

## 高迁移率族蛋白 B1 与自噬的关系

侯聪聪, 刘宏斌, 肖湖南, 于 茜  
解放军总医院 南楼心血管内科, 北京 100853

**摘要:** 高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1) 是一种多功能的核相关蛋白, 自噬是一种程序性细胞生存方式。目前多项研究发现, HMGB1 与自噬存在复杂的关系。在组织与细胞中, HMGB1 可以作为重要的介质通过一系列信号通路、在不同水平上调控自噬, 进一步引起细胞相应的功能和结构改变。本文就 HMGB1 与自噬的关系进行简要论述。

**关键词:** 高迁移率族蛋白 B1; 自噬; 细胞学

**中图分类号:** R 34 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-5227(2016)06-0671-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.2095-5227.2016.06.038  
**网络出版时间:** 2016-03-17 10:00 **网络出版地址:** http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3275.R.20160317.1000.004.html

### Relationship between HMGB1 and autophagy

HOU Congcong, LIU Hongbin, XIAO Hu'nan, YU Qian

Department of Geriatric Cardiology, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: LIU Hongbin. Email: liuhbin301@sohu.com

**Abstract:** High mobility group box-1 protein (HMGB1) is a type of nuclear-related protein with various functions, and autophagy is a programmed cell survival mode. Currently, a number of studies have found the presence of a complex relationship between HMGB1 and autophagy. In tissues and cells, HMGB1 can serve as an important medium which regulates autophagy through a series of signaling pathways at different levels, which therefore causes corresponding changes in cell function and structure. In this paper, the relationship between HMGB1 and autophagy will be discussed briefly.

**Keywords:** high mobility group box-1 protein; autophagy; cytology

高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1) 于 1973 年被 Johns 等发现, 因其在聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 中迁移速度快而得名。其高度保守, 在哺乳动物中具有 99% 的同源性, 是一种含有 215 个氨基酸残基的单链多肽, N 端富含带正电荷的赖氨酸, C 末端富含带负电荷的天冬氨酸和谷氨酸, 又称酸性尾巴, 分子量约为 24 894 U<sup>[1]</sup>。该蛋白具有 2 个 DNA 结合 HMG-box 区域 (A box 和 B box)。结构功能分析显示 HMGB1 的 B box 是炎症的功能区域, A box 是 B box 的拮抗位点。A box 和 B box 都能够与 DNA 结合, 并参与 DNA 双链的折叠与扭曲<sup>[1]</sup>。HMGB1 普遍存在于哺乳动物组织细胞中, 作为 DNA 分子伴侣参与 DNA 相关过程 (如复制、转录、重组、修复), 主要在淋巴组织、睾丸、胸腺和新生儿的肝中高表达。HMGB1 是非组蛋白染色体结合蛋白的一种, 一般定位于核内, 但在不同的应激环境下, HMGB1 可以作为应激传感器, 从核内转移至细胞质, 之后被释放到细胞外, 参与细胞发育、分化、迁移和细胞死亡等生理、病理过程。以前人们比较关注 HMGB1 作为核蛋白的功能, 近来人们发现其除了在免疫和炎症过程中发挥重要作用, 还

可作为一种调节因子影响细胞自噬。自噬是一种程序性细胞生存方式, 细胞吞噬自身胞质蛋白或细胞器, 使其包裹进入囊泡, 然后与溶酶体融合形成自噬溶酶体, 最后降解其所包裹的内容物。细胞借此满足本身的代谢需要并更新某些细胞器。同时, 自噬也可选择性或非选择性降解病原体<sup>[2-3]</sup>。当细胞所生存的微环境发生变化时 (如氧化应激、能量缺乏或者是受到了细胞毒性物质攻击等), 细胞自噬的水平会大幅度上调, 形成自噬流 (autophagic flow), 这时的自噬是细胞应对不利因素的一个重要的适应方式<sup>[4-6]</sup>。动物细胞自噬主要可分为 3 种方式<sup>[7]</sup>: 巨自噬 (macroautophagy)、微自噬 (microautophagy) 和分子伴侣介导的自噬 (chaperone-mediated autophagy)。本文中的自噬都指巨自噬。这个过程主要被自噬相关蛋白 (autophagy associated gene, ATG) 家族控制, 也受到其他通路和细胞死亡调控的影响<sup>[8]</sup>。近年来, 更多证据支持不依赖 ATG 通路的自噬的存在, 让自噬机制更加复杂<sup>[9-10]</sup>。本文拟对涉及 HMGB1 与自噬关系的相关文献进行简要论述, 为进一步研究提供理论基础, 也为治疗疾病提供新的思路 and 手段。

#### 1 HMGB1 对组织细胞自噬水平及细胞功能的影响

研究发现, HMGB1 在不同器官和组织中对自噬和应激反应的影响不同。HMGB1 全敲除小鼠刚出生不久即死亡, 提示 HMGB1 在维持生命方面有着重要的作用<sup>[11]</sup>。胰腺<sup>[12]</sup>、肝<sup>[13-14]</sup>、心脏<sup>[14-15]</sup>、骨髓<sup>[16]</sup> 敲除 HMGB1 的小鼠均能存活, 在未遇到应激原的自然生长状态下, 不会出现诸如致死性低血糖症和能量代谢缺陷等严重缺陷。然而, 这

收稿日期: 2015-12-29

基金项目: 全军“十二五”医药卫生专项科研基金 (11BJZ19)

Supported by the "12th Five-Year" Medical Science Research Foundation of PLA (11BJZ19)

作者简介: 侯聪聪, 女, 在读博士。研究方向: 冠心病的诊治。

Email: lucy121@sina.com

通信作者: 刘宏斌, 男, 主任医师。Email: liuhbin301@sohu.com

些小鼠在遇到不同应激原时,自噬和细胞生存方面有不同甚至相反的表现,如敲除胰腺HMGB1的小鼠对无菌性炎症更敏感,给予脂多糖刺激时自噬下调<sup>[12]</sup>;Huebener等<sup>[14]</sup>发现敲除线粒体极为丰富的小鼠肝细胞和心肌细胞HMGB1,并不影响线粒体的结构和功能,也不影响器官功能和长期生存;Kitahara等<sup>[15]</sup>则发现敲除心肌细胞HMGB1的小鼠能通过自噬减少心肌梗面积,保存更多心肌细胞,从而保护了心肌收缩能力,改善了心功能;Yanai等<sup>[16]</sup>敲除小鼠巨噬细胞HMGB1,发现HMGB1能通过促进自噬来保护小鼠,减轻脂多糖或者L. monocytogenes诱导的内毒素血症和细菌感染;肿瘤细胞释放的HMGB1可通过诱导肌肉组织的自噬来维持肿瘤生长所需的无氧能量(即Warburg效应)<sup>[17]</sup>。

## 2 HMGB1依赖性自噬的机制

**2.1 转移至细胞质中的HMGB1与自噬** HMGB1因自噬刺激因素(过氧化氢、雷帕霉素、缺氧、饥饿)转移至细胞质,在细胞质内发挥作用,提升细胞的自噬水平。Kang等<sup>[18]</sup>报道,用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理小鼠胚胎成纤维细胞后,促分裂素原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)发生磷酸化后激活,导致细胞核内DNA受损或DNA的稳定性破坏,激活了DNA修复酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)。这一系列过程导致HMGB1从染色质上解离,通过与出核因子结合,从细胞核内释放入细胞质。Tang等<sup>[19]</sup>报道小鼠胚胎成纤维细胞在自噬刺激因素(过氧化氢)作用下,细胞核内HMGB1转移至细胞质后,直接与自噬因子BECN1结合,将BECN1从凋亡抑制因子Bcl-2中分离,通过促进BECN1和Ⅲ型磷酸肌醇3激酶(PI3K Class Ⅲ)/Vsp34结合,激活自噬<sup>[19]</sup>。Zhu等<sup>[20]</sup>报道,炎症性肠病中细胞质内的HMGB1通过保护BECN1和ATG5免于钙蛋白酶降解来调控自噬和凋亡。HMGB1蛋白A-box的C23、C45位点是半胱氨酸位点,如果其巯基脱氢形成二硫键(如被氧化),HMGB1就会失去调节自噬的能力,因为HMGB1正是在这两个位点上与BECN1以二硫桥的形式结合,从而促使BECN1与Bcl-2分离。HMGB1如果不能连接BECN1,就不能打断Bcl-2与BECN1互动从而调控自噬<sup>[19,21]</sup>。HMGB1被氧化后,不仅丧失诱导自噬的能力,还能增加刺激(如氧化应激、化疗药物)对细胞的毒性,经由线粒体途径诱导细胞的凋亡和坏死,最终导致细胞死亡。通过增加BECN1介导的自噬而产生的还原性HMGB1可减少肿瘤内细胞损伤及死亡<sup>[22]</sup>。由此可见,不同的HMGB1氧化还原状态,可以导致其发挥完全不同的细胞效应,这可能是HMGB1促进细胞自噬和促进细胞凋亡之间信息转换的分水岭。此外,值得注意的是HMGB1-BECN1复合体的转录、转录后、翻译后、蛋白质-蛋白质反应水平似乎被严密调控,如ULK1(unc-51样自噬激活酶1)<sup>[22]</sup>和MAPK(分裂素激活蛋白酶)<sup>[19]</sup>。

**2.2 细胞内HMGB1与线粒体自噬** HMGB1通过调节小鼠胚胎成纤维细胞、肿瘤细胞株HSPB1(热休克蛋白1, 27 kU, 也被称为HSP27)的表达调节线粒体自噬<sup>[23]</sup>。Narumi等<sup>[24]</sup>发现无论是在体内还是体外,心肌细胞中HMGB1可以增加HSPB1的表达从而减轻阿霉素诱导性心脏病中心肌

细胞的凋亡。作为一个细胞骨架调节因子,HSPB1在15位和86位的丝氨酸磷酸化后被激活,激活的HSPB1对于细胞微丝骨架的聚合和重构有重要的影响,从而对细胞自噬和线粒体自噬时的细胞内膜结构动态转运发挥作用。此外,HSPB1阻止一些凋亡因子和线粒体的结合,从而抑制了Cyt C的释放,还可以与前Caspase-3结合,抑制其活性,负向调节该通路,从而抑制细胞凋亡的发生<sup>[25]</sup>。Matsumoto等<sup>[26]</sup>发现在急性肾损伤时,肾小管细胞内增加的HSPB1能够增加自噬流、抑制凋亡。以上多项研究反映了HMGB1可以通过调节HSPB1表达水平来调节线粒体自噬。

**2.3 细胞外HMGB1与自噬** 细胞外HMGB1可以通过AGER/RAGE轴诱导自噬和肿瘤生长<sup>[27]</sup>。HMGB1可以通过2种方式进入细胞外间隙:主动分泌或者在细胞发生坏死时的被动释放。进入细胞外间隙的HMGB1主要是通过糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation endproducts, RAGE)结合来调节细胞自噬的过程<sup>[28]</sup>。HMGB1介导的自噬为RAGE/Beclin1依赖性,与TLR4无关<sup>[22]</sup>。Kang等<sup>[29]</sup>报道,在胰腺癌细胞中,HMGB1与RAGE受体结合后,通过抑制mTOR C1的磷酸化激活来调节自噬的启动步骤;同时p53在细胞质内的聚集受到抑制从而抵消细胞质中p53抑制自噬的作用,间接促进自噬。HMGB1通过PI3K/AKT/mTOR轴调节白血病细胞的自噬反应,从而影响了白血病的化疗敏感性。此外,HMGB1与RAGE结合后,可以激活细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)。激活的ERK可以激活死亡相关蛋白激酶(death-associated protein kinase, DAPK),使BECN1磷酸化,推动BECN1与Bcl-2分离,从而调节细胞自噬水平<sup>[30-31]</sup>。

## 3 HMGB1非依赖性自噬

与Tang等的报道相反,RobertSchwabe实验室的Huebener等<sup>[14]</sup>报道在非转化肝细胞中HMGB1对线粒体或自噬来说可能不是必需的,肝中缺失HMGB1无不良影响。研究者们建立了肝HMGB1敲除小鼠模型,将这些小鼠禁食24 h,发现饥饿刺激后肝HMGB1敲除小鼠的肝细胞自噬水平、细胞凋亡情况和对照组无明显差异,提示肝存在HMGB1非依赖性自噬<sup>[14]</sup>。但该研究中的肝HMGB1敲除小鼠,其肝HMGB1 mRNA水平下降约90%,蛋白水平下降了约72%<sup>[14]</sup>,并未完全消失。因此,自噬也可能与HMGB1蛋白水平相关,低HMGB1水平可能仍然维持了自噬通路的激活。

## 4 结语

HMGB1依赖的自噬在不同组织、不同细胞中对细胞功能、细胞生存的影响有很大差异。针对HMGB1的靶向治疗可以为炎症、癌症、氧化应激、无菌损伤等疾病的治疗开辟一个新方向。总而言之,全面理解HMGB1依赖和非依赖的自噬能够帮助理解应激反应的发生及其对机体的影响,可以引导对HMGB1的治疗性干预的研究,为临床治疗提供新的思路。

## 参考文献

- 1 Goodwin GH, Sanders C, Johns EW. A new group of chromatin-associated proteins with a high content of acidic and basic amino acids

- [J]. *Eur J Biochem*, 1973, 38 (1): 14–19.
- 2 Klionsky DJ, Emr SD. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation [J]. *Science*, 2000, 290 (5497): 1717–1721.
  - 3 Mizushima N. Autophagy: process and function [J]. *Genes Dev*, 2007, 21 (22): 2861–2873.
  - 4 Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion [J]. *Nature*, 2008, 451 (7182): 1069–1075.
  - 5 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease [J]. *Cell*, 2008, 132 (1): 27–42.
  - 6 Corcelle EA, Puustinen P, Jäättelä M. Apoptosis and autophagy: Targeting autophagy signalling in cancer cells – ‘trick or treats’? [J]. *FEBS J*, 2009, 276 (21): 6084–6096.
  - 7 Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: cellular and molecular mechanisms [J]. *J Pathol*, 2010, 221 (1): 3–12.
  - 8 Yang ZF, Klionsky DJ. Mammalian autophagy: core molecular machinery and signaling regulation [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22 (2): 124–131.
  - 9 Nishida Y, Arakawa S, Fujitani K, et al. Discovery of Atg5/Atg7-independent alternative macroautophagy [J]. *Nature*, 2009, 461 (7264): 654–658.
  - 10 Klionsky DJ, Abdalla FC, Abeliovich H, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy [J]. *Autophagy*, 2012, 8 (4): 445–544.
  - 11 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 (3): 276–280.
  - 12 Kang R, Zhang Q, Hou W, et al. Intracellular Hmgb1 inhibits inflammatory nucleosome release and limits acute pancreatitis in mice [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146 (4): 1097–1107.
  - 13 Huang H, Nace GW, Mcdonald KA, et al. Hepatocyte-specific high-mobility group box 1 deletion worsens the injury in liver ischemia/reperfusion: a role for intracellular high-mobility group box 1 in cellular protection [J]. *Hepatology*, 2014, 59 (5): 1984–1997.
  - 14 Huebener P, Gwak GY, Pradere JP, et al. High-mobility group box 1 is dispensable for autophagy, mitochondrial quality control, and organ function in vivo [J]. *Cell Metab*, 2014, 19 (3): 539–547.
  - 15 Kitahara T, Takeishi Y, Harada M, et al. High-mobility group box 1 restores cardiac function after myocardial infarction in transgenic mice [J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 80 (1): 40–46.
  - 16 Yanai H, Matsuda A, An J, et al. Conditional ablation of HMGB1 in mice reveals its protective function against endotoxemia and bacterial infection [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110 (51): 20699–20704.
  - 17 Luo Y, Yoneda J, Ohmori H, et al. Cancer usurps skeletal muscle as an energy repository [J]. *Cancer Res*, 2014, 74 (1): 330–340.
  - 18 Kang R, Livesey KM, Zeh HJ, et al. HMGB1 as an autophagy sensor in oxidative stress [J]. *Autophagy*, 2011, 7 (8): 904–906.
  - 19 Tang D, Kang R, Livesey KM, et al. Endogenous HMGB1 regulates autophagy [J]. *J Cell Biol*, 2010, 190 (5): 881–892.
  - 20 Zhu X, Messer JS, Wang Y, et al. Cytosolic HMGB1 controls the cellular autophagy/apoptosis checkpoint during inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2015, 125 (3): 1098–1110.
  - 21 Tang D, Loze MT, Zeh HJ, et al. The redox protein HMGB1 regulates cell death and survival in cancer treatment [J]. *Autophagy*, 2010, 6 (8): 1181–1183.
  - 22 Huang J, Ni J, Liu K, et al. HMGB1 promotes drug resistance in osteosarcoma [J]. *Cancer Res*, 2012, 72 (1): 230–238.
  - 23 Tang D, Kang R, Livesey KM, et al. High-mobility group box 1 is essential for mitochondrial quality control [J]. *Cell Metab*, 2011, 13 (6): 701–711.
  - 24 Narumi T, Shishido T, Otaki Y, et al. High-mobility group box 1-mediated heat shock protein beta 1 expression attenuates mitochondrial dysfunction and apoptosis [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2015, 82: 1–12.
  - 25 Concannon CG, Orrenius S, Samali A. Hsp27 inhibits cytochrome c-mediated caspase activation by sequestering both pro-caspase-3 and cytochrome c [J]. *Gene Expr*, 2001, 9 (4/5): 195–201.
  - 26 Matsumoto T, Urushido M, Ide H, et al. Small heat shock protein beta-1 (HSPB1) is upregulated and regulates autophagy and apoptosis of renal tubular cells in acute kidney injury [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (5): e0126229.
  - 27 Tang D, Kang R, Cheh CW, et al. HMGB1 release and redox regulates autophagy and apoptosis in cancer cells [J]. *Oncogene*, 2010, 29 (38): 5299–5310.
  - 28 Kang R, Tang D, Loze MT, et al. Apoptosis to autophagy Switch triggered by the MHC class III-encoded receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) [J]. *Autophagy*, 2011, 7 (1): 91–93.
  - 29 Kang R, Tang D, Schapiro NE, et al. The receptor for advanced glycation end products (RAGE) sustains autophagy and limits apoptosis, promoting pancreatic tumor cell survival [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17 (4): 666–676.
  - 30 Liu L, Yang M, Kang R, et al. DAMP-mediated autophagy contributes to drug resistance [J]. *Autophagy*, 2011, 7 (1): 112–114.
  - 31 Zhao M, Yang M, Yang L, et al. HMGB1 regulates autophagy through increasing transcriptional activities of JNK and ERK in human myeloid leukemia cells [J]. *BMB Rep*, 2011, 44 (9): 601–606.