

## · 论著 ·

p38 丝裂素活化蛋白激酶/核转录因子- $\kappa$ B 转导通路在脓毒症所致内皮细胞凝血功能障碍中的作用

梁英健 马晓春 李鑫

**【摘要】** 目的 探讨 p38 丝裂素活化蛋白激酶/核转录因子- $\kappa$ B (p38MAPK/NF- $\kappa$ B) 是否参与了脓毒症所致的内皮细胞凝血功能障碍。方法 选取 22 例脓毒症患者血浆刺激人脐静脉内皮细胞 (HUVEC), 以 8 名健康人血浆刺激 HUVEC 60 min 作为阴性对照, 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 作为阳性对照。用酶联免疫吸附法 (ELISA)、蛋白质免疫印迹法 (Western blotting)、免疫荧光法检测 p38MAPK 和 NF- $\kappa$ B 的磷酸化。结果 脓毒症患者血浆 TNF- $\alpha$  水平 (ng/L) 明显高于健康对照者 ( $155.68 \pm 89.74$  比  $5.00 \pm 0.47$ ,  $P < 0.01$ )。与 20% 的健康人血浆比较, 用 20% 的脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 后, 组织因子 (TF,  $\mu$ g/L) 于 180 min 时达高峰 ( $5.87 \pm 0.14$  比  $1.25 \pm 0.11$ ,  $P < 0.01$ ), 血管性血友病因子 (vWF,  $\mu$ g/L) 于 120 min 达到高峰 ( $9.59 \pm 0.07$  比  $3.59 \pm 0.06$ ,  $P < 0.01$ ) 并随后下降。用 20% 的脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 后 p38MAPK 和 NF- $\kappa$ B 发生活化, p38MAPK 的活化早于 NF- $\kappa$ B (2 min 比 5 min); 加入 p38MAPK 特异性抑制剂 SB239063 后, NF- $\kappa$ B 的磷酸化和核移位受阻。结论 p38MAPK/NF- $\kappa$ B 转导通路在脓毒症引起的凝血功能障碍中具有一定的作用。

**【关键词】** 脓毒症; 信号转导通路; p38 丝裂素活化蛋白激酶; 核转录因子- $\kappa$ B; 内皮细胞; 凝血

**The role of p38 mitogen-activated protein kinase/nuclear factor- $\kappa$ B transduction pathway on coagulation disorders due to endothelial injury induced by sepsis** LIANG Ying-jian, MA Xiao-chun, LI Xin. Intensive Care Unit, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China  
Corresponding author: MA Xiao-chun, Email: xcma2972@sina.com

**【Abstract】** **Objective** To determine the activation status of p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK)/nuclear factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) in coagulation disorders due to endothelial injury induced by sepsis. **Methods** Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) were exposed to plasma obtained from 22 patients suffering from sepsis. Plasma was also obtained from 8 healthy individuals to serve as negative control, and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) was used as positive control. Phosphorylation and activity of p38MAPK and NF- $\kappa$ B were determined with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), Western blotting, and immunofluorescence assay. **Results** The level of TNF- $\alpha$  (ng/L) in sepsis plasma was significantly higher than that in healthy plasma ( $155.68 \pm 89.74$  vs.  $5.00 \pm 0.47$ ,  $P < 0.01$ ). Compared with healthy plasma in 20% concentration it was found when HUVECs were treated with sepsis plasma in 20% concentration, tissue factor (TF,  $\mu$ g/L) reached the peak at 180 minutes ( $5.87 \pm 0.14$  vs.  $1.25 \pm 0.11$ ,  $P < 0.01$ ), von Willebrand factor (vWF,  $\mu$ g/L) reached the peak at 120 minutes ( $9.59 \pm 0.07$  vs.  $3.59 \pm 0.06$ ,  $P < 0.01$ ), then they began to decline. When HUVECs were treated with sepsis plasma in 20% concentration increased phosphorylation and activity of p38MAPK and NF- $\kappa$ B, phosphorylation of p38MAPK occurred before phosphorylation of NF- $\kappa$ B (2 minutes vs. 5 minutes). When the inhibitor of p38MAPK (SB239063) was added, NF- $\kappa$ B phosphorylation (activation) and NF- $\kappa$ B nuclear translocation were inhibited. **Conclusion** This study demonstrates that p38MAPK/NF- $\kappa$ B transduction pathway plays an important role in septic coagulopathy.

**【Key words】** Sepsis; Signal transduction pathway; p38 mitogen-activated protein kinase; Nuclear factor- $\kappa$ B; Endothelial cell; Coagulation

脓毒症 (sepsis) 是由感染导致的全身炎症反应综合征 (SIRS)。感染后巨噬细胞被激活, 产生各种促炎细胞因子, 这种过度的全身炎症反应导致脓毒

症和致死性多器官功能衰竭<sup>[1-2]</sup>。脓毒症常伴有凝血功能异常, 其机制主要为组织因子 (TF) 的表达增加和循环中天然抗凝蛋白减少<sup>[3]</sup>。凝血系统的活化也促进了脓毒症的发展, TF-FVIa 复合物、活化的 X 因子、凝血酶和纤维蛋白原都可以促进内皮细胞和白细胞分泌促炎细胞因子, 促进白细胞黏附分子及血小板活化因子的合成与释放。在脓毒症患者引发多器官功能障碍综合征 (MODS) 的过程中, 内皮细胞的活化-损伤起了重要的作用<sup>[4]</sup>。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.09.006

基金项目: 辽宁省科技厅药物源头创新研究项目 (2007-01-27-7); 辽宁省教育厅高校科研计划项目 (2008836); 辽宁省沈阳市科技项目 (F10-205-1-01)

作者单位: 110001 辽宁沈阳, 中国医科大学附属第一医院重症医学科

通信作者: 马晓春, Email: xcma2972@sina.com

已知在炎症介质表达的调控中,核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B)被激活和核移位是关键的一步<sup>[5-6]</sup>。大多数炎症介质,如细胞间黏附分子(ICAM)、内皮细胞黏附分子(ECAM)、E-选择素、白细胞介素(IL-1、IL-6、IL-8)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )以及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)等表达均有NF- $\kappa$ B参与调控<sup>[6-7]</sup>。p38丝裂素活化蛋白激酶(p38MAPK)是MAPK家族成员之一,在肿瘤的发生、应激反应、炎症、缺血/再灌注损伤以及免疫调控等领域发挥着重要作用。炎性细胞接受各种刺激后可产生和释放炎症介质,这一过程就是通过细胞内的信号转导途径完成的。

信号转导通路是凝血与炎症相互影响的病理生理基础。已有研究证实,通过p38MAPK/NF- $\kappa$ B通路可使脓毒症诱导的心肌细胞进入炎症表型<sup>[8]</sup>。那么在脓毒症引起的凝血功能障碍中是否也存在p38MAPK/NF- $\kappa$ B通路调节内皮细胞的功能,至今仍不明确。因此,探讨对凝血和炎症反应都具有重要意义的信号转导机制,可能具有广阔的应用前景,成为治疗脓毒症的新途径。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象及血浆获取:**选取腹腔感染患者22例,均符合美国胸科医师协会/危重病医学会(ACCP/SCCM)提出的SIRS诊断标准的全部或至少2项。8名健康体检者为健康对照组。脓毒症患者于发病24 h内采血10 ml,健康人采血5 ml。枸橼酸钠抗凝,4℃离心15 min,获得血浆,分装后-70℃保存。本研究经医院伦理委员会批准,患者均填写了知情同意书。

**1.2 内皮细胞培养:**人脐静脉内皮细胞(HUVEC)购自复旦大学医学部。细胞复苏后于含20%胎牛血清的DMEM(美国Gibco公司)培养液中传代,所有实验细胞在体外扩增均不超过15代。

**1.3 脓毒症患者血浆刺激HUVEC上清液的制备:**将HUVEC经胰蛋白酶消化后,调整细胞数为 $5 \times 10^5$ /ml,接种于24孔板中,培养箱中培养36~48 h,换无酚红无血清的DMEM培养液培养24 h,使细胞同步于G<sub>0</sub>期。阴性对照组加入健康人血浆;脓毒症组分别加入10%、20%、30%的脓毒症患者血浆;拮抗剂组分别加入p38MAPK特异性抑制剂SB239063(美国Sigma公司)10  $\mu$ mol/L或细胞外信号调节激酶(ERK)阻滞剂U0126(美国Sigma公司)25  $\mu$ mol/L,1 h后再加入20%的脓毒症患者血浆。收集上清液,离心后分装,-70℃冻存。

**1.4 TNF- $\alpha$ 和TF、血管性血友病因子(vWF)检测:**采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定。人TNF- $\alpha$  ELISA试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司,人TF、vWF ELISA试剂盒购自美国ADL公司,操作严格按试剂盒说明书进行,每组样品做3个复孔。

**1.5 内皮细胞蛋白表达检测:**应用蛋白质免疫印迹法(Western blotting)检测健康人血浆及脓毒症患者血浆和TNF- $\alpha$ 刺激HUVEC后10、30、60、120、180 min的MAPK亚基和NF- $\kappa$ B蛋白表达。以健康人血浆刺激HUVEC 60 min为阴性对照,TNF- $\alpha$  20  $\mu$ g/L为阳性对照。超声裂解HUVEC,提取蛋白,二喹啉甲酸(BCA)法测定蛋白浓度。经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离蛋白、转膜,再用含5%脱脂奶粉的吐温20三羧甲基氨基甲烷缓冲盐溶液(TBST,含0.1%吐温20)室温下封闭1~2 h,然后加入一抗[兔抗磷酸化p38MAPK(p-p38)多克隆抗体(多抗),美国Cell Signaling公司;兔抗p38MAPK多抗、兔抗ERK1和ERK2多抗,小鼠抗磷酸化NF- $\kappa$ B p65亚单位(p-p65)多抗、小鼠抗NF- $\kappa$ B p65亚单位多抗,美国Santa Cruz公司;兔抗磷酸化ERK1/2(p-ERK1/2)多抗,美国ABZoom公司],4℃孵育过夜,洗膜后用二抗室温轻摇1 h,充分洗涤后用免疫印迹化学发光法(ECL)显影、曝光、洗片。

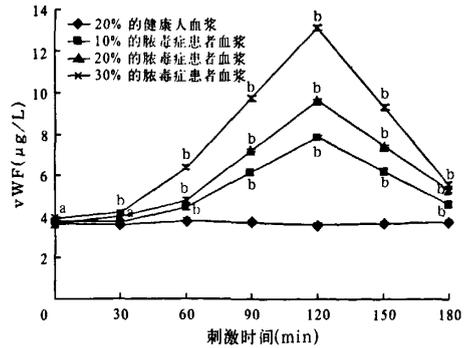
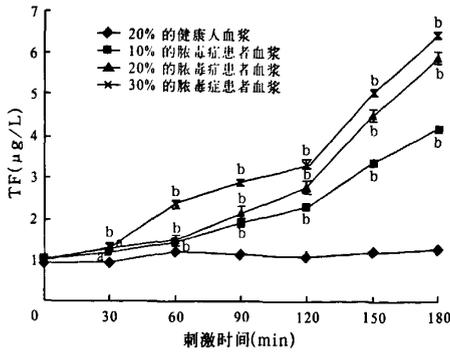
**1.6 细胞免疫荧光染色:**将制成的细胞悬液种植于由明胶包被的玻片上培养24 h,换用无血清的DMEM培养液培养24 h,使细胞同步于G<sub>0</sub>期。脓毒症组加入20%的脓毒症患者血浆;拮抗剂组在加入血浆前1 h加入SB239063 10  $\mu$ mol/L或U0126 25  $\mu$ mol/L;经多聚甲醛水溶液固定、聚乙二醇辛基苯基醚(Triton-100)打孔、牛血清白蛋白(BSA)封闭后,加入一抗p38MAPK和NF- $\kappa$ B抗体,4℃过夜;磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗干净后加入四甲基若丹明异硫氰酸盐(TRITC)标记的二抗(北京中杉生物试剂有限公司)孵育;在荧光显微镜下拍照。

**1.7 统计学分析:**数据以均数 $\pm$ 标准误( $\bar{x} \pm s_x$ )表示,组间比较用one-way ANOVA和Newman-Keuls-test多重比较t检验,双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

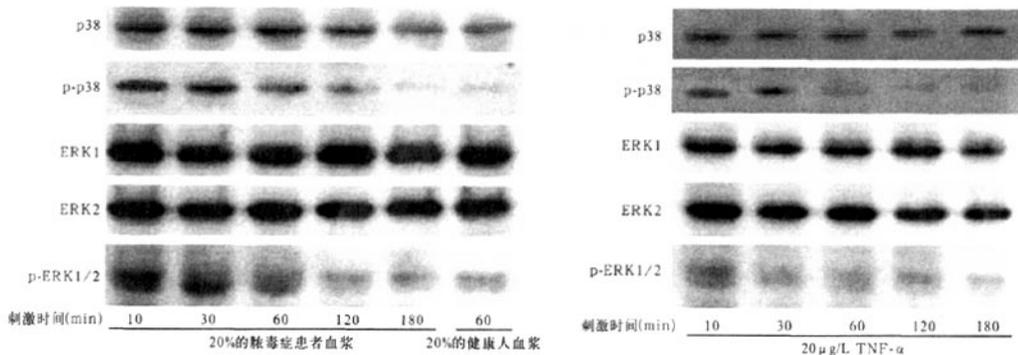
**2.1 脓毒症患者和健康人血中TNF- $\alpha$ 水平:**脓毒症组TNF- $\alpha$ 水平(ng/L)明显高于健康对照组( $155.68 \pm 89.74$ 比 $5.00 \pm 0.47$ , $P < 0.01$ )。

**2.2 脓毒症患者血浆刺激HUVEC后TF和vWF**



注:HUVEC:人脐静脉内皮细胞,TF:组织因子,vWF:血管性血友病因子,与20%的健康人血浆比较,\* $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$

图1 脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 不同时间点 TF、vWF 的变化



TNF- $\alpha$ :肿瘤坏死因子- $\alpha$ ,HUVEC:人脐静脉内皮细胞,MAPK:丝裂素活化蛋白激酶,p-p38:磷酸化 p38MAPK, p-ERK1/2:磷酸化细胞外信号调节激酶 1/2

图2 蛋白质免疫印迹法检测健康人血浆和脓毒症患者血浆、TNF- $\alpha$  分别刺激 HUVEC 不同时间点 MAPK 亚基表达

表达(图1);分别用10%、20%、30%的脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 均可引起 TF 和 vWF 的升高( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。与20%的健康人血浆比较,10%、20%、30%的脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 后 TF ( $\mu\text{g/L}$ )在180 min 达高峰( $4.16 \pm 0.09$ 、 $5.87 \pm 0.14$ 、 $6.43 \pm 0.09$ 比 $1.25 \pm 0.11$ ,均 $P < 0.01$ ),vWF ( $\mu\text{g/L}$ )在120 min 达高峰( $7.29 \pm 0.11$ 、 $9.59 \pm 0.07$ 、 $13.13 \pm 0.10$ 比 $3.59 \pm 0.06$ ,均 $P < 0.01$ )后随之下降。在一定范围和时间内,TF 和 vWF 的升高程度与脓毒症患者血浆刺激呈时间、剂量依赖关系。

**2.3 脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 后 p-p38 和 p-ERK1/2 的表达(图2):**20%的脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 后,p-p38、p-ERK1/2 在各时间点均有不同程度的表达,30 min 时 p-p38 表达最明显。

**2.4 p38MAPK 参与脓毒症患者血浆引起的内皮细胞损伤和凝血功能障碍(表1):**SB239063 可减少 HUVEC 中 TF、vWF 的含量(均 $P < 0.01$ ),而 U0126 无此作用。表明 p38MAPK 参与脓毒症的内

皮损伤和凝血功能障碍。

表1 拮抗剂对脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 中 TF、vWF 的影响( $\bar{x} \pm s_x$ )

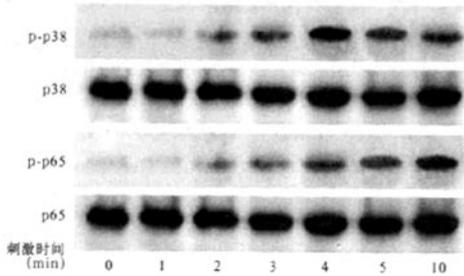
组别	样本数	TF( $\mu\text{g/L}$ )	vWF( $\mu\text{g/L}$ )
20%的脓毒症血浆组	3	$5.87 \pm 0.14$	$9.59 \pm 0.07$
20%的脓毒症血浆+SB239063组	3	$2.55 \pm 0.07^*$	$6.98 \pm 0.08^*$
20%的脓毒症血浆+U0126组	3	$5.72 \pm 0.12$	$9.35 \pm 0.01$

注:HUVEC:人脐静脉内皮细胞,TF:组织因子,vWF:血管性血友病因子,SB239063,p38 丝裂素活化蛋白激酶特异性抑制剂,U0126:细胞外信号调节酶抑制剂,与20%的脓毒症血浆组比较,\* $P < 0.01$

**2.5 NF- $\kappa$ B 的活化:免疫荧光染色显示,**用20%的脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 10 min 即有 NF- $\kappa$ B 的活化(由胞质转移到核);与健康人血浆比较,灰度值明显增加( $36.343 \pm 1.019$ 比 $30.116 \pm 0.737$ , $P < 0.01$ );30 min 灰度值达到高峰( $44.451 \pm 0.714$ , $P < 0.01$ )。

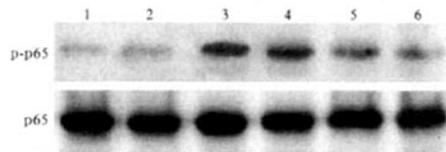
**2.6 脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 中 NF- $\kappa$ B 的活**

化(图3~4):用20%的脓毒症血浆刺激 HUVEC 2 min p38MAPK 开始活化,5 min 时 NF-κB 活化。加入 SB239063 后 NF-κB 活化受阻。说明 NF-κB 活化依赖于 p38MAPK。



HUVEC:人脐静脉内皮细胞,p38MAPK,p38 丝裂素活化蛋白激酶,NF-κB:核转录因子-κB,p-p38:磷酸化 p38MAPK, p-p65:磷酸化 NF-κB p65

图3 蛋白质免疫印迹法检测20%的脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 不同时间点 p38MAPK、NF-κB 的表达



SB239063:p38 丝裂素活化蛋白激酶特异性拮抗剂,HUVEC:人脐静脉内皮细胞,NF-κB:核转录因子-κB,p-p65:磷酸化 NF-κB p65,

1,2:20%健康人血浆,3,4:20%脓毒症患者血浆,5,6:SB239063 组

图4 蛋白质免疫印迹法检测 SB239063 对20%的脓毒症患者血浆刺激 HUVEC 中 NF-κB 活化的影响

### 3 讨论

MAPK 主要包括 p38MAPK、ERK1/2、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)转导通路<sup>[9]</sup>,这3条途径均能被炎症介质激活而产生炎症介质<sup>[10-13]</sup>。p38MAPK 受到不同的细胞外刺激后通过磷酸化而被最终激活<sup>[14]</sup>,并进一步磷酸化下游的蛋白激酶和转录因子,使 p38MAPK 信号扩大、增强。

脓毒症血浆富含细胞因子、趋化因子和其他炎症介质,TNF-α 处于其中的核心地位,能够刺激其他各种促炎症细胞因子的生成<sup>[15-16]</sup>。NF-κB、激活蛋白-1(AP-1)、活化转录因子-2(AFT-2)等都是能与 TNF 基因启动子和增强子结合而促进转录的转录因子。NF-κB 受到内毒素等刺激后,成为具有活性的形式并迅速发生核移位,在细胞核中寻找特定靶基因启动子区的 κB 位点并与其结合,指导下游基因表达调控<sup>[5]</sup>。同时,TNF 的活化又进一步激活各种信号通路和转录因子,激活炎症细胞,两者互为因

果,进而形成炎症级联反应,造成炎症介质泛滥。有实验证明,脓毒症血浆可以激活心肌细胞内的信号转导通路,通过这些转导通路可使心肌细胞转为炎症表型<sup>[6]</sup>。脓毒症血浆还可激活心肌细胞中的转录因子 NF-κB、转录激活子(STAT),从而导致细胞凋亡<sup>[17]</sup>。本研究中用脓毒症血浆刺激 HUVEC,同时用 TNF-α 作为阳性对照,得到了相同的结果。

研究表明,p38MAPK 和 ERK 都能通过 TNF 刺激的 NF-κB 途径构成另外的基因调控<sup>[18]</sup>,故本实验中选取这两种 MAPK 亚基,观察它们在脓毒症血浆刺激后的活化情况。结果显示,脓毒症血浆刺激后二者均能产生磷酸化,但应用 p38MAPK 特异性抑制剂 SB239063 和 ERK 阻滞剂 U0126 进行阻断后,仅 SB239063 减轻了脓毒症血浆对内皮细胞的损伤和凝血功能障碍,U0126 却无此作用。表明只有 p38MAPK 参与了脓毒症的內皮损伤和凝血功能障碍。SB239063 是 p38MAPK 特异性抑制剂,对 p38MAPK 有高度选择性[抑制 p38MAPK 的 IC<sub>50</sub> 为 0.44 μmol/L;抑制促丝裂素活化蛋白激酶 1/2 (MEK1/2)、ERK1/2、JNK 的 IC<sub>50</sub>>10 μmol/L]<sup>[19]</sup>。ERK1/2 在脓毒症血浆刺激 HUVEC 中的作用尚不十分清楚,有待于进一步研究。

多项研究表明,p38MAPK 和 NF-κB 均能影响凝血系统。Brooks 等<sup>[20]</sup>报道,在内毒素马模型中,脂多糖(LPS)诱导的二十烷类产物(血栓素)在临床内毒素血症的早期通过 p38MAPK 活化直接作用于血小板;活化蛋白 C(APC)可通过抑制 p38MAPK 的活性起到抑制炎症反应和调节凝血的作用<sup>[21]</sup>;在 24 名健康受试者中注射 LPS,应用 p38MAPK 特异性抑制剂减弱了纤溶系统的活性<sup>[22]</sup>。脓毒症时 TF 表达增加<sup>[23]</sup>,并且在 TF 的启动子区内也包含一个 NF-κB 结合位点<sup>[24]</sup>,从而启动外源性凝血途径。p38MAPK/NF-κB 转导通路在脓毒症引起的凝血功能障碍中起重要作用。这有助于更好地认识脓毒症,指导临床治疗。

### 参考文献

- [1] Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. Nature, 2002, 420:885-891.
- [2] Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. Novel strategies for the treatment of sepsis. Nat Med, 2003, 9:517-524.
- [3] Slofstra SH, van't Veer C, Buurman WA, et al. Low molecular weight heparin attenuates multiple organ failure in a murine model of disseminated intravascular coagulation. Crit Care Med, 2005, 33:1365-1370.
- [4] Aird WC. The role of the endothelium in severe sepsis and multiple organ dysfunction syndrome. Blood, 2003, 101:3765-

- 3777.
- [5] Senftleben U, Karin M. The IKK/NF- $\kappa$ B pathway. *Crit Care Med*, 2002, 30:S18-26.
- [6] Zingarelli B, Sheehan M, Wong HR. Nuclear factor- $\kappa$ B as a therapeutic target in critical care medicine. *Crit Care Med*, 2003, 31:S105-111.
- [7] Yu SM, Wu JF, Lin TL, et al. Inhibition of nitric oxide synthase expression by PPM-18, a novel anti-inflammatory agent, in vitro and in vivo. *Biochem J*, 1997, 328:363-369.
- [8] Yang M, Wu J, Martin CM, et al. Important role of p38 MAP kinase/NF- $\kappa$ B signaling pathway in the sepsis-induced conversion of cardiac myocytes to a proinflammatory phenotype. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2008, 294:H994-1001.
- [9] Kumar S, Boehm J, Lee JC. p38 MAP kinases; key signalling molecules as therapeutic targets for inflammatory diseases. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2:717-726.
- [10] Issa R, Xie S, Khorasani N, et al. Corticosteroid inhibition of growth-related oncogene protein- $\alpha$  via mitogen-activated kinase phosphatase-1 in airway smooth muscle cells. *J Immunol*, 2007, 178:7366-7375.
- [11] Rathé C, Pelletier M, Chiasson S, et al. Molecular mechanisms involved in interleukin-4-induced human neutrophils: expression and regulation of suppressor of cytokine signaling. *J Leukoc Biol*, 2007, 81:1287-1296.
- [12] Seybold J, Thomas D, Witznath M, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$ -dependent expression of phosphodiesterase 2: role in endothelial hyperpermeability. *Blood*, 2005, 105:3569-3576.
- [13] Zarubin T, Han J. Activation and signaling of the p38 MAP kinase pathway. *Cell Res*, 2005, 15:11-18.
- [14] 姚志明, 盛志勇. 脓毒症信号转导机制的现代认识. *中国危重病急救医学*, 2003, 15:3-6.
- [15] 马中富, 乐胜, 梁艳冰, 等. p38 丝裂原活化蛋白激酶抑制剂对脓毒症大鼠多器官损伤的保护作用研究. *中国危重病急救医学*, 2005, 17:211-213.
- [16] Madge LA, Pober JS. TNF signaling in vascular endothelial cells. *Exp Mol Pathol*, 2001, 70:317-325.
- [17] Kumar A, Michael P, Brabant D, et al. Human serum from patients with septic shock activates transcription factors STAT1, IRF1, and NF- $\kappa$ B and induces apoptosis in human cardiac myocytes. *J Biol Chem*, 2005, 280:42619-42626.
- [18] Vanden Berghe W, Plaisance S, Boone E, et al. p38 and extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase pathways are required for nuclear factor- $\kappa$ B p65 transactivation mediated by tumor necrosis factor. *J Biol Chem*, 1998, 273:3285-3290.
- [19] Barone FC, Irving EA, Ray AM, et al. SB239063, a second-generation p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor, reduces brain injury and neurological deficits in cerebral focal ischemia. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 296:312-321.
- [20] Brooks AC, Menzies-Gow NJ, Wheeler-Jones C, et al. Endotoxin-induced activation of equine platelets: evidence for direct activation of p38MAPK pathways and vasoactive mediator production. *Inflamm Res*, 2007, 56:154-161.
- [21] Nold MF, Nold-Petry CA, Fischer D, et al. Activated protein C downregulates p38 mitogen-activated protein kinase and improves clinical parameters in an in-vivo model of septic shock. *Thromb Haemost*, 2007, 98:1118-1126.
- [22] Branger J, van den Blink B, Weijer S, et al. Inhibition of coagulation, fibrinolysis, and endothelial cell activation by a p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor during human endotoxemia. *Blood*, 2003, 101:4446-4448.
- [23] 李鑫, 马晓春. 血必净注射液对脂多糖诱导大鼠肾脏微血管内皮细胞组织因子表达的影响及机制探讨. *中国中西医结合急救杂志*, 2009, 16:218-222.
- [24] Mackman N. Regulation of the tissue factor gene. *Thromb Haemost*, 1997, 78:747-754.

(收稿日期:2010-08-25)

(本文编辑:李银平)

## • 启事 •

### 中华医学会与北京万方数据股份有限公司续签“中华医学会系列杂志数据库”独家合作协议

中华医学会与北京万方数据股份有限公司(以下简称万方数据)达成的“中华医学会系列杂志数据库”独家战略合作已成功运行 3 年,新一轮的独家合作协议已于 2010 年 6 月底续签。中华医学会旗下遍布全国 24 个省、直辖市的 123 种医学期刊的数字化信息网络传播权继续独家授予万方数据,双方将继续践行“传承百年经典,铸就精品中华期刊群,再现世纪华章,打造医学信息新航母”的战略目标。

传媒产业数字化、信息化已经成为期刊业必须面对的重要问题。国家新闻出版总署对数字化出版的发展趋势高度关注,出台了一系列政策引导传统出版行业积极利用新技术、有效融入数字化出版潮流,推动产业转型及升级。2008 年中华医学会与万方数据建立了“中华医学会系列杂志数据库”独家战略合作伙伴关系。作为国内信息资源提供方与信息服务商的首次独家合作,不仅在传统出版领域解决了数字信息版权保护问题,而且避免了在快速发展的信息内容服务业中由于版权保护制度滞后产生的负面效应,给当时信息内容服务业者对数字信息版权保护的迷茫指明了发展方向。

在双方合作的 3 年中,万方数据开发完成了覆盖中西医学全领域的信息内容产品体系,搭建了开放、和谐、创新的医学知识链接全开放平台——万方医学网。万方数据通过多渠道资源合作、互链等形式,整合文献数据、知识库资源和各类多媒体资源打造了包括在线产品、镜像产品、移动产品、分析报告和光盘等其他产品的综合产品线,促进了以万方医学网为媒介的传统媒体和新媒体的全媒体联动,从而为医护人员、医学科研人员、企业用户以及普通大众提供了具有个性化的专业信息服务,同时开拓性地致力于公众的健康信息素养培育。

中华医学会与万方数据战略合作协议的续签,顺应了国家新闻出版总署倡导和引导的数字传播发展方向和趋势,推动了中华医学会系列杂志品牌化、集群化、数字化、国际化的发展进程。在未来的 3 年合作期中,我们不仅要巩固和发展已有的良好合作局面,而且将更加坚定地同心携手,共同探求医学出版的未来之道。双方将会按照国家有关期刊改革的要求,建立逐步开放和共享的医学专业信息平台,力争使我们的专业信息服务于更多的读者和作者,最终实现为医学科技创新体系建设、医学科研信息评价等方面提供全方位、多层次、个性化的服务。