

沉默信息调节因子 1 对肾间质保护作用的研究进展

王 心综述, 陈 铨审校

【摘要】 肾间质病变涉及到细胞的凋亡、坏死、纤维化。研究显示, 间质病变与肾功能的关系可能较肾小球硬化与肾功能异常更为密切。沉默信息调节因子 1 (SIRT1) 是一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD⁺) 的组蛋白去乙酰化酶, 是 sirtuins 家族的重要成员, 通过调节细胞凋亡、代谢、自噬等过程在疾病中发挥保护作用。随着研究深入, 其在肾间质的病理生理过程的作用逐渐受到关注, 文章就 SIRT1 在肾小管细胞坏死、凋亡, 间质纤维化中的保护作用进行综述。

【关键词】 沉默信息调节因子 1; 肾小管间质; 急性肾损伤; 慢性肾损伤

【中图分类号】 R334 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1672-271X(2018)02-0177-04

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2018.02.016

0 引 言

沉默信息调节因子基因家族 2 (silent information regulator 2, Sir2) 最初是在酵母菌中发现的一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 的组蛋白去乙酰化酶, 对延长酵母菌寿命和延缓衰老有重要作用^[1]。Sirtuins 家族是后续发现的与 Sir2 高度同源的蛋白质家族。哺乳动物 sirtuins 家族共 7 个成员, 定位于不同的细胞器, 沉默信息调节因子 1 (silent information regulator 1, SIRT1)、6、7 主要在细胞核, SIRT4、5 主要在线粒体, 而 SIRT2 在细胞质。目前, SIRT1 是研究最深入, 与 Sir2 同源性最高的一个蛋白质^[2], 参与调节代谢性、肿瘤性及神经退行性病变^[3-5]。队列研究表明, 中国 2 型糖尿病患者是否出现肾并发症以及尿蛋白均与 SIRT1 基因多态性相关^[6]。中医中药益气养阴通络法上调 2 型糖尿病肾病患者肾小管上皮细胞中 SIRT1 的表达, 显著改善患者的内生肌酐及尿蛋白排泄率^[7]。可见, 有关 SIRT1 的基础研究已取得一定的进展。通过作用于 SIRT1 信号通路, 最终使 SIRT1 上调, 可显著缓解肾间质病变, 对肾小管间质起到保护作用。本文将系统阐述 SIRT1 信号通路在肾间质疾病中的保护作用, 为以 SIRT1 为靶点的药物治疗在临床上的应用提供更有利的

依据。

1 SIRT1 概述

人 SIRT1 的编码基因位于 10 号染色体的 q21.3, 总长度为 33kb, 由 747 个氨基酸组成, 分子量为 120kDa, 第 363 位组氨酸是去乙酰化活性发挥的必须基团。在肾中, SIRT1 富表达于肾髓质内部, 在系膜细胞、足细胞也有一定程度的表达^[8], 其亚细胞定位主要在细胞核^[9], 可在细胞质和细胞核中穿梭, 且这种穿梭可能是 SIRT1 一种新的调节机制^[10]。研究发现, SIRT1 可作用于组蛋白发生脱乙酰化影响基因的转录, 还作用于其他下游信号如 p53、叉头转录因子 O 亚型 (fork head box-O, FOXO)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、核因子 (nuclear factor, NF- κ B) 等对细胞增殖、分化、衰老、凋亡进行调节。SIRT1 除受体内多种激素和细胞因子的调节外, 还受到体外一些化学物质如白藜芦醇、SRT1720、SRT1460、sirtinol、Nicotinamide、EX527 等的调节。

2 SIRT1 在急性肾小管间质疾病的作用

典型的急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是肾小管上皮细胞坏死、凋亡, 并从基底膜上脱落形成管型, 引起小管管腔堵塞导致肾功能急剧下降。目前研究的机制主要涉及肾毒性药物、缺血再灌注及脓毒症血症肾损伤^[11-13]。

2.1 SIRT1 在肾毒性药物致 AKI 中的作用 顺铂、庆大霉素及对比剂等肾毒性药物主要通过氧化应激、炎症反应引起 AKI。顺铂诱导小鼠 AKI

作者单位: 430060 武汉, 武汉大学人民医院 (湖北省人民医院) 肾内科 (王 心、陈 铨)

通信作者: 陈 铨, E-mail: 13806790@qq.com

模型中, SIRT1 表达下降, 肾局部活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生增加, 过氧化物酶数量和功能明显下降, miR-449、乙酰化 p53 和 BAX 水平增高, 细胞凋亡增加^[14]。而在近端肾小管上皮细胞特异性过表达 SIRT1 的转基因小鼠中检测到肾局部过氧化物酶产生增加, 同时肾小管上皮细胞的凋亡的减少^[15], 表明 SIRT1 通过调节氧化应激起到保护肾小管上皮细胞的作用。在阻断前列腺素合成联合抑制 NO 合成的基础上给予碘海醇建立对比剂 AKI 大鼠模型中, SIRT1 水平下降, 肾小管间质充血, 上皮细胞刷状缘脱落、细胞凋亡增加, 而改善 SIRT1 下降可减轻超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的下降, 肾小管结构破坏、髓质充血及空泡变性减少^[16], 肾小管上皮细胞凋亡减少。庆大霉素诱导的 SD 大鼠 AKI 模型中给予姜黄素治疗, SIRT1 的表达上调, 激活下游的核因子红系 2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)/血红素加氧酶-1(heme oxygenase, HO-1)信号通路, 减轻氧化应激, 减少肾小管上皮细胞凋亡及坏死^[17]。

2.2 SIRT1 在缺血再灌注 AKI 中的作用 缺血再灌注损伤是 AKI 的病理生理机制之一, 缺血再灌注损伤引起的炎症、氧化应激、自噬导致肾小管上皮细胞坏死、凋亡。NF- κ B 亚型 p65(NF- κ Bp65)/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活因子 1 α (PGC-1 α)信号通路的激活会加重炎症及氧化应激, 是缺血再灌注损伤的重要通路。两肾蒂夹闭的小鼠 AKI 中, SIRT1 激动剂白藜芦醇腹腔注射 7d 即观察到 NF- κ Bp65 的乙酰化下降, 下游 PGC-1 α 水平升高、SOD 水平升高^[18], 炎性细胞浸润减轻。Fan 等^[19]在成年缺血再灌注小鼠模型中发现, SIRT1720 激动 SIRT1, p53 乙酰化水平下降, 增殖细胞核抗原表达增加, 肾小管上皮细胞凋亡减少, 而敲除 SIRT1 基因后, caspase-3 水平升高, 肾小管上皮细胞凋亡增加, 认为 SIRT1 对缺血再灌注损伤的保护作用与对 p53 的去乙酰化作用相关。利用热量限制上调 SIRT1 表达, 观察到在 Wistar 大鼠肾间质细胞自噬增加, 急性肾小管上皮细胞坏死评分下降, 表明 SIRT1 通过增加肾小管上皮细胞自噬减轻缺血再灌注损伤所致 AKI^[20]。

2.3 SIRT1 在脓毒血症 AKI 中的作用 流行病学调查显示, 感染导致的脓毒血症是 AKI 的另一重要机制, 内毒素诱发的肾小管上皮细胞凋亡、炎症反应是脓毒血症 AKI 中的关键。利用盲肠结扎穿孔术制备的脓毒血症 AKI 小鼠模型早期即有 SIRT1 的

mRNA 和蛋白表达升高, 注射 SIRT1 拮抗剂 EX527 后, 肾小管上皮细胞的 caspase-3 表达较假手术组明显增多, 凋亡率明显升高, 且两者成正相关, 表明 SIRT1 是通过下调 caspase-3 来抑制肾组织细胞凋亡^[21]。此外, 白藜芦醇治疗组大鼠中炎症相关指标 NF- κ Bp65 及下游的肿瘤坏死因子- α , 白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β), IL-6、IL-10 较对照组显著下降, 且生存率较对照组明显升高。体外研究同时表明, 转染 SIRT1 的 si-RNA 后, NF- κ B p65 的去乙酰化水平下降, SIRT1 上调后可促使 NF- κ Bp65 去乙酰化从而抑制炎症因子释放, 在脓毒血症 AKI 中发挥保护作用^[22]。

3 SIRT1 在慢性肾间质病变的作用

肾纤维化是慢性肾疾病进展的共同特征, 包括肾间质纤维化和肾小球硬化。间质纤维化涉及多个信号通路, 与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)、内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)、线粒体动力学改变等过程密切相关^[23-28]。

3.1 SIRT1 通过 EMT 调节肾间质纤维化 EMT 是纤维化的重要过程, 阻断 EMT 可显著减轻组织纤维化^[29]。Smad4/MMP7 是 EMT 的关键信号通路之一。在马兜铃酸诱导的 HK-2 细胞中观察到, 激动 SIRT1 后, Smad4 乙酰化减少, MMP7 的表达下调, 而转染 SIRT1 的 shRNA 后, Smad4 乙酰化水平升高, MMP7 及纤维化相关分子表达上调, 表明 SIRT1 通过抑制 Smad4 乙酰化而抑制 Smad4/MMP7 信号通路从而起到改善 EMT 的作用^[26]。此外, 在醛固酮诱导的 HK-2 细胞 EMT 中, SIRT1 过表达或使用白藜芦醇可上调 PGC-1 α 的乙酰化水平, 而使用 PGC-1 α 的 sh-RNA 则可消除 SIRT1 抑制 EMT 的效应, 表明 SIRT1 抑制醛固酮诱导的 EMT 可能是通过调节 PGC-1 α 乙酰化实现的^[30]。

3.2 SIRT1 通过改善 ERS 减轻肾纤维化 葡萄糖相关蛋白-87 是 ERS 过程中的标志性分子, 在 ERS 发生时明显上调。HO-1 及硫氧还蛋白是 ERS 过程中的关键酶, 可减轻 ROS 所致损伤^[31]。有研究发现在依霉毒素诱导的 HK-2 细胞中使用氯沙坦和 SIRT1720 上调肾小管上皮细胞中 SIRT1 的表达后激活下游的 HO-1/硫氧还蛋白途径, GRP78 分子表达下降, ERS 及肾间质纤维化减轻^[27-28], 而 Sirtinol 预处理则可减轻这种抗纤维化, 表明 SIRT1 通过调节 ERS 发挥肾间质保护作用。

3.3 SIRT1 通过调控线粒体功能调节肾间质纤维化 线粒体动力学改变及 ROS 的过量产生是肾小管细胞的氧化损伤和凋亡的关键。研究表明,高糖条件下体外培养的 HK-2 细胞中衔接蛋白 P66Shc 表达升高,且与肾间质损伤糖诱导的伤呈正相关,SIRT1 的表达下调,且与肾间质损伤成负相关,使用选择性 SIRT1 抑制剂 EX-527 预处理后,P66Shc 的表达增加,免疫共沉淀证实了 SIRT1 通过下调 P66Shc 启动子-535bp 至-276bp 区域的组蛋白乙酰化程度,下调 P66Shc 基因表达,减少 ROS 的产生^[25]。Kim 等^[32]通过非诺贝特喂养 C57BL/6 大鼠,发现 SIRT1 表达上调,进而 PGC-1 α 及 ERR-1 α 表达上调,线粒体稳定性增加,小管间质纤维化减轻。

3.4 SIRT1 通过调节肾素-血管紧张素系统调节肾间质纤维化 血管紧张素 II (AngII) 及其受体 (AT1R) 是病理生理条件下引起肾间质炎症及纤维化的重要因素,主要机制是激活下游的 JAK2/STAT3 信号通路,使纤维化相关基因水平升高。STAT3 是该通路中的关键转录因子,受乙酰化和磷酸化调节,磷酸化的作用位点在第 705 位酪氨酸 (Tyr705) 和第 727 位丝氨酸 (Tyr727),乙酰化位点在第 685 位赖氨酸 (Lys685)。AngII 刺激的大鼠肾小管上皮 NRK-52E 细胞中观察到 STAT3-Tyr705 的磷酸化显著升高,SIRT1 催化 Lys685 发生去乙酰化的同时观察到 Tyr705 磷酸化水平升高,且显著抑制 Ang II 引起的纤维化相关基因表达上调,表明 SIRT1 通过介导 STAT3 去乙酰化而减轻 AngII 所致的肾间质纤维化^[33]。在 NRK-49F 细胞中,敲除 SIRT1 基因或使用 SIRT1 拮抗剂 sirtinol 使 AT1R、MCP-1 表达上调,结缔组织生长因子 (connective tissue growth factor, CTGF) 及 NF- κ B 表达增加,反之,特异性过表达 SIRT1 及使用 SIRT1 激动剂白藜芦醇可显著下调 AT1R、炎症及纤维化相关指标如单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1)、NF- κ B、CTGF 表达减少^[34]。这些研究均证明了 SIRT1 在肾素-血管紧张素系统所致肾间质纤维化中的保护作用。

3.5 SIRT1 通过 TGF- β 信号通路调节肾间质纤维化 TGF- β 是肾间质纤维化的关键因子^[35-36]。多项研究均证明 TGF- β 1 刺激肾小管上皮细胞诱导 CTGF 表达上调,下游 α -SMA 蛋白、细胞外基质增加,肾纤维化加速,还可降低 Bcl-2、增加 Bax 的表达增加肾小管上皮细胞凋亡,而 SIRT1 过表达及使用 SIRT1 激动剂则显著上调 TGF- β 1 诱导的 Bcl-2 减

少,降低 TGF- β 1 诱导的 Bax、CTGF 的增多,起到抑制肾小管上皮细胞凋亡及肾间质纤维化的作用^[37-38]。TGF- β /Smad3 是纤维化过程另一重要通路,免疫共沉淀显示,在小鼠单侧输尿管结扎模型中,Sirt1 和 Smad3 直接相互作用,SIRT1 活性显著下降时 Smad3 乙酰化增加,激动 SIRT1 受体显著抑制了 Smad3 乙酰化,减轻肾间质纤维化^[39]。

4 结 语

综上所述,SIRT1 对肾间质的保护作用是通过减少细胞凋亡、减轻肾炎症反应、改善线粒体功能、抗氧化应激反应、改善上皮间质转化等多条通路实现的。SIRT1 及其信号通路在急、慢性肾病进程中起着非常重要的作用。SIRT1 激动剂如白藜芦醇、SIRT1720 在肾疾病中的保护作用也逐渐被证实。随着对 SIRT1 的进一步深入研究,其生理机制将会更加清晰,也为肾病的治疗提供一个新思路 and 角度。

【参考文献】

- [1] Sinclair DA, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles-a cause of aging in yeast[J]. *Cell*, 1997, 91(7): 1033-1042.
- [2] Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function[J]. *Biochem J*, 2007, 404(1): 1-13.
- [3] 赵静姝,王 蓉. 沉默信息调节因子 2 同源体 1 及其激动剂的神经生物学作用[J]. *医学研究生学报*, 2011, 24(12): 1324-1328.
- [4] 邓展涛,赵云龙,陈 烁,等. Stat3 基因和 Sirt1 基因参与类风湿关节炎发病机制的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2015, 28(9): 1001-1003.
- [5] 熊禹真,汪亚君,张海涛. SIRT1 抑制高良姜素诱导的 HepG2 细胞凋亡的研究[J]. *医学研究生学报*, 2017, 30(3): 233-239.
- [6] Tang K, Sun M, Shen J, et al. Transcriptional Coactivator p300 and Silent Information Regulator 1 (SIRT1) Gene Polymorphism Associated with Diabetic Kidney Disease in a Chinese Cohort[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2017, 125(8): 530-537.
- [7] 刘伟敬,梁碧婵,胡海滢,等. “益气养阴通络法”通过调控 SIRT1 延缓糖尿病肾病进展的研究[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2013, 14(3): 198-202.
- [8] 黄新忠,郝传明. 沉默信息调节因子 T1 与肾脏疾病的研究进展[J]. *中华肾脏病杂志*, 2011, 27(8): 625-628.
- [9] Gotta M, Strahl-Bolsinger S, Renauld H, et al. Localization of Sir2p: the nucleolus as a compartment for silent information regulators[J]. *EMBO J*, 1997, 16(11): 3243-3255.
- [10] Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13(4): 225-238.
- [11] Fan H, Yang HC, You L, et al. The histone deacetylase,

- SIRT1, contributes to the resistance of young mice to ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury[J]. *Kidney Int*, 2013, 83(3):404-413.
- [12] Simic P, Williams EO, Bell EL, *et al*. SIRT1 suppresses the epithelial-to-mesenchymal transition in cancer metastasis and organ fibrosis[J]. *Cell Rep*, 2013, 3(4):1175-1186.
- [13] Gao R, Chen J, Hu Y, *et al*. Sirt1 deletion leads to enhanced inflammation and aggravates endotoxin-induced acute kidney injury[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e98909.
- [14] Qin W, Xie W, Yang X, *et al*. Inhibiting microRNA-449 Attenuates Cisplatin-Induced Injury in NRK-52E Cells Possibly via Regulating the SIRT1/P53/BAX Pathway[J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22:818-823.
- [15] Hasegawa K, Wakino S, Yoshioka K, *et al*. Kidney-specific overexpression of Sirt1 protects against acute kidney injury by retaining peroxisome function[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(17):13045-13056.
- [16] 张德兵, 李文华, 刘娜娜, 等. 姜黄素上调 Sirt1 表达预防对比剂急性肾损伤的实验研究[J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(12):133-137, 156.
- [17] He L, Peng X, Zhu J, *et al*. Protective effects of curcumin on acute gentamicin-induced nephrotoxicity in rats[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2015, 93(4):275-282.
- [18] 李璐, 杨晶, 张颖, 等. SIRT1 在小鼠肾缺血再灌注损伤中的作用及其对 NF- κ B/p65-PGC-1 α 信号通路的影响[J]. *中华肾脏病杂志*, 2015, 31(2):133-139.
- [19] Fan H, Yang HC, You L, *et al*. The histone deacetylase, SIRT1, contributes to the resistance of young mice to ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury[J]. *Kidney Int*, 2013, 83(3):404-413.
- [20] Lempiainen J, Finckenberg P, Mervaala EE, *et al*. Caloric restriction ameliorates kidney ischaemia/reperfusion injury through PGC-1 α -eNOS pathway and enhanced autophagy[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2013, 208(4):410-421.
- [21] 杨向红. Sirt1 对脓毒症致急性肾损伤保护作用及机制的实验研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2014.
- [22] 甘燕子. 白藜芦醇对脓毒症大鼠急性肾损伤的保护作用及其对 NF- κ B p65 表达的影响[D]. 广州: 南方医科大学博士学位论文, 2016.
- [23] Ivanova L, Butt MJ, Matsell DG. Mesenchymal transition in kidney collecting duct epithelial cells[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2008, 294(5):F1238-F1248.
- [24] Xiao Z, Chen C, Meng T, *et al*. Resveratrol attenuates renal injury and fibrosis by inhibiting transforming growth factor-beta pathway on matrix metalloproteinase 7[J]. *Exp Biol Med*, 2016, 241(2):140-146.
- [25] 阳石坤. 普罗布考通过 P66Shc 保护糖尿病肾病肾小管间质损伤的作用及机制研究[D]. 长沙: 中南大学博士学位论文, 2014.
- [26] Matsui F, Rhee A, Hile KL, *et al*. IL-18 induces profibrotic renal tubular cell injury via STAT3 activation[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2013, 305(7):F1014-F1021.
- [27] Kim H, Baek CH, Lee RB, *et al*. Anti-Fibrotic Effect of Losartan, an Angiotensin II Receptor Blocker, Is Mediated through Inhibition of ER Stress via Up-Regulation of SIRT1, Followed by Induction of HO-1 and Thioredoxin[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(2).
- [28] Chang JW, Kim H, Baek CH, *et al*. Up-Regulation of SIRT1 Reduces Endoplasmic Reticulum Stress and Renal Fibrosis[J]. *Nephron*, 2016, 133(2):116-128.
- [29] Wu S, Sun G, Hsu C, *et al*. Tumor necrosis factor-alpha induces epithelial-mesenchymal transition of renal cell carcinoma cells via a nuclear factor kappa B-independent mechanism[J]. *Exp Biol Med*, 2011, 236(9):1022-1029.
- [30] Yuan Y, Chen Y, Zhang P, *et al*. Mitochondrial dysfunction accounts for aldosterone-induced epithelial-to-mesenchymal transition of renal proximal tubular epithelial cells[J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 53(1):30-43.
- [31] Zeng XS, Jia JJ, Kwon Y, *et al*. The role of thioredoxin-1 in suppression of endoplasmic reticulum stress in Parkinson disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 67:10-18.
- [32] Kim EN, Lim JH, Kim MY, *et al*. PPAR α agonist, fenofibrate, ameliorates age-related renal injury[J]. *Exp Gerontol*, 2016, 81:42-50.
- [33] 倪珺. STAT3 乙酰化在肾小管上皮细胞功能改变及肾脏纤维化中作用机制的研究[D]. 上海: 复旦大学博士学位论文, 2014.
- [34] Yang SY, Lin SL, Chen YM, *et al*. Downregulation of angiotensin type 1 receptor and nuclear factor-kappaB by sirtuin 1 contributes to renoprotection in unilateral ureteral obstruction[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:33705.
- [35] Meng XM, Chung AC, Lan HY. Role of the TGF-beta/BMP-7/Smad pathways in renal diseases[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2013, 124(4):243-254.
- [36] Wu CF, Chiang WC, Lai CF, *et al*. Transforming growth factor beta-1 stimulates profibrotic epithelial signaling to activate pericyte-myofibroblast transition in obstructive kidney fibrosis[J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(1):118-131.
- [37] 董莉. Sirt1 过表达对 TGF- β 1 诱导人肾小管上皮细胞株凋亡的影响及机制研究[D]. 石家庄: 河北医科大学硕士学位论文, 2015.
- [38] Ren Y, Du C, Shi Y, *et al*. The Sirt1 activator, SRT1720, attenuates renal fibrosis by inhibiting CTGF and oxidative stress[J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(5):1317-1324.
- [39] 梁瑾. 白藜芦醇对肾脏纤维化的保护作用及相关机制研究[D]. 苏州: 苏州大学硕士学位论文, 2015.

(收稿日期: 2017-07-06; 修回日期: 2017-10-24)

(责任编辑: 刘玉巧)