

• 论著 •

天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 抑制剂对腹腔感染脓毒症急性肾损伤小鼠血清炎症细胞因子的影响

刘丽霞 胡振杰 李勇 苏洁 霍焱 范立侨

【摘要】 目的 观察天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)抑制剂 Ac-DEVD-CHO 对腹腔感染脓毒症急性肾损伤(AKI)小鼠血清炎症细胞因子的影响。方法 将 102 只 C57BL/6 小鼠按随机数字表法均分成假手术组、模型组和 caspase-3 抑制剂组(CI 组)3 组。采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症 AKI 小鼠模型;CI 组在 CLP 术前给予 Ac-DEVD-CHO 4 μg/g 腹部皮下注射进行干预。各组均于术后 6、12、24 h 检测血尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)浓度;用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素(IL-6、IL-10)浓度;用流式细胞仪检测肾组织细胞凋亡率;用实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测肾组织 caspase-3 mRNA 表达;并观察小鼠 4 d 和 7 d 的存活率。结果 与假手术组比较,模型组各时间点血清 BUN、TNF-α、IL-6、IL-10 及肾组织细胞凋亡率、caspase-3 mRNA 表达均显著升高,术后 6 h Cr 显著升高,4 d、7 d 存活率显著下降。与模型组比较,CI 组各时间点 BUN 显著下降;术后 6 h Cr 显著下降,12 h 和 24 h 恢复至假手术组水平;各时间点血清 TNF-α、IL-6 水平降低,IL-10 水平升高〔TNF-α(μg/L)6 h:436.2±64.2 比 653.6±8.9,12 h:233.4±85.4 比 579.7±137.1,24 h:151.0±90.3 比 551.0±119.8;IL-6(μg/L)6 h:1 033.2±345.8 比 1 595.3±159.4,12 h:366.3±68.3 比 1 330.7±249.8,24 h:241.2±208.4 比 815.3±572.7;IL-10(μg/L)6 h:33.6±10.4 比 26.6±4.5,12 h:37.2±5.0 比 24.5±4.3,24 h:38.3±5.5 比 18.2±1.6,均 $P < 0.05$];肾组织细胞凋亡率及 caspase-3 mRNA 表达显著下降〔凋亡率 6 h:(13.9±3.2)%比(18.3±1.4)%,12 h:(10.5±3.6)%比(15.9±3.5)%,24 h:(8.4±1.8)%比(12.5±2.1)%;caspase-3 mRNA 6 h:1.95±0.16 比 3.84±0.35,12 h:1.89±0.19 比 3.97±0.73,24 h:2.01±0.20 比 4.97±0.24,均 $P < 0.05$],并提高了小鼠 4 d 存活率(80%比 20%),7 d 存活率无变化(20%比 20%)。结论 caspase-3 抑制剂对腹腔感染脓毒症 AKI 小鼠血清促炎/抗炎细胞因子水平的影响可能与降低肾组织细胞凋亡有关。

【关键词】 脓毒症; 肾损伤,急性; 细胞因子; 凋亡; 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3

The effect of caspase-3 inhibitor on the concentrations of serum inflammatory cytokines in sepsis related acute kidney injury induced by peritoneal cavity infection in mice LIU Li-xia*, HU Zhen-jie, LI Yong, SU Jie, HUO Yan, FAN Li-qiao. * Intensive Care Unit, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China

Corresponding author: LI Yong, Email: li_yong_hbth@126.com

【Abstract】 **Objective** To observe the effects of caspase-3 inhibitor Ac-DEVD-CHO on the concentrations of serum inflammatory cytokines in sepsis related acute kidney injury induced by peritoneal cavity infection in mice. **Methods** One hundred and two male C57BL/6 mice were subjected to cecal ligation and puncture (CLP, a model of polymicrobial sepsis) or sham operation. The animals were assigned into three equal groups ($n=34$) according to random number table: sham group, model group, and caspase-3 inhibitor (CI) group. Thirty minutes before CLP, Ac-DEVD-CHO (4 μg/g) was injected subcutaneously in CI group. The levels of blood urea nitrogen (BUN) and creatinine (Cr) were determined, and the concentrations of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukins (IL-6 and IL-10) were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), the renal cell apoptosis rate was determined by flow cytometry and the expression of caspase-3 mRNA was determined by real time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) at 6, 12 and 24 hours after operation. The 4-day and 7-day survival rates of three groups of mice were observed. **Results** Compared with sham group, the concentrations of serum BUN, TNF-α, IL-6, IL-10 and the renal cell apoptosis rates, the caspase-3 mRNA expression were increased significantly at all time points after CLP, the concentrations of serum Cr were increased significantly at 6 hours, with the 4-day and 7-day survival rates were decreased significantly. Compared with model group, in CI group, the concentrations of serum BUN were decreased significantly at all time points after operation and those of Cr were decreased significantly at 6 hours, then restored to those of the sham group at 12 hours and 24 hours; the concentrations of serum TNF-α, IL-6 were decreased and those of IL-10 elevated significantly at all time points [TNF-α (μg/L) 6 hours: 436.2±64.2 vs. 653.6±8.9, 12 hours: 233.4±85.4 vs. 579.7±137.1, 24 hours: 151.0±90.3 vs. 551.0±119.8; IL-6 (μg/L) 6 hours: 1 033.2±345.8 vs. 1 595.3±159.4, 12 hours: 366.3±68.3 vs. 1 330.7±249.8, 24 hours: 241.2±208.4 vs. 815.3±572.7; IL-10 (μg/L) 6 hours: 33.6±10.4 vs. 26.6±4.5, 12 hours: 37.2±5.0 vs. 24.5±4.3, 24 hours: 38.3±5.5 vs. 18.2±1.6, all $P < 0.05$]; renal cell apoptosis rate and caspase-3 mRNA expression were significantly decreased [apoptosis rate 6 h: (13.9±3.2)% vs. (18.3±1.4)%, 12 h: (10.5±3.6)% vs. (15.9±3.5)%, 24 h: (8.4±1.8)% vs. (12.5±2.1)%; caspase-3 mRNA 6 h: 1.95±0.16 vs. 3.84±0.35, 12 h: 1.89±0.19 vs. 3.97±0.73, 24 h: 2.01±0.20 vs. 4.97±0.24, all $P < 0.05$], and improved the 4-day survival rate (80% vs. 20%), 7-day survival rate was unchanged (20% vs. 20%). **Conclusion** The effect of caspase-3 inhibitor on the concentrations of serum inflammatory cytokines in sepsis related acute kidney injury induced by peritoneal cavity infection in mice may be related to the reduction of renal cell apoptosis.

1.6, all $P < 0.05$]; the renal cell apoptosis rate and the expression of caspase-3 mRNA were decreased significantly at all time points [apoptosis rates 6 hours: $(13.9 \pm 3.2)\%$ vs. $(18.3 \pm 1.4)\%$, 12 hours: $(10.5 \pm 3.6)\%$ vs. $(15.9 \pm 3.5)\%$, 24 hours: $(8.4 \pm 1.8)\%$ vs. $(12.5 \pm 2.1)\%$; caspase-3 mRNA 6 hours: 1.95 ± 0.16 vs. 3.84 ± 0.35 , 12 hours: 1.89 ± 0.19 vs. 3.97 ± 0.73 , 24 hours: 2.01 ± 0.20 vs. 4.97 ± 0.24 , all $P < 0.05$]. The 4-day survival rate of CI group was improved (80% vs. 20%), but that of 7-day did not change (20% vs. 20%). **Conclusion** The modulation of caspase-3 inhibitor on the concentrations of serum inflammatory cytokines in sepsis related acute kidney injury induced by peritoneal cavity infection may be associated with a decrease in renal cell apoptosis by Ac-DEVD-CHO.

【Key words】 Sepsis; Acute kidney injury; Cytokine; Apoptosis; Caspase-3

腹腔感染继发脓毒症,导致多器官功能不全是外科常见问题之一,其中急性肾损伤(AKI)是危重病患者不良预后的独立危险因素^[1],但其病理生理机制尚不十分清楚^[2],缺乏有效的治疗手段^[3]。近年来有研究认为,炎症反应和肾组织细胞凋亡可能是其主要机制^[3-4],但是有关二者之间相关性的研究尚少。Ac-DEVD-CHO 是天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)的选择性四肽抑制剂,本研究中应用 Ac-DEVD-CHO 对脓毒症 AKI 小鼠进行干预,观察其血清炎症细胞因子的变化,从而为进一步研究脓毒症 AKI 发病机制及其防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组及脓毒症 AKI 小鼠模型的制备:健康清洁级雄性 C57BL/6 小鼠,体重 18~22 g,由河北医科大学实验动物中心提供,动物合格证号:1007161。采用随机数字表法将 102 只小鼠分为假手术组、模型组和 caspase-3 抑制剂组(CI 组),每组 34 只。采用盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症 AKI 小鼠模型^[5],术毕皮下注射生理盐水 1 ml 以补充手术过程中丢失的体液,术后 3 h 腹部皮下注射抗菌药物连续 2 d 抗感染。假手术组除不行 CLP 外,其他操作同模型组。CI 组在 CLP 前 30 min 腹部皮下注射 Ac-DEVD-CHO(瑞士 Alexis 公司产品) 4 $\mu\text{g/g}$ (溶于含 1%二甲亚砜的磷酸盐缓冲液中)。本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.2 检测指标及方法:各组分别于术后 6、12、24 h 取 8 只小鼠,取眼球采血,分离血清-80 °C 冻存备检。开腹取肾,1/2 左肾置于 70%乙醇中,-20 °C 保存备检细胞凋亡率;右肾置入液氮中,-80 °C 冻存,行实时荧光定量聚合酶链反应(PCR)检测。每组余 10 只小鼠观察 4 d 和 7 d 存活率。

1.2.1 血清生化指标检测:血清尿素氮(BUN)应用邻苯二甲醛法(OPA 法)试剂盒测定;肌酐(Cr)利用苦味酸不除蛋白法试剂盒测定;分别应用肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-6、IL-10)酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒,采用双抗夹心 ELISA 法检测其血清浓度。

1.2.2 肾组织细胞凋亡率检测:取肾组织制备单细胞悬液,用流式细胞仪在激发波长为 488 nm 处检测细胞凋亡率。

1.2.3 肾组织 caspase-3 mRNA 表达的检测:采用实时荧光定量 PCR 法检测 caspase-3 mRNA 表达水平。采用 TRIzol(美国 Invitrogen 公司)一步法提取组织总 RNA,用反转录试剂盒(美国 Promega 公司)合成 cDNA,实时 PCR 仪(美国 ABI 公司)检测 caspase-3 mRNA 表达。caspase-3:上游引物 5'-GGAGAAATTCAAAGGACGG-3',下游引物 5'-AACAAAACAGAAACACGCC-3';三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH):上游引物 5'-TGAACGGG AAGCTCACTGG-3',下游引物 5'-GCTTACCAC CTTCTTGATGTC-3'。反应总体积 20 μl ,反应条件为 96 °C 4 min;94 °C 30 s,58 °C 30 s,72 °C 30 s,进行 40 个循环,于每个循环的第 3 步收集荧光信号。扩增完毕后,进入结果分析界面,以目的基因与内参照 GAPDH 基因相比得到相对定量值(RQ 值),将 RQ 值用于统计分析。

1.3 统计学处理:采用 SPSS 13.0 统计软件分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用 LSD 单因素方差分析;采用 Kaplan-Meier 法计算累计存活率并绘制生存曲线,生存曲线比较采用 log-Rank 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清 BUN、Cr 浓度变化(表 1):与假手术组比较,模型组各时间点 BUN 浓度均显著升高(均 $P < 0.05$);Cr 浓度术后 6 h 显著升高($P < 0.05$),12 h 和 24 h 虽高于假手术组,但差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。与模型组比较,CI 组各时间点 BUN

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.12.011

基金项目:河北省科技支撑计划项目(10270175)

作者单位:050011 石家庄,河北医科大学第四医院 ICU(刘丽霞、胡振杰、苏洁、霍焱),外三科(李勇、范立乔)

通信作者:李勇,Email:li_yong_hbth@126.com

表 1 各组腹腔感染脓毒症急性肾损伤小鼠血清 BUN、Cr、TNF- α 、IL-6、IL-10 浓度以及肾组织细胞凋亡率和肾脏 caspase-3 mRNA 表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)	TNF- α (μ g/L)	IL-6(μ g/L)	IL-10(μ g/L)	凋亡率(%)	caspase-3 mRNA
假手术组	术后 6 h	8.7 \pm 2.3(8)	75.5 \pm 14.5(8)	29.5 \pm 19.0(8)	38.2 \pm 8.5(8)	5.1 \pm 1.2(8)	6.2 \pm 0.9(8)	1.02 \pm 0.29(3)
	术后 12 h	8.2 \pm 2.3(8)	66.9 \pm 15.4(8)	28.3 \pm 9.3(8)	32.0 \pm 9.0(8)	4.9 \pm 1.0(8)	5.6 \pm 0.6(8)	1.00 \pm 0.18(3)
	术后 24 h	7.3 \pm 2.8(8)	64.0 \pm 11.9(8)	26.3 \pm 8.9(8)	24.3 \pm 9.7(8)	4.9 \pm 1.2(8)	5.6 \pm 0.5(8)	1.01 \pm 0.10(3)
模型组	术后 6 h	14.0 \pm 3.5(8) ^a	123.1 \pm 33.5(8) ^a	653.6 \pm 8.9(8) ^a	1 595.3 \pm 159.4(8) ^a	26.6 \pm 4.5(8) ^a	18.3 \pm 1.4(8) ^a	3.84 \pm 0.35(3) ^a
	术后 12 h	15.9 \pm 4.9(8) ^a	77.5 \pm 41.3(8)	579.7 \pm 137.1(8) ^a	1 330.7 \pm 249.8(8) ^a	24.5 \pm 4.3(8) ^a	15.9 \pm 3.5(8) ^a	3.97 \pm 0.73(3) ^a
	术后 24 h	14.8 \pm 6.8(8) ^a	75.5 \pm 48.4(8)	551.0 \pm 119.8(8) ^a	815.3 \pm 572.7(8) ^{ac}	18.2 \pm 1.6(8) ^{ac}	12.5 \pm 2.1(8) ^{ac}	4.97 \pm 0.24(3) ^{ac}
CI 组	术后 6 h	9.1 \pm 2.8(8) ^b	84.9 \pm 27.6(8) ^{ab}	436.2 \pm 64.2(8) ^{ab}	1 033.2 \pm 345.8(8) ^{ab}	33.6 \pm 10.4(8) ^a	13.9 \pm 3.2(8) ^{ab}	1.95 \pm 0.16(3) ^{ab}
	术后 12 h	8.1 \pm 4.9(8) ^b	70.7 \pm 9.7(8)	233.4 \pm 85.4(8) ^{abc}	366.3 \pm 68.3(8) ^{abc}	37.2 \pm 5.0(8) ^{ab}	10.5 \pm 3.6(8) ^{ab}	1.89 \pm 0.19(3) ^{ab}
	术后 24 h	5.6 \pm 1.5(8) ^b	72.8 \pm 13.0(8) ^b	151.0 \pm 90.3(8) ^{abc}	241.2 \pm 208.4(8) ^{abc}	38.3 \pm 5.5(8) ^{ab}	8.4 \pm 1.8(8) ^{abc}	2.01 \pm 0.20(3) ^{ab}

注: BUN: 尿素氮, Cr: 肌酐, TNF- α : 肿瘤坏死因子- α , IL-6: 白细胞介素-6, IL-10: 白细胞介素-10, caspase-3: 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3,

CI 组: caspase-3 抑制剂组; 与假手术组同期比较, ^a $P < 0.05$; 与模型组同期比较, ^b $P < 0.05$; 与本组术后 6 h 比较, ^c $P < 0.05$; 括号内为动物数

浓度均显著降低(均 $P < 0.05$); Cr 浓度术后 6 h 显著降低($P < 0.05$), 并于 12 h 和 24 h 持续降低至假手术组水平(均 $P > 0.05$)。

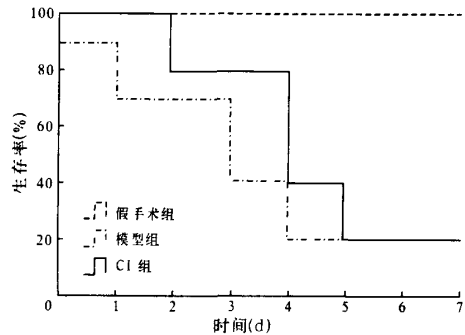
2.2 各组血清 TNF- α 、IL-6、IL-10 浓度变化(表 1): 与假手术组比较, 模型组各时间点 TNF- α 、IL-6、IL-10 浓度均显著升高(均 $P < 0.05$)。与模型组比较, CI 组各时间点 TNF- α 、IL-6 浓度显著降低, IL-10 浓度显著升高(均 $P < 0.05$)。

2.3 各组肾组织细胞凋亡率及 caspase-3 mRNA 表达变化(表 1): 与假手术组比较, 模型组各时间点肾组织细胞凋亡率和 caspase-3 mRNA 表达显著升高(均 $P < 0.05$)。与模型组比较, CI 组各时间点肾组织细胞凋亡率和 caspase-3 mRNA 表达显著降低(均 $P < 0.05$)。Ac-DEVD-CHO 对 caspase-3 mRNA 表达抑制率在 53% 左右。

2.4 各组存活率变化(图 1): 假手术组、模型组、CI 组 4 d 存活率分别为 100%、40%、80%, 模型组与假手术组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); CI 组与模型组比较差异虽无统计学意义, 但 CI 组死亡小鼠的存活时间可延长 24 h 左右。假手术组、模型组、CI 组 7 d 存活率分别为 100%、20%、20%, 假手术组与后两组比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

3 讨论

研究证明, 炎症反应在脓毒症 AKI 病理生理机制中起着关键性的作用^[3,6]。无论是腹腔注射细菌脂多糖(LPS), 还是 CLP 所致的小鼠脓毒症模型, 均证明血清中 TNF- α 、IL-6 水平显著升高, 并与随后发生的器官损伤及死亡密切相关^[7]。Holly 等^[8]的研究发现, CLP 术后 AKI 大鼠血清中 IL-6 水平显著高于非 AKI 大鼠; Chawla 等^[9]研究证明, 严重脓毒症患者是否继发 AKI, 及是否需要肾脏替代治疗与血清 IL-6 水平的升高密切相关, 而与血流动力学异



注: CI 组: 天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3 抑制剂组

图 1 各组腹腔感染脓毒症急性肾损伤小鼠存活率的比较

常所致的低血压无关。这些研究提示, 血循环中促炎细胞因子水平增高与脓毒症 AKI 发病率、病死率增加密切相关^[10]。本研究结果与文献相符。

IL-10 作为抗炎介质, 与脓毒症严重程度、免疫麻痹相关, 同样影响脓毒症 AKI 的发生和预后, 众多有关 IL-10 功能的动物实验研究结果^[11-13]不一, 可能与动物模型及观察的时间点不同有关。本研究结果显示, CLP 后各时间点血清 IL-10 水平显著升高, 但 6 h 后即逐渐下降, 24 h 显著降低。

研究表明, 肾细胞凋亡可能是脓毒症 AKI 的主要病理生理机制之一^[3,14]。体外研究证实, 将 LPS 或脓毒症患者的血浆作用于肾实质细胞, 包括肾小球血管内皮细胞^[15]、系膜细胞^[16]、足细胞、肾小管上皮细胞等^[17], 可导致 TNF- α 及肿瘤坏死因子受体-1 (TNF- α /TNFR-1) 表达上调, Bax/Bcl-2 表达增加, caspase-3 活性增加, 凋亡增加, TNF- α 产生增加; 用 LPS 灌注鼠离体肾脏可导致 TNF- α 、IL-1 β 、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 表达增加^[18]; 脓毒症 AKI 时, 肾脏表达 TNF- α 、MCP-1 增加, 而且这些增加的

炎症介质可以释放入血^[19]。这些研究证明,脓毒症 AKI 时,凋亡的肾小球血管内皮细胞、肾小管上皮细胞可以产生并释放炎症介质,促进炎症细胞浸润,从而加重局部及全身炎症反应。凋亡和炎症反应之间的相关性是很复杂的,caspase-1 是 caspase 家族炎症组中重要成员,其主要功能是促进炎症反应。而 caspase-3 是细胞凋亡过程中激活的关键激酶,是细胞凋亡的最重要执行因子之一。本实验中尽管在使用的 Ac-DEVD-CHO 剂量范围内被认为是能特异性和选择性抑制 caspase-3 活性,但这种特异性和选择性是相对的^[20]。本研究显示:Ac-DEVD-CHO 能够明显降低 CLP 术后升高的血清 TNF- α 、IL-6 水平,改善小鼠 4 d 存活率;而应用 Ac-DEVD-CHO 后,IL-10 水平进一步升高,与 IL-6 变化相反;最后结局是肾功能改善,4 d 存活率升高,但 7 d 存活率无变化,可能与应用选择性 caspase-3 抑制剂后 IL-10 升高程度有关(术后 24 h 较假手术组升高约 7.884 倍,较模型组升高约 2.112 倍),从而导致机体免疫功能抑制、清除病原微生物能力下降。同时本研究还显示,应用 Ac-DEVD-CHO 后减少了肾组织细胞凋亡,同时调整了血清中促炎/抗炎细胞因子的水平,但是二者之间的相关性还不明确。本研究中通过下调肾组织细胞 caspase-3 mRNA 表达,显著降低了肾组织细胞凋亡率,从而可能平衡了血清促炎/抗炎细胞因子的水平。反过来,炎症介质也影响着细胞凋亡。隔建成和周宝桐^[21]观察促炎介质 TNF- α 、IL-1、IL-6 及抗炎介质 IL-10 对凋亡的影响,或促进或抑制。凋亡和炎症反应之间的相关性还需进一步研究探讨。

在腹腔感染脓毒症 AKI 中,选择性 caspase-3 抑制剂通过降低肾组织细胞凋亡,下调血清促炎介质水平,上调抗炎介质水平,平衡全身炎症反应综合征和代偿性抗炎反应综合征(SIRS/CARS),改善肾功能,降低病死率,此结果为进一步研究脓毒症 AKI 发病机制及进行抗凋亡的临床研究提供了理论依据。

参考文献

[1] Bagshaw SM, Uchino S, Bellomo R, et al. Septic acute kidney injury in critically ill patients: clinical characteristics and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007, 2: 431-439.

[2] Langenberg C, Bagshaw SM, May CN, et al. The histopathology of septic acute kidney injury: a systematic review. *Crit Care*, 2008, 12: R38.

[3] Yohannes S, Chawla LS. Evolving practices in the management of acute kidney injury in the ICU (Intensive Care Unit). *Clin Nephrol*, 2009, 71: 602-607.

[4] 张璘,任延波,蒋丽. 脓毒症早期大鼠肾脏细胞凋亡及炎症细胞因子的变化. *中国危重病急救医学*, 2006, 18: 89-91.

[5] Hubbard WJ, Choudhry M, Schwacha MG, et al. Cecal ligation and puncture. *Shock*, 2005, 24: 52-57.

[6] 姚咏明, 盛志勇, 林洪远, 等. 脓毒症定义及诊断的新认识. *中国危重病急救医学*, 2004, 16: 321-324.

[7] Remick DG, Newcomb DE, Bolgos GL, et al. Comparison of the mortality and inflammatory response of two models of sepsis: lipopolysaccharide vs. cecal ligation and puncture. *Shock*, 2000, 13: 110-116.

[8] Holly MK, Dear JW, Hu X, et al. Biomarker and drug-target discovery using proteomics in a new rat model of sepsis-induced acute renal failure. *Kidney Int*, 2006, 70: 496-506.

[9] Chawla LS, Seneff MG, Nelson DR, et al. Elevated plasma concentrations of IL-6 and elevated APACHE I score predict acute kidney injury in patients with severe sepsis. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2007, 2: 22-30.

[10] Simmons EM, Himmelfarb J, Sezer MT, et al. Plasma cytokine levels predict mortality in patients with acute renal failure. *Kidney Int*, 2004, 65: 1357-1365.

[11] van der Poll T, Marchant A, Buurman WA, et al. Endogenous IL-10 protects mice from death during septic peritonitis. *J Immunol*, 1995, 155: 5397-5401.

[12] Remick DG, Garg SJ, Newcomb DE, et al. Exogenous interleukin-10 fails to decrease the mortality or morbidity of sepsis. *Crit Care Med*, 1998, 26: 895-904.

[13] Murphey ED, Sherwood ER. Bacterial clearance and mortality are not improved by a combination of IL-10 neutralization and IFN-gamma administration in a murine model of post-CLP immunosuppression. *Shock*, 2006, 26: 417-424.

[14] Joannes-Boyau O, Honoré PM, Boer W, et al. Septic acute kidney injury and tubular apoptosis: never a lone ranger. *Intensive Care Med*, 2010, 36: 385-388.

[15] Munshi N, Fernandis AZ, Cherla RP, et al. Lipopolysaccharide-induced apoptosis of endothelial cells and its inhibition by vascular endothelial growth factor. *J Immunol*, 2002, 168: 5860-5866.

[16] Baud L, Oudinet JP, Bens M, et al. Production of tumor necrosis factor by rat mesangial cells in response to bacterial lipopolysaccharide. *Kidney Int*, 1989, 35: 1111-1118.

[17] Mariano F, Cantaluppi V, Stella M, et al. Circulating plasma factors induce tubular and glomerular alterations in septic burns patients. *Crit Care*, 2008, 12: R42.

[18] Xia Y, Feng L, Yoshimura T, et al. LPS-induced MCP-1, IL-1 β , and TNF- α mRNA expression in isolated erythrocyte-perfused rat kidney. *Am J Physiol*, 1993, 264: F774-780.

[19] Zager RA, Johnson AC, Lund S, et al. Acute renal failure: determinants and characteristics of the injury-induced hyperinflammatory response. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2006, 291: F546-556.

[20] Padanilam BJ, Lewington AJ, Hammerman MR. Expression of CD27 and ischemia/reperfusion-induced expression of its ligand Siva in rat kidneys. *Kidney Int*, 1998, 54: 1967-1975.

[21] 隔建成, 周宝桐. 脓毒症过程中的炎症介质与细胞凋亡关系的研究进展. *中国危重病急救医学*, 2000, 12: 378-380.

(收稿日期: 2010-09-05)

(本文编辑: 李银平)