

组蛋白去乙酰化酶 SIRT6 通过调控端粒长度维持机制在先天性角化不良症中的致病作用研究

聂佳磊*

(江苏海洋大学, 江苏 连云港 222005)

摘要: 先天性角化不良症是一类以端粒结构与功能异常为核心病变的罕见遗传性综合征, 临床以多组织器官早衰、造血功能衰竭与恶性肿瘤高发为主要表现, 现有研究多集中于端粒酶编码基因的突变筛查, 针对表观遗传修饰参与疾病发生发展的机制探索仍较为匮乏。SIRT6 作为具有高度特异性的组蛋白去乙酰化调控蛋白, 在染色质构象稳定、DNA 损伤修复与端粒结构维持中发挥不可替代的作用, 但其在先天性角化不良症病理进程中的表达特征、调控模式与功能价值尚未得到系统阐释。本研究以端粒功能缺陷型细胞为体外研究模型, 检测 SIRT6 在模型细胞中的转录与翻译水平, 分析其表达量与端粒相对长度的内在关联, 通过基因沉默与过表达技术干预 SIRT6 表达, 观测其对细胞增殖、凋亡及端粒相关蛋白表达的影响, 探究 SIRT6 调控端粒长度维持的分子通路。研究结果显示, 先天性角化不良症模型细胞内 SIRT6 表达水平显著降低, 且与端粒缩短程度呈显著正相关, 抑制 SIRT6 表达可进一步加剧端粒损耗与细胞功能损伤, 上调 SIRT6 表达则可部分恢复端粒结构稳定性, 改善细胞病理表型。SIRT6 主要通过调控端粒区域组蛋白的去乙酰化修饰, 优化染色质紧缩状态, 增强端粒保护蛋白的结合效率, 进而维持端粒长度稳态, 延缓细胞早衰进程。本研究从表观遗传调控层面丰富了先天性角化不良症的致病机制, 明确 SIRT6 可作为该疾病潜在的干预靶点。

关键词: SIRT6; 组蛋白去乙酰化; 端粒稳态; 先天性角化不良症; 表观遗传; 药物靶点

一、引言

先天性角化不良症属于端粒生物学疾病范畴, 是一类具有高度遗传异质性的罕见病, 其发病隐匿、进展迅速, 可累及皮肤、造血系统、肺部及胃肠道等多个器官, 重症患者多在青壮年阶段因骨髓衰竭、肺纤维化或恶性肿瘤死亡, 临床缺乏特异性治疗手段, 仅能依靠造血干细胞移植延缓病情, 整体预后极差。根据普通生物学知识可知端粒长度的稳定维持是细胞正常增殖分化的基础, 也是机体抵御早衰性疾病的重要屏障。在先天性角化不良症患者体内, 端粒长度维持系统存在先天性缺陷, 端粒损耗速率远高于正常人群, 细胞在有限分裂后即进入衰老或凋亡程序, 进而引发多系统功能衰退, 这一病理特征已被多项研究证实为疾病发生的核心环节^[1]。

现阶段针对先天性角化不良症的机制研究, 多围绕端粒酶复合物、端粒保护蛋白复合体的编码基因展开, 已发现 DKC1、TERT、TERC、TINF2 等多个致病位点, 上述基因的突变可直接导致端粒酶活性降低、端粒结合功能异常, 最终诱发端粒快速缩短。但在临床病例中, 仍有近 30% 的患者未检测出已知致病基因突变, 提示除基因序列变异外, 转录后调控、表观遗传修饰等非编码区调控机制, 同样参与先天性角化不良症的病理进程, 而这一领域也是当前端粒相关罕见病研究的薄弱环节^[2]。组蛋白乙酰化修饰是表观遗传调控的重要方式, 通过改变组蛋白与 DNA 的结合能力调控染色质开放程度, 进而影响基因转录与染色体结构稳定, 组蛋白去乙酰化酶则在这一过程中发挥负向调控作用, 其中 SIRT6 因其独特的核定位与端粒结合特性, 成为连接表观遗传与端粒稳态的关键分子。

SIRT6 隶属于 Sirtuins 蛋白家族, 是一种 NAD⁺ 依赖型的组蛋白去乙酰化酶, 主要作用于组蛋白 H3K9、H3K56 位点, 可通过去乙酰化修饰促使染色质处于紧缩构象, 减少 DNA 损伤与端粒异常融合, 同时参与端粒酶的招募与定位, 维持端粒长度的动态平衡。已有基础研究证实, SIRT6 敲除的实验动物会出现全身性早衰、端粒黏连、造血功能衰退等表型, 与先天性角化不良症的临

作者简介: 聂佳磊 (2004-), 本科在读生, 研究方向为人工智能与生物医学工程交叉方向。

通讯作者: 聂佳磊

床特征高度相似，但二者之间的直接关联尚未被明确验证。在先天性角化不良症的病理环境下，SIRT6 是否存在表达异常，其表达改变是否会直接影响端粒长度维持效率，以及能否通过调控 SIRT6 表达改善端粒功能损伤，均是尚未解决的科学问题。

从药理学研究视角分析，SIRT6 作为酶类靶点，其催化活性可被小分子化合物精准调控，具备极高的成药转化价值，目前针对 SIRT6 的激动剂、调节剂已在代谢紊乱、神经退行性疾病中开展初步探索，若能明确其在先天性角化不良症中的保护作用，可为罕见病靶向药物开发开辟新方向。本研究以端粒功能缺陷细胞为模型，系统探究 SIRT6 在先天性角化不良症中的表达规律与调控机制，明确其通过组蛋白去乙酰化作用维持端粒长度的分子通路，验证其作为疾病干预靶点的可行性，既弥补现有研究的空白，也为端粒相关疾病的表观遗传干预提供新的思路，兼具基础研究价值与临床转化意义。

二、材料与方法

本研究选用端粒酶功能缺陷型人胚肺成纤维细胞作为先天性角化不良症体外细胞模型，以正常同源细胞作为阴性对照，细胞均经标准化鉴定与传代培养，排除支原体污染与细胞老化干扰。实验所用反转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒、蛋白裂解液、一抗二抗试剂均选用市售高纯度产品，实验仪器经定期校准与质控，保证实验数据的稳定性与重复性。细胞培养采用含 10%胎牛血清的高糖 DMEM 培养基，置于 37℃、5% CO₂ 恒温培养箱中培养，取对数生长期细胞开展后续实验，通过端粒相对长度检测、细胞衰老染色、端粒酶活性测定三重指标验证模型有效性，确保模型细胞具备端粒缩短、早衰表型增强、端粒酶活性下降的典型疾病特征^[3]。

基因表达水平检测采用实时荧光定量 PCR 技术，使用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA，检测纯度与浓度合格后，按照试剂盒流程反转录合成 cDNA，以 β -actin 为内参基因，扩增 SIRT6、TERT、TRF2 等靶基因片段，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量，每组实验设置 3 次重复，降低操作误差带来的数据波动。采用 Western Blot 法测定蛋白表达，使用添加蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取蛋白，经 BCA 定量后行 SDS-PAGE 电泳，将蛋白转至 PVDF 膜，以 5%脱脂奶粉封闭，加入一抗 4℃孵育过夜，洗膜后加入酶标二抗室温孵育，采用 ECL 发光法显影。采用 qPCR 法检测端粒相对长度，扩增端粒重复序列与单拷贝内参基因进行比对分析，计算两者扩增效率比值，以此反映细胞内端粒的平均长度，该方法操作简便、样本用量少、重复性良好。细胞功能实验分为空白对照组、阴性转染组、SIRT6 沉默组、SIRT6 过表达组，利用脂质体转染试剂将 siRNA 与过表达质粒导入细胞，转染 48h 后收集细胞进行功能验证。细胞增殖能力采用 CCK-8 法检测，在 24h、48h、72h 三个时间点加入检测试剂，酶标仪测定 450nm 处吸光度值，绘制增殖曲线；细胞凋亡率采用流式细胞术检测，使用 Annexin V-FITC/PI 双染法标记细胞，上机检测后计算早期凋亡与总凋亡比例，评估实验结果。

三、结果

细胞模型鉴定结果显示，与正常对照细胞相比，先天性角化不良症模型细胞的端粒相对长度显著下降，细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色阳性率明显升高，端粒酶催化亚基 TERT 的表达水平同步降低，上述结果证实模型构建成功，能够稳定模拟疾病核心病理特征，可用于后续 SIRT6 功能与机制研究^[4]。在模型细胞中，SIRT6 的 mRNA 与蛋白表达水平均显著低于正常细胞，表达下调幅度与端粒缩短程度呈现显著正相关，提示 SIRT6 的低表达状态并非偶然现象，而是与疾病端粒功能损伤存在密切关联，SIRT6 可能是参与端粒稳态维持的内源性保护因子。

在 SIRT6 沉默干预实验中，模型细胞内 SIRT6 表达被显著抑制，端粒相对长度进一步降低，端粒保护蛋白 TRF2 与端粒酶催化亚基 TERT 的表达同步下降，细胞增殖速率明显减慢，凋亡比例显著升高，细胞早衰与损伤程度进一步加重，说明内源性 SIRT6 的缺失会直接破坏端粒结构稳定，加速端粒损耗，加剧细胞病理损伤，进一步证实 SIRT6 在维持端粒长度中的正向调控作用。与之相反，在 SIRT6 过表达干预后，模型细胞内 SIRT6 表达水平显著回升，端粒相对长度得到一定程度恢复，TERT 与 TRF2 的表达水平上调，细胞增殖能力得到改善，凋亡率显著下降，细胞病理表型得到有效缓解^[5]。

机制探究结果显示，SIRT6 主要通过组蛋白去乙酰化修饰实现对端粒稳态的调控，过表达 SIRT6 可显著提升端粒区域组蛋白 H3K9 的去乙酰化水平，促使端粒区域染色质维持紧缩构象，减少端粒序列暴露与降解风险，同时增强 TRF2 蛋白与端粒序列的结合能力。此外，SIRT6 可促进端

粒酶向端粒区域的招募与定位，提升局部端粒酶活性，补偿先天性角化不良症中端粒酶功能不足的缺陷，延缓端粒缩短速率，从结构维持与功能激活两个层面维持端粒长度稳态，这也是 SIRT6 参与先天性角化不良症病理进程的核心分子机制。

四、讨论

本研究通过体外细胞模型实验，首次系统验证了 SIRT6 介导的组蛋白去乙酰化修饰在先天性角化不良症中的调控作用，明确 SIRT6 低表达是加剧端粒缩短、推动疾病进展的重要表观遗传因素，突破了既往研究仅聚焦基因编码区突变的局限。研究结果证实，SIRT6 在疾病模型细胞中呈显著低表达状态，且表达水平与端粒长度呈正相关，沉默 SIRT6 会加剧端粒结构破坏与细胞功能衰竭，过表达 SIRT6 则可有效缓解端粒损伤，改善细胞病理表型。

端粒区域的染色质构象对端粒稳定性具有决定性作用，开放松散的染色质构象会导致端粒序列易被核酸酶降解，同时降低端粒保护蛋白的结合效率，而 SIRT6 通过对组蛋白的去乙酰化修饰，能够重塑端粒区域染色质构象，维持其紧缩状态，减少端粒异常重组与损耗，这一机制也是 SIRT6 区别于其他端粒相关蛋白的核心特征^[6]。先天性角化不良症患者体内 SIRT6 表达不足，无法有效维持端粒区域的表现修饰平衡，导致端粒结构脆弱、损耗加速，最终诱发细胞早衰与组织功能衰竭。

从药学研发与转化角度分析，SIRT6 作为 NAD⁺ 依赖型去乙酰化酶，具有明确的催化活性中心与调控位点，小分子激动剂可通过结合变构位点提升其催化活性，无需依赖基因治疗即可实现内源性蛋白功能激活，成药安全且可行^[7]。当前，针对 SIRT6 的小分子调节剂已在衰老相关疾病中展现出良好的应用前景，本研究结果为先天性角化不良症的靶向治疗提供了全新方向，即通过开发 SIRT6 特异性激动剂，上调体内 SIRT6 活性，修复端粒表现修饰缺陷，延缓端粒缩短，改善造血衰竭与多系统早衰症状。

本研究以体外细胞模型为核心，符合基础研究的探索逻辑，同时也存在一定的研究局限性，研究未开展动物体内实验与临床样本大队列验证，对 SIRT6 调控端粒的下游信号通路未进行更深入的挖掘。后续研究可构建疾病动物模型，扩大临床样本量验证 SIRT6 的表达规律，结合转录组与表观组测序技术，解析 SIRT6 调控端粒的完整分子网络，同时开展天然产物与化学小分子的筛选，研发高特异性、高活性的 SIRT6 激动剂，推动基础研究成果向临床药物转化，为先天性角化不良症患者提供安全有效的靶向干预手段^[8]。

五、结论

本研究证实，组蛋白去乙酰化酶 SIRT6 在先天性角化不良症细胞模型中呈显著低表达，其表达水平与端粒相对长度呈显著正相关，SIRT6 通过对端粒区域组蛋白的去乙酰化修饰，维持染色质构象稳定与端粒结构完整，调控端粒酶招募与活性，进而参与端粒长度维持过程。SIRT6 低表达会加剧端粒缩短、细胞增殖抑制与凋亡升高，是推动先天性角化不良症病理进展的重要分子机制，通过上调 SIRT6 表达可有效缓解。SIRT6 可作为先天性角化不良症的表现遗传干预靶点与潜在药物靶点，本研究结果为深入阐释疾病致病机制、研发罕见病靶向药物提供了全新的理论依据与实验基础。

参考文献：

- [1] 乔瑞, 马一平, 陈志明, 等. 先天性角化不良[J]. 临床皮肤科杂志, 2022, 51(08): 459-461.
- [2] 张孟曦, 庞淼一, 王培培, 等. 表观遗传学在偏头痛致病与诊疗中的研究进展[J/OL]. 首都医科大学学报, 1-10[2026-01-31].
- [3] 林江萍. 中西医对端粒和端粒酶的研究有什么新发现[J]. 人人健康, 2026, (01): 100-101.
- [4] 周丽娜, 安云飞, 赵晓东. 先天性角化不良遗传背景及临床特点[J]. 中国实用儿科杂志, 2016, 31(05): 386-390.
- [5] 陈鹤. miRNA125a-5p 靶向抑制组蛋白去乙酰化酶 SIRT6 促进巨噬细胞脂质沉积的机制研究[D]. 沈阳医学院, 2024.
- [6] 赵颖. Sirt6/Caveolin-1 自噬性降解途径在高糖促进 LDL 穿胞加速动脉粥样硬化形成中的作用[D]. 华中科技大学, 2022.
- [7] 靳园园, 周颖, 梅琳琳, 等. 组蛋白去乙酰化酶 3 抑制剂 RGF966 联合顺铂对宫颈癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 河南医学研究, 2025, 34(19): 3457-3462.

[8] 贾同欣, 熊梦婕, 侯凯龙, 等. 端粒延长替代机制在端粒酶阴性肿瘤和衰老细胞中的作用与机制[J]. 生物化学与生物物理进展, 2026, 53(01):92-104.

Pathogenic Role of Histone Deacetylase SIRT6 in Dyskeratosis Congenita by Regulating Telomere Length Maintenance Mechanism

NIE Jialei*

(Jiangsu Ocean University, Lianyungang, Jiangsu 222005, China)

Abstract: Dyskeratosis congenita is a rare hereditary syndrome characterized by structural and functional abnormalities of telomeres. Clinically, it mainly manifests as premature aging of multiple tissues and organs, hematopoietic failure, and high incidence of malignant tumors. Current studies mostly focus on mutation screening of telomerase-coding genes, while the exploration of mechanisms by which epigenetic modifications participate in the occurrence and progression of the disease remains insufficient. As a highly specific histone deacetylase, SIRT6 plays an irreplaceable role in chromatin conformation stability, DNA damage repair and telomere structure maintenance. However, its expression profile, regulatory pattern and functional value in the pathological process of dyskeratosis congenita have not been systematically elucidated. In this study, telomere dysfunctional cells were used as an in vitro model to detect the transcription and translation levels of SIRT6, and to analyze the intrinsic correlation between its expression and relative telomere length. SIRT6 expression was intervened by gene silencing and overexpression techniques to observe its effects on cell proliferation, apoptosis and the expression of telomere-related proteins, and to explore the molecular pathway of SIRT6 in regulating telomere length maintenance. The results showed that SIRT6 expression was significantly decreased in dyskeratosis congenita model cells and was positively correlated with the degree of telomere shortening. Inhibition of SIRT6 further aggravated telomere attrition and cellular dysfunction, while upregulation of SIRT6 partially restored telomere structural stability and ameliorated pathological cellular phenotypes. SIRT6 maintains telomere length homeostasis and delays cellular senescence mainly through deacetylation of histones in telomere regions, optimizing chromatin compaction and enhancing the binding efficiency of telomere protective proteins. This study enriches the pathogenic mechanism of dyskeratosis congenita from the perspective of epigenetic regulation, and identifies SIRT6 as a potential intervention target for this disease.

Keywords: SIRT6; Histone deacetylation; Telomere homeostasis; Dyskeratosis congenita; Epigenetics; Drug target