

以热休克蛋白 HSP70 为靶点的药物研究进展

刘宗亮*, 张仁梅, 孟庆国

(烟台大学药学院, 烟台大学新型制剂与生物技术药物研究山东省高校协同创新中心、
分子药理和药物评价教育部重点实验室(烟台大学), 烟台 264005)

摘要 热休克蛋白 HSP70 是最保守的蛋白之一, 由于在应激反应中的敏感性以及功能的多样性, HSP70 逐渐成为研究的热点。HSP70 蛋白可以结合错误折叠或非正常聚集的蛋白, 使之正常折叠或降解, 因此合理干预 HSP70 的生物功能, 可有望治疗一系列与蛋白错误折叠相关的疾病, 如肿瘤和神经退行性疾病等。目前已有多类以 HSP70 为靶点的药物处于临床前研究中。本文综述了 HSP70 的分类、结构、功能及以 HSP70 为靶点的药物研究进展。

关键词 HSP70; 结构; 功能; 靶点; 激动剂; 进展

中图分类号 R914.5 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2017)04-0416-09

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20170405

引用本文 刘宗亮, 张仁梅, 孟庆国. 以热休克蛋白 HSP70 为靶点的药物研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2017, 48(4):416-424.
Cite this article as: LIU Zongliang, ZHANG Renmei, MENG Qingguo. Advances of targeting heat shock protein 70 drugs[J]. J China Pharm Univ, 2017, 48(4):416-424.

Advances of targeting heat shock protein 70 drugs

LIU Zongliang*, ZHANG Renmei, MENG Qingguo

Key Laboratory of Molecular Pharmacology and Drug Evaluation (Yantai University), Ministry of Education, Collaborative Innovation Center of Advanced Drug Delivery System and Biotech Drugs in Universities of Shandong, School of Pharmacy, Yantai University, Yantai 264005, China

Abstract Heat shock protein 70 (HSP70) family is one of the most conserved protein in evolution and plays critical role in proteostasis. HSP70 is becoming an interesting target for multiple diseases such as cancer and Alzheimer's disease. There are many drugs targeted to HSP70 in preclinical study. In this review, the classification, the structure, the function of HSP70, and the drugs of the HSP70 family are reviewed.

Key words HSP70; function; inhibitors; agonists; advances

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81502983)

1962 年 Ritossa 首先发现了热休克 (heat shock, HS) 现象^[1]。1974 年 Tissiers 等从热休克果蝇唾液腺细胞中分离出一组特殊的蛋白质, 他们将这种特殊的蛋白质称为热休克蛋白 (heat shock proteins, HSPs)^[2]。HSPs 广泛存在于生物界中, 是一类结构高度保守的蛋白质。当受到刺激时, 细胞中许多蛋白质的构象会发生变化, 导致细胞功能紊乱甚至是凋亡。此时, HSPs 的表达应激性

地迅速上调, 通过与细胞内部分变性的蛋白质结合来帮助其复性或使其降解来发挥保护细胞的功能。

对于绝大部分生物来说, 生成的 HSPs 相对分子质量都在 80~110 kD、68~74 kD 和 18~30 kD 之间。根据相对分子质量的大小, HSPs 可被分为不同的家族: HSP100、HSP90、HSP70、HSP60、HSP40 以及小相对分子质量的 HSPs 家族^[3]。

由于在应激反应中的敏感性以及其功能的多样性,热休克蛋白已成为引人注意的药物靶点,其中HSP90和HSP70是目前研究最多的热休克蛋白。特别是HSP70的高表达可以缓解细胞受到的损伤,增强机体对应激的抵抗力,同时HSP70在抗细胞凋亡、抗氧化、抗病毒及免疫等多方面起着重要的作用。

表1 HSP70各亚型功能及分布特征

A亚型名称	功能	分布特征
诱导型HSP70(HSP72)	结合错误折叠的蛋白质导其完成正确的折叠	在正常细胞内有少量表达,在细胞发生应激后,表达迅速增加
结构型Hsc70(HSP73)	调节蛋白质的内吞作用和自噬途径	主要存在于细胞质中的结构蛋白,热刺激后只有少量增加
线粒体HSP75(mtHSP75)	参与蛋白质的运输和折叠过程	主要存在于线粒体中
内质网Grp78(Bip)	充当应激中心的传感器,感受和适应肿瘤细胞内微环境的改变	主要存在于内质网内,可以通过内质网的应激诱导得到

2 HSP70的结构

HSP70的组成包括4个部分(见图1):(1)N端核苷酸结合域(nucleotide-binding domain,NBD),其相对分子质量约44 kD,结构具有高度保守性,NBD具有ATP酶活性,能够与ATP和ADP竞争性结合;(2)C端底物结合域(substrate-binding domain,SBD),其相对分子质量约为25 kD,能够和底物蛋白结合;(3)连接链部分,用于连接N端和C端,由10个氨基酸残基组成且高度保守;(4)C末端区域的 α 螺旋结构,能够形成一个“盖子(lid)”封闭底物也能够介导HSP70与共分子伴侣的结合^[6]。

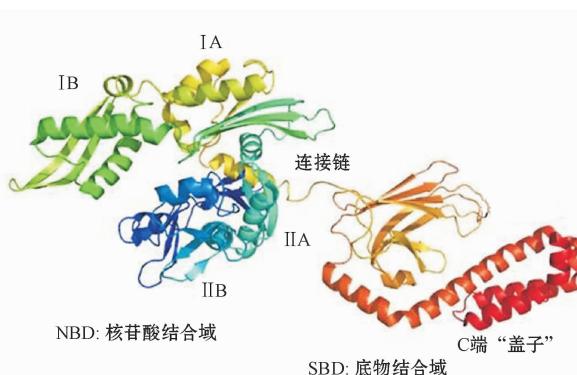


图1 大肠埃希菌的DnaK在与ADP和底物结合状态下的结构(PDB ID:2KHO)

结构研究表明,HSP70的NBD包含两个较小的亚结构区域(IA和II A; IB和II B),核苷结合

1 HSP70的分类

HSP70被认为是最保守的蛋白^[4],人的HSP70和细菌同源蛋白DnaK的序列同源性可达50%。HSP70家族有多个成员,有些存在于特定的细胞器中,有些在特定组织中表达,总体来说,很多亚型在细胞中的生物功能是重叠的(表1)^[5]。

位点在钳状结构裂缝的底部由4个亚结构区域中的残基协调相互作用^[7]。NBD通过一个连接链和SBD连接在一起,该连接链在SBD和NBD的变构信号传导中也起到了重要的作用。

3 HSP70的功能

HSP70家族的生物功能依赖于几种伴侣蛋白之间相互作用所控制的ATP水解循环和ADP/ATP交换^[8],使HSP70能够结合错误折叠得蛋白质引导其完成正确的折叠。

HSP70的NBD通常处于与ATP结合的状态,虽然NBD具有微弱的ATP酶活性,但ATP在数分钟内不会进行自发水解,此时HSP70的SBD与底物蛋白的结合能力较弱,可以自由地结合或者释放底物蛋白。当HSP70的C端结合底物蛋白后,其N端的ATP酶的活性随之明显增强,使得ATP水解速度加快。当HSP70由ATP结合状态转化为ADP结合状态时,不仅是底物结合区的“盖子”关闭使得底物蛋白与SBD紧密结合,HSP70的整体构象也发生了较大变化。这种构象的变化阻止了底物蛋白的非正常聚积或形成功能异常的蛋白质。当合成了新的蛋白质后,核苷交换因子(nucleotide exchange factors,NEFs)可以使ADP向ATP转换,HSP70打开底物结合口袋^[9],使底物蛋白得以释放,因此形成了HSP70与底物蛋白结合与释放的循环(图2)。

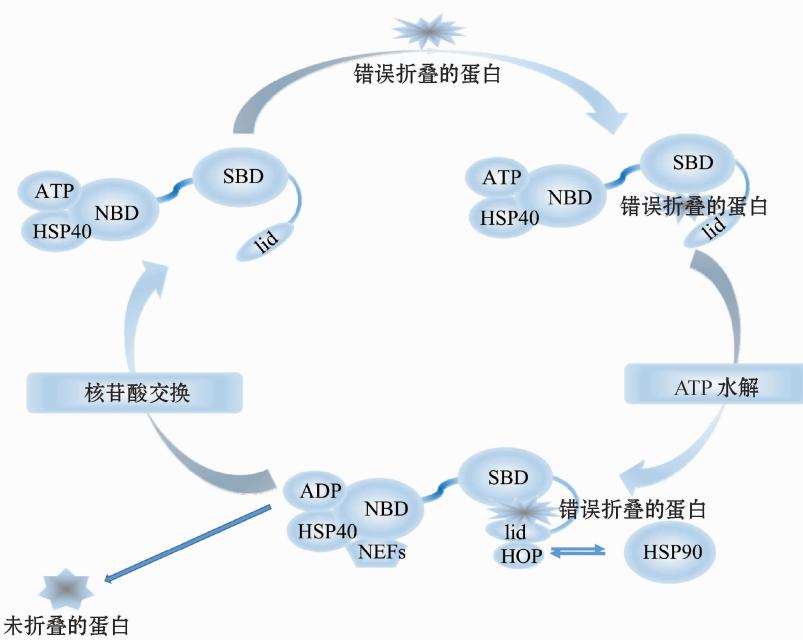


图 2 HSP70 与 J 域蛋白 HSP40、底物蛋白以及核苷交换因子(NEFs)相互作用循环示意图^[10]

HSP70 对底物的调控过程还需要许多共分子伴侣的参与^[11]形成完整的 HSP70 循环。共分子伴侣主要有:(1)J-域共伴侣,如 HSP40 结合 ATP 状态下的 HSP70,提高 ATP 酶的活性^[12];(2)HOP 和 CHIP,它们可以结合到 HSP70 和 HSP90 的 C 末端的 EEVD 序列,稳定 HSP90-底物蛋白-HSP70 复合物。

4 HSP70 与疾病

HSP70 蛋白可以使错误折叠或非正常聚集的蛋白正常折叠或降解,因此与蛋白错误折叠相关的疾病大多都可以通过 HSP70 调节。其中最重要的两类疾病是肿瘤和阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)。虽然肿瘤和 AD 看上去毫无联系,但流行病学研究表明,肿瘤和 AD 的发生都与年龄呈指数增长,越来越多的证据表明两者发病风险之间呈反比关系^[13]。肿瘤发生和发展的特征在于细胞增殖和抗细胞凋亡,这与神经变性疾病中观察到的正好相反^[14]。

目前有关 HSP70 对这些疾病有作用的报道较少,而对 HSP90 抑制剂的研究较多,然而单独抑制 HSP90 会诱导热休克应激反应,使 HSP70 水平升高,这就使得 HSP90 抑制剂治疗窗减小,因此调节 HSP70 的表达显得尤为重要。

4.1 HSP70 与肿瘤

无论是从外在方面(生理、病毒和环境)还是内在(复制或致癌)刺激,HSP70 家族都可以作为一种用于细胞应激的强效缓冲系统,肿瘤细胞在很大程度上依赖于这个缓冲系统生存。

Jäätälä 等^[15]发现 HSP70 的高表达可以增加细胞对小鼠潜在的致瘤毒性,并且在体外实验中,这些 HSP70 高表达的细胞可以抵抗由毒性 T 细胞和巨噬细胞产生的杀伤作用。Seo 等^[16]发现在转基因小鼠的 T 细胞中 HSP70-1 的过表达增加了小鼠 T 细胞淋巴瘤的发病率。临床研究表明^[17],由于恶性肿瘤发展过程中 HSP70 的表达增多,HSP70 可以作为预测细胞错误表达的标记物。

4.2 HSP70 与 AD

AD 的病理特征为:tau 蛋白的过度磷酸化引起脑神经细胞内神经原纤维缠结(neurofibrillary tangle, NFTs)和神经细胞外 β 淀粉样蛋白的沉积($\text{A}\beta$),以及刺激海马和大脑皮质的基底前脑胆碱能神经元深度丢失;NFTs 是由高度磷酸化的错折叠的微管相关蛋白 tau 组成,老年斑主要由 $\text{A}\beta$ 淀粉样沉淀组成,它们被认为是诱导或加剧氧化应激导致 AD 病理发生的主要原因^[18-19],这都和 HSP70 的功能紊乱相关。

研究证明在 AD 病人中 HSP70 的高表达能够有效的保护神经细胞^[20-21]。HSP70 能够识别 $\text{A}\beta$

寡聚体,从而抑制 A β 所引起的毒性^[22]; HSP70 也能够刺激 A β 降解和清除^[23]; 外源性 HSP70 的治疗可以改善老龄动物的学习和记忆能力^[24]。HSP70 对 tau 蛋白降解的促进或抑制仍存在不同的观点^[25-27]。

5 以 HSP70 为靶点的药物研究进展

HSP70 与很多疾病都相关,特别是肿瘤和神经退行性疾病,调节 HSP70 的活性可以对这些疾病进行有效的控制。

根据 HSP70 和底物蛋白结合强度的改变可以将 HSP70 的调节剂分为抑制剂和激动剂。目前，调控 HSP70 的药物主要是靶向于 NBD 和 SBD 这两个结合域的。

5.1 HSP70 抑制剂

目前,大多研究都集中在 HSP70 的抑制剂方面,已报道的 HSP70 抑制剂,按照其作用机制可分为:(1)干扰 HSP70 和 HSP90、HSP40 等热休克蛋白形成复合物,阻断 HSP70 的构象变化;(2)抑制 HSP70 的 ATP 酶的活性,阻断 ATP 向 ADP 的转化,使 HSP70 处于 ATP 结合的状态,从而导致底物蛋白无法与 HSP70 紧密结合;(3)作用于 NBD 区域,干扰 ATP 和 HSP70 的结合,使得 HSP70 由于缺乏能量供应而丧失功能;(4)作用于 SBD 区域,阻止底物和 HSP70 的结合,从而终止休克反应。

此外,近年来出现了一些机制全新的 HSP70 调节剂,例如,作用于 HSP70 的 N 端变构位点的调节剂,虽然保留了 ATP 到 ADP 的转化,但是 HSP70 的构象并不发生变化,无法对底物蛋白的重新折叠起到作用;靶向共分子伴侣或 NEFs^[28] 的针对 HSP70 功能的调节剂。

5.1.1 天然产物来源的 HSP70 抑制剂 Chang

等^[29]研究发现,杨梅酮(myricetin,化合物1)可以作为大肠埃希菌HSP70(DnaK)共分子伴侣DnaJ的抑制剂。该化合物能够阻止DnaJ介导的ATP酶的活性,利用核磁共振(NMR)发现杨梅酮与DnaK的IB和IIB之间的一个部位结合,可以阻断DnaK结合到DnaJ,进而抑制ATP酶的活性。

Apotozole (化合物 2, 见图 3) 是 Hsc70 和 HSP72 抑制剂 ($K_D = 0.2, 0.14 \mu\text{mol/L}$), 此化合物的结合位点和结合模式也是未知的, 而且此化合物

具有较高的脂溶性($C_{logP} = 7.5$)和较大的相对分子质量(626)^[30]。Baek 等^[31]研究发现,Apoptozole 可以通过抑制 HSP70 的 ATP 酶活性增强免疫应答。

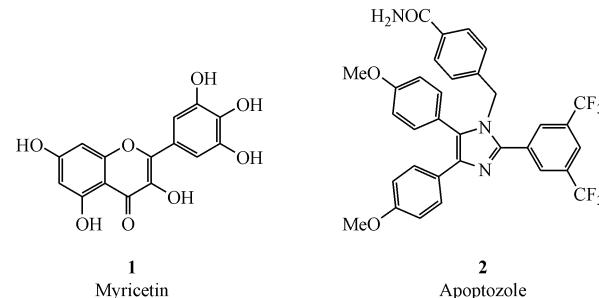


图3 天然产物来源的HSP70抑制剂(化合物1~2)的结构式

5.1.2 合成小分子 HSP70 抑制剂 亚甲蓝(化合物 3)曾被报道可以作为 HSP70 的 ATP 酶的抑制剂, Wang 等^[32] 确证了亚甲蓝能够抑制 HSP70 和 CHIP 之间的相互作用, 促进蛋白质的降解。通过糖皮质激素受体验证了亚甲蓝可以抑制 HSP90/HSP70 结合底物的能力, 并表明是对 HSP70 的特异性抑制。

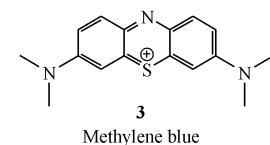


图4 合成小分子HSP70抑制剂(化合物3)的结构式

2001 年, Fewell 等^[33] 通过使用已知的 HSP70 调节剂 15-脱氧精胍菌素 (DSG, 化合物 4) 得到一个结构相似的 HSP70 抑制剂 R/1 (化合物 5), 该化合物含有两个尿嘧啶 (2,4-嘧啶二酮) 环系, 由两个 N-取代的氨基酯部分连接起来, 每一部分都含有一个氢键供体和一个氢键受体。同时, 尿嘧啶环的 5 位取代基有 3 个氢键受体和一个氢键供体。R/1 能够抑制 HSP70 的 ATP 酶活性。2004 年 Fewell 等^[34] 根据对 R/1 的研究, 得到了结构相似但有不同取代基的二氢嘧啶酮环系化合物, 这些取代基有酰胺链, 含有氢键受体和供体。这类化合物能够抑制 HSP40 刺激的 HSP70ATP 酶的活性, 而不影响内源性 HSP70 的活性。其中 MAL3-39 (化合物 6) 和 MAL3-101 (化合物 7) 也可以抑制蛋白翻译后的易位。

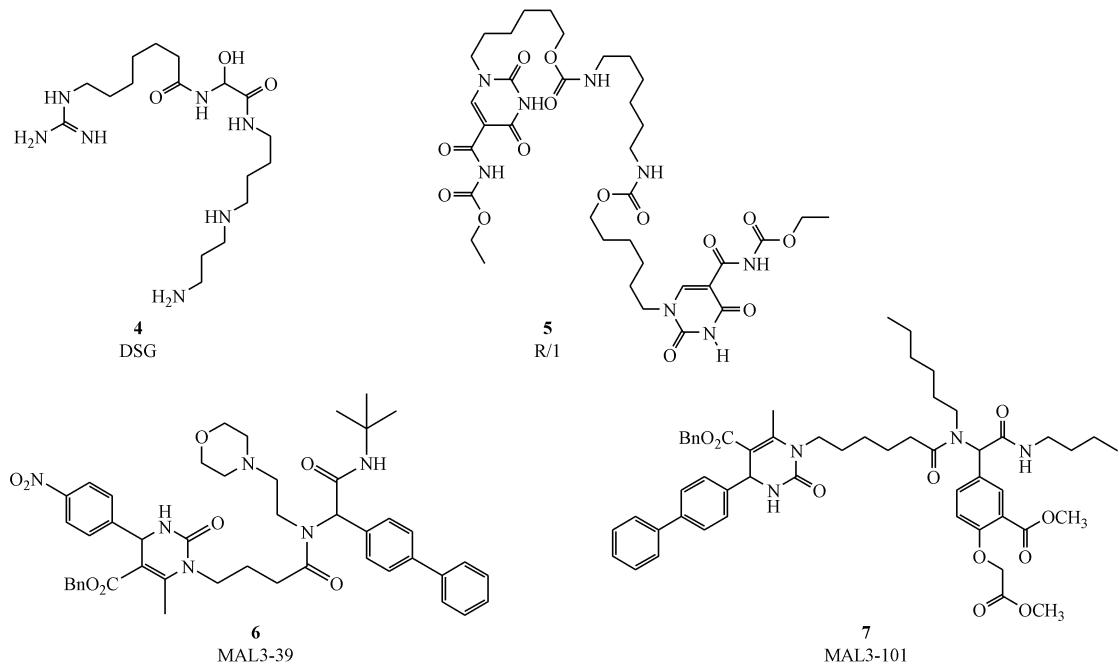


图 5 合成小分子 HSP70 抑制剂(化合物 4~7)的结构式

MKT-077(化合物8,图6)是一种阳离子若丹青染料类似物,对肿瘤细胞有选择毒性,在体外和体内都能够抑制多种肿瘤细胞的增殖^[35]。Rousaki等^[36]认为MKT-077是HSP70的变构抑制剂,它可以选择性地稳定HSP70的ADP结合状态。随后,Koren等^[37]发现了MKT-077衍生物YM-1(化合物9),YM-1对细胞增殖的抑制比MKT-077更强,对多种肿瘤细胞都有效且对正常细胞无影响。YM-1和Hip与HSP70有相似的结合面,两者成竞争性结合的关系^[38]。在体外或体内使用纳摩尔的YM-1之后,tau蛋白水平迅速且显著的减少^[39]。MKT-077可以降低细胞中tau的水平,但是MKT-077不能透过血-脑脊液屏障,限制了其在中枢神经系统疾病中的应用。Miyata等^[40]得到的MKT-077衍生物YM-08(化合物10)能增加分子伴侣和tau的结合,能部分抑制HSP70家族的酶功能,增强HSP70与底物蛋白的结合能力。

2013 年, Schlecht 等^[41]发现了 HSP70 ATP 的类似物 VER-155008 (化合物 11) 能够结合到 HSP70 的 NBD 区域, 使 NBD 处于半打开的构象, 像 ATP 竞争性抑制剂一样阻止 NBD 和 SBD 的构象变化。临床前研究发现 VER-155008 抗肿瘤活性有限, 但可成为一个有用的骨架结构开展进一步研究^[4]。

Rérole 等^[42]通过酵母双杂交筛选确定了多个肽可以作为结合 HSP70 的配体。当 HSP70 在肿瘤细胞中表达时,有两个多肽可以结合到 HSP70 的 ATP 结合区域,抑制分子伴侣的活性,从而增加由化疗药物诱导的细胞对凋亡的敏感性。

Strom 等^[43]首先发现了 2-phenylethynesulfonamide (PES, 化合物 12) 可以抑制 P53 对线粒体的转运, 但未明确其靶点。随后, Leu 等^[44]发现沉默 HSP70 后 PES 对细胞增殖抑制活性下降, 表明 HSP70 是 PES 的相关靶点。继续研究发现 PES 结合于 HSP70 C 端的 SBD 区域, 破坏了 HSP70 与共分子伴侣的相互作用, 同时 PES 对 HSP70 的 ATP 酶活性也有影响。Balaburski 等^[45]发现需要 C 端 α 螺旋的“盖子”, PES 才能与 HSP70 的 SBD 结合, 并合成了其衍生物 PES-Cl, 其抑制细胞增殖的活性增强, 而且具有抑制细胞自噬的活性。

2014年,Kang等^[46]首次报道了针对HSP70 N端变构口袋进行合理设计的HSP70抑制剂的构效关系。这些化合物中的嘧啶丙烯酰胺结构可以通过与HSP70 N端变构口袋中的活性半胱氨酸通过共价的方式结合来抑制HSP70的活性。其中两个化合物17a(化合物13)和20a(化合物14,见图7)的活性最好,能抑制肿瘤细胞的生长和凋亡,而且没有引起反馈性热休克应答。随后又对这些不可

逆抑制剂的骨架进行了化学修饰^[47],证实共价修饰并不是这类化合物活性所必须的。研究确定了衍生物27c(化合物15)与不可逆抑制剂有相似的生物活性,并首次表明这些药效团可以与HSP70的全新位点结合。

2015,Zeng等^[48]用Dock4.0、DS2.5和SYBYL 6.9进行基于片段的虚拟筛选,设计了含有哌啶骨架的HSP70新型抑制剂。此类化合物的结合位点为HSP70 N末端NBD变构位点。共合成了67个

哌啶衍生物进行肿瘤细胞株存活实验,数据表明HSP70-36(化合物16)可作为肿瘤治疗的候选化合物。

Ban等^[49]在研究HSF-1抑制剂IDF-11774(化合物17)的作用机制时,发现其作用位点是HSP70的变构结合口袋,它可以通过抑制HSP70的活性来抑制HIF-1的重折叠以及HIF-1的降解。目前, IDF-11774已经被韩国食品药品监督管理局作为治疗肿瘤的临床I期候选药物^[50]。

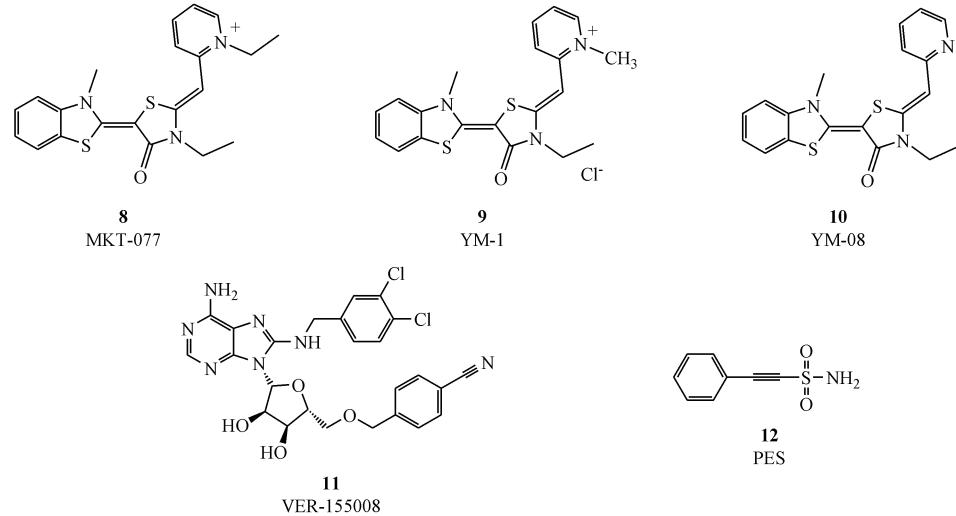


图6 合成小分子HSP70抑制剂(化合物8~12)的结构式

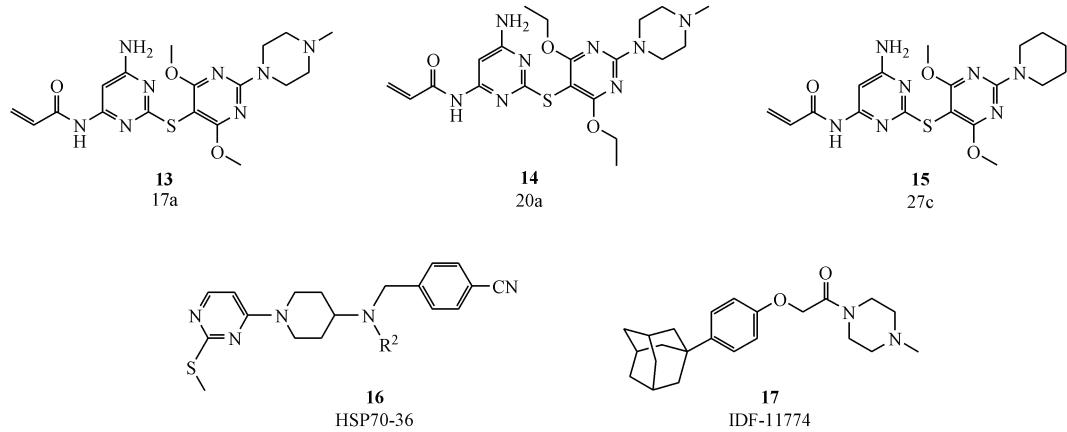


图7 合成小分子HSP70抑制剂(化合物13~17)的结构式

对HSP70的ATP酶活性抑制的研究也涉及其他方面,例如,抑制HSP70和共分子伴侣或NEFs的相互作用。HSP70和不同的共分子伴侣形成的复合物具有不同的功能,因此该策略是阻断HSP70和共伴侣蛋白相互作用或针对这些变构位点破坏

这些相互作用^[51]。

HSP70与共分子伴侣的相互作用可以增加内源性HSP70的ATP酶活性,例如HSP40和HSP70的NBD直接作用,能够激活ATP的水解,使HSP70构象发生变化,与底物蛋白结合更紧密。结构研究

证实^[52]二氢嘧啶类化合物结合在共分子伴侣 J 蛋白和 HSP70 的相互作用面,有些二氢嘧啶类化合物促进 J 蛋白的活性,如 115-7c(化合物 **18**,见图 8)可以激活 HSP70 的 ATP 酶活性。NMR 研究证明 115-7c 直接结合于相邻的 J 结构域。重要的是,这些化合物没有检测到明显毒性,而且不激活热休克反应。

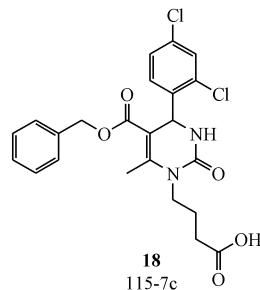


图 8 合成小分子 HSP70 抑制剂(化合物 **18**)的结构式

5.2 HSP70 激动剂

HSP70 激动剂是一类能够增强底物和 HSP70 结合作用、使 HSP70 加速对错误折叠的蛋白降解的化合物,目前对 HSP70 激动剂的研究较少。最常见的激动剂有:(1)激活 HSP70 的 ATP 酶活性,加快 HSP70 对 ATP 的水解速度的化合物;(2)阻止 HSP70 由 ADP 结合状态向 ATP 结合状态的转化,使底物与 HSP70 处于紧密结合状态的化合物。

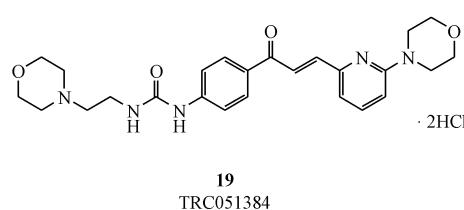
Mohanam 等^[53]研究发现,TRC051384(化合物

19,见图 9)是一个属于取代的丙烯酰胺类 HSP70 的有效诱导剂。实验研究发现,TRC051384 可以显著地降低与脑卒中相关的神经元损伤。由 TRC051384 诱导的 HSP70 涉及 HSF1 (heat shock factor 1) 激活并导致抗炎活性增强。

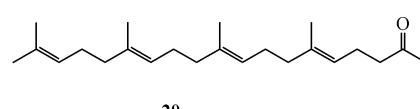
Hoshino 等^[54]考察了替普瑞酮(geranyl geranyl acetone, GGA, 化合物 **20**)在 AD 相关表型中的作用,结果表明 GGA 是 HSP70 表达的诱导剂。APP23 小鼠连续经口给予 GGA 9 个月后,不仅提高了认知功能而且减轻了 A β 淀粉样沉积和突触丢失,但 GGA 诱导 HSP70 的分子机制还不明确。

Khodagholi 等^[55]研究发现两个三嗪类化合物 TMDPT(化合物 **21**)和 TMDCPT(化合物 **22**)能够使 HSP70 维持在一个比较高的水平,从而增加细胞应付 H₂O₂ 的破坏作用的能力。实验显示,相比 H₂O₂ 处理的细胞,TMDPT 和 TMDCPT 增加 HSP70 的能力分别是 H₂O₂ 的 1.30 和 2.13 倍。

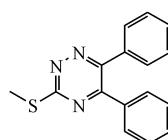
在研究二氢嘧啶类化合物抑制剂时发现了化合物 SW02(化合物 **23**),该化合物对 HSP70 没有抑制作用,反而有中等强度的激动作用,通过后续研究发现 SW02 能够通过激动 N 末端 ATP 酶的活性来增强 HSP70 抑制 A β 聚集的作用,提高神经元细胞的存活能力。实验还证明此化合物对 HSP 家族的其他蛋白如 HSP90、HSP40 无明显作用,是 HSP70 的选择性激动剂^[22]。因此,SW02 具有潜在的抗 AD 作用。



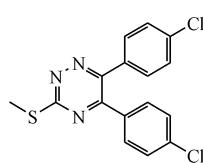
19
TRC051384



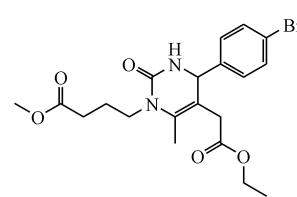
20
GGA



21
TMDPT



22
TMDCPT



23
SW02

图 9 HSP70 激动剂(化合物 **19**~**23**)的结构式

6 展望

目前,以热休克蛋白为靶点进入临床研究的药物主要是HSP90抑制剂。例如,AUY922是一种HSP90抑制剂,临床前研究已发现对胰腺癌^[56]、乳腺癌^[57]、非小细胞肺癌^[56]等有疗效,其已完成以非小细胞肺癌为适应证的临床Ⅱ期试验。然而单独抑制HSP90会诱导热休克应激反应,使HSP70水平升高,这就使HSP90抑制剂治疗窗减小。而以HSP70为靶点的药物并未观察到类似的热休克应激反应的现象,因此,从治疗效果上来说HSP70比HSP90更加适合作为药物靶点。目前对HSP70的研究仍然很不充分,因此以HSP70为靶点的药物研究激动剂的开发面临巨大的挑战,但其蕴含的价值已引起人们的关注,其有望成为药物开发的热点。

参考文献

- [1] Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila* [J]. *Experientia*, 1962, **18** (12): 571–573.
- [2] Lindquist S. The heat-shock response [J]. *Annu Rev Biochem*, 1986, **55** (1): 1151–1191.
- [3] Turturici G, Sconzo G, Geraci F. Hsp70 and its molecular role in nervous system diseases [J]. *Biochem Res Int*, 2011, **2011** (4096): 618127.
- [4] Schlesinger MJ. Heat shock proteins: the search for functions [J]. *J Cell Biol*, 1986, **103** (2): 321–325.
- [5] Murphy ME. The HSP70 family and cancer [J]. *Carcinogene*, 2013, **34** (6): 1181–1188.
- [6] Bertelsen EB, Chang L, Gestwicki JE, et al. Solution conformation of wild-type *E. coli* Hsp70 (DnaK) chaperone complexed with ADP and substrate [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, **106** (21): 8471–8476.
- [7] Kevin MF, Camilla DF, David BM. Three-dimensional structure of the ATPase fragment of a 70 K heat-shock cognate protein [J]. *Nature*, 1990, **346** (6285): 623–628.
- [8] Powers MV, Jones K, Barillari C, et al. Targeting HSP70: the second potentially druggable heat shock protein and molecular chaperone [J]? *Cell Cycle*, 2010, **9** (8): 1542–1550.
- [9] Wang H, Tan MS, Lu RC, et al. Heat shock proteins at the crossroads between cancer and Alzheimer's disease [J]. *Biochem Res Int*, 2014, **2014**: 239164.
- [10] Kumar S, Stokes J, Singh UP, et al. Targeting Hsp70: a possible therapy for cancer [J]. *Cancer Lett*, 2016, **374** (1): 156–166.
- [11] Frydman J. Folding of newly translated proteins *in vivo*: the role of molecular chaperones [J]. *Annu Rev Biochem*, 2001, **70** (1): 603–647.
- [12] Laufen T, Mayer MP, Beisel C, et al. Mechanism of regulation of Hsp70 chaperones by DnaJ cochaperones [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, **96** (10): 5452–5457.
- [13] Demetrius LA, Simon DK. The inverse association of cancer and Alzheimer's: a bioenergetic mechanism [J]. *J R Soc Interface*, 2013, **10** (82): 20130006.
- [14] Musicco M, Adorni F, Disanto S, et al. Inverse occurrence of cancer and Alzheimer disease: a population-based incidence study [J]. *Neurology*, 2013, **81** (4): 322–328.
- [15] Jaättelä M. Over-expression of Hsp70 confers tumorigenicity to mouse fibrosarcoma cells [J]. *Int J Canc*, 1995, **60** (5): 689–693.
- [16] Seo JS, Park YM, Kim JI, et al. T cell lymphoma in transgenic mice expressing the human Hsp70 gene [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, **218** (2): 582–587.
- [17] Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2005, **10** (2): 86–103.
- [18] Hoozemans JJM, Veerhuis R, Van Haastert ES, et al. The unfolded protein response is activated in Alzheimer's disease [J]. *Act Neurop*, 2005, **110** (2): 165–172.
- [19] Yokota T, Mishra M, Akatsu H, et al. Brain site-specific gene expression analysis in Alzheimer's disease patients [J]. *Eur J Clin Invest*, 2006, **36** (11): 820–830.
- [20] Magrané J, Smith RC, Walsh K, et al. Heat shock protein 70 participates in the neuroprotective response to intracellularly expressed β -amyloid in neurons [J]. *J Neurosci*, 2004, **24** (7): 1700–1706.
- [21] Hoshino T, Murao N, Namba T, et al. Suppression of Alzheimer's disease-related phenotypes by expression of heat shock protein 70 in mice [J]. *J Neurosci*, 2011, **31** (14): 5225–5234.
- [22] Evans CG, Wisén S, Gestwicki JE. Heat shock proteins 70 and 90 inhibit early stages of amyloid β -(1–42) aggregation *in vitro* [J]. *J Biol Chem*, 2006, **281** (44): 33182–33191.
- [23] Kumar P, Ambasta RK, Veereshwarayya V, et al. CHIP and HSPs interact with β -APP in a proteasome-dependent manner and influence A β metabolism [J]. *Hum Mol Gen*, 2007, **16** (7): 848–864.
- [24] Bobkova NV, Evgen'ev M, Garbuz DG, et al. Exogenous Hsp70 delays senescence and improves cognitive function in aging mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, **112** (52): 16006–16011.
- [25] Patterson KR, Ward SM, Combs B, et al. Heat shock protein 70 prevents both tau aggregation and the inhibitory effects of preexisting tau aggregates on fast axonal transport [J]. *Biochemistry*, 2011, **50** (47): 10300–10310.
- [26] Jinwal UK, Akoury E, Abisambra JF, et al. Imbalance of Hsp70 family variants fosters tau accumulation [J]. *FASEB J*, 2013, **27** (4): 1450–1459.
- [27] Jinwal UK, John CO, Sergiy IB, et al. Hsc70 rapidly engages tau after microtubule destabilization [J]. *J Biol Chem*, 2010, **285**

- (22):16798-16805.
- [28] Bukau B, Weissman J, Horwich A. Molecular chaperones and protein quality control [J]. *Cell*, 2006, **125**(3):443-451.
- [29] Chang L, Miyata Y, Ung PMU, et al. Chemical screens against a reconstituted multiprotein complex: myricetin blocks DnaJ regulation of DnaK through an allosteric mechanism [J]. *Chem Biol*, 2011, **18**(2):210-221.
- [30] Williams DR, Ko SK, Park S, et al. An apoptosis-inducing small molecule that binds to heat shock protein 70 [J]. *Angew Chem*, 2008, **47**(39):7466-7469.
- [31] Baek KH, Zhang H, Lee BR, et al. A small molecule inhibitor for ATPase activity of Hsp70 and Hsc70 enhances the immune response to protein antigens [J]. *Sci Rep*, 2015, **5**:17642.
- [32] Wang AM, Morishima Y, Clapp KM, et al. Inhibition of Hsp70 by methylene blue affects signaling protein function and ubiquitination and modulates polyglutamine protein degradation [J]. *J Biol Chem*, 2010, **285**(21):15714-15723.
- [33] Fewell SW, Day BW, Brodsky JL. Identification of an inhibitor of Hsc70-mediated protein translocation and ATP hydrolysis [J]. *J Biol Chem*, 2001, **276**(2):910-914.
- [34] Fewell SW, Smith CM, Lyon MA, et al. Small molecule modulators of endogenous and co-chaperone-stimulated Hsp70 ATPase activity [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(49):51131-51140.
- [35] Koya K, Li Y, Wang H, et al. MKT-077, a novel rhodacyanine dye in clinical trials, exhibits anticarcinoma activity in preclinical studies based on selective mitochondrial accumulation [J]. *Cancer Res*, 1996, **56**(3):538-543.
- [36] Rousaki A, Miyata Y, Jinwal UK, et al. Allosteric drugs: the interaction of antitumor compound MKT-077 with human Hsp70 chaperones [J]. *J Mol Biol*, 2011, **411**(3):614-632.
- [37] Koren IIIJ, Miyata Y, Kiray J, et al. Rhodacyanine derivative selectively targets cancer cells and overcomes tamoxifen resistance [J]. *PLoS ONE*, 2012, **7**(4):e35566.
- [38] Wang AM, Miyata Y, Klinedinst S, et al. Activation of Hsp70 reduces neurotoxicity by promoting polyglutamine protein degradation [J]. *Nat Chem Biol*, 2013, **9**(2):112-118.
- [39] Abisambra J, Jinwal UK, Miyata Y, et al. Allosteric heat shock protein 70 inhibitors rapidly rescue synaptic plasticity deficits by reducing aberrant tau [J]. *Biol Psychiatry*, 2013, **74**(5):367-374.
- [40] Miyata Y, Li X, Lee HF, et al. Synthesis and initial evaluation of YM-08, a blood-brain barrier permeable derivative of the heat shock protein 70 (Hsp70) inhibitor MKT-077, which reduces tau levels [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2013, **4**(6):930-939.
- [41] Schlecht R, Scholz SR, Dahmen H, et al. Functional analysis of Hsp70 inhibitors [J]. *PLoS ONE*, 2013, **8**(11):e78443.
- [42] Rérole AL, Gobbo J, De Thonel A, et al. Peptides and aptamers targeting HSP70: a novel approach for anticancer chemotherapy [J]. *Cancer Res*, 2011, **71**(2):484-495.
- [43] Strom E, Sathe S, Komarov PG, et al. Small-molecule inhibitor of p53 binding to mitochondria protects mice from gamma radiation [J]. *Nat Chem Biol*, 2006, **2**(9):474-479.
- [44] Leu IJ, Pimkina J, Frank A, et al. A small molecule inhibitor of inducible heat shock protein 70 [J]. *Mol Cell*, 2009, **36**(1):15-27.
- [45] Balaburski GM, Julia I, Leu J, et al. A modified HSP70 inhibitor shows broad activity as an anticancer agent [J]. *Mol Cancer Res*, 2013, **11**(3):219-229.
- [46] Kang Y, Taldone T, Patel HJ, et al. Heat shock protein 70 inhibitors. 1. 2, 5'-thiodipyrimidine and 5-(phenylthio) pyrimidine acrylamides as irreversible binders to an allosteric site on heat shock protein 70 [J]. *J Med Chem*, 2014, **57**(4):1188-1207.
- [47] Taldone T, Kang Y, Patel HJ, et al. Heat shock protein 70 inhibitors. 2. 2, 5'-thiodipyrimidines, 5-(phenylthio) pyrimidines, 2-(pyridin-3-ylthio) pyrimidines, and 3-(phenylthio) pyridines as reversible binders to an allosteric site on heat shock protein 70 [J]. *J Med Chem*, 2014, **57**(4):1208-1224.
- [48] Zeng Y, Cao R, Zhang T, et al. Design and synthesis of piperidine derivatives as novel human heat shock protein 70 inhibitors for the treatment of drug-resistant tumors [J]. *Eur J Med Chem*, 2015, **97**:19-31.
- [49] Ban HS, Naik R, Kim HM, et al. Identification of targets of the HIF-1 inhibitor IDF-11774 using alkyne-conjugated photoaffinity probes [J]. *Bioconjug Chem*, 2016, **27**(8):1911.
- [50] Kim BK, Im JY, Han G, et al. p300 cooperates with c-Jun and PARP-1 at the p300 binding site to activate RhoB transcription in NSC126188-mediated apoptosis [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, **1839**(5):364-373.
- [51] Victoria AA, Anne T, Jennifer NR, et al. Hsp70 protein complexes as drug targets [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, **19**(3):404-417.
- [52] Jinwal UK, Miyata Y, Koren J, et al. Chemical manipulation of Hsp70 ATPase activity regulates tau stability [J]. *Neurosci*, 2009, **29**(39):12079-12088.
- [53] Mohanan A, Deshpande S, Jamadar Khana PG, et al. Delayed intervention in experimental stroke with TRC051384—a small molecule HSP70 inducer [J]. *Neuropharmacology*, 2011, **60**(6):991-999.
- [54] Hoshino T, Suzuki K, Matsushima T, et al. Suppression of Alzheimer's disease-related phenotypes by geranylgeranylacetone in mice [J]. *PLoS ONE*, 2013, **8**(10):e76306.
- [55] Khodagholi F, Ansari N, Amini M, et al. Involvement of molecular chaperones and the transcription factor Nrf2 in neuroprotection mediated by para-substituted-4,5-diaryl-3-thiomethyl-1,2,4-triazines [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2012, **17**(4):409-422.
- [56] Renouf DJ, Hedley D, Krzyzanowska MK, et al. A phase II study of the HSP90 inhibitor AU922 in chemotherapy refractory advanced pancreatic cancer [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, **78**(3):541-545.
- [57] Rocio GC, Amancio C, Luis PA. Inhibition of HSP90 molecular chaperones: moving into the clinic [J]. *Lancet Oncol*, 2013, **14**(9):358-369.