

·综述·

细胞衰老在骨代谢及退行性疾病中的研究进展

刘晓南 余斌

【摘要】 细胞衰老指细胞发生的不可逆的细胞周期停滞过程,是近年来疾病研究中的热点。细胞衰老的主要原因是DNA损伤或表观遗传学改变引起的抑癌基因p16, p21或p53的激活,从而导致细胞周期停滞。部分发生细胞衰老的细胞还具有衰老相关的分泌表型(SASP),通过分泌炎症因子以及细胞外基质水解酶引起组织微环境和周围细胞的变化。近年的研究显示,细胞衰老在维持骨发育稳态以及介导老年性骨关节疾病中具有重要功能,而衰老细胞的清除有助于延缓退行性骨关节疾病的进展。通过回顾近几年关于细胞衰老和SASP在骨组织中的研究,本文总结了在不同生理阶段骨组织发生细胞衰老的有益和不利作用,讨论了细胞衰老在老年退行性骨关节疾病中的作用。虽然相关研究已取得一定的进展,但仍存在研究干扰因素较多、相关机制研究较少等不足。而对细胞衰老影响骨发育及相关疾病的文献进行综述,有利于进一步理解细胞衰老的分子机制,为从细胞衰老的角度理解骨发育及防治退行性骨关节疾病提供理论基础和思路。

【关键词】 细胞衰老; 衰老相关分泌表型; 骨发育; 骨疾病

Research progress of cellular senescence in bone metabolism and degenerative diseases Liu Xiaonan, Yu Bin. Department of Orthopaedics and Traumatology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Correspondence author: Yu Bin, Email: yubin@smu.edu.cn

【Abstract】 Cellular senescence refers to the irreversible cell cycle arrest process of cells, which is one of the focus in disease research in recent years. The main cause of cellular senescence is the activation of the tumor suppressor gene p16, p21 or p53 caused by DNA damage or epigenetic changes, resulting in growth arrest and the senescence-associated secretory phenotype, which leads to the release of inflammatory factors and extracellular matrix degradation proteases or hydrolases. Evidences have indicated that cellular senescence is important in maintaining normal embryonic development and mediating bone diseases in aging. Studies have shown that the clearance of senescence cells help delay the progression of age-related diseases in bone such as osteoarthritis and osteoporosis. Here, we reviewed recent studies on cellular senescence and SASP, and summarized the literature on the beneficial and adverse role of cellular senescence in different physiological stages. We also discussed the role of cellular senescence in maintaining the homeostasis of musculoskeletal system and mediating age-related degenerative bone and joint disorders. Although research on cellular senescence has made some progress, there are still some limitations. The purpose of this literature review is to provide a general picture on cellular senescence on bone development and bone-related diseases and to further facilitate understanding of the molecular mechanism of cell senescence and provide theoretical basis and ideas for understanding bone development as well as preventing degenerative bone and joint diseases from the cellular senescence perspective.

【Key words】 Cellular senescence; Senescence-associated secretory phenotype; Bone development; Bone disease

衰老是一种普遍的生物学现象,它的特征是随着时间的推移组织和细胞功能的逐渐衰退,最终导致器官的退行性变化^[1]。随着我国人口老龄化进程的加快,衰老所带来的骨代

谢或骨关节退行性疾病出现不断攀升的趋势。与衰老相关的骨疾病一般包括骨质疏松、骨关节炎、椎间盘退变等;据统计,2018年我国65岁以上人群骨质疏松症患病率达到

36.0%,而40岁以上人群各类型骨关节炎的总患病率高达46.3%^[2-3]。上述以年龄为最大危险因素的骨关节疾病导致的长期疼痛、运动能力下降及功能丧失是老年人衰老、机体功能下降并罹患其他疾病的重要因素,探索衰老与骨组织之间的关系对于延长老年人的无病健康期具有十分重要的意义^[4]。

细胞衰老是近年来发现的导致器官或机体发生衰老的主要机制之一。细胞衰老的主要特征是不可逆的细胞周期停滞和独特的衰老相关的分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)^[5]。除此以外,发生细胞衰老的细胞还伴有明显的细胞活动改变,如基因表达谱、代谢方式、染色质的变化以及抗凋亡途径的激活^[6-8]。研究表明,细胞衰老在长骨发育、组织再生和伤口愈合过程中可以发挥有益作用^[9]。然而,当衰老细胞在病理部位或衰老组织中积累过多时,它们会引发多种与年龄相关的慢性疾病,而清除衰老细胞或抑制其SASP可以减缓老年慢性疾病的发生和发展^[10]。

体内实验已经证实,随着年龄的增长,骨骼微环境中大多数细胞类型,包括MSCs、成骨细胞、骨细胞及免疫细胞,均会发生细胞衰老^[11-12]。研究发现,针对细胞衰老的治疗可以减缓老年性骨质疏松及骨关节炎的进程^[13]。值得注意的是,与现今的抗骨质疏松疗法相比,减少衰老细胞负担的疗法有望在延缓骨关节退行性疾病的同时改善全身的衰老状态,故对于治疗老年衰弱状态具有明显的优势。然而,在现今针对细胞衰老的进一步研究中,由于鉴定及分离生物体中衰老细胞的技术存在局限性,细胞衰老在体内的独特作用及产生机制仍有待进一步阐明。本文主要从细胞衰老的定义、相关机制以及细胞衰老与骨发育、骨关节退行性疾病的关系,阐述近年来细胞衰老在骨组织相关研究中的新进展。

一、文献检索

本文以“cellular senescence”、“aging”、“bone development”、“bone degenerative disease”、“signaling”为关键词在PubMed和Web of Science数据库进行检索,检索时间为2002年1月至2021年12月。文献纳入标准:①骨发育相关信号通路的研究;②细胞衰老对骨发育信号通路影响的研究;③细胞衰老对退行性骨关节疾病的研究。排除标准:①内容重复的文献;②无法获取全文的文献;③研究质量较低的文献;④发表时间大于5年且近5年内有类似论著或综述发表的文献。下文就细胞衰老对骨发育及退行性骨关节疾病的影响进行综述。

二、细胞衰老的定义与相关机制

(一)细胞衰老的定义

“细胞衰老”的概念由L. Hayflick等于1961年首次描述。L. Hayflick和P. Moorhead发现体外培养的正常人成纤维细胞最多可繁殖50代,这种细胞无法无限制增殖的现象被命名为细胞衰老,而这种细胞增殖能力的极限被命名为Hayflick极限^[14-15]。近年来的研究表明,细胞衰老指细胞发生不可逆的细胞周期停滞的现象,是细胞状态异常的一种表现^[16]。许多因素均可诱导细胞衰老的发生,包括但不限于端粒短缩、抑癌基因激活、DNA损伤、线粒体功能异常以及炎症反应等因素^[7,8,16]。按照致病机制的不同,细胞衰老可以分为

“复制性衰老”和“早衰”两种类型^[17]。复制性衰老指的是细胞在进行分裂的过程中因端粒不断短缩而导致的增殖能力的最终丧失,即正常细胞无法无限进行分裂。复制性衰老是机体衰老过程中的正常现象,生物体内衰老细胞的数量会随年龄的增加而不断增加^[10,18]。早衰指应激因素如活性氧、机械刺激、细胞因子等导致的正常细胞周期的中断,即组织的病理状态也会诱导衰老细胞的产生^[19,20]。细胞发生衰老后会产生4个重要的表型变化:稳定不可逆的细胞周期停滞(irreversible cell cycle arrest),导致多种炎症因子分泌的SASP, DNA、蛋白质或脂质等生物大分子损伤,以及细胞内代谢紊乱,而其中SASP是衰老细胞导致组织功能紊乱的重要原因^[21,22]。有学者认为,衰老细胞的外分泌特性或SASP是衰老细胞与其他细胞周期停滞的细胞,如静止期细胞或终末分化的细胞具有本质区别的原因之一^[6]。

(二)细胞衰老的相关机制

衰老细胞的周期停滞主要由两条通路介导:p53-p21-视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, RB)通路及p16-RB通路^[23-27]。具体而言,细胞发生端粒短缩或DNA双链结构遭到破坏后,DNA损伤应答激酶ATM(Ataxia telangiectasia mutated protein kinase)、ATR(Rad3-related protein kinase)介导的DNA修复反应会上调p53蛋白的磷酸化水平^[9]。而磷酸化p53蛋白的上调会促进抑癌基因p21的表达,从而导致细胞周期的暂停。细胞周期的永久停止与抑癌基因p16的上调有关,p16蛋白的表达会抑制细胞周期蛋白依赖性激酶4/6(cyclin dependent kinase 4/6, CKD4/6)的活性,降低RB蛋白的磷酸化水平,从而使细胞周期停留在有丝分裂S期^[8,16]。细胞发生衰老后,除p16、p19、p21、p53等细胞周期调节蛋白表达选择性增高外,会出现体积增大,SA- β -gal、 γ -H2AX表达增加以及层粘连蛋白B1(Lamin-B1)、高迁移族蛋白(high mobility group box 1, HMGB1)丢失等特点,可以用于鉴定衰老细胞。

SASP指的是部分衰老细胞具有外分泌细胞因子、炎症因子和细胞外基质水解酶的特性^[28-34]。衰老细胞分泌的许多因子如白细胞介素1 α (Interleukin-1 α , IL-1 α), IL-1 β , IL-6以及IL-8常常被用于SASP表型的鉴定^[31,35,36]。NF- κ B通路, CCAAT/增强子结合蛋白- β (CCAAT/enhancer binding protein- β , C/EBP β)通路以及p38-MAPK通路是调控SASP的关键通路^[37-38]。研究显示,SASP的发生也与细胞质DNA的积累以及表观遗传学的改变有关^[39-40]。值得注意的是,衰老细胞中SASP发生不受p16蛋白表达水平的调控,即衰老细胞的周期停滞和SASP的产生是由不同的通路所启动和调控的^[11]。针对衰老细胞在不同时间点分泌的SASP存在差异,有学者将SASP分为两种类型:早期的“NOTCH诱导型”[或“TGF- β 型”(乙型转化生长因子, transforming growth factor- β , TGF- β)]和后期的“RAS诱导型”(或“炎症型”)^[41]。在细胞衰老的早期,Notch1的激活会产生富含TGF β 的外分泌组合,并抑制炎症型的SASP。而在细胞衰老的后期阶段,Notch1的抑制与NF- κ B的激活会加强IL-6和IL-8的分泌,从而促进炎症型SASP的发生^[41]。

三、细胞衰老与骨发育

细胞衰老在动物的胚胎发育过程中起到重要的作用,其中衰老细胞的周期抑制主要与组织形成过程中各细胞群体数量的平衡有关,而衰老细胞的特殊分泌形式可以精准调控组织发育微环境^[42, 43]。顶端外胚层嵴(apical ectodermal ridge, AER)是肢体形成和发育的主要信号中心;研究发现,AER在发育过程中会出现p21蛋白介导的细胞衰老现象,而p21蛋白缺失会影响AER干细胞的增殖和分化^[42, 43]。与机体衰老时产生主要由p16蛋白介导的复制性衰老有所不同,发育过程中产生的衰老细胞主要受p21及p15周期抑制蛋白调控,并且衰老细胞可以藉由凋亡或免疫细胞定向清除^[42, 44]。

骨的发育经历出生后的不断加速及青春期晚期的减速过程^[45, 46]。在儿童期及青春期,血管及干细胞不断增殖并向生长板下方侵蚀,其中间充质干细胞(Mesenchymal stem cells, MSCs)可以分化为成骨细胞,从而将原有肥大及死亡的软骨区域矿化形成骨组织,即软骨内成骨^[47]。而在青春期晚期骨发育减速时,血管及MSCs的增殖也会随之减少。Li等^[48]发现,生长板下方的MSCs在青春期晚期出现SA- β -Gal的上调及增殖指标Ki67、BrdU及巢蛋白(Nestin)的下调,代表MSCs在青春期晚期会出现程序性的细胞衰老现象。值得注意的是,甲状旁腺激素或糖皮质激素的应用分别可以增加或减少衰老细胞的产生,说明在骨发育过程中激素可以通过干预衰老细胞的产生影响骨量的累积。除骨发育过程中的程序性衰老外,外界因素导致的骨微环境改变也可以通过诱导细胞衰老从而影响骨发育。Chen等^[49, 50]发现,高脂饮食引起的孕期肥胖可以诱导胎儿MSCs及前成骨细胞发生细胞衰老,同时前成骨细胞还会产生SASP,从而导致婴儿骨发育异常。综上,细胞衰老是调控机体发育的重要机制之一,研究衰老细胞与骨发育的关系有助于为治疗各种类型的先天性骨疾病以及骨发育异常提供新的思路。

四、细胞衰老与骨关节炎

骨关节炎是中老年人最常见的关节疾病,主要累及髋、膝关节,病理学可见软骨的撕裂、磨损和退行性改变,软骨下骨硬化及骨赘形成,骨髓损伤以及滑膜、关节囊和附着韧带的继发炎性^[51]。临床上主要表现为关节疼痛和肿胀,并最终导致关节的结构改变和失能。影响骨关节炎发生及发展的因素较多,炎症反应和软组织崩解在骨关节炎的病理进展中处于核心地位^[51]。

近年来研究表明,衰老细胞及其分泌的SASP对关节内部炎症环境的塑造起到一定作用。研究发现,骨关节炎患者中发生细胞衰老的软骨细胞数量较相同年龄的对照人群大大增加^[52, 53];同时,衰老软骨细胞常聚集在骨关节炎累积的软骨病变区域附近,说明软骨细胞衰老与骨关节炎存在一定联系^[54]。Joen等^[55]发现,在前交叉韧带损伤的骨关节炎小鼠模型中,衰老细胞的数量在术后持续增加,并在术后两周逐渐下降并达到稳定水平。同时,衰老细胞的增加伴随着SASP如基质金属蛋白酶13(matrix metalloproteinase-13, MMP-13)、IL-6、IL-1 β 的升高;而衰老细胞的清除可以促进软骨细胞再生,减少疼痛,并最终延缓骨关节炎的进展^[56]。机制上,

研究发现软骨细胞衰老主要与ROS导致的p53-p21通路、p38-AMPK通路及PI3K-Akt通路的激活有关;而ROS导致的线粒体功能异常也可以激活NF- κ B通路诱导IL-1 β 和TNF的表达,从而加重关节内炎症反应,加速软骨组织降解^[56]。由于软骨细胞自身增殖速度极低,有学者认为细胞衰老对软骨的影响可能主要依赖于衰老细胞分泌的SASP而非对软骨细胞本身细胞周期的影响^[57]。鉴于目前的实验证据均为在骨关节炎疾病模型上取得,尚不清楚单纯增加衰老的软骨细胞是否会直接导致骨关节炎的加重甚至发生,细胞衰老与骨关节炎之间的因果关系有待进一步实验的验证。

除软骨细胞外,研究者在软骨下骨、滑膜及髌下脂肪囊中均检测到了衰老启动基因p16或p21的表达^[56]。软骨下骨的硬化和骨赘形成是骨关节炎的标志之一。研究表明,软骨下骨的改变主要与TGF- β 活性升高导致的成骨活动紊乱有关,而TGF- β 已被证实可以诱导包括成纤维细胞、气管上皮细胞和肿瘤细胞发生细胞衰老,但TGF- β 升高是否与软骨下骨细胞发生细胞衰老有关尚待研究^[58, 59]。Joen等发现,前交叉韧带损伤的小鼠中软骨下骨髓腔中p16阳性的细胞数增加,在p16-3MR小鼠中注射诱导衰老细胞凋亡药物可减少衰老细胞的数量,但并不改善软骨下骨的病理状态,这可能说明了在现有的损伤所致骨关节炎中,软骨下骨发生细胞衰老是疾病的表现之一而非启动因素^[56]。在高脂饮食引起的代谢性骨关节炎模型中,Su等^[60]发现前破骨细胞会发生衰老并通过COX2-PGE2通路导致炎症因子的分泌。滑膜和髌下脂肪囊含有一定数量的免疫细胞,在骨关节炎中,二者中的免疫细胞会发生浸润并通过分泌肿瘤坏死因子、白介素等促炎因子促进关节内炎症环境的形成^[56, 61, 62]。虽有证据显示在骨关节炎的动物模型中滑膜和髌下脂肪囊均存在衰老细胞,究竟是免疫细胞发生衰老并分泌促炎因子还是免疫细胞响应其他衰老细胞分泌的SASP,有待进一步研究。

五、细胞衰老与骨质疏松

骨质疏松症是以骨量减少、骨微结构破坏为特点的慢性骨骼疾病。为适应不断变化的力学环境,骨组织是在成骨-破骨的耦联活动中不断改建的,故成骨细胞与破骨细胞活动的相对强弱决定了骨量的多少。在老年性骨质疏松中,破骨细胞活动的增强、成骨细胞的成骨能力下降以及干细胞成骨分化的减少共同导致了骨量的持续减少^[63, 64]。尽管近年来针对相应靶点的药物研发取得了显著进展,出现了抑制破骨细胞的双磷酸盐、核因子 κ -B配体受体激活剂(receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL)单抗,促进骨合成的甲状旁腺素(parathyroid hormone, PTH)及其肽类类似物(parathyroid hormone-related protein, PTHrP)以及雌激素、选择性雌激素受体调节剂(selective estrogen receptor modulator, SERM)等药物,骨质疏松患者的治疗仍不尽如人意。研究显示,即使在发生了骨质疏松性骨折的患者群体中,得到有效抗骨质疏松治疗的患者也不足1/4(24%),甚至有不断下降的趋势^[65]。导致骨质疏松患者无法得到有效治疗的原因很多,如双磷酸盐类药物导致的骨坏死、非典型股骨骨折等副作用,骨质疏松防治知识欠缺等。而从根本上来说,

老年性骨质疏松患者通常共患病较多,如糖尿病、高血压、高血脂、心血管疾病、骨关节炎等,每种疾病都需要特异性药物进行针对,药物种类的增加意味着不良反应的增加,而骨质疏松症属于进展相对缓慢的慢性疾病,患者及医务人员只能选择先治疗相对严重的其他病症^[66]。然而,长期缺乏干预的骨质疏松症患者一旦发生骨折危害极大。研究显示,发生髌部骨折后1年内死于各种并发症者比例达20%,而存活者中约50%致残,生活质量明显下降,手术及长期卧床又导致其他慢性病的进展,造成老年性慢性疾病的治疗“左支右绌”^[67]。在这种背景下,针对导致老年慢性疾病的基本机制如细胞衰老进行干预,以改善整体衰老状态,同时延缓多种老年慢性疾病的治疗方式具有突出优势。既往研究显示,杀死老年小鼠体内累积的衰老细胞可以同时改善心血管、胰岛及大脑功能并延长小鼠的寿命及无病生存期^[10,68,69]。

在骨组织中,Farr等^[70]首次对比了年轻及老年小鼠骨髓中各细胞群体细胞衰老指标(p16、p21、p53)的表达情况,并发现包括B细胞、T细胞、髓系细胞、前成骨细胞、成熟成骨细胞及骨细胞在老年时均会出现细胞衰老。通过进一步对比SASP基因的表达情况,Farr等^[70]发现骨细胞及髓系细胞的23个SASP基因表达显著升高。Piemontese等^[69]也发现成骨细胞特异性转录因子阳性代表的前成骨细胞会出现细胞衰老及产生SASP。Farr等^[71]利用多种治疗方式发现:在INK-ATTAC转基因小鼠中诱导衰老细胞凋亡,联用抗衰老药物达沙替尼及懈皮素杀死衰老细胞,或使用JAK抑制剂(JAK inhibitor, JAKi)减少衰老细胞的SASP分泌,均可以显著改善老年小鼠的骨量及松质骨结构。值得注意的是,在另一种可以杀死体内衰老细胞的转基因小鼠(p16-3MR小鼠)老年骨质疏松模型中,由于对衰老骨细胞的清除效率不佳,系统性清除其他衰老细胞如衰老的前破骨细胞并不能改变骨质疏松的表型,说明骨细胞衰老在老年性骨质疏松中占有核心地位^[72]。

细胞衰老在其他类型的骨质疏松中作用的研究相对较少。Liu等^[73]发现,糖皮质激素的应用可以诱导幼年小鼠长骨干骺端血管细胞及前成骨细胞发生细胞衰老,主要与激素性骨质疏松中破骨细胞分泌血管生成素减少有关,而在血管内皮细胞中特异性敲除细胞衰老的关键基因p16可以减轻激素性骨质疏松的发生。Farr等^[74]发现行卵巢切除术后的绝经期骨质疏松小鼠模型中富含骨细胞的组织中细胞衰老或SASP指标未出现升高;且在INK-ATTAC转基因小鼠中诱导衰老细胞凋亡不能改善卵巢切除导致的骨质疏松。在高脂导致的骨质疏松模型中,Chen等^[75]发现高脂饮食会导致成骨细胞发生细胞衰老,而将高脂饮食中的酪蛋白替换为大豆蛋白可以减少PPAR γ -p53-p21通路的激活导致的细胞衰老。在废用性骨质疏松及糖皮质激素导致的骨质疏松中,p53-p21通路也被发现在骨髓细胞中激活,但这些细胞是否发生了细胞衰老尚不清楚^[76]。放射或电离辐射可以直接产生自由基及ROS导致DNA损伤并诱导p21及p16的表达。在放射性骨质疏松模型中,Chandra等^[77]发现成骨细胞、骨细胞及免疫细胞均会发生衰老及SASP分泌,而清除衰老细胞也可

样可以减轻骨髓炎症环境及骨质疏松的发生。

六、细胞衰老与椎间盘退变

椎间盘退变是导致中老年人下腰部疼痛的主要因素之一,特点是椎间盘蛋白聚糖和原有蛋白成分的丢失、水含量的减少,最终导致椎间盘的变形和撕裂。Le Maitre等^[78]发现退变的椎间盘中的表达p16蛋白以及衰老相关 β -半乳糖苷酶(senescence-associated β -galactosidase, SA- β -Gal)的衰老细胞增多。而研究表明,衰老细胞主要聚集在突出的髓核处,并且衰老细胞的增加与椎间盘的退变程度存在正性关系,说明细胞衰老在椎间盘退变中起到重要作用^[79]。炎症因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 介导的蛋白酶如聚蛋白多糖酶(a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs, ADAMTS)和MMP的表达是椎间盘结构崩解的重要原因。Patil等^[80]报道,在老年p16-3MR转基因鼠中选择性清除p16阳性的衰老细胞,可以减少椎间盘ADAMTS以及MMP-13的分泌,增加聚蛋白多糖的含量,从而最终改善椎间盘的形态。导致椎间盘细胞发生细胞衰老的具体机制尚不明确,但这些研究揭示了衰老细胞以及SASP在塑造椎间盘局部炎症环境的作用,而这可能是限制现有再生疗法的重要因素。

七、细胞衰老与骨髓MSCs衰老

骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMMSCs)是具有增殖和向间质细胞分化的一类多能干细胞,对维持组织完整性、组织修复和再生具有重要作用。随年龄的增大,BMMSCs会出现数量的减少,增殖能力的下降以及成骨分化的减少和成脂分化的增多,从而造成骨组织老化^[81]。Ma等^[82]发现,老年小鼠骨髓中分离出的BMMSCs中SA- β -Gal、p53、p21和p16的水平显著升高,而这种变化与BMMSCs的自噬能力下降相关。Ezh2/H3K27me3通路是表观遗传学上调控制细胞增殖的关键通路,Li等发现,Nestin阳性的MSCs在骨生长晚期会出现Ezh2的下调从而导致细胞衰老^[48]。而Gao等也发现,瘦素蛋白受体阳性的MSCs在老年小鼠中会因发生Ezh2的下调而导致细胞衰老^[83]。

BMMSCs的衰老也可能影响其他器官的功能。近期的研究显示,骨作为内分泌器官,对全身的钙磷代谢、能量代谢、应激反应均有重要的调控功能^[84,85]。Kim等^[86]发现,Osterix阳性的前成骨细胞的细胞衰老可能导致了(前)成骨细胞数量随老年的下降。而Liu等^[87]的研究显示,前成骨细胞数量减少与血清中调节胰岛 β 细胞的关键因子——A型血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor-AA, PDGF-AA)的减少有关;PDGF-AA的下降可以导致胰岛 β 细胞的增殖和胰岛素分泌水平下降。除了干细胞自身分泌水平改变以外,BMMSCs衰老导致的成骨细胞减少也可以通过改变骨吸收/重建速率改变骨基质蛋白的血清水平。骨在不断改建的过程中会释放如骨钙素(osteocalcin, OCN),乙型转化生长因子(transforming growth factor- β , TGF- β),骨形成蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)等骨基质蛋白(骨源性因子),这些蛋白已被证实在调节胰岛、大脑活动中有重要作用^[88,89]。故BMMSCs的衰老可能在全身衰老中起到重要作用,即“人老

腿先老”，但相关结论尚需更多实验证据支持。

八、总结与展望

细胞衰老是近年来发现的导致器官、机体衰老的基本机制之一。细胞增殖能力的下降导致组织适应外界环境变化的能力下降，而SASP导致组织的炎症和功能紊乱。研究表明，在骨发育、骨关节炎、骨质疏松、脊柱退行性变等多种情况下均存在衰老细胞的聚集，而清除衰老细胞有望同时延缓多种老年疾病的进展。由于老年性骨关节疾病的发病机制各有不同，现仍难以判断细胞衰老和退行性疾病的因果效应，未来仍需要在不同的疾病模型中验证衰老细胞与疾病的关系。此外，由于衰老细胞缺少特异性标志物，未来仍需继续研究衰老细胞的特性，从而为准确鉴定、分离衰老细胞打下基础。更多的体内研究将增加研究的科学性和结果的可信度，为老年性骨关节疾病的防治提供理论基础及思路。

参 考 文 献

- 1 Partridge L, Deelen J, Slagboom PE. Facing up to the global challenges of ageing [J]. *Nature*, 2018, 561(7721): 45-56.
- 2 Qiao D, Liu X, Tu R, et al. Gender-specific prevalence and influencing factors of osteopenia and osteoporosis in Chinese rural population:the Henan Rural Cohort Study [J]. *BMJ Open*, 2020, 10(1): e28593.
- 3 He Q, Zhang J. Prevalence of osteoarthritis and association between smoking patterns and osteoarthritis in China:a cross-sectional study [J]. *Frontiers of Nursing*, 2018, 5(2): 111-118.
- 4 Wan M, Gray-Gaillard E F, elisseff J H. cellular senescence in musculoskeletal homeostasis,diseases,and regeneration [J]. *Bone Res*, 2021, 9(1): 41.
- 5 Tchkonja T, Kirkland JL. Aging,cell senescence,and chronic disease: emerging therapeutic strategies [J]. *JAMA*, 2018, 320(13): 1319-1320.
- 6 Van Deursen JM. The role of senescent cells in ageing [J]. *Nature*, 2014, 509(7501): 439-446.
- 7 He S, Sharpless NE. Senescence in health and disease [J]. *Cell*, 2017, 169(6): 1000-1011.
- 8 Muñoz-Espín D, Serrano M. Cellular senescence:from physiology to pathology [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(7): 482-496.
- 9 Liu X, Wan M. A tale of the good and bad: Cell senescence in bone homeostasis and disease [J]. *Int Rev Cell Mol Biol*, 2019, 346: 97-128.
- 10 Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, et al. Clearance of p16ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders [J]. *Nature*, 2011, 479(7372): 232-236.
- 11 Farr J N, Khosla S. Cellular senescence in bone [J]. *Bone*, 2019, 121: 121-133.
- 12 Li CJ, Xiao Y, Sun YC, et al. Senescent immune cells release grancalcin to promote skeletal aging [J]. *Cell Metab*, 2021, 33(10): 1957-1973.
- 13 Farr JN, Xu M, Weivoda MM, et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice [J]. *Nature Medicine*, 2017, 23(9): 1072-1079.
- 14 Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains [J]. *Exp Cell Res*, 1961, 25: 585-621.
- 15 Hayflick L. The Limited In Vitro Lifetime Of Human Diploid Cell Strains [J]. *Exp Cell Res*, 1965, 37: 614-636.
- 16 Childs BG, Gluscevic M, Baker DJ, et al. Senescent cells:an emerging target for diseases of ageing [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(10): 718-735.
- 17 Chen Q M. Replicative senescence and oxidant-induced premature senescence. Beyond the control of cell cycle checkpoints [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 908: 111-125.
- 18 Baker DJ, Childs BG, Durik M, et al. Naturally occurring p16Ink4a-positive cells shorten healthy lifespan [J]. *Nature*, 2016, 530(7589): 184-189.
- 19 Toussaint O, Dumont P, Dierick JF, et al. Stress-induced premature senescence. Essence of life, evolution, stress, and aging [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2000, 908: 85-98.
- 20 Dierick J, Eliaers F, Remacle J, et al. Stress-induced premature senescence and replicative senescence are different phenotypes,proteomic evidence [J]. *Biochem Pharmacol*, 2002, 64(5): 1011-1017.
- 21 Borodkina AV, Deryabin PI, Giukova AA, et al. Social Life"of senescent cells:what is SASP and why study it? [J]. *Acta Naturae*, 2018, 10(1): 4-14.
- 22 Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, et al. Cellular senescence:defining a path forward [J]. *Cell*, 2019, 179(4): 813-827.
- 23 Takahashi A, Ohtani N, Yamakoshi K, et al. Mitogenic signalling and the p16INK4a-Rb pathway cooperate to enforce irreversible cellular senescence [J]. *Nat Cell Biol*, 2006, 8(11): 1291-1297.
- 24 Imai Y, Takahashi A, Hanyu A, et al. Crosstalk between the Rb pathway and AKT signaling forms a quiescence-senescence Switch [J]. *Cell Rep*, 2014, 7(1): 194-207.
- 25 Lujambio A. To clear, or not to clear (senescent cells)? That is the question [J]. *Bioessays*, 2016, 38 Suppl 1: S56-S64.
- 26 Terzi MY, Izmirli M, Gogebakan B. The cell fate: senescence or quiescence [J]. *Mol Biol Rep*, 2016, 43(11): 1213-1220.
- 27 Watanabe S, Kawamoto S, Ohtani N, et al. Impact of senescence-associated secretory phenotype and its potential as a therapeutic target for senescence-associated diseases [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(4): 563-569.
- 28 Rodier F, Coppé J, Patil CK, et al. Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(8): 973-979.
- 29 Coppé J, Desprez P, Krtolica A, et al. The Senescence-Associated secretory phenotype:the dark side of tumor suppression [J]. *Annual Review of Pathology-Mechanisms of Disease*, 2010, 5(1): 99-118.
- 30 Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, et al. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA [J]. *Dev Cell*, 2014, 31(6): 722-733.
- 31 Laberge RM, Sun Y, Orjalo AV, et al. MTOR regulates the pro-tumorigenic senescence-associated secretory phenotype by promoting IL1A translation [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(8): 1049-1061.
- 32 Wiley CD, Velarde MC, Lecot P, et al. Mitochondrial dysfunction induces senescence with a distinct secretory phenotype [J]. *Cell Metab*, 2016, 23(2): 303-314.
- 33 Hernandez-Segura A, De Jong TV, Melov S, et al. Unmasking transcriptional heterogeneity in senescent cells [J]. *Curr Biol*, 2017, 27(17): 2652-2660.
- 34 Wiley CD, Schaum N, Alimirah F, et al. Small-molecule MDM2 antagonists attenuate the senescence-associated secretory phenotype [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2410.
- 35 Chien Y, Scuoppo C, Wang X, et al. Control of the senescence-asso-

- ciated secretory phenotype by NF-kappaB promotes senescence and enhances chemosensitivity [J]. *Genes Dev*, 2011, 25(20): 2125-2136.
- 36 Herranz N, Gallage S, Mellone M, et al. mTOR regulates MAPKAPK2 translation to control the senescence-associated secretory phenotype [J]. *Nat Cell Biol*, 2015, 17(9): 1205-1217.
- 37 Kuilman T, Michaloglou C, Vredeveld LC, et al. Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network [J]. *Cell*, 2008, 133(6): 1019-1031.
- 38 Acosta JC, O'loghlen A, Banito A, et al. Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence [J]. *Cell*, 2008, 133(6): 1006-1018.
- 39 Gluck S, Ablasser A. Innate immunosensing of DNA in cellular senescence [J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 56: 31-36.
- 40 Ito T, Teo YV, Evans SA, et al. Regulation of cellular senescence by polycomb chromatin modifiers through distinct DNA damage- and histone Methylation- Dependent pathways [J]. *Cell Rep*, 2018, 22(13): 3480-3492.
- 41 Ito Y, Hoare M, Narita M. Spatial and temporal control of senescence [J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(11): 820-832.
- 42 Munoz-Espin D, Canamero M, Maraver A, et al. Programmed cell senescence during mammalian embryonic development [J]. *Cell*, 2013, 155(5): 1104-1118.
- 43 Storer M, Mas A, Robert-Moreno A, et al. Senescence is a developmental mechanism that contributes to embryonic growth and patterning [J]. *Cell*, 2013, 155(5): 1119-1130.
- 44 Fuchs Y, Steller H. Programmed cell death in animal development and disease [J]. *Cell*, 2011, 147(4): 742-758.
- 45 Yakar S, Isaksson O. Regulation of skeletal growth and mineral acquisition by the GH/IGF-1 axis: Lessons from mouse models [J]. *Growth Hormone & IGF Research*, 2016, 28: 26-42.
- 46 Rauch F. The dynamics of bone structure development during pubertal growth [J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2012, 12(1): 1-6.
- 47 Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, et al. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation [J]. *Nat Med*, 1999, 5(6): 623-628.
- 48 Li C, Chai Y, Wang L, et al. Programmed cell senescence in skeleton during late puberty [J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 1312.
- 49 Chen JR, Lazarenko OP, Zhao H, et al. Maternal obesity impairs skeletal development in adult offspring [J]. *J Endocrinol*, 2018, 239(1): 33-47.
- 50 Chen JR, Lazarenko OP, Blackburn ML, et al. Maternal obesity programs senescence signaling and glucose metabolism in Osteo-Progenitors from rat and human [J]. *Endocrinology*, 2016, 157(11): 4172-4183.
- 51 Hunter DJ, Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis [J]. *Lancet*, 2019, 393(10182): 1745-1759.
- 52 Martin JA, Brown TD, Heiner AD, et al. Chondrocyte senescence, joint loading and osteoarthritis [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2004 (427 Suppl): S96-S103.
- 53 Martin JA, Brown T, Heiner A, et al. Post-traumatic osteoarthritis: the role of accelerated chondrocyte senescence [J]. *Biorheology*, 2004, 41(3/4): 479-491.
- 54 Price JS, Waters JG, Darrah C, et al. The role of chondrocyte senescence in osteoarthritis [J]. *Aging Cell*, 2002, 1(1): 57-65.
- 55 Jeon OH, Kim C, Laberge RM, et al. Local clearance of senescent cells attenuates the development of post-traumatic osteoarthritis and creates a pro-regenerative environment [J]. *Nat Med*, 2017, 23(6): 775-781.
- 56 Jeon OH, David N, Campisi J, et al. Senescent cells and osteoarthritis: a painful connection [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(4): 1229-1237.
- 57 Diekmann BO, Sessions GA, Collins JA, et al. Expression of p16 (INK)(4a) is a biomarker of chondrocyte aging but does not cause osteoarthritis [J]. *Aging Cell*, 2018, 17(4): e12771.
- 58 Zhen G, Wen C, Jia X, et al. Inhibition of TGF- β signaling in mesenchymal stem cells of subchondral bone attenuates osteoarthritis [J]. *Nat Med*, 2013, 19(6): 704-712.
- 59 Tominaga K, Suzuki H I. TGF-beta Signaling in Cellular Senescence and Aging-Related Pathology [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(20): 5002.
- 60 Su W, Liu G, Mohajer B, et al. Senescent preosteoclast secretome promotes metabolic syndrome associated osteoarthritis through cyclooxygenase 2 [J]. *Elife*, 2022, 26(11): 79773.
- 61 Ushiyama T, Chano T, Inoue K, et al. Cytokine production in the infrapatellar fat pad: another source of cytokines in knee synovial fluids [J]. *Ann Rheum Dis*, 2003, 62(2): 108-112.
- 62 Benito MJ, Veale DJ, Fitzgerald O, et al. Synovial tissue inflammation in early and late osteoarthritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2005, 64(9): 1263-1267.
- 63 Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future [J]. *Lancet*, 2011, 377(9773): 1276-1287.
- 64 Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men [J]. *Lancet*, 2002, 359(9320): 1841-1850.
- 65 夏维波. 骨质疏松症的现状和防治策略 [J]. *中国医学前沿杂志: 电子版*, 2015, 7(10): 1-3.
- 66 倪乙洪, 王正博, 刘权, 等. 细胞衰老在老年骨质疏松症防治中的研究进展 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(8): 1207-1211.
- 67 Abrahamsen B, Van Staa T, Ariely R, et al. Excess mortality following hip fracture: a systematic epidemiological review [J]. *Osteoporos Int*, 2009, 20(10): 1633-1650.
- 68 Bussian TJ, Aziz A, Meyer CF, et al. Clearance of senescent glial cells prevents tau-dependent pathology and cognitive decline [J]. *Nature*, 2018, 562(7728): 578-582.
- 69 Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age [J]. *Nat Med*, 2018, 24(8): 1246-1256.
- 70 Farr JN, Fraser DG, Wang H, et al. Identification of senescent cells in the bone microenvironment [J]. *J Bone Miner Res*, 2016, 31(11): 1920-1929.
- 71 Farr J N, Xu M, Weivoda M M, et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice [J]. *Nat Med*, 2017, 23(9): 1072-1079.
- 72 Kim HN, Chang J, Iyer S, et al. Elimination of senescent osteoclast progenitors has no effect on the age-associated loss of bone mass in mice [J]. *Aging Cell*, 2019, 18(3): e12923.
- 73 Liu X, Chai Y, Liu G, et al. Osteoclasts protect bone blood vessels against senescence through the angiogenin/plexin- B2 axis [J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 1832.
- 74 Farr JN, Rowsey JL, Eckhardt BA, et al. Independent roles of estrogen deficiency and cellular senescence in the pathogenesis of osteoporosis: evidence in young adult mice and older humans [J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(8): 1407-1418.
- 75 Chen J, Lazarenko OP, Blackburn ML, et al. Soy protein isolate inhibits High-Fat Diet-Induced senescence pathways in osteoblasts to maintain bone acquisition in male rats [J]. *Endocrinology*, 2015, 156(2): 475-487.

- 76 Pignolo RJ, Samsonraj RM, Law SF, et al. Targeting cell senescence for the treatment of Age-Related bone loss [J]. *Curr Osteoporos Rep*, 2019, 17(2): 70-85.
- 77 Chandra A, Lagnado AB, Farr JN, et al. Targeted reduction of senescent cell burden alleviates focal Radiotherapy-Related bone loss [J]. *J Bone Miner Res*, 2020, 35(6): 1119-1131.
- 78 Le Maitre CL, Freemont A, Hoyland J A. Accelerated cellular senescence in degenerate intervertebral discs: a possible role in the pathogenesis of intervertebral disc degeneration [J]. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(3): R45.
- 79 Zhao C, Wang L, Jiang L, et al. The cell biology of intervertebral disc aging and degeneration [J]. *Ageing Res Rev*, 2007, 6(3): 247-261.
- 80 Patil P, Dong Q, Wang D, et al. Systemic clearance of p16INK4a-positive senescent cells mitigates age-associated intervertebral disc degeneration [J]. *Aging Cell*, 2019, 18(3): e12927.
- 81 Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis [J]. *Lancet*, 2006, 367(9527): 2010-2018.
- 82 Ma Y, Qi M, An Y, et al. Autophagy controls mesenchymal stem cell properties and senescence during bone aging [J]. *Aging Cell*, 2018, 17(1): e12709.
- 83 Gao B, Lin X, Jing H, et al. Local delivery of tetramethylpyrazine eliminates the senescent phenotype of bone marrow mesenchymal stromal cells and creates an anti-inflammatory and angiogenic environment in aging mice [J]. *Aging Cell*, 2018, 17(3): e12741.
- 84 Dirckx N, Moorer MC, Clemens TL, et al. The role of osteoblasts in energy homeostasis [J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2019, 15(11): 651-665.
- 85 Berger JM, Singh P, Khirman L, et al. Mediation of the acute stress response by the skeleton [J]. *Cell Metab*, 2019, 30(5): 890-902.
- 86 Kim HN, Chang J, Shao L, et al. DNA damage and senescence in osteoprogenitors expressing Osx1 May cause their decrease with age [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(4): 693-703.
- 87 Liu X, Zhang F, Chai Y, et al. The role of bone-derived PDGF-AA in age-related pancreatic β cell proliferation and function [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524(1): 22-27.
- 88 Chamouni A, Schreweis C, Oury FB. Brain & beyond [J]. *Rev Endocr Metab Disord*, 2015, 16(2): 99-113.
- 89 Bonnet N. Bone-Derived factors: a new gateway to regulate glycaemia [J]. *Calcif Tissue Int*, 2017, 100(2): 174-183.
- (收稿日期: 2022-10-19)
(本文编辑: 吕红芝)

刘晓南, 余斌. 细胞衰老在骨代谢及退行性疾病中的研究进展 [J/CD]. *中华老年骨科与康复电子杂志*, 2023, 9(2): 113-119.