

• 综述 •

中暑发病机制及其与基因的关系

苏磊(综述) 徐秋林(审校)

【关键词】中暑; 基因; 热休克蛋白

中暑是指高温作业环境下,由于热平衡和水、盐代谢失调引起的以中枢神经、心血管障碍为主要表现的急性疾病。在正常情况下,人体可以通过自身的热调节作用来维持正常体温。当人体由于水、盐的丢失,心血管疾病或者药物对心功能的影响而使其热调节能力受到破坏时,机体的热耐受能力也因此受到损害,从而变得容易中暑^[1]。

现代分子生物学技术已经揭示,在中暑早期机体会产生多种细胞因子,如白细胞介素-1(IL-1)、IL-2、IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)和干扰素(IFN)。这些细胞因子协调反应,其功能涉及到内皮细胞、白细胞、上皮细胞以及对损伤的防护和刺激修复功能^[2],其生理表现为引起发热、白细胞增多、增加急性期蛋白合成、肌肉代谢加快、刺激下丘脑-垂体-肾上腺轴、激活白细胞和内皮细胞等^[3-6]。中暑的发生还与人体的基因密切相关。一项流行病学调查研究显示,在高温期间,美国城镇地区的中暑发生率为17.6~26.5例/10万;而在沙特阿拉伯半岛,中暑发生率为22~250例/10万,其中中暑的致死率大约在50%,远远高于世界其他地区^[7-9]。目前仍不清楚为什么同样的热应激环境下,某些人只有轻微的症状,而另一些人则会发展为中暑,基因因素可能在中暑的易感性上起决定作用。现就中暑的发病机制与基因的关系进行综述。

1 热休克蛋白(HSPs)

几乎所有的细胞在热应激情况下会产生HSPs,细胞在正常情况下也可表达某些HSPs。通常情况下将细胞体外暴露于42~45℃下20~60min,然后恢复到正常温度可以诱导HSPs的表达。HSPs的诱导表达发生于热应激开始后的数分钟内,几个小时达峰值。研究发现,在

作者单位:510010 广州军区广州总医院 ICU

作者简介:苏磊(1960-),男(汉族),吉林长春人,主任医师。

高热期间或者刚刚解除高热,HSPs为细胞中主要合成的蛋白^[10]。有趣的是,绝大多数HSPs基因缺乏内含子,这有利于它的快速表达,而且也可以解释为什么在存在可以影响RNA编辑的应激原情况下,HSPs仍能表达。细胞内HSPs水平的升高会保护细胞免受热、局部缺血、缺氧、内毒素以及炎症因子的损害^[10-12]。在某些HSPs表达水平较低的患者,如老年患者、缺乏热适应的人或者某种基因多态性的人中,热应激会更易进展为休克。HSPs的表达基本上是在基因转录水平上受到调控,在热应激期间,一个或数个热休克因子(HSF)与热休克元件(HSE)结合,导致HSPs转录增加。随着细胞内HSPs水平的升高,细胞对热应激会产生一个短暂的耐受状态,这使细胞就算受到致死量的热应激也能生存。在基因转录水平上抑制HSPs的合成或者用HSPs的特异性抗体均会使细胞对微量的热应激变得异常敏感^[13]。在活体实验中,细胞对热的耐受性可以保护实验动物抵抗高温、动脉血压过低和脑缺血所带来的损伤。这种能抵抗中暑损伤的保护作用与HSP72的表达水平相一致,HSP72在进行热休克治疗后会在脑内积聚。HSPs能保护细胞的机制可能是因为它可以作为分子伴侣与部分折叠或者错误折叠的蛋白结合,因而防止了不可逆的蛋白变性。另一个可能的机制是,HSPs起到了压力发射反应的中心调节子作用,在严重的热应激中,可以缓解血压过低和心动过缓,因而起到心血管保护作用。

HSPs按其分子质量大小可分为HSP100、HSP90、HSP70、HSP60、小分子HSPs(分子质量为2.2~3.2ku)及泛素。以上几个家族,其中最主要的是HSP70家族,每个家族又由多个成员组成。随着研究的不断深入,新发现的HSPs将不断归入相应的家族,甚至可能重新组成家族。HSPs有3种基本活性:①作为分子伴侣。这个活性可以帮助防

止解聚蛋白的错误聚集,辅助其重新折叠,恢复自然构象。就算在非应激细胞内,一些HSPs分子伴侣在蛋白合成中也可以使刚形成的多聚肽形成自然构象。另外它还可以通过一些正常的细胞调节功能,如细胞周期调控,类固醇和维生素D受体的处理以及抗原呈递功能来稳定蛋白的特殊构象。HSP40、HSP60、HSP70和HSP90家族的蛋白均具有这种分子伴侣功能。②调节细胞的氧化还原状态。这一类的一个最好例子是HSP32,它是一种亚铁血红素加氧酶(HO-1)^[14],这种酶催化亚铁血红素为胆绿素和游离铁,胆绿素又被转化为一种有效的抗氧化剂胆红素,后者对细胞有保护作用。HO-1催化生成的游离铁又可增加铁蛋白的合成,铁蛋白可以将游离铁与强氧化剂隔离,从而发挥它的细胞保护作用。③调节蛋白的翻转。例如泛素,它可表达于未受应激的细胞内,在热休克时表达上调,并作为一种分子标记来标记蛋白,使其被蛋白酶降解。HSPs还有一些其他较为重要的生化活性,例如,HO-1可以通过亚铁血红素的降解产生一氧化碳(CO),而在神经组织和血管平滑肌信号转导中发挥重要的作用;CO可以与鸟苷环化酶相互作用产生环磷酸鸟苷(cGMP),后者具有扩张血管平滑肌的作用。这可能是应激的组织能够调节局部血流的另一机制。另有研究报道发现,外源性HSP70能触发人单核细胞CD14受体介导的TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的释放^[15],这表明HSP70可能作为一种前炎症因子。

2 HSF

HSF是一种可以与基因启动子区的一段特异序列(HSE)结合来调节HSPs表达的转录因子。HSE是一段位于启动子区的DNA序列,含有多个连续的重复序列5'-nGAAn-3'。HSPs基因和许多其他基因中都包含有HSE。目前已经发现,HSF有HSF-1、HSF-2、HSF-3和HSF-4共4种,其中哺乳动物基因中含HSF-1、HSF-2和HSF-4

共 3 种,而 HSF-3 存在于鸟类基因中,不为人类所具备的。HSF-1 参与热休克的应激反应,其他因子虽然参与多种反应的调节过程,但通常被认为不参与热应激反应^[16,17]。然而最近的研究表明,热休克可使 HSF-2 可逆失活^[18]。在热应激发生前,在未受应激的细胞胞浆中 HSF-1 以单聚体形式存在于胞浆中,HSF-1 与 HSP70 和 HSP90 结合形成沉淀而失活。当热应激反应发生时,蛋白发生热变性并暴露出疏水区。由于变性蛋白更容易与 HSPs 相结合,因而推断细胞热应激发生时,热变性蛋白竞争性的结合 HSPs,释放 HSF-1,使之激活。在被热应激所激活后,HSF-1 进入细胞核中形成三聚体,并浓缩形成小颗粒,HSF-1 三聚体与 HSE 结合,增加 HSP 基因的表达。

HSF-1 与 HSE 并非总是诱导转录。例如,用脂多糖刺激人类单核细胞,HSF-1 会抑制 IL-1 的转录^[19]。另外,HSF-1 与 DNA 结合的总效应(抑制或诱导基因表达)会受到其本身磷酸化的调节,然而通常情况下单体 HSF-1 会被磷酸化,因而三聚体 HSF-1 可与 DNA 结合,除非热休克使 HSF 进行了多次磷酸化、超磷酸化^[14]。在另外一些情况下,HSF-1 的超磷酸化会降低细胞在正常温度下的转录活性^[12]。HSF-1 的丝氨酸残基能被有丝分裂蛋白激酶(MAP)、蛋白激酶 C- α 以及蛋白激酶 C- ζ 、糖原合酶激酶 3- α 等超磷酸化,它们都可抑制细胞的转录活性。HSF-1 也能被 c-Jun NH₂-末端激酶(JNK)超磷酸化,在某些情况下可以激活转录,在某些情况下则抑制转录。近来的研究表明,热应激可以诱导 HSF-1 的末端被小类泛素修饰因子-1(SUMO-1)标记,SUMO-1 是一种特殊的蛋白,可以被细胞用来修饰蛋白使其进入细胞内的不同部分,发挥不同功能。在这些研究中,HSF-1 在体外不能结合 DNA,除非其末端的赖氨酸 298 被 SUMO-1 修饰。HSF-1 也可以不通过与基因的启动子结合来影响基因转录。在鼠的卵巢纤维原细胞中,热休克可以抑制血清诱导的 c-fos 表达,其机制是因为 Ras 可以诱导激活 c-fos 启动子,而 HSF-1 可以抑制这一反应。有趣的是 Ras 介导激活的 c-fos 可以被 HSF-1 的一种不能结合 DNA 的突变体所抑制。在尿激酶启

动子区域也发现另一个基因以通过类似的效果受到 Ras 基因的调节。这些结果表明,HSF-1 不通过与 DNA 结合就能对抗 Ras 介导激活的 c-fos 基因转录。HSE 除可通过 HSF-1 来对基因的表达进行正调控外,还可通过一种恒定表达的蛋白——HSE 结合因子(HSF-BF)来对基因表达进行负调控。因而除了磷酸化的 HSF-1 具有正调控活性外,它还可通过影响 HSE-BF 与 HSE 的结合来激活转录。

3 热应激中其他基因的表达变化

热应激时能够在转录水平上对基因表达进行调控的除了 HSF-1,还有其他调节机制。目前,已知最少有 3 套机制在转录水平上对热应激的基因表达进行了调控:① 转录因子自身表达水平的改变^[20-23];如 fos 和 Jun 的蛋白表达水平和 mRNA 表达水平在热休克中上调;c-myc 的表达水平则由于胞浆中的 mRNA 降解增强而发生下调;鼠的纤维原细胞 NIH/3T3 中 egr-1 基因在热应激诱导下表达上调,这类似于亚砷盐诱导的细胞应激,它通过 p38 和 JNK 介导转录因子 elk-1 的磷酸化;热休克会影响 C/EBP- α 和 C/EBP- β 的表达和 DNA 结合活性的改变,因而影响 mRNA 的表达水平和不同蛋白异构体的相对表达水平。② 转录因子活性的改变:例如在人成胶质细胞瘤 A-172 细胞株中,热休克改变 DNA 结合活性不是通过 HSF-1,而是 p53,但在鼠胸腺细胞中 Oct-1 和环磷酸腺苷应答元件结合蛋白(CREB)的结合活性降低^[24];热休克诱导转录因子活性改变的另一个例子是 AP-1 系统,在鼠 3T3 细胞中,热休克可通过 JNK 诱导 c-Jun 的磷酸化,这通常伴有 AP-1 特异性结合 DNA 的能力增强^[25]。③ 转录因子在细胞内位置的改变(如被移位到核内或者被留在胞浆中);例如,在结肠癌细胞株中,热休克使 Y 盒式转录因子 1 从胞浆中转移到胞核,导致多药耐药基因 MDR-1 和 MRP-1 表达的增加^[26]。

接近 50 个传统认为不属于 HSP 的基因在热应激的时候其表达发生了改变。几个热反应基因编码的分子可以调节 MAP 激酶通路,这个通路在细胞对各种环境应激的反应中发挥重要作用。其中最有趣的是 MAP 磷酸酶双特异性磷酸酶-1(DUSP-1)和 DUSP-5,它

们在 MAP 途径中起到去磷酸化的作用^[27]。已知 MAP 激酶在热应激开始的时候会被激活。原则上,随后 DUSP 的表达会使 MAP 信号通路发生重调,使其在经历了最初的热应激后能重新响应随后的应激反应。这个假说有可能用于细胞获得热耐受的生理机制方面,当然它还需要进一步的实验验证。热休克的另外一个影响是可以阻断细胞周期,这是由基因的表达以及已表达的蛋白活性所介导的。已知能影响细胞周期的基因 p53 和 p21 都能被热休克所影响。p53 似乎对细胞周期进程的抑制非常关键,因为还没有在 p53 基因缺陷的细胞株中发现细胞周期发生抑制。在某种程度上,热休克对非 HSP 基因的影响是组织特异性的,例如在体内和体外实验中,热应激均可增加鼠心肌细胞中过氧化锰歧化酶(MnSOD)的表达^[28]。但在鼠的肺泡细胞中则不会诱导 MnSOD 表达,甚至对其有抑制作用,其机制仍不很明了。然而这种差异的存在则暗示存在某种组织特异性的机制来调节细胞对热应激的反应。例如,心肌相对于其他组织有着较高的氧耗,其氧化还原状态与其他低氧耗的组织不同,热休克反应可能通过对氧化还原状态的影响来刺激 MnSOD 表达。另外,酶联免疫吸附法(ELISA)实验显示,心肌的 MnSOD 活性并非与其蛋白水平存在一一对应关系。随着对热休克研究的深入,越来越多的基因被认为在其中发挥着重要作用。另外基因芯片使研究者能同时研究成千上万个基因的表达情况,因而也使人们了解到热应激中的更多基因。这些研究都揭示热应激中的基因表达改变远远超过以前人们的认识,它涉及到每一个主要的功能分类。

对中暑的发生机制与基因关系的了解为中暑预防和治疗提供了新的思路。如将体温降为正常并不能预防炎症反应、血栓的形成以及多器官功能失调的发生,因而有必要在动物身上研究采用新方法调节炎症反应。免疫调节剂如干扰素-1 受体拮抗剂、内毒素抗体和皮质类固醇都可以提高动物的生存率,但目前还没有在人身上进行过类似的研究,现在仍不清楚在脓毒症治疗中的抗内毒素和抗细胞因子策略是否在中暑中也能同样奏效。在一个与炎症相关的损伤模型(如脓毒症小鼠模型)中,采用新的干预治疗方法抑制核转录因子- κ B

(NF- κ B)可能会更有效,NF- κ B是一种在调节急性炎症反应中起关键作用的转录因子,研究证明抑制NF- κ B活性可以提高生存率,但也会促进肝细胞的凋亡^[29]。在中暑的时候,凝血和纤溶系统的激活通常会导致弥散性血管内凝血。重组的活化蛋白C可以减轻凝血和炎症,用其替代治疗可以减少脓毒症患者的病死率,因而也许在中暑的治疗中也同样有效。阐明触发凝血的分子机制可能会产生更有效、更特异性的治疗方法,例如组织因子通路抑制剂。更重要的是潜在性治疗方法是基于应激反应蛋白的知识上。逻辑上下一代免疫调节剂是药理学上选择性的诱导HSPs表达,水杨酸盐和非类固醇类的抗炎药物在哺乳动物体内激活HSF并诱导HSPs的转录和翻译^[12]。这个反应可以增强细胞的热耐受能力,并保护细胞抵抗热应激。虽然HSP的过度表达会阻抑细胞的某些重要功能,但是HSP的部分上调则被证明是有利的,特别是在高温时作为一种预防措施。未来的研究将要求确定在何种程度上调节炎症和应激反应将不会使基本的免疫功能受到影响。

参考文献:

- 1 Knochel J P, Reed G. Disorders of heat regulation [M]// Narins RG, Maxwell & Kleeman's clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism. 5th ed. New York: McGraw-Hill, 1994: 1549-1590.
- 2 Xing Z, Gauldie J, Cox G, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses [J]. J Clin Invest. 1998, 101: 311-320.
- 3 Pedersen B K, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system; regulation, integration, and adaptation [J]. Physiol Rev. 2000, 80: 1055-1081.
- 4 Cannon J G. Inflammatory cytokines in nonpathological states [J]. News Physiol Sci. 2000, 15: 298-303.
- 5 Hietala J, Nurmi T, Uhari M, et al. Acute phase proteins, humoral and cell mediated immunity in environmentally-induced hyperthermia in man [J]. Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1982, 49: 271-276.
- 6 Hammami M M, Bouchama A, Shail E, et al. Lymphocyte subsets and adhesion molecules expression in heatstroke and heat stress [J]. J Appl Physiol. 1998, 84: 1615-1621.
- 7 Semenza J C, Rubin C H, Falter K H, et al. Heat-related deaths during the July 1995 heat wave in Chicago [J]. N Engl J Med. 1996, 335: 84-90.
- 8 Jones T S, Liang A P, Kilbourne E M, et al. Morbidity and mortality associated with the July 1980 heat wave in St Louis and Kansas City, Mo [J]. JAMA. 1982, 247: 3327-3331.
- 9 Kilbourne E M, Choi K, Jones T S, et al. Risk factors for heatstroke: a case-control study [J]. JAMA. 1982, 247: 3332-3336.
- 10 Lindquist S. The heat-shock response [J]. Annu Rev Biochem. 1986, 55: 1151-1191.
- 11 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.
- 12 Polla B S, Bachelet M, Elia G, et al. Stress proteins in inflammation [J]. Ann N Y Acad Sci. 1998, 851: 75-85.
- 13 Li P L, Chao Y M, Chan S H, et al. Potentiation of baroreceptor reflex response by heat shock protein 70 in nucleus tractus solitarius confers cardiovascular protection during heatstroke [J]. Circulation. 2001, 103: 2114-2119.
- 14 Otterbein L E, Choi A M. Heme oxygenase; colors of defense against cellular stress [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2000, 279: L1029-1037.
- 15 Asea A, Kraeft S K, Kurt-Jones E A, et al. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependent pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine [J]. Nat Med. 2000, 6: 435-442.
- 16 Morimoto R I. Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators [J]. Genes Dev. 1998, 12: 3788-3796.
- 17 Pirkkala L, Nykanen P, Sistonen L. Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond [J]. FASEB J. 2001, 15: 1118-1131.
- 18 Mathew A, Mathur S K, Jolly C, et al. Stress-specific activation and repression of heat shock factors 1 and 2 [J]. Mol Cell Biol. 2001, 21: 7163-7171.
- 19 Cahill C M, Waterman W R, Xie Y, et al. Transcriptional repression of the interleukin 1beta gene by heat shock factor 1 [J]. J Biol Chem. 1996, 271: 24874-24879.
- 20 Balcer-Kubiczek E K, Harrison G H, Davis C C, et al. Expression analysis of human HL60 cells exposed to 60 Hz square-or sine-wave magnetic fields [J]. Radiat Res. 2000, 153: 670-678.
- 21 Diamond D A, Parsian A, Hunt C R, et al. Redox factor -1 (Ref-1) mediates the activation of AP-1 in HeLa and NIH 3T3 cells in response to heat shock [J]. J Biol Chem. 1999, 274: 16959-16964.
- 22 Wennborg A, Classon M, Klein G, et al. Downregulation of c-myc expression after heat shock in human B-cell lines is independent of 5' mRNA sequences [J]. Biol Chem Hoppe Seyler. 1995, 376: 671-680.
- 23 Yiangou M, Paraskeva E, Hsieh C-C, et al. Induction of a subgroup of acute phase protein genes in mouse liver by hyperthermia [J]. Biochim Biophys Acta. 1998, 1396: 191-206.
- 24 Ohnishi T, Wang X, Ohnishi K, et al. p53-dependent induction of WAF1 by heat treatment in human glioblastoma cells [J]. J Biol Chem. 1996, 271: 14510-14513.
- 25 Adler V, Schaffer A, Kim J, et al. UV irradiation and heat shock mediate JNK activation via alternate pathways [J]. J Biol Chem. 1995, 270: 26071-26077.
- 26 Stein U, Jurchott K, Walther W, et al. Hyperthermia-induced nuclear translocation of transcription factor YB-1 leads to enhanced expression of multidrug resistance-related ABC transporters [J]. J Biol Chem. 2001, 276: 28562-28569.
- 27 Ishibashi T, Bottaro D P, Michieli P, et al. A novel dual specificity phosphatase induced by serum stimulation and heat shock [J]. J Biol Chem. 1994, 269: 29897-29902.
- 28 Yamashita N, Hoshida S, Taniguchi N, et al. Whole-body hyperthermia provides biphasic cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in the rat [J]. Circulation. 1998, 98: 1414-1421.
- 29 Scarim A L, Heitmeier M R, Corbett J A. Heat shock inhibits cytokine-induced nitric oxide synthase expression by rat and human islets [J]. Endocrinology. 1998, 139: 5050-5057.

(收稿日期: 2006-06-10)

修回日期: 2006-08-10

(本文编辑: 李银平)