

· 论著 ·

机械牵张对人肺动脉内皮细胞中细胞因子及细胞间黏附分子-1 表达的影响

傅威 毛璞 张容 庞晓清 莫红缨 何为群 刘晓青 黎毅敏

【摘要】 目的 观察机械牵张力对人肺动脉内皮细胞(HPAEC)中细胞因子及黏附分子表达的影响,为探讨呼吸机相关性肺损伤(VILI)提供理论依据。方法 采用机械牵张装置 Flexcell FX-5000T 对 HPAEC 细胞以 0.5 Hz 频率施加 10%或 20%牵张应力牵张 3、6、12 和 24 h。应用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)、酶联免疫吸附试验(ELISA)以及蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测机械牵张前后白细胞介素(IL-6、IL-8)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)等细胞因子及细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的基因和蛋白表达。结果 随牵张应力的增加,IL-8、MCP-1、ICAM-1 的 mRNA 和蛋白表达随牵张时间的延长逐渐增加。与对照组(作为 1)相比,20%牵张组牵张 24 h HPAEC 细胞的 IL-8 mRNA 表达上调至 1.58 ± 0.10 , MCP-1 mRNA 表达上调至 2.85 ± 0.52 , ICAM-1 mRNA 表达上调至 1.90 ± 0.14 (均 $P < 0.05$)。与对照组相比,20%牵张组牵张 24 h HPAEC 细胞的 IL-8、MCP-1 蛋白表达(均 ng/L)显著增加(IL-8: 3401.08 ± 439.60 比 1422.60 ± 66.98 , MCP-1: 1117.64 ± 237.54 比 307.88 ± 80.84 , 均 $P < 0.05$); ICAM-1 蛋白表达上调至 2.15 ± 0.40 ($P < 0.05$); 而 IL-6 mRNA 和蛋白水平较对照组无明显变化。结论 机械牵张可上调 HPAEC 细胞 IL-8、MCP-1 和 ICAM-1 的表达,这可能是机械通气致肺损伤的发病机制之一。

【关键词】 机械牵张; 人肺动脉内皮细胞; 炎症因子; 细胞间黏附分子-1

Effects of cyclic stretch on expression of cytokines and intercellular adhesion molecule-1 in human pulmonary artery endothelial cell FU Wei*, MAO Pu, ZHANG Rong, PANG Xiao-qing, MO Hong-ying, HE Wei-qun, LIU Xiao-qing, LI Yi-min. * The First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical Collage, Guangzhou Institute of Respiratory Disease, Guangzhou 510120, Guangdong, China
Corresponding author: LI Yi-min, Email: lymin98@gmail.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of cyclic stretch on expression of cytokines and adhesion molecules in human pulmonary artery endothelial cells (HPAECs), herein to provide a theoretical basis to ventilator-induced lung injury (VILI). **Methods** HPAECs were subjected to cyclic stretch by the Flexcell FX-5000T system at 0.5 Hz of 10% or 20% elongation for 3, 6, 12, 24 hours respectively. The mRNA and protein expression of interleukin (IL-6, IL-8), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) was determined by fluorescent quantitation reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR), enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) or Western blotting. **Results** Increasing the stretch force, the mRNA and protein expression of IL-8, MCP-1, ICAM-1 were up regulated with increasing stretch time. Compared with the control (set 1), after 20% cyclic stretch for 24 hours, IL-8 mRNA expression was up regulated to 1.58 ± 0.10 , MCP-1 mRNA expression was up regulated to 2.85 ± 0.52 , and ICAM-1 mRNA expression was up regulated to 1.90 ± 0.14 (all $P < 0.05$). Compared with control group, after 20% cyclic stretch for 24 hours, the protein expression of IL-8 and MCP-1 (both ng/L) in HPAEC was significantly increased (IL-8: 3401.08 ± 439.60 vs. 1422.60 ± 66.98 , MCP-1: 1117.64 ± 237.54 vs. 307.88 ± 80.84 , both $P < 0.05$), ICAM-1 protein expression was up regulated to 2.15 ± 0.40 ($P < 0.05$), while the expression of IL-6 mRNA and protein had no statistic difference compared with control group. **Conclusion** Cyclic stretch enhanced the expression of IL-8, MCP-1 and ICAM-1 in an intensity-dependent fashion, so it may be involved in the pathogenesis of lung injury induced by mechanical ventilation.

【Key words】 Cyclic stretch; Human pulmonary artery endothelial cell; Inflammatory cytokine; Intercellular adhesion molecule-1

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.08.009

基金项目:国家自然科学基金(81000005,81270125);广东省科技计划项目(2010B031600148)

作者单位:510120 广东,广州医学院第一附属医院,广州呼吸疾病研究所,呼吸疾病国家重点实验室(傅威、张容、庞晓清、莫红缨、何为群、刘晓青、黎毅敏),医院感染管理科(毛璞)

通信作者:黎毅敏,Email: lymin98@gmail.com

急性呼吸窘迫综合征(ARDS)在重症监护病房(ICU)中发病率及病死率均较高,机械通气是此类患者的重要支持手段之一^[1-2];但机械通气也可能导致或加重肺损伤,导致以肺血管内皮和肺泡上皮通透性增高以及肺部炎症为主要特征的呼吸机相关性肺损伤(VILI)的发生^[3-6],进一步研究 VILI 的发生

机制对防治 VILI 有着重要的临床意义。本研究旨在通过研究机械牵张对人肺动脉内皮细胞(HPAEC)炎症因子白细胞介素(IL-6、IL-8)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)及细胞间黏附分子-1(ICAM-1)表达的影响,探讨 VILI 的机制,为进一步防治 VILI 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料:内皮细胞培养基(ECM, Sciencell, 美国),胰酶(GIBCO, 美国),胰酶抑制剂(Invitrogen, 美国),TRIzol RNA 提取液(Invitrogen, 美国),逆转录试剂盒和荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)试剂盒(Takara, 日本),IL-6、IL-8、MCP-1 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(KOMA, 韩国),ICAM-1 抗体(BD, 美国),辣根过氧化物酶标记 IgG(Jackson, 美国),Flexcell® Tension Plus FX-5000T 系统(Flexcell, 美国)。

1.2 HPAEC 细胞培养:HPAEC (美国 Sciencell 公司)置于含 1%内皮细胞生长因子(EGCS)和 5%胎牛血清(FBS)的 ECM 培养基中,37 °C、5%CO₂ 下培养,2 d 换液 1 次,第 6~8 代细胞用于实验。

1.3 细胞牵张:细胞柔性基底加载装置置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱,加载程序由 FX-5000T 计算机软件自动控制。HPAEC 细胞以 5 × 10⁵ 密度接种在 I 型胶原包被的 6 孔 Bioflex 弹性膜细胞牵张板上,36 h 后开始牵张。机械牵张细胞 12 h 前将原培养基更换为无血清 ECM 培养基。实验加载频率为 0.5 Hz,加载应力为 10%或 20%,加载时间为 3、6、12 和 24 h;非牵张对照组亦接种于牵张 6 孔板中并与牵张细胞置于同一个细胞培养箱中。每个实验至少重复 3 次。

1.4 qRT-PCR 检测 IL-6、IL-8、MCP-1 及 ICAM-1 的 mRNA 表达:采用 TRIzol 一步法提取各组细胞总 RNA,以 20 μl 焦碳酸二乙酯(DEPC)水溶解总 RNA,经紫外分光光度法测定纯度和浓度后,按逆转录试剂盒说明书的要求和步骤进行逆转录 cDNA。应用 Primer Premier 5.0 软件进行 IL-6、IL-8、MCP-1 和 ICAM-1 引物设计(表 1),并由上海英骏生物技术有限公司合成。qPCR 反应体系为 20 μl[SYBG 引物探针 10 μl,上游引物 0.4 μl,下游引物 0.4 μl,ROX 校正染料 0.4 μl,cDNA 2 μl,蒸馏水(dH₂O) 6.8 μl],每个样本设置 3 个复孔。qPCR 反应条件:95 °C 预变性 30 s;PCR 95 °C 反应 5 s,60 °C 退火 30 s,40 个循环。根据 2^{-ΔΔCt} 方法计算目的基因的相对表达水平。以非牵张对照组作为相应对照,各组实验至少重复 3 次。

表 1 聚合酶链反应引物设计序列

基因名称	引物序列	产物长度(bp)
GAPDH	上游:5'-TCCTCCACCTTTGAGGCT-3'	177
	下游:5'-TCTTCCTCTTGTGCTCTTGC-3'	
MCP-1	上游:5'-CAGCCAGATGCAATCAATGC-3'	178
	下游:5'-GTGGTCCATGGAATCCTGAA-3'	
IL-6	上游:5'-GCCACTCACCTCTTTCAGAACC-3'	208
	下游:5'-TTTACCAGGCAAGTCTCCTC-3'	
IL-8	上游:5'-TACTCCAAACCTTTCCACCC-3'	157
	下游:5'-AACTTCTCCAGAACCCTCTG-3'	
ICAM-1	上游:5'-TTGGAAGCCTCATCCG-3'	198
	下游:5'-CAATGTTGCGAGACCC-3'	

注:GAPDH:三磷酸甘油醛脱氢酶,MCP-1:单核细胞趋化蛋白-1,IL-6/-8:白细胞介素-6/-8,ICAM-1:细胞间黏附分子-1

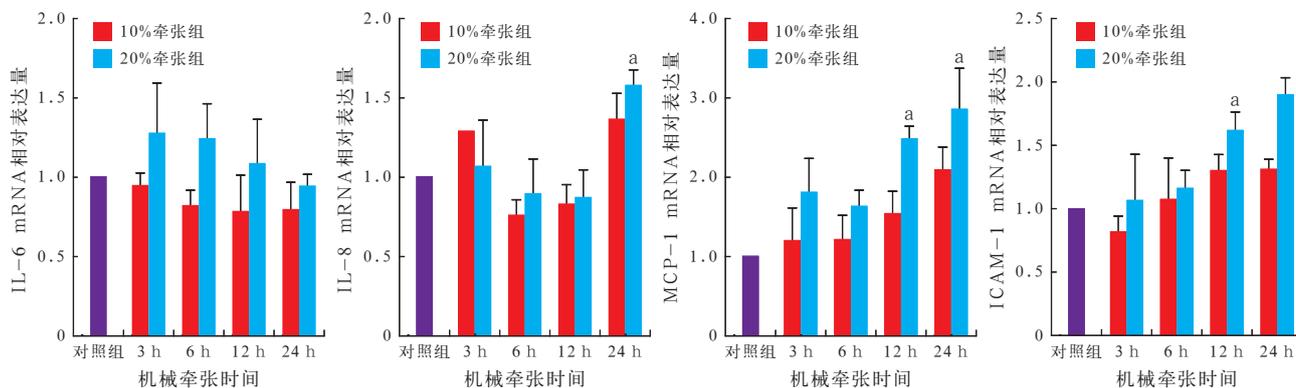
1.5 ELISA 检测 IL-6、IL-8、MCP-1 的蛋白表达:不同时间点收集各组细胞上清液于 -80 °C 冻存,用双抗体夹心 ELISA 试剂盒检测上清液中 IL-6、IL-8 和 MCP-1 等细胞因子浓度。按试剂盒说明书步骤将标本或不同浓度标准品(100 μl/孔)加入相应单克隆抗体(单抗)包被酶标板,室温孵育 2 h,洗板 4 次,加入生物素化抗体工作液(100 μl/孔),室温孵育 2 h,洗板 4 次,加入辣根过氧化物酶标记的亲和素(100 μl/孔),室温孵育 30 min,洗板 4 次,加入显色剂(100 μl/孔),室温避光孵育 15 min,加入终止液(100 μl/孔),混匀后即刻用酶标仪测量波长 450 nm 处吸光度(A)值。

1.6 蛋白质免疫印迹试验(Western blotting)检测 ICAM-1 的蛋白表达:使用 RIPA 裂解液裂解细胞,提取各组细胞总蛋白后,进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),电转移蛋白到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上。5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入小鼠抗人 ICAM-1 单抗(1:1000)4 °C 孵育过夜。用磷酸盐吐温缓冲液(PBST)洗膜 3 次,每次 10 min。加入辣根过氧化物酶标记的相应二抗(1:5000),室温轻摇 1 h,再用 PBST 洗膜 3 次,每次 10 min,增强化学发光法(ECL)显影并压片。应用 Image J 软件分析条带灰度值,以 β-肌动蛋白(β-actin)作为内对照校正并作相对量分析,数值以二者灰度值比值表示。未进行牵张的对照组细胞作为相应对照,各组实验至少重复 3 次。

1.7 统计学处理:采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间两两比较采用单因素方差分析,P < 0.05 为差异有统计学意义。

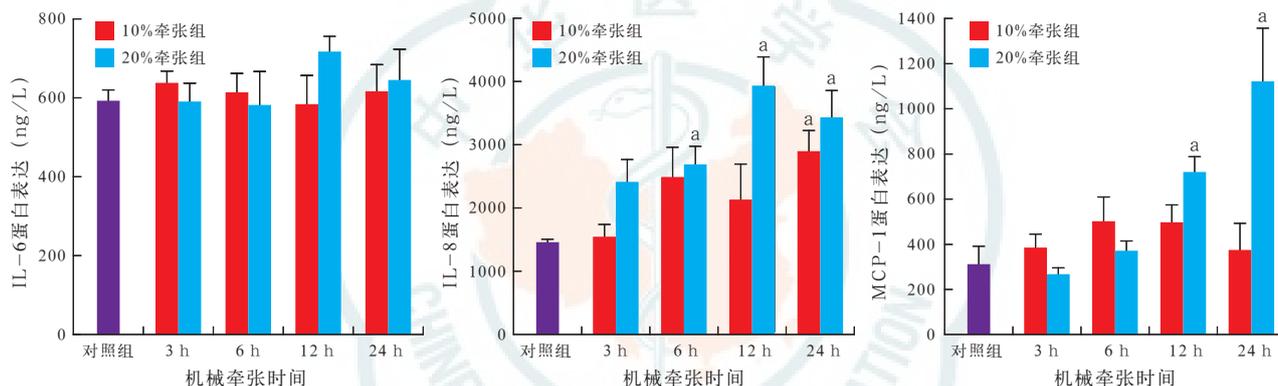
2 结果

2.1 不同牵张强度对 HPAEC 中 IL-6、IL-8、MCP-1



注:HPAEC:人肺动脉内皮细胞,IL-6/-8:白细胞介素-6/-8,MCP-1:单核细胞趋化蛋白-1, ICAM-1:细胞间黏附分子-1;与对照组比较,^a*P*<0.05

图 1 不同机械牵张强度下 HPAEC 细胞 IL-6、IL-8、MCP-1 及 ICAM-1 mRNA 表达的变化



注:HPAEC:人肺动脉内皮细胞,IL-6/-8:白细胞介素-6/-8,MCP-1:单核细胞趋化蛋白-1;与对照组比较,^a*P*<0.05

图 2 不同机械牵张强度下 HPAEC 细胞 IL-6、IL-8 及 MCP-1 蛋白表达的变化

和 ICAM-1 mRNA 表达的影响(表 2;图 1):随着机械牵张应力的增大,HPAEC 细胞 IL-8、MCP-1 和 ICAM-1 的 mRNA 表达随牵张时间延长有所增加,与对照组比较,20%牵张组 24 h 时差异有统计学意义(均 *P*<0.05);而 IL-6 mRNA 表达无明显变化。

2.2 不同牵张强度对 HPAEC 中 IL-6、IL-8 和 MCP-1 蛋白表达的影响(表 2;图 2):随着机械牵张应力的增大,HPAEC 细胞分泌的 IL-8 和 MCP-1 蛋

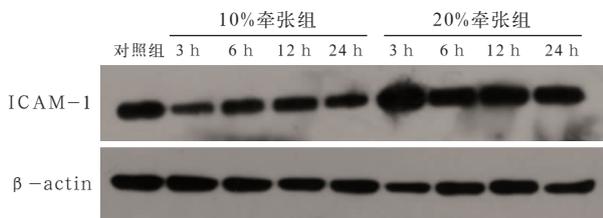
白表达随牵张时间延长有所增加,与对照组比较,20%牵张组 24 h 时差异有统计学意义(均 *P*<0.05);而 IL-6 蛋白表达无明显变化。

2.3 不同牵张强度对 HPAEC 中 ICAM-1 蛋白表达的影响(表 2;图 3):随着机械牵张应力的增大,HPAEC 细胞 ICAM-1 蛋白表达随牵张时间延长有所增加,20%牵张组各时间点均明显高于对照组(均 *P*<0.05)。

表 2 不同牵张应力对人肺动脉内皮细胞牵张不同时间点细胞因子及 ICAM-1 的 mRNA 和蛋白表达影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	时间	mRNA 表达				蛋白表达			
		IL-6	IL-8	MCP-1	ICAM-1	IL-6(ng/L)	IL-8(ng/L)	MCP-1(ng/L)	ICAM-1
对照组		1	1	1	1	590.04 ± 29.28	1422.60 ± 66.98	307.88 ± 80.84	1
10%牵张组	3 h	0.95 ± 0.08	1.29 ± 0.28	1.20 ± 0.41	0.82 ± 0.12	635.55 ± 31.61	1512.11 ± 211.99	381.34 ± 61.73	0.70 ± 0.42
	6 h	0.82 ± 0.10	0.76 ± 0.10	1.21 ± 0.30	1.08 ± 0.32	611.73 ± 49.32	2457.35 ± 486.50	497.07 ± 110.03	0.96 ± 0.46
	12 h	0.78 ± 0.23	0.83 ± 0.12	1.54 ± 0.28	1.30 ± 0.13	581.68 ± 74.22	2096.72 ± 581.43	492.91 ± 79.27	0.76 ± 0.25
	24 h	0.79 ± 0.17	1.36 ± 0.16	2.09 ± 0.28 ^a	1.31 ± 0.08	614.12 ± 68.82	2864.16 ± 347.87 ^a	370.47 ± 119.65	0.68 ± 0.27
20%牵张组	3 h	1.28 ± 0.31	1.07 ± 0.29	1.81 ± 0.42	1.07 ± 0.36	588.26 ± 47.83	2376.31 ± 372.25	263.02 ± 30.05	1.68 ± 0.13 ^a
	6 h	1.24 ± 0.22	0.89 ± 0.22	1.63 ± 0.20	1.16 ± 0.14	579.67 ± 85.86	2654.18 ± 307.60 ^a	367.43 ± 45.31	1.61 ± 0.03 ^a
	12 h	1.08 ± 0.28	0.87 ± 0.17	2.48 ± 0.16 ^a	1.62 ± 0.14 ^a	715.27 ± 39.74	3902.46 ± 470.56 ^a	716.08 ± 69.27 ^a	1.78 ± 0.21 ^a
	24 h	0.94 ± 0.07	1.58 ± 0.10 ^a	2.85 ± 0.52 ^a	1.90 ± 0.14 ^a	642.78 ± 79.34	3401.08 ± 439.60 ^a	1117.64 ± 237.54 ^a	2.15 ± 0.40 ^a

注:ICAM-1:细胞间黏附分子-1,IL-6/-8:白细胞介素-6/-8,MCP-1:单核细胞趋化蛋白-1;与对照组比较,^a*P*<0.05



ICAM-1: 细胞间黏附分子-1, β -actin: β -肌动蛋白
图 3 蛋白质免疫印迹试验检测不同牵张应力下人肺动脉内皮细胞牵张不同时间点 ICAM-1 的蛋白表达

3 讨论

ARDS 是由多种病因引起的肺水肿和炎症反应所致的急性呼吸衰竭, 机械通气是此类呼吸危重症的重要支持手段之一^[1-2]。然而, 机械通气也可以诱发或加重肺损伤, 导致 VILI 的发生而严重影响 ARDS 患者的预后。虽然目前应用的小潮气量通气肺保护性通气策略可以减轻 VILI 的不良影响^[7-8], 但仍然不可避免 VILI 的发生。

VILI 的主要特征是炎性细胞及化学趋化因子浸润、肺泡-毛细血管通透性增高, 最终对肺通气换气造成损伤^[3-6]。多项研究表明过度牵拉肺组织会使异常的机械力作用于细胞, 激活细胞内信号转导通路, 进而导致一系列炎症介质如 IL-8、MCP-1、ICAM-1 等升高, 加重炎症反应^[9-13]。因此, 深入研究机械力学刺激导致或加重肺损伤的炎症反应机制, 阻断机械力作用所导致的细胞内信号转导途径的激活, 减少炎症介质的产生, 对于预防 VILI 的发生发展有着重要的作用。既往的研究表明, 除肺泡上皮细胞外, 肺血管内皮细胞也是 VILI 发病机制中重要的靶细胞之一^[14-15], 目前的研究大部分局限于对肺泡上皮的探讨^[10, 16-17], 而对肺血管内皮的研究则相对缺乏, 故本研究主要针对机械牵张对肺血管内皮的作用展开研究。

对 VILI 的研究多采用动物或离体肺脏模型, 由于肺结构形态和力学特性的复杂性, 很难在器官水平解释炎症介质的来源, 所以对其深入研究具有一定的局限性。而体外细胞牵张模型则可排除非研究因素的影响, 细胞力学的发展也使得 VILI 机制可以从细胞水平得到进一步的阐明。为进一步了解 VILI 的发病机制, 本研究应用 Flexcell 加载装置, 模拟在体机械通气所致的肺部血管内皮细胞受到的牵张应力。文献显示, 8%~12%机械牵张强度牵张肺泡上皮细胞会使得细胞表面积增加 25%, 相当于生理性机械通气; 而 17%~22%机械牵张强度会使得细胞

表面积增加 37%~50%, 相当于病理性大潮气量机械通气并可导致细胞的死亡^[18-20]。基于上述研究, 本实验选择 10%牵张强度模拟肺保护性机械通气, 而 20%牵张强度则模拟大潮气量机械通气。

本研究结果显示, 机械牵张应力可诱导肺动脉内皮细胞 IL-8、MCP-1、ICAM-1 的 mRNA 及蛋白表达, 且表达随着机械牵张应力的增大而上调, 这与以往的研究结果^[9, 12]相类似, 提示机械牵张可以诱导多种细胞因子参与炎症反应, 因而我们推测, IL-8、MCP-1 及 ICAM-1 可能在 VILI 的发病机制中起着重要作用。但本研究发现机械牵张并未引起 IL-6 表达的增加, 这可能是由于不同的细胞类型对于机械牵张的反应有所不同。

综上所述, 本结果显示机械牵张肺动脉内皮细胞可以促进 IL-8、MCP-1、ICAM-1 的 mRNA 表达, 进而引起蛋白表达增加, 这可能是机械通气致肺损伤的发病机制之一。但其中涉及哪些转录因子和信号通路, 有待于进一步的研究证实。深入研究机械牵张调控细胞因子转录和表达的机制, 将有助于丰富和完善 VILI 发病机制的理论, 为探索新的防治方法提供思路。

参考文献

- [1] Ware LB, Matthay MA. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2000, 342: 1334-1349.
- [2] Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest*, 2012, 122: 2731-2740.
- [3] Dreyfuss D, Saumon G. Ventilator-induced lung injury: lessons from experimental studies. *Am J Respir Crit Care Med*, 1998, 157: 294-323.
- [4] Pinhu L, Whitehead T, Evans T, et al. Ventilator-associated lung injury. *Lancet*, 2003, 361: 332-340.
- [5] Wolthuis EK, Vlaar AP, Choi G, et al. Mechanical ventilation using non-injurious ventilation settings causes lung injury in the absence of pre-existing lung injury in healthy mice. *Crit Care*, 2009, 13: R1.
- [6] Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced lung injury: from the bench to the bedside. *Intensive Care Med*, 2006, 32: 24-33.
- [7] The Acute Respiratory Distress Syndrome Network. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*, 2000, 342: 1301-1308.
- [8] 孙甲君, 杨茂梧, 王长辉, 等. 低牵张通气策略救治急性呼吸窘迫综合征的临床研究. *中国危重病急救医学*, 2009, 21: 609-612.
- [9] Okada M, Matsumori A, Ono K, et al. Cyclic stretch upregulates production of interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1 in human endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, 18: 894-901.
- [10] Vlahakis NE, Schroeder MA, Limper AH, et al. Stretch induces cytokine release by alveolar epithelial cells in vitro. *Am J Physiol*, 1999, 277: L167-173.
- [11] Li LF, Ouyang B, Choukroun G, et al. Stretch-induced IL-8 depends on c-Jun NH2-terminal and nuclear factor- κ B-inducing kinases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003, 285:

- L464-475.
- [12] Iwaki M, Ito S, Morioka M, et al. Mechanical stretch enhances IL-8 production in pulmonary microvascular endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 389:531-536.
- [13] Ranieri VM, Suter PM, Tortorella C, et al. Effect of mechanical ventilation on inflammatory mediators in patients with acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*, 1999, 282:54-61.
- [14] West JB. Thoughts on the pulmonary blood-gas barrier. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2003, 285:L501-513.
- [15] Vlahakis NE, Hubmayr RD. Cellular stress failure in ventilator-injured lungs. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005, 171:1328-1342.
- [16] Ning QM, Wang XR. Response of alveolar type II epithelial cells to mechanical stretch and lipopolysaccharide. *Respiration*, 2007, 74:579-585.
- [17] Liu XY, Chen XF, Ren YH, et al. Alveolar type II cells escape stress failure caused by tonic stretch through transient focal adhesion disassembly. *Int J Biol Sci*, 2011, 7:588-599.
- [18] Tschumperlin DJ, Margulies SS. Equibiaxial deformation-induced injury of alveolar epithelial cells in vitro. *Am J Physiol*, 1998, 275:L1173-1183.
- [19] Tschumperlin DJ, Margulies SS. Alveolar epithelial surface area-volume relationship in isolated rat lungs. *J Appl Physiol*, 1999, 86:2026-2033.
- [20] Tschumperlin DJ, Oswari J, Margulies AS. Deformation-induced injury of alveolar epithelial cells. Effect of frequency, duration, and amplitude. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 162:357-362.

(收稿日期:2013-02-25)

(本文编辑:李银平)

·科研新闻速递·

谷氨酰胺和抗氧化剂并不能使重症患者获益:一项多中心临床试验

重症患者往往有不同程度的氧化应激,理论上补充谷氨酰胺和抗氧化剂可能会使患者获益,但目前的研究结果尚不一致,为此,加拿大研究人员进行了一项双盲 2×2 析因试验。研究人员将来自澳大利亚、美国及欧洲的 40 个重症监护病房(ICU)中的 1223 例存在多器官衰竭并需要机械通气的重症患者随机分为谷氨酰胺或抗氧化剂治疗组和安慰剂对照组。患者在入住 ICU 24 h 内就通过肠外及肠内途径补充谷氨酰胺或抗氧化剂。主要的评价指标是患者 28 d 病死率。结果发现:与对照组相比,接受谷氨酰胺或抗氧化剂治疗的患者 28 d 病死率有升高趋势(32.4%比 27.2%,优势比(OR)为 1.28,95%可信区间(95%CI)为 1.00~0.64, $P=0.05$);院内病死率及 6 个月内病死率也明显升高;谷氨酰胺对器官衰竭或感染相关性并发症的发生率没有影响,抗氧化剂对患者 28 d 病死率没有影响(30.8%比 28.8%,OR 为 1.09,95%CI 为 0.86~1.40, $P=0.48$)。各组严重不良事件发生率并无显著差异($P=0.83$)。因此,研究人员认为,早期应用谷氨酰胺或抗氧化剂并不能改善重症患者的临床预后;而且谷氨酰胺还可能增加多器官衰竭患者的死亡风险。

罗红敏,胡森,编译自《N Engl J Med》,2013,368(16):1489-1497

普遍去定植策略能更有效地防止重症监护病房内的感染

在重症监护病房(ICU)采取有针对性的目标细菌去定植策略(筛选、分离耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)携带者并对其去定植)和普遍性的细菌去定植策略都是预防医疗相关性感染的候选策略,这对于 MRSA 引起的感染尤其重要。为此,美国研究学者进行了一项群组随机试验,旨在比较不同的感染控制策略的优劣。研究人员将入选的医院随机分为 3 个不同的策略组:MRSA 筛查和分离策略组、有针对性的细菌去定植策略组、普遍的细菌去定植策略组。结果:共有 43 家医院、74 个 ICU、74 256 例患者入选。与基线水平比较,干预期间临床分离出 MRSA 的风险比在 MRSA 筛查和分离策略组为 0.92,有针对性的细菌去定植策略组为 0.75,普遍的细菌去定植策略组为 0.63, P 值均为 0.01。此外,与基线水平比较,在干预期间任何病原体引起的血流感染在 3 组中的危险比分别为 0.99、0.78 和 0.56(均 $P<0.001$);与其他两个策略组相比,普遍的细菌去定植策略组能显著降低血流感染的发生率。研究人员据此得出结论,在 ICU 的常规诊疗过程中,普遍的细菌去定植措施能更有效地减少临床 MRSA 的检测率和任何病原体引起的血流感染率。

罗红敏,胡森,编译自《N Engl J Med》,2013,368(24):2255-2265

年轻脑卒中存活患者远期死亡风险高

有关年轻卒中(年龄 18~50 岁)存活患者远期死亡情况的数据不多,而且往往仅限于缺血性脑卒中;此外,与首次卒中无关的死亡情况往往未被统计。为此,荷兰研究人员进行了一项前瞻性队列研究,旨在了解年轻卒中存活患者远期的死亡情况及其死因。研究对象为 1980 年 1 月 1 日至 2010 年 11 月 1 日期间收住于荷兰内梅亨大学医学中心的短暂性脑缺血发作(TIA, 262 例)、缺血性脑卒中(606 例)或颅内出血(91 例)患者,年龄 18~50 岁;中位随访期为 11.1 年;主要评价指标为发病 30 d 后存活患者的 20 年累计死亡情况。结果共有 193 例患者(20.1%)在随访期间死亡,其中 TIA 患者 20 年累计死亡风险为 24.9%(95%可信区间(95%CI)为 16.0%~33.7%),缺血性脑卒中患者为 26.8%(95%CI 为 21.9%~31.8%),颅内出血患者为 13.7%(95%CI 为 3.6%~23.9%)。与普通人群相比,脑卒中患者死亡风险有所升高,TIA 患者标准化死亡比为 2.6(95%CI 为 1.8~3.7),缺血性脑卒中患者为 3.9(95%CI 为 3.2~4.7),颅内出血患者为 3.9(95%CI 为 1.9~7.2)。在缺血性脑卒中患者中,男性患者 20 年累计病死率要高于女性患者(男性 33.7%,95%CI 为 26.1%~41.3%;女性 19.8%,95%CI 为 13.8%~25.9%)。因此,研究人员得出结论,与普通人群相比,年轻脑卒中患者 20 年死亡风险有所升高,这应该引起临床医生的重视。

罗红敏,胡森,编译自《JAMA》,2013,309(11):1136-1144