

# 去乙酰化酶 sirtuins 在脓毒症中的作用： 有利还是有害？

李露兰<sup>1</sup> 陈仲清<sup>1</sup> 赵克森<sup>2</sup> 曾振华<sup>1</sup>

<sup>1</sup>南方医科大学南方医院重症医学科,广东广州 510515; <sup>2</sup>南方医科大学基础医学院广东省休克微循环重点实验室,广东广州 510515

通信作者:曾振华, Email: zhenhuazeng.2008@163.com

**【摘要】** 脓毒症是宿主对感染的反应失调导致的危及生命的器官功能障碍,严重危害公众健康。迄今为止,脓毒症机制尚未完全诠释,仍然是众多临床医生及实验室研究人员面临的巨大挑战。近年来,越来越多的实验证明去乙酰化酶 sirtuins 在脓毒症的不同阶段均发挥了重要作用,而 sirtuins 的作用机制尚不明确。Sirtuins 家族由 7 个成员组成,其中 sirtuin 1 已被广泛报道;除 sirtuin 1 外,也有其他成员参与了脓毒症炎症及代谢通路调节的报道。值得一提的是, sirtuins 家族各成员间可能存在着相互调控的作用网络。因此,根据美国国立医学图书馆(PubMed)数据库近年来发布的相关文献,对 sirtuin 1/2 的可能机制及 sirtuin 3 的下游效应进行总结,通过归纳脓毒症中 sirtuins 家族成员间的相互作用,为以后的研究及潜在的临床应用提供依据。

**【关键词】** 去乙酰化酶 sirtuin; 脓毒症; 网络调控; 免疫抑制

**基金项目:** 国家自然科学基金(81701955); 广东省自然科学基金(2016A030310389)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.01.006

## Role of deacetylase sirtuins in sepsis: beneficial or harmful?

Li Lulan<sup>1</sup>, Chen Zhongqing<sup>1</sup>, Zhao Kesen<sup>2</sup>, Zeng Zhenhua<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Critical Care Medicine, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China; <sup>2</sup>Guangdong Provincial Key Laboratory of Shock and Microcirculation, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China

Corresponding author: Zeng Zhenhua, Email: zhenhuazeng.2008@163.com

**【Abstract】** Sepsis, life-threatening organ dysfunction caused by a dysregulated host response to infection, is a major public health concern. To date, the mechanism of sepsis is not completely understood, which is still a huge task ahead of numerous clinical and laboratory researchers. Recently, increasing evidences show that deacetylase sirtuins play an important role in sepsis and the function of sirtuins are varied in different stages of sepsis. More importantly, the mechanism of sirtuins is not fully understood. The sirtuins family is composed by sirtuin 1-7 members. Among them, sirtuin 1 is widely reported. In addition to sirtuin 1, other members of sirtuins are also involved in the regulation of inflammation or metabolism signaling following sepsis. Of note, the sirtuins may interact with each other and form a precious control mechanism. Herein, we tried to summarize the recent paper from PubMed, to explain the possible mechanism of distinct role of sirtuin 1/2, to generalize the downstream effects of sirtuin 3 action, and to describe the interactions among sirtuins members on sepsis, which might be helpful for our future research and potential clinical applications.

**【Key words】** Deacetylase sirtuin; Sepsis; Network regulation; Immunosuppression

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81701955); Guangdong Provincial Natural Science Foundation of China (2016A030310389)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.01.006

脓毒症严重危害人类健康,是重症加强治疗病房(ICU)患者死亡的主要原因之一。据统计,全球每年脓毒症患者病死率高达 28%~50%<sup>[1-2]</sup>,每天约 1.4 万例患者死于脓毒症相关并发症<sup>[3]</sup>。截至目前,脓毒症的主要治疗方法为液体复苏、抗感染、多器官保护等,尚无针对脓毒症的特异性治疗措施。近年来研究表明,去乙酰化酶 sirtuins 家族在脓毒症的发生发展过程中发挥重要作用。现对 sirtuins 在脓毒症中作用和机制的相关研究进行综述,以期未

来脓毒症靶向治疗提供更清楚的理论和实验依据。

## 1 Sirtuins 家族成员简介

在哺乳动物中组蛋白去乙酰化酶(HDACs)超家族包含 18 个成员,其中有 11 个是依赖于 Zn 的 HDACs(HDAC1~11),另外 7 个是依赖于烟碱腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>)的 sirtuins 家族(sirtuin 1~7)。Sirtuins 家族的第 1 个成员是 1979 年在酵母双杂菌中被发现的 sirtuin 1<sup>[4]</sup>。

哺乳动物中 sirtuins 成员依其细胞定位、酶活

性和底物特异性的不同而发挥不同作用。Sirtuin 1 和 sirtuin 6 主要分布于细胞核内, sirtuin 2 位于细胞质, sirtuin 3~5 则位于线粒体, sirtuin 7 是细胞核蛋白, 部分 sirtuins 亚型(如 sirtuin 1、sirtuin 2、sirtuin 3、sirtuin 5)的分布是动态变化的, 并不完全局限于特定的亚细胞结构内<sup>[5]</sup>。Sirtuins 家族成员的主要特征在于其 NAD<sup>+</sup> 依赖的去乙酰化酶活性。与其他 HDACs 类似, 大多数 sirtuins 从组蛋白和非组蛋白的赖氨酸 314 残基中除去乙酰基, 从而调控蛋白的表达及活性。值得一提的是, sirtuin 4 没有明显的去乙酰化活性, sirtuin 6 的脱酰酶活性强于其去乙酰化酶活性<sup>[6]</sup>, 二者均可作为二磷酸腺苷(ADP)-核糖基转移酶发挥作用<sup>[7-8]</sup>; 而 sirtuin 5 的去乙酰化酶活性则相对较弱, 但其具有去甲基酶和去脂质酶活性<sup>[9]</sup>。

Sirtuins 参与体内多种生命活动。多数 sirtuins 家族成员参与代谢过程, 如糖异生、脂肪酸代谢、氧化磷酸化、氨基酸代谢、尿素循环和线粒体生物发生。此外, sirtuins 也参与细胞周期、DNA 修复、核糖体 DNA(rDNA) 转录、端粒稳定性、神经元发育和昼夜节律的调控<sup>[5, 10-11]</sup>。因此, sirtuins 的表达或活性变化与机体代谢性疾病(2型糖尿病)、心血管疾病、神经系统退行性疾病(阿尔茨海默病、帕金森病、亨廷顿病)、肿瘤及其他年龄相关疾病关系密切<sup>[12-14]</sup>。值得注意的是, sirtuins 与部分炎症和自身免疫性疾

病的发生发展有关。Sirtuins 成员的蛋白表达和活性变化可能加重炎症相关的气道疾病、自身免疫性脑脊髓炎和关节炎<sup>[15-18]</sup>。考虑到炎症反应是脓毒症发生发展的重要环节和 sirtuins 成员的不同作用, 现对 sirtuins 在脓毒症中的作用和机制进行综述。

## 2 Sirtuin 1 在脓毒症中发挥有利作用?

大量研究证实, sirtuin 1 可以减轻脓毒症后的炎症反应<sup>[19-30]</sup>(表 1)。Jia 等<sup>[19]</sup>发现, sirtuin 1 激活可下调高糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞中白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的 mRNA 及蛋白表达水平, 从而抑制炎症反应。

此外, 在脓毒症肥胖小鼠模型(ob/ob 小鼠)中, 化学激动剂激活 sirtuin 1 后, 血液中白细胞/血小板的黏附能力减弱, E-选择素和细胞间黏附分子 1(ICAM-1)表达减少, 小鼠存活率升高, 同时在脂多糖(LPS)诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)中也有类似发现<sup>[20]</sup>。

后续有研究者探讨了 sirtuin 1 在脓毒症中直接作用的分子靶点。Sirtuin 1 主要通过去乙酰化其下游靶蛋白发挥作用, 其中核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)是第 1 个被发现的 sirtuin 1 去乙酰化靶蛋白, 且以 sirtuin 1 负调控 NF- $\kappa$ B 报道最多。在小鼠巨噬细胞中, sirtuin 1 可阻断 LPS 诱导的 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的分泌, 从而减轻脓毒性休克的打击<sup>[21]</sup>。在 C57 小鼠脓毒症模型中, sirtuin 1 被褪黑素激动后去乙酰化

表 1 去乙酰化酶家族成员 sirtuin 1 激活可减轻脓毒症导致细胞损伤的相关研究

相关研究	脓毒症模型	治疗措施	治疗效果
Jia 等 <sup>[19]</sup>	高糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞	sirtuin 1 激活	IL-1 $\beta$ 和 TNF- $\alpha$ 的分泌减少
Wang 等 <sup>[20]</sup>	脓毒症肥胖小鼠、LPS 诱导的 HUVEC	sirtuin 1 激活	白细胞/血小板黏附能力减弱, E-选择素和 ICAM-1 分泌减少, 小鼠生存率改善
Yoo 等 <sup>[21]</sup>	LPS 诱导的小鼠巨噬细胞、脓毒性休克小鼠	sirtuin 1 激活	IL-6 和 TNF- $\alpha$ 的分泌减少
García 等 <sup>[22]</sup>	脓毒症小鼠	sirtuin 1 激活	NF- $\kappa$ B 去乙酰化, 线粒体氧化还原恢复动态平衡, NLRP3 炎症小体减少
Yuk 等 <sup>[23]</sup>	LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞	sirtuin 1 激活	NF- $\kappa$ B p65 赖氨酸位点发生去乙酰化
Hasegawa 等 <sup>[24]</sup>	脓毒症肝损伤小鼠	能量摄入限制下的 sirtuin 1 激活	HMGB1 蛋白表达量减少
Xu 等 <sup>[25]</sup>	脓毒症肝损伤小鼠	sirtuin 1 激活	HMGB1 核质移位被抑制
Walko 等 <sup>[26]</sup>	THP-1 细胞、鼠骨髓来源的巨噬细胞、CLP 小鼠	sirtuin 1 激活	HMGB1 聚积在细胞核内, 向细胞外分泌减少
Hwang 等 <sup>[27]</sup>	RAW264.7 巨噬细胞、CLP 小鼠	sirtuin 1 激活	sirtuin 1 与 HMGB1 N-末端赖氨酸残基直接相互作用, 抑制 HMGB1 释放
Chen 等 <sup>[28]</sup>	LPS 耐受的 THP-1 细胞	白藜芦醇激活 sirtuin 1	抑制 TNF- $\alpha$ 转录
Xu 等 <sup>[29]</sup>	CLP 大鼠来源的肾小管上皮细胞	白藜芦醇激活 sirtuin 1	SOD2 发生去乙酰化, 减轻氧化应激
Zhao 等 <sup>[30]</sup>	CLP 致脓毒症相关性脑病小鼠	褪黑素激活 sirtuin 1	p53、FOXO1 和 NF- $\kappa$ B 发生去乙酰化, 减轻大脑水肿和神经元细胞凋亡, 维持血脑屏障完整性

注: LPS 为脂多糖, HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, THP-1 为单核细胞, CLP 为盲肠结扎穿孔术, IL-6 为白细胞介素-6, TNF- $\alpha$  为肿瘤坏死因子- $\alpha$ , ICAM-1 为细胞间黏附分子 1, NF- $\kappa$ B 为核转录因子- $\kappa$ B, NLRP3 为核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3, HMGB1 为高迁移率族蛋白 B1, SOD2 为超氧化物歧化酶 2, FOXO1 为叉头状转录因子 O1

NF- $\kappa$ B, 导致 NF- $\kappa$ B 转录活性下降, 促炎反应水平降低, 伴随核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (NLRP3) 炎症小体表达也下调<sup>[22]</sup>。之后, Yuk 等<sup>[23]</sup>证实, 在 LPS 刺激下的巨噬细胞模型中, sirtuin 1 去乙酰化 NF- $\kappa$ B 的确切靶点是 p65 赖氨酸位点。

在脓毒症中第 2 个被发现的 sirtuin 1 去乙酰化靶点是高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1)。HMGB1 是脓毒症时机体应对损伤反应的一个警报素。据报道, 盲肠结扎穿孔术 (CLP) 小鼠在能量限制后激活 sirtuin 1, 可抑制炎症反应。小鼠在 CLP 前予以为期 8 d 的间歇性能量限制后, 血清细胞因子和 HMGB1 的水平较正常摄食组明显降低, 提示 sirtuin 1 发挥抗炎作用可能是通过降低血清中 HMGB1 水平实现的<sup>[24]</sup>。当 sirtuin 1 激活后, CLP 小鼠肝脏细胞中 HMGB1 的核质移位被抑制, 肝脏损伤减轻; 相反, sirtuin 1 活性被抑制后, HMGB1 从细胞核大量移入胞质<sup>[25]</sup>。表明 sirtuin 1 与 HMGB1 在细胞核内存在物理上的相互作用, sirtuin 1 通过降低 HMGB1 的乙酰化水平以减轻脓毒症相关肝损伤。Walko 等<sup>[26]</sup>在人单核细胞 THP-1、鼠骨髓来源的巨噬细胞和 CLP 小鼠等模型中均证实, sirtuin 1 激活后 HMGB1 在细胞核内聚积增多而向细胞外分泌减少。上述结果表明, sirtuin 1 去乙酰化修饰介导的 HMGB1 核质移位可能是诱发脓毒症炎症反应的关键机制。随后, 他们在小鼠 RAW264.7 巨噬细胞中证实了 sirtuin 1 对 HMGB1 去乙酰化修饰的位点<sup>[26]</sup>。当 sirtuin 1 激活后, 可通过其 N-末端赖氨酸残基直接与 HMGB1 相互作用, 从而抑制 HMGB1 释放<sup>[27]</sup>。值得一提的是, 当赖氨酸乙酰化位点被其他氨基酸(如精氨酸)替代后, HMGB1 的低乙酰化突变体(K282930R)产生, 这种小鼠在脓毒症后的存活率改善, 表明 sirtuin 1 去乙酰化 HMGB1 对降低 LPS 导致的死亡率有重要

作用<sup>[27]</sup>。本课题组最近的实验证实, CLP 小鼠肾小管上皮细胞中 HMGB1 乙酰化增加, 其主要的乙酰化位点为 K28-30<sup>[31]</sup>。

Sirtuin 1 发挥抗炎作用的其他机制可能是间接的, 包括抑制 TNF- $\alpha$  的转录、抑制氧化应激反应及减少凋亡发生。在一项 LPS 耐受的 THP-1 细胞研究中, 研究者发现白藜芦醇激活 sirtuin 1 后 TNF- $\alpha$  的转录及相继的炎症反应均被抑制<sup>[28]</sup>。本课题组前期研究也证实, 脓毒症发生后 sirtuin 1 的活性和蛋白表达量明显降低, 同时伴随超氧化物歧化酶 2 (SOD2) 的乙酰化增加; 而白藜芦醇激活 sirtuin 1 后, SOD2 则发生去乙酰化, 其活性及抗氧化功能得以恢复<sup>[29]</sup>。此外, 给予 CLP 小鼠褪黑素干预后, p53 和 NF- $\kappa$ B 乙酰化水平增加, 叉头状转录因子 O1 (FOXO1) 和 SOD2 蛋白去乙酰化水平增高, SOD 和过氧化氢酶 (CAT) 的活性增加, 而丙二醛 (MDA) 含量则下降, 由此减轻了脓毒症相关的脑损伤<sup>[30]</sup>。Sirtuin 1 对炎症的抑制作用或许间接依赖于去乙酰化 p53 后抑制 p53 介导的细胞凋亡。总而言之, sirtuin 1 具有抗炎作用, 这可能与直接或间接调控多个炎症相关的去乙酰化靶点有关。

### 3 Sirtuin 1 在脓毒症中加重损伤?

一些学者提出 sirtuin 1 在脓毒症不同时期发挥着不同甚至是相反的作用(表 2)<sup>[32-36]</sup>。Liu 等<sup>[32]</sup>发现, 在内毒素耐受的人单核细胞及脓症患者来源的白细胞模型中, sirtuin 1 参与并协调细胞的表现遗传学改变和生物能量转换。在脓毒症早期阶段, sirtuin 1 迅速聚积在 TNF- $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  启动子区域, 去乙酰化 RelA/p65 (NF- $\kappa$ B 家族成员) 赖氨酸 310 位点及核内组蛋白 H4 的赖氨酸 16 位点, 促进 NF- $\kappa$ B 转录终止, 由此抑制机体过度的炎症反应。随后, sirtuin 1 仍旧结合在启动子区域并诱导 RelB

表 2 去乙酰化酶家族成员 sirtuin 1 抑制可减轻脓毒症导致细胞损伤的相关研究

相关研究	脓毒症模型	治疗措施	治疗效果
Liu 等 <sup>[32]</sup>	内毒素耐受的人单核细胞、脓症患者来源的白细胞	sirtuin 1 激活 增加 sirtuin 1 蛋白表达	RelA/p65 赖氨酸 310 位点和核内组蛋白 H4 赖氨酸 16 位点发生去乙酰化, 加速 NF- $\kappa$ B 转录终止 抑制炎症反应, 延长免疫抑制时间, 加剧预后不良的发生
Liu 等 <sup>[33]</sup>	TLR4 刺激的 THP-1 细胞、脓症患者来源的白细胞、脓毒症小鼠脾细胞	sirtuin 1 激活	促进糖酵解向脂肪酸氧化转换, 提前进入免疫抑制状态
Vachharajani 等 <sup>[34]</sup>	脓毒症小鼠	sirtuin 1 抑制	恢复内皮细胞 E-选择素、ICAM-1 及中性粒细胞表面 PSGL-1 的表达
Fernandes 等 <sup>[35]</sup>	LPS 诱导的 J774 细胞	sirtuin 1 抑制	细胞因子含量下降, NF- $\kappa$ B 活性下降
Zhao 等 <sup>[36]</sup>	CLP 大鼠	sirtuin 1 抑制	降低细胞因子水平, 改善凝血障碍, 减轻骨髓萎缩

注: TLR4 为 Toll 样受体 4, THP-1 为人单核细胞, LPS 为脂多糖, J774 细胞为小鼠单核/巨噬细胞, CLP 为盲肠结扎穿孔术, RelA/p65 为核转录因子- $\kappa$ B 家族成员, NF- $\kappa$ B 为核转录因子- $\kappa$ B, ICAM-1 为细胞间黏附分子 1, PSGL-1 为 P-选择素糖基蛋白配体-1

积聚,导致机体对内毒素耐受。然而,在持续的内毒素耐受期间,可能由于 sirtuin 1 底物  $\text{NAD}^+$  水平升高,导致人血白细胞中 sirtuin 1 表达并未减少反而增加,增加的 sirtuin 1 蛋白持续抑制了必要的炎症反应,从而导致免疫抑制时期延长,最终引起机体预后不良<sup>[32]</sup>。

除炎症反应外,近年来能量代谢的转换机制在脓毒症发生发展中也受到越来越多的关注。急性炎症早期,机体尚以合成代谢为主,并主要由糖酵解供能,而后期的适应阶段,机体主要是分解代谢,依赖于脂肪酸氧化代谢供能。有趣的是,sirtuin 1 在这一能量转换过程中发挥着重要作用。在 Toll 样受体 4 (TLR4) 刺激的 THP-1 细胞中, sirtuin 1 可加速早期炎症反应中糖酵解向脂肪酸氧化转换,使得机体提早进入晚期炎症阶段;类似现象在脓毒症人血白细胞和小鼠脾细胞中也得以证实;进一步的机制探讨表明, sirtuin 1 在晚期炎症阶段可能通过能量转换来调控机体免疫抑制状态<sup>[33]</sup>。随后有实验证明, sirtuin 1 被抑制后脓毒症后期的免疫抑制反应也随之显著逆转<sup>[34]</sup>。在脓毒症后给予 sirtuin 1 特异性抑制剂 Ex527 治疗 24 h,所有小鼠均存活,而未给予 Ex527 组中仅有 40% 小鼠存活;同时, Ex527 治疗也增强了白细胞黏附于小肠微血管内皮的能力,腹膜内白细胞聚集增多,腹膜清除细菌能力增强,继而改善内毒素耐受<sup>[34]</sup>。这是由于 sirtuin 1 抑制剂可恢复内皮细胞中 E-选择素和 ICAM-1 及中性粒细胞表面 P-选择素糖基蛋白配体-1 (PSGL-1) 的水平。抑制 sirtuin 1 的其他有益作用还包括稳定血压、改善微血管血流以及促进前巨噬细胞向脾脏和骨髓转移<sup>[34]</sup>。

上述观点认为, sirtuin 1 激活在脓毒症早期阶段具有保护作用,而在后期免疫抑制阶段却是有害的;与这一观点相反的是, Fernandes 等<sup>[35]</sup>的研究显示,即使在早期阶段,抑制 sirtuin 1 表达而不是激活 sirtuin 1 蛋白活性也有利于改善脓毒症的疾病转归。他们发现,在 LPS 诱导的 J774 细胞中,减少 sirtuin 1 表达后相关细胞因子表达下降,  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  的活性也随之减弱。在脓毒症早期阶段 (CLP 后 1 h),随着 sirtuin 1 表达被抑制,细胞因子水平降低,凝血障碍和骨髓萎缩的发生率也降低<sup>[36]</sup>。但是,这一研究并未对 sirtuin 1 抑制后的具体作用机制进行深入研究,因此上述观点还有待探讨。我们认为,脓毒症后的治疗时间窗是不容忽视的。

#### 4 Sirtuin 1 之于脓毒症:一把“双刃剑”

全身炎症反应综合征 (SIRS, 包括脓毒症) 在发生发展中有着既定的规律<sup>[37-38]</sup>,即根据临床表现的不同依次分为以下几个阶段:起始阶段(促炎阶段)、适应阶段(抗炎和修复阶段)、终末阶段(恢复机体平衡阶段)<sup>[39-40]</sup>。脓毒症患者疾病起始阶段几乎都处于过度炎症激活状态(脓毒症发病后几小时至几天内),在这一阶段,炎症的过度激活对于加速疾病进展有着至关重要的作用。Sirtuin 1 激活后主要通过以下 3 种途径缓解疾病进展:① 去乙酰化炎症相关细胞因子如  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  和 HMGB1,从而减轻炎症反应;② 去乙酰化氧化应激相关因子如 FOXO1 $\alpha$  和 SOD2,从而改善机体抗氧化能力;③ 去乙酰化促凋亡因子 p53,减少细胞凋亡。其中,减轻炎症反应为主要途径。但由于脓毒症发生后过度炎症反应的时间窗个体差异很大, sirtuin 1 激动剂 SRT1720 及时干预可确保 sirtuin 1 发挥有利作用。在起始阶段后,疾病的发展由于个体差异而有很大不同。一些脓毒症患者(适应阶段持续时间很短)及时得到有效治疗而恢复健康(终末阶段),另一些患者则从过度炎症反应阶段过渡到适应阶段,并持续数天至数周,这一时期以免疫抑制为特征<sup>[41]</sup>。

过度炎症反应并发多器官功能衰竭 (MOF),随后处于长时间的免疫抑制状态,这是脓毒症的典型表现,是重度 SIRS 的最常见表现<sup>[38]</sup>,在免疫抑制时期,  $\text{NAD}^+$  的增加会促进 sirtuin 1 的表达。增加的 sirtuin 1 水平将介导  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  和 HMGB1 发生去乙酰化,引起持续性低炎症反应,发生免疫抑制。由于免疫抑制阶段的持续时间个体差异很大,因此 sirtuin 1 抑制剂的给药时间也不好评估。基于机体固有免疫状态的改变,免疫细胞的亚群评估如  $\text{CD4}^+$  T 细胞和辅助性 T 细胞 (Th) 有助于明确机体是否处于免疫抑制状态<sup>[42]</sup>。在一定程度上, sirtuin 1 本身就可作为一个潜在的预示机体免疫抑制的重要指标。当 sirtuin 1 由降反升时,即为机体向免疫抑制转变的时期。事实上,除 sirtuin 1 外,其他抗炎因子也有警示作用,因为大量炎性介质随着脓毒症发生发展而处于动态变化。因此,我们强调要重视脓毒症患者免疫功能的监测。Sirtuin 1 在脓毒症治疗过程中也不应总是激活或抑制。单一的免疫调节干预,正如之前失败的治疗措施,同样会面临治疗失败的教训。遵从更完全、更严格的个体化治疗原则,结合免疫功能的定期监测及多种药物的靶向治疗措施,将更

有利于患者康复<sup>[43]</sup>。因此, sirtuin 1 在脓毒症发病机制中的作用不能简单地定义为有利或有害, 而应动态地看待 sirtuin 1 在脓毒症中的变化。

## 5 Sirtuins 家族其他成员在脓毒症中发挥的作用

Sirtuins 家族其他成员也参与了脓毒症的发生发展。有研究表明, sirtuin 2 基因过表达的小鼠脓毒症模型中, 小肠微血管内皮细胞 E-选择素和 ICAM-1 含量下降, 细胞间的黏附能力减弱, 小鼠 7 d 存活率明显改善, 表明 sirtuin 2 在脓毒症早期调节微血管炎症反应中起着重要作用<sup>[44]</sup>。然而另有研究显示, 在致死性脓毒性休克小鼠模型中, 给予 sirtuin 2 特异性抑制剂 AGK2 治疗后, 小鼠存活率明显改善, 脓毒症相关的“细胞因子风暴”、凝血障碍及骨髓萎缩也明显减弱<sup>[45]</sup>。在脓毒症 ob/ob 小鼠中, sirtuin 2 水平在低炎症反应阶段(免疫抑制阶段)是增高的; 在体实验中, sirtuin 2 抑制而非激活将引起内皮细胞和血液中白细胞的活化, 进而扭转了被抑制的微血管炎症反应, 提高了生存率, 其作用机制也与 NF- $\kappa$ B p65 的去乙酰化有关<sup>[46]</sup>。这些结果表明, sirtuin 2 在脓毒症小鼠中发挥调控微血管炎症反应的作用。

与 sirtuin 1 和 sirtuin 2 不同, sirtuin 3 的激活或过表达均对脓毒症治疗起到多种积极作用。大量研究表明, 在脓毒症打击后, 小鼠体内 sirtuin 3 的含量和活性均下降, 在肾脏表现为细胞凋亡增加, 活性氧簇(ROS)积聚, 线粒体功能障碍, 进而导致肾功能障碍<sup>[47]</sup>; 在肺脏方面表现为肺血管渗漏加重<sup>[48]</sup>; 在神经功能方面, 大脑海马组织中亲环素 D 蛋白(CypD)去乙酰化增加, 导致神经元细胞凋亡和认知功能障碍<sup>[49]</sup>。这预示着 sirtuin 3 的过表达或激活将有助于缓解病情进展。

Sirtuins 家族各个成员除各自独立发挥作用外, 不少证据也表明其成员间可能存在相互作用, 精确调控着脓毒症的进展。据报道, 在脓毒症适应阶段, sirtuin 6<sup>[33]</sup>和 sirtuin 3<sup>[50]</sup>与 sirtuin 1 紧密协调, 共同调控能量转换, 促进线粒体-细胞核的交流, 这意味着 sirtuin 1 介导的表观遗传学是脓毒症后期的主要调控机制。在 LPS 诱导的巨噬细胞模型中, sirtuin 5 在蛋白表达及功能上与 sirtuin 1 和 sirtuin 2 不同。在 sirtuin 5 缺失的小鼠脓毒症模型中, 不管是早期还是后期免疫抑制阶段, TLR 介导的炎症反应强度都明显减弱<sup>[51]</sup>。细胞质中的 sirtuin 5 可协同具有抑制炎症效应的 sirtuin 2, 通过促进 p65 乙酰

化和 NF- $\kappa$ B 活化, 促进巨噬细胞的固有免疫反应, 甚至是已产生内毒素耐受的巨噬细胞的固有免疫反应<sup>[51]</sup>。具体来说, sirtuin 5 与 sirtuin 2 以去乙酰化的方式竞争性结合 NF- $\kappa$ B p65, 从而阻断 sirtuin 2 与 p65 的结合, 增加 p65 乙酰化水平并激活 NF- $\kappa$ B 通路, 从而促进巨噬细胞的固有免疫反应。在 TLR4 刺激下的正常和脓毒症人血单核细胞及小鼠脾细胞中均发现 sirtuin 1-RelB-sirtuin 3 通路和线粒体生物合成紧密联系<sup>[50]</sup>。因此, sirtuins 家族介导的去乙酰化修饰或其他翻译后修饰广泛存在于脓毒症的整个过程中, 各成员在脓毒症各阶段存在相互联系, 并共同协调疾病进展。

## 6 总 结

NAD<sup>+</sup> 依赖的 sirtuins 家族参与脓毒症的病理生理学改变。Sirtuin 1/2 介导的炎症抑制在起始阶段有利于机体抵抗疾病, 而在后期免疫抑制阶段则发挥着截然相反的作用, 表明了免疫调节在脓毒症治疗中的重要性。Sirtuins 家族主要依赖其去乙酰化活性发挥作用, 炎症相关信号如 NF- $\kappa$ B 和 HMGB1 是 sirtuin 1 的主要作用靶点。除 sirtuin 1 外, 其他成员在脓毒症期间也有着各自的作用, 且靶点也不尽相同。值得一提的是, sirtuins 家族成员间并不相互独立, 它们之间的相互调控能更精确地调节脓毒症发展, 是今后研究的一个重要关注点。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Kaukonen KM, Bailey M, Pilcher D, et al. Systemic inflammatory response criteria in defining severe sepsis [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372 (17): 1629-1638. DOI: 10.1056/NEJMoa1415236.
- [2] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [3] Capp R, Horton CL, Takhar SS, et al. Predictors of patients who present to the emergency department with sepsis and progress to septic shock between 4 and 48 hours of emergency department arrival [J]. *Crit Care Med*, 2015, 43 (5): 983-988. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000861.
- [4] Klar AJ, Fogel S, Macleod K. MAR1—a regulator of the HMa and HMalphaloci in *saccharomyces cerevisiae* [J]. *Genetics*, 1979, 93 (1): 37-50.
- [5] Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13 (4): 225-238. DOI: 10.1038/nrm3293.
- [6] Jiang H, Khan S, Wang Y, et al. SIRT6 regulates TNF- $\alpha$  secretion through hydrolysis of long-chain fatty acyl lysine [J]. *Nature*, 2013, 496 (7443): 110-113. DOI: 10.1038/nature12038.
- [7] Huang JY, Hirschey MD, Shimazu T, et al. Mitochondrial sirtuins [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1804 (8): 1645-1651. DOI: 10.1016/j.bbapap.2009.12.021.
- [8] Carafa V, Nebbioso A, Altucci L. Sirtuins and disease: the road ahead [J]. *Front Pharmacol*, 2012, 3: 4. DOI: 10.3389/fphar.2012.00004.
- [9] Du J, Zhou Y, Su X, et al. Sirt5 is a NAD-dependent protein lysine demethylase and desuccinylase [J]. *Science*, 2011, 334 (6057): 806-809. DOI: 10.1126/science.1207861.

- [10] Choi JE, Mostoslavsky R. Sirtuins, metabolism, and DNA repair [J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2014, 26: 24–32. DOI: 10.1016/j.gde.2014.05.005.
- [11] Choudhary C, Weinert BT, Nishida Y, et al. The growing landscape of lysine acetylation links metabolism and cell signalling [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15 (8): 536–550. DOI: 10.1038/nrm3841.
- [12] Cencioni C, Spallotta F, Mai A, et al. Sirtuin function in aging heart and vessels [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 83: 55–61. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2014.12.023.
- [13] Kumar S, Lombard DB. Mitochondrial sirtuins and their relationships with metabolic disease and cancer [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2015, 22 (12): 1060–1077. DOI: 10.1089/ars.2014.6213.
- [14] Herskovits AZ, Guarente L. SIRT1 in neurodevelopment and brain senescence [J]. *Neuron*, 2014, 81 (3): 471–483. DOI: 10.1016/j.neuron.2014.01.028.
- [15] Lim HW, Kang SG, Ryu JK, et al. SIRT1 deacetylates ROR  $\gamma$  t and enhances Th17 cell generation [J]. *J Exp Med*, 2015, 212 (6): 973. DOI: 10.1084/jem.2013237805062015c.
- [16] Grabiec AM, Krausz S, de Jager W, et al. Histone deacetylase inhibitors suppress inflammatory activation of rheumatoid arthritis patient synovial macrophages and tissue [J]. *J Immunol*, 2010, 184 (5): 2718–2728. DOI: 10.4049/jimmunol.0901467.
- [17] Zhang J, Lee SM, Shannon S, et al. The type III histone deacetylase Sirt1 is essential for maintenance of T cell tolerance in mice [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119 (10): 3048–3058. DOI: 10.1172/JCI38902.
- [18] Kim SR, Lee KS, Park SJ, et al. Involvement of sirtuin 1 in airway inflammation and hyperresponsiveness of allergic airway disease [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125 (2): 449–460. e14. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.08.009.
- [19] Jia Y, Zheng Z, Wang Y, et al. SIRT1 is a regulator in high glucose-induced inflammatory response in RAW264.7 cells [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (3): e0120849. DOI: 10.1371/journal.pone.0120849.
- [20] Wang X, Buechler NL, Yoza BK, et al. Resveratrol attenuates microvascular inflammation in sepsis via SIRT-1-induced modulation of adhesion molecules in ob/ob mice [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2015, 23 (6): 1209–1217. DOI: 10.1002/oby.21086.
- [21] Yoo CH, Yeom JH, Heo JJ, et al. Interferon  $\beta$  protects against lethal endotoxic and septic shock through SIRT1 upregulation [J]. *Sci Rep*, 2014, 4: 4220. DOI: 10.1038/srep04220.
- [22] García JA, Volt H, Venegas C, et al. Disruption of the NF- $\kappa$ B/NLRP3 connection by melatonin requires retinoid-related orphan receptor- $\alpha$  and blocks the septic response in mice [J]. *FASEB J*, 2015, 29 (9): 3863–3875. DOI: 10.1096/fj.15-273656.
- [23] Yuk JM, Kim TS, Kim SY, et al. Orphan nuclear receptor ERR  $\alpha$  controls macrophage metabolic signaling and A20 expression to negatively regulate TLR-induced inflammation [J]. *Immunity*, 2015, 43 (1): 80–91. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.07.003.
- [24] Hasegawa A, Iwasaka H, Hagiwara S, et al. Alternate day calorie restriction improves systemic inflammation in a mouse model of sepsis induced by cecal ligation and puncture [J]. *J Surg Res*, 2012, 174 (1): 136–141. DOI: 10.1016/j.jss.2010.11.883.
- [25] Xu W, Lu Y, Yao J, et al. Novel role of resveratrol: suppression of high-mobility group protein box 1 nucleocytoplasmic translocation by the upregulation of sirtuin 1 in sepsis-induced liver injury [J]. *Shock*, 2014, 42 (5): 440–447. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000225.
- [26] Walko TD, Di CV, Piganelli J, et al. Poly (ADP-ribose) polymerase 1-sirtuin 1 functional interplay regulates LPS-mediated high mobility group box 1 secretion [J]. *Mol Med*, 2015, 20: 612–624. DOI: 10.2119/molmed.2014.00156.
- [27] Hwang JS, Choi HS, Ham SA, et al. Deacetylation-mediated interaction of SIRT1-HMGB1 improves survival in a mouse model of endotoxemia [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15971. DOI: 10.1038/srep15971.
- [28] Chen GD, Yu WD, Chen XP. SirT1 activator represses the transcription of TNF- $\alpha$  in THP-1 cells of a sepsis model via deacetylation of H4K16 [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14 (6): 5544–5550. DOI: 10.3892/mmr.2016.5942.
- [29] Xu S, Gao Y, Zhang Q, et al. SIRT1/3 activation by resveratrol attenuates acute kidney injury in a septic rat model [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 7296092. DOI: 10.1155/2016/7296092.
- [30] Zhao L, An R, Yang Y, et al. Melatonin alleviates brain injury in mice subjected to cecal ligation and puncture via attenuating inflammation, apoptosis, and oxidative stress: the role of SIRT1 signaling [J]. *J Pineal Res*, 2015, 59 (2): 230–239. DOI: 10.1111/jpi.12254.
- [31] Wei S, Gao Y, Dai X, et al. SIRT1-mediated HMGB1 deacetylation suppresses sepsis-associated acute kidney injury [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2019, 316 (1): F20–31. DOI: 10.1152/ajprenal.00119.2018.
- [32] Liu TF, Yoza BK, El Gazzar M, et al. NAD<sup>+</sup>-dependent SIRT1 deacetylase participates in epigenetic reprogramming during endotoxin tolerance [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (11): 9856–9864. DOI: 10.1074/jbc.M110.196790.
- [33] Liu TF, Vachharajani VT, Yoza BK, et al. NAD<sup>+</sup>-dependent sirtuin 1 and 6 proteins coordinate a switch from glucose to fatty acid oxidation during the acute inflammatory response [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287 (31): 25758–25769. DOI: 10.1074/jbc.M112.362343.
- [34] Vachharajani VT, Liu T, Brown CM, et al. SIRT1 inhibition during the hypoinflammatory phenotype of sepsis enhances immunity and improves outcome [J]. *J Leukoc Biol*, 2014, 96 (5): 785–796. DOI: 10.1189/jlb.3MA0114-034RR.
- [35] Fernandes CA, Fievez L, Neyrinck AM, et al. Sirtuin inhibition attenuates the production of inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-stimulated macrophages [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 420 (4): 857–861. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.03.088.
- [36] Zhao T, Li Y, Liu B, et al. Histone deacetylase III as a potential therapeutic target for the treatment of lethal sepsis [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2014, 77 (6): 913–919; discussion 919. DOI: 10.1097/TA.0000000000000347.
- [37] McCall CE, Yoza B, Liu T, et al. Gene-specific epigenetic regulation in serious infections with systemic inflammation [J]. *J Innate Immun*, 2010, 2 (5): 395–405. DOI: 10.1159/000314077.
- [38] Hao S, Baltimore D. The stability of mRNA influences the temporal order of the induction of genes encoding inflammatory molecules [J]. *Nat Immunol*, 2009, 10 (3): 281–288. DOI: 10.1038/ni.1699.
- [39] Kimbrell DA, Beutler B. The evolution and genetics of innate immunity [J]. *Nat Rev Genet*, 2001, 2 (4): 256–267. DOI: 10.1038/35066006.
- [40] McCall CE, El GM, Liu T, et al. Epigenetics, bioenergetics, and microRNA coordinate gene-specific reprogramming during acute systemic inflammation [J]. *J Leukoc Biol*, 2011, 90 (3): 439–446. DOI: 10.1189/jlb.0211075.
- [41] Cavaillon JM, Adrie C, Fitting C, et al. Reprogramming of circulatory cells in sepsis and SIRS [J]. *J Endotoxin Res*, 2005, 11 (5): 311–320. DOI: 10.1179/096805105X58733.
- [42] Hoogendijk AJ, Garcia-Laorden MI, van Vught LA, et al. Sepsis patients display a reduced capacity to activate nuclear factor- $\kappa$ B in multiple cell types [J]. *Crit Care Med*, 2017, 45 (5): e524–531. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002294.
- [43] Delano MJ, Ward PA. Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality? [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126 (1): 23–31. DOI: 10.1172/JCI82224.
- [44] Buechler N, Wang X, Yoza BK, et al. Sirtuin 2 regulates microvascular inflammation during sepsis [J]. *J Immunol Res*, 2017, 2017: 2648946. DOI: 10.1155/2017/2648946.
- [45] Zhao T, Alam HB, Liu B, et al. Selective inhibition of SIRT2 improves outcomes in a lethal septic model [J]. *Curr Mol Med*, 2015, 15 (7): 634–641.
- [46] Wang X, Buechler NL, Martin A, et al. Sirtuin-2 regulates sepsis inflammation in ob/ob mice [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (8): e0160431. DOI: 10.1371/journal.pone.0160431.
- [47] Zhao WY, Zhang L, Sui MX, et al. Protective effects of sirtuin 3 in a murine model of sepsis-induced acute kidney injury [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 33201. DOI: 10.1038/srep33201.
- [48] Zeng H, He X, Tuo QH, et al. LPS causes pericyte loss and microvascular dysfunction via disruption of Sirt3/angiopoietins/Tie-2 and HIF-2 $\alpha$ /Notch3 pathways [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 20931. DOI: 10.1038/srep20931.
- [49] Sun F, Si Y, Bao H, et al. Regulation of sirtuin 3-mediated deacetylation of cyclophilin D attenuated cognitive dysfunction induced by sepsis-associated encephalopathy in mice [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2017, 37 (8): 1457–1464. DOI: 10.1007/s10571-017-0476-2.
- [50] Liu TF, Vachharajani V, Millet P, et al. Sequential actions of SIRT1-RelB-SIRT3 coordinate nuclear-mitochondrial communication during immunometabolic adaptation to acute inflammation and sepsis [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290 (1): 396–408. DOI: 10.1074/jbc.M114.566349.
- [51] Qin K, Han C, Zhang H, et al. NAD<sup>+</sup> dependent deacetylase sirtuin 5 rescues the innate inflammatory response of endotoxin tolerant macrophages by promoting acetylation of p65 [J]. *J Autoimmun*, 2017, 81: 120–129. DOI: 10.1016/j.jaut.2017.04.006.