

高迁移率族蛋白B1与肝功能的关系

王风华^{1,2} 刘文锋^{1,2} (1. 湖南师范大学 生命科学院, 长沙 410081; 2. 湖南师范大学 体适能与运动康复湖南省重点实验室, 长沙 410081)

高迁移率族蛋白B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1, NP_002119) 是普遍存在于真核细胞核内且与非组蛋白染色体相结合的蛋白, 因为在聚丙烯酰胺凝胶电泳中迁移速度很快而得名^[1]。HMGB1是维持生命活动所必需的蛋白, 敲除小鼠的HMGB1基因后, 其在出生后不久便死亡^[2]。近年来发现HMGB1是一种晚期炎症因子^[3], 其可释放到胞外作为一种重要的信号因子参与细胞分化、细胞迁移、细胞增殖与凋亡、诱导炎症反应等。在胞外环境中, HMGB1可以激活免疫系统, 介导炎症反应, 参与调节脓毒性休克和内毒素血症, 且与内脏损伤乃至肿瘤的发生和发展相关^[4-6], 因此HMGB1作为炎症介质或促炎症细胞因子广受重视。

随着生活水平的不断提高, 脂肪肝、肝硬化、肝炎、酒精肝等肝脏疾病的发病率也不断增高。肝脏的脂肪变性可影响肝功能, 使其代偿能力不足, 对缺氧、中毒等耐受性降低, 若其致病因子持续作用, 部分患者可进展为肝硬化、肝功能衰竭^[7]。肝脏疾病已经严重危害到了人类的健康, 而免疫性损伤很大程度上诱导了这些肝脏疾病的发生, 因而越来越受到社会的关注。例如, 在我国致死率很高的疾病主要是由病毒性肝炎引起的临床危重症肝功能衰竭, 其中最普遍的是由乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染引起的, 而HMGB1作为该过程中胞外的关键“晚期”促炎症介质, 已成为脓毒症防治研究中一个重要

的新靶标^[8]。在肝损伤的发生过程中, 单核以及巨噬细胞受到炎症因子的刺激后产生HMGB1, 从而诱导TNF-D和IL-113等炎症因子的释放, 最终导致肝损伤的发生。已有大量研究表明, HMGB1参与了肝脏缺血再灌注损伤及药物性肝损伤, 是肝损伤的重要调节因子。近年研究显示, HMGB1作为治疗乙型肝炎相关肝病及抗纤维化靶点具有强大的潜力, 这也给乙型肝炎相关性肝病治疗提供了新的治疗方向。本文就HMGB1在影响肝功能方面的相关研究进展作一综述。

1 HMGB1的组成和功能

HMGB1普遍存在于哺乳动物组织细胞中, 在核内参与DNA复制、重组、修复和基因转录。主要通过结合各种转录因子并同染色质相互作用使核酸双螺旋发生极度的扭曲, 从而调节p53、类固醇激素受体、RAG1/2 等与重组修复相关基因的转录活性来行使功能。

HMGB、HMGA和HMGN 3个家族合称高迁移率族蛋白, 其中HMGB家族主要包括HMGB1、HMGB2、HMGB3。HMGB1又名HMG1, 在进化过程中具有高度保守的氨基酸序列, 有研究表明小鼠与人的HMGB1蛋白均由215个氨基酸残基组成, 其中仅存在2个氨基酸残基的差异。HMGB1蛋白存在A-BOX和B-BOX两个可以与DNA相结合的结构域和一个富含酸性氨基酸C-末端。结构功能分析结果显示其B-box区域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均能够与DNA结合, 并参与DNA双链的折叠与扭曲^[9]。

在正常情况下, HMGB1与凋亡细胞的染色质紧密结合, 不被释放到细胞外, 即使凋亡细胞被巨噬细胞清除时, HMGB1也不被释放, 从而避免炎症反应发生。但是若HMGB1释放到细胞外就可能引发炎症反应。动物被敲除HMGB1基因后, 由于其坏死细胞不能释放HMGB1, 促炎性作用降低显著。部分研究表明, HMGB1能通过诱导产生TNF- α 等多种细胞因子参与信号转导, 从而促使肝脏炎症反应的发生, 释放到细胞外的HMGB1是如何介导炎症反应过程目前尚不清楚。

2 HMGB1的分泌机制

HMGB1有两种分泌机制, 一种是由单核细胞和巨噬细胞在受到炎症因子的刺激后被释放, 释放后的HMGB1又可以与糖基化产物受体(RAGE)结合并诱导释放促炎性介质, 释放的促炎性介质能够促进单核巨噬细胞的活化并释放HMGB1, 形成正反馈^[10,11]; 另一种是由受到损伤后坏死的组织细胞释放, 释放的HMGB1与未活化的单核巨噬细胞相结合, 促使NF- κ B等核转录因子移位, 并释放促炎性介质^[11-13]。研究表明, 肝细胞、垂体细胞、树突状细胞、巨噬细胞、上皮细胞等在受到脂多糖、生物活性脂等诱导后, 胞内HMGB1可以主动分泌到细胞外^[14]。HMGB1释放到胞外后, 其B-box结构域可以同TLR2/4、RAGE等受体相结合, 从而发挥多种生物学功能产生多种效应, 如直接介导非特异性的早期和晚期炎症反应; 作为警报素来激活DC, 进而启动和增强适应性的免疫应答; 参与脓毒血症、肝损伤等炎症性疾病和类风湿性关节炎、红斑狼疮等自身免疫病以及同种器官移植排斥反应等多种病理过程。

3 HMGB1与肝脏疾病

病毒性肝炎是严重危害人类健康的肝脏疾病, 其中以乙型肝炎为甚, 其致病机制是由于病毒抗原结合感染肝细胞表面宿主免疫系统, 启动免疫应答, 从而导致肝损伤。鉴于HMGB1炎症介质的作用, 其在肝脏疾病中的作用机制已引起国内外的广泛关注。

在肝脏疾病发生与发展的过程中, Toll样受

体(Toll-like receptor, TLR)类因子信号发挥极其重要作用, 特别是TLR4在这个过程中起着关键的作用。如TLR4基因的表达水平在肝功能衰竭小鼠中显著升高, 而TLR4基因的mRNA表达水平与TNF- α 的表达水平在肝组织中呈正相关^[15,16]; TLR4途径可以传递内毒素所导致的感染信号并活化Kupffer细胞诱导酒精性肝病的发生^[17]; 在喂食高脂饮食的TLR4功能缺陷小鼠发生脂肪肝的情况降低^[18]; TLR4基因被敲除小鼠在实施肝脏手术后不再产生缺血再灌注导致的损伤完全^[19]。由此推测, HMGB1作为TLR4的重要配体很可能参与多种肝脏疾病的发生与发展。此外有研究表明, HMGB1参与了D-GalN/LPS所调节的肝损伤^[20]。在实验动物体注射Con A后的1小时内HMGB1基因的mRNA表达水平明显增高^[21], 但其机制鲜有文献报道。

有研究发现, 丙酮酸乙酯能够有效阻滞HMGB1的释放, 并减少实验小鼠的死亡^[22]。赵中夫等^[20]在急性肝功能衰竭(acute hepatic failure, AHF)动物建模12小时后, 应用丙酮酸乙酯腹腔注射对其进行干预, 结果EP组大鼠24、48和72小时肝组织中HMGB1含量均明显低于AHF组, 且EP组大鼠的5天存活率为90%, AHF组仅为30%, 这一结果从反面证实HMGB1参与了AHF病理生理过程并发挥重要作用。

目前诊断肝硬化的指标为AST/ALT > 1等^[23], 临床病情相关性比较大的评估指标以及监测肝纤维化的无创性检测指标有透明质酸(HA)和Ⅲ型前胶原氨基末端肽(PⅢ NP)等^[24]。检测各组乙型肝炎相关性肝病的HMGB1含量后与各组AST/ALT、HA、以及PⅢ NP进行相关性分析, 发现HMGB1的含量与AST/ALT、HA、PⅢ NP值呈正相关, 这也暗示了HMGB1与肝纤维化的发生具有相关性^[25]。

韩红莉等^[26]研究结果显示, 肝纤维化模型组中HMGB1在炎性细胞聚集区、变性坏死区、维间隔区域中均有表达, 说明HMGB1是肝纤维化发生、发展直接或间接的关键因素。HMGB1比一般的促炎性因子出现晚、持续时间更长, 炎症的

持续存在性可能与HMGB1密切相关,慢性炎症的持续存在最终导致肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)处于持续激活状态,从而形成肝纤维化。

在慢性乙型肝炎患者体内,单核细胞中HMGB1基因的mRNA表达水平明显增高,且随着病情恶化和血液中内毒素水平的升高而升高。有研究结果显示,在慢性乙型肝炎患者血清中,HMGB1基因的表达水平和病情恶化程度密切相关,表明HMGB1极有可能在慢性乙型肝炎患者发生肝功能衰竭的过程中起关键作用^[27]。

作为临床上最常见恶性肿瘤的原发性肝癌在全球范围内发病率越来越高,而在中国90%以上的肝癌患者都曾感染乙型肝炎病毒,HMGB1参与了这一肝细胞的癌变过程,其作用机制已经成为当前的研究热点。贺新春等^[28]发现,在利用HMGB1刺激体外培养的HepG2人肝癌细胞24小时后,cyclin D1基因的表达显著上调,与细胞增殖相关的PCNA蛋白表达也明显增强,这说明HMGB1可以通过对cyclin D1和PCNA蛋白表达的上调促使细胞增殖以及转化过程的增强,致使肝癌细胞的生长失去控制,故HMGB1同肝癌细胞的增殖密切相关,这可能对肝癌治疗研究提供新的思路。

4 结论

HMGB1既是维持生命活动所必需的蛋白,也是一种重要炎性反应介质,与肝损伤、肝癌等肝脏疾病的发生有着极为密切的关系。在细胞核和细胞质中并无危害,但释放到胞外则是一种危险的信号。随着对HMGB1生化以及分子研究手段的深入,临床上对血液或体液中HMGB1表达水平的检测变得简单便捷,有望作为肝脏等人体重要器官健康状况的检测指标。众多研究结果证实,HMGB1作为晚期细胞因子介导了延迟的肝损伤反应,但对于HMGB1介导肝损伤的具体机制尚且未知,其作用可能是多方式和多途径的。目前对HMGB1致病机制尚不清晰,对其进一步研究显得十分重要。随着对作用机制研究的不断完善,HMGB1靶向治疗肝损伤以及各种肝脏疾病将变得

切实可行。

参考文献

- [1] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMGI as a late mediator of endotoxin lethality in mice[J]. *Science*,1999,285:248-251.
- [2] 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*,1999,22:76-80.
- [3] 贾瑛, 郑健. 类风湿性关节炎患者血清HMGB1水平与其他炎性因子的相关性[J]. *陕西医学杂志*,2011,3:296-301.
- [4] Bianchi ME, Manfredi AA. Immunology Dangers in and out[J]. *Science*,2009,323:1683-1684.
- [5] Khne JR, Dhupar R, Cardinal J, et al. HMGB1: endogenous danger signaling [J]. *Mol Med*,2008,14:476-484.
- [6] Karlsson S, Pettila V, Tedaunen J, et al. HMGB1 as a predictor of organ dysfunction and outcome in patients with severe sepsis[J]. *Intensive Care Med*,2008,34:1046-1053.
- [7] 赵振平, 高学松. 水林佳治疗非酒精性脂肪性肝炎的疗效观察[J]. *中国肝脏病杂志(电子版)*,2008,1:38-39.
- [8] 马本红, 梁静, 祖增艳. 高迁移率族蛋白B1与肿瘤的相关性[J]. *国际肿瘤学杂志*,2010,37:12-15.
- [9] 周蓉蓉, 范学工, 刘洪波, 等. 脂多糖诱导肝细胞HepG2释放HMGB1的研究[J]. *生命科学研究*,2008,12:359-364.
- [10] 陈国干, 邹荣良. 胞外高迁移率族蛋白B1的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*,2006,27:300-346.
- [11] Youn JH, Shin JS. Nucleocytoplasmic shuttling of HMGB1 is regulated by phosphorylation that redirects it towards secretion[J]. *J Immunol*,2006,177:7889-7897.
- [12] Yang ZY, Ling Y, Yin T, et al. Delayed ethyl pyruvate therapy attenuates experimental severe acute pancreatitis via reduced serum high mobility group box 1 levels in rats[J]. *World J Gastroenterol*,2008,14:4546-4550.
- [13] 陈畅, 张文俊, 李兆申. 晚期炎症介质高迁移率族蛋白1与重症急性胰腺炎[J]. *胰腺病学*,2007,7:59-61.
- [14] Dumitriu IE, Baruah P, Manfredi AA, et al. HMGB1: guiding immunity from within[J]. *Trends Immunol*,2005,26:381-387.
- [15] Takayashiki T, Yoshidome H, Kimura F, et al. Increased expression of toll-like receptor 4 enhances endotoxin-induced hepatic failure in partially hepatectomized mice[J]. *J Hepatol*,2004,41:621-628.
- [16] Cook DN, Pisetsky DS, Schwartz DA. Toll-like receptors in the pathogenesis of human disease[J]. *Nat Immunol*,2004,5:975-979.
- [17] Uesugi T, Froh M, Arteel GE, et al. Toll-like receptor 4 is involved in the mechanism of early alcohol-induced liver injury in mice[J]. *Hepatology*,2001,31:101-108.
- [18] Szabo G, Velayudham A, Romics L Jr, et al. Modulation of non-alcoholic steatohepatitis by pattern recognition receptors in mice: the role of toll-like receptors 2 and 4[J]. *Alcohol Clin Exp Res*,2005,29:140-145.
- [19] Zhai Y, Shen XD, O' Connell R, et al. Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3 dependent MyD88 independent pathway[J]. *J Immunol*,2004,173:7115-7119.

- [20] 赵中夫, 韩德五, 张芸. 高迁移率族蛋白-1在实验性急性肝衰竭中的作用[J]. 中华肝病杂志, 2006, 14: 393-394.
- [21] Sass G, Heinlein S, Agli A, et al. Cytokine expression in three mouse models of experimental hepatitis[J]. Cytokine, 2002, 19: 115-120.
- [22] Ulloa L, Ochani M, Yang H, et al. Ethyl pyruvate prevents lethality in mice with established lethal sepsis and systemic inflammation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99: 12351-12356.
- [23] 福李, 张俊勇, 刘吉勇, 等. AST/ALT比值在慢性肝病患者的特点和判断预后价值[J]. 肝脏, 2006, 11: 238-240.
- [24] 刘丹阳, 杨方, 魏倪, 等. 血清肝纤维化标志物与肝功能、病毒学指标的相关性研究[J]. 中国医师杂志, 2006, 8: 1560-1561.
- [25] 于红缨, 龚环宇, 符政远. 血清高迁移率族蛋白1在不同慢性乙肝相关性肝病患者的含量变化及临床意义[J]. 中国医师杂志, 2011, 2: 173-176.
- [26] 韩红莉, 赵中夫, 杨柳絮, 等. 高迁移率族蛋白BI在肝纤维化发生发展中的作用研究[J]. 长治医学院学报, 2008, 22: 321-324.
- [27] 刘洪波, 范学工, 黄建军, 等. 乙型肝炎患者血清高迁移率族蛋白1含量的检测及临床意义[J]. 中华肝脏病杂志, 2007, 15: 812-815.
- [28] 贺新春, 范学工, 周蓉蓉. HMGBI对人肝癌细胞株HepG2体外增殖的影响[J]. 中南大学学报, 2010, 35: 451-457.

收稿日期: 2012-08-24

• 消息 •

医学科技论文中“渗透浓度”和“渗透压”的正确表述

半透膜隔开的有浓度差别的溶液, 其溶剂通过半透膜由低浓度溶液向高浓度溶液扩散的现象称为渗透(osmose); 为维持溶液与纯溶剂之间的渗透平衡而需要的超额压力称为渗透压(osmotic pressure), 其量的符号为 π 。国际纯粹化学和应用化学联合会(IUPAC)临床化学部和国际临床化学联合会推荐, 在临床化学中使用渗透质量摩尔浓度和渗透体积摩尔浓度两个量, 单位分别是mol/kg和mol/L。过去常用的单位(mOsm/L、mOsm/kg、mOsm/kg H₂O等)尽管沿用已久, 影响深远, 但均属于非法定单位, 应予以废除。法定单位与习用单位之间换算系数均为1, 即1 mOsm/L = 1 mol/L; 1 mOsm/kg = 1 mmol/L; 1 mOsm/kg H₂O = 1 mmol/L。

渗透压是一种特殊形式的压强, 所以其国际单位(SI)与压强相同——“帕斯卡”(pascal), 国际符号为Pa, 中文符号为“帕”, 实用单位为“千帕”(kPa)、“兆帕”(MPa)。渗透压的本质是压强, 而渗透浓度的本质是浓度。根据范特荷甫公式溶液的渗透压不仅和溶液和渗透浓度相关, 还和溶液和温度有关。虽然临床上渗透压和渗透浓度成正比, 用渗透浓度来表示渗透压有很强的直观性和实用性, 且为临床医生所熟悉。但是按照国际标准规定: 人体体液的渗透压只能用“Pa”或“kPa”为单位, 不能用mol/L、mmol/L, 也不能用Osmol/L为单位。

本刊编辑部