

· 论著 ·

脂多糖诱导内源性高迁移率族蛋白 B1 分泌活化核因子- κ B 通路促进肺成纤维细胞异常增殖

徐侨翌 谢婷婷 万晗曦 胡晓婷 何征宇 皋源 邢顺鹏

上海交通大学医学院附属仁济医院重症医学科 200127

通信作者:邢顺鹏, Email: xsp1984211@126.com

【摘要】 目的 观察脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激小鼠原代培养肺成纤维细胞后内源性高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box-1 protein, HMGB1)细胞内移位及细胞外分泌的情况,并明确其在 LPS 诱导肺成纤维细胞异常增殖过程中的重要作用。 **方法** ① 将原代培养的小鼠肺成纤维细胞采用随机数字表法分为 2 组(每组 3 个孔),即 PBS 对照组(Con 组)和 LPS 组(100 μ g/L),Western blot 检测 LPS 刺激 12 h 后 HMGB1 乙酰化修饰的情况,同时采用免疫荧光检测 HMGB1 细胞内的定位情况。② 将原代培养的小鼠肺成纤维细胞采用随机数字表法分为 4 组(每组 3 个孔),即 PBS 对照组(Con 组)、100 μ g/L LPS 组(LPS₁₀₀组)、250 μ g/L LPS 组(LPS₂₅₀组)和 500 μ g/L LPS(LPS₅₀₀组),于 LPS 刺激 24 h 后采用 ELISA 法检测上清液中 HMGB1 的含量。③ 采用随机数字表法将小鼠原代肺成纤维细胞分为 4 组(每组 6 个孔),NF- κ B 通路抑制剂吡咯烷二硫代甲酸铵(ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, PDTC)预处理细胞 30 min 后再分别使用 LPS、HMGB1 刺激细胞 0、12、24 h 和 48 h,即 PBS 对照组(Con 组)、LPS 组(或 HMGB1 组)、PDTC 组、LPS+PDTC 组(或 HMGB1+PDTC 组),Cell Counting Kit-8(CCK-8)实验检测细胞增殖情况。 **结果** ① 与 Con 组比较,LPS 刺激细胞 12 h 后,LPS 组乙酰化 HMGB1/总 HMGB1 明显升高($P<0.05$),同时细胞质中 HMGB1 表达明显增加。② LPS 刺激细胞 24 h 后,LPS 各组上清液中 HMGB1 含量较 Con 组明显升高($P<0.05$)。③ LPS 刺激细胞 24 h 和 48 h 后,PDTC+LPS 组细胞的光密度(D)值较 LPS 组明显降低($P<0.05$);HMGB1 刺激细胞 12、24 h 和 48 h 后,PDTC+HMGB1 组 D 值较 HMGB1 组均明显降低($P<0.05$)。 **结论** LPS 可促进小鼠肺成纤维细胞核内 HMGB1 的主动分泌,进而通过活化 NF- κ B 信号通路加速细胞增殖,可能是 LPS 诱导肺成纤维细胞异常增殖的重要机制。

【关键词】 脂多糖; 肺成纤维细胞; 高迁移率族蛋白 B1; 核因子- κ B; 细胞增殖

基金项目: 国家自然科学基金(81770060)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2019.04.009

Lipopolysaccharide-induced endogenous high mobility group box-1 protein secretion promotes aberrant proliferation of lung fibroblasts through nuclear factor- κ B pathway

Xu Qiaoyi, Xie Tingting, Wan Hanxi, Hu Xiaoting, He Zhengyu, Gao Yuan, Xing Shunpeng

Department of Critical Care Medicine, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China

Corresponding author: Xing Shunpeng, Email: xsp1984211@126.com

【Abstract】 Objective To observe the nuclear-cytoplasmic translocation and extracellular secretion of endogenous high mobility group box-1 protein (HMGB1) in primary mouse lung fibroblasts stimulated by lipopolysaccharide (LPS), and identify the role of HMGB1 in the proliferation of LPS-induced lung fibroblasts. **Methods** ① Primary mouse lung fibroblasts were randomly divided into two groups ($n=3$): a PBS control group (Con group) and a LPS group (100 μ g/L). Endogenous HMGB1 acetylation followed by LPS stimulation for 12 h was detected by Western blot, while HMGB1 intracellular translocation was detected by immunofluorescence assay. ② Primary mouse lung fibroblasts were randomly divided into four groups ($n=3$): a PBS control group (Con group), a 100 μ g/L LPS group (LPS₁₀₀ group), a 250 μ g/L LPS group (LPS₂₅₀ group) and a 500 μ g/L LPS group (LPS₅₀₀ group). The content of HMGB1 in the supernatant was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) after stimulation of LPS for 24 h. ③ Primary mouse lung fibroblasts were randomly divided into four groups ($n=6$): a PBS control group (Con group), a LPS group (or HMGB1 group), a PDTC group, a LPS+PDTC group (or HMGB1+PDTC group). After pretreated with nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway inhibitor ammonium pyrrolidinedithiocarbamate (PDTC) for 30 min, Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay was adopted to detect the effects of PDTC in the proliferation of HMGB1-induced lung fibroblasts at 0, 12, 24 h and 48 h, respectively. **Results** ① Compared with the Con group, the ratio of ace-HMGB1/total HMGB1 and the expression of HMGB1 in cytoplasm were significantly increased in the LPS group after 12 h ($P<0.05$). ② The content of HMGB1 in the supernatant of the LPS group was significantly higher than that in the Con

group at 24 h ($P<0.05$). ③ Besides, the D value of LPS+PDTC group was significantly decreased at both 24 h and 48 h compared with the LPS group ($P<0.05$), and the D value of the HMGB1+PDTC group was significantly decreased at 12, 24 h and 48 h compared with HMGB1 group ($P<0.05$). **Conclusions** LPS could induce the endogenous HMGB1 protein secretion in mouse lung fibroblasts and promote cell proliferation through NF- κ B signaling pathway, which may be one of the internal mechanisms for LPS-induced abnormal lung fibroblasts proliferation.

【Key words】 Lipopolysaccharide; Lung fibroblast; High mobility group box-1 protein; Nuclear factor- κ B; Cell proliferation

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81770060)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2019.04.009

脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰阴性杆菌内毒素的主要成分,也是其感染所致脓毒症相关性肺纤维化发生的重要因素^[1-3]。肺成纤维细胞在 LPS 作用下出现异常加速的增殖反应是肺纤维化进行性加重的重要环节^[2,4-6],但其中的详细机制目前尚未完全明了。

近年来,作为 Toll 样受体 4(Toll-like receptor 4, TLR4) 内源性配体的高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1)在肺纤维化发展过程中的重要作用已经引起了学界的广泛重视。在 LPS 介导的脓毒症或缺血/再灌注损伤等各种病理过程中, HMGB1 可以由巨噬细胞或成纤维细胞经激活后合成,并经乙酰化修饰后通过细胞核-细胞质的移位主动分泌至细胞外^[7-10]。NF- κ B 信号通路是 TLR4 细胞内信号转导通路的重要组成部分,能调控多种炎性因子及细胞周期调控基因的转录和翻译。本研究拟采用 Western blot、免疫荧光和 ELISA 检测 LPS 作用小鼠肺成纤维细胞后 HMGB1 的表达变化情况,同时通过干预 NF- κ B 通路的活化,以明确 HMGB1 对于 LPS 诱导肺成纤维细胞异常增殖过程的调控作用。

1 材料与方法

1.1 小鼠原代肺成纤维细胞的培养

8 周龄雄性野生型 C57BL/6 小鼠(由上海交通大学医学院附属仁济医院动物实验室提供),体重(20.0 ± 2.0) g。小鼠的使用和喂养严格遵照上海交通大学医学院附属仁济医院实验动物保护和使用委员会所规定的所有条款。麻醉无痛处死小鼠后,无菌状态迅速取肺, PBS (生产批号: AC11223329, Hyclone 公司, 美国)漂洗 3 次后,剪成 $1\text{ mm}\times 1\text{ mm}\times 1\text{ mm}$ 组织块,均匀平铺于 10 cm 培养皿底部,加入含 10% 胎牛血清(生产批号: 42F3575K, Gibco 公

司, 美国)的高糖培养基(生产批号: 1929914, Gibco 公司, 美国),培养基中加入 10^5 U/L 青霉素和 10^5 U/L 链霉素,置于含 5% CO_2 、充分湿化的 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温孵育箱(型号: BB15, Thermo Scientific 公司, 美国)中培养, 2~3 d 换液 1 次。当细胞达到 90% 融合时,加入 1 ml 0.25% 胰酶(生产批号: 2530054, Gibco 公司, 美国)消化 1~2 min,并按 1:2 比例传代。细胞经 4 代培养后呈典型梭形,免疫细胞化学鉴定胞质中波形蛋白强阳性,证实为成纤维细胞,可用于实验。

1.2 Western blot 检测乙酰化 HMGB1、HMGB1 的蛋白表达

1.2.1 实验分组及处理

将细胞以 2×10^5 个/ml 的密度接种于 6 孔培养板, 2.5 ml/孔 , 培养 6 h,待细胞贴壁并达到 70% 融合后,更换培养基为无血清培养基饥饿过夜,采用随机数字表法将其分为 2 组(每组 3 个孔): PBS 对照组(Con 组)和 LPS 组。Con 组加入 PBS 作为对照, LPS 加入终浓度为 $100\text{ }\mu\text{g/L}$ 的 LPS (生产批号: L4516, Sigma 公司, 美国)。经 LPS 或 PBS 处理 12 h 后收集细胞,用于下述指标的测定。

1.2.2 肺成纤维细胞中乙酰化 HMGB1、HMGB1 蛋白表达检测

从培养箱取出细胞,弃去细胞培养基后以 PBS 漂洗 3 次,在冰上裂解细胞 10~15 min 后将细胞刮下转移至 Ep 管中, $4\text{ }^\circ\text{C}$ $15\text{ }000\text{ g}$ 离心 10 min 后取上清, BCA 法测定蛋白浓度。根据样本体积加入相应体积的 $5\times$ 上样缓冲液(生产批号: P0015, 上海碧云天生物技术有限公司),振荡器混匀后, $100\text{ }^\circ\text{C}$ 煮沸 10 min。根据所测蛋白浓度取 $30\text{ }\mu\text{g}$ 总蛋白上样, SDS-PAGE 电泳后将蛋白样品转移到 PVDF 膜(型号: IPVH00010, Milipore 公司, 德国)上。室温封闭 1 h,洗脱后加入目的蛋白或内参的一抗(兔抗小鼠乙酰化抗体, 1:1 000 稀释, 生产批号: 9441S, Cell

Signal Technology 公司,美国)、兔抗小鼠 HMGB1 抗体(1:10 000 稀释,生产批号:ab79823, Abcam 公司,美国)以及 β -actin(1:4 000 稀释,生产批号:8457S, Cell Signal Technology 公司,美国)4℃孵育过夜,漂洗后加入用含 5% BSA 的 TBST 稀释的与一抗相应的辣根过氧化物酶山羊抗兔二抗(1:5 000 稀释,生产批号:A0208,上海碧云天生物技术有限公司),室温孵育 1 h 后进行显色反应。使用 Image Lab(Bio-Rad 公司,美国)软件对蛋白条带的灰度值进行定量分析,并计算乙酰化 HMGB1/总 HMGB1 以评估目的蛋白的乙酰化水平。

1.3 免疫荧光技术检测 HMGB1 蛋白的表达

1.3.1 实验分组及处理

将原代培养的肺成纤维细胞在传代培养时接种到预先放置有无菌盖玻片的 12 孔培养板中,接种密度 1×10^5 个/ml,1 ml/孔。实验分组同 1.2.1,经 PBS 或 LPS 处理 12 h 后进行免疫荧光染色。

1.3.2 肺成纤维细胞 HMGB1 蛋白表达的检测

予 PBS 清洗盖玻片后,以 4%多聚甲醛(生产批号:171221,上海潜亿生物科技有限公司)固定细胞 10 min,室温穿膜 30 min 后封闭 1 h,加入 HMGB1 一抗(1:400 稀释,生产批号:ab79823, Abcam 公司,美国)4℃孵育过夜,次日漂洗后给予 Cy3 标记的山羊抗兔二抗(1:200 稀释,生产批号:A0516,上海碧云天生物技术有限公司)避光室温孵育 1 h,然后用含有 4,6-二脒基-2-苯基吲哚(4,6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)核染料的封片剂(Santa Cruz 公司,美国)进行封片。封片后将倒扣在载玻片上的盖玻片置于荧光显微镜(型号:DMi8, Leica Microsystems 公司,德国)下观察、拍照,此过程注意避光。

1.4 ELISA 检测细胞培养上清液中 HMGB1 的浓度

1.4.1 实验分组及处理

将原代培养的肺成纤维细胞采用随机数字表法分为 4 组(每组 3 个孔):PBS 对照组(Con 组)、100 μ g/L LPS 组(LPS₁₀₀组)、250 μ g/L LPS 组(LPS₂₅₀组)、500 μ g/L LPS 组(LPS₅₀₀组)。Con 组加入 PBS 作为对照;LPS₁₀₀组、LPS₂₅₀组和 LPS₅₀₀组分别加入终浓度为 100、250、500 μ g/L 的 LPS。24 h 后取各组 3 孔的上清液检测 HMGB1 含量。

1.4.2 肺成纤维细胞培养上清液中 HMGB1 含量的测定

收集各组细胞培养上清液至离心管中,1 000 g 离心 10 min 后取上清备用。按照说明书对标准品进

行稀释,设置空白孔、标准品孔和样本孔。封板后置 37℃温育 30 min。重复洗板 5 次。除空白孔外,标准品孔和样本孔中每孔加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体 50 μ l,37℃温育 30 min。再次重复洗板 5 次。每孔加入显色剂 A、B 各 50 μ l,震荡混匀后在 37℃避光孵育 15 min。加入终止液终止反应。以空白孔调零,15 min 内在 450 nm 波长处测定各孔的光密度(D)值。

1.5 Cell Counting Kit-8(CCK-8)细胞增殖实验

1.5.1 实验分组及处理

将细胞以 5×10^4 个/ml 的密度接种于 96 孔培养板,100 μ l/孔。采用随机数字表法将其分为 4 组(每组 6 个孔):PBS 对照组(Con 组)、LPS 组(100 μ g/L)、吡咯烷二硫代甲酸铵(ammonium pyrrolidinedithiocarbamate, PDTC)组(20 μ mol/L)、PDTC+LPS 组(LPS 100 μ g/L+PDTC 20 μ mol/L)。经 LPS 刺激 0、12、24 h 和 48 h 后检测各组细胞的 D 值。采用随机数字表法将细胞分为 4 组(每组 6 个孔):PBS 对照组(Con 组)、HMGB1 组(1 mg/L)、PDTC 组(20 μ mol/L)、PDTC+HMGB1 组(HMGB1 1 mg/L+PDTC 20 μ mol/L)。经 HMGB1 刺激 0、12、24 h 和 48 h 后检测各组细胞的 D 值。

1.5.2 肺成纤维细胞增殖的检测

将 96 孔培养板在培养箱孵育 0、12、24 h 和 48 h 后,向每孔加入 10 μ l CCK-8 溶液,培养箱内孵育 1 h。酶标仪测定 450 nm 处各组细胞的 D 值。

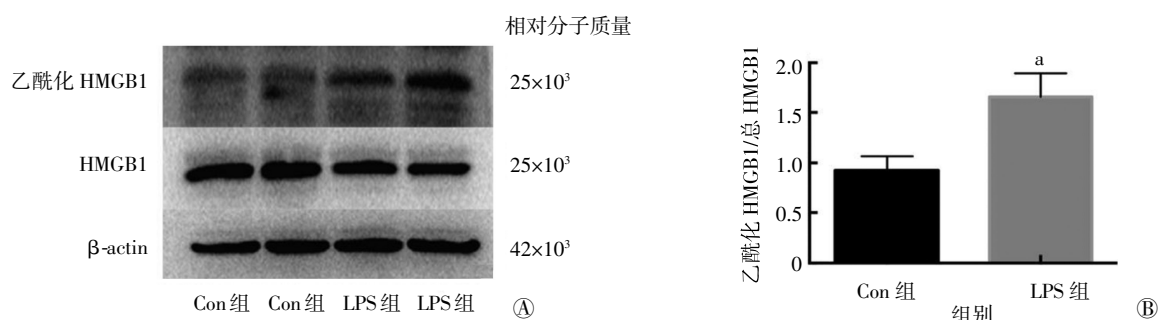
1.6 统计学分析

每个实验均独立重复至少 3 次得到结果。采用 Graph Pad Prism 4 软件进行统计学分析。正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多个样本组间比较采用 One-way ANOVA,两个样本组间比较采用非配对 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

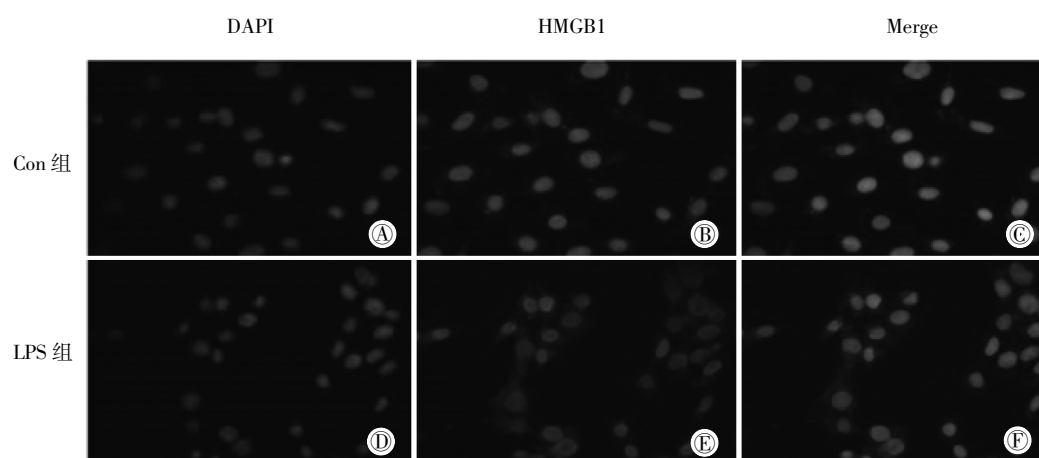
2.1 LPS 诱导小鼠肺成纤维细胞内源性 HMGB1 主动分泌

LPS 刺激小鼠肺成纤维细胞 12 h 后,与 Con 组比较,LPS 组乙酰化 HMGB1/总 HMGB1 明显升高($P < 0.05$,图 1),细胞质中 HMGB1 表达明显增加(图 2)。LPS 刺激小鼠肺成纤维细胞 24 h 后,LPS 各组上清液中 HMGB1 含量比 Con 组明显升高($P < 0.05$,图 3)。



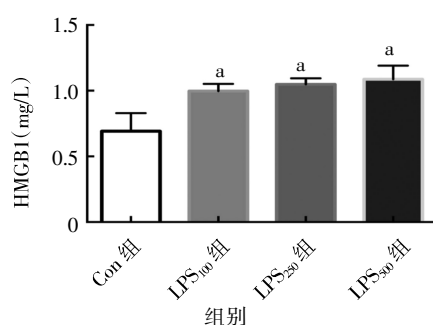
注:与 Con 组比较,* $P<0.05$;Con 组:PBS 对照组;LPS 组:100 $\mu\text{g/L}$ LPS 组;LPS:脂多糖;HMGB1:高迁移率族蛋白 B1;乙酰化 HMGB1:乙酰化高迁移率族蛋白 B1

图 1 LPS 刺激小鼠肺成纤维细胞后乙酰化 HMGB1 的蛋白表达 A:Western blot 结果;B:乙酰化 HMGB1/总 HMGB1 的表达



注:Con 组:PBS 对照组;LPS 组:脂多糖组;LPS:脂多糖;HMGB1:高迁移率族蛋白 B1

图 2 LPS 刺激小鼠肺成纤维细胞后 HMGB1 的免疫荧光表达($\times 400$) A:Con 组细胞核定位;B:Con 组 HMGB1 表达;C:Con 组 A 与 B 整合后结果;D:LPS 组细胞核定位;E:LPS 组 HMGB1 表达;F:LPS 组 D 与 E 整合后结果



注:与 Con 组比较,* $P<0.05$;Con 组:PBS 对照组;LPS₁₀₀ 组:100 $\mu\text{g/L}$ LPS 组;LPS₂₅₀ 组:250 $\mu\text{g/L}$ LPS 组;LPS₅₀₀ 组:500 $\mu\text{g/L}$ LPS 组;LPS:脂多糖;HMGB1:高迁移率族蛋白 B1

图 3 不同浓度 LPS 刺激小鼠肺成纤维细胞后上清液 HMGB1 含量

2.2 NF- κ B 通路抑制剂 PDTC 可抑制 LPS、HMGB1 促进肺成纤维细胞增殖的作用

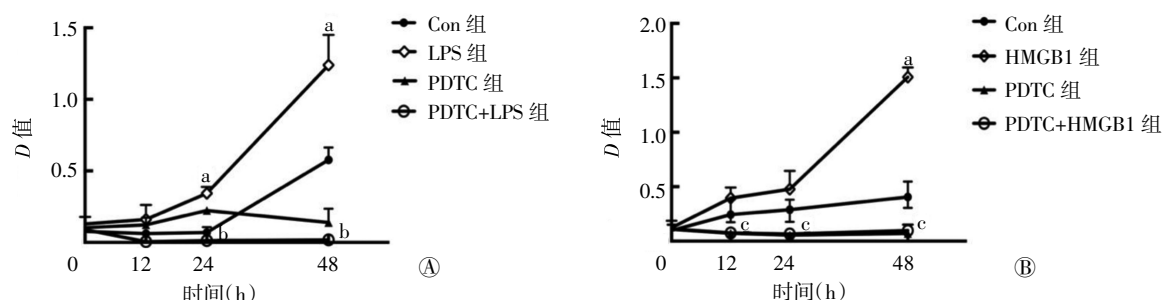
PDTC 预处理小鼠肺成纤维细胞后,使用 LPS 刺激细胞 0、12、24 h 和 48 h,结果发现 LPS 刺激细胞 24 h 和 48 h 后,LPS 组 D 值较 Con 组明显升高

($P<0.05$);同时,与 LPS 组比较,LPS 刺激细胞 24 h 和 48 h 后,PDTC+LPS 组 D 值明显降低 ($P<0.05$,图 4A)。

PDTC 预处理小鼠肺成纤维细胞后,使用外源性 HMGB1 刺激细胞 0、12、24 和 48 h,结果发现 HMGB1 刺激细胞 48 h 后 HMGB1 组 D 值较 Con 组明显升高 ($P<0.05$);同时,与 HMGB1 组比较, HMGB1 刺激细胞 12、24 h 和 48 h 后,PDTC + HMGB1 组 D 值均明显降低 ($P<0.05$,图 4B)。

3 讨论

脓毒症为机体对感染产生失控的宿主反应而导致危及生命的器官功能障碍^[11],是临床危重症患者死亡的重要原因^[12]。LPS 是革兰阴性杆菌感染所致脓毒症发病的重要启动因子,是脓毒症相关性肺纤维化发生的重要因素^[14,13]。肺纤维化以肺成纤维



注:与 Con 组比较, $^aP<0.05$;与 LPS 组比较, $^bP<0.05$;与 HMGB1 组比较, $^cP<0.05$;Con 组:PBS 对照组;LPS 组:100 $\mu\text{g/L}$ 脂多糖组;PDTC 组:20 $\mu\text{mol/L}$ 吡咯烷二硫代甲酸铵组;PDTC+LPS 组:20 $\mu\text{mol/L}$ 吡咯烷二硫代甲酸铵+100 $\mu\text{g/L}$ 脂多糖组;HMGB1 组:1 mg/L 高迁移率族蛋白 B1 组;PDTC+HMGB1 组:20 $\mu\text{mol/L}$ 吡咯烷二硫代甲酸铵+1 mg/L 高迁移率族蛋白 B1 组;LPS:脂多糖;HMGB1:高迁移率族蛋白 B1;PDTC:吡咯烷二硫代甲酸铵;D 值:光密度值

图 4 PDTC 对于抑制 LPS、HMGB1 促进细胞增殖的作用 A:PDTC 对于抑制 LPS 促肺成纤维细胞增殖的作用;B:PDTC 对于抑制 HMGB1 促肺成纤维细胞增殖的作用

细胞异常增殖、活化并分泌胶原蛋白,形成肺间质和肺泡内弥散性纤维化为特点,最终引起肺顺应性降低、通气量下降、氧弥散功能障碍,导致难治性呼吸衰竭,预后不良^[14]。肺成纤维细胞是直接合成和分泌胶原蛋白的效应细胞,其在 LPS 作用下异常增殖,进而合成和分泌胶原蛋白,是脓毒症相关性肺纤维化发病的核心机制。

HMGB1 是一种普遍存在于真核细胞核内的非组蛋白染色体结合蛋白。当细胞受到应激时,位于细胞核内的 HMGB1 赖氨酸残基被乙酰化后转移至细胞质,随后通过自分泌或旁分泌的方式释放到细胞外,作用于自身或邻近的肺成纤维细胞,从而导致炎症的级联反应,在肺纤维化的发展过程中起到重要作用^[15-16]。Hamada 等^[16]发现,特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 患者支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中 HMGB1 的含量较 Con 组明显升高。同时,使用 HMGB1 中和性抗体能明显减轻博来霉素肺纤维化小鼠模型的肺部炎症、阻断纤维化进程。Ebina 等^[15]收集了 8 例处于 IPF 急性加重期患者的 BALF,发现 BALF 中 HMGB1 的水平高低与病程进展密切相关;研究者同时对这 8 例患者进行肺组织活检,发现与稳定期 IPF 患者相比,IPF 加重期患者肺组织 HMGB1 的表达更多集中分布于肺泡巨噬细胞、肺泡上皮细胞的胞质中^[15]。本课题组前期研究也证实:作为 TLR4 的内源性配体, HMGB1 可活化肺组织 TLR4,并引起肺组织急性炎症反应^[17-18]。本研究采用 Western blot、免疫荧光以及 ELISA 等多种方法证实了 LPS 刺激后小鼠肺成纤维细胞核内

HMGB1 的主动分泌过程——HMGB1 乙酰化修饰增加,通过胞核-胞质移位转移至细胞质随后主动分泌至细胞外,提示 LPS 分泌的内源性 HMGB1 可能是 LPS 诱导肺成纤维细胞异常增殖的重要机制。

NF- κ B 是一种重要的核转录因子,它通过调控多种基因的表达,参与细胞周期、免疫反应、细胞组织分化、细胞凋亡、肿瘤发生等多种生物进程^[19]。近年来的研究证实 NF- κ B 通路的活化与肺纤维化的发生过程密切相关。Seidel 等^[20]发现,人肺成纤维细胞 NF- κ B 通路的活化可引起 IL-6 分泌增加,与肺成纤维细胞的异常增殖密切相关。Dong 等^[21]证实激活 NF- κ B 通路能促进肺成纤维细胞向肌成纤维细胞分化、增殖、分泌胶原蛋白,从而促进肺纤维化的发展。Yang 等^[22]在博来霉素肺纤维化模型中发现 NF- κ B 通路明显表达上调,抑制该通路能减轻肺纤维化的严重程度。本研究前面的部分已经证实 LPS 刺激可诱导小鼠肺成纤维细胞内源性 HMGB1 的分泌。随后使用 NF- κ B 通路抑制剂 PDTC 预处理细胞后,再分别给予 LPS、HMGB1 刺激细胞,于不同时间点检测 PDTC 对于抑制 LPS、HMGB1 促小鼠肺成纤维细胞增殖的作用,结果发现 PDTC 可抑制 LPS 及 HMGB1 诱导的肺成纤维细胞增殖作用,由此我们猜测:LPS 诱导分泌的内源性 HMGB1 活化 NF- κ B 通路引起细胞增殖加速的过程可能是脓毒症过程中 LPS 诱导肺纤维化发展的关键。在今后研究中会继续挖掘 HMGB1 诱导肺纤维化的具体分子机制,以明确脓毒症相关性肺纤维化的发病机制。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zhou WQ, Wang P, Shao QP, et al. Lipopolysaccharide promotes pulmonary fibrosis in acute respiratory distress syndrome (ARDS) via lincRNA-p21 induced inhibition of Thy-1 expression [J]. Mol Cell Biochem, 2016, 419 (1-2): 19-28. DOI:10.1007/s11010-016-2745-7.
- [2] 何征宇, 朱也森, 姜虹. 间断腹腔注射脂多糖制作内毒素诱导的小鼠急性肺损伤肺纤维化动物模型 [J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2010, 9 (1): 76-80. DOI:10.3969/j.issn.1671-6205.2010.01.021.
- [3] Keshari RS, Silasi-Mansat R, Zhu H, et al. Acute lung injury and fibrosis in a baboon model of *Escherichia coli* sepsis [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 50 (2): 439-450. DOI:10.1165/rcmb.2013-0219OC.
- [4] He Z, Zhu Y, Jiang H. Inhibiting toll-like receptor 4 signaling ameliorates pulmonary fibrosis during acute lung injury induced by lipopolysaccharide: an experimental study [J/OL]. Respir Res, 2009, 10: 126. DOI:10.1186/1465-9921-10-126.
- [5] He Z, Gao Y, Deng Y, et al. Lipopolysaccharide induces lung fibroblast proliferation through Toll-like receptor 4 signaling and the phosphoinositide3-kinase-Akt pathway [J/OL]. PLoS One, 2012, 7(4): e35926. DOI:10.1371/journal.pone.0035926.
- [6] He Z, Wang X, Deng Y, et al. Epigenetic regulation of Thy-1 gene expression by histone modification is involved in lipopolysaccharide-induced lung fibroblast proliferation [J]. J Cell Mol Med, 2013, 17(1): 160-167. DOI:10.1111/j.1582-4934.2012.01659.x.
- [7] Silva E, Arcaroli J, He Q, et al. HMGB1 and LPS induce distinct patterns of gene expression and activation in neutrophils from patients with sepsis-induced acute lung injury [J]. Intensive Care Med, 2007, 33(10): 1829-1839. DOI:10.1007/s00134-007-0748-2.
- [8] Hidaka S, Iwasaka H, Hagiwara S, et al. Gabexate mesilate inhibits the expression of HMGB1 in lipopolysaccharide-induced acute lung injury[J]. J Surg Res, 2011, 165(1): 142-150. DOI:10.1016/j.jss.2009.05.039.
- [9] 何林祥, 孙航, 吴传新, 等. LPS 通过 P38MAPK-CBP 诱导巨噬细胞 RAW264.7 表达和释放 HMGB1 [J]. 基础医学与临床, 2012, 32(5): 474-480.
- [10] Wu CX, Sun H, Liu Q, et al. LPS induces HMGB1 relocation and release by activating the NF- κ B-CBP signal transduction pathway in the murine macrophage-like cell line RAW264.7[J]. J Surg Res, 2012, 175 (1): 88-100. DOI:10.1016/j.jss.2011.02.026.
- [11] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-810. DOI:10.1001/jama.2016.0287.
- [12] Hamers L, Kox M, Pickkers P. Sepsis-induced immunoparalysis: mechanisms, markers, and treatment options[J]. Minerva Anestesiologia, 2015, 81(4): 426-439.
- [13] Du S, Li H, Cui Y, et al. Houttuynia cordata inhibits lipopolysaccharide-induced rapid pulmonary fibrosis by up-regulating IFN- γ and inhibiting the TGF- β 1/Smad pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2012, 13 (3): 331-340. DOI:10.1016/j.intimp.2012.03.011.
- [14] Marshall RP, Bellington G, Webb S, et al. Fibroproliferation occurs early in the acute respiratory distress syndrome and impacts on outcome [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162 (5): 1783-1788. DOI:10.1164/ajrccm.162.5.2001061.
- [15] Ebina M, Taniguchi H, Miyasho T, et al. Gradual increase of high mobility group protein b1 in the lungs after the onset of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis [J/OL]. Pulm Med, 2011, 2011: 916486. DOI:10.1155/2011/916486.
- [16] Hamada N, Maeyama T, Kawaguchi T, et al. The role of high mobility group box1 in pulmonary fibrosis [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2008, 39 (4): 440-447. DOI:10.1165/rcmb.2007-0330OC.
- [17] Deng Y, Yang Z, Gao Y, et al. Toll-like receptor 4 mediates acute lung injury induced by high mobility group box-1[J/OL]. PLoS One, 2013, 8 (5): e64375. DOI:10.1371/journal.pone.0064375.
- [18] Yang Z, Deng Y, Su D, et al. TLR4 as receptor for HMGB1-mediated acute lung injury after liver ischemia/reperfusion injury [J]. Lab Invest, 2013, 93 (7): 792-800. DOI:10.1038/labinvest.2013.66.
- [19] Panday A, Inda ME, Bagam P, et al. Transcription factor NF- κ B: an update on intervention strategies[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2016, 64 (6): 463-483. DOI:10.1007/s00005-016-0405-y.
- [20] Seidel P, Merfort I, Tamm M, et al. Inhibition of NF- κ B and AP-1 by dimethylfumarate correlates with down-regulated IL-6 secretion and proliferation in human lung fibroblasts [J/OL]. Swiss Med Wkly, 2010, 140: w13132. DOI:10.4414/smw.2010.13132.
- [21] Dong Z, Yang Y, Zhang T, et al. siRNA-Act1 inhibits the function of IL-17 on lung fibroblasts via the NF- κ B pathway[J]. Respiration, 2013, 86(4): 332-340. DOI:10.1159/000348403.
- [22] Yang D, Yuan W, Lv C, et al. Dihydroartemisinin suppresses inflammation and fibrosis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(2): 1270-1281.

(本文编辑:张丽)