

TLR4 表达水平与 COPD 大鼠肺动脉平滑肌 细胞合成分泌功能的关系

韩旭惠, 王昌明, 蒋明, 黄国锦, 杨丹, 刘宇娟, 王鹏雁

摘要 目的 探讨 Toll 样受体 4 (TLR4) 表达水平与慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 大鼠肺动脉平滑肌细胞 (PASMCs) 合成分泌功能的关系。方法 建立大鼠 COPD 模型, HE 染色判定模型建立, 免疫组织化学染色观察对照组与 COPD 模型组肺组织动脉平滑肌层 TLR4 的表达。分离培养鉴定原代 PASMCs, 脂多糖 (LPS)、TLR4 的特异性抑制剂 TAK-242 干预细胞, 实验分组: 空白组、LPS 组、TAK-242 组、LPS + TAK-242 组, Western blot 检测各组 PASMCs 中 TLR4 的表达, ELISA 法检测各组细胞培养上清液中 Th1 细胞因子干扰素 (IFN)- γ 、Th2 细胞因子白介素 (IL)-6 及血小板衍生生长因子 (PDGF) 的浓度; 并将 TLR4 的表达水平与上清液中炎症因子的分泌水平进行相关性分析。结果 COPD 模型组大鼠肺组织动脉平滑肌层 TLR4 的表达明显高于正常大鼠; 与空白组比较, LPS 组 PASMCs 中 TLR4 的表达明显升高 ($P < 0.05$); LPS 组 PASMCs 中合成分泌 IFN- γ 、IL-6、PDGF 的水平较对照组明显升高, TAK-242 阻断 TLR4, PASMCs 中 TLR4 的表达明显降低 ($P < 0.05$); 细胞培养上清液中 IFN- γ 、IL-6、PDGF 的表达水平较空白组明显降低 ($P < 0.05$); TLR4 表达水平与细胞培养上清液 IFN- γ 、IL-6 及 PDGF 的浓度呈显著正相关性 ($r = 0.95, 0.87, 0.83, P < 0.05$)。结论

TLR4 可能参与调控 PASMCs 的合成分泌功能。

关键词 慢性阻塞性肺疾病; 肺动脉平滑肌细胞; Toll 样受体 4; 合成分泌功能

中图分类号 R 4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)09-1310-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.09.012

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 是一种以气流受限为特征的肺部疾病, 后期患者肺功能明显下降, 生活质量受到严重影响, 肺动脉高压与 COPD 预后密切相关^[1]。血管重塑和血管炎症反应是 COPD 的重要病理特征。早

期还未出现缺氧的 COPD 肺组织中, 血管已有明显炎症改变和病理性重建, COPD 的肺血管重塑与长期炎症细胞、炎症介质的作用有关, 慢性炎症反应是早期肺血管重塑的中心环节^[2-3]。肺动脉平滑肌细胞 (pulmonary artery smooth muscle cells, PASMCs) 是肺血管重塑的主要效应细胞。在 COPD 患者中, 以往 PASMCs 仅被认为是效应细胞, 出现增生、肥大; 在多种炎症介质、细胞因子等因素作用下, PASMCs 还可合成、分泌炎症介质, 作为免疫细胞参与并加重肺血管重塑, 在 COPD 发生发展过程中起了重要作用。了解 PASMCs 合成分泌功能的调控因素, 可能为 COPD 的治疗提供新的干预靶点。

1 材料与方法

1.1 材料 SPF 级 Wistar 大鼠 24 只, 雌雄对半, (200 ± 20) g, 6~8 周龄, 翻盖红色金牌黄果树香烟 (贵州中烟工业有限责任公司), 无水氯化钙 (广州潮瀚化工贸易有限公司)。DMEM 培养基、胎牛血清 (美国 Gibco 公司); Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 鼠单克隆抗体 (美国 Abcam 公司); 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗、 β -actin 小鼠单克隆抗体 (北京诺博莱德科技有限公司); 总蛋白提取试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司); DAB 显色试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司); ELISA 试剂盒 (美国 BENDER 公司); 自制 91 cm × 42 cm × 62 cm 有机玻璃舱; 倒置相差显微镜 (日本 OLYMPUS 公司); 蛋白电泳及 Bio-rad 550 全自动酶标仪 (美国 Bio-rad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 Wistar 大鼠 24 只, 随机分为对照组、COPD 模型组, 每组各 12 只, 雌雄对半, 适应环境 1 周后, 模型组于实验第 1、14 天经气道内注入脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS), 每次 200 μ g/只, 于自制有机玻璃舱内烟熏 1 h/d, 共 8 周, 舱内有小孔可与外界空气相通, 保持舱内气压与外界相等, 舱内放置适量无水氯化钙吸收水分、保持干燥。对照组于实验第 1、14 天经气道注入等量生理

2017-05-03 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81360010); 广西医疗卫生适宜技术开发与推广应用项目 (编号: S201603)

作者单位: 桂林医学院附属医院呼吸内科 桂林 541001

作者简介: 韩旭惠, 女, 硕士, 住院医师;

王昌明, 男, 教授, 博士生导师, 主任医师, 责任作者, E-mail: wcm@glmc.edu.cn

盐水,其他不做任何处理,与 COPD 模型组大鼠在同等条件下饲养 8 周。

1.2.2 HE 染色判定大鼠 COPD 模型建立 Wistar 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 3~4 ml/100g 麻醉。75% 乙醇溶液浸泡 15 min,开胸取心肺,制成石蜡组织,HE 染色,显微镜下观察对照组与 COPD 模型组大鼠肺组织的区别。

1.2.3 免疫组织化学染色观察 TLR4 在大鼠肺组织动脉平滑肌层的表达情况 随机取对照组和 COPD 模型组大鼠 3 只,组织制备同 HE 方法。10% 胎牛血清封闭液封闭孵育 30 min,TLR4 一抗孵育(10% 胎牛血清封闭液配,滴度 1:800) 4℃ 过夜,二抗工作液(滴度 1:200)室温孵育 30 min;DAB 显色,中性树胶封片,显微镜下观察结果并拍摄图片。

1.2.4 酶消化法结合组织块贴壁法进行大鼠远端原代 PASMCs 分离、培养及鉴定 Wistar 大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 3~4 ml/100 g 麻醉,75% 乙醇溶液浸泡 15 min,开胸取心肺,取肺动脉 3 级以下分支,分离血管中膜,将中膜组织剪成尽可能碎的组织块,加入 I 型胶原酶(浓度为 0.2%) 37℃ 水浴消化 15~20 min,离心、吸出消化酶,加入含 25% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养液,置 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养 4 d 左右可见细胞从组织块周围萌出,10 d 左右细胞生长融合达培养瓶的 90% 以上时即消化传代,选用第 3~6 代(达对数生长期)细胞用于本实验。细胞爬片行 PASMCs 免疫组化鉴定。

1.2.5 Western blot 检测 PASMCs 中 TLR4 蛋白的表达 实验分组:空白组(不做任何处理)、LPS 组(终浓度为 1 μmol/L)、TAK-242 组(浓度为 1 μmol/L)、LPS + TAK-242 组(LPS 终浓度为 1 μg/ml, TAK-242 的浓度为 1 μmol/L),同等条件下培养 24 h,提取 PASMCs 总蛋白,测定总蛋白浓度,计算上样量后上样,使每孔蛋白总量一致,然后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳约 120 min;转膜,将 PVDF 膜用封闭液封闭 2 h,加入 TLR4 单抗(稀释度 1:1 000) 4℃ 过夜,TBST 漂洗膜 3 次,每次 10 min;二抗山羊抗鼠 IgG(稀释度 1:5 000)室温孵育 2 h,TBST 漂洗 3 次,每次 10 min,然后发光,所得图像用软件进行灰度值分析。

1.2.6 ELISA 法检测细胞培养上清液中 γ-干扰素(interferon-γ, IFN-γ)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)及血小板衍生生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)的水平 将空白组、LPS 组、TAK-242 组、

LPS + TAK-242 组,于同等条件下培养 24 h,收集细胞上清液,严格按试剂盒说明书操作,采用美国 Bio-Rad550 全自动酶标仪检测,在酶标仪上于波长 450 nm 处测定光密度值,利用 Revelation Spectra MR 软件绘制标准曲线,以标准品浓度作横坐标,光密度值作为纵坐标,通过标本的光密度值在标准曲线上得到标本 IFN-γ、IL-6 及 PDGF 的浓度。将 LPS 组 TLR4 蛋白的表达水平与上清液中炎症因子的分泌水平进行相关性分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件进行分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多样本均数间的比较用析因设计的重复测量方差分析,方差齐采用 SNK 法,方差不齐时用 Welch 校正检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 COPD 模型建立 对照组肺组织:肺泡结构完整,无炎细胞浸润(图 1A);COPD 模型组肺组织:肺泡壁断裂、肺泡融合肺大泡形成,肺动脉平滑肌层明显增厚,大量炎细胞浸润,符合 COPD 大鼠肺组织病理改变(图 1B)。

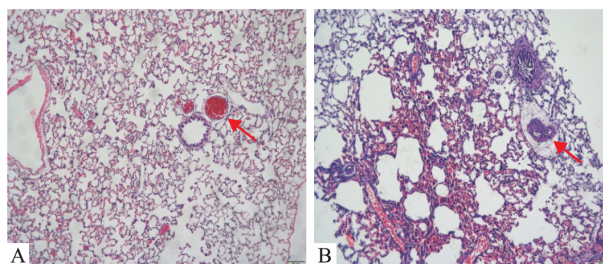


图 1 大鼠肺组织 HE 染色 ×100

A:对照组;B:COPD 模型组;箭头所标处为肺动脉

2.2 LPS 刺激下大鼠肺动脉平滑肌层 TLR4 的表达 光镜下观察:被染成棕色部分为蛋白阳性表达,COPD 模型组(图 2B)肺组织动脉平滑肌层 TLR4 的表达较对照组(图 2A)明显升高。

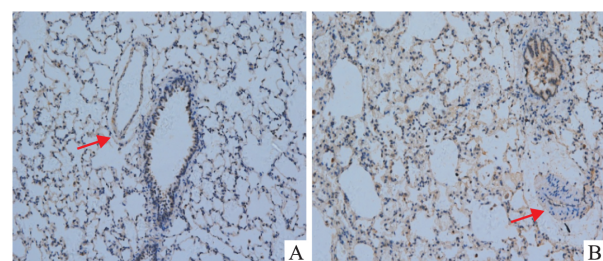


图 2 大鼠肺动脉平滑肌层 TLR4 的表达

免疫组织化学染色 ×400

A:对照组;B:COPD 模型组;箭头所标处为肺动脉

2.3 大鼠远端 PSMCs 分离培养并用免疫组织化学染色法鉴定 α -SM-actin 免疫组织化学染色, 光镜下见胞质内大部分肌动蛋白染成棕黄色, 呈现与细胞长轴平行的丝状物, 证实为 PSMCs。见图 3。

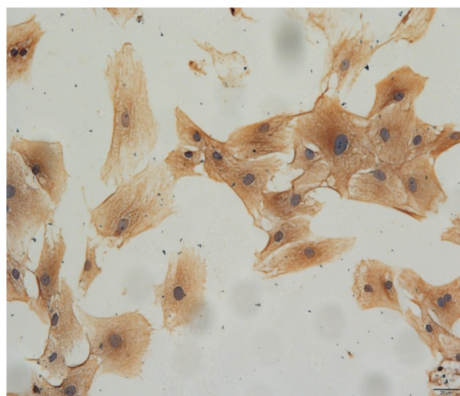


图3 免疫组化染色鉴定 PSMCs 肌动蛋白 $\times 200$

2.4 Western blot 检测 LPS、TAK-242 干预 24 h PSMCs 中 TLR4 的表达 与空白组相比, LPS 组 TLR4 的表达明显升高, TAK-242 组 TLR4 的表达明显降低 ($P < 0.05$)。见图 4、表 1。

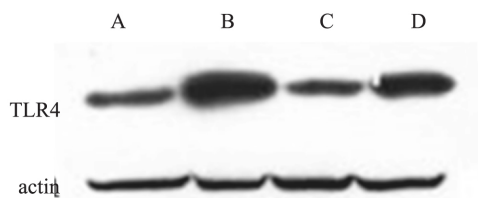


图4 各组 PSMCs 中 TLR4 的表达

A: 空白组; B: LPS 组; C: TAK-242 组; D: LPS 组 + TAK-242 组

表1 LPS、TAK-242 干预 24 h 各组 PSMCs 中 TLR4 表达 ($\bar{x} \pm s$ $n = 6$)

指标	空白组	LPS 组	TAK-242 组	LPS + TAK-242 组
TLR4	0.917 \pm 0.019	2.912 \pm 0.079*	0.916 \pm 0.006*	1.899 \pm 0.003
actin	1.823 \pm 0.021	1.685 \pm 0.017	1.768 \pm 0.029	1.854 \pm 0.013

与空白组比较: * $P < 0.05$

2.5 ELISA 检测 LPS、TAK-242 干预 24 h PSMCs 合成分泌 IFN- γ 、IL-6 及 PDGF 的变化

ELISA 检测结果显示, 与空白组比较, LPS 组细胞上清液中炎症因子表达水平明显升高, TAK-242 阻断 TLR4 细胞上清液中炎症因子表达水平较对照组明显减低 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.6 TLR4 表达水平与 PSMCs 合成分泌 IFN- γ 、IL-6 及 PDGF 浓度相关性分析 COPD 大鼠 PSMCs TLR4 表达水平与细胞培养上清液 IFN- γ 、IL-6 及 PDGF 的浓度呈显著正相关性 ($r = 0.95$ 、 0.87 、 0.83 , $P < 0.05$)。

3 讨论

COPD 是高发生、高死亡, 严重影响患者生活质量, 并带来沉重经济负担的疾病^[4], 其主要病理基础为慢性血管炎症反应和血管重塑。PSMCs 是肺血管重塑的主要效应细胞。研究^[5-8]表明, 当受到创伤、炎症等刺激时, PSMCs 的表型发生转化, 细胞的增殖活性、合成分泌炎症因子及基质蛋白的活性增加, 募集炎症细胞聚集和炎症级联放大, 并促进 PSMCs 增殖、迁移, 纤维母细胞分化, 促进肺血管的重塑, 该过程多发生于疾病的早期阶段, 甚至是比细胞增殖和迁移发生更早的关键性起始步骤。

TLRs 是一类天然的免疫受体, 是机体介导天然免疫与获得性免疫之间的桥梁。在大鼠和人体内共显示 13 种 TLR^[9], TLR1-9 两者体内皆有, TLR11-13 在人体内不表达, TLR10 在大鼠体内没有功能。TLR4 是第一个被发现的哺乳动物 TLR, 当肺组织受到大气污染、吸烟、病毒感染和细菌等有害因素损害时, 组织细胞及炎症细胞上的 TLR4 与配体相结合, 启动胞内信号转导途径致 NF- κ B 激活, 进而调控众多炎症介质的表达, 尤其 IL-1 和肿瘤坏死因子- α 等原发性介质的增加, 从而诱导肺泡巨噬细胞生成大量继发性炎症因子和介质, 如 IL-8、IL-6 等, 进而诱导 CD8 + T 淋巴细胞和中性粒细胞参与 COPD 的炎症反应, 与 COPD 的发病密切相关。目前对 TLR4 在平滑肌细胞中的功能了解甚少。国内外研究^[10-11]仅见 TLR4 信号途径调控氧化型低密度脂蛋白、PDGF 等, 诱导大鼠血管平滑肌细胞合成

表2 各组 PSMSc 24 h 细胞培养上清液中 IFN- γ 、IL-6、PDGF 水平变化比较 ($\bar{x} \pm s$ $n = 6$)

指标	空白组	LPS 组	TAK-242 组	LPS + TAK-242 组
IFN- γ	146.340 \pm 1.932	198.383 \pm 7.086*	132.429 \pm 5.328*	193.639 \pm 5.367
IL-6	1.432 \pm 0.186	1.670 \pm 0.043*	1.404 \pm 0.199*	1.445 \pm 0.012
PDGF	158.456 \pm 6.589	870.047 \pm 9.379*	106.436 \pm 5.107*	148.471 \pm 5.106

与空白组比较: * $P < 0.05$

IL-6、IL-1 α 、单核细胞趋化蛋白 1 以及细胞外基质等而参与冠脉粥样硬化的发病机制的相关报道。在哮喘的气道重塑过程中,TLR4 受体介导的 P13K/NF- κ B 信号通道是调控支气管平滑肌细胞合成分泌炎症因子的重要信号途径^[12-13]。国内外均未见 TLR4 与 PSMCs 合成分泌功能关系的相关报道,更未涉及 COPD 发病过程中,PSMCs 中 TLR4 激活与其合成分泌功能关系的研究。本实验通过建立 COPD 大鼠模型,分离培养原代大鼠 PSMCs, LPS 诱导细胞,显示 COPD 大鼠肺动脉平滑肌层 TLR4 的表达相较于正常大鼠明显升高; LPS 诱导可使 PSMCs 中 TLR4 的表达上调; LPS 诱导 PSMCs 合成分泌 IFN- γ 、IL-6、PDGF 的水平明显增加, TLR4 的特异性抑制剂 TAK-242 阻断 TLR4 PSMCs 合成分泌 IFN- γ 、IL-6、PDGF 的水平明显降低,因此推测 TLR4 可能参与调控 PSMCs 合成分泌功能,但关于其具体机制目前仍不十分清楚,本课题组将做进一步探讨。

参考文献

- [1] Orr R, Smith L J, Cuttica M J. Pulmonary hypertension in advanced chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2012, 18(2): 138-43.
- [2] Barberà J A, Blanco I. Pulmonary hypertension in patients with chronic obstructive pulmonary disease: advances in pathophysiology and management [J]. *Drugs*, 2009, 69(9): 1153-71.
- [3] 张建全, 钟小宁, 蒋明. 慢性支气管炎、肺气肿时肺动脉高压与肺血管壁改建与炎症的关系 [J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(9): 1811-5.

- [4] Fang X, Wang X, Bai C. COPD in China: the burden and importance of proper management [J]. *Chest*, 2011, 139(4): 920-9.
- [5] Orr R, Smith L J, Cuttica M J. Pulmonary hypertension in advanced chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2012, 18(2): 138-43.
- [6] Nazari-Jahantigh M, Wei Y, Schober A. The role of microRNAs in arterial remodelling [J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(4): 611-8.
- [7] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors [J]. *Nature Immunol*, 2010, 11(5): 373-84.
- [8] Ospelt C, Gay S. TLRs and chronic inflammation [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(4): 495-505.
- [9] Baines K J, Simpson J L, Gibson P G. Innate immune responses are increased in chronic obstructive pulmonary disease [J]. *PLoS One*, 2011, 6(3): e18426.
- [10] Li H, Xu H, Liu S. Toll-like receptors 4 induces expression of matrix metalloproteinase-9 in human aortic smooth muscle cells [J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38(2): 1419-23.
- [11] González-Ramos M, Calleros L, López-Ongil S, et al. HSP70 increases extracellular matrix production by human vascular smooth muscle through TGF- β 1 up-regulation [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 45(2): 232-42.
- [12] 莫碧文, 苏海英, 韦江红, 等. TLR4/PI3K 信号相关分子在气道上皮细胞诱导的哮喘气道平滑肌细胞迁移功能中的作用 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2011, 31(11): 994-9.
- [13] 韦江红, 莫碧文, 黄剑伟. Toll 样受体 4/核因子- κ B 对哮喘大鼠气道炎症和重构的影响 [J]. *中国病理生理学杂志*, 2011, 27(5): 962-7.

Relationship between expression level of TLR4 and secretion and synthesis function of pulmonary artery smooth muscle cells in COPD rats

Han Xuhui, Wang Changming, Jiang Ming, et al

(Dept of Respiratory Medicine, Guilin Medical University Affiliated Hospital, Guilin 541001)

Abstract Objective To investigate the relationship between Toll-like receptor 4 (TLR4) expression level of rat pulmonary artery smooth muscle cells with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and its synthesis and secretion function. **Methods** The rat model of COPD was established. HE staining was used to determine whether the model was established successfully; Immunohistochemical staining was used to observe TLR4 expression in pulmonary artery smooth muscle layer of the control group and model group; primarily cultured and identified pulmonary artery smooth muscle (PSMCs), lipopolysaccharide (LPS), TAK-242 the specificity inhibitors of TLR4 block TLR4, groups as follows: the control group, LPS stimulation group, TAK-242 group, LPS + TAK-242 group, Western blot was used to detect the expression of TLR4 in PSMCs by LPS, Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) analysis were used to detect the secretion of interferon- γ (IFN)- γ , interleukin (IL)-6, platelet derived

动脉粥样硬化中 Toll 样受体 3 上调 β 型干扰素的表达

万立松 胡何节 方征东 王晓天 孙小杰 葛新宝 程 灿

摘要 目的 观察动脉粥样硬化病变中 Toll 样受体 3 (TLR3) 与 β 型干扰素 (IFN- β) 表达的关系及影响。方法 下肢动脉硬化性闭塞症 (ASO) 患者 20 例, 健康对照组 20 例, 通过流式细胞术检测外周血单核细胞 TLR3 及 IFN- β 的表达。高脂饮食喂养 ApoE^(-/-) 小鼠, 实验组使用聚肌胞苷酸 Poly(I:C) 腹腔注射, 对照组注射等剂量生理盐水。两日注射一次, 经 10 周后, 生化分析仪检测血浆中低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、三酰甘油、总胆固醇、葡萄糖 (Glu) 水平, ELISA 法检测血浆及动脉中 TLR3、干扰素调节因子 3 (IRF3)、IFN- β 及白介素-1 β (IL-1 β) 水平。结果 下肢 ASO 患者外周血单核细胞 TLR3 及 IFN- β 在 ASO 组的表达阳性率均显著高于对照组; ApoE^(-/-) 小鼠中, 实验组血浆中 Glu 水平较对照组显著降低; 实验组血浆及动脉中 TLR3、IRF3、IFN- β 水平较对照组显著增加, IL-1 β 水平较对照组显著降低。结论 动脉粥样硬化病变中 TLR3 表达的增加诱导 IFN- β , 并通过下调 IL-1 β 水平达到抗动脉粥样硬化的作用。

关键词 动脉粥样硬化; 单核细胞; Toll 样受体 3; β 型干扰素

中图分类号 R 654.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)09-1314-04

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.09.013

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是许多心血管疾病的发病基础, 现普遍推测 AS 的发病机制包

括脂质的堆积和慢性的免疫炎症反应。Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 属于 I 型跨膜蛋白受体^[1]。TLR3 的信号转导途径主要通过 TRIF 依赖途径^[2]。TLR3 与配体结合后便通过自身的 Toll/白细胞介素 (interleukin, IL)-1 TIR 结构域与 TRIF 的 TIR 结构域结合, 并募集 TRIF 与 TLR3 结合^[3], 激动干扰素调节因子 3 (interferon regulatory factor 3, IRF3), IRF3 诱导 β 型干扰素 (interferon- β , IFN- β) 等的表达^[4]。Guarda et al^[5] 的研究表明: IFN- β 抑制 IL-1 β 前体的利用率和作为在巨噬细胞中加速 AS 病变最主要的促炎因子之一的 IL-1 β 的成熟, 并抑制人原始单核细胞中 IL-1 β 的生成。

该研究拟采用流式细胞术、ELISA 等方法检测血浆及动脉中的炎症因子, 初步了解 TLR3 在 AS 免疫炎症反应中的机制及治疗作用, 为下肢动脉硬化性闭塞症 (arteriosclerosis obliterans, ASO) 患者的免疫治疗奠定基础。

1 材料与方法

1.1 病例资料

1.1.1 ASO 组 其中男 12 例, 女 8 例, 年龄 52 ~ 87 岁, 中位年龄 63 岁。有明显下肢皮温减低, 患侧下肢足背动脉搏动未触及, 间歇性跛行距离 < 200 m, 下肢动脉 CTA 见下肢动脉广泛性不规则狭窄及钙化影, 确诊为下肢 ASO 患者 (合并疾病: 合并糖尿病及冠心病患者 3 例; 合并糖尿病患者 1 例; 合并冠心病患者 5 例)。

1.1.2 健康组 其中男 11 例, 女 9 例, 年龄 46 ~ 79 岁, 中位年龄 59 岁。无明显下肢间歇性跛行症状,

2017-04-11 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金 (编号: 1408085MH177)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院普外科, 合肥 230001

作者简介: 万立松, 男, 硕士研究生;

胡何节, 男, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: huhejie@hotmail.com

growth factor (PDGF) of rat distal PSMCs in each group. **Results** Normal rats lung tissue express TLR4, however TLR4 expression level in model group of COPD rats lung tissue obviously higher than normal group ($P < 0.05$). The levels of IFN- γ , IL-6 and PDGF in the PSMCs of LPS group were significantly higher than those in the control group. TLR4 expression level was positively related to the concentration of IFN- γ , IL-6 and PDGF ($r = 0.91, 0.89, 0.83, P < 0.05$). **Conclusion** TLR4 may participate in regulating the synthesis and secretion of PSMCs.

Key words chronic obstructive pulmonary disease; pulmonary artery smooth muscle cell; Toll like receptor-4; synthesis and secretion function