网络出版时间:2024-03-21 10:19:53 网络出版地址:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.030

Sirtuins 家族和线粒体未折叠蛋白反应在疾病中的研究进展

徐常玮^{1,2,3}, 张涓^{2,3}, 申亮亮^{2,3} 综述 吴元明^{2,3}, 张静¹ 审核

摘要 线粒体未折叠蛋白反应(UPRmt)是一种适应性细胞内应激机制,通过促进编码线粒体伴侣蛋白和蛋白酶的基因转录来响应应激信号。随着研究的深入,UPRmt在疾病中的作用机制已逐渐明确。沉默信息调节因子(Sirtuins)是一类进化上高度保守的NAD⁺依赖性组蛋白去乙酰酶,是多种生物过程中的关键信号通路。近年来Sirtuins在衰老和代谢中的多种调节功能相继报道,也有研究明确了UPRmt和Sirtuins家族之间存在着重要联系。该文总结了Sirtuins与UPRmt的最新研究成果,并归纳了两者在衰老、肿瘤以及代谢性疾病中的作用机制,阐明了Sirtuins与UPRmt在疾病中的研究进展。

关键词 Sirtuins;线粒体未折叠蛋白反应;衰老;肿瘤;线粒体;代谢性疾病

中图分类号 R 34

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)03-0559-04
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.03.030

线粒体在氧化应激时,会产生大量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),而过量的ROS诱导DNA、脂质和蛋白质的氧化损伤,导致它们在线粒体中错误折叠和聚集。当线粒体中错误折叠和聚集的蛋白质累积较多时,细胞就会发生线粒体未折叠蛋白反应(mitochondrial unfolded protein response, UPRmt),该反应可以通过提高线粒体伴侣蛋白和蛋白酶水平来降低蛋白毒性应激进而重建细胞器的蛋白稳态。沉默信息调节因子(Sirtuins)发挥着去乙酰化酶的作用,近年来对其的研究主要聚焦于在衰老中的作用。同时Sirtuins家族也在UPRmt中扮演着

关键的角色。因此,加深对UPRmt和Sirtuins家族在人类疾病(包括神经退行性疾病、肿瘤和一些其他疾病)中的认识,可有助于对人类疾病的诊断和认识。本文对UPRmt和Sirtuins家族与人类疾病关系的研究进展进行综述。

1 Sirtuins 家族

Sirtuins家族是一组NAD⁺依赖的去乙酰化酶,其去乙酰化功能调控着多种重要的细胞过程,包括DNA损伤修复、凋亡、自噬、细胞衰老、炎症、细胞代谢、抗氧化防御和线粒体稳态等^[1]。到目前为止,已经发现并鉴定出7种哺乳动物Sirtuins成员(SIRT1-7),其在组织特异性、亚细胞定位、酶活性和靶标方面的功能各不相同^[1]。

最具特征的哺乳动物Sirtuins是SIRT1,主要定位于细胞核中,通过对过氧化物酶体增殖物激活受体-γ共激活因子-1α(proliferator-activated receptor-γ coactivator-1α, PGC-1α)和叉头框蛋白O(forkhead box class O proteins, FoXOs)的靶点去乙酰化来调控线粒体功能^[2]。SIRT1在DNA损伤修复、端粒维持、ROS介导的细胞凋亡、细胞衰老、细胞代谢和炎症中发挥着重要作用。SIRT1可以通过激活UPRmt导致线粒体中蛋白质折叠负荷增加,诱导有丝分裂的核蛋白失衡。SIRT2主要定位于细胞质中,细胞质中的SIRT2可以通过细胞质蛋白(微管蛋白-α)的去乙酰化来维持细胞结构^[3]。SIRT2还可以使FOXO3a去乙酰化来促进超氧化物歧化酶2(superoxide dismutase 2, SOD2)在氧化应激下的表达^[4]。SIRT3存在于线粒体中,主要参与调节线粒体质量、腺苷三磷酸(adenosine 5'-triphosphate, ATP)的产生和线粒体自噬以及抗氧化损伤等。SIRT3可以通过三羧酸循环和电子传递链中一些组分的去乙酰化来控制 and 调节氧化磷酸化(oxidative phosphorylation, OXPHOS)^[5]。SIRT4在线粒体中通过线粒体蛋白的翻译后修饰调节细胞代谢。SIRT4具有酰胺酶的活性,其代谢靶点是丙酮酸脱氢酶复合体,可以阻止丙酮酸进入三羧酸循环^[6]。所以,SIRT4也是控制细胞代谢的一个重要分子。SIRT5具有较强的去乙酰化酶、去戊二酰化酶和去琥珀酰化酶活性。SIRT5

2024-02-23 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82271893);陕西省重点研发计划重点产业创新链(群)-社会发展领域项目(编号:2021ZDLSF02-02);陕西省秦创原“科学家+工程师”队伍建设项目(编号:2022KXJ-123)

作者单位:¹延安大学医学院医学研究实验中心,延安 716099

²空军军医大学生物化学与分子生物学实验室,西安 710038

³陕西省临床遗传学重点实验室,西安 710032

作者简介:徐常玮,女,硕士研究生;

吴元明,男,教授,主任法医师,责任作者,E-mail:wuym@fmmu.edu.cn;

张静,男,教授,责任作者,E-mail:yadxzj@163.com

可以通过去琥珀酰化或去戊二酰化促进还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸生成酶和葡萄糖-6-磷酸-1-脱氢酶的活性,在抗氧化防御中发挥重要作用^[7]。SIRT6 是主要通过染色质重塑调节细胞过程的核蛋白,并且具有较少的非组蛋白靶标。SIRT6 通过使组蛋白 H3 赖氨酸 9 去乙酰化在端粒维持中起到关键作用,防止端粒 DNA 损伤和细胞衰老^[8]。SIRT7 是首先在核仁中发现的核蛋白,其在 DNA 损伤修复中发挥重要作用, SIRT7 以聚 ADP-核糖聚合酶 1 [poly(ADP-ribose) polymerase 1, PARP1] 依赖性方式募集到 DNA 中的双链断裂位点,通过组蛋白去乙酰化或去琥珀酰化促进染色质缩合和 DNA 修复^[9]。

2 UPRmt

线粒体功能障碍主要源于线粒体应激。线粒体应激反应是线粒体为维持稳态并保护细胞免受应激性损伤的反应,包括 UPRmt、抗氧化防御、线粒体分裂和融合以及线粒体自噬^[10]。UPRmt 是线粒体中对抗蛋白质毒性应激的蛋白质质量控制途径,可以感知线粒体基质内错误折叠的蛋白质,启动由核 DNA 编码的应激蛋白如热休克蛋白 60 (heat shock protein 60, HSP60)、和酪蛋白水解蛋白酶 P (caseinolytic protease, ClpP) 的上调,从而增加蛋白质在线粒体中的折叠能力,最终维持线粒体蛋白的稳态和功能^[11]。当线粒体内错误折叠和聚集的蛋白质累积较多时,UPRmt 作为新发现的细胞内应激机制,可以影响衰老、神经退行性疾病、癌症等疾病的发生发展。

随着研究的深入,UPRmt 在秀丽隐杆线虫 (*C. elegans*) 中的作用机制已经被明确,UPRmt 途径共有三个轴。首先是 UPRmt 激活增强子结合蛋白同源蛋白 (*C/BEBP* homologous protein, CHOP)/激活转录因子 5 (activating transcription factor 5, ATF5)/活化转录因子 4 (activating transcription factor 4, ATF4) 轴,该轴通过诱导伴侣素和蛋白酶来增加线粒体内部折叠的能力和降解功能从而缓解线粒体蛋白的毒性应激反应^[12]。其次是雌激素受体 α (estrogen receptor, ER α) 轴,该轴通过蛋白激酶 B 和 ROS 依赖的 ER α 磷酸化作用,诱导核呼吸因子-1 (nuclear respiratory factor-1, NRF1) 的表达,从而促进线粒体的生物合成^[13]。第三轴中包含三个重要的线粒体分子,即 SIRT3、FOXO3a 和 SOD2。SIRT3 会导致 FOXO3a 去乙酰化并重新定位到细胞核,并激活 SOD2 和过氧化氢酶参与抗氧化反应^[14]。

Mouchiroud et al^[15] 在对 *C. elegans* 的研究中发

现,NAD⁺ 水平升高和 SIRT2 蛋白家族在 *C. elegans* 中的同源蛋白 sir-2.1 过表达均增加了热休克蛋白 (heat shock protein, Hsp) 6 的基因表达。Gariani et al^[16] 对原代肝细胞的研究表明,SIRT1 或 SIRT3 的缺失均可下调 Hsp10、Hsp60 和 CLpP 的表达,而这些改变可以通过补充 NAD⁺ 而升高。综上,在 UPRmt 中,NAD⁺ 扮演着重要的角色,而 NAD⁺ 又进一步影响着 Sirtuins 的表达。因此,深入探讨 Sirtuins 与 UPRmt 的作用机制对阐明衰老和线粒体相关疾病的发病机制具有重要意义。

3 Sirtuins 和 UPRmt 在疾病中研究

3.1 Sirtuins 和 UPRmt 与衰老的关系

衰老在机体的整个生命周期中是一个及其复杂的过程。Sirtuins 是最早在酿酒酵母中被发现的可延长寿命的基因,额外的 Sirtuins 等位基因可以增加酵母 30% 的寿命,而 Sirtuins 的消融会降低酵母的寿命^[17]。这些研究为 Sirtuins 在长寿和衰老生物学中的作用奠定了基础。

衰老是细胞损伤的慢性积累,但导致衰老的主要机制尚不明确。成体干细胞作为储备细胞,在支持正常的组织更新和急性损伤后的再生反应中起到重要作用。研究^[18]表明,造血干细胞 (hematopoietic stem cells, HSCs) 的退化是导致衰老的主要原因。在 HSCs 中,Mohrin et al^[18] 发现 UPRmt 可介导造血干细胞的老化,并证明了 UPRmt 的另一调控分支是由 SIRT7 和 NRF1 相互作用所介导的。Mouchiroud et al^[15] 在对衰老进行研究时,发现 NAD⁺ 水平在 *C. elegans* 中降低,而 NAD⁺ 水平的降低进一步导致 *C. elegans* 寿命的缩短,相反,NAD⁺ 水平的恢复可以防止与衰老相关的代谢下降,并进一步延长 *C. elegans* 的寿命,这些作用依赖于蛋白质的去乙酰化酶 SIRT1、SIRT2,并通过 UPRmt 和 FOXO 转录因子 DAF-16 的核易位和激活,诱导核蛋白失衡,激活应激信号。有研究^[19]发现,老年小鼠中 NAD⁺ 的水平较低,这与 SIRT1 的底物过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α 的过度乙酰化相关,使用 PARP 抑制剂喂养 *C. elegans* 可以使其寿命延长,且寿命延长与 OXPHOS 和 ATP 水平增加有关。综上,通过调节 NAD⁺ 水平进而改变 Sirtuins 的活性能够预防和治疗年龄相关衰老。

3.2 Sirtuins 和 UPRmt 与肿瘤的关系

正常细胞主要利用 OXPHOS 产生能量。然而癌细胞的快速生长和分裂则通过调整能量代谢来满足能量需求。为使癌细胞能适应恶劣的生存环境,癌基因、肿瘤抑

制基因和肿瘤微环境的改变,都会导致癌细胞的代谢从 OXPHOS 向糖酵解发生转变。但并非所有的癌细胞都依赖糖酵解产生能量,有些癌细胞也依赖 OXPHOS 产生能量^[20]。

Vellinga et al^[21]对结肠癌肝转移的术前接受或不接受化疗治疗的患者进行转录组学分析,发现了一种新的耐药机制,这个机制涉及能量代谢的变化,结果显示 OXPHOS 中的线粒体生物合成和电子传递链(electron transport chain, ETC)复合物是化疗治疗肿瘤中上调最多的途径,这一发现提示化疗诱导了癌细胞代谢的改变。此外,敲低 SIRT1 或 PGC1 α 可阻止化疗诱导的 OXPHOS 的改变,并显著提高患者对化疗的敏感性。提示结直肠癌化疗诱导了 SIRT1/PGC1 α 依赖的 OXPHOS 增加,在治疗期间促进肿瘤生存。

SIRT3 可以协调抗氧化机制和线粒体自噬两种途径,而这两种途径在克服蛋白质毒性应激和重建癌细胞内稳态中发挥重要作用。Papa et al^[22]发现,SIRT3 的这两种途径是独立于 CHOP 或 ER α 的。SIRT3 的表达由线粒体蛋白毒性应激诱导,从而激活抗氧化机制和线粒体自噬。Ahmed et al^[23]在对来自巴基斯坦的 500 例头颈癌患者和 500 例健康对照者 UPRmt 通路的多态性进行研究时发现,UPRmt 途径的 SIRT3/FOXO3a/SOD2 轴基因的单核苷酸多态性与头颈癌风险增加有关,在线粒体蛋白毒性应激下,FOXO3a 在细胞核中积累并被去乙酰化。为明确 SIRT3 在其中的意义,Wang et al^[24]研究发现通过 shRNA 抑制 SIRT3 后,FOXO3a 的核易位被消除。综上所述,对于 UPRmt 的全面了解能为肿瘤的诊断和治疗提供新的思路。

3.3 Sirtuins 和 UPRmt 与代谢性疾病的关系 代谢性疾病主要是指机体的物质代谢或能量代谢异常,通常表现为全身多系统异常。在饮食诱导的脂肪性肝炎的研究中发现,miR-29a 通过抑制糖原合成酶激酶-3 β 进而抑制 SIRT1 介导的线粒体生物发生,从而缓解脂肪性肝炎中的线粒体应激和 UPRmt,为肝脏保护提供了新的见解^[25]。

Zhao et al^[26]发现,邻苯二甲酸二酯[Di (2-ethylhexyl) phthalate, DEHP]引起的肝毒性表现为肝脏脂肪变性和纤维化,线粒体超微结构的损伤表现为线粒体膜电位下降、线粒体体积密度下降等,进一步导致了 PTEN 诱导假定激酶 1 (PTEN-induced putative kinase 1, PINK1)/E3 泛素连接酶 Parkin (E3 ubiquitin protein ligase, Parkin) 介导的线粒体自噬,进一步,Pink1 和 Parkin 与热休克转录因子 1 激活

的热休克蛋白相互作用,激活 UPRmt 通路,从而使线粒体质量控制稳态失衡。此外,还发现番茄红素可以通过调节 SIRT1/PINK1/线粒体自噬轴和 UPRmt 减轻 DEHP 诱导的肝脏线粒体功能障碍^[26]。

线粒体自噬与 UPRmt 对线粒体功能障碍具有保护作用,此外,线粒体功能障碍与阿尔兹海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的发病相关。Pillai et al^[27]发现厚朴酚(magnolol, HKL)可以改善 AD 模型小鼠的认知障碍、 β 淀粉样蛋白积累和突触损伤,并且 HKL 治疗能够促进线粒体自噬和 UPRmt,同时减轻线粒体功能障碍。HKL 已被公认为是多种疾病中 SIRT3 的激活因子,如心肌肥厚症。而 SIRT3 活性与 NAD⁺/NADH 比值呈正相关,因此,HKL 可能通过介导 NAD⁺/NADH 比值调控 SIRT3 的表达和活性^[28]。并且,HKL 上调了 AD 模型小鼠中 CHOP、Hsp60、Hsp10、ClpP 的表达,而 SIRT3 的缺失则降低了这些变化,同时,SIRT3 的缺失也降低了细胞 AD 模型中 CHOP 和 Hsp60 的表达水平,提示线粒体自噬和 UPRmt 之间可能存在潜在关系^[28]。

SIRT3 通过线粒体蛋白去乙酰化从而参与脑缺血/再灌注损伤,但 UPRmt 有利于线粒体在各种应激条件下维持蛋白质稳态^[29]。Xie et al^[29]发现,在脑缺血异常后,大脑中 SIRT3 丰度受到抑制,体内过表达 SIRT3 可抑制脑缺血/再灌注损伤后的梗死面积,减轻神经炎症反应。SIRT3 过表达通过减少线粒体 ROS 合成、维持线粒体膜电位和改善线粒体 ATP 合成来恢复神经活力,并且这一过程是通过触发 FOXO3/鞘氨醇激酶 1 (sphingosine kinase-1, SPHK1)通路的 UPRmt 来保护神经元线粒体免受脑缺血后功能障碍。综上,UPRmt 的激活有助于保护神经活力和线粒体稳态,且 SIRT3/FOXO3/SPHK1 通路是促进缺血性卒中治疗的候选途径。

线粒体疾病是由编码线粒体结构或功能蛋白的核 DNA (nDNA) 和线粒体 DNA (mtDNA) 基因突变引起的遗传疾病。研究^[30]显示,CoC3 (由紫檀苯乙炔、烟酰胺、核黄素、硫胺素、生物素、疏辛酸和 1-肉碱组成的线粒体鸡尾酒组合) 增加 Sirtuins 的活性和激活 UPRmt,并在线粒体疾病的细胞模型中,CoC3 联合线粒体辅助因子治疗可以激活 SIRT3 和 UPRmt,提高 Sirtuins 水平和线粒体活性,从而改善线粒体稳态,减轻线粒体突变的负面影响。

4 小结与展望

UPRmt 与衰老、肿瘤以及多种代谢性疾病有关,Sirtuins 具有调节表观遗传和翻译后修饰的能力,可

以调节线粒体应激反应,是线粒体应激反应不可或缺的调节剂。因此,随着 Sirtuins 的相关抑制剂以及激动剂的出现,有望通过改善 UPRmt 和线粒体应激,来改变衰老、肿瘤以及一些代谢性疾病的进展。然而,目前的研究仅限于干预 Sirtuins 后对 UPRmt 的影响,其潜在的分子机制仍有待于进一步研究。

参考文献

- [1] Ji Z, Liu G H, Qu J. Mitochondrial sirtuins, metabolism, and aging[J]. *J Genet Genomics*, 2022,49(4):287-98.
- [2] Guo A, Li K, Tian H C, et al. FGF19 protects skeletal muscle against obesity-induced muscle atrophy, metabolic derangement and abnormal irisin levels *via* the AMPK/SIRT-1/PGC- α pathway[J]. *J Cell Mol Med*,2021,25(7):3585-600.
- [3] Sharma A, Mahur P, Muthukumaran J, et al. Shedding light on structure, function and regulation of human sirtuins: a comprehensive review[J]. *3 Biotech*,2023,13(1):29.
- [4] Wang F, Nguyen M, Qin F X, et al. SIRT2 deacetylates FOXO3a in response to oxidative stress and caloric restriction[J]. *Aging Cell*,2007,6(4):505-14.
- [5] Xu S, Liu C X, Xu W, et al. Butyrate induces apoptosis by activating PDC and inhibiting complex I through SIRT3 inactivation[J]. *Signal Transduct Target Ther*,2017,2:16035.
- [6] Mathias R A, Greco T M, Oberstein A, et al. Sirtuin 4 is a lipamidase regulating pyruvate dehydrogenase complex activity[J]. *Cell*,2014,159(7):1615-25.
- [7] Zhou L, Wang F, Sun R, et al. SIRT5 promotes IDH2 desuccinylation and G6PD deglutarylation to enhance cellular antioxidant defense[J]. *EMBO Rep*,2016,17(6):811-22.
- [8] Ding Y N, Wang T T, Lv S J, et al. SIRT6 is an epigenetic repressor of thoracic aortic aneurysms *via* inhibiting inflammation and senescence[J]. *Signal Transduct Target Ther*,2023,8(1):255.
- [9] Wu S, Jia S. Functional diversity of SIRT7 across cellular compartments: insights and perspectives[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2023,81(3):409-19.
- [10] Runkel E D, Baumeister R, Schulze E. Mitochondrial stress: balancing friend and foe[J]. *Exp Gerontol*,2014,56:194-201.
- [11] Sorrentino V, Menzies K J, Auwerx J. Repairing mitochondrial dysfunction in disease[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*,2018,58:353-89.
- [12] Melber A, Haynes C M. UPRmt regulation and output: a stress response mediated by mitochondrial-nuclear communication[J]. *Cell Res*,2018,28(3):281-95.
- [13] Fan P, Jordan V C. PERK, beyond an unfolded protein response sensor in estrogen-induced apoptosis in endocrine-resistant breast cancer[J]. *Mol Cancer Res*,2022,20(2):193-201.
- [14] Fu B, Zhao J, Peng W, et al. Resveratrol rescues cadmium-induced mitochondrial injury by enhancing transcriptional regulation of PGC-1 α and SOD2 *via* the Sirt3/FoxO3a pathway in TCMK-1 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2017,486(1):198-204.
- [15] Mouchiroud L, Houtkooper R H, Moullan N, et al. The NAD (+)/Sirtuin pathway modulates longevity through activation of mitochondrial UPR and FOXO signaling[J]. *Cell*,2013,154(2):430-41.
- [16] Gariani K, Menzies K J, Ryu D, et al. Eliciting the mitochondrial unfolded protein response by nicotinamide adenine dinucleotide repletion reverses fatty liver disease in mice[J]. *Hepatology*,2016,63(4):1190-204.
- [17] Kaeberlein M, McVey M, Guarente L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms[J]. *Genes Dev*,1999,13(19):2570-80.
- [18] Mohrin M, Shin J, Liu Y, et al. Stem cell aging. A mitochondrial UPR-mediated metabolic checkpoint regulates hematopoietic stem cell aging[J]. *Science*,2015,347(6228):1374-7.
- [19] Srinivasan B, Sibon O C. Coenzyme A, more than 'just' a metabolic cofactor[J]. *Biochem Soc Trans*,2014,42(4):1075-9.
- [20] Jose C, Bellance N, Rossignol R. Choosing between glycolysis and oxidative phosphorylation: a tumor's dilemma? [J]. *Biochim Biophys Acta*,2011,1807(6):552-61.
- [21] Vellinga T T, Borovski T, de Boer V C, et al. SIRT1/PGC1 α -dependent increase in oxidative phosphorylation supports chemotherapy resistance of colon cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2015,21(12):2870-9.
- [22] Papa L, Germain D. Sirt3 regulates the mitochondrial unfolded protein response[J]. *Mol Cell Biol*,2014,34(4):699-710.
- [23] Ahmed M W, Mahjabeen I, Gul S, et al. Relationship of single nucleotide polymorphisms and haplotype interaction of mitochondrial unfolded protein response pathway genes with head and neck cancer[J]. *Future Oncol*,2019,15(33):3819-29.
- [24] Wang X, Shen T, Lian J, et al. Resveratrol reduces ROS-induced ferroptosis by activating SIRT3 and compensating the GSH/GPX4 pathway[J]. *Mol Med*,2023,29(1):137.
- [25] Yang Y L, Wang P W, Wang F S, et al. MiR-29a modulates GSK3 β /SIRT1-linked mitochondrial proteostatic stress to ameliorate mouse non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(18):6884.
- [26] Zhao Y, Li H X, Luo Y, et al. Lycopene mitigates DEHP-induced hepatic mitochondrial quality control disorder *via* regulating SIRT1/PINK1/mitophagy axis and mitochondrial unfolded protein response[J]. *Environ Pollut*,2022,292(Pt B):118390.
- [27] Pillai V B, Samant S, Sundaresan N R, et al. Honokiol blocks and reverses cardiac hypertrophy in mice by activating mitochondrial Sirt3[J]. *Nat Commun*,2015,6:6656.
- [28] Wu J, Zeng Z, Zhang W, et al. Emerging role of SIRT3 in mitochondrial dysfunction and cardiovascular diseases[J]. *Free Radic Res*,2019,53(2):139-49.
- [29] Xie X W, Xu Q, Zhou D Z. Sirtuin-3 activates the mitochondrial unfolded protein response and reduces cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Int J Biol Sci*,2023,19(13):4327-39.
- [30] Suarez-rivero J M, Pastor-maldonado C J, Romero-González A, et al. Pterostilbene in combination with mitochondrial cofactors improve mitochondrial function in cellular models of mitochondrial diseases[J]. *Front Pharmacol*,2022,13:862085.