

热休克蛋白 90 与病理性瘢痕形成的关系研究进展

唐小焰 陈晓娟 向小燕 龙彦岑 贺译贤



通讯作者简介: 向小燕, 四川大学华西临床医学院硕士毕业, 教授, 硕士研究生导师。现任川北医学院附属医院烧伤整形科副主任、川北医学院外科学教研室教授。任中华医学会烧伤外科分会烧伤临床学组委员, 四川省医学会烧伤整形外科专业委员会委员, 四川省医学会美容外科学组委员, 《中华烧伤杂志》特约通讯员。曾于上海市第九人民医院整复外科进修、以访问学者身份到美国爱荷华大学公派留学 1 年。主持及参与省厅级科研课题 4 项, 参与国家自然科学基金课题 1 项, 以第一作者发表学术论文 10 余篇。于 2012 年被评为第十批四川省学术和技术带头人后备人选。近年主要从事瘦素与病理性瘢痕的研究工作, 重点研究 RNA 干扰瘦素表达与增生性瘢痕和瘢痕疙瘩的关系。

【摘要】 病理性瘢痕是创伤后组织异常修复, 由成纤维细胞异常增殖导致大量胞外基质沉积而形成, 因其复发率高而成为治疗难题。热休克蛋白 (HSP) 是细胞中一类含量丰富的分子伴侣, 其中 HSP90 在调节细胞生长、增殖、凋亡等过程中具有重要作用。近来大量研究发现 HSP90 与纤维化病变及病理性瘢痕关系密切, HSP90 可作为这类疾病的一个治疗靶点。该文旨在阐述 HSP90 对病理性瘢痕形成的影响。

【关键词】 病理性瘢痕; 纤维化病变; 热休克蛋白 90; 成纤维细胞; 转化生长因子- β

Research progress on the association between heat shock protein 90 and the formation of pathological scar Tang Xiaoyan, Chen Xiaojuan, Xiang Xiaoyan, Long Yancan, He Yixian. Department of Burn and Plastic, the Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China
Corresponding author, Xiang Xiaoyan, E-mail: xxy-28@163.com

【Abstract】 Pathological scar is an abnormal wound healing after trauma, resulting from the deposition of a large quantity of extracellular matrix induced by excessive fibroblast proliferation. It is a challenge to thoroughly treat pathological scar due to high recurrent rate. Heat shock protein (HSP) is a kind of molecular chaperone which is abundant in cells. HSP90 plays a pivotal role in regulating cell growth, proliferation and apoptosis, etc. Recently, more and more studies have demonstrated that HSP90 is intimately correlated with fibrotic diseases and pathological scarring. HSP90 can act as a therapeutic target for this type of disease. The purpose of this paper is to elucidate the effect of HSP90 on the formation of pathological scar.

【Key words】 Pathological scar; Fibrotic disease; Heat shock protein 90; Fibroblast; TGF- β

病理性瘢痕指皮肤在创伤后的愈合过程中过度修复, 成纤维细胞 (FB) 异常增殖, 导致以胶原蛋白为主的大量胞外基质沉积。病理性瘢痕包括增生性瘢痕和瘢痕疙瘩, 其肉眼观往往明显突起于皮肤表面, 不仅影响美观, 而且常常造成

瘙痒、疼痛甚至功能障碍等不适。病理性瘢痕目前治疗方法虽然丰富多样, 但因其高复发率, 治疗效果并不令人满意, 成为现代美容治疗的难题之一。

目前的观点普遍认为病理性瘢痕形成的主要

机制为多种细胞因子如转化生长因子- β (TGF- β)、TNF- α 、血管内皮生长因子 (VEGF)、结缔组织生长因子、表皮生长因子 (EGF)、血小板衍生因子 (PDGF) 等介导的 FB 异常增殖并分泌大量胞外基质^[1-2]。因此, 对这些因子的调控成为靶向治疗病理性瘢痕的主要研究方向, 如瘦素、肉毒素等, 目前相关研究最多的细胞因子是 TGF- β ^[3]。近年研究表明热休克蛋白 (HSP) 家族对器官的纤维化病变以及增生性瘢痕形成具有明显促进作用, 尤其是 HSP90, 大量学者对其机制作出了深入的研究^[4]。本文将对这些研究作一个概括, 来阐述 HSP90 对增生性瘢痕形成的影响。

一、关于 HSP90 及 17-去甲氧基格尔德霉素 (17-AAG)

HSP 是一类广泛存在于胞浆及胞核中的分子伴侣, 在应激时成倍合成, 大量产生, 故又被称为应激蛋白。HSP 在进化上高度保守, 当机体处于应激时, 负责维持蛋白折叠状态, 稳定蛋白质, 从而增强细胞修复能力以及提高细胞的应激能力。在哺乳动物中, 根据分子量大小将 HSP 主要分为 HSP100、HSP90、HSP70、HSP60、HSP40 以及小热休克蛋白 (sHSP) 6 类^[5]。分子量为 90 kD 的热休克蛋白被命名为 HSP90。虽然同属 HSP 家族, 但不同类型 HSP 在细胞内分布、ATP 依赖性、结合的底物以及参与的疾病类型各有不同。已知的 HSP90 包括 HSP90 α 、HSP90 β 、GP96、TRAP1。研究证明 HSP90 参与细胞生长、存活、分化, 在平衡细胞存活、增殖和凋亡中扮演重要角色。17-AAG 是实验及临床中应用最为广泛的 HSP90 抑制剂, 是一类人工合成的格尔德霉素衍生物, 它可通过竞争结合 HSP90-N 端与 ATP/ADP 的结合位点而抑制 HSP90 与底物结合。

二、HSP90 与多器官纤维化病变

HSP90 参与肝、肾小球等重要脏器的纤维化病变的报道已不鲜见, 另外 HSP90 在心室肌重塑以及前列腺癌的进展中也起一定作用^[6-9]。这些文献中对其作用机制作了相应阐述。肝星状细胞 (HSC) 是肝纤维化的主要相关细胞, 实验证明 HSP90 抑制剂可通过两种途径阻断 NF- κ B 细胞存活信号: κ GR/NF-B 复合物的形成和 Akt 的失活。此外, HSP90 抑制剂 17-AAG 还可以通过

减少 α -SMA 的表达及 TGF- β 诱导的胶原合成来抑制 HSC 的活化^[6]。文献报道在体外培养肾成纤维细胞中, 17-AAG 可以通过 Smurf2 途径介导 T β R II 下调, 发挥抗纤维化作用。Henke 等^[9]最近研究表明 HSP90 可促进前列腺癌相关成纤维细胞增殖分化, 并增加其收缩力及迁移能力。可见, HSP90 在多个器官纤维化病变中有正向促进作用, 且这种作用主要与 TGF- β 密切相关, 而 TGF- β 则是已知的与病理性瘢痕形成最为密切的一种细胞因子。临床上, 以抑制 HSP90 作为研究方向的抗纤维化药物也是当下研究热点之一。

三、HSP90 在病理性瘢痕形成中的作用

1. HSP90 对 TGF- β 的调节

组织损伤后活化的炎性细胞释放的 TGF- β , 已被证实有病理性瘢痕形成过程中起十分关键的作用。现有的大量研究表明, TGF- β 导致创伤部位瘢痕增生的机制, 主要是通过特异结合 FB 膜受体 T β R I 和 T β R II 形成复合物, 进一步激活 Smad 蛋白 (主要为 Smad2/3) 形成低聚体复合物, 从而促进靶基因表达, 刺激 FB 活化迁移、增殖、分泌, 促进胶原合成及抑制胶原降解^[10]。HSP90 对 TGF- β 具有上调作用, 对于其机制现尚无统一论, 部分学者认为 HSP90 能通过结合并稳定 T β R, 从而促进 TGF- β 持续大量表达。Wrighton 等^[11]研究确定了 HSP90 可直接结合 T β R I 和 T β R II, 表明 HSP90 可以从 TGF- β 受体水平上调其信号。此外, 有研究亦证实 17-AAG 可抑制 TGF- β 诱导的转录、阻碍 Smad 蛋白磷酸化、降低 T β R 活性, 且这种抑制为特异性竞争 HSP90 而非 17-AAG 本身的毒性作用。Shang 等^[12]研究表明 HSP90 抑制剂 (包括 17-AAG 和 GA 等) 可与 HSP70 协同促进 Smad3 降解, 而 HSP90 的过表达则可以抑制 CHIP (E3 泛素连接酶) 介导的 Smads 蛋白泛素化。故 HSP90 可通过这些机制, 导致靶细胞 (在病理性瘢痕中主要为 FB) 过度增殖, 最终促进病理性瘢痕形成。

2. HSP90 作用于 FB 及胞外基质

创伤部位 FB 的活化, 并向创伤中心迁移, 释放大量的胞外基质, 是创伤愈合以及瘢痕形成的中心环节。研究表明病理性瘢痕组织中 HSP90 表达较正常组织明显增高, 使用 HA 标记 HSP90 质粒转染人皮肤成纤维细胞诱导 HSP90 高表达

可促使胶原合成明显增加和 Smad2/3 磷酸化, 而使用 HSP90 抑制剂 17-AAG 处理可以促进瘢痕组织中 FB 凋亡及抑制 FB 向瘢痕组织迁移, 并且 17-AAG 对 FB 迁移抑制程度呈剂量依赖^[13-14]。Lee 等^[15]研究发现 17-AAG 还可抑制 FB 中 I 型胶原 mRNA 表达、TGF- β 1 分泌及 Smad2/3 复合蛋白形成, 从转录水平降低 I、III 型胶原蛋白、弹力蛋白、纤维连接蛋白合成。根据目前的研究, 推测 HSP90 这些效应最可能机制包括直接作用于 FB 促进胶原沉积以及上调 TGF- β 的信号表达间接作用。

3. HSP90 与 Toll 样受体 4 (TLR4)、Levin

TLR4 是由炎性细胞、成纤维细胞以及角质细胞表达的跨膜蛋白, 可外源性结合脂多糖, 内源性结合 HSP、粘连蛋白, 以促进伤口愈合。近年报道 TLR4 可通过 TLR-TGF-Smad 通路促进 TGF- β 信号表达, 从而在创伤愈合过程中引起病理性瘢痕形成^[16]。Thuringer 等^[17]在细胞实验中发现 HSP90 可诱导 TLR4 活化, 反之抑制 TLR4 亦可抑制 HSP90 表达。TLR4 介导肾缺血再灌注损伤后的无菌性炎症, 但 HSP90 抑制剂可通过抑制 TLR4 介导的 NF- κ B 活化而减轻肾脏损害^[18]。根据现有的研究推测 TLR4 可能在胞内结合 HSP90 共同作用于 TGF- β ^[19]。但目前关于 TLR4 与 HSP90 相互作用的研究还比较有限。Levin 是新近发现的凋亡抑制蛋白家族成员之一, 在多种肿瘤组织中高表达, 可通过多种途径抑制抑制细胞凋亡。王大伟等^[20]实验发现 Levin 在病理性瘢痕组织中表达明显增高, 且与 HSP90 的表达呈正相关, 表明两者可能协同作用于细胞的增殖和凋亡而共同促进病理性瘢痕的发生。

4. HSP90 与其他瘢痕生成相关细胞因子

高浓度 TNF- α 可抑制瘢痕生成, 低浓度时则可促进瘢痕生成。钟应佳等^[21]发现 HSP90 抑制剂可通过抑制 NF- κ B 信号通路而增强 TNF- α 诱导的肿瘤细胞凋亡, 故可推测瘢痕组织中 HSP90 可以通过抑制 TNF- α 表达, 使其维持低浓度水平促进瘢痕形成。PDGF 在创伤组织中具有强烈趋化 FB、血管平滑肌细胞及炎性细胞到达伤区增殖分化的作用, 现有最新研究发现 HSP90 可在大鼠肺动脉高压模型中抑制 PDGF 表达^[22]。此外, 早期关于 HSP90 与肿瘤形成的相关研究已证实 HSP90 还可作用于 EGF、VEGF、

胰岛素样生长因子等, 这些均是目前已知的参与瘢痕形成的重要细胞因子。

综上, 在已知的研究中, HSP90 已具有种类十分庞大的结合蛋白, 这是其参与应激、肿瘤的发生发展、纤维化病变等过程的基础。病理性瘢痕具有浸润生长及易复发的类瘤样特性, HSP90 在病理性瘢痕形成过程中作用机制复杂, 非单一因素可予准确合理的解释。目前主要观点认为 HSP90 通过调节以 TGF- β 为主的多种细胞因子, 最终导致 FB 大量迁移、增殖、分化, 并分泌过量胶原而形成病理性瘢痕。

四、HSP90 抑制剂在临床中应用前景

自 20 世纪 60 年代起即有学者展开对 HSP90 抑制剂的研究, 现已知的 HSP90 抑制剂主要有格尔德霉素及其衍生物、根赤壳菌素及其衍生物、新生霉素、除莠霉素 A、马克霉素以及以嘌呤结构为基础的合成抑制剂等, 其中格尔德霉素衍生物 17-AAG 及 17-DMAG 已相继分别进入 III 期、I/II 期临床试验, 现阶段主要作为一类新型抗肿瘤药物, 与其他类型抗癌药物协同作用^[23]。由于格尔德霉素及其衍生物的自身毒性, 目前这类药物临床应用尚比较受限。已有研究表明, 通过改变其构象, 可以显著降低格尔德霉素的肝毒性, 从而提高其临床应用的安全性^[24]。目前 HSP90 抑制剂用于纤维化疾病以及增生性瘢痕治疗目前鲜有报道, 除了药物自身毒性外, 也不排除与 HSP90 对此类疾病的作用机制尚不明确有关。但不同于肿瘤及纤维化疾病, 增生性瘢痕治疗往往以局部用药为主, 其安全性相对高于全身用药, 因此可以期望, 随着研究的深入, HSP90 抑制剂可以为这类疾病的治疗寻得一个新的研究方向。

参 考 文 献

- [1] Tuan TL, Nichter LS. The molecular basis of keloid and hypertrophic scar formation. *Mol Med Today*, 1998, 4 (1): 19-24.
- [2] 陈璧. 增生性瘢痕形成机制及其防治研究进展. *现代实用医学*, 2001, 13 (12): 585-588.
- [3] 陈晓娟, 周国富, 向小燕, 张兰. A 型肉毒毒素对增生性瘢痕影响的研究进展. *新医学*, 2016, 47 (9): 577-580.
- [4] Bellaye PS, Burgy O, Causse S, Garrido C, Bonniaud P. Heat shock proteins in fibrosis and wound healing: good or evil? *Pharmacol Ther*, 2014, 143 (2): 119-132.
- [5] Vos MJ, Hageman J, Carra S, Kampinga HH. Structural and functional diversities between members of the human HSPB,

- HSPH, HSPA, and DNAJ chaperone families. *Biochemistry*, 2008, 47 (27): 7001-7011.
- [6] Myung SJ, Yoon JH, Kim BH, Lee JH, Jung EU, Lee HS. Heat shock protein 90 inhibitor induces apoptosis and attenuates activation of hepatic stellate cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 330 (1): 276-282.
- [7] Noh H, Kim HJ, Yu MR, Kim WY, Kim J, Ryu JH, Kwon SH, Jeon JS, Han DC, Ziyadeh F. Heat shock protein 90 inhibitor attenuates renal fibrosis through degradation of transforming growth factor-beta type II receptor. *Lab Invest*, 2012, 92 (11): 1583-1596.
- [8] García R, Merino D, Gómez JM3, Nistal JF, Hurlé MA, Cortajarena AL, Villar AV. Extracellular heat shock protein 90 binding to TGFβ receptor I participates in TGFβ-mediated collagen production in myocardial fibroblasts. *Cell Signal*, 2016, 28 (10): 1563-1579.
- [9] Henke A, Franco OE, Stewart GD, Riddick AC, Katz E, Hayward SW, Thomson AA. Reduced contractility and motility of prostatic cancer-associated fibroblasts after inhibition of heat shock protein 90. *Cancers (Basel)*, 2016, 8 (9): E77.
- [10] Massagué J. TGF-β signalling in context. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13 (10): 616-630.
- [11] Wrighton KH, Lin X, Feng XH. Critical regulation of TGFβ signaling by Hsp90. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105 (27): 9244-9249.
- [12] Shang Y, Xu X, Duan X, Guo J, Wang Y, Ren F, He D, Chang Z. Hsp70 and Hsp90 oppositely regulate TGF-β signaling through CHIP/Stub1. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 446 (1): 387-392.
- [13] Lee SB, Lim AR, Rah DK, Kim KS, Min HJ. Modulation of heat shock protein 90 affects TGF-β-induced collagen synthesis in human dermal fibroblast cells. *Tissue Cell*, 2016, Dec; 48 (6): 616-623.
- [14] Yun IS, Lee MH, Rah DK, Lew DH, Park JC, Lee WJ. Heat shock protein 90 inhibitor (17-AAG) induces apoptosis and decreases cell migration/motility of keloid fibroblasts. *Plast Reconstr Surg*, 2015, 136 (1): 44e-53e.
- [15] Lee WJ, Lee JH, Ahn HM, Song SY, Kim YO, Lew DH, Yun CO. Heat shock protein 90 inhibitor decreases collagen synthesis of keloid fibroblasts and attenuates the extracellular matrix on the keloid spheroid model. *Plast Reconstr Surg*, 2015, 136 (3): 328e-337e.
- [16] Chen J, Zeng B, Yao H, Xu J. The effect of TLR4/7 on the TGF-β-induced Smad signal transduction pathway in human keloid. *Burns*, 2013, 39 (3): 465-472.
- [17] Thuringer D, Hammann A, Benikhlef N, Fourmaux E, Bouchot A, Wettstein G, Solary E, Garrido C. Transactivation of the epidermal growth factor receptor by heat shock protein 90 via Toll-like receptor 4 contributes to the migration of glioblastoma cells. *J Biol Chem*, 2011, 286 (5): 3418-3428.
- [18] O'Neill S, Humphries D, Tse G, Marson LP, Dhaliwal K, Hughes J, Ross JA, Wigmore SJ, Harrison EM. Heat shock protein 90 inhibition abrogates TLR4-mediated NF-κB activity and reduces renal ischemia-reperfusion injury. *Sci Rep*, 2015, 5: 12958.
- [19] Segreto F, Marangi GF, Gigliofiorito P, Briganti F, Persichetti P. HSP90 and TLR4 interplay in keloids. *Plast Reconstr Surg*, 2016, 137 (2): 480e-481e.
- [20] 王大伟,王喜梅,刘林峰,王琪影,彭倩,张娟,孙玉峰,张琼阁. 热休克蛋白 90 和凋亡抑制蛋白 Livin 在病理性瘢痕中的表达. *中国组织工程研究*, 2012, 16 (15): 2709-2714.
- [21] 钟应佳,王霞,郑雪莲,颜有仪,刘晓敏,廖林川. 热休克蛋白 90 抑制剂对 TNFα 诱导肿瘤细胞凋亡和调控 NF-κB 信号通路的影响. *四川大学学报 (医学版)*, 2011, 42 (3): 303-307.
- [22] Wang GK, Li SH, Zhao ZM, Liu SX, Zhang GX, Yang F, Wang Y, Wu F, Zhao XX, Xu ZY. Inhibition of heat shock protein 90 improves pulmonary arteriole remodeling in pulmonary arterial hypertension. *Oncotarget*, 2016, 7 (34): 54263-54273.
- [23] 顾觉奋. 微生物来源的 Hsp90 抑制剂——抗癌格尔德霉素衍生物 17-AAG 的研究进展. *国外医药 (抗生素分册)*, 2016, 37 (2): 52-60.
- [24] 徐洪蛟,李震宇,王贞,郝慧琳,鲁春华,朱敬,沈月毛. 17-[5-(取代肉桂酰胺基)戊二胺]-17-去甲基格尔德霉素新颖衍生物的合成. *有机化学*, 2015, 35 (10): 2125-2134.

(收稿日期: 2016-10-06)

(本文编辑: 杨江瑜)