

延缓衰老相关的小分子物质研究进展*

高凌云 李国栋 童坦君**

(北京大学医学部生物化学与分子生物学系, 北京大学衰老研究中心, 北京 100191)

摘要 筛选、研究具有延缓衰老作用的小分子物质, 对于发现新的治疗衰老相关性疾病及肿瘤等的有效靶点、开发新型药物、促进人类健康具有重大的现实意义. 同时更重要的是, 可以这些小分子物质为切入点, 对衰老、肿瘤等生命现象的具体分子机制进行深入研究, 这对于分子生物学等相关生命科学研究的发展具有重要的推动作用. 总结了近一二十年来发现的一些具有代表性的可延缓衰老的小分子物质, 并重点论述了其作用的分子机制.

关键词 衰老, SIRT1, 晚期糖基化终末产物, TOR, 热量限制, 药物, 肿瘤

学科分类号 Q26, Q5, Q7

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00152

寻找和研制能够延年益寿的药物一直是人类的梦想. 只是到了近代, 尤其是近二三十年来, 随着分子生物学等相关学科革命性的发展, 人们才能够更加科学理性地筛选、研制具有延缓衰老作用的物质并揭示其分子机制. 通过对各种模式生物在各个层次上的研究, 人们发现了一些能够延缓衰老、改善衰老相关退行性变化的小分子物质, 并对其作用机制进行了相应探索. 首先, 这对治疗衰老相关性疾病、保持人体“老龄健康”状态、延长寿命等具有重要的现实意义. 因为衰老相关性疾病是导致死亡、寿命减少的一个主要原因, 长寿者很少发生此类疾病. 而更重要的是, 这些已发现的可影响衰老的小分子物质很多还同时具有抑制肿瘤的作用, 又鉴于愈来愈多的证据表明, 生物体整体衰老及细胞复制性衰老和肿瘤的发生、发展密切相关, 人们可以此作为切入点, 通过对其深层分子机制的研究, 进一步揭示生物体衰老、肿瘤等的发生机制及其相互联系, 乃至更多的生命活动本质. 因此, 这个领域的研究也具有极其重要的基础研究意义. 以下介绍几种具有代表性的小分子物质, 并着重介绍其作用的分子机制. 为便于讨论, 根据作者的理解, 对这些物质进行了简单的分类, 主要包括: a. 植物提取物, 白藜芦醇(resveratrol)、表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG); b. 晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation end products,

AGEs)形成抑制物, 氨基胍(aminoguanidine)、L-肌肽(L-carnosine); c. 神经精神类药物, 米安色林(mianserin)、氟西汀(flouxetine)、丙戊酸(valproic acid)等; d. 细胞 TOR (target of rapamycin)信号通路抑制物, 雷帕霉素(rapamycin)、二甲双胍(metformin).

1 植物提取物

白藜芦醇(resveratrol, Res)是一种存在于植物中的具有芪类结构的非黄酮类天然多酚小分子物质, 化学名为反式-3, 4', 5-三羟基二苯乙烯(trans-3, 4', 5-trihydroxystilbene), 早在1939年就由日本学者Takaoka^[1]从毛叶藜芦(*Veratrum grandiflorum* Loes.fil.)的根部分离并命名, 其研究结果发表在日本国期刊上.

2003年, Howitz等^[2]报道了3类能有效延长酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)平均(复制性)寿命和最高寿限的物质, 其中Res的作用最强. 10 μ mol/L浓度的Res可使酵母平均寿命延长70%. 目前认

* 国家重点基础研究发展计划(973)(2007CB507400)和国家自然科学基金资助项目(30973146).

** 通讯联系人.

Tel: 010-82802931, E-mail: tztong@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2010-03-25, 接受日期: 2010-05-24

为, 热量限制(calorie restriction, CR)可通过激活 Sir2 蛋白(一种 NAD⁺ 依赖的去乙酰化酶), 从而增加酵母的平均寿命和最高寿限, 体外实验还发现 Res 可以激活某些 SIRT1(Sir2 在哺乳动物中的同源蛋白)依赖的具促衰老作用蛋白的去乙酰化反应. 因此, 在酵母中, Res 可激活 Sir2 蛋白, 发挥一种模拟热量限制的作用, 稳定基因组, 从而延长酵母的复制性寿命. 此后, Jarolim 等^[9]在酿酒酵母中成功重复了这项实验. 2004 年, Wood 等^[10]在线虫(*Caenorhabditis elegans*)和果蝇(*Drosophila melanogaster*)等模式生物中也进行了类似的研究, 发现 Res 可以延长这些动物的寿命且不影响其繁殖力, 其机制与上述相似.

然而, 对事物本质的认识过程往往是曲折的. 2005 年, Kaeberlein 等^[5]在酵母中的研究结果与上述结论大相径庭, 他们没有观察到 Res 可显著延长酵母寿命, 且发现 Res 对 Sir2(酵母)和 SIRT1(人)的激活作用具有特异性, 需要一种非生理性荧光物质, 即生理条件下, Res 不能激活 Sir2 家族蛋白. 无独有偶, 2007 年, Bass 等^[6]在对线虫和果蝇的实验中 also 发现 Res 并不能延缓衰老. 尽管存在争议, 但 Res 的有益作用还是得到广泛认可, 对小鼠的研究就证明了这一点. 研究者发现, 对于摄入过量热量的小鼠, Res 通过增加其胰岛素敏感性、增加线粒体含量等机制以使其维持健康、延长寿命^[7-8]. 而 2008 年, Barger 等^[9]的研究则像是对上述各种报道的一个阶段总结. 他们发现, Res 能抑制小鼠多种重要组织中衰老相关基因的表达, 且这种作用和热量限制有类似之处, 同时发现 Res 还能预防衰老相关性心功能失调、维持内分泌和糖代谢平衡等. 但他们同时也发现, Res 不能改变 SIRT1 的表达水平, 也不能诱导 PGC-1 α 对靶基因的转录调控, 也没有观察到 Res 能够降低体内自发性氧化损伤的水平. 因此, 对于 Res 的具体作用机制还需要进一步研究.

表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)为另一种具有影响衰老作用的植物提取物, 从中国绿茶中提取, 是绿茶儿茶素类的主要成分, 同时也是其中抗氧化性最强的单体. EGCG 的抗氧化功能可能是其发挥作用的主要因素. 由氧自由基引起的 DNA 损伤是引起细胞、生物体衰老及肿瘤发生等的一个重要因素, 而实验证实 EGCG 可以有效地清除氧自由基^[10-11], 从而保护基因组的完整性, 延缓衰老及防止基因突变和肿瘤

发生. 2006 年, Brown 等^[12]报道称, EGCG 可以对抗线虫(*Caenorhabditis elegans*)行为上出现的衰老相关退行性变化, 包括延缓随衰老出现的吞咽速率下降、改善其化学趋向性指数、以及减轻 β -淀粉样多肽引起的病理性行为改变. 此前 Rezai-Zadeh 等^[13]也报道过他们在神经细胞和小鼠神经系统等病理模型中观察到 EGCG 具有促进 β -淀粉样多肽分解的作用, 认为 EGCG 很有可能被用于治疗阿尔茨海默病等神经系统退行性疾病. 但 Brown 等同时发现 EGCG 不能延长线虫的寿命, 也不能增加其最高寿限, 这一现象被最近的研究所证实. 2009 年, Zhang 等^[14]报道 EGCG 不能延长正常线虫的寿命, 但可以显著增加其在热刺激、氧化应激等有害压力下的存活时间. 此外, 还有研究发现, EGCG 可以有效抑制癌细胞的增殖、浸润和转移, 其主要作用机制为抑制 Wnt 信号通路、下调 N-钙黏蛋白等^[15-16]. 就目前为止的研究情况而言, EGCG 显示出多种对生物体有益的作用, 是一种十分有药物开发价值的小分子物质, 而对其具体作用机制的研究还处于不断进展阶段, 因此, EGCG 是一种非常值得进行更为深入研究的小分子物质.

2 晚期糖基化终末产物(AGEs)形成抑制物

生物体细胞内外的蛋白质、核酸、脂类等大分子物质会和一些还原性糖类的自由羰基缓慢地发生共价反应, 这种反应不需要酶的参与, 因此也叫做非酶糖基化, 并生成一类褐色荧光物质, 即晚期糖基化终末产物(advanced glycosylation end products, AGEs). AGEs 在正常机体、细胞内即可缓慢生成, 是导致机体和细胞衰老的一个重要因素^[17]. 而在一些病理情况下, 如动脉粥样硬化、糖尿病等发生发展过程中, AGEs 更可与这些疾病形成恶性循环^[18]. 一些 AGEs 抑制剂的发现^[19-21], 对于治疗衰老相关性疾病、延缓衰老、促进健康具有十分重要的意义.

氨基胍(aminoguanidine, AMG)是一种医药及有机合成中间体, 其抗氧化性早已被证实, 而近年来, 其抑制 AGEs 形成的特性受到广泛关注^[19]. 1999 年, Fujisawa 等^[22]报道, 对从衰老加速模型小鼠 SAMP11 分离的皮肤二倍体成纤维细胞进行原代、传代培养, 发现 4 mmol/L 浓度的 AMG 可有效延缓这些细胞衰老的发生, 并降低细胞内脂质过氧化物的浓度, 而对于另一种长寿小鼠模型 SAMR1, 却没有此类作用. 研究者推测, 这主要

与 AMG 抗氧化、抑制 AGE 形成的作用有关。近几年,不同实验室以大鼠为研究对象,均发现 AMG 能显著减轻或改善心血管、血液等系统中发生的一些衰老相关或疾病相关的退行性变化或并发症^[23-26],这些发现为研制治疗心血管疾病的药物提供了重要的线索。此外,AMG 还有其他重要的生物学作用,能够直接或间接地影响机体和细胞的衰老^[27]。我们认为 AMG 延缓衰老的作用很可能发生在分子化学的水平,即起到一种“清道夫”的作用,抑制或清理机体细胞内外的有害物质,这和热量限制使生物机体减少产生活性氧等有害分子的作用类似。

通常所说的肌肽指 L-肌肽(L-Carnosine, N- β -Alanyl-L-histidine),1900 年由俄国科学家 Gulewitsch 和 Amiradzibi 首次发现^[28]。其广泛存在于骨骼肌、脑等需氧量大、代谢旺盛的组织中,人体骨骼肌中的浓度可高达 20 mmol/L。至今,有不同的实验室都观察到了 L-肌肽的抗衰老作用及其他重要生物学功能。1994 年,McFarland 等^[29]报道 L-肌肽对体外培养的正常人二倍体成纤维细胞具有“返老还童”的功能。在含有高浓度 L-肌肽(20 和 30 mmol/L)的培养基中,其平均群体倍增数(PDs)和持续分裂时间均显著增加,尽管细胞的分裂速度有所减缓。而在 50 mmol/L 浓度时,年老细胞可以由衰老表型变为年轻形态,且去除肌肽后,其又会恢复衰老状态。此后,他们再次验证了上述研究结论^[30-31],并发现了 L-肌肽一些新的抗衰老特性。2004 年,Shao 等^[32]也发现,20 mmol/L 的 L-肌肽能够显著延缓体外培养的人胚肺成纤维细胞的复制性衰老(replicative senescence),其机制可能是 L-肌肽具有保护端粒,减慢其缩短速率的功能,而端粒长度和细胞的复制性衰老有着密切的关系^[33-35]。此外,还发现 L-肌肽对黑腹果蝇^[36]等一些模式生物也具有延缓衰老的作用,在饲养果蝇的培养基中加入 0.2~200 mg/L 的 L-肌肽会明显增加雄性果蝇的寿命。L-肌肽虽然结构简单,但却具有如此重要的抗衰老活性,其具体机制尚未完全搞清楚,可以说是一个正在解的“谜”^[19]。比如,L-肌肽减慢端粒缩短速率的作用是否具有普遍性,其具体作用机制是什么,等等。然而,Hipkiss 等的一系列研究已证实 L-肌肽在细胞内外均可抑制 AGEs 的形成,结合其他学者对 L-肌肽延缓衰老的研究,他们认为抑制 AGEs 形成可能是其发挥生物学功能的一个主要因素^[17, 21, 37]。我们推测其主要作用机制和发挥

作用的层次与 AMG 相似,即应都是在化学的水平对生物机体细胞内外正常结构起到一种维护作用。

3 神经精神类药物

此类药物看似与延缓衰老、治疗衰老相关性疾病毫无关系,其中有些药物甚至还有毒副作用。但近年有不同学者报道了几种对衰老有影响的中枢神经系统药物。

米安色林(mianserin)是一种四环类抗抑郁剂,主要作用机制为拮抗 5-羟色胺信号通路。2007 年,Petrasccheck 等^[38]报道米安色林可以显著延长成年线虫(*Caenorhabditis elegans*)的寿命。他们筛选了 88 000 种化学物质,发现了多种能够增加线虫寿命的物质,其中有种可以增加线虫寿命 20%的化合物的结构与一些能够影响 5-羟色胺通路的抗抑郁剂类似。于是他们又筛选了 20 种能够影响 5-羟色胺通路的化合物,发现包括米安色林在内的 4 种物质可以增加线虫寿命 20%~33%。研究表明,米安色林能通过类似热量限制的原理延长线虫寿命。SER-4、SER-3 是线虫体内的两个 5-羟色胺/章胺/酪胺受体家族成员,5-羟色胺可激动前者使线虫产生“饱感”,章胺可激动后者产生“饥饿感”,而线虫的实际感觉取决于这两种受体激动的强弱。米安色林对这两种受体均有拮抗作用,但敏感度不一样,SER-3 对其敏感性仅为 SER-4 的 10%。因此,当 50 μ mol/L 的米安色林刚好完全阻断 SER-4 时,却只能部分阻断 SER-3,从而使线虫产生饥饿的“错觉”,进而发生类似热量限制的反应。这种解释很有趣也似乎很合理,但随后有其他学者得到了完全相反的实验结果。Zarse 等^[39]报道,他们使用上述研究中米安色林的有效浓度或更低浓度培养线虫,均不能使其寿命延长,相反,他们发现线虫寿命减短,并且还观察到了抗抑郁剂的一种临床副作用,即增加体重。这项研究使用了与前一项研究基本相同的条件,只是线虫培养介质不同,前者为液体培养基,后者为标准的固态凝胶培养基。2009 年,Petrasccheck 等^[40]肯定了自己先前的工作,并表示培养介质的不同可能是导致上述两种相反结论的原因。因此,对于米安色林是否可以延长线虫寿命,需不需要特殊的培养环境或外部条件,具体分子机制是什么等问题还需要进一步的研究。

2008 年,Evason 等^[41]发表论文称 3~6 mmol/L 浓度的抗癫痫药丙戊酸(valproic acid, VA)能够延长线虫的寿命并延缓伴随衰老发生的运动能力下

降,同时还报道了另外两种抗癫痫药丙戊酰胺(valpromide)和三甲双酮(trimethadione)也具有类似的作用,但其作用机制可能不同,而详细的作用机理还需要更加深入的研究.同年,Vetencourt等^[42]报道了一种5-羟色胺再摄取抑制型抗抑郁剂,氟西汀(fluxetine)具有使成年大鼠的视觉皮层神经元获得重塑能力,进而改善其弱视情况的作用.这种作用与衰老没有直接关系,但考虑到大脑皮层神经元为终末分化细胞,已丧失分裂能力,要恢复其重塑能力,势必要引起其代谢、结构以及神经元突触联系等方面的变化,从某种意义上说,就是使其“动起来”,增加细胞的活力.因此,这也为抗衰老物质的研究提供了一条重要线索.

4 细胞 TOR 信号通路抑制物

TOR (target of rapamycin) 为酵母 Tor 蛋白在哺乳动物细胞中的同源蛋白,动物细胞中高度保守,在某些植物中也发现了其同源蛋白. TOR 本身是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,羧基端序列和磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)催化结构域序列同源.最近的研究结果表明, TOR 是一种重要的调控细胞生长和增殖的蛋白质,其在应答生长因子(growth factor, GF)和营养状态的信号通路中起到某种整合作用(图 1). 热量限制(calorie restriction, CR)会导致机体胰岛素水平降低,进而 PI3K 介导的胰岛素受体底物(insulin receptor substrate, IRS)家族成员的信号减弱,间接抑制

TOR 及 p53 的作用,从而延缓生物体衰老. TOR 在肿瘤发生发展过程中的作用已被更早地证实,并被作为药物研制的一个重要靶点^[43-44].

雷帕霉素(rapamycin)是一种主要用于器官移植的新型大环内酯类免疫抑制剂,可直接抑制靶蛋白 TOR 的活性(图 1). 2009 年, Harrison 等^[45]首次报道, TOR 抑制剂雷帕霉素可增加哺乳动物寿命,而在此之前,通过抑制 TOR 信号通路可以延长寿命已在酵母、线虫、果蝇中证实. Harrison 等发现,从小鼠 600 天开始,按每天每公斤体重 2.24 mg 的剂量喂饲小鼠雷帕霉素,可以显著延长其寿命,有趣的是,这种作用对雌性小鼠更明显.而且,小鼠的疾病、肿瘤发病率没有明显改变.研究者根据以往研究推测了其作用机制,但没有深入研究.而在同年更早时, Zhuo 等^[46]以小鼠肾脏细胞组织、WI-38 细胞为研究对象,探讨了 TOR 通路受抑制延缓衰老的作用及机制.其中,与促衰老密切相关的 p21 蛋白的表达受到 TOR 的正向调节,这种作用很可能是通过 p21 的上游调控蛋白 p53 起作用的.更具体的分子机制还需进一步研究.

二甲双胍(metformin)是一种一线抗二型糖尿病药物,使用广泛.近期研究表明它也具有延缓衰老的作用,且其作用机制类似于热量限制. 2010 年 Onken 等^[47]报道, 50 mmol/L 浓度的二甲双胍可以有效抑制衰老相关脂褐素的形成、延长线虫寿命,且在 10~50 mmol/L 浓度范围内,年轻线虫运动能力的提高与剂量正相关.研究表明,二甲双胍这些作用的机制主要是激活或模拟两条信号通路,即热量限制和抗氧化应激.由于发现 50 mmol/L 二甲双胍对线虫 eat-2 突变株(食物摄入减少,模拟热量限制)没有作用,研究者推测二甲双胍的作用机制应该与热量限制有关,但这种机制与热量限制又有区别.实验表明, 50 mmol/L 的二甲双胍对 daf-1(缺少 FOXO 转录因子的短寿命株)及 age-1(PI3K 缺陷的长寿命株)等线虫突变体均有延长寿命的作用,因此推测,二甲双胍是通过一种区别于胰岛素样信号通路的机制发挥作用的.而进一步的研究表明,二甲双胍延长线虫寿命的作用需要 AMPK 及其上游辅助激活因子 LKB1 的参与.以上这些结果与图 1 是吻合的,即二甲双胍很可能是通过 TOR 发挥作用的,但文章中没有进行相关研究,因此这还需要验证.另外,文章还表明,线虫某些神经元及小肠细胞中的转录因子 SKN-1 是二甲双胍发挥作用不可缺少的. AMPK 在这两种细胞中通过

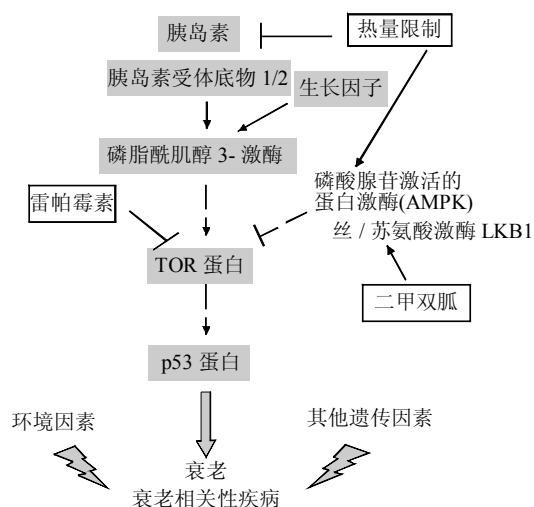


Fig. 1 The TOR intracellular signaling pathway

图 1 细胞 TOR 信号通路

改编自: Aging (Albany NY), 2009, 1(3): 281-288; Nat Rev Cancer, 2004, 4(5): 335-348.

SKN-1 分别引发热量限制样和氧化应激样反应,从而延长线虫寿命,这表明了 SKN-1(哺乳动物中为 Nrf)的重要性,而更具体的机制还需进一步研究.

在上述报道之前,二甲双胍延缓衰老的作用已在哺乳动物中验证. Anisimov 等^[48-49]的研究表明,二甲双胍可以有效延长 HER-2/neu 转基因小鼠的寿命,更奇特的是,其还同时具有抑制肿瘤的作用,对于雌性 SHR 小鼠,虽无肿瘤抑制作用,但能显著增加其寿命^[50]. 但他们并未明确解释其机制. 另外,对 T8 淋巴细胞的研究表明,二甲双胍和雷帕霉素还能影响细胞的分化,通过 TOR 介导的细胞代谢变化,它们可以增加记忆性 T 细胞的生成^[51-53]. 通过上述以及其他学者的研究,我们认为, TOR 介导的有关信号通路在机体衰老、肿瘤发生以及细胞增殖分化中起着重要的作用,是一个非常重要的靶点,而目前的研究还未完全搞清楚其作用的具体机制,因此更需要进一步的研究. 另外,也不能排除雷帕霉素和二甲双胍具有其他的延缓衰老作用机制,例如,二甲双胍本身具有较强的抗氧化性,其在细胞水平是否可以延缓复制性衰老,提高细胞活力就非常值得进行更深入的研究.

5 结 语

虽然上述这些不同的小分子物质影响衰老过程的层次及具体分子机制都不尽相同,但分析后仍可以看到模拟热量限制(calorie restriction)、抗氧化性、抗代谢废物、影响衰老相关重要信号通路等是其发挥作用的主要机制,而其中热量限制最为重要. 热量限制是目前公认的唯一对不同生物广泛具有延缓衰老作用的机制. 而筛选和研制能够模拟热量限制等延缓衰老机制,可有效延缓衰老、治疗衰老相关性疾病的的小分子物质是一种合理的选择,也是一门正在兴起的研究领域^[54-55]. 从另外一个角度,作者理解,虽然目前有关生物衰老的学说很多,但“损伤积累”和“程序性衰老”最为重要,前者认为生物体内外环境中的有害的因素(如氧自由基、非酶糖基化等)是导致衰老的主要因素,后者强调生物遗传程序本身及其表达决定了机体细胞的衰老过程. 这两种学说并不矛盾,各自都有大量的实验证据证明,这也说明两种学说都有其合理性,因为生物衰老本身就是一个各种因素综合作用的过程. 例如,端粒学说认为细胞端粒不断地缩短是造成体外培养人正常二倍体细胞(复制性)衰老的主要原因,而端粒的缩短也是内外因素综合作用的

结果,一是这些细胞本身缺少端粒酶,即复制过程中端粒必然缩短,二是培养过程中各种有害因素会造成基因组的损伤和加速端粒的缩短. 因此,在筛选具有延缓衰老作用的小分子物质时,可重点对抗氧化剂、自由基螯合剂以及可影响几条重要衰老通路^[56-57] (insulin/IGF-1、p16^{INK4a}/Rb、p19^{ARF}/p53/p21^{Cip1}、PTEN/p27^{Kip1} 及 TOR 信号通路)的物质进行研究. 另外,鉴于神经系统和精神状态对人体健康的重要影响,以及很多植物被证实可以有效促进人体健康,精神神经类药物、植物提取物也可作为重点筛选对象,这也是近年来的研究热点.

另一方面,这些已被发现的物质很多在实验中还表现出抑制癌症的作用. 而近些年来,越来越多的实验表明,肿瘤和衰老之间存在着密切的联系,其中细胞复制性衰老可能是联系生物体整体衰老和肿瘤的重要一环^[58]. 因此,这方面的研究除了对发现新的治疗衰老相关性疾病及肿瘤的有效靶点、开发新型药物、促进人类健康具有重大的现实意义,更重要的是,在现代生命科学研究中,可把这些小分子物质作为研究衰老、肿瘤等生命现象分子机制的一种外界启动因素或“敲门砖”,通过对其作用的具体分子机制的研究,发现生命过程本身的运行机制和规律,这对于生物化学、分子生物学等相关学科的发展无疑会起到巨大的推进作用.

参 考 文 献

- [1] Takaoka M. Resveratrol, a new phenolic compound from *Veratrum grandiflorum*. J Chemical Society of Japan, 1939, **60**(11): 1090-1100
- [2] Howitz K T, Bitterman K J, Cohen H Y, *et al.* Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. Nature, 2003, **425**(6954): 191-196
- [3] Jarolim S, Millen J, Heeren G, *et al.* A novel assay for replicative lifespan in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS Yeast Res, 2004, **5**(2): 169-177
- [4] Wood J G, Rogina B, Lavu S, *et al.* Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans. Nature, 2004, **430**(7000): 686-689
- [5] Kaerberlein M, McDonagh T, Heltweg B, *et al.* Substrate-specific activation of sirtuins by resveratrol. J Biol Chem, 2005, **280**(17): 17038-17045
- [6] Bass T M, Weinkove D, Houthoofd K, *et al.* Effects of resveratrol on lifespan in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. Mech Ageing Dev, 2007, **128**(10): 546-552
- [7] Baur J A, Pearson K J, Price N L, *et al.* Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature, 2006, **444**(7117): 337-342
- [8] Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, *et al.* Resveratrol

- improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . *Cell*, 2006, **127**(6): 1109–1122
- [9] Barger J L, Kayo T, Vann J M, *et al.* A low dose of dietary resveratrol partially mimics caloric restriction and retards aging parameters in mice. *PLoS One*, 2008, **3**(6): e2264
- [10] Lopez-Burillo S, Tan D X, Mayo J C, *et al.* Melatonin, xanthurenic acid, resveratrol, EGCG, vitamin C and alpha-lipoic acid differentially reduce oxidative DNA damage induced by Fenton reagents: a study of their individual and synergistic actions. *J Pineal Res*, 2003, **34**(4): 269–277
- [11] Higdon J V, Frei B. Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2003, **43**(1): 89–143
- [12] Brown M K, Evans J L, Luo Y. Beneficial effects of natural antioxidants EGCG and alpha-lipoic acid on life span and age-dependent behavioral declines in *Caenorhabditis elegans*. *Pharmacol Biochem Behav*, 2006, **85**(3): 620–628
- [13] Rezai-Zadeh K, Shytle D, Sun N, *et al.* Green tea epigallocatechin-3-gallate (EGCG) modulates amyloid precursor protein cleavage and reduces cerebral amyloidosis in Alzheimer transgenic mice. *J Neurosci*, 2005, **25**(38): 8807–8814
- [14] Zhang L, Jie G, Zhang J, *et al.* Significant longevity-extending effects of EGCG on *Caenorhabditis elegans* under stress. *Free Radic Biol Med*, 2009, **46**(3): 414–421
- [15] Kim J, Zhang X, Rieger-Christ K M, *et al.* Suppression of Wnt signaling by the green tea compound (-)-epigallocatechin 3-gallate (EGCG) in invasive breast cancer cells. Requirement of the transcriptional repressor HBP1. *J Biol Chem*, 2006, **281**(16): 10865–10875
- [16] Rieger-Christ K M, Hanley R, Lodowsky C, *et al.* The green tea compound, (-)-epigallocatechin-3-gallate downregulates N-cadherin and suppresses migration of bladder carcinoma cells. *J Cell Biochem*, 2007, **102**(2): 377–388
- [17] Hipkiss A R. Accumulation of altered proteins and ageing: causes and effects. *Exp Gerontol*, 2006, **41**(5): 464–473
- [18] Ahmed N. Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pract*, 2005, **67**(1): 3–21
- [19] Hipkiss A R. On the anti-aging activities of aminoguanidine and N-t-butylhydroxylamine. *Mech Ageing Dev*, 2001, **122**(2): 169–171
- [20] Hipkiss A R, Brownson C. A possible new role for the anti-ageing peptide carnosine. *Cell Mol Life Sci*, 2000, **57**(5): 747–753
- [21] Hipkiss A R. Glycation, ageing and carnosine: are carnivorous diets beneficial?. *Mech Ageing Dev*, 2005, **126**(10): 1034–1039
- [22] Fujisawa H, Nishikawa T, Zhu B H, *et al.* Aminoguanidine supplementation delays the onset of senescence *in vitro* in dermal fibroblast-like cells from senescence-accelerated mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 1999, **54**(7): B276–B282
- [23] Chang K C, Hsu K L, Peng Y I, *et al.* Aminoguanidine prevents age-related aortic stiffening in Fisher 344 rats: aortic impedance analysis. *Br J Pharmacol*, 2003, **140**(1): 107–114
- [24] Chang K C, Hsu K L, Chou T F, *et al.* Aminoguanidine prevents age-related deterioration in left ventricular-arterial coupling in Fisher 344 rats. *Br J Pharmacol*, 2004, **142**(7): 1099–1104
- [25] Moreau R, Nguyen B T, Doneanu C E, *et al.* Reversal by aminoguanidine of the age-related increase in glycoxidation and lipoxidation in the cardiovascular system of Fischer 344 rats. *Biochem Pharmacol*, 2005, **69**(1): 29–40
- [26] Stoppa G R, Cesquini M, Roman E A, *et al.* Aminoguanidine prevented impairment of blood antioxidant system in insulin-dependent diabetic rats. *Life Sci*, 2006, **78**(12): 1352–1361
- [27] Nilsson B O. Biological effects of aminoguanidine: an update. *Inflamm Res*, 1999, **48**(10): 509–515
- [28] Bauer K, Schulz M. Biosynthesis of carnosine and related peptides by skeletal muscle cells in primary culture. *Eur J Biochem*, 1994, **219**(1–2): 43–47
- [29] McFarland G A, Holliday R. Retardation of the senescence of cultured human diploid fibroblasts by carnosine. *Exp Cell Res*, 1994, **212**(2): 167–175
- [30] McFarland G A, Holliday R. Further evidence for the rejuvenating effects of the dipeptide L-carnosine on cultured human diploid fibroblasts. *Exp Gerontol*, 1999, **34**(1): 35–45
- [31] Holliday R, McFarland G A. A role for carnosine in cellular maintenance. *Biochemistry (Mosc)*, 2000, **65**(7): 843–848
- [32] Shao L, Li Q H, Tan Z. L-carnosine reduces telomere damage and shortening rate in cultured normal fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, **324**(2): 931–936
- [33] Campisi J, Kim S H, Lim C S, *et al.* Cellular senescence, cancer and aging: the telomere connection. *Exp Gerontol*, 2001, **36**(10): 1619–1637
- [34] Allsopp R C, Vaziri H, Patterson C, *et al.* Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, **89**(21): 10114–10118
- [35] Allsopp R C, Chang E, Kashefi-Azham M, *et al.* Telomere shortening is associated with cell division *in vitro* and *in vivo*. *Exp Cell Res*, 1995, **220**(1): 194–200
- [36] Yuneva A O, Kramarenko G G, Vetreshchak T V, *et al.* Effect of carnosine on *Drosophila melanogaster* lifespan. *Bull Exp Biol Med*, 2002, **133**(6): 559–561
- [37] Brownson C, Hipkiss A R. Carnosine reacts with a glycated protein. *Free Radic Biol Med*, 2000, **28**(10): 1564–1570
- [38] Petrascheck M, Ye X, Buck L B. An antidepressant that extends lifespan in adult *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2007, **450**(7169): 553–556
- [39] Zarse K, Ristow M. Antidepressants of the serotonin-antagonist type increase body fat and decrease lifespan of adult *Caenorhabditis elegans*. *PLoS One*, 2008, **3**(12): e4062
- [40] Petrascheck M, Ye X, Buck L B. A high-throughput screen for chemicals that increase the lifespan of *Caenorhabditis elegans*. *Ann N Y Acad Sci*, 2009, **1170**: 698–701
- [41] Evason K, Collins J J, Huang C, *et al.* Valproic acid extends *Caenorhabditis elegans* lifespan. *Aging Cell*, 2008, **7**(3): 305–317

- [42] Vetencourt J F M, Sale A, Viegli A, *et al.* The antidepressant fluoxetine restores plasticity in the adult visual cortex. *Science*, 2008, **320**(5874): 385–388
- [43] Bjornsti M A, Houghton P J. The TOR pathway: a target for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2004, **4**(5): 335–348
- [44] Blagosklonny M V. Validation of anti-aging drugs by treating age-related diseases. *Aging (Albany NY)*, 2009, **1**(3): 281–288
- [45] Harrison D E, Strong R, Sharp Z D, *et al.* Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature*, 2009, **460**(7253): 392–395
- [46] Zhuo L, Cai G, Liu F, *et al.* Expression and mechanism of mammalian target of rapamycin in age-related renal cell senescence and organ aging. *Mech Ageing Dev*, 2009, **130**(10): 700–708
- [47] Onken B, Driscoll M. Metformin induces a dietary restriction-like state and the oxidative stress response to extend *C. elegans* Healthspan *via* AMPK, LKB1, and SKN-1. *PLoS One*, 2010, **5**(1): e8758
- [48] Anisimov V N, Berstein L M, Egormin P A, *et al.* Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. *Exp Gerontol*, 2005, **40**(8–9): 685–693
- [49] Anisimov V N, Egormin P A, Piskunova T S, *et al.* Metformin extends life span of HER-2/neu transgenic mice and in combination with melatonin inhibits growth of transplantable tumors *in vivo*. *Cell Cycle*, 2010, **9**(1): 188–197
- [50] Anisimov V N, Berstein L M, Egormin P A, *et al.* Metformin slows down aging and extends life span of female SHR mice. *Cell Cycle*, 2008, **7**(17): 2769–2773
- [51] Pearce E L, Walsh M C, Cejas P J, *et al.* Enhancing CD8 T-cell memory by modulating fatty acid metabolism. *Nature*, 2009, **460**(7251): 103–107
- [52] Araki K, Turner A P, Shaffer V O, *et al.* mTOR regulates memory CD8 T-cell differentiation. *Nature*, 2009, **460**(7251): 108–112
- [53] Prlic M, Bevan M J. Immunology: a metabolic switch to memory. *Nature*, 2009, **460**(7251): 41–42
- [54] Ingram D K, Zhu M, Mamczarz J, *et al.* Calorie restriction mimetics: an emerging research field. *Aging Cell*, 2006, **5** (2): 97–108
- [55] Spindler S R. Use of microarray biomarkers to identify longevity therapeutics. *Aging Cell*, 2006, **5**(1): 39–50
- [56] Guarente L, Kenyon C. Genetic pathways that regulate ageing in model organisms. *Nature*, 2000, **408**(6809): 255–262
- [57] Bringold F, Serrano M. Tumor suppressors and oncogenes in cellular senescence. *Exp Gerontol*, 2000, **35**(3): 317–329
- [58] Collado M, Blasco M A, Serrano M. Cellular senescence in cancer and aging. *Cell*, 2007, **130**(2): 223–233

The Research Advances in Small Molecules Related With Delaying Aging*

GAO Ling-Yun, LI Guo-Dong, TONG Tan-Jun**

(Research Center on Aging, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China)

Abstract Screening small molecules having anti-aging effect and researching the mechanism are of great practical significance for discovering new effective targets for treatment of age-related diseases and tumors, developing new drugs and promoting human health. What is more important is that these small molecules can be used as breakthrough points for the specific molecular mechanisms of aging, cancer and other biological phenomena *via* in-depth study. And this has an important role in promoting the development of molecular biology and other related life sciences. This article summarizes some representative anti-aging small molecules of the past decade or two and focuses on their molecular mechanisms.

Key words aging, SIRT1, advanced glycosylation end products (AGEs), TOR, calorie restriction (CR), drug, cancer

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2010.00152

*This work was supported by grants from National Basic Research Program of China (2007CB507400) and The National Natural Science Foundation of China (30973146).

**Corresponding author.

Tel: 86-10-82802931, E-mail: tztong@bjmu.edu.cn

Received: March 25, 2010 Accepted: May 24, 2010