393 – 399.
[17] Kim E, Sheng M. PDZ domain proteins of synapses[J]. Nat Rev Neurosci, 2004, 5: 771 – 781.
[18] Ehrlich I, Klein M, Rumpel S, et al. PSD-95 is required for activity-driven synapse stabilization [J]. Proc Natl Acad Sciences USA, 2007, 104(10): 4176 – 4181.
[19] Kim MJ, Dunah AW, Wang YT, et al. Differential roles of NR2A- and NR2B-containing NMDA receptors in Ras-ERK signaling and AMPA receptor trafficking[J]. Neuron, 2005, 46: 745 – 760.
[20] Kohr G, Jensen V, Koester HJ, et al. Intracellular domains of NMDA receptor subtypes are determinants for long-term potentiation induction[J]. J Neurosci, 2003, 23(34): 10791 – 10799.
[21] Sweatt J. Mitogen-activated protein kinases in synaptic plasticity and memory[J]. Curr Opin Neurobiol, 2004, 14: 311 – 317.
[22] Tang YP, Shimizu E, Dube GR, et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice[J]. Nature, 1999, 401(6748): 63 – 69.
[23] Thiels E, Kanterewicz BI, Norman ED, et al. Long-term depression in the adult hippocampus *in vivo* involves activation of extra-cellular signal-regulated kinase and phosphorylation of Elk-1 [J]. J Neurosci, 2002, 22: 2054 – 2062.
[24] Xu Y, Dong S, Zhou Q, et al. The effect of mechanical stimulation on the maturation of TDSCs-poly(L-lactide-co-ecaprolactone)/collagen scaffold constructs for tendon tissue engineering [J]. Biomaterials, 2014, 35(9): 2760 – 2772.

收稿日期: 2015-10-08 (解学魁编辑 郑新校对)

· 实验研究 ·

TLR4 与胰岛素抵抗小鼠主动脉炎性细胞因子表达*

饶小娇, 于曼丽, 朱晓波, 郝敏, 常晓彤

摘 要: 目的 探讨 Toll 样受体 4(TLR4)对小鼠胰岛素抵抗的作用及对主动脉炎性细胞因子的影响。**方法** 选取出生 21 d 雄性 C57BL/6 小鼠 45 只,随机分为 3 组,每组 15 只,对照组(基础饲料)、高脂对照组和 TAK – 242 组(给予高脂饲料);7 个月后,行葡萄糖耐量试验(GTT)和胰岛素耐量试验(ITT);TAK – 242 组(胰岛素抵抗小鼠)给予 TLR4 抑制剂 TAK – 242 干预 5 个月,采血进行 GTT 和 ITT 后,处死小鼠,收集血清和主动脉组织标本;采用实时荧光定量 PCR 方法检测小鼠主动脉组织 TLR4 的表达及其下游肿瘤坏死因子 α(TNF – α)和白细胞介素 – 6(IL – 6)含量;采用全自动生化分析仪测定血清总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL – C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL – C)和甘油三酯(TG)含量。**结果** 与对照组比较,高脂组小鼠在高脂饲喂 3 个月后体重明显升高,7 个月后小鼠调节血糖能力受损,胰岛素敏感性降低;TAK – 242 干预 5 个月后,与高脂对照组比较,TAK – 242 组小鼠葡萄糖调节能力和胰岛素敏感性均有所改善;与对照组比较,高脂对照组与 TAK – 242 组小鼠血清中 TG、TC、LDL – C、HDL – C 水平均明显升高($P < 0.05$);高脂对照组与 TAK – 242 组小鼠血清中 TG、TC、LDL – C 和 HDL – C水平无明显差异;实时荧光定量 PCR 结果显示,高脂对照组小鼠主动脉组织中 TLR4、TNF – α 和 IL – 6 表达水平[分别为(1.91 ± 0.32)、(2.71 ± 0.52)、(3.24 ± 0.41)]与对照组比较[分别为(1.00 ± 0.20)、(1.00 ± 0.17)、(1.00 ± 0.23)]明显升高($P < 0.01$);与高脂对照组比较,TAK – 242 组小鼠主动脉组织中 TLR4、TNF – α 和 IL – 6 表达水平[分别为(1.23 ± 0.27)、(1.93 ± 0.35)、(1.67 ± 0.30)]均下调($P < 0.05$)。**结论** 高脂饮食可诱导小鼠胰岛素抵抗;胰岛素抵抗状态下,主动脉炎症的发生可能与 TLR4 信号通路活化有关。

关键词: 高脂饮食;胰岛素抵抗;Toll 样受体 4(TLR4);主动脉组织;肿瘤坏死因子 α(TNF – α);白细胞介素 – 6(IL – 6)
中图分类号: R 392 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-0580(2016)11-1480-05 DOI: 10.11847/zgggws2016-32-11-08

Effect of TLR4 on expression of inflammatory cytokine in aortic artery in mice with insulin resistance

RAO Xiao-jiao, YU Man-li, ZHU Xiao-bo, et al (*Key Laboratory of Clinical Diagnostics, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei Province* 075000, China)

Abstract: Objective To investigate the role of Toll-like receptor (TLR4) in insulin resistance and the effect of TLR4 on inflammatory cytokine expression in aortic artery in mice with insulin resistance (IR). **Methods** Forty-five male C57BL/6 mice (21 days old) were randomly divided into three groups (15 in each group): a control group fed with basic diet (low fat diet, LFD), a high fat diet control group (HFD-C) and a TAK-242 treatment group (HFD-T) both fed with high fat diet. Seven months after the treatments, glucose tolerance test (GTT) and insulin tolerance test (ITT) were performed in all the mice. After the establishment of IR model, the mice of HFD-T group were injected intraperitoneally with TLR4 inhibitor TAK-242 twice a week for five consecutive months. All the mice were sacrificed and

* **基金项目:** 河北省自然科学基金(C2011405015);河北北方学院创新人才培育项目(CXRC1316)
作者单位: 河北北方学院 临床检验诊断学重点实验室,河北 张家口 075000
作者简介: 饶小娇(1984 –),女,湖北云梦人,硕士在读,研究方向:脂代谢障碍相关疾病的分子机制与临床应用。
通讯作者: 常晓彤,E-mail: changxt1212@vip.sina.com
数字出版日期: 2016 – 10 – 18 14:53
数字出版网址: http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20161018.1453.006.html

their serum and aortic artery tissue samples were collected after underwent GTT and ITT by the end of the treatments. The expressions of TLR4, tumor necrosis factor α (TNF-α) and interleukin-6 (IL-6) in aortic artery tissue were determined using real-time quantitative PCR (RT-PCR). Automatic biochemical analyzer was used to detect serum total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and triglyceride (TG) levels. **Results** Compared with the mice of LFD group, those of HFD group showed significantly higher body weight (30.05 ± 1.67 vs. 28.29 ± 1.30 grams, $P < 0.05$), impaired glucose regulation, and decreased insulin sensitivity seven months after the treatment; five months after the TAK-242 intervention, the glucose tolerance and insulin sensitivity of HFD-T group were improved compared with those of the HFD-C group. The serum TG, TC, LDL-C, and HDL-C were significantly increased in the mice of HFD-T and HFD-C group compared to those in the mice of LFD ($P < 0.05$ for all); however, there were no significant differences in serum TG, TC, LDL-C, and HDL-C between HFD-T and HFD-C group. RT-PCR results revealed significantly higher expressions of TLR4 (1.91 ± 0.32 vs. 1.00 ± 0.20), TNF-α (2.71 ± 0.52 vs. 1.00 ± 0.17), and IL-6 (3.24 ± 0.41 vs. 1.00 ± 0.23) in aortic artery tissues of HFD-C group compared to those of the LFD group ($P < 0.01$ for all) and down-regulated expressions of TLR4 (1.23 ± 0.27), TNF-α (1.93 ± 0.35), and IL-6 (1.67 ± 0.30) in aortic artery tissues of HFD-T group compared with those of HFD-C group. **Conclusion** High fat diet could induce insulin resistance in mice. The inflammatory reaction of aortic artery may be associated with the activation of TLR4 signaling pathway in mice with insulin resistance.

Key words: high fat diet; insulin resistance; Toll like receptor 4; aortic artery tissues; tumor necrosis factor α; interleukin-6

胰岛素抵抗是肥胖的一个重要特征,肥胖相关的胰岛素抵抗是 2 型糖尿病等多种疾病起始进程的早期事件。研究表明,肥胖和 2 型糖尿病患者呈现系统低度炎症,而低度炎症状态可能是导致胰岛素抵抗的一个重要原因[1]。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)属于天然免疫中的模式识别受体,能够识别微生物进化过程中的保守结构即病原相关分子模式。TLR4 为 TLRs 家族的成员之一,可表达于多种细胞中,包括免疫细胞和内皮细胞、上皮细胞等。脂多糖是其最主要的配体之一,在细胞外,相应配体与 TLR4 结合,依次活化髓样分化因子 88(myeloid differentiation factor88, MyD88)、白介素 - 1(interleukin-1, IL-1)受体相关激酶(IL-1 receptor-associated kinase, IRAK)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6(tumor necrosis factor-receptor association factor 6, TRAF6), TRAF6 再活化核因子 - κB(nuclear factor, NF-κB)抑制物激酶(inhibitor of NF-κB kinases, IKKs),进而激活 NF-κB 和丝裂原激活蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号转导通路,诱导产生炎性细胞因子,启动对病原生物的应答[2]。研究发现,TLR4 信号不仅在应答病原生物入侵的天然免疫中发挥作用,还参与许多无菌的慢性炎症性疾病[3-4]。近期有研究发现,来源于营养和代谢的饱和非酯化脂肪酸(non esterified fatty acid, NEFA)可能也参与了 TLR4 的活化[5]。流行病学研究发现,肥胖相关的胰岛素抵抗在心血管疾病中的发生率不断攀升[6],胰岛素抵抗增加了冠状动脉粥样硬化性心脏病的风险,可能与胰岛素抵抗导致内皮细胞功能异常有关[7-8]。本研究通过建立高脂饮食诱导的胰岛素抵抗小鼠模型,给予胰岛素抵抗小鼠 TLR4 抑制剂 TAK-242 进行干预,观察小鼠主动脉组织 TLR4 表达及下游细胞因子肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor α, TNF-α)和 IL-6 表达变化,旨在探讨 TLR4、动脉血管炎症与胰岛素抵抗的相关性。

1　材料与方法

1.1　*实验动物*　Specific pathogen free(SPF)级、雄性 C57BL/6 小鼠 45 只,出生 21 d(3 周龄),刚断乳,体重(12.4 ± 0.6) g,购自北京大学医学部实验动物科学部,许可证号 SCXK(京)2012 - 0004。饲养条件:温度 20 ~ 24 ℃、相对湿度 50% ~ 60%、光照节律为明/暗 12 h 交替、自由摄食、饮水。

1.2　*主要仪器与试剂*　倍易型血糖仪(美国强生公司); Fresco 21 型低温高速离心机、NanoDrop 2000 分光光度计(美国 Thermo 公司);荧光定量 PCR 仪(德国 QIAGEN 公司);75S/00771 型凝胶成像系统(美国 Bio-RaTd 公司);7600 - 110 全自动生化分析仪(日本日立公司)。TAK-242(上海皓元生物科技有限公司);胰岛素(江苏万邦生化医药有限公司);强生血糖试纸(上海强生医疗器械有限公司);生化指标检测试剂盒(日本第一化学药品株式会社);实时荧光定量 PCR 试剂(北京天根生化科技有限公司)。采用 Primer 5.0 软件设计引物,由 Invitrogen 公司合成。内参基因三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)(扩增片段长度 107 bp):上游引物 5′-TGTTTCCTCGTCCCGTAG-3′,下游引物 5′-CAATCTCCACTTTGCCACT-3′;TLR-4 基因(扩增片段长度 172 bp):上游引物 5′-TTTATTCAGAGCCGTTGG-3′,下游引物 5′-TCCCATTCCAGGTAGGTG-3′;IL - 6 基因(扩增片段长度 179 bp):上游引物 5′-TGCCTTCTTGGGACTGAT-

3′,下游引物 5′-CCATTGCACAACTCTTTTC-3′;TNF-α 基因(扩增片段长度 159 bp):上游引物 5′-CCACCATCAAGGACTCAAAT-3′;下游引物 5′-GGGAAGAATCTGGAAAGGTC-3′。

1.3　分组与处理　45 只小鼠用基础饲料适应性饲养 3 d 后,于第 4 天(出生 25 d),随机分为 3 组,每组 15 只。对照组:予以普通基础饲料喂养;高脂对照组与 TAK-242 组给予高脂饲料喂养。基础饲料和高脂饲料由河北北方学院动物室提供[9]。小鼠胰岛素抵抗模型建立后,对照组小鼠继续以基础饲料喂养;高脂对照组小鼠继续以高脂饲料喂养,TAK-242组小鼠给予高脂饲料同时腹腔注射 TLR4 抑制剂 TAK-242(0.5 mg/kg)。对照组和高脂对照组小鼠腹腔注射等体积生理盐水,2 次/周,连续 5 个月。

1.4　指标与方法

1.4.1　葡萄糖耐量实验(glucose tolerance test, GTT)　小鼠禁食不禁水 12 h 后,称重,尾静脉采血,测空腹血糖值;然后按照每 kg 体重 2 g 葡萄糖剂量腹腔注射 50% 葡萄糖注射液,应用血糖仪分别测量 30、60、90、120 min 血糖值。

1.4.2　胰岛素耐量实验(insulin tolerance test, ITT)　小鼠行 GTT 后,间隔 1 周,进行 ITT 实验;小鼠禁食不禁水 12 h,测定小鼠体重,尾静脉取血,测量空腹血糖值,然后按体重腹腔注射葡萄糖(2 g/kg),随后按 0.75 U/kg 剂量腹腔注射胰岛素,应用血糖仪分别测量 15、30、60、90 和 120 min 血糖值。

1.4.3　生化指标检测　禁食不禁水 12 h,称重,乙醚麻醉小鼠,眼眶后静脉丛采集血液置于 ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) - K_2 抗凝试管中;颈椎脱臼处死小鼠,测量身长;分离血清,采用全自动生化分析仪测定甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)含量。

1.4.4　主动脉组织中 TLR4、TNF-α 和 IL-6 mRNA 表达检测:　(1)主动脉组织采集:小鼠处死后,75% 酒精消毒小鼠,置于冰上;打开胸腔及腹腔,充分暴露心脏,用生理盐水灌注;剥离心脏和主动脉,分离主动脉(明显看到主动脉弓上的 3 个分支)直至骼主动脉分支处,取出动脉,立即放入冻存管中,于液氮中保存。(2)总 RNA 提取及鉴定:采用 Trizol 法提取小鼠主动脉组织中总 RNA,进行 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,计算 RNA 纯度。(3)逆转录 cDNA 合成:采用 Fast Quant RT cDNA 第一链合成试剂盒进行总 RNA 逆转录。去除基因组 DNA(gDNA)反应体系为 10 μL:5 × g DNA Buffer 2 μL、总 RNA 样本 1 μL(含 RNA 500 ng)、RNase-free-ddH_2O 7 μL,42 ℃孵育 3 min 后,置于冰上。逆转录反应体系为 10 μL:10 × Fast RT buffer 2 μL、RT Enzyme Mix 1 μL、FQ-RT Primer Mix 2 μL、RNase-free ddH_2O 5 μL。将 2 体系混合,42 ℃孵育 15 min;95 ℃孵育 3 min 后放于冰上,得到的 cDNA 产物稀释 15 倍用于实时荧光定量 PCR 实验。(4)荧光定量 PCR 实验:采用 SuperReal PreMix Plus 预混试剂盒推荐的 20 μL 反应体系:2 × SuperReal PreMix Plus 10 μL、forward primer(10 μmol/L) 1.0 μL、reverse primer(10 μmol/L) 1.0 μL、cDNA 模板 1 μL、RNase-free ddH_2O 7.0 μL;反应条件:95 ℃ 预变性 15 min;95 ℃变性 10 s,60 ℃ 退火 20 s,72 ℃延伸 31 s,共 40 个循环。GAPDH 为内参基因,同时设无模板的 PCR 反应体系作为阴性对照。同一标本设 3 个复管。(5)数据处理:采用 $2^{-\triangle\triangle CT}$法进行分析,△Ct = Ct(目的基因) - Ct(内参基因),△△cycle threshold(Ct) = △Ct(实验组) - △Ct(对照组),目的基因相对表达量 = $2^{-\triangle\triangle CT}$。

1.5　统计分析　计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,2 组数据比较采用独立样本 t 检验,多组数据比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$为差异有统计学意义。

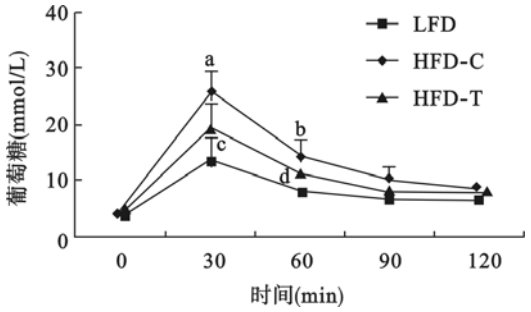
2　结　果

2.1　高脂饮食诱导胰岛素抵抗小鼠模型建立　各组小鼠生长良好,进食量无明显差异;高脂饲料喂养 7 个月时,高脂组小鼠体重[(35.09 ± 1.02) g]明显高于对照组[(31.47 ± 1.36) g],差异有统计学意义($P < 0.05$)。GTT 结果显示,给药前对照组与高脂组小鼠空腹血糖无明显差异;与对照组比较,高脂组小鼠腹腔注射葡萄糖后 30、60 min 血糖明显升高($P < 0.01$),90、120 min 时血糖仍高于对照组($P < 0.05$)。提示高脂饮食持续喂养,可致小鼠糖调节能力受损。ITT 结果显示,高脂组小鼠血糖水平在注射葡萄糖后 15 min 时维持在较高水平,明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。提示高脂组小鼠胰岛素敏感性明显低于对照组。

2.2　TAK-242 对胰岛素抵抗小鼠葡萄糖耐量及胰岛素耐量影响

2.2.1　TAK-242 对胰岛素抵抗小鼠葡萄糖耐量影响(图 1)　GTT 结果显示,3 组小鼠空腹血糖值无明显差异;给予葡萄糖后 30、60 min 时,高脂对照组与 TAK-242 组小鼠血糖值均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$);与高脂对照组比较,TAK-242 组小鼠在葡萄糖负荷后 30、60

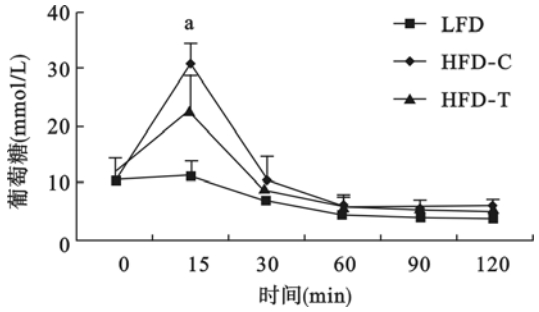
min 的血糖值均降低，差异有统计学意义（$P<0.01$ 或 $P<0.05$）。提示，TAK-242 能改善小鼠葡萄糖调节能力。



注：$n=15$；与对照组比较，a $P<0.01$，b $P<0.05$；与高脂对照组比较，c $P<0.01$，d $P<0.05$。

图 1　TAK-242 对胰岛素抵抗小鼠葡萄糖耐量影响

2.2.2　TAK-242 对胰岛素抵抗小鼠胰岛素耐量影响（图 2）　ITT 结果显示，3 组小鼠血糖值无明显差异（$P>0.05$）；注射胰岛素后，在 15 min 监测点，高脂对照组小鼠血糖值明显高于对照组小鼠（$P<0.01$）；TAK-242 组小鼠血糖值低于高脂对照组，但差异无统计学意义（$P>0.05$）。提示 TAK－242 组小鼠胰岛素敏感性有所改善。



注：$n=15$；与对照组比较，a $P<0.01$。

图 2　TAK－242 对胰岛素抵抗小鼠胰岛素耐量影响

2.3　TAK-242 对胰岛素抵抗小鼠生化指标影响（表 1）　与对照组比较，高脂对照组和 TAK-242 组小鼠血清 TC、LDL-C 和 HDL-C 水平均明显升高（$P<0.01$），高脂对照组小鼠 TG 水平明显升高（$P<0.01$）；高脂组与 TAK-242 组之间小鼠血清中各生化指标无明显差异。

2.4　TAK-242 对胰岛素抵抗小鼠主动脉组织中 TLR4、TNF-α 和 IL-6 mRNA 表达影响（表 2）　结果显示，高脂对照组小鼠主动脉组织中 TLR4、TNF-α 和 IL-6 mRNA 表达均高于对照组（$P<0.01$）。提示高脂饮食喂养可促进动脉组织中 TLR4 及下游炎症因子的表达。TAK-242 组小鼠主动脉组织中 TLR4、TNF-α 及 IL-6 mRNA 表达明显低于高脂对照组（$P<0.05$ 或 0.01）。提示 TAK-242 可通过下调 TLR4 mRNA 表达，降低胰岛素抵抗小鼠主动脉炎性细胞因子 TNF-α 和 IL-6 mRNA 表达。

表 1　TAK－242 对胰岛素抵抗小鼠生化指标影响（mmol/L，$\bar{x}\pm s$，$n=15$）

组别	TC	HDL-C	LDL-C	TG
对照组	2.18 ± 0.315	1.72 ± 0.316	0.23 ± 0.035	0.15 ± 0.052
高脂对照组	2.72 ± 0.449[a]	2.03 ± 0.364[a]	0.39 ± 0.114[a]	0.26 ± 0.139[a]
TAK－242 组	3.26 ± 0.109[a]	2.47 ± 0.079[a]	0.52 ± 0.061[a]	0.22 ± 0.031[b]

注：与对照组比较，a $P<0.01$，b $P<0.05$。

表 2　TAK－242 对胰岛素抵抗小鼠主动脉中 TLR4 等因子表达影响（$\bar{x}\pm s$，$n=15$）

组别	TLR4	TNF－α	IL－6
对照组	1.00 ± 0.20	1.00 ± 0.17	1.00 ± 0.23
高脂对照组	1.91 ± 0.32[a]	2.71 ± 0.52[a]	3.24 ± 0.41[a]
TAK－242 组	1.23 ± 0.27[b]	1.93 ± 0.35[c]	1.67 ± 0.30[b]

注：与对照组比较，a $P<0.01$；与高脂对照组比较，b $P<0.05$，c $P<0.01$。

3　讨　论

肥胖现已成为全球性公共卫生问题[10]，肥胖相关的胰岛素抵抗是导致多种代谢异常的关键环节，与 2 型糖尿病、动脉粥样硬化等疾病的发生、发展密切相关。但肥胖诱导胰岛素抵抗的分子机制尚不明确，可能与天然免疫信号转导通路活化致炎症反应增强有关[11－12]。本研究结果显示，高脂饲料喂养 7 个月后，小鼠糖耐量、胰岛素耐量均低于正常饲料组。与已有研究结果[13－14]相似。提示成功建立胰岛素抵抗模型。

TLR4/NF-κB 和 TLR4/MAPK 信号通路在多级水平上可与胰岛素信号通路交联。有研究证实，TLR4 在许多胰岛素作用的靶细胞有表达[15]，包括肝脏、脂肪组织、肌肉组织、胰岛 β 细胞和脑组织[16－18]等。游离脂肪酸（free fatty acid，FFA）和脂多糖均是 TLR4 有效的配体。FFA 是 TLR4 最主要的内源性配体，肥胖可使游离脂肪酸含量升高，激活 TLR4[5]；脂多糖是革兰氏阴性细菌的外膜成分，在高脂饮食时肠道微生物群和肠壁的通透性发生改变，肠道细菌产生脂多糖增多，移位至体循环，也可活化 TLR4[19]。TLR4 的活化，可引起下游信号 MAPK 和 NF-κB 激活，产生炎性细胞因子 TNF-α 和 IL-6[20]等，后者可通过抑制胰岛素受体底物-1（insulin receptor substrate-1，IRS-1）丝氨酸磷酸化和促进 IRS-1 酪氨酸磷酸化双重机制引起 IRS-1 失活抑制胰岛素信号通路[21－22]。

TAK-242 为环乙烯的衍生物，是一种小分子 TLR4 特异性抑制剂[23]。本研究结果表明，持续应用小剂量 TAK-242，可明显改善高脂饲料诱导的胰

岛素抵抗小鼠的糖耐量和胰岛素抵抗状态;与对照组比较,高脂饮食诱导的胰岛素抵抗小鼠血清 TG 水平明显升高。提示 TLR4 可能参与了高脂饲料诱导的小鼠胰岛素抵抗过程,推测 TLR4 的活化可能与高脂饮食状态下 FFA 的积累和脂多糖移位体循环有关[5,19]。动脉粥样硬化呈现低度炎症反应,而胰岛素抵抗又可增加冠状动脉粥样硬化性心脏病风险。Zhang 等[24]在 Long Evans 大鼠皮下埋植缓慢释放 TAK-242 胶囊,发现持续给予 TAK-242 能改善高脂饮食大鼠外周组织的胰岛素抵抗状态,但并不能改善肝脏组织的胰岛素抵抗。另有研究表明,脂多糖能够诱导主动脉平滑肌细胞表达 TLR4,维生素 D 可通过下调心肌组织 TLR4 的表达及相关的 MyD88 和 NF-κB 信号通路对大鼠的心血管产生保护作用[25]。本研究结果显示,高脂饮食诱导的胰岛素抵抗小鼠主动脉组织中 TLR4 及 TLR4 信号转导通路下游的炎性细胞因子 TNF-α 和 IL-6 mRNA 表达明显高于对照组;TAK-242 干预后,小鼠主动脉组织中 TLR4 及 TNF-α 和 IL-6 mRNA 表达均下调。提示胰岛素抵抗状态下,主动脉组织中 TLR4 被活化,上调炎症因子 TNF-α 和 IL-6 表达,可能与动脉炎症的发生有关。有研究显示,胰岛素能够通过抑制炎症,增加动脉粥样斑块的稳定性,应用小剂量胰岛素可减少脂质沉积、降低血清中 TNF-α 和 IL-6 水平、减少泡沫细胞形成,其机制与 TLR4-MyD88-NF-κB 信号转导通路相关[24]。

参考文献

[1] Könner AC, Brüning JC. Toll-like receptors: linking inflammation to metabolism[J]. Trends Endocrinol Metab, 2011, 22(1): 16 – 23.

[2] 常晓彤,辇晓峰,王振辉. Toll 样受体信号转导途径研究进展[J]. 生理科学进展, 2011, 42(5): 340 – 346.

[3] Gárate I, García-Bueno B, Madrigal JL, et al. Toll-like 4 receptor inhibitor TAK-242 decreases neuroinflammation in rat brain frontal cortex after stress[J]. J Neuroinflammation, 2014, 11(8): 1 – 14.

[4] Tian L, Wen Q, Dang X, et al. Immune response associated with Toll-like receptor 4 signaling pathway leads to steroid-induced femoral head osteonecrosis[J]. BMC Musculoskeletal Disorders, 2014, 15(18): 1 – 12.

[5] Hussey SE, Liang H, Costford SR, et al. TAK-242, a small-molecule inhibitor of Toll-like receptor 4 signalling, unveils similarities and differences in lipopolysaccharide- and lipid-induced inflammation and insulin resistance in muscle cells[J]. Biosci Rep, 2012, 33(1): 37 – 47.

[6] Poirier P, Giles TD, Bray GA, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism[J]. Circulation, 2006, 113(6): 898 – 918.

[7] Verhagen SN, Wassink AM, van der Graaf Y, et al. Insulin resistance increases the occurrence of new cardiovascular events in patients with manifest arterial disease without known diabetes. The SMART study[J]. Cardiovasc Diabetol, 2011, 10(100): 1 – 9.

[8] Muniyappa R, Sowers JR. Role of insulin resistance in endothelial dysfunction[J]. Rev Endocr Metab Disord, 2013, 14(1): 5 – 12.

[9] 徐云鹏,王文栋,郝敏,等. 高脂饮食对幼年大鼠小肠组织 FABP2mRNA 表达的影响[J]. 卫生研究, 2014, 43(5): 749 – 753.

[10] Heiker JT. Vaspin(serpin A12) in obesity, insulin resistance, and inflammation[J]. J Pept Sci, 2014, 20(5): 299 – 306.

[11] Ceppo F, Jager J, Berthou F, et al. Implication of MAP kinases in obesity-induced inflammation and insulin resistance[J]. Biol Aujourdhui, 2014, 208(2): 97 – 107.

[12] Bunner AE, Chandraseker PC, Barnard ND. Knockout mouse models of insulin signaling: relevance past and future[J]. World J Diabetes, 2014, 5(2): 146 – 159.

[13] 刘金凤,董焕生,潘庆杰,等. 食源性肥胖小鼠胰岛素抵抗模型的建立[J]. 青岛农业大学学报:自然科学版, 2014, 31(2): 91 – 94.

[14] Rancoule C, Attané C, Grès S, et al. Lysophosphatidic acid impairs glucose homeostasis and inhibits insulin secretion in high-fat diet obese mice[J]. Diabetologia, 2013, 56(6): 1394 – 1402.

[15] Kim JJ, Sears DD. TLR4 and insulin resistance[J]. Gastroenterol Res Pract, 2010, 2010(212563): 1 – 11.

[16] Reyna SM, Ghosh S, Tantiwong P, et al. Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects[J]. Diabetes, 2008, 57(10): 2595 – 2602.

[17] Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid induced insulin resistance[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2006, 116(11): 3015 – 3025.

[18] Tsukumo DM, Carvalho-Filho MA, Carvalheira JB, et al. Loss-of function mutation in Toll-like receptor 4 prevents diet-induced obesity and insulin resistance[J]. Diabetes, 2007, 56(8): 1986 – 1998.

[19] Liang H, Hussey SE, Sanchez-Avila A, et al. Effect of lipopolysaccharide on inflammation and insulin action in human muscle[J]. PLoS One, 2013, 8(5): 1 – 8.

[20] Ii M, Matsunaga N, Hazeki K, et al. A novel cyclohexene derivative, ethyl(6R)-6-[N-(2-Chloro-4-fluorophenyl) sulfamoyl] cyclohex-1-ene-1-carboxylate(TAK-242), selectively inhibits toll-like receptor 4-mediated cytokine production through suppression of intracellular signaling[J]. Mol Pharmacol, 2006, 69(4): 1288 – 1295.

[21] Patel P, Abate N. Body fat distribution and insulin resistance[J]. Nutrients, 2013, 5(6): 2019 – 2027.

[22] Capurso C, Capurso A. The role of free fatty acids from excess adiposity to insulin resistance[J]. Vascul Pharmacol, 2012, 57(2 – 4): 91 – 97.

[23] Leon CG, Tory R, Jia J, et al. Discovery and development of toll-like receptor 4(TLR4) antagonists: a new paradigm for treating sepsis and other diseases[J]. Pharm Res, 2008, 25(8): 1751 – 1761.

[24] Zhang N, Liang H, Farese RV, et al. Pharmacological TLR4 inhibition protects against acute and chronic fat-induced insulin resistance in rats[J]. PLoS One, 2015, 10(7): 1 – 14.

[25] 刘志远,李玉东,张金盈. 维生素 D 对大鼠心血管保护作用及机制[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(8): 1099 – 1121.

收稿日期: 2016-06-22　　(解学魁编辑　郑新校对)

中国公共卫生 CPH