

粒線體與老化

黃玉文^{1,2}

¹馬偕紀念醫院醫學研究部，台北，台灣

²社團法人台灣分子醫學會，台北，台灣

摘要

老化 (aging) 是高度複雜的過程，伴隨著大部份器官的逐漸衰退，生命力降低，最後以死亡作結尾。近年來，生育率降低、死亡率降低，各國都面臨人口老化的問題。隨著老年化社會的到來，如何延緩人類老化，甚至延長壽命，一直是科學家們想探討的熱門話題。唯有對老化機制更加清楚瞭解，才有可能阻斷老化的過程，進一步控制老化。粒線體醫學 (mitochondrial medicine) 是近幾年來逐漸受到重視的醫學研究領域，因為陸續有許多證據顯示，包括糖尿病 (diabetes)、癌症 (cancer)、阿茲海默症 (Alzheimer's disease)、帕金森氏症 (Parkinson's disease)，還有老化等相關的疾病，都和粒線體 (mitochondrion) 的功能很有關係，比起細胞核 (nucleus) 中數以萬計的基因，粒線體中卻只有37個基因，但是關於粒線體的研究，目前卻還有很多未知及可應用的領域等待開發。或許粒線體會是延緩老化、治療老化相關疾病很好的目標。(生醫 2008;1(1):24-42)

關鍵字：老化 (aging)、粒線體 (mitochondrion)、自由基 (free radical)、突變 (mutation)

前言

老化 (aging) 是生命中無法避免的過程。近年來，生育率降低、死亡率降低，更突顯老化的問題。隨著老年化社會的到來，如何延緩人類的老化，甚至延長壽命，一直是科學家們想探討的熱門話題。老化生物學 (Biology of Aging) 是指研究生物衰老的現象與過程的科學。可以從不同層面，如分子 (molecule)、細胞 (cell)、組織 (tissue)、器官

(organ) 以及整個個體 (individual) 的老化變化過程，來探討導致衰老的原因和機轉。老化是從什麼時候開始的？有沒有老化的指標？又我們如何能夠測量老化？生物體內所有細胞老化的速度是不是都一樣？這一連串問題的解答，或許可以讓我們對老化有更清楚的瞭解。

老化是一個過程，到達一定的年齡之後，身體會隨著時間的流逝，呈現系統性的衰敗。老化現象最容

通訊作者：黃玉文助研究員

電話：886-2-2809-4461 ext 2418

傳真：886-2-2809-8746

地址：251台北縣淡水鎮民生路45號馬偕紀念醫院醫學研究部706室

電子郵件：yuwen@ms1.mmh.org.tw

易由外表的變化，如皮膚的皺紋變多、彈性變差、掉髮等現象來發現。但是細胞內的變化則無法一眼就看出來。隨著歲月的消逝，內在的功能逐漸衰退，生命力降低，最後以死亡作結尾。老化所代表的就是自然壽命的後段變化。因此，老化之於壽命，正如同下課鈴聲決定一堂課有多長一般。根據這個觀點來看，造成老化的因素，也必定是決定壽命長短的因素。然而，由於目前科技尚無法客觀地測量老化，因此就以自然壽命當作指標，所以認為能夠延長壽命的機轉，也必定是延緩老化的機轉。

壽命最長極限 (maximum lifespan potential; MLSP) 是指某一族群或種族的成員中最長壽者。到目前為止，世界上有記錄可考的人類最長壽者為 Jeanne Calment，壽命長達122歲，她於1997年死於法國。一個常被問到的問題是：同樣是自然而然地平安過世，為什麼有些人就比較長壽？再換另一種問法：同樣是動物，為什麼人類的MLSP就比老鼠的MLSP長25-30倍，而烏龜又更加長壽？

看看籠子裡的老鼠，幾乎沒有一刻鐘是安靜下來的；再看看池邊曬太陽的烏龜，動都不動一下。心細的人都會想到，這和牠們的壽命有無關係？1908年，德國生理學家Max Rubner比較五種動物及人類壽命和新陳代謝速率 (metabolic rate) 的關係。他指出，不論壽命長短，每種動物終其一生，每公克 (gram) 的組織所消耗的卡路里 (calorie) 是相近的。例如天竺鼠的壽命是6年，牠每公克的組織所消耗的卡路里是280千卡 (kilocalorie)；馬的壽命是50年，牠每公克的組織所消耗的卡路里也差不多，約為260千卡。1928年，Pearl觀察發現，如果一生中能消耗的總能量是固定的，那麼能量消耗的越快，死亡的速度也越快，這也就是所謂的生命率理論 (rate-of-

living theory) ¹。

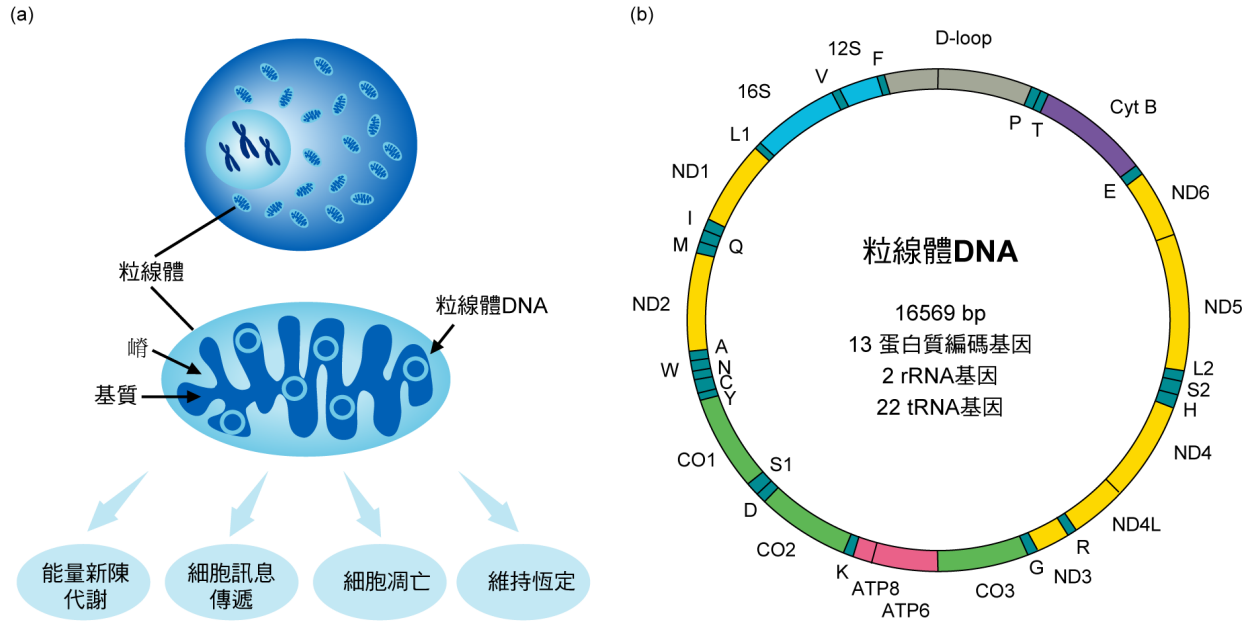
眾所周知，代謝速率與飲食中的熱量、周遭的溫度、和活動程度有關。Miquel²於1976年發現，降低室溫可減低蟲蠅的代謝速率，同時也增長其壽命。即使冷血動物，降低牠們的活動量也可增長其壽命。在熱量攝取方面，Weindruch³以及Yu⁴分別發現，限制老鼠飲食中的熱量 (但還不致於造成營養不良的話)，竟可增長老鼠的壽命50%。從熱量與能量方面來看生物個體，那麼老化的焦點一定離不開細胞的發電廠—粒線體 (mitochondrion)。

由熱量、代謝談到粒線體

粒線體的構造、功能與基因如圖一所示。粒線體主要藉由氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation) 產生細胞能量—腺嘌呤核苷三磷酸 (adenosine triphosphate; ATP)。

粒線體在細胞內會增生，在有絲分裂後的細胞 (post-mitotic cells) 也是一樣，粒線體的半衰期為8-23天，因細胞的類型不同而有所差別⁵。粒線體DNA (mitochondrial DNA; mtDNA) 的數目一直持續在汰舊換新，獨立於細胞週期 (cell cycle) 之外。不同類型的細胞中，粒線體的數目也不同，可以從數百個到數千個不等。粒線體也是除了細胞核 (nucleus) 外，唯一含有DNA的胞器 (organelle)。每一個粒線體內含有1到10個粒線體DNA。因此，大部份的細胞含有 10^3 到 10^4 個粒線體DNA，其中，成熟的卵細胞 (oocyte) 更高達 10^5 個粒線體DNA⁶。

粒線體的同質化 (homoplasmy) 與異質化 (heteroplasmy)



圖一、粒線體 (mitochondrion) 的功能及基因。

當粒線體DNA發生突變 (mutation) 時，一開始只是出現在粒線體中的一個粒線體DNA，當粒線體要進行分裂時，每個粒線體DNA會先在粒線體內進行複製。之後，粒線體DNA再隨機分佈於分裂的細胞內。當一個混合有野生型 (wild type) 及突變型 (mutant) 粒線體DNA的細胞不斷分裂之後，它的子代細胞可能完全只含有正常的粒線體DNA，或是只含有異常的粒線體DNA，這種情況稱為同質化 (homoplasmy)；另一種情形為子代細胞可能含有混合的粒線體DNA，也就是同時含有野生型及突變型的粒線體DNA，稱為異質化 (heteroplasmy)。

關於粒線體的一些爭論

粒線體DNA的傷害和老化過程的關聯性，一直被支持及反對者討論著，我們可以從幾方面來討論。

(1) 一直以來，認為粒線體DNA缺乏保護性的蛋白質，例如組織蛋白 (histone) 或是其它DNA結合蛋白，因此，粒線體DNA突變的發生率會高於染色體DNA (chromosomal DNA)。但是近年來的一些研究發現，粒線體DNA並不是不受保護的裸露在粒線體基質 (matrix) 當中，而是會和一些蛋白質形成粒線體核樣體 (mitochondrial nucleoid)⁷。另外，在粒線體內存在非常大量的粒線體轉譯因子A (mitochondrial transcription factor A; TFAM)，這也被認為有可能是粒線體DNA組織蛋白⁸。(2) 粒線體的修補功能真的很差嗎？長久以來，相對於核內DNA複雜的修補系統，粒線體內修補DNA的系統被認為是缺乏的。從Clayton⁹於1974年，利用紫外線照射DNA，形成嘧啶二聚體 (pyrimidine dimers) 的模式，發現粒線體DNA並不能除去嘧啶二聚體，之後也有一些學者提出相同的實驗結果^{10,11}，因此粒線體內沒有修補系統的觀念被大部份的研究者所接受。這篇早期的論文阻礙了大部份研究者在這方面的研究。直到將近20年後才陸續有一些研究證實，粒線體內含有一些可以修補DNA的酵素，例如8-羥基鳥嘌呤DNA糖苷酶 (8-oxoG DNA glycosylase; OGG)、尿嘧啶DNA糖基酶 (uracil glycosylase)、胸腺嘧啶糖苷酶 (thymine glycosylase) 及DNA連接酶 (DNA ligase) 等。有趣的是，有些酵素和細胞核內的酵素是來自同樣的基因，只是在蛋白質的N端 (N-terminal) 多了粒線體導向序列 (targeting sequence)。

粒線體除了提供細胞所需的能量之外，亦參與細胞內訊息傳遞 (cell signaling)、細胞凋亡 (apoptosis)、維持細胞核內基因穩定性¹²及老化等相關現象，因此，粒線體的角色比我們原本認為的還要複雜。

氧化傷害

由上面的結果看來，似乎代謝作用會使生命所需的分子受到傷害。此傷害終究會累積到某種程度，而使生理機能下降到呈現老化的現象。這就是著名的體突變理論 (somatic mutation theory)。其中，又以Harman¹³在1956年所提的自由基理論 (free radical theory of aging; FRTA) 最為有名。他指出，在正常的生理情況下，代謝作用會產生自由基 (free radical)，這會引起一系列的攻擊，使細胞分子受到破壞，並產生更多的自由基，導致惡性循環。Harman又於1972年¹⁴發表一篇論文「生物時鐘-粒線體？」，他認為在有氧的情況下，生物體內正常代謝所產生的自由基，也就是後來所謂的活性氧化物 (reactive oxygen species; ROS)¹⁵，包含超氧化物陰離子 (superoxide anion, $O_2 \cdot^-$)、過羥自由基 (perhydroxyl radical, $HO_2 \cdot$) 及過氧化氫 (hydrogen peroxide, H_2O_2)。ROS具有很強的生化反應特性，所以容易造成細胞內物質的氧化性傷害。由於活性氧化物主要來自粒線體，也因此認為粒線體會是這些氧化壓力 (oxidative stress) 的主要受害者。

雖然細胞內會產生大量的ROS，但大部份會被抗氧化劑及自由基清除酵素，如超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase; SOD) 及過氧化氫酶 (catalase) 所消除。如果細胞變得比較無法清除自由基，傷害就會逐漸累積。因此，提高對自由基的防禦能力應該可以延長壽命。以近代分子生物學的觀點來檢視這個觀念，Sohal¹⁶於1994年發現，在果蠅 (*Drosophila melanogaster*) 內大量表現超氧化物歧化酶及過氧化氫酶時，可增長壽命1/3，且受到氧化傷害的蛋白質量也會比較少。Lin¹⁷於1998年發現，果蠅長壽種mth (methuselah突變種) 和一般果蠅比

起來，對壓力（包括熱、飢餓和氧化劑）有較高的抵抗力，同時平均壽命也增長35%。Migliaccio¹⁸於1999年發現，*p66^{shc}*基因（目前已知其功能和產生ROS有關，詳見後文）突變的老鼠對氧化壓力有較高的抗性，產生的自由基也較少，同時比一般的老鼠多了30%的壽命，因此，研究人員推測，*p66^{shc}*是和參與調節細胞凋亡及延長壽命有關之訊息傳遞的一份子。2005年，Schriner¹⁹更進一步將過氧化氫酶導入老鼠的粒線體以減少自由基，發現果然可以減少粒線體DNA的傷害，增加粒線體DNA對抗外來氧自由基的破壞，同時亦可增長老鼠的壽命。由上面的研究看來，長壽和基因是有關的，而這些基因大部份又和自由基有關聯性。已知粒線體產生的自由基比細胞其他地方來得多，因此，從粒線體來探討老化是一個很好的切入點。

粒線體DNA的變化

由於粒線體耗氧量佔細胞的90%²⁰，因此產生的自由基也比細胞其他部位來得多，所以粒線體內的蛋白質、DNA、脂質受到攻擊的機會相對提高，傷害長期累積下來，就可能造成身體的老化及脆弱。從1972年，Harman提出粒線體是否為生物時鐘的想法後，再過17年，Linnane²¹才透過實驗的證明，支持粒線體老化理論。根據這個理論，在生命過程中，粒線體DNA突變的累積會使細胞產生能量的能力慢慢降低。Trounce²²提出，隨著年紀增加，骨骼肌（skeletal muscle）粒線體的呼吸鏈之功能會逐漸衰退的實驗，此數據支持Linnane提出的粒線體老化理論。

然而，ROS引起粒線體DNA突變，使細胞內的一些功能喪失，進而引起老化的推測，並沒有強且直接的證據。因為這些推論必須符合以下三個條件，才

有可能成為引起老化的主要機制。（1）粒線體DNA突變必須隨著年齡而累積；（2）因為細胞內含有大量的粒線體DNA，因此大部分的突變必須接近或為同質化，才有可能產生影響；（3）這些突變必須會產生功能性的影響，例如呼吸鏈功能的衰退，能量產生的降低，或是細胞凋亡的發生，使細胞減少，因而影響組織的功能。前兩項條件在人類的一些細胞內已經有相當多的證據，目前需要更多的實驗來確認。至於特定的粒線體DNA突變在老化的人類組織內所產生的功能性影響，必須透過瞭解植株擴增（clonal expansion）的機制，並且利用動物模式（animal model），才能瞭解粒線體DNA的突變或是缺損所引起的嚴重影響。

粒線體DNA大片段缺損

粒線體大片段缺損（large scale deletion）發生的熱點（hot spot）多位於粒線體DNA直接重複序列（direct repeat，指DNA兩端的序列是相同的）^{23,24}的位置之間。從人類粒線體基因分析發現，粒線體基因包含了許多直接重複序列（圖二），主要的缺損位置多位於核苷酸位置（nts）5760-190。大片段缺損可能是發生在粒線體DNA複製的時候，因此，正確的複製模式之推論，對於瞭解產生大片段缺損的機制是很重要的。目前粒線體DNA的複製機制還沒有定論，至少有三種不同的模式被討論著²⁵。第一種模式是由兩個不同的複製起始點（replication origin）開始，即所謂的單股置換（strand displacement）。第二種模式推測是從重股（heavy strand; H-strand）的複製起始點—O_H單一方向開始複製，稱為股偶合（strand-coupled）。第三種則是認為，粒線體DNA的複製是雙向的，但是有多個起始點。1988年，Holtt²⁶於粒線體肌肉病變（myopathy）病人的肌肉組織裡，發現有

黃玉文

TCCTACATACTT ⁶ COX II	{ ATTATTCCCTAGAACC...AAACAACAAT ⁶ (7960) <----- 5,827 bp -----> (13787)	TCTACCTAAAACCTCACA ND 5
ACTACCACCT ⁷ ATP 8	{ TCACCAAAGCCCATA...ATTTCATCG ⁷ (8477) <----- 6,335 bp -----> (14812)	CACCCCATCCAACATCT Cyt b
CTATTCCTCAT ⁷ ATP 8	{ ACTAAAAATATTTAAA...GTATTGACT ⁷ (8440) <----- 7,635 bp -----> (16075)	TCAACAACCGCTATGTA D-loop
CCTCATCGCCCT ⁸ COX II	{ CCCTACGCATCCTTT...GGAATCACCT ⁸ (7824) <----- 7,565 bp -----> (15389)	TCCGATAAAATCACCTT Cyt b
CCTAGAACC ⁸ COX II	{ TCGGACTCCTTGAGC...ACCTCCT ⁸ (7983) <----- 7,521 bp -----> (15504)	CAGACAATTATACCCTA Cyt b
CCCACAATC ⁸ ATP 6	{ ACCCGCCGCAGTACT...CCCACTA ⁸ (8,577) <----- 4,407 bp -----> (12,984)	CCTCCTAGCAGCAGCAGG ND 5
CGTTATCGT ⁹ COX I	{ ATGCATTTGTAATAA...TAAAACT ⁹ (6085) <----- 7,723 bp -----> (13808)	TCGCTGTCACTTTCTTA ND 5
TCGAACCC ⁹ tRNA-S	{ GGTTC AAGCCAACC...TTAGCA ⁹ (7,478) <----- 8,520 bp -----> (15,998)	AAGATTCTAATTTAAAC tRNA-P
CCCGCCCGT ⁹ 12S rRNA	{ TCAAGTATACTTCAA...CACCA ⁹ (1,499) <----- 3,833 bp -----> (5,332)	TTAACCTCTACTTCTAC ND 2
ACCCCT ¹⁰ ND 4	{ CTCCTAATACTA...GATCAA ¹⁰ (10952) <----- 4,420 bp -----> (15372)	TAGGAATCACCTCCCAT Cyt b
TCCTATC ¹⁰ ND 4	{ GACATCATTACCGGG...CAAG ¹⁰ (12113) <----- 2,309 bp -----> (14422)	TGACCCCATGCCTCAG ND 6
CGCCCGT ¹⁰ 12S rRNA	{ AAGTATACTTCAAAG...CCATC ¹⁰ (1,501) <----- 3,716 bp -----> (5,217)	TCCCTAGGAGGCCTGCC ND 2
CCTCCGT ¹¹ COX I	{ ATCTTCTCCTTACAC...CTCCT ¹¹ (6342) <----- 7,663 bp -----> (14005)	TGACTAGAAAAGCTATT ND 5
GATGCC ¹¹ COX I	{ CACACATTGGAAGAA...ATAA ¹¹ (7,410) <----- 6,278 bp -----> (13,688)	TAAACCCATTAAACGC ND5
TATCTCAT ¹² ATP 6	{ ACTAATCACCA ¹² (8649) <----- 7,436 bp -----> (16085)	CTATGTATTTTGTACAT D-loop
TAACCC ¹³ tRNA-F	{ CCAACCAAACCCCAA...GGCC ¹³ (548) <----- 3,895 bp -----> (4,443)	AATGTTGGTTATACCCT tRNA-M
^a ACCTACCT ¹³ ATPase8	{ AAGCCATAAAAAATA...CAAC ¹³ (8483) <----- 4,977 bp -----> (13460)	TTGGCAGCCTAGCATT ND 5

圖二、粒線體DNA (mitochondrial DNA) 大片段缺損 (large scale deletion) 的直接重複序列 (direct repeat) 位置。

粒線體DNA大約有200個直接重複序列的現象，此圖列出直接重複序列較長的幾個。

^a最常見的粒線體DNA大片段缺損 (common deletion)

大片的粒線體DNA缺損，並且以異質化的形式存在。接著，Moraes等人²⁷在1989年發現，進行性外眼

肌麻痺 (progressive external ophthalmoplegia; PEO) 及 Kearns-Sayre 氏症候群 (Kearns-Sayre syndrome; KSS, 一種會侵犯許多器官的疾病, 特徵為慢性進行性的外眼肌麻痺、視網膜色素退化, 也可能包括心臟傳導缺損、小腦性運動失調) 的病人組織細胞中, 也發現有大量的粒線體DNA缺損。缺損的長度大小不一, 且發生突變的位置也變化很大, 但最常見的為 4977 bp 缺損, 位置為粒線體DNA nts 8483-13459。從1992年開始, 很多研究指出, 4977 bp 大片段缺損會隨著年齡的增加而變多²⁸⁻³⁶, 尤其在肌肉及腦部等有絲分裂後的組織, 且粒線體的酵素活性也會隨著年齡的增加而降低。這些組織自生成以後, 其細胞就不會有太多的汰換, 因此, 當粒線體DNA突變發生後就不容易被淘汰。此外, 由於它們的耗氧量大, 不僅容易造成粒線體DNA突變, 且突變的累積會隨著年齡而增加。對於汰換率比較高的組織或細胞, 例如口腔上皮細胞 (epithelial cells) 或白血球 (leukocyte), 則沒有發現粒線體DNA大片段缺損的現象, 以及和老化有關之粒線體功能下降的情況³⁷。

為什麼粒線體DNA大片段缺損只會發生在老年的有絲分裂後之組織? 但每一個體發生粒線體DNA突變的機率很低。我們以單一細胞來看, 用肌肉纖維 (muscle fiber) 為例子, 在單一細胞有很高的粒線體DNA大片段缺損發生, 但以整個組織來看, 大部份的細胞並沒有發生同樣的突變, 使得其他的粒線體可以稀釋掉這些作用, 所以對整個組織的影響應該不會很大。但為什麼這麼嚴重的突變, 在單一細胞會被選擇性放大? 可能的解釋為: 當粒線體DNA發生突變, 會影響能量的產生, 粒線體為因應慢性的能量缺乏, 會製造更多的粒線體來補償, 所以這些細胞會含有更多突變的粒線體DNA。

於2006年發表^{34,38}, 兩篇關於人類大腦黑質神經細胞 (substantia nigra neuron) 粒線體與年齡關聯性的研究, 都是針對單一神經細胞 (neuron) 進行的。結果發現, 粒線體DNA大片段缺損會隨著年齡而增加, 而粒線體的細胞色素c氧化酶 (cytochrome c oxidase; COX) 有缺陷的神經細胞, 比起COX正常的神經細胞, 其粒線體DNA大片段缺損明顯高出很多。2007年, Wei³⁹發現, 4977 bp缺損的細胞對紫外線引起的細胞凋亡敏感性增加。粒線體的損傷會引起細胞凋亡, 因此, 在老化過程所造成的粒線體損傷引起細胞凋亡後, 造成細胞減少, 進一步會使組織失去原有的功能, 這是粒線體和老化關係中的一個重要結果。

2001年, Wang⁴⁰在基因轉殖鼠 (transgenic mouse) 內, 將粒線體轉錄因子A剔除, 如此粒線體DNA便無法表現蛋白質, 進而模擬缺乏粒線體DNA的現象。結果在9.5天的胚胎 (E9.5 embryonic stage) 產生大量的細胞凋亡, 導致胚胎死亡, 這也顯示, 當粒線體無法正常運作時, 會引起細胞凋亡。生物體內隨時都有新的細胞分裂產生, 同時也有許多細胞死去。而這些細胞的死亡, 都是按照特定的劇本演出, 不同的細胞在生長、分裂、分化到一定的階段時, 便會停止分裂, 之後它們會在特定的時間點死亡, 也就是所謂的「計畫性細胞死亡」 (programmed cell death), 或稱為「細胞凋亡」。有時當細胞受到外在或內在的刺激, 如氧化壓力或是DNA的損傷等, 也會引起細胞凋亡⁴¹。因此, 當粒線體有損傷或氧壓力過高時, 便可以發現細胞會有凋亡的現象。

Wang⁴²在1997年發現, 老鼠粒線體突變的速率 (以4977 bp缺損來看) 是人類的40倍。為什麼老鼠的突變率會和人類不同, 有兩種可能的原因: (1) 老鼠的每公克耗氧量是人類的八倍, 因此產生的自

由基會比較多，對粒線體DNA的傷害也會比較嚴重。

(2) 老鼠粒線體DNA的修補能力比人類還差。由上面的實驗結果發現，老鼠的壽命（實驗室老鼠為2年左右）和人類比起來也大概相差40倍。粒線體DNA突變速率的高低和壽命是有關聯性的，那麼，粒線體DNA突變的速率或許可以作為一個老化的指標。

粒線體DNA點突變

和疾病相關的粒線體突變一般可分為兩類，一種為母系遺傳（maternal inheritance）的粒線體DNA突變，另一種是和維持粒線體DNA的複製及穩定性的蛋白質基因突變有關，而這些蛋白質通常都是由細胞核內的基因所轉譯（translate）的，如DNA多聚合酶伽瑪（DNA polymerase γ ; POLG）、粒線體解旋酶（mitochondrial helicase; TWINKLE）及粒線體腺苷酸轉運體（adenine nucleotide translocator; ANT1）。由於維持粒線體DNA複製及穩定性的蛋白質基因產生突變，會隨機累積不同的粒線體DNA的突變和缺損，因此可能和人類老化相關的粒線體DNA突變的累積比較類似。近來發現，這些酵素的突變和人類的一些疾病有關，如進行性外眼肌麻痺和POLG、TWINKLE及ANT1基因的突變都有關⁴³。

早期在粒線體DNA點突變的研究上，多著重在和神經肌肉疾病（neuromuscular disease）有關的方面。1988年，Wallace等人^{44,45}發現一種與Leber氏視神經病變（Leber's hereditary optic neuropathy; LHON）有關的點突變（point mutation），發生在粒線體DNA之ND4（NADH Dehydrogenase subunit 4）基因上的11778核苷酸位置（nt 11778）；另一個發生在粒線體DNA nt 8344的點突變，則被證實與MERRF（myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease）腦

肌肉病變的發生有關。Goto⁴⁶則在1990年發現，粒線體DNA nt 3243所發生的點突變（A3243G）與MELAS（mitochondrial encephalomyopathy lactic acidosis stroke like episodes）腦肌肉病變有關。因此初期研究粒線體DNA點突變與老化的關聯，也多著重在上述和粒線體疾病有關的點突變上。有些研究發現，在骨骼肌⁴⁷、皮膚⁴⁸及其他組織，A3243G突變的累積和老化是有關的，但是這些研究的樣本數似乎都不多。但也有研究指出，A3243G突變並不會隨著年齡的增加而累積⁴⁹。

比起粒線體DNA大片段缺損，粒線體DNA點突變和老化關係的研究常有不一致的結果。一方面可能是實驗的方法敏感度不足，另一方面可能是點突變發生的位置很分散，不容易被觀察到。直到1999年，第一篇和年齡有關，在D-loop的粒線體DNA特定点突變的論文才出現。Michikawa⁵⁰發現，在正常老年人的皮膚纖維母細胞（fibroblast）中，粒線體DNA的D-loop有許多突變，例如T414G, T285C, A368G及383i（insertion），其中，T414G在粒線體DNA分子中佔很高的比例（50%），且在57%的65歲以上老人（8/14）都有此突變，反觀13個年輕族群則沒有人有此突變。同樣的研究團隊在2001年⁵¹發現，和纖維母細胞不同，在肌肉組織中，D-loop的突變是發生在A189G及T408A這兩個位置。在其他組織，如心臟、肝臟、淋巴節及脾臟，則沒發現這些位置的突變。

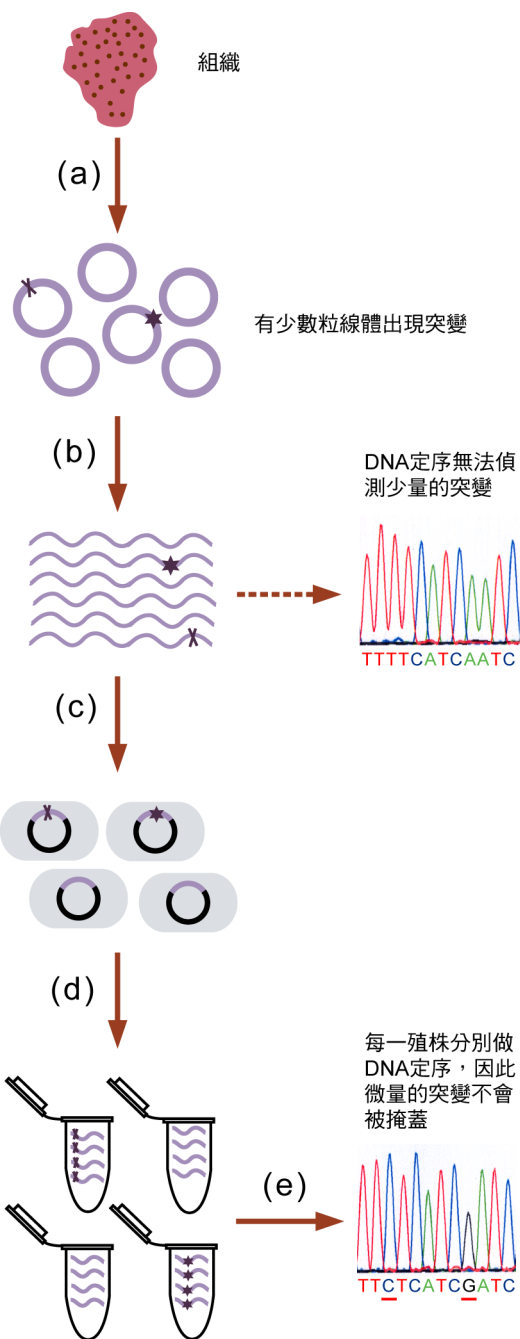
從皮膚纖維母細胞特有的突變—T414G發現，在6個人瑞（一百歲以上的人）中，有4人有這個位置的突變，也因此引發另一個問題，是否這些和年齡有關的突變和長壽有關？Zhang⁵²在2003年發現，白血球粒線體DNA D-loop的突變是發生在C150T，而百歲老年人（99-106歲，n=52，17.3%）比實驗組（18-98

歲，n=117，3.4%）發生突變的機率高，且有統計上的意義。可能的解釋為，C150T的突變改變了粒線體DNA輕股（light strand; L-strand）的複製起始點，使其更具複製優勢。

以上觀察可以證明，粒線體D-loop突變是有組織特異性的。發生的時間可能在早期發育的時候，所以同樣的組織會含有同樣的點突變，之後由於這些點突變使此粒線體具有複製的優勢，因此組織內的細胞便會含有高含量的特定點突變⁵³。

之後的一些研究陸續在不同組織，如腦部⁵⁴⁻⁵⁶、骨骼肌^{57,58}等也都發現，粒線體DNA的突變會隨著年齡的增加而累積，但這些研究都是先利用選殖（cloning），再進行定序（sequencing）的方式（圖三）進行，才發現粒線體不同位置的點突變，顯示這些突變出現的量很低，且並沒有在粒線體DNA的特定區域及位置有專一性。

很多關於粒線體DNA點突變累積和老化的關聯性之研究，都是在有絲分裂後的組織，如腦部、肌肉、心臟等能量需求高的組織進行。這樣的研究結果會有所偏頗。根據粒線體理論，耗氧高的組織產生的自由基會比其他組織高，因此，粒線體DNA的突變會比其他組織來的明顯。但幾乎沒有看到以其他組織進行粒線體DNA突變和老化關聯的研究。是否其他非耗氧量高的組織也有這樣的情形？這方面的研究其實有其困難性，因為以先選殖再定序的方式，進行粒線體DNA點突變的分析，需花費很多的時間及經費，所以發表的相關論文很少，顯示偵測粒線體DNA突變的技術仍是一個尚待解決的問題，偵測突變的技術若能突破，對於未來的研究會很有幫助。



圖三、偵測低發生率突變（mutation）的策略。

（a）從組織（tissue）中抽取粒線體DNA（mitochondrial DNA）；（b）利用高準確性的聚合酶鏈鎖反應（polymerase chain reaction; PCR）進行放大（amplification），以減少PCR產生的錯誤；（c）進行基因選殖（cloning），將每一種分子分開；（d）每個殖株（clone）個別進行PCR；（e）進行定序（sequencing）。若在（b）步驟後直接進行定序，則無法偵測到低突變的分子。（彩圖請見本刊網頁）

粒線體DNA大片段的缺損，會移除一些和電子傳遞鏈（electron transport system; ETS）有關的蛋白質次單元（subnunit）之基因，若這樣的突變比率太高，會影響粒線體的功能。而粒線體DNA點突變，除了在D-loop發現的之外，其他位置發現的突變含量都很低，這是否只是老化過程所造成的結果，需要更多的實驗證明。也因此可以發現，粒線體DNA的缺損和點突變在老化扮演的角色有所不同。

粒線體DNA數目的變化

一些研究發現，粒線體DNA的數目會隨著年齡的增加而變多^{59,60}，但是其他的研究卻發現是降低的⁶¹⁻⁶³，或是沒有變化的^{64,65}。這些研究的差異，有可能是來自實驗方法的不同，或是組織的差異性。整體來看，年齡和粒線體的數目之關係沒有一致的結論。可能的解釋為：（1）對於氧化代謝需求較高的組織，如心肌，粒線體的數量不能改變。（2）粒線體數目的增加，對於隨著年齡增加而累積的突變和大片段缺損而言，是一種補償作用。

粒線體DNA和壽命的關係

粒線體和壽命的關係，可以從一些觀察推論，得到幾個假說。（1）由於粒線體是母系遺傳（雖然有些研究發現，有從父親獲得少數粒線體的情況），研究壽命和遺傳的關係應該可以看出關聯性。1999年，Korpelainen⁶⁶研究了200個家族，每一個家族都有子代與父母間的配對，排除因疾病、戰爭或其他因素引起的死亡（由於此研究必須有完整的壽命資料，所以有些資料是從歐洲的皇室取得，少部份來自日本王室，研究對象的出生時間範圍從西元936年至1917年），結果從壽命的長短估算遺傳的可能性，母親與

子代間的關聯性比父親與子代間的關聯性高。（2）有些研究發現，某些粒線體單群（haplogroup）和長壽是有關聯的。在日本，D單群⁶⁷（D haplogroup）和長壽有關，在歐洲則是J單群⁶⁸（J haplogroup）。

（3）以生物資訊（Bioinformatics）分析61種哺乳類動物（mammal）的粒線體基因，結果顯示，在較長壽的哺乳類動物，長度較長（ $\geq 12\text{bp}$ ）的直接重複序列的數目較少⁶⁹。

粒線體DNA的突變是老化的原因還是結果？

粒線體老化理論（the mitochondrial theory of aging）的基礎，是假設粒線體在進行氧化磷酸化的過程中，產生的自由基會造成蛋白質、脂質及粒線體DNA的傷害。近來很多研究探討，粒線體DNA突變的細胞會在呼吸鏈中產生較多的自由基，因此引發一個問題：究竟粒線體DNA的突變是老化的原因還是結果？若能釐清粒線體與老化的關聯性，不管是因還是果，對於目前粒線體和老化關係的研究都非常重要。

最近有兩個研究團隊破壞老鼠粒線體DNA多聚合酶伽瑪修補的功能，使其粒線體DNA複製時容易出錯，因此可製造出具有嚴重粒線體突變的老鼠（mitochondrial mutator mouse）⁷⁰⁻⁷³。這種老鼠出生後，很快就出現掉毛、駝背、骨質疏鬆等老化的現象。這個實驗證明，粒線體DNA的突變會加速老化的過程，也引起很多的討論⁷⁴⁻⁷⁷。然而，令人不解但頗為有趣的是，這種老鼠並沒有氧自由基引起的壓力反應，這個現象和一直以來被大家所接受的自由基老化理論並不吻合。Kujoth顯然認為，粒線體的突變可能是哺乳動物老化的中心機轉。但值得注意的是，這些老鼠突變的程度比起人類的老年人高很多，Khrapko等人^{75,78}認為，粒線體DNA的突變在老鼠和人之間存

在很大的鴻溝，很難將這類型的突變和引起人類老化的原因連結在一起。這種粒線體DNA多聚合酶伽碼突變的老鼠，和正常老化老鼠的突變頻率比較起來，大約高了10倍。實驗動物的粒線體DNA突變在胚胎（embryo）時就開始了，但是一般生物體粒線體DNA的突變多是從出生後才開始。

粒線體DNA的突變究竟是老化的原因還是結果？一直都被熱烈地討論。現在有一些實驗似乎可以讓這個爭論出現較清楚的看法。2007年，美國華盛頓大學（University of Washington, Seattle, WA, USA）的Vermulst等人⁷⁴，利用一種新的、高敏感度的實驗方法—隨機突變捕捉（random mutation capture; RMC）技術，針對單一分子進行放大並確認，進行老鼠粒線體DNA突變的累積和壽命的關聯性之研究。結果發現，老鼠粒線體DNA突變的累積，在16個月後開始呈指數性增加（exponential increase）。年輕的粒線體容易突變雜合子老鼠（heterozygous mutator mouse）和同年齡的野生型老鼠比起來，突變頻率高了500倍，而和同時出生的年老野生型老鼠比起來，也高了將近30倍。但這些年輕的粒線體容易突變雜合子老鼠並未出現早熟或衰老的現象。雖然此研究反對粒線體DNA突變的積累會引起老化，但這些實驗仍有一些需要注意的地方，因為該研究僅針對粒線體DNA點突變，所以粒線體DNA大片段缺損仍可能在組織老化過程中，扮演重要的角色。再者，畢竟人和老鼠是不同的，目前我們尚未到達能把老鼠所發現的現象，擴大解釋到人類身上的階段，這些問題都是未來要解決的。

老化有關的疾病-以阿滋海默症(Alzheimer's disease)為例

老化的特徵有多少和粒線體的缺陷有關？一般而言，老化的特徵包括：掉髮、駝背、骨質疏鬆、老化性耳聾等現象。而在老化的過程中，粒線體的形狀會變大，呼吸鏈酵素的活性會下降，產生ATP的能力也或降低。這些變化會影響到一些生理機能，使身體出現老化的特徵，但這些改變在老化的過程中，是屬於初級（primary）或次級（secondary）的因素尚無法界定。所謂初級的因素是指，這些因素的變化能直接引發體內某些生化反應，造成生物體的型態與功能之衰退。而次級的因素是指，老化過程中伴隨發生的改變並不是造成老化的原因。由於老化可能會和一些與年齡有關的疾病有相似的細胞內機轉，因此，對於一些退化性疾病（如阿茲海默症）的瞭解，可以幫助我們更清楚老化過程中，細胞內的基本變化。

老化基本上不是疾病，但是會增加罹患疾病的可能。困難的是，有些會隨著年齡增加而出現的疾病，會讓我們無法判定這是自然的老化現象還是疾病。老化是屬於漸進式的，牽涉多種機制，在生命過程中慢慢累積。一些和粒線體DNA突變及缺損發生率有關的疾病，或許可以提供我們一些研究老化的資訊。某些組織的疾病和遺傳性粒線體DNA突變有關，在正常老化的相同組織內也會有相同的作用，如腦部、心臟、骨骼肌、腎臟及內分泌系統等⁷⁹。對於神經退化性疾病，如阿茲海默症及帕金森氏症（Parkinson's disease），年齡是一項很重要的危險因子。

阿滋海默症是很常見的成人神經退化性疾病，通常發生在老年人（尤其是65歲以上的老人），其病程中會影響到人的記憶、思考及行為。發病率會隨著年齡而增高，85歲以上的老年人口，預估有50%患有阿茲海默症⁸⁰。主要的病理現象是，患者腦部不斷產生一種名為貝它-澱粉樣蛋白（ β -amyloid; A β ）的蛋白質

斑點 (amyloid plaques)，這些蛋白質斑點會嚴重影響大腦細胞的功能，甚至造成大腦萎縮。

如同老化，阿滋海默症的研究在不同領域中也有不同的發現。以粒線體而言，在阿滋海默症病人的腦部組織，可以觀察到不正常的粒線體構造，且氧化磷酸化的酵素—COX活性會降低，因此可以推測，自發性的阿滋海默症是因為粒線體氧化磷酸化的功能缺陷所引起的^{81,82}，這些現象似乎和老化很相似。

2004年，Lustbader等人⁸³發現，粒線體基質內的貝它-澱粉樣蛋白結合酒精脫水酶 (β -amyloid binding alcohol dehydrogenase; ABAD)，會和貝它-澱粉樣蛋白形成鍵結，而對粒線體造成毒性。同年，Wallace⁸⁴也發現，粒線體內DNA的突變可能是導致晚發性阿滋海默症的原因。65%的阿滋海默症病人腦部細胞內，粒線體DNA的D-loop上有T414G突變。在80歲以上的阿滋海默症病人，T414G突變比一般人還多了130%，且阿滋海默症病人腦組織內粒線體DNA的含量，及ND6 (NADH Dehydrogenase subunit 6; 粒線體呼吸鏈上的蛋白質，由粒線體基因所產生)的轉錄 (transcription) 平均降低了50%，導致氧化磷酸化的功能降低。研究人員同時發現，早期發生的腦部粒線體基因突變，會導致大量細胞攜帶突變基因，使粒線體功能降低，且有細胞凋亡的現象⁸⁵，並可能是導致某些阿滋海默症患者較早死亡的原因⁸⁶。

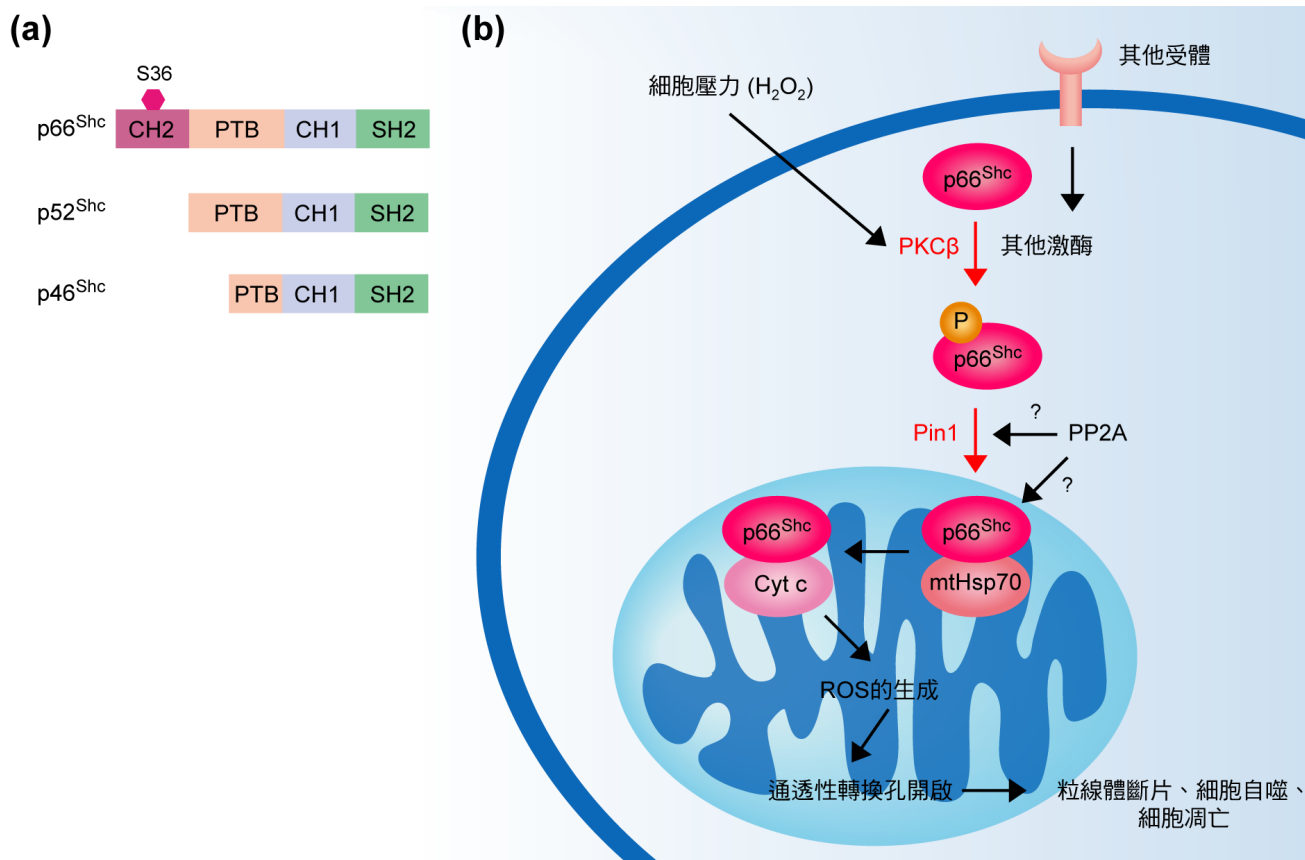
原本細胞的凋亡和分裂在體內會達到平衡，然而，隨著年齡的增加，細胞分裂的能力會降低，但是細胞凋亡的能力卻未降低，於是造成細胞減少，導致某些生理功能下降，甚至產生疾病。所以細胞凋亡會造成生理機能衰退，使原本的功能喪失。因此，如果能找到控制細胞凋亡的開關，那麼，在某些組織或器

官出現萎縮現象的初期，就可以降低老化繼續惡化的可能性。

細胞核與粒線體協同調控長壽

人類老化的機制十分複雜，截至目前為止，科學家已提出很多有關老化理論的學說。英國老化生物學家Aubrey de Grey⁸⁷提出影響人體衰老的六種因素：(1) 細胞核內DNA的突變；(2) 粒線體的突變；(3) 細胞內廢棄物的堆積；(4) 細胞外廢棄物的堆積；(5) 細胞的萎縮和衰敗；(6) 細胞外的聯結系統。每一種因素對老化都有影響，有可能是互相影響，也有可能有不同的比重。若對這些因素瞭解得更清楚，便有可能對這六個因素進行控制。

在老化的過程中，細胞核和粒線體會有相互作用，我們以哺乳動物內的p66^{Shc}蛋白質為例，說明細胞核與粒線體協同調控長壽的途徑。p66^{Shc}是哺乳動物基因中第一個被發現，其基因的突變會提高老鼠對氧化壓力的抗性，並且會延長老鼠的壽命多達30%。p66^{Shc}屬於Shc蛋白質家族，Shc蛋白質家族分成ShcA、ShcB及ShcC三類，目前為止，研究比較多的是ShcA (即目前所稱呼的Shc)。ShcA由於選擇性剪接 (alternatively splicing) 的緣故有三種異形體 (isoform)，分別為分子量 (molecular weight) 66千道爾頓 (kilodalton; kDa) 的p66^{Shc}、52 kDa的p52^{Shc}及46 kDa的p46^{Shc}，它們都含有高度保留區 (highly conserved domain)，此部份包含氨基末端 (N-terminal) 的磷酸化酪氨酸結合區 (phosphotyrosine-binding domain; PTB)、中間的富脯氨酸膠原同源區 (central proline-rich collagen homology domain; CH1 domain) 及羧基末端Src同



圖四、p66^{Shc}蛋白質及其訊息傳遞鏈。

(a) ShcA蛋白質的三種異形體 (isoform)。由於選擇性剪接 (alternatively splicing) 的關係，產生三種分子量 (molecular weight) 的異形體，分別是66千道爾頓 (kilodalton; kDa) 的p66^{Shc}、52 kDa的p52^{Shc}及46 kDa的p46^{Shc}。三者共同擁有的部份包含：氨基末端 (N-terminal) 的磷酸化酪氨酸結合區 (phosphotyrosine-binding domain; PTB)、中間的富脯氨酸膠原同源區 (central proline-rich collagen homology domain; CH1 domain) 及羧基末端Src同源區 (carboxy terminal Src homology 2 domain; SH2 domain)。只有p66^{Shc}含有氨基末端富脯氨酸區 (N-terminal proline-rich domain; CH2 domain)；(b) 當細胞受到氧壓力 (H₂O₂) 或其他受體 (receptor) 的刺激，會使p66^{Shc}被磷酸化 (phosphorylation)，隨後，被磷酸化的p66^{Shc}會將細胞外的訊息傳遞到粒線體內。在粒線體內的p66^{Shc}原本是與粒線體熱休克蛋白70 (mitochondrial heat shock protein 70; mtHsp70) 結合，在有氧壓力的情況下，p66^{Shc}便會和細胞色素c (cytochrome c; Cyt c) 結合，其功能類似氧化還原酶 (oxidoreductase)，會產生更多的活性氧 (reactive oxygen species; ROS)，造成通透性轉換孔 (permeability transition pore) 開啟，進而導致粒線體斷片 (fragmentation)、細胞自噬 (autophagy) 或細胞凋亡 (apoptosis)。(彩圖請見本刊網頁)

源區 (carboxy terminal Src homology 2 domain; SH2 domain)。只有p66^{Shc}含有氨基末端富脯氨酸區 (N-terminal proline-rich domain) (圖四 a)。雖然這三種異形體在結構上的同源性 (homology) 很高，但功能卻有所不同，其中，p66^{Shc}在調節粒線體能量代謝及ROS的產生扮演重要的角色⁸⁸。

p66^{Shc}主要位於細胞質 (cytoplasm)，有少部份 (10-40%) 位於粒線體膜間隙 (intermembrane space)。在粒線體內的p66^{Shc}是與粒線體熱休克蛋白70 (mitochondrial heat shock protein 70; mtHsp70) 結合⁸⁹，而在有氧壓力的情況下，p66^{Shc}會和細胞色素c (cytochrome c; Cyt c) 結合，其功能類似氧化還原酶 (oxidoreductase)，會產生更多的ROS，使

細胞凋亡（圖四 b）。Pinton等人⁹⁰於2007年發現，當細胞受到外在氧壓力（ H_2O_2 ）時，原本位於細胞質的p66^{Shc}在蛋白質激酶C β （protein kinase C β ; PKC β ）活化的情況下，其第36位置的絲氨酸（serine; Ser36）會被磷酸化（phosphorylation），促使p66^{Shc}和脯氨酸異構酶（prolyl isomerase 1; Pin1）結合。由於Pin1是一種使蛋白質序列中磷酸化的絲氨酸/蘇氨酸-脯氨酸（pSer/pThr-Pro）鍵結，由順式（*cis*-）變為反式（*trans*-）的酵素，因此會造成p66^{Shc}結構的改變，使得p66^{Shc}移位（translocate）到粒線體內。

由p66^{Shc}剔除老鼠（p66^{Shc} knock out mouse）發現，剔除p66^{Shc}不僅提高老鼠對氧壓力的抵抗力，也延長老鼠的壽命，並瞭解在 H_2O_2 存在下，p66^{Shc}由細胞質將訊息傳遞到粒線體內，引起細胞凋亡的路徑。那麼，p66^{Shc}和人類長壽的關聯性又是如何？Pandolfi⁹¹研究三種年齡族群（年輕組17-38歲，老年組50-80歲，人瑞組100歲以上）的健康個體，其皮膚纖維母細胞內，p66^{Shc}信使RNA（message RNA; mRNA）及蛋白質表現量與長壽的關係。結果很令人意外，p66^{Shc}在人瑞組的表現量最高，顯示p66^{Shc}的功能還有待更多的研究。

老化的生物性指標

老化一直是複雜難解的問題，其中一個原因是缺乏可以作為生物年齡老化的生物性指標。大約在40多年前，就有論文提到生物年齡的概念，但一直缺少精確且被廣範接受的定義。所謂老化的生物性指標是指，可以藉由個體生物性的參數，來顯示個體的生物年齡，因為個體之間老化的速度並不相同，如果能有老化的生物性指標，就能取代現在所用的實際年齡，這樣不僅可以提早預防老化相關的疾病，相信對老

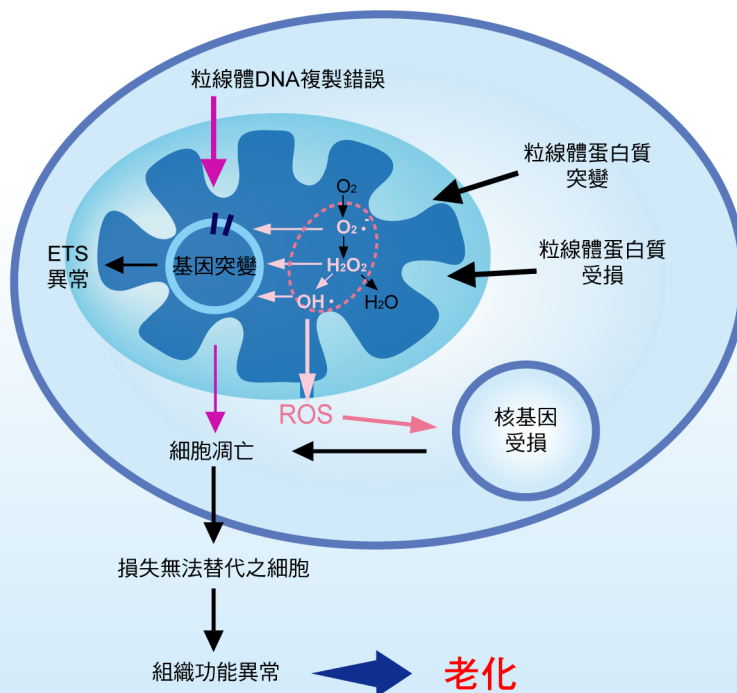
化的研究也會有幫助。某些腫瘤有其特有的生物性指標，但目前似乎沒有方法可以確認老化，當沒有老化生物性指標的時候，無法決定較早出現的老化是老化的現象還是疾病。美國老化研究聯合會（the American Federation for Aging Research）提出了老化生物性指標準則：

1. 可以用來預測老化的速度，預測壽命的準確度比實際年齡來得好。
2. 所偵測的並非是疾病造成的作用，而是建立在老化的過程。
3. 不能對人體造成傷害。
4. 在使用於人體前，能在實驗動物測試。
5. 測量方法要簡單而且不能太昂貴。

雖然目前不能確定粒線體DNA突變會引起老化，但可以確定的是，人類細胞內粒線體呼吸鏈的功能會隨年齡的增加而衰退，且這些變化和大片段缺損及點突變的累積成正相關，尤其是在消耗能量大的組織，如腦部、骨骼肌及心肌等，這種關聯性越顯著。但值得注意的是，粒線體DNA大片段缺損和年齡關係的研究，其樣本數都太少，尤其是年輕族群的樣本，因此統計結果並不能反映真實意義。如果增加樣本數，結果可能會有所不同，這方面是值得考慮的。此外，在週邊血液細胞，並沒有發現粒線體DNA的大片段缺損和年齡的關聯性，因此，粒線體DNA的大片段缺損可能不是很好的老化生物性指標。在粒線體DNA的點突變方面，目前還沒有發現以週邊血液細胞進行的相關實驗，但是有些學者未發表的研究結果發現，週邊血液細胞的粒線體DNA突變之累積，和年齡有正相關，加上各項技術的進步，也許粒線體DNA點突變的累積可當做一項老化的生物性指標。

圖五、粒線體DNA (mitochondrial DNA) 損傷及老化 (aging) 的關係圖。

很多因素會引起粒線體功能的衰退、凋亡及老化。由粒線體氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation) 所產生的活性氧化物 (reactive oxygen species; ROS)，會造成粒線體DNA的損傷，進而影響電子傳遞系統 (electron transport system; ETS) 的功能，產生更多的ROS。另外，有一些傷害，如DNA多聚合酶伽瑪 (DNA polymerase γ) 的破壞，會使複製粒線體DNA時出錯，同樣會引起細胞凋亡 (apoptosis)，導致老化的發生，但並不會使自由基 (free radical) 的產生增加。(彩圖請見本刊網頁)



老化有可能是特定生化功能的喪失，因為老化所出現的特徵在細胞內並非隨機出現。1995年，Sohal⁹²讓果蠅暴露在高劑量的純氧環境下，探討自由基對粒線體產生的作用。他們發現，自由基並不會造成廣泛性的破壞，而是針對特定蛋白質造成傷害，這是否表示，老化的過程是由一些特定生化功能的改變所造成的？一些粒線體蛋白質會隨著老化而發生變化，例如有些和細胞內代謝反應有關的酵素，在不同組織、不同年齡會有不同的差異，透過更多的研究，期望能將這些酵素作為區別老化過程的指標。

展望

在粒線體和老化的關係中，可以發現很多因素都會影響粒線體的功能（圖五），不論是使粒線體DNA產生突變，或是自由基直接攻擊蛋白質、脂質等，這些因素除了影響功能外，也會造成細胞凋亡及老化。

一直以來，自由基理論解釋老化被大家廣泛接受，但最近有一些研究發現，引起老化的過程中，自由基並未增加，另外有些研究在老鼠身上發現，累積大量的粒線體DNA突變，並未出現早熟或衰老的現象。目前大部份的研究，還是在瞭解粒線體DNA為何會發生改變的分子機制上，很少提到該如何預防。此外，不同物種間的差異性，也會使得某些發現無法套用在所有的生物體上。利用粒線體DNA的突變當作老化的生物性指標之研究，以前由於樣本數太少，使判讀有誤差，也是未來必須重新研究的方向。由上面的討論知道，粒線體和老化的關係還有很多問題需要去解決，之前研究的許多矛盾點也使我們有更多的思考方向。

由於現在醫療環境及品質的提升、保健知識的普及，人類的壽命和一百多年前比起來，大概多了一倍。從女性對抗老及保持青春的保養品趨之若鶩，不難發現，延緩老化並保持青春，是多數人所追求的，

如果只是增加壽命，身體機能狀態隨著年齡而衰敗，相信這不是吾人想要的。因此，唯有對老化的機制更加清楚瞭解，才有可能阻斷老化的過程，使我們的生命能夠更加年輕健康。當然是否每個人都希望活那麼久？或是當大家的年齡都可以延長到120歲或更長，社會資源怎麼分配？則會是需要另外討論的問題。

引用文獻

1. Speakman JR. Body size, energy metabolism and lifespan. *J Exp Biol* 2005;208:1717-1730.
2. Miquel J, Lundgren PR, Bensch KG, Atlan H. Effects of temperature on the life span, vitality and fine structure of *Drosophila melanogaster*. *Mech Ageing Dev* 1976;5:347-370.
3. Weindruch R, Walford RL. Dietary restriction in mice beginning at 1 year of age: effect on life-span and spontaneous cancer incidence. *Science* 1982;215:1415-1418.
4. Yu BP, Masoro EJ, McMahan CA. Nutritional influences on aging of Fischer 344 rats: I. Physical, metabolic, and longevity characteristics. *J Gerontol* 1985;6:657-670.
5. Korr H, Kurz C, Seidler TO, Sommer D, Schmitz C. Mitochondrial DNA synthesis studied autoradiographically in various cell types in vivo. *Braz J Med Biol Res* 1998;31:289-298.
6. Cummins J. Mitochondrial DNA in mammalian reproduction. *Rev Reprod* 1998;3:172-182.
7. Garrido N, Griparic L, Jokitalo E, Wartiovaara J, van der Bliek AM, Spelbrink JN. Composition and dynamics of human mitochondrial nucleoids. *Mol Biol Cell* 2003;14:1583-1596.
8. Wiesner RJ, Zsurka G, Kunz WS. Mitochondrial DNA damage and the aging process: facts and imaginations. *Free Radic Res* 2006;40:1284-1294.
9. Clayton DA, Doda JN, Friedberg EC. The absence of a pyrimidine dimer repair mechanism in mammalian mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1974;71:2777-2781.
10. Backer JM, Weinstein IB. Mitochondrial DNA is a major cellular target for a dihydrodiol-epoxide derivative of benzo[a]pyrene. *Science* 1980;209:297-299.
11. Niranjan BG, Bhat NK, Avadhani NG. Preferential attack of mitochondrial DNA by aflatoxin B1 during hepatocarcinogenesis. *Science* 1982;215:73-75.
12. Singh KK, Kulawiec M, Still I, Desouki MM, Geradts J, Matsui S. Inter-genomic cross talk between mitochondria and the nucleus plays an important role in tumorigenesis. *Gene* 2005;354:140-146.
13. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956;11:298-300.
14. Harman D. The biologic clock: the mitochondria? *J Am Geriatr Soc* 1972;20:145-147.
15. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 1996;273:59-63.
16. Orr WC, Sohal RS. Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science* 1994;263:1128-1130.
17. Lin YJ, Seroude L, Benzer S. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant methuselah. *Science* 1998;282:943-946.
18. Migliaccio E, Giorgio M, Mele S, Pelicci G, Reboldi P, Pandolfi PP, Lanfrancone L, Pelicci PG. The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature* 1999;402:309-313.
19. Schriener SE, Linford NJ, Martin GM, Treuting P, Ogburn CE, Emond M, Coskun PE, Ladiges W, Wolf N, Van Remmen H, Wallace DC, Rabinovitch PS. Extension of murine lifespan by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science* 2005; 308:1909-1911.
20. Trifunovic A. Mitochondrial DNA and ageing. *Biochim Biophys Acta* 2006;1757:611-617.
21. Linnane AW, Marzuki S, Ozawa T, Tanaka M. Mitochondrial DNA mutations as an important contributor to ageing and degenerative diseases. *Lancet* 1989;1:642-645.
22. Trounce I, Byrne E, Marzuki S. Decline in skeletal muscle mitochondrial respiratory chain function: possible factor in ageing. *Lancet* 1989;1:637-639.
23. Schon EA, Rizzuto R, Moraes CT, Nakase H, Zeviani M, DiMauro S. A direct repeat is a hotspot for large-scale deletion of human mitochondrial DNA. *Science* 1989;244:346-349.
24. Mita S, Rizzuto R, Moraes CT, Shanske S, Arnaudo E, Fabrizi GM, Koga Y, DiMauro S, Schon EA. Recombination via flanking direct repeats is a major cause of large-scale deletions of human mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Res* 1990;18:561-567.
25. Meissner C. Mutations of mitochondrial DNA - cause or consequence of the ageing process? *Z Gerontol Geriatr* 2007;40:325-333.
26. Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA. Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature* 1988;331:717-719.
27. Moraes CT, DiMauro S, Zeviani M, Lombes A, Shanske S, Miranda AF, Nakase H, Bonilla E, Werneck LC, Servidei S, et al. Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. *N Engl J Med* 1989;320:1293-1299.
28. Lee HC, Pang CY, Hsu HS, Wei YH. Differential accumulations of 4,977 bp deletion in mitochondrial DNA of various tissues in human ageing. *Biochim Biophys Acta* 1994;1226:37-43.
29. Hsieh RH, Hou JH, Hsu HS, Wei YH. Age-dependent respiratory function decline and DNA deletions in human muscle mitochondria. *Biochem Mol Biol Int* 1994;32:1009-1022.
30. Meissner C, von Wurmb N, Oehmichen M. Detection of the

- age-dependent 4977 bp deletion of mitochondrial DNA—a pilot study. *Int J Legal Med* 1997;110:288-291.
31. Simonetti S, Chen X, DiMauro S, Schon EA. Accumulation of deletions in human mitochondrial DNA during normal aging: analysis by quantitative PCR. *Biochem Biophys Acta* 1992;1180:113-122.
 32. Lezza AM, Boffoli D, Scacco S, Cantatore P, Gadaleta MN. Correlation between mitochondrial DNA 4977-bp deletion and respiratory chain enzyme activities in aging human skeletal muscles. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;205:772-779.
 33. Meissner C, von Wurmb N, Schimansky B, Oehmichen M. Estimation of age at death based on quantitation of the 4977 bp deletion of human mitochondrial DNA in skeletal muscle. *Forensic Sci Int* 1999;105:115-124.
 34. Kraysberg Y, Kudryavtseva E, McKee AC, Geula C, Kowall NW, Khrapko K. Mitochondrial DNA deletions are abundant and cause functional impairment in aged human substantia nigra neurons. *Nat Genet* 2006;38:518-520.
 35. Cortopassi GA, Arnheim N. Detection of a specific mitochondrial DNA deletion in tissues of older humans. *Nucleic Acids Res* 1990;18:6927-6933.
 36. Cortopassi GA, Shibata D, Soong NW, Arnheim N. A pattern of accumulation of a somatic deletion of mitochondrial DNA in aging human tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:7370-7374.
 37. Meissner C, Mohamed SA, Klueter H, Hamann K, von Wurmb N, Oehmichen M. Quantification of mitochondrial DNA in human blood cells using an automated detection system. *Forensic Sci Int* 2000;113:109-112.
 38. Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, Taylor GA, Reeve AK, Perry RH, Jaros E, Hersheson JS, Betts J, Klopstock T, Taylor RW, Turnbull DM. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nat Genet* 2006;38:515-517.
 39. Liu CY, Lee CF, Wei YH. Quantitative effect of 4977 bp deletion of mitochondrial DNA on the susceptibility of human cells to UV-induced apoptosis. *Mitochondrion* 2007;7:89-95.
 40. Wang J, Silva JP, Gustafsson CM, Rustin P, Larsson NG. Increased in vivo apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA gene expression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:4038-4043.
 41. Lee HC, Wei YH. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and apoptosis in aging. *Exp Biol Med (Maywood)* 2007;232:592-606.
 42. Wang E, Wong Alice, Gino Cortopassi. The rate of mitochondrial mutagenesis is faster in mice than humans. *Mutation Res* 1997;377:157-166.
 43. Kujoth GC, Bradshaw PC, Haroon S, Prolla TA. The role of mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. *PLoS Genet* 2007;3:e24.
 44. Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AM, Elsas LJ 2nd, Nikoskelainen EK. Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science* 1988;242:1427-1430.
 45. Shoffner JM, Lott MT, Lezza AM, Seibel P, Ballinger SW, Wallace DC. Myoclonic epilepsy and ragged-red fiber disease (MERRF) is associated with a mitochondrial DNA tRNA^{Lys} mutation. *Cell* 1990;61:931-937.
 46. Goto Y, Nonaka I, Horai SA. A mutation in the tRNA(Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies. *Nature* 1990;348:651-653.
 47. Zhang C, Liu VW, Addressi CL, Sheffield DA, Linnane AW, Nagley P. Differential occurrence of mutations in mitochondrial DNA of human skeletal muscle during aging. *Hum Mutat* 1998;11:360-371.
 48. Liu VW, Zhang C, Pang CY, Lee HC, Lu CY, Wei YH, Nagley P. Independent occurrence of somatic mutations in mitochondrial DNA of human skin from subjects of various ages. *Hum Mutat* 1998;11:191-196.
 49. Pallotti F, Chen X, Bonilla E, Schon EA. Evidence that specific mtDNA point mutations may not accumulate in skeletal muscle during normal human aging. *Am J Hum Genet* 1996;59:591-602.
 50. Michikawa Y, Mazzucchelli F, Bresolin N, Scarlato G, Attardi G. Aging-dependent large accumulation of point mutations in the human mtDNA control region for replication. *Science* 1999;286:774-779.
 51. Wang Y, Michikawa Y, Mallidis C, Bai Y, Woodhouse L, Yarasheski KE, Miller CA, Askanas V, Engel WK, Bhasin S, Attardi G. Muscle-specific mutations accumulate with aging in critical human mtDNA control sites for replication. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:4022-4027.
 52. Zhang J, Asin-Cayuela J, Fish J, Michikawa Y, Bonafe M, Olivieri F, Passarino G, De Benedictis G, Franceschi C, Attardi G. Strikingly higher frequency in centenarians and twins of mtDNA mutation causing remodeling of replication origin in leukocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:1116-1121.
 53. Coskun PE, Ruiz-Pesini E, Wallace DC. Control region mtDNA variants: longevity, climatic adaptation, and a forensic conundrum. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:2174-2176.
 54. Lin MT, Simon DK, Ahn CH, Kim LM, Beal MF. High aggregate burden of somatic mtDNA point mutations in aging and Alzheimer's disease brain. *Hum Mol Genet* 2002;11:133-145.
 55. Simon DK, Lin MT, Zheng L, Liu GJ, Ahn CH, Kim LM, Mauck WM, Twu F, Beal MF, Johns DR. Somatic mitochondrial DNA mutations in cortex and substantia nigra in aging and Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2004;25:71-81.
 56. Smigrodzki R, Parks J, Parker WD. High frequency of mitochondrial complex I mutations in Parkinson's disease and aging. *Neurobiol Aging* 2004;25:1273-1281.
 57. Del Bo R, Bordoni A, Sciacco M, Di Fonzo A, Galbiati S, Crimi M, Bresolin N, Comi GP. Remarkable infidelity of polymerase gamma associated with mutations in POLG1 exonuclease domain. *Neurology* 2003;61:903-908.
 58. Wanrooij S, Luoma P, van Goethem G, van Broeckhoven C, Suomalainen A, Spelbrink JN. Twinkle and POLG defects enhance age-dependent accumulation of mutations

- in the control region of mtDNA. *Nucleic Acids Res* 2004;32:3053-3064.
59. Pesce V, Cormio A, Fracasso F, Vecchiet J, Felzani G, Lezza AM, Cantatore P, Gadaleta MN. Age-related mitochondrial genotypic and phenotypic alterations in human skeletal muscle. *Free Radic Biol Med* 2001;30:1223-1233.
 60. Masuyama M, Iida R, Takatsuka H, Yasuda T, Matsuki T. Quantitative change in mitochondrial DNA content in various mouse tissues during aging. *Biochim Biophys Acta* 2005;1723:302-308.
 61. Barazzoni R, Short KR, Nair KS. Effects of aging on mitochondrial DNA copy number and cytochrome c oxidase gene expression in rat skeletal muscle, liver, and heart. *J Biol Chem* 2000;275:3343-3347.
 62. Short KR, Bigelow ML, Kahl J, Singh R, Coenen-Schimke J, Raghavakaimal S, Nair KS. Decline in skeletal muscle mitochondrial function with aging in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:5618-5623.
 63. Greco M, Villani G, Mazzucchelli F, Bresolin N, Papa S, Attardi G. Marked aging-related decline in efficiency of oxidative phosphorylation in human skin fibroblasts. *FASEB J* 2003;17:1706-1708.
 64. Miller FJ, Rosenfeldt FL, Zhang C, Linnane AW, Nagley P. Precise determination of mitochondrial DNA copy number in human skeletal and cardiac muscle by a PCR-based assay: lack of change of copy number with age. *Nucleic Acids Res* 2003;31:e61.
 65. Frahm T, Mohamed SA, Bruse P, Gemund C, Oehmichen M, Meissner C. Lack of age-related increase of mitochondrial DNA amount in brain, skeletal muscle and human heart. *Mech Ageing Dev* 2005;126:1192-1200.
 66. Korpelainen H. Genetic maternal effects on human life span through the inheritance of mitochondrial DNA. *Hum Hered* 1999;49:183-185.
 67. Tanaka M, Gong JS, Zhang J, Yoneda M, Yagi K. Mitochondrial genotype associated with longevity. *Lancet* 1998;351:185-186.
 68. Dato S, Passarino G, Rose G, Altomare K, Bellizzi D, Mari V, Feraco E, Franceschi C, De Benedictis G. Association of the mitochondrial DNA haplogroup J with longevity is population specific. *Eur J Hum Genet* 2004;12:1080-1082.
 69. Samuels DC. Mitochondrial DNA repeats constrain the life span of mammals. *Trends Genet* 2004;20:226-228.
 70. Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink JN, Rovio AT, Bruder CE, Bohlooly-Y M, Gidlöf S, Oldfors A, Wibom R, Törnell J, Jacobs HT, Larsson NG. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 2004;429:417-423.
 71. Trifunovic A, Hansson A, Wredenberg A, Rovio AT, Dufour E, Khvorostov I, Spelbrink JN, Wibom R, Jacobs HT, Larsson NG. Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:17993-17998.
 72. Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, Hofer T, Seo AY, Sullivan R, Jobling WA, Morrow JD, Van Remmen H, Sedivy JM, Yamasoba T, Tanokura M, Weindruch R, Leeuwenburgh C, Prolla TA. Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress, and apoptosis in mammalian aging. *Science* 2005;309:481-484.
 73. Loeb LA, Wallace DC, Martin GM. The mitochondrial theory of aging and its relationship to reactive oxygen species damage and somatic mtDNA mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:18769-18770.
 74. Vermulst M, Bielas JH, Kujoth GC, Ladiges WC, Rabinovitch PS, Prolla TA, Loeb LA. Mitochondrial point mutations do not limit the natural lifespan of mice. *Nat Genet* 2007;39:540-543.
 75. Khrapko K, Vijg J. Mitochondrial DNA mutations and aging: a case closed? *Nat Genet* 2007;39:445-446.
 76. Khrapko K, Kraysberg Y, de Grey AD, Vijg J, Schon EA. Does premature aging of the mtDNA mutator mouse prove that mtDNA mutations are involved in natural aging? *Aging Cell* 2006;5:279-282.
 77. Meissner C. Mutations of mitochondrial DNA - cause or consequence of the ageing process? *Z Gerontol Geriatr* 2007;40:325-333.
 78. Khrapko K, Kraysberg Y, de Grey AD, Vijg J, Schon EA. Does premature aging of the mtDNA mutator mouse prove that mtDNA mutations are involved in natural aging? *Aging Cell* 2006;5:279-282.
 79. Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* 2005;39:359-407.
 80. Katzov H. SORL1 adds another piece to the complex puzzle of Alzheimer disease genetics. *Clin Genet* 2007;72:183-184.
 81. Castellani R, Hirai K, Aliev G, Drew KL, Nunomura A, Takeda A, Cash AD, Obrenovich ME, Perry G, Smith MA. Role of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 2002;70:357-360.
 82. Harman D. Alzheimer's disease: role of aging in pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2002;959:384-395.
 83. Lustbader JW, Cirilli M, Lin C, Xu HW, Takuma K, Wang N, Caspersen C, Chen X, Pollak S, Chaney M, Trinchese F, Liu S, Gunn-Moore F, Lue LF, Walker DG, Kuppusamy P, Zewier ZL, Arancio O, Stern D, Yan SS, Wu H. ABAD directly links Abeta to mitochondrial toxicity in Alzheimer's disease. *Science* 2004;304:448-452.
 84. Coskun PE, Beal MF, Wallace DC. Alzheimer's brains harbor somatic mtDNA control-region mutations that suppress mitochondrial transcription and replication. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:10726-10731.
 85. Higami Y, Shimokawa I. Apoptosis in the aging process. *Cell Tissue Res* 2000;301:125-132.
 86. Beal MF. Mitochondria take center stage in aging and neurodegeneration. *Ann Neurol* 2005;58:495-505.
 87. de Grey A. A strategy for postponing aging indefinitely. *Stud Health Technol Inform* 2005;118:209-219.
 88. Pellegrini M, Pacini S, Baldari CT. p66SHC: the apoptotic side of Shc proteins. *Apoptosis* 2005;10:13-18.
 89. Hajnóczky G, Hoek JB. Cell signaling. Mitochondrial longevity pathways. *Science* 2007;315:607-609.

90. Pinton P, Rimessi A, Marchi S, Orsini F, Migliaccio E, Giorgio M, Contursi C, Minucci S, Mantovani F, Wieckowski MR, Del Sal G, Pelicci PG, Rizzuto R. Protein kinase C beta and prolyl isomerase 1 regulate mitochondrial effects of the life-span determinant p66Shc. *Science* 2007;315:659-663.
91. Pandolfi S, Bonafè M, Di Tella L, Tiberi L, Salvioli S, Monti D, Sorbi S, Franceschi C. p66(shc) is highly expressed in fibroblasts from centenarians. *Mech Ageing Dev* 2005;126:839-844.
92. Agarwal S, Sohal RS. Differential oxidative damage to mitochondrial proteins during aging. *Mech Ageing Dev* 1995;85:55-63.



生物醫學
BIOMEDICINE JOURNAL

粒線體與老化

引言人：曾嶽元醫師（馬偕紀念醫院）

參與討論之學者專家：李新城副教授（國立陽明大學）、彭宗義醫師（財團法人長庚紀念醫院基隆院區）、謝榮鴻副教授（台北醫學大學）（以上依姓氏筆畫順序排列）

曾嶽元醫師：感謝諸位專家在百忙之中抽空參加此座談會。我先提一個問題作引言。眾所周知，粒線體（mitochondrion）的有氧呼吸（aerobic respiration）會產生自由基（free radical），隨後產生活化氧化物（reactive oxygen species; ROS）。由於粒線體DNA（mitochondrial DNA; mtDNA）位於ROS附近，因此特別容易遭受破壞。又因為粒線體過去被認為缺乏DNA修補系統（DNA repair system），因此，當mtDNA被ROS攻擊後，自然會有突變（mutation）產生。接下來，突變的mtDNA又會導致更多的ROS產生，因而出現「ROS→mtDNA突變→ROS→mtDNA突變→…」的惡性循環。此理論很漂亮地解釋了為什麼老化是持續不斷的過程。然而，本文作者提到，粒線體還是有相當程度的DNA修補系統，如果是這樣的話，正常的粒線體應該不太容易發生突變才對。當然，這裡提到的「不太容易發生」，指得是在一個人的壽命以內的時間長度。如果指得是整個人類演化歷史的時間規模，那麼，比起核DNA（nuclear DNA）而言，mtDNA的突變還是容易很多。如果此假設是正確的，那麼前述所謂的「惡性循環」很難成立。如此一來，我們要如何解釋「老化」是一個持續進行的生物過程？

謝榮鴻副教授：粒線體中的修復系統確實存在，但為何突變仍會大量發生於mtDNA中？我認為，這是因為mtDNA的修復應該是伴隨著mtDNA的複製進行的緣故。換句話說，當粒線體處於休止狀態時，即使有修復系統，對於突變的修補或移除，也無法發揮作用。以卵子為例，早在母體還是胚胎時，卵子就已經存在，亦即如果母體的年齡是四十歲，那麼其卵子也存在有四十年之久了。卵子中的粒線體在未受精前是處於休止狀態，理論上不應該有mtDNA的突變，但事實上，許多文獻（包括我們自己實驗室的觀察）都指出，卵子有老化的現象，而且也有mtDNA的突變。處於非活化狀態的粒線體，其DNA的修復能力應該很差。所以，即使有良好的DNA修復能力，也不能讓所有的粒線體都能免除突變的發生。從這個觀點看起來，前述所謂的「惡性循環」還是能夠成立的。

彭宗義醫師：我同意謝副教授的看法。這篇文章中也提到，D-loop上的C150T單核苷酸多型性（single nucleotide polymorphism）在一百歲以上的人中較常出現，而這可能是因為C150T改變mtDNA輕股（light strand; L-strand）的複製起始點（replication origin），導致帶有此多型性的mtDNA較具複製優勢的關係。正如同謝副教授所言，複製活性高的粒線體之DNA修復能力較佳，所以mtDNA突變會比較少，老化也就比較慢一點。

李新城副教授：最近的研究發現，mtDNA的點突變（point mutation）可能不是造成老鼠老化的原因。而且在老年人的黑質神經細胞（substantia nigra neurons）中，偵測出大量mtDNA缺損（deletion）累積的情況。因此，如果

mtDNA突變和老化有關，那麼，由於mtDNA缺損會造成基因喪失，可能會導致比較嚴重的傷害，造成細胞死亡，進而可能影響老化的速度。

謝榮鴻副教授：缺損不單只是基因喪失而已。粒線體基因的轉錄（transcription）為多順反子轉錄（polycistronic transcript）形式，缺損段的前後兩端DNA接在一起後，有可能產生新的融合基因（fusion gene），形成具未知作用的蛋白質。

曾嶽元醫師：不管是基因喪失或未知融合基因的產生，正如李副教授所提到的，這些情形都可能造成細胞死亡。而當大量的細胞死亡時，對應到臨床上觀察到的現象，即為器官組織的萎縮（atrophy）。例如，老年人的腦會變薄，就是腦細胞死亡，造成萎縮的一個實例。當細胞死亡後，有缺損突變的mtDNA會跟著消失，因此，當研究人員測量缺損突變時，自然會發現缺損突變沒有想像中嚴重。

彭宗義醫師：這篇文章中也提到一個與此話題有關的有趣問題：mtDNA的突變是老化的原因，還是結果？如果mtDNA突變是老化的結果，那麼年紀愈大的人應該會有愈多的mtDNA突變。如果mtDNA突變是老化的原因，那麼mtDNA突變量越多的人，年紀應該越大。因此，不管mtDNA突變和老化的因果關係為何，只要兩者相關，就必須要有一個證據支持，亦即老年人比年青人有更多的mtDNA突變。請問目前學界有發現這種證據嗎？

曾嶽元醫師：是的，是有這種證據存在，但是很弔詭的是，此一關聯性是在比較一群人時，才能觀察得到。若單只是拿兩個人來做比較的話，年紀大的那個人不見得會比年紀輕的那個人有更多的mtDNA突變。

李新城副教授：這麼說來，mtDNA突變還是不能拿來作老化的指標。

謝榮鴻副教授：我認為mtDNA突變只是老化結果的一種呈現，誠如我先前提到的，mtDNA的修復應該是伴隨著mtDNA的複製進行的，細胞能否再進行複製，或是粒線體是否可以再進行生合成（mitochondrial biogenesis），才是比較重要的老化指標，粒線體持續進行生合成，突變就不容易累積，一旦粒線體生合成速率趨緩，亦即我們偵測到mtDNA突變大量存在時，就呈現一種老化的結果。我們在實驗室可以分離細胞內的粒線體，測量粒線體的活性或其生合成能力，這些比起mtDNA突變，或許更能作為老化的指標。

曾嶽元醫師：本文的作者提到，美國老化研究聯合會（The American Federation for Aging Research）提出，「老化生物性指標」的準則是：此指標要比實際年齡更能預測自然老化（而非疾病造成的老化）的速度，而且這種指標的測量不會傷及人體，且可測試於動物，同時也不能涉及複雜且昂貴的技術。按照此理想的標準，「分離粒線體以測量粒線體的活性」顯然不十分符合。請問目前可能存在符合標準的指標嗎？

彭宗義醫師：我們不能急著在粒線體找老化的指標，因為粒線體並不是老化機轉中唯一的參與者。本文的作者就提出一些證據，指出老化還有其他的參與者。

謝榮鴻副教授：粒線體確實不是老化的唯一參與者！有理論提到，運動會促使粒線體產生大量自由基，進而造成粒線體傷害及老化，但最近有論文¹指出，老鼠基因—phosphoenolpyruvate carboxykinase高度表現以後，不僅可以改變能量代謝的型態，還會增長壽命，其中一個重要的觀察發現是，這種基因改造的老鼠因為不容易在運動中感到疲累，所以可以持續運動，其粒線體因而增生，且保持良好的活性，這使得18個月大的基因改造鼠與6個月大的同種老鼠有相似的體脂肪比例，說明粒線體的健康與老化的相關性。

李新城副教授：如同各位所言，我們對老化機制的知識還很有限。這篇文章面面俱到地把正反多方面的意見都呈現給讀者，是一篇非常中肯的好文章。

曾嶽元醫師：感謝大家熱烈的討論，使我們都很有收穫，相信讀者們也能藉由此討論分享我們的感想。謝謝各位！

引用文獻

1. Hakimi P, Yang J, Casadesus G, Massillon D, Tolentino-Silva F, Nye CK, Cabrera ME, Hagen DR, Utter CB, Baghdy Y, Johnson DH, Wilson DL, Kirwan JP, Kalhan SC, Hanson RW. Overexpression of the cytosolic form of phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP) in skeletal muscle repatterns energy metabolism in the mouse. *J Biol Chem* 2007;282:32844-32855.



生物醫學
BIOMEDICINE JOURNAL