论著

文章编号:1000-5404(2013)16-1698-06

# 内毒素耐受导致的GSK-3抑制对急性内毒素性肝损伤的保护机制

徐发良[1],陈小乐[1],朱宁生[1],熊忠讯[1],于 峰[1],黄 春[2] (400030 重庆,重庆市肿瘤研究所,重庆市肿瘤医院乳腺中心[1];400010 重庆,重庆医科大学附属第二医院肝胆外科[2])

[摘要] **目的** 探讨内毒素(lipopolysaccharide, LPS)耐受导致的糖原合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase-3, GSK-3)活性抑制对急性内毒素性肝损伤产生保护效应的潜在机制。**方法** 建立LPS和GSK-3抑制剂氯化锂(LiCl)预处理的SD大鼠模型,采用半定量RT-PCR检测肝组织肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素-10(IL-10)mRNA表达水平,以专用试剂盒检测代表肝组织中性粒细胞浸润程度的髓过氧化物酶(MPO)活性;用密度梯度离心法分离Kupffer细胞,建立LPS耐受和GSK-3抑制剂(LiCl和胰岛素)预处理的Kupffer细胞模型,用中性红法测定细胞吞噬活性;采用激光共聚焦显微镜和Western blot实验观察Kupffer细胞核因子-κB(NF-κB) p65的亚细胞定位和核转位情况。**结果** LPS耐受和GSK-3抑制剂LiCl预处理均可减少大剂量LPS攻击导致的肝组织TNF-α mRNA上调表达($P<0.05$)、促进IL-10 mRNA上调表达($P<0.05$),减少LPS攻击导致的MPO活性升高($P<0.05$);LPS耐受和GSK-3抑制剂(LiCl和胰岛素)均能增强Kupffer细胞吞噬活性($P<0.05$);LPS耐受和GSK-3抑制剂LiCl预处理均可减少大剂量LPS导致的NF-κB p65核转位($P<0.05$)。**结论** LPS耐受导致的GSK-3功能活性抑制,可能通过对NF-kappaB p65核转位、炎症细胞因子分泌、中性粒细胞浸润和Kupffer细胞吞噬活性等下游事件产生影响,从而保护急性内毒素性肝脏损伤。

[关键词] 糖原合成酶激酶-3;脂多糖;肝脏;氯化锂;炎症性损伤;器官保护

[中图法分类号] R392.3;R394.3;R575.02 [文献标志码] A

# LPS tolerance-induced GSK-3 inhibition protects endotoxemia rats from acute liver injury

Xu Faliang[1], Chen Xiaole[1], Zhu Ningsheng[1], Xiong Zhongxun[1], Yu Feng[1], Huang Chun[2] ([1]Center of Breast, Chongqing Cancer Hospital and Institute, Chongqing, 400030; [2]Department of Hepatobiliary Surgery, Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing, 400010, China)

[**Abstract**] **Objective** To probe into the protective mechanism of LPS tolerance-related GSK-3 inhibition on endotoxin-induced acute liver injury in rats with endotoxemia. **Methods** After the SD rat models of LPS tolerance with or without GSK-3 inhibitor LiCl pretreatment were established, and the mRNA levels of TNF-α and IL-10 in hepatic tissue were measured by semi-quantitative RT-PCR in the normal rats, and above model groups. The activity of myeloperoxidase (MPO) in the liver tissue was detected by using special kit to evaluate the neutrophils infiltration in the liver tissue. Kupffer cells were isolated by Ficoll density gradient centrifugation, and the cell models of endotoxin tolerance and GSK-3 inhibition (LiCl and insulin) were established. The phagocytosis activity of Kupffer cells was measured with Neutral Red assy. Confocal analysis and Western blotting were used to observe the subcellular localization and nuclear translocation of NF-κB p65. **Results** LPS tolerance as well as GSK-3 inhibitor LiCl pretreatment decreased the up-regulated TNF-α mRNA ($P<0.05$) and promoted IL-10 mRNA ($P<0.05$) induced by high-dosed endotoxin attack, and the enhanced activity of MPO was also decreased during this process ($P<0.05$). On the other hand, both endotoxin tolerance and GSK-3 inhibition (LiCl and insulin) enhanced the phagocytic activity of Kupffer cells ($P<0.05$). Both LPS tolerance and GSK-3 inhibition LiCl decreased the nuclear translocation of NF-κB p65 induced by large-dosed LPS ($P<0.05$). **Conclusion** The inhibition of GSK-3 functional activity induced by LPS tolerance may be one of the protective mechanisms against endotoxin induced acute liver injury, probably *via* affecting nuclear translocation of NF-κB p65, secretion of inflammation related cytokines, infiltration of neutrophils, phagocytic activity of Kupffer cells and other downstream events.

[基金项目] 国家自然科学基金(30471696)

[通信作者] 黄 春, E-mail: flxu88@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130325.0918.010.html(2013-03-25)

[**Key words**] glycogen synthase kinase-3; lipopolysaccharide; liver; lithium chloride; inflammatory injury; organ protection

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30471696). Corresponding author: Huang Chun, E-mail: flxu88@163.com

细菌内毒素即脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是典型的致病因子,LPS诱导的肝脏炎性损害是多种肝病发生和发展的基础[1]。阐明LPS诱导的急性肝损害及其保护机制,对肝脏疾病的防治具有积极意义。研究发现,诱导LPS耐受可避免机体遭受大剂量LPS攻击导致的急性内毒素性肝损伤[2];GSK-3抑制剂可有效减轻LPS导致的全身炎症性多器官损害和功能障碍[3]。我们发现LPS预处理可导致糖原合成酶激酶-3(glycogen synthase kinase-3, GSK-3)功能活性抑制,GSK-3抑制剂LiCl可在一定程度上模拟LPS耐受样变化[4]。这提示,LPS耐受导致的GSK-3活性抑制可能是LPS耐受对急性内毒素性肝损害产生保护效应的一种潜在机制,但其下游事件并不明确。GSK-3是调节糖原合成的关键酶,它在胚胎发育、细胞周期、细胞分化、迁移、黏附、凋亡、微管功能、转录调控和炎症反应等信号事件中均具有重要作用[5]。本研究在动物实验和细胞水平观察LPS预处理和GSK-3抑制剂对肝组织炎症因子、中性粒细胞浸润、Kupffer细胞吞噬活性以及核因子-κB(NF-κB)的影响,探讨LPS耐受状态下GSK-3相关信号事件的改变及其在内毒素性肝损害中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

雄性、健康6周龄体质量(200±10) g的SD大鼠36只,由重庆医科大学实验动物中心提供;脂多糖LPS、丽春红染料、中性红染料购自美国Sigma公司;氯化锂(LiCl)采用国产分析纯试剂;PBS购自武汉博士德生物工程公司;总蛋白提取Kit、Protease inhibitor cocktail、细胞质/细胞核蛋白提取Kit、蛋白定量Kit购自上海申能博彩生物科技有限公司;RNA快速提取Kit购自北京百泰克生物技术公司;RT-PCR Kit购自TaKaRa公司(中国大连);兔抗鼠NF-κB p65购自美国Cell Signaling Technology有限公司;化学发光系统ECL Supersignal® West Pico购自美国PIERCE公司;PVDF膜购自Whatman公司,X线片购自美国KODAK公司。

### 1.2 动物模型及分组

按照文献[4]描述的方法,将36只SD大鼠采用随机数字表法分为正常对照(NC)、LPS耐受(ET)和氯化锂预处理组(LiCl),建立LPS耐受、LiCl预处理及LPS诱导急性肝损伤的动物模型,并按相应时间点取材。

### 1.3 肝组织TNF-α和IL-10 mRNA半定量分析

提取肝组织总RNA进行完整性鉴定、纯度分析和核酸定量。采用两步法对TNF-α和IL-10 mRNA进行半定量:以GAPDH表达量为内参,参照文献[6]设计PCR引物,由北京三博远志生物技术有限责任公司合成,引物序列及预期产物见表1。RT-PCR产物经2%琼脂糖凝胶电泳,将凝胶置Doc Gel 2000系统行凝胶图像光密度扫描。

**表1 PCR引物设计**

| 基因 | 引物序列 | 产物(bp) |
|---|---|---|
| TNF-α | 上游5′-CATCTGCTGGTACCACCAGTT-3′ | 396 |
| | 下游5′-TGAGCACAGAAAGCATGATC-3′ | |
| IL-10 | 上游5′-CATCTGCTGGTACCACCAGTT-3′ | 346 |
| | 下游5′-TGAGCACAGAAAGCATGATC-3′ | |
| GAPDH | 上游5′-GCCTTCTCCATGGTGGTGAA-3′ | 309 |
| | 下游5′-GGTCGGTGTGAACGGATTTG-3′ | |

### 1.4 肝组织髓过氧化物酶(MPO)活性分析

采用南京建成生物工程研究所生产的MPO测定试剂盒,按照生产厂商提供的说明书逐步操作,最后在460 nm波长、1 cm光径、蒸馏水调零,测定各管的光密度值,并计算肝组织的MPO活性。MPO(U/g)=[测定管$D$(460)-对照管(460)]/11.3×0.05(g/mL)×0.2(mL)。

### 1.5 Kupffer细胞分离培养

参照文献[7]采用Percoll密度梯度离心法分离Kupffer细胞。Kupffer细胞分为正常组(NC)、LPS攻击组(NC+LPS)、耐受组(ET+LPS)和LiCl组(LiCl+LPS);细胞贴壁后更换无血清培养基,继续培养24 h。预处理方法:NC组和NC+LPS组加PRIM1640、ET+LPS组加含10 ng/mL LPS的PRIM1640、LiCl+LPS组加含25 mmol/L的LiCl,37 ℃ 20 h。LPS刺激:除NC组外,每组细胞均加入含1 000 ng/mL LPS的PRIM1640刺激6 h;收获细胞,拟行免疫荧光染色和Western blot分析。

### 1.6 吞噬活性分析

采用中性红吞噬实验分析Kupffer细胞吞噬活性[8]:Kupffer细胞分3组,分别接受LPS 0、10、100、1 000 ng/mL,LiCl(药理抑制剂)0、10、25、50 mmol/L以及胰岛素(生理抑制剂)0、1、10、100 nmol/L的预刺激12 h;收集细胞,进行中性红吞噬、细胞溶解,酶标仪读取540 nm和595 nm光密度值;按照以下方法计算吞噬活性,Kupffer细胞标化吞噬活性=$D$(540)/$D$(595)。

### 1.7 激光共聚焦显微分析

经上述刺激的Kupffer细胞用4%多聚甲醛固定,3% Triton X-100透化处理,用PBS洗涤;用5%山羊血清室温封闭;加入第一抗体(anti-NF-κB p65 1∶100稀释),室温结合、洗涤细胞;加入荧光标记第二抗体(Cy3-anti-mous IgG),避光、室温结合、洗涤;加入胞核复染液DAPI,室温反应后吸出DAPI复染液,加入胞膜复染液DiO,室温反应后吸出DiO复染液,洗涤细胞;用30%甘油封片,避光保存。激光共聚焦显微镜观察,采集图片。

### 1.8 蛋白提取和半定量分析

经上述刺激的Kupffer细胞用PBS洗涤,采用上海申能博采生物技术公司的Kit进行Kupffer细胞浆/细胞核蛋白提取和定量。采用Western blot法进行NF-κB p65蛋白半定量分析:经SDS-PAGE分离,以兔抗鼠NF-κB p65为第一抗体进行细胞核和细胞浆NF-κB p65蛋白免疫印迹;采用ECL化学发光法检测免疫复合物;采用丽春红法进行核蛋白染色定量。将X-线片或丽春红染色PVDF膜行图像光密度扫描。

### 1.9 扫描图像分析

采用 Quantity one 软件进行光密度图像分析:以 GAPDH 对应电泳条带光密度值(mRNA 表达量)为基准,校正目标基因相对表达量;以正常对照样品目标基因表达量值为 1,校正实验样品相对基因表达量。以丽春红对应电泳条带光密度值(核蛋白表达量)为基准,校正目标蛋白相对表达量;以正常对照样品目标蛋白表达量值为 1,校正实验样品蛋白相对表达量;半定量数据源自 3 次独立的 RT-PCR 或 Western blot 实验。

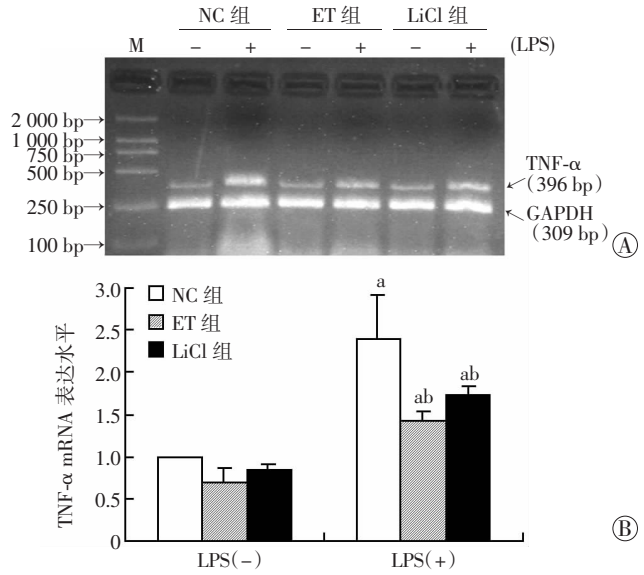
### 1.10 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,RT-PCR 及 Western blot 图片先进行光密度扫描,再用 Quantity one 进行半定量分析、获取数据;用 SPSS 13.0 进行方差分析和统计检验;统计图采用 Office 2003 Excel 绘制。

## 2 结果

### 2.1 内毒素耐受和 GSK-3 抑制剂对炎症因子的影响

LPS 攻击前 NC、ET 和 LiCl 组肝组织 TNF-α mRNA 仅有低水平,组间比较含量无统计学差异($P>0.05$),提示 LPS 耐受和 GSK-3 抑制剂不改变正常状态的 TNF-α 基因转录;LPS 攻击后 12 h,各组肝组织 TNF-α mRNA 均上调表达,但 ET 和 LiCl 组间比较 TNF-α mRNA 显著低于 NC 组($P<0.05$),提示内毒素耐受和 GSK-3 抑制剂均可导致 TNF-α 的 mRNA 下调表达(图 1)。



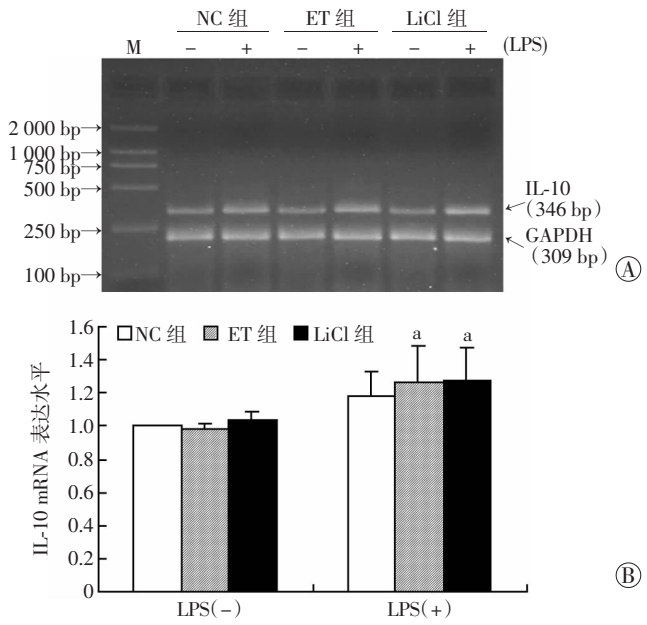

A: RT-PCR 检测结果;B:半定量分析结果 −:LPS 攻击前;+:LPS 攻击后;a: $P<0.05$, 与 LPS 攻击前比较;b:$P<0.05$, 与 NC 组比较

**图 1 RT-PCR 检测各组大鼠 LPS 攻击前后肝组织 TNF-α 基因表达**

LPS 攻击前 NC、ET 和 LiCl 组肝组织 IL-10 mRNA 仅有低水平,组间比较无统计学差异($P>0.05$),提示 LPS 耐受和 GSK-3 抑制剂不改变正常状态的 IL-10 mRNA 表达;但 LPS 攻击 12 h 后,各组肝组织 IL-10 mRNA 均上调表达,其中 ET 和 LiCl 组上调表达具有显著性($P<0.05$),提示 LPS 耐受和 GSK-3抑制剂具有促进 IL-10 表达的作用(图 2)。

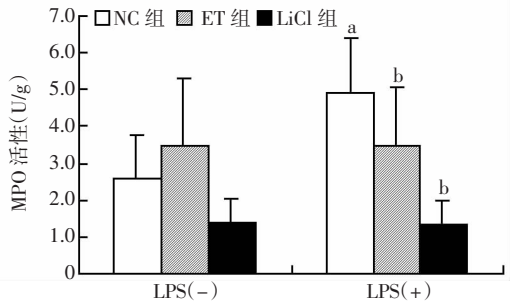
### 2.2 内毒素耐受和 GSK-3 抑制剂对肝组织 MPO 的影响

NC 组肝组织在 LPS 攻击前后 MPO 含量具有统计学差异($P<0.05$),提示 LPS 刺激可导致中性粒细胞肝组织浸润;但 ET 和 LiCl 组在 LPS 攻击前后 MPO 没有统计学差异($P>0.05$),且 ET 和 LiCl 组在 LPS 攻击后 MPO 水平比对照组 LPS 攻击后低,提示 LPS 耐受和 GSK-3 抑制剂减少了 LPS 攻击导致的中性粒细胞浸润(图 3),从而减轻肝组织遭受中性粒细胞浸润导致的一系列损害。




A: RT-PCR 检测结果;B:半定量分析结果;a :$P<0.05$, 与 LPS 攻击前比较

**图 2 RT-PCR 检测 LPS 攻击前后各组大鼠肝组织 IL-10 基因表达**




a: $P<0.05$, 与 LPS 攻击前比较;b: $P<0.05$, 与 NC 组比较

**图 3 LPS 攻击前后各组大鼠肝组织 MPO 活性变化**

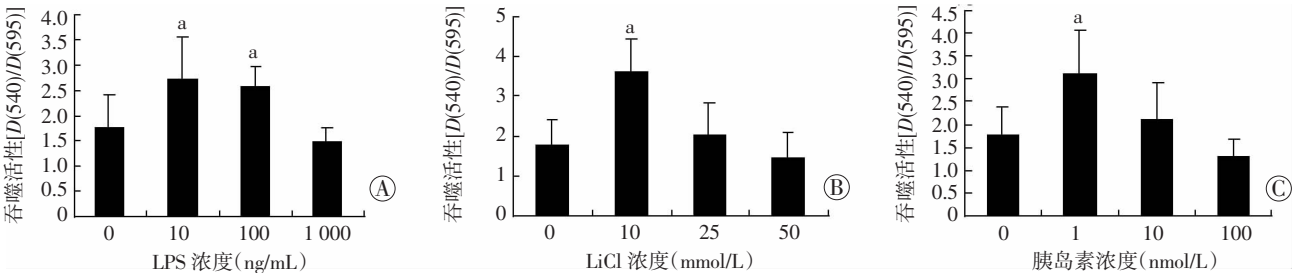
### 2.3 内毒素耐受和 GSK-3 抑制剂对 Kupffer 细胞吞噬活性的影响

Kupffer 细胞接种于 96 孔板,经系列浓度的 LPS、LiCl 和胰岛素预刺激后,采用中性红吞噬实验分析其吞噬活性(图 4):经 0、10、100 和 1 000 ng/mL 的 LPS 刺激 12 h,中低浓度 LPS 促进细胞吞噬活性($P<0.05$),随着 LPS 浓度增加,细胞吞噬活性出现抑制趋势;经 0、10、25 和 50 mmol/L 的 LiCl 处理 12 h,低浓度 LiCl 促进细胞吞噬活性($P<0.05$),随着 LiCl 浓度的增高,细胞吞噬活性表现抑制趋势;经 0、1、10 和 100 nmol/L 的胰岛素刺激 12 h,对细胞吞噬反应的影响效应类似于 LiCl。这提示,LPS 耐受和 GSK-3 抑制剂均可以适当浓度促进 Kupffer 细胞吞噬活性。

### 2.4 内毒素耐受和 GSK-3 抑制剂对 Kupffer 细胞 NF-κB p65 核转位的影响

正常、LPS 耐受和 GSK-3 抑制剂(LiCl)处理的 Kupffer 细胞经 1 000 ng/mL LPS 刺激,用 NF-κB p65 单克隆抗体进行免疫

荧光染色,共聚焦显微镜观察 NF-κB p65 亚细胞定位情况。共聚焦显微分析提示,正常状态 NF-κB p65 主要分布在细胞浆,胞核分布很少,但 LPS 刺激下 NF-κB p65 可发生核转位,从胞浆进入胞核;经 LPS 耐受和 GSK-3 抑制剂处理的 Kupffer 细胞,再受 LPS 刺激时 NF-κB p65 核转位比对照组少(图 5)。提示 LPS 耐受和 GSK-3 抑制可减少 NF-κB p65 的核转位。




A:LPS 预处理;a:$P<0.05$,与 0 ng/mL 比较;B:LiCl 预处理;a:$P<0.05$,与 0 mmol/L 比较;C:胰岛素预处理;a:$P<0.05$,与 0 nmol/L 比较

**图 4 LPS 耐受和 GSK-3 抑制剂(LiCl 及普通胰岛素)对 Kupffer 细胞吞噬活性的影响**

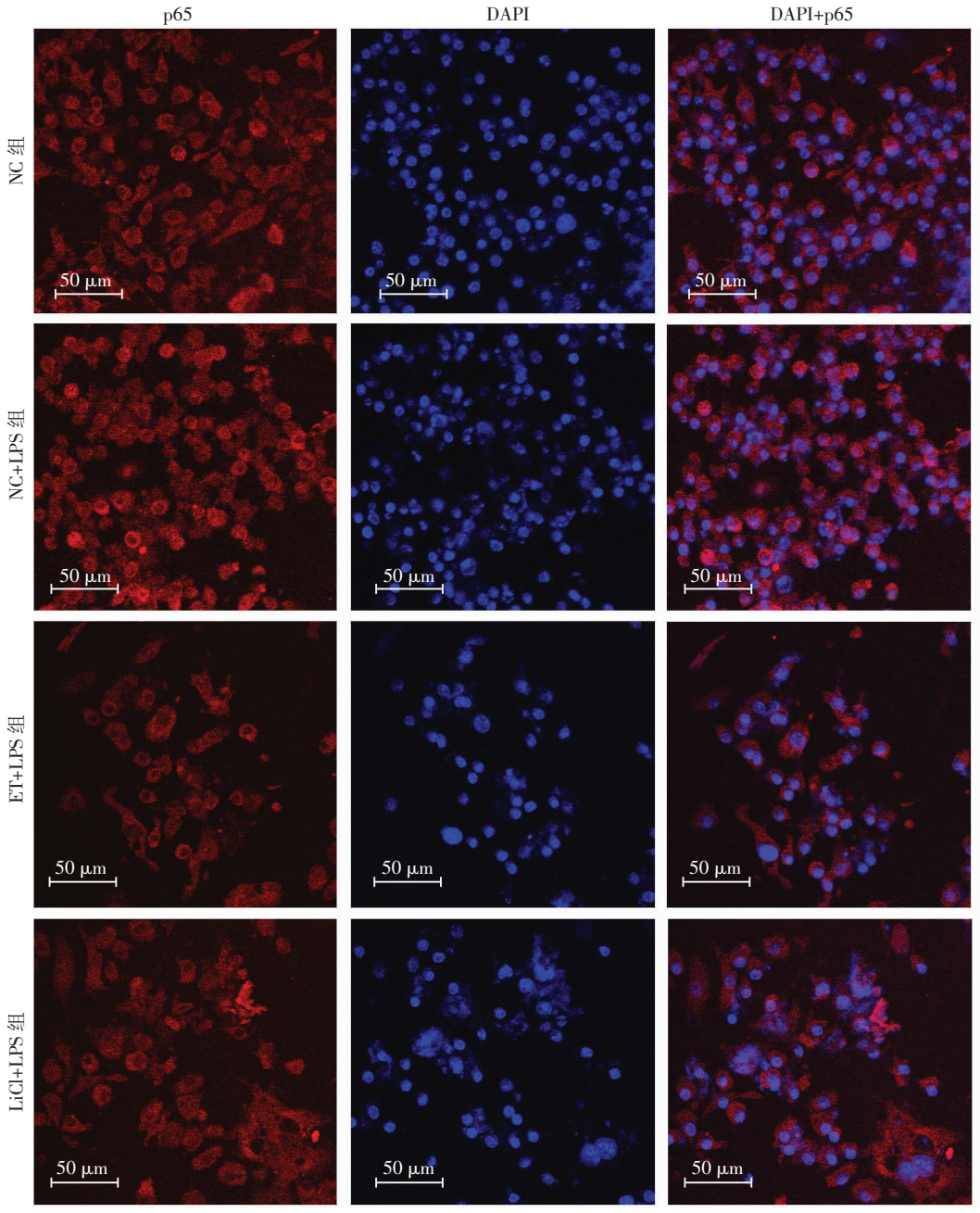
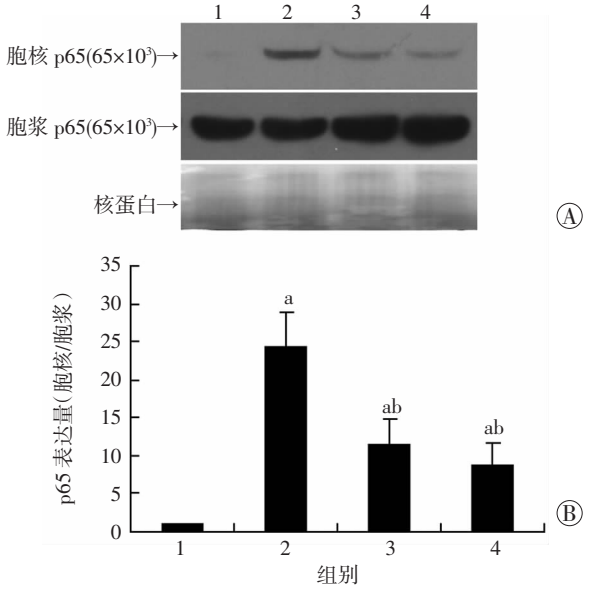



**图 5 激光共聚焦显微观察各组大鼠 NF-κB p65 亚细胞定位情况**

Western blot 半定量分析提示,正常细胞内 NF-κB p65 主要分布在细胞浆,在 LPS 攻击下可发生核转位;但 LPS 耐受及 GSK-3 抑制剂均能减少 LPS 攻击导致的 NF-κB p65 核转位($P<0.05$),这可能是 GSK-3 受到抑制后获得抗炎效应的一种作用机制(图6)。




1:NC 组; 2:NC + LPS 组; 3:ET + LPS 组; 4:LiCl + LPS 组

A: Western blot 检测结果;B:半定量分析结果;a :$P<0.05$, 与 NC 组比较; b: $P<0.05$, 与 NC + LPS 组比较

**图6 Western blot 检测各组大鼠 NF-κB p65 核转位**

## 3 讨论

研究证实 GSK-3 在许多信号事件中发挥调控作用,如炎症反应、细胞移动和微管功能等[5]。GSK-3 被磷酸化抑制后可促进吞噬反应,LiCl 处理或 LPS 耐受可促进巨噬细胞的吞噬活性[9]。我们采用同一动物模型在前期研究中发现,诱导 LPS 耐受导致 GSK-3 抑制性磷酸化和 GSK-3 功能活性抑制[4];但其下游事件的作用机制还不清楚。本研究以此为基础,重点观察 GSK-3 诸多下游信号事件中可能对内毒素性肝损伤具有保护效应的几个方面,即 LPS 耐受和 LiCl 对炎症因子、中性粒细胞浸润以及 Kupffer 细胞吞噬活性的影响。

急性内毒素性肝损伤由损伤与抗损伤因子参与。LPS 激活 Kupffer 细胞 NF-κB 诱导的促炎因子 TNF-α,几乎与 LPS 诱导肝损伤的所有事件都有关[10];中性粒细胞在肝内的聚集与活化是另一个与 TNF-α 密切相关的肝脏急性损伤因子[11-12]。IL-10 是 LPS 诱导肝损伤过程中关键的抗损伤因子[10,13-14]。本研究采用 RT-PCR 半定量分析,发现诱导内毒素耐受可在抑制促炎因子 TNF-α 表达的同时上调抗炎因子 IL-10 表达;为分析肝组织单核细胞浸润而进行的肝组织 MPO 活性测定发现,内毒素耐受可抑制 MPO 活性。可见 LPS 耐受对内毒素性肝损伤的保护效应主要是基于减少单核细胞浸润、抑制促炎因子释放和诱导抗炎因子产生;这一结论与既往研究结果相吻合[2]。值得注意的是,采用 GSK-3 抑制剂 LiCl 对实验动物进行预处理,同样获得了跟上述 LPS 耐受类似的肝脏保护效应;结合我们此前报道的 LPS 预处理可导致 GSK-3 活性抑制的结果[4],提示 LPS 耐受导致的 GSK-3 活性抑制可能是 LPS 耐受产生器官保护效应的一种潜在机制。肝脏巨噬细胞(Kupffer 细胞)的吞噬活性增强有利于保护肝组织免受 LPS 导致的损伤[15]。本研究采用中性红实验观察 Kupffer 细胞吞噬活性,发现诱导 LPS 耐受时 Kupffer 细胞吞噬活性增强;而 GSK-3 抑制剂 LiCl 和 GSK-3 生理抑制剂胰岛素,也可导致 Kupffer 细胞吞噬活性增强。提示 LPS 耐受导致的 GSK-3 活性抑制及其引发的 Kupffer 细胞吞噬活性增强可能是 LPS 耐受保护内毒素性肝脏损害的机制。

由于 LPS 激活 Kupffer 细胞 NF-κB 诱导的促炎因子 TNF-α 几乎与 LPS 诱导肝损伤的所有事件都有关[10];新近发现 NF-κB p65 与巨噬细胞吞噬活性变化有关[16]。这促使我们在随后的研究中分析了 NF-κB p65 在 LPS 攻击、耐受和 LiCl 预处理中的核转位情况,发现正常状态 NF-κB p65 主要分布在细胞浆,胞核分布很少,但 LPS 刺激下 NF-κB p65 可发生核转位从胞浆进入胞核;经 LPS 预处理的 Kupffer 细胞再接受大剂量 LPS 刺激时 NF-κB p65 核转位显著减少,与文献[17-19]报道一致。值得注意的是,LiCl 预处理后 Kupffer 细胞再接受 LPS 刺激时 NF-κB p65 核转位同样是显著减少,与 LPS 耐受状态相似,并与文献报道的 GSK-3 抑制剂可抑制 NF-κB 活性一致[20]。提示 LPS 和 LiCl 预处理导致的 GSK-3 活性抑制,可能是 NF-κB p65 核转位减少、TNF-α 转录受抑制、中性粒细胞肝内集聚减少以及 Kupffer 细胞吞噬活性增强的始动因素。本实验还试图观察 GSK-3 在 Kupffer 细胞的胞浆/胞核中的转移情况,尽管采用 Western blot 检出了胞浆中 GSK-3 信号,但实验最终未能检测到胞核 GSK-3。

综上所述,本研究发现 LPS 耐受和 LiCl 预处理导致的 GSK-3 活性抑制,可能通过减少 NF-κB p65 的核转位而产生单核细胞浸润减少、促炎因子释放受抑、抗炎因子增加和 Kupffer 细胞吞噬活性增强等抗损伤效应,最终达到减轻大剂量 LPS 攻击导致肝损害的作用。由于上述效应可以视为 GSK-3 的下游事件,GSK-3 抑制剂有可能通过上述途径对内毒素性急性肝损伤产生保护效应;但其确切的分子机制仍需进一步研究证实。

**参考文献:**

[1] Nolan J P. The role of intestinal endotoxin in liver injury: a long and

evolving history[J]. Hepatology, 2010, 52(5): 1829-1835.
[2] Margenthaler J A, Landeros K, Kataoka M, *et al*. Effects of endotoxin tolerance on Propionibacterium acnes-primed lipopolysaccharide hepatic injury[J]. J Surg Res, 2003, 112(1): 102-110.
[3] Dugo L, Collin M, Allen D A, *et al*. Insulin reduces the multiple organ injury and dysfunction caused by coadministration of lipopolysaccharide and peptidoglycan independently of blood glucose: role of glycogen synthase kinase-3beta inhibition[J]. Crit Care Med, 2006, 34(5): 1489-1496.
[4] 陈太忠, 张艳, 熊弢, 等. 脂多糖预处理对GSK-3功能活性的影响[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(13): 1304-1309.
[5] Amar S, Belmaker R H, Agam G. The possible involvement of glycogen synthase kinase-3 (GSK-3) in diabetes, cancer and central nervous system diseases[J]. Curr Pharm Des, 2011, 17(22): 2264-2277.
[6] Teng S, Kurata S, Katoh I, *et al*. Cytokine mRNA expression in unilateral ischemic-reperfused rat lung with salt solution supplemented with low-endotoxin or standard bovine serum albumin[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2004, 286(1): L137-L142.
[7] Valatas V, Xidakis C, Roumpaki H, *et al*. Isolation of rat Kupffer cells: a combined methodology for highly purified primary cultures[J]. Cell Biol Int, 2003, 27(1): 67-73.
[8] Filipov N M, Seegal R F, Lawrence D A. Manganese potentiates in vitro production of proinflammatory cytokines and nitric oxide by microglia through a nuclear factor kappa B-dependent mechanism[J]. Toxicol Sci, 2005, 84(1): 139-148.
[9] Reville K, Crean J K, Vivers S, *et al*. Lipoxin A4 redistributes myosin ⅡA and Cdc42 in macrophages: implications for phagocytosis of apoptotic leukocytes[J]. J Immunol, 2006, 176(3): 1878-1888.
[10] Decker K. The response of liver macrophages to inflammatory stimulation[J]. Keio J Med, 1998, 47(1): 1-9.
[11] Deng X, Luyendyk J P, Zou W, *et al*. Neutrophil interaction with the hemostatic system contributes to liver injury in rats cotreated with lipopolysaccharide and ranitidine[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2007, 322(2): 852-861.
[12] Yee S B, Hanumegowda U M, Hotchkiss J A, *et al*. Role of neutrophils in the synergistic liver injury from monocrotaline and bacterial lipopolysaccharide exposure[J]. Toxicol Sci, 2003, 72(1): 43-56.
[13] Jirillo E, Caccavo D, Magrone T, *et al*. The role of the liver in the response to LPS: experimental and clinical findings[J]. J Endotoxin Res, 2002, 8(5): 319-327.
[14] Louis H, Le-Moine O, Goldman M, *et al*. Modulation of liver injury by interleukin-10[J]. Acta Gastroenterol Belg, 2003, 66(1): 7-14.
[15] Neyrinck A M, Alexiou H, Delzenne N M. Kupffer cell activity is involved in the hepatoprotective effect of dietary oligofructose in rats with endotoxic shock[J]. J Nutr, 2004, 134(5): 1124-1129.
[16] Deng T, Feng X, Liu P, *et al*. Toll-like receptor 3 activation differentially regulates phagocytosis of bacteria and apoptotic neutrophils by mouse peritoneal macrophages[J]. Immunol Cell Biol, 2013, 91(1): 52-59.
[17] Blackwell T S, Blackwell T R, Christman J W. Induction of endotoxin tolerance depletes nuclear factor-kappaB and suppresses its activation in rat alveolar macrophages[J]. J Leukoc Biol, 1997, 62(6): 885-891.
[18] Fujihara M, Wakamoto S, Ito T, *et al*. Lipopolysaccharide-triggered desensitization of TNF-alpha mRNA expression involves lack of phosphorylation of IkappaBalpha in a murine macrophage-like cell line, P388D1[J]. J Leukoc Biol, 2000, 68(2): 267-276.
[19] Ziegler-Heitbrock H W, Wedel A, Schraut W, *et al*. Tolerance to lipopolysaccharide involves mobilization of nuclear factor kappa B with predominance of p50 homodimers[J]. J Biol Chem, 1994, 269(25): 17001-17004.
[20] Gotschel F, Kern C, Lang S, *et al*. Inhibition of GSK3 differentially modulates NF-kappaB, CREB, AP-1 and beta-catenin signaling in hepatocytes, but fails to promote TNF-alpha-induced apoptosis[J]. Exp Cell Res, 2008, 314(6): 1351-1366.

(**收稿**:2013-01-29;**修回**:2013-03-12)
(编辑 王 红)

# “第二届全国病毒感染与器官功能衰竭学术会议”暨“医学病毒学系列学术论坛——病毒感染与器官功能衰竭”征文通知

由中华医学会医学病毒学分会、解放军传染病专业委员会、中华医学会热带病与寄生虫病学分会、解放军微生物专业委员会主办,第三军医大学西南医院、解放军302医院承办的“第二届全国病毒感染与器官功能衰竭学术会议”暨“医学病毒学系列学术论坛——病毒感染与器官功能衰竭”将于2013年11月下旬在美丽的山城——重庆召开。大会将邀请国内外专家和同行就病毒感染与器官功能衰竭领域的基础与临床研究进展进行学术交流,促进本领域基础与临床的密切结合和成果转化。会议将设专题报告、大会发言和书面交流三种形式,热烈欢迎相关领域各级临床医师和基础研究人员踊跃投稿并参加会议交流。

征文范围:(1)病毒感染与器官衰竭的基础与临床研究;(2)病毒感染病毒学、免疫学、流行病学、临床研究与病案报道;(3)新发病毒传染病防治研究。

征文要求:中、英文全文或大摘要一份(800~1 000字)。内容包括题目、作者、单位及邮政编码、联系方式(电话和E-mail)、目的和背景、材料与方法、结果、讨论与结论。

**截稿日期**:2013年10月15日
**投稿要求**:论文请以电子邮件发至E-mail:opliuming@126.com
**联系人**:刘 明
**电 话**:(023)68765218,传真:(023)68754858

(中华医学会医学病毒学分会)
2013年4月12日