

. 综 述 .

HSP70 与颅脑损伤后应激性胃黏膜病变的关系研究进展

严贵忠 综述 任海军 侯博儒 审校

【关键词】 颅脑损伤; 应激性胃黏膜病变; 热休克蛋白 70

【文章编号】 1009-153X(2016)01-0057-03 【文献标志码】 B 【中国图书资料分类号】 R 651.1*5

颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)仍是威胁人类生命的主要疾病之一,其发病率、致残率及死亡率呈上升趋势^[1]。TBI的预后不仅与原发脑损伤程度有关,TBI引起的神经内分泌改变、全身炎症反应和多脏器功能障碍等并发症的发生也严重影响患者预后。应激性胃黏膜病为TBI后发生率较高的严重并发症,其发病机制极其复杂,现在普遍认为是神经内分泌改变导致胃黏膜保护因素和攻击因素失衡所致^[2]。机体在受TBI的打击下,启动多种防御系统,热休克反应系统是急性期发挥防御功能的一种,其中热休克蛋白(heat shock protein, HSP)70是最重要一类HSP,不仅可以保护神经细胞,还可以预防应激性胃黏膜病,促进胃溃疡的愈合^[3]。

1 HSP70的表达、调控及生物学特性

根据HSP家族的生物学特性和分子量的大小可以分为四类,即HSP90、HSP70、HSP60和小分子量的HSP(包括HSP27及HSP10)。正常情况下,机体只表达极少量的HSP70^[4]。

1.1 HSP70的表达与调控 细胞在应激源的刺激下,可以使一些蛋白质的正常表达受到抑制,启动另一些蛋白质的合成,其中主要是HSP,应激条件下对机体发挥积极的作用。HSP70是HSP中最保守、最主要且含量最丰富的一类,有多种生物学功能。

HSP70的表达与热休克转录因子(heat shock factor, HSF)及热休克元件(heat shock element, HSE)密切相关。正常情况下,HSF与HSP70结合,以无活性的泛素化单体形式存在;应激状态下,细胞内出现

大量的变性蛋白,泛素介导的酶解系统激活,游离泛素水平下降,大量增加的变性蛋白与HSP70竞争性结合HSF,致HSF单体水平升高。游离的HSF单体结合为有活性的三聚体,与HSE的亲合力大大增加,高亲和性的三聚体HSF与HSE结合,在RNA聚合酶的作用下启动HSP基因转录及表达^[5]。此外,药物GGA、17-AAG也是通过解离HSF成单体,诱导HSP70基因的表达^[6]。由于HSP70基因结构没有内含子,所以转录一旦启动就可产生出成熟的mRNA,在最短的时间内可以快速地表达HSP70。随着变形蛋白的降解和修复,过剩的HSP70再与HSF结合,使其活性降低,关闭HSP70基因的表达。

1.2 HSP70生物学功能 HSP70生物学作用主要包括:①分子伴侣^[7]。HSP70是最主要的分子伴侣,主要参与细胞内蛋白质的从头合成和运输以及蛋白质的折叠、降解、调节等过程,使正常蛋白快速合成补充变性蛋白,维持细胞蛋白的稳定性,使细胞对应激源的耐受性提高。②抗细胞凋亡。HSP70在多个水平调控,抑制细胞凋亡。如HSP70能抑制线粒体释放细胞色素c,从而抑制caspase途径的活化^[8];抑制应激活化蛋白激酶,即JNK和p38激酶;抑制凋亡激活基因p53、Bax的表达;抑制氧自由基的生成;抑制凋亡蛋白酶活性因子和凋亡诱导因子^[9]。③抗氧化应激。应激条件下机体产生大量的氧自由基,作用于细胞、线粒体、溶酶体等生物膜,对Ca²⁺进出细胞的调控能力下降,引起细胞毒性作用。HSP70抑制产生氧自由基的关键酶即烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶^[10],抑制氧自由基的产生,还可提高内源性超氧化物歧化酶-2的水平^[11],加快氧自由基的清除。④提高细胞耐受性。研究表明,用亚致死量的应激刺激预处理后的机体对其他的各种应激刺激的耐受性明显增强,这种现象是由于预处理的应激刺激诱导机体产生了HSP70。HSP70通过抑制核转录

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2016.01.022

基金项目:甘肃省自然科学基金(145RJZA146)

作者单位:730030 兰州,兰州大学第二医院神经外科(严贵忠、任海军、侯博儒)

通讯作者:任海军, E-mail: 378399369@qq.com

因子(nuclear factor kappa B, NF-κB)启动子的活性,使信号通路下游的细胞炎性因子肿瘤坏死因子-α,白细胞介素(interleukin, IL)-6和 IL-1β产物减少,减轻细胞的炎性反应过程^[12]。⑤免疫调节。细胞外的HSP70执行的功能与细胞内的HSP70不同。细胞外的HSP70是重要的抗原提呈调节因子,可促进T细胞介导的对肿瘤、病毒和主要组织性抗原的免疫反应,产生细胞因子,加强NK细胞的杀伤作用^[13]。

2 TBI与HSP70之间的关系

2.1 TBI后HSP70表达的意义 TBI程度与HSP70表达的时相及部位密切相关。轻型TBI后1h,在脑损伤局部皮层可以检测到HSP70的免疫反应性显著增高;而在重型TBI后,HSP70表达的时间推迟到伤后6h,且表达部位位于局部脑损伤深部的皮层中。这可能是因为蛋白质仅能表达于存活的细胞中,重型TBI后局部神经元大量死亡,同时这也提示HSP70为急性期新合成的蛋白,非细胞破裂溶解的产物。然而HSP70不仅表达在损伤局部及附近,在一些远离受损部位的区域表达也常增加,如海马、齿状回等^[14],可能是这些区域的细胞对损伤较敏感。但不论是轻型还是重型TBI,HSP70的水平在伤后72h左右恢复至正常水平,这说明HSP70仅是一种急性期时相性蛋白。

研究发现,血清HSP70的表达水平与TBI的程度呈正相关,且其急性期表达水平对预测预后具有临床意义。重型TBI患者的血清HSP70浓度明显高于轻、中型TBI患者。当HSP70的浓度超过62ng/ml时,预示患者预后不良的风险极大,其敏感度可达70%,这与临床实际中、重型TBI后预后不良是相一致的^[15]。

2.2 HSP70神经保护作用 研究发现,表达HSP70的转基因动物和细胞抵抗各种损伤的能力明显增加。HSP70对神经保护作用机制可能有:①作为一种内源性细胞保护因子,发挥分子伴侣作用。HSP70与应激时产生的大量变性蛋白结合,通过其C/N端结构域使变性蛋白降解或修复,同时协助新合成的蛋白正确折叠、移位,即可补充丢失的蛋白,也能尽快恢复正常细胞的结构和功能。②抗凋亡作用。HSP70参与多种凋亡信号通路,抑制神经细胞的凋亡^[9,16]。③调节神经元的存亡。钙蛋白酶-组织蛋白酶假说认为HSP70通过调节溶酶体膜结构的稳定性,控制神经元存活和死亡^[17]。④抗细胞毒性。应激状态下,一氧化氮合成酶合成增加,产生大量的一

氧化氮,对脑组织产生毒性作用。HSP70抑制NF-κB的活性,抑制兴奋性氨基酸与其受体的结合,使一氧化氮合酶及基因转录过程受到明显抑制,对抗内源性细胞毒性因子的作用^[12,18]。⑤脑缺血性改变是重型TBI主要的继发性改变,脑缺血时产生大量的自由基,直接损伤细胞膜及线粒体结构,加重细胞缺血缺氧。研究发现HSP70可以促进超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的合成和修复,提高细胞抗氧化的能力^[11]。

3 HSP70与应激性胃黏膜病变

应激性胃黏膜病变是TBI常见的继发性病变,可导致消化道出血、穿孔。研究发现,经过热处理的大鼠胃黏膜组织中HSP70表达水平明显增高,可显著减轻应激后胃黏膜损伤程度,对促进溃疡的愈合有着积极的作用。束缚-浸水实验模型小鼠口服HSP70诱导剂替普瑞酮后,能诱导胃黏膜细胞高表达HSP70,抑制黏膜炎症反应,促进溃疡的愈合。同时,HSP70可以对抗幽门螺杆菌引起的胃黏膜细胞凋亡、上皮细胞迁移减弱、局部血流减少、抑制新生血管形成等作用^[19]。另有研究表明,HSP70可以抑制细胞凋亡,对抗非甾体抗炎药对胃黏膜的损伤,减轻幽门螺杆菌的细胞毒性。Yuan等^[20]研究发现HSP70在胃黏膜内的表达量与胃黏膜的厚度呈正相关,胃溃疡出血患者黏膜内HSP70表达量明显下降,HSP70可能是通过抑制黏膜细胞的凋亡,维持黏膜正常的保护作用。Nordin等^[21]发现在药物诱导的应激性溃疡中,HSP70可以抑制凋亡调节蛋白Bax表达,减少细胞凋亡。TBI后胃肠道黏膜的通透性升高被认为是继发全身炎症反应的重要原因。Zuhl等^[22]发现HSP70的激活能显著降低药物引起的胃肠黏膜高通透性,可能与HSP70抑制NF-κB促炎因子的途径相关,减轻炎症因子肿瘤坏死因子-γ、IL-6对黏膜屏障的攻击。此外,基质金属蛋白酶的过量表达可以降解胃黏膜上皮细胞间的连接蛋白,应激状态下胃黏膜内基质金属蛋白酶明显升高,HSP70能够显著降低基质金属蛋白酶2和基质金属蛋白酶9,保护黏膜紧密连接,免受基质金属蛋白酶的破坏^[23]。Tanaka等^[24]证实HSP70在胃损伤模型中的表达水平受HSF的调节,而HSP70对胃黏膜的保护作用涉及多种机制,包括抑制促炎因子和细胞粘附分子的表达,抑制细胞死亡。HSP70的这些保护作用除与作为分子伴侣参与变性蛋白的降解及加速合成正常蛋白外,还参与多种信号通路,抑制细胞凋亡、清

除自由基、减少炎性细胞因子等。

TBI 继发的应激性胃黏膜病变的早期防治,对减轻机体全身炎症反应和降低多脏器功能障碍的发生有积极作用。HSP70 不仅可以保护 TBI 后神经细胞,对伤后胃黏膜的保护也有着积极作用。

【参考文献】

- [1] Stocchetti N. Traumatic brain injury: problems and opportunities [J]. *Lancet Neurol*, 2014, 13(1): 14-16.
- [2] Leung AM, Redlak MJ, Miller TA. Role of heat shock proteins in oxygen radical-induced gastric apoptosis [J]. *J Surg Res*, 2015, 93(1): 135-144.
- [3] Cornelius C, Crupi R, Calabrese V, *et al.* Traumatic brain injury: oxidative stress and neuroprotection [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 19(8): 836-853.
- [4] Murphy ME. The HSP70 family and cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34(6): 1181-1188.
- [5] Kust N, Rybalkina E, Mertsalov I, *et al.* Functional analysis of Drosophila HSP70 promoter with different HSE numbers in human cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e101994.
- [6] Sausville EA. Clinical development of 17-allylamino, 17-demethoxygeldanamycin [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2003, 3(5): 377-383.
- [7] Kose S, Imamoto N. Nucleocytoplasmic transport under stress conditions and its role in HSP70 chaperone systems [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(9): 2953-2960.
- [8] Wang X, Luo Y, Sun H, *et al.* Dynamic expression changes of Bcl-2, Caspase-3 and HSP70 in middle cerebral artery occlusion rats [J]. *Brain Inj*, 2014, 26: 1-5.
- [9] Choudhury S, Bae S, Ke Q, *et al.* Mitochondria to nucleus translocation of AIF in mice lacking HSP70 during ischemia/reperfusion [J]. *Basic Res Cardiol*, 2011, 106(3): 397-407.
- [10] Souza V, Escobar Mdel C, Bucio L, *et al.* NADPH oxidase and ERK1/2 are involved in cadmium induced-STAT3 activation in HepG2 cells [J]. *Toxicol Lett*, 2009, 187(3): 180-186.
- [11] Afolayan AJ, Teng RJ, Eis A, *et al.* Inducible HSP70 regulates superoxide dismutase-2 and mitochondrial oxidative stress in the endothelial cells from developing lungs [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2014, 306(4): 351-360.
- [12] Muralidharan S, Ambade A, Fulham MA, *et al.* Moderate alcohol induces stress proteins HSF1 and HSP70 and inhibits proinflammatory cytokines resulting in endotoxin tolerance [J]. *J Immunol*, 2014, 193(4): 1975-1987.
- [13] Mansilla MJ, Costa C, Eixarch H, *et al.* HSP70 regulates immune response in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105737.
- [14] 董莹, 马克宁, 卢晓维, 等. 颈交感干离断对局灶性脑缺血大鼠脑组织病理学及热休克蛋白 70 的影响 [J]. *中国康复医学杂志*, 2011, 26(5): 451-454.
- [15] Rocha AB, Zanoni C, Freitas GR, *et al.* Serum HSP70 as an early predictor of fatal outcome after severe traumatic brain injury in males [J]. *J Neurotrauma*, 2005, 22(9): 966-977.
- [16] 邵雪非, 陶进, 许安定. 硫酸镁对大鼠脑弥漫性轴索损伤海马区 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达影响的研究 [J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2011, 38(5): 426-431.
- [17] Yamashita T. HSP70. 1 and related lysosomal factors for necrotic neuronal death [J]. *J Neurochem*, 2012, 120(4): 477-494.
- [18] Liu X, Yang LJ, Fan SJ, *et al.* Swimming exercise effects on the expression of HSP70 and iNOS in hippocampus and prefrontal cortex in combined stress [J]. *Neurosci Lett*, 2010, 476(2): 99-103.
- [19] Mizushima T. Protective role of HSP70 against various gastrointestinal diseases [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2014, 19C: 1-5.
- [20] Yuan XG, Xie C, Chen J, *et al.* Seasonal changes in gastric mucosal factors associated with peptic ulcer bleeding [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 9(1): 125-130.
- [21] Nordin N, Salama SM, Golbabapour S, *et al.* Antiulcerogenic effect of methanolic extracts from *Enicosanthellum pulchrum* (King) Heusden against ethanol-induced acute gastric lesion in animal models [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11): e111925.
- [22] Zuhl M, Dokladny K, Mermier C, *et al.* The effects of acute oral glutamine supplementation on exercise-induced gastrointestinal permeability and heat shock protein expression in peripheral blood mononuclear cells [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2015, 20(1): 85-93.
- [23] Al-Dasooqi N, Wardill HR, Gibson RJ. Gastrointestinal mucositis: the role of MMP-tight junction interactions in tissue injury [J]. *Pathol Oncol Res*, 2014, 20(3): 485-491.
- [24] Tanaka K, Mizushima. Protective role of HSF1 and HSP70 against gastrointestinal diseases [J]. *Int J Hyperthermia*, 2009, 25(8): 668-676.

(2015-04-28 收稿, 2015-06-28 修回)