

• 综 述 •

HMGB1 在肝脏缺血再灌注损伤中的作用*

黄 臻 综述, 刘作金[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院肝胆外科, 重庆 400010)

关键词: 高迁移率族蛋白质类; 肝移植; 再灌注损伤**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2013.08.034**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2013)08-0985-02

高迁移率族蛋白 1(HMGB1)是一种普遍存在的 DNA 结合蛋白,通过不同类型的翻译后修饰,包括乙酰化、磷酸化、甲基化和氧化,介导和参与许多炎症反应^[1-4]。肝移植是目前各种急性或慢性肝病其他内、外科方法无法治愈,预计在短期内(6~12 个月)无法避免死亡的唯一有效治疗方法。缺血再灌注是肝移植手术过程中无法避免的环节,由此引发的再灌注损伤是导致移植肝无功能及急、慢性排斥反应的重要原因。充分阐明及利用 HMGB1 与炎症通路中的相互作用,以降低肝移植缺血再灌注的损伤已成为目前研究的焦点之一,本文将此做简要综述。

1 HMGB1 的结构

HMGB1 是一个含有 215 个氨基酸残基的高度保守单链多肽,包含两个同源的 DNA 结合基序(HMG 框 A 和 B)和酸性尾部,N 端富含带正电荷的赖氨酸,C 末端富含带负电荷的天门冬氨酸和谷氨酸,又称酸性尾巴,分子量约为 $24\ 894 \times 10^3$ 。从氨基端到羧基端的结构依次为 9~79 氨基酸残基的 A box,95~163 氨基酸残基的 B box 和 186~215 仅含谷氨酸和天冬氨酸残基的受体结合模体。结构功能分析显示 HMGB1 的 B box 是发挥炎症的功能区域,A box 是 B box 的拮抗位点。A box 和 B box 都能够与 DNA 结合,并参与 DNA 双链的折叠与扭曲^[5]。

2 HMGB1 的来源及分布

HMGB1 最初被定义为一个与松散的染色质结合的核蛋白质,对于 DNA 的调节转录起着举足轻重的作用^[6-8]。HMGB1 普遍存在于哺乳动物组织细胞中,并且在胸腺、淋巴组织、睾丸和新生儿的肝脏中有高表达。当体内细胞处于稳态时,HMGB1 主要存在于细胞核中。HMGB1 翻译后修饰方式包括乙酰化、磷酸化、甲基化和氧化^[1-4]。当外界有适当的信号刺激细胞时,HMGB1 被乙酰化和磷酸化后定位于吞噬细胞胞质,然后释放到细胞外。由于 HMGB1 缺少信号肽,因此主要是通过溶血磷脂酰胆碱触发以一种非典型的囊泡方式将核 HMGB1 释放至细胞外。研究表明细胞外 HMGB1 的来源可能有 3 种途径:(1)巨噬细胞,单核细胞,垂体细胞,上皮细胞等受炎症因子刺激后,HMGB1 可以通过非典型的、囊泡介导的途径主动分泌到细胞外,造成局部或者全身性炎症;(2)细胞损伤或者坏死后可以释放 HMGB1,但细胞凋亡过程中并不释放 HMGB1;(3)一些自身组织细胞在外界环境变化下通过非经典途径自动分泌 HMGB1,作用于自身或者周围组织,诱导细胞的迁移,分化和再生^[5-6,9-14]。但目前活化巨噬细胞与坏死释放的 HMGB1 具体机制并不明确。

3 HMGB1 的受体及信号转导通路

目前 HMGB1 相关传导机制尚不明确,有研究表明 HMGB1 是通过与外源性或内源性促炎症分子的形成复合物,从而强烈增强他们的诱导产生细胞因子能力。现已明确晚期糖基化终产物受体(RAGE)和 Toll 样受体家族(TLRs)部分成员是 HMGB1 发挥功能的重要受体。RAGE 存在于大多数细胞中,主要包括:单核细胞/巨噬细胞,内皮细胞和平滑肌细胞,成纤维细胞和神经元细胞;生理条件下 RAGE 量很低,配体聚集时 RAGE 表达呈上升趋势,HMGB1 通过 RAGE 结合,具有促进趋化作用,并通过激活 NF- κ B,诱导炎症反应^[15-16]。HMGB1-TLR4 信号复合体结合所必需的 HMGB1 分子 106 位的半胱氨酸通常以还原形式表达硫醇基团^[17-18]。该半胱氨酸的 HMGB1 分子二硫苏糖醇(DTT)暴露后,通过氧化变性促使 HMGB1-TLR4 相互作用后,诱导 TLR4 活化^[17-19]。TLR4 的激活涉及细胞内的接头蛋白,包括髓样分化因子 88(MyD88)和含 TIR 结构域的接头蛋白(TIRAP),从而激活信号级联反应,最终导致 NF- κ B 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)的激活,从而生产的细胞因子和其他炎症分子^[20]。此外,TLR4 通过 TIR 域的诱导 IFN- β (TRIF),和 TRIF 相关的接头分子(TRAM),可能会诱导细胞因子和 1 型-干扰素合成(IFN)^[21]。

4 HMGB1 与肝脏缺血再灌注中炎症反应的关系

炎症是机体对于刺激的一种防御反应,可以是感染性炎症,也可以是非感染性炎症。当病原体入侵机体时,免疫细胞通过识别自我和非我而激活免疫系统。非感染情况下,机体也可在特定条件下引起炎症反应,例如缺血再灌注损伤,其机制非常复杂,再灌注后氧化应激和炎症反应是引起细胞损伤的重要原因,缺血再灌注损伤可分为 2 个阶段。损伤初始阶段(再灌注后小于 2 h):氧自由基活化 Kuffer 细胞,Kuffer 细胞可以释放大量的氧自由基和大量炎症因子,氧自由基可直接对于线粒体进行损伤,引起线粒体功能障碍及氧化应激,导致细胞死亡。同时活化上调的巨噬细胞加重细胞死亡及氧化应激。在后期的损伤中(缺血再灌注后 6 h),中性粒细胞在肝脏积聚,在各种炎症介质作用下,引起炎症反应,导致细胞损伤。

Kupffer 细胞,不仅可以直接激活和招募中性粒细胞,而且是氧化剂的主要来源。它提供了信号活化的促炎基因,如 HMGB1,IL-12 和 TNF- α ,中性粒细胞被炎性介质/趋化因子介导及内皮细胞黏附,由血管内进入肝实质,引起炎症反应造成肝损伤^[22]。Toll 样受体可由多种类型细胞表达,包括单核细胞,巨噬细胞,树突状细胞,TLR 活化可导致炎症反应的产

* 基金项目:国家自然科学基金(30972888,81170442);教育部科学技术研究重点项目(211153)。 作者简介:黄臻,男,在读研究生,主要从事肝胆外科疾病研究。 [△] 通讯作者,E-mail:Liuzuojin66@hotmail.com。

生,TLR4 传导的信号通路在肝缺血再灌注损伤中起到了重要作用。TLR4 缺陷的小鼠在肝脏缺血再灌注中得到了充分保护^[23],而 TLR4 是 HMGB1 的受体,所以可以假设 HMGB1 的分泌表达可以进一步影响 TLR4 作用,乃至降低肝脏缺血再灌注损伤。在肝脏冷保存后 0~4 h,巨噬细胞 TNF- α 和 IL-6 的 mRNA 水平或分泌蛋白水平没有显著增加。在 8、12、16 或 24 h 后,诱导蛋白和 mRNA 水平显著上升增加 TNF- α 和 IL-6,而 HMGB1 在 8 h 后开始分泌,24 h 增加至最高值,在 HMGB1 耗尽后,TNF- α 和 IL-6 的合成减少了约 60%,可表明 HMGB1 为 TNF- α 和 IL-6 的合成主要介导。而氧化后的 HMGB1 作用下,在 24 h TNF- α 和 IL-6 的合成减少了约 80%,可表明抑制促炎症活性的由氧化的 HMGB1 主要介导。于小鼠体内使用 HMGB1 的剂量为 350 微克/鼠(1.2 毫克/千克),给药 6 h 后,测定由 TNF- α 和 IL-6 的 mRNA 表达,在肺和外周单核细胞中显著增加,其他器官中未见明显增加。而体内注射氧化 HMGB1 后,肺及外周单核细胞炎症细胞显著降低。这些结果证明,HMGB1 的翻译后修饰有决定性的促炎性活动。氧化 HMGB1 导致炎症活动减弱^[24]。

5 小 结

目前关于 HMGB1 与炎症反应的研究相对较多;非炎症状态下,HMGB1 下主要存在于细胞核中,其具体扮演何种角色不是很明确;分泌至细胞外的 HMGB1 的促进还是抑制炎症反应的作用取决于其是处于氧化/还原状态变量的比例。对其作用机制的深入研究,将为防治肝移植后肝脏缺血再灌注损害提供新的思路^[25]。

参考文献

- [1] Assenberg R, Webb M, Connolly E, et al. A critical role in structure-specific DNA binding for the acetyltable lysine residues in HMGB1[J]. *Biochem J*, 2008, 411(3): 553-561.
- [2] 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.
- [3] Ito I, Fukazawa J, Yoshida M. Post-translational methylation of high mobility group box 1 (HMGB1) causes its cytoplasmic localization in neutrophils[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(22): 16336-16344.
- [4] Hoppe G, Talcott KE, Bhattacharya SK, et al. Molecular basis for the redox control of nuclear transport of the structural chromatin protein Hmgbl1[J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(18): 3526-3538.
- [5] Banerjee S, de Freitas A, Friggeri A, et al. Intracellular HMGB1 negatively regulates efferocytosis[J]. *J Immunol*, 2011, 187(9): 4686-4694.
- [6] Müller S, Scaffidi P, Degryse B, et al. New EMBO members' review: the double life of HMGB1 chromatin protein: architectural factor and extracellular signal[J]. *EMBO J*, 2001, 20(16): 4337-4340.
- [7] Bustin M, Reeves R. High-mobility-group chromosomal proteins: architectural components that facilitate chromatin function [J]. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol*, 1996, 54(1): 35-100.
- [8] Bianchi ME, Beltrame M, Paonessa G. Specific recognition of cruciform DNA by nuclear protein HMG1[J]. *Science*, 1989, 243(4894 Pt 1): 1056-1059.
- [9] 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.
- [10] Rovere-Querini P, Capobianco A, Scaffidi P, et al. HMGB1 is an endogenous immune adjuvant released by necrotic cells[J]. *EMBO Rep*, 2004, 5(8): 825-830.
- [11] Bell CW, Jiang W, Reich CF 3rd, et al. The extracellular release of HMGB1 during apoptotic cell death[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 291(6): C1318-1325.
- [12] Müller S, Ronfani L, Bianchi ME. Regulated expression and subcellular localization of HMGB1, a chromatin protein with a cytokine function[J]. *J Intern Med*, 2004, 255(3): 332-343.
- [13] Hreggvidsdóttir HS, Lundberg AM, Aveberger AC, et al. High mobility group box protein 1 (HMGB1)-partner molecule complexes enhance cytokine production by signaling through the partner molecule receptor[J]. *Mol Med*, 2012, 18(1): 224-230.
- [14] Assenberg R, Webb M, Connolly E, et al. A critical role in structure-specific DNA binding for the acetyltable lysine residues in HMGB1[J]. *Biochem J*, 2008, 411(3): 553-561.
- [15] Xu D, Young J, Song D, et al. Heparan sulfate is essential for high mobility group protein 1 (HMGB1) signaling by the receptor for advanced glycation end products (RAGE)[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(48): 41736-41744.
- [16] Todorova J, Pasheva E. High mobility group B1 protein interacts with its receptor RAGE in tumor cells but not in normal tissues [J]. *Oncol Lett*, 2012, 3(1): 214-218.
- [17] Antoine DJ, Williams DP, Kipar A, et al. Diet restriction inhibits apoptosis and HMGB1 oxidation and promotes inflammatory cell recruitment during acetaminophen hepatotoxicity[J]. *Mol Med*, 2010, 16(11/12): 479-490.
- [18] Yang H, Hreggvidsdóttir HS, Palmblad K, et al. A critical cysteine is required for HMGB1 binding to Toll-like receptor 4 and activation of macrophage cytokine release[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(26): 11942-11947.
- [19] Kazama H, Ricci JE, Herndon JM, et al. Induction of immunological tolerance by apoptotic cells requires caspase-dependent oxidation of high-mobility group box-1 protein[J]. *Immunity*, 2008, 29(1): 21-32.
- [20] Park JS, Gamboni-Robertson F, He Q, et al. High mobility group box 1 protein interacts with multiple Toll-like receptors [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2006, 290(3): C917-924.
- [21] Hreggvidsdóttir HS, Lundberg AM, Aveberger AC, et al. High mobility group box protein 1 (HMGB1)-partner molecule complexes enhance cytokine production by signaling through the partner molecule receptor[J]. *Mol Med*, 2012, 18(1): 224-230.
- [22] Tamura T, Kondo T, Ogawa K, et al. Protective effect of heme oxygenase-1 on hepatic ischemia-reperfusion injury through inhibition of platelet adhesion to the sinusoids[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(4): 700-706.
- [23] Vardanian AJ, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Molecular mediators of liver ischemia and reperfusion injury: a brief review [J]. *Mol Med*, 2008, 14(5/6): 337-45.
- [24] Liu A, Fang H, Dirsch O, et al. Oxidation of HMGB1 causes attenuation of its pro-inflammatory activity and occurs during liver ischemia and reperfusion[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35379.
- [25] 刘作金, 严律南. Kupffer 细胞与肝脏缺血再灌注损害的研究进展[J]. *世界华人消化杂志*, 2008, 16(24): 2741-2745.