

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2019.12.001

◇ 综述 ◇

高迁移率族蛋白 B1 与宫颈癌相关性的研究进展

熊焱强, 李会, 王玘, 李志英

作者单位: 三峡大学附属仁和医院妇产科, 湖北 宜昌 443001

通信作者: 李志英, 女, 教授, 主任医师, 研究方向为妇科肿瘤, E-mail: zhiying969@126.com

基金项目: 湖北省教育厅科学技术研究计划重点项目(20151202); 湖南省卫生健康科研基金资助(青年人才项目)(WJ2019H5556)

摘要: 高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)是近年来发现的一种多功能细胞因子,在炎症启动、肿瘤发生发展及肿瘤免疫中都起到重要作用。近期研究发现 HMGB1 与宫颈癌细胞的增殖、侵袭转移、临床分期和预后等密切相关。本课题组就其在宫颈癌发病机制、诊断、治疗及预后评估中的最新研究进展作一综述。

关键词: 宫颈肿瘤; 高迁移率族蛋白质类; 诊断; 治疗; 预后

Research progress of the correlation between HMGB1 and cervical cancer

XIONG Yanqiang, LI Hui, WANG Ding, LI Zhiying

Author Affiliation: Department of Gynaecology and Obstetrics, Affiliated Ren-he Hospital, China Three Gorges University, Yichang, Hubei 443001, China

Abstract: High mobility group box protein B1 (HMGB1) was recently discovered as a multifunctional cytokine and it played an important role in the initiation of inflammation, tumorigenesis, and tumor immunity. Recent studies have found that HMGB1 is closely related to the proliferation, invasion and metastasis, clinical stage and prognosis of cervical cancer cells. This article reviews the recent research progress of HMGB1 in the pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis of cervical cancer.

Key words: Uterine cervical neoplasms; High mobility group proteins; Diagnosis; Treatment; Prognosis

宫颈癌(cervical cancer)是最常见的妇科恶性肿瘤,全球每年共有 527 600 人被诊断为宫颈癌,其中 265 700 人死亡,在女性恶性肿瘤中发病率排第 2 位,病死率排第 4 位^[1-2]。高迁移率族蛋白 B1(high-mobility group box 1 protein, HMGB1)是一种普遍存在于哺乳动物细胞中的染色质成分,具有多种生物学功能,在细胞迁移、炎症反应、细胞分化和肿瘤转移中起着重要作用,它作为信号调节因子有着介导感染、损伤和炎症反应、促进细胞自噬、诱导细胞死亡及激活天然免疫等多种生物学功能^[3]。随着研究的深入,越来越多的证据表明 HMGB1 能通过参与细胞自噬、DNA 损伤修复、细胞凋亡、增殖、血管生成及免疫逃逸等过程来促进肿瘤的发生发展^[4-6]。

1 HMGB1 概述

HMGB1 是一种含有 215 个氨基酸残基的高度保守的单链多肽,分子质量约为 25 Kda,由 A-box、B-box 及 C-tail 3 个独特的结构域组成。其中 A-box 位于 N-末端,由 9~79 氨基酸残基组成,它不具有生物学效应,是受体的结合位点;B-box 由 95~163 氨基

酸残基组成,B-box 前 20 个氨基酸主要发挥细胞因子活性的作用;C-tail 在羧基末端,仅含 30 个天冬氨酸和谷氨酸残基,可参与介导 HMGB1 与 DNA 的结合^[7]。HMGB1 在肿瘤浸润转移、炎症反应、动脉粥样硬化和缺血灌注再损伤等过程中发挥重要作用。HMGB1 在细胞内可与核小体结合并维持其稳定性,参与 DNA 重组、复制和修复过程,并调节多种基因的转录;在细胞外其参与组织修复、炎症反应、促进树突状细胞(Dendritic Cells, DC)的成熟迁移及 T 淋巴细胞的极化。此外, HMGB1 在肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡以及侵袭转移中都起到重要作用,也可以与晚期糖基化终末产物受体(RAGE)结合,促进肿瘤细胞的生长及血管的生成^[8-9]。HMGB1 有主动和被动两种分泌方式:干扰素(Interferon, IFN)、白细胞介素(IL)-1 及肿瘤坏死因子(TNF- α)等细胞因子和细胞应激等因素均可诱导 DC 和单核巨噬细胞主动分泌 HMGB1;此外,坏死的细胞也可以被动释放出 HMGB1。肿瘤细胞坏死后释放的 HMGB1 在肿瘤微环境中可以引起慢性炎症,有利于肿瘤存活、生

长与转移,且细胞凋亡时释放的HMGB1与DC表面的Toll样受体4(TLR4)相互作用可以促进DC细胞向T淋巴细胞呈递肿瘤抗原^[10-11]。

2 HMGB1在宫颈癌中的表达及意义

高晗等^[12]应用免疫组化技术分析了在116例宫颈鳞癌首诊病人的宫颈癌组织和30例正常宫颈组织中HMGB1蛋白的表达情况,发现HMGB1在宫颈癌组织中呈高表达,且HMGB1的表达水平与病人年龄、临床分期及淋巴结转移等因素密切相关。Pang等^[13]研究发现HMGB1在正常宫颈组织、宫颈上皮内瘤变(CIN)和宫颈癌中的表达水平呈逐渐升高的趋势,且HMGB1表达水平与FIGO分期、淋巴结转移及分化程度均密切相关,且HMGB1的表达与核转录因子- κ B(NF- κ B)的表达水平呈正相关,与E-钙黏蛋白(E-cadherin)呈负相关。该课题组进一步研究发现HMGB1与叉头框转录蛋白3(Foxp3、IL-10)的表达水平呈显著正相关,与IL-2呈负相关,且宫颈癌中HMGB1的表达水平与血清中鳞状上皮细胞癌抗原(SCC)呈正相关($r=0.517, P<0.05$),单因素分析显示宫颈癌组织HMGB1蛋白升高则HPV感染复发率也升高^[14]。该研究者认为是HMGB1的高表达激活了调节性T细胞和促进Th2细胞的极化从而导致宫颈癌的免疫逃逸。郝权等^[15]也证实了HMGB1在宫颈癌组织中呈高表达,且其高表达与肿瘤分期、浸润和转移密切相关,而与肿瘤大小和分化无关。分析发现HMGB1及其结合受体RAGE在转移性宫颈癌中的表达水平均显著高于原发癌,且两者的表达具有相关性($r=0.66, P<0.05$)。因此该研究者认为HMGB1参与组织侵袭和转移,且HMGB1/RAGE信号通路在宫颈癌的转移中起重要作用。以上研究均证实了HMGB1在宫颈癌中呈高表达,且这种高表达可以促进宫颈癌发生发展以及其免疫逃逸,有利于宫颈癌细胞的浸润、转移。因此, HMGB1可以作为宫颈癌生物靶向治疗的一个潜在靶点,为宫颈癌的生物治疗提供一个新的途径。

3 HMGB1在宫颈癌诊断中的意义

众多研究均已证实HMGB1在宫颈癌中呈异常表达,那么这种异常表达能否使得HMGB1成为宫颈癌诊断的新的标志物呢? Yu等^[16]应用免疫组织化学方法来检测宫颈细胞中HMGB1的表达情况,发现随着宫颈癌的进展, HMGB1的表达水平逐渐升高; CIN-1、CIN-2、CIN-3及宫颈癌中HMGB1阳性染色率分别为69.4%、96.9%、100%和100%,不同级别的CIN的HMGB1的阳性率差异有统计学意义($P<$

0.005)。因此,该研究者认为通过免疫组织化学方法检测宫颈细胞学标本中HMGB1的表达水平在宫颈病变的筛查中具有潜在价值,有望成为一种新的宫颈癌筛查手段。Sheng等^[17]研究发现复发性宫颈鳞癌组织中HMGB1的表达水平明显高于原发灶,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测了112例复发性宫颈癌、174例原发性宫颈癌病人和128例健康受试者血清中HMGB1、SCC、角蛋白19片段(CYFRA21-1)及癌胚抗原(CEA)的含量,发现复发性宫颈癌病人血清HMGB1水平显著高于原发病人和健康对照组,统计分析得出HMGB1、SCCA、CYFRA21-1及CEA诊断宫颈癌的受试者工作特征曲线下面积(AUC)分别为0.816、0.768、0.703和0.625。其中HMGB1的特异度和阳性似然比最高,分别为78%和3.25;且三者联合检测可以进一步提高诊断灵敏度和特异度。因此,该研究者认为血清中的HMGB1可作为评价宫颈鳞状细胞癌病人诊断的特异性标志物。赵雪春^[18]发现较子宫肌瘤病人及健康人群,宫颈癌病人外周血HMGB1 mRNA表达水平明显升高($P<0.05$),宫颈癌组织中HMGB1 mRNA表达水平高于对照组,且发生转移宫颈癌病人的淋巴组织中HMGB1表达水平明显高于未发生转移者($P<0.05$)。因此该研究者认为,宫颈癌根治术前外周血中HMGB1 mRNA表达水平可作为诊断早期宫颈癌循环肿瘤细胞的标志物。综上可知,宫颈癌组织、宫颈脱落细胞及血清中的HMGB1在蛋白水平和mRNA水平的检测都是宫颈癌诊断潜在的新方法,为宫颈癌的早期诊断和筛查提供了新的生物标志物。

4 HMGB1在宫颈癌治疗中的价值

4.1 HMGB1对宫颈癌细胞的作用 Pang等^[13]用不同浓度的HMGB1处理宫颈癌HeLa细胞后,发现HMGB1刺激后可以使HeLa细胞失去细胞极性,由上皮细胞向梭形细胞过渡,细胞间连接稀疏。蛋白质印迹法(Western Blot)和实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测发现HMGB1处理后的HeLa细胞的细胞质中E-cadherin和核因子 κ B抑制蛋白(I κ B)表达水平降低,而NF- κ B和E-钙黏蛋白(N-cadherin)的表达上调。而NF- κ B抑制剂(BAY11-7082)和RAGE拮抗剂均能显著抑制宫颈癌细胞中HMGB1介导上皮间质转化。这提示了HMGB1与宫颈癌的发生有关,并可通过激活NF- κ B信号通路促进宫颈癌细胞的侵袭和转移。Xia等^[19]用10 μ g/mL的顺铂处理宫颈癌HeLa细胞24 h和48 h后发现HMGB1的表达水平呈现出显著的时间依赖性,且在顺铂耐药的

HeLa/DDP细胞株中的表达水平显著高于顺铂敏感的HeLa细胞($P < 0.01$)。此外,顺铂对HeLa/DDP细胞株的半数抑制浓度(IC50)为HeLa细胞5.3倍($P < 0.01$)。细胞成分分布的分析表明HMGB1从细胞核向细胞质的转移促进了顺铂耐药,并进一步证实其机制是丙酮酸乙酯抑制HMGB1的细胞质移位,从而抑制了HeLa细胞的增殖。此外,通过转染短发夹RNA(shRNA)特异性抑制内源性HMGB1表达后,能够降低宫颈癌细胞的活性和潜在的逆转顺铂耐药,并诱导细胞凋亡。重组HMGB1蛋白可以促进HeLa细胞的自噬,其过程由细胞外信号调节激酶1/2的磷酸化介导的。由上该研究者认为,细胞质HMGB1移位和HMGB1诱导的细胞自噬都能通过抑制细胞凋亡而促进宫颈癌细胞对顺铂耐药性。而邱媛媛等^[20]通过RNA干扰技术抑制宫颈癌HeLa细胞中HMGB1基因的表达后,发现实验组细胞生长受到明显抑制,且细胞迁移率降低。因此该研究者认为抑制HMGB1基因表达能抑制HeLa细胞增殖、侵袭和迁移。此外,有研究报道宫颈癌细胞分泌的可溶性HMGB1可以调控浆细胞样树突细胞(pDCs)的功能:抑制pDC的成熟,减少Toll样受体(TLR9)刺激识别后IFN- α 的分泌,并促进这些pDC形成耐受性,而抑制HMGB1的表达可以恢复pDC的表型^[21]。该研究者认为抑制HMGB1在宫颈癌中的表达可以抑制其肿瘤免疫耐受,为宫颈癌的治疗提供了新的思路。以上研究都表明,HMGB1在宫颈癌细胞增殖、侵袭、迁移、肿瘤免疫耐受以及对化疗药物敏感性等方面都有着一定的意义,可以作为宫颈癌生物治疗的新靶点。

4.2 miRNA靶向HMGB1对宫颈癌细胞的抑制作用 miRNA是一类内源性表达的小分子的非编码单链RNA,可以通过不完全碱基互补配对与靶基因的3'非编码区(3'UTR)相结合,从而下调靶基因的表达水平^[22]。最近一些研究表明某些特异性的miRNA可以靶向下调HMGB1的表达,从而影响宫颈癌细胞的生物学特性。Chandrasekaran等^[23]研究发现在宫颈癌组织及细胞系中HMGB1均呈高表达,且miR-34a呈低表达,通过荧光素酶报告基因发现miR-34a可以与HMGB1的3'UTR结合。将miR-34a转染入宫颈癌和结肠癌细胞后,HMGB1的表达水平显著降低,且肿瘤细胞增殖、迁移和入侵能力减弱。同样,Jiang等^[24]研究发现在宫颈癌组织中miR-142的表达明显下调,且miR-142的表达水平与FIGO分期和淋巴结转移呈负相关($P < 0.001$)。通过细胞实验,他们发现在宫颈癌细胞中过表达

miR-142后,SiHa和HeLa细胞凋亡增强,细胞的侵袭性减弱,且HMGB1表达下调,荧光素酶报告基因证实了HMGB1是miR-142的直接靶基因。该研究者认为宫颈癌中miR-142表达的下调提高了HMGB1表达,从而抑制了肿瘤细胞的凋亡,并增强了其侵袭转移能力。

5 HMGB1在宫颈癌预后评估中的作用

HMGB1的高表达与包括宫颈癌在内的多种恶性肿瘤病人的预后密切相关,提示它是肿瘤预后的独立因素和潜在的生物标志物。Wu等^[25]荟萃分析包括宫颈癌在内的11种恶性肿瘤的18项研究,发现HMGB1的高表达与恶性肿瘤病人的总生存期和病人无瘤存活率均密切相关。且无论是通过免疫组织化学方法检测组织中HMGB1还是ELISA法测定血清HMGB1的表达,高水平的HMGB1与病人较差预后的相关性都是一致的。Xu等^[26]发现在宫颈癌细胞核中HMGB1的强阳性率显著高于CIN和正常宫颈组织,而自噬相关蛋白(LC3)在宫颈癌组织中呈低表达($P < 0.001$),且两者的表达量呈负相关。细胞核中HMGB1的高表达与肿瘤细胞血管转移有关,而细胞质中HMGB1的高表达与淋巴结转移密切相关。细胞核和细胞质中HMGB1的高表达均意味着低的总生存率(OS)和无瘤生存率(DFS),而LC3的高表达与预后良好相关。多因素分析显示,无论细胞核和细胞质中的HMGB1都是宫颈癌OS和DFS独立预后因素。同样Sheng等^[17]的研究中同样证实了高血清HMGB1水平与无病生存率($P = 0.009$)和总生存率($P = 0.018$)呈负相关。Pang等^[14]也发现HMGB1高表达病人的平均生存期为12.13个月,明显低于低表达者的29.75个月($P < 0.01$),也证明了HMGB1可以作为宫颈癌一个潜在的独立预后指标。由以上可知,HMGB1的高表达往往意味着宫颈癌病人的不良预后,表明其可以作为宫颈癌预后评估和治疗疗效评价的一个标志物。

6 小结与展望

宫颈癌在全球范围内发病率和病死率居高不下,尤其是在发展中国家,其中大多数病人的死亡与诊断过晚及治疗失败有关。HMGB1在宫颈癌的细胞增殖、侵袭、转移以及肿瘤免疫逃逸等过程中发挥着重要作用,可以作为宫颈癌早期诊断及预后评估潜在的生物标志物,并可作为其新的治疗靶标。HMGB1在宫颈癌发病机制中具体作用的探究、对宫颈癌诊断准确性和敏感性的提高、大样本临床试验的验证是当前的研究要点。尽管基于HMGB1的宫颈癌靶向治疗报道较多:包括HMGB1抗体、小

分子拮抗剂、RNA干扰及miRNA靶向等不同方法,但相关的靶向治疗的动物实验和临床前试验等仍未见报道。总之,虽然HMGB1在宫颈癌中的研究尚处于起步阶段,相信随着研究手段的多样化和临床样本量的增加, HMGB1未来会在宫颈癌的诊断、个体化治疗和预后评估等方面拥有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(5): E359-E386. DOI: 10.1002/ijc.29210.
- [2] TORRE LA, BRAY F, SIEGEL RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(2): 87-108.
- [3] TANG D, KANG R, LIVESEY KM, et al. Endogenous HMGB1 regulates autophagy[J]. *J Cell Biol*, 2010, 190(5): 881-892.
- [4] HU WW, LIU PY, YANG YC, et al. Association of HMGB1 gene polymorphisms with lung cancer susceptibility and clinical aspects [J]. *Int J Med Sci*, 2017, 14(12): 1197-1202.
- [5] HE SJ, CHENG J, FENG X, et al. The dual role and therapeutic potential of high-mobility group box 1 in cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38): 64534-64550.
- [6] ANGELOPOULOU E, PIPERI C, ADAMOPOULOS C, et al. Pivotal role of high-mobility group box 1 (HMGB1) signaling pathways in glioma development and progression [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2016, 94(8): 867-874.
- [7] STROS M. HMGB proteins: interactions with DNA and chromatin [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(1/2): 101-113.
- [8] WIERSMA VR, MICHALAK M, ABDULLAH TM, et al. Mechanisms of translocation of ER chaperones to the cell surface and immunomodulatory roles in cancer and autoimmunity [J]. *Front Oncol*, 2015, 5: 7.
- [9] SIMS GP, ROWE DC, RIETDIJK ST, et al. HMGB1 and RAGE in inflammation and Cancer [J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 367-388.
- [10] TANG D, KANG R, ZEH HJ, et al. High-mobility group box 1 and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(1/2): 131-140.
- [11] GUO ZS, LIU Z, BARTLETT DL, et al. Life after death: targeting high mobility group box 1 in emergent cancer therapies [J]. *Am J Cancer Res*, 2013, 3(1): 1-20.
- [12] 高晗, 宋晓玲, 蔡鸿宁, 等. 高迁移率族蛋白的表达与子宫颈鳞状细胞癌的关系 [J]. *中国妇产科临床杂志*, 2016, 17(2): 162-164.
- [13] PANG X, ZHANG Y, ZHANG S. High-mobility group box 1 is overexpressed in cervical carcinoma and promotes cell invasion and migration in vitro [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(2): 831-840.
- [14] PANG X, ZHANG Y, WEI H, et al. Expression and effects of high-mobility group box 1 in cervical cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(5): 8699-8712.
- [15] 郝权, 杜晓琴, 付欣, 等. 高迁移率族蛋白1及晚期糖基化终产物受体在宫颈鳞状细胞癌中的表达及临床意义 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2008, 30(4): 292-295.
- [16] YU L, DUAN C, HE M, et al. Diagnostic value of HMGB1 immunostaining on cell blocks from residual liquid-based gynecologic cytology specimens [J]. *Diagn Cytopathol*, 2014, 42(9): 802-808.
- [17] SHENG X, DU X, ZHANG X, et al. Clinical value of serum HMGB1 levels in early detection of recurrent squamous cell carcinoma of uterine cervix: comparison with serum SCCA, CYFRA21-1, and CEA levels [J]. *Croat Med J*, 2009, 50(5): 455-464.
- [18] 赵雪春. 早期宫颈癌患者外周血中HtrA1和HMGB1基因的表达及其临床意义 [J]. *实用癌症杂志*, 2015, 30(11): 1602-1605.
- [19] XIA J, YU X, SONG X, et al. Inhibiting the cytoplasmic location of HMGB1 reverses cisplatin resistance in human cervical cancer cells [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(1): 488-494.
- [20] 邱媛媛, 郝权, 田菁, 等. RNA干扰抑制HMGB1基因表达对宫颈癌HeLa细胞生物学行为的影响 [J]. *中国癌症杂志*, 2010, 20(10): 739-744.
- [21] DEMOULIN S, HERFS M, SOMJA J, et al. HMGB1 secretion during cervical carcinogenesis promotes the acquisition of a tolerogenic functionality by plasmacytoid dendritic cells [J]. *International Journal of Cancer*, 2015, 137(2): 345-358.
- [22] LEE I, AJAY SS, YOON JI, et al. New class of microRNA targets containing simultaneous 5'-UTR and 3-UTR interaction sites [J]. *Genome Res*, 2009, 19(7): 1175-1183.
- [23] CHANDRASEKARAN KS, SATHYANARAYANAN A, KARUNAGARAN D. Downregulation of HMGB1 by miR-34a is sufficient to suppress proliferation, migration and invasion of human cervical and colorectal cancer cells [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(10): 13155-13166.
- [24] JIANG D, WANG H, LI Z, et al. MiR-142 inhibits the development of cervical cancer by targeting HMGB1 [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(3): 4001-4007.
- [25] WU TY, ZHANG W, YANG G, et al. HMGB1 overexpression as a prognostic factor for survival in cancer: a meta-analysis and systematic review [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31): 50417-50427.
- [26] XU Y, CHEN Z, ZHANG G, et al. HMGB1 overexpression correlates with poor prognosis in early-stage squamous cervical cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(11): 9039-9047.

(收稿日期: 2018-07-22, 修回日期: 2018-10-18)