

# 热休克蛋白 27 在脊髓缺血再灌注的防护作用

徐建平, 郭文荣, 林国兵

(南京军区福州总医院第一附属医院骨科, 福建 莆田 351100)

**【摘要】** 热休克蛋白 27(heat shock protein, HSP27)属于热休克蛋白家族中的小分子量家族,本文在回顾收集大量相关文献的基础上,分析了 HSP27 在脊髓缺血再灌注损伤中的表达意义和机制,阐明了 HSP27 具有抑制 NO 的生成、维持细胞蛋白稳定和加速细胞损伤修护的功能,同时 HSP27 还具有抗细胞凋亡、保护线粒体、抑制核转录因子活化等相关作用。进一步表明了热休克蛋白 27 在脊髓缺血再灌注中的保护作用。

**【关键词】** 热休克蛋白 27; 脊髓; 缺血; 再灌注损伤; 综述文献

DOI:10.3969/j.issn.1003-0034.2012.10.025

**Safty action of heat shock protein 27 in reperfusion after spinal marrow ischemia** XU Jian-ping, GUO Wen-rong, LIN Guo-bing. Department of Orthopaedics, the First Affiliated Hospital of Fuzhou General Hospital of Nanjing Military, Putian 351100, Fujian, China

**ABSTRACT** Heat shock protein 27 belongs to the heat shock protein family in the small molecular weight family. This review collected a number of literature to analyze the expression meaning and mechanism of HSP27, expounded HSP27 with inhibition of NO production, maintenance of cell protein stability and accelerated cell damage repair function. At the same time, HSP27 also has a resistance to apoptosis, protecting mitochondria, inhibiting activation of nuclear factor and other related functions. The heat shock protein 27 has protection in spinal cord ischemia-reperfusion.

**KEYWORDS** Heat shock protein 27; Spinal cord; Ischemia; Reperfusion, injury; Review literature

Zhongguo Gu Shang/China J Orthop Trauma, 2012, 25(10):880-882 www.zggszz.com

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)最早于 1962 年 Rittossa 从高温环境果蝇的 2 号染色体观察到其基因的表达, 1973 年由 Tissieres 命名。HSP27 属于热休克蛋白家族中的小分子量家族。研究表明<sup>[1]</sup>,除热以外其他许多因素(如缺血, 缺氧, 重金属离子, DNA 损失等)均可诱导热休克蛋白产生,它能使机体或细胞不受或少受伤害。近年来研究表明<sup>[2]</sup>,HSP27 与脊髓缺血再灌注损伤防护关系密切。现将 HSP27 对脊髓缺血再灌注的防护作用综述如下。

## 1 HSP27 在脊髓缺血再灌注损伤中表达的意义

临床上, 脊髓缺血再灌注损伤常合并或继发在脊柱脊髓外伤和病变中,少有单独发生。人们已认识到脊髓缺血再灌注后局部离子环境发生明显的变化。脊髓缺血、缺氧导致细胞膜通透性增加,离子钠、钾、钙失衡,从而影响脊髓的传导功能。细胞内的高钙与线粒体结合,激活多种酶,致代谢紊乱,产生大量的自由基参与脂质过氧化过程当中,引起微血管痉挛和闭塞,加重微循环障碍。总体来讲可能是由于脊髓对损伤微环境的敏感性、反应性较其他组织或器官较高以及以上原因总和所诱发<sup>[3-4]</sup>。动物实验和临床研究表明,原发性脊髓损伤被动地发生在损伤后较短的时间内(一般认为在 4 h 内)是不可逆转的<sup>[5]</sup>;而继发性损伤持续时间长<sup>[6]</sup>,可达 7 d 以上,并且对神经系统的损伤是可逆的。如何减轻继发性脊髓损伤,尽可能保留和恢复神经功能是目前研究的重点,而 HSP27 的保护

作用主要针对的就是继发性脊髓损伤<sup>[7]</sup>,因而具有巨大的潜在治疗价值。脊髓缺血后其缺血坏死区周围存在着缺血半影区<sup>[8]</sup>,即该处的神经组织仅有少量血供,已无功能,但尚存活。其转归有赖于相应治疗措施及二次损伤的程度。而 HSP27 的表达区域包括半影区<sup>[9]</sup>,故如能诱导 HSP27 在半影区大量表达,则明显有助于半影区濒死神经元的存活。研究者进而致力于人为诱导 HSP27 大量长时间表达来保护脊髓缺血再灌注损伤的研究。Zhang 等<sup>[10]</sup>对大鼠进行了热休克预处理诱导 HSP27 大量表达后再予以脊髓缺血,实验组的截瘫率明显低于对照组。经过目前技术相对成熟的缺血预处理<sup>[11]</sup>,脊髓 HSP 的诱导表达量可达到对照组的几十倍且维持时间可达 7 d,从而发挥持久强效的保护作用。Perdrizet 等<sup>[11]</sup>研究发现脊髓缺血再灌注后予以损伤部位低温处理可延长脊髓运动神经元 HSP27 的表达从而抑制神经元的凋亡,起到对神经元的保护作用。研究还发现,公认对脊髓损伤具有明确保护作用的药物糖皮质激素,其作用机制之一即是通过诱导 HSP27 大量表达来实现对脊髓的保护<sup>[13]</sup>,从而证实了大剂量 HSP27 表达对脊髓缺血再灌注损伤具有强大的保护作用。

## 2 HSP27 在脊髓缺血再灌注的表达机制

目前的研究证明<sup>[14]</sup>,HSP27 是 P38 促分裂素蛋白激酶(P38 MAPK)代谢的终末产物。HSP27 在生物体内分为两型<sup>[15]</sup>:诱导型和构成型。构成型 HSP27 在生理状态下表达,与细胞的分化、发育密切相关。许多研究发现<sup>[16]</sup>,构成型 HSP27 的表达因组织而异,且定位于不同的亚细胞结构,如 Lee 等<sup>[17]</sup>研究人胎儿脑时发现,HSP27 分布在神经元的核区或非神经

通讯作者: 徐建平 Tel:0594-2292361-60643 E-mail:xjp2001-123@163.com

元细胞质中;成年大鼠中枢神经系统中 HSP27 分布于不同部位:在颅神经的运动神经元感觉神经元以及在同一个神经元星细胞质、核周围、轴突及树突均有 HSP27 的分布,在大鼠周围神经的神经元、卫星细胞等均有 HSP27 的分布。表明生理状态下构成 HSP27 的表达可能对细胞的增殖、分化特别是神经系统的发育等有重要作用。

在脊髓缺血再灌注的应激条件下,诱导型 HSP27 表达增加。在该应激条件下,热休克转录因子(heat shock transcription factors, HSF)与热休克调节元件结合激活 HSP27 基因使 HSP27 表达增加。脊髓缺血再灌注时,大部分诱导型 HSP27 位于细胞核内,细胞恢复时期移入胞浆,再次应激时重又转回细胞核内。Franklin 等<sup>[18]</sup>的研究发现 HSP27 的迁移有两个特征,一是严格的应激依赖性,二是转移较为迅速。关于 HSP 进出细胞核的方式,研究认为<sup>[19]</sup>小分子量蛋白质通过渗透或主动运输,而大分子量蛋白质则涉及两个步骤,一是与核内的核蛋白结合,二是通过一个依赖于 ATP(三磷酸腺苷)的过程进行转运。而目前研究认为<sup>[20]</sup>HSP27 的转运是通过渗透作用,磷酸化过程也许对此有很大帮助。有学者提出<sup>[21]</sup>HSF 可能通过磷酸化而成为激活态 HSF,启动 HSP27 基因转录。相关研究还证实<sup>[22]</sup>,HSP27 的高表达与脊髓缺血再灌注后受损神经元轴突的再生有关。HSP27 被认为是肌动蛋白的“帽子蛋白”,根据机体生理状态的需要,合成或抑制合成肌动蛋白。在受损轴突的再生过程中,HSP27 主要协助建立突触联系,发挥其潜在的功能。脊髓缺血再灌注后,相应神经元的轴突有 HSP27 的分布。这些都充分说明了 HSP27 与神经元的再生有密切关系。

### 3 HSP27 对脊髓缺血再灌注的保护机制

**3.1 抑制一氧化氮(NO)的生成** NO 是活泼的自由基,与超氧化物结合可生成具有更高毒性的过氧化硝酸根阴离子。这些分子具有更高细胞毒性,它们能造成脂质膜损伤、抑制细胞能量代谢和 DNA 的合成修复,并引发细胞凋亡和坏死。体内 NO 由 L-Arg 和 O<sub>2</sub> 经一氧化氮合酶(NOS)催化而成。NOS 广泛存在于包括中枢神经系统在内的全身个系统中。目前已发现 NOS 有 3 种亚型<sup>[23]</sup>,其中 nNOS 和 eNOS 在生理条件下存在并起作用,其 NO 产量维持在低水平;iNOS 须经炎症介质或细胞因子诱导,产生的 NO 量大,维持时间长,可通过直接引起氧化损伤或作为信号介质介导其他炎症因子而起作用。Giffard 等<sup>[24]</sup>用 Western blot 方法发现在急性脊髓损伤后,损伤中心及其周围脊髓组织中 iNOS 表达升高,且具有时间依赖性,且这种时间边与脊髓继发损害的过程一致,提示 iNOS 参与了急性脊髓损伤的病理过程。脊髓损伤受到创伤本身,再灌注损伤,早期炎症及一些细胞因子等应激因素的作用,使 HSP27 的表达增加。而 HSP27 可通过抑制细胞因子及 iNOS 的活性,使细胞因子产生下降及 NO 合成减少。根据 Kim 等<sup>[25]</sup>研究发现 HSP27 能显著抑制 NO 的生成,在某种程度上能够抵抗 NO 对神经细胞的损害。

**3.2 维持细胞蛋白的稳定和加速细胞损伤的修护功能** 研究发现<sup>[26]</sup>微管辅助蛋白  $\tau$  在微管组装的动力因素中起重要作用。微管合成是轴突生长和神经塑型所必须的。缺血促进蛋白分解,影响激酶和磷酸酶的活性,长时间缺血致截瘫时发现  $\tau$  被去磷酸化。 $\tau$  的这种变化可影响到微管的稳定性,进而影响到神经可塑性及轴突运输可能。HSP27 能阻止应激状态时肌

动蛋白和微丝的分裂,有利于细胞骨架的稳定,不仅在单个细胞产生应激耐受中起重要作用,而且通过内皮和上皮的保障作用,还对整个有机体起必要的保护作用。Nollen 等<sup>[27]</sup>发现,在应激状态下,HSP27 与保持蛋白质的正常结构及维持细胞的蛋白稳定有关。HSP27 可能通过抑制核蛋白的聚集而发挥其分子伴侣作用。同时 HSP27 可作为细胞内的“卫士”,认识和清除异常蛋白质,促进细胞膜上 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP 酶活性的修护并加快损害严重且不能修护蛋白的解除。

**3.3 抗细胞凋亡** 与免疫机制有关。目前已明确,细胞表面的 Fas/Apo-1 受体和它们的配体是细胞凋亡的重要介质。Multhoff 等<sup>[28]</sup>在试验中发现在小鼠 L929 细胞中人类 HSP27 的表达抑制了 Apo-1 抗体诱导 DNA 断裂和细胞形态改变。这一事实有力地证明了 HSP27 是细胞内介导细胞凋亡的 Fas/Apo-1 的抑制物。另外,Moseer 等<sup>[29]</sup>观察到凋亡 T 细胞表面 HSP 有不正常的易位现象。他们认为细胞膜上 HSP 的表达可能提供了一种能够包裹自身和外源抗原的新的免疫物质,从而使细胞避免凋亡。

**3.4 保护线粒体的功能** 缺血缺氧引起的氧化应激损伤可能通过改变线粒体膜电位,增加线粒体细胞色素 C 的释放和 caspase-3 活化而激活程序化死亡途径。Jayakumar 等<sup>[30]</sup>和 Gabai 等<sup>[31]</sup>发现线粒体转染 HSP 基因,可抑制 caspase-3 活化和线粒体细胞色素 C 的释放,从而使线粒体免于受脊髓缺血再灌注损伤。

**3.5 抑制核转录因子的活化** 核转录因子 NF- $\kappa$ B 通常以非活性的形式存在于细胞浆中。当细胞受到炎症介质、氧化应激等多种刺激后,NF- $\kappa$ B 被激活,启动习惯基因的转录,促进炎症介质的表达和细胞的凋亡。Uchinami 等<sup>[32]</sup>研究表明,HSP 通过抑制 NF- $\kappa$ B 的活化,起到相应的保护作用。

### 参考文献

- [1] Williams RS. Heat shock proteins and isehemic injury to the myocardium[J]. Circulation, 1997, 96(12):4138-4140.
- [2] Dzaman-Serafin S, Telatyńska-Mieszek B, Ciechanowski K. Heat shock proteins and their characteristics[J]. Pol Merkur Lekamki, 2005, 19(110):215-219.
- [3] 杨小玉,朱庆三,赵立君,等.脊髓缺血再灌注损伤细胞间粘附分子-1 及白细胞介素-1 的表达[J].中国脊柱脊髓杂志,2009, 37:17-28.  
Yang XY, Zhu QS, Zhao LJ, et al. The expression of intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-1 in spinal cord isehemical reperfusion injury[J]. Zhongguo Ji Zhu Ji Sui Za Zhi, 2009, 37:17-28. Chinese.
- [4] Lin R, Roseborough G, Dong, et al. DNA damage and repair system in spinal cord ischemia[J]. J Vasc Surg, 2003, 37(4):847-858.
- [5] Ransom BR, Fern R. Anoxic-ischemic glial cell injury: mechanisms and consequences. In: Haddad G, Lister G, eds. Tissue Oxygen Deprivation[M]. New York: Marcel Tekker, 2003:617-652.
- [6] Agrawal SK, Fehlings MG. Mechanisms of secondary injury to spinal cord axons in vitro: role of Na<sup>+</sup>, Na<sup>(+)</sup>-K<sup>(+)</sup>-ATPase, the Na<sup>(+)</sup>-H<sup>+</sup> exchanger, and the Na<sup>(+)</sup>-Ca<sup>2+</sup> exchanger[J]. J Neurosci, 1996, 16(2):545-552.
- [7] Kalmár B, Burnstock G, Vrbová G, et al. The effect of neonatal nerve injury on the expression of heat shock proteins in developing rat motoneurons[J]. J Neurotrauma, 2006, 19:667-679.

- [8] Amar AP, Levy ML. Pathogenesis and pharmacological strategies for mitigating secondary damage in acute spinal cord injury[J]. Neurosurgery, 1999, 44: 1027-1040.
- [9] Luhmann SJ, Bridwell KH, Cheng I, et al. Use of bone morphogenetic protein-2 for adult spinal deformity[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2005, 30(17 Suppl): 110-117.
- [10] Zhang P, Abraham VS, Kraft KR, et al. Hyperthermic preconditioning protects against spinal cord ischemic injury[J]. Ann Thorac Surg, 2000, 70(5): 1490-1495.
- [11] Perdrizet GA, Lena CJ, Shapiro DS, et al. Preoperative stress conditioning prevents paralysis after experimental aortic surgery; increased heat shock protein content is associated with ischemic tolerance of the spinal cord[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2002, 124(1): 162-170.
- [12] Motoyoshi N, Sakurai M, Hayashi T, et al. Establishment of a local cooling model against spinal cord ischemia representing prolonged induction of heat shock protein[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2001, 122(2): 351-357.
- [13] De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G. Mechanisms of anti-inflammatory action and of immunosuppression by glucocorticoids; negative interference of activated glucocorticoid receptor with transcription factors[J]. Neuroimmunol, 2000, 109(1): 16-22.
- [14] Macarin AJ, Brocchieri L, Shenoy AR, et al. Evolution of a protein-folding machine; genomic and evolutionary analyses reveal three lineages of the archaeal Hsp70 (dnaK) gene[J]. J Mol Evol, 2006, 63(1): 74-86.
- [15] Piglowski W, Nowak R, Krawczyk Z, et al. The structural and functional analysis of the human HSPA2 gene promoter region[J]. Acta Biochim Pol, 2007, 54(1): 99-106.
- [16] Larson JS, Schuetz TJ, Kingston RE. Activation in vitro of sequence-specific DNA binding by a human regulatory factor[J]. Nature, 1988, 335(6188): 372-375.
- [17] Lee KS, Chang JH, Oh BH, et al. Increased plasma levels of heat shock protein 70 in patients with vascular mild cognitive impairment[J]. Neurosci Lett, 2008, 436(2): 223-226.
- [18] Franklin TB, Krueger-Naug AM, Clarke DB, et al. The role of heat shock proteins Hsp70 and Hsp27 in cellular protection of the central nervous system[J]. Int J Hyperthermia, 2005, 21(5): 379-392.
- [19] Brown IR. Heat shock proteins and protection of the nervous system[J]. Ann N Y Acad Sci, 2007, 1113: 147-158.
- [20] Detre JA, Zager EL, Alsop DC, et al. Correlation of diffusion MRI and heat shock protein in a rat embolic stroke model[J]. J Neurosci, 1997, 148(2): 163-169.
- [21] Zhao J, Sun S, Chen X. Protective effects of focal ischemic preconditioning and HSP70 expression middle cerebral artery occlusion in rats[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2008, 26(4): 436-439.
- [22] Tanaka H, Yokota H, Jover T, et al. Ischemic preconditioning; neuronal survival in the face of caspase-3 activation[J]. J Neurosci, 2004, 24(11): 2750-2759.
- [23] Ramos C. Molecular chaperones and protein quality control[J]. Protein Pept Lett, 2011, 18(2): 100.
- [24] Giffard RG, Yenari MA. Many mechanisms for HSP27 protection from cerebral ischemia[J]. J Neurosurg Anesthesiol, 2008, 16(1): 53-56.
- [25] Kim HJ, Rowe M, Ren M, et al. Histone deacetylase inhibitors exhibit anti-inflammatory and neuroprotective effects in a rat permanent ischemic model of stroke; multiple mechanisms of action[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 321(3): 892-901.
- [26] Zheng Z, Kim JY, Ma H, et al. Anti-inflammatory effects of the 70 kDa heat shock protein in experimental stroke[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2008, 28(1): 53-63.
- [27] Nollen EA, Morimoto RL. Chaperoning signaling pathways; molecular chaperones as stress-sensing "heat shock" proteins[J]. J Cell Sci, 2002, 115: 2809-2816.
- [28] Multhoff G. Heat Shock Proteins in Immunity[M]. Handbook of Experimental Pharmacology: Volume 72. 2006: 279-304.
- [29] Mosser DD, Caron AW, Bourget L, et al. The chaperone function of Hsp70 is required for protection against stress-induced apoptosis[J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(19): 7146-7159.
- [30] Jayakumar J, Suzuki K, Sammut IA, et al. Heat shock protein 70 gene transfection protects mitochondrial and ventricular function against ischemia-reperfusion injury[J]. Circulation, 2001, 104(12 Suppl1): 303-307.
- [31] Gabai VL, Yaglom JA, Volloch V, et al. Hsp72-mediated suppression of c-Jun N-terminal kinase is implicated in development of tolerance to caspase-independent cell death[J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(18): 6826-6836.
- [32] Uchinami H, Yamaoto Y, Kume M, et al. Effect of heat shock preconditioning on NF-kappaB/I-kappaB pathway during I/R injury of the rat liver[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2002, 282(6): 962-971.

(收稿日期: 2011-08-16 本文编辑: 王宏)