异时联体共生模型在年龄相关疾病研究中的应用

李啸群¹ 张荣佳^{2,3} 崔进¹ 苏佳灿^{3,4*}

1. 第二军医大学附属长海医院学员管理大队,上海 200433
2. 第二军医大学海医系航空医学教研室,上海 200433
3. 中韩生物医学工程中心,上海 201802
4. 第二军医大学附属长海医院创伤骨科,上海 200433

中图分类号: R-33 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2017)07-0958-05

摘要: 组织、器官的衰老通常被认为是一个不可逆转的过程,但近期研究发现,通过联体共生模型或直接将年轻个体血液静脉注射到老年个体体内的方法,具有一定的对抗组织或器官衰老的作用。目前,相关研究已在干细胞衰老、心脑血管疾病、老年骨折愈合、骨骼肌细胞衰老等方面取得了诸多进展。联体共生(parabiosis)模型最初起源于19世纪,距今已有超过150年的历史,它是通过外科手术的方式,将两只动物连接在一起从而建立起共同的循环系统。作为沟通不同个体间循环系统的有效方式,联体共生模型具有广泛的应用前景。目前,联体共生模型所面临的主要挑战是联体后个体出现的“联体病”问题,“联体病”也被称为“联体中毒”,它与手术过程无关,而是在联体手术两周后,伴随体外循环建立和血管再通而出现的一种状况,现有研究还不能解释这种现象出现的原因。虽然目前联体共生模型在世界上的应用还并不是十分广泛,但可以预测,联体共生模型必将为老年病的研究做出巨大的贡献。本文将从“联体共生模型”的历史、进展、挑战及前景几个方面进行综述。

关键词: 年轻血液;异时联体共生;年龄;联体病

The application of heterochronic parabiosis in age-related disease

LI Xiaoqun¹, ZHANG Rongjia^{2,3}, CUI Jin¹, SU Jiakan^{3,4*}

1. Graduate Management Unit, Changhai Hospital Affiliated to The Second Military Medical University, Shanghai 200433
 2. Department of Aviation Medicine Affiliated to The Second Military Medical University, Shanghai 200433
 3. China-south Korea Biomedical Engineering Center, Shanghai 201802
 4. Department of Orthopedics, Changhai Hospital Affiliated to The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
- Corresponding author: SU Jiakan, Email: drsujiacan@163.com

Abstract: The aging of the tissue and organisms is generally regarded as an irreversible process. However, recent studies have found that after intravenous injection and parabiosis, the young blood has the effect on anti-aging. Now, related researches have made a lot of progress in the aspect of immunity, neurology, endocrine, etc. As a powerful pattern to establish the systemic circulation between two individual, parabiosis has broad application foreground. This article was carried out on the history, mechanism, application, development, and foreground of the “parabiosis model”.

Key words: Young blood; Heterochronic parabiosis; Age; Parabiotic disease

随着人类寿命的增长,越来越多的人受到年龄相关疾病的困扰,各种老年退行性病变的预防和治疗日益受到重视。有研究表明,通过联体共生的方法,运用外科手术的方式将两只动物连接在一起从而建立起共同的循环系统,可有效缓解诸多老年退

行性病变,使某些组织“再年轻化”。联体共生模型作为一种实现不同个体间循环因子相互交换的有效手段,为机体衰老的机制研究和老年性疾病的治疗与预防提供了新的思路。

1 联体共生模型的历史

联体共生(parabiosis)一词来源于希腊语“para”相邻,和“bios”生物,是指运用外科手术的方法,将两只动物连接在一起,使其形成一套独立、共享的循

基金项目:国家自然科学基金国际合作项目(8141101156);上海市科委生物医药专项(15411950600)

* 通讯作者:苏佳灿,Email: drsujiacan@163.com

环系统。联体共生模型起源于19世纪,距今已有超过150年的历史^[1]。联体共生的方法有很多,1957年,Andresen等人^[2]就将家兔耳朵缝合进行联体实验研究。目前,应用最广的联体方法是1933年,Bunster等人使用的方法,通过外科手术的方式,将两只小鼠桡骨至股骨的侧面皮肤纵向切开,切口对合进行联体,通过毛细血管间的再通及物质交换,实现了不同个体间的血液共享^[3]。目前,联体共生模型在肿瘤、内分泌、神经、口腔等方面的研究中均已应用^[4-7]。

近些年来,随着世界老龄化趋势的加重,各种老年退行性疾病如阿尔茨海默病、糖尿病、心血管疾病等受到人们越来越多的重视。2005年,Conboy等人利用异时联体共生模型,在NATURE上发表了《年轻环境使衰老干细胞重新年轻化》的文章,使联体共生模型重回人们视野^[8]。2013年,Francesco等人利用异时联体共生模型在CELL杂志上发表了《GDF11循环因子可逆转年龄相关性心肌肥厚》的文章,再次引起了广泛关注^[9]。随后,2014年,Katsimpardi与Sinha等人分别证明,GDF11循环因子还具有改善小鼠由于衰老引起的大脑和骨骼肌相关的功能障碍的作用,并发表在SCIENCE杂志上^[10-11]。2016年,Middeldorp等人^[12]发现,通过异时联体共生和静脉注射血清的方法,将老年小鼠暴露于年轻血液环境中,可缓解阿尔茨海默病症状。目前,通过联体共生模型的相关研究,已在干细胞、心血管、神经、骨折愈合等方面取得了诸多进展。

2 异时联体共生可逆转多种年龄相关疾病

随着免疫调控、外科麻醉等技术的不断发展及研究热点的改变,从20世纪60年代开始,研究人员不再局限于使用同一年龄动物的联体共生模型进行研究,而是运用异时共生模型,将年轻小鼠与年老小鼠进行联体,探究年老个体暴露于年轻环境中后的机体变化情况。实验发现,暴露于年轻血液的老年小鼠的生存状态及寿命明显优于对照组^[13]。不仅如此,众多研究表明,通过异时联体共生,可逆转多种年龄相关疾病(表1)。

2.1 异时联体共生模型在衰老干细胞研究中的应用

通过对体内各种干细胞各项功能的评估,可以对机体衰老的情况进行大致的判断。但干细胞功能的衰退是由于干细胞自身的衰老还是机体衰老环境所引起?这些因素的改变又是否可逆?这些问题都

是需关注的。进入21世纪,研究者们再次开始运用异时共生模型进行抗衰老的研究。2005年,Conboy等^[8]发现,在将老年小鼠暴露于年轻小鼠系统环境中后,老年小鼠体内的卫星细胞中Notch配体的表达显著增加,并且其生长和再生能力明显增强。同时,老年小鼠体内肝细胞增值及cEBP- α 水平亦都恢复至年轻小鼠水平。随后,Villeda等人^[6]、Brack等人^[14]分别在NATURE、SCIENCE上发表文章,证实年老小鼠体内干细胞在年轻血液环境下可恢复活力,分别使老年小鼠的肌肉再生能力和海马突触的数量和可塑性增强;同样,年轻小鼠干细胞亦会受到老年环境影响,在对年轻小鼠注射老年小鼠血清后,年轻小鼠干细胞的再生能力显著下降,其肌肉和海马突触的结构也会出现明显改变。2012年,Ruckh等人^[15]通过异时联体共生模型发现,年轻血液可恢复神经干细胞髓鞘再生的能力。同时,这些研究也通过遗传谱系追踪技术证明,老年个体干细胞的“年轻化”是通过改变组织中的“原住”干细胞实现的,而不是由于联体年轻个体中干细胞迁移至老年个体中导致的。

2.2 异时联体共生模型在年龄相关性心血管疾病研究中的应用

在年龄相关疾病中,心血管疾病占据了相当的比例,而在这其中,老年性心衰又是其重要的组成部分。2013年,Francesco等人^[9]在CELL上发表了一篇《GDF11循环因子可逆转年龄相关性心肌肥厚》的文章,实验发现,在将老年小鼠以联体共生方式暴露于年轻血液后,心肌细胞的肥大状况明显改善。文章最后指出,未来可能基于GDF11循环因子的研究出现新的老年性心衰的治疗方案,为减缓扩张性心力衰竭展现了良好的前景。2014年,Katsimpardi等^[10]通过联体共生模型,发现GDF11循环因子还可起到舒张脑血管,加强神经发生的作用,可有效改善老年认知障碍。在对小鼠进行联体后,通过3D大脑重建和磁共振成像结果观察,发现异时联体与同时联体的老年小鼠相比,异时联体者脑血管数量和血流量明显增多;空间学习、记忆和条件判断刺激测试发现,异时联体老年小鼠的认知功能也得到了明显改善。

2.3 异时联体共生模型在老年骨折愈合研究中的应用

组织的修复与再生能力往往会随着年龄的增长而减退,而2015年发表在NATURE杂志上的一篇文章为老年骨折难以愈合这一问题的解决提供了思

表1 异时联体共生模型在抗衰老研究中的应用

Table 1 The application of heterochronic parabiosis in age-related disease

Area	Main results	Reference
抗干细胞衰老 Anti-aging of stem cells	年轻环境可使干细胞重新年轻化 Young environment can rejuvenate the aged progenitor cell	Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, et al. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. <i>Nature</i> , 2005, 433(7027): 760-764.
	衰老过程中 Wnt 通路改变可改变骨骼肌再生能力 Increased Wnt signaling during aging can alter muscle stem cell fate	Brack AS, Conboy MJ, Roy S, et al. Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis. <i>Science</i> , 2007, 317(5839): 807-810.
	衰老环境可对神经发生及认知功能产生消极影响 Aging environment can negatively regulate the neurogenesis and cognitive function	Villeda SA, Luo J, Mosher KI, et al. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. <i>Nature</i> , 2011, 477(7362): 90-157.
抗心血管衰老 Anti-aging of cardiovascular	年轻环境可恢复神经干细胞髓鞘再生能力 Young environment can rejuvenate the ability of myelin regeneration of neural stem cells	Ruckh JM, Zhao JW, Shadrach JL, et al. Rejuvenation of regeneration in the aging central nervous system. <i>Cell Stem Cell</i> , 2012, 10(1): 96-103.
	GDF11 可逆转年龄相关性心肌肥厚 GDF11 can reverse age-related cardiac hypertrophy	Loffredo FS, Steinhauser ML, Jay SM, et al. Growth differentiation factor 11 is a circulating factor that reverses age-related cardiac hypertrophy. <i>Cell</i> , 2013, 153(4): 828-839.
促进骨折愈合 Promoting fracture healing	GDF11 可舒张脑血管, 增强神经发生 GDF11 can promote the neurogenesis and vascular relaxing	Katsimpardi L, Litterman NK, Schein PA, et al. Vascular and neurogenic rejuvenation of the aging mouse brain by young systemic factors. <i>Science</i> , 2014, 344(6184): 630-634.
	β -连环蛋白可促进老年骨折愈合 β -catenin can rejuvenate the bone repair of old bodies	Baht GS, Silkstone D, Vi L, et al. Exposure to a youthful circulator rejuvenates bone repair through modulation of β -catenin. <i>Nature Communications</i> , 2015, 6(2): 7131.
抗骨骼肌细胞衰老 Anti-aging of skeletal muscle cell	睾酮可减轻骨骼肌细胞衰老带来的影响 Testosterone can relieve the bad influence of the aging of skeleton muscle cells	Sinha I, Sinha Hikim AP, Wagers AJ, et al. Testosterone is essential for skeletal muscle growth in aged mice in a heterochronic parabiosis model. <i>Cell and Tissue Research</i> , 2014, 357(3): 815-821.
	GDF11 可延缓骨骼肌细胞的衰老进程 GDF11 can delay the aging process of skeleton muscle cells	Sinha M, Jang YC, Juhyun OH, et al. Restoring systemic GDF11 levels reverses age-related dysfunction in mouse skeletal muscle. <i>Science</i> , 2014, 344(6184): 649-652.

路。Gurpreet 等人^[16]通过异时联体共生模型,发现在老年小鼠与年轻小鼠建立起血液循环后,长骨的修复的能力和成骨细胞的分化能力都得到了明显的改善。而在这其中, β -连环蛋白是成骨细胞分化过程中一条重要通路,它直接调控骨的早期修复过程,可以大大提高老年小鼠的骨折愈合质量。文章最后指出,通过对 β -连环蛋白药理学方面的研究,可能大大提高老年人骨折愈合的速度。为今后老年人骨折愈合和治疗指明了方向。

2.4 异时联体共生模型在骨骼肌细胞抗衰老研究中的应用

Sinha 等人^[11]通过异时联体模型,发现在将老年小鼠与年轻小鼠联体后,老年小鼠肌肉强度明显增强,而在阉割年轻小鼠-老年小鼠联体模型和阉割年轻小鼠-睾酮处理的老年小鼠联体模型中,第1组的老年小鼠肌肉强度并未发生改变,但第2组老年小鼠的肌肉强度却明显增强。从而得出结论,睾酮是影响骨骼肌细胞衰老的因素之一。

Katsimpardi 等人^[10]通过研究对比发现,GDF11分子在年轻小鼠中血液中自然浓度较高。Sinha 等人^[17]以此为切入点,通过异时共生模型将年轻健康小鼠与具有由衰老引起的骨骼肌细胞功能障碍的老年小鼠连接,发现 GDF11 能逆转骨骼肌细胞由衰老引起的功能紊乱。血液中较高的 GDF11 水平可改善肌肉的结构和功能特点,增加肌肉力量。Sinha 认为,GDF11 可系统地调节肌肉衰老,并可能成为一种有效的治疗肌肉衰老和干细胞功能紊乱的疗法。

3 联体共生模型的限制与挑战

通常,小鼠的联体共生模型需要 1~2 w 时间来形成足够的血管吻合从而建立起两个个体之间的循环^[18]。作为目前年轻血液干预研究最有效的方法——异时联体共生模型,其面临的主要问题还是围术期死亡率问题。但随着麻醉及手术围术期护理的改善,联体共生模型小鼠的术中死亡率目前已降低至 10% 以下^[19]。而“联体病”作为另一项导致死

亡的重要原因,却还没有得到有效的解决。

“联体病”也被称为“联体中毒”,它与手术过程无关,而是在联体手术两周后,伴随血管再通和体外循环建立而出现的一种状况。联体的两只小鼠中,其中一只表现出贫血、苍白的情况,而另一只则表现出多血症和肿胀的症状,如同器官移植过程中出现的免疫排斥作用一般,而这种被排斥的器官,便是联体后再通的血管。Hilgard 比较了亲代和子一代小鼠之间的“联体病”发病情况,发现子一代小鼠更容易出现贫血、苍白的状况,而亲代小鼠则出现多血症的状况。当对亲代小鼠进行致死剂量的射线照射摧毁其免疫系统后,联体病则不再出现,说明亲代小鼠体内产生了对子一代小鼠的抗体,即“多血”个体的免疫系统对“贫血”个体进行了攻击^[20]。

过去,我们往往习惯性地以为在异时联体共生模型中,老年小鼠会更容易患“联体病”,然而,事实上,在联体共生模型中,年轻的一方却更容易受到影响,出现苍白、贫血的状况。目前,还没有充足的研究可以解释这种现象出现的原因,期待有后续研究能对这一现象进行阐释^[21]。

4 展望与小结

毫无疑问,异时联体共生模型的应用为机体中循环因子对细胞或组织衰老影响的动态研究提供了巨大的帮助。近期的相关研究表明,血液中的细胞循环因子可通过多种方式来对组织和细胞的衰老产生影响,如参与 WNT 和 TGF- β 通路中蛋白的合成来干预衰老相关进程^[14,22],或直接参与到对衰老过程的调控^[6]。通过异时联体共生模型,研究者可直接调控影响生物体内的各种通路并进行动态观察,同时,通过直接静脉注射血清或细胞、组织的血清培养,可对联体共生模型所得到的结果进行体内外的验证,证实其研究因子的作用,从而形成了一个严密的实验体系。2016年,Jooseph 等人^[23]在 SCIENTIFIC REPORT 杂志上发表了一篇《评估联体共生模型运动功能恢复和循环因子相互交换》的文章,为今后联体共生模型的实验设计和开展提供了准则,使今后联体共生模型的构建能够更加标准化。

随着世界老龄化程度的不断加重,各类老龄化疾病高发,高血压,糖尿病,骨质疏松等已成为困扰老年人日常生活的常见疾病,抗衰老研究在医学领域显得愈发重要。最近几十年内,尤其是最近几年间,联体共生模型对机体抗衰老的研究做出了突出的贡献。在神经系统、心血管系统、骨骼肌及干细胞

增殖分化等方面,通过异时联体共生模型,均已证明“年轻环境”具有可一定程度上逆转衰老,使细胞或组织“年轻化”的作用。目前,联体共生模型在我国的应用还并非十分广泛,虽然已有学者就联体共生模型在肿瘤、移植、免疫耐受等方面的研究进行了一系列报道,但目前为止,还没有研究者应用异时联体共生模型对年龄相关疾病进行研究^[24-26]。异时联体共生模型作为有效连接青年与老年个体之间的“桥梁”,对研究一些老龄化疾病的缓解和治疗具有重要意义^[27]。可以预测,在不远的将来,联体共生模型必将极大地推动老龄化疾病研究的进程,为攻克各类年龄相关疾病做出巨大的贡献。

【参 考 文 献】

- [1] Dunal PB. Expériences et considérations sur la greffe animale. *J Anatomie Physiologie*, 1864(1): 69-87.
- [2] Andresen RH, Madden DA, Monroe CW. Postparabiotic tissue reactions of rabbits to musculofascial cross-transplants. *J Exp Med*, 1957, 105(1): 85-02.
- [3] Bunster E. An improved method of parabiosis. *Anat Rec*, 1933, 57(4): 339-343.
- [4] Rous P. Parabiosis as a test for circulating antibodies in cancer. *Journal of Experimental Medicine*, 1909, 11(6): 810-814.
- [5] Coleman DL. A historical perspective on leptin. *Nature Medicine*, 2010, 16(10): 1097-1099.
- [6] Villeda SA, Luo J, Mosher KI, et al. The ageing systemic milieu negatively regulates neurogenesis and cognitive function. *Nature*, 2011, 477(7362): 90-157.
- [7] Frozoni M, Zaia AA, Line SRP, et al. Analysis of the contribution of nonresident progenitor cells and hematopoietic cells to reparative dentinogenesis using parabiosis model in mice. *Journal of Endodontics*, 2012, 38(9): 1214-1219.
- [8] Conboy IM, Conboy MJ, Wagers AJ, et al. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature*, 2005, 433(7027): 760-764.
- [9] Loffredo FS, Steinhauser ML, Jay SM, et al. Growth differentiation factor 11 is a circulating factor that reverses age-related cardiac hypertrophy. *Cell*, 2013, 153(4): 828-839.
- [10] Katsimpardi L, Litterman NK, Schein PA, et al. Vascular and neurogenic rejuvenation of the aging mouse brain by young systemic factors. *Science*, 2014, 344(6184): 630-634.
- [11] Sinha I, Sinha AH, Wagers AJ, et al. Testosterone is essential for skeletal muscle growth in aged mice in a heterochronic parabiosis model. *Cell and Tissue Research*, 2014, 357(3): 815-821.
- [12] Middelorp J, Villeda SA, Miedema SS, et al. Preclinical assessment of young blood plasma for alzheimer disease. *Jama Neurology*, 2016, 73(11): 1325-1333.
- [13] Hall CE, Nevis AH. Prolongation of survival by parabiosis in strain 129 dystrophic mice. *Am J Physiol*, 1959, 196(1): 110-

- 112.
- [14] Brack AS, Conboy MJ, Roy S, et al. Increased Wnt signaling during aging alters muscle stem cell fate and increases fibrosis. *Science*, 2007,317(5839): 807-810.
- [15] Ruckh JM, Zhao JW, Shadrach JL, et al. Rejuvenation of regeneration in the aging central nervous system. *Cell Stem Cell*, 2012,10(1): 96-103.
- [16] Baht GS, Silkstone D, Vi L, et al. Exposure to a youthful circulator rejuvenates bone repair through modulation of beta-catenin. *Nature Communications*, 2015,6(2):7131.
- [17] Sinha M, Jang YC, Juhyun OH, et al. Restoring Systemic GDF11 Levels Reverses Age-Related Dysfunction in Mouse Skeletal Muscle. *Science*, 2014,344(6184): 649-652.
- [18] Scheib J. Impaired regeneration in aged nerves: Clearing out the old to make way for the new. *Exp Neurol*, 2016,284(Pt A):73-83.
- [19] Kaiser J. Regenerative medicine. 'Rejuvenating' protein doubted. *Science*, 2015, 348(6237):849.
- [20] Hilgard HR, Dalmaso AP, Martinez C, et al. Immune mechanisms in parabiosis intoxication. *J Exp Med*, 1964, 119(119): 567-579.
- [21] Conboy MJ, Conboy IM, Rando TA. Heterochronic parabiosis: historical perspective and methodological considerations for studies of aging and longevity. *Aging Cell*, 2013,12(3): 525-530.
- [22] Carlson ME, Hsu M, Conboy IM. Imbalance between pSmad3 and Notch induces CDK inhibitors in old muscle stem cells. *Nature*, 2008,454(7203): 528-539.
- [23] Castellano JM, Mikael P, Li SB, et al. In vivo assessment of behavioral recovery and circulatory exchange in the peritoneal parabiosis model. *Scientific Reports*, 2016(6):29015.
- [24] 郭宏伟,吴清玉,谢蜀生,等. 联体共生诱导大鼠心脏移植免疫耐受的实验研究. *中华器官移植杂志*, 2004,25(4): 209-211.
Guo HW, Wu QY, Xie SS, et al. Parabiosis can lead the immune tolerance of the heart transplant of rat. *Chinese Journal of Organ Transplantation*, 2004,25(4):209-211. (in Chinese)
- [25] 张春阳,史其新,李晨光,等. 联体共生诱导免疫耐受对大鼠肾功能的影响. *辽宁医学院学报*, 2009, 30(5): 403-404.
Zhang CY, Shi QX, Li CG, et al. The effect of the immune tolerance led by parabiosis on rat renal function. *Liaoning Medical College Journal*, 2009,30(5):403-404. (in Chinese)
- [26] 冯楠. 联体共生模型对荷瘤小鼠肿瘤免疫的影响. 石家庄:河北医科大学,2015.
Feng N. The effect of parabiosis on the immune of tumor mice. *Shijiazhuang: Hebei Medical University*, 2015. (in Chinese)
- [27] Egge A, Wyss-Coray T. A revival of parabiosis in biomedical research. *Swiss Medical Weekly*, 2014,144(144): w13914.

(收稿日期:2016-12-13;修回日期:2017-01-05)

(上接第957页)

- [30] Eckard J, Dai J, Wu J, et al. Effects of cellular iron deficiency on the formation of vascular endothelial growth factor and angiogenesis. *Iron deficiency and angiogenesis. Cancer cell international*, 2010,10(1): 28.
- [31] Jian J, Yang Q, Dai J, et al. Effects of iron deficiency and iron overload on angiogenesis and oxidative stress—a potential dual role for iron in breast cancer. *Free radical biology & medicine*, 2011, 50(7): 841-847.
- [32] Saghiri MA, Asatourian A, Orangi J, et al. Functional role of inorganic trace elements in angiogenesis—Part I: N, Fe, Se, P, Au, and Ca. *Critical reviews in oncology/hematology*, 2015,96(1): 129-142.
- [33] Farberg AS, Jing XL, Monson LA, et al. Deferoxamine reverses radiation induced hypovascularity during bone regeneration and repair in the murine mandible. *Bone*, 2012, 50(5): 1184-1187.
- [34] 王亮,张鹏,姚喆,等. 骨组织H亚型血管在骨质疏松与非骨质疏松骨折患者中的表现. *中华骨科杂志*, 2016,36(20): 1327-1334.
Wang L, Zhang P, Yao Z, et al. Changes of H type microvessel in patients with osteoporotic and nonosteoporotic fractures in bone. *Chin J Orthop*, 2016,36(20):1327-1334. (in Chinese)

(收稿日期:2016-12-18;修回日期:2017-02-22)