

# 运动对骨骼肌、心肌中热休克蛋白表达影响的研究进展

凡启为, 肖国强

(华南师范大学 体育科学学院, 广东 广州 510631)

**摘要:**热休克蛋白是一组结构高度保守的多肽,几乎所有生物体受到某种额外程度的应激时都有热休克蛋白的表达,因此又称为应激蛋白。热休克蛋白赋予细胞或生物体从各种应激中恢复的能力和保护他们免遭这些应激因素的伤害。其中,表现最为明显的是热耐受能力。热休克蛋白作为一种分子伴侣,能维持细胞的正常结构。热休克蛋白在抗氧化、抗细胞凋亡中也具有重要作用。运动也能诱导心肌、骨骼肌等组织中热休克蛋白的表达,并与运动方式、运动强度密切相关,在骨骼肌中的表达表现出肌纤维特异性。

**关键词:**热休克蛋白; 运动; 心肌; 骨骼肌; 研究进展

中图分类号:G804.2;G804.7 文献标识码:A 文章编号:1006-7116(2005)05-0123-04

## Progress of the research on the effect of exercises on heat shock protein expression in skeletal and cardiac muscles

FAN Qi-wei, XIAO Guo-qiang

(College of Physical Education, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

**Abstract:** Heat shock protein is a set of polypeptides with a highly conserved structure, and is also called heat stress protein since almost all organisms will have a heat shock protein expression when they are subject to extra stresses to a certain extent. Heat shock protein gives cells or organisms the abilities to recover from various stresses and protects them from being harmed by these stress factors. Among the abilities above, heat resisting ability has the most prominent performance. As a company of molecules, heat shock protein can maintain the normal structure of cells. Heat shock protein also plays an important role in anti-oxidation and anti-apoptosis. Heat shock protein expression in cardiac and skeletal muscles can be induced by an exercise as well, and is closely related to the form and intensity of the exercise. Heat shock protein expression in skeletal muscle shows in distinctive muscle fibers.

**Key words:** heat shock protein; exercises; cardiac muscle; skeletal muscle; progress of research

热休克蛋白是一组结构高度保守的多肽,几乎所有生物体受到某种程度的应激时都有热休克蛋白的表达,因此又称为应激蛋白。热休克蛋白赋予细胞或生物体从各种应激中恢复的能力和保护他们免遭这些应激因素的伤害。作为一种保护机体免遭各种应激伤害的蛋白质,热休克蛋白与运动的关系受到越来越多的关注。研究表明,运动时骨骼肌、心肌、血液皆有热休克蛋白的表达,但具体的信号转导机制还不清楚。本文将就目前热休克蛋白在骨骼肌、心肌的最新研究情况做一综述。

### 1 热休克蛋白

热休克蛋白的发现始于1962年,Ritossa和他的同事发现,温度的上升导致果蝇唾液腺染色体基因表达增强这一不同寻常的现象。1974年 Tissieres 证实了这一基因表达的产

物并将其命名为热休克蛋白(Heat Shock Proteins, HSPs)。现在我们对热休克蛋白已有了更深的了解。热休克蛋白是细胞在应激情况下启动热休克基因从而产生的一种结构高度保守的蛋白质;几乎存在并能诱导于从原核生物到真核生物的所有生物体;除了热应激外,低氧、缺血、酸中毒、活性氧等诸多因素都能诱导热休克蛋白的合成,因此热休克蛋白又被称为“应激蛋白(Heat Stress Protein)”<sup>[1-3]</sup>。根据相对分子质量的不同,热休克蛋白被分为多个家族:如 HSP10、HSP27、HSP60、HSP70、HSP90、HSP110等。

### 2 热休克蛋白与热耐力

热耐力指的是当细胞经过亚致死温度处理后对致死性高温产生的耐受性。除了热应激外,许多应激都能诱导热休克蛋白使细胞产生耐受性;这些应激包括低氧、缺血、糖原耗

收稿日期:2005-02-19

作者简介:凡启为(1981-),女,硕士研究生,研究方向:运动生理学。

竭、钙离子等。一般说来,应激程度越大,热耐力的强度越大、持续时间越长<sup>[4]</sup>。有报道指出经过训练的运动员其动员热休克蛋白的速度快、潜力大。表现出热休克蛋白对运动训练的耐受性。12名优秀运动员及12名未受任何训练的对照组取血进行42℃热预处理,结果与对照组相比,优秀运动员HSP27mRNA、HSP72mRNA的增加更为明显。此外,在安静状态下,热休克蛋白的水平训练组要比未训练组低<sup>[5-7]</sup>。对于热休克蛋白是如何发挥热耐受性的具体机制还不明了,但维持蛋白质的正常结构似乎是其关键。

### 3 热休克蛋白的生物学功能

#### 3.1 分子伴侣

热休克蛋白的高度保守的结构及其能被各种应激诱导的特性,暗示着它在保护细胞方面扮演着重要角色,热休克蛋白首要的生理功能就是分子伴侣。研究表明,热休克蛋白可以从以下几个方面来发挥其分子伴侣作用:正确折叠细胞类各种蛋白质;维持结构蛋白的正确构象;对错误折叠的蛋白质重新折叠;跨膜转运蛋白质进入各细胞器;阻止蛋白质的聚集,降解不稳定的蛋白质<sup>[1]</sup>。肌纤维的肥大与萎缩和热休克蛋白的分子伴侣功能有关<sup>[4]</sup>。

#### 3.2 抗氧化

Hamilton等<sup>[8-10]</sup>的实验表明,通过补充抗氧化剂可以减少HSP70、HSP72的表达水平,补充维生素C使得安静时HSP60的含量减少。表明活性氧在激活热休克蛋白中发生了某种作用,原因可能在于热休克蛋白可抑制产生氧自由基的关键酶NADPH氧化酶,减少自由基的生成;热休克蛋白与糖皮质激素受体结合后可以促进过氧化物歧化酶SOD的产生;HSP70还可以促进细胞膜上Na-k-ATP酶活性的修复。对培养的H9C2心肌进行43℃的热处理20min,以及用乙醇诱导热休克蛋白,发现能抑制H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的产生<sup>[11]</sup>。然而研究表明,氧化应激不是诱导HSF(热休克因子)与HSE(热休克元件)结合产生热休克蛋白的原因<sup>[12]</sup>,而Mn-SOD似乎在此过程中通过与HSP72的结合发挥了更重要的作用,HSP72可以将Mn-SOD前体正确折叠然后把他们运送到线粒体<sup>[5,13]</sup>。

#### 3.3 抗细胞凋亡

不同的热休克蛋白通过不同的方式抑制细胞凋亡的发生。已知HSP27结合到细胞色素C,阻止它与Apaf-1的结合;而HSP70则阻止寡聚化的Apaf-1与前caspase-9的结合,HSP70还可抑制应激活化蛋白激酶JNK的活性。对小鼠进行8周的跑台训练,使得比目鱼肌和心肌中Bcl-2、HSP70、Mn-SOD的含量上升,骨骼肌中Apaf-1的含量下降<sup>[14]</sup>。

## 4 热休克蛋白在骨骼肌中的表达

#### 4.1 运动强度对热休克蛋白的影响

Kevin等<sup>[5]</sup>认为,运动强度是诱导热休克蛋白表达的主要因素。他们以分别15、18、21、24、27、30、33m/min让老鼠运动60min检测了股四头肌快慢成分和比目鱼肌HSP70的

变化情况,发现随着速度的增加,HSP70的含量呈现明显的增长趋势,在33m/min运动时含量最高,几乎是对照组的6倍。同样还发现,要以更高的速度才能诱导快肌中HSP70的表达,而以慢肌为主的比目鱼肌则在15m/min时就有大量HSP70的表达。最近Liu<sup>[14]</sup>的研究结果也支持Kevin的观点。3周高强度力量训练后,HSP70的含量明显的增长,从51ng到73ng,休息1周后HSP70的含量回落到66ng,而在随后的训练中保持不变。另外Campisi<sup>[16]</sup>发现随意运动并不能诱导小腿三头肌HSP72的表达<sup>[15]</sup>。至于为什么运动强度更能影响热休克蛋白的表达,Thompson<sup>[17,18]</sup>的研究似乎为我们解释了这一原因,他发现离心收缩更能诱导HSP27、HSP70的表达。由于离心运动比向心运动造成的肌肉损伤更严重,表明细胞蛋白质的受损程度与HSPs的合成成正相关。但这并不意味着运动量对HSPs合成的影响。10名优秀划船运动员进行4周的训练,随着运动量的减小,HSP70的含量跟着下降。原因在于肌肉受应激程度的减小;HSP70参与了肌肉损伤后的修复和重塑<sup>[18]</sup>。

#### 4.2 急性运动对热休克蛋白的影响

一次长时间骑功率自行车,发现运动后10minHsp72mRNA表达没有增加,随着糖原的耗竭,在运动至疲劳前约40min[(144±7)min]及疲劳时[(186±15)min]HSP72mRNA表达明显高于安静时,表明糖原的耗竭可能通过某种机制参与诱导热休克蛋白的表达<sup>[20]</sup>。7名志愿者以70%最大吸氧量骑功率自行车45min,HSP72的含量在运动后第6天达到最高,较运动前升高了3100%;而Hsp60在运动后第3天升到最高3190%。运动后第一二天虽有上升但不明显<sup>[20]</sup>。两个实验对比发现HSP的转录和翻译并非同步进行。曾有报导运动后hHSP70mRNA表达增加的同时,HSP70的含量并不见增加。原因是HSP70mRNA在正常生理状态下相对不稳定而且HSP70的积累与HSF(热休克因子)之间存在负调控机制;另外,也有可能某种因素影响HSP70的转录后的调节,这些有待进一步核实。

#### 4.3 耐力运动对热休克蛋白的影响

长时间的耐力运动也能诱导HSP的表达,对机体产生保护作用。让老鼠以15m/min的速度训练了20周,结果HSP72/73、HSP60的表达在比目鱼肌较对照组明显增加,但在腓肠肌中,只有HSP60表达明显增加。由于比目鱼肌主要由慢肌纤维组成而腓肠肌主要由快肌纤维组成,表明肌纤维受刺激、被动员的程度对HSP的产生有一定的关系。同时也说明热休克蛋白表达的肌纤维特异性<sup>[11,12]</sup>。如HSP72主要表达于I型肌纤维。

#### 4.4 热休克蛋白在骨骼肌中表达的原因及机制

以上的结果显示,热休克蛋白的表达与肌纤维被动员的程度存在正相关。可能源于HSP作为一种分子伴侣,可以恢复蛋白质的正确构象,并将蛋白质分子移到线粒体、内质网等细胞器中发挥作用。研究表明,注入变性或受损蛋白质会使HSP的表达增加。但这也不能解释强度是诱导HSP的唯一因素。Febbraio<sup>[20]</sup>认为只有当糖原下降到一定程度时,HSP72mRNA和蛋白质含量才会增加。也有研究表明,在安

静状态下 ATP 等高能磷酸盐的减少并不能诱导 HSP72 的产生,两周的运动后, HSP72 的含量在快肌而非慢肌增加尤为明显<sup>[23]</sup>,说明能量不能直接影响热休克蛋白的表达。至于其机制,研究表明,急性运动与耐力运动都能增加细胞色素氧化酶的表达。在耐力训练后腓肠肌 HSP60 和细胞色素氧化酶 II 与 VI 同步增加,分别为 53%、87%、80%,细胞色素氧化酶的活性也增加了 84%。研究证实, HSPs 能将核编码的蛋白质转入线粒体,并诱导这些蛋白进行结构型的改变形成酶的复合物<sup>[24]</sup>。HSP60 主要存在于线粒体,对受损蛋白质进行重折叠并阻止受损蛋白质的聚集,因此为了适应耐力训练后线粒体代谢增加的需要, HSP60 可能增加对某些线粒体蛋白的转运及折叠,导致这些现象的发生。

## 5 热休克蛋白在心肌中的表达

大量研究表明,经热预处理或用诱导剂诱导热休克蛋白的产生,能减弱缺血再灌注对心肌的损伤,减小心肌梗死面积、改善收缩功能,弱化心肌细胞凋亡<sup>[25,26]</sup>。但 HSP 是如何减小心肌损伤的呢?一种看法认为是与 HSP 作为分子伴侣可以稳定蛋白质的结构有关。胞浆中的 HSP72 可以将线粒体蛋白质前体正确折叠然后把他们运送至线粒体;有些酶需要 HSP70 的专门调控进入线粒体,如 HSP75 的表达增加, citrate 合成酶的活性增加。而 Suzuki 等<sup>[13,28]</sup>研究表明, Mn-SOD 与 HSP72 的关系密切, HSP72 可能通过某种方式将 Mn-SOD 的前体转运至线粒体,促进 Mn-SOD 的生成,从而达到保护心肌的目的。

### 5.1 耐力运动对热休克蛋白的影响

比较 12 周和 24 周跑台训练对小鼠心肌 HSP72 和抗氧化酶的影响,结果显示 12 周训练后总 SOD、mtSOD(线粒体 SOD)的活性及 HSP72 的含量显著上升<sup>[29]</sup>,表明长期的耐力训练能提高心肌抗氧化酶系统的活性并能诱导 HSP72 的表达。是否这两者存在联系呢?研究表明, HSP72 可以将 Mn-SOD 的前体转运至线粒体,促进 Mn-SOD 的生成。Noble 比较 8 周的跑台训练(8 282 m/周)与 8 周自由跑(5 300 m/周),发现跑台训练组左右心室 HSP72 的含量比自由跑组右心室增加了 4 倍多; HSP73、HSP75 没有受到运动的影响<sup>[30]</sup>。其原因可能是:运动强度是诱导 HSP72 在心肌中表达的关键因素;此外由于跑台运动比自由跑时体内温度要高,温度也可能有一定的影响:Harris 发现在 23℃ 训练 9 周的老鼠心肌 HSP70 的含量比安静组上升了 12.3 倍, 4~8℃ 组与安静组比较没有变化<sup>[31]</sup>。

### 5.2 急性运动对热休克蛋白的影响

急性运动对心肌热休克蛋白的影响的报道不多。Taylor<sup>[32]</sup>发现 1 次、连续 3 次(每次 100 min)的急性运动及单纯的热休克反应都能增加 HSP72 的含量、改善心肌功能,但 HSP72 含量的增加与心肌功能的改善之间却没有直接的联系。Hamilton 发现 3 天的运动导致室温下 HSP90、HSP72、HSP40 的表达在左右心室比在冷环境(4℃)要高,但这种增加并没有导致 Mn-SOD 活性变化的差异。以上的研究主要集中于运动中温度与热休克蛋白表达的关系,显示温度与运

动的强度可能都是诱导因子,但热休克蛋白的表达与对心肌的保护作用的关系似乎并不明显,说明有其他因素介入,也许热休克蛋白通过其他途径发挥保护作用,这些都有待进一步研究。

运动时,热休克蛋白在骨骼肌、心肌中的表达出现明显的强度依赖性,表明这种蛋白质对维持细胞正常结构起重要作用。但运动中各种理化因素的变化使我们不能确定究竟哪几种因素在起作用。热休克蛋白在减小缺血再灌注的损伤、抗细胞凋亡方面的作用提示运动可以作为一种治疗和预防心血管疾病的有效手段。总之,热休克蛋白作为一种保护性蛋白在维持细胞的自稳、保护细胞免受各种应激伤害中发挥了重要作用,加深对它的理解将有助于我们进一步认识运动所导致的体内各种生理病理变化。

## 参考文献:

- [1] Kregel K C. Invited review: Heat shock protein: Modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance [J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92(5): 2177 - 2186.
- [2] Snoeckx L H, Cornelussen R N, Van Nieuwenhoven F A, et al. Heat shock proteins and cardiovascular pathophysiology [J]. *Physiol Rev*, 2001, 81(4): 1461 - 1497.
- [3] Latchman D S. Review: Heat shock proteins and cardiac protection [J]. *Cardiovascular Research*, 2001, 51(4): 637 - 646.
- [4] Kilgore J L, Musch T L, Ross C R. Physical activity, muscle, and the HSP70 response [J]. *Can J Appl Physiol*, 1998, 23(3): 245 - 260.
- [5] Milne K J, Noble E G. Exercise - induced elevation of HSP70 is intensity dependent [J]. *J Appl Physiol*, 2002, 93(2): 561 - 568.
- [6] Fehrenbach E, Passet F, Niess A M, et al. HSP expression in human leukocytes is modulated by endurance exercise [J]. *Med and Sci in Spo and Exer*. 2000, 32(3): 592 - 600.
- [7] Shastry S, Toft D O, Joyner M J. HSP70 and HSP90 expression in leucocytes after exercise in moderately trained humans [J]. *Acta Physiol Scand*, 2002, 175(2): 139 - 146.
- [8] Hamilton K L, Staib J L, Phillips T, et al. Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003, 34(7): 800 - 809.
- [9] Khassaf M, Mcardle A, Ešanu C, et al. Effect of vitamin C supplements on antioxidant defense and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle [J]. *J Physiol*, 2003, 549(2): 645 - 652.
- [10] Niess A M, Fehrenbach E, Schlotz E, et al. Effects of RRR -  $\alpha$  - Tocopherol on leukocyte expression of HSP72 in response to exhaustive treadmill exercise [J]. *Int J Sports - Med*, 2002, 23(6): 445 - 452.
- [11] Su C Y, Chong K Y, Owen O E, et al. Constitutive and inducible HSP70s are involved in oxidative resistance evoked by heat

- shock or ethanol[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1998, 30(3): 587 - 598.
- [12] Paroo Z, Meredith M J, Locke M, et al. Redox signaling of cardiac HSF1 DNA binding[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2002, 283(2): C404 - C411.
- [13] Suzuki K, Murtuza B, Sammut I A, et al. Heat shock protein 72 enhances manganese superoxide dismutase activity during myocardial ischemia - reperfusion injury, associated with mitochondrial protection and apoptosis reduction[J]. *Circulation*, 2002, 106(suppl [1]): 270 - 276.
- [14] Siu P M, Bryner R W, Martyn J K, et al. Apoptotic adaptations from exercise training in skeletal and cardiac muscles[J]. *FASEB J*, 2004, 18(10): 1150 - 1152.
- [15] Liu Y, Lormes W, Wang L, et al. Different skeletal muscle HSP70 responses to high - intensity strength training and low - intensity endurance training[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2004, 91(2 - 3): 330 - 335.
- [16] Campisi J, Leem T H, Greenwood B N, et al. Habitual physical activity facilitates stress - induced HSP72 induction in brain, peripheral, and immune tissues [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003, 284: R520 - R530.
- [17] Thompson H S, Maynard E B, Morales E R, et al. Exercise - induced HSP27, HSP70 and MARPK responses in human skeletal muscle[J]. *Acta Physiol Scand*, 2003, 178(1): 61 - 72.
- [18] Thompson H S, Scordilis S P, Clarkson P M, et al. A single bout of eccentric exercise increases HSP27 and Hsc/HSP70 in human skeletal muscle[J]. *Acta Physiol Scand*, 2001, 171: 187 - 193.
- [19] Liu Y F, Sabine M, Alexandra O G, et al. Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers[J]. *J Appl Physiol*, 1999, 86(1): 101 - 104.
- [20] Febbraio M A, Steensberg A, Walsh R, et al. Reduced glyco-gen availability is associated with an elevation in HSP72 in contracting human skeletal muscle[J]. *J Physiol*, 2002, 538: 911 - 917.
- [21] Khassaf M, Child RB, Mcardle A, et al. Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by non-damaging exercise[J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90: 1031 - 1034.
- [22] Samelman T R. Heat shock protein expression is increased in cardiac and skeletal muscles of Fischer 344 rats after endurance training[J]. *Experimental Physiology*, 2000, 85(1): 97 - 102.
- [23] Ecochard L, Roussel D, Sempore B. Stimulation of HSP72 expression following ATP depletion and short - term exercise training in fast - twitch muscle[J]. *Acta Physiol Scand*, 2004, 180(1): 71 - 78.
- [24] Samelman T R, Shiry L J, Cameron D F. Endurance training increases the expression of mitochondrial and nuclear encoded cytochrome c oxidase subunits and heat shock proteins in rat skeletal muscle[J]. *Eur J Appl Physiol*, 2000, 83: 22 - 27.
- [25] Powers S K, Demirel H A, Vincent H K, et al. Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia - reperfusion in the rat[J]. *Am J Physiol*, 1998, 275: R1468 - 1477.
- [26] Suzuki K, Sawa Y, Kagisaki K, et al. Reduction in myocardial apoptosis associated with overexpression of heat shock protein 70 [J]. *Basic Res Cardiol*, 2000, 95: 397 - 403.
- [27] Yamashita N, Hoshida S, Nishida M, et al. Heat shock - induced manganese superoxide dismutase enhances the tolerance of cardiac myocytes to hypoxia - reoxygenation injury[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1997, 29: 1805 - 1813.
- [28] Moran M, Delgado J, Gonzalez B, et al. Responses of rat myocardial antioxidant defenses and heat shock protein HSP72 induced by 12 and 24 - week treadmill training [J]. *Acta Physiol Scand*, 2004, 180(2): 157 - 166.
- [29] Noble E G, Moraska A, Mazzeo R S, et al. Differential expression of stress proteins in rat myocardium after free wheel or treadmill run training[J]. *J Appl Physiol*, 1999, 86(5): 1696 - 1701.
- [30] Harris M B, Starnes J W. Effects of body temperature during exercise training on myocardial adaptations[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280(5): H2271 - 2280.
- [31] Taylor R P, Harris M B, Starnes J W. Acute exercise can improve cardioprotection without increasing heat shock protein content [J]. *Am J Physiol*, 1999, 276: H1098 - 1102.

[编辑: 郑植友]