

SIRT1 与肺部疾病的关系

宋小琴 综述, 王荣丽 审校

(泸州医学院附属医院呼吸内科, 四川泸州 646000)

关键词: SIRT1; 过敏性气管疾病; 流感, 人; 肺疾病, 慢性阻塞性; 肺肿瘤; 综述

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.20.038

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)20-2098-03

沉默信息调节因子 Sir2 是近来发现的一类具有 NAD⁺ 依赖性的组蛋白/非组蛋白去乙酰化酶, 从细菌到哺乳动物都有表达, 属于 III 类组蛋白去乙酰化酶 (HDAC)。Frye^[1] 首次鉴定和克隆出了 7 种人类的 Sir2 同系物: SIRT1~SIRT7, 取名为“sirtuins”。SIRT1 与 Sir2 的同源性最高, 在哺乳动物成熟组织中广泛表达, 在生殖细胞和胚胎早期含量丰富, 是目前研究最多的 sirtuins。

1 Sir2 家族

Sir2 最早是在酵母细胞中被发现的, 后来大量的研究证实 Sir2 在从细菌到人类的各种生物都有广泛的分布。哺乳动物的 sirtuins 在亚细胞中的定位是不相同的, 在细胞核中占优势的主要是 SIRT1、SIRT6 和 SIRT7, 后两者位于细胞核的异染色质区和核仁, 而 SIRT1 也具有一些重要的胞质的功能, 位于细胞核内除了异染色质区和核仁以外的区域, SIRT3、SIRT4、SIRT5 位于线粒体, SIRT2 定位在细胞质。sirtuins 蛋白共同特征是都拥有一个保守的 200 个左右的氨基酸残基构成的催化核心区域, 暗示其具有保守的催化作用, 但它们的蛋白质在亚细胞定位和作用底物上各不相同, 使得它们的功能具有多样性^[2]。而不同的生物群体中相应的功能也会表现出多样化。酵母的 Sir2 在交配型基因沉默、端粒区基因沉默、rDNA 沉默中起重要作用, 还可能参与长寿与衰老的调节。而人类 sirtuins 的底物是组蛋白、非组蛋白及各种转录因子和其他的各种功能性蛋白质。Sir2 所催化的去乙酰基反应与水解 NAD⁺ 生成烟酰胺 (NAM) 和 2-O-乙酰-ADP-核糖相偶联^[3]。由于 Sir2 的去乙酰化作用需要 NAD⁺ 作为辅助因子, 所以 NAD⁺ 合成途径和补救途径在调节 Sir2 功能上起重要作用。Sir2 活性受 NAD⁺ 补救途径中的中间产物 (烟碱, 烟酸等) 以及 NADH 和一些 NAD⁺ 的代谢物的调节^[4]。

2 SIRT1 定位、结构特征及生物学功能

2.1 SIRT1 定位、结构特征

哺乳动物 SIRT1 与酵母 Sir2 的同源性最高, 对其研究也最为深入。人类 SIRT1 于 1999 年被发现, 由 500 个氨基酸残基组成, 其催化核心区域由 275 氨基酸残基组成, 编码基因位于染色体 10q21.3 全长 33 kb, 包含 9 个外显子和 8 个内含子, 5' 端及 3' 端各有一个分别为 53 bp 和 1 793 bp 的非翻译区, 翻译后的蛋白质相对分子质量约为 60 × 10³, 不存在剪切变体, 具有 NAD 依赖的脱乙酰基酶活性。通过 X 线晶体衍射证实 SIRT1 有两个基本结构域: 一个大结构域, 主要由 Rossmann 折叠组成, 是许多 NAD 和 NADP⁺ 结合酶的特征域, 这一结构域保守性较强; 一个小结构域, 包含一个锌带 (Zincribbon) 结构和一个螺旋构件, 这一结构域保守性较低。在这两个结构域之间形成一个裂隙, 它的底物就结合于此并发生催化反应^[5]。有关研究已经证实, 第 363 位赖氨酸是 SIRT1 脱乙酰化酶活性的必需基因。

2.2 生物学功能及调控

SIRT1 是广泛存在于生物体的胞核

及胞质中的一种核蛋白, 主要通过去乙酰化组蛋白、转录因子及其他蛋白修饰的赖氨酸残基进行去乙酰化, 调节基因的表达。SIRT1 通过与不同的组蛋白和非组蛋白相互作用来完成不同的功能, 这些蛋白主要包括: H1、H3、H4、p53、Ku70、FOXOs、NF-KB、Smad7、AR、E2F1、Tat、PGC-1 α 、NcoR、p300^[6]。研究发现, SIRT1 在体内的底物并不具有序列或结构特异性, 而是一种蛋白质之间的相互作用^[3]。SIRT1 参与体内许多生理功能调节, 包括众多基因转录、能量代谢以及细胞衰老过程的调节等, 尤其在糖代谢、脂代谢、调节胰岛素分泌中发挥着重要的作用^[7]。此外, SIRT1 还是细胞凋亡过程中的抑制因子。在生物体内, 烟酰胺、sirtinol 是 SIRT1 的功能抑制剂, 红葡萄酒抗氧化剂白藜芦醇、槲皮素是其功能激活剂。目前, SIRT1 相关的研究已经很多, 且越来越深入, 上述功能已经被大家熟知了, 在国外已有不少的研究证实 SIRT1 和过敏性气道疾病、肺癌、COPD 等疾病有着密切的关系, 但在国内相关的资料尚少。

3 SIRT1 与肺部疾病的关系

3.1 SIRT1 与过敏性气道疾病

呼吸系统过敏性疾病中最常见的就是过敏性鼻炎和支气管哮喘, 而临床上以后者更常见。气道过敏性疾病是多种细胞及细胞因子参与的气道慢性炎症性疾病, 中国目前没有研究 SIRT1 与气道过敏性疾病的相关研究, 而国外相关文献也很少。

Kim 等^[8] 通过使用卵清蛋白 (OVA) 诱导建立过敏性气道疾病的小鼠模型, 研究中运用 Western blot 原理及免疫荧光等检测模型小鼠吸入 OVA 激发后体内相关的指标, 然后向模型小鼠体内注射 sirtinol, 再次检测小鼠体内的相应指标。研究结果显示模型小鼠注射 sirtinol, 吸入 OVA 激发后, 肺内、气管上皮细胞内的 SIRT1 水平及 SIRT1 酶活性, 均较激发前大幅度的下降, 于此同时气道高反应性、高水平的 VEGF、白细胞介素 (IL)-4、IL-5 和 IL-13 等气道炎症因子水平、升高的血管渗透性、气道黏液的分泌水平等都大幅度降低。同时还发现气道上皮细胞中, 注射 sirtinol 后减弱了 OVA 诱导的 HIF-1 α 水平的上调。可以推断在小鼠体内, sirtinol 通过 HIF-1 α 介导的对血管内皮细胞生长因子表达的调节, 可能减弱抗原介导的气道炎症和气道高反应性。

3.2 SIRT1 与流行性感

流行性感是一种常见的易发生于季节变化时的急性呼吸道感染性疾病, 主要由流感病毒感染所致。目前, 国内研究显示 SIRT1 与流感病毒引起的细胞凋亡有密切的联系。

关振宏等^[9] 采用流式细胞技术在观察流感病毒诱导 A459 细胞凋亡情况的同时应用 Western blot 原理研究 SIRT1 和 p53 等蛋白的表达情况。研究结果显示, 1 000 TCID₅₀/mL 剂量流感病毒感染 A549 细胞后, 细胞表现出典型的凋亡特征, 且凋亡比例随感染时间延长而逐渐增加。在流感病毒诱导细胞凋亡过程中, SIRT1 蛋白的表达下降, p53 的表达上升。线

粒体中 Bax 的表达上调, Bcl-2 的表达下降。从而推断出 SIRT1 蛋白参与了流感病毒诱导的 A549 细胞凋亡, SIRT1 蛋白表达下调可能促进了 Bax 释放进入线粒体和 p53 蛋白功能的进一步发挥。

3.3 SIRT1 与慢性阻塞性肺病(COPD) COPD 是呼吸系统疾病中的常见病、多发病, 近年来由于环境污染、吸烟及人口老龄化等原因, COPD 的发病率和病死率居高不下, 由于 COPD 患者肺功能进行性减退严重影响劳动力和生活质量。目前, 在国内同样没有关于 SIRT1 与 COPD 的相关研究, 而国外有较多的研究表明 SIRT1 与 COPD 关系密切。

Rajendrasozhan 等^[10] 研究显示, 相对非吸烟组, 吸烟者和 COPD 患者的巨噬细胞, 肺组织中 SIRT1 水平降低是由于翻译后修饰所引起的, 而修饰是由香烟烟雾(CS)衍生的具有活性的复合物来实现的, 导致 RelA/p65 乙酰化减少。而 SIRT1 的消耗导致 CS 提取物(CSE)介导的 RelA/p65NF- κ B 乙酰化的增强, 同时 SIRT1 去乙酰基酶可调节 IL-8 炎性因子的释放。Rajendrasozhan 等^[11] 将其总结为, CS/氧化剂诱导组蛋白乙酰转移酶和组蛋白/非组蛋白去乙酰化酶(乙酰化酶), 如导致染色质重塑的 HDAC2 和 SIRT1 发生翻译后修饰, 而引起染色质变异和表观遗传变化, 而 HDAC2/SIRT1-RelA/p65 辅阻遏复合物的分离与 RelA/p65 乙酰化有相关性, 最终引起持续的促炎基因的转录。因此染色质修饰和表观遗传调控, 对 COPD 患者持续的肺部炎症中起着至关重要的作用。这将有助于理解 SIRT1 在 COPD 的病生理过程中的作用, 将来可能会有助于后续治疗研究的发展。Zeng 等^[12] 阐述了 NF- κ B 活性和组蛋白乙酰化的增强对引起局部促炎因子的释放起着重要的作用, 而 SIRT1 作为一种重要的蛋白参与到组蛋白的去乙酰化和负性调节 NF- κ B 的活性从而减少炎症因子的释放。

关于 COPD 的炎症因子的释放, 另外还有一个有价值的研究, Yang 等^[13] 将单核巨噬细胞暴露于 CSE 中引起剂量、时间依赖的 SIRT1 活性和表达水平的降低, 而这伴随着 NF- κ B 依赖的促炎因子释放的增加。在有 CS 暴露史的小鼠的肺组织的炎症细胞中同样观察到, 伴随着支气管肺泡灌洗液和肺组织中几种炎症介质水平的升高, SIRT1 水平降低。Sirtinol 可增强 CSE 诱导的炎症因子的释放, 相反, 白藜芦醇抑制 CSE 诱导的炎症因子的释放。由此得出 CSE 介导的 SIRT1 的抑制与 NF- κ B 水平增高有关, CSE 打断了 SIRT1 与 NF- κ B 的 RelA/p65 亚基间的相互作用, 导致单核巨噬细胞 RelA/p65 乙酰化的增强。最终得出 SIRT1 通过 NF- κ B 调控 CS 介导的炎症介质的释放, 由此推断 SIRT1 在肺部持续炎症和细胞老化中的重要作用。

Hwang 等^[14] 研究发现, 由于 CS 的暴露导致肺上皮细胞、纤维细胞和巨噬细胞自溶, 而通过白藜芦醇预处理可以减弱 CS 引起的自溶反应, 然而 sirtinol 预处理后可以增强自溶作用, 在 SIRT1 缺陷小鼠肺内 CS 可以诱导高水平的自溶作用, 而多二磷酸腺苷核糖聚合酶-1(PARP-1)通过抑制 SIRT1 的活性可以诱发细胞自噬。这些研究表明, 通过 CS 介导的氧化应激诱导肺内细胞的细胞毒性反应即自溶作用, SIRT1-PARP-1 轴在 CS 诱导的自溶作用调控中发挥了关键作用, 这对理解 CS 诱导细胞死亡和衰老的机制有重要意义。

3.4 SIRT1 与肺癌 随着中国人口老龄化, 加上严重的空气污染, 人们戒烟意识薄弱, 肺癌居肺部疾病死亡率的首位, 其发病机制复杂, 因此肺癌的治疗也就成为了一大难题。SIRT1 与多种肿瘤, 但是与肺癌的关系目前国内外也只有较少的文献

报道。

Sun 等^[15] 研究中将 A549 肺癌细胞转染针对 SIRT1 特异性的反义寡核苷酸, SIRT1 的表达在 mRNA 和蛋白质水平上均成剂量依赖性降低, 并成序列特异性方式表达。SIRT1 表达的抑制诱导细胞分裂停滞在 G₁ 期和细胞程序性死亡, 显著地降低了 A549 细胞的存活率, 同时还大大提高了辐射诱导的防护扩散作用, 这主要是与 A549 肺癌细胞的 p53 抑癌基因的乙酰化和 Bax 的表达有关。这个研究结果表明, 反义寡核苷酸诱导 SIRT1 表达的抑制可能将成为一个潜在的基因治疗方法来治疗肺癌。

有研究发现, 在细胞和动物模型中存在一个 HIC1-SIRT1-P53 环, 其中癌超甲基化 1(HIC1)抑制 SIRT1 转录, 使 P53 去乙酰基作用并失活, 而 Tseng 等^[16] 在 118 例肺癌患者体内检测 HIC1-SIRT1-P53 环的改变从而寻找其在肿瘤发生中的作用。研究发现, 肺鳞癌患者大多表现为 p53 的乙酰化水平较低和 SIRT1 的低表达, 充分显示 HIC1 也是低水平的表达, 证实 HIC1-SIRT1-p53 环在临床肺鳞癌患者的消极调节作用。而肺腺癌患者体内乳腺癌缺失因子 1(DBC1)的表达阻断了 SIRT1 的去乙酰基酶和 p53 之间的相互作用, 导致 P53 乙酰化水平增高。通过组蛋白翻译后修饰实现的 HIC1 启动子的后生演变和 HIC1 启动子的甲基化均有利于染色质的组装, 减弱了由 p53 乙酰化所诱导的转录从而对肿瘤的发生起着相应的调节作用。研究中还有重要的发现, 肺癌患者若出现 HIC1-SIRT1-P53 环改变后的调节作用则提示患者预后较差。该研究的数据是 HIC1-SIRT1-P53 环的调节在肺肿瘤的发生和预后中的一个有效的临床证据, 由于 SIRT1-DBC1 控的不同和肺鳞癌和肺腺癌的后生演变的不同, 决定了 p53 的乙酰化/去乙酰化和 HIC1 变化的重要地位。

4 展 望

目前, SIRT1 已经成为当前的一个研究热点, 已经明确的证实 SIRT1 通过去乙酰化组蛋白/非组蛋白, 还有一些转录因子的调控, 参与基因的转录调控、DNA 损伤修复、细胞凋亡等细胞水平维持机体正常的生命活动, 已有研究证实 SIRT1 与过敏性气道疾病、COPD、流感、肺癌等多种肺部疾病中都有相关性, 但研究都没与临床的运用上相结合, SIRT1 抑制剂和激动剂的开发, 目前相关研究也相对较少, 且目前没有与肺炎、间质性肺疾病相关的文献, 若想要 SIRT1 作为靶点真正运用到临床疾病的治疗上, 仍需进一步深入的研究。

参考文献:

- [1] Frye RA. Characterization of five human cDNAs with homology to the yeast Sir2 gene; Sir2-like proteins (sirtinins) metabolize NAD and may have protein ADP-ribosyltransferase activity[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 260(1):273-279.
- [2] Michishita E, Park JY, Burneskis JM, et al. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of Human SIRT proteins[J]. *Mol Biol Cell*, 2005, 16(10):4623-4635.
- [3] Chang JH, Kim HC, Hwang KY, et al. Structural basis for the NAD-dependent deacetylase mechanism of Sir2[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(37):34489-34498.
- [4] Schmidt MT, Smith BC, Jackson MD, et al. Coenzyme specificity of Sir2 protein deacetylases: implications for

- physiological regulation[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(38): 40122-40129.
- [5] Tsukamoto Y, Kato J, Ikeda H. Silencing factors participate in DNA repair and recombination in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. *Nature*, 1997, 388(6645): 900-903.
- [6] Archer SL. Pre-B-cell colony-enhancing factor regulates vascular smooth muscle maturation through a NAD⁺-dependent mechanism; recognition of a new mechanism for cell diversity and redox regulation of vascular tone and remodeling[J]. *Circ Res*, 2005, 97(1): 4-7.
- [7] Marcia CH, Leonard PG. Mammalian sirtuins-emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction [J]. *Gen Dev*, 2006, 20(21): 2913-2921.
- [8] Kim SR, Lee KS, Park SJ, et al. Involvement of sirtuin1 in airway inflammation and hyperresponsiveness of allergic airway disease [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125(2): 449-460.
- [9] 关振宏, 张茂林, 段铭. 流感病毒在诱导 A549 细胞凋亡过程中对 SIRT1 和 P53 蛋白的影响[J]. *吉林农业大学学报*, 2009, 31(6): 767-770.
- [10] Rajendrasozhan S, Yang SR, Kinnula VL, et al. SIRT1, an Anti-inflammatory and antiaging protein, is decreased in lungs of patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177(8): 861-870.
- [11] Rajendrasozhan S, Yao H, Rahman I. Current perspectives on role of chromatin modifications and deacetylases in lung inflammation of COPD [J]. *COPD*, 2009, 6(4): 291-297.
- [12] Zeng L, Chen R, Liang F, et al. Silent information regulator, Sirtuin 1, and age-related diseases[J]. *Geriatr Gerontol Int*, 2009, 9(1): 7-15.
- [13] Yang SR, Wright J, Bauter M, et al. Sirtuin regulates cigarette smoke induced proinflammatory mediators release via RelA/p65 NF- κ B in macrophages in vitro and in rat lungs in vivo; implications for chronic inflammation and aging[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007, 292(2): 567-576.
- [14] Hwang JW, Chung S, Sundar IK, et al. Cigarette smoke-induced autophagy is regulated by SIRT1-PARP-1-dependent mechanism: implication in pathogenesis of COPD [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2010, 500(2): 203-209.
- [15] Sun Y, Sun DC, Li F, et al. Downregulation of SIRT1 by antisense Oligonucleotide induces apoptosis and enhances radiation sensitization in A549 lung cancer cells[J]. *Lung Cancer*, 2007, 58(1): 21-29.
- [16] Tseng RC, Lee CC, Hsu HS, et al. Distinct HIC1-SIRT1-p53 loop deregulation in lung squamous carcinoma and adenocarcinoma patients[J]. *Neoplasia*, 2009, 11(8): 763-770.

(收稿日期: 2011-06-22 修回日期: 2012-02-06)

· 综 述 ·

基于新一代高通量技术的个性化医疗研究进展

王慧丽 综述, 郭安源 审校

(华中科技大学文华学院环境工程系, 武汉 430074)

关键词: 个性化医疗; 全基因组关联分析 GWAS; 高通量测序; 多态性, 单核苷酸; 综述

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2012.20.039

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)20-2100-03

个性化医疗是指根据不同患者独特的临床、遗传、基因组和环境信息设计有针对性的个性化治疗方案和用药。个性化医疗的首要目标是要针对特定群体或个体使用能对其产生最佳疗效的药物和剂量, 以提高疗效同时最大限度地降低药物的不良反应, 实现医疗方面的量体裁衣。个性化医疗的提出是现代医学发展史上的一场重大革命, 是与千人用一药的传统治疗方案截然不同的新思路, 其提出已经逐渐引起各国学者、医疗卫生人员和普通民众的关注。早在 2003 年, 人类基因组计划刚完成, 就有专家提出个性化的基因时代必将来临。近年来, 随着全基因组关联分析和第 2 代高通量测序技术在生物医学研究领域的广泛应用, 个性化医疗也取得了一定进展。本文主要就个性化医疗在近年来高通量生物学研究中的取得的进展做一综述。

1 个性化医疗与人类基因多态性

个性化医疗方案的提出, 主要由于两方面的原因: 一方面, 人们发现同一种疾病的不同患者对同一种药物的反应是不同的。使用该药, 部分患者有很好的疗效, 部分患者可能没有疗效, 也没有不良反应, 而有的患者可能不但没有疗效, 还会有不

良反应。据统计, 全球每年死亡的病例中, 约有 1/3 是因药物不良反应引起的, 中国每年有近 20 万人死于用药不当^[1]; 另一方面, 人们也发现同一种疾病可以由不同的原因导致, 尤其是一些复杂性疾病。这种疾病受多种遗传和环境因素影响, 不同的患者有不同的病因, 需要采用不同的治疗方案^[2]。

以上两方面的差异, 是由于人的遗传多态性差异造成。随着人类个体基因组序列的测定, 发现不同个体的 DNA 序列并不完全相同, 不同的 DNA 序列变异称为多态性。目前, 国际千人基因组计划研究结果已经发现人类基因组中存在近 1 500 万个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点, 这些已发现的位点基本达到了人类基因组中可能出现的多态性位点的 95%^[3]。同时, 每个个体平均携带有 250~300 个位于基因内的可能造成功能改变的变异位点, 其中部分与已知的遗传疾病有关联^[3]。

目前, NCBI 的人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)已经收录了人类的 1 万 3 000 个基因与 7 000 多种疾病有关联^[4]。单个 DNA 碱基突变就会导致个体表型或性状发生较大的改变, 如可能导致镰刀形红细胞贫