

- [8] 于蕾, 张凡菲, 郎朗, 等. 甲苯二异氰酸酯对小鼠血液中氧化损伤及能量代谢标志物的影响 [J]. 环境与职业医学, 2007, 24 (5): 487-489.
- [9] 季宇彬, 汲晨锋, 邹翔, 等. 气相质谱法对小鼠体内甲苯二异氰酸酯代谢产物的鉴定分析 [J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27 (9): 1886-1889.
- [10] 郎朗, 刘惠鑫. TDI 在小鼠血清中的代谢及代谢产物的鉴定 [J]. 哈尔滨商业大学学报 (自然科学版), 2007, 23 (2): 138-141.
- [11] Sennbro C J, Lindh C H, Tinnerberg H, *et al.* Biological monitoring of exposure to toluene diisocyanate [J]. Scandinavian Journal of Work, Environment Health, 2004, 30 (5): 371-378.
- [12] Lind P, Dalene M, Skarping G, *et al.* Toxicokinetics of 2, 4-and 2, 6-toluenediamine in hydrolysed urine and plasma after occupational exposure to 2, 4-and 2, 6-toluene diisocyanate [J]. Occupational and Environmental Medicine, 1996, 53 (2): 94-99.

sirt 3 的作用机制及抗肿瘤研究进展

林凯丽¹, 王彦¹, 王津晗², 刘强¹

(1. 北京协和医学院/中国医学科学院放射医学研究所, 天津 300192; 2. 天津商业大学, 天津 300134)

摘要: 沉默信息调节因子 3 (sirt3) 是线粒体去乙酰化蛋白, 参与线粒体蛋白去乙酰化调节, 激活超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, SOD2), 降低线粒体活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 水平, 维持细胞内稳态平衡, 调节氧化、激素或者电离辐射等应激反应。sirt3 是线粒体高保真蛋白和抑癌基因, 其去乙酰化活性与长寿相关, 因此, sirt3 缺失可导致线粒体代谢异常和细胞损伤, 引起与衰老相关的病理症状。本文对 sirt3 的线粒体定位、调节和抑癌作用进行讨论, 阐明 sirt3 可以维持线粒体完整性和正常代谢活动, 某种程度上能够抑制肿瘤的发生。

关键词: 沉默信息调节因子 3 (sirt3); 超氧化物歧化酶 2 (SOD2); 活性氧 (ROS)

中图分类号: R99 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2014)04-0287-03 DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2014.04.019

Study progress on action mechanism and its anti-tumor effect of sirt3

LIN Kai-li*, WANG Yan, WANG Jin-han, LIU Qiang

(* . Institute of Radiation Medicine of Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

Abstract: The silent information regulator 3 (sirt3) is a mitochondrial acetylated protein, participates the regulation of mitochondrial protein deacetylation, which may activate superoxide dismutase 2 (SOD2) to reduce mitochondrial reactive oxygen species (ROS) level, maintain cellular homeostasis and regulate the stress reaction by oxidation, hormones or ionizing radiation etc. sirt3 also is a mitochondrial high fidelity protein and a tumor suppressor factor, its deacetylation activity is associated with longevity. Therefore, the lack of sirt3 can induce mitochondrial metabolic disorders and cell damage, produce pathological symptoms associated with aging. In this review, the mitochondrial localization, metabolic regulation and tumor suppressor function of sirt3 will be well discussed, that clarifies sirt3 playing a vital role in maintaining the integrity and the normal metabolism of mitochondria and inhibiting tumor occurrence in some degree.

Key words: silent information regulator 3 (sirt3); superoxide dismutase 2 (SOD2); reactive oxygen species (ROS)

沉默信息调节因子 3 (sirt3) 是哺乳动物 7 个 sirtuins 家族成员之一, 与酵母沉默信息调节基因 sir2 同源^[1]。sirtuins (sirt1~7) 是一类 NAD 依赖的去乙酰化蛋白和 ADP 核糖基转移酶, 是非组蛋白乙酰化主要调节因子, 其酶活性受到细胞中 NAD⁺ 和 NADH 含量的调节。NAD⁺ 含量较高时, sirtuins 蛋白酶被激活; 相反 NADH 含量较高时, sirtuins 蛋白酶活性受到抑制^[2]。哺乳动物体内 sirtuins 蛋白分布于整个细胞, 其中 sirt1、sirt6、sirt7 主要定位于细胞核, sirt2 定位于细胞质,

sirt3、sirt4、sirt5 定位于线粒体^[3], 分别参与多种细胞代谢和生理调节, 包括多数的氧化应激, 基因的稳定性, 细胞的存活、增殖、代谢和衰老, 以及器官的长寿等^[4-6]。

线粒体 sirt3 蛋白参与线粒体蛋白的翻译后修饰调节, 影响线粒体的能量代谢、底物氧化和细胞凋亡等活动。sirt3 蛋白是线粒体基质中的一个可溶性蛋白, 其编码发生于细胞核, 分子量为 45 kD, 含有一个 N-末端线粒体靶向序列, 进入线粒体后剪切为 28 kD 具有酶活性的蛋白质^[7]。与人类 sirt3 相比, 小鼠 sirt3 蛋白缺乏定位于线粒体的 N-末端 142 个氨基酸残基序列, 定位于细胞核旁边, 分布模式与人类基本相同^[8]。sirt3 作为一种惰性蛋白, 被激肽酶激活后参与细胞的氧化应激调节^[8], 抵抗与衰老和氧化应激相关的疾病。

1 sirt3 在线粒体中的作用

1.1 sirt3 的去乙酰化作用

收稿日期: 2013-12-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31300695, 31240052); 天津市自然科学基金 (13JCQNJC11600); 协和青年基金资助和中央高校基本科研业务费专项资金 (2012G01)

作者简介: 林凯丽 (1989—), 女, 硕士研究生, 研究方向: sirt3 基因在辐射防护中的抗氧化活性机理。

通讯作者: 刘强, 教授, E-mail: liuqiang@irm-cams.ac.cn.

线粒体是细胞中主要的细胞器之一,参与能量的转换、细胞信号转导和凋亡等重要代谢活动^[7]。线粒体蛋白的翻译后修饰能调节线粒体功能,乙酰化是一个重要的翻译后修饰调节过程,细胞中3285个乙酰化位点中2139个是线粒体蛋白。sirtuins 是第三类去乙酰化酶,和经典的去乙酰化酶不同,能够水解异常化学反应中的乙酰基团,去乙酰化赖氨酸残基,消耗 NAD⁺,释放尼克酰胺和乙酰化底物^[8]。线粒体三个 sirtuins 蛋白中,只有 sirt3^{-/-}小鼠表现出稳定的线粒体蛋白超乙酰化水平,表明 sirt3 可能是一种重要的线粒体去乙酰化酶。赖氨酸是重要的乙酰化基团,哺乳动物蛋白质组学研究表明接近 35% 的线粒体蛋白含有至少一个赖氨酸残基,能够发生乙酰化^[9],还有研究称这一数字接近 65%^[10]。sirt3 在赖氨酸残基的去乙酰化中发挥重要作用,能够去乙酰化下游靶向蛋白,使其直接参与细胞的氧化还原途径^[11]。可逆的赖氨酸乙酰化调节能够中和正电荷氨基酸,改变蛋白质的结构^[12],影响线粒体酶活性、蛋白质的稳定性、蛋白质之间的相互作用和靶向蛋白的亚细胞定位^[13]。有研究表明^[14,15],sirt3 能直接去乙酰化大量的线粒体蛋白,包括乙酰辅酶 A 合成酶、谷氨酸脱氢酶、长链酰基辅酶 A 脱氢酶、超氧化物歧化酶 2 (superoxide dismutase 2, SOD2)、琥珀酸脱氢酶等。与 sirt3 相比,sirt4^{-/-}和 sirt5^{-/-}小鼠线粒体蛋白不能发生高度乙酰化,表明 sirt4 和 sirt5 不具有去乙酰化酶活性^[16,17]。从代谢角度来看,NAD⁺ 依赖的 sirt3 去乙酰化调节表明 sirt3 蛋白定位于代谢通量的交叉作用位点,调节细胞的氧化还原状态和代谢途径,维持细胞内稳态的动态平衡。

1.2 sirt3 对线粒体 ROS 的清除

衰老和许多疾病产生的主要原因之一是线粒体氧化应激的积累,线粒体呼吸过程中能够产生天然副产物活性氧 (reactive oxygen species, ROS)。细胞中 ROS 的失调能够导致细胞组分的损伤,引起氧化应激。超氧化物歧化酶 (SOD) 等抗氧化酶可以清除 ROS,维持细胞的氧化还原状态。在 sirt3^{-/-}小鼠生殖细胞系中 ROS 的水平上调,而在 sirt3 过表达的细胞系中 ROS 水平得到抑制,说明细胞中 ROS 的水平与 sirt3 的表达量相关。sirt3 降低细胞中 ROS 的水平依赖于 SOD2。在 SOD2^{-/-}MEFs 中过表达 sirt3,细胞中 ROS 的水平并未发生显著变化,说明 SOD2 是 sirt3 的下游调节因子。sirt3 和 SOD2 的免疫沉淀结果显示二者能够发生生理性结合^[18],表明 SOD2 能够与 sirt3 直接相互作用。在 293T 细胞中分别转染 sirt3 和 sirt3-H248Y,结果显示 sirt3 过表达的细胞中 SOD2 的乙酰化水平和酶活性显著增加,而 sirt3-H248Y 过表达的细胞中效应相反^[18],说明 sirt3 是通过去乙酰化激活 SOD2 的。蛋白序列比对研究结果表明,SOD2 上 K53R 和 K89R 是 2 个保守的赖氨酸活化位点,二者同时发生突变或仅其中一个位点突变时,SOD2 的乙酰化水平降低;sirt3 能够同时降低 K53R 和 K89R 的乙酰化水平,而不是单独作用于其中一个位点^[18],表明 sirt3 能够去乙酰化 SOD2 上两个重要的赖氨酸残基,显著增强 SOD2 的活性,降低细胞中 ROS 的水平,提高细胞抗氧化应激能力。

研究证明,线粒体产生的 ROS 在肿瘤的发生中发挥重要作用,sirt3 的缺失能够替代抑癌基因的缺失,引起细胞损伤,形成肿瘤发生的微环境。在异体动物移植模型中,sirt3 的缺失能够刺激小鼠胚胎成纤维细胞形成肿瘤^[19]。对野生型和 sirt3^{-/-}MEFs 进行慢病毒转染,仅后者表现出永生。细胞克隆形成实验表明,sirt3^{-/-}MEFs 转染 RAS 后与野生型相比,克隆数目显著增加,表明 sirt3 可能是抑癌基因。还有人认为 sirt3 可能是线粒体的高保真蛋白,其功能的丧失能够引起细胞损伤和肿瘤增殖的微环境。

2 sirt3 对肿瘤发生的调节作用

sirt3 可能是一个线粒体高保真蛋白,能够维持线粒体结构的完整性,其去乙酰化活性可能与长寿相关^[20]。由于恶性肿瘤的发病率随着年龄的增长而显著增加,因此,肿瘤的发生机制和长寿之间可能存在某种潜在的联系^[21]。此外,肿瘤细胞线粒体中 ROS 水平的异常,表明肿瘤细胞基因组的不稳定性水平较高^[22]。有研究表明小鼠肝脏、心脏和棕色脂肪组织中 sirt3 的表达量较高。sirt3^{-/-}小鼠并未表现出显著的生理异常状态,但是与野生型小鼠相比,其线粒体中乙酰化蛋白水平显著增加^[17],受到氧化应激、化学激素或者电离辐射等应激刺激时,能够出现一系列显著的与衰老相关的生理表现,包括心肌肥大、肿瘤、脂肪肝、辐射诱导的肝损伤和与衰老相关的听力损伤等,说明 sirt3 在某种程度上与长寿相关,确实能够形成与年龄相关的病理症状^[23]。有研究认为 sirt3 能够增加抗氧化活性消除 ROS,表明在氧化应激应答中 sirt3 是线粒体的高保真蛋白^[24]。sirt3^{-/-}幼鼠在正常情况下表现出良好的耐受性,但是成年小鼠中线粒体 DNA 发生严重断裂、ATP 水平降低、ROS 含量增加,恶性乳腺癌的发病率上升^[24],说明 sirt3 功能的丧失可能会引起线粒体的异常代谢、氧化应激并刺激肿瘤的发生。对人类乳腺癌的检测结果显示,与正常组织相比,sirt3 的水平显著降低,说明 sirt3 可能是一个线粒体定位的抑癌基因。对 sirt3^{-/-}小鼠进行检测,第 12 个月免疫组织化学结果表明小鼠发生乳腺癌。

研究表明,sirt3 还可能通过去乙酰化 cycD,调节线粒体通透性,降低细胞 ROS 水平。己糖激酶 2 结合于线粒体,增加糖酵解降低氧化磷酸化是许多肿瘤细胞的基本特征之一,sirt3 催化 cycD 的去乙酰化能够促进己糖激酶 2 降解^[25],进一步阐明了 sirt3 在肿瘤的预防中可能发挥重要作用。以上均表明 sirt3 在线粒体中发挥的作用,其缺失能够引起异常的线粒体代谢和细胞损伤,与恶性肿瘤的发生具有某种潜在联系。

3 小结

真核动物含有丰富的高保真蛋白,对器官状态和细胞信号活化途径敏感,监测细胞代谢的完整性,基因敲除或者突变导致细胞损伤的累积,线粒体中也含有丰富的高保真蛋白维持其结构和功能的完整性。sirt3 是线粒体的抑癌基因和高保真蛋白之一,能够监测细胞代谢过程,对维持线粒体的完整性发挥重要作用。sirt3 的缺失能够影响线粒体 SOD2 的活性和 ROS 水平,引起氧化应激反应和基因组的不稳定性,导致一系列与衰老相关的病理症状,例如受体阳性乳腺癌、脂肪

肝、胰岛素抗性、心脏肥大、辐射诱导的肝损伤和失聪等。这些症状的出现是由许多复杂机制引起的,但是 sirt3 对氧化应激的调节作用可能是其早期发病因素之一,因此,对 sirt3 表达量影响因素的研究可能对这些疾病的治疗具有辅助作用。卡路里限制、饥饿、运动、寒冷刺激、电离辐射等应激能够激活 sirt3 去乙酰化活性,其具体作用机制尚不明确,一方面可能是通过组蛋白的乙酰化修饰和染色质蛋白的改变来调节 sirt3 的上游基因,识别 DNA 损伤,启动细胞信号级联反应,增加 sirt3 表达量,阻止基因损伤的累积,并产生修复效应;另一方面可能是通过促进下游蛋白的转录后修饰,调节细胞新陈代谢和细胞信号传递功能,通过补体激活途径应答外界应激条件,预防与衰老相关的疾病和肿瘤的发生。我们可以通过对 sirt3 上游调节基因和下游靶向位点的具体作用机制进行研究,更好地了解其与癌症及衰老相关疾病之间的关系,为肿瘤治疗提供新思路。

参考文献:

- [1] Alhazzazi T Y, Kamarajan P, Verdin E, *et al.* sirtuin-3 (SIRT3) and the hallmarks of cancer [J]. *Genes & Cancer*, 2013, 4 (3-4): 164-171.
- [2] Chen I C, Chiang W F, Liu S Y, *et al.* Role of SIRT3 in the regulation of redox balance during oral carcinogenesis [J]. *Molecular Cancer*, 2013, 12: 68.
- [3] Weir H J, Lane J D, Balthasar N. SIRT3: A Central regulator of mitochondrial adaptation in health and disease [J]. *Genes & Cancer*, 2013, 4 (3-4): 118-124.
- [4] Saunders L R, Verdin E. Sirtuins: critical regulators at the crossroads between cancer and aging [J]. *Oncogene*, 2007, 26 (37): 5489-5504.
- [5] Alhazzazi T Y, Kamarajan P, Verdin E, *et al.* SIRT3 and cancer: tumor promoter or suppressor? [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2011, 1816 (1): 80-88.
- [6] Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function [J]. *The Biochemical Journal*, 2007, 404 (1): 1-13.
- [7] Osborne B, Cooney G J, Turner N. Are sirtuin deacylase enzymes important modulators of mitochondrial energy metabolism? [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1840 (4): 1295-1302.
- [8] Shi T, Wang F, Stieren E, *et al.* SIRT3, a mitochondrial sirtuin deacetylase, regulates mitochondrial function and thermogenesis in brown adipocytes [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2005, 280 (14): 13560-13567.
- [9] Anderson K A, Hirshey M D. Mitochondrial protein acetylation regulates metabolism [J]. *Essays in Biochemistry*, 2012, 52: 23-35.
- [10] Hebert A S, Dittenhafer-reed K E, Yu W, *et al.* Calorie restriction and SIRT3 trigger global reprogramming of the mitochondrial protein acetylome [J]. *Molecular Cell*, 2013, 49 (1): 186-199.
- [11] Smith K T, Workman J L. Introducing the acetylome [J]. *Nature Biotechnology*, 2009, 27 (10): 917-919.
- [12] Kouzarides T. Chromatin modifications and their function [J]. *Cell*, 2007, 128 (4): 693-705.
- [13] Gluzak M A, Sengupta N, Zhang X, *et al.* Acetylation and deacetylation of non-histone proteins [J]. *Genes*, 2005, 363: 15-23.
- [14] Hallows W C, Lee S, Denu J M. Sirtuins deacetylate and activate mammalian acetyl-CoA synthetases [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103 (27): 10230-10235.
- [15] Cimen H, Han M J, Yang Y, *et al.* Regulation of succinate dehydrogenase activity by SIRT3 in mammalian mitochondria [J]. *Biochemistry*, 2010, 49 (2): 304-311.
- [16] Haigis M C, Mostoslavsky R, Haigis K M, *et al.* SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic beta cells [J]. *Cell*, 2006, 126 (5): 941-954.
- [17] Lombard D B, Alt F W, Cheng H L, *et al.* Mammalian Sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2007, 27 (24): 8807-8814.
- [18] Qiu X, Brown K, Hirshey M D, *et al.* Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation [J]. *Cell Metabolism*, 2010, 12 (6): 662-667.
- [19] Guan K L, Xiong Y. Regulation of intermediary metabolism by protein acetylation [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2011, 36 (2): 108-116.
- [20] Lombard D B. Sirtuins at the breaking point: SIRT6 in DNA repair [J]. *Aging*, 2009, 1 (1): 12-16.
- [21] Ershler W B, Longo D L. Aging and cancer: issues of basic and clinical science [J]. *Journal of the National Cancer Institute*, 1997, 89 (20): 1489-1497.
- [22] Dayal D, Martin S M, Limoll C L, *et al.* Hydrogen peroxide mediates the radiation-induced mutator phenotype in mammalian cells [J]. *The Biochemical Journal*, 2008, 413 (1): 185-191.
- [23] Park S H, Ozden O, Jiang H, *et al.* Sirt3, mitochondrial ROS, aging, and carcinogenesis [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2011, 12 (9): 6226-6239.
- [24] Kim H S, Patel K, Muldoon-jacobs K, *et al.* SIRT3 in a mitochondria-localized tumor suppressor required for maintenance of mitochondrial integrity and metabolism during stress [J]. *Cancer Cell*, 2010, 17 (1): 41-52.
- [25] Shulga N, Wilson-smith R, Pastorino J G. Sirtuin-3 deacetylation of cyclophilin D induces dissociation of hexokinase II from the mitochondria [J]. *Journal of Cell Science*, 2010, 123 (Pt6): 894-902.

保障劳动者健康权益 促进经济社会和谐发展