

# 肝素抑制脂多糖诱导单核细胞与内皮细胞的黏附作用

陈恬璐<sup>1,2</sup> 马晓春<sup>1</sup> 李旭<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 中国医科大学附属第一医院重症医学科, 沈阳 110001; <sup>2</sup> 西安市第四医院重症医学科 710004  
通信作者: 李旭, Email: 13604059359@189.cn

**【摘要】** 目的 探讨肝素对脂多糖(LPS)刺激人脐静脉内皮细胞(HUVEC)分泌单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)水平以及单核细胞与内皮细胞黏附作用的影响。方法 对HUVEC进行体外培养,取第4~5代用于本次实验。将细胞分成磷酸盐缓冲液(PBS)对照组、肝素对照组、LPS组、肝素+LPS组。LPS组加入10 mg/L的LPS;PBS对照组则加入等量PBS;肝素对照组则加入10 kU/L普通肝素;肝素+LPS组在进行LPS刺激前15 min加入10 kU/L的普通肝素。各组于LPS刺激后6 h、12 h收集细胞,通过实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(qRT-PCR)测定细胞中MCP-1 mRNA表达;各组预处理后加入荧光染料标记的人单核细胞株THP-1共同避光孵育1 h,在荧光显微镜下观察THP-1与HUVEC的黏附密度。结果 与PBS对照组相比,LPS刺激后6 h和12 h细胞MCP-1 mRNA表达明显增加,6 h达到高峰,然后逐渐降低,但12 h仍明显高于PBS对照组[ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ : 6 h为16.41(15.03, 18.00)比1.00(0.80, 1.26), 12 h为9.27(8.11, 9.85)比1.00(0.84, 1.20),均 $P < 0.05$ ]。用肝素预处理可使LPS诱导的MCP-1 mRNA表达明显降低[ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ : 6 h为2.06(1.72, 2.46)比16.41(15.03, 18.00), 12 h为2.46(2.19, 4.56)比9.27(8.11, 9.85),均 $P < 0.05$ ]。肝素对照组MCP-1 mRNA表达与PBS对照组相比差异无统计学意义[ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ : 6 h为1.47(1.29, 1.65)比1.00(0.80, 1.26), 12 h为2.69(2.58, 2.77)比1.00(0.84, 1.20),均 $P > 0.05$ ]。荧光显微镜下观察显示,LPS刺激可促进THP-1与HUVEC的黏附;肝素预处理可抑制LPS刺激的THP-1与HUVEC黏附。结论 肝素预处理可以抑制MCP-1的表达,从而减少THP-1与HUVEC的黏附,在脓毒症中发挥保护作用。

**【关键词】** 肝素; 脂多糖; 内皮细胞; 单核细胞; 单核细胞趋化蛋白1

基金项目: 国家自然科学基金(81671936)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.10.019

## Heparin inhibits lipopolysaccharide-induced adhesion of monocytes to endothelial cells

Chen Tianlu<sup>1,2</sup>, Ma Xiaochun<sup>1</sup>, Li Xu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Critical Care Medicine, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning, China; <sup>2</sup>Department of Critical Care Medicine, Xi'an No.4 Hospital, Xi'an 710004, Shaanxi, China

Corresponding author: Li Xu, Email: 13604059359@189.cn

**【Abstract】** **Objective** To investigate the effects of heparin on the secretion of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) and the adhesion of monocytes to endothelial cells stimulated by lipopolysaccharide (LPS). **Methods** HUVEC were cultured *in vitro*, and the cells between generation 4 and 5 were used for the experiments. The cells were divided into phosphate buffer saline (PBS) control group, heparin control group, LPS group, and heparin+LPS group. The LPS group was challenged with LPS 10 mg/L; the PBS control group was added with the same amount of PBS; the heparin group was added with 10 kU/L unfractionated heparin; the heparin+LPS group was treated with 10 kU/L unfractionated heparin 15 minutes before LPS stimulation. The cells were harvested at 6 hours and 12 hours after LPS stimulation in each group, and the MCP-1 mRNA expression was determined by real-time fluorescent quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (qRT-PCR). After incubation with each group, the fluorescent dye-labeled human monocyte cell line THP-1 was cultured with each group for 1 hour in the dark, and the adhesion density of THP-1 and HUVEC was observed under fluorescence microscope. **Results** Compared with the PBS control group, the MCP-1 mRNA expression significantly increased at 6 hours and 12 hours after LPS stimulation and peaked at 6 hours, then decreased gradually, but remained significantly higher than the PBS control group at 12 hours [ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ : 16.41 (15.03, 18.00) vs. 1.00 (0.80, 1.26) at 6 hours, 9.27 (8.11, 9.85) vs. 1.00 (0.84, 1.20) at 12 hours, both  $P < 0.05$ ]. Heparin preconditioning significantly reduced LPS-induced MCP-1 mRNA expression [ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ : 2.06 (1.72, 2.46) vs. 16.41 (15.03, 18.00) at 6 hours, 2.46 (2.19, 4.56) vs. 9.27 (8.11, 9.85) at 12 hours, both  $P < 0.05$ ]. There was no significant difference in MCP-1 mRNA expression between the heparin control group and the PBS control group [ $2^{-\Delta\Delta Ct}$ : 1.47 (1.29, 1.65) vs. 1.00 (0.80, 1.26) at 6 hours, 2.69 (2.58, 2.77) vs. 1.00 (0.84, 1.20) at 12 hours, both  $P > 0.05$ ]. Fluorescence microscopy observation showed that LPS stimulation could promote the adhesion of THP-1 to HUVEC; heparin preconditioning could inhibit the adhesion of THP-1 to HUVEC stimulated by LPS. **Conclusion** Heparin preconditioning could inhibit the MCP-1 mRNA expression, thereby reduce the adhesion of THP-1 to HUVEC, thus play a protective role in sepsis.

**【Key words】** Heparin; Lipopolysaccharide; Endothelial cell; Monocyte; Monocyte chemotactic protein-1

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81671936)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.10.019

脓毒症(sepsis)指宿主发生感染自身处于炎症反应的失控状态,并出现危及生命的器官功能障碍,是重症患者死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>。脓毒症在发生发展过程中的关键环节即为微循环障碍和内皮细胞损伤<sup>[2]</sup>。内皮细胞是具有抗炎、抗凝特性的生理屏障,可以使血管内的循环细胞持续性地流动。脓毒症时,大量炎症介质释放,内皮细胞屏障遭到破坏,主要表现为促炎和促凝特性,炎症与凝血反应交互放大,形成恶性循环,进一步导致多器官功能障碍综合征(MODS)的发生。脓毒症时内皮细胞单核细胞趋化蛋白1(MCP-1)分泌增多,将单核细胞趋化至炎症部位<sup>[3]</sup>,单核细胞被激活,同时也会参与到炎症反应以及凝血反应的进程当中,能够导致微血栓的形成。此外,作为凝血以及炎症反应的参与者,单核细胞是脓毒症发展进程中至关重要的角色之一<sup>[4]</sup>。

肝素在临床上被广泛应用,其具有抗炎、抗凝等多种作用。前期多项研究证实,在脓毒症发展进程中肝素具有一定的保护作用<sup>[5-8]</sup>,但其在脓毒症过程中对单核细胞的作用以及对单核细胞与内皮细胞相互作用的影响及机制仍不明确,国内外有关肝素对单核细胞与内皮细胞黏附作用影响的研究也鲜有报道。本实验旨在探讨肝素对脂多糖(LPS)诱导人脐静脉内皮细胞(HUVEC)分泌MCP-1以及单核细胞与内皮细胞黏附作用的影响,从而对脓毒症过程中肝素的临床应用进行深入的理论研究,并为其提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 实验材料:** HUVEC(江苏凯基生物技术股份有限公司),人单核细胞株(上海拜力生物科技有限公司),改良型RPMI1640培养基(美国Hyclone公司),MCP-1引物(上海生工生物工程股份有限公司),胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司),胰酶(美国Gibco公司),LPS(O55:B5,美国Sigma公司),肝素钠注射液(上海第一生化药业有限公司),RNA提取剂、反转录试剂盒、荧光定量反转录试剂盒(日本TAKARA公司),钙黄绿素-AM(Calcein-AM,江苏凯基生物技术股份有限公司)。

**1.2 HUVEC细胞培养:** 选择改良型RPMI1640培养基对HUVEC进行培养,同时加入10%胎牛血清,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的细胞培养箱中,换液间隔时间为1~2d,细胞融合至80%~90%时停止换液。选择第4~5代HUVEC用于后续实验。

**1.3 细胞分组及处理:** 将细胞分为磷酸盐缓冲液(PBS)对照组、肝素对照组、LPS组及肝素+LPS组。LPS组加入10 mg/L的LPS;PBS对照组则加入等量PBS;肝素对照组则加入10 kU/L的普通肝素;肝素+LPS组于LPS刺激前15 min加入10 kU/L的普通肝素。

## 1.4 检测指标及方法

**1.4.1 MCP-1 mRNA表达测定:** 培养6 h、12 h后,对收集细胞提取RNA,于-80℃下保存待测。提取细胞总RNA,用紫外分光光度计对RNA的浓度和纯度进行测定,并进行反转录。MCP-1的上游引物:5'-CCCCAGTCACCTGCTGTTAT-3',下游引物:5'-AGATCTCCTTGGCCACAATG-3'。按荧光定量反转录试剂盒操作说明将cDNA于冰上配制成25 μL的PCR反应体系,将各组cDNA反转录为mRNA;反应条件:95℃ 30 s, 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 40个扩增循环。得到各组mRNA的Ct值,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算各组MCP-1 mRNA表达量,以3-磷酸甘油醛脱氢酶(GADPH)作为内参照。

**1.4.2 HUVEC与THP-1黏附密度测定:** THP-1培养于含10% FBS的RPMI1640培养基中,置于37℃、5% CO<sub>2</sub>细胞培养箱中,换液间隔时间为1~2 d,细胞密度达到 $8 \times 10^8/L$ 时进行传代,取第4~5代细胞用于实验。取10 μmol/L Calcein-AM荧光探针加入THP-1细胞,避光孵育30 min,用PBS清洗离心3次,细胞密度调整为 $1 \times 10^6/L$ 。荧光标记后的THP-1加入处理完的HUVEC,37℃避光共培养1 h,吸去上清及未黏附的细胞,PBS轻柔洗孔2次,在荧光显微镜下对THP-1与内皮细胞的黏附情况进行观测,并采集图片。

**1.5 统计学方法:** 使用SPSS 22.0统计学软件对所得数据进行处理。计量资料均呈非正态分布,以中位数(四分位数)[ $M(Q_L, Q_U)$ ]表示,两组间及多组间比较采用非参数秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肝素对MCP-1 mRNA表达的影响(表1):** LPS刺激后6 h细胞MCP-1 mRNA表达达到高峰,随后逐渐下降,12 h时MCP-1 mRNA表达仍明显高于PBS对照组(均 $P < 0.05$ )。普通肝素预处理可以明显降低LPS刺激下内皮细胞MCP-1的mRNA表达(均 $P < 0.05$ )。肝素对照组MCP-1 mRNA表达水平与PBS对照组比较差异无统计学意义。

表1 肝素预处理对LPS刺激HUVEC后各时间点MCP-1 mRNA水平的影响 [ $M(Q_L, Q_U)$ ]

组别	样本数 (孔)	MCP-1 mRNA ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )	
		6 h	12 h
PBS 对照组	3	1.00 (0.80, 1.26)	1.00 (0.84, 1.20)
LPS 组	3	16.41 (15.03, 18.00) <sup>a</sup>	9.27 (8.11, 9.85) <sup>a</sup>
肝素 + LPS 组	3	2.06 (1.72, 2.46) <sup>b</sup>	2.46 (2.19, 4.56) <sup>b</sup>
肝素对照组	3	1.47 (1.29, 1.65) <sup>b</sup>	2.69 (2.58, 2.77) <sup>b</sup>

注: LPS 为脂多糖, HUVEC 为人脐静脉内皮细胞, MCP-1 为单核细胞趋化蛋白 1; 与磷酸盐缓冲液 (PBS) 对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与 LPS 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$

**2.2 肝素对 THP-1 与内皮细胞黏附的影响 (图 1):** 与 PBS 对照组相比, LPS 组 THP-1 与 HUVEC 的黏附密度明显增大; 普通肝素预处理可以明显抑制 THP-1 与 HUVEC 的黏附; 肝素对照组与 PBS 对照组相比, THP-1 与 HUVEC 的黏附密度无明显差异。

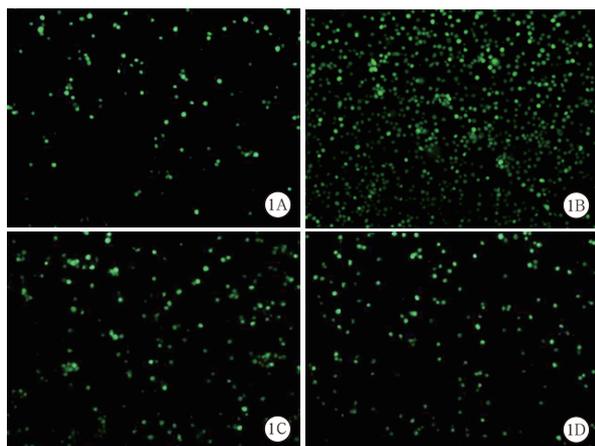


图1 荧光显微镜下观察各组人脐静脉内皮细胞(HUVEC)与人单核细胞株 THP-1 的黏附情况 磷酸盐缓冲液(PBS)对照组(A)THP-1 与 HUVEC 的黏附密度均匀;脂多糖(LPS)组(B)THP-1 与 HUVEC 黏附密度较 PBS 对照组明显增大;肝素 + LPS 组(C)THP-1 与 HUVEC 的黏附密度较 LPS 组明显减小;肝素对照组(D)与 PBS 对照组相比, THP-1 与 HUVEC 的黏附无明显差异 钙黄绿素-AM 荧光染色 低倍放大

### 3 讨论

脓毒症的主要特征为全身性促炎细胞因子释放,广泛的内皮细胞活化,炎性细胞数量的变化、活化和游走<sup>[9]</sup>,进一步产生相应的促炎因子、组织因子,并相互作用,参与炎症与凝血的活化<sup>[10-11]</sup>。在此过程中最为重要的环节即为内皮细胞受损。内皮细胞细胞膜上有很多嵌入型的多糖,而细胞间存在多种连接,如紧密型、黏附型,遂形成了物理性的屏障,对于炎性与非炎性部分能够较好地隔离,从而起到抗炎的保护作用<sup>[12-13]</sup>;同时,在内皮细胞细胞膜上表达的多种天然抗凝剂,如肝素、血栓调节蛋白、组织因子途径抑制剂和组织纤维蛋白溶酶原激活剂在抗凝的多个环节中发挥作用,提供了抗凝

表面<sup>[14]</sup>,防止微血栓形成,从而起到抗凝的保护作用。脓毒症时,LPS、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )可破坏多糖包被完整性,炎性因子能削弱多糖包被厚度<sup>[15]</sup>,破坏细胞间连接,物理性屏障作用减弱,炎性细胞与内皮细胞黏附,进一步加重炎症反应;同时,内皮细胞和(或)单核细胞开始表达组织因子<sup>[3]</sup>,启动外源性凝血途径<sup>[16-17]</sup>,大量微血栓形成,炎症与凝血反应相互增强,导致组织缺氧,多个器官发生功能性障碍。炎性细胞中,趋化因子能够针对性地对中性粒细胞、单核细胞进行激活和募集,有效启动炎症并维持。通常可将其分为4个家族:C、CC、C-X-C 和 CX3C<sup>[18]</sup>。MCP-1 即为趋化因子,能够将单核细胞进行有效募集,促进炎症进一步发展,并导致凝血功能发生失控性的紊乱,最终导致微循环和多器官功能障碍<sup>[19]</sup>。

白细胞介素-8(IL-8)和 MCP-1 为趋化因子家族的两个代表,分别在趋化白细胞和单核细胞中起关键性作用。研究显示,预先加入肝素能够对 LPS 诱导的核转录因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 核左移和趋化因子 IL-8 的表达等进行抑制;加入 NF- $\kappa$ B 抑制剂后, NF- $\kappa$ B 的活性及 IL-8 的表达均明显降低,有效证实了肝素能够对 LPS 诱导的内皮细胞趋化因子表达产生抑制,此过程可能通过 NF- $\kappa$ B 信号通路进行控制<sup>[20-21]</sup>。有研究表明,内皮细胞受到 LPS 刺激后能够合成 MCP-1, LPS 能够对 p38 丝裂素活化蛋白激酶 (p38MAPK) 进行激活,使转录因子 NF- $\kappa$ B 活化,进而完成趋化因子 MCP-1 的转录与活化;而肝素可以抑制此过程<sup>[22-23]</sup>,这可能是肝素抑制 LPS 诱导内皮细胞及单核细胞产生 MCP-1 的分子机制。脓毒症过程中多种细胞参与并相互作用,在此过程中,肝素对单核细胞的作用以及对单核细胞与内皮细胞相互作用的影响及机制仍不十分清楚。本研究显示,用肝素进行预处理能有效降低 LPS 诱导所引起的内皮细胞 MCP-1 表达,并减少单核细胞与内皮细胞的黏附,提示肝素能够减少脓毒症发展进程中炎症所在部位的单核细胞的募集,从而对内皮细胞起到保护作用,这可能是肝素在脓毒症过程中发挥积极作用的又一机制。

综上所述,肝素对 LPS 诱导的内皮细胞 MCP-1 表达存在抑制作用,从而减少单核细胞与内皮细胞的黏附,对脓毒症的临床治疗中肝素所起的保护作用提供了理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

## 参考文献

- [1] Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, et al. Developing a new definition and assessing new clinical criteria for septic shock: for the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 775-787. DOI: 10.1001/jama.2016.0289.
- [2] Gando S. Microvascular thrombosis and multiple organ dysfunction syndrome [J]. Crit Care Med, 2010, 38 (2 Suppl): S35-42. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3181e9e31d.
- [3] Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation [J]. Hamostaseologie, 2010, 30 (1): 10-12, 14-16. DOI: 10.1055/s-0037-1617143.
- [4] Opal SM, van der Poll T. Endothelial barrier dysfunction in septic shock [J]. J Intern Med, 2015, 277 (3): 277-293. DOI: 10.1111/joim.12331.
- [5] Jones H, Paul W, Page CP. The effects of heparin and related molecules on vascular permeability and neutrophil accumulation in rabbit skin [J]. Br J Pharmacol, 2002, 135 (2): 469-479. DOI: 10.1038/sj.bjp.0704505.
- [6] Li X, Zheng Z, Li X, et al. Unfractionated heparin inhibits lipopolysaccharide-induced inflammatory response through blocking p38 MAPK and NF- $\kappa$ B activation on endothelial cell [J]. Cytokine, 2012, 60 (1): 114-121. DOI: 10.1016/j.cyto.2012.06.008.
- [7] Li X, Zheng Z, Mao Y, et al. Unfractionated heparin promotes LPS-induced endothelial barrier dysfunction: a preliminary study on the roles of angiotensin/Tie2 axis [J]. Thromb Res, 2012, 129 (5): e223-228. DOI: 10.1016/j.thromres.2012.03.003.
- [8] Li X, Li Z, Zheng Z, et al. Unfractionated heparin ameliorates lipopolysaccharide-induced lung inflammation by downregulating nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Inflammation, 2013, 36 (6): 1201-1208. DOI: 10.1007/s10753-013-9656-5.
- [9] Bone RC. Toward a theory regarding the pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome: what we do and do not know about cytokine regulation [J]. Crit Care Med, 1996, 24 (1): 163-172. DOI: 10.1097/00003246-199601000-00026.
- [10] Levi M, van der Poll T, ten Cate H, et al. The cytokine-mediated imbalance between coagulant and anticoagulant mechanisms in sepsis and endotoxaemia [J]. Eur J Clin Invest, 1997, 27 (1): 3-9. DOI: 10.1046/j.1365-2362.1997.570614.x.
- [11] Hideaki I, Kohji O. The mechanism behind coagulation disorders and organ dysfunction due to abdominal sepsis [J]. J Abdomin Emerg Med, 2002, 22 (5): 729-737.
- [12] García-Ponce A, Citalán-Madrid AF, Velázquez-Avila M, et al. The role of actin-binding proteins in the control of endothelial barrier integrity [J]. Thromb Haemost, 2015, 113 (1): 20-36. DOI: 10.1160/TH14-04-0298.
- [13] Kolářová H, Ambrůzová B, Sviháľková Šindlerová L, et al. Modulation of endothelial glycocalyx structure under inflammatory conditions [J]. Mediators Inflamm, 2014, 2014: 694312. DOI: 10.1155/2014/694312.
- [14] Ait-Oufella H, Maury E, Lehoux S, et al. The endothelium: physiological functions and role in microcirculatory failure during severe sepsis [J]. Intensive Care Med, 2010, 36 (8): 1286-1298. DOI: 10.1007/s00134-010-1893-6.
- [15] 刘一娜, 马晓春. 脓毒症与凝血功能紊乱 [J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38 (11): 993-997. DOI: 10.19538/j.nk2018110120.
- [16] Liu YN, Ma XC. Sepsis and coagulation dysfunction [J]. Chin J Practical Internal Med, 2018, 38 (11): 993-997. DOI: 10.19538/j.nk2018110120.
- [17] Henrich M, Gruss M, Weigand MA. Sepsis-induced degradation of endothelial glycocalyx [J]. Scientific World Journal, 2010, 10: 917-923. DOI: 10.1100/tsw.2010.88.
- [18] Boral BM, Williams DJ, Boral LI. Disseminated intravascular coagulation [J]. Am J Clin Pathol, 2016, 146 (6): 670-680. DOI: 10.1093/ajcp/aqw195.
- [19] 吴四海, 楼跃, 黄磊. 单核细胞趋化蛋白-1的作用机制研究进展 [J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2012, 6 (10): 2773-2775. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.10.078.
- [20] Wu SH, Lou Y, Huang L. Research progress on the mechanism of monocytes chemoprotein-1 [J/CD]. Chin J Clin (Electronic Edition), 2012, 6 (10): 2773-2775. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.10.078.
- [21] Koyanagi M, Egashira K, Kitamoto S, et al. Role of monocyte chemoattractant protein-1 in cardiovascular remodeling induced by chronic blockade of nitric oxide synthesis [J]. Circulation, 2000, 102 (18): 2243-2248. DOI: 10.1161/01.cir.102.18.2243.
- [22] 李旭, 马延全, 陈恬璐, 等. 肝素通过核转录因子- $\kappa$ B信号通路减少脂多糖刺激人内皮细胞趋化因子的表达 [J]. 中华危重病急救医学, 2016, 28 (2): 117-121. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.007.
- [23] Li X, Ma YQ, Chen TL, et al. Unfractionated heparin inhibits lipopolysaccharide-induced expression of chemokines in human endothelial cells through nuclear factor- $\kappa$ B signaling pathway [J]. Chin Crit Care Med, 2016, 28 (2): 117-121. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.007.
- [24] Ma J, Bai J. Protective effects of heparin on endothelial cells in sepsis [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8 (4): 5547-5552.
- [25] Thibeault I, Laflamme N, Rivest S. Regulation of the gene encoding the monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) in the mouse and rat brain in response to circulating LPS and proinflammatory cytokines [J]. J Comp Neurol, 2001, 434 (4): 461-477. DOI: 10.1002/cne.1187.
- [26] Anand AR, Bradley R, Ganju RK. LPS-induced MCP-1 expression in human microvascular endothelial cells is mediated by the tyrosine kinase, Pyk2 via the p38 MAPK/NF- $\kappa$ B-dependent pathway [J]. Mol Immunol, 2009, 46 (5): 962-968. DOI: 10.1016/j.molimm.2008.09.022.

(收稿日期: 2019-06-21)

## • 科研新闻速递 •

## 2型糖尿病患者强化血糖控制: 15年随访结果

有研究报道,在1791例2型糖尿病退伍军人中,与标准降糖治疗相比,进行中位时间5.6年的强化降糖后,主要心血管事件风险在随访10年间显著降低(降低17%)。近期,该研究团队公布了他们随访15年后的结果。研究人员通过使用中央数据库识别心血管事件、住院和死亡,在原始临床试验结束后观察参与者(完整队列);同时询问参与者是否愿意接受随访调查以提供额外数据。主要评价指标是主要心血管事件的复合事件,包括非致死性心肌梗死、非致死性卒中、新发或恶化的充血性心力衰竭、缺血性坏疽引起的截肢和心血管原因导致的死亡。其他评价指标为任何原因造成的死亡。结果显示:整个队列中有1655例参与者,调查队列中有1391例参与者。在试验期间(最初招募了1791例受试者),强化治疗组(892例)和标准治疗组(899例)之间糖化血红蛋白曲线的平均差异为1.5%,试验结束后3年内这一差异下降到0.2%~0.3%。在15年的随访期间(积极治疗加试验后观察),强化治疗组主要心血管事件或死亡风险并不低于标准治疗组[主要结局:风险比(HR)=0.91,95%可信区间(95%CI)为0.78~1.06, $P=0.23$ ;死亡:HR=1.02,95%CI为0.88~1.18)。然而,在糖化血红蛋白曲线分离期间(HR=0.83,95%CI为0.70~0.99),主要心血管疾病结局的风险降低,但在糖化血红蛋白均衡后这种益处没有继续存在(HR=1.26,95%CI为0.90~1.75)。研究人员据此得出结论:2型糖尿病患者被随机分配到强化降糖治疗5.6年的心血管事件风险仅在糖化血红蛋白曲线分离期低于接受标准治疗的患者。

罗红敏,编译自《N Engl J Med》,2019,380:2215-2224