DOI:10.16016/j.2097-0927.202109102

沉默高迁移率族蛋白 B1 对胶质母细胞瘤细胞恶性生物学行为的抑制

李 壮,付文娟,王 帅,钮 芹,姚小红 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院病理学研究所

[摘要] **目的** 探讨高迁移率族蛋白 B1(high mobility group protein B1,HMGB1)在胶质母细胞瘤样本中的高表达对于胶质母细胞瘤侵袭能力及替莫唑胺治疗的影响。**方法** 利用癌症和肿瘤基因图谱(the cancer genome atlas,TCGA)数据库中 319 例样本的 HMGB1 测序数据进行差异表达及生存分析。采用免疫组织化学(immunohistochemistry,IHC)检测 HMGB1 在本院生物样本库中收集的 4 例不同 WHO 分级胶质瘤样本中的表达。3 例胶质瘤样本(分别为 WHO Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ级)和 1 例瘤旁脑组织(作为对照,其胶质瘤组织为 WHO Ⅱ级)均来自于陆军军医大学第一附属医院生物样本库(2019 年 5-10 月的男性住院患者,年龄 40~88 岁,中位年龄 58.5 岁;患者行胶质瘤组织切除术前未行放化疗,术后标本经病理组织学检查证实为胶质瘤)。采用慢病毒转染法构建沉默 HMGB1 的细胞株,Western blot 检测 HMGB1 蛋白表达。CCK-8 和 Transwell 检测 HMGB1 对细胞增殖和侵袭能力的影响。CCK-8 检测沉默 HMGB1 对替莫唑胺的敏感性。替莫唑胺粉末溶于二甲基亚砜中制成 100 mmol/L 的储存液,使用时终浓度为 250、500、1 000、1 500 μmol/L。**结果** TCGA 数据库显示 HMGB1 mRNA 在肿瘤组织中表达显著上调($P<0.01$),且随 WHO 级别的增加而增加,并与患者的预后显著负相关($P<0.01$)。沉默 HMGB1 的胶质母细胞瘤细胞株增殖能力降低($P<0.05$),侵袭能力下降($P<0.01$),且对替莫唑胺治疗更敏感($P<0.05$)。**结论** HMGB1 在胶质母细胞瘤中显著上调,高表达的 HMGB1 促进了胶质母细胞瘤细胞的侵袭能力和替莫唑胺耐药。

[关键词] 胶质母细胞瘤;高迁移率族蛋白 B1;替莫唑胺;耐药;侵袭
[中图法分类号] R341;R730.23;R730.264 [文献标志码] A

Silencing high mobility group protein B1 inhibits malignant biological behavior of glioblastoma cells

LI Zhuang, FU Wenjuan, WANG Shuai, NIU Qin, YAO Xiaohong Institute of Pathology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effects of high expression of high mobility group protein B1 (HMGB1) on the invasion ability of glioblastoma (GBM) and the efficacy of temozolomide (TMZ) therapy. **Methods** The HMGB1 sequencing data of 319 GBM samples from TCGA database were gained for differential expression and survival analysis. Immunohistochemistry (IHC) was adopted to assess the expression of HMGB1 in 4 samples (3 glioma samples, with WHO grade Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ, respectively, and 1 para-tumoral brain tissue as control) which were collected from our hospital's biobank (inpatients from May to October 2019, male, aged 40~88 years, median 58.5 years, being confirmed as glioma by histopathological examination after tissue resection, without radiotherapy or chemotherapy prior to surgery). Moreover, lentiviral vector was transfected to construct HMGB1 silenced GBM cell lines (U251 and LN229). Western blotting was performed to detect HMGB1 expression; CCK-8 and transwell assays were adopted to analyze the effect of HMGB1 on cell proliferation and invasion ability. Finally, the role of HMGB1 in TMZ therapy was evaluated by CCK-8 assay (TMZ powder was dissolved in dimethyl sulfoxide to prepare 100 mmol/L storage

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81874087);2021 年重庆市研究生科研创新项目(CYS21514)
[通信作者] 姚小红,E-mail:yxh15@163.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

solution, and the final concentration used was 250, 500, 1 000 and 1 500 μmol/L, respectively). **Results** TCGA database showed that HMGB1 mRNA level was significantly upregulated in glioma tissue ($P<0.01$), increasing with WHO grade, and was negatively correlated with the prognosis of patients ($P<0.01$). HMGB1 silenced GBM cells had decreased proliferation ($P<0.05$) and inhibited invasion ability ($P<0.01$), and were more sensitive to TMZ therapy. **Conclusion** HMGB1 is remarkably up-regulated in GBM cells, and its high expression contributes to the enhanced invasion ability and temozolomide resistance of GBM cells.

[**Key words**] glioblastoma; high mobility group protein B1; temozolomide; drug resistance; invasion

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81874087) and the Project of Graduate Scientific Research Innovation of Chongqing (CYS21514). Corresponding author: YAO Xiaohong, E-mail: yxh15@163.com

胶质瘤是最常见的原发恶性脑肿瘤,不仅预后差而且严重影响患者认知功能和生活质量[1]。其中胶质母细胞瘤(glioblastoma,GBM)是恶性程度最高的胶质瘤(WHO Ⅳ级),患者5年生存率仅9.8%[2],中位生存时间仅为12~15个月[3]。肿瘤切除术后同步放疗联合替莫唑胺(temozolomide,TMZ)化疗仍然是目前的标准治疗方案[4]。替莫唑胺是一种DNA烷基化剂,引起癌细胞的DNA损伤进而产生抗肿瘤作用,但随着使用时间的延长,其敏感性逐渐降低,胶质母细胞瘤对替莫唑胺治疗逐渐出现抵抗[5]。因此,探寻使胶质母细胞瘤替莫唑胺治疗耐药的关键基因及其发生、发展的关键分子机制对寻找潜在的药物靶点和提高治疗敏感性具有重要意义。

高迁移率族蛋白B1(high mobility group protein B1,HMGB1)是一种高度保守的核蛋白,作为一种结构性的染色质结合因子能够弯曲DNA并促进组蛋白在特定位点的组装,起到维持染色质稳定的作用[6]。HMGB1于1973年首次从小牛胸腺染色质中提取,并因其在凝胶电泳中的高流动性而得名。在细胞核中,HMGB1作为DNA伴侣在DNA复制、转录、染色质重塑、重组等过程中发挥关键作用;并调控DNA损伤修复,维持基因组稳定性[7]。越来越多的研究表明,HMGB1在肿瘤血管生成、侵袭转移以及化疗耐药中发挥了重要作用[8-12]。本课题组通过对癌症和肿瘤基因图谱(the cancer genome atlas,TCGA)生物数据库的分析发现,HMGB1基因在胶质母细胞瘤中明显升高。因此本研究旨在探讨HMGB1对胶质母细胞瘤的恶性生物学行为的影响。

1 材料与方法

1.1 公开数据库和在线分析网站

生物信息学使用的胶质母细胞瘤基因表达数据来TCGA。使用在线分析网站(http://gliovis.bioinfo.cnio.es/)下载TCGA-Gravendeel、TCGA-Kamoun等数据集的数据进行分析基因差异表达和生存预后。

1.2 样本来源

收集3例胶质瘤样本(分别为WHO Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ级)和1例瘤旁脑组织(作为对照,其胶质瘤组织为WHO Ⅱ级),4例样本来自陆军军医大学第一附属医院生物样本库,为2019年5-10月的住院患者,均为男性,年龄40~88岁,中位年龄58.5岁。入选标准:胶质瘤为原发,且患者行胶质瘤组织切除术前未行放化疗,术后标本经病理组织学检查证实为胶质瘤(WHO Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ级)。排除标准:其他类型的肿瘤。本研究所使用样本均得到患者及其家属同意,且经陆军军医大学第一附属医院伦理委员会审查批准(批件编号:KY2020294)。

1.3 材料与试剂

人胶质母细胞瘤细胞株U251和LN229均购于美国典型培养物保藏中心(ATCC)。高糖DMEM培养基、胎牛血清均购于美国Gibco公司;青霉素、链霉素、0.25%胰酶购于HyClone公司;替莫唑胺购于Selleck公司;结晶紫购于碧云天公司;抗HMGB1、抗GAPDH、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗购于美国CST公司;CCK-8试剂购于索莱宝公司;shHMGB1慢病毒由汉恒技术有限公司提供设计;Transwell小室购于美国Millipore公司。替莫唑胺粉末溶于二甲基亚砜中配制成100 mmol/L的储存液备用,在进行毒性实验时使用的终浓度为250、500、1 000、1 500 μmol/L。

1.4 细胞培养

人胶质母细胞瘤细胞株U251和LN229使用含有10%胎牛血清、1%青-链霉素的DMEM培养基在5% CO_2、37 ℃的培养箱中进行培养。每日进行细胞换液,换液时首先将培养皿中的DMEM培养基全部吸出,然后缓慢加入5 mL的PBS缓冲液,轻轻晃动培养皿清洗细胞,吸出PBS缓冲液,再向培养皿中加入8~10 mL新的DMEM培养基。待细胞长满时进行胰酶消化传代,传代比例为1∶3。

1.5 慢病毒转染

将对数生长期的U251和LN229胶质母细胞瘤细胞经胰酶消化成单个细胞,按每孔1×10^5个细胞接种

于6孔培养板,待其贴壁且生长汇合度达到约50%时进行转染,将shHMGB1慢病毒悬液按照MOI值30加入到孔板中进行培养,48 h后更换培养基继续培养,72 h观察绿色荧光的表达,并转移至大号培养皿中进行培养,待长满后进行流式分选,筛选出荧光信号较强的细胞保留传代。

1.6 Western blot法检测细胞中HMGB1蛋白的表达

收集细胞,加入细胞裂解液,提取细胞总蛋白,使用BCA法检测总蛋白质浓度,制备10%SDS-PAGE凝胶,每孔的上样蛋白量为20 μg。电泳后转印到PVDF膜上,使用5%脱脂奶粉室温封闭1 h,加入兔抗人HMGB1(1∶1 000),使用兔抗人GAPDH(1∶1 000)作为内参,4 ℃孵育过夜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1∶5 000)室温孵育1 h,使用ECL化学发光法检测条带。

1.7 免疫组织化学(IHC)法检测石蜡切片中HMGB1蛋白的表达

切片经脱蜡和梯度脱水处理后,阻断内源性过氧化物酶和抗原修复后,加入一抗4 ℃孵育过夜,二抗孵育,漂洗显色后核复染再进行脱水透明封片拍照。

1.8 CCK-8法检测细胞的增殖能力

在进行细胞增殖实验时将细胞按照每孔1 000个铺于96孔板中,每天同一时间在96孔板中每孔加入10 μL CCK-8继续培养1 h,连续检测5~6 d;在进行瘤细胞替莫唑胺的毒性实验时,每孔铺细胞数为3 000个,并设置不同的替莫唑胺浓度(0、250、500、1 000、1 500 μmol/L)处理48 h,在酶标仪上450 nm处检测光密度值[D(450)]。

1.9 Transwell实验

使用Transwell小室检测瘤细胞的侵袭能力,将Matrigel液用无血清DMEM培养基按照1∶2的比例稀释,每个小室用50 μL稀释后的Matrigel包被,然后在生物安全柜中晾干凝固。在小室中加入瘤细胞约2×10^4个,下室中加入500 μL完全培养基,然后继续培养24 h,用棉签擦拭小室内残留的细胞和Matrigel,用多聚甲醛固定15 min,再用0.1%结晶紫染色5 min,用双蒸水清洗3次,倒置显微镜随机选取视野拍照计数(200×)。

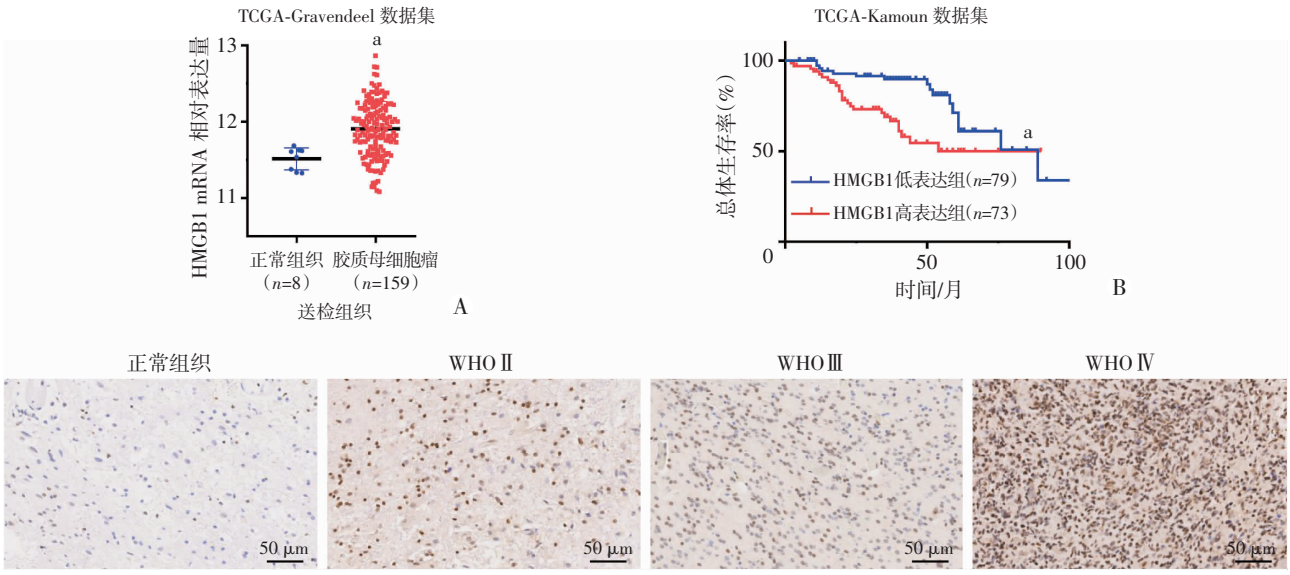
1.10 统计学分析

应用SPSS 21.0软件进行数据处理分析,各组计量资料数据均使用$\bar{x}\pm s$表示,两组间比较采用LSD-t检验,生存分析采用Log-rank(Mantel-Cox)检验,$P<0.05$认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HMGB1基因在胶质母细胞瘤中明显上调且与预后相关

HMGB1在TCGA数据集中的表达见图1A,肿瘤组的表达较正常组显著上调($P<0.01$),生存分析显示HMGB1的表达和预后有显著关联(图1B),高表达组的预后明显差于低表达组($P<0.01$)。采用免疫组化检测不同级别胶质瘤样本,结果显示随着胶质瘤级别的增加,胞核内HMGB1的表达随之增加(图1C)。表明HMGB1定位于胞核,在胶质母细胞瘤高表达,且与患者预后呈负相关。

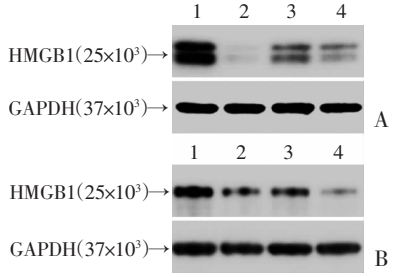


A:HMGB1在TCGA中表达差异 a:$P<0.01$,与正常组织比较;B:基于HMGB1 TCGA胶质瘤数据的生存分析 a:$P<0.01$,与低表达组比较;C:不同级别胶质瘤组织的HMGB1免疫组化染色

图1 HMGB1在TCGA数据库以及胶质瘤临床样本中的表达情况

2.2　shHMGB1 在 U251 和 LN229 细胞系中抑制 HMGB1 的表达

慢病毒转染 72 h 后通过流式分选得到稳定转染的细胞株进行 Western blot 实验,结果显示:与 shRNA-NC 组相比,shHMGB1-1、shHMGB1-3 组,蛋白下调明显,shHMGB1-2 组下调不明显(图 2),因此选用 shHMGB1-1 和 shHMGB1-3 进行下步实验。

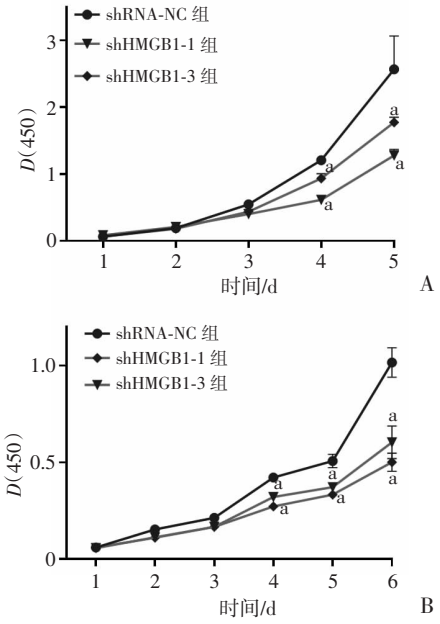


1:shRNA-NC; 2:shHMGB1-1; 3:shHMGB1-2; 4:shHMGB1-3

图 2　慢病毒载体下调 LN229(A)和 U251(B)细胞 HMGB1 的表达

2.3　下调 HMGB1 的表达抑制胶质母细胞瘤的增殖能力

CCK-8 结果显示:U251 和 LN229 细胞的 shHMGB1-1、shHMGB1-3 组与 shRNA-NC 组相比较,从第 4 天开始,shHMGB1-1、shHMGB1-3 组的生长速度显著降低,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 3)。表明下调 HMGB1 的表达能够抑制胶质母细胞瘤的增殖能力。

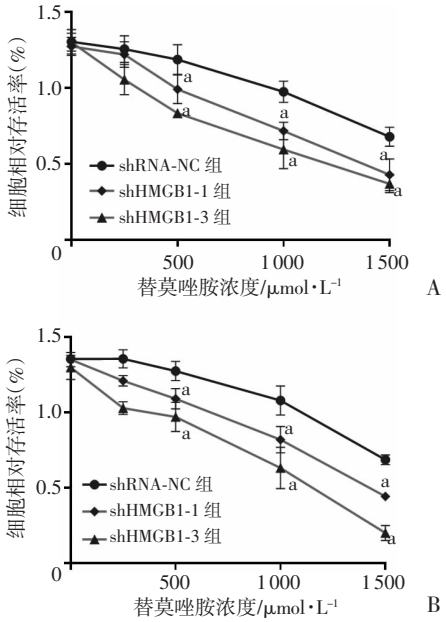


a: $P<0.05$,与 shRNA-NC 组比较

图 3　CCK-8 检测慢病毒载体感染 LN229(A)和 U251(B)细胞后的生长曲线($n=6,\bar{x}\pm s$)

2.4　下调 HMGB1 的表达增强胶质母细胞瘤对替莫唑胺的敏感性

CCK-8 结果显示当 shRNA-NC、shHMGB1-1、shHMGB1-3 组的 U251 和 LN229 细胞接受相同浓度梯度的替莫唑胺处理时,抑制 HMGB1 表达的 shHMGB1-1、shHMGB1-3 组的细胞存活率明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$,图 4)。结果表明,在胶质母细胞瘤中下调 HMGB1 的表达可以增强其对替莫唑胺的敏感性,提高替莫唑胺的疗效。



a: $P<0.05$,与 shRNA-NC 组比较

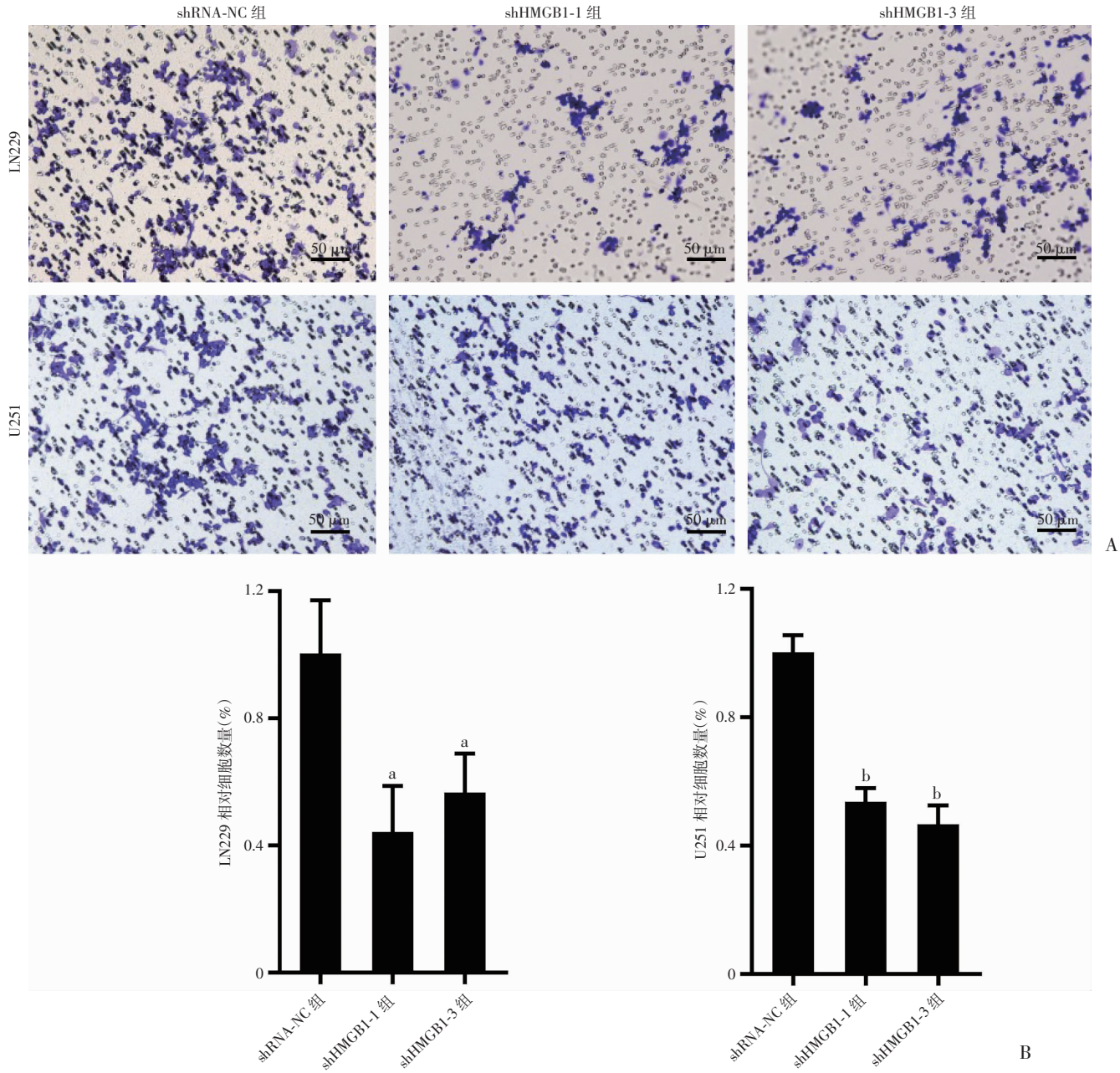
图 4　CCK-8 检测慢病毒载体感染 LN229(A)和 U251(B)细胞后经替莫唑胺处理的毒性曲线($n=6,\bar{x}\pm s$)

2.5　下调 HMGB1 的表达降低胶质母细胞瘤的侵袭能力

利用 Transwell 侵袭实验检测下调 HMGB1 的表达对 U251 和 LN229 细胞侵袭能力的影响,对 shRNA-NC、shHMGB1-1、shHMGB1-3 组穿过小室的细胞数量进行统计分析,结果显示,与 shRNA-NC 组相比较,shHMGB1-1 和 shHMGB1-3 组穿过小室的细胞数量明显减少,差异具有统计学意义($P<0.01$,图 5),结果表明下调 HMGB1 的表达可以显著抑制胶质母细胞瘤的侵袭能力。

3　讨论

近年来,胶质母细胞瘤的发病率呈现逐年增加的趋势[13],但是针对其有效治疗的手段并没有增加,依然是手术切除后进行放化疗的标准治疗方案[14-15],且加入替莫唑胺的化疗也仅使胶质母细胞瘤患者中位生



A:结晶紫染色观察 LN229 和 U251 细胞 Transwell 侵袭实验检测结果;B:LN229 和 U251 细胞侵袭细胞数统计($n=3$,$\bar{x}\pm s$),a:$P<0.01$,b:$P<0.001$,与 shRNA-NC 组比较

图 5 慢病毒下调 HMGB1 的表达后对 LN229 和 U251 细胞侵袭的影响

存时间从 12.1 个月增加至 14.6 个月[16],并没有显著延长患者的生存时间。而且随着替莫唑胺使用量的增加,胶质母细胞瘤患者对替莫唑胺的耐药性也逐渐增加[17],因此寻找更加有效且敏感的治疗靶点提高替莫唑胺的治疗效果显得更为重要。

既往研究发现高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)在许多肿瘤中扮演着重要角色,促肿瘤生长,促肿瘤血管生成,促肿瘤侵袭转移等一系列恶性生物学行为[8,18],但也有研究认为当细胞内 HMGB1 被释放至胞外后可以作为炎症因子引起适应性免疫的激活,进而发挥促炎、抗肿瘤的作用[19-21]。因此 HMGB1 的作用复杂,需要结合相应的疾病背景进行研究。在此背景下,为了寻找胶质母细胞瘤治疗的潜在靶点,提高替莫唑胺治疗的敏感性,本研究试图探究胶质母细胞瘤中 HMGB1 的表达与其恶性生物学行为之间的相关性。结果显示,在 TCGA 数据库中,HMGB1 在胶质母细胞瘤中的表达量明显较正常组织增多,同时对不同 WHO 级别的胶质瘤临床样本进行免疫组化染色,发现随着胶质

瘤级别的增加,HMGB1 的表达量也逐渐增加,尤其在胶质母细胞瘤中 HMGB1 表达丰富。在功能实验中,本研究利用 shRNA 技术在胶质母细胞瘤细胞系 U251 和 LN229 中下调 HMGB1 的表达,并检测了胶质母细胞瘤细胞的增殖与侵袭能力以及对替莫唑胺敏感性的改变。结果显示,HMGB1 的下调能够显著抑制胶质母细胞瘤细胞的增殖,并减弱侵袭能力,同时在结肠癌和胃癌中的研究也发现,通过抑制 HMGB1-RAGE 通路的激活可以抑制 MMP2 和 MMP9 等基质金属蛋白酶的表达,进而抑制肿瘤的侵袭与转移[22-24],表明 HMGB1 在多种肿瘤中都有着促进侵袭和转移的作用。本结果还表明,通过下调 U251 和 LN229 中的 HMGB1 增加了其对替莫唑胺治疗的敏感性,结合 HMGB1 的细胞定位,提示 HMGB1 可能发挥维持胶质母细胞瘤基因组稳定性的作用。这与既往研究发现 HMGB1 的缺失导致端粒的缩短,端粒不能够通过抑制染色体的重组和降解维持染色体的稳定[25-27]相一致。因此 HMGB1 的缺失,降低了基因组的稳定性,增加了替莫唑胺的敏感性,提示 HMGB1 在胶质母细胞瘤恶性生物学行为中扮演了关键作用。

综上,本研究证实了 HMGB1 在胶质母细胞瘤核内高表达,并与生存预后密切相关,其可能通过维持基因组稳定性和增强肿瘤细胞侵袭能力发挥促癌作用。这表明 HMGB1 核内表达可能成为胶质母细胞瘤诊断治疗的关键靶点。因此在后续研究中我们将重点关注 HMGB1 在胶质母细胞瘤中发挥的复杂作用,为寻找治疗胶质母细胞瘤更为有效的靶点提供新的理论基础。

参考文献:

[1] OMURO A, DEANGELIS L M. Glioblastoma and other malignant gliomas:a clinical review[J]. JAMA, 2013, 310(17): 1842-1850. DOI:10.1001/jama.2013.280319.

[2] FENG H B, WANG J, JIANG H R, *et al*. B-elemene selectively inhibits the proliferation of glioma stem-like cells through the downregulation of Notch1[J]. Stem Cells Transl Med, 2017, 6(3): 830-839. DOI:10.5966/sctm.2016-0009.

[3] GARNIER D, MEEHAN B, KISLINGER T, *et al*. Divergent evolution of temozolomide resistance in glioblastoma stem cells is reflected in extracellular vesicles and coupled with radiosensitization[J]. Neuro Oncol, 2018, 20(2): 236-248. DOI:10.1093/neuonc/nox142.

[4] JOHANNESSEN T C A, BJERKVIG R, TYSNES B B. DNA repair and cancer stem-like cells: potential partners in glioma drug resistance? [J]. Cancer Treat Rev, 2008, 34(6): 558-567. DOI:10.1016/j.ctrv.2008.03.125.

[5] MURPHY S F, VARGHESE R T, LAMOUILLE S, *et al*. Connexin 43 inhibition sensitizes chemoresistant glioblastoma cells to temozolomide[J]. Cancer Res, 2016, 76(1): 139-149. DOI:10.1158/0008-5472.can-15-1286.

[6] TANG D, KANG R, LIVESEY K M, *et al*. Endogenous HMGB1 regulates autophagy[J]. J Cell Biol, 2010, 190(5): 881-892. DOI:10.1083/jcb.200911078.

[7] WANG S, ZHANG Y. HMGB1 in inflammation and cancer[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 116. DOI:10.1186/s13045-020-00950-x.

[8] LIU Y, YAN W, TOHME S, *et al*. Hypoxia induced HMGB1 and mitochondrial DNA interactions mediate tumor growth in hepatocellular carcinoma through Toll-like receptor 9[J]. J Hepatol, 2015, 63(1): 114-121. DOI:10.1016/j.jhep.2015.02.009.

[9] ANGELOPOULOU E, PIPERI C, ADAMOPOULOS C, *et al*. Pivotal role of high-mobility group box 1 (HMGB1) signaling pathways in glioma development and progression[J]. J Mol Med, 2016, 94(8): 867-874. DOI:10.1007/s00109-016-1435-y.

[10] BASSI R, GIUSSANI P, ANELLI V, *et al*. HMGB1 as an autocrine stimulus in human T98G glioblastoma cells: role in cell growth and migration[J]. J Neurooncol, 2008, 87(1): 23-33. DOI:10.1007/s11060-007-9488-y.

[11] VAN BEIJNUM J R, NOWAK-SLIWINSKA P, VAN DEN BOEZEM E, *et al*. Tumor angiogenesis is enforced by autocrine regulation of high-mobility group box 1[J]. Oncogene, 2013, 32(3): 363-374. DOI:10.1038/onc.2012.49.

[12] YAN W, CHANG Y, LIANG X, *et al*. High-mobility group box 1 activates caspase-1 and promotes hepatocellular carcinoma invasiveness and metastases[J]. Hepatology, 2012, 55(6): 1863-1875. DOI:10.1002/hep.25572.

[13] HOMBACH-KLONISCH S, MEHRPOUR M, SHOJAEI S, *et al*. Glioblastoma and chemoresistance to alkylating agents: Involvement of apoptosis, autophagy, and unfolded protein response[J]. Pharmacol Ther, 2018, 184: 13-41. DOI:10.1016/j.pharmthera.2017.10.017.

[14] 李德培, 陈忠平. 脑胶质瘤治疗现状与进展[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(18): 2312-2316. DOI: CNKI:SUN:SYYZ.0.2021-18-002.
LI D P, CHEN Z P. Current statue and advances of treatment for gliomas[J]. J Pract Med, 2021, 37(18): 2312-2316. DOI: CNKI:SUN:SYYZ.0.2021-18-002.

[15] 董云朋, 程远, 陈晋. 沉默 APN 对胶质瘤细胞 U251 增殖、侵袭和凋亡的影响[J]. 第三军医大学学报, 2020, 42(9): 908-914. DOI: 10.16016/j.1000-5404.201912238.
DONG Y P, CHENG Y, CHEN J. Effects of silencing APN

gene on proliferation, invasion and apoptosis of human glioma U251 cells[J]. J Third Mil Med Univ, 2020, 42(9): 908-914. DOI:10.16016/j.1000-5404.201912238.

[16] STUPP R, MASON W P, VAN DEN BENT M J, *et al*. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma[J]. N Engl J Med, 2005, 352(10): 987-996. DOI:10.1056/nejmoa043330.

[17] ARORA A, SOMASUNDARAM K. Glioblastoma *vs* temozolomide: can the red queen race be won?[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(8): 1083-1090. DOI:10.1080/15384047.2019.1599662.

[18] GAO Q, WANG S, CHEN X, *et al*. Cancer-cell-secreted CXCL11 promoted $CD8^+$ T cells infiltration through docetaxel-induced-release of HMGB1 in NSCLC[J]. J Immunother Cancer, 2019, 7(1): 42. DOI:10.1186/s40425-019-0511-6.

[19] GDYNIA G, KEITH M, KOPITZ J, *et al*. Danger signaling protein HMGB1 induces a distinct form of cell death accompanied by formation of giant mitochondria[J]. Cancer Res, 2010, 70(21): 8558-8568. DOI:10.1158/0008-5472.can-10-0204.

[20] KANG R, XIE Y, ZHANG Q, *et al*. Intracellular HMGB1 as a novel tumor suppressor of pancreatic cancer[J]. Cell Res, 2017, 27(7): 916-932. DOI:10.1038/cr.2017.51.

[21] LOTZE M T, TRACEY K J. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal[J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5(4): 331-342. DOI:10.1038/nri1594.

[22] KUNIYASU H, OUE N, WAKIKAWA A, *et al*. Expression of receptors for advanced glycation end-products (RAGE) is closely associated with the invasive and metastatic activity of gastric cancer[J]. J Pathol, 2002, 196(2): 163-170. DOI:10.1002/path.1031.

[23] SASAHIRA T, AKAMA Y, FUJII K, *et al*. Expression of receptor for advanced glycation end products and HMGB1/amphoterin in colorectal adenomas[J]. Virchows Arch, 2005, 446(4): 411-415. DOI: 10.1007/s00428-005-1210-x.

[24] TAGUCHI A, BLOOD D C, DEL TORO G, *et al*. Blockade of RAGE-amphoterin signalling suppresses tumour growth and metastases[J]. Nature, 2000, 405(6784): 354-360. DOI:10.1038/35012626.

[25] GIAVARA S, KOSMIDOU E, HANDE M P, *et al*. Yeast Nhp6A/B and mammalian Hmgb1 facilitate the maintenance of genome stability[J]. Curr Biol, 2005, 15(1): 68-72. DOI:10.1016/j.cub.2004.12.065.

[26] CELONA B, WEINER A, DI FELICE F, *et al*. Substantial histone reduction modulates genomewide nucleosomal occupancy and global transcriptional output[J]. PLoS Biol, 2011, 9(6): e1001086. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001086.

[27] POLANSKÁ E, DOBŠÁKOVÁ Z, DVO ŘÁ ČKOVÁ M, *et al*. HMGB1 gene knockout in mouse embryonic fibroblasts results in reduced telomerase activity and telomere dysfunction[J]. Chromosoma, 2012, 121(4): 419-431. DOI:10.1007/s00412-012-0373-x.

(收稿:2021-09-13;修回:2021-10-16)

(编辑 栾 嘉)