



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2021.10.022

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.10.022

· 继续教育园地 ·

热休克蛋白 47 与消化系统肿瘤的研究进展

田山 郭绪峰 郭颖韵 李娇 董卫国

【摘要】 热休克蛋白 47(HSP47)是由位于 11q13.5 染色体上的丝氨酸家族成员 1 基因所编码的一种蛋白质,是胶原正确折叠和分泌所必需的一种重要分子伴侣蛋白。HSP47 在胶原合成的多个步骤中发挥至关重要的作用,可以防止前胶原聚集及诱导脯氨酸和赖氨酸残基的羟基化。研究发现多种消化系统肿瘤中存在 HSP47 的异常表达,且 HSP47 可促进肿瘤血管生成、肿瘤增殖、迁移和转移。本综述拟重点探讨 HSP47 在消化系统肿瘤中的研究进展。

【关键词】 热休克蛋白 47; 伴侣蛋白; 胶原; 消化系统肿瘤; 分子靶点

【中图分类号】 R573

【文献标识码】 A

维持细胞蛋白质的稳态是细胞发挥正常功能的必要前提。蛋白质的正确折叠是众多分子共同参与以维持蛋白稳态的一个复杂的过程,而内质网是参与这个过程最主要的细胞器^[1]。蛋白折叠的核心角色是伴侣蛋白,有助于新合成肽链的成熟。热休克蛋白 47(HSP47)是由丝氨酸家族成员 1(SERPINH1)基因所编码的一种伴侣蛋白,防止前胶原聚集和诱导脯氨酸以及赖氨酸残基的羟基化^[2],对胶原正确折叠和分泌起着重要的作用。在过去的 20 年里,HSP47 一直被视为一种维持细胞蛋白质稳态的重要伴侣蛋白。多种疾病均存在 HSP47 的异常表达,包括结缔组织疾病和恶性肿瘤。本文重点探究 HSP47 与胶原之间的相互作用、HSP47 在多种消化道肿瘤发生与发展中的作用及 HSP47 作为治疗靶点的相关研究进展。

一、HSP47 与胶原成熟

胶原是体内最丰富的蛋白质,也是细胞外基质(ECM)的主要组成部分。胶原由 3 条 α 链组成,每条链都有三螺旋区域。这 3 条链具有不同功能的结构域:N 端丙肽、中心胶原结构域和 C 末端前肽。而胶原基因翻译后,3 条 α 链的 C 端结构域相互识别,并引起它们的相互聚合。蛋白质二硫异构酶(PDI)可加速这一生理过程^[3]。胶原分子的转运与分泌主要通过内质网和高尔基信号通路。当胶原在 ECM 处于前胶原的阶段时,特异性的蛋白酶会水解 N 端丙肽和 C 末端的前肽,随后引起 ECM 的胶原相互聚合。HSP47 由于具有内质网滞留信号通路和高尔基体膜的相关受体,可以返回至高尔基体^[3]。

HSP47 在胶原链的正确折叠过程中发挥至关重要的作用。在胶原三螺旋结构形成的过程中,胶原分子的结构域变为疏水

性,HSP47 与这些区域结合并阻止前胶原在内质网中的大量聚集。HSP47 与前胶原的结合或解离与 pH 密切相关。当 pH 为 6.4~7.0 时,HSP47 通过自我连接方式抑制 I 型胶原的纤维原的合成。当 pH 降至 6.3 以下时,I 型胶原纤维原的合成逐渐增加。pH 降低会引起 HSP47 蛋白结构的改变,而这种结构变化会抑制 HSP47 和 I 型胶原结合^[4]。因此,HSP47 在中性 pH 的内质网中会与前胶原结合,而在转运至高尔基体的弱酸性环境中会与前胶原解离。

一些化学修饰对胶原分子的形成和分泌非常必要,其中最关键的是脯氨酸和赖氨酸残基的羟基化。只有那些尚未折叠的肽链才有可能被修饰,且这个过程需要脯氨酰 3-羟化酶、脯氨酰 4-羟化酶和赖氨酰羟化酶等多种酶的参与。赖氨酰羟化酶 2 的激活会产生组织特异性模式的羟基化。这些模式通过调节分子间的内交联和间交联,从而调控 ECM,而这些修饰模式的变化会引起肿瘤转移相关的改变^[5]。

二、HSP47 和肿瘤、胶原的相关性

ECM 对组织的支持、抵抗起关键作用。此外,ECM 对众多调控细胞功能的生物化学信号通路至关重要。ECM 包括几种重要组成成分,如胶原、层粘连蛋白、纤维连接蛋白、糖蛋白、蛋白聚糖和基质细胞蛋白质。在肿瘤的发生发展过程中,ECM 的重构很常见,可通过上调增殖相关信号通路促进肿瘤的进展和转移。HSP47 通过调控 ECM 相关信号通路促进肿瘤的增殖与浸润,可能是肿瘤诊断和治疗的潜在靶点^[6]。HSP47 是由 SERPINH1 基因所编码的一种伴侣蛋白,而微小 RNA(miRNA,miR)-29 可调控 SERPINH1 mRNA 的 3'-非翻译区(UTR)。研究表明 miR-29 可抑制 HSP47 的表达,调控 HSP47 蛋白在细胞内的表达水平^[6]。miR-29 的下调会引起 HSP47 的上调,这种现象在消化系统肿瘤中普遍存在。

1. HSP47 与结直肠癌

Mori 等^[7]利用相对和绝对定量的同位素标记法评估 HSP47 与结直肠癌之间的相关性,发现了与结直肠癌淋巴结转移密切相关的蛋白,后续的生物信息学技术分析表明 HSP47 是其中一个关

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81572426);武汉大学教师自主科研项目(2042019kf0059)

作者单位:430060 武汉,武汉大学人民医院消化内科(田山、郭颖韵、李娇、董卫国),肿瘤科(郭绪峰)

通讯作者:董卫国,E-mail:dwg@whu.edu.cn

注:第一作者现在华中科技大学同济医学院附属协和医院工作

键标记物蛋白。免疫组化结果表明, HSP47 在伴有淋巴结转移的结直肠癌患者中表达水平明显高于不伴淋巴结转移的结直肠癌患者, 进一步的预后分析表明肿瘤间质 HSP47 阳性的梭形细胞数量与患者预后密切相关^[7]。肿瘤梭形细胞可分泌大量高表达 HSP47 的胶原纤维, 一方面促进结直肠癌纤维化, 另一方面促进上皮间质转化, 更加利于肿瘤细胞的转移^[7]。Xu 等^[8]研究发现, 梗阻性结直肠癌组织间质梭形细胞的 HSP47 表达水平显著高于非梗阻的结直肠癌组织间质梭形细胞, 且 HSP47 在促进结直肠癌纤维化的过程中起重要作用。

溃疡性结肠炎是一种累及结直肠的慢性炎症性疾病, 主要以多发的肠道溃疡为特点, 具有复发与缓解交替的特征^[9]。病程超过 20 年的溃疡性结肠炎患者恶变为结直肠癌的风险是普通人群的 10~12 倍^[10]。对溃疡性结肠炎相关结直肠癌和散发的结直肠癌组织进行蛋白组学检测, 结果发现, 溃疡性结肠炎相关结直肠癌组织的 HSP47 表达较散发的结直肠癌组织明显上调。此外, 免疫组化分析结果表明 HSP47 与 I 型胶原同时表达于细胞浆, 且表达水平随结直肠癌进展程度增加而增多。蛋白质免疫印迹法检测细胞培养基时也发现了分泌在基质中的 HSP47^[11]。在炎癌转化的过程中, 间质的胶原代谢发生变化, 不仅成纤维细胞分泌胶原纤维, 癌变的上皮细胞也会分泌大量的 I 型胶原纤维, 从而导致溃疡性结肠炎癌变患者机体 HSP47 水平升高。肠道慢性炎症诱发病变肠道产生大量的细胞因子, 不仅异常分泌胶原纤维引起肠道纤维化, 还会引起金属蛋白酶的释放从而促进肠癌的转移^[11]。

2. HSP47 与胃癌

胃癌是消化系统常见恶性肿瘤, 寻找早期诊断胃癌的标记物对于改善患者预后至关重要。Cao 等^[12]利用生物信息学技术对胃癌相关数据库进行分析, 发现 SERPINH1 mRNA 在胃癌组织中显著上调, 且通过受试者工作特征 (ROC) 曲线分析发现 SERPINH1 mRNA 对胃癌的诊断价值较高 (ROC 曲线下面积为 0.698)。同时也发现高水平的 SERPINH1 mRNA 与分化差的胃癌类型密切相关, 且与胃癌患者总体预后不良相关。我们的前期研究^[13]发现 SERPINH1 基因在胃癌与癌旁组织中存在显著的表达差异, SERPINH1 可以作为鉴别胃癌与非癌的一个很好的指标。此外, 细胞学实验进一步表明 HSP47 蛋白在胃癌细胞系和胃癌组织中的表达明显高于正常胃上皮细胞及相应的癌旁组织。且过表达 HSP47 后, 胃癌细胞 Wnt/ β 连环蛋白 (Wnt/ β -catenin) 信号通路的关键蛋白表达显著增加, 增殖、迁移、侵袭等生物学行为增强, 肿瘤间质相关蛋白指标上调, 而肿瘤上皮相关蛋白指标表达下调。可见, HSP47 主要通过上调 Wnt/ β -catenin 信号通路促进胃癌细胞的上皮间质转化与转移。HSP47 在胃癌中发挥促癌作用, 可以作为胃癌诊断和预后评估的一个重要指标。

3. HSP47 与胰腺癌

Maitra 等^[14]利用免疫组化技术检测了 57 例原发性浸润性胰腺导管腺癌组织中 HSP47 的表达情况, 结果表明 HSP47 在胰腺癌肿瘤相关间质中表达最为显著, 而胰腺导管腺癌的成纤维细胞仅有少量的 HSP47 表达, 且 35% 的导管腺癌组织完全不表达 HSP47。但在胰腺非导管腺癌间质组织中的 HSP47 表达检测结果却发现 HSP47 在所有的胰腺非导管腺癌间质组织中高表

达^[15]。而当对胰腺癌的肿瘤组织着色情况进行分析时, 发现不同类型的胰腺癌 HSP47 表达水平并不一样。75% 的胰腺导管腺癌组织、23% 的腺泡细胞癌和 25% 的实性假乳头状胰腺癌组织表达 HSP47, 而所有类型胰腺癌的破骨巨细胞均表达 HSP47^[14]。此外, HSP47 通过与胰腺腺泡细胞的钙网蛋白结合, 促进胰腺癌化疗耐药的产生^[16]。HSP47 在不同类型胰腺癌中异常表达的生物学机制尚不明确。

4. HSP47 与食管癌

食管癌是我国肿瘤死因的第 4 位, 占有恶性肿瘤死亡的 9.26%^[17]。Lee 等^[18]采用免疫组化技术检测了 157 例食管癌手术切除标本中 HSP47 的表达情况, 发现 HSP47 高表达于食管癌组织的细胞膜, 而低表达于相应的癌旁组织。此外, 对患者的生存资料进行比例风险回归模型 (Cox) 分析结果显示, 高表达 HSP47 是食管癌患者预后不良的一项独立危险因素。而利用小干扰 RNA 技术沉默食管癌细胞的 HSP47 基因后, 相比于对照组的食管癌细胞系, 敲除 HSP47 的食管癌细胞增殖、迁移和侵袭能力显著降低。

三、HSP47 作为肿瘤的治疗靶点

有学者将包含 HSP47 结合肽序列和化疗药阿霉素的水溶性高分子药物输送系统应用于头颈部鳞状细胞癌细胞系, 以研究 HSP47 是否可作为化疗的潜在分子靶点^[19]。HSP47 结合肽序列 WHYPWFQNWAMA 和化疗药物阿霉素通过四肽网络结合于多聚物, 利用化疗药-多聚体聚合的方式, 这种药物输送系统可以被 HSP47 受体所识别, 随后实现药物的细胞内释放。同样地, N-(2-羟丙基) 甲基丙烯酸酯 (HPMA) 共聚物也可与 HSP47 结合肽序列结合, 作为靶向化疗的配体, 且可以通过简单的常规方式合成^[20]。化疗药物 5-氟尿嘧啶的一种衍生物 1,3-二甲基-5-氟尿嘧啶也可实现与 HSP47 结合肽序列的聚合。聚合物形成和内化后, 有学者利用头颈部鳞状细胞癌细胞系检测这种聚合物对肺癌细胞的细胞毒性和凋亡的影响。结果显示, 与不含 HSP47 结合肽序列的 5-氟尿嘧啶和高分子聚合物相比, 这种靶向聚合物具有更强的细胞毒性、更快的内化速度和更强的促进肿瘤细胞凋亡及坏死的能力^[21]。

在开发新的肿瘤化疗药物时, 抑制 HSP47 分子靶点是一个很好的策略。不同于其他的伴侣蛋白, HSP47 仅作为胶原的特异性伴侣蛋白, 因此抑制 HSP47 是一种很有前景的干预措施。目前已经研发出基于 4 种分子结构的 2 080 种小分子化合物, 它们对 HSP47 均有一定的抑制作用。分别将这些小分子化合物作用于不同的肿瘤细胞系, 确定各种化合物的半抑制指数 (IC₅₀), 结果发现这些化合物确实对 HSP47 具有一定的抑制效应^[22]。

吡非尼酮是一种临床上常用的抗纤维化药物, 主要用于治疗原发性肺纤维化^[23]。研究发现吡非尼酮可下调转化生长因子- β (TGF- β) 信号通路抑制 HSP47 与 I 型胶原纤维的表达, 从而发挥抗纤维化的作用^[24]。最近的一项研究发现吡非尼酮可增强血管功能和灌注, 促进吡柔比星的化疗敏感性, 减少肿瘤的细胞间质成分^[25]。此外, 研究报道吡非尼酮可抑制肝星状细胞系-T6 (HSC-T6) 的增殖, 且呈现显著的浓度-剂量依赖的特性^[26]。AK-778 是一种抑制性分子, 可以竞争性抑制 HSP47 与胶原的结

合。当用 AK-778 干预这些细胞时,胶原分子逐渐失去稳定性。进一步研究发现,AK-778 被分解为两种化合物,即 Col002 和 Col003,其中对 HSP47 起明显抑制作用的是 Col003。我们的前期研究发现,胃癌细胞大量表达 HSP47,利用 Col003 特异性抑制 HSP47 蛋白后,Col003 干预的胃癌细胞增殖、迁移和侵袭能力相较于对照组显著降低^[13]。以上研究结果均表明,HSP47 的小分子抑制剂对治疗 HSP47 异常变化的疾病具有较好的前景。

四、小结

HSP47 表达异常直接参与了多种消化系统肿瘤的发生发展。作为重要的促癌分子,HSP47 参与了消化系统肿瘤细胞 ECM 的形成与演变,在上皮间质转化的过程中起重要作用。HSP47 已逐渐成为消化道肿瘤诊断和精准化疗的一个潜在靶点,此外,其小分子抑制剂在消化系统肿瘤中的应用价值有待更多的临床研究加以探究。

参 考 文 献

- [1] Oakes SA. Endoplasmic Reticulum Proteostasis: A Key Checkpoint in Cancer[J]. Am J Physiol Cell Physiol,2016,312(2):C93-C102.
- [2] Ito S, Nagata K. Roles of the endoplasmic reticulum-resident, collagen-specific molecular chaperone Hsp47 in vertebrate cells and human disease[J]. J Biol Chem,2019,294(6):2133-2141.
- [3] Sauk JJ, Norris K, Hebert C, et al. Hsp47 Binds to the KDEL Receptor and Cell Surface Expression is Modulated by Cytoplasmic and Endosomal pH[J]. Connect Tissue Res,1998,37(1-2):105-119.
- [4] Thomson CA, Ananthanarayanan VS. Structure-function studies on Hsp47: pH-dependent inhibition of collagen fibril formation in vitro[J]. Biochem J. 2000,349(3):877-883.
- [5] Chen Y, Terajima M, Yang Y, et al. Lysyl hydroxylase 2 induces a collagen cross-link switch in tumor stroma[J]. J Clin Invest,2015,125(3):1147-1162.
- [6] Zhu J, Xiong G, Fu H, et al. Chaperone Hsp47 drives malignant growth and invasion by modulating an ECM gene network[J]. Cancer Res, 2015,75(8):1580-1591.
- [7] Mori K, Toiyama Y, Otake K, et al. Proteomics analysis of differential protein expression identifies heat shock protein 47 as a predictive marker for lymph node metastasis in patients with colorectal cancer[J]. Int J Cancer,2017,140(6):1425-1435.
- [8] Xu CJ, Mikami T, Nakamura T, et al. Tumor budding, myofibroblast proliferation, and fibrosis in obstructing colon carcinoma: the roles of Hsp47 and basic fibroblast growth factor[J]. Pathol Res Pract,2013, 209(2):69-74.
- [9] 苗新普, 韦红, 崔路佳. 海南省溃疡性结肠炎临床特征的研究[J]. 临床内科杂志,2018,35(6):384-386.
- [10] Stidham RW, Higgins PDR. Colorectal Cancer in Inflammatory Bowel Disease[J]. Clin Colon Rectal Surg,2018,31(3):168-178.
- [11] Araki K, Mikami T, Yoshida T, et al. High expression of HSP47 in ulcerative colitis-associated carcinomas: proteomic approach[J]. Br J

- Cancer,2009,101(3):492-497.
- [12] Cao W, Zhou D, Tang W, et al. Discovery of plasma messenger RNA as novel biomarker for gastric cancer identified through bioinformatics analysis and clinical validation[J]. Peer J,2019,7:e7025.
- [13] Tian S, Peng PL, Li J, et al. SERPINH1 regulates EMT and gastric cancer metastasis via the Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Aging (Albany NY),2020,12(4):3574-3593.
- [14] Maitra A, Iacobuzio-Donahue C, Rahman A, et al. Immunohistochemical validation of a novel epithelial and a novel stromal marker of pancreatic ductal adenocarcinoma identified by global expression microarrays: Sea urchin fascin homolog and heat shock protein 47[J]. Am J Clin Pathol, 2003,118(1):52-59.
- [15] Yoneda A, Minomi K, Tamura Y. Heat shock protein 47 confers chemoresistance on pancreatic cancer cells by interacting with calreticulin and IRE1 α [J]. Cancer Sci,2021,112(7):2803-2820.
- [16] Cao D, Maitra A, Saavedra JA, et al. Expression of novel markers of pancreatic ductal adenocarcinoma in pancreatic nonductal neoplasms: additional evidence of different genetic pathways[J]. Mod Pathol, 2005,18(6):752-761.
- [17] 贺宇彤, 李道娟, 梁迪, 等. 2013 年中国食管癌发病和死亡估计[J]. 中华肿瘤杂志,2017,39(4):315-320.
- [18] Lee HW, Kwon J, Kang MC, et al. Overexpression of HSP47 in esophageal squamous cell carcinoma: clinical implications and functional analysis[J]. Dis Esophagus. 2016,29(7):848-855.
- [19] Hebert C, Coletta RD, Norris K, et al. Non-natural CBP2 binding peptides and peptomers modulate carcinoma cell adhesion and invasion[J]. J Cell Biochem,2001,82(1):145-154.
- [20] Nan A, Ghandehari H, Hebert C, et al. Water-soluble polymers for targeted drug delivery to human squamous carcinoma of head and neck[J]. J Drug Target,2005,13(3):189-197.
- [21] Xiang Q, Yang Y, Zhou Z, et al. Synthesis and in vitro antitumor activity of novel HPMA copolymer-drug conjugates with potential cell surface targeting property for carcinoma cells[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2012,80(2):379-386.
- [22] Thomson CA, Atkinson HM, Ananthanarayanan VS. Identification of small molecule chemical inhibitors of the collagen specific chaperone Hsp47[J]. J Med Chem,2005,48(5):1680-1684.
- [23] Nathan SD, Costabel U, Albera C, et al. Pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and more advanced lung function impairment[J]. Respir Med,2019,153:44-51.
- [24] Nakayama S, Mukae H, Sakamoto N, et al. Pirfenidone inhibits the expression of HSP47 in TGF- β 1-stimulated human lung fibroblasts[J]. Life Sci,2008,82(3-4):210-217.
- [25] Polydorou C, Mpekris F, Papageorgis P, et al. Pirfenidone normalizes the tumor microenvironment to improve chemotherapy[J]. Oncotarget, 2017,8(15):24506-24517.
- [26] Xiang XH, Jiang TP, Zhang S, et al. Pirfenidone inhibits proliferation, arrests the cell cycle, and downregulates heat shock protein 47 and collagen type I in rat hepatic stellate cells in vitro[J]. Mol Med Rep, 2015,12(1):309-314.

(收稿日期:2020-02-26)

(本文编辑:张一冰)