

文章编号: 1004-0374(2009)01-0062-05

高迁移率族蛋白1在脓毒症血管内皮细胞 激活过程中的作用

郑运江, 汤耀卿*

(上海交通大学医学院附属瑞金医院外科ICU, 上海200025)

摘要: 血管内皮细胞激活是脓毒症病理生理过程的中心环节。活化的血管内皮细胞为炎症介质的聚集和迁移提供了重要的场所,是放大炎症反应的前提条件。高迁移率族蛋白1(high-mobility group protein 1, HMGB1)是脓毒症晚期致死性的促炎介质,维持并延长了脓毒症病理过程。HMGB1通过晚期糖基化终产物受体(advanced glycation end products receptor, RAGE)对血管内皮细胞有重要的激活作用。

关键词: 脓毒症; 内皮细胞; 高迁移率族蛋白1

中图分类号: R51; R631 **文献标识码:** A

Effect of HMGB1 on endothelial cells in sepsis

ZHENG Yun-jiang, TANG Yao-qing*

(Department of Surgery Intensive Care Unit, Affiliated Ruijin Hospital, Medical School of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China)

Abstract: Vascular endothelial cell activation is central to pathophysiologic process in sepsis. Activated endothelial cells plays critical role in inflammatory response. High mobility group protein-1 (HMGB1), as a lethal pro-inflammatory mediator in sepsis, maintains and extends the pathogenesis of sepsis. HMGB1 can activate endothelial cells by advanced glycation end products receptor (RAGE).

Key words: sepsis; endothelial cell; HMGB1

脓毒症(sepsis)指由感染引起的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),是全球范围重症监护的主要疾病之一,也是重症监护病房的首位死因。其发生率以每年1.5%—8%递增^[1],病死率却无明显的改善。

脓毒症发病机制的探索一直在不断进行。肿瘤坏死因子(TNF- α)、白介素-1(IL-1 β)等被认为是在脓毒症发病中起重要作用的促炎介质,但是,多年来临床运用TNF- α 和IL-1 β 拮抗剂并未取得满意结果,其重要原因是试验大多靶向于脓毒症发病早期的一些炎症介质,对患者进行干预治疗时,可能脓毒症过程的整个级联反应已经启动。因此,国内外一些研究机构开始寻找晚期炎症介质,以便扩大脓毒症治疗干预的时间窗(therapeutic window)。1999年, Wang等^[2]首次报道高迁移率族蛋白1

(HMGB1)作为新的潜在的晚期炎症介质参与了脓毒症的发病过程,是内毒素血症晚期的重要炎症介质。随后,临床上对HMGB1进行了大量的研究,发现脓毒症及脓毒性休克患者血液中HMGB1浓度显著升高^[3-7],是维持脓毒症病理过程进展的重要因素。

随着对脓毒症研究的深入,人们逐渐发现内皮细胞在脓毒症的发生中具有重要的作用。它不仅是脓毒症时受损的靶细胞,同时还通过其广泛的生物学功能主动地参与了器官功能的损伤。

1 HMGB1在脓毒症中的病理机制

1973年,科学家在牛胸腺中提取并鉴定了一

收稿日期: 2008-07-16; 修回日期: 2008-09-09

基金项目: 上海市先进学科项目(S30204)

*通讯作者: yaoqt@live.cn

种含量丰富的非组蛋白核蛋白(nonhistone nuclear protein), 该蛋白分量为30kDa左右, 富含电荷, 并因其在聚丙烯酰胺凝胶电泳中迁移率快的特性而被命名为高迁移率族蛋白(HMG)。HMGB1在真核生物细胞核内含量丰富, 其生物学效应主要是作为“DNA 伴侣(DNA chaperone)”参与稳定染色质结构、细胞分化成熟、DNA 修复、类固醇激素调控及基因转录调控等重大生命活动。

目前对HMGB1在脓毒症中的作用机制还不十分清楚, 现认为HMGB1作为晚期炎症介质在脓毒症中的可能机制有:

1.1 HMGB1与促炎细胞因子的相互作用

多种细胞因子能刺激HMGB1的释放: 除了LPS、TNF- α 、IL-1 β 能刺激巨噬细胞、单核细胞等以一种时间剂量依赖方式释放HMGB1外, γ 干扰素(IFN- γ)也能协同其他细胞因子刺激HMGB1的合成。反过来, HMGB1也刺激促炎细胞因子的合成; HMGB1在人类外周血单核细胞中能刺激促炎细胞因子的合成; 用纯化的HMGB1加入单核细胞培养液中, 可以明显刺激TNF- α 、IL-1 β 等产生。最近发现, HMGB1也能刺激人中性粒细胞表达多种促炎细胞因子并可引起NF- κ B的核移位。释放的促炎介质又可使活化的单核巨噬细胞释放HMGB1, 从而形成正反馈。

1.2 HMGB1自身的细胞毒性作用

HMGB1具有剂量依赖性的细胞毒性作用。当HMGB1血清浓度达100—300ng/mL即可产生毒性, 动物实验显示, 给受试小鼠纯化重组HMGB1(10—50 μ g/只), 2h内即出现内毒素血症的症状, 包括嗜睡、腹泻等。大剂量给予(如500 μ g/只), 5只受试鼠中有3只分别在18、30和36h死亡, 用带有缺陷HMGB1 cDNA转化来的大肠杆菌中提纯出来的蛋白质片段给予对照组小鼠, 则未出现内毒素血症情况, 证明观察到的毒性反应是HMGB1所特有的^[2]。

1.3 HMGB-1引起的凝血、纤溶系统的功能异常及肠道的菌群移位

HMGB1能与t-PA、纤溶酶原结合, 促进纤维蛋白溶酶的产生, 导致纤溶系统活化。HMGB1还能够活化纤溶酶活化反应的下游靶分子——金属蛋白激酶MMP-2、MMP-9。人血小板活化时, 作为血小板内源性蛋白, 胞浆中的HMGB1被分泌至血小板表面并可引起血小板变形, 影响血小板功能。HMGB1还能促进大鼠微血管栓塞的形成与发

展^[8]。Sappington等^[9]研究了HMGB1对肠黏膜生物屏障功能的影响: HMGB1以及B box能以一种时间剂量方式增加培养的Caco-2肠细胞的通透性, 并可损害小鼠肠黏膜, 导致细菌移位(bacterial translocation)。

1.4 HMGB1提高内毒素与LBP的结合效应

内毒素结合蛋白(LBP)是负责把内毒素(LPS)传递给CD14以启动TLR4介导的促炎反应的主要介质。但是, Youn等^[10]研究发现LBP缺陷的小鼠被注射LPS后, 仍然能引发正常的促炎反应。分析发现HMGB1以浓度依赖的方式与LPS结合并且与LPS的脂质A成份结合更强于其多糖成份。HMGB1能够催化崩解并且传递LPS与可溶性CD14蛋白和人外周血单核细胞结合。况且, HMGB1与LPS结合的复合物导致人外周血单核细胞分泌TNF- α 较单用LPS或HMGB1要高, 甚至比两者刺激的总和还要更高。

1.5 HMGB1的基因多态性对SIRS/Sepsis患者的影响

Kornblit等^[11]前瞻性地对入住ICU的239个SIRS患者进行监测, 检测其HMGB1的基因序列并根据不同的HMGB1基因型对患者的预后比较。研究发现, 启动子变种(-1377delA)的纯合子和杂合子与患者减少4年生生存率相关联(分别为15%和44%)。而外显子变种(982C>T)对患者早期死于感染的可能性预测有显著意义($P=0.04$)。这样, HMGB1的两种基因多态性分别与患者的早期、晚期死亡率相关。

2 内皮细胞在脓毒症时的病理生理变化

脓毒症的病理生理学涉及一个高度复杂(包括许多类型的细胞激活、炎症介质以及止血系统参与)、整合的反应。这个过程的中心是内皮细胞功能的改变。常态下内皮细胞(endothelial cell, EC)具有4大功能: (1)促凝血及抗凝血功能的平衡; (2)血管张力的调节; (3)血管通透性的调节; (4)抗PMNs在EC上黏附。但是, 在某些因素(如LPS)刺激下, 内皮细胞发生改变, 允许其参与炎症反应, 此种变化称为内皮细胞活化。它主要包括5个核心改变: (1)血管完整性丧失; (2)白细胞黏附分子的表达; (3)由抗血栓形成向促血栓形成的表型改变; (4)表达细胞因子; (5)上调组织相容性抗原分子。由此可以看出: 静止状态的内皮细胞表达一种抗凝的、抗细胞黏附的及血管舒张状态的表现型, 而活化状态的内皮细胞表达一种促凝的、促黏附的及血管收缩状态的表现型^[12]。

3 脓毒症时, HMGB1 对内皮细胞的激活作用

全身性炎症是脓毒性休克的标志之一, 而微血管内皮为这些炎症反应的放大和调节提供了一个重要的场所。HMGB1 作为晚期炎症介质在脓毒症患者的循环血中出现以及 RAGE (一个公认的 HMGB1 的细胞外受体) 在内皮中的广泛表达, 提示了 HMGB1 可能对内皮细胞有激活作用并且促成了对感染的炎症反应。

3.1 HMGB1 激活内皮细胞

内皮细胞激活是炎症细胞聚集和迁移进入组织的前提条件。Fiuza 等^[13]证实 HMGB1 在体外对人类微血管内皮细胞 (HMEC-1) 诱导一个促炎表型: 特征性的上调白细胞黏附分子 (ICAM-1 和 VCAM-1)、分泌中性粒细胞和内皮细胞化学趋化素 (IL-8 和 MCP-1)、表达促炎细胞因子 (TNF- α) 并且增加 RAGE 的表达 (HMGB1 的受体)。该研究表明 HMGB1 诱导 2 个关键的内皮细胞黏附分子的表达, 即 ICAM-1 和 VCAM-1。伴随黏附分子的上调, 中性粒细胞和单核细胞 2 个强力化学趋化素 (IL-8 和 MCP-1) 分泌增加。这样, HMGB1 激活了为白细胞穿过活化的内皮细胞募集、黏附和迁移并且可能进入炎症病灶的整套的底物成分。HMGB1 与 HMEC-1 共同孵育, 还导致促炎细胞因子 (TNF- α) 在 HMEC-1 的分泌。肿瘤坏死因子是关键的早期炎症介质, 起着调节和放大炎症反应的作用。研究表明, 内皮细胞分泌 TNF- α 出现在 HMGB1 刺激的 3h 并且 TNF- α 诱导的内皮细胞黏附分子表达要早于 HMGB1 刺激的内皮黏附分子表达 (分别是在刺激的 3h 和 6h)。抗 TNF- α 中和抗体的两种剂量浓度 (5, 10 μ g/mL) 都显著地减少了 TNF- α 和 HMGB1 诱导的 IL-8 的分泌和 ICAM-1 及 VCAM-1 的表达。但是, 抗 TNF- α 抗体的抑制效应是不完全的: 因为在与抗 TNF- α 抗体孵育后, HMGB1 刺激的内皮细胞分泌 IL-8 和黏附分子的水平仍然高于单独媒介刺激的分泌效应。从上述分泌时程的延迟和抗 TNF- α 中和抗体部分抑制 HMGB1 效应提示, TNF- α 的局部表达放大了 HMGB1 对内皮细胞的促炎效应。Treutiger 等^[14]把 HMGB1 作用于人脐血管内皮细胞 (HUVEC), 导致多型核白细胞 (PMNs) 与 HUVEC 呈剂量依赖性的方式增加黏附反应: 低水平的中性粒细胞黏附出现在 3h, 黏附的峰值出现在 16h 且黏附持续 48h。实验还表明: 糖皮质激素 (如地塞米松) 抑制 HMGB1 介导的中性粒细胞与 HUVEC 的黏附并且糖皮质激素抑制 HUVEC 上黏附分子的上调, 显著地抑制 ICAM-1 和 VCAM-1

的表达。提示糖皮质激素对 PMN 黏附的抑制可能是通过减少 ICAM-1 和 VCAM-1 的表达来实现的。

3.2 活化的内皮细胞诱使 HMGB1 核易位

前面讨论了 HMGB1 对内皮细胞的促炎效应。但是, 反过来, 内皮细胞对 HMGB1 也有反作用: 内皮细胞能够主动分泌 HMGB1。早期的研究发现 HMGB1 的细胞外释放的几个源泉有垂体细胞、巨噬细胞/单核细胞以及遭受坏死的细胞^[15, 16]。这里将探讨: HMGB1 细胞外释放的另外一个重要源泉。作为对 LPS 和 TNF- α 刺激的反应, HMGB1 从活化的人类脐静脉内皮细胞释放^[17]。与正常对照组比较, LPS 刺激 4h 后, HMGB1 从人脐静脉内皮细胞核暂时性地易位至细胞浆。刺激 16h 后, 极少数的 HMGB1 从未受刺激的 HUVEC 的上清液中可以测得 (90 \pm 17ng/mL); 而从受刺激的 HUVEC 上清液中测得 HMGB1 呈显著性的增加 (425 \pm 105ng/mL) 或在 TNF- α 刺激的 HUVEC 上清液中, 测得 HMGB1 浓度为 725 \pm 214ng/mL。HMGB1 核易位至细胞浆在 4h 出现, 16h 后, 大量的 HMGB1 从受刺激的细胞上清液中发现。提示: 在对全身性炎症反应时, HUVEC 可能是 HMGB1 分泌的一个重要源泉。此外, Song 等^[18]和 Kawahara 等^[19]也证实: HMGB1 可由内皮细胞释放。Youn 等^[20]研究发现: HMGB1 能够被磷酸化并且其运输的方向可以被两个核定位信号区 (NLSs) 的磷酸化所调控。

3.3 HMGB1 激活内皮细胞的信号转导途径

3.3.1 RAGE 的表达增加 重组人类 HMGB1 (rhHMGB1) 与 HMGB-1 孵育, 可导致晚期糖基化终产物受体 (RAGE) 的表达增加 (呈时间和剂量依赖性的特点)。RAGE, 一个免疫球蛋白超家族受体成员, 表达在内皮细胞、平滑肌细胞、单核/巨噬细胞、神经元和某些恶性、变异细胞上。RAGE 可与许多种配体相互作用, 包括晚期糖基化终产物 (RAGE) 和 HMGB1。RAGE 受体已经被提示作为 HMGB1 的高亲和力受体, 它的上调可能为 HMGB1 对 HMEC-1 的作用提供放大效应。研究表明 HMGB1 的效应是通过 RAGE 介导的, 抗 RAGE 抗体可抑制 HMGB1 诱导的中性粒细胞与内皮细胞黏附达到 50%, 而在另项研究中, 多克隆抗 RAGE 抗体降低 HMGB1 的效应几乎达 66.7%^[9], 提示 RAGE 对 HMGB1 的极其重要性。

3.3.2 诱导 MAP 激酶活化 MAP 激酶信号途径在内皮细胞对促炎刺激的反应中起到一个关键的作用。Fiuza 等^[13]评估了 2 个相似, 但功能上不同的 MAP

激酶途径: ERK1/ERK2 激酶, 由生长因子或受体激活; 丝裂原活化蛋白激酶(JNK 和 p38), 在对多种激动剂反应中被激活。在 5 - 15min 内, HMGB1 激活 HMEC-1 3 条 MAP 激酶途径。用 MAPK p38 抑制剂 SB203580 显著降低 HMGB1 刺激的 IL-8 释放效应达 66.7% ($p < 0.05$), 而对 TNF- α 释放无抑制作用。抑制 HMGB1 与 RAGE 的结合(使用可溶性 RAGE 或转染子)可抑制 ERK1/2、JNK 和 p38MAP 激酶的活性。由于在 MAP 激酶途径之间的复杂相互作用, 它们的抑制剂的作用可能是一个分级适应反应而不是全或无的反应。

3.3.3 激活 NF- κ B 和 Sp1 研究表明: 在 HMGB1 与内皮细胞相互作用中 2 个核转录因子, NF- κ B 和 Sp1 被 HMGB1 激活。NF- κ B 是一个多亚单位的分子, 属于转录因子 Rel 家族, 它的活性在内皮细胞的促炎反应中被激活; Sp1 是一个结合到具有各种特异性序列细胞启动子 GC 盒的转录因子。这样, HMGB1 在内皮细胞上激活 2 个核转录因子: NF- κ B, 一个在炎症过程中调节基因表达的快诱导调控单元; Sp1, 一个在广泛的基因群中可以识别 GC/GT 盒并与 RAGE 启动子有关的结合因子。

3.3.4 其他信号途径 在内皮细胞激活过程中, 可能涉及了不同的信号反应。有研究证实: HMGB1 作用于单核细胞诱使 TNF- α 释放的促炎活性部分被 A 盒抑制, 与此同时, HUVEC 上黏附分子的上调却不受影响。Liu 等^[21]研究证实 HMGB1 的表达及促炎效应能够被 JAK/STAT 途径所介导; Yu 等^[22]发现: 在 HMGB1 的信号传递中, TLR2 在已建立的细胞株中对 HMGB1 介导的促炎细胞因子释放起作用, 而 TLR4 则在原代细胞中有明显作用。可见 HMGB1 在不同的细胞类型中明显地使用不同的信号途径。

4 处理

抗 HMGB1 特异抗体^[23], 能明显拮抗 HMGB1 所致的脓毒症。

重组体杀菌通透性增高蛋白通过抑制内毒素结合蛋白/CD14mRNA 的基因表达, 显著降低 HMGB1 的血浆浓度而保护脓毒症大鼠的多脏器功能^[24]。

A box^[25]: HMGB1 的 A box 是一种特异性的 HMGB1 拮抗剂, 能对小鼠产生保护作用; Yuan 等^[26]研究发现: HMGB1 突变体(102 - 105), 即它的第 102 和 105 位氨基酸被两个甘氨酸取代后能够竞争性地拮抗 HMGB1 的促炎活性。

中性白细胞弹性蛋白酶抑制剂(sivelestat)减少内毒素诱导的脓毒症大鼠血及肺组织 HMGB1 浓度, 与部分抑制 NF- κ B 有关^[27]。

Hagiwara 等^[28]发现抗凝血酶 III(ATIII)通过抑制 I κ B 和 p42 的磷酸化, 显著降低脓毒症动物血清和最近还发现胰岛素^[29]、甘草酸^[30], 甚至绿茶^[31] 都可以抑制 HMGB1 的表达和促炎活性。

5 结语

HMGB1 作为一种重要的晚期炎症介质参与了 SIRS/Sepsis 的发病过程, 维持并延长炎症。HMGB1 的促炎功能和动力学特点, 使得它比一些早期炎症介质更具有潜在临床应用价值。美国危重病医学领域的专家说“成功治疗脓毒症可能寄希望于针对那些已知的晚期、下游致死性炎症介质”^[33]。由于 HMGB1 出现较晚且持续时间长, 我们推测它可能成为反映脓毒症病理过程更为方便、实用的监测指标, 为防治脓毒症提供了新的目标。目前, 有关 HMGB1 与血管内皮细胞相互作用的研究并不多, 许多问题还需要进一步解决或进行深入地研究。比如 HMGB1 诱使内皮细胞激活、损伤与毛细血管渗漏的相关研究及其作用机理。血管内皮细胞具有异质性, 而目前关于内皮细胞的研究大多是通过体外细胞培养的方法进行的。涉及体外内皮细胞培养与活体实验对比的研究结论是否存在同一性。除了 RAGE 受体外是否还存在其他 HMGB1 特异性受体, 抗 HMGB1 抗体对动物感染模型有保护作用, 临床能否利用抗 HMGB1 抗体治疗脓毒症患者; 是否还存在其他类似的重要晚期炎症介质; HMGB1 还通过哪些受体和信号通路发挥作用, 等等。可以预言, 随着以上问题的解决, 势必为临床上病死率很高的脓毒症、脓毒性休克、MODS 提供新的理论根据和有效的防治措施。

[参 考 文 献]

- [1] 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(7): 1303-10
- [2] Wang HC, Bloom O, Zhang MH, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice. *Science*, 1999, 285(5425): 248 - 51
- [3] Yasuda T, Ueda T, Takeyama Y, et al. Significant increase of serum high-mobility group box chromosomal protein 1 levels in patients with severe acute pancreatitis. *Pancreas*, 2006, 33: 359-63
- [4] Gibot S, Massin F, Cravoisy A, et al. High-mobility group

- box 1 protein plasma concentrations during septic shock. *Intensive Care Med*, 2007, 33: 1347-53
- [5] Gaiñi GS, Pedersen SS, Koldkjaer OG, et al. High mobility group box-1 protein in patients with suspected community-acquired infections and sepsis: a prospective study. *Crit Care*, 2007, 11: R32
- [6] Van Zoelen Marieke AD, Laterre PF, van Q, et al. Systemic and local high mobility group box 1 concentrations during severe infection. *Crit Care Med*, 2007; 35: 2799-804
- [7] 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: 1046-53
- [8] Ito T, Kawahara K, Nakamura T, et al. High-mobility group box 1 protein promotes development of microvascular thrombosis in rats. *J Thromb Haemost*, 2007, 5: 109-16
- [9] Sappington PL, Yang R, Yang H, et al. HMGB1 B box increases the permeability of Caco-2 enterocytic monolayers and impairs intestinal barrier function in mice. *Gastroenterology*, 2002, 123(3) : 790-802
- [10] Youn JH, Oh YJ, Kim ES, et al. High mobility group box 1 protein binding to lipopolysaccharide facilitates transfer of lipopolysaccharide to CD14 and enhances lipopolysaccharide-mediated TNF- α production in human monocytes. *Immunology*, 2008, 180: 5067-74
- [11] Kornblit B, Lea MF, Garred P, et al. Association of HMGB1 polymorphisms with outcome in patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med*, 2008, 12: R83
- [12] Jean-Francois D, Edward A, Steven MO. Introduction to the margaux conference on critical illness: The endothelium - an underrecognized organ in critical illness? *Crit Care Med*, 2002, 30: S179
- [13] Fiuza C, Bustin M, Talwar S, et al. Inflammatory promoting activity of HMGB1 on human microvascular endothelial cells. *Blood*, 2003, 101:2652-60
- [14] Treutiger CJ, Mullins GE, Tracey KJ, et al. High mobility group 1 B-box mediates activation of human endothelium. *J Int Med*, 2003, 254: 375-85
- [15] Gardella S, Andrei C, Ferrera D, et al. The nuclear protein HMGB1 is secreted by monocytes via a non-classical, vesicle-mediated. *EMBO Rep*, 2002, 3:995-1001
- [16] Scaffidi P, Misteli T, Bianchi ME. Release of chromatin HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation. *Nature* 2002, 418:191-5
- [17] Mullins GE, Sunden-Cullberg J, Treutiger CJ, et al. Activation of human umbilical vein endothelial cells leads to relocation and release of high-mobility group box chromosomal protein 1. *Scand J Immunology*, 2003, 60: 566-73
- [18] Song H, Feng Y, Hoeger S, et al. High mobility group box 1 and adenosine are both released by endothelial cells during hypothermic preservation. *Clin Exp Immunol*, 2008, 152: 311-19
- [19] Kawahara K, Setoyama K, Kikuchi K, et al. HMGB1 release in co-cultures of porcine endothelial and human T cells. *Xenotransplantation*, 2007, 14: 636-41
- [20] Youn JH, Shin JS. Nucleocytoplasmic shuttling of HMGB1 is regulated by phosphorylation that redirects it toward secretion. *J Immunol*, 2006, 177: 7889-97
- [21] Liu H, Yao YM, Yu Y, et al. Role of Janus kinase/signal transducer and activator of transcription pathway in regulation of expression and inflammation promoting activity of high mobility group box protein 1 in rat peritoneal macrophages. *Shock*, 2007, 27(1) : 50-60
- [22] Yu M, Wang H, Ding A, et al. HMGB1 signals through toll-like receptor (TLR) 4 and TLR2. *Shock*, 2006, 26(2) : 174-9
- [23] Suda K, Kitagawa Y, Ozawa S, et al. Anti-high-mobility group box chromosomal protein 1 antibodies improve survival of rats with sepsis. *World J Surg*, 2006, 30: 1755-62
- [24] Zhang LT, Yao YM, Lu JQ, et al. Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein inhibits endotoxin-induced high-mobility group box 1 protein gene expression in sepsis. *Shock*, 2008, 29(2) : 278-84
- [25] Friedman SG, Czura CJ, Tracey KJ. The gestural life of high mobility group box 1. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2003, 6(3) : 283-7
- [26] Yuan ZQ, Chen J, Zhang Y, et al. Construction and characterization of the HMGB1 mutant as a competitive antagonist to HMGB1 induced cytokines release. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 372: 703-7
- [27] Hagiwara S, Iwasaka H, Togo K, et al. A neutrophil elastase inhibitor, sivelestat, reduces lung injury following endotoxin-induced shock in rats by inhibiting HMGB1. *Inflammation*, 2008, 31(4) : 227-34
- [28] Hagiwara S, Iwasaka H, Matsumoto S, et al. High dose anti-thrombin III inhibits HMGB1 and improves endotoxin-induced acute lung injury in rats. *Intensive Care Med*, 2008, 34: 361-7
- [29] Hagiwara S, Iwasaka H, Hasegawa A, et al. Effects of hyperglycemia and insulin therapy on high mobility group box 1 in endotoxin-induced acute lung injury in a rat model. *Crit Care Med*, 2008, 36:2407-13
- [30] Mollica L, Marchisio FD, Spitaleri A, et al. Glycyrrhizin binds to high-mobility group box 1 protein and inhibits its cytokine activities. *Chem Biol*, 2007, 14: 431-41
- [31] Li W, Ashok M, Li J, et al. A major ingredient of green tea rescues mice from lethal sepsis partly by inhibiting HMGB1. *PLoS ONE*, 2007, 2(11) : e1153
- [32] Czura CJ, Tracey KJ. Targeting high mobility group box 1 as a late-acting mediator of inflammation. *Crit Care Med*, 2003, 31(Suppl 1) : S46-50