

## 烫伤后高迁移率族蛋白 B1 对树突状细胞分泌细胞因子的影响

张笑天, 姚咏明, 黄立峰, 于燕, 盛志勇

(解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所, 北京 100037)

**【摘要】** 目的 观察烫伤后大鼠高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)对树突状细胞(DC)分泌肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-12(IL-12)的影响及意义。方法 将 104 只大鼠随机分为正常对照组( $n=8$ )、假烫伤组( $n=32$ )、烫伤组( $n=32$ )和丙酮酸乙酯(EP)干预组( $n=32$ ),后 3 组实验动物按观察时间再分为 4 个亚组,分别于烫伤后 1、3、5 和 7 d 分别处死各动物留取脾脏。分离 DC 后培养 24 h,收集孵育液,采用酶联免疫吸附试验检测 TNF- $\alpha$  和 IL-12 水平;采用荧光定量聚合酶链反应(PCR)方法检测脾脏组织 TNF- $\alpha$ 、IL-12 和 HMGB1 的基因表达。结果 与相同时间点假烫伤组比较,伤后不同时间点烫伤组 HMGB1 mRNA 表达显著升高( $P$  均 $<0.01$ ),DC 孵育液中 TNF- $\alpha$  产生减少,IL-12 的产生变化不明显,脾脏 TNF- $\alpha$  mRNA 于伤后 1 d 显著升高,5~7 d 迅速降至假烫伤组水平,IL-12 mRNA 表达在伤后 1 d 和 3 d 显著下调,5 d 和 7 d 则迅速增强( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),与烫伤组比较,EP 干预组 HMGB1 mRNA 表达均明显受抑,脾脏 DC 分泌 TNF- $\alpha$  和 IL-12 的能力以及脾脏 IL-12 mRNA 表达均显著增强( $P$  均 $<0.01$ )。结论 严重烫伤后 HMGB1 的表达异常升高,可导致脾脏 DC 分泌 TNF- $\alpha$  和 IL-12 的能力下降,从而介导机体的免疫功能抑制。

**【关键词】** 烧伤;高迁移率族蛋白 B1;树突状细胞;肿瘤坏死因子- $\alpha$ ;白细胞介素-12

中图分类号:Q786;Q813.11 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2008)03-0163-04

**Effects of high mobility group box-1 protein on cytokine release of splenic dendritic cells in rats after thermal injury** ZHANG Xiao-tian, YAO Yong-ming, HUANG Li-feng, YU Yan, SHENG Zhi-yong. Burns Institute, First Hospital Affiliated to The Chinese PLA General Hospital, Beijing 100037, China  
Corresponding author: YAO Yong-ming(Email: c\_ff@sina.com)

**【Abstract】** Objective To investigate the effects of high mobility group box-1 protein (HMGB1) on tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-12 (IL-12) release of splenic dendritic cells (DCs) in rats after thermal injury. Methods One hundred and four rats were randomly divided into four groups as follows: normal control group ( $n=8$ ), sham burn group ( $n=32$ ), burn group ( $n=32$ ), and burn with ethyl pyruvate (EP) treatment group ( $n=32$ ), and they were sacrificed on postburn days 1, 3, 5 and 7, respectively with 8 animals at each time point. MACS microbeads were used to isolate splenic DCs. Gene expressions of splenic TNF- $\alpha$ , IL-12 as well as HMGB1 were measured by real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) taken glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (GAPDH) as the internal standard, and cytokine protein levels were determined with enzyme linked immunoadsorbent assay (ELISA) kits. Results Compared to sham burn group, the expression levels of splenic HMGB1 mRNA were significantly elevated during 1-7 days after burns (all  $P<0.01$ ), TNF- $\alpha$  release from DCs was markedly decreased and IL-12 production was not significantly changed. Meanwhile, splenic TNF- $\alpha$  mRNA was significantly expressed on postburn day 1, while it recovered to sham burn value on 5-7 days. Splenic IL-12 mRNA expression was down-regulated on postburn days 1 and 3, but rapidly up-regulated on days 5 and 7 after injury ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Compared to burn group, however, administration of EP to inhibit HMGB1 mRNA could significantly enhance both TNF- $\alpha$  as well as IL-12 production and splenic IL-12 mRNA expression after burn injury (all  $P<0.01$ ). Conclusion These data suggest that excessively released HMGB1 might induce dysfunction of splenic DCs and subsequent immunosuppression following severe burns.

**【Key words】** burns; high mobility group box-1 protein; dendritic cell; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin-12

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(2005CB522602),国家自然科学基金资助项目(30672178),国家杰出青年科学基金课题(30125020)

通讯作者:姚咏明,教授,博士生导师,Email:c\_ff@sina.com 作者简介:张笑天(1973-),男(汉族),山西省人,主治医师。

严重创伤、烧伤后常伴有特异性免疫功能低下,这也是易引起感染并且难以控制的原因之一。树突状细胞(DC)是最强的抗原呈递细胞,能活化初始 T 细胞,也是特异性免疫应答的启动因素。成熟 DC (mDC)可分泌肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-12(IL-12)<sup>[1-2]</sup>,将抗原信息呈递给 T 细胞,启动特异性免疫应答。大量证据表明,高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)可能作为一种重要的晚期炎症介质,参与脓毒症发生的病理生理过程<sup>[3]</sup>。我们既往的研究证实,一定剂量的 HMGB1 可刺激大鼠脾脏 DC 的成熟<sup>[4]</sup>。但关于严重创伤、烧伤后 HMGB1 对 DC 分泌细胞因子的影响与意义,目前尚不清楚,本实验对此进行了初步探讨,报告如下。

### 1 材料与方法

**1.1 实验分组及动物模型制备:**选择 104 只雄性清洁级 Wistar 大鼠(购于军事医学科学院动物中心),体重 230~250 g。按随机数字表法分为正常对照组( $n=8$ )、假烫伤组( $n=32$ )、烫伤组( $n=32$ )和丙酮酸乙酯(EP)干预组( $n=32$ ),后 3 组按观察时间再分为 4 个亚组。采用重度烫伤延迟复苏动物模型;将大鼠背部浸入(99.0 $\pm$ 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 沸水中 12 s,造成 30% 总体表面积 III 度烫伤;伤后 6 h 从腹腔给予林格液(40 ml/kg)抗休克治疗,伤后 12、24、36 和 48 h 再每次给予 4 ml 林格液腹腔内注射。EP 干预组将 EP 28 mmol/L 加在林格液中随补液给药。正常对照组麻醉后活杀大鼠;其余各组分别于烫伤后 1、3、5 和 7 d 处死动物并留取脾脏。

**1.2 脾脏 DC 的分离纯化及培养:**大鼠麻醉后在无菌条件下取脾脏,切成小片组织,用胶原酶 D 孵育 25 min(37 $^{\circ}\text{C}$ )、10 mmol 乙二胺四乙酸(EDTA)孵育 5 min。将消化好的组织经研磨、磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,收集细胞悬液,离心去除上清液,加 3 ml Nycoprep 1.077A 液(挪威 Axis-shield 公司)中,离心后吸取第二层低密度细胞,用 PBS 离心洗涤得到单核细胞。采用 MiniMACS 免疫磁性分离系统进行 DC 提取<sup>[5]</sup>。锥虫蓝检测分离细胞的活性大于 97%,计数细胞。用胎牛血清(FCS)RPMI1640 完全培养基重悬 DC 细胞,调整细胞密度为 $1\times 10^9/\text{L}$ ,接种于 96 孔细胞培养板培养 24 h,收集孵育液用于检测。

**1.3 脾组织总 RNA 提取与定量:**采用异硫氰酸胍一步提取法(总 RNA 提取试剂为美国 Promega 公司产品)操作。用紫外分光光度计进行 RNA 纯度和含量测定。

**1.4 荧光定量聚合酶链反应(PCR)扩增方法:**将 PCR 产物用琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察结果,确定扩增片段无误、无杂带后,采用高温启动法进行实时荧光定量 PCR 循环。扩增标本以三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)作内参对照,各项指标以正常组标本作为对照,95 $^{\circ}\text{C}$  10 min 变性,40 个循环,95 $^{\circ}\text{C}$  15 s,60 $^{\circ}\text{C}$  1 min。取相对定量(RQ)值统计结果。引物序列由北京赛百盛生物工程技术有限公司合成, HMGB1 扩增片段长度为 165 bp,正义链 5'-ATGTGCGAAGAACTGG-3',反义链 5'-CAGCCTGACAACCTCCCT-3'; TNF- $\alpha$  扩增片段长度为 105 bp,正义链 5'-GACCTCACACTCAGATCATCTCT-3',反义链 5'-TAGCCACGTCGTAGCAAACACCAA-3'; IL-12 p40 扩增片段长度为 180 bp,正义链 5'-GGAGGCCAGCAGCAGAATA-3',反义链 5'-CATCATCAAACCAGACCCGCCAA-3'; GAPDH 扩增片段长度为 177 bp,正义链 5'-TGCACCACCACTGCTTA-3',反义链 5'-GGATGACGGATGATGTT-3'。

**1.5 DC 孵育液中 IL-12、TNF- $\alpha$  水平测定:**采用酶联免疫吸附试验试剂盒(美国 Biosource 公司)检测 DC 孵育液中的 IL-12、TNF- $\alpha$  水平,操作按试剂盒说明书进行。

**1.6 统计学处理:**各组标准化的样本数值用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,采用 SPSS 12.0 统计软件包对数据进行单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 2 结果

**2.1 脾脏 HMGB1 mRNA 表达(表 1):**正常对照组脾脏 HMGB1 mRNA 表达量为 $0.305\pm 0.062$ ;假烫伤动物脾脏亦有一定量 HMGB1 mRNA 表达;烫伤组 1~7 d 表达均较相同时间点假烫伤组显著升高( $P$ 均 $<0.01$ ),伤后 1 d 达峰值,约为假烫伤组的 24.46 倍;EP 干预后 1~7 d 均较相应时间点烫伤组表达受抑( $P$ 均 $<0.01$ ),但 1~5 d 表达仍明显高于假烫伤组( $P$ 均 $<0.01$ )。

表 1 各组大鼠脾脏 HMGB1 mRNA 表达的变化( $\bar{x}\pm s, n=8$ ) RQ 值

组别	伤后 1 d	伤后 3 d	伤后 5 d	伤后 7 d
假烫伤组	0.360 $\pm$ 0.091	0.369 $\pm$ 0.095	0.343 $\pm$ 0.081	0.294 $\pm$ 0.073
烫伤组	8.805 $\pm$ 2.264 <sup>b</sup>	1.640 $\pm$ 0.423 <sup>b</sup>	2.034 $\pm$ 0.582 <sup>b</sup>	1.971 $\pm$ 0.517 <sup>b</sup>
EP 干预组	1.495 $\pm$ 0.461 <sup>bc</sup>	0.882 $\pm$ 0.183 <sup>bc</sup>	0.960 $\pm$ 0.186 <sup>bc</sup>	0.215 $\pm$ 0.068 <sup>c</sup>

注:与假烫伤组同期比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与烫伤组同期比较,<sup>c</sup> $P<0.01$

**2.2 DC 孵育液中 TNF- $\alpha$  水平(表 2):**正常对照组

TNF- $\alpha$  水平为  $(8.93 \pm 4.94)$  ng/L, 与假烫伤组各时间点比较差异无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ )。烫伤组 1~7 d TNF- $\alpha$  水平较假烫伤组均减少, 3 d 和 5 d 差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.05$ ); EP 干预可明显增强 1~7 d 的 TNF- $\alpha$  水平 ( $P$  均  $< 0.01$ )。

表 2 各组大鼠 DC 孵育液中 TNF- $\alpha$  水平的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) ng/L

组别	伤后 1 d	伤后 3 d	伤后 5 d	伤后 7 d
假烫伤组	11.13 $\pm$ 4.01	10.40 $\pm$ 3.63	9.18 $\pm$ 2.90	9.83 $\pm$ 4.23
烫伤组	7.66 $\pm$ 2.35	5.43 $\pm$ 1.90 <sup>a</sup>	5.09 $\pm$ 2.15 <sup>a</sup>	8.29 $\pm$ 3.50
EP 干预组	29.21 $\pm$ 12.74 <sup>bc</sup>	25.27 $\pm$ 8.42 <sup>bc</sup>	26.19 $\pm$ 8.92 <sup>bc</sup>	16.65 $\pm$ 4.69 <sup>ac</sup>

注:与假烫伤组同期比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与烫伤组同期比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$

2.3 脾脏 TNF- $\alpha$  mRNA 表达(表 3):假烫伤组 7 d 内脾组织均有一定量 TNF- $\alpha$  mRNA 表达,但与正常对照组比较差异均无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ )。烫伤组 1 d 表达较假烫伤组明显上调,3~7 d 迅速降至假烫伤组范围;EP 干预后 1 d TNF- $\alpha$  mRNA 表达较烫伤组即显著下降 ( $P$  均  $< 0.01$ )。

表 3 各组大鼠脾脏 TNF- $\alpha$  mRNA 表达的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) RQ 值

组别	伤后 1 d	伤后 3 d	伤后 5 d	伤后 7 d
假烫伤组	1.564 $\pm$ 0.511	1.533 $\pm$ 0.593	1.270 $\pm$ 0.424	1.356 $\pm$ 0.489
烫伤组	6.290 $\pm$ 2.180 <sup>b</sup>	1.994 $\pm$ 0.636	2.067 $\pm$ 1.147	2.455 $\pm$ 1.542
EP 干预组	1.615 $\pm$ 0.621 <sup>c</sup>	1.971 $\pm$ 0.672	1.897 $\pm$ 0.817	1.858 $\pm$ 0.654

注:与假烫伤组同期比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与烫伤组同期比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$

2.4 DC 分泌 IL-12 水平(表 4):正常对照组 IL-12 含量为  $(93.67 \pm 41.44)$  ng/L,与假烫伤组各时间点比较差异均无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ );烫伤后 1 d 和 3 d IL-12 含量略有增高,5 d 和 7 d 有所降低,与假烫伤组比较差异均无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ );经 EP 干预后可明显提高伤后 1~7 d 的 IL-12 水平 ( $P$  均  $< 0.01$ )。

表 4 各组大鼠 DC 孵育液中 IL-12 水平的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) ng/L

组别	伤后 1 d	伤后 3 d	伤后 5 d	伤后 7 d
假烫伤组	96.27 $\pm$ 38.44	78.83 $\pm$ 33.89	82.12 $\pm$ 37.39	90.64 $\pm$ 39.51
烫伤组	132.02 $\pm$ 49.71	105.22 $\pm$ 45.87	80.73 $\pm$ 36.78	89.18 $\pm$ 40.12
EP 干预组	1425.76 $\pm$ 388.11 <sup>bc</sup>	1291.72 $\pm$ 337.62 <sup>bc</sup>	861.20 $\pm$ 223.12 <sup>bc</sup>	404.59 $\pm$ 99.51 <sup>bc</sup>

注:与假烫伤组同期比较,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与烫伤组同期比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$

2.5 脾脏 IL-12 mRNA 表达(表 5):烫伤延迟复苏

动物脾脏 IL-12 mRNA 表达在伤后 1 d 和 3 d 显著下调,5 d 和 7 d 则迅速增强,与假烫伤组比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );EP 干预组 1~7 d IL-12 mRNA 表达有不同程度上调,1~5 d 与烫伤组比较差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ ),7 d 虽无统计学差异,但明显高于假烫伤组 ( $P < 0.01$ )。

表 5 各组大鼠脾脏 IL-12 mRNA 表达的变化 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ ) RQ 值

组别	伤后 1 d	伤后 3 d	伤后 5 d	伤后 7 d
假烫伤组	0.384 $\pm$ 0.112	0.396 $\pm$ 0.109	0.380 $\pm$ 0.097	0.290 $\pm$ 0.082
烫伤组	0.152 $\pm$ 0.061 <sup>b</sup>	0.251 $\pm$ 0.081 <sup>a</sup>	0.637 $\pm$ 0.198 <sup>a</sup>	0.533 $\pm$ 0.201 <sup>a</sup>
EP 干预组	6.006 $\pm$ 2.095 <sup>bc</sup>	5.511 $\pm$ 1.814 <sup>bc</sup>	2.491 $\pm$ 0.958 <sup>bc</sup>	0.836 $\pm$ 0.276 <sup>b</sup>

注:与假烫伤组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$ ;与烫伤组比较,<sup>c</sup> $P < 0.01$

2.6 相关性分析:脾组织中 HMGB1 表达水平分别与 DC 孵育液中 IL-12、TNF- $\alpha$  含量呈显著负相关 ( $r_1 = -0.777, r_2 = -0.651, P$  均  $< 0.01$ )。

### 3 讨论

DC 源于骨髓 CD34<sup>+</sup> 的造血干细胞,仅占外周血单个核细胞的 1% 以下,是一种强有力的抗原呈递细胞。DC 前体细胞由骨髓进入外周血,再分布到全身各组织中成为未成熟 DC (iDC)。iDC 活性很强,能有效摄取和加工抗原,表达较低的主要组织相容性复合物 II (MHC II) 和共刺激分子,定位于非淋巴组织,接触抗原或危险信号后,通过受体或非受体介导的机制使其活化。iDC 活化后可募集巨噬细胞、中性粒细胞、自然杀伤细胞和非成熟淋巴细胞至炎症部位,然后它们通过淋巴管迁移至淋巴器官寻找抗原特异的 T 细胞。通过不同的特异性信号转导机制,iDC 成为 mDC,而 mDC 则不再摄取抗原,而是表达高水平的 MHC II 和共刺激分子,分泌 TNF- $\alpha$  和 IL-12<sup>[1-2]</sup>,可将抗原信息呈递给 T 细胞,启动特异性免疫应答。另外,DC 分泌 TNF- $\alpha$  可能通过正反馈途径进一步激活 DC,因为在 DC 发育过程中加入 TNF- $\alpha$  可显著促进其成熟<sup>[6]</sup>,并可产生 2~3 倍的 CD83<sup>+</sup> DCs<sup>[7]</sup>。

新近研究表明,分泌至细胞外的 HMGB1 可能作为晚期炎症介质参与了脓毒症的病理生理过程<sup>[8-10]</sup>。我们既往的研究提示,严重烫伤和腹腔感染后 6~24 h,肝、肺及小肠组织 HMGB1 基因表达显著增多,且持续至伤后 72 h,局部组织 HMGB1 诱导与内毒素介导的器官功能损害关系密切<sup>[11]</sup>。与 TNF- $\alpha$ 、IL-1 等早期炎症因子相比,HMGB1 具有明显延迟释放的特点。研究显示,烫伤动物伤后 1 d 脾

脏 HMGB1 mRNA 表达即达峰值,约为假烫伤组的 24.46 倍,且持续 1~7 d,可见 HMGB1 表达在烫伤后具有持续时间较长的特征。同时,烫伤后 1~7 d 脾孵育液中 TNF- $\alpha$  产生均减少,IL-12 的含量与假烫伤组比较变化不明显,并呈逐渐减少的趋势,表明烫伤后 DC 活化过程发生障碍,不具有调节淋巴细胞的免疫功能。有资料证实,盲肠结扎穿孔后 24 h 脾脏 DC 不能上调共刺激分子的表达和分泌 IL-12、TNF- $\alpha$ ,表现为 DC 的成熟障碍<sup>[12]</sup>。本实验相关分析表明,脾组织中 HMGB1 含量与 DC 分泌到孵育上清液中 IL-12、TNF- $\alpha$  的含量呈显著负相关,提示 HMGB1 可能参与了严重烫伤延迟复苏动物脾脏 DC 功能障碍的病理过程。我们初步研究证实,在体外采用不同剂量 HMGB1 刺激大鼠脾脏 DC 后,大鼠 DC 表面共刺激分子表达明显上调,分泌 IL-12、TNF- $\alpha$  的含量明显增多;当 HMGB1 刺激剂量进一步减小或加大时,DC 分泌细胞因子反而减弱<sup>[4]</sup>。说明适当浓度的 HMGB1 可以诱导 DC 高表达共刺激分子,分泌 IL-12、TNF- $\alpha$ ,促使 DC 成熟。然而,在严重烧伤时,HMGB1 的持续升高却引起 DC 成熟障碍,这可能与烧伤应激打击后体内 HMGB1 浓度异常迅速增高有关,并且体内还可能还存在其他调控 DC 功能的途径。为了进一步明确 HMGB1 在严重烫伤延迟复苏动物 DC 分泌细胞因子中的作用,我们采用 HMGB1 拮抗剂 EP 进行干预,观察其对 DC 分泌功能的影响。结果观察到 EP 延迟干预后,烫伤动物脾脏 HMGB1 mRNA 表达均显著受抑,而动物脾脏 DC 分泌到孵育液中 IL-12、TNF- $\alpha$  的量明显增多。说明烧伤后抑制 HMGB1 的大量持续产生有助于恢复 DC 分泌 IL-12、TNF- $\alpha$  能力,促使 DC 成熟。有研究观察到内毒素介导脾脏 DC 分泌 IL-12、TNF- $\alpha$  显著减少,可能是 DC 抗原呈递功能障碍的原因之一<sup>[13]</sup>。本组资料提示,严重烫伤后 HMGB1 的异常升高与 DC 功能障碍密切相关,从而导致机体的免疫功能抑制。

上述研究初步阐述了严重烫伤时 HMGB1 对 DC 分泌细胞因子功能异常的作用和机制,为从新的角度来进一步探索 HMGB1 的免疫效应和意义提供了新线索,HMGB1 对 T 淋巴细胞包括增殖、分化和细胞因子分泌等免疫功能具有显著调节效应,其持续刺激可诱导 T 细胞功能亚群从促炎优势向抗

炎优势转化<sup>[14]</sup>。EP 对多种急危重症动物模型具有良好的保护作用,但其确切临床应用效果仍有待进一步探讨。

#### 参考文献

- [1] Bliss S K, Zhang Y, Denkers E Y. Murine neutrophil stimulation by *Toxoplasma gondii* antigen drives high level production of IFN- $\gamma$ -independent IL-12 [J]. *J Immunol*, 1999, 163 (4): 2081-2088.
- [2] Shen W, Ladisch S. Ganglioside GD1a impedes lipopolysaccharide-induced maturation of human dendritic cells [J]. *Cell Immunol*, 2002, 220(2):125-133.
- [3] Mantell L L, Parrish W R, Ulloa L. Hmgb-1 as a therapeutic target for infectious and inflammatory disorders [J]. *Shock*, 2006, 25(1):4-11.
- [4] 徐娜,姚咏明,董宁,等.高迁移率族蛋白 B1 对大鼠脾脏树突状细胞表面共刺激分子表达的影响 [J]. *中华创伤杂志*, 2006, 22(8):579-583.
- [5] Guillot C, Ménoret S, Guillonnet C, et al. Active suppression of allogeneic proliferative responses by dendritic cells after induction of long-term allograft survival by CTLA4Ig [J]. *Blood*, 2003, 101(8):3325-3333.
- [6] Santiago-Schwarz F, Divaris N, Kay C, et al. Mechanisms of tumor necrosis factor-granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced dendritic cell development [J]. *Blood*, 1993, 82(10):3019-3028.
- [7] Xu R L, Tang Y, Ogburn P L, et al. Implication of delayed TNF-alpha exposure on dendritic cell maturation and expansion from cryopreserved cord blood CD34+ hematopoietic progenitors [J]. *J Immunol Methods*, 2004, 293(1-2):169-182.
- [8] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice [J]. *Science*, 1999, 285(5425):248-251.
- [9] 姚咏明,刘辉.对高迁移率族蛋白 B1 作用的新认识 [J]. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(7):385-387.
- [10] Sunden-Cullberg J, Norrby-Teglund A, Treutiger C J. The role of high mobility group box-1 protein in severe sepsis [J]. *Curr Opin Infect Dis*, 2006, 19(3):231-236.
- [11] Fang W H, Yao Y M, Shi Z G, et al. The significance of changes in high mobility group-1 protein mRNA expression in rats after thermal injury [J]. *Shock*, 2002, 17(4):329-333.
- [12] Ding Y, Chung C S, Newton S, et al. Polymicrobial sepsis induces divergent effects on splenic and peritoneal dendritic cell function in mice [J]. *Shock*, 2004, 22(2):137-144.
- [13] Kawasaki T, Fujimi S, Lederer J A, et al. Trauma-hemorrhage induces depressed splenic dendritic cell functions in mice [J]. *J Immunol*, 2006, 177(7):4514-4520.
- [14] Huang L F, Yao Y M, Meng H D, et al. The effect of high mobility group box-1 protein on immune function of human T lymphocytes in vitro [J]. *Chin Crit Care Med*, 2008, 20(1):7-13.

(收稿日期:2008-03-09)

(本文编辑:李银平)