**Sirtuins****与脓毒症的研究进展**

莫兴兴 葛勤敏

上海交通大学医学院附属新华医院急诊科 上海 邮编200092

**摘要：** 脓毒症是一种由微生物感染引起，导致宿主调节功能异常，包括炎性因子级联释放，内皮功能障碍，细胞凋亡，免疫抑制，最终导致多器官功能障碍的疾病综合征。现今脓毒症患者的死亡率仍居高不下，这与其复杂的病理生理学机制密切相关。Sirtuins家族作为一类依赖NAD+的高度保守的蛋白脱酰化酶，其可以通过催化组蛋白和非组蛋白底物的赖氨酸侧链发生去酰化反应，减少促炎因子的释放，影响线粒体功能，改变线粒体活性氧生成，能量代谢及免疫反应等，对于控制炎症反应，维持基因组稳定等有着重要作用。本篇就Sirtuins可能在脓毒症急性炎症、免疫和代谢中的作用，及其对脓毒症治疗的应用前景作一综述。

**关键词:** 沉默信息调节因子；脓毒症；炎性介质；免疫反应；生物代谢

**Advances in Sirtuins and sepsis**

Mo Xingxing, Ge Qinmin

Department of Emergency, Xinhua Hospital, Shanghai Jiaotong University School of  Medicine,  Shanghai 200092, China

**Abstract：**Sepsis is an infection caused by microorganisms, resulting in a host regulatory function abnormalities, including the release of a cascade of inflammatory cytokines, endothelial dysfunction, apoptosis, immune suppression, eventually leading to multiple organ dysfunction syndrome disease. Although patients with sepsis mortality remains high now, which is closely related to its complex pathophysiology mechanisms. Sirtuins as a NAD+-dependent highly conserved deacylases, which may deacylate lysine residues of some histone or non-histone substrates , reducing the release of pro-inflammatory cytokines, affecting mitochondrial function, altering mitochondrial ROS generation, energy metabolism and immune response and so on, in order to control inflammation and maintaining genomic stability. This review is aimed to elucidate the possible role of Sirtuins in septic acute inflammation, immune and metabolic process, valuing the prospects for septic treatment.

**Key words:** Sirtuins；Sepsis；inflammatory mediators；immune response；biological metabolism

脓毒症是烧伤、创伤、严重感染等疾病的常见并发症，国际重症医学会将脓毒症分为四个阶段，即全身炎症反应综合征、脓毒症、严重脓毒症、脓毒症休克。近年来尽管已应用液体复苏、机械通气和体外膜肺氧合（extracorporeal membrane oxygen,ECMO）等生命支持技术，脉冲感应心输出量（pulse induced contour crdic output,PICCO）等血流动力学监测手段辅助指导脓毒症治疗，脓毒症死亡率仍居高不下。随着人类对脓毒症病理生理的深入认识，其定义和诊断的临床标准也在不断更新。2016年，第三国际共识定义小组将脓毒症定义着重于多器官功能障碍，指明脓毒症是一种因宿主感染后，机体调节异常所触发的危及生命的多器官功能障碍综合征[[1](#_ENREF_1)]。

沉默信息调节因子2（silent information regulator2，Sirt2）最初是被发现于芽殖酵母中，后来Frye[[2](#_ENREF_2)]鉴定了5种人类Sirt2同源蛋白SIRT1~5,并命名为“Sirtuins”，2000年他又从人脾cDNA文库克隆出SIRT6、SIRT7。由此，Sirtuins逐步走进研究者们的视线，越来越多的研究指出Sirtuins可能参与脓毒症发生过程中炎症、免疫和代谢的改变，与细胞的增殖、分化、衰老、凋亡和代谢密切相关。Sirtuins家族每个成员的细胞定位和作用的靶点不同，它们拥有相似的高度保守的催化核心序列，由约270个氨基酸残基构成两个不同大小的结构域，大的结构域由Rossmann折叠构成，小的结构域包含一个锌指结构，底物就结合于这两个结构域的缝隙。通过催化调节蛋白中的赖氨酸位点，发生脱乙酰化和翻译后修饰，调控炎性因子蛋白质的表达水平[[3](#_ENREF_3)]。在细胞能量匮乏时，NAD+/ NADH的比值增高，NAD+作为Sirtuins最有效的激活物，有利于Sirtuins生物学活性的发挥[[4](#_ENREF_4)]。随着对Sirtuins家族生物学认识的不断加深，发现许多调节通路通过影响Sirtuins的活性，维持内稳态的动态平衡。本篇就Sirtuins可能在脓毒症急性炎症、免疫和代谢机制中的作用，及其对脓毒症治疗的应用前景作一综述。

**1.** **Sirtuins与脓毒症的急性炎症反应**

脓毒症是因感染诱发的宿主调节异常，以多器官功能障碍为特征的一种急性强致死性应激反应。脓毒症和脓毒性休克的短短几个小时内，早期过度炎症反应转变成低度炎症反应，此状态可持续数天至数周。内毒素耐受最初是由Beeson提出[[5](#_ENREF_5)]，指低浓度内毒素预先处理后，单核/巨噬细胞对内毒素引起的应激反应产生抵抗，其机制可能是由于炎症信号转导途径中的某些反应因子的量或活性改变，导致内毒素产生的细胞因子或其他活性物质低或无表达[[6](#_ENREF_6)]。内毒素耐受出现与脓毒症相关的急性全身性炎症的表观基因组改变，涉及SIRT1和NF-κB的相互作用，NF-κB的亚基RELB在组蛋白H3K9甲基转移酶作用下，组装成一种由组蛋白和DNA多种成分构成的转录抑制复合物，该复合物促进急性促炎因子的常染色质凝集，灭活兼性异染色质[[7](#_ENREF_7)]。NAD+作为核SIRT1最有效的激活物，是产生内毒素耐受的必要条件。[Vachharajani VT](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Vachharajani%20VT%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=25001863)[[8](#_ENREF_8)]发现当用SIRT1抑制剂EX-527阻碍SIRT1与NAD+结合后，大鼠的内源性免疫应答和心血管功能改善，细菌清除率提高，脓毒症死亡率降低。因此，为了有效治疗脓毒症，需要进一步探究Sirtuins可能作用于脓毒症的机制。

炎性途径主要有两个信号通路：首先模式识别受体（pattern recognition receptors，PRRs）识别病原相关分子模式（pathogen-associated molecular patterns，PAMPs）和损伤相关分子模式（damage-associated molecular patterns，DAMPs）。PAMPs经Toll样受体信号导致丝裂原激活的蛋白激酶/MAP激酶（mitogen-activated protein kinase,MAPK）级联激活，包括ERK1/2，c-JNK，p38，NF-κB的核转运的活化，增加促炎性介质如粘附分子-1（ICAM-1）和促炎因子如IL-1β和IL-18前体的表达[[9](#_ENREF_9)]，第二阶段是这些前体再经炎性复合物加工处理转化成活性形式。用盲肠结扎穿孔（cecal ligation and puncture ，CLP）的方法诱导小鼠产生脓毒症，发现SIRT1能够抑制小鼠肺炎性体的激活，而SIRT1缺失会增加脓毒症小鼠肺部促炎性细胞因子的产生，激活NF-κB/STAT3/ERK1/2，增加凋亡相关酶（caspase-3/7）, 金属基质蛋白酶（MMP）9，促炎介质如ICAM-1，高迁移率蛋白1（high-mobility group box 1 protein，HMGB1）,降低钙黏蛋白水平，进而破坏紧密连接和内皮屏障功能，加重肺部炎症[[10](#_ENREF_10)]。

**2. Sirtuins与脓毒症的免疫反应**

机体对病原体的免疫反应有两类，即固有免疫和适应性免疫，前者主要是巨噬细胞，树突状细胞等参与，后者主要与特异性B/T淋巴细胞有关[[11](#_ENREF_11)]。脓毒症的炎性反应过程包括早期的促炎反应，以固有免疫系统的免疫细胞大量释放炎性介质，作用于PRRs，再激活适应性免疫，此阶段免疫细胞对PAMPs/DAMPs的刺激敏感性降低，以免疫抑制为主[[12](#_ENREF_12)]。免疫抑制期T淋巴细胞功能逐步丧失，最终导致T淋巴细胞缺失，即T细胞耗竭，是脓毒症免疫抑制期的重要机制。Treg淋巴细胞和γδ T细胞在脓毒症患者体内数量的改变与分布影响其预后[31]。

最近的研究表明脓毒病动物模型和患者标本中的细胞因子如白介素-7（IL-7），IL-15，粒细胞巨噬细胞集落刺激因子（GM-CSF），以及共抑制因子阻断剂，如抗程序性细胞死亡受体-1（抗PD-1）和抗B/T淋巴细胞减弱因子（抗BTLA），可能有降低脓毒症临床发病率的效果[[13](#_ENREF_13)]。先前已有报道指出SIRT1可能通过调控树突状细胞的激活和自噬以应对感染引起的免疫应答[[14](#_ENREF_14)]，通过诱导Th17细胞的产生引起自身免疫疾病[[15](#_ENREF_15)]，再结合以往针对脓毒症促炎反应阶段的临床疗法失败，现转向针对宿主免疫应答治疗的新措施是很必要的。[Lugrin J](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lugrin%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23499872)等研究了一种可以抑制SIRT1和SIRT2活性的化合物cambinol，发现其能抑制巨噬细胞、树突细胞等免疫细胞膜表面NO和CD40的表达，[Vachharajani VT](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Vachharajani%20VT%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=25001863)发现用EX-527抑制SIRT1活性后也能够促进脾与骨髓中巨噬细胞的免疫活性[[8](#_ENREF_8), [16](#_ENREF_16)]。[Luciano JA](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Luciano%20JA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=26009827)用灌胃的方法给予小鼠SIRT1激动剂Srt1720和过氧化物酶体增殖物激活受体共激活因子1α（peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1α ，PGC1α) siRNA后，观察到创伤刺激后小鼠的脾细胞和细菌清除能力降低，免疫能力下降，因而SIRT1/ PGC1α通路可能是引发创伤休克的途径之一，严重的创伤性休克继发感染是导致脓毒症的重要因素。

**3. Sirtuins与脓毒症的生物代谢**

目前认为炎症反应是导致脓毒症发病的主要机制，同时伴随着能量利用的变化，包括葡萄糖摄取增加，激活磷酸戊糖途径和糖酵解过程，导致乳酸堆积[[17](#_ENREF_17)] 。核SIRT1和SIRT6是急性炎症反应中调控糖酵解向脂肪酸氧化的关键分子，促进急性炎症反应向适应性反应的过渡[[18](#_ENREF_18)]。脓毒症适应阶段时期抑制SIRT1的活性后，通过灭活转录因子NF-κB的RELA/ p65，激活NF-κB的亚基RELB，后者与靶基因的启动子结合，促进其他组蛋白如H1K27、DNA修饰，促进线粒体合成，而线粒体SIRT3激活三羧酸循环的限速酶异柠檬酸脱氢酶2，增强柠檬酸合酶活性，增加脂酰辅酶A的含量，诱导依赖糖酵解的急性炎症反应向依赖脂肪酸氧化的脓毒症适应性反应转化，促进免疫代谢平衡的恢复，减少脓毒症小鼠死亡[[19](#_ENREF_19)]。

脓毒症初期线粒体耗氧率上升而在适应期降低，细胞膜极化状态，ATP生成及超氧化物、过氧化氢含量也发生改变,因此通过观察线粒体数目，结构和功能的变化可以反映脓毒症的严重程度[[20](#_ENREF_20)]，这与之前认为SIRT1可能通过抑制激酶MKK3活性改善线粒体合成和自噬，保护脓毒症小鼠急性肺损伤的研究结果相一致[[21](#_ENREF_21)]。Lee[[22](#_ENREF_22)]已经提出在炎症反应中，脓毒症所致的线粒体功能障碍是由于细胞色素C氧化酶的磷酸化状态及其他能够降低线粒体活性的蛋白功能改变相关，如SIRT4对线粒体的数量和功能进行负性调控[[23](#_ENREF_23)]。脓毒症大鼠因炎性损伤后期线粒体DNA数量减少以及氧化磷酸化能力降低而呈低代谢状态，8羟基鸟嘌呤DNA糖苷酶（OGG1）有助于修复脓毒症所致的线粒体DNA损伤[[24](#_ENREF_24)]。

**3. Sirtuins治疗脓毒症的应用前景**

Sirtuins作为NAD+依赖的酶，其主要是通过催化调节蛋白赖氨酸残基的脱乙酰化，进一步调控复杂的调节蛋白网络。近来有研究指出Sirtuins的各家族成员可能参与神经退行性疾病，肿瘤，肥胖，糖尿病等疾病发生的病理生理过程，从而引发研究Sirtuins调节剂的热潮，这其中包括一些小分子化合物及其衍生物，其中Sirtuins激动剂有白藜芦醇，SRT复合物等，Sirtuins抑制剂有splitomicin，HR-73，EX-527等，除此之外还有用硫代乙酰基团取代Nε-乙酰基-赖氨酸的肽类抑制剂，其与底物结合更加紧密，能够增强Sirtuins抑制的效果[[25](#_ENREF_25)]。大量研究指出，脓毒症可能与Sirtuins家族活性改变有关。有研究者在实验中用气管内滴入肺炎链球菌诱导重症细菌性肺炎和CLP诱导腹膜炎两种方法造模，发现SIRT1激活剂化合物STACs 家族的SRT3025可以明显提高动物生存率，促进细菌清除，显著减少肺中炎性细胞因子的释放[[26](#_ENREF_26)]。此外，另一种SIRT1激动剂白藜芦醇也能通过减少白细胞和血小板粘附，降低黏附分子E-选择素和ICAM-1的表达，减轻CLP诱导脓毒症的ob/ob小鼠的微血管炎症 [[27](#_ENREF_27)]，还能通过抑制小胶质细胞中核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白NLRP3/ IL-1β轴保护脓毒症相关性脑病[[28](#_ENREF_28)]。用SIRT2抑制剂AGK2也可提高CLP诱导的脓毒症动物的存活率，减轻“炎症风暴”，改善凝血异常和骨萎缩[[29](#_ENREF_29)]。此外，Richard S.[[30](#_ENREF_30)]等人为我们提供了部分评估脓毒症患者免疫状态的生物标志物以及临床实验室检查指标，指出重组IL-7和PD1特异性抗体能够改善脓毒症引起的免疫缺陷，提高多种临床相关的脓毒症动物模型的存活率，增强癌症和慢性病毒感染病人的免疫力。脓毒症发生发展过程复杂，还伴有T淋巴细胞亚群的变化，与继发感染的发生关系密切，影响患者预后[31]。在脓毒症的病理生理过程中还产生多种生物标志物如经典的炎症反应标志物、炎性因子、内皮细胞损伤标志物以及凝血异常标志物等，其中血清血管粘附蛋白-1（VAP-1）及血浆多配体蛋白聚糖-1（SDC-1）对于系统性炎症的早期诊断和预后具有重要参考价值[32]。因此，早发现异常的炎症指标，明确Sirtuins家族成员在脓毒症的作用机制，通过使用选择性改变Sirtuins家族成员活性的分子化合物，可能会为脓毒症的治疗提供有效治疗途径。

**4.总结**

急性全身性炎症性疾病中，脓毒症往往是住院患者发病和死亡的主要原因，且发病率逐年上升[[33](#_ENREF_31)]。脓毒症的免疫反应很复杂，早期以促炎反应为主，后期是以免疫抑制为主，并伴有能量代谢的改变。Sirtuins作为第Ⅲ类组蛋白去乙酰化酶，使某些转录因子和组蛋白发生脱乙酰化，影响炎症因子的表达，同时调控染色质的功能，维持基因组稳定。通过干预Sirtuins的活性或使之作用于脓毒症炎性反应的特定阶段和靶点，并结合患者本身的异质性，可能改变脓毒症的炎症、免疫、代谢过程，调控疾病转归。

**参考文献**

[ 1 ] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. *Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)*[J]. JAMA, 2016, 315(8): 775-787.

[ 2 ] Frye RA. *Characterization of five human cDNAs with homology to the yeast SIR2 gene: Sir2-like proteins (sirtuins) metabolize NAD and may have protein ADP-ribosyltransferase activity*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 260(1): 273-279.

[ 3 ] Feldman JL, Dittenhafer-Reed KE, Denu JM. *Sirtuin catalysis and regulation*[J]. J Biol Chem, 2012, 287(51): 42419-42427.

[ 4 ] Sauve AA,Youn DY. *Sirtuins: NAD(+)-dependent deacetylase mechanism and regulation*[J]. Curr Opin Chem Biol, 2012, 16(5-6): 535-543.

[ 5 ] Beeson PB. *TOLERANCE TO BACTERIAL PYROGENS : I. FACTORS INFLUENCING ITS DEVELOPMENT*[J]. J Exp Med, 1947, 86(1): 29-38.

[ 6 ] Chu CH, Wang S, Li CL, et al. *Neurons and astroglia govern microglial endotoxin tolerance through macrophage colony-stimulating factor receptor-mediated ERK1/2 signals*[J]. Brain Behav Immun, 2016, 55: 260-272.

[ 7 ] Liu TF, Yoza BK, El Gazzar M, et al. *NAD+-dependent SIRT1 deacetylase participates in epigenetic reprogramming during endotoxin tolerance*[J]. J Biol Chem, 2011, 286(11): 9856-9864.

[ 8 ] 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.

[ 9 ] Keyel PA. *How is inflammation initiated? Individual influences of IL-1, IL-18 and HMGB1*[J]. Cytokine, 2014, 69(1): 136-145.

[ 10 ] Gao R, Ma Z, Hu Y, et al. *Sirt1 restrains lung inflammasome activation in a murine model of sepsis*[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2015, 308(8): L847-853.

[ 11 ] Drewry AM, Samra N, Skrupky LP, et al. *Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality*[J]. Shock, 2014, 42(5): 383-391.

[ 12 ] Yadav H,Cartin-Ceba R. *Balance between Hyperinflammation and Immunosuppression in Sepsis*[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2016, 37(1): 42-50.

[ 13 ] Hutchins NA, Unsinger J, Hotchkiss RS, et al. *The new normal: immunomodulatory agents against sepsis immune suppression*[J]. Trends Mol Med, 2014, 20(4): 224-233.

[ 14 ] Owczarczyk AB, Schaller MA, Reed M, et al. *Sirtuin 1 Regulates Dendritic Cell Activation and Autophagy during Respiratory Syncytial Virus-Induced Immune Responses*[J]. J Immunol, 2015, 195(4): 1637-1646.

[ 15 ] Lim HW, Kang SG, Ryu JK, et al. *SIRT1 deacetylates RORgammat and enhances Th17 cell generation*[J]. J Exp Med, 2015, 212(5): 607-617.

[ 16 ] Ciarlo E,Roger T. *Screening the Impact of Sirtuin Inhibitors on Inflammatory and Innate Immune Responses of Macrophages and in a Mouse Model of Endotoxic Shock*[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1436: 313-334.

[ 17 ] Vachharajani VT, Liu T, Wang X, et al. *Sirtuins Link Inflammation and Metabolism*[J]. J Immunol Res, 2016, 2016: 8167273.

[ 18 ] Liu TF, Vachharajani VT, Yoza BK, et al. *NAD+-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.

[ 19 ] 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.

[ 20 ] Arulkumaran N, Deutschman CS, Pinsky MR, et al. *MITOCHONDRIAL FUNCTION IN SEPSIS*[J]. Shock, 2016, 45(3): 271-281.

[ 21 ] Mannam P, Shinn AS, Srivastava A, et al. *MKK3 regulates mitochondrial biogenesis and mitophagy in sepsis-induced lung injury*[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2014, 306(7): L604-619.

[ 22 ] Lee I,Huttemann M. *Energy crisis: the role of oxidative phosphorylation in acute inflammation and sepsis*[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1842(9): 1579-1586.

[ 23 ] Lang A, Grether-Beck S, Singh M, et al. *MicroRNA-15b regulates mitochondrial ROS production and the senescence-associated secretory phenotype through sirtuin 4/SIRT4*[J]. Aging (Albany NY), 2016, 8(3): 484-509.

[ 24 ] Bartz RR, Fu P, Suliman HB, et al. *Staphylococcus aureus sepsis induces early renal mitochondrial DNA repair and mitochondrial biogenesis in mice*[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e100912.

[ 25 ] Carafa V, Rotili D, Forgione M, et al. *Sirtuin functions and modulation: from chemistry to the clinic*[J]. Clin Epigenetics, 2016, 8: 61.

[ 26 ] Opal SM, Ellis JL, Suri V, et al. PHARMACOLOGICAL SIRT1 ACTIVATION IMPROVES MORTALITY AND MARKEDLY ALTERS TRANSCRIPTIONAL PROFILES THAT ACCOMPANY EXPERIMENTAL SEPSIS[J]. Shock, 2016, 45(4): 411-418.

[ 27 ] 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.

[ 28 ] Sui DM, Xie Q, Yi WJ, et al. *Resveratrol Protects against Sepsis-Associated Encephalopathy and Inhibits the NLRP3/IL-1beta Axis in Microglia*[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016: 1045657.

[ 29 ] 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.

[ 30 ] Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. *Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy*[J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(12): 862-874.

[ 31 ] 陈渟桑,袁聪聪,刘秋红等. 脓毒症发展过程中肺部T淋巴细胞亚群变化及其意义[J]. 内科急危重症杂志,2016,22（2）：153-156.

[ 32 ] 宋根红. 感染性休克患者治疗前后血清血管粘附蛋白-1及血浆多配体蛋白聚糖-1水平变化[J]. 内科急危重症杂志,2016,22（3）：199-201.

[ 33 ] Jones AE,Puskarich MA. *The Surviving Sepsis Campaign guidelines 2012: update for emergency physicians*[J]. Ann Emerg Med, 2014, 63(1): 35-47.