

基础研究

• 综述 •

SIRT3 与胰岛素抵抗

冯静 魏亚聪 刘超 宋光耀

【摘要】 沉默信息调节因子(SIRT)3 是哺乳动物类 NAD⁺ 依赖性组蛋白去乙酰化酶家族中的一员。研究表明,SIRT3 可以改善胰岛素抵抗、增加胰岛素敏感性。其通过保护胰岛 β 细胞、促进骨骼肌葡萄糖摄取、调节骨骼肌代谢、减轻氧化应激、抵抗高糖诱导的细胞毒性等途径发挥作用。SIRT3 为治疗 2 型糖尿病、肥胖、线粒体功能障碍等疾病带来了新的研究方向。

【关键词】 SIRT3;胰岛素抵抗;糖尿病;线粒体

SIRT3 and insulin resistance Feng Jing, Wei Yacong, Liu Chao, Song Guangyao. * Department of Endocrinology, Hebei Province People's Hospital, Shijiazhuang 050051, China

Corresponding author: Song Guangyao, Email: sguangyao2@163.com

【Abstract】 Sirtuin 3 (SIRT3) is a member of Sirtuins family and a kind of NAD⁺-dependent deacetylase. Studies show that SIRT3 plays an important role in improving insulin resistance, increasing insulin sensitivity. SIRT3 can protect pancreatic β cells, facilitate glucose uptake, regulate metabolic flexibility in skeletal muscle, reduce oxidative stress and protects cells from high glucose-induced cytotoxicity. SIRT3 could be a promising target for treating diabetes, obesity and some mitochondrial dysfunctional diseases.

【Key words】 SIRT3; Insulin resistance; Diabetes mellitus; Mitochondria

沉默信息调节因子(SIRT)蛋白家族是NAD⁺依赖的去乙酰化蛋白,能够水解异常的化学反应基团、去乙酰化赖氨酸残基,释放乙酰化底物,参与细胞代谢和氧化应激等反应。其中,SIRT3在线粒体氧化、能量代谢、细胞凋亡等活动中发挥重要作用。本文综述了SIRT3通过保护胰岛 β 细胞、促进骨骼肌葡萄糖摄取等多种机制,调节线粒体三羧酸循环、脂肪酸氧化等代谢过程,从而增加胰岛素敏感性。由此可见,SIRT3对于维持线粒体的正常代谢活动、抵抗细胞凋亡非常重要,这为改善胰岛素抵抗及治疗糖尿病等相关代谢疾病的研究提供了新靶点。

1 SIRT3 概述

哺乳动物的 SIRT 家族由 7 种去乙酰化蛋白组成,其中SIRT3是线粒体中最主要的去乙酰化酶,参与调节细胞内的多种代谢过程^[1]。SIRT3有两种表达形式:长链形式(SIRT3LF)在细胞核编码,相对分

子质量约为 45 000;SIRT3LF转运至线粒体,N 端被剪接成相对分子质量约为 28 000 具有酶活性的蛋白,即短链形式(SIRT3SF)^[2]。SIRT3作用广泛,一方面具有去乙酰化作用,调节一些线粒体靶基因如乙酰辅酶 A 合酶 2、谷氨酸脱氢酶的表达及活性,调节能量代谢、ATP合成等过程;另一方面与肝脏脂质代谢、衰老等有一定关系^[3]。这些酶的活性受 NAD⁺/NADH 比值的调控,高水平的 NAD⁺ 增加 SIRT3 活性,而高水平的 NADH 抑制 SIRT3 活性^[4]。最近越来越多的研究表明,SIRT3 可以改善胰岛素抵抗。

2 SIRT3 改善胰岛素抵抗的机制

2.1 保护胰岛 β 细胞 研究发现,从 2 型糖尿病患者中分离出的胰岛细胞 SIRT3 表达水平降低;采用 siRNA 技术转染小鼠胰岛 β 细胞后,SIRT3 表达水平明显降低,胰岛素分泌减少, β 细胞凋亡增加^[5]。由此推测,SIRT3 对胰岛 β 细胞具有保护作用。

研究证实,SIRT3LF、SIRT3SF 过表达均能够改善棕榈酸诱导的胰岛 β 细胞功能受损、增加细胞活性,抑制丝裂原活化蛋白激酶信号通路,从而改善胰

胰岛素抵抗。长期暴露于低浓度的棕榈酸环境下,会抑制葡萄糖刺激 β 细胞分泌胰岛素的能力,过表达 SIRT3LF、SIRT3SF 可以改善上述作用。在棕榈酸作用下,活性转录因子 4、葡萄糖调节蛋白 94、肽基脯氨酰顺反异构酶等内质网应激反应元件的基因表达水平增加, SIRT3LF、SIRT3SF 过表达后可抑制上述基因表达水平的增加^[6]。这一结果表明, SIRT3 过表达能够抑制棕榈酸诱导的内质网应激。不论是 SIRT3LF 还是 SIRT3SF 过表达都能够缓解棕榈酸诱导的 β 细胞功能受损及凋亡。由于这两种物质在细胞内的定位不同,它们可能通过不同的机制来影响 β 细胞功能。

2.2 促进骨骼肌葡萄糖摄取 有研究首次通过高胰岛素-正葡萄糖钳夹实验发现,与野生型小鼠相比,给予 SIRT3 基因敲除 (SIRT3 KO) 小鼠高脂饮食后,其血糖、胰岛素水平显著升高,并且葡萄糖输注速率显著下降,表现为胰岛素抵抗,进一步研究发现,上述表现主要与骨骼肌葡萄糖摄取能力受损有关^[7]。对高脂饮食喂养的 SIRT3 KO 小鼠进行骨骼肌组织活检,然后采用高分辨率呼吸运动计量法分析,可以观察到脂肪酸氧化呼吸链活性增强,而已糖激酶 II (HK II) 的活性下降。这些结果表明,高脂饮食喂养的 SIRT3 KO 小鼠骨骼肌对葡萄糖的摄取能力下降。

一方面,线粒体功能与骨骼肌葡萄糖摄取密切相关。另一方面, HK II 活性是调节骨骼肌葡萄糖摄取能力的关键因素^[8]。研究表明, HK II 活性下降 50% 足以导致骨骼肌葡萄糖摄取受损^[9]。所以推测 HK II 与线粒体结合能力受损导致了 SIRT3 KO 小鼠骨骼肌的上述表现。HK II 活性受与之结合的线粒体外膜上的电压依赖性阴离子通道 (VDAC, 也叫线粒体穿孔蛋白) 的调节^[10]。VDAC 本身与线粒体内膜的腺苷酸转运体 (ANT) 结合,形成线粒体通透转换孔 (mPTP)^[11]。HK II 与 mPTP 结合增加了 HK II 活性,在 mPTP 形成的浓度梯度作用下,将葡萄糖转运至细胞,促进糖酵解途径。在高脂饮食喂养的 SIRT3 KO 小鼠骨骼肌内,发现不仅 HK II 与 mPTP 分离、HK II 活性下降;而且 VDAC 与 ANT 也是解离的,这表明 mPTP 处于关闭状态,从而使糖酵解速率下降。此外,研究还发现, SIRT3 基因敲除后,小鼠的

能量供应也发生了改变,基于葡萄糖的呼吸作用下降,而基于脂肪酸的呼吸作用增强^[7]。由此推测, SIRT3 KO 小鼠骨骼肌葡萄糖摄取显著下降,使得线粒体更多的依靠脂肪酸获取能量,提示细胞发生从以葡萄糖为能源向以脂肪酸为能源的转变。这与高脂饮食喂养 SIRT3 KO 小鼠骨骼肌内甘油三酯水平下降这一结果一致。然而,尽管存在这一代偿机制,整体的氧耗量仍然是降低的, ATP 合成减少^[12]。另外,该研究还发现,尽管普通饮食喂养的 SIRT3 KO 小鼠骨骼肌线粒体蛋白乙酰化水平增加,但并不会出现明显的代谢功能紊乱,提示 SIRT3 可能在瘦小鼠骨骼肌胰岛素信号通路中的作用不是很显著,然而在营养过剩情况下, SIRT3 对于降低小鼠线粒体蛋白乙酰化水平是非常重要的。

可见, SIRT3 在线粒体蛋白中处于主要地位,当其被激活后,可以通过促进骨骼肌摄取葡萄糖、增强线粒体呼吸,有效改善胰岛素抵抗。因此,以 SIRT3 为靶点可能为以后治疗 2 型糖尿病及胰岛素抵抗提供方向。

2.3 调节骨骼肌代谢 骨骼肌是参与氧化的主要组织。正常情况下,葡萄糖氧化与脂肪酸氧化之间能够根据机体的需要实现自由转变。当胰岛素抵抗存在时,机体在胰岛素刺激下,脂肪酸氧化向碳水化合物氧化转变的功能受损。骨骼肌是维持正常能量代谢及生理功能的重要场所。在进食状态下,骨骼肌的主要能量来源是胰岛素作用下的葡萄糖代谢;在禁食、饥饿状态下,骨骼肌的能量供应则由葡萄糖转变为脂肪酸氧化^[13]。但是 2 型糖尿病及肥胖患者能量代谢受损,表现为空腹脂代谢水平下降,餐后糖代谢氧化能力下降,运动过程中脂质氧化能力受损^[14]。

丙酮酸脱氢酶 (PDH) E1 α 亚基是 SIRT3 去乙酰化的靶点之一。PDH E1 α 亚基是催化丙酮酸氧化脱羧生成乙酰 CoA 系列反应中的第一个酶,其催化的反应是整个 PDH 复合物催化反应中的限速步骤,是连接糖酵解与三羧酸循环和氧化磷酸化的关键环节。体内、外研究均证实, SIRT3 表达水平下降可导致 PDH E1 α 亚基的高度乙酰化,骨骼肌线粒体不能彻底氧化葡萄糖,导致乳酸生成、脂肪酸氧化增加,最终使 PDH 活性受抑制,代谢受损^[15]。综上所述, SIRT3 可以通过去乙酰化作用调节 PDH 功能,在骨

骨骼肌代谢方面发挥重要作用。

2.4 减轻氧化应激反应 SIRT3能够降低细胞内活性氧簇水平。研究发现,与野生型小鼠相比,SIRT3 KO小鼠线粒体功能受损、活性氧簇生成过多^[8]。线粒体是产生活性氧簇的主要场所。当活性氧簇水平产生过多或者活性氧簇清除系统受损,就会出现氧化应激,从而激活丝氨酸/苏氨酸激酶如蛋白激酶 C、核糖体 S6 蛋白激酶、c-Jun氨基末端激酶,进一步作用于胰岛素受体及胰岛素受体底物,使受体及底物丝氨酸/苏氨酸残基磷酸化水平增加,酪氨酸残基磷酸化水平下降,磷脂酰肌醇 3 激酶、蛋白激酶 B 活化水平下降,最终导致胰岛素抵抗。这说明SIRT3参与调节线粒体氧化、活性氧簇产生等过程,在糖尿病等疾病的发病过程中发挥重要作用。在胰岛素分泌不足的糖尿病小鼠骨骼肌内 SIRT3 表达水平显著下降^[16]。骨骼肌是胰岛素作用的主要靶器官之一,在维持糖、脂代谢平衡中发挥关键作用。糖尿病及胰岛素抵抗个体可以观察到骨骼肌线粒体数量及氧化磷酸化水平改变^[17]。线粒体功能障碍可导致氧化应激,最终造成骨骼肌胰岛素抵抗。而SIRT3可通过调节线粒体活性氧簇水平来改善骨骼肌胰岛素敏感性。

与上述研究结果一致,C2C12肌细胞过表达SIRT3后,细胞内活性氧簇水平降低^[18]。研究发现,过氧化物酶体增殖物活化受体 γ 协同刺激因子-1 α (PGC-1 α)显著增加小鼠骨骼肌细胞、肝细胞中SIRT3 mRNA和蛋白的表达水平,通过shRNA降低PGC-1 α 水平之后SIRT3 mRNA的水平也随之下降;降低SIRT3水平,细胞内活性氧簇水平增加,阻断了PGC-1 α 对活性氧簇的抑制作用。由此推测,SIRT3是PGC-1 α 的一个下游靶点,参与PGC-1 α 对活性氧簇生成及线粒体生物合成的调节作用。故SIRT3在降低细胞内活性氧簇水平方面发挥重要作用。

总之,糖尿病和肥胖状态下骨骼肌内低水平的SIRT3在2型糖尿病的发生、发展中起着非常重要的作用。低水平的SIRT3导致线粒体功能受损、活性氧簇生成过多、氧化应激出现,最终导致胰岛素抵抗。增强SIRT3活性或者促进SIRT3表达的物质可能具有预防糖尿病的作用。

2.5 抵抗高糖诱导的细胞毒性 研究表明,SIRT3

可以抵抗高糖诱导的细胞毒性,从而发挥保护内皮细胞的作用。与SIRT3高表达的细胞相比,SIRT3低表达的内皮细胞在高糖刺激下细胞的活力下降。此外,降低SIRT3表达可以增强高糖对内皮细胞的增生抑制及促进凋亡作用^[19]。这说明SIRT3表达下降会增强高糖诱导的内皮细胞的氧化应激水平。给予活性氧簇抑制剂后,细胞内活性氧簇水平下降,因SIRT3表达水平低下所导致的细胞凋亡作用受抑制,表明SIRT3对高糖作用下的内皮细胞的保护可能是通过减少细胞内活性氧簇水平实现的。

内皮细胞功能受损与长期暴露于高糖、活性氧簇等各种应激环境有关。由于线粒体处于细胞内各种代谢的中心环节,线粒体形态及功能改变均会导致内皮功能受损,所以SIRT3很可能在糖尿病内皮功能调节中发挥重要作用^[20]。研究表明,糖尿病患者SIRT3表达水平下降,SIRT3受抑制后导致超氧化物歧化酶(SOD)2乙酰化水平增加,SOD2活性下降,从而增加高糖诱导的内皮细胞内氧化应激水平^[21]。与上述研究结果一致的是,SIRT3表达缺失后显著增加高糖刺激下内皮细胞内SOD2的乙酰化水平,使SOD2活性下降。SIRT3通过调节SOD2的去乙酰化作用,发挥对抗高糖诱导的氧化应激作用。

2.6 与SIRT1之间存在一定联系 细胞外长期高糖刺激会造成线粒体功能失调,后者会加速器官功能受损进程^[22]。SIRT1是SIRT家族中的一员,参与糖代谢、胰岛素分泌等过程。研究表明,SIRT1过表达之后能够改善高果糖诱导的骨骼肌胰岛素抵抗。进一步研究证实,SIRT1能够显著增加SIRT3表达水平,恢复线粒体复合体1活性,降低氧化应激水平、改善线粒体功能。另外用siRNA干扰SIRT3表达水平,SIRT1诱导的线粒体活性增加也会随之被阻断^[23]。这些研究结果表明,SIRT3与SIRT1之间存在一定关联,能够通过SIRT1/SIRT3-线粒体复合体1缓解线粒体功能受损,进而改善胰岛素敏感性。

3 小结与展望

越来越多的研究表明,SIRT3与糖尿病之间存在紧密联系。SIRT3可以通过保护胰岛 β 细胞,促进骨骼肌葡萄糖摄取、调节骨骼肌代谢,降低细胞内活性氧簇水平,改善氧化应激等途径改善胰岛素敏感性,减轻胰岛素抵抗。高脂饮食会降低SIRT3表达

水平,从治疗的角度出发,组织特异性过表达SIRT3之后是否足以抵抗饮食诱导的胰岛素抵抗,仍需更多的研究来证实。寻求增加SIRT3活性的办法,尤其是增加肥胖、糖尿病患者骨骼肌内SIRT3活性的办法,可能成为今后治疗糖尿病的方向之一。

参 考 文 献

- [1] Sheng S, Kang Y, Guo Y, et al. Overexpression of Sirt3 inhibits lipid accumulation in macrophages through mitochondrial IDH2 deacetylation[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(8): 9196-9201.
- [2] Jin L, Galonek H, Israelian K, et al. Biochemical characterization, localization, and tissue distribution of the longer form of mouse SIRT3[J]. *Protein Sci*, 2009, 18(3): 514-525. DOI: 10.1002/pro. 50.
- [3] Hirschey MD, Shimazu T, Goetzman E, et al. SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation[J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 121-125. DOI: 10.1038/nature08778.
- [4] Haigis MC, Guarente LP. Mammalian sirtuins--emerging roles in physiology, aging, and calorie restriction[J]. *Genes Dev*, 2006, 20(21): 2913-2921. DOI: 10.1101/gad.1467506.
- [5] Caton PW, Richardson SJ, Kieswich J, et al. Sirtuin 3 regulates mouse pancreatic beta cell function and is suppressed in pancreatic islets isolated from human type 2 diabetic patients[J]. *Diabetologia*, 2013, 56(5): 1068-1077. DOI: 10.1007/s00125-013-2851-y.
- [6] Kim M, Lee JS, Oh JE, et al. SIRT3 overexpression attenuates palmitate-induced pancreatic β -cell dysfunction[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0124744. DOI: 10.1371/journal.pone.0124744.
- [7] Lantier L, Williams AS, Williams IM, et al. SIRT3 is crucial for maintaining skeletal muscle insulin action and protects against severe insulin resistance in high-fat-fed mice[J]. *Diabetes*, 2015, 64(9): 3081-3092. DOI: 10.2337/db14-1810.
- [8] Jing E, Emanuelli B, Hirschey MD, et al. Sirtuin-3 (Sirt3) regulates skeletal muscle metabolism and insulin signaling via altered mitochondrial oxidation and reactive oxygen species production[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(35): 14608-14613. DOI: 10.1073/pnas.1111308108.
- [9] Smeele KM, Eerbeek O, Koeman A, et al. Partial hexokinase II knockout results in acute ischemia-reperfusion damage in skeletal muscle of male, but not female, mice[J]. *Pflugers Arch*, 2010, 459(5): 705-712. DOI: 10.1007/s00424-010-0787-3.
- [10] Southworth R. Hexokinase-mitochondrial interaction in cardiac tissue: implications for cardiac glucose uptake, the 18FDG lumped constant and cardiac protection[J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2009, 41(2): 187-193. DOI: 10.1007/s10863-009-9207-9.
- [11] Pastorino JG, Hoek JB. Regulation of hexokinase binding to VDAC[J]. *J Bioenerg Biomembr*, 2008, 40(3): 171-182. DOI: 10.1007/s10863-008-9148-8.
- [12] Vassilopoulos A, Pennington JD, Andresson T, et al. SIRT3 deacetylates ATP synthase F1 complex proteins in response to nutrient- and exercise-induced stress[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(4): 551-564. DOI: 10.1089/ars.2013.5420.
- [13] Satoh T. Molecular mechanisms for the regulation of insulin-stimulated glucose uptake by small guanosine triphosphatases in skeletal muscle and adipocytes[J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(10): 18677-18692. DOI: 10.3390/ijms151018677.
- [14] Befroy DE, Petersen KF, Dufour S, et al. Impaired mitochondrial substrate oxidation in muscle of insulin-resistant offspring of type 2 diabetic patients[J]. *Diabetes*, 2007, 56(5): 1376-1381. DOI: 10.2337/db06-0783.
- [15] Jing E, O'Neill BT, Rardin MJ, et al. Sirt3 regulates metabolic flexibility of skeletal muscle through reversible enzymatic deacetylation[J]. *Diabetes*, 2013, 62(10): 3404-3417. DOI: 10.2337/db12-1650.
- [16] Lombard DB, Alt FW, Cheng HL, et al. Mammalian Sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation[J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(24): 8807-8814. DOI: 10.1128/MCB.01636-07.
- [17] Chen Y, Zhang J, Lin Y, et al. Tumour suppressor SIRT3 deacetylates and activates manganese superoxide dismutase to scavenge ROS[J]. *EMBO Rep*, 2011, 12(6): 534-541. DOI: 10.1038/embor.2011.65.
- [18] Kong X, Wang R, Xue Y, et al. Sirtuin 3, a new target of PGC-1 α , plays an important role in the suppression of ROS and mitochondrial biogenesis[J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11707. DOI: 10.1371/journal.pone.0011707.
- [19] Liu G, Cao M, Xu Y, et al. SIRT3 protects endothelial cells from high glucose-induced cytotoxicity[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(1): 353-360.
- [20] Xie Z, Zhang J, Wu J, et al. Upregulation of mitochondrial uncoupling protein-2 by the AMP-activated protein kinase in endothelial cells attenuates oxidative stress in diabetes[J]. *Diabetes*, 2008, 57(12): 3222-3230. DOI: 10.2337/db08-0610.
- [21] Qiu X, Brown K, Hirschey MD, et al. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation[J]. *Cell Metab*, 2010, 12(6): 662-667. DOI: 10.1016/j.cmet.2010.11.015.
- [22] Martin SD, McGee SL. The role of mitochondria in the aetiology of insulin resistance and type 2 diabetes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(4): 1303-1312. DOI: 10.1016/j.bbagen.2013.09.019.
- [23] Zhang HH, Ma XJ, Wu LN, et al. SIRT1 attenuates high glucose-induced insulin resistance via reducing mitochondrial dysfunction in skeletal muscle cells[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2015, 240(5): 557-565. DOI: 10.1177/1535370214557218.

(收稿日期: 2016-08-15)