

# 運動誘發心肌熱休克蛋白 70 表現之性別差異

李淑玲／中州科技大學保健食品系

傅正思／國立臺東大學體育學系

何應志／南華大學體育教學中心

## 摘要

當細胞面臨壓力損傷時熱休克蛋白將可協助細胞修復，以維持細胞生理功能等機制，許多研究了解熱休克蛋白（特別是熱休克蛋白 70 家族）對心臟細胞保護作用之影響，亦有研究結果肯定運動誘發熱休克蛋白 70 表現量與心肌功能的保護作用與效益；而在運動後心肌細胞熱休克蛋白 70 反應卻有性別上的差異性，在急性運動刺激後，男性心肌熱休克蛋白 70 表現量明顯增加，在女性體內表現量卻無明顯改變，此差異主要與女性體內的雌激素對細胞結構的穩定作用、提升抗氧化能力與血管擴張情形有關；在長期規律運動訓練時，心肌熱休克蛋白 70 表現量在男性與女性體內皆明顯增加，因此，以熱休克蛋白 70 表現角度更是肯定規律運動對心血管健康的保護效益。

**關鍵詞：**分子伴侶子、雌激素、心血管保護作用、運動訓練

## 壹、前言

早期概念普遍認為心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 是主要發生於男性，然而，在許多大型流行病學研究指出，女性罹患心血管疾病情形同樣嚴重，只是發生疾病年齡較男性晚，尤其是停經後婦女在心血管疾病的風險上並不亞於男性，因此心血管疾病的防治措施在不同生理性別上，都是需要正視的議題，而心血管疾病防治與改善方法中：運動、飲食與生活型態修正都是很重要的策略；而規律運動已知與健康及長壽有密切關係，其中包括減少心血管疾病危險機率，流行病學研究指出規律從事中等強度以上運動量者可減少死亡率及降低中風發生的風險 (Powers, Smuder, Kavazis, & Quindry,

2014)，而運動與心血管保護 (cardioprotective) 的相關機制錯綜複雜，可能與改善血管內皮細胞功能、粒線體產能能力及提升抗氧化能力達到減少氧化性傷害等作用有關，近年來部分研究逐漸重視心肌細胞中熱休克蛋白 (heat shock proteins, HSPs) 表現量，特別是熱休克蛋白 70 家族 (heat shock proteins 70, HSP70) 對心血管細胞面臨環境壓力 (如：缺血再灌流、熱傷害、發炎反應、氧化傷害等) 時的保護機制 (Benjamin & Mcmillan, 1998)，許多研究也指出運動刺激能增加心肌細胞 HSP70 表現量，提升心肌細胞保護與修復的作用 (Benjamin & Christians, 2002; Powers et al., 2014)，然而，有學者指出：男性與女性之間在運動引發心肌 HSP70 反應狀況情形不盡相同，因此本篇將探討 HSP70 與心臟保護作用，及運動刺激對 HSP70 合成之影響，並了解不同性別在運動後心肌 HSP70 表現不同之因素。

## 貳、熱休克蛋白介紹

熱休克蛋白最早由 Ritossa 於 1962 年所提出，其研究指出當果蠅受到高溫刺激時，其唾液腺細胞染色體出現蓬鬆現象，且細胞內含有一種特殊類型的蛋白質，因為與熱刺激有關，因此取名為熱休克蛋白 (Ritossa, 1996)。研究指出當細胞受到高溫、高滲透壓、化學藥物等刺激，都可能是引發細胞中 HSPs 增加的因素，HSPs 主要是以幫助細胞內蛋白質轉位、協助變性蛋白質 (denatured protein) 形成正確的三度空間折疊結構及聚集組合，增進修復以維持細胞生理功能等機制，達到保護細胞的作用，因此有著分子伴侶 (molecular chaperon) 之稱。

熱休克蛋白的種類繁多，HSPs 依據其分子量的大小可分為多種家族，主要有 HSP60、HSP70、HSP90 和小分子熱休克蛋白質家族 (small heat shock proteins, sHSPs)，HSPs 在細胞內的含量約占細胞總蛋白質的 5%，熱休克蛋白合成反應作用主要由熱休克調控因子 (heat shock transcription factor, HSF) 與熱休克蛋白基因啟動子 (heat shock element, HSE) 所調控，當細胞面臨不同的壓力刺激，熱休克調控因子會與熱休克蛋白基因啟動子結合形成 HSF-HSE 複合結構，在細胞核引發 HSPs 的 DNA 轉錄或是 mRNA 轉譯而合成新的蛋白質，所以在熱刺激或其他逆境刺激所導致之熱休克蛋白的累積情形，對細胞的生存是很重要的機制 (Locke et al., 1995)。

## 參、熱休克蛋白 70 與心臟組織保護作用

近年來探討 HSPs 與疾病關聯的研究相當多，主要在心血管疾病、肝臟疾病 (肝纖維化)、代謝症候群及癌症方面有關 (Gunaldi et al., 2015)，其中，在熱休克蛋白家族中，HSP70 家族常與疾病研究連結，主要因為 HSP70 具有較保守

的結構和功能有關，在細胞中也是反應最為顯著的熱休克蛋白 (Chen et al., 2015)，研究顯示 HSP70 此類蛋白質具有減低環境壓力，如高溫、毒性傷害、放射線壓力、局部缺血 (ischemia) 等因素所造成的細胞傷害；更有研究逐漸探討 HSP70 與心血管組織保護作用之效益 (Peng et al., 2010; Rani et al., 2013)，研究發現：提升心肌中 HSP70 表現量對心肌細胞的抗凋亡能力 (Liu et al., 2016)、提升心肌鈣離子恆定及降低炎症因子的釋放 (Peng et al., 2010; Su et al., 2010) 等皆有正向作用，因此，在壓力情形下心肌中 HSP70 蛋白質表現量提升，對於維持心肌細胞的修復能力及正常結構具有極大重要性；而 Liu 等 (2016) 研究中指出心肌缺血/再灌流壓力 (ischemic reperfusion, IR) 模式將誘發 HSP70mRNA 表現量提高，而合成之 HSP70 可透過抑制細胞自噬作用 (autophagy) 來減低心肌損傷情形；其他研究也提出 HSP70 對心肌細胞的保護作用，與其能協助調控細胞粒線體 ATP 合成能力、維持心肌鈣離子濃度的穩定、以及透過影響 Mitogen-Activated Protein Kinases/c-Jun N-terminal kinases (MAPK / JNK) 訊息傳導途徑，來減低心肌細胞凋亡情形的發生情形有關 (Rani et al., 2013)；由上述可知，HSP70 在心血管功能可能扮演重要的角色。

## 肆、運動與心肌熱休克蛋白 70

運動刺激將影響血漿、白血球及骨骼肌中 HSP70 反應之相關研究廣為學者們所探討，而運動過程所引起的生理變化與壓力刺激有關 (Lollo, Moura, Morato, & Amaya-Farfan, 2013; Staib, Tumer, & Powers, 2009)，包含：運動提升體內環境溫度、組織局部缺氧、細胞中 pH 下降、氧自由基、一氧化氮產生、葡萄糖儲存量下降、心肌肌肉牽張 (cardiomyocyte stretching) 等因素，皆可能是引起細胞中 HSP70 表現量改變的原因 (Lollo et al., 2013; Milne, Thorp, Krause, & Noble, 2011)。

然而，運動誘發心肌中 HSP70 含量改變的相關研究也陸續展開 (Leung et al., 2008; Melling, Thorp, & Noble, 2004; Milne & Noble, 2008)，如 Locke 等 (1995) 以動物試驗探討不運動或進行不同時間單次固定負荷跑步運動對心肌 HSP70 表現量之情形，其研究指出運動 40 分鐘以上的運動組別，心肌中熱休克調控因子 (HSF) 活性與 HSP70mRNA 轉錄作用顯著高於不運動組；另外，Milne, Wolff, 與 Noble (2012) 研究指出不管是單次運動或是連續五天運動刺激，雄性鼠心肌中 HSP70 合成量皆顯著增加；而 Melling 等 (2007) 研究則以坐式生活型態與規律運動對心肌熱休克蛋白質含量情形進行探討，其研究指出經過 8 周有氧運動訓練的動物鼠，其心肌 HSP70 蛋白質含量顯著高於無運動組，另外，運動訓練組與無運動組同時進行單次運動刺激，結果指出：在運動組心肌中 HSP70 基因表現量 (hsp70gene expression) 及 HSF1-HSE 結合度 (HSF1-HSE DNA binding) 明顯高於無運動組，其研究顯示規律運動對心肌熱休克蛋白 70 累積量與合成能力皆具有正向效益。

然而，有研究認為低強度運動訓練 (< 55-60%  $\text{VO}_2 \text{ max}$ ) 雖然能顯著改變骨骼肌中 HSP70 累積量，但卻無法明顯改變心肌 HSP70 含量 (Starnes, Choilawala, Taylor, Nelson, & Delp, 2005)，亦有學者提出心肌核心溫度增加對 HSP70 的影響，將高於調高心肌運動負荷的作用 (Staib, Quindry, French, Criswell, & Powers, 2007)，而有關運動訓練負荷與心肌 HSP70 反應情形尚無明確定論，但如同前段敘述文獻探討中，將可以肯定的是：規律運動對心肌 HSP70 含量以及心血管保護機制的效益。

## 伍、不同性別於運動後心肌

### 熱休克蛋白 70 表現差異

#### 之探討

研究指出：在單次運動與長時間運動訓練兩種不同模式中，心肌中 HSP70 反應量在男性與女性體內結果不盡相同 (圖 1) (Milne & Noble, 2008)，男性與女性在不運動情況下，HSP70 表現量並沒有差異，但是在單次運動後，男性心肌細胞內 HSP70 表現量明顯增加，在女性心肌細胞中 HSP70 表現量卻沒有明顯變化 (Paroo, Haist, Karmazyn, & Noble, 2002)；而在反覆性運動或長期運動訓練後，男性與女性心肌 HSP70 表現量在訓練後皆有明顯改變。

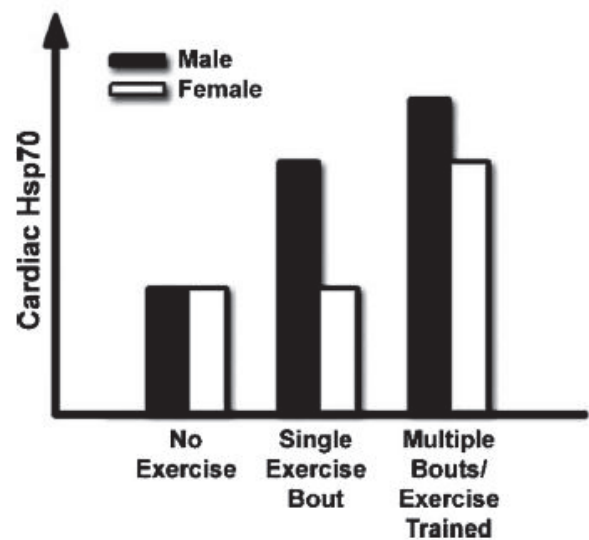


圖 1. 運動誘發心肌熱休克蛋白表現量在男性與女性間之差異性。(資料引自 Milne & Noble, 2008)。

單次運動時，不同性別體內 HSP70 表現量的差異情形，學者們指出目前無法斷定是否與先天基因型態差異有關，但是許多研究逐漸發現，男性與女性體內雌激素 (estrogen) 與睪固酮 (testosterone) 的性腺賀爾蒙差異，可能是影響 HSP70 表現量的關鍵因素；如在 Paroo 等 (2002) 研究中指出單次 60 分鐘中強度跑步運動 (速度 30 公尺/分鐘) 後，雄性動物鼠心肌中 HSP70 表現量

顯著高於雌性動物鼠量的兩倍；而學者則再探討切除卵巢的雌性鼠（阻斷雌激素產生）與正常雄性鼠在單次運動後心肌 HSP70 表現量的差異性，結果指出：切除卵巢雌性鼠運動後心肌 HSP70 表現量與雄性鼠反應結果相似，但若進一步將已除卵巢的雌性動物鼠再以外源性方式注射雌激素介入後，其 HSP70 表現量則同樣低於雄性鼠的反應，因此學者在其結論中提到：雌激素可能是影響不同生理性別在運動後心肌細胞 HSP70 表現量差異的影響因子，並且以 HSP70 合成反應來探討運動對心血管保護作用效益上，在男性體內效益將大於女性。

雌激素主要分為雌酮 (estrone; E1)、雌二醇 (17  $\beta$ -estradiol; E2) 和雌三醇 (estriol; E3)，其中以 E2 生物活性最強，研究提出，雌激素在體內作用具有穩定細胞膜結構、影響內皮細胞一氧化氮合成酶 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 途徑，增加一氧化氮 (nitric oxide, NO) 的合成與釋放以維持血管正常擴張，並具有減少血管內皮細胞凋亡與提升細胞抗氧化能力等作用，因此，當激烈運動引發細胞失恆情況時，雌激素透過上述各項恆定作用來穩定細胞運作，間接改變細胞內啟動壓力反應作用 (Benjamin & Christians, 2002)；而學者也指出 E2 在細胞中影響運動誘發 HSP70 表現量的可能機轉，圖 2 所示：在細胞內 E2 與雌激素受體 (estrogen receptor, ER) 有極高的親和性，E2 與 ER 接合後，迫使 HSP90 和 ER 分離，E2-ER 複合體結合後進細胞核，並具有活化細胞內多項轉錄之作用 (圖 2 中 C 流程)；而游離態的 HSP90 與熱休克因子-1 (HSF-1) 形成結合型態 (HSP90-HSF-1)，此結合作用相對減少 HSF-1 進入細胞核中與 HSE 結合機會，HSP70mRNA 表現量自然減低 (圖 2 中 D 流程)，另外，游離態 HSP90 在細胞中可與變性蛋白質結合，也具有減低細胞壓力訊息傳導的反應 (如圖 2 中 E 流程)，因此，上述機轉中可了解雌激素存在時，將可減低細胞面臨急性壓力時熱休克蛋白 70 反應量，也說明了在急性運動後男性與女性心肌細胞內 HSP70 表現量不同的原因 (Milne & Noble, 2008)。

然而，雌激素在體內濃度將隨著月經週期而有高低起伏，細胞內 HSP70 的合成反應也將隨細胞面臨的壓力環境而改變，因此，在規律運動訓練時，不管在男性或女性心肌中 HSP70 表現量都有增加的情況 (圖 1)；另外，在正常生命週期影響賀爾蒙濃度變化下，學者們也提醒停經後婦女族群，隨著雌激素濃度減少，對心血管系統的保護作用逐漸減低狀況時，更應該透過規律運動方式來維持心肌 HSPs 合成機制，以維護心臟血管的正常功能 (Benjamin & Christians, 2002)。

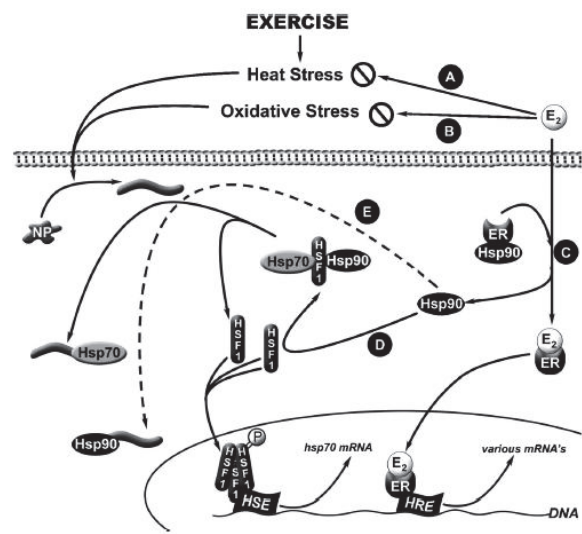


圖2. 雌激素抑制運動誘發心肌熱休克蛋白 70mRNA 作用機轉。(資料引自 Milne & Noble., 2008)。

## 陸、結語與建議

本文是以熱休克蛋白 70 角度探討其對心臟功能的影響，以及運動對心肌 HSP70 表達的情形，並進一步了解在不同性別中運動後心肌細胞 HSP70 蛋白質含量情形；從細胞自噬作用、心肌缺血再灌流等心肌損傷模式研究上，已逐步肯定 HSP70 在心血管系統保護作用的重要性，而透過運動將能提升心肌 HSP70 累積量與合成能力，對心血管細胞的保護作用占重要影響力；然而，女性體內雌激素賀爾蒙本身對心血管系統所具有的保護作用，使的急性運動後心肌 HSP70 表現量低於男性體內反應，但在反覆性運動訓練後，心肌

HSP70 表現量在男女心肌細胞內皆有明顯改變，因此，以 HSP70 角度切入心血管健康問題，可更加肯定規律運動對維持心血管功能的效益。而針對停經後婦女族群在雌激素分泌量減低，其細胞修護能力改變情形下，更需要透過持續規律運動來維持或提升熱休克蛋白 70 表現量，以維持與提升心臟細胞的修復功能。

由近期研究結果肯定運動誘發熱休克蛋白 70 表現量與心肌功能的保護作用與效益，以及急性運動及長期運動訓練在不同性別心肌中表現具有差異性，因此，未來進行相關研究時，對受試者性別、年齡以及運動型態設定上，將須考量其在不同生理性別上的差異；另外，目前研究中對運動訓練強度、運動訓練模式(肌力訓練、耐力訓練、複合式訓練)對心肌熱休克蛋白變化之相關研究較少，未來研究中如有相關之科學驗證，將可提供不同族群設計運動處方之參考。

## 引用文獻

- Benjamin, I. J., & Christians, E. (2002). Exercise, estrogen, and ischemic cardioprotection by heat shock protein 70. *Circulation Research*, 90(8), 833-835.
- Benjamin, I. J., & McMillan, D. R. (1998). Stress (heat shock) proteins: Molecular chaperones in cardiovascular biology and disease. *Circulation Research*, 83(2), 117-132.
- Chen, H. B., Zhang, X. C., Cheng, Y. F., Abdelnasir, A., Tang, S., Kemper, N., ... Bao, E. D. (2015). Association of heat shock protein 70 expression with rat myocardial cell damage during heat stress in vitro and in vivo. *Genetics and Molecular Research*, 14(1), 1994-2005. doi:10.4238/2015.March.20.9.
- Gunaldi, M., Kocoglu, H., Okuturlar, Y., Gedikbasi, A., Karabulut, M., Alis, H., & Hursitoglu, M. (2015). Heat shock protein 70 is a useful marker for predicting colorectal cancer. *Journal of Buon*, 20(6), 1464-1470.
- Leung, F. P., Yung, L. M., Laher, I., Yao, X., Chen, Z. Y., & Huang, Y. (2008). Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: An update (Part 1). *Sports Medicine*, 38(12), 1009-1024. doi:10.2165/00007256-200838120-00005.
- Liu, X., Zhang, C., Li, J., Guo, W., Yan, D., Yang, C., ... Shi, J. (2016). Heat shock protein 70 inhibits cardiomyocyte necroptosis through repressing autophagy in myocardial ischemia/reperfusion injury. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*, 52(6), 690-698. doi:10.1007/s11626-016-0039-8.
- Locke, M., Noble, E. G., Tanguay, R. M., Feild, M. R., Ianuzzo, S. E., & Ianuzzo, C. D. (1995). Activation of heat-shock transcription factor in rat heart after heat shock and exercise. *American Journal of Physiology*, 268(6), C1387-1394.
- Lollo, P. C., Moura, C. S., Morato, P. N., & Amaya-Farfan, J. (2013). Differential response of heat shock proteins to uphill and downhill exercise in heart, skeletal muscle, lung and kidney tissues. *Journal of Sports Science & Medicine*, 12(3), 461-466.
- Melling, C. W., Thorp, D. B., Milne, K. J., Krause, M. P., & Noble, E. G. (2007). Exercise-mediated regulation of HSP70 expression following aerobic exercise training. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 293(6), H3692-3698. doi:10.1152/ajpheart.00827.2007.
- Melling, C. W., Thorp, D. B., & Noble, E. G. (2004). Regulation of myocardial heat shock protein 70 gene expression following exercise. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 37(4), 847-855. doi:10.1016/j.yjmcc.2004.05.021.
- Milne, K. J., & Noble, E. G. (2008). Response of the myocardium to exercise: Sex-specific regulation of HSP70. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 40(4), 655-663. doi:10.1249/MSS.0b013e3181621311.
- Milne, K. J., Thorp, D. B., Krause, M., & Noble, E. G. (2011). Core temperature is a greater influence than endogenous 17 beta-estradiol on the exercise-induced accumulation of myocardial heat shock protein mRNA. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 89(11), 855-860. doi:10.1139/y11-089.
- Milne, K. J., Wolff, S., & Noble, E. G. (2012). Myocardial accumulation and localization of the inducible 70-kDa heat shock protein, HSP70, following exercise. *Journal of Applied Physiology*, 113(6), 853-860. doi:10.1152/jappphysiol.00131.2012.

- Paroo, Z., Haist, J. V., Karmazyn, M., & Noble, E. G. (2002). Exercise improves postischemic Cardiac function in males but not females: Consequences of a novel sex-specific heat shock protein 70 response. *Circulation Research*, 90(8), 911-917.
- Peng, W., Zhang, Y., Zheng, M., Cheng, H., Zhu, W., Cao, C. M., & Xiao, R. P. (2010). Cardioprotection by CaMKII-deltaB is mediated by phosphorylation of heat shock factor 1 and subsequent expression of inducible heat shock protein 70 response. *Circulation Research*, 106(1), 102-110. doi:10.1161/circresaha.109.210914.
- Powers, S. K., Smuder, A. J., Kavazis, A. N., & Quindry, J. C. (2014). Mechanisms of exercise-induced cardioprotection. *Physiology*, 29(1), 27-38. doi:10.1152/physiol.00030.2013.
- Rani, N., Bharti, S., Manchanda, M., Nag, T. C., Ray, R., Chauhan, S. S., ... Arya, D. S. (2013). Regulation of heat shock proteins 27 and 70, p-Akt/p-eNOS and MAPKs by Naringin Dampens myocardial injury and dysfunction in vivo after ischemia/reperfusion. *PLoS One*, 8(12), e82577. doi:10.1371/journal.pone.0082577.
- Ritossa, F. (1996). Discovery of the heat shock response. *Cell Stress Chaperones*, 1(2), 97-98
- Staib, J. L., Quindry, J. C., French, J. P., Criswell, D. S., & Powers, S. K. (2007). Increased temperature, not cardiac load, activates heat shock transcription factor 1 and heat shock protein 72 expression in the heart. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 292(1), R432-439. doi:10.1152/ajpregu.00895.2005.
- Staib, J. L., Tumer, N., & Powers, S. K. (2009). Increased temperature and protein oxidation lead to HSP72 mRNA and protein accumulation in the in vivo exercised rat heart. *Experimental Physiology*, 94(1), 71-80. doi:10.1113/expphysiol.2008.044685.
- Starnes, J. W., Choilawala, A. M., Taylor, R. P., Nelson, M. J., & Delp, M. D. (2005). Myocardial heat shock protein 70 expression in young and old rats after identical exercise programs. *Journals of Gerontology, Series A: Biological Sciences*, 60(8), 963-969.
- Su, X., Sykes, J. B., Ao, L., Raeburn, C. D., Fullerton, D. A., & Meng, X. (2010). Extracellular heat shock cognate protein 70 induces cardiac functional tolerance to endotoxin: Differential effect on TNF-alpha and ICAM-1 levels in heart tissue. *Cytokine*, 51(1), 60-66. doi:10.1016/j.cyto.2010.04.014.

## Exercise-induced expression of cardiac heat shock protein 70 in sex difference

*Shu-Lin Lee<sup>1</sup>, Cheng-Sze Fu<sup>2</sup> and Ying-Chih Ho<sup>3</sup>*

*<sup>1</sup>Department of Health Food, Chung Chou University of Science and Technology*

*<sup>2</sup>Department of Physical Education, National Taitung University*

*<sup>3</sup>Teaching Center of Physical Education, Nan Hua University*

### Abstract

Heat shock proteins (HSPs) functions were to maintain cellular homeostasis, facilitate repair of injured cells and provide protection against future insults. Recent studies supported that heat shock protein (asHSP70) could be a cardioprotective agent, and the protein expression may increase with exercise. However, there has sex difference in the cardiac shock protein 70 express after acute exercise. While males show a robust increase in cardiac shock protein 70 following a single bout of exercise, females may not. The sex difference seems mediated by estrogen and testosterone. Estrogen limits the exercise-related disruptions to cell homeostasis because of its fast-acting roles in the cardiovascular, such as membrane stabilizing, antioxidant, or vasodilatory properties. Although sex differences in the HSP70 expression, exercise training, as a nonpharmacological intervention, that associated up-regulation of HSP70 may prove effective in providing cardioprotection.

**Key words:** molecular chaperon, estrogen, cardioprotection, exercise, training.

