

高迁移率蛋白 B1 介导 Toll 样受体信号通路的研究进展*

王方平, 张平安, 杨晓燕 (武汉大学人民医院检验科, 武汉 430060)

摘要:高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)是核内一类非组蛋白 DNA 结合蛋白,属于损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs),参与 DNA 复制、重组、修复和基因转录调控等。HMGB1 能通过 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)等激活固有免疫以及诱导 T 细胞分化成熟启动适应性免疫应答,与多种自身免疫性疾病、炎症性疾病和肿瘤等关系密切。目前关于 HMGB1 介导 TLR 信号通路在某些疾病中的作用的研究较多, HMGB1 介导 Toll 样受体信号通路参与多种病理过程具有广阔的临床前景。

关键词:高迁移率蛋白 B1; Toll 样受体; 信号通路

中图分类号:R392.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2017)03-162-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.03.045

Updates on the Pathways of Toll-Like Receptors Mediated by HMGB1

WANG Fang-ping, ZHANG Ping-an, YANG Xiao-yan

(Department of Medical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: High mobility group box 1 protein, a kind of damage-associated molecular patterns, is a group of nonhistone DNA-binding protein in the nuclear. It not only involves in DNA replication, recombination, repair, regulation of gene transcription, but also induces activation of innate immunity and T cell generation and activates the adaptive immune response through Toll-like receptor. It is also more closely related to autoimmune diseases, inflammatory diseases, tumors and so on. Currently there are many researches on the role of TLR-mediated HMGB1 signaling pathway in diseases, which is involved in a variety of pathological processes and has a broad clinical outlook.

Keywords: high mobility group box 1 protein; toll-like receptor; signaling pathway

高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)是核内一类非组蛋白 DNA 结合蛋白,参与 DNA 复制、重组、修复和基因转录调控等。HMGB1 通过溶血磷脂酰胆碱触发以一种非典型的囊泡方式从核内释放,通过 Toll 样受体(toll-like receptor, TLR)等激活固有免疫以及诱导 T 细胞分化成熟启动适应性免疫应答。固有免疫应答是机体抵抗外来入侵的第一道防线。入侵机体的细菌、病毒等称为病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),它们会被体内的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别,激活下游信号通路。当组织细胞发生无菌性坏死时,也会启动固有免疫应答。因为在现实生活中,无菌性炎容易被感染,从而释放内源性损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs),引发不同程度的炎症反应。DAMPs 是组织细胞坏死过程中释放的能够触发炎症反应的细胞因子, HMGB1 属于 DAMP 中的一种,能通过与多种转录因子和细胞膜受体如 Toll 样受体(toll-like receptor,

TLR)和晚期糖基化终末产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)等作用,参与固有免疫和适应性免疫调控等多种生命活动。

1 HMGB1 结构和功能 高迁移率族蛋白(high mobility group, HMG)是 Goodwin 等首次在小牛胸腺中发现的一种进化高度保守、含量丰富的非组蛋白核蛋白。其富含电荷,含有 215 个氨基酸残基,相对分子量为 30 kDa 左右,以在聚丙烯酰胺凝胶电泳时快速迁移为特点,故称为高迁移率族蛋白。HMG 家族包含高迁移率族蛋白 B1, B2, B3 等三个家庭成员,其中以 HMGB1 研究较多。HMGB1 由三部分组成,两个带正电荷的同源 HMG 盒,即 A 盒和 B 盒,和一个带负电荷的 C 末端^[1]。B 盒与 C 末端相连接的区域包含了一个 RAGE^[2]。HMG A 盒、HMG B 盒都包含 75 个氨基酸,进化上高度保守,是 DNA 结合区^[1]。B 盒具有细胞因子样活性,能诱导炎症细胞分泌炎症因子, A 盒能抑制 B 盒促炎活性^[1]。C 末端包含 30 个重复的谷氨酸和天冬氨酸残基,有研究表明该末端能增强 A 盒的抗炎活性,调节 HMGB1 的抗菌

* 作者简介:王方平(1989—),女,硕士研究生在读,医师,主要从事临床感染及免疫学研究, Tel:15927445873, E-mail:2872257649@qq.com。
通讯作者:张平安, E-mail:zhangpingan@aliyun.com。

活性^[2]。

单核细胞、巨噬细胞和未成熟树突状细胞(dendritic cells, DC)等受脂多糖(lipopolysaccharides, LPS)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)或白细胞介素 1β (interleukin- 1β , IL- 1β)刺激时可以分泌 HMGB1^[1]。HMGB1 经过翻译后修饰,如乙酰化、磷酸化、甲基化和氧化等而具有不同的功能。位于细胞核或胞浆内的 HMGB1,作为 DNA 的分子伴侣参与 DNA 复制、重组、修复和基因转录调控等。当机体受到外源性侵害时,单核细胞、巨噬细胞和 DC 等会主动分泌 HMGB1 于胞外;组织细胞坏死、损伤时,核内的 HMGB1 会被动释放于胞外。细胞外的 HMGB1 能与 TLR 结合激活巨噬细胞分泌炎症因子启动固有免疫,能诱导 T 细胞分化成熟启动适应性免疫应答,同时还能募集和激活干细胞,促进细胞再生,修复坏死组织^[3]。

2 Toll 样受体其介导的信号通路 目前,在哺乳动物体内发现的 TCR 有 11 种,主要存在于抗原提呈细胞和上皮细胞,能识别外源物如病毒、细菌及其产物等,还能感知内环境变化维持内环境稳态。其中 TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 和 TLR6 位于细胞膜表面,TLR3, TLR7 和 TLR9 位于核内,TLR8 一部分表达于细胞膜表面,一部分位于细胞内。TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 和 TLR9 主要识别细菌膜成分,TLR3 识别双链 RNA,TLR7 和 TLR8 识别单链 RNA,TLR10 和 TLR11 功能目前研究较少^[4]。

TLR 介导的信号通路包括髓样分化蛋白 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)依赖性信号传导途径和 MyD88 非依赖性信号传导途径。除 TLR3 介导 MyD88 非依赖性信号传导途径外,其余的 TLRs 介导(MyD88)依赖性信号传导途径。DAMP 是一种内源性 TLR 配体,有研究表明 DAMP, Toll 和慢性炎症、自身免疫性疾病、疼痛信号传导以及肿瘤之间具有密切关系。例如,在胰腺导管腺癌中 TLR4 和 TLR9 表达量增加,TLR 与 DAMP 结合触发慢性炎症反应,导致细胞癌变和坏死^[5]。目前关于 HMGB1 和 TLR2, TLR4, TLR9 与某些疾病的关系研究较多^[5~14], HMGB1 与促进新生血管形成有关,因此大量研究表明 HMGB1 和恶性肿瘤的转移有关^[6,7]。

3 Toll 样受体介导高迁移率蛋白 B1 的信号通路

Karuppagounder 等^[8]发现 TLR2/TLR4 介导 HMGB1 信号通路诱导的 M1 型巨噬细胞极化与快速老化小鼠(senescence accelerated-prone mouse8, SAMP8)的心脏功能障碍有关。缺血性脑

卒中患者单核细胞分泌 HMGB1 激活 TLR2 信号通路,缺血性损伤、血流障碍会导致组织缺血缺氧,而这一结果会促进 HMGB1 分泌,从而诱导新生血管生成,以提供充足的氧气和营养促进组织恢复^[9]。一项 meta 分析显示在糖尿病和糖尿病代谢综合征患者体内 HMGB1, TLR 随炎症因子水平升高而升高,这提示 HMGB1 与 TLR 的相互作用与糖尿病并发症有关^[10]。

在慢性压迫性损伤(chronic constrictive injury, CCI)大鼠脊髓中, HMGB1, TLR4, TNF- α 和 IL- 1β mRNA 和蛋白的表达量上调,核因子 κ B(Nuclear factor- κ B, NF- κ B)表达量显著增加^[11];当抑制 IL- 1β , TNF- α 等炎症因子时, HMGB1 和 TLR4 表达量下调^[12]; HMGB1 和 RAGE, TLR4 与化疗引起的神经性头痛有关^[13]; TLR4 信号通路参与神经性疼痛的发生发展过程^[11~13], TLR4 与各种疼痛模型的研究表明, TLR4 靶向抑制剂可能是治疗神经性疼痛的新策略。HMGB1 还能通过 TLR4 信号通路诱导血管生成,在诱导小鼠角膜新生血管形成的模型中,外源性 HMGB1 能促进巨噬细胞的募集,并在 TLR4 存在时加剧新生血管的形成,当使用 HMGB1 抑制剂时可以显著减少巨噬细胞浸润和角膜新生血管形成^[14]。

HMGB1 作为炎症信号通过与 PRR 直接或间接作用激活依赖促分裂原活化蛋白激酶和 NF- κ B 途径,触发炎症反应,促进组织修复。HMGB1 能有效地结合到含有非甲基化胞嘧啶鸟嘌呤(CpG 基)寡核苷酸序列上,这种寡核苷酸类似于一些低甲基化 DNA 的微生物,主要是被胞内 TLR9 识别,激活炎症反应被清除^[15]。包含 CpG 的寡核苷酸序列能刺激巨噬细胞和 DC 分泌 HMGB1, HMGB1 反过来会促进寡核苷酸序列与受体的结合,从而放大 TLR9 下游的细胞因子释放,加快组织修复^[15]。HMGB1 也是激活 TLR9 信号通路造成血管内皮细胞损伤和炎症的内源性介质, HMGB1 或 TLR9 阻断剂可能是治疗动脉粥样硬化的新思路^[16]。也有研究表明缺氧导致细胞内 HMGB1 和线粒体 DNA(mtDNA)等 DAMP 释放入胞质中,活化 TLR9 信号通路,促进肿瘤组织的生长^[17]。

Cappelletti 等^[18]发现在一些自身免疫性疾病如散发性包涵体肌炎(sporadic Inclusion body myositis, sIBM),多肌炎(polymyositis, PM),皮肌炎(dermatomyositis, DM)等 TLR3, TLR4 表达量显著增加,且 HMGB1, TLR3 和 TLR4 与自噬过程高度相关,这表明 HMGB1 和 TLR 与自身免疫性疾病病情进展密切相关。乙醇激活 HMGB1/TLR

信号通路有助于促炎细胞因子 IL-1 β 生成,在酒精中毒性大脑组织和用乙醇处理小鼠体内发现 HMGB1, TLR2, TLR3 和 TLR4 表达明显增加,这可能是因为乙醇激活 HMGB1/TLR 信号通路发生慢性酒精性脑神经免疫^[19]。

4 结语 HMGB1 作为一种核蛋白和 DAMP,在胞内及胞外均发挥着重要作用, HMGB1 参与 DNA 的复制、重组、转录和修复,促进组织修复,促进炎症作用,激活免疫反应,促进肿瘤的生长。同时,也为临床治疗疾病提供了新的思路,如在某些肿瘤中,大量分泌的 HMGB1 可导致病理性血管生成,促进肿瘤生长转移等,抑制 HMGB1 分泌会减少肿瘤生长转移等;或在脑缺血性损伤模型中,炎症急性期抑制 HMGB1 与 TLR 相互作用,能抑制炎症进展,抑制晚期神经血管重塑。这些生物学作用提示:HMGB1 有望成为炎症严重程度或恶性肿瘤的生物标志物,并且为临床治疗相关疾病提供新的靶点。

参考文献:

- [1] Kang R, Chen R, Zhang Q, et al. HMGB1 in health and disease[J]. *Mol Aspects Med*, 2014(40):1-116.
- [2] Gong W, Li Y, Chao F, et al. Amino acid residues 201-205 in C-terminal acidic tail region plays a crucial role in antibacterial activity of HMGB1[J]. *J Biomed Sci*, 2009, 16(1):83.
- [3] Castiglioni A, Canti V, Rovere-Querini P, et al. High-mobility group box 1 (HMGB1) as a master regulator of innate immunity[J]. *Cell Tissue Res*, 2011, 343(1):189-199.
- [4] Bezemer GF, Sagar S, Van Bergenhenegouwen J, et al. Dual role of Toll-like receptors in asthma and chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(2):337-358.
- [5] Vaz J, Andersson R. Intervention on Toll-like receptors in pancreatic cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(19):5808-5817.
- [6] Liao H, Xiao Y, Hu Y, et al. Suppression of cellular proliferation and invasion by HMGB1 knockdown in bladder urothelial carcinoma cells [J]. *Oncol Res*, 2014, 22(5/6):235-245.
- [7] Meng Q, Zhao J, Liu H, et al. HMGB1 promotes cellular proliferation and invasion, suppresses cellular apoptosis in osteosarcoma[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(12):12265-12274.
- [8] Karuppagounder V, Giridharan VV, Arumugam S, et al. Modulation of macrophage polarization and HMGB1-TLR2/TLR4 cascade plays a crucial role for cardiac remodeling in senescence-accelerated prone mice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e0152922.
- [9] Sadat-Hatamnezhad L, Tanomand A, Mahmoudi J, et al. Activation of Toll-like receptors 2 by high-mobility group box 1 in monocytes from patients with ischemic stroke[J]. *Iran Biomed J*, 2016, 20(4):223-228.
- [10] Pahwa R, Jialal I. The role of the high-mobility group box1 protein-Toll like receptor pathway in diabetic vascular disease[J]. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 2016, 30(6):1186-1191.
- [11] Kuang X, Huang Y, Gu H, et al. Effects of intrathecal epigallocatechin gallate, an inhibitor of Toll-like receptor 4 on chronic neuropathic pain in rats [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2012, 676(1/3):51-56.
- [12] Ma YQ, Chen YR, Leng YF, et al. Tanshinone IIA downregulates HMGB1 and TLR4 expression in a spinal nerve ligation model of neuropathic pain[J]. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014(2014):639563.
- [13] Nishida T, Tsubota M, Kawaishi Y, et al. Involvement of high mobility group box 1 in the development and maintenance of chemotherapy-induced peripheral neuropathy in rats [J]. *Toxicology*, 2016(365):48-58.
- [14] Lin Q, Yang XP, Fang D, et al. High-mobility group box-1 mediates Toll-like receptor 4-dependent angiogenesis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(5):1024-1032.
- [15] Penzo M, Molteni R, Suda T, et al. Inhibitor of NF-kappa B kinases alpha and beta are both essential for high mobility group box 1-mediated chemotaxis[J]. *J Immunol*, 2010, 184(8):4497-4509.
- [16] Hirata Y, Kurobe H, Higashida M, et al. HMGB1 plays a critical role in vascular inflammation and lesion formation via toll-like receptor 9 [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 231(2):227-233.
- [17] Liu Y, Yan W, Tohme S, et al. Hypoxia induced HMGB1 and mitochondrial DNA interactions mediate tumor growth in hepatocellular carcinoma through Toll-like receptor 9 [J]. *J Hepatol*, 2015, 63(1):114-121.
- [18] Cappelletti C, Galbardi B, Kapetis D, et al. Autophagy, inflammation and innate immunity in inflammatory myopathies [J]. *PLoS One*, 2014, 9(11):e111490.
- [19] Crews FT, Qin L, Sheedy D, et al. High mobility group box 1/Toll-like receptor danger signaling increases brain neuroimmune activation in alcohol dependence[J]. *Biol Psychiatry*, 2013, 73(7):602-612.

收稿日期:2016-09-05

修回日期:2017-02-22