

• 论著—实验研究 •

抑制 CD18 减轻脓毒症小鼠肠损伤的研究*

白稼玮¹ 马承泰¹ 严颜¹ 吴森² 杜贤进¹

[摘要] 目的:研究 CD18 在脓毒症肠损伤中的作用及机制。方法:将 36 只小鼠随机分为对照组、脓毒症组、抗 CD18 组,腹腔注射 LPS 建立脓毒症小鼠模型;抗 CD18 组先尾静脉注射 CD18 抗体,30 min 后腹腔注射 LPS;造模 24 h 后检测血清中 $\beta 2$ 整合素、D-乳酸、肝素结合蛋白(HBP)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平;检测小肠组织中炎症因子(IL-6、IL-10)、紧密连接蛋白(ZO-1、Claudin-1)、Rho 信号通路蛋白(ROCK1、mDia1)的表达水平及 RhoA 活性;采用苏木精-伊红染色评估小肠病理损伤,透射电镜观察小肠组织超微结构改变。结果:①CD18 抗体提高了脓毒症小鼠 24 h 存活率。②CD18 抗体减轻了脓毒症小鼠小肠损伤(小肠病理损伤减轻、上皮间紧密连接破坏减轻、紧密连接蛋白表达增多),改善了肠道通透性(D-乳酸水平下降)。③CD18 抗体抑制了 Rho 信号通路(RhoA 活性下降,ROCK1 和 mDia1 表达减少)。结论:抑制 CD18 可以减轻脓毒症肠损伤,改善肠道通透性;CD18 可能是通过 Rho 信号通路参与了脓毒症的肠损伤。

[关键词] CD18;脓毒症;肠道通透性;紧密连接蛋白;Rho 信号通路

DOI:10.13201/j.issn.1009-5918.2023.03.007

[中图分类号] R631.2 **[文献标志码]** A

Study on inhibition of CD18 to alleviate intestinal injury in sepsis mice

BAI Jiawei¹ MA Chengtai¹ YAN Yan¹ WU Miao² DU Xianjin¹

(¹Department of Critical Care Medicine, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, 430060, China; ²Department of Emergency, Renmin Hospital of Wuhan University)

Corresponding author: DU Xianjin, E-mail: duxianjin@whu.edu.cn

Abstract Objective: To study the role and mechanism of CD18 in sepsis intestinal injury. **Methods:** Thirty-six mice were randomly divided into control group, sepsis group and anti-CD18 group, and the sepsis mouse model was established by intraperitoneal injection of LPS. In the anti-CD18 group, CD18 antibody was injected into caudal vein at first, and LPS was injected intraperitoneally 30 min later. The serum levels of $\beta 2$ integrin, HBP, D-lactate and TNF- α were detected 24 hours after modeling. Meanwhile, RhoA activity and the expression levels of inflammatory factors(IL-6, IL-10), tight junction proteins(ZO-1, Claudin-1), Rho signaling pathway proteins(ROCK1, mDia1) in small intestine were also detected. HE staining was used to evaluate the pathological damage of small intestine, and the ultrastructural changes of small intestine were observed by transmission electron microscopy. **Results:** ①Anti-CD18 treatment increased the survival rate of sepsis mice for 24 h. ②Anti-CD18 treatment attenuated intestinal pathological injury in sepsis mice, repaired tight junctions between epithelial cells(increase of tight junction proteins), and improved intestinal permeability(decrease of D-lactate level). ③Anti-CD18 treatment inhibited the Rho signaling pathway(decrease of RhoA activity, decrease of ROCK1 and mDia1 expression). **Conclusion:** Inhibition of CD18 can alleviate intestinal damage and improve intestinal permeability in sepsis. CD18 may be involved in intestinal damage in sepsis through the Rho signaling pathway.

Key words CD18; sepsis; intestinal permeability; tight junction protein; Rho signaling pathwa

脓毒症是机体对感染反应失调所致的危及生命的器官功能障碍,是 ICU 内常见的急危重症。在我国,ICU 脓毒症的发病率为 20.6%,90 d 病死

率为 35.5%,严重威胁患者的生命安全^[1]。脓毒症引起的肠损伤,又可诱发多器官功能衰竭(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),进一步增加病死率^[2]。如何减轻脓毒症肠损伤,降低 MODS 发生,对于改善脓毒症患者预后至关重要,但脓毒症肠损伤的发病机制复杂,有待进一步研究。

CD18 是白细胞表面细胞黏附分子 $\beta 2$ 整合素的亚基^[3],抑制 CD18 可以抑制 $\beta 2$ 整合素功能^[4]。

*基金项目:国家自然科学基金青年项目(No:82202409);湖北省自然科学基金项目(No:2022CFA089)

¹武汉大学人民医院重症医学科(武汉,430060)

²武汉大学人民医院急诊科

通信作者:杜贤进,E-mail:duxianjin@whu.edu.cn

研究发现,抑制 CD18 可以减轻脓毒症引起的急性肺损伤^[5];炎症诱导下 CD18 基因突变引起的 CD18(-/-)小鼠与对照组相比显示出更严重的肠道损伤且最终死于感染^[6],但 CD18 对脓毒症肠损伤的作用及机制尚不清楚。本研究通过尾静脉注射 CD18 抗体抑制 $\beta 2$ 整合素功能,研究 CD18 在脓毒症肠损伤中的作用及机制。

1 材料与方 法

1.1 实验动物分组及模型制备

健康 SPF 级 Balb/c 小鼠 36 只,8~10 周龄,体重 22~24 g。适应性喂养 3 d 后,将小鼠随机分为对照组、脓毒症组、抗 CD18 组,每组 12 只。实验前 30 min,抗 CD18 组预先尾静脉注射 100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ CD18 抗体(Bioxcell 公司,美国)处理,对照组及脓毒症组尾静脉注射等量生理盐水。采用腹腔注射 30 mg/kg LPS(Biosharp 公司,中国)建立脓毒症小鼠模型,对照组腹腔注射等量生理盐水。24 h 后进行心尖采血,收集小肠组织。

1.2 小肠组织病理学观察

取部分小肠组织制作石蜡切片,苏木精-伊红染色后观察小肠组织形态学改变,计算小肠绒毛长度,并用 Chiu's 评分^[7]评估肠损伤程度;另取部分小肠组织,用戊二醛固定 4 h,1% 锇酸固定 2 h,依次乙醇及丙酮逐级脱水,渗透包埋、聚合、超薄切片,2% 醋酸铀饱和乙醇溶液避光染色 8 min;70% 乙醇清洗 3 次;超纯水清洗 3 次;2.6% 枸橼酸铅溶液避二氧化碳染色 8 min;超纯水清洗 3 次,干燥过夜后,透射电镜下观察小肠上皮细胞间紧密连接。

1.3 血清中 $\beta 2$ 整合素、肝素结合蛋白(heparin binding protein, HBP)、D-乳酸、TNF- α 水平测定

各组小鼠麻醉后,心尖采血 0.4~0.8 mL,离心分离血清(4 $^{\circ}\text{C}$,3000 r/min,离心 10 min),采用 ELISA 检测血清中 $\beta 2$ 整合素、HBP、D-乳酸、TNF- α 水平,严格按照 ELISA 试剂盒(ELK Biotechnology,中国)说明书进行。

1.4 小肠组织中 IL-6、IL-10 水平测定

将小肠组织制备匀浆,离心分离(4 $^{\circ}\text{C}$,3000 r/min,离心 10 min),取上清液,ELISA 检测 IL-6、IL-10 水平,严格按照 ELISA 试剂盒(ELK Biotechnology,中国)说明书进行。

1.5 Western Blot 测定小肠组织中紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 及 Rho 信号通路蛋白 ROCK1、mDial1 的表达

小肠组织匀浆裂解后,离心取上清(4 $^{\circ}\text{C}$,12 000 r/min 离心 5 min),BCA 蛋白定量后加入上样缓冲液,95~100 $^{\circ}\text{C}$ 沸水浴 5 min,经 SDS-PAGE 电泳,湿转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,分别加入以下一抗:兔抗小鼠 ZO-1 单克隆抗体(稀释度 1:500,武汉三鹰公司,中国)、兔抗小

鼠 Claudin-1 单克隆抗体(稀释度 1:1000,Abcam 公司,英国)、兔抗小鼠 ROCK1 单克隆抗体(稀释度 1:1000,CST 公司,德国)、兔抗小鼠 mDial1 单克隆抗体(稀释度 1:1000,Abcam 公司,英国)和兔抗小鼠 GAPDH 单克隆抗体(稀释度 1:10 000,Abcam 公司,英国)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,TBST 洗膜(每次 10 min,共 3 次),加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(稀释度 1:10 000,ASPEN 公司,美国)室温孵育 30 min,TBST 洗膜(每次 10 min,共 3 次),ECL 化学显影曝光。将胶片进行扫描存档,AlphaE-aseFC 软件处理系统分析目标带的光密度值。

1.6 Pull down 测定小肠组织中 RhoA 活性

采用 Pull down 法测定 RhoA 活性,严格按照试剂盒(Cytoskeleton 公司,美国)说明书进行;小肠组织匀浆裂解后,离心取上清(4 $^{\circ}\text{C}$,14 000 r/min 离心 5 min),测定蛋白浓度,用适当的裂解液将每管蛋白配平。每 500 μL 的裂解液加 20~30 μg GST-RBD 珠子,4 $^{\circ}\text{C}$ 旋转结合 1 h,离心吸出 90% 的上清(4 $^{\circ}\text{C}$,14 000 r/min 离心 30 s),沉降的珠子用 500 μL 预冷的漂洗缓冲液洗涤,继续离心沉降珠子(4 $^{\circ}\text{C}$,14 000 r/min 离心 30 s)。去除上清,沉淀为 GST 结合的蛋白。采用 Western blot 分别检测 RhoA 总蛋白和与 GST 结合的蛋白(RhoA-GTP),以 RhoA-GTP 与总 RhoA 表达的比值反映 RhoA 的活性。所用一抗为:兔抗鼠 RhoA 单克隆抗体(稀释度 1:500,Cytoskeleton 公司,美国);二抗为:辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(稀释度 1:10 000,ASPEN 公司,美国)。

1.7 统计学方法

所有数据均采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{X} \pm S$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料采用 χ^2 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠 24 h 一般情况及存活率

观察小鼠 24 h 后一般情况,脓毒症组小鼠蜷缩不动、毛发蓬松凌乱、闭眼、肛周大量分泌物、对刺激无反应;与脓毒症组相比,抗 CD18 组小鼠一般情况较好,表现为行动迟缓、毛发部分竖立、半闭眼、肛周少量分泌物、对刺激有反应。抗 CD18 组小鼠 24 h 存活率显著高于脓毒症组(75% vs. 33%, $P < 0.05$)。见图 1。

2.2 小肠组织病理改变及 Chiu's 评分

各组小鼠小肠苏木精-伊红染色结果如图 2a 所示;对照组小鼠小肠显示规则的肠绒毛结构,上皮细胞表面微绒毛存在;肠黏膜上皮层与固有层完整连接,无扩张及充血现象。脓毒症组小鼠小肠绒毛明显变短变粗,排列紊乱,上皮细胞表面微绒毛消失;肠黏膜上皮层与固有层多处脱落,上皮间

隙明显扩张,固有层大量中性粒细胞浸润并伴出血。抗 CD18 组小鼠小肠绒毛结构尚完整,排列较规则,上皮细胞表面微绒毛存在;上皮间隙轻度扩张,可见轻度中性粒细胞浸润。与对照组相比,脓毒症组小鼠小肠病理评分(Chiu's 评分)显著升高($P < 0.05$);与脓毒症组相比,抗 CD18 组小鼠小肠病理评分显著降低($P < 0.05$)。3 组小鼠小肠绒毛长度差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2b、2c。

2.3 血清中 D-乳酸、HBP、 $\beta 2$ 整合素水平

与对照组比较,脓毒症组小鼠血清中 D-乳酸、HBP 及 $\beta 2$ 整合素水平显著增加($P < 0.05$);与脓毒症组比较,抗 CD18 组小鼠血清中 D-乳酸、HBP 及 $\beta 2$ 整合素水平显著减少($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 小鼠炎症因子 TNF- α 、IL-6、IL-10 的水平

与对照组比较,脓毒症组小鼠 TNF- α 、IL-6 水平显著增加($P < 0.05$),IL-10 显著减少($P < 0.05$);与脓毒症组比较,抗 CD18 组小鼠 TNF- α 、IL-6 水平显著减少($P < 0.05$),IL-10 显著增加($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 小肠上皮细胞间紧密连接

透射电镜下显示,对照组小鼠小肠微绒毛排列整齐,上皮细胞间隙狭窄,上皮间紧密连接结构清晰,形态完整;脓毒症组小鼠小肠微绒毛稀疏,部分缺失,排列不整齐,有倒伏,上皮细胞间隙增宽,连

接疏松,紧密连接结构肿胀模糊,部分紧密连接消失;抗 CD18 组上述破坏明显减轻,微绒毛增加,紧密连接可见,较清晰,细胞间隙变小,显著好于脓毒症组。见图 5。

2.6 小肠组织中紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 表达

对照组比较,脓毒症组小鼠小肠组织中紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 表达水平显著减少($P < 0.05$);与脓毒症组比较,抗 CD18 组小肠组织中紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 表达水平显著增加($P < 0.05$)。见图 6。

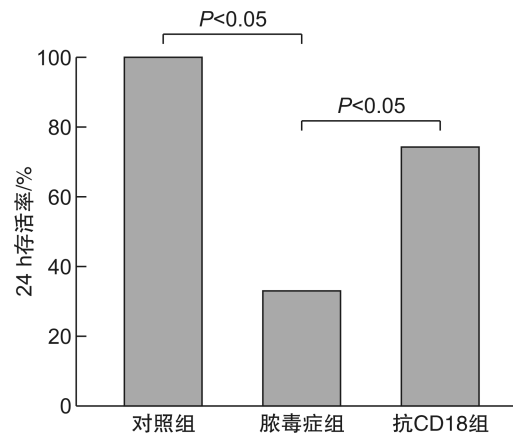
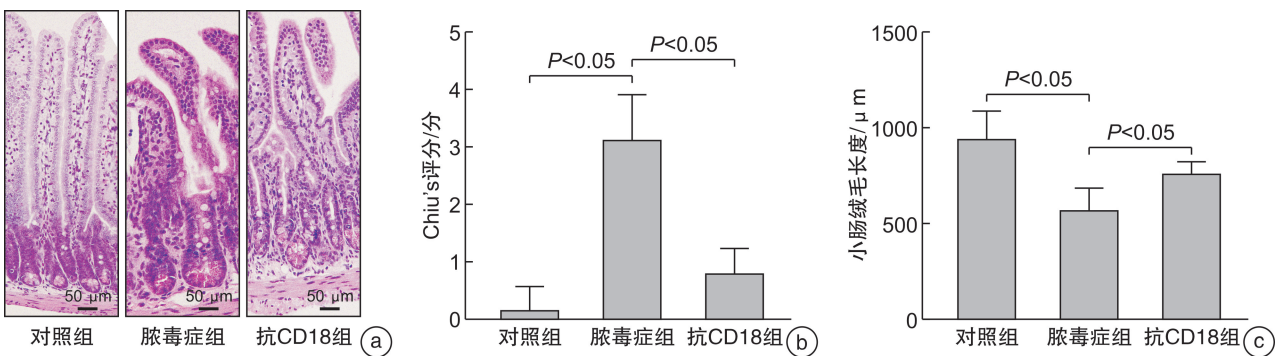
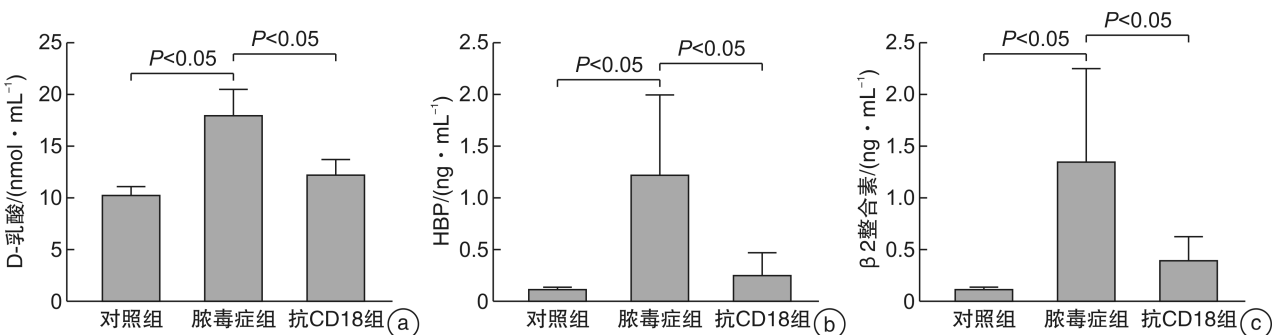


图 1 各组小鼠 24 h 存活率



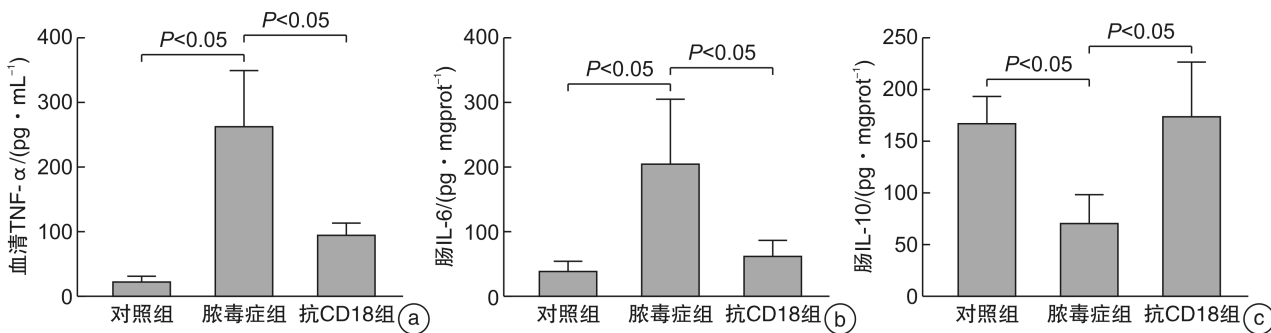
a: 各组小鼠小肠组织苏木精-伊红染色($\times 200$); b: 各组小鼠小肠组织 Chiu's 评分[(0.16 \pm 0.41)分 vs. (3.16 \pm 0.75)分 vs. (0.83 \pm 0.41)分]; c: 各组小鼠小肠绒毛长度[(946.6 \pm 145.6) μm vs. (575.8 \pm 112.7) μm vs. (768.9 \pm 58.31) μm]。

图 2 光镜下观察小鼠肠组织病理学改变



a: 各组小鼠血清中 D-乳酸比较; b: 各组小鼠血清中 HBP 比较; c: 各组小鼠血清中 $\beta 2$ 整合素比较。

图 3 各组小鼠血清中 D-乳酸、HBP、 $\beta 2$ 整合素的比较



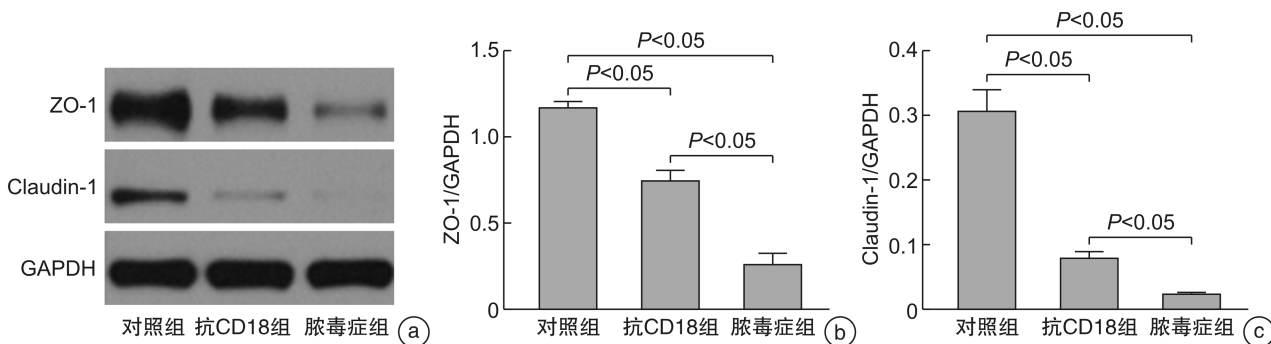
a: 各组小鼠血清中 TNF-α 比较; b: 各组小鼠小肠组织中 IL-6 比较; c: 各组小鼠小肠组织中 IL-10 比较。

图 4 各组小鼠炎症因子 TNF-α、IL-6、IL-10 的比较



a: 对照组; b: 脓毒症组; c: 抗 CD18 组。

图 5 透射电镜下观察各组小鼠小肠上皮细胞间紧密连接改变(醋酸铀染色 ×15 000)



a: 各组小鼠小肠组织中 ZO-1、Claudin-1 蛋白表达; b: 各组小鼠小肠组织中 ZO-1 相对表达量; c: 各组小鼠小肠组织中 Claudin-1 相对表达量。

图 6 各组小鼠小肠组织 ZO-1、Claudin-1 的蛋白表达

2.7 各组小鼠小肠组织中 RhoA 活性与 ROCK1、mDia1 的表达

与对照组比较,脓毒症组小鼠小肠组织中 RhoA 活性与 ROCK1、mDia1 表达水平显著增加 ($P < 0.05$);与脓毒症组比较,抗 CD18 组小肠组织中 RhoA 活性与 ROCK1、mDia1 表达水平显著减少 ($P < 0.05$)。见图 7。

3 讨论

肠是脓毒症最易受累的器官之一,肠道受损,肠屏障功能障碍,肠道通透性增加又是脓毒症发生 MODS 的始动因素^[8]。因此,如何保护脓毒症肠屏障功能已成为危重症领域的研究热点。本研究

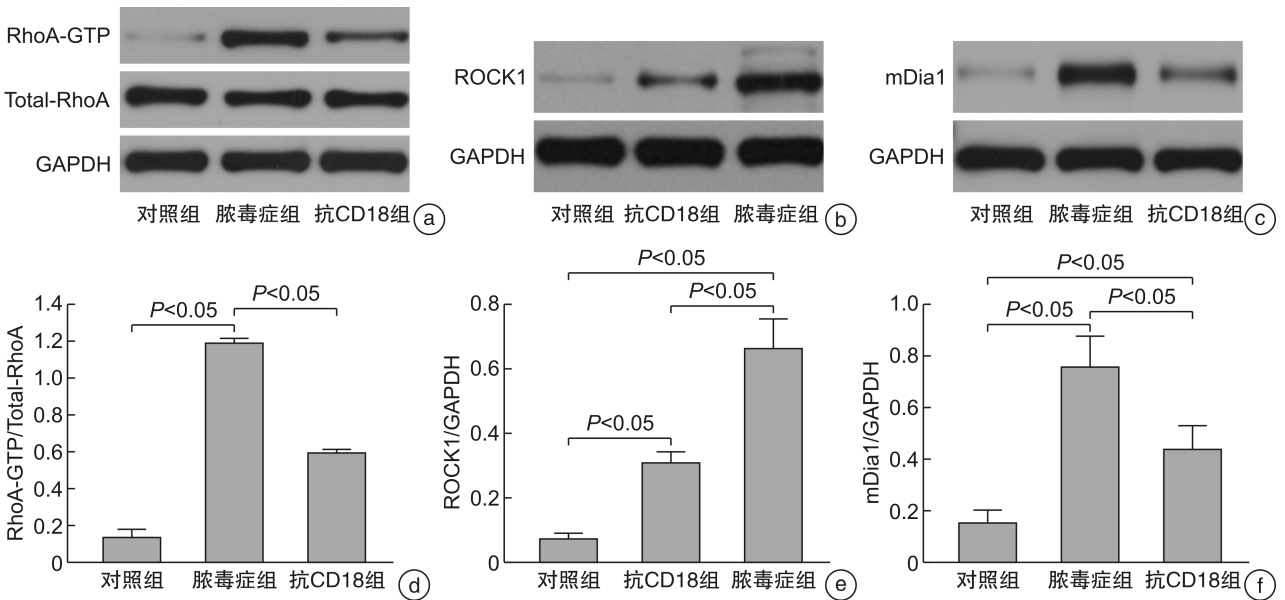
通过腹腔注射 LPS 建立脓毒症模型,探讨 CD18 在脓毒症肠损伤中的作用及机制。

脓毒症可以引起肠损伤。在本研究中,脓毒症引起的肠绒毛肿胀断裂、排列紊乱、毛细血管扩张充血以及肠上皮微绒毛脱落、细胞间隙增宽、细胞间紧密连接破坏,在抗 CD18 组显著改善,提示 CD18 抗体可以减轻脓毒症小鼠小肠病理损伤 (Chiu's 评分降低) 及紧密连接破坏。

紧密连接是相邻上皮细胞之间最重要的连接,位于上皮细胞之间的顶点,可以调节细胞旁途径^[9]。紧密连接主要由 Claudin 家族、Occludin 家族、连接黏附蛋白分子 A 及细胞内支架蛋白 ZO-1

组成^[10],其中紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 是反映紧密连接损伤的常用指标。在 He 等^[11]的体外细胞实验中,维生素 A 通过增强单层肠上皮细胞紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 的表达,缓解了 LPS 诱导的跨上皮电阻(TER)降低,显著改善了肠

道通透性。在本研究中,脓毒症组紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 蛋白表达较对照组显著减少;而抗 CD18 组 ZO-1、Claudin-1 蛋白表达较脓毒症组显著增加,提示 CD18 抗体可以增加脓毒症小鼠小肠组织紧密连接蛋白的表达。



a: 各组小鼠小肠组织中 RhoA-GTP、Total-RhoA 的蛋白表达;b: 各组小鼠小肠组织中 ROCK1 蛋白表达;c: 各组小鼠小肠组织中 mDia1 蛋白表达;d: 各组小鼠小肠组织中 RhoA 的活性;e: 各组小鼠小肠组织中 ROCK1 相对表达量;f: 各组小鼠小肠组织中 mDia1 相对表达量。

图 7 各组小鼠小肠组织中 ROCK1、mDia1 的蛋白表达

肠道通透性是反映肠屏障完整性的指标,当肠屏障的组成部分受损时,肠道通透性增加^[12],肠道通透性可由血清中 D-乳酸水平反映。D-乳酸作为肠道细菌厌氧代谢的产物,当肠屏障功能受损时,D-乳酸吸收入血,而哺乳动物不具备快速代谢 D-乳酸的酶系统,因此,D-乳酸可作为肠道通透性的标志物。在 Zhang 等^[13]的研究中,D-乳酸用以评估溃疡性结肠炎患者肠屏障功能状态,结果表明内镜下溃疡活动性变化可由 D-乳酸预测。在 Zhang 等^[14]的研究中,采用管饲异硫氰酸荧光素(FITC)-葡聚糖评估脓毒症小鼠肠道通透性,结果显示脓毒症小鼠血清中 D-乳酸及 FITC-葡萄糖均显著升高。本研究中,脓毒症组血清 D-乳酸水平显著高于对照组,而抗 CD18 组 D-乳酸水平较脓毒症组明显下降,提示 CD18 抗体可改善脓毒症小鼠小肠通透性。HBP 是中性粒细胞释放的一种阳离子抗菌蛋白,受中性粒细胞表面 $\beta 2$ 整合素调控,可以诱导血管渗漏,参与组织缺血缺氧损伤^[15]。同时 HBP 可预测脓毒症器官功能障碍^[16-18]。Sun 等^[19]的研究表明,HBP 升高与脓毒症严重程度呈正相关,可作为危重患者胃肠道功能障碍的生物标志物。本研究中,CD18 抗体显著抑制脓毒症引起的 HBP 升

高,提示 CD18 抗体可减轻脓毒症引起的肠道功能障碍。

既往研究表明,Rho 信号通路的激活可诱导脓毒症肠损伤^[20]。Rho 是 Ras 超家族中的一种小 GTP 结合蛋白,主要是 RhoA 和 Rac1,ROCK 和 mDia1 是其下游的主要效应蛋白,Rho 与其下游效应蛋白组成的信号通路在细胞骨架的调节中发挥重要作用^[21]。其中 ROCK 分为 ROCK1 与 ROCK2,ROCK1 在非神经元组织中广泛表达,包括肝、肺和胃肠道,而 ROCK2 主要在脑和脊髓中表达^[22]。脓毒症时机体产生的相关刺激因子,均可激活细胞质中的 Rho 蛋白,使其与 GTP 结合活化后(Rho-GTP),与下游效应蛋白结合,调节上皮细胞内肌动蛋白细胞骨架的聚合和重组,从而破坏上皮细胞间紧密连接^[23]。Li 等^[24]的研究发现,柚皮苷可通过减少脓毒症小鼠小肠组织中 RhoA-GTP,抑制 RhoA/ROCK 信号通路,增加肠组织紧密连接蛋白的表达,改善脓毒症引起的肠屏障功能障碍。Yang 等^[25]的研究发现,氢气可以抑制单层 Caco-2 细胞中 LPS 引起的 RhoA 激活与 mDia1 表达增多,防止紧密连接破坏,保护肠屏障。本研究发现,CD18 抗体降低了脓毒症小鼠小肠组织中

RhoA-GTP 的升高,降低了 Rho 信号通路蛋白 ROCK1、mDia1 的表达,提高了紧密连接蛋白 ZO-1、Claudin-1 的表达,提示 CD18 可能是通过 Rho 信号通路参与了脓毒症肠损伤的调控。

综上所述,CD18 抗体可以减轻脓毒症肠损伤,改善肠道通透性;CD18 可能是通过激活 Rho 信号通路参与了脓毒症的肠损伤。本研究是在动物模型层面进行 CD18 对脓毒症小鼠肠损伤作用的研究,其可能的作用机制有待细胞实验证实。此外,CD18 对脓毒症肠损伤的作用在临床方面是否具有相似的趋势,尚需进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 黄昆鹏,张进祥.脓毒症的定义、诊断与早期干预——不可分割的三要素[J].临床急诊杂志,2021,22(3):221-226.
- [2] Chen P, Billiar T. Gut microbiota and multiple organ dysfunction syndrome(MODS)[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1238:195-202.
- [3] Bednarczyk M, Stege H, Grabbe S, et al. β 2 integrins-multi-functional leukocyte receptors in health and disease[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(4):1402.
- [4] 刘杨,马少林,王学斌,等.整合素介导的肝素结合蛋白在肺损伤模型中的作用[J].中华急诊医学杂志,2018,27(7):764-768.
- [5] Liu Y, Ma SL, Wang XB, et al. The role of β 2 integrin associated heparin-binding protein release in ARDS[J]. Life Sci, 2018, 203:92-98.
- [6] Wang BM, Lim JH, Kajikawa T, et al. Macrophage β 2-integrins regulate IL-22 by ILC3 s and protect from lethal *Citrobacter rodentium*-induced colitis[J]. Cell Rep, 2019, 26(6):1614-1626. e5.
- [7] 雷泓,顾莹,陈军仿,等. Stattic 对脂多糖诱导的肠道屏障功能障碍小鼠小肠组织基质金属蛋白酶-9 表达的影响[J].中华实用诊断与治疗杂志,2021,35(10):997-1000.
- [8] Longhitano Y, Zanza C, Thangathurai D, et al. Gut alterations in septic patients:a biochemical literature review[J]. Rev Recent Clin Trials, 2020, 15(4):289-297.
- [9] Schoultz I, Keita ÅV. The intestinal barrier and current techniques for the assessment of gut permeability[J]. Cells, 2020, 9(8):1909.
- [10] Usuda H, Okamoto T, Wada K. Leaky gut: effect of dietary fiber and fats on microbiome and intestinal barrier[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(14):7613.
- [11] He CM, Deng J, Hu X, et al. Vitamin A inhibits the action of LPS on the intestinal epithelial barrier function and tight junction proteins[J]. Food Funct, 2019, 10(2):1235-1242.
- [12] Rohr MW, Narasimhulu CA, Rudeski-Rohr TA, et al. Negative effects of a high-fat diet on intestinal permeability:a review[J]. Adv Nutr, 2020, 11(1):77-91.
- [13] Zhang Q, Gao X, Wu JX, et al. The correlation between endotoxin, D-lactate, and diamine oxidase with endoscopic activity in inflammatory bowel disease[J]. Dis Markers, 2022, 2022:9171436.
- [14] Zhang SF, Zhou QN, Li YC, et al. MitoQ modulates lipopolysaccharide-induced intestinal barrier dysfunction via regulating Nrf2 signaling[J]. Mediators Inflamm, 2020, 2020:3276148.
- [15] 李荔,冯贵龙,牛争平.肝素结合蛋白分子特性及其与感染性疾病关系研究进展[J].中华实用诊断与治疗杂志,2022,36(4):418-421.
- [16] Wu YL, Yo CH, Hsu WT, et al. Accuracy of heparin-binding protein in diagnosing sepsis:a systematic review and meta-analysis[J]. Crit Care Med, 2021, 49(1):e80-e90.
- [17] Liu ZX, Chen MM, Sun YN, et al. Transforming growth factor- β receptor type 2 is required for heparin-binding protein-induced acute lung injury and vascular leakage for transforming growth factor- β /Smad/Rho signaling pathway activation[J]. FASEB J, 2022, 36(11):e22580.
- [18] Pajenda S, Figurek A, Wagner L, et al. Heparin-binding protein as a novel biomarker for sepsis-related acute kidney injury[J]. PeerJ, 2020, 8:e10122.
- [19] Sun JK, Shen X, Sun XP, et al. Heparin-binding protein as a biomarker of gastrointestinal dysfunction in critically ill patients: a retrospective cross-sectional study in China[J]. BMJ Open, 2020, 10(7):e036396.
- [20] 郭娜,宁海慧,邢博民,等. Rho/ROCK 信号通路在脓毒症相关脏器损伤中的作用及机制研究进展[J].临床急诊杂志,2021,22(7):503-507.
- [21] Ryu H, Lee HN, Ju J, et al. Combinatorial effects of RhoA and Cdc42 on the actin cytoskeleton revealed by photoswitchable GEFs [J]. Sens Actuat B Chem, 2022, 369:132316.
- [22] Jin Y, Blikslager AT. The regulation of intestinal mucosal barrier by myosin light chain kinase/rho kinases[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(10):3550.
- [23] Hahmeyer MLDS, da Silva-Santos JE. Rho-proteins and downstream pathways as potential targets in Sepsis and septic shock: what have we learned from basic research[J]. Cells, 2021, 10(8):1844.
- [24] Li ZL, Gao M, Yang BC, et al. Naringin attenuates MLC phosphorylation and NF- κ B activation to protect sepsis-induced intestinal injury via RhoA/ROCK pathway[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 103:50-58.
- [25] Yang T, Wang L, Sun RQ, et al. Hydrogen-rich medium ameliorates lipopolysaccharide-induced barrier dysfunction via rhoa-mdial signaling in caco-2 cells[J]. Shock, 2016, 45(2):228-237.

(收稿日期:2022-12-25)