

DOI: 10.13376/j.cblls/2023069

文章编号: 1004-0374(2023)05-0583-09

HDACs去乙酰化酶非依赖性作用在疾病中的研究进展

张艺蓉, 陈力方, 王维蓉*

(西安交通大学医学部基础医学院, 西安 710061)

摘要: 组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs) 参与并调节众多生理病理进程, 在机体内发挥重要作用。近年来越来越多的文献报道 HDACs 家族成员具有独立于去乙酰化酶活性的作用。本文围绕四类 HDACs, 综述了其最新的去乙酰化酶非依赖性调控作用, 主要介绍它们的结构、生物学功能以及和疾病的关系, 旨在从其结构特点揭示不同的生物学功能, 进而探究对疾病发生发展的影响。去乙酰化酶非依赖性作用的研究不仅有助于对 HDACs 在疾病发生发展中的作用及机制的全新理解, 也为以 HDACs 功能为靶点的新药研发提供新的思路。

关键词: HDACs; 去乙酰化酶非依赖性作用; 生物学功能; 疾病

中图分类号: R3 **文献标志码:** A

Research progress on the deacetylase-independent effect of HDACs in diseases

ZHANG Yi-Rong, CHEN Li-Fang, WANG Wei-Rong*

(School of Basic Medicine, Xi'an Jiaotong University Health Science Center, Xi'an 710061, China)

Abstract: Histone deacetylases (HDACs) participate in many physiological and pathological processes, and play an important role in human body. Recently, accumulating studies demonstrated the role of HDACs deacetylase-independent activity in diseases. This paper reviews the latest deacetylase-independent effects of class I, II, III and IV HDACs, and mainly introduces their structure, biological function and relationships with diseases. It aims to reveal different biological functions of HDACs from structural characteristics, and then explore their impacts on the occurrence and development of diseases. It not only facilitates the comprehensive understanding of the role and related mechanism of HDACs in the progress of diseases, but also provides new ideas for drug discovery targeting HDAC functions.

Key words: HDACs; deacetylase-independent effect; biological functions; diseases

组蛋白去乙酰化酶 (histone deacetylases, HDACs) 是一类普遍存在于真核细胞中的酶, 根据其同源性上的差异, 将目前已发现的 18 种 HDACs 分为四类。第 I 类 HDACs 包括 HDAC1、2、3、8 四个成员, 它们同酵母细胞 Rpd3 (reduced potassium dependency-3) 的蛋白序列相似; 第 II 类 HDACs 同酵母菌转录控制因子 Hda1 的蛋白序列具有同源性, 包括 HDAC4、5、6、7、9、10; 第 III 类 HDACs 由 Sirtuins (SIRT) 家族 1~7 组成, 同酵母细胞 Sir2 蛋白的氨基酸序列最为相似; 第 IV 类 HDACs 仅有一个成员 HDAC11。第 I、II、IV 类 HDACs 为 Zn^{2+} 依赖型的蛋白, 它们的催化中心有

着高度相似的序列, 而第 III 类 HDACs 则为烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+) 依赖性的蛋白酶^[1]。在以往的研究中, 研究者多聚焦于 HDACs 对组蛋白或非组蛋白的去乙酰化修饰调控作用, 重点关注细胞或生物体内乙酰化水平的平衡状态对疾病的影响。美国 FDA 已批准了 6 种 HDACs 酶活性抑制剂用于临床肿瘤和神经系统

收稿日期: 2022-12-16; 修回日期: 2023-01-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(81873520); 陕西省创新能力支撑计划项目(2023-CX-PT-07)

*通信作者: E-mail: szb2013072@xjtu.edu.cn

疾病的治疗,因此 HDACs 已成为药物研发的重要潜在靶点^[2]。然而,研究发现,HDACs 还具有去乙酰化酶非依赖性作用,尤其 2020 年 *Nature* 报道 HDAC3 通过去乙酰化酶非依赖性作用调控细胞的炎症反应,引起人们对 HDACs 非酶活性的广泛关注^[3]。研究发现,HDACs 独立于去乙酰化酶活性的非经典转录调节作用涉及炎症、代谢、细胞增殖及凋亡等多个过程,表明其有着极为关键的生物学功能,并与肿瘤、先天性心脏病、糖尿病等多种疾病密切相关^[4-8](图 1)。基于此,本文对近年来 HDACs 去乙酰化酶非依赖性作用的生物学功能及其与疾病之间的关系作一综述,为探求 HDACs 在疾病发生发展中的作用及机制提供理论依据,也为创新药物的研发奠定理论基础与实践指导。

1 I 类 HDACs 去乙酰化酶非依赖作用

第 I 类 HDACs 的四个成员 HDAC1、2、3、8 主要位于细胞核,其中 HDAC3 也存在于细胞质中,主要通过与其他蛋白质形成复合物发挥作用。在第 I 类 HDACs 成员中,HDAC1 和 HDAC3 通过去乙酰化酶非依赖作用调控肿瘤、心血管和肝脏疾病的发生发展。

1.1 HDAC1

作为 HDACs 家族中的重要成员,1996 年,HDAC1 被第一次纯化和克隆^[9]。HDAC1 由 482 个氨基酸残基组成,结构中主要包含一个催化去乙酰化结构域 (deacetylation domain, DAC) 和若干个 14-3-3 蛋白结合结构域^[10]。

有报道指出,HDAC1 去乙酰化酶非依赖性作用可能与细胞周期抑制蛋白 p21 的表达相关。Zac1 是一种可促进细胞凋亡和周期阻滞的新型锌指蛋白,其表达水平的下降或缺失与宫颈癌、乳腺癌、卵巢癌、垂体瘤等多种肿瘤的发生和进展有关。研究发现,与对照组相比,HDAC1 去乙酰化酶失活突变体 H141A 抑制 ZAC1 诱导的 HeLa 细胞 p21 启动子活性,说明 Zac1 诱导的 p21 蛋白的表达可能由 HDAC1 去乙酰化酶非依赖性途径介导^[11]。

1.2 HDAC3

HDAC3 在结构上与 HDAC1 类似,不仅包含核定位序列 (nuclear location sequence, NLS),还包含核输出序列 (nuclear export sequence, NES)^[12-13]。HDAC3 去乙酰化活性一般都需要与核受体辅抑制因子 (nuclear receptor corepressor, NCoR) 或其视黄素和甲状腺受体同源沉默介质 (silencing mediator of

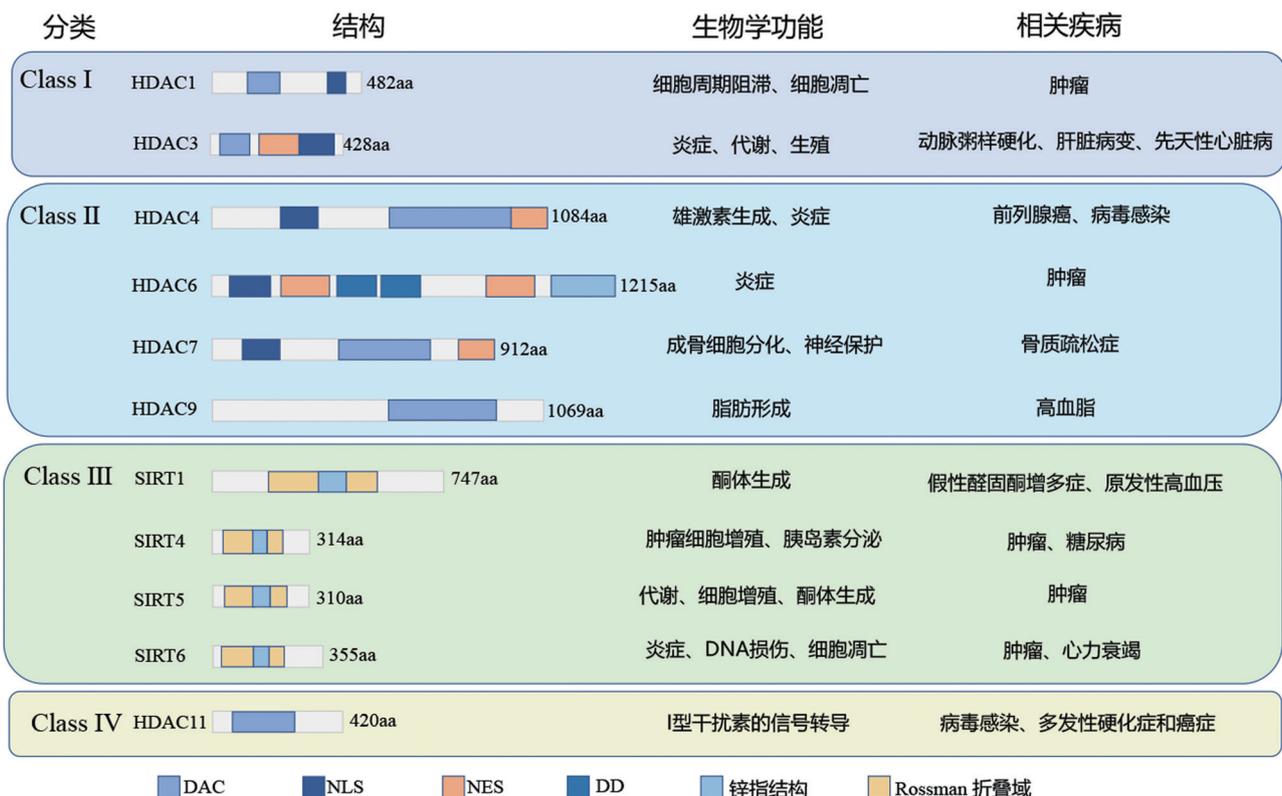


图1 HDACs的分类、结构和去乙酰化酶非依赖性的生物学功能及相关疾病

retinoic and thyroid receptors, SMRT) 结合形成复合物来发挥作用^[14]。目前文献报道可通过3种方式抑制HDAC3的去乙酰化酶活性:第298位酪氨酸残基突变(Y298F)、催化区域中的两个组氨酸残基H134A和H135A突变(HAHA突变体)、去乙酰化酶激活结构域(deacetylase activation domain, DAD)的赖氨酸残基突变(K25A)^[12, 15]。目前研究表明HDAC3在调控炎症、代谢、生殖等方面都有非乙酰化酶活性的参与。

炎症是机体对各种致炎因子及局部损伤所产生的防御性反应。一方面炎症反应能够迅速准确地定位并消除危险,然后进入抗炎过程,帮助清除受损组织,使机体开始愈合和修复。另一方面过度的炎症反应会导致帕金森、癌症、动脉粥样硬化、抑郁,甚至COVID-19等疾病的发生^[16-18]。本课题组对高脂喂养的ApoE^{-/-}小鼠和炎症因子诱导的血管内皮细胞进行研究,发现与C57BL/6J小鼠相比,ApoE^{-/-}小鼠主动脉中HDAC3表达上调,促进炎症反应发生;进一步研究发现HDAC3酶活性抑制剂RGFP966能够减轻ApoE^{-/-}小鼠和血管内皮细胞炎症反应,表明HDAC3对动脉粥样硬化ApoE^{-/-}小鼠血管内皮细胞炎症反应的作用依赖于其酶活性^[19]。研究人员通过构建小鼠骨髓巨噬细胞HDAC3敲除模型发现,HDAC3具有激活转录和抑制转录的双重功能,在LPS诱导的巨噬细胞炎症反应中,HDAC3既能独立于去乙酰化酶活性与ATF2结合激活免疫调节基因的表达,又能依赖于去乙酰化酶活性选择性地与ATF3结合抑制Toll样受体信号,这种特殊的双重功能使得HDAC3成为免疫系统对抗感染的协调因子,尤其是HDAC3独立于去乙酰化酶活性的非典型功能更是对先天免疫系统至关重要^[3, 20]。最新的研究也发现,HDAC3通过去乙酰化酶非依赖性作用对棕色脂肪组织炎症反应有调控作用^[21]。

在代谢方面,肝脏HDAC3缺失导致肝脏的代谢紊乱和功能衰竭,而HDAC3去乙酰化酶失活突变体K25A能够减轻肝脏的代谢紊乱,同样HDAC3去乙酰化酶失活的Y298F突变体也能在很大程度上减轻肝脏病变。由此表明,HDAC3在肝脏中的功能不完全依赖于其去乙酰化酶活性^[12]。此外,研究还发现K25A以一种不依赖去乙酰化酶的方式抑制基因转录,这表明HDAC3的去乙酰化酶非依赖性功能也调控基因表达^[12]。骨骼肌是重要的能量代谢器官,可通过运动及分泌肌肉因子等调节骨骼肌及

机体的代谢。Song等^[22]发现与正常小鼠相比,HDAC3酶失活的NS-DADm小鼠表现出骨骼肌收缩力量变小、抗疲劳能力增强、脂肪酸氧化增加、运动期间葡萄糖摄取减少、参与支链氨基酸分解代谢的相关基因表达上调等变化。上述报道表明HDAC3的去乙酰化酶非依赖作用在肝脏及骨骼肌代谢中发挥一定作用。

除此之外,Yin等^[23]研究表明HDAC3抑制小鼠精原细胞减数分裂基因的表达,在减数分裂结束时激活单倍体基因编程,并伴有相关的组蛋白乙酰化水平改变,导致HDAC3在减数分裂后期和单倍体早期选择性地表达。但抑制雄鼠体内HDAC3酶活性后,其睾丸大小、精子数量都与对照组无显著差异,说明HDAC3去乙酰化酶活性并不影响雄性小鼠生殖能力,不是精子发生所必需的。而且,研究证实HDAC3以去乙酰化酶非依赖的方式对先天性心脏病致病因子TGF- β 1进行表观遗传调控,进而影响心脏第二心场结构的发育^[24]。一项最新研究发现,特异性敲低果蝇心脏HDAC3,导致其心脏收缩期延长和心肌收缩力降低,同时甘油三酯水平升高;进一步研究发现HDAC3酶失活突变体K25A能够减轻HDAC3敲低导致的果蝇心脏功能和结构异常,但未能改善甘油三酯的积累,表明HDAC3在维持心肌收缩力和功能上发挥去乙酰化酶非依赖性作用,而在维持甘油三酯的稳定方面发挥去乙酰化酶依赖性作用^[25]。除了去乙酰化酶作用外,HDAC3还具有去巴豆酰化酶活性,组蛋白巴豆酰化修饰是由组蛋白巴豆酰基转移酶以巴豆酰辅酶A为底物,将巴豆酰基团转移到赖氨酸残基上产生的一种修饰。研究发现HDAC3在体外可以降低多肽的巴豆酰化修饰^[26]。去巴豆酰化修饰也可促进胚胎干细胞的分化,表明组蛋白巴豆酰化修饰对维持胚胎干细胞的功能非常重要^[27]。Fellows等^[28]研究了肠上皮中组蛋白巴豆酰化的特征,并确定I类HDACs成员HDAC1、HDAC2和HDAC3是组蛋白去巴豆酰化的主要执行者。而且,有报道称HDAC1和HDAC3对于非组蛋白也具有去巴豆酰化修饰活性^[29]。

目前已建立了以HDAC3去乙酰化酶活性为靶点的药物筛选模型,用于筛选肿瘤和神经退行性疾病的临床治疗药物^[30]。在建立以HDAC3为靶点的药物筛选模型时,我们应该关注HDAC3的去乙酰化酶非依赖作用,为将来针对靶向HDAC3去乙酰化酶活性开发药物提供参考。

2 II类HDACs去乙酰化酶非依赖作用

第II类HDACs根据酶催化域的不同,分成II a型与II b型2个亚类。II a类结构中有一段催化区域,包括HDAC4、5、7、9;II b类则有两个不同的催化区域,包括HDAC6、10。第II类HDACs除了HDAC6主要位于细胞质外,其余家族成员在细胞质和细胞核中均有分布。很多学者研究了HDAC4、6、7、9的去乙酰化酶非依赖性调控作用在肿瘤、骨骼疾病及脂肪形成中的作用。

2.1 HDAC4

HDAC4的C端包含1个具有去乙酰化活性的去乙酰化酶结构域和1个疏水的NES序列,N端包含1个富含赖氨酸/精氨酸的NLS序列以及各种转录因子和分子伴侣的结合位点^[31]。

雄激素受体(androren receptor, AR)与前列腺的正常发育及功能维持密不可分,研究发现HDAC4通过E3泛素连接酶增强AR的SUMO化修饰,抑制AR的转录活性,从而减少前列腺癌细胞中雄激素的分泌^[32]。这给我们新的启示:在包括前列腺癌在内的人类恶性肿瘤中,可通过靶向提高与HDAC4相关的E3泛素连接酶活性,从而增强AR的SUMO化,达到治疗目的,这给未来抗癌药物研发提供了新思路。除了调控AR,HDAC4的去乙酰化酶非依赖性作用也和病毒感染相关。I型单纯疱疹病毒是一种结构复杂的包膜dsDNA病毒,人体感染后会引发口唇、角膜、生殖器疱疹,甚至出现脑炎等症状,ICP0是该病毒编码的早期蛋白之一,其表达可以抑制转录因子肌细胞增强子2(myocyte enhancer factor 2, MEF2)的活性^[33-35]。Lomonte等^[36]通过免疫共沉淀和GST pull down检测,证实了II类HDAC4、HDAC5和HDAC7的N末端以一种不依赖去乙酰化酶的方式与MEF2相互作用并抑制其活性,进而促进I型单纯疱疹病毒的感染。

2.2 HDAC6

HDAC6蛋白含1215个氨基酸残基,其主要结构域包括NLS、两个保守的富含亮氨酸的NES1和NES2、两个串联的去乙酰化催化区、含丝氨酸-谷氨酸的十四肽重复区及锌指结构,其中体外的去乙酰化活性主要由C端的去乙酰化催化区来完成^[37]。与HDACs家族的其他成员相比,HDAC6的去乙酰化酶能力相对较弱,但HDAC6具有独特的泛素结合活性,该活性可以不需要去乙酰化酶活性的参与。

HDAC6去乙酰化酶非依赖性作用在炎症中发挥重要作用, Magupalli等^[6]通过观察caspase-1活性、碘化丙啶通透性以及IL-1 β 的分泌,发现HDAC6的去乙酰化酶催化突变体H216A/H611A可激活NLRP3炎症小体,说明HDAC6这一功能并不需要去乙酰化酶活性的参与;进一步研究发现HDAC6用于泛素结合的锌指结构域与NLRP3炎症小体的激活密切相关。此外,亦有研究使用特异性的HDAC6抑制剂tubacin发现,HDAC6介导的T淋巴细胞趋化也不需要去乙酰化酶活性的参与^[38]。

2.3 HDAC7

HDAC7由952个氨基酸残基组成,其C端有NES区域和去乙酰化酶催化区域,一般形成复合物之后才具有去乙酰化酶活性,参与多种细胞功能的调节。尽管HDAC7通常被认为是通过其催化活性发挥作用,但也有文献表明,在去乙酰化酶活性被抑制的情况下,HDAC7也发挥一定作用。

成骨细胞分化与骨质疏松症和其他骨骼疾病密切相关,有学者使用定点突变试剂盒对HDAC7丝氨酸残基进行点突变,发现HDAC7以不依赖去乙酰化酶的方式抑制RUNT相关转录因子2在成熟成骨细胞中的转录活性,进而抑制成骨细胞分化^[39]。为了验证HDAC7的神经保护作用是否和其催化活性相关, Ma等^[40]构建了一个完全缺乏HDAC催化结构域的C端截短结构体HDAC7,发现与对照组比较,C端截短的HDAC7与结构完整的HDAC7对神经元的保护作用相当。这些研究表明在不依赖于去乙酰化酶活性的情况下,HDAC7仍具有一定的转录活性和神经保护作用。

2.4 HDAC9

HDAC9全长由23个编码外显子组成,可翻译成含有1069个氨基酸残基的多肽,结构上存在一个可与多种转录因子结合的N末端,该末端具有保守的丝氨酸残基,依赖磷酸化激活并介导HDAC9的核输出和对靶基因的抑制,HDAC9主要催化H3、H4和非组蛋白的去乙酰化^[31,41]。

Chatterjee等^[42]构建了全长和两个去乙酰化酶结构域(分别缺少C端和N端)截短的HDAC9结构体,其中HDAC9的C端含有去乙酰化酶结构域,而N端该结构域缺失。研究发现HDAC9完整结构体和N端结构体在抑制成脂基因表达方面具有相同作用,而包含乙酰化结构域的C端结构体无此功能,表明其去乙酰化酶结构域在调控脂肪形成时并非必需。这说明HDAC9至少部分是不依赖去乙酰化酶

活性抑制脂肪生成, 该研究为证明 HDAC9 是成脂分化的负调控因子提供证据, 同时也与 II a 类 HDACs 成员是细胞分化过程的重要调节因子这一新的观点一致。

3 III类HDACs去乙酰化酶非依赖作用

第III类 HDACs 是 NAD^+ 依赖性的蛋白酶, 该家族成员在结构上均具有锌指结构和 Rossmann 折叠域, 其中 SIRT3、4、5 分布于线粒体, SIRT1、6、7 主要定位于细胞核, SIRT2 则主要在细胞质。SIRT1、4、5、6 具有独立于去乙酰化酶活性的作用。

3.1 SIRT1

SIRT1 是一种高度保守的 NAD^+ 依赖性去乙酰化酶, 其大结构域包含一个 Rossmann 折叠构件, 是连接 NAD^+/NADH 的结构区域; 小结构域包含锌指结构和螺旋构件。SIRT1 的酶活性受中间保守的核心区调控, 能在结合 NAD^+ 的同时发挥催化作用^[43]。文献报道可通过构建 H355Y 突变体抑制 SIRT1 去乙酰化酶活性。

上皮细胞钠离子通道 (epithelial Na^+ channel, ENaC) 可对 Na^+ 进行定向跨膜转运, 在体内血压调节和电解质平衡中发挥重要作用。ENaC 相关基因遗传性功能缺陷和假性醛固酮增多症、原发性高血压均有一定相关性^[44-45]。SIRT1 可增加端粒沉默干扰因子 -1 在组蛋白 H3K79 上的分布, 从而抑制小鼠内髓集合管细胞中 ENaC 的转录; 进一步抑制 SIRT1 去乙酰化酶活性发现 SIRT1 这一功能的发挥不依赖其去乙酰化酶活性; SIRT1 敲低降低了与 ENaC 启动子相关的染色质中 H3K79 的甲基化, 特别是 H3K79 的三甲基化, 因此 SIRT1 作用可能由其甲基转移酶活性介导^[46-47]。

3.2 SIRT4

SIRT4 包含保守的去乙酰化酶结构域, SIRT4 最先被发现的功能为催化 ADP-核糖基转移, 且这是其最主要的酶活性。

SIRT4 通过 ADP-核糖基转移酶催化功能抑制谷氨酸脱氢酶活性, 降低肿瘤细胞内谷氨酰胺代谢, 使 α -酮戊二酸的生成减少, 线粒体内三羧酸循环速率下降, ATP 的生成减少, 抑制肿瘤细胞的生长^[48]。再者, SIRT4 的 ADP-核糖基转移酶活性能降低肿瘤细胞中 E-钙黏蛋白的表达以及上皮间质转化, 从而抑制肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭^[7]。而且 SIRT4 可以通过 ADP-核糖基转移调节甲硫氨酸腺苷转移酶活性, 从而增加 S-腺苷甲硫氨酸水平,

进而促进肿瘤细胞的增殖^[49]。同时, SIRT4 对谷氨酰胺和谷氨酸代谢的抑制也使线粒体内 ATP 的生成减少, 进而减少谷氨酰胺和氨基酸刺激的胰腺 β 细胞中胰岛素的分泌^[50]。此外, SIRT4 的 ADP-核糖基转移功能还可以作用于胰岛素降解酶、ADP/ATP 转运蛋白, 从而抑制葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[51]。因此, SIRT4 主要通过 ADP-核糖基转移酶活性调节代谢, 对肿瘤细胞的增殖及胰岛素分泌发挥调控作用, 进而影响肿瘤、糖尿病等疾病的发生发展。

3.3 SIRT5

SIRT5 蛋白中的 Zn^{2+} 结构域和 Rossmann 折叠域形成底物 NAD^+ 的结合位点。在底物结合位点, F223、L227 和 V254 三个疏水残基构成酰化赖氨酸基团底物的入口, 两个非疏水性残基 Y102 和 R105 特异性识别带负电荷的酰基赖氨酸结构, 这种结构特征决定了与乙酰基相比, SIRT5 会优先结合丙二酰基、琥珀酰基和戊二酰基等短链羧基^[52-53]。

SIRT5 的去乙酰化酶非依赖性作用和代谢密切相关, 有研究报道 SIRT5 可使丝氨酸代谢限速酶丝氨酸羟甲基转移酶的 K280 位点的琥珀酰化水平下调, 促进丝氨酸代谢过程^[54]。而且它还能下调丙酮酸脱氢酶复合体、琥珀酸脱氢酶、M2 型丙酮酸激酶 (pyruvate kinase muscle isoenzyme 2, PKM2) 的琥珀酰化水平从而抑制它们的活性, 参与调控葡萄糖代谢^[55-57]。SIRT5 的去丙二酰基酶活性在机体代谢中也发挥一定功能, SIRT5 敲除导致醛缩酶 B 和 3-磷酸甘油醛脱氢酶的丙二酰基化水平明显上调, 酶活性升高, 加速葡萄糖代谢^[58]。Zavileyskiy 等^[59] 研究揭示了 SIRT5 和 2-氧戊二酸脱氢酶通过琥珀酰化/戊二酰化参与癫痫发作。

此外, SIRT5 可通过下调巨噬细胞中 PKM2 的琥珀酰化水平, 影响其进入细胞核形成复合物, 降低巨噬细胞的炎性反应^[60]。脑缺血损伤涉及复杂的病理机制, 而小胶质细胞激活和神经炎症在脑缺血损伤的病理生理中起着至关重要的作用。研究发现 SIRT5 去琥珀酰化修饰膜联蛋白, 引起小鼠小胶质细胞过度激活, 产生大量促炎细胞因子和趋化因子, 最终导致神经元细胞损伤^[61]。

SIRT5 也可下调超氧化物歧化酶 1 (superoxide dismutase 1, SOD1) 的 K123 位点的琥珀酰化水平, 促进 ROS 的清除。SIRT5 还能够脱去异柠檬酸脱氢酶 2 的 K413 位点的琥珀酰基, 或者通过降低葡萄糖-6-磷酸脱氢酶的戊二酰基化水平, 促进 NADPH 和谷胱甘肽的产生, 保护细胞免受氧化损伤^[62-63]。

Rardin 等^[64]对比研究了野生型和 SIRT5^{-/-}小鼠肝脏的线粒体发现, SIRT5 作为线粒体赖氨酸琥珀酰化的调控因子, 可调控限速生酮酶 3-羟-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 2 的琥珀酰化, 从而影响体内酮体的生成。

3.4 SIRT6

SIRT6 由高度保守的核心催化区、N 端组蛋白去乙酰化酶功能区以及 C 端核定位信号组成, 其内部包括两个球状结构域: NAD⁺ 结合位点以及疏水口袋的 Rossmann 折叠结构和锌指蛋白结合域。与其他 Sirtuins 家族成员不同的是, SIRT6 以单螺旋结构取代了保守的、高度灵活的 NAD⁺ 结合环, 此结构使其在缺乏乙酰化底物时仍能与 NAD⁺ 结合, 并保持较高的亲和力^[65-66]。研究发现, D63Y 和 D116N 突变可破坏 SIRT6 对 NAD⁺ 的亲合性从而消除其去乙酰化功能; 此外, 尼克酰胺可与 NAD⁺ 的疏水口袋结合, 进而抑制 SIRT6 去乙酰化酶活性^[67-68]。同 SIRT4 相似, SIRT6 被发现的第一个酶促功能也是 NAD⁺ 依赖的单一 ADP-核糖基转移酶活性, 而且它还具有一定的脂肪酰化酶活性, 其突变体 G60A 在去除去乙酰化酶活性的同时, 保留了去脂肪酰化酶活性。

SIRT6 去脂肪酰化和炎症有一定相关性, 有报道称它通过催化 NAD⁺ 依赖的长链脂肪酰化, 促进胚胎成纤维细胞中促炎症细胞因子的分泌^[69]。此外, SIRT6 也与细胞增殖有关, 现已证明它可以将 Ras 相关蛋白 2 脂酰化到 C 端残基上, 抑制其定位于细胞膜, 从而抑制下游人胚肾细胞 HEK-293 的增殖^[70]。

SIRT6 去乙酰化酶非依赖活性在 DNA 损伤修复、衰老过程中均发挥一定作用。Mao 等^[71]发现在氧化应激条件下, SIRT6 激活多聚腺苷酸二磷酸核糖聚合酶 1 的 K521 位点的多聚 ADP-核糖基转移酶活性, 进而促进 DNA 双链损伤修复。此外, SIRT6 促进赖氨酸去甲基酶 KDM2A 上 ADP 核糖基化, 进而促进 H3K9 三甲基化, 增强 DNA 修复^[72]。还有报道称 SIRT6 可与长间隔元件 1 (long interspersed element 1, L1) 位点的 5'-UTR 和核辅抑制蛋白 KAP1 的单 ADP-核糖化物结合, 从而抑制 L1 逆转录转座子的活性, 这可能与衰老过程有关^[73]。

SIRT6 的去乙酰化酶非依赖性作用同细胞凋亡也有一定关系。Van Meter 等^[8]研究表明在激活 p53 和 p73 信号级联促进癌细胞凋亡过程中, SIRT6 的 ADP-核糖基转移酶活性必不可少。GATA4 是 GATA 转录因子家族的成员, 在心肌分化中发挥重要作用。

Peng 等^[74]发现 SIRT6 可通过调控 GATA4 减少阿霉素诱导的心肌细胞凋亡, 且该作用独立于其去乙酰化酶活性; 蒽环类药物阿霉素虽作为有效的化疗药物被用于临床, 但严重的剂量依赖性和心脏毒副作用使其应用受到限制, 更严重的是, 该类药物可通过诱导心肌细胞凋亡引起机体心力衰竭, 严重降低患者的生活质量。这项新的研究可能为预防阿霉素的心脏毒性提供潜在靶点, 从而使其得到更加广泛的应用。

4 IV类HDACs去乙酰化酶非依赖作用

第IV类 HDACs 仅有一个成员 HDAC11, 主要位于细胞核中, 因与其他 HDACs 成员的同源相似性较低, 为此专门分为一类。HDAC11 的去乙酰化酶非依赖性作用与病毒感染、多发性硬化症和癌症等疾病有一定关系。

分析 HDAC11 序列发现, 其包含 I、II 类 HDACs 共有的 C 端催化结构域, 具有高度保守的氨基酸残基 (组氨酸、天冬氨酸、甘氨酸), 将天冬氨酸、组氨酸突变为天冬酰胺或丙氨酸后, HDAC11 的去乙酰化作用部分或完全消失。HDAC11 是一种高效的赖氨酸去脂肪酰化酶, 且其去脂肪酰化酶活性远远高于去乙酰化酶活性。丝氨酸羟甲基转移酶 2 (serine hydroxymethyl transferase 2, SHMT2) 是参与一碳代谢的关键酶, 已被证实与肿瘤、阿尔茨海默病、白血病等多种疾病有关。Cao 等^[75]发现 HDAC11 通过调节 SHMT2 的 K245 脂肪酰化抑制 I 型干扰素的信号转导, 而病毒感染、多发性硬化症和癌症等疾病均与 I 型干扰素信号转导有一定关系, 这一发现为开发 HDAC11 特异性抑制剂用于免疫反应调节的治疗开辟了新的途径。

5 结论与展望

本文对 HDACs 家族成员独立于其去乙酰化酶的活性、相关生物学功能及与疾病的关系进行阐述, 发现在不同研究中, 抑制或去除去乙酰化酶的方式也有所不同, 较为常见的有以下三种方式: 对 HDACs 或目的蛋白进行点突变、对 HDACs 相关活性区域进行截断、使用去乙酰化酶抑制剂。这三种方式的优缺点、适用范围及举例见表 1。此外, 还有一个值得深思的问题, 随着研究不断深入, 越来越多的 HDACs 家族成员的去乙酰化酶非依赖性作用被发现, 现有报道的这些酶活性抑制方法是否只针对去乙酰化酶还需要进一步确定, 例如 HDAC3

表1 不同去乙酰化酶活性抑制方式的对比

去乙酰化酶活性抑制方式	优点	缺点	举例	适用范围
HDACs或目的蛋白的点突变	精准抑制或消除去乙酰化酶活性; 能明确实验得到的一系列变化都是由该位点所导致的, 结果支撑性和说服力更强	无论是否找到某具体活性对应的确切位点还是精确地设计该位点的突变体, 过程都较长且有一定技术难度	HDAC1的H141A突变体、HDAC3的Y298F突变体、SIRT6的G60A突变体	已有有能力做出突变体, 要求十分精准的研究
对HDACs相关活性区域进行截断	较彻底地去除去乙酰化酶活性; 实验操作较简单快捷	大范围的截断可能使研究对象发生较多变化, 且不确定该变化是否都与去乙酰化酶活性相关, 证据性相对较弱	缺乏HDAC催化结构域的C端截短结构体HDAC7、缺少C端和N端去乙酰化酶结构域的HDAC9	适合较宽泛的研究
去乙酰化酶抑制剂	应用研究较为成熟的抑制剂省时省力	如果抑制剂针对范围较广, 特异性不足, 而特异性较强抑制剂开发困难较大	HDAC6的抑制剂tubacin, 以及抑制剂烟酰胺和曲古抑菌素A	适合应用较成熟且特异性强的抑制剂的相关研究

的 Y298F 点突变确实抑制了其去乙酰化酶活性, 但其突变后对巴豆酰化酶活性的影响仍需进一步研究。尤其对于临床已经应用的 HDACs 抑制剂药物, 是否只针对去乙酰化酶这一活性, 抑或对多个酰化酶活性都有影响, 需要进行更加深入的研究。

近几年, 对 HDACs 的去乙酰化酶非依赖性作用的研究发现, 去乙酰化酶非依赖性作用参与调控物质代谢、细胞凋亡、增殖、炎症反应等多种功能, 与先天性心脏病、原发性高血压、肿瘤等疾病的发生发展密切相关。大量研究证明, HDACs 酶活性抑制剂用于临床治疗已经成为可能。虽然现阶段, 关于 HDACs 这一非经典功能的研究尚有许多问题亟待解决, 也仍有一些新的生物学功能及与疾病的关系尚未被发现, 但对去乙酰化酶非依赖性作用更进一步的研究可为发现 HDACs 在疾病发生发展中的作用及机制提供参考, 并为不依赖于 HDACs 酶活性的新药研发提供新的思路。

[参 考 文 献]

- [1] de Ruijter AJ, van Gennip AH, Caron HN, et al. Histone deacetylases (HDACs): characterization of the classical HDAC family. *Biochem J*, 2003, 370: 737-49
- [2] Li P, Ge J, Li H. Lysine acetyltransferases and lysine deacetylases as targets for cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17: 96-115
- [3] Nguyen HCB, Adlanmerini M, Hauck AK, et al. Dichotomous engagement of HDAC3 activity governs inflammatory responses. *Nature*, 2020, 584: 286-90
- [4] Wen Y, Perissi V, Staszewski LM, et al. The histone deacetylase-3 complex contains nuclear receptor corepressors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000, 287: 7202-7
- [5] Song S, Wen Y, Tong H, et al. The HDAC3 enzymatic activity regulates skeletal muscle fuel metabolism. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11: 133-43
- [6] Magupalli VG, Negro R, Tian Y, et al. HDAC6 mediates an aggresome-like mechanism for NLRP3 and pyrin inflammasome activation. *Science*, 2020, 369: eaas8995
- [7] Sun H, Huang D, Liu G, et al. SIRT4 acts as a tumor suppressor in gastric cancer by inhibiting cell proliferation, migration, and invasion. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 3959-68
- [8] Van Meter M, Mao Z, Gorbunova V, et al. SIRT6 overexpression induces massive apoptosis in cancer cells but not in normal cells. *Cell Cycle*, 2011, 10: 3153-8
- [9] Taunton J, Hassig CA, Schreiber SL. A mammalian histone deacetylase related to the yeast transcriptional regulator Rpd3p. *Science*, 1996, 272: 408-11
- [10] Ma P, Schultz RM. HDAC1 and HDAC2 in mouse oocytes and preimplantation embryos: specificity versus compensation. *Cell Death Differ*, 2016, 23: 1119-1127
- [11] Liu PY, Chan JY, Lin HC, et al. Modulation of the cyclin-

- dependent kinase inhibitor p21(WAF1/Cip1) gene by Zac1 through the antagonistic regulators p53 and histone deacetylase 1 in HeLa Cells. *Mol Cancer Res*, 2008, 6: 1204-14
- [12] Sun Z, Feng D, Fang B, et al. Deacetylase-independent function of HDAC3 in transcription and metabolism requires nuclear receptor corepressor. *Mol Cell*, 2013, 52: 769-82
- [13] Yang WM, Tsai SC, Wen YD, et al. Functional domains of histone deacetylase-3. *J Biol Chem*, 2002, 27: 9447-54
- [14] 曹端芳, 杨娜. 组蛋白去乙酰化酶的结构和应用. *生物化学与生物物理进展*, 2015, 42: 978-93
- [15] Emmett MJ, Lazar MA. Integrative regulation of physiology by histone deacetylase 3. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20: 102-15
- [16] Pajares M, Rojo AI, Manda G, et al. Inflammation in Parkinson's disease: mechanisms and therapeutic implications. *Cells*, 2020, 9: 1687
- [17] He F, Antonucci L, Karin M. NRF2 as a regulator of cell metabolism and inflammation in cancer. *Carcinogenesis*, 2020, 41: 405-16
- [18] Lee JS, Park S, Jeong HW, et al. Immunophenotyping of COVID-19 and influenza highlights the role of type I interferons in development of severe COVID-19. *Sci Immunol*, 2020, 5: eabd1554
- [19] Chen L, Shang C, Wang B, et al. HDAC3 inhibitor suppresses endothelial-to-mesenchymal transition via modulating inflammatory response in atherosclerosis. *Biochem Pharmacol*, 2021, 192: 114716
- [20] Minton K. Highs and lows of the LPS response. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20: 590-1
- [21] Richter HJ, Hauck AK, Batmanov K, et al. Balanced control of thermogenesis by nuclear receptor corepressors in brown adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119: e2205276119
- [22] Song S, Wen Y, Tong H, et al. The HDAC3 enzymatic activity regulates skeletal muscle fuel metabolism. *J Mol Cell Biol*, 2019, 11: 133-43
- [23] Yin H, Kang Z, Zhang Y, et al. HDAC3 controls male fertility through enzyme-independent transcriptional regulation at the meiotic exit of spermatogenesis. *Nucleic Acids Res*, 2021, 49: 5106-23
- [24] Lewandowski SL, Janardhan HP, Trivedi CM. Histone deacetylase 3 coordinates deacetylase-independent epigenetic silencing of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) to orchestrate second heart field development. *J Biol Chem*, 2015, 290: 27067-89
- [25] Ren J, Zeng Q, Wu H, et al. The deacetylase dependent and independent role of HDAC3 in cardiomyopathy. *J Cell Physiol*, 2023, 238: 647-58
- [26] Madsen AS, Olsen CA. Profiling of substrates for zinc-dependent lysine deacylase enzymes: HDAC3 exhibits deacetylase activity *in vitro*. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51: 9083-7
- [27] Wei W, Liu X, Chen J, et al. Class I histone deacetylases are major histone deacetylases: evidence for critical and broad function of histone crotonylation in transcription. *Cell Res*, 2017, 27: 898-915
- [28] Fellows R, Denizot J, Stellato C, et al. Microbiota derived short chain fatty acids promote histone crotonylation in the colon through histone deacetylases. *Nat Commun*, 2018, 9: 105
- [29] Xu W, Wan J, Zhan J, et al. Global profiling of crotonylation on non-histone proteins. *Cell Res*, 2017, 27: 946-9
- [30] Kumbhar N, Nimal S, Barale S, et al. Identification of novel leads as potent inhibitors of HDAC3 using ligand-based pharmacophore modeling and MD simulation. *Sci Rep*, 2022, 12: 1712
- [31] Mathias RA, Guise AJ, Cristea IM. Post-translational modifications regulate class IIa histone deacetylase (HDAC) function in health and disease. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14: 456-70
- [32] Yang Y, Tse AK, Li P, et al. Inhibition of androgen receptor activity by histone deacetylase 4 through receptor SUMOylation. *Oncogene*, 2011, 30: 2207-18
- [33] Ahmad I, Wilson DW. HSV-1 cytoplasmic envelopment and egress. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 5969
- [34] Garland SM, Steben M. Genital herpes. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2014, 28: 1098-110
- [35] Xu F, Sternberg MR, Kottiri BJ, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA*, 2006, 296: 964-73
- [36] Lomonte P, Thomas J, Texier P, et al. Functional interaction between class II histone deacetylases and ICP0 of herpes simplex virus type 1. *J Virol*, 2004, 78: 6744-57
- [37] Ouyang H, Ali YO, Ravichandran M, et al. Protein aggregates are recruited to aggresome by histone deacetylase 6 via unanchored ubiquitin C termini. *J Biol Chem*, 2012, 287: 2317-27
- [38] Cabrero JR, Serrador JM, Barreiro O, et al. Lymphocyte chemotaxis is regulated by histone deacetylase 6, independently of its deacetylase activity. *Mol Biol Cell*, 2006, 17: 3435-45
- [39] Jensen ED, Gopalakrishnan R, Westendorf JJ. Bone morphogenic protein 2 activates protein kinase D to regulate histone deacetylase 7 localization and repression of Runx2. *J Biol Chem*, 2009, 284: 2225-34
- [40] Ma C, D'Mello SR. Neuroprotection by histone deacetylase-7 (HDAC7) occurs by inhibition of c-jun expression through a deacetylase-independent mechanism. *J Biol Chem*, 2011, 286: 4819-28
- [41] Parra M. Class IIa HDACs - new insights into their functions in physiology and pathology. *FEBS J*, 2015, 282: 1736-44
- [42] Chatterjee TK, Idelman G, Blanco V, et al. Histone deacetylase 9 is a negative regulator of adipogenic differentiation. *J Biol Chem*, 2011, 286: 27836-47
- [43] Cai Y, Xu L, Xu H, et al. SIRT1 and neural cell fate determination. *Mol Neurobiol*, 2016, 53: 2815-25
- [44] Rotin D, Staub O. Function and regulation of the epithelial Na⁺ channel ENaC. *Compr Physiol*, 2021, 11: 2017-45
- [45] Tetti M, Monticone S, Burrello J, et al. Liddle syndrome: review of the literature and description of a new case. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 812

- [46] Zhang W, Xia X, Reisenauer MR, et al. Aldosterone-induced Sgk1 relieves Dot1a-Af9-mediated transcriptional repression of epithelial Na⁺ channel α . *J Clin Invest*, 2007, 117: 773-83
- [47] Zhang D, Li S, Cruz P, et al. Sirtuin 1 functionally and physically interacts with disruptor of telomeric silencing-1 to regulate α -ENaC transcription in collecting duct. *J Biol Chem*, 2009, 284: 20917-26
- [48] Lukey MJ, Wilson KF, Cerione RA. Therapeutic strategies impacting cancer cell glutamine metabolism. *Future Med Chem*, 2013, 5: 1685-700
- [49] Zhao L, Su H, Liu X, et al. mTORC1-c-Myc pathway rewires methionine metabolism for HCC progression through suppressing SIRT4 mediated ADP ribosylation of MAT2A. *Cell Biosci*, 2022, 12: 183
- [50] Haigis MC, Mostoslavsky R, Haigis KM, et al. SIRT4 inhibits glutamate dehydrogenase and opposes the effects of calorie restriction in pancreatic β cells. *Cell*, 2006, 126: 941-54
- [51] Ahuja N, Schwer B, Carobbio S, et al. Regulation of insulin secretion by SIRT4, a mitochondrial ADP-ribosyltransferase. *J Biol Chem*, 2007, 282: 33583-92
- [52] Yang L, Ma X, He Y, et al. Sirtuin 5: a review of structure, known inhibitors and clues for developing new inhibitors. *Sci China Life Sci*, 2017, 60: 249-56
- [53] Matthew D, Zhao YM. Metabolic regulation by lysine malonylation, succinylation, and glutarylation. *Mol Cell Proteomics*, 2015, 14: 2308-15
- [54] Yang X, Wang Z, Li X, et al. SHMT2 desuccinylation by SIRT5 drives cancer cell proliferation. *Cancer Res*, 2018, 78: 372-86
- [55] Kumar S, Lombard DB. Generation and purification of catalytically active recombinant sirtuin5 (SIRT5). *Protein*, 2016, 1436: 241-57
- [56] Park J, Chen Y, Tishkoff DX, et al. SIRT5-mediated lysine desuccinylation impacts diverse metabolic pathways. *Mol Cell*, 2013, 50: 919-30
- [57] Ye XY, Chen ZW, Gu LP, et al. Desuccinylation of pyruvate kinase M2 by SIRT5 contributes to antioxidant response and tumor growth. *Oncotarget*, 2017, 8: 6984-93
- [58] Nishida Y, Rardin MJ, Carrico C, et al. SIRT5 regulates both cytosolic and mitochondrial protein malonylation with glycolysis as a major target. *Mol Cell*, 2015, 59: 321-32
- [59] Zavileyskiy LG, Aleshin VA, Kaehne T, et al. The brain protein acylation system responds to seizures in the rat model of PTZ-induced epilepsy. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 12302
- [60] Wang F, Wang K, Xu W, et al. SIRT5 desuccinylates and activates pyruvate kinase M2 to block macrophage IL-1 β production and to prevent DSS-induced colitis in mice. *Cell Rep*, 2017, 19: 2331-44
- [61] Xia Q, Gao S, Han T, et al. Sirtuin 5 aggravates microglia-induced neuroinflammation following ischaemic stroke by modulating the desuccinylation of Annexin-A1. *J Neuroinflammation*, 2022, 19: 301
- [62] Lin ZF, Xu HB, Wang JY, et al. SIRT5 desuccinylates and activates SOD1 to eliminate ROS. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 441: 191-5
- [63] Zhou L, Wang F, Sun R, et al. SIRT5 promotes IDH2 desuccinylation and G6PD deglutarylation to enhance cellular antioxidant defense. *EMBO Rep*, 2016, 17: 811-22
- [64] Rardin MJ, He W, Nishida Y, et al. SIRT5 regulates the mitochondrial lysine succinylome and metabolic networks. *Cell Metab*, 2013, 18: 920-33
- [65] Pan PW, Feldman JL, Devries MK, et al. Structure and biochemical functions of SIRT6. *J Biol Chem*, 2011, 286: 14575-87
- [66] Fiorentino F, Mai A, Rotili D. Emerging therapeutic potential of SIRT6 modulators. *J Med Chem*, 2021, 64: 9732-58
- [67] Kugel S, Feldman JL, Klein MA, et al. Identification of and molecular basis for SIRT6 loss-of-function point mutations in cancer. *Cell Rep*, 2015, 13: 479-88
- [68] Bitterman KJ, Anderson RM, Cohen HY, 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: 45099-107
- [69] Jiang H, Khan S, Wang Y, et al. SIRT6 regulates TNF- α secretion through hydrolysis of long-chain fatty acyl lysine. *Nature*, 2013, 496: 110-3
- [70] Zhang X, Spiegelman NA, Nelson OD, et al. SIRT6 regulates Ras-related protein R-Ras2 by lysine defattyacylation. *Elife*, 2017, 6: e25158
- [71] Mao Z, Hine C, Tian X, et al. SIRT6 promotes DNA repair under stress by activating PARP1. *Science*, 2011, 332: 1443-6
- [72] Rezazadeh S, Yang D, Biashad SA, et al. SIRT6 mono-ADP ribosylates KDM2A to locally increase H3K36me2 at DNA damage sites to inhibit transcription and promote repair. *Aging*, 2020, 12: 11165-84
- [73] Van Meter M, Kashyap M, Rezazadeh S, et al. SIRT6 represses LINE1 retrotransposons by ribosylating KAP1 but this repression fails with stress and age. *Nat Commun*, 2014, 5: 5011
- [74] Peng L, Qian M, Liu Z, et al. Deacetylase-independent function of SIRT6 couples GATA4 transcription factor and epigenetic activation against cardiomyocyte apoptosis. *Nucleic Acids Res*, 2020, 48: 4992-5005
- [75] Cao J, Sun L, Aramsangtienchai P, et al. HDAC11 regulates type I interferon signaling through defattyacylation of SHMT2. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116: 5487-92