

热休克蛋白70及其在运动医学领域的研究进展

李冬严,王蕴红

(首都体育学院)

摘要:有机体在经受热及其它应激如缺血、缺氧、重金属、基因损伤、组织损伤、微生物感染等作用后都能诱导生成热休克蛋白(HSP),它能保护机体不受或少受伤害。由于HSP70在正常细胞中水平较低,而在应激状态下可显著升高,因此目前对HSP70的研究较深入。本文主要介绍了HSP70的结构、调节,生物功能及其在运动医学领域的研究进展。

关键词:热休克蛋白70,运动医学,运动

The Review And Studying Actuality Of Hsp70 In Sports Medicine

LI Dong-yan, WANG Yun-hong

Abstract: Heat, ischemia, hypoxia and other stressors results in the heat shock response and the induction of HSP. The heat shock response is a cellular reaction that can help body adapt to the imposed stress. This review addresses the 70 kilodalton heat shock protein family(HSP70), the most strongly induced heat shock proteins. This paper provides an overview of the general heat shock response and a brief review of literature on HSP70 function, structure, regulation and studying actuality.

Keywords: HSP70, Sports Medical Exercise, Sports

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)又称应激蛋白(stress protein, SP),是生物体在不良环境因素作用下所产生的一组特殊的蛋白质,它能保护机体或细胞不受或少受伤害,这一反应过程称为热休克反应(heat shock respond, HSR)。在应激条件下,热休克蛋白表达明显增加,且可发生移位。这些应激包括①体外环境应激:热、冷、缺血、缺氧、有机毒物,重金属(砷、镉)等。②体内病理生理应激:基因损伤、组织创伤、微生物感染等。业已证实HSP普遍存在于从细菌到人的整个生物界。目前已发现的HSP已有10多种。根据分子量大小和同源程度可分为HSP110、HSP90、HSP70及HSP60、小分子HSP及泛素等几个家族。HSP70家族的成员数量在不同的生物有所不同,功能亦存在差异。由于分子量为70kD的热休克蛋白(诱导型)在正常细胞中水平较低,而在就应激状态下可显著地升高^[1]因此成为热休克蛋白中最为关注、研究最深入的一种。

1 HSP70的组成、结构、分布、调节

1987年Sorger^[2]阐明了编码热休克蛋白质的序列、基因结构及其位点。研究表明:热休克蛋白-70及其部分相关基因在人类定位于6对、14对、21对等染色体上。HSP70是HSP中最丰富的一种,根据其表达情况的不同可分为结构型和诱导型,前者存在于非应激的正常细胞

中,在正常情况下即表达,应激后略增加;后者仅出现于应激细胞中^[3]。这些蛋白存在于细胞内的不同区域。热休克时,大部分诱导型HSP70位于细胞核内,细胞恢复时则移入胞浆,再次热休克时重又转回细胞核内。这种现象无温度特异性,在正常温度缺氧环境中,亦可观察到HSP70的这种移位现象。结构型HSP70又可分为两种,分别位于内质网和线粒体内。这三种HSP70分别在其各自的区域内发挥作用。

对HSP合成的调控有转录水平的调控和翻译水平的调控。转录调控是HSP合成的主要调控环节。HSP的合成有赖HSP基因的转录。在真核生物,HSP的转录调节结构是相同的,包括热休克因子(HSF)的激活,HSF与热休克元件(HSE)的结合及HSP基因的转录。翻译水平的调控主要表现为HSP mRNA在热应激时非常稳定^[4]并能得以优先翻译。有研究表明^[5]细胞内HSP的水平可以影响细胞再受热时HSP的表达,提示HSP本身对HSP的表达有反馈调节功能。

2 HSP70的主要生物功能

2.1 HSP70与细胞的耐热性

哺乳类细胞如果一直暴露在高于41℃的环境中,将导致细胞分化功能的丧失,最终死亡;而当这些细胞间歇性地暴露于热环境中(其中间隔数小时生理温度),这些细

收稿日期:2002-07-25

作者简介:李冬严(1972~),女,研究生,北京,100088

胞将产生耐热性^[6]。实验证明 HSP70 与耐热性的产生有关:一方面许多耐热的培养细胞株中 HSP70 表达水平升高^[7],而且过量表达重组 HSP70 能使细胞耐受损伤^[8];另一方面,竞争性抑制细胞内 HSP70 的基因表达^[9]或向细胞内注射抗 HSP70 抗体后^[10],可使细胞产生更高的热敏感性。HSP70 对热休克细胞的复原亦是重要的。而且热应激刺激诱导细胞产生 HSP,不仅使细胞对该刺激的耐受性增加,也增加了细胞对其它应激原刺激的耐受性。HSP70 发挥这一作用的机制尚不清楚。已知 HSP70 在应激时高浓度地聚集在染色体及核质内,并以特殊的方式与解聚染色质相互作用,防止染色质在 hn RNA 复合物降解。研究表明^[11],HSP70 或其含有羧基端部分的碎片具有保护细胞免受热应激损伤的作用,包含氨基端部分的蛋白碎片则无此效应。而且只有 HSP70 的完整表达才能降低热应激时的翻译抑制程度,才有最有效地加速转录和翻译抑制的恢复,说明 HSP70 对细胞的抗损伤能力至关重要。

2.2 分子伴侣作用

分子伴侣(molecular chaperones)是细胞内一类能介导其它蛋白正确装配,本身却不具功能的最终装配产物的组成成份。目前认为 HSP70 是主要的伴侣蛋白(chaperonin)之一。其作用是与新生、未折叠、错折叠或聚集的蛋白质相结合,使某些蛋白质聚集物解离,加速正确的肽链折叠和重折叠;维持某些肽链的伸展状态以利其跨膜转位,在线粒体、内质网等不同的区域内发挥作用;同时还促进某些变性蛋白的降解和清除;重新激活某些酶的作用,以维护细胞的功能和生存^[12,13]。HSP 作为分子伴侣,其机制可能为:HSP 以依赖于 ATP 的方式结合和释放非天然构象多肽的疏水片段,并通过遮蔽这些片段而稳定蛋白质的松弛构象和阻止聚集。

2.3 HSP70 与免疫应答

HSP 与免疫应答的关系已越来越引起人们的兴趣。作为 HSP 中主要成员之一的 HSP70,在免疫方面发挥着许多令人瞩目的功效,在基础免疫方面,除了发现热休克细胞可耐受肿瘤坏死因子和自然杀伤细胞的攻击以外,在实验提示 HSP 可能参与抗原的加工、提呈。如 Vanbukirk 等^[14]发现鸽子的细胞色素 C 经抗原提呈细胞(APC)加工提呈后可与某种蛋白结合 未经加工的、完整的细胞色素 C 分子则不与此蛋白结合,提示此蛋白在加工过程中被组装上去的。进一步的研究发现,此蛋白存在于 B 细胞、T 细胞和成纤维细胞上,能被抗 HSP70 单抗所识别,提示此蛋白为 HSP70 家族的一个成员。

3 HSP70 在运动医学领域的研究进展

3.1 运动对热休克蛋白 70 表达的影响及其诱导机制

大量的研究证明,体育运动能引起局部组织器官缺血,使肌肉温度升至 45 度,体内温度升至 44 度^[15,16];运动还可引起体内氧化应激,产生氧自由基及其它氧化反应的产物^[17,18],能提高肌肉线粒体的生物生成;同时维持机体的运动会使葡萄糖和肝糖原的不断减少^[19,20],体液 pH 值下降。因为由运动引起的体温升高、氧化应激、葡萄

糖减少、能量消耗、血液 PH 值下降等应激因素与引起热休克反应的因素相似,所以运动也可能诱导机体产生热休克蛋白来保护机体少受或免受伤害。

运动可以通过热休克和氧化应激诱导 HSP70 的升高,同时 HSP70 可能是运动诱导肌肉线粒体生物生成分子机制中的一个重要环节。Davide^[21]等人对跑台训练 5 天的力竭的 SD 雌性大鼠进行了研究。研究发现运动后立即大鼠的后肢肌肉、心脏、肝脏中至少有 15 种应激蛋白浓度增加,心脏、肝脏、后肢肌肉中的蛋白种类不完全相同。后肢肌肉中比目鱼肌、跖肌、趾长伸肌(EDL)对热休克和氧化应激引起的蛋白合成反应也有所不同,但有 5 种蛋白(特别是分子量为 106kDa 和 70kDa 的蛋白)在这两种应激状态下的反应是相同的。在体育训练中无论是热休克还是氧化应激都可以引起骨骼肌 HSP70mRNA 水平升高 2~6 倍。心肌中有两种不同的 HSP70mRNA 在运动后立即升高,2.3kb mRNA 在运动后 2~3 小时恢复,3.5kb mRNA 持续升高约 6 小时,温度升高还可以使线粒体解耦联产生 O_2^- 增加。

在缺少热刺激的情况下,运动引起的肌肉收缩、血流改变及新陈代谢的加快等应激都可能是诱导 HSP70 合成的刺激因素。虽然运动可能通过一个独特的通路引起 HSP70 的合成,但很可能运动与其他代谢应激之间有共同的机制。Skidmore^[22]等人的实验显示体温控制在基础温度时,长时间亚极量运动能诱导大鼠下肢肌肉(比目鱼肌、腓肠肌)和左心室肌 HSP70 浓度升高,而 EDL 肌 HSP70 浓度不升高。在不同的肌肉组织中 HSP70 合成的差异提示应激蛋白的产生可能与运动时不同肌肉能量的消耗程度相关。新陈代谢过程中 ATP 的减少也是诱导 HSP70 的重要信号^[23]。Noble^[24]等人认为运动强度可能是引起心肌 HSP72 升高的重要因素。训练过程中血乳酸经常达到 4~8mmol/L,使血液 PH 降低,也可以诱导 HSP70 的产生^[25]。Locke 等人的研究认为运动对 HSP 表达可能有累加效应^[26]。虽然 HSP70 浓度与运动量可能有关,但目前的研究还不能回答 HSP70 的反应是否依赖于运动的形式、强度和运动量^[27]。

Fehrenbach^[28]等人评价了半个马拉松训练对运动员外周白细胞 HSP27 及 HSP70 的影响。实验结果显示所有运动员运动后白细胞 HSP27 和 HSP70 的 mRNA 水平比运动前显著升高,24 小时后恢复至正常水平。同时他们发现运动员白细胞 HSP27 的基础转录水平比普通人低,而 HSP70mRNA 表达比普通人高。在安静状态下给予热刺激,运动员白细胞 HSP27、HSP70 的 mRNA 比普通人升高更多。热刺激和运动引起的其它应激都可以刺激白细胞 HSP 的表达。由于 HSP 的表达模式与受训练的程度有关,因此推测这种改变可能是一种适应机制。Puntschart^[29]等人认为单一回合的剧烈的有氧运动可以引起人类骨骼肌 HSP70mRNA 浓度升高,但对于基础水平较高的 HSP70 的蛋白浓度则影响不大。出现这种结果的原因可能是 HSP70 蛋白产生和蓄积之间的延迟效应或者是由于结构型 HSP70 的存在使运动前 HSP70 蛋白的高水平掩盖了新合成的诱导型 HSP70 蛋白的显现(因为在

HSP70 家族有两种主要的蛋白:结构型 HSP73、诱导型 HSP72)。

3.2 HSP 的运动医学意义

HSP 的产生具有保护生命功能和防御伤害的作用^[30]。在运动训练中 HSP70 的蓄积可能对降低 CK 的水平起一定的作用^[31],并且能为肌肉组织提供保护^[32],HSP70 在肌肉适应训练过程中有另一个重要作用即“分子伴侣”作用^[33]。HSP72 还可能参与了骨骼肌收缩纤维和氧化型纤维之间的高速转^[34]。HSP70 的升高可能对 SOD 和钠钾 ATP 酶有保护作用从而提高运动能力^[35]。有研究发现高温至运动后血乳酸增加,而血乳酸积累诱导 HSP70 合成,其中 HSP70 合成多者,乳酸累积较少且清除较快,提示 HSP 对于运动性疲劳的恢复可能有一定促进作用^[36]。由于运动后心肌细胞 HSP 水平升高,这为进一步从水平探讨运动对心脏病的预防和康复机制提供了新思路。

此外,分析 HSP70 的 mRNA 水平可以作为训练过程中检测特定肌肉应激情况的有效指标,也可以作检测 HSP 蛋白含量高的组织应激情况的敏感方法^[29]。通过对人外周血白细胞中 HSP 基因表达水平的评估也可以来监测各种训练给人体带来的有益或有害的影响^[28]。通过这些指标的检测,可以指导我们进行合理、有效的运动训练,从而促进健康,提高运动成绩。

总之,尽管 HSP 对机体的保护机理还不是很清楚,与运动的关系还有待进一步研究,但普遍认为这种广泛存在、高度保守的 HSP 的细胞保护的物质基础,如果能充分利用,发挥它的细胞保护这一古老而重要的独特优势,将造福于人类。

4 参考文献

- [1] sato s, Abe K, Kawagoe J, et al. Isolation of complementary DNAs for heat shock protein (HSP) 70 and heat shock cognate protein (HSC)70 genes and the expressions in post - ischaemic gerbil brain. *Neurol Res.* 1992;14:375 - 380
- [2] Sorger PK, Lewis MJ, Pelham HR. Heat shock factor is regulated differently in yeast and HeLa cells. *nature*, 1987, 329(6134):81 - 84
- [3] Welch W J. Mammalian stress response: cell physiology structure/function of stress proteins, and implications for medicine and disease. *Physiol Rev.* 1992;72:1063 - 1081
- [4] Petersen R, Lindquist S. The Drosophila hsp70 message is rapidly degraded at normal temperatures and stabilized by heat shock. *Gene.* 1988;Dec10;72(1 - 2):161 - 8
- [5] Ali A, Bharadwaj S, O'carroll R, et al. HSP90 interacts with and regulates the activity of heat shock factor 1 in Xenopus oocytes. *Mol Cell Biol.* 1998;18(9):4849 - 4960
- [6] Van Dongen G, Van Wijk R. Evidence for a role of heat - shock proteins in proliferation after heat treatment of synchronized mouse neuroblastoma cells. *Radiat Res.* 1998; 113(2):252 - 67. 198 8; 113:252
- [7] Anderson RL, Van Kersen I, Kraft PE, et al. Biochemical analysis of heat - resistant mouse tumor cell strains: a new member of the HSP70 family. *Mol Cell Biol.* 1989;9(8):3509 - 16
- [8] Angelidis CE, Lazaridis I, Pagoulatos GN. Constitutive expression of heat - shock protein 70 in mammalian cells confers thermoresistance. *Eur J Biochem.* 1991;199(1):35 - 39
- [9] Li GC, Li LG, Liu YK, et al. Thermal response of rat fibroblasts stably transfected with the human 70 - kDa heat shock protein - encoding gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(5):1681 - 5
- [10] Riabowol KT, Muzzen LA, Welch WJ. Heat shock is lethal to fibroblasts microinjected with antibodies against hsp70. *Science* 1988;242(4877):433 - 6
- [11] Li L, Shen G, Li GC. Effects of expressing human Hsp70 and its deletion derivatives on heat killing and on RNA and protein synthesis. *Exp Cell Res.* 1995;217(2):460 - 8
- [12] Ellis Rj. The molecular chaperone concept. *Semin Cell Biol.* 1990; (1):1 - 9
- [13] Pelham HRB. Functions of the HSP70 protein family: an overview. In: *Stress proteins in biology and medicine*, Morimoto RI et al. eds. Cold Spring Harbor NY: CPH Press. 1990;28 7 - 299
- [14] Vanbuskirk A, Crump EL, Margoliash E, et al. peptide binding protein having a role in antigen presentation is a member of the HSP70 heat shock family. *J Exp Med.* 1989;170(6):1799 - 809
- [15] Brooks, G. A.; Hittelman, K. J.; Faulkner, J. A. et al. Temperature, skeletal muscle mitochondrial functions, and oxygen debt. *Am. J. Physiol.* 1971;31:416 - 422
- [16] Brooks, G. A.; Hittelman, K. J.; Faulkner, J. A. et al. Tissue temperatures and wholeanimal oxygen consumption after exercise. *Am. J. Physiol.* 1971;221:427 - 431
- [17] Davies, K. J. A.; Quintanilha, A. T.; Brooks, G. A. et al. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Bioch. Biophys. Res. Commun.* 107:1198 - 1205;1982
- [18] Quntanilha, A. T.; Packer, L. Vitamin E, physical exercise, and tissue oxidative damage. *Biology of vitamin E*, Ciba Foundation Symposium 101. London: pitman Books;1983;56 - 69
- [19] Ahlborg, B.; Bergstrom, J.; Ekelund, L. G.; et al. Muscle glycogen and muscle electrolytes during prolonged physical exercise. *Acta Physiol. Scand.* 1967;70:129 - 142
- [20] Pernow, B.; Saltin, B. Availability of substrates and capacity for prolonged heavy exercise in man. *J. Appl. Physiol. Scand.* 1967; 70:129 - 142
- [21] Salo, D. C.; Donovan, C. M.; Davies, K. J. A. HSP70 and other possible heat shock or oxidative stress proteins are induced in skeletal muscle, heart and liver during exercise. *Free Radic Biol Med.* 1991;11(3):239 - 246
- [22] Skidmore R, Gutierrez JA, Guerriero V, et al. HSP70 induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature. *Am J Physiol.* 1995;268:92 - 97
- [23] Iwaki K, Chi SH, Dillman WH, et al. Induction of HSP70 in cultured rat neonatal cardiomyocytes by hypoxia and metabolic stress. *Circulation.* 1993;87(6):2023 - 32
- [24] Noble EG, Moraska A, Mazzeo RS. Differential expression of stress proteins in rat myocardium after free wheel or treadmill running. *Journal of Applied Physiology.* 1999;86(5):1696 - 1701
- [25] Whelan SA, Hightower LE. Differential induction of glucose - regulated and heat shock proteins: effects of pH and sulfhydryl - reducing agents on chicken embryo cells. *J. Cell. Physiol.* 1985; 125:251 - 258
- [26] Locke, et al. Enhanced post - ischemic myocardial recovery following exercise induction of hsp72. *Am J Physiol.* 1995, H320 - 325

- [27] Liu Y, Mayr S, Opitz - Gress A, Zeller C, et al. Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers. *J Appl Physiol*. 1999;86(1):101 - 104
- [28] Fehrenbach E, Niess AM, Schlotz E, et al. Transcriptional and translational regulation of heat shock proteins in leukocytes of endurance runners. 2000;89(2):704 - 710
- [29] Puntchart A, Vogt M, Widmer HR, et al. HSP70 expression in human skeletal muscle after exercise. *Acta Physiol Scand*. 1996; 157(4):411 - 7
- [30] Hutter MM, Sievers RE, Barbosa V, et al. Heat - shock protein induction in rat hearts. A direct correlation between the amount of heat - shock protein induced and the degree of myocardial protection. *Circulation*. 1994;89:355 - 360
- [31] Dillmann WH, Mestrl R. Heat shock proteins in myocardial stress. *Z. Kardiol*. 1995;84:87 - 90
- [32] Karmazyn M, Mailer K, Currie W. Acquisition and decay of heat - shock - enhanced postischemic ventricular recovery. *Am. J. Physiol*. 1990;259(Heart Circ. Physiol. 28):H424 - H431
- [33] Neuffer PD, Ordway GA, Hand GA, et al. Continuous contractile activity induces fiber type specific expression of HSP70 in skeletal muscle. *Am J Physiol*. 1996;271(6 Pt 1):1828 - 37
- [34] Obinata T, Maruyama K, Sugita H, et al. Dynamic aspects of structural proteins in vertebrate skeletal muscle. *Muscle Nerve*. 1981;4(6):456 - 88
- [35] 姜洪福. 低频电刺激对大鼠腓肠肌热休克蛋白 70 的诱导及对运动能力的影响. *中华物理医学与康复杂志*. 2000;22(2): 117 - 118
- [36] 何晓生, 邬堂春, 陈胜等. 耐热保健饮料对机体热应激蛋白诱导合成影响的研究. *中华劳动卫生职业病杂志*. 1998;2:85 - 88

(上接第 82 页)

本文对实施“整体教学改革”提出了如下建议:

1)“整体教学改革”的实施必然要求各级教育管理人员和教研人员加强学习和研究,学习新的课程理论,用课程改革的思想指导工作,以便有效地组织“整体教学改革”工作。

体育两类课程整体教学改革工作的实施关键是教师,因此,体育教师应加强学习,转变观念,在思想上、实践上为“整体教学改革”的实施作好准备。

2)“整体教学改革”是一项新的改革举措,许多理论和实践问题需要在实践工作中不断地加以研究和解决,因此,在组织实施中,只有不断摸索经验并上升到理论,才能完善此项改革的理论体系。

3)课程、教材建设是“整体教学改革”的重要工作。“整体教学改革”要求从体育课程整体的观点和从两类课程的不同特点出发建设课程、教材体系。新的课程、教材体系的建立应注意两类课程的横向联系,处理好知识技能系统与能力发展、学生兴趣和需要系统的关系。

据悉,国家教委正在准备制订将学科类、活动类课程内容加以区分的《全日制普通高级中学课程标准》和与《九

年义务教育小学、初级中学体育教学大纲》配套的《九年义务教育全日制小学初级中学活动类课程体育指导纲要》。这些文件是进行课程改革的基础,也是各地结合实际情况,适当采用乡土教材和民族传统体育教材,进行教材建设以使教材体系更加科学和完善的依据。

4)活动类课程的实施应由各级教育行政主管部门负责,各学校应在校长的领导下由学校体育组负责。活动类课程一般由体育教师负责计划和实施。考虑到以往课外体育活动的实施情况和目前体育教师的配备情况,活动类课程也可以在体育教师统筹安排与计划下,由班主任组织实施。活动类课程工作量的计算方法应同其它活动类课程的计算方法一致。

5)“整体教学改革”的实施必将对学校体育场地器材的配备提新的要求。创造条件,积极配备新的课程体系所必须的场地器材是顺利实施教学改革的必要条件之一。办学条件尚有困难的学校,应该以因陋就简、因地制宜、修旧利废、自制器材的办法来完善场地器材的条件,只有这样才能保证教学改革工作的顺利进行。