

peutic significance beyond thrombolysis. Pathophysiology, 2010, 17(3): 197-218.

- [31] 陈谦学,丁大成,秦军. 尼莫地平联合依达拉奉治疗高血压脑出血的 Meta 分析. 国际神经病学神经外科学杂

志, 2014, 04: 332-337.

- [32] Shehadah A, Chen J, Zacharek A, et al. Niaspan treatment induces neuroprotection after stroke. Neurobiol Dis, 2010, 40(1): 277-283.

## 高迁移率族蛋白 B1 与自发性蛛网膜下腔出血相关性的研究进展

孙丰兵 综述 李世亭 万亮\* 审校

上海交通大学医学院附属新华医院神经外科, 上海 200092

**摘要:** 高迁移率族蛋白 B1 (High mobility group box 1, HMGB1) 是广泛存在于真核细胞核内的非组蛋白染色体结合蛋白, 作为一种重要的炎症介质, 参与多种急慢性疾病的炎症反应, 近年来研究表明 HMGB1 在蛛网膜下腔出血的发生发展过程中具有重要作用。蛛网膜下腔出血早期血浆或脑脊液中 HMGB1 即可明显升高, 并且持续时间较长, 在整个炎症过程中发挥关键性介导作用。同时在动物模型中应用 HMGB1 抑制药物, 可以明显减轻炎症反应, 改善疾病预后。这些发现使 HMGB1 逐渐成为蛛网膜下腔出血预后的重要评价指标及新的治疗靶点。

**关键词:** 蛛网膜下腔出血; 炎症反应; 高迁移率族蛋白 B1

蛛网膜下腔出血 (subarachnoid hemorrhage, SAH) 是一类临床常见的脑血管危急重症, 绝大多数系脑动脉瘤破裂所致, 发病率大约 2 ~ 16/10 万, 具有较高的死亡率和致残率, 严重威胁人类生命和健康<sup>[1]</sup>。早期脑损伤和脑血管痉挛是蛛网膜下腔出血常见的并发症, 常引起严重的局部脑组织缺血或迟发性脑损伤, 成为致死或重残的主要原因<sup>[2]</sup>。通过对 SAH 的病理生理机制进行研究, 发现炎症过程参与了 SAH 后的早期脑损伤和脑血管痉挛的发病过程, 其中, 早期致炎细胞因子如肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 (interleukin-1, IL-1) 等可能是引起机体炎症反应与组织损害的关键介质, 通过抑制炎症介质可能减轻炎症反应从而改善蛛网膜下腔出血预后, 然而针对这些细胞因子的干预治疗效果不佳<sup>[2]</sup>。Wang 等<sup>[3]</sup>于 1999 年首次发现高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 作为一种重要的晚期炎症介质参与脓毒症的病理生理过程。此后关于 HMGB1 与自发性蛛网膜下腔出血的报道逐渐增多。本文就 HMGB1 与自发性蛛网膜下腔出血相

关性的研究进展作一综述。

### 1 HMGB1 的结构与生物学特性

#### 1.1 HMGB1 的结构

高迁移率族蛋白 (High mobility group box, HMGB) 是一类存在于哺乳动物的核蛋白家族, 包括三个家族成员: HMGB1, HMGB2 和 HMGB3。HMGB1 几乎分布于所有真核细胞核内, 具有稳定核小体构象及调节基因转录的作用<sup>[4]</sup>。人类 HMGB1 含有 215 个氨基酸残基, 由两个 DNA 结合区域 (A-box, B-box) 和一个 C 末端酸性尾组成。A-box 位于 N-末端由 78 个氨基酸残基组成, B-box 有 85 个氨基酸残基, 两者通过一个可折叠的连接子相连接, 能与 DNA 小凹槽非特异性的结合, 其中 B-box 中的氨基酸序列具有致炎活性, 而 A-box 具有拮抗 B-box 的作用, C 末端约有 30 个氨基酸残基且富含天冬氨酸和谷氨酸, 参与调节 HMGB1 与 DNA 结合的亲和力。

#### 1.2 HMGB1 的释放途径

当体内细胞处于稳态时, HMGB1 主要存在于细胞核, 对维持机体正常功能具有重要作用, Calog-

基金项目: 国家自然科学基金(81300994)

收稿日期: 2014-12-01; 修回日期: 2015-02-05

作者简介: 孙丰兵 男 硕士 研究方向: 脑血管病临床研究; 李世亭 男 主任医师 博士生导师。

通讯作者: 万亮 男 副主任医师 硕士生导师 神经外科专业脑血管病研究方向。

ero 等<sup>[5]</sup>实验研究发现剔除 HMGB1 基因的小鼠在出生后 24 小时内死亡。当外界有适当的信号刺激细胞时, HMGB1 赖氨酸残基被乙酰化, 然后释放到细胞外开始发挥致炎作用, 参与各种自身免疫性疾病、肿瘤及其他疾病的发病过程<sup>[6]</sup>。HMGB1 主要通过主动分泌和被动释放两种方式向细胞外释放。一方面, 在各种病理条件下, HMGB1 可由免疫细胞和非免疫细胞如单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突细胞等主动分泌到细胞外。另一方面, HMGB1 可以通过简单扩散的方式从坏死细胞被动释放到细胞外环境中<sup>[7]</sup>。

### 1.3 HMGB1 与炎症反应的关系

HMGB1 是参与整个炎症过程的关键介质。Carmen 等<sup>[8]</sup>实验研究证实重组人 HMGB1 能够促进内皮细胞分泌 TNF- $\alpha$ 、IL-8 等多种细胞因子, 同时也能够促进内皮细胞表达细胞间黏附分子 (intercellular adhesion molecule, ICAM)、血管细胞黏附分子 (vascular cell adhesion molecule, VCAM) 等多种黏附分子。Qiu 等<sup>[9]</sup>研究发现在缺血诱导模型的脑组织中 HMGB1 在 2 小时后的含量明显升高, 使用重组 HMGB1 能够上调细胞因子 TNF- $\alpha$ 、ICAM、一氧化氮合酶在星形胶质细胞、内皮细胞及神经细胞的表达, 而 HMGB1 抑制性抗体则使这些炎症因子的产生下调, 表明 HMGB1 在炎症反应中通过上调其他炎症因子发挥炎症介导作用。炎症反应过程中, HMGB1 与激活的受体晚期糖基化终产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE)、Toll 样受体 2 (toll-like receptor 2, TLR2) 或 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 结合, 通过 CDC42/Rac1、p38 MAPK 和 Erk1/2 等信号途径激活 NF- $\kappa$ B 调控下游基因的转录, 引起细胞因子和趋化因子的大量释放, 诱导炎症反应, 同时释放的促炎细胞因子 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  等刺激 HMGB1 进一步释放, 形成正反馈循环, 使炎症反应不断加重<sup>[10, 11]</sup>。

## 2 HMGB1 与蛛网膜下腔出血的关系

### 2.1 蛛网膜下腔出血后 HMGB1 的表达水平

动物实验及临床研究已经明确证实血浆或脑脊液中 HMGB1 水平在蛛网膜下腔出血中高表达并与预后相关, HMGB1 可作为评价蛛网膜下腔出血预后的潜在指标。Murakami<sup>[12]</sup>等在兔子蛛网膜下腔出血模型的动物实验中发现脑干组织第 5 天的 HMGB1 mRNA 水平较假手术组增加 5 倍, 表明蛛网膜下腔出血能够上调促炎细胞因子 HMGB1 造成

脑损害。Zhu 等<sup>[13]</sup>通过对 303 例动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者入院时血浆 HMGB1 水平进行检测, 观察术后情况并且出院后随访 1 年观察预后, 发现蛛网膜下腔出血患者血浆中 HMGB1 水平明显高于健康人群, HMGB1 水平越高患者预后越差, 统计分析显示血浆 HMGB1 水平是蛛网膜下腔出血后影响脑血管痉挛及预后的一个独立的危险因素。Nakahara 等<sup>[14]</sup>对蛛网膜下腔出血患者发病后第 3、7 和 14 天脑脊液中 HMGB1 及其他炎性介质 IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  的水平进行检测, 发现炎性介质的水平越高, 患者预后越差。蛛网膜下腔出血发生后, HMGB1 从损伤坏死脑细胞及周围神经细胞及神经胶质细胞释放。一方面血块周围脑细胞损伤坏死, 被动释放 HMGB1; 另一方面, HMGB1 从神经细胞释放后激活周围胶质细胞并且上调炎症因子, 这些炎症因子反过来进一步刺激神经胶质细胞释放更多的 HMGB1<sup>[15]</sup>。Sun 等<sup>[16]</sup>研究认为周围正常的神经细胞也能像神经胶质细胞一样受到刺激并释放炎症因子进一步刺激神经细胞释放更多的 HMGB1。

### 2.2 蛛网膜下腔出血后 HMGB1 表达的时间窗

HMGB1 最先是作为一种重要的晚期炎症介质在参与脓毒症的病理生理过程被证实<sup>[3]</sup>。近来 Sun 等<sup>[16]</sup>研究发现 HMGB1 在炎症早期发挥重要作用, HMGB1 可能作为蛛网膜下腔出血后的一种早期炎症启动因子。Sun 等<sup>[16]</sup>在 SD 大鼠的动物实验中发现 HMGB1 的释放在蛛网膜下腔出血后 2 小时即可在血凝块附近脑皮质检测到, 要早于其他细胞因子, 引起炎症反应参与早期脑损伤的病理生理过程。HMGB1 的最重要的受体 TLR4 和 RAGE 在蛛网膜下腔出血后 4 小时和 6 小时开始上调, IL-1 $\beta$  达到峰值一般在蛛网膜下腔出血后 1 天<sup>[17, 18]</sup>。Nakahara 等<sup>[14]</sup>对蛛网膜下腔出血患者发病后第 3、7 和 14 天脑脊液中 HMGB1 水平进行检测发现其含量明显升高, 7 天左右达高峰, 持续时间 14 天以上, 表明 HMGB1 在蛛网膜下腔出血较长时程发挥炎症介质作用。综上, HMGB1 参与早期脑损伤和脑血管痉挛的病理生理过程, 在整个炎症过程中发挥关键性介导作用。HMGB1 作为一种早期炎症介质启动炎症反应, 然后与其他致炎因子相互刺激释放, 形成正反馈, 对维持后期的炎症反应起到重要作用。

## 3 HMGB1 对蛛网膜下腔出血治疗的指导意义

针对早期致炎细胞因子, 包括 TNF, IL-1 等的

治疗往往因这些细胞因子产生较早很快又恢复基础水平,治疗的时间窗窄没有充足的时间来干预而效果不理想。HMGB1 作为一种炎症介质介导炎症反应,参与早期脑损伤和迟发型脑血管痉挛的发病过程。通过抑制 HMGB1 减轻炎症反应,降低早期脑损伤及脑血管痉挛的发生率,从而改善疾病预后,成为治疗蛛网膜下腔出血的新策略。以下药物可能通过抗炎作用而达到改善蛛网膜下腔出血预后。

### 3.1 HMGB1 A-box 片断

A-box 片断具有抗炎作用。HMGB1 的 B-box 是发挥炎症的功能区域,A-box 是 B-box 的拮抗位点,纯化重组 A-box 能竞争性结合 HMGB1 结合位点,阻断 HMGB1-RAGE 信号传导通路而减少细胞因子产生,显著降低动物死亡率<sup>[19]</sup>。Jin 等<sup>[20]</sup>通过鼠脑缺血模型实验证实 HMGB1 A-box 能够明显减轻脑梗塞面积,具有神经保护作用,而可降解的明胶微粒(biodegradable gelatin microspheres,GMS)可以增加 A-box 的稳定性,从而增强其神经保护作用。

### 3.2 抗 HMGB1 抗体

抗 HMGB1 抗体可以中和细胞外 HMGB1,通过直接减少 HMGB1 含量发挥抗炎作用。Oozawa 等<sup>[21]</sup>发现大鼠心肌缺血再灌注一小时后血清 HMGB1 水平增高,而注射抗 HMGB1 抗体组心肌受损程度显著减轻,心室功能得到改善。由于抗 HMGB1 抗体在循环中的半衰期短,因此需要反复给药,从而限制了它的临床应用。

### 3.3 甘草酸(glycyrrhizin, GL)

甘草酸是一种从天然的植物甘草的根茎中提取的成分。Ohnishi 等<sup>[22]</sup>在大鼠脑出血诱导模型的动物实验证实中腹腔注射甘草酸可以抑制 HMGB1 减轻炎症反应从而改善疾病转归。Zhang 等<sup>[23]</sup>报道甘草酸通过抑制 HMGB1-TLR4-IL-17A 信号传导通路减轻小鼠的脑缺血再灌注损伤。虽有 Sun 等<sup>[24]</sup>提出假说甘草酸可能通过抑制 HMGB1 来抑制炎症反应从而改善蛛网膜下腔出血的预后,但尚未得到临床验证。

### 3.4 丙酮酸乙酯(Ethyl pyruvate, EP)

丙酮酸乙酯是一种有效的 HMGB1 抑制剂,通过抑制 HMGB1 减轻炎症反应发挥神经保护作用。Yu 等<sup>[25]</sup>在大鼠大脑中动脉闭塞模型的实验研究中发现腹腔注射 EP 可显著减少大鼠脑梗死面积,并且动物运动障碍、神经功能缺陷等相关临床症状也

较对照组改善,表明 EP 在治疗脑缺血损伤方面具有显著疗效。Su 等<sup>[26]</sup>在大鼠创伤性脑损伤的动物实验中发现腹腔注射 EP 能够显著抑制 HMGB1 表达、抑制 TLR4 和 NF- $\kappa$ B 的 DNA 结合活性,以及抑制炎症介质如 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达,提出 EP 可能通过下调 HMGB1/TLR4/NF- $\kappa$ B 介导的炎症反应从而发挥神经保护作用。

## 4 总结和展望

HMGB1 作为一种重要的炎症介质,在蛛网膜下腔出血的发生发展过程中具有重要作用,并且蛛网膜下腔出血时血浆或脑脊液中 HMGB1 水平明显升高,因此 HMGB1 可作为评价蛛网膜下腔出血预后的潜在指标。同时通过抑制 HMGB1 可能减轻炎症反应,降低早期脑损伤及脑血管痉挛的发生率,从而改善疾病预后, HMGB1 正成为治疗蛛网膜下腔出血的新靶点,具有广泛的研究前景。但炎症反应是一个复杂的病理生理过程,目前对于 HMGB1 与蛛网膜下腔出血的研究还处于初级阶段, HMGB1 信号转导通路机制及与其他炎症介质的相互作用仍不明确。通过干预 HMGB1 表达水平来改善蛛网膜下腔出血的预后目前仍处于动物学研究水平,缺乏临床研究证据。因此,需要对 HMGB1 与蛛网膜下腔出血的关系进行进一步深入研究,从而为蛛网膜下腔出血的诊断与治疗开辟新的途径。

## 参 考 文 献

- [1] Feigin VL, Lawes CM, Bennett DA, et al. Worldwide stroke incidence and early case fatality reported in 56 population-based studies: a systematic review. *Lancet Neurol*, 2009, 8(4): 355-369.
- [2] Miller BA, Turan N, Chau M, et al. Inflammation, vasospasm, and brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 384342.
- [3] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*, 1999, 285(5425): 248-251.
- [4] Muller S, Scaffidi P, Degryse B, et al. New EMBO members' review: the double life of HMGB1 chromatin protein: architectural factor and extracellular signal. *EMBO J*, 2001, 20(16): 4337-4340.
- [5] 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. *Nat Genet*, 1999, 22(3): 276-280.
- [6] Musumeci D, Roviello GN, Montesarchio D. An overview on

- HMGB1 inhibitors as potential therapeutic agents in HMGB1-related pathologies. *Pharmacol Ther* , 2014 , 141 ( 3 ) : 347-357.
- [7] Scaffidi P , Misteli T , Bianchi ME . Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* , 2002 , 418 : 191-195.
- [8] Fiuza C , Bustin M , Talwar S , et al . Inflammation-promoting activity of HMGB1 on human microvascular endothelial cells. *Blood* , 2003 , 101( 7 ) : 2652-2660.
- [9] Qiu J , Nishimura M , Wang Y , et al . Early release of HMGB-1 from neurons after the onset of brain ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* , 2008 , 28( 5 ) : 927-938.
- [10] van Beijnum JR , Buurman WA , Griffioen AW . Convergence and amplification of toll-like receptor ( TLR ) and receptor for advanced glycation end products ( RAGE ) signaling pathways via high mobility group B1 ( HMGB1 ) . *Angiogenesis* , 2008 , 11( 1 ) : 91-99.
- [11] Andersson U , Wang H , Palmblad K , et al . High mobility group 1 protein ( HMG-1 ) stimulates proinflammatory cytokine synthesis in human monocytes. *J Exp Med* , 2000 , 192 ( 4 ) : 565-570.
- [12] Murakami K , Koide M , Dumont TM , et al . Subarachnoid Hemorrhage Induces Gliosis and Increased Expression of the Pro-inflammatory Cytokine High Mobility Group Box 1 Protein. *Transl Stroke Res* , 2011 , 2( 1 ) : 72-79.
- [13] Zhu XD , Chen JS , Zhou F , et al . Relationship between plasma high mobility group box-1 protein levels and clinical outcomes of aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neuroinflammation* , 2012 , 9( 1 ) : 1-12.
- [14] Nakahara T , Tsuruta R , Kaneko T , et al . High-mobility group box 1 protein in CSF of patients with subarachnoid hemorrhage. *Neurocrit Care* , 2009 , 11( 3 ) : 362-368.
- [15] Andersson U , Tracey KJ . HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection. *Annu Rev Immunol* , 2011 , 29 : 139-162.
- [16] Sun Q , Wu W , Hu YC , et al . Early release of high-mobility group box 1 ( HMGB1 ) from neurons in experimental subarachnoid hemorrhage in vivo and in vitro. *J Neuroinflammation* , 2014 , 11( 1 ) : 106.
- [17] Sun Q , Dai Y , Zhang X , et al . Expression and cell distribution of myeloid differentiation primary response protein 88 in the cerebral cortex following experimental subarachnoid hemorrhage in rats: a pilot study. *Brain Res* , 2013 , 1520 : 134-144.
- [18] Ma CX , Yin WN , Cai BW , 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 ) : 1575-1581.
- [19] Mantell LL , Parrish WR , Ulloa L . Hmgb-1 as a therapeutic target for infectious and inflammatory disorders. *Shock* , 2006 , 25( 1 ) : 4-11.
- [20] Jin YC , Kim SW , Cheng F , et al . The effect of biodegradable gelatin microspheres on the neuroprotective effects of high mobility group box 1 A box in the postischemic brain. *Biomaterials* , 2011 , 32( 3 ) : 899-908.
- [21] Oozawa S , Mori S , Kanke T , et al . Effects of HMGB1 on ischemia-reperfusion injury in the rat heart. *Circ J* , 2008 , 72( 7 ) : 1178-1184.
- [22] Ohnishi M , Katsuki H , Fukutomi C , et al . HMGB1 inhibitor glycyrrhizin attenuates intracerebral hemorrhage-induced injury in rats. *Neuropharmacology* , 2011 , 61( 5 ) : 975-980.
- [23] Zhang J , Wu Y , Weng Z , et al . Glycyrrhizin protects brain against ischemia-reperfusion injury in mice through HMGB1-TLR4-IL-17A signaling pathway. *Brain Res* , 2014 , 1582 : 176-186.
- [24] Sun Q , Wang F , Li W , et al . Glycyrrhizic acid confers neuroprotection after subarachnoid hemorrhage via inhibition of high mobility group box-1 protein: a hypothesis for novel therapy of subarachnoid hemorrhage. *Med Hypotheses* , 2013 , 81( 4 ) : 681-685.
- [25] Yu YM , Kim JB , Lee KW , et al . Inhibition of the cerebral ischemic injury by ethyl pyruvate with a wide therapeutic window. *Stroke* , 2005 , 36( 10 ) : 2238-2243.
- [26] Su X , Wang H , Zhao J , et al . Beneficial effects of ethyl pyruvate through inhibiting high-mobility group box 1 expression and TLR4 / NF-kappaB pathway after traumatic brain injury in the rat. *Mediators Inflamm* , 2011 , 2011 : 807142.