

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.07.003

文章编号: 1005-8982(2016)07-0009-06

论著

## 特异性抑制转化生长因子 $\beta$ 激活激酶 1 活性对妊娠期糖尿病孕妇外周血单核细胞炎症通路的影响\*

高传龙,袁静,李琴,杨琴,李松,周培,丛林

(安徽医科大学第一附属医院 产前诊断中心,安徽 合肥 230022)

**摘要:目的** 探讨特异性抑制转化生长因子  $\beta$  激活激酶 1(TAK1)活性的变化对妊娠期糖尿病(GDM)孕妇外周血单核细胞炎症通路的影响。**方法** 选取 GDM 孕妇及正常孕妇各 30 例,采集外周静脉血,分离单核细胞和血浆。依据细胞加药组别不同,分为 LPS 刺激组(L 组)、脂多糖组(LPS 组)、TAK1 抑制剂组(LT 组)、TAK1 抑制剂组(T 组)及空白对照组(W 组),培养、加药后 Western blot 检测 TAK1 及核转录因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)蛋白的表达量,酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆中 LPS 浓度及各组炎症因子[白介素-1(IL-1)、白介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )]水平,比较各组结果的差异,探讨 TAK1 的作用。**结果** GDM 孕妇与正常孕妇比较,血浆 LPS 浓度升高;TAK1 及 NF- $\kappa$ B 蛋白表达量增加,炎症因子(IL-1、IL-10、TNF- $\alpha$ )水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。各小组间比较,L 组相较于其他组的 TAK1、NF- $\kappa$ B 蛋白表达量增加,炎症因子(IL-1、IL-10、TNF- $\alpha$ )表达水平升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );正常孕妇中,LT 组、T 组、W 组 NF- $\kappa$ B 蛋白表达量比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),LT 组、T 组未检测到 TAK1 明显表达,可检测到 W 组少量表达,LT 组相对于 T 组,TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-10 表达水平升高( $P < 0.05$ ),LT 组、T 组与 W 组上清炎症因子表达水平比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );GDM 孕妇中,LT 组、T 组、W 组 TAK1 及 NF- $\kappa$ B 蛋白表达量比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),LT 组相对于 T 组,TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-10 表达水平升高( $P < 0.05$ ),Pearson 相关性分析发现,TAK1、NF- $\kappa$ B 蛋白表达量与炎症因子(IL-1、IL-10、TNF- $\alpha$ )水平呈正相关( $P < 0.05$ )。**结论** TAK1 可能参与 GDM 孕妇外周血单核细胞炎症通路的形成,抑制 TAK1 的活性,可以下调通路下游关键介质 NF- $\kappa$ B 及炎症因子的表达。

**关键词:** 妊娠期糖尿病;炎症通路;脂多糖;转化生长因子  $\beta$  激活激酶 1;核转录因子- $\kappa$ B;炎症因子  
**中图分类号:** R587.1 **文献标识码:** A

### Influence of specific inhibition of TAK1 activity in inflammatory pathway of mononuclear cells in peripheral blood of pregnant women with gestational diabetes mellitus\*

Chuan-long Gao, Jing Yuan, Qin Li, Qin Yang, Song Li, Pei Zhou, Lin Cong  
(Prenatal Diagnosis Center, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230022, China)

**Abstract: Objective** To investigate the influence of changes of TGF- $\beta$ -activated kinase 1 (TAK1) activity in the inflammatory pathway of mononuclear cells in the peripheral blood of pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** Totally 30 GDM pregnant women and 30 normal pregnant women were selected. Peripheral venous blood was drawn, and mononuclear cells and plasma were separated. They were divided into lipopolysaccharide (LPS)-stimulation group (L group), LPS and TAK1-inhibitor group (LT group),

收稿日期:2015-11-13

\* 基金项目:安徽省自然科学基金(No: 1208085MH172)

[通信作者] 丛林, E-mail: [conglin1957@163.com](mailto:conglin1957@163.com)

TAK1-inhibitor group (T group) and control group (W group). After culture, Western blot was used to detect the expressions of TAK1 and NF- $\kappa$ B, and ELISA was used to detect the plasma concentration of LPS and the expression levels of inflammatory factors (IL-1, IL-10 and TNF- $\alpha$ ). The differences between GDM and normal pregnant women were compared and the effect of TAK1 was explored. **Results** Compared with the normal pregnant women, the plasma LPS concentration, the expression levels of inflammatory factors (IL-1, IL-10 and TNF- $\alpha$ ), TAK1 and NF- $\kappa$ B increased in the GDM pregnant women ( $P < 0.05$ ). Compared with other groups, the expression levels of TAK1, NF- $\kappa$ B and inflammatory factors (IL-1, IL-10 and TNF- $\alpha$ ) significantly increased in the L group ( $P < 0.05$ ). In the normal pregnant women, the expression levels of NF- $\kappa$ B had no statistical differences ( $P > 0.05$ ) among the T group, the LT group and the W group; no obvious expression of TAK1 was detected in the LT group or the T group while a small amount of TAK1 expression was detected in the W group; compared with the T group, the expression levels of inflammatory factors (TNF- $\alpha$ , IL-1 and IL-10) significantly increased in the LT group ( $P < 0.05$ ). In the GDM pregnant women, the LT group, the T group and the W group had no statistical differences in the expression levels of TAK1 or NF- $\kappa$ B ( $P > 0.05$ ); compared with the T group, the expression levels of inflammatory factors (TNF- $\alpha$ , IL-1 and IL-10) significantly increased in the LT group ( $P < 0.05$ ). The Pearson correlation analysis showed that the expression levels of TAK1 and NF- $\kappa$ B were positively correlated with inflammatory factors (IL-1, IL-10 and TNF- $\alpha$ ) ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** TAK1 may be involved in the formation of the inflammatory pathway of mononuclear cells in the peripheral blood of GDM pregnant women. Inhibition of TAK1 activity can down-regulate the expressions of downstream key mediators such as NF- $\kappa$ B and inflammatory factors.

**Keywords:** gestational diabetes mellitus; inflammatory pathway; lipopolysaccharide; transforming growth factor (TGF)- $\beta$ -activated kinase 1; NF- $\kappa$ B; inflammatory factor

近年来,妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)发病率呈逐年上升趋势,其近、远期并发症给母儿健康带来严重的危害<sup>[1-2]</sup>,目前认为GDM的发病可能与免疫炎症及胰岛素抵抗(Insulinresistance, IR)有关<sup>[3]</sup>。许多研究表明,GDM患者体内多种炎症因子水平升高<sup>[4]</sup>。丛林等<sup>[5]</sup>的研究同样表明,脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)刺激后的GDM孕妇外周血单核细胞中,核转录因子- $\kappa$ B(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)相关炎症通路介导的炎症因子高表达,可能参与GDM的发病,但是关于如何调控GDM孕妇外周血单核细胞炎症通路中炎症因子高表达,还有待进一步研究。在人类B细胞中,转化生长因子 $\beta$ 激活激酶1[transforming growth factor (TGF)- $\beta$ -activating kinase 1, TAK1]参与LPS/Toll样受体/NF- $\kappa$ B介导的炎症通路的中间环节<sup>[6]</sup>,蛋白特异性抑制剂(5Z-7-Oxozeaenol)可选择性抑制TAK1的磷酸化活性,进而抑制NF- $\kappa$ B的表达<sup>[7]</sup>。所以本研究选择5Z-7-Oxozeaenol做为TAK1抑制剂,通过选择性抑TAK1活性,观察LPS诱导的GDM孕妇外周血单核细胞炎症通路中,TAK1、NF- $\kappa$ B及炎症因子的表达,探讨TAK1活性变化对该通路的影响。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取2014年10月8日-2015年5月8日在安徽医科大学第一附属医院产科门诊产检,并行葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT)检查的适龄孕妇,详细询问病史、家族史、生育史及孕期检查报告。标本收取阶段各选取30例正常孕妇和GDM孕妇。所有纳入者需排除免疫炎症、感染性疾病及其他妊娠期并发症;正常孕妇组和GDM孕妇组年龄22~34岁,平均(27.97 $\pm$ 2.34)岁,孕周为24~28周,平均(26.13 $\pm$ 0.61)周;正常孕妇组排除妊娠期糖尿病高危因素;GDM孕妇组符合2010年I-ADPSG妊娠期糖尿病诊断标准<sup>[8]</sup>。

### 1.2 标本采集

选择符合实验要求的孕妇,空腹采集静脉血5ml,置于灭菌肝素钠抗凝管中。将人淋巴细胞分离液加入灭菌管,缓慢加入混匀的血标本,1500 r/min低速离心后提取悬浮淋巴细胞,分离血浆存放于-20 $^{\circ}$ C冰箱备用。将提取的悬浮淋巴细胞置于灭菌干管中,加入生理盐水洗涤,2000 r/min离心。洗涤提纯后用淋巴细胞计数板计数,并用台盼蓝测定细胞活力,调整细胞浓度至 $6 \times 10^6$ 个/ml,接种于加入含双抗细胞

培养基的24孔板中,放入37℃、5%二氧化碳CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

### 1.3 标本分组和处理

培养24h后每份标本分为4份,依据加药组别不同分为4组:LPS(1 $\mu$ g/ml)刺激组(L组)、LPS(1 $\mu$ g/ml)和TAK1抑制剂5Z-7-Oxozeaenol(1 $\mu$ mol)组(LT组)、TAK1抑制剂5Z-7-Oxozeaenol(1 $\mu$ mol)组(T组)及空白对照组(W组),调整各小组培养液总体积为1ml,培养24h后分别收集上清和细胞置于-20℃冰箱中保存。

### 1.4 主要试剂

人淋巴细胞分离液购自上海华精生物高科技有限公司,LPS、台盼蓝试剂购自美国Sigma公司,细胞培养液、胎牛血清购自美国Gibco公司,增强化学发光法(enhanced chemiluminescence,ECL)显影液、细胞裂解液(radio immunoprecipitation assay,PIRA)、Western Blot检测常用试剂、山羊抗小鼠二抗购自美国RD公司,小鼠抗人TAK1抗体、小鼠抗人NF- $\kappa$ B抗体、 $\beta$ -actin购自美国Cell Signaling公司,LPS试剂盒购自厦门鲎试剂公司,酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒购自深圳晶美生物工程有限公司。

### 1.5 实验方法

**1.5.1 LPS检测** 取备用血清,按照鲎试剂盒说明书进行操作。

**1.5.2 细胞因子检测** ELISA法检测上清炎症因子[白细胞介素-1(Interleukin-1,IL-1)、白细胞介素-10(Interleukin-10,IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ ,TNF- $\alpha$ )]浓度,按ELISA试剂盒说明书进行操作,取培养上清液100 $\mu$ l,加入酶标板孔内,依次加入各种试剂,酶标仪492nm波长处读值。

**1.5.3 Western blot检测TAK1及NF- $\kappa$ B蛋白的表达** 将收集的细胞样本按组分别加入含有蛋白酶抑制剂的细胞裂解液[含RIPA裂解液:苯甲基磺酰氟=99:1]冰上裂解细胞提取总蛋白,超声后的悬液4℃、14000r离心10min。取上清加5 $\times$ 蛋白上样缓冲液,煮沸10min,样品置入-20℃冰箱冷冻保存。调整各组蛋白为同浓度,各组取等量蛋白上样。10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,转移至聚偏氟乙烯膜,5%脱脂奶粉封闭2h,洗膜,放入1:1000稀释的TAK1抗体、NF- $\kappa$ B抗体和肌动蛋白( $\beta$ -actin)中4℃过夜孵一抗,洗膜,放入1:1000稀

释的二抗37℃孵育2h,洗膜,ECL显影液显影。

### 1.6 统计学方法

采用SPSS 19.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组比较用方差分析,方差齐时,两两比较用独立样本 $t$ 检验。各小组组内相关性分析用Pearson相关分析,Image软件分析显影后图像, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

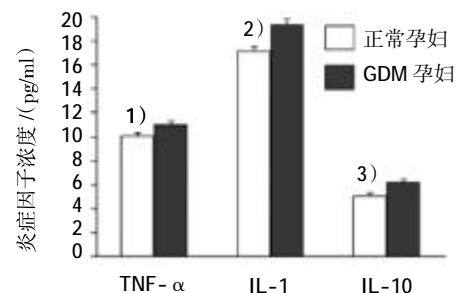
### 2.1 血浆LPS检测结果

GDM组血浆LPS(0.82 $\pm$ 0.33)EU/ml,高于正常组[(0.52 $\pm$ 0.43)EU/ml],经 $t$ 检验,差异有统计学意义( $t=2.795$ , $P=0.010$ )。

### 2.2 各组炎症因子检测结果比较

**2.2.1 GDM孕妇与正常孕妇外周血单核细胞培养液上清炎症因子水平比较** GDM孕妇与正常孕妇外周血单核细胞培养液上清炎症因子(IL-1、IL-10、TNF- $\alpha$ )表达水平比较,经 $t$ 检验,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),表明GDM孕妇各小组[加入LPS(L组)、LPS和TAK1蛋白特异性抑制剂(LT组)、TAK1蛋白特异性抑制剂(T组)、空白对照组(W组)]炎症因子表达水平均高于正常孕妇组。见图1~4。

**2.2.2 正常孕妇外周血单核细胞加药或培养后,各组培养液上清炎症因子水平比较** 正常孕妇中,L组及其他组上清细胞因子(IL-1、IL-10、TNF- $\alpha$ )表达水平比较,经方差分析,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。L组上清细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-10)表达水平高于LT、W、T组,经 $t$ 检验,差异有统计学意义(TNF- $\alpha$ : $t=3.061$ , $3.949$ 和 $4.998$ , $P=0.003$ , $0.000$ 和 $0.000$ ;IL-1: $t=3.840$ , $5.057$ 和 $6.460$ , $P=0.000$ ;IL-10: $t=2.380$ , $4.256$ 和 $4.854$ , $P=0.000$ )。W组与T组、LT组上清炎症因子水平,经 $t$ 检验,差异无统计学意义

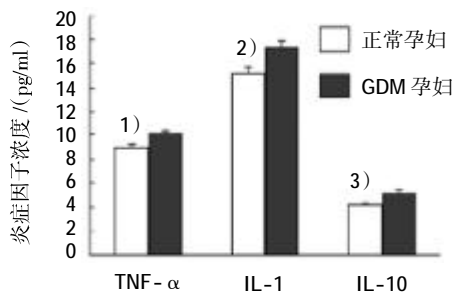


1)与GDM孕妇比较, $t=-3.989$ , $P=0.000$ ;2)与GDM孕妇比较, $t=-6.162$ , $P=0.000$ ;3)与GDM孕妇比较, $t=-4.631$ , $P=0.000$

图1 加入LPS(L组)培养后,GDM孕妇与正常孕妇外周血单核细胞培养液上清炎症因子比较

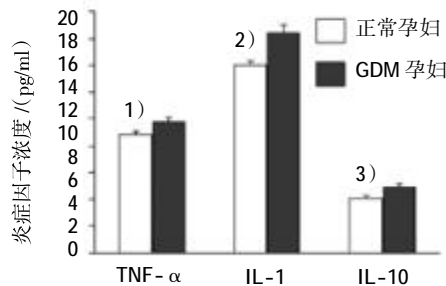
( $P>0.05$ ),W 组与 T 组、LT 组上清炎症因子表达水平比较,差异无统计学意义。见表 1。

**2.2.3 GDM 孕妇外周血单核细胞加药或培养后,各组培养液上清炎症因子比较** GDM 孕妇中,L 组及其他组上清细胞因子(IL-1、IL-10、TNF- $\alpha$ )表达水平比较,经方差分析,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。L 组上清细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-10)表达水平高于 LT、W、T 组,经  $t$  检验,差异有统计学意义



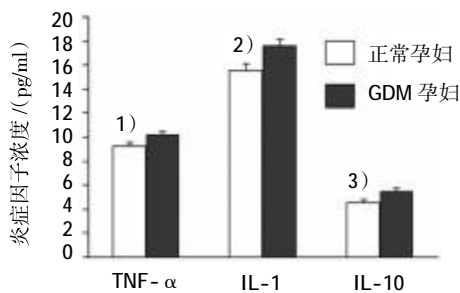
1)与 GDM 孕妇比较, $t=-4.217, P=0.000$ ;2)与 GDM 孕妇比较, $t=-4.497, P=0.000$ ;3)与 GDM 孕妇比较, $t=-4.499, P=0.000$

**图 2 空白对照组(W 组)培养后,GDM 孕妇与正常孕妇外周血单核细胞培养液上清炎症因子比较**



1)与 GDM 孕妇比较, $t=-4.083, P=0.000$ ;2)与 GDM 孕妇比较, $t=-3.913, P=0.000$ ;3)与 GDM 孕妇比较, $t=-4.597, P=0.000$

**图 3 加入 TAK1 蛋白特异性抑制剂(T 组)培养后,GDM 孕妇与正常孕妇外周血单核细胞培养液上清炎症因子比较**



1)与 GDM 孕妇比较, $t=-4.262, P=0.000$ ;2)与 GDM 孕妇比较, $t=-3.964, P=0.000$ ;3)与 GDM 孕妇比较, $t=-3.799, P=0.000$

**图 4 加入 LPS 和 TAK1 蛋白特异性抑制剂(LT 组)培养后,GDM 孕妇与正常孕妇外周血单核细胞培养液上清炎症因子比较**

(TNF- $\alpha$ : $t=3.318, 3.566$  和  $4.840, P=0.002, 0.001$  和  $0.000$ ;IL-1: $t=3.866, 4.439$  和  $6.513, P=0.000$ ;IL-10: $t=2.513, 3.621$  和  $3.696, P=0.015, 0.001$  和  $0.000$ )。W 组与 T 组、LT 组上清炎症因子水平比较,经  $t$  检验,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),W 组与 T 组、LT 组上清炎症因子表达水平水平比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

**2.3 各组蛋白表达量比较**

**2.3.1 GDM 孕妇与正常孕妇外周血单核细胞 TAK1 蛋白表达量比较** ①GDM 孕妇(L 组、LT 组、T 组、W 组)与正常孕妇 TAK1 蛋白表达量比较,经  $t$  检验,差异有统计学意义( $t=2.341, 1.968, 1.436$  和  $1.795, P=0.000$ ),GDM 孕妇不同处理组 TAK1 蛋白表达量均增加;②正常孕妇中,L 组及其他各小组检测到的 TAK1 蛋白表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义( $F=1.982, P=0.000$ ),L 组的 TAK1 蛋白表达量高于其余各组。加入 TAK1 抑制剂 5Z-7-Oxozeaenol 组(T 组和 LT 组)未检测到 TAK1

**表 1 正常孕妇外周血单核细胞加药或培养后,各组培养液上清炎症因子比较** ( $n=30, \text{pg/ml}, \bar{x} \pm s$ )

组别	TNF- $\alpha$	IL-1	IL-10
L 组	10.01 $\pm$ 1.00	17.11 $\pm$ 1.33	5.04 $\pm$ 0.80
LT 组	9.28 $\pm$ 0.84 <sup>1)2)3)</sup>	15.6 $\pm$ 1.70 <sup>1)2)4)</sup>	4.55 $\pm$ 0.80 <sup>1)2)3)</sup>
W 组	9.00 $\pm$ 0.97 <sup>1)</sup>	15.19 $\pm$ 1.61 <sup>1)</sup>	4.24 $\pm$ 0.64 <sup>1)</sup>
T 组	8.85 $\pm$ 0.79 <sup>1)2)</sup>	13.97 $\pm$ 1.45 <sup>1)2)</sup>	4.09 $\pm$ 0.63 <sup>1)2)</sup>
F 值	9.697	14.577	9.439
P 值	0.000	0.000	0.000

注:1)与 L 组(加 LPS)比较, $P<0.01$ ;2)与 W 组(空白对照组)比较, $P>0.05$ ;3)与 T 组(加抑制剂)比较, $P>0.05$ ;4)与 T 组(加抑制剂)比较, $P=0.012$

**表 2 GDM 孕妇外周血单核细胞加药或培养后,各组培养液上清炎症因子比较** ( $n=30, \text{pg/ml}, \bar{x} \pm s$ )

组别	TNF- $\alpha$	IL-1	IL-10
L 组	11.03 $\pm$ 0.99	19.36 $\pm$ 1.49	6.15 $\pm$ 1.04
LT 组	10.23 $\pm$ 0.88 <sup>1)2)3)</sup>	17.55 $\pm$ 2.09 <sup>1)2)4)</sup>	5.47 $\pm$ 1.06 <sup>2)3)5)</sup>
W 组	10.10 $\pm$ 1.04 <sup>1)</sup>	17.31 $\pm$ 2.03 <sup>1)</sup>	5.20 $\pm$ 0.98 <sup>1)</sup>
T 组	9.79 $\pm$ 0.99 <sup>1)2)</sup>	16.36 $\pm$ 2.03 <sup>1)2)</sup>	4.92 $\pm$ 0.86 <sup>1)2)</sup>
F 值	8.787	12.677	5.915
P 值	0.000	0.000	0.000

注:1)与 L 组(加 LPS)比较, $P<0.01$ ;2)与 W 组(空白对照组)比较, $P>0.05$ ;3)与 T 组(加抑制剂)比较, $P>0.05$ ;4)与 T 组(加抑制剂)比较, $P=0.019$ ;5)与 L 组(加 LPS)比较, $P=0.012$



的表达,空白对照组(W组)仅检测到 TAK1 的少量表达;③GDM 孕妇中,L组及其他各小组检测到的 TAK1 蛋白表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义( $F=2.573, P=0.000$ ),L组的 TAK1 蛋白表达量高于其余各组。见表 3 和图 5。

**2.3.2 GDM 孕妇与正常孕妇各组外周血单核细胞 NF-κB 蛋白的表达量比较** ①GDM 孕妇(L组、LT组、T组、W组)与正常孕妇 NF-κB 蛋白表达量比较,经 t 检验,差异有统计学意义( $t=1.573、1.362、1.036$  和  $1.495, P=0.000$ ),GDM 孕妇单核细胞 NF-κB 蛋白表达量高于正常孕妇;②正常孕妇中,L组及其余各组检测到的 NF-κB 表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义( $F=1.068, P=0.000$ ),L组 NF-κB 表达量高于其余各组。W组与 T组、LT组检测到的 NF-κB 表达量比较,经 t 检验,差异无统计学意义( $P>0.05$ );③GDM 孕妇中,L组及其余各组检测到的 NF-κB 表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义( $F=1.915, P=0.000$ ),L组 NF-κB 表达量高于其余各组。见表 4 和图 6。

**2.4 GDM 孕妇与正常孕妇外周血单核细胞 TAK1 及 NF-κB 蛋白表达量与上清炎症因子水平的相关性分析**

Pearson 相关性分析发现,TAK1 与 NF-κB 蛋白表达呈正相关(相关系数 =0.463,  $P=0.002$ );TAK1 蛋白表达量与上清炎症因子水平(TNF-α、IL-1、

IL-10)呈正相关(相关系数 =0.367、0.542 和 0.427,  $P=0.016、0.002$  和  $0.025$ );NF-κB 蛋白表达量与上清炎症因子水平(TNF-α、IL-1、IL-10)呈正相关(相关系数 =0.561、0.329、0.336,  $P=0.024、0.010$  和  $0.035$ )。

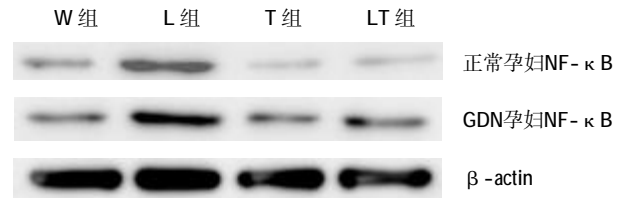


图 6 NF-κB 蛋白显影后图像

表 4 GDM 孕妇与正常孕妇外周血单核细胞干预培养后, 各组 NF-κB 蛋白表达量比较 ( $n=30, \bar{x} \pm s$ )

组别	GDM 孕妇 NF-κB	正常孕妇 NF-κB
L 组	1.96 ± 0.92	1.25 ± 0.59
LT 组	1.51 ± 0.67 <sup>1)2)</sup>	0.79 ± 0.45 <sup>1)2)</sup>
W 组	1.35 ± 0.73 <sup>1)2)3)</sup>	0.83 ± 0.56 <sup>1)2)3)</sup>
T 组	1.19 ± 0.66 <sup>1)</sup>	0.48 ± 0.30 <sup>1)</sup>
F 值	1.915	1.068
P 值	0.000	0.000

注:1)与 L 组(加 LPS)比较,  $P<0.01$ ;2)与 T 组(加抑制剂)比较,  $P>0.05$ ;3)与 LT 组(加抑制剂)比较,  $P>0.05$

**3 讨论**

GDM 孕妇相对于正常孕妇,体内多种炎症因子水平升高<sup>[4]</sup>,可能存在慢性亚临床炎症状态<sup>[9]</sup>,目前 IR 同样被认为可能是一个慢性亚临床炎症过程,包括 TNF-α、IL-1 等在内的炎症因子介导细胞内炎症反应的信号转导,该炎症因子可能通过某些途径,使胰岛素信号转导受阻,从而诱发 IR<sup>[10-11]</sup>。虽然炎症可能与 GDM 发病相关,但是上述炎症因子升高的机制及其相关通路的激活和调控,还有待进一步探讨。

丛林等<sup>[9]</sup>研究认为,LPS 可通过 LPS-TLR4-NF-κB 炎症通路刺激炎症因子 IL-1、TNF-α 等的转录释放,引起致炎因子 IL-1、TNF-α 和抗炎因子 IL-10 水平升高,可能参与 GDM 的发病。本研究结果显示,GDM 孕妇血浆 LPS 浓度在基础状态下高于正常孕妇,因此笔者推测,LPS 可能通过刺激炎症因子(IL-1、TNF-α)的释放,加剧 GDM 孕妇体内炎症的进程。而在有关糖尿病的研究中,IL-1 和 TNF-α 分别与 IL-1R、TNF-R 受体结合后,同样可以激活类

表 3 GDM 孕妇与正常孕妇外周血单核细胞干预培养后, 各组 TAK1 蛋白表达量比较 ( $n=30, \bar{x} \pm s$ )

组别	GDM 孕妇 TAK1	正常孕妇 TAK1
L 组	2.79 ± 0.79	2.06 ± 0.78
LT 组	1.54 ± 0.75 <sup>1)2)</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>1)</sup>
W 组	1.39 ± 0.64 <sup>1)2)</sup>	0.41 ± 0.27 <sup>1)</sup>
T 组	1.31 ± 0.55 <sup>1)</sup>	0.00 ± 0.00 <sup>1)</sup>
F 值	2.573	1.982
P 值	0.000	0.000

注:1)与 L 组(加 LPS)比较,  $P=0.000$ ;2)与 T 组(加抑制剂)比较,  $P>0.05$

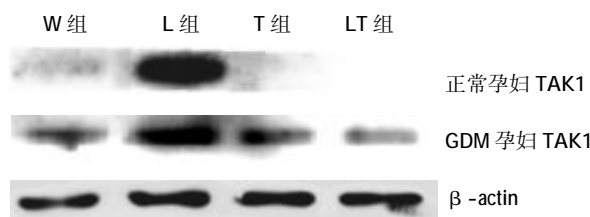


图 5 TAK1 蛋白显影后图像

似的炎症通路,进而释放炎症因子<sup>[6]</sup>(IL-1、TNF- $\alpha$ ),因此 LPS、TNF- $\alpha$ 、IL-1 等致炎因子及炎症因子便可相互作用,使 GDM 患者体内的炎症状态持续存在,并通过多种途径引起慢性低度炎症的循环和胰岛素抵抗。而抑制炎症因子的释放,阻断通路的循环有可能缓解 IR,从而为 GDM 的治疗提供新的路径。

有关 TAK1 的研究中,有研究表明,在 LPS 刺激诱导的 NF- $\kappa$ B 相关的炎症通路中,通过有效地抑制 TAK1 的活性,可以阻止其下游 IKK 复合物的活化,从而阻止 NF- $\kappa$ B 入核,抑制炎症因子的释放<sup>[7]</sup>。但是关于 TAK1 在 GDM 孕妇炎症通路中的研究尚未见报道。本研究中 GDM 孕妇与正常孕妇外周血单核细胞在相同培养刺激条件下,GDM 孕妇外周血单核细胞的 TAK1 及 NF- $\kappa$ B 蛋白表达量和炎症因子(IL-1、IL-10、TNF- $\alpha$ )的表达水平均升高,提示 GDM 孕妇体内可能存在 TAK1/NF- $\kappa$ B 相关的炎症通路激活状态。LPS 刺激组的炎症因子、蛋白 TAK1 和 NF- $\kappa$ B 表达量相较于其他组明显增加,而在加入 LPS 的同时,加入 TAK1 选择性抑制剂 5Z-7-Oxozeaenol 的条件下,TAK1 和 NF- $\kappa$ B 蛋白表达量及炎症因子水平均下降,说明 LPS 可以诱导 TAK1/NF- $\kappa$ B/炎症因子的高表达。同时在抑制 TAK1 活性的情况下,其下游介质 NF- $\kappa$ B 和炎症因子的表达也明显下调,且 TAK1/NF- $\kappa$ B/炎症因子的表达呈正相关,表明 TAK1 可能参与并调控 GDM 孕妇外周血单核细胞 TAK1/NF- $\kappa$ B/相关炎症通路的形成。

不仅在 LPS 诱导的炎症通路中,在 IL-1 和 TNF- $\alpha$  等诱导的炎症通路中,TAK1 也发挥重要作用,有研究认为,当 IL-1、TNF- $\alpha$  和 LPS 分别与受体包膜上不同受体结合后,可触发 TAK1/NF- $\kappa$ B 相关的炎症通路,从而启动炎症因子的转录<sup>[13]</sup>。所以抑制 TAK1 活性不仅可以抑制 LPS 诱导的炎症通路,还可能抑制 LPS 激活的 IL-1 和 TNF- $\alpha$  相关的炎症通路,发挥其对 GDM 炎症发病机制中一些炎症通路的抑制作用,阻断炎症通路的循环。但是这仅仅是一些猜想,还需进一步深入研究。

综上所述,TAK1 可能参与 LPS 诱导的 GDM 孕妇外周血单核细胞炎症通路的形成,且可以通过 TAK1 的环节下调炎症因子的表达,抑制炎症反应的进程。目前,存在不少有关 TAK1 的抗炎机制的研

究,但大多集中在细胞层次和动物模型中,笔者的研究也仅限于机制的研究,仅希望能为 GDM 的治疗提供新的思路。

#### 参 考 文 献:

- [1] Schneider S, Bock C, Wetzel M, et al. The prevalence of gestational diabetes in advanced economies[J]. *J Perinat Med*, 2012, 40(5): 511-520.
- [2] Alfadhli EM. Gestational diabetes mellitus[J]. *Saudi Med J*, 2015, 36(4): 399-406.
- [3] Li YY, Xiao R, Li CP, et al. Increased plasma levels of FABP4 and PTEN is associated with more severe insulin resistance in women with gestational diabetes mellitus[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 426-431.
- [4] Yu J, Zhou Y, Gui J, et al. Assessment of the number and function of macrophages in the placenta of gestational diabetes mellitus patients[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2013, 33(5): 725-729.
- [5] 丛林,李从青,袁静,等. LPS-TLR4-NF- $\kappa$ B 通路在妊娠期糖尿病、正常孕妇及育龄妇女外周血单核细胞中的表达[J]. *现代妇产科进展*, 2010, 19(11): 820-822.
- [6] He B, Santamaria R, Xu W, et al. The transmembrane activator TAC1 triggers immunoglobulin class switching by activating B cells through the adaptor MyD88[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(9): 836-845.
- [7] Wu J, Powell F, Larsen NA, et al. Mechanism and in vitro pharmacology of TAK1 inhibition by (5Z)-7-Oxozeaenol[J]. *ACS Chemical Biology*, 2013, 8(3): 643-650.
- [8] Metzger BE, Gabbe SG, Persson B, et al. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(3): 676-682.
- [9] Pantham P, Aye IL, Powell TL. Inflammation in maternal obesity and gestational diabetes mellitus[J]. *Placenta*, 2015, 36(7): 709-715.
- [10] Shah A, Mehta N, Reilly MP. Adipose inflammation, insulin resistance, and cardiovascular disease[J]. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 2008, 32(6): 638-644.
- [11] Odegaard JI, Chawla A. Mechanisms of macrophage activation in obesity-induced insulin resistance[J]. *Nat Clin Pract Endocrinol Meta*, 2008, 4(11): 619-626.
- [12] Ear T, Fortin CF, Simard FA, et al. Constitutive association of TGF-beta-activated kinase 1 with the I $\kappa$ B kinase complex in the nucleus and cytoplasm of human neutrophils and its impact on downstream processes[J]. *J Immunol*, 2010, 184(7): 3897-3906.
- [13] Odegaard JI, Chawla A. Connecting type 1 and type 2 diabetes through innate immunity[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2012, 2(3): 1-18.

(童颖丹 编辑)