

· 论著摘要 ·

# 脓毒症大鼠肾脏高迁移率族蛋白-1 与肿瘤坏死因子表达的关系

姚咏明 张立天 陆家齐 董宁 郝小建 于燕 方文慧 盛志勇

新近的研究提示,高迁移率族蛋白-1 (high mobility group-1 protein, HMG-1) 作为晚期炎症介质,可能参与了脓毒症及其介导急性肝、肺损害的病理生理过程<sup>[1-3]</sup>。本实验采用盲肠结扎穿孔法 (CLP) 造成大鼠脓毒症模型,对肾组织 HMG-1 mRNA 表达的改变及其与肿瘤坏死因子 (TNF) 的关系进行了初步探讨。

### 一、材料与与方法

1. 动物分组及模型: 雄性 Wistar 大鼠随机分为 3 组: (1) 正常对照组 (10 只); (2) 盲肠结扎穿孔组 (20 只): 动物麻醉后,沿腹正中中线切开,在盲肠根部结扎盲肠。用 18 号针穿刺盲肠 3 次,并留置一条宽 2 mm 的橡皮片贯通盲肠,防止针孔闭合,造成严重脓毒症模型。分别于 CLP 后 12、24 h 处死动物; (3) HMG-1 抑制剂——正丁酸钠治疗组 (20 只): CLP 后 30 min 和 4 h 静脉注射正丁酸钠 (500 mg/kg), 分别于注射后 12、24 h 处死动物。

2. 检测指标及方法: (1) 肾组织 HMG-1 和 TNF mRNA 表达: 采用半定量逆转录聚合酶链反应技术,以三磷酸甘油醛脱氢酶作为内参对照,以目的基因与内参对照的比值为基因表达的相对含量。大鼠 HMG-1 和 TNF 序列参照文献 [1, 4] 合成。(2) 肾组织 TNF 蛋白水平: 采用大鼠 TNF ELISA 试剂盒 (法国 Diaclone 公司) 检测。(3) 血清肌酐 (Cr) 水平: 使用 7170 型自动生化分析仪 (日本) 测定。

3. 统计学处理: 各组数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 10.0 统计软件包进行 *t* 检验和方差分析。

### 二、结果

1. 肾组织 HMG-1 mRNA 的表达: CLP 后 12 h, 大鼠肾组织 HMG-1 mRNA 表达显著增强 [(0.466 ± 0.070) 吸光度 (A) 值比值, *P* < 0.05], 24 h 呈逐渐升高趋势。给予正丁酸钠后,治疗组大鼠肾组织 HMG-1 mRNA 表达在 CLP 12、24 h 分别为 0.283 ± 0.045 和 0.298 ± 0.063, 吸光度 (A) 值比值显著低于 CLP 组 (*P* < 0.05)。

2. 肾组织 TNF 基因表达及蛋白水平的变化: 大鼠 CLP 后 12 h, 肾组织中 TNF mRNA 表达迅速增多,约为伤前均值的 2.27 倍 (*P* < 0.01)。正丁酸钠治疗对 CLP 后 12 h 大鼠局部组织 TNF mRNA 表达无明显影响,但能显著抑制 24 h 的表达量 (*P* < 0.05)。同时,CLP 后 12 h 大鼠肾组织 TNF 蛋白水平 [(1.986 ± 0.487) pg/mg 蛋白] 显著高于伤前值

[(0.309 ± 0.104) pg/mg 蛋白, *P* < 0.01], 治疗组 24 h 大鼠 TNF 水平可下降至正常范围。

3. 正丁酸钠治疗对肾功能指标的影响: CLP 大鼠血清 Cr 于 12~24 h 均呈现不同程度地升高,分别为 (57.83 ± 1.89) 和 (58.33 ± 2.17) μmol/L, 与正常对照组 (51.16 ± 2.39) μmol/L 比较,差异有显著性意义 (*P* < 0.05)。CLP 后 12 h 和 24 h 治疗组血清 Cr 水平比未治疗组显著降低 (*P* < 0.05 ~ 0.01)。

### 三、讨论

本组资料显示,CLP 后 12 h 大鼠肾组织 HMG-1 mRNA 表达显著增强,24 h 呈持续升高趋势并达峰值。这一动力学特点与 TNF 等炎症介质明显不同。笔者既往的研究亦证实,金黄色葡萄球菌感染所致脓毒症时,肝、肺组织中的 HMG-1 mRNA 表达亦明显增加,伤后 6~12 h 达峰值,至 24 h 仍维持于较高水平<sup>[3]</sup>。笔者通过进一步观察,给予大鼠 HMG-1 抑制剂正丁酸钠治疗后,可有效降低局部组织 HMG-1 mRNA 表达,同时血清 Cr 水平均显著下降。提示随着组织 HMG-1 的产生被正丁酸钠抑制,脓毒症时急性肾功能障碍可得以改善。因此,严重腹腔感染所致脓毒症时,局部组织 HMG-1 上调在肾损害中可能具有重要作用。

关于脓毒症时 HMG-1 表达上调介导肾功能损害的详细机制目前尚不清楚,除其直接组织损伤效应外<sup>[1,2]</sup>,可能与 HMG-1 诱导其他炎症介质的作用有关。本组资料显示,给予正丁酸钠治疗可有效抑制肾组织 HMG-1 诱导,并可显著降低 CLP 后 24 h 肾组织 TNF mRNA 和蛋白水平。该结果说明,严重腹腔感染所致脓毒症时 HMG-1 表达上调,这对于进一步刺激肾组织 TNF 的持续合成与释放,可能具有重要调节的作用。

### 参 考 文 献

- 1 Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*, 1999, 285:248-251.
- 2 Yang H, Wang H, Tracey KJ. HMG-1 rediscovered as a cytokine. *Shock*, 2001, 15:247-253.
- 3 Fang WH, Yao YM, Shi ZG, et al. The significance of changes in high mobility group-1 protein mRNA expression in rats after thermal injury. *Shock*, 2002, 17:329-333.
- 4 Zervos EE, Kramer AA, Salhab KF, et al. Sublethal hemorrhage blunts the inflammatory cytokine response to endotoxin in a rat model. *J Trauma*, 1999, 46:145-149.
- 5 李红云, 姚咏明, 施志国, 等. 高迁移率族-1 蛋白在烫伤后金黄色葡萄球菌脓毒症中的改变与意义. *中华实验外科杂志*, 2001, 18:336-338.

(收稿日期: 2002-02-04)

(本文编辑: 王旭)

基金项目: 国家重点基础研究发展规划资助项目 (G1999054203); 国家杰出青年科学基金 (30125020); 军队“十五”医药卫生科研基金 (01MA207)

作者单位: 100037 北京, 解放军第三〇四医院全军烧伤研究所基础部