

SIRT3 与 RA 的相关性研究进展

张枫帆, 杜小正

(甘肃中医药大学 针灸推拿学院, 兰州 730000)

摘要: 氧化应激的活性氧类(reactive oxygen species, ROS)在 RA 病理过程中起着重要作用。长期关节疼痛和功能受限会使 RA 患者处于应激状态, 机体出现 ROS 生成增加及清除能力下降的现象。ROS 可直接或间接参与关节滑膜炎症与骨质基本结构破坏, 导致关节炎临床症状的产生。SIRT3 为依赖于烟碱腺嘌呤二核苷酸(NAD)的新兴去乙酰化蛋白, 是一种氧化还原酶, 它通过去乙酰化作用调节 ROS 的产生, 抑制 ROS 的病理性蓄积, 与氧化应激关系密切。SIRT3 主要涉及到相关的线粒体代谢调节、相关能量代谢酶调节、抗 ROS 调节等。文章对 SIRT3 与 RA 的相关性研究进展进行总结, 为 RA 的深入研究提供参考。

关键词: SIRT3; 类风湿关节炎; 氧化应激

中图分类号: R593.22

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2019)05-0429-04

RA 普遍存在以氧化还原失衡为特征的“氧化应激”。活性氧类(reactive oxygen species, ROS)是生物体内有氧代谢产生的含氧自由基, 在细胞信号级联反应中起着第二信使的作用, 过量 ROS 可对多种分子造成氧化损伤。SIRT3 为 Sirtuins 蛋白家族之一的去乙酰化蛋白, 与氧化应激关系密切, 它参与能量代谢酶、抗氧化应激酶的调节, 通过增强抗氧化系统中各种酶的活性, 提高线粒体内 ROS 清除率, 从而发挥抗氧化应激作用。

1 SIRT3 家族

1.1 SIRT3 的结构域功能 SIRT3 为一类含 399 个氨基酸的去乙酰化蛋白, 属于第Ⅲ类组蛋白去乙酰化酶(HDAC), 也被称为 Sirtuins 蛋白家族。该家族高度保守进化, 共含有 7 个成员, 均为烟碱腺嘌呤二核苷酸(NAD)依赖的去乙酰化蛋白, 为打开酵母沉默信息调节基因 2(SIR2)的关键^[1]。其家族具有相似的催化核心区域, 含 275 个氨基酸残基, 含有一大一小两个结构域, Rossmann 折叠构成其较大结构域, 具有较强保守性。锌指结构[cys-x-x-cy-(x)₁₅-20-cys-x-x-cys]和螺旋构件构成

其较小结构域, 底物(SOD2 等)于其裂隙中发生催化反应^[2]。此外, 该去乙酰化蛋白家族还包括 SIRT1、SIRT2、SIRT4、SIRT5、SIRT6、SIRT7, 其基因定位、组织表达、细胞定位、酶活性、主要作用底物及功能方面各不相同。其中 SIRT3 能水解异常化学反应基团, 脱乙酰基和乙酰化赖氨酸残留的组蛋白核, 参与修饰蛋白调节和基因转录, 释放乙酰化底物, 参与呼吸链 ATP 的产生和抗氧化应激等反应^[3]。

1.2 SIRT3 基因结构与定位 人 SIRT3 基因定位于第 11 号染色体短臂 p15.5 内, 基因编码蛋白由 399 个氨基酸构成, 相对分子质量约 45 000。其 N 端包含一个由 25 个氨基酸残基组成的线粒体定位信号肽, 转运到线粒体后被剪接成相对分子质量为 28 000 且具有酶活性的蛋白, NAD-还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)的多寡决定其酶活性^[4]。有研究证实 SIRT3 活性局限, 全长型 SIRT3 被发现于细胞核内, 当遇到攻击刺激时(例如 DNA 损伤), 其活跃部位裂解, 转移到线粒体中, 调节线粒体代谢并参与氧化应激^[5]。近年来, 人们越来越关注 SIRT3 在线粒体中的作用, 多种疾病(例如癌症、心血管、肾脏疾病及退行性病变等)均离不开 SIRT3 去乙酰化^[6]。

2 SIRT3 在 RA 中的作用

2.1 参与线粒体代谢的调节 线粒体在能量产生、细胞信号转导和细胞存活中扮演着关键角色。去乙

收稿日期: 2018-06-30

基金项目: 甘肃省中医药管理局科研课题(GZK-2017-10); 兰州市科技计划项目(NO. 2014-1-247)

作者简介: 张枫帆(1993-), 女, 硕士生, 主要从事传统针刺手法对免疫性疾病影响的基础和临床研究

通信作者: 杜小正(E-mail: lz-duxiaozheng@163.com)

酰化酶 SIRT3 作为一个新兴的线粒体蛋白,可以直接干预 ATP 基础水平的调节,也可以去乙酰化发挥作用,它与线粒体内环境稳态密不可分。研究证实该蛋白调节线粒体稳态是通过 CypD,使存在于转换孔(mPTP)的 CypD 脱离,抑制 mPTP 开放^[7]。另外 SIRT3 可去乙酰化激活长链酰基辅酶 A 脱氢酶(LCAD),该酶为一种关键的线粒体脂肪酸氧化酶,能对线粒体能量代谢产生影响。Yang 等^[8]报道在健康线粒体中,SIRT3 结合 ATP 合酶的亚基,在基质 pH 值降低和线粒体膜电位降低的情况下,从 ATP 合酶中释放出来,该释放与基质蛋白的快速脱乙酰化有关,从而促进线粒体代谢稳定。RA 患者线粒体内存在缺氧、低血糖、ATP 生成不足等问题。Marin 等^[9]研究也证实 RA 滑膜关节腔内存在缺氧、糖代谢紊乱的情况。缺氧诱导因子 1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)作为核转录因子应激产生,它使葡萄糖转运体(GLUT1/GLUT3)和糖酵解酶(6-磷酸-1-激酶)产生增多以提高糖酵解活性。研究发现 SIRT3 低表达诱导 HIF-1 α 表达上调,稳定性及活性增加,诱导缺氧反应蛋白(如血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子、表皮生长因子)的表达,加速糖酵解代谢,产生大量 ATP 以满足机体能量代谢的需要^[10]。因此 SIRT3 能够通过去乙酰化作用调节 ATP 的产生。一项敲除 SIRT3 的小鼠试验发现,与正常小鼠相比,小鼠的耗氧量减少,多个组织中 ATP 水平下降^[11]。因此认为 SIRT3 表达可能对 RA 发病中 ATP 代谢产生影响,其具体机制尚待进一步深入研究。

2.2 参与能量代谢酶的调节 1989 年 Williamson 等^[12]通过 NMR 技术检测到 RA 患者关节液中存在能量代谢物的改变。研究通过分析 RA 患者血清代谢谱发现 RA 患者糖类、脂类、氨基酸及三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)能量代谢途径均受影响^[13]。课题组前期研究证实了 RA 模型家兔存在 TCA 紊乱,其相关代谢物(谷氨酰胺、 α -酮戊二酸、琥珀酸、延胡索酸等)水平均下降^[14],TCA 活动的异常可能与 RA 关节软骨及软骨细胞的生化代谢紊乱紧密相关^[15]。此外本课题组前期试验证实 RA 关节滑膜糖代谢途径中三磷酸腺苷酶、琥珀酸脱氢酶等活性减低^[16]。一项研究表明 SIRT3 能够通过去乙酰化激活异柠檬酸脱氢酶 2、琥珀酸脱氢酶(SDH)和谷胱甘肽还原酶(GSSG)等 TCA 循

环酶^[17]。另外 Yang 等^[8]证实在对 WT 小鼠热量限制的情况下,SIRT3 可催化异柠檬酸,导致还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)的上调,其上调是 GSSG 转化为还原型谷胱甘肽(GSH)的必要条件。谷胱甘肽过氧化物酶作为一种辅助因子在氧化应激中起着重要作用。此外在 NADPH 调节下,SIRT3 可以对氨基酸代谢中的谷氨酸脱氢酶(GDH)进行脱乙酰化和活化,催化谷氨酸转化为 α -酮戊二酸,调节氨基酸进入 TCA^[18]。总的来说 SIRT3 可能通过其去乙酰化活性激活 RA 患者 TCA 中 SDH、异柠檬酸脱氢酶 2(Idh)以及氨基酸代谢中的 GDH 等关键酶活性,保证能量代谢稳定。

2.3 参与 ROS 的调节 RA 普遍存在以氧化还原失衡为特征的“氧化应激”。ROS 是生物体内有氧代谢产生的含氧自由基,在细胞信号级联反应中起着第二信使的作用,过量 ROS 可对多种分子造成氧化损伤^[19]。ROS 主要包括超氧阴离子(O_2^-)、羟基($-OH$)和过氧化氢(H_2O_2)。检测发现,在 RA 患者中多种氧化损伤标志物、抗氧化剂、抗氧化酶指标升高,例如晚期氧化蛋白产物(AOPP)、脂质氧化标志物(TBARS)8-羟基脱氧鸟苷、蛋白羰基、氧化型透明质酸等,表明 RA 中存在氧化损伤,过量自由基对多种分子造成了损害^[19]。

2.3.1 ROS 对 RA 的氧化损伤作用 ROS 会造成蛋白质肽链断裂、交联、碳基生成和构象变化,诱导蛋白质氧化损伤^[20]。AOPP 是一类含双酪氨酸的蛋白质交联产物,是蛋白质氧化应激标志物。有研究已经证实 RA 患者体内 AOPP 水平明显高于正常人群,并且 AOPP 的蓄积水平与疾病发病程度密切相关^[21]。脂质氧化损伤中膜磷脂及其磷脂酶起到重要作用,由 PL-A2 水解产生的花生四烯酸通过 LOX 等途径代谢,最终导致白三烯产生,参与 ROS 的合成,并最终生成对 DNA 和蛋白质造成损伤的 MDA 和 4-羟基壬烯酸^[20]。另外研究表明 RA 患者体内 TBARS 水平明显高于正常人^[22]。在细胞中,氧化磷酸化、电离辐射或化学物质攻击可生成 ROS,ROS 攻击 DNA 分子中的碱基和脱氧核糖,还可以引起 DNA 的单、双链断裂造成 DNA 突变损伤,包括改变氧化鸟嘌呤加合物(8-oxoG)的嘌呤嘧啶碱基(8-oxoG 是 DNA 氧化损伤特征性标志物,研究发现 RA 患者血液和滑液中 8-oxoG 水平显著升高^[23])。经证实 SIRT3 可修复此

类DNA损伤,它可通过物理结合来影响DNA糖基酶激活,以防止其降解。另外SIRT3被发现对修复甲基化DNA至关重要,在保护线粒体完整性、抗细胞凋亡、抗氧化应激中扮演着重要的角色^[24]。

2.3.2 SIRT3参与抗氧化应激酶的调节 研究表明,氧化应激在RA病理过程中扮演着重要角色。SIRT3可以通过增强抗氧化系统中各种酶的活性,提高线粒体内ROS清除率,从而发挥抗氧化应激作用。SIRT3作为能量感受器及清除ROS的介导者可能在RA的发病机制中发挥着重要作用^[25]。研究证实线粒体内SIRT3过表达可增加锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)的蛋白水平和酶活性,启动抗氧化过程,抑制氧化应激^[26]。Mn-SOD是机体重要的氧自由基清除剂,具有催化超氧阴离子发生歧化反应的作用,在抗氧化损伤中作用显著。另外,Fang等^[27]研究表明该酶能够去乙酰化并激活异柠檬酸脱氢酶(Idh),催化氧化脱羧以外的异柠檬酸,不可逆形成CO₂与 α -酮戊二酸,促进抗氧化剂再生,使NADPH生成增多及GSSG转化为GSH,进而使GSH/GSSG比例上调,减轻ROS蓄积,减缓氧化应激作用。此外SIRT3在线粒体中与转录因子FoxO3a相互作用,它可以去乙酰化下游FOXO3a。当SIRT3存在过表达时可激活FOXO3a,上调SOD2和过氧化氢酶(CAT)的表达。研究证实SIRT3可提高依赖于FOXO3a的CAT mRNA表达水平,减少细胞内ROS蓄积^[28]。另外Song等^[29]发现SIRT3激活转录因子FOXO3a能促进去乙酰化Mn-SOD和Idh表达,减轻机体氧化应激所造成的损害。据此,推测SIRT3与Mn-SOD、GSH、CAT等ROS清除酶关系密切,可通过上述指标缓解RA氧化应激状态。

3 结语

综上所述,SIRT3是一种氧化还原酶,它通过去乙酰化作用调节ROS的产生,抑制ROS的病理性蓄积,与氧化应激关系密切。SIRT3与RA的相关性涉及到线粒体代谢调节、能量代谢酶调节、抗ROS调节。Murat等^[30]研究表明在RA活动期SIRT3 mRNA表达上调。目前阶段SIRT3与RA关系的研究较少,尚需进一步开展基础与临床研究,深入探索SIRT3在RA中的作用。

参考文献

[1] Spadari RC, Cavadas C, De Carvalho A, *et al.* Role of beta-

adrenergic receptors and sirtuin signaling in the heart during aging, heart failure, and adaptation to stress[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(1): 109-120.

- [2] Bheda P, Wang JT, Escalante SC, *et al.* Structure of sir2 Tm bound to a propionylated peptide[J]. *Protein Sci*, 2011, 20(1): 131-139.
- [3] Osborne B, Bentley NL, Montgomery MK, *et al.* The role of mitochondrial sirtuins in health and disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 100: 164-174.
- [4] Osborne B, Cooney GJ, Turner N. Are sirtuin deacetylase enzymes important modulators of mitochondrial energy metabolism[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(4): 1295-1302.
- [5] Singh CK, Chhabra G, Ndiaye MA, *et al.* The role of sirtuins in antioxidant and redox signaling[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 28(8): 643-661.
- [6] Santos L, Escande C, Denicola A. Potential modulation of sirtuins by oxidative stress[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016: 9831825.
- [7] Perico L, Morigi M, Benigni A. Mitochondrial sirtuin 3 and renal diseases[J]. *Nephron*, 2016, 134(1): 14-19.
- [8] Yang W, Nagasawa K, Munch C, *et al.* Mitochondrial sirtuin network reveals dynamic SIRT3-dependent deacetylation in response to membrane depolarization[J]. *Cell*, 2016, 167(4): 985-1000.
- [9] Marin Hernandez A, Gallardo Pérez JC, Ralph SJ, *et al.* HIF1 α modulates energy metabolism in cancer cells by inducing over expression of specific glycolytic isoforms [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2009(9): 1084-1101.
- [10] Finley LW, Carracedo A, Lee J, *et al.* SIRT3 opposes reprogramming of cancer cell metabolism through HIF1 α de-stabilization[J]. *Cancer Cell*, 2011, 19(3): 416-428.
- [11] Zeng XL, Yang J, Hu O, *et al.* Dihydromyricetin ameliorates nonalcoholic fatty liver disease by improving mitochondrial respiratory capacity and redox homeostasis through modulation of SIRT3 signaling[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2018, 30(2): 163-183.
- [12] Williamson MP, Humm G, Crisp AJ. 1H nuclear magnetic resonance investigation of synovial fluid components in osteoarthritis, rheumatoid arthritis and traumatic effusions[J]. *Br J Rheumatol*, 1989, 28(1): 23-27.
- [13] Zhou J, Chen J, Hu CF, *et al.* Exploration of the serum metabolite signature in patients with rheumatoid arthritis using gas chromatography-mass spectrometry[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2016, 127(SI): 60-67.
- [14] 杜小正, 袁博, 王金海, 等. 热补针法对寒证类风湿关节炎模型家兔滑膜组织代谢物的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2017(2): 55-59.
- [15] Qi Y, Li SZ, Pi ZF, *et al.* Metabonomic study of Wu-tou decoction in adjuvant-induced arthritis rat using ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol*

- Biomed Life Sci, 2014, 953-954: 11-19.
- [16] 杜小正, 王金海, 秦晓光, 等. 热补针对 RA 模型家兔关节滑膜 LDH、ATPase 活性的影响[J]. 中医研究, 2016, 29(1): 58-62.
- [17] 林凯丽, 邢晓萌, 刘强. 沉默信息调节因子 3 蛋白对线粒体代谢和凋亡调节的研究进展[J]. 环境与健康杂志, 2015, 32(2): 186-188.
- [18] Chen Y, Fu LL, Wen X, *et al.* Sirtuin-3 (SIRT3), a therapeutic target with oncogenic and tumor-suppressive function in cancer[J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1047.
- [19] Phull AR, Nasir B, Haq IU, *et al.* Oxidative stress, consequences and ROS mediated cellular signaling in rheumatoid arthritis[J]. Chem Biol Interact, 2018, 281: 121-136.
- [20] Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: Properties, sources, targets, and their implication in various diseases[J]. Ind J Clin Biochem, 2015, 30(1): 11-26.
- [21] Liang M, Wang J, Xie C, *et al.* Increased plasma advanced oxidation protein products is an early marker of endothelial dysfunction in type 2 diabetes patients without albuminuria 2 [J]. J Diabetes, 2014, 6(5): 417-426.
- [22] Yalente AJ, Yoshida T, Clark RA, *et al.* Advanced oxidation protein products induce cardiomyocyte death via Nox2/Rac1/superoxide-dependent TRAF3IP2/JNK signaling [J]. Free Radic Biol Med, 2013, 60: 125-135.
- [23] Cilli P, Minoprio A, Bossa C, *et al.* Formation and repair of mismatches containing ribonucleotides and oxidized bases at repeated DNA sequences[J]. J Biochem, 2015, 290(43): 26259-26269.
- [24] Bharathi, Zhang Y, Mohsen A, *et al.* 2013. Sirtuin 3 protein regulates long chain acyl CoA dehydrogenase by deacetylating conserved lysines near the active site[J]. J Biol Chem, 2013, 288(47): 33837-33847.
- [25] Cheung KG, Cole LK, Xiang B, *et al.* SIRT3 protein attenuates doxorubicin induced oxidative stress and improves mitochondrial respiration in h9c2 cardiomyocytes [J]. J Biol Chem, 2015, 290(17): 10981-10993.
- [26] Tao R, Vassilopoulos A, Parisiadou L, *et al.* Regulation of MnSOD enzymatic activity by Sirt3 connects the mitochondrial acetylome signaling networks to aging and carcinogenesis [J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20: 1646-1654.
- [27] Fang Y, Wang J, Xu L, *et al.* Autophagy maintains ubiquitination-proteasomal degradation of Sirt3 to limit oxidative stress in K562 leukemia cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(24): 35692-35702.
- [28] Guo Q, Li SY, Xie YJ, *et al.* The NAD(+) -dependent deacetylase, Bifidobacterium longum Sir2 in response to oxidative stress by deacetylating SigH (sigma(H)) and FOXO3a in Bifidobacterium longum and HEK293T cell respectively [J]. Free Radic Biol Med, 2017, 108: 929-939.
- [29] Song C, Zhao J, Fu B, *et al.* Sodium fluoride induces nephrotoxicity via oxidative stress regulated mitochondrial SIRT3 signaling pathway[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 672.
- [30] Murat K, Yolbas S, Sahin C, *et al.* Changes in sirtuin 2 and sirtuin 3 mRNA expressions in rheumatoid arthritis[J]. Eur J Rheumatol, 2017, 4(2): 83-86.