

慢性心理应激对大鼠淋巴细胞热休克蛋白 70 表达和凋亡的影响*

颜 军¹ 陈爱国¹ 胡茂志²

(¹ 扬州大学体育学院, 扬州 225009) (² 扬州大学测试中心, 扬州 225009)

摘 要 为了探讨慢性心理应激对热休克蛋白 70(Hsp70)、淋巴细胞的凋亡及其两者之间关系的影响,将实验 SD 大鼠分为对照组、中等强度心理应激组和高强度心理应激组。分别对三组大鼠给予相应的干预 3 周,采用流式细胞仪定量检测各组大鼠外周血淋巴细胞 Hsp70 的表达水平和凋亡量。结果发现,与对照组比较,中等和高强度心理应激组淋巴细胞内 Hsp70 表达水平显著增加;中等强度心理应激组凋亡量增加但没有出现统计学意义,高强度心理应激组淋巴细胞凋亡显著增加;中等强度心理应激组的淋巴细胞 Hsp70 表达与凋亡量变化成显著正相关,高强度心理应激组两者变化成不显著正相关。研究结果提示心理应激能诱发淋巴细胞 Hsp70 表达和凋亡升高,且随心理应激强度增加,Hsp70 表达升高趋势减缓、凋亡量增加加剧,最终造成机体免疫损伤加深。

关键词 慢性心理应激,淋巴细胞,热休克蛋白 70,细胞凋亡。

分类号 B845

1 前言

热休克蛋白(Heat shock protein, Hsp)是机体在应激条件下合成的应激蛋白,在多种应激条件下都能发挥保护作用,如缺血缺氧、射线照射、重金属中毒等,因此被认为是具有重要应激保护作用的分子之一^[1]。热休克蛋白作为许多结构和功能蛋白质的“分子伴侣”能够促进新生多肽链的正确折叠、运转和组装,以及变性蛋白质的修复、清除^[2,3]。热休克蛋白包括 5 个主要家族,如 Hsp27、Hsp60、Hsp90、Hsp70 以及 Hsp110/104^[4,5]。其中热休克蛋白 70(Heat shock protein70, Hsp70)被认为是对应激条件最为敏感的蛋白^[6]。

细胞凋亡(apoptosis)是细胞在基因调控下有序死亡的方式,是多细胞机体维持完整性和自身稳定的一种基本生理机理,通过细胞凋亡机体消除损伤衰老与突变的细胞以维持生理平衡^[7]。目前已有研究表明,免疫细胞的增殖分化及正确行使功能与细胞凋亡的关系密切^[8]。

研究表明,心理应激能导致外周血淋巴细胞^[9]、胸腺细胞^[10]以及海马神经元细胞^[11]凋亡的增加;心理应激能够导致海马组织细胞^[12]、血浆^[13]

HSP70 的表达水平增加。近年来的研究还发现,Hsp70 也能够参与细胞周期关键分子的调节,如 P53、c-myc、Bcl-2 等,调节细胞的生存和死亡^[14]。

已有的心理应激研究大多关注急性心理应激与单个纬度指标(如,淋巴细胞凋亡或 Hsp70)的研究,研究的结果对于所要表述的问题往往具有片面性,尚无较为全面地探讨慢性心理应激对淋巴细胞 Hsp70 表达、淋巴细胞凋亡以及两者之间关系的研究。本实验在噪音诱发心理应激条件下,对大鼠外周血淋巴细胞 Hsp70 及淋巴细胞凋亡进行了定量分析,以期探讨慢性心理应激对 Hsp70 表达、淋巴细胞凋亡及其两者之间关系的影响,为预防和应对心理应激对免疫功能的影响提供实验性证据。

2 材料与方法

2.1 实验动物及方法

选用健康的雄性 SD 大鼠 24 只,购自中国科学院上海动物研究中心,体重 200g 左右。随机分为 3 组,即对照组、中等强度心理应激组、高强度心理应激组,每组 8 只。单笼饲养,饲养选择塑料制品,并配有不锈钢罩、塑料吸水瓶和铝吸水管,饲养温度 15~16℃,国家标准固体混合饲料喂养,自由进食。

收稿日期:2007-06-25

* 江苏省教育厅自然科学基金项目(05KJB180160)。

通讯作者:颜军, E-mail: yanhuanzil@sina.com.

2.2 慢性心理应激动物模型的建立

参照侯公林等创建的心理应激模型方法^[15],将心理应激组大鼠每天定时进入实验区给予不间断的“呜呜”声噪音刺激,本实验采用金正 DVD 机 1 台、SONY 公司 AK47 功率放大器 1 台,奇声三分频组合音箱 2 组以及 ND2 型精密声级计和倍频程滤波器 1 台,共同组成噪音发生测试装置。每天上午 1 次,每次 2h,持续 3 周。中等强度组噪音为 80dB,高强度组噪音为 105dB。实验区与饲养区在温度、光照条件保持一致。对照组正常生理活动,饲养条件与应激组相同。

2.3 取材

大鼠在末次噪声应激后 24h,用戊巴比妥钠腹腔麻醉,打开腹腔,从腹腔主动脉取血。

2.4 淋巴细胞 Hsp70 的流式细胞仪检测

2.4.1 仪器和试剂 抗体 (Anti-Hsp70; FITC Conj) 为美国 Stressgen 公司开发用作流式细胞仪检测的荧光染色抗体 (SPA-810FI),仪器为美国 BD 公司生产的 FACS Aria 和 FACS Diva 软件。

2.4.2 实验步骤 取 3ml 肝素抗凝血,淋巴细胞分离液 (购自上海试剂二厂) 从新鲜外周血中分取 PBL,经 PBS 洗 2 次并调至 $1.0 \times 10^6/\text{ml}$ 的浓度,1%多聚甲醛固定,PBS 洗 2 次后 70%乙醇破膜,PBS 洗 2 次后加入抗体标记,4℃避光放置 30min,PBS 洗 2 次后上机测试,记数 10000 个细胞的平均荧光强度。FACS Diva 软件以 FITC 荧光强度为横坐标,细胞数量为纵坐标,建立针对所有细胞的 FITC 直方图,Hsp70 的表达量结果表现为 Hsp70 的平均荧光强度。

2.5 淋巴细胞凋亡的 Annexin-V/PI 双染色法测定

2.5.1 测定原理 早期凋亡细胞因细胞膜的磷脂对称性改变而使磷酸酰丝氨酸 (PS) 暴露于细胞膜外,PS 可特异性结合标记有异硫氰酸荧光素 (FITC) 的连接素 (AnnexinV),但细胞仍维持其细胞膜的完整性,使变性染色质着色染料 PI 不能进入细胞;然而,坏死或凋亡晚期的继发性坏死细胞可同时受 Annexin V 与 PI 标记,用流式细胞仪可定量分析受标记的凋亡细胞数^[16]。

2.5.2 仪器和试剂 试剂 AnnexinV-FITC 细胞凋亡试剂盒和溶血素均系 BD 公司产品。LDZ5-2 型台式离心机 (北京医用离心机厂产),美国 BD 公司生产的 FACS Aria 和 FACS Diva 软件。

2.5.3 Hsp70 实验步骤 取肝素抗凝血 50 μl ,加

入 1:10 稀释后的溶血素 1ml,避光育 8min,1000rpm $\cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5min 后,去其上清后,分别加入 5 μl Annexin-V 和 5 μl 的 PI 试剂,室温育 15min 后,加入 1ml 的 PBS 溶液混匀后,1000rpm $\cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5min 后去其上清,加入 400 μl 的结合缓冲液,在 1 小时内上机检测完毕。同时设阴性对照管一只。数据分析方法采用 FACS Diva 软件获取 10000 个细胞,设 FSC/SSC 点图,可见细胞被分为粒细胞群、淋巴细胞群以及碎片。设淋巴细胞群为门 R1,再以 Annexin-V/PI 作一点图。根据阴性对照管设十字坐标,统计坐标尺下的 Annexin-V⁺/PI⁻ 细胞群 (凋亡细胞),结果以百分率来表示。

2.6 结果处理

流式细胞仪检测淋巴细胞热 Hsp70 的平均荧光强度、淋巴细胞凋亡百分率结果数据用平均值 $\pm$ 标准差 ($M \pm SD$) 表示。所有数据由 SPSS 11.0 软件分析处理;组间比较用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 和最小显著差法 (Least significant difference, LSD),相关分析为 Pearson 积差相关。 $p \leq 0.05$ 为可接受的显著水平

3 结 果

3.1 各组 Hsp70 的平均荧光强度的结果

流式细胞仪检测结果用单因素方差分析表明,三组间淋巴细胞的 Hsp70 表达差异有显著的统计学意义 ($F = 12.46, p < 0.001$);进一步分析发现,与对照组 Hsp70 表达 (1318.13 ± 173.67) 比较,经过 3 周的高强度心理应激大鼠 Hsp70 表达 (1849.13 ± 169.65) 显著增加 ($p < 0.001$),中等强度心理应激组 Hsp70 表达 (1667.38 ± 285.20) 也有显著升高 ($p = 0.041$)。FACS Diva 软件获取 10000 个细胞的 Hsp70 平均荧光强度分析图也可以看出同样的趋势 (如图 1 ~ 图 3)。

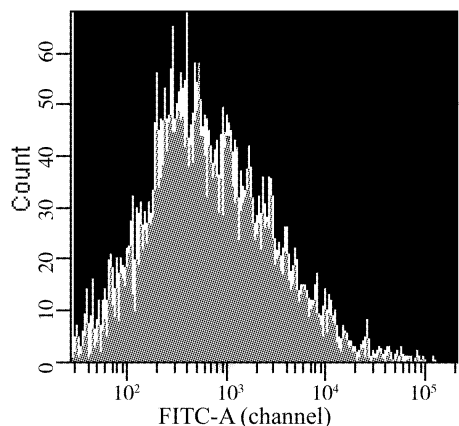


图 1 高强度 Hsp70 平均荧光强度分析

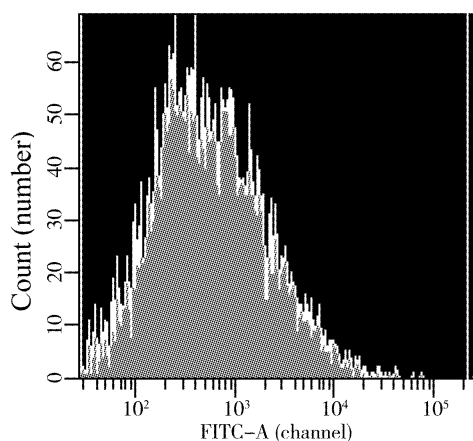


图2 中等强度 Hsp70 平均荧光强度分析

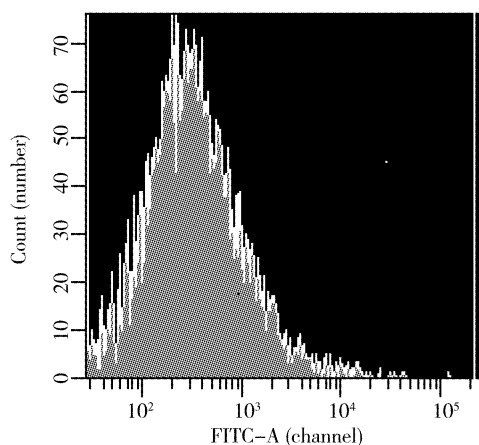


图3 对照组 Hsp70 平均荧光强度分析

3.2 各组淋巴细胞凋亡的结果

流式细胞检测结果用单因素方差分析表明,三组间淋巴细胞凋亡百分率差异有显著的统计学意义 ($F=6.12, p=0.008$);进一步分析发现,与对照组大鼠淋巴细胞凋亡量 (2.05 ± 1.84) 比较,3 周高强度心理应激致使大鼠淋巴细胞凋亡量 (4.72 ± 2.10) 明显增加,中等强度心理应激组大鼠淋巴细胞凋亡量 (2.32 ± 0.81) 有所增加,但是没有出现显著性的差异。同时由流式细胞仪 Annexin - V +/PI - 细胞凋亡分析图 (采用 FACS Diva 软件获取 10000 个细胞,建立 FSC/SSC 点图,可见细胞被分为粒细胞群、淋巴细胞群以及碎片。设淋巴细胞群为门 R1,再以 Annexin - V/PI 作一点图。根据阴性对照管设十字坐标,统计坐标尺下的 Annexin - V⁺/PI⁻ 细胞群即凋亡细胞:图横坐标为 Annexin - v 表示磷脂酰丝氨酸结合蛋白,纵坐标为 PI 表示碘化丙啶) 也可以看出,高强度心理应激淋巴细胞凋亡分析 (图 4) 比对照组 (图 5) 凋亡明显,而中等强度组与对照组相比,淋巴细胞凋亡不显著 (图 5,图 6)。

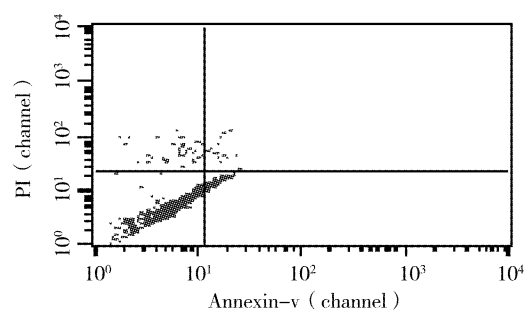


图4 高强度心理应激淋巴细胞凋亡分析

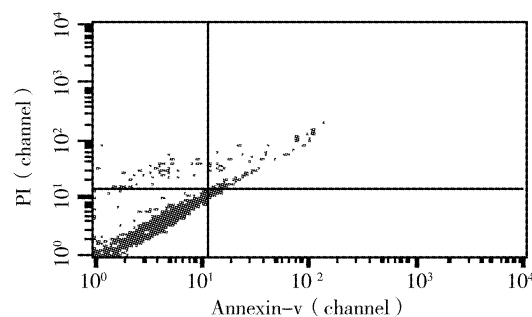


图5 对照组淋巴细胞凋亡分析

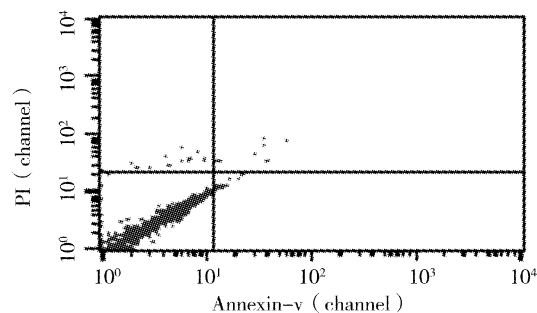


图6 中等强度心理应激淋巴细胞凋亡分析

3.3 淋巴细胞 Hsp70 与凋亡的变化量单因素方差检验及相关分析

对中、高强度心理应激组淋巴细胞 Hsp70 的表达水平和凋亡变化量 (中、高强度心理应激组淋巴细胞 Hsp70 表达水平和凋亡量与对照组的差值) 进行单因素方差检验和相关分析,结果如表 1 所示,方差检验的结果表明高强度心理应激组与中强度心理应激组的淋巴细胞凋亡变化量出现显著性差异 ($p=0.014$),而高、中强度之间 Hsp70 的表达水平的变化没有出现显著性差异。相关分析的结果显示,中等强度心理应激组淋巴细胞凋亡量和 Hsp70 的表达水平变化量成显著正相关 ($r=0.81, p=0.02$),而高强度心理应激组二者成不显著正相关 ($r=0.35, p=0.40$)。

表 1 中、高强度心理应激组淋巴细胞凋亡与 Hsp70 的变化量及相关分析

变量	中强度心理应激组	高强度心理应激组
淋巴细胞凋亡量	1.30 ± 1.04	3.70 ± 2.20 *
HSP70 的荧光强度	348.75 ± 275.42	531.00 ± 167.74
相关系数(<i>r</i>)	0.81 *	0.35

注: **p* < 0.05

4 讨论

Hsp70 的高水平表达是机体对抗不良环境因素的一种保护性应激反应。已有研究表明,心理应激机体淋巴细胞热休克蛋白表达水平升高,而其可能的生化机制就是长期反复应激反应可能使淋巴细胞内产生或增加了某种或几种对机体具有保护作用的物质^[11](如热休克蛋白)。本研究结果显示,随着心理应激强度的增加,淋巴细胞内 Hsp70 的表达显著升高,说明实验 3 周的心理应激诱发淋巴细胞内 Hsp70 合成大量的增加,来拮抗心理应激造成的机体损伤。但也有研究指出这种保护机制有一定限度,当外界环境刺激长期存在,使 HSP70mRNA 长期高度表达或外界刺激超过机体的耐受极限或机体受损时,Hsp70 的增多可能被当作一种自身抗原提交给免疫系统,导致机体产生自身免疫反应,产生针对 Hsp70 的抗体^[17]。

本研究对大鼠施加 3 周的中、高强度心理应激,采用流式细胞仪测定外周血淋巴细胞凋亡,结果发现,与对照组比较,中等强度心理应激组的淋巴细胞凋亡量增加,但没有达到统计学意义,高强度心理应激组淋巴细胞凋亡量明显增加,表明一定强度的心理应激由于机体应激保护机制,不会影响机体淋巴细胞凋亡的显著改变;而慢性高强度的心理应激由于超过了机体本身的应激保护能力,导致机体淋巴细胞凋亡的显著增加。淋巴细胞凋亡不仅在免疫系统的分化增殖中起关键作用,而且也是调节免疫应答,维持对外来抗原引起适当反应以及保持对自身抗原耐受的方式,淋巴细胞凋亡在一定程度上反映机体免疫损伤的程度^[8]。目前关于心理应激与免疫细胞凋亡的研究报道较少,本研究进一步拓展了心理应激与免疫功能的领域的研究的领域。已有的大量研究表明,长期大强度心理应激过程中机体免疫功能也发生明显变化,表现为抗原提呈细胞功能降低,T 细胞杀伤作用及产生淋巴因子能力减低,B 细胞产生特异性抗体减少等^[18-20]。以上结果进一步提示,心理应激在启动凋亡通路引起细胞凋亡的

同时,又能抑制免疫,而心理应激诱发的淋巴细胞凋亡可能是导致应激免疫抑制的重要变量之一。

本研究发现,与对照组比较,中等强度心理应激组淋巴细胞内 Hsp70 表达显著升高,淋巴细胞凋亡量没有显著性增加,这个结果表明在遭受中等强度心理应激时,淋巴细胞通过快速释放 Hsp70 等其他途径来拮抗机体的应激损伤,避免淋巴细胞凋亡的显著增加。而在高强度心理应激组表现为淋巴细胞内 Hsp70 的表达和凋亡量均显著性增加,这个结果说明,随心理应激强度的增加,尽管淋巴细胞也在不断通过增加 Hsp70 的释放等保护机制来拮抗机体的应激损伤,但已不足以避免淋巴细胞凋亡的显著增加以及机体的免疫损伤发生。另外,对中、高强度心理应激组淋巴细胞 Hsp70 的表达和凋亡量变化量进行单因素方差检验和相关分析,结果显示,高强度心理应激组与中强度心理应激组的淋巴细胞凋亡变化量比较出现显著性差异,表明凋亡增加加剧,而中高强度之间 Hsp70 的表达水平的变化没有出现显著性差异,表明 Hsp70 表达升高趋势减缓;且中等强度心理应激组淋巴细胞凋亡量和 Hsp70 的表达水平变化量成显著正相关,而高强度心理应激组二者成不显著正相关。这些结果提示慢性心理应激能诱发淋巴细胞 Hsp70 表达和凋亡升高,但随心理应激强度增加,Hsp70 表达升高趋势减缓,凋亡增加加剧,最终造成机体免疫损伤加深。

关于淋巴细胞凋亡的具体路径以及 Hsp70 与凋亡作用机制已有相关研究涉及,细胞凋亡是在基因控制下的细胞自我消亡过程,在这个过程中有基因的表达和蛋白质的合成,Hsp70 可通过多条途径和这些调控凋亡的基因和蛋白质相互作用,从而调节细胞的增殖分化,抑制凋亡的发生。Hsp70 能够调节参与细胞周期的关键分子,如 c - myc、p53、Cdk4、Wee - 1 等,通过这些周期蛋白而抑制凋亡的发生^[12];也可以参与有丝分裂素激活的信号通路,对其中的蛋白酶进行调控,如 Src 激酶、铬氨酸受体激酶、Raf 和 Map 激酶,参与细胞的有丝分裂,进而调节细胞的增殖和分化,抑制凋亡的发生^[21];还可以通过和 Bcl - 2 凋亡抑制基因发生协同作用,抑制凋亡发生^[22];Hsp70 的高表达也能够抑制 Fas 介导的凋亡信号的传导,从而抑制凋亡的发生^[23]。但是,心理应激导致淋巴细胞凋亡的具体路径,以及 Hsp70 与凋亡的具体作用机制有待深入研究。

5 结论

本研究探讨了慢性心理应激对热休克蛋白 70

(Hsp70)、淋巴细胞的凋亡及其两者之间关系的影响,研究结果提示慢性心理应激能诱发淋巴细胞 Hsp70 表达和凋亡升高,且随心理应激强度增加, Hsp70 表达升高趋势减缓、凋亡量增加加剧,最终造成机体免疫损伤加深。

参 考 文 献

- 1 Baumann H, Gauldie J. The acute phase response. *Immunology Today*, 1994, 15 (2): 74 ~ 80
- 2 Feder M E, Hofmann G E. Heat - shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annul Review of Physiology*, 1999, 61: 243 ~ 282
- 3 Hamilton K L, Staib J L, Phillips T, et al. Exercise, antioxidants, and HSP72: protection against myocardial ischemia/reperfusion. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003, 34(7): 800 ~ 809
- 4 Benoni G, Bellavite P, Adami A, et al. Effect of acute exercise on some haematological parameters and neutrophil functions in active and inactive subjects. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 1995, 70(2): 187 ~ 191
- 5 Chang R T, Lambert G P, Moseley P L, et al. Effect of estrogen supplementation on exercise thermoregulation in premenopausal women. *Journal of applied physiology*, 1998, 85(6): 2082 ~ 2088
- 6 Fehrenbach E, Niess A M. Role of heat shock proteins in the exercise response. *Exercise Immunology Review*, 1999, 5: 57 ~ 77
- 7 Cohen J J. Apoptosis. *Immunology Today*, 1993, 4: 126
- 8 Eguchi K. Apoptosis in autoimmune diseases. *Internal medicine*, 2001, 23(4): 275 ~ 284
- 9 Yan J, Chen A G. Effects of the psychological stress on peripheral blood Lymphocytes apoptosis and Bax, Bcl - 2 Gene expression in rats (in Chinese). *Chinese Mental Health Journal*, 2005, 19(9): 604 ~ 606
(颜军,陈爱国. 心理应激对大鼠淋巴细胞凋亡及基因调控的影响. 中国心理卫生杂志, 2005, 19(9): 604 ~ 606)
- 10 Engler H, Stefanski V. Social stress and T cell maturation. *Psychoneuroendocrinology*, 2003, 28(8): 951 ~ 969
- 11 Zhu X Z, Qi X L, Yao S Q, et al. The protective role of the Hsp70 in hippocampal CA3 neurons against chronic psychological stress (in Chinese). *Chinese Mental Health Journal*, 2006, 20(7): 425 ~ 429
(朱熊兆, 亓晓丽, 姚树桥, 等. 热休克蛋白 70 对小鼠海马 CA3 区神经元损伤的保护作用. 中国心理卫生杂志, 2006, 20(7): 425 ~ 429)
- 12 Hayase T, Yamamoto Y, Yamamoto K, et al. Similar effects of cocaine and immobilization stress on the levels of heat shock proteins and stress - activated protein kinases in the rat hippocampus, and on swimming behaviors: the contribution of dopamine and benzodiazepine receptors. *Behavioral pharmacology*, 2003, 14 (7): 551 ~ 62
- 13 Zheng J R, Wu T C, Yang Q L, et al. Relation between Hsp70 expression and noise induced hearing loss in Chinese workers (in Chinese). *Chinese Prevention Medicine*, 2005, 6(6): 531 ~ 533
(郑建如, 郭堂春, 杨秋玲, 等. 噪声作业工人血浆热休克蛋白 70 抗体水平与听力损伤关系的研究. 中国预防医学杂志, 2005, 6 (6): 531 ~ 533)
- 14 Gardile V, Scifo C, Russo A, et al. Involvement of HSP70 in resveratrol - induced apoptosis in human prostate cancer. *Anticancer research*, 2003, 23(6C): 4921 ~ 4926
- 15 Hou G L, Miao X C. Effects of psychological stress on rat's free radicals (in Chinese). *psychological science*, 2000, 23(2): 175 ~ 179
(侯公林, 缪小春. 心理应激对大白鼠自由基损伤的影响. 心理科学, 2000, 23(2): 175 ~ 179)
- 16 Adrie C, Richter C, Bachelet M, et al. Contrasting effects of NO and peroxynitrites on HSP70 expression and apoptosis in human monocytes. *American Journal of Physiology: Cell physiology*, 2000, 279(2): 452 ~ 460
- 17 Burdon R H. Heat shock proteins in relation to medicine. *Molecular aspects of medicine*, 1993, 14: 83 ~ 165
- 18 Kanno J, Wakikawa A, Utsuyama M, et al. Effect of restraint stress on immune system and experimental B16 melanoma in aged mice. *Mechanisms of Ageing and Development*, 1997, 93(1 - 3): 107 ~ 117
- 19 De Groot J, Ruis M A, Scholten J W, et al. Long - term effects of social stress on antiviral immunity in pigs. *Physiology and Behavior*, 2001, 73(1 - 2): 145 ~ 158
- 20 Tuchscherer M, Puppe B, Tuchscherer A, et al. Effects of social status after mixing on immune, metabolic, and endocrine responses in pigs. *Physiology and Behavior*, 1998, 64(3): 353 ~ 360
- 21 Beere H M. Heat - shock protein 70 inhibits apoptosis by recruitment of procaspase 9 to the Apaf - I apoptosome. *Nature Cell Biology*, 2000, 2: 469 ~ 475
- 22 Dix D J, Allen J W, Collins B W, et al. Bcl - 2 and thermotolerance cooperate in cell survival. *Cell growth & differentiation*, 1995, 6: 799 ~ 805
- 23 Schett G, Steiner C N, Croyer M, et al. Activation of Fas Inhibits heat - induced activation of HSF1 and up - regulation of hsp70. *FASEB Journal*, 1999, 13 (8): 833 ~ 842

Effects of Psychological Stress on the Hsp70 Expression and Apoptosis of the Peripheral Blood Lymphocytes in Rats

YAN Jun¹, CHEN Ai-Guo¹, HU Mao-Zi²

(¹College of Sport, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China) (²Testing center of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract

Heat shock proteins (HSP) represent a very conservative family of cytoprotective proteins that are specifically induced in response to several environmental stresses at the cellular level (heat shock, cellular energy depletion, oxidative stress, or inflammation). Among these proteins, the inducible form of the 70 kDa family, i.e., Hsp72, plays an important role in cytoprotection by preventing the abnormal folding of newly synthesized polypeptides, or by assisting in the repair of damaged proteins or in the degradation of irreversibly damaged proteins. An adapted stress response in terms of transcription and translation of Hsp70 is necessary to ensure cell survival under stressful conditions. Lymphocytes apoptosis plays an important role in the immune function. It is now well documented that acute psychological stress, particularly when it reaches high intensity, leads to high Hsp70 expression and lymphocytes apoptosis. Relatively fewer studies have been conducted on the effects induced by chronic psychological stress on Hsp70 expression in lymphocytes, and the relation between Hsp70 expression and lymphocytes apoptosis. The aim of this study is to investigate the effect of psychological stress on Hsp70 expression, lymphocytes apoptosis, and the relationship between them.

Twenty - four SD rats were randomly divided into three groups of eight as follows: control group (C), high intensity psychological stress group (H), and moderate intensity psychological stress group (M). A flow cytometer detected the extent of apoptosis and hsp70 expression in the peripheral blood lymphocytes of rats under psychological stress of varying intensity. One - way ANOVA and correlation analysis were used for the statistical analysis.

In comparison with group C, the Hsp70 expression in lymphocytes groups H and M was significantly higher. The extent of apoptosis in group H increased significantly, while the extent of apoptosis in group M did increase, but not significantly. The positive correlation between the changes of Hsp70 expression and the lymphocytes apoptosis in group M was significant, while the correlation for group H was positive, but not significantly.

This study suggested that chronic psychological stress, especially that of high intensity, increased the Hsp70 expression and the lymphocytes apoptosis in peripheral blood lymphocytes. Furthermore, as the intensity of psychological stress increases, the Hsp70 expression in lymphocytes increased slowly while the extent of apoptosis increased rapidly. As a result, the immune function kept deteriorating.

Key words psychological stress, lymphocytes, Hsp70, apoptosis.