

DOI: 10.13376/j.cbls/2017008

文章编号: 1004-0374(2017)01-0055-07

· 评述与综述 ·

## 小分子热休克蛋白的结构与功能

李艳<sup>1</sup>, 张国强<sup>2</sup>, 邵东燕<sup>1</sup>, 师俊玲<sup>1\*</sup>, 黄庆生<sup>1</sup>, 杨慧<sup>1</sup>, 李琦<sup>1</sup>, 靳明亮<sup>1</sup>

(1 西北工业大学生命学院空间生物实验模拟技术重点实验室, 西安 710072;

2 西藏大学农牧学院食品科学学院, 林芝 860000)

**摘要:** 小分子热休克蛋白 (small heat shock protein, sHsp) 是相对分子质量介于 12~43 kDa 的热休克蛋白家族成员, 广泛存在于生物体内。根据相关报道, 该类蛋白在组成上都含有  $\alpha$ -晶状体蛋白结构域 ( $\alpha$ -crystalline domain, ACD)、N 端臂和 C 端延伸结构。sHsp 是生命体中一种重要的分子伴侣, 对蛋白质的变性过程有很强的保护作用。生物体中 sHsp 的生物状态发生改变会引起机体发生病变, 而 sHsp 的正常存在则可以延缓细胞衰老, 并降低细胞凋亡率。现综述有关 sHsp 在细胞凋亡中的控制作用, 以及与其相关的神经退行性疾病、癌症、白内障等多种病变的发病机制, 以期对相关研究提供参考。

**关键词:** 小分子热休克蛋白; ACD 结构域; 分子伴侣; 疾病

**中图分类号:** Q51; Q74      **文献标志码:** A

## The structure and function of the small heat shock proteins

LI Yan<sup>1</sup>, ZHANG Guo-Qiang<sup>2</sup>, SHAO Dong-Yan<sup>1</sup>, SHI Jun-Ling<sup>1\*</sup>,

HUANG Qing-Sheng<sup>1</sup>, YANG Hui<sup>1</sup>, LI Qi<sup>1</sup>, JIN Ming-Liang<sup>1</sup>

(1 Key Laboratory for Space Bioscience and Space Biotechnology, School of Life Sciences,

Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China; 2 College of Food Science,

Agricultural and Animal Husbandry College of Tibet University, Linzhi 860000, China)

**Abstract:** The small heat shock protein (sHsp), 12~43 kDa, is a member of the heat shock proteins. sHsps have been widely found in all organisms. The present researches revealed that nearly all sHsps have an  $\alpha$ -crystalline domain (ACD), a N-terminal arm and a C-terminal extension structure. sHsps are important molecular chaperones protecting the denaturation of proteins. In humans, any abnormal changes in the structure of sHsp is tending to cause disorders, while the present of normal sHsps can retard cell senescence and reduce cell apoptosis. This article reviewed the recent researches on effect of sHsps on cell apoptosis and the relationship with the occurrence of neurodegenerative diseases, cancer and cataract, as well as the related mechanisms.

**Key words:** small heat shock proteins; ACD domain; chaperone; disease

热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 是在生物体中广泛存在的一种保守蛋白, 其在生物体受到外界胁迫时, 起到分子伴侣的作用。根据分子大小、结构和功能, 可将热休克蛋白分为 5 个家族, 即 Hsp100、Hsp90、Hsp70、Hsp60 和 sHsps。其中, 小分子热休克蛋白 (small heat shock protein, sHsp) 是相对分子质量介于 12~43 kDa 的一个蛋白家族, 大多为 14~27 kDa。sHsp 是自然界中含量最丰富的一类分子伴侣, 广泛存在于各种动物、植物和微生物中<sup>[1-2]</sup>。人眼球  $\alpha$ -晶状体蛋白是最早被发现的, 也是目前研究最清楚的一种 sHsp<sup>[3]</sup>。近年来, 人们陆续在动物、植物体内也发现了大量的 sHsp<sup>[4-6]</sup>, 在大肠杆菌、酵母菌、结核分枝杆菌和古细菌等微

物中<sup>[1-2]</sup>。人眼球  $\alpha$ -晶状体蛋白是最早被发现的, 也是目前研究最清楚的一种 sHsp<sup>[3]</sup>。近年来, 人们陆续在动物、植物体内也发现了大量的 sHsp<sup>[4-6]</sup>, 在大肠杆菌、酵母菌、结核分枝杆菌和古细菌等微

收稿日期: 2016-04-22; 修回日期: 2016-06-30

基金项目: 国家科技支撑计划(2015BAD16B02); 国家自然科学基金项目(31201408, 31560441, 31260371); 陕西省自然科学基金项目(2015JQ3083)

\*通信作者: E-mail: sjlshi2004@nwpu.edu.cn

生物中也发现了一些 sHsp 的存在<sup>[7-8]</sup>。有些 sHsp 在生理条件下为组成型表达,在细胞遇到各种胁迫时表达量迅速增加。许多 sHsp 就是因为热处理时的表达量显著上调而被发现的。与其他热休克蛋白相比,有关 sHsp 的现有研究相对较少。然而,随着这类蛋白应用价值的不断揭示,相关研究受到越来越多的重视。本文对 sHsp 的结构、功能及其与疾病之间的关系等进行重点论述。

## 1 sHsp的分子结构

虽然 sHsp 的相对分子质量介于 12~43 kDa,但不同的 sHsp 分子在结构上呈现复杂的多元化,甚至在同一科、不同属之间都会有较大差异。对相关研究结果进行综合分析发现:所有 sHsp 都具有一些相同的或者是相似的结构域,并表现出高度的保守性。

### 1.1 sHsp分子结构的保守性

对 sHsp 分子结构进行综合分析发现,所有 sHsp 都含有一个  $\alpha$ -晶状体蛋白结构域(ACD),并具有相似的 N 端臂和 C 端延伸结构,这是所有 sHsp 共有的保守性结构域。对比不同 sHsp 基因的旁系基因和同源基因发现,很多物种的 sHsp 都含有与脊椎动物  $\alpha$ -晶状体蛋白相似的 ACD 结构域,并含有约 90 个氨基酸残基的共有序列。这些 ACD 通常含有一个由 7 个或 8 个反向平行的  $\beta$ -折叠片层形成的高度保守的  $\beta$ -三明治结构。ACD 可与发散序列的 N 端臂以及灵活的 C 端延伸序列相结合,而且这些 C 端延伸部分都含有 I/L-X-I/L 模型结构。

### 1.2 sHsp分子结构的异质性

对比不同物种的 sHsp 序列可以发现,sHsp 家族比 Hsp70 和 Hsp90 等其他热休克蛋白家族具有更加多样的序列变换性和进化趋势。以人类为例,人有 10 种旁系 sHsp,分别命名为 HspB 1~HspB 10。这 10 种 sHsp 的直系同源物虽然也存在于其他哺乳动物中,但其主要分布在部分脊椎动物亚群中,而且不同脊椎动物的 sHsp 具有其特有的旁系同源性<sup>[5]</sup>。sHsp 在一些主要物种之间会发生同源蛋白缺失,并出现一些新的进化。这些研究结果证明,sHsp 并不是以一种固定不变的形式来行使其功能,而是在结构上表现出一定程度的多样性。

### 1.3 sHsp二聚体和寡聚体的形成

sHsp 单体相对较小,在正常状态下经常以 12~48 个亚基组成寡聚体来发挥其功能。这种多聚体的形成过程受以下多种因素的影响。

#### 1.3.1 ACD结构域在sHsp二聚体形成中的作用

在哺乳动物中,ACD 是 sHsp 中的一个  $\beta$ -三明治结构,由  $\beta 3\sim\beta 9$  七条链组成,在三明治结构边缘有一个由  $\beta 4/\beta 8$  链形成的口袋结构。细长的  $\beta 6+\beta 7$  链位于 sHsp 二聚体的表面。二聚体的高级组装起始于三明治结构域的蛋白延伸,再通过 I/L-X-I/L 单元填充完成组装<sup>[9]</sup>。

在小鼠 Hsp20 和人类  $\alpha B$ -晶状体蛋白中:ACD 结构域均为二聚体,其中有一个凹槽,凹槽中有两个对称的精氨酸。该精氨酸是 sHsp 的一个保守位点,也是 ACD 与 N 端臂的一个连接位点。当这一精氨酸位点发生突变时,小鼠 sHsp 的 ACD 结构与性质都会发生很大改变;突变后的 ACD 在酸性 pH 条件下比野生型更加稳定<sup>[4]</sup>。

#### 1.3.2 I/L-X-I/L单元在sHsp二聚体形成中的作用

根据现有报道,90% 的 sHsp 都含有 C 端延伸的 I/L-X-I/L 单元结构,该结构在 ACD 结构的  $\beta$ -三明治结构边缘形成一个疏水凹槽。该单元结构通过填充在相邻的二聚体  $\beta 4/\beta 8$  形成的口袋结构中,从而将 sHsp 组装成低聚物<sup>[10]</sup>。I/L-X-I/L 单元存在于复杂的 C 端延伸区内部,从而导致形成的 sHsp 二聚体表现为复杂的几何形状。

#### 1.3.3 N端臂在sHsp二聚体形成中的作用

Basha 等<sup>[5]</sup>研究表明,敲除 sHsp 中全部或部分 N 端臂,会破坏 sHsp 低聚物的形成。同时,N 端臂氨基酸序列的改变也会影响 sHsp 低聚物的形成。

然而,目前有关 sHsp N 端臂的结构与 sHsp 低聚物形成间的作用机制并不清楚。通过 X 射线晶体学分析,观察小麦 Hsp16.9 的十二聚体结构及其 N 端臂的电子密度,发现 N 端臂上有 3 个螺旋片层状结构域,该结构域在 sHsp 二聚体的形成过程中起着重要作用<sup>[11]</sup>。人源 HspB6 的 N 端臂与 ACD 结构域通过肽段进行连接,HspB6 在溶液中会显示出较强的自我吸引作用和分子伴侣活性<sup>[12]</sup>。同时,这种 N 端臂也会与位于 ACD 结构中  $\beta 2\sim\beta 7$  片段的疏水残基连接。ACD 结构域中  $\beta 4/\beta 8$  三明治边缘结构的形成依赖于 N 端臂的存在<sup>[4]</sup>。

总之,N 端臂是复杂的,或者从本质上来讲是一种无序的结构域,但其对 sHsp 低聚物的形成和稳定性有重要影响。

## 2 sHsp的分子伴侣功能

### 2.1 sHsp具有分子伴侣功能活性

1992 年,Horwitz<sup>[13]</sup>发现,人眼球  $\alpha$ -晶状体蛋

白可以抑制蛋白质间的聚集。此后的研究陆续发现, 许多 sHsp 都具有类似的分子伴侣功能。sHsp 的这种作用可以在细胞处于应激或疾病状态时, 起到保护细胞免受伤害的作用。其具体作用机制在于, 细胞内蛋白通常会在应激或恶劣环境下发生变性, 成为非正常蛋白; sHsp 可以通过与这些非正常蛋白结合, 作为变性蛋白的临时存储器, 防止其彼此聚集; 胁迫消失, 条件恢复到正常生长条件时, sHsp 与其结合的变性蛋白分离, 并在其他 ATP 依赖型分子伴侣的协助下恢复其正常属性<sup>[14]</sup>。

Zhang 等<sup>[15]</sup> 研究发现, 表达 Hsp17 的大肠杆菌在 58 °C 和 62 °C 等高温条件下能够保持 80% 以上的存活率; 菌体中可溶蛋白含量在 58 °C 时明显增多。温度升高到 50 °C 时, 表达 Hsp17 的大肠杆菌仍表现为正常形态, 细胞内外膜清晰可见; 而没有表达 sHsp 的大肠杆菌则失去其正常的细胞形态, 细胞内出现蛋白聚集体。由此推断, 高温胁迫下产生的 Hsp17 具有分子伴侣的功能活性。

## 2.2 sHsp 数量对保护蛋白变性功能的影响

sHsp 对底物的保护作用跟其与底物间的数量比有关。这是因为, sHsp 需要与变性蛋白竞争结合位点, 从而对蛋白变性起到保护作用。蛋白在溶液中发生变性的过程中会暴露出足够的亲水表面, 从而保证了不同蛋白分子之间相互连接, 进而形成聚集体。已知 sHsp 不能与正常蛋白和已经发生聚集的变性蛋白进行结合。这可能是因为, sHsp 需要通过变性蛋白分子表面的某些特定位点才能与之发生结合, 而正常蛋白和已经发生聚集的变性蛋白表面没有这些位点。

## 2.3 sHsp 对底物疏水表面的识别过程

sHsp 如何识别非正常底物, sHsp 与底物间结合的特异性如何显示, 现有研究结果尚不能准确揭示这些问题。根据目前的研究结果可以确定: sHsp 与底物间的结合是通过识别底物上的疏水表面而进行的。然而, 关于这种识别过程中所需的特殊位点, 以及被识别底物的变性程度等问题, 目前均不清楚。sHsp 可以在蛋白变性早期对其加以识别, 此时的变性蛋白还没有失去其中心结构。不同的 sHsp 分子在识别其蛋白底物时的结合位点并不是单一和特定的, 通常会在不同底物上有所不同。一种 sHsp 只对一种或几种特定的蛋白底物起作用, 表现出一定的特异性<sup>[5]</sup>。在底物识别过程中, sHsp 的 N 端臂构象会发生改变, 暴露出疏水底物结合位点<sup>[16]</sup>, 从而在底物识别过程中起着十分关键的作用。

## 2.4 sHsp 发挥分子伴侣功能时的结构变化

Zhang 等<sup>[15]</sup> 提出了一种 sHsp 发挥分子伴侣功能的作用机制, 即 sHsp 可以根据温度变化调整其分子结构, 并与变性蛋白形成一种复合体, 从而保证生物体细胞膜的完整性。他们通过低温 - 电子显微镜和单颗粒 3D 重组技术对秀丽隐杆线虫的 sHsp17 进行研究观察, 结果发现, Hsp17 会在低温时形成同源球状低聚物, 而在高温时形成片状超分子组装体 (super-molecular assembly, SMA); 而且, 只有高温时形成的片状超分子组装体才能在变性蛋白形成聚集物时, 起到类似分子伴侣的作用。纯蛋白的电镜负染观察发现, 该蛋白会在从低温 (4 °C) 到 25 °C 的变化过程中形成均匀的球状低聚物; 温度升高时, 大球状低聚物先形成小球状低聚物, 再形成片状结构 (SMA), 进而与变性蛋白结合, 其连接位点埋藏于 SMA 结构的 N 端延伸部分, 进而形成 Hsp- 底物复合体; 温度降低或胁迫消失时, 该复合体会在 ATP 依赖型分子伴侣协助下发生解聚, 从而释放出正常蛋白。SMA 可以形成瞬时状态的小型低聚物, 该低聚物也能与变性蛋白发生结合, 进而形成 sHsp- 底物复合体。这个过程中, 所有的结合都是可逆的。温度降低时, SMA 会可逆地形成小球状低聚物, 小球状低聚物也会可逆地形成大球状低聚物。研究发现, 这种 SMA 结构并不是秀丽隐杆线虫独有的, 而在 sHsp 中广泛存在, 如相对分子质量超过 5 万的小牛  $\alpha$ - 晶状体蛋白也可以形成 SMA 结构<sup>[17]</sup>; 细菌的 IbpA 也能在体外和体内的高温条件下形成纤维状结构<sup>[18]</sup>。sHsp 的这种作用有助于提高生物体在高温下的存活能力, 这可能是因为其保证了生物体细胞膜的完整性。这一功能已经通过 sHsp 在大肠杆菌的异源表达进行了验证。

## 2.5 sHsp 发挥分子伴侣功能的后期作用

sHsp 在保护变性蛋白的后期会帮助其复性, 这一过程是在 ATP 依赖型分子伴侣的协助下实现的。例如, 大肠杆菌的 sHsp 分子 IbpB 可以在 ATP 依赖型分子伴侣的协助下, 帮助变性蛋白进行复性<sup>[18]</sup>。有 IbpB 保护的苹果酸脱氢酶和乳酸脱氢酶变性蛋白可以通过 DnaK/DnaJ/GrpE 分子伴侣系统与 GroEL/GroES 伴侣蛋白作用后恢复活性。GroEL/GroES 伴侣蛋白不能直接与 IbpB 释放的蛋白进行结合。通常是变性的苹果酸脱氢酶经 IbpB 传递到 DnaK/DnaJ/GrpE, 然后再传递到 GroEL/GroES, 最终形成有活性的酶。在真核生物中, Hsp70/Hsp40 能够起到与 DnaK/DnaJ/GrpE 类似的功能活性<sup>[14]</sup>。

## 2.6 并非所有的sHsp都具有分子伴侣功能

虽然大部分 sHsp 都有分子伴侣功能, 但不是所有的 sHsp 都具有这样的功能。大肠杆菌中 sHsp 分子 IbpA 和 IbpB 的底物保护能力就有所不同<sup>[18]</sup>。单独的 IbpA 几乎没有底物保护活性, 但是它的存在可以增强 IbpB 的分子伴侣功能。在哺乳动物中, 不同 sHsp 对不同底物的功能活性也表现出极大不同。

## 3 sHsp能够抑制细胞衰老

### 3.1 sHsp能够延长寿命, 降低全因死亡率

研究发现, 轻度热激可以改变细胞寿命。轻度热激能够引起一些 sHsp 含量升高, 这些增加的 sHsp 可以抑制热胁迫下的细胞死亡。Broer 等<sup>[19]</sup>证实, 热休克蛋白能够保护细胞死亡是一种普遍现象。对 5 974 名 55 岁及 55 岁以上的老人进行跟踪调查发现, 寿命越长的老人体内 HSF2 (heat shock factor 2, 热激因子 2; 一种与 Hsp 表达有关的转录因子) 活性越高。在秀丽隐杆线虫和果蝇的实验中, 过表达 sHsp 的秀丽隐杆线虫寿命提高了 32%, 低表达 sHsp 的果蝇寿命降低了 40%。表明 sHsp 有助于降低全因死亡率, 延长寿命。sHsp 也被证明可以降低模式生物体内年龄相关蛋白的毒性。随着年龄增加, 体内 sHsp 含量降低, 导致细胞内稳态发生改变, 从而导致细胞衰老以及癌症和神经退行性疾病等发生<sup>[20]</sup>。sHsp 通过转录因子 HSF1 (heat shock factor 1, 热激因子 1) 来介导一些寿命相关信号通路, 从而实现了对生物体寿命的调控<sup>[21]</sup>。

### 3.2 sHsp抑制细胞凋亡的功能活性

研究结果表明, sHsp 具有抵抗细胞凋亡的功能。sHsp 能够与胁迫信号和凋亡分子发生相互作用, 从而抑制细胞凋亡, 促进细胞生长与增殖。Hsp27 是目前研究较多的能够抵抗细胞凋亡的 sHsp 蛋白。Garridod 等<sup>[22]</sup>研究指出, Hsp27 在抑制细胞凋亡中起着重要作用。癌细胞中 Hsp27 基础表达量很高。这种高表达与癌细胞的抵抗力和抵抗癌症药物治疗有关。Hsp27 与细胞凋亡间的关系是通过干扰 caspase 活化的实验而得到验证的: 细胞因胁迫而发生变性蛋白聚集、活性氧损伤或 DNA 损伤时, 过表达 Hsp27 的细胞其凋亡受到抑制, caspase 活化被干扰; 与此相反, 通过反义 RNA 或 siRNA 处理来降低 Hsp27 表达的细胞则快速凋亡。Hsp27 主要存在于人卵母细胞中。当女性患有多囊卵巢综合征 (polycystic ovary syndrome, PCOS) 时, 卵巢内 Hsp27 表达量降低, 卵巢内正常细胞凋亡和卵泡形成都会

发生紊乱。利用小鼠细胞进行体外实验时, 通过 siRNA 腺病毒感染降低细胞内 Hsp27 的表达, 发现小鼠卵母细胞突变率升高, 由 caspase8 介导的早期细胞凋亡率增加<sup>[23]</sup>。此外, 过表达 Hsp27 的大肠杆菌的抗胁迫能力增强<sup>[24]</sup>。在过表达 Hsp27 的大鼠肾小管上皮细胞 (NRK52E cells) 中, 由 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 引起的细胞凋亡率降低, 说明 Hsp27 在急性肾损伤中具有保护肾小管的功能<sup>[25]</sup>。

此外, 其他一些 sHsp 也被发现具有抗细胞凋亡的功能活性, 如  $\alpha$ B- 晶状体蛋白可以抑制 TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) 引起的细胞凋亡, 其作用机制在于抑制了 caspase-3 (cysteiny l aspartate specific proteinase-3) 的活化<sup>[26]</sup>。而 HspB2 在人乳腺癌细胞系中异位表达可以抑制 TRAIL 和 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ) 引起的细胞凋亡<sup>[27-28]</sup>。

近年来, 有关 sHsp 具有抗细胞凋亡活性的研究报道越来越多。sHsp 的这一功能很有可能不是一种特例, 而是所有 sHsp 共有的一种属性。然而, 这种推论还需要进一步的实验数据进行验证。

## 4 sHsp对人类疾病的影响

由于在人体中承担着分子伴侣的功能, 能够防止变性蛋白沉积, 并帮助其复性, sHsp 这类蛋白已经成为蛋白质质量控制网络的重要组成部分。现有研究表明, 许多疾病都与 sHsp 有关: 有的是由于 sHsp 的缺乏而引发, 如人体中缺乏 HspB4 和 HspB5 会导致白内障<sup>[29]</sup>; 有的是由于 sHsp 发生突变, 失去了其原有的保护功能, 导致变性蛋白大量积累, 从而引起病变的发生, 如神经退行性疾病<sup>[30]</sup>。

### 4.1 sHsp缺失会导致神经退行性疾病

肌肉组织中 sHsp 含量通常较高, 这些 sHsp 一旦发生突变, 很容易引发心脏和骨骼肌病变。有的 sHsp 缺陷也会引起遗传性神经病变。这是因为, 神经退行性疾病通常是由于相关蛋白质发生了错误折叠, 而 sHsp 有助于蛋白质的正确折叠; 当机体中 sHsp 含量不足或者缺失时, 就会引起神经退行性疾病, 如阿尔兹海默症、帕金森病和多发性硬化病。

多聚谷氨酰胺蛋白 (polyglutamine, polyQ) 的错误折叠会诱发纤维状蛋白聚集体和神经元细胞死亡, 如突变的亨廷顿蛋白会引发亨廷顿舞蹈症, 或者导致脊髓小脑共济失调 (SCAs)<sup>[31]</sup>。sHsp 可以抑制 polyQ 引发的神经退行性疾病。如在果蝇模型中,

$\alpha$ B-晶状体蛋白可以通过抑制 polyQ 的不可逆聚集来抑制 SCA3 的发生<sup>[32-33]</sup>。大部分  $\alpha$ B-晶状体蛋白存在于眼球中,但是也存在于其他细胞中,如存在于神经元细胞中的  $\alpha$ B-晶状体蛋白同样发挥分子伴侣功能,从而防止 polyQ 的不可逆聚集,并帮助其复性,进而抑制 SCA3 的发生<sup>[31]</sup>。

现有研究发现, HSP20 (HspB6) 对许多病理状态有高效的保护作用,其中包括心肌肥大和阿尔兹海默症等<sup>[34]</sup>。已知 HspB6 在肌肉、骨骼和血管平滑肌等组织中都表达,最新发现其在大脑和癌变组织中也发挥着一定的作用。阿尔兹海默症是由于大脑中淀粉样蛋白纤维胞外沉积而引起的,这种淀粉样蛋白主要由 40~42 个氨基酸组成,被称为淀粉样蛋白  $\beta$  (amyloid  $\beta$ , A $\beta$ )<sup>[35]</sup>。HspB6 可以与 A $\beta$  相互作用,使其可溶或者对毒性更高的聚集体进行清除,从而在根本上对阿尔兹海默症起到一定的预防作用<sup>[34,36]</sup>。

活化的神经胶质细胞与免疫缺失和神经免疫相关,通常也与衰老和神经退行性疾病相关。研究发现,神经胶质细胞多巴胺 D2 受体能够通过  $\alpha$ B-晶状体蛋白抑制神经炎症<sup>[37]</sup>。多巴胺 D2 受体是存在于中枢神经系统的一种复合物,在控制先天性免疫的神经胶质网络中起着十分重要的作用,是一种神经免疫负向调节剂。它紧密地控制神经胶质细胞中  $\alpha$ B-晶状体蛋白的表达,从而控制免疫系统的平衡。

#### 4.2 sHsp与癌症的发生

研究表明,一些癌症的发生与 sHsp 能否正常表达有关。癌细胞自身的 sHsp 表达对癌细胞有一定保护作用。因此,癌细胞中 sHsp 的表达是癌症治疗时需要考虑的一个因素,尤其是在癌症患者接受化疗等治疗措施时, sHsp 的分子伴侣功能会充分发挥作用,从而降低治疗效果<sup>[38]</sup>。在大部分癌细胞中,特别是一些血液系统恶性肿瘤(如淋巴瘤、慢性或急性髓细胞性白血病)中, sHsp 通常会大量表达。如在急性髓细胞性白血病和血液系统恶性肿瘤中, sHsp27 通常会有过量表达。在急性髓细胞性白血病中, sHsp27 可以抑制药物毒性导致的细胞凋亡;多发性骨髓瘤细胞中,地塞米松引起的 sHsp27 下调可以通过活化其固有的 caspase 依赖途径,来恢复该药物诱导的细胞凋亡功能<sup>[39]</sup>。sHsp27 和丛生蛋白(在许多癌症中受胁迫条件诱导表达的小分子热休克蛋白)都与癌症的预后和治疗有关,具有保护癌细胞免受各种治疗胁迫的作用,从而降低癌细

胞的凋亡率<sup>[38]</sup>。

Karolczak-Bayatti 等<sup>[36]</sup>研究发现, sHsp 表达量在癌细胞的不同生长阶段有所不同,推测其与癌症的发生有关。癌症早期,肺癌、肝癌细胞中 Hsp20 表达量较低<sup>[40]</sup>,黑色素瘤细胞中 Hsp20 表达量较高<sup>[41]</sup>,乳腺癌细胞中 Hsp27 表达量明显上升<sup>[42]</sup>。由此说明, sHsp 的表达量可以作为癌症诊断、预测和预后的生物标志物<sup>[43]</sup>。对 sHsp 与癌症的作用机理进行深入研究,或许可以开发出新的癌症疗法<sup>[36]</sup>。目前为止,有关 sHsp 与癌症间关系的研究并不多见,尚无充足数据和理论支持这一推论。不过,已有研究发现, sHsp 可以作为癌症的治疗靶点<sup>[44]</sup>。以丛生蛋白为例,当癌细胞接受激素或者化学治疗时,丛生蛋白的表达上调。因此,去势抵抗性前列腺癌 (castration resistant prostate cancer, CRPC) 患者和乳腺癌细胞经雌激素治疗以后,丛生蛋白的表达量通常会很高。因此,人们推测,沉默丛生蛋白基因可能会增强激素、辐射和化学治疗措施对细胞的毒性,从而增强癌症的治疗效果<sup>[38]</sup>。

然而,虽然正常细胞中 sHsp 能够维持细胞处于稳态,但疾病发生时 sHsp 功能则会受到抑制,甚至可能会促进疾病发展,而不是调节和保护细胞。同时, sHsp 在癌细胞中的功能是十分复杂的,还有待更加深入的研究<sup>[45]</sup>。

#### 4.3 $\alpha$ -晶状体蛋白与眼部疾病

$\alpha$ -晶状体蛋白是目前了解比较多的一种 sHsp,分为  $\alpha$ A-晶状体蛋白和  $\alpha$ B-晶状体蛋白。该蛋白与眼部疾病的发生发展密切相关,其分子伴侣功能会对眼睛起到很好的保护作用。 $\alpha$ B-晶状体蛋白在不同细胞中的功能具有一定的特异性。该蛋白在眼球中作为中间丝蛋白的分子伴侣而发挥作用。中间丝蛋白的功能是稳定肌原纤维,保护其免受机械伤害,也可以连接膜质细胞器,如细胞核和线粒体,在保持正确的细胞形态和位置中发挥着重要作用<sup>[46]</sup>。晶状体和视网膜细胞中  $\alpha$ B-晶状体蛋白可以保护细胞色素 C 和线粒体功能免受氧化应激损伤。 $\alpha$ -晶状体蛋白受到伤害会引发相关疾病<sup>[47]</sup>。原位杂交分析发现,  $\alpha$ B-晶状体蛋白表达增加可以抑制视网膜光感受器细胞凋亡,从而降低光感受器蛋白错误折叠导致的神经退行性病变。 $\alpha$ -晶状体蛋白与年龄相关性白内障有关。 $\alpha$ -晶状体蛋白对这种疾病的保护作用在于,其能维持相关蛋白处于稳态结构。目前已知,10 种  $\alpha$ A-晶状体蛋白突变体都与先天性白内障有关,其中 9 种是常染色体显性遗传疾病<sup>[27]</sup>。大部分

突变体之所以能导致疾病,是因为其分子结构、聚集方式或者分子伴侣活性发生了改变,从而影响了功能的正常发挥。还有一些疾病的发生与白内障相关基因的突变有关。以 $\alpha$ A-晶状体蛋白 G98R 突变体为例,已知其可以导致早期白内障,虽然其 $\alpha$ A-晶状体蛋白的分子伴侣活性未发生改变,仍然可以防止蛋白在胁迫条件下聚集,但其低聚物更容易解离<sup>[48]</sup>。关于 $\alpha$ B-晶状体蛋白突变体导致白内障的例子还有很多,在此不再一一列举。

## 5 问题与展望

根据已有研究结果,自然界中的 sHsp 虽然在氨基酸序列和分子结构上会有较大差异,但其在结构组成上有一定的保守性,即都含有 ACD 结构域、N 端臂和 C 端延伸结构。sHsp 在发挥作用时,多以二聚体或寡聚体形式存在。

多种结构区域在其形成聚体结构时发挥作用,涉及到的结构域主要包括:ACD 结构域的 $\beta$ -链环状结构、C 端延伸的 I/L-X-I/L 结构单元、N 端臂上的 3 个螺旋片层状结构域等。sHsp 具有分子伴侣功能,在发挥该功能时,通过识别变性蛋白的疏水表面而定向保护变性蛋白,进而防止其发生不可逆的聚集。同时,sHsp 在识别变性蛋白之后,会发生一系列的结构变化。在此过程中,只有形成 SMA 结构时才能真正发挥其保护作用。条件恢复时,sHsp 会在其他分子伴侣的帮助下协助变性蛋白复性。

除分子伴侣功能以外,sHsp 还具有抑制细胞衰老的功能,降低细胞的全因死亡率和凋亡率。正因为 sHsp 具有多种重要功能,其分子伴侣在发生不正常改变时,通常会导致多种人类疾病的发生,如神经退行性疾病、癌症、白内障等。

相对其他热休克蛋白而言,有关 sHsp 的现有研究并不多见。虽然已经取得了一些研究结果,但 sHsp 的详细结构模型、具体作用机制及与人类疾病间的关系等尚未阐明。越来越多的研究发现,该类蛋白在很多方面具有应用潜力,如作为蛋白质保护剂、细胞生长情况等的检测指标<sup>[49]</sup>、药物设计靶点以及相关疾病的治疗等。相信随着研究的不断深入,sHsp 将会展现出更好的应用前景。

### [参考文献]

- [1] Hilton GR, Lioe H, Stengel F, et al. Small heat-shock proteins: paramedics of the cell. *Top Curr Chem*, 2013, 328: 69-98
- [2] Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*, 2011, 475: 324-32
- [3] Brady JP, Garland D, Douglas-Tabor Y, et al. Targeted disruption of the mouse  $\alpha$  A-crystallin gene induces cataract and cytoplasmic inclusion bodies containing the small heat shock protein  $\alpha$ B-crystallin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 884-9
- [4] Bagneris C, Bateman OA, Naylor CE, et al. Crystal structures of  $\alpha$ -crystallin domain dimers of  $\alpha$ B-crystallin and Hsp20. *J Mol Biol*, 2009, 392: 1242-52
- [5] Basha E, O'Neill H, Vierling E. Small heat shock proteins and  $\alpha$ -crystallins: dynamic proteins with flexible functions. *Trends Biochem Sci*, 2012, 37: 106-17
- [6] Hasanuzzaman M, Nahar K, Alam MM, et al. Physiological, biochemical, and molecular mechanisms of heat stress tolerance in plants. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 9643-84
- [7] Guzzo J. Biotechnical applications of small heat shock proteins from bacteria. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44: 1698-705
- [8] Hanazono Y, Takeda K, Oka T, et al. Nonequivalence observed for the 16-meric structure of a small heat shock protein, SpHsp16.0, from *Schizosaccharomyces pombe*. *Structure*, 2013, 21: 220-8
- [9] Laganowsky A, Benesch JL, Landau M, et al. Crystal structures of truncated  $\alpha$ A and  $\alpha$ B crystallins reveal structural mechanisms of polydispersity important for eye lens function. *Protein Sci*, 2010, 19: 1031-43
- [10] Clark AR, Lubsen NH, Slingsby C. sHSP in the eye lens: crystallin mutations, cataract and proteostasis. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44: 1687-97
- [11] Guruprasad K, Kumari K. Three-dimensional models corresponding to the C-terminal domain of human  $\alpha$ A- and  $\alpha$ B-crystallins based on the crystal structure of the small heat-shock protein HSP16.9 from wheat. *Int J Biol Macromol*, 2003, 33: 107-12
- [12] Weeks SD, Baranova EV, Heirbaut M, et al. Molecular structure and dynamics of the dimeric human small heat shock protein HSPB6. *J Struct Biol*, 2014, 185: 342-54
- [13] Horwitz J.  $\alpha$ -crystallin can function as a molecular chaperone. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 10449-53
- [14] Nakamoto H, Vigh L. The small heat shock proteins and their clients. *Cell Mol Life Sci*, 2007, 64: 294-306
- [15] Zhang K, Ezemaduka AN, Wang Z, et al. A novel mechanism for small heat shock proteins to function as molecular chaperones. *Sci Rep*, 2015, 5: 8811
- [16] Shi J, Koteiche HA, McDonald ET, et al. Cryoelectron microscopy analysis of small heat shock protein 16.5 (Hsp16.5) complexes with T4 lysozyme reveals the structural basis of multimode binding. *J Biol Chem*, 2013, 288: 4819-30
- [17] Koenig SH, Brown RD 3rd, Spiller M, et al. Intermolecular protein interactions in solutions of calf lens  $\alpha$ -crystallin. Results from 1/T1 nuclear magnetic relaxation dispersion profiles. *Biophys J*, 1992, 61: 776-85
- [18] Ratajczak E, Strozecka J, Matuszewska M, et al. IbpA the small heat shock protein from *Escherichia coli* forms

- fibrils in the absence of its cochaperone IbpB. FEBS Lett, 2010, 584: 2253-7
- [19] Broer L, Demerath EW, Garcia ME, et al. Association of heat shock proteins with all-cause mortality. Age (Dordr), 2013, 35: 1367-76
- [20] Murshid A, Eguchi T, Calderwood SK. Stress proteins in aging and life span. Int J Hyperthermia, 2013, 29: 442-7
- [21] Seo K, Choi E, Lee D, et al. Heat shock factor 1 mediates the longevity conferred by inhibition of TOR and insulin/IGF-1 signaling pathways in *C. elegans*. Aging Cell, 2013, 12: 1073-81
- [22] Garrido C, Brunet M, Didelot C, et al. Heat shock proteins 27 and 70: anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties. Cell Cycle, 2006, 5: 2592-601
- [23] Liu JJ, Ma XA, Cai LB, et al. Downregulation of both gene expression and activity of Hsp27 improved maturation of mouse oocyte *in vitro*. Reprod Biol Endocrinol, 2010, 8: 47
- [24] Takeuchi S. Analytical assays of human HSP27 and thermal-stress survival of *Escherichia coli* cells that overexpress it. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 341: 1252-6
- [25] Matsumoto T, Urushido M, Ide H, et al. Small heat shock protein  $\beta$ -1 (HSPB1) is upregulated and regulates autophagy and apoptosis of renal tubular cells in acute kidney injury. PLoS One, 2015, 10: e0126229
- [26] Kamradt MC, Lu M, Werner ME, et al. The small heat shock protein  $\alpha$ B-crystallin is a novel inhibitor of TRAIL-induced apoptosis that suppresses the activation of caspase-3. J Biol Chem, 2005, 280: 11059-66
- [27] Boncoraglio A, Minoia M, Carra S. The family of mammalian small heat shock proteins (HSPBs): implications in protein deposit diseases and motor neuropathies. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44: 1657-69
- [28] Oshita SE, Chen F, Kwan T, et al. The small heat shock protein HspB2 is a novel anti-apoptotic protein that inhibits apical caspase activation in the extrinsic apoptotic pathway. Breast Cancer Res Treat, 2010, 124: 307-15
- [29] Kannan R, Sreekumar PG, Hinton DR.  $\alpha$  crystallins in the retinal pigment epithelium and implications for the pathogenesis and treatment of age-related macular degeneration. Biochim Biophys Acta, 2016, 1860: 258-68
- [30] Papuc E, Krupski W, Kurys-Denis E, et al. Antibodies against small heat-shock proteins in Alzheimer's disease as a part of natural human immune repertoire or activation of humoral response? J Neural Transm:Vienna, 2016, 123: 455-61
- [31] Healy EF, Little C, King PJ. A model for small heat shock protein inhibition of polyglutamine aggregation. Cell Biochem Biophys, 2014, 69: 275-81
- [32] Robertson AL, Headey SJ, Saunders HM, et al. Small heat-shock proteins interact with a flanking domain to suppress polyglutamine aggregation. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 10424-9
- [33] Tue NT, Shimaji K, Tanaka N, et al. Effect of  $\alpha$ B-crystallin on protein aggregation in *Drosophila*. J Biomed Biotechnol, 2012, 2012: 1-7
- [34] Edwards HV, Cameron RT, Baillie GS. The emerging role of HSP20 as a multifunctional protective agent. Cell Signal, 2011, 23: 1447-54
- [35] Apostolova LG. Alzheimer disease. Continuum (Minneapolis), 2016, 22: 419-34
- [36] Karolczak-Bayatti M, Sweeney M, Cheng J, et al. Acetylation of heat shock protein 20 (Hsp20) regulates human myometrial activity. J Biol Chem, 2011, 286: 34346-55
- [37] Shao W, Zhang SZ, Tang M, et al. Suppression of neuroinflammation by astrocytic dopamine D2 receptors via  $\alpha$ B-crystallin. Nature, 2013, 494: 90-4
- [38] Zoubeidi A, Gleave M. Small heat shock proteins in cancer therapy and prognosis. Int J Biochem Cell Biol, 2012, 44: 1646-56
- [39] Lanneau D, Brunet M, Frisan E, et al. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation. J Cell Mol Med, 2008, 12: 743-61
- [40] Yap YL, Lam DC, Luc G, et al. Conserved transcription factor binding sites of cancer markers derived from primary lung adenocarcinoma microarrays. Nucleic Acids Res, 2005, 33: 409-21
- [41] Koga Y, Pelizzola M, Cheng E, et al. Genome-wide screen of promoter methylation identifies novel markers in melanoma. Genome Res, 2009, 19: 1462-70
- [42] Straume O, Shimamura T, Lampa MJ, et al. Suppression of heat shock protein 27 induces long-term dormancy in human breast cancer. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109: 8699-704
- [43] Glaessgen A, Jonmarker S, Lindberg A, et al. Heat shock proteins 27, 60 and 70 as prognostic markers of prostate cancer. APMIS, 2008, 116: 888-95
- [44] McConnell JR, McAlpine SR. Heat shock proteins 27, 40, and 70 as combinational and dual therapeutic cancer targets. Bioorg Med Chem Lett, 2013, 23: 1923-8
- [45] Luo W, Sun W, Taldone T, et al. Heat shock protein 90 in neurodegenerative diseases. Mol Neurodegener, 2010, 5: 24
- [46] Wojtowicz I, Jablonska J, Zmojdian M, et al. *Drosophila* small heat shock protein CryAB ensures structural integrity of developing muscles, and proper muscle and heart performance. Development, 2015, 142: 994-1005
- [47] Waudby CA, Knowles TP, Devlin GL, et al. The interaction of  $\alpha$ B-crystallin with mature  $\alpha$ -synuclein amyloid fibrils inhibits their elongation. Biophys J, 2010, 98: 843-51
- [48] Raju M, Santhoshkumar P, Sharma KK. Cataract-causing  $\alpha$ AG98R-crystallin mutant dissociates into monomers having chaperone activity. Mol Vis, 2011, 17: 7-15
- [49] Napoli A, Aiello D, Aiello G, et al. Mass spectrometry-based proteomic approach in *Oenococcus oeni* enological starter. J Proteome Res, 2014, 13: 2856-66