Sirtuins家族蛋白参与DNA损伤修复的研究进展

郭苇, 刘勤献, 汤明, 朱卫国, 王海英*

北京大学医学部基础医学院生物化学与分子生物学系, 北京 100191

* 联系人, E-mail: wendy@bjmu.edu.cn

收稿日期: 2017-05-06; 接受日期: 2017-05-19; 网络发表日期: 2017-06-12

国家自然科学基金(批准号: 81472627)资助

摘要 Sirtuins是哺乳动物中NAD⁺依赖的III类组蛋白去乙酰化酶, 通过调控细胞中多种蛋白的乙酰化水平, 在机体的能量代谢、生长发育、衰老和DNA损伤修复中起到了关键的调节作用. 近年来的研究发现, Sirtuins通过多种机制参与DNA损伤修复. 本文重点阐述Sirtuins在DNA损伤修复中的研究进展, 以期对Sirtuins的研究提供理论指导.

关键词 Sirtuins, 组蛋白去乙酰化酶, DNA损伤修复

在细胞中, DNA损伤是一种普遍现象, 无论是细胞内源性的自发损伤还是外源性的环境损伤都是不可避免的. DNA损伤导致细胞的遗传物质发生变化, 从而影响细胞功能, 诱发癌症, 甚至导致细胞和机体的死亡. 为了应对损伤, 细胞会启动一系列的生物反应, 也就是通常而言的DNA损伤应答(DNA damage response, DDR). 如果损伤较轻, 机体会更倾向于通过DNA修复系统来修复受损DNA, 从而保持细胞正常功能的发挥. 但如果损伤相对严重, 细胞就会启动细胞凋亡等机制, 以维持遗传物质的稳定性^[1].

1 DNA损伤修复机制

细胞发生损伤后, 会很快启动DNA损伤应答系统. 依据不同的损伤类型和程度, 细胞会启动不同的信号传导通路, 最终发生细胞周期阻滞, 损伤修复或诱导细胞凋亡^[2]. DNA损伤的类型不同, 细胞所选择的修

复机制也不同, 如直接修复(direct repair, DR)、切除修复(excision repair, ER)、错配修复(mismatch repair, MMR)、同源重组修复(homologous repair, HR)、非同源末端连接(non-homologous end-joining, NHEJ)和跨损伤DNA合成(translesion DNA synthesis, TLS)等^[3]. 不同的修复机制涉及的蛋白也不尽相同. 真核生物一般通过切除修复、同源重组和非同源末端连接等途径来修复损伤, 以保证基因组稳定^[1].

1.1 切除修复

当DNA损伤仅累及DNA的一条链时, 切除修复即被启动. 切除修复是细胞内主要的DNA修复方式, 包括碱基切除修复(base excision repair, BER)和核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER). 两者基本的作用机制都是通过核酸内切酶将损伤DNA切除, 再以完整的DNA单链为模板, 在DNA聚合酶的作用下, 合成并填补空隙, 最后由DNA连接酶连接断端, 恢复DNA

引用格式: 郭苇, 刘勤献, 汤明, 等. Sirtuins家族蛋白参与DNA损伤修复的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 595–605

Guo W, Liu Q X, Tang M, et al. Research progress of Sirtuins in DNA damage repair. Sci Sin Vitae, 2017, 47: 595–605, doi: [10.1360/N052016-00332](https://doi.org/10.1360/N052016-00332)

的正常结构^[4]。

单个碱基或较短片段的损伤通常会诱发BER。首先由DNA糖基化酶识别异常的碱基(如烷化、氧化/还原碱基等)并将其水解,形成脱嘌呤/脱嘧啶(apurinic/apyrimidinic, AP)位点。AP内切酶特异识别该位点,切断其与DNA骨架之间的连接,产生3'端的羟基和5'端的脱氧核糖磷酸。5'-脱氧核糖磷酸会导致碱基切除修复暂停,而具有AP酶活性的DNA聚合酶 β 能切除脱氧核糖磷酸,同时向3'端添加一个核苷酸,最后由X射线修复交叉互补因子1(X-ray repair cross complementing 1, XRCC1)和DNA连接酶连接断端。这种修复方式被称为short-patch BER^[5],也是最主要的BER修复方式^[6]。如果5'-脱氧磷酸核糖不能被清除,细胞会启动long-patch通路,即DNA聚合酶 β 添加第一个核苷酸后,聚合酶 δ 会进行后续的替代合成,形成一个2~12bp的核苷酸链,然后再由内切酶将多余的核苷酸切除,最后DNA连接酶I完成末端的接合(图1)^[7]。

对于射线或化学物质造成的较大范围的核苷酸序列损伤,细胞的主要修复机制是NER。DNA损伤被识别后,一段含有损伤位点的DNA单链会被切除,然后以另一条未受损的互补链为模板合成正常的片段,并连接到受损的单链上。相较于非转录单链,包括UVC诱导的环丁烷嘧啶二聚体在内的某些损伤片段发生在转录单链上时,切除速度会明显加快,这种NER方式

被称为转录偶联修复(transcription-coupled NER, TCR),而与之相对,没有明显转录单链偏向性的NER方式则被称为全基因组修复(global genome NER, GGR)。在以不同的方式识别损伤DNA后,两种修复方式均会募集转录因子II H(transcription factor II H, TF II H)到损伤位点,并以共同的通路完成修复过程^[8]。

在GGR中,受损区域通常会被XPC-hRAD23B-CETN2识别结合,该复合体会改变周围DNA构象并招募TF II H复合体^[9]。在TCR中,DNA损伤会导致局部的RNA转录阻滞,并招募TCR因子CSB(cockayne syndrome-B)与RNA聚合酶II结合,通过包裹DNA改变其结构,同时影响RNAP II与DNA的相互作用^[10]; CSB还会进一步向局部募集CSA(cockayne syndrome-A)复合体、NER因子和p300以进一步阻滞RNAP II介导的转录过程。继而RNAP II会被降解或通过其他机制跳过这段损伤的DNA,从而为TF II H和其他修复酶提供结合位点^[11]。TF II H复合体中包含10个蛋白,其中XPB和XPD蛋白能够将DNA解螺旋,形成前剪切体,并募集着色性干皮病蛋白A(xeroderma pigmentosum group A, XPA)、复制蛋白A(replication protein A, RPA)和着色性干皮病蛋白G(xeroderma pigmentosum group G, XPG),这些蛋白会辅助TF II H切除受损区域。继而,由复合酶 δ /e/ κ -PCNA(proliferating cell nuclear antigen)-RFC(replication factor C)-RPA的合成片段取代受

图1 碱基切除修复(网络版彩图)

损DNA及TF IIH复合体,最后由连接酶接合断端,完成修复(图2)^[12].

1.2 双链断裂修复

DNA双链断裂(double strand break, DSB)通常被认为是最严重的DNA损伤. 其修复机制主要有两种,同源重组(homologous recombination, HR)和非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)(图3). 这两种方式相对比,前者准确度高,但仅能在S或G₂期进行,且需要有与损伤区域DNA序列具有高度同源性的完整DNA双链作为修复的模板. 后者的条件相对简单,仅在在有丝分裂期可能受到抑制,并且其修复不需要模板,只要具备断裂端结构即可进行,但准确度较低,容易发生缺失、插入、点突变等错误.

识别DSB损伤后,如果断端被MRN/CtIP等相关蛋白因子处理而产生了带3'端游离末端的单链DNA,就会启动HR修复^[13,14],由Rad51介导完成链侵入. 3'端单

链不仅为Rad51提供了形成核蛋白纤维的底物,同时也是修复合成的引物. 修复合成结束后, Holliday连接形成,并被结构特异性的核酸内切酶切割解体,修复完成^[15].

在NHEJ中, Ku蛋白会首先识别断端并与之结合形成Ku-DNA聚合体,为其他后续修复蛋白提供附着位点^[16],导致断端不能被Rad51处理. 同时, Ku-DNA聚合体募集DNA依赖的蛋白激酶催化亚基((DNA-dependent protein kinase catalytic subunit, DNA-PKcs), DNA-PKcs具有多种酶活性,包括5'端核酸外切酶活性、5'端核酸内切酶活性和3'端核酸内切酶活性^[17],其与聚合酶共同对断端进行适当的加工^[18],最后,由连接酶IV-XRCC4(X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 4)完成修复^[19].

事实上,产生3'端单链后,细胞还可以通过单链退火修复(single strand annealing, SSA)与替代性NHEJ(Alt-NHEJ)完成双链断裂修复^[20].

图2 核苷酸切除修复(网络版彩图)

图3 双链断裂修复(网络版彩图)

2 Sirtuins家族蛋白在DNA损伤修复中的作用

DNA损伤修复受多种因素的调控,蛋白质翻译后修饰(post-translational modification, PTM)是细胞活动的重要调控机制,包括DNA损伤修复。乙酰化作为重要的蛋白质修饰方式,在各种DNA损伤修复途径中发挥着关键作用^[21]。组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)是维持蛋白质乙酰化平衡的关键酶类。根据与酵母中HDACs的同源性,真核生物HDACs被分为4类: class I (Rpd3), class II (Hda1), class III (Sir2)和class IV^[22]。Sirtuins是哺乳动物中第III类HDAC,与酵母沉默信息调节因子2(silence information regulator 2, Sir2)同源,其活性依赖于烟酰胺腺嘌呤核苷酸(NAD^+)^[22,23]。该家族有7个成员(SIRT1~SIRT7),它们具有高度保守的 NAD^+ 结合结构域和催化结构域,但亚细胞定位、酶活性和底物却不尽相同(表1)^[24]。SIRT1, SIRT6和SIRT7主要在定位于细胞核, SIRT1存在于常染色质, SIRT6存在于异染色质, SIRT7存在于核仁。SIRT2主要在胞浆, SIRT3, SIRT4和SIRT5主要分布于线粒体^[10]。这些蛋白质的亚细胞定位还与细胞类型和细胞生理状况有关,例如,在一定条件下SIRT1和SIRT2存在核浆穿梭^[11~13], SIRT3也可以脱离线粒体入核^[14]。

Sirtuins蛋白在细胞内的广泛分布表明其功能的多

样化。研究发现, Sirtuins可以参与基因表达、代谢调控、细胞凋亡、衰老等多种生理过程,并与肿瘤的发生发展密切相关^[25]。Sirtuins缺失小鼠(*Mus musculus*)表现出基因组稳定性降低和应激能力减弱,表明Sirtuins蛋白家族成员(尤其是核定位成员)在DNA损伤修复和维持基因组稳定方面起重要作用。

2.1 SIRT1与DNA损伤修复

SIRT1是在哺乳动物中最早发现的sir2同源蛋白,也是该家族目前研究最多的成员。SIRT1具有很强的去乙酰化酶活性, SIRT1的缺失对接近10%的乙酰化位点产生影响^[26]。通过调节不同底物(包括组蛋白和非组蛋白)发挥多种功能^[27]。很多证据显示, SIRT1参与多种DNA损伤应答和修复途径。首先, DNA损伤导致SIRT1在转录水平上调^[28]。其次, SIRT1基因缺失的细胞对损伤敏感^[28], SIRT1基因缺失的小鼠胚胎DNA损伤应答受到抑制, DNA损伤修复的能力降低,染色体异常^[29]。此外, SIRT1最重要的底物之一是p53, SIRT1使其去乙酰化,导致其不稳定和失活,从而抑制DNA损伤情况下p53依赖的细胞凋亡^[26,30]。另外, SIRT1结合并去乙酰化FOXO转录因子,导致不同靶基因表达。通过使FOXO去乙酰化抑制促凋亡Bim的转录,而上调抗应激蛋白GADD45的表达,增强DNA修复能力^[31]。

表 1 Sirtuins家族蛋白主要的作用底物

分类	细胞内主要分布	酶活性	作用底物蛋白
SIRT1	细胞核/细胞质	去乙酰化酶活性	p53, Ku70, NF-κB, PGC1α, PPARγ, PCAF, FOXO3, HIF1α, TDG, APE1, NSB1, WRN, PARP1, HDAC1, XPC, XPA
SIRT2	细胞质	去乙酰化酶活性	α-tubulin, FOXO1, ATRIP, CDK9, H4K16Ac
SIRT3	线粒体	去乙酰化酶活性	IDH2, SDH, p53, FOXO3A, GDH, Ku70, OGG1
SIRT4	线粒体	ADP-核糖基转移酶活性	GDH
SIRT5	线粒体	去乙酰化酶活性	CPS1, Cytochrome C
		去丙二酰基酶活性	
		去琥珀酰基酶活性	
SIRT6	细胞核	去乙酰化酶活性	NF-κB, CtIP, DNA PK, HIF1α, PARP1, H3K9Ac, H3K56Ac
		ADP-核糖基转移酶活性	
SIRT7	核仁	去乙酰化酶活性	P53, PAF53, GABPβ1, NPM1, U3-55k, PGK1, CDK9, H3K18Ac, H3K122Ac
		组蛋白去琥珀酰基酶活性	

不同类型的DNA损伤会通过ATM信号途径招募SIRT1到损伤位点^[32,33]。同时, SIRT1也能够激活ATM的自身磷酸化、活性及其与DSB位点结合的稳定性^[34]。

(1) SIRT1参与碱基切除修复。SIRT1是碱基切除修复的关键调节器, 它可以使BER途径的胸腺嘧啶DNA糖苷酶(thymine DNA glycosylase, TDG)^[35]、脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶1(AP-endonuclease1, APE1)^[36]和多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase 1, PARP1)脱乙酰化^[37]。TDG能够将T/G错配碱基对的T切除, 从而避免C-T突变。研究发现, SIRT1通过增强TDG糖基化酶活性, 脱乙酰化TDG和抑制TDG基因表达来调节BER途径。乙酰化的TDG对T/G, fC/G和caC/G的糖苷酶活性降低, 但对DU/G的活性相对增强。SIRT1敲除的小鼠胚胎成纤维细胞内TDG表达增强, 乙酰化水平也提高^[35]。这些结果表明, SIRT1可以通过TDG影响BER的效率以及所针对的错配碱基, 但其对BER的影响不是单纯的正性或负性作用, 而是更为复杂的对活性和底物亲和性的调控。除了TDG, APE1同样也受到SIRT1的调控。SIRT1可以去除APE1第6和7位赖氨酸的乙酰化, 虽然去乙酰化不影响APE1的活性, 但是可以促进其与BER途径的另一种酶XRCC1的结合, 从而促进BER活性^[38]。PARP1在BER修复与DSB修复中均发挥作用^[39], 也与SIRT1存在相互联系: SIRT1依赖的去乙酰化阻断其活性并保护细胞免于PARP1介导的细胞死亡^[37]。

(2) SIRT1参与核苷酸切除修复。核苷酸切除修复

是一种重要的DNA修复途径, 可修复大多数DNA损伤, 包括紫外线辐射诱导的嘧啶二聚体和化合物诱导的体积大的加合物。该途径缺陷导致常染色体隐性着色性干皮病(xeroderma pigmentosum, XP)和科克尼综合征(Cockayne syndrome)。研究发现, SIRT1缺失的MEF细胞对紫外线照射比对照MEF细胞更敏感^[29], 患有人类皮肤肿瘤的人群SIRT1水平显著降低^[40], 表明SIRT1可能参与UV诱导的DNA修复。着色性干皮病蛋白C(xeroderma pigmentosum group C, XPC)在GG-NER特异性损伤识别中起重要作用。UVB照射后XPC的表达和染色质募集需要SIRT1。SIRT1通过去乙酰化酶活性依赖的方式增强XPC转录来调控GG-NER, 以保证基因毒应激下的基因组完整性^[40]。着色性干皮病蛋白A(XPA)是NER过程必不可少的核心因子, 研究发现, SIRT1可以通过调节XPA乙酰化状态调节NER^[41]。

(3) SIRT1参与双链断裂修复。SIRT1参与DSB的证据来自于DSB修复相关蛋白WRN, NBS1和Ku70等的去乙酰化。WRN乙酰化降低其解旋酶和外切核酸酶活性, 改变其核仁定位^[42-44]。研究发现, 在DNA损伤后期, WRN与SIRT1的相互作用增强, WRN被SIRT1去乙酰化, 再回到核仁。SIRT1下调会抑制DNA损伤后期WRN从核浆到核仁的迁移^[45]。这些结果表明, SIRT1通过WRN的脱乙酰化调节WRN介导的对DNA损伤的细胞反应。

NBS1蛋白是DSB检测蛋白MRN的一个亚单位, 其磷酸化是MRN检测DSB损伤的重要保证。研究发现,

SIRT1的表达有利于NBS1被ATM磷酸化并进一步招募其他修复因子到损伤位点,这主要是通过SIRT1对NBS1的去乙酰化作用实现的^[46]。一种可能的解释是,NBS1中可能存在乙酰化与磷酸化两种修饰方式的竞争,而SIRT1在维持这一平衡中发挥作用。

Ku70是NHEJ修复途径的核心蛋白,SIRT1能够去乙酰化Ku70,增加NHEJ修复的能力^[47,48]。此外,在神经元细胞中,SIRT1在损伤位点使HDAC1去乙酰化,从而增强HDAC1的酶活性,促进HDAC1活性的动态调节,对于NHEJ修复途径也有重要意义^[34]。

2.2 SIRT6与DNA损伤修复

SIRT6同时具有去乙酰化酶和单-二磷酸腺苷核糖转移酶(ADP-ribosyltransferase)活性。这两种酶活性都是NAD⁺依赖,并且也都在DNA损伤修复调控中具有重要作用^[49]。目前的研究结果显示,SIRT6对DNA损伤修复的作用主要是通过影响DSB修复实现的。但也有研究揭示SIRT6调控碱基切除修复。

(1) SIRT6与碱基切除修复。早在2006年,Raul等人即发现SIRT6缺失的小鼠会出现基因组不稳定,对电离辐射、特异性基因毒素的敏感度增加,而对紫外线的敏感度则变化不大。这些是与BER缺陷相关的特征。这些敏感性可以通过引入聚合酶 β 的片段而恢复。聚合酶 β 是参与“short-patch” BER的主要聚合酶,提示SIRT6参与碱基切除修复的调节,这也是SIRT6参与DNA修复的最早证据^[50]。最近研究发现,SIRT6可能与衰老相关的BER减退有关,过表达SIRT6可以改善成纤维细胞中的BER衰退。通过SIRT6突变体,研究者发现单一酶活性的SIRT6都失去了加强BER的能力,提示去乙酰化酶和单-二磷酸腺苷核糖转移酶两种酶活性都是BER所必需的。SIRT6也能够促进TDG和APE1的作用,并能够与TDG、APE1形成复合物维持基因的完整性^[49]。此外,SIRT6在BER通路中的激活作用还与PARP1有关,SIRT6过表达可提高BER的效率,然而在PARP1敲除的细胞中,则观察不到过表达SIRT6对BER效率的提高,这提示SIRT6对PARP1的调节是其调控BER的重要机制^[51]。

(2) SIRT6与双链断裂修复。SIRT6通过同源重组和非同源末端连接修复途径介导DNA双链断裂的修复。DNA末端切除是同源重组修复的关键步骤。Kaidi等人^[52]研究发现,SIRT6缺失抑制RPA和单链DNA在

DNA损伤位点上的累积,降低同源重组的效率,使细胞对DSB诱导剂敏感。其机制是SIRT6可以使CtIP去乙酰化而激活,促进其结合发生损伤DNA的末端,完成修复起始阶段的5'→3'末端切除,产生3'突出的单链DNA,进一步招募RPA等修复蛋白,从而启动HR修复的进行。另有研究发现,过表达SIRT6后,细胞出现了HR和NHEJ的显著增强,这可能与SIRT6对PARP1的激活作用有关^[53],SIRT6能够与PARP1结合并利用自身的单-二磷酸腺苷核糖转移酶活性对第521位赖氨酸进行催化,从而刺激PARP1多聚-ADP-核糖基酶活性并增强氧化胁迫下的DSB修复^[54]。SIRT6也能通过稳定DNA-PK与DSB位点的结合调节NHEJ修复^[55]。此外,SIRT6还能够通过调节染色体的构型直接促进DSB修复。研究发现,SIRT6在DSB位点的募集在损伤发生早期就能观察到,SIRT6能够将染色质重塑因子SNF2H募集至损伤位点,该分子可以改变染色体的构型,有利于损伤DNA解开螺旋,接受修复^[56]。

2.3 SIRT7与DNA损伤修复

近年来,针对SIRT7的研究日渐增加,作为核仁定位的去乙酰化酶,对许多重要调节细胞稳态的蛋白都具有去乙酰化活性^[57]。近期陆续有SIRT7参与DNA损伤修复和基因组稳定性维持的报道^[58-60]。Kiran等人^[58]首次报道SIRT7可以通过调控p53或者修复DNA损伤来维持基因组的稳定性。SIRT7的过表达可以抑制DNA损伤诱导的SAPK, p38, JNK的激活及 γ -H2AX的表达。当应对更高浓度的损伤时,SIRT7通过减少p53的聚集及p21和p27的表达,最终使凋亡转向衰老。Vazquez等人^[60]的研究发现,SIRT7敲除的小鼠有更高程度的DNA损伤,主要是由于积累的复制压力效应和有缺陷的DNA修复。更重要的是,SIRT7能够通过影响组蛋白H3赖氨酸18乙酰化在DNA双链断裂处的丰度来介导53BP1结合到染色质上,从而促进有效的NHEJ修复。Li等人^[59]报道在损伤发生时,SIRT7以PARP1依赖的方式募集到DSB位点,通过催化组蛋白H3赖氨酸122位去琥珀酰化而影响染色质的紧密程度,参与DSB损伤修复的调控过程。值得注意的是,SIRT7在DSB位点处的募集持续时间较短,几乎紧随损伤因素之后发生,提示SIRT7可能主要在DNA损伤反应的起始阶段发挥作用^[59]。最近,本课题组也发现DNA损伤导致SIRT7的降解与结直肠癌肿瘤化疗的病人预后密切相关。SIRT7

的降解使受放射线损伤的细胞无法修复, 继而死亡. 这会使结直肠癌细胞在5-FU处理后对放射线敏感性增强. 因此, SIRT7的下调可以作为一个潜在的药物靶标在结直肠肿瘤病人的治疗中来增强放化疗的有效性^[61]. SIRT7是否参与其他DNA损伤修复途径值得进一步研究.

2.4 胞浆Sirtuins与DNA损伤修复

除了3个主要核定位成员, 胞浆定位的Sirtuins在DNA损伤修复中也有一定作用.

(1) SIRT2与DNA损伤修复. 最初研究表明, SIRT2在细胞周期进程中起作用, 特别是在有丝分裂期间, 因为SIRT2的表达水平在整个细胞周期中急剧变化^[62]. 最近, 两项研究强调了SIRT2在复制应激和基因组完整性方面的新作用. 复制应激反应(replication stress response, RSR)是保持基因组完整性的DDR信号通路之一. SIRT2可以通过去乙酰化激活CDK9来缓解复制应激^[63]. Vaquero研究组^[64]发现, SIRT2对H4K16Ac的去乙酰化促进了甲基转移酶PR-Set7对H4K20的甲基化, 调节有丝分裂入口. 值得注意的是, SIRT2的缺失促进了皮肤鳞状细胞癌模型中的肿瘤形成^[64], 也表明SIRT2在保护基因组稳定性方面的潜在作用. ATR激酶检查点通路对维持基因组完整性至关重要, 其通过与ssDNA结合而被激活. ssDNA是DSB的重要处理产物, 而修复蛋白A(replication protein A, RPA)能够与之结合使之更为稳定^[65]. 研究发现, SIRT2通过去乙酰化ATR作用蛋白(ATR-interacting protein, ATRIP)促进其在DNA损伤位点的积累并结合复制蛋白A包被的单链DNA(RPA-ssDNA), 从而促进复制应激恢复^[66]. 这表明SIRT2主要作为DDR的监管者发挥作用. 但SIRT2对DNA损伤修复, 尤其是DSB修复的具体作用还有待进一步研究.

(2) 线粒体Sirtuins与DNA损伤修复. SIRT3, SIRT4与SIRT5主要存在于线粒体^[67,68], 与细胞代谢密切相关. SIRT3有两种存在形式, 一种是44kD的全长蛋白, 另一种为28kD. 44kD的SIRT3受到外界刺激进入线粒体后, 会被基质处理肽酶(matrix processing peptidase, MPP)处理, 切除N端的142个氨基酸^[44]. 研究发现, 这两种存在形式都能在一定程度上在细胞核中检测到, 但线粒体中SIRT3仅以28kD的形式存在, 且目前发现

SIRT3主要的DNA损伤修复相关活性定位于线粒体. 8-氧鸟嘌呤-DNA糖苷酶1(8-oxoguanine-DNA glycosylase 1, OGG1)是一种DNA修复酶, 它能切除受损线粒体DNA中的8-氧鸟嘌呤(8-oxoG). 多项研究发现, OGG1是SIRT3的一个靶标, 去乙酰化OGG1能抑制其降解并调节其剪切活性, 这一作用对线粒体DNA的损伤修复具有重要意义^[69]. 另也有证据表明, SIRT3能够结合Ku70并对其去乙酰化, 提示其对NHEJ双链断裂修复机制也有作用^[70].

目前, 针对SIRT4和SIRT5与DNA损伤修复关系的研究还相对较少, 尚没有证据表明它们能够影响线粒体或核基因的损伤修复能力, 这也为进一步研究提供了空间.

3 总结与展望

通过改变核酸与蛋白间的作用、改变蛋白的活性和分布以及与其他翻译后修饰方式的相互作用, Sirtuins调节着DNA损伤应答、修复和不同修复机制间的平衡关系(图4).

SIRT1是目前Sirtuins家族中研究最深入的成员, 其所具备的去乙酰化活性, 能够作用于p53, FOXO等DNA损伤应答的因子, 同时也能通过修饰APE1, XPA等在不同修复机制中发挥重要作用的蛋白, 此外还可以调节HDAC1及APE1等的乙酰化程度, 间接影响修复效率. 目前发现SIRT6具备去乙酰化和ADP-核糖基转移的双重酶活性, 通过这两种酶活性, SIRT6能够提高某些DNA修复相关因子的活性或促进其与损伤DNA的稳定结合, 是DNA损伤修复过程的重要调节因子. SIRT7也具备除去乙酰化以外的酶活性, 其双重酶活性均是SIRT7通过p53, SAPK等调控DNA损伤应答和修复的重要保证. 对于SIRT2与DNA损伤修复的联系目前还知之甚少, 但相关研究已经证实其对于细胞应激恢复具有重要作用. 而SIRT3作为线粒体定位酶, 则通过其去乙酰化活性, 成为线粒体DNA修复的重要调控因子.

研究Sirtuins与DNA损伤修复的关系对于癌症的诊断、治疗以及多种疾病的机制研究都具有重要意义. 在已知的DNA损伤修复方式中, 切除修复与双链断裂修复与Sirtuins的关系最为密切. 对于其他Sirtuins是否参与其他修复机制还有许多尚不清晰的地方, 需要进一步的探索研究.

图4 Sirtuins在DNA损伤应答及修复中的作用(网络版彩图)

参考文献

- 1 Takagi M. DNA damage response and hematological malignancy. *Int J Hematol*, 2017, 9: 1–12
- 2 Garinis G A, van der Horst G T J, Vijg J, et al. DNA damage and ageing: new-age ideas for an age-old problem. *Nat Cell Biol*, 2008, 10: 1241–1247
- 3 Al-Ejeh F, Kumar R, Wiegman A, et al. Harnessing the complexity of DNA-damage response pathways to improve cancer treatment outcomes. *Oncogene*, 2010, 29: 6085–6098
- 4 Dianov G L, Hübscher U. Mammalian base excision repair: the forgotten archangel. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41: 3483–3490
- 5 Krokan H E, Bjørås M. Base excision repair. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5: a012583–a012583
- 6 Dianov G L, Thybo T, Dianova I I, et al. Single nucleotide patch base excision repair is the major pathway for removal of thymine glycol from DNA in human cell extracts. *J Biol Chem*, 2000, 275: 11809–11813
- 7 Svilar D, Goellner E M, Almeida K H, et al. Base excision repair and lesion-dependent subpathways for repair of oxidative DNA damage. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14: 2491–2507
- 8 Spivak G. Nucleotide excision repair in humans. *DNA Repair*, 2015, 36: 13–18
- 9 Lee Y C, Cai Y, Mu H, et al. The relationships between XPC binding to conformationally diverse DNA adducts and their excision by the human NER system: is there a correlation? *DNA Repair*, 2014, 19: 55–63
- 10 Beerens N, Hoeijmakers J H J, Kanaar R, et al. The CSB protein actively wraps DNA. *J Biol Chem*, 2005, 280: 4722–4729

- 11 Brooks P J. Blinded by the UV light: how the focus on transcription-coupled NER has distracted from understanding the mechanisms of Cockayne syndrome neurologic disease. *DNA Repair*, 2013, 12: 656–671
- 12 Mathieu N, Kaczmarek N, Rüthemann P, et al. DNA quality control by a lesion sensor pocket of the xeroderma pigmentosum group D helicase subunit of TFIIH. *Curr Biol*, 2013, 23: 204–212
- 13 Zhu Z, Chung W H, Shim E Y, et al. Sgs1 helicase and two nucleases Dna2 and Exo1 resect DNA double-strand break ends. *Cell*, 2008, 134: 981–994
- 14 Symington L S, Gautier J. Double-strand break end resection and repair pathway choice. *Annu Rev Genet*, 2011, 45: 247–271
- 15 Smiraldi P G, Gruver A M, Osborn J C, et al. Extensive chromosomal instability in Rad51d-deficient mouse cells. *Cancer Res*, 2005, 65: 2089–2096
- 16 Lieber M R. The mechanism of human nonhomologous DNA end joining. *J Biol Chem*, 2008, 283: 1–5
- 17 Ma Y, Pannicke U, Schwarz K, et al. Hairpin opening and overhang processing by an Artemis/DNA-dependent protein kinase complex in non-homologous end joining and V(D)J recombination. *Cell*, 2002, 108: 781–794
- 18 Ma Y, Lu H, Tiffin B, et al. A biochemically defined system for mammalian nonhomologous DNA end joining. *Mol Cell*, 2004, 16: 701–713
- 19 Lieber M R. NHEJ and its backup pathways in chromosomal translocations. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17: 393–395
- 20 Jasin M, Rothstein R. Repair of strand breaks by homologous recombination. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5: a012740–a012740
- 21 Choudhary C, Kumar C, Gnad F, et al. Lysine acetylation targets protein complexes and co-regulates major cellular functions. *Science*, 2009, 325: 834–840
- 22 Frye R A. Phylogenetic classification of prokaryotic and eukaryotic Sir2-like proteins. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 273: 793–798
- 23 Imai S. From heterochromatin islands to the NAD world: a hierarchical view of aging through the functions of mammalian Sirt1 and systemic NAD biosynthesis. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790: 997–1004
- 24 Michishita E, Park J Y, Burneskis J M, et al. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Mol Biol Cell*, 2005, 16: 4623–4635
- 25 Chalkiadaki A, Guarente L. The multifaceted functions of sirtuins in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2015, 15: 608–624
- 26 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
- 27 Deng C X. SIRT1, is it a tumor promoter or tumor suppressor? *Int J Biol Sci*, 2009, 5: 147–152
- 28 Wang C, Chen L, Hou X, et al. Interactions between E2F1 and SirT1 regulate apoptotic response to DNA damage. *Nat Cell Biol*, 2006, 8: 1025–1031
- 29 Wang R H, Sengupta K, Li C, et al. Impaired DNA damage response, genome instability, and tumorigenesis in SIRT1 mutant mice. *Cancer Cell*, 2008, 14: 312–323
- 30 Luo J, Nikolaev A Y, Imai S, et al. Negative control of p53 by Sir2 α promotes cell survival under stress. *Cell*, 2001, 107: 137–148
- 31 Brunet A, Sweeney L B, Fitzhugh Sturgill J, et al. Stress-dependent regulation of FOXO transcription factors by the SIRT1 deacetylase. *Science*, 2004, 303: 2011–2015
- 32 Tamburini B A, Tyler J K. Localized histone acetylation and deacetylation triggered by the homologous recombination pathway of double-strand DNA repair. *Mol Cell Biol*, 2005, 25: 4903–4913
- 33 Oberdoerffer P, Michan S, McVay M, et al. SIRT1 redistribution on chromatin promotes genomic stability but alters gene expression during aging. *Cell*, 2008, 135: 907–918
- 34 Dobbin M M, Madabhushi R, Pan L, et al. SIRT1 collaborates with ATM and HDAC1 to maintain genomic stability in neurons. *Nat Neurosci*, 2013, 16: 1008–1015
- 35 Madabhushi A, Hwang B J, Jin J, et al. Histone deacetylase SIRT1 modulates and deacetylates DNA base excision repair enzyme thymine DNA glycosylase. *Biochem J*, 2013, 456: 89–98
- 36 Tell G, Quadrioglio F, Tiribelli C, et al. The many functions of APE1/Ref-1: not only a DNA repair enzyme. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11: 601–619
- 37 Rajamohan S B, Pillai V B, Gupta M, et al. SIRT1 promotes cell survival under stress by deacetylation-dependent deactivation of poly(ADP-Ribose) polymerase 1. *Mol Cell Biol*, 2009, 29: 4116–4129
- 38 Yamamori T, DeRicco J, Naqvi A, et al. SIRT1 deacetylates APE1 and regulates cellular base excision repair. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38: 832–845
- 39 Woodhouse B C, Dianov G L. Poly ADP-ribose polymerase-1: an international molecule of mystery. *DNA Repair*, 2008, 7: 1077–1086
- 40 Ming M, Shea C R, Guo X, et al. Regulation of global genome nucleotide excision repair by SIRT1 through xeroderma pigmentosum C. *Proc*

- Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 22623–22628
- 41 Fan W, Luo J. SIRT1 regulates UV-induced DNA repair through deacetylating XPA. *Mol Cell*, 2010, 39: 247–258
- 42 Marciniak R A, Lombard D B, Johnson F B, et al. Nucleolar localization of the Werner syndrome protein in human cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 6887–6892
- 43 Blander G, Zalle N, Daniely Y, et al. DNA damage-induced translocation of the werner helicase is regulated by acetylation. *J Biol Chem*, 2002, 277: 50934–50940
- 44 Karmakar P, Bohr V A. Cellular dynamics and modulation of WRN protein is DNA damage specific. *Mech Ageing Dev*, 2005, 126: 1146–1158
- 45 Li K, Casta A, Wang R, et al. Regulation of WRN protein cellular localization and enzymatic activities by SIRT1-mediated deacetylation. *J Biol Chem*, 2008, 283: 7590–7598
- 46 Yuan Z, Zhang X, Sengupta N, et al. SIRT1 regulates the function of the nijmegen breakage syndrome protein. *Mol Cell*, 2007, 27: 149–162
- 47 Jeong J, Juhn K, Lee H, et al. SIRT1 promotes DNA repair activity and deacetylation of Ku70. *Exp Mol Med*, 2007, 39: 8–13
- 48 Zhang W, Wu H, Yang M, et al. SIRT1 inhibition impairs non-homologous end joining DNA damage repair by increasing Ku70 acetylation in chronic myeloid leukemia cells. *Oncotarget*, 2016, 7: 13538–13550
- 49 Hwang B J, Jin J, Gao Y, et al. SIRT6 protein deacetylase interacts with MYH DNA glycosylase, APE1 endonuclease, and Rad9-Rad1-Hus1 checkpoint clamp. *BMC Mol Biol*, 2015, 16: 12
- 50 Mostoslavsky R, Chua K F, Lombard D B, et al. Genomic instability and aging-like phenotype in the absence of mammalian SIRT6. *Cell*, 2006, 124: 315–329
- 51 Xu Z, Zhang L, Zhang W, et al. SIRT6 rescues the age related decline in base excision repair in a PARP1-dependent manner. *Cell Cycle*, 2015, 14: 269–276
- 52 Kaidi A, Weinert B T, Choudhary C, et al. Human SIRT6 promotes DNA end resection through CtIP deacetylation. *Science*, 2010, 329: 1348–1353
- 53 Mao Z, Tian X, Van Meter M, et al. Sirtuin 6 (SIRT6) rescues the decline of homologous recombination repair during replicative senescence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 11800–11805
- 54 Mao Z, Hine C, Tian X, et al. SIRT6 promotes DNA repair under stress by activating PARP1. *Science*, 2011, 332: 1443–1446
- 55 McCord R A, Michishita E, Hong T, et al. SIRT6 stabilizes DNA-dependent protein kinase at chromatin for DNA double-strand break repair. *Aging*, 2009, 1: 109–121
- 56 Toiber D, Erdel F, Bouazoune K, et al. SIRT6 recruits SNF2H to DNA break sites, preventing genomic instability through chromatin remodeling. *Mol Cell*, 2013, 51: 454–468
- 57 Kiran S, Anwar T, Kiran M, et al. Sirtuin 7 in cell proliferation, stress and disease: rise of the seventh Sirtuin! *Cell Signal*, 2015, 27: 673–682
- 58 Kiran S, Oddi V, Ramakrishna G. Sirtuin 7 promotes cellular survival following genomic stress by attenuation of DNA damage, SAPK activation and p53 response. *Exp Cell Res*, 2015, 331: 123–141
- 59 Li L, Shi L, Yang S, et al. SIRT7 is a histone desuccinylase that functionally links to chromatin compaction and genome stability. *Nat Commun*, 2016, 7: 12235
- 60 Vazquez B N, Thackray J K, Simonet N G, et al. SIRT7 promotes genome integrity and modulates non-homologous end joining DNA repair. *EMBO J*, 2016, 35: 1488–1503
- 61 Tang M, Lu X, Zhang C, et al. Downregulation of SIRT7 by 5-fluorouracil induces radiosensitivity in human colorectal cancer. *Theranostics*, 2017, 7: 1346–1359
- 62 Dryden S C, Nahhas F A, Nowak J E, et al. Role for human SIRT2 NAD-dependent deacetylase activity in control of mitotic exit in the cell cycle. *Mol Cell Biol*, 2003, 23: 3173–3185
- 63 Zhang H, Park S H, Pantazides B G, et al. SIRT2 directs the replication stress response through CDK9 deacetylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 13546–13551
- 64 Serrano L, Martínez-Redondo P, Marazuela-Duque A, et al. The tumor suppressor SirT2 regulates cell cycle progression and genome stability by modulating the mitotic deposition of H4K20 methylation. *Gene Dev*, 2013, 27: 639–653
- 65 Costanzo V, Shechter D, Lupardus P J, et al. An ATR- and Cdc7-dependent DNA damage checkpoint that inhibits initiation of DNA replication. *Mol Cell*, 2003, 11: 203–213
- 66 Zhang H, Head P S E, Daddacha W, et al. ATRIP deacetylation by SIRT2 drives ATR checkpoint activation by promoting binding to RPA-ssDNA. *Cell Rep*, 2016, 14: 1435–1447
- 67 Onyango P, Celic I, McCaffery J M, et al. SIRT3, a human SIR2 homologue, is an NAD-dependent deacetylase localized to mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 13653–13658

- 68 Osborne B, Bentley N L, Montgomery M K, et al. The role of mitochondrial sirtuins in health and disease. *Free Radical Biol Med*, 2016, 100: 164–174
- 69 Bo H, Kang W, Jiang N, et al. Exercise-induced neuroprotection of hippocampus in APP/PS1 transgenic mice via upregulation of mitochondrial 8-oxoguanine DNA glycosylase. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 1–14
- 70 Sundaresan N R, Samant S A, Pillai V B, et al. SIRT3 is a stress-responsive deacetylase in cardiomyocytes that protects cells from stress-mediated cell death by deacetylation of Ku70. *Mol Cell Biol*, 2008, 28: 6384–6401

Research progress of Sirtuins in DNA damage repair

GUO Wei, LIU QinXian, TANG Ming, ZHU Wei-Guo & WANG HaiYing

Department of Biochemistry and Molecular Biology, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

Sirtuins, a NAD⁺-dependent Class III histone deacetylases in mammals, which regulates the acetylation of multiple proteins and plays a key role in diverse cellular processes including energy metabolism, growth, senescence and DNA damage repair. Recent studies have revealed that Sirtuins is involved in DNA damage repair through a variety of mechanisms. The present review mainly outlines current advances of Sirtuins in DNA damage repair, aiming to provide theoretical guidance for Sirtuins' research.

Sirtuins, histone deacetylase, DNA damage and repair

doi: [10.1360/N052016-00332](https://doi.org/10.1360/N052016-00332)