

- [13] 赵彩霞,任勇军,文世明,等. 诱导化疗联合放疗 42 例中晚期鼻咽癌近期疗效观察[J]. 重庆医学,2009,38(16):2036.
- [14] Li J,Shan Z,Ou G, et al. Structural and functional characteristics of irradiation damage to parotid glands in the miniature pig[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2005,62(5):1510-1516.
- [15] Lee HJ, Lee YJ, Kwon HC, et al. Radioprotective effect of heat shock protein 25 on submandibular glands of rats [J]. Am J Pathol,2006,169(5):1601-1611.
- [16] Boraks G, Tampelini FS, Pereira KF, et al. Effect of ionizing radiation on rat parotid gland[J]. Braz Dent J,2008,19(1):73-76.
- [17] Hakim SG, Kosmehl H, Lauer I, et al. A comparative study on the protection profile of lidocaine, amifostine, and pilocarpin on the parotid gland during radiotherapy [J]. Cancer Res,2005,65(22):10486-10493.
- [18] Urek MM, Bralic M, Tomac J, et al. Early and late effects of X-irradiation on submandibular gland: a morphological study in mice[J]. Arch Med Res,2005,36(4):339-343.
- [19] Sagowski C, Wenzel S, Jenicke L, et al. Sodium selenite is a potent radioprotector of the salivary glands of the rat: acute effects on the morphology and parenchymal function during fractionated irradiation[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol,2005,262(6):459-464.
- [20] Muhvic-Urek M, Bralic M, Curic S, et al. Imbalance between apoptosis and proliferation causes late radiation damage of salivary gland in mouse[J]. Physiol Res,2006,55(1):89-95.
- [21] Limesand KH, Said S, Anderson SM. Suppression of radiation-induced salivary gland dysfunction by IGF-1 [J]. PLoS One,2009,4(3):e4663.
- [22] Limesand KH, Avila JL, Victory K, et al. Insulin-like growth factor-1 preserves salivary gland function after fractionated radiation[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2010,78(2):579-586.
- [23] Avila JL, Grundmann O, Burd R, et al. Radiation-induced salivary gland dysfunction results from p53-dependent apoptosis[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2009,73(2):523-529.
- [24] Ghosh AP, Walls KC, Klocke BJ, et al. The proapoptotic BH3-only, Bcl-2 family member, Puma is critical for acute ethanol-induced neuronal apoptosis [J]. J Neuropathol Exp Neurol,2009,68(7):747-756.
- [25] Limesand KH, Schwertfeger KL, Anderson SM. MDM2 is required for suppression of apoptosis by activated Akt1 in salivary acinar cells [J]. Mol Cell Biol,2006,26(23):8840-8856.

(收稿日期:2010-08-19 修回日期:2010-12-22)

· 综 述 ·

## 细胞外热休克蛋白 70 的释放、受体及功能

李霞绯 综述,刘 纯 审校

(重庆医科大学第一附属医院内分泌科 400016)

**关键词:**热休克蛋白质类;细胞因子类;危险信号;受体;炎症

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.14.044

**文献标识码:**A

**文章编号:**1671-8348(2011)14-1448-03

热休克蛋白(heat-shock protein, HSP)是一类具有重要生理功能和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细胞中,从细菌到哺乳动物体内均可见其表达。人们发现缺血、缺氧、重金属、病毒感染、恶性变等刺激均可引发细胞的应激反应,从而合成 HSPs,故又称为应激蛋白<sup>[1]</sup>。HSP70 是细胞内含量最丰富且最保守的一类 HSP 家族,细胞应激后生成最显著,是目前研究最多的一种 HSP 家族。

细胞内的 HSP70 主要参与新生蛋白质的折叠、解聚、移位,是为保护应激细胞使其存活而服务的。最近许多研究证明 HSP 能释放到细胞外环境中。

### 1 细胞外 HSP(eHSP70)的释放机制

早期认为, HSP70 只有在组织细胞死亡或凋亡时释放出。目前研究认为,在没有细胞坏死的情况下,应激使星形胶质细胞能释放 HSP70,导致 eHSP70 总量的增加。而且当经由细胞外信号调节激酶(ERK1/2)和磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)信号通路转导的信号减弱或抑制性 c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号通路增强时,这种应急情况下 HSP70 释放增加的效应就会受到抑制。因此通过平衡不同活化信号转导途径可以调节 HSP70 的释放<sup>[2]</sup>。胞吐小体是在多泡体内形成的膜性小囊泡,当多泡体的膜与质膜融合时,其内的小囊泡就释放到细胞

外。实验发现经热休克刺激的 B 淋巴细胞所释放的包含有 HSP70 的胞吐小体明显增加,而对外周血淋巴细胞热休克刺激后,释放的胞吐小体数量虽然没增加,但每个胞吐小体内 HSP70 的浓度却增加了<sup>[3]</sup>。脂筏是脂质双层内富含胆固醇、鞘磷脂和酰化的蛋白质的微结构,漂浮于二维流动的质膜结构中,参与细胞内外信号转导和蛋白质转运等重要功能。Bause-ro 等<sup>[4]</sup>研究发现热应激时,提取细胞的脂筏内 HSP70 的水平随应激强度增加而增加;而当脂筏的结构遭到脂筏破裂剂(甲基环糊精)破坏后, HSP70 的释放就显著降低,说明细胞内 HSP70 可以通过脂筏释放。对于血液循环中 HSP70 的升高,目前认为可能与应激时去甲肾上腺素释放有关<sup>[5]</sup>。

### 2 eHSP70 的功能

与细胞内 HSP70 的抗炎作用不同的是, eHSP70 具有明显的免疫刺激特性,因此被称为“分子伴侣”<sup>[6]</sup>。在体外实验中,外源性 eHSP70 能刺激巨噬细胞、树突细胞合成和释放 NO、肿瘤坏死因子  $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)、IL-1 等促炎性细胞因子,从而调节固有免疫反应<sup>[7]</sup>。eHSP70 可通过调节自然杀伤细胞(NK)的活性来参与免疫监视<sup>[8]</sup>。eHSP70 还能不依赖抗体直接激活补体 q1 和补体级联<sup>[9]</sup>。eHSP70 能促进抗原提呈细胞(APC)的成熟和迁移,以及 APC 和 T 淋巴细

胞的相互作用,从而引发获得性免疫反应<sup>[10]</sup>。eHSP70 能在抗原加工过程中与抗原肽结合,形成的 HSP-肽复合物经坏死或濒死细胞释放后与 APC 上的受体结合,抗原通过 HSP 被递送给主要组织相容性复合体(MHC-I)<sup>[11]</sup>。同样说明,HSP 能够刺激获得性免疫反应。

外源性 eHSP70 的免疫功能曾被质疑可能是受到内毒素污染所致,而应激下产生的内源性 eHSP70 已被证实能够活化巨噬细胞、树突细胞、自然杀伤细胞及 T 细胞<sup>[12-14]</sup>。有研究者用“危险理论”来解释其功能:应激所产生的内源性 eHSP70 可能作为一种“危险信号”促进机体的免疫功能,从而帮助清除病原体<sup>[15]</sup>。在急性炎症时,eHSP70 激活免疫细胞,产生 NO 和其他炎症因子,促进病原物的清除和炎症的减退。而在慢性炎症性疾病时,应激诱导的 eHSP70 使炎症因子水平持续过度升高,反而导致病情恶化。如动脉粥样硬化、阿尔茨海默病、炎症性肠病时,eHSP70 会加重炎症性疾病<sup>[16]</sup>,但在正常生理状态中,eHSP70 促进免疫反应<sup>[15]</sup>。

细胞表面的 HSP70 可以被其受体识别并与其结合,促进抗原 APC 和 T 细胞的相互作用。有研究发现,应激可动员 eHSP70 至树突细胞表面,引起依赖膜结合的 IL-15 表达上调,从而激活 CD4<sup>+</sup>CD45RA 记忆 T 细胞;同时,树突细胞表面的 eHSP70 还可以通过直接调节 T 细胞 CD40 反受体的表达来调节树突细胞与 T 细胞的相互作用<sup>[12]</sup>。

### 3 eHSP 的相关受体

目前,已发现 eHSP 可与 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)、CD91、CD40,清除剂受体家族等多种受体结合发挥其作用<sup>[17]</sup>。

TLR 为 I 型跨膜蛋白,其胞内段含有保守的 TIR(Toll/IL-1R)结构域,负责活化信号转导,胞外段为富含亮氨酸的重复序列,参与配体识别。eHSP70 可作为 TLR 的内源性配体激活髓样分化因子 88(MyD88)依赖性核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)信号转导通路,诱导很多快速反应基因的活化,产生一系列炎症细胞因子,参与机体炎症反应<sup>[7]</sup>。一项对锻炼后循环中 HSP70 与中性粒细胞吞噬、杀菌功能相互作用的研究发现:用抗 TLR2 抗体预处理中性粒细胞后,HSP70 与中性粒细胞的相互作用明显降低,并且循环中 HSP70 对中性粒细胞吞噬及杀菌能力的刺激作用也可被抗 TLR-2 抗体阻断<sup>[18]</sup>。动物实验发现:eHSP70 可以促进中性粒细胞分泌 IL-8 和 TNF- $\alpha$  等细胞因子,且野生株和 TLR4 突变株小鼠的不同结果提示 eHSP70 刺激中性粒细胞产生细胞因子的作用是通过 TLR4 来完成的<sup>[19]</sup>。CD14 作为辅助蛋白与 TLR2 和(或)TLR4 形成 HSP70 的复合受体发挥作用<sup>[20]</sup>。另一个辅助蛋白是髓样分化蛋白-2,它和 TLR4 组成的二聚体能帮助 TLR4 对脂多糖的识别<sup>[21]</sup>。

CD40 是 TNF 受体家族的一员,它可与激活的 T 淋巴细胞上的反受体结合,对抗原提呈细胞的成熟发挥重要作用<sup>[22]</sup>。

CD91 被证实能与多种 HSP 相互作用,如 HSP70、HSP90、钙网织蛋白及 HSPgp96<sup>[23]</sup>。研究证实,CD91 可有效介导 HSP70-肽复合物通过 MHC-II 提呈抗原,从而增强抗原特异性 CD4<sup>+</sup>T 细胞反应<sup>[24]</sup>。

清除剂受体家族成员在多种类型的细胞广泛表达,对应激蛋白的结合及内摄有重要作用<sup>[25]</sup>。

趋化因子受体与细菌 HSP70 直接结合对 eHSP 引起的细胞内信号级联有重要作用<sup>[26]</sup>。

目前,对 eHSP70 的研究还存在许多争议。如在体外实验中,重组 HSP70 诱导的巨噬细胞活化和(或)炎症细胞因子的

释放是否是内毒素污染所致。因为 eHSP 70 刺激免疫细胞产生促炎性细胞因子的细胞内信号转导通路和内毒素的活化途径完全一样,都是通过 CD14 和 TLRs 受体介导并进一步激活细胞内 MyD88/白细胞介素 1 受体相关激酶(IRAK)/NF- $\kappa$ B 信号转导通路完成的,而且有研究发现完全去除内毒素污染的重组 HSP70 并不能刺激鼠巨噬细胞释放促炎性细胞因子<sup>[27]</sup>。但也有研究发现,培养的肥大细胞经热休克处理产生的 eHSP70 能激活肥大细胞,说明 eHSP70 在没有内毒素污染的情况下能刺激炎症反应<sup>[28]</sup>。另外,对 eHSP70 的促炎作用还有待更深入的探索。Luo 等<sup>[29]</sup>研究发现,在类风湿关节炎中 eHSP70 能抑制丝裂原激活的蛋白激酶和 NF- $\kappa$ B 信号通路,从而下调成纤维样滑膜细胞产生 IL-6、IL-8 和单核细胞趋化蛋白-1,从而起到抗炎作用<sup>[29]</sup>。

HSP 是一类高度保守的应激蛋白,对保护应激细胞以及生物体的免疫过程有重要作用。相信对 eHSP 的进一步研究,必将为这些疾病的发病机制及诊断治疗带来新的启示,为促进人类健康发挥作用。

### 参考文献:

- [1] Tolly C, Morimoto RL. Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death [J]. Nat Cancer Inst, 2000, 92(19):1564-1572.
- [2] Taylor AR, Robinson MB, Gifondorwa DJ, et al. Regulation of heat shock protein 70 release in astrocytes: role of signaling kinases [J]. Dev Neurobiol, 2007, 67(13):1815-1829.
- [3] Lancaster GI, Febbraio MA. Exosome-dependent trafficking of HSP70: a novel secretory pathway for cellular stress proteins [J]. Exerc Immunol Rev, 2005, 11(1):46-52.
- [4] Bausero MA, Gastpar R, Multhoff G, et al. Alternative mechanism by which IFN- $\gamma$  enhances tumor recognition: active release heat shock protein 72 [J]. Immunol, 2005, 175(5):2900-2912.
- [5] Fleshner M, Johnson JD. Exogenous extra-cellular heat shock protein72: releasing signal(s) and function [J]. Int J Hyperthermia, 2005, 21(5):457-471.
- [6] Asea A. Mechanisms of HSP72 release [J]. J Biosci, 2007, 32(3):579-584.
- [7] Lee MS, Kim YJ. Signaling pathways downstream of pattern-recognition receptors and their cross talk [J]. Annu Rev Biochem, 2007, 76:447-480.
- [8] Elsner L, Muppala V, Gehrmann M, et al. The heat shock protein HSP70 promotes mouse NK cell activity against tumors that express inducible NKG2D ligands [J]. J Immunol, 2007, 179(8):5523-5533.
- [9] Fábán TK, Fejérdy P, Nguyen MT, et al. Potential immunological functions of salivary Hsp70 in mucosal and periodontal defense mechanisms [J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2007, 55(2):91-98.
- [10] Tsan MF, Gao B. Heat shock proteins and immune system [J]. J Leukoc Biol, 2009, 85(6):905-910.
- [11] Qiao Y, Liu B, Li Z. Activation of NK cells by extracellular heat shock protein 70 through induction of NKG2D ligands on dendritic cells [J]. Cancer Immun, 2008, 10(1):

- 8-12.
- [12] Wang Y, Seidl T, Whittall T, et al. Stress-activated dendritic cells interact with CD4<sup>+</sup> T cells to elicit homeostatic memory[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(6):1628-1638.
- [13] Chen T, Guo J, Han C, et al. Heat shock protein 70, released from heat-stressed tumor cells, initiates antitumor immunity by inducing tumor cell chemokine production and activating dendritic cells via TLR4 pathway[J]. *J Immunol*, 2009, 182(3):1449-1459.
- [14] Figueiredo C, Wittmann M, Wang D, et al. Heat shock protein 70 (HSP70) induces cytotoxicity of T-helper cells[J]. *Blood*, 2009, 113(13):3008-3016.
- [15] John D, Johnson A, Monika F. Releasing signals, secretory pathways, and immune function, of endogenous extracellular heat shock protein72[J]. *J Leukoc Biol*, 2006, 79(3):425-434.
- [16] Pockley AG. Heat shock proteins, inflammation, and cardiovascular disease[J]. *Circulation*, 2002, 105(8):1012-1017.
- [17] Calderwood SK, Mambula SS, Gray PJ Jr. Extracellular heat shock proteins in cell signaling and immunity[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2007, 1113:28-39.
- [18] Giraldo E, Martin-Cordero L, Garcia JJ, et al. Exercise-induced extracellular 72 kDa heat shock protein (Hsp72) stimulates neutrophil phagocytic and fungicidal capacities via TLR-2[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2010, 108(2):217-25.
- [19] Wheeler DS, Chase MA, Senft AP, et al. Extracellular Hsp72, an endogenous DAMP, is released by virally infected airway epithelial cells and activates neutrophils via Toll-like receptor (TLR)-4[J]. *Respir Res*, 2009, 10:31.
- [20] Ortega E, Hinchado MD, Martín-Cordero L, et al. Expression of intracellular cytokines, HSP72, and apoptosis in monocyte subsets during exertional heat stress in trained and untrained individuals[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2009, 296(3):R575-586.
- [21] Asea A, Kraef SK, Kurt-Jones EA, et al. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine[J]. *Nat Med*, 2000, 6(4):435-442.
- [22] Martin CA, Kurkowski DL, Valentino AM, et al. Increased intracellular, cell surface, and secreted inducible heat shock protein 70 responses are triggered during the monocyte to dendritic cell (DC) transition by cytokines independently of heat stress and infection and may positively regulate DC growth[J]. *J Immunol*, 2009, 183(1):388-399.
- [23] Theriault JR, Mambula SS, Sawamura T, et al. Extracellular HSP70 binding to surface receptors present on antigen presenting cells and endothelial/epithelial cells[J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(9):1951-1960.
- [24] Fischer N, Haug M, Kwok WW, et al. Involvement of CD91 and scavenger receptors in Hsp70-facilitated activation of human antigen-specific CD4<sup>+</sup> memory T cells[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(4):986-997.
- [25] Floto RA, Macary PA, Boname JM, et al. Dendritic cell stimulation by mycobacterial Hsp70 is mediated through CCR5[J]. *Science*, 2006, 314(5798):454-458.
- [26] Theriault JR, Adachi H, Calderwood SK. Role of scavenger receptors in the binding and internalization of heat shock protein 70[J]. *J Immunol*, 2006, 177(12):8604-8611.
- [27] Gao B, Tsan MF. Endotoxin contamination in recombinant human heat shock protein 70 (Hsp70) preparation is responsible for the induction of tumor necrosis factor release by murine macrophages[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(1):174-179.
- [28] Mortaz E, Redegeld FA, Nijkamp FP, et al. Acetylsalicylic acid-induced release of HSP70 from mast cells results in cell activation through TLR pathway[J]. *Exp Hematol*, 2006, 34(4):8-18.
- [29] Luo XJ, Zuo XX, Zhou YO, et al. Extracellular heat shock protein 70 inhibits tumour necrosis factor- $\alpha$  induced proinflammatory mediator production in fibroblast-like synoviocytes[J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10(2):R41.

(收稿日期:2010-11-01 修回日期 2011-01-20)

(上接第 1430 页)

#### 参考文献:

- [1] 罗友晖, 景琳, 张瑞华, 等. 四川省中医医院反应性水平调查分析[J]. *中国医院管理*, 2006, 26(7):3-7.
- [2] 陈硕, 罗友晖, 谢屏频. 卫生系统反应性测量方法研究进展[J]. *中国卫生事业管理*, 2007(2):78-80.
- [3] Whitehead M. The concepts and principles of equity and health, WHO [J]. *Int J Health Serv*, 1992, 22(3):429-445.
- [4] 肖黎. 贵州省农村地区卫生系统反应性研究[D]. 武汉:华中科技大学, 2007.
- [5] 江芹, 胡善联, 刘宝, 等. 卫生系统反应性的概念与测量[J]. *卫生经济研究*, 2001(7):44-46.
- [6] Murray CJL, Frenk JA. WHO frame work for health system Performance assessment[R]. GPE Discussion Paper. Geneva, WHO, 1999.
- [7] 梁万年. 卫生事业管理学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003.
- [8] 李丹, 许鑫, 薛素萍. 卫生系统反应性评价对患者满意度的启示[J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2008, 11(7):1102-1103.
- [9] 王健, 孟庆跃, 许宗余, 等. 患者在不同医疗机构就诊时间及反应性分析[J]. *中国卫生经济*, 2007, 26(7):56-58.
- [10] 闫广庆, 任家顺, 陈洪, 等. 医务人员人文素养在医患沟通中的应用探讨[J]. *重庆医学*, 2010, 39(7):1927-1928.
- [11] 薛秦香, 高建民, 戴民霞, 等. 陕西省卫生系统的反应性分析[J]. *中国卫生经济*, 2005, 24(3):64-66.

(收稿日期:2010-05-10 修回日期:2010-11-10)