

· 综述 ·

# 沉默信息调节因子 3 在心肌缺血再灌注损伤中保护作用机制的研究进展

覃秋语 徐彤彤 武琦 赵位昆

**【摘要】** 早期经皮冠状动脉介入及溶栓治疗能及时地开放闭塞的冠状动脉,使缺血的心肌得到再灌注,挽救心肌梗死患者的生命。但部分心肌梗死患者由于微血管阻塞、大量氧自由基产生等原因,再灌注后会诱导心肌细胞损伤,加重心脏的功能障碍和结构改变。沉默信息调节因子 3 (SIRT3) 是 Sirtuin 蛋白家族的成员,具有一定的心脏保护作用。最近的研究表明, SIRT3 可能在心肌缺血再灌注损伤 (MIRI) 中对心肌细胞起到一定的保护作用。该文将对 SIRT3 在 MIRI 中保护作用机制的研究进展作一综述。

**【关键词】** 沉默信息调节因子 3; 心肌缺血再灌注损伤; 氧化应激; 线粒体损伤

## Research progress on the protective mechanism of sirtuin 3 in myocardial ischemia-reperfusion injury

Qin Qiuyu, Xu Tongtong, Wu Qi, Zhao Weikun. Medical Care Ward, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin 541001, China

Corresponding author, Xu Tongtong, E-mail: xutongtongguilin@163.com

**【Abstract】** Early percutaneous coronary intervention and thrombolytic therapy can timely treat the coronary arterial occlusion, offer reperfusion to the ischemic myocardium and save the lives of patients with myocardial infarction. Nevertheless, due to microvascular obstruction and a large quantity of oxygen free radicals, reperfusion may induce cardiomyocyte injury and aggravate cardiac dysfunction and structural changes in certain patients with myocardial infarction. Sirtuin 3 (SIRT3) is a member of the sirtuin protein family, and exerts certain cardioprotective effect. Recent studies have demonstrated that SIRT3 exerts a protective effect on the development of myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI). In this review, the research progress on the mechanism of SIRT3 in MIRI was summarized.

**【Key words】** Sirtuin 3; Myocardial ischemia reperfusion injury; Oxidative stress; Mitochondrial injury

心肌梗死是严重威胁到人类健康的心血管疾病,是由于冠状动脉部分堵塞引发急性的、持续性的缺血缺氧而造成的心肌坏死。早期经皮冠状动脉介入治疗及溶栓治疗是使冠状动脉及时恢复血运,挽救心肌细胞的有效措施。但部分患者心脏恢复血流灌注后,心肌组织的损伤反而更为严重,这种现象称为心肌缺血再灌注损伤 (MIRI)<sup>[1]</sup>。如何预防及治疗 MIRI 对改善心肌梗死患者预后具有重大意义。沉默信息调节蛋白家族 (Sirtuin) 是近年来心血管保护的研究热点,其中沉默信息调节因子 3 (SIRT3) 被认为对缺血后再灌注 (I/R)

的心脏具有保护作用,可能是 MIRI 治疗的新靶点。本文将对近年来关于 SIRT3 在 MIRI 中保护作用机制的研究进展作一综述。

### 一、SIRT3

#### 1. SIRT3 的结构与分布

SIRT3 是 sⅢ类组蛋白去乙酰化酶 Sirtuin 蛋白家族的成员。Ⅲ类组蛋白去乙酰化酶 Sirtuin 蛋白是酵母沉默信息因子 2 在哺乳动物中的同源蛋白,具有烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 依赖性,在物种间高度保守。在哺乳动物中,已经确定 7 个不同结构的 Sirt 基因,分别编码 7 个不同 Sirt 酶

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2019.01.002

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81760861); 桂林市科学研究与技术开发计划项目 (20160226-1-1)

作者单位: 541001 桂林, 桂林医学院附属医院医疗保健病区 (覃秋语, 徐彤彤, 赵位昆); 221004 徐州, 徐州医科大学 (武琦)

通信作者, 徐彤彤, E-mail: xutongtongguilin@163.com

(Sirt1-7)。其中 SIRT3 主要定位于线粒体, 部分也分布在细胞核及细胞质中, 是线粒体优势去乙酰化酶, 在代谢旺盛的组织中如心脏、肝脏和脑分布最多<sup>[2]</sup>。人类 SIRT3 有长和短两种类型。全长 SIRT3 是一种具有 N-末端线粒体定位序列的 44 kDa 蛋白, 在细胞应激的状态下, 全长 SIRT3 被从细胞核内转导至线粒体中, 并被存在于线粒体基质中的基质加工肽酶切割成 28 kDa 短形式。既往认为只有短形式的 SIRT3 才具有酶促活性, 但核内的全长 SIRT3 也被发现具有脱乙酰酶活性, 能调节 Foxo3a 转录因子的活性和核基因的表达<sup>[3]</sup>。

## 2. SIRT3 的功能

SIRT3 参与调节线粒体代谢过程。线粒体中产生 ATP 的关键酶如乙酰辅酶 A、谷氨酸脱氢酶、脱乙酰异柠檬酸脱氢酶 2 等均为 SIRT3 的底物, 因此 SIRT3 可以通过调节上述代谢酶来影响线粒体能量的产生<sup>[4]</sup>。SIRT3 与部分肿瘤的预后密切相关。研究表明, 在 HCT116 结肠癌细胞系中, SIRT3 可以抑制缺氧诱导因子 1- $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 的活性<sup>[5]</sup>。HIF-1 $\alpha$  的激活将直接增加赖氨酰氧化酶和碳酸酐酶 IX 的转录以及激活甘油磷酸激酶 1 (PGK1) 和磷酸果糖激酶 -1 (PFK-1) 等代谢基因来抑制肿瘤的生长和扩散。SIRT3 可以激活糖原合成酶激酶 -3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ), GSK-3 $\beta$  诱导促凋亡蛋白 BCL2 相关 X 蛋白的表达和线粒体转位以促进细胞凋亡抑制肝细胞癌生长。但也有研究发现, 在食管鳞状细胞癌中, SIRT3 高表达会降低食管鳞状细胞癌患者的生存率, 提示 SIRT3 参与了促进食管鳞状细胞癌的发展<sup>[6]</sup>。SIRT3 在癌症发展中的作用尚未完全明确, 还需要更多的研究。SIRT3 对心血管系统有着明显的保护作用。SIRT3 通过脱乙酰化作用使 Foxo3a 激活, Foxo3a 能通过增强锰超氧化物歧化酶 (MnSOD) 和过氧化氢酶的活性来抑制细胞内活性氧簇 (ROS) 的水平及 ROS 介导的 MAPK/ERK 和 PI3K/Akt 信号传导途径, 阻止心脏肥大。Dikalova 等<sup>[7]</sup>研究发现, SIRT3 的低表达可以使超氧化物歧化酶 2 (SOD2) 乙酰化, 降低 SOD2 的活性, 从而促进内皮损伤及高血压的发展, 提示 SIRT3 对延缓高血压病的发展有积极的作用。SIRT3 对心血管系统的保护作用与线粒体融合蛋白 OPA1 有关。OPA1 能维持线粒体嵴结构并阻止细胞凋亡。肥厚型心肌病、心力衰竭等心血管疾病能诱导 OPA1 乙酰化并降低其 GTP 酶活性, 使线粒体结构破坏, 细胞凋亡。Samant 等<sup>[8]</sup>研究

发现, SIRT3 在多柔比星介导的心肌损伤中, 能逆转 OPA1 的乙酰化, 恢复 OPA1 的 GTP 酶活性, 从而起到保护心脏的作用。

## 二、MIRI

心肌梗死是常见的急重症, 致死率及致残率极高。据统计, 2016 年全球范围内约发生 1 590 万例心肌梗死<sup>[9]</sup>。及时地恢复梗塞心肌的血流灌注可以挽救大量受损的心肌细胞, 维持心脏的功能, 避免病情进一步的恶化。但大量的实验证明, 再灌注本身也会对部分心肌梗死患者的心肌造成损害, 甚至导致患者的死亡。因此避免 MIRI 的发生, 对心肌梗死患者的预后有极大的好处。关于 MIRI 的确切发生机制尚未明确, 目前的研究认为 MIRI 可能的发生机制有: ①心脏缺血及再灌注过程中, 心肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的升高会诱导钙蛋白酶的产生并激活其活性。过量的钙蛋白酶会加速分解肌钙蛋白 T, 肌钙蛋白 I 等肌原纤维蛋白, 破坏心肌细胞结构, 导致心脏收缩力减弱<sup>[10]</sup>。②心肌梗死后再灌注恢复血流时, 由于黄嘌呤氧化酶和 NADPH 氧化酶的激活、线粒体膜通透性转换孔 (MPTP) 开放等缘故, 使 ROS 增多<sup>[11]</sup>。用少量的 ROS 对心脏进行预处理可对心肌组织产生保护作用, 但是 I/R 过程中产生的过量 ROS 会对心肌细胞产生严重的损伤并扩大心肌梗死面积。③再灌注时心肌细胞内生理 pH 的迅速恢复和钙离子超载破坏了线粒体结构的稳定性, 使线粒体功能受损, 造成心肌细胞的不可逆性损害。④蛋白激酶、Beclin1 蛋白等物质在缺血再灌注时表达上调并介导自噬的发生。自噬在 I/R 中可以通过清除功能受损的细胞器和蛋白酶体维持细胞稳态, 避免心肌进一步的损伤, 但自噬的长期激活会诱导心肌细胞发生自噬性细胞死亡, 加重心肌损伤<sup>[12]</sup>。

## 三、SIRT3 与 MIRI

既往对 SIRT3 的研究主要集中在肿瘤领域。随着研究的进展发现, SIRT3 也具有心脏保护作用, 特别是在 MIRI 领域。Du 等<sup>[13]</sup>发现, SIRT3 能通过降低 ROS 和乳酸脱氢酶 (LDH) 水平来减轻 I/R 诱导的心肌损伤。Porter 等<sup>[14]</sup>研究发现, SIRT3 的减少可能增加心脏对 MIRI 的易感性, 加重心肌组织的 I/R 损伤, 且这种作用可能随着年龄的增长而增强。然而, Koentges 等<sup>[15]</sup>的研究认为, SIRT3 的缺乏并不会对 I/R 后的心脏造成额外的损害。这与目前大多数的研究结论是相悖的, 可能的原因是 SIRT3 对心脏的保护作用具有年龄相关性, 而

Koentges 等<sup>[15]</sup>的研究使用的小鼠模型年龄较其他学者的研究所使用的模型更为年轻导致实验结果的不同。关于 SIRT3 在 MIRI 中的作用机制尚未研究透彻,但大部分的研究均显示了 SIRT3 对 I/R 诱导的心脏损伤有着保护作用,这种作用可能与氧化应激、线粒体损伤及自噬有关,提示 SIRT3 可能成为 MIRI 治疗的新靶点。

### 1. SIRT3 与氧化应激

SIRT3 对 MIRI 的心脏保护作用与 SOD2 有关。SOD2 是催化超氧化物自由基发生歧化反应分解为普通氧分子或过氧化氢的 SOD 中的一员,主要位于线粒体内,在其反应中心中含有锰,是人体内重要的抗氧化剂,通过抑制 ROS 的生成来抑制 MIRI 中的氧化应激反应。Quinones 等<sup>[16]</sup>通过对比冬眠松鼠及 I/R 大鼠心肌蛋白质组的表达发现,SIRT3 可能是冬眠心肌对 MIRI 的保护作用的关键成分,且 SIRT3 在 MIRI 中上调了 MnSOD 的表达。Wang 等<sup>[17]</sup>的研究发现,SIRT3 抑制剂在 I/R 的心肌组织中能显著增加乙酰化的 SOD2,降低其活性,加重心肌细胞的损害,提示了 SIRT3 在 MIRI 中能通过使 SOD2 去乙酰化恢复活性从而阻止心肌细胞的损伤。SIRT3 与 NADPH 氧化酶 2 (NOX2) 的相关性可能是其在 MIRI 中心脏保护作用的关键。NOX2 是 NADPH 氧化酶的亚型,在 I/R 期间高度表达并介导 ROS 的产生,从而介导氧化应激反应,诱导心肌细胞的损伤。Zhai 等<sup>[18]</sup>通过对 SIRT3 在 MIRI 中的关系研究发现,SIRT3 在 MIRI 中除了通过激活 SOD2 的活性来减轻氧化应激和细胞凋亡外,还能降低 NOX2 的表达。以上研究提示,SIRT3 在 MIRI 中的保护可能与其对氧化应激反应的抑制作用有关。

### 2. SIRT3 与线粒体损伤

SIRT3 主要定位于线粒体内,对维持线粒体功能及结构稳定性起着重要作用,因此推测 SIRT3 对 MIRI 的保护作用可能与线粒体有关。MPTP 开放被认为是 I/R 中线粒体功能障碍发生的核心。心肌梗死后线粒体内的  $\text{Ca}^{2+}$  超载和大量 ROS 的形成是 MPTP 开放的原因,MPTP 的开放使线粒体膜通透性改变,破坏线粒体膜电位,解偶联氧化磷酸化,导致 ATP 耗竭和细胞死亡。Parodi-Rullán 等<sup>[19]</sup>研究发现,SIRT3 的缺乏会加剧 MIRI 造成的心功能障碍,这种现象与 MPTP 的开放和 ROS 的生成增多有关。Bochaton 等<sup>[20]</sup>的研究结论与 Parodi-Rullán 相同,并提出 SIRT3 在 I/R 过程中可能通过

亲环蛋白 D (CyPD) 的去乙酰化来抑制 MPTP 的开放。CyPD 是具有肽酰基脯氨酰顺反异构酶活性的亲环蛋白家族的一员,主要位于线粒体内,具有调剂 MPTP 开放的功能。在 Bochaton 等<sup>[20]</sup>的研究中,I/R 使乙酰化的 CyPD 增加,这种变化有利于 MPTP 的开放并导致心肌细胞死亡,增加 SIRT3 活性能使 CyPD 的乙酰化减弱并防止 MIRI 的发生。SIRT3 在 MIRI 中保护线粒体的功能可能与 AMPK-PGC-1 $\alpha$  轴有关。Yu 等 (2017 年) 发现,AMPK-PGC-1 $\alpha$ -SIRT3 轴与褪黑素保护 MIRI 心肌组织线粒体功能的作用有密切关系。通过上调 AMPK-PGC1 $\alpha$  的信号传导可以增加 SIRT3 的活性,并减少心肌线粒体在 I/R 期间的氧化应激损伤,改善 MIRI。AMPK-PGC1 的上调可以抑制 I/R 期间的炎症反应,提示 AMPK-PGC-1 $\alpha$ -SIRT3 轴可能成为 MIRI 新的治疗靶点。值得注意的是,有研究提出 SIRT3 在线粒体外的模型可以通过去乙酰化 AMPK 及 PGC1 的上游物质,来提高 AMPK 及 PGC-1 $\alpha$  的表达。但 Yu 等 (2017 年) 的实验给予 SIRT3 抑制剂后并未检测到 AMPK 和 PGC-1 $\alpha$  蛋白水平的变化。目前关于 AMPK-PGC1 $\alpha$  轴与 SIRT3 在 MIRI 线粒体中具体的关联及作用机制还有待进一步研究。因此,SIRT3 可能通过对 I/R 诱导的线粒体损伤的保护来抑制 MIRI 的发展。

### 3. SIRT3 与自噬

在 I/R 条件下,心肌细胞通过自噬来选择性地隔离、分解某些细胞器,如线粒体、过氧化物酶体等,以此维持细胞能量水平来促进细胞的存活。心肌缺血可以诱导自噬的发生,并通过恢复血流灌注进一步增强。目前的研究认为自噬在心肌 MIRI 中表现出两面性,在心肌缺血阶段,自噬为心肌提供了保护作用,而在 I/R 阶段,自噬的过度激活可能诱导细胞死亡。近期的实验研究表明,SIRT3 在 I/R 中与自噬表现出一定的关联性。Das 等 (2014 年) 研究发现,SIRT3 能上调 Foxo3a-Pink1-Parkin 信号传导来激活线粒体自噬,减少 I/R 诱导的心肌损伤。I/R 期间受损的线粒体因功能紊乱而产生过量的 ROS,这个过程还会激活线粒体自噬。但也有实验提出了 SIRT3 对细胞自噬的影响在保护 I/R 期间心功能方面并不都是有益的。Wei 等 (2013 年) 研究表明,SIRT3 通过介导乙醛脱氢酶 (ALDH2) 去乙酰化抑制了 ALDH2 的活性,降低了 ALDH2 对 I/R 的保护作用。ALDH2 是乙醛脱氢酶家族中的一员,具有抗氧化应激作用。I/R 期间,



ALDH2 通过乙酰化来增强其活性。在心肌缺血阶段, ALDH2 激活 AMPK 以抑制 mTOR, 有利于自噬。在再灌注阶段 AMPK 不再活化, ALDH2 通过 Akt 磷酸化激活 mTOR, 从而导致自噬的抑制, 表明 ALDH2 对 I/R 诱发的心肌损伤具有保护作用。而 SIRT3 的去乙酰化作用, 能使 ALDH2 的乙酰化程度降低, 从而降低了其对自噬的调控作用。上述研究表明, SIRT3 通过调控自噬来参与 I/R 的发展, 但 SIRT3 与自噬的具体联系尚不清楚, 未来还需要更多的实验研究来探索。

#### 四、结 语

恢复缺血心肌的血流, 是目前治疗心肌梗死的主要手段, 避免 MIRI 的发生, 是改善心肌梗死患者预后的重点。大量的研究表明, SIRT3 可以通过多种途径在 MIRI 中发挥保护心脏的功能, 并可能是 MIRI 的新治疗靶点。如何将 SIRT3 运用在 MIRI 的临床治疗上, 还有待于相关研究的进一步深入展开。

#### 参 考 文 献

- [1] Frank A, Bonney M, Bonney S, Weitzel L, Koeppen M, Eckle T. Myocardial ischemia reperfusion injury: from basic science to clinical bedside. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*, 2012, 16 ( 3 ): 123-132.
- [2] Hirschey MD, Shimazu T, Huang JY, Schwer B, Verdin E. SIRT3 regulates mitochondrial protein acetylation and intermediary metabolism. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 2011, 76 : 267-277.
- [3] Iwahara T, Bonasio R, Narendra V, Reinberg D. SIRT3 functions in the nucleus in the control of stress-related gene expression. *Mol Cell Biol*, 2012, 32 ( 24 ): 5022-5034.
- [4] Bugger H, Witt CN, Bode C. Mitochondrial sirtuins in the heart. *Heart Fail Rev*, 2016, 21 ( 5 ): 519-528.
- [5] Bell EL, Emerling BM, Ricoult SJ, Guarente L. SirT3 suppresses hypoxia inducible factor 1 $\alpha$  and tumor growth by inhibiting mitochondrial ROS production. *Oncogene*, 2011, 30 ( 26 ): 2986-2996.
- [6] Yan SM, Han X, Han PJ, Chen HM, Huang LY, Li Y. SIRT3 is a novel prognostic biomarker for esophageal squamous cell carcinoma. *Medical Oncology*, 2014, 31 : 103.
- [7] Dikalova AE, Itani HA, Nazarewicz RR, McMaster WG, Flynn CR, Uzhachenko R, Fessel JP, Gamboa JL, Harrison DG, Dikalov SI. Sirt3 impairment and SOD2 hyperacetylation in vascular oxidative stress and hypertension. *Circ Res*, 2017, 121 ( 5 ): 564-574.
- [8] Samant SA, Zhang HJ, Hong Z, Pillai VB, Sundaresan NR, Wolfgeher D, Archer SL, Chan DC, Gupta MP. SIRT3 deacetylates and activates OPA1 to regulate mitochondrial dynamics during stress. *Mol Cell Biol*, 2014, 34 ( 5 ): 807-819.
- [9] GBD 2016 Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980-2016 : a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*, 2017, 390 ( 10100 ): 1151-1210.
- [10] Neuhof C, Neuhof H. Calpain system and its involvement in myocardial ischemia and reperfusion injury. *World J Cardiol*, 2014, 6 ( 7 ): 638-652.
- [11] 付艳东, 赵翠萍. PCI 术后心肌缺血再灌注损伤机制与保护治疗. *新医学*, 2012, 43 ( 6 ): 351-355.
- [12] Ma S, Wang Y, Chen Y, Cao F. The role of the autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1852 ( 2 ): 271-276.
- [13] Du Y, Zhang J, Fang F, Wei X, Zhang H, Tan H, Zhang J. Metformin ameliorates hypoxia/reoxygenation-induced cardiomyocyte apoptosis based on the SIRT3 signaling pathway. *Gene*, 2017, 626 : 182-188.
- [14] Porter GA, Urciuoli WR, Brookes PS, Nadtochiy SM. SIRT3 deficiency exacerbates ischemia-reperfusion injury: implication for aged hearts. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2014, 306 ( 12 ): H1602-H1609.
- [15] Koentges C, Pfeil K, Meyer-Steenbuck M, Lother A, Hoffmann MM, Odening KE, Hein L, Bode C, Bugger H. Preserved recovery of cardiac function following ischemia-reperfusion in mice lacking SIRT3. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016, 94 ( 1 ): 72-80.
- [16] Quinones QJ, Zhang Z, Ma Q, Smith MP, Soderblom E, Moseley MA, Bain J, Newgard CB, Muehlbauer MJ, Hirschey M, Drew KL, Barnes BM, Podgoreanu MV. Proteomic profiling reveals adaptive responses to surgical myocardial ischemia-reperfusion in hibernating arctic ground squirrels compared to rats. *Anesthesiology*, 2016, 124 ( 6 ): 1296-1310.
- [17] Wang R, Zhang JY, Zhang M, Zhai MG, Di SY, Han QH, Jia YP, Sun M, Liang HL. Curcumin attenuates IR-induced myocardial injury by activating SIRT3. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22 ( 4 ): 1150-1160.
- [18] Zhai M, Li B, Duan W, Jing L, Zhang B, Zhang M, Yu L, Liu Z, Yu B, Ren K, Gao E, Yang Y, Liang H, Jin Z, Yu S. Melatonin ameliorates myocardial ischemia reperfusion injury through SIRT3-dependent regulation of oxidative stress and apoptosis. *J Pineal Res*, 2017, 63 ( 2 ). doi: 10.1111/jpi.12419.
- [19] Parodi-Rullón RM, Chapa-Dubocq X, Rullón PJ, Jang S, Javadov S. High Sensitivity of SIRT3 deficient hearts to ischemia-reperfusion is associated with mitochondrial abnormalities. *Front Pharmacol*, 2017, 8 : 275.
- [20] Bochaton T, Crola-Da-Silva C, Pillot B, Villedieu C, Ferreras L, Alam MR, Thibault H, Strina M, Gharib A, Ovize M, Baetz D. Inhibition of myocardial reperfusion injury by ischemic postconditioning requires sirtuin 3-mediated deacetylation of cyclophilin D. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 84 : 61-69.

( 收稿日期: 2018-10-10 )

( 本文编辑: 杨江瑜 )