

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.30.018

## TLR2 和 TLR4 在大鼠光滑念珠菌肺部感染中的表达及意义\*

吴 晔, 骆雪萍<sup>△</sup>, 吴呈霖, 张 雪

(桂林医学院附属医院重症医学科, 广西桂林 541001)

**摘要:**目的 研究 Toll 样受体 2(TLR2)和 TLR4 在光滑念珠菌肺部感染大鼠中的作用。方法 将 36 只大鼠分为 3 组, 每组 12 只: 对照组(A 组)、未免疫抑制肺部光滑念珠菌感染组(B 组)及免疫抑制肺部光滑念珠菌感染组(C 组)。每组分别在造模成功后第 1、3 天各处死大鼠 6 只, 观察肺组织病理变化, 用逆转录 PCR(RT-PCR)法检测肺组织 TLR2、TLR4 mRNA 的表达、酶联免疫吸附实验(ELISA)法测定 TNF- $\alpha$  蛋白水平。结果 A 组肺组织正常; B 组部分肺泡塌陷、炎症细胞浸润, 未见孢子或菌丝; C 组大部分肺泡塌陷, 部分扩张, 大量炎症细胞浸润、并有孢子菌丝聚积。第 1、3 天 TLR2 mRNA 和 TNF- $\alpha$  蛋白表达水平 C 组明显高于其他两组( $P < 0.01$ ), B 组高于 A 组( $P < 0.05$ ); C 组第 3 天 TLR2、TLR4 mRNA, TNF- $\alpha$  表达水平高于第 1 天( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 且 TLR4 表达高于 A 组( $P < 0.05$ )。结论 TLR2 和 TNF- $\alpha$  可能参与光滑念珠菌肺部感染的发生发展, TLR4 可能起协同作用。

关键词: 念珠菌, 光滑; TLR2; TLR4; 肺组织

中图分类号: R536

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)30-4034-03

## Expression of TLR2 and TLR4 in the lungs of mice infected by candida glabrata\*

Wu Ye, Luo Xueping<sup>△</sup>, Wu Chenglin, Zhang Xue

(ICU of Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China)

**Abstract:** Objective To study the roles of Toll-like receptor 2(TLR2) and Toll-like receptor 4(TLR4) in the progress of pulmonary infection with candida glabrata in experimental mice. **Methods** The mice were divided into three groups, the control group (group A), mice infected with candida glabrata (group B) and immunosuppressive mice infected with candida glabrata (group C). 6 mice in each group were killed at 1st and 3rd day after the success in pulmonary infection with candida glabrata. The lung tissues from each group were collected for pathological analysis and RT-PCR to detect the expression level of TLR2 and TLR4. Protein TNF alpha (TNF- $\alpha$ ) level was measured by ELISA method. **Results** The pathological analysis showed the structure was normal and there was no inflammatory reaction in lungs in group A. The infiltration of inflammatory cells, weak injuries but no conidia or hyphae in lungs were found in group B. Most of the alveolar collapse and severe damage, part of the expansion, a large number of inflammatory cells infiltration, accompanying with conidia and hyphae accumulation were observed in group C. The expression levels of TLR2 mRNA and TNF- $\alpha$  protein in mice lungs at the 1st day and the 3rd day in group C were significantly higher than in group A and B ( $P < 0.05$ ), while group B was higher than group A ( $P < 0.05$ ); The expression levels of TLR2, TLR4 mRNA and TNF- $\alpha$  protein in group C at the 3rd day was higher than the 1st day ( $P < 0.01$ ), meanwhile, the expression of TLR4 was higher than in group A ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** TNF- $\alpha$  and TLR2 expression maybe involve in the infection and process of candida glabrata, and TLR4 may play a synergistic effect.

Key words: candida glabrata; toll like receptor-2; toll like receptor-4; lung tissue

近年来, 由于广谱抗菌药物、免疫抑制剂、糖皮质激素的广泛应用等, 重症监护病房(intensive care unit, ICU)侵袭性真菌感染(invasive fungal infection, IFI)尤其是侵袭性肺部真菌感染(invasive pulmonary fungal infection, IPFI)有增加趋势, 既往白念珠菌为最常见的病原真菌, 但近年来在氟康唑预防及治疗选择性压力下, 非白念珠菌所占比例明显增加甚至远远超过白念珠菌<sup>[1]</sup>。其中光滑念珠菌已成为非白念珠菌中第 2 位或第 3 位的致病念珠菌<sup>[2]</sup>。本文模拟 ICU 常见的 IFI, 建立光滑念珠菌肺部感染大鼠模型, 观察光滑念珠菌肺部感染后肺组织 Toll 样受体 2(Toll-like receptor 2, TLR2)、TLR4 水平的表达及变化, 探讨 TLR2、TLR4 在光滑念珠菌肺部感染发生和发展中的作用。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 健康雌性 SD 大鼠 36 只, 6 周龄, 体质量(150 $\pm$ 30)g, 购自广西医科大学实验动物中心, 经检疫后健康无疾病。将大鼠分 3 组每组 12 只, A 组: 对照组; B 组: 未免疫抑制肺部感染光滑念珠菌组; C 组: 免疫抑制肺部感染光滑念珠菌组。

**1.2 菌株** 标准光滑念珠菌菌株(编号 9527): 购自上海酶联生物科技有限公司。比浊法用无菌生理盐水稀释成含菌量  $1 \times 10^7$  CFU/mL 混匀, 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

**1.3 光滑念珠菌孢子悬液的制备** 将光滑念珠菌接种查氏固体培养基, 置于真菌恒温培养箱中, 37.1 $^{\circ}$ C 恒温培养 24 h, 用含 0.1% 失水山梨醇单油酸酯聚氧乙烯醚(Tween)80 生理盐水冲洗斜面, 使孢子游离悬浮于 Tween 生理盐水中, 8 层 200

目尼龙纱布过滤,滤液中孢子经计数测定,配成  $1 \times 10^7$  CFU/mL 孢子悬液。

**1.4 光滑念珠菌肺部感染模型的建立** C 组:大鼠腹腔注射地塞米松 1 g/kg,每 2 天 1 次,经 5 次制成免疫抑制状态。A、B 组大鼠腹腔注射等量生理盐水。于经 5 次腹腔注射地塞米松或生理盐水后次日,B、C 组大鼠分别气管内注入  $1 \times 10^7$  CFU/mL 光滑念珠菌孢子悬液 0.3 mL/只,A 组以等量生理盐水注入气管内。在气管内注入光滑念珠菌悬液或生理盐水后的第 1 天和第 3 天处死大鼠,无菌法分离大鼠肺组织用于肺组织病理切片和 RNA 提取。

**1.5 肺组织病理观察** 取各组大鼠 1 g 左肺组织作石蜡切片,常规苏木素-伊红(HE)染色、过碘酸雪夫(PAS)染色,观察肺组织病理改变。

**1.6 逆转录-PCR(RT-PCR)检测 TLR2 及 TLR4 的表达** 取约 50~100 mg 大鼠左肺组织,采用 Trizol 一步法提取总 RNA。按 RT 试剂盒说明书逆转录并进行 PCR 扩增。以大鼠  $\beta$ -actin 作为内参,引物序列如表 1。PCR 反应条件:94  $^{\circ}$ C 预变性 4 min;94  $^{\circ}$ C 30 s,60  $^{\circ}$ C 30 s,72  $^{\circ}$ C 60 s,30 个循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上电泳 30 min,凝胶成像系统拍照并分析光密度值,计算 mRNA 相对表达量,公式如下:mRNA 相对表达量=目的基因条带光密度值/对应的  $\beta$ -actin 条带光密度值。

表 1 实验扩增目的基因引物

| 目的基因           | 引物序列                             | 片段长度(bp) |
|----------------|----------------------------------|----------|
| TLR2           | 正向:5'-CACAGGACTCAAGAGCATCG-3'    | 362      |
|                | 反向:5'-AGCTGCCATCACACACCA-3'      |          |
| TLR4           | 正向:5'-CTCTTGCACTCTGGCTGGGACTC-3' | 218      |
|                | 反向:5'-TCCAGCCACTGAAGTTGTGACT-3'  |          |
| $\beta$ -actin | 正向:5'-GCTGTAGCTTGACCACCACAG-3'   | 188      |
|                | 反向:5'-GGTATATACGCATGTCAACGTC-3'  |          |

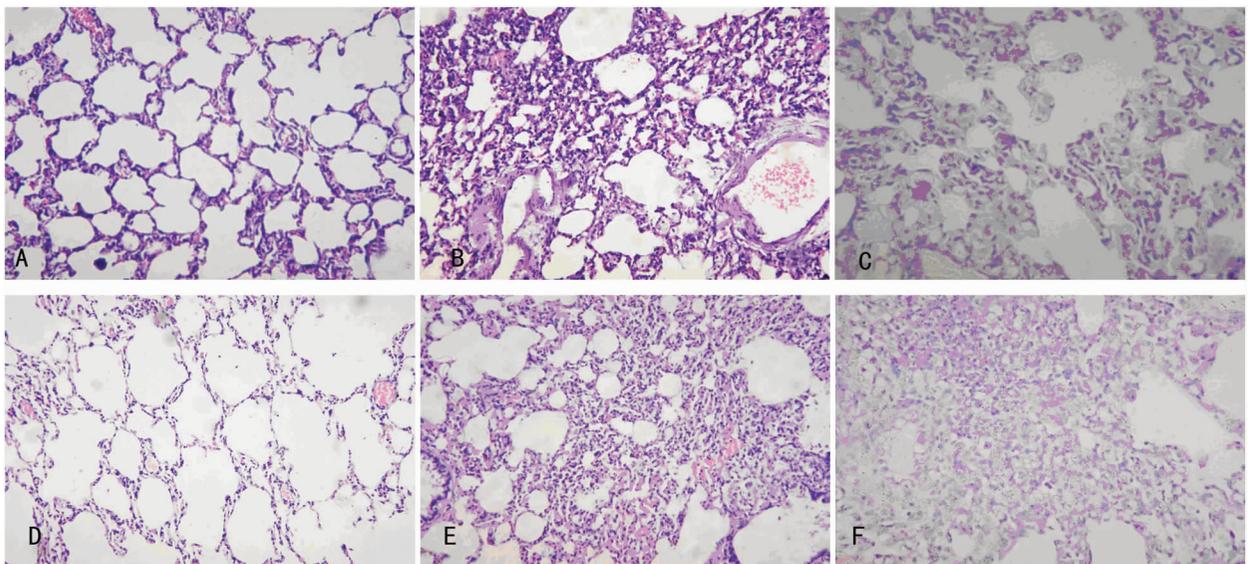
**1.7 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)法测定肺组织匀浆液中 TNF- $\alpha$  蛋白水平** 取冻存肺组织标本,加入 6 倍组织质量体积(mL)的冰生理盐水,匀浆器充分匀浆,加入 3 倍组织质量体积(mL)的冰生理盐水冲洗后放入离心管中离心,离心上清液备用,取大鼠 TNF- $\alpha$  ELISA 反应板,严格按照说明书要求操作,进行标准液浓度的制备,按标号对号对应孔位使用 0.2 mL 移液器逐一将血清移入 96 孔反应板中,再使用反应液反应,反复 3 次甩干并冲洗反应板,终止液终止反应,置入自动酶联免疫分析仪读取 OD 值。绘制标准曲线,计算 TNF- $\alpha$  浓度(ng/L),每标本测 3 次取平均值。

**1.8 统计学处理** 采用 SPSS13 软件进行数据处理,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 肺组织病理变化** 大体观察:肉眼观察 A 组肺组织形态正常,表面光滑呈粉红色,边缘锐薄,触之质地均匀无硬结。B 组肺组织充血,外观肿胀,表面可见散在结节,未见灰白色病灶,第 3 天较第 1 天无明显差异。C 组肺组织充血,外观肿胀,表面凸凹不平,质韧,可见多个大小不一的灰白色病灶,第 3 天较第 1 天严重。常规 HE、PAS 染色病理观察显示:A 组肺泡结构清晰完整,无炎性细胞浸润,第 1 天和第 3 天肺组织无明显区别;B 组部分肺泡塌陷、炎症细胞浸润,未见孢子或菌丝,第 1 天和第 3 天病理改变未见明显区别;C 组大部分肺泡塌陷,部分扩张,大量炎症细胞浸润并有大量孢子菌丝聚积,肺组织出血、坏死明显,第 3 天与第 1 天比较肺组织可见较多机化病灶,见图 1。

**2.2 3 组肺组织 TLR2、TLR4 mRNA 的表达及比较** 第 1、3 天肺组织 TLR2 mRNA 的表达水平 C 组明显高于 A 组及 B 组( $P < 0.01$ ),B 组较 A 组也明显增高( $P < 0.01$ );C 组第 3 天 TLR4 mRNA 表达水平高于 A 组( $P < 0.05$ );C 组第 3 天 TLR4 mRNA 表达水平高于第 1 天( $P < 0.05$ ),见图 2,表 2、3。



A:A 组第 1 天 HE 染色( $\times 200$ );B:B 组第 1 天 HE 染色( $\times 200$ );C:C 组第 1 天 PAS 染色( $\times 400$ );D:A 组第 3 天 HE 染色( $\times 200$ );E:B 组第 3 天 HE 染色( $\times 200$ );F:C 组第 3 天 PAS 染色( $\times 400$ )。

图 1 肺组织病理照片图

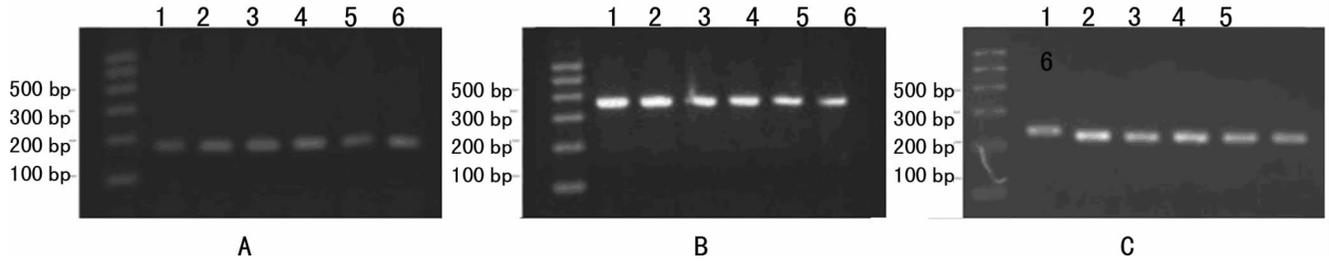


图 2  $\beta$ -actin、TLR2、TLR4 电泳图

表 2 TLR2 mRNA 的表达 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 组别  | 第 1 天                           | 第 3 天                            |
|-----|---------------------------------|----------------------------------|
| A 组 | 0.438 $\pm$ 0.044               | 0.387 $\pm$ 0.061                |
| B 组 | 0.549 $\pm$ 0.115 <sup>a</sup>  | 0.684 $\pm$ 0.102 <sup>a</sup>   |
| C 组 | 0.948 $\pm$ 0.086 <sup>bc</sup> | 1.149 $\pm$ 0.257 <sup>bcd</sup> |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>b</sup>:  $P < 0.01$ , 与 A 组比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.01$ , 与 B 组比较; <sup>d</sup>:  $P < 0.05$ , 与第 1 天比较。

表 3 TLR4 mRNA 的表达 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

| 组别  | 第 1 天             | 第 3 天                           |
|-----|-------------------|---------------------------------|
| A 组 | 0.332 $\pm$ 0.062 | 0.341 $\pm$ 0.057               |
| B 组 | 0.426 $\pm$ 0.071 | 0.440 $\pm$ 0.138               |
| C 组 | 0.394 $\pm$ 0.101 | 0.564 $\pm$ 0.097 <sup>ad</sup> |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 A 组比较; <sup>d</sup>:  $P < 0.05$ , 与第 1 天比较。

**2.3 3 组肺组织 TNF- $\alpha$  的表达及比较** 3 组的第 1 天比较, C 组高于 B 组 ( $P < 0.01$ ), B 组高于 A 组 ( $P < 0.01$ ); 3 组的第 3 天比较, C 组高于 B 组 ( $P < 0.01$ ), B 组高于 A 组 ( $P < 0.01$ ); A 组第 1 天和第 3 天比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); B 组第 3 天高于第 1 天 ( $P < 0.05$ ); C 组第 3 天组高于第 1 天 ( $P < 0.05$ ), 见表 4。

表 4 3 组肺组织匀浆上清液 TNF- $\alpha$  的表达 (pg/mL,  $n=6$ )

| 组别  | 第 1 天                          | 第 3 天                           |
|-----|--------------------------------|---------------------------------|
| A 组 | 16.45 $\pm$ 1.15               | 15.22 $\pm$ 2.57                |
| B 组 | 26.59 $\pm$ 2.48 <sup>a</sup>  | 33.88 $\pm$ 5.14 <sup>ad</sup>  |
| C 组 | 43.48 $\pm$ 6.79 <sup>ac</sup> | 65.49 $\pm$ 7.09 <sup>acd</sup> |

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与 A 组比较; <sup>c</sup>:  $P < 0.01$ , 与 B 组比较; <sup>d</sup>:  $P < 0.05$ , 与第 1 天比较。

### 3 讨论

当病原真菌侵入, 机体首先通过病原识别受体 (Prathogen recognition receptors, PRRs) 对真菌表面的病原相关分子模式 (pathogen associated molecular patterns, PAMPs) 进行识别后启动天然免疫。TLR 是天然免疫中重要的 PRRs 之一, 在宿主抗真菌感染中发挥着重要作用<sup>[3]</sup>。迄今为止, 已报道的与人类有关的 TLR 有 11 种, 小鼠存在 13 种 TLR<sup>[4]</sup>。

本研究病理结果可见当光滑念珠菌侵入机体后, 免疫抑制宿主肺组织较未免疫抑制宿主肺组织破坏更为严重, 炎症反应更加强烈、明显, 并且肺组织内可见大量孢子聚集。而未免疫抑制宿主在光滑念珠菌侵入的早期即有中性粒细胞、单核细胞等募集于感染部位抵御病原菌侵袭并抑制了孢子的萌芽, 避免了肺组织的严重损坏。大鼠肺组织病理改变的机制是病原菌

与机体免疫系统相互作用的平衡被打破所致<sup>[5]</sup>。本研究提示宿主完善的免疫功能对抵御真菌感染至关重要。

本研究中当光滑念珠菌孢子入侵大鼠肺组织后, 其细胞壁表面的磷脂甘露聚糖 (PLM) 首先作为 PAMP 被 TLR 识别, 在中性粒细胞等募集吞噬孢子后光滑念珠菌细胞壁内层的  $\beta$ -葡聚糖释放、暴露。Kawai 等<sup>[6]</sup> 研究用白念珠菌细胞表面的 PLM 刺激树突状细胞 (dendritic cell, DC) 及巨噬细胞通过 TLR2 产生 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-10, 导致 T 辅助细胞 2 (T helper cell1, Th2) 和调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 增生。陈青等<sup>[7]</sup> 用白念珠菌 PLM 体外刺激人单核细胞后发现 PLM 只通过与 TLR2 相互作用诱导 IL-6、IL-8 的分泌, TLR4 不参与此过程; 林莉等<sup>[8]</sup> 研究显示大鼠白念珠菌支气管肺感染后肺组织 TLR2 和 IL-10 水平升高, 认为 TLR2 和 IL-10 可能参与了白念珠菌肺部感染的发生和炎症的加重。还有研究显示<sup>[9-10]</sup> 与白念珠菌感染有关的 TLR 主要是 TLR2 和 TLR4。释放暴露的  $\beta$ -葡聚糖通过 TLR2/dectin-1 协同作用识别。因此, 本研究结果表明在免疫抑制大鼠光滑念珠菌肺部感染后肺组织中 TLR2 mRNA 较 TLR4 mRNA 较早明显表达, 推测 TLR2 在导致肺部光滑念珠菌感染免疫反应的发生和发展中起到重要作用, 而稍晚低表达的 TLR4 可能是起协同作用的。因为针对 PLM 可以有几种不同 TLR 参与对其的识别, 各个信号转导途径之间可能存在交叉或转换<sup>[11]</sup>。

本研究显示 TNF- $\alpha$  的表达 C 组较 B 组有明显差异, 且随着感染时间的延长 C 组 TNF- $\alpha$  表达进一步增加。TNF- $\alpha$  是 TLR2 和 TLR4 信号通路中的下游表达蛋白之一<sup>[12-13]</sup>, 缺乏 TLR2 的细胞几乎不能产生 TNF- $\alpha$ 。TNF- $\alpha$  可提高中性粒细胞的吞噬能力, 能活化单核细胞和巨噬细胞, 提高其杀伤活性, 分泌过氧化物酶, 产生各种细胞因子, 促进中性粒细胞黏附及炎症反应的发生<sup>[14]</sup>。

既往可见对白念珠菌肺部感染的研究, 但对重要非白色念珠菌之一的光滑念珠菌肺部感染的报道却极少。根据本研究肺部光滑念珠菌感染大鼠肺组织 TLR2 和 TNF- $\alpha$  高水平表达, TLR4 稍晚低水平表达的结果, 推测 TLR2 和 TNF- $\alpha$  可能在肺部光滑念珠菌感染的发生发展中起着重要作用, TLR2 是识别并参与光滑念珠菌肺部感染免疫反应重要的模式识别受体 (PPR), TLR4 可能起到交叉协同作用。因此, 对光滑念珠菌详尽的 PAMP 肺部感染的 PRR 免疫信号通路及其产生的下游细胞因子、免疫应答等的进一步更全面地研究将为临床 IFI 的防治提供重要的细胞和分子免疫学基础。

### 参考文献:

- [1] 杨向红, 孙仁华, 洪军. ICU 院内假丝酵母菌血症的临床特点及预后的多因素分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(23): 3826-3829. (下转第 4039 页)

Caspase-3 等的活性,阻止细胞的凋亡<sup>[9]</sup>,本研究发 现高糖的环境中内皮细胞 Bcl-2 蛋白的表达较对照组明显降低,Bcl-2 表达下调,抗凋亡能力下降,细胞凋亡增加,但是加用辛伐他汀后高糖诱导的 Bcl-2 表达下调得到了有效的抑制,这样细胞的凋亡也相应地减少。bax 基因是一个促凋亡基因,本研究显示辛伐他汀可以抑制高糖诱导的 bax 基因表达上调,说明了辛伐他汀是通过上调 Bcl-2 蛋白和下调 bax 基因表达来阻止内皮细胞凋亡的,其具体的作用机制还有待进一步的研究。但是也有研究显示辛伐他汀可以激活 JNK 信号通路,而 JNK 信号通路的激活可以磷酸化 Bcl-2,阻止 Bcl-2 的降解<sup>[10]</sup>,这也可能是辛伐他汀抑制高糖下调 Bcl-2 表达的机制。

综上所述,本研究显示了辛伐他汀可以明显抑制高糖诱导的内皮细胞凋亡,上调 Bcl-2 蛋白表达可能是其主要的作 用机制。

#### 参考文献:

- [1] Hilbert T, Poth J, Frede S, et al. Anti-atherogenic effects of statins; impact on angiopoietin-2 release from endothelial cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2013, 86(10): 1452-1460.
- [2] 王法斌,李京波,朱伟,等.瑞舒伐他汀对高糖导致的血管形成障碍的影响[J]. *上海交通大学学报:医学版*, 2013, 33(1): 19-24.
- [3] Qi XF, Li YJ, Chen ZY, et al. Involvement of the FoxO3a pathway in the ischemia/reperfusion injury of cardiac mi-

crovascular endothelial cells[J]. *Exp Mol Pathol*, 2013, 95(2): 242-247.

- [4] 廖清池.他汀类药物与血管新生研究进展[J]. *心血管病学进展*, 2013, 34(2): 276-279.
- [5] Burgazli KM, Bui KL, Mericiler M, et al. The effects of different types of statins on proliferation and migration of HGF-induced Human Umbilical Vein Endothelial Cells(HUVECs)[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(21): 2874-2883.
- [6] 程向阳.阿托伐他汀对高血压合并高血脂患者血管内皮功能的干预作用[J]. *临床医学*, 2013, 33(6): 12-14.
- [7] 庞宇,谭毅.他汀类药物治疗急性脑梗死作用机制的研究进展[J]. *中国临床新医学*, 2013, 6(8): 818-821, 822.
- [8] Cheng WH, Ho WY, Chang CF, et al. Simvastatin induces a central hypotensive effect via Ras-mediated signalling to cause eNOS up-regulation[J]. *Br J Pharmacol*, 2013, 170(4): 847-858.
- [9] 杜岗,周丽,常青,李自成.辛伐他汀对血管内皮祖细胞复制性衰老的抑制作用及其机制[J]. *吉林大学学报:医学版*, 2013, 39(5): 913-918.
- [10] Liu M, Yu Y, Jiang H, et al. Simvastatin suppresses vascular inflammation and atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice by downregulating the HMGB1-RAGE axis[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34(6): 830-836.

(收稿日期:2014-06-15 修回日期:2014-07-29)

(上接第 4036 页)

- [2] Cardot V, Chardon K, Tourneux P, et al. Ventilatory response to a hyperoxic test is related to the frequency of short apneic episodes in late preterm neonates[J]. *Pediatr Res*, 2007, 62(5): 591-596.
- [3] Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, et al. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2008, 6(1): 67-78.
- [4] Plato A, Willment JA, Brown GD. C-type lectin-like receptors of the dectin-1 cluster: ligands and signaling pathways[J]. *Int Rev Immunol*, 2013, 32(2): 134-156.
- [5] Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity[J]. *Immunity*, 2011, 34(5): 637-650.
- [6] Kaur R, Domergue R, Zupancic ML, et al. A yeast by any other Name; *Candida glabrata* and its interaction with the host[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8(4): 378-384.
- [7] 陈青,李岷,唐荣才,等.白念珠菌磷脂甘露聚糖对单核细胞产生白介素-6、白介素-8 的影响[J]. *中国医学科学院学报*, 2011, 33(4): 371-374.
- [8] 林莉,王莉,周洋洋,等.白念珠菌支气管肺炎大鼠肺组织 Toll 样受体 2 和 IL-10 的表达及意义[J]. *中国医科大学学报*, 2012, 41(3): 224-227, 240.
- [9] Negrini Tde C, Ferreira LS, Alegranci P, et al. Role of TLR-2 and fungal surface antigens on innate immune re-

sponse against *Sporothrix schenckii*[J]. *Immunol Invest*, 2013, 42(1): 36-48.

- [10] Ifrim DC, Joosten LA, Kullberg BJ, et al. *Candida albicans* primes TLR cytokine responses through a Dectin-1/Raf-1-mediated pathway[J]. *J Immunol*, 2013, 190(8): 4129-4135.
- [11] Hontelez S, Sanecka A, Netea MG, et al. Molecular view on PRR cross-talk in antifungal immunity[J]. *Cell Microbiol*, 2012, 14(4): 467-474.
- [12] Jan B, Tan W, Deng X, et al. Innate immunity and inflammation in sepsis; mechanisms by which acute ethanol exposure alters the course of sepsis and the effect to TLR4 signaling[J]. *Critical Care*, 2010, 14(Suppl 2): 17-23.
- [13] Guerrero AT, Cunha TM, Verri WA, et al. Toll-like receptor 2/MyD88 signaling mediates zymosan-induced joint hypernociception in mice; participation of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and CXCL1/KC[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 674(1): 51-57.
- [14] Jain SK, Rains J, Croad J, et al. Curcumin supplementation lowers TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, and MCP-1 secretion in high glucose-treated cultured monocytes and blood levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1, glucose, and glycosylated hemoglobin in diabetic rats[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(2): 241-249.

(收稿日期:2014-02-08 修回日期:2014-05-22)