

DOI:10.13350/j.cjpb.220909

• 论著 •

华支睾吸虫 HMGB1 同源分子的识别及其进化研究^{*}

王婷¹, 杨庆利^{1**}, 冷静^{1**}, 李宝莹¹, 戴悦¹, 申继清², 张丽峰¹, 何怡宁¹

(1. 广西中医药大学, 广西高发传染病中西医结合转化医学重点实验室, 广西南宁 530200; 2. 广西医科大学寄生虫学教研室)

【摘要】 目的 识别华支睾吸虫 HMGB1 同源分子的 CDS 及其蛋白序列, 并分析其进化特征。方法 分别用基于麝猫后睾吸虫 HMGB1 预测序列的 5' 和 3' RACE 以及基于华支睾吸虫 HMGB1 基因组预测序列的 PCR 法扩增华支睾吸虫成虫来源的 cDNA, 对扩增产物进行克隆测序, 并进行序列的同源性比较和拼接, 分析其 ORFs, 据此对华支睾吸虫成虫来源的 cDNA 进行 PCR 扩增验证其转录; 构建进化树, 对识别出的 HMGB1 同源分子进行进化分析。结果 识别出两个华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白 CDS, 大小分别为 381 和 477 bp, 二者均在华支睾吸虫成虫转录, 产物均一; 推测其编码蛋白分别为 127 和 159 个氨基酸, 其分子序列与血吸虫同源性较高, 而与人及其他脊椎动物同源性低。结论 成功识别出华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白 CDS 序列, 为研究其与肝胆管癌发生的关联性和机制奠定了基础。

【关键词】 华支睾吸虫; 高迁移率族蛋白 1; 同源性; 进化

【中图分类号】 R383.22

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)09-1035-05

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Sep.; 17(9): 1035-1039.]

Identification and evolution of HMGB1 homologous molecules of *Clonorchis sinensis*

WANG Ting¹, YANG Qing-li¹, LENG Jing¹, LI Bao-ying¹, DAI Yue¹, SHEN Ji-qing², ZHANG Li-feng¹, HE Yi-ning¹ (1. Guangxi University of Chinese Medicine, Guangxi Key Laboratory of Translational Medicine for Treating High-Incidence Infectious Diseases with Integrative Medicine, Nanning 530200, China; 2. Department of Parasitology, Guangxi Medical University)

【Abstract】 **Objective** To identify the CDS and its protein sequences of the HMGB1 homologous molecule from *C. sinensis*, and to analyze its evolutionary features. **Methods** The *C. sinensis* adult derived cDNA was amplified by 5' and 3' race based on the predicted sequence of *O. viverrine* HMGB1 and by PCR based on the predicted sequence of *C. sinensis* HMGB1 genome, respectively. The amplified products were clonally sequenced, and the sequences were compared for homology and splicing, and their ORFs were analyzed, according to which the transcription was verified by PCR amplification of cDNA derived from the adult worms. An evolutionary tree was constructed, and the identified HMGB1 homologous molecules were subjected to evolutionary analysis. **Results** Two *C. sinensis* HMGB1 homologous protein CDS, 381 and 477 bp in size, were recognized, both of which were transcribed in *C. sinensis* adults with uniform products. Its encoded proteins are presumed to be 127 and 159 amino acids, respectively, and its molecular sequence shares high homology with schistosomes but low homology with humans and other vertebrates. **Conclusion** The CDS sequences of the HMGB1 homologous protein from *C. sinensis* were successfully identified, which laid the foundation for investigating their association and mechanism with hepatobiliary carcinogenesis.

【Key words】 *Clonorchis sinensis*; high mobility group box 1; homology; evolution

^{**} 华支睾吸虫 (*Clonorchis sinensis*) 是华支睾吸虫病 (clonorchiasis) 的病原体, 其成虫寄生在人和易感动物肝胆管内。华支睾吸虫慢性感染可诱发肝内胆管癌 (intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)^[1-2]。目前, 华支睾吸虫与麝猫后睾吸虫 (*Opisthorchis viverrini*) 已被国际癌症研究机构 (IARC) 确定为人类的 1 类致癌因素^[3]。研究发现, 华支睾吸虫感染小鼠后期出现虫体普遍死亡并滞留在肝内胆管中, 周围肝胆管组织可出现渐进性上皮间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 的恶性化病变^[4-5]。由于坏死的细胞可释放高迁移率族蛋白 1 (high mobility group box 1, HMGB1) 等损伤相关分子模式 (damage-associated

molecular patterns, DAMPs), 并通过 TLR2 和 TLR4 等模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs) 信号途径介导 EMT 发生和发展^[6], 因此推测死亡华支睾吸虫来源的 HMGB1 同源分子作为特殊

【基金项目】 广西自然科学基金项目 (No. 2020GXNSFAA238016); 广西中医药大学博士科研启动基金项目 (No. 2019BS027)。

【通讯作者】 杨庆利, E-mail: eyangql@sina.com;

冷静, E-mail: lj986771558@163.com

【作者简介】 王婷 (1994-), 女, 江西人, 硕士研究生。主要研究方向: 病原分子生物学。E-mail: 981693327@qq.com

的病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)可能具有重要的天然免疫活性并参与华支睾吸虫相关 ICC 的发生发展过程。但目前对于华支睾吸虫来源的 HMGB1 同源分子的认识仅停留在对其基因组测序结果的预测阶段^[7], 还未识别并验证其 CDS 和表达。本实验通过对华支睾吸虫来源的 HMGB1 同源分子的 CDS 序列的探究, 推测出其蛋白编码序列, 并分析其分子进化特征。

材料与amp;方法

1 材料

1.1 华支睾吸虫成虫 华支睾吸虫成虫取自感染家猫的肝胆管, 分离出的单条活体成虫加入 Sample Protector for RNA/DNA 试剂(TaKaRa)后于-80℃保存。

1.2 主要试剂 TaKaRa Ex Taq, pMDTM19-T Vector Cloning Kit, *E. coli* DH5α Competent Cells 和 PrimeScriptTM 1st Strand cDNA Synthesis Kit 购自宝生物工程(大连)有限公司; TRIzol 试剂和购于生工生物工程(上海)有限公司; FirstChoice[®] RLM-RACE Kit 购自美国 Invitrogen 公司。

1.3 主要仪器 梯度 PCR 仪(T100 型)为美国 BIO-RAD 生产; ChampChemi 全能型凝胶成像分析系统为北京赛智创业科技有限公司生产。

2 方法

2.1 华支睾吸虫总 RNA 的提取 取单个华支睾吸虫成虫虫体, 去除样品保存剂, 加入 1 mL TRIzol 试剂, 用一次性塑料研磨棒(RNase free)辅助裂解, 参照试剂操作程序提取 RNA。干燥后的 RNA 用 20 μL RNase/DNase free 水溶解。

2.2 5'和 3'RACE 反应 用 RNA 连接酶介导的快速扩增 cDNA 末端(RNA Ligase Mediated Rapid Amplification of cDNA Ends, RLM-RACE)法对华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白 mRNA 编码序列进行扩增, 按照试剂盒推荐程序进行。根据麝猫后睾吸虫 HMGB1 同源蛋白 mRNA 预测序列(登录号: XM_009177186, 519 bp)设计 5'和 3' RACE 巢式 PCR 引物(表 1), 由上海生工公司合成。

2.3 华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白 mRNA 编码预测序列的扩增 分析华支睾吸虫基因组鸟枪法测序数据(登录号: DF144522)编码 HMGB1 的 CDS 反向互补预测序列(1621-2304 nt, 684 bp), 取其头和尾序列为引物(684F 和 684R, 表 1)对 3' RACE cDNA 进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(50 μL): TaKaRa Ex Taq (0.025 U/μL), 1 × Ex Taq Buffer (2 mmol/L Mg²⁺), dNTP Mixture (各 0.2 mmol/L), 引物各 0.4

μmol/L, cDNA 模板 2.0 μL。PCR 条件: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 3 min, 共 35 个循环; 72℃ 延伸 5 min。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离并分析。

表 1 华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 CDS 序列识别和转录检测引物
Table 1 Primers for CDS identification and transcripts detection of *C. sinensis* HMGB1 homologous molecules

用途 Use	名称 Name	序列 Sequence	位置(nt) Position (nt)	特异性(登录号) specificity(accession)
5' RLM-RACE 外侧引物	Ov6R3	CTTCGACTTGTTT TTGCACG	426-407	<i>O. viverrine</i> (XM_009177186)
5' RLM-RACE 内测引物	Ov6R1	ATGGTCTGCCTTA ACCTTTG	354-335	
3' RLM-RACE 外侧引物	Ov6F3	AAGAAGCATCCA AGCGTAAC	82-101	
3' RLM-RACE 内测引物	Ov6F2	AAGAATGCCTGGA ACAGTGG	125-144	
预测序列扩增上游引物*	684F	ATGGCAAAGGATAA GTCAAAGCC	1621-1644	<i>C. sinensis</i> (DF144522)
预测序列扩增下游引物	684R	GTGAGTCTATGTAG CCGAATGGA	2304-2281	
381/477 bp CDS 转录检测上游引物	381F	ATGGCAAAGGATAA GTCAAAG	1-21	
381 bp CDS 转录检测下游引物	381R	ATACGACTCACTGAC CTTCC	381-362	
477 bp CDS 转录检测下游引物	477R	CCAACCTACTTTCTC ATAACGT	477-456	
actin 内参转录检测上游引物	CsatF1	GTTTACAGCAACTG CTGAG	599-618	<i>C. sinensis</i> (EU109284)
actin 内参转录检测下游引物	CsatR1	ACTCTTCTCCAAAGA CGAAC	720-701	

* 根据华支睾吸虫基因组鸟枪测序(DF144522)部分拼接序列(1621-2304, 684 bp)设计(Designed from a partially spliced sequence (1621-2304, 684 bp) derived from shotgun sequencing (df144522) of the *C. sinensis* genome)。

2.4 PCR 扩增产物的克隆和测序分析 分别将 5'和 3' RACE 和预测序列 PCR 扩增的各片段经胶回收、纯化后克隆入 pMDTM 19-T 载体并转化 *E. coli* DH5α 感受态细胞, 按照试剂盒推荐程序进行。各片段分别选取 3 个克隆交由生工生物工程(上海)有限公司进行 DNA 测序, 测序结果经 Nucleotide BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome)检索排除无关序列; 将与华支睾吸虫或麝猫后睾吸虫 HMGB1 基因组预测序列同源者用 Lasergene 软件包的 MegAlign 程序进行相互比对和拼接; 用 EditSeq 程序分析 ORF。

2.5 RT-PCR 用 RT-PCR 法扩增初步识别的华支睾吸虫 HMGB1 同源分子的 ORF, 进一步确定其 CDS 序列。首先, 采用 PrimeScriptTM 1st Strand cDNA Synthesis Kit, 用 Oligo dT 引物将华支睾吸虫总 RNA 反转录成 cDNA。然后用初步识别的 ORF 两端序列为引物(表 1)进行 PCR 扩增, PCR 反应体系如上所

述。PCR反应条件:94℃预变性5 min;94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 30 s,共35个循环;72℃延伸3 min。取PCR产物进行1.5%琼脂糖凝胶电泳分析。

2.6 华支睾吸虫 HMGB1 同源分子的进化分析 将识别出的华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 CDS 和蛋白序列与各物种相应分子进行同源性和进化分析比较。用于参照的 HMGB1 同源分子来源见表 2。用 MEGA 6 软件以 Clustal W 法进行序列比对,用 Neighbor-Joining 法,Bootstrap method(No. of Bootstrap replication 为 1000)和 p-distance 模型构建不同物种 HMGB1 CDS 和编码蛋白序列的进化树。

表 2 不同物种 HMGB1 同源分子概况
Table 2 Overview of HMGB1 homologous molecules in different species

来源 Source	登录号 Accession number	蛋白编码 序列/位置 CDS/location, bp	蛋白 id Protein id
人(<i>Homo sapiens</i>)	CR456863	648/1~648	CAG33144.1
食蟹猴 (<i>Macaca fascicularis</i>)	NM_001283356	648/156~803	NP_001270285
小鼠 (<i>Mus musculus</i>)	BC064790	648/438~1085	AAH64790.1
大鼠 (<i>Rattus norvegicus</i>)	NM_012963	648/58~705	NP_037095.1
猪 (<i>Sus scrofa</i>)	NM_001004034	648/9~656	NP_001004034.1
鸡 (<i>Gallus gallus</i>)	NM_204902	648/113~760	NP_990233.1
罗非鱼 (<i>Oreochromis niloticus</i>)	MG753990	603/189~791	AYL60141.1
鲫鱼 (<i>Carassius auratus</i>)	KF638272	615/89~703	AHI15743.1
长牡蛎 (<i>Crassostrea gigas</i>)	KC516860	609/146~754	AGH28093.1
栉孔扇贝 (<i>Acumia pecten farreri</i>)	JX126861	648/83~730	AFN27605.1
日本血吸虫 (<i>Schistosoma japonicum</i>)	DQ005528	531/1~147, 179~499, 540~602	AY44044.1
曼氏血吸虫 (<i>Schistosoma mansoni</i>)	DQ005529	531/1~147, 185~505, 541~603	AA44045.1
曼氏血吸虫 (<i>Schistosoma mansoni</i>)	AY485339	531/1~531	AAR85353.1
麝猫后睾吸虫* (<i>Opisthorchis viverrini</i>)	XM_009177186	519/1~519	XP_009175450.1

* 麝猫后睾吸虫 HMGB1 mRNA 部分预测序列(Partial predicted sequence of *O. viverrini* HMGB1 mRNA)。

结果

1 华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 cDNA 的扩增

用基于麝猫后睾吸虫 HMGB1 同源蛋白 mRNA 预测序列设计引物对 5 条华支睾吸虫成虫总 RNA 进行 5' 和 3' RACE 反应,分别扩增出长度 250~450 bp 和 200~800 bp 不均一片段(图 1A)。用基于华支睾吸虫 HMGB1 基因组预测序列对 5 条华支睾吸虫成虫 cDNA 进行 PCR,分别扩增出长度为 400~800 bp

的不均一片段(图 1B)。

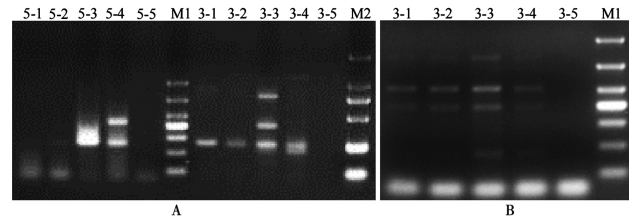


图 1 华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 cDNA 的 PCR 扩增
A 5-1~5-5 和 3-1~3-5 分别表示 5 个虫体 RNA 的 5' 和 3' RACE 扩增结果 B 3-1~3-5 分别为以 5 个虫体 3' RACE cDNA 为模板,用 684F 和 684R 为引物的 PCR 扩增 M1 和 M2 分别为 DL1000 和 DL2000 DNA 标志物

Figure 1 Amplification of *C. sinensis* HMGB1 homologous molecule cDNA
A 5-1 - 5-5, 3-1 - 3-5 represent 5' and 3' RACE amplification results of 5 worms RNA, respectively. B 3-1-3-5 are the PCR amplification results with 3' race cDNA of 5 worms as template and 684f and 684r as primers, respectively. M1, M2 represent DL1000 and DL2000 DNA ladder

2 华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 CDS 的识别及其在成虫的转录

分别将 5' 和 3' RACE 反应和同源分子 PCR 反应得到的各片段克隆后测序,并将得到的华支睾吸虫 HMGB1 同源序列进行相互比对和拼接,并分析其 ORF。对同源分子 PCR 反应产物测序,分别得到 35 (RV-M) 和 44 (RV-M) 克隆,均包含 381 bp 完整 ORF;将二者分别与 3' RACE 反应产物测序得到的 3-41 (M13-47) 克隆进行序列比对和拼接,得到另外 477 bp 包含完整 ORF 的序列。两个 ORF 前 375 bp 完全一致,可变序列分别为 6 和 102 bp(图 2)。

```

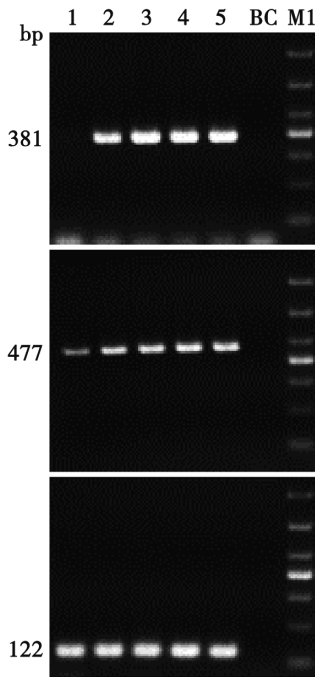
ATGGCAAAGGATAAGTCAAAGCCCAAGGAGCACTGACCCATATGCGTGTGCTTGCAGTCAATGCA
TGCTGATCAGAAAAGAAGCACCAGCGTAACCTTGAATCAAGACATCTCCAAAGAATGCTCTG
AACAATGGAAGAAATCTCACCCGAAAAGAAAAGAAAGTTGAGGACTTTGCTGCTAAAGACAAG
AAAGATATAGGAAGGAAATGCAAAGCTACGAGCCCTGCGGATGAGGGTAAAAGCAGGAAGAGGA
AAAAAGATCCTAATGCCCCAAAGAAAGCTCTGTCAGCATTCTTGTGTTTGCAACGACGAGCGACCA
AAGGTCAAGGCAGACCACCCCGATTGGAAGGTCAGTGAATGCGTAT
ATGGCAAAGGATAAGTCAAAGCCCAAGGAGCACTGACCCATATGCGTGTGCTTGCAGTCAATGCA
TGCTGATCAGAAAAGAAGCACCAGCGTAACCTTGAATCAAGACATCTCCAAAGAATGCTCTG
AACAATGGAAGAAATCTCACCCGAAAAGAAAAGAAAGTTGAGGACTTTGCTGCTAAAGACAAG
AAAGATATAGGAAGGAAATGCAAAGCTACGAGCCCTGCGGATGAGGGTAAAAGCAGGAAGAGGA
AAAAAGATCCTAATGCCCCAAAGAAAGCTCTGTCAGCATTCTTGTGTTTGCAACGACGAGCGACCA
AAGGTCAAGGCAGACCACCCCGATTGGAAGGTCAGTGAATGCGTGAAGGAACTAGGAAAGCGGTGG
GAGACGTGCAAAAACAAGTCGAAGTATGAGAGTCAGGCGCAGGTCGAAAAGCAACGTTATGAGAAA
GTAAGTTGG
    
```

注:上图为 381 bp,下图为 477 bp CDS;下划线部分表示二者差异的序列。

图 2 识别出的华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 CDS
Notes: The 381 bp (above) and 477 bp CDS (below) are showed. The underlines indicate the different sequence between the two.

Fig. 2 Identification of the HMGB1 homologous molecule CDS from *C. sinensis*

为证实识别出的 381 和 477 bp 序列为华支睾吸虫 HMGB1 同源分子的 CDS,分别以该 381 和 477 bp ORF 两端序列为引物对华支睾吸虫成虫 cDNA 进行 PCR,扩增出相应大小的高度均一的目的片段(图 3)。该扩增片段经测序验证与识别出的华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 381 和 477 bp ORF 序列一致。



1~5 分别为 5 个虫体 cDNA 的 PCR 扩增产物(381 和 477 bp), 以及华支睾吸虫 actin 转录对照(122 bp) N 空白对照 M1 DL1000 DNA 标志物

图 3 华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 CDS 在华支睾吸虫成虫的转录

1-5 Represent the PCR amplification results of 5 insects cDNA (381 and 477 bp). *C. sinensis* actin transcription was used as control (122 bp). N Blank control M1 DL1000 DNA ladder

Fig. 3 Transcription of the HMGB1 homologous CDS from *C. sinensis* adult worms

3 华支睾吸虫 HMGB1 同源分子进化分析

根据识别出的华支睾吸虫 HMGB1 同源分子的 CDS, 预测出其 127 和 159 个氨基酸蛋白编码序列。两个蛋白序列前 125 个氨基酸完全一致, 可变序列分别为 2 和 34 个氨基酸(图 4)。对识别出的华支睾吸虫 HMGB1 同源分子的 CDS 和蛋白序列与不同物种相应同源分子(表 2) 进行同源进化分析。结果显示, 识别出的华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 CDS 序列(381 和 477 bp) 和蛋白序列(127 和 159 个氨基酸) 均与麝猫后睾吸虫 HMGB1 分子部分预测序列聚类在同一分支, 与其高度同源; 与日本血吸虫和曼氏血吸虫 HMGB1 分子聚类在相邻分支, 与其同源性较高; 与甲壳类动物和包括人在内的脊椎动物 HMGB1 分子分属较远分支, 与其同源性较低(图 5, 图 6)。

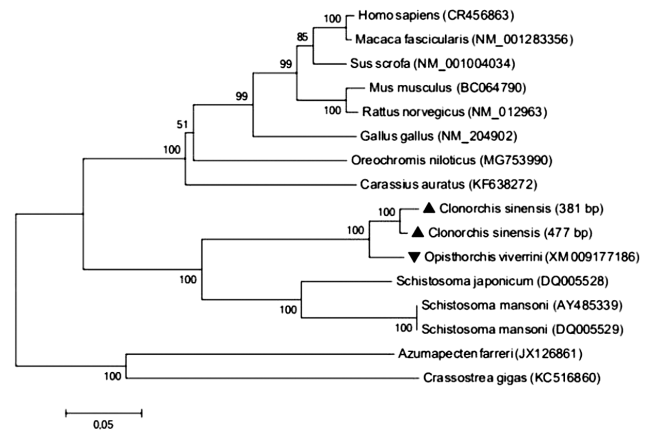
MAKDKSKPKGALTPYALFLQSMHADQKKHPSVTLDFKTFSEKCESEQWKNLTAKEKKKFEDFAAKDKER
YRKEMQSYEPPADEGKSRKRKDPNAPKKALSFAFFLFCNDRPKVKADHPDWKVSSEY
MAKDKSKPKGALTPYALFLQSMHADQKKHPSVTLDFKTFSEKCESEQWKNLTAKEKKKFEDFAAKDKER
YRKEMQSYEPPADEGKSRKRKDPNAPKKALSFAFFLFCNDRPKVKADHPDWKVSSEI~~AKFLGKRWETCK~~
NKSKYESQAQVEKQRYEKVSV

注: 上、下两部分分别为 127 和 159 个氨基酸蛋白序列; 下划线部分表示二者差异的序列。

图 4 华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白序列

Notes: The 127 (above) and 159 amino acid sequences (below) are showed. The underlines indicate the different sequence between the two.

Fig. 4 Sequences of *C. sinensis* HMGB1 homologous protein

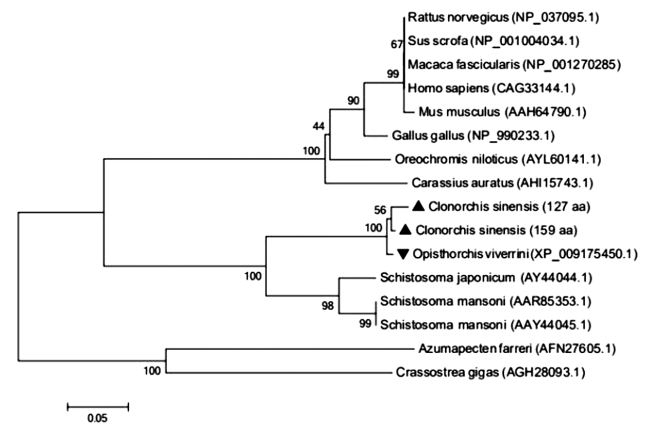


▲ 识别出的华支睾吸虫(*C. sinensis*) HMGB1 同源蛋白 CDS 序列(381 和 477 bp) ▼ 麝猫后睾吸虫(*O. viverrini*) HMGB1 mRNA 部分预测序列(519 bp)

图 5 华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白编码序列的同源性分析

▲ The identified CDS sequences of HMGB1 homologous protein of *C. sinensis* (381 and 477 bp) ▼ The partial predicted sequence of HMGB1 mRNA of *O. viverrini* (519 bp)

Fig. 5 Evolutionary analysis of the coding sequence of *C. sinensis* HMGB1 homologous protein



▲ 识别的华支睾吸虫(*C. sinensis*) HMGB1 同源蛋白(127 和 159 aa); ▼ 麝猫后睾吸虫(*O. viverrini*) HMGB1 蛋白部分预测序列(172 aa)

图 6 华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白的进化分析

▲ The identified sequences of *C. sinensis* HMGB1 homologous protein (127 and 159 aa) ▼ The partial predicted sequence of *O. viverrini* HMGB1 protein (172 aa)

Fig. 6 Evolutionary analysis of *C. sinensis* HMGB1 homologous protein

讨论

本研究分别根据麝猫后睾吸虫和华支睾吸虫基因组测序后 HMGB1 分子预测序列, 识别出了华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白 CDS, 并对扩增后得到的复杂片段分别克隆测序, 经比对分析后得到 381 和 477 bp 的两个 ORF。以识别出的 ORF 首尾序列为引物, 以华支睾吸虫成虫 cDNA 为模板进行 PCR, 结果均扩增出特异性的均一产物, 测序后证实为华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白 CDS。根据识别出的 CDS 推测出华支睾吸虫 HMGB1 同源蛋白分别为 127 和 159 个氨

基酸。华支睾吸虫 HMGB1 同源分子转录产物不均一,至少存在包含 381 和 477 bp 两种 ORF 的转录本,相应表达至少两种大小不等的同源蛋白。

HMGB1 在进化中相对保守,其基因在哺乳动物的同源率为 99%^[8-9]。本研究将识别出的华支睾吸虫 HMGB1 同源分子与寄生虫、贝类、鱼类、包括人在内的哺乳动物等物种该分子相应序列进行进化分析,结果显示华支睾吸虫 HMGB1 同源分子 CDS 和蛋白序列与哺乳动物、鱼类、贝类等 HMGB1 的同源性较低,与血吸虫(*Schistosoma* spp.) HMGB1 蛋白的同源性较高,而与麝猫后睾吸虫 HMGB1 预测蛋白序列高度同源。人及哺乳动物 HMGB1 蛋白为 215 个氨基酸,是非组蛋白 DNA 结合蛋白。HMGB-1 对败血症、胶原病、动脉粥样硬化、癌症、关节炎、急性肺损伤、癫痫、心肌梗死、局部和全身炎症等众多疾病的发生起促进作用^[10]。其中,由外泌体或坏死细胞释放的 HMGB1 可通过被 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)识别的机制参与广泛的免疫应答过程,并对肿瘤的发生、发展产生重要影响^[11-12]。一方面, HMGB1 参与调控肿瘤免疫,其靶细胞主要是 T 和 B 细胞,通过活化 TLR2 和/或 TLR4 信号抑制抗肿瘤免疫反应^[13-15]。另一方面,癌干细胞的“干性”维持和自我更新的调控也与 HMGB1-TLR2/4 信号有关^[16]。再者, HMGB1-TLR2 信号活化还介导癌细胞 EMT 过程,在体外和体内促进癌细胞的侵袭和转移^[17]。

HMGB1 结合受体和效应广泛性与其介导天然免疫应答及参与恶性肿瘤发生发展的复杂作用密切相关。本研究推测华支睾吸虫 HMGB1 同源分子也可能通过识别 PRRs 介导天然免疫应答,并与肝胆管上皮组织恶性转化及 ICC 发生、发展密切相关。这些问题还需研究证实。

【参考文献】

[1] Qian MB, Chen YD, Liang S, et al. The global epidemiology of clonorchiasis and its relation with cholangiocarcinoma [J]. Infect Dis Poverty, 2012, 1(1):4.

[2] Sithithaworn P, Yongvanit P, Duengai K, et al. Roles of liver fluke infection as risk factor for cholangiocarcinoma [J]. J Hepatobiliary Pancreat Sci, 2014, 21(5):301-308.

[3] Bouvard V, Baan R, Straif K, et al. A review of human carcinogens-Part B: biological agents [J]. Lancet Oncol, 2009, 10(4):321-322.

[4] Yang QL, Shen JQ, Jiang ZH, et al. TLR 2 signal influences the iNOS/NO responses and worm development in C57BL/6J mice infected with *Clonorchis sinensis* [J]. Parasit Vectors, 2017, 10(1):379.

[5] 申继清, 杨庆利, 蒋智华, 等. TLR2 变异型 C57BL/6J 小鼠对华支睾吸虫的易感性研究 [J]. 中国病原生物学杂志, 2017, 12(9):860-863.

[6] 杨庆利, 冷静. TLR2 和 TLR4 信号在肿瘤发生和发展中的作用及其机制的研究进展 [J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(3):382-386.

[7] Wang X, Chen W, Huang Y, et al. The draft genome of the carcinogenic human liver fluke *Clonorchis sinensis* [J]. Genome Biol, 2011, 12(10):R107.

[8] Dumitriu IE, Baruah P, Manfredi AA, et al. HMGB1: Guiding immunity from within [J]. Trends Immunol, 2005, 26(7):381-387.

[9] Yang H, Antoine DJ, Andersson U, et al. The many faces of HMGB1: molecular structure-functional activity in inflammation, apoptosis and chemotaxis [J]. J Leukoc Biol, 2013, 93(6):865-873.

[10] Vijayakumar EC, Bhatt LK, Prabhavalkar KS. High Mobility Group Box-1 (HMGB1): A potential target in therapeutics [J]. Current Drug Targets, 2019(20):1474.

[11] Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger [J]. J Leukoc Biol, 2007, 81(1):1-5.

[12] Abe A, Kuwata T, Yamauchi C, et al. High Mobility Group Box1 (HMGB1) released from cancer cells induces the expression of pro-inflammatory cytokines in peritoneal fibroblasts [J]. Pathol Int, 2014, 64(6):267-275.

[13] Li J, Yang F, Wei F, et al. The role of toll-like receptor 4 in tumor microenvironment [J]. Oncotarget, 2017, 8(39):66656-66667.

[14] Zhou M, Wen Z, Cheng F, et al. Tumor-released autophagosomes induce IL-10-producing B cells with suppressive activity on T lymphocytes via TLR2-MyD88-NF- κ B signal pathway [J]. Oncoimmunology, 2016, 5(7):e1180485.

[15] Ye L, Zhang Q, Cheng Y, et al. Tumor-derived exosomal HMGB1 fosters hepatocellular carcinoma immune evasion by promoting TIM-1+ regulatory B cell expansion [J]. J Immunother Cancer, 2018, 6(1):145.

[16] Chen X, Cheng F, Liu Y, et al. Toll-like receptor 2 and Toll-like receptor 4 exhibit distinct regulation of cancer cell stemness mediated by cell death-induced high-mobility group box 1 [J]. EBioMedicine, 2019, 40(1):135-150.

[17] Chen X, Zhang L, Jiang Y, et al. Radiotherapy-induced cell death activates paracrine HMGB1-TLR2 signaling and accelerates pancreatic carcinoma metastasis [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1):77.

【收稿日期】 2022-05-08 【修回日期】 2022-07-15