

引用本文:肖政,黄鹤.高迁移率族蛋白B1在心肌缺血再灌注损伤中的双重作用[J].安徽医药,2021,25(12):2338-2341.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.12.002.



◇ 综述 ◇

高迁移率族蛋白B1在心肌缺血再灌注损伤中的双重作用

肖政^{1,2,3}, 黄鹤^{1,2,3}

作者单位:¹武汉大学人民医院心内科,湖北 武汉 430060;

²武汉大学心血管病研究所,湖北 武汉 430060;

³心血管病湖北省重点实验室,湖北 武汉 430060

通信作者:黄鹤,男,教授,博士生导师,研究方向为心律失常的基础和临床研究,Email: huanghe1977@whu.edu.cn

基金项目:国家科技部国家重点研发计划(2017YFC1700504)

摘要: 高迁移率族蛋白B1(HMGB1)是一种广泛存在于真核细胞中的核蛋白,可被动地从受损细胞中释放或从免疫细胞主动分泌至胞外,目前大部分研究集中在HMGB1作为一种关键的炎症介质参与炎症反应,促进心肌缺血再灌注(I/R)损伤。然而, HMGB1也被发现能抑制炎症反应,促进心肌梗死后修复,因此对心肌细胞产生有利的影响。本研究系统综述了HMGB1通过RAGE和TLR2/4等受体介导心肌I/R损伤以及HMGB1对心肌的保护作用。

关键词: 心肌再灌注损伤; 高迁移率族蛋白质类; 缺氧诱导因子1; 炎症反应

Dual function of high-mobility group box-1 in myocardial ischemia/reperfusion injury

XIAO Zheng^{1,2,3}, HUANG He^{1,2,3}

Author Affiliations:¹Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China;

²Cardiovascular Research Institute, Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China;

³Hubei Key Laboratory of Cardiology, Wuhan, Hubei 430060, China

Abstract: High-mobility group protein B1 (HMGB1), a nuclear protein widely found in eukaryotic cells, can be passively released from damaged cells or actively secreted from immune cells to extracellular matrix. Most of the current studies have focused on HMGB1 involvement in inflammatory responses, as a key inflammatory mediator, promoting myocardial ischemia-reperfusion (I/R) injury. However, HMGB1 has also been found to inhibit inflammation, promote repair after myocardial infarction and thus have beneficial effects on cardiomyocytes. This study reviewed that HMGB1 mediated receptors such as RAGE and TLR2/4 are involved in myocardial I/R injury and HMGB1 has certain protective effect on myocardium.

Key words: Myocardial reperfusion injury; High mobility group proteins; Hypoxia-inducible factor 1; Inflammatory responses

心肌缺血再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤是指心肌细胞遭受一段时间的缺血刺激后,在恢复供血供氧的过程中,心肌细胞损伤进一步加重的现象,而这现象被发现与炎症密切相关^[1]。高迁移率族蛋白B1(high-mobility group box 1, HMGB1)作为一种典型的损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP)在炎症反应中发挥核心作用,因此成为潜在的药物治疗炎症相关疾病^[2]。在心肌I/R损伤中, HMGB1与其相应的受体结合后促进炎性因子释放,其本身也作为炎性因子加速心肌细胞损伤,然而, HMGB1也被报道能产生心肌保护作用,促进组织修复和血管生成,减轻心肌损伤。因此,本研究将从HMGB1的结构和功能,损伤及保护机制来阐述HMGB1在心肌I/R中的作用。

1 HMGB1的结构和功能

HMGB1是一种高度保守的染色体蛋白,它几乎存在于所有真核细胞的细胞核中^[3],在哺乳动物中还存在有HMGB2、HMGB3和HMGB4三个高迁移率族蛋白家族成员,人类HMGB1由215个氨基酸组成,通常将其分为A box、B box以及C-末端结构域。其中A box能与HMGB1竞争性结合其下游晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end products, RAGE)和Toll样受体4(toll-like receptor 4, TLR4),因此在炎症过程中展现出抗炎作用^[4-5]。相反, B box被发现拥有HMGB1的细胞因子活性,不仅能与RAGE结合,还能与TLR4的辅助蛋白髓样分化蛋白-2(myeloid differentiation factor 2, MD-2)结合,促进炎性因子的分泌,因此导致炎症反应的发生^[6]。HMGB1可定位于胞核、胞质和胞外,而胞外的

HMGB1是DAMP的典型代表,具有炎症因子、趋化因子和生长因子活性^[7],同时可以作为一种潜在的生物标志物来预测肿瘤的进展和预后^[8]。

2 HMGB1在心肌I/R损伤中的作用机制

炎症反应是心肌I/R损伤的主要机制之一,在缺血性心肌病中,长时间的缺血缺氧会导致心肌细胞死亡,因此需要紧急恢复缺血心肌的血流、挽救心肌组织,而随着血液和氧气供应恢复,心肌细胞遭受进一步的损伤,死亡的心肌细胞会主动释放HMGB1。已知胞外的HMGB1通常需要与RAGE和TLRs等细胞表面受体结合,诱导核因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B)的产生,促使炎症细胞释放肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 、白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 和IL-6等炎症因子,同时,释放至胞外的炎症介质促进免疫细胞在梗死区域聚集并释放HMGB1,形成炎症环路,加剧心肌组织的损伤。有趣的是, HMGB1也能促进心肌细胞产生缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α),它是一种稳定细胞内环境的重要调节因子,能够促进诱生型一氧化氮合酶、血红素氧化酶1和促红细胞生成素等心肌保护分子的产生,改善心脏功能^[9]。

2.1 HMGB1-RAGE信号通路在心肌I/R损伤中的作用

RAGE被普遍认为是一种跨膜免疫球蛋白样受体,它能与胞外的HMGB1结合,激活炎症反应。已经有研究发现RAGE的活性及含量在心肌I/R损伤过程中明显升高^[10]。此外,使用重组HMGB1处理小鼠促进了炎症因子的分泌,加剧了心肌I/R损伤,但是这种损伤作用在RAGE缺乏的小鼠中明显减轻,暗示了HMGB1-RAGE信号通路介导的炎症反应与心肌I/R损伤有关^[11]。同样的, Wang等^[12]发现远程缺血后处理(remote ischemic postconditioning, RIPostC),即在长时间缺血后心脏血流恢复之前在远端血管应用多次短暂的I/R处理,通过抑制HMGB1-RAGE信号通路的激活,减少了心肌梗死范围并且抑制氧化应激,改善了心脏功能,从而减轻心肌I/R损伤。最近的研究表明脾脏作为一个重要的免疫器官也参与了心肌I/R损伤,切除脾脏降低了缺血40 min再灌注60 min后小鼠的心肌中性粒细胞浸润和梗死范围。但是,在输入缺血40 min的心脏匀浆上清液的I/R损伤小鼠中,心肌梗死范围进一步增加,而通过免疫沉淀除去心脏上清液中的HMGB1可以抵消这种损伤效应,并且在使用基因敲除RAGE的小鼠和敲除RAGE的脾细胞处理脾脏切除小鼠中也发现了类似的结果^[13],暗示了在心肌I/R损伤中存在有HMGB1-RAGE信号通路介导的心-脾

轴。在此基础上,游离DNA和HMGB1也被发现在加剧心肌I/R损伤和增加心肌梗死范围上具有协同作用,但是这种不利影响在脾脏切除或RAGE基因敲除后明显减轻^[14]。上述研究强调了心-脾轴以及HMGB1-RAGE信号通路对于心肌I/R损伤的重要性,为心肌I/R损伤的治疗提供了新的方向。

2.2 HMGB1-TLR2/4信号通路在心肌I/R损伤中的作用

TLR4作为模式识别受体家族成员识别HMGB1介导炎症反应。在心肌I/R大鼠模型中发现心肌组织中HMGB1和TLR4表达均上调,间质中伴有大量炎症细胞浸润^[15]。而在TLR4缺乏的小鼠中或使用TLR4抑制剂后发现,心脏中的中心粒细胞和单核-巨噬细胞浸润减少伴随HMGB1和炎症因子表达水平降低,心肌I/R损伤减轻^[16-17]。除了上述常见的炎症细胞参与心肌损伤外, Xue等^[18]发现树突状细胞加重了心肌I/R损伤并扩大心肌梗死范围的过程也受到HMGB1-TLR4信号通路的调节。因此, HMGB1可以通过各种炎症细胞介导的炎症反应参与心肌损伤。最近有研究表明 α 2-肾上腺素能受体也与心脏炎症有关,他们使用 α 2-肾上腺素能受体激动剂右旋美托咪啶预处理心肌I/R小鼠,结果显示在损伤的心肌中HMGB1和TLR4的表达均降低,心脏炎症反应减轻,而这种保护作用在使用 α 2-肾上腺素能受体拮抗剂或心脏过表达HMGB1后消失^[19-20]。值得注意的是,远端缺血预处理(remote ischemic preconditioning, RIPC)也可以通过抑制HMGB1-TLR4信号通路对心脏提供保护作用,并且这种作用在联合应用七氟醚后更加明显^[21]。因此, RIPostC和RIPC都可以产生抗炎作用而减轻心肌I/R损伤^[12, 21],但是这种方式依赖的信号通路还需要进一步的探究。此外,细胞凋亡也在心肌I/R损伤中发挥作用,激活HMGB1-TLR4信号通路可以促进心肌细胞凋亡,加重心肌I/R损伤^[18, 22]。然而,随着研究的深入, HMGB1与TLR4结合介导炎症反应的分子机制被阐明:首先, A box与TLR4/MD-2复合物上的TLR4结合,待A box与TLR4结合紧密后B box又与MD-2结合,最终形成HMGB1/TLR4/MD-2复合物,两个复合物形成一个二聚体,活化HMGB1-TLR4信号通路,促进炎症因子的释放^[6]。因此,干预上述复合体形成可能为心肌I/R损伤提供了新的治疗靶点。

类似于TLR4, TLR2也可以与HMGB1结合介导炎症反应,但是这个过程不依赖于MD-2。重要的是,使用TLR2的单克隆抗体OPN-301能选择性地抑制免疫细胞的TLR2,减轻心肌免疫细胞浸润和炎症反应,改善心肌I/R损伤并保护心脏功能^[23]。在

此基础上,单克隆抗体 OPN-305 在大型动物模型上被证实有效,它可显著降低梗死范围,并且改善猪 I/R 模型的心肌收缩能力^[24],因此其具有极大的临床应用潜力。类似的结果也出现在基因敲除 TLR2 的小鼠中,使用 A box 处理 TLR2 缺乏的小鼠发现心肌梗死范围和肌钙蛋白水平没有明显的改变^[25],暗示了 HMGB1 在心肌 I/R 损伤中发挥作用是依赖于 TLR2 的。

2.3 HMGB1 在缺血性心肌病中的保护作用 随着对 HMGB1 研究的深入,有研究发现 HMGB1 也能促进组织再生、修复和血管生成,因此改善心肌梗死后左心室功能^[26]。进一步的研究表明,在心梗死后注射外源性 HMGB1 可激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,上调的 β -catenin 促进成纤维细胞的迁移和增殖,有助于改善和修复缺血的心肌^[27-28]。此外, HMGB1 预处理能够抑制炎症反应和氧化应激,减轻心肌 I/R 损伤,而且这种心脏保护作用与 HMGB1 预处理的剂量呈正相关^[29]。最近的研究发现了在心肌缺血期间,机体会产生一种关键的转录因子 HIF-1 α ,它不仅能促进血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的产生^[30],还可以抑制心肌细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)的过度积累,对心肌产生有利的影响^[31]。基于 HIF-1 α 对心脏的保护作用,Zhou 等^[32]首次报道在心肌缺血前 30 min 静脉注射 HMGB1 增加了 HIF-1 α 的表达,心肌 I/R 损伤减轻,暗示了 HMGB1 通过上调心肌 HIF-1 α 蛋白的表达而发挥其心脏保护作用。并且随着 HMGB1 预处理剂量的增加,心肌梗死范围明显降低,心脏功能显著改善,这表明 HIF-1 α 表达保护心肌细胞的程度依赖于 HMGB1 预处理的剂量。类似的,另外的研究表明心肌 HIF-1 α 的表达与 PI3K/Akt 信号通路密切相关, HMGB1 预处理可以增强蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt) 磷酸化,导致 HIF-1 α 及其下游分子 VEGF 表达上调,从而改善心肌 I/R 损伤,而使用磷酸肌醇 3-激酶(phosphoinositide 3-kinases, PI3K)抑制剂抑制 Akt 磷酸化可以降低 HIF-1 α 和 VEGF 的表达,导致心肌保护作用减弱^[33-34]。不仅如此, HMGB1 预处理还能通过抑制 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)的磷酸化对心肌产生保护作用。总之, HMGB1 可以通过多条信号通路发挥保护作用,但是其信号机制还需要进一步的研究。

3 小结与展望

综上所述, HMGB1 作为一种炎症介质通过多条通路参与心肌 I/R 损伤,然而, HMGB1 对心肌也具有保护作用,不仅可以减轻心肌 I/R 损伤,还促进心肌

梗死后的新生血管生成,诱导心肌细胞自噬,改善左心室功能^[35-36]。目前,研究人员认为造成这种现象的原因如下:(1)与 HMGB1 的亚细胞定位有关(胞核、胞质和胞外);(2)与 HMGB1 的氧化还原状态有关(还原型 HMGB1、二硫键型 HMGB1 和氧化型 HMGB1);(3)与 HMGB1 的处理时间相关(预处理、后处理);(4)与 HMGB1 的剂量相关(低剂量、高剂量),但是以上原因的具体机制以及如何在 HMGB1 的保护作用和损伤作用之间寻求一个平衡,将保护作用最大化还需待进一步探讨。所以说 HMGB1 在心肌 I/R 损伤中发挥双重作用,因此还需要大量实验验证 HMGB1 在缺血性心肌病中的应用潜力及安全性。

参考文献

- [1] ELTZSCHIG HK, ECKLE T. Ischemia and reperfusion-from mechanism to translation [J]. Nat Med, 2011, 17(11): 1391-1401.
- [2] VANPATTEN S, AL-ABED Y. High Mobility Group Box-1 (HMGB1): current wisdom and advancement as a potential drug target [J]. J Med Chem, 2018, 61(12): 5093-5107.
- [3] SESSA L, BIANCHI ME. The evolution of High Mobility Group Box (HMGB) chromatin proteins in multicellular animals [J]. Gene, 2007, 387(1/2): 133-140.
- [4] YANG H, LIU H, ZENG Q, et al. Inhibition of HMGB1/RAGE-mediated endocytosis by HMGB1 antagonist box A, anti-HMGB1 antibodies, and cholinergic agonists suppresses inflammation [J]. Mol Med, 2019, 25(1): 13.
- [5] SUN S, HE MZ, VANPATTEN S, et al. Mechanistic insights into high mobility group box-1 (HMGB1)-induced Toll-like receptor 4 (TLR4) dimer formation [J]. J Biomol Struct Dyn, 2019, 37(14): 3721-3730.
- [6] HE M, BIANCHI ME, COLEMAN TR, et al. Exploring the biological functional mechanism of the HMGB1/TLR4/MD-2 complex by surface plasmon resonance [J]. Mol Med, 2018, 24(1): 31.
- [7] BIANCHI ME, CRIPPA MP, MANFREDI AA, et al. High-mobility group box 1 protein orchestrates responses to tissue damage via inflammation, innate and adaptive immunity, and tissue repair [J]. Immunol Rev, 2017, 280(1): 74-82.
- [8] 熊焱强, 李会, 王珂, 等. 高迁移率族蛋白 B1 与宫颈癌相关性的研究进展 [J]. 安徽医药, 2019, 23(12): 2333-2336.
- [9] TEKIN D, DURSUN AD, XI L. Hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) and cardioprotection [J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31(9): 1085-1094.
- [10] BUCCIARELLI LG, KANEKO M, ANANTHAKRISHNAN R, et al. Receptor for advanced-glycation end products: key modulator of myocardial ischemic injury [J]. Circulation, 2006, 113(9): 1226-1234.
- [11] ANDRASSY M, VOLZ HC, IGWE JC, et al. High-mobility group box-1 in ischemia-reperfusion injury of the heart [J]. Circulation, 2008, 117(25): 3216-3226.
- [12] WANG XM, WANG JH, TU TT, et al. Remote ischemic postcon-

- ditioning protects against myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibition of the RAGE-HMGB1 pathway[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018; 4565630. DOI: 10.1155/2018/4565630.
- [13] TIAN YK, PAN DF, CHORDIA MD, et al. The spleen contributes importantly to myocardial infarct exacerbation during post-ischemic reperfusion in mice via signaling between cardiac HMGB1 and splenic RAGE[J]. *Basic Res Cardiol*, 2016, 111(6): 62.
- [14] TIAN Y, CHARLES EJ, YAN Z, et al. The myocardial infarct-exacerbating effect of cell-free DNA is mediated by the high-mobility group box 1-receptor for advanced glycation end products-Toll-like receptor 9 pathway[J/OL]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2019, 157(6):2256-2269.e3. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2018.09.043.
- [15] 夏杰, 薛继阳, 陈凯, 等. 高迁移率族蛋白B1在大鼠心肌缺血再灌注损伤信号传导通路中的作用[J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(40): 3268-3273.
- [16] DING HS, YANG J, GONG FL, et al. High mobility group [corrected] box 1 mediates neutrophil recruitment in myocardial ischemia-reperfusion injury through toll like receptor 4-related pathway[J]. *Gene*, 2012, 509(1):149-153.
- [17] FUJIWARA M, MATOBA T, KOGA JI, et al. Nanoparticle incorporating Toll-like receptor 4 inhibitor attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting monocyte-mediated inflammation in mice[J]. *Cardiovasc Res*, 2019, 115(7): 1244-1255.
- [18] XUE JY, GE HW, LIN ZY, et al. The role of dendritic cells regulated by HMGB1/TLR4 signalling pathway in myocardial ischemia reperfusion injury [J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(4): 2849-2862.
- [19] ZHANG JJ, PENG K, ZHANG J, et al. Dexmedetomidine preconditioning may attenuate myocardial ischemia/reperfusion injury by down-regulating the HMGB1-TLR4-MyD88-NF- κ B signaling pathway[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(2): e0172006. DOI: 10.1371/journal.pone.0172006.
- [20] ZHANG J, XIA F, ZHAO HF, et al. Dexmedetomidine-induced cardioprotection is mediated by inhibition of high mobility group box-1 and the cholinergic anti-inflammatory pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury[J/OL]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0218726. DOI: 10.1371/journal.pone.0218726.
- [21] ZHANG J, ZHANG J, YU P, et al. Remote ischaemic preconditioning and sevoflurane preconditioning synergistically protect rats from myocardial injury induced by ischemia and reperfusion partly via inhibition TLR4/MyD88/NF- κ B Signaling Pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(1): 22-32.
- [22] DING HS, YANG J, CHEN P, et al. The HMGB1-TLR4 axis contributes to myocardial ischemia/reperfusion injury via regulation of cardiomyocyte apoptosis [J]. *Gene*, 2013, 527(1): 389-393.
- [23] ARSLAN F, SMEETS MB, O'NEILL LAJ, et al. Myocardial ischemia/reperfusion injury is mediated by leukocytic Toll-like receptor-2 and reduced by systemic administration of a novel anti-Toll-like receptor-2 antibody[J]. *Circulation*, 2010, 121(1): 80-90.
- [24] ARSLAN F, HOUTGRAAF JH, KEOGH B, et al. Treatment with OPN-305, a humanized anti-Toll-like receptor-2 antibody, reduces myocardial ischemia/reperfusion injury in pigs[J]. *Circ Cardiovasc Interv*, 2012, 5(2): 279-287.
- [25] MERSMANN J, ISKANDAR F, LATSCH K, et al. Attenuation of myocardial injury by HMGB1 blockade during ischemia/reperfusion is Toll-like receptor 2-dependent[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 174168. DOI: 10.1155/2013/174168.
- [26] BAUZA MDR, GIMENEZ CS, LOCATELLI P, et al. High-dose intramyocardial HMGB1 induces long-term cardioprotection in sheep with myocardial infarction [J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2019, 9(5): 935-944.
- [27] HAYBAR H, KHODADI E, SHAHRABI S. Wnt/catenin in ischemic myocardium: interactions and signaling pathways as a therapeutic target[J]. *Heart Fail Rev*, 2019, 24(3): 411-419.
- [28] ZHOU X, HU X, XIE J, et al. Exogenous high-mobility group box 1 protein injection improves cardiac function after myocardial infarction: involvement of Wnt signaling activation[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 743879. DOI: 10.1155/2012/743879.
- [29] ZHANG D Y, ZHANG A X, ZHOU Y H, et al. Protection of intravenous HMGB1 on myocardial ischemia reperfusion injury[J]. *Int J Cardiol*, 2015, 184: 280-282.
- [30] DONG J, XU M, ZHANG W, et al. Effects of sevoflurane pretreatment on myocardial ischemia-reperfusion injury through the Akt/hypoxia-inducible factor 1-alpha (HIF-1alpha)/vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway [J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25: 3100-3107.
- [31] NANAYAKKARA G, ALASMARI A, MOULI S, et al. Cardioprotective HIF-1alpha-frataxin signaling against ischemia-reperfusion injury[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 309(5): H867-H879.
- [32] ZHOU YH, HAN QF, WANG LH, et al. High mobility group box 1 protein attenuates myocardial ischemia reperfusion injury via inhibition of the p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(2): 1582-1588.
- [33] YAO HC, ZHOU M, ZHOU YH, et al. Intravenous high mobility group box 1 upregulates the expression of HIF-1alpha in the myocardium via a protein kinase B-dependent pathway in rats following acute myocardial ischemia[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(2): 1211-1219.
- [34] ZHOU YH, HAN QF, GAO L, et al. HMGB1 Protects the heart against ischemia-reperfusion injury via PI3K/AKT pathway-mediated upregulation of VEGF expression [J]. *Front Physiol*, 2019, 10:01595. DOI: 10.3389/fphys.2019.01595.
- [35] DI MAGGIO S, MILANO G, DE MARCHIS F, et al. Non-oxidizable HMGB1 induces cardiac fibroblasts migration via CXCR4 in a CXCL12-independent manner and worsens tissue remodeling after myocardial infarction [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(11):2693-2704.
- [36] FOGLIO E, PUDDIGHINU G, GERMANI A, et al. HMGB1 Inhibits apoptosis following MI and induces autophagy via mTORC1 Inhibition[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(5): 1135-1143.

(收稿日期:2020-08-26,修回日期:2020-10-18)