

DOI: 10.13376/j.cbls/2023090

文章编号: 1004-0374(2023)06-0799-08

HMGB1在角膜损伤和修复中的作用研究进展

王志浩^{1,2}, 郭 龙^{1,2}, 王培莉³, 李建基^{1,2}, 王 亨^{1,2*}

(1 扬州大学兽医学院, 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 扬州 225009;
2 农业与农产品安全教育部国际联合研究实验室, 江苏高校动物重要疫病和重要人兽共患病防控技
术国际合作联合实验室, 扬州 225009; 3 南京中医药大学第三临床医学院, 南京 210028)

摘 要:角膜是眼部抵御外来病原微生物侵入的重要屏障,其完整性与眼部健康密切相关。角膜发生损伤后,其自身会进行修复和重新上皮化,该过程常伴随炎症反应及炎症介质的释放。适度的炎症反应可促进损伤修复,而过度炎症反应会伴有大量炎症介质的释放,加剧角膜损伤。高迁移率族蛋白1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是参与角膜组织损伤和修复过程的常见炎症介质之一,过度表达的HMGB1可加剧角膜修复过程中的瘢痕化,导致角膜透明度降低,对疾病的转归产生负面影响。因此,干扰HMGB1有望成为治疗角膜损伤的新方式。本文从HMGB1的结构与功能、HMGB1在角膜损伤及修复中的作用、HMGB1的调控及其在角膜疾病中的应用三个方面进行回顾和总结。

关键词: 高迁移率族蛋白1; 角膜; 损伤; 修复

中图分类号: R772.2 **文献标志码:** A

Review on the function of HMGB1 in the process of corneal wound and recovery

WANG Zhi-Hao^{1,2}, GUO Long^{1,2}, WANG Pei-Li³, LI Jian-Ji^{1,2}, WANG Heng^{1,2*}

(1 Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2 Joint International Research Laboratory of Agriculture and Agri-product Safety of the Ministry of Education, Joint International Research Laboratory of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses of Jiangsu Higher Education Institutions, Yangzhou 225009, China; 3 The Third School of Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

Abstract: The cornea is the important barrier of the eye against the invasion of pathogenic microorganisms, and its integrity is related to the health of the eye. When the cornea is injured, it could repair and epithelialize by itself. The process is often accompanied by an inflammatory response and the release of inflammatory production. A moderate inflammatory response could promote recovery of the wound, while an excessive inflammatory response released lots of inflammatory cytokines, which could exacerbate the wound. High mobility group box 1 (HMGB1), is one of the common inflammatory mediators, which is involved in the pathophysiological process of corneal injury and recovery. Overexpression of HMGB1 protein could promote scar formation during the process of corneal recovery, which also reduced the transparency of the cornea and influenced the outcome of the disease. Therefore, regulating HMGB1 would be a new way to treat corneal wounds. The article reviewed the structure and function of HMGB1 protein, the function of HMGB1 in the process of corneal wound recovery, and the application of and the regulation of HMGB1 in corneal diseases.

Key words: high mobility group box 1; cornea; wound; recovery

收稿日期: 2022-09-23; 修回日期: 2022-12-23

基金项目: 江苏现代农业产业技术体系建设专项资金项目(JATS[2023]499); 江苏省研究生培养创新工程项目(KYCX21_3273); 扬州大学卓越本科课程建设工程项目(2022ZYKCC-33); 江苏省333高层次人才培养工程项目; 江苏高校优势学科建设工程项目; 江苏高校品牌专业建设工程项目; 高等学校学科创新引智计划项目(D18007)

*通信作者: E-mail: sdaulellow@163.com

角膜是机体视路的重要组成部分,发挥着重要的屈光功能。通常,角膜上皮层由5~7层上皮细胞组成,是角膜抵抗外来病原入侵的重要屏障,其细胞排列的致密性和有序性有助于维持角膜的透明和完整。在角膜损伤后的修复过程中,角膜缘干细胞经历潜伏期、迁移期和细胞增殖期,增殖后的细胞通过附着于基质层来修复缺损区^[1]。在该修复过程中,发生损伤的细胞会释放多种内源性炎性介质,促进角膜细胞的增殖和迁移;而过度释放的内源性炎性介质会加剧炎症反应,导致角膜血管化,降低角膜透明度,严重时致角膜穿孔^[2]。高迁移率族蛋白1 (high mobility group box 1, HMGB1) 是晚期内源性炎症介质之一。研究发现,在角膜炎、葡萄膜炎和青光眼等眼科疾病中, HMGB1 呈高表达,而抑制 HMGB1 的表达可降低炎性损伤,促进角膜修复,改善预后,故抑制 HMGB1 的表达成为眼科疾病治疗研究的新方向之一^[3-6]。本文对 HMGB1 的结构与功能,其在细菌、真菌和病毒诱导的角膜炎中的作用,及常见 HMGB1 抑制剂在眼科疾病中应用的研究进展作一综述,以期为研究 HMGB1 在眼科疾病中的作用提供参考。

1 HMGB1的结构与功能

1989年, Mosevitsky 首次从牛胸腺中分离出一种新蛋白,因其在电泳中的高速迁移率而命名为高迁移率族蛋白 (high mobility group box, HMGB)。HMGB1 是 HMGB 家族成员之一,广泛分布于哺乳动物的组织,但在不同组织的分布和表达具有差异性。在肝脏和脑组织中, HMGB1 主要分布在细胞质,而在其他组织,如角膜、视网膜和胰腺等,主要分布于细胞核^[7]。胞内 HMGB1 作为进化中高度保守的非组蛋白核蛋白,其功能是促进核蛋白复合物在细胞核内组装,调控 DNA 转录、复制、修复及核小体形成^[8-9]。胞外 HMGB1 有以下两类来源:一类由受损或坏死细胞被动释放到胞外;另一类由被激活的免疫细胞,如巨噬细胞、树突状细胞等主动分泌释放^[10]。HMGB1 的被动释放多发生于细胞坏死和焦亡时,此时细胞膜完整性受到破坏, HMGB1 通过细胞膜上的孔洞释放到胞外^[11];当细胞焦亡受到抑制, HMGB1 的释放减少^[12]。HMGB1 的主动分泌过程与分泌性溶酶体、微粒和外泌体的胞吐作用有关^[13-14],自噬和囊泡运输也参与到 HMGB1 的主动分泌过程中^[15]。此外,炎症反应阶段产生的 IL-1 β 、MIP-2、TNF- α 和 TNF- γ 等细胞因子通过增

强机体炎症反应,促进胞内 HMGB1 的释放,释放到胞外的 HMGB1 可加剧细胞炎性因子的释放,进而加剧炎症反应,形成“炎性因子风暴”的恶性循环^[16]。

编码 HMGB1 的基因位于染色体 13q12 上,编码蛋白含 215 个氨基酸残基,相对分子质量为 25 kD^[17]。HMGB1 含两个折叠螺旋的 DNA 结合序列 (Box A 和 Box B) 及由 30 个重复谷氨酸和天冬氨酸构成的酸性尾端 (C 尾)。氨基酸序列 27~43 为 Box A,是抗炎激活区域、HMGB1 受体结合区域、肝素结合区域和晚期糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end-products, RAGE) 结合区域。序列 89~163 为 Box B,是促炎因子激活区域、TLR4 受体结合区域。氨基酸序列 186~215 为酸性尾端,调节 HMGB1 与 DNA 的结合,并维持其结构的稳定^[5]。

HMGB1 与 RAGE^[18]、Toll 样受体家族成员 (TLR2、TLR4 和 TLR9)^[18]、C-X-C 型趋化因子配体 12 (C-X-C motif chemokine ligand 12, CXCL12)^[19] 和凝血酶敏感素 (Thrombospondin)^[20] 等结合,启动核因子 κ B (nuclear factor kappa-B, NF- κ B)、细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinase, ERK1/2)、丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 和 Src- 家族激酶等信号转导,分泌多种细胞因子 (如 TNF- α 、IL-1 β 及 IL-6 等),干扰细胞内外信号调节,进而影响细胞的增殖、分化和迁移^[21]。同时, HMGB1 作为炎症标志物,在感染或无菌性炎症疾病的病理过程,通过过度激活炎症通路如 NF- κ B、MAPK 等发挥炎症激活作用^[22]。胞外 HMGB1 的生物活性由其三个关键半胱氨酸残基 (C23、C45 和 C106) 的氧化还原状态决定:当三个半胱氨酸残基 Cys 被完全还原成巯基形式时, HMGB1 作为趋化因子,发挥诱导炎症细胞迁移作用;当两个半胱氨酸残基 C23 和 C45 之间形成二硫键,而第三个半胱氨酸残基 C106 保持还原状态时, HMGB1 发挥刺激炎性细胞因子分泌的作用;若半胱氨酸残基被完全氧化为磺酸形式,则趋化因子和细胞因子的功能都将被终止,其相关生物活性未见报道^[21, 23]。

2 HMGB1在角膜损伤及修复过程中的研究

2.1 HMGB1与细菌性角膜炎

细菌性角膜炎是临床常见角膜疾病之一,其特征为发病急、进展快,若感染未得到有效控制,易导致角膜溃疡,甚至穿孔,引发失明。研究发现,在铜绿假单胞菌诱导的人角膜上皮细胞损伤模型

中, 发生坏死的角膜上皮细胞会释放一系列炎症介质, 其中包括 HMGB1, 释放到胞外的 HMGB1 与 TLR2、TLR4、TLR9 和 RAGE 等多种调节炎症反应的受体结合, 进一步激活 NF- κ B 信号通路, 促进 IL-1 β 、TNF- α 、Nox-2、VEGF 等细胞因子的释放, 加剧细胞的炎性损伤、氧化损伤和组织的血管新生^[24-26]。

在革兰氏阴性菌侵袭机体的过程中, 细菌细胞壁的主要成分脂多糖 (LPS) 与 LPS 结合蛋白 (LPS binding protein, LBP) 结合形成 LPS/LBP 复合物, 随后与 CD14 结合成 LPS/LBP-CD14 复合物。LPS/LBP-CD14 被先天免疫细胞所识别, 将 LPS 呈递给 TLR4-MD2 复合物, 从而激发先天免疫反应^[27], 招募巨噬细胞的迁移, 识别并吞噬入侵细菌。研究发现, HMGB1 可增强机体对 LPS 的炎症反应, 其 HPep1 和 HPep6 区域分别与 LPS 的多糖和脂质 A 部分结合, 促进 LPS 向 CD14 转位, 且在缺乏 LBP 的条件下亦可发挥向 TLR4-MD2 复合物递呈 LPS 的作用^[28]。另有研究指出, 角膜上皮细胞缺乏髓样分化蛋白 -2 (myeloid differentiation protein-2), 对 LPS 的刺激不敏感^[29]。故在革兰氏阴性菌感染角膜过程中, 释放到胞外的 HMGB1 是否增强角膜细胞对 LPS 的识别有待进一步研究。

铜绿假单胞菌是引发细菌性角膜炎常见的革兰氏阴性菌。研究发现, 在铜绿假单胞菌感染小鼠角膜时, 组织内 CXCL12 及其配体 CXCR4 相互作用, 招募巨噬细胞、中性粒细胞等向角膜受损区域浸润, 引发角膜的炎性损伤和组织水肿^[21]。有研究表明, 在铜绿假单胞菌诱导的小鼠角膜溃疡模型中, HMGB1 可与 CXCL12 形成 CXCL12-HMGB1 异二聚体, 发挥趋化因子作用, 招募多形核细胞向受损角膜组织的迁移, 加剧角膜损伤^[30]。在铜绿假单胞菌致小鼠角膜炎的模型试验中, 向眼部滴加 HMGB1 的抑制剂甘草甜素后, 发现甘草甜素可通过降低 CXCL12-HMGB1 异二聚体的形成减少角膜组织中炎性细胞的浸润, 改善角膜水肿和混浊^[31]。在铜绿假单胞菌致小鼠角膜炎模型中, 采取结膜下注射 Box A 预处理, 通过竞争性抑制细胞膜表面 RAGE 受体对 HMGB1 的识别抑制 HMGB1 的功能, 发现角膜组织内 TLR4、RAGE、IL-1 β 、CXCL2 和 TNF- α 基因相对表达量和细菌载量显著下降, 组织炎症反应降低, 角膜透明度提高^[24]。在 HMGB1 基因缺失的小鼠中, 构建铜绿假单胞菌致小鼠角膜炎模型, 发现角膜组织内 IL-1 β 、MIP-2、TNF- α 、TLR4 和 RAGE 的 mRNA

水平显著降低, CXCL12 和 CXCR4 蛋白表达被抑制, HMGB1-CXCL12 的趋化因子作用被阻滞, 受损角膜组织中的炎症反应和中性粒细胞浸润减少, 角膜水肿程度降低^[30]。

研究发现, 在金黄色葡萄球菌导致的肺炎疾病中, HMGB1 与 RAGE 受体结合促进小鼠肺组织的纤维蛋白析出及 IL-1 β 、TNF- α 、IL-6 等相关炎症因子的释放, 加剧机体的炎症反应, 导致炎性损伤, 使用 HMGB1 的中和抗体后可显著缓解上述情况^[32]。金黄色葡萄球菌亦是导致角膜溃疡的常见病原菌之一^[33], 但 HMGB1 是否参与金黄色葡萄球菌性角膜溃疡疾病的病程进展未见报道, 可能是后续研究的方向。

2.2 HMGB1与真菌性角膜炎

真菌性角膜炎临床疾病特征为病程长、易反复、角膜损伤大, 这与发病过程中大量释放的炎症介质诱发过度炎症反应密切相关。有研究表明, 烟曲霉杆菌感染人角膜上皮细胞时, 细胞内活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 大量累积, 是造成细胞损伤的重要因素之一^[34]。HMGB1 作为晚期内源性炎症介质之一, 在真菌性角膜炎发病过程中表达显著增加^[35]。因 HMGB1 结构的特殊性, 其 Box A 和 Box B 区域在真菌性角膜炎发病过程中发挥相反的作用。Box A 主要为抗炎因子结合位点, 发挥抑炎作用, 是 HMGB1 有效的抑制剂^[36]。而 Box B 为促炎因子激活区域, 发挥炎症放大作用^[37]。在烟曲霉杆菌感染小鼠角膜上皮细胞模型中, 添加 HMGB1 的抑制剂 Box A 可显著抑制角膜上皮细胞内 HMGB1 和 TLR4 蛋白的表达, 降低 ROS 的累积, 减少细胞的氧化损伤^[36]。在烟曲霉杆菌致小鼠角膜溃疡模型中, 向角膜滴加人工合成的 Box B 后, 角膜组织中 TLR4 和 MyD88 蛋白表达增加, 并激活 HMGB1-TLR4-MyD88 信号通路, 加剧烟曲霉杆菌角膜炎致角膜穿孔^[38]。在烟曲霉杆菌感染小鼠角膜上皮细胞模型中, Box B 可激活 MAPK 通路, 促进巨噬细胞和中性粒细胞 IL-1 β 、TNF- α 和 MIP-2 等炎症因子的释放, 增加血凝素样氧化低密度脂蛋白受体 1 的表达, 介导机体炎症反应^[37]。

2.3 HMGB1与病毒性角膜炎

单纯疱疹病毒性角膜炎 (Herpes simplex keratitis, HSK) 是常见的病毒性角膜炎。人类 HSK 病原体主要为 I 和 II 型疱疹病毒 (Herpes simplex virus, HSV-I and HSV-II)^[39], 而犬、猫 HSK 病原体主要为 I 型疱疹病毒^[40]。HSK 具有感染后难治疗、易复发的特性,

反复发作的免疫炎症反应导致角膜对外界反应减退, 基质层溶解, 角膜瘢痕化, 最终导致失明^[41]。截止目前, HSK 的发病机制尚不明确。有研究发现, 在 HSV-I 感染角膜过程中, *IL-1 β* 、*IL-6*、*IL-8* 和 *TNF- α* 等炎症介质的 mRNA 表达量增加^[42-43]; NLRP3 炎症小体活化并向细胞核转位, 介导炎症反应和细胞凋亡^[44]。另有研究发现, HSV-I 感染人角膜内皮细胞时, 细胞表面的 RAGE 和 TLR9 蛋白表达增加, 分别使用 RAGE 和 TLR9 抑制剂后可降低 HSV-I 感染造成的炎症反应和临床症状^[45]。但有研究人员发现, 在 HSV-I 导致的小鼠脑炎模型中, HMGB1 与 TLR4 受体结合激活 NF- κ B 信号通路, 促进 *IL-1 β* 、*IL-8* 等多种炎性因子释放^[46], 但在 HSV-I 导致的角膜炎中, HMGB1 是否通过与受体 RAGE 结合并介导细胞的炎性损伤有待于进一步研究。

2.4 HMGB1与角膜损伤修复

新生血管形成是机体组织生长发育和创伤愈合中的重要过程, 而过度形成的新生血管与机体多种疾病, 如角膜血管化 (corneal neovascularization, CNV)、肿瘤、动脉粥样硬化、糖尿病性视网膜病变和类风湿关节炎等相关^[47]。新生的血管内皮细胞有两个来源: 其一是从现有血管中分化产生内皮细胞; 其二是骨髓来源的内皮祖细胞进入血管, 分化为血管内皮细胞^[25]。

研究证实, 在角膜血管化中, HMGB1 主要通过 RAGE 和 TLR4 受体发挥促进血管新生的作用^[48-49]。HMGB1 与 TLR4 结合促进内皮祖细胞向角膜创伤部位的募集, 并调节促血管生长因子的分泌, 介导角膜血管新生^[49]。在小鼠的角膜碱烧伤模型中, 当敲除小鼠的 TLR4 基因后, 角膜 HMGB1 蛋白的表达下降, 小鼠角膜血管化的形成被抑制, 角膜透明度提高^[49]。HMGB1 与 RAGE 结合可激活 MAPK 信号通路, 促进金属基质蛋白酶 2 (MMP2) 和 9 (MMP9) 表达, 降低紧密连接蛋白 ZO-1 和 Claudin 5 的表达, 破坏血管内皮细胞层屏障, 促进内皮细胞的增殖和迁移, 介导血管新生^[50-51]。在糖尿病角膜损伤小鼠模型中, 角膜滴加外源性 HMGB1 后, 组织中 RAGE 蛋白表达增加, JNK、ERK 等蛋白磷酸化水平升高, MAPK 炎症信号通路被激活, 促进内皮祖细胞的增殖和迁移, 导致角膜修复过程中角膜血管化, 同时 MMP2 和 MMP9 表达增加, 加速角膜组织溶解, 延缓角膜修复进程^[52]。

HMGB1 还可通过影响其他细胞因子的表达来调控组织修复。IL-1 作为细胞因子级联的主要调控

者, 在生理水平下, 可与上皮细胞分泌到泪液中的表皮生长因子 (EGF) 等结合, 并调节基质细胞肝细胞生长因子 (HGF) 的分泌, 以促进角膜细胞的增殖和迁移, 介导角膜伤口的愈合^[2, 53]。而过度表达的 IL-1 会促进中性粒细胞向角膜组织浸润, 加剧炎症反应, 并促进 α -平滑肌肌动蛋白的成熟, 造成角膜瘢痕^[54]。在角膜上皮层切除小鼠模型中, 滴加 HMGB1 的中和抗体后, 角膜组织内的 IL-1 含量显著降低, 角膜透明度显著增加, 证明 HMGB1 通过调节 IL-1 的表达介导角膜组织的损伤修复^[2]。

3 HMGB1抑制剂及其在眼部疾病中的应用

3.1 HMGB1拮抗剂的分类

3.1.1 RAGE受体拮抗剂

重组 Box A 是 HMGB1 的特异性拮抗剂, 因其在结构和序列上与 HMGB1 的 Box A 结构域高度相似, 可竞争性地与细胞膜表面 RAGE 受体结合, 减少细胞膜 RAGE 受体对 HMGB1 的识别, 同时其 (Gly₄Ser)₃ 序列可与 HMGB1 的 C 尾结合, 增强 HMGB1 的抗炎活性^[55]。

3.1.2 小分子抑制剂

3.1.2.1 天然的小分子抑制剂

甘草皂苷是分离自甘草根茎部的一种具有抗病毒和抗炎作用的三萜烯^[56], 与 HMGB1 的 Box A 和 Box B 区域结合, 阻断 HMGB1 被细胞膜表面受体捕获, 从而抑制 HMGB1 对血管新生的调节作用和炎症反应的促进作用^[57-58]。黄芪甲苷来源于黄芪, 以剂量依赖性拮抗 HMGB1 介导的 T 细胞免疫功能^[59]。丹参酮来源于丹参, 通过抑制 HMGB1 基因的表达降低 LPS 诱导的巨噬细胞的炎症反应^[60]。番茄红素是一种从胡萝卜和红果中提取的胡萝卜素, 可有效抑制 LPS 刺激内皮细胞释放的 HMGB1^[61]。

3.1.2.2 人工合成的小分子抑制剂

人工合成的小分子抑制剂通过抑制 HMGB1 表达及转位、减少其活化信号的产生、竞争性结合 RAGE 受体等方式来发挥其抑制作用。如甲磺酸奈莫司他、甲磺酸加贝酯通过阻断 LPS 诱导的细胞因子的释放, 减少 LPS 对 HMGB1 的激活作用^[55]。西维来司钠可抑制白细胞弹性蛋白酶的合成, 抑制 NF- κ B 通路的激活, 进而减少 HMGB1 活化信号的产生^[55]。阿托伐他汀和辛伐他汀可下调 HMGB1-RAGE 的水平, 减少 HMGB1 活化信号的释放, 发挥抑制 HMGB1 表达的效果^[62]。丙酮酸乙酯通过抑制 HMGB1 从细胞核到细胞质的转位过程, 降低

HMGB1 的释放^[63]。甲氨蝶呤在 HMGB1 上有独特的两个结合位点, 与 RAGE 竞争性地结合 HMGB1, 抑制 RAGE 受体的活化^[64]。

3.1.3 HMGB1蛋白类和多肽类抑制剂

研究发现, 部分内源性神经多肽对 HMGB1 表达有良好的抑制效果。血管活性肠肽 (vasoactive intestinal peptide, VIP) 和尿皮质素 (Urocortin) 通过抑制 HMGB1 从细胞核向细胞质的移位来减少 HMGB1 的释放^[55]。人可溶性血栓调节蛋白能抑制 HMGB1 核转位信号的产生, 进而降低胞外 HMGB1 的含量^[65]。从河南马氏钳蝎素中分离纯化得到的蝎素 III 可抑制 THP1 细胞中 HMGB1 的合成, 进而减少 HMGB1 的胞外释放^[55]。

3.2 HMGB1抑制剂在眼部疾病中的应用

甘草甜素 (glycyrrhizin, GLY) 又称甘草酸, 是从甘草中分离出的三萜类成分, 分子式为 $C_{42}H_{62}O_{16}$ 。研究发现, GLY 具有抗菌、抗病毒、抗氧化和调节机体免疫反应的作用, 并通过抑制 HMGB1 的活性减少中性粒细胞在受损角膜组织中的浸润, 降低炎症反应和肌成纤维细胞的分化, 减少 TGF- β 1 的表达和修复过程中角膜的瘢痕化^[66]。在铜绿假单胞菌致小鼠角膜溃疡模型中, 通过眼部滴加 GLY 可减少角膜组织中 HMGB1 的表达, 进而抑制 NF- κ B 信号通路的激活, 降低临床疾病等级^[56]。在碱烧伤模型中, GLY 的使用通过靶向作用于 HMGB1-NF- κ B 和 miR-21 来减少角膜修复过程中的瘢痕化和血管化^[4, 67-68]。在糖尿病角膜损伤患者中, 眼部滴加 GLY 可减少泪液中 HMGB1 等炎症因子的含量, 降低角膜细胞的炎性损伤, 促进角膜愈合^[69]。甘草酸二钾分离自甘草, 是一种有机化合物, 分子式为 $C_{42}H_{60}K_2O_{16}$, 具有抗炎、抗菌、抗过敏、抑制 HMGB1 信号转导的作用。在干眼症小鼠模型中, 眼部滴加甘草酸二钾, 通过抑制 HMGB1-NF- κ B 信号通路的激活减少组织炎性损伤和溶解, 促进角膜修复^[70]。在小鼠角膜碱烧伤模型中, 甘草酸二钾的外部滴加可有效降低疾病的等级, 减少新生血管的生成, 促进角膜愈合^[4]。

血管活性肠肽 (VIP) 是一种是由肠道神经元释放的神经递质, 具有抗氧化、下调促炎信号、上调抗炎信号、促进角膜内皮细胞增殖的作用。在角膜移植手术中, 外用 VIP 可抑制 HMGB1 的表达, 降低炎症反应, 减少术后免疫排斥, 提高手术成功率; 在角膜保存液中添加 VIP, 可减少因 HMGB1 高表达引发的角膜组织氧化损伤, 利于角膜内皮层保存

的完整性^[71]。在铜绿假单胞菌角膜溃疡小鼠模型中, 外部滴加 VIP 通过抑制 HMGB1-MAPK 的炎症增强作用, 促进角膜 ECM 重建, 减少角膜穿孔的发生^[72]。在角膜碱烧伤小鼠模型中, 向眼部滴加 VIP 可抑制 HMGB1-NF- κ B 信号通路的活化, 减少角膜组织炎性损伤, 促进角膜修复^[73]。

光甘草定是一种黄酮类物质, 提取自光果甘草, 具有抗炎、抗氧化、抑制中性粒细胞的组织浸润、减少 HMGB1 释放的作用。在烟曲霉杆菌小鼠角膜溃疡模型中, 眼部滴加光甘草定悬液, 通过抑制 HMGB1-CXCL12 异二聚体的形成, 减少中性粒细胞向角膜组织的浸润, 降低炎症反应, 改善预后^[74]。虾青素是一种酮式类胡萝卜素, 具有较强的抗氧化性, 可通过抑制 PI3K/Akt 通路间接抑制 HMGB1 的表达^[75]。在小鼠干眼症模型中, 使用虾青素预处理眼部后, HMGB1 等炎症因子蛋白表达下降, 荧光素钠着色面积减少^[75]。向视神经挤压小鼠模型的玻璃体腔内注射 HMGB1 的 Box A 合成物, 通过抑制 HMGB1 与细胞膜受体 RAGE 的结合, 可有效降低组织的炎性损伤, 有效缓解创伤性视神经病变导致的视网膜神经节细胞的死亡^[76]。

4 总结与展望

HMGB1 参与到角膜损伤及修复过程, 过度释放到胞外的 HMGB1 可加剧炎症过程, 造成组织的二次损伤。部分临床试验已证实, 抑制 HMGB1 的表达可显著改善疾病进展, 为眼科疾病的治疗提供新思路和新方案。目前关于 HMGB1 对革兰氏阴性菌引发的炎症研究较多, 但对 HMGB1 在革兰氏阳性菌感染中的作用知之甚少, 是未来研究的一个方向。此外, 在 HSV-I 导致的 HSK 中, HMGB1 是否发挥作用, 也是未来的研究方向。

[参 考 文 献]

- [1] Ziaei M, Greene C, Green CR, et al. Wound healing in the eye: therapeutic prospects. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 126: 162-76
- [2] Zhou YY, Wang T, Wang YC, et al. Blockade of extracellular high-mobility group box 1 attenuates inflammation-mediated damage and haze grade in mice with corneal wounds. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106468
- [3] Wang B, Zeng H, Zuo X, et al. TLR4-dependent DUOX2 activation triggered oxidative stress and promoted HMGB1 release in dry eye. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8: 781616
- [4] Li QQ, Wu XG, Xin M. Strengthened rebamipide ocular

- nanoformulation to effectively treat corneal alkali burns in mice through the HMGB1 signaling pathway. *Exp Eye Res*, 2021, 213: 108824
- [5] Hazlett LD, McClellan S, Somayajulu M, et al. Targeting inflammation driven by HMGB1 in bacterial keratitis--a review. *Pathogens*, 2021, 10: 1235
- [6] Alven A, Lema C, Redfern RL. Impact of low humidity on damage-associated molecular patterns at the ocular surface during dry eye disease. *Optom Vis Sci*, 2021, 98: 1231-8
- [7] Mosevitsky MI, Novitskaya VA, Iogannsen MG, et al. Tissue specificity of nucleocytoplasmic distribution of HMG1 and HMG2 proteins and their probable functions. *Eur J Biochem*, 1989, 185: 303-10
- [8] Bertheloot D, Latz E. HMGB1, IL-1 α , IL-33 and S100 proteins: dual-function alarmins. *Cell Mol Immunol*, 2017, 14: 43-64
- [9] Deng MH, Scott MJ, Fan J, et al. Location is the key to function: HMGB1 in sepsis and trauma-induced inflammation. *J Leukoc Biol*, 2019, 106: 161-9
- [10] Saidi H, Bras M, Formaglio P, et al. HMGB1 is involved in IFN- α production and TRAIL expression by HIV-1-exposed plasmacytoid dendritic cells: impact of the crosstalk with NK cells. *PLoS Pathog*, 2016, 12: e1005407
- [11] Andersson U, Yang H, Harris H. High-mobility group box 1 protein (HMGB1) operates as an alarmin outside as well as inside cells. *Semin Immunol*, 2018, 38: 40-8
- [12] Volchuk A, Ye AN, Chi LO, et al. Indirect regulation of HMGB1 release by gasdermin D. *Nat Commun*, 2020, 11: 4561
- [13] Sheller-Miller S, Urrabaz-Garza R, Saade G, et al. Damage-associated molecular pattern markers HMGB1 and cell-free fetal telomere fragments in oxidative-stressed amnion epithelial cell-derived exosomes. *J Reprod Immunol*, 2017, 123: 3-11
- [14] Maugeri N, Capobianco A, Rovere-Querini P, et al. Platelet microparticles sustain autophagy-associated activation of neutrophils in systemic sclerosis. *Sci Transl Med*, 2018, 10: 1-10
- [15] Kim YH, Kwak MS, Lee B, et al. Secretory autophagy machinery and vesicular trafficking are involved in HMGB1 secretion. *Autophagy*, 2021, 17: 2345-62
- [16] Kim HH, Park SJ, Han JH, et al. Structural insight into the interaction between the Hox and HMGB1 and understanding of the HMGB1-enhancing effect of Hox-DNA binding. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1854: 449-59
- [17] Bianchi ME, Manfredi AA. High-mobility group box 1 (HMGB1) protein at the crossroads between innate and adaptive immunity. *Immunol Rev*, 2007, 220: 35-46
- [18] Kew RR, Penzo M, Habiels DM, et al. The IKK α -dependent NF- κ B p52/RelB noncanonical pathway is essential to sustain a CXCL12 autocrine loop in cells migrating in response to HMGB1. *J Immunol*, 2012, 188: 2380-6
- [19] Li J, Kokkola R, Tabibzadeh S, et al. Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1. *Mol Med*, 2003, 9: 37-45
- [20] Abeyama K, Stern DM, Ito Y, et al. The N-terminal domain of thrombomodulin sequesters high-mobility group-B1 protein, a novel anti-inflammatory mechanism. *J Clin Invest*. 2005, 115: 1267-74
- [21] McClellan S, Jiang X, Barrett R, et al. High-mobility group box 1: a novel target for treatment of *Pseudomonas aeruginosa* keratitis. *J Immunol*, 2015, 194: 1776-87
- [22] Li B, Peng X, Li H, et al. The performance of the alarmin HMGB1 in pediatric diseases: from lab to clinic. *Immun Inflamm Dis*, 2021, 9: 8-30
- [23] Yang H, Lundbäck P, Ottosson L, et al. Redox modification of cysteine residues regulates the cytokine activity of high mobility group box-1 (HMGB1). *Mol Med*, 2012, 18: 250-9
- [24] Ekanayaka SA, McClellan SA, Peng X, et al. HMGB1 antagonist, Box A, reduces TLR4, RAGE, and inflammatory cytokines in the cornea of *P. aeruginosa*-infected mice. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2018, 34: 659-69
- [25] Liu Y, Zhuang GB, Zhou XZ. HMBG1 as a driver of inflammatory and immune processes in the pathogenesis of ocular diseases. *J Ophthalmol*, 2018, 2018: 5195290
- [26] El-Asrar AM, Missotten L, Geboes K. Expression of high-mobility groups box-1/receptor for advanced glycation end products/osteopontin/early growth response-1 pathway in proliferative vitreoretinal epiretinal membranes. *Mol Vis*, 2011, 17: 508-18
- [27] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol*, 2010, 11: 373-84
- [28] Youn JH, Oh YJ, Kim ES, et al. High mobility group box 1 protein binding to lipopolysaccharide facilitates transfer of lipopolysaccharide to CD14 and enhances lipopolysaccharide mediated TNF- α production in human monocytes. *J Immunol*, 2008, 180: 5067-74
- [29] Lang LL, Wang L, Liu L. Exogenous MD-2 confers lipopolysaccharide responsiveness to human corneal epithelial cells with intracellular expression of TLR4 and CD14. *Inflammation*, 2011, 34: 371-8
- [30] Ekanayaka SA, McClellan SA, Barrett RP, et al. Glycyrrhizin reduces HMGB1 and bacterial load in *Pseudomonas aeruginosa* keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57: 5799-809
- [31] Somayajulu M, McClellan SA, Bessert DA, et al. Ocular effects of glycyrrhizin at acidic and neutral pH. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 11: 782063
- [32] Ekanayaka SA, McClellan SA, Barrett RP, et al. Topical glycyrrhizin is therapeutic for *Pseudomonas aeruginosa* keratitis. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2018, 34: 239-49
- [33] Achouiti A, Van Der Meer AJ, Florquin S, et al. High-mobility group box 1 and the receptor for advanced glycation end products contribute to lung injury during *Staphylococcus aureus* pneumonia. *Crit Care*, 2013, 17: R296
- [34] Wu MQ, Li C, Zhang LN, et al. High-mobility group box 1 as an amplifier of immune response and target for treatment in *Aspergillus fumigatus* keratitis. *Int J Ophthalmol*, 2020,

- 13: 708-17
- [35] Barreiro-Alonso A, Lamas-Maceiras M, Rodríguez-Belmonte E, et al. High mobility group B proteins, their partners, and other redox sensors in ovarian and prostate cancer. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 5845061
- [36] 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. *Exp Ther Med*, 2017, 14: 1582-8
- [37] Jiang JQ, Li C, Cui CX, et al. Inhibition of LOX-1 alleviates the proinflammatory effects of high-mobility group box 1 in *Aspergillus fumigatus* keratitis. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12: 898-903
- [38] Li C, Li C, Lin J, et al. The role of autophagy in the innate immune response to fungal keratitis caused by *Aspergillus fumigatus* infection. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, 61: 25
- [39] Xu F, Schillinger JA, Sternberg MR, et al. Seroprevalence and coinfection with herpes simplex virus type 1 and type 2 in the United States, 1988-1994. *J Infect Dis*, 2002, 185: 1019-24
- [40] Ledbetter EC, Joslin AR, Spertus CB, et al. *In vivo* confocal microscopic features of naturally acquired canine herpesvirus-1 and feline herpesvirus-1 dendritic and punctate ulcerative keratitis. *Am J Vet Res*, 2021, 82: 903-11
- [41] Garg P, Krishna PV, Stratis AK, et al. The value of corneal transplantation in reducing blindness. *Eye (Lond)*, 2005, 19: 1106-14
- [42] Walzer T, Dalod M, Robbins SH, et al. Natural-killer cells and dendritic cells: "I" union fait la force". *Blood*, 2005, 106: 2252-8
- [43] Rowe AM, St Leger AJ, Jeon S, et al. Herpes keratitis. *Prog Retin Eye Res*, 2013, 32: 88-101
- [44] Wang SL, Zhao G, Zhu W, et al. Herpes simplex virus-1 infection or Simian virus 40-mediated immortalization of corneal cells causes permanent translocation of NLRP3 to the nuclei. *Int J Ophthalmol*, 2015, 8: 46-51
- [45] Miyazaki D, Kandori-Inoue M, Shimizu Y, et al. Role played by receptors for advanced glycosylation end products in corneal endothelial cells after HSV-1 infection. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 5833
- [46] 杨会, 郭远瑾. 甘草皂苷对单纯疱疹病毒性脑炎小鼠高迁移率族蛋白B1和Toll样受体水平的影响. *中国老年学杂志*, 2014, 34: 3656-7
- [47] Peluzzo AM, Autieri MV. Challenging the paradigm: anti-inflammatory interleukins and angiogenesis. *Cells*, 2022, 11: 587
- [48] Yu M, Wang H, Ding A, et al. HMGB1 signals through toll-like receptor (TLR) 4 and TLR2. *Shock*, 2006, 26: 174-9
- [49] Lin Q, Yang XP, Fang D, et al. High-mobility group box-1 mediates toll-like receptor 4-dependent angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31: 1024-32
- [50] Gross C, Belville C, Lavergne M, et al. Advanced glycation end products and receptor (RAGE) promote wound healing of human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, 61: 14
- [51] Zhou H, Jin C, Cui L, et al. HMGB1 contributes to the irradiation-induced endothelial barrier injury through receptor for advanced glycation endproducts (RAGE). *J Cell Physiol*, 2018, 233: 6714-21
- [52] Hou Y, Lan J, Zhang F, et al. Expression profiles and potential corneal epithelial wound healing regulation targets of high-mobility group box 1 in diabetic mice. *Exp Eye Res*, 2021, 202: 108364
- [53] Ljubimov AV, Saghizadeh M. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res*, 2015, 49: 17-45
- [54] Raghunathan VK, Thomasy SM, Strøm P, et al. Tissue and cellular biomechanics during corneal wound injury and repair. *Acta Biomater*, 2017, 58: 291-301
- [55] Musumeci D, Roviello GN, Montesarchio D. An overview on HMGB1 inhibitors as potential therapeutic agents in HMGB1-related pathologies. *Pharmacol Ther*, 2014, 141: 347-57
- [56] Jain R, Hussein MA, Pierce S, et al. Oncopreventive and oncotherapeutic potential of licorice triterpenoid compound glycyrrhizin and its derivatives: molecular insights. *Pharmacol Res*, 2022, 178: 106138
- [57] Ogiku M, Kono H, Hara M, et al. Glycyrrhizin prevents liver injury by inhibition of high-mobility group box 1 production by Kupffer cells after ischemia-reperfusion in rats. *J Pharmacol Exp Ther*, 2011, 339: 93-8
- [58] Gwak GY, Moon TG, Lee DH, et al. Glycyrrhizin attenuates HMGB1-induced hepatocyte apoptosis by inhibiting the p38-dependent mitochondrial pathway. *World J Gastroenterol*, 2012, 18: 679-84
- [59] Huang LF, Yao YM, Li JF, et al. The effect of astragaloside IV on immune function of regulatory T cell mediated by high mobility group box 1 protein *in vitro*. *Fitoterapia*, 2012, 83: 1514-22
- [60] Zhao L, Xu J, Jiao Y, et al. Novel mechanisms involving chemically modified tetracycline 3 cytotoxicity. *Anticancer Drugs*, 2014, 25: 1165-74
- [61] Lee W, Ku SK, Bae JW, et al. Inhibitory effects of lycopene on HMGB1-mediated pro-inflammatory responses in both cellular and animal models. *Food Chem Toxicol*, 2012, 50: 1826-33
- [62] Wang L, Zhang X, Liu L, et al. Atorvastatin protects rat brains against permanent focal ischemia and downregulates HMGB1, HMGB1 receptors (RAGE and TLR4), NF- κ B expression. *Neurosci Lett*, 2010, 471: 152-6
- [63] Guo X, Guo R, Luo X, et al. Ethyl pyruvate ameliorates experimental colitis in mice by inhibiting the HMGB1-Th17 and Th1/Tc1 responses. *Int Immunopharmacol*, 2015, 29: 454-61
- [64] Kuroiwa Y, Takakusagi Y, Kusayanagi T, et al. Identification and characterization of the direct interaction between methotrexate (MTX) and high-mobility group box 1 (HMGB1) protein. *PLoS One*, 2013, 8: e63073
- [65] Nagato M, Okamoto K, Abe Y, et al. Recombinant human soluble thrombomodulin decreases the plasma high-mobility group box-1 protein levels, whereas improving the acute liver injury and survival rates in experimental

- endotoxemia. *Crit Care Med*, 2009, 37: 2181-6
- [66] Chrzanowski J, Chrzanowska A, Graboń W. Glycyrrhizin: an old weapon against a novel coronavirus. *Phytother Res*, 2021, 35: 629-36
- [67] Hou Y, Xin M, Li Q, et al. Glycyrrhizin micelle as a genistein nanocarrier: synergistically promoting corneal epithelial wound healing through blockage of the HMGB1 signaling pathway in diabetic mice. *Exp Eye Res*, 2021, 204: 108454
- [68] Wang P, Hao P, Chen X, et al. Targeting HMGB1-NF κ b axis and miR-21 by glycyrrhizin: role in amelioration of corneal injury in a mouse model of alkali burn. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 841267
- [69] Mohammad G, Kowluru RA. Involvement of high mobility group box 1 protein in optic nerve damage in diabetes. *Eye Brain*, 2022, 14: 59-69
- [70] Li Q, Wu X, Xin S, et al. Preparation and characterization of a naringenin solubilizing glycyrrhizin nanomicelle ophthalmic solution for experimental dry eye disease. *Eur J Pharm Sci*, 2021, 167: 106020
- [71] Koh SM, Coll T, Gloria D, Sprehe N. Corneal endothelial cell integrity in pre-cut human donor corneas enhanced by autocrine vasoactive intestinal peptide. *Cornea*, 2017, 36: 476-83
- [72] Berger EA, Vistisen KS, Barrett RP, et al. Effects of VIP on corneal reconstitution and homeostasis following *Pseudomonas aeruginosa*-induced keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53: 7432-9
- [73] Tuncel N, Yildirim N, Gurer F, et al. Effect of vasoactive intestinal peptide on the wound healing of alkali-burned corneas. *Int J Ophthalmol*, 2016, 9: 204-10
- [74] Gao H, Peng X, Zhan L, et al. The role of glabridin in antifungal and anti-inflammation effects in *Aspergillus fumigatus* keratitis. *Exp Eye Res*, 2022, 214: 108883
- [75] Li H, Li J, Hou C, et al. The effect of astaxanthin on inflammation in hyperosmolarity of experimental dry eye model *in vitro* and *in vivo*. *Exp Eye Res*, 2020, 197: 108113
- [76] Peng J, Jin J, Su W, et al. High-mobility group box 1 inhibitor BoxA alleviates neuroinflammation-induced retinal ganglion cell damage in traumatic optic neuropathy. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 6715