

- 变的初步研究[J]. 现代妇产科进展, 2003 12(3): 200-203
- [15] 龙奇, 李萍, 王云, 等. 超声分析子宫肌瘤射频治疗技术[J]. 安徽医学, 2005 26(1): 61-62
- [16] 刘敏. 高强度聚焦超声治疗子宫肌瘤疗效探讨[J]. 中华医学超声杂志(电子版), 2006 3(1): 23-24
- [17] 龚晓明, 孙大为. 高强度聚焦超声治疗实体肿瘤[J]. 中华妇产科杂志, 2001 36(11): 703-704
- [18] 尚丽新, 陈震宇, 孙静莉, 等. 子宫肌瘤 2597 例择期手术治疗的临床研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2006 22(1):

63-64

- [19] Sawin SW, Pilevsky ND, Berlin JA, et al. Compatibility of peroperative morbidity between abdominal myomectomy and hysterectomy for women with uterine leiomyomas[J]. Am J Obstet Gynecol, 2000 183(6): 1448-1455
- [20] 曹泽毅. 中华妇产科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999. 1 802-1 826

收稿日期: 2007-07-04 修回日期: 2008-02-29

热休克蛋白 70 与心脏移植

张志刚, 黄雪珊(综述) 林 峰(审校)

(福建医科大学附属协和医院心脏外科, 福州 350001)

中图分类号: Q51; R654.2

文献标识码: A

文章编号: 1006-2084(2008)08-1202-03

摘要: 缺血/再灌注损伤以及排斥反应, 是造成心脏移植早期功能不良甚至失功及相关外科并发症如各种排斥反应、感染和血栓形成等的主要原因。目前, 还不能确定热休克蛋白在上述反应过程中的直接作用的机制, 了解热休克蛋白的生物学功能及其在移植免疫中的作用, 有助于进行热休克蛋白与缺血/再灌注、移植排斥反应, 以及热休克蛋白转基因治疗移植物血管病关系的研究。

关键词: 热休克蛋白; 心脏移植; 再灌注损伤; 排斥反应; 移植物血管病

Heat Shock Protein 70 and Cardiac Transplantation ZHANG Zhi-gang HUANG Xue-shan LIN Feng (Department of Cardiovascular Surgery Affiliated Union Hospital of Fujian Medical University Fuzhou 350001 China)

Abstract: Ischemic reperfusion injury and rejection are the major reasons for cardiac transplantation of work and correlated complication such as infection thrombosis. Now the mechanism of action of heat shock protein (HSP) is not quite sure to us. Understanding the biological function and its transplantation immunity of HSP will be helpful in investigating the relationship of HSP and graft ischemic reperfusion injury, graft rejection, HSP gene transfer, cardiac graft vascular disease.

Key words: Heat shock protein; Cardiac transplantation; Reperfusion injury; Rejection; Graft vascular disease

热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 是一组普遍存在于细胞中, 结构高度保守的蛋白质分子家族, 作为分子伴侣参与细胞内蛋白质的修复过程, 维护细胞蛋白自稳, 其抗炎症、抗细胞凋亡和减轻过氧化作用的特性, 已证明在心、肺、肾等多种器官移植的保存和缺血/再灌注损伤发挥保护作用。在生理条件下, HSP 作为前炎性的胞内信号分子可以调控炎症和排斥反应的过程, 自身 HSP 免疫反应作为一种生理机制, 诱导 HSP 适当的表达可减轻炎症反应, 从而抑制移植排斥。现就 HSP70 的结构特点、分子生物学作用及其在移植免疫中的作用作一简要综述。

1 HSP70 的结构特点及分子生物学作用

1.1 HSP70 结构特点 HSP70 为 HSP 家族中最为重要的一族, 有 20 余个成员, 进化上高度保守, 比较各种不同的 HSP70 的氨基酸序列发现, 其 N 端 2/3 部分较 C 端 1/3 部分保守得多。HSP70 在所有生物细胞中都有表达。在大多数生物中, HSP70 含量丰富。如 DnaK 为大肠杆菌的生长所必需, 真核生物有多种 HSP70 相关蛋白。按照其表达情况将 HSP70 分为构成型和诱导型, 构成型 HSP70 又可分为两种, 分

别位于内质网和线粒体内。它们虽然相对分子质量相同, 但是在氨基酸序列、功能以及基因表达和调控上则完全不同。原核生物和真核生物的 HSP70 有 40% ~ 60% 的同源性, 而不同来源的真核生物其同源性为 60% ~ 78%。

1.2 HSP70 生物学作用

HSP70 家族是成员最多、最为重要的 HSP。HSP70 作为蛋白成熟过程中的分子伴侣, 参与细胞周期调节、DNA 损伤修复及细胞凋亡, 在配子及胚胎的发育、机体衰老的过程中具有重要生理作用。HSP70 可通过 CD_{4} 依赖性通路刺激细胞因子的产生, 表明 HSP70 具有细胞因子作用。HSP70 能刺激外周血单核细胞体外扩增 $\gamma\delta T$ 细胞, 并诱导其表达高水平的干扰素 γ 、白细胞介素 22、肿瘤坏死因子、白细胞介素 28 等细胞因子, 显示 HSP70 具有抗肿瘤能力。通常机体细胞在环境中不利因素的作用下都能发生应激反应和 HSP70 的表达, 因此, 可将 HSP 尤其是 HSP70 的表达作为一个潜在性的环境应激和毒性的量化指标。不同的 HSP70 可由不同的应激诱导, 分别在各自的区域内发挥作用。HSP70 是主要的伴侣蛋白, 发挥“分子伴侣”作用 (分子伴侣是指细胞内一类能介导其他蛋白质正确装配, 其自身却不是具有功能的最终装配产物组成成分的物质), 促进新生多肽链的正确折叠, 协助新生蛋白质的合成和修复损伤的蛋白质, 维持蛋白质合理构象; 对分子重排、蛋白质解聚和新生多肽的跨膜转运具有辅助作用, 减少细胞凋亡, 修复离子通道, 激活某些酶的作用, 促进细胞内蛋白的合成和

2 HSP70与心脏移植

2.1 心脏移植过程中 HSP的诱导表达 心脏移植作为一种应激,可诱导 HSP表达,过程分为3个阶段:①手术操作,供体的获取、保存、移植造成的缺血/再灌注损伤等生理应激引起热 HSP60、HSP70及 BP HSP表达增加;②移植体内淋巴细胞的浸润会诱导 B 和 G α 94的表达;③急性排斥反应所引起的炎症反应可诱导不同家族的 HSP表达。生理状态下 HSP70定位于细胞质中,在应激状态下迅速转移到细胞核、核仁等区域,恢复期又转移到正常位置。有研究显示,细胞受到应激尤其是热应激时,新合成的约30%转位到细胞核内,其余则留在细胞质中。转位到细胞核内的 HSP72紧密聚集在含有核糖体前体颗粒区域附近及染色质和核质内,并以特殊方式与解聚染色质相互作用,对细胞核的骨架起保护作用,防止染色质和不均一 RNA复合物降解而引起细胞生命信息紊乱^[2];留在细胞质中的 HSP72也发挥了结构型 HSP73的功能,与变性或受损的蛋白结合使之修复。在机体应激后的恢复期内转位到细胞核内的 HSP72又重新回到胞质中,尤其是集中在核外周,似乎与中心体、微管蛋白的重新装配、胞质中核糖体的重新分配有关。

2.2 HSP70与移植免疫 心脏移植过程中的组织损伤一直是移植学家们最为关注的一类问题,这主要包括器官移植早期的缺血/再灌注造成的组织损伤和移植后一直存在的主要由自体免疫和抗排斥药物的毒副作用等因素造成的移植器官或组织的损伤。HSP是许多生物产生的一类比较保守的蛋白家庭,能够参与多种应激反应包括温度升高、缺血损伤、感染和中毒等。虽然目前还不能确定 HSP家庭在上述反应过程中的直接作用的机制,但是该类蛋白家庭在组织细胞损伤修复过程中特殊的和重要的作用是被广大研究者一致认同的。HSP对移植免疫排斥的影响作用,尚无明确的结论。在鼠心脏同种异体移植实验中,随着免疫排斥反应的发展,HSP70的表达增强,同样的情况在肺移植中也可以观察到^[3,4]。临床观察移植肾发生排斥反应时,用半定量免疫组织化学评分标准判定,HSP60、HSP70和 HSP90表达均有增强^[5]。Oh等^[6]在鼠的皮肤移植模型中发现,HSP70基因剔除鼠移植成活时间较对照组明显延长,免疫反应性淋巴细胞较对照组少。由于 HSP的自身免疫源性,其在器官移植缺血期后移植体内异常或持续的表达,可能会导致 HSP特异性 T细胞浸润,产生抗 HSP的免疫反应,促进急性和慢性移植排斥反应^[7]。同时,HSP还参与全身

也会对移植排斥反应产生影响^[8]。但正如前述,自身 HSP免疫反应作为一种生理机制,诱导其表达不一定会促进排斥反应,相反,适当的表达可能会减轻炎症反应,从而抑制移植排斥。Tesar等^[9]研究证实,在急性移植排斥反应时 HSP70的水平并没有升高,相反缺少 HSP70也不会延迟急性排斥反应,因此 HSP70在急性排斥反应过程中并没有扮演重要角色。

2.3 HSP70与缺血/再灌注损伤 目前认为,缺血/再灌注损伤是造成移植器官早期的功能不良甚至失功及相关外科并发症如各种排斥反应、感染和血栓形成等的主要原因,基础研究和临床实验均对心肺移植方面做了较多的研究,心肌本身对于缺血损害的耐受性较差,因此提高它们在移植过程中耐受不良因素刺激的能力将可以明显改善移植术后的功能恢复和提高这种手术的成活率。目前,这一领域的研究主要围绕以增强心肌组织自身保护机制特别是 HSP的内源性保护和诱导免疫耐受从而降低术后移植排斥反应两个方面,而前者是目前研究的热点。Jaya Kumar等^[10]用转基因的方法,自大鼠离体心脏的冠状动脉内注射转染 HSP70基因,然后植入受体鼠,发现 HSP70的表达能保护缺血/再灌注后心肌细胞的线粒体功能,提高左心室的机械功能,并且保护血管内皮细胞的功能。在另一个实验中,供心获取前6h经过热休克预处理使 HSP70出现过度表达,使线粒体中呼吸酶的活性和细胞能量得到保护,经过12h冷缺血及15min热缺血处理后,移植心肌细胞坏死减少,心脏功能恢复更快,提示 HSP70对冷保存后的全心缺血有保护作用^[11]。Hiratsuka等^[12]进行大鼠肺移植的实验中发现,供体在摘取供肺前6h进行适当的热处理,可以有利于 HSP70的合成,而改善移植体随后的再灌注损伤。Beke等^[13]利用腺病毒及腺相关病毒行的 HSP70的转基因研究中发现,运用这一技术预先处理心脏后,无论是5d的短暂表达还是8个月的长期表达,都能明显提高缺血/再灌注损伤后心脏的收缩力。Stojica等^[14]研究发现,在心脏移植工程中 HSP70、Bcl2表达明显增加,而且能减轻组织的缺血在灌注损伤以及细胞凋亡,且 HSP70含量越高,左室舒张末压、心率和心肌酶乳酸脱氢酶的变化上有明显的改善。不仅如此,Gowda等^[15]的研究还发现,除了整体升温可以诱导大鼠心脏产生诱导型 HSP70以外,通过心脏组织的局部升温处理同样可以诱导整个的心肌组织产生该类蛋白而提高对心肌的保护作用,这样不但达到了心肌保护的作用又可以减少整体升温带来的对机体的不良影响。Deyo等^[16]先通过体外实验在冠状动脉移植

同时增加心肌对随后的缺血再灌注的抗性,与对照组相比心肌梗死组经缺血再灌注损伤后,左心室舒张末压以及乳酸脱氢酶明显减少。同时指出, HSPs 内源性保护途径可能是通过抗氧化和抗凋亡机制来达到这一目的。这样结果使人们相信 HSP 的内源性保护机制能够人为加以诱导,从而达到移植器官良好功能的实现。近年研究表明,在心肌缺血再灌注动物模型及临床心脏外科术后都能检测到心肌细胞 HSP70 阳性表达,而这些都被证明是心脏手术后心肌缺血再灌注损伤的结果^[17]。HSP70 能提高细胞对多种应激原的耐受力,允许细胞存活可能是从两个方面实现的,一方面可能与其具有抗凋亡作用有关,已经证明 HSP70 与 Bcl2 家族具有相同的抗凋亡机制。Bcl2 能阻止凋亡刺激原引起的线粒体中细胞色素 C 的释放,所以也阻止了细胞色素 C 和 Apaf1 的相互作用,以及随后的半胱天冬酶的活化和细胞凋亡的发生。有学者将 HSP70 视为除 Bcl2 之外的抗凋亡蛋白。另一方面是分子伴侣功能,它能调节蛋白质的折叠、传递和降解,参与受损蛋白质的修复和转录,以保护细胞对抗热休克和缺血导致的蛋白质损伤有害应激^[18 19]。

2.4 HSP70 基因治疗与心脏移植

Jayakumar 等^[10 20] 在大鼠心脏移植时供心采用经冠状动脉灌注将携带有 HSP70 基因的质粒通过脂质体,可有效地增加供心 HSP70 的表达,使心脏具有抵抗缺血或内毒素损伤的作用,能保护心脏左室以及冠状动脉内皮细胞的功能,这一实验使 HSP70 的保护作用的研究不再只停留在动物模型上,而有可能通过基因治疗的手段在人体上得以应用。同其他的基因治疗手段一样,安全、有效的传递基因到达目标组织,将成为一个关键的突破口。随着病毒载体的日益发展,有可能找到一种更为安全、便捷的治疗方法将 HSP 基因准确地传递到心脏。

3 总结

HSP 作为细胞保护性蛋白,其抗炎、抗细胞凋亡和抗氧化作用的特性已证明在心、肺、肾等多种器官移植的保存和缺血再灌注损伤发挥保护作用。HSP 对于组织损伤和修复的研究一直是医学研究的重点。不良环境因素的刺激对于生物体本身的损伤是时时刻刻都存在的,而生物在进化过程中也形成了一系列的自我保护和抗损伤修复的功能。尽管人们多年以来从没有间断过对于这类问题的研究,但是也不得不承认对于它尚缺乏足够的认识。这与该问题的复杂性有着密切的关系,虽然从 HSP 家庭的基因和临床实验中看到了一些希望,但是也应当

缺少一些更为直接的实验依据。而随着基因工程技术的完善,对于 HSPs 调控机制的明晰将更为其在移植领域的应用奠定坚实的基础。

参考文献:

- [1] Snoeckx Luc HEH, Cornelissen RN, Nieuwenhoven FAV, et al. Heat shock proteins and cardiovascular pathophysiology. *J. Physiol Rev* 2001; 81 (5): 1461-1497.
- [2] Liu Y, Steinacker M. Changes in skeletal muscle heat shock proteins pathophysiological significance. *J. Front Biosci* 2001; 6 (1): 12-25.
- [3] Baba HA, Schmid C, Wilhelm MJ, et al. Inducible heat shock protein 70 in rat cardiac allograft and its immunohistochemical localization in cardiac myocytes. *J. Transplantation* 1997; 64 (7): 1035-1040.
- [4] Vitorini S, Storti S, Andreani G, et al. Heat shock protein 70-1 gene expression in pediatric heart surgery using blood cardioplegia. *J. Clin Chem Lab Med* 2007; 45 (2): 244-248.
- [5] Tribi K, Dinhofer S, Kumblock N, et al. Heat shock protein expression in the transplanted human kidney. *J. Transplant* 2001; 14 (5): 281-286.
- [6] Oh KH, Kim JY, Kim D, et al. Targeted gene disruption of the heat shock protein 72 gene (hsp70-1) in the donor tissue is associated with a prolonged rejection-free survival in the murine skin allograft model. *J. Transplant Immunol* 2004; 13 (4): 273-281.
- [7] Duquesnoy RJ, Liu K, Fu XF, et al. Evidence for heat shock protein immunity in a rat cardiac allograft model of chronic rejection. *J. Transplantation* 1999; 67 (1): 156-164.
- [8] May RM, Metzler B, Kiehl S, et al. Endothelial cytotoxicity mediated by serum antibodies to heat shock proteins of *Escherichia coli* and *Chlamydia pneumoniae*: immune reactions to heat shock proteins as a possible link between infection and atherosclerosis. *J. Circulation* 1999; 99 (12): 1560-1566.
- [9] Tesar BM, Goldstein DR. Acute allograft rejection occurs independently of inducible heat shock protein 70. *J. Transplantation* 2007; 83 (11): 1513-1517.
- [10] Jayakumar J, Suzuki K, Sammut A, et al. Heat shock protein 70 gene transfection protects myocardial and ventricular function against ischemia reperfusion injury. *J. Circulation* 2001; 104 (12 Suppl 1): 1303-1307.
- [11] Sammut A, Harrison JC. Cardiac mitochondrial complex activity is enhanced by heat shock proteins. *J. Clin Exp Pharmacol Physiol* 2003; 30 (2): 110-115.
- [12] Hirasaka M, Mora BN, Yano M, et al. Gene transfer of heat shock protein 70 protects lung grafts from ischemia reperfusion injury. *J. Ann Thorac Surg* 1999; 67 (5): 1421-1427.
- [13] Belke DJ, Goss B, Hollander M, et al. In vivo gene delivery of HSP70 by adenovirus and adenoviral-associated virus preserves contractile function in mouse heart following ischemia reperfusion. *J. Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 91 (6): 2905-2910.
- [14] Soica SC, Satchithananda DK, Atkinson C, et al. Heat shock protein inducible nitric oxide synthase and apoptotic markers in the acute phase of human cardiac transplantation. *J. Eur J Cardiothorac Surg* 2003; 4 (6): 932-939.
- [15] Gowda A, Yang CJ, Asimakis GK, et al. Cardioprotection by local heating improved myocardial salvage after ischemia and reperfusion. *J. Ann Thorac Surg* 1998; 65 (5): 1241-1247.
- [16] Pantos C, Mourouzis I. Enhanced tolerance of the rat myocardium to ischemia and reperfusion injury early after acute myocardial infarction. *J. Basic Res Cardiol* 2007; 2 (4): 327-333.
- [17] Snoeckx Luc HEH, Cornelissen RN, Nieuwenhoven FAV, et al. Heat shock proteins and cardiovascular pathophysiology. *J. Physiol Rev* 2001; 81 (5): 1461-1497.
- [18] Sakai T, Takaya S, Fukuda A, et al. Evaluation of warm ischemia reperfusion injury using heat shock protein in the rat liver. *J. Transplant* 2003; 16 (2): 88-89.
- [19] Yamagami K, Enders G, Schauer RJ, et al. Heat shock preconditioning protects fatty livers in genetically obese Zucker rats from microvascular perfusion failure after ischemia reperfusion. *J. Transplant* 2003; 16 (8): 456-463.
- [20] Jayakumar J, Suzuki K, Sammut A, et al. Gene therapy for myocardial protection: transfection of donor hearts with heat shock protein 70 gene protects cardiac function against ischemia reperfusion injury. *J. Circulation* 2001; 104 (12 Suppl 1): 1303-1307.