乌司他丁联合 ghrelin 对内毒素血症大鼠肠功能障碍的影响

陈 峤[1],黄 健[2],黄显凯[1] (1. 第三军医大学大坪医院野战外科研究所创伤科,重庆 400042;2. 重庆医科大学附属永川医院急诊科,重庆 402160)

[摘 要] **目的** 观察乌司他丁(UTI)联合 ghrelin(GHL)对内毒素血症大鼠肠功能障碍的影响,探讨 UTI 联合 GHL 改善内毒素血症大鼠肠功能的作用及其可能机制。**方法** 以内毒素(LPS)15 mg/kg 腹腔注射大鼠作为内毒素血症动物模型。将 60 只雄性 SD 大鼠随机等分为对照组(CON 组)、LPS 组、UTI 组、GHL 组、UTI + GHL 组,采用 HE 染色、RealTime-PCR、小肠葡聚糖蓝-2000(BD-2000)推进率和 ELISA 等方法在 12 h 及 24 h 观察各组大鼠小肠屏障功能、小肠运动功能以及炎症介质 TNF-α、IL-6、HMGB1 等变化。**结果** HE 染色结果显示 UTI + GHL 组、UTI 组与 LPS 组相比能不同程度减轻回肠结构损伤,且 UTI + GHL 组更明显($P<0.05$)。UTI 组和 UTI + GHL 组在 RD-5 和 TFF3 mRNA 表达水平方面较 LPS 组有显著提高($P<0.05$),且 UTI + GHL 组升高明显($P<0.05$)。GHL 组和 UTI + GHL 组较 LPS 组小肠运动功能均显著升高,且 UTI + GHL 组更为明显($P<0.05$)。UTI + GHL 组、UTI 组、GHL 组与 LPS 组相比均能显著降低 TNF-α、IL-6、HMGB1 等炎症因子表达($P<0.05$),且在肠黏膜组织中发现了类似结果。**结论** UTI 联合 GHL 可通过抑制内毒素血症时全身炎症反应及肠组织局部炎症反应,明显改善肠屏障及提高肠运动功能。

[关键词] 乌司他丁;ghrelin;内毒素血症;小肠功能;大鼠

[中图分类号] R631;R574.4 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2014)01-0005-04

Ulinastain with ghrelin improves small intestine dysfunction in endotoxemia rats

CHEN Qiao, HUANG Jian, HUANG Xian-kai (Department of Trauma Surgery, Daping Hospital and Research Institute of Surgery, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To evaluate the antiinflammatory effect of ulinastain(UTI) with ghrelin(GHL) on amelioration of small intestine dysfunction and its possible mechanisms in endotoxemia rats. **Methods** Animals were received intraperitoneal injection with lipopolysaccharide(LPS, 15 mg/kg) as a endotoxemia model. 60 male SD rats were randomly divided into control group(CON group), LPS group, UTI group, GHL group, and UTI + GHL group. Microstructure of small intestinal submucosa was observed with HE staining. Dextran blue-2000 (BD-2000) was drenched for calculation of propulsion rate of the small intestine. The level of tumor necrosis factorα(TNF-α), IL-6 and HMGB1 in serum and small Intestinal mucosal tissue were determined by enzyme linked immunosorbent assay(ELISA). RealTime-PCR was administrated for detection of rat defensin-5 mRNA(RD-5) and trefoil factor family-3(TFF-3) mRNA. All above measurement were taken respectively at 12 hours and 24 hours after LPS injection. **Results** HE staining shows that UTI + GHL group significantly alleviate the damage of intestinal microtructure caused by LPS when compared with UTI group and GHL group. The UTI + GHL group markedly increased expression of RD-5 and TFF3 mRNA than those of UTI and GHL group in small Intestinal mucosal tissue ($P<0.05$). Both the GHL group and the UTI + GHL group significantly enhanced the function of intestine motility, but the propulsion rate of UTI + GHL group was significant higher than that of GHL group($P<0.05$). In LPS group, the level of TNF-α、IL-6 and HMGB1 both in serum and intestinal mucosa tissue were markedly increased($P<0.05$), but those of UTI group, GHL group and UTI + GHL group were significantly decreased when compare to LPS group after the drugs administration at 12 and 24 hours. **Conclusion** UTI combined with GHL can significantly improve the intestinal function of mucosal barrier and the motor through the inhibition of both systemic and intestinal mucosal inflammatory reaction in the process of endotoxemia.

Keywords: ulinastain; ghrelin; endotoxemia; intestine function; rat

脓毒症(sepsis)指由感染引起的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),可发展成为多器官功能不全(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。在 ICU 感染患者中,有严重脓毒症或脓毒症休克占 30.8%,并且病死率可达 38.96%[1]。肠道不仅是脓毒症时脏器损害的重要靶器官,肠道功能障碍更是脓毒症的"始动因素",也是由脓毒症发展至 MODS 的重要因素之一[2]。因此,在脓毒症救治过程中,如何保护肠道功能对改善脓毒症预后具有重要意义。乌司他丁(UTI)是一种蛋白酶抑制剂,能同时抑制多种水解酶活性。已发现 UTI 可以

doi:10.11659/jjssx.1672-5042.201401002

[基金项目] 天普研究基金(01201039)

[通讯作者] 黄显凯,E-mail:hxkai123@sina.com

[收稿日期] 2013-09-10 [修回日期] 2013-10-25

抑制炎症介质的过度释放[3],改善微循环和组织灌注,临床已开始用于脓毒症的治疗。Ghrelin(GHL)是生长激素促分泌素受体(growth hormone secretagogue receptor,GHSR)的内源性配体,具有抗炎作用,能改善脓毒症时肠运动功能[4],显示了其针对脓毒症的潜在应用价值。虽然已有的文献认为,UTI、GHL 均可改善脓毒症时脏器功能障碍,减轻炎症反应,但特异针对脓毒症时肠功能障碍的相关研究较少,且相应机制也不甚明了。鉴于肠道在脓毒症发生发展中的重要作用,本实验以内毒素血症为脓毒症模型,观察了 UTI、ghrelin 对内毒素血症大鼠小肠屏障功能、运动功能及全身和肠道局部炎症反应的影响,以期为脓毒症时肠功能障碍的治疗提供理论及实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 SPF 级 SD 大鼠 60 只,雄性,体质量为 220 ~ 240 g,由第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心提供,动物实验前禁食 8 h,禁水 4 h。

1.2 主要试剂及仪器

内毒素粉剂(LPS)、ghrelin、小肠葡聚糖蓝-2000(BD-2000);注射用乌司他丁(规格:每支 10 万 U,国药准字 H19990134);大鼠肿瘤细胞坏死因子(TNF-α)、大鼠白介素 6(IL-6)、大鼠高迁移率族蛋白 1(HMGB1)ELISA 试剂盒;RNA 提取试剂 Trizol Reagent;逆转录试剂盒;PCR 试剂盒;BCA 试剂盒;肠黏膜防御素-5(RD-5)、肠三叶因子家族-3(TFF-3)、β-actin 引物由上海百力格生物技术有限公司合成;光学显微镜、PCR 仪、分光光度计、酶标仪。

1.3 实验分组及脓毒症模型的建立

将 60 只大鼠采用随机数字法随机分为 5 组($n = 12$),分别为对照组(CON 组)、内毒素组(LPS 组)、乌司他丁组(UTI 组)、ghrelin 组(GHL 组)、UTI + ghrelin 组(UTI + GHL 组)。大鼠以 3% 的戊巴比妥钠(35 mg/kg)腹腔注射麻醉。各实验组麻醉后,以 LPS 15 mg/kg 腹腔注射构建内毒素血症模型,CON 组以等量生理盐水代替内毒素腹腔注射。在 LPS 注射后 10 min,UTI 组以 UTI 15×10^4 U/kg 腹腔注射[5],GHL 组给予 ghrelin 25 μg/kg腹腔注射[6],UTI + GHL 组给予 UTI 15×10^4 U/kg + ghrelin 25 μg/kg 腹腔注射,CON、LPS 组给予同等剂量生理盐水。各组 12 h 后再次给药。每个实验组于术后 12 h 和 24 h 分别处死 6 只大鼠并留取标本。

1.4 小肠黏膜屏障功能的测定

1.4.1 观察黏膜组织病理变化 剪取回肠 2 cm,置于 4% 的甲醛水溶液中固定 48 h,石蜡包埋,连续切片(厚度小于5 μm),HE 染色,光镜下观察组织病理学改变。

1.4.2 实时荧光定量 PCR 检测 RD-5 和 TFF3 的 mRNA 表达水平 Trizol 法提取回肠样本中总 RNA,鉴定后以 1 μl RNA 为模板,用 PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser 将其逆转录成 cDNA。按照 SYBR® Premix Ex Taq™ Ⅱ操作说明进行荧光定量 PCR。反应体系 20 μl,扩增条件:94 °C 30 s,94 °C 30 s,55 °C 变性 1 min,70 °C 退火 30 s,共 40 个循环。引物:RD-5,上游为 GAAGACACTTGTCCTCCTTTCTG,下游为 TGTTGCAGATCCCCATAATGCCT;TFF-3,上游为 GATAACCCTGCTGCTGGTCCTG,下游为 GGGCACATTTGGGATGCTGGAG;β-actin,上游为 AGACAGCCGCATCTTCTTGT,下游为 CTTGCCGTGGGTAGAGTCAT。以 β-actin 为参照,采用 Quantity One 图像分析软件计算 mRNA 的相对表达量。

1.5 小肠运动功能测定

随机选取各实验组 6 只大鼠,于造模后 4 h 用浓度为 1% BD-2000(5 mL/kg)给实验组大鼠灌胃,并在造模后 12 h 处死动物,取全肠以 5 g 天平砝码垂挂测量其长度,再测量 BD-2000 染色长度,计算动物小肠传输百分率(小肠传输百分率 = 小肠染色长度/小肠总长度 ×100%)。

1.6 血清炎症因子表达水平测定

处死各组大鼠时经腹主动脉取血,静置 30 min 后,3 000 r/min离心 5 min 取血清,-80 ℃保存。根据 ELISA 试剂盒说明书要求操作,检测血清 TNF-α、IL-6、HMGB1 水平。

1.7 肠黏膜炎症因子表达水平测定

处死各组大鼠时取肠黏膜,与组织裂解液混合充分研磨,静置 30 min 后,12 000 r/min 离心 10 min 取上清,用 BCA 法测蛋白浓度后,用组织裂解液配成 50 μg/μl,-80 ℃保存。根据 ELISA 试剂盒说明书要求操作,检测血清 TNF-α、IL-6、HMGB1。

1.8 统计学方法

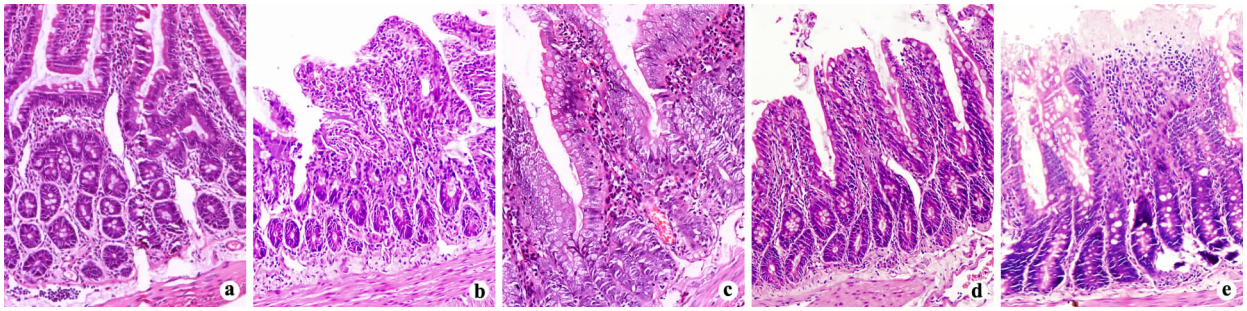
采用 SPSS 13.0 进行统计学分析,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多样本均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 小肠黏膜屏障功能变化

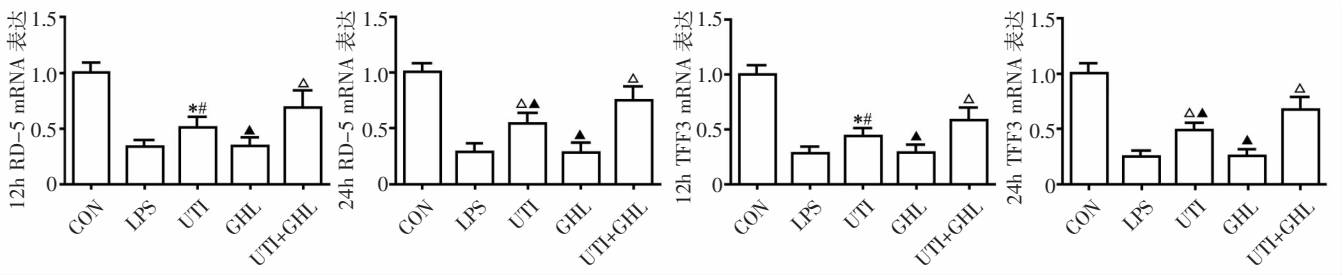
2.1.1 光镜下大鼠小肠组织病理学改变 12 h 时观察:CON 组小肠各层结构清晰,黏膜表层完整,腺体排列整齐;LPS 组小肠绒毛顶端上皮下毛细血管充血及脱落,中央乳糜管扩张,固有层裸露、崩解,毛细血管出血;UTI 组小肠出现小部分绒毛顶端上皮脱落,中央乳糜管小幅度扩张;GHL 组小肠绒毛顶端上皮下毛细血管充血及脱落,中央乳糜管扩张;UTI + GHL 组小肠出现少量绒毛顶端上皮脱落,中央乳糜管小幅度扩张(图 1)。24 h 时镜下观察小肠组织病理学改变与 12 h 时结果类似。

2.1.2 肠黏膜 RD-5 及 TFF3 的 mRNA 表达水平变化 12 h 时 LPS 组 RD-5 及 TFF3 的 mRNA 表达水平较对照组显著下降($P < 0.01$),而 UTI 组和 UTI + GHL 组 RD-5 及 TFF3 的 mRNA 表达水平较 LPS 组明显升高($P < 0.01$),且 UTI + GHL 组提高效果优于 UTI 组($P < 0.05$),而 GHL 组对 RD-5 及 TFF3 的 mRNA表达水平无明显影响($P > 0.05$)。24 h 检测各组数据与 12 h 时结果相似(图 2)。



a:CON 组;b:LPS 组;c:UTI 组;d:GHL 组;e:UTI + GHL 组

图 1　各实验组大鼠 12 h 回肠病理组织切片光镜观察(HE ×200)



*:与 LPS 组比较,$P<0.05$;△:与 LPS 组比较,$P<0.01$;#:与 UTI + GHL 组比较,$P<0.05$;▲:与 UTI + GHL 组比较,$P<0.01$

图 2　各实验组大鼠回肠黏膜不同时间点 RD-5 及 TFF3 的 mRNA 的表达

2.2　小肠 BD-2000 推进率

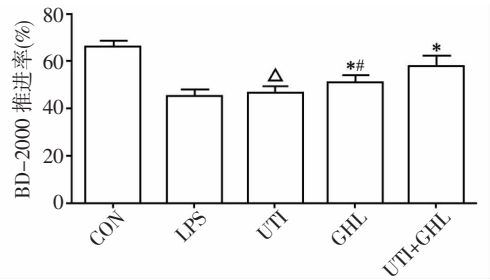
12 h 时间点检测各组小肠 BD-2000 推进率,LPS 组较对照组小肠运动功能减弱明显,而 GHL 组以及 UTI + GHL 组能够改善脓毒症大鼠小肠运动功能($P<0.05$),并且 UTI + GHL 组效果较 GHL 组更为显著($P<0.05$),但 UTI 组无明显改善作用(图 3)。

2.3　血清炎症介质水平变化

12 h、24 h 时间点 LPS 组血清 TNF-α、IL-6、HMGB1 水平显著高于对照组及其余各组($P<0.01$),UTI + GHL 组、UTI 组以及 GHL 组较 LPS 组各时间点 TNF-α、IL-6、HMGB1 水平显著降低($P<0.05$),见图 4。

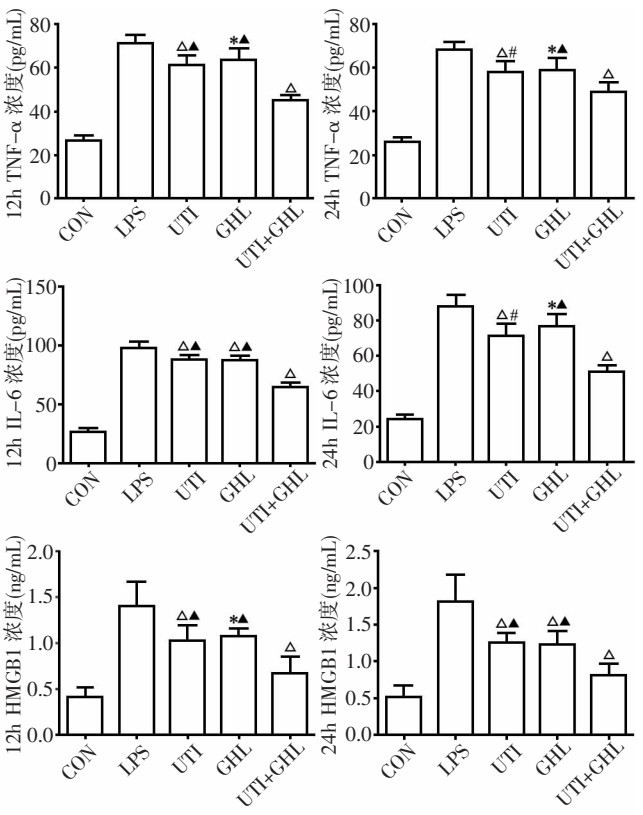
2.4　回肠黏膜炎症介质水平变化

12 h、24 h 时间点 LPS 组回肠黏膜组织中 TNF-α、IL-6、HMGB1 水平显著高于对照组及其余各组($P<0.05$),UTI + GHL 组、UTI 组及 GHL 组 TNF-α、IL-6、HMGB1 水平显著低于 LPS 组($P<0.05$),与血清中检测结果基本一致(图 5)。



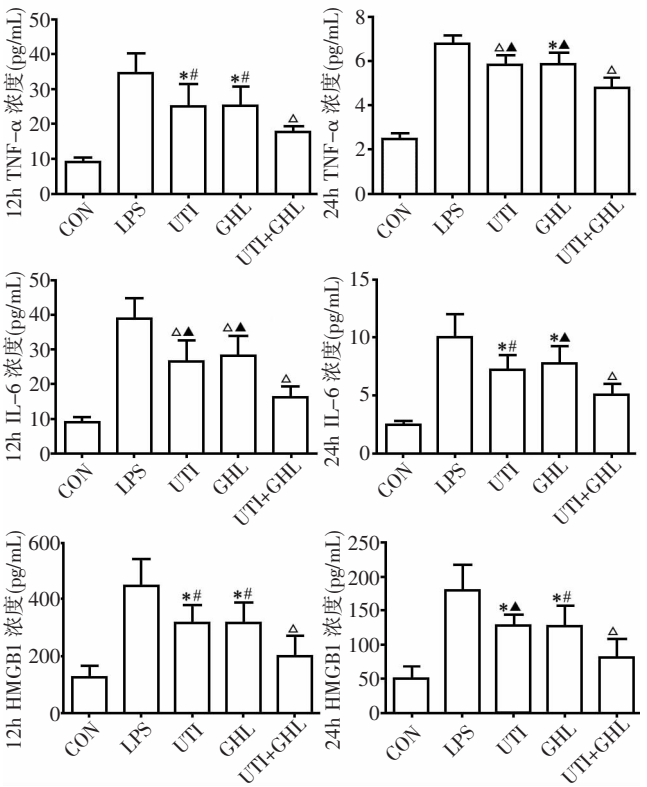
*:与 LPS 组比较,$P<0.01$;#:与 UTI + GHL 组比较,$P<0.05$;△:与 UTI + GHL 组比较,$P<0.01$

图 3　各实验组大鼠小肠 BD-2000 推进率



*:与 LPS 组比较,$P<0.05$;△:与 LPS 组比较,$P<0.01$;#:与 UTI + GHL 组比较,$P<0.05$;▲:与 UTI + GHL 组比较,$P<0.01$

图 4　各组大鼠不同时间点血清 TNF-α、IL-6、HMGB1 水平



*:与 LPS 组比较,$P<0.05$;△:与 LPS 组比较,$P<0.01$;#:与 UTI + GHL 组比较,$P<0.05$;▲:与 UTI + GHL 组比较,$P<0.01$

图 5 各组大鼠不同时间点肠黏膜 TNF-α、IL-6、HMGB1 水平

3 讨论

脓毒症是多因素共同作用导致的获得性疾病,可由先天应激、细胞损伤以及器官功能障碍等因素引起[7],最常累及肠道,造成肠黏膜上皮水肿,上皮细胞膜及细胞间连接断裂,细胞坏死,上皮从绒毛顶端脱落,甚至黏膜全层脱落而形成溃疡。肠道损伤后,其通透性增加、肠屏障功能受损,肠道细菌及其毒素得以吸收进入循环系统而发生细菌移位,使 SIRS 加剧、失控,严重时诱发 MODS,增加救治难度[8]。因而,在脓毒症的防治过程,如何改善肠道功能,是提高其救治成功率的关键之一。

肠道运动功能、消化吸收功能以及屏障功能是维持机体正常功能所必需。肠道屏障由机械屏障、化学屏障、免疫屏障与生物屏障共同构成,其中机械屏障和免疫屏障的功能是判断肠道屏障功能的常见指标。完整的彼此紧密连接的肠黏膜上皮结构构成了肠道的机械屏障;RD-5 和 TFF-3 则是评价肠道免疫屏障功能的标志物。体外实验已经证实 RD-5 在保护肠道屏障功能中发挥着极为重要的作用[9],TFF-3 可与黏液糖蛋白相互作用,具有修复肠黏膜细胞和保护肠黏膜细胞的功能[10]。

在本实验以内毒素诱导的脓毒症模型中,肠黏膜的机械屏障和免疫屏障均受到不同程度的损害,表现为光镜下肠黏膜组织超微结构的改变,例如:小肠绒毛顶端上皮下毛细血管充血及脱落,中央乳糜管扩张,固有层裸露、崩解,毛细血管出血等。同时伴有 RD-5 和 TFF-3 mRNA 的表达下调等。UTI 和 GHL 均能不同程度减轻肠黏膜组织超微结构的损害,同时,UTI 还能上调肠黏膜 RD-5 和 TFF-3 mRNA 的表达,而 GHL 在本实验条件下,未观察到这种作用,但能加强 UTI 的效应。说明 UTI 能有效改善脓毒症时的肠屏障功能,联合应用 GHL 能进一步减轻肠屏障损伤。本实验观察到内毒素血症时动物出现肠运动功能障碍,表现为小肠 BD-2000 推进率明显下降。这种肠动力的缺失,可导致中毒性肠麻痹、肠腔积液积气、麻痹性肠梗阻等,严重者可出现肠缺血坏死、穿孔,甚至引起腹腔间隙综合征(abdominal compartment syndrome, ACS)。应用 GHL 能显著加强内毒素血症大鼠的肠运动功能,其机制可能与降低 Bcl-2 和 Bax 的表达,抑制组织细胞凋亡的发生有关[11]。UTI 虽然对脓毒症时的肠运动功能影响不明显,但能增强 GHL 的作用。

TNF-α、IL-6 和 HMGB1 是脓毒症发生、发展中十分重要的炎症介质,可诱发全身炎症反应,进而造成包括肠道在内的诸多脏器损害[12-14]。已有文献报告,UTI 和 GHL 均可抑制全身炎症反应[15-16]。本实验发现,UTI、ghrelin 不仅能降低脓毒症时血清 TNF-α、IL-6 和 HMGB1 水平,即减轻全身炎症反应,还能显著抑制肠道黏膜组织中的 TNF-α、IL-6 和 HMGB1 水平,即还能抑制肠道黏膜组织的局部炎症反应,且二者在全身及脏器组织局部水平上均有协同作用。因此,本实验观察到的 UTI 对肠屏障功能的保护以及 GHL 促进肠道运动的机制不仅与二者抑制全身炎症反应的效应有关,同时还与其降低肠黏膜局部组织的炎症反应有着密切联系。

肠道屏障功能和运动功能是相互依赖、紧密联系的。肠运动功能的正常依赖于肠屏障结构的完整;反之,肠屏障结构和功能的损害,必然导致肠运动功能的减弱。因而,虽然本实验未观察到脓毒症时 GHL 对肠黏膜有直接的保护作用,但却通过改善肠运动功能,增强了 UTI 对肠黏膜的保护效应。同样,由于对肠黏膜的保护作用,UTI 能增强 GHL 促进肠运动的效应。

综上所述,UTI 联合 ghrelin 能显著改善脓毒症大鼠的肠道功能,其机制可能与其抑制脓毒症大鼠全身

(下转第 11 页)

靠下捆扎子宫下段阻断血供后再进行相应的手术操作(图 1d),以避免在进行外科缝合操作时损伤膀胱输尿管或出现子宫的大量出血而导致出血性休克等并发症。缝合结束后,必须观察 10 ~ 15 min,观察内容包括子宫下段有无膨胀、挤压子宫下段后阴道出血情况以及生命体征。确认阴道出血量明显减少方可关腹,如仍有鲜红色出血及血凝块,立即增加子宫下段环行缝扎圈数。

自我科开展此项缝合技术后,大大减少了前置胎盘致产后大出血采取动脉栓塞术和全子宫切除术的发生率,减少了输血量,也减轻了血源紧张的压力。经临床实践,我们认为子宫下段环形缝合术对前置胎盘致产后大出血止血迅速可靠,安全,无需特殊设备和高超的手术技巧,可保留子宫,值得推广应用。

[参考文献]

[1] El-Hamamy E, Wright A, B-Lynch C. The B-Lynch suture technique for postpartum haemorrhage: a decade of experience and outcome[J]. J Obstet Gynaecol, 2009, 29(4): 278 - 283.

[2] Hayman RG, Arulkumaran S, Steer PJ. Uterine compression sutures: surgical management of postpartum hemorrhage[J]. Obstet Gynecol, 2002, 99(3): 502 - 506.

[3] Cho JH, Jun HS, Lee CN. Hemostatic suturing technique for uterine bleeding during cesarean delivery[J]. Obstet Gynecol, 2000, 96(1): 129 - 131.

[4] Hackethal A, Brueggmann D, Oehmke F, et al. Uterine compression U-sutures in primary postpartum hemorrhage after Cesarean section: fertility preservation with a simple and effective technique[J]. Hum Reprod, 2008, 23(1): 74 - 79.

[5] Dedes I, Ziogas V. Circular isthmic-cervical sutures can be an alternative method to control peripartum haemorrhage during caesarean section for placenta praevia accreta[J]. Arch Gynecol Obstet, 2008, 278(6): 555 - 557.

[6] Hwu YM, Chen CP, Chen HS, et al. Parallel vertical compression sutures: a technique to control bleeding from placenta praevia or accreta during caesarean section[J]. BJOG, 2005, 112(10): 1420 - 1423.

[7] Ying H, Duan T, Bao YR, et al. Transverse annular compression sutures in the lower uterine segment to control postpartum hemorrhage at cesarean delivery for complete placenta previa[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2010, 108(3): 247 - 248.

[8] 俞丽丽,彭珠芸,胡翠芳,等. 背包式缝合技术治疗剖宫产术中宫缩乏力性产后大出血(附 11 例临床分析)[J]. 中国现代手术学杂志, 2011, 15(6): 470 - 473.

(编辑:魏 源)

(上接第 8 页)

炎症反应及肠黏膜局部炎症反应有关,显示了二者联合用于脓毒症时的潜在价值。至于 UTI 和 GHL 在抑制全身及肠黏膜局部组织炎症反应方面的协同作用机制,尚需进一步探索。

[参考文献]

[1] Schuerholz T, Marx, G. Management of sepsis[J]. Minerva Anestesiol, 2008, 74(5): 181 - 195.

[2] Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis[J]. N Engl J Med, 2003, 348(2): 138 - 150.

[3] Inoue K, Takano H. Urinary trypsin inhibitor as a therapeutic option for endotoxin-related inflammatory disorders[J]. Expert Opin Investig Drugs, 2010, 19(4): 513 - 520.

[4] Baatar D, Patel K, Taub DD. The effects of ghrelin on inflammation and the immune system[J]. Mol Cell Endocrinol, 2011, 340(1): 44 - 58.

[5] Cao YZ, Tu YY, Chen X, et al. Protective effect of Ulinastatin against murine models of sepsis: inhibition of TNF-alpha and IL-6 and augmentation of IL-10 and IL-13[J]. Exp Toxicol Pathol, 2012, 64(6): 543 - 547.

[6] Sibilia V, Rindi G, Pagani F, et al. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action[J]. Endocrinology, 2003, 144(1): 353 - 359.

[7] Glück T, Opal SM. Advances in sepsis therapy[J]. Drugs, 2004, 64(8): 837 - 859.

[8] Yu M, Shao D, Liu J, et al. Effects of ketamine on levels of cytokines, NF-kappaB and TLRs in rat intestine during CLP-induced sepsis[J]. Int Immunopharmacol, 2007, 7(8): 1076 - 1082.

[9] Salzman NH, Ghosh D, Huttner KM, et al. Protection against enteric salmonellosis in transgenic mice expressing a human intestinal defensin[J]. Nature, 2003, 422(6931): 522 - 526.

[10] Nie SN, Qian XM, Wu XH, et al. Role of TFF in healing of stress-induced gastric lesions[J]. World J Gastroenterol, 2003, 9(8): 1772 - 1776.

[11] 付荣国,刘晓丹,祁彩霞,等. Ghrelin 对 CKD 大鼠十二指肠消化间期移行性复合运动和 Bcl-2/Bax 表达的影响[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2011, 32(5): 565 - 568.

[12] Naffaa M, Makhoul BF, Tobia A, et al. Interleukin-6 at discharge predicts all-cause mortality in patients with sepsis[J]. Am J Emerg Med, 2013, 31(9): 1361 - 1364.

[13] Aikawa N, Takahashi T, Fujimi S, et al. A Phase II study of polyclonal anti-TNF-α (AZD9773) in Japanese patients with severe sepsis and/or septic shock[J]. J Infect Chemother, 2013, 19(5): 931 - 940.

[14] Yang M, Cao L, Xie M, et al. Chloroquine inhibits HMGB1 inflammatory signaling and protects mice from lethal sepsis[J]. Biochem Pharmacol, 2013, 86(3): 410 - 418.

[15] Fang Y, Xu P, Gu C, et al. Ulinastatin improves pulmonary function in severe burn-induced acute lung injury by attenuating inflammatory response[J]. J Trauma, 2011, 71(5): 1297 - 1304.

[16] Li WG, Gavrila D, Liu X, et al. Ghrelin inhibits proinflammatory responses and nuclear factor-kappaB activation in human endothelial cells[J]. Circulation, 2004, 109(18): 2221 - 2226.

(编辑:余汇洋)