

http://www.journals.zju.edu.cn/med

## 高迁移率族蛋白1和风湿免疫性疾病

周健光, 郑敏 综述

(浙江大学医学院附属第二医院皮肤科, 浙江 杭州 310009)

**[摘要]** 目的:高迁移率族蛋白1(HMGB1)是细胞核内典型的非组蛋白。受到炎症刺激的单核巨嗜细胞能主动释放HMGB1至细胞外。核外HMGB1是多种急慢性系统性炎症的重要的炎症介质。文中详细介绍了核外HMGB1在关节炎、肌炎、红斑狼疮、干燥综合症等风湿性疾病中的表达情况。HMGB1在风湿免疫性疾病中主要呈核外表达,在单核细胞中表达尤其明显,在炎症细胞渗出明显的部位,有分泌型HMGB1在细胞外基质沉积。同时,在这些部位TNF $\alpha$ 和IL-1等细胞因子的表达也升高,提示HMGB1和这些炎症因子之间形成一个炎症环,激发免疫反应并维持慢性炎症过程。HMGB1在风湿性疾病中的研究有助于人们更好地理解这些慢性免疫性炎症,从而找到以其为靶向的有效治疗手段。

**[关键词]** HMGB1 蛋白/代谢; 骨关节炎/病因; 风湿性疾病/病因; 炎症; 高迁移率族蛋白1; 关节炎

**[中图分类号]** R 593.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2007)04-0412-05

### Role of HMGB1 in rheumatic diseases

ZHOU Jian-guang, ZHENG Min (*Department of Dermatology, The Second Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310009, China*)

**[Abstract]** High mobility group box chromosomal protein 1(HMGB1) is originally identified as a DNA-binding protein that functions as a structural co-factor. HMGB1 is actively secreted by macrophage/monocytes via inflammatory stimuli. The extracellular HMGB-1 acts as a mediator of acute and chronic systematic inflammation. In this article we briefly review its role in rheumatic diseases: arthritis, polymyositis and dermatomyositis, lupus erythematosus and Sjögren's syndrome. Increased cytoplasmic expression and extracellular deposition of HMGB1 are found in the affected tissues of those diseases, especially stronger in/around focal infiltrates of mononuclear cells. TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  are co-expressed in areas of extracellular HMGB1. HMGB1 together with TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$  may form a proinflammatory loop promoting the chronic inflammations. The new findings of HMGB1 as a cytokine provide a better understanding of rheumatoid diseases, and could become a clinically relevant therapeutic target that might be more efficient than other known cytokines.

收稿日期: 2006-05-23 修回日期: 2006-08-14

作者简介:周健光(1979-),女,博士研究生,住院医师,主要从事自身免疫性疾病的研究和临床工作。

通讯作者:郑敏(1957-),男,医学博士,教授,博士生导师,主任医生,主要从事皮肤性病临床、科研和教学以及临床免疫学研究工作;E-mail:minz@zju.edu.cn

[ Key words ] HMGB1 protein/metab; Osteoarthritis/etiolo; Rheumatic diseases/etiolo; Inflammation; High mobility group box chromosomal protein 1; Arthritis

[ J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2007,36(4):412-416. ]

高迁移率族蛋白1(High mobility group box chromosomal protein 1, HMGB1)是高迁移率族蛋白(High mobility group, HMG)家族中HMGB亚族的一员。30多年前,学者们从细胞核中提纯了HMGB1,长期以来一直集中研究其核内功能。既往研究证实HMGB1在核内是典型的非组蛋白,参与核小体的构建和稳定,调节基因的转录、参与DNA的重组修复和复制。近年研究发现, HMGB1可以在胞浆、胞膜上表达,也能被分泌到细胞外。单核巨嗜细胞在受到炎性刺激(LPS、TNF $\alpha$ 、IL-1等)后,能够主动使位于核内的HMGB1转移至胞浆,并通过蛋白质非经典分泌途径将其分泌到细胞外<sup>[1]</sup>。另外坏死细胞也可以被动释放HMGB1<sup>[2]</sup>。核外的HMGB1是一种急慢性炎症的前炎症因子,能刺激血管内皮细胞<sup>[3]</sup>、单核巨嗜细胞分泌炎性细胞因子和黏附分子<sup>[4]</sup>,招募炎症细胞至损伤部位,介导多种急慢性炎症性疾病,如感染性休克<sup>[5]</sup>、急性肺损伤<sup>[6]</sup>、心血管疾病<sup>[7]</sup>和风湿免疫性疾病等。下面重点介绍核外HMGB1在风湿性疾病中的研究进展。

## 1 HMGB1和关节炎

类风湿关节炎是一种慢性炎症性疾病,以滑膜炎和关节结构破坏为特征,病理组织学上出现炎症细胞渗出、滑膜增生、血管翳形成。具体的发病机制不明,其中TNF $\alpha$ 和IL-1 $\beta$ 和该疾病密切相关。在体外, TNF $\alpha$ 能刺激单核巨嗜细胞、血管内皮细胞释放HMGB1,反之, HMGB1也能刺激这些细胞释放TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 等炎症介质,由此形成一个炎症反应环<sup>[3]</sup>。这种环状的反应体系使慢性炎症得以维持。核外HMGB1在慢性关节炎的致炎作用目前已经得到大量的研究证实。

2002年, Kokkola等<sup>[8]</sup>首次发现,正常的和有炎症的大鼠滑膜组织均表达HMGB1蛋白的表达,但是HMGB1在两者中的亚细胞定位却

完全不一样。在正常大鼠的关节滑膜组织中, HMGB1主要在滑膜和软骨细胞的细胞核中表达,偶见少数细胞胞浆阳性,未见HMGB1在细胞外基质中有沉积。然而在佐剂诱导形成的关节炎炎性滑膜组织中, HMGB1的表达却集中在渗出的单核细胞的胞浆中,这些单个核细胞呈巨嗜细胞样形态。这种异常的表达方式也出现在人类类风湿关节炎(RA)的滑膜组织中。在RA患者的关节组织中, HMGB1分布集中在巨嗜细胞样细胞的胞浆中,并且在RA患者的滑膜积液中检测到了被分泌到细胞外的游离HMGB1,其浓度是1.8 mg/L~10.4 mg/L。退形性疾病骨关节炎患者的关节组织中, HMGB1的表达方式和正常大鼠一样,主要是在细胞核中。作者指出,炎症状态下, HMGB1从细胞核转运至细胞浆,并进一步被分泌到细胞外参与了关节炎的发病。

日本学者 Taniguchi等<sup>[9]</sup>进一步阐明了HMGB1在类风湿关节炎中的致病作用。类风湿关节炎患者关节液中HMGB1和TNF $\alpha$ 的浓度远远高于骨关节炎患者: HMGB1的浓度是(54.1 $\pm$ 73.0) $\mu$ g/L(RA)对(12.0 $\pm$ 17.7) $\mu$ g/L(OA),而TNF $\alpha$ 的浓度是(29.2 $\pm$ 33.0) $\mu$ g/L(RA)对(7.5 $\pm$ 20.5) $\mu$ g/L(OA)。表达HMGB1的主要细胞CD68阳性,即为巨噬细胞。分离这些巨噬细胞(SFMs)进行体外培养,并以重组HMGB1进行刺激后发现这些SFMs能释放炎症因子TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6。其中TNF $\alpha$ 的释放呈剂量依赖性,并能被可溶性RAGE所阻断,而IL-1 $\beta$ 的释放是时间依赖性的。反之,当用TNF $\alpha$ 去刺激这些SFMs时, HMGB1无论是在蛋白水平还是mRNA水平的表达都增加了,并且从细胞核转移到了细胞浆。在SFMs表面还可检测到HMGB1的特异性受体RAGE,在IL-1 $\beta$ 等因子刺激下表达增强<sup>[10]</sup>。高级糖基化终末产物受体(The receptor of advanced glycation end products, RAGE)是HMGB1的特异性受

体,和 HMGB1 结合后可以介导炎症介质的释放<sup>[11]</sup>。这项研究提示 HMGB1 通过和 RAGE 结合,刺激炎症细胞和滑膜固有细胞产生 TNF $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等细胞因子,从而导致关节炎。

2003 年, Pullerits 等<sup>[12]</sup>用重组 HMGB1 第一次成功诱导形成了鼠关节炎模型。在 NMRI 小鼠的关节腔内注入 5  $\mu$ g HMGB1 之后的第 4 天和第 7 天,分别有 92% 和 79% 的小鼠出现了关节炎的病理表现:炎症细胞的渗出(主要是单个核细胞和巨嗜细胞)、滑膜增生、血管翳形成,而对照组只有 6% 和 9%。注射后的第 4 天和第 7 天,关节炎的活动指数最高,第 28 天依然有 50% 的小鼠出现关节炎,提示 HMGB1 在炎症的早期和晚期都发挥作用。尽管 HMGB1 能在多种小鼠包括 NMRI、C57BL/6 和 CB17 中诱导形成关节炎,但却未能在 IL-1<sup>-/-</sup>小鼠中诱导成功,表明 HMGB1 诱导形成关节炎的过程中,IL-1 发挥了重要的作用。HMGB1 能激活小鼠脾脏的 NF- $\kappa$ B,后者正是合成 IL-1 所需要的。这也从另外角度说明了 HMGB1 和 IL-1 在关节炎中有密切关系。

HMGB-1 分子有两个重要的结构域,A 盒(A-box)和 B 盒(B-box),两者有着截然不同的功能。B 盒蛋白是细胞因子功能区,高纯化的 B 盒蛋白比全长 HMGB-1 更具有致炎作用,更能激活巨噬细胞,是 HMGB1 致炎的结构基础。相反,A 盒蛋白能竞争性地与 HMGB-1 的靶细胞(如巨噬细胞)结合,拮抗 HMGB1 和 B 盒蛋白的致炎作用<sup>[13]</sup>。Kokkola 等<sup>[14]</sup>成功利用抗 HMGB1 抗体和 A 盒编码蛋白治疗了鼠关节炎模型。学者们先用胶原诱导建立鼠关节炎的模型(collage-induced arthritis, CIA),然后制得 HMGB1 的中和抗体以及 HMGB1 分子中 A 盒序列编码的蛋白(A-box protein)来治疗 CIA,取得了很好的疗效。经过以上治疗的小鼠,关节受累数目明显降低,临床的症状也比对照组要轻;在组织学上,渗出的细胞减少了,滑膜增生得到控制,而且产 IL-1 $\beta$  的细胞也明显减少。这个研究给我们未来对关节炎的治疗指明了一条有前景的道路:针对 HMGB1 的治疗,同时可以抑制 TNF $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  等多条途径的炎症过程,临床上用 TNF $\alpha$  拮抗剂治疗失败的患者有了新

的希望。

## 2 HMGB1 和红斑狼疮

红斑狼疮是一种慢性自身免疫性疾病,其病因是目前研究的热点,可能和遗传<sup>[15]</sup>、环境、免疫紊乱等多个因素有关。红斑狼疮可累及皮肤及各个内脏器官,受累的组织中有大量的炎症细胞浸润,体内存在大量异常释放的细胞因子,如 TNF $\alpha$ 、IL-1 和 MMP-9<sup>[16]</sup>等。HMGB1 和多种细胞因子存在相互激发作用,这种作用在红斑狼疮中也得到体现。Popovic 等<sup>[17]</sup>发现,相对于健康者正常皮肤和皮肤红斑狼疮(CLE)患者的未受累皮肤而言, HMGB1 在 CLE 皮损组织的表皮和真皮中的表达都明显增加。而真皮和表皮中浸润的单个核细胞表达 HMGB1 的能力尤其强。在健康者正常皮肤、皮肤红斑狼疮(CLE)患者受累皮肤或者未受累皮肤这 3 组中,只有在 CLE 皮损组织中检测到被分泌到细胞外的 HMGB1。在这些高表达细胞外 HMGB1 的局部,被分泌到细胞外的 TNF $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的浓度也相应增高,而这些部位往往是炎症细胞渗出最明显的地方。另有学者发现,将 HMGB1 和凋亡细胞一起注入 Balb/c 小鼠,可以使 IgG 在小鼠肾脏沉积更加明显而广泛,促使狼疮性肾炎样改变的出现。具体的机制不明,作者认为 HMGB1 能改变自身抗原在细胞中的分布,使这些主要自身抗原更加容易暴露而产生免疫炎症。

## 3 HMGB1 和干燥综合症、特发性炎症性肌病

干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)是一种以侵犯泪腺、唾液腺等为主的慢性自身免疫性疾病,又称为自身免疫性外分泌腺体病。疾病早期,腮腺组织中有单个核细胞浸润,引起腺泡上皮细胞萎缩;晚期局部纤维化,腺体完全丧失功能。最近,学者 Ek 等<sup>[18]</sup>研究了 HMGB1 在腮腺组织中的表达情况。他们将研究对象分为 3 组,SS 组、Sicca 综合组(临床上具有明显口干和眼角结膜炎的症状但不符合干燥综合症的诊断标准,体内不存在自身抗体,腮腺组织中没有灶性炎症细胞浸润的一临床综合组)和健康对照组。实验结果发现,3 组腮腺组织中的腺

泡上皮细胞都能表达 HMGB1, 不过其亚细胞定位不一样。SS 组主要位于胞核, 而健康对照组以胞浆表达为主, 这和 HMGB1 在其他风湿性疾病中的细胞定位有些不同。在 3 组腮腺组织中均有渗出的单核细胞, 只不过在 SS 组数量较多呈灶性分布, 而其他两组是散在的。在这些单核细胞中, HMGB1 主要在胞浆表达, 且 SS 组和 Sicca 综合征组的表达明显要低于健康对照组。只有在 SS 组渗出的单核细胞的周围能检测到大量被分泌在细胞外的 HMGB1, 其他两组无法检测到分泌型的 HMGB1。在分泌性 HMGB1 浓聚的局部, 也有大量被分泌的 TNF $\alpha$  和 IL-1。上述研究结果提示, HMGB1 可能和 TNF $\alpha$  和 IL-1 等细胞因子形成一个炎症反应体系参与了 SS 的发病。

特发性炎症性肌病是一组以肌肉炎症为主, 同时也可累及皮肤和其他内脏器官的自身免疫性疾病, 目前病因不明。最新研究发现, HMGB1 在多发性和皮肌炎患者活检的肌肉组织标本中呈异常表达: 在渗出的单核细胞和血管内皮细胞, 以及肌纤维细胞中均表达胞浆型 HMGB1; 在炎症细胞周围, 可检测到被分泌到细胞外的 HMGB1 蛋白。经过 3~6 个月的高剂量糖皮质激素治疗之后, 渗出的炎症细胞明显减少且胞浆型 HMGB1 在其中的表达也下调, 但是 HMGB1 在肌纤维细胞和内皮细胞的表达却依然很强, 而在健康对照组未见 HMGB1 表达<sup>[19]</sup>。

#### 4 展 望

综上所述, HMGB1 在多种风湿性疾病中呈核外表达(以胞浆型为主, 部分被分泌到细胞外), 通过和多种细胞因子(主要是 TNF $\alpha$ 、IL-1 等)、多种炎症细胞相互作用, 维持炎症的发生和发展。这些核外 HMGB1 具有明确的生理与病理作用, 针对其进行干预能抑制组织炎症反应, 可能成为今后风湿性疾病治疗的靶向之一。但是, 目前对核外 HMGB1 的认识非常有限, 在风湿性疾病中的研究尚很表浅, 有更多问题需要深入研究和阐明, 如 HMGB1 从滑膜细胞、肌肉细胞、血管内皮细胞、腺体细胞中释放的调节机制, 细胞表面 HMGB1 受体鉴定, HMGB1 与

炎症因子间相互诱生的信号转导机制, HMGB1 拮抗剂的有效性 with 实用性, 以及在风湿性疾病中的临床运用等等, 任重而道远。

#### References:

- [1] 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): 995-1 001.
- [2] SCAFFIDI P, MISTELI T, BIANCHI M E. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation [J]. **Nature**, 2002, 418 (6894): 191-195.
- [3] FIUZA C, BUSTIN M, TALWAR S, et al. Inflammation-promoting activity of HMGB1 on human microvascular endothelial cells [J]. **Blood**, 2003, 101(7): 2 652-2 660.
- [4] ANDERSSON U, WANG H, PALMBLAD K, et al. High mobility group 1 protein (HMG-1) stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes [J]. **J Exp Med**, 2000, 192(4): 565-570.
- [5] SUNDEN-CULLBERG J, NORRBY-TEGLUND A, ROUHIAINEN A, et al. Persistent elevation of high mobility group box-1 protein (HMGB1) in patients with severe sepsis and septic shock [J]. **Crit Care Med**, 2005, 33(3): 564-573.
- [6] KIM J Y, PARK J S, STRASSHEIM D, et al. HMGB1 contributes to the development of acute lung injury after hemorrhage [J]. **Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol**, 2005, 288(5): L 958-965.
- [7] LI W, SAMA A E, WANG H. Role of HMGB1 in cardiovascular diseases [J]. **Curr Opin Pharmacol**, 2006, 6(2): 130-135.
- [8] KOKKOLA R, SUNDBERG E, ULFGREN A K, et al. High mobility group box chromosomal protein 1: a novel proinflammatory mediator in synovitis [J]. **Arthritis Rheum**, 2002, 46(10): 2 598-2 603.
- [9] TANIGUCHI N, KAWAHARA K, YONE K, et al. High mobility group box chromosomal protein 1 plays a role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis as a novel cytokine [J]. **Arthritis Rheum**, 2003, 48(4): 971-981.

- [10] SUNAHORI K, YAMAMURA M, YAMANA J, et al. Increased expression of receptor for advanced glycation end products by synovial tissue macrophages in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(1):97-104.
- [11] 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.
- [12] PULLERITS R, JONSSON I M, VERDRENGH M, et al. High mobility group box chromosomal protein 1, a DNA binding cytokine, induces arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(6):1 693-1 700.
- [13] 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.
- [14] KOKKOLA R, LI J, SUNDBERG E, et al. Successful treatment of collagen-induced arthritis in mice and rats by targeting extracellular high mobility group box chromosomal protein 1 activity [J]. *Arthritis Rheum*, 2003, 48(7):2 052-2 058.
- [15] LI Zun-zhong, ZHENG Min(李尊忠, 郑敏). Advances in research on relationship between DNA hypomethylation and systemic lupus erythmatosus [J]. *J Zhenjiang Univ: Medical Sci*(浙江大学学报:医学版), 2006, 35(4):458-462. (in Chinese)
- [16] LIU Yang, ZHENG Min, YIN Wen hao, et al. (刘 畅, 郑 敏, 殷文浩, 等) Relation of serum levels of HGF and MMP-9 with disease activity of patients with systemic lupus erythematosus [J]. *J Zhenjiang Univ: Medical Sci*(浙江大学学报:医学版), 2004, 33(4):340-343. (in Chinese)
- [17] POPOVIC K, EK M, ESPINOSA A, et al. Increased expression of the novel proinflammatory cytokine high mobility group box chromosomal protein 1 in skin lesions of patients with lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(11):3 639-3 645.
- [18] EK M, POPOVIC K, ERLANDSSON HARRIS H, et al. Increased extracellular levels of the novel proinflammatory cytokine high mobility group box chromosomal protein 1 in minor salivary glands of patients with Sjogren's syndrome [J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(7):2 289-2 294.
- [19] ULFGREN A K, GRUNDTMAN C, BORG K, et al. Down-regulation of the aberrant expression of the inflammation mediator high mobility group box chromosomal protein 1 in muscle tissue of patients with polymyositis and dermatomyositis treated with corticosteroids [J]. *Arthritis Rheum*, 2004, 50(5):1 586-1 594.

[责任编辑 张荣连]