

• 综 述 •

损伤相关分子模式在葡萄膜炎中的作用

夏沁韵, 陈 震, 邢怡桥

【关键词】 病原损伤相关分子模式; S100 蛋白; 高迁移率族蛋白 B1; 热休克家族蛋白; 葡萄膜炎

【中图分类号】 R 773.9

【文献标识码】 A

doi: 10.13730/j.issn.2097-2148.2023.05.017

天然免疫系统是宿主防御的第一道防线, 主要由组织屏障、天然免疫分子和天然免疫细胞组成。天然免疫细胞通过模式识别受体识别病原相关分子模式 (pathogen associated molecular pattern, PAMP) 或损伤相关分子模式 (damage associated molecular pattern, DAMP) 启动炎症反应。DAMP 是细胞应激或组织损伤后释放的多种具有免疫调节活性的细胞内分子, 即内源性危险信号^[1]。DAMP 参与宿主在感染或非感染性疾病中的防御和病理炎症反应^[2]。与病原体诱导的炎症反应相似, DAMPs 既可以激活非免疫细胞, 如上皮细胞、内皮细胞和成纤维细胞, 也可以激活天然免疫细胞, 如中性粒细胞、巨噬细胞和树突状细胞等, 进而激活适应性免疫反应^[3]。此外, 一些 DAMPs 还可以直接激活适应性免疫细胞^[3]。目前 DAMPs 按其来源可分为如下几类: 细胞外基质蛋白 (透明质酸、硫酸肝素、纤连蛋白、层粘连蛋白等)、细胞内蛋白分子 [高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group protein 1, HMGB1)、热休克蛋白 (heat shock protein, HSP)、S100 蛋白等]、核源分子 (组蛋白、DNA、RNA)、线粒体来源和内质网来源的物质^[1]。DAMPs 通过结合多种天然免疫受体发挥作用, 其中包括晚期糖基化终末产物受体 (receptor of advanced glycation endproducts, RAGE), Toll 样受体 (Toll like receptors, TLRs), Nod 样受体 (nucleotide binding and oligomerization domain like receptors, NLRs), 嘌呤受体 P2x7 等^[1, 4]。

眼内的微环境具有免疫抑制和抗炎的特性, 眼部

常驻的细胞或组织的免疫抑制特性称为免疫豁免。其中, 泪液屏障、血眼屏障以及内外血视网膜屏障发挥了关键作用^[5]。而葡萄膜炎是一类复杂的眼部疾病, 通常是由免疫抑制性的眼内微环境破坏引起^[6-7]。其典型的特点包括血眼屏障受损、细胞浸润和组织损伤^[5]。而这些损伤后释放的 DAMPs 可导致天然免疫系统失调, 促进炎症的恶性循环^[4]。迄今为止, 越来越多的证据表明, 多种 DAMPs 在葡萄膜炎中发挥重要调控作用, 其中细胞内蛋白主要包括了 S100 蛋白、HMGB1、HSP 家族蛋白。本文将对 3 种 DAMPs 在葡萄膜炎中的调控作用进行详细综述。

1 S100 蛋白

S100A8 是一个小分子钙结合蛋白, 通常与 S100A9 结合以异二聚体或异四聚体的形式存在, 两者复合体又称为钙卫蛋白^[8]。这些分子来源于髓系细胞, 主要高表达于中性粒细胞、单核细胞和内皮细胞^[9]。S100A8/A9 复合物作为危险 DAMP 分子, 经过 RAGE 或 TLRs 等模式受体的识别, 可激活细胞核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 和丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路, 导致促炎级联放大效应的产生^[10]。S100A8/A9 是多种炎症相关疾病的生物标志物, 包括类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA)、炎症性肠病、感染、糖尿病肾病等^[11-12]。S100A8/A9 是 RA 关节滑膜液中最丰富的蛋白之一, 可调节 TLR4/磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/NF- κ B 和 MAPK 信号传导, 促进成纤维细胞样滑膜细胞高表达促炎因子^[13]。在牛皮癣相关研究中, S100A8/A9 高表达于表皮组织, 通过诱导 C3/CFB 补体激活, 促进免疫细胞浸润、血管生成和角质细胞增殖

【基金项目】 湖北省卫生计生委面上项目 (WJ2021M156)

【作者单位】 430060 湖北武汉, 武汉大学人民医院眼科中心 (夏沁韵、陈 震、邢怡桥)

【通信作者】 邢怡桥, E-mail: yiqiao_xing57@whu.edu.cn

等^[14]。目前, S100A8/A9 是多种疾病诊断和随访的候选生物标志物, 也是炎症相关疾病治疗反应的预测指标^[7]。

S100 蛋白在葡萄膜炎炎症中发挥重要作用。最近一项研究表明, 青少年特发性关节炎相关葡萄膜炎患者血清和房水中 S100A8/A9 和 S100A12 表达均增加, S100A12 在葡萄膜炎患者泪液中也明显增加, 血清中 S100A8/A9 水平与葡萄膜炎活动性显著相关^[15]。一项急性前葡萄膜炎研究表明, 血清 S100A8/A9 水平与前葡萄膜炎活动性同步, 皮质类固醇治疗可显著抑制其表达增加。同时血清中 S100A8/A9 水平比传统的 C 反应蛋白(C-reaction protein, CRP)或红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)更为敏感, 未来可能作为监测葡萄膜炎的有效指标^[16]。S100 蛋白在葡萄膜炎中的完整作用机制尚不清楚, S100A8/A9 可能通过与 RAGE、TLR4 结合后激活 MAPK 和 NF- κ B 信号通路, 或通过促进抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)和 T 细胞发挥自分泌和旁分泌的促炎作用, 并抑制促炎症缓解的调节性 T 细胞(regulatory cells, Tregs)的数量和功能, 促进炎症反应^[8]。

2 HMGB1

HMGB1 是一种高度保守的核蛋白, 广泛存在于真核细胞中, 参与 DNA 损伤修复, 维持基因组稳定^[17]。研究发现, HMGB1 经过翻译后修饰(乙酰化、磷酸化或甲基化), 可以从细胞核转移到细胞质中^[18]。细胞质中的 HMGB1 可通过增加自噬、抑制细胞凋亡和调节线粒体功能, 参与免疫应答^[19]。HMGB1 主要通过两种方式分泌到胞外, 一种是由免疫细胞主动分泌, 一种是由凋亡或坏死的细胞被动分泌^[18]。细胞外 HMGB1 通过与经典受体 TLR2、TLR4、TLR9 或 RAGE 相互作用, 响应感染、损伤或炎症反应^[18]。目前, 已有大量研究证实, HMGB1 在许多系统性、感染性或无菌性炎症疾病的发病机制中起关键作用。HMGB1 作为败血症发病机制中的晚期介质, 其升高与感染性休克患者的发病率和死亡率相关^[20]。而在肝脏和肾脏缺血再灌注相关研究中, HMGB1 作为早期介质发挥作用, 预防性抗 HMGB1 治疗, 可减少 HMGB1 依赖性炎症损伤, 改善患者预后^[21]。在牛皮癣、强直性脊柱炎、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)等自身免疫病中, HMGB1 均表达上调, 发病机制具有相似性, 均与 TLR4 信号通路激活相关^[22-23]。

研究发现, HMGB1 高表达于眼结节病患者玻璃体中, 与白细胞介素 10(interleukin 10, IL-10)、 γ 干扰素(interferon gamma, IFN- γ)和可溶性 CD40 配体(soluble clusters of differentiation 40 ligand, sCD40L)的增加显著相关, 但与眼前段或后段的活动性炎症没有明显的相关性^[24]。在结节病中, 致病性辅助性 T 细胞 1(T-helper 1, Th1)、Th2、Th17、抑制炎症的 Tregs 均参与了肉芽肿的形成^[24]。HMGB1 在眼结节病中主要通过激活致病性 Th1 细胞和产生 IL-10 的 Tregs 来调节炎症, 但对 Th17 细胞没有明显调节作用^[24]。除此之外, HMGB1 在活动性的白塞病(Behcet's disease, BD)患者血清中呈高表达, 主要通过上调 TLR5 表达促进局部炎症反应^[25]。实验性自身免疫性葡萄膜炎(experimental autoimmune uveitis, EAU)模型, 是用作研究 BD、结节病、小柳原田等多种葡萄膜炎疾病相关机制的经典动物模型。在 EAU 中, 早期 HMGB1 可通过 Fas/FasL 信号通路快速释放于眼内, 并高表达于房水、虹膜、睫状体、视网膜、玻璃体中引发炎症反应。同时 HMGB1 早期还可协同趋化因子 12(chemokine C-X-C motif ligand 12, CXCL12), 从而促进白细胞向眼内迁移, 诱导光感受器细胞损伤, 促进眼内炎症反应^[8, 26-27]。此外, HMGB1 可能通过激活髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor 88, MyD88)信号通路介导慢性葡萄膜炎模型中的炎症反应^[27]。目前, HMGB1 拮抗剂在广泛的临床前炎症疾病模型中取得了巨大成功, 抑制 HMGB1 及其相关信号分子可能是治疗葡萄膜炎的有效靶点^[26]。

3 HSP 家族

HSP 是一个按分子量分类的大型分子伴侣蛋白家族, 它们包括 HSP27、HSP40、HSP60、HSP70 和 HSP90 等, 其功能是维持细胞稳态以响应应激源, 如缺氧、高温、药物和其他诱导蛋白质变性的化学试剂等刺激。它们也促进蛋白质折叠, 并维持细胞代谢的蛋白质结构, 在细胞增殖中发挥关键作用^[28]。而在免疫疾病中, HSPs 发挥着双重作用, 可能作为自身免疫反应中的抗原, 也可能在自身免疫疾病中发挥一定的保护作用^[29]。HSPs 生理或病理条件下, 均可诱导自身免疫的反应。早期研究表明, 抗 HSP60 和抗 HSP70 抗体在脐带中稳定表达, 这些抗体可能在正常免疫中发挥重要作用^[30]。原发性高血压相关研究提示, HSP70 作为自身免疫的靶标, 可增强抗原提呈能力, 促进高血压发展^[31]。而 HSP60 在 1 型糖尿病中, 既

诱导抑炎因子 IL-10, 也促进促炎因子 IFN- γ 的释放^[32]。

不同 HSPs 在葡萄膜炎中也发挥多重作用。HSP70 作为葡萄膜炎中研究较多的 HSP, 在生理或病理应激条件下具有稳定的抗炎作用。HSP70 可下调 NF- κ B 炎症信号通路, 抑制促炎因子的表达, 还可直接促进抗炎细胞因子表达, 减少细胞凋亡和细胞增生^[31]。最早研究表明, HSP70 rs2075800 G 等位基因与结节病患者葡萄膜炎的发生有关, rs2075800 G 等位基因可有效区别结节病相关葡萄膜炎与特发性葡萄膜炎^[33]。另外, 有研究指出, 与其他葡萄膜炎相比, 血清中 HSP70 升高与 BD 相关葡萄膜炎活动性具有更显著的相关性。HSP70 可能是更多血管炎症和有毒细胞因子和氧化产物释放增加的间接迹象, 可用于诊断或预测 BD 相关葡萄膜炎^[34]。

长期以来, 细菌 (主要是血链球菌) 或病毒 (主要是单纯疱疹病毒 1) 感染是 BD 的重要诱因, 而口腔血链球菌衍生的 HSP65 与人类 HSP60 具有高度同源性, 二者均是触发 BD 的重要因素^[35]。人与细菌之间的 HSP 交叉反应可能诱导自反应 T 细胞增殖, 引发 (或促进) 免疫失调, 促进 BD 发生^[35]。研究发现, 从 HSP60 序列中提取的肽体外可诱导 BD 病患者 T 细胞的显著增殖。另外, 同时口服和鼻腔给 HSP60 肽都会诱发葡萄膜炎^[36]。HSP60 在葡萄膜炎中主要作为抗原促进炎症发生, 也是 BD 的重要靶标之一。

近几年的研究也逐渐关注 HSP27、HSP90 在葡萄膜炎中的作用。抗 HSP27 抗体在中国 BD 患者中, 阳性率高达 50%, 也是 BD 中一种抗内皮细胞抗体。HSP27 作为 BD 患者的血管内皮细胞的自身抗原, 可通过诱导内皮细胞功能障碍, 引发炎症反应和自身免疫反应^[37]。HSP90- α (Hsp90AA1) 也被认为是 BD 的潜在生物学标志, 但其具体作用机制尚不明确^[38]。在内毒素诱导的葡萄膜炎模型中, 抑制 HSP90 可通过下调 NF- κ B 和缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α) 等表达, 抑制炎症反应^[39-40]。HSP27、HSP90 可能均促进葡萄膜炎发展, 但未来能否作为可干预的靶标, 还需大量研究。

4 总结与展望

DAMPs 在葡萄膜炎中发挥致病和保护作用。本文对 S100 蛋白、HMGB1 以及 HSP 家族蛋白在葡萄膜炎中关注较高的 DAMPs 进行了详细的综述。深入研究 DAMPs 可能为葡萄膜炎潜在的生物标志物、治疗药物和治疗靶点提供新的发现。测定血清、房水和

泪液中的 S100 蛋白水平有助于确定疾病的严重程度, 这可能为量化葡萄膜炎的活动性提供新的方向^[15]。同样, 早期 BD 相关葡萄膜炎诊断也可能通过测量患者血清 HSP70 水平来实现^[34]。DAMP 作为生物标记物, 可以提供早期诊断和风险评估, 可能能够促进个性化治疗的实现。目前, HMGB1 等 DAMPs 已被作为眼科多种疾病的治疗靶点, 包括青光眼、糖尿病视网膜病变、葡萄膜炎等。已有大量研究着手研究相关抗体的治疗、蛋白质、寡核苷酸和小分子抑制剂的干预、抑制 HMGB1 受体信号传导、靶向 miRNAs 等^[41-43]。然而, 未来这些靶向治疗的合适干预方式和不良作用仍需要大量的研究。

参 考 文 献

- [1] Roh JS, Sohn DH. Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases[J]. Immune Netw, 2018, 18(4): e27
- [2] Vénéreau E, Ceriotti C, Bianchi ME. DAMPs from cell death to new life[J]. Front Immunol, 2015, 6: 422
- [3] Qin C, Zhou J, Gao Y, *et al.* Critical role of P2Y12 receptor in regulation of Th17 differentiation and experimental autoimmune encephalomyelitis pathogenesis[J]. J Immunol, 2017, 199(1): 72-81
- [4] Mahaling B, Low SWY, Beck M, *et al.* Damage-associated molecular patterns (DAMPs) in retinal disorders[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(5): 2591
- [5] Keino H, Horie S, Sugita S. Immune privilege and eye-derived t-regulatory Cells[J]. J Immunol Res, 2018: 1679197
- [6] Lee RW, Nicholson LB, Sen HN, *et al.* Autoimmune and autoinflammatory mechanisms in uveitis [J]. Semin Immunopathol, 2014, 36(5): 581-594
- [7] Murakami Y, Ishikawa K, Nakao S, *et al.* Innate immune response in retinal homeostasis and inflammatory disorders[J]. Prog Retin Eye Res, 2020, 74: 100778
- [8] Yun J, Xiao T, Zhou L, *et al.* Local S100A8 levels correlate with recurrence of experimental autoimmune uveitis and promote pathogenic T cell activity[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(3): 1332-1342
- [9] Schelbergen RF, Blom AB, van den Bosch MH, *et al.* Alarmins S100A8 and S100A9 elicit a catabolic effect in human osteoarthritic chondrocytes that is dependent on Toll-like receptor 4[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(5): 1477-1487
- [10] Austermann J, Spiekermann C, Roth J. S100 proteins in rheumatic diseases[J]. Nat Rev Rheumatol, 2018, 14(9): 528-541
- [11] Pruenster M, Vogl T, Roth J, *et al.* S100A8/A9: From basic science to clinical application[J]. Pharmacol Ther, 2016, 167: 120-131
- [12] Austermann J, Friesenhagen J, Fassl SK, *et al.* Alarmins MRP8 and MRP14 induce stress tolerance in phagocytes under sterile inflammatory conditions[J]. Cell Rep, 2014, 9(6): 2112-2123
- [13] Kang KY, Woo JW, Park SH. S100A8/A9 as a biomarker for synovial inflammation and joint damage in patients with rheumatoid arthritis[J]. Korean J Intern Med, 2014, 29(1): 12-19
- [14] Wang S, Song R, Wang Z, *et al.* S100A8/A9 in inflammation[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1298

- [15] Angeles-Han ST, Utz VM, Thornton S, *et al.* S100 proteins, cytokines, and chemokines as tear biomarkers in children with juvenile idiopathic arthritis-associated uveitis[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2021, 29(7/8): 1616-1620
- [16] Wang YQ, Dai XD, Ran Y, *et al.* Circulating S100A8/A9 levels reflect intraocular inflammation in uveitis patients[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2020, 28(1): 133-141
- [17] Wang S, Zhang Y. HMGB1 in inflammation and cancer[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 116
- [18] Paudel YN, Angelopoulou E, Piperi C, *et al.* Enlightening the role of high mobility group box 1 (HMGB1) in inflammation: Updates on receptor signalling[J]. Eur J Pharmacol, 2019, 858: 172487
- [19] 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
- [20] Stevens NE, Chapman MJ, Fraser CK, *et al.* Therapeutic targeting of HMGB1 during experimental sepsis modulates the inflammatory cytokine profile to one associated with improved clinical outcomes[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 5850
- [21] Xue J, Suarez JS, Minaai M, *et al.* HMGB1 as a therapeutic target in disease[J]. J Cell Physiol, 2021, 236(5): 3406-3419
- [22] Su Z, Zhang P, Yu Y, *et al.* HMGB1 facilitated macrophage reprogramming towards a proinflammatory M1-like phenotype in experimental autoimmune myocarditis development [J]. Sci Rep, 2016, 6: 21884
- [23] Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS. HMGB1: A multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease[J]. Nat Rev Rheumatol, 2012, 8(4): 195-202
- [24] Takeuchi M, Taguchi M, Sato T, *et al.* Association of high-mobility group box-1 with Th cell-related cytokines in the vitreous of ocular sarcoidosis patients[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58(1): 528-537
- [25] van der Houwen TB, Dik WA, Goeijenbier M, *et al.* Leukocyte toll-like receptor expression in pathergy positive and negative Behcet's disease patients[J]. Rheumatology (Oxford), 2020, 59(12): 3971-3979
- [26] Yun J, Jiang G, Wang Y, *et al.* The HMGB1-CXCL12 complex promotes inflammatory cell infiltration in uveitogenic T cell-induced chronic experimental autoimmune uveitis[J]. Front Immunol, 2017, 8: 142
- [27] Jiang G, Wang Y, Yun J, *et al.* HMGB1 release triggered by the interaction of live retinal cells and uveitogenic T cells is Fas/FasL activation-dependent[J]. J Neuroinflammation, 2015, 12: 179
- [28] Yun CW, Kim HJ, Lim JH, *et al.* Heat shock proteins: Agents of cancer development and therapeutic targets in anti-cancer therapy [J]. Cells, 2019, 9(1): 60
- [29] Imamura Y, Kurokawa MS, Yoshikawa H, *et al.* Involvement of Th1 cells and heat shock protein 60 in the pathogenesis of intestinal Behcet's disease[J]. Clin Exp Immunol, 2005, 139(2): 371-378
- [30] Srivastava K, Narang R, Bhatia J, *et al.* Expression of heat shock protein 70 gene and its correlation with inflammatory markers in essential hypertension[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0151060
- [31] Rodriguez-Iturbe B, Lanasa MA, Johnson RJ. The role of autoimmune reactivity induced by heat shock protein 70 in the pathogenesis of essential hypertension[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(12): 1829-1838
- [32] Calderwood SK, Gong J, Murshid A. Extracellular HSPs: The complicated roles of extracellular HSPs in immunity[J]. Front Immunol, 2016, 7: 159
- [33] Spagnolo P, Sato H, Marshall SE, *et al.* Association between heat shock protein 70/Hom genetic polymorphisms and uveitis in patients with sarcoidosis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(7): 3019-3025
- [34] Sahebari M, Hashemzadeh K, Mahmoudi M, *et al.* Diagnostic yield of heat shock protein 70 (HSP-70) and anti-HSP-70 in Behcet-induced uveitis[J]. Scand J Immunol, 2013, 77(6): 476-481
- [35] Lule S, Colpak AI, Balci-Peynircioglu B, *et al.* Behcet disease serum is immunoreactive to neurofilament medium which share common epitopes to bacterial HSP-65, a putative trigger[J]. J Autoimmun, 2017, 84: 87-96
- [36] Shaker O, Ay El-Deen MA, El Hadidi H, *et al.* The role of heat shock protein 60, vascular endothelial growth factor and antiphospholipid antibodies in Behcet disease[J]. Br J Dermatol, 2007, 156(1): 32-37
- [37] Chen P, Shi L, Jiang Y, *et al.* Identification of heat shock protein 27 as a novel autoantigen of Behcet's disease[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 456(4): 866-871
- [38] Yang C, Chen P, Zhang W, *et al.* Bioinformatics-driven new immune target discovery in disease[J]. Scand J Immunol, 2016, 84(2): 130-136
- [39] Poulaki V, Iliaki E, Mitsiades N, *et al.* Inhibition of Hsp90 attenuates inflammation in endotoxin-induced uveitis [J]. FASEB J, 2007, 21(9): 2113-2123
- [40] Qin S, Ni M, Wang X, *et al.* Inhibition of RPE cell sterile inflammatory responses and endotoxin-induced uveitis by a cell-impermeable HSP90 inhibitor[J]. Exp Eye Res, 2011, 93(6): 889-897
- [41] Liu L, Jiang Y, Steinle JJ. Epac1 and glycyrrhizin both inhibit HMGB1 levels to reduce diabetes-induced neuronal and vascular damage in the mouse retina[J]. J Clin Med, 2019, 8(6): 772
- [42] Liu K, Huang J, Xie M, *et al.* MIR34A regulates autophagy and apoptosis by targeting HMGB1 in the retinoblastoma cell[J]. Autophagy, 2014, 10(3): 442-452
- [43] Liu M, Wang SM, Jiang ZX, *et al.* Effects of miR-22 on viability, migration, invasion and apoptosis in retinoblastoma Y79 cells by targeting high-mobility group box 1 [J]. Int J Ophthalmol, 2018, 11(10): 1600-1607

(2022-10-10 收稿)