

## Können Sirtuine den Alterungsprozessen entgegenwirken?

### Can Sirtuins combat aging?

Bober, Eva

Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung, Bad Nauheim

Korrespondierender Autor/in

E-Mail: [eva.bober@mpi-bn.mpg.de](mailto:eva.bober@mpi-bn.mpg.de)

---

### Zusammenfassung

Sirtuine sind im gesamten Tierreich konservierte Histon/Protein-Deacetylasen, die lebensverlängernd und stressabwehrend wirken. Bei Säugern sind Sirtuine durch eine Familie von sieben Genen (Sirt1 - Sirt7) repräsentiert. In einem Projekt am MPI für Herz- und Lungenforschung untersucht Eva Bober und ihr Team die molekularen Grundlagen der Sirtuinfunktionen bei Säugern. Die Aufschlüsselung der Wirkungsmechanismen der Sirtuine kann die Entwicklung neuer Therapiestrategien zur Behandlung bzw. Prävention altersbedingter Krankheiten ermöglichen.

### Summary

Sirtuins are highly conserved histon/protein deacetylases, which confer stress resistance and longevity. In mammals sirtuins are represented by a gene family that consists of seven genes, Sirt1 -Sirt7. In our project we investigate the molecular basis of sirtuin functions in mammals. The understanding of sirtuin function can contribute to developing new therapeutic strategies to combat and/or treat age-related diseases.

Alterungsprozesse treten universell bei nahezu jedem bekannten Organismus nach der abgeschlossenen reproduktiven Phase des Lebens auf. Bei Menschen, wie auch bei anderen Spezies, wird das Altern durch eine verminderte allgemeine Fitness und eine große Anzahl altersbedingter Krankheiten, um nur Diabetes, Arteriosklerose, Herzkreislauf- sowie Tumorkrankheiten zu nennen, begleitet. Während der Erforschung der einzelnen Krankheiten eine große Anstrengung zahlreicher Arbeitsgruppen sowie der Einsatz umfangreicher Forschungsmittel gewidmet sind, ist die Untersuchung der Alterungsvorgänge immer noch in den Anfängen. Dabei würde das Verständnis der molekularen Grundlagen des Alterns gleichzeitig die Ursachen aller altersbezogenen Krankheiten aufklären. Somit wird von mehreren Forschern, wie unter anderem dem Pionier der Altersforschung Leonard Hayflick, zu größeren Anstrengungen und zur Intensivierung der Forschungsmittel aufgerufen [1]. Es ist unbestritten, dass genetische und epigenetische Faktoren eine herausragende Rolle bei der Alterung spielen. In den letzten Jahren rückte die Familie der Sirtuine aufgrund ihrer lebensverlängernden Eigenschaften ins Zentrum der Forschungsinteressen.

Sirtuine wurden in allen Lebewesen von Bakterien und Archebakterien bis hin zu Säugern gefunden [2]. Das erste Sirtuin wurde Anfang der 90er- Jahre im Rahmen einer Suche nach langlebigen Hefemutanten entdeckt. Tatsächlich kann eine Steigerung der Aktivität des Hefesirtuins, Sir2, die Lebensdauer der Hefe verlängern.

Sir2 steht für die englische Bezeichnung „silent information regulator two“. Es sorgt für die Stilllegung bestimmter Chromatinbereiche (*silencing*) durch die Deacetylierung von Histonen. Diese Dämpfung der Chromatinaktivitäten, wie Replikation, Rekombination und Transkription, scheint für den lebensverlängernden Effekt des Sirt2 essentiell zu sein [3]. Interessanterweise bewirkt eine Erhöhung der Sirtuinaktivität auch bei komplexeren Organismen, wie dem Wurm *C. elegans* oder der Taufliege *D. melanogaster*, eine Verlängerung der Lebensspanne. Die Mechanismen, die bei diesen Tieren die Lebensdauer bestimmen, sind dabei von denen der Hefe grundsätzlich verschieden. Die Lebensdauer der Hefe wird nämlich in Generationenzahl, also der Anzahl der Teilungen, die eine Mutterzelle ausführt, angegeben (so genannte replikative Lebensspanne). Dagegen bestehen *C. elegans* und *D. melanogaster* weitestgehend aus postmitotischen, sich nicht mehr teilenden Zellen und werden durch eine chronologische Lebensspanne charakterisiert. Neuere Untersuchungen deuten darauf hin, dass Sirtuine auch bei Säugern eine wichtige Rolle bei der Regulierung der Lebensspanne spielen. Bei den komplexeren Spezies können Sirtuine neben Histonen auch eine Reihe von zellulären Regulatorproteinen deacetylieren und sie in ihrer Aktivität negativ oder auch positiv beeinflussen. Der lebensverlängernde Effekt einer erhöhten Sirtuinexpression in Mäusen konnte jedoch bislang nicht dokumentiert werden.

Sirtuine sind im Säuger genom durch eine Genfamilie repräsentiert, die für sieben verschiedene Sirtuinmoleküle kodiert (Sirt1 bis Sirt7). Die meisten Sirtuine besitzen eine enzymatische Deacetylaseaktivität. Im Gegensatz zu üblicher enzymatischer Deacetylierung, wo Acetylgruppen von Zielproteinen in einer einfachen Ein-Schritt-Reaktion abgespalten werden (wie bei verschiedenen Histondeacetylasen bekannt), ist die Sirtuin-spezifische Deacetylierung eine Zwei-Schritt-Reaktion. Dabei wird ein oxidiertes NAD<sup>+</sup> als Co-Substrat zur Aufnahme der Acetylgruppe benötigt. Als Endprodukte der Reaktion entstehen neben dem deacetylierten Protein das Nikotinamid (NAM) und die O-acetyl-ADP-Ribose. Von den sieben Säuger-Sirtuinen besitzen Sirt1, Sirt2, Sirt3 und Sirt5 diese typische Deacetylaseaktivität. Das Sirt4 und Sirt6 scheinen jedoch das NAD<sup>+</sup> zur Abspaltung von ADP-Ribose und anschließenden mono-ADP-Ribosylierung der Zielproteine zu verwenden, diese beiden Sirtuine wirken also als mono-ADP-ribosyl-Transferasen. Über die enzymatische Aktivität von Sirt7 war bislang nichts bekannt [4].

Da die Verfügbarkeit von NAD<sup>+</sup> vom zellulären Metabolismus und dem Energiestatus abhängt, wird ebenso die Aktivität der Sirtuine durch das Verhältnis von oxidiertem zu reduziertem NAD (NAD<sup>+</sup>/NADH) reguliert. Das NAD<sup>+</sup>/NADH-Verhältnis ist in ruhenden Zellen, die ihre Energie vorwiegend aus dem oxidativen Metabolismus gewinnen, relativ hoch. Die sich stark teilenden Zellen schalten dagegen auf eine anaerobe Energiegewinnung um, und der NAD<sup>+</sup>/NADH-Quotient fällt ab [5]. Die enge Verknüpfung der Sirtuinfunktion mit dem zellulären Metabolismus spielt eine zentrale Rolle bei der Regulierung der Lebensdauer. Sirtuine sind zum Beispiel für den lebensverlängernden Effekt der Kalorierestriktion notwendig. Eine verminderte Kalorienzufuhr bewirkt bei allen bislang untersuchten Tieren inklusive Säugern eine Steigerung der allgemeinen Fitness und Verlängerung der Lebensspanne. Bei Mäusen wird die Sirt1-Aktivität während der kalorischen Restriktion gesteigert [6,7].

Die Arbeitsgruppe am MPI für Herz- und Lungenforschung hat sich zunächst auf die Untersuchung der Funktion des am wenigsten bekannten Sirtuins, Sirt7, konzentriert. Die Wissenschaftler konnten zeigen, dass Sirt7 in die Alterungsprozesse eingreift: Die von ihnen hergestellten Sirt7-defizienten Mäuse weisen mehrere Anzeichen einer vorzeitigen Alterung auf und haben eine deutlich verkürzte Lebensspanne.

### **Sirt7-defiziente Mäuse altern schneller**

Sirt7-knockout-Mäuse altern schneller: reduzierte Körpergröße und Lordokyphose. Links sind eine sechs Monate alte Wildtyp-Kontrollmaus und eine Sirt7-gendefiziente Maus abgebildet. Eine reduzierte Körpergröße der Sirt7-knockout-Maus wird bereits in diesem Alter deutlich. Rechts sind Röntgenaufnahmen von Mäusen dargestellt, ebenso im Alter von sechs Monaten, die eine Krümmung der Wirbelsäule bei der Sirt7-knockout-Maus verdeutlichen.  
© Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung

Die Wissenschaftler haben mittels der homologen Rekombination das Sirt7-Gen aus dem Mausgenom eliminiert und einen Sirt7-defizienten Mausstamm (Sirt7<sup>-/-</sup>) generiert. Während der ersten Lebensmonate zeigten die Sirt7<sup>-/-</sup>-Tiere keine offensichtlichen phänotypischen Veränderungen. In der zweiten Hälfte des ersten Lebensjahres wurden jedoch mehrere Anzeichen einer vorzeitigen Alterung beobachtet. Die Sirt7<sup>-/-</sup>-Tiere weisen bereits im Alter von 7 - 9 Monaten eine Wirbelsäulenkrümmung (Lordokyphose), verminderte subkutane Fettschicht und vermindertes Körpergewicht, erhöhte Entzündungsprozesse, vermindertes Regenerationspotential etc. auf (**Abb. 1**). Weiterhin nehmen die allgemeinen Stressabwehrmechanismen bei diesen Mäusen rapide ab. Dies äußert sich zum Beispiel in einer mangelnden Fähigkeit, die Körpertemperatur bei Kälte oder den Blutglukosespiegel bei Nahrungskarenz aufrechtzuerhalten. Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäuse haben eine deutlich verkürzte Lebensspanne (ca. 50%), was die Bedeutung dieses Moleküls für die normale Lebenslänge wirkungsvoll demonstriert.

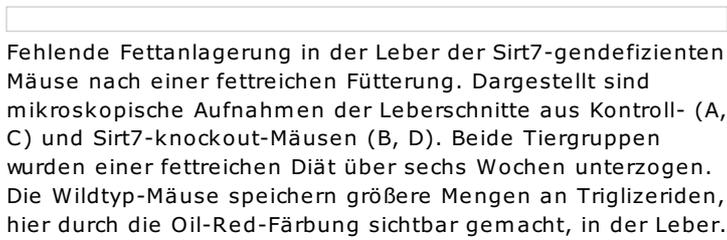
### **Sirt7-Defizienz führt zu vorzeitiger Herzhypertrophie und Inflammation**

Herzhypertrophie und Fibrose im Myocardium der Sirt7-Mutanten. Mikroskopische Aufnahmen von histologischen Schnitten des Myokards der Kontroll- (A, B) und Sirt7-knockout-Mäuse (C, D). Die Hypertrophie ist durch größere Kardiomyozyten (das Kardiomyozyten-spezifische  $\alpha$ -Actin ist rot gefärbt) erkennbar. Die grüne Collagen-III-Färbung markiert die fibrotische Expansion der extrazellulären Matrix bei den Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäusen. Die blaue DAPI-Färbung macht die Zellkerne sichtbar.  
© Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung

Mit dem fortschreitenden Alter nimmt die Funktionstüchtigkeit der meisten Organe ab. Eine zentrale Rolle nimmt dabei der funktionelle Abbau des Herzens ein. Durch die Anstrengung, die immer höhere Belastung zu bewältigen, tritt eine alterstypische Erscheinung, die Herzhypertrophie, auf. Die „normal“ alternden Kontrollmäuse weisen eine solche Hypertrophie meistens am Ende des zweiten Lebensjahrs auf. Bei den Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäusen kann man verschiedene Anzeichen der Herzhypertrophie bereits im Alter von 5 bis 7 Monaten beobachten [8]. Die Vergrößerung des Herzens geht dabei mit einer Reihe von degenerativen Veränderungen einher. Hier ist vor allem der Anstieg an Apoptose zu erwähnen, der zu Verlust von Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten) führt. Eine gestiegene Apoptose konnte im gesamten Herzmuskel (Myocardium) sowie in kultivierten primären Kardiomyozyten beobachtet werden. Im Rahmen der Umbauvorgänge („Remodeling“) wird der Kardiomyozytenverlust durch eine gestiegene Kollagenproduktion ersetzt. Auf den histologischen Präparaten sind massive fibrotische Veränderungen im Sirt7-defizienten Myokardium sichtbar (**Abb. 2**). Interessanterweise wurden in den Sirt7-Mutanten bereits im jungen Alter Ansammlungen von Alterspigmenten, dem Lipofuscin, vorgefunden. Neben den hypertrophischen degenerativen Vorgängen waren in den Herzen der Sirt7-Mutanten viele Inflammationsherde vorhanden. Eine anschließende FACS-Analyse

(fluorescence-activated cell sorting) bestätigte eine erhöhte Produktion von Makrophagen sowie einigen inflammatorischen Lymphozyten. Ebenso wurden gestiegene Levels von mehreren Zytokinen im Blutplasma der Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäuse festgestellt.

## **Mangelnde metabolische Adaptation der Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäuse auf unterschiedliches Nahrungsangebot**



Fehlende Fetthanlagerung in der Leber der Sirt7-gendefizienten Mäuse nach einer fettreichen Fütterung. Dargestellt sind mikroskopische Aufnahmen der Leberschnitte aus Kontroll- (A, C) und Sirt7-knockout-Mäusen (B, D). Beide Tiergruppen wurden einer fettreichen Diät über sechs Wochen unterzogen. Die Wildtyp-Mäuse speichern größere Mengen an Triglyceriden, hier durch die Oil-Red-Färbung sichtbar gemacht, in der Leber. Die Knockout-Mäuse weisen eine deutlich verminderte Fähigkeit zu Fettspeicherung in der Leber auf. In C und D sind höhere Vergrößerungen von Ausschnitten aus A und B dargestellt.

© Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung

Sirt7 wird in den meisten Geweben nachgewiesen, eine besonders hohe Expression findet man jedoch in der Leber. Die Leber spielt eine entscheidende Rolle in der Regulation des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels. Da Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäuse eine auffällige Verminderung der Fettdepots aufweisen, war anzunehmen, dass Sirt7 in die Regulation des Fettmetabolismus eingreift. In der Tat konnten die Forscher einen signifikanten Abfall der Expression der Schlüsselenzyme der Fettsäuresynthese wie FAS (Fettsäuresynthase), ACC (Acetyl-CoA-Carboxylase) und ACY (ATP-Citrat-Lyase) nachweisen. Darüber hinaus war die Expression des metabolischen Regulators PGC1- $\alpha$  stark herabgesetzt. Trotz dieser Expressionsminderung zeigten die Blutwerte der Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäuse keine nennenswerten Auffälligkeiten. Die Sirt7-Mutanten konnten offensichtlich die erniedrigten Enzym- und Regulatorleveln unter den Standardbedingungen kompensieren. Auch die Glukose- und Insulintoleranzen zeigten keine Unterschiede im Vergleich zu denen bei Kontrolltieren. Metabolische Defekte waren jedoch feststellbar, wenn die Sirt7<sup>-/-</sup>-Tiere zuerst einer Nahrungskarenz ausgesetzt wurden, der nach 24 Stunden eine erneute Nahrungszufuhr folgte. Sirt7-Mutanten waren nicht fähig, auf derartige Belastungen adäquat zu reagieren. Diese Unfähigkeit, sich den veränderten metabolischen Herausforderungen anzupassen, weist erneut darauf hin, dass Sirt7 bei besonders harschen Bedingungen bzw. bei Belastung für die notwendigen Adaptationsmechanismen notwendig ist. Ein weiteres Fütterungsexperiment bestätigte, dass Sirt7 in metabolische Adaptationsmechanismen involviert ist. Nach längerer Fütterung der Tiere mit einer Kost mit hohem Fettgehalt lagern die Kontrollmäuse größere Fettmengen in der Leber ab, was als Lebersteatose bezeichnet wird. Bei den Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäusen dagegen konnte unter denselben Bedingungen keine Steatose beobachtet werden (**Abb. 3**).

## **Primäre Sirt7<sup>-/-</sup>-Hepatozyten sind insulinresistent**

Unter den Bedingungen von Nahrungskarenz oder der erneuten Nahrungsaufnahme wird normalerweise die metabolische Adaptation durch hormonelle Signale, hier vorrangig Insulin und Katecholamine, gesteuert. Die Aktivierung dieser Signalwege lässt sich in kultivierten Hepatozyten studieren. Bober und ihr Team konnten feststellen, dass primäre Sirt7-defiziente Hepatozyten eine fehlerhafte Aktivierung der Signalwege aufweisen. Dies äußerte sich zum Beispiel in der mangelhaften Phosphorylierung der PI3-Kinase sowie der Akt-Kinase,

beide primäre Phosphorylierungszielproteine nach Aktivierung des Insulin/IGFI-Signalweges. Die molekulare Basis der Sirt7-Wirkung ist dennoch weitestgehend unaufgeklärt. Unter der Annahme, dass Sirt7 andere zelluläre Regulatoren durch die Deacetylierung beeinflusst, haben die Wissenschaftler das p53-Protein als Substrat einer Sirt7-abhängigen Deacetylierung identifiziert. Da p53 in den Insulin/IGF-Signalweg inhibitorisch eingreift, könnte eine mangelnde Deacetylierung des p53, was wiederum mit der p53-Hyperaktivierung einhergeht, zumindest teilweise einige phänotypische Veränderungen der Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäuse erklären. Tatsächlich konnten die Untersuchungen einen erhöhten Level an acetyliertem p53 in der Leber und im Herzen der Sirt7<sup>-/-</sup>-Mäuse nachweisen. Zurzeit werden weitere Substrate für die Sirt7-abhängige Regulierung intensiv erforscht. Kürzlich wurde eine *In-vivo* zwischen Sirt7 und einem weiteren nukleären Sirtuin, Sirt1, entdeckt. Damit wurden neue Aspekte in die Sirtuinforschung hineingebracht, die deutlich auf eine mögliche funktionelle Koppelung bzw. Kreuzregulierung innerhalb der Sirtuinfamilie hinweisen.

## Ausblick

Zusammenfassend lässt sich annehmen, dass Sirtuine als Regulatoren eines universellen, uralten Programms agieren. Sie werden immer dann besonders aktiv, wenn der Organismus seine Überlebenskräfte mobilisieren muss, so wie bei der bereits erwähnten Nahrungsknappheit, aber auch bei vielen anderen Arten von Stress wie Kälte, Hitze, Infektionen, Belastung etc. Sollte es gelingen, Sirtuine unabhängig vom Stress-Stimulus dauerhaft zu aktivieren, könnte dies zu einer verbesserten Lebensqualität bis ins hohe Alter führen.

## Originalveröffentlichungen



[Nach Erweiterungen suchen](#)

Erweiterungen wurden umsortiert und teilweise umbenannt, sind aber vollständig vorhanden.

Schnellzugriff

[BildTeaser mit BildAbsatz](#)

Listen

[Dateiliste](#)[Jobticker](#)[Mitarbeiter-Liste](#)[Publikationsliste](#)[RSS ticker](#)[Tagliste](#)[Veranstaltungsticker](#)

Medien

[BildPodcast](#)[Soziale Medien](#) [Box](#)[Video](#)[Youtube](#)

Sonstiges

[HTMLLink](#)[Mitarbeiter](#)[Person](#)[PuRe](#) [Referenz](#)[Publikation](#)[Teaser](#) [mit](#)

[Bild](#)[Textblocker](#)[Erweiterung](#)[Veranstaltungskalender](#)

[1] **L. Hayflick:**

**Biological aging is no longer an unsolved problem.**

Annals of the New York Academy of Sciences **1100**, 1-13 (2007).

[2] **B.J. North, E. Verdin:**

**Sirtuins: Sir2-related NAD-dependent protein deacetylases.**

Genome Biology **5**(5), 224 (2004).

[3] **G. Blander, L. Guarente:**

**The Sir2 family of protein deacetylases.**

Annual Review of Biochemistry **73**, 417-435 (2004).

[4] **A.A. Sauve, C. Wolfberger, V.L. Schramm, J.D. Boeke:**

**The biochemistry of sirtuins.**

Annual Review of Biochemistry **75**, 435-465.

[5] **R.J. DeBerardinis, J.J. Lum, G. Hatzivassiliou, C.B. Thompson:**

**The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation.**

Cell Metabolism **7** (1), 11-20 (2008).

[6] **D. Chen, L. Guarente:**

**SIR": a potential target for calorie restriction mimetics.**

Trends in Molecular Medicine **13** (2), 64-71 (2007).

[7] **S. Michan, D. Sinclair:**

**Sirtuins in mammals: insights into their biological function.**

Biochemical Journal **404**(1), 1-13 (2007).

[8] **O. Vakhrusheva, C. Smolka, P. Gajawada, S. Kostin, T. Boettger, T. Kubin, T. Braun, E. Bober:**

**Sirt 7 increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice.**

Circulation Research **102**, 703-710(2008).