



乙酰化对代谢的调控及其在代谢相关疾病中的作用

王义平^{①*}, 雷群英^{②③*}

① 上海交通大学医学院基础医学院生物化学与分子细胞生物学系, 上海 200025;

② 复旦大学上海医学院基础医学院生物化学与分子生物学系, 教育部代谢与分子医学重点实验室, 上海 200032;

③ 复旦大学上海医学院生物医学研究院, 肿瘤代谢实验室, 上海 200032

* 联系人, E-mail: wangyiping@shsmu.edu.cn; qlei@fudan.edu.cn

收稿日期: 2015-05-23; 接受日期: 2015-06-06; 网络版发表日期: 2015-11-02

国家自然科学基金(批准号: 81225016)和上海市晨光计划(批准号: 14CG15)资助

doi: 10.1360/N052015-00068

摘要 赖氨酸的乙酰化修饰是一种进化上高度保守的翻译后修饰机制。乙酰化酶和去乙酰化酶对特定蛋白的乙酰化状态进行动态调控。近年来的质谱研究发现, 几乎所有的代谢酶都存在乙酰化修饰, 表明乙酰化修饰对细胞代谢具有广泛的调控作用。除在转录水平进行调控外, 乙酰化修饰还可以通过改变代谢酶的蛋白间相互作用、蛋白稳定性、催化活力和亚细胞定位等方式, 对多种生物学过程如能量代谢、信号转导和氧化应激反应等进行调控。乙酰化对代谢途径的调控与代谢相关疾病如肿瘤、心血管疾病、糖尿病和肥胖等的发生和发展密切相关。本文总结了近年来乙酰化修饰调控代谢的相关研究进展, 并着重阐述乙酰化修饰对代谢酶调控的具体分子机制。

关键词

乙酰化
肿瘤代谢
代谢相关疾病

翻译后修饰是一种重要的调控蛋白质功能的机制。质谱学研究发现, 细胞内绝大多数的蛋白, 如构成信号网络、代谢通路、细胞骨架的蛋白, 都会被可逆的翻译后修饰调节, 从而使细胞快速地响应外界环境的变化和信号刺激^[1]。目前人们已发现了几百种翻译后修饰类型, 其中只有很小的部分得到了深入研究, 包括磷酸化、乙酰化、甲基化、N-连接和 O-连接糖基化、泛素化和 SUMO 化等。其中赖氨酸乙酰化修饰对代谢的调控是近年来翻译后修饰研究领域的重要进展之一^[2,3]。

1 赖氨酸乙酰化修饰的认识历程

1964 年, 在研究人员对蛋白磷酸化的认识起步之时, 组蛋白的赖氨酸ε-氨基即被发现存在可逆的乙酰化修饰^[4]。随后, 得益于研究技术和检测手段的进步, 磷酸化研究领域得到了极大的发展。与之相对的, 乙酰化相关研究受制于鉴定乙酰化位点技术的瓶颈, 直到 20 年后第一个乙酰化修饰的非组蛋白——微管蛋白才得到报道^[5]。20 世纪 90 年代, p53 和人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)转录调控蛋白 Tat 也被相继发现受到乙酰化修

引用格式: 王义平, 雷群英. 乙酰化对代谢的调控及其在代谢相关疾病中的作用. 中国科学: 生命科学, 2015, 45: 1083–1092

Wang Y P, Lei Q Y. Regulation of metabolism by lysine acetylation and its role in metabolic diseases. SCIENTIA SINICA Vitae, 2015, 45: 1083–1092, doi: 10.1360/N052015-00068

饰的调节^[6,7].

近 10 年来, 高精度蛋白质谱技术的出现极大地促进了乙酰化研究的发展. 目前已在多个物种的不同组织中鉴定出成千上万个乙酰化修饰位点^[8], 这一数目足以和其他几种目前已知的主要翻译后修饰类型如磷酸化和泛素化相匹敌. 更重要的是, 乙酰化修饰被发现普遍存在于多种生物中, 从低等的细菌、酵母到高等的哺乳动物. 这些都表明赖氨酸的乙酰化修饰是一种保守而且广泛的翻译后调控机制.

2 乙酰化修饰的动态调控过程

乙酰化修饰是一个动态可逆的过程, 即通过乙酰基转移酶(lysine acetyltransferase, KAT, 又称乙酰化酶)将乙酰基团与特定赖氨酸残基进行共价连接; 由去乙酰化酶(lysine deacetylase, KDAC)将乙酰基团移除(图 1).

目前在哺乳动物中已知的乙酰化酶有 22 个, 主要分为 3 个家族: GCN5(histone acetyltransferase GCN5)家族、CBP(CREB-binding protein)/P300 家族和 MYST(MYST histone acetyltransferase)家族; 去乙酰化酶根据其催化机制不同分为两类: Zn^{2+} 依赖的组蛋白去乙酰化酶家族(histone deacetylases, HDAC1-11, 又称 HDAC 家族)和 NAD^+ 依赖的 SIRT 家族蛋白(SIRT1-7). 近年来在多个物种酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、线虫(*Caenorhabditis elegans*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)、小鼠(*Mus musculus*)中的研究表明, SIRT 家族蛋白的功能与衰老过程密切相关^[9].

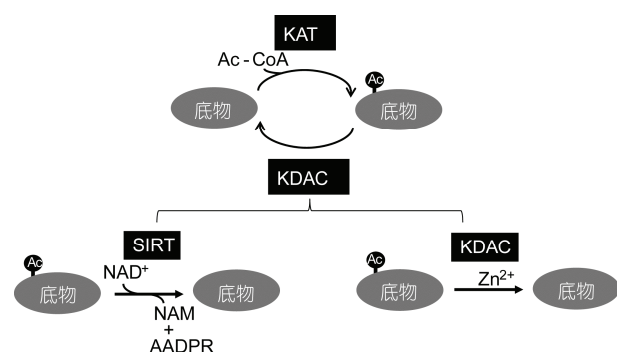


图 1 乙酰化状态由乙酰化酶和去乙酰化酶调控

Ac-CoA: 乙酰辅酶 A; Ac-底物: 乙酰化修饰底物; SIRT: SIRT 家族去乙酰化酶; NAD^+ : 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸; NAM: 烟酰胺; AADPR: O-乙酰基-ADP-核糖

3 乙酰化对代谢活动的调控

早期的组蛋白和核内非组蛋白的乙酰化研究表明, 乙酰化修饰在转录等过程中起到了关键的调控作用. 近年来蛋白质谱学的研究发现, 在众多的胞浆蛋白中, 乙酰化修饰也是广泛存在的. 乙酰化修饰普遍存在于代谢酶(糖酵解、糖异生、三羧酸循环、尿素循环、脂肪酸代谢和糖原代谢等)和代谢相关酶^[10]. 乙酰化修饰对这些核外蛋白特别是代谢酶类的调控随即引起了人们的研究兴趣.

进一步的研究发现, 乙酰化对代谢活动具有丰富的调控方式和复杂的调控机制^[11]. 这也表明在代谢的调节过程中, 乙酰化这一翻译后修饰机制起到非常基础而且关键的作用. 乙酰化对代谢的调控与个体发育、细胞分化和维持能量稳态密切相关. 而许多代谢酶乙酰化状态的失调与多种代谢相关疾病如肿瘤、心血管疾病、糖尿病和肥胖的发生发展过程紧密联系.

4 乙酰化对代谢的调控与疾病的关系

4.1 乙酰化对代谢的调控在肿瘤发生发展中的作用

代谢重编程是肿瘤的重要特征之一^[12]. 即使在正常氧含量状态下, 肿瘤细胞也会优先使用糖酵解而不是氧化磷酸化, 从而产生过量的乳酸和中间代谢产物, 这也就是著名的沃伯格效应(Warburg effect). 肿瘤细胞摄入过量的葡萄糖并通过代谢重编程为其快速生长提供更多的原料, 如乙酰辅酶 A、核苷酸、氨基酸等. 乙酰化对多个代谢酶的调控在肿瘤重编程过程中发挥重要的作用.

(1) 丙酮酸激酶 M2(pyruvate kinase M2, PKM2)的 K305 和 K433 乙酰化分别调控其代谢酶和蛋白激酶功能. 丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)催化糖酵解的最后一步反应, 是糖酵解过程的关键酶, 将磷酸烯醇式丙酮酸上的磷酸基团转移至二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)上并产生丙酮酸和一分子三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP). 哺乳动物含有 4 个不同亚型的丙酮酸激酶: L 型、R 型、M1 型和 M2 型. 其中 L 型和 R 型由丙酮酸激酶 LR(pyruvate kinase liver and RBC)基因 *PKLR* 编码, 主要表达于肝脏和红细胞中. M1 型和 M2 型基因均由 *PKM* 基因编码, 由可变剪接产生不同亚型. *PKM1* 表

达于产能旺盛的组织(如肌肉和脑)中; *PKM2* 则主要表达于脂肪、胰岛等组织, 并且特异地在增殖旺盛的细胞如胚胎干细胞和肿瘤细胞中表达^[13].

研究发现, *PKM2* 的高表达伴随着多种肿瘤的发生过程, 而且这个现象并不是由 *PKM2* 剪接改变导致的^[14]. 高糖状态下, 乙酰化酶 p300/CBP 结合因子(p300/CBP-associated factor, PCAF)可以对 *PKM2* 的 K305 位点进行乙酰化修饰, 增强其与分子伴侣热休克蛋白 70(heat shock cognate protein 70, HSC70)的结合, 从而促进其溶酶体依赖的分子伴侣介导的自噬(chaperon-mediated autophagy, CMA)降解过程. *PKM2* 活性的降低会导致其上游的糖酵解中间产物, 如果糖-1,6-二磷酸(fructose-1,6-bisphosphate, FBP)和葡萄糖-6-磷酸的积累. 外源表达的模拟 *PKM2* 乙酰化状态的 K305Q 突变体会促进细胞的增殖和肿瘤生长. 这些结果表明, *PKM2* 乙酰化调控参与了肿瘤细胞的代谢重编程过程, 使糖酵解的功能由产生 ATP 转向积累中间代谢产物, 为多种生物大分子的合成提供原料^[15].

另外, 乙酰化修饰也调控着 *PKM2* 的非代谢酶功能. *PKM2* 的 K433 位点可以被 P300 乙酰化, 抑制 *PKM2* 与别构激活剂 FBP 的结合, 从而促进其四聚体向二聚体转变. 二聚体形式的 *PKM2* 会在细胞核中积累, 发挥蛋白激酶的功能, 使信号转导子和转录激活因子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)蛋白 Y705 磷酸化, 激活下游信号通路, 促进肿瘤细胞增殖. 有趣的是, K433 的乙酰化在乳腺癌样本中显著增高^[16].

(2) 胰腺癌的发生过程中乳酸脱氢酶 A(lactate dehydrogenase A, LDHA)的 K5 乙酰化水平下调. 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)在多种类型肿瘤中表达水平均有升高, 与肿瘤细胞外酸性微环境的诱导和维持密切相关^[17]. 它的作用是在缺氧状态下将糖酵解的终产物丙酮酸转化为乳酸并产生烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺). 体内的研究发现, 抑制 LDHA 的活性可以阻碍肿瘤的发展进程^[18]. 乙酰化修饰可以通过与 *PKM2* 类似的分子机制对 LDHA 进行调节. LDHA 蛋白 K5 被乙酰化后活力降低, 同时其 CMA 介导的降解过程加强. 相比癌旁组织, 胰腺癌中 K5 乙酰化水平显著下降, LDHA 活力明显增加, 表达水平也显著增高, 从而可以促进肿瘤细胞的生长和迁移, 故可作

为潜在的胰腺癌早期辅助诊断分子标记物^[19].

(3) 柠檬酸裂酶(ATP-citrate lyase, ACLY)的乙酰化抑制其泛素化降解来促进肿瘤细胞的脂肪酸合成. 肿瘤细胞生长过程中需要消耗大量的脂肪酸, 用于合成磷脂等以适应快速分裂增殖的需求^[20]. 因此, 脂类的从头合成途径在肿瘤细胞中就显得尤为重要. 脂肪酸合成需要乙酰辅酶 A 作为底物, 而在绝大部分组织类型中乙酰辅酶 A 的来源是 ACLY. ACLY 耦联糖代谢和脂代谢, 在协调两种代谢途径中发挥重要作用. 已知 PI3K-Akt 信号通路可以通过磷酸化修饰调节 ACLY 的活性. 研究发现, 乙酰化可以通过对 ACLY 3 个不同位点的修饰(K540, K546 和 K554)抑制其泛素化的发生, 从而阻断其降解过程. 乙酰化通过与泛素化竞争的方式稳定 ACLY 的蛋白量, 促进脂肪酸的从头合成, 从而为细胞生长和肿瘤增殖提供原料. 对肺癌样本的研究也证实了 ACLY 的乙酰化明显上调, 表明 ACLY 的乙酰化在肺癌的发生和发展中可能起关键作用^[21].

(4) 乙酰化激活甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH). GAPDH 催化糖酵解途径中重要的一步反应, 其活性会随着外界环境(如葡萄糖浓度)动态变化. 研究发现, 乙酰化酶 p300/CBP 结合因子(p300/CBP-associated factor, PCAF)和去乙酰化酶 HDAC5 调节 GAPDH 的 K254 乙酰化状态, 这一调节方式对肿瘤增殖过程非常重要^[22]. 此外, PCAF 也可以乙酰化 GAPDH 的 K117 和 K251, 促进其进核, 从而调控基因转录和 DNA 修复过程^[23].

(5) 乙酰化通过不同机制激活 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶(6-phosphogluconate dehydrogenase, 6PGD)并促进肿瘤增殖. 在体外培养的细胞中的研究发现, 6PGD 可以被乙酰化修饰激活. K27 的乙酰化可以促进 6PGD 与其辅酶氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP⁺)的结合, 而 K294 的乙酰化可以促进 6PGD 有活性的二聚体的形成. 表达模拟非乙酰化 6PGD 的突变体会抑制细胞的增殖和肿瘤的生长, 这是由于胞浆内戊糖和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)的合成受到了抑制, 从而导致 RNA 和脂类的合成减缓, 同时细胞内的 ROS 水平增加. 在白血病样本中的研究发现, 6PGD 的乙酰化水平明显增加, 其催化能力也处于激活状态^[24].

(6) 磷酸甘油酸变位酶(phosphoglycerate mutase, PGAM)的乙酰化与肿瘤的增殖密切相关. PGAM 催化糖酵解途径中 3-磷酸甘油酸向 2-磷酸甘油酸的转化. PGAM 包括两个同工酶: PGAM1 和 PGAM2, 其中 PGAM2 特异性地分布于肌肉组织中^[25]. SIRT2 可以去乙酰化 PGAM2 的 K100 并激活其催化活性, 其乙酰化调控对维持细胞内 NADPH 的稳态和调节肿瘤细胞生长非常重要^[26]. 有意思的是, PGAM1 的乙酰化则会激活其催化活力. 在低糖培养条件下, SIRT1 通过去乙酰化 PGAM1 蛋白 C 端的 3 个赖氨酸残基(K251, K253 和 K254)抑制其催化活力, 说明 SIRT1 可能在低营养状态下能量代谢由糖酵解向脂肪氧化转变过程中发挥着一定作用^[27].

4.2 乙酰化调控介导氧化应激反应

活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)是一类性质活泼的含氧分子. 它是细胞内一种重要的信号分子, 在细胞的分裂、分化、凋亡等过程中发挥着重要的信号传递作用. 细胞内活性氧的重要来源是线粒体中的呼吸链, 外界环境中也存在活性氧产生的因素. 过量的活性氧会对细胞内多种生物大分子如蛋白质、脂类和 DNA 等造成氧化损伤, 使细胞处在氧化压力下, 从而导致氧化应激反应^[28].

在进化过程中产生了一套完整的清除过量 ROS 的机制. 而 ROS 清除系统的失调与多种疾病(包括肿瘤)的发生密切相关. 例如, 位于线粒体中的清除氧化压力的重要蛋白超氧化物歧化酶(superoxide dismutase 2, SOD2)的突变就与衰老、肿瘤等密切相关. SOD2 可以将超氧阴离子自由基转变为过氧化氢和氧气, 过氧化氢会进一步被其他酶类清除. 可见, SOD2 在调节 ROS 水平过程中起了至关重要的作用. 研究发现, SOD2 受乙酰化修饰的调控, 位于线粒体中的去乙酰化酶 SIRT3 可以去乙酰化并激活 SOD2, 从而保护细胞免受氧化损伤^[29,30]. 进一步的研究发现, 同样位于线粒体的异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase 2, IDH2)在细胞抗氧化过程中也发挥重要的作用. SIRT3 可以去乙酰化并激活 IDH2, 增加其催化活力, 提高 NADPH 的水平, 从而为抵抗氧化损伤提供还原力^[31]. 动物模型的研究发现, SIRT3 对 IDH2 的去乙酰化调控在预防衰老所导致的听力损伤过程中非常关键^[32].

胞浆中的 ROS 清除系统同样受乙酰化的调控.

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)是磷酸戊糖途径的关键酶. 它催化葡萄糖六磷酸的氧化并生成 NADPH, 对维持胞浆内还原力非常重要. G6PD 缺陷症是最为常见的代谢酶缺陷症之一, 受累患者在摄入氧化性的药物或食物后会产生溶血性贫血. 研究发现, 氧化压力可以激活位于胞浆中的去乙酰化酶 SIRT2, 从而导致 G6PD 去乙酰化和催化活力升高. 这种调控机制可以保护红细胞抵御外源氧化压力^[33].

4.3 乙酰化对代谢的调控在心血管疾病发生过程中的作用

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)是全世界范围内致死率极高的疾病之一, 也是一类重要的衰老相关疾病. 研究表明, 乙酰化很可能通过对代谢活动的影响参与心血管的生理功能调节和疾病发生过程.

目前对 SIRT 家族去乙酰化酶在心血管系统中的功能已有一定认识. 小鼠模型中的研究结果说明, SIRT1 在心脏功能的调节过程中非常重要: SIRT1 通过调控 p53 的乙酰化介导心肌细胞的应激反应, 维持心脏的正常发育^[34]; 在成体动物中 SIRT1 与心肌细胞的应激反应也紧密联系. 另外, SIRT1 蛋白表达水平在左心室肥厚、心脏衰竭等状态下明显增加^[35,36]. 当心肌细胞处在内源或外源的氧化压力下时, SIRT1 的表达量也会升高. 而 SIRT1 高表达可以减少心肌肥大的发生^[37].

血管内皮功能紊乱是衰老相关心血管疾病的重要特征之一. 近年来的临床数据表明, 血管内皮功能紊乱与内皮细胞的氧化损伤密切相关. SIRT1 直接参与到内皮依赖性血管舒张的调控. 剪应力状态下, SIRT1 和一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)的结合增强, 使其乙酰化水平降低, 从而激活其活力, 促进内皮细胞一氧化氮产生^[38]. 也有证据表明 SIRT1 可以间接地调控 eNOS 的 mRNA 表达, 说明 SIRT1 可以通过直接或间接的作用调控 eNOS, 从而调节血管内皮功能^[39]. 另外 SIRT1 对血管功能的调控可以通过对 HIF-2 α 的乙酰化状态调节来实现. 在缺氧状态下, SIRT1 的活力会被激活并导致 HIF-2 α 去乙酰化, 从而激活其转录活性, 使线粒体抗氧化蛋白 SOD2 基因转录增强, mRNA 表达增加^[40].

除了血管舒张调节外, 维持内皮细胞的修复和

血管生成能力也是控制心血管疾病发生的手段之一。血管紧张素 II 是一种多功能激素, 在衰老、心血管等病理过程中非常重要。研究发现, 血管紧张素 II 可以导致 PGC-1 α 与乙酰化酶 GCN5 结合增强并被乙酰化修饰, 进一步抑制过氧化氢酶基因的转录过程。这种调控方式可能介导了代谢性心血管疾病的 ROS 依赖的病理过程^[41]。

4.4 乙酰化对葡萄糖稳态的调控及其在糖尿病发生过程中的作用

人体内血糖浓度受到精细的调节。乙酰化可以通过调节代谢酶活性或代谢相关基因的表达调控血糖的平衡。肝脏和胰腺是维持血糖平衡的两个重要器官, 其中肝脏具有双向的调控功能, 它既可以通过肝糖原的合成、糖的氧化分解或转变为其他非糖类物质使血糖降低; 又可以在饥饿状态下通过肝糖原分解和糖异生过程维持血糖的水平^[42]。

肝脏中的糖酵解、糖异生、糖原合成等代谢通路上绝大多数代谢酶均被鉴定出乙酰化修饰的存在。例如, 糖原磷酸化酶(glycogen phosphorylase, GP)催化糖原分解代谢过程中的限速步骤, 在维持细胞和机体葡萄糖平衡过程中发挥着关键作用。研究发现, K470 的乙酰化修饰可以直接抑制 GP 酶活。有意思的是, K470 乙酰化也同时可以增强 GP 与蛋白磷酸酶 1(protein phosphatase 1, PP1) 靶向蛋白(protein phosphatase 1 regulatory subunit, GL)结合, 从而介导 PP1 依赖的 GP 去磷酸化过程。乙酰化通过这种与磷酸化修饰的交互作用(cross-talk), 响应体内的胰岛素和胰高血糖素的刺激对糖原的降解过程进行调节^[43]。与此同时, 糖异生过程的关键酶磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, PEPCK1)也受到乙酰化的调控。高糖状态下, PEPCK1 的乙酰化水平增加, 从而导致其与泛素连接酶 UBR5 的结合增强, 从而促进 PEPCK1 的泛素化降解过程。乙酰化酶 P300 和去乙酰化酶 SIRT2 在不同糖浓度的状态下通过调节 PEPCK1 的活性维持细胞内葡萄糖水平的相对恒定。另外, 乙酰化也在转录水平对代谢过程进行调控。在饥饿状态下, SIRT1 可以通过对 PGC-1 α 的调控诱导糖异生基因(如葡萄糖糖激酶基因和丙酮酸激酶基因)的表达和肝内葡萄糖外运^[44]。

胰腺则会感应体内葡萄糖浓度的变化通过调节胰岛素的释放维持葡萄糖的稳态。动物模型中的研

究发现, 去乙酰化酶抑制剂可以通过调控胰岛 β 细胞的分化和增殖过程增强其功能。在白介素-1 β (interleukin-1, IL-1 β)诱导的胰岛 β 细胞功能失调过程中, 去乙酰化酶抑制剂可以降低诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达并减少 NO 的释放, 从而抑制 NF- κ B 的激活过程^[45]。在大鼠(*Rattus norvegicus*)胰岛 β 细胞中过表达 SIRT1 则可以保护 β 细胞^[46]。过表达 SIRT1 的转基因小鼠对胰岛素的敏感度没有显著变化, 但由于其合成肝糖的能力下降, 故而体现出增强的葡萄糖耐受性^[47]。

4.5 乙酰化对脂代谢的调控与肥胖的发生密切相关

肥胖产生过程中, 脂肪组织通过脂肪细胞的肥大和增生以储存过量的脂肪。过量的甘油三酯会导致脂肪细胞肥大; 而具有增殖能力的脂肪前体细胞在能量存储需求增加时会导致脂肪细胞的数量增加。这种前脂肪细胞的增殖和分化过程即被称为脂肪形成(lipogenesis)^[48]。去乙酰化酶也参与到脂肪形成的调控过程: 一些去乙酰化酶的抑制剂(如丙戊酸等), 会通过抑制一系列转录因子, 如 PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma), SREBP(sterol-regulatory element binding protein)和 C/EBP(CCAAT/enhancer binding protein)等, 进而抑制前脂肪细胞的脂肪形成过程^[49,50]。而另一些去乙酰化酶抑制剂(如丁酸钠)则会诱导小鼠前脂肪细胞 3T3L1 的分化^[51]。这些结果表明不同的 HDAC 去乙酰化酶对脂肪细胞的分化具有各异的调控作用。

在体外培养的 3T3L1 中的研究发现, Sirt1 可以通过抑制 Ppar γ 促进白色脂肪细胞中脂动员的过程。在已经分化的脂肪细胞中, Sirt1 的上调则会促进脂降解, 从而导致脂肪减少^[52]。与此同时, Sirt2 也通过对 Forkhead 转录因子(forkhead box O1, Foxo1)的动态调控影响脂肪形成过程中的多个关键代谢基因(如 *Glut4* 和 *Fasn* 等)的表达, 影响脂肪细胞分化过程^[53]。通过去乙酰化 Foxo1, Sirt1 可以提高脂肪组织中甘油三酯脂肪酶的表达, 促进脂分解。小鼠模型中的研究发现, Sirt1 的表达量在肥胖小鼠中明显下降, 全身过表达 Sirt1 的小鼠则表现出活跃的代谢水平和较瘦的体型。与此同时, SIRT2 也对脑神经回路(neural circuits)中的脂代谢进行调控, 抑制 SIRT2 会导致神经元中胆固醇合成代谢相关基因表达的下调^[54]。

除了调节脂代谢相关基因表达外, 乙酰化修饰

也会直接影响脂代谢途径中的多个代谢酶从而实现脂类合成及分解的调控。肿瘤细胞中的研究已经表明 SIRT2 可以通过调控 ACLY 的乙酰化促进脂肪酸从头合成前体乙酰辅酶 A 的产生。而 SIRT1 和 SIRT3 也可以分别去乙酰化并激活位于胞浆和线粒体中的同工酶乙酰辅酶 A 合成酶(acetyl coenzyme A synthetase 1,2, AceCS1,2)。SIRT1 可以去乙酰化并激活 AceCS1, 调节乙酸依赖的脂肪酸合成^[55]。

研究 *Sirt3* 敲除小鼠发现, 脂肪肝的发生与 *Sirt3* 活性降低和线粒体蛋白的高乙酰化水平密切相关^[56]。在饥饿状态下, *Sirt3* 敲除小鼠肝脏中 ATP 水平明显下降, 而脂肪酸氧化的中间产物和甘油三酯水平显著提升, 说明 *Sirt3* 缺失会导致脂肪酸氧化水平降低。进一步的蛋白质谱研究发现, 长链脂酰 CoA 脱氢酶(very long chain acyl-coA dehydrogenase, Lcad)在 *Sirt3* 缺失状态下其 K42 乙酰化水平明显增加。Sirt3 可以去乙酰化 Lcad 并激活其催化活性^[57]。代谢组学的证据也表明 *Sirt3* 敲除小鼠的 β 氧化过程发生异常^[58]。进一步的研究发现, 饥饿状态下肝脏和棕色脂肪组织中 *Sirt3* 的表达明显增强, 从而去乙酰化 Lcad, 增强其催化活性。

5 乙酰化修饰为潜在的代谢相关疾病的药物靶点

通过改变去乙酰化酶的活力可以影响其底物(如

代谢酶)的乙酰化水平, 从而影响细胞内特定的代谢途径, 这也为代谢相关疾病的药物开发提供了一种新思路。到目前为止, 一些广谱的 HDAC 家族去乙酰化酶抑制剂已在临床上得到应用^[59]。与此同时, SIRT 家族去乙酰化酶的激活剂也得到了广泛的关注。例如, 来源于葡萄酒的白藜芦醇(resveratrol)可以激活 SIRT 蛋白的活性, 并且减轻心血管疾病患者的症状^[60], 对 II 型糖尿病也有一定疗效^[61]。由于 SIRT 蛋白与卡路里限制介导的长寿密切相关, 通过 SIRT 蛋白的激活剂实现对细胞内的代谢流的调整也被认为具有广阔的开发前景。

6 结语

近年来的研究揭示了乙酰化修饰在代谢调控中的重要性, 乙酰化也通过多种复杂而精细的机制影响代谢活动(图 2)。借力于质谱技术发展, 人们已经积累了海量的乙酰化质谱学数据, 然而乙酰化酶和去乙酰化酶如何对细胞内如此多的代谢酶的乙酰化状态进行协同调节以适应细胞的代谢需求仍不清楚^[8]。

另外, 代谢活动具有一定的组织和细胞特异性, 个体发育和细胞分化的不同阶段的代谢需求也各不相同, 乙酰化是否参与特定发育分化阶段、特定的组织类型中的代谢调控过程仍需要进一步的研究。此外, 人们已经认识到乙酰化修饰并不是孤立的调控机制, 它可以与其他多种翻译后修饰类型如磷酸化、

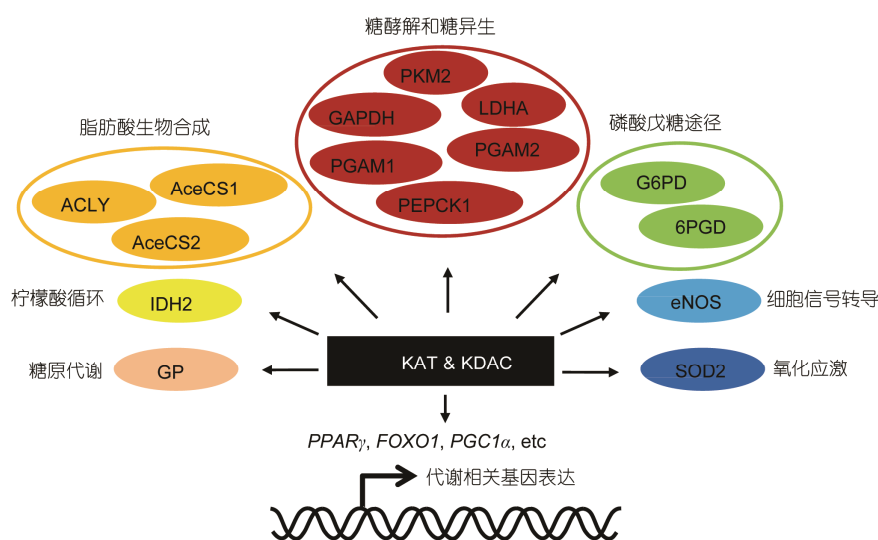


图 2 乙酰化修饰对代谢的调控

泛素化等产生交互作用^[62]; 乙酰化修饰对不同亚细胞定位的同工酶(如 AceCS1 和 AceCS2)也具有类似的调控机制^[63]. 乙酰化修饰如何动态调节不同细胞和组织的代谢状态, 并与特异的信号途径产生交汇, 以响应外界环境的改变仍知之甚少. 对乙酰化酶和去乙酰化酶功能及调控的进一步理解也将有助于揭示乙酰化如何整合细胞内不同代谢流并协调整个代

谢网络以满足细胞的代谢需求.

与此同时, 代谢相关疾病具有很强的个体差异^[64,65], 不同代谢酶乙酰化状态的生理病理变化及其在不同疾病发生发展过程中的重要性仍需深入研究, 这样不仅有助于疾病的检测和诊断, 而且为进一步的组织特异性和代谢途径特异性药物的开发提供思路.

参考文献

- Mann M, Jensen O N. Proteomic analysis of post-translational modifications. *Nat Biotechnol*, 2003, 21: 255–61
- Zhao S, Xu W, Jiang W, et al. Regulation of cellular metabolism by protein lysine acetylation. *Science*, 2010, 327: 1000–1004
- Choudhary C, Kumar C, Gnad F, et al. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science*, 2009, 325: 834–840
- Allfrey V G, Faulkner R, Mirsky A E. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1964, 51: 786–794
- L'Hernault S W, Rosenbaum J L. Chlamydomonas alpha-tubulin is posttranslationally modified by acetylation on the epsilon-amino group of a lysine. *Biochemistry*, 1985, 24: 473–478
- Gu W, Roeder R G. Activation of p53 sequence-specific DNA binding by acetylation of the p53 C-terminal domain. *Cell*, 1997, 90: 595–606
- Ott M, Schnolzer M, Garnica J, et al. Acetylation of the HIV-1 Tat protein by p300 is important for its transcriptional activity. *Curr Biol*, 1999, 9: 1489–1492
- Choudhary C, Weinert B T, Nishida Y, et al. The growing landscape of lysine acetylation links metabolism and cell signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15: 536–550
- Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochem J*, 2007, 404: 1–13
- Kim S C, Sprung R, Chen Y, et al. Substrate and functional diversity of lysine acetylation revealed by a proteomics survey. *Mol Cell*, 2006, 23: 607–618
- Huang W, Wang Z, Lei Q Y. Acetylation control of metabolic enzymes in cancer: an updated version. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2014, 46: 204–213
- Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011, 144: 646–674
- Christofk H R, Vander Heiden M G, Wu N, et al. Pyruvate kinase M2 is a phosphotyrosine-binding protein. *Nature*, 2008, 452: 181–186
- Bluemlein K, Gruning N M, Feichtinger R G, et al. No evidence for a shift in pyruvate kinase PKM1 to PKM2 expression during tumorigenesis. *Oncotarget*, 2011, 2: 393–400
- Lv L, Li D, Zhao D, et al. Acetylation targets the M2 isoform of pyruvate kinase for degradation through chaperone-mediated autophagy and promotes tumor growth. *Mol Cell*, 2011, 42: 719–730
- Lv L, Xu Y P, Zhao D, et al. Mitogenic and oncogenic stimulation of K433 acetylation promotes PKM2 protein kinase activity and nuclear localization. *Mol Cell*, 2013, 52: 340–352
- Shim H, Dolde C, Lewis B C, et al. c-Myc transactivation of LDH-A: implications for tumor metabolism and growth. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 6658–6663
- Le A, Cooper C R, Gouw A M, et al. Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 2037–2042
- Zhao D, Zou S W, Liu Y, et al. Lysine-5 acetylation negatively regulates lactate dehydrogenase A and is decreased in pancreatic cancer. *Cancer Cell*, 2013, 23: 464–476
- Tennant D A, Durán R V, Gottlieb E. Targeting metabolic transformation for cancer therapy. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 267–277
- Lin R, Tao R, Gao X, et al. Acetylation stabilizes ATP-citrate lyase to promote lipid biosynthesis and tumor growth. *Mol Cell*, 2013, 51: 506–518
- Li T, Liu M, Feng X, et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is activated by lysine 254 acetylation in response to glucose signal. *J Biol Chem*, 2014, 289: 3775–3785

- 23 Ventura M, Mateo F, Serratos J, et al. Nuclear translocation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase is regulated by acetylation. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42: 1672–1680
- 24 Shan C, Elf S, Ji Q, et al. Lysine acetylation activates 6-phosphogluconate dehydrogenase to promote tumor growth. *Mol Cell*, 2014, 55: 552–565
- 25 Chen S H, Anderson J, Giblett E R, et al. Phosphoglyceric acid mutase: rare genetic variants and tissue distribution. *Am J Hum Genet*, 1974, 26: 73–77
- 26 Xu Y, Li F, Lv L, et al. Oxidative stress activates SIRT2 to deacetylate and stimulate phosphoglycerate mutase. *Cancer Res*, 2014, 74: 3630–3642
- 27 Hallows W C, Yu W, Denu J M. Regulation of glycolytic enzyme phosphoglycerate mutase-1 by Sirt1 protein-mediated deacetylation. *J Biol Chem*, 2012, 287: 3850–3858
- 28 Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, 2002, 82: 47–95
- 29 Qiu X, Brown K, Hirschey M D, et al. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation. *Cell Metab*, 2010, 12: 662–667
- 30 Chen Y, Zhang J, Lin Y, et al. Tumour suppressor SIRT3 deacetylates and activates manganese superoxide dismutase to scavenge ROS. *EMBO Rep*, 2011, 12: 534–541
- 31 Yu W, Dittenhafer-Reed K E, Denu J M. SIRT3 protein deacetylates isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2) and regulates mitochondrial redox status. *J Biol Chem*, 2012, 287: 14078–14086
- 32 Someya S, Yu W, Hallows W C, et al. Sirt3 mediates reduction of oxidative damage and prevention of age-related hearing loss under caloric restriction. *Cell*, 2010, 143: 802–812
- 33 Wang Y P, Zhou L S, Zhao Y Z, et al. Regulation of G6PD acetylation by SIRT2 and KAT9 modulates NADPH homeostasis and cell survival during oxidative stress. *EMBO J*, 2014, 33: 1304–1320
- 34 Cheng H L, Mostoslavsky R, Saito S, et al. Developmental defects and p53 hyperacetylation in Sir2 homolog (SIRT1)-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 10794–10799
- 35 Alcendor R R, Gao S, Zhai P, et al. Sirt1 regulates aging and resistance to oxidative stress in the heart. *Circ Res*, 2007, 100: 1512–1521
- 36 Alcendor R R, Kirshenbaum L A, Imai S, et al. Silent information regulator 2alpha, a longevity factor and class III histone deacetylase, is an essential endogenous apoptosis inhibitor in cardiac myocytes. *Circ Res*, 2004, 95: 971–980
- 37 Pillai J B, Chen M, Rajamohan S B, et al. Activation of SIRT1, a class III histone deacetylase, contributes to fructose feeding-mediated induction of the alpha-myosin heavy chain expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294: H1388–H1397
- 38 Chen Z, Peng I C, Cui X, et al. Shear stress, SIRT1, and vascular homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 10268–10273
- 39 Nisoli E, Tonello C, Cardile A, et al. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. *Science*, 2005, 310: 314–317
- 40 Yoon H, Shin S H, Shin D H, et al. Differential roles of Sirt1 in HIF-1alpha and HIF-2alpha mediated hypoxic responses. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 444: 36–43
- 41 Xiong S, Salazar G, San Martin A, et al. PGC-1alpha serine 570 phosphorylation and GCN5-mediated acetylation by angiotensin II drive catalase down-regulation and vascular hypertrophy. *J Biol Chem*, 2010, 285: 2474–2487
- 42 Iyer A, Fairlie D P, Brown L. Lysine acetylation in obesity, diabetes and metabolic disease. *Immunol Cell Biol*, 2012, 90: 39–46
- 43 Zhang T, Wang S, Lin Y, et al. Acetylation negatively regulates glycogen phosphorylase by recruiting protein phosphatase 1. *Cell Metab*, 2012, 15: 75–87
- 44 Rodgers J T, Lerin C, Haas W, et al. Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1alpha and SIRT1. *Nature*, 2005, 434: 113–118
- 45 Susick L, Senanayake T, Veluthakal R, et al. A novel histone deacetylase inhibitor prevents IL-1beta induced metabolic dysfunction in pancreatic beta-cells. *J Cell Mol Med*, 2009, 13: 1877–1885
- 46 Lee J H, Song M Y, Song E K, et al. Overexpression of SIRT1 protects pancreatic beta-cells against cytokine toxicity by suppressing the nuclear factor-kappaB signaling pathway. *Diabetes*, 2009, 58: 344–351
- 47 Banks A S, Kon N, Knight C, et al. SirT1 gain of function increases energy efficiency and prevents diabetes in mice. *Cell Metab*, 2008, 8: 333–341
- 48 Iyer A, Fairlie D P, Prins J B, et al. Inflammatory lipid mediators in adipocyte function and obesity. *Nat Rev Endocrinol*, 2010, 6: 71–82
- 49 Lagace D C, Nachtigal M W. Inhibition of histone deacetylase activity by valproic acid blocks adipogenesis. *J Biol Chem*, 2004, 279: 18851–18860

- 50 Catalioto R M, Maggi C A, Giuliani S. Chemically distinct HDAC inhibitors prevent adipose conversion of subcutaneous human white preadipocytes at an early stage of the differentiation program. *Exp Cell Res*, 2009, 315: 3267–3280
- 51 Kim S N, Choi H Y, Kim Y K. Regulation of adipocyte differentiation by histone deacetylase inhibitors. *Arch Pharm Res*, 2009, 32: 535–541
- 52 Picard F, Kurtev M, Chung N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*, 2004, 429: 771–776
- 53 Jing E, Gesta S, Kahn C R. SIRT2 regulates adipocyte differentiation through FoxO1 acetylation/deacetylation. *Cell Metab*, 2007, 6: 105–114
- 54 Taylor D M, Balabadra U, Xiang Z, et al. A brain-permeable small molecule reduces neuronal cholesterol by inhibiting activity of sirtuin 2 deacetylase. *ACS Chem Biol*, 2011, 6: 540–546
- 55 Hallows W C, Lee S, Denu J M. Sirtuins deacetylate and activate mammalian acetyl-CoA synthetases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 10230–10235
- 56 Kendrick A A, Choudhury M, Rahman S M, et al. Fatty liver is associated with reduced SIRT3 activity and mitochondrial protein hyperacetylation. *Biochem J*, 2011, 433: 505–514
- 57 Hirschey M D, Shimazu T, Goetzman E, et al. SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation. *Nature*, 2010, 464: 121–125
- 58 Hallows W C, Yu W, Smith B C, et al. Sirt3 promotes the urea cycle and fatty acid oxidation during dietary restriction. *Mol Cell*, 2011, 41: 139–149
- 59 Bertrand P. Inside HDAC with HDAC inhibitors. *Eur J Med Chem*, 2010, 45: 2095–2116
- 60 Kroon P A, Iyer A, Chunduri P, et al. The cardiovascular nutraceutical pharmacology of resveratrol: pharmacokinetics, molecular mechanisms and therapeutic potential. *Curr Med Chem*, 2010, 17: 2442–2455
- 61 Camins A, Sureddi F X, Junyent F, et al. Sirtuin activators: designing molecules to extend life span. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799: 740–749
- 62 Yang X J, Seto E. Lysine acetylation: codified crosstalk with other posttranslational modifications. *Mol Cell*, 2008, 31: 449–461
- 63 Hirschey M D, Shimazu T, Capra J A, et al. SIRT1 and SIRT3 deacetylate homologous substrates: AceCS1,2 and HMGCS1,2. *Aging (Albany NY)*, 2011, 3: 635–642
- 64 Gelfi C, Vasso M, Cerretelli P. Diversity of human skeletal muscle in health and disease: contribution of proteomics. *J Proteomics*, 2011, 74: 774–795
- 65 Kuehl M, Stevens M J. Cardiovascular autonomic neuropathies as complications of diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*, 2012, 8: 405–416

Regulation of Metabolism by Lysine Acetylation and its Role in Metabolic Diseases

WANG YiPing¹ & LEI QunYing^{2,3}

1 Department of Biochemistry and Molecular Cell Biology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China;

2 Key Laboratory of Metabolism and Molecular Medicine, Ministry of Education, and Department of Biochemistry and Molecular Biology, Fudan University Shanghai Medical College, Shanghai 200032, China;

3 The Cancer Metabolism Research Lab, Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University Shanghai Medical College, Shanghai 200032, China

Lysine acetylation is an evolutionarily conserved post-translational modification, and the acetylation regulation is a dynamic and reversible process controlled by the interplay between acetylase and deacetylase. In the last decade, mass spectrometry studies have found that most metabolic enzymes are frequently acetylated, indicating that acetylation has a broad impact on cellular metabolism. In addition to transcriptional regulation, acetylation modification of metabolic enzymes regulates multiple biological processes, including energy metabolism, signal transduction and oxidative response, via altering protein-protein interaction, protein stability, catalytic activity and subcellular localization. Besides, lysine acetylation of metabolic enzymes has been implicated in different metabolic diseases such as cancer, cardiovascular diseases, diabetes and obesity. Here, we review recent progress in understanding lysine acetylation of metabolic enzymes and highlight the underlying mechanisms for acetylation regulation of key metabolic pathways.

lysine acetylation, cancer metabolism, metabolic disorders

doi: 10.1360/N052015-00068