基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001294

HMGB1在脓毒症心肌损害小鼠中的表达及炎症促进作用研究

冯宣云，艾山木，刘　琼

（重庆医科大学附属第一医院急诊医学科 & 重症医学科，重庆　400016）

【摘　要】目的：探究高迁移率族蛋白 B1（high mobility group box-1 protein，HMGB1）在脓毒症心肌损害（sepsis induced myocardial depression，SIMD）中的表达以及通过 HMGB1 抑制剂甘草酸（glycyrrhizin，GL）在 SIMD 中的作用。方法：将小鼠分为正常组、盲肠结扎穿孔（cecal ligation and puncture，CLP）模型组、CLP+PBS 对照组和 CLP+GL 干预组，每组随机分配 5 只 C57BL/6 雄性小鼠，通过 ELISA 检测小鼠血清、心脏匀浆液中高迁移率族蛋白 B1（high mobility group box-1 protein，HMGB1）的表达，RT-PCR 对小鼠心肌组织中 HMGB1 进行定量分析，使用 GL 干预 CLP 小鼠模型后检测外周血中肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白介素-1β（interleukin-1β，IL-1β）、IL-6、IL-10、IL-33 等细胞因子水平变化。结果：①CLP 诱导 SIMD 小鼠模型中，HMGB1 以及心肌损害标志物 cTn Ⅰ 的表达较正常对照组明显升高（$P<0.05$）；②GL 处理 SIMD 小鼠模型后，TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-10、IL-33 等细胞因子以及心肌损害标志物 cTn Ⅰ 表达较对照组和模型组明显降低（$P<0.01$）。结论：抑制 HMGB1 可降低机体各种炎症因子水平，调控脓毒症的失控性炎症效应，减轻脓毒症心肌损害。

【关键词】高迁移率族蛋白 B1；脓毒症心肌损害；炎症因子

【中图分类号】R542.2　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2017-02-12

作者介绍：冯宣云，Email：841735693@qq.com，
研究方向：脓毒症诱导心肌功能障碍的发病机制。

通信作者：艾山木，Email：cjxywh@qq.com，现工作于第三军医大学大坪医院重症医学科。

优先出版：http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170608.1135.008.html（2017-06-08）

[7] Glass CK，Saijo K，Winner B，et al. Mechanisms underlying inflammation in neurodegeneration[J]. Cell，2010，140(6)：918-934.

[8] Huang Y，Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies[J]. Cell，2012，148(6)：1204-1222.

[9] Swanson D，Block R，Mousa SA. Omega-3 fatty acids EPA and DHA：health benefits throughout life[J]. Adv Nutr，2012，3(1)：1-7.

[10] Coupé B，Dutriez-Casteloot I，Breton C，et al. Perinatal undernutrition modifies cell proliferation and brain-derived neurotrophic factor levels during critical time-windows for hypothalamic and hippocampal development in the male rat[J]. J Neuroendocrinol，2009，21(1)：40-48.

[11] Yang RH，Wang F，Hou XH，et al. Dietary ω-3 polyunsaturated fatty acids improves learning performance of diabetic rats by regulating the neuron excitability[J]. Neuroscience，2012，212：93-103.

[12] Cohon C，Wilcock DM. Assessing activation states in microglia[J]. CNS Neurol Disord Drug Targets，2010，9(2)：174-191.

[13] Heneka MT，Kummer MP，Stutz A，et al. NLRP3 is activated in Alzheimer's disease and contributes to pathology in APP/PS1 mice[J]. Nature，2013，493(7434)：674-678.

[14] Bhaskar K，Maphis N，Xu G，et al. Microglial derived tumor necrosis factor-α drives Alzheimer's disease-related neuronal cell cycle events[J]. Neurobiol Dis，2014，62：273-285.

[15] Madore C，Nadjar A，Delpech JC，et al. Nutritional n-3 PUFAs deficiency during perinatal periods alters brain innate immune system and neuronal plasticity-associated genes[J]. Brain Behav Immun，2014，41：22-31.

[16] Ji A，Diao H，Wang X，et al. n-3 polyunsaturated fatty acids inhibit lipopolysaccharide-induced microglial activation and dopaminergic injury in rats[J]. Neurotoxicology，2012，33(4)：780-788.

[17] Scheffel J，Regen T，Van Rossum D，et al. Toll-like receptor activation reveals developmental reorganization and unmasks responder subsets of microglia[J]. Glia，2012，60(12)：1930-1943.

（责任编辑：方　济）

Expression of HMGB1 in sepsis myocardial injury and its role in promoting inflammation

Feng Xuanyun, Ai Shanmu, Liu Qiong

(*Department of Emergency Medicine & Critical Care Medicine, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To explore expression of high mobility group box-1 protein (HMGB1) in sepsis induced myocardial depression (SIMD) and the role of inhibiting glycyrrhizic (GL) in SIMD. ***Methods***: Mice were divided into normal group, cecal ligation and perforation (cecal ligation and puncture, CLP) model group, CLP+PBS control group and CLP+GL group, each group were randomly assigned to 5 male C57BL/6 mice. Expressions of HMGB1 ELISA in serum, heart homogenate, RT-PCR of HMGB1 in myocardial tissue of mice were detected by quantitative analysis of changes the factor level in peripheral blood of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-1β (IL-1β), IL-6, IL-10 and IL-33 cells were detected by GL CLP mice after intervention. ***Results***: CLP induced mouse model of SIMD. HMGB1 and myocardial damage marker expression in cTn Ⅰ was obviously higher than that of normal control group ($P<0.05$). SIMD mice model of GL after treatment, TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-10, IL-33 cytokines, myocardial damage marker cTnI expression was significantly lower than that of control group and the model group ($P<0.01$). ***Conclusion***: Inhibiting HMGB1 can reduce the level of inflammatory factors in the body, control the uncontrolled inflammatory effect of sepsis, and reduce the myocardial damage in sepsis.

【Key words】high mobility group box protein B1; sepsis myocardial damage; inflammatory cytokines

脓毒症(sepsis)是由感染引起的全身失控性炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),具有高发病率、高死亡率等特点,对人类健康造成极大威胁[1]。目前脓毒症发病机制尚未明确,涉及组织损伤、免疫功能障碍、基因多态性、全身炎症网络效应等多个方面[2]。脓毒症、严重脓毒、脓毒性休克及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)是反映体内一系列病理生理及临床病情恶化的动态过程,其本质是机体全身失控性炎症反应持续恶化的结果[3]。在急诊、重症医学领域中,脓毒症患者往往来势迅猛,大多已处于休克或 MODS 状态,治疗上面临极大的困难。而脓毒症心肌损害(sepsis induced myocardial depression, SIMD)是机体发生脓毒症时引起心脏射血分数降低,在临床上发生率可达 60%,是导致脓毒症患者死亡的重要原因[4]。心脏作为脓毒症最常受累的器官,其功能受损严重程度与脓毒症病死率升高密切相关。有研究表明脓毒症伴有 SIMD 患者其病死率显著增加(70%~90%),而不伴有 SIMD 患者其病死率约为 20%[5]。因此研究 SIMD 的病理机制有着重大意义,改善脓毒症心肌功能障碍,能够在一定程度上降低脓毒症的病死率。

高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)作为高度保守的蛋白广泛分布于所有类型细胞的细胞核和细胞质中[6]。1999 年 Wang 等[7]首次报道了 HMGB1 作为新型潜在的晚期炎症介质参与脓毒症的发病过程,是内毒素致死效应的重要炎症介质。有研究证明 HMGB1 参与了脓毒症局部脏器功能损害[8],那么在脓毒症心肌损害中是否发挥作用目前还没有相关确切的报道,本文就 HMGB1 在脓毒症心肌损害中的作用作如下研究。

1 材料和方法

1.1 小鼠和分组

C57BL/6 雄性小鼠(8~12 周)购自重庆医科大学实验动物中心。小鼠保持在无特定病原、(22±2) ℃、30%~40%潮湿度和 12 h 光/暗周期的环境条件,食物和水自由采食。所有研究方案均经机构动物护理和重庆医科大学使用委员会的相关指南。将小鼠分为正常组、CLP 模型组、CLP+PBS 对照组以及 CLP+GL 实验组,每组随机分配 5 只 C57BL/6 雄性小鼠。

1.2 构建盲肠结扎穿孔(cecal ligation and puncture, CLP)小鼠模型

小鼠腹腔注射水合氯醛(3.5%)进行麻醉,麻醉效果满意后将小鼠固定于一小木板上,进行腹部常规消毒,取正中切口约 1.5 cm,逐层切开进入腹腔,寻找到游离盲肠,结扎盲肠游离端 1/2 长度,18G 针头在结扎端中点沿肠系膜纵轴方向

贯通穿刺 1 次，两穿刺孔各挤出肠内容物一小滴，然后将结肠回纳腹腔并逐层缝合关腹。正常对照组仅用作平行对照。假手术组开腹后，探查取出盲肠后，还纳腹腔，关腹。

1.3 血浆及心脏匀浆液细胞因子的测定，血浆肌钙蛋白Ⅰ（cTnⅠ）的测定

血浆及心脏匀浆液中 HMGB1（美国 R&D 公司制造）、血浆中肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白介素（interleukin，IL）1β、IL-6、IL-10、IL-33、cTnⅠ（中国上海制造）采用 ELISA 试剂盒进行定量测定。

1.4 组织病理

将心脏组织固定于 4%甲醛溶液 24 h，然后脱水石蜡包埋，最后 4 μm 苏木精-伊红染色，在光下观察心肌组织病理改变。根据心肌组织间质水肿、中性粒细胞浸润程度评估心肌损伤程度。

1.5 RT-PCR

TRIzol 试剂（大连 Takara 公司），放射免疫试剂盒（大连 Takara公司），cDNA 第 1 链合成试剂盒及 PCR 扩增试剂盒（大连 Takara 公司），引物基因序列通过 GenBank 获得，引物序列设计由 Takara 公司合成，引物序列：GAPDH（上游引物：5-TTCACCACCATGGAGAAGGC-3'，下游引物：5-GGC-ATGGACTGTGGTCATGA-3'）。HMGB1（上游引物：5'-TGGC-AAAGGCTGACAAGGCTC-3'，下游引物：5'-GGATGCTCG-CCTTTGATTTTGG-3'）。

1.6 HMGB1 抑制剂

在造模前 1 h，按照 0.5 mL 生理盐水中溶解 10 mg 甘草酸（glycyrrhizin，GL）剂量予以小鼠腹腔内注射 HMGB1 抑制剂，对照组予以同等剂量的生理盐水进行腹腔注射，分别取 6、12、24 h 小鼠血清标本进行定量分析。

1.7 数据分析

采用 SPSS 19.0 统计软件分析，实验数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，HMGB1（外周血、心脏匀浆液以及心肌组织）、外周血 cTnⅠ在正常和模型小鼠中的数据比较采用两独立样本 t 检验方法，其余数据采用两因素重复测量方差分析，组间的两两比较使用 LSD-t 法，检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 HMGB1 在正常组以及模型组外周血、心脏匀浆液和心肌组织中的表达

采用 ELISA 方法检测正常和 24 h CLP 模型小鼠HMGB1（外周血、心脏匀浆液）、外周血 cTnⅠ的表达，RT-PCR 检测正常和 24 h 模型小鼠心脏组织 HMGB1 表达，结果见表 1，其表达均增高，差异有统计学意义（P<0.05）。

2.2 抑制 HMGB1 后相关细胞因子在 CLP 模型组、CLP+GL 干预组以及 CLP+PBS 对照组中的表达

抑制 HMGB1 后取小鼠外周血，采用 ELISA 方法检测其中 TNF-α、IL-1β、IL-6、IL-10、IL-33 的表达，结果见表 2。TNF-α 因子在 6、12、24 h 各个时间点中 CLP 模型组高于 CLP+GL 干预组（t_D=2.88、3.02、2.76，P=0.041、0.039、0.043），而 CLP 模型组和 CLP+PBS 对照组无明显差异（t_D=0.29、0.38、0.13，P=0.79、0.720、0.903），CLP+PBS 对照组高于 CLP+GL 干预组（t_D=2.98、2.92、3.18，P=0.037、0.043、0.033）；IL-1β 因子在 6、12 h 时间点中 CLP 模型组高于 CLP+GL 干预组（t_D=3.07、3.02，P=0.037、0.039），而 CLP 模型组和 CLP+PBS 对照组无明显差异（t_D=0.57、0.47，P=0.599、0.661），CLP+PBS 对照组高于 CLP+GL 干预组（t_D=3.74、4.73，P=0.020、0.009），在 24 h 时间点各组之间差异均无统计意义；IL-6 因子在 12 h 时间点中 CLP 模型组高于 CLP+GL 干预组（t_D=4.77，P=0.008），而 CLP 模型组和 CLP+PBS 对照组无明显差异（t_D=0.13，P=0.899），CLP+PBS 对照组高于 CLP+GL 干预组（t_D=4.95，P=0.007），在 6、24 h 时间点各组之间差异均无统计意义；IL-10 因子在 6 h 中 CLP 模型组高于 CLP+GL 干预组（t_D=4.78，P=0.008），而 CLP 模型组和 CLP+PBS 对照组无明显差异（t_D=2.49，P=0.695），CLP+PBS 对照组高于 CLP+GL 干预组（t_D=4.91，P=0.008），在 12、24 h 时间点各组之间差异均无统计意义；IL-33 因子在 6、12 h 时间点各组之间差异均无统计意义，在 24 h中 CLP模型组高于 CLP+GL 干预组（t_D=3.64，P=0.022），而 CLP 模型组和 CLP+PBS 对照组无明显差异（t_D=1.69，P=0.166），CLP+PBS 对照组高于 CLP+GL 干预组（t_D=3.77，P=0.019）。通过小鼠外周血相关细胞因子在 3 组模型之间的数据比较，提示在给予 HMGB1 抑制剂 GL 后小鼠体内各种炎性细胞因子的表达水平明显降低。

2.3 抑制 HMGB1 后小鼠心肌损害标记物 cTnⅠ表达结果

抑制 HMGB1 后取小鼠外周血采用 ELISA 检测心肌损害标记物 cTnⅠ，cTnⅠ在各组之间总体差异比较有统计学意义（P<0.05），见表 3。在 6、12、24 h 各个时间点中 CLP 模型组高于 CLP+GL 干预组（t_D=5.98、4.15、4.46，P=0.003、0.014、

表 1 正常小鼠和 CLP 模型小鼠外周血、心脏匀浆液以及心肌组织中 HMGB1 的表达

Tab.1 Expression of HMGB1 in peripheral blood, heart homogenate and myocardium of normal and CLP model mice

组别	外周血	心脏匀浆液	心肌组织（PCR-HMGB1）	外周血（cTnI）
正常组（n=5）	455.85 ± 102.15	373.19 ± 115.12	0.90 ± 0.39	50.98 ± 7.24
CLP 模型组（n=5）	1 054.81 ± 96.98	1 126.81 ± 253.66	2.84 ± 0.21	198.93 ± 12.51
t 值	9.51	6.05	9.88	22.88
P 值	0.00	0.00	0.00	0.00

0.011），而 CLP 模型组和 CLP+PBS 对照组无明显差异（t_D=0.46、0.21、0.67，P=0.670、0.847、0.542），CLP+PBS 对照组高于CLP+GL 干预组（t_D=4.32、4.96、3.52，P=0.012、0.007、0.024）。通过小鼠心肌损害标记物 cTn Ⅰ在 3 组模型之间的数据比较，提示在给予 HMGB1 抑制剂 GL 后小鼠体内心肌损害标记物 cTn Ⅰ的表达水平明显降低。

2.4 不同处理心肌组织病理结构变化

在给予 HMGB1 抑制剂甘草酸前和甘草酸后分别取各组心肌组织进行苏木精-伊红染色，在光下观察心肌组织病理改变（图 1）。根据心肌纤维变性或断裂，心肌细胞溶解、水肿、坏死，间质水肿以及淋巴细胞、单核细胞浸润程度判断其心肌损伤严重度。

表 2 抑制 HMGB1 后小鼠外周血中各相关细胞因子的表达

Tab.2 Inhibitory effect of HMGB1 on the expression of cytokines in peripheral blood of mice

	组别		6 h	12 h	24 h
TNF-α	CLP模型组（n=5）		102.11 ± 8.70	127.14 ± 10.23	146.93 ± 9.59
	CLP+PBS 对照组（n=5）		103.63 ± 4.51	128.72 ± 12.27	147.67 ± 5.41
	CLP+GL 干预组（n=5）		74.29 ± 24.35	80.55 ± 25.18	112.53 ± 25.15
	重复测量设计（F,P）	分组因素		26.300,0.000	
		时间因素		26.100,0.000	
		时间 × 分组因素		0.600,0.671	
IL-1β	CLP模型组（n=5）		4.76 ± 0.78	2.93 ± 0.72	0.79 ± 0.12
	CLP+PBS 对照组（n=5）		4.65 ± 0.48	3.18 ± 0.86	0.78 ± 0.14
	CLP+GL 干预组（n=5）		3.43 ± 0.49	1.76 ± 0.71	0.73 ± 0.12
	重复测量设计（F,P）	分组因素		12.000,0.000	
		时间因素		143.600,0.000	
		时间 × 分组因素		2.600,0.054	
IL-6	CLP模型组（n=5）		72.91 ± 12.99	131.14 ± 17.83	114.97 ± 12.76
	CLP+PBS 对照组（n=5）		73.51 ± 15.98	131.58 ± 13.21	115.68 ± 15.62
	CLP+GL 干预组（n=5）		68.91 ± 17.33	81.14 ± 13.68	92.93 ± 17.93
	重复测量设计（F,P）	分组因素		13.900,0.000	
		时间因素		33.600,0.000	
		时间 × 分组因素		3.800,0.012	
IL-10	CLP模型组（n=5）		277.85 ± 44.39	34.37 ± 7.59	24.14 ± 7.80
	CLP+PBS 对照组（n=5）		266.18 ± 41.01	37.29 ± 7.79	26.45 ± 11.65
	CLP+GL 干预组（n=5）		188.11 ± 41.01	25.16 ± 7.79	11.80 ± 11.65
	重复测量设计（F,P）	分组因素		10.400,0.000	
		时间因素		377.500,0.000	
		时间 × 分组因素		4.700,0.004	
IL-33	CLP模型组（n=5）		62.51 ± 14.02	77.34 ± 16.46	77.34 ± 16.46
	CLP+PBS 对照组（n=5）		60.63 ± 20.44	75.34 ± 11.85	75.34 ± 11.85
	CLP+GL 干预组（n=5）		58.63 ± 13.36	63.94 ± 9.43	63.94 ± 9.43
	重复测量设计（F,P）	分组因素		5.100,0.012	
		时间因素		22.400,0.000	
		时间 × 分组因素		1.800,0.160	

表 3 抑制 HMGB1 后小鼠心肌损害标记物 cTnI 的表达

Tab.3 Inhibition of HMGB1-induced myocardial damage marker cTnI expression in mice

组别		6 h	12 h	24 h
CLP模型组（n=5）		150.51 ± 9.92	163.14 ± 11.16	198.93 ± 12.51
CLP+PBS 组（n=5）		146.51 ± 20.37	161.14 ± 22.57	194.92 ± 15.82
CLP+GL 组（n=5）		92.51 ± 19.44	115.14 ± 18.29	134.93 ± 25.96
重复测量设计（F,P）	分组因素		46.400,0.000	
	时间因素		25.400,0.000	
	时间 × 分组因素		0.300,0.897	

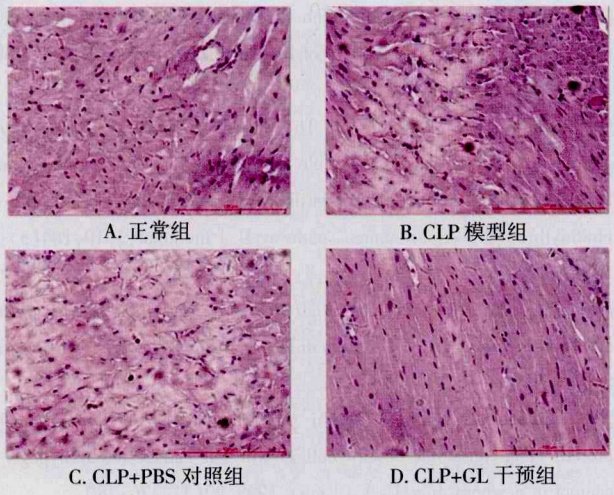


图 1 心肌组织 HE 染色结果(40×)

Fig.1 HE staining of cardiac muscle tissue(40×)

3 讨 论

脓毒症是临床上一个高发病率、高死亡率的疾病，它常合并多器官功能障碍，据相关数据统计脓毒症合并心肌损害约为 60%[4]，在此基础上合并心功能障碍患者病死率为 70%~80%，未合并心功能障碍患者病死率为 20%[5]。一项最新 Meta 分析研究发现，在 636 名脓毒症患者中，有 48%的患者合并有心肌舒张功能障碍并且与死亡率成正相关，而在 581 名脓毒症患者中，有近 30%的患者合并有心肌收缩功能障碍，但却与死亡率没有明显关系，可见脓毒症心肌功能损害导致的心脏舒张功能障碍是 SIMD 患者死亡的主要原因[24]。SIMD 临床主要表现为心肌收缩力下降、左心室射血分数降低、外周血管扩张、可逆性的双心室扩张等，其发病机制十分复杂，早期研究显示脓毒症心肌损害时一氧化氮、心肌细胞凋亡、钙离子稳态失衡以及自主神经功能失调等环节发挥了重要作用。但近期研究显示心肌抑制因子在脓毒症休克进展中是导致心肌抑制的最重要因素，包括 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 等，TNF-α 是脓毒症早期导致心脏收缩功能障碍的主要炎症因子，其主要机制是诱导一氧化氮合成酶产生，一氧化氮浓度增高，导致心肌抑制；IL-1β 则是由巨噬细胞等多种效应细胞经 TNF-α 刺激后产生的心肌抑制因子，它与 TNF-α 有协同作用，可见机体内各种炎症因子在 SIMD 中发挥着重要作用，因此研究体内细胞因子间的作用机制可能是探索治疗 SIMD 的新方向。

HMGB1 是一大类富含电荷的低分子量核蛋白，其分子结构包括 DNA 结合区（A 盒和 B 盒）和一个负性的 C 末端[9]。有研究表明 B 盒最初的 40 个肽段能诱导 TNF-α 和 IL-6 产生，是 HMGB1 发挥促炎作用的有效区域[10-11]。HMGB1 几乎存在于所有哺乳动物体细胞中，广泛分布于淋巴组织、脑、肝、肺、心、脾、肾等组织，正常生理情况下，HMGB1 为一种 DNA 结合蛋白，能调节基因转录；能与线性 DNA 结合维持其螺旋结构；能调节甾体类激素受体的活性，胞内的 HMGB1 对细胞或生物体的存活有重要意义，但当机体遭受炎症打击或者损伤应激情况下，单核巨噬细胞等免疫细胞被激活而主动释放 HMGB1，使其作为促炎细胞因子启动晚期炎症免疫应答[12-14]。目前研究证明，HMGB1 主要通过坏死细胞的被动释放、单核巨噬细胞系统的主动释放这 2 种途径被分泌到胞外，其表达量与脓毒症严重程度呈正比[15]。动物实验证实，小鼠在遭受致死剂量内毒素攻击后数天死亡，HMGB1 仍在小鼠血清中有较高表达，因此相对于早期炎症介质而言，HMGB1 具有释放时间长、维持时间长等特点，对机体炎症反应的发生、发展以及转归等均具有调控作用，因而 HMGB1 则可能成为脓毒症治疗的新靶点[7]。在本实验研究中，发现 CLP 模型中给予 HMGB1 抗体后，小鼠血清的各种炎症细胞因子有明显下降，且心肌组织的损害程度也较使用抗体前有所减轻，因此 HMGB1 可能会给临床治疗脓毒症及其并发症提供新的思路和更大范围的治疗时间窗。

脓毒症时，HMGB1 在血循环中高表达，并作为晚期炎症因子参与全身炎症反应，随着炎症级联反应的加重，心脏也同样受到各种炎症因子、氧化应激、缺血再灌注等病理因素的打击，多种炎症因子等都可能会作为心肌抑制物质导致脓毒症心功能障碍[16]。有报道指出脂多糖能够诱导有活力的心肌细胞通过 TLR4 或磷脂酰肌醇 3 激酶 γ 信号转导通路分泌 HMGB1，在脓毒症期间，受损的心肌细胞可能扮演一个免疫细胞作用产生危险信号 HMGB1，按旁分泌的方式作用于邻近心肌细胞表面 RAGE 和 TLR4 受体，从而降低心肌收缩力[17-19]。又有研究发现 HMGB1 诱导促炎因子分泌的作用在很大程度上依赖 RAGE，在 RAGE 基因敲除小鼠 CLP 模型中炎症因子的表达明显下降，在同一模型中使用 RAGE中和抗体则显著减弱了 HMGB1 对心肌细胞的负性肌

力作用[20-21]。同样对比研究发现，使用 TLR4 中和抗体同样使接受 HMGB1 处理的心肌细胞肌小节缩短程度有了明显的改善，说明 HMGB1 可能某种程度上通过结合 RAGE 和 TLR4 介导对心肌细胞的负性肌力作用[22-23]，提示有必要进一步研究HMGB1 与脓毒症心肌损害的具体机制，积极寻找干预的靶点，改善脓毒症心功能，从一定程度上降低脓毒症病死率。

本文通过实验发现盲肠结扎穿孔造模后小鼠的心肌组织中 HMGB1 表达含量明显升高，并持续至数小时仍呈高表达，在给予 HMGB1 抑制剂后相关促炎因子表达明显降低，说明 HMGB1 在小鼠的脓毒症心肌损害中发挥着重要作用，但动物实验的研究与临床应用还具有一定的差距，因此将来的研究应结合临床探索其表达水平与脓毒症患者心功能障碍的相关性，并积极寻找适合临床应用的拮抗的药物，尽可能降低脓毒症心肌损害患者的病死率。

参 考 文 献

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

[2] Mishnev OD, Grinberg LM, Zairat'yants OV. Actual problems of the pathology of sepsis: 25 years in search of a consensus[J]. Arkh Patol, 2016, 78(6): 3-8.

[3] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016[J]. Crit Care Med, 2017, 43(3): 304-377.

[4] Vieillard-Baron A, Caille V, Charron C, et al. Actual incidence of global left ventricular hypokinesia in adult septic shock[J]. Crit Care Med, 2008, 36(6): 1701-1706.

[5] Wang X, Zingarelli B, O'Connor M, et al. Overexpression of Hsp20 prevents endotoxin-induced myocardial dysfunction and apoptosis via inhibition of NF-kappaB activation[J]. J Mol Cell Cardiol, 2009, 47(3): 382-390.

[6] 高 峰，徐 昉. HMGB1 在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中的研究进展[J]. 重庆医科大学学报，2014，39(9)：1193-1196.

[7] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMGB-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice[J]. Science, 1999, 285(5425): 248-251.

[8] Oozawa S, Mori S, Kanke T, et al. Effects of HMGB1 on ischemia-reperfusion injury in the rat heart[J]. Circ J, 2008, 72(7): 1178-1184.

[9] Tzeng HP, Fan J, Vallejo JG, et al. Negative inotropic effects of high-mobility group box 1 protein in isolated contracting cardiac myocytes[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 294(3): H1490-1496.

[10] Sappington PL, Yang R, Yang H, et al. HMGB1 B box increases the permeability of Caco-2 enterocytic monolayers and impairs intestinal barrier function in mice[J]. Gastroenterology, 2002, 123(3): 790-802.

[11] Li J, Kokkola R, Tabibzadeh S, et al. Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1[J]. Mol Med, 2003, 9(1-2): 37-45.

[12] Xu H, Su Z, Wu J, et al. The alarmin cytokine, high mobility group box 1, is produced by viable cardiomyocytes and mediates the lipopolysaccharide-induced myocardial dysfunction via a TLR4/phosphatidylinositol 3-kinase gamma pathway[J]. J Immunol, 2010, 184(3): 1492-1498.

[13] Yang H, Ochani M, Li J, et al. Reversing established sepsis with antagonists of endogenous high-mobility group box1[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(1): 296-301.

[14] Calogero S, Grassi F, Aguzzi A, et al. The lack of chromosomal protein Hmgl does not disrupt cell growth but causes lethal hypoglycaemia in newborn mice[J]. Nat Genet, 1999, 22(3): 276-280.

[15] Angus DC, Yang L, Kong L, et al. Circulating high-mobility group box 1(HMGB1) concentrations are elevated in both uncomplicated pneumonia and pneumonia with severe sepsis[J]. Crit Care Med, 2007, 35(4): 1061-1067.

[16] Cho W, Koo JY, Park Y, et al. Treatment of sepsis pathogenesis with high mobility group box protein 1-regulating anti-inflammatory agents[J]. J Med Chem, 2017, 60(1): 170-179.

[17] Rui T, Kvietys PR. NFkappaB and AP-1 differentially contribute to the induction of Mn-SOD and eNOS during the development of oxidant tolerance[J]. FASEB J, 2005, 19(13): 1908-1910.

[18] Madorin WS, Rui T, Sugimoto N, et al. Cardiac myocytes activated by septic plasma promote neutrophil transendothelial migration: role of platelet-activating factor and the chemokines LIX and KC[J]. Circ Res, 2004, 94(7): 944-951.

[19] Neviere RR, Cepinskas G, Madorin WS, et al. LPS pretreatment ameliorates peritonitis-induced myocardial inflammation and dysfunction: role of myocytes[J]. Am J Physiol, 1999, 277(3Pt2): H885-892.

[20] Tsung A, Sahai R, Tanaka H, et al. The nuclear factor HMGB 1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion[J]. J Exp Med, 2005, 201(7): 1135-1143.

[21] Herzog C, Lorenz A, Gillmann HJ, et al. Thrombomodulin's lectin-like domain reduces myocardial damage by interfering with HMGB1-mediated TLR2 signalling[J]. Cardiovasc Res, 2014, 101(3): 400-410.

[22] Giallauria F, Cirillo P, Lucci R, et al. Effects of exercise-based cardiac rehabilitation on high mobility group box-1 levels after acute myocardial infarction: rationale and design[J]. J Cardiovasc Med(Hagerstown), 2009, 10(8): 659-663.

[23] Karuppagounder V, Giridharan VV, Arumugam S, et al. Modulation of macrophage polarization and HMGB1-TLR2/TLR4 cascade plays a crucial role for cardiac remodeling in senescence-accelerated prone mice[J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0152922.

[24] Sanfilippo F, Corredor C, Fletcher G, et al. Diastolic dysfunction and mortality in septic patients: a systematic review and meta-analysis[J]. Intensive Care Med, 2015, 41(6): 1004-1013.

（责任编辑：冉明会）