

# 内质网应激和热休克与运动

李焕春, 肖国强

(华南师范大学 体育科学学院, 广东 广州 510006)

**摘 要:** 各种外界环境的刺激能引起内质网内稳态失衡, 发生内质网应激; 内质网应激是细胞的一种自我保护性措施, 以维持细胞稳态功能。受热刺激后, 机体产生相应的热休克反应, 诱导细胞合成应激的热休克蛋白, 并提高细胞的抗损伤能力; 运动也能刺激内质网发生应激反应, 产生热休克蛋白, 发挥对机体的保护作用。

**关 键 词:** 运动生理学; 内质网应激; 热休克; 身体运动; 综述

**中图分类号:** G804.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-7116(2009)01-0109-04

## Endoplasmic reticulum stress, heat shock and exercising

LI Huan-chun, XIAO Guo-qiang

(School of Physical Education, South China Normal University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** Stimulation from various external environments can cause the unbalance of homeostasis in endoplasmic reticulum, which results in endoplasmic reticulum stress; endoplasmic reticulum stress is a self protection measure taken by cells in order to maintain homeostatic functions of cells. Subjected to heat stimulation, the body produces corresponding heat shock reaction, which induces cells to synthesize heat shock protein for stress, and to enhance the damage resisting ability of cells; exercising can also stimulate endoplasmic reticulum to produce stress reaction and heat shock protein, thus playing a role in body protection.

**Key words:** exercise physiology; endoplasmic reticulum stress; heat shock; physical exercising; overview

内质网(endoplasmic reticulum, ER)为分布于哺乳细胞细胞质中一种重要的亚细胞器, 为内膜构成的封闭的网状管道系统, 具有复杂的膜结构, 由于内质网为细胞中一个动态的膜性细胞器, 因此具有多种功能。内质网在机体中的作用主要体现在蛋白质的合成、修饰、折叠和一些亚基的组合方面, 另外对类固醇、脂质、糖原等大分子有机化合物的合成、细胞内钙的储存以及钙离子浓度稳定等也有作用, 因此内质网对保持细胞内稳态、维持细胞正常的生理功能具有重要作用。

### 1 内质网应激

内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是指由于内质网中钙离子紊乱和蛋白质不能正常折叠, 导致细胞内质网内稳态失衡, 从而使其生理功能发生紊乱的一种亚细胞器的病理过程, 是线粒体应激和细胞核应激通路组成部分。细胞应对外界刺激而使内质

网应激产生的反应, 称作内质网应激反应。从细胞的应激反应顺序来看, 内质网应激反应发生在线粒体应激和细胞核应激之前, 是应激发生在细胞中的最初反应。研究表明, 影响机体内蛋白质合成的因素或者某些毒性物质, 以及内质网腔内钙浓度的不平衡对内质网的干扰, 都会影响内质网内稳态, 从而产生内质网应激<sup>[1]</sup>; Wong WL<sup>[2]</sup>首次发现内质网钙平衡破坏导致蛋白质翻译停止, 并且指出这种现象是细胞的一种自我保护性措施, 以达到维持内质网稳态功能。研究表明, 大强度或长时间运动的内质网应激反应可以引起细胞的凋亡<sup>[3]</sup>, 从而引发疾病。另外运动后缺血性再灌注所造成机体损伤, 糖尿病、阿兹海默症、帕金森病和癌症等相关疾病与内质网应激也密切相关。

### 2 内质网应激通路

动态的膜性内质网是真核细胞中重要的细胞器,

在细胞内钙调节,生物大分子合成、修饰等方面发挥重要作用,虽然内质网具有较强的维持机能的能力,但仍有许多原因能引发内质网功能失调,例如细胞氧浓度的低下和营养物质不足、肽链的折叠受阻、细胞病毒的侵入、内质网内外钙浓度动态的失调等都可能引发内质网应激,产生应激反应。真核细胞内质网应激产生的反应是细胞一种保护性机制的体现<sup>[4]</sup>,在细胞内至少有以下几种通路,以适应内质网应激反应。

#### 1)未折叠蛋白应激通路。

哺乳动物细胞中存有抑制物阻抗性酯酶 1(inositol requirement 1, IRE-1)、活化转录因子-6(activating transcription factor-6, ATF-6)和双链 RNA 激活蛋白激酶样内质网激酶(double-stranded RNA-activated protein kinase-like endoplasmic reticulum kinase, PERK)3 种蛋白与内质网应激密切相关,在内质网不发生应激时,这 3 种物质以无活性形式与葡萄糖调节蛋白 78(glucose-regulated protein, GRP78)或免疫球蛋白结合蛋白(immunoglobulin-binding protein, Bip)结合<sup>[5]</sup>,GRP78 是内质网分子伴侣蛋白,相对分子质量为 78,在进化上高度保守,在维持内质网蛋白质合成,及正确折叠和细胞钙稳态方面起着重要的作用,而细胞内钙失稳态、自由基超负荷、蛋白质糖基化障碍、内质网腔内错误折叠蛋白的聚集,均可引发内质网应激,使 GRP78 蛋白表达上调,启动未折叠蛋白反应(unfolded protein response, UPR)。未折叠蛋白应激通路表现在蛋白质的不正确折叠引发的内质网应激,在发生未折叠蛋白反应时,未折叠蛋白在细胞内积聚过多,诱发上述 3 种感应蛋白与 GRP78 或 Bip 分离,激发感应蛋白的活性<sup>[6]</sup>,上述过程中 PERK 自身聚合、自我磷酸化激活,使得 eIF2a(subunit of eukaryotic translation initiation factor 2)上的 Ser 51 磷酸化,因而不能结合 G 蛋白,而阻断起始蛋氨酸-RNA 与核糖体的结合,使蛋白质翻译无法开始,从而使蛋白质合成下调,这种未折叠反应,有利于阻止新生蛋白向内质网腔的转运,抑制内质网蛋白的过负荷状态,发挥对细胞的保护作用。

#### 2)伴侣蛋白基因活化通路。

热休克蛋白家族中的 GRP78 或 Bip 是内质网应激反应标志性伴侣蛋白,是 HSP70 的成员之一,在参与内质网蛋白质的重新折叠和装配过程中发挥作用,因此对保护细胞避免因内质网应激引发细胞凋亡非常重要。内质网应激时诱导基因表达存有与 IRE-1、ATF-6 和 ATF-4 相关联的不同通路,在发生内质网应激时参与编码内质网蛋白的基因折叠、转运、分泌、降解的基因,可被活化的上述物质诱导表达。IRE-1 主要是

对转录活化含有上游 ERSE (ER stress response element or the unfolded protein response element(UPRE))的基因;在应激发生后 ATF-6 会从内质网膜转移到高尔基体,水解后与 ERSE 发生作用,从而激活 GRP78 或 Bip、CHOP(C/EBP homologous protein)或 GADD153(growth arrest and DNA-damage-inducible gene 153)、ERp72(ER protein 72)等多种应激反应蛋白的转录。CHOP 主要参与调节下游相关基因的表达,是内质网应激的标志;同样,发生应激时 ATF-4 蛋白合成得以增加,聚集在核内的表达产物促使 GRP78 或 Bip、CHOP 或 GADD153 等蛋白的生成<sup>[7]</sup>。

#### 3)细胞凋亡通路。

内质网应激不仅是细胞抵抗应激的重要机制,而且也是应激细胞发生损伤的重要原因。适度的内质网应激能刺激应激蛋白基因表达增加,产生细胞保护机制,提高细胞生理状态而达到保护作用;相反,当机体受到刺激的应激强度超过细胞自身处理能力时,细胞会通过启动各种信号机制引发细胞程序性凋亡。细胞凋亡的过程比较复杂,具有多样性,其途径与细胞所处的环境、种类或刺激形式有关。细胞在发生内质网应激时,产生应激蛋白以抵消刺激造成的不利影响,同时内质网功能进行适应性的改变,以满足环境的变化;另一方面细胞也会产生应激蛋白调节基因,引发应激细胞程序死亡,以清除不能适应环境变化的细胞。

过度或长时间内质网应激会损伤内质网功能,促使细胞发生凋亡,内质网应激引起的细胞凋亡与因线粒体诱发的细胞凋亡机制不一样,称为内质网相关性死亡(ER-associated death)ERAD 途径。ERAD 途径包含内质网应激诱导 CHOP 或 GADD153 表达、JNK(cJun NH2-terminal kinase)活化和内质网特有的半胱氨酸蛋白酶 caspase-12 的激活 3 种方式。CHOP 和 JNK 都在内质网应激与细胞凋亡起着重要的中间信号作用。CHOP 主要参与调节下游凋亡相关基因的表达,是内质网应激的标志。正常生理状态下 CHOP 浓度非常低,当发生内质网应激时,其浓度显著增加,表明其被诱导表达。当发生应激时,上游的 IRE1、PERK 和 ATF 会介导 CHOP 或 GADD153 基因的转录激活。研究证实 CHOP 高表达,能影响内质网蛋白的折叠功能,从而引发细胞周期停滞和 DNA 损伤,使细胞发生凋亡;JNK 是信号转导蛋白家族一分子,主要调节基因表达和决定应激状态下细胞的存活或凋亡; caspase-12 是内质网膜上的结构蛋白,内质网应激时,在钙蛋白酶、GRP78 或 caspase-7 复合物及 IRE 1-TRAF2 复合物等作用下,发生特定位点裂解后活化,并激活下游的 caspase-9 和 caspase-3,从而导致细胞凋亡<sup>[8]</sup>。

### 3 内质网应激、热休克与运动的相关性

内质网在受到长时间或高强度运动刺激时,发生内质网应激反应产生应激蛋白,对细胞发挥保护作用。应激蛋白是调节正常机体细胞分化、增殖的一种蛋白质,在胚胎时期的表达水平比较高,但在机体出生后,其表达水平则大大降低。人体在受热应激后可发生热应激反应,并在机体内产生相应的热休克反应,诱导细胞合成应激蛋白(stress protein, SP)、热休克蛋白(heat shock protein, HSP)。热休克蛋白是一种应激蛋白,可提高细胞的抗损伤能力<sup>[9]</sup>,现已证实 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,根据相对分子质量大小和同源程度,可分为 HSP110、HSP90、HSP70 及 HSP60、小分子 HSP 及泛素等几个家族。HSP70 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<sup>[10]</sup>。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,再次热休克时又重新转回细胞核内。结构型 HSP70 又可分为两种,分别位于内质网和线粒体内。HSP70 分别在其各自所在的区域内发挥作用,其中 HSP70 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,其数量在不同生物身上有所不同,功能上也存在差异,并且由于 HSP70 在正常细胞中水平较低,而在应激状态下可显著地升高,因此成为热休克蛋白中最受关注、研究最深入的一种<sup>[11-13]</sup>,HSP70 中的 GRP78 或 Bip 就是内质网应激反应标志性伴侣蛋白,而 HSP90 家族中的 Gp96 是相对分子质量为 96 000 的糖蛋白,几乎高度表达于所有细胞的内质网中,与其他的 HSP 一样,Gp96 可被环境压力及累积的错误折叠蛋白所诱导,而发生分子伴侣作用。HSP 作为细胞中的伴侣蛋白发生作用,伴侣蛋白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分,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于其跨膜转位,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<sup>[14-15]</sup>。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。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。研究表明 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害的作用,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,才能最有效地加速转录和翻译抑制的恢复。

运动是诱导内质网发生应激的刺激形式,研究证明,运动能引起局部组织器官缺血,使肌肉温度升至 45℃<sup>[16-17]</sup>。高强度或长时间负荷运动对内质网应激作用比较明显,有报道 1 h 力竭跑后,肌肉中的 HSP32 mRNA 增加 7 倍,并且运动后的一段时间 HSP70 mRNA 表达呈增加趋势<sup>[18]</sup>;HSP 在机体内的生成与肌肉组织种类相关,并且与肌肉募集方式、肌肉负荷以及运动强度有关。有研究报道,长时间亚极量运动后,大鼠下肢比目鱼肌、腓肠肌和左心室肌 HSP70 浓度升高,但肌肉中的 HSP70 浓度却不一样,这可能与不同肌肉组织中运动时能量的消耗程度不同有关<sup>[19-20]</sup>;Liu Y<sup>[21]</sup>发现 4 周的递增负荷运动中,后一个负荷后股四头肌细胞中 HSP72 含量比前一个负荷要高。高强度的训练能诱导肌肉产生热休克蛋白,而低强度的耐力训练不足以诱导其表达;同样,中等强度训练不足以刺激血液白细胞 HSP70 的表达,预示着 HSP 的产生与能量在肌肉中消耗的程度相关,ATP 的减少可能是诱导 HSP 生成的重要原因。因此高强度或长时间运动引起骨骼肌 HSP 的表达增加,其原因可能是运动时肌肉不同形式的收缩及机体新陈代谢的加快,使细胞所处的内环境发生了改变,刺激细胞内质网功能,产生内质网应激反应,加速细胞应激反应信号传导启动,从而合成一系列内质网应激相关蛋白,激活机体的免疫机制,增强机体对外界损伤的抗御能力<sup>[22-23]</sup>,发挥对机体的保护表达作用。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、ATP 的减少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热休克蛋白的合成,但很可能运动与其他代谢应激之间有共同的机制。

内质网应激是细胞自我保护性机制的表现,是一种涉及多信号通路和多基因调控复杂的生理过程,内质网应激可以激活内质网分子伴侣 HSP,来发挥细胞对应激的抵抗能力,维持细胞的生存。一定强度或时间的运动可能使内质网发生应激,抵抗运动对机体带来的运动损伤,但强度过高的运动可能使内质网过度应激,而发生细胞凋亡。因此探讨运动后内质网应激与热休克反应的关系,对评价和监控运动训练具有十分重要的意义。

## 参考文献:

- [1] Kaufman R d. Orchestrating; the unfolded protein response in health and disease[J]. *J Clin Invest*, 2002, 110: 1389-1398.
- [2] Wong W L, Brostrom M A, Kuznetsov G, et al. Inhibition of protein in synthesis and early protein in processing by thapsigargin in cultured cells[J]. *Biochem J*, 1993, 289: 71-79.
- [3] Hossain G S, van Thienen J V, Werstuck G H, et al. TDAG51 is induced by homocysteine, promotes detachment-mediated programmed cell death, and contributes to the development of atherosclerosis in hyperthermia ocysteinemia[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278: 30317-30320.
- [4] Araki E, Oyadomari S, Mori M. Impact of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic[J]. *Cells and Diabetes Mellitus Experimental Biology and Medicine*, 2003, 228: 1213-1217.
- [5] Komitzer D, Ciechanover A. Modes of regulation of ubiquitin mediated protein degradation[J]. *J Cell Physiol*, 2000, 182(1): 1-11.
- [6] Yamamoto I, Hamada H, Shinkai H, et al. The KDEL receptor modulates the endoplasmic reticulum stress response through mitogen-activated protein kinase signaling cascades[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(36): 34525-34532.
- [7] Shibata M, Hattori H, Sasaki T, et al. Activation of caspase-12 by endoplasmic reticulum stress induced by transient middle cerebral artery occlusion mice[J]. *Neuroscience*, 2003, 118: 491-499.
- [8] 冯献启, 邹萍. 内质网应激反应性凋亡途径究进展[J]. *国外医学: 肿瘤学分册*, 2004, 31: 726-729.
- [9] Donnellv T T, Sicvers R E, Viassen F L, et al. Heat shock protein induction in rat hearts: a role for improve myocardial salvage after ischemia and reperfusion[J]. *Circulation*, 1992, 85: 769-778.
- [10] Welch W J. Mammalian stress response: Cell physiology structure function of stress proteins, and implications for medicine and disease[J]. *Physiol Rev*, 1992, 72: 1063-1081.
- [11] Tekin D, Xi L, Zhao T, et al. Mitogen 2 activated protein kinases mediate heat shock 2 induced delayed protection in mouse heart[J]. *Am Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 281(2): 523-532.
- [12] Park J, Liu A Y. NK phosphorylated the HSF1 transcriptional activation domain: role of JNK in the regulation of the heat shock response[J]. *Cell Biochem*, 2001, 82(2): 326-328.
- [13] Tokuda H, Kozawa O, Niwa M, et al. Mechanism of prostaglandin E2-stimulated heat shock protein induction in osteoblast like MC3T3-E1 cells[J]. *Endocrinol*, 2002, 172(2): 271-281.
- [14] Ellis K J. The molecular chaperone concept[J]. *Semin Cell Biol*, 1990(1): 1-9.
- [15] Pelham H R B, Morimoto R I. Functions of the HSP70 protein family: An overview: Stress proteins in biology and medicine[M]. Cold Spring Harbor NY: CPH Press, 1990: 287-299.
- [16] Brook U A, Elittelman I C, Faulkner J A, et al. Temperature skeletal muscle mitochondrial functions, and oxygen debt r1m[J]. *J Physiol*, 1971, 31: 416-422.
- [17] Fsrooks G A, Hittelman K J, Faulkner J A, et al. Tissue temperatures and whole animal oxygen consumption after exercise[J]. *Ant J Physiol*, 1971, 221: 427-431.
- [18] Essig D A, Berger D R, Jackson D A. Induction of heme oxygenase-1(HSP32) mRNA in skeletal muscle following contractions[J]. *Am J Physiol*, 1997, 272: 59-67.
- [19] Skidntore R, Gutierrez J A, Guerriero V, et al. HSP70 induction during exercise and heat stress in rats: role of internal temperature[J]. *J Physiol*, 1995, 268: 92-97.
- [20] Iwaki K, Chi S H, Dillman W H, et al. Induction of HSP70 in cultured rat neonatal cardiomyocytes by hypoxia and metabolism stress[J]. *Circulation*, 1993, 87(6): 2023-2032.
- [21] Liu Y, Mayr S, Opitz-Gress A, et al. Human skeletal muscle HSP70 Response to training in highly trained rowers[J]. *J Appl Physiol*, 1999, 86: 101-104.
- [22] 钱令嘉, 吴孟平, 陈西京, 等. 热应激大鼠心肌钙代谢的变化及其机理探讨[J]. *中国应用生理学杂志*, 1997, 13(1): 30-35.
- [23] Buss R, Fleming I. Regulation and functional consequence of Endothelial nitric oxide formation [J]. *Ann Med*, 1995, 27: 331-334.