

热休克蛋白与关节炎的发病机制及其中医治疗研究概述

薛艳¹ 丁道芳¹ 王学宗¹ 郑昱新¹ 高大伟² 吴宇峰² 曹月龙^{1△}

【关键词】 热休克蛋白;关节炎;中医治疗;机制

【中图分类号】 R684.3 【文献标志码】 A 【文章编号】1005-0205(2018)06-0085-04

关节炎是导致数百万人致残的主要原因之一,临床中常见的主要有退行性关节炎,如骨关节炎(Osteoarthritis,OA),以及不同形式的慢性炎症性关节炎,如类风湿性关节炎(RA)等^[1]。OA 是一种常见的好发于中老年的慢性、进行性关节病^[2,3]。OA 的发病因素尚未完全清楚,目前研究显示主要与劳损、体质量(BMI)、创伤等诸多因素相关^[4]。而慢性炎症性关节炎则是一组原发病变涉及滑膜炎症的关节病。这些疾病主要包括了 RA、银屑病关节炎、脊柱关节病、幼年特发性关节炎(JIA)等。其中 RA 的致病因素多与遗传、激素、生育及营养等密切相关^[5]。在关节炎的炎症过程中,关节组织中会释放出的众多内源性生物因子^[6],这些生物因子直接促进了关节破坏及病理进程^[7,8],热休克蛋白(Heat-Shock Proteins,HSPs)正是其中的一员,已有越来越多的研究表明 HSPs 为关节破坏过程中的重要标记之一。对 HSPs 的深入研究,将有助于揭示其在关节炎发病机制、疾病活动度及关节破坏中的作用,并可能为临床治疗关节炎提供新的手段和靶点^[9]。

1 热休克蛋白作用及分类

HSPs 是生物细胞在应激原如受热、缺血、缺氧、创伤等刺激后,发生热休克反应时所产生的一组高度保守的蛋白质,从原核生物到真核生物具有相当高的同源性^[10]。HSPs 最早发现于果蝇中,当正常的果蝇幼体突然暴露于高温环境中时,某些蛋白的合成会增加,这种蛋白就是 HSPs。HSPs 在正常细胞中约占 5%~10%,主要有帮助氨基酸链折叠成正确的三维结构,清除受损而无法正确折叠的氨基酸链,护送蛋白分

子寻找目标分子以免受到其它分子的干扰等功能作用^[11]。

按照蛋白分子的大小分类,HSPs 可分为五类,分别为 HSP110,HSP90,HSP70,HSP60 以及小分子热休克蛋白(sHSPs)。其中 HSP70,HSP90 以及 sHSPs 与软骨细胞的成熟分化和凋亡的发生有着密切联系^[12]。

2 热休克蛋白与退行性关节炎的发病机制

通过众多研究发现,HSPs 与退行性关节炎的发病机制及病情进展有着密切关联。HSP70 在严重 OA 患者的软骨及软骨细胞中表达均上调。Terauchi 等^[13]发现 HSP70 可通过阻断天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)活性来保护由 NO 诱导的兔软骨细胞凋亡,从而延缓 OA 病程。国内外都有研究表明 HSP70 的增加不仅能够抑制软骨细胞凋亡,对软骨细胞具有保护作用,还可抑制滑膜组织炎症,减少滑膜细胞的渗出和骨质破坏,降低血清促炎因子的水平,从而减轻患者的临床症状^[14,15]。

HSP90 则与多条细胞信号通路相关,包括促炎的下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA 轴)、抑炎的 Toll 样受体 4(TLR4)及细胞凋亡通路^[16]。SiebeltM 等通过采用生物力学诱导的 OA 大鼠模型实验,发现 HSP90 的表达呈上调趋势,说明 HSP90 可能会促进软骨退变、改变软骨下骨结构以及活化滑膜巨噬细胞。而且 HSP90 的产生还会抑制 HSP70 的生成,软骨持续的生理应激会促进 HSP90 的产生,以此可对抗 HSP70 的保护作用,促进退行性关节炎的发生发展^[12,17](见图 1)。

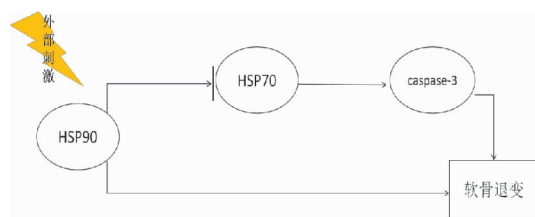


图 1 HSP90 与 HSP70 在 OA 中的作用

基金项目:国家自然科学基金(81373665)

上海中医药大学研究生创新培养项目(Y201820)

¹ 上海中医药大学附属曙光医院(上海,200020)

² 广州中医药大学附属中山中医院

△通信作者 E-mail:ningtcm@126.com

sHSPs 是分子量小于 30 kDa, 残端具有一个保守的核心结构域(α 晶状体球蛋白结构域)的蛋白家族^[18]。其中 α 晶状体球蛋白 B 链(也被称为 HSPB5)在 OA 患者的软骨细胞中表达量低于正常人群的软骨细胞。HSPB5 的表达差异可能与白介素 1 β (IL-1 β)和肿瘤坏死因子(TNF)这类炎症介质相关, Lambrecht 等^[19]通过研究发现 IL-1 β 和 TNF 可下调 HSPB5 在人软骨细胞中的表达量。而另一类 sHSPs, 如热休克蛋白 β 1(HSP β 1, 也被称为 HSP27), 同样在 OA 患者的软骨细胞表达量较低, 可能与 OA 患者的软骨受损相关。Lambrecht 等^[20]还通过人类软骨细胞实验发现 IL-1 β 会造成 HSP27 的表达下调。

3 热休克蛋白与慢性炎症性关节炎的发病机制

HSPs 已被确认为是许多常见慢性炎症性关节炎的免疫靶点之一, 如 RA 和 JIA 等。HSPs 对慢性炎症性关节炎的调节作用首次体现于分枝杆菌所诱导的佐剂性关节炎模型中, 而且在慢性炎症性关节炎的发病机制中, 一些 HSPs 的作用似乎是具有缓解炎症发生的倾向^[21]。但目前关于 HSPs 的受体尚未有明确的定论, 只是认为其可能通过作用于 CD91(低密度脂

蛋白受体相关蛋白 1), TLRs(Toll 样受体), CD36(血小板糖蛋白 4), CD40(TNF 受体超家族成员 5)和簇分化抗原 14(Cluster of Differentiation14, CD14)来释放细胞因子(如 TNF 和 IL-1 β 等)和诱导树突状细胞(Dendritic Cells, DCs)的成熟^[22]。

罗心静等^[23]通过体外培养 RA 的滑膜细胞发现 HSP72 可能是通过下调 RA 滑膜细胞中的促炎细胞因子 IL-6 和 IL-8 的分泌和产生, 以及抑制 NF- κ B 信号通路的活化来发挥抗炎作用, 此外她们还证实 HSP72 可以直接诱导 RA 滑膜细胞分泌抗炎细胞因子 IL-10 从而延缓滑膜炎的进展^[24]。Kamphuis 等发现 HSP60 可诱导一类与抑炎相关的属于 Treg 细胞亚群的 CD4+CD25+FOXP3+ Treg 细胞的产生相关, 这些 Treg 细胞可通过分泌 IL-4、IL-10 和转化生长因子- β (TGF- β)来抑制促炎效应 T 细胞效应及吞噬细胞的活化。在 JIA 中, 这些 Treg 细胞的存在对预后有良好的影响^[25](见图 2)。而在 RA 中, HSP60 反应性 T 细胞则可通过自身外周血液中的单核细胞来抑制 TNF 的产生, 而且 RA 的病情的严重程度也在部分程度上与其自身 HSP60 能够诱导 T 细胞去分泌产生抗炎因子 IL-10 有关^[26]。

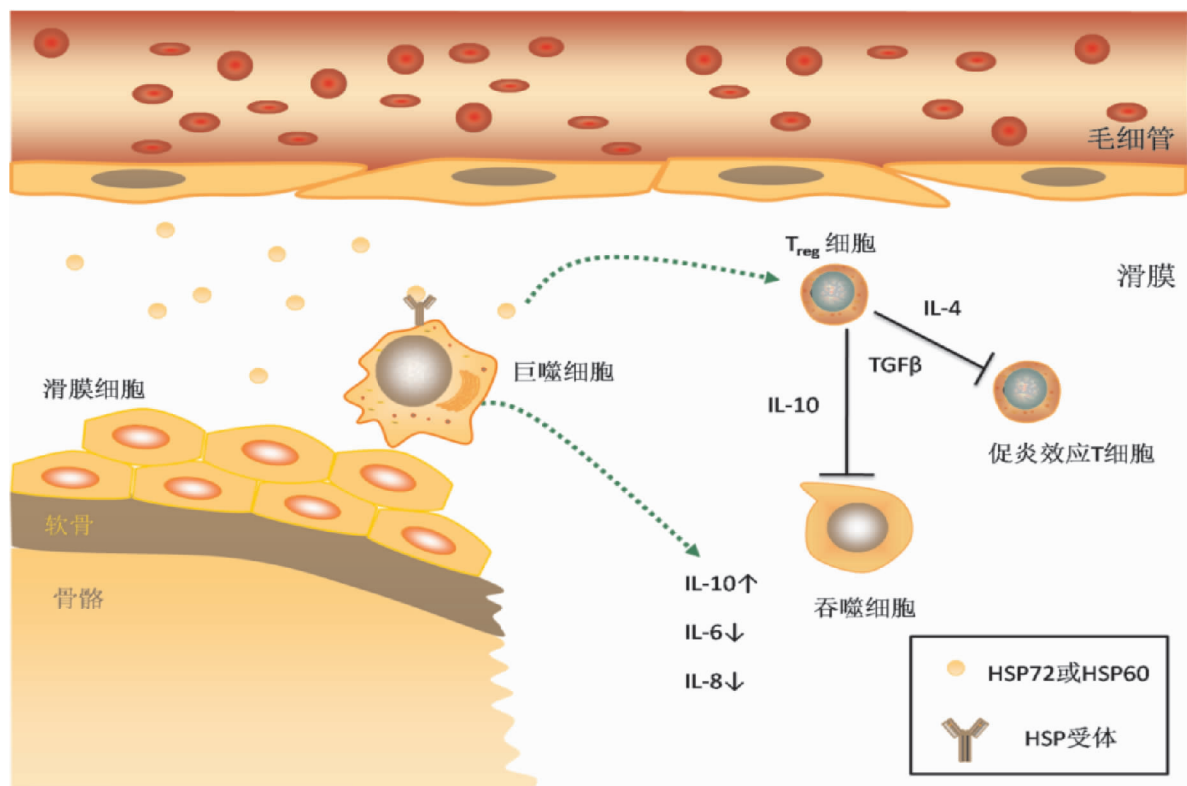


图 2 HSP 在慢性炎症性关节炎中的作用

4 针对热休克蛋白靶点的中医治疗

HSPs 目前已有许多研究将其作为中医防治关节炎的靶点之一。在关于中医外治法治疗关节炎的机制研究中, 赵玲等^[27]运用不同波长的激光照射 C57 黑鼠的犊鼻穴观察其对骨关节炎模型关节软骨损伤的作用时, 发现复合激光(650 nm 及 10.6 μ m 波长的激光同

时照射)在改善软骨退化的同时也使得关节软骨中 HSP70 表达增强, 说明激光针灸对于 OA 的治疗效应可能与其能增强 HSP70 的表达有关。刘明岭等^[28]运用自拟祛风除湿的“熏 I 方”治疗大鼠佐剂性关节炎(AA), 发现中药熏蒸可明显提高关节滑膜中 HSP70 的表达, 并且除了能降低 TNF- α 外, 还可降低 γ 干扰

素($\text{IFN-}\gamma$)的含量。之后沈鹰等^[29]也运用“熏 I 方”治疗 AA 大鼠,发现其不仅可以改善大鼠关节病理的异常,还能使大鼠关节滑膜细胞中 HSP70 阳性细胞表达数目增多($P<0.01$)以及细胞浆的染色强度增强($P<0.01$)。在前期研究结果的基础上,沈鹰等进一步采用“熏 I 方”通过临床对照实验对 RA 患者四肢局部进行熏蒸治疗,治疗 10 d 后,中药熏蒸组疗效明显优于对照组,且滑膜中 HSP70 的 mRNA 也有较高的表达量,差异有统计学意义($P<0.01$),因此他们认为中药熏蒸治疗 RA 的取效可能与其温热作用能够诱导 HSP70 的产生,从而升高抗炎细胞因子 IL-4 和 IL-10,降低促炎细胞因子 $\text{TNF-}\alpha$ 和 $\text{IFN-}\gamma$,使得 $\text{TNF-}\alpha + \text{IFN-}\gamma / \text{IL-4} + \text{IL-10}$ 之间的比值降低,而达到抗炎消肿的作用^[30]。

在关于中药内治法治疗关节炎的作用机制研究中,接红宇等采用清热利湿为主要功效的复方痛风宁治疗急性痛风性关节炎大鼠,发现高剂量组可以明显诱导 HSP70 在大鼠体内高表达($P<0.001$)从而达到减轻急性痛风性关节炎的炎症损伤的作用^[31,32]。王春亮等^[33]运用清热利湿、活血通络的忍冬藤痛风颗粒干预痛风性关节炎模型大鼠蛋白表达时也发现与模型组相比,中药干预组可明显上调大鼠踝关节软组织 HSP70 的表达量($P<0.05$)。而涂胜豪等^[34]使用雷公藤甲素治疗胶原诱导的关节炎大鼠,发现其可以降低关节炎大鼠关节局部软骨细胞和滑膜细胞异常表达的 HSPs($P<0.05$)来治疗 RA。

另外程仕萍等^[35]通过网络分析平台进行机制模拟研究,还发现 HSP90 是许多治疗 RA 的核心配伍中药,如黄芪、当归、白芍等改善 RA 骨破坏的重要靶标之一。

5 总结与展望

HSPs 作为一种应激蛋白与软骨、滑膜细胞的成熟分化及代谢密切相关。在退行性关节炎中,HSP70 的生成可以对软骨起到保护作用,而 HSP90 的升高则会抑制 HSP70 的表达,因此 HSP70 和 HSP90 存在一种相互制衡调节的关系。另外减少 HSPB5 及 HSP27 的表达可以改变退行性关节炎患者软骨细胞的代谢情况。而在慢性炎症性关节炎中,HSPs 主要起到抗炎作用。HSPs 在关节炎中可以起到促进骨重建、活化滑膜以及保护软骨细胞、抑制细胞凋亡及退变的作用。但是目前关于 HSPs 在关节中具体的生成机制尚不明确,而且有关 HSPs 在关节细胞中的特异性受体也尚属于猜测阶段。

中医对于关节炎的防治也较为集中地将 HSP70 作为靶点进行研究,因为上调 HSP70 的表达可直接对软骨细胞起到保护作用,而对于其他 HSPs 及 sHSPs

的研究则较少。随着其他内源性生物因子例如 HMGB1 及 S100 等机制研究的逐渐完善,HSPs 作为其中的一员也同样在关节炎的病理过程中扮演着重要角色,因此关于 HSPs 在关节中的生成机制及其特异性受体也将成为今后研究的一个重点,可以为防治关节炎提供新的思路及方法。

参考文献

- [1] Palazzo C, Nguyen C, Lefevre-Colau MM, et al. Risk factors and burden of osteoarthritis[J]. *Ann Phys Rehabil Med*, 2016, 59(3):134-138.
- [2] 桂向洪,陈晔. 膝关节炎患者滑膜组织中 β -catenin 及 MMP-3 表达水平研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2017, 38(20):2931-2932.
- [3] Alkan BM, Fidan F, Tosun A, et al. Quality of life and self-reported disability in patients with knee osteoarthritis[J]. *Modern Rheumatology*, 2014, 24(1):166-171.
- [4] D'Ambrosia RD. Epidemiology of osteoarthritis[J]. *Orthopedics*, 2005, 28(Suppl 2):201-205.
- [5] 张玲,刘志丹,李晓燕,等. 艾灸治疗类风湿关节炎的研究概况[J]. *中华中医药学刊*, 2017, 35(10):2584-2589.
- [6] Lavric M, Miranda-Garcia MA, Holzinger, et al. Alarmins firing arthritis: helpful diagnostic tools and promising therapeutic targets[J]. *Joint Bone Spine Revue Du Rhumatisme*, 2017, 84:401-410.
- [7] Ru LB, Terkeltaub R. Emerging regulators of the inflammatory process in osteoarthritis[J]. *Nature Reviews Rheumatology*, 2015, 11(1):35-44.
- [8] Houard X, Goldring MB, Berenbaum F. Homeostatic mechanisms in articular cartilage and role of inflammation in osteoarthritis[J]. *Current Rheumatology Reports*, 2013, 15(11):375.
- [9] Nefla M, Holzinger D, Berenbaum F, et al. The danger from within: alarmins in arthritis[J]. *Nature Reviews Rheumatology*, 2016, 12(11):669-683.
- [10] 潘洁莉,李美芽. 热休克蛋白 90 抑制剂的临床应用[J]. *中国医药指南*, 2017, 15(20):22-23.
- [11] 刘海玲,李旦,孙帅. 热休克蛋白与肺癌相关性的研究进展[J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(1):151-155.
- [12] Turturici G, Sconzo G, Geraci F. HSP70 and its molecular role in nervous system diseases[J]. *Biochem Res Int*, 2011, 2011(4096):618127.
- [13] Terauchi R, Takahashi KA, Arai Y, et al. HSP70 prevents nitric oxide-induced apoptosis in articular chondrocytes[J]. *Arthritis and Rheumatism*, 2003, 48(6):1562-1568.
- [14] Chen J, Li C, Wang S. Periodic heat shock accelerated the chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in pellet culture[J]. *PloS One*, 2014, 9(3):e91561.
- [15] 徐守宇,姚新苗,翟云,等. 膝关节骨关节炎发病过程中 HSP70 对软骨细胞凋亡的影响[J]. *中国骨伤*, 2012, 25(10):846-851.

- [16] Tukaj S, Zillikens D, Kasperkiewicz M. Heat shock protein 90: a pathophysiological factor and novel treatment target in autoimmune bullous skin diseases[J]. *Experimental Dermatology*, 2015, 24(8):567-571.
- [17] Siebelt M, Jahr H, Groen HC, et al. HSP90 inhibition protects against biomechanically induced osteoarthritis in rats[J]. *Arthritis and rheumatism*, 2013, 65(8):2102-2112.
- [18] Lambrecht S, Juchtmans N, Elewaut D. Heat-shock proteins in stromal joint tissues: innocent bystanders or disease-initiating proteins? [J]. *Rheumatology*, 2014, 53(2): 223-232.
- [19] Lambrecht S, Verbruggen G, Elewaut D, et al. Differential expression of alphaB-crystallin and evidence of its role as a mediator of matrix gene expression in osteoarthritis[J]. *Arthritis & Rheumatism*, 2009, 60(1):179-188.
- [20] Lambrecht S, Dhaenens M, Almqvist F, et al. Proteome characterization of human articular chondrocytes leads to novel insights in the function of small heat-shock proteins in chondrocyte homeostasis[J]. *Osteoarthritis & Cartilage*, 2010, 18(3):440-446.
- [21] 周蕾. 弗氏不完全佐剂加 BCG 热休克蛋白 65 对大鼠关节炎的诱导[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [22] Srivastava P. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(3):185-194.
- [23] 罗心静, 莫选荣, 周玲玲. Hsp72 对类风湿关节炎滑膜细胞 IL-6、IL-8 表达及 NF κ -B 活化的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 2012, 28(4):336-339.
- [24] 罗心静, 莫选荣, 周玲玲. TLR2/4 在 Hsp72 调控类风湿关节炎滑膜细胞 IL-10 生成中的作用[J]. *中国应用生理学杂志*, 2013, 29(3):212-213.
- [25] Kamphuis S, Kuis W, de Jager W, et al. Tolerogenic immune responses to novel T-cell epitopes from heat-shock protein 60 in juvenile idiopathic arthritis[J]. *Lancet*, 2015, 366(9479):50-56.
- [26] Macht LM, Elson CJ, Kirwan JR, et al. Relationship between disease severity and responses by blood mononuclear cells from patients with rheumatoid arthritis to human heat-shock protein 60[J]. *Immunology*, 2000, 99(2):208-214.
- [27] 赵玲, 沈雪勇, 曹月龙, 等. 激光照射对 C57 黑鼠膝关节炎软骨及热休克蛋白 70 的影响[J]. *中西医结合学报*, 2011, 9(7):761-767.
- [28] 刘明岭. 中药熏蒸对类风湿性关节炎的疗效及其对热休克蛋白 70 的影响[D]. 广州: 广州中医药大学, 2010.
- [29] 沈鹰, 刘明岭, 陈志煌. 中药熏蒸治疗大鼠佐剂性关节炎的疗效及其与热休克蛋白 70 表达的关系[J]. *广东医学*, 2012, 33(11):1530-1533.
- [30] 陈志煌, 沈鹰, 孙维峰, 等. 中药熏蒸治疗类风湿关节炎疗效及对滑膜热休克蛋白 70 影响的研究[J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(10):3104-3107.
- [31] 接红宇. 痛风宁对急性痛风性关节炎大鼠 HSP70 表达的影响[D]. 广州: 南方医科大学, 2012.
- [32] 接红宇, 马剑颖, 吴启富, 等. 痛风宁对急性痛风性关节炎大鼠 HSP70 表达的影响[J]. *中国中医急症*, 2012, 21(5):729-730.
- [33] 王春亮. 忍冬藤痛风颗粒治疗痛风性关节炎及其相关作用机制的实验研究[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2016.
- [34] 涂胜豪, 胡永红, 曾克勤, 等. 雷公藤甲素对胶原诱导的关节炎大鼠关节局部热休克蛋白和主要组织相容性复合体 I 类分子表达的影响[J]. *中草药*, 2005, 36(8):77-80.
- [35] 程仕萍, 贾冬梅, 吕爱平, 等. 核心配伍药改善类风湿性关节炎骨破坏的分子机制预测[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(10):2309-2313.

(收稿日期: 2017-11-12)