心血管疾病 DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001119

从保护线粒体角度谈热休克蛋白 22 的心肌保护作用

曾圣强，吴延庆
（南昌大学第二附属医院心血管内科，南昌 330006）

【摘 要】线粒体是真核生物细胞内能量代谢和信号转导的关键细胞器。线粒体功能障碍会导致 ATP 合成障碍和氧化呼吸链结构异常，与许多疾病的发生发展存在密切联系。热休克蛋白 22(heat shock protein 22，HSP22)属于小分子热休克蛋白超家族成员之一。哺乳动物心肌在各种应激(如缺血、压力超负荷)情况下，可诱导其表达上调并通过调节线粒体功能发挥促进心肌生存及维持心肌功能等重要心肌保护作用。因此，HSP22 有望成为治疗以线粒体功能障碍为病理学基础疾病的潜在途径。同时，HSP22 在延缓心脏衰老中可能发挥重要作用。本文从保护线粒体功能方面综述在各种病理生理情况下 HSP22 的心肌保护作用。

【关键词】热休克蛋白 22；线粒体；心肌保护；衰老
【中图分类号】R541.4 【文献标志码】A 【收稿日期】2015-12-19

Cardioprotection of heat shock protein 22 from the perspective of mitochondrial protection

Zeng Shengqiang, Wu Yanqing
(*Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Nanchang University*)

【Abstract】Mitochondria are critical organelles of energy metabolish and signal transduction in eukaryotes. Mitochondrial dysfunction leads to impaired ATP generation and structural alterations of the respiratory chain, which closely relates to the development and progression of many diseases. Heat shock protein 22(HSP22) is a member of the superfamily of small heat shock proteins. HSP22, up-regulated by various conditions of mammalian myocardial stress, such as ischemia and cardiac overload, plays a critical role of promoting myocardial survival and maintaining myocardial function. Therefore, HSP22 may be a new potential treatment of diseases whose etiology is based upon dysfunction of mitochondria. Meanwhile, HSP22 may play a vital role in slowing down cardiac aging. We review the cardioprotection of HSP22 under physiological and pathological conditions from mitochondrial protection perspective.

【Key words】heat shock protein 22; mitochondria; myocardial protection; aging

线粒体是所有真核生物细胞内重要的细胞器，在细胞能量代谢、信号转导、调节 Ca^{2+} 稳态和介导细胞凋亡等过程中均发挥重要作用。线粒体在心肌保护中具有非常重要的意义。其中，线粒体通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore，mPTP)在线粒体心肌保护中发挥重要作用。mPTP 是线粒体发挥重要功能的核心，在病理状态下可起致死性作用。线粒体内稳态的调节是一个复杂且受到严格调控的过程，线粒体内稳态失衡常和严重的人类疾病相联系[1]。研究表明，线粒体功能障碍与扩张型心肌病、缺血再灌注损伤和心力衰竭等心血管疾病的发生发展密切相关。因此，线粒体是心血管疾病的潜在治疗靶点，已成为医药研究的热点。

热休克蛋白(heat shock proteins，HSPs)是生物体在各种物理、化学、微生物及精神等应激条件下诱导产生的一类结构高度保守的特殊蛋白质，广泛参与多种细胞内过程的调节，发挥重要的“管家”作用，从而帮助受损蛋白恢复正常结构和功能并且抵御外部有害刺激，促进细胞存活和适应外界环境。分子量为 12~43 kD 的 HSPs 被称为小热休克蛋白(small heat shock proteins，sHSPs，HSPB)，根据基因命名委员会(HUGO Gene Nomenclature Committee)指南，将其成员分别命名为 HSPB1~HSPB11[2]。热休克蛋白 22(heat shock protein 22，HSP22)属于 sHSPs 超家族成员之一，具有分子伴侣、内在激酶活性、调节异常蛋白质降解(通过蛋白酶体或自噬作用)等生物学功能，并且 HSP22 在保护心肌细胞生存、抗缺血、抗心肌重构和炎性反应方面都有着积极的作用[3]。近年来，随着

作者介绍：曾圣强，Email：471728550@qq.com，
研究方向：主要从事冠心病临床与基础研究。
通信作者：吴延庆，Email：wuyanqing01@sina.com.cn。
基金项目：国家自然科学基金地区科学基金资助项目(编号：81260025)。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20161215.1720.104.html (2016-12-15)

对 HSP22 研究的深入，发现 HSP22 的心肌保护作用与其对线粒体功能的调节有密切联系。

1 HSP22 的组织分布与结构

1.1 HSP22 的组织分布

HSP22 广泛表达于人体各种组织中，但其 mRNA 在骨骼肌、平滑肌、脊髓、运动和感觉神经元、心脏、前列腺、肺及肾脏等组织中高度表达[4]。目前关于 HSP22 的细胞内分布尚不明确，不同组织细胞中 HSP22 的亚细胞分布亦不相同。在小鼠心肌细胞，HSP22 分布于细胞核、线粒体、微粒体及细胞质基质部分[5]。Rashed 等[6]发现 HSP22 主要存在于哺乳动物心肌线粒体内膜。这一研究发现与在果蝇模型中观察到 HSP22 主要存在于线粒体基质中的结果完全不同，造成此差异的原因可能是由于 2 种不同模型存在种属差异和组织特异性。线粒体内膜是氧化磷酸化产生 ATP 的主要部位，而 HSP22 的此种独特线粒体定位提示其在线粒体呼吸中的潜在作用。在人神经母细胞瘤细胞系，HSP22 主要存于细胞质和细胞核中，部分定位于细胞膜[7]；HSP22 的细胞膜定位和相互作用可能是其发挥信号转导等功能的基础。

1.2 HSP22 的分子结构

人类 HSP22 分子量为 21.6 kD，等电点呈酸性。主要由 C 末端 α 晶体蛋白结构域和 N 末端结构域构成，N 末端结构域含有一个疏水 WD/PF 模体和选择性丝氨酸磷酸化位点，C 末端结构域含有一个柔性尾部和保守的(I/V/L)-X-(I/V/L)三肽模体[8]。α 晶体蛋白结构域位于 N 末端结构域与 C 末端区域（即 C 末端延伸）之间，由 6 个 β 折叠股组成并形成 2 个 β 折叠[9-10]。β 折叠形成一个分子间 β 折叠作用位点，可通过 β 折叠伸展环交换折叠股形成二聚体[11-12]。

HSP22 的一级结构包含许多脯氨酸残基，其特定部分似乎能够形成含有 2 个或 3 个 PXXP/PXP 重复序列的Ⅱ型多聚脯氨酸（PPⅡ）短链[13]。HSP22 的二级结构富含 β 折叠股和无序结构，本质上属于无序蛋白。N 末端结构域含有 α 螺旋结构，能够调节低聚体的形成和分子伴侣活性。柔性的 C 末端延伸能稳定四级结构和增加蛋白质/底物复合物的溶解性[14]。HSP22 的四级结构仍存在疑问，以往认为 HSP22 在体外只以单体形式存在；但是后续研究表明 HSP22 还能以二聚体、四聚体，甚至八聚体的形式存在[15]。

2 HSP22 心肌保护作用与线粒体

2.1 HSP22 对线粒体呼吸的调节

2.1.1 HSP22 通过 NO 依赖机制调节线粒体呼吸 心肌缺血再灌注损伤中，HSP22 的保护作用等同于缺血预处理（ischemic preconditioning，IPC）。HSP22 持续过表达小鼠心肌梗死面积与经缺血预处理小鼠心肌梗死面积无差异，同样能够上调 IPC 保护效应调控因子诱生型一氧化氮合酶（isoform of nitric oxide synthase，iNOS）的表达且表达水平一致[16]。而且 HSP22 短时过表达预处理心肌足以激活 IPC 第二窗保护效应中 iNOS 和 HSPs 两条重要的保护性信号通路，并且发挥 NO 依赖的心肌保护作用[17]。

线粒体为 NO 介导的缺血预处理心肌保护作用的主要作用靶点，NO 能抑制细胞色素氧化酶和细胞色素 C 的释放，促进线粒体的发生和减少活性氧（reactive oxygen species，ROS）的产生从而抑制 mPTP 的开放，维持线粒体内稳态。最近的研究证实 HSP22 的 NO 依赖心肌保护作用与调节线粒体呼吸功能密切相关[6,18]。Laure 等[18]发现 HSP22 在常氧和缺氧情况下均可通过 NO 依赖机制调节线粒体呼吸链功能，即在常氧情况下可刺激线粒体氧化磷酸化过程，而缺氧后则抑制线粒体氧化磷酸化和 ROS 的产生。HSP22 通过 NO 的介导作用增加线粒体呼吸链各复合体数量而不影响各自的活性，但是对线粒体的发生无促进作用。HSP22 的 NO 依赖心肌保护作用受到 iNOS 调控，HSP22 能通过激活 NF-κB 与 STAT3 等转录因子诱导 iNOS 表达明显上调，进而使 NO 合成增加且不会产生毒性作用[16,18]。Laure 等还发现 HSP22 能诱导线粒体中的一氧化碳合酶（nitric oxide synthase，NOS）明显增加，但是不能确定增加的 NOS 是否为 iNOS。线粒体自身的 NOS 同样能生成 NO，他们认为胞质和线粒体来源的 NO 均参与 HSP22 对粒体呼吸的调节作用。但是，最新研究证实线粒体内 iNOS 起关键作用而非整个细胞内 iNOS 表达水平[6]。因此，HSP22 通过 NO 依赖机制调节心肌细胞线粒体呼吸功能并且该保护作用受到线粒体内 iNOS 的调节。

2.1.2 HSP22 的线粒体转位作用 HSP22 的线粒体转位在保护心肌线粒体呼吸作用中发挥关键作用。Marunouchi 等[19]发现 HSP22 定位于线粒体外膜和内膜，心肌梗死后心衰心肌线粒体外膜和内膜 HSP22 含量均下降，并证实 HSP22 线粒体转位减少会导致线粒体能量合成障碍。Marunouchi 等[20]通过替普瑞酮诱导 HSP22 合成延缓心衰心肌线粒体 HSP22 下降发现线粒体能量合成和心脏泵血能力改善。

目前 HSP22 的线粒体转位机制尚不清楚，其转位机制可能与线粒体蛋白转运装置（即 TOM 及 TIM 复合体）有关。最新研究中，Rashed 等[6]发现 HSP22 主要定位于心肌细胞线粒体内膜，不仅上调 SCL25 家族成员（负责线粒体内膜的分子转运）基因表达，还与该家族成员 SLC25A25 存在相互作用；同时，HSP22 还能诱导 HSP70 表达明显增加[16,18]，线粒体与胞质 HSP70 在介导线粒体蛋白转运、折叠及组装过程中发挥关键作用。这些研究都表明 HSP22 能够调节线粒体分子载体基因和 HSPs 基因表达，可能为其线粒体转位机制之一。目前研究发现 HSP22 通过其 N 末端结构域转位至线粒体内，N 末端结构域缺失阻断了 HSP22 与 iNOS 线粒体转位，并且阻碍其对线粒体氧化磷酸化的调节[6]；但对核基因的调节并没有受到影响[21]。N 末端结构域可能起转运肽的作用并被

TOM及TIM复合体识别而转运至线粒体内。因此，HSP22的心肌保护作用可能是基因转录调节和线粒体定位协同作用的结果；但是HSP22和iNOS的相互作用及转入机制还需要在亚细胞水平进行更多研究。

2.1.3 HSP22通过激活转录因子STAT3刺激线粒体呼吸 心肌超负荷是心衰的主要原因之一，在超负荷状态下，心肌HSP22表达上调，STAT3转位至线粒体并且刺激线粒体氧化磷酸化过程。但是在HSP22基因敲除的小鼠中发现STAT3的转位和刺激线粒体呼吸作用明显减弱，并且在心肌压力超负荷情况下会导致心室离心性肥大扩张、加速心肌重构和收缩功能减退，加剧心衰的进展，导致死亡率增加[21]。因此，在心肌超负荷情况下，HSP22发挥激活STAT3线粒体功能的作用，从而减轻心肌损伤，延缓心衰进展。

2.2 HSP22对线粒体异常蛋白质的降解

2.2.1 维持线粒体膜电位 研究表明，异常蛋白质聚集与许多心血管疾病（如心肌病、心肌梗死、心衰及心律失常等）相联系。HSP22能通过蛋白酶体及分子伴侣作用清除或者纠正错误折叠及未折叠蛋白，避免其在细胞内聚集而保护细胞功能。HSP22同样能够抑制病理情况下线粒体内异常蛋白聚集从而维持线粒体膜极化状态及功能。HSP22基因错义突变导致细胞内错误折叠蛋白质聚集而引起远端型遗传性运动神经元病（distal hereditary motor neuropathy，dHMN）。HSP22突变使dHMN患者真皮纤维原细胞线粒体膜电位明显下降，在晚发型疾病中，随着去极化线粒体积累及加剧导致细胞内稳态失衡，使线粒体代谢障碍及神经元变性[22]。维持线粒体膜电位极化可能也是HSP22的心肌保护作用机制之一。

2.2.2 抑制线粒体凋亡途径 线粒体是多种促细胞凋亡信号转导分子的靶点。HSP22能够通过调节caspase-9、Bad及Bcl2阻断凋亡的线粒体途径[16,23]，减少线粒体细胞色素C的释放而抑制细胞凋亡[24]。HSPB5（αB-晶体蛋白）基因的arg120gly（R120G）位点错义突变会引起淀粉样低聚体蛋白沉积而导致结蛋白相关心肌病（desmin-related cardiomyopathy，DRM）。淀粉样低聚体的毒性作用不仅会引起线粒体功能障碍，还会导致线粒体细胞色素C释放而诱导凋亡。HSP22不仅能阻断淀粉样低聚体形成而保护线粒体功能，还能抑制线粒体细胞色素C的释放、caspase-3的激活和TUNEL阳性心肌细胞死亡[25]。HSP22也许能够为DRM及其他淀粉样变性疾病提供一种新的治疗策略。

3 HSP22与衰老

心脏衰老是机体内在生理过程并伴随其功能的衰退。作为能量代谢旺盛的器官，线粒体在心脏衰老中发挥重要作用。线粒体是主要的供能场所并且参与调节多种凋亡信号通路，在维持细胞稳态和长寿方面起关键作用。心脏衰老伴随线粒体ROS蓄积、蛋白质质控系统失调及内稳态失衡，与许多心血管疾病相联系[26]。黑腹果蝇HSP22是一种线粒体蛋白，在衰老过程中高表达表明其在抗氧化应激中发挥作用[27]。HSP22能上调果蝇线粒体氧化磷酸化系统基因表达，如线粒体呼吸链复合体I基因，其包含的CG3214、ND23、CG9172基因分别与哺乳动物NADUFA12、NDUFS8、NDUFS7基因同源，还有VIIc基因与哺乳动物coxVIIc/cox7c基因同源等[28]。HSP22能使控制果蝇线粒体能量及蛋白质合成基因表达上调并维持线粒体稳态，从而减轻氧化应激损伤和延长寿命。

目前线粒体HSP22对基因表达的具体调控机制尚不明确，但HSP22可能并不是通过直接启动线粒体与细胞核之间复杂的信号瀑布，而是通过维持线粒体内蛋白质稳态改变线粒体状态，进而间接通过线粒体与细胞核之间持续联系影响核基因表达，从而影响线粒体功能和完整性。因此，维持线粒体稳态在HSP22介导的延长寿命作用中占中心地位。此外，在衰老导致的线粒体蛋白合成受损刺激下，HSP22表达明显上调并且参与线粒体非折叠蛋白反应（mitochondrial unfolding protein response，mtUPR）以修复或者移除错误折叠蛋白质；而且果蝇HSP22能够影响自身表达水平进而放大mtUPR的作用[29]。果蝇HSP22还能通过减弱线粒体代谢阻止来自衰老的损伤[30]。目前缺乏关于哺乳动物HSP22在心脏衰老方面的研究，但是85%的果蝇基因与人类基因同源，并且果蝇HSP22基因可能是人类HSP22直系同源基因[31]，因此，HSP22可能在哺乳动物心脏衰老过程中同样发挥着重要作用。

4 小 结

综上所述，HSP22主要存在于线粒体内膜，并且通过促进线粒体呼吸、维持线粒体稳态及抑制凋亡的线粒体途径发挥维持心肌功能及促进心肌细胞生存等心肌保护作用。HSP22的心肌保护作用可能是基因表达调控和N末端结构域介导的线粒体转位协同作用的结果。此外，HSP22还可能通过抗氧化应激、调节线粒体氧化磷酸化系统基因表达及参与mtURP等作用维持线粒体内稳态，参与抗心脏衰老过程。因此，HSP22有望成为治疗以线粒体功能障碍为病理学基础疾病的潜在途径，并且可能为延缓心脏衰老、延长寿命提供新思路，但是HSP22在线粒体中的生物学功能仍有待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Brenner C，Moulin M. Physiological roles of the permeability transition pore[J]. Circ Res，2012，111(9)：1237-1247.

[2] Kirbach BB，Golenhofen N. Differential expression and induction of small heat shock proteins in rat brain and cultured hippocampal neurons[J]. J Neurosci Res，2011，89(2)：162-175.

[3] 涂小丽，吴延庆. HSP22 在心血管疾病中作用的研究进展[J]. 武汉大学学报(医学版)，2015，36(5)：827-830.

[4] Acunzo J，Katsogiannou M，Rocchi P. Small heat shock proteins HSP27(HSPB1)，αB-crystallin(HSPB5) and HSP22(HSPB8) as regulators of cell death[J]. Int J Biochem Cell Biol，2012，44(10)：1622-1631.

[5] Lizano P，Rashed E，Kang H，et al. The valosin-containing protein promotes cardiac survival through the inducible isoform of nitric oxide synthase[J]. Cardiovasc Res，2013，99(4)：685-693.

[6] Rashed E，Lizano P，Dai H，et al. Heat shock protein 22(HSP22) regulates oxidative phosphorylation upon its mitochondrial translocation with the inducible nitric oxide synthase in mammalian heart[J]. PLoS One，2015，10(3)：e119537.

[7] Chowdary TK，Raman B，Ramakrishna T，et al. Interaction of mammalian HSP22 with lipid membranes[J]. Biochem J，2007，401(2)：437-445.

[8] Arrigo AP. Human small heat shock proteins：protein interactomes of homo-and hetero-oligomeric complexes：an update[J]. FEBS Lett，2013，587(13)：1959-1969.

[9] Mymrikov EV，Seit-Nebi AS，Gusev NB. Large potentials of small heat shock proteins[J]. Physiol Rev，2011，91(4)：1123-1159.

[10] Kasakov AS，Bukach OV，Seit-Nebi AS，et al. Effect of mutations in the β5-β7 loop on the structure and properties of human small heat shock protein HSP22(HSPB8，H11)[J]. FEBS J，2007，274(21)：5628-5642.

[11] Hayes D，Napoli V，Mazurkie A，et al. Phosphorylation dependence of HSP27 multimeric size and molecular chaperone function[J]. J Biol Chem，2009，284(28)：18801-18807.

[12] Vos MJ，Hageman J，Carra S，et al. Structural and functional diversities between members of the human HSPB，HSPH，HSPA，and DNAJ chaperone famlies[J]. Biochemistry，2008，47(27)：7001-7011.

[13] Lakshminarayanan R，Yoon I，Hegde BG，et al. Analysis of secondary structure and self-assembly of amelogenin by variable temperature circular dichroism and isothermal titration calorimetry[J]. Proteins，2009，76(3)：560-569.

[14] Hu Z，Chen L，Zhang J，et al. Structure，function，property，and role in neurologic diseases and other diseases of the sHSP22[J]. J Neurosci Res，2007，85(10)：2071-2079.

[15] Yang Z，Lu Y，Liu J，et al. The chaperone-like activity of rat HSPB8/HSP22 and dynamic molecular transition related to oligomeric architectures in vitro[J]. Protein Pept Lett，2012，19(3)：353-359.

[16] Depre C，Wang L，Sui X，et al. H11 kinase prevents myocardial infarction by preemptive preconditioning of the heart[J]. Circ Res，2006，98(2)：280-288.

[17] Chen L，Lizano P，Zhao X，et al. Preemptive conditioning of the swine heart by H11 kinase/HSP22 provides cardiac protection through inducible nitric oxide synthase[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol，2011，300(4)：H1303-H1310.

[18] Laure L，Long R，Lizano P，et al. Cardiac H11 kinase/HSP22 stimulates oxidative phosphorylation and modulates mitochondrial reactive oxygen species production：involvement of a nitric oxide-dependent mechanism[J]. Free Radic Biol Med，2012，52(11-12)：2168-2176.

[19] Marunouchi T，Abe Y，Murata M，et al. Changes in small heat shock proteins HSPB1，HSPB5 and HSPB8 in mitochondria of the failing heart following myocardial infarction in rats[J]. Biol Pharm Bull，2013，36(4)：529-539.

[20] Marunouchi T，Inomata S，Sanbe A，et al. Protective effect of geranylgeranylacetone via enhanced induction of HSPB1 and HSPB8 in mitochondria of the failing heart following myocardial infarction in rats [J]. Eur J Pharmacol，2014，730：140-147.

[21] Qiu H，Lizano P，Laure L，et al. H11 kinase/heat shock protein 22 deletion impairs both nuclear and mitochondrial functions of STAT3 and accelerates the transition into heart failure on cardiac overload[J]. Circulation，2011，124(4)：406-415.

[22] Irobi J，Holmgren A，De Winter V，et al. Mutant HSPB8 causes protein aggregates and a reduced mitochondrial membrane potential in dermal fibroblasts from distal hereditary motor neuropathy patients[J]. Neuromuscul Disod，2012，22(8)：699-711.

[23] Hase M，Depre C，Vatner SF，et al. H11 has dose-dependent and dual hypertrophic and proapoptotic functions in cardiac myocytes [J]. Biochem J，2005，388(Pt2)：475-483.

[24] Yang B，Zhang H，Mo X，et al. HSPB8 is neuroprotective during oxygen glucose deprivation and reperfusion[J]. Curr Neurovasc Res，2015，12(1)：63-72.

[25] Sanbe A，Daicho T，Mizutani R，et al. Protective effect of geranylgeranylacetone via enhancement of HSPB8 induction in desmin-related cardiomyopathy[J]. PLoS One，2009，4(4)：e5351.

[26] Tocchi A，Quarles EK，Basisty N，et al. Mitochondrial dysfunction in cardiac aging[J]. Biochim Biophys Acta，2015，1847(11)：1424-1433.

[27] Zeng L，Tan J，Lu W，et al. The potential role of small heat shock proteins in mitochondria[J]. Cell Signal，2013，25(11)：2312-2319.

[28] Kim HJ，Morrow G，Westwood JT，et al. Gene expression profiling implicates OXPHOS complexes in lifespan extension of flies over-expressing a small mitochondrial chaperone，HSP22[J]. Exp Gerontol，2010，45(7-8)：611-620.

[29] Morrow G，Tanguay RM. Drosophila melanogaster HSP22：a mitochondrial small heat shock protein influencing the aging process[J]. Front Genet，2015，6：1026.

[30] Tower J. Mitochondrial maintenance failure in aging and role of sexual dimorphism[J]. Arch Biochem Biophys，2015，576：17-31.

[31] Zhang D，Ke L，Mackovicova K，et al. Effects of different small HSPB members on contractile dysfunction and structural changes in a Drosophila melanogaster model for atrial fibrillation[J]. J Mol Cell Cardiol，2011，51(3)：381-389.

（责任编辑：冉明会）