

调控 Toll 样受体 2/ 核转录因子 κ B 信号通路对呼吸机相关性肺损伤大鼠的影响

傅瑞丽 潘灵辉 林飞 葛万运 黄翠源 戴惠军

【摘要】 目的 观察 Toll 样受体 2/ 核转录因子 κ B (TLR2/NF- κ B) 信号通路预处理在呼吸机相关性肺损伤 (VILI) 中的作用。**方法** 将 30 只雄性 SD 大鼠按随机数字表法分为 3 组, 每组 10 只。A 组: 经气管导管缓慢滴入 10 μ g/kg TLR2 单克隆抗体 (TLR2-mAb) 200 μ L 干预后, 40 mL/kg 潮气量 (V_T) 行机械通气; B 组: 8 mL/kg V_T 行机械通气; C 组: 滴入 10 μ g/kg 无生物学活性的 TLR2-mAb 作为同型抗体干预后, 40 mL/kg V_T 行机械通气。于通气 4 h 计算肺湿/干质量 (W/D) 比值, 镜下观察肺组织病理学及细胞超微结构改变; 用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血清和支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中白细胞介素 (IL-1 β 、IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平; 用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测肺组织 TLR2、NF- κ B 及髓样分化因子 88 (MyD88) 的 mRNA 表达。**结果** 显微镜下观察显示: A、B 组肺组织无明显病理学改变, 肺泡巨噬细胞、I 型和 II 型肺泡上皮细胞超微结构无明显损伤; C 组可见明显肺泡腔融合, 肺间隔增宽, 大量炎性细胞聚集, 肺泡巨噬细胞、I 型和 II 型肺泡上皮细胞胞膜破坏, 胞质大量空泡化, 细胞器破坏严重, 细胞核固缩, 核周隙明显增宽。A、B 组肺 W/D 比值以及血清和 BALF 中炎症细胞因子水平均较 C 组明显降低 [肺 W/D 比值: 1.151 ± 0.026 、 1.128 ± 0.048 比 1.403 ± 0.062 ; 血清 IL-1 β (ng/L): 37.05 ± 5.61 、 34.52 ± 4.31 比 51.45 ± 8.18 , IL-6 (ng/L): 53.65 ± 5.16 、 55.77 ± 5.62 比 89.96 ± 7.08 , TNF- α (ng/L): 71.93 ± 13.29 、 67.36 ± 11.42 比 96.20 ± 11.60 ; BALF 中 IL-1 β (ng/L): 56.48 ± 6.16 、 54.44 ± 7.26 比 99.77 ± 8.41 , IL-6 (ng/L): 172.44 ± 21.26 、 163.47 ± 18.70 比 216.22 ± 23.90 , TNF- α (ng/L): 235.81 ± 42.75 、 231.72 ± 40.38 比 374.85 ± 69.61 , 均 $P < 0.01$], 而 A 组与 B 组上述指标差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。A、B 组肺组织 TLR2、MyD88 和 NF- κ B 的 mRNA 表达均明显低于 C 组 [TLR2 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 1.021 ± 0.287 、 0.938 ± 0.196 比 3.862 ± 0.871 , MyD88 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 1.235 ± 0.277 、 1.300 ± 0.306 比 3.618 ± 1.107 , NF- κ B mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.519 ± 0.036 、 1.043 ± 0.170 比 20.280 ± 9.466 , $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$], 而 A 组与 B 组上述因子基因表达差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。**结论** TLR2-mAb 预处理通过阻断 TLR2/NF- κ B 信号通路可减轻 VILI 模型大鼠炎症细胞因子的释放, 在一定程度上减轻 VILI。

【关键词】 呼吸机相关性肺损伤; Toll 样受体 2; 单克隆抗体; 炎症细胞因子; 核转录因子 κ B; 髓样分化因子 88

The impacts of regulating Toll-like receptor 2/nuclear factor- κ B signal pathway on rats with ventilator-induced lung injury Fu Ruili, Pan Linghui, Lin Fei, Ge Wanyun, Huang Cuiyuan, Dai Huijun. Department of Anesthesiology, the Affiliated Tumor Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China
Corresponding author: Pan Linghui, Email: plinghui@hotmail.com

【Abstract】 Objective To evaluate the role of Toll-like receptor 2/nuclear factor- κ B (TLR2/NF- κ B) signaling pathway pretreatment in ventilator-induced lung injury (VILI). **Methods** Thirty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups by using random number scale, with 10 rats in each group. Group A: rats were given 200 μ L of TLR2 monoclonal antibodies (TLR2mAb, 10 μ g/kg) by slow instillation through tracheal catheter, and then ventilated with a high tidal volume (V_T) of 40 mL/kg. Group B: ventilated with a normal V_T of 8 mL/kg. Group C: rats were tracheally instilled with 10 μ g/kg of TLR2mAb devoid of biologic activity, and then ventilated with a high V_T of 40 mL/kg. The rats were mechanically ventilated for 4 hours, the lung wet to dry weight ratio (W/D) was calculated. The changes in pathology and ultrastructure in lung tissue were observed with microscope. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to determine the concentration of interleukins (IL-1 β , IL-6) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF). Real-time fluorescent quantitation

reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to assess the mRNA expressions of TLR2, NF- κ B and myeloid differentiation factor 88 (MyD88) in lung tissue. **Results** No obvious pathological changes in lungs were found in group A and group B, and no obvious damages to ultra-microstructure were found in lung macrophages, type I epithelial cell and type II epithelial cell. In group C, pathological changes were observed, including pulmonary alveoli fusion, alveoli septum thickening, inflammatory cells infiltration, and damages to ultrastructure of lung macrophage, damage to cell membrane of type I epithelial cells and type II epithelial cells, vacuoles in cytoplasm, damage to organelle, and even pyknosis and perinuclear cistern thickening. Compared with group C, W/D ratio and mean concentration of inflammatory cytokines in serum and BALF showed a significant decrease in group A and B [W/D ratio: 1.151 ± 0.026 , 1.128 ± 0.048 vs. 1.403 ± 0.062 ; concentration of IL- 1β in serum (ng/L): 37.05 ± 5.61 , 34.52 ± 4.31 vs. 51.45 ± 8.18 ; concentration of IL-6 in serum (ng/L): 53.65 ± 5.16 , 55.77 ± 5.62 vs. 89.96 ± 7.08 ; concentration of TNF- α in serum (ng/L): 71.93 ± 13.29 , 67.36 ± 11.42 vs. 96.20 ± 11.60 ; concentration of IL- 1β in BALF (ng/L): 56.48 ± 6.16 , 54.44 ± 7.26 vs. 99.77 ± 8.41 ; concentration of IL-6 in BALF (ng/L): 172.44 ± 21.26 , 163.47 ± 18.70 vs. 216.22 ± 23.90 ; concentration of TNF- α in BALF (ng/L): 235.81 ± 42.75 , 231.72 ± 40.38 vs. 374.85 ± 69.61 , all $P < 0.01$], but there were no significant differences between group A and group B (all $P > 0.05$). The mRNA expressions of TLR2, MyD88, and NF- κ B were significantly decreased in group A and group B compared with those in group C [TLR2 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 1.021 ± 0.287 , 0.938 ± 0.196 vs. 3.862 ± 0.871 ; MyD88 mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 1.235 ± 0.277 , 1.300 ± 0.306 vs. 3.618 ± 1.107 ; NF- κ B mRNA ($2^{-\Delta\Delta Ct}$): 0.519 ± 0.036 , 1.043 ± 0.170 vs. 20.280 ± 9.466 , $P < 0.05$ or $P < 0.01$], but there was no significant difference among the parameters mentioned above between group A and B (all $P > 0.05$). **Conclusion** To some extent, pre-intervention with TLR2mAb to block the TLR2/NF- κ B signal pathway can inhibit the release of pro-inflammatory factors, and regulate the VILI.

【Key words】 Ventilator-induced lung injury; Toll-like receptor 2; Monoclonal antibody; Inflammatory; Nuclear factor- κ B; Myeloid differentiation factor 88

机械通气是急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征 (ALI/ARDS) 的一种重要生命支持疗法,应用不当会发生呼吸机相关性肺损伤 (VILI)^[1],表现为肺泡巨噬细胞、I 型和 II 型肺泡上皮细胞的炎症损伤并释放白细胞介素 (IL- 1β 、IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 等炎症介质^[2-7],进而导致肺泡破裂、肺间质水肿、肺组织实变等。Toll 样受体 (TLR) 是细胞表面的跨膜蛋白,能够特异性识别病原相关分子模式^[8-12],同时可以识别组织释放的内源性配体^[13-15],已成为近年研究 VILI 发病机制的热点。本课题组前期研究表明,TLR2 参与了 VILI 的发生发展^[16]。为进一步探讨 TLR2 在 VILI 发病中的作用机制,本研究拟采用 TLR2 单克隆抗体 (TLR2-mAb) 预处理,观察其对 VILI 中 TLR2/核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 主要实验仪器及试剂: TOPO 型小动物呼吸机 (美国 KENT 公司), Roche 480 荧光聚合酶链反应 (PCR) 扩增仪 (德国 Roche 公司), Multiskan MK3 酶标仪 (德国 Thermo Scientific 公司); IL- 1β 、IL-6、TNF- α 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒 (欣博盛生物科技公司),一步法总 RNA 提取试剂 TRIzol、RNA 反转录试剂盒 (美国赛默飞世尔科技),绿色荧光染料混合物 (德国 Rothe 公司), TLR2、髓样分化

因子 88 (MyD88)、NF- κ B 单克隆抗体 (一抗,美国 ABcam 公司)。

1.2 实验动物分组及模型制备:健康清洁级成年雄性 SD 大鼠 30 只,体质量 250~300 g,由广西医科大学实验动物中心提供,动物合格证号: SCXK (桂) 2013-0001。参照文献[17-18]方法改用大潮气量 (V_T) 机械通气制备 VILI 模型。按照随机数字表法将大鼠分为 3 组,每组 10 只。A 组: TLR2-mAb + 40 mL/kg V_T , B 组: 8 mL/kg V_T , C 组: 无生物学活性的 TLR-mAb 作为同型抗体 + 40 mL/kg V_T 。腹腔注射氯胺酮 100 mg/kg、咪达唑仑 0.2 mg/kg 和阿托品 1.0 mg/kg 麻醉大鼠,行气管插管并固定。股动脉插管用于监测动脉压;股静脉插管输注生理盐水,维持肛温在 37.3~38.3 °C。插管成功后, A、B 组经气管导管缓慢滴入 10 μ g/kg 药物 200 μ L 干预 1 h,然后经股静脉注射维库溴铵 0.1 mg/kg,待自主呼吸消失后连接呼吸机进行机械通气 4 h。通气参数: 吸呼比 (I:E) 为 1:1,呼吸频率 (f) 80 次/min,吸入氧浓度 (FiO₂) 0.50,呼气末正压 (PEEP) 为 0。腹腔内导管持续输注氯胺酮 36 mL·kg⁻¹·h⁻¹、右美托咪定 0.04 mL·kg⁻¹·h⁻¹、阿托品 0.075 mL·kg⁻¹·h⁻¹ 维持麻醉。

本实验动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 标本制备:大鼠机械通气 4 h 后开胸结扎左

肺,灌洗右肺并回收支气管肺泡灌洗液(BALF),离心取上清;左心室穿刺抽血,离心取血清;左心室放血处死大鼠后取肺组织,均于 -80°C 冻存备检。

1.3.2 肺湿/干质量(W/D)比值:大鼠处死后分离左肺下叶,滤纸吸干表面水分,称湿质量, 80°C 烘干箱放置 48 h,称干质量,计算肺 W/D 比值。

1.3.3 肺组织病理学观察:取左肺上叶肺尖组织约 $1\text{ mm}\times 1\text{ mm}\times 1\text{ mm}$,3% 戊二醛固定,梯度丙酮脱水,环氧树脂包埋,切片,铀-铅染色,透射电镜下观察肺组织超微结构。余下左肺上叶组织用 4% 多聚甲醛浸泡固定 48 h,石蜡包埋切片,苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察肺组织病理学改变。

1.3.4 血清、BALF 中炎症细胞因子检测:IL-1 β 、IL-6、TNF- α 检测步骤参照 ELISA 试剂盒说明书。

1.3.5 反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测肺组织 TLR2、NF- κ B 及 MyD88 的 mRNA 表达:提取肺组织总 RNA,浓度为 1.8~2.0, -80°C 冻存。取 2 μg 总 RNA,反转录获取 cDNA,行实时荧光定量 PCR。TLR2、NF- κ B、MyD88 和内参三磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)引物均由南京金瑞斯生物科技有限公司合成。PCR 反应体系:绿色荧光染料混合物 12.5 μL ,10 $\mu\text{mol/L}$ 上、下游引物各 1 μL ,cDNA 2 μL ,dH₂O 8.5 μL 。PCR 扩增条件: 95°C 预变性

5 min; 95°C 变性 10 s, 60°C 退火 20 s, 72°C 延伸 30 s,共 45 个循环。采用相对定量法比较各组基因表达的差异($2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值越小,基因表达越低)。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量数据用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用方差分析或 t 检验、SNK 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺 W/D 比值(表 1):A、B 组肺 W/D 比值明显小于 C 组(均 $P<0.01$);而 A 组与 B 组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 炎症细胞因子(表 1):与 C 组比较,A、B 组血清和 BALF 中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均明显下降(均 $P<0.01$);而 A 组与 B 组各炎症因子表达差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。

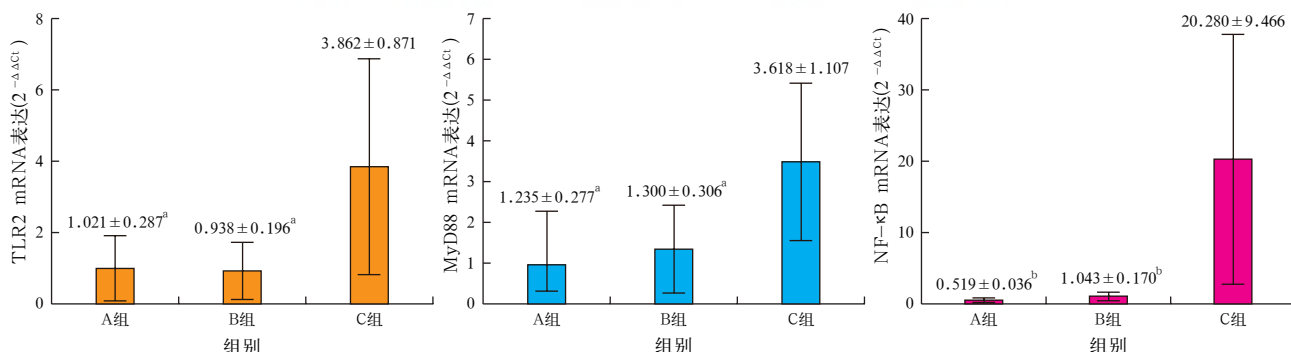
2.3 肺组织 TLR2、NF- κ B 和 MyD88 mRNA 表达(图 1):A、B 组肺组织 TLR2、MyD88、NF- κ B 的 mRNA 表达均明显低于 C 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);而 A 组与 B 组间差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。

2.4 光镜下观察肺组织病理学改变(图 2):A、B 组肺组织病理学改变累计面积小于 10%,肺泡结构和各级支气管上皮完整,肺泡间隔正常,部分区域有少量炎性细胞浸润,未见肺间质水肿及肺泡壁增

表 1 3 组大鼠肺 W/D 比值以及血清和 BALF 中 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数(只)	肺 W/D 比值	血清 (ng/L)			BALF (ng/L)		
			IL-1 β	IL-6	TNF- α	IL-1 β	IL-6	TNF- α
A 组	10	1.151 ± 0.026^a	37.05 ± 5.61^a	53.65 ± 5.16^a	71.93 ± 13.29^a	56.48 ± 6.16^a	172.44 ± 21.26^a	235.81 ± 42.75^a
B 组	10	1.128 ± 0.048^a	34.52 ± 4.31^a	55.77 ± 5.62^a	67.36 ± 11.42^a	54.44 ± 7.26^a	163.47 ± 18.70^a	231.72 ± 40.38^a
C 组	10	1.403 ± 0.062	51.45 ± 8.18	89.96 ± 7.08	96.20 ± 11.60	99.77 ± 8.41	216.22 ± 23.90	374.85 ± 69.61

注:A 组为 Toll 样受体 2 单克隆抗体(TLR2-mAb)干预后给予 40 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h;B 组为 8 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h;C 组为无生物学活性的 TLR2-mAb 作为同型抗体干预后给予 40 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h;肺 W/D 比值为肺湿/干质量比值,BALF 为支气管肺泡灌洗液,IL-1 β 、IL-6 为白细胞介素-1 β 、-6,TNF- α 为肿瘤坏死因子- α ;与 C 组比较, $^aP<0.01$



注:A 组为 Toll 样受体 2 单克隆抗体(TLR2-mAb)干预后给予 40 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h,B 组为 8 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h,C 组为无生物学活性的 TLR2-mAb 作为同型抗体干预后给予 40 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h;MyD88 为髓性分化因子 88,NF- κ B 为核转录因子- κ B;与 C 组比较, $^aP<0.05$, $^bP<0.01$

图 1 实时荧光定量反转录-聚合酶链反应检测各组大鼠肺组织 TLR2、MyD88 和 NF- κ B 的 mRNA 表达

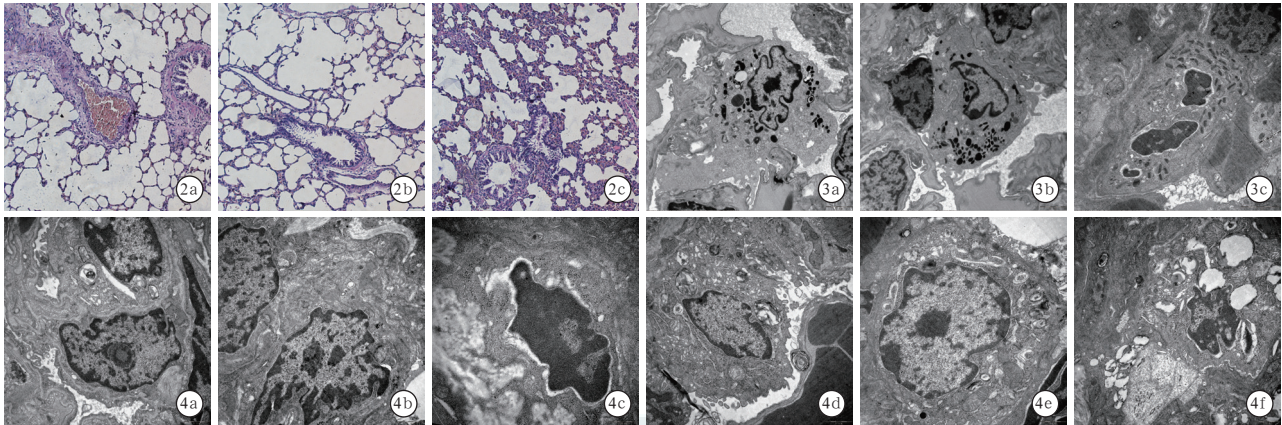


图 2 光镜下观察 3 组大鼠肺组织病理学改变 A 组 (a)、B 组 (b) 肺泡结构清晰, 无水肿, 无炎性细胞及水肿液渗出; C 组 (c) 肺泡间隔明显增宽, 肺泡壁断裂, 肺泡腔融合, 肺毛细血管水肿, 大量炎性细胞渗出 HE 中倍放大 **图 3** 电镜下观察 3 组大鼠肺泡巨噬细胞超微结构改变 A 组 (a)、B 组 (b) 肺泡巨噬细胞膜完整, 伪足明显, 胞质仅见轻微空泡化, 核膜完整, 细胞形态清晰可辨 ($\times 10\,000$); C 组 (c) 肺泡巨噬细胞膜完整但伪足消失, 胞质空泡化明显, 吞噬体增多, 细胞核严重固缩, 核周隙明显增宽, 不能辨认核仁 ($\times 15\,000$) 铀-铅双染 **图 4** 电镜下观察 3 组大鼠肺泡上皮细胞超微结构改变 A 组 (a、d)、B 组 (b、e) 肺泡上皮细胞胞膜完整, 微绒毛明显, 细胞器清晰可辨, 核膜完整, 核仁明显, I 型肺泡上皮细胞 (a、b) 胞质无空泡化, II 型肺泡上皮细胞 (d、e) 胞质仅有轻微空泡化 ($\times 20\,000$); C 组 (c、f) 肺泡上皮细胞膜破裂, 微绒毛消失, 细胞核固缩, 核周隙增宽, I 型肺泡上皮细胞 (c) 胞质结构紊乱, 细胞器破坏严重无法辨认 ($\times 10\,000$), II 型肺泡上皮细胞 (f) 胞质及细胞器严重空泡化, 细胞结构紊乱 ($\times 20\,000$) 铀-铅双染 A 组为 Toll 样受体 2 单克隆抗体 (TLR2-mAb) 干预后给予 40 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h; B 组为 8 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h; C 组为无生物学活性的 TLR2-mAb 作为同型抗体干预后给予 40 mL/kg 潮气量行机械通气 4 h

厚现象。C 组肺组织病理学改变累计面积达 50%, 肺泡结构紊乱, 肺间隔增宽, 肺间质水肿, 肺泡腔融合并有大量炎性细胞聚集。

2.5 透射电镜下观察肺组织超微结构改变

2.5.1 肺泡巨噬细胞 (图 3): A、B 组肺泡巨噬细胞超微结构无明显病理改变, 胞质空泡现象轻微, 核膜、核仁清晰可见; C 组巨噬细胞伪足消失, 胞质空泡现象明显、吞噬体增多, 细胞核固缩, 核周隙明显增宽, 核仁结构不能辨认。

2.5.2 肺泡上皮细胞 (图 4): A、B 组 I 型、II 型肺泡上皮细胞超微结构无明显改变, 细胞膜完整, 细胞器结构清晰可辨, 核膜无断裂、核仁清晰, 仅 II 型肺泡上皮细胞有轻微空泡现象; C 组 I 型、II 型肺泡上皮细胞伪足减少或消失, 胞膜出现断裂, 胞质结构紊乱、空泡化严重、细胞器无法辨认, 细胞核固缩, 核周隙明显增宽, 核仁无法辨认。

3 讨论

TLR 是存在于细胞表面的一种跨膜蛋白, 可以识别病原相关分子模式, 在固有免疫和获得性免疫中均发挥着重要作用^[9,15,19-20]。近年来有研究表明, TLR2 除了主要识别肽聚糖 (PGN)、革兰阳性细菌的脂磷壁酸 (lipoteichoic acid)、脂蛋白和脂肽、酵母多糖等外源性配体外^[20-22], 吕镗烽等^[23]发现, 失血性休克的发生与 TLR 的高表达存在一定关系; 黄栋等^[13,24]研究发现高氧状态导致大鼠 ALI 与 TLR 有

关, 尤其与 TLR2 和 TLR4 的高表达密切相关; 还有研究表明, TLR2 可以识别机体本身由于细胞破坏所释放的内源性配体, 参与机体自身的无菌性炎症反应^[13,23-27]。本课题组前期研究通过设置不同潮气量和通气时间模拟 VILI 模型, 已经证明 TLR2 在 VILI 的发生发展中起到了重要的作用^[16]。

有研究发现, TLR2 参与急性炎症主要是通过 NF- κ B/MyD88 信号通路来实现的^[24-25,28-30], 而阻断该通路对 VILI 的发生发展是否存在相关影响尚未清楚, 为此我们进行了本研究。结果发现: C 组大鼠未阻断 TLR2/NF- κ B/MyD88 信号通路, 在大潮气量下机械通气 4 h 时, 光镜下观察肺组织病理学改变, 可见肺泡壁断裂、肺间隔增宽、肺间质水肿、肺泡腔融合、大量炎性细胞渗出等急性炎症表现; 电镜下观察肺巨噬细胞、I 型和 II 型肺泡上皮细胞超微机构均出现胞膜断裂、细胞伪足减少甚至消失、胞质大量空泡化、胞核固缩、核周隙增宽等改变。结合前期研究结果我们认为, 大潮气量机械通气可以对肺组织产生明显的炎性损伤。A 组大鼠在机械通气前 1 h 给予 TLR2-mAb 预处理, 结果显示可以阻断 TLR2/NF- κ B/MyD88 信号通路, 通气 4 h 时光镜下观察肺组织无明显病理学改变; 肺泡巨噬细胞、I 型和 II 型肺泡上皮细胞超微结构损伤改变轻微, 说明 TLR2-mAb 阻断 TLR2/NF- κ B/MyD88 信号通路后可明显减轻大鼠 VILI 炎症表现。B 组大鼠

模拟正常潮气量下机械通气,光镜下观察肺组织无明显病理学改变,电镜下观察肺泡巨噬细胞、I 型和 II 型肺泡上皮细胞超微结构均无明显损伤改变。A 组虽然采用了 40 mL/kg 的大潮气量通气,但是因为提前给予 TLR2-mAb 阻断了 TLR2 的活性,从而不能激活其下游因子,导致 TLR2/NF- κ B/MyD88 信号通路受到抑制,肺组织和细胞均接近 B 组正常潮气量机械通气下大鼠肺组织和细胞结构。可见 TLR2-mAb 能在一定程度上影响大鼠 VILI 的发生发展。

本研究对细胞因子的检测显示, C 组大鼠血清和 BALF 中 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 水平均较 A、B 组明显增高, TLR2/NF- κ B/MyD88 信号通路关键因子 TLR2、NF- κ B 和 MyD88 的 mRNA 表达也较 A、B 组明显升高;而 A、B 组无统计学差异。进一步表明 TLR2 参与了 VILI 的发生发展,而 TLR2-mAb 可能通过阻断 TLR2/NF- κ B/MyD88 信号通路,从而在某种程度上减轻 VILI 模型肺的炎症反应。

综上, TLR2-mAb 阻断 TLR2/NF- κ B/MyD88 炎症信号通路后,可抑制细胞炎症信号转导,减少炎症因子释放,在一定程度上影响了 VILI 的进展。

参考文献

- [1] Biehl M, Kashiouris MG, Gajic O. Ventilator-induced lung injury: minimizing its impact in patients with or at risk for ARDS [J]. *Respir Care*, 2013, 58 (6): 927-937.
- [2] Wang S, Shi P, Wang Y. TRPA1 ion channels in vagal afferent nerves contribute to ventilator-induced lung injury in a rat model [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2013, 32 (3): 389-394.
- [3] 姜威,王琳,楚东岭,等. 不同潮气量机械通气过程中呼吸机相关性肺损伤的病理学变化[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11 (31): 6236-6238.
- [4] 朱宏飞,冯丹,姚尚龙,等. 大潮气量机械通气对大鼠肺组织急性炎症、氧化应激及细胞凋亡的影响[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2010, 39 (1): 59-63.
- [5] 刘海霞,陈森,杨秀娟,等. 血红素加氧酶-1 对过氧化氢损伤的 II 型肺泡上皮细胞凋亡的影响[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26 (2): 110-114.
- [6] 刘芬,江榕,李勇,等. 微小 RNA-132 在脂多糖诱导大鼠肺泡巨噬细胞炎症反应中的表达变化[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26 (2): 80-83.
- [7] 黄萍,刘芬,曾振国,等. 微小 RNA-146a 调控肺泡巨噬细胞中白细胞介素-1 受体相关激酶 1 和肿瘤坏死因子受体相关因子 6 的表达[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26 (5): 300-303.
- [8] Cuevas CD, Ross SR. Toll-like receptor 2-mediated innate immune responses against Junin virus in mice lead to antiviral adaptive immune responses during systemic infection and do not affect viral replication in the brain [J]. *J Virol*, 2014, 88 (14): 7703-7714.
- [9] Price JC, Bromfield JJ, Sheldon IM. Pathogen-associated molecular patterns initiate inflammation and perturb the endocrine function of bovine granulosa cells from ovarian dominant follicles via TLR2 and TLR4 pathways [J]. *Endocrinology*, 2013, 154 (9): 3377-3386.
- [10] Chuang CY, Chen TG, Tai YT, et al. Toll-like receptor 2-mediated sequential activation of MyD88 and MAPKs contributes to lipopolysaccharide-induced sp-a gene expression in human alveolar epithelial cells [J]. *Immunobiology*, 2011, 216 (6): 707-714.
- [11] 栾正刚,马晓春. 损伤相关分子模式与炎症反应[J]. *中国危重病急救医学*, 2009, 21 (9): 566-569.
- [12] 吴嘉骏,赵冰,苏文利,等. 大承气汤对脓毒症大鼠肝脏 Toll 样受体 4 表达的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2010, 17 (5): 285-287.
- [13] 黄栋,方芳,许峰. 高氧所致氧化应激状态下肺泡上皮细胞 Toll 样受体的表达及其功能研究[J]. *中国危重病急救医学*, 2011, 23 (11): 645-649.
- [14] Oakes JL, O'Connor BP, Warg LA, et al. Ozone enhances pulmonary innate immune response to a Toll-like receptor-2 agonist [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2013, 48 (1): 27-34.
- [15] 戴惠军,潘灵辉,林飞,等. 肺泡巨噬细胞 Toll 样受体 9-髓样分化因子 88 信号通路在呼吸机相关性肺损伤中的作用机制研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26 (5): 289-293.
- [16] 赵琼,潘灵辉,林飞,等. Toll 样受体 1 和 2 在呼吸机相关性肺损伤大鼠肺组织中的表达[J]. *广东医学*, 2013, 34 (10): 1486-1489.
- [17] 武庆平,刘萍,王立奎,等. 不同潮气量通气对大鼠呼吸机相关性肺损伤模型的影响[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2006, 35 (4): 511-514.
- [18] Li H, Wang C, Hu J, et al. A study on circadian rhythm disorder of rat lung tissue caused by mechanical ventilation induced lung injury [J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 18 (2): 249-254.
- [19] Komai-Koma M, Li D, Wang E, et al. Anti-Toll-like receptor 2 and 4 antibodies suppress inflammatory response in mice [J]. *Immunology*, 2014, 143 (3): 354-362.
- [20] Ferrero MC, Hielpos MS, Carvalho NB, et al. Key role of Toll-like receptor 2 in the inflammatory response and major histocompatibility complex class II downregulation in *Brucella abortus*-infected alveolar macrophages [J]. *Infect Immun*, 2014, 82 (2): 626-639.
- [21] Yao HY, Zhang LH, Shen J, et al. Cytoporus polysaccharide prevents lipopolysaccharide-induced acute lung injury associated with down-regulating Toll-like receptor 2 expression [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137 (3): 1267-1274.
- [22] Woo CH, Shin SG, Koh SH, et al. TBX21 participates in innate immune response by regulating Toll-like receptor 2 expression in *Streptococcus pneumoniae* infections [J]. *Mol Oral Microbiol*, 2014, 29 (5): 233-243.
- [23] 吕镗烽,宋勇,施毅,等. 失血性休克鼠肺组织 Toll 样受体基因的表达[J]. *中国危重病急救医学*, 2005, 17 (9): 519-522.
- [24] 黄栋,方芳,许峰. 高氧致大鼠急性肺损伤 Toll 样受体 2 和 4 的变化及意义[J]. *中国危重病急救医学*, 2009, 21 (11): 644-647.
- [25] 张丽娜,岳子勇. 核转录因子- κ B 信号通路对失血性休克致急性肺损伤[J]. *中华危重病急救医学*, 2014, 26 (8): 599-602.
- [26] Kaiser R, Tang LF, Taylor KE, et al. A polymorphism in TLR2 is associated with arterial thrombosis in a multiethnic population of patients with systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66 (7): 1882-1887.
- [27] Charles PE, Tissières P, Barbar SD, et al. Mild-stretch mechanical ventilation upregulates toll-like receptor 2 and sensitizes the lung to bacterial lipopeptide [J]. *Crit Care*, 2011, 15 (4): R181.
- [28] 左祥荣,曹权,阙军,等. 白藜芦醇对内毒素急性肺损伤小鼠核转录因子- κ B 及炎症反应的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2013, 20 (1): 16-19.
- [29] Lim R, Barker G, Lappas M. The TLR2 ligand FSL-1 and the TLR5 ligand Flagellin mediate pro-inflammatory and pro-labour response via MyD88/TRAF6/NF- κ B-dependent signalling [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2014, 71 (5): 401-417.
- [30] Cai M, Li M, Wang K, et al. The herpes simplex virus 1-encoded envelope glycoprotein B activates NF- κ B through the Toll-like receptor 2 and MyD88/TRAF6-dependent signaling pathway [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (1): e54586.

(收稿日期: 2014-06-18)

(本文编辑: 李银平)