

PA-MSHA 对脓毒症大鼠的肺组织炎症反应的影响

凌美蓉^{1,2}, 万 健², 邓星奇², 孙克玉², 刘 梅², 单红卫¹

(1. 第二军医大学长征医院 急救科, 上海 200003; 2. 上海市闵行区中心医院 急诊科, 上海 201199)

【摘要】目的: 探讨铜绿假单胞菌甘露糖敏感血凝素(PA-MSHA) 对脓毒症致急性肺损伤炎症反应的影响及可能机制。方法: 健康 SD 大鼠 120 只按随机数字法分为假手术对照组(SC 组 $n = 30$)、脓毒症组(CLP 组 $n = 30$)、术前治疗组(PreT 组 $n = 30$) 和术后治疗组(PosT 组 $n = 30$)。以盲肠结扎穿孔法(CLP) 复制大鼠脓毒症模型。制模后 12、24、36 h 分别采集外周血测定血清细胞因子(TNF- α 、IL-6、IL-10 和 TGF- β) 并处死动物, 实时 RT-PCR 方法检测各组肺组织 Toll 样受体 4(TLR4) mRNA 表达; 计算肺损伤病理评分; 采用流式细胞术检测大鼠外周血单核细胞 TLR4 阳性率。结果: 脓毒症大鼠中 PreT 组与 CLP 组和 PosT 组相比, PreT 组血清细胞因子 TNF- α 、IL-6 浓度降低而细胞因子 IL-10、TGF- β 浓度均高于 CLP 组和 PosT 组($P < 0. 01$)。脓毒症大鼠中 PreT 组外周血单核细胞 TLR4 阳性率和肺组织 TLR4 mRNA 表达水平低于 CLP 组和 PosT 组($P < 0. 05$) , 肺组织病理学评分也优于另两组($P < 0. 01$)。结论: 术前给予 PA-MSHA 可以明显下调脓毒症大鼠的炎症反应, 从而减轻肺病理损伤程度。

【关键词】脓毒症; 急性肺损伤; PA-MSHA; 细胞因子; Toll 样受体 4

【中图分类号】R 459. 7 **【文献标识码】**A

【DOI】10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2015. 03. 003

Effects of Pseudomonas aeruginosa-mannose-sensitive hemagglutinin on the inflammatory response in lung tissues of septic rats

LING Meirong, WAN Jian, DENG Xingqi, SUN Keyu, LIU Mei, SHAN Hongwei

Department of Emergency Medicine, Shanghai Changzheng Hospital, Shanghai 200003, China

【Abstract】Objective: To investigate the effects and the possible mechanism of Pseudomonas aeruginosa-mannose-sensitive hemagglutinin(PA-MSHA) on the septic serum-induced inflammatory response in lung tissues of rats. **Methods:** 120 Sprague-Dawley (SD) rats of healthy grade were randomized into sham operation group (SC group $n = 30$) ,sepsis group (CLP group $n = 30$) ,PA-MSHA treatment before CLP (PreT group $n = 30$) ,and PA-MSHA treatment after CLP (PosT group $n = 30$) by random digit tables. Murine septic models were established through cecal ligation puncture (CLP) . Rats in each group were sacrificed at 12, 24 and 36 h after operation, and blood was collected to determine the serum TNF- α , IL-6, IL-10 and TGF- β concentration. Lung tissue samples were also obtained to determine the expression of TLR4 mRNA by real-time PCR. Pathological changes in lung tissues were observed with light microscopy after HE staining, and flow cytometry was used to examine the changes of TLR4 expression in peripheral blood monocytes. **Results:** Serum TNF- α and IL-6 concentration in PreT group were significantly lower, yet IL-10 and TGF- β concentration were significantly higher as compared with that of CLP and PosT groups ($P < 0. 01$) . Expression of TLR4 mRNA was markedly decreased($P < 0. 05$) , and the pulmonary pathological scores were better than the other two groups ($P < 0. 01$) . **Conclusion:** Preoperative administration of PA-MSHA can significantly reduce the inflammatory reaction and pathological injury of the lungs in septic rats.

【Key words】sepsis; acute lung injury; PA-MSHA; cytokine; Toll-like receptor-4

脓毒症(sepsis) 是指由严重感染、创伤、手术、烧伤、休克等引起的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS) , 往往由机体炎

症失控或过度炎症反应导致。肺是脓毒症时较早而又最常见受损的器官之一, 内毒素诱导的大量炎症介质释放并引发级联反应是其机制^[1-3]。内毒

基金项目: 上海市医学重点专科建设计划项目(ZK2012A23)

收稿日期: 2014-12-30

作者简介: 凌美蓉(1981-), 女, 主治医师, 在职硕士研究生(电话) 18918166445(电子信箱) lmrsj@ hotmail. com;

单红卫, 男, 主任医师, 硕士生导师(电子信箱) shwshan@ 163. com 通讯作者。

素的主要成分脂多糖(LPS)通过免疫级联反应,促进多种细胞因子大量、过度表达、分泌,从而导致机体出现多器官功能障碍。

铜绿假单胞菌甘露糖敏感血凝素(pseudomonas aeruginosa mannose-sensitive hemagglutinin, PA-MSHA)是一种高效、低毒并具有生物免疫原性的生物制品,具有免疫调节活性而应用于肿瘤治疗^[4-5]。新近研究发现PA-MSHA是TLR4的天然配体^[6-7],通过参与升高CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺三阳性TREG细胞在外周血细胞中的比例,调节部分免疫细胞^[22],理论上它可能对内毒素诱导的脓毒症有干预作用。

本实验通过检测PA-MSHA干预下脓毒症大鼠肺组织病理学评分、炎症因子水平、外周血单核细胞TLR4表达等变化,探讨PA-MSHA对脓毒症大鼠肺损伤炎症反应的影响及其可能机制,为寻找治疗脓毒症的有效方法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型制备与实验分组 清洁级SD雄性大鼠,体质量(250±25)g,购自第二军医大学实验动物中心,实验在第二军医大学急救医学实验室完成。清洁环境饲养1周,实验前12h禁食,自由饮水。采用盲肠结扎穿孔(CLP)方法制作脓毒症模型。PA-MSHA购自北京万特生物制药有限公司(1.0 mL/支,批号S20043022,每mL含菌 $1.6 \times 10^9 \sim 2.0 \times 10^9$)。按随机数字法将大鼠分成4组:假手术对照组(SC组, $n=30$),术前腹腔注射生理盐水1 mL, qd × 3 d,术时仅打开和关闭腹腔,不行CLP术;脓毒症组(CLP组, $n=30$),术前腹腔注射生理盐水1 mL, qd × 3 d, CLP术制模;术前治疗组(PreT组, $n=30$),术前腹腔注射PA-MSHA 0.1 mL/kg, qd × 3 d, CLP术制模;术后治疗组(PosT组, $n=30$), CLP术后立即皮下注射PA-MSHA 0.1 mL/kg一次。术后12 h、24 h和36 h各组分别处死大鼠10只,留取股静脉血和肺组织待检。

1.2 细胞因子浓度测定 所取股静脉血常温下静置2 h,高速离心机5℃下以3 000 r/min离心8 min,取上清液,分装入冻存管,-80℃冰箱保存,按照ELISA试剂盒操作,检测血清TNF- α 、IL-6、IL-10和TGF- β 的浓度,计算出标准曲线和回归方程,将样品吸光度代入标准曲线,计算出样品中细胞因子的蛋白浓度。

1.3 肺组织TLR4 mRNA的测定 除右下肺叶外的肺组织液氮速冻锡纸包裹后-80℃冰箱保存。以RT-PCR方法检测肺组织TLR4 mRNA,每组样品

取约50 mg肺组织,按试剂盒操作要求逆转录cDNA。所有操作严格按照SYBR PrimerScript RT-PCR试剂盒的要求进行。

1.4 肺组织病理观察及肺病理损伤评分 所取右下肺叶,10%中性福尔马林溶液固定48 h,常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片,HE染色,光镜下观察组织病理形态变化。按Mikawa等^[8]的方法进行肺病理损伤评分:①肺泡充血;②出血;③间隙或血管壁中性粒细胞浸润或聚集;④肺泡间隔增厚或透明膜形成。根据每项指标病变轻重进行0~4分半定量分析,累加各项评分的总分作为急性肺损伤病理评分。

1.5 流式细胞术检测TLR4在外周血单核细胞中的表达、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺三阳性TREG细胞在外周血细胞中的比例 各组建模后24 h,分别采取外周血,用新鲜EDTA抗凝全血,800 r/min离心5 min,弃上清;加入5倍体积红细胞裂解液,混匀后裂解5 min,弃上清;加入5 mL PBS充分混匀,1 200 r/min离心5 min,洗涤并弃上清;加入PBS并进行细胞计数,调整细胞含量到 1×10^6 /mL。将该细胞分两管,一管只加入PE anti-rat TLR4进行表面染色;另一管分别加入FITC anti-rat CD4, APC anti-rat CD25抗体,4℃下避光孵育30 min,进行表面染色。然后PBS洗涤2次,加入1 mL 3:1稀释的破膜固定液(Fixatio/Permeabilization, BD),离心洗两次,重悬至100 μ L,然后加入PE anti-rat Foxp3抗体,混匀,4℃下避光孵育1 h,进行核内染色;加入200 μ L Flow Cytometry Staining Buffer,重悬,用流式细胞仪(BD FACS Aria IM, 美国)分析检测细胞。设空白阴性对照。检测TLR4在外周血单核细胞中的表达及CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺三阳性TREG细胞在外周血细胞中的比例。

1.6 统计学方法 应用SPSS 18.0软件进行统计分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组均数间比较采用F检验,多组均数间两两比较采用q检验;计数资料用率表示(%),多组或两组率之间比较 χ^2 检验或Fisher确切概率法。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠细胞因子水平的变化 PreT组在术后12 h、24 h、36 h较CLP组和PosT组的血浆TNF- α 和IL-6水平明显降低($P < 0.01$);与CLP、PosT组相比,PreT组在12 h后明显上调抗炎细胞因子IL-10、TGF- β 表达水平($P < 0.01$),24 h达到高峰,后逐渐降低($P < 0.01$),见表1~4。

2.2 肺组织 TLR4 mRNA 肺组织 TLR4 mRNA(术后 24 h) 结果显示, PreT 组 TLR4 mRNA 水平高于 SC 组, 但明显低于 CLP 组和 PosT 组 ($P < 0.05$), 而 CLP 组和 PosT 组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 5。

表 1 四组大鼠不同时间点血清 TNF- α 浓度变化比较 ($\bar{x} \pm s$ pg/mL)

分组	n	12 h	24 h	36 h
SC	10	45.86 \pm 7.39 ^a	41.68 \pm 5.28 ^a	44.61 \pm 8.16 ^a
CLP	10	218.01 \pm 25.14 ^b	126.26 \pm 18.45 ^b	123.38 \pm 11.52 ^b
PreT	10	142.95 \pm 27.09 ^c	86.67 \pm 22.01 ^c	75.89 \pm 7.24 ^c
PosT	10	196.02 \pm 22.49 ^b	122.58 \pm 17.31 ^b	100.59 \pm 12.77 ^d
F		122.072	53.783	110.110
P		0.000	0.000	0.000

注: 多组间两两比较 符号不同表示 $P < 0.05$

表 2 四组大鼠不同时间点血清 IL-6 浓度变化比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

分组	n	12 h	24 h	36 h
SC	10	79.91 \pm 13.44 ^a	75.93 \pm 11.96 ^a	75.22 \pm 11.28 ^a
CLP	10	380.50 \pm 38.15 ^b	342.06 \pm 27.48 ^b	327.81 \pm 31.85 ^b
PreT	10	262.54 \pm 59.42 ^c	203.72 \pm 48.59 ^c	210.57 \pm 16.58 ^c
PosT	10	375.48 \pm 28.02 ^b	317.77 \pm 29.59 ^b	286.34 \pm 34.56 ^b
F		133.159	143.804	188.819
P		0.000	0.000	0.000

注: 多组间两两比较 符号不同表示 $P < 0.05$

表 3 四组大鼠不同时间点血清 TGF- β 浓度变化比较 ($\bar{x} \pm s$ pg/mL)

分组	n	12 h	24 h	36 h
SC	10	44.93 \pm 4.52 ^a	31.44 \pm 6.38 ^a	35.02 \pm 4.63 ^a
CLP	10	75.76 \pm 6.10 ^b	62.19 \pm 8.73 ^b	70.45 \pm 10.13 ^b
PreT	10	100.89 \pm 6.14 ^c	130.45 \pm 16.95 ^c	107.32 \pm 11.87 ^c
PosT	10	76.05 \pm 9.27 ^b	78.09 \pm 13.53 ^d	74.96 \pm 6.43 ^b
F		115.831	116.801	114.320
P		0.000	0.000	0.000

注: 多组间两两比较 符号不同表示 $P < 0.05$

表 4 四组大鼠不同时间点血清 IL-10 浓度变化比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

分组	n	12 h	24 h	36 h
SC	10	53.13 \pm 6.79 ^a	43.33 \pm 4.64 ^a	41.70 \pm 4.88 ^a
CLP	10	82.34 \pm 7.40 ^b	43.68 \pm 14.44 ^{ab}	76.72 \pm 6.98 ^b
PreT	10	127.41 \pm 15.45 ^c	138.54 \pm 10.99 ^c	103.90 \pm 7.47 ^c
PosT	10	84.02 \pm 9.13 ^b	59.11 \pm 13.89 ^b	93.24 \pm 7.21 ^d
F		88.604	152.395	164.096
P		0.000	0.000	0.000

注: 多组间两两比较 符号不同表示 $P < 0.05$

表 5 术后 24 h 肺组织 TLR4 mRNA 变化比较 ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9$ copy/ng)

分组	n	TLR4 mRNA	F	P
SC	10	2.63 \pm 0.70 ^a	65.550	0.000
CLP	10	7.39 \pm 1.14 ^b		
PreT	10	4.43 \pm 1.07 ^c		
PosT	10	7.05 \pm 0.42 ^b		

注: 多组间两两比较 符号不同表示 $P < 0.05$

2.3 肺组织病理学变化及评分 HE 染色镜检 SC 组术后肺泡结构完整, 无明显水肿; 脓毒症大鼠中, 12 h 时各组肺组织有轻度病理损害, 组间无差异; 24 h 时 PreT 组肺泡结构已有破坏, 肺泡水肿明显, 有少量出血现象, 但程度明显低于 CLP 组和 PosT 组; 36 h 时, 脓毒症大鼠肺损伤进一步加重, 肺泡间隔明显增厚, 可见大量炎性细胞浸润和大量红细胞漏出, 肺泡腔内有透明薄膜形成, 形态学上 PreT 组略轻于另两组。肺病理损伤评分比较与光镜下所见情况相一致, 12 h 时和 24 h 时 PreT 组评分均低于 CLP 组和 PosT 组, 且差异有高度统计学意义 ($P < 0.01$), 而 CLP 组与 PosT 组间无显著差异 ($P > 0.05$); 36 h 时 PreT、CLP 组与 PosT 组评分均具有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 1 和表 6。

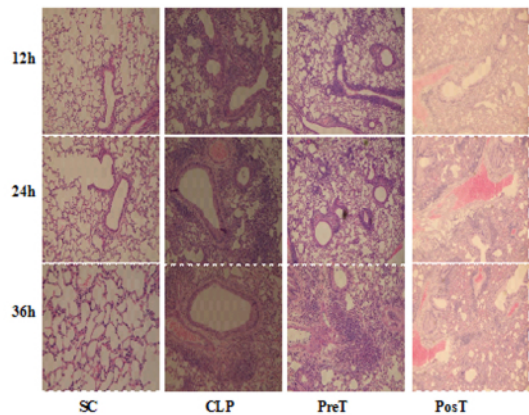


图 1 不同时间点肺组织形态学比较 (HE 染色, $\times 200$)

表 6 肺组织病理损伤评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	12 h	24 h	36 h
SC	10	2.36 \pm 0.35 ^a	2.56 \pm 0.36 ^a	2.32 \pm 0.38 ^a
CLP	10	6.18 \pm 0.64 ^b	8.52 \pm 0.55 ^b	13.00 \pm 1.06 ^b
PreT	10	4.18 \pm 0.50 ^c	4.54 \pm 0.48 ^c	9.28 \pm 0.78 ^c
PosT	10	6.10 \pm 0.74 ^b	8.54 \pm 0.59 ^b	11.62 \pm 0.85 ^d
F		99.233	353.068	346.73
P		0.000	0.000	0.000

注: 多组间两两比较 符号不同表示 $P < 0.05$

2.4 肺组织 TLR4 mRNA 与肺组织病理学评分相关性分析 术后 24 h、36 h 肺组织 TLR4 mRNA 表达水平与肺组织病理学评分直线相关与回归分析结果分别为 ($Y = 3.27 + 1.36X$, $r = 0.732$, $P < 0.01$) 和

($Y = 4.01 + 1.73X$, $r = 0.661$, $P < 0.01$) ,两者存在显著相关性。

2.5 TLR4 在外周血单核细胞中的表达以及 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 三阳性 TREG 细胞在外周血细胞中的比例 如图 2 所示 ,实验建模后 24 h ,与 CLP 组、SC 组相比 ,PreT 组大鼠外周血单核细胞 TLR4 表达明显降低($P < 0.05$)。如图 3 所示 ,实验建模后 24 h ,与 CLP 组、SC 组和 PosT 组相比 ,PreT 组可明显升高 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 三阳性 TREG 细胞在外周血细胞中的比例($P < 0.01$)。

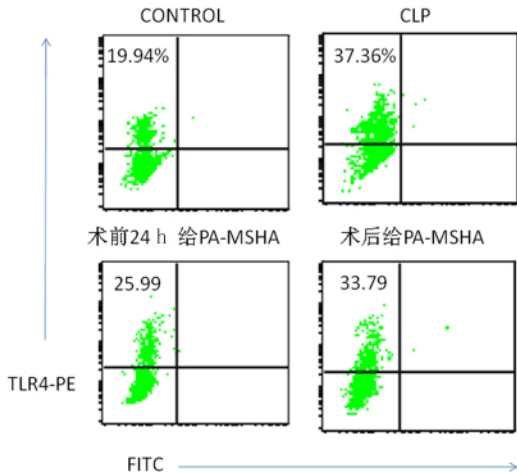
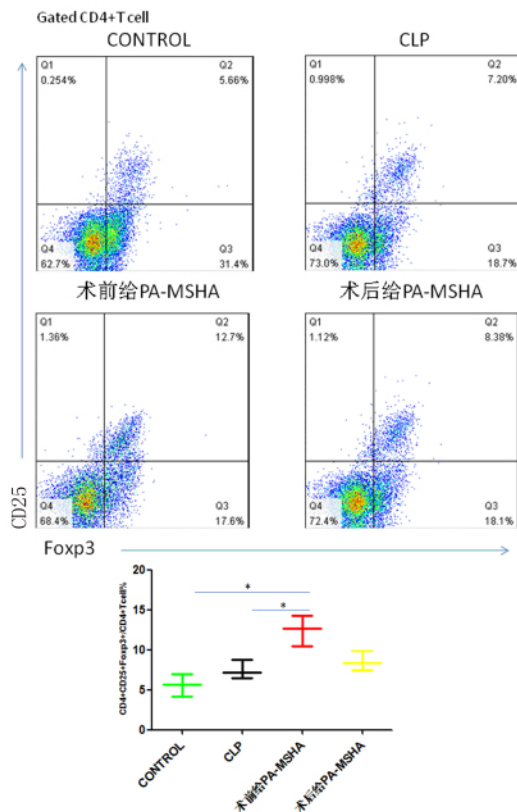


图 2 PA-MSHA 对大鼠外周血单核细胞群体 TLR4 表达的影响



* $P < 0.01$

图 3 建模后 24 h TREG 细胞在外周血细胞中的比例及 PA-MSHA 的干预作用

3 讨论

脓毒症的主要特点是脂多糖(LPS)进入体内后,可与多种免疫细胞如单核细胞、中性粒细胞等表面的TLR4受体结合^[9-12],激活免疫细胞内NF-κB等炎症信号通路,诱导免疫细胞等分泌释放大量的炎症介质,进而导致免疫级联反应,产生大量的炎症介质,其中有促炎细胞因子如TNF-α、IL-6、IL-1β和抗炎细胞因子如IL-10、TGF-β等,导致严重全身炎症反应^[13-15]。

免疫调理是近年来脓毒症基础研究和临床研究的热点之一^[2,16-17],寻求有效途径对炎症因子直接进行调控或选择其上游调控信号进行干预,是此类研究的基础。PA-MSHA是目前已运用于肿瘤的治疗,有研究表明该物质具有加强机体特异性免疫、抑制癌细胞增殖及诱导癌细胞凋亡的作用^[18-20]。近期还有研究发现PA-MSHA可减轻TLR4介导的LPS诱发的脓毒症的炎症反应^[21-22]。

本实验观察到手术前PA-MSHA干预能明显降低肺组织病理学严重程度评分;形成对比的是,术后PA-MSHA干预的动物上述指标没有得到明显改善。实验检测不同时间点血细胞因子、肺组织TLR4 mRNA表达、血单核细胞TLR4阳性率等参数,并试图从它们的变化中探索PA-MSHA对脓毒症所致肺损伤保护作用的可能机制。

结果表明,在细胞因子水平上,术前给予PA-MSHA可明显降低脓毒症大鼠血中促炎因子(TNF-α、IL-6)、提高血浆中抗炎因子(IL-10、TGF-β)水平,这与多项研究结果^[21-22]一致。术前给予PA-MSHA能降低大鼠血单核细胞TLR4阳性率,上调了调节性T细胞(TREG细胞)在外周血细胞中的比例,同时,肺组织TLR4 mRNA表达水平与肺组织病理学评分具有显著的相关性,提示PA-MSHA可能一方面通过参与调节部分免疫细胞释放IL-10、TGF-β等抗炎因子,另一方面减少TLR4受体在免疫细胞细胞膜上表达量,抑制TLR4-NF-κB-促炎症因子通路^[6],减少促炎因子TNF-α、IL-6等释放,从而有效抑制炎症级联放大反应,减轻了大鼠肺组织损伤。

实验还发现PA-MSHA干预时机与其效应有关,直接影响到是否能有效抑制炎症反应,具体地说,只有对动物模型预先给予PA-MSHA处理才能更好地发挥其对肺的保护作用。本文分析认为:PA-MSHA预先给药可先抑制炎症细胞的活性,从而抑制CLP诱导的剧烈炎症反应;其次,PA-MSHA在体内发挥抑制炎症反应需要一定的时间,在炎症产生之后给药虽能一定程度地减少促炎因子(TNF-α、

IL-6)、提高血浆中抗炎因子(IL-10、TGF-β)水平,但肺组织TLR4 mRNA水平无明显下降,未能明显改善肺组织病理学评分,不能及时发挥相应的作用;另外,PA-MSHA也可能通过影响机体其他细胞相关通路间接影响免疫细胞功能,这还需要进一步探究。

综上所述,本研究证实了PA-MSHA干预能减轻脓毒症大鼠肺组织的炎症反应,其可能机制是通过干预TLR4介导的炎症反应信号通路减轻炎症级联放大效应。

【参考文献】

[1] Dellinger Levy Rhodes *et al.* Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012 [J]. Intensive care medicine 2013 39(2): 165 - 228.

[2] Wang Ning, Liu Xin, Zheng Xinchuan *et al.* Ulinastatin is a novel candidate drug for sepsis and secondary acute lung injury: evidence from an optimized CLP rat model [J]. International immunopharmacology 2013 17(3): 799 - 807.

[3] Giangola, Matthew, Yang Wenglang *et al.* Growth arrest-specific protein 6 attenuates neutrophil migration and acute lung injury in sepsis [J]. Shock (Augusta, Ga.) 2013 40(6): 485 - 491.

[4] Liu ZB, Hou YF, Zhu J *et al.* Inhibition of EGFR pathway signaling and the metastatic potential of breast cancer cells by PA-MSHA mediated by type I fimbriae via a mannose-dependent manner [J]. Oncogene 2010 29(20): 2996 - 3009.

[5] 郭忠义,董兆如,智绪亭,等.甘露糖敏感型绿脓杆菌制剂对肝癌细胞周期的作用机制研究[J].中华肝胆外科杂志,2013,19(06): 452 - 455.

[6] Hou J, Liu Y, Liu Y *et al.* The MSHA strain of Pseudomonas aeruginosa activated TLR pathway and enhanced HIV-1 DNA vaccine immunoreactivity [J]. PLoS One 2012 7(10): e47724.

[7] Zhang M, Luo F, Zhang Y *et al.* Pseudomonas aeruginosa mannose-sensitive hemagglutinin promotes T-cell response via toll-like receptor 4-mediated dendritic cells to slow tumor progression in mice [J]. J Pharmacol Exp Ther 2014 349(2): 279 - 287.

[8] Mikawa K, Nishina K, Tokao Y *et al.* ONO-1714, a nitric oxide synthase inhibitor, attenuates endotoxin-induced acute lung injury in rabbits [J]. Anesth Analg 2003 97: 1751 - 1755.

[9] Villacorta L, Chang L, Salvatore S *et al.* Electrophilic nitro-fatty

acids inhibit vascular inflammation by disrupting LPS-dependent TLR4 signalling in lipid rafts [J]. Cardiovascular research 2013, 98(1): 116 - 24.

[10] Bohrer H, Qiu F, Zimmermann T *et al.* Role of NFkappaB in the mortality of sepsis [J]. J Clin Invest 1997 100(5): 972 - 985.

[11] 王伯瑶, 黄宁, 吴琦. 炎症反应 Toll 信号传导通路 [J]. 中国病理生理杂志 2000, 16(6): 567 - 571.

[12] Weighardt H, Holzmann B. Role of Toll-like receptor responses for sepsis pathogenesis [J]. Immunobiology 2007 212(9-10): 715 - 722.

[13] Grachev SV, Pak SG, Malov VA. Current aspects of sepsis pathogenesis [J]. Terapevticheskiĭ arkhiv 2003 75(11): 84 - 89.

[14] Larsson A, Tønnesen EK. Sepsis-pathogenesis [J]. Ugeskrift for laeger 2000 162(20): 2855 - 2858.

[15] 姚咏明. 重视对脓毒症患者免疫状态的监测与评估 [J]. 中华急诊医学杂志 2007 16(8): 795 - 796.

[16] Kumar V, Sharma A. Innate immunity in sepsis pathogenesis and its modulation: new immunomodulatory targets revealed [J]. Journal of chemotherapy 2008 20(6): 672 - 683.

[17] Larosa SP, Opal SM. Immune aspects of sepsis and hope for new therapeutics [J]. Current infectious disease reports 2012 14(5): 474 - 483.

[18] Liu ZB, Hou YF, Di GH *et al.* PA-MSHA inhibits proliferation and induces apoptosis through the up-regulation and activation of caspases in the human breast cancer cell lines [J]. Journal of cellular biochemistry 2009 108(1): 195 - 206.

[19] Zhu YP, Bian XJ, Ye DW *et al.* Pseudomonas aeruginosa-mannose-sensitive hemagglutinin inhibits proliferation and induces apoptosis in a caspase-dependent manner in human bladder cancer cell lines [J]. Oncol Lett 2013 5(4): 1357 - 1362.

[20] Cao Z, Shi L, Li Y *et al.* Pseudomonas aeruginosa: mannose sensitive hemagglutinin inhibits the growth of human hepatocarcinoma cells via mannose-mediated apoptosis [J]. Dig Dis Sci 2009 54(10): 2118 - 2127.

[21] Zhu H, Wang S, Shen L *et al.* Effects of Pseudomonas aeruginosa mannose-sensitive hemagglutinin (PA-MSHA) pretreatment on septic rats [J]. Int Immunopharmacol 2013 17(3): 836 - 842.

[22] Liu XF, Wang L, Qu Y *et al.* Effect of the PA-MSHA vaccine on septic serum-induced inflammatory response [J]. Mol Med Rep 2013 7(4): 1350 - 1354.