

· 临床研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2025.01.009

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20241128.1105.011\(2024-11-28\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20241128.1105.011(2024-11-28))

重庆某“区域长寿”聚集区不同年龄段老年男性的 mtDNA 变异率分析*

邹小仓^{1,2}, 王 瑞¹, 王伟帅¹, 罗勇军^{1△}

(1. 中国人民解放军陆军军医大学陆军卫勤训练基地军事医学地理学教研室, 重庆 400038;

2. 中国人民解放军联勤保障部队第 941 医院康复医学科, 西宁 810000)

[摘要] **目的** 研究重庆某“区域长寿”聚集区不同年龄段老年男性的生活习惯和血生化指标的差异及高龄男性老年人(≥ 90 岁)线粒体 DNA(mtDNA)的高频变异情况。**方法** 随机选择重庆某“区域长寿”聚集区 ≥ 60 岁老年男性作为研究对象,依据年龄分为 A 组(60~<70 岁)、B 组(70~<80 岁)、C 组(80~<90 岁)、D 组(≥ 90 岁,高龄),比较不同年龄组间蔬菜水果食用情况、奶类豆类食用情况、户外活动情况、睡眠时间、血生化指标的差异;然后对上述人员采集外周血提取 mtDNA 并测序,通过生物信息学分析找出各组与 D 组间差异有统计学意义的 mtDNA 突变。**结果** 不同年龄组间蔬菜水果食用情况、奶类豆类食用情况、户外活动情况、睡眠时间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);血生化指标中红细胞和肌酐在部分组间差异有统计学意义($P < 0.05$);线粒体 mtDNA 突变分析共发现 4 105 个突变位点,以单碱基突变为,最常见的突变为 T>C (22.57%),其次是 C>T(19.82%)、A>G(19.36%);D 组 mtDNA 平均突变率最高,为 8.392%,其中共发现 3 个 mtDNA 变异在不同年龄组与 D 组比较间差异均有统计学意义($P < 0.1$),包括: mtDNA5396-5411CAACGTA AAA>C、mtDNA5414A>T、mtDNA5417G>T。**结论** 不同年龄段男性老年人生活习惯无明显差异;高龄组 mtDNA 突变率最高;mtDNA5396-5411CAACGTA AAA>C、mtDNA5414A>T、mtDNA5417G>T 变异可能与“区域长寿”相关。

[关键词] 线粒体 DNA;基因;变异;生活习惯

[中图分类号] R161.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2025)01-0046-06

Analysis on mtDNA variation rate of elderly people at different age groups in a “regional longevity” gathering area in Chongqing*

ZOU Xiaocang^{1,2}, WANG Rui¹, WANG Weishuai¹, LUO Yongjun^{1△}

(1. Teaching and Researching Section of Military Medical Geography, Army Health Service Training

Base, Army Medical University, Chongqing 400038, China; 2. Department of

Rehabilitation Medicine, 941 Hospital of PLA Joint Logistic Support Force,

Xining, Qinghai 810000, China)

[Abstract] **Objective** To study the differences in living habit and blood biochemical indicators of male elderly people at different age groups in a “regional longevity” gathering area in Chongqing and the high frequency variation of mitochondrial DNA (mtDNA) in the elderly people (≥ 90 years old). **Methods** The male elderly people aged ≥ 60 years old in a “regional longevity” gathering area in Chongqing were randomly selected as the study subjects and divided into the group A (60—<70 years old), group B (70—<80 years old), group C (80—<90 years old) and group D (≥ 90 years old). The differences of vegetable and fruit consumption, dairy bean consumption, outdoor activities, sleep time and blood biochemical indexes were compared among different age groups. Then peripheral blood in the above subjects was collected for extracting mtDNA and sequencing. The meaningful mtDNA mutations between the various groups and group D were found out by the bioinformatics analysis. **Results** There were no statistically significant differences in consumption of vegetables and fruits, consumption of dairy beans, outdoor activities and sleep duration among different age groups ($P > 0.05$). There were statistically significant differences in erythrocyte and creatinine of blood biochemical indexes among the partial groups ($P < 0.05$). The mitochondria mutation analysis found 4 105 mtDNA mutation sites, mainly single base mutation, the most common mutation was T>C (22.57%), followed

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(41877518)。△ 通信作者, E-mail: ajun-333333@163.com。

by C>T (19.82%) and A>G (19.36%). The average mutation rate of mtDNA in the group D was the highest (8.392%), in which 3 mtDNA variants were found to have significant differences between different age groups and group D ($P < 0.1$), including mtDNA5396-5411CAACGTAAA>C, mtDNA5414A>T and mtDNA5417G>T. **Conclusion** There was no significant difference in the living habits of male elderly people of different ages. The mutation rate of mtDNA in the advanced age group was the highest. mtDNA5396-5411CAACGTAAA>C, mtDNA5414A>T and mtDNA5417G>T variations may be related to "regional longevity".

[Key words] mitochondrial DNA; gene; variation; living habit

重庆某“区域长寿”聚集区于 2012 年被评为“中国长寿之乡”。根据最新可查询的官方数据,截至 2022 年初,该区有百岁以上老人 182 人,较 2012 年报批“中国长寿之乡”时增加了 60 名。现有研究认为,地区人口的寿命水平与该地区的自然环境、经济水平、医疗条件、生活习惯及家族遗传息息相关^[1]。本团队前期的研究成果显示环境因素是影响长寿及相关表型的重要因素^[2]。英国医学期刊 *British Medical Journal* 发表的一份样本量超 10 万人,跟踪时间持续 30 多年的观察性研究显示健康的生活习惯能够大大降低早逝的风险^[3]。不同的生活习惯及血生化指标在不同年龄段老年人是否存在明显差异却鲜有报道。本研究拟对不同年龄段老年男性的蔬菜水果食用情况、奶类豆类食用情况、户外活动情况、睡眠时间进行比较研究。同时还分析了不同年龄段老年男性的血生化指标差异,探究血生化指标的年龄特征。

人类的衰老是以伴随时间相关性的体能下降和线粒体突变为特征的生命过程,多种有害因素的积累导致组织和细胞出现渐进性功能损伤,最终导致死亡^[1]。线粒体是细胞质中最重要的细胞器之一,是细胞内产生和存储三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的主要场所,同时还参与调节细胞凋亡、血红素和胆固醇的生物合成、细胞钙的整合和释放,也是细胞中活性氧(reactive oxygen species, ROS)的主要来源^[4]。线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)由 16 569 个碱基对组成,编码 37 个基因,其中包括:13 种微 RNA(microRNAs, mRNAs),2 种核糖体 RNA(ribosomal RNAs, rRNAs),22 种转移 RNA(transfer ribonucleic acid, tRNA)。人类的 mtDNA 极易发生突变,大约是核 DNA(nuclear DNA, nDNA)突变率的 10~20 倍^[5],且在所有 mtDNA 突变中,约 1/3 的序列变异可能具有重要的功能^[6]。为了探究不同年龄段老年人 mtDNA 的变异情况,本研究拟对不同年龄段的老年男性外周血 mtDNA 测序并进行单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)及插入和缺失(insertion and deletion, InDel)的变异分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料

从重庆某“区域长寿”聚集区下辖的 4 个地区的养老院按照自愿的原则选择 148 名 ≥60 岁老年男性作为研究对象,纳入标准:(1)年龄 >60 岁的老年男

性;(2)平素身体健康,无影响血生化指标的重大疾病;(3)知情同意且配合调查者。依据年龄将其分为 4 组,即 A 组(60~<70 岁)33 名、B 组(70~<80 岁)55 名、C 组(80~<90 岁)50 名、D 组(≥90 岁,高龄)10 名。本研究已通过陆军军医大学伦理委员会审核同意(审批号:2020 第 010-02)。

1.2 方法

1.2.1 问卷调查及统计分析

比较不同年龄段老年男性生活习惯的差异,收集 148 名老年男性的生活习惯信息,包括:蔬菜水果食用情况、奶类豆类食用情况、户外活动情况、睡眠时间,并进行统计分析。其中蔬菜水果食用情况及奶类豆类食用情况依据食用频率按照 1~4 分计分,分数越高表示食用频率越高;户外活动依据每天活动的时间按照 1~5 分计分,分数越高表示每天活动时间越长;每天睡眠时间按照实际时间统计。另外采集 148 名老年男性的静脉血,进行血生化检测,由中国人民解放军陆军军医大学附属第一医院检验科完成检测,分析不同年龄段老年男性的血液指标差异。

1.2.2 全血样本采集

按照分组每人抽取 4 mL 血液标本置于含乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)的抗凝管中,-20 °C 保存备用。抽血要求为晨起空腹,无体感不适。采样时间在 2021 年 8 月。

1.2.3 基因组 DNA 提取

将全血标本置于 37 °C 水浴锅复温 30 min;取无菌无酶 2 mL EP 管,加入 500 μL 全血标本及 1 200 μL 红细胞裂解液,充分裂解 10 min 后,12 000 r/min 离心 2 min,弃上清液;再次加入 1 200 μL 红细胞裂解液重复上述步骤一次;向沉淀的白细胞团中加入 500 μL 细胞核裂解液,反复轻柔吹打使细胞膜破裂,DNA 充分溶解;加入 250 μL 蛋白沉淀液,旋涡震荡 30 s,12 000 r/min 离心 5 min;取上清液置于新的无菌无酶 EP 管中,并加入 500 μL 异丙醇使基因组 DNA 沉淀;9 000 r/min 离心 2 min,弃上清液;用新配置的 70%乙醇溶液洗涤 DNA 两次,加入 50 μL DNA 溶解液重悬 DNA 样品。样品质检:使用 Qubit2.0 检测 DNA 浓度,DNA 浓度 >20 ng/μL,总量 >0.1 μg 符合要求。

1.2.4 文库构建及变异信息挖掘和分析

该工作由北京迈基诺基因科技有限公司完成。

基因组 DNA 利用 Covaris 破碎仪随机打断成长度为 350 bp 的片段,磷酸化并加 A 尾进行末端修复,片段两端分别连接接头,经过环化,制备成 DNA 文库。文库构建完成后,用 Qubit2.0 进行初步定量质检,然后使用 Agilent2100 对文库的片段长度进行检测。文库检测合格后准备测序,测序使用华大超高通量基因测序仪 MGISEQA T7,测序策略采用双端测序 PE150。高通量测序得到的原始图像数据文件经碱基识别分析转化为原始测序序列,得到原始测序数据(raw data)。对原始测序数据进行质控,得到高质量的干净测序数据(clean data);然后按照分组将干净测序数据与人参考基因组序列进行比对分析,获得 Bam 文件;最后基于 Bam 文件使用 Sentieon 软件^[7]的 TNscope 工具进行 SNP 及 InDel 变异检测,用 Annovar 软件^[8]同时关联多个数据库对变异结果进行注释。对找到的有意义的突变使用 Protparam 网页版软件(<https://web.expasy.org/protparam/>)对突变前后的蛋白理化性质进行分析。

1.3 统计学处理

采用 SPSS23.0 软件分析数据,正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分

析(ANOVA),组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同年龄段老年男性生活习惯差异分析

148 名老年男性共发放 148 份问卷,其中 30 份问卷结果缺失,有效问卷 118 份,包括 A 组 26 份、B 组 39 份、C 组 45 份、D 组 8 份。单因素方差分析结果表明不同组间蔬菜水果食用情况、奶类豆类食用情况、户外活动情况、睡眠时间比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),即不同组间生活习惯无明显差异,见表 1。

2.2 血生化单因素方差分析

对 148 名老年男性的血生化结果进行分析,缺失数据 7 份,有效数据 141 份。其中 A 组 31 份、B 组 54 份、C 组 46 份、D 组 10 份。单因素方差分析结果显示:不同组间红细胞、肌酐水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。其中 A 组红细胞水平与 B、C、D 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);A 组肌酐水平与 C、D 组及 B 组与 C 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 1 各组老年男性生活习惯单因素方差分析结果($\bar{x} \pm s$)

项目	A 组($n=26$)	B 组($n=39$)	C 组($n=45$)	D 组($n=8$)	F	P
蔬菜水果食用情况(分)	2.000±0.748	2.051±0.916	2.111±0.934	2.125±0.641	0.105	0.957
奶类豆类食用情况(分)	2.346±0.745	2.462±0.941	2.111±0.982	2.500±0.756	1.211	0.309
户外活动情况(分)	1.731±0.827	2.154±1.040	2.111±1.265	2.125±1.356	0.880	0.454
睡眠时间(h)	6.385±1.627	6.500±1.743	5.522±2.289	6.062±2.112	1.996	0.119

表 2 各组老年男性血生化单因素方差分析结果($\bar{x} \pm s$)

项目	A 组($n=31$)	B 组($n=54$)	C 组($n=46$)	D 组($n=10$)	F	P
红细胞($\times 10^{12}/L$)	4.637±0.552	4.252±0.607	4.214±0.782	4.146±0.672	3.229	0.025
尿素(mmol/L)	6.664±2.396	6.829±2.138	7.282±2.681	8.509±3.278	1.802	0.150
肌酐($\mu\text{mol}/L$)	70.097±22.028	74.852±21.370	85.778±26.768	90.000±37.491	3.652	0.014
尿酸($\mu\text{mol}/L$)	321.839±71.884	325.944±86.181	353.400±87.036	319.546±70.424	1.336	0.265
ALT(IU/L)	16.432±10.354	15.601±11.374	14.964±8.990	11.346±3.399	0.736	0.533
AST(IU/L)	24.093±8.154	25.626±12.676	25.007±12.146	24.554±6.141	0.128	0.943
总蛋白(g/L)	71.645±4.542	70.492±6.344	70.488±5.757	73.764±4.379	1.271	0.287
ALB(g/L)	41.300±2.955	39.633±2.750	39.373±3.627	40.164±1.871	2.768	0.054
球蛋白(g/L)	30.345±3.971	30.859±5.565	31.116±4.518	33.600±4.358	1.270	0.287
白球比	1.391±0.263	1.337±0.324	1.290±0.209	1.216±0.175	1.518	0.213
总胆红素(mmol/L)	10.213±3.469	10.842±4.017	11.873±3.826	12.836±3.817	1.979	0.120
总胆固醇(mmol/L)	4.696±0.930	4.359±0.904	4.595±1.218	4.733±0.742	0.998	0.396
甘油三酯(mmol/L)	1.915±1.536	1.356±0.741	1.485±0.821	1.586±0.697	2.154	0.096
高密度脂蛋白-胆固醇(mmol/L)	1.061±0.256	1.180±0.261	1.155±0.251	1.185±0.295	1.529	0.210
低密度脂蛋白-胆固醇(mmol/L)	2.916±0.740	2.754±0.695	2.880±0.909	2.990±0.592	0.494	0.687
葡萄糖(mmol/L)	6.213±3.584	6.574±4.890	6.466±2.805	8.310±4.801	0.781	0.506

白球比:ALB 与球蛋白比值。

表 3 各组老年男性红细胞、肌酐水平两两比较结果

项目	比较组别	平均值差值	P	95%CI
红细胞	A 组 vs. B 组	0.384×10 ¹² /L	0.011	0.091~0.678
	A 组 vs. C 组	0.423×10 ¹² /L	0.007	0.117~0.729
	A 组 vs. D 组	0.491×10 ¹² /L	0.035	0.036~0.947
	B 组 vs. C 组	0.038×10 ¹² /L	0.775	-0.228~0.305
	B 组 vs. D 组	0.107×10 ¹² /L	0.623	-0.537~0.323
	C 组 vs. D 组	0.069×10 ¹² /L	0.758	-0.507~0.370
肌酐	A 组 vs. B 组	-4.755 μmol/L	0.397	-15.811~6.301
	A 组 vs. C 组	-15.681 μmol/L	0.008	-27.133~-4.228
	A 组 vs. D 组	-19.903 μmol/L	0.024	-37.126~-2.684
	B 组 vs. C 组	-10.926 μmol/L	0.031	-20.829~-1.023
	B 组 vs. D 组	-15.148 μmol/L	0.067	-31.379~1.082
	C 组 vs. D 组	-4.222 μmol/L	0.614	-20.725~12.281

2.3 mtDNA 测序结果分析

mtDNA 测序共采集血液标本 148 例,共发现 4 105 个突变位点,其中单碱基突变 3 015 个,插入 749 个、缺失 341 个。在 3 015 个碱基突变中,A>C 突变 76 个,A>G 突变 584 个,A>T 突变 96 个,C>A 突变 114 个,C>G 突变 169 个,C>T 突变 598 个,G>A 突变 469 个,G>C 突变 51 个,G>T 突变 32 个,T>A 突变 62 个,T>C 突变 681 个,T>G 突变 83 个。最常见的突变为 T>C(22.59%),其次是 C>T(19.83%)、A>G(19.37%)。对 4 105 个突变位点,计算不同年龄组的总突变频次,从而比较不同年龄组的平均突变率。各年龄段平均突变率=各年龄

组总突变频次/(各组样本量×总突变位点数目)。A、B、C、D 组 mtDNA 平均突变率见表 4,D 组平均突变率最高。

表 4 各年龄组 mtDNA 突变情况

项目	A 组 (n=33)	B 组 (n=55)	C 组 (n=50)	D 组 (n=10)
总突变频次(次)	9 636	15 719	14 729	3 445
平均突变率(%)	7.113	6.962	7.176	8.392

2.4 mtDNA 测序结果的生物信息学分析

A 组与 D 组比较,共发现 52 个有意义的突变,通过疾病预测显示部分突变可能与亚急性坏死性脑脊髓病、线粒体脑肌病伴高乳酸血症和卒中样发作有关;B 组与 D 组比较共发现 32 个有意义的突变,通过疾病预测显示部分突变主要可能与亚急性坏死性脑脊髓病有关;C 组与 D 组比较共发现 25 个有意义的突变,通过疾病预测显示部分突变可能与亚急性坏死性脑脊髓病、帕金森病有关。发现 3 个突变在 A、B、C 组与 D 组比较中均有统计学意义,分别是 mtDNA5396-5411CAACGTAAA>C、mtDNA5414A>T、mtDNA5417G>T,见表 5。这 3 个突变均在线粒体 ND2 基因上。其中 mtDNA5414A>T 改变使得编码蛋白 ND2 的第 315 个氨基酸由色氨酸(Trp)变成半胱氨酸(Cys);mtDNA5417G>T 改变使得编码蛋白 ND2 的第 316 个氨基酸由谷氨酰胺(Gln)变成组氨酸(His)。上述两个氨基酸的变化对蛋白理化性质的影响见表 6。

表 5 不同年龄组与 D 组比较均存在统计学意义的 3 个 mtDNA 突变

突变起始碱基位	突变结束碱基位	参考碱基	突变碱基	P _{A组 vs. D组}	P _{B组 vs. D组}	P _{C组 vs. D组}	基因名	cDNA 碱基变化	氨基酸残基变化
5 396	5 411	CAACGTAAAAATAAAA	C	0.010	0.010	0.013	ND2		
5 414	5 414	A	T	0.010	0.010	0.013	ND2	TGA>TGT	Trp(W)>Cys(C)
5 417	5 417	G	T	0.010	0.010	0.013	ND2	CAG>CAT	Gln(Q)>His(H)

表 6 突变前、后蛋白理化性质比较分析

项目	ND2(突变前)	ND2(突变后)
氨基酸数目	347	347
相对分子质量	38 960.91	38 886.85
理论等电点	9.84	9.77
分子化学式	C ₁₈₁₈ H ₂₈₈₂ N ₄₂₀ O ₄₇₁ S ₂₅	C ₁₈₁₁ H ₂₈₇₆ N ₄₂₀ O ₄₇₀ S ₂₆
原子总数	5 616	5 603
消化系数	75 400	69 900
不稳定系数	34.35	35.20

3 讨 论

外部环境的刺激可以通过调节基因表达的方式,

从而影响人的健康和寿命。吸烟能够导致 mtDNA 突变的积累,使得男性患 Leber 遗传性视神经病变的概率增加 50%~93%,女性患此病的概率增加 10%~33%^[9]。健康的饮食和规律适量的运动能够调节载脂蛋白和 ABC 转运蛋白基因的表达从而延长寿命^[10]。因此本研究首先分析了不同生活习惯在不同年龄段人群的差异。结果显示不同年龄段的老年男性的蔬菜水果食用情况、奶类豆类食用情况、户外活动情况、睡眠时间比较差异无统计学意义(P>0.05)。血生化结果显示红细胞和肌酐在部分组间差异有统计学意义(P<0.05)。A 组红细胞水平明显高于 B、C、D 组,可能与老年人造血功能减弱有关。A 组肌酐水平明显低于 C、D 两组,B 组肌酐水平明显低于

D 组,可能与随着年龄的增长,肾功能逐渐减退有关;但是本课题组认为凭该部分数据仅能说明上述抽样个体在这两个年龄段红细胞和肌酐表现出明显差异,并不能扩大得出这两个群体上述指标存在明显差异。上述指标与抽样个体的身体健康状况有很大关系,若抽样个体中存在贫血、造血功能障碍、肝肾功能损坏等情况,很容易影响该年龄段相关指标的情况。因此在统计分析之前宜明确抽样个体的身体健康状况。

mtDNA 位于线粒体基质当中,与呼吸链非常接近,呼吸链是活性氧的主要来源。因此,mtDNA 非常容易受到氧自由基的攻击,并且由于缺乏组蛋白的保护,往往会发生体细胞突变^[11]。活性氧诱导的损伤可导致碱基替换、错义突变和线粒体基因组的缺失,从而影响线粒体的功能^[12]。本研究中共检测到 4 105 个 mtDNA 突变,其中单碱基突变 3 015 个、插入 749 个、缺失 341 个,以碱基突变为主。通过对不同年龄段与 D 组对比找出有意义的 mtDNA 突变并进行疾病预测,发现上述突变可能与亚急性坏死性脑脊髓病、线粒体脑肌病伴高乳酸血症、卒中样发作及帕金森病有关。3 个共有的突变基因均位于 ND2 基因上,有研究表明 ND2 基因的多态性与弱精子症密切相关^[13]。同时,需要强调的是上述突变基因只有在相应器官达到一定的阈值时,才能表现出相关疾病及临床症状^[14]。本研究就其中 2 个基因突变对蛋白理化性质的影响进行了分析,结果显示突变前、后发生了细微的变化,二者不稳定系数均小于 40,属于较稳定的状态。造成 mtDNA 易突变原因有很多,除了与活性氧产生的位置距离较近有关外,还与 mtDNA 通过不对称路线进行复制有关,这种复制方式会导致重链以单链形式存在很长一段时间,从而导致核苷酸的自发脱氨^[15-16]。另外,线粒体中脱氧核糖核苷三磷酸(deoxynucleotide triphosphates, dNTPs)的不对称分布也可导致 mtDNA 复制期间的保真度降低,从而导致 mtDNA 的自发突变率更高^[17]。mtDNA 的复制从 D-loop 区开始,D-loop 由 3 股 DNA 链组成,该区域存在较高的变异性,并已被证明与特定类型的癌症的发病率有关。本研究在 D-loop 区共发现 476 个突变,rRNA 区存在 462 个突变,tRNA 区存在 317 个突变。

随着年龄的增长,mtDNA 突变的概率会逐渐增大。本研究结果也证实了这一点,≥90 岁 D 组 mtDNA 平均突变率为 8.392%,明显高于其他年龄组的平均突变率。另外,不同年龄段老年男性间均存在明显的 mtDNA 突变的差别,这些差别与该年龄段易发病间的关系仍需要进一步研究。线粒体突变导致的线粒体功能障碍与许多年龄相关的病变有关,如:退行性疾病和衰老等。本研究检测的突变位点中有 23 个位点突变与已被报道的某些疾病相关,包括:Leber 遗传性视神经病、进行性眼外肌麻痹、线粒体白质脑病、线粒体肌病、癫痫等。探究 mtDNA 突变与疾病的关系具有重大意义。致病性 mtDNA 突变的表型

由突变体和野生型基因组的比例决定^[18-19]。如果这个比例达到一个阈值就会导致疾病的发生^[20]。因此,可以通过靶向突变 mtDNA 从而降低 mtDNA 和野生型基因组的比率从而治愈与 mtDNA 突变密切相关的疾病^[19]。

另外,寻找各年龄段 mtDNA 的高频突变对法医学研究也有非常重要的意义,其为判断被害人年龄提供一定的科学依据。一项研究发现 mtDNA 4 977 bp 的缺失表现为明显的年龄特征:检测到 4 977 bp 缺失所需的 DNA 模板的量随年龄增加而减少,在 20 岁以下人群中检测不到 4 977 bp 缺失,在 20~30 岁人群中需 1 000 ng DNA 样本才可检测,而 70 岁以上人群仅需 1 ng DNA 模板的量就可检测到 4 977 bp 缺失^[21]。

本研究证实了不同年龄段老年男性在蔬菜水果食用情况、奶类豆类食用情况、户外活动情况、睡眠时间方面无明显差异;≥90 岁老年男性 mtDNA 平均突变率明显增加,不同年龄组间均存在有明显差异的 mtDNA 变异,高龄老年男性 mtDNA 平均突变率最高, mtDNA5396-5411CAACGTAAA > C、mtDNA5414A>T、mtDNA5417G>T 变异可能与长寿聚集区相关,可能在长寿聚集区中扮演了非常重要的角色。

参考文献

- [1] 吴雄芳,苗新普,陈志斌,等. 海南省百岁老人长寿因素的分析[J]. 中国老年学杂志,2009,29(13):1676-1677.
- [2] 朱凯薇,曾泽,陈宗涛,等. 环境因素对重庆江津长寿及其相关表型的影响[J]. 中国老年学杂志,2022,42(4):958-960.
- [3] 乐琪. 长寿的诀窍:保持健康的生活习惯[J]. 心血管病防治知识(科普版),2017,6(9):20.
- [4] DE GAETANO A, SOLODKA K, ZANINI G, et al. Molecular mechanisms of mtdna-mediated inflammation[J]. Cells,2021,10(11):2898.
- [5] WALLACE D C, STUGARD C, MURDOCK D, et al. Ancient mtDNA sequences in the human nuclear genome: a potential source of errors in identifying pathogenic mutations[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,1997,94(26):14900-14905.
- [6] WALLACE D C, FAN W, PROCACCIO V. Mitochondrial energetics and therapeutics[J]. Annu Rev Pathol,2010,5:297-348.
- [7] ALDANA R, FREED D. Data processing and germline variant calling with the sentieon pipeline[J]. Methods Mol Biol,2022,2493:1-19.
- [8] WANG K, LI M, HAKONARSON H. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants

- from high-throughput sequencing data[J]. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38 (16): e164.
- [9] KIRKMAN M A, YU-WAI-MAN P, KORSTEN A, et al. Gene-environment interactions in Leber hereditary optic neuropathy[J]. *Brain*, 2009, 132 (Pt 9): 2317-2326.
- [10] LUOMA P V. Gene activation regresses atherosclerosis, promotes health, and enhances longevity[J]. *Lipids Health Dis*, 2010, 9: 67.
- [11] SHOKOLENKO I, VENEDIKTOVA N, BOCHKAREVA A, et al. Oxidative stress induces degradation of mitochondrial DNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(8): 2539-2548.
- [12] SHARMA P, SAMPATH H. Mitochondrial DNA integrity: role in health and disease[J]. *Cells*, 2019, 8(2): 100.
- [13] 郑九嘉, 黄学锋, 杨宗, 等. mtND2 基因多态性与弱精子症的相关性分析[J]. *中国细胞生物学学报*, 2010, 32(4): 546-554.
- [14] 梁少姗, 张炯, 曾彩虹. 线粒体基因突变所致的遗传性线粒体病[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2023, 32(5): 492-495.
- [15] TANAKA M, OZAWA T. Strand asymmetry in human mitochondrial DNA mutations[J]. *Genomics*, 1994, 22(2): 327-35.
- [16] REYES A, GISSI C, PESOLE G, et al. Asymmetrical directional mutation pressure in the mitochondrial genome of mammals[J]. *Mol Biol Evol*, 1998, 15(8): 957-966.
- [17] SONG S, PURSELL Z F, COPELAND W C, et al. DNA precursor asymmetries in mammalian tissue mitochondria and possible contribution to mutagenesis through reduced replication fidelity[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102 (14): 4990-4995.
- [18] KANDUL N P, ZHANG T, HAY B A, et al. Selective removal of deletion-bearing mitochondrial DNA in heteroplasmic *Drosophila*[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13100.
- [19] MINCZUK M, PAPWORTH M A, MILLER J C, et al. Development of a single-chain, quasi-dimeric zinc-finger nuclease for the selective degradation of mutated human mitochondrial DNA[J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36 (12): 3926-3938.
- [20] YAN C, DUANMU X, ZENG L, et al. Mitochondrial DNA: distribution, mutations, and elimination[J]. *Cells*, 2019, 8(4): 379.
- [21] 徐晓玲, 郑卫平, 黄君键. 线粒体 DNA 和端粒与年龄相关性的研究进展[J]. *中国法医学杂志*, 2005, 20(6): 347-349.

(收稿日期: 2024-04-28 修回日期: 2024-09-28)

(编辑: 姚雪)

(上接第 45 页)

- 老年医学分会, 中国老年保健协会糖尿病专业委员会. 中国老年糖尿病诊疗指南(2021 年版)[J]. *中华糖尿病杂志*, 2021, 13(1): 14-46.
- [10] NAZIR S U R, HASSALI M A, SALEEM F, et al. Medication management program: adherence, disease-related knowledge, health-related quality of life, and glycemic control for type 2 diabetes mellitus[J]. *Altern Ther Health Med*, 2020, 26(Suppl. 2): 4-10.
- [11] 师铖, 秦光浩, 林铁柱. 糖尿病视网膜病变老年检障碍因素分析[J]. *国际眼科杂志*, 2023, 23 (4): 677-681.
- [12] 苏莉青, 王妹, 常健. 消化道肿瘤术后病人口服营养补充剂依从性研究进展[J]. *护理研究*, 2023, 37(15): 2734-2739.
- [13] MORRIS L S, SCHULZ R M. Patient compliance: an overview[J]. *J Clin Pharm Ther*, 1992, 17(5): 283-295.
- [14] 陈欢, 侯朝铭, 高静, 等. 中文版高血压患者服药依从性量表测量学特性的系统评价[J]. *中华护理杂志*, 2023, 58(2): 171-178.
- [15] 邹明菊, 施龙永, 代莉, 等. 糖尿病管理自我效能量表在提高患者依从性中的研究[J]. *糖尿病新世界*, 2020, 23(10): 89-91.
- [16] 郝耀梅, 任建业. 慢性病患者用药依从性管理案例分析[J]. *中国药物与临床*, 2021, 21(4): 685-686.
- [17] 杨斯曼, 张曦, 周梦萍, 等. 全科医疗核心特征功能对糖尿病患者治疗依从性的影响研究[J]. *中国全科医学*, 2022, 25(1): 62-69.
- [18] IMAMURA Y, TAKAHASHI Y, UCHIDA S, et al. Effect of multidisciplinary care of dialysis initiation for outpatients with chronic kidney disease[J]. *Int Urol Nephrol*, 2021, 53 (7): 1435-1444.

(收稿日期: 2024-05-11 修回日期: 2024-09-11)

(编辑: 姚雪)