

世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 7 月 28 日 第 13 卷 第 14 期 (Volume 13 Number 14)



14/2005

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,
2003年百种中国杰出学术期刊,

《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.

世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,
俄罗斯《文摘杂志》收录.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2005 年 7 月 28 日

第 13 卷

第 14 期

(总第142期)

述 评

- 1645 进一步加强慢性肝炎、肝纤维化治疗研究 姚希贤, 崔东来
1650 胃肠道生理功能的再认识与肠衰竭 丁连安, 黎介寿

胃 癌

- 1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响
黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众

肝 癌

- 1658 Maxizyme对肝癌突变抑癌基因p53的抑制作用 李岩, 林菊生, 孔心涓
1663 肝癌组织中TGF- β 1、TGF- β 1R II和NF- κ B的表达
缪林, 张锁林, 季国忠, 范志宁, 刘政, 张平, 杨春
1667 肝细胞癌组织和外周血中肿瘤/睾丸抗原SSX-2和SSX-5的表达
吴力群, 王新建, 张斌, 卢云, 杨金镛
1673 肝细胞肝癌患者肿瘤/睾丸抗原SSX-1及NY-ESO-1mRNA的表达意义
吴力群, 王新建, 卢云, 张斌, 杨金镛
1679 重组人内皮抑素真核表达载体pCD-sEndo的构建和表达 邵俊伟, 刘然义, 易继林, 卢绮萍, 黄文林
1684 蛋白质芯片飞行质谱技术检测体外培养的肝癌细胞株与转染HBV的肝癌细胞株蛋白质的差异表达
丁守怡, 钱冬萌, 闫志勇, 宋旭霞, 牟文凤, 王斌

病毒性肝炎

- 1688 酵母双杂交技术筛选白细胞cDNA文库中新基因NS2TP蛋白结合蛋白基因
张黎颖, 成军, 邓红, 郭江, 郭风劲, 王巧侠
1692 抗HBV多聚酶TP区VH抗体体外可抑制HBV复制 于俊岩, 兰林, 王宇明, 丁世涛
1696 黑龙江地区乙型肝炎病毒耐药变异与基因型 李迪, 张淑云, 谷鸿喜, 程险峰, 王晓燕
1700 丙型肝炎病毒非结构蛋白2反式调节基因NS2TP的克隆化 张黎颖, 成军, 邓红, 刘妍, 王琳

基础研究

- 1705 苷脱氨酶基因对小鼠大剂量化疗的保护作用
路平, 王永来, 金锋, 陈波, 姚凡, 王舒宝, 陈峻青, 徐惠绵, 赵实诚
1713 三氧化二砷注射液对胰腺癌细胞系PC-3的体外作用 刘静冰, 秦叔逵, 李进
1717 消炎痛和阿斯匹林对C57BL/6和Balb/c小鼠胃酸分泌的效应 王昌成
1721 ^{103}Pd 诱导犬胆管增殖平滑肌细胞凋亡及对相关基因的影响
何贵金, 吴荣, 高沁怡, 许书河, 高红, 姜维国, 蒋涛, 戴显伟, 马凯

文献综述

- 1725 热休克蛋白家族与肝癌的关系 吴顺华, 成军, 郑玉建
1731 HCV的基因型及其变异与肝细胞癌的关系 韩苏夏, 刘正稳, 马瑾璐
1734 移植肝细胞基因调控研究 林勇, 曾欣
1737 三氧化二砷治疗肝癌的分子机制 吴顺华, 成军, 郑玉建
1744 丁酸钠抗肿瘤作用的新进展 崔路佳, 高善玲, 裴风华
1747 聚乙二醇 α -干扰素治疗慢性乙型肝炎的研究进展 周平, 谢仁江
1750 人类免疫缺陷病毒与黏膜免疫 杨贵波, 邵一鸣

研究快报

- 1760 胰腺外分泌功能研究大鼠模型的建立 陈小燕, 李兆申, 屠振兴, 曹晓鹏
1762 乳杆菌细胞壁表面黏附相关蛋白的提取和鉴定 王斌, 魏泓
1766 幽门螺杆菌和促胃液素在胃癌前病变中的作用 郑宗茂, 吴灵飞, 冯家琳, 李国平, 王炳周
1768 表皮生长因子及其受体mRNA在胃溃疡发生与愈合过程中的表达 谭永港, 舒晴, 邱猛进, 张永锋
1770 巢式PCR-RFLP法对湖南省乙型肝炎病毒Bj和Ba基因亚型的初步鉴定
温志立, 谭德明, 杨铁一, 徐铿
1773 阿霉素对胃癌细胞内游离 Ca^{2+} 浓度的影响 邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛
1776 BALB/C小鼠炎症性肠病动物模型建立方法探讨 刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正

临床经验	1779 社会因素对老年人群幽门螺杆菌感染的影响 张玫, 汤哲, 汤欣, 蔡玲, 牛小羽, 孙书春 1781 口服药物致食管溃疡22例 王孟春, 张丽瑶, 钟琳琳 1782 经内镜乳头括约肌预切开术在困难ERCP中的应用 王庆, 秦明放, 勾承月, 李宁, 王震宇, 邹富胜 1785 肠镜检查肠道准备无效率的影响因素 蔡文智, 智发朝, 李凤伶, 陈秀云, 姜泊 1787 中国人与非洲黑人 <i>H. pylori</i> 相关胃十二指肠疾病发生情况比较及分析 廖常奎, Geojanna GA 1790 大肠癌术后时辰化疗联合中医时间医学治疗的临床研究 张思奋, 罗湛滨, 吴文江, 何晶, 范小华 1792 幽默疗法辅助治疗慢性萎缩性胃炎53例 阮鹏, 阮浩然 1794 肝炎肝硬化患者血清IL-10、IL-18水平及意义 谭永港, 刘俊, 丁世华, 刘新民 1797 暴发性胰腺炎时腹腔室隔综合征的联合治疗40例 孙早喜, 孙诚谊
致 谢	1800 致谢世界华人消化杂志编委
封面故事	1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响 黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众 世界华人消化杂志 2005;13(14):1652-1657 http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.htm
国际会议	13th United European Gastroenterology Week, UEGW October 15-20, 2005 American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting October 28-November 2, 2005 ISGCON 2005 November 11-15, 2005 isgcon2005@yahoo.co.in isgcon2005.com Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 www.asge.org/education II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 gec@stradini.lv www.gastroenterologs.lv 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 c.chase@imedex.com www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 isde@sapmea.asn.au www.isde.net

<div>世界华人消化杂志</div> <div>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</div> <div>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (半月刊) 创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2005-07-28 原刊名 新消化病学杂志</div> <div>名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生 编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁 英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪</div>	<div>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 出版 世界胃肠病学杂志社 100023, 北京市2345信箱 E-mail: wjgd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893 印刷 北京科信印刷厂 发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱) 订购 全国各地邮电局 邮购 世界胃肠病学杂志社发行部 (100023, 北京市2345信箱) 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893</div>	<div>世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.</div> <div>特别声明 本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.</div> <div>2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有</div>
--	---	---

ISSN 1009-3079	邮发代号	国外代号	国内定价	广告经营许可证
CN 14-1260/R	82-262	M 4481	每期24.00元 全年576.00元	1401004000050

www.wjgnet.com

热休克蛋白家族与肝癌的关系

吴顺华, 成军, 郑玉建

吴顺华, 成军, 北京地坛医院传染病研究所 北京市 100011
吴顺华, 郑玉建, 新疆医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689
军队“九五”科技攻关项目, No. 98D063
军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038
军队“十五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138
军队“十五”科技攻关面上项目, No. 01MB135
通讯作者: 成军, 100011, 北京地坛医院传染病研究所. cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-64481639 传真: 010-64281540
收稿日期: 2004-10-11 接受日期: 2005-05-25

摘要

热休克蛋白 HSP 是一种广泛存在于微生物和动植物体内的一种应激蛋白. HSP 在 HCC 的生物治疗中将发挥越来越重要的作用. HSP 在生物体内起着参与加速降解和清除细胞代谢产物, 维护细胞的功能和生存, 协同免疫应答, 调节信号传导通路, 调控细胞周期, 抑制凋亡以及促进微管的形成与修复等作用. 大量研究显示一些 HSP 在肿瘤免疫中发挥作用, 并有望制成基因疫苗应用于肿瘤的防治. 本文综述了 HSP70, HSP90, HSP47, HSP27 等在肝癌的发生、发展和治疗中的进展及其在肝癌防治中的意义.

吴顺华, 成军, 郑玉建. 热休克蛋白家族与肝癌的关系. 世界华人消化杂志 2005;13(13):1725-1730
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1725.asp>

0 引言

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是一种广泛存在于微生物和动植物体内的一种应激蛋白. 当生物体受到环境中的物理、化学以及生物性因素作用发生细胞氧化损伤后, 可以合成大量的 HSP 和其他应激蛋白. HSP 的合成提高生物体对各类因素的耐受性, 使细胞处于应激状态, 抑制一些正常蛋白的合成并快速激活与抗损伤有关的蛋白基因. HSP 是存在于细胞中的一种主要的分子伴侣, 在细胞的生长发育、代谢分化、基因转录、维持组织细胞的自稳和环境适应性方面有很重要的作用. HSP 在肿瘤的发生、发展中起着重要的作用, 肿瘤细胞的增殖、分化及转移等均有大量 HSP 参与. HSP 与细胞的转化和恶变过程密切相关, 癌基因转化的细胞和人类恶性肿瘤细胞系中, HSP 表达增高^[1-8]. HSP 能与多种癌基因产物结合形成异源蛋白复合体, 介导癌蛋白构象成熟及转运, 从而参与细胞转化过程^[9-11]. 肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是消化系统常见的肿瘤, 其恶性程度高、预后差. 目前已有研究表明 HCC 是 HSP70 和 HSP90 α 高表达肿瘤, 细胞内 HSP70 和 HSP90 α 表达增加与 HCC

发生、发展有关, 且可能是 HCC 发展、恶化的重要标志. HSP70 和 HSP90 α 在发生、发展中较 HSP27 有更为重要的作用, 但他们确切作用机制和相互关系有待进一步研究^[12]. 随着对 HSP 与 HCC 相互关系研究的深入, HSP 在 HCC 的生物治疗中将发挥越来越重要的作用. 因此, 利用 HSP 的分子伴侣作用, 通过 DNA 重组技术抑制 HCC 中高表达的 HSP, 达到提高 HCC 的放、化疗敏感性, 下调与 HCC 恶性增殖相关的癌蛋白稳定性, 进而遏制肿瘤细胞的增殖, 对有效防治 HCC 有很重要的意义. 本文综述了 HSP 的生物分类和功能以及 HSP 家族常见蛋白与 HCC 发生、发展的关系及其在肝癌防治中的意义.

1 HSP 家族的结构功能及分类

1.1 HSP 的概念 HSP 是指在热应激(或其他应激)下细胞合成或合成增加的一类蛋白, 并不是由细胞分泌到血浆或组织液中发挥作用, 而是在细胞内发挥作用, 属于非分泌性蛋白. HSP 最初是在果蝇(*drosophila*)中被发现的. 早在 1935 年, 科学家就观察到加热果蝇的蛹可诱导发育缺陷型. 1962 年遗传学家 Ritossa *et al*^[13] 研究果蝇唾液腺染色体时发现, 正常果蝇幼虫的唾液腺中有多线染色体(polytenic chromosome), 他比一般染色体粗 1 000-2 000 倍, 在光镜下就可看见染色体. 将 25℃ 培养的果蝇幼虫无意间置入 30-32℃ 的环境中, 30 min 后在其巨大的唾液腺染色体上发现了 3 个新的膨突(puff). 进一步观察认为, 热休克诱导的果蝇染色体膨突现象不存在组织和发育期的差异, 其膨突的生成与该区带基因的转录加强有关, 提示热休克时可能有某种蛋白合成的增加. 人们将这种现象称为热休克反应或热休克应答(heat shock response, HSR). 目前认为热休克反应是细胞对各种不利因素刺激所表现的一种以基因表达和调控方面发生改变的反应. 在这种反应过程中, 转录和翻译成某些蛋白的基因被关闭, 而 HSP 基因打开, 产生一组 HSP, 又称应激蛋白(stress protein, SP). 随后的研究发现, 一切生物细胞(包括原核细胞和真核细胞), 温度增高时均可合成一类具有生物学活性及其多种生理功能的蛋白. 不仅如此, 其他因素刺激, 如氧化磷酸化解联剂、重金属(汞、铜)、砷化物、氨基酸类似物(刀豆氨酸)、抗菌素(嘌呤霉素)、紫外线照射、饥饿、缺血或缺氧、创伤、感染、肿瘤、环境毒物、生长因子等 200 余种应激因素都能刺激诱导 HSP 的产生, 表现了其对物种的普遍性和高度保守性.

1.2 HSP 的分类 HSP 包括一个庞大的糖蛋白超基因家族,

分子质量为 M_r 6 000–170 000. 迄今为止, 已发现 30 余种, 根据同源程度及分子量大小分为 HSP90、HSP70、HSP60、小分子 HSP 及泛素四组, 分子量大小为 M_r 110 000 的 HSP, 位于细胞质或细胞核中; M_r 90 000 的 HSP 家族, 包括 HSP90 和 GRP94, 前者位于细胞质, 后者位于内质网 ER; HSP90 家族常见有 HSP90、gp96 (葡萄糖缺乏时诱导合成的一类蛋白) 等. 其中 HSP90 指 HSP90 α 和 HSP90 β , 这两种蛋白具有相似或相同的功能, 都是细胞正常生长所必需的蛋白, 缺一不可. M_r 70 000 的 HSP 家族, 包括 HSC70, GRP78 (Bip) 和 GRP75, 分别位于细胞质、内质网和线粒体; M_r 60 000 的 HSP 位于线粒体; 低分子量 HSP, 分子量 M_r 20 000–30 000, 位于细胞质或细胞核中; M_r 10 000 的 HSP 位于线粒体; 泛素 (ubiquitin) 分子质量为 M_r 8 000, 位于细胞质或细胞核. 其中分子量 M_r 70 000 的 HSP 在正常细胞中较少, 但在应激状态下显著升高, 对他的研究也较多. 另一种分类是以其能否被诱导而分为结构型 HSP (或称固有型) 和诱生型 HSP, 前者为细胞内正常的组成成分, 为细胞内的一种结构蛋白; 后者为细胞的诱生 HSP, 通过诱导因素而产生. 诱生型 HSP 则在蛋白水平起防御、保护作用.

1.3 HSP 的功能特征 HSP 是存在于细胞的一种主要的分子伴侣 (molecular chaperone). 在细胞的生长发育、代谢分化、基因转录、维持组织细胞的自稳和环境适应性方面有很重要的作用. HSP 最基本的结构为 N 端的一个具有 ATP 酶活性的高度保守序列和 C 端的一个相对可变的基质识别序列. 后者倾向与蛋白的疏水结构区相结合, 而这些结构区在天然蛋白中被折叠隐藏于内部而无法接近, 也就是说 HSP 倾向于与尚未折叠或因有害因素被破坏了其折叠结构的肽链结合, 并依靠其 N 端的 ATP 酶活性, 利用 ATP 促成这些肽链的正确折叠、移位、修复或降解^[5]. HSP 是迄今为止从原核生物到真核生物, 一直到人类最为保守的蛋白^[3], 生物在长期进化中, HSP 是保留下来对抗损害进行自我保护的重要机制之一. HSP 的共同特征为: (1) 在热休克状态下优势表达, 而其他蛋白表达受抑制; (2) 在所有细胞中均表达; (3) 其氨基酸序列在进化中高度保守; (4) 平时 HSP 主要存在于细胞质中, 应激时 HSP 迅速进入细胞核和核仁, 应激恢复期, 又迅速进入细胞质, 当再次应激时 HSP 又返回细胞核; (5) HSP 可以提高抗应激能力, HSP70 生成量与细胞耐热力成正相关; (6) 在其基因启动子上游具有热休克元件, 能被特定的热休克因子启动而表达. HSP 在细胞内的含量相当高, 约占细胞总蛋白的 5%, 其功能涉及细胞结构的维持、更新、修复、免疫等. 经大量研究表明, HSP 可从以下几个方面来发挥分子伴侣的作用: (1) 在应激状态下保护细胞内蛋白的正常结构及维持细胞蛋白自身稳定; (2) 作为分子伴侣使蛋白正确折叠或聚集, 参与多聚复合体的组装; (3) 促使受损、变性蛋白的恢复; (4) 加速降解和清除细胞代谢产物, 能重新激活某些酶的作用, 以维护细胞的功能和生存; (5) 参与免疫应

答; (6) 调解信号传导通路; (7) 调控细胞周期, 抑制凋亡; (8) 促进微管的形成与修复.

2 HSP 与肝癌之间的关系

2.1 HSP70 与肝癌 HSP70 家族是多基因家族, 广泛分布在细胞的亚细胞结构中, 为可溶性胞质蛋白, 定位于内质网, 如胞质及胞核中组成性表达 HSP70/HSP73, 胞质中热诱导表达 HSP72 (HSP70), PBP72/74 (peptide binding protein, PBP) 等参与 MHC II 类分子限制抗原呈递. 线粒体基质中存在 GRP75 (glucoseregulated protein, GRP), 内质网中有丰富的 GRP78/BiP (immunoglobulin heavy chain binding protein, BiP). HSP70 家族 N 端结构域高度保守, 具有 ATP 酶活性, ATP/ADP 交换位点类似 G 肌动蛋白 ATP 酶结构域. HSP70 家族 C 端结构域是结合多肽或特殊蛋白的部位, 类似 MHC 结合肽结构域, 同源性及功能差异大. HSP70 家族成员具有翻译后磷酸化修饰, 多在 Ser/Thr, 个别在 Tyr (GRP75). HSP70 家族在功能上具有一些共同特点: (1) 所有 HSP70 具有 ATP 酶活性, 个别具有蛋白酶作用, 结合 ATP 后的构象改变促使靶蛋白与之解离, ADP-HSP70 对靶蛋白具有更高亲和力, 形成 HSP70 蛋白复合体后稳定; (2) 选择性结合多肽或特殊蛋白, 参与蛋白稳定构象形成、跨膜转运或降解; (3) HSP70 蛋白复合体的形成需要其他 HSP 或细胞因子; (4) HSP70 家族具有高度保守钙调素结合结构域. HSP70 的表达既可以是快速强烈的诱导表达, 又可以是低水平组成性表达, 受热 HSP 自身负反馈调控. HSP70 属诱生性 HSP, 其诱导表达是多个三聚体热休克因子 (heat shock factor, HSF) 与热休克元件 (HSE) 顺反式协同作用的结果.

HSP 具有潜在的非特异性内源性细胞保护功能, 这种细胞保护是指机体细胞在受到各种应激如高热、氧化等刺激时, 产生的 HSP 可以增强细胞对损害的耐受程度, 维持细胞的正常功能代谢, 提高细胞的生存率. HSP 对肝细胞有免疫保护作用. Redaelli *et al*^[14] 研究发现肝热预处理后, 在肝组织中能明显观察到 HSP32 (H₀-1) 的表达, 并通过减轻肝微循环紊乱, 持续性抑制缺血后肝组织的损伤, 表现为肝细胞胆汁生成的恢复、肝脏酶释放的减少及肝组织水肿、损伤的减轻. 这说明 HSP 在肝组织中有保护作用, 其可能机制是: (1) 直接作用, 即分子伴侣作用, 通过 HSP 的大量产生来维护细胞的生存和机能; (2) 间接作用, 可能与氧自由基有关, HSP 可以抑制 NADPH 氧化酶, 减少氧自由基的来源, 与糖皮质激素受体结合可促进 SOD 的生成, 减少氧自由基造成的脂质过氧化作用, 避免肝脏细胞的进一步被破坏.

HSP70 被认为是肿瘤表面的特异性结构, 正常细胞表面并不表达 HSP70^[15]. 肿瘤形成过程中, 肿瘤细胞不断增殖, 合成代谢增强, 需要大量的 HSP 来调节和稳定这一异常增殖过程. 正常细胞中仅表达少量 HSP70 参与细胞的生长代谢, 并受细胞周期的严格调控, 而肿瘤细胞

即使在无应激条件下,也能独立于细胞周期持续高表达诱导型 HSP70,并呈现持续的高诱导表达异常分布和定位.在病毒转化和化学诱导的肿瘤细胞中,HSP70的表达比正常细胞高几倍.

HSP70 是 HSP 家族中的重要成员之一,在多种肿瘤组织中表达上调,为肿瘤的发生、发展所必需.在许多恶性肿瘤(如乳腺癌、肠腺癌、肺癌等)中,HSP70 的高表达与肿瘤的恶性程度及患者的无瘤生存期相关.肿瘤细胞高表达的 HSP70 能与多种癌基因产物结合形成 HSP70-癌蛋白复合物,介导癌蛋白构象成熟及转运,维持癌蛋白结构与功能的完整,从而参与细胞的转化.HSP70 作为肿瘤血清生物标志物在肝癌过度表达.Schueller *et al*^[16] 研究发现 HSP70 和 90 在热处理的肝癌细胞表达水平显著升高,增加了肝癌细胞肿瘤免疫原性,发挥 HS 肿瘤抗原的分子伴侣功能.在随后的研究中发现 HSP70 和 HSP90 在经射频处理的人 HCC 细胞(SK-HEP-1)中过度表达,提示 HSP 对宿主肿瘤的免疫反应调节是将来免疫治疗的重要策略.

肿瘤的发生是细胞的恶性增殖与细胞凋亡之间平衡失调的结果.HSP70 的高表达增强了肿瘤细胞抗凋亡能力,使细胞的生长抑制效应和死亡减弱.Lim *et al*^[17] 在研究肝癌中丰富的酪氨酸磷酸化蛋白时发现细胞骨架和应激蛋白小分子的酪氨酸激酶抑制剂可影响 HSP70, HSC71 和 GRP75 等分子伴侣蛋白与细胞骨架的高度磷酸化,介导了细胞的流动性,抑制细胞凋亡.HSP70 的持续高表达通过调节肿瘤细胞代谢所必需的蛋白分子构象而发挥其参与细胞增殖、死亡的功能.HSP70 可能与多种原癌基因(c-fos, c-myc, scr, raf, p53, Rb)相互作用,介导其蛋白产物的构象成熟,影响细胞周期,调节细胞增殖^[18].HSP70 还参与了肿瘤细胞抗凋亡过程,可能与 Bcl2, Bcl-XL, Cr-mA 等抗凋亡蛋白协调作用抑制细胞凋亡;下调与细胞凋亡相关基因、蛋白和蛋白酶如 SAPK/JNK 和胱冬肽酶的活性,从而达到拮抗细胞凋亡的作用^[19].

大量文献报道,HSP70 家族与突变 p53 的结合在调控 p53 功能方面起着重要作用.HSP70-p53 复合物的存在可能与肿瘤的发生有关,并可作为判断患者预后不良的指标.崔崇伟 *et al*^[20] 通过免疫组化、原位杂交及免疫荧光双标记激光扫描共聚焦显微镜等方法,发现在肝癌组织中 HSP70 与 p53 的表达存在密切关系,p53 核阳性者同时伴有 HSP70 核阳性.并通过对 3 例 HSP70 与 p53 表达均呈阳性的标本进行免疫共沉淀,从分子水平上证实,HSP70-p53 复合物是肝癌发生、发展中 HSP70 调节 p53 功能的一种重要方式;提示肝癌中存在基于 HSP70-p53 复合物的肿瘤主动免疫机制.HSP70 对 p53 功能的调控可能有以下几方面:(1)HSP70 的伴侣作用可使 p53 构象稳定,以保护 p53 免受蛋白酶的降解,并参与 p53 的胞质装配及核转运,从而调控 p53 的功能;(2)HSP70 使 p53 在胞质中的半衰期延长,可能是由于 HSP70 构象改变,需要高浓度 ATP 才能使 p53 与 HSP70 解离;亦有可能 HSP70 与 p53 结合后封

闭 p53 的核定位序列,导致 p53 在胞质积聚;(3)突变 p53 的构象改变暴露出结合 HSP70 的高亲和力位点,亦可能使 p53 在胞质积聚,胞核中 HSP70 与 p53 结合 DNA 结构域结合,封闭 p53 结合 DNA 的功能,使 p53 失去调控蛋白的作用,从而促进肿瘤的发生、发展;(4)HSP70 在抗原加工、呈递中作用,提示 HSP70 与突变 p53 结合,可能介导肿瘤特异抗原 p53 的降解及呈递,引起机体对 p53 的免疫反应.HSP70 在肿瘤免疫中的这种作用,提示 HSP70 与突变的 p53 结合,可能介导突变的 p53 作为肿瘤抗原的降解及呈递,引起机体对 p53 的免疫应答.因此,利用 HSP70 能与肝癌组织来源的 p53 结合形成 HSP70-p53 复合物的这一特性,可望研制出新型、高效的特异性抗肝癌疫苗.

2.2 HSP90 与肝癌 HSP90 家族在氨基酸序列上高度保守,如白色念珠菌与其他真菌、脊椎动物和植物的 HSP90 相比有 61-79% 的同源性.HSP90 的 C 端是寡聚化结构域,能结合底物蛋白,类似蛋白酶结合底物口袋.C 端最后 4 个氨基酸都是 glu-glu-val-asn(锥虫第 2 个 glu 被 gln 取代),有趣的是该结构同样存在于真核生物的 HSP70 当中,这是 HSP70 与 HSP90 在结构上唯一的相似处,提示该结构具有重要的生物学意义.gp96 是 HSP90 家族的成员,位于内质网腔,N 端具有跨膜序列,C 端有内质网腔定位序列,同样具有 glu-glu-val-asn 结构,用从肿瘤组织中制备的 gp96 免疫小鼠能产生抗相应肿瘤细胞的特异性保护性免疫应答,而从正常组织分离的 gp96 没有这种作用.gp96 是一种高度保守和单态性蛋白.它具有分子伴侣功能,能与细胞内大量多肽非共价结合而不受细胞单倍型和 MHC 分子的影响.gp96-肽复合物也可在体外形成,并具有与体内相似的免疫活性.gp9 参与 MHC I 类抗原的提呈.用肿瘤源 gp96-肽复合物免疫小鼠可诱发抗相应肿瘤细胞的 MHC I 类限制性 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞免疫应答,并能产生记忆性 T 细胞应答,具备了作为疫苗的一个关键要素,与其他肿瘤源蛋白相比, gp96 是一个有效的抗肿瘤疫苗,能更加有效的激发抗原特异性 CTL 反应^[21]. gp96 是单态分子,结合的肽源于细胞蛋白,反映细胞蛋白构成,因此,从任何类型细胞制备的 gp96 均含有该特定类型细胞肽池的所有成分. gp96-肽复合物很有希望成为新一代抗肿瘤疫苗.

目前全世界共有 3.5 亿乙肝病毒感染者,我国约有 1.7 亿.目前应用的乙肝疫苗可预防乙肝感染,但对已感染乙肝病毒特别是已经发展成慢性肝炎、肝硬化和肝癌的患者,还没有有效的治疗药物.Meng *et al*^[22] 研究发现乙肝病毒特异多肽与热休克蛋白 gp96 的复合物,为慢性乙肝、肝硬化和肝癌的免疫治疗开创了新途径,但 HBV 体内复制、组装过程的具体机制至今尚未弄清.陆荫英 *et al*^[23] 综述了分子伴侣中的一些成员 HSP90, HSP70, HSP60, 葡萄糖调节蛋白 94 (GRP94) 及钙连接蛋白(calnexin)等在 HBV 的生命周期中扮演了重要的角色,表明 HSP 在肝炎以及肝癌的发生、发展中有意义.

HSP90 与人类肿瘤发生有较密切关系, Lee *et al*^[24]应用 strategic shotgun proteomics approach 研究肝细胞瘤目标蛋白基因表达谱发现, 在Hep3B细胞中HSP90的表达显著升高, 而且与端粒的长短有关. 可见HSP90的表达水平发挥分子伴侣功能启动端粒酶和端粒结合蛋白的表达, 与HCC的发生有重要关系. HSP90参与肝细胞相关蛋白磷酸化作用的调节和蛋白酶体降解通路. Huang *et al*^[25]发现肝细胞唾液酸糖蛋白缺乏和转铁蛋白受体磷酸化作用使gp96, HSP70, HSP90表达增高, 表明当磷酸化作用缺失时, 唾液酸糖蛋白胞质结构域需要特异的分子伴侣结合后才能发挥调节作用. Gusarova *et al*^[26]报道 apoB 是重要的肝载脂蛋白, apoB的网络作用可被前分泌降解介导的泛醌素蛋白酶体路径和HSP70调节, 同时HSP90和HSP70共同参与了这种内质网相关apoB与蛋白酶体路径的蛋白降解作用. 因脂肪肝的发生与载脂蛋白的分泌有直接关系, 因此HSP也参与了脂肪肝的发病机制.

HSP90 作为基因疫苗的应用可以治疗肿瘤. 刘宪玲 *et al*^[27]用反义核酸技术将反义HSP90重组子导入胃癌细胞系后, 发现HSP90生长受抑, 这些转染细胞生长亦受到不同程度抑制. G1期细胞明显增多, S期细胞明显减少, G1期被阻滞. 可以看出, HSP90与细胞生长有关, 通过抑制HSP90的表达可抑制肿瘤细胞生长.

2.3 HSP47与肝癌 HSP47是一种分子量为 M_r 47 000的HSP, 属小分子量HSP家族. HSP47存在于胶原蛋白分泌细胞的ER内, 与前胶原特异性结合, 参与前胶原的折叠、装配、修饰、转运等过程, 被认为是胶原特异性分子伴侣, 在胶原合成及纤维化病理过程中发挥着重要作用. HSP47在ER内的作用可能包括以下几方面^[28]: (1)防止新合成前胶原 α 链的错误聚集, 帮助形成正确的三股螺旋结构. 在HSP47基因敲除的小鼠模型中观察到HSP47缺失情况下, I型胶原 α 链不能形成正确的三股螺旋结构^[29]; (2)参与前胶原肽链的修饰. 在单独应用III型前胶原cDNA和应用HSP47及III型前胶原cDNA共同转染293细胞的对比实验中观察到无HSP47存在情况下, III型前胶原被过度修饰, 说明HSP47参与了前胶原的修饰过程; (3)防止前胶原肽链在ER内的降解. HSP47的存在可以防止前胶原肽链的降解, 这可能与HSP47属于serin家族有关, 但目前尚未发现HSP47具有丝氨酸蛋白酶抑制物活性; (4)稳定前胶原的三股螺旋结构, 防止三股螺旋形式前胶原的束集. 大多数分子伴侣的作用是在其作用底物折叠装配过程中稳定其中间产物, 而HSP47却与成熟的三股螺旋形式的前胶原结合, 一方面可能是帮助稳定三股螺旋结构, 另一方面可能是防止三股螺旋前胶原的进一步束集^[30]; (5)对前胶原形成的质量控制, 防止结构错误的前胶原泌出ER. 采用 α , α' -联吡啶抑制三股螺旋结构形成实验中, 可见ER内大量新合成的前胶原肽链与HSP47的复合体滞留, 提示HSP47可能具有阻止未成熟或错误折叠的前胶原泌出ER的功能; (6)协助前胶原分泌. 利用反义RNA转染成纤

维细胞, 抑制HSP47合成, 则可抑制前胶原分泌, 但其他胞外基质成分不受影响. 说明正常状态下HSP47有利于前胶原分泌.

HSP47的表达受多种转录因子的调节. HSP47一般在热休克(42–45℃)及其他因子刺激后表达明显增加. HSP47基因转录起始区含有高度保守的热休克元件(HSE)序列. 在高等脊椎动物体内已发现四种热休克因子(HSFs), 分别标识为HSF1, HSF2, HSF3, HSF4, 其中HSF1是应激状态下的主要转录因子. 正常状态下, HSF1以单体形式存在, 应激状态下, HSF1形成三聚体形式, 进入胞核与HSE结合, 启动HSP47基因的转录. 应激状态下的HSP47基因转录是通过HSF-HSE间作用诱导起始的^[28]. HSP47的表达受到多种细胞因子的影响. 在不同的培养细胞中观察到, 转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、白介素-4(IL-4)、成纤维细胞生长因子-2(FGF-2)可使细胞HSP47 mRNA及其蛋白表达上调. 相反, 干扰素-(INF- γ)、表皮生长因子(EGF)可使HSP47 mRNA及其蛋白表达下调. 这些细胞因子在调节HSP47分泌增减的同时同步调节着胶原mRNA及其蛋白表达的升降^[31].

组织器官纤维化及硬化的主要病理改变是细胞外基质(ECM)的异常合成和堆积. 胶原蛋白是胞外基质的重要组成部分, HSP47作为胶原特异性分子伴侣, 在此过程中发挥着重要作用. 对多种疾病模型和人类组织纤维化的病理研究均证实, HSP47的表达上调与胶原合成增加及纤维化进展在时间和分布区域上呈正相关. 抑制HSP47表达可抑制胶原合成, 减弱纤维化程度. 慢性肝炎病毒持续感染会导致肝纤维化, 如果这种纤维化不可逆, 就会引起肝硬化甚至肝癌. 病理状态下, 大量分泌的HSP47则主要来自于异常增生的表型转化细胞. 在肝纤维化区域, 可见大量结合蛋白(desmin)阳性的脂肪细胞. 这些表型转化细胞是纤维化区域胶原蛋白的分泌细胞, 同时均高表达HSP47, 这种HSP47与胶原表达的一致性与HSP47的胶原特异性分子伴侣功能相吻合^[31]. Park *et al*^[32]在CCl₄造模的慢性肝损伤HSP70敲除的转基因小鼠检测发现经过6 wk的CCl₄处理, HSP70-/-小鼠ALT水平低于对照组. HSP25和HSP47的表达水平也低于对照组, 肝坏死分级和嗜酸性粒细胞浸润在HSP70-/-和对照小鼠之间没有显著性差异, CCl₄处理的小鼠没有显著改变肝胶原的产生. Nagata *et al*^[28]通过破坏小鼠HSP47基因, 发现HSP47缺失的小鼠胚胎有错误的三股螺旋折叠形成, 在这些小鼠的间充质细胞和上皮细胞中没有发现胶原的形成, 最终导致胚胎死亡, 可见, HSP47是小鼠发育所必需的; 多组织表达检测发现HSP47在肝、肾、肺等多组织纤维化中显著上调, 表明通过下调HSP47的表达, 减少组织胶原的积累, 可作为肝纤维化基因治疗的新策略. HSP47作为一种胶原特异的分子伴侣, 不仅参与纤维化/硬化疾病的形成, 而且还在损伤修复和组织重建中起到重要作用. 郭津生 *et al*^[33]采用免疫组织化学方法检测了6例

肝癌手术切除标本及乙酸诱导后不同时间大鼠胃溃疡组织标本内 HSP47 的表达和定位. 结果发现人肝癌包膜、癌旁肝纤维化纤维间隔内的纤维细胞以及在纤维间隔附近肝细胞周围的星状细胞表达 HSP47 蛋白. 大鼠胃组织内成纤维细胞、血管内皮细胞以及平滑肌细胞均有 HSP47 蛋白的表达. 溃疡基底肉芽组织内大量增生的成纤维细胞、小血管内皮细胞表现 HSP47 蛋白强阳性染色. 可见 HSP47 的表达在肝癌、肝纤维化的发生有重要意义.

2.4 HSP27与肝癌 HSP27 的表达是在转录和翻译两个水平上进行调节的, 但前者更为重要. HSP 基因上游序列中存在一个热休克反应元件(heat shock element, HSE), 由 3 个以上的 nGAA 核心序列重复排列构成. HSE 作为 HSP 基因的顺式作用元件, 在与作为反式作用因子的热休克转录因子结合以后, 启动该 HSP 基因的表达. HSP27 具有 HSP 亚家族的显著特点: 在细胞内可表现为单体/二聚体, 甚至 μ 70 000 的寡聚体. HSP 生物体内有两种表达形式: 诱导型主要在外界环境的刺激下表达, 具有保护细胞的功能; 构成型主要在生理状态下表达, 与细胞的分化、发育密切相关.

HSP27 在肿瘤的发生、发展及预后中也起了关键作用. 研究发现, 高度表达 HSP27 的细胞, 其发生多种肿瘤, 如乳腺癌、前列腺癌、胃癌、卵巢癌等的危险性大大增高, 且预后较差, HSP27 可作为肿瘤预后好坏的可信指标之一^[34]. 活性氧(reactive oxygen species, ROS)是由外源性氧化剂或胞内有氧代谢中产生的、具有很高的生物活性的氧自由基, 可直接损害或通过一系列过氧化链式反应引起广泛的生物大分子结构破坏, 并可直接改变细胞内环境稳定性. 在一些特定条件下, 如病毒感染、缺血、缺氧、离子辐射、紫外线照射、化疗药物、化学试剂等都可介导活性氧的产生而导致细胞凋亡的发生. HSP27 参与氧化应激保护细胞氧化损伤. Katsuki *et al*^[35]报道 HSP27 能降低细胞中的 ROS 水平、延缓脂质过氧化及胞质蛋白的氧化等相关过程. 还原型谷胱甘肽(GSH)是细胞合成的、胞内重要的水溶性抗氧化剂. 实验证明, 组成性表达和诱导性表达增加 HSP27 的过度表达, 启动了通过促进 GSH 自身的氧化还原循环, 提高葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性, 使胞内 GSH 的水平增高, 对 TNF- α 或放射线等其他类型的氧化损伤具有保护作用.

慢性丙型肝炎病毒(HCV)感染与肝纤维化, 肝硬化, 肝脂肪变和肝细胞癌的发生紧密相关. HCV 病毒 RNA 的 NS5A 蛋白是一种具有广泛反式激活作用的蛋白分子, 其羧基末端富含酸性氨基酸及脯氨酸. NS5A 主要定位于细胞 ER, NS5A 可能参与了细胞信号转导途径, 通过 JAK1 介导 STAT3 的激活. NS5A 蛋白能够下调 Bcl-2 和细胞周期调节基因 p21WAF1 的表达, HCV NS5A 对于 p21WAF1 表达的抑制, 实际上就是对于细胞周期的促进作用^[36]. Choi *et al*^[37]研究 HCV 非结构蛋白 NS5A 和 NS5B 的结合蛋白发现, HSP27 与 NS5A 结合而不与 NS5B 结合, NS5A 氨基端 1-181 氨基酸位点, HSP27 氨基端 1-122 氨基酸位点是二者相互作用

的结合域. HSP27 普遍存在于细胞胞质内, 当热应激时, HSP27 在内质网与 NS5A 有共同锚定作用. 近年研究结果还证实, NS5A 蛋白还具有结合载脂蛋白 AI、AII 的功能, 在肝脏脂肪滴中也见到了 NS5A 的存在. 因此, 认为 NS5A 蛋白在慢性丙型肝炎、肝脏脂肪变(steatohepatitis)的发病中也有重要地位^[38]. 不同磷酸化形式的 NS5A 蛋白具有反式激活作用也是目前关于 NS5A 生物学功能研究的热点, 推测 NS5A 蛋白的这种反式激活作用, 可能是 HCV 感染与 HCC 发生、发展密切相关的重要分子生物学机制^[39-41].

HSP27 可以抑制细胞凋亡, 保护肝细胞损伤. HSP27 磷酸化使 HSP27 从寡聚体变为二聚体, 并与 Daxx 结合, 阻止了 Daxx 由胞核向胞质的转位以及与 Fas、Ask1 的结合, 使该凋亡通路中断. 然而, 当细胞表达寡聚体形式的 HSP27 或缺乏 Daxx 结合能力的突变体时, HSP27 不能发挥抗凋亡作用^[42]. 可见, HSP27 与死亡受体 Fas 介导的凋亡途径密切相关. 但 De Miglio *et al*^[43]研究发现 HCC 细胞中 HSP27 在肝小丘过度表达, 但不出现显著地保护非典型损害抑制凋亡. 因此, 对于 HSP27 在肝癌细胞的作用机制尚需深入探讨.

总之, HSP 与肝癌的研究已经取得了一定的进展. 由于 HSP 具有分子伴侣、抗氧化、协同免疫以及抗细胞凋亡等多种功能, 且这些功能对于肝损伤的治疗有积极的作用, 从而为肝癌的治疗供了一条新思路. 人们发现肿瘤自体产生的 HSP 结合了肿瘤抗原, 引起特异性反应, 但这种特异性由结合的多肽抗原决定. 源于肿瘤组织的 HSP 本身并非抗原, 而是作为抗原载体发挥作用, 可以增加抗原的免疫原性, 激发肿瘤特异性 T 淋巴细胞, 从而杀伤肿瘤细胞. 因此, 人们提出 HSP 可以作为肿瘤免疫的分子佐剂发挥免疫防治作用. 正确认识 HSP 效应, 能帮助我们进一步了解肝癌的发生和发展, 并为其治疗提供新途径. 然而有关 HSP 治疗肝癌途径的研究仍存在着许多问题, 且 HSP 一般在应激条件下才能大量产生, 其抑制肿瘤的作用机制还需要进一步阐明. HSP 家族在肝癌组织中过度表达, 可以作为肝癌发生的血清生物标志物, 对于肝癌的诊断和预后具有指导意义. 随着学者们对 HSP 分子生物学和免疫学机制研究的深入, 随着 HSP70 基因疫苗的研究的不断发展, gp96, HSP90, HSP27 也受到了肿瘤研究者的关注^[44-45]. 所以, HSP 蛋白这一古老家族, 已经成为肿瘤免疫治疗的一个新制高点. 进一步了解 HSP 家族多种蛋白在肝癌及其他器官肿瘤发生、发展中的作用以及抗肿瘤机制将成为今后继续研究的重要课题.

3 参考文献

- 1 Qu J, Zhu XG, Gu J, Yu YX, Cheng DX, Ye YJ, Cheng JN. High expression of HSP70 mRNA in human colorectal carcinoma and its clinical implication. *Zhonghua Shiyao Waike Zazhi* 1998; 15:559-560
- 2 Ren HY, Yi CQ, Zhang JK. Expression of PCNA and HSP70 in patients with Hp infected gastric mucosa. *Tongji Yike Daxue Xuebao* 1999; 28:135-137
- 3 Guo JC, Zhang XY, Yang YS, Ye L, Li JC, Fan DM. Over expression of heat shock protein (HSP) 70 in human Gastric

- cancer. *Aizheng* 1999;18:45-46
- 4 Li C, Chen JD, Chai WJ. Expression of heat shock protein70, P-glycoprote in and PCNA in squamous cell carcinoma of esophagus. *Shiyong Aizheng Zazhi* 1999;14:205-207
- 5 Qiao HH, Zhao M, Yuan XH, Shi YJ, Zhou C, Fan YX, Huang CZ. Expression of heat shock protein90 α and its effect on the growth of tumor in mice. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 1999;21:19-21
- 6 Wang XP, Liu GZ, Song AL, Chen RF, Li HY, Liu Y. Expression and significance of heat shock protein 70 and glucose-regulated protein 94 in human esophageal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005;11:429-432
- 7 Chen SB, Hong JQ, Wang YH. Expression and significance of heat shock protein70 and p53 prote in ingastriccarcinoma. *Shiyong Aizheng Zazhi* 2000;15:241-242
- 8 Guo JC, Li JC, Fan DM, Qiao TD, Zhang XY. Regulation of HSP70 expression in human gastric cancer cell line SGC7901 by gene transfection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:773-776
- 9 Vander Straten A, Rommel C, Dickson B, Hafen E. The heat shock protein 83 (HSP83) is required for Raf-mediated signaling in *Drosophila*. *EMBOJ* 1997;16:1961-1969
- 10 Silverstein AM, Grammati kakis N, Cochran BH, Chinkers M, Pratt WB. p53 (cdc37) binds directly to the catalytic domain of Rafas well as to a site on hsp90 that is to pologically adjacent to the tetratri copeptide repeat binding site. *J Biol Chem* 1998;273:20090-20095
- 11 Shi Y, Zhao M, Xu X. Comparative study of expression levels of the major human heat shock proteins in cancer and normal tissues. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 1998;20:277-279
- 12 Hendrick JP, Hartl FU. Molecular chaperone functions of heat-shock proteins. *Annu Rev Biochem* 1993;62:349-384
- 13 Ritossa FM. A new puffing pattern induce by temperature shock and DNP in *Drosophila*. *Experientia* 1962;18:571-573
- 14 Redaelli CA, Tian YH, Schaffner T, Ledermann M, Baer HU, Dufour JF. Extended preservation of rat liver graft by induction of heme oxygenase-1. *Hepatology* 2002;35:1082-1092
- 15 Gullo CA, Teoh G. Heat shock proteins:to present or not, that is the question. *Immunol Lett* 2004;94:1-10
- 16 Schueller G, Kettenbach J, Sedivy R, Bergmeister H, Stift A, Fried J, Gnant M, Lammer J. Expression of heat shock proteins in human hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation in an animal model. *Oncol Rep* 2004;12:495-499
- 17 Lim YP, Wong CY, Ooi LL, Druker BJ, Epstein RJ. Selective tyrosine hyperphosphorylation of cytoskeletal and stress proteins in primary human breast cancers: implications for adjuvant use of kinase-inhibitory drugs. *Clin Cancer Res* 2004;10:3980-3987
- 18 Tchounwou PB, Yedjou CG, Dorsey WC. Arsenic trioxide-induced transcriptional activation of stress genes and expression of related proteins in human liver carcinoma cells (HepG2). *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2003;49:1071-1079
- 19 Wu YF, Cao MF, Gao YP, Chen F, Wang T, Zumbika EP, Qian KX. Down-modulation of heat shock protein 70 and up-modulation of Caspase-3 during schisandrin B-induced apoptosis in human hepatoma SMMC-7721 cells. *World J Gastroenterol* 2004;10:2944-2948
- 20 崔崇伟, 杨守京, 刘雁平, 刘彦仿. 人肝癌组织中 p53 与 HSP70 相互作用的初步研究. *细胞与分子免疫学杂志* 2003;19:195-196
- 21 张士猛, 刘志敏. 热休克蛋白 gp96 作为抗原载体的研究进展. *中国生物工程杂志* 2003;23:12-16
- 22 Meng SD, Song J, Rao Z, Tien P, Gao GF. Three-step purification of gp96 from human liver tumor tissues suitable for isolation of gp96-bound peptides. *J Immunol Methods* 2002;264:29-35
- 23 陆荫英, 成军, 张玲霞. 分子伴侣及其与乙型肝炎病毒的关系. *胃肠病学和肝病学杂志* 2002;11:178-179
- 24 Lee CL, Hsiao HH, Lin CW, Wu SP, Huang SY, Wu CY, Wang AH, Khoo KH. Strategic shotgun proteomics approach for efficient construction of an expression map of targeted protein families in hepatoma cell lines. *Proteomics* 2003;3:2472-2486
- 25 Huang T, Deng H, Wolkoff AW, Stockert RJ. Phosphorylation-dependent interaction of the asialoglycoprotein receptor with molecular chaperones. *J Biol Chem* 2002;277:37798-37803
- 26 Gusarova V, Caplan AJ, Brodsky JL, Fisher EA. Apoprotein B degradation is promoted by the molecular chaperones hsp90 and hsp70. *J Biol Chem* 2001;276:24891-24900
- 27 刘宪玲, 郭建成, 肖冰, 徐立, 俞召才, 樊代明. 热休克蛋白 90 反义核酸抑制人消化道肿瘤细胞生长的作用. *中华医学杂志* 1999;79:714-715
- 28 Nagata K. Expression and function of heat shock protein 47: a collagen specific molecular chaperone in the endoplasmic reticulum. *Matrix Biol* 1998;16:379-386
- 29 Nagata K. Therapeutic strategy for fibrotic diseases by regulating the expression of collagen-specific molecular chaperone HSP47. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 2003;121:4-14
- 30 Tasab M, Jenkinson L, Bulleid NJ. Hsp47: a molecular chaperone that interacts with and stabilizes correctly-folded procollagen. *EMBO* 2000;19:2204-2211
- 31 Rocnik E, Chow LH, Pickering JG. Heat shock protein 47 is expressed in fibrous region of human atheroma and is regulated by growth factors and oxidized low density lipoprotein. *Circulation* 2000;101:1229-1233
- 32 Park DH, Lee MS, Kim HJ, Kim HS, Lee YL, Kwon MS, Jang JJ, Lee MJ. Chronic hepatotoxicity of carbon tetrachloride in hsp-70 knock out mice. *Exp Anim* 2004;53:27-30
- 33 郭津生, 王吉耀, 纪元, 谭云山. 热休克蛋白 47 在人肝癌癌周组织和人鼠胃溃疡组织中的表达和意义. *胃肠病学和肝病学杂志* 2000;3:255-257
- 34 Elpek GO, Karaveli S, Simsek T, Keles N, Aksoy NH. Expression of heat shock proteins HSP27, HSP70 and HSP90 in malignant epithelialtumour of the ovaries. *APMIS* 2003;111:523-530
- 35 Katsuki K, Fujimoto M, Zhang XY, Izu H, Takaki E, Tanizawa Y, Inouye S, Nakai A. Feeding induces expression of heat shock proteins that reduce oxidative stress. *FEBS Lett* 2004;571:187-191
- 36 Sarcar B, Ghosh AK, Steele R, Ray R, Ray RB. Hepatitis C virus NS5A mediated STAT3 activation requires co-operation of Jak1 kinase. *Virology* 2004;322:51-60
- 37 Choi YW, Tan YJ, Lim SG, Hong W, Goh PY. Proteomic approach identifies HSP27 as an interacting partner of the hepatitis C virus NS5A protein. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:514-519
- 38 成军. 慢性病毒性肝炎发病机制的分子生物学研究. *世界华人消化杂志* 2002;10:125-128
- 39 成军, 钟彦伟, 施双双, 王刚, 董菁, 夏小兵, 杨继胜, 陈菊梅. HCV 非结构蛋白 NS5A 人源单链抗体可变区基因的筛选与鉴定. *中华微生物和免疫学杂志* 2000;20:567
- 40 钟彦伟, 成军, 施双双, 王刚, 夏小兵, 田小军, 李莉, 张玲霞, 陈菊梅. 人源抗丙型肝炎病毒包膜蛋白 E2 单链抗体的研究. *中华肝脏病杂志* 2002;10:109-112
- 41 成军, 施双双, 钟彦伟, 夏小兵, 王刚, 王琳, 刘妍, 陈菊梅. 丙型肝炎病毒包膜蛋白 E2 可溶性单链可变区抗体在大肠杆菌中的表达. *中国病毒学* 2001;16:220-223
- 42 Charette SJ, Lavoie JN, Lambert H, Landry J. Inhibition of Daxx-mediated apoptosis by heat shock protein 27. *Mol Cell Biol* 2000;20:7602-7612
- 43 De Miglio MR, Mironi MR, Simile MM, Calvisi DF, Tolu P, Deiana L, Carru A, Bonelli G, Feo F, Pascale RM. Implication of Bcl-2 family genes in basal and D-amphetamine-induced apoptosis in preneoplastic and neoplastic rat liver lesions. *Hepatology* 2000;31:956-965
- 44 Motoyama S, Saito S, Itoh H, Minamiya Y, Maruyama K, Okuyama M, Ogawa J. Methylprednisolone-induced expression of mitochondrial heat shock protein 60 protects mitochondrial membrane potential in the hypoxic rat liver. *Shock* 2004;22:234-239
- 45 Chen H, Yu YY, Zhang MJ, Deng XX, Yang WP, Ji J, Peng CH, Li HW. Protective effect of doxorubicin induced heat shock protein 72 on cold preservation injury of rat livers. *World J Gastroenterol* 2004;10:1375-1378