DOI:10.16016/j.1000-5404.201512204



以细菌主要病原体相关分子为靶标的脓毒症防治策略

郑 江,郑新川 (400038 重庆,第三军医大学西南医院综合实验研究中心)

[关键词] 脓毒症;模式识别理论;防治策略
[中图法分类号] R631 [文献标志码] A

Targeting the major bacterial pathogen-associated molecular patterns as a strategy for the treatment of sepsis

Zheng Jiang, Zheng Xinchuan (Medical Research Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] Sepsis is a life-threatening disease for infected patients and there are few effective remedies for sepsis. Almost all the therapeutic strategies based on anti-inflammation or anti-coagulation have been failed since sepsis is a complicated inflammatory response that involves immune, coagulation and neuroendocrine systems, and thus the treatments directed against only one of the systems are not able to produce beneficial effects. Pattern recognition theory which means the pathogen-associated molecular patterns trigger sepsis by being recognized by pattern recognition receptors, elucidates the mechanism of sepsis, therefore we present a strategy on the management of sepsis at the source by targeting the major bacterial pathogen-associated molecular patterns. According to the current studies, the strategy is feasible thus providing a promising way to treat sepsis.

[**Key words**] sepsis; pattern recognition theory; prevent and treatment strategy

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81372089) and the National Science and Technology Major Projects for "Major New Drugs Innovation and Development" (2014ZX09102001011). Corresponding author: Zheng Jiang, Tel: 86-23-68765971, E-mail: zhengj99219@163.com

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81372089);国家"重大新药创制"科技重大专项(2014ZX09102001011)

[通信作者] 郑 江,男,博士,研究员,博士生导师。担任中华医学会创伤学分会创伤感染学组副组长等学术职务。主持十余项国家"重大新药创制"科技重大专项、国家自然科学基金、国家高技术研究发展计划(863 计划)、"十五"重大科技专项、国家新药研究基金、国家重点基础研究发展计划(973 计划)子课题、重庆市重大科技专项"新药创制"重点攻关项目以及企业横向合作等课题。获得Ⅰ类抗脓毒症化学药新药临床批件 1 项,获得国家专利授权 10 余项,欧洲专利授权 1 项,日本专利授权 2 项。发表论文 100 余篇,主要从事脓毒症发病机制与拮抗措施方面的研究。电话:(023)68765971,E-mail:zhengj99219@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160115.1720.001.html(2016-01-15)

脓毒症(sepsis)是指由感染因素导致的全身性炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),是临床上严重感染患者常见的致命性并发症,也是感染患者死亡的主要原因。目前,全球脓毒症发病率为(50~95)/100 000,并以每年 9% 的速度上升,预计全球每年有 1 900 万病例[1-2]。脓毒症的病死率长期居高不下,其中重症脓毒症病死率为 25%~30%,脓毒性休克病死率则高达 40%~70%,已经超过心肌梗死,成为重症监护病房非心因性死亡的首要因素。每年全球因脓毒症死亡的人数超过前列腺癌、乳腺癌和艾滋病致死人数的总和,因此被认为是严重威胁人类生命健康的重大疾病[3-6]。

2002 年,欧洲危重病医学学会、美国危重病医学学会和国际脓毒症基金会共同签署和发布了《巴塞罗

那宣言》,倡导“拯救脓毒症运动”,并提出了在5年内将脓毒症病死率降低25%的行动目标。但尽管历经十余年的努力,脓毒症仍然处于“无药可治”的境地,其发病率和病死率并未显著下降。因此,深入剖析脓毒症的发生机制,并将其转化为新的临床救治方案和治疗药物的研究策略依然是当务之急,也是摆在研究者面前的棘手问题。

1 脓毒症的认识历程

关于脓毒症的定义,学术界进行了较长时间的讨论和争议。脓毒症曾经被称为败血症(septicemia),其强调的是机体血液中存在病原体的生长、繁殖并产生毒素。Thomas在1972年即已提出,病原体感染引起的组织器官损伤和机体死亡并非由病原体直接所致,而是机体对病原体免疫应答引发的过度炎症反应所造成[7]。随后临床上也观察到,脓毒症患者体内是否存在活的病原体与其预后并不直接相关。1980年,Meakins等[8]提出了“非菌血症性临床感染(non-bacteremic clinical sepsis)”的概念。因此,人们逐渐认识到用“败血症”来描述这一疾病并不准确。1991年,美国危重病医学学会和美国胸科医师学会召开联席会议,明确了“sepsis(脓毒症)”及其相关概念,并建议不再使用“septicemia(败血症)”,国内学术界也相应地摒弃“败血症”一词,统一采用“脓毒症”这一术语[9-10]。

有关脓毒症发生机制的认识也同样经历了一个漫长的过程。在早期,由于认为脓毒症的本质是机体对病原体的免疫应答而产生的炎症反应,因而脓毒症曾经被认为是一种介质病。但是,病原体究竟是如何引发机体炎症反应的并不清楚。早在1989年,Janeway[11]就在冷泉港研讨会上提出了“模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)”假说。该假说最核心的观点是,在宿主识别入侵的病原体的过程中,宿主体内存在一类介导天然免疫识别的受体,这类受体能够识别病原体特有的某些结构分子,激活第二信号(second signal)的表达,介导宿主的炎症反应。Janeway[12]将病原体的这种结构分子命名为病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),而将相应的受体命名为模式识别受体(PRRs)。PRRs假说诞生之初并未引起重视,直至1996年Jules Hoffmann发现Toll基因[13],1998年Bruce Beutler证实宿主体内存在识别细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)[14],PRRs的存在终于得到了证实,并认识到PRRs对PAMPs的直接识别是激活天然免疫反应的始动环节,同时也是最关键的一环。鉴于Jules Hoffmann和Bruce Beutler在天然免疫模式识别研究领域的突出贡献,他们获得了2011年诺贝尔生理学/医学奖,遗憾的是作为这一具有划时代意义的假说的提出者,Charles Janeway本人于2003年逝世,未能获得这一殊荣。

随着越来越多PRRs的发现,以及对其识别相应配体(PAMPs)认识的深入,在PRRs假说的基础上,针对病原体入侵介导的天然免疫识别应答逐渐演化形成了一套完整的“模式识别理论”,即PRRs对PAMPs的模式识别是病原体介导炎症反应的始动环节,这是人类在脓毒症认识历程中的一座里程碑。“模式识别理论”的核心在于机体天然免疫系统中存在一类被称为PRRs的跨膜受体和胞内受体;而在所有的病原体结构中则存在一类进化上高度保守的结构分子(PAMPs),如革兰阴性(G^-)菌的LPS、鞭毛抗原、革兰阳性(G^+)菌的肽聚糖(peptidoglycan, PGN)、脂磷壁酸(lipoteichoic acid, LTA)、G^+菌和G^-菌共有的基因组DNA(非甲基化CpG DNA)、病毒单链或双链RNA(ssRNA或dsRNA)以及酵母多糖等。正是由于PAMPs结构上的高度保守,高等级动物的天然免疫系统能够依靠有限数量的PRRs高效地识别广泛存在于各种病原体中的PAMPs,引发炎症反应,以清除入侵的病原体[15]。人们对脓毒症发病机制的认识由此变得清晰起来,即脓毒症的本质是病原体侵入机体后,病原体的PAMPs被机体的PRRs识别所引发的过度炎症反应。尽管炎症反应的初衷是为了清除入侵的病原体,但是在PAMPs的持续刺激下,炎症细胞过度活化,分泌大量炎症介质,进而引发补体活化、白细胞迁移、内皮细胞活化、血管内凝血等多重效应,造成组织器官损伤和器官功能障碍[1,16-17]。当这种损害危及生命的时候,机体通过中枢高级的神经体液负调控,使免疫系统出现中性粒细胞麻痹、Th1细胞向Th2细胞转化、淋巴细胞和树突状细胞凋亡等,导致免疫功能抑制,造成感染迁延或二重感染发生,从而进一步危及机体生命安全[18]。

2 脓毒症防治措施的研究历程

为在全球范围内规范脓毒症的治疗,“拯救脓毒症运动”委员会于2004年召集全球十余个学术组织的数十位专家共同制定、发布了有关脓毒症的治疗指南——重症脓毒症和脓毒性休克治疗国际指南(inter-

national guidelines for management of severe sepsis and septic shock),并于 2008 和 2012 年进行了两次修订。指南推荐的脓毒症治疗核心主要为早期感染控制(如抗菌药物)和支持治疗(如液体疗法、血管活性药物、呼吸支持等)[19]。然而遗憾的是,尽管抗感染和器官支持手段不断进步,脓毒症的发生和致死情况却并未得到十分有效的控制。更为严重的是,研究发现即使能够通过抗生素等治疗控制感染,但许多抗生素如 β-内酰胺类和氨基糖苷类抗生素等,在有效杀灭细菌的同时也会诱导 PAMPs 的释放,在感染情况严重时反而加重脓毒症病情[20]。

为了寻找攻克这一疾病的有效手段,药物学家们也在不遗余力地开发拮抗脓毒症的新药。药物的研究始终是跟随着对疾病本质的认识而不断变化,抗脓毒症药物的研究也经历了从"败血症"到"介质病"再到"模式识别"的发展和变化过程,其研究策略大致可分为两大主线——针对"机体因素"和"病原体因素"。在早期,基于脓毒症是一种过度炎症反应(介质病)的认识,人们针对机体因素提出了多种拮抗策略,包括抗炎症介质、纠正凝血系统紊乱和增强免疫应答等。但是,基于这些策略的药物,如 TNF-α 拮抗剂 BAY x 1351、MAK 195F、Lenercept、CytoFab (AZD9773),IL-1 拮抗剂 rhIL-1ra,血小板活化因子抑制剂 Lexipafant、Pafase,一氧化氮合成酶抑制剂 546C88,磷脂酶 A2 抑制剂 LY315920NA/S-5920,抗凝剂 Xigris(重组人活化蛋白 C),静脉注射用免疫球蛋白 ivIgG 以及重组人粒细胞集落刺激因子 rh-GCSF 等大多以失败告终[21-32]。在以上药物中,Xigris 是唯一一个获得过美国 FDA 批准进入临床使用的抗脓毒症药物,但已于 2011 年宣告无效而退市[30]。在国内,获准治疗脓毒症的药物只有复方中药注射剂"血必净",其临床研究的 Meta 分析资料显示血必净在改善脓毒症患者的炎症反应、凝血功能及降低病死率等方面均有一定的疗效,但作用机制不明[33]。

由前述可知,脓毒症是机体免疫、凝血、神经内分泌等多系统参与的复杂炎症反应[18,34],仅仅对这一复杂体系当中的某一个环节进行干预本身难于实现,再者,机体对病原体的免疫应答(炎症反应)的目的是为了清除入侵的病原体,因此,人为对机体的炎症反应进行拮抗,可能更不利于机体对病原体的清除。这可能是既往数十年针对机体因素的防治策略未能取得成功的重要原因。

基于 PAMPs 被机体 PRRs 识别,介导炎症反应细胞活化引发过度的炎症反应是触发脓毒症的首要环节,因此从源头清除 PAMPs,阻断其与 PRRs 的作用,从根本上切断后续的炎症效应,即针对病原体因素可能是一种有前景的、理想的防治策略。历史上,人类对 PAMPs 的研究过程中,LPS 作为 G^- 菌外膜最主要的组成成分,是最早发现和认识的 PAMPs,因此早期的抗 PAMPs 药物研究主要集中在 LPS 上。LPS 由亲水性的多糖和疏水的类脂 A(lipid A)两大部分组成,其中 lipid A 是最为保守也是构成其毒力的核心部位[35],因此 lipid A 成为抗 LPS 药物研究的靶标。20 世纪 70 年代,研究者发现 G-菌感染患者血清中存在一种抗 LPS 抗体[36]。1982 年,Ziegler 等[37]研究证实这种抗体可以降低 G^- 菌感染脓毒症患者的病死率。随着单克隆抗体技术的发展,人们开始研究和制备抗 LPS 抗体。1984 年,Teng 等[38]以 *E. coli* J5 菌株的 LPS 为靶点成功制备出人源 IgM 型单克隆抗体 HA-1A(Centoxin),在临床前动物研究和Ⅲ期临床研究中对 G^- 菌脓毒症具有治疗作用,并于 1990 年获准在欧洲和日本上市。但是,随后更多的临床研究显示该药物并没有明显疗效,甚至造成 G^- 菌脓毒症患者病死率升高,美国 FDA 因而拒绝了 HA-1A 的上市申请,随后其他国家也予以召回。后来研究发现,HA-1A 不仅与 lipid A 结合,还与多种疏水配体如脐带血红细胞表面 i 抗原、单链 DNA 以及心磷脂等存在结合,可能是影响其有效性的重要原因[39]。另一个以 lipid A 为靶标的鼠源单克隆抗体 Edobacomab 也同样在临床试验中宣告无效[40]。

人杀菌性/通透性增加蛋白(bacterial permeability-increasing protein,BPI)是人体中性粒细胞产生的重要抗菌蛋白。它具有抗 G^- 菌和中和 LPS 的双重活性。美国 Xoma 公司的研究团队将 BPI 改构为 21×10^3 大小、保持相同活性的肽段——rBPI21。该药物在临床试验中表现出良好的耐受性,能够降低病死率,特别是对创伤出血和儿童脑膜炎球菌脓毒症效果较好[41]。此外,对 LPS 结合蛋白(LPS-binding protein,LBP)、鲎抗 LPS 因子模拟肽以及多种阳离子抗菌肽等具有中和 LPS 作用的多肽药物也进行了大量研究,但均未获得最终成功[42-43]。

多粘菌素 B(polymyxin B,PMB)作为目前发现的唯一一种既能抗菌又能中和 LPS 的环肽类抗生素,由于其严重的肾毒性和神经毒性,无法用于脓毒症的临床治疗,因此人们将研究重心转向阐明 PMB 的构效关系研究,目的是寻找高效低毒的新衍生物,但至今尚未

成功[44-46]。另一方面,有研究者为了解决 PMB 直接进入血液带来的毒性问题,另辟蹊径将 PMB 固定在纤维素柱上,采用血液灌流的方式吸附血中的 LPS,已证实具有较好的治疗效果,在日本临床上得到较为广泛的应用,并正在美国进行临床试验[47]。

牛磺罗定(Taurolidine)、磷脂乳剂 GR270773、碱性磷酸酶、重组人乳铁传递蛋白(Talactoferrin)等具有直接拮抗 LPS 作用的药物也进入了临床试验,但只有碱性磷酸酶取得了较好的效果,目前正在进行多中心Ⅱ期临床试验[48-51]。

以外,还有一种拮抗 LPS 的药物——Eritoran(E5564)也曾进入临床试验。Eritoran 并不像以上药物一样直接拮抗 LPS,而是与 LPS 竞争性的结合其受体 TLR4,阻断 LPS 介导的细胞活化,在临床前和Ⅱ期临床试验的高风险患者中均有效果(低风险患者反而不利),但是Ⅲ期临床试验仍然以失败告终[52]。Eritoran 失败的重要原因之一可能是在实现阻断 TLR4 的同时干扰了 TLR4 对 LPS 的识别,从而影响到机体对 G^- 菌的清除。因此,干扰 PRRs 对 PAMPs 的模式识别可能对机体同样不利。

随着研究的深入,其他 PAMPs 在脓毒症发病中的作用也得到越来越多的重视,成为研究的对象。比如 Altastaph 是一种抗金黄色葡萄球菌荚膜多糖的人源抗体,用于金黄色葡萄球菌感染脓毒症的辅助治疗,但是在Ⅱ期临床试验中并没有显示出良好疗效[53]。此外,以 LTA 为靶标开发了一种人源嵌合单克隆抗体 Pagibaximab,在临床前和Ⅰ期临床试验中显示出较好的活性、安全性和耐受性,但是在Ⅱ期临床试验中与安慰剂相比未能体现出明显效果[54]。近年来,以 CpG DNA 为靶标的药物研究也取得一些进展,比如根据 CpG DNA 序列特征设计的抑制性 CpG ODN 208 在体、内外对 CpGDNA 均具有拮抗作用,但目前尚未进入临床试验[55-56]。

3 以细菌主要 PAMPs 为靶标的脓毒症防治策略

实际上,在任何感染的病理生理过程中,病原体释放的 PAMPs 并不是单一的,比如在 G^- 菌感染中产生的 PAMPs 包括 LPS、CpG DNA 以及鞭毛抗原等,G^+ 菌感染产生的 PAMPs 包括 PGN、LTA 以及 CpG DNA 等,这些 PAMPs 毒力相当,均可单独或协同诱导脓毒症的发生[57-58]。显然,仅以某一种 PAMPs 为靶标,难以达到有效治疗脓毒症的目的。

脓毒症的病原体流行病学调查进一步显示,引发脓毒症的病原体 90% 以上为细菌[1],因此,细菌感染是脓毒症发生的主要矛盾。而细菌产生的 PAMPs 中又以 LPS、CpG DNA 和 PGN 含量最多,分布最广,是脓毒症矛盾问题的主要方面。因此,从"抓住主要矛盾、解决矛盾的主要方面"出发,以细菌主要 PAMPs——LPS、CpG DNA 和 PGN 为靶标,寻找有效的拮抗药物,成为从源头遏制脓毒症的关键。在这一理论指导下,我们课题组将亲和生物传感器技术应用于传统中药的筛选和有效成分的垂钓,建立了以细菌主要 PAMPs(LPS、CpG DNA 和 PGN)为靶标的中药筛选和定向分离技术平台,历经 10 余年完成了 140 余种中药的筛选和分离,获得了 10 余个具有拮抗细菌主要 PAMPs 活性的单体,如 1,2,3,4,6-O-五没食子酰-β-D-葡萄糖、2′,5,6′,7-四羟基二氢黄酮醇、栀子苷等具有抗 LPS 活性,大黄素具有抗 CpG DNA 活性。在此基础上,最终成功地分离出具有拮抗多靶标 PAMPs 活性的大黄酸和苦柯胺 B(kukoamine B, KB)。实验结果显示,大黄酸对 LPS 和 CpG DNA 具有拮抗作用,能够显著抑制 LPS 和 CpG DNA 刺激炎症细胞释放 TNF-α 等细胞因子[59]。而 KB 则在体内外对 LPS、CpG DNA 和 PGN 均具有显著的拮抗作用,能够与 LPS、CpG DNA 和 PGN 高亲和力结合,阻断 LPS、CpG DNA 和 PGN 与相应受体的结合,从而抑制炎症细胞活化,达到阻断炎症反应的目的(拮抗 PGN 的实验数据尚未报道)[60-61]。临床研究显示,在体外,KB 可结合并中和 LPS、CpG DNA 和 PGN,抑制 LPS、CpG DNA 和 PGN 诱导 RAW264.7 细胞释放 TNF-α 和 IL-6 等炎症介质;在体内,KB 能够显著提高脓毒症模型动物(包括小鼠、大鼠和犬)的生存率,降低血中 LPS 水平,减少 TNF-α、IL-6 以及 HMGB1 的产生,缓解酸中毒,改善凝血功能,对心、肝、肺、小肠和肾脏等重要脏器具有保护作用[62-63]。

目前,KB 已实现全化学合成,正在进行Ⅰ期临床试验。KB 的研究是对"以细菌主要 PAMPs 为靶标的脓毒症防治策略"的一次实践,目前的研究进展显示了该策略的可行性,值得继续探索。

4 展望

既往针对机体因素(炎症、凝血等)的脓毒症防治策略多以失败告终,促使人们从脓毒症的发生机制和拮抗措施两个方面进行重新思考。既然 PAMPs 是介导脓毒症的始动因素,因此若能抓住矛盾的主要方面,即以细菌的主要 PAMPs 为靶标,从源头阻断 PAMPs 与 PRRs 的结合,从而遏制脓毒症的发生、发展,可能

是一条更为有效、切实可行的策略。

从 PRRs 假说的提出到模式识别理论的建立,广大研究者们付出了艰辛的努力。揭示脓毒症的发生机制,探索有效的治疗靶标,始终是人们不懈奋斗的目标。如何将疾病的发生机制理论转化为新药研究的可行策略,仍需基础、临床和药物研究者们的共同努力,脓毒症的防治研究依然任重道远。

参考文献:

[1] Annane D, Bellissant E, Cavaillon J M. Septic shock[J]. Lancet, 2005, 365(9453): 63 – 78. DOI:10.1016/S0140-6736(04)17667-8

[2] Angus D C, van-der-Poll T. Severe sepsis and septic shock[J]. N Engl J Med, 2013, 369(21): 2063. DOI:10.1056/NEJMc1312359

[3] Moore L J, Moore F A, Todd S R, *et al*. Sepsis in general surgery: the 2005 – 2007 national surgical quality improvement program perspective[J]. Arch Surg, 2010, 145(7): 695 – 700. DOI:10.1001/archsurg.2010.107

[4] Vincent J L. Increasing awareness of sepsis: World Sepsis Day[J]. Crit Care, 2012, 16(5): 152. DOI:10.1186/cc11511

[5] Angus D C, Linde-Z wirble W T, Lidicker J, *et al*. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care[J]. Crit Care Med, 2001, 29(7): 1303 – 1310.

[6] Russell J A. Management of sepsis[J]. N Engl J Med, 2006, 355(16): 1699 – 1713. DOI: 10.1056/NEJMra043632

[7] Thomas L. Germs[J]. N Engl J Med, 1972, 287(11): 553 – 555. DOI:10.1056/NEJM197209142871109

[8] Meakins J L, Wicklund B, Forse R A, *et al*. The surgical intensive care unit: current concepts in infection[J]. Surg Clin North Am, 1980, 60(1): 117 – 132.

[9] Bone R C, Balk R A, Cerra F B, *et al*. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine[J]. Chest, 1992, 101(6): 1644 – 1655.

[10] 中国医师协会烧伤医师分会《烧伤感染诊治指南》编辑委员会. 烧伤感染的诊断标准与治疗指南(2012 版)[J]. 中华烧伤杂志, 2012, 28(6): 401 – 403. DOI:10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2012.06.001

[11] Janeway C A Jr. Pillars article: approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology[J]. Cold spring harbsymp quant biol, 1989, 54: 1 – 13.

[12] Janeway C A Jr. The immune system evolved to discriminate infectious nonself from noninfectious self[J]. Immunol Today, 1992, 13(1): 11 – 16. DOI:10.1016/0167-5699(92)90198-G

[13] Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, *et al*. The dorsoventral regulatory gene cassette spätzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in Drosophila adults[J]. Cell, 1996, 86(6): 973 – 983.

[14] Poltorak A, He X, Smirnova I, *et al*. Defective LPS signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr mice: mutations in Tlr4 gene[J]. Science, 1998, 282(5396): 2085 – 2088.

[15] Medzhitov R. Pattern recognition theory and the launch of modern innate immunity[J]. J Immunol, 2013, 191(9): 4473 – 4474. DOI:10.4049/jimmunol.1302427

[16] Stearns-Kurosawa D J, Osuchowski M F, Valentine C, *et al*. The pathogenesis of sepsis[J]. Annu Rev Pathol, 2011, 6: 19 – 48. DOI:10.1146/annurev-pathol-011110-130327

[17] 姚咏明, 林洪远. 脓毒症发病机制与诊治进展[J]. 继续医学教育, 2006, 20(24): 35 – 40. DOI:10.3969/j.issn.1004-6763.2006.24.008.

[18] Sparwasser T, Miethke T, Lipford G, *et al*. Bacterial DNA causes septic shock[J]. Nature, 1997, 386(6623): 336 – 337. DOI:10.1038/386336a0

[19] Dellinger R P, Levy M M, Rhodes A, *et al*. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012[J]. Crit Care Med, 2013, 41(2): 580 – 637. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31827e83af

[20] Holzheimer R G. Antibiotic induced endotoxin release and clinical sepsis: a review[J]. J Chemother, 2001, 13 Spec No 1(1): 159 – 172. DOI:10.1179/joc.2001.13.Supplement-2.159

[21] Cohen J, Carlet J. INTERSEPT: an international, multicenter, placebo-controlled trial of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor-alpha in patients with sepsis. International Sepsis Trial Study Group[J]. Crit Care Med, 1996, 24(9): 1431 – 1440.

[22] Reinhart K, Wiegand-Lohnert C, Grimminger F, *et al*. Assessment of the safety and efficacy of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody-fragment, MAK 195F, in patients with sepsis and septic shock: a multicenter, randomized, placebo-controlled, dose-ranging study[J]. Crit Care Med, 1996, 24(5): 733 – 742.

[23] Abraham E, Laterre P F, Garbino J, *et al*. Lenercept (p55 tumor necrosis factor receptor fusion protein) in severe sepsis and early septic shock: a randomized, double-blind, pla-

cebo-controlled, multicenter phase Ⅲ trial with 1,342 patients[J]. Crit Care Med, 2001, 29(3): 503 – 510.

[24] Bernard G R, Francois B, Mira J P, *et al*. Evaluating the efficacy and safety of two doses of the polyclonal anti-tumor necrosis factor-α fragment antibody AZD9773 in adult patients with severe sepsis and/or septic shock: randomized, double-blind, placebo-controlled phase Ⅱb study * [J]. Crit Care Med, 2014, 42(3): 504 – 511. DOI:10.1097/CCM.0000000000000043

[25] Fisher C J Jr, Dhainaut J F, Opal S M, *et al*. Recombinant human interleukin 1 receptor antagonist in the treatment of patients with sepsis syndrome. Results from a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Phase Ⅲ rhIL-1ra Sepsis Syndrome Study Group[J]. JAMA, 1994, 271(23): 1836 – 1843.

[26] Suputtamongkol Y, Intaranongpai S, Smith M D, *et al*. A double-blind placebo-controlled study of an infusion of lexipafant (Platelet-activating factor receptor antagonist) in patients with severe sepsis[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000, 44(3): 693 – 696.

[27] Opal S, Laterre P F, Abraham E, *et al*. Recombinant human platelet-activating factor acetylhydrolase for treatment of severe sepsis: results of a phase Ⅲ, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial[J]. Crit Care Med, 2004, 32(2): 332 – 341. DOI:10.1097/01.CCM.0000108867.87890.6D

[28] Lopez A, Lorente J A, Steingrub J, *et al*. Multiple-center, randomized, placebo-controlled, double-blind study of the nitric oxide synthase inhibitor 546C88: effect on survival in patients with septic shock[J]. Crit Care Med, 2004, 32(1): 21 – 30. DOI: 10.1097/01.CCM.0000105581.01815.C6

[29] Zeiher B G, Steingrub J, Laterre P F, *et al*. LY315920NA/S-5920, a selective inhibitor of group ⅡA secretory phospholipase A2, fails to improve clinical outcome for patients with severe sepsis[J]. Crit Care Med, 2005, 33(8): 1741 – 1748.

[30] Williams S C. After Xigris, researchers look to new targets to combat sepsis[J]. Nat Med, 2012, 18(7): 1001. DOI: 10.1038/nm0712-1001

[31] Werdan K, Pilz G, Bujdoso O, *et al*. Score-based immunoglobulin G therapy of patients with sepsis: the SBITS study [J]. Crit Care Med, 2007, 35(12): 2693 – 2701.

[32] Aktas D, Demirel B, Gursoy T, *et al*. A randomized case-controlled study of recombinant human granulocyte colony stimulating factor for the treatment of sepsis in preterm neutropenicinfants[J]. PediatrNeonatol, 2015, 56(3): 171 – 175. DOI:10.1016/j.pedneo.2014.06.007

[33] 李娜, 蒋林伟, 俞璐, 等. 血必净注射液治疗脓毒症的系统评价[J]. 中国现代药物应用, 2013, 7(22): 8 – 11.

[34] 姚咏明, 刘辉, 盛志勇. 提高对神经-内分泌-免疫网络与创伤脓毒症的认识[J]. 中华创伤杂志, 2006, 22(8): 561 – 564. DOI:10.3760/j:issn:1001-8050.2006.08.001

[35] Alexander C, Rietschel E T. Bacterial lipopolysaccharides and innate immunity[J]. J Endotoxin Res, 2001, 7(3): 167 – 202.

[36] McCabe W R, Kreger B E, Johns M. Type-specific and cross-reactive antibodies in gram-negative bacteremia[J]. N Engl J Med, 1972, 287(6): 261 – 267. DOI:10.1056/NEJM197208102870601

[37] Ziegler E J, McCutchan J A, Fierer J, *et al*. Treatment of gram-negative bacteremia and shock with human antiserum to a mutant Escherichia coli[J]. N Engl J Med, 1982, 307(20): 1225 – 1230. DOI:10.1056/NEJM198211113072001

[38] Teng N N, Kaplan H S, Hebert J M, *et al*. Protection against gram-negative bacteremia and endotoxemia with human monoclonal IgM antibodies [J]. ProcNatlAcadSci USA, 1985, 82(6): 1790 – 1794.

[39] Helmerhorst E J, Maaskant J J, Appelmelk B J. Anti-lipid A monoclonal antibody centoxin (HA-1A) binds to a wide variety of hydrophobic ligands[J]. Infect Immun, 1998, 66(2): 870 – 873.

[40] Angus D C, Birmingham M C, Balk R A, *et al*. E5 murine monoclonal antiendotoxin antibody in gram-negative sepsis: a randomized controlled trial. E5 Study Investigators[J]. JAMA, 2000, 283(13): 1723 – 1730.

[41] 蒋红丽, 毛兵. 杀菌性/通透性增加蛋白的研究进展[J]. 山东医药, 2009, 49(20): 111 – 112. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2009.20.067

[42] 夏培元, 陈勇川, 陈剑鸿, 等. 用于感染脓毒症治疗的蛩抗内毒素因子模拟肽新药的研发[J]. 中国科技成果, 2011(21): 21. DOI:10.3772/j.issn.1009-5659.2011.21.006

[43] Jerala R, Porro M. Endotoxin neutralizing peptides[J]. Curr Top Med Chem, 2004, 4(11): 1173 – 1184.

[44] Velkov T, Thompson P E, Nation R L, *et al*. Structure——activity relationships of polymyxin antibiotics[J]. J Med Chem, 2010, 53(5): 1898 – 1916. DOI: 10.1021/jm900999h

[45] Urakawa H, Yamada K, Komagoe K, *et al*. Structure-activity relationships of bacterial outer-membrane permeabilizers based on polymyxin B heptapeptides[J]. Bioorg Med ChemLett, 2010, 20(5): 1771 – 1775. DOI:10.1016/j.bmcl.2010.01.040

[46] Danner R L, Joiner K A, Rubin M, *et al*. Purification, toxicity, and antiendotoxin activity of polymyxin B nonapeptide [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1989, 33(9): 1428 – 1434.

[47] 王亮, 马晓春. 固定多粘菌素 B 纤维(PMX)灌流器吸附内毒素的研究进展[J]. 中国血液净化, 2010, 9(8): 451 – 453. DOI:10.3969/j.issn.1671-4091.2010.08.013

[48] Willatts S M, Radford S, Leitermann M. Effect of the antiendotoxic agent, taurolidine, in the treatment of sepsis syndrome: a placebo-controlled, double-blind trial [J]. Crit Care Med, 1995, 23(6): 1033 – 1039.

[49] Dellinger R P, Tomayko J F, Angus D C, *et al*. Efficacy and safety of a phospholipid emulsion (GR270773) in Gram-negative severe sepsis: results of a phase Ⅱ multicenter, randomized, placebo-controlled, dose-finding clinical trial[J]. Crit Care Med, 2009, 37(11): 2929 – 2938. DOI:10.1097/CCM.0b013e3181b0266c

[50] Pickkers P, Heemskerk S, Schouten J, *et al*. Alkaline phosphatase for treatment of sepsis-induced acute kidney injury: a prospective randomized double-blind placebo-controlled trial[J]. Crit Care, 2012, 16(1): R14. DOI: 10.1186/cc11159

[51] Vincent J L, Marshall J C, Dellinger R P, *et al*. Talactoferrin in Severe Sepsis: Results From the Phase Ⅱ/Ⅲ Oral tAlactoferrin in Severe sepsIS Trial [J]. Crit Care Med, 2015, 43 (9): 1832 – 1838. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001090

[52] Barochia A, Solomon S, Cui X, *et al*. Eritorantetrasodium (E5564) treatment for sepsis: review of preclinical and clinical studies[J]. Expert Opin Drug MetabToxicol, 2011, 7(4): 479 – 494. DOI:10.1517/17425255.2011.558190

[53] Rupp M E, Holley H P Jr, Lutz J, *et al*. Phase Ⅱ, randomized, multicenter, double-blind, placebo-controlled trial of a polyclonal anti-Staphylococcus aureus capsular polysaccharide immune globulin in treatment of Staphylococcus aureus bacteremia[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(12): 4249 – 4254. DOI:10.1128/AAC.00570-07

[54] Weisman L E, Thackray H M, Steinhorn R H, *et al*. A randomized study of a monoclonal antibody (pagibaximab) to prevent staphylococcal sepsis [J]. Pediatrics, 2011, 128(2): 271 – 279. DOI:10.1542/peds.2010-3081

[55] 蒋为薇, 王良喜, 丁国富, 等. CpG-NODN 对 CpG-S ODN 诱导 hPBMC 释放 TNF-α 的抑制作用[J]. 中国抗生素杂志, 2007, 32(3): 187 – 190.

[56] Wang L, Jiang W, Ding G, *et al*. The newly identified CpG-N ODN208 protects mice from challenge with CpG-S ODN by decreasing TNF-alpha release [J]. IntImmunopharmacol, 2007, 7(5): 646 – 655. DOI:10.1016/j.intimp.2007.01.005

[57] 周红, 刘鑫, 郑江. 脓毒症治疗——挑战与机遇并存[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(2): 91 – 94.

[58] Kimbrell M R, Warshakoon H, Cromer J R, *et al*. Comparison of the immunostimulatory and proinflammatory activities of candidate Gram-positive endotoxins, lipoteichoic acid, peptidoglycan, and lipopeptides, in murine and human cells [J]. ImmunolLett, 2008, 118(2): 132 – 141. DOI:10.1016/j.imlet.2008.03.009

[59] Liu X, Cheng J, Zheng X, *et al*. Targeting CpG DNA to screen and isolate anti-sepsis fraction and monomers from traditional Chinese herbs using affinity biosensor technology [J]. Int Immunopharmacol, 2009, 9(9): 1021 – 1031. DOI:10.1016/j.intimp.2009.03.023

[60] Liu X, Zheng X, Long Y, *et al*. Dual targets guided screening and isolation of Kukoamine B as a novel natural anti-sepsis agent from traditional Chinese herb Cortex lycii[J]. Int Immunopharmacol, 2011, 11(1): 110 – 120. DOI:10.1016/j.intimp.2010.10.015

[61] Liu X, Zheng X, Wang N, *et al*. Kukoamine B, a novel dual inhibitor of LPS and CpG DNA, is a potential candidate for sepsis treatment[J]. Br J Pharmacol, 2011, 162(6): 1274 – 1290. DOI:10.1111/j.1476-5381.2010.01114.x

[62] 王宁. 标准化大鼠 CLP 脓毒症模型的建立及甲磺酸苦柯胺 B 对其的保护作用与机制研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2013.

[63] 杨景程. 脓毒症模型动物体内内毒素释放规律及对其干预的实验研究[D]. 重庆:第三军医大学, 2012.

(**收稿**:2015-12-31;**修回**:2016-01-12)

(编辑 王 红)