortening and chromosomal instability abrogates proliferation of adult but not embryonic neural stem cells[J]. *Dev Camb Engl*, 2004, 131(16): 4059-4070.
 - [74] HE N, JIN W L, LOK K H, et al. Amyloid- β ₁₋₄₂ oligomer

- accelerates senescence in adult hippocampal neural stem/progenitor cells via formylpeptide receptor 2[J]. *Cell Death Dis*, 2013, 4(11): e924. Doi: 10.1038/cddis.2013.437.
- [75] YANG Z X, JUN H, CHOI C I, et al. Age-related decline in BubR1 impairs adult hippocampal neurogenesis[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(3): 598-601.
- [76] PIECHOTA M, SUNDERLAND P, WYSOCKA A, et al. Is senescence-associated β -galactosidase a marker of neuronal senescence?[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49): 81099-81109.
- [77] FIELDER E, VON ZGLINICKI T, JURK D. The DNA damage response in neurons: Die by apoptosis or survive in a senescence-like state?[J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 60(S1): S107-S131.
- [78] JURK D, WANG C, MIWA S, et al. Postmitotic neurons develop a p21-dependent senescence-like phenotype driven by a DNA damage response[J]. *Aging Cell*, 2012, 11(6): 996-1004.
- [79] PANOSSIAN L, FENIK P, ZHU Y, et al. SIRT1 regulation of wakefulness and senescence-like phenotype in wake neurons[J]. *J Neurosci*, 2011, 31(11): 4025-4036.
- [80] OHASHI M, KORSKOVA E, ALLEN D, et al. Loss of MECP2 leads to activation of P53 and neuronal senescence[J]. *Stem Cell Reports*, 2018, 10(5): 1453-1463.
- [81] BRYANT A G, HU M, CARLYLE B C, et al. Cerebrovascular senescence is associated with tau pathology in Alzheimer's disease[J]. *Front Neurol*, 2020(11): 575953. Doi: 10.1038/cddis.2013.437.
- [82] MUSI N, VALENTINE J M, SICKORA K R, et al. Tau protein aggregation is associated with cellular senescence in the brain[J]. *Aging Cell*, 2018, 17(6): e12840. Doi: 10.1111/ace1.12840.
- [83] BENNETT R E, ROBBINS A B, HU M, et al. Tau induces blood vessel abnormalities and angiogenesis-related gene expression in P301L transgenic mice and human Alzheimer's disease[J]. *PNAS*, 2018, 115(6): E1289-E1298.
- [84] CRUZ HERNÁNDEZ J C, BRACKO O, KERSBERGEN C J, et al. Neutrophil adhesion in brain capillaries reduces cortical blood flow and impairs memory function in Alzheimer's disease mouse models[J]. *Nat Neurosci*, 2019, 22(3): 413-420.
- [85] DAVALOS A R, COPPE J P, CAMPISI J, et al. Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2010, 29(2): 273-283.
- [86] LASRY A, BEN-NERIAH Y. Senescence-associated inflammatory responses: Aging and cancer perspectives[J]. *Trends Immunol*, 2015, 36(4): 217-228.
- [87] PRATTICIZZO F, DE NIGRIS V, MANCUSO E, et al. Short-term sustained hyperglycaemia fosters an archetypal senescence-associated secretory phenotype in endothelial cells and macrophages[J]. *Redox Biol*, 2018(15): 170-181.
- [88] COLEMAN P R, CHANG G, HUTAS G, et al. Age-associated stresses induce an anti-inflammatory senescent phenotype in endothelial cells[J]. *Aging: Albany NY*, 2013, 5(12): 913-924.
- [89] GORGOLIS V G, PRATISINIS H, ZACHARATOS P, et al. p53-dependent ICAM-1 overexpression in senescent human cells identified in atherosclerotic lesions[J]. *Lab Invest*, 2005, 85(4): 502-511.
- [90] PIETRONIGRO E, ZENARO E, CONSTANTIN G. Imaging of leukocyte trafficking in Alzheimer's disease[J]. *Front Immunol*, 2016(7): 33. Doi: 10.3389/fimmu.2016.00033.
- [91] SARESELLA M, MARVENTANO I, CALABRESE E, et al. A complex proinflammatory role for peripheral monocytes in Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2014, 38(2): 403-413.
- [92] SOLANA R, TARAZONA R, GAYOSO I, et al. Innate immunosenescence: Effect of aging on cells and receptors of the innate immune system in humans[J]. *Semin Immunol*, 2012, 24(5): 331-341.
- [93] RAWJI K S, MISHRA M K, MICHAELS N J, et al. Immunosenescence of microglia and macrophages: Impact on the ageing central nervous system[J]. *Brain*, 2016, 139(Pt 3): 653-661.
- [94] LINTON P J, THOMAN M L. Immunosenescence in monocytes, macrophages, and dendritic cells: Lessons learned from the lung and heart[J]. *Immunol Lett*, 2014, 162(1 Pt B): 290-297.
- [95] FRANCESCHI C, BONAFÈ M, VALENSIN S, et al. Inflamm-aging: An evolutionary perspective on immunosenescence[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 908(1): 244-254.
- [96] CAO W, ZHENG H. Peripheral immune system in aging and Alzheimer's disease[J]. *Mol Neurodegener*, 2018, 13(1): 51. Doi: 10.1186/s13024-018-0290-4.
- [97] PANDA A, ARJONA A, SAPEY E, et al. Human innate immunosenescence: Causes and consequences for immunity in old age[J]. *Trends Immunol*, 2009, 30(7): 325-333.
- [98] FAURIAT C, LONG E O, LJUNGGREN H G, et al. Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition[J]. *Blood*, 2010, 115(11): 2167-2176.
- [99] MATÉ I, CRUCES J, GIMÉNEZ-LLORT L, et al. Function and redox state of peritoneal leukocytes as preclinical and prodromic markers in a longitudinal study of triple-transgenic mice for Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimer's Dis*, 2014, 43(1): 213-226.
- [100] LE PAGE A, BOURGADE K, LAMOUREUX J, et al. NK cells are activated in amnesic mild cognitive impairment but not in mild Alzheimer's disease patients[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 46(1): 93-107.
- [101] RIDKER P M, EVERETT B M, THUREN T, et al. Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(12): 1119-1131.
- [102] JIN W N, SHI K, HE W, et al. Neuroblast senescence in the aged brain augments natural killer cell cytotoxicity leading to impaired neurogenesis and cognition[J]. *Nat Neurosci*, 2021, 24(1): 61-73.
- [103] ZIV Y, RON N, BUTOVSKY O, et al. Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood[J]. *Nat Neurosci*, 2006, 9(2): 268-275.
- [104] RON-HAREL N, SEGEV Y, LEWITUS G M, et al. Age-dependent spatial memory loss can be partially restored by immune activation[J]. *Rejuvenation Res*, 2008, 11(5): 903-913.
- [105] KIPNIS J, COHEN H, CARDON M, et al. T cell deficiency leads to cognitive dysfunction: Implications for therapeutic vaccination for schizophrenia and other psychiatric conditions[J]. *PNAS*, 2004, 101(21): 8180-8185.
- [106] FILIANO A J, XU Y, TUSTISON N J, et al. Unexpected role of interferon- γ in regulating neuronal connectivity and social behaviour[J]. *Nature*, 2016, 535(7612): 425-429.

- [107] DERECKI N C, CARDANI A N, YANG C H, et al. Regulation of learning and memory by meningeal immunity: A key role for IL-4[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(5): 1067-1080.
- [108] WENG N P. Aging of the immune system: How much can the adaptive immune system adapt?[J]. *Immunity*, 2006, 24(5): 495-499.
- [109] MONSONEGO A, ZOTA V, KARNI A, et al. Increased T cell reactivity to amyloid beta protein in older humans and patients with Alzheimer disease[J]. *J Clin Invest*, 2003, 112(3): 415-422.
- [110] WANG F, SHEN X, LI S, et al. Splenocytes derived from young WT mice prevent AD progression in APP^{swe}/PSEN^{ΔE9} transgenic mice[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(25): 20851-20862.
- [111] BARUCH K, ROSENZWEIG N, KERTSER A, et al. Breaking immune tolerance by targeting Foxp3(+) regulatory T cells mitigates Alzheimer's disease pathology[J]. *Nat Commun*, 2015(6): 7967.
- [112] COSTANTINI E, D'ANGELO C, REALE M. The role of immunosenescence in neurodegenerative diseases[J]. *Mediators Inflamm*, 2018(2018): 6039171. Doi: 10.1155/2018/6039171
- [113] BUSSE M, MICHLER E, VON HOFF F, et al. Alterations in the peripheral immune system in dementia[J]. *J Alzheimers Dis*, 2017, 58(4): 1303-1313.
- [114] QU B X, GONG Y, MOORE C, et al. Beta-amyloid auto-antibodies are reduced in Alzheimer's disease[J]. *J Neuroimmunol*, 2014, 274(1/2): 168-173.
- [115] GOLD M, MENGEL D, RÖSKAM S, et al. Mechanisms of action of naturally occurring antibodies against β -amyloid on microglia[J]. *J Neuroinflammation*, 2013(10): 5.
- [116] BRITSCHGI M, OLIN C E, JOHNS H T, et al. Neuroprotective natural antibodies to assemblies of amyloidogenic peptides decrease with normal aging and advancing Alzheimer's disease[J]. *PNAS*, 2009, 106(29): 12145-12150.
- [117] WISSLER GERDES E O, ZHU Y, WEIGAND B M, et al. Cellular senescence in aging and age-related diseases: Implications for neurodegenerative diseases[J]. *Int Rev Neurobiol*, 2020(155): 203-234.
- [118] BAKER D J, WIJSHAKE T, TCHKONIA T, et al. Clearance of p16^{Ink4a}-positive senescent cells delays ageing-associated disorders[J]. *Nature*, 2011, 479(7372): 232-236.
- [119] BAKER D J, CHILDS B G, DURIK M, et al. Naturally occurring p16^{Ink4a}-positive cells shorten healthy lifespan[J]. *Nature*, 2016, 530(7589): 184-189.
- [120] OGRODNIK M, EVANS S A, FIELDER E, et al. Whole-body senescent cell clearance alleviates age-related brain inflammation and cognitive impairment in mice[J]. *Aging Cell*, 2021, 20(2): e13296. Doi: 10.1111/ace1.13296.
- [121] BORODKINA A V, DERYABIN P I, GIUKOVA A A, et al. "Social life" of senescent cells: What is SASP and why study it?[J]. *Acta Naturae*, 2018, 10(1): 4-14.
- [122] HE S, SHARPLESS N E. Senescence in health and disease[J]. *Cell*, 2017, 169(6): 1000-1011.
- [123] HERNANDEZ-SEGURA A, NEHME J, DEMARIA M. Hallmarks of cellular senescence[J]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(6): 436-453.
- [124] HOU J G, CUI C H, KIM S, et al. Ginsenoside F1 suppresses astrocytic senescence-associated secretory phenotype[J]. *Chem-Biol Interactions*, 2018(283): 75-83.
- [125] PARK J, LEE S Y, SHON J, et al. Adalimumab improves cognitive impairment, exerts neuroprotective effects and attenuates neuroinflammation in an A β ₁₋₄₀-injected mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Cytotherapy*, 2019, 21(6): 671-682.
- [126] JOHNSON S C, SANGESLAND M, KAEBERLEIN M, et al. Modulating mTOR in aging and health[M]//*Interdisciplinary Topics in Gerontology*. Basel: S. KARGER AG, 2014: 107-127.
- [127] WANG R, YU Z, SUNCHU B, et al. Rapamycin inhibits the secretory phenotype of senescent cells by a Nrf2-independent mechanism[J]. *Aging Cell*, 2017, 16(3): 564-574.
- [128] CACCAMO A, MAJUMDER S, RICHARDSON A, et al. Molecular interplay between mammalian target of rapamycin (mTOR), amyloid-beta, and Tau: Effects on cognitive impairments[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(17): 13107-13120.
- [129] MAJUMDER S, RICHARDSON A, STRONG R, et al. Inducing autophagy by rapamycin before, but not after, the formation of plaques and tangles ameliorates cognitive deficits[J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): e25416. Doi: 10.1371/journal.pone.0025416.
- [130] SIMAN R, COCCA R, DONG Y. The mTOR inhibitor rapamycin mitigates perforant pathway neurodegeneration and synapse loss in a mouse model of early-stage alzheimer-type tauopathy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142340. Doi: 10.1371/journal.pone.0142340.
- [131] LIN A L, ZHENG W, HALLORAN J J, et al. Chronic rapamycin restores brain vascular integrity and function through NO synthase activation and improves memory in symptomatic mice modeling Alzheimer's disease[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(9): 1412-1421.
- [132] OZCELIK S, FRASER G, CASTETS P, et al. Rapamycin attenuates the progression of tau pathology in P301S tau transgenic mice[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e62459. Doi: 10.1371/journal.pone.0062459.
- [133] SPILMAN P, PODLUTSKAYA N, HART M J, et al. Inhibition of mTOR by rapamycin abolishes cognitive deficits and reduces amyloid-beta levels in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *PLoS One*, 2010, 5(4): e9979. Doi: 10.1371/journal.pone.0009979.
- [134] VAN SKIKE C E, JAHRLING J B, OLSON A B, et al. Inhibition of mTOR protects the blood-brain barrier in models of Alzheimer's disease and vascular cognitive impairment[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2018, 314(4): H693-H703.

收稿日期: 2021-04-23

(本文责编: 蔡珊珊)