

商陆皂苷甲抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路改善大鼠动脉粥样硬化的作用研究

谭子富, 李家权, 于 颖, 张 娟

恩施土家族苗族自治州中心医院, 湖北 恩施 445000

摘要: 目的 研究商陆皂苷甲 (EsA) 对动脉粥样硬化 (AS) 大鼠的作用及机制。方法 将SD雄性大鼠随机分为对照组、模型组、辛伐他汀片 (SIMT, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 阳性对照) 组和EsA高、低剂量 (10 、 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, 每组6只。对照组给予普通饲料, 其余各组以高脂饲料联合 ip $7 \times 10^5 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 维生素 D_3 (在第3天注射) 制备AS模型。造模的同时 ip 给药, 每天1次。采用全自动生化分析仪检测各组大鼠血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 和高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 水平; ELISA 法检测血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6 (IL-6) 和白细胞介素-1 β (IL-1 β) 水平; HE 染色法观察胸主动脉病理变化; Western blotting 法检测胸主动脉 Toll 样受体 4 (TLR4) 和髓样分化因子 88 (MyD88) 蛋白表达; 免疫组化法检测胸主动脉核因子 κ B (NF- κ B) p65 阳性细胞表达。结果 与对照组比较, 模型组大鼠血清中 TC、TG、LDL-C、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平显著升高 ($P < 0.01$), HDL-C 水平显著降低 ($P < 0.01$); 胸主动脉血管内皮损伤严重, 可见明显蓝色钙状斑块; 胸主动脉 TLR4 和 MyD88 蛋白表达以及 NF- κ B p65 阳性细胞表达显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, EsA 高、低剂量组大鼠血清血脂和炎症因子水平明显改善 ($P < 0.05$ 、 0.01); 胸主动脉血管内皮大致恢复正常, 蓝色钙状斑块减少; 胸主动脉 TLR4 和 MyD88 蛋白表达以及 NF- κ B p65 阳性细胞表达显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。结论 EsA 可能通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路对大鼠 AS 发挥改善作用。

关键词: 动脉粥样硬化; 商陆皂苷甲; 炎症; Toll 样受体 4 (TLR4) /核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2022) 12-2509-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.12.015

Effect of esculentoside A on improving atherosclerosis in rats by inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway

TAN Zifu, LI Jiaquan, YU Ying, ZHANG Juan

The Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi 445000, China

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of esculentoside A (EsA) on rats with atherosclerosis (AS). **Methods** SD male rat were randomly divided into control group, model group, simvastatin (SIMT, positive drug, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group, EsA high and low dose (10 and $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) groups, with six rats in each group. The control group was given ordinary diet, and the other groups were given high fat diet combined with ip $7 \times 10^5 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ vitamin D_3 (injected on the third day) to prepare AS model, while administering once a day. After rat serum collection, automatic biochemical analyzer was used to detect serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels of rats in each group. Enzyme-linked immunoassay was used to detect serum cytokines Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6), and Interleukin-1 β (IL-1 β) levels. HE staining method was used to analyze the pathological changes of thoracic aorta. Western blotting was used to detect the protein expression of Toll-like receptor 4 (TLR4) and myeloid differentiation factor 88 (MyD88). Immunohistochemical staining was used to detect the expression of nuclear factor κ B (NF- κ B) p65 positive cells. **Results** Compared with the control group, the serum levels of TC, TG, LDL-C, TNF- α , IL-6, and IL-1 β in the model group were significantly increased ($P < 0.01$), and HDL-C was significantly decreased ($P < 0.01$). The thoracic aorta vascular endothelium of rats in the model group was severely injured, which accompanied with obvious blue calcium-like plaques. The expression of TLR4 and MyD88 proteins and NF- κ B p65 positive cells in thoracic aorta were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with model group, the levels of serum lipids and inflammatory factors in rats in the EsA groups were significantly improved ($P < 0.05$ and 0.01). The endothelium of the thoracic aorta returned to normal and the blue calcium plaques decreased. The expression of TLR4 and MyD88 proteins and NF- κ B

收稿日期: 2022-04-07

基金项目: 恩施州科学技术局指导性项目(2018年度)

第一作者: 谭子富,男,副主任医师,研究方向为心血管疾病预防。E-mail: tanzifu19692022@163.com

p65 positive cells in thoracic aorta were significantly decreased ($P < 0.05$ and 0.01). **Conclusion** EsA might play a therapeutic effect on AS rats by inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway.

Key words: atherosclerosis; esculentoside A; inflammation; TLR4/NF- κ B signaling pathway

动脉粥样硬化(AS)是一种由脂质和胆固醇代谢紊乱导致的慢性炎症性疾病,其主要病变特点是部分动脉脂质沉积,伴有平滑肌细胞和纤维基质增生,逐渐发展为AS斑块^[1]。值得注意的是,AS是导致冠心病和外周血管疾病等心血管疾病的主要原因^[2]。随着人们生活水平的提高和生活方式的改变,AS的发病率逐渐增高,且发病年龄不断呈年轻化趋势进展。目前,AS的发病机制尚不十分明确。但诸多证据证实,炎症是AS发生和发展中生理和病理变化的基础,靶向阻断炎症反应可能是治疗AS的潜在策略^[3]。

商陆是我国分布十分广泛的商陆科商陆属垂序商陆 *Phytolacca americana* L. 或商陆 *P. acinosa* Roxb. 的干燥根,其性苦味寒,具逐水消肿、通利二便之药力^[4]。商陆的有效成分之一商陆皂苷甲(EsA)是一种三萜皂苷类成分,其分子式为 $C_{42}H_{66}O_{16}$,结构见图1,常温下为固体粉末,易溶于水等极性溶剂。研究发现,EsA具有抗炎、抗菌和利尿等多种活性,具有较高的药用价值^[5-6]。目前关于EsA的研究主要集中在肾炎、骨关节炎和慢性支气管炎等疾病上,尚无其治疗AS的报道^[7]。Toll样受体4(TLR4)/核转录因子 κ B(NF- κ B)信号通路对于炎症疾病进展具有关键的调控作用。因此,本研究以AS大鼠为对象,首次基于TLR4/NF- κ B信号通路探讨EsA对AS的作用及机制,以期EsA的临床应用提供参考。

1 材料

1.1 动物

30只SPF级SD雄性大鼠,体质量(220 ± 20)g,由杭州医学院提供,实验动物生产许可证号为

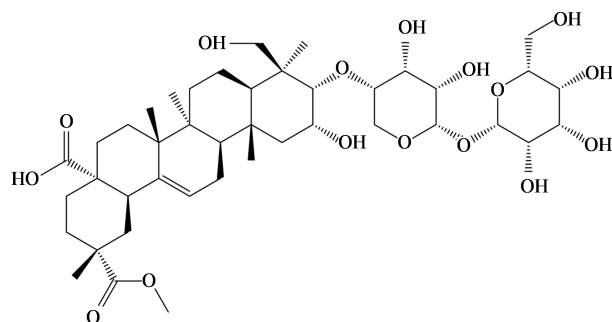


图1 EsA的化学结构

Fig. 1 Structure of EsA

SCXK(浙)2019-0002。动物实验方案经恩施土家族苗族自治州中心医院实验动物伦理委员会批准,动物实验批准文号为2021伦审第(21)号,符合实验动物福利与伦理原则。

1.2 药物及主要试剂

EsA(货号B21143,质量分数98%)和HE染液(货号R20570),均购自上海源叶生物公司;辛伐他汀片(SIMT,每片10 mg),购自山东鲁抗医药集团赛特有限责任公司;维生素D₃注射液,购自浙江仙琚公司;4%多聚甲醛(批号BL539A),购自合肥白鲨公司;肿瘤坏死因子- α (TNF- α ,货号SP12250)、白细胞介素-6(IL-6,货号SP12279)和白细胞介素-1 β (IL-1 β ,货号SP12225)ELISA试剂盒,购自武汉赛培公司;普通饲料、高脂饲料(88%普通饲料、2%胆固醇、10%猪油),均购自江苏协同医药生物公司;BCA蛋白定量试剂盒(货号P0012S),购自上海碧云天公司;TLR4(货号A5258)、髓样分化因子88(MyD88,货号A19082)、NF- κ B p65(货号A19653)和 β -actin(货号AC038)一抗,购自武汉爱博泰克生物科技有限公司。

1.3 主要仪器

Hitachi7170A型全自动生化分析仪,日本日立公司;Multiskan MK3型酶联免疫检测仪、iBright CL750型凝胶成像系统,美国Thermo公司;DMi8型生物显微镜、RM2235型病理切片机,德国Leica公司。

2 方法

2.1 大鼠模型的建立及分组

大鼠适应性饲养7 d后,随机分为5组:对照组、模型组、SIMT($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,阳性对照)组和EsA高、低剂量(10 、 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[8]组,每组6只。对照组给予普通饲料,其余各组依据文献报道以高脂饲料联合ip $7 \times 10^5 \text{ U} \cdot \text{kg}^{-1}$ 维生素D₃(在第3天注射)制备AS模型,持续8周^[9]。造模同时ip给药,每天1次,对照组和模型组给予等量生理盐水。

2.2 大鼠血清血脂及细胞因子水平检测

实验结束后,ip 0.3%戊巴比妥钠麻醉,眼眶取血, $4000 \times g$ 离心10 min取上清,全自动生化分析仪检测血清中总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)。

醇(HDL-C)水平,依据试剂盒说明书步骤检测血清中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 水平。

2.3 大鼠胸主动脉病理学检查

大鼠麻醉后脱颈处死,打开腹腔取出胸主动脉,一部分于-80℃环境中冻存,一部分于10%福尔马林溶液中固定。将固定后的胸主动脉脱水后石蜡包埋。将蜡块切片并脱蜡,依据说明书步骤进行HE染色并利用显微镜观察、拍照。

2.4 Western blotting 法检测大鼠胸主动脉 TLR4 和 MyD88 蛋白的表达

取出冻存的胸主动脉组织,提取总蛋白,按BCA试剂盒说明书步骤定量,按每孔30 μ g蛋白量进行SDS-PAGE电泳,结束后转膜至PVDF膜,5%脱脂奶粉溶液(0.1% TBST 配制)封闭2 h。0.1% TBST 1:1 000 稀释 TLR4 和 MyD88 一抗,4℃孵育过夜,0.1% TBST 润洗。0.1% TBST 1:10 000 稀释 HRP 标记的二抗,室温孵育1 h,0.1% TBST 润洗。加入显影液,反应结束后吸干显影液。曝光、显影并扫描图像。最后导入相应分析软件分析并计算大鼠胸主动脉 TLR4 和 MyD88 的相对表达水平。

2.5 免疫组化法检测大鼠胸主动脉 NF- κ B p65 阳性细胞表达

取上述大鼠胸主动脉蜡块切片、脱蜡和修复,加入3%过氧化氢,室温孵育10 min,缓冲液洗涤3次(每次3 min)后蒸馏水洗涤3 min,封闭后滴加入1:200 稀释的NF- κ B p65 一抗过夜(盖住组织)。取出后缓冲液洗涤3次(每次3 min)后蒸馏水洗涤3 min,加入二抗室温孵育10 min,加入DAB液观察,合适后苏木素复染,最后脱水封片并利用显微镜观察免疫组化染色后细胞核染色程度,随机在5个200 $\times$ 视野对NF- κ B p65 阳性细胞表达进行评分,评分标准与文献报道一致^[10]:细胞核无着色为0分,

弱阳性1分,中等阳性2分,强阳性3分;25%以下阳性细胞数1分,26%~50%阳性细胞数2分,51%~75%阳性细胞数3分,76%以上阳性细胞数4分;以2项乘积为最终评分。

2.6 数据处理与分析

采用SPSS 19.0 和 Graphpad 8.0.2 软件处理数据,结果均用 $\bar{x}\pm s$ 表示。One-Way ANOVA 分析用于多组均数间比较,LSD- t 分析用于方差齐性两两比较,Dunnett's T_3 分析用于方差不齐两两比较。

3 结果

3.1 EsA 对 AS 大鼠血脂水平的影响

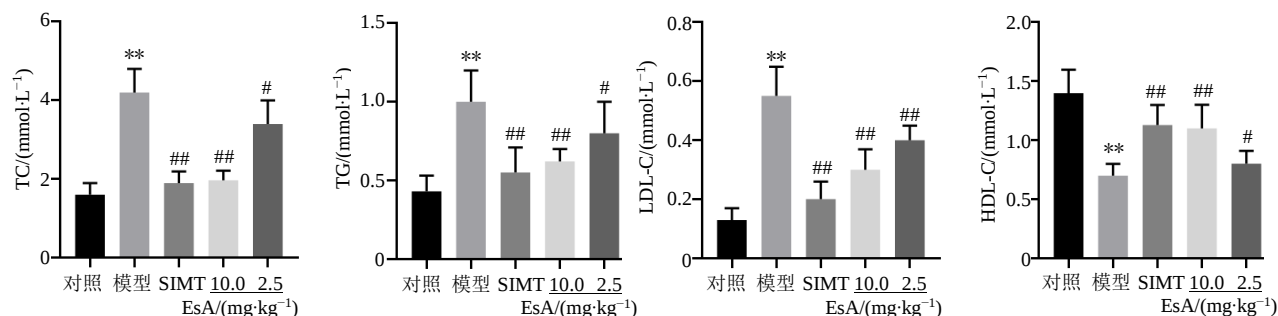
如图2所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中TC、TG和LDL-C水平显著升高($P<0.01$),HDL-C水平显著降低($P<0.01$);与模型组比较,EsA剂量相关性地显著降低大鼠血清中TC、TG和LDL-C水平($P<0.05$ 、0.01),升高HDL-C水平($P<0.05$ 、0.01),且高剂量EsA与SMIT效果相当。结果表明,EsA可改善AS大鼠的高血脂症状。

3.2 EsA 对 AS 大鼠炎症因子水平的影响

如图3所示,与对照组比较,模型组大鼠血清中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 水平显著升高($P<0.01$);与模型组比较,EsA剂量相关性地显著降低大鼠血清中TNF- α 、IL-6和IL-1 β 水平($P<0.05$ 、0.01),且高剂量EsA与SMIT效果相当。结果表明,EsA可降低AS大鼠的炎症因子水平。

3.3 EsA 对 AS 大鼠胸主动脉病理的影响

如图4所示,正常大鼠胸主动脉内皮光滑,无明显损伤,呈健康状态;AS大鼠胸主动脉血管内皮损伤严重,可见明显蓝色钙状斑块;SMIT和EsA高剂量干预的大鼠胸主动脉血管内皮无明显损伤及增厚,大致恢复正常;EsA低剂量干预的大鼠胸主动脉

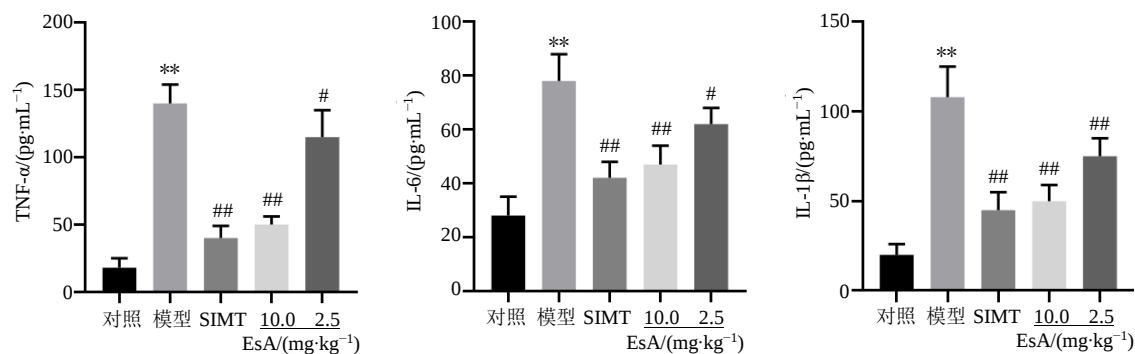


与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: # $P<0.05$ ## $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; # $P<0.05$ ## $P<0.01$ vs model group

图2 EsA对AS大鼠血脂水平的影响($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Fig. 2 Effect of EsA on lipid level in AS rats ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图3 EsA对AS大鼠血清炎症因子水平的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Fig. 3 Effect of EsA on inflammatory cytokines in AS rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

内皮损伤有恢复,蓝色钙状斑块减少。结果表明,EsA可改善AS大鼠胸主动脉病变。

3.4 EsA对AS大鼠胸主动脉TLR4和MyD88蛋白表达的影响

如图5所示,与对照组比较,模型组大鼠胸主动脉TLR4和MyD88蛋白表达显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,EsA剂量相关性地显著降低大鼠胸主动脉TLR4和MyD88的蛋白表达($P < 0.05, 0.01$)。

3.5 EsA对AS大鼠胸主动脉NF-κB p65阳性细胞表达的影响

如图6所示,NF-κB p65激活后会由胞浆进入细胞核,与对照组比较,模型组大鼠胸主动脉NF-κB

p65细胞核表达阳性程度、阳性细胞数和综合评分显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,高剂量EsA干预后大鼠胸主动脉NF-κB p65细胞核表达阳性程度、阳性细胞数和综合评分显著降低($P < 0.01$),低剂量EsA干预后大鼠胸主动脉NF-κB p65细胞核表达综合评分显著降低($P < 0.01$),EsA作用呈现剂量相关性。

4 讨论

流行病学研究显示,随着饮食习惯及生活方式的改变,AS在全球范围内的患病率和致死率逐渐上升,每年造成约2 000万人死亡^[11]。鉴于其发病率高,影响人数多,AS已成为全球范围的公共健康问

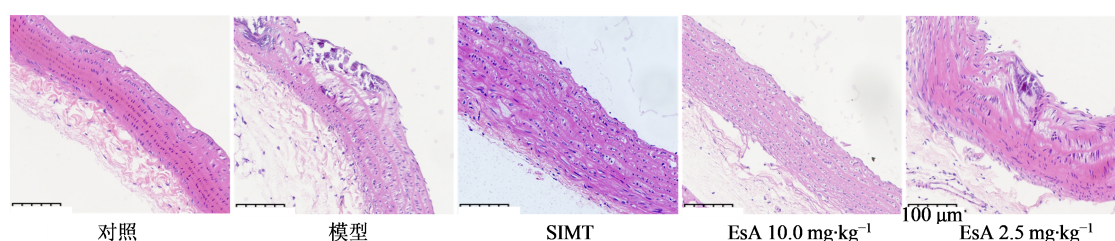
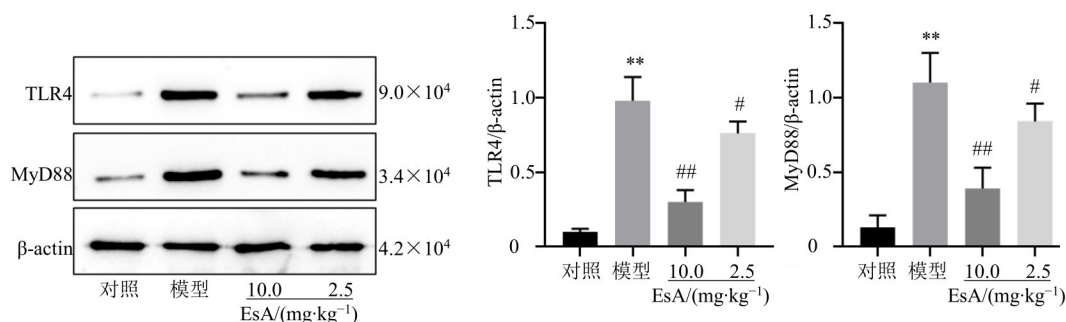


图4 EsA对AS大鼠胸主动脉病理的影响

Fig. 4 Effect of EsA on pathological changes in thoracic aorta of AS rats



与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group

图5 EsA对AS大鼠胸主动脉TLR4和MyD88蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 5 Effect of EsA on protein expression of TLR4 and MyD88 in thoracic aorta of AS rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

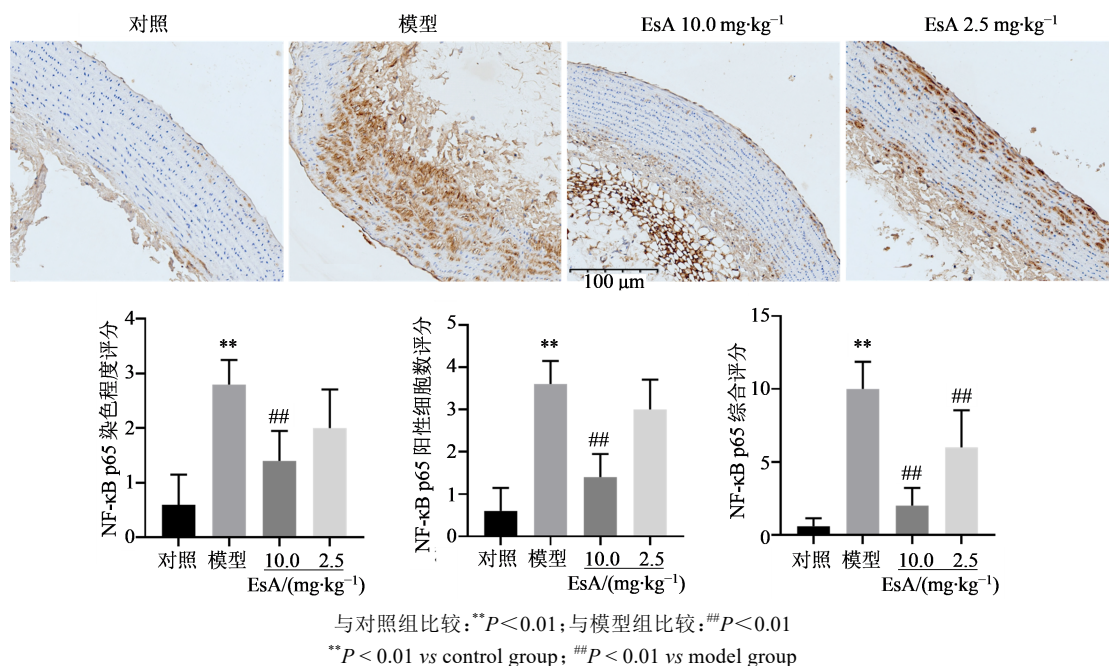


图6 EsA对AS大鼠胸主动脉NF-κB p65阳性细胞表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig. 6 Effect of EsA on expression of NF-κB p65 positive cells in thoracic aorta of AS rats ($\bar{x} \pm s, n=3$)

题。因此,寻找AS有效治疗药物已成为当前研究的热点。不断有研究发现中药单体在治疗AS上展现出安全、有效的特性,如丹酚酸B通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)/NF-κB信号通路缓解AS小鼠炎症^[12],白藜芦醇可通过脂质代谢、炎症及氧化应激等多种途径发挥对AS的有益作用^[13]。EsA作为商陆中富含的有效成分之一,研究证实其可通过多种途径以及作用于多种靶点在体内外产生抗炎作用^[7,14]。因此,推测EsA可能对慢性炎症性疾病AS具有潜在作用。

本研究中,高脂饮食联合维生素D₃诱导的AS大鼠模型血脂及炎症因子水平异常,胸主动脉出现了严重的内皮损伤以及产生蓝色钙状斑块,说明AS大鼠模型制备成功。当给予EsA干预后,AS大鼠的血脂及炎症因子水平趋于正常,胸主动脉内皮损伤及蓝色钙状斑块均改善明显。SIMT是临床常用的治疗AS药物。值得注意的是,本研究中EsA高剂量对于AS的改善效果与SIMT接近。因此,EsA对于AS大鼠具有明确的治疗作用。

TLRs是模式识别受体中最具特征的成员,其位于细胞膜或细胞质中,在识别病原体和引发炎症方面发挥关键作用^[15]。有研究证实,AS小鼠TLR2/4表达明显升高,表明TLR2/4可能具有促AS进展的作用^[16]。另外,机体微生物(革兰阴性菌)产生的脂多糖(LPS)已被证实是各种疾病伴随的慢性炎症的重要危险因素,其作用主要通过TLR4体现。一旦

TLR4识别病原体相关抗原而高表达,可通过其下游信号转导分子MyD88,经IκB激酶磷酸化后激活NF-κB^[17]。NF-κB是先天性和适应性免疫反应的重要协调者,激活后易位到细胞核并结合DNA结合位点,并作为编码促炎趋化因子和细胞因子的基因的转录因子,进而上调炎症反应,最终促进AS等疾病进展^[18]。本研究中,AS大鼠胸主动脉TLR4和MyD88蛋白表达及NF-κB p65阳性细胞表达明显升高,表明AS大鼠中TLR4/NF-κB信号通路介导的炎症反应处于激活状态。当给予EsA干预后,AS大鼠胸主动脉TLR4和MyD88蛋白表达及NF-κB p65阳性细胞表达明显降低,表明EsA对AS大鼠的TLR4/NF-κB信号通路具有较好的抑制作用,提示EsA可能通过抑制TLR4/NF-κB信号通路对AS大鼠产生治疗作用。

本研究结果表明,EsA对AS大鼠具有明确的治疗作用,其机制可能与抑制TLR4/NF-κB信号通路有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Pei X L, Wen Y J, Cui F C, et al. lncRNA CASC7 regulates pathological progression of ox-LDL-stimulated atherosclerotic cell models via sponging miR-21 and regulating PI3K/Akt and TLR4/NF-κB signaling pathways [J]. Aging, 2021, 13(23): 25408-25425.
- [2] Libby P, Buring J E, Badimon L, et al. Atherosclerosis

- [J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 56.
- [3] Moriya J. Critical roles of inflammation in atherosclerosis [J]. J Cardiol, 2019, 73(1): 22-27.
- [4] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
Pharmacopoeia of the People's Republic of China [S]. Volume I. 2015.
- [5] 张 丛, 刘传鑫, 王铭爽, 等. 基于细胞代谢组学的商陆皂苷甲诱导HKC细胞损伤的机制研究 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(3): 443-450.
Zhang C, Liu C X, Wang M S, et al. Mechanism research of HKC cell injury induced by esculentoside A based on cell metabolomics [J]. Drug Eval Res, 2020, 43(3): 443-450.
- [6] 王鹏程, 王秋红, 赵 珊, 等. 商陆化学成分及药理作用和临床应用研究进展 [J]. 中草药, 2014, 45(18): 2722-2731.
Wang P C, Wang Q H, Zhao S, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects, and clinical applications of *Phytolacca Radix* [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2014, 45(18): 2722-2731.
- [7] Shao Q, Xue S, Jiang Y F, et al. Esculentoside A protects against osteoarthritis by ameliorating inflammation and repressing osteoclastogenesis [J]. Int Immunopharmacol, 2020, 82: 106376.
- [8] Sun G D, Yang W, Zhang Y, et al. Esculentoside A ameliorates cecal ligation and puncture-induced acute kidney injury in rats [J]. Exp Anim, 2017, 66(4): 303-312.
- [9] 全文娟, 廖端芳, 庾勤慧. 动脉粥样硬化病证结合动物模型研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(1): 147-150.
Quan W J, Liao D F, Tuo Q H. Advances in integrated animal models of atherosclerosis combined with disease and syndrome [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(1): 147-150.
- [10] 李明凤, 方林娜, 计 翼, 等. 前列腺癌组织中TEM8与VEGF的表达及临床意义 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2020, 36(10): 1144-1148.
Li M F, Fang L N, Ji Y, et al. Expression and clinical significance of TEM8 and VEGF in prostate cancer tissues [J]. Chin J Clin Exp Pathol, 2020, 36(10): 1144-1148.
- [11] 肖素军, 赵 明. 动脉粥样硬化与免疫 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(4): 277-286.
Xiao S J, Zhao M. Atherosclerosis and immunity [J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(4): 277-286.
- [12] 张一凡, 韩向晖, 刘 萍. 丹酚酸B通过抑制MAPKs/NF- κ B信号通路减轻动脉粥样硬化模型小鼠肝脏炎症反应 [J]. 中国药理学通报, 2022, 38(4): 525-530.
Zhang Y F, Han X H, Liu P. Salvianolic acid B reduces liver inflammation in mice with atherosclerosis by inhibiting MAPKs/NF- κ B signaling pathway [J]. Chin Pharmacol Bull, 2022, 38(4): 525-530.
- [13] 任 珊, 丁 琳, 贾伟伟, 等. 白藜芦醇改善心血管疾病的状况 [J]. 中国临床药理学杂志, 2022, 38(5): 465-470.
Ren S, Ding L, Jia W W, et al. Currents situation of the resveratrol on the improve cardiovascular disease [J]. Chin J Clin Pharmacol, 2022, 38(5): 465-470.
- [14] Li Y H, Cao Y, Xu J, et al. Esculentoside A suppresses lipopolysaccharide-induced pro-inflammatory molecule production partially by casein kinase 2 [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 198: 15-23.
- [15] Zou Y, Huang Y W, Liu S Q, et al. Periodontopathic microbiota and atherosclerosis: Roles of TLR-mediated inflammation response [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022: 9611362.
- [16] Chukkapalli S S, Rivera-Kweh M F, Velsko I M, et al. Chronic oral infection with major periodontal bacteria *Tannerella forsythia* modulates systemic atherosclerosis risk factors and inflammatory markers [J]. Pathog Dis, 2015, 73(3): ftv009.
- [17] Yang H, Wu L M, Deng H M, et al. Anti-inflammatory protein TSG-6 secreted by bone marrow mesenchymal stem cells attenuates neuropathic pain by inhibiting the TLR2/MyD88/NF- κ B signaling pathway in spinal microglia [J]. J Neuroinflamm, 2020, 17(1): 154.
- [18] Sharma S, Garg I, Ashraf M Z. TLR signalling and association of TLR polymorphism with cardiovascular diseases [J]. Vascu Pharmacol, 2016, 87: 30-37.

[责任编辑 兰新新]