

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.06.019

论著·实验研究

脂氧素 A4 早期干预对脓毒症小鼠的保护作用

林星云¹ 高莉莉² 吴铭² 赵彤² 沈栋林²

(1. 徐州医科大学研究生学院, 江苏 徐州 221000;
2. 徐州医科大学附属医院儿内科, 江苏 徐州 221000)

[摘要] **目的** 探讨在脓毒症早期进行脂氧素 A4 (LXA4) 干预对脓毒症小鼠的影响。**方法** 将 6~8 周龄健康雄性 Balb/c 小鼠随机分为假手术组、脓毒症组、脓毒症造模 1 h 后干预组和脓毒症造模 6 h 后干预组, 每组 8 只小鼠。采用盲肠结扎穿孔术制造脓毒症模型, 造模后干预组于术后 1 h 或 6 h 给予 LXA4 0.01 $\mu\text{g/g}$ 体重; 术后 24 h 摘眼球取血, 收集腹腔灌洗液, 取肝、肺组织。稀释涂布平板法计数全血、腹腔灌洗液细菌菌落; CBA 法检测血清肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、IL-6、单核细胞趋化蛋白 1 (MCP-1) 水平, ELISA 法检测血清高迁移率族蛋白 1 (HMGB1) 水平; 流式细胞仪检测腹腔灌洗液巨噬细胞及中性粒细胞水平; 肝肺组织行石蜡切片、苏木精-伊红染色, 观察病理损伤。**结果** 与假手术组相比, 脓毒症组腹腔灌洗液巨噬细胞比例减少、中性粒细胞比例增加 ($P<0.05$); 血清 IL-6、TNF- α 、MCP-1、HMGB1 水平增高 ($P<0.05$); 肝组织可见较多空泡样变性、肝细胞肿胀并有炎性细胞浸润; 肺组织可见毛细血管充血、肺间隔增厚、炎性细胞浸润、部分组织结构破坏。与脓毒症组相比, 1 h 干预组及 6 h 干预组腹腔灌洗液巨噬细胞比例增加 ($P<0.05$), 中性粒细胞比例及腹腔灌洗液细菌载量无明显差异 ($P>0.05$), 全血中细菌载量降低 ($P<0.05$); 血清 IL-6、TNF- α 、MCP-1、HMGB1 水平降低 ($P<0.05$); 肝、肺组织损伤及炎性细胞浸润程度减轻。与 6 h 干预组相比, 1 h 干预组血清 HMGB1 水平降低 ($P<0.05$), 其余指标在两组间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** LXA4 早期干预减轻了脓毒症小鼠的肝、肺组织损伤, 可能与其降低血清 IL-6、TNF- α 、MCP-1、HMGB1 水平有关; 同时减少了脓毒症小鼠全血中细菌的播散程度, 可能与增加腹腔巨噬细胞比例有关。

[中国当代儿科杂志, 2019, 21(6): 601-606]

[关键词] 脓毒症; 脂氧素 A4; 炎症因子; 高迁移率族蛋白 B1; 小鼠

Protective effect of early intervention with lipoxin A4 on septic mice

LIN Xing-Yun, GAO Li-Li, WU Ming, ZHAO Tong, SHEN Dong-Lin. The Graduate School, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221000, China (Gao L-L, Email: gaoll0808@sina.com)

Abstract: Objective To study the effect of early intervention with lipoxin A4 (LXA4) on septic mice. **Methods** Healthy male Balb/c mice aged 6-8 weeks were randomly divided into sham-operation group, sepsis group, 1-hour intervention group (intervention at 1 hour after sepsis), and 6-hour intervention group (intervention at 6 hours after sepsis) ($n=8$ each). A sepsis model was prepared by cecal ligation and puncture. The intervention groups received LXA4 at 0.01 $\mu\text{g/g}$ body weight 1 or 6 hours after the model was established. Blood was taken from eyeballs at 24 hours after operation. Peritoneal lavage fluid and liver and lung tissue samples were collected. The bacterial colonies of whole blood and peritoneal lavage fluid were counted by dilution plating. The serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) were determined by cytometric bead array. The serum level of high mobility group box-1 (HMGB1) was determined using ELISA. The percentages of macrophages and neutrophils in peritoneal lavage fluid were determined by flow cytometry. Paraffin sectioning and hematoxylin-eosin staining were performed for the liver and lung tissue samples to observe pathological damage. **Results** Compared with the sham-operation group, the sepsis group had a significantly decreased percentage of macrophages and a significantly increased percentage of neutrophils in peritoneal lavage fluid ($P<0.05$), as well as significantly increased serum levels

[收稿日期] 2018-12-11; [接受日期] 2019-05-07

[作者简介] 林星云, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 高莉莉, 女, 主任医师。Email: gaoll0808@sina.com。

of IL-6, TNF- α , MCP-1, and HMGB1 ($P<0.05$); in addition, the sepsis group showed more vacuolar degeneration, hepatocyte swelling, and inflammatory cell infiltration in liver tissue, and more capillary congestion, pulmonary septal thickening, inflammatory cell infiltration, and partial tissue destruction in lung tissue. Compared with the sepsis group, the 1-hour and 6-hour intervention groups had a significantly increased percentage of macrophages in peritoneal lavage fluid ($P<0.05$) and significantly reduced bacterial load in whole blood ($P<0.05$), serum levels of IL-6, TNF- α , MCP-1, and HMGB1 ($P<0.05$), and degree of liver and lung tissue damage and inflammatory cell infiltration, but there was no significant difference in the percentage of neutrophils and bacterial load in peritoneal lavage fluid ($P>0.05$). Compared with the 6-hour intervention group, the 1-hour intervention group had a significantly decreased serum level of HMGB1 ($P<0.05$), but there was no significant difference in other indicators between the two groups ($P>0.05$). **Conclusions** Early intervention with LXA4 may attenuate liver and lung injuries in septic mice, which may be explained by the decrease in serum levels of IL-6, TNF- α , MCP-1, and HMGB1, and it also may reduce the bacterial dissemination in the whole blood of septic mice, which may be explained by the increase in the percentage of peritoneal macrophages.

[Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(6): 601-606]

Key words: Sepsis; Lipoxin A4; Inflammatory factor; High mobility group box 1; Mice

脓毒症 (sepsis) 是感染引起宿主反应失调而导致危及生命的器官功能障碍^[1]。一项全球性多中心调查显示, 重症脓毒症占 PICU 患儿的 8.2%, 病死率高达 25%, 存活者中 17% 有不同程度的功能障碍^[2]。尽管抗生素的合理应用及支持治疗的提高, 脓毒症病死率仍居高不下, 与脓毒症发病机制尚未完全阐明有关。目前认为, 脓毒症是感染引起的全身失控性炎症反应导致感染性休克、多器官损伤和死亡^[3]。然而, 脓毒症早期即可出现免疫抑制, 随病程进展免疫抑制逐渐占主导地位, 成为中后期感染难以控制或继发感染的根本原因^[3]。不恰当的抑制炎症反应可能会损伤免疫系统清除病原体的能力。

脂素素 A4 (lipoxin A4, LXA4) 是花生四烯酸通过脂氧合酶代谢途径生成的产物。大量的动物、临床前研究证实, LXA4 具有抗炎、促炎症消退作用^[4-6]; 此外, LXA4 能减轻脓毒症动物的肝肺损伤^[7-8]并能改善其生存率^[9-11]。对 7945 例脓毒症和急性呼吸窘迫综合征患者的研究表明, 低剂量乙酰水杨酸通过 15-epi-LXA4 作用降低了全身炎症反应综合征严重程度及病死率^[12]。还有研究发现, 15-Epi-LXA4 和抗生素联用能够增强抗生素治疗脓毒症小鼠的疗效^[13], 提示 LXA4 可能具有潜在的抗感染效应。本研究在脓毒症早期对小鼠进行 LXA4 干预, 旨在探讨早期 LXA4 干预对脓毒症小鼠肝肺损伤及细菌清除的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物

40 只 6~8 周龄清洁级健康雄性 Balb/c 小鼠,

体重 15~26 g, 购自济南朋悦实验动物繁育有限公司。适应性饲养 1 周, 自由饮食, 12 h 光照和黑暗交替, 保持室温 20~25℃。

1.2 脓毒症小鼠模型制备及分组

按随机数字表法将小鼠分为假手术组 ($n=8$)、脓毒症组 ($n=12$)、脓毒症造模 1 h 后干预组 (1 h 干预组, $n=10$) 和脓毒症造模 6 h 后干预组 (6 h 干预组, $n=10$)。参照文献^[14], 采用盲肠结扎穿孔法制备脓毒症模型。称量小鼠体重, 腹腔注射 3.5% 水合氯醛麻醉、腹部备皮、75% 酒精消毒、铺无菌洞巾; 沿腹中线作 1.5~2.0 cm 切口, 无菌止血钳探查盲肠将其游离并置于体外; 用 4-0 无菌缝线于盲肠尾端至回盲瓣下方 1/2 处结扎, 21G 无菌针头于盲肠尾端至结扎部位 1/2 处贯通穿孔 (避免穿破肠系膜血管), 轻压盲肠使两穿刺孔各挤出少许肠内容物, 将盲肠回纳腹腔, 避免肠内容物触及腹壁伤口缘, 用 6-0 无菌缝线逐层缝合腹壁切口; 术后立即皮下注射无菌生理盐水 (0.04 mL/g 体重) 复苏, 置饲养笼, 室温 20~25℃、12 h 昼夜交替、自由饮食。假手术组不进行盲肠结扎穿孔, 其余步骤同脓毒症模型制备。1 h 干预组和 6 h 干预组分别于造模后 1 h、6 h 腹腔注射 LXA4 (Cayman 公司, 美国) 0.01 μ g/g 体重。术后 24 h, 假手术组无死亡, 脓毒症组、1 h 干预组和 6 h 干预组死亡数分别为 2 只、1 只、1 只; 剔除死亡小鼠, 存活小鼠归入各组, 每组各取 8 只进行检测。

1.3 标本采集

各组小鼠于术后 24 h 摘眼球取血, 留取适量标本于 EDTA 抗凝管, 其余标本置于分离胶促凝剂管、静置 1~2 h 后离心 (3000 r/min) 6 min, 留取上清于 -80℃ 冰箱备用。小鼠采血后自然死亡,

立即置于75%酒精中浸泡数分钟,用无菌PBS溶液10 mL分多次灌洗腹腔,腹腔灌洗液置于无菌离心管中,室温静置待检。随后剪开小鼠腹、胸腔,依次取出肝、肺组织,置于10%中性福尔马林中固定至少24 h。

1.4 巨噬细胞及中性粒细胞比例测定

将腹腔灌洗液离心(2000 r/min) 5 min,弃上清,加无菌PBS溶液1 mL重悬。按试剂说明依次加入荧光标记抗体1(Ly-6G/Ly-6C单克隆抗体, FITC, Thermo Fisher公司, 美国)标记巨噬细胞, 荧光标记抗体2(F4/80单克隆抗体, PE, Thermo Fisher公司, 美国)标记中性粒细胞, 4℃避光孵育30 min, 2000 r/min离心5 min, 弃上清, 加1 mL无菌PBS溶液重悬、洗涤, 加400 μL无菌PBS溶液重悬, 立即使用流式细胞仪(Beckman Coulter公司, 美国)检测。

1.5 细菌载荷检测

取200 μL腹腔灌洗液和全血标本, 分别用无菌生理盐水倍比稀释, 各取100 μL腹腔灌洗液和全血倍比稀释液, 采用涂布法无菌接种至TSA平板上(青岛海博生物公司), 室温静置10 min, 倒置于37℃、5%CO₂恒温培养箱(Thermo公司, 美国), 24 h后计数细菌菌落。

1.6 CBA法检测血清细胞因子

按小鼠多因子CBA试剂盒(Becton Dickinson公司, 美国)说明书配制细胞因子微球混合液, 制备标准管和阴性对照管。试管中加入各种混合微球液, 以及荧光染液和血清, 充分混匀, 室温避光孵育, 洗涤, 加120 μL洗液, 混匀3~5 min后立即使用流式细胞仪检测IL-6、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)水平。

1.7 ELISA法检测血清高迁移率族蛋白B1浓度

按小鼠高迁移率族蛋白B1(HMGB1)ELISA试剂盒(武汉伊莱瑞特公司)说明书逐次加血清、工作液, 孵育, 充分显色后加终止液终止反应, 立即于酶标仪(Thermo公司, 美国)450 nm波长下读取吸光度值, 经标准曲线计算浓度。

1.8 光镜下检查肝、肺组织病理变化

取10%中性福尔马林中固定的肝、肺组织, 脱水、石蜡包埋、切片, 苏木精-伊红染色, 光学显微镜下观察组织病理变化。

1.9 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件对数据进行统计学分析。符合正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用SNK-*q*检验。不符合正态分布计量资料以中位数(四分位间距)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示, 多组间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验, 组间两两比较采用Bonferroni校正法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠一般情况

术后24 h, 脓毒症组小鼠精神萎靡、行动迟缓、背部竖毛, 肛门有粪便黏连, 尿液黄色浑浊; 1 h干预组、6 h干预组小鼠一般情况与脓毒症组相似; 假手术组小鼠一般情况恢复至术前状态。

2.2 各组小鼠腹腔灌洗液巨噬细胞及中性粒细胞水平变化

与假手术组相比, 脓毒症组、1 h干预组和6 h干预组腹腔灌洗液中中性粒细胞比例增高, 巨噬细胞比例降低($P < 0.05$)。1 h干预组和6 h干预组腹腔灌洗液中中性粒细胞比例与脓毒症组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 巨噬细胞比例较脓毒症组增高($P < 0.05$)。1 h干预组腹腔灌洗液中中性粒细胞、巨噬细胞比例与6 h干预组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.3 各组小鼠腹腔灌洗液及全血中细菌载荷量变化

假手术组腹腔灌洗液和全血中均未检测到细菌。1 h干预组和6 h干预组腹腔灌洗液细菌载荷量与脓毒症组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 全血中细菌载荷量较脓毒症组降低($P < 0.05$)。6 h干预组腹腔灌洗液、全血中细菌载荷量与1 h干预组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.4 各组小鼠血清细胞因子水平变化

与假手术组相比, 脓毒症组血清IL-6、TNF-α、MCP-1、HMGB1水平增高($P < 0.05$); 与脓毒症组相比, 1 h干预组和6 h干预组血清IL-6、TNF-α、MCP-1、HMGB1水平降低($P < 0.05$); 6 h干预组血清IL-6、TNF-α、MCP-1水平与1 h干预组相比, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 与6 h干预组相比, 1 h干预组HMGB1水平降低($P < 0.05$)。见表3。

表1 各组小鼠腹腔灌洗液巨噬细胞及中性粒细胞比例比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	巨噬细胞比例	中性粒细胞比例
假手术组	8	0.251 ± 0.041	0.368 ± 0.050
脓毒症组	8	0.050 ± 0.023 ^a	0.538 ± 0.035 ^a
1 h 干预组	8	0.144 ± 0.039 ^{a,b}	0.524 ± 0.023 ^a
6 h 干预组	8	0.125 ± 0.052 ^{a,b}	0.517 ± 0.028 ^a
<i>F</i> 值		21.251	26.265
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注: a 示与假手术组比较, $P < 0.05$; b 示与脓毒症组比较, $P < 0.05$ 。

表2 各组小鼠腹腔灌洗液及全血中细菌载荷量比较
[$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	<i>n</i>	腹腔灌洗液细菌载量 (10^5 CFU/mL)	血液中细菌载量 (CFU/mL)
假手术组	8	0	0
脓毒症组	8	33.00(20.50, 45.75)	22 600(17 175, 28 675)
1 h 干预组	8	6.50(4.42, 37.00)	450(250, 1 475) ^a
6 h 干预组	8	7.50(2.00, 47.75)	2 400(1 100, 4 425) ^a
<i>H</i> 值		23.285	27.792
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注: a 示与脓毒症组比较, $P < 0.05$ 。

表3 各组小鼠血清细胞因子水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-6 (pg/mL)	TNF- α (pg/mL)	MCP-1 (pg/mL)	HMGB1 (ng/mL)
假手术组	8	0.75 ± 0.05	0.532 ± 0.026	0.541 ± 0.013	9.2 ± 2.6
脓毒症组	8	13.96 ± 2.74 ^a	0.818 ± 0.096 ^a	2.803 ± 0.580 ^a	14.1 ± 2.0 ^a
1 h 干预组	8	3.86 ± 0.92 ^{a,b}	0.608 ± 0.026 ^{a,b}	1.173 ± 0.271 ^{a,b}	6.7 ± 1.1 ^{a,b}
6 h 干预组	8	4.88 ± 0.42 ^{a,b}	0.629 ± 0.062 ^{a,b}	1.578 ± 0.326 ^{a,b}	11.2 ± 1.2 ^{b,c}
<i>F</i> 值		58.676	21.595	28.177	14.971
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: [TNF- α] 肿瘤坏死因子 α ; [MCP-1] 单核细胞趋化蛋白 1; [HMGB1] 高迁移率族蛋白 1。a 示与假手术组比较, $P < 0.05$; b 示与脓毒症组比较, $P < 0.05$; c 示与 1 h 干预组比较, $P < 0.05$ 。

2.5 各组小鼠肝及肺组织病理变化

假手术组肝、肺组织未见明显异常改变。脓毒症组肝组织可见较多空泡样变性、肝细胞肿胀及炎性细胞浸润;与脓毒症组相比,1 h 干预组、6 h 干预组肝组织中空泡样变性、炎性细胞浸润减少、肝细胞肿胀减轻;6 h 干预组与 1 h 干预组相

比,肝组织病理未见明显差异。脓毒症组肺组织可见毛细血管充血、肺间隔增厚、炎性细胞浸润,部分结构被破坏;与脓毒症组相比,1 h 干预组、6 h 干预组肺组织毛细血管充血及肺间隔增厚减轻,炎性细胞浸润及组织结构破坏减少;6 h 干预组与 1 h 干预组相比,肺组织病理未见明显差异。见图 1。

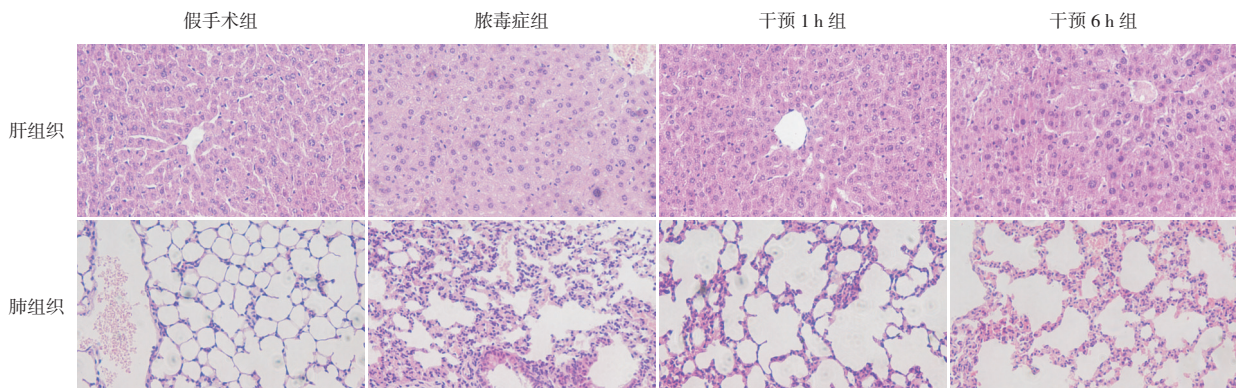


图1 各组小鼠术后 24 h 肝、肺组织病理改变 (苏木精-伊红染色, $\times 400$) 假手术组肝、肺组织未见明显异常改变。脓毒症组、1 h 干预组及 6 h 干预组肝组织均可见肝细胞肿胀、空泡样变性、炎性细胞浸润;肺组织均可见不同程度的肺间隔增厚、毛细血管充血、炎性细胞浸润及结构破坏。与脓毒症组相比,1 h 干预组及 6 h 干预组肝、肺组织病理变化情况均减轻。

3 讨论

脓毒症是宿主对感染原的多层次反应,发病机制复杂。临床及动物实验均证实失控的炎症反应是致脓毒症器官功能损伤的主要原因^[15]。脓毒症全身炎症反应亢进的发生,主要是致病菌通过病原体相关分子模式与免疫细胞表面受体结合,经细胞信号转导途径启动转录因子活化,激活固有免疫细胞合成分泌TNF- α 、IL-6等促炎细胞因子,继而启动炎症级联反应。血管内皮细胞最先遭受理化刺激,其损伤是启动急性炎症、激活和放大凝血过程的关键环节^[16]。TNF- α 、IL-6刺激血管内皮细胞收缩使血管通透性增加,激活内皮细胞表达组织因子及外源性凝血途径,损伤血管内皮细胞使其表面黏附分子受体等表达增多,使炎症放大持续、微循环血栓形成及组织损伤^[17]。临床研究中,感染性休克患者TNF- α 、IL-1 β 及IL-6等水平升高,这些炎症因子水平与患者临床严重程度和预后密切相关^[3]。给动物注射TNF- α 、IL-1 β 可诱发全身性感染、感染性休克及死亡;应用单克隆抗体阻断炎症介质效应可减轻炎症反应,降低全身性感染病死率^[18]。本研究中,LXA4降低了脓毒症小鼠血清TNF- α 、IL-6、MCP-1的水平,同时减轻了脓毒症小鼠的肝肺损伤。提示LXA4减轻脓毒症小鼠肝肺损伤可能与降低血清中炎症因子水平有关;可能是通过降低TNF- α 、IL-6的水平从而减轻炎症因子对血管内皮细胞的刺激和损伤而发挥作用。

HMGB1生理条件下不存在于细胞外;脓毒症时,感染等因素激活固有免疫细胞并主动分泌HMGB1,此外,损伤细胞或坏死细胞亦可被动释放HMGB1^[19]。胞外HMGB1通过相关受体信号转导通路刺激多种炎症介质的产生,加剧炎症反应及组织损伤。体内外实验均证实HMGB1是脓毒症致死效应重要的晚期炎症介质^[20],并作为脓毒症新的治疗靶点愈发受到重视^[21]。许多抗HMGB1药物可降低脓毒症动物炎症介质释放、提高存活率、改善组织损伤^[22-24]。Singh等^[25]发现,给予急性梗阻性化脓性胆管炎致脓毒症患者HMGB1抗体,降低血浆HMGB1水平后,患者器官功能显著改善。亦有研究表明,HMGB1是评估脓毒症患者病情严重程度的重要指标,Wang等^[26]发现严重创伤后

脓毒症患者血浆HMGB1水平与器官损伤程度呈正相关,病情越重HMGB1越高且持续时间越长。本研究中,脓毒症小鼠血清HMGB1水平明显增高;LXA4降低了脓毒症小鼠血清HMGB1水平,同时减轻了脓毒症小鼠肝肺损伤;并且越早给予LXA4血清HMGB1水平降低越显著。因此,LXA4减轻脓毒症小鼠肝肺损伤还可能与降低血清HMGB1水平有关,越早给予脓毒症小鼠LXA4可能越有助于改善病情严重程度。

多项研究发现,大多数全身感染性患者于病程中后期出现了耐药条件致病菌和真菌或病毒感染,且多数死于中后期继发感染,而非早期的炎症反应亢进^[3]。近年来发现,脓毒症早期即可能出现抗炎反应和免疫抑制^[27-29],随病程进展,免疫抑制逐渐占主导地位,成为感染难以控制或继发感染的根本原因^[3]。因此,理想的脓毒症治疗方案应是控制炎症反应的同时,又能清除感染。本研究中,LXA4减少了脓毒症小鼠血中细菌的播散,而不增加腹腔的细菌载量,这与已有的研究一致^[9,13];而盲肠结扎穿孔术后1h、6h给予LXA4,血中细菌载量无明显差异。提示,LXA4增强了脓毒症小鼠的细菌清除力,盲肠结扎穿孔术后1h、6h给予LXA4对于改善脓毒症小鼠细菌清除力的作用相似。

LXA4的抗菌作用机制还不明确。有研究发现,LXA4增强脓毒症动物细菌清除力可能与增强血和腹膜中性粒细胞的吞噬作用有关^[30]。此外,Wu等^[31]发现LXA4除直接通过增强CD64介导的中性粒细胞的吞噬作用增强小鼠的细菌清除能力外,同时还可减少绿脓杆菌毒素的释放从而降低病原体的毒力。本研究中,LXA4增加了脓毒症小鼠腹腔巨噬细胞的比例,同时还可减少细菌的播散;盲肠结扎穿孔术后1h、6h给予LXA4,腹腔巨噬细胞的比例及细菌播散程度无明显差异。提示LXA4改善细菌清除力还可能与增加腹腔巨噬细胞比例有关,这与已有的研究^[9]相似。

综上所述,LXA4可能通过减轻脓毒症小鼠全身炎症反应,从而减轻脓毒症小鼠肝肺损伤;同时增强了脓毒症小鼠的细菌清除力,可能与增强腹腔巨噬细胞比例有关;越早给予脓毒症小鼠LXA4可能越有利于改善病情严重程度。LXA4以其抗炎促炎症消退作用及潜在的抗菌作用为脓毒

症辅助治疗研究提供了一个新的方向。然而,脓毒症的病理过程是复杂动态发展的,且尚未完全阐明,对脓毒症使用LXA4干预对于机体免疫系统的影响尚不清楚,LXA4的这种潜在的抗菌作用还有待进一步研究明确。

【参 考 文 献】

- [1] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8): 775-787.
- [2] Weiss SL, Fitzgerald JC, Pappachan J, et al. Global epidemiology of pediatric severe sepsis: the sepsis prevalence, outcomes, and therapies study[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 191(10): 1147-1157.
- [3] 刘军. 对全身性感染免疫与炎症关系的思考[J]. 中华急诊医学杂志, 2017, 26(11): 1230-1235.
- [4] English JT, Norris PC, Hodges RR, et al. Identification and profiling of specialized pro-resolving mediators in human tears by lipid mediator metabolomics[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2017, 117: 17-27.
- [5] Poorani R, Bhatt AN, Dwarakanath BS, et al. COX-2, aspirin and metabolism of arachidonic, eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids and their physiological and clinical significance[J]. Eur J Pharmacol, 2016, 785: 116-132.
- [6] Romano M, Cianci E, Simiele F, et al. Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 760: 49-63.
- [7] Ei-Tanbouly GS, Ei-Awady MS, Megahed NA, et al. The lipoxin A4 agonist BML-111 attenuates acute hepatic dysfunction induced by cecal ligation and puncture in rats[J]. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2017, 390(4): 361-368.
- [8] Chen QF, Kuang XD, Yuan QF, et al. Lipoxin A4 attenuates LPS-induced acute lung injury via activation of the ACE2-Ang-(1-7)-Mas axis[J]. Innate Immun, 2018, 24(5): 285-296.
- [9] Walker J, Dichter E, Lacorte G, et al. Lipoxin A4 increases survival by decreasing systemic inflammation and bacterial load in sepsis[J]. Shock, 2011, 36(4): 410-416.
- [10] Wu B, Walker JA, Temmermand D, et al. Lipoxin A4 promotes more complete inflammation resolution in sepsis compared to stable lipoxin A4 analog[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2013, 89(1): 47-53.
- [11] Rinaldi SF, Catalano RD, Wade J, et al. 15-epi-lipoxin A4 reduces the mortality of prematurely born pups in a mouse model of infection-induced preterm birth[J]. Mol Hum Reprod, 2015, 21(4): 359-368.
- [12] Eisen DP, Reid D, McBryde ES. Acetyl salicylic acid usage and mortality in critically ill patients with the systemic inflammatory response syndrome and sepsis[J]. Crit Care Med, 2012, 40(6): 1761-1767.
- [13] Ueda T, Fukunaga K, Seki H, et al. Combination therapy of 15-epi-lipoxin A4 with antibiotics protects mice from *Escherichia coli*-induced sepsis*[J]. Crit Care Med, 2014, 42(4): e288-e295.
- [14] 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.
- [15] 刘军, 张朋书, 董亮, 等. 急性肺损伤小鼠树突状细胞 I-Ab/I-E 表达的研究[J]. 中华内科杂志, 2013, 52(7): 590-593.
- [16] 易梦秋, 余旻. 脓毒症导致多器官功能障碍的发病机制[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(20): 3451-3454.
- [17] 李彦, 杨建萍, 顾承东. 细胞因子在脓毒症中的研究进展[J]. 中日友好医院学报, 2014, 28(5): 298-301.
- [18] Huet O, Chin-Dusting JP. Septic shock: desperately seeking treatment[J]. Clin Sci (Lond), 2014, 126(1): 31-39.
- [19] 张玉凤, 邓慧玲, 符佳, 等. 高迁移率族蛋白 B1 的临床研究进展[J]. 中国小儿急救医学, 2017, 24(8): 606-609, 615.
- [20] 饶小龙, 孙航, 吴传新. HMGB1 在脓毒症中的致病机制及靶向治疗前景[J]. 生理科学进展, 2014, 45(6): 458-461.
- [21] 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.
- [22] Zheng S, Weng Q, Wu W, et al. Blood purification treatment initiated at the time of sepsis diagnosis effectively attenuates serum HMGB1 upregulation and improves patient prognosis[J]. Exp Ther Med, 2017, 14(4): 3029-3035.
- [23] Ahn MY, Hwang JS, Lee SB, et al. Curcumin longa extract-loaded nanoemulsion improves the survival of endotoxemic mice by inhibiting nitric oxide-dependent HMGB1 release[J]. Peer J, 2017, 5: e3808.
- [24] Li Z, Ma QQ, Yan Y, et al. Edaravone attenuates hippocampal damage in an infant mouse model of pneumococcal meningitis by reducing HMGB1 and iNOS expression via the Nrf2/HO-1 pathway[J]. Acta Pharmacol Sin, 2016, 37(10): 1298-1306.
- [25] Singh A, Feng Y, Mahato N, et al. Role of high-mobility group box 1 in patients with acute obstructive suppurative cholangitis-induced sepsis[J]. J Inflamm Res, 2015, 8: 71-77.
- [26] Wang XW, Karki A, Zhao XJ, et al. High plasma levels of high mobility group box 1 is associated with the risk of sepsis in severe blunt chest trauma patients: a prospective cohort study[J]. J Cardiothorac Surg, 2014, 9: 133.
- [27] Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Immunosuppression in sepsis: a novel understanding of the disorder and a new therapeutic approach[J]. Lancet Infect Dis, 2013, 13(3): 260-268.
- [28] Timmermans K, Kox M, Vaneker M, et al. Plasma levels of danger-associated molecular patterns are associated with immune suppression in trauma patients[J]. Intensive Care Med, 2016, 42(4): 551-561.
- [29] Xiao W, Mindrinos MN, Seok J, et al. A genomic storm in critically injured humans[J]. J Exp Med, 2011, 208(13): 2581-2590.
- [30] Wu B, Walker J, Spur B, et al. Effects of Lipoxin A4 on antimicrobial actions of neutrophils in sepsis[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2015, 94: 55-64.
- [31] Wu B, Capilato J, Pham MP, et al. Lipoxin A4 augments host defense in sepsis and reduces *Pseudomonas aeruginosa* virulence through quorum sensing inhibition[J]. FASEB J, 2016, 30(6): 2400-2410.

(本文编辑: 万静)