

[文章编号] 1007-3949(2010)18-11-0873-05

· 临床研究 ·

TLR4/NF- κ B 信号通路介导肥胖症患者血清的致炎作用

姚岚¹, 肖扬¹, 刘石平¹, 徐爱民², 周智广¹

(1 中南大学湘雅二医院代谢内分泌研究所 中南大学糖尿病中心 糖尿病免疫学教育部重点实验室, 湖南省长沙市 410011; 2 香港大学李嘉诚医学院内科系和药理系, 香港 999077)

[关键词] Toll样受体 4 肥胖症; 炎症; 代谢紊乱

[摘要] **目的** 探讨肥胖症患者血清对 THP-1 单核细胞分泌炎症因子的作用及探讨 TLR4/NF- κ B 信号通路在肥胖症患者血清促炎症作用中的贡献。**方法** 分别用 15 例单纯性肥胖及伴不同代谢紊乱(血脂紊乱、高血压、高血糖)患者血清孵育 THP-1 单核细胞株 48 h 后以及用 TLR4 单克隆抗体阻断 TLR4/NF- κ B 信号通路后,测定 THP-1 细胞表面 TLR4 和细胞内 NF- κ B p65 磷酸化的表达水平及其分泌白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的能力。免疫印迹法检测 TLR4 蛋白和细胞内 NF- κ B p65 磷酸化蛋白水平;用 RT-Q-PCR 检测 TLR4 mRNA 的表达水平;用酶联免疫吸附法检测细胞上清液中白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的水平。**结果** 与正常对照组比较,单纯性肥胖和肥胖症伴代谢紊乱患者血清干预后,THP-1 细胞 TLR4、NF- κ B p65 磷酸化蛋白及 TLR4 mRNA 表达水平以及分泌白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的能力显著升高 ($P < 0.05$);THP-1 细胞 TLR4、NF- κ B p65 磷酸化蛋白及 TLR4 mRNA 表达水平以及分泌白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的能力随肥胖症代谢紊乱组分的增加而增高,且当 TLR4/NF- κ B 信号通路被阻断后,分泌白细胞介素 1 β 和肿瘤坏死因子 α 的能力降低。**结论** 单纯性肥胖及肥胖症伴不同代谢紊乱患者的血清可不同程度地诱导 THP-1 细胞 TLR4/NF- κ B 信号通路的活化,TLR4/NF- κ B 信号通路在肥胖症患者血清促 THP-1 分泌炎症因子的作用中起重要作用。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

TLR4/NF- κ B Signaling Pathway Mediates the Proinflammatory Effect of the Obesity Serum

YAO Lan, XIAO Yang, LIU ShiPing, XU AiMin, and ZHOU ZhiGuang

(1 Department of Endocrinology, Second Xiangya Hospital, Central South University & Diabetes Center, Institute of Metabolism and Endocrinology, Central South University & Key Laboratory of Diabetes Immunology, Ministry of Education, Changsha, Hunan 410011, China; 2 Medical Department and Pharmacology Department, University of Hong Kong LiKa Shing Faculty, Hong Kong 999077, China)

[KEY WORDS] Toll Like Receptor 4; Obesity; Inflammation; Metabolic Disorder

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of serum of obese people on the formation process of inflammatory factor secreted by THP-1 cell line, meanwhile, to inquire the role of TLR4/NF- κ B signaling pathway on proinflammatory effect of the serum of obesity. **Methods** THP-1 cell line was cultured from the serum of volunteers with varying degrees of metabolic disorders (4 groups in total: normal people, simple obesity, obesity with hyperglycemia, obesity with hyperglycemia combining hypertension and hyperlipidemia, 15 cases of each group) for 48 h and then TLR4/NF- κ B signaling pathway is blocked by TLR4 monoclonal antibody. We observed the TLR4 mRNA and protein content on cell surface, the level of NF- κ B p65 phosphorylation in THP-1 cell line and IL-1 β and TNF- α expression in culture supernatant. TLR4 protein content and the level of NF- κ B p65 phosphorylation were measured by Western blotting. TLR4 mRNA was measured by RT-Q-PCR, the expression of IL-1 β and TNF- α were detected by ELISA. **Results** Compared with normal group, the TLR4 mRNA and protein content, the level of NF- κ B p65 phosphorylation in THP-1 cell line and IL-1 and TNF- α expression in culture supernatant cultured by the serum from the simple obesity, obesity with metabolic disorders increase, in which the TLR4 mRNA and protein content, the level of NF- κ B p65 phosphorylation, the IL-1 and TNF- α expression increased with component of metabolic disorders. While TLR4 was blocked by TLR4 monoclonal antibody, the ability of secreting IL-1 and TNF- α reduced. **Conclusion** The serum of simple obesity and obesity with varying degrees of metabolic disorders can induce the activation of TLR4/NF- κ B signaling pathway on THP-1 cell line. TLR4/NF- κ B signaling pathway plays an important part in proinflammatory effect of the serum of obese people.

[收稿日期] 2010-08-31 [修回日期] 2010-10-08

[基金项目] 国家自然科学基金委员会与香港研究资助局联合基金(30831160518);中南大学代谢综合征研究中心项目;湖南省高校科技创新团队资金资助

[作者简介] 姚岚, 硕士研究生, 主要研究方向为肥胖、代谢综合征和免疫。通讯作者刘石平, 博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 主要研究方向为肥胖、代谢综合征及免疫, E-mail为 shipingliu119@126.com。徐爱民, 博士后, 博士研究生导师, 主要研究方向为肥胖、糖尿病及血管并发症、脂肪-血管轴的基础和临床研究。

目前,对脂肪组织作用的认识已经从脂质贮存组织改变到内分泌和免疫活性组织。脂肪组织是一种活跃的内分泌组织,能分泌多种激素因子,在肥胖症中,它分泌的前炎症细胞因子可促进低度全身性炎症发生,而这种全身性炎症在肥胖引起代谢紊乱的发生发展中起到关键作用^[1]。有研究显示,体质指数(BMI)与血浆肿瘤坏死因子 α (TNF- α)浓度间有明显的正相关关系^[2],提示体脂含量与血浆炎症反应因子的水平显著相关。近年来的研究发现,肥胖症患者体内脂肪组织中存在Toll样受体4(TLR4)信号通路的激活^[3]。本研究拟探讨和比较肥胖症伴或不伴代谢紊乱患者血清促进人单核细胞THP-1株释放炎症因子的作用及TLR4/NF- κ B信号通路在其中活化的情况,旨在为肥胖症及相关疾病的防治提供理论依据。

1 对象和方法

1.1 研究对象

选择2009年2月至10月在我院内分泌门诊就诊的单纯性肥胖伴或不伴代谢紊乱患者45例及正常对照者15例。入选标准符合下列标准一项:正常对照组与肥胖各组年龄、性别匹配的健康人,无血糖、血脂和血压的异常。肥胖代谢正常组具备肥胖^[4](BMI ≥ 25 kg/m²或男性腰围 ≥ 90 cm,女性 ≥ 80 cm);④不合并血糖、血脂、血压异常者和已接受治疗者。肥胖合并高血糖组具备肥胖(BMI ≥ 25 kg/m²或男性腰围 ≥ 90 cm,女性 ≥ 80 cm);④血糖异常(空腹血糖 ≥ 6.1 mmol/L及或餐后2 h血糖 ≥ 7.8 mmol/L);④不合并血脂、血压异常者和已接受治疗者。肥胖合并三种代谢紊乱组具备肥胖(BMI ≥ 25 kg/m²或男性腰围 ≥ 90 cm,女性 ≥ 80 cm);④血糖异常(空腹血糖 ≥ 6.1 mmol/L及或餐后2 h血糖 ≥ 7.8 mmol/L);④血脂紊乱[血甘油三酯(TG) ≥ 1.7 mmol/L或总胆固醇(TC) ≥ 5.2 mmol/L或高密度脂蛋白胆固醇(HDLc) < 1.03 mmol/L(男性)、 < 1.29 mmol/L(女性)或低密度脂蛋白胆固醇(LDLc) ≥ 2.6 mmol/L];血压异常(收缩压 ≥ 140 mmHg或舒张压 ≥ 90 mmHg)。排除标准:①慢性炎症;②急性应激状态;③自身免疫性疾病;④1型糖尿病;⑤妊娠或哺乳期;⑥明显的心、肝、肾疾病和肿瘤性疾病;⑦明显的大中血管病变如冠心病、脑血管意外、肢体外周动脉硬化等;⑧考虑为皮质醇增多症、药物、下丘脑综合征、肢端肥大症等所致病理性肥胖者;⑨不能合作者。采集所

有受试者空腹12 h后晨起的静脉血10 mL,在2 h内离心(2000 r/min),分离血清,于-70℃冰箱保存用于细胞干预。

1.2 细胞和试剂

人单核细胞株(THP-1)和RT-Q-PCR引物由香港大学李嘉诚医学院徐爱民教授馈赠;TLR4抗体、兔抗人磷酸化NF- κ B p65抗体和兔抗人NF- κ B p65抗体、 β -actin抗体购自Abcam公司;TLR4单克隆抗体购自Biolegend公司;人TNF- α 和IL-1 β ELISA检测试剂盒购自Bimed公司。

1.3 细胞培养

THP-1细胞接种于含10%胎牛血清、100 IU/L青霉素、100 mg/L链霉素、1%谷氨酰胺的RPMI1640培养基中,置于37℃、5% CO₂培养箱内培养,待细胞生长良好,进入指数生长阶段,进行细胞干预实验。

1.4 血清处理和干预

将收集到的受试者血清56℃水浴30 min灭活补体后以15%的比例加入含100 IU/L青霉素、100 mg/L链霉素、1%谷氨酰胺的RPMI1640培养基中,0.22 μ m微孔过滤后使用。每个受试者设三复孔,于6孔板中分别接种 1×10^6 个THP-1细胞。同时每组另设TLR4单克隆抗体预干预组,以5 mg/L浓度每孔加入TLR4单克隆抗体预干预30 min,然后使用含有15%干预血清的RPMI1640培养基2 mL,孵育48 h后,收集各组细胞用于蛋白和mRNA的提取,同时离心留取细胞培养上清液于-70℃冰箱保存,用于TNF- α 、IL-1 β 的检测。

1.5 免疫印迹法检测THP-1细胞TLR4蛋白和NF- κ B p65磷酸化蛋白水平

收集血清干预48 h的THP-1细胞后,先用预冷的PBS清洗,然后离心去除PBS,接着用RIPA裂解液与PMSF以98:2混合后裂解细胞提取蛋白。使用BCA蛋白定量试剂盒将各组蛋白浓度调成一致,取各组蛋白样品30 μ g以20%比例加入SDS凝胶加样缓冲液,100℃煮沸5 min待用。以样品中的 β -actin为内参,经SDS-PAGE凝胶电泳,转膜,然后用含10%脱脂奶粉TBST封闭2 h,根据TLR4与NF- κ B p65、 β -actin分子质量不同,将膜裁剪为含TLR4与NF- κ B p65、 β -actin的三部分,分别加入一抗4℃孵育过夜,二抗室温下孵育2 h,ECL化学发光显色、压片、显影、定影、胶片扫描保存,然后将NF- κ B p65部分用洗膜液浸没,摇床清洗50 min,TBST清洗3遍,每次10 min,再用兔抗人磷酸化NF- κ B p65抗体4℃孵育过夜,二抗室温下孵育2 h,TBST洗膜3次,

每次 15 min, ECL 化学发光显色、压片、显影、定影、胶片扫描保存, 用 Image J 软件测定蛋白条带灰度值, 以 TLR4 与磷酸化 NF- κ B p65 条带灰度值与内参 β -actin 条带灰度值的比值将 TLR4 与 NF- κ B p65 表达量化。

1.6 RT-Q-PCR 检测 TLR4 mRNA

用 Trizol 法提取血清干预 48 h 后 THP-1 细胞的总 RNA。用紫外蛋白质核酸分析仪测 RNA 浓度和纯度, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 在 1.8~2.0 范围内, 表明所提取的 RNA 较纯。以 18 s 作为内参照基因。TLR4 引物: 正义链 5'-AAG CCG AAA GGT GAT TGT TG-3', 反义链 5'-CTG AGC AGG GTC TTC TCC AC-3'; 18 s 引物序列: 正义链 5'-AGT CCC TGC CCT TTG TAC ACA-3', 反义链 5'-CGA TCC GAG GGC CTC ACT A-3'。使用 TaKaRa 的 One Step SYBR⁵ PrimeScriptTM RT-PCR Kit II 试剂盒, 按说明书配成体系后进行 PCR 反应, 反应结束后, 确认扩增曲线和融解曲线, 得出 Ct 值, 计算 TLR4 基因的 Ct 值与 18 s 的 Ct 值的差值 Δ Ct 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 作为 TLR4 mRNA 的相对含量。

1.7 TNF- α 和 IL-1 β 的检测

采用 ELISA 检测 TNF- α 和 IL-1 β , TNF- α 、IL-1 β 测定的批内 CV 分别为 6.4%、7.7%。

1.8 统计学方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组之间比较采用单因素方差分析, 同组不同干预时间之间的比较采用配对 t 检验; 计数资料以率表示, 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 临床资料

与正常对照组相比, 肥胖各组 BMI 和腰围显著升高 ($P < 0.05$)。与肥胖代谢正常组相比, 肥胖合并高血糖组空腹血糖和餐后 2 h 血糖显著升高 ($P < 0.05$), 肥胖合并三种代谢紊乱组 FBS、餐后 2 h 血糖、TG、TC、LDLC 以及收缩压、舒张压均显著升高 ($P < 0.05$, 表 1)。

2.2 肥胖合并或不合并代谢紊乱患者血清对 THP-1 细胞 TLR4 和 NF- κ B p65 磷酸化水平的影响

与正常对照组相比, 肥胖代谢正常组血清孵育后, THP-1 细胞 TLR4 mRNA 和蛋白的表达、NF- κ B p65 磷酸化水平以及细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 增加 ($P < 0.05$); 与肥胖代谢正常组相比, 肥胖合并高血糖组以及肥胖合并三种代谢紊乱组血清孵育后, THP-1 细胞 TLR4 mRNA 和蛋白的表达、NF- κ B p65 磷酸化水平以及细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 增加 ($P < 0.05$); 与肥胖合并三种代谢紊乱组比较, 肥胖合并高血糖组血清孵育后, THP-1 细胞 TLR4 mRNA 和蛋白的表达、NF- κ B p65 磷酸化水平以及细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 下降 ($P < 0.05$)。在肥胖合并或不合并代谢紊乱组内比较, 随血清孵育时间延长, THP-1 细胞 TLR4 mRNA 和蛋白的表达、NF- κ B p65 磷酸化水平以及细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 增加, 在肥胖合并高血糖组及肥胖合并三种代谢紊乱组内差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。用 TLR4 单克隆抗体干预后, 除正常对照组外, 其余三组 THP-1 细胞 TLR4 mRNA 和蛋白的表达、NF- κ B p65 磷酸化水平以及细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 下降 (图 1 和表 2)。

表 1. 受试者临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

项目	正常对照组	肥胖代谢正常组	肥胖合并高血糖组	肥胖合并三种代谢紊乱组
男女(例)	8/7	10/5	8/7	6/9
年龄(岁)	47.27 \pm 7.75	44.60 \pm 5.93 ^a	50.60 \pm 7.17 ^b	51.40 \pm 9.63 ^b
BMI(kg/m ²)	22.04 \pm 1.35	27.28 \pm 1.62 ^a	28.70 \pm 2.32 ^a	28.74 \pm 2.58 ^a
腰围(cm)	79.17 \pm 6.61	90.27 \pm 5.78 ^a	92.80 \pm 6.84 ^a	93.13 \pm 8.66 ^a
空腹血糖(mmol/L)	5.14 \pm 0.38	5.11 \pm 0.33	7.76 \pm 1.32 ^{ab}	8.07 \pm 3.59 ^{ab}
餐后 2 h 血糖(mmol/L)	5.28 \pm 0.99	5.79 \pm 1.11	12.25 \pm 3.63 ^{ab}	12.63 \pm 6.08 ^{ab}
TG(mmol/L)	1.18 \pm 0.43	1.02 \pm 0.28	1.31 \pm 0.30	1.76 \pm 0.82 ^{abc}
TC(mmol/L)	4.58 \pm 0.83	4.35 \pm 0.60	4.53 \pm 0.45	5.40 \pm 1.45 ^{abc}
HDLC(mmol/L)	1.52 \pm 0.31	1.40 \pm 0.25	1.41 \pm 0.27	1.71 \pm 1.16
LDLC(mmol/L)	2.76 \pm 0.48	2.78 \pm 0.50	2.62 \pm 0.65	3.08 \pm 0.99 ^a
收缩压(mmHg)	112 \pm 15	117. \pm 13	114 \pm 13	151 \pm 15 ^{abc}
舒张压(mmHg)	69 \pm 10	75 \pm 10	70 \pm 11	87 \pm 17 ^{abc}
游离脂肪酸(mmol/L)	0.76 \pm 0.53	1.00 \pm 0.64	0.70 \pm 0.19	0.72 \pm 0.15

a 为 $P < 0.05$ 与正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 与肥胖代谢正常组比较; c 为 $P < 0.05$ 与肥胖合并高血糖组比较。

表 2 肥胖合并或不合并代谢紊乱患者血清及 TLR4 单克隆抗体干预后对 THP-1 细胞 TLR4、NF- κ B p65 磷酸化以及细胞上清液中 TNF- α 、IL-1 β 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

分 组	TLR4 mRNA	TLR4 蛋白	NF- κ B p65 蛋白	TNF- α (ng/L)	IL-1 β (ng/L)
正常对照组					
血清干预	1.03 \pm 0.14	0.16 \pm 0.05	0.16 \pm 0.02	225.79 \pm 24.29	135.96 \pm 12.73
抗体干预	1.07 \pm 0.13	0.15 \pm 0.03	0.13 \pm 0.03	226.82 \pm 26.72	133.19 \pm 16.15
肥胖代谢正常组					
血清干预	1.43 \pm 0.19 ^a	0.28 \pm 0.06 ^a	0.26 \pm 0.06 ^a	253.30 \pm 31.57 ^a	153.98 \pm 19.29 ^a
抗体干预	1.26 \pm 0.14 ^{ac}	0.17 \pm 0.05 ^{ac}	0.14 \pm 0.03 ^{ac}	224.43 \pm 26.71 ^{ac}	132.78 \pm 23.67 ^{ac}
肥胖合并高血糖组					
血清干预	2.20 \pm 0.25 ^{ab}	0.40 \pm 0.12 ^{ab}	0.44 \pm 0.05 ^{ab}	336.34 \pm 26.55 ^{ab}	197.94 \pm 16.13
抗体干预	2.62 \pm 0.20 ^{abc}	0.38 \pm 0.12 ^{abc}	0.19 \pm 0.04 ^{abc}	316.97 \pm 35.75 ^{abc}	183.51 \pm 19.30 ^{abc}
肥胖合并三种代谢紊乱组					
血清干预	2.15 \pm 0.23 ^{abc}	0.85 \pm 0.08 ^{abc}	0.86 \pm 0.07 ^{abc}	456.79 \pm 19.68 ^{abc}	268.74 \pm 14.50 ^{abc}
抗体干预	1.44 \pm 0.19 ^{abcde}	0.19 \pm 0.05 ^{abcde}	0.21 \pm 0.08 ^{abcde}	412.87 \pm 30.24 ^{abcde}	243.05 \pm 19.72 ^{abcde}

a 为 $P < 0.05$ 与同一干预方式正常对照组比较; b 为 $P < 0.05$ 与同一干预方式肥胖代谢正常组比较; c 为 $P < 0.05$ 与同一干预方式肥胖合并高血糖组比较; d 为 $P < 0.05$ 与同一干预方式肥胖合并血脂紊乱组比较; e 为 $P < 0.05$ 与同一组内干预 48 h 比较。

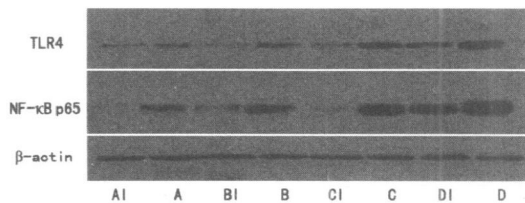


图 1 肥胖合并或不合并代谢紊乱患者血清对 TLR4 单克隆抗体干预后 THP-1 细胞 TLR4 和 NF- κ B p65 磷酸化水平的影响

A 为正常对照组, B 为肥胖代谢正常组, C 为肥胖合并高血糖组, D 为肥胖合并三种代谢紊乱组, AI 为正常对照组血清干预 抗体干预组, BI 为肥胖合并代谢正常组血清干预 抗体干预组, CI 为肥胖合并高血糖组血清干预 抗体干预组, DI 为肥胖合并三种代谢紊乱组血清干预 抗体干预组。

3 讨论

肥胖症是一种慢性炎症性疾病,肥胖症患者脂肪组织中的 T 细胞和巨噬细胞明显增加,它们通过影响前脂肪细胞和脂肪细胞的功能导致炎症因子上调^[3]。本研究匹配了肥胖组和非肥胖组间的血游离脂肪酸水平。但是,与正常对照组比较,各肥胖组无论有无代谢紊乱,其血清干预 THP-1 细胞 48 h 后,细胞上清液中 TNF- α 和 IL-1 β 水平增高。此外,本研究结果还发现,肥胖合并三种代谢紊乱组血清干预 THP-1 细胞后上清液中 TNF- α 和 IL-1 β 水平增高最突出,提示肥胖症患者无论有无代谢紊乱其血清都具有促炎症作用;肥胖症发生代谢紊乱程度越严重时,其血清的促炎症作用可能越强。

Toll 样受体是炎症信号传递的门户蛋白,与相应的配体结合后,引发信号转导,启动多种与炎症反

应相关的基因转录,导致炎症介质的释放,并最终激活获得性免疫系统^[5]。NF- κ B 信号通路在 TLR4 介导的免疫调节中起重要作用^[6]。有研究表明,TLR4/NF- κ B 信号通路有可能作为桥梁把天然免疫、脂肪代谢、胰岛素抵抗以及血管炎症和动脉硬化联系起来^[7-12]。本研究中,与正常对照组比较,各肥胖组无论有无代谢紊乱,其血清干预 THP-1 细胞 48 h 后都能引起细胞 TLR4 表达水平的增加、NF- κ B 信号通路的活化以及 TNF- α 和 IL-1 β 水平的增加,其中,合并三种代谢紊乱的肥胖组患者血清致 THP-1 细胞 TLR4 表达水平、NF- κ B p65 磷酸化水平以及细胞培养上清液中 TNF- α 和 IL-1 β 水平最高,提示肥胖症患者的血清可通过激活 THP-1 细胞上 TLR4/NF- κ B 信号通路而发挥促炎症作用,而且肥胖症发生代谢紊乱程度越严重时,其血清激活 THP-1 细胞上 TLR4/NF- κ B 信号通路的作用越强,从而促炎症作用越强。Dasu 等^[13]研究发现高糖干预 THP-1 细胞株可导致细胞表面 TLR4 活化,呈剂量和时间依赖性。本研究结果与之一致。

炎症过程主要由 NF- κ B 和其他炎症信号通路如 c-Jun 氨基末端激酶信号通路和 p38 MAPK 信号通路所介导,其中,以 NF- κ B 通路激活诱导炎症改变最为重要。本研究预先使用 TLR4 单克隆抗体阻断 THP-1 细胞上 TLR4/NF- κ B 信号通路,然后再加用肥胖症患者血清干预 THP-1 细胞 48 h 测定细胞培养上清液中 TNF- α 和 IL-1 β 水平,结果发现,阻断 THP-1 细胞上 TLR4/NF- κ B 信号通路后,肥胖症患者血清致 THP-1 细胞分泌 TNF- α 和 IL-1 β 的能力明显降低,提示在肥胖症合并或不合并代谢紊乱患

者血清促进 THP-1 细胞分泌炎症因子的作用中, TLR4/NF- κ B 信号通路起了非常重要的作用。

除外源性配体脂多糖外, 迄今为止, 已发现 TLR4 的多种内源性配体, 包括 FFA^[13]、高糖^[13]、真菌表面的多聚糖^[14]、血管外的纤维素原^[15]、热休克蛋白^[16]和呼吸道合胞病毒等。此外, 血清 TG 也可使 TLR4/NF- κ B 信号通路活化并使炎症因子表达增加; 棕榈酸可激活 3T3-L1 脂肪细胞表面 TLR4 的表达, 导致趋化因子表达增加, 但此作用可以被多不饱和脂肪酸阻断, 同时有研究发现中链 TG 可减轻机体炎症水平, 但是否由 TLR4 介导尚不清楚^[17-19]。高血压病患者外周血单核细胞可在血管紧张素 Ang^{II} 刺激下分泌炎症因子, 而且 Ang^{II} 的促炎症作用是通过 TLR4 介导的^[20]。由此可见, 刺激 TLR4 可激活前炎症通路, 从而诱导各种细胞上炎症细胞因子的表达, 阻断或敲除细胞上 TLR4 的表达, 游离脂肪酸的致炎作用被阻断^[21]。本研究中, THP-1 细胞上 TLR4 被阻断后, 肥胖症患者血清的致炎作用减弱也证实了这一点。至于代谢紊乱严重的肥胖患者较单纯性肥胖和只合并高血糖的肥胖患者, 其血清的致炎作用更强的原因之一可能是前者血清中可能含有更多 TLR4 的内源性配体, 从而对 THP-1 单核细胞上 TLR4/NF- κ B 信号通路刺激作用更强, 因而使 THP-1 细胞分泌的炎症因子更多。

综上所述, 肥胖合并或不合并代谢紊乱患者血清可通过激活 THP-1 单核细胞上 TLR4/NF- κ B 信号通路而发挥促炎症作用, 提示阻断 TLR4 或减轻体重, 消除肥胖, 纠正高血糖、血脂紊乱和高血压等有可能通过减轻肥胖症患者血清对 THP-1 单核细胞上 TLR4/NF- κ B 信号通路的刺激而降低其血清的促炎症作用。当然, 肥胖症患者血清的促炎症作用可能还涉及到 TLR4/NF- κ B 以外的信号通路, 这需要进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] Wu H, Ghosh S, Perrard XD, et al. T cell accumulation and regulated on activation, normal T cell expressed and secreted upregulation in adipose tissue in obesity [J]. *Circulation*, 2007, **115** (8): 1 029-038
- [2] Olszanecka-Glinianowicz M, Zahorska-Markiewicz B, Janowska J, et al. Serum concentrations of nitric oxide, tumor necrosis factor (TNF)- α and TNF soluble receptors in women with overweight and obesity [J]. *Metabolism*, 2004, **53** (10): 1 268-273
- [3] Reyn SM, Ghosh S, Tantivong P, et al. Elevated Toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects [J]. *Diabetes*, 2008, **57**: 2 595-602
- [4] World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation presented at the World Health Organization, June 3-5, 1997, Geneva, Switzerland. Publication WHO/NUT/NC/D/98.1
- [5] Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Janeway CA Jr. A human homologue of the Drosophila Toll protein signals activation of adaptive immunity [J]. *Nature*, 1997, **388** (6640): 394-397
- [6] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, **4** (7): 499-511
- [7] Song M, Jin K, KH, Yoon M, et al. Activation of Toll-like receptor 4 is associated with insulin resistance in adipocytes [J]. *Biochim Biophys Res Commun*, 2006, **346** (3): 739-745
- [8] Zhang HM, Chen LL, Wang L, et al. Macrophage infiltrates with high levels of Toll-like receptor 4 expression in white adipose tissues of male Chinese [J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2009, **19** (10): 736-743
- [9] Reyn SM, Ghosh S, Tantivong P, et al. Elevated Toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistance subjects [J]. *Diabetes*, 2008, **57** (10): 2 595-602
- [10] Kim E, Phan M, Luttrell I, et al. Toll-like receptor-4 mediates vascular inflammation and insulin resistance in diet-induced obesity [J]. *Circ Res*, 2007, **100** (11): 1 589-596
- [11] Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance [J]. *J Clin Invest*, 2006, **116** (11): 3 015-025
- [12] Vitseva OI, Tanriverdi K, Tchkoniat TT, et al. Inducible Toll-like receptor and NF- κ B regulatory pathway expression in human adipose tissue [J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, **16** (5): 932-937
- [13] Dasu MR, Devaraj S, Zhao L, et al. High glucose induces Toll-like receptor expression in human monocytes [J]. *Diabetes*, 2008, **57** (11): 3 090-098
- [14] Smiley ST, King JA, Hancock WW. Fibrinogen stimulates macrophage 4 chemokine secretion through Toll-like receptor 4 [J]. *J Immunol*, 2001, **167** (5): 2 887-894
- [15] Shohan S, Huang C, Chen M, et al. Toll-like receptor 4 mediates intracellular signaling without TNF- α release in response to cryptococcus neoformans polysaccharide capsule [J]. *J Immunol*, 2001, **166** (7): 4 620-626
- [16] Ohashi K, Burkart V, Flohe S, et al. Cutting edge: heat shock protein 60 is a putative endogenous ligand of the Toll-like receptor 4 complex [J]. *J Immunol*, 2000, **164** (2): 551-558
- [17] Xu XH, Shah PK, Faure E, et al. Toll-like receptor-4 is expressed by macrophages in murine and human lipid-rich atherosclerotic plaques and up-regulated by oxidized LDL [J]. *Circulation*, 2001, **104** (25): 3 103-108
- [18] Fessler MB, Rudel LL, Brown M. Toll-like receptor signaling links dietary fatty acids to the metabolic syndrome [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2009, **20** (5): 379-385
- [19] 孙静, 邓斌, 凌文华, 等. 中链甘油三酯对 2 型糖尿病肥胖和炎症反应的影响 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2006, **14** (12): 1 053-056
- [20] Ji Y, Liu J, Wang Z, et al. Angiotensin II induces inflammatory response partly via toll-like receptor 4-dependent signaling pathway in vascular smooth muscle cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2009, **23** (4-6): 265-276
- [21] Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid induced insulin resistance [J]. *J Clin Invest*, 2006, **116** (11): 3 015-025

(此文编辑 文玉珊)