论著

文章编号:1000-5404(2010)06-0550-04

蛋白酶体抑制剂对心肌缺血再灌注大鼠 CHIP、HSP70 的影响

戴翠莲,姜黔峰,张新民 (563003 贵州 遵义,遵义医学院附属医院心血管内科)

[摘要] **目的** 观察蛋白酶体抑制剂 MG-132(N-benz0y1oxycarbonyl(Z)-Leu -Leuleucina1)对急性缺血再灌注大鼠心肌(carboxyl terminus of the Hsc70-interacting protein, CHIP)、HSP70 的影响以探讨 MG-132 的心肌保护机制。**方法** 选择 SD 大鼠结扎左冠状动脉前降支 30 min 制作心肌缺血再灌注模型,54 只大鼠按随机数字表法分入以下各组:治疗(I/R + T)组于再灌注前 5 min 静脉注射 MG-132(0.75 mg/kg),对照(I/R)组及假手术(Sham)组注射生理盐水,并将 I/R 组和 I/R + T 组分为再灌注 2、24 h 及 7 d 亚组(各亚组各 8 只大鼠),分别用荧光定量 PCR 法及 Western blot 法检测 CHIP 及 HSP70 的 mRNA 及蛋白质表达,并进行相关性分析。**结果** 与 I/R 各时相组相比,I/R + T 各时相组 CHIP 及 HSP70 的 mRNA 水平显著升高[(0.87 ± 0.10) *vs* (0.50 ± 0.06),(0.57 ± 0.07) *vs* (0.33 ± 0.04),(0.47 ± 0.06) *vs* (0.19 ± 0.03), $P < 0.01$]。与 I/R 2、24 h 组相比 I/R + T 组 CHIP 及 mRNA 水平显著升高[(1.15 ± 0.12) *vs* (0.57 ± 0.07),(0.81 ± 0.09) *vs* (0.44 ± 0.06), $P < 0.01$];MG-132 上调了 I/R + T 各时相组 HSP70 的蛋白质表达,与 I/R 各组相比,差异均有统计学意义[(1.28 ± 0.16) *vs* (0.79 ± 0.08), (0.88 ± 0.12) *vs* (0.58 ± 0.12), (0.9 ± 0.17) *vs* (0.50 ± 0.09), $P < 0.01$];MG-132 上调了 I/R + T 2、24 h 组 CHIP 的蛋白质表达,与 I/R 2、24 h 组相比,差异有统计学意义[(1.43 ± 0.15) *vs* (1.04 ± 0.11), $P < 0.01$;(1.16 ± 0.11) *vs* (0.96 ± 0.13)], $P < 0.05$)。**结论** 心肌缺血再灌注前适量静注 MG-132 能显著刺激缺血再灌注大鼠心脏 CHIP 表达,从而进一步上调 HSP70 水平,从而保护心肌。

[关键词] 蛋白酶体抑制剂;热休克蛋白 70 羧基端相互作用蛋白;热休克蛋白 70;心肌保护

[中图法分类号] R541.05;R977.3;R394.3 **[文献标志码]** A

Proteasome inhibitor improves expressions of CHIP and HSP70 in ischemia reperfusion rats

Dai Cuilian, Jiang Qianfeng, Zhang Xinmin (Department of Cardiology, Affiliated Hospital, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou Province, 563000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the influence of proteasome inhibitor, MG-132 (N-benz0y1oxycarbonyl (Z)-Leu-Leuleucina1) on the expressions of carboxyl terminus of the Hsc70-interacting protein (CHIP) and heat shock protein 70 (HSP70) in ischemia reperfusion (I/R) rats and investigate the underlying mechanism of myocardial protection by the inhibitor. **Methods** Totally 54 adult SD rats were randomly divided into 3 groups, sham group ($n = 6$), I/R group ($n = 24$) and treatment group (I/R + T, $n = 24$). The later 2 groups were further equally divided into 3 subgroups according different time of reperfusion. Left anterior descending (LAD) coronary artery was ligated for 30 min and then released for 2 h or 24 h or 7 d in different subgroups. Five minutes before reperfusion, MG-132 at dose of 0.75 mg/kg was given intravenously in I/R + T group, but I/R group and sham group were given the same volume of normal saline. The levels of CHIP and HSP70 at mRNA and protein level were detected by real-time PCR and Western blotting respectively. The correlation between CHIP and HSP70 expression was analyzed. **Results** Compared with I/R groups, the mRNA levels of CHIP and HSP70 were significantly increased in I/R + T groups ($P < 0.01$). Accordingly, the protein expression of them in I/R + T groups were also notably raised compared with I/R groups ($P < 0.01$). MG-132 exerted its strongest effect on upregulating the levels of CHIP and HSP70 in mRNA and protein in reperfusion for 2 h. Furthermore, the mRNA and protein levels of HSP70 had significant positive correlation with the expression of CHIP in all groups ($r = 0.94$, $P < 0.01$; $r = 0.89$, $P < 0.05$). **Conclusion** MG-132 may play a role in myocardial protection by upregulating the expression of CHIP in ischemia reperfusion rats, which then further increases the level of HSP70.

[基金项目] 贵州省教育厅青年基金(C-358);贵州省优秀科技教育人才省长专项资金(黔省专合字[2007]81 号);贵州省科技厅基金(黔科合字[2007]2222 号)

[通信作者] 戴翠莲,E-mail:dai_cui_lian@yahoo.com.cn

[Key words] proteasome inhibitor; carboxyl terminus of the HSP70-interacting protein; heat shock protein 70; myocardial protection

Supported by the Young Investigator from Department of Education of Guizhou Province (C-358), Governor's Special Funds for Excellent Talents in Research and Education of Guizhou Province ([2007]81) and the Foundation of Department of Science and Technology of Guizhou Province ([2007]2222). Corresponding author: Dai Cuilian, E-mail: dai_cui_lian@yahoo.com.cn

近期研究表明,于心肌缺血再灌注前静脉注入蛋白酶体抑制剂MG-132[N-benzoyloxycarbonyl(Z)-Leu-Leuleueina1]能够减少心肌缺血再灌注损伤[1,2],而蛋白酶体抑制剂对急性应激的保护作用可能是通过诱导内源性保护蛋白HSP70的表达实现的。热休克蛋白70羧基端相互作用蛋白(carboxyl terminus of the Hsc70-interacting protein,CHIP),既是热休克蛋白的辅助伴侣又是一个E3连接酶,是热休克蛋白与泛素-蛋白酶体系统之间的连接蛋白,在应激条件下发挥重要的协调作用。本实验将研究MG-132对心脏CHIP、HSP70的影响及其是否具有协同作用,以进一步探讨MG-132的心脏保护机制。

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立和分组

成熟SD大鼠54只,体质量(220±50)g,雌雄各半(第三军医大学实验动物中心提供)。模型建立方法参照文献[2]进行。以3.5%水合氯醛(10 ml/kg)腹腔注射麻醉后将大鼠接心电图机,气管插管后接小动物呼吸机。于胸骨左缘0.5 cm逐层打开胸腔,剪开心包,于左冠状动脉前降支(LAD)发出约2 mm处穿线,打活结以阻断其血流30 min,造成急性心肌梗死后,松开结扎线则形成再灌注。以心电图改变及心肌颜色变化作为心肌缺血再灌注模型成功的标志。

利用随机数字表法,将大鼠分为:①缺血再灌注对照(I/R)组,结扎大鼠LAD,30 min后再灌注,于再灌注前5min静脉注入蛋白酶体抑制剂MG-132(Calbiochem公司,0.75 mg/kg,溶于5 ml生理盐水),并根据再灌注时间的不同,将该组大鼠随机分为再灌注2、24 h及7 d 3个亚组,每个亚组8只大鼠;②缺血再灌注+MG-132处理(I/R+T)组,缺血和再灌注时间以及分组的情况完全同I/R组,于再灌注前5min静脉注入5 ml生理盐水;③假手术(Sham)组,为一组6只大鼠,手术过程及给药情况同I/R组,但只穿线不打结。所有大鼠术后均予长效青霉素40万单位腹腔内注射。

1.2 采集标本及检测指标

1.2.1 实验标本准备 按上述分组方法的时间点取材,于腹腔内注入致死量的水合氯醛,在心脏停跳前右心室取血,摘取心脏,迅速分离出左心室,从结扎点开始沿长轴横切成2 mm的薄片,用于荧光定量PCR及Western blot检测。

1.2.2 荧光定量PCR半定量检测CHIP及HSP70 mRNA表达

1.2.2.1 试剂和仪器 Trizol、逆转录反应试剂盒及实时荧光定量PCR试剂盒均购自购自大连宝生物公司(TaKaRa,日本),荧光定量PCR仪购自德国Eppendorf公司。

1.2.2.2 实时荧光定量PCR 提取心肌总RNA(按照说明书进行),计算RNA的纯度。进行逆转录反应(TaKaRa公司产品),合成的cDNA储存在-20 ℃条件下备用。引物由上海生物工程技术有限公司合成,以β-actin为内参照,引物如下:CHIP(117 bp)上游:5′-AGTGCGCAAGAGCTCAAGGA-3′,5′-GTAGTACACTGCCACAAGTGGGTTC-3′;HSP70(107 bp)上游:5′-GCTCTAGAGGCCATTGGTTGGA-3′,下游:5′-AGAGTATGCA-CTCGGCCTGGA-3′;β-actin(126bp)上游:5′-GCGAGAAGAT-GACCCAGATC-3′;下游:5′-CCAGTGGTACGGCCAGAGG-3′。制备cDNA,逆转录体系为5×PrimeScript™ Buffer 2 μl,PrimeScript™RT Enzyme Mix Ⅰ0.5 μl,Oligo dT Primer 0.5 μl,Random 6 mers 0.5 μl,模板RNA 6.5 μl。反应参数为37 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s,循环次数1次。定量PCR检测在LightCycler荧光定量PCR仪上进行。20 μl反应体系,反应液中包括SYBR Premix Ex *Taq*™ 10 μl,PCR Forward Primer及PCR Reverse Primer各0.4 μl,ddH_2O 7.8 μl,模板RNA 2 μl。CHIP、HSP70及β-actin的PCR反应条件分别为95 ℃ 10 s,1个循环,95 ℃ 5 s、61.4 ℃ 20 s 40个循环。每份标本设3个复孔,取其循环阈值(Ct)均值,分别计算各组的△C(△Ct=$Ct_{HSP70/CHIP}-Ct_{\beta\text{-actin}}$),再依公式△△Ct=$\triangle Ct_{HSP70/CHIP}-\triangle Ct_{\beta\text{-actin}}$计算△△Ct,$2^{-\triangle\triangle Ct}$为模板中目的基因的相对比值。

1.2.3 CHIP、HSP70蛋白质水平表达的检测 取大鼠心肌组织提取心肌总蛋白(按照说明书进行),BCA-100测定蛋白含量。取40 μg等量蛋白经10% SDS-PAGE电泳后转至PVDF膜上,用含5%脱脂奶封闭1 h后分别与兔抗鼠CHIP、HSP70及β-actin抗体(Santa Cruz公司产品,以TBS稀释,浓度分别为1∶750、1∶500、1∶500)室温孵育2 h;洗膜后与二抗(羊抗兔IgG)室温孵育1 h后化学发光显影,凝胶成像系统拍照、扫描分析。用UVP公司LabWorks 4.5软件对条带进行定量分析,以目的条带和β-actin条带积分吸光度值比值作为最终结果。

1.3 统计学处理

用SPSS 13.0统计软件进行分析,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,组间比较采用t检验,并用直线相关分析法进行相关性分析。

2 结果

2.1 各组大鼠生存及死亡分析

大鼠总生存率为87.0%,其中I/R组存活20只(83.3%),分别为I/R组2 h 6只、I/R组24 h 7只、I/R组7 d 7只;I/R+T组存活21只(87.5%),3个时间点亚组均为7只;Sham组6只均存活。

2.2 荧光定量PCR半定量CHIP和HSP70 mRNA的表达

2.2.1 HSP70 mRNA水平 与Sham组相比,I/R 2 h后HSP70的水平即显著升高,并可持续达7 d以上;与I/R相应各亚组相比,I/R+T各亚组的HSP70 mRNA均显著增加($P<0.01$),尤以2 h为最显著(表1,图1)。

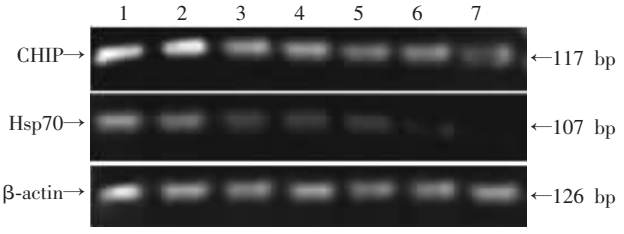
2.2.2 CHIP mRNA水平 与I/R组2 h相比,I/R+T组2 h的CHIP mRNA水平显著升高($P<0.01$);I/R+T组24 h比I/R组24 h升高84% ($P<0.01$);I/R+T组7 d较I/R组7 d增

加19%($P=0.08$);各组中,CHIP mRNA水平均以2 h为最多,随着时间的延长而逐渐降低(表1,图1)。

表1 各组HSP70及CHIP的mRNA水平($\bar{x}\pm s$)

组别	n	HSP70 mRNA	CHIP mRNA
I/R组2 h	6	0.50±0.06	0.57±0.07
I/R组24 h	7	0.33±0.04	0.44±0.06
I/R组7 d	7	0.19±0.03	0.42±0.04
I/R+T组2 h	7	0.87±0.10[a]	1.15±0.12[a]
I/R+T组24 h	7	0.57±0.07[b]	0.81±0.09[b]
I/R+T组7 d	7	0.47±0.06[c]	0.50±0.07
Sham组	6	0.07±0.03	0.22±0.04

a:$P<0.01$,与I/R组2 h比较;b:$P<0.01$,与I/R组24 h比较;c:$P<0.01$,与I/R组7 d比较



1:I/R+T组2 h;2:I/R+T组24 h;3:I/R+T组7 d;4:I/R组2 h;5:I/R组24 h;6:I/R组7 d;7:Sham组

图1 各组心肌组织HSP70及CHIP的荧光定量PCR电泳结果

2.2.3 HSP70与CHIP mRNA表达量的相关性分析 结果显示:各组大鼠心肌组织中的HSP70 mRNA表达量与心肌组织中的CHIP mRNA表达量呈显著正相关($r=0.94$,$P<0.01$)。

2.3 Western blot检测HSP70及CHIP的蛋白质表达

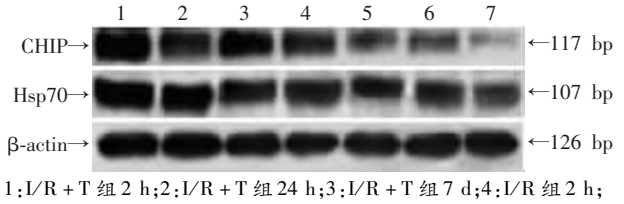
2.3.1 HSP70蛋白质水平 与Sham组相比,I/R各亚组的HSP70水平明显升高($P<0.01$),是Sham组的3.76倍。MG-132处理显著升高了HSP70的表达,I/R+T组2、24 h和7 d分别较I/R相应各亚组升高了62%、52%、98%($P<0.01$,表2,图2)。

2.3.2 CHIP蛋白质水平 CHIP在心肌中特异表达,Sham组即有较高水平。心肌缺血再灌注后2、24h,CHIP蛋白质表达较Sham组分别升高53%和41%($P<0.01$),再灌注7d较Sham组升高17%($P=0.06$)。与I/R各亚组相比,MG-132处理使CHIP蛋白质表达在I/R+T组2、24h及7d分别升高38%、21%及10%($P<0.01$,$P<0.05$,表2,图2)。

表2 CHIP和HSP70的蛋白质水平($\bar{x}\pm s$)

组别	n	HSP70/β-actin	CHIP/β-actin
I/R组2 h	6	0.79±0.08	1.04±0.11
I/R组24 h	7	0.58±0.12	0.96±0.13
I/R组7 d	7	0.50±0.09	0.80±0.10
I/R+T组2 h	7	1.28±0.16[a]	1.43±0.15[a]
I/R+T组24 h	7	0.88±0.12[b]	1.16±0.11[c]
I/R+T组7 d	7	0.99±0.17[d]	0.88±0.16
Sham组	6	0.21±0.02	0.68±0.13

a:$P<0.01$,与I/R组2 h比较,b:$P<0.01$,c:$P<0.05$,与I/R组24 h比较;d:$P<0.01$,与I/R组7 d比较



1:I/R+T组2 h;2:I/R+T组24 h;3:I/R+T组7 d;4:I/R组2 h;5:I/R组24 h;6:I/R组7 d;7:Sham组

图2 各组心肌组织HSP70及CHIP的蛋白质水平

2.3.3 HSP70与CHIP蛋白表达量的相关性分析 各组大鼠心肌组织中的HSP70蛋白质表达量与心肌组织中的CHIP蛋白质表达量呈显著正相关($r=0.89$,$P<0.05$)。

3 讨论

泛素-蛋白酶体系统是真核细胞内蛋白质代谢的重要途径[3,4],其维持细胞稳态的关键点在于E3泛素连接酶家族成员对底物的特异性识别[5]。CHIP即为含有U-box的E3家族成员,能够结合伴侣分子识别异常或错误折叠的蛋白质被26S蛋白酶体降解,研究发现,CHIP能够促进诱导型一氧化氮合酶的泛素化降解[6]。热休克蛋白70是热休克蛋白中最保守和最主要的一类,它的降解由泛素-蛋白酶体系统控制,在应激条件下可被诱导产生。近期研究发现,HSP70在组织保护及应激损伤的修复中具有重要作用[4],HSP70的作用须与辅助因子共同实现。CHIP即是HSP70的辅助伴侣又是E3泛素连接酶,能通过TPR结构域与HSP70相连。目前,在心肌缺血再灌注大鼠中CHIP对HSP70起了怎样的调节作用还不清除,本研究建立大鼠心肌缺血再灌注模型,设立假手术组、缺血再灌注对照组、缺血再灌注加MG-132干预组,用RT-PCR半定量检测心肌组织HSP70、CHIP的mRNA表达以及用Western blot法检测其蛋白质水平表达,并进行相关性分析,以期阐述泛素-蛋白酶体途径在心肌保护中的作用。

本研究发现,心肌缺血再灌注后2 h心肌组织中的HSP70 mRNA水平即明显升高,再次证明应激刺激能够增加HSP70的表达,而大鼠心肌组织高表达的HSP70可以明显提高心肌细胞对缺血的耐受性,保护和改善了缺血后的心脏功能[7]。在缺血再灌注1 d及7 d后,HSP70仍处于高水平表达,但较2 h组降低,说明缺血再灌注刺激诱导HSP70表达的心肌保护作用发生于缺血再灌注的早期,而随着时间的延长,其心肌保护作用减弱。让我们感到振奋的是,在心肌缺血再灌注大鼠的心肌组织中,CHIP确实与HSP70的高水平有关,二者平行增高且极具相关性。

近期研究表明,无论是不稳定的心绞痛患者[8]还是慢性心力衰竭患者[9],均存在着泛素-蛋白酶体系统不同程度的激活,本课题组在以往的研究中已经证实,于心肌缺血再灌注早期静脉注入适量的蛋白酶体抑制剂MG-132显著抑制了心肌缺血再灌注损伤[1,2]。由于CHIP即是HSP70的分子伴侣,又是E3泛素连接酶,在蛋白质更新中具有关键作用,我们的兴趣在于在上述模型中,当抑制UPS时对CHIP的影响如何。本结果发现,与缺血再灌注组相比,蛋白酶体抑制剂MG-132不但没有减少CHIP的水平,而且显著增加了心肌缺血再灌注大鼠CHIP mRNA的表达量,同时也刺激HSP70处于高水平,二者显著正相关($r=0.94$,$P<0.01$)。免疫印迹半定量分析显示,与基因表达结果

相同,缺血再灌注2h CHIP和HSP70的蛋白质水平开始升高且为最高,上述结果可以持续7 d以上;MG-132进一步增加了CHIP和HSP70的蛋白质表达,二者呈正相关($r=0.89$,$P<0.05$),这与Zhang等[10]的结果相似。该学者研究发现,基因敲除CHIP组大鼠与野生组大鼠比较,基因敲除CHIP组大鼠在心肌缺血再灌注损伤后HSP70表达的减弱伴随着心肌梗死面积增加了50%;原位分析同样指出基因敲除CHIP组大鼠心脏更易于发生凋亡(Caspase3水平增加了50%)。最近国外的几个研究同样显示在体外细胞和在体神经细胞使用MG-132能明显增加CHIP和HSP70表达,Dikshit等[11]发现MG-132能明显增加体外培养的He-La细胞CHIP mRNA水平,过度表达的CHIP通过修复或降解过量的错折叠蛋白质而在应激环境下起了重要的保护作用;Kumar等[12]在神经细胞用siRNA发现,CHIP与HSP70相互作用能够使神经细胞免受β淀粉蛋白诱导的毒性作用,CHIP增加了细胞内β-淀粉前体蛋白(β-APP)的水平并能保护神经细胞免受氧化应激和降解。在MG-132的作用下,HSP70、CHIP和βAPP复合体更加稳定,能加强CHIP诱导底物往蛋白质修复方向发展。CHIP不但提高了急性应激时的HSP70的水平。而且调节了应激蛋白的更新。其双向作用调节主要是CHIP优先泛素化降解伴侣结合底物,而且,只有当错误折叠底物清除干净后才通过CHIP依赖的UPS降解HSP70[13]。

应激环境时HSP70通过结合损伤蛋白质、修复并维持其结构的稳定性,从而减轻蛋白质的损伤和聚集,达到心肌保护的作用;另外研究还发现,HSP70具有抑制凋亡[4],维护心肌Ca^{2+}稳定等作用[14]。CHIP作为双分子开关,一方面通过调控HSP70的表达修复损伤蛋白质,另一方面作为E3连接酶参与损伤蛋白质的泛素-蛋白酶体途径降解,心肌缺血再灌注时过度表达的CHIP通过修复或降解过量的错折叠蛋白质而起了重要的保护作用。我们分析,早期使用MG-132可以暂时性引起损伤蛋白质增多,从而刺激CHIP/HSP70表达量增多;同时,蛋白酶体抑制剂能够进一步上调CHIP的水平后刺激HSP70的表达量,加速损伤蛋白质修复及泛素化降解,并发挥抗炎症、抑制凋亡等作用。本实验在活体中于心肌缺血再灌注前静脉注入一次小剂量的蛋白酶体抑制剂MG-132,2 h组大鼠就显示出高水平的CHIP及HSP70的基因及蛋白质表达,说明,MG-132具有心肌保护作用。但是随后出现的与2 h组比较的低水平表达,我们认为与使用的MG-132的时间及剂量有关。下一步将对该模型大鼠每天静脉注入一次小剂量的MG-132,来观察心肌中上述指标的变化,以说明MG-132是否具有心肌保护的持续作用。

由于UPS对蛋白质更新的重要作用,故过度抑制UPS对心肌是有害的。本研究表明,于心肌缺血再灌注前静脉注入MG-132(0.75mg/kg)并不会完全阻断UPS通路,当损伤蛋白质聚集时,CHIP能发挥它的另一个开关功能去协助UPS降解这些无法修复蛋白质,同时还能刺激CHIP mRNA和蛋白质表达,而进一步上调HSP70水平,以加强心肌细胞保护作用。本实验为心肌缺血再灌注损伤的预防提供了新的手段。

参考文献:

[1] 戴翠莲, 罗开良, 陈章荣, 等. 抑制UPS对缺血再灌注大鼠心肌Hsp27和TNF-α的影响[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(22): 2115-2119.

[2] 戴翠莲, 罗开良. 蛋白酶体抑制剂MG-132下调炎症因子表达抑制大鼠心肌再灌注损伤[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(2): 129-133.

[3] Dayal S, Sparks A, Jacob J, *et al*. Suppression of the deubiquitinating enzyme USP5 causes the accumulation of unanchored polyubiquitin and the activation of p53[J]. J Biol Chem, 2009, 284(8): 5030-5041.

[4] Moresi V, Garcia-Alvarez G, Pristera A, *et al*. Modulation of caspase activity regulates skeletal muscle regeneration and function in response to vasopressin and tumor necrosis factor[J]. PloS One, 2009, 4(5): e5570.

[5] Pickart C M, Eddins M J. Ubiquitin: structures, functions, mechanisms[J]. Biochem Biophys Acta, 2004, 1695(1-3): 55-72.

[6] Chen L, Kong X, Fu J, *et al*. CHIP facilitates ubiquitination of inducible nitric oxide synthase and promotes its proteasomal degradation[J]. Cell Immunol, 2009, 258(1): 38-43.

[7] Kim S H, Koh G Y, Cho K W, *et al*. Stretch-activated atrial natriuretic peptide secretion in atria with heat shock protein 70 overexpression [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2003, 228(2): 200-206.

[8] Marfella R, Di-Filippo C, Portoghese M, *et al*. The ubiquitin-proteasome system contributes to the inflammatory injury in ischemic diabetic myocardium: the role of glycemic control[J]. Cardiovasc Pathol, 2009, 18(6): 332-345.

[9] Van-Hees H W, Li Y P, Ottenheijm C A, *et al*. Proteasome inhibition improves diaphragm function in congestive heart failure rats[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2008, 294(6): L1260-L1268.

[10] Zhang C, Xu Z, He X R, *et al*. CHIP, a cochaperone/ubiquitin ligase that regulates protein quality control, is required for maximal cardioprotection after myocardial infarction in mice[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288 (6): H2836-H2842.

[11] Dikshit P, Jana N R. The co-chaperone CHIP is induced in various stresses and confers protection to cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 357(3): 761-765.

[12] Kumar P, Ambasta R K, Veereshwarayya V, *et al*. CHIP and HSPs interact with beta-APP in a proteasome-dependent manner and influence Abeta metabolism[J]. Hum Mol Genet, 2007, 16 (7): 848-864.

[13] Qian S B, McDonough H, Boellmann F, *et al*. CHIP-mediated stress recovery by sequential ubiquitination of substrates and HSP70[J]. Nature, 2006, 440(7083): 551-555.

[14] Prentice H M, Milton S L, Scheurle D, *et al*. The upregulation of cognate and inducible heat shock proteins in the anoxic turtle brain [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2004, 24 (7): 826-828.

(**收稿**:2009-09-06;**修回**:2009-11-06)

(编辑 张 维)