

SIRT6在缺血再灌注损伤中的作用机制及研究进展

程荆, 张果, 张文斐, 吴立权, 陈治标*

武汉大学人民医院神经外科, 武汉 430060

摘要: 缺血性损伤后恢复血液供应会导致缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)损伤,这会导致组织损伤进一步加剧。IR损伤伴随着一系列机制,包括谷氨酸兴奋性毒性、钙超载、氧化应激、炎症和细胞凋亡,最终导致细胞死亡。IR损伤过程均由Sirtuins家族调控,在Sirtuins家族中,特异性定位于细胞核中的SIRT6可以促进对DNA损伤和氧化应激的抵抗,抑制基因组的不稳定性,在代谢稳态中发挥作用,同时SIRT6在人重要脏器中处于高度表达状态。但SIRT6在IR损伤中研究较少,结合国内外最新的研究进展,对SIRT6在IR损伤中的作用进行了回顾性的总结和分析,希望对国内外学者对于SIRT6在IR损伤中的研究提供一些参考依据。

关键词: SIRT6;缺血性损伤;缺血再灌注损伤;脑卒中

DOI: 10.19586/j.2095-2341.2022.0082

中图分类号: R743.31 **文献标志码:** A

Mechanism and Research Progress of SIRT6 in Ischemia Reperfusion Injury

CHENG Jing, ZHANG Guo, ZHANG Wenfei, WU Liquan, CHEN Zhibiao*

Department of Neurosurgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China

Abstract: The restoration of blood supply after ischemic injury will lead to ischemia/reperfusion (IR) injury, which could lead to further aggravation of tissue injury. IR injury is accompanied by a series of mechanisms, including glutamate excitotoxicity, calcium overload, oxidative stress, inflammation and apoptosis, resulting in cell death. IR injury processes are regulated by the Sirtuins family. In the Sirtuins family, SIRT6, specifically located in the nucleus, can promote resistance to DNA damage and oxidative stress, inhibit genomic instability, and play a role in metabolic homeostasis, and SIRT6 is highly expressed in the brain. However, there are few studies on SIRT6 in brain IR injury, so combined with the latest research progress at home and abroad, we made a retrospective summary and analysis of the role of SIRT6 in IR injury, hoping to provide some reference basis for domestic and foreign scholars on the study of SIRT6 in stroke.

Key words: SIRT6; ischemic injury; ischemia reperfusion injury; cerebral stroke

缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury)是发生在人体多个器官的病理过程,常伴有严重的细胞损伤和死亡^[1]。当长时间缺血后血液供应重新建立时,局部炎症和活性氧的产生增加,导致继发性损伤。缺血再灌注损伤与严重的临床表现相关,包括心肌冬眠、急性心力衰竭、脑功能障碍、胃肠功能障碍、全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征^[2]。此外,不同性别对于IR损伤也有不同的预后影响^[3]。

缺血再灌注损伤引起的全组织损伤分为缺血损伤和再灌注损伤两部分。以往的研究主要集中在减少低灌注时间以保护器官功能方面。然而,缺血组织血流恢复后的临床结果并不理想。最近的研究表明,再灌注有可能导致缺血组织的继发性损伤。缺血再灌注引起的后续损伤对器官保护和神经源性功能提出了挑战。缺血性损伤最初可能导致低氧、低营养。在长时间缺血后,细胞的代谢产物被保留下来,导致代谢性酸中毒。长时间

收稿日期:2022-05-19; 接受日期:2022-07-04

基金项目:国家自然科学基金青年项目(82201515);湖北省自然科学基金青年项目(2021CFB057);湖北省科技厅自然科学基金面上项目(2020CFB598);中央高校基本科研业务费专项基金(2042021kf0101)。

联系方式:程荆 E-mail: 2013283030123@whu.edu.cn; *通信作者 陈治标 E-mail: chzbiao@126.com

缺血再灌注损伤引起的细胞损伤可能导致细胞死亡、自噬、坏死和坏死性凋亡^[4-6]。所有的这些过程均由 Sirtuins 家族调控, Sirtuins 家族是烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)依赖的组蛋白去乙酰化酶, 它调节许多生物过程, 如细胞代谢、DNA 修复、细胞存活和细胞凋亡, 被认为是治疗人类多种病理过程的潜在目标靶点^[7]。

在 Sirtuins 家族中, 特异性定位于细胞核中的 SIRT6 可以促进对 DNA 损伤和氧化应激的抵抗, 抑制基因组不稳定, 同时在代谢稳态中发挥作用^[8], 并且 SIRT6 在大脑中处于高度表达状态^[9]。最近越来越多的研究表明 SIRT6 在缺血再灌注损伤中能够发挥保护作用。因此, 本文结合了国内外最新的研究进展, 对 SIRT6 在 IR 损伤中的作用进行了总结和分析, 希望为国内外学者对于 SIRT6 在 IR 损伤中的研究提供一些参考依据。

1 SIRT6 蛋白的功能

研究表明 SIRT6 具有抗衰老的作用。已知非同源末端连接(nonhomologous end joining, NHEJ)和同源重组(homologous recombination, HR)是 DNA 双链断裂(DNA double-strand break, DNA DSB)的主要修复途径; SIRT6 能通过上调 NHEJ 和 HR 来抑制 DNA DSB, 降低 DNA 损伤^[10], 进而延长动物的寿命; 同时, 在细胞中下调 SIRT6 的表达可以引发类似于细胞衰老所带来的损伤^[9]。SIRT6 可以通过作为炎症反应的调节因子在 Sirtuins 家族中发挥调控细胞衰老的作用^[11]。SIRT6 参与调节糖稳态^[12]和脂质代谢^[13-14], 在动脉粥样硬化发生和发展中可能起到积极的作用。SIRT6 也是心肌肥厚的负调控因子, 能保护心脏免受心力衰竭的侵袭^[15-16]。此外, SIRT6 还可减轻心肌和肝脏的 IR 损伤^[17-18]。

2 SIRT6 介导大脑 IR 损伤的分子机制

2.1 SIRT6 参与硫化钠在 IR 损伤中的细胞保护作用信号通路

已有研究表明, 硫化氢具有抗氧化、抗炎、保护心脏、舒张血管等多种生理功能, 对缺血性脑卒中有保护作用。Hu 等^[19]研究发现, SIRT6 在氧气葡萄糖剥夺再灌注(oxygen and glucose deprivation re-

perfusion, OGDR) 损伤刺激的大脑内皮细胞中表达降低。OGDR 是在体外实验中模拟大脑 IR 损伤常用的细胞模型。硫化钠(Na₂S, 外源性 H₂S 供体)通过上调 SIRT6 的表达, 进而减少 OGDR 诱导的细胞死亡, 降低细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生, 增加超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)活性。SIRT6 基因敲除减弱了 Na₂S 在 OGDR 刺激下对大脑内皮细胞的保护作用。这说明 SIRT6 参与了大脑 IR 损伤后 Na₂S 对内皮细胞发挥的保护作用。

2.2 SIRT6 通过增强 NRF2 信号通路在 IR 损伤中发挥神经保护作用

Zhang 等^[20]研究发现 SIRT6 的过表达能在小鼠大脑 IR 模型和 OGDR 刺激的小鼠神经母细胞瘤细胞(neuro-2a neuroblastoma cells, N2a cells)中发挥保护作用。在小鼠大脑 IR (1 h/24 h) 损伤后, 大脑皮质的 SIRT6 表达降低, 过表达 SIRT6 可以在脑内通过增强体内抗氧化剂核因子 E2 相关因子 2[nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2, NRF2] 信号通路, 降低氧化应激反应, 并减弱脑 IR 损伤诱导的脑组织损伤和神经功能缺损。然而, 在 NRF2 敲除小鼠中, SIRT6 过表达的神经保护作用明显减弱。在 N2a 细胞中也发现了相同的结果, 敲除 NRF2 可阻断 SIRT6 的神经保护作用(图 1)。该研究结果证明 SIRT6 可以通过激活 NRF2 抑制氧化应激反应来保护大脑免受 IR 损伤。SIRT6 有

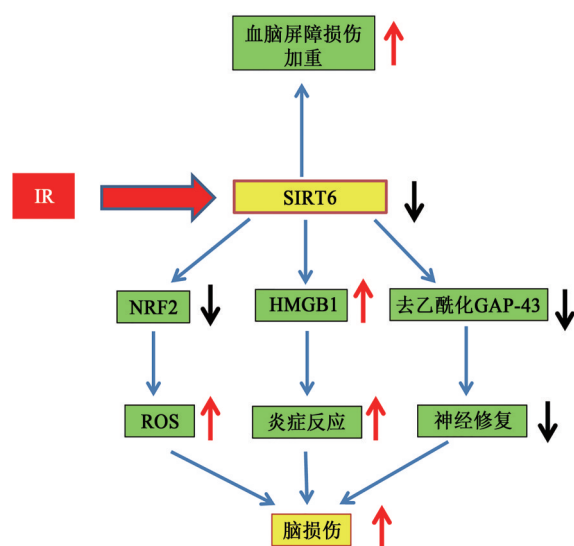


图1 SIRT6在大脑IR损伤中发挥神经保护的分子机制
Fig. 1 Molecular mechanism of neuroprotection of SIRT6 in brain IR injury

望成为缺血性脑卒中潜在的治疗靶点。

2.3 SIRT6通过抑制HMGB1在脑缺血中发挥炎症抑制作用

最近研究表明SIRT6参与炎症的调节^[11]。SIRT6主要在整個大脑的神经元细胞中表达。Lee等^[21]发现,在大鼠短暂性大脑中动脉缺血模型(middle cerebral artery occlusion, MCAO)和人神经母细胞瘤细胞(human neuroblastoma cells, SH-SY5Y) OGD损伤模型中, SIRT6的表达降低会导致细胞核释放高迁移率族蛋白B1 (high mobility group box-1, HMGB1)。HMGB1是已知的脑缺血炎症介质。SIRT6 siRNA处理降低了SH-SY5Y细胞中SIRT6的表达,显著增强了OGD诱导的HMGB1释放(图1)。这些研究数据表明, SIRT6可以通过介导炎症反应治疗脑IR损伤。

2.4 SIRT6通过抑制IR介导的血脑屏障损伤在缺血性脑卒中中发挥脑保护作用

Liberale等^[22]研究发现,过表达SIRT6会减少大脑IR导致的血脑屏障损伤。在血管内皮细胞特异性SIRT6敲除小鼠中构建MCAO损伤模型,与正常对照组相比,血管内皮细胞特异性SIRT6敲除小鼠的脑梗死体积增加、神经元死亡率增加并且神经功能损伤加重。缺血脑组织切片分析显示,血管内皮细胞特异性SIRT6敲除小鼠内皮细胞中Cleaved caspase-3的表达增加且血脑屏障损伤加重。这些结果说明,血管内皮细胞的SIRT6通过抑制IR诱导的血脑屏障损伤在缺血性脑卒中中发挥脑保护作用。

2.5 SIRT6通过参与修饰生长相关蛋白43在缺血性脑卒中中发挥神经修复作用

Demyanenko等^[23]最新研究发现SIRT6参与大脑IR后的神经修复。修饰生长相关蛋白43 (growth associated protein-43, GAP-43)是已知的参与脑中中风后大脑修复的标志性蛋白;在鼠缺血性脑卒中损伤模型中, SIRT6与GAP-43相互结合参与缺血性脑中中风后的大脑修复(图1)。

3 SIRT6在其他重要器官IR损伤中的分子机制

3.1 SIRT6在肝脏IR损伤中的作用机制

SIRT6参与肝脏内多种代谢过程,且在保护

肝脏免受IR损伤方面发挥重要作用^[24-25]。有研究表明,与正常野生型小鼠相比,IR损伤的野生型小鼠肝脏中SIRT6的表达明显降低;与野生型小鼠相比, SIRT6敲除小鼠在肝脏IR损伤后表现出明显的氧化应激加重、线粒体功能障碍、炎症反应加重、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)信号激活、凋亡和自噬相关的肝细胞死亡增加;此外,在细胞试验中也得到了相同的结果。另一方面, SIRT6的上调可以明显减轻肝IR导致的肝损伤。这些研究表明SIRT6上调能有效地保护肝脏避免IR损伤,其作用机制包括维持肝细胞氧化稳态和线粒体功能,从而抑制炎症反应和MAPK信号,最终减弱凋亡和自噬导致的肝细胞死亡^[18]。这些结果提示SIRT6的激活在肝脏IR损伤中能够发挥多方面的保护作用。

3.2 SIRT6在心脏IR损伤中的作用机制

ROS和氧化应激反应的形成是心肌IR损伤中细胞损伤和功能障碍的重要机制,但SIRT6在IR诱导的ROS和氧化应激作用中可以发挥保护作用。Wang等^[17]在杂合敲除SIRT6(SIRT6(+/-))小鼠和体外培养的新生心肌细胞模型中,发现部分敲除SIRT6加重了心肌IR小鼠的心肌损伤、心室重构和氧化应激反应,而通过直接心脏注射SIRT6腺病毒扩增SIRT6的表达则会逆转缺血心脏中SIRT6敲除所带来的有害影响。此外,在Langendorff离体心脏灌注模型中, SIRT6基因的部分缺失会降低IR后心肌功能的恢复。同样,在缺氧/复氧后培养的心肌细胞中也观察到SIRT6的保护作用。其作用机制为SIRT6上调一磷酸腺苷(adenosine monophosphate, AMP)/三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP),然后激活腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK)-forkhead box O3 α (FoxO3 α)轴,进一步启动下游抗氧化剂编码基因的表达,从而减少细胞的氧化应激水平,调节心脏保护缺血的心肌细胞。这些研究结果表明, SIRT6通过上调AMP/ATP-诱导AMPK激活FoxO3 α 的通路发挥保护心脏免受IR损伤的作用。此外,先前研究报道了Sirtuins (SIRT1-7)家族中, SIRT1主要参与心力衰竭的发展,并在细胞死亡和存活中起关键作用; SIRT2下调可防止心肌细胞缺血再灌注损伤; SIRT3保护心肌细胞免受氧化损伤和衰老,以及抑制心脏肥大; SIRT7参与心脏应激反应和心肌

细胞凋亡的调节;SIRT4和SIRT5在心脏中发挥的作用暂不清楚,仍需进一步研究^[26]。

3.3 SIRT6在肠IR损伤中的作用机制

氧化应激在肠IR损伤中起重要作用, Hu等^[27]研究表明, SIRT6参与薯蓣皂苷提高小肠上皮隐窝细胞株(IEC-6)的细胞活力,降低小鼠肠IR损伤引起的ROS水平,提高了SOD水平,改善了IR损伤引起的病理变化。其作用机制为薯蓣皂苷通过减少miR-351-5-p水平抑制氧化应激反应水平,上调SIRT6的表达,进而激活AMPK下调p-FoxO3 α 的表达水平,并增加锰超氧化物歧化酶(manganesesuperoxide dismutase, MnSOD)和CAT的表达水平,最终减少肠IR损伤。薯蓣皂苷通过调节miR-351-5/SIRT6信号减少氧化应激,对肠IR导致的损伤发挥保护作用,miR-351-5/SIRT6信号通路可能作为对抗IR损伤的一个有效药物靶点。

3.4 SIRT6在肾脏IR损伤中的作用机制

Gao等^[28]研究发现SIRT6在小鼠肾脏IR损伤后的表达减少;在低氧诱导的小鼠肾小管上皮细胞(tubular epithelial cells, TECs)中的表达下调;SIRT6耗竭加重了低氧诱导的TECs损伤和G2/M期阻滞。SIRT6过表达可减轻IR引起的TECs损伤和G2/M期阻滞^[28]。此外, Gewin等^[29]还发现SIRT6通过去乙酰化修饰 β -catenin的转录基因在慢性肾损伤中发挥保护作用。

4 展望

IR损伤后SIRT6能够对损伤的大脑内皮细胞发挥保护作用。例如,在小鼠IR损伤后, SIRT6过表达激活了NRF2并减少氧化应激,同时SIRT6还可以抑制HMGB1炎性介质的释放,减少血脑屏障损伤,促进大脑修复。这些发现表明, SIRT6能够保护神经细胞免受IR损伤。此外, SIRT6在大脑以外的其他脏器中也同样发挥抗IR损伤的作用。SIRT6能够通过延缓衰老、调控细胞周期、糖代谢、脂质代谢、抑制氧化应激和炎症反应减少IR损伤。这些发现对于研究SIRT6在IR损伤中发挥保护作用的分子机制具有重要的意义。本文通过对SIRT6减少IR损伤作用的总结,希望能为临床上缺血性损伤疾病的分子治疗提供参考依据。

参 考 文 献

- [1] YAN H F, TUO Q Z, YIN Q Z, *et al.*. The pathological role of ferroptosis in ischemia/reperfusion-related injury[J]. *Zool Res.*, 2020,41(3):220-230.
- [2] WU M Y, YANG G T, LIAO W T, *et al.*. Current mechanistic concepts in ischemia and reperfusion injury[J]. *Cell Physiol. Biochem.*, 2018,46(4):1650-1667.
- [3] 马义博,常越辰,马克涛,等. 雌激素对SD大鼠肾脏缺血再灌注肾小管上皮细胞Cx43蛋白表达的影响[J]. *生物技术进展*, 2022,12(3):452-459.
- [4] LING Q, YU X, WANG T, *et al.*. Roles of the exogenous H₂S-mediated SR-A signaling pathway in renal Ischemia/ reperfusion injury in regulating endoplasmic reticulum stress-induced autophagy in a rat model[J]. *Cell Physiol. Biochem.*, 2017,41:2461-2474.
- [5] 王濛,仪杨,孙梦婷,等. 富氢水和富氢生理盐水生物医学研究进展——动物实验[J]. *生物技术进展*, 2022,12(3):332-343.
- [6] 陆腾飞,邬杨楠,裴文华,等. 内皮祖细胞的生物学特性及其应用[J]. *生物技术进展*, 2017,7(4):266-271.
- [7] MATSUSHIMA S, SADOSHIMA J. The role of sirtuins in cardiac disease[J]. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, 2015, 309(9): 1375-1389.
- [8] MOSTOSLAVSKY R, CHUA K F, LOMBARD D B, *et al.*. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6[J]. *Cell*, 2006, 124(2): 315-329.
- [9] LEE O H, KIM J, KIM J M, *et al.*. Decreased expression of sirtuin 6 is associated with release of high mobility group box-1 after cerebral ischemia[J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2013, 438(2): 388-394.
- [10] TIAN X, FIRSANOV D, ZHANG Z, *et al.*. SIRT6 is responsible for more efficient DNA double-strand break repair in long-lived species[J]. *Cell*, 2019, 177(3):622-638.
- [11] TAKASAKA N, ARAYA J, HARA H, *et al.*. Autophagy induction by SIRT6 through attenuation of insulin-like growth factor signaling is involved in the regulation of human bronchial epithelial cell senescence[J]. *J. Immunol.*, 2014, 192(3):958-968.
- [12] XIAO C, KIM H S, LAHUSEN T, *et al.*. SIRT6 deficiency results in severe hypoglycemia by enhancing both basal and insulin-stimulated glucose uptake in mice[J]. *J. Biol. Chem.*, 2010, 285(47):36776-36784.
- [13] KANFI Y, PESHTI V, GIL R, *et al.*. SIRT6 protects against pathological damage caused by diet-induced obesity[J]. *Aging Cell*, 2010, 9(2):162-173.
- [14] YANG S J, CHOI J M, CHAE S W, *et al.*. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma by rosiglitazone increases sirt6 expression and ameliorates hepatic steatosis in rats[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(2):e17057.
- [15] SUNDARESAN N R, VASUDEVAN P, ZHONG L, *et al.*. The sirtuin SIRT6 blocks IGF-Akt signaling and development of cardiac hypertrophy by targeting c-Jun[J]. *Nat. Med.*, 2012, 18(11): 1643-1650.
- [16] CAI Y, YU S S, CHEN S R, *et al.*. Nmnat2 protects cardiomyocytes from hypertrophy via activation of SIRT6 [J]. *FEBS Lett.*, 2012, 586(6):866-874.
- [17] WANG X X, WANG X L, TONG M M, *et al.*. SIRT6 protects

- cardiomyocytes against ischemia/reperfusion injury by augmenting FOXO3 α -dependent antioxidant defense mechanisms[J]. *Basic Res. Cardiol.*, 2016,111(2): 13.
- [18] ZHANG S, JIANG S, WANG H, *et al.* SIRT6 protects against hepatic ischemia/reperfusion injury by inhibiting apoptosis and autophagy related cell death[J]. *Free Radic Biol. Med.*, 2018,115: 18-30.
- [19] HU Y, LI R, YANG H, *et al.* Sirtuin 6 is essential for sodium sulfide-mediated cytoprotective effect in ischemia/reperfusion-stimulated brain endothelial cells[J]. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, 2015, 24(3):601-609.
- [20] ZHANG W, WEI R, ZHANG L, *et al.* Sirtuin 6 protects the brain from cerebral ischemia/reperfusion injury through NRF2 activation[J]. *Neuroscience*, 2017, 366:95-104.
- [21] LEE O H, KIM J, KIM J M, *et al.* Decreased expression of sirtuin 6 is associated with release of high mobility group box-1 after cerebral ischemia[J]. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2013, 438(2):388-394.
- [22] LIBERALE L, GAUL D S, AKHMEDOV A, *et al.* Endothelial SIRT6 blunts stroke size and neurological deficit by preserving blood-brain barrier integrity: a translational study[J]. *Eur. Heart J.*, 2020, 41(16):1575-1587.
- [23] DEMYANENKO S, GANTSGORN E, RODKIN S, *et al.* Localization and expression of Sirtuins 1, 2, 6 and plasticity-related proteins in the recovery period after a photothrombotic stroke in mice[J]. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.*, 2020,29(10):105152.
- [24] DOMINY J E J, LEE Y, JEDRYCHOWSKI M P, *et al.* The deacetylase Sirt6 activates the acetyltransferase GCN5 and suppresses hepatic gluconeogenesis[J]. *Mol. Cell*, 2012, 48(6): 900-913.
- [25] YANG S J, CHOI J M, CHANG E, *et al.* Sirt1 and Sirt6 mediate beneficial effects of rosiglitazone on hepatic lipid accumulation[J/OL]. *PLoS ONE*, 2014, 9(8): e105456[2022-07-04]. <https://doi.org/10.371/journal.pone.0105456>.
- [26] AFZAAL A, REHMAN K, KAMAL S, *et al.* Versatile role of sirtuins in metabolic disorders: from modulation of mitochondrial function to therapeutic interventions[J]. *J. Biochem. Mol. Toxicol.*, 2022,17:23047.
- [27] HU Y, MAO Z, XU L, *et al.* Protective effect of dioscin against intestinal ischemia/reperfusion injury via adjusting miR-351-5p-mediated oxidative stress[J]. *Pharmacol. Res.*, 2018, 137:56-63.
- [28] GAO Z, CHEN X, FAN Y, *et al.* Sirt6 attenuates hypoxia-induced tubular epithelial cell injury via targeting G2/M phase arrest[J]. *J. Cell Physiol.*, 2020, 235(4):3463-3473.
- [29] GEWIN L S. Sirtuin 6 and renal injury: another link in the β -catenin chain?[J]. *Kidney Int.*, 2020,97(1):24-27.