

基础研究

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002894

Toll样受体 2 在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征患者血清中的表达及对肺部损伤的影响

宋晓飞¹, 王荣国¹, 张云龙², 杨玉鹏¹, 陈红耀¹

(1. 河北省人民医院耳鼻咽喉科, 石家庄 050051; 2. 石家庄市第一医院重症医学科, 石家庄 050051)

【摘要】目的:探讨 Toll 样受体 2(Toll-like receptor 2, TLR2)在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征(obstructive sleep apnea syndrome, OSAS)患者血清中的表达及对肺部损伤的影响。**方法:**酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测患者血清中 TLR2 的表达水平;Wistar 大鼠分为对照组(Control 组),慢性间歇性缺氧组(CIH 组)和 TLR2 拮抗剂 T2.5 组(T2.5 组),利用低氧舱建立 CIH 模型,并对 CIH 模型进行鉴定;动物肺功能分析系统测定各组大鼠的肺功能指标[深吸气量(inspiratory capacity, IC)、第 0.3 秒用力呼气后的容积(volume after forced exhalation in 0.3 s, FEV0.3)、每分钟呼气量(breath volume per minute, MV)及呼气峰流速(peak expiratory flow, PEF)]变化;HE 染色检测各组大鼠肺组织病理损伤变化;qRT-PCR 和 Western blot 检测各组大鼠肺组织中 TLR2 的表达水平;ELISA 检测各组大鼠肺组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)含量的表达变化;ELISA 检测各组大鼠血清中 TLR2、TNF- α 和 IL-6 含量的表达变化。**结果:**随着 OSAS 程度的加重,OSAS 患者血清中 TLR2 的含量越高($P<0.05$);造模组大鼠的生理特征接近 OSAHS 病理生理特点,因此 CIH 大鼠模型建立成功;与 CIH 组(IC: 4.71 ± 0.28 , FEV0.3: 4.48 ± 0.31 , MV: 156.78 ± 6.11 , PEF: 20.89 ± 1.37)比较, T2.5 使大鼠 IC(6.01 ± 0.32)、FEV0.3(5.51 ± 0.38)、MV(187.56 ± 5.53)和 PEF(29.75 ± 1.43)均升高(均 $P<0.05$);T2.5 使大鼠的肺部组织损伤得到抑制,中性粒细胞浸润较少,毛细血管仅轻微扩张;与 CIH 组比较, T2.5 组大鼠肺组织中 TLR2 蛋白表达水平下调($P<0.05$);与 CIH 组比较, T2.5 组大鼠肺组织中 SOD 活性增加($P<0.05$)、MDA 含量降低($P<0.05$)、TNF- α 和 IL-6 含量减少(均 $P<0.05$);与 CIH 组比较, T2.5 组大鼠血清中 TLR2、TNF- α 和 IL-6 含量减少(均 $P<0.05$)。**结论:**OSAS 会引起肺部损伤、氧化应激和炎症反应,而 TLR2 拮抗剂能改善大鼠肺功能、减轻氧化应激反应和炎症因子的表达。

【关键词】阻塞性睡眠呼吸暂停综合征; Toll 样受体 2; 肺损伤**【中图分类号】**R766**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2020-07-03

Toll-like receptor 2 expression in serum of patients with obstructive sleep apnea syndrome and its effect on lung injury

Song Xiaofei¹, Wang Rongguo¹, Zhang Yunlong², Yang Yupeng¹, Chen Hongyao¹

(1. Department of Otolaryngology, Hebei Provincial People's Hospital;

2. Department of Intensive Care Medicine, Shijiazhuang First Hospital)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of Toll-like receptor 2 (TLR2) in the serum of patients with obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) and its effect on lung injury. **Methods:** Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the expression level of TLR2 in the patients' serum. Wistar rats were divided into Control group, chronic intermittent hypoxia group (CIH group) and TLR2 antagonist T2.5 group (T2.5 group), the hypoxic chamber was used to establish the CIH model and it was identified. The animal lung function analysis system was used to measure the lung function indexes changes of each group of rats [inspiratory capacity (IC), volume after forced exhalation in 0.3 s (FEV0.3), breath volume per minute (MV) and peak expiratory flow (PEF)]. HE staining was used to detect the pathological changes of lung tissue in each group of rats; qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression level of TLR2 in the lung tissue of each group of rats; ELISA was used to detect the expression changes of superoxide

作者介绍: 宋晓飞, Email: songxiaofei1981@126.com,

研究方向: 耳鼻咽喉头颈外科学。

基金项目: 2019 年度河北省医学科学研究课题计划资助项目(编号: 20190347)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20210918.1520.006.html>
(2021-09-18)dismutase (SOD) activity, malondialdehyde (MDA), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in the lung tissue of each group and ELISA was used to detect changes in the expression of TLR2, TNF- α and IL-6 in serum of rats in each group. **Results:** With the aggravation of OSAS, the TLR2 content

in the serum of OSAS patients increased ($P<0.05$). The physiological characteristics of the model rats were close to the pathophysiological characteristics of OSAHS, so the CIH rat model was successfully established. Compared with CIH group (IC: 4.71 ± 0.28 , FEV0.3: 4.48 ± 0.31 , MV: 156.78 ± 6.11 , PEF: 20.89 ± 1.37), T2.5 increased the IC (6.01 ± 0.32), FEV0.3 (5.51 ± 0.38), MV (187.56 ± 5.53) and PEF (29.75 ± 1.43) of rats (all $P<0.05$); T2.5 inhibited lung tissue damage in rats, neutrophil infiltration was less, and capillaries only expanded slightly; the expression level of TLR2 protein in lung tissue of T2.5 group was down-regulated ($P<0.05$), the SOD activity increased ($P<0.05$), the MDA content decreased ($P<0.05$), and the TNF- α and IL-6 levels decreased (all $P<0.05$) in the lung tissue; the serum levels of TLR2, TNF- α and IL-6 in the T2.5 group decreased (all $P<0.05$). **Conclusion:** OSAS can cause lung damage, oxidative stress and inflammatory response, while TLR2 antagonists can improve lung function in rats and reduce the expression of oxidative stress and inflammatory factors.

[Key words] obstructive sleep apnea syndrome; Toll-like receptor 2; lung injury

阻塞性睡眠呼吸暂停综合征 (obstructive sleep apnea syndrome, OSAS) 是一种常见的慢性呼吸系统疾病。OSAS 会导致短暂的呼吸暂停或睡眠期间呼吸不足, 其中男性的发病率是 22%, 女性的发病率是 17%^[1-2]。慢性间歇性缺氧 (chronic intermittent hypoxia, CIH) 是 OSAS 的主要病理生理特征, 表现为睡眠中反复出现缺氧和复氧情况, 在某种程度上类似于缺血再灌注损伤^[3]。OSAS 会引起组织损伤, 特别是在肺组织中^[4]。

Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 是一个模式识别受体家族, 在调节免疫功能和炎症中很重要^[5]。Toll 样受体 2 (Toll-like receptor 1, TLR2) 是存在于免疫细胞表面的先天免疫受体, 在激活信号转导中起重要作用^[6]。TLR2 通过 MyD88 途径产生大量细胞因子和促炎性细胞因子, 在先天和适应性免疫中起关键作用^[7]。研究表明, OSAS 患者单核细胞中 TLR2 表达明显增加^[8]。同样, TLR2 在肺缺血再灌注损伤的发生中起关键作用^[9]。因此, 本文探讨 TLR2 在阻塞性睡眠呼吸暂停综合征引起的肺损伤中的作用。

本实验通过检测 TLR2 在 OSAS 患者血清中的表达, 并建立 CIH 大鼠模型, 试图研究 TLR2 对大鼠 OSAS 引起的肺损伤影响, 进一步探讨其作用机制, 为临床上治疗 OSAS 提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 一般资料 选取河北省人民医院 2019 年 1 月至 12 月的 38 例 OSAS 患者。纳入标准: ①符合《阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南 (基层版)》^[10]中关于 OSAS 的诊断标准, 根据呼吸暂停低通气指数 (apnea hypopnea index, AHI) 和脉搏血氧饱和度 (saturation of pulse oximetry, SpO₂) 分为 OSAS 轻度组 (5~15 次/h, 85%~90%)、OSAS 中度组 (16~30 次/h, 80%~84%) 和 OSAS 重度组 (>30 次/h, <80%); ②近 2 个月内患者未接受过其他相关临床治疗。选择同期于本院接受体检的健康志愿者 15 例作为对照组。所有患者术前均签署知情同意书, 所有实验均获得本医院伦理委员会的批准与监督。具体资料见表 1。

1.1.2 动物 30 只 Wistar 大鼠 (雄性, SPF 级, 220~250 g) 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验动物许可证号: SCXK (京) 2012-0001。实验动物设计严格经过本院伦理委员会审查。实验小鼠饲养于标准动物房, 适应环境 1 周, 期间正常饮水饮食。

1.1.3 主要试剂 人 TLR2 试剂盒、兔单克隆 TLR2 抗体和 GAPDH 抗体购于美国 Abcam 公司; TLR2 拮抗剂 T2.5 购自美国 Invivogen 公司; HE 染色试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司; TRIzol 试剂、PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis 试剂盒和 TB Green™ Premix Ex Taq II 试剂盒购自日本 Takara 公司。RIPA 裂解液、BCA 试剂盒购自美国 Promega 公司。IgG-HRP 抗体购自美国 Cell Signaling Tech-

表 1 2 组一般资料比较 ($n; \bar{x} \pm s$)

项目	对照组	OSAS 组		
		轻度	中度	重度
例数	15	15	13	10
年龄/岁	51.87 ± 6.45	55.23 ± 7.17	58.47 ± 6.21	57.39 ± 3.67
男性/女性	10/5	11/4	7/6	5/5
体质指数/(kg·m ⁻²)	25.91 ± 2.18	26.12 ± 2.05	26.94 ± 2.23	27.36 ± 2.41
腰围/cm	90.34 ± 10.12	91.45 ± 9.43	94.23 ± 10.04	97.12 ± 11.23
睡眠呼吸低通气指数/(次·h ⁻¹)	3.12 ± 1.12	9.23 ± 2.32	25.32 ± 3.15	34.78 ± 5.27

nology公司。大鼠 SOD 试剂盒和大鼠 MDA 试剂盒购自南京凯基生物科技有限公司;大鼠 TLR2 试剂盒、大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 试剂盒和大鼠白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 试剂盒购自北京索莱宝生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 临床患者血清的采集及检测 2 组患者于次日清晨空腹状态下抽取静脉血 3 mL, 静置 20 min 后 3 000 r/min 离心 15 min, 取血清置-80℃冰箱保存待用。采用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测血清中 TLR2 的水平。

1.2.2 大鼠 CIH 模型制备 造模: 建立与 OSAS 的病理生理特征相似的 CIH 大鼠模型。低氧舱内先通入压缩空气 30 s, 后通入氮气 30 s, 以此循环。实验过程中低氧舱内氧浓度控制在 8%~21%, 低氧舱内产生的二氧化碳和水蒸气被生石灰和硅胶吸取^[1]。大鼠每天定时 (早上 9 点至下午 5 点) 在低氧舱内呆 8 h, 共 4 周。实验结束后对 CIH 大鼠模型鉴定。

1.2.3 分组及给药 分组: 30 只 Wistar 大鼠随机分为 3 组: 对照组 (Control 组)、慢性间歇性缺氧组 (CIH 组) 和 TLR2 拮抗剂 T2.5 组 (T2.5 组), 每组 10 只。Control 组大鼠不予任何处理, CIH 组、T2.5 组大鼠按 1.2.2 进行模型制备。给药: 给药方式为腹腔注射。Control 组: 无菌生理盐水, 4 mL/kg; CIH 组: 无菌生理盐水, 4 mL/kg; T2.5 组: 1 mg/kg 的 T2.5, 给药体积为 4 mL/kg。造模成功后, 每天给药 1 次, 连续 12 周。

1.2.4 各组大鼠肺功能检测 在末次给药 2 h 后, 采用动物肺功能分析系统测定各组大鼠的肺功能指标, 计算深吸气量 (inspiratory capacity, IC)、第 0.3 秒用力呼气后的容积 (volume after forced exhalation in 0.3 s, FEV0.3)、每分钟呼气量 (breath volume per minute, MV) 及呼气峰流速 (peak expiratory flow, PEF)。

1.2.5 HE 染色 末次给药 2 h 后, 各组大鼠经腹腔注射麻醉。待麻醉后, 迅速打开大鼠胸腔, 分离周围组织, 摘取肺组织。将肺组织置于 4% 多聚甲醛固定液中, 包埋在石蜡中, 将肺组织切成 5 μ m 的切片。将切片在二甲苯中脱蜡, 然后在梯度浓度的乙醇 (100%, 5 min; 95%, 2 min; 85%, 2 min; 75%, 2 min) 中脱水。将切片用 PBS 洗涤, 苏木精染色 5 min 并洗涤 3 次; 伊红染色 3 min。然后切片在梯度浓度的乙醇中脱水 (75%、85%、95% 的比例脱水, 每次 2 min; 100% 的比例脱水, 每次 5 min), 在二甲苯中透明 2 次, 每次 5 min。擦干切片上多余的二甲苯, 然后用中性树胶固定。最后, 使用光学显微镜观察肺组织形态和结构的变化。参考文献的方法^[12]行肺损伤评分。

1.2.6 qRT-PCR TRIzol 试剂提取各组大鼠肺组织中的总 RNA。紫外分光光度计检测总 RNA 纯度和浓度, 并将每个配对的样品调节至相同浓度。使用 PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis 试剂盒将提取的 RNA 逆转录成 cDNA。TLR2 的引物序列: 正向 5'-AACTTACTGGGAAATCCTTAC-3', 反向 5'-AAAAATCTCCAGCAGTAAAAT-3', 264 bp; GAPDH 的引物序列: 正向 5'-GGATTTGGTCGTATTGGG-3', 反向 5'-GG-AAGATGCTGATGGGATT-3', 205 bp。使用 TB Green™ Premix

Ex Taq II 试剂盒进行 qRT-PCR。使用 StepOnePlus 实时 PCR 系统完成实验后, 采用 2^{- $\Delta\Delta$} 法分析数据。

1.2.7 Western blot RIPA 裂解液提取肺组织中的总蛋白, 并通过 BCA 法测定总蛋白含量, 并将每个配对的样品调节至相同浓度。样品经变性后, 采用 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 并将其转移到 PVDF 膜上。室温下用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, TBST 洗涤 3 次。然后将 PVDF 膜分别与以下抗体在 4℃ 孵育过夜: TLR2 抗体 (1:1 000) 和 GAPDH 抗体 (1:2 000), TBST 洗涤 3 次。之后将 PVDF 膜与 IgG-HRP 抗体 (1:5 000) 在室温下孵育 1 h, TBST 洗涤 3 次。最后显影曝光, Image-Pro Plus 图像分析系统对蛋白条带的灰度值进行分析。

1.2.8 各组大鼠肺组织中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量的测定 将各组大鼠肺组织放入到 9 倍体积的 PBS 溶液中, 用匀浆器分散到溶液中, 反复冻融 3 次, 并在 4℃ 以 3 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液。使用试剂盒分别检测 SOD 的活性、MDA 的含量。

1.2.9 各组大鼠肺组织中 TNF- α 和 IL-6 的含量测定 将各组大鼠肺组织放入到 9 倍体积的 PBS 中, 用匀浆器分散到溶液中, 反复冻融 3 次, 并在 4℃ 以 3 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液。使用试剂盒分别检测 TNF- α 、IL-6 的含量。

1.2.10 各组大鼠血清中 TLR2、TNF- α 、IL-6 的含量测定 各组大鼠经麻醉后, 于心尖处取血, 并在 4℃ 以 3 000 r/min 离心 15 min, 收集上清。使用试剂盒分别检测 TLR2、TNF- α 、IL-6 的含量。

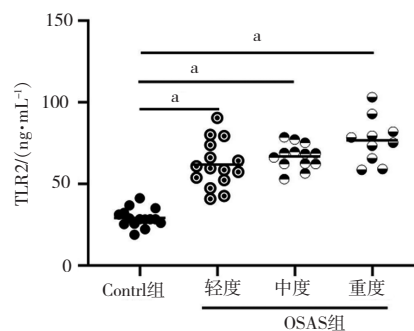
1.3 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。正态分布数据资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD- t 检验, 率的比较采用卡方检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 TLR2 在健康志愿者和 OSAS 患者血清中的表达

ELISA 结果表明, 与对照组相比, 随着 OSAS 程度的加重, 血清中 TLR2 的含量越高 ($P<0.05$) (图 1)。



注: a, 与 Contrl 比较, $P<0.05$

图 1 ELISA 检测 2 组患者血清中 TLR2 的表达水平

2.2 CIH 大鼠模型鉴定

大鼠在低氧舱内的最后 1 d 时, 分别在低氧舱内氧最高

浓度和氧最低浓度时,随机对大鼠进行血氧饱和度和动脉血气分析检测,其血氧饱和度在 70%~92%,动脉氧分压在 60.7~80.1 mmHg,接近 OSAS 病理生理特点,因此 CIH 大鼠模型建立成功。

2.3 各组大鼠肺功能指标变化

动物肺功能检测结果表明,与 Control 组比较,CIH 组大鼠 IC、FEV0.3、MV 和 PEF 明显降低(均 $P<0.05$);与 CIH 组比较,T2.5 组大鼠 IC、FEV0.3、MV 和 PEF 均升高(均 $P<0.05$)(表2)。

2.4 各组大鼠肺组织病理损伤变化

HE 染色结果表明,Control 组大鼠的肺泡和间质保持完整,肺泡壁薄而平滑,肺泡间隔厚度均匀,没有观察到萎缩、渗出和中性粒细胞浸润。CIH 组大鼠的肺泡结构受损以及毛细血管扩张和充血,增厚的间质被炎性细胞浸润,而且肺泡腔内也充满了渗出液、红细胞和中性粒细胞。而 T2.5 组大鼠的肺部组织损伤得到抑制,中性粒细胞浸润较少,毛细血管仅轻微扩张。肺部损伤评分结果表明,与 Control 组比较,CIH 组大鼠肺部损伤评分增加($P<0.05$);与 CIH 组比较,T2.5 组大鼠肺部损伤评分减少($P<0.05$)(图 2)。

2.5 各组大鼠肺组织中 TLR2 的表达变化

qRT-PCR 结果表明,与 Control 组比较,CIH 组大鼠肺组

织中 TLR2 mRNA 的表达量增加($P<0.05$);与 CIH 组比较,T2.5 组大鼠肺组织中 TLR2 mRNA 表达量减少($P<0.05$)。Western blot 结果表明,与 Control 组比较,CIH 组大鼠肺组织中 TLR2 蛋白的表达水平上调($P<0.05$);与 CIH 组比较,T2.5 组大鼠肺组织中 TLR2 蛋白表达水平下调($P<0.05$)(图 3)。

2.6 各组大鼠肺组织中 SOD 活性、MDA 含量的变化

ELISA 实验结果表明,与 Control 组比较,CIH 组大鼠肺组织中 SOD 活性降低($P<0.05$),MDA 含量增加($P<0.05$);与 CIH 组比较,T2.5 组大鼠肺组织中 SOD 活性增加($P<0.05$),MDA 含量降低($P<0.05$)(图 4)。

2.7 各组大鼠肺组织中 TNF- α 、IL-6 含量的变化

ELISA 实验结果表明,与 Control 组比较,CIH 组大鼠肺组织中 TNF- α 和 IL-6 含量增加(均 $P<0.05$);与 CIH 组比较,T2.5 组大鼠肺组织中 TNF- α 和 IL-6 含量减少(均 $P<0.05$)(图 5)。

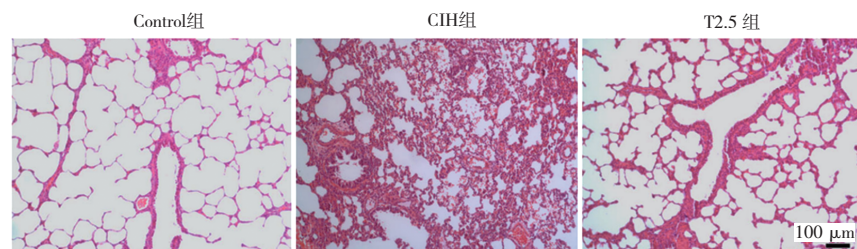
2.8 各组大鼠血清中 TLR2、TNF- α 、IL-6 含量的变化

ELISA 实验结果表明,与 Control 组比较,CIH 组大鼠血清中 TLR2、TNF- α 和 IL-6 含量增加(均 $P<0.05$);与 CIH 组比较,T2.5 组大鼠血清中 TLR2、TNF- α 和 IL-6 含量减少(均 $P<0.05$)(图 6)。

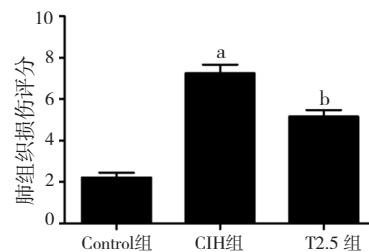
表 2 各组大鼠的肺功能指标 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IC/mL	FEV0.3/mL	MV/($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$)	PEF/($\text{mL} \cdot \text{s}^{-1}$)
Control 组 ($n=10$)	6.18 ± 0.41	5.91 ± 0.43	198.96 ± 8.04	31.67 ± 2.12
CIH 组 ($n=10$)	4.71 ± 0.28^a	4.48 ± 0.31^a	156.78 ± 6.11^a	20.89 ± 1.37^a
T2.5 组 ($n=10$)	6.01 ± 0.32^b	5.51 ± 0.38^b	187.56 ± 5.53^b	29.75 ± 1.43^b

注:a,与 Control 组比较, $P<0.05$;b:与 CIH 组比较, $P<0.05$



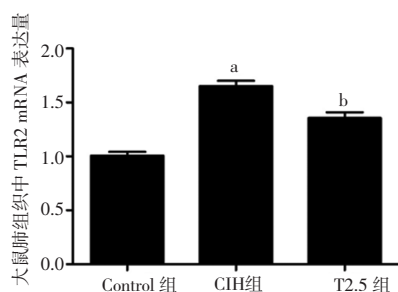
A. 肺组织 HE 染色



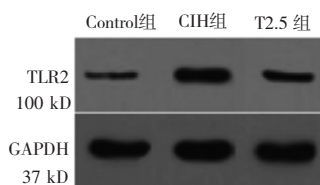
注:a,与 Control 组比较, $P<0.05$;b:与 CIH 组比较, $P<0.05$

B. 肺组织病理损伤评分

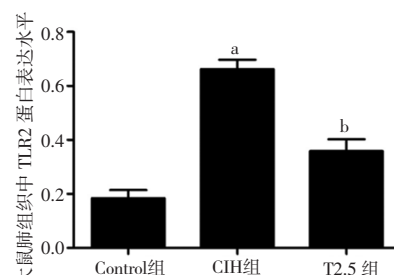
图 2 HE 染色检测各组大鼠肺组织病理损伤变化



A. 肺组织 TLR2 mRNA 表达水平检测

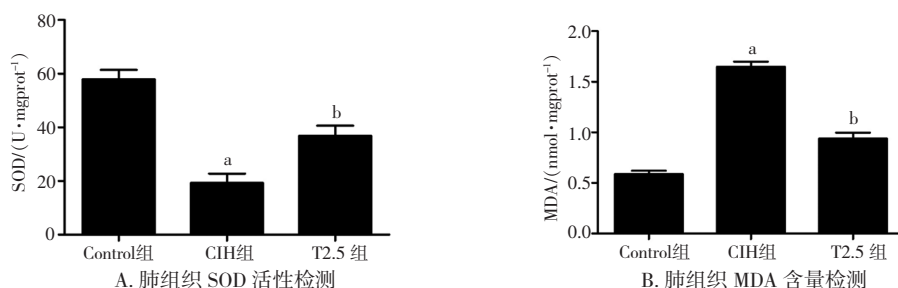


B. 肺组织 TLR2 蛋白表达水平检测



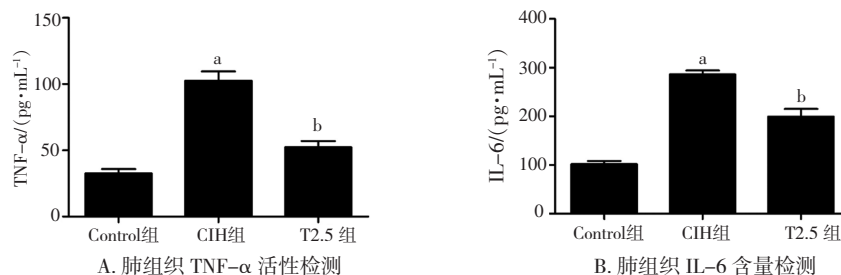
注:a,与 Control 组比较, $P<0.05$;b:与 CIH 组比较, $P<0.05$

图 3 qRT-PCR 和 Western blot 检测各组大鼠肺组织中 TLR2 的表达水平



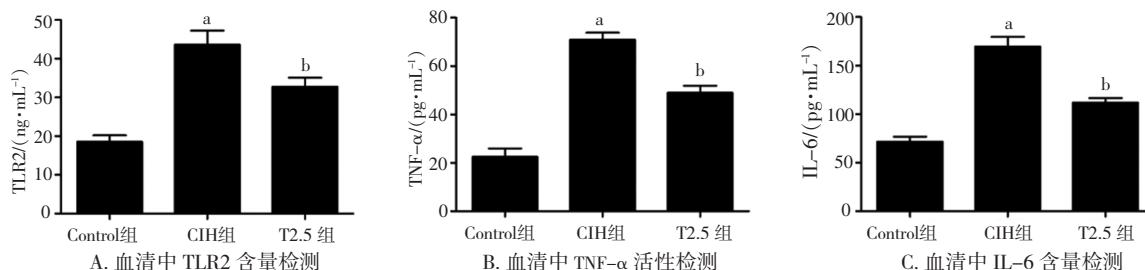
注:a,与Control组比较, $P<0.05$;b:与CIH组比较, $P<0.05$

图4 ELISA检测各组大鼠肺组织中SOD活性、MDA含量的表达



注:a,与Control组比较, $P<0.05$;b:与CIH组比较, $P<0.05$

图5 ELISA检测各组大鼠肺组织中TNF-α活性、IL-6含量的表达



注:a,与Control组比较, $P<0.05$;b:与CIH组比较, $P<0.05$

图6 ELISA检测各组大鼠血清中TLR2含量、TNF-α活性、IL-6含量的表达

3 讨论

OSAS的主要特征是上呼吸道周期性或完全关闭,通常伴有氧饱和度降低和反复苏醒。CIH是OSAS的标志性特征,其中人、动物和细胞的各种炎症细胞因子水平升高,与OSAS器官损伤增加有关^[13]。OSAS的作用导致呼吸作用增加、交感兴奋性增加、睡眠结构改变和缺氧,这可能导致肺、心血管和脑血管事件,代谢紊乱,神经认知功能障碍和其他疾病^[14]。本实验利用低氧舱建立CIH大鼠模型,结果发现大鼠的肺功能明显下降。

OSAS在某种程度上类似缺血再灌注损伤^[3],研究发现,在这种缺血再灌注的缺氧/复氧病理过程中,会产生许多活性氧,从而导致体内氧化应激^[15]。同时,活性氧和过氧化物作为第二信使可以启动和调节氧化,降低敏感信号通路和转录因子,如NF-

κB等^[16]。其中,NF-κB是重要的炎症反应起始因子,可以在缺氧的情况下被激活,并随着缺氧时间的逐渐增加而增加,下游的炎症介质和细胞因子如TNF-α、IL-6等增加,进而导致炎症反应^[17]。Chen CY等^[18]研究表明,在OSAS患者中,由于停止吸气会反复出现间歇性缺氧和氧饱和度降低。这些代谢变化触发氧化应激和全身性炎症,从而诱发炎症指标、抗氧化酶和活性氧释放^[19]。李立群等^[20]研究发现,OSAS患者血清中IL-6和TNF-α含量明显增加。本研究发现,CIH使大鼠的肺泡结构受损以及毛细血管扩张和充血,增厚的间质被炎性细胞浸润,而且肺泡腔内也充满了渗出液、红细胞和中性粒细胞;也引起氧化应激反应,使SOD活性降低,MDA含量升高。随后肺组织中TNF-α和IL-6的表达增加,与上述文献一致。这些结果的增加表明OSAS后肺组织中存在炎症。

TLR2是I型跨膜糖蛋白受体,在炎症反应中

具有重要作用^[21]。TLR 的典型信号传导途径是 MyD88 依赖性途径,这是几乎所有 TLR 都依赖的主要途径。经过一系列的磷酸化和去磷酸化后,NF- κ B 等最终被激活并诱导炎症细胞因子的表达^[22]。Zhang Y 等^[23]研究发现,TLR2 的减少可减轻肝脏缺血再灌注损伤。Fang L 等^[24]研究表明,TLR2 减少可能通过 JNK 信号通路伴随自噬抑制来坚强过敏性气道炎症,而 TLR2 可能为预防过敏性气道炎症提供了新的信号靶点。因此,本实验对 TLR2 是否在 OSAS 中能减轻肺部损伤进行了后续实验,实验结果表明,CIH 组大鼠肺组织中 TLR2 表达水平上调,而使用 TLR2 拮抗剂 T2.5 使大鼠肺组织中 TLR2 表达水平下调,大鼠肺部组织损伤得到抑制、中性粒细胞浸润较少、毛细血管仅轻微扩张,使 SOD 活性增加,MDA 含量下降,随后肺组织中 TNF- α 和 IL-6 表达下降。

综上所述,OSAS 激活了氧化应激导致炎症反应和炎症细胞因子释放,从而导致肺损伤和肺部炎症。TLR2 拮抗剂 T2.5 减少了 CIH 诱导的肺损伤和炎症反应。因此,TLR2 可能在 OSAS 诱导的肺部炎症反应中起重要作用,是否还有其他途径需要进一步研究证实。

参 考 文 献

- [1] Chen M, Huang ZM, Bi H, et al. Effects of bone marrow derived mesenchymal stem cell transplantation on chronic obstructive pulmonary disease/obstructive sleep apnea overlap syndrome in rats[J]. Mol Med Rep, 2019, 20(5): 4665–4673.
- [2] Franklin KA, Lindberg E. Obstructive sleep apnea is a common disorder in the population—a review on the epidemiology of sleep apnea[J]. J Thorac Dis, 2015, 7(8): 1311–1322.
- [3] Jia WK, Jian Z, Li JW, et al. Upregulated ATF6 contributes to chronic intermittent hypoxia—afforded protection against myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. Int J Mol Med, 2016, 37(5): 1199–1208.
- [4] Jun JC, Chopra S, Schwartz AR. Sleep apnoea[J]. Eur Respir Rev, 2016, 25(139): 12–18.
- [5] Molteni M, Gemma S, Rossetti C. The role of Toll-like receptor 4 in infectious and noninfectious inflammation[J]. Mediators Inflamm, 2016, 2016: 6978936.
- [6] Maglione PJ, Simchoni N, Cunningham-Rundles C. Toll-like receptor signaling in primary immune deficiencies[J]. Ann N Y Acad Sci, 2015, 1356: 1–21.
- [7] Rangasamy SB, Jana M, Roy A, et al. Selective disruption of TLR2–MyD88 interaction inhibits inflammation and attenuates Alzheimer's pathology[J]. J Clin Invest, 2018, 128(10): 4297–4312.
- [8] Akinnusi M, Jaoude P, Kufel T, et al. Toll-like receptor activity in patients with obstructive sleep apnea[J]. Sleep Breath, 2013, 17(3): 1009–1016.
- [9] Lin F, Feng JF, Wang TT, et al. Glycyrrhizin ameliorate ischemia reperfusion lung injury through downregulate TLR2 signaling cascade in alveolar macrophages[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 389.
- [10] 何权瀛, 王莞尔. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南(基层版)[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2015, 14(4): 398–405.
- [11] He QY, Wang WE. Guidelines for diagnosis and treatment of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome (basic edition)[J]. Chin J Respir Crit Care Med, 2015, 14(4): 398–405.
- [12] 马林沁, 张京春, 刘 玥. 慢性间歇性低氧动物模型的比较[J]. 中国药理学通报, 2016, 32(4): 445–450.
- [13] Ma LQ, Zhang JC, Liu Y. Research progress of chronic intermittent hypoxia animal models[J]. Chin Pharmacol Bull, 2016, 32(4): 445–450.
- [14] Kiss T, Silva PL, Huhle R, et al. Comparison of different degrees of variability in tidal volume to prevent deterioration of respiratory system elastance in experimental acute lung inflammation[J]. Br J Anaesth, 2016, 116(5): 708–715.
- [15] Wali SO, Abalkhail B, Krayem A. Prevalence and risk factors of obstructive sleep apnea syndrome in a Saudi Arabian population[J]. Ann Thorac Med, 2017, 12(2): 88–94.
- [16] Vakil M, Park S, Broder A. The complex associations between obstructive sleep apnea and auto-immune disorders: a review[J]. Med Hypotheses, 2018, 110: 138–143.
- [17] Xu QX, Du JW, Ling XB, et al. Evaluation of MIH scoring system in diagnosis of obstructive sleep apnea syndrome[J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 4715–4722.
- [18] Zhang J, Zheng L, Cao J, et al. Inflammation induced by increased frequency of intermittent hypoxia is attenuated by tempol administration[J]. Braz J Med Biol Res, 2015, 48(12): 1115–1121.
- [19] Zhang SX, Xu WF, Wang HL, et al. Inhibition of CREB-mediated ZO-1 and activation of NF- κ B-induced IL-6 by colonic epithelial MCT4 destroys intestinal barrier function[J]. Cell Prolif, 2019, 52(6): e12673.
- [20] Chen CY, Chen CL, Yu CC, et al. Association of inflammation and oxidative stress with obstructive sleep apnea in ischemic stroke patients[J]. Sleep Med, 2015, 16(1): 113–118.
- [21] Yildirim T, Alp R. The role of oxidative stress in the relation between fibromyalgia and obstructive sleep apnea syndrome[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(1): 20–29.
- [22] 李立群, 郝正玮, 戈艳蕾, 等. 葡萄籽原花青素对中老年 OS-AHS 患者肺通气及炎症水平的影响[J]. 实用预防医学, 2016, 23(7): 784–788.
- [23] Li LQ, Hao ZW, Ge YL, et al. Effects of grape seed proanthocyanidin extract on pulmonary ventilation and inflammation in elderly patients with obstructive sleep apnea–hypopnea syndrome[J]. Pract Prev Med, 2016, 23(7): 784–788.
- [24] Hsu HC, Hsieh CL, Wu SY, et al. Toll-like receptor 2 plays an essential role in electroacupuncture analgesia in a mouse model of inflammatory pain[J]. Acupunct Med, 2019, 37(6): 356–364.
- [25] Liu JW, Geng FH, Sun HY, et al. Candida albicans induces TLR2/MyD88/NF- κ B signaling and inflammation in oral lichen planus-derived keratinocytes[J]. J Infect Dev Ctries, 2018, 12(9): 780–786.
- [26] Zhang Y, Lei XM, Li W, et al. TNIP1 alleviates hepatic ischemia/reperfusion injury via the TLR2–Myd88 pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 501(1): 186–192.
- [27] Fang L, Shen QY, Wu HM, et al. TLR2 favors OVA-induced allergic airway inflammation in mice through JNK signaling pathway with activation of autophagy[J]. Life Sci, 2020, 256: 117896.

(责任编辑:唐秋姗)