

HSP60 在眼部疾病中作用的研究进展

陈喜慧, 苏 胜, 刘 平

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 81470618)

作者单位: (150001) 中国黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第一医院眼科医院

作者简介: 陈喜慧, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜病、晶状体疾病。

通讯作者: 刘平, 男, 主任医师, 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 角膜病、晶状体疾病的基础与临床研究. pingliuhmu@126.com

收稿日期: 2015-05-29 修回日期: 2015-09-11

Advances of the roles of HSP60 in ocular diseases

Xi-Hui Chen, Sheng Su, Ping Liu

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81470618)

Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Ping Liu. Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. pingliuhmu@126.com

Received: 2015-05-29 Accepted: 2015-09-11

Abstract

• Heat shock protein (HSP) is a kind of heat stress protein that widely exists in organism. Its expression will be significantly increased if the cells are under stress conditions (such as heat shock, pathogen infection, tissue injury, physiological stress, etc.). HSP60 is one of the families of HSPs, which can be induced by various stimuli, and may be released by stress or necrotic cells. HSP60 could play an important role in anti-infection, autoimmune, aging and apoptosis. The latest researches showed that HSP60 involved in the pathogenesis of a variety of eye diseases. Therefore, the effect and of HSP60 on the eyes and its molecular mechanism in related disease processes were reviewed in this study.

• **KEYWORDS:** heat shock protein; HSP60; cataract; glaucoma; diabetic retinopathy; retinoblastoma

Citation: Chen XH, Su S, Liu P. Advances of the roles of HSP60 in ocular diseases. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(10): 1723-1726

摘要

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是在生物中广泛存在的一类热应激蛋白质,当细胞处于应激条件时(如热休克、病原体感染、组织损伤、生理逆境等)其表达量明显提高。HSP60是热休克蛋白的重要家族之一,可以被各种刺激所诱导而产生,并可以被应激或坏死的细胞所释放,其在抗感染、自身免疫、衰老以及凋亡中都发挥重要的作用。新近的研究发现,HSP60参与多种眼部疾病的发病过程,本文就HSP60在眼部疾病过程中的作用及分子机制进行综述。

关键词:热休克蛋白;HSP60;白内障;青光眼;糖尿病视网膜病变;视网膜母细胞瘤

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.10.12

引用:陈喜慧,苏胜,刘平. HSP60在眼部疾病中作用的研究进展. *国际眼科杂志* 2015;15(10):1723-1726

0 引言

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)在生物中广泛存在,并且具有分子伴侣活性。HSP60是HSP的重要家族之一,其基因序列在不同的生物中高度同源,并具有高度保守性。在细胞内蛋白的组装、折叠和转运中具有分子伴侣的作用。HSP60在抗感染、自身免疫、衰老以及凋亡中都具有重要的生物学功能,并广泛参与眼部多种疾病的发病过程。

1 HSP60及其功能

HSP进化过程具有高度的保守性,其在应激环境的耐受和适应中起重要的作用^[1],可提高细胞的应激能力,特别是耐热能力;还可调节 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的活性。并且许多HSP在先天免疫和适应性免疫中发挥重要作用^[2]。HSP通常隐藏在细胞内并有助于细胞的免疫^[3]。并有研究表明,HSP具有保护和促进细胞从各种刺激引起的损伤中自我修复的功能^[4]。按照蛋白的大小,HSP分为HSP100、HSP90、HSP70、HSP60以及小分子HSP,此外还有分子量100~110kDa而性质不同于上述家族的大分子HSP。其中,HSP60是HSP的重要家族之一,其成员包括分子量60kDa上下的多个蛋白质。HSP60是组成型表达,在正常生长条件下占蛋白总量的5%~10%。人类HSP60基因存在于2号染色体上,蛋白可以被各种刺激所诱导而产生,包括热、氧化应激和感染。HSP60是高度保守的分子,在细胞内蛋白的组装、折叠和转运中具有分子伴侣的作用^[3]。正常条件下,HSP60以稳定状态存在于细胞质和线粒体基质中;应激条件下,HSP60迅速从胞质中转移到

线粒体基质以修复线粒体基质中的变性蛋白^[5]。研究还表明,HSP60能够通过优先结合变性的蛋白使细胞免受应激的伤害^[6]。在真核细胞中,HSP60主要位于线粒体内,帮助进入的新生肽链在依赖ATP的反应中进行折叠和组装^[7]。HSP60还能协助变性、不可溶的凝聚蛋白重新恢复天然构象^[8]。HSP60是细胞内分子伴侣,当被释放到细胞外时,已经很大程度上被描述为作为一种警告或损伤相关的分子模式^[9]。HSP60在调节免疫反应和调节信号通路中具有多种功能^[10]。HSP60的细胞质定位可以根据细胞需要调节蛋白酶体活性^[11]。并有大量研究表明,HSP60在抗感染、自身免疫、衰老以及凋亡中都发挥重要的作用。

2 HSP60与眼部疾病

2.1 HSP60与沙眼

沙眼是由沙眼衣原体感染所致的一种慢性传染性结膜角膜炎,是导致盲目的主要眼病之一。1991年Rocky Mountain Laboratories实验室发现一种衣原体蛋白,它是衣原体来源并属于HSP60家族,并且这种蛋白是衣原体感染眼睛和生殖道后引起病理免疫反应的重要因素^[12]。有研究显示HSP60具有抗感染的功能,它可调节中性粒细胞的抗菌能力,增强中性粒细胞的吞噬活性,并具有调节和趋化中性粒细胞的功能^[3]。当受到感染等不良刺激时,细胞内HSP60的表达明显增加并移位于细胞表面,或在细胞坏死时释放出来。HSP60可活化初始T细胞,使T细胞分泌IFN- γ ^[13]。有研究显示细胞外的HSP60刺激专职抗原提呈细胞如巨噬细胞和树突状细胞,并加强抗原依赖性T细胞的活化,因此,HSP60有助于启动有效的先天性和适应性免疫应答,有助于对抗病原体入侵的早期宿主防御机制^[3]。沙眼衣原体HSP60可引起IV型(迟发型)超敏反应,感染后导致结膜结缔组织增生,是引起沙眼的重要病因^[14]。Hessel等^[15]结果提示,沙眼衣原体HSP60不仅可以引起迟发型的细胞免疫,也可引起有补体系统参与的急性炎症反应。另外有大量研究表明HSP60参与全身多种自身免疫性疾病,可见进一步研究HSP60的抗感染功能以及参与自身免疫的机制有助于沙眼的防治。

2.2 HSP60与葡萄膜炎

葡萄膜是眼球壁的中层组织,位于巩膜和视网膜之间,包括虹膜、睫状体和脉络膜。富含色素,也富含黑色素相关抗原,血流丰富,易于受到自身免疫、感染、代谢、血源性、肿瘤等因素的影响。葡萄膜炎是常见病,其中以炎症最为常见。葡萄膜炎是一种器官特异性自身免疫病^[16]。HSP在免疫反应的控制中是重要的一员。在免疫介导的疾病中HSP已经显示出双重作用,参与自身免疫疾病的诱导、传播、抑制。许多研究表明HSP60是TLR-2和TLR-4的配体,表明了HSP60作为快速的炎症细胞因子释放和适应性Th1型应答增强的免疫学和内源性标志。HSP60是高度保守的分子,并且在慢性炎症和自身免疫过程中高度表达。在大鼠中分枝杆菌和同源的HSP60肽可诱导实验性葡萄膜炎,说明HSP60和抗HSP60可能参与白塞病和前葡萄膜炎的眼部表现的发病机制^[17]。Cancina-Diaz等^[18]研究结果显示,在HLA-B27相关急性前葡萄膜炎、扁平部睫状体炎患者血清中,

抗重组小肠结肠炎耶尔森菌HSP60抗体(IgG型)水平显著性增高,提示了在这两种传统认为是自身免疫性的疾病中,小肠结肠炎耶尔森菌可能是其病原感染因素。更有研究表明抗HSP60抗体存在于葡萄膜炎患者的血清中。抗HSP60单克隆抗体对人和牛视网膜中60kD的蛋白质产生反应。HSP60和视网膜之间的这些免疫交叉反应表现出共同的抗原性。而这可能与某些情况下的葡萄膜视网膜炎的发病机制有关^[19]。

2.3 HSP60与白内障

白内障是常见的致盲性眼病,晶状体上皮细胞是晶状体的重要组成部分,在白内障发病过程中起重要的作用。研究表明,白内障的发生与晶状体上皮细胞凋亡有关。线粒体内的HSP60能够直接影响线粒体内的凋亡相关因子,抑制线粒体凋亡通路的激活,并且保护线粒体呼吸链的完整性,减少氧自由基产生,间接抑制凋亡。胞浆中的HSP60可通过影响凋亡相关因子而抑制凋亡;而异常出胞或者异常分布到细胞膜中的HSP60可导致细胞凋亡^[20]。因此,晶状体上皮细胞内的HSP60表达异常或分布异常可能是导致上皮细胞异常凋亡的重要原因,进而引起白内障的发生。

年龄相关性白内障是白内障最常见的类型,其发病率随着年龄增长而升高。而分子伴侣参与人类从胚胎/胎儿到成年人以及老年人的细胞生理变化,并且它们参与了细胞的衰老。HSP60作为一种分子伴侣蛋白以多种方式参与衰老相关性疾病的发生和发展。对60例年龄20~96岁人群的研究表明,血清中HSP60的含量随着年龄的升高而下降,而抗HSP60自身抗体不下降。其抗体不下降甚至可能随着年龄的增长而增加,其原因可能是不仅对自体HSP60,也对中老年人持续感染中的微生物病原体的同源物的免疫反应。并有大量研究显示,HSP60参与在多种与衰老有关的疾病中,如心脏衰竭、阿尔茨海默病、退行性骨关节病等^[21]。对HSP60在衰老过程中作用机制的研究很可能成为研究年龄相关性白内障的新入口。

代谢性白内障是因代谢障碍引起的晶状体混浊,也是白内障的重要类型,糖尿病是其重要危险因素之一。有研究显示早期糖尿病大鼠晶状体上皮细胞有大量HSP60表达,而且随着时间的延长,表达量呈下降趋势。表明HSP60是一种应激蛋白,在早期糖尿病大鼠晶状体上皮细胞即发挥一定的功能,但具体作用仍不清楚^[22]。对其作用机制的进一步研究将有助于糖尿病性白内障的防治。

2.4 HSP60与青光眼

青光眼是一组以特征性视神经萎缩和视野缺损为共同特征的疾病,是一种慢性神经变性疾病,眼压增高、氧化应激或线粒体功能障碍是其危险因素,是主要的致盲眼病之一。在青光眼患者中,已有报道血清抗体的改变,抗HSP60和抗MBP增加,但是自身抗体见于青光眼是伴随现象还是病因仍然难以捉摸^[23]。HSP60阳性表达主要分布在视盘-视神经组织,以细胞质和神经纤维着染为主^[24]。同时,在不同种族青光眼患者血液中均有高效价抗HSP60抗体的存在,而该抗体可造成青光眼视神经的损伤^[25]。活体中HSP60能够与Bax蛋白和Bak蛋白形成高分子复合体,从而阻止了由Bax蛋白和Bak蛋

白形成的凋亡^[26]。而 HSP60 其神经保护机制可能与该蛋白阻止 Bax 易位到线粒体,抑制细胞的凋亡作用有关^[27]。Lasseck 等^[28]用基因突变法诱导大鼠青光眼,对视网膜蛋白组学进行分析发现 HSP60 在 RGC 轴突再生过程中持续表达,而抗 HSP60 抗体则会减慢 RGC 轴突的生长,提示 HSP60 对 RGC 轴突再生起支持作用。急性高眼压诱导的视网膜缺血/再灌注组眼压明显升高,神经节细胞(retinal ganglion cell,RGC)中 HSP60 阳性表达随着眼压升高及高眼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 HSP60 阳性表达。免疫组织化学染色证实眼压升高可致 RGCs 及神经纤维层中内源性 HSP60 的表达增强。因此可以推测 HSP60 表达增强可能在急性高眼压所致的视神经病变中具有重要作用^[29]。在诊断中,抗体分布的变化可以用作高度敏感和特异性标记。早期诊断和对风险患者的干预将提供早期治疗的机会^[23]。可见 HSP60 在青光眼的发生和发展及诊断中具有重要的作用。

2.5 HSP60 与糖尿病视网膜病变 视网膜为眼球后部最内层组织,由神经感觉层与色素上皮层组成。其结构精细功能复杂,极易受到内外致病因素的影响发生病变。糖尿病视网膜病变是最常见的视网膜血管病。终止高血糖并不能阻止糖尿病视网膜病变的进展,并且视网膜线粒体 DNA 仍然受到损伤,导致线粒体功能障碍的连续循环^[30]。在糖尿病视网膜病变的发病机制中,视网膜线粒体功能紊乱并且 DNA 被破坏,毛细血管细胞加速凋亡。高糖能够增加视网膜血管内皮细胞线粒体中的基质金属蛋白酶 2(matrix metalloprotein-2,MMP-2),减少其中的联接蛋白 43,并使 HSP60 与 MMP-2 的相互作用增强。线粒体中活化的 MMP-2 可导致糖尿病中视网膜毛细血管细胞加速凋亡,而线粒体 MMP-2 的活化通过调节 HSP60 和联接蛋白 43 来损伤视网膜线粒体,使细胞色素 C 渗出,并激活凋亡机制^[31]。也有研究显示高糖减少了视网膜线粒体 HSP60 的表达,并增加了 MMP-9 和 HSP60 的结合。MMP-9 可通过 HSP60 被运送到线粒体,视网膜线粒体中 MMP-9 的激活能够引起线粒体功能障碍,损坏线粒体结构,并激活细胞凋亡机制^[32]。可见 HSP60 参与糖尿病视网膜病变的发病机制及发展过程,对其更深一步的研究有助于找到防治糖尿病视网膜病变的新方法。

2.6 HSP60 与人视网膜母细胞瘤 视网膜母细胞瘤(retinoblastoma,Rb)是婴幼儿最常见的眼内恶性肿瘤,成年人发病罕见。有研究表明 Rb 肿瘤细胞在从视网膜内向外侵袭的过程中,可能通过升高 HSP60、降低 Caspase-3 来促进侵袭部位肿瘤细胞的存活。但是 HSP60 在侵袭部位的升高是肿瘤细胞向外侵袭的原因还是结果,以及是否会进一步增强肿瘤细胞向远处转移等还需进一步研究^[33]。并有研究报道 HSP60 在 Rb 中的表达上调促进 Rb 的侵袭和化疗抵抗,Caspase-3 途径抑制 Rb 肿瘤细胞凋亡在该过程中具有重要作用。HSP60 的共同分子伴侣 HSP10 表达特点与其表达相同,进一步验证了 HSP60 在 Rb 中的作用^[34]。

3 结语

HSP60 作为眼部多种组织共同表达的一种分子伴侣,HSP60 的异常参与了多种重要眼病的发生和发展,HSP60 在这些眼病的发病过程中是否存在共同的机制,目前还不能确定。不过,对于 HSP60 参与的生理病理过程的进一步研究,显然有利于人们深入了解这些疾病的病理机制,进而有利于寻找新的针对 HSP60 的治疗方案。

参考文献

- Kumar A, Ashraf S, Goud TS, et al. Expression profiling of major heat shock protein genes during different seasons in cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) under tropical climatic condition. *J Therm Biol* 2015;51:55-64
- Xie Y, Song L, Weng Z, et al. Hsp90, Hsp60 and sHsp families of heat shock protein genes in channel catfish and their expression after bacterial infections. *Fish Shellfish Immunol* 2015; 44(2):642-651
- Osterloh A, Geisinger F, Piédavent M, et al. Heat shock protein 60 (HSP60) stimulates neutrophil effector functions. *J Leukoc Biol* 2009;86(2):423-434
- Yan Z, Wei H, Ren C, et al. Gene expression of Hsps in normal and abnormal embryonic development of mouse hindlimbs. *Hum Exp Toxicol* 2015;34(6):563-574
- Itoh H, Komatsuda A, Ohtani H, et al. Mammalian HSP60 is quickly sorted into the mitochondria under conditions of dehydration. *Eur J Biochem* 2002;269(23):5931-5938
- Cabiscol E, Bellí G, Tamarit J, et al. Mitochondrial Hsp60, resistance to oxidative stress, and the labile iron pool are closely connected in *Saccharomyces cerevisiae*. *J Biol Chem* 2002;277(46):44531-44538
- Hartl FU, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in the cytosol: from nascent chain to folded protein. *Science* 2002;295(5561):1852-1858
- 龚兴国,于红. 热休克蛋白 60 的研究进展. *中国病理生理杂志* 2004;20(11):2151-2154
- Planesse C, Nativel B, Iwema T, et al. Recombinant human HSP60 produced in ClearColi™ BL21 (DE3) does not activate the NFκB pathway. *Cytokine* 2015;73(1):190-195
- Li L, Zhai S, Wang L, et al. Hsp60 in caudal fin regeneration from *Paramisgurnus dabryanus*: Molecular cloning and expression characterization. *Fish Shellfish Immunol* 2014;36(2):401-408
- Kalderon B, Kogan G, Bubis E, et al. Cytosolic Hsp60 can modulate proteasome activity in yeast. *J Biol Chem* 2015;290(6):3542-3551
- Morrison RP. Chlamydial hsp60 and the immunopathogenesis of chlamydial disease. *Semin Immunol* 1991;3(1):25-33
- Osterloh A, Meier-Stiegen F, Veit A, et al. Lipopolysaccharide-free heat shock protein 60 activates T cells. *J Biol Chem* 2004;279(46):47906-47911
- Morrison RP, Lyng K, Caldwell HD. Chlamydial disease pathogenesis. Ocular hypersensitivity elicited by a genus-specific 57-kD protein. *J Exp Med* 1989;169(3):663-675
- Hessel T, Dhital SP, Plank R, et al. Immune response to chlamydial 60-kilodalton heat shock protein in tears from Nepali trachoma patients. *Infect Immun* 2001;69(8):4996-5000
- 唐红. CD4+CD25+调节 T 细胞在葡萄膜炎患者中的表达及其意义的初步研究. 第四军医大学 2008
- Marengo EB, Commodaro AG, Peron JPS, et al. Administration of *Mycobacterium leprae* rHsp65 Aggravates Experimental Autoimmune

Uveitis in Mice. PloS One 2009;4(11):e7912

18 Cancino-Diaz JC, Vargas-Rodríguez L, Grinberg-Zylberbaum N, et al. High levels of IgG class antibodies to recombinant HSP60 kDa of *Yersinia enterocolitica* in sera of patients with uveitis. *Br J Ophthalmol* 2004;88(2):247-250

19 Tanaka T, Yamakawa N, Yamaguchi H, et al. Common antigenicity between *Yersinia enterocolitica* - derived heat - shock protein and the retina, and its role in uveitis. *Ophthalmic Res* 1996;28(5):284-288

20 曹智,马骏,袁文俊,等. 热休克蛋白60与细胞凋亡. 生理科学进展 2008;39(3):267-270

21 Cappello F, Conway ME, Marino GA, et al. Hsp60 and human aging; Les liaisons dangereuses. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2013;18(3):626-637

22 付书华,詹昶,仇晶晶,等. HSP60在早期糖尿病大鼠晶状体上皮细胞的表达. 眼科新进展 2015;35(1):22-24

23 Bell K, Gramlich OW, Hohenstein - Blaul NVTU, et al. Does autoimmunity play a part in the pathogenesis of glaucoma? *Prog Retin Eye Res* 2013;36(9):199-216

24 马瑾,姜利斌,钟勇,等. 经瞳孔温热疗法诱导大鼠热休克蛋白60在视盘中的表达. 眼科研究 2010;28(11):1009-1013

25 Wax MB, Tezel G, Kawase K, et al. Serum autoantibodies to heat shock proteins in glaucoma patients from Japan and the United States. *Ophthalmology* 2001; 108(2):296-302

26 Kirchhoff SR, Gupta S, Knowlton AA. Cytosolic heat shock protein 60, apoptosis, and myocardial injury. *Circulation* 2002;105(24):2899-2904

27 Hou Q, Hsu YT. Bax translocates from cytosol to mitochondria in cardiac cells during apoptosis; development of a GFP-Bax-stable H9c2 cell line for apoptosis analysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;289(1):H477-H487

28 Lasseck J, Schröer U, Koenig S, et al. Regeneration of retinal ganglion cell axons in organ culture is increased in rats with hereditary buphthalmos. *Exp Eye Res* 2007;85(1):90-104

29 沙倩,乔喜珍,聂庆珠,等. 大鼠急性高血压模型视网膜组织中HSP60的表达及功能. 国际眼科杂志 2009;9(3):458-461

30 Santos JM, Kowluru RA. Role of mitochondria biogenesis in the metabolic memory associated with the continued progression of diabetic retinopathy and its regulation by lipoic acid. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(12):8791-8798

31 Mohammad G, Kowluru RA. Novel role of mitochondrial matrix metalloproteinase-2 in the development of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(6):3832-3841

32 Kowluru RA, Mohammad G, dos Santos JM, et al. Abrogation of MMP-9 Gene Protects Against the Development of Retinopathy in Diabetic Mice by Preventing Mitochondrial Damage. *Diabetes* 2011;60(11):3023-3033

33 罗鑫,丁运刚,叶慧菁,等. HSP60在人视网膜母细胞瘤中表达的研究. 眼科新进展 2015;35(6):549-553

34 罗鑫. 化疗和未化疗人视网膜母细胞瘤中HSP60的表达与肿瘤细胞侵袭和凋亡的关系. 第四届西南眼科年会暨贵州省医学会第五届六次眼科年会论文汇编 2013