

· 论著 ·

Nrf2 在氢气治疗严重脓毒症肠损伤中的作用

李媛 谢克亮 陈红光 王卫娜 王国林 于泳浩

【摘要】 目的 探讨 Nrf2 在氢气治疗严重脓毒症肠损伤中的作用。**方法** 将 152 只雄性 ICR 小鼠按随机数字表法分为假手术组、氢气对照组、脓毒症组和氢气治疗组 4 组, 每组 38 只。采用盲肠结扎穿孔术 (CLP) 制备脓毒症模型, 假手术组和氢气对照组不进行 CLP, 其他操作相同。氢气对照组和氢气治疗组于假手术或 CLP 后 1 h、6 h 分别吸入 2% 氢气 1 h。每组取 20 只小鼠, 观察术后 7 d 内的生存率。每组剩余 18 只小鼠, 分别于术后 6、12 和 24 h 各处死 6 只, 取部分肠组织, 用蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 检测 Nrf2、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 的蛋白表达; 用逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 Nrf2 mRNA 表达; 于术后 24 h 取部分中段空肠, 行苏木素-伊红 (HE) 染色, 光镜下观察肠组织损伤程度。**结果** 假手术组和氢气对照组各指标差异均无统计学意义。脓毒症组小鼠 7 d 生存率较假手术组明显降低 (0 比 100%, $P < 0.05$); 氢气治疗组小鼠 7 d 生存率较脓毒症组明显升高 (55% 比 0, $P < 0.05$)。与假手术组比较, 脓毒症组术后 6、12 和 24 h 肠组织 Nrf2 的蛋白表达 (灰度值) 和 mRNA 表达均明显升高 (Nrf2 蛋白 6 h: 1.973 ± 0.350 比 1.000 ± 0.000 , $t = 4.411$, $P = 0.002$; 12 h: 2.367 ± 0.186 比 1.000 ± 0.000 , $t = 10.210$, $P = 0.000$; 24 h: 2.517 ± 0.280 比 1.000 ± 0.000 , $t = 9.521$, $P = 0.000$; Nrf2 mRNA 6 h: 1.606 ± 0.271 比 1.000 ± 0.000 , $t = 3.631$, $P = 0.002$; 12 h: 1.692 ± 0.399 比 1.000 ± 0.000 , $t = 3.233$, $P = 0.005$; 24 h: 1.784 ± 0.341 比 1.000 ± 0.000 , $t = 3.894$, $P = 0.001$), 术后 24 h 肠组织 HMGB1 表达 (灰度值) 明显升高 (1.507 ± 0.220 比 1.000 ± 0.000 , $t = 3.948$, $P = 0.004$)。与脓毒症组比较, 氢气治疗组术后 6、12 和 24 h 肠组织 Nrf2 的蛋白和 mRNA 表达均明显升高 (Nrf2 蛋白 6 h: 2.583 ± 0.395 比 1.973 ± 0.350 , $t = 2.765$, $P = 0.024$; 12 h: 2.725 ± 0.235 比 2.367 ± 0.186 , $t = 2.674$, $P = 0.028$; 24 h: 2.930 ± 0.212 比 2.517 ± 0.280 , $t = 2.595$, $P = 0.032$; Nrf2 mRNA 6 h: 2.008 ± 0.400 比 1.606 ± 0.271 , $t = 2.405$, $P = 0.029$; 12 h: 2.188 ± 0.475 比 1.692 ± 0.399 , $t = 2.317$, $P = 0.034$; 24 h: 2.333 ± 0.406 比 1.784 ± 0.341 , $t = 2.728$, $P = 0.015$), 术后 24 h 肠组织 HMGB1 表达明显降低 (1.147 ± 0.152 比 1.507 ± 0.220 , $t = 2.805$, $P = 0.023$)。HE 染色结果显示, 脓毒症组出现明显的肠组织损伤; 氢气治疗组肠组织损伤较脓毒症组有所减轻。**结论** 氢气可以通过激活 Nrf2-抗氧化反应元件 (ARE) 通路, 使脓毒症小鼠肠组织中 Nrf2 蛋白表达增加, HMGB1 水平降低, 最终对严重脓毒症小鼠肠组织起到保护作用, 并可明显提高脓毒症小鼠的生存率。

【关键词】 Nrf2; 脓毒症; 氢气; 肠组织; 高迁移率族蛋白 B1

The role of Nrf2 in the hydrogen treatment for intestinal injury caused by severe sepsis Li Yuan*, Xie Keliang, Chen Hongguang, Wang Weina, Wang Guolin, Yu Yonghao. * Department of Anesthesiology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin Institute of Anesthesiology, Tianjin 300052, China
Corresponding author: Yu Yonghao, Email: yuyonghao@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the role of Nrf2 on hydrogen treatment for intestinal injury caused by severe sepsis. **Methods** 152 male ICR mice were randomly divided into four groups: sham operation group, hydrogen control group, sepsis group, and hydrogen treatment group, each $n = 38$. Sepsis model was reproduced by cecal ligation and puncture (CLP). The mice in sham operation group and hydrogen control group did not receive CLP, and the operative procedure was the same as follows. The mice in hydrogen control group and hydrogen treatment group received 1-hour inhalation of 2% hydrogen 1 hour and 6 hours after sham operation or CLP. Twenty animals in each group were selected and observed for 7-day survival rate. Eighteen animals in each group were selected and sacrificed at 6, 12 and 24 hours after CLP. The intestinal tissues were obtained to determine the expression of Nrf2 and high mobility group B1 (HMGB1) protein by Western Blot, and the expression of Nrf2 mRNA by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The middle portion of jejunum was obtained to evaluate the degree of septic injury by light microscope after hematoxylin and eosin (HE) staining. **Results** There was no statistical significance in variables between sham operation group and hydrogen control group. Compared with sham operation group, the 7-day survival rate was significantly decreased in sepsis group (0 vs. 100%, $P < 0.05$); compared with sepsis group, the 7-day survival

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.010

基金项目:国家自然科学基金(81071533, 81101409, 81372033);天津市应用基础及前沿技术研究计划(11JCYBJC12900, 13JCQNJC11400);天津市医药卫生资助项目(2011KZ108)

作者单位:300052 天津医科大学总医院麻醉科,天津市麻醉学研究所

通信作者:于泳浩, Email: yuyonghao@126.com

rate was significantly increased in hydrogen treatment group (55% vs. 0, $P < 0.05$). Compared with sham operation group, the expression of Nrf2 protein (gray value) and Nrf2 mRNA were up-regulated in sepsis group at 6, 12 and 24 hours after CLP (Nrf2 protein 6 hours: 1.973 ± 0.350 vs. 1.000 ± 0.000 , $t = 4.411$, $P = 0.002$; 12 hours: 2.367 ± 0.186 vs. 1.000 ± 0.000 , $t = 10.210$, $P = 0.000$; 24 hours: 2.517 ± 0.280 vs. 1.000 ± 0.000 , $t = 9.521$, $P = 0.000$; Nrf2 mRNA 6 hours: 1.606 ± 0.271 vs. 1.000 ± 0.000 , $t = 3.631$, $P = 0.002$; 12 hours: 1.692 ± 0.399 vs. 1.000 ± 0.000 , $t = 3.233$, $P = 0.005$; 24 hours: 1.784 ± 0.341 vs. 1.000 ± 0.000 , $t = 3.894$, $P = 0.001$), and it was also the expression of HMGB1 (gray value) at 24 hours after CLP operation (1.507 ± 0.220 vs. 1.000 ± 0.000 , $t = 3.948$, $P = 0.004$). Compared with sepsis group, the expression of Nrf2 protein and Nrf2 mRNA in intestines were up-regulated at 6, 12 and 24 hours after CLP in hydrogen treatment group (Nrf2 protein 6 hours: 2.583 ± 0.395 vs. 1.973 ± 0.350 , $t = 2.765$, $P = 0.024$; 12 hours: 2.725 ± 0.235 vs. 2.367 ± 0.186 , $t = 2.674$, $P = 0.028$; 24 hours: 2.930 ± 0.212 vs. 2.517 ± 0.280 , $t = 2.595$, $P = 0.032$; Nrf2 mRNA 6 hours: 2.008 ± 0.400 vs. 1.606 ± 0.271 , $t = 2.405$, $P = 0.029$; 12 hours: 2.188 ± 0.475 vs. 1.692 ± 0.399 , $t = 2.317$, $P = 0.034$; 24 hours: 2.333 ± 0.406 vs. 1.784 ± 0.341 , $t = 2.728$, $P = 0.015$). Compared with sepsis group, the expression of HMGB1 was down-regulated significantly at 24 hours after CLP in hydrogen treatment group (1.147 ± 0.152 vs. 1.507 ± 0.220 , $t = 2.805$, $P = 0.023$). HE staining showed that there was significantly aggravated intestinal pathological injury in the mice of sepsis group; compared with sepsis group, the pathology was significantly less marked in hydrogen treatment group. **Conclusion** Through activation of Nrf2-antioxidant response element (ARE) pathway, hydrogen may increase the level of Nrf2, which is a kind of protective protein, in the intestine of mice, thus decreases the level of late pro-inflammatory factor, HMGB1, and it may protect the intestinal tissues in septic mice and increase the survival rate significantly.

[Key words] Nrf2; Sepsis; Hydrogen; Intestinal tissue; High mobility group B1

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应综合征 (SIRS)^[1]。在世界范围内,脓毒症仍是死亡的主要原因之一^[2-3]。然而,对脓毒症的发生及结局的预测还不十分理想^[4],其诊断依据也不十分明确^[5]。脓毒症最常累及肠道,黎君友等^[6]的研究显示,脓毒症大鼠的小肠吸收和蠕动功能均下降。韩磊和任爱民^[7]认为,脓毒症可以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,从而使肠道通透性增加,肠屏障受损,进而使病情加剧,危及患者生命。因此,探究脓毒症肠损伤的根本原因,寻找有效的治疗措施已成为一个十分迫切的问题。Nrf2 是 CNC (cap'n'collar) 转录因子家族成员中活性最强的转录调节因子,普遍表达于各种细胞^[8]。当机体受到氧化应激刺激时,Nrf2 被激活,并通过上调其下游的一些保护性蛋白来达到氧化还原反应的平衡^[9]。Nrf2 的破坏会导致脂多糖 (LPS) 及盲肠结扎穿孔术 (CLP) 诱导的脓毒症模型动物的死亡率升高^[10]。本课题组前期研究发现,氢气对脓毒症小鼠有一定的治疗作用^[11],但其作用机制还不十分明确。本实验拟探讨 Nrf2 在氢气治疗严重脓毒症肠损伤中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型制备: 成年雄性 ICR 小鼠,由军事医学科学院实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK-(军)2007-004,体质量 20 ~ 25 g,按随机数字表法分为假手术组、脓毒症组、氢气对照组、氢气治疗组,每组 38 只。参考文献[12-13]的方法,采用 CLP 制备脓毒症动物模型;假手术组和氢气对照组动物不进行 CLP,其他操作相同。

本研究经天津医科大学实验动物管理委员会批准,动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.2 氢气治疗: 参考文献[14]的方法,将小鼠放置在一个密封的塑料盒子中,使用 GCH-300 高纯氢气发生器向管子里输注氢气和空气的混合气体。氢气对照组、氢气治疗组于假手术或 CLP 制模 1 h 和 6 h 分别吸入 2% 氢气 1 h,其他动物不进行氢气吸入。

1.3 检测指标及方法: 每组取 20 只小鼠观察制模后 7 d 内的生存情况;剩余 18 只小鼠分别于术后 6、12、24 h 各处死 6 只备检。

1.3.1 肠组织病理观察: 制模后 24 h 取小鼠中段小肠 0.5 cm,用 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h,经脱水、石蜡包埋、切片,用苏木素-伊红 (HE) 染色,封片后 400 倍镜下观察小肠黏膜出血、水肿及连续性改变。

1.3.2 蛋白质免疫印迹试验 (Western Blot) 测定肠组织中 Nrf2 及高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 的蛋白表达:于制模后 6、12 和 24 h 取肠组织制备匀浆,离心取上清即为肠组织总蛋白。提取蛋白后用湿式电转移法经十二烷基硫酸钠 (SDS) 凝胶电泳,转至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜。5% 脱脂奶粉封闭,洗膜后分别加入一抗鼠单克隆抗体 Nrf2 (1 : 200, 美国 Santa 公司)、兔多克隆抗体 HMGB1 (1 : 1 000, 英国 Abcam 公司) 和兔单克隆抗体 β -肌动蛋白 (β -actin, 1 : 1 000, 杭州华安公司),4 °C 孵育过夜,含吐温 20 的磷酸盐缓冲液 (TBST) 清洗 5 次,每次 5 min; β -actin 及 HMGB1 使用羊抗兔二抗 (1 : 2 000, 北京中杉金桥生物有限公司) 室温孵育 1 h, Nrf2 使用羊抗小鼠二抗 (1 : 2 000, 北京中杉金桥生物有限公

司)室温孵育 1 h, TBST 清洗, 最后暗室内加显色底物显色曝光, 扫描, 内参照为 β -actin, 采用 Gene Tools 图像分析软件测定条带灰度值, 以假手术组目的条带灰度值与 β -actin 灰度值的比值为基准, 用其他 3 组的比值与假手术组的相对比来反映目的蛋白的表达。

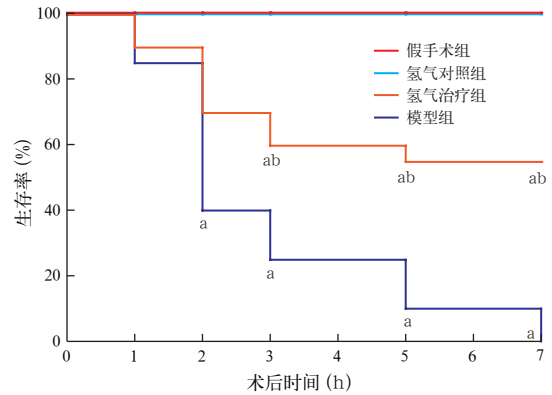
1.3.3 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测 Nrf2 mRNA 表达: 于制模后 6、12、24 h 提取总 RNA。用 RevertAid™ 第一链 cDNA 合成试剂盒逆转录合成 cDNA, 42 °C 孵育 60 min, 70 °C 加热 5 min 终止反应。使用 SYBR Green 法进行模板的荧光定量 PCR 检测(天根 Real Master Mix 荧光定量 PCR 试剂盒)。Nrf2 mRNA 表达水平以三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)为内参照。PCR 引物和探针设计参照文献[15]。用 iQ™5 多重实时荧光定量 PCR 仪进行扩增并分析处理数据。相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算。

1.4 统计学处理: 应用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用单因素方差分析; 计数资料比较采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物生存率(图 1): 假手术组和氢气对照组动物于实验过程中全部存活。脓毒症组术后 7 d 动物生存率较假手术组明显降低(0 比 100%, $P < 0.05$)。氢气治疗组 7 d 时动物生存率较脓毒症组明显升高(55% 比 0, $P < 0.05$), 但仍低于假手术组($P < 0.05$)。

2.2 肠组织 Nrf2、HMGB1 蛋白表达(表 1; 图 2): 假手术组和氢气对照组术后各时间点肠组织 Nrf2、HMGB1 蛋白表达比较差异均无统计学意义。与假手术组比较, 脓毒症组和氢气治疗组术后 6、12 和 24 h 肠组织 Nrf2 蛋白表达量明显升高(均 $P < 0.01$); 且氢气治疗组肠组织 Nrf2 蛋白表达量明显高于脓毒

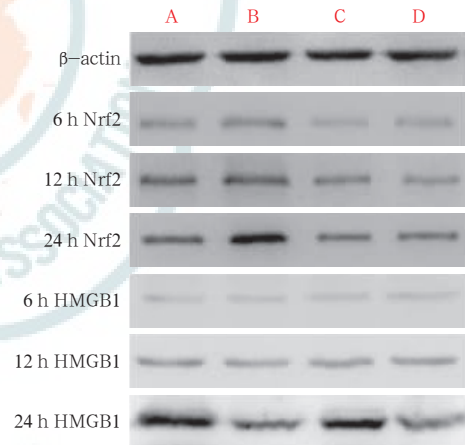


注: CLP 为盲肠结扎穿孔术; 与假手术组比较, $^a P < 0.05$;

与脓毒症组比较, $^b P < 0.05$

图 1 氢气对 CLP 所致脓毒症小鼠术后不同时间点生存率的影响

症组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 呈时间依赖性。与假手术组比较, 仅脓毒症组术后 24 h 肠组织 HMGB1 表达明显升高($P < 0.05$); 氢气治疗组术后 24 h 肠组织 HMGB1 表达较脓毒症组明显降低($P < 0.05$)。



HMGB1 为高迁移率族蛋白 B1; A 为脓毒症组, B 为氢气治疗组, C 为假手术组, D 为氢气对照组

图 2 蛋白质免疫印迹试验检测各组小鼠术后不同时间点肠组织 Nrf2 和 HMGB1 的蛋白表达

表 1 氢气对 CLP 所致脓毒症小鼠术后不同时间点肠组织 Nrf2 和 HMGB1 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	Nrf2 蛋白相对表达量(灰度值)			HMGB1 蛋白相对表达量(灰度值)		
		术后 6 h	术后 12 h	术后 24 h	术后 6 h	术后 12 h	术后 24 h
假手术组(1)	18	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000	1.000 $\pm$ 0.000
氢气对照组(2)	18	1.133 $\pm$ 0.166	1.063 $\pm$ 0.133	1.731 $\pm$ 0.170	1.027 $\pm$ 0.205	1.087 $\pm$ 0.125	0.953 $\pm$ 0.165
脓毒症组(3)	18	1.973 $\pm$ 0.350	2.367 $\pm$ 0.186	2.517 $\pm$ 0.280	1.083 $\pm$ 0.131	1.180 $\pm$ 0.154	1.507 $\pm$ 0.220
氢气治疗组(4)	18	2.583 $\pm$ 0.395	2.725 $\pm$ 0.235	2.930 $\pm$ 0.212	1.057 $\pm$ 0.136	1.093 $\pm$ 0.136	1.147 $\pm$ 0.152
组间比较 1:2 的 t/P 值		0.604 / 0.562	0.473 / 0.649	1.088 / 0.308	0.237 / 0.818	0.883 / 0.403	0.364 / 0.726
1:3 的 t/P 值		4.411 / 0.002	10.210 / 0.000	9.521 / 0.000	0.733 / 0.485	1.834 / 0.104	3.948 / 0.004
1:4 的 t/P 值		7.176 / 0.000	12.884 / 0.000	12.116 / 0.000	0.498 / 0.632	0.951 / 0.369	1.143 / 0.286
2:3 的 t/P 值		3.807 / 0.005	9.737 / 0.000	8.433 / 0.000	0.495 / 0.634	0.951 / 0.369	4.312 / 0.003
2:4 的 t/P 值		6.572 / 0.000	12.411 / 0.000	11.027 / 0.000	0.261 / 0.801	0.068 / 0.947	1.507 / 0.170
3:4 的 t/P 值		2.765 / 0.024	2.674 / 0.028	2.595 / 0.032	0.235 / 0.821	0.883 / 0.403	2.805 / 0.023

注: CLP 为盲肠结扎穿孔术, HMGB1 为高迁移率族蛋白 B1

2.3 肠组织 Nrf2 mRNA 表达(表 2):假手术组和氢气对照组术后各时间点肠组织 Nrf2 mRNA 表达差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。与假手术组比较,脓毒症组和氢气治疗组术后 6、12 和 24 h 肠组织 Nrf2 mRNA 表达明显升高(均 $P<0.01$);且氢气治疗组肠组织 Nrf2 mRNA 表达均明显高于脓毒症组(均 $P<0.05$),呈时间依赖性。

表 2 氢气对 CLP 所致脓毒症小鼠术后不同时间点肠组织 Nrf2 mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	Nrf2 mRNA 相对表达量		
		术后 6 h	术后 12 h	术后 24 h
假手术组(1)	18	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
氢气对照组(2)	18	1.133 ± 0.214	1.037 ± 0.314	1.286 ± 0.353
脓毒症组(3)	18	1.606 ± 0.271	1.692 ± 0.399	1.784 ± 0.341
氢气治疗组(4)	18	2.008 ± 0.400	2.188 ± 0.475	2.333 ± 0.406
组间比较 1:2 的 t/P 值		0.797/0.437	0.166/0.870	1.420/0.175
1:3 的 t/P 值		3.631/0.002	3.233/0.005	3.894/0.001
1:4 的 t/P 值		6.036/0.001	5.550/0.001	0.622/0.001
2:3 的 t/P 值		2.833/0.012	3.067/0.007	2.474/0.025
2:4 的 t/P 值		5.239/0.001	5.384/0.001	5.201/0.001
3:4 的 t/P 值		2.405/0.029	2.317/0.034	2.728/0.015

注:CLP 为盲肠结扎穿孔术

2.4 肠组织病理改变(图 3):光镜下观察,假手术组与氢气对照组肠组织结构正常,肠绒毛结构清晰。脓毒症组肠组织绒毛排列不规则,黏膜及黏膜下出现水肿、出血,肠黏膜连续性断裂;而给予氢气治疗后,肠黏膜充血减少,间质出血减轻,黏膜缺损、断裂现象较脓毒症组有所改善。

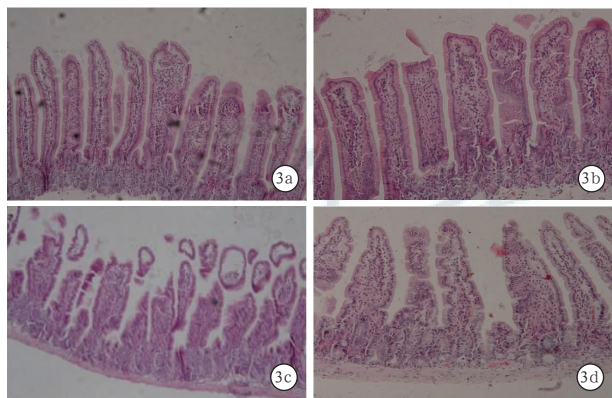


图 3 光镜下观察各组小鼠肠组织病理改变 假手术组(a)和氢气对照组(b)肠组织结构正常,肠绒毛结构清晰,无断裂现象;脓毒症组(c)肠组织绒毛排列紊乱,连续性断裂;氢气治疗组(d)肠黏膜缺损、断裂现象较脓毒症组有所改善 HE 高倍放大

3 讨论

CLP 是诱发脓毒症的经典方法^[16-17],因此本研究采用该方法制备脓毒症模型,结果提示 CLP 诱发脓毒症模型制备成功。同时本研究结果显示,CLP 后

1 h 和 6 h 分别吸入 2% 氢气 1 h 可明显提高脓毒症小鼠生存率,与本课题组前期研究结果^[18]一致。

HMGB1 可以介导炎症反应,并可以被分泌到细胞外与各种炎症因子相互作用,是一种重要的晚期炎症介质^[19-20]。HMGB1 在诸多炎症性疾病如脓毒症、关节炎、肺炎、胰腺炎等的发病机制中起着重要作用^[21]。邵义明等^[22]和 Gentile 等^[23]提出:HMGB1 的表达量与脓毒症严重程度有关,是脓毒症致死的重要原因。本研究结果表明,CLP 后 24 h HMGB1 明显升高,经氢气治疗后 HMGB1 表达降低。由此可见,氢气可以减少 CLP 诱导的脓毒症 HMGB1 释放。

正常肠道黏膜屏障由机械屏障、化学屏障、免疫屏障与生物屏障共同构成,能有效阻止细菌及内毒素等有害物质透过肠黏膜进入血液。当机体受到感染等严重疾病威胁时,机体的免疫系统将会释放大量的炎症介质,其结果将导致肠黏膜损伤、肠道细菌移位并大量入血,最终引起多器官损伤,导致病情恶化^[24]。Nrf2 可以感受外源性有毒物质和氧化应激的刺激,并在细胞抗氧化应激和外源性有毒物质诱导的主要防御机制中发挥重要的作用^[25-26]。Nrf2 受胞质接头蛋白(Keap1)的负性调控,Keap1 可以将 Nrf2 限制于细胞质中,当机体受到氧化应激刺激时,Keap1 与 Nrf2 分离,Nrf2 转移至细胞核内,与一种被称为抗氧化反应元件(ARE)的顺式作用元件相结合,并介导其下游基因的表达。Nrf2 的下游基因可以根据其作用及相关性分为几类,即细胞的生长和凋亡、细胞氧化还原、炎症反应及泛素介导的降解途径^[27]。Nrf2-ARE 通路是内源性抗氧化应激通路中最为重要的一条^[28]。氢气治疗脓毒症的同时不仅没有破坏内源性抗氧化系统,而且可以明显地提高内源性抗氧化系统的活性。由此可以得出结论:氢气可以通过激活 Nrf2-ARE 通路,使脓毒症小鼠肠组织中 Nrf2 蛋白表达增加,降低 HMGB1 的水平,最终对严重脓毒症小鼠肠组织起到保护作用,并明显提高脓毒症小鼠的生存率。

综上所述,氢气对脓毒症小鼠肠组织的保护作用与内源性抗氧化系统 Nrf2-ARE 通路的激活及 HMGB1 的减少有关。

参考文献

- [1] Pierce JD, McCabe S, White N, et al. Biomarkers: an important clinical assessment tool[J]. Am J Nurs, 2012, 112(9):52-58.
- [2] Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis[J]. Virulence, 2014, 5(1):4-11.
- [3] Sankar V, Webster NR. Clinical application of sepsis biomarkers[J]. J Anesth, 2013, 27(2):269-283.
- [4] 梁华平,姚咏明,王正国.关注脓毒症及其结局的预测研究[J].

- 中国危重病急救医学, 2005, 17(12): 709-711.
- [5] Lynn LA. The diagnosis of sepsis revisited—a challenge for young medical scientists in the 21st century[J]. Patient Saf Surg, 2014, 8(1): 1.
 - [6] 黎君友, 孙丹, 吕艺, 等. 脓毒症大鼠小肠功能变化的研究[J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16(6): 352-354.
 - [7] 韩磊, 任爱民. 脓毒症胃肠功能损伤机制及保护修复的研究进展[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16(5): 314-317.
 - [8] 林晓萍, 李雯, 沈华浩. 抗氧化应激转录因子——Nrf2 的研究进展[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(6): 1234-1239.
 - [9] Baird L, Dinkova-Kostova AT. The cytoprotective role of the Keap1-Nrf2 pathway[J]. Arch Toxicol, 2011, 85(4): 241-272.
 - [10] Thimmulappa RK, Lee H, Rangasamy T, et al. Nrf2 is a critical regulator of the innate immune response and survival during experimental sepsis[J]. J Clin Invest, 2006, 116(4): 984-995.
 - [11] 陈红光, 谢克亮, 韩焕芝, 等. 氢气对脓毒症小鼠急性肺损伤的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2012, 32(2): 195-197.
 - [12] Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, et al. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture [J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 31-36.
 - [13] Xie K, Fu W, Xing W, et al. Combination therapy with molecular hydrogen and hyperoxia in a murine model of polymicrobial sepsis [J]. Shock, 2012, 38(6): 656-663.
 - [14] Xie K, Yu Y, Pei Y, et al. Protective effects of hydrogen gas on murine polymicrobial sepsis via reducing oxidative stress and HMGB1 release[J]. Shock, 2010, 34(1): 90-97.
 - [15] Kawai M, Saegusa Y, Jin M, et al. Mechanistic study on hepatocarcinogenesis of piperonyl butoxide in mice [J]. Toxicol Pathol, 2009, 37(6): 761-769.
 - [16] 朱雪琦, 刘清泉, 姚咏明. 脓毒症动物模型制备方法的研究进展[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(2): 114-116.
 - [17] Hubbard WJ, Choudhry M, Schwacha MG, et al. Cecal ligation and puncture [J]. Shock, 2005, 24 Suppl 1: 52-57.
 - [18] 谢克亮, 侯立朝, 王国林, 等. 氢气吸入对重度脓毒症小鼠血清高迁移率族蛋白 B1 水平的影响[J]. 浙江大学学报(医学版), 2010, 39(5): 454-457.
 - [19] 姚咏明, 刘辉. 对高迁移率族蛋白 B1 作用的新认识[J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17(7): 385-387.
 - [20] 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[J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(6): 338-341.
 - [21] 杨岚, 李蕾, 陈国千. 炎症介质高迁移率族蛋白 B1 的研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版), 2010, 4(4): 463-466.
 - [22] 邵义明, 姚华国, 梁小仲, 等. 高迁移率族蛋白 B1 表达水平与小鼠脓毒症严重程度及预后关系的实验研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(11): 668-672.
 - [23] Gentile LF, Moldawer LL. HMGB1 as a therapeutic target for sepsis: it's all in the timing! [J]. Expert Opin Ther Targets, 2014, 18(3): 243-245.
 - [24] 王明星, 董琳, 纪木火, 等. 富氢液对脓毒症大鼠肠损伤的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2013, 29(2): 178-180.
 - [25] Kong X, Thimmulappa R, Craciun F, et al. Enhancing Nrf2 pathway by disruption of Keap1 in myeloid leukocytes protects against sepsis [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 184(8): 928-938.
 - [26] Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2007, 47: 89-116.
 - [27] Cho HY, Reddy SP, Debiase A, et al. Gene expression profiling of NRF2-mediated protection against oxidative injury [J]. Free Radic Biol Med, 2005, 38(3): 325-343.
 - [28] 蔡维霞, 张军, 胡大海. 氧化和化学应激的防御性转导通路——Nrf2/ARE [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2009, 25(4): 297-303.

(收稿日期: 2013-12-11)

(本文编辑: 李银平)

·读者·作者·编者·

本刊常用的不需要标注中文的缩略语(二)

RIFLE 分级(危险、损伤、衰竭、肾功能丧失、终末期肾病)

早期目标导向治疗(early goal-directed therapy, EGD)

随机对照临床试验(randomized controlled trial, RCT)

肠内营养(enteral nutrition, EN)

肠外营养(parenteral nutrition, PN)

连续性肾脏替代治疗

(continuous renal replacement therapy, CRRT)

连续性血液净化(continuous blood purification, CBP)

连续性静-静脉血液滤过

(continuous veno-venous hemofiltration, CVVH)

脉冲式高容量血液滤过

(pulsed high volume hemofiltration, PHVHF)

肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)

白细胞介素(interleukin, IL)

核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)

转化生长因子- β

(transforming growth factor- β , TGF- β)

降钙素原(procalcitonin, PCT)

C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)

超敏 C-反应蛋白(high sensitivity C-reactive protein, hs-CRP)

高迁移率族蛋白 B1(high mobility group protein B1, HMGB1)

Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)

低氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α , HIF-1 α)

环氧酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)

细胞外信号调节激酶

(extracellular signal-regulated kinase 2, ERK)

c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)

丝裂素活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)

髓样分化抗原 88(myeloid differential protein-88, MyD88)

病原相关分子模式

(pathogen associated molecular pattern, PAMP)

白细胞介素-1 受体相关激酶 1

(interleukin-1 receptor-associated kinase 1, IRAK-1)

肿瘤坏死因子受体相关因子 6

(tumor necrosis factor receptor-associated factor 6, TRAF-6)

肿瘤坏死因子- α 诱导蛋白 6

(tumor necrosis factor- α induced protein 6, TSG-6)

线粒体融合蛋白 2(mitochondrial fusion protein 2, Mfn2)

人白细胞 DR 抗原(human leukocyte antigen-DR, HLA-DR)

肝素结合蛋白(heparin-binding protein, HBP)