

High Mobility Group Box 1 ve Kanser

Mustafa Yıldırım², Dinç Süren³, Özlem Demirpençe⁴, Vildan Kaya¹

¹Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı, Isparta, Türkiye

²Batman Bölge Devlet Hastanesi, Medikal Onkoloji Kliniği, Batman, Türkiye

³Antalya Eğitim Araştırma Hastanesi, Patoloji Kliniği, Antalya, Türkiye

⁴Batman Bölge Devlet Hastanesi, Biyokimya Kliniği, Batman, Türkiye

ÖZET

Amaç: High mobility group box (HMGB) proteinler hücrede çok farklı fonksiyonları olan non-histon nükleer proteinlerdir. HMGB1 bu ailenin en önemli üyesidir. DNA'nın küçük oluğuna nonspesifik şekilde bağlanarak p53, steroid hormon reseptörleri de dahil olmak üzere bazı transkripsiyon faktörlerinin DNA ile etkileşimini modifiye eder. HMGB1'in nekrotik hücrelerden pasif, inflamatuvar hücrelerden aktif olarak sekrete edilerek en önemli reseptörü olan RAGE (receptor for advanced glycation end products)'e bağlanır. HMGB1 Hücre farklılaşması, hücre göçü, tümör metastazi ve inflamasyonda da rol oynamaktadır. Kanser progresyonunda, angiogeneze, invazyon ve metastaz gelişiminde HMGB1 rolü ile ilgili kanıtlar giderek artmaktadır. Yapılan çalışmalar HMGB1'in kanser gelişiminde önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle HMGB1 ve reseptörü RAGE önemli bir tedavi hedefi olmaya başlamıştır. Bu nedenle HMGB1'in tedaviyi predikte etme ve prognozu belirlemedeki rolünü aydınlatacak çalışmaların hangi kanserlerin hedeflenebileceğini göstermesi açısından önemli olduğunu düşünüyoruz.

Anahtar sözcükler: high mobility group box B1, kanser, apoptozis, angiogeneze, hedef tedaviler

HIGH MOBILITY GROUP BOX 1 AND CANCER

ABSTRACT

Aim: High mobility group box (HMGB) proteins are non-histone nuclear proteins which have many different functions. HMGB1 is the most important member of this family. It binds to the small groove of DNA nonspecifically and modifies the interaction of DNA with some of the transcription factors, including p53 and steroid hormone receptors. HMGB1 is secreted passively from necrotic cells and actively from inflammatory cells and binds to its most important receptor, RAGE (receptor for advanced glycation end products). HMGB1 plays a role in cell differentiation, cell migration, tumor metastasis and inflammation. There is increasing evidence on the role of HMGB1 in progression of cancer, angiogenesis, invasion and metastasis. There are studies suggesting that HMGB1 may have an important role in cancer development. Thus, HMGB1 and its receptor RAGE have become important therapy targets. Therefore we think that studies that show the role of HMGB1 in prediction of therapy and determining the prognosis are important since they will help determine the types of cancer to be targeted.

Key words: high mobility group box B1, cancer, apoptosis, angiogenesis, target therapies

High mobility group box (HMGB) proteinler hücrede çok farklı fonksiyonları olan non-histon nükleer proteinlerdir. HMGB proteinleri ilk olarak 1970'lerde nükleustan saflaştırılmıştır. İlk tanımlandıklarında sodyum dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis'de hızlı hareket ettiklerinden bu ismi almışlardır (1). HMGB1, HMGB2, HMGB3 HMGB protein ailesinin üyeleridir. HMGB3 ve HMGB2'nin ekspresyonu kısıtlı iken, HMGB1 ekspresyonu yaygındır ve ekspresyon çevresel faktörlerle regüle edilebilir. HMGB2 embriyogenez sırasında yüksek oranda

eksprese edilmekte iken HMGB1'in aksine erişkin yaşamda ekspresyonu lenfoid organlar ve testis ile sınırlıdır. HMGB2 knockout fareler yetişkin döneme kadar yaşamlarına rağmen sperm üretimleri bozulmuştur (2).

HMGB1'in iki DNA-bağlama bölgesi (A box ve B box) vardır, her ikisi de 74 amino asit uzunluğundadır. Bu bölgeler ve yüksek oranda negatif yüklü C-terminal bölgeleri içermektedir (3). Asetilasyon ve fosforilasyon HMGB1'in nükleustan sitoplazmaya translokasyonunu indükler, makrofajların yanı sıra kolon karsinom hücrelerinden sekresyonunu sağlar (4).

HMGB1 ilk tanımlandığında yüksek asidik ve bazik amino-asid içerikleri ile kromatin ilişkili protein olarak tanımlanmıştır (5). HMGB1 kromatin bağlayıcı faktör gibi davranan nükleer bir proteindir. HMGB1 DNA'nın küçük oluşuna nonspesifik şekilde bağlanarak p53, steroid hormon reseptörleri de dahil olmak üzere bazı transkripsiyon faktörlerinin DNA ile etkileşimini modifiye eder. DNA onarımında, transkripsiyonda, hücre farklılaşmasında, ekstraselüler sinyalizasyonda, somatik rekombinasyonda rol oynar (6). Bu nükleer fonksiyonlarının yanı sıra ekstraselüler sinyal molekülü olarak da fonksiyon görür ve inflamasyon, hücre farklılaşması, hücre migrasyonu ve tümör metastazında ekstraselüler sinyal molekülü olarak görev alır (7).

HMGB1'in nekrotik hücrelerden pasif, inflamatuvar hücrelerden aktif olarak sekrete edilerek bazı reseptörlere yüksek olarak bağlanma afinitesi vardır. Bunlar arasında RAGE (receptor for advanced glycation end products), Toll-like receptors (TLR)-2, TLR-4, TLR-9 vardır (8). RAGE ekstraselüler HMGB1'in hücre içi etkilerine aracılık eden reseptörüdür (9). Hücre diferansiyasyonu, hücre göçü, tümör metastazı ve inflamasyonda da rol oynamaktadır (7,10). RAGE'nin çözünebilir ve membrana bağlı formları tanımlanmıştır. Tümör hücrelerinde daha çok membrana bağlı HMGB1 protein birikimi olduğu gösterilmiştir (11). HMGB1 proteinler büyüme ve gelişmede de önemlidir. HMGB1 knockout farelerin doğumdan sonra 24 saat içinde öldükleri gösterilmiştir (2).

HMGB1 ve immün sistem

HMGB1 hem akut inflamatuvar cevap ve kronik inflamasyonda hem de yara iyileşmesinde rol oynamaktadır (12). Aktive olmuş makrofajlardan sekrete edilen HMGB1 immün yanıtta rol alan diğer hücreleri aktive edebilir ve böylece bir sitokin gibi immün aktivitede rol oynayabilir (13). HMGB1 aynı zamanda HMGB1/RAGE etkileşimi ile JNK (c-Jun N-terminal kinase) aktivasyonu, kaspaz-3 ve kaspaz-9 upregülasyonu üzerinden makrofaj aktivasyonu yapmaktadır (14).

Nekroza uğrayan hücrelerden salınan HMGB1 dolaşımında danger associated molecules pattern (DAMP) proteini olarak rol oynar, immün hücreleri aktive eder ve fagositozu artırır (7,15). Immün sistemde önemli rol oynayan HMGB1 immün sistem hastalıklarının seyrinde, teşhis ve hastalık prognozunun belirlenmesinde rol oynamaktadır (16-17).

HMGB1 ve karsinogenez

HMGB1 proteini hem kanser hem de normal hücrelerin nükleusunda bulunmaktadır. HMGB1 overekspresyonu

hepatoselüler kanser, derinin skuamöz hücreli kanseri, prostat kanseri, gastrointestinal kanserler, meme kanseri, akut myeloid lösemi gibi bir çok kanser tipinde gösterilmiştir (18-23).

HMGB1'in DNA'nın farklı yapılarına afinitesi olduğu gösterilmiştir. Bunlar arasında yoğun sarmallı, tek zincirli, B-ve Z-DNA küçük-daireleri, dört-yönlü bağlantılar, halka şeklinde yapılar, hemicatenated DNA, ve üçlü DNA vardır (24). Tümör hücrelerinden salınan nativ HMGB1 DNA replikasyonunu inhibe eder. Nativ HMGB1 etkisi asetilasyon sonrası azalmaktadır. *In vitro* ortamda protein kinase C tarafından fosforile olan rekombinant HMGB1 ise replikasyonu inhibe edememektedir (25).

HMGB1 kanser gelişimi ile ilişkili bazı transkripsiyon faktörlerinin aktivitesini de arttırmaktadır. Bunlar arasında p53, p73, retinoblastom proteini, Rel/NF- κ B ailesi gibi transkripsiyon faktörleri, ve bir nükleer hormon reseptörü olan östrojen reseptörü vardır (26-29).

HMGB1'in kanser gelişiminde gösterilmiş ekstraselüler fonksiyonları da vardır. Tümör büyümesi, anjiogenez ve metastaz evrelerinde ekstraselüler alana salındığı gösterilmiştir (21,30). Nekroza uğrayan veya kemoterapiye maruz kalan hücrelerden HMGB1 salınmaktadır. Hücre kültürü çalışmalarında HMGB1'in kemoterapiye bağlı olarak ortaya çıkan DNA hasarını gösterebileceği öne sürülmüştür (31).

Melanom hücre dizilerinde sitolitik hücrelerden, hem NK hem de spesifik T hücrelerinden HMGB1 salındığı gösterilmiş ve bu çalışmada HMGB1'in immün aktiviteyi uyarabileceği öne sürülmüştür (32).

Hem apoptotik, hem de otofajik hücreler HMGB1 salılabilmektedir (33). *In vitro*, olarak apoptotik hücreler makrofajları aktive etmekte ve HMGB1 salınımına neden olmaktadır (34). Karsinogenezde HMGB1'in paradoksal etkileri vardır. Hem tümör neoanjiyogenezini uyarmakta, hem de koruyucu anti-tümör T-hücre cevabını arttırmaktadır (35). Ölen tümör hücrelerinden salınan HMGB1 matür dendritik hücreleri uyarmakta ve tümör antijen sunumu işlemini TLR-4 ile interaksyona girerek sağlamaktadır. Bu da tümöre karşı immün yanıtın güçlenmesiyle sonuçlanmaktadır (36). HMGB1'in nörolizasyonu ölmekte olan tümör hücrelerinin antikanser immün yanıtta kaçmasına hem *in vitro* hem de *in vivo* neden olmaktadır (37).

Karsinogenezde immün sistemin rolü, genetiği değişmiş hücreler ile adaptif ve doğal immün hücreler arasındaki

geniş karşılıklı etkileşimi de içeren oldukça karmaşık bir süreçtir. Tümör hücrelerinin çözünür mediyatörleri ve yapısal komponentleri de bu tümör mikroçevresinde mevcuttur. Çoğu tümörde kanser gelişiminin her evresi immün sistem tarafından regüle edilir. Adaptif immün hücrelerin bariz invaziv tümör evresinde aktive olması malign hücrelerin eradikasyonuna neden olabilirken, premalign büyüme bölgelerindeki doğan immün hücrelerin kronik aktivasyonu aslında tümör gelişimini de arttırabilir. Bir de istenen anti-tümör immün yanıt ile istenmeyen pro-tümör kronik inflamatuvar yanıt arasındaki denge tümörün geliştiği şartlara da bağlıdır (38).

HMGB1 doğal immün sistemi strese ve aşırı ya da düzensiz hücre ölümüne karşı alarm durumuna getirir. Tehlike sinyali ya da inflamatuvar mediyatör rolü için HMGB1 hücre dışına taşınır. Bu iki temel yolla olabilir: yaşayan inflamatuvar hücrelerden aktif transport yoluyla ya da nekrotik ya da stres altındaki hücrelerden pasif salınım yoluyla. Antikanser tedaviler (radyoterapi ve kemoterapi) hücre ölümüne ve HMGB1'in pasif salınımına neden olur. Aktive lökositler de tümör mikroçevresinde HMGB1'i aktif bir şekilde sekrete ederler (39).

Ekstraselüler HMGB1 TNF-alfa, IL-1beta ve diğer inflamatuvar ürünlerin salınımı, endotelial hücre aktivasyonu, stromageniz, doğal immün hücrelerin aktivasyonu ve toplanması ve dentritik hücre maturasyonu gibi kanser ortamında kronik bir inflamatuvar yanıtı götüren bir takım önemli fonksiyonlarda görev alır (40). pHMGB-89 ve pHMGB-106 adı verilen iki HMGB1'le ilişkili peptid, gümüş içeren lipozomların immünojenitesini artırma yeteneği olduğu yönünde keşfedilmiştir. pHMGB-89 ve pHMGB-106 yerleştirilen B16-OVA-türevi plazma membran vezikülleri ile aşılınmış farelerde tümör büyümesi ve metastaz inhibe olmuş syngeneic farede ise yüksek oranda metastatik B16-OVA melanom gelişmiştir (41).

HMGB1 ve apoptoz

Kolon kanser hücrelerinde üretilen HMGB1'in, makrofajlarda büyüme inhibisyonunu ve apoptozu RAGE hücre içi sinyal yolağı yolu ile indüklediği gösterilmiştir (42). Östrojen progesteron gibi steroidler meme kanseri hücrelerinde HMGB1 ekspresyonunu artırırlar ve sisplatin tedavisine duyarlılığı artırır (43). Östrojenle birlikte platin bazlı tedavinin HMGB1 ekspresyonunu arttırdığı başka bir çalışmada da gösterilmiştir (44).

Kolorektal kanserli hastaların tümoral doku örneklerinde HMGB1 ile p53 kompleksinin kurduğu artmış sitozolik

HMGB1'in otofajiyi ve artmış p53'ün apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (45). Hepatoselüler kanser hücrelerinde p53'ün HMGB1 ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir (46).

HMGB1 farklı yollardan apoptozu inhibe edebilmektedir. HMGB1 overekspresyonu kaspaz-3 ve kaspaz 9 aktivitesini suprese eder. Böylece apoptozun önemli basamaklarını inhibe etmiş olur. HMGB1 overekspresyonunun antiapoptotik bir protein olan c-IAP2'yi regüle ettiği gösterilmiştir. Kolorektal kanserde sitokrom- Apoptoz İnhibitör Protein 2 (c-IAP2) düzeylerinin HMGB1 ekspresyonu ile orantılı olduğu gösterilmiştir (47). Hücre dizisi çalışmalarında HMGB1'in proapoptotik Bcl-2 ailesinin üyesi olan Bak ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (48).

HMGB1 ve anjiogenez

Tümörün hızlı büyümesi, mikrodamar yoğunluğunun azalmasına, kronik hipoksi oluşumuna ve nekrotik odakların oluşmasına yol açar. Hipoksik ve nekrotik alanlardan anjiogenik faktörler salınır ve makrofajlar gibi inflamatuvar hücreler nekrotik odaklara göç eder. Makrofajlar anjiogenetik sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımını sağlar. HMGB1 aktivasyonu NF(Kappa)B aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu lökosit adhezyon moleküllerinin ve pro-inflamatuvar sitokinlerin salınımı, dolayısıyla inflamasyon ve anjiogenezin başlamasını sağlar (49).

NF-KB dışında HMGB1 Vasküler Endotelial Growth Faktör (VEGF) gibi anjiogenezi başlatan faktörleride aktive ederek anjiogeneze yol açabilir (50). Wang ve ark. mesane kanserli hastaların örneklerinde HMGB1 ekspresyonunun anjiogenezele ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında, HMGB1'in anjiogenez göstergeleri olan CD34 ve VEGF ile ilişkili olduğunu göstermişlerdir (51). Bu çalışmada HMGB1 patolojik tümör evresi ile ilişkili bulunmuştur. Evre ilerledikçe HMGB1 mRNA ekspresyonunun arttığı gerçek zamanlı PCR ile gösterilmiştir.

Bu çalışmalarda gösterildiği gibi HMGB1 hem doğrudan hem de dolaylı olarak pro-anjiogenik bir faktördür. HMGB1 hedefleyen antikor tedavilerin in vivo ve in vitro olarak anjiogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir (52). Ek olarak HMGB1 endotelial progenitör hücreler ile etkileşmekte ve hematopoietik kök hücrelerin doku hasarlı alanlara gelmesine ve RAGE tarafından sağlanan neovaskülarizasyonun artımına neden olmaktadır. Anti-RAGE antikorları bu olayı inhibe etmektedir (53).

HMGB1'in hücre yüzey reseptörü olan RAGE ekspresyonunun, gastrik ve kolon kanserlerinin invazyon ve metastaz

aktivitesi ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir (54). Bu hem RAGE hem de HMGB1'in kanser tedavisi için niçin önemli bir hedef olabileceğinin nedenidir.

HMGB1 pRb gibi tümör proliferasyonu karşıtı faktörler ve AKT gibi proliferasyonu arttıran faktörlerle de ilişkilidir. HMGB1 pRB'yi indükleyen pek çok proteinle kısa aminoasit sekanslarını tanıyarak etkileşime girer (55). HMGB1-RB etkileşimi HMGB1 aracılı E2F ve siklin A baskısı, hücre büyüme inhibisyonu, G1 hücre siklüs arresti, apoptoz tetiklenmesi ve tümör büyüme supresyonu etkiler (27). HMGB1 protein kinaz B, mitojen aktive protein kinaz (MAPKs) ve NF-kappaB 'yide içeren, tümör büyümesinde önemli rolü olan sinyal yollarını aktive eder. AKT hücre proliferasyonu ve yaşamı için anahtar bir regülatördür ve insan kanserlerinde regülasyonu bozulmuştur. HMGB1 nötrofillerde fosfotidil inozitol 3 kinaz/AKT yolağının aktivasyonuna aracılık eder (56).

Kaynaklar

- Zhang J, McCauley MJ, Maher LJ 3rd, Williams MC, Israeloff NE. Mechanism of DNA flexibility enhancement by HMGB proteins. *Nucleic Acids Res* 2009;37:1107-14.
- Stros M, Polanská E, Struncová S, Pospíšilová S. HMGB1 and HMGB2 proteins up-regulate cellular expression of human topoisomerase II alpha. *Nucleic Acids Res* 2009;37: 2070-86.
- Bustin M, Lehn DA, Landsman D. Structural features of the HMG chromosomal proteins and their genes. *Biochim Biophys Acta* 1990;1049:231-43.
- Alexandrova EA, Beltchev BG. Differences between HMG1 proteins isolated from normal and tumour cells. *Biochim Biophys Acta* 1987;915:399-405.
- Alexandrova EA, Beltchev BG. Acetylated HMG1 protein interacts specifically with homologous DNA polymerase alpha in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;154:918-27.
- Kang HJ, Lee H, Choi HJ, Youn JH, Shin JS, Ahn YH, et al. Non-histone nuclear factor HMGB1 is phosphorylated and secreted in colon cancers. *Lab Invest* 2009;89:948-59.
- Müller S, Scaffidi P, Degryse B, Bonaldi T, Ronfani L, Agresti A, et al. New EMBO members' review: the double life of HMGB1 chromatin protein: architectural factor and extracellular signal. *Embo J* 2001;20:4337-40.
- Thomas JO, Travers AA. HMG1 and 2, and related 'architectural' DNA binding proteins. *Trends Biochem Sci* 2001;26:167-74.
- Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol* 2005;5:331-42.
- Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002;418:191-5.
- Schmidt AM, Vianna M, Gerlach M, Brett J, Ryan J, Kao J, et al. Isolation and characterization of two binding proteins for advanced glycosylation end products from bovine lung which are present on the endothelial cell surface. *J Biol Chem* 1992;267:14987-97.
- Müller S, Scaffidi P, Degryse B, Bonaldi T, Ronfani L, Agresti A, et al. New EMBO members' review: the double life of HMGB1 chromatin protein: architectural factor and extracellular signal. *Embo J* 2001;20:4337-40.
- Todorova J, Pasheva E. High mobility group B1 protein interacts with its receptor RAGE in tumor cells but not in normal tissues. *Oncol Lett* 2012;3:214-8.
- Tang D, Kang R, Zeh HJ 3rd, Lotze MT. High-mobility group box 1 and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2010;1799:131-40.
- Degryse B, de Virgilio M. The nuclear protein HMGB1, a new kind of chemokine. *FEBS Lett* 2003;553:11-7.
- Moriwaka Y, Luo Y, Ohmori H, Fujii K, Tatsumoto N, Sasahira T, et al. HMGB1 attenuates anti-metastatic defense of the lymph nodes in colorectal cancer. *Pathobiology* 2010;77:17-23.
- Bianchi ME. HMGB1 loves company. *J Leukocyte Biol*. 2009;86:573-6.
- Oktayoglu P, Tahtasiz M, Bozkurt M, Em S, Ucar D, Yazmalar L, et al. Serum levels of high mobility group box 1 protein and its association with quality of life and psychological and functional status in patients with fibromyalgia. *Int J Rheum Dis* 2013;16:403-7.
- Maillard-Lefebvre H, Boulanger E, Daroux M, Gaxatte C, Hudson BI, Lambert M. Soluble receptor for advanced glycation end products: a new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. *Rheumatology* 2009;48:1190-6.
- Abdulhad DA, Westra J, Reefman E, Zuidersma E, Bijzet J, Limburg PC, et al. High mobility group box1 (HMGB1) in relation to cutaneous inflammation in systemic lupus erythematosus (SLE). *Lupus* 2013;22:597-606.
- Kostova N, Zlateva S, Ugrinova I, Pasheva E. The expression of HMGB1 protein and its receptor RAGE in human malignant tumors. *Mol Cell Biochem* 2010;337:251-8.
- Sharma A, Ray R, Rajeswari MR. Overexpression of high mobility group (HMG) B1 and B2 proteins directly correlates with the progression of squamous cell carcinoma in skin. *Cancer Invest* 2008;26:843-51.

İnvazyon ve metastaz

Fages ve ark. oldukça invaziv hücreler olan C6 glioma hücrelerinin kullanıldığı çalışmalarında HMGB1 ekspresyonunun anti-sense oligonükleotidler kullanılarak engellenmesi veya anti-HMGB1 antikorları ile protein fonksiyonlarının engellenmesi yolları ile hücre invazyonunun engellenebileceğini göstermişlerdir (57).

Sonuç

Kanser progresyonunda, angiogenezde, invazyon ve metastaz gelişiminde HMGB1 rolü ile ilgili kanıtlar giderek artmaktadır. Yapılan çalışmalar HMGB1'in kanser gelişiminde önemli bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle HMGB1 ve reseptörü RAGE önemli bir tedavi hedefi olmaya başlamıştır. Bu nedenle HMGB1'in tedaviyi predikte etme ve prognozu belirlemedeki rolünü aydınlatacak çalışmaların hangi kanserlerin hedeflenebileceğini göstermesi açısından önemli olduğunu düşünüyoruz.

23. Gnanasekar M, Thirugnanam S, Ramaswamy K. Short hairpin RNA (shRNA) constructs targeting high mobility group box-1 (HMGB1) expression leads to inhibition of prostate cancer cell survival and apoptosis. *Int J Oncol* 2009;34:425-31.
24. Yao X, Zhao G, Yang H, Hong X, Bie L, Liu G. Overexpression of high-mobility group box 1 correlates with tumor progression and poor prognosis in human colorectal carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010;136:677-84.
25. Rhodes DR, Yu J, Shanker K, Deshpande N, Varambally R, Ghosh D. Large-scale meta-analysis of cancer microarray data identifies common transcriptional profiles of neoplastic transformation and progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:9309-14.
26. Court EL, Smith MA, Avent ND, Hancock JT, Morgan LM, Gray AG, et al. DNA microarray screening of differential gene expression in bone marrow samples from AML, non-AML patients and AML cell lines. *Leuk Res* 2004;28:743-53.
27. Jantzen HM, Admon A, Bell SP, Tjian R. Nucleolar transcription factor hUBF contains a DNA-binding motif with homology to HMG proteins. *Nature* 1990;344:830-6.
28. Topalova D, Ugrinova I, Pashev IG, Pasheva EA. HMGB1 protein inhibits DNA replication in vitro: a role of the acetylation and the acidic tail. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40:1536-42.
29. Livesey KM, Tang D, Zeh HJ, Lotze MT. Not just nuclear proteins: 'novel' autophagy cancer treatment targets - p53 and HMGB1. *Curr Opin Investig Drugs* 2008;9:1259-63.
30. Stros M, Ozaki T, Bacikova A, Kageyama H, Nakagawara A. HMGB1 and HMGB2 cell-specifically down-regulate the p53- and p73-dependent sequence-specific transactivation from the human Bax gene promoter. *J Biol Chem* 2002;277:7157-64.
31. Jiao Y, Wang HC, Fan SJ. Growth suppression and radiosensitivity increase by HMGB1 in breast cancer. *Acta Pharmacol Sin* 2007;28:1957-67.
32. Agresti A, Lupo R, Bianchi ME, Muller S. HMGB1 interacts differentially with members of the Rel family of transcription factors. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;302:421-6.
33. El Marzouk S, Gahattamaneni R, Joshi SR, Scovell WM. The plasticity of estrogen receptor-DNA complexes: binding affinity and specificity of estrogen receptors to estrogen response element half-sites separated by variant spacers. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008;110:186-195.
34. Shen X, Hong L, Sun H, Shi M, Song Y. The expression of high-mobility group protein box 1 correlates with the progression of non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* 2009;22:535-9.
35. Krynetskaia NF, Phadke MS, Jadhav SH, Krynetskiy EY. Chromatin-associated proteins HMGB1/2 and PDIA3 trigger cellular response to chemotherapy-induced DNA damage. *Mol Cancer Ther* 2009;8:864-72.
36. Ito N, DeMarco RA, Mailliard RB, Han J, Rabinowich H, Kalinski P, et al. Cytolytic cells induce HMGB1 release from melanoma cell lines. *J Leukoc Biol* 2007;81:75-83.
37. Thorburn J, Frankel AE, Thorburn A. Regulation of HMGB1 release by autophagy. *Autophagy* 2009;5:247-9.
38. Qin S, Wang H, Yuan R, Li H, Ochani M, Ochani K, et al. Role of HMGB1 in apoptosis-mediated sepsis lethality. *J Exp Med* 2006;203:1637-42.
39. Campana L, Bosurgi L, Rovere-Querini P. HMGB1: a two-headed signal regulating tumor progression and immunity. *Curr Opin Immunol* 2008;20:518-23.
40. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, Obeid M, Ortiz C, Criollo A, et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Nat Med* 2007;13:1050-9.
41. Apetoh L, Ghiringhelli F, Tesniere A, Criollo A, Ortiz C, Lidereau R, et al. The interaction between HMGB1 and TLR4 dictates the outcome of anticancer chemotherapy and radiotherapy. *Immunol Rev* 2007;220:47-59.
42. de Visser KE, Coussens LM. The inflammatory tumor microenvironment and its impact on cancer development. *Contrib Microbiol* 2006;13:118-37.
43. Lotze MT, Zeh HJ, Rubartelli A, Sparvero LJ, Amoscato AA, Washburn NR, et al. The grateful dead: damage-associated molecular pattern molecules and reduction/oxidation regulate immunity. *Immunol Rev* 2007;220:60-81.
44. Dong Xda E, Ito N, Lotze MT, Demarco RA, Popovic P, Shand SH, et al. High mobility group box I (HMGB1) release from tumor cells after treatment: implications for development of targeted chemoimmunotherapy. *J Immunother* 2007;30:596-606.
45. Faham A, Bennett D, Altin JG. Liposomal Ag engrafted with peptides of sequence derived from HMGB1 induce potent Ag-specific and anti-tumour immunity. *Vaccine* 2009;27:5846-54.
46. Kuniyasu H, Yano S, Sasaki T, Sasahira T, Sone S, Ohmori H. Colon cancer cell-derived high mobility group 1/amphotericin induces growth inhibition and apoptosis in macrophages. *Am J Pathol* 2005;166:751-60.
47. He Q, Liang CH, Lippard SJ. Steroid hormones induce HMGB1 overexpression and sensitize breast cancer cells to cisplatin and carboplatin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:5768-72.
48. Barnes KR, Kutikov A, Lippard SJ. Synthesis, characterization, and cytotoxicity of a series of estrogen-tethered platinum(IV) complexes. *Chem Biol* 2004;11:557-64.
49. Livesey KM, Kang R, Zeh HJ 3rd, Lotze MT, Tang D. Direct molecular interactions between HMGB1 and TP53 in colorectal cancer. *Autophagy* 2012;8:846-8.
50. Yan HX, Wu HP, Zhang HL, Ashton C, Tong C, Wu H, et al. p53 promotes inflammation-associated hepatocarcinogenesis by inducing HMGB1 release. *J Hepatol* 2013;59:762-8.
51. Völz K, Brezniceanu ML, Bösser S, Brabletz T, Kirchner T, Göttel D, et al. Increased expression of high mobility group box 1 (HMGB1) is associated with an elevated level of the antiapoptotic c-IAP2 protein in human colon carcinomas. *Gut* 2006;55:234-42.
52. Brezniceanu ML, Völz K, Bösser S, Solbach C, Lichter P, Joos S, et al. HMGB1 inhibits cell death in yeast and mammalian cells and is abundantly expressed in human breast carcinoma. *FASEB J* 2003;17:1295-7.
53. Schlueter C, Weber H, Meyer B, Rogalla P, Roser K, Hauke S, et al. Angiogenic signaling through hypoxia: HMGB1: an angiogenic switch molecule. *Am J Pathol* 2005;166:1259-63.
54. Sitohy B, Nagy J, Dvorak H. Anti-VEGF/VEGFR therapy for cancer: reassessing the target. *Cancer Res* 2012;72:1909-14.
55. Wang W, Jiang H, Zhu H, Zhang H, Gong J, Zhang L, et al. Overexpression of high mobility group box 1 and 2 is associated with the progression and angiogenesis of human bladder carcinoma. *Oncol Lett* 2013;5:884-8.
56. van Beijnum JR, Nowak-Sliwinska P, van den Boezem E, Hautvast P, Buurman WA, Griffioen AW. Tumor angiogenesis is enforced by autocrine regulation of high-mobility group box 1. *Oncogene* 2012;32:363-74.
57. Chavakis E, Hain A, Vinci M, Carmona G, Bianchi ME, Vajkoczy P, et al. High-mobility group box 1 activates integrin-dependent homing of endothelial progenitor cells. *Circ Res* 2007;100:204-12.