

Sirtuin 在热量限制延长寿命机制中的研究进展*

刘 玢^{1, 2)} 陈维春^{1, 3)} 刘新光^{1, 2, 3)**} 周中军⁴⁾

⁽¹⁾ 广东医学院衰老研究所, 东莞 523808; ⁽²⁾ 广东省医学分子诊断重点实验室, 东莞 523808;

⁽³⁾ 广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 湛江 524023; ⁽⁴⁾ 香港大学李嘉诚医学院生物化学系, 中国香港)

摘要 热量限制(caloric restriction, CR)可以引起细胞、生物体寿命延长和降低衰老相关疾病的发生, 其中 Sirtuin 起着关键作用. Sirtuin 将机体能量代谢和基因表达调控相偶联, 通过赖氨酸去乙酰化改变蛋白质的活性和稳定性, 从而调节衰老进程. 酵母中度 CR 影响其复制寿命和时序寿命, 主要依赖于激活 Sir2, 增加细胞内 NAD⁺/NADH 的比例和调节尼克酰胺浓度来实现. 类似的机制也存在于秀丽线虫和果蝇中. 哺乳动物在 CR 条件下 SIRT1 蛋白表达应答性上升, 细胞中 NAM 磷酸基转移酶能够直接影响 NAM 和 NAD⁺ 浓度, 并影响 SIRT1 活性. NO 表达增加能导致 SIRT1 上调和线粒体合成增加. SIRT1 可能通过改变组蛋白、p53、NES1、FOXO 等底物蛋白的乙酰化影响到细胞和个体的衰老. 表明不同生物体中的 Sirtuin 及其同源类似物在 CR 条件下对衰老进程和寿命都起着非常重要的作用.

关键词 衰老, 热量限制, 寿命, Sir2, SIRT1

学科分类号 Q512⁺.7

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00146

衰老是生命进程中一个不可逆的过程, 延年益寿则是人类的一个普遍期望, 也是衰老研究者的一个目标. 在过去两个多世纪里, 人类的平均寿命已经得到大幅延长, 科学家们正孜孜不倦地寻找长寿的方法, 试图让生命的时钟停顿或者减慢. 改变基因、控制食量、抗老药丸、纳米生物技术等正逐渐为人们所熟知. 随着衰老相关研究的不断发展, 人类延长寿命的可能性也在不断增加.

1935 年, McCay 首次提出限制热量(caloric restriction, CR)的摄入可延长啮齿类动物的寿命^[1]. CR 是指一种营养俱全, 但是含能较低的营养条件, 这种条件下饲养的小鼠寿命比高卡路里饲养条件下长, 后续在酵母、线虫、果蝇^[2-4]等模式生物的研究中证实 CR 均有延缓衰老和延长寿命的效应. 在人类的研究中 CR 可能延缓癌症、肾病、自身免疫性疾病和糖尿病^[5]等多种年龄相关疾病, 预示着 CR 在人类寿命延长过程中也可能有重要作用.

CR 延长寿命的机制存在许多假设, 普遍认为是 CR 能增强氧化抗性、改变葡萄糖利用率、增加胰岛素的敏感性、神经内分泌改变、增强应激反

应、毒物兴奋效应、增强 DNA 损伤修复能力以及改变基因的表达等^[6-8]. 在众多机制中 Sirtuin 的作用备受关注, Sirtuin 能将机体能量代谢和基因表达调控相偶联, 也是目前研究比较清楚的一类与 CR 关系密切并能延缓衰老的蛋白质. 不同生物体中的 Sir2 蛋白及其同源类似物统称为 Sirtuin, Sirtuin 蛋白是一组具有 NAD⁺ 依赖性的组蛋白去乙酰基转移酶, 具有高度保守的催化结构域, 可以通过对多种底物进行去乙酰化作用, 从而在机体内参与一系列的生物学活动, 包括维持细胞抗胁迫能力和基因组稳定性, 以及参与能量代谢等. Sir2 参与了酵母的交配型基因、端粒和 rDNA 重复序列的沉默以及细

* 国家自然科学基金资助项目(30672205, 30871440, 30971620, 30900739, 31101051), 广东省自然科学基金资助项目(7301506, 8452402301001450, 9252402301000002, 9152402301000007), 广东省高等学校自然科学研究重点项目(06Z015), 湛江市科技局招标项目(ZZ0605)和东莞市科技计划项目(2008108101045, 2008108101062).

** 通讯联系人.

Tel: 0769-22896128, E-mail: xgliu64@126.com

收稿日期: 2011-04-05, 接受日期: 2011-09-19

胞寿命等生理功能. Sirtuin 是尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)依赖的组蛋白去乙酰化酶, 其调节赖氨酸去乙酰化改变蛋白质的活性和稳定性, 从而影响衰老进程^[9]. 酵母中的 Sirtuin 称为 Sir2, 是基本公认的长寿因子, 参与调控 CR 引起的抗衰老和寿命延长效应. 果蝇、线虫中的 Sir2 同源物分别称为 dSir2、Sir-2.1, 在各自的寿命延长机制中发挥着相似的作用. 哺乳动物中 Sirtuin 家族包括 SIRT1~7 7 个成员, 其中 SIRT1 是最重要也是迄今研究最为全面的一个蛋白质分子, 是人类潜在的抗衰老因子, 有关 SIRT1 抗衰老机理的研究, 可能是人类延年益寿的重要研究方向. 本文就几种模式生物中 Sirtuin 的作用机制进行综述, 比较其在相应物种衰老进程中作用的异同, 探讨该领域未来的发展方向及对人类寿命延长的可能性.

1 Sir2 在酵母寿命延长中起着关键作用

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)是衰老研究的理想模型, 细胞繁殖速度快、遗传操作简单方便^[10]. 酵母的衰老模式有两种, 包括复制型衰老(replicative aging)和时程衰老(chronological aging). 复制型衰老接近于哺乳动物有丝分裂细胞的模型, 而时程衰老可以作为有丝分裂后细胞的极好模型^[11]. 相应的细胞寿命形式也有复制寿命(replicative lifespan)和时序寿命(chronological lifespan)^[12]. 复制寿命是指一个酵母细胞在死亡之前所能分裂增殖的次数, 即所能产生的子代细胞的个数. 1997 年, Sinclair 等^[13]由于认识到染色体外 rDNA 环(ERC)可能就是这种细胞质衰老因子, 随即提出了酵母复制衰老的 ERC 积累学说. 酵母 rDNA 具有高度重复性和 DNA 复制的单向模式, 从而表现出固有的重组特性和基因组不稳定性. rDNA 串联重复序列之间因同源重组而从基因组中切出, 形成最初的 ERC. ERC 在 S 期复制, 但不能和线性染色体一起被有效地分离到子细胞中. 因为 ERC 的拷贝数在每个 S 期都加倍, 它们的丰度在母细胞中呈指数增加, 速率和细胞分裂同步, 从而使母细胞大量积累 ERC 而变得衰老. 子细胞由于在细胞分裂时没有 ERC 进入而维持正常寿命. 时程衰老则是用于分析静止期细胞寿命的衰老模型, 停止分裂的细胞所能存活的时限被定义为时序寿命^[14]. 进入静止期的酵母细胞在不添加营养物质的原培养基内培养, 或者将细胞群洗净后移入水中生长, 当 99% 的细胞无法在 YPD 平板中形成菌落时, 酵母在此之前

的存活时间就是其时序寿命^[15].

尽管两种衰老模式在诸多方面存在差异, 但 CR 及某些可以导致蛋白激酶 A(PKA)通路下降的突变能够延长两种模式的寿命^[16]. 酵母的 CR 处理是在完全培养基的基础上减少葡萄糖的含量, 包括两种: 中度 CR(0.5%葡萄糖培养基)和重度 CR(0.05%葡萄糖培养基). 在 CR 条件下, 酵母生长速度保持旺盛, 母细胞复制寿命延长 20%~30%, 而时序寿命也被延长. 研究表明, 酵母的 Sir2 基因在 CR 延寿效应中扮演了非常重要的角色^[17], CR 处理能激活 Sir2, 而在 Sir2 敲除的菌株中 CR 处理对复制寿命不造成影响^[18].

进一步研究发现, 中度 CR 依赖 Sir2 抑制 ERCs 的生成, 进而延长复制寿命. 重度 CR 抑制核糖体生物合成, 不依赖 Sir2 延长复制寿命^[19]. 在 Sir2 缺乏和 CR 条件下, 增强的应激抗性和基因组稳定性可以阻止时程衰老的发生. 据此推测营养应答信号通路是通过不同的下游因子调节时程衰老和复制衰老的: 通过增强应激抗性影响时序衰老, 减少核糖体生物合成延缓复制衰老(图 1).

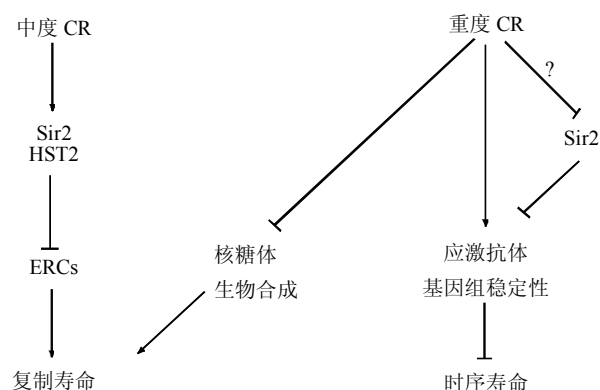


Fig. 1 The mechanism of moderate CR and severe CR influence yeast lifespan^[19]

图 1 中度 CR 和重度 CR 影响酵母寿命的机制^[19]

1.1 CR 延长酵母寿命的 Sir2 依赖途径

在芽殖酵母中, CR 可以通过两种途径实现寿命的延长, 首先是限制其对葡萄糖的摄取, 其二是对参与调控葡萄糖代谢的 PKA 信号转导途径中的因子进行突变, 例如 GTP-GDP 交换因子 Cdc25. 酵母细胞在中度 CR 的生长周期明显长于在 2%葡萄糖的正常培养基中的生长周期, 缺乏 Cdc25 的母细胞生长周期也明显延长. 无论是 0.5%葡萄糖,

还是 Cdc25 突变引起的生命周期的延长都需要 Sir2 作为介导因子的参与. 在这两种途径中 Sir2 活性均有显著增强, 说明酵母寿命的延长是通过 Sir2 活性的增强来实现. 中度 CR 如何激活 Sir2? 目前已经发现存在两种方式: 增加 NAD^+/NADH 的比例和调节非竞争性抑制剂尼克酰胺(nicotinamide, NAM) 的浓度.

1.1.1 CR 激活 Sir2 的途径之一: 增加 NAD^+/NADH 的比例. 在 CR 的条件下酵母细胞处于能量缺乏的状态, 可供分解的糖或其他能量物质相对不足, 细胞中 NAD^+ 含量增加, 而其还原形式 NADH 的量减少, 造成细胞内 NAD^+/NADH 比例增加^[20]. Sir2 作为 NAD^+ 依赖的去乙酰化酶, 由于酶的变构调节机制, NAD^+ 含量的增加能变构激活 Sir2. 另外, CR 能诱导代谢发生转变, 从发酵转变为线粒体呼吸, 促使从 NADH 产生 NAD^+ 进一步导致 NAD^+/NADH 比例的增加. 并且减少 NADH 水平的遗传操纵能增加 Sir2 的活性并延长寿命. 但这种现象在 0.05% 葡萄糖条件的 CR 中没有得到类似的结果, 如果酵母细胞体内 NADH 水平太低, 则不足以抑制 Sir2 的活性^[21], 提示在重度 CR 条件下似乎没有通过减少 NADH 水平来激活 Sir2, 研究者们推测不一致的产生是由于不同的热量限制条件^[22], 细胞内 NAD^+ 和 NADH 的转化以及特定蛋白质和蛋白质间的相互作用导致了局部 NAD^+/NADH 比例增高, 因而在体内激活 Sir2.

1.1.2 CR 激活 Sir2 的途径之二: 调节尼克酰胺的浓度. 尼克酰胺(NAM)是 Sir2 催化的脱乙酰反应的产物之一^[23], 同时又是 Sir2 很强的非竞争性抑制剂, NAM 浓度的变化直接影响到 Sir2 的活性. 细胞内 NAM 脱氨酶(pyrazinamidase/nicotinamidase 1, PNC1)又能影响 NAM 的稳定, PNC1 蛋白能够将 NAM 转化为不能抑制 Sir2 活性的尼克酸, 并且抑制 NAM 的聚集. CR 通过细胞内 PNC1 和 NAM 的改变提高 Sir2 的活性, 起到了延长酵母寿命的作用^[24]. 研究认为 PNC1 可能是长寿的总调节因子, 对 CR 介导的寿命延长和低强度应激甚至是必需的. 受到 CR 和多种延长寿命的应激条件的诱导, PNC1 表达升高, 激活 Sir2 进而延长酵母寿命^[25]. 在这种模式中, CR 具有营养应激的作用, 并且动员各种防御机制形成一个组织良好的多水平保护^[23].

1.2 CR 延长酵母寿命的非 Sir2 依赖途径

除了上述的 Sir2 依赖途径外, 在不同的酵母

菌株中, 中度 CR 存在非 Sir2 依赖的方式延长寿命^[26]. 在一些 Sir2 敲除突变株中, 当另一个编码核糖体 DNA 的特异性复制叉阻断蛋白基因 Fob1 被敲除后, 酵母寿命能延长. Fob1 基因敲除能减少核糖体 DNA 重组, 使 Sir2 敲除突变株相对短的寿命延长到野生型水平^[27].

某些酵母中还存在另一种 Sirtuin, Hst2, 可能负责通过抑制 rDNA 重组来调控 CR 及其非 Sir2 依赖的延长寿命的效应, 这是酵母 Sirtuin 额外的功能.

此外, 非 Sir2 依赖的途径中, 酵母还可能是依赖于营养效应激酶 Tor、PKA 以及 Akt 类似物 Sch9 来达到延长寿命的效果. 重度 CR 酵母寿命的延长独立于 Sir2 和线粒体呼吸作用, 这些非 Sir2 依赖性能部分解释其机制.

在酵母中, 组蛋白去乙酰酶 Sir2 在 DNA 损伤后也被募集到 DNA 损伤位点, 通过同源重组的方式修复 DNA 损伤^[29]. 不仅如此, Sir2 还参与调控转录沉默、染色体重塑、有丝分裂以及衰老等过程^[20].

2 Sir2 同源物在黑腹果蝇和秀丽线虫中的研究现状

2.1 CR 和 Sir2 在黑腹果蝇中的研究

黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)最早应用于研究环境对生命周期的影响. 果蝇虽是较低等的动物, 但它具有易饲养、生长周期短、繁殖力高、突变性状多、唾腺染色体大、基因组简单且与人类基因组同源性高等特点. 在果蝇的研究中, 研究者采取了许多不同的研究策略来限制果蝇的进食量, 比如通过改变果蝇食物的稀释倍数或改变果蝇食物的特定成分, 这些果蝇食物包括玉米粉、琼脂、蔗糖、死酵母和活酵母. 比较在低热量延寿饮食条件下的果蝇可以发现, 除观察到的寿命延长之外, 同时也发现: 体重降低、产卵减少、身体组成发生有利于糖原储存增加的变化以及自主活动能力的增加, 尤其是雌性果蝇, 类似于 CR 小鼠中观察到的活动能力增加.

在黑腹果蝇体内有 5 种 Sirtuin, 其中 dSir2 是与酵母 Sir2 最接近的同源类似物. dSir2 以 NAD 依赖的去乙酰化酶方式催化核心组蛋白尾部赖氨酸残基的去乙酰化, 并且在体外实验中抑制超乙酰化蛋白-DNA 复合体的转录. 经聚硫蛋白作用, dSir2 显现出表观遗传沉默与 E(Z)组蛋白去乙酰化

酶复合体相互作用^[25]. 与酵母中 Sir2 专一定位在核内不同, dSir2 在成年果蝇中才专一定位于核内, 而之前则在核和胞质之间来回穿梭^[26]. 与在酵母和线虫中得到的结果相似, dSir2 也参与调控果蝇的生命周期.

通过减少饮食中酵母和葡萄糖的供应可以在果蝇身上获得 CR 效应^[29]. 除了生命周期被延长外, 在 CR 的果蝇体内, 其 dSir2 的 mRNA 水平提高了 2 倍^[30]. 在 dSir2 突变果蝇体内, CR 引起的生命周期延长效应受到抑制, 由此看来, dSir2 和 CR 是通过相同的途径来对生命周期进行调控的^[31]. 此外, dSir2 过表达产生的延寿作用在 CR 条件下并没有进一步增强^[32], 使用 Sir2 的化学激活剂白藜芦醇(resveratrol, Res), 在正常饮食的条件下有延长寿命的作用, 但是在 CR 条件下也没有出现寿命进一步延长的作用. 这些研究都表明, 在果蝇中, dSir2 能调节 CR 依赖的延寿作用.

dSir2 还是 I 类去乙酰化酶 Rpd3 下游的效应因子, CR 能抑制 Rpd3 的表达, 降低 Rpd3 基因表达可以延长果蝇的寿命, 最终导致果蝇体内 dSir2 表达的升高和生命周期的延长^[31-32]. 类似现象可能也发生在酵母中, 例如 NAD⁺/NADH 比例的变化, 或者其他在果蝇中由 CR 引起的对激活 Sir2 非常重要的机制.

2.2 CR 和 Sir2 在秀丽线虫中的研究

秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)是一种简单的非寄生多细胞生物, 在土壤中生存, 以细菌为食. 因其生命周期短, 衰老表型较为明显, 遗传操作灵活便利, 成为衰老研究的选择之一. 自 1988 年第一株线虫长寿突变体 age-1 产生以来, 秀丽线虫迅速成为衰老研究的首要模式生物^[33].

在线虫基因组中存在 4 种 Sirtuin 基因, 其中 Sir-2.1 与酵母 Sir2 的保守核心区域有 31% 的同源性, Sir-2.2、Sir-2.3、Sir-2.4 与酵母 Sir2 核心区域的同源性仅有 10%~20%. 在这 4 种基因中 Sir-2.1 已经被证实在线虫生命周期调控的过程中发挥主要作用^[34]. 含有额外 Sir-2.1 拷贝的稳定复制株以及独立表达额外 Sir-2.1 拷贝的转基因系, 都可以使得线虫的寿命延长约 50%. 反之, Sir-2.1 突变株的寿命缩短, 且对应各种应激状态的敏感性也有所提高. 因此我们推测, 在秀丽线虫中, Sir-2.1 可能作用于胰岛素/胰岛素样生长因子 1 信号传导途径(insulin/insulin growth factor-1 signalling pathway, IIS)上游因子 DAF-2, 或者是作为与 IIS 通路并行

的途径最后汇聚至 DAF-16 发挥作用^[35].

通过限制细菌饮食供应, 可以在线虫身上观察到 CR 及其延长生命周期的作用, 例如在没有细菌的状态下无菌培养线虫、稀释食物来源或者利用遗传操作减少它们的食物供应. eat-2 线虫突变株, 能影响线虫咽器官的抽吸能力, 使线虫的咽泵功能缺失, 并导致食物摄取量下降以及生命周期延长^[35]. 缺少 Sir-2.1 则会抑制这种生命周期延长效应^[34]. 此前的一系列研究发现, 在热量限制实验延长寿命的作用中, Sir-2.1 是必需的, 在 Sir-2.1 完全敲除的线虫变体中, CR 延长寿命的效果消失, 因此, 推测 Sir-2.1 作用于 CR 途径的下游. 但是其他研究小组发现, 在 Sir-2.1 突变的线虫中, 减少食物供应引起的 CR 也可以延长其生命周期^[36], 这个发现使得研究者对在 Sir-2.1 缺失的情况下 CR 的作用机制产生了兴趣. 在线虫中, Sir-2.1 定位于一个操纵子的下游区域, 位于操纵子前列的基因启动子使得 Sir-2.1 广泛表达, 不管是在能量充足还是能量限制的条件下, 这个操纵子的启动子在 Sir-2.1 的表达中至关重要^[37]. 无论是通过限制细菌饮食还是利用 eat-2 突变株来模仿 CR, Sir-2.1 的报告基因在肠道和肌细胞中的表达量都有所上调, 符合用绿色荧光蛋白标记操纵子启动子在 CR 下对 Sir-2.1 的转录调节结果, 而非 Sir-2.1 直接的上游启动子. 虽然在 CR 条件下, Sir-2.1 的报告基因表达上调不能作为确切的证据证明 Sir-2.1 在 CR 延长线虫寿命的机制中是必需基因, 但它确实说明了 Sir-2.1 的转录是被操纵子的启动子所调节的, 并且是线虫对能量限制的部分应答.

2.3 白藜芦醇在低等生物中与衰老的关系

白藜芦醇(Res)是一种多酚类化合物^[38], 因其在体外激活 Sirtuin 及延长酵母复制寿命而进入人们的视野^[39]. 在酵母中, Res 可以激活 Sir2 蛋白发挥一种模拟 CR 的作用, 稳定基因组, 进而延长酵母的复制性寿命. 在线虫和果蝇中发现, Res 也可延长其寿命且不影响其繁殖力. 通过对全基因组表达谱的途径分析显示, 约一半的途径被 CR 所改变, 包括一些关键的 CR 途径比如下调糖酵解水平, 这与 Res 改变小鼠肝脏的途径相重叠. 来自小鼠心脏、骨骼肌和脑细胞的基因表达数据显示, Res 模仿 CR 改变了基因的转录. 因此, Res 被认为作用类似于 CR 的激活剂.

已经证实 CR 可以延长模式生物的平均寿命, 但是 Res 是否能模仿 CR 对寿命的作用依然存在着

争议. 与 Howitz 等观察到酵母通过 Res 延长寿命的现象所不同, Kaerberlein 等则报道 Res 并没有显著地延长酵母寿命. 在线虫和果蝇中, Res 的作用各不相同, 可能是因为不同模式生物依赖的寿命检测手段和遗传背景差异. 此外, Res 虽然提高了高卡路里饮食小鼠的生存率, 但在正常饮食的小鼠中, Res 并没有显著地提高它们的生存率. 这些研究显示在模式生物中, Res 并非是延长寿命的强力激活剂. 它可能只是局部的, 非完全功能的 CR 的类似物^[40].

3 SIRT1 在哺乳动物中的作用机制

哺乳动物中相关的寿命研究结果显示, CR 同样具有延缓寿命的作用, 其中发挥功能最重要也是研究最透彻的蛋白质是 SIRT1. SIRT1 是哺乳动物 Sirtuin 家族(SIRT1~SIRT7)成员之一, 具有高度保守核心结构域. SIRT1 在结构上与酵母 Sir2 蛋白高度相似, 功能也相似.

在小鼠体内, CR 能增加白色脂肪组织(WAT)中的 SIRT1 蛋白水平, 从而介导 CR 引起衰老延缓效应. 敲除小鼠中的 SIRT1 基因, 小鼠出现生长代谢能力下降、发育缺陷和出生率改变等现象^[41-42], 存活至成年的 SIRT1^{-/-}小鼠在 CR 条件下则不表现相应的代谢应答^[43-44]. 与此相对应, 持续过表达 SIRT1 的转基因小鼠与对照相比体型更瘦, 代谢更活跃, 这与 CR 条件下的小鼠表型相类似^[45], 轻度过表达 SIRT1 的小鼠即使在高脂肪饮食的情况下也能够预防代谢疾病的发生^[46-47]. 2006 年, Lagouge 等研究发现, 给小鼠喂服 SIRT1 激活剂——白藜芦醇后, 其氧化代谢能力增强、表现为跑步时间延长和肌纤维的耗氧量增加, 同时寿命延长, 并且能够预防代谢性疾病的发生^[48-49]. 人体中 SIRT1 功能与小鼠中相似, 在 CR 条件下 SIRT1 在肌肉蛋白质水平明显增高^[50], 基因变异也与能量消耗相关^[38]. 在哺乳动物中 CR 能够减轻与衰老相关的肥胖、胰岛素抵抗、高血压以及动脉硬化等症状^[51].

对于 CR 如何激活 SIRT1 这个问题目前仍然存在争议. 一个普遍的现象是在很多重要的代谢组织中, CR 引起 SIRT1 蛋白质水平应答性增高, 如肝脏、脂肪、脑和肾脏中表达^[52]. 在高等真核生物中, NAM 的清除途径与酵母细胞不全相同, 从 NAM 再合成 NAD⁺ 的限速酶是 NAM 磷酸基转移酶 (Nampt), Nampt 在哺乳动物中同样具有提高细胞内 NAD⁺ 的水平并提高 SIRT1 活性的作用^[53].

Nisoli 等^[17]研究表明, CR 能诱导小鼠体内线粒体当中的生物合成加强, 而在内皮一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 缺陷小鼠中没有该现象. 细胞中 NO 能上调 SIRT1 表达, 而在 eNOS 敲除小鼠中则不能. 推测 CR 促使 eNOS 和 NO 表达增加, 导致 SIRT1 上调和线粒体合成增加.

SIRT1 在热量限制条件下的哺乳动物中引起衰老的更确切机制尚未完全阐明. 目前已知 SIRT1 的作用底物有 10 多种, 包括组蛋白、p53、FOXO 家族^[54]、NES1^[55]、Ku70^[52]、NF- κ B^[56]、PGC-1 α ^[57]和 PPAR- γ ^[58]等, 其中大部分是衰老调节因子. SIRT1 使 H4K16 和 H3K9 去乙酰化后, 再与组蛋白 H1 相互作用, 并促使组蛋白 H1K26 去乙酰化, 进而促进兼性异染色体的形成^[59]. SIRT1 能够催化 p53 去乙酰化, 使 p53 激活下游目标基因转录的活性下降, 而阻止 DNA 损伤或环境压力所造成的细胞衰老或细胞凋亡^[60]. 小鼠胚胎成纤维细胞中过表达的 SIRT1 也可以对抗早幼粒细胞白血病 (promyelocytic leukemia, PML) 诱导的 p53 乙酰化, 并且缓解 PML 介导的早熟性细胞衰老^[61], 而延长小鼠的寿命^[45]. DNA 损伤诱导激活 SIRT1 与 MRN 复合物 (MRE11-RAD50-NBS1) 中的 NBS1 相互作用, 促使 NBS1 去乙酰化和 ATM 介导的 NBS1 磷酸化, 进而调节染色体重塑和 DNA 损伤修复, 维持基因组完整性^[62-63]. SIRT1 还能介导核苷酸的剪切修复因子 XPA (xeroderma pigmentosum group A) 的去乙酰化, 进而增强核苷酸的剪切修复 (nucleotide excision repair, NER)^[64]. SIRT1 能与 FOXO4 结合, 催化其去乙酰化从而增强其反式激活作用.

引起 DNA 损伤是其中的机制之一. DNA 受到损伤后, 染色体, 特别是异染色体, 需要被解散以便在 DNA 损伤位点募集必要的 DNA 修复蛋白. 这一进程经由组蛋白修饰、染色体结合蛋白以及依赖 ATP 的染色体调节蛋白 (SWI/SNF、ISWI、CHD 和 INO80 等) 等的调控^[65-66]. 组蛋白乙酰化和去乙酰化修饰能够影响到其与染色体的结合, 并对染色体解聚和聚合造成影响, 进而影响到 DNA 损伤修复. SIRT1 的缺失造成 γ -H2AX、pNbs1 和 Rad51 等 DNA 损伤修复相关蛋白的缺陷, 即使激活 ATM 也不能修复 DNA 损伤, 从而导致基因组不稳定性^[67]. 减少细胞的能量供应提高 NAD⁺/NADH 的比值则能增强 SIRT1 去乙酰化酶的活性, 随后导致 Suv39h 促使组蛋白 H3K9 的甲基化进而影响

染色体的结构^[68]。在细胞中,过表达的 SIRT1 能够增强放射线照射所致 DNA 损伤的修复,而沉默 SIRT1 后导致细胞的 DNA 损伤修复能力下降^[69]。由此可见, SIRT1 在 DNA 的损伤修复过程中扮演着非常重要的角色,这也是其影响衰老的重要原因(图 2)。

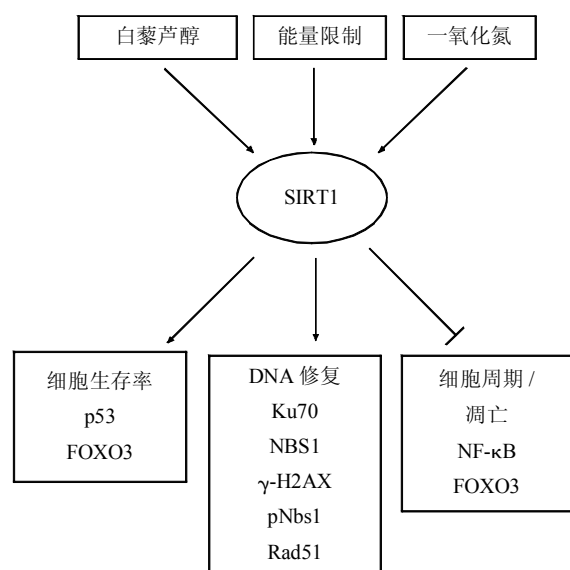


Fig. 2 SIRT1 and genes associated with aging in mammals^[70]

图 2 SIRT1 及其在哺乳动物中的相关基因^[70]

SIRT1 在肿瘤发生和癌细胞增殖过程中扮演的作用还存在着争议。一方面是因为 SIRT1 在细胞生存和死亡中有着双重作用,它会在不同的刺激下导向不同的调节方向。尽管 CR 已经被认为是啮齿动物和灵长类最有效的预防肿瘤的方法,即 SIRT1 是肿瘤的抑制剂,但是一些 Sirtuins,如 SIRT1 和 SIRT3,可能有促进肿瘤形成的迹象。

4 结语和展望

热量限制是目前公认的唯一对不同生物广泛具有延缓衰老作用的机制。研究表明,从酵母到哺乳动物,热量摄入减少,但仍保证充足的营养供给,能延长多种生命体的寿命。Sirtuin 是 NAD⁺ 依赖的组蛋白去乙酰化酶,它们可以通过赖氨酸去乙酰化改变蛋白质的活性和稳定性,从而调节衰老进程,在模式生物如酵母、线虫和果蝇中已成为对调控衰老和寿命具有关键作用的因子。哺乳动物 Sirtuin

参与调控多种生物学效应,这些效应在衰老过程中发挥着非常重要的作用,对人们认识 CR 延寿效应的分子机制有着非常大的帮助,能帮助我们理解高等生物特别是人类自身的衰老过程,筛选和研制能够模拟 CR 等延缓衰老的机制,从而最终缓解人类年龄依赖性退化,改善例如心脏疾病、神经退行性疾病、糖尿病和癌症的发生,并能为开发对抗由衰老所引起的疾病及体力衰退的相关药物提供重要的理论支持。

参 考 文 献

- [1] McCay C M, Crowell M F, Maynard L A. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. 1935. *Nutrition*, 1989, **5**(3): 155-171
- [2] Klass M R. Aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*: Major biological and environmental factors influencing life span. *Mech Ageing Dev*, 1977, **6**(6): 413-429
- [3] Masoro E J. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev*, 2005, **126**(9): 913-922
- [4] Tatar M. Diet restriction in *Drosophila melanogaster*. Design and analysis. *Interdiscip Top Gerontol*, 2007, **35**: 115-136.
- [5] Weindruch R W R, Fligiel S, Guthrie D. The retardation of aging in mice by dietary restriction longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *J Nutr*, 1986, **116**(4): 641-654
- [6] Merry B J. Oxidative stress and mitochondrial function with aging—the effects of calorie restriction. *Aging Cell*, 2004, **3**(1): 7-12
- [7] De Cabo R, Cabello R, Rios M, *et al*. Calorie restriction attenuates age-related alterations in the plasma membrane antioxidant system in rat liver. *Exp Gerontol*, 2004, **39**(3): 297-304
- [8] Rao K S. Dietary calorie restriction, DNA-repair and brain aging. *Mol Cell Biochem*, 2003, **253**(1-2): 313-318
- [9] Marton O, Koltai E, Nyakas C, *et al*. Aging and exercise affect the level of protein acetylation and SIRT1 activity in cerebellum of male rats. *Biogerontology*, 2010, **11**(6): 679-686
- [10] Norris A, Boeke J D. Silent information regulator 3: The Goldilocks of the silencing complex. *Genes Dev*, 2010, **24**(2): 115-122
- [11] Kennedy B K, Smith E D, Kaeberlein M. The enigmatic role of Sir2 in aging. *Cell*, 2005, **123**(4): 548-550
- [12] Bitterman K J, Medvedik O, Sinclair D A. Longevity regulation in *Saccharomyces cerevisiae*: Linking metabolism, genome stability, and heterochromatin. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, **67**(3): 376-399
- [13] Sinclair D A, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles—a cause of aging in yeast. *Cell*, 1997, **91**(7): 1033-1042
- [14] Kaeberlein M. Lessons on longevity from budding yeast. *Nature*, 2010, **464**(7288): 513-519
- [15] Fabrizio P, Longo V D. Chronological aging-induced apoptosis in yeast. *Biochim Biophys Acta*, 2008, **1783**(7): 1280-1285
- [16] Fabrizio P, Longo V D. The chronological life span of

- Saccharomyces cerevisiae*. Methods Mol Biol, 2007, **371**: 89–95
- [17] Nisoli E, Tonello C, Cardile A, *et al*. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. Science, 2005, **310**(5746): 314–317
- [18] Lin S J, Defossez P A, Guarente L. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. Science, 2000, **289**(5487): 2126–2128
- [19] Qiu X, Brown K V, Moran Y, *et al*. Sirtuin regulation in calorie restriction. Biochim Biophys Acta, 2010, **1804**(8): 1576–1583
- [20] Lin S J, Ford E, Liszt M H, *et al*. Calorie restriction extends yeast life span by lowering the level of NADH. Genes Dev, 2004, **18**(1): 12–16
- [21] Schmidt M T, Smith B C, Jackson M D, *et al*. Coenzyme specificity of Sir2 protein deacetylases: Implications for physiological regulation. J Biol Chem, 2004, **279**(38): 40122–40129
- [22] Lamming D W. Response to Comment on "HST2 Mediates SIR2-Independent Life-Span Extension by Calorie Restriction". Science, 2006, **312**(5778): 1312c–1312c
- [23] Bitterman K J, Anderson R M, Cohen H Y, *et al*. Inhibition of silencing and accelerated aging by nicotinamide, a putative negative regulator of yeast sir2 and human SIRT1. J Biol Chem, 2002, **277**(47): 45099–45107
- [24] Anderson R M, Bitterman K J, Wood J G, *et al*. Nicotinamide and PNC1 govern lifespan extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. Nature, 2003, **423**(6936): 181–185
- [25] Furuyama, Takehito, Banerjee, *et al*. SIR2 is required for polycomb silencing and is associated with an E(Z) histone methyltransferase complex. Current Biology, 2004, **14**(20): 1812–1821
- [26] Kaerberlein M, Kirkland K T, Fields S, *et al*. Sir2-independent life span extension by calorie restriction in yeast. PLoS Biol, 2004, **2**(9): E296
- [27] Defossez P A, Prusty R, Kaerberlein M, *et al*. Elimination of replication block protein Fob1 extends the life span of yeast mother cells. Mol Cell, 1999, **3**(4): 447–455
- [28] Rosenberg M I, Parkhurst S M. Drosophila Sir2 is required for heterochromatic silencing and by euchromatic Hairy E(Spl) bHLH repressors in segmentation and sex determination. Cell, 2002, **109**(4): 447–458
- [29] Clancy D J, Gems D, Hafen E, *et al*. Dietary restriction in long-lived dwarf flies. Science, 2002, **296**(5566): 319
- [30] Rogina B, Helfand S L, Frankel S. Longevity regulation by *Drosophila* Rpd3 deacetylase and caloric restriction. Science, 2002, **298**(5599): 1745
- [31] Rogina B. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, **101**(45): 15998–16003
- [32] Friedman D B, Johnson T E. A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. Genetics, 1988, **118**(1): 75–86
- [33] Tissenbaum H A, Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. Nature, 2001, **410**(6825): 227–230
- [34] Wang Y, Tissenbaum H A. Overlapping and distinct functions for a *Caenorhabditis elegans* SIR2 and DAF-16/FOXO. Mech Age Develop, 2006, **127**(1): 48–56
- [35] Lakowski B, Hekimi S. The genetics of caloric restriction in *Caenorhabditis elegans*. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, **95**(22): 13091–13096
- [36] Bishop N A, Guarente L. Two neurons mediate diet-restriction-induced longevity in *C. elegans*. Nature, 2007, **447**(7144): 545–549
- [37] Bamps S, Wirtz J, Savory F R, *et al*. The *Caenorhabditis elegans* sirtuin gene, sir-2.1, is widely expressed and induced upon caloric restriction. Mech Age Develop, 2009, **130**(11–12): 762–770
- [38] Fukui M, Choi H J, Zhu B T. Mechanism for the protective effect of resveratrol against oxidative stress-induced neuronal death. Free Rad Biol Med, 2010, **49**(5): 800–813
- [39] Fontana L, Partridge L, Longo V D. Extending healthy life span—from yeast to humans. Science, 2010, **328**(5976): 321–326
- [40] Hu Y, Liu J, Wang J, *et al*. The controversial links among calorie restriction, SIRT1, and resveratrol. Free Rad Biol Med, 2011, **51**(2): 250–256
- [41] McBurney M W, Yang X, Jardine K, *et al*. The mammalian SIR2 protein has a role in embryogenesis and gametogenesis. Mol Cell Biol, 2003, **23**(1): 38–54
- [42] 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**(19): 10794–10799
- [43] Chen D, Steele A D, Lindquist S, *et al*. Increase in activity during calorie restriction requires Sirt1. Science, 2005, **310**(5754): 1641
- [44] Boily G, Seifert E L, Bevilacqua L, *et al*. Sirt1 regulates energy metabolism and response to caloric restriction in mice. PLoS One, 2008, **3**(3): e1759
- [45] Laura B, Dena C, Ashley R, *et al*. SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. Aging Cell, 2007, **6**(6): 759–767
- [46] 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**(4): 333–341
- [47] Pfluger P T, Herranz D, Velasco-Miguel S, *et al*. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, **105**(28): 9793–9798
- [48] Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, *et al*. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . Cell, 2006, **127**(6): 1109–1122
- [49] Baur J A, Pearson K J, Price N L, *et al*. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature, 2006, **444**(7117): 337–342
- [50] Civitarese A E, Carling S, Heilbronn L K, *et al*. Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. PLoS Med, 2007, **4**(3): e76
- [51] Tang B L, Chua C E L. Is systemic activation of Sirt1 beneficial for

- ageing-associated metabolic disorders?. *Biochem Biophys Res Comm*, 2010, **391**(1): 6–10
- [52] Cohen H Y, Miller C, Bitterman K J, *et al.* Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*, 2004, **305**(5682): 390–392
- [53] Revollo J R. The NAD biosynthesis pathway mediated by nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2004, **279**(49): 50754–50763
- [54] Salih D A, Brunet A. FoxO transcription factors in the maintenance of cellular homeostasis during aging. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, **20**(2): 126–136
- [55] Takata, Takehiko, Ishikawa, *et al.* Human Sir2-related protein SIRT1 associates with the bHLH repressors HES1 and HEY2 and is involved in HES1- and HEY2-mediated transcriptional repression. *Biochem Biophys Res Comm*, 2003, **301**(1): 250–257
- [56] Yeung F, Hoberg J E, Ramsey C S, *et al.* Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J*, 2004, **23**(12): 2369–2380
- [57] El-Khamisy S F, Saifi G M, Weinfield M, *et al.* Defective DNA single-strand break repair in spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy-1. *Nature*, 2005, **434**(7029): 108–113
- [58] Picard F, Kurtev M, Chung N, *et al.* Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*, 2004, **429**(6993): 771–776
- [59] Vaquero A, Scher M, Lee D, *et al.* Human SirT1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin. *Mol Cell*, 2004, **16**(1): 93–105
- [60] Homayoun Vaziri, Scott K Dessain, Elinor Ng Eaton, *et al.* hSIR2 (SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*, 2001, **107**(2): 149–159
- [61] Langley E, Pearson M, Faretta M, *et al.* Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. *EMBO J*, 2002, **21**(10): 2383–2396
- [62] Yuan Z, Zhang X, Sengupta N, *et al.* SIRT1 regulates the function of the Nijmegen breakage syndrome protein. *Mol Cell*, 2007, **27**(1): 149–162
- [63] Oberdoerffer P, Michan S, McVay M, *et al.* SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell*, 2008, **135**(5): 907–918
- [64] Fan W, Luo J. SIRT1 regulates UV-induced DNA repair through deacetylating XPA. *Mol Cell*, 2010, **39**(2): 247–258
- [65] Goodarzi A A, Noon A T, Deckbar D, *et al.* ATM signaling facilitates repair of DNA double-strand breaks associated with heterochromatin. *Mol Cell*, 2008, **31**(2): 167–177
- [66] Craig J M. Heterochromatin—many flavours, common themes. *Bioessays*, 2005, **27**(1): 17–28
- [67] Lavu S, Boss O, Elliott P J, *et al.* Sirtuins—novel therapeutic targets to treat age-associated diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2008, **7**(10): 841–853
- [68] Mikogai A, Yanagisawa J, Yasuzawa-Tanaka K, *et al.* The nucleolar protein NML regulates hepatic ATP levels during liver regeneration after partial hepatectomy. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **390**(3): 591–596
- [69] Jeong J, Juhn K, Lee H, *et al.* SIRT1 promotes DNA repair activity and deacetylation of Ku70. *Exp Mol Med*, 2007, **39**(1): 8–13
- [70] Haigis M C, Sinclair D A. Mammalian Sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2010, **5**(1): 253–295

Advances in Sirtuin on The Mechanism of Calorie Restriction on Lifespan*

LIU Bin^{1,2)}, CHEN Wei-Chun^{1,3)}, LIU Xin-Guang^{1,2,3)**}, ZHOU Zhong-Jun⁴⁾

¹⁾ Institute of Aging Research, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China;

²⁾ Key Laboratory for Medical Molecular Diagnostics of Guangdong Province, Dongguan 523808, China;

³⁾ Institute of Biochemistry & Molecular Biology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China;

⁴⁾ Department of Biochemistry, Li Ka Shing Faculty of Medicine, The University of Hong Kong, Hong Kong, China)

Abstract Caloric restriction(CR) can delay aging and the onset of aging-related diseases. Sirtuin plays a key role in the aging process regulated by CR because of its ability to sense the metabolic status and to integrate into adaptive transcriptional outputs. Sirtuin regulates the aging process by altering protein activity and stability through lysine acetylation. Moderate CR in yeast influences replicative lifespan and chronological lifespan mainly by increasing the NAD⁺/NADH ratio and regulating the level of nicotinamide. Similar mechanism also exist among *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogasters*. SIRT1 protein level increases in response to CR in mammals, leading to an increase in PNC1/Nampt expression, which favors the synthesis of NAD⁺ from NAM, potentially acting as a major mechanism to drop the leash of SIRT1 inhibition. NO up-regulates SIRT1 and mitochondrial biogenesis. Cellular and organism's senescence may be influenced through the deacetylation of histone, p53, NES1, FOXO by SIRT1, indicating sirtuin and its homologous analogues play important roles in aging process and lifespan extension under CR in different organisms.

Key words aging, caloric restriction, lifespan, Sir2, SIRT1

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00146

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30672205, 30871440, 30971620, 30900739), The Natural Science Foundation of Guangdong Province (7301506, 8452402301001450, 9252402301000002, 9152402301000007), Key Foundation of Natural Science Research for Guangdong Universities (06Z015), Science Technology Program of Bid Invitation of Zhanjiang City (ZZ0605), Science and Technology Planning Project for University Research Institutions and Medical and Health Organizations of Dongguan City (2008108101045, 2008108101062).

**Corresponding author.

Tel: 86-769-22896128, E-mail: xgliu64@126.com

Received: April 5, 2011 Accepted: September 19, 2011

Sirtuin 在热量限制延长寿命机制中的研究进展*

刘 玢^{1, 2)} 陈维春^{1, 3)} 刘新光^{1, 2, 3)**} 周中军⁴⁾

¹⁾ 广东医学院衰老研究所, 东莞 523808; ²⁾ 广东省医学分子诊断重点实验室, 东莞 523808;

³⁾ 广东医学院生物化学与分子生物学研究所, 湛江 524023; ⁴⁾ 香港大学李嘉诚医学院生物化学系, 中国香港)

摘要 热量限制(caloric restriction, CR)可以引起细胞、生物体寿命延长和降低衰老相关疾病的发生, 其中 Sirtuin 起着关键作用. Sirtuin 将机体能量代谢和基因表达调控相偶联, 通过赖氨酸去乙酰化改变蛋白质的活性和稳定性, 从而调节衰老进程. 酵母中度 CR 影响其复制寿命和时序寿命, 主要依赖于激活 Sir2, 增加细胞内 NAD⁺/NADH 的比例和调节尼克酰胺浓度来实现. 类似的机制也存在于秀丽线虫和果蝇中. 哺乳动物在 CR 条件下 SIRT1 蛋白表达应答性上升, 细胞中 NAM 磷酸基转移酶能够直接影响 NAM 和 NAD⁺ 浓度, 并影响 SIRT1 活性. NO 表达增加能导致 SIRT1 上调和线粒体合成增加. SIRT1 可能通过改变组蛋白、p53、NES1、FOXO 等底物蛋白的乙酰化影响到细胞和个体的衰老. 表明不同生物体中的 Sirtuin 及其同源类似物在 CR 条件下对衰老进程和寿命都起着非常重要的作用.

关键词 衰老, 热量限制, 寿命, Sir2, SIRT1

学科分类号 Q512⁺.7

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00146

衰老是生命进程中一个不可逆的过程, 延年益寿则是人类的一个普遍期望, 也是衰老研究者的一个目标. 在过去两个多世纪里, 人类的平均寿命已经得到大幅延长, 科学家们正孜孜不倦地寻找长寿的方法, 试图让生命的时钟停顿或者减慢. 改变基因、控制食量、抗老药丸、纳米生物技术等正逐渐为人们所熟知. 随着衰老相关研究的不断发展, 人类延长寿命的可能性也在不断增加.

1935 年, McCay 首次提出限制热量(caloric restriction, CR)的摄入可延长啮齿类动物的寿命^[1]. CR 是指一种营养俱全, 但是含能较低的营养条件, 这种条件下饲养的小鼠寿命比高卡路里饲养条件下长, 后续在酵母、线虫、果蝇^[2-4]等模式生物的研究中证实 CR 均有延缓衰老和延长寿命的效应. 在人类的研究中 CR 可能延缓癌症、肾病、自身免疫性疾病和糖尿病^[5]等多种年龄相关疾病, 预示着 CR 在人类寿命延长过程中也可能有重要作用.

CR 延长寿命的机制存在许多假设, 普遍认为是 CR 能增强氧化抗性、改变葡萄糖利用率、增加胰岛素的敏感性、神经内分泌改变、增强应激反

应、毒物兴奋效应、增强 DNA 损伤修复能力以及改变基因的表达等^[6-8]. 在众多机制中 Sirtuin 的作用备受关注, Sirtuin 能将机体能量代谢和基因表达调控相偶联, 也是目前研究比较清楚的一类与 CR 关系密切并能延缓衰老的蛋白质. 不同生物体中的 Sir2 蛋白及其同源类似物统称为 Sirtuin, Sirtuin 蛋白是一组具有 NAD⁺ 依赖性的组蛋白去乙酰基转移酶, 具有高度保守的催化结构域, 可以通过对多种底物进行去乙酰化作用, 从而在机体内参与一系列的生物学活动, 包括维持细胞抗胁迫能力和基因组稳定性, 以及参与能量代谢等. Sir2 参与了酵母的交配型基因、端粒和 rDNA 重复序列的沉默以及细

* 国家自然科学基金资助项目(30672205, 30871440, 30971620, 30900739, 31101051), 广东省自然科学基金资助项目(7301506, 8452402301001450, 9252402301000002, 9152402301000007), 广东省高等学校自然科学研究重点项目(06Z015), 湛江市科技局招标项目(ZZ0605)和东莞市科技计划项目(2008108101045, 2008108101062).

** 通讯联系人.

Tel: 0769-22896128, E-mail: xgliu64@126.com

收稿日期: 2011-04-05, 接受日期: 2011-09-19

胞寿命等生理功能。Sirtuin 是尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)依赖的组蛋白去乙酰化酶,其调节赖氨酸去乙酰化改变蛋白质的活性和稳定性,从而影响衰老进程^[9]。酵母中的 Sirtuin 称为 Sir2,是基本公认的长寿因子,参与调控 CR 引起的抗衰老和寿命延长效应。果蝇、线虫中的 Sir2 同源物分别称为 dSir2、Sir-2.1,在各自的寿命延长机制中发挥着相似的作用。哺乳动物中 Sirtuin 家族包括 SIRT1~7 7 个成员,其中 SIRT1 是最重要也是迄今研究最为全面的一个蛋白质分子,是人类潜在的抗衰老因子,有关 SIRT1 抗衰老机理的研究,可能是人类延年益寿的重要研究方向。本文就几种模式生物中 Sirtuin 的作用机制进行综述,比较其在相应物种衰老进程中作用的异同,探讨该领域未来的发展方向及对人类寿命延长的可能性。

1 Sir2 在酵母寿命延长中起着关键作用

酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)是衰老研究的理想模型,细胞繁殖速度快、遗传操作简单方便^[10]。酵母的衰老模式有两种,包括复制型衰老(replicative aging)和时程衰老(chronological aging)。复制型衰老接近于哺乳动物有丝分裂细胞的模型,而时程衰老可以作为有丝分裂后细胞的极好模型^[11]。相应的细胞寿命形式也有复制寿命(replicative lifespan)和时序寿命(chronological lifespan)^[12]。复制寿命是指一个酵母细胞在死亡之前所能分裂增殖的次数,即所能产生的子代细胞的个数。1997年, Sinclair 等^[13]由于认识到染色体外 rDNA 环(ERC)可能就是这种细胞质衰老因子,随即提出了酵母复制衰老的 ERC 积累学说。酵母 rDNA 具有高度重复性和 DNA 复制的单向模式,从而表现出固有的重组特性和基因组不稳定性。rDNA 串联重复序列之间因同源重组而从基因组中切出,形成最初的 ERC。ERC 在 S 期复制,但不能和线性染色体一起被有效地分离到子细胞中。因为 ERC 的拷贝数在每个 S 期都加倍,它们的丰度在母细胞中呈指数增加,速率和细胞分裂同步,从而使母细胞大量积累 ERC 而变得衰老。子细胞由于在细胞分裂时没有 ERC 进入而维持正常寿命。时程衰老则是用于分析静止期细胞寿命的衰老模型,停止分裂的细胞所能存活的时限被定义为时序寿命^[14]。进入静止期的酵母细胞在不添加营养物质的原培养基内培养,或者将细胞群洗净后移入水中生长,当 99% 的细胞无法在 YPD 平板中形成菌落时,酵母在此之前

的存活时间就是其时序寿命^[15]。

尽管两种衰老模式在诸多方面存在差异,但 CR 及某些可以导致蛋白激酶 A(PKA)通路下降的突变能够延长两种模式的寿命^[16]。酵母的 CR 处理是在完全培养基的基础上减少葡萄糖的含量,包括两种:中度 CR(0.5%葡萄糖培养基)和重度 CR(0.05%葡萄糖培养基)。在 CR 条件下,酵母生长速度保持旺盛,母细胞复制寿命延长 20%~30%,而时序寿命也被延长。研究表明,酵母的 Sir2 基因在 CR 延寿效应中扮演了非常重要的角色^[17],CR 处理能激活 Sir2,而在 Sir2 敲除的菌株中 CR 处理对复制寿命不造成影响^[18]。

进一步研究发现,中度 CR 依赖 Sir2 抑制 ERCs 的生成,进而延长复制寿命。重度 CR 抑制核糖体生物合成,不依赖 Sir2 延长复制寿命^[19]。在 Sir2 缺乏和 CR 条件下,增强的应激抗性和基因组稳定性可以阻止时程衰老的发生。据此推测营养应答信号通路是通过不同的下游因子调节时程衰老和复制衰老的:通过增强应激抗性影响时序衰老,减少核糖体生物合成延缓复制衰老(图 1)。

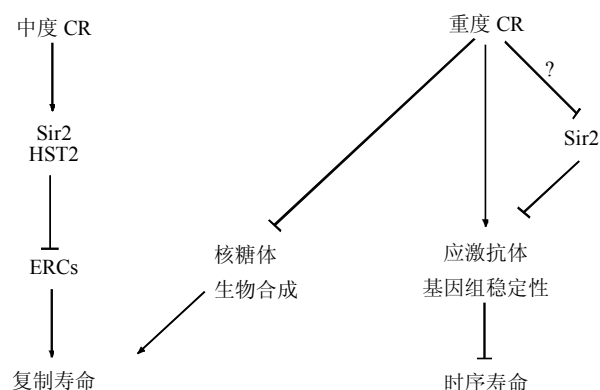


Fig. 1 The mechanism of moderate CR and severe CR influence yeast lifespan^[19]

图 1 中度 CR 和重度 CR 影响酵母寿命的机制^[19]

1.1 CR 延长酵母寿命的 Sir2 依赖途径

在芽殖酵母中,CR 可以通过两种途径实现寿命的延长,首先是限制其对葡萄糖的摄取,其二是对参与调控葡萄糖代谢的 PKA 信号转导途径中的因子进行突变,例如 GTP-GDP 交换因子 Cdc25。酵母细胞在中度 CR 的生长周期明显长于在 2%葡萄糖的正常培养基中的生长周期,缺乏 Cdc25 的母细胞生长周期也明显延长。无论是 0.5%葡萄糖,

还是 Cdc25 突变引起的生命周期的延长都需要 Sir2 作为介导因子的参与. 在这两种途径中 Sir2 活性均有显著增强, 说明酵母寿命的延长是通过 Sir2 活性的增强来实现. 中度 CR 如何激活 Sir2? 目前已经发现存在两种方式: 增加 NAD^+/NADH 的比例和调节非竞争性抑制剂尼克酰胺(nicotinamide, NAM) 的浓度.

1.1.1 CR 激活 Sir2 的途径之一: 增加 NAD^+/NADH 的比例. 在 CR 的条件下酵母细胞处于能量缺乏的状态, 可供分解的糖或其他能量物质相对不足, 细胞中 NAD^+ 含量增加, 而其还原形式 NADH 的量减少, 造成细胞内 NAD^+/NADH 比例增加^[20]. Sir2 作为 NAD^+ 依赖的去乙酰化酶, 由于酶的变构调节机制, NAD^+ 含量的增加能变构激活 Sir2. 另外, CR 能诱导代谢发生转变, 从发酵转变为线粒体呼吸, 促使从 NADH 产生 NAD^+ 进一步导致 NAD^+/NADH 比例的增加. 并且减少 NADH 水平的遗传操纵能增加 Sir2 的活性并延长寿命. 但这种现象在 0.05% 葡萄糖条件的 CR 中没有得到类似的结果, 如果酵母细胞体内 NADH 水平太低, 则不足以抑制 Sir2 的活性^[21], 提示在重度 CR 条件下似乎没有通过减少 NADH 水平来激活 Sir2, 研究者们推测不一致的产生是由于不同的热量限制条件^[22], 细胞内 NAD^+ 和 NADH 的转化以及特定蛋白质和蛋白质间的相互作用导致了局部 NAD^+/NADH 比例增高, 因而在体内激活 Sir2.

1.1.2 CR 激活 Sir2 的途径之二: 调节尼克酰胺的浓度. 尼克酰胺(NAM)是 Sir2 催化的脱乙酰反应的产物之一^[23], 同时又是 Sir2 很强的非竞争性抑制剂, NAM 浓度的变化直接影响到 Sir2 的活性. 细胞内 NAM 脱氨酶(pyrazinamidase/nicotinamidase 1, PNC1)又能影响 NAM 的稳定, PNC1 蛋白能够将 NAM 转化为不能抑制 Sir2 活性的尼克酸, 并且抑制 NAM 的聚集. CR 通过细胞内 PNC1 和 NAM 的改变提高 Sir2 的活性, 起到了延长酵母寿命的作用^[24]. 研究认为 PNC1 可能是长寿的总调节因子, 对 CR 介导的寿命延长和低强度应激甚至是必需的. 受到 CR 和多种延长寿命的应激条件的诱导, PNC1 表达升高, 激活 Sir2 进而延长酵母寿命^[25]. 在这种模式中, CR 具有营养应激的作用, 并且动员各种防御机制形成一个组织良好的多水平保护^[23].

1.2 CR 延长酵母寿命的非 Sir2 依赖途径

除了上述的 Sir2 依赖途径外, 在不同的酵母

菌株中, 中度 CR 存在非 Sir2 依赖的方式延长寿命^[26]. 在一些 Sir2 敲除突变株中, 当另一个编码核糖体 DNA 的特异性复制叉阻断蛋白基因 Fob1 被敲除后, 酵母寿命能延长. Fob1 基因敲除能减少核糖体 DNA 重组, 使 Sir2 敲除突变株相对短的寿命延长到野生型水平^[27].

某些酵母中还存在另一种 Sirtuin, Hst2, 可能负责通过抑制 rDNA 重组来调控 CR 及其非 Sir2 依赖的延长寿命的效应, 这是酵母 Sirtuin 额外的功能.

此外, 非 Sir2 依赖的途径中, 酵母还可能是依赖于营养效应激酶 Tor、PKA 以及 Akt 类似物 Sch9 来达到延长寿命的效果. 重度 CR 酵母寿命的延长独立于 Sir2 和线粒体呼吸作用, 这些非 Sir2 依赖性能部分解释其机制.

在酵母中, 组蛋白去乙酰酶 Sir2 在 DNA 损伤后也被募集到 DNA 损伤位点, 通过同源重组的方式修复 DNA 损伤^[29]. 不仅如此, Sir2 还参与调控转录沉默、染色体重塑、有丝分裂以及衰老等过程^[20].

2 Sir2 同源物在黑腹果蝇和秀丽线虫中的研究现状

2.1 CR 和 Sir2 在黑腹果蝇中的研究

黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)最早应用于研究环境对生命周期的影响. 果蝇虽是较低等的动物, 但它具有易饲养、生长周期短、繁殖力高、突变性状多、唾腺染色体大、基因组简单且与人类基因组同源性高等特点. 在果蝇的研究中, 研究者采取了许多不同的研究策略来限制果蝇的进食量, 比如通过改变果蝇食物的稀释倍数或改变果蝇食物的特定成分, 这些果蝇食物包括玉米粉、琼脂、蔗糖、死酵母和活酵母. 比较在低热量延寿饮食条件下的果蝇可以发现, 除观察到的寿命延长之外, 同时也发现: 体重降低、产卵减少、身体组成发生有利于糖原储存增加的变化以及自主活动能力的增加, 尤其是雌性果蝇, 类似于 CR 小鼠中观察到的活动能力增加.

在黑腹果蝇体内有 5 种 Sirtuin, 其中 dSir2 是与酵母 Sir2 最接近的同源类似物. dSir2 以 NAD 依赖的去乙酰化酶方式催化核心组蛋白尾部赖氨酸残基的去乙酰化, 并且在体外实验中抑制超乙酰化蛋白-DNA 复合体的转录. 经聚硫蛋白作用, dSir2 显现出表观遗传沉默与 E(Z)组蛋白去乙酰化

酶复合体相互作用^[25]. 与酵母中 Sir2 专一定位在核内不同, dSir2 在成年果蝇中才专一定位于核内, 而之前则在核和胞质之间来回穿梭^[26]. 与在酵母和线虫中得到的结果相似, dSir2 也参与调控果蝇的生命周期.

通过减少饮食中酵母和葡萄糖的供应可以在果蝇身上获得 CR 效应^[29]. 除了生命周期被延长外, 在 CR 的果蝇体内, 其 dSir2 的 mRNA 水平提高了 2 倍^[30]. 在 dSir2 突变果蝇体内, CR 引起的生命周期延长效应受到抑制, 由此看来, dSir2 和 CR 是通过相同的途径来对生命周期进行调控的^[31]. 此外, dSir2 过表达产生的延寿作用在 CR 条件下并没有进一步增强^[32], 使用 Sir2 的化学激活剂白藜芦醇(resveratrol, Res), 在正常饮食的条件下有延长寿命的作用, 但是在 CR 条件下也没有出现寿命进一步延长的作用. 这些研究都表明, 在果蝇中, dSir2 能调节 CR 依赖的延寿作用.

dSir2 还是 I 类去乙酰化酶 Rpd3 下游的效应因子, CR 能抑制 Rpd3 的表达, 降低 Rpd3 基因表达可以延长果蝇的寿命, 最终导致果蝇体内 dSir2 表达的升高和生命周期的延长^[31-32]. 类似现象可能也发生在酵母中, 例如 NAD⁺/NADH 比例的变化, 或者其他在果蝇中由 CR 引起的对激活 Sir2 非常重要的机制.

2.2 CR 和 Sir2 在秀丽线虫中的研究

秀丽线虫(*Caenorhabditis elegans*)是一种简单的非寄生多细胞生物, 在土壤中生存, 以细菌为食. 因其生命周期短, 衰老表型较为明显, 遗传操作灵活便利, 成为衰老研究的选择之一. 自 1988 年第一株线虫长寿突变体 age-1 产生以来, 秀丽线虫迅速成为衰老研究的首要模式生物^[33].

在线虫基因组中存在 4 种 Sirtuin 基因, 其中 Sir-2.1 与酵母 Sir2 的保守核心区域有 31% 的同源性, Sir-2.2、Sir-2.3、Sir-2.4 与酵母 Sir2 核心区域的同源性仅有 10%~20%. 在这 4 种基因中 Sir-2.1 已经被证实在线虫生命周期调控的过程中发挥主要作用^[34]. 含有额外 Sir-2.1 拷贝的稳定复制株以及独立表达额外 Sir-2.1 拷贝的转基因系, 都可以使得线虫的寿命延长约 50%. 反之, Sir-2.1 突变株的寿命缩短, 且对应各种应激状态的敏感性也有所提高. 因此我们推测, 在秀丽线虫中, Sir-2.1 可能作用于胰岛素/胰岛素样生长因子 1 信号传导途径(insulin/insulin growth factor-1 signalling pathway, IIS)上游因子 DAF-2, 或者是作为与 IIS 通路并行

的途径最后汇聚至 DAF-16 发挥作用^[35].

通过限制细菌饮食供应, 可以在线虫身上观察到 CR 及其延长生命周期的作用, 例如在没有细菌的状态下无菌培养线虫、稀释食物来源或者利用遗传操作减少它们的食物供应. eat-2 线虫突变株, 能影响线虫咽器官的抽吸能力, 使线虫的咽泵功能缺失, 并导致食物摄取量下降以及生命周期延长^[35]. 缺少 Sir-2.1 则会抑制这种生命周期延长效应^[34]. 此前的一系列研究发现, 在热量限制实验延长寿命的作用中, Sir-2.1 是必需的, 在 Sir-2.1 完全敲除的线虫变体中, CR 延长寿命的效果消失, 因此, 推测 Sir-2.1 作用于 CR 途径的下游. 但是其他研究小组发现, 在 Sir-2.1 突变的线虫中, 减少食物供应引起的 CR 也可以延长其生命周期^[36], 这个发现使得研究者对在 Sir-2.1 缺失的情况下 CR 的作用机制产生了兴趣. 在线虫中, Sir-2.1 定位于一个操纵子的下游区域, 位于操纵子前列的基因启动子使得 Sir-2.1 广泛表达, 不管是在能量充足还是能量限制的条件下, 这个操纵子的启动子在 Sir-2.1 的表达中至关重要^[37]. 无论是通过限制细菌饮食还是利用 eat-2 突变株来模仿 CR, Sir-2.1 的报告基因在肠道和肌细胞中的表达量都有所上调, 符合用绿色荧光蛋白标记操纵子启动子在 CR 下对 Sir-2.1 的转录调节结果, 而非 Sir-2.1 直接的上游启动子. 虽然在 CR 条件下, Sir-2.1 的报告基因表达上调不能作为确切的证据证明 Sir-2.1 在 CR 延长线虫寿命的机制中是必需基因, 但它确实说明了 Sir-2.1 的转录是被操纵子的启动子所调节的, 并且是线虫对能量限制的部分应答.

2.3 白藜芦醇在低等生物中与衰老的关系

白藜芦醇(Res)是一种多酚类化合物^[38], 因其在体外激活 Sirtuin 及延长酵母复制寿命而进入人们的视野^[39]. 在酵母中, Res 可以激活 Sir2 蛋白发挥一种模拟 CR 的作用, 稳定基因组, 进而延长酵母的复制性寿命. 在线虫和果蝇中发现, Res 也可延长其寿命且不影响其繁殖力. 通过对全基因组表达谱的途径分析显示, 约一半的途径被 CR 所改变, 包括一些关键的 CR 途径比如下调糖酵解水平, 这与 Res 改变小鼠肝脏的途径相重叠. 来自小鼠心脏、骨骼肌和脑细胞的基因表达数据显示, Res 模仿 CR 改变了基因的转录. 因此, Res 被认为作用类似于 CR 的激活剂.

已经证实 CR 可以延长模式生物的平均寿命, 但是 Res 是否能模仿 CR 对寿命的作用依然存在着

争议. 与 Howitz 等观察到酵母通过 Res 延长寿命的现象所不同, Kaerberlein 等则报道 Res 并没有显著地延长酵母寿命. 在线虫和果蝇中, Res 的作用各不相同, 可能是因为不同模式生物依赖的寿命检测手段和遗传背景差异. 此外, Res 虽然提高了高卡路里饮食小鼠的生存率, 但在正常饮食的小鼠中, Res 并没有显著地提高它们的生存率. 这些研究显示在模式生物中, Res 并非是延长寿命的强力激活剂. 它可能只是局部的, 非完全功能的 CR 的类似物^[40].

3 SIRT1 在哺乳动物中的作用机制

哺乳动物中相关的寿命研究结果显示, CR 同样具有延缓寿命的作用, 其中发挥功能最重要也是研究最透彻的蛋白质是 SIRT1. SIRT1 是哺乳动物 Sirtuin 家族(SIRT1~SIRT7)成员之一, 具有高度保守核心结构域. SIRT1 在结构上与酵母 Sir2 蛋白高度相似, 功能也相似.

在小鼠体内, CR 能增加白色脂肪组织(WAT)中的 SIRT1 蛋白水平, 从而介导 CR 引起衰老延缓效应. 敲除小鼠中的 SIRT1 基因, 小鼠出现生长代谢能力下降、发育缺陷和出生率改变等现象^[41-42], 存活至成年的 SIRT1^{-/-}小鼠在 CR 条件下则不表现相应的代谢应答^[43-44]. 与此相对应, 持续过表达 SIRT1 的转基因小鼠与对照相比体型更瘦, 代谢更活跃, 这与 CR 条件下的小鼠表型相类似^[45], 轻度过表达 SIRT1 的小鼠即使在高脂肪饮食的情况下也能够预防代谢疾病的发生^[46-47]. 2006 年, Lagouge 等研究发现, 给小鼠喂服 SIRT1 激活剂——白藜芦醇后, 其氧化代谢能力增强、表现为跑步时间延长和肌纤维的耗氧量增加, 同时寿命延长, 并且能够预防代谢性疾病的发生^[48-49]. 人体中 SIRT1 功能与小鼠中相似, 在 CR 条件下 SIRT1 在肌肉蛋白质水平明显增高^[50], 基因变异也与能量消耗相关^[38]. 在哺乳动物中 CR 能够减轻与衰老相关的肥胖、胰岛素抵抗、高血压以及动脉硬化等症状^[51].

对于 CR 如何激活 SIRT1 这个问题目前仍然存在争议. 一个普遍的现象是在很多重要的代谢组织中, CR 引起 SIRT1 蛋白质水平应答性增高, 如肝脏、脂肪、脑和肾脏中表达^[52]. 在高等真核生物中, NAM 的清除途径与酵母细胞不全相同, 从 NAM 再合成 NAD⁺ 的限速酶是 NAM 磷酸基转移酶 (Nampt), Nampt 在哺乳动物中同样具有提高细胞内 NAD⁺ 的水平并提高 SIRT1 活性的作用^[53].

Nisoli 等^[17]研究表明, CR 能诱导小鼠体内线粒体当中的生物合成加强, 而在内皮一氧化氮合酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 缺陷小鼠中没有该现象. 细胞中 NO 能上调 SIRT1 表达, 而在 eNOS 敲除小鼠中则不能. 推测 CR 促使 eNOS 和 NO 表达增加, 导致 SIRT1 上调和线粒体合成增加.

SIRT1 在热量限制条件下的哺乳动物中引起衰老的更确切机制尚未完全阐明. 目前已知 SIRT1 的作用底物有 10 多种, 包括组蛋白、p53、FOXO 家族^[54]、NES1^[55]、Ku70^[52]、NF- κ B^[56]、PGC-1 α ^[57]和 PPAR- γ ^[58]等, 其中大部分是衰老调节因子. SIRT1 使 H4K16 和 H3K9 去乙酰化后, 再与组蛋白 H1 相互作用, 并促使组蛋白 H1K26 去乙酰化, 进而促进兼性异染色体的形成^[59]. SIRT1 能够催化 p53 去乙酰化, 使 p53 激活下游目标基因转录的活性下降, 而阻止 DNA 损伤或环境压力所造成的细胞衰老或细胞凋亡^[60]. 小鼠胚胎成纤维细胞中过表达的 SIRT1 也可以对抗早幼粒细胞白血病 (promyelocytic leukemia, PML) 诱导的 p53 乙酰化, 并且缓解 PML 介导的早熟性细胞衰老^[61], 而延长小鼠的寿命^[45]. DNA 损伤诱导激活 SIRT1 与 MRN 复合物 (MRE11-RAD50-NBS1) 中的 NBS1 相互作用, 促使 NBS1 去乙酰化和 ATM 介导的 NBS1 磷酸化, 进而调节染色体重塑和 DNA 损伤修复, 维持基因组完整性^[62-63]. SIRT1 还能介导核苷酸的剪切修复因子 XPA (xeroderma pigmentosum group A) 的去乙酰化, 进而增强核苷酸的剪切修复 (nucleotide excision repair, NER)^[64]. SIRT1 能与 FOXO4 结合, 催化其去乙酰化从而增强其反式激活作用.

引起 DNA 损伤是其中的机制之一. DNA 受到损伤后, 染色体, 特别是异染色体, 需要被解散以便在 DNA 损伤位点募集必要的 DNA 修复蛋白. 这一进程经由组蛋白修饰、染色体结合蛋白以及依赖 ATP 的染色体调节蛋白 (SWI/SNF、ISWI、CHD 和 INO80 等) 等的调控^[65-66]. 组蛋白乙酰化和去乙酰化修饰能够影响到其与染色体的结合, 并对染色体解聚和聚合造成影响, 进而影响到 DNA 损伤修复. SIRT1 的缺失造成 γ -H2AX、pNbs1 和 Rad51 等 DNA 损伤修复相关蛋白的缺陷, 即使激活 ATM 也不能修复 DNA 损伤, 从而导致基因组不稳定性^[67]. 减少细胞的能量供应提高 NAD⁺/NADH 的比值则能增强 SIRT1 去乙酰化酶的活性, 随后导致 Suv39h 促使组蛋白 H3K9 的甲基化进而影响

染色体的结构^[68]。在细胞中,过表达的 SIRT1 能够增强放射线照射所致 DNA 损伤的修复,而沉默 SIRT1 后导致细胞的 DNA 损伤修复能力下降^[69]。由此可见, SIRT1 在 DNA 的损伤修复过程中扮演着非常重要的角色,这也是其影响衰老的重要原因(图 2)。

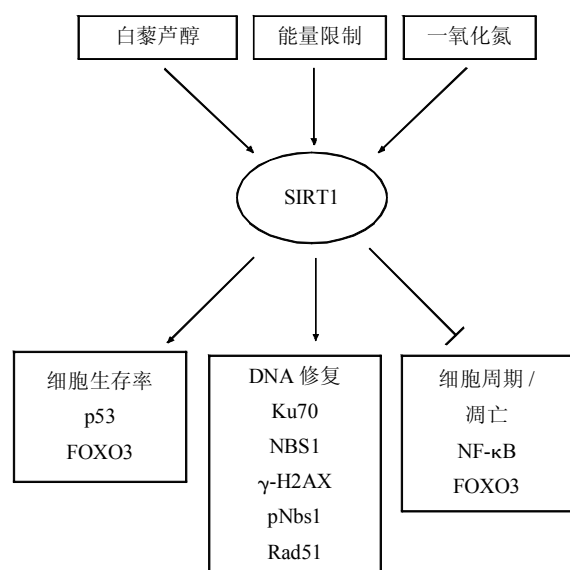


Fig. 2 SIRT1 and genes associated with aging in mammals^[70]

图 2 SIRT1 及其在哺乳动物中的相关基因^[70]

SIRT1 在肿瘤发生和癌细胞增殖过程中扮演的作用还存在着争议。一方面是因为 SIRT1 在细胞生存和死亡中有着双重作用,它会在不同的刺激下导向不同的调节方向。尽管 CR 已经被认为是啮齿动物和灵长类最有效的预防肿瘤的方法,即 SIRT1 是肿瘤的抑制剂,但是一些 Sirtuins,如 SIRT1 和 SIRT3,可能有促进肿瘤形成的迹象。

4 结语和展望

热量限制是目前公认的唯一对不同生物广泛具有延缓衰老作用的机制。研究表明,从酵母到哺乳动物,热量摄入减少,但仍保证充足的营养供给,能延长多种生命体的寿命。Sirtuin 是 NAD⁺ 依赖的组蛋白去乙酰化酶,它们可以通过赖氨酸去乙酰化改变蛋白质的活性和稳定性,从而调节衰老进程,在模式生物如酵母、线虫和果蝇中已成为对调控衰老和寿命具有关键作用的因子。哺乳动物 Sirtuin

参与调控多种生物学效应,这些效应在衰老过程中发挥着非常重要的作用,对人们认识 CR 延寿效应的分子机制有着非常大的帮助,能帮助我们理解高等生物特别是人类自身的衰老过程,筛选和研制能够模拟 CR 等延缓衰老的机制,从而最终缓解人类年龄依赖性退化,改善例如心脏疾病、神经退行性疾病、糖尿病和癌症的发生,并能为开发对抗由衰老所引起的疾病及体力衰退的相关药物提供重要的理论支持。

参 考 文 献

- [1] McCay C M, Crowell M F, Maynard L A. The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. 1935. *Nutrition*, 1989, **5**(3): 155-171
- [2] Klass M R. Aging in the nematode *Caenorhabditis elegans*: Major biological and environmental factors influencing life span. *Mech Ageing Dev*, 1977, **6**(6): 413-429
- [3] Masoro E J. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev*, 2005, **126**(9): 913-922
- [4] Tatar M. Diet restriction in *Drosophila melanogaster*. Design and analysis. *Interdiscip Top Gerontol*, 2007, **35**: 115-136.
- [5] Weindruch R W R, Fligiel S, Guthrie D. The retardation of aging in mice by dietary restriction longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *J Nutr*, 1986, **116**(4): 641-654
- [6] Merry B J. Oxidative stress and mitochondrial function with aging—the effects of calorie restriction. *Aging Cell*, 2004, **3**(1): 7-12
- [7] De Cabo R, Cabello R, Rios M, *et al*. Calorie restriction attenuates age-related alterations in the plasma membrane antioxidant system in rat liver. *Exp Gerontol*, 2004, **39**(3): 297-304
- [8] Rao K S. Dietary calorie restriction, DNA-repair and brain aging. *Mol Cell Biochem*, 2003, **253**(1-2): 313-318
- [9] Marton O, Koltai E, Nyakas C, *et al*. Aging and exercise affect the level of protein acetylation and SIRT1 activity in cerebellum of male rats. *Biogerontology*, 2010, **11**(6): 679-686
- [10] Norris A, Boeke J D. Silent information regulator 3: The Goldilocks of the silencing complex. *Genes Dev*, 2010, **24**(2): 115-122
- [11] Kennedy B K, Smith E D, Kaeberlein M. The enigmatic role of Sir2 in aging. *Cell*, 2005, **123**(4): 548-550
- [12] Bitterman K J, Medvedik O, Sinclair D A. Longevity regulation in *Saccharomyces cerevisiae*: Linking metabolism, genome stability, and heterochromatin. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, **67**(3): 376-399
- [13] Sinclair D A, Guarente L. Extrachromosomal rDNA circles—a cause of aging in yeast. *Cell*, 1997, **91**(7): 1033-1042
- [14] Kaeberlein M. Lessons on longevity from budding yeast. *Nature*, 2010, **464**(7288): 513-519
- [15] Fabrizio P, Longo V D. Chronological aging-induced apoptosis in yeast. *Biochim Biophys Acta*, 2008, **1783**(7): 1280-1285
- [16] Fabrizio P, Longo V D. The chronological life span of

- Saccharomyces cerevisiae*. Methods Mol Biol, 2007, **371**: 89–95
- [17] Nisoli E, Tonello C, Cardile A, *et al*. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. Science, 2005, **310**(5746): 314–317
- [18] Lin S J, Defossez P A, Guarente L. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. Science, 2000, **289**(5487): 2126–2128
- [19] Qiu X, Brown K V, Moran Y, *et al*. Sirtuin regulation in calorie restriction. Biochim Biophys Acta, 2010, **1804**(8): 1576–1583
- [20] Lin S J, Ford E, Liszt M H, *et al*. Calorie restriction extends yeast life span by lowering the level of NADH. Genes Dev, 2004, **18**(1): 12–16
- [21] Schmidt M T, Smith B C, Jackson M D, *et al*. Coenzyme specificity of Sir2 protein deacetylases: Implications for physiological regulation. J Biol Chem, 2004, **279**(38): 40122–40129
- [22] Lamming D W. Response to Comment on "HST2 Mediates SIR2-Independent Life-Span Extension by Calorie Restriction". Science, 2006, **312**(5778): 1312c–1312c
- [23] Bitterman K J, Anderson R M, Cohen H Y, *et al*. Inhibition of silencing and accelerated aging by nicotinamide, a putative negative regulator of yeast sir2 and human SIRT1. J Biol Chem, 2002, **277**(47): 45099–45107
- [24] Anderson R M, Bitterman K J, Wood J G, *et al*. Nicotinamide and PNC1 govern lifespan extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae*. Nature, 2003, **423**(6936): 181–185
- [25] Furuyama, Takehito, Banerjee, *et al*. SIR2 is required for polycomb silencing and is associated with an E(Z) histone methyltransferase complex. Current Biology, 2004, **14**(20): 1812–1821
- [26] Kaerberlein M, Kirkland K T, Fields S, *et al*. Sir2-independent life span extension by calorie restriction in yeast. PLoS Biol, 2004, **2**(9): E296
- [27] Defossez P A, Prusty R, Kaerberlein M, *et al*. Elimination of replication block protein Fob1 extends the life span of yeast mother cells. Mol Cell, 1999, **3**(4): 447–455
- [28] Rosenberg M I, Parkhurst S M. Drosophila Sir2 is required for heterochromatic silencing and by euchromatic Hairy E(Spl) bHLH repressors in segmentation and sex determination. Cell, 2002, **109**(4): 447–458
- [29] Clancy D J, Gems D, Hafen E, *et al*. Dietary restriction in long-lived dwarf flies. Science, 2002, **296**(5566): 319
- [30] Rogina B, Helfand S L, Frankel S. Longevity regulation by *Drosophila* Rpd3 deacetylase and caloric restriction. Science, 2002, **298**(5599): 1745
- [31] Rogina B. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, **101**(45): 15998–16003
- [32] Friedman D B, Johnson T E. A mutation in the age-1 gene in *Caenorhabditis elegans* lengthens life and reduces hermaphrodite fertility. Genetics, 1988, **118**(1): 75–86
- [33] Tissenbaum H A, Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. Nature, 2001, **410**(6825): 227–230
- [34] Wang Y, Tissenbaum H A. Overlapping and distinct functions for a *Caenorhabditis elegans* SIR2 and DAF-16/FOXO. Mech Age Develop, 2006, **127**(1): 48–56
- [35] Lakowski B, Hekimi S. The genetics of caloric restriction in *Caenorhabditis elegans*. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, **95**(22): 13091–13096
- [36] Bishop N A, Guarente L. Two neurons mediate diet-restriction-induced longevity in *C. elegans*. Nature, 2007, **447**(7144): 545–549
- [37] Bamps S, Wirtz J, Savory F R, *et al*. The *Caenorhabditis elegans* sirtuin gene, sir-2.1, is widely expressed and induced upon caloric restriction. Mech Age Develop, 2009, **130**(11–12): 762–770
- [38] Fukui M, Choi H J, Zhu B T. Mechanism for the protective effect of resveratrol against oxidative stress-induced neuronal death. Free Rad Biol Med, 2010, **49**(5): 800–813
- [39] Fontana L, Partridge L, Longo V D. Extending healthy life span—from yeast to humans. Science, 2010, **328**(5976): 321–326
- [40] Hu Y, Liu J, Wang J, *et al*. The controversial links among calorie restriction, SIRT1, and resveratrol. Free Rad Biol Med, 2011, **51**(2): 250–256
- [41] McBurney M W, Yang X, Jardine K, *et al*. The mammalian SIR2 protein has a role in embryogenesis and gametogenesis. Mol Cell Biol, 2003, **23**(1): 38–54
- [42] 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**(19): 10794–10799
- [43] Chen D, Steele A D, Lindquist S, *et al*. Increase in activity during calorie restriction requires Sirt1. Science, 2005, **310**(5754): 1641
- [44] Boily G, Seifert E L, Bevilacqua L, *et al*. Sirt1 regulates energy metabolism and response to caloric restriction in mice. PLoS One, 2008, **3**(3): e1759
- [45] Laura B, Dena C, Ashley R, *et al*. SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. Aging Cell, 2007, **6**(6): 759–767
- [46] 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**(4): 333–341
- [47] Pfluger P T, Herranz D, Velasco-Miguel S, *et al*. Sirt1 protects against high-fat diet-induced metabolic damage. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, **105**(28): 9793–9798
- [48] Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, *et al*. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 α . Cell, 2006, **127**(6): 1109–1122
- [49] Baur J A, Pearson K J, Price N L, *et al*. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. Nature, 2006, **444**(7117): 337–342
- [50] Civitarese A E, Carling S, Heilbronn L K, *et al*. Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. PLoS Med, 2007, **4**(3): e76
- [51] Tang B L, Chua C E L. Is systemic activation of Sirt1 beneficial for

- ageing-associated metabolic disorders?. *Biochem Biophys Res Comm*, 2010, **391**(1): 6–10
- [52] Cohen H Y, Miller C, Bitterman K J, *et al.* Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*, 2004, **305**(5682): 390–392
- [53] Revollo J R. The NAD biosynthesis pathway mediated by nicotinamide phosphoribosyltransferase regulates Sir2 activity in mammalian cells. *J Biol Chem*, 2004, **279**(49): 50754–50763
- [54] Salih D A, Brunet A. FoxO transcription factors in the maintenance of cellular homeostasis during aging. *Curr Opin Cell Biol*, 2008, **20**(2): 126–136
- [55] Takata, Takehiko, Ishikawa, *et al.* Human Sir2-related protein SIRT1 associates with the bHLH repressors HES1 and HEY2 and is involved in HES1- and HEY2-mediated transcriptional repression. *Biochem Biophys Res Comm*, 2003, **301**(1): 250–257
- [56] Yeung F, Hoberg J E, Ramsey C S, *et al.* Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *EMBO J*, 2004, **23**(12): 2369–2380
- [57] El-Khamisy S F, Saifi G M, Weinfield M, *et al.* Defective DNA single-strand break repair in spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy-1. *Nature*, 2005, **434**(7029): 108–113
- [58] Picard F, Kurtev M, Chung N, *et al.* Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. *Nature*, 2004, **429**(6993): 771–776
- [59] Vaquero A, Scher M, Lee D, *et al.* Human SirT1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin. *Mol Cell*, 2004, **16**(1): 93–105
- [60] Homayoun Vaziri, Scott K Dessain, Elinor Ng Eaton, *et al.* hSIR2 (SIRT1) functions as an NAD-dependent p53 deacetylase. *Cell*, 2001, **107**(2): 149–159
- [61] Langley E, Pearson M, Faretta M, *et al.* Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. *EMBO J*, 2002, **21**(10): 2383–2396
- [62] Yuan Z, Zhang X, Sengupta N, *et al.* SIRT1 regulates the function of the Nijmegen breakage syndrome protein. *Mol Cell*, 2007, **27**(1): 149–162
- [63] Oberdoerffer P, Michan S, McVay M, *et al.* SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell*, 2008, **135**(5): 907–918
- [64] Fan W, Luo J. SIRT1 regulates UV-induced DNA repair through deacetylating XPA. *Mol Cell*, 2010, **39**(2): 247–258
- [65] Goodarzi A A, Noon A T, Deckbar D, *et al.* ATM signaling facilitates repair of DNA double-strand breaks associated with heterochromatin. *Mol Cell*, 2008, **31**(2): 167–177
- [66] Craig J M. Heterochromatin—many flavours, common themes. *Bioessays*, 2005, **27**(1): 17–28
- [67] Lavu S, Boss O, Elliott P J, *et al.* Sirtuins—novel therapeutic targets to treat age-associated diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2008, **7**(10): 841–853
- [68] Mikogai A, Yanagisawa J, Yasuzawa-Tanaka K, *et al.* The nucleolar protein NML regulates hepatic ATP levels during liver regeneration after partial hepatectomy. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, **390**(3): 591–596
- [69] Jeong J, Juhn K, Lee H, *et al.* SIRT1 promotes DNA repair activity and deacetylation of Ku70. *Exp Mol Med*, 2007, **39**(1): 8–13
- [70] Haigis M C, Sinclair D A. Mammalian Sirtuins: biological insights and disease relevance. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 2010, **5**(1): 253–295

Advances in Sirtuin on The Mechanism of Calorie Restriction on Lifespan*

LIU Bin^{1,2)}, CHEN Wei-Chun^{1,3)}, LIU Xin-Guang^{1,2,3)**}, ZHOU Zhong-Jun⁴⁾

¹⁾ Institute of Aging Research, Guangdong Medical College, Dongguan 523808, China;

²⁾ Key Laboratory for Medical Molecular Diagnostics of Guangdong Province, Dongguan 523808, China;

³⁾ Institute of Biochemistry & Molecular Biology, Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, China;

⁴⁾ Department of Biochemistry, Li Ka Shing Faculty of Medicine, The University of Hong Kong, Hong Kong, China)

Abstract Caloric restriction(CR) can delay aging and the onset of aging-related diseases. Sirtuin plays a key role in the aging process regulated by CR because of its ability to sense the metabolic status and to integrate into adaptive transcriptional outputs. Sirtuin regulates the aging process by altering protein activity and stability through lysine acetylation. Moderate CR in yeast influences replicative lifespan and chronological lifespan mainly by increasing the NAD⁺/NADH ratio and regulating the level of nicotinamide. Similar mechanism also exist among *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogasters*. SIRT1 protein level increases in response to CR in mammals, leading to an increase in PNC1/Nampt expression, which favors the synthesis of NAD⁺ from NAM, potentially acting as a major mechanism to drop the leash of SIRT1 inhibition. NO up-regulates SIRT1 and mitochondrial biogenesis. Cellular and organism's senescence may be influenced through the deacetylation of histone, p53, NES1, FOXO by SIRT1, indicating sirtuin and its homologous analogues play important roles in aging process and lifespan extension under CR in different organisms.

Key words aging, caloric restriction, lifespan, Sir2, SIRT1

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00146

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (30672205, 30871440, 30971620, 30900739), The Natural Science Foundation of Guangdong Province (7301506, 8452402301001450, 9252402301000002, 9152402301000007), Key Foundation of Natural Science Research for Guangdong Universities (06Z015), Science Technology Program of Bid Invitation of Zhanjiang City (ZZ0605), Science and Technology Planning Project for University Research Institutions and Medical and Health Organizations of Dongguan City (2008108101045, 2008108101062).

**Corresponding author.

Tel: 86-769-22896128, E-mail: xgliu64@126.com

Received: April 5, 2011 Accepted: September 19, 2011