

热休克蛋白在动脉粥样硬化进程中的作用及其应用

孙先定 陈卫军

【摘要】 动脉粥样硬化(AS)被认为是一种多因素参与的慢性炎症、自身免疫性疾病。热休克蛋白(HSP)作为一种应激蛋白,能够维持细胞免受应激损害,通过抗炎症,抗氧化,抗凋亡的作用制止 AS 的发生,然而 HSP 作为一种炎症因子和自身抗原,在 AS 的进程中发挥不同的作用。血清中 HSP 的水平可为早期预测或诊断 AS 提供重要的依据;利用 HSP 的免疫抗原性质,能诱导机体的免疫耐受,抵抗 AS 的发生;给予具有保护作用的外源性 HSP 能抑制 AS 的进程。

【关键词】 动脉粥样硬化;热休克蛋白;自身免疫;炎症

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2012.03.002

动脉粥样硬化(AS)是许多心脑血管疾病发生的共同基础。目前认为,AS 是动脉壁对内皮细胞损伤的一种慢性炎症反应,通过氧化修饰的脂蛋白、单核源性巨噬细胞、T 淋巴细胞与动脉壁的正常细胞成分相互作用促进病变的发展,炎症反应被认为是 AS 形成和发展最重要的起始因素^[1]。研究发现,热休克蛋白(HSP)作为一种炎症因子和自身抗原,在 AS 形成的炎症反应和自身免疫过程中发挥着重要作用^[2]。

1 HSP 的概述

HSP 是一类高度保守的多肽类蛋白质分子家族,普遍存在于原核和真核生物细胞中,无论生物的进化程度如何,其分子结构都有很高的同源性。HSP 在正常生理状态下表达很少,只有在生物体受到环境中物理、化学、生物应激原及体内环境变化等刺激发生应激反应时才大量合成^[3]。

HSP 的种类繁杂,根据分子量的大小可将其分为 HSP110、HSP90、HSP70、HSP60、小分子 HSP、HSP10、泛素等多个亚家族,每个亚家族含有 1 个或多个成员。然而,随着越来越多新的 HSP 成员被发现,HSP 分类的不一致常常会导致混淆,为规范分类,Kampinga 等^[4]主要依照人类基因数据库中 HSP 基因的位置,力求 HSP 命名的清晰及一致性,将其分

为 HSPH (HSP110)、HSPC (HSP90)、HSPA (HSP70)、DNAJ (HSP40)、HSPB (small HSP)、HSPD/E(HSP60/HSP10)和 CCT(TRiC)。

作为一种应激蛋白,HSP 的功能主要是作为分子伴侣,参与蛋白质的折叠、转运和组装等过程,恢复或加速清除细胞内变性的蛋白质,从而稳定细胞结构和恢复其正常功能。另外,HSP 在细胞周期的调控、细胞增殖、细胞结构的构筑、调控细胞的死亡等方面也发挥着重要的作用。分子模拟或种间交叉反应显示,HSP 与各种炎症及自身免疫疾病相关,而 AS 作为一种多种因素参与的免疫炎症反应,HSP 在其中的作用也正逐渐被人们所认识^[2]。

2 HSP 在 AS 进程中的作用

2.1 HSP27 与 AS

HSP27 是小分子 HSP 家族中的一种,在抗炎、抵抗氧化应激、抑制细胞凋亡、参与血管平滑肌的移行和增殖等方面具有重要作用。研究发现,HSP27 可作为 AS 发生的生物学标志物,血清 HSP27 的水平与 AS 损害的程度呈负相关。这可能与蛋白水解有一定关系,AS 斑块释放大量的纤溶酶,能够降解释放到细胞外的 HSP27^[5]。HSP27 是一种重要的 AS 保护蛋白,体外实验证实,细胞外 HSP27 能抑制巨噬细胞摄取氧化修饰低密度脂蛋白(ox-LDL),并能与巨噬细胞表面的清道夫受体 A 竞争性结合,抑制巨噬细胞摄取胆固醇,

减少泡沫细胞的产生,减少炎症因子的释放,从而发挥其抗 AS 的作用。细胞外 HSP27 还能减少乙酰化 LDL 诱导的巨噬细胞释放促炎细胞因子白细胞介素(IL)-1 β ,并能增加抗炎细胞因子 IL-10 分泌^[6]。

此外,研究表明 HSP27 参与了雌激素对心脏的保护作用,雌激素能够诱导 HSP27 的分泌,并且与雌激素受体 β 有关^[7]。Rayner 等^[8]经过多次实验证实,女性 HSP27 的早期过表达明显高于男性,HSP27 对心脏的保护作用存在着性别差异。动物实验发现,HSP27 的释放及动脉保护作用需要依赖于雌激素作用于雌激素受体 β 来产生效应。

2.2 HSP60 与 AS

HSP60 是 HSP 家族中研究较多较早的一个蛋白质,HSP60 抗体是冠心病的独立危险因素。血清中 HSP60 抗体滴度在 1:400 以上者患冠心病的风险是血清 HSP60 抗体阴性者的 3.03 倍。哺乳动物的 HSP60 可以作为抗原被人和小鼠的免疫细胞识别,并诱导肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、IL-12 和 IL-15 的释放。另外,血清 HSP60 的水平在临界高血压病人中比正常血压的人群要高,而且血清 HSP60 水平与颈动脉内膜中层厚度成正比。这些研究都提示,HSP60 对促进 AS 的发生和发展起到了一定的作用。

进一步研究发现,HSP60 主要是通过介导炎症反应和免疫反应促进 AS 的发生^[2]。HSP60 正常情况下存在于细胞内,当受到刺激时,细胞内表达的 HSP60 增加,释放入血成为可溶性 HSP60 (sHSP60),并与多种细胞表面的 Toll 样受体 4/CD14 复合物结合,通过不同的信号转导通路促进炎症因子的释放,继而在各种炎症因子的综合作用下,导致内皮细胞的损伤,促进 AS 发生发展^[9]。HSP60 在介导免疫反应方面,与微生物的感染有一定关系。由于 HSP60 在原核和真核细胞之间有超过 70% 的序列同源性,微生物感染人体后释放 HSP60 入血,诱发人体的免疫反应,产生抗微生物 HSP60 的抗体,由于存在交叉免疫,该抗体能够识别内皮细胞上人 HSP60 表位,导致内皮细胞的损伤,炎症细胞的浸润,进而促进 AS 进程^[10]。

2.3 HSP70 与 AS

HSP70 家族在真核细胞中是研究最广泛,且成员丰富的热休克蛋白之一。目前,已对 HSP70 与 AS 的相关性做了大量的研究。Herz 等^[11]发现,冠

状动脉粥样硬化病人有较低水平的抗 HSP70 抗体。另外在严重冠状动脉粥样硬化的病人中也没有升高,而抗 HSP60 和 HSP65 抗体明显升高。Zhu 等^[12]通过大样本调查发现,低血清 HSP70 水平的人群相对于高水平人群冠心病的发病率增加了 2 倍,而且血清水平越低,冠心病的严重程度越高。这说明 HSP70 在防止 AS 方面起到了重要作用。目前研究认为,HSP70 主要是通过抗炎症、抗氧化、抗凋亡来抑制 AS 的发生。Pockley 等^[13]发现,HSP70 能作用于 TNF- α 而减少血管黏附分子的产生,从而抑制炎症细胞的趋化,减少黏附和迁移,保护血管内皮细胞,发挥其抗 AS 的作用。

对于 HSP70 在 AS 中的作用,多数认为是起抑制作用,但有少数研究认为 HSP70 可能有促进 AS 的作用。研究发现对于 ox-LDL 处理过的巨噬细胞,通过抑制 HSP70 的转录或分泌,或者利用 HSP70 抗体中和都能减少 IL-1 β 和 IL-12 的分泌,这表明 HSP70 可能主要通过旁分泌诱导细胞因子的释放,在促进炎症反应方面对 AS 的进程起到了一定的作用^[14]。因此,对于 HSP70 是促进 AS 还是抗 AS,还有待进一步研究证实^[15]。

3 HSP 的应用研究

3.1 早期预测或诊断 AS 相关疾病

通过大样本的调查和实验研究已发现,血清 HSP 的水平及抗 HSP 抗体的滴度与 AS 的发生发展及其严重程度有一定的相关性^[2]。因此,可利用血清 HSP 的水平及抗 HSP 抗体的滴度来早期预测或诊断 AS 相关疾病(如冠心病),判断其严重程度,以便对一些患病危险因素高的人群进行及早预防,辅助急危重症病人的诊断及治疗。

研究发现,血清 sHSP60 水平是颈动脉 AS、颈动脉内膜中层厚度的一个重要危险因素,并且独立于年龄、性别等其他危险因素。国内临床研究发现,血清 HSP60、HSP70 水平在急性冠状动脉综合征的病人中显著高于稳定型心绞痛病人及正常人群,并且急性心肌梗死病人血清 HSP60、HSP70 水平要显著高于不稳定型心绞痛,因此,血清 HSP60、HSP70 水平可能成为预测 AS 斑块不稳定性及评估急性冠状动脉综合征病情严重程度的敏感指标^[16]。

3.2 HSP 免疫治疗

由于 AS 的发病与免疫炎症有关,而 HSP 作为一种自身抗原促进免疫炎症反应,或许可通过诱导机体对 HSP 的免疫耐受来预防和治疗 AS。van

Puijvelde 等^[17]研究发现,通过给大鼠口服 HSP60 和 HSP 小短肽诱导免疫耐受,能增加 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的数目,减少颈动脉斑块体积约 80%,减少主动脉根部斑块体积约 27%,并且能增加 IL-10 和转化生长因子-β 的产生。随后发现,利用乳酸乳球菌这一安全的疫苗载体,口服分支杆菌 HSP65 来诱导免疫耐受,也能减少内皮细胞的损伤和 AS 的形成,并能增加抗炎因子 IL-10 的释放,减少干扰素-γ 的水平^[18]。另外,Xiong 等^[19]对兔子经鼻免疫 HSP65 能减少主动脉的损伤,下调血清脂质的水平。通过经口或鼻腔给予 HSP60/HSP65 能够诱导机体对 HSP 的免疫耐受,这可能成为治疗 AS 的一种新手段。

3.3 HSP 类制剂

研究发现,部分 HSP 可通过其抗炎、抗凋亡及抗氧化的作用减缓 AS 的进程。因此,是否能通过增加体内 HSP 来预防和治疗 AS 成为关注的课题。研究发现,通过对小鼠外源性给予重组 HSP27 可减少血清胆固醇水平,抑制 AS 发展,并能减少炎症细胞产生及细胞凋亡。小鼠静脉注射重组 HSP70 能减少香烟烟雾诱导的动脉内膜增厚,因为重组 HSP70 减少了磷酸化细胞外信号调节激酶在动脉壁的表达^[20]。这些研究都表明,应用具有 AS 保护作用的外源性 HSP,可能成为 AS 预防和治疗的一个方向。

4 总结和展望

AS 作为一种多因素作用的慢性免疫炎症疾病,HSP 在其发生发展中起到了重要的作用,既有保护作用,又可促进 AS 发展。HSP27 通过抗炎和抗氧化作用减少 AS 的发生,且被证明与雌激素有一定的关系。HSP60 可作为自身免疫抗原促进 AS 的发生,尤其是 sHSP60 能够与 Toll 样受体结合,促进多种炎症因子的释放,加速 AS 的进程。然而,对于 HSP70 是作为 AS 的促进物还是抑制物,目前的研究尚未完全阐明,有待进一步研究。

HSP 在 AS 的临床应用研究方面,通过检测机体中的 HSP 或其抗体水平,对 AS 的早期预测或诊断提供了重要的依据,而利用经口或鼻诱导机体对 HSP 免疫耐受来治疗 AS 也取得了一些进展,利用具有抗炎、抗氧化等保护作用的外源性 HSP 抑制 AS 进展的研究也取得了一些结果。然而,以上的许多相关研究仅限于动物实验阶段,对于 HSP 在

AS 的临床应用还需要对其相关机制进一步阐明,对 HSP 各家族进一步细致的研究,以及更多临床试验。HSP 有望成为诊断和治疗 AS 的一个新靶点。

参 考 文 献

- [1] Rodriguez G, Mago N, Rosa F. Role of inflammation in atherogenesis[J]. Invest Clin, 2009, 50(1):109-129.
- [2] Lu X, Kakkar V. The role of heat shock protein (HSP) in atherosclerosis: pathophysiology and clinical opportunities [J]. Curr Med Chem, 2010, 17(10):957-973.
- [3] De Maio A. Heat shock proteins: facts, thoughts, and dreams[J]. Shock, 1999, 11(1):1-12.
- [4] Kampinga HH, Hageman J, Vos MJ, et al. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins [J]. Cell Stress Chaperones, 2009, 14(1):105-111.
- [5] Martin-Ventura JL, Duran MC, Blanco-Colio LM, et al. Identification by a differential proteomic approach of heat shock protein 27 as a potential marker of atherosclerosis[J]. Circulation, 2004, 110(15): 2216-2219.
- [6] Rayner K, Chen YX, McNulty M, et al. Extracellular release of the atheroprotective heat shock protein 27 is mediated by estrogen and competitively inhibits ac-LDL binding to scavenger receptor-A [J]. Circ Res, 2008, 103(2): 133-141.
- [7] Rayner K, Chen YX, Siebert T, et al. Heat shock protein 27: clue to understanding estrogen-mediated athero-protection? [J]. Trends Cardiovasc Med, 2010, 20(2): 54-58.
- [8] Rayner K, Sun J, Chen YX, et al. Heat shock protein 27 protects against atherogenesis via an estrogen-dependent mechanism: role of selective estrogen receptor beta modulation[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009, 29(11): 1751-1756.
- [9] Foteinos G, Xu Q. Immune-mediated mechanisms of endothelial damage in atherosclerosis [J]. Autoimmunity, 2009, 42(7): 627-633.
- [10] Perschinka H, Wellenzohn B, Parson W, et al. Identification of atherosclerosis-associated conformational heat shock protein 60 epitopes by phage display and structural alignment [J]. Atherosclerosis, 2007, 194(1):79-87.
- [11] Herz I, Rosso R, Roth A, et al. Serum levels of anti heat shock protein 70 antibodies in patients with stable and unstable angina pectoris[J]. Acute Card Care, 2006, 8(1): 46-50.
- [12] Zhu J, Quyyumi AA, Wu H, et al. Increased serum levels of heat shock protein 70 are associated with low risk of coronary artery disease[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(6):1055-1059.

- [12] Reriani M, Raichlin E, Prasad A, et al. Long-term administration of endothelin receptor antagonist improves coronary endothelial function in patients with early atherosclerosis[J]. *Circulation*, 2010, 122(10):958-966.
- [13] Anand I, McMurray J, Cohn JN, et al. Long-term effects of darusentan on left-ventricular remodelling and clinical outcomes in the endothelin-A receptor antagonist trial in heart fail-ure (EARTH): randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2004, 364 (9431): 347-354.
- [14] Kelland NF, Bagnall AJ, Morecroft I, et al. Endothelial ETB limits vascular remodelling and development of pulmonary hypertension during hypoxia[J]. *J Vasc Res*, 2010, 47(1):16-22.
- [15] Kelland NF, Kuc RE, McLean DL, et al. Endothelial cell-specific ETB receptor knockout: autoradiographic and histological characterisation and crucial role in the clearance of endothelin-1[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2010, 88(6): 644-651.
- [16] Kirchengast M, Luz M. Endothelin receptor antagonists clinical realities and future directions [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 45(2):182-191.
- [17] Sitbon O, Badesch DB, Channick RN, et al. Effects of the dual endothelin receptor antagonist bosentan in patients with pulmonary arterial hypertension: a 1-year follow-up study [J]. *Chest*, 2003, 124(1):247-254.
- [18] Widyanoro B, Emoto N, Nakayama K, et al. Endothelial cell-derived endothelin-1 promotes cardiac fibrosis in diabetic hearts through stimulation of endothelial-to-mesenchymal transition[J]. *Circulation*, 2010, 121(22):2407-2418.
- [19] Wolkart G, Stessel H, Saad Z, et al. Cardioprotective effects of atrasentan, an endothelin-A receptor antagonist, but not of nitric oxide in diabetic mice with myocyte-specific overexpression of endothelial nitric oxide synthase[J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 148(5):671-681.
- [20] Settergren M, Pernow J, Brismar K, et al. Endothelin-A receptor blockade increases nutritive skin capillary circulation in patients with type 2 diabetes and microangiopathy[J]. *J Vasc Res*, 2008, 45(4):295-302.
- [21] Ortmann J, Nett PC, Celeiro J, et al. Endothelin inhibition delays onset of hyperglycemia and associated vascular injury in type 1 diabetes: evidence for endothelin release by pancreatic islet beta-cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 334(2):689-695.

(收稿:2012-01-11 修回:2012-04-01)

(本文编辑:金谷英)

(上接第 134 页)

- [13] Pockley AG, Calderwood SK, Multhoff G, et al. The atheroprotective properties of Hsp70: a role for Hsp70-endothelial interactions? [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2009, 14(6):545-553.
- [14] Svensson PA, Asea A, Englund MC, et al. Major role of HSP70 as a paracrine inducer of cytokine production in human oxidized LDL treated macrophages [J]. *Atherosclerosis*, 2006, 185(1):32-38.
- [15] Bielecka-Dabrowa A, Barylski M, Mikhailidis DP, et al. HSP 70 and atherosclerosis-protector or activator? [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2009, 13(3):307-317.
- [16] 薛彦琼,李向平,秦英楠.急性冠状动脉综合征患者血清热休克蛋白 70 的变化及其相关因素分析[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2010, 18(10):817-820.
- [17] van Puijvelde GH, van Es T, van Wanrooij EJ, et al. Induction of oral tolerance to HSP60 or an HSP60-peptide activates T cell regulation and reduces atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(12): 2677-2683.
- [18] Jing H, Yong L, Haiyan L, et al. Oral administration of lactococcus lactis delivered heat shock protein 65 attenuates atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice[J]. *Vaccine*, 2011, 29(24): 4102-4109.
- [19] Xiong Q, Li J, Jin L, et al. Nasal immunization with heat shock protein 65 attenuates atherosclerosis and reduces serum lipids in cholesterol-fed wild-type rabbits probably through different mechanisms [J]. *Immunol Lett*, 2009, 125(1): 40-45.
- [20] Matsumoto M, Dimayuga PC, Wang C, et al. Exogenous heat shock protein-70 inhibits cigarette smoke-induced intimal thickening[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2008, 295(4):1320-1327.

(收稿:2011-12-16 修回:2012-04-01)

(本文编辑:金谷英)