

# 高迁移率族蛋白 B1 对人脐静脉内皮细胞增殖及迁移能力的影响

张晓娟 栾正刚 马晓春

**【摘要】** 目的 探讨高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)增殖和迁移能力的影响。方法 通过稳定转染的方法将 pRNA-u6.1/Neo- 对照和 pRNA-u6.1/Neo-HMGB1 短发夹 RNA(shRNA)质粒转至 HUVEC 细胞,构建对照及 HMGB1 shRNA 细胞株,通过蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)和实时荧光逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)进行稳定转染细胞的鉴定,通过四甲基偶氮唑盐(MTT)检测细胞株增殖情况,流式细胞仪检测细胞株周期的分布,划痕实验检测细胞株迁移能力。结果 Western blotting 及 RT-PCR 检测证明 HMGB1 shRNA 稳定转染的 HUVEC 细胞株构建成功,培养 72 h 时细胞中 HMGB1 蛋白及 mRNA 表达较对照细胞明显降低(蛋白:0.436 ± 0.027 比 1.017 ± 0.038,  $T=12.180$ ,  $P=0.000$ ; mRNA:0.436 ± 0.031 比 1.020 ± 0.051,  $T=9.660$ ,  $P=0.001$ )。MTT 结果显示, HMGB1 shRNA 稳定转染 HUVEC 细胞株 2、3、4、5 d 的增殖能力比对照细胞株明显下降(2 d:0.210 ± 0.023 比 0.240 ± 0.011,  $T=1.050$ ,  $P=0.351$ ; 3 d:0.240 ± 0.022 比 0.361 ± 0.030,  $T=3.203$ ,  $P=0.033$ ; 4 d:0.373 ± 0.031 比 0.531 ± 0.033,  $T=3.530$ ,  $P=0.022$ ; 5 d:0.441 ± 0.031 比 0.602 ± 0.030,  $T=4.180$ ,  $P=0.106$ )。流式细胞仪检测结果显示, HMGB1 shRNA 细胞株在 S 期的比例明显低于对照细胞株[(13.10 ± 1.10)%比(21.12 ± 1.20)%,  $T=4.950$ ,  $P=0.001$ ]。划痕实验结果显示, HMGB1 shRNA 细胞株在细胞刮除后 12 h 划痕愈合的细胞比例较对照细胞株明显降低[(21.07 ± 3.33)%比(88.53 ± 3.15)%,  $T=14.142$ ,  $P=0.000$ ]。结论 HMGB1 shRNA 能明显抑制 HUVEC 细胞的增殖和迁移能力。

**【关键词】** 人脐静脉内皮细胞; 高迁移率族蛋白 B1; 增殖; 迁移

**Effect of down-regulation of high mobility group box-1 expression on proliferation and migration abilities of human umbilical vein endothelial cells** ZHANG Xiao-juan, LUAN Zheng-gang, MA Xiao-chun. Department of Critical Care Medicine, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China  
Corresponding author: MA Xiao-chun, Email: xcma2972@sina.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of down-regulation of high mobility group box-1 (HMGB1) expression on the proliferation and migration abilities of human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) in vitro. **Methods** The method of stable transfection was used to transfect the pRNA-u6.1/Neo-control and pRNA-u6.1/Neo-HMGB1 short hairpin RNA (shRNA) plasmid to HUVEC cells, and control and HMGB1 shRNA cell lines were reproduced, and the cells were identified by Western blotting test and real-time fluorescence reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Then methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) was used for the determination of the proliferative ability, flow cytometry was used for determining the changes in cell cycle distribution ability of HUVEC, and the migratory ability was detected by scratch test. **Results** Western blotting and RT-PCR detection proved the production of stable transfection cell lines was successful, and the content of HMGB1 protein and mRNA expression in cells were significantly lower after cultivation for 72 hours than those of control cells (protein: 0.436 ± 0.027 vs. 1.017 ± 0.038,  $T=12.180$ ,  $P=0.000$ ; mRNA: 0.436 ± 0.031 vs. 1.020 ± 0.051,  $T=9.660$ ,  $P=0.001$ ). The results of MTT showed that the proliferation ability of HMGB1 shRNA cell lines was lower obviously 2, 3, 4, 5 days after transfection than that of control cells (2 days: 0.210 ± 0.023 vs. 0.240 ± 0.011,  $T=1.050$ ,  $P=0.351$ ; 3 days: 0.240 ± 0.022 vs. 0.361 ± 0.030,  $T=3.203$ ,  $P=0.033$ ; 4 days: 0.373 ± 0.031 vs. 0.531 ± 0.033,  $T=3.530$ ,  $P=0.022$ ; 5 days: 0.441 ± 0.031 vs. 0.602 ± 0.030,  $T=4.180$ ,  $P=0.106$ ). Flow cytometry results showed that the number of HMGB1 shRNA cells in S phase was significantly lower than that of the control cell line [(13.10 ± 1.10)% vs. (21.12 ± 1.20)%],  $T=4.950$ ,  $P=0.001$ . Scratch test showed that the healing ability of HMGB1 shRNA cell line was lowered significantly at 12 hours as compared with that of control [(20.17 ± 3.33)% vs. (88.53 ± 3.15)%],  $T=14.142$ ,  $P=0.000$ . **Conclusion** HMGB1 shRNA can significantly inhibit HUVEC cell proliferation and migration.

**【Key words】** Human umbilical vein endothelial cell; High mobility group box-1; Proliferation; Migration

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.12.004

基金项目:国家自然科学基金(30901438, 81301619);辽宁省沈阳市科技计划项目(F13-220-9-11)

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

高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)是真核细胞核内的非组蛋白染色质结合蛋白,在维持核小体结构的稳定和 DNA 重组、复制、修复及基因转录中发挥着重要作用<sup>[1-3]</sup>。作为新的潜在晚期炎症介质, HMGB1 参与了脓毒症发病过程<sup>[4-7]</sup>。血管内皮细胞在脓毒症

发病过程中具有重要作用,它不仅是脓毒症受损的靶细胞,而且还通过其多种生物学功能参与靶器官的损伤<sup>[8-12]</sup>。炎症刺激时,内皮细胞会释放 HMGB1 因子,促进细胞因子和黏附分子的表达,抑制内皮细胞的表达和释放。HMGB1 对控制炎症反应有重要意义,抑制内皮细胞 HMGB1 的基因表达可以抑制肿瘤和平滑肌细胞的侵袭转移<sup>[13-15]</sup>,但对内皮细胞本身的增殖及迁移能力是否有影响目前还不很清楚。本研究通过体外培养人脐静脉内皮细胞(HUVEC),观察 HMGB1 对其增殖和迁移能力的影响。

## 1 材料与方 法

**1.1 菌株、细胞和质粒:** HUVEC 细胞株购于南京凯基生物公司, pRNA-u6.1/ Neo- 对照和 pRNA-u6.1/ Neo-HMGB1 短发夹 RNA(shRNA)质粒由本室保存。

**1.2 主要试剂:** 高糖 DMEM 培养基和胎牛血清(FBS) 购于美国 Hyclone 公司, 四甲基偶氮唑盐(MTT)和碘化丙啶(PI)均为美国 Sigma 公司产品;其他试剂均为国产分析纯。HMGB1 抗体购于美国 Abcam 公司, 实时荧光逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR) 检测试剂盒购于日本 TAKARA 公司, 脂质体 2000 购于美国 Invitrogen 公司, 引物由上海生物工程技术有限公司合成。

**1.3 细胞培养:** HUVEC 培养于高糖 DMEM 培养液(含 10%FBS、100 kU/L 青霉素、100 mg/L 链霉素), 37 °C、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中培养。

**1.4 质粒转染:** 取对数生长期的 HUVEC 细胞, 提取 pRNA-u6.1/ Neo- 对照和 pRNA-u6.1/ Neo-HMGB1 shRNA 质粒, 按照脂质体 2000 转染试剂盒说明书进行转染, 用 500 μg/mL 的遗传霉素 G418 进行筛选, 挑取单克隆细胞株, 鉴定后用于实验。

**1.5 蛋白质免疫印迹试验(Western blotting) 检测 HMGB1 表达:** 提取稳定表达细胞株的总蛋白, 经过考马斯亮蓝定量后, 将样品调成相同的浓度, 加入 5 × 十二烷基硫酸钠(SDS)凝胶加样缓冲液, 沸水煮 5 min, 取 20 μg 蛋白行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE), 转移至聚偏氟乙烯(PVDF)膜上, 5%脱脂奶粉封闭, 加一抗(兔抗人 HMGB1 抗体 1 : 1 000 稀释)4 °C 孵育过夜, 抗三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH) 1 : 10 000 稀释, 含吐温 20 的磷酸盐缓冲液(PBST) 洗膜, 次日辣根过氧化物酶标记的二抗(1 : 10 000 稀释)在室温下孵育 1 h, PBST 洗膜, 将膜与化学发光底物结合, 曝光, 显影。通过 Image 图像软件测量二者的灰度值, 检测结果以 HMGB1 与内参照 GAPDH 的相对表达量表示。

**1.6 RT-PCR 检测 HMGB1 mRNA 表达:** 将稳定表达细胞株经传代培养后收集细胞, 按 TRIzol 说明书提取细胞总 RNA, 经逆转录得到 cDNA。用 HMGB1 特异的引物进行扩增检测, 正义链 5'-GATATGGCAAAAGCGGACAAG-3', 反义链 5'-TGGGCGATACTCAGAGCAGAA-3', 扩增产物大小为 150 bp; 内参照 GAPDH 引物序列: 正义链 5'-GAAGGTGAAGGTCGAGTC-3', 反义链 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3', 扩增产物大小为 226 bp。通过 RT-PCR 系统软件分析待测物质的表达量, 检测结果以 HMGB1 与内参照 GAPDH 的相对表达量表示。

**1.7 MTT 检测细胞增殖能力:** 取 pRNA-u6.1/ Neo- 对照转染细胞、pRNA-u6.1/ Neo-HMGB1 shRNA 转染细胞及正常 HUVEC 细胞, 以 5 000 个 / 孔接种于 96 孔板中, 所用培养液为含有 200 μmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的 DMEM + 10%FBS, 每种细胞 8 孔, 于 1、2、3 d 时加入终浓度 5 mg/mL 的 MTT, 37 °C 孵育 4 h, 弃去上清, 加入二甲基亚砷 150 μL, 置摇床上低速振荡 10 min, 分光光度计于波长 570 nm 处读取吸光度(A)值, 共重复 3 次。

**1.8 流式细胞仪检测细胞周期变化:** 取对数生长期的稳定转染细胞, 接种于 25 mL 细胞培养瓶中, 调整细胞数量一致, 在 37 °C、饱和湿度、5%CO<sub>2</sub>、95% 空气的培养箱预培养 12 h, 待细胞贴壁后, 用血清饥饿法使细胞同步化, 再换成含有 10%FBS 的培养液, 培养箱中培养 24 h。0.25%的胰酶消化, 500 × g 离心 10 min, 磷酸盐缓冲液(PBS)洗 2 次, 加入 -20 °C 预冷的冰乙醇固定过夜。离心, 弃掉冰乙醇, 收集细胞, PBS 洗 2 遍, 0.2 mL PBS 重悬细胞, 加入 PI 染液 0.6 mL, 避光染色 30 min, 上机检测。

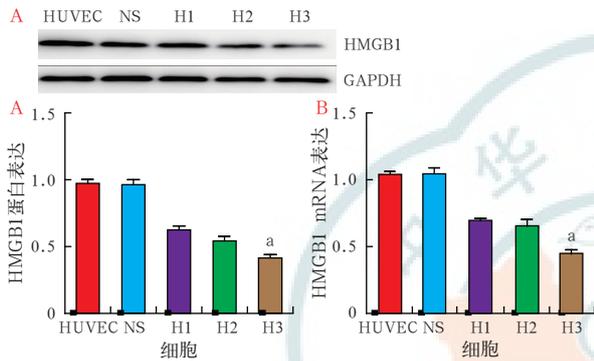
**1.9 划痕实验检测细胞迁移能力:** 在 6 孔细胞培养板中将细胞收集并计数后以 4 × 10<sup>5</sup> 个 / 孔接种。待细胞贴壁率大于 90% 后, 用消毒的细胞刮子沿纵轴划线将细胞刮干净, 用 PBS 反复清洗 2 次, 注意不要有漂浮细胞残留, 继续培养 12 h 后于倒置显微镜下观察并记录细胞迁移情况。

**1.10 统计学处理:** 所有检测数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 用 SPSS 13.0 统计软件进行处理, 采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 稳定转染细胞株的鉴定:** 按照脂质体 2000 试剂盒说明书步骤分别将 pRNA-u6.1/ Neo- 对照质粒、pRNA-u6.1/ Neo-HMGB1 shRNA 质粒转染至 HUVEC 细胞, 经 14 ~ 18 d 的 G418 筛选, 获得具有

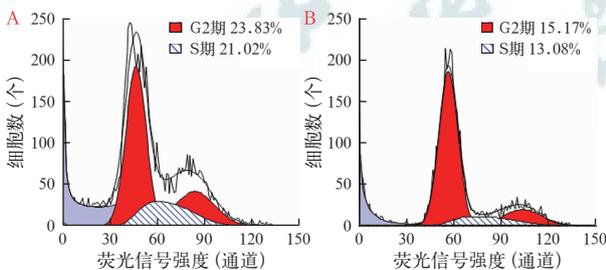
药物抗性的阳性单克隆细胞, 经过 Western blotting (图 1A) 和 RT-PCR (图 1B) 鉴定, pRNA-u6.1/Neo-对照稳定转染细胞株即为 NS, 培养 24、48、72 h 的 pRNA-u6.1/Neo-HMGB1 shRNA 转染细胞分别标记为 H1、H2、H3。结果显示, H3 细胞株中 HMGB1 蛋白及 mRNA 表达均较对照细胞受到了明显的抑制 (蛋白:  $0.436 \pm 0.027$  比  $1.017 \pm 0.038$ ,  $T=12.180$ ,  $P=0.000$ ; mRNA:  $0.436 \pm 0.031$  比  $1.020 \pm 0.051$ ,  $T=9.660$ ,  $P=0.001$ )。



注: HMGB1 为高迁移率族蛋白 B1, HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, NS 为 pRNA-u6.1/Neo-对照稳定转染细胞, H1、H2、H3 为培养 24、48、72 h 的 pRNA-u6.1/Neo-HMGB1 短发夹 RNA (shRNA) 转染细胞, GAPDH 为三磷酸甘油醛脱氢酶, 与对照株比较,  $^aP<0.01$

图 1 蛋白质免疫印迹试验(A)及实时荧光逆转录-聚合酶链反应(B)检测不同克隆细胞株 HMGB1 的蛋白及 mRNA 表达

**2.2 HMGB1 对转染 HUVEC 细胞周期变化的影响 (图 2):** HMGB1 shRNA 稳定转染的 HUVEC 细胞株处于 S 期的比例为  $(13.10 \pm 1.10)\%$ , 对照细胞株为  $(21.12 \pm 1.20)\%$ , 说明干扰 HUVEC 中的 HMGB1 能明显抑制细胞的增殖 ( $T=4.950$ ,  $P=0.001$ )。

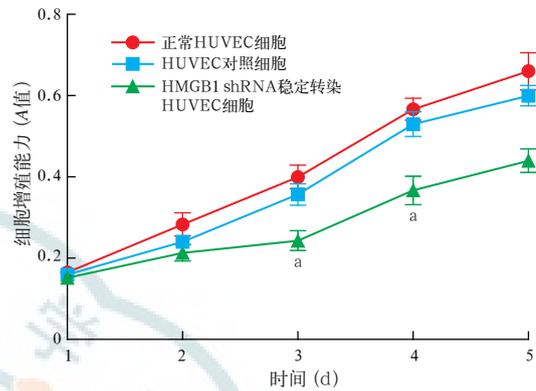


注: A 为正常人脐静脉内皮细胞 (HUVEC), B 为高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 短发夹 RNA (shRNA) 稳定转染的 HUVEC 细胞株

图 2 流式细胞仪检测稳定转染细胞株的增殖能力

**2.3 HMGB1 对 HUVEC 增殖能力的影响 (图 3):** HMGB1 shRNA 稳定转染 HUVEC 细胞株 2、3、4、5 d 的增殖能力较对照细胞株明显下降 (2 d:  $0.210 \pm 0.023$  比  $0.240 \pm 0.011$ ,  $T=1.050$ ,  $P=0.351$ ; 3 d:  $0.240 \pm 0.022$  比  $0.361 \pm 0.030$ ,  $T=3.203$ ,  $P=0.033$ ;

4 d:  $0.373 \pm 0.031$  比  $0.531 \pm 0.033$ ,  $T=3.530$ ,  $P=0.022$ ; 5 d:  $0.441 \pm 0.031$  比  $0.602 \pm 0.030$ ,  $T=4.180$ ,  $P=0.106$ ), 对照细胞株的增殖能力与正常 HUVEC 细胞株相比没有明显区别, 说明 HMGB1 能促进 HUVEC 细胞增殖。



注: HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, HMGB1 为高迁移率族蛋白 B1, shRNA 为短发夹 RNA; 与 HUVEC 对照细胞比较,  $^aP<0.05$

图 3 四甲基偶氮唑盐 (MTT) 检测稳定转染细胞株的增殖能力

**2.4 HMGB1 对 HUVEC 迁移能力的影响 (图 4):** 在细胞刮除后 4 h, 未刮除部位细胞可迁移进入刮除的区域, 12 h 后更加明显。结果显示, HMGB1 shRNA 稳定转染的 HUVEC 细胞株在细胞刮除后 12 h 发生定向迁移的细胞比例较对照细胞株明显降低 [ $(21.07 \pm 3.33)\%$  比  $(88.53 \pm 3.15)\%$ ,  $T=14.142$ ,  $P=0.000$ ], 说明 HMGB1 能抑制 HUVEC 细胞的迁移。

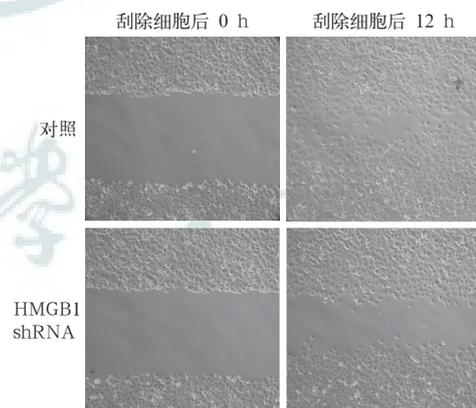


图 4 划痕实验检测不同细胞株的迁移能力

### 3 讨论

HMGB1 作为一种核内蛋白<sup>[16-17]</sup>, 在损伤、感染或其他炎症刺激时, 可由炎性细胞主动分泌, 或由坏死细胞被动释放至胞外, 发挥细胞因子样作用<sup>[18-20]</sup>。在脑缺血、失血性休克、胰腺炎、无菌性肝坏死, 以及其他可引起炎症或组织损伤的免疫应答中均有 HMGB1 的参与<sup>[21-23]</sup>; 在脓毒症中, HMGB1 作为晚期

炎症因子参与了脓毒症的发生发展过程。

HMGB1 作为重要的晚期炎症介质,可影响内皮细胞通透性,加速血管破坏,促进器官功能障碍的发生。但也有研究表明 HMGB1 还具有促进组织修复和重建的功能<sup>[24]</sup>。HMGB1 在表现出促炎作用的同时,还可通过募集细胞进行修复重建,表现出一定的抑制炎症扩散作用,其中最重要的机制是 HMGB1 促进干细胞向炎症区域迁移,从而促进组织修复和重建。此外, HMGB1 还能加速平滑肌细胞的增殖和迁移。在对骨骼肌细胞的研究中发现, HMGB1 可以促进肌生成和血管化<sup>[24]</sup>。在受损心肌中,直接注射外源性 HMGB1 可以使心肌细胞向损伤部位迁移,促进组织重建<sup>[25]</sup>。本研究结果证实,抑制 HMGB1 的表达能明显抑制 HUVEC 细胞的增殖和迁移。

动物实验与临床研究证明,脓毒症导致多器官功能障碍综合征(MODS)的发生与血管内皮细胞损伤或激活的关系尤为密切<sup>[26]</sup>,保护血管内皮细胞或抑制内皮细胞激活可能为将来脓毒症的治疗提供新的方法<sup>[27-30]</sup>。本研究发现,抑制 HUVEC 中 HMGB1 的表达,能明显改变细胞周期的分布及细胞增殖能力;细胞划痕实验结果提示,抑制 HUVEC 中的 HMGB1 基因,能明显抑制其迁移能力,因此,在脓毒症发生发展过程中,在炎症发生和抗炎及组织修复过程中, HMGB1 可能为临床治疗脓毒症及 MODS 提供了新的靶点,具有重要意义。

#### 参考文献

- [1] Ellerman JE, Brown CK, de Vera M, et al. Masquerader: high mobility group box-1 and cancer. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 2836-2848.
- [2] Pallier C, Scaffidi P, Chopineau-Proust S, et al. Association of chromatin proteins high mobility group box (HMGB) 1 and HMGB2 with mitotic chromosomes. *Mol Biol Cell*, 2003, 14: 3414-3426.
- [3] Skoko D, Wong B, Johnson RC, et al. Micromechanical analysis of the binding of DNA-bending proteins HMGB1, NHP6A, and HU reveals their ability to form highly stable DNA-protein complexes. *Biochemistry*, 2004, 43: 13867-13874.
- [4] Bianchi ME, Beltrame M. Upwardly mobile proteins. Workshop: the role of HMG proteins in chromatin structure, gene expression and neoplasia. *EMBO Rep*, 2000, 1: 109-114.
- [5] Huang W, Tang Y, Li L. HMGB1, a potent proinflammatory cytokine in sepsis. *Cytokine*, 2010, 51: 119-126.
- [6] Yang H, Tracey KJ. Targeting HMGB1 in inflammation. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799: 149-156.
- [7] 王松柏, 姚咏明. 高迁移率族蛋白 B1 的细胞生物学效应及其与脓毒症的关系. *中国危重病急救医学*, 2003, 15: 701-704.
- [8] Ait-Oufella H, Maury E, Lehoux S, et al. The endothelium: physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis. *Intensive Care Med*, 2010, 36: 1286-1298.
- [9] 张晓娟, 马晓春. 脓毒症与内皮细胞损伤. *实用医院临床杂志*, 2012, 9: 11-14.
- [10] Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med*, 2001, 29: 1303-1310.
- [11] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*, 1999, 285: 248-251.
- [12] 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. *Crit Care Med*, 2007, 35: 1061-1067.
- [13] 李增军, 宋宝, 刘杰, 等. 沉默高迁移率族蛋白 B1 基因抑制胃癌 MGC-803 细胞的侵袭转移. *中华肿瘤杂志*, 2013, 35: 244-248.
- [14] 王焕亮, 陈文娟, 彭丽萍, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对体外人肺动脉血管平滑肌细胞增殖、迁移和凋亡的影响. *中华麻醉学杂志*, 2013, 33: 106-108.
- [15] 潘舒月, 青玉凤, 周京国. 高迁移率族蛋白 B1: 自身免疫性疾病重要炎性分子. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2013, 7: 198-202.
- [16] 朱海云, 李银平. 高迁移率族蛋白 B1 的研究进展及其免疫作用. *中国中西医结合急救杂志*, 2009, 16: 124-126.
- [17] Andersson U, Erlandsson-Harris H, Yang H, et al. HMGB1 as a DNA-binding cytokine. *J Leukoc Biol*, 2002, 72: 1084-1091.
- [18] Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature*, 2002, 418: 191-195.
- [19] Jiang W, Bell CW, Pisetsky DS. The relationship between apoptosis and high-mobility group protein 1 release from murine macrophages stimulated with lipopolysaccharide or polyinosinic-polycytidylic acid. *J Immunol*, 2007, 178: 6495-6503.
- [20] Karlsson S, Pettilä V, Tenhunen J, et al. HMGB1 as a predictor of organ dysfunction and outcome in patients with severe sepsis. *Intensive Care Med*, 2008, 34: 1046-1053.
- [21] Li J, Kakkola R, Tabibzadeh S, et al. Structural basis for the proinflammatory cytokine activity of high mobility group box 1. *Mol Med*, 2003, 9: 37-45.
- [22] Lotze MT, Tracey KJ. High-mobility group box 1 protein (HMGB1): nuclear weapon in the immune arsenal. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5: 331-342.
- [23] 徐丽, 鲍红光, 张勇, 等. 外源性一氧化碳释放分子对脓毒症大鼠肺组织高迁移率族蛋白 B1 表达的影响. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7: 2981-2985.
- [24] Yamamura J, Takada Y, Goto M, et al. High mobility group-like protein in bovine milk stimulates the proliferation of osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 261: 113-117.
- [25] Andersson U, Harris HE. The role of HMGB1 in the pathogenesis of rheumatic disease. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799: 141-148.
- [26] Vallet B. Bench-to bedside review: endothelial cell dysfunction in severe sepsis: a role in organ dysfunction?. *Crit Care*, 2003, 7: 130-138.
- [27] 徐佳, 刘志锋, 王娟, 等. 人高迁移率族蛋白 B1 细胞内定位及移位研究. *中国危重病急救医学*, 2006, 18: 338-341.
- [28] Fry DE. Sepsis, systemic inflammatory response, and multiple organ dysfunction: the mystery continues. *Am Surg*, 2012, 78: 1-8.
- [29] Polderman KH, Girbes AR. Drug intervention trials in sepsis: divergent results. *Lancet*, 2004, 363: 1721-1723.
- [30] 杨丽萍, 姚咏明, 李杰萍, 等. 高迁移率族蛋白 B1 真核表达载体的构建及其对肿瘤坏死因子- $\alpha$  报告基因活性的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15: 171-174.

(收稿日期: 2013-06-14)

(本文编辑: 李银平)