

## 高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1) 与器官纤维化研究进展

尹晶平, 苏兆亮, 许化溪\* (江苏大学免疫学研究室, 江苏 镇江 212013)

**[摘要]** 高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)作为一种重要的晚期炎症因子和促炎因子, 可以通过损伤/坏死细胞被动释放, 也可由活化状态的细胞主动分泌至胞外介导炎症反应。一直以来, HMGB1 在各种急慢性炎症中的作用研究备受关注。器官组织纤维化为持续慢性炎症的后期病理变化, 近年来, HMGB1 在各种器官纤维化中的作用研究越来越多。许多研究结果显示, HMGB1 在肝、肺、肾、心脏等器官纤维化的发生发展中发挥重要作用。

**[关键词]** 高迁移率族蛋白 B1; 炎症; 纤维化

**[中图分类号]** R392.12 **[文献标志码]** A

高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是一种存在于细胞核内非组蛋白, 广泛分布于淋巴、脑、肝、肺、心、脾、肾等组织。HMGB1 作为一种重要的炎性介质和促炎细胞因子, 可由活化细胞主动分泌和受损细胞被动释放, 介导炎症反应或参与免疫调节, 也与肿瘤、自身免疫性疾病、心血管疾病以及多种器官纤维化的发生密切相关。现就 HMGB1 与组织器官纤维化关系的研究进展进行综述。

### 1 HMGB1 概况

高迁移率蛋白(HMG)最早由 Johns 于 20 世纪 70 年代在小牛胸腺中发现, 是一种几乎存在于所有真核细胞内的非组蛋白染色体结合蛋白。HMG 超家族因其相对分子质量( $M_r$ )小(25 000~30 000), 在 PAGE 电泳时迁移速度快而得名<sup>[1]</sup>。2000 年国际 HMG 会议根据 HMG 的大小、序列相似性及 DNA 特性分为 HMGA、HMGB、HMCN 家族, 高迁移率蛋白 B1 为 HMGB 家族成员之一, 其在进化上高度保守, 啮齿类动物与人的 HMGB1 由 215 个氨基酸组成。HMGB1 分子包含 2 个与 DNA 结合的结构域, 即 A 盒和 B 盒; 一个高度重复并富含酸性氨基酸的羧基末端(图 1A)<sup>[2]</sup>。其中, B 盒是其发挥作用的关键结构, A 盒可以代替全长 HMGB1 与相应受体结合, 但不发挥生物学作用, 因此 A 盒具有与抗 HMGB1 抗体相似的 HMGB1 拮抗作用<sup>[2]</sup>。人 HMGB1 基因位于染色体 13q12, 蛋白翻译后进行甲基化、糖基化、磷酸化和酰基化等修饰加工。

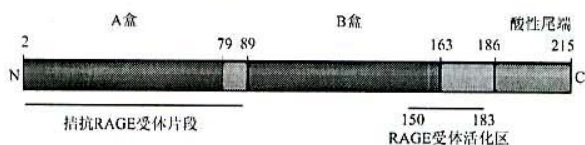


图 1 HMGB1 结构域

HMGB1 是一种生存所必需的蛋白, 研究发现  $Hmgb1^{-/-}$

小鼠在出生后 24 h 内因为低血糖而死亡, 而给予  $Hmgb1^{-/-}$  小鼠口服葡萄糖后小鼠能存活数天<sup>[3]</sup>。HMGB1 组成性表达于细胞核内, 其功能的发挥取决于它在胞内的定位。在细胞内, HMGB1 可以连接 DNA 起到修饰染色质和调节转录作用<sup>[4]</sup>; 而在细胞外, HMGB1 往往扮演细胞因子的角色, 可诱导一系列促炎因子的活化、招募炎症细胞、促进炎症反应<sup>[5-6]</sup>。

研究表明, 坏死或受到损伤的细胞会主动释放 HMGB1<sup>[7]</sup>; 某些非免疫细胞和免疫细胞在受到炎性刺激(LPS、TNF- $\alpha$ 、IL-1 等)后, 可使位于核内的 HMGB1 转移至胞质, 并分泌到细胞外<sup>[8-9]</sup>; 也可通过磷酸化、乙酰化和甲基化修饰后被分泌到细胞外<sup>[4]</sup>。分泌至胞外的 HMGB1 可通过其 B 盒与相应受体(包括 RAGE、TLR2、TLR4、TLR9)结合, 从而发挥多种生物学效应: 作为晚期炎症因子提供组织损伤信号, 广泛的参与炎症疾病的致病; 调节适应性免疫应答, 促进 DC 成熟和 Th1 极化; 趋化、吸附功能, 刺激干细胞增殖、分化、迁移参与组织损伤与修复; 抗菌活性。大量研究表明, HMGB1 在脓毒血症, 关节炎, 肿瘤, 心血管疾病, 纤维化等多种疾病中发挥重要作用。

### 2 HMGB1 与肺纤维化

Hamada 等<sup>[10]</sup>报道, 特发性肺纤维化患者血清和支气管肺泡灌洗液中 HMGB1 的表达量均增加; 在博来霉素诱导的小鼠肺纤维化模型中发现同样的现象, 而注射抗 HMGB1 抗体或丙酮酸乙酯(ethyl pyruvate, EP)抑制 HMGB1 释放至胞外可以减轻炎症和博来霉素诱导的纤维化。同时发现, HMGB1 可以在体外刺激成纤维细胞的增生。He 等<sup>[11]</sup>也认为 HMGB1 及其受体 RAGE 在肺纤维化发挥重要作用。业已表明, HMGB1/RAGE 信号影响上皮间质细胞的转变过程和促纤维化相关细胞因子的产生, 进而参与博来霉素诱导的肺纤维化。研究还发现, 在特发性肺纤维化急性加剧后, HMGB1 的

收稿日期: 2012-09-27; 接受日期: 2012-10-23

基金项目: 国家自然科学基金(81001319); 江苏省博士后启动基金(1102129C); 江苏大学高层次人才启动项目(11JDG128)

作者简介: 尹晶平(1987-), 男, 江西萍乡人, 硕士研究生

Tel: 18796082187; E-mail: yinjingping1987@163.com

\* Corresponding author, 许化溪, E-mail: xuhx@ujs.edu.cn

表达量显著增加<sup>[12]</sup>。尽管 HMGB1 在肺纤维化中的作用机制尚未阐明,但抑制 HMGB1 的功能可能成为治疗肺纤维化的有效策略。抗 HMGB1 治疗肺损伤和纤维化的可能机制是:(1)平滑肌细胞增生是肺纤维化的特点之一,胞外 HMGB1 和 RAGE 结合,通过诱导血管相关的干细胞迁移和增生,参与肌肉组织再生<sup>[13]</sup>;(2)大量血管生成,可能是博来霉素诱导的肺纤维化小鼠模型发病机制之一<sup>[14]</sup>,HMGB1 通过活化巨噬细胞产生血管生成因子如 VEGF, TNF- $\alpha$  和 IL-8 等<sup>[15]</sup>,由此推断, HMGB1 通过参与血管生成在肺纤维化中发挥作用;(3)众所周知,树突状细胞(dendritic cell, DC)的成熟对于 T 细胞的存活和增生是极其重要的, Dumitriu 等<sup>[16]</sup>学者报道,活化的 DC 释放 HMGB1 可以诱导自身的成熟。尽管 T 细胞在肺损伤和纤维化中的作用尚存争议,但抗 HMGB1 可能通过抑制 T 细胞的活化减轻博来霉素诱导的肺纤维化。

### 3 HMGB1 与囊性纤维化

囊性纤维化(cystic fibrosis, CF)是一种侵犯多脏器的遗传性疾病。主要表现为外分泌腺的功能紊乱,肺和消化道为主要的受累脏器。黏稠分泌物堵塞支气管以及继发性感染,是呼吸系统病变的主要病理基础,呈现以大量中性粒细胞增生为特点的气道炎症。在 CF 患者肺泡灌洗液中 HMGB1 的表达量明显增加,导致感染细菌持续存在并招募大量中性粒细胞。同时, HMGB1 介导的 TLR4 信号途径导致巨噬细胞功能紊乱,严重影响巨噬细胞吞噬清除细菌的功能。在利用 HMGB1 中和抗体处理后, CF 患者病理损伤减弱,巨噬细胞的吞噬作用明显增强<sup>[17]</sup>。也有研究显示, HMGB1 是参与囊性纤维化气道炎症的潜在因素,可能为启动此炎症过程的一种调节器<sup>[18]</sup>。Rowe 等<sup>[19]</sup>发现 HMGB1 的表达在囊性纤维化气道疾病中起一定作用,其理由是在 CF 患者及 CF 炎症动物模型中 HMGB1 的表达均增加。HMGB1 可以通过 CXCR 依赖途径直接趋化中性粒细胞到达炎症部位,同时 HMGB1 也诱导胶原基质的降解正反馈促进炎症的形成。可以推断, HMGB1 对气道分泌物炎症的 CF 具有重要的调节作用,可能是囊性纤维化气道疾病的分子标志,而中和 HMGB1 的作用则有可能成为持续慢性炎症的潜在治疗靶点。HMGB1 作为炎症因子在 CF 中的作用,可能为进一步研究 CF 气道炎症中相关的调控分子提供新的思路。

### 4 HMGB1 与肝纤维化

目前认为,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的激活是肝纤维化发生发展的关键环节, HSC 激活的始动因素是肝损伤和炎症反应。研究发现,活化的 HSC 有增殖、致炎、收缩和纤维形成作用,抑制 HSC 活化与增殖被普遍认为是治疗肝纤维化的关键<sup>[20]</sup>。李勇<sup>[21]</sup>发现 HMGB1 对 HSC 有激活作用;也发现大鼠肝纤维化组织中 HMGB1 表达明显增强,提示 HMGB1 参与肝纤维化的发生。RNA 干扰 HMGB1 表达能有效抑制 HSC 的增殖活性,沉默 HMGB1 后可诱导 HSC-T6 凋亡;利用 siRNA 干扰 HSC-T6 细胞 HMGB1 基因和蛋白表达后,能明显减少 I、III 型胶原合成与分泌<sup>[22]</sup>。通过 siRNA 介导的 HMGB1 沉默可能对肝纤维化具有潜在治疗前景。姜

黄素可以降低 HMGB1 及其受体 TLR2/TLR4 的表达,进而抑制促炎介质并能降低 HSCs 的活性。姜黄素的这一功能可能是其对四氯化碳诱导的肝纤维化具有较好的保护作用的机制<sup>[23]</sup>。研究显示,在慢性乙肝引起的肝纤维化患者中,血浆 HMGB1 水平增高。通过降低 HMGB1 水平可以减少炎症反应和细胞凋亡的发生,或许也可以延缓慢性肝疾病的进程,抑制 HMGB1 的作用可能为阻止慢性肝病患者纤维化的发生。因此, HMGB1 可作为反映慢性肝炎患者肝纤维化的间接指标,也可作为一个新的治疗靶点<sup>[24]</sup>。

### 5 HMGB1 与肾纤维化

众所周知,各种肾脏病变不论何种始发因素,进展至慢性肾功能衰竭阶段后都有共同的病理改变,即肾纤维化。肾纤维化是指由多种原因引起的细胞外基质成分在肾间质内过度沉积,是导致肾功能丧失的最主要的病理生理过程。Lynch 等<sup>[25]</sup>发现, HMGB1 是人近端小管上皮细胞免疫介导的上皮细胞转换的重要介质,是肾纤维化发生发展的一个潜在的信号分子。研究显示, HMGB1 在肾缺血再灌注中起重要作用,静脉循环中 HMGB1 水平的递增会导致肾局部缺血的持续时间延长,在肾缺血再灌注前注射 EP 可以减少血清肌酐的含量和促炎因子的释放,长期可改善白蛋白尿和肾纤维化的形成<sup>[26]</sup>。Leemans 等<sup>[27]</sup>研究表明,在进行性肾损伤 14 d 出现明显纤维化后, HMGB1 表达量明显增加, I、III 型胶原的量也出现明显上调。在进行性肾损伤过程中, HMGB1 与 I、III 型胶原的增加是否有着内在的联系,是否由 HMGB1 的增加引起 I、III 型胶原的增加还有待证实。现有研究均提示, HMGB1 在肾纤维化发生发展过程中发挥一定的作用,进一步探讨 HMGB1 在肾纤维化中的作用及分子机制可能对其防治提供一定的理论依据。

### 6 HMGB1 与心肌纤维化

近年来 HMGB1 在心血管疾病中的作用备受关注,研究表明 HMGB1 在心脏缺血再灌注损伤(I/R)<sup>[28]</sup>、动脉粥样硬化<sup>[29]</sup>、心肌梗死<sup>[30]</sup>等心血管疾病中均发挥一定的作用。有趣的是, HMGB1 在心脏中发挥双重作用:一方面 HMGB1 加重心脏缺血性损伤,另一方面通过招募干细胞促进心脏组织的再生<sup>[21]</sup>。心肌纤维化是指各种致病因素(炎症、缺血、缺氧等)作用下,心肌的正常组织结构中胶原纤维过量积聚,心脏组织中胶原浓度显著升高或胶原成分发生改变。心肌纤维化的消退可恢复心肌组织和间质之间的平衡,使僵硬程度正常化,有利于心功能的改善。研究显示, LPS 可以诱导小鼠心肌细胞主动分泌 HMGB1,且主动分泌的 HMGB1 会引起心肌功能紊乱<sup>[9]</sup>。HMGB1 作为一种炎症因子,在心脏损伤中能够诱导细胞因子的产生,但对心脏成纤维细胞及细胞外基质是否具有直接的调节作用尚未完全明确。研究显示,大鼠缺血再灌注损伤后, HMGB1 水平和心肌纤维化明显增加。在 I/R 动物模型中,姜黄素可以通过减少 HMGB1 的表达并抑制 TLR2 途径,同时可以改善 I/R 后心肌收缩性和纤维化。因此, TLR2/HMGB1 可能参与姜黄素减少的心肌缺血再灌注损伤及心肌纤维化过程<sup>[31]</sup>。Lenga 等<sup>[32]</sup>研究表明, HMGB1 与

骨桥蛋白参与肌纤维母细胞的分化,进而在心肌纤维化中发挥作用,同时也预测肌纤维母细胞能释放HMGB1。有关HMGB1是否参与心肌纤维化的发生发展过程及其可能的分子机制尚待进一步研究。

## 7 结语

HMGB1作为一种重要的“警报分子”,正常情况下存在于细胞核和胞质,仅在“警报信号”出现时释放至胞外发挥作用。HMGB1不仅可以作为炎症因子参与免疫应答,也与关节炎、肿瘤、缺血再灌注损伤等多种心血管疾病密切相关。器官组织纤维化为慢性炎症、器官组织病理变化的后期阶段,作为晚期炎症因子的HMGB1在纤维化中的作用尚不得而知。鉴于HMGB1在纤维化发生发展中的重要作用,探讨以HMGB1为靶向分子参与器官组织纤维化过程的作用机制,具有积极的意义,将为纤维化的防治提供依据。

## 参考文献:

- [1] Bustin M. Regulation of DNA-dependent activities by the functional motifs of the High-mobility-group chromosomal proteins[J]. *Mol Cell Biol*, 1999, 19(8): 5237-5246.
- [2] Bianchi ME, Manfredi AA. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein at the crossroads between innate and adaptive immunity[J]. *Immunol Rev*, 2007, 220: 35-46.
- [3] Calogero S, Grassi F, Aguzzi A, et al. The lack of chromosomal protein Hmg1 does not disrupt cell growth but causes lethal hypoglycaemia in newborn mice[J]. *Nat Genet*, 1999, 22(3): 276-280.
- [4] Czura CJ, Wang H, Tracey KJ. Dual roles for HMGB1: DNA binding and cytokine[J]. *J Endotoxin Res*, 2001, 7(4): 315-21.
- [5] Ulloa L, Messner D. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein: Friend and foe[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2006, 17(3): 189-201.
- [6] Degryse B, de Virgilio M. The nuclear protein HMGB1, a new kind of chemokine[J]? *FEBS Lett*, 2003, 553(1-2): 11-17.
- [7] Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation[J]. *Nature*, 2002, 418(6894): 191-195.
- [8] Gardel 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.
- [9] Xu H, Su Z, Wu J, et al. The alarmin cytokine, high mobility group box 1, is produced by viable cardiomyocytes and mediates the lipopolysaccharide-induced myocardial dysfunction via a TLR4/phosphatidylinositol 3-kinase  $\gamma$  pathway[J]. *J Immunol*, 2010, 184(3): 1492-1498.
- [10] Hamada N, Maeyama T, Kawaguchi T, et al. The role of high mobility group box1 in pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2008, 39(4): 440-447.
- [11] He M, Kubo H, Ishizawa K, et al. The role of the receptor for advanced glycation end-products in lung fibrosis[J]. *Am J Physiol L Cell Mol Physiol*, 2007, 293(6): L1427-1436.
- [12] Ebina M, Taniguchi H, Miyasho T, et al. Gradual increase of high mobility group protein b1 in the lungs after the onset of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis[J/OA]. *Pulm Med*, 2011, 2011: 916486.
- [13] Palumbo R, Sampaoli M, De Marchis F, et al. Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation[J]. *J Cell Biol*, 2004, 164(3): 441-449.
- [14] Hamada N, Kuwano K, Yamada M, et al. Anti-vascular endothelial growth factor gene therapy attenuates lung injury and fibrosis in mice[J]. *J Immunol*, 2005, 175(2): 1224-1231.
- [15] Andersson U, Erlandsson-Harris H, Yang H, et al. HMGB1 as a DNA-binding cytokine[J]. *Leukoc Biol*, 2002, 72(6): 1084-1091.
- [16] Dumitriu IE, Baruah P, Valentinis B, et al. Release of high mobility group box 1 by dendritic cells controls T cell activation via the receptor for advanced glycation end products[J]. *J Immunol*, 2005, 174(12): 7506-7515.
- [17] Entezari M, Weiss DJ, Sitapara R, et al. Inhibition of high-mobility group box 1 protein (HMGB1) enhances bacterial clearance and protects against *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in cystic fibrosis[J]. *Mol Med*, 2012, 18: 477-485.
- [18] Gaggari A, Rowe SM, Mathew H, et al. Proline-glycine-proline (PGP) and high mobility group box protein-1 (HMGB1): potential mediators of cystic fibrosis airway inflammation[J]. *Open Respir Med J*, 2010, 4: 32-38.
- [19] Rowe SM, Jackson PL, Liu G, et al. Potential role of high-mobility group box 1 in cystic fibrosis airway disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178(8): 822-831.
- [20] Priya S, Sudhakaran PR. Cell survival, activation and apoptosis of hepatic stellate cells: modulation by extracellular matrix proteins[J]. *Hepatol Res*, 2008, 38(12): 1221-1232.
- [21] 李勇. HMGB1在肝纤维化过程中的作用机制[J]. *中外妇儿健康*, 2011, 19(06): 238-239.
- [22] Ge WS, Wu JX, Fan JG, et al. Inhibition of high-mobility group box 1 expression by siRNA in rat hepatic stellate cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(36): 4090-4098.
- [23] Tu CT, Yao QY, Xu BL, et al. Protective effects of curcumin against hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride: Modulation of high-mobility group box 1, Toll-like receptor 4 and 2 expression[J]. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50(9): 3343-3351.
- [24] Albayrak A, Uyanik MH, Cerrah S, et al. Is HMGB1 a new indirect marker for revealing fibrosis in chronic hepatitis and a new therapeutic target in treatment[J]? *Viral Immunol*, 2010, 23(6): 633-638.
- [25] Lynch J, Nolan S, Slattery C, et al. High-mobility group box protein 1: a novel mediator of inflammatory-induced renal epithelial-mesenchymal transition[J]. *Am J Nephrol*, 2010, 32(6): 590-602.
- [26] Rabadi MM, Ghaly T, Goligorsky MS, et al. HMGB1 in renal ischemic injury[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 303(6): F873-F885.
- [27] Leemans JC, Butter LM, Pulakens WP, et al. The role of Toll-like receptor 2 in inflammation and fibrosis during progressive renal injury[J/OA]. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5704.
- [28] Andrassy M, Volz HC, Igwe JC, et al. High-mobility group box-1 in ischemia-reperfusion injury of the heart[J]. *Circulation*, 2008, 117(25): 3216-3226.
- [29] Inoue K, Kawahara K, Biswas KK, et al. HMGB1 expression by activated vascular smooth muscle cells in advanced human atherosclerosis plaques[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2007, 16(3): 136-143.
- [30] Limana F, Germani A, Zacheo A, et al. Exogenous high-mobility group box 1 protein induces myocardial regeneration after infarction via enhanced cardiac C-kit + cell proliferation and differentiation[J]. *Circ Res*, 2005, 97(8): e73-e83.
- [31] Kima YS, Kwona JS, Cho YK, et al. Curcumin reduces the cardiac ischemia-reperfusion injury: involvement of the toll-like receptor 2 in cardiomyocytes[J]. *J Nutr Biochem*, 2012, 23: 1514-1523.
- [32] Lenga Y, Koh A, Perera AS, et al. Osteopontin expression is required for myofibroblast differentiation[J]. *Circ Res*, 2008, 102(3): 319-327.