

# 热休克蛋白70在癫痫中的研究进展

李彦霖, 王爱华

山东大学附属山东省千佛山医院神经内科, 山东 济南

收稿日期: 2022年2月14日; 录用日期: 2022年3月8日; 发布日期: 2022年3月17日

## 摘要

癫痫(Epilepsy)是多种原因引起的脑病神经元异常同步异常放电所致的临床综合征,是最常见的慢性神经系统疾病之一。异常放电神经元位置不同及异常放电波及范围差异,导致患者发作形式多样。目前,癫痫治疗方法有药物治疗、手术切除致痫病灶、迷走神经电刺激等,现有治疗方法以控制癫痫发作频率为主,缺乏预防癫痫发生的神经保护疗法,无法降低耐药性癫痫的发生比例。热休克蛋白(Heat shock proteins, HSPs)是一类分子伴侣蛋白,具有稳定蛋白质结构和功能的作用。大量的研究发现,热休克蛋白70在炎症因子的表达、抑制细胞凋亡、抑制蛋白质聚集、肿瘤、免疫等方面发挥作用,与神经系统疾病的发病机制关系密切。本文就HSP70在癫痫疾病中的研究进展进行概述,以期HSP70相关制剂在癫痫治疗中的使用提供理论依据。

## 关键词

热休克蛋白70, 癫痫, 综述

# Research Progress of Heat Shock Protein 70 in Epilepsy

Yanlin Li, Aihua Wang

Department of Neurology, Shandong Qianfoshan Hospital, Cheeloo College of Medicine, Shandong University, Jinan Shandong

Received: Feb. 14<sup>th</sup>, 2022; accepted: Mar. 8<sup>th</sup>, 2022; published: Mar. 17<sup>th</sup>, 2022

## Abstract

Epilepsy is a clinical syndrome caused by abnormal synchronous abnormal discharge of encephalopathic neurons caused by a variety of reasons, and it is one of the most common chronic nervous system diseases. The different location of abnormal discharge neurons and the different range of

abnormal discharge affect lead to the various forms of patients' attacks. Currently, the treatment methods for epilepsy include drug therapy, surgical resection of epileptic foci and electrical stimulation of vagus nerve, etc. The existing treatment methods mainly control the frequency of epileptic seizures, but lack neuroprotective therapy to prevent the occurrence of epilepsy, which cannot reduce the proportion of drug-resistant epilepsy. Heat shock proteins (HSPs) are a kind of chaperone proteins, which can stabilize the structure and function of proteins. A large number of studies have found that HSP70 plays a role in the expression of inflammatory factors, inhibition of cell apoptosis, inhibition of protein aggregation, tumor, immunity and other aspects, and is closely related to the pathogenesis of nervous system diseases. This article summarized the research progress of HSP70 in epilepsy, in order to provide theoretical basis for the use of HSP70 related preparations in the treatment of epilepsy.

## Keywords

Heat Shock Protein 70, Epilepsy, Review

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 前言

热休克蛋白(Heat shock proteins, HSPs)是一种高度保守的蛋白,参与维持细胞蛋白质稳态,防止蛋白质的错误折叠和聚集,在蛋白质折叠、分解和降解中起着重要作用。目前已发现的 HSP 有十余种,根据其分子量的大小将其分 HSP27、HSP40、HSP60、HSP70、HSP90、HSP110 等多个亚型,依据调节方式不同分为结构型 HSP、诱导型 HSP、和 HSP 类似物三大类[1]。在神经系统、呼吸系统、心血管系统、内分泌系统等方面广泛研究。70 kDa 的热休克蛋白(HSP70)是一种应激诱导蛋白,已被证明可以保护大脑免受各种神经系统损伤,并且参与癫痫持续状态后上调的炎症反应。

癫痫(Epilepsy)是一种以反复发作作为特征的慢性神经系统疾病,疾病产生可能与免疫炎症、内环境改变、遗传因素等相关[2]。根据其病因可分为症状性(继发于其他疾病,如癌症或脑损伤)、特发性和隐性(病因不明,可能有症状)。根据国际抗癫痫联盟 2017 年分类标准,癫痫分为局灶性、全面性和不能分类,所有类型的癫痫发作又可以分运动性或非运动性的,且局灶性发作可逐渐演变为双侧强直阵挛发作[3]。因为癫痫发作形式多样,发作时机无迹可寻,所以癫痫患者常常合并焦虑抑郁等心理问题,为个人、家庭及社会带来极大负担。然而,现有的药物治疗策略以降低神经元的兴奋性、防止癫痫发作为主,并未从根本上解决癫痫的发生。揭示新的癫痫发病机制及药物靶点,并以此开展新的治疗技术显得尤为重要。本文就 HSP70 在癫痫疾病最新研究进展进行综述,以期对癫痫的诊断及治疗提供新思路,为 HSP70 相关制剂在癫痫治疗中的使用提供理论依据。

## 2. 热休克蛋白 70 的一般情况

热休克蛋白(Heat shock proteins, HSPs)是目前研究最全面的应激蛋白,最初在细胞非致死热应激过程中被观察到。HSPs 作为一种伴侣蛋白,通常在细胞质中发挥作用,参与协助蛋白质折叠、降解、复杂组装和易位。在脑损伤(例如,脑梗塞和短暂性脑缺血发作)发生时,大多数细胞蛋白的合成被下调。然而,热休克蛋白属于一小类上调的蛋白质,被统称为应激蛋白。其按分子量大小进行分类,HSP70 和 HSP90 是两种高度保守的 ATP 依赖的 HSPs。

HSP70 家族由两个独立的结构域构成, 分别是 N 端核苷酸结合域(nucleotide-binding domain, NBD) 和 C 端底物结合域(substrate-binding domain, SBD), N 端 ATPase 功能域的结构类似于凝集素和己糖激酶主要由 2 个大的球形亚功能域 I 和 II 组成, 之间通过两个交叉的  $\alpha$ -螺旋相连接[4]。HSP70 作为伴侣蛋白参与蛋白质稳态网络, 具有确保新生多肽正确折叠, 抑制蛋白质聚集, 协助蛋白质跨膜运输, 促进某些变性蛋白质的降解清除, 以及大分子配合物组装和拆卸的调控的作用[1] [5] [6] [7]。HSP70 以三种形式存在, 分别为: 无核苷酸结合、结合 ATP 和结合 ADP [8]。HSP70 蛋白生理功能是通过协同伴侣热休克蛋白 40 (co-chaperone heat shock protein 40, Hsp40)和核苷酸交换因子(NEFs)辅助 ATP 水解功能循环驱动 NBD 和 SBD 的变构合作实现[9]。晶体学研究表明, HSP70 变构依赖于 ATP 结合的 NBD 及一个  $\alpha$ -螺旋接触, 伴随着 SBD 子域对 NBD 的不同位点, 导致变构来结合底物[10]。

### 3. 热休克蛋白 70 与癫痫的相关性

HSP70 是一种普遍存在的分子伴侣, 在细胞应激反应和受体运输控制等功能中发挥着重要作用, 主要包括结构型 Hsc70 (Heatshockcognate70)和诱导型 HSP70 (Heatshockprotein70)两种形式, 两者生化特性基本相同。既往研究显示, 癫痫发作可诱导 HSP70 在动物脑组织内广泛表达并认为其可能对神经元具有保护作用。随着研究的深入, 我们发现 HSP70 可能对癫痫发挥促进作用。

Eva-Lotta von Rüden 通过野生型小鼠癫痫点燃模型与 HSPA1A (HSP70)转基因小鼠癫痫点燃模型对比发现, HSPA1A (HSP70)转基因小鼠更早的表现出全身痉挛, 且随着癫痫发作严重程度增加, 转基因小鼠癫痫发作持续时间更长, 首次证明 HSP70 浓度升高可能促进癫痫的发生[11]。Heidrun Potschka 等对癫痫持续状态下大鼠颞叶癫痫模型海马、海马旁皮质、顶叶皮质、杏仁核和丘脑组织中 HSP70 进行免疫组化染色, 分析发现: 癫痫发生的不同阶段 HSP70 表达存在差异, 损伤后早期 HSP70 表达的影响更强, 潜伏期 HSP70 表达的影响较弱且局限, 而在慢性期无相关影响。得出损伤后早期神经元 HSP70 的强烈上调可能有助于过度炎症的发生, 触发分子和细胞的重组和高兴奋性癫痫网络的产生的结论[12]。我国王克威团队观察到, 在海人酸诱导的急慢性癫痫大鼠模型中, 海马神经元中 HSP70 异常表达导致电压门控钾离子通道 Kv4 降解及神经元异常放电, 敲除 HSP70 基因或抑制 HSP70 表达可以抑制海马神经元中的 A 型钾电流, 进而抑制神经元的高兴奋性, 减轻急性或慢性癫痫。进一步揭示了 HSP70 在癫痫发病机制中的作用, 展示了 HSP70 抑制剂在癫痫或神经兴奋性相关神经障碍疾病中的治疗潜力[11] [13]。综上所述, 在制定预防癫痫发生的多靶点策略时应考虑在致病性损伤后早期调节 HSP70 水平。

### 4. HSP70 在具体癫痫疾病中的研究进展

卒中后癫痫(post-stroke epilepsy, PSE)是指排除代谢性疾病和其他脑部疾病后, 在脑卒中后首次发作的癫痫, 脑电图(electroencephalogram, EEG)可能监测到痫样放电并可作为辅助诊断标准[14]。根据卒中后癫痫发作特点, 分为早发型和晚发型[15]。目前发病机制有急性脑损伤、神经递质失衡、遗传因素、神经血管单位破坏、胶质细胞增生[16], 已有研究表明, HSP70 与缺血性脑血管病联系广泛。局灶性缺血 10 分钟开始表达 HSP70, 24 小时后在大脑中动脉(MCA)区大量表达[17]。且血浆中 HSP70 水平在脑缺血前后也会表现动态变化, 在缺血早期(人 3 h 内, 大鼠 1 h)血浆 HSP70 水平达到高峰, 给予溶栓等治疗后, 血浆中 HSP70 逐渐下降。血浆 HSP70 水平的动态变化与缺血时间有紧密相关[18], 但 HSP70 在卒中后癫痫发病过程中的作用尚不明确。Laura Abaira 将 1115 例缺血性和出血性卒中患者发病 6 小时内或未给予药物治疗前的血样, 使用免疫分析法进行生物标记物分析, 发现卒中后癫痫发作患者 Hsc70 水平较低, 在调整了显著临床变量的多元回归模型中, Hsc70 水平  $< 2.496$  [ $P = 0.006$ ,  $HR = 3.795$ ,  $95\% CI (1.476, 9.760)$ ], 得出 Hsc70 与 PSE 的发生有关, 检测该指标变化可以作为评估卒中后癫痫风险提供除临床危险

因素之外的信息[19] [20]。考虑到 HSP70 过表达可以引起 Hsc70 下调, 我们有理由相信 HSP70 与 PSE 的发生有关。

脑炎后癫痫(Post-encephalitic epilepsy, PEE)定义目前尚未统一定论, 根据国际抗癫痫联盟 2014 年制定的癫痫实用临床定义, PEE 被定义为在脑炎急性期后至少出现一次非诱发性癫痫发作[21]。几乎所有类型的脑炎急性期均可表现为癫痫发作, 为诱发性发作。急性期过后反复癫痫发作, 为非诱发性发作, 部分可发展为难治性癫痫, 发生率 7%~14.5% [22]。PEE 分类根据脑炎病因不同可分为感染相关性脑炎、免疫相关性脑炎和不明原因性脑炎, 病毒感染后出现的 PEE 较常见。PEE 的确切发病机制尚不清楚, 神经炎症反应可能与癫痫的发生发展有关。急性期炎症细胞释放炎症因子引起炎症级联反应, 影响神经细胞细胞膜稳定性。慢性期可能由于脑组织缺血缺氧损伤、慢性炎症因子和癫痫本身作为炎症信号刺激, 引起血脑屏障损伤和神经元持续过度兴奋有关[23]。研究发现, 乙型脑炎病毒感染致癫痫小鼠星形胶质细胞内 miR-16-1、热休克蛋白 70 表达增加, 且对炎症因子 IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$  和 NF- $\kappa$ B 的表达有促进作用, 这可能为脑炎病毒感染引起的单纯癫痫发作和癫痫发作的机制[24] [25]。

耐药性癫痫(Drug Resistant Epilepsy)是指给予两种或两种以上抗癫痫药物规范治疗, 仍未实现癫痫发作频率减少 50%或控制无发作的癫痫[26]。耐药性癫痫的发生可能与遗传因素、神经炎症、自身免疫及神经退行性过程有关。癫痫手术是许多耐药局灶性癫痫患者的有效治疗方法[27], 特别是迷走神经电刺激术、脑深部电刺激术、立体脑电引导下的射频消融损毁术等新技术的使用, 为耐药性癫痫患者带来希望, 但出血、感染、费用昂贵仍是不能回避话题, 耐药性癫痫治疗仍是研究热点。目前已有证据表明, Hsp90 抑制剂通过破坏 Hsp90 $\beta$  (而不是 HSP70)和 GLT-1 相互作用来阻止谷氨酸转运体 GLT-1 降解, 并将其作为治疗癫痫和兴奋性毒性的靶点[28]。此外, Mohammed Hossain 研究发现, 热休克蛋白 70/热休克蛋白 90 可促进人局灶性耐药癫痫脑内皮细胞糖皮质激素受体的成熟, 从而调控人癫痫脑内皮细胞的药物代谢酶(如细胞色素 P450s、CYPs)和外源性药物转运体(MDR1), 上调血脑屏障的局部药物转化, 从而限制药物进入人类癫痫脑靶区, 进而导致药物耐药性[29]。

## 5. 小结

随着 HSP 家族潜在神经保护剂的作用逐渐被认识, HSP 与神经系统疾病的关系愈发密切。特别在帕金森病、阿尔茨海默病等领域的研究也取得一定进展, 例如: 帕金森模型中补充 HSP70 可恢复细胞活力和线粒体膜电位(MMP), 降低凋亡、线粒体碎片和活性氧(ROS) [30]; AD 时 HSP70 羧基化裂解, 导致其与 BMP 结合能力下降, 进而影响溶酶体稳定性, 导致周围神经元的死亡缺失及 A $\beta$  的大量聚集沉积[31]。但是, 与退行性神经病不同, 越来越多的研究证据表明, HSP70 在癫痫中发挥病理作用。HSP70 是否在癫痫中发挥保护作用, 需进一步研究。

目前针对癫痫疾病的治疗仍停留在控制症状、预防并发症的阶段, 无法实现治愈的目标。HSPs 的多层面保护机制可能是一种有效的治疗靶点, 目前癌症临床试验已开展了 HSP90 抑制化合物的使用, 但还没 HSP 相关制剂在神经系统疾病中应用。就目前而言, HSP70 在治疗癫痫方面是有潜力的靶点, 其在临床实践中的价值, 仍需进一步研究。

## 参考文献

- [1] 陈明帅, 徐超, 宋兴超, 刘学庆, 邢秀梅, 赵家平. 热休克蛋白的研究进展[J]. 经济动物学报, 2016, 20(1): 44-53.
- [2] Manford, M. (2017) Recent Advances in Epilepsy. *Journal of Neurology*, **264**, 1811-1824. <https://doi.org/10.1007/s00415-017-8394-2>
- [3] Makushkin, Y.V., Oskolkova, S.N. and Fastovtsov, G.A. (2017) Psikhiiatriia budushchego: Obzor mneniĭ zarubezhnykh issledovatelei o pozitsii psikhiiatrii v sovremennom mire [Psychiatry of the Future: An Overview of Foreign

- Scientists Opinions of the Position of Psychiatry in the Modern World]. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S.S. Korsakova*, **117**, 107-111.
- [4] Bertelsen, E.B., Chang, L., Gestwicki, J.E. and Zuiderweg, E.R. (2009) Solution Conformation of Wild-Type *E. coli* Hsp70 (DnaK) Chaperone Complexed with ADP and Substrate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 8471-8476. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903503106>
- [5] Kim, Y.E., Hipp, M.S., Bracher, A., Hayer-Hartl, M. and Hartl, F.U. (2013) Molecular Chaperone Functions in Protein Folding and Proteostasis. *Annual Review of Biochemistry*, **82**, 323-355. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060208-092442>
- [6] Clerico, E.M., Tilitzky, J.M., Meng, W. and Gierasch, L.M. (2015) How Hsp70 Molecular Machines Interact with Their Substrates to Mediate Diverse Physiological Functions. *Journal of Molecular Biology*, **427**, 1575-1588. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.02.004>
- [7] 张玉秀, 柴团耀. HSP70 分子伴侣系统研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 1999, 26(6): 554-558.
- [8] Brown, I.R. (2007) Heat Shock Proteins and Protection of the Nervous System. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1113**, 147-158. <https://doi.org/10.1196/annals.1391.032>
- [9] Gong, W., Hu, W., Xu, L., et al. (2018) The C-Terminal GGAP Motif of Hsp70 Mediates Substrate Recognition and Stress Response in Yeast. *Journal of Biological Chemistry*, **293**, 17663-17675.
- [10] Vandova, V., Vankova, P., Durech, M., et al. (2020) HSPA1A Conformational Mutants Reveal a Conserved Structural Unit in Hsp70 Proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—General Subjects*, **1864**, Article ID: 129458. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2019.129458>
- [11] von Rüden, E.L., Wolf, F., Keck, M., et al. (2018) Genetic Modulation of HSPA1A Accelerates Kindling Progression and Exerts Pro-Convulsant Effects. *Neuroscience*, **386**, 108-120. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.06.031>
- [12] Gualtieri, F., Nowakowska, M., von Rüden, E.L., Seiffert, I. and Potschka, H. (2019) Epileptogenesis-Associated Alterations of Heat Shock Protein 70 in a Rat Post-Status Epilepticus Model. *Neuroscience*, **415**, 44-58. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.06.031>
- [13] Hu, F., Zhou, J., Lu, Y., et al. (2019) Inhibition of Hsp70 Suppresses Neuronal Hyperexcitability and Attenuates Epilepsy by Enhancing A-Type Potassium Current. *Cell Reports*, **26**, 168-181.E4. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.032>
- [14] 徐菲, 金平, 王玉. 脑卒中后癫痫发作的相关危险因素分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2017, 21(2): 179-182.
- [15] Szaflarski, J.P., Rackley, A.Y., Kleindorfer, D.O., et al. (2008) Incidence of Seizures in the Acute Phase of Stroke: A Population-Based Study. *Epilepsia*, **49**, 974-981. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2007.01513.x>
- [16] Yang, H., Rajah, G., Guo, A., Wang, Y. and Wang, Q. (2018) Pathogenesis of Epileptic Seizures and Epilepsy after Stroke. *Neurological Research*, **40**, 426-432. <https://doi.org/10.1080/01616412.2018.1455014>
- [17] Sharp, F.R., Lu, A., Tang, Y. and Millhorn, D.E. (2000) Multiple Molecular Penumbrae after Focal Cerebral Ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, **20**, 1011-1032. <https://doi.org/10.1097/00004647-200007000-00001>
- [18] 侯双兴, 等. 热休克蛋白 70 在缺血/再灌脑损伤中的动态变化及机制研究[Z]. 上海: 上海市浦东医院, 2019.
- [19] 郭雅静, 孟永玲. 探寻预测急性卒中事件后发生癫痫的生物标记物[J]. 癫痫杂志, 2021, 7(6): 547-554.
- [20] Abraira, L., Santamarina, E., Cazorla, S., et al. (2020) Blood Biomarkers Predictive of Epilepsy after an Acute Stroke Event. *Epilepsia*, **61**, 2244-2253. <https://doi.org/10.1111/epi.16648>
- [21] Fisher, R.S., Acevedo, C., Arzimanoglou, A., et al. (2014) ILAE Official Report: A Practical Clinical Definition of Epilepsy. *Epilepsia*, **55**, 475-482. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>
- [22] 陈豆豆, 胡越. 脑炎后癫痫诊断与治疗进展[J]. 癫痫杂志, 2020, 6(4): 345-349.
- [23] Vezzani, A., Lang, B. and Aronica, E. (2015) Immunity and Inflammation in Epilepsy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **6**, a022699. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a022699>
- [24] Turturici, G., Sconzo, G. and Geraci, F. (2011) Hsp70 and Its Molecular Role in Nervous System Diseases. *Biochemistry Research International*, **2011**, Article ID: 618127. <https://doi.org/10.1155/2011/618127>
- [25] Yao, Y., Yang, Y., He, X. and Wang, X. (2017) miR-16-1 Expression, Heat Shock Protein 70 and Inflammatory Reactions in Astrocytes of Mice with Epilepsy Induced by Encephalitis B Virus Infection. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **14**, 495-498. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4513>
- [26] Rincon, N., Barr, D. and Velez-Ruiz, N. (2021) Neuromodulation in Drug Resistant Epilepsy. *Aging and Disease*, **12**, 1070-1080. <https://doi.org/10.14336/AD.2021.0211>
- [27] Blümcke, I., Aronica, E., Miyata, H., et al. (2016) International Recommendation for a Comprehensive Neuropathologic Workup of Epilepsy Surgery Brain Tissue: A Consensus Task Force Report from the ILAE Commission on Di-

- agnostic Methods. *Epilepsia*, **57**, 348-358. <https://doi.org/10.1111/epi.13319>
- [28] Sha, L., Wang, X., Li, J., *et al.* (2017) Pharmacologic Inhibition of Hsp90 to Prevent GLT-1 Degradation as an Effective Therapy for Epilepsy. *Journal of Experimental Medicine*, **214**, 547-563. <https://doi.org/10.1084/jem.20160667>
- [29] Hossain, M., Williams, S., Ferguson, L., *et al.* (2020) Heat Shock Proteins Accelerate the Maturation of Brain Endothelial Cell Glucocorticoid Receptor in Focal Human Drug-Resistant Epilepsy. *Molecular Neurobiology*, **57**, 4511-4529. <https://doi.org/10.1007/s12035-020-02043-9>
- [30] Li, H., Yang, J., Wang, Y., Liu, Q., Cheng, J. and Wang, F. (2019) Neuroprotective Effects of Increasing Levels of HSP70 against Neuroinflammation in Parkinson's Disease Model by Inhibition of NF- $\kappa$ B and STAT3. *Life Sciences*, **234**, Article ID: 116747. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116747>
- [31] Yamashima, T. (2013) Reconsider Alzheimer's Disease by the 'Calpain-Cathepsin Hypothesis'—A Perspective Review. *Progress in Neurobiology*, **105**, 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2013.02.004>