

· 综述 ·

# 热休克因子 1 与热休克蛋白对创面愈合的作用及机制研究进展

张振宇 王茹 陈俊杰 岑瑛

**Advances in the research of effects of heat-shock factor 1 and heat-shock proteins on wound healing and the mechanism** Zhang Zhenyu, Wang Ru, Chen Junjie, Cen Ying. Department of Aesthetic Plastic and Burn Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Corresponding author: Chen Junjie, Email: cjjemail@163.com

**【Abstract】** Heat-shock proteins (HSPs) are the protective proteins expressed by cells under stress. Heat-shock factors (HSFs) are the key factors to regulate HSPs. Researches about the effects of HSF1 and HSPs in cells after stress and the mechanism have become the important entry point to explore the cell response in wound healing after trauma. This article reviews the effects of HSPs and HSF1 which regulate the proteins on wound healing and the mechanism, so as to deliver message for studying effects of intervening HSF1 on expression of HSPs and wound healing and the mechanism.

**【Key words】** Heat-shock proteins; Wound healing; Heat-shock factor

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81571915, 81501673)

**【关键词】** 热休克蛋白质类; 伤口愈合; 热休克因子  
**基金项目:** 国家自然科学基金(81571915, 81501673)

热、炎症和缺血缺氧等应激因素诱导细胞表达保护性蛋白——热休克蛋白(HSP),热休克因子(HSF)是调节该蛋白的关键因子<sup>[1]</sup>。在哺乳动物细胞中,应激因素刺激引起HSF1活化可致HSP表达增加,且与诸多存在于应激后细胞保护和修复通路中基因表达的调节密切相关<sup>[2]</sup>。阻断HSF1表达,虽然不会影响HSP正常状态下的基础表达,但是HSP在热和其他应激因素刺激后表达增加的现象将被完全抑制<sup>[3]</sup>。针对HSF1及其调控的HSP在细胞应激后所发挥的作用及其机制的研究,已逐渐成为探求皮肤损伤应激后创面愈合中细胞反应状况的重要切入点。本文总结HSP的生物学功能,并选取代表性成员,对它们及调控其表达的HSF1在促进创面愈合中所表现的特性及机制进行综述。

## 1 皮肤损伤应激及 HSP 生物学功能

人体皮肤不但能对外界损伤刺激做出快速应答,还能通过相应的生物学信号区分不同环境因素,识别、整合和传递外源性信号,最终维持机体组织的内在稳定。损伤应激后,皮肤组织尤其是真皮层的HSP表达增加<sup>[4]</sup>。具有细胞保护作用HSP,其具体生物学功能表现在以下方面。(1)分

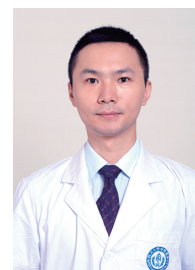
子伴侣。当细胞受到热或其他刺激时,其蛋白质肽链伸展并丧失固有的折叠状态,而合成增加的HSP能与变性的蛋白结合,通过修复或加速降解错误折叠蛋白从而防止变性的蛋白沉积,起到保持细胞稳定状态的作用。(2)增加细胞抗应激能力。热休克反应引起的HSP表达增加,使细胞对其他应激(如缺血缺氧、感染等)导致的损伤产生抵抗作用。说明此类在进化上高度保守的蛋白有助于提高生物体在复杂外界环境中的存活能力<sup>[5]</sup>。(3)抗细胞凋亡。细胞内HSP可抑制应激激活蛋白激酶、蛋白水解酶和氧自由基生成,并阻碍p53介导的细胞凋亡,从而在热、氧化应激、电离射线等引起的细胞凋亡中发挥保护作用<sup>[6]</sup>。(4)协助抗感染免疫应答。外源性病原体入侵宿主后,刺激淋巴细胞释放IL和TNF等增强HSP表达的细胞因子,而HSP在免疫系统识别抗原过程中,参与对外源性抗原肽段的加工处理和呈递,协助机体产生T淋巴细胞和抗体,对外源性抗原发挥细胞免疫作用。

皮肤组织受到损伤后,可出现炎症反应、产生富含纤维蛋白的渗出液、上皮再生及形成肉芽组织等系列反应。然而,由于损伤严重、范围广,导致创面持续存在,对参与修复过程的细胞来说,持续存在的创面就等同于有害的环境刺激<sup>[7]</sup>。此外,缺血缺氧、感染等多种应激因素刺激,使创面愈合陷入更加不利的环境。如何克服此不利环境,尽早修复复杂创面,需要更加深入地分析HSP各个成员在促进创面愈合过程中,所发挥的具体作用及机制。

## 2 HSP 和 HSF1 促创面愈合的作用及其机制

### 2.1 HSP27 表达量及 HSF1 稳定性提高有利于创面愈合

HSP27主要参与微丝的稳定和细胞因子信号传导,修复变性蛋白和降解不可逆转的受伤蛋白质,保护细胞免受各种应激因素的损伤。HSP27及HSF1在创面愈合中的作用及其机制为:(1)HSP27缺失或表达下调不利于创面愈合。在HSP27缺失的小鼠中,由于上皮再生和胶原沉积变慢,以及炎症反应加重,导致创面愈合速度明显减缓<sup>[8]</sup>。有研究显示,人糖尿病足创面中HSP27、HSP47、HSP70表达均下调,同时p38/MAPK的表达也降低,或许创面感染引起HSP27和HSP70的表达增加对实验结果有所影响,但综合分析可知HSP的表达降低与糖尿病足创面的愈合困难密切相关<sup>[9]</sup>。(2)HSP27表达增加及HSF1稳定性提高有利于减轻应激状况下的细胞损伤,促进创面愈合。研究显示,人皮肤KC中嗅觉受体51B5通过影响HSP27和p38/MAPK磷酸化,促进HSP27表达,增强细胞迁移和单层KC的再生,最终可促进创面愈合<sup>[10]</sup>。在接受电离辐射的细胞中,使用HSF1的诱导物松柏醛不但能提高HSF1的稳定性,还可增加HSP27和



HSP70 的蛋白表达,最终产生保护细胞和减轻损伤的作用<sup>[11]</sup>。笔者认为此结果对于研究放射性损伤所致创面的愈合或许有更进一步的指导意义。

## 2.2 HSP47 促进胶原合成

HSP47 作为胶原特异性分子伴侣,参与前胶原的折叠、修饰和转运等过程,是胶原合成和器官纤维化疾病研究中的热点。创面愈合过程中胶原沉积是不可或缺的环节,因此 HSP47 在其中所发挥的作用也不容忽视。研究显示,有皮肤溃疡的糖尿病足患者血浆中 HSP47 和 HSP70 表达高于无皮肤溃疡糖尿病足患者和健康人,具体机制尚不明确,推测与创面愈合早期局部感染的存在相关<sup>[12]</sup>。尽管此研究尚难以作为 HSP 的表达增加与创面愈合之间存在联系的直接证据,但提示在今后研究中可进一步探求 HSP 的表达增加产生的后续效应是否能促进创面愈合。

目前 HSP47 在创面愈合中的作用体现在以下几个方面。(1)HSP47 表达下调,抑制胶原合成,不利于创面愈合。Zhu 等<sup>[13]</sup>通过慢病毒质粒特异性下调微小 RNA-29b 表达,并经转录后途径降低 HSP47 蛋白表达,最终在创面愈合过程中产生抑制胶原合成和血管生成的作用。(2)HSP47 表达增加促进胶原合成,有利于创面愈合。对猪创面 Fb 进行热刺激,不但引起 HSP47 在转录和翻译水平的表达上调,在创面愈合过程中 HSP47 蛋白表达水平也升高<sup>[14]</sup>;而在四氧嘧啶诱导的糖尿病大鼠模型中,局部注射 HSP47 重组质粒可增加大鼠创面 HSP47 的表达,在创面愈合期治疗组大鼠创面 I 型胶原的表达量高于空白对照组<sup>[15]</sup>。(3)有研究为探讨短脉冲激光对皮肤损伤的影响,将 HSP47 用作判断热损伤后创面恢复程度的指标,结果显示其在评估创面愈合程度中具有特殊地位<sup>[16]</sup>。通过上述研究笔者认为,HSP47 可作为判断创面愈合程度的指标,创面愈合过程中 HSP47 表达增加,且其可通过增加创面胶原合成最终促进愈合。

## 2.3 HSF1 活化后增加 HSP70 表达并促进 Fb 增殖迁移

HSP70 参与细胞内蛋白质合成、定位、成熟及降解折叠错误蛋白的过程,对细胞的生长及代谢等均能产生影响,尤其表现为具有增加细胞增殖活性和抗凋亡的功能<sup>[17]</sup>。尽管目前缺乏非常深入的机制研究,但仍有较多关于 HSP70 在细胞内持续表达及所表现的抗炎和促进创面愈合作用的报道。研究显示,HSP70 可通过刺激巨噬细胞介导的对创面细胞碎片的吞噬作用,促进鼠全层皮肤缺损创面愈合<sup>[18]</sup>。将紫叶鼠尾草的正己烷提取物作用于鼠皮肤切除后创面,可通过上调 HSP70 的表达产生抗炎效应,从而加速创面愈合<sup>[19]</sup>。此外,应用刺果番荔枝的乙酸乙酯提取物,也可提高大鼠创面 HSP70 的含量,发挥抗炎和促进创面愈合作用<sup>[20]</sup>;而胸腺素  $\beta 4$  发挥的促进烧伤创面愈合作用,也被证实是通过促进 HSP70 在创面愈合期的持续表达来实现的<sup>[21]</sup>。

基于 HSP70 促进细胞增殖活性功能<sup>[17]</sup>,利用微小 RNA Let-7c 下调 HSP70 的表达,可对热变性后的皮肤 Fb 产生抑制增殖和迁移的作用<sup>[22]</sup>,而创面愈合过程极其依赖 Fb 的增殖和迁移,所以 HSP70 对促进创面愈合具有重要作用。正常生理状态下 HSF1 单体与 HSP70 相互结合,当细胞应激引起 HSF1 活化后,即出现单体三聚化、三聚体转位及磷酸化,

然后 HSF1 与 HSP70 解聚合,引起 HSP70 表达增加。在激光辅助治疗慢性皮肤溃疡的研究中,激光刺激引起创面表层细胞中 HSF1 活化,提高了内源性 HSP70 的表达,从而起到促进创面愈合的作用<sup>[23]</sup>。上述研究从正反 2 个方面说明,HSP70 表达量的高低直接影响创面愈合的进程,且 HSP70 表达增加是 HSF1 活化调控的结果。

## 2.4 HSP90 促进 Fb 迁移和肉芽组织生成

HSP90 $\alpha$  和 HSP90 $\beta$  是 HSP90 亚家族的 2 个主要成员。在应激状态下,HSP90 的表达量显著升高,并作为调控酶防止蛋白的不可逆聚集,提高细胞对应激的耐受性<sup>[24]</sup>。针对 HSP90 在皮肤损伤应激后创面愈合中所发挥的组织修复作用,近年来研究报道主要围绕以下内容。(1)HSP90 促细胞迁移及血管生成。在损伤应激下,创面氧和营养供给缺乏,HSP90 可促使皮肤细胞迁移至创面区域,有助于创面愈合皮肤重塑过程中形成新的结缔组织和血管<sup>[25]</sup>。研究者们先观察到创面缺氧所致的 HSP90 $\alpha$  分泌增加直接受到细胞缺氧诱导因子 1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )的调控;随后的研究显示,局部外用重组 HSP90 $\alpha$  蛋白具有提高糖尿病创面模型 HIF-1 $\alpha$  表达稳定性的作用,并可促进创面愈合,具体机制是 HSP90 $\beta$  发挥稳定低密度脂蛋白受体相关蛋白 1(LRP-1)受体表达的作用,HSP90 $\alpha$  再与稳定表达的 LRP-1 受体结合进一步发挥作用<sup>[26-27]</sup>。在糖尿病小鼠模型研究中同样显示,由人循环 Fb 产生的以 HSP90 $\alpha$  为主要成分的外泌体,富含生长因子且无免疫原性,具有促血管生成、激活 Fb、诱导 KC 迁移和增殖的作用,并可促进创面愈合<sup>[28]</sup>。(2)HSP90 对抗抑制细胞迁移的作用及促进肉芽组织生成。区别于其他生长因子,HSP90 $\alpha$  不但可产生促进皮肤 Fb 迁移的作用,还能克服 TGF- $\beta$  介导的和高血糖产生的抑制细胞迁移的作用。在烧伤创面组织和人 KC 株中进行的关于 HSP90 $\alpha$  的研究显示,在深 II 度烧伤创面早期局部使用 HSP90 $\alpha$  可减轻局部炎症反应、促进肉芽组织生长,并在创面愈合过程中产生缩小创面的效应,而使用 HSP90 $\alpha$  抑制剂则产生相反的效果,说明 HSP90 $\alpha$  对促进烧伤创面愈合具有关键性作用<sup>[29]</sup>。

## 3 小结及展望

根据目前创面研究中取得的成果,笔者认为,HSP 家族中多个成员均对创面愈合至关重要,它们不但直接作为被调节因子参与到创面愈合的过程中,而且是研究其他因子调控创面愈合机制的关键性中间因素。HSP 的作用表现在调节炎症反应,清除创面杂质,促进细胞增殖、聚集、迁移和 ECM 合成等多个方面,无论是 HSP 的功能缺失还是表达减少,均不利于创面愈合,且 HSP 的促创面愈合作用建立在其表达量增加的基础上,甚至依赖于 HSF1 的表达和参与。干预 HSP 的上游重要转录调控因子 HSF1 会产生什么后续效应,是否能增强 HSP 的促创面愈合作用及其相关机制,有待今后探索。鉴于创面愈合过程中 HSF1 和 HSP 的表达变化,受多个因素同时或依次调节,需要在今后的工作中排除感染等混杂因素,采用更有效的方法来进行更深入的研究。

## 参考文献

- [1] Lee YK, Manalo D, Liu AY. Heat shock response, heat shock

- transcription factor and cell aging [J]. *Biol Signals*, 1996, 5 (3): 180-191.
- [2] Sorger PK. Heat shock factor and the heat shock response [J]. *Cell*, 1991, 65 (3): 363-366.
- [3] Xiao X, Zuo X, Davis AA, et al. HSF1 is required for extra-embryonic development, postnatal growth and protection during inflammatory responses in mice [J]. *EMBO J*, 1999, 18 (21): 5943-5952. DOI: 10.1093/emboj/18.21.5943.
- [4] Jonak C, Klosner G, Trautinger F. Heat shock proteins in the skin [J]. *Int J Cosmet Sci*, 2006, 28(4): 233-241. DOI: 10.1111/j.1467-2494.2006.00327.x.
- [5] Vidal Magalhães W, Gouveia Nogueira MF, Kaneko TM. Heat shock proteins (HSP): dermatological implications and perspectives [J]. *Eur J Dermatol*, 2012, 22(1): 8-13. DOI: 10.1684/ejd.2011.1530.
- [6] Samali A, Cotter TG. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis [J]. *Exp Cell Res*, 1996, 223(1): 163-170. DOI: 10.1006/excr.1996.0070.
- [7] Atalay M, Oksala N, Lappalainen J, et al. Heat shock proteins in diabetes and wound healing [J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2009, 10(1): 85-95. DOI: 10.2174/138920309787315202.
- [8] Crowe J, Aubareda A, McNamee K, et al. Heat shock protein B1-deficient mice display impaired wound healing [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77383. DOI: 10.1371/journal.pone.0077383.
- [9] Singh K, Agrawal NK, Gupta SK, et al. Decreased expression of heat shock proteins may lead to compromised wound healing in type 2 diabetes mellitus patients [J]. *J Diabetes Complications*, 2015, 29(4): 578-588. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2015.01.007.
- [10] Tsai T, Veitinger S, Peek I, et al. Two olfactory receptors-OR2A4/7 and OR51B5-differentially affect epidermal proliferation and differentiation [J]. *Exp Dermatol*, 2017, 26(1): 58-65. DOI: 10.1111/exd.13132.
- [11] Kim SY, Lee HJ, Nam JW, et al. Coniferyl aldehyde reduces radiation damage through increased protein stability of heat shock transcriptional factor 1 by phosphorylation [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2015, 91(4): 807-816. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2014.11.031.
- [12] Zubair M, Ahmad J. Plasma heat shock proteins (HSPs) 70 and 47 levels in diabetic foot and its possible correlation with clinical variables in a North Indian Tertiary care hospital [J]. *Diabetes Metab Syndr*, 2015, 9(4): 237-243. DOI: 10.1016/j.dsx.2015.02.015.
- [13] Zhu Y, Li Z, Wang Y, et al. Overexpression of miR-29b reduces collagen biosynthesis by inhibiting heat shock protein 47 during skin wound healing [J]. *Transl Res*, 2016, 178: 38-53. DOI: 10.1016/j.trsl.2016.07.001.
- [14] Wang JF, Olson ME, Winkfein RJ, et al. Molecular and cell biology of porcine HSP47 during wound healing: complete cDNA sequence and regulation of gene expression [J]. *Wound Repair Regen*, 2002, 10(4): 230-240.
- [15] Wang Z, Li L. The plasmid encoding HSP47 enhances collagen expression and promotes skin wound healing in an alloxan-induced diabetic model [J]. *Cell Biol Int*, 2009, 33(7): 705-710. DOI: 10.1016/j.cellbi.2009.02.008.
- [16] Sajjadi AY, Mitra K, Grace M. Expression of heat shock proteins 70 and 47 in tissues following short-pulse laser irradiation: assessment of thermal damage and healing [J]. *Med Eng Phys*, 2013, 35(10): 1406-1414. DOI: 10.1016/j.medengphy.2013.03.011.
- [17] Wang X, Chen M, Zhou J, et al. HSP27, 70 and 90, anti-apoptotic proteins, in clinical cancer therapy (review) [J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(1): 18-30. DOI: 10.3892/ijo.2014.2399.
- [18] Kovalchin JT, Wang R, Wagh MS, et al. In vivo delivery of heat shock protein 70 accelerates wound healing by up-regulating macrophage-mediated phagocytosis [J]. *Wound Repair Regen*, 2006, 14(2): 129-137. DOI: 10.1111/j.1743-6109.2006.00102.x.
- [19] Rouhollahi E, Moghadamtousi SZ, Hajiaghaalipour F, et al. Curcuma purpurascens BI. rhizome accelerates rat excisional wound healing: involvement of HSP70/Bax proteins, antioxidant defense, and angiogenesis activity [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 5805-5813. DOI: 10.2147/DDDT.S88196.
- [20] Moghadamtousi SZ, Rouhollahi E, Hajrezaie M, et al. *Annona muricata* leaves accelerate wound healing in rats via involvement of HSP70 and antioxidant defence [J]. *Int J Surg*, 2015, 18: 110-117. DOI: 10.1016/j.ijssu.2015.03.026.
- [21] Kim S, Kwon J. Thymosin  $\beta$ 4 has a major role in dermal burn wound healing that involves actin cytoskeletal remodelling via heat-shock protein 70 [J]. *J Tissue Eng Regen Med*, 2017, 11(4): 1262-1273. DOI: 10.1002/term.2028.
- [22] Jiang T, Wang X, Wu W, et al. Let-7c miRNA inhibits the proliferation and migration of heat-denatured dermal fibroblasts through down-regulating HSP70 [J]. *Mol Cells*, 2016, 39(4): 345-351. DOI: 10.14348/molcells.2016.2336.
- [23] Zhou JD, Luo CQ, Xie HQ, et al. Increased expression of heat shock protein 70 and heat shock factor 1 in chronic dermal ulcer tissues treated with laser-aided therapy [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2008, 121(14): 1269-1273.
- [24] Li J, Buchner J. Structure, function and regulation of the hsp90 machinery [J]. *Biomed J*, 2013, 36(3): 106-117. DOI: 10.4103/2319-4170.113230.
- [25] Li W, Sahu D, Tsen F. Secreted heat shock protein-90 (HSP90) in wound healing and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1823(3): 730-741. DOI: 10.1016/j.bbamer.2011.09.009.
- [26] O'Brien K, Bhatia A, Tsen F, et al. Identification of the critical therapeutic entity in secreted hsp90 $\alpha$  that promotes wound healing in newly re-standardized healthy and diabetic pig models [J]. *PLoS One*, 2014, 9(12): e113956. DOI: 10.1371/journal.pone.0113956.
- [27] Jayaprakash P, Dong H, Zou M, et al. HSP90 $\alpha$  and HSP90 $\beta$  together operate a hypoxia and nutrient paucity stress-response mechanism during wound healing [J]. *J Cell Sci*, 2015, 128(8): 1475-1480. DOI: 10.1242/jcs.166363.
- [28] Geiger A, Walker A, Nissen E. Human fibrocyte-derived exosomes accelerate wound healing in genetically diabetic mice [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 467(2): 303-309. DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.09.166.
- [29] Zhang Y, Bai X, Wang Y, et al. Role for heat shock protein 90 $\alpha$  in the proliferation and migration of HaCaT cells and in the deep second-degree burn wound healing in mice [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e103723. DOI: 10.1371/journal.pone.0103723.

(收稿日期:2017-03-12)

(本文编辑:贾津津)

**本文引用格式**

张振宇, 王茹, 陈俊杰, 等. 热休克因子 1 与热休克蛋白对创面愈合的作用及机制研究进展 [J]. *中华烧伤杂志*, 2017, 33(8): 517-519. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2017.08.017.

Zhang ZY, Wang R, Chen JJ, et al. Advances in the research of effects of heat-shock factor 1 and heat-shock proteins on wound healing and the mechanism [J]. *Chin J Burns*, 2017, 33(8): 517-519. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2017.08.017.