

文章编号:1005-6947(2007)06-0584-03

· 文献综述 ·

HMGB1 的肿瘤生物学效应

吴佳捷¹, 姚志韬¹综述 李宜雄²审校

(中南大学湘雅医院 1. 妇产科 2. 普通外科, 湖南 长沙 410008)

摘要:高迁移率蛋白 B1 (HMGB1) 是一种非组蛋白染色体蛋白质, 细胞核内的 HMGB1 参与构建核小体, 维持其稳定性, 同时在 DNA 重组、复制、修复和基因转录中起重要的辅助作用; 细胞外 HMGB1 与细胞的分化、细胞迁移、细胞增殖与凋亡、诱导炎症反应等密切相关。笔者就其以上生物学效应等方面进行综述。
[中国普通外科杂志, 2007, 16(6): 584-586]

关键词: 高迁移率蛋白 B1; 肿瘤转移; 综述文献

中图分类号: R341; R73-35

文献标识码: A

高迁移率族蛋白 B1 (high-mobility group box-B1, HMGB1), 是一种存在于真核生物细胞内的非组蛋白染色体结合蛋白, 参与多种生物学过程包括基因转录、DNA 修复、V(D)J 重组 (胚系基因片段重组)、分化和发育。HMGB1 过表达有抑制细胞凋亡, 诱导细胞分化、细胞迁移、细胞增殖等作用。新近研究表明它也不是一种转录因子和促生长因子, 而且是一种重要的炎性细胞因子, 并与肿瘤的发生、浸润、转移等生物学行为关系密切, 有很大的临床价值。

1 HMGB1 分子特征

高迁移率族蛋白 (HMG 蛋白) 早于 20 世纪 60 年代从细胞核内提纯获得, 因其分子质量小 (< 30kD), 在聚丙烯酰胺凝胶电泳快速迁移而被命名为高迁移率族蛋白 (HMG 蛋白)。根据分子质量大小及 DNA 结合特性, HMG 族蛋白分为 HMGA, HMGB, HMGN 家族; HMGB 又分为 HMGB1 和 HMGB2。HMGB1 含 219 个氨基酸残基, 可分为 3 个功能区: N-末端 (A 区和 B 区) 富含带正电荷的赖氨酸, 而 C-末端 (C 区) 富含带负电荷的天冬氨酸和谷氨酸^[1]。

收稿日期: 2007-04-07;

修订日期: 2007-06-11。

作者简介: 吴佳捷, 女, 湖南长沙人, 中南大学湘雅医院教授, 主要从事老年妇产科学方面的研究。

通讯作者: 吴佳捷 E-mail: wjj1958@hotmail.com

HMGB1 广泛分布于淋巴、心、肝、肺、脑、脾、肾等组织, 在肝和脑组织中 HMGB1 主要存在于胞浆, 而大多数其他组织中存在于细胞核内。在这些细胞核中, HMGB1 和 HMGB2 结合于 DNA 双螺旋小沟内, 引起 DNA 构象变化。这种结合无序列选择性, 可以帮助特异性 DNA 结合蛋白正确装配到其在染色体内的结合位点^[2]。人 HMGB1 基因位于染色体 13q12, 蛋白翻译后, 进行糖基化、甲基化、酰基化和磷酸化等修饰加工活动成型。

2 HMGB1 的生物学效应

HMGB1 的丰富程度较之核组蛋白低, 在每个典型的哺乳动物细胞内约有 106 个分子。存在于细胞核内和细胞外的 HMGB1 发挥不同的功能及生物学效应。细胞核内的 HMGB1 为重要的结构蛋白, 具有稳定细胞核、协助基因转录及调节甾体受体活性的作用。而对于分泌到细胞外的 HMGB1, 目前的研究表明其可能与肿瘤的发生、细胞增生分化、神经轴突生长密切相关。HMGB1 在有转移的前列腺癌组织中的表达率是 27.0%, 而在无转移的组织中未见表达。在有转移的前列腺间质中的阳性率是 63.0%^[3], 在无转移的癌间质组织中的阳性率是 33.0%^[4]。HMGB1 在 119 例受检的结肠癌组织中均有高表达。此外 HMGB1 在胰腺癌、胃腺癌、胃肠道间质肿瘤、神经胶质瘤以及许多癌性细胞株中都有过表达。以下系笔者对不同部位的 HMGB1 的功能所作的概括。

2.1 核 HMGB1

HMGB1 等染色质主要位于大多数细胞的细胞核。HMGB1 参与构建核小体, 维持其稳定性, 同时在 DNA 重组、复制、修复和基因转录中起重要的辅助作用。结合于 DNA 小沟内的 HMGB1 和 HMGB2 导致 DNA 局部变形, 使特定的转录因子与相应序列结合, 生成某些甾体类激素 (孕酮, 雌激素等)、HOX β 蛋白及转录因子 II β 等^[1]。Calogero 等^[5]发现, HMGB1 缺陷小鼠在出生 24h 内全部死亡, 同时伴有严重的低血糖症。细胞培养发现, HMGB1 缺陷的细胞株可以正常生长, 但有糖皮质激素受体活化的基因表达丧失, 由此推测核 HMGB1 缺乏可能并不影响染色体的正常装配, 但会严重影响某些特定转录因子转录调控能力的发挥。

2.2 细胞外 HMGB1

细胞外 HMGB1 的来源可能途径有 3 种: 某些细胞以类似自分泌或旁分泌的方式, 通过非经典的、囊介导的分泌通路, 由溶血磷脂胆碱激活溶酶体胞吐作用产生, 作用于组织局部, 诱导细胞的分化、迁移及再生。或者在致炎因子刺激下, 由单核-巨噬细胞或垂体细胞分泌, 可介导局部乃至全身炎症。细胞坏死或损伤也可以释放 HMGB1。HMGB1 因缺乏引导肽结构而不能以高尔基体/内质网途径分泌, 但研究显示, 某些细胞 (巨噬细胞、单核细胞、垂体细胞、上皮细胞等) 在受到内毒素脂多糖 (LPS), 肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 白细胞介素

1β (IL- 1β), 干扰素- γ (IFN- γ) 或生物活性脂的刺激后, HMGB1 可通过非经典途径分泌到细胞外。Wang 等^[6] 体外实验以 LPS 和 TNF 刺激巨噬细胞并检测 HMGB1 mRNA 水平, 在刺激 0, 8, 12, 16h 后均未检测到 HMGB1 mRNA 水平的上调, 而免疫荧光染色则显示 HMGB1 由胞核明显转移至胞浆内, 提示 HMGB1 来源于核内的储备。HMGB1 作为细胞外因子主要有以下作用:

2.2.1 细胞分化 体外细胞培养发现, 在机体发育阶段, HMGB1 在多种组织器官中高表达, 如 MEL (小鼠红白血病) 细胞在特定的化学诱导作用下释放 HMGB1 促进自身分化^[7]。在培养液中加入外源性 HMGB1 也有同样的效果。如果在加入诱导剂的同时加入抗-HMG1 蛋白抗体几乎完全抑制了细胞分化, 而如果抗体在细胞经过了不可逆转的时期后加入, 则抑制作用会进行性消失。刺激星形胶质细胞分泌 HMGB1 并不作用于自身, 但可促进 LAN5 成神经细胞瘤细胞分化^[8]。虽然类似现象只是体外培养发现, 但可推测这可能是机体细胞分化的一种较为普遍的调节方式。黄庆先等^[9] 对 33 例胃癌和结直肠腺癌中 HMGB1 的表达情况进行分析发现仅有 18.2% 的高分化癌在其相应的非癌组织中有较高水平的表达, 而在中等分化和低分化的癌旁组织中的表达率分别是 60.0% 和 83.3%。原位杂交显示 HMGB1 mRNA 在高分化的和低分化的胃癌细胞中的位置与在低分化胃癌的非癌组织中的位置一致, 但在高分化胃癌癌旁组织中的正常上皮细胞中未检测到原位杂交。这些发现可能提供人胃肠癌中 HMGB1 mRNA 表达的新信息, 并提示人 HMGB1 mRNA 表达与人胃肠腺癌分化和分期的相关性。

2.2.2 细胞迁移 细胞在趋化因子作用下, 通过特定的细胞内信号传导通路引起细胞骨架重新塑形, 向一定的方向移动。细胞的迁移在正常生理和病理情况下都有重要作用。细胞的移动过程涉及细胞和胞外环境的动态互动作用。Degiyse 等^[10] 的体外研究发现, HMGB1 引起血管平滑肌细胞的一过性胞质形状改变, 表现为极向伸展的可运动细胞形态, 并向 HMGB1 所在方向移动。给予抗

HMGB1 抗体后发现这种变化被抑制。HMGB1 参与肿瘤侵袭和转移, 皮下植入 Lewis 肺肿瘤细胞的的小鼠给予抗 HMGB1 抗体能抑制转移灶的形成。HMGB1 诱导细胞的侵袭性还表现在激活细胞外的蛋白水解酶。在体内, 细胞迁移很大程度上依赖细胞侵袭周围组织的能力, 这时细胞外激酶的激活是必要的, HMGB1 激活 t-PA (组织纤溶酶原激活物), 从而诱导纤溶酶原活化^[11]。Taguchi 等^[12] 研究表明, HMGB1 还可以诱导 MPP-2 和 MPP-9 的活化, 而 MPP-9 正是纤溶酶级联活化反应的下游底物。

2.2.3 细胞增殖和凋亡 发育阶段的神经细胞及肌肉细胞对 HMGB1 高表达, 其后发现 HMGB1 可促进幼红细胞、成骨细胞、平滑肌细胞^[13]、血管相关干细胞的增殖^[14]。HMGB1 同时具备抗凋亡特性, 能够保护哺乳动物细胞抵御不同的死亡刺激因素包括紫外线, CD95-, TRAIL-, Casp-8 和 Bax 等诱导的凋亡。

2.2.4 炎症反应 近年来许多研究证实 HMGB1 作为一种重要的炎症介质和致炎细胞因子, 是启动和维持炎症瀑布式反应的中心分子, 与脓毒血症、关节炎、急性肺炎、肝炎、自身免疫性疾病等发病机制关系密切。在致炎因子 TNF- α 或 IL-1 的刺激下, 单核-巨噬细胞可释放 HMGB1, 而 HMGB1 又可刺激 TNF- α 和 IL-1 的分泌。HMGB1 还可以刺激中性粒细胞产生趋化现象, 增加上皮细胞的通透性, 从而加重局部渗出和水肿, 还可能参与炎症过程中免疫和内分泌反应的调节。除了刺激 TNF- α 增加外, TNF- α 还能刺激其他炎症因子和趋化因子的释放, 如 IL- 1α , IL- 1β , IL-6, IL-8 及巨噬细胞炎症蛋白- 1α (macrophage inflammatory protein- 1α , MIP- 1α) 等。人内皮细胞在 HMGB1 作用下, 黏附分子 ICAM 和 VCAM-1 的表达增强和炎症因子 TNF- α 等的分泌增加。HMGB1 也可作用于中性粒细胞, 增强炎症因子的表达。越来越多的证据表明, HMGB1 是全身炎症反应的晚期介导因子。

3 HMGB1 胞外转导机制

HMGB1 刺激细胞反应的机制目前尚不甚明了。据目前所知, HMGB1 可以结合许多细胞表面分子 (如肝

素、蛋白多糖、磺基糖脂等), 有助于限制 HMGB1 的扩散, 局限其生物学作用。当前研究表明 HMGB1 可通过晚期糖基化终产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE) 起作用^[11]。RAGE 是一类属于免疫球蛋白超家族的跨膜蛋白, 在肺表皮细胞、血管平滑肌细胞、神经元细胞和单核-巨噬细胞中均有表达。HMGB1 的 C-末端结构与其他的 RAGE 配体具有同源性, 通过这一区域与 RAGE 作用^[15]。通过 RAGE 激活 NF- κ B, MAPK, 纤溶酶原激活抑制物, Cdc42, Rac 等。研究肿瘤侵袭性时发现, HMGB1-RAGE 复合物可激活 p38, MAPK, JNK, p42/p44 和 MAPK^[12]。另一个关于 HMGB1 介导神经细胞癌化的研究发现 HMGB1-RAGE 复合物可顺序激活 ERK1/2, Rsk2 及 CREB。目前有证据表明 HMGB1 的促炎性效应大部分是通过 RAGE 起作用的。Sparatore 等^[16] 研究表明, 在 HMGB1 介导的 MEL 细胞分化中并不依赖 RAGE, 而是由另外一种分子量为 65×10^3 的细胞表面分子介导。

4 HMGB1 的肿瘤生物学研究

HMGB1 的过表达可以抑制细胞凋亡, 故 HMGB1 可能是一种抗细胞凋亡因子。已有报道 HMGB1 在多种类型的肿瘤中表达增强。Volp 等^[17] 选取人基因组杂交数据库 (CCH) 中不同肿瘤类型患者的样本 1 645 例, 应用免疫组化及肿瘤细胞溶细胞产物蛋白 Western 印迹方法研究结肠癌 HMGB1 表达, 用 caspase 活性测定 HMGB1 的抗细胞凋亡潜能。结果显示, 1/3 结肠癌患者 HMGB1 基因呈过度表达, 其中 90.0% 患者 HMGB1 蛋白过度表达。HMGB1 可增加 NF- κ B 活性, 并导致 NF- κ B 的靶基因产物与抗细胞凋亡蛋白 c-IAP 的体外过表达。同时 HMGB1 过表达可抑制 caspase-9 和 caspase-3 活性, 影响细胞凋亡机制。Kuniyasu 等^[18] 观察了 96 例胃癌标本, 发现 65.0% RAGE 表达阳性, 85.0% HMGB1 表达阳性。同时发现 RAGE 的表达主要集中在肿瘤具有侵袭性的组织边缘, 与肿瘤的侵袭深度及有淋巴结转移密切相关。黄庆先等^[9] 采用免疫组化方法研究 73 例胰腺癌中 HMGB1 蛋白表达显

示, HMGB1 蛋白在胰腺癌组织表达率为 76.7%, 在胰腺癌旁组织中表达率为 20.0%, 在正常胰腺组织中无表达; 前者与后者差异有显著性, 说明 HMGB1 表达与胰腺组织良恶性行为有关。另外肿瘤直径 >3cm 和 <3cm 者 HMGB1 表达率分别为 88.1% 和 61.3% ($P < 0.01$); 有淋巴结转移和无转移者 HMGB1 表达率分别为 88.2% 和 44.0% ($P < 0.01$); 有远处转移者和无远处转移者 HMGB1 表达率分别为 91.7% 和 69.4% ($P < 0.01$); 尤其在腹膜和肝转移病灶中呈极强表达。说明 HMGB1 表达可能与肿瘤的生长、浸润和转移有密切关系。文章还指出 HMGB1 与肿瘤的分化程度无明显关系。

HMGB1 在多种肿瘤中过表达, 其水平远高于相对应的正常组织。研究表明 HMGB1 在胰腺癌、直肠癌、胃癌等肿瘤中的表达与肿瘤的发生发展、病灶大小、浸润及淋巴转移相关。基于此, 目前一些学者设想表达 HMGB1 的肿瘤细胞向周围分泌 HMGB1, 或者坏死的肿瘤细胞释放 HMGB1, 这些胞外的 HMGB1 会促使周围的肿瘤细胞增殖及向外迁移, 同时诱导小血管再生, 从而促使肿瘤不断长大并向远处转移。还有人推测 HMGB1 的过表达影响肿瘤的发生, 其机制可能是前者过表达引起某种基因表达失调, 从而导致肿瘤表型, 抑或是 HMGB1 过表达可使获得肿瘤表型的细胞免于凋亡^[2]。这些理论目前正在被积极地验证中^[19]。

概言之, HMGB1 作为细胞核内的结构蛋白, 参与核小体的构建及维持, 在 DNA 重组、复制及基因转录的过程中发挥不同作用。作为细胞因子, HMGB1 既可在正常生命活动中发挥作用, 也在许多病理现象中充当重要角色。目前对 HMGB1 的研究已泛及肿瘤、脓毒症、关节炎、烧伤与休克、动脉粥样硬化、糖尿病血管病变、多器官功能障碍综合征等疾病中。针对 HMGB1 的作用, 研究已发现多种 HMGB1 抑制剂, 如抗 HMGB1 抗体, HMGB1 A 框, HMGB1 合成抑制剂, 丙酮酸乙酯, 尼古丁, 硬脂酰溶血磷脂酰胆碱^[20]等, 但尚未进入临床试验阶段。目前对 HMGB1 参与的肿瘤炎症等相关病理生理过程, HMGB1 的信号转导和分子机制, HMGB1 抑制剂

的研究与应用等方面都需要有更深入的研究。以此为基础, 可望能找到更安全有效的疾病干预措施。

参考文献:

- [1] Muller S, Scaffidi P, Degryse B, *et al.* The double life of HMGB1 chromatin protein: architectural factor and extracellular signal [J]. *EMBO*, 2001, 20(16): 4337-4340.
- [2] Muller S, Ronfani L, Bianchi ME. Regulated expression and subcellular location of HMGB1, a chromatin protein with cytokine function [J]. *Int Med*, 2004, 255(3): 323-343.
- [3] Kuniyasu H, Chihara Y, Kondo H, *et al.* Amphoterin induction in prostatic stromal cells by androgen deprivation is associated with metastatic prostate cancer [J]. *Oncol Rep*, 2003, 10(6): 1863-1868.
- [4] Kuniyasu H, Chihara Y, Takahashi T. Co-expression of receptor for advanced glycation end products and the ligand amphoterin associates closely with metastasis of colorectal cancer [J]. *Oncol Rep*, 2003, 10(2): 445-448.
- [5] 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(2): 276-280.
- [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] Sapatore B, Passalacqua M, Picotti GB, *et al.* Extracellular high mobility group I protein is essential for murine erythroleukaemia cell differentiation [J]. *BioChem J*, 1996, 320(pt 1): 253-256.
- [8] Passalacqua M, Patrone M. Stimulated astrocytes release high mobility protein, an inducer of LAN-5 neuroblastoma cell differentiation [J]. *Neuroscience*, 1998, 82(3): 1021-1028.
- [9] 黄庆先, 孙念峰, 王国斌, 等. 高迁移率蛋白 1 基因在胰腺癌组织中的表达及其临床意义 [J]. *实用癌症杂志*, 2004, 19(1): 19-23.
- [10] Degryse B, Bonald T. The high mobility group boxes of the nuclear protein HMGB1 induce chemotaxis and cytoskeleton reorganization in rat smooth muscle cells [J]. *J Cell Biol*, 2001, 152(6): 1197-2006.

- [11] Parkkinen J, Raulvala H. Interaction of plasminogen and tissue plasminogen activator (t-PA) with amphoterin Enhancement of t-PA-catalyzed plasminogen activation by amphoterin [J]. *BioChem*, 1991, 266(19): 16730-16735.
- [12] Taguchi A, Blood DC, del Toro G, *et al.* Blockade of RAGE-amphoterin signaling suppresses tumor growth and metastasis [J]. *Nature*, 2000, 405(6784): 354-360.
- [13] Ranganna K, Yousefipou Z, Yatsu FM, *et al.* Gene expression profile of butyrate-inhibited vascular smooth muscle cell proliferation [J]. *Mol Cell Biochem*, 2003, 254(1-2): 21-36.
- [14] Palumbo R, Sampaoles M, De Marchis F. Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation [J]. *J Cell Bio*, 2004, 255(3): 320-331.
- [15] Friedmen SG, Czura CJ, Tracey KJ, *et al.* The gesture life of high mobility group box 1 [J]. *Cure Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003, 6(3): 283-287.
- [16] Sapatore B, Pedrazzi M, Passalacqua M, *et al.* Stimulation of erythroleukaemia in cell differentiation by extracellular high mobility group-box protein 1 is independent of the receptor for advanced glycation end-products [J]. *Biochem J*, 2002, 363(3): 529-535.
- [17] Volp K, Brezniceanu ML, Bosser S, *et al.* Increased expression of high mobility group box 1 (HMGB1) is associated with an elevated level of antiapoptotic c-IAP2 protein in human colon carcinomas [J]. *Gut*, 2006, 55(2): 234-242.
- [18] Kuniyasu H, Oue N, Wakikawa A, *et al.* Expression of receptors for advanced glycation end-products (RAGE) is closely associated with the invasive and metastatic activity of gastric cancer [J]. *J Pathol*, 2002, 196(1): 163-170.
- [19] Brezniceanu ML, Volp K, Bosser S, *et al.* HMGB1 inhibits cell death in yeast and mammalian cells and is abundantly expressed in human breast carcinoma [J]. *FASEB J*, 2003, 17(10): 1295-1297.
- [20] Chen GQ, Li JH, Qian XL, *et al.* Suppression of HMGB1 release by stearyl, lysophosphatidylcholine: an additional mechanism for its therapeutic effects in experimental sepsis [J]. *J Lipid Res*, 2005, 46(4): 623-627.