



内源性逆转录病毒复活作为衰老的新型生物标志物和驱动力

武泽明, 刘晓倩, 刘光慧*

中国科学院动物研究所膜生物学国家重点实验室, 北京 100101

* 联系人, E-mail: ghliu@ioz.ac.cn

Resurrection of endogenous retroviruses acts as a novel biomarker and driving force of aging

Zeming Wu, Xiaoqian Liu & Guang-Hui Liu*

State Key Laboratory of Membrane Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

* Corresponding author, E-mail: ghliu@ioz.ac.cn

doi: [10.1360/TB-2024-0522](https://doi.org/10.1360/TB-2024-0522)

衰老是一个随着年龄增长而发生的机体结构与功能渐进性衰退的过程, 涉及一系列器官、组织、细胞和分子的复杂变化^[1-3]. 它是包括神经退行性疾病、骨关节炎、心血管疾病、癌症等多种人类慢性疾病发生发展的重大风险因素, 严重影响着老年群体的身体健康和生活质量, 同时为家庭以及社会造成了沉重的经济和医疗负担. 近年来, 全球人口老龄化问题日益加剧, 在我国尤为突出. 根据国家统计局最新公布的人口数据显示(https://www.stats.gov.cn/xxgk/jd/sjjd2020/202401/t20240118_1946711.html), 截至2023年末, 我国60岁及以上人口为29697万人, 占总人口的21.1%, 其中65岁及以上人口为21676万人, 占总人口的15.4%. 这一数据表明, 我国已经步入深度老龄化社会阶段, 如何能够科学有效地应对老龄化带来的挑战正成为亟待解决的社会和科学议题.

细胞衰老被认为是组织器官功能退化、机体衰老以及各种相关疾病发展的主要因素之一, 而表观遗传上的动态可逆性变化在控制细胞衰老进程中扮演着至关重要的角色^[1,2,4]. 在人类基因组中, 许多“衰老”信号通常会受到严格的表观遗传调控, 使其保持沉默状态^[5]. 然而, 随着年龄的增长, 这些“衰老”信号可能由于表观遗传调控的紊乱(如异染色质丢失)而被激活, 从而启动一系列级联程序, 包括衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)等^[6,7]. 但是, 以往的研究多聚焦在仅占人类基因组较小比例(不足2%)的蛋白编码序列, 而对于剩余大量的非编码序列——“暗物质”, 在衰老中的作用和机制研究仍十分有限. 作

为非编码区域中转座子家族一员, 内源性逆转录病毒(endogenous retrovirus, ERV)元件大约占据了人类基因组的8%^[8]. 它是数百万年前远古逆转录病毒入侵并整合到人类基因组的遗迹——“古病毒化石”. 在漫长的进化过程中, 大量人类ERV的遗传信息发生插入、缺失等突变, 并且受到宿主细胞表观遗传的严格限制而处于失活状态. 然而, 这些如“死火山”般沉寂的ERV古病毒元件是否会挣脱表观遗传的“封印”而再次苏醒, 进而参与衰老的程序化调控尚未可知. 因此, 系统解析ERV在细胞衰老中的变化规律和作用机制, 将有助于我们更加全面地理解、评估乃至干预衰老, 进而为有效防治衰老相关疾病及积极应对人口老龄化提供新的靶标和思路.

针对上述科学问题, 我们基于跨物种、多组织、系统性衰老研究模型, 综合运用多维表观基因组、转录靶向操控、单分子成像、病毒学、免疫学、病理学等多学科前沿交叉技术, 揭示了表观去抑制导致的ERV复活介导衰老的程序化和“传染性”, 并据此开发出一系列靶向干预技术可有效延缓细胞、组织乃至机体的衰老, 该成果发表于Cell杂志^[9]. 在该项工作中, 我们首先基于实验室先前建立的人类早衰症(包括儿童早衰症(Hutchinson-Gilford progeria syndrome, HGPS)和成年早衰症(Werner syndrome, WS))间充质干细胞模型, 系统绘制了衰老细胞的多维表观基因组及转录组图谱, 发现细胞衰老过程中表观基因组的“熵增”(表观遗传学上的复杂性或无序性增加的过程, 包括表观基因组的区室化或者隔离度降低, 如异染色质区域和常染色质区域的隔离减弱, 整体染色质趋同或者“躺平”的一种变化趋势, 伴随着原本被抑制的基

因重新激活表达而原本激活表达的基因变得沉默)会伴随着一系列基因的异常表达^[10],其中以ERV的激活最引人瞩目。随后,利用单分子核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)荧光原位杂交、蛋白免疫印迹、免疫荧光及电镜等技术手段,我们在这些衰老细胞中检测到了ERV转录本、蛋白及病毒样颗粒的富集增加。同时,我们也在复制性或生理性衰老的人间充质干细胞及成纤维细胞中检测到了ERV元件的上调表达,从而证实了细胞衰老过程中伴随着ERV的活化。

接着,我们探究了ERV复活的潜在调控机制,发现衰老细胞中脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)甲基化水平的降低、异染色质组蛋白标记组蛋白3赖氨酸9三甲基化(histone 3 lysine 9 trimethylation, H3K9me3)的减少以及激活性组蛋白标记组蛋白3赖氨酸36三甲基化(histone 3 lysine 36 trimethylation, H3K36me3)的增加可能是驱动ERV激活的上游事件。利用甲基化酶抑制剂5-氮杂胞苷(5-azacytidine, 5-AZA)处理年轻的细胞,降低其DNA甲基化水平,则会激活

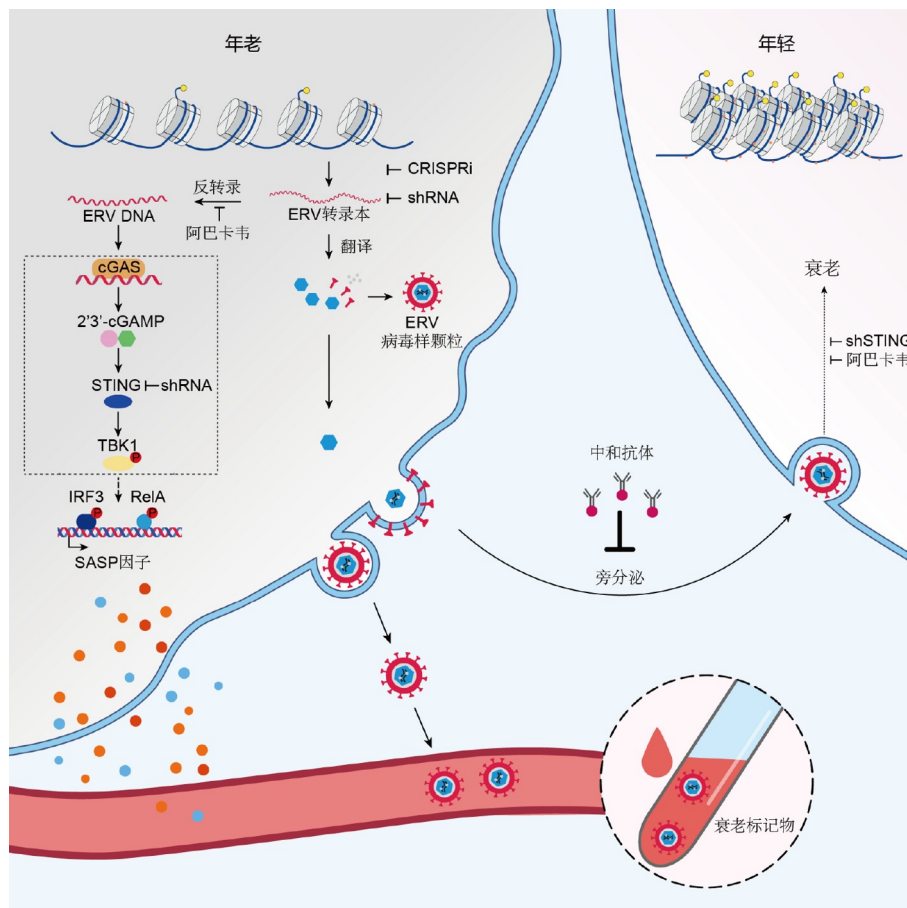


图 1 (网络版彩色)ERV复活驱动衰老的机制及靶向干预策略示意图^[9]。在衰老细胞中,由于表观遗传失调(如异染色质丢失,具体呈现为DNA甲基化水平降低以及抑制性组蛋白修饰H3K9me3减少),使得ERV元件去抑制被激活,随后转录出RNA并翻译成病毒蛋白,进而组装成病毒样颗粒。一方面,ERV的转录本可以反转录为DNA,在细胞质中激活cGAS-STING天然免疫途径,从而引发SASP因子的激活和扩散,加速细胞衰老。另一方面,衰老细胞释放的ERV病毒样颗粒可以通过体液传播或胞外分泌形式“感染”年轻的细胞及组织,导致它们也开始老化。激活的ERV既可以作为衰老的生物标志物,又可以作为衰老的干预靶标。2'3'-cGAMP, 2'3'-环鸟苷单磷酸-腺苷单磷酸; cGAS, 环鸟苷酸-腺苷酸合成酶; CRISPRi, CRISPR-dCas9介导的基因抑制; IRF3, 干扰素调节因子3; Rel A, 转录因子p65; SASP, 衰老相关分泌表型; shSTING, 靶向沉默STING的shRNA; STING, 干扰素基因刺激因子; TBK1, TANK结合激酶1

Figure 1 (Color online) This diagram illustrates the mechanism by which ERVs drive senescence and potential aging interventions targeting ERVs^[9]. In senescent cells, epigenetic dysregulation (such as heterochromatin loss, as indicated by decreased DNA methylation and H3K9me3 levels) promotes the transcriptional derepression of ERVs, leading to the translation of viral proteins and packaging into viral particles. On one hand, ERV RNA can reverse transcribe into DNA, thereby activating the cGAS-STING pathway, triggering the activation and spread of SASP factors, accelerating cellular senescence. On the other hand, these viral particles released by senescent cells can “infect” young cells or tissues either through fluid mediation or paracrine secretion, inducing senescence or aging in them. Activated ERVs can serve as both a biomarker of aging and a target for aging interventions. 2'3'-cGAMP, 2'3'-cyclic GMP-AMP; cGAS, cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase; CRISPRi, CRISPR interference; IRF3, interferon regulatory factor 3; Rel A, also known as transcription factor p65; SASP, senescence-associated secretory phenotype; shSTING, shRNA targeting STING; STING, stimulator of interferon genes; TBK1, TANK-binding kinase 1

ERV的表达并加速年轻细胞的衰老。

为了深入解析 ERV的激活如何影响细胞衰老进程, 我们利用规律成簇的间隔短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)-失活型CRISPR相关蛋白9 (deactivated CRISPR-associated protein 9, dCas9)介导的基因靶向激活技术操纵 ERV 的表达水平, 发现激活ERV会诱导细胞加速衰老, 表明ERV的复活是细胞衰老的驱动力。进一步研究发现, 激活的ERV主要通过以下两种途径驱动细胞衰老: 一方面, 衰老细胞的胞浆中蓄积的ERV反转录产物, 通过触发环鸟苷酸-腺苷酸合成酶(cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase, cGAS)-干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)天然免疫通路的级联反应, 激活炎症信号并加速细胞早衰; 另一方面, 在衰老细胞的培养上清中, 我们检测到了被释放出来的ERV病毒样颗粒, 发现这些病毒颗粒可通过旁分泌或体液介导的方式传播扩散, 从而在细胞、组织、器官间实现衰老信号的级联放大, 使得年轻的细胞因受ERV病毒颗粒的“感染”而老化, 使得衰老具有了“传染性”(图1)。

与此同时, 我们也在自然衰老小鼠的关节软骨、肺、肝脏、皮肤等组织中检测到ERV的激活。同样地, 在生理性及病理性衰老的食蟹猴的肺、肝脏、皮肤, 以及老年人群的皮肤和血液样本中, 我们也观察到了ERV的上调表达。在课题组的另一项研究工作中, 我们还发现ERV在生理性及病理性衰老的食蟹猴额叶组织、以及老年人群的额叶和脑脊液样本中显著富集^[11]。这些数据表明, ERV的激活可作为跨物种、多组织衰老的分子标记物, 为评估和预警衰老提供了新的依据。

最后, 我们发现阻断ERV复活可以有效干预衰老。首先, 在细胞水平, 我们发现利用CRISPR-dCas9介导的靶向抑制和

短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)介导的干扰沉默技术均可降低ERV的表达水平并有效延缓细胞衰老; 利用逆转录酶抑制剂阿巴卡韦阻断ERV的反转录过程, 同样可以有效减少ERV的活化, 减轻细胞的炎症反应, 进而改善细胞衰老相关表型; 进一步, 利用针对ERV的中和抗体, 我们成功实现了对ERV病毒颗粒的免疫清除, 从而阻断了衰老信号“传染”放大的途径, 同样使得细胞的衰老表型得以延缓(图1)。

随后, 基于小鼠模型, 我们概念性地证实了上述细胞衰老干预策略在体内阻断ERV复活、缓解组织乃至机体衰老的可行性。首先, 向老年小鼠关节腔内注射基于CRISPR-dCas9靶向抑制小鼠ERV的慢病毒载体, 可以成功抑制ERV的激活, 使得老年小鼠关节软骨组织的炎症和衰老指标得以减轻, 同时改善了关节软骨的组织再生能力以及生理机能。其次, 通过向老年小鼠关节腔内注射阿巴卡韦, 同样缓解了关节软骨的衰老表型。最后, 研究人员将阿巴卡韦溶解在饮水中, 对老年小鼠进行为期6个月的处理, 发现与对照组相比, 口服阿巴卡韦的小鼠表现出更强的抓力、更好的体能以及记忆能力的改善。与此相一致的是, 我们课题组的另一项研究发现阿巴卡韦处理也可有效缓解老年小鼠脑组织的衰老和炎症^[11], 从而进一步证实了靶向ERV干预衰老的有效性。

这项研究首次揭示了复活的ERV可以作为细胞、组织、器官乃至机体衰老的新型标志物、驱动力和干预靶标, 为衰老的程序化、传染性、可度量性和可干预性提供了全新的理论框架, 也为发展衰老及衰老相关疾病(如骨关节炎)的科学评估及有效干预提供了新思路。该成果两次获得F1000Prime推荐, 四次入选维基百科衰老相关词条, 同时入选2023年度“中国科学十大进展”、“中国生命科学十大进展”、中央广播电视总台“国内十大科技新闻”以及“中国2023年度重要医学进展”。

推荐阅读文献

- 1 López-Otín C, Blasco M A, Partridge L, et al. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*, 2023, 186: 243–278
- 2 Bao H, Cao J, Chen M, et al. Biomarkers of aging. *Sci China Life Sci*, 2023, 66: 893–1066
- 3 Zhang J, Liu Q. Age- and disease-related memory decline: Epigenetic biomarker and treatment. *Sci Bull*, 2023, 68: 1719–1721
- 4 Yang J H, Hayano M, Griffin P T, et al. Loss of epigenetic information as a cause of mammalian aging. *Cell*, 2023, 186: 305–326.e27
- 5 Lu Y R, Tian X, Sinclair D A. The information theory of aging. *Nat Aging*, 2023, 3: 1486–1499
- 6 Wu Z, Zhang W, Qu J, et al. Emerging epigenetic insights into aging mechanisms and interventions. *Trends Pharmacol Sci*, 2024, 45: 157–172
- 7 Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D, et al. Cellular senescence in ageing: From mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22: 75–95
- 8 Dopkins N, Nixon D F. Activation of human endogenous retroviruses and its physiological consequences. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024, 25: 212–222
- 9 Liu X, Liu Z, Wu Z, et al. Resurrection of endogenous retroviruses during aging reinforces senescence. *Cell*, 2023, 186: 287–304.e26
- 10 Liu Z, Ji Q, Ren J, et al. Large-scale chromatin reorganization reactivates placenta-specific genes that drive cellular aging. *Dev Cell*, 2022, 57: 1347–1368.e12
- 11 Zhang H, Li J, Yu Y, et al. Nuclear lamina erosion-induced resurrection of endogenous retroviruses underlies neuronal aging. *Cell Rep*, 2023, 42: 112593