

热休克蛋白 27 在肿瘤中的研究进展

周莉娜^{1△} 向江东²

(1 同济大学附属第一妇婴保健院 上海 200040 2 上海交通大学附属第一人民医院 上海 200080)

摘要 热休克蛋白 27(HSP27)作为热应激蛋白表达于各种生理或是环境损伤之后,保护细胞生存,其具有多种功能包括:分子伴侣、抗凋亡、参与细胞运动等。近年来发现 HSP27 在多种肿瘤中过度表达,参与肿瘤的发生发展、分化、耐药以及转移等方面,因而抑制 HSP27 成为一种新的肿瘤治疗策略。本文就相关研究进展进行综述。

关键词 HSP27 肿瘤 耐药 转移

中图分类号 :R730.23 **文献标识码** :A **文章编号** :1673-6273(2011)01-198-03

Progress of heat shock protein 27 in Tumors

ZHOU Li-na^{1△}, XIANG Jiang-dong²

(1 Shanghai First Maternity and Infant Hospital, Tongji University School of Medicine, Shanghai, 200040, China;

2 Shanghai Jiao Tong University Affiliated Fist People's Hospital, Shanghai, 200080, China)

ABSTRACT: Heat shock protein 27 (HSP27) is expressed in response to a large amount of physiological and environmental insults, thus allowing the cell to survive in lethal conditions. HSP27 has complex activities such as molecular chaperones, anti-apoptosis and induce cell movement. Recently, many researches have found that HSP27 is over-expressed in various tumors, it plays a important role in tumorigenesis, progress, differentiation, metastasis and chemotherapy resistance. Therefore, the inhibition of HSP27 has become a novel strategy of cancer therapy. Herein we reviewed the progress of relevant researches.

Key words: Heat shock protein 27; Tumor; Drug Resistance; Metastasis

Chinese Library Classification(CLC): R730.23 **Document code:** A

Article ID :1673-6273(2011)01-198-03

前言

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)广泛存在于多种生物细胞,属于高度保守的蛋白质家族。它是 20 世纪 70 年代由美国学者 Tissieres 等^[1]发现的一类新的蛋白质。HSP 具有多种生物学功能,起着分子伴侣的作用,参与细胞的增殖、分化和凋亡。迄今,按 HSP 的同源程度以及分子量大小可分为 10 个家族,其中 HSP27 被证实肿瘤细胞中表达增强,与肿瘤的发生发展、分化、耐药以及转移等有密切关系,本文就相关进展进行综述。

1 HSP27 概述

HSP27 属于小分子 HSP 家族,基因在启动子区有热休克调节元件(Heat Shock Regulatory Element, HSE)及应激相关调节元件(Stress-related Regulatory Element, STRE)。其蛋白的结构特征是氨基酸序列 C 末端具有 α -晶体结构域,由 80-100 个高度保守的氨基酸残基组成,该结构域内氨基酸残基磷酸化水平的改变可调控 HSP27 的聚合,从而影响 HSP27 的生物学功能;氨基酸序列的 N 末端富含脯氨酸、苯丙氨酸残基,序列相对保守,是与分子标记蛋白如绿色荧光蛋白 GFP 等融合以观察并定位 HSP27 的结构基础。HSP27 具有 sHSP 亚家族的显著

特点,形成分子量为 400-800kD 的寡聚体。该寡聚体的解离与聚合因其生物学功能不同而异,如调节细胞间的活性氧化物(ROS)、维持谷胱甘肽水平时需聚合成寡聚体,而行使分子伴侣功能时则需解聚。HSP27 在生物体内分为构成型和诱导型,构成型 HSP27 在生理状态下表达,具有组织特异性,且定位于不同的亚细胞结构,与细胞的分化、发育密切相关。在多种应激条件下,诱导型 HSP27 表达增加,作为分子伴侣保护细胞功能,不同类型的细胞,不同的应激强度其表达定位也不尽相同。

2 HSP27 的功能

在正常生理情况下 HSP27 表达水平较低,但在维持细胞功能方面起着重要作用。

2.1 分子伴侣作用

HSP27 可将新合成的或进入细胞内的蛋白质转运到一定的位置(如内质网、线粒体等),然后使其卷曲,聚合成有一定构象的活性蛋白。HSP27 与具有不同功能的多种蛋白质在细胞中形成复合体,并通过其形成和解离而参与有关蛋白质的折叠、亚基的组成、细胞内运输及降解等过程,从而调节靶蛋白的活性和功能,但又不参与靶蛋白的组成。因此, HSP27 又被称为 "分子伴侣"(molecular chaperones)。

2.2 参与细胞运动

肌动蛋白细胞骨架主要由 F-肌动蛋白和肌动蛋白结合蛋白组成,其聚合/解聚过程参与细胞的运动以及肿瘤细胞的浸润和转移^[2]。HSP27 具有稳定和保护 F-肌动蛋白的作用,当其在胞内被 p38 激酶信号途径磷酸化后,导致其解离进入胞浆^[3],

作者简介:周莉娜(1982-),女,硕士,住院医师,研究方向:妇科肿瘤,电话:13661847225, E-mail: nanazhou1213@163.com

△通讯作者:周莉娜,电话:13661847225,

E-mail: nanazhou1213@163.com

(收稿日期:2010-09-30 接受日期:2010-10-23)

从而暴露出 F-肌动蛋白正极。游离的 F-肌动蛋白正极能够与 G-肌动蛋白结合,使肌动蛋白细胞骨架重组,从而使细胞结构和功能发生相应的改变^[4]。

2.3 干扰细胞凋亡通路、抑制细胞凋亡

HSP27 是一个 ATP 非依赖的伴侣分子,在凋亡信号通路的数个步骤中发挥作用,它可以维持谷胱甘肽水平,可以减少细胞间的活性氧(ROS),维持线粒体膜电势稳定,减少细胞色素 C 的释放。它直接与细胞色素 C 结合,阻止半胱氨酸天门冬酶前体的活化,也可以通过与其结合而抑制其活性,从而阻止细胞色素 C 依赖的细胞凋亡途径。

HSP27 抑制凋亡的机制还包括调节上游信号通路,通过 PI3K-Akt 和 NF- κ B 信号通路对抗线粒体损伤和凋亡^[5]。PI3K/Akt 信号转导通路具有重要的细胞调节功能,可以促进细胞增殖、分化、存活、粘附和迁移,在细胞凋亡中发挥着重要作用。HSP27 是 Akt 激活的一个关键环节,同时 Akt 也可以反过来磷酸化 HSP27,引起 HSP27-Akt 复合体的分解。HSP27 还可以影响下游,磷酸化的 HSP27 可以直接与 Daxx(一个 FAS 诱导的凋亡途径)相互作用而参与 caspase 依赖的细胞死亡途径。此外,HSP27 在各种应激条件下介入 PKB 活化的信号转导通路,可能参与不同途径细胞凋亡的调节,如在 Fas/Apo-1 诱导的细胞凋亡中可能起重要作用。HSP27 可以与 Caspase-3 结合,抑制其活性,作为该通路的负性调节因子,抑制细胞凋亡的发生。在 P53 通路上 HSP27 也参与其中^[6],其可以抑制 P21 的积聚,从而抑制 P53 为中介的 P21 诱导的细胞凋亡。

3 HSP27 与肿瘤

大量研究证实,HSP27 在肿瘤中的高表达可能与肿瘤的形成、耐药、转移等有关。在临床上,许多肿瘤中均发现 HSP27 表达升高,如乳腺癌、肺癌、胃癌、卵巢癌、内膜癌、白血病、神经母细胞瘤等,且表达的量与恶性程度相关。在动物模型中,HSP27 可以增加肿瘤生长速度和转移潜能,而耗竭或是利用 HSP27 抑制剂可以起着相反的效果。HSP27 还可影响肿瘤细胞对激素治疗的敏感性,例如使用 HSP27 抗体治疗乳腺癌可提高患者的生存率。因而,进一步深入研究 HSP27 在肿瘤的表达及其调控机制,对肿瘤的临床治疗有重要意义。

3.1 HSP27 与肿瘤的发生和增殖

永生化是肿瘤发生的关键步骤,HSP27 失调和不正常的磷酸化是肿瘤细胞获得永生性生成的重要步骤。HSP27 在肿瘤细胞中过度表达的分子机制现在并不是完全清楚,在一些肿瘤中,它可以解释成细胞生长环境欠佳。在另外一些肿瘤中,致癌突变能导致伴侣分子活性的需求增加来清除反常蛋白。另外可能的机制是转录因子的功能性突变的产生会增加热休克启动子的活性,从而制造一个假性缺氧状态。

研究发现,在乳腺癌中 HSP27 可能与雌激素受体(ER β)之间有相互作用,HSP27 与 ER β 的相互作用可能是参与雌激素信号通路的重要调节环节^[7]。此外,在乳腺癌中信号传导分子和转录激活子 3 (Stat3) 常常是被激活的,而 Stat3 则会上调 HSP27。利用抗寡核苷酸来减少 HSP27 可以增加前列腺肿瘤中凋亡和延迟肿瘤进展。Nan^[8]等在筛选肺鳞状上皮癌相关蛋白质的研究中也发现 HSP27 在肺癌中呈高表达,这可能参与了

肺鳞癌的起源、进展、复发和转移。在妇科肿瘤学方面,Ono^[9]等对宫颈癌的研究表明,HSP27 在不同程度的宫颈上皮内瘤变组织中(包括萎缩、原位癌及浸润癌)表达上调,并且 HSP27 的表达程度与瘤性病变的级别呈正相关。John^[10]等在研究中发现,在子宫内膜肿瘤中 HSP27 的表达要显著高于非内膜肿瘤,可以作为一个独立的预后指标,同样在卵巢癌中,HSP27 的表达会增加肿瘤分期。

3.2 HSP27 与肿瘤耐药

已有多项研究证实,在肿瘤细胞耐药株中 HSP27 的表达水平明显上调。如果降低细胞内 HSP27 蛋白表达水平,可部分恢复肿瘤细胞对原耐受药物的敏感度,这些在卵巢癌细胞、骨髓瘤细胞、胃癌细胞、胰腺癌细胞株中均得到证实。而提高肿瘤细胞中 HSP27 的表达水平则有助于原敏感细胞对药物发生耐受。通过研究白血病细胞多药耐药机制中也发现 HSP27 在耐药细胞株高表达,其表达受到抑制后,白血病细胞对长春新碱的敏感性增加^[11]。胰腺癌中用吉西他滨敏感细胞株(KLM1)和耐药株(KLM1-R)的对照实验中,蛋白组学分析发现 HSP27 表达升高,当在耐药株(KLM1-R)中降低 HSP27 的表达后,其吉西他滨的敏感性得到恢复,暗示 HSP27 可能在胰腺癌的耐药担当重要角色^[12]。HSP27 促进肿瘤耐药的相关机制可能包括:(1) 凋亡抑制作用:HSP27 可通过调控两条凋亡通路即外源性非线粒体通路和内源性线粒体通路些凋亡相关蛋白发挥肿瘤抑制作用,促进耐药发生^[13]。(2) 细胞骨架导向作用:磷酸化的 HSP27 可促进肌动蛋白聚合以稳定细胞微丝系统,对抗活性氧族物质(ROS)引起微丝系统的破坏和肌动蛋白的解聚和片段化而耐受外界应激。(3) P-糖蛋白(P-gp)相关作用:P-gp 是多药耐药基因 1(MDR1)编码的一种膜转运蛋白,它通过 ATP 依赖方式将药物泵出胞外,减少细胞内药物浓度来参与肿瘤细胞耐药表型的形成。HSP27 可能通过发挥分子伴侣作用,促进 P-gp 形成正确的蛋白构象,减少 P-gp 的错误折叠和聚集,从而促进 P-gp 的表达促进肿瘤细胞获得药物耐受性。

3.3 HSP27 与肿瘤的转移和预后

转移是肿瘤最重要的恶性表型之一,是多分子参与高度复杂有序的过程。HSP27 近年来与肿瘤转移的关系日益受到重视,它通过对细胞的增殖、分化及细胞凋亡的信号转导调节参与肿瘤的发生及侵袭转移过程。关于 HSP27 与肿瘤转移的关系,已有多项研究:骨肉瘤中,HSP27 过度表达是其不良预后的一个独立相关因素^[14]。乳腺癌患者体内 HSP27 过度表达可使无瘤生存期缩短,也是预后不良的标志^[15]。在一些肿瘤中 HSP27 呈现高表达,包括神经母细胞瘤、消化道肿瘤等多种恶性肿瘤,并与肿瘤的恶性程度及 TNM 分期有关。HSP27 可促进内皮细胞的迁移,并在乳腺癌、前列腺癌转移时表达增高。在淋巴结转移阳性和阴性的人肺鳞癌蛋白表达差异分析中也有同样结论^[16],推测 HSP27 可能参与肿瘤的侵袭转移。

关于 HSP27 促进转移的作用机制的研究:实验发现 HSP27 可以通过 NF- κ B 通路和 MAPK-HSP27 通路等参与调控肿瘤的侵袭转移过程。郭坤^[17]等人研究发现 HSP27 在不同转移潜能肝癌细胞系中,其表达水平与肝癌细胞转移潜能呈正相关。HSP27 可通过参与细胞内 NF- κ B 通路的激活,影响细胞运动,在肝癌细胞侵袭转移过程中发挥作用。NF- κ B 途径的持

续活化可促进细胞的增生、抑制细胞的凋亡,使许多本应凋亡的突变细胞得以存活,促进血管生成和肿瘤细胞的浸润、转移。Lee^[18]等利用 NIH3T3 细胞过度表达 HSP27,而 HSP27 通过依赖整联蛋白介导的肌动蛋白细胞骨架聚合作用影响黏着斑激酶(FAK)磷酸化和黏着斑结构。HSP27 通过协调 FAK 依赖的肌动蛋白结构和 STAT3 依赖的基质金属蛋白酶 2 (MMP-2)的表达来调节细胞的迁移和侵袭。在前列腺癌中,Xu^[19]发现 HSP27 和 MAPKAPK2 一起作为 P38MAPK 介导的 MMP-2 激活的下游调节子,进而能影响细胞的侵袭。野生型 MAPKAPK2 和 HSP27 都能增加 TGF β 介导的 MMP-2 的活性和细胞侵袭力,抑制试验得到相反的效果。Shin 等人用 KRIBB3 (一种 HSP27 磷酸化抑制剂)能抑制 MDA-MB-231 细胞的转移,同时他们观察到 HSP27 的过度表达也会对抗 KRIBB3 或是小干扰 RNA 对肿瘤的抑制效应。这种抑制作用是通过 KRIBB3 直接与 HSP27 结合从而阻断 HSP27 的蛋白激酶 C 依赖的磷酸化途径。在一项前列腺癌的前瞻性研究中,Glaessgen^[21]等随访 289 例根治性前列腺切除术患者,对比其病理标本的 HSP27 表达情况,发现 HSP27 是前列腺癌根治术后复发的预后指标。还有研究指出 HSP27 在高分化腺癌中阳性率明显高于中~低分化腺癌,说明 HSP27 与大肠癌的分化程度相关,可作为大肠癌患者预后的一个重要指标,

4 小结

小分子热休克蛋白 HSP27 在体内发挥着多种生物学效应,其可以增加细胞暴露于应激刺激后的耐受性,还可以作为一个伴侣蛋白组成结合物从而影响蛋白功能。HSP27 不仅具有诊断及预测功能,其保护细胞抗凋亡的功能还可以作为一种潜在的治疗策略。在肿瘤中抑制 HSP27 的作用,比如磷硫酰 HSP27,反义寡核苷酸类可以增加凋亡,延缓肿瘤进展。抑制 HSP27 可克服肿瘤耐药,恢复其化疗敏感性,因而化疗药物和 HSP27 抑制剂联合应用将成为肿瘤治疗的新策略。

参考文献(References)

- [1] Tissieres A, Mitchell HK, Tracy UM. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: Relation to chromosome puffs[J]. J Mol Biol, 1974, 84(3): 389-398
- [2] Dos Remedios CG, Chhabra D, Kekic M, et al. Actin binding proteins: regulation of cytoskeletal microfilaments [J]. Physiol Rev, 2003, 83(2): 433- 473
- [3] Mounier N, Arrigo AP. Actin cytoskeleton and small heat shock proteins: how do they interact?[J]. Cell Stress Chaperones, 2002, 7(2): 167- 176
- [4] Gerthoffer WT, Gunst SJ. Invited review: Focal adhesion and small heat shock proteins in the regulation of actin remodeling and contractility in smooth muscle [J]. J Appl Physiol, 2001, 91(2): 963-972
- [5] Havasi A, Li Z, Wang Z, et al. Hsp27 inhibits Bax activation and via a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent mechanism [J]. Biol Chem, 2008, 283(18): 12305-12313
- [6] O'Callaghan-Sunol C, Gabai VL, Sherman MY. Hsp27 Modulates p53 Signaling and Suppresses Cellular Senescence [J]. Cancer Res, 2007, 67(24): 11779-11788
- [7] Al-Madhoun AS, Chen YX, Haidari L, et al. The interaction and cellular localization of HSP27 and ER β are modulated by 17 β -estradiol and HSP27 phosphorylation [J]. Mol Cell Endocrinol, 2007, 270(1): 33-42
- [8] Nan Y, Yang S, Tian Y, et al. Analysis of the expression protein profiles of lung squamous carcinoma cell using shot-gun proteomics strategy[J]. Med Oncol, 2008, 26(2): 215-221
- [9] Ono A, Kumai T, Koizumi H, et al. Overexpression of heat shock protein 27 in squamous cell carcinoma of the uterine cervix: a proteomic analysis using archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissues[J]. Hum Pathol, 2009, 40(1): 41-49
- [10] John P, Geisler MD, Hans E, et al. A Study of Heat Shock Protein 27 in Endometrial Carcinoma [J]. Gynecologic Oncology, 1999, 72(3): 347-350
- [11] 张朝霞,文飞球,刘智屏,等.HSP27 高表达与人白血病多药耐药细胞 K562/VCR 的关系[J].癌症,2008,27(4):348-353
Zhang Zhao-xia, Wen Fei-qiu, Liu Zhi-ping, et al. Correlation of High Expression of HSP27 to Multidrug Resistance of Leukemia Cell Line K562/VCR [J]. Chinese Journal Of Cancer, 2008, 27(4): 348-353
- [12] Mori-Iwamoto S, Kuramitsu Y, Ryozaawa S, et al. Proteomics finding heat shock protein 27 as a biomarker for resistance of pancreatic cancer cells to gemcitabine[J]. Int J Oncol, 2007, 31(6): 1345-1350
- [13] Paul C, Manero F, Gonin S, et al. HSP27 as a negative regulator of cytochrome C release[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(3): 816 - 834
- [14] Uozaki H, Horiuchi H, Ishida T, et al. Overexpression of resistance-related proteins (metallothioneins, glutathione-S-transferase pi, heat shock protein 27, and lung resistance-related protein) in osteosarcoma. Relationship with poor prognosis [J]. Cancer, 1997, 79(12): 2336-2344
- [15] Morino M, Tsuzuki T, Ishikawa Y, et al. Specific expression of HSP27 in human tumor cell lines in vitro. In Vivo, 1997, 11 (2): 179-184
- [16] Tian T, Hao J, Xu A, et al. Determination of metastasis-associated proteins in non-small cell lung cancer by comparative proteomic analysis [J]. Cancer Sci, 2007, 98: 1265-1274
- [17] 郭坤,刘银坤,周海君,等.热休克蛋白 27 在转移潜能不同人肝癌细胞系中的表达及机制研究 [J]. 生物化学与生物物理进展,2007,34(7):738-744
Guo Kun, Liu Yin-kun, Zhou Hai-jun, et al. Expression and Biological Mechanism Exploration of HSP27 in Different Metastatic HCC Cell Lines [J]. Progress In Biochemistry And Biophysics, 2007, 34(7): 738-744
- [18] Lee JW, Kwak HJ, Lee JJ, et al. HSP27 regulates cell adhesion and invasion via modulation of focal adhesion kinase and MMP-2 expression[J]. Eur J Cell Biol, 2008, 87(6): 377-387
- [19] Xu L, Chen S, Bergan RC. MAPKAPK2 and HSP27 are downstream effectors of p38MAP kinase-mediated matrix metalloproteinase type 2 activation and cell invasion in human prostate cancer[J]. Oncogene, 2006, 25(21): 2987-2998
- [20] Shin KD, Lee MY, Shin DS, et al. Blocking Tumor Cell Migration and Invasion with Biphenyl Isoxazole Derivative KRIBB3, a Synthetic Molecule That Inhibits Hsp27 Phosphorylation[J]. J Biol Chem, 2005, 280(50): 41439-41448
- [21] Glaessgen A, Jonmarker S, Lindberg A, et al. Heat shock proteins 27, 60 and 70 as prognostic markers of prostate cancer [J]. APMIS, 2008, 116(10): 888-895