

# SIRT1 在衰老和肿瘤中的作用及治疗潜力

费美智 侯丽辉

衰老和肿瘤都是蓄积性细胞损伤的结果,并且都与在损伤应答中特定基因的调节有关。最近的研究已经揭示了衰老机制与肿瘤之间的联系,但是怎样防止肿瘤的发展和增加寿命仍然是未知的。带有烟酰胺(NAD<sup>+</sup>)依赖性Ⅲ型组蛋白脱乙酰基酶活性的SIRT1(酵母菌 Sir2 同源基因),可能是与肿瘤和衰老调节相联系的关键基因。SIRT1 在生长调节、应激应答、肿瘤形成和内分泌信号上有着广泛的生物学功能,同时能延长寿命。这里,我们关注的是目前关于SIRT1 在衰老和肿瘤中的作用,并且讨论 SIRT1 在抗衰老和抗肿瘤作用中成为最优平衡治疗靶点可能性。

## 一、哺乳动物寿命调节基因(sirtuins)

最初发现于酵母菌的寿命调节基因,是一组烟酰胺(NAD<sup>+</sup>)依赖性脱乙酰基酶/APD 核糖基转移酶,它保留于包括了酵母菌、细菌和人类在内的各种有机体中。Sir2 调节酵母菌、果蝇和蠕虫的寿命。在哺乳动物中,有 7 种基因(SIRT1-7)相似于酵母菌 Sir2 基因,他们集中分布于细胞核、细胞质或线粒体,利用各种底物并发挥着多样的功能(表 1)。SIRT1、SIRT6、SIRT7 是浓缩于核质、异染色质及核仁的 3 种功能独特的核心蛋白。SIRT1 是最具特征性的哺乳动物 Sir2 同源蛋白,这种蛋白涉及到与结束基因沉默、DNA 损伤应答及热限制(CR)后寿命延长相关的染色体重建<sup>[1]</sup>。与酵母菌 Sir2 相似,人类 SIRT1 通过异染色质构成修改了染色质和沉默转录。小鼠

SIRT6 在体外呈现出稳定的 APD 核糖基转移酶活性,但缺乏脱乙酰基活性。此外,在小鼠细胞中 SIRT6 对于 DNA 修复(与基本切除修复和维护基因组不稳定性有关)也是必不可少的。SIRT6 缺乏小鼠形成的变性缺陷与衰老样表型相似。然而,人类 SIRT6 调整了末端着丝粒的染色质,将 H3K9(组蛋白 H3 赖氨酸 9)脱去了乙酰基<sup>[2]</sup>。SIRT7 是一种广泛表达的核仁蛋白,它活化 RNA 聚合酶 I 的转录,防止了在心脏应激反应应答中的细胞凋亡<sup>[3]</sup>。只有 SIRT2 被报道为一种细胞质蛋白,在细胞质中它与  $\alpha$ -微管蛋白相结合并将其去乙酰化,同时与组蛋白去乙酰化酶 6(HDAC6)相互作用。在有丝分裂中 SIRT2 将组蛋白 H4 赖氨酸 16 去乙酰化。在帕金森病细胞模型中 SIRT2 的抑制调整了  $\alpha$ -突触核蛋白介导的毒性<sup>[4]</sup>。然而,通过对转录因子 FOXO1 的去乙酰作用,蛋白的过度表达抑制了在 3T3-L1 细胞中脂肪的形成<sup>[5]</sup>。SIRT3、4、5 在线粒体中的局限化尤其有趣:因为线粒体功能障碍与衰老和肿瘤都是有关的。SIRT3 是线粒体中调节能量代谢的去乙酰化酶<sup>[6-8]</sup>。SIRT4 通过抑制谷氨酸盐脱氢酶的活性,在胰腺 B 细胞中起着重大的作用。到目前为止,SIRT5 细胞底物和生物学作用仍是未知的,但它的结构显示出了去乙酰基的功能。基于以上观察,寿命调节基因可能对治疗人类疾病有巨大的作用(表 1)。

表 1 寿命调节基因一览表

寿命调节基因	位置	酶活性	作用
SIRT1	细胞核	NAD 依赖性去乙酰化酶	代谢、衰老、肿瘤、神经分化、rRNA 合成
SIRT2	细胞质	NAD 依赖性去乙酰化酶	细胞周期、脂肪生成、神经退行性变
SIRT3	线粒体	NAD 依赖性去乙酰化酶	线粒体去乙酰作用
SIRT4	线粒体	ADP 核糖转移酶	线粒体去乙酰作用、胰岛素代谢
SIRT5	线粒体	NAD 依赖性去乙酰化酶	线粒体去乙酰作用
SIRT6	细胞核	NAD 依赖性去乙酰化酶 ADP 核糖转移酶	基因组不稳定性、末端着丝粒染色质
SIRT7	细胞核	?	应激抵抗(心脏)、RNA pol1 转录

基金项目:黑龙江省自然科学基金(ZJY0606-01)

作者单位:150040 哈尔滨,黑龙江中医药大学附属第一医院

通讯作者:侯丽辉,电子邮箱:houlhui2007@sina.com

## 二、SIRT1 与衰老

通过 CR 在各种有机体(包括酵母菌到哺乳动物)中的作用,寿命调节基因调节着寿命的规律。CR

减少了年龄相关性慢性疾病的发生并延长了寿命。在酵母菌中, Sir2 和 NAD<sup>+</sup> 依赖性 CR 介导的葡萄糖浓度下降延长了寿命。Sir2p 在核糖体 RNA(rRNA) 位点上将组蛋白脱去乙酰基, 从而增加了 rRNA 沉默, 这又与增加寿命和抑制中毒 rRNA 循环产物有关。Sir-2.1 延长了漂亮新小杆线虫多达 50% 的寿命, 同时通过下调胰岛素信号肽, 结合 14-3-3 蛋白来激活叉头转录因子 DAF-16。白藜芦醇同源的 Sir2 的活化作用和其他寿命调节基因的活化剂模拟的 CR 作用并增加了黑腹果蝇的寿命。在哺乳动物中, 因为 CR 与不同的组织和代谢相关联, 所以机制更多更复杂。在 CR 应答中, SIRT1 与重要的代谢和调节蛋白有关(图 1)。

CR 小鼠 SIRT1 量下降, 用这些动物血清治疗的人类细胞, DNA 修复因子 Ku70 脱去了乙酰基, 从而抑制了应激诱导的细胞凋亡。CR 诱导内皮氮氧化物合酶生成, 促进线粒体的生源和 SIRT1 在多种代谢组织(包括肝脏、肌肉和大脑)中的表达<sup>[9]</sup>。此外, CR 减少了胰腺 β 细胞胰岛素的生成, 减少了白脂肪组织中脂肪的储存, 并且提高了肝脏和肌肉中的胰岛素敏感度。通过刺激胰腺 β 细胞中的 UCP2, SIRT1 促进了葡萄糖兴奋性胰岛素分泌, 并依靠对肝脏中 PGC-1α 的去乙酰化作用来调节葡萄糖的动态平衡以适应短时信号。

另外, 通过抑制过氧化物酶有活性的增生子受体 α, 增加白脂肪组织中脂肪的动用, SIRT1 减弱了脂肪的生成。SIRT1 同时还能保护心肌细胞, 使其免受缺血所致的细胞凋亡, 并且和轴突退化的神经保护和阿尔兹海默病有关<sup>[10]</sup>。SIRT1 影响神经祖细胞的氧化还原依赖性结局<sup>[11]</sup>, 在小鼠胚胎干细胞中调节细胞凋亡和 Nanog 基因的表达以适应活性氧<sup>[12]</sup>。这些结果表明, SIRT1 可能在功能上与干细胞衰老相关联。最近的发现已经直接将 SIRT1 的功能与 CR 在小鼠上的生理功能相联系。运用 SIRT1 灭活小鼠, 事实表明 SIRT1 对于依靠 CR 诱导的体力活动是必需的: 作为对 CR 的反应, 野生型小鼠在体力上有 5~10 倍的增加; 然而 SIRT1 灭活小鼠在活动上未显示任何增加。此外, SIRT1 转基因小鼠显示出一些类似于 CR 小鼠的表型<sup>[13]</sup>。以上研究支持了这一主张: 在哺乳动物中, SIRT1 调节依靠 CR 触发的重要的生理过程。

### 三、SIRT1 与肿瘤

肿瘤是一种年龄相关性疾病, 很多检查已经将 SIRT1 与肿瘤细胞中的后生调节基因表达相联系。

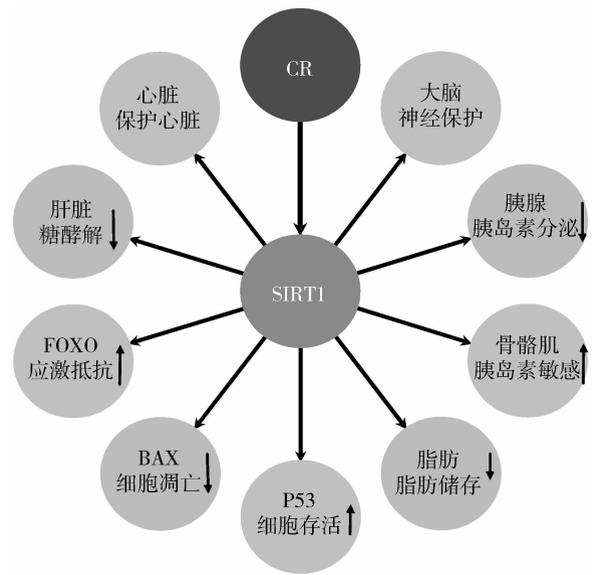


图 1 SIRT1 在哺乳动物中起作用

CR 或细胞应激增加了 SIRT1 的活性, SIRT1 调节各项年龄相关性代谢活动

在很多肿瘤中, SIRT1 集中于一些异常的沉默肿瘤抑制基因(抑制基因的 DNA 被过度甲基化)的启动子上。此外, 对 SIRT1 的抑制增加了内源性启动子中 H4-K16 和 H3-K7 的乙酰化作用, 同时满足了在乳腺癌和结肠癌细胞中基因重复表达的条件。SIRT1 通过对组蛋白 H1-K26 的脱乙酰作用和促进 H3K79me2 (一种与转录的活性染色质有关的标志物) 的丢失来调节异染色质的构成。SIRT1 与 SUV39H1 直接结合并脱去其乙酰基, 促进 SUV39H1 活性进而引起 H3K9me3 修饰水平的增加<sup>[14]</sup>。这些报道已经推测了 SIRT1 在联系肿瘤的后生标记上起到了作用。至于组蛋白, SIRT1 也将很多非组蛋白脱乙酰基化了, 其中包括了许多涉及生长调节、应激反应及肿瘤细胞凋亡的转录因子。通过将 p53 脱乙酰基化, SIRT1 负向调节 p53 依赖性细胞凋亡以应对细胞损伤, 并且集中于前髓细胞性白血病主体来抑制 p53 依赖性细胞衰老。其他 SIRT1 的底物(包括 DNA 修复蛋白 Ku70, FOXO 家族蛋白)以及细胞核因子-κB(NF-κB)也与应激反应和细胞凋亡有关。肿瘤抑制基因 HIC1 直接与 SIRT1 启动子相结合并削弱其转录, 调节 p53 依赖性 DNA 损伤反应。在一些肿瘤细胞类型中, SIRT1 水平大大提高。在人类前列腺癌中, SIRT1 与雄激素受体结合并将其去乙酰化, 同时抑制双氢睾酮诱导性雄激素受体信号肽。在人类上皮样癌细胞中, SIRT1 沉默引起了生长停止和(或)细胞凋亡。在

结肠癌 β 连环蛋白驱动小鼠模型中 SIRT1 异位诱导明显地减少了肿瘤的形成、增生及动物的发病率<sup>[15]</sup>。SIRT1 究竟充当癌基因还是抑癌基因仍然是未定的, 尽管如此, 这些发现提供了有力的论据: SIRT1 可能是肿瘤发展过程中一个关键性的调节因子(图 2)。

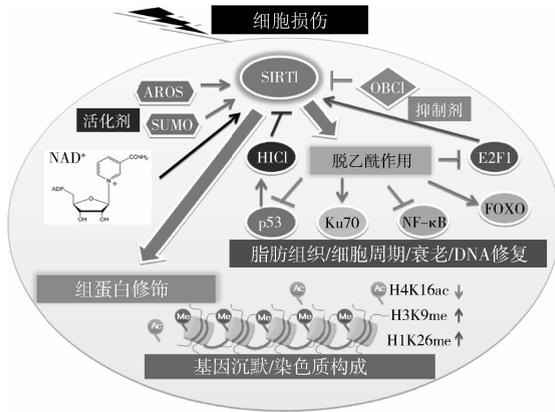


图 2 SIRT1 在肿瘤中的通路

SIRT1 将不同转录因子去乙酰基化。SUMO 化修饰或与 AROS 的结合活化了 SIRT1, 而 DBC1 抑制了 SIRT1 的活性。SIRT1 的后生调节促进了基因沉默和异染色质的形成

#### 四、SIRT1 的治疗潜力

对于治疗年龄相关性疾病, SIRT1 表现的像药物作用靶点。SIRT1 活化剂白藜芦醇在低等有机体和高脂饲养小鼠上模拟出了 CR 的健康效益。一种新的神奇小分子 SIRT1 活化剂(比白藜芦醇有效 1000 多倍)在脂肪、骨骼肌和肝脏中改善了葡萄糖动态平衡和胰岛素敏感性<sup>[16]</sup>。这种化合物对于 2 型糖尿病来说是一种新的治疗剂。在赖氨酸 734 上 SIRT1 的 SUMO 化增强了它去乙酰化酶的活性并调节了细胞对基因毒性破坏的应答<sup>[17]</sup>。此外, 最近一项经鉴定的 SIRT1 内源性活化剂显示, AROS 结合 SIRT1 的 N 端, 使其在损伤反应中针对 p53 的去乙酰化活动成为可能<sup>[18]</sup>。抑制基因例如 sirtinol, splitomycin 及烟酰胺已经在试验中被用以探查 SIRT1 的功能<sup>[19]</sup>。Tenovin 是被发现的一种有效的 SIRT1、SIRT2 抑制剂, 它可以间接的活化 p53, 这一发现将寿命调节基因与化学治疗药物的发展联系起来<sup>[20]</sup>。DBC1 是 SIRT1 的负向调节蛋白, 它直接作用于 SIRT1 的脱乙酰基作用范围, 阻碍底物到达催化部位的通路。这些研究表明, 通过化学药物或蛋白调节对 SIRT1 的活动加以控制, 在干预衰老和肿瘤的治疗上是意义重大的(图 3)。

过去的几十年里, 在关于各种细胞功能的研究中, SIRT1 是被研究最多的基因之一, 它与衰老和肿

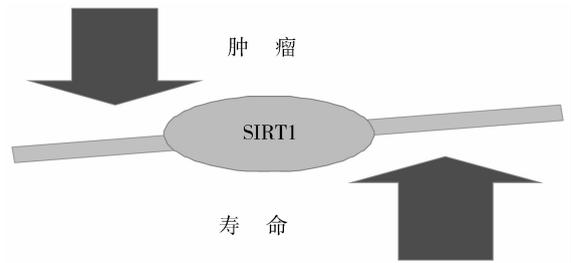


图 3 依靠 SIRT1 在衰老和肿瘤中取得最佳平衡

控制 SIRT1 的活性对于阻碍衰老和肿瘤的形成是极其重要的。SIRT1 的活性剂(例如小分子激动剂, AROS), 小泛素样修饰基因(SUMO)为抗衰老药物提供了最基本的成分。相似于 DBC1 的 SIRT1 抑制剂可能为在肿瘤中失调的 SIRT1 提供了治疗因素

瘤的联系给我们提供了新的思路: 在预防、治疗衰老和肿瘤上, 小分子活化剂或 SIRT1 特定作用靶点具有治疗潜能。为了实现这一可能性, 对 SIRT1 的特定机制还有待于更进一步地研究。

#### 参考文献

- Dali - Youcef, N., Lagouge, *et al.* Sirtuins: the 'magnificent seven', function, metabolism and longevity [J]. *Ann. Med.*, 2007, 39: 335 - 345
- Michishita, E., McCord, *et al.* SIRT6 is a histone H3 lysine 9 deacetylase that modulates telomeric chromatin [J]. *Nature*. 2008, 452:492 - 496
- Vakhrusheva, O., Smolka, *et al.* Sirt7 increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice [J]. *Circ Res*, 2008, 102:703 - 710
- Outeiro, T. F., Kontopoulos, *et al.* Sirtuin 2 inhibitors rescue alpha - synuclein - mediated toxicity in models of Parkinson's disease [J]. *Science*, 2007, 317:516 - 519
- Jing, E., Gesta, S. and Kahn, C. R. SIRT2 regulates adipocyte differentiation through FoxO1 acetylation/deacetylation [J]. *Cell Metab*, 2007, 6:105 - 114
- Lombard, D. B., Alt, F. W., *et al.* Mammalian Sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation [J]. *Mol. Cell. Biol.*, 2007, 27:8807 - 8814
- Yang, H., Yang, *et al.* Nutrient - sensitive mitochondrial NAD + levels dictate cell survival [J]. *Cell*, 2007, 130:1095 - 1107
- Scher, M. B., Vaquero, A. and Reinberg, D. SirT3 is a nuclear NAD + - dependent histone deacetylase that translocates to the mitochondria upon cellular stress [J]. *Genes*, 2007, 21:920 - 928
- Civitaresse, A. E., Carling, *et al.* Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans [J]. *PLoS Med*, 2007, 4:e76
- Tang, B. L. and Chua, C. E. SIRT1 and neuronal diseases [J]. *Mol. Aspects Med.* 2008, 29:187 - 200
- Prozorovski, T., Schulze - Toppoff, U., *et al.* Sirt1 contributes critically to the redox - dependent fate of neural progenitors [J]. *Nat. Cell. Biol.*, 2008, 10:385 - 394

- 12 Han, M. K. , Song, *et al.* SIRT1 regulates apoptosis and Nanog expression in mouse embryonic stem cells by controlling p53 subcellular localization[J]. *Cell Stem Cell*,2008, 2:241 - 251
- 13 Bordone, L. , Cohen, *et al.* SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging Cell*,2007, 6:759 - 767
- 14 Vaquero, A. , Scher, *et al.* SIRT1 regulates the histone methyl - transferase SUV39H1 during heterochromatin formation[J]. *Nature*, 2007, 450:440 - 444
- 15 Firestein, R. , Blander, *et al.* The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth[J]. *PLoS ONE*,2008, 3:e2020
- 16 Milne, J. C. , Lambert, *et al.* Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes[J]. *Nature*,2007, 450:712 - 716
- 17 Yang, Y. , Fu, *et al.* SIRT1 sumoylation regulates its deacetylase activity and cellular response to genotoxic stress[J]. *Nat. Cell. Biol.*, 2007, 9:1253 - 1262
- 18 Kim, E. J. , Kho, Active regulator of SIRT1 cooperates with SIRT1 and facilitates suppression of p53 activity[J]. *Mol. Cell*,2007, 28: 277 - 290
- 19 Westphal, C. H. , Dipp, M. A. and Guarente, L. A therapeutic role for sirtuins in diseases of aging? [J]*Trends Biochem. Sci*,2007, 32:555 - 560
- 20 Lain, S. , Hollick, *et al.* Discovery, in vivo activity, and mechanism of action of a small - molecule p53 activator[J]. *Cancer Cell*,2008, 13:454 - 463

(收稿:2009 - 06 - 02)

(修回:2009 - 12 - 17)

## MYC 的研究进展

张庆华 谢丰培 张 众

MYC 癌基因家族(包括:c - MYC, n - MYC 和 l - MYC)控制一系列生物学反应,包括细胞生长、增生、分化、凋亡及转化等,在过去 25 年中吸引着学术界广泛持久的兴趣。Meyer N 和 Penn L Z 对 1981 年后 293 篇文献的总结《Reflecting on 25 Years with MYC》<sup>[1]</sup>, Eilers M 和 Eisenman RN 对 1991 年以后 136 篇文献的综述《MYC's Broad Reach》及 Lüscher B 和 Larsson L - G 所作关于 MYC 的 CNIO 癌症会议(2007)报告《The World According to MYC》<sup>[2,3]</sup>,介绍了 MYC 基因与蛋白质研究的新近进展。本文复习这几篇专论及有关文献,介绍 MYC 的表达、作用机制、细胞生物学功能、调控失常及其对干细胞的调控。

### 一、MYC 表达的调控

1. 调控信号:MYC 基因转录与蛋白质产生具有高度复杂性,在多种不同生理和病理反应中发生相应的调整。MYC 的表达受多种信号传导通路和调控机制的严密控制,其中,WNT 信号通路对 MYC 表达的调控已经众所周知。Sansom 等(2007 年)证实在结肠癌发生过程,MYC 是癌发生相关的 WNT 信号传导途径下游一个必要的靶,Cowling 等(2007 年)报告 MYC 对 WNT 通路两个抑制物 DKK 和 SFRP1 进行负调控,这证明了 MYC 与 WNT 信号通路之间存在阳性

反馈环<sup>[4]</sup>。

2. MYC 转录及其 mRNA 更新的调控:在肿瘤细胞,MYC 的 mRNA 表达明显增加。1986 年几组研究者报告,MYC 是第 1 个被发现的由转录延长控制加以调控的真核细胞基因。细胞分化时,转录延长被阻断,在癌症则这种控制机制明显丧失。MYC 启动子是调控 MYC 网络多种信号级联反应的关键性会聚点。从 20 世纪 80 年代中期至 90 年代早期,开展了 MYC mRNA 更新的研究。在增生或抗增生刺激后,MYC mRNA 表达的巨大差异性不能单用转录来解释。ROCO(1995 年)应用涉及无细胞系统和完整细胞的新技术首先顺式、然后反式,研究了 MYC mRNA 的迅速更新,并发现 mRNA 衰变的翻译依赖性和翻译非依赖性两种机制。

3. MYC 蛋白质的调控:MYC 蛋白接受不同的翻译后调整,包括磷酸化与泛素化。关键性调控发生在 MYC 盒 I(MBI),MBI 含有在 Thr58 和 Ser62 磷酸化的部位。Thr58 和 Ser62 对 MYC 稳定性和活性及转化的调控具有重要意义。不同的信号通路,如 RAS 信号通过活化 MAP 激酶,增强 MYC 在 Ser62 的磷酸化,Ser62 磷酸化后增强 MYC 稳定性;磷酸化 Ser62 并为 Thr58 经糖原合成激酶 3 催化的磷酸化提供一个平台,Thr58 磷酸化继之以一系列变化导致 MYC 泛素化和蛋白酶体内降解<sup>[5,6]</sup>。MYC 的蛋白酶体介

作者单位:116023 大连市中心医院(张庆华);大连医科大学(谢丰培、张众)