

• 综述 •

高迁移率族蛋白 B1 的研究进展及其免疫作用

朱海云¹(综述),李银平²(审校)

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津市天和医院, 天津 300050)

【关键词】 高迁移率族蛋白 B1; 信号通路; 释放; 免疫机制

中图分类号: Q502 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.02.031

高迁移率族蛋白(HMG)是一类进化高度保守的非组蛋白,在真核生物细胞核内含量丰富,其生物学效应主要是稳定染色体结构并协助其功能,在 DNA 的复制、转录、重组和修复中具有重要作用。HMGB1 可由单核/巨噬细胞等通过非经典的、囊介导的分泌通路而分泌至细胞外。细胞外的 HMGB1 是重要炎症因子,参与了多种疾病的病理生理过程,被认为是晚期促炎细胞因子之一,参与了多器官功能障碍发生发展过程。现就其生物特性、转导机制、核外释放及其对免疫系统作用的进展进行综述。

1 HMG 分子生物学性质

HMG 是细胞内广泛存在的 DNA 结合蛋白,氨基酸组成序列在生物进化过程中高度保守,因其在凝胶电泳中泳动速度快而得名。除细胞核外,HMG 也存在于多种细胞胞质和细胞膜上。HMG 超家族有 12 个成员,分 HMGB、HMGN 和 HMGA 3 个家族,三者间有 80% 的氨基酸序列相同。所有的 HMGB 蛋白通过 HMGB box 与 DNA 结合。HMGB box 由组成 α -螺旋结构的氨基酸残基序列组成,与 DNA 小沟形成非特异性结合。在哺乳动物中,HMGB1 的同源性达 99%。HMGB1 有 A box(aa1-79)和 B box(aa89-163)两个功能结构域,还有一个高酸性的重复 C 末端尾(aa186-215)。B box 是 HMGB1 诱导细胞因子产生的部分,活性区位于前 20 个氨基酸残基。重组 B box 蛋白能模拟全长分子刺激单核/巨噬细胞和中性粒细胞分泌肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等致炎细胞因子,而重组 A box 蛋白则能拮抗全长分子和重组 B box 蛋白的致炎作用^[1]。

HMGB1 实际上在核内是一种移动

蛋白,与 DNA 非特异性结合的亲和力低,能通过核孔在细胞核与胞质间穿梭。在细胞分裂中期,HMGB1 从浓缩的染色体上分离并扩散到胞质中就说明了 HMGB1 与染色质的不稳定结合关系。在翻译后,新合成的 HMGB1 要经受大量的修饰,包括乙酰化、磷酸化、甲基化、ADP 核糖基化。HMGB1 的乙酰化在功能上极其重要,它影响 HMGB1 与 DNA 结合的亲和力、能够促进 HMGB1 从核内到胞质的再定位,并防止其重新进入核内,这是 HMGB1 向细胞外分泌的前提。乙酰化后亦有利于细胞合成时组蛋白在核内的组装。据报道,HMGB1 的磷酸化能影响其对转录因子活性的调节,自身的稳定性、构相以及与 DNA 结合的亲和力^[2]。

2 HMGB1 信号转导机制

HMGB1 极具黏性,可以与细胞表面多种不同分子结合,如肝磷脂、蛋白聚糖,甚至硫糖脂和磷脂等^[3]。HMGB1 仍然有一个明确的高亲和力受体,即晚期糖基化终末产物受体(RAGE)。RAGE 为一种跨膜蛋白,最初在牛肺内皮细胞中发现,属于免疫球蛋白超家族,并能结合多种配体。RAGE 表达在多种细胞表面,包括内皮细胞、平滑肌细胞、单核/巨噬细胞和神经元。现发现 RAGE 参与了糖尿病、淀粉样变性和动脉硬化症等病理过程^[4]。RAGE 是 HMGB1 发挥功能的重要受体之一,与 HMGB1 的结合力较与晚期糖基化终产物(AGE)的结合力高 7 倍。现有证据表明,HMGB1 的促炎效应大多通过 RAGE 起作用^[5],通过 RAGE 激活核转录因子- κ B(NF- κ B)、丝裂素活化蛋白激酶(MAPK)、纤溶酶原激活物抑制剂、细胞分裂周期蛋白 42(Cdc42)与 Rac(Rho 家族小 G 蛋白的成员)。但应用 RAGE 抗体或 RAGE 基因敲除方法,并不能完全抑制 HMGB1 引

起的炎症反应。

最近研究发现,尽管 HMGB1 在结构上高度保守,但并不完全依赖 RAGE 途径介导炎症反应。Toll 样受体 2 和 4 (TLR2 和 TLR4)可与巨噬细胞、中性粒细胞分泌的 HMGB1 结合,促使 NF- κ B 活化,并诱导炎症发生,提示 TLR2 和 TLR4 可能是 HMGB1 的潜在受体^[6]。此外,进一步研究证实,NF- κ B 可能直接或间接参与 HMGB1 诱生的信号调控过程。抑制 NF- κ B 可显著下调内毒素休克动物组织 HMGB1 基因表达。

姚咏明等^[7]发现,Janus 激酶/信号转导和转录激活因子(JAK/STAT)通路可能参与了 HMGB1 的表达及致炎效应的信号调节。他们采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症动物模型,探讨 JAK/STAT 通路与肝组织 HMGB1 mRNA 表达之间的关系。该结果表明,JAK/STAT 参与了 CLP 后肝 HMGB1 表达的调节过程,抑制 JAK/STAT 通路可下调 HMGB1 表达,并有助于防止急性肝损伤。此后作者采用大鼠腹腔巨噬细胞进行的体外实验结果与体内实验结果基本一致,说明 JAK/STAT 信号通路尤其是 STAT1、STAT3 的确参与了 HMGB1 的诱生过程^[8]。但是 JAK/STAT 途径是如何调节 HMGB1 表达的,其确切的分子生物学机制到底是什么,目前还不清楚。

3 HMGB1 与释放

HMGB1 具有释放晚、持续时间长的特点,被认为是引发机体炎症级联反应的重要介质。

3.1 刺激释放:有研究表明,单核细胞、巨噬细胞和树突细胞(DC)等免疫细胞都可以主动分泌 HMGB1^[6,9]。HMGB1 的释放方式不同于传统的细胞因子释放方式,HMGB1 不含信号肽,因而不能通过内质网和高尔基体途径分泌,而是通

作者简介:朱海云(1982-),女(汉族),河北省人,硕士研究生。

过类似白细胞介素-1(IL-1)的分泌方式。活化的单核/巨噬细胞通过溶酶体途径,以非经典的囊泡方式将细胞内的 HMGB1 分泌至细胞外^[10]。在 HMGB1 分泌过程中,乙酰化修饰很重要,分子上某些赖氨酸残基的乙酰化修饰促进 HMGB1 从细胞核向细胞质移位并阻止其重新进入细胞核内^[2]。在其他研究中发现, HMGB1 由受到肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 刺激的巨噬细胞表达和分泌,是通过磷酸化机制来实现的^[11]。虽然这些调节对 HMGB1 的释放很重要,但目前其确切机制还不是很清楚。另外,多种病理过程中组织细胞的坏死、损伤也可使核内的 HMGB1 游离并释放至细胞外。HMGB1 的释放是坏死组织激发炎症反应的主要因子,也是一种重要的内源性免疫调节信号。尽管认为,细胞坏死时 HMGB1 从细胞核内释放出来,凋亡时 HMGB1 在核内与染色质紧密结合,但凋亡细胞也能诱导巨噬细胞分泌 HMGB1^[12]。

很多因素都可以刺激免疫细胞主动分泌 HMGB1,如 PAMPs(病原相关的分子模式),细胞因子和细胞应激的某些状态等。脂多糖(LPS)诱导巨噬细胞内 HMGB1 表达和释放大约是从 8 h 开始显著增加的,并存在时间-剂量依赖关系^[6,13]。释放出核的 HMGB1 可介导一系列级联信号,进一步活化巨噬细胞,促进促炎细胞因子与趋化因子的释放。除了 PAMPs 可以促使 HMGB1 的释放外,其他感染损伤等因素也可导致内源性 HMGB1 的释放,如 TNF- α 、干扰素(IFN)等细胞因子,也能促进 HMGB1 的核外分泌。有研究发现,氧化应激也可促进单核/巨噬细胞释放 HMGB1 至细胞核外^[14]。PAMPs 和细胞因子刺激巨噬细胞介导 HMGB1 的分泌是通过不同途径来完成的,如 LPS 诱导 HMGB1 释放的途径是通过超乙酰化, TNF- α 刺激细胞释放 HMGB1 的途径是通过介导磷酸化^[11]。此外,非免疫细胞也能够促进 HMGB1 的分泌、释放,如脑垂体细胞在受到 IL-1 或 TNF 刺激后会释放大量的 HMGB1^[15]。在缺氧条件或氧化应激条件下,肝细胞通过胞内钙信号变化的介导也能释放 HMGB1^[16]。

3.2 抑制释放 HMGB1 释放到细胞外已成为机体一种“危险信号”。因此,可能通过抑制 HMGB1 释放来减轻机体的损

伤,提高存活率。有研究显示,热休克蛋白 72(HSP72)能够抑制炎性刺激和氧化应激所致 HMGB1 的释放和移位,而且进一步通过作用于 MAPK 和 NF- κ B 通路抑制 HMGB1 的促炎功能。HSP72 的过度表达抑制了 LPS 诱导的巨噬细胞内 HMGB1 的释放,这种作用取决于 HSP72 和 HMGB1 间的相互作用。研究还发现,槲皮素也可显著抑制 LPS 和 TNF- α 所致的 HMGB1 释放^[17]。研究证实,很多药物制剂都有抑制 HMGB1 释放的潜力。

4 HMGB1 与免疫系统

目前很多研究主要集中在 HMGB1 的炎症、受体与信号转导机制方面,它在细胞免疫功能障碍中的病理生理过程还不是很清楚。HMGB1 作为一种潜在的免疫调节因子,在其释放出细胞时将激发免疫系统产生炎症反应,并可以扩大炎症反应,产生级联效应。当免疫细胞受到 HMGB1 的刺激后会产生特定的应激反应。

巨噬细胞作为重要的免疫细胞,在机体固有性及适应性免疫中发挥着关键的调节作用。姚咏明的实验室前期研究显示, HMGB1 能时间-剂量依赖性地诱导离体培养的小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能和抗原呈递分子 I-A/I-E 表达;且 HMGB1 是重要的免疫效应分子,能下调巨噬细胞的吞噬功能,降低其吞噬、杀菌活性^[18]。巨噬细胞作为重要的免疫细胞,在机体固有性及适应性免疫中发挥关键的调节作用。HMGB1 可诱导单核细胞产生多种炎症因子,如 TNF- α 、IL-1、IL-6 等,作用于内皮细胞后可促进细胞间黏附分子-1、血管细胞黏附分子-1 的表达,增强单核细胞的黏附能力^[19]。

DC 为免疫系统的抗原呈递细胞和炎症的启动者, HMGB1 对其分化成熟也有影响。严重烧伤后 HMGB1 的过度升高可以刺激 DC 向成熟发展,还可以促进 DC 表面共刺激分子 CD80、CD86 和主要组织相容性复合物 I (MHC I) 表达上调,也可使脾脏 DC 分泌 TNF- α 和 IL-12 的能力下降,从而影响调节性 T 细胞(Treg)的免疫抑制活性^[20-21]。HMGB1 对 T 淋巴细胞的调节有双向作用,一定剂量的 HMGB1 可以促进 T 淋巴细胞增殖,呈辅助性 T 细胞 1(Th1) 优势的免疫状态,分泌大量的细胞因子,其浓度蓄积和存在时间能造成免疫应答

反应由高向低转化,并且在不同淋巴器官中发挥的效应明显不同^[22-23]。研究显示,通过 HMGB1 体外刺激小鼠脾脏 CD4⁺CD25⁺Treg,能显著诱导 Treg 表达 TLR4 下调,及其抑制性分子 T 淋巴细胞毒性相关抗原 4(CTLA4)、转录因子 FOXP3 表达水平的下调,进而参与调节 Treg 的免疫活性^[24-25]。HMGB1 介导中性粒细胞增强白细胞表面整合素家族黏附分子-1 和 RAGE 之间的相互作用,促进了中性粒细胞的趋化和吞噬作用^[26]。此外, HMGB1 的刺激显著增加了细胞间黏附分子-1 和血管细胞黏附分子-1 在内皮细胞表面的表达,从而增加了炎症细胞的黏附。

5 结语

业已明确, HMGB1 作为脓毒症中重要的晚期炎症介质^[6],其不仅在脓毒症的致病过程中起重要作用,而且参与了如风湿性疾病、肿瘤、创伤及失血性休克、缺血/再灌注损伤的发生发展。然而,在针对 HMGB1 的靶向治疗研究中发现,虽然 HMGB1 抑制剂在动物实验上取得了成功,但将其用于临床,即使比拮抗“早期促炎因子”拥有更充分的时间窗,但仅作为笼统的抗炎措施仍不能获得满意疗效。越来越多的研究显示, HMGB1 不仅是体内重要的晚期促炎介质,而且与机体细胞免疫功能障碍密切相关。因此,在这一阶段, HMGB1 如何参与免疫平衡调节、如何影响机体免疫功能等问题仍待深入探讨。

参考文献

- [1] Li J, Kokkola R, Tabibzadeh S, et al. Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1 [J]. Mol Med, 2003, 9 (1-2):37-45.
- [2] Bonaldi T, Talamo F, Scaffidi P, et al. Monocytic cells hyperacetylate chromatin protein HMGB1 to redirect it towards secretion [J]. EMBO J, 2003, 22(20):5551-5560.
- [3] DeMarco RA, Fink MP, Lotze MT. Monocytes promote natural killer cell interferon gamma production in response to the endogenous danger signal HMGB1 [J]. Mol Immunol, 2005, 42 (4):433-444.
- [4] Erlandsson Harris H, Andersson U. Mini-review: the nuclear protein HMGB1 as a proinflammatory mediator [J]. Eur J Immunol, 2004, 34 (6):

- 1503-1512.
- [5] Rouhiainen A, Imai S, Rauvala H, et al. Occurrence of amphoterin (HMG1) as an endogenous protein of human platelets that is exported to the cell surface upon platelet activation [J]. *Thromb Haemost*, 2000, 84 (6): 1087-1094.
- [6] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice [J]. *Science*, 1999, 285 (5425): 248-251.
- [7] 姚咏明, 刘辉. 对高迁移率族蛋白 B1 作用的新认识 [J]. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(7): 385-387.
- [8] 王松柏, 姚咏明, 董宁, 等. JAK/STAT 通路介导脓毒症大鼠肝组织高迁移率族蛋白 B1 mRNA 表达的研究 [J]. *中国危重病急救医学*, 2003, 15(3): 147-149.
- [9] Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1), nuclear weapon in the immune arsenal [J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(4): 331-342.
- [10] Gardella S, Andrei C, Ferrera D, et al. The nuclear protein HMGB1 is secreted by monocytes via a non-classical, vesicle-mediated secretory pathway [J]. *EMBO Rep*, 2002, 3 (10): 995-1001.
- [11] Youn JH, Shin JS. Nucleocytoplasmic shuttling of HMGB1 is regulated by phosphorylation that redirects it toward secretion [J]. *J Immunol*, 2006, 177(11): 7889-7897.
- [12] Qin S, Wang H, Yuan R, et al. Role of HMGB1 in apoptosis-mediated sepsis lethality [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(7): 1637-1642.
- [13] Jiang W, Bell CW, Pisetsky DS. The relationship between apoptosis and high-mobility group protein 1 release from murine macrophages stimulated with lipopolysaccharide or polyinosinic-polycytidylic acid [J]. *J Immunol*, 2007, 178(10): 6495-6503.
- [14] Tang D, Shi Y, Kang R, et al. Hydrogen peroxide stimulates macrophages and monocytes to actively release HMGB1 [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 81(3): 741-747.
- [15] Liu S, Stolz DB, Sappington PL, et al. HMGB1 is secreted by immunostimulated enterocytes and contributes to cytotoxic-induced hyperpermeability of Caco-2 monolayers [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290 (4): C990-999.
- [16] Tsung A, Klune JR, Zhang X, et al. HMGB1 release induced by liver ischemia involves Toll-like receptor 4 dependent reactive oxygen species production and calcium-mediated signaling [J]. *J Exp Med*, 2007, 204 (12): 2913-2923.
- [17] Tang D, Kang R, Xiao W, et al. The anti-inflammatory effects of heat shock protein 72 involve inhibition of high-mobility-group box 1 release and proinflammatory function in macrophages [J]. *J Immunol*, 2007, 179 (2): 1236-1244.
- [18] 王忠堂, 姚咏明, 盛志勇, 等. HMGB1 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬和 I-A/E 表达的影响 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2008, 24(8): 771-773.
- [19] Kokkola R, Andersson A, Mullins G, et al. RAGE is the major receptor for the proinflammatory activity of HMGB1 in rodent macrophages [J]. *Scand J Immunol*, 2005, 61(1): 1-9.
- [20] 徐娜, 姚咏明, 董宁, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对大鼠脾脏树突状细胞表面共刺激分子表达的影响 [J]. *中华创伤杂志*, 2006, 22(8): 579-583.
- [21] 张笑天, 姚咏明, 黄立峰, 等. 烫伤后高迁移率族蛋白 B1 对树突状细胞分泌细胞因子的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(3): 163-166.
- [22] 姚咏明, 林洪远. 高迁移率族蛋白 B1 在创伤免疫功能紊乱中的作用及其调节机制 [J]. *中国危重病急救医学*, 2008, 20(9): 513-515.
- [23] Messmer D, Yang H, Telusma G, et al. High mobility group box protein 1: an endogenous signal for dendritic cell maturation and Th1 polarization [J]. *J Immunol*, 2004, 173(1): 307-313.
- [24] 许长涛, 姚咏明, 李为民, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对小鼠调节性 T 细胞 Toll 样受体 4 表达的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(3): 167-170.
- [25] 张莹, 姚咏明, 董宁, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对小鼠调节性 T 细胞抑制性相关分子表达的影响 [J]. *中华实验外科杂志*, 2007, 24(5): 616-618.
- [26] Orlova VV, Choi EY, Xie C, et al. A novel pathway of HMGB1-mediated inflammatory cell recruitment that requires Mac-1-integrin [J]. *EMBO J*, 2007, 26(4): 1129-1139.

(收稿日期: 2009-01-22)

(本文编辑: 保健媛)

• 科研新闻速递 •

生物学屏障阻碍抗肠外致病性大肠杆菌疫苗研发

美国学者曾发现, 鼻腔免疫接种基因工程产生的荚膜多糖和 O⁻ 抗原不再表达的菌株 (CP923) 可产生免疫原性, 并且其产生的抗体可以抑制一个异源致病性大肠杆菌亚群, 并在体外加强中性粒细胞介导的对同源和异种菌株杀菌活性。近日, 他们在鼻腔免疫 CP923 对静脉注射脓毒症模型小鼠影响的研究中发现, 该荚膜多糖和 O⁻ 抗原形成的一个生物学屏障能阻挡抗体, 使抗体指向非荚膜和 O⁻ 抗原的表位。研究者认为, 要想成功研发出抗肠外致病性大肠杆菌疫苗, 必须克服荚膜多糖和 O⁻ 抗原形成一个生物学屏障。

王瑞晨, 编译自《Vaccine》, 2008-11-14(电子版); 胡森, 审校

血管紧张素转换酶抑制剂对炎症反应的影响

最近, 日本科研人员报告血管紧张素转换酶抑制剂依那普利能通过减少炎症细胞因子分泌, 减轻脂多糖引起的大鼠肺损伤。他们采用雄性 Wistar 大鼠, 静脉注射脂多糖制备脓毒症模型, 随机分为腹腔注射依那普利组与正常对照组。结果显示, 依那普利组脂多糖诱导的血管紧张素 I 和促炎细胞因子产生显著减少, 肺间质充血、水肿、炎症及出血状况明显改善。体外实验证实依那普利可减少核转录因子- κ B (NF- κ B) 磷酸化修饰。研究者认为, 依那普利能减轻内毒素血症导致的炎症反应和急性肺损伤, 有望用于脓毒症的治疗。

白慧颖, 编译自《Crit Care Med》, 2008-12-26(电子版); 胡森, 审校