

- Gastroenterol Hepatol, 2004, 19(8): 891-896.
- [15] Lancaster JL, Gosh S, Sethi R, et al. Can heterotopic gastric mucosa present as globus pharyngeus[J]. Laryngol Otol, 2006, 120(7): 575-578
- [16] Hori K, Kim Y, Sakurai J, et al. Non-erosive reflux disease rather than cervical inlet patch involves globus[J]. J Gastroenterol, 2010, 45(11): 1138-1145.
- [17] Alaani A, Jassar P, Warfield AT, et al. Heterotopic gastric mucosa in the cervical oesophagus (inlet patch) and globus pharyngeus—an under-recognised association [J]. Laryngol Otol, 2007, 121(9): 885-888.
- [18] di Palma E, Cazzato S, Tursini S, et al. A rare association of inlet patch with laryngospasm; a report of two children and literature review[J]. Pediatr Pulmonol, 2011, 46(9): 934-938.
- [19] Von Rahden BH, Stein HJ, Becker K, et al. Heterotopic gastric mucosa of the esophagus: literature-review and proposal of a clinicopathologic classification [J]. Am J Gastroenterol, 2004, 99(3): 543-551.
- [20] 唐宇, 马洪升. 食管上段胃黏膜异位症[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(29): 2865-2867.
- [21] Gutierrez O, Akamatsu T, Graham D, et al. Helicobacter pylori and heterotopic gastric mucosa in the upper esophagus (the inlet patch) [J]. Am J Gastroenterol, 2003, 98(6): 1266-1270.
- [22] 宋德顺, 秦丕效, 于秉伦. 食管胃黏膜异位症与 Hp 感染关系分析[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(39): 8413-8414.
- [23] Bhasin DK, Rana SS, Chandail VS, et al. Endoscopic examination of the upper esophagus by withdrawal of endoscope over guide wire [J]. Trop Gastroenterol, 2006, 27(4): 172-174.
- [24] Hori K, Kim Y, Sakurai J, et al. Non-erosive reflux disease rather than cervical inlet patch involves globus[J]. J Gastroenterol, 2010, 45(11): 1138-1145.
- [25] 李政文, 吕黄勇, 尧登华, 等. 共聚焦内镜诊断食管胃黏膜异位症 14 例 [J]. 西南国防医药, 2010, 15(11): 1230-1231.
- [26] Zhou C, Kirtane T, Tsai TH, et al. Cervical inlet patch—optical coherence tomography imaging and clinical significance [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(20): 2502-2510.
- [27] 邓全军, 谢立群, 李华, 等. 无痛胃镜下氩离子凝固术治疗颈段食管胃黏膜异位症 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2011, 13(7): 698-699.
- [28] Von Rahden BH, Stein HJ, Becker K, et al. Esophageal adenocarcinomas in heterotopic gastric mucosa: review and report of a case with complete response to neoadjuvant radiochemotherapy [J]. Dig Surg, 2005, 22(1/2): 107-112.
- [29] Akanuma N, Hoshino I, Akutsu Y, et al. Primary esophageal adenocarcinoma arising from heterotopic gastric mucosa: report of a case [J]. Surg Today, 2012, 17(37): 310-315.

(收稿日期: 2012-10-13 修回日期: 2012-11-04)

• 综 述 •

## 热休克蛋白在动脉粥样硬化中的作用研究进展

喻荷淋 综述, 陈 隽 审校

(重庆医科大学附属第二医院内分泌科 400010)

**关键词:** 热休克蛋白类; 动脉粥样硬化; 免疫炎症反应

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.05.042

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)05-0585-03

热休克蛋白(HSP)是一组进化高度保守的蛋白质,普遍存在于从细菌到人类的整个生物界。最早是 Ritossa 于 1962 年从热诱导的果蝇染色体上看到蓬松现象,提示这些区域带基因的转录加强并可能有某些蛋白质的合成增加。至 1974 年, Tissieres 等才从热休克果蝇染色体幼虫的唾液腺等部位分离到新的蛋白质,并正式命名为 HSP。后来认识到除了高温外,其他因素(包括感染、组织创伤、氧化应激、营养缺乏、中毒等)均能诱导细胞生成 HSP,因此 HSP 又称做应激蛋白。但 HSP 家族中有部分成员在正常生理状态下也有表达。HSP 的主要生理功能是作为细胞的蛋白质分子伴侣,可以描述为“蛋白质结构的催化剂”。此外, HSP 在细胞周期调控、细胞增殖、组织的细胞结构、细胞凋亡中发挥作用。因此 HSP 在动脉粥样硬化(AS)中起作用也就不足为奇了。分子模拟或种间交叉反应表明, T 细胞、B 细胞反应的病理学机制已经证明 HSP 与各种

炎症及自身免疫反应(包括 AS)相关<sup>[1]</sup>。

### 1 AS 的本质

AS 是由于胆固醇的堆积,细胞代谢异常,钙和其他成分在动脉内壁的积聚而引起的动脉功能紊乱的疾病。近年来,对 AS 的机制已得到共识,认为其是一种慢性炎症性疾病,其中还涉及自身免疫反应。细胞和体液免疫都参与了 AS 的发生、发展。单核细胞和 T 淋巴细胞介导的细胞黏附分子(CAMs)是这种炎症免疫过程中的关键环节。引发各种心血管疾病的危险因素通过调控炎症细胞因子,同时与血流动力学的改变和细菌内毒素共同激活 CAMs 的表达。CAMs 使自身细胞的炎症反应和体液炎症反应相互作用。CAMs 能识别在 AS 中的巨噬细胞、T 细胞和促进炎症细胞因子的进一步释放。因此,这一理论支持适应性免疫反应参与 AS 的发病机制<sup>[2]</sup>。近年来有研究认为 HSP 可能做为自身抗原而引发免疫反应<sup>[3]</sup>。内皮细

胞在受到损伤后 HSP 表达增加,这说明 HSP 参与整个病变过程。有实验表明,载脂蛋白 E 缺陷小鼠(ApoE)切除脾脏后(脾脏是 T、B 淋巴细胞储存库),AS 的发生增加。表明脾脏产生保护效应,或者 B 细胞的记忆效应促进了 AS 的发展。AS 的小鼠模型中发现 T 淋巴细胞存在于病变的所有发展阶段,尤其是在低密度脂蛋白受体缺陷小鼠(LDLR)和 ApoE 小鼠中表现更明显。证明 T 细胞及其细胞因子在 AS 过程中的关键作用。

## 2 HSP 与免疫反应

哺乳动物和细菌的 HSP 在结构上高度同源,这一特征使 HSP 有可能成为潜在的有害的自身抗原。据报道,高滴度的抗 HSP60 的自身抗体与 AS 的血管疾病(AVD)和严重的冠状动脉疾病(CAD)相关联<sup>[4]</sup>。事实上,在早期 AS 的内皮细胞层找到大量的内源性的 HSP60 和外源性(衣原体)cHSP60<sup>[5]</sup>。这说明血管内皮细胞 HSP60 的表达可能成为免疫系统攻击的目标。已经认识到不同的原因(主要是感染)可以激活内源性 HSP60 的表达,并且已经证明 HSP60/65 免疫应答促进 AS 的进展,并导致在早期斑块的内膜下区域 CD3 浸润增加<sup>[6]</sup>。Ghayour-Mobarhan 等<sup>[7]</sup>有报道,在胆固醇喂养兔形成 AS 的过程中,血浆 HSP60 的抗体滴度与随后的病变程度密切相关。当其内皮损伤标志物出现时,HSP60/65 以及 HSP70 抗体滴度上升,在开始高胆固醇饮食(8 周左右)抗体滴度达峰值。在体外实验中已证实抗 HSP60 的抗体影响 AS 的内皮细胞<sup>[8]</sup>。

HSP 之所以与 AS 有关,可能与微生物感染诱导产生的 HSP 与宿主本身的 HSP 之间存在交叉免疫反应有关,最终导致内皮细胞损伤。这种机制称为“分子模拟”。在机体受到感染、高温、损伤等有害因素刺激时,HSP60 的表达增加,部分 HSP60 通过其分泌作用或细胞死亡转移到血循环中,血循环中 HSP60 表达可能会刺激某些先天免疫和炎症反应的细胞增生,包括内皮细胞、平滑肌细胞(SMCS)、巨噬细胞,活化抗原提呈细胞,调节 T 细胞功能,促进炎症介质的释放,造成血管内皮细胞的损伤,促进 AS 的发生、发展<sup>[9-10]</sup>。而且有实验证明,人 AS 区域的 T 淋巴细胞与外周血中的 T 淋巴细胞对机体自身 HSP60/65 反应存在差异性,结果前者较后者表现出更明显的高反应性。这说明 HSP60 介导的免疫反应对 AS 的形成有重要意义。Okada 等<sup>[11]</sup>通过研究提出抗 HSP60 的 IgG 抗体与 hHSP60 可作为心血管疾病的独立危险因素,并预测 HSP60 的三级结构中 20 个氨基酸残基(从 Glu141 到 Leu160)可能是主要的心血管疾病相关抗原表位,诱导抗 HSP60 的抗体产生。但其推测有待进一步的研究证实。

## 3 HSP 与炎症反应

HSP 可被宿主免疫系统的细胞表面受体识别,例如 Toll 样受体 4(TLR-4)、TLR-2、凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1(LOX-1)、清道夫受体(SR-A)或作为免疫显性抗原<sup>[12]</sup>。TLRs 是先天免疫和适应性免疫系统的重要组成部分,并潜在的联系着炎症与 AS<sup>[13]</sup>。已经证明,TLR-4 是必要的膳食饱和脂肪酸,在啮齿动物模型中导致肥胖和血管的炎症反应<sup>[14]</sup>,而 TLR-2 的特异配体激活可引发 AS<sup>[15]</sup>。LOX-1 主要是结合以及调控氧化低密度脂蛋白(LDL),LDL 是引起 AS 的独立危险因素<sup>[16]</sup>。在人类平滑肌细胞和内皮细胞,HSP60 和 70 可结合到 TLR4/CD14 复合体,激活 MyD88-NF- $\kappa$ B 途径。而 NF- $\kappa$ B 是调节大量 AS 相关基因的关键转录因子,一旦被激活,它能介导细胞产生各种细胞因子,黏附分子和生长因子,影响细胞周期和细胞凋亡,促使平滑肌细胞增生及移行到内膜促进 AS

发展。

作为抗原,HSP 可以引起免疫反应刺激平滑肌细胞的迁移和增殖。血管平滑肌细胞的运移,使动脉内膜发生增殖。持续的炎症反应导致巨噬细胞的数量增加,单核细胞和 T 淋巴细胞从血液中迁移到病灶,加重 AS 的病变进展。平滑肌细胞和巨噬细胞的激活也导致水解酶、细胞因子、趋化因子和生长因子的释放,可诱发进一步的损害。动物实验表明 HSP60 能诱导小鼠巨噬细胞肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、NO<sub>2</sub><sup>-</sup>的合成增加,诱导白细胞介素(IL)-12、IL-15 等细胞因子的合成增加。进一步研究证实,衣原体类的 HSP60 和人 HSP60 都可诱导巨噬细胞表达 TNF- $\alpha$ 、蛋白酶-9(MMP-9)、IL-6,诱导内皮细胞产生 E2 选择素、细胞内黏附分子-1(ICAM-1)及血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)的水平不亚于脂多糖的诱导效果。血循环中抗 HSP60 的抗体亦会引起 P-选择素的增加<sup>[8]</sup>,P-选择素介导的白细胞、血小板能促进炎症、血栓形成<sup>[17]</sup>。

## 4 HSP 与斑块的稳定性

差异蛋白组学研究显示,不稳定斑块比稳定斑块的 HSP20 和 HSP27 明显减少,这表明 HSP20 和 HSP27 在炎症和氧化应激中起到了重要的职能作用,可能与斑块稳定性有关<sup>[18]</sup>。复杂的 AS 患者与健康人相比,斑块中的 sHSP27 及血浆的 HSP27 水平均降低。细胞外的 HSP27 能被 AS 斑块中释放的酶降解,而细胞内 HSP27 的下调降低了血管平滑肌细胞抵抗蛋白水解酶诱导的细胞凋亡,提示 HSP27 可能在预防斑块不稳定和破裂方面发挥着举足轻重的作用<sup>[19]</sup>。

HSP27 能防止斑块的不稳定与破裂的机制可能与下列因素有关:(1)HSP27 的抗炎作用。细胞外的 HSP27 能减少人类低密度脂蛋白的乙酰化(AcLDL)。AcLDL 能诱导释放炎症细胞因子 IL-1,增加抗炎因子 IL-10 的释放,而 IL-10 能抑制多种炎症细胞因子的合成与释放。HSP27 是动脉保护因素,也许是因为它能竞争摄取致 AS 的血脂或减轻炎症的吸收。(2)HSP27 是雌激素受体  $\beta$ (ER $\beta$ )相关的蛋白质,视为 AS 一种生物标志物<sup>[20-21]</sup>。在许多动脉内皮细胞和血管平滑肌细胞(VSMCs)都有 ER 的表达,人类冠状动脉的优势雌激素受体与冠状动脉钙化有关<sup>[22]</sup>。雌激素治疗可以抗 AS,保护内皮细胞表面免受损伤,在动物模型可以降低 LDL 的氧化。刺激体内的雌激素受体可以重现 HSP27 的动脉保护作用。冠状 AS 时,HSP27 可以调节雌激素信号减弱<sup>[23]</sup>。病变严重的粥样硬化的冠状动脉中没有 HSP27 的表达,而且 60% 的年轻男女(27.0 $\pm$ 6.5)岁冠状动脉的正常组织学或非阻塞脂肪条纹中也没有 HSP27 的表达。这些正常或轻微病变的动脉缺乏 HSP27 的表达与 ER $\beta$ 的下调是一致的。这个结果表明,HSP27 能通过调节雌激素信号来减轻冠状 AS<sup>[19]</sup>。(3)HSP27 和 HSP20 在平滑肌细胞中大量表达,是平滑肌细胞收缩、迁移和生存的重要调节器<sup>[24]</sup>。HSP27 磷酸化的丝氨酸残基能调节肌动蛋白的聚合,减少氧化应激诱导的肌动蛋白断裂和增加细胞死亡的抵抗力,而且能够稳定肌动蛋白微丝,有助于肌动蛋白张力纤维的形成,而肌动蛋白丝的重构与平滑肌细胞的迁移和收缩密切相关。平滑肌细胞迁移认为是 AS 损伤的病理因素。磷酸化状态的 HSP27 参与调节人类的血管内皮细胞和平滑肌细胞,可能有助于稳定斑块,保护心血管<sup>[25]</sup>。

## 5 总结与展望

综上所述,HSP 的表达参与了 AS 的发生、发展,且其成员在 AS 中的作用是不一样的,既有保护作用,同时也在 AS 的发生、发展中起了促进的作用。如在应激、感染等诱因刺激下

HSP60 的表达增加,可诱发自身免疫反应,炎症反应和促进炎症因子释放,损伤血管内皮细胞,促进 AS 的发展,而 HSP27 在 AS 斑块中的表达,能防止斑块的不稳定与破裂。HSP 在不同物种间的高度保守性,及其与 AS 和免疫系统的联系,随着分子生物学、分子免疫学等相关科学的迅速发展,对 HSP 与 AS 机制进一步的深入研究,有望使发展疫苗或生物制品防止 AS 成为可能。

#### 参考文献:

- [1] Boyle J. Macrophage activation in atherosclerosis; pathogenesis and pharmacology of plaque rupture [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2005, 3(1): 63-68.
- [2] Lu X, Kakkar V. The role of heat shock protein(HSP) in atherosclerosis; pathophysiology and clinical opportunities [J]. *Curr Med Chem*, 2010, 179(10): 957-973.
- [3] Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(3): 1685-1695.
- [4] Ford P, Gemmell E, Walker P, et al. Characterization of heat shock protein-specific T cells in atherosclerosis [J]. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2005, 12(4): 259-267.
- [5] Pfister G, Stroh CM, Perschinka H, et al. Detection of HSP60 on the membrane surface of stressed human endothelial cells by atomic force and confocal microscopy [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(3): 1587-1594.
- [6] Wick G, Hendrson B, Knoflach M, et al. Atherosclerosis: autoimmunity to heat-shock protein [J]. Academic Press, 2006, 12(1): 889-897.
- [7] Ghayour-Mobarhan M, Lamb DJ, Tavallaie S, et al. Relationship between plasma cholesterol, von Willebrand factor concentrations, extent of atherosclerosis and antibody titres to heat shock proteins-60, -65 and -70 in cholesterol-fed rabbits [J]. *Int J Exp Pathol*, 2007, 88(5): 249-255.
- [8] Dieude M, Gillis MA, Theoret JF, et al. Autoantibodies to heat shock protein(HSP) 60 promote thrombus formation in a murine model of arterial thrombosis [J]. *J Thromb Haemost*, 2009, 7(1): 710-719.
- [9] Alard JE, Dueymes M, Youinou P, et al. Modulation of endothelial cell damages by anti-Hsp60 autoantibodies in systemic autoimmune diseases [J]. *Autoimmun Rev*, 2007, 6(7): 438-443.
- [10] van Puijvelde GH, van Es T, van Wanrooij EJ, et al. Induction of oral tolerance to HSP60 or an HSP60-peptide activates T cell regulation and reduces atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2007, 27(5): 2677-2683.
- [11] Okada T, Ayada K, Usui S, et al. Antibodies against heat shock protein 60 derived from helicobacter pylori; diagnostic implications in cardiovascular disease [J]. *J Autoimmun*, 2007, 29(4): 106-115.
- [12] Quintana FJ, Cohen IR. Heat shock proteins as endogenous adjuvants in sterile and septic inflammation [J]. *J Immunol*, 2005, 175(3): 2777-2782.
- [13] Balogh S, Kiss I, Csaszar A. Toll-like receptors: link between "danger" ligands and plaque instability [J]. *Curr Drug Targets*, 2009, 10(6): 513-518.
- [14] Wolfe DN, Buboltz AM, Harvill ET. Bordetella pertussis infection or vaccination substantially protects mice against B. bronchiseptica infection [J]. *PLoS One*, 2009, 4(5): e4280.
- [15] Madan M, Amar S. Toll-like receptor-2 mediates diet and/or pathogen associated atherosclerosis: proteomic findings [J]. *PLoS One*, 2008, 3(4): e3204.
- [16] Reiss AB, Anwar K, Wirkowski P. Lectin-like oxidized low density lipoprotein receptor 1(LOX-1) in atherogenesis; a brief review [J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(5): 2641-2652.
- [17] Chen M, Geng JG. Pselectin mediates adhesion of leukocytes, platelets, and cancer cells in inflammation, thrombosis, and cancer growth and metastasis [J]. *Arch Immunol Ther Exp*, 2006, 54(9): 75-84.
- [18] Lepedda AJ, Cigliano A, Cherchi GM, et al. A proteomic approach to differentiate histologically classified stable and unstable plaques from human carotid arteries [J]. *Atherosclerosis*, 2009, 203(1): 112-118.
- [19] Rayner K, Chen YX, McNulty M, et al. Extracellular release of the atheroprotective heat shock protein 27 is mediated by estrogen and competitively inhibits acLDL binding to scavenger receptor-A [J]. *Circ Res*, 2008, 103(2): 133-141.
- [20] Kim JK, Levin ER. Estrogen signaling in the cardiovascular system [J]. *Nucl Recept Signal*, 2006, 4(1): e13.
- [21] Christian RC, Liu PY, Harrington S, et al. Intimal estrogen receptor (ER) beta, but not ERalpha expression, is correlated with coronary calcification and atherosclerosis in pre- and postmenopausal women [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(3): 2713-2720.
- [22] Al-Madhoun AS, Chen YX, Haidari L, et al. The interaction and cellular localization of HSP27 and ERbeta are modulated by 17betaestradiol and HSP27 phosphorylation [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2007, 270(1/2): 33-42.
- [23] Miller H, Poon S, Hibbert B, et al. Modulation of estrogen signaling by the novel interaction of heat shock protein 27, a biomarker for atherosclerosis, and estrogen receptor beta; mechanistic insight into the vascular effects of estrogens [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(2): e10.
- [24] Salinthon S, Tyagi M, Gerthoffer WT. Small heat shock proteins in smooth muscle [J]. *Pharmacol Ther*, 2008, 119(1): 44-54.
- [25] Trott D, Mc Manus CA, Martin JL, et al. Effect of phosphorylated hsp27 on proliferation of human endothelial and smooth muscle cells [J]. *Proteomics*, 2009, 9(5): 3383-3394.