

小分子热休克蛋白在眼部表达及其影响因素的研究进展

王晗敏, 张兴儒

作者单位:(200062)中国上海市普陀区中心医院眼科
作者简介:王晗敏,住院医师,硕士,研究方向:眼表疾病。
通讯作者:张兴儒,教授,主任医师,硕士生导师,中华中医药学会眼科分会委员,上海市中医药学会眼科分会副主任委员,上海市医学会眼科分会委员,防盲学组组长,上海市中西医结合学会眼科分会常务委员,副院长兼眼科主任,《国际眼科杂志》编委,研究方向:眼表疾病、白内障。zhangxingru@mail.china.com
收稿日期:2009-09-16 修回日期:2009-11-23

Expression of small heat shock protein in eye diseases and its influencing factors

Han-Min Wang, Xing-Ru Zhang

Department of Ophthalmology, Putuo District Center Hospital, Shanghai 200062, China

Correspondence to: Xing-Ru Zhang. Department of Ophthalmology, Putuo District Center Hospital, Shanghai 200062, China. zhangxingru@mail.china.com

Received:2009-09-16 Accepted:2009-11-23

Abstract

• Small heat shock proteins (sHSPs), sHSPs are the subunit of heat shock protein (HSP), which will express increased rapidly with a variety of stress state and take part in the protection and injury of organization. The research of sHSPs has attracted extensive attention from scholars at home and abroad. sHSPs play an important role in chaperone, collaborative immunization, inhibiting apoptosis, antigen-presenting and steroid hormone receptor. To fully recognize the mechanism of sHSPs in eye diseases can help understand the pathogenesis of eye diseases further and provide a new basis of molecular biology for the treatment of eye diseases.

• KEYWORDS: heat shock protein; HSP27; HSP47; eye disease

Wang HM, Zhang XR. Expression of small heat shock protein in eye diseases and its influencing factors. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(1):108-110

摘要

小分子热休克蛋白(small heat shock proteins, sHSPs)是热休克蛋白的亚单位,在各种应激状态下,它在组织中迅速表达增强,参与对组织的保护和损伤作用。sHSPs的研究已经受到国内外学者的广泛关注,认为其在作为分子伴侣、协同免疫、抑制凋亡、抗原提呈以及甾体激素受体功能等方面具有重要作用。充分认识 sHSPs 在眼部疾病中的功能及其作用机制,能进一步了解眼部疾病的发病机制,为疾病的治疗研究提供新的分子生物学依据。

关键词:热休克蛋白;热休克蛋白 27;热休克蛋白 47;眼科疾病

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.01.035

王晗敏,张兴儒.小分子热休克蛋白在眼部表达及其影响因素的研究进展.国际眼科杂志 2010;10(1):108-110

0 引言

热休克反应(heat-shock response, HSR)是原核生物和真核生物受到各种应激原刺激后发生的一种生理性的快速短暂的细胞代谢调节,是一种细胞自身保护的防御机制,此期间细胞内一些正常基因的表达受到抑制,而一组特殊基因则被激活并表达,这组特殊基因就是热休克基因,所产生的蛋白质称为热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)^[1]。热休克蛋白在生物界具有普遍性的特点,其广泛存在于从原核到真核生物的有机体内,在应激原的作用下,它们各自的诱导和调节机制随之被激活,发挥特殊的生物学功能。HSP 另一个重要特点是它们在进化过程中的高度保守性。有研究发现,真核生物间 HSPs 的同源性可达 60%~80%。说明它们具有普遍存在的重要生理功能。目前按照蛋白的大小,热休克蛋白共分为五类,分别为 HSP100, HSP90, HSP70, HSP60 以及小分子热休克蛋白(small heat shock proteins, sHSPs)^[2]。与其他大分子的热休克蛋白不同的是, sHSPs 似乎对于细胞的功能并不是必不可少的。但是 sHSPs 具有多种功能,包括赋予细胞耐热性以抵抗高温,作为分子伴侣以防止蛋白聚集,对抗正常的细胞死亡,从而调节细胞的生存和死亡的平衡^[3]。近年来许多眼科研究发现, sHSPs 中的 HSP27 和 HSP47 与诸多眼部疾病的发生、发展有着非常密切的关联,参与眼部各种细胞的保护与损伤作用。

1 HSP27 家族

1.1 HSP27 在眼部的表达 HSP27 是小分子热休克蛋白家族中的重要一员,越来越多的研究发现 HSP27 在眼部许多细胞中有持续表达,而它在应激状态下的表达异常可能参与了眼部疾病的发展过程。白内障是一种常见眼病,许多应激因素如紫外线、代谢紊乱、氧化、高温、Ca²⁺ 渗入等能诱导导致晶状体上皮细胞发生异常凋亡和增殖,从而促进白内障的发生^[4,6]。有研究表明, HSP27 作为对抗应激的蛋白质在晶状体代谢中可能发挥重要的保护作用^[7]。Bagchi 等^[8]分别对成人及婴儿的晶状体进行热休克蛋白的定位监测,发现 HSP27 表达于晶状体全层,而 HSP27 随年龄增高含量增加。Hawse 等^[7]对 50 例老年性白内障进行检测,发现其晶状体前囊膜上皮细胞中 HSP27 的表达量较正常眼明显增高。有学者发现,在晶状体纤维细胞,小分子 HSP 能够减少晶状体内活性氧,并增加谷胱甘肽(GSH)的水平,为晶状体细胞提供抗氧化的保护^[9]。在应激状态下, HSP27 能抑制半胱氨酸蛋白酶,影响晶状体细胞的生长,并帮助新合成的蛋白质分子获得天然构象,保护它们免受应激损害,阻止蛋白质的不正确折叠或变

性,或帮助变性的蛋白质复性^[10]。在青光眼长期高血压状态下,视网膜节细胞(retinal ganglion cell, RGC)长期受压导致缺血,从而导致进行性死亡,严重威胁视觉功能。近年来,如何阻断视网膜视神经节细胞凋亡的途径,增强其存活能力,已成为青光眼研究中的重要课题。Yokoyama等^[11]将外源性 HSP27 注入缺血 60min 的鼠玻璃体腔中,发现 HSP27 处理组 RGCs 的存活数明显增多,说明 HSP27 能明显增强 RGC 抵御由于缺血所诱导的凋亡发生。Sakai等^[12]通过建立实验性猴青光眼模型检测 HSP27 的表达,发现 HSP27 在实验性高血压状态下的视网膜中表达明显增强,认为 HSP27 的表达与眼压升高有密切关系。吕红彬等^[13]建立 32 只大鼠的高眼压模型,运用免疫组化法检测 RGCs HSP27 的表达及分布情况,发现 RGCs 中 HSP27 阳性表达随着眼压升高及高血压持续时间延长逐渐增强,且视网膜神经纤维层中也出现较明显的 HSP27 的阳性表达。因而提示 HSP27 的表达在青光眼视神经损伤过程中起着的细胞防卫作用,但随着病程进展,HSP27 的表达逐渐增强将诱使自身免疫反应的增强,HSP27 抗体滴度的增加将进一步促进青光眼视神经病变的发展,因此,合理运用 HSP27 的细胞保护作用,同时防止其抗体的促凋亡作用,是减少青光眼致盲性的新方法。另外,在眼表应激损伤中,HSP27 也发挥其特有的保护作用。在正常角膜组织中,其主要存在于近角膜缘的角膜基质和角膜上皮细胞中^[14]。已有研究报道,HSP27 在应激反应中所起的作用受自身磷酸化和聚合状态的调节,无磷酸化的低聚物主要起分子伴侣的作用,而双磷酸化形式则能通过抑制蛋白酶和凋亡因子来起到保护作用^[15]。Shi 等^[14]将角膜上皮细胞进行体外培养后,暴露于紫外线 B (UVB) 中,采用免疫荧光和免疫印迹法检测 HSP27 在这些细胞中的表达,发现角膜上皮细胞在受到应激损伤后,细胞中的 HSP27 的表达非常错杂:一些细胞几乎没有表达,而另一些却有强烈的表达,在这些损伤细胞中,HSP27 迅速从细胞质易位至细胞核附近,并发生自身的磷酸化,对角膜上皮细胞起到保护作用。Berra 等^[16]采用免疫组化法对 10 例变应性角结膜炎和 10 例眼部瘢痕性类天疱疮(ocular cicatricial pemphigoid, OCP) 的结膜上皮细胞进行 HSP27 的检测,在两种疾病的结膜上皮细胞中,HSP27 都有明显的表达上调,而在 OCP,结膜血管内皮细胞中也有表达的增强,提示在这些眼表疾病中,角结膜存在 HSP27 的局部免疫机制。

1.2 影响因素 大量的研究已证明,在组织损伤时,HSP27 能够迅速的应激性表达增强,究竟其表达增强的始动机制是什么,是否有其他内在外在因素能够调节其表达水平。近来,针对 HSP27 表达影响因素的研究已大量展开。Meng 等^[17]的研究结果表明,P38MAPK 信号转导途径参与损伤组织中 HSP27 的表达。MAPK 是一种丝/苏氨酸蛋白激酶,广泛分布在眼部各种组织中,氧化应激首先激活 MAPK,并通过 P38MAPK 信号转导途径实现 HSP27 的磷酸化,从而使其表达增加。Ono 等^[18]也认为 P38MAPK 激活与炎症和应激反应的调控密切相关。据报道频谱照射的物理疗法可以加速周围神经的再生,并且较其他物理疗法效果更为明显^[19]。有研究对受损的大鼠视神经进行频谱照射治疗,结果表明频谱照射可使具有保护作用的 HSP27 表达上调,受损细胞存活数量增加,而 HSP27 的表达与视网膜节细胞数目的变化趋势基本一致,原因可能为频谱照射的信号使机体产生内热效应,进而诱导 HSP27 在胞质内的过度表达,从而激发并增强了受损中枢神经的

自我保护及修复作用^[19]。也有学者提出,在热应激损伤时,可以考虑用磷脂酶 A2 来防止 HSP27 去磷酸化,从而维持 HSP27 的高表达状态,减少应激时组织的损伤^[20]。

2 HSP47 家族

2.1 HSP47 在眼部的表达 热休克蛋白 47(heat shock protein 47, HSP47)是一种胶原特异性分子伴侣,参与前胶原在内质网中的整个加工处理过程,在组织器官纤维化中起重要作用。Tanaka 等^[21]采用免疫印迹法检测不同时期胚胎大鼠眼球组织中的 HSP47 表达情况,发现 HSP47 在胚胎早期的眼球组织中显著表达,在生后 14d,其主要分布在间质细胞和玻璃体血管,刺激 I 型胶原的合成,随着眼球发育的不断完善,HSP47 的表达量逐渐减少。然而在一些眼部疾病的纤维化病理进程中,HSP47 表达增加则导致胶原蛋白的大量沉积,促进病程的进展^[22]。Mohammed 等对 15 例 OCP 患者的结膜进行 HSP47 的检测,结果发现 HSP47 与 I 型胶原明显增多,提示 HSP47 促进胶原蛋白的合成、加工和装配,在 OCP 结膜瘢痕形成过程中起关键作用。对兔角膜进行准分子激光角膜切削术(photorefractive keratectomy, PRK)后 3d,在角膜上皮细胞和基质层检测到 HSP47 的表达,5~7d 后,HSP47 的表达范围扩展到基质深层以及角膜内皮,28d 后逐渐减少,认为 HSP47 在角膜细胞质中除了在应激时保护细胞,更作为胶原蛋白肽的分子伴侣发挥作用,加快 PRK 后角膜前基质细胞中胶原蛋白的合成,从而导致角膜基质混浊^[23]。Yu 等^[24]也发现在高血压状态下诱发的视神经胶质细胞反应中伴随着 HSP47 的表达上调。而在视网膜疾病,目前国内外的研究多着重于探讨缺血缺氧与增生性视网膜病变,目前已证实,视网膜色素上皮细胞(retinal pigment epithelial cells, RPE)是增生性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)和增生性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)增生膜中的主要细胞成分之一。增生膜中除了包括 RPE 细胞和神经胶质细胞等在内的一些细胞成分外,主要由上述细胞分泌的以胶原为主的细胞外基质构成^[25]。吕明良等^[26]在研究中发现,高糖能诱导 RPE 细胞 HSP47 表达的增加,在 PDR 的发生及发展过程中起着重要的作用。

2.2 影响因素 大量研究表明抑制 HSP47 的表达可防止胶原蛋白的蓄积,因此,HSP47 可作为今后治疗眼部纤维化疾病的潜在性靶点。Seiji 等^[27]认为糖化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)能够导致糖尿病并发症的发生,其机制在于诱导 HSP47 的表达上调,导致组织器官病理性纤维化增生。而 AGEs 抑制剂 OPB-9195(OPB)能显著抑制 HSP47 的表达,从而减少并发症的发生。TGF- β 1 是促进组织纤维化的重要生长因子,与 HSP47 在全身组织和器官的纤维化中发挥协同效应^[28]。在离体实验中,TGF- β 1 的中和抗体能够使 HSP47 的表达下调^[27]。还有学者发现低质量浓度的曲安奈德及相对高质量浓度均可有效地抑制高糖培养条件下的 RPE 细胞表达 HSP47,为治疗 PVR 及 PDR 提供了新的思路和方法^[29]。

3 小结

在眼部受到应激损伤时,小分子热休克蛋白能够迅速表达并参与多种复杂的功能活动,它们既可能作为对抗应激的蛋白质在眼部发挥重要的保护作用,也可促进过度纤维化导致疾病的进一步进展。sHSPs 作用的具体生物学机制尚不清楚,综合利用基因工程,免疫组化,免疫印迹等

先进研究技术进一步探明 sHSPs 在眼部疾病中的作用机制具有重要意义,如何增强 sHSPs 在局部组织的保护作用,防止受损细胞的凋亡,同时控制其促纤维化机制,限制不利因素,为眼部疾病的研究提供了新的思路。

参考文献

- 1 Lindquist J, Craig EA. The heat shock proteins. *Ann Rev Genet* 1988; 22:631-637
- 2 Morimoto RI, Tissieres A, Georgopoulou C. The stress response, function of the proteins and perspectives. In: *Stress Proteins in Biology and Medicine*. New York: CPHL Press 1990;1670-1678
- 3 Bechmann RP, Mizim IA, Welch WJ. Interaction of folding and assembly by events. *Science* 1990;248:850-854
- 4 Spector A, Wang GM, Wang RR, et al. A brief photochemically induced oxidative insult causes irreversible lens damage and cataract. II. Mechanism of action. *Exp Eye Res* 1995;60(5):483-493
- 5 Hightower KR. The role of the lens epithelium in development of UV cataract. *Curr Eye Res* 1995;14(1):71-78
- 6 Li WC, Kuszak JR, Wang GM, et al. Calcimycin-induced lens epithelial cell apoptosis contributes to cataract formation. *Exp Eye Res* 1995;61(1):91-98
- 7 Hawse JR, Cumming JR, Oppermann B, et al. Activation of metallothioneins and alpha-crystallin/HSPs in human lens epithelial cells by specific metals and the metal content of aging clear human lenses. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(2):672-679
- 8 Bagchi M, Katar M, Maisel H. Heat shock proteins of adult and embryonic human ocular lenses. *J Cell Biochem* 2002;84(2):278-284
- 9 Wyttenbach A, Sauvageot O, Carmichael J, et al. Heat shock protein 27 prevents cellular polyglutamine toxicity and suppresses the increase of reactive oxygen species caused by huntingtin. *Hum Mol Genet* 2002;11(9):1137-1151
- 10 Garrido C, Bruey JM, Fromentin A, et al. HSP27 inhibits cytochrome c-dependent activation of procaspase-9. *FASEB J* 1999;13(14):2061-2070
- 11 Yokoyama A, Oshitari T, Negishi H, et al. Protection of retinal ganglion cells from ischemia-reperfusion injury by electrically applied Hsp27. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(13):3283-3286
- 12 Sakai M, Sakai H, Nakamura Y, et al. Immunolocalization of heat shock proteins in the retina of normal monkey eyes and monkey eyes with laser-induced glaucoma. *Jap J Ophthalmol* 2003;47(1):42-52
- 13 吕红彬,袁援生,李燕,等.鼠青光眼模型视网膜神经节细胞中热休克蛋白27表达的研究. *中华眼科杂志* 2005;41(6):533-539
- 14 Shi B, Han B, Schwab IR, et al. UVB irradiation-induced changes in the 27-kd heat shock protein (HSP27) in human corneal epithelial cells. *Cornea* 2006;25(8):948-955
- 15 Wolfgang H, Yajun T, Renate A, et al. Identification of proteins that modify cataract of mouse eye lens. *Proteomics* 2008;8(23,24):5011-5024
- 16 Berra A, Dutt JE, Nouri M, et al. Heat-shock protein expression in human conjunctiva. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35(2):352-357
- 17 Meng XZ, Ao LH, Song Y, et al. Post-transcriptional regulation of ICAM-1 expression by p38 MAPK pathway in human microvascular endothelial cells; The role of HSP27. *Inflammation Reserach* 2007;56(Suppl 2):S184
- 18 Ono K, Han J. The p38 signal transduction pathway: activation and function. *Cell Signal* 2000;12(1):1-13
- 19 许媛媛,裴群羽,王珂,等.频谱照射对受损视网膜节细胞的早期保护作用. *中国临床康复* 2006;10(17):125-127
- 20 Weinreb O, Dovrat A, Dunia I, et al. UV-A2 related alterations of young and adult lenswater-insoluble alphacrystallin, plasmamembranous and cytoskeletal proteins. *Eur J Biochem* 2001;268:536-543
- 21 Tanaka Y, Kobayashi K, Kita M, et al. Expression of 47 kDa heat shock protein (HSP47) during development of mouse cornea. *Experimental Eye Research* 1996;63(4):383-393
- 22 Brown KE, Broadhurst KA, Mathahs MM. Expression of HSP47, a collagen-specific chaperone, in normal and diseased human liver. *Lab Invest* 2005;85(6):789-797
- 23 Takeshi M, Shizuya S, Akio Y, et al. Wound healing in rabbit corneas after photorefractive keratectomy and laser *in situ* keratomileusis. *J Cataract Refract Surg* 2003;29(1):153-158
- 24 Yu AL, Morimire J, Birke M, et al. Reactivation of optic nerve head astrocytes by TGF-beta 2 and H2O2 is accompanied by increased Hsp32 and Hsp47 expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009; 50(4):1707-1717
- 25 Laudanska-Olszewska I, Omulecki W, Dziegielewski K, et al. Pathomorphology of membranes appearing in proliferative vitreoretinopathies. *Klin Oczna* 2006;108(1-3):28-31
- 26 吕明良,李敏,夏辉,等.高糖对体外培养的人视网膜色素上皮细胞 HSP47 表达的影响. *眼科研究* 2007;25(11):858-860
- 27 Seiji O, Hideharu A, Toshikazu T. Advanced glycation end products increase collagen-specific chaperone protein in mouse diabetic nephropathy. *J Biol Chem* 2004;279(19):19816-19823
- 28 Razzaque MS, Le VT, Taguchi T. Heat shock protein 47 and renal fibrogenesis. *Contrib Nephrol* 2005;148:57-69
- 29 吕明良,李敏,夏辉,等.曲安奈德对体外培养的人视网膜色素上皮细胞 HSP47 表达的影响. *眼科研究* 2008;26(5):369-372