

高迁移率族蛋白1介导自噬发生机制的研究进展

孙 鹏 宋锦宁*

(西安交通大学医学院第一附属医院神经外科, 西安 710061)

摘要 自噬(autophagy)被认为是细胞的程序性存活过程, 是细胞维持能量内稳态和应对细胞毒性物质作用的一个非常重要的生物过程。高迁移率族蛋白1(high-mobility group protein 1, HMGB1)是一个经典的损伤相关模式分子, 人们已对其促进炎症反应、细胞分化等方面进行了深入的研究。新近的研究表明, HMGB1的表达能对细胞自噬的水平产生重要的影响。该文主要综述了HMGB1在介导细胞自噬过程中的作用机制。

关键词 高迁移率族蛋白1; 自噬; 信号通路

Research Progress on Mechanism of High-mobility Group Protein 1(HMGB1)-mediated Autophagy

Sun Peng, Song Jinning*

(Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital, Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China)

Abstract Autophagy is recognized as “programmed cell survival”. Autophagy is also a catabolic process, which is critical to maintaining cellular homeostasis and responding to cytotoxic insult. High-mobility group protein 1 (HMGB1) is a classical damage associated pattern molecule. A lot of findings demonstrate that HMGB1 can promote inflammatory response and cell differentiation. But, recent studies have shown that the expression of HMGB1 has a significant impact on the level of autophagy. This review focuses on recent progress concerning the mechanism of HMGB1-mediated autophagy.

Key words HMGB1; autophagy; signaling pathway

1 引言

自噬(autophagy)被认为是细胞的程序性存活过程, 是细胞维持能量内稳态和应对细胞毒性物质作用的一个非常重要的生物过程。自噬一词源于希腊语, 意思是“自己吃自己”。首先是由克里斯汀·德·迪夫提出来的, 他通过在鼠肝脏灌注胰高血糖素后发现肝细胞内线粒体及其他细胞器开始出现降解^[1]。根据细胞内底物运送到溶酶体内方式的不同, 哺乳动物细胞自噬主要可分为三种方式^[2]: 巨自噬(mac-

roautophagy)、微自噬(microautophagy)和分子伴侣介导的自噬(chaperone-mediated autophagy)。微自噬: 是指溶酶体主动、直接吞噬胞浆成分的一种方式。分子伴侣介导的自噬: 靶蛋白要在一些分子伴侣(如hsc70)的帮助下才能穿过溶酶体膜最终转位入溶酶体。本文介绍的自噬都指巨自噬。高迁移率族蛋白1(high-mobility group protein 1, HMGB1)是一个经典的损伤相关模式分子, 人们已对其促进炎症反应, 细胞分化等方面进行了深入的研究。新近的研究表明,

收稿日期: 2013-01-07 接受日期: 2013-04-08

教育部新世纪优秀人才支持计划(批准号: NCET-05-0831)资助的课题

*通讯作者。Tel: 029-85323983, E-mail: jinnings@126.com

Received: January 7, 2013 Accepted: April 8, 2013

This work was supported by Program for New Century Excellent Talents in University (Grant No.NCET-05-0831)

*Corresponding author. Tel: +86-29-85323983, E-mail: jinnings@126.com

网络出版时间: 2013-06-21 14:30 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20130621.1430.003.html>

HMGB1的表达能对细胞自噬的水平产生重要的影响。现就HMGB1在细胞自噬过程中的作用机制作一综述, 以期对相关研究的开展提供参考。

2 自噬的功能

细胞在正常生理状态下, 可以保持一定低水平的自噬, 这时自噬扮演着“管家”的角色, 通过形成隔离膜包裹细胞质、细胞器等物质形成自噬体, 再通过微管系统与溶酶体结合成自噬溶酶体, 将细胞内无用的大分子如长寿蛋白、错误聚集或错误折叠的蛋白质, 以及受损或多余的细胞器比如线粒体、内质网或者过氧化物酶体等降解成有活性的小分子以重新利用, 以维持细胞内环境稳定。当细胞的微环境发生变化时, 如能量缺乏、氧化应激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*), 这时候的自噬是细胞在应对能量缺乏等不利条件下的一个重要的适应方式^[3-5]。

自噬的激活对于细胞保持生命力有着积极的不可替代的作用, 自噬已经被看做是有益于细胞生存的一种机制^[6-8]。但是, 科学家在研究细胞死亡的过程中发现, 一些细胞在死亡前胞浆中存在大量的自噬体或自噬溶酶体, 这样的细胞缺乏凋亡的典型特点, 如核固缩、核破裂、细胞皱缩、没有凋亡小体的形成等, 被称为自噬样细胞死亡(*autophagic cell death, ACD*), 并且被人们认为是一种新的细胞死亡方式。因此一些学者以ACD存在为由, 坚持自噬可以导致细胞死亡^[9]。所以, 自噬是细胞的保护机制还是引发细胞死亡的途径之间争论仍然没有停止。Puyal等^[10]通过对大鼠脑缺血模型的研究发现, 抑制神经元缺血缺氧后自噬的发生可以减轻神经元坏死和凋亡, 从而减轻脑损伤。Carloni等^[11]的研究发现, 激活自噬可以减轻缺血缺氧性脑损伤造成的神经元死亡。Kroemer等^[6]阐述了如下的观点: 虽然在细胞死亡的时候有时可以表现为大量的自噬体的聚集, 这是一个不可争辩的事实, 但是不能以此来推断自

噬是引起细胞死亡的凶手, 因为在细胞实验中通过对自噬的抑制不能改变细胞死亡的命运, 而且认为自噬样细胞死亡只是对细胞死亡的一种形态学的定义, 它只表示细胞在死亡时有自噬样的形态学特征, 不能证明自噬诱导细胞死亡。自噬的激活与抑制在许多疾病中都起着重要的作用, 比如: 肿瘤、神经退行性疾病、心肌病、糖尿病、肝病、自身免疫性疾病以及感染性疾病^[2-4]。所以揭示自噬的过程和其调节机制, 有可能为治疗这些疾病提供新的思路和方法。

3 HMGB1在细胞自噬中的作用机制

3.1 HMGB1的结构与功能

高迁移率族蛋白(*high-mobility group protein, HMGB*)第一次被报道是在1977年, 当时发现它主要是因为这种蛋白在凝胶电泳时迁移率很高^[12]。HMGB1是其成员之一, 由215个氨基酸组成, 不同的物种之间具有高度进化保守性的3个不同的功能区: 两个DNA结合区(A-box、B-box)和一个C'端负性调节区, 作为细胞核内的一种非组蛋白DNA结合蛋白, HMGB1在真核生物细胞核内含量丰富, 主要作用是稳定染色体结构并协助其功能, 参与DNA复制、转录、重组和修复^[13]。近十年来, 研究者不仅将HMGB1作为一个经典的损伤相关模式分子, 对其促进炎症反应、细胞分化等方面也进行了深入的研究^[14-17]。而且还发现HMGB1对于细胞自噬的发生有调控作用^[7]。

3.2 HMGB1在细胞自噬中的作用机制

HMGB1对细胞自噬的作用机制依据HMGB1在细胞内空间定位的不同可以分为: 细胞浆内、细胞外及细胞核内。

3.2.1 细胞浆内HMGB1通过与Beclin1结合调节细胞自噬 Kang等^[8]报道, 鼠胚胎成纤维细胞在经过H₂O₂处理后, 通过使促分裂素原活化蛋白激酶(*mitogen-activated protein kinases, MAPK*)发生磷酸化后激活, 之后细胞核内发生DNA受损或者是稳定性

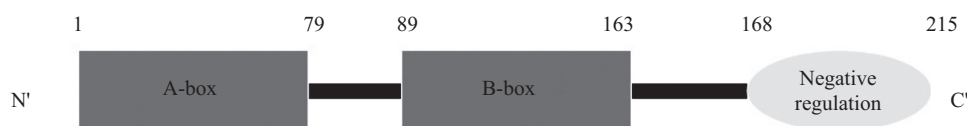


图1 HMGB1的蛋白结构域图(根据参考文献[18]修改)

Fig.1 The domain structure of HMGB1(modified from reference [18])

破坏, 激活DNA修复酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)促使HMGB1从染色质上分解开来, 然后通过出核因子结合从细胞核内释放入胞浆。还有研究表明, 核转录因子NAC1通过促进HMGB1的转录表达及释放来促进自噬^[19]。但是HMGB1从核内转移至胞浆的具体机制仍不十分明确。

在细胞浆内的HMGB1主要是通过自噬因子Beclin1结合, 推动Beclin1与凋亡抑制因子Bcl-2的分离而促进Beclin1和III型磷酸肌醇3激酶(PI3K ClassIII)/Vsp34结合, 从而激活自噬。这一过程的具体机制是: 在HMGB1的A-box的23、45位点为半胱氨酸位点, 它可以与Beclin1以二硫桥的形式结合, 从而使Beclin1与Bcl-2分离^[20]。有研究表明, HMGB1分为还原型和氧化型两种^[21], 还原型的HMGB1具有在细胞浆与Beclin1结合诱导自噬形成的能力, 而如果HMGB1被氧化以后, A-box的C23、C45位点的巯基脱氢形成二硫键, 则失去了在胞浆内与Beclin1结合诱导自噬的能力, 所以得出HMGB1的还原状态决定了它是否具有在胞质内与Beclin1结合诱导自噬上调的能力, 不仅如此, HMGB1转变为氧化型以后不但可以使自身丧失诱导自噬的能力, 还可以增加刺激(如氧化应激、化疗药物)对细胞的毒性, 通过线粒

体途径诱导凋亡和坏死, 最终导致细胞死亡。

3.2.2 HMGB1通过与细胞膜受体RAGE结合调节细胞自噬 HMGB1可以通过主动分泌或者在细胞发生坏死时通过被动释放进入细胞外间隙。在细胞外间隙的HMGB1调节细胞自噬的过程主要是通过RAGE结合来实现的^[22]。

RAGE为I型跨膜受体, 是免疫球蛋白超家族的成员之一, 由MHC III类基因负责编码^[22]。RAGE分为5个功能区, 分别为: 一个Y形区、两个C形区、一个跨膜区、一个胞浆区, 其配体主要由HMGB1、晚期糖基化产物和S100蛋白家族成员组成^[22]。已有研究表明: RAGE与其配体结合后可以推动炎症反应, 促进细胞外信号调节激酶磷酸化的水平增高, 以及使NF- κ B和p65的表达水平上升^[23-24]。故而认为, 细胞RAGE的表达增强后, 与许多炎症性疾病的发生有关, 如败血症、糖尿病、动脉粥样硬化及阿尔茨海默病等^[23-26]。

Kang等^[27]报道, 在胰腺癌细胞中, HMGB1与RAGE结合后, 通过抑制mTOR C1的磷酸化激活, 调节自噬的启动; 或者RAGE与HMGB1结合后, 还可以通过抑制p53在胞浆内的聚集, 从而抵消p53在细胞浆中抑制自噬发生的作用, 直接促进自噬的发

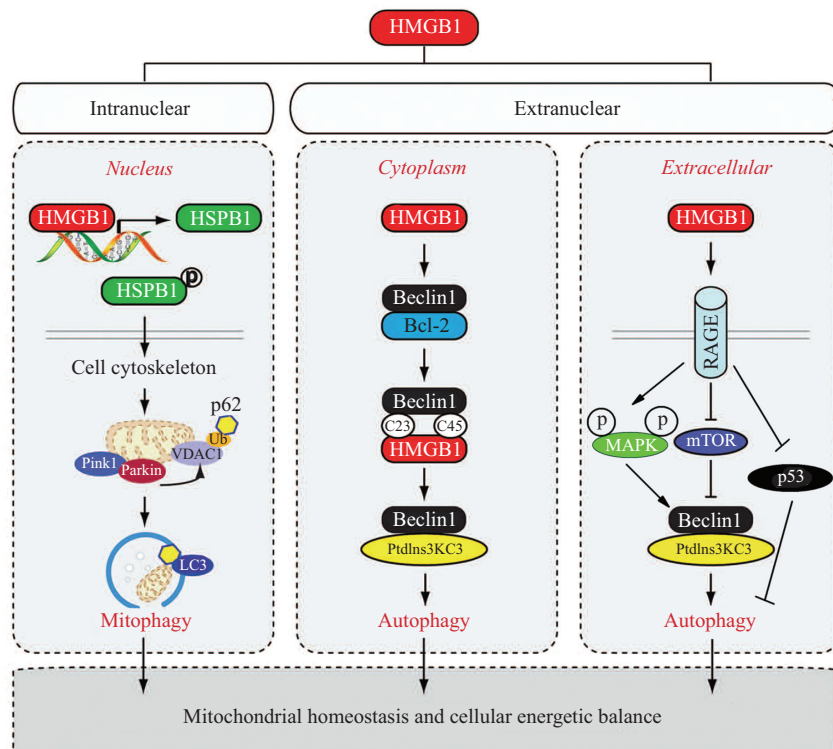


图2 HMGB1对细胞自噬的调节机制(根据参考文献[28]修改)

Fig.2 Mechanism of HMGB1-mediated autophagy(modified from reference [28])

生,同时p53在胞浆内聚集受到抑制,也使得p53通过与线粒体的相互作用,导致细胞凋亡的路径受阻,通过抑制细胞凋亡间接地促进细胞自噬的发生;另外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Beclin1磷酸化,推动Beclin1与Bcl-2分离,调节细胞自噬的水平。而ERK的激活是通过PI3K C III-MEK-ERK通路来实现的^[29-30]。另外还有研究表明,激活的MAPK还可以使Bcl-2发生磷酸化,使得Bcl-2与Beclin1发生分离,调节自噬的发生^[20]。

3.2.3 HMGB1在细胞核内通过HSPB1调节自噬发生 HMGB1在细胞核内参与调节热休克蛋白B1(heat shock protein B1, HSPB1)的表达,HSPB1的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,而细胞的微丝骨架则对细胞内物质的转运有重要的意义^[28]。

在线粒体外膜去极化的过程中, Pink1调节Parkin的转位,转位后的Parkin推动线粒体外膜电压依赖阴离子通道1(voltage-dependent anion channels 1, VDAC1)的泛素化,VDAC1泛素化后的线粒体才可以被和LC3 II直接结合的p62识别,从而易化自噬体对线粒体(多为受损的线粒体)的吞噬,这个过程中最关键的一步是Parkin的转位致使VDAC1的泛素化。有趣的是,这一步的实现需要微丝骨架的参与^[28]。由此可见, HMGB1-HSPB1途径对线粒体自噬有重要的调节作用。线粒体自噬作为选择性自噬的一种,其确切的发生机制还远远没有研究清楚,需要进行更深入的研究。

4 结语

自噬是广泛存在于真核生物细胞中的一种生命现象。在细胞微环境改变或者细胞遭受缺乏营养、氧化应激或者细胞毒性物质攻击等刺激的情况下,自噬可以左右细胞是生存还是死亡的命运。因此自噬越来越受到人们的重视。近年来的研究表明:HMGB1作为一个经典的损伤相关模式分子,在调节细胞自噬水平的过程中起着重要的作用,它可以在细胞核内、细胞浆内及细胞间质通过不同的信号通路调节自噬的发生。但由于信号转导网络的复杂

性, HMGB1调节细胞自噬的过程中还有许多细节有待于更深入的研究,比如HMGB1从核内转移至胞浆的机制, HMGB1通过与RAGE结合来抑制mTOR C1活性的具体机制, HMGB1转变成氧化型后是如何促进细胞凋亡的机制等。更加值得我们注意的是,自噬的异常激活和抑制与多种疾病有关,如肿瘤、神经退行性疾病、自身免疫性疾病等^[2-4],所以研究HMGB1与自噬的关系更重要的意义在于,可以使HMGB1成为治疗这些疾病一个新的治疗靶点,为这些疾病的治疗提供新的思路。

参考文献 (References)

- 1 Deter RL, de Duve C. Influence of glucagon, an inducer of cellular autophagy on some physical properties of rat liver lysosomes. *J Cell Biol* 1967; 33(2): 437-49.
- 2 Glick D, Barth S, Macleod KF. Autophagy: Cellular and molecular mechanisms. *J Pathol* 2010; 221(1): 3-12.
- 3 Levine B, Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* 2008; 132(1): 27-42.
- 4 Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008; 415(7182): 1069-75.
- 5 Corcelle EA, Puustinen P, Jäättelä M. Apoptosis and autophagy: Targeting autophagy signaling in cancer cells—"trick or treats"? *FEBS J* 2009; 276(21): 6084-96.
- 6 Kroemer G, Levine B. Autophagic cell death: the story of a misnomer. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9(12): 1004-10.
- 7 Tang D, Kang R, Livesey KM, Cheh CW, Farkas A, Loughran P, *et al.* Endogenous HMGB1 regulates autophagy. *J Cell Biol* 2010; 190(5): 881-92.
- 8 Kang R, Livesey KM, Zeh HJ 3rd, Lotze MT, Tang D. HMGB1 as an autophagy sensor in oxidative stress. *Autophagy* 2011; 7(8): 904-6.
- 9 Zhivotovsky B, Orrenius S. Cell death mechanisms: Cross-talk and role in disease. *Exp Cell Res* 2010; 316(8): 1374-83.
- 10 Puyal J, Vaslin A, Mottier V, Clarke PG. Postischemic treatment of neonatal cerebral ischemia should target autophagy. *Ann Neurol* 2009; 66(3): 378-89.
- 11 Carloni S, Buonocore G, Balduini W. Protective role of autophagy in neonatal hypoxia- ischemia induced brain injury. *Neurobiol Dis* 2008; 32(3): 329-39.
- 12 Goodwin GH, Johns EW. The isolation and purification of the high mobility group (HMG) nonhistone chromosomal proteins. *Methods Cell Biol* 1977; 16: 257-67.
- 13 Huang J, Liu K, Yu Y, Xie M, Kang R, Vernon P, *et al.* Targeting HMGB1-mediated autophagy as a novel therapeutic strategy for osteosarcoma. *Autophagy* 2012; 8(2): 275-7.
- 14 Kim JB, Lim CM, Yu YM, Lee JK. Induction and subcellular localization of high-mobility group box-1 (HMGB1) in the postischemic rat brain. *J Neurosci* 2008; 28(5): 1125-31.
- 15 Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002;

- 418(6894): 191-5.
- 16 Herold K, Moser B, Chen Y, Zeng S, Yan SF, Ramasamy R, *et al.* Receptor for advanced glycation end products (RAGE) in a dash to the reace: Inflammatory signals gone awry in the primal response to stress. *J Leukoc Biol* 2007; 82(2): 204-12.
- 17 Ma CX, Yin WN, Cai BW, Wu J, Wang JY, He M, *et al.* Toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B signaling detected in brain after early subarachnoid hemorrhage. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122(13): 1575-81.
- 18 Yamada S, Maruyama I. HMGB1, a novel inflammatory cytokine. *Clin Chim Acta* 2007; 375(1/2): 36-42.
- 19 Zhang Y, Yang JW, Ren X, Yang JM. NAC1 and HMGB1 enter a partnership for manipulating autophagy. *Autophagy* 2011; 7(12): 1557-8.
- 20 Kang R, Livesey KM, Zeh HJ, Loze MT, Tang D. HMGB1: A novel Beclin1-binding protein active in autophagy. *Autophagy* 2010; 6(8): 1209-11.
- 21 Tang D, Loze MT, Zeh HJ, Kang R. The redox protein HMGB1 regulates cell death and survival in cancer treatment. *Autophagy* 2010; 6(8): 1181-3.
- 22 Kang R, Tang D, Loze MT, Zeh HJ. Apoptosis to autophagy switch triggered by the MHC class III-encoded receptor for advanced glycation endproducts (RAGE). *Autophagy* 2011; 7(1): 91-3.
- 23 Bierhaus A, Schiekofe S, Schwaninger M, Andrassy M, Humpert PM, Chen J, *et al.* Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor-kappaB. *Diabetes* 2001; 50(12): 2792-808.
- 24 Liliensiek B, Weigand MA, Bierhaus A, Nicklas W, Kasper M, Hofer S, *et al.* Receptor for advanced glycation end products (RAGE) regulates sepsis but not the adaptive immune response. *J Clin Invest* 2004; 113(11): 1641-50.
- 25 Ito N, deMarco RA, Mailliard RB, Han J, Rabinowich H, Kalinski P, *et al.* Cytolytic cells induce HMGB1 release from melanoma cell lines. *J Leukoc Biol* 2007; 81(1): 75-83.
- 26 Bopp C, Bierhaus A, Hofer S, Bouchon A, Nawroth PP, Martin E, *et al.* Bench-to-bedside review: the inflammation-perpetuating pattern-recognition receptor RAGE as a therapeutic target in sepsis. *Crit Care* 2008; 12(1): 201-8.
- 27 Kang R, Tang D, Schapiro NE, Livesey KM, Farkas A, Loughran P, *et al.* The receptor for advanced glycation end products (RAGE) sustains autophagy and limits apoptosis, promoting pancreatic tumor cell survival. *Cell Death Differ* 2010; 17(4): 666-76.
- 28 Kang R, Livesey KM, Zeh HJ 3rd, Lotze MT, Tang D. Metabolic regulation by HMGB1-mediated autophagy and mitophagy. *Autophagy* 2011; 7(10): 1256-8.
- 29 Liu L, Yang M, Kang R, Wang Z, Zhao Y, Yu Y, *et al.* HMGB1-induced autophagy promotes chemotherapy resistance in leukemia cells. *Leukemia* 2011; 25(1): 23-31.
- 30 Liu L, Yang M, Kang R, Wang Z, Zhao Y, Yu Y, *et al.* DAMP-mediated autophagy contributes to drug resistance. *Autophagy* 2011; 7(1): 112-4.