

· 综述 ·

DOI: 10.12449/JCH240233

去乙酰化酶 Sirtuins 家族与放射性肝病的关系

宗也凯¹, 刘江凯²

1 河南中医药大学第一临床医学院, 郑州 450008

2 河南中医药大学第一附属医院脾胃肝胆科, 郑州 450008

通信作者: 刘江凯, 13592553982@126.com (ORCID: 0000-0002-1529-5089)

摘要: 放射性肝病(RILD)或称放射性肝炎,是一种由辐射引起的亚急性肝损伤。去乙酰化酶家族 Sirtuins(SIRTs)作为衰老相关研究的焦点具有 DNA 修复和染色质调节等分子功能,是基因组和表观基因组稳定性的枢纽。辐射诱导的肝脏 DNA 损伤和反应是 RILD 主要的生理病理过程,这与 SIRTs 表征的功能相似。本文简述了 SIRTs 蛋白家族的结构和功能,回顾了放射治疗的物理生理学基本概念及进展,主要从放射生物学角度分析了 SIRTs 与 RILD 二者的内在关系,指出 SIRTs 作为 RILD 防治靶点的可能性。

关键词: 放射性肝病; 抗衰老酶; 辐射, 电离

基金项目: 国家自然科学基金(U1504825); 河南省中医药拔尖人才项目(CZ20262-19); 河南省特色骨干学科中医学学科建设项目(STG-ZYX04-202133)

Association between deacetylase Sirtuins and radiation-induced liver disease

ZONG Yekai¹, LIU Jiangkai². (1. The First Clinical Medical College of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 2. Spleen, Stomach and Hepatobiliary Department, The First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

Corresponding author: LIU Jiangkai, 13592553982@126.com (ORCID: 0000-0002-1529-5089)

Abstract: Radiation-induced liver disease (RILD), also known as radiation hepatitis, is subacute liver injury induced by radiation. As the focus of senescence-related studies, the deacetylase family Sirtuins (SIRTs) have the molecular functions including DNA repair and chromatin regulation, which makes SIRTs a hub for regulating genome and epigenome stability. Radiation-induced hepatic DNA damage and reaction is the primary physiological and pathological process of RILD, which is similar to the function of SIRTs. This article briefly introduces the structure and function of the SIRTs protein family, elaborates on the basic concepts and progress of the physical physiology of radiation therapy, discusses the internal relationship between SIRTs and RILD from the perspective of radiobiology, and points out the possibility of SIRTs as a target for the prevention and treatment of RILD.

Key words: Radiation-Induced Liver Disease; Sirtuins; Radiation, Ionizing

Research funding: National Natural Science Foundation of China (U1504825); Henan TCM Top-Notch Talent Program (CZ20262-19); Construction Project of Traditional Chinese Medicine in Henan Province (STG-ZYX04-202133)

原发性肝癌是世界范围内的主要癌症之一,预计2020—2040年每年肝癌新发病例将增加55.0%^[1]。原发性肝癌包括肝细胞癌(HCC)、肝内胆管癌(ICC)以及混合型HCC-ICC,其中HCC占80%,整体中位生存期仅为6~10个月^[2]。肝癌发病广泛,治疗棘手,预后不佳,

不仅是我国也是全球亟待解决的重大医疗卫生问题。癌症的治疗方法包括化学、放射、免疫、激素、手术和姑息治疗等,其中放射疗法(radiotherapy, RT)是目前全世界最广泛使用的癌症治疗选择之一,其成本低(在欧洲,仅占癌症年度治疗总预算的7.8%^[3]),大约50%的患者

在患病期间接受过RT^[4]。现代RT技术已经具备对患有原发性和继发性肝脏恶性肿瘤的患者实施高剂量治疗,然而在制订癌症治疗方案时,RT往往是最后考虑的手段,辐射对肝脏最具破坏性的后果之一仍是其引起的肝毒性,故限制了RT在肝胆恶性肿瘤和肝转移中的应用^[5]。

放射性肝病(radiation-induced liver disease, RILD)又称放射性肝炎或辐射相关肝毒性,是肝细胞癌RT的严重副作用,常规治疗剂量损伤正常肝组织,在受辐照的肝癌组织周围积累毒性。电离辐射引发的DNA损伤在RILD的发病和发展中有着重要作用,会导致DNA损伤反应,并引发细胞周期停滞、代谢重编程、DNA修复和细胞死亡等细胞效应^[6]。表观遗传修饰是指在不改变DNA序列的情况下通过化学修饰影响或改变DNA表达,乙酰化修饰是最常见且被熟知的一种DNA修饰,由组蛋白乙酰转移酶和组蛋白去乙酰化酶调控^[7]。去乙酰化酶Sirtuins(SIRTs)作为Ⅲ型组蛋白去乙酰化酶家族,被发现可能密切参与RILD相关DNA损伤反应的调控,由此作为一种靶点或途径,了解RILD相关DNA损伤反应中由SIRTs驱动的化学修饰产生的作用,以期实现预防、缓解和治疗RILD辐照毒性的可能,从而更安全、有效地在肝癌中应用RT。

1 SIRTs的结构和功能

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)是形成还原型二核苷酸NADH的氢化物受体和脱氢酶辅酶,烟酸、色氨酸、烟酰胺和烟酰胺核苷分别通过Preiss-Handler、从头合成及补救合成代谢途径形成NAD⁺^[8]。

SIRTs是NAD⁺依赖性Ⅲ型去乙酰化酶家族,由7种同源蛋白质组成(SIRT 1~7),并被沉默信息调节因子2编码,是酵母中Sir2蛋白的同源物。人源SIRTs具有相似的分子结构,275个氨基酸残基构成了两个保守的去乙酰催化结构域(大结构域:NAD⁺结合域;小结构域:小亚结构域),并由4个loop区域连接。NAD⁺结合域由Rossmann折叠构成呈口袋状,小亚结构域则由一个相对可变性较高的螺旋结构和一个锌指结构构成,部分SIRTs还具有独特结构和催化活性的N端和C端延伸区域^[9]。它们通过多种翻译后修饰调节下游靶蛋白功能,大约与25%的人类蛋白质组相互作用,底物包括组蛋白、转录因子、染色质修饰酶、DNA修复酶和代谢酶等,并在组织特异性、亚细胞定位、酶活性方面有所不同。SIRTs对底物的翻译后修饰主要以去乙酰化为主,通过水解底物蛋白末端尾部赖氨酸(K)上的 ϵ -氨基乙酰基来实现,乙酰基转移到NAD⁺的ADP-核糖(ADPR),形成

1分子烟酰胺和1分子2-O-乙酰基-ADPR(2-OAADPR)^[10]。并辅以丙二酰化、戊二酰化、琥珀酰化、巴豆酰化和长链脂肪酰化等其他化学修饰。近期有研究^[11]发现SIRTs在手性修饰中也具有重要作用,酶促反应需要NAD⁺作为底物,且可与其他翻译后修饰相竞争(例如磷酸化、泛素化、类泛素化)^[12]。SIRTs作为人体内主要的乙酰化修饰酶,涉及许多与RILD相关的生理病理过程:辐射敏感和抵抗、辐射相关DNA损伤、修复、细胞周期停滞和死亡、辐射诱导的氧化应激和纤维化,因此有必要探讨SIRTs与RILD两者的内在关系。

2 RILD

RILD可分为两种类型,即典型RILD(cRILD)和非典型RILD(ncRILD)。cRILD通常发生在肝脏RT治疗后的4个月内,患者表现为疲劳、体质量增加、腹围增大、肝肿大、无菌性腹水和与其他肝酶不成比例的孤立性ALP升高^[13]。在疾病初期,cRILD肝功能检测较ncRILD相对正常,但存在肝小叶中央静脉闭塞、逆行性充血和继发性肝细胞坏死,网状蛋白和胶原蛋白纤维纵横交错于中央静脉、小叶下肝静脉和中央小叶的窦腔中^[14]。

ncRILD一般发生在治疗后1周~3个月,患者ALP>2倍正常值上限、ALT>正常值上限或治疗前水平5倍、肝功能Child-Pugh评分下降 ≥ 2 分,但是无肝肿大和腹腔积液,患有潜在慢性肝病(如肝硬化和病毒性肝炎)的患者更可能出现不符合cRILD的肝功能异常^[15]。诊断RILD必须排除肝肿瘤进展、病毒性或药物性所致临床症状和肝功能损伤^[16]。对于原发性和继发性肝脏恶性肿瘤,控制剂量往往高于肝脏对辐射的耐受量,当整个肝脏受到30~35 Gy的照射时,发生RILD的风险为5%~10%。RILD是RT治疗肝癌的主要限制因素,并与肝癌患者高死亡率有关。此外,肝脏是胃肠癌RT过程中受辐照影响的器官,在准备同种异体骨髓或造血干细胞移植过程中,肝脏也可能暴露于辐射^[17]。肝非实质细胞如Kupffer细胞、肝窦内皮细胞和肝星状细胞对辐射敏感,这些细胞释放各种促肝纤维化物质,导致辐射期间肝脏结构和功能的破坏^[18]。目前还没有任何治疗方法可以完全预防或改变RILD的自然进程,治疗旨在控制症状,所用方法和药物包括腹腔穿刺术联合利尿剂控制腹水、镇痛药止痛、皮质类固醇减轻肝充血以及纠正凝血功能障碍等^[19]。

3 电离辐射

3.1 电离辐射基本原理 当辐射离子穿透物质,通过与原子核和电子碰撞传递动能,线性能量转移(linear energy transfer, LET)指沿离子路径的能量损失或者说带

电粒子在单位长度径迹上传递的能量。LET 越大,粒子在单位长度组织内释放的能量就越多,电离密度越大,对生物组织和分子损伤就越大^[20]。与光子束相比,高能带电粒子更具有物理和放射生物学优势,两者组织深度-剂量分布以及相对生物效应不同^[21]。质子和光子束属于低 LET 束,中子属于高 LET 束,而碳离子束属于混合 LET 束,入口通道处 LET 低,目标体积中 LET 高(布拉格峰),此外碳离子束的另一个物理优势是较小的横向散射和射程散乱,从而产生更好的剂量分布^[22](图 1)。LET 和相对生物效应是衡量不同射线效能的主要尺度,也是肝癌精准治疗和预防 RILD 的重要参数。

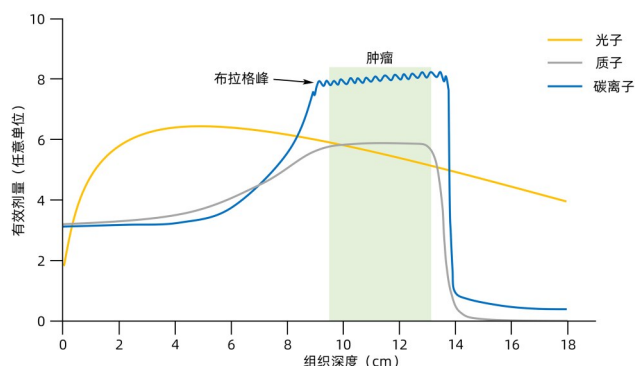


图 1 不同射线的组织深度-剂量分布

Figure 1 Tissue depth-dose profiles of different rays

电离辐射作为外源性损伤来源对 DNA 的破坏分为直接损伤和间接损伤,直接轰击破坏 DNA,或通过对水的电离作用产生羟自由基等活性氧(ROS),间接造成 DNA 断裂、碱基脱落、杂环破裂等损伤,后者起主要作用,约占损伤的 70%^[23]。对于低 LET 辐射,每 1 Gy 剂量产生大约 1 000 个 DNA 单链断裂、40 个 DNA 双链断裂和 1 300 个 DNA 碱基损伤,高 LET 辐射则产生更多的簇集损伤(DNA 的 1~2 个螺旋圈内的两个或更多损伤)^[24]。簇集损伤被认为是电离辐射的特征,其可修复性较低,而孤立的、内源性诱发的损伤往往是均匀分布,因此辐射损伤比内源性损伤更能杀伤肿瘤细胞。单电子氧化、质子隧穿、高能空穴以及核碱基自由基的产生是电离辐射诱导 DNA 损伤的前提。

3.2 电离辐射中的生物学观点 修复、再分布、再氧合、再增生和放射敏感性(repair, redistribution, reoxygenation, repopulation and radiosensitivity, 5Rs)是放射生物学的 5 个基本概念,其强调分子水平的定量和表征,电离辐射的影响反映电子的损失和增益,在细胞内表现为氧自由基的产生和 DNA 损伤^[25]。(1)修复:辐射暴露导致细胞 G1-S 和 G2-M 检查点检测,启动进程使细胞处于静止模式激活修复机制。(2)再分布:不同细胞周期肿瘤细胞修复 DNA 途径不同,S 期较 G1 期对放射更敏感,因此,常规

分割放疗优先导致相对放射敏感期的细胞死亡,同时允许其他细胞在细胞周期的剩余部分循环,直到它们在分割放疗过程的第二天达到更敏感的阶段。(3)再氧合:氧是自由基产生的稳定剂,乏氧癌细胞比富氧细胞更耐放射,在分割放疗过程中,氧合良好的癌细胞首先死亡,从而改善其余乏氧中心癌细胞的氧合。(4)再增生:正常组织与癌细胞再增生率不同,最新发现肝小叶 2 区是稳态和再生过程中新肝细胞的重要来源^[26]。肝脏功能单元的平行结构是使用 RT 能够安全进行的关键原因,功能单元的数量决定了整个器官的功能,肝脏可通过肥大来补偿丧失功能单位^[25]。(5)放射敏感性:不同类型细胞具有不同的先天放射敏感性,未成熟、未分化和活跃分裂的细胞对辐射更敏感。5Rs 是影响肝脏放射反应的关键因素。

电离辐射除了能直接影响 DNA 造成碱基和糖类的损伤,还可以直接破坏蛋白质结构中的侧链,造成氢键和二硫键断裂,导致肽链空间结构发生变化并且导致磷脂、脂类和类固醇分子化学键断裂,严重干扰肝脏能量代谢^[27]。

4 SIRT1s 和电离辐射敏感、抵抗

RT 通常伴随着肝癌细胞(尤其是癌症干细胞)对辐射抗性的发展,放疗抵抗定义为抗肿瘤治疗效果的降低,导致癌症复发,治疗反应差,是肝癌 RT 主要障碍。局部癌症微环境、膜信号传感器和患者免疫系统、肠道微生物群落与肝脏放疗抵抗有关,而肿瘤细胞 DNA 损伤诱导的活跃修复反应是肝脏放疗抵抗的主要内在因素^[28]。放射增敏主要通过加速 DNA 损伤和间接产生自由基来增强对肿瘤细胞的杀伤作用^[29]。肝脏对辐射的敏感和抵抗与 RILD 息息相关。

SIRT1 是低氧肝癌细胞中辐射抗性传感器。Xie 等^[30]报道,肝癌 HepG2 细胞中 SIRT1 的过表达使细胞在缺氧下比在常氧下对辐照的抵抗力更强,增殖率和存活率更高,而当 SIRT1 在 HepG2 和 SK-Hep-1 细胞中被敲除时,放射敏感性增加,尤其是在缺氧情况下。进一步研究表明,SIRT1 下调导致常氧和低氧肝癌细胞中 c-Myc 高乙酰化,而 SIRT1 过表达可抑制 c-Myc 乙酰化并减少其积累介导的 p53 激活,以促进低氧肿瘤细胞对辐射的抗性。低氧诱导转录因子(HIF)是一种细胞在低氧环境产生的调节适应性蛋白,构建靶向抑制 HIF-1 α 小干扰 RNA 表达载体,将其转染至人肝癌 SMMC-7721 细胞,可降低 SMMC-7721 细胞增殖,诱导凋亡和增强放射敏感性,而 HIF-1 α 是 SIRT1 脱乙酰酶活性的靶点,在缺氧条件下,SIRT1 过表达可增强 HIF-1 α 蛋白的低氧稳定性^[31]。Wnt/ β -catenin 信号对于缺氧期间肿瘤干细胞调节和上皮间质

转化发生至关重要,已有研究^[32]表明,Wnt/ β -catenin抑制剂ICG-001可通过增加辐射诱导的DNA损伤和改善CD8⁺T淋巴细胞、IFN- γ 相关肿瘤免疫微环境增强HCCLM3细胞放射敏感性,而SIRT1可通过调节 β -catenin蛋白稳定性,影响肝干细胞中Wnt/ β -catenin信号转录活性。复制应激是影响基因组稳定性和细胞存活的复杂细胞过程,其特征是复制叉进程和DNA合成停止。SIRT1可去乙酰化细胞周期检查点激酶WEE1并使癌细胞对WEE1抑制敏感,而WEE1激酶抑制剂AZD1775可通过诱导核苷酸过度消耗导致的DNA复制应激使肝癌细胞对放射增敏^[33]。

已有研究^[34]表明,SIRT1通过mTOR/AKT信号调节肝脏糖异生,SIRT3/mTOR/HIF-1 α 是代谢功能障碍肝细胞癌的调节轴。肿瘤代谢重编程的一个重要组成部分是有氧糖酵解,中间葡萄糖代谢物进入脂质、氨基酸和核苷酸合成代谢途径,促进肿瘤细胞的增殖和进展并抑制凋亡。高比率糖酵解诱导肿瘤细胞抗辐射性,Fang等^[35]研究发现,甘油磷脂代谢是人肝癌抵抗细胞MHCC97H中最富集的途径,连接葡萄糖和脂类代谢,从属于甘油磷脂的心磷脂可以加强细胞色素c的膜结合,介导电离辐射引起的细胞凋亡。进一步研究表明,mTORC1/HIF-1 α /SREBP1信号轴调节的葡萄糖和心磷脂合成代谢可通过抑制辐射抗性MHCC97H细胞中细胞色素c的释放来介导辐射抗性。在乙醇喂养的小鼠中,饱和脂肪可通过SIRT1/FoxO1信号选择性上调肝脏脂联素受体(AdipoR),Liu等^[36]研究发现,人辐射肝癌MHCC97-H和HepG2细胞敲除AdipoR可显著降低胞内周期蛋白B1的表达,抑制细胞周期停滞在G2-M期阻滞相关修复,导致细胞凋亡增加,促进辐射敏感。免疫耐受期间人单核细胞线粒体SIRT4表达抑制丙酮酸脱氢酶激酶1(pyruvate dehydrogenase kinase isozyme 1, PDK1)和SIRT1的增加,将免疫耐受的葡萄糖依赖性支持转换为免疫耐受的脂肪酸氧化支持来促进耐受。Bamodu等^[37]发现,人肝癌细胞系PDK1表达升高驱动PI3K/AKT/mTOR信号通路促进细胞耐受辐射和肿瘤干细胞去分化表型。SIRT4可通过抑制JAK2/STAT3信号通路来促进肝癌SMCC7721细胞衰老,且STAT3对糖异生的抑制被SIRT1去乙酰化下调,而STAT3抑制剂 Stattic可通过凋亡途径增加Bax和减少Bcl-2凋亡蛋白的表达,增强肝癌细胞系放射敏感性并减少放射诱导的迁移和侵袭^[38]。结合研究可以佐证SIRT1/4是肝癌免疫炎症、代谢重编程、辐射抵抗复杂网络中的重要调节因子。

综上,SIRTs分别通过调控氧合、代谢重编程、细胞周期、免疫应激、凋亡等途径影响肝癌细胞放射敏感性和抵抗性,而c-Myc、HIF-1 α 、Wnt/ β -catenin、细胞周期检

查点蛋白和激酶、mTOR/mTORC、AdipoR、PDK1、STAT3则是不同途径中被SIRTs影响的核心因子。

5 SIRTs在RILD中的作用

5.1 DNA损伤 锰超氧化物歧化酶(MnSOD)是线粒体主要清除酶,将超氧化物转化为过氧化氢(H₂O₂)并通过过氧化氢酶产生水。MnSOD含有进化上保守、电离辐射依赖的可逆乙酰K。一项对比实验^[39]表明,在SIRT3^{+/-}小鼠的肝脏线粒体中,电离辐射诱导肝脏MnSOD中K122乙酰化减少,活性增加,相比之下,电离辐射暴露的SIRT3^{-/-}小鼠分离的肝脏线粒体中未观察到MnSOD活性或K乙酰化的变化,肝细胞肿胀和胞浆空泡化更明显并伴随更多的ROS产物。因此,SIRT3可介导K122脱乙酰化调节MnSOD活性以响应氧化应激压力。线粒体Ca²⁺信号是应激传导重要信号,线粒体钙单向转运蛋白依赖的线粒体Ca²⁺信号可抑制NAD⁺/SIRT3/SOD2通路,促进肝癌细胞ROS生成和转移^[40]。Liu等^[41]研究表明,SIRT3在肝癌组织中呈低表达或缺失,SIRT3可上调MnSOD和p53表达,以及促进MnSOD对Bax和Fas的上调,抑制HepG2细胞生长增殖,诱导HepG2细胞凋亡。核因子-E2相关因子2(Nrf2)是生物体的重要抗氧化效应物,其K残基与泛素化衔接子Keap1相互作用并在细胞质蛋白酶体中降解。当细胞稳态被破坏时,大量ROS激活酪氨酸激酶解离Nrf2/Keap1复合物,诱导Nrf2从Keap1释放并进行核移位促进保护基因表达,保护细胞免受氧化和亲电应激。与SIRT6^{+/-}小鼠相比,SIRT6^{-/-}小鼠肝脏Nrf2蛋白水平更低,内源性H₂O₂水平增加。此外,SIRT6阻碍Nrf2与Keap1的结合,促进Nrf2蛋白的稳定性和核丰度介导抗氧化功能^[42]。

ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)同属于翻译后修饰酶,识别结构损伤DNA,促进修复蛋白结合DNA。150 μ mol/L亚致死浓度H₂O₂处理成纤维TIG-3细胞可造成大量1~2 Mb DNA切割,过度诱导PARP激活耗竭NAD⁺导致SIRT1活性降低,并积聚乙酰化衰老因子p21/53的表达,阻滞细胞周期、加速细胞凋亡^[43]。DNA损伤位点染色质松弛是细胞对DNA损伤最早的反应之一,并由PARP1活性调节。有相似研究^[44]表明,H₂O₂对小鼠胚胎肝细胞DNA损伤诱导PARP1激活,导致NAD⁺过度消耗抑制SIRT1活性,诱发高迁移率族蛋白1超乙酰化并最终从细胞核释放至细胞质,高迁移率族蛋白1是损伤相关分子模式分子,细胞炎症的关键驱动因子。8-氧鸟嘌呤是鸟嘌呤的氧化形式,作为DNA氧化损伤主要前体。Liu等^[45]发现,H₂O₂处理SIRT3转录AML12肝细胞与正常细胞相比,8-氧鸟嘌呤水平更低。8-氧鸟嘌呤DNA糖基化酶(OGG1)是一种DNA修复

酶,在癌细胞中作为 SIRT3 的去乙酰化底物, SIRT3 过表达可降低其乙酰化水平,增加氧化损伤细胞中总 OGG1 蛋白含量,减少 DNA 损伤。动力蛋白相关蛋白 1(Drp1) 是一种保守的 GTP 酶蛋白,介导线粒体膜重塑, SIRT3 通过 Ku70/Bax/Drp1 轴减轻氧化损伤肝细胞中的线粒体断裂^[45]。50 Gy 单剂量焦点照射小鼠肝脏诱导的 RILD 模型显示,电离辐射诱导的线粒体 DNA 不稳定性通过产生过量的 ROS、p53 途径激活和衰老样表型促进肝纤维化的发展^[46]。因此,在辐射诱导的线粒体应激引发的肝纤维化中 SIRT3 可能具有逆转作用。

乙型肝炎病毒 X 蛋白(HBx)是乙型肝炎编码蛋白质中的一种关键病毒蛋白,表达 HBx 的人肝癌 Huh-7 细胞较正常细胞显示 ROS 水平增加近 5 倍,谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽比率显著下降, DNA 损伤标志 γ H2AX 和脱嘌呤/嘧啶位点(AP 位点)水平升高,而 SIRT3 的过表达减弱了以上氧化应激诱导 DNA 损伤连锁反应,且进一步研究^[47]发现, H_2O_2 处理显著增加了 HBV DNA 复制中间体, SIRT3 则降低了氧化应激对 HBV 复制的促进作用。这也许可以解释有潜在慢性肝病的患者更容易出现 ncRILD,而 SIRT3 可能是一个潜在靶点,能够减弱以慢性肝病为基础 ncRILD 的发生。

综上, SIRTs 对肝脏电离辐射、氧化应激导致的 DNA 损伤具有重要调节作用,且对氧化应激过程中诱导的纤维化和细胞凋亡也有影响, MnSOD、Nrf2、Keap1、PARP 是 DNA 损伤途径中被 SIRTs 靶控的核心因子。

5.2 DNA 修复 真核生物 DNA 修复主要有 4 种类型:核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)、碱基切除修复(base excision repair, BER)、错配修复(mismatched repair, MMR)和双链断裂修复(double-strand break repair, DSBR)。NER 切除较大片段 DNA 损伤, BER 则修复单碱基损伤, MMR 纠正碱基错配。DSBR 又包括两种途径,即非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)和同源重组(homologous recombination, HR)。NHEJ 直接连接断端不需要模板, HR 则使用完整姐妹染色单体作为修复模板^[48]。SIRTs 对以上修复模式具有调控作用。Palacios 等^[49]研究表明, SIRT1 表达增加胚胎成纤维细胞(embryonic fibroblast, MEF)端粒、着丝粒和染色体臂的 HR,并特异性结合诱导多能干细胞中端粒蛋白复合体结合的 TTAGGG 重复序列,作为端粒长度的正调节因子减弱端粒缩短、维持基因组稳定。端粒移动有助于维持端粒的完整性和延长, SIRT6 将染色质重塑蛋白 SNF2H 招募到受损的端粒上,促进染色质解聚,调控端粒定向移动,维持基因组稳定^[50]。此外,谷氨酰胺代谢是 DNA 损伤反应生成核苷酸的必需原料, SIRT4 过表达可协调肝癌细胞谷氨酰胺代谢的抑制、促进基因组稳定性和肿瘤抑制^[51]。

修复相关因子和蛋白酶不同位点的化学修饰对 DNA 修复调节具有重要作用,在氧化应激成纤维细胞中, SIRT6 修饰 PARP1 赖氨酸残基 521 上的单 ADP 核糖基化并与之结合被募集到双链断裂位点,通过 NHEJ 和 HR 刺激 DSB^[52]。另有研究^[53]佐证, SIRT6/PARP1 这一 DNA 修复途径可被 c-Jun 氨基末端激酶磷酸化 SIRT6 丝氨酸 10 位点激活。SIRT7 以 PARP1 依赖的方式被募集到 MEF 中 DNA 损伤位点,调节组蛋白 H3K18 乙酰化(H3K18Ac)水平, H3K18Ac 反过来破坏反应因子 53BP1 对双链断裂的募集,从而影响 NHEJ 的效率^[54]。在 MEF 中, SIRT6 通过单 ADP 核糖基化赖氨酸去甲基化酶 KDM2A,导致 KDM2A 从染色质中快速置换,组蛋白 H3K36 甲基化(H3K36me2, 氨基上两个甲基化位点)水平增加,并使 RNA 聚合酶 II 转录起始短暂抑制,从而将 NHEJ 修复因子募集到双链断裂位点^[55]。BRG1 是 DNA 损伤信号蛋白,在 Hep3B 细胞中, SIRT1 的 ZnF 结构域与 BRG1 的 ATP 酶结构域结合脱乙酰化 BRG1 残基 K1029 和 K1033 位点,激活 ATP 酶活性以促进染色质松弛、降低染色质的密度,促使 DNA 中双链断裂位点的 HR 修复^[56]。DNA 修复过程中,不同修饰酶之间也存在拮抗影响, Tip60 是一种哺乳动物 MYST 型组蛋白乙酰转移酶, SIRT1 可与 Tip60 相互作用,负调节 Tip60 介导的 H2AX 乙酰化,抑制 DNA 损伤反应和 Rad51 相关 HR 的激活^[57]。

DNA 修复是把“双刃剑”,一方面修复电离辐射对正常肝组织的损害,另一方面肝肿瘤细胞活跃的 DNA 修复机制导致肝肿瘤细胞辐射抗性。DNA 修复是 RILD 病理过程中重要的应激反应, SIRTs 在多个步骤中充当关键修复因子, SIRTs 自身或募集修复蛋白 SNF2H、PARP1、KDM2A、BRG1、Tip60 调控修复 DNA 损伤位点。

5.3 细胞周期 DNA 受到内部或外部应激源碱基损伤时,为确保细胞周期中 DNA 复制的精准度,细胞周期检查点存在精确的调节通路以响应 DNA 损伤, SIRTs 涉及细胞周期运动的靶控。

生理条件下细胞周期蛋白 B1 在 G2-M 期水平最高,细胞周期蛋白 E 则在 G1-S 转换期水平最高。SIRT6 缺失肝癌 Hep3B 细胞被阻滞在细胞 G2-M 期, SIRT6 敲除上调细胞周期蛋白 B1 和 p-cdc2 的表达,下调细胞周期蛋白 E^[58]。在 MEF 中, SIRT2 通过 H4K16Ac 的去乙酰化以及在 K90 结合赖氨酸甲基转移酶 PR-Set7 并脱乙酰化,联合调节有丝分裂 H4K20me1 水平,阻断 G2-M 期检查点^[59]。检查点激酶 2(checkpoint kinase 2, CHK2)是一种多功能酶,其核心功能是通过 DNA 损伤诱导细胞周期停滞和凋亡, SIRT1 与细胞周期 CHK2 相互作用,在 K520 残基处使其去乙酰化,从而抑制 CHK2 的磷酸化、二聚化和活化,诱导有丝分裂停滞^[60]。Liu 等^[61]报道 SIRT1/TopBP1

轴是代谢检查点和DNA损伤检查点的开关,葡萄糖缺乏时,SIRT1被激活并使TopBP1去乙酰化,导致TopBP1和相互作用蛋白Treslin解离以及抑制DNA复制。相反,SIRT1活性在基因毒性应激下受到抑制,TopBP1高乙酰化激活ATR/CHK1途径并导致细胞S周期停滞。细胞周期运动的变化是RILD中DNA损伤反应的重要一环,SIRTs通过修饰周期蛋白和激酶活性靶控部分检查点的激活,从而响应DNA修复的启动和关闭。

6 小结与展望

HCC是全球最严重的健康问题之一,由于经常与病毒性、代谢性肝病相关,潜在治愈治疗机会不足20%。目前RT技术已有显著的发展,可以精确的更高剂量的辐照病灶并减少对周围正常组织辐照。RT作为治疗多模式策略的基础,可能实现对原发部位肿瘤的长期缓解和转移病灶的全身疗效,尽管如此,辐射诱导的肝毒性仍是限制放疗临床应用的主要原因。SIRTs作为人体内广泛存在且功能强大的乙酰化表观修饰酶,对RILD相关辐射敏感和抵抗、DNA损伤和修复、细胞周期运动、纤维化和细胞凋亡这一复杂放射生物网络具有调控作用,显示出防治RILD的潜在优势。目前对RILD中SIRTs内在的拮抗机制和正负反馈以及组织特异性内在完善的分子机制还不甚了解,尽管已有不同种类的SIRTs激活或抑制剂被研发,但缺乏辐射条件下相关研究,基于目前的发现,SIRTs尚不能应用于RILD临床治疗。未来的重点在于开发针对不同辐射周期和细胞种类的选择性SIRTs激活剂和抑制剂,这可能有助于提高RILD可耐受的辐射剂量,并改善RILD病理进程和HCC患者预后。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明: 宗也凯负责论文设计,撰写论文;刘江凯参与论文指导。

参考文献:

- [1] RUMGAY H, ARNOLD M, FERLAY J, et al. Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040[J]. J Hepatol, 2022, 77(6): 1598-1606. DOI: 10.1016/j.jhep.2022.08.021.
- [2] TOH MR, WONG EYT, WONG SH, et al. Global epidemiology and genetics of hepatocellular carcinoma[J]. Gastroenterology, 2023, 164(5): 766-782. DOI: 10.1053/j.gastro.2023.01.033.
- [3] LIEVENS Y, DEFOURNY N, CORRAL J, et al. How public health services pay for radiotherapy in Europe: An ESTRO-HERO analysis of reimbursement[J]. Lancet Oncol, 2020, 21(1): e42-e54. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30794-6.
- [4] BASKAR R, ITAHANA K. Radiation therapy and cancer control in developing countries: Can we save more lives? [J]. Int J Med Sci, 2017, 14(1): 13-17. DOI: 10.7150/ijms.17288.
- [5] KOAY EJ, OWEN D, DAS P. Radiation-induced liver disease and modern radiotherapy[J]. Semin Radiat Oncol, 2018, 28(4): 321-331. DOI: 10.1016/j.semradonc.2018.06.007.
- [6] ZHOU YJ, TANG Y, LIU SJ, et al. Radiation-induced liver disease: Beyond DNA damage[J]. Cell Cycle, 2023, 22(5): 506-526. DOI: 10.1080/15384101.2022.2131163.
- [7] NAGARAJU GP, DARIYA B, KASA P, et al. Epigenetics in hepatocellular carcinoma[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 86(Pt 3): 622-632. DOI: 10.1016/j.semcancer.2021.07.017.
- [8] CANTÓ C, MENZIES KJ, AUWERX J. NAD(+) metabolism and the control of energy homeostasis: A balancing act between mitochondria and the nucleus[J]. Cell Metab, 2015, 22(1): 31-53. DOI: 10.1016/j.cmet.2015.05.023.
- [9] AVALOS JL, BOEKE JD, WOLBERGER C. Structural basis for the mechanism and regulation of Sir2 enzymes[J]. Mol Cell, 2004, 13(5): 639-648. DOI: 10.1016/s1097-2765(04)00082-6.
- [10] WANG M, LIN HN. Understanding the function of mammalian sirtuins and protein lysine acylation[J]. Annu Rev Biochem, 2021, 90: 245-285. DOI: 10.1146/annurev-biochem-082520-125411.
- [11] MORENO-YRUELA C, BÆK M, MONDA F, et al. Chiral posttranslational modification to lysine ϵ -amino groups[J]. Acc Chem Res, 2022, 55(10): 1456-1466. DOI: 10.1021/acs.accounts.2c00115.
- [12] BHEDA P, JING H, WOLBERGER C, et al. The substrate specificity of sirtuins[J]. Annu Rev Biochem, 2016, 85: 405-429. DOI: 10.1146/annurev-biochem-060815-014537.
- [13] PAN CC, KAVANAGH BD, DAWSON LA, et al. Radiation-associated liver injury[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2010, 76(3 Suppl): S94-S100. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.06.092.
- [14] MUNOZ-SCHUFFENEGGER P, NG S, DAWSON LA. Radiation-induced liver toxicity[J]. Semin Radiat Oncol, 2017, 27(4): 350-357. DOI: 10.1016/j.semradonc.2017.04.002.
- [15] GUHA CD, KAVANAGH BD. Hepatic radiation toxicity: Avoidance and amelioration[J]. Semin Radiat Oncol, 2011, 21(4): 256-263. DOI: 10.1016/j.semradonc.2011.05.003.
- [16] General Office of National Health Commission. Standard for diagnosis and treatment of primary liver cancer (2022 edition) [J]. J Clin Hepatol, 2022, 38(2): 288-303. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.02.009. 国家卫生健康委办公厅. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版)[J]. 临床肝胆病杂志, 2022, 38(2): 288-303. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2022.02.009.
- [17] KIM J, JUNG Y. Radiation-induced liver disease: Current understanding and future perspectives[J]. Exp Mol Med, 2017, 49(7): e359. DOI: 10.1038/emmm.2017.85.
- [18] WEIGEL C, SCHMEZGER P, PLASS C, et al. Epigenetics in radiation-induced fibrosis[J]. Oncogene, 2015, 34(17): 2145-2155. DOI: 10.1038/onc.2014.145.
- [19] DE LA PINTA ALONSO C. Radiation-induced liver disease in the era of SBRT: A review[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2020, 14(12): 1195-1201. DOI: 10.1080/17474124.2020.1814744.
- [20] DURANTE M, ORECCHIA R, LOEFFLER JS. Charged-particle therapy in cancer: Clinical uses and future perspectives[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2017, 14(8): 483-495. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.30.
- [21] DURANTE M, FLANZ J. Charged particle beams to cure cancer: Strengths and challenges[J]. Semin Oncol, 2019, 46(3): 219-225. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2019.07.007.
- [22] FOKAS E, KRAFT G, AN HX, et al. Ion beam radiobiology and cancer: Time to update ourselves[J]. Biochim Biophys Acta, 2009, 1796(2): 216-229. DOI: 10.1016/j.bbcan.2009.07.005.
- [23] WEI JL, WANG B, WANG HH, et al. Radiation-induced normal tissue damage: Oxidative stress and epigenetic mechanisms[J]. Oxid Med Cell Longev, 2019, 2019: 3010342. DOI: 10.1155/2019/3010342.
- [24] LOMAX ME, FOLKES LK, O'NEILL P. Biological consequences of radiation-induced DNA damage: Relevance to radiotherapy[J]. Clin Oncol, 2013, 25(10): 578-585. DOI: 10.1016/j.clon.2013.06.007.
- [25] MANGONI M, BORGHESI S, ARISTEI C, et al. Radiobiology of stereotactic radiotherapy[J]. Rep Pract Oncol Radiother, 2022, 27(1): 57-62. DOI: 10.5603/rpor.a2022.0005.
- [26] WEI YL, WANG Y, JIA YM, et al. Liver homeostasis is maintained by mid-lobular zone 2 hepatocytes[J]. Science, 2021, 371(6532): eabb1625. DOI: 10.1126/science.abb1625.
- [27] LI TM, CAO YL, LI B, et al. The biological effects of radiation-induced liver damage and its natural protective medicine[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2021, 167: 87-95. DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2021.06.012.

- [28] HUANG RX, ZHOU PK. DNA damage response signaling pathways and targets for radiotherapy sensitization in cancer[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 60. DOI: 10.1038/s41392-020-0150-x.
- [29] GONG LY, ZHANG YJ, LIU CC, et al. Application of radiosensitizers in cancer radiotherapy[J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 1083-1102. DOI: 10.2147/IJN.S290438.
- [30] XIE YX, ZHANG JH, YE S, et al. SirT1 regulates radiosensitivity of hepatoma cells differently under normoxic and hypoxic conditions[J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(7): 1238-1244. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2012.02285.x.
- [31] LAEMMLE A, LECHLEITER A, ROH V, et al. Inhibition of SIRT1 impairs the accumulation and transcriptional activity of HIF-1 α protein under hypoxic conditions[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33433. DOI: 10.1371/journal.pone.0033433.
- [32] CHEN XU, HUAN HB, LIU CG, et al. Deacetylation of β -catenin by SIRT1 regulates self-renewal and oncogenesis of liver cancer stem cells[J]. *Cancer Lett*, 2019, 463: 1-10. DOI: 10.1016/j.canlet.2019.07.021.
- [33] CUNEO KC, MORGAN MA, DAVIS MA, et al. Wee1 kinase inhibitor AZD1775 radiosensitizes hepatocellular carcinoma regardless of TP53 mutational status through induction of replication stress[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2016, 95(2): 782-790. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2016.01.028.
- [34] de MATTEIS S, SCARPI E, GRANATO AM, et al. Role of SIRT-3, p-mTOR and HIF-1 α in hepatocellular carcinoma patients affected by metabolic dysfunctions and in chronic treatment with metformin[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(6): 1503. DOI: 10.3390/ijms20061503.
- [35] FANG Y, ZHAN YZ, XIE YW, et al. Integration of glucose and cardioplipin anabolism confers radiation resistance of HCC[J]. *Hepatolgy*, 2022, 75(6): 1386-1401. DOI: 10.1002/hep.32177.
- [36] LIU Y, QI M, LIU LC, et al. Blocking Adipor1 enhances radiation sensitivity in hepatoma carcinoma cells[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2022, 718: 109152. DOI: 10.1016/j.abb.2022.109152.
- [37] BAMODU OA, CHANG HL, ONG JR, et al. Elevated PDK1 expression drives PI3K/AKT/MTOR signaling promotes radiation-resistant and dedifferentiated phenotype of hepatocellular carcinoma[J]. *Cells*, 2020, 9(3): 746. DOI: 10.3390/cells9030746.
- [38] XU G, ZHU LH, WANG Y, et al. Stattc enhances radiosensitivity and reduces radio-induced migration and invasion in HCC cell lines through an apoptosis pathway[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 1832494. DOI: 10.1155/2017/1832494.
- [39] TAO RD, COLEMAN MC, PENNINGTON JD, et al. Sirt3-mediated deacetylation of evolutionarily conserved lysine 122 regulates Mn-SOD activity in response to stress[J]. *Mol Cell*, 2010, 40(6): 893-904. DOI: 10.1016/j.molcel.2010.12.013.
- [40] REN T, ZHANG H, WANG J, et al. MCU-dependent mitochondrial Ca(2+) inhibits NAD(+)/SIRT3/SOD2 pathway to promote ROS production and metastasis of HCC cells[J]. *Oncogene*, 2017, 36(42): 5897-5909. DOI: 10.1038/onc.2017.167.
- [41] LIU Y, LIU YL, CHENG W, et al. The expression of SIRT3 in primary hepatocellular carcinoma and the mechanism of its tumor suppressing effects[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(5): 978-998.
- [42] LIU XZ, REN SC, LI ZZ, et al. Sirt6 mediates antioxidative functions by increasing Nrf2 abundance[J]. *Exp Cell Res*, 2023, 422(1): 113409. DOI: 10.1016/j.yexcr.2022.113409.
- [43] FURUKAWA A, TADA-OIKAWA S, KAWANISHI S, et al. H₂O₂ accelerates cellular senescence by accumulation of acetylated p53 via decrease in the function of SIRT1 by NAD⁺ depletion[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2007, 20(1-4): 45-54. DOI: 10.1159/000104152.
- [44] YE TJ, LU YL, YAN XF, et al. High mobility group box-1 release from H₂O₂-injured hepatocytes due to sirt1 functional inhibition[J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(36): 5434-5450. DOI: 10.3748/wjg.v25.i36.5434.
- [45] LIU JX, LI D, ZHANG T, et al. SIRT3 protects hepatocytes from oxidative injury by enhancing ROS scavenging and mitochondrial integrity[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(10): e3158. DOI: 10.1038/cddis.2017.564.
- [46] MELIN N, YARAHMADOV T, SANCHEZ-TALTAVULL D, et al. A new mouse model of radiation-induced liver disease reveals mitochondrial dysfunction as an underlying fibrotic stimulus[J]. *JHEP Rep*, 2022, 4(7): 100508. DOI: 10.1016/j.jhepr.2022.100508.
- [47] REN JH, CHEN X, ZHOU L, et al. Protective role of Sirtuin3 (SIRT3) in oxidative stress mediated by hepatitis B virus X protein expression[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3): e0150961. DOI: 10.1371/journal.pone.0150961.
- [48] HUANG RX, ZHOU PK. DNA damage repair: Historical perspectives, mechanistic pathways and clinical translation for targeted cancer therapy[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 254. DOI: 10.1038/s41392-021-00648-7.
- [49] PALACIOS JA, HERRANZ D, DE BONIS ML, et al. SIRT1 contributes to telomere maintenance and augments global homologous recombination[J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(7): 1299-1313. DOI: 10.1083/jcb.201005160.
- [50] GAO Y, TAN J, JIN JY, et al. SIRT6 facilitates directional telomere movement upon oxidative damage[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 5407. DOI: 10.1038/s41598-018-23602-0.
- [51] JEONG SM, XIAO CY, FINLEY LWS, et al. SIRT4 has tumor-suppressive activity and regulates the cellular metabolic response to DNA damage by inhibiting mitochondrial glutamine metabolism[J]. *Cancer Cell*, 2013, 23(4): 450-463. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.02.024.
- [52] MAO ZY, HINE C, TIAN X, et al. SIRT6 promotes DNA repair under stress by activating PARP1[J]. *Science*, 2011, 332(6036): 1443-1446. DOI: 10.1126/science.1202723.
- [53] VAN METER M, SIMON M, TOMBLINE G, et al. JNK phosphorylates SIRT6 to stimulate DNA double-strand break repair in response to oxidative stress by recruiting PARP1 to DNA breaks[J]. *Cell Rep*, 2016, 16(10): 2641-2650. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.08.006.
- [54] VAZQUEZ BN, THACKRAY JK, SIMONET NG, et al. SIRT7 promotes genome integrity and modulates non-homologous end joining DNA repair[J]. *EMBO J*, 2016, 35(14): 1488-1503. DOI: 10.15252/embj.201593499.
- [55] REZAZADEH S, YANG D, ALI BASHAD S, et al. SIRT6 mono-ADP-riboseylates KDM2A to locally increase H3K36me2 at DNA damage sites to inhibit transcription and promote repair[J]. *Aging*, 2020, 12(12): 11165-11184. DOI: 10.18632/aging.103567.
- [56] CHEN Y, ZHANG HP, XU Z, et al. A PARP1-BRG1-SIRT1 axis promotes HR repair by reducing nucleosome density at DNA damage sites[J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(16): 8563-8580. DOI: 10.1093/nar/gkz592.
- [57] YAMAGATA K, KITABAYASHI I. Sirt1 physically interacts with Tip60 and negatively regulates Tip60-mediated acetylation of H2AX[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 390(4): 1355-1360. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.10.156.
- [58] LEE N, RYU HG, KWON JH, et al. SIRT6 depletion suppresses tumor growth by promoting cellular senescence induced by DNA damage in HCC[J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0165835. DOI: 10.1371/journal.pone.0165835.
- [59] SERRANO L, MARTÍNEZ-REDONDO P, MARAZUELA-DUQUE A, et al. The tumor suppressor SirT2 regulates cell cycle progression and genome stability by modulating the mitotic deposition of H4K20 methylation[J]. *Genes Dev*, 2013, 27(6): 639-653. DOI: 10.1101/gad.211342.112.
- [60] ZHANG WY, FENG YL, GUO QQ, et al. SIRT1 modulates cell cycle progression by regulating CHK2 acetylation-phosphorylation[J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(2): 482-496. DOI: 10.1038/s41418-019-0369-7.
- [61] LIU TZ, LIN YH, LENG WC, et al. A divergent role of the SIRT1-TopBP1 axis in regulating metabolic checkpoint and DNA damage checkpoint[J]. *Mol Cell*, 2014, 56(5): 681-695. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.10.007.

收稿日期: 2023-05-17; 录用日期: 2023-06-25

本文编辑: 葛俊

引证本文: ZONG YK, LIU JK. Association between deacetylase Sirtuins and radiation-induced liver disease[J]. *J Clin Hepatol*, 2024, 40(2): 419-425.

宗也凯, 刘江凯. 去乙酰化酶 Sirtuins 家族与放射性肝病的关系[J]. *临床肝胆病杂志*, 2024, 40(2): 419-425.