维普资讯 http://www.cqvip.com

· 论著 ·

高迁移率族蛋白 B1 表达水平与大鼠脓毒症严重程度及预后关系的实验研究

邵义明 姚华国 梁小仲 夏炎火

【摘要】 **目的** 探讨高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)与脓毒症严重程度及预后间的关系，寻找致死性脓毒症的可靠监测及治疗指标。**方法** 90 只 SPF 级雄性 SD 大鼠(体重 250～300 g)被随机分为假手术组(A 组)、盲肠结扎穿孔术(CLP)组(B 组)及丙酮酸乙酯(EP)治疗组(C 组)，每组 30 只，分别施以假手术(A 组)或 CLP(B 组和 C 组)。术后立即腹腔注射生理盐水(NS)2 ml(A 组和 B 组)或 EP 2 ml(130 mg/kg，C 组)，12 h 重复 1 次。以术后 0、6、12、24、48 和 72 h 为观察点，观察各组大鼠术后活动、进食、竖毛、腹泻、眼球凹陷、呼吸等情况；活杀并观察腹腔肠管扩张、充血、腹水、病灶包裹、肺表面充血等情况。另取 20 只大鼠以 B、C 两组同样的模型及处理方式观察生存时间。采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术检测肝组织 HMGB1 mRNA 表达水平，酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆白细胞介素-1β(IL-1β)、IL-6 及肿瘤坏死因子-α(TNF-α)水平；绘制各组生存曲线，并进行相关分析。**结果** B 组大鼠术后脓毒症表现最强，C 组明显减轻，而 A 组没有相关表现或表现轻微。B 组血浆 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平于术后 6 h 显著升高，至 12 h 已明显下降；而 C 组上升的幅度明显低于 B 组，但明显高于 A 组。B 组肝脏 HMGB1 mRNA 表达水平在 12 h 开始升高，24 h 达高峰，并维持至 48 h 后开始下降，且 HMGB1 表达水平与 IL-6 水平呈正相关($r=0.91$)。C 组生存时间较 B 组明显延长($P<0.01$)，HMGB1 表达水平与脓毒症严重程度及动物生存率显著相关。**结论** 脓毒症晚期释放的 HMGB1 是脓毒症致死效应的关键炎症介质，其表达水平与实验动物的脓毒症严重程度及预后高度相关。

【关键词】 脓毒症； 高迁移率族蛋白 B1； 早期炎症介质； 预后； 丙酮酸乙酯

Relation between level of expression of high mobility group protein B1 in hepatic tissue with the severity and prognosis of sepsis in rat

SHAO Yi-ming, YAO Hua-guo, LIANG Xiao-zhong, XIA Yan-huo. Intensive Care Unit, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524001, Guangdong, China

【**Abstract**】 **Objective** To investigate whether the levels of expression of high mobility group protein B1 (HMGB1) in hepatic tissue are related with severity and prognosis of sepsis in rat, in order to look for a dependable marker for monitoring and evaluating the efficiency of the treatment of sepsis. **Methods** Ninety SD rats (specific-pathogen free, male, 250-300 g) were randomly divided into sham operation group (group A), cecal ligation and puncture (CLP) group (group B) and CLP followed by ethyl pyruvate (EP) treatment group (group C). Laparofury was done aseptically, and the cecum was returned to the abdomen (group A) or CLP was carried out (group B and C). The abdominal wall was then closed layer by layer. Normal saline (NS) 2 ml (group A and B) or EP 2 ml (130 mg/kg, group C) was intraperitoneally injected and repeated every 12 hours. Five animals were sacrificed at 0, 6, 12, 24, 48 and 72 hours after the operation, blood samples and 100 grams of hepatic tissue were harvested before the animal died. Before sacrifice, activity, food taking, piloerection, diarrhea, enophthalmia, respiration, distention of intestine, hyperemia, ascites, and omental adhesion to the cecum, and hyperemia of lung were observed. Another group of 20 rats were used to observe the survival rate after CLP. The level of HMGB1 mRNA expression in the hepatic tissue was assessed by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), and the levels of interleukin-1β (IL-1β), IL-6 and tumor necrosis factor-α (TNF-α) in plasma were determined by enzyme linked immunoadsorbent assay (ELISA). **Results** The mortality of sepsis was higher in group B than other groups (both $P<0.01$), that of group C was significantly lower than B but higher than A (both $P<0.01$). The levels of IL-1β, IL-6 and TNF-α in plasma rose to the peak at 6 hours after CLP in all groups, and group B>group C>group A ($P<0.01$), and they descended at 12 hours. The HMGB1 mRNA expression level in hepatic tissue was measurable at 6 hours and rose at 12 hours in group B, and maintained a high level up to 48 hours after CLP. The HMGB1 expression was positive correlated with IL-6 ($r=0.91$). The value in group C was significantly lower than group B at all time points (all $P<0.01$). The degree of severity and survival rate of sepsis were highly correlated with HMGB1 levels. **Conclusion** As a late-released inflammatory mediator, HMGB1 plays a key role in lethal effect of sepsis, the surviving time and the severity degree of sepsis are highly correlated with HMGB1 expression level in hepatic tissue.

【**Key words**】 sepsis; high mobility group protein B1; pro-inflammatory mediator; prognosis; ethyl pyruvate

维普资讯 http://www.cqvip.com

脓毒症正严重威胁着人类的健康，虽然近年来人们对脓毒症发病机制的认识有了更加深入的了解，但脓毒症的治疗并未取得满意效果。过去 10 年，针对引起脓毒症的早期关键促炎因子，如肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)、IL-6 等的拮抗治疗失败，使人们认识到必定存在晚期释放的炎症介质参与了脓毒症的致死效应。1999 年 Wang 等[1]发现了高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)，这是一种分子质量 30 ku 的非组蛋白 DNA 结合蛋白，由坏死细胞和活化的单核/巨噬细胞释放，参与脓毒症晚期的致死效应。大量研究证实，HMGB1 是脓毒症致死效应的关键因子，在脓毒症的发展中起决定性作用，但是 HMGB1 的水平是否与脓毒症严重程度直接相关，能否用 HMGB1 水平来衡量脓毒症的严重程度，HMGB1 水平是否与脓毒症的病死率直接相关，能否用 HMGB1 的表达水平来预测脓毒症预后等诸多问题尚未解决。本研究中采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备大鼠脓毒症模型，观察大鼠生存率和 HMGB1 水平以及血浆促炎介质 IL-1β、IL-6 和 TNF-α 水平间的相关关系，探讨 HMGB1 水平与脓毒症严重程度及预后之间的关系。

1 材料与方法

1.1 动物实验分组：SPF 级 SD 雄性大鼠 90 只，体重 250～300 g(由广东医学院动物中心提供)，按随机数字表法分为 3 组：假手术组(A 组，$n=30$)，无菌状态下开腹找出盲肠后再将其还纳腹腔，然后逐层关腹，术后立即腹腔注射生理盐水(NS)2 ml，12 h 重复 1 次；术后 0、6、12、24、48 和 72 h 随机活杀5 只大鼠并取标本。CLP 组(B 组，$n=30$)，CLP 后立即腹腔注射 NS 2 ml，12 h 重复 1 次；于 CLP 后 0、6、12、24、48 和 72 h 随机活杀 5 只大鼠并取标本。丙酮酸乙酯(EP)治疗组(C 组，$n=30$)，CLP 后立即腹腔注射 EP 130 mg/kg，加 NS 至 2 ml，12 h 重复 1 次；于 CLP 后 0、6、12、24、48 和 72 h 随机活杀 5 只大鼠并取标本。观察期间出现死亡的动物被排除。另取 20 只相同条件的大鼠，以 B、C 两组同样的模型及处理方式(但不活杀)观察 CLP 后大鼠的生存率，并绘制生存曲线。前述实验中，B、C 两组被排除的动物纳入该观察部分的相应分组，计算生存率。

1.2 CLP 模型制备方法[2]：动物在乙醚吸入麻醉下无菌开腹手术，在距盲肠末端1 cm处用 7-0 丝线结扎盲肠，用 22 G 针头在被结扎盲肠上对穿 3 次，注意避免粪便污染，并用 NS 2 ml 湿润肠管，按生理位置还纳肠管。术毕逐层关腹，并于腹壁皮下注射林格液(50 ml/kg)抗休克。术后自由进食、饮水。

1.3 大鼠脓毒症严重程度评分标准(表 1)：采用改良的评定标准[3]进行评分。

表 1 大鼠 CLP 后脓毒症严重程度评分标准

Table 1 Evaluation criterion of sepsis severity for rat after CLP

观察指标及评分标准	分值	观察指标及评分标准	分值
一般情况		病灶包裹情况	
正常进食，正常活动	1	未包裹，周围无坏死、渗出	1
进食少，疲倦，少活动	2	被大网膜、肠管包裹良好	2
不进食，嗜睡，不活动	3	未包裹，周围有明显坏死、渗出	3
昏睡，对刺激反应低	4	脓液扩散，包裹不佳	4
肠管情况		肝脏体积(与 A 组对照)	
红润，蠕动良好	1	>0～20%	1
充血，轻度扩张，蠕动良好	2	>20%～40%	2
发乌，中度扩张，蠕动欠佳	3	>40%～60%	3
发紫，高度扩张，蠕动消失	4	>60%	4
腹水情况		肺湿/干重比(W/D)	
<3 ml，腹水清，无臭味	1	<4.5	1
3～6 ml，腹水浊，无臭味	2	4.5～5.0	2
>6 ml，血性腹水，微臭	3	5.0～5.5	3
>6 ml，脓性腹水，恶臭	4	>5.5	4
结扎盲肠情况			
水肿，缺血	1		
乌黑，坏死	2		
发白，坏疽	3		
坏疽，周围大量脓液	4		

1.4 观察指标及标本处理：乙醚吸入麻醉动物，开腹经腹主动脉抽取全血 5 ml，3 000 r/min(离心半径为 5 cm)离心 10 min，收集上清液，用乙二胺四乙酸(EDTA)处理，留取右叶肝缘组织约100 mg，磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗后立即置液氮冻存，置-80 C冰箱待测。观察大鼠术后活动、进食、竖毛、腹泻、眼球凹陷、呼吸以及活杀后腹腔肠管扩张、充血、腹水、病灶包裹、肝肿大、肺表面充血等情况。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 肝组织 HMGB1 mRNA 表达水平：采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)进行技术检测。取肝组织100 mg，置碾钵中用液氮制备肝组织匀浆，采用Trizol(Sigma公司提供)一步法提取肝组织总 RNA。采用两步法 RT-PCR 试剂盒(Invitrogen 公司，11904-018 Super Script 1st AtrandSynthesis，11615-010 Taq DNA Polymerase)进行RT-PCR，

基金项目：广东省社会发展领域科学计划项目(200425)；广东省医学科研基金资助项目(B2005109)

作者单位：524001 广东湛江，广东医学院附属医院危重医学科

作者简介：邵义明(1972-)，男(汉族)，湖北十堰人，医学硕士，副主任医师，主要研究脓毒症、多器官功能障碍综合征(Email：shaoyiming@sina.com)。

维普资讯 http://www.cqvip.com

以β-肌动蛋白(β-actin)作为内参照，以 10 μl 扩增产物经质量分数为 1.5%的琼脂糖凝胶电泳后，用 LabWork 4.0 UVP 成像系统照相并分析结果。以目的基因与内参照在凝胶上的灰度值比值为基因表达相对含量。大鼠 HMGB1 序列(扩增片段长度为 292 bp)：上游 5′-CGG ATG CTT CTG TCA ACT TCT-3′，下游 5′-AGT TTC TTC GCA ACA TCA CCA-3′；大鼠 β-actin 序列(扩增片段长度为 476 bp)：上游 5′-CCA TTG AAC ACG GCA TTG TC-3′，下游 5′-GGC CAT CTC TTG CTC GAA GT-3′。PCR 反应条件：94 ℃、5 min 预变性，94 ℃、40 s 变性，53 ℃、45 s 退火，72 ℃、45 s 延伸，共 32 个循环，72 ℃、10 min 延伸。RT-PCR 操作严格按照说明书进行，所有实验用具均严格采用焦碳酸二乙酯(DEPC)浸泡灭酶并高温消毒。

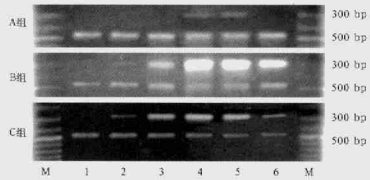
1.5.2 血浆细胞因子检测：采用酶联免疫吸附法(ELISA，试剂盒购自武汉博士德公司，EK0393、EK0412、EK0526)检测血浆中 IL-1β、IL-6 以及 TNF-α水平，严格按试剂盒说明书操作，采用美国 Bio Rad 550 全自动酶标仪检测，绘制标准曲线。

1.6 统计学处理：采用 SAS v8.1 统计软件包对所得资料进行统计分析。针对各组动物生存时间绘制生存曲线，并进行 Logistic 回归分析。计量资料采用 t 检验、方差分析，计数资料采用 χ^2 检验；$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 大鼠一般情况：B 组大鼠术后 2 h 活动度明显下降，并逐渐出现厌食、竖毛、眼球下陷、呼吸急促、对外界刺激反应淡漠、腹腔肠系膜充血、肠管显著扩张、结扎盲肠坏死、血性腹水、病灶处大网膜包裹不佳、肝肿大、肺表面充血明显等。C 组亦出现厌食、竖毛、活动少等情况，但明显较 B 组轻微，且 C 组肠管仅轻度扩张，腹水减少，坏死盲肠被大网膜及周围肠管包裹明显。A 组没有相关表现。各组大鼠脓毒症严重程度评分见表 2。

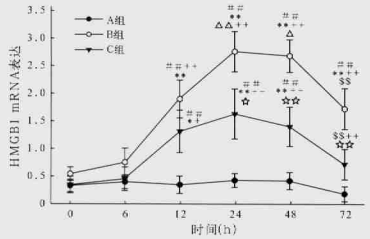
2.2 大鼠肝组织 HMGB1 mRNA 表达(图 1，图 2，表 3)：A 组在 24 h 和 48 h 有微弱表达；B 组 12 h 表达开始升高，至 24 h 达高峰，并维持至 48 h 后开始下降，显著高于 A 组和 C 组(P 均<0.01)。



M：Marker(梯度 100 bp)；1～6 分别为 CLP 后 0、6、12、24、48 和 72 h HMGB1 系列扩增片断 292 bp，位于300 bp处，β-actin 扩增片断 476 bp，位于靠近 500 bp 处

图 1 RT-PCR 方法检测 3 组大鼠不同时间点肝组织 HMGB1 mRNA 表达

Figure 1 HMGB1 mRNA expression in hepatic tissue detected by RT-PCR in three groups at different time points



注：同时间点内，与 A 组比较：##$P<0.01$；与 B 组比较：☆$P<0.05$，☆☆$P<0.01$。本组内，与 0 h 比较：*$P<0.05$，**$P<0.01$；与 6 h 比较：+$P<0.05$，++$P<0.01$；与 12 h 比较：△$P<0.05$，△△$P<0.01$；与 24 h 比较：$$$P<0.01

图 2 3 组大鼠不同时间点肝组织 HMGB1 mRNA 表达

Figure 2 HMGB1 mRNA expression in hepatic tissue in three groups at different time points

2.3 大鼠血浆 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平变化(表 4)：B 组血浆 IL-1β、IL-6 及 TNF-α 水平均于术后 6 h 显著升高，12 h 已明显下降；而 C 组上升幅度明显低于 B 组，但高于 A 组，且 HMGB1 表达水平与 IL-6 水平呈高度正相关($r=0.91$)。

表 2 3 组大鼠脓毒症严重程度评分比较($\bar{x}\pm s$，$n=5$)

Table 2 Comparison of sepsis severity scale in three groups($\bar{x}\pm s$，$n=5$)　分

组别	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
A 组	7.82±0.53	8.02±1.04	7.87±1.21	7.92±1.44	7.96±1.88	8.13±2.61
B 组	7.76±0.32	11.24±3.51	15.21±6.15#	17.83±5.34#*	20.71±5.40#*+	24.41±3.12#*-△
C 组	7.84±0.45	8.81±4.38	9.87±3.21	10.64±3.66☆	12.36±3.58☆	15.82±6.51#☆*

注：与 A 组同时间点比较：#$P<0.05$；与 B 组同时间点比较：☆$P<0.05$；与本组 0 h 比较：*$P<0.05$；与本组 6 h 比较：+$P<0.05$；与本组 12 h 比较：△$P<0.05$

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 3 3 组大鼠不同时间点肝组织 HMGB1 mRNA 表达比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 3 Comparison of HMGB1 mRNA expression in hepatic tissue in three groups($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
A 组	0.33±0.11	0.40±0.12	0.35±0.16	0.43±0.13	0.42±0.15	0.18±0.14
B 组	0.54±0.12	0.75±0.25	1.90±0.34$^{\#\#**++}$	2.76±0.37$^{\#\#**++\triangle\triangle}$	2.68±0.30$^{\#\#**++\triangle}$	1.72±0.37$^{\#\#**++\$\$}$
C 组	0.35±0.15	0.45±0.21	1.31±0.38$^{\#\#*+}$	1.63±0.45$^{\#\#☆**++}$	1.40±0.35$^{\#\#☆☆**++}$	0.72±0.28$^{☆☆++\$\$}$

注：与 A 组同时间点比较：$^{\#\#}P<0.01$；与 B 组同时间点比较：$^{☆}P<0.05$，$^{☆☆}P<0.01$；与本组 0 h 比较：$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与本组 6 h 比较：$^{+}P<0.05$，$^{++}P<0.01$；与本组 12 h 比较：$^{\triangle}P<0.05$，$^{\triangle\triangle}P<0.01$；与本组 24 h 比较：$^{\$\$}P<0.01$

表 4 3 组大鼠不同时间点血浆 IL－1β、IL－6 及 TNF－α 水平变化比较($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 4 Comparison of plasma levels of IL－1β, IL－6 and TNF－α in three groups($\bar{x}\pm s, n=5$)

指标	组别	0 h	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
IL－1β	A 组	18.1± 6.5	71.3± 15.4**	24.9± 11.5^{++}	22.8± 6.8^{++}	19.9± 7.3^{++}	19.1± 8.4^{++}
	B 组	19.2± 6.1	815.6±164.3$^{\#\#**}$	266.5± 73.3$^{\#\#**++}$	114.2± 18.7$^{\#\#++}$	65.8± 15.1$^{\#\#++\triangle}$	31.5± 13.2$^{++\triangle\triangle}$
	C 组	19.2± 6.3	616.5±145.8$^{\#\#**}$	187.6± 54.1$^{\#*++}$	102.1± 19.2$^{\#\#++}$	48.3± 16.2^{++}	21.3± 11.4$^{++\triangle}$
IL－6	A 组	98.5±15.8	167.6± 11.8**	116.4± 12.2^{++}	111.3± 7.6^{++}	110.5± 5.6^{++}	99.8± 8.2^{++}
	B 组	105.6±15.9	1 768.3±229.4$^{\#\#**}$	985.5±163.2$^{\#\#**++}$	566.2±144.3$^{\#\#**++\triangle}$	368.9±146.4$^{\#\#++\triangle\triangle}$	334.1±118.4$^{\#\#++\triangle\triangle}$
	C 组	98.8±16.2	568.2±148.6$^{☆☆**}$	225.1± 59.8$^{☆☆++}$	175.5± 43.1$^{☆☆++}$	147.8± 47.3$^{☆++}$	133.2± 45.2$^{☆☆++}$
TNF－α	A 组	25.2± 6.7	56.2± 14.8**	22.4± 10.3^{++}	21.6± 8.2^{++}	20.4± 7.5^{++}	18.5± 6.1^{++}
	B 组	26.3± 8.1	812.4±125.3$^{\#\#**}$	153.5± 21.1$^{\#\#*++}$	54.8± 18.2^{++}	35.6± 15.3^{++}	26.8± 13.3$^{++\triangle}$
	C 组	24.6± 7.4	537.5±111.6$^{\#\#☆**}$	88.5± 23.4$^{\#\#☆☆++}$	46.2± 19.8^{++}	30.8± 18.5^{++}	20.6± 17.3^{++}

注：与 A 组同时间点比较：$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$；与 B 组同时间点比较：$^{☆}P<0.05$，$^{☆☆}P<0.01$；与本组 0 h 比较：$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$；与本组 6 h 比较：$^{++}P<0.01$；与本组 12 h 比较：$^{\triangle}P<0.05$，$^{\triangle\triangle}P<0.01$

2.4 大鼠生存率变化情况：实验过程中 B、C 两组分别有 15 只和 8 只大鼠因未到观察终点死亡而被排除，归为相应的观察部分。从图 3 结果看出，CLP 导致了明显的致死效应，经 EP 治疗后显著延长了大鼠的生存时间。A 组观察期内无死亡，B 组生存时间明显短于 C 组〔(51.4±15.2)h 比(83.7±16.3)h，$t=6.670$，$P<0.01$〕。

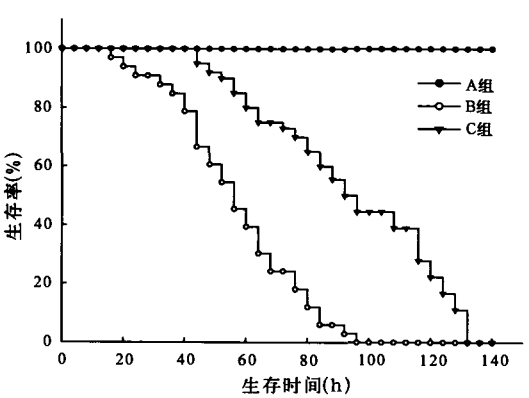


图 3 不同处理方式下大鼠生存曲线图

Figure 3 Survival curves in three groups

2.5 大鼠肝组织 HMGB1 表达水平与脓毒症严重程度及生存率的相关分析：将大鼠各个时间点肝组织 HMGB1 表达水平与相应组别大鼠脓毒症严重程度评分以及各时间点大鼠生存率分别进行 Logistic 回归分析。结果显示：HMGB1 表达水平与脓毒症严重程度评分呈显著正相关〔相对比值比(OR)＝8.896，$P<0.01$〕；HMGB1 表达水平与脓毒症大鼠生存率之间呈显著正相关($OR=9.126$，$P<0.01$)。

3 讨 论

在脓毒症早期，机体产生大量的炎症介质，形成炎症“瀑布效应”，可使炎症反应扩大甚至失控，最终导致以细胞自身破坏为特征的全身炎症反应综合征(SIRS)，其中 TNF－α、IL－1β、IL－6 被普遍认为是引起机体损害和死亡的早期炎症介质中的核心因子，并对判断脓毒症的严重程度及预后起着重要作用[4]。然而，临床上针对这些炎症介质采用的拮抗剂治疗并未取得明显效果，推断可能存在着某种晚期炎症介质参与了脓毒症的致死效应。HMGB1 正是这样一种晚期炎症介质，它主要由感染、创伤等刺激引起免疫细胞(单核细胞、巨噬细胞)、坏死细胞释放，但不由凋亡细胞释放[1]，其释放的强度与脂多糖(LPS)、TNF－α、γ－干扰素(IFN－γ)、IL－1β 等刺激因素呈剂量-时间依赖性。体内或体外实验均证实 HMGB1 是脓毒症发生、发展中的关键因子，是脓毒症致死效应的最重要晚期炎症介质[1]；拮抗或抑制 HMGB1 能显著提高实验大鼠的生存率[5]。临床研究也证实，HMGB1 的表达水平与患者急性生理学与慢性健康状况评分系统Ⅱ(APACHEⅡ)评分高度相关[6]。但 HMGB1 能否作为脓毒症严重程度及预后的指标目前尚缺乏理论支持。

本结果显示，CLP 后 6 h 大鼠血浆 TNF－α、

维普资讯 http://www.cqvip.com

IL－1β、IL－6 水平即达到峰值，至 12 h 显著降低，24 h 基本恢复至术前水平。说明在 CLP 致腹腔感染、毒素吸收后大鼠体内单核/巨噬细胞系统被激活，迅速释放大量炎症介质，诱导了机体的炎症反应。然而此时大鼠脓毒症症状、死亡率与这些早期炎症介质水平并不相符，说明这些早期炎症介质并非脓毒症高死亡率的直接原因，但可能是诱导晚期炎症介质释放的重要因素[7]。A 组虽然未进行 CLP，但开腹手术引起的应激反应以及潜在的各类感染危险因素也可能引起炎症细胞的激活，诱导早期炎症介质的一过性升高，并最终导致 HMGB1 在 24 h 和 48 h 极其微弱的表达。B、C 两组 HMGB1 表达水平升高较文献报道有所提前，究其原因可能与正常肝细胞胞浆中亦有一定水平的 HMGB1 表达并引起整体基线升高有关[8]，亦可能与体内、体外实验存在一定的差异有关[9]。

TNF－α、IL－1β、IL－6 等早期炎症介质在疾病的早期一过性升高，使临床上不能像动物实验那样对其进行拮抗治疗，因为此时患者可能还没有入院治疗，这也正是临床针对早期炎症介质进行拮抗治疗失败的根本原因[9]。晚期炎症介质在发病后 24 h 才上升达到高峰，这为临床的监测和治疗提供了新的“靶点”[10]和“时间窗”[1]。本研究结果显示，大鼠 CLP 后 24 h 和 48 h HMGB1 表达水平达到高峰，与脓毒症严重程度评分、生存率高度相关，说明 HMGB1 与脓毒症的密切关系。有研究表明，血浆 IL－6浓度无论作为单一因素或联合 APACHE Ⅱ、多器官功能障碍综合征(MODS)评分均可作为重症脓毒症患者预后的重要参考指标[6]，HMGB1 表达与血浆 IL－6 水平的一致性说明了两者的密切关系及在脓毒症预后方面的重要作用[7]。采用重组 HMGB1 刺激小鼠可使其死亡率超过 90%，而应用抗 HMGB1 抗体可显著降低内毒素大鼠的晚期死亡率，说明 HMGB1 参与了促进失控性炎症反应的发展，在致死性脓毒症效应中发挥关键作用[11]。

为了更进一步证实 HMGB1 在脓毒症中的作用，我们采用目前广泛用于抑制 HMGB1 的药物 EP 治疗 CLP 引起的脓毒症[12]。结果显示，EP 干预后，脓毒症大鼠肝组织 HMGB1 的表达水平显著降低，其脓毒症的临床表现减轻、死亡率也降低。这一方面显示了 EP 治疗脓毒症的前景，同时也进一步证实了 HMGB1 与脓毒症的密切关系。

综上所述，HMGB1 作为晚期释放的炎症介质，已被确认是脓毒症致死效应的关键致炎因子，其在体内的水平高低将直接影响机体对脓毒症反应的严重程度及脓毒症的预后。从 HMGB1 mRNA 表达水平与大鼠脓毒症严重程度及生存率之间的密切关系看，HMGB1 有望成为监测脓毒症严重程度及预后的重要指标。

参考文献：

1 Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG－1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice[J]. Science, 1999, 285: 248－251.

2 Eskandari M K, Bolgos G, Miller C, et al. Anti-tumor necrosis factor antibody therapy fails to prevent lethality after cecal ligation and puncture or endotoxemia[J]. J Immunol, 1992, 148: 2724－2730.

3 Wichterman K A, Baue A E, Chaudry I H. Sepsis and septic shock: a review of laboratory models and a proposal[J]. J Surg Res, 1980, 29: 189－201.

4 Wang H, Vishnubhakat J M, Bloom O, et al. Proinflammatory cytokines (tumor necrosis factor and interleukin 1) stimulate release of high mobility group protein－1 by pituicytes[J]. Surgery, 1999, 126: 389－392.

5 Suda K, Kitagawa Y, Ozawa S, et al. Anti-high-mobility group box chromosomal protein 1 antibodies improve survival of rats with sepsis[J]. World J Surg, 2006, 30: 1755－1762.

6 费军，余洪俊，周健，等. 严重创伤患者高迁移率族蛋白－1 的变化[J]. 中国危重病急救医学，2005，17：273－275.

7 Sun N K, Chao C C. The cytokine activity of HMGB1 —— extracellular escape of the nuclear protein[J]. Chang Gung Med J, 2005, 28: 673－682.

8 Yang H, Tracey K J. High mobility group box 1 (HMGB1)[J]. Crit Care Med, 2005, 33(12 Suppl): S472－474.

9 Wang H, Yang H, Tracey K J. Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis[J]. J Intern Med, 2004, 255: 320－331.

10 Mantell L L, Parrish W R, Ulloa L. Hmgb－1 as a therapeutic target for infectious and inflammatory disorders[J]. Shock, 2006, 25: 4－11.

11 Yin K, Gribbin E, Wang H. Interferon-gamma inhibition attenuates lethality after cecal ligation and puncture in rats: implication of high mobility group box－1[J]. Shock, 2005, 24: 396－401.

12 Das U N. Pyruvate is an endogenous anti-inflammatory and anti-oxidant molecule[J]. Med Sci Monit, 2006, 12: RA79－84.

（收稿日期：2006－09－21 修回日期：2006－10－20）

（本文编辑：李银平）

欢迎订阅《中国中西医结合急救杂志》

中国科协主管，中国中西医结合学会主办，全国各地邮局订阅，邮发代号：6－93

刊社地址：天津市和平区睦南道 122 号 邮编：300050