

TGA 与 LPS 竞争抑制妊娠期糖尿病孕妇外周血 单核细胞 TLR4 经典信号通路

杨 琴 丛 林, 袁 静, 方慧琴, 陈 薇, 李 松, 李 琴

摘要 目的 研究半乳糖醛酸(TGA)与内毒素(LPS)同时刺激妊娠期糖尿病孕妇外周血单核细胞及其对LPS-Toll样受体4(TLR4)-核转录因子- κ B(NF- κ B)信号通路的抑制作用。方法 选取妊娠期糖尿病孕妇30例,抽取外周静脉血15 ml,分离出单核细胞,分别加入LPS、TGA、TGA(0~1.0 mg/ml)联合LPS刺激并培养,Western blot法检测TLR4及NF- κ B p65蛋白表达量,ELISA法检测培养液中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-1(IL-1)、白介素-10(IL-10)水平。结果 单独LPS或TGA刺激,其下游TLR4、NF- κ B p65蛋白表达量及TNF- α 、IL-1、IL-10水平均较未处理组高,差异有统计学意义($P < 0.05$);同时加入TGA及LPS刺激,其TLR4、NF- κ B p65蛋白表达量及TNF- α 、IL-1、IL-10水平均较单独LPS或TGA刺激低,但较未处理组高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);各组TLR4与NF- κ B p65蛋白表达量之间呈正相关性($P < 0.01$)。结论 TGA与LPS可竞争抑制LPS-TLR4-NF- κ B信号通路,对妊娠期糖尿病的预防及治疗起到指导作用。

关键词 半乳糖醛酸;内毒素;妊娠期糖尿病;TLR4信号通路

中图分类号 R 714.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)01-0098-05

妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)所带来的不良妊娠结局及远期影响危害较大,近年越来越引起大家的关注,对其机制的研究也越来越多。研究^[1]表明GDM与免疫炎症相关,认为GDM是一种慢性低度炎症性疾病。前期研究^[2]表明GDM孕妇体内Toll样受体4(Toll-like receptor-4, TLR-4) mRNA、核转录因子- κ B(nuclear transcription factor, NF- κ B) mRNA呈高表达,炎症因子升高,提示存在免疫炎症,内毒素(lipopolysaccharide,

LPS)-TLR4-NF- κ B信号通路介导了大量炎症因子释放,可能参与了GDM的发病。基于此可针对TLR4信号通路进行调控,观察其是否对GDM有影响,有研究者运用半乳糖醛酸(trigalacturonic acid, TGA)类物质调控TLR4信号通路并对其分子机制做了探讨^[3]。该实验即应用TGA对LPS-TLR4-NF- κ B信号通路进行调控,并探讨其与GDM的关系。

1 材料与方法

1.1 实验分组 GDM孕妇30例,纳入标准参照国际妊娠合并糖尿病研究组(IADPSG)标准^[4],年龄21~34(28.20 \pm 3.46)岁,孕24~28(25.83 \pm 1.14)周。未做任何处理的作为空白对照组,只加LPS(1 μ g/ml)刺激作为LPS组,只加TGA(1.0 mg/ml)刺激为TGA组,余除了加LPS(1 μ g/ml,参照前期研究^[2])刺激外,同时加入TGA刺激,并按加入的TGA浓度(0.25、0.5、1.0 mg/ml)分为0.25 mg/ml TGA组、0.5 mg/ml TGA组、1.0 mg/ml TGA组。同时排除胎膜早破、肝肾功能损害、感染、妊娠期高血压、妊娠期子痫及GDM高危因素等。所有受试者签署知情同意书,方案已经医院伦理委员会讨论通过。

1.2 标本收集及细胞培养 外周血经肝素化处理,用人淋巴细胞分离液提取淋巴细胞(按说明书操作),洗涤提纯后用血细胞计数板计数,调整细胞浓度并用台盼蓝测定细胞活力。将细胞置于RPMI 1640培养基中,按上述分组进行处理后,均置入37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱中培养24 h。

1.3 试剂 人淋巴细胞分离液(天津灏洋生物制品科技有限责任公司);LPS、台盼蓝、TGA(美国Sigma公司);RPMI 1640培养基(美国Hyclone公司);胎牛血清(美国Gibco公司);RIPA裂解液、蛋白缓冲液、蛋白A+G琼脂糖珠(上海碧云天生物技术有限公司);小鼠抗人TLR4抗体、小鼠抗人泛乙酰化赖氨酸抗体(英国Abcam公司);小鼠抗人NF- κ B p65抗体、 β -actin(美国CST公司);山羊抗小鼠二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司);ECL显影液

2015-09-30 接收

基金项目:安徽省自然科学基金(编号:1208085MH172);安徽高校省级自然科学基金项目(编号:KJ2011Z215)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院妇产科产前诊断中心,合肥230022

作者简介:杨 琴,女,硕士研究生;

丛 林,女,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: conglin1957@163.com

(美国 Thermo 公司); ELISA 试剂盒(上海源叶生物科技有限公司)。

1.4 ELISA 法检测 培养液中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、白介素-1 (interleukin-1, IL-1)、白介素-10 (interleukin-10, IL-10) 水平按照 ELISA 试剂盒说明书操作。

1.5 Western blot 法检测 TLR4、NF- κ B 蛋白表达量 RIPA 裂解液低温裂解细胞 4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 10 min 取上清液加入 5 \times 蛋白上样缓冲液,煮蛋白 10 min,样品保存于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱。10% SDS-PAGE 电泳分离总蛋白,转移至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭 2 h,洗膜后放入 NF- κ B p65 抗体 (1:250) 和 β -actin (1:1 000) 中 4 $^{\circ}$ C 过夜。洗膜,放入二抗 (1:1 000) 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h,ECL 显影液显影。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组之间的多重比较用单因素方差分析 (ANOVA)、LSD- t 检验,组内相关性分析采用 Pearson 相关分析。

2 结果

2.1 各组之间 TNF- α 、IL-1、IL-10 水平比较 TGA 组、0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组、1.0 mg/ml TGA 组分别与空白对照组、LPS 组进行方差分析,TGA 组 TNF- α 、IL-1、IL-10 与空白对照组、LPS 组比较,差异有统计学意义 ($F = 225.876, 289.244, 399.918, P < 0.01$); 与空白对照组、LPS 组比较,0.25 mg/ml TGA 组 TNF- α 、IL-1、IL-10 ($F = 213.266, 251.172, 353.225, P < 0.01$)、0.5 mg/ml TGA 组 TNF- α 、IL-1、IL-10 ($F = 188.278, 223.004, 321.683, P < 0.01$)、1.0 mg/ml TGA 组 TNF- α 、IL-1、IL-10 ($F = 268.099, 234.759, 410.713, P < 0.01$), 差异有统计学意义。

2.1.1 各组 TNF- α 水平比较 空白对照组与 LPS 组进行比较,TGA 组及 0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组、1.0 mg/ml TGA 组分别与空白对照组、LPS 组进行两两比较,结果显示,空白对照组与 LPS 组差异有统计学意义 ($P < 0.05$),LPS 组、TGA 组、0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组、1.0 mg/ml TGA 组分别与空白对照组比较,差异有统计学意义,LPS 组与 TGA 组比较差异无统计学意义,0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组、1.0 mg/ml TGA 组分别与 LPS 组比较,差异有统计学意义,见图 1A。

2.1.2 各组 IL-1 水平比较 各组之间的比较方法同 TNF- α 结果显示,空白对照组与 LPS 组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$),TGA 组、0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组分别与空白对照组比较,差异有统计学意义,而 1.0 mg/ml TGA 组与空白对照组差异无统计学意义;LPS 组、TGA 组之间差异无统计学意义,0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组、1.0 mg/ml TGA 组分别与 LPS 组比较,差异有统计学意义,见图 1B。

2.1.3 各组 IL-10 水平比较 各组之间的比较方法同 TNF- α 结果显示,空白对照组与 LPS 组之间差异有统计学意义 ($P < 0.05$),TGA 组、0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组分别与空白对照组之间比较,差异有统计学意义,而 1.0 mg/ml TGA 组与空白对照组差异无统计学意义,TGA 组、0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组、1.0 mg/ml TGA 组分别与 LPS 组比较,差异有统计学意义,见图 1C。

2.2 外周血单核细胞 TLR4、NF- κ B p65 蛋白表达 与空白对照组比较,LPS 组、TGA 组 TLR4、NF- κ B p65 蛋白条带较深;0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组、1.0 mg/ml TGA 组 TLR4、NF- κ B p65 蛋白条带较 B、C 组逐渐变淡,其中 1.0 mg/ml TGA 组蛋白条带最淡,见图 2。TLR4、NF- κ B p65 蛋白表达量 LPS 组、TGA 组较空白对照组多,0.25 mg/ml TGA 组、0.5 mg/ml TGA 组、1.0 mg/ml TGA 组逐渐减少,见表 1。

表 1 各组 TLR4、NF- κ B p65 蛋白表达量比较

组别	TLR4/ β -actin	NF- κ B p65/ β -actin
空白对照	1.37 \pm 0.27 [#]	0.91 \pm 0.28 [#]
LPS	1.78 \pm 0.32 [*]	1.23 \pm 0.34 [*]
TGA	1.76 \pm 0.41 [*]	1.09 \pm 0.41 [*]
0.25 mg/ml TGA	1.60 \pm 0.31 ^{* #}	1.06 \pm 0.34 ^{* #}
0.5 mg/ml TGA	1.51 \pm 0.32 ^{* #}	0.98 \pm 0.33 ^{* #}
1.0 mg/ml TGA	1.43 \pm 0.28 ^{* #}	0.95 \pm 0.32 ^{* #}

与空白对照组比较: * $P < 0.05$; 与 LPS 组比较: # $P < 0.05$

2.3 外周血单核细胞 TLR4、NF- κ B p65 蛋白表达量之间的相关性分析 各组的 TLR4 与 NF- κ B p65 蛋白表达量之间呈正相关性 ($r = 0.882, 0.838, 0.939, 0.868, 0.846, 0.853; P < 0.01$)。

3 讨论

GDM 是指妊娠期发生的不同程度的糖代谢异常^[5]。近期许多研究^[6-7]表明炎症因子与糖尿病之

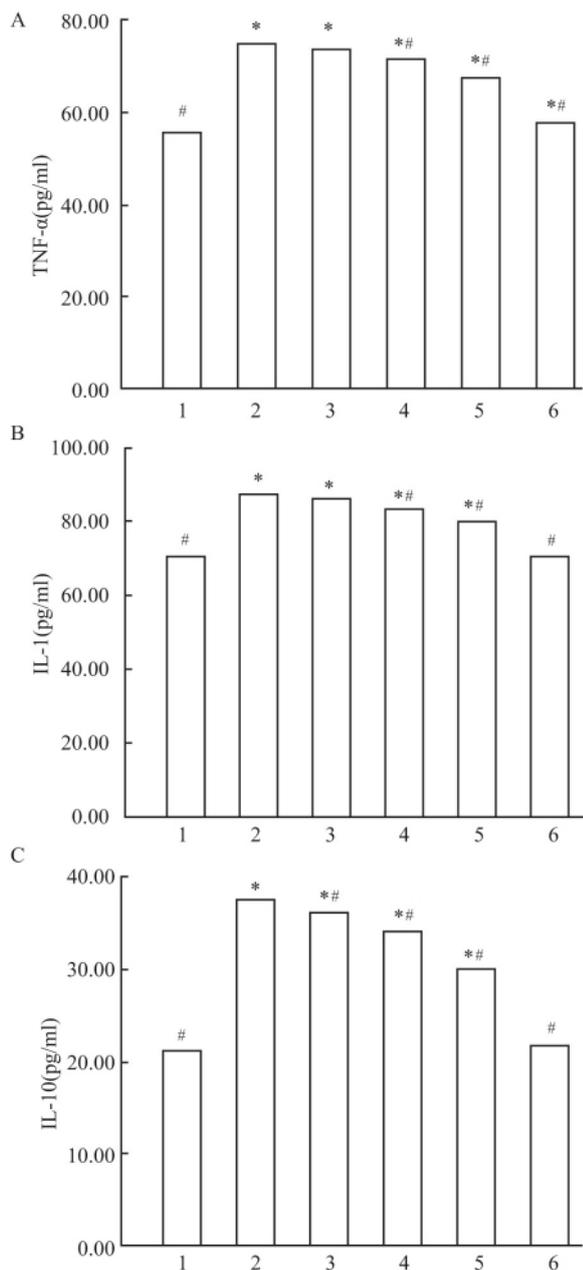


图1 各组 TNF-α、IL-1、IL-10 水平

A: TNF-α; B: IL-1; C: IL-10; 1: 空白对照组; 2: LPS 组; 3: TGA 组; 4: 0.25 mg/ml TGA 组; 5: 0.5 mg/ml TGA 组; 6: 1.0 mg/ml TGA 组; 与空白对照组比较: * P < 0.05; 与 LPS 组比较: # P < 0.05

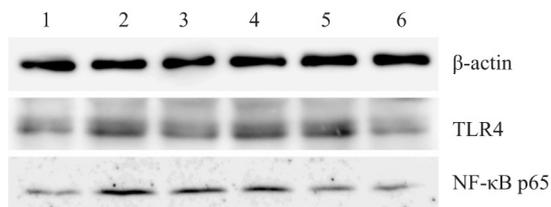


图2 Western blot 法检测各组 TLR4、NF-κB p65 蛋白表达

1: 空白对照组; 2: LPS 组; 3: TGA 组; 4: 0.25 mg/ml TGA 组; 5: 0.5 mg/ml TGA 组; 6: 1.0 mg/ml TGA 组

间密切相关,且课题组前期研究^[8]表明甘露糖结合凝集素下降可能与炎症反应相关,初步探讨了 GDM 与免疫炎症之间的关系。近期研究^[2,9-10]显示 LPS-TLR4-NF-κB 信号通路参与炎症因子的释放,可能参与了 GDM 的发病。TLR4 可表达于免疫细胞膜上^[11-13],与胞外 LPS 结合并介导信号途径,激活下游系列信号,并最终使转录调节因子 NF-κB 活化,进入胞核启动转录。

TLR4 信号通路参与多种疾病的发生,研究^[14-15]显示在肠道炎症性疾病中通过 5-TGA 调控 LPS-TLR4-NF-κB 信号通路,下游表达产物减少,对通路起到抑制作用,但其具体机制并不完全清楚。而秦文星^[3]则更深入的研究了其抑制作用的分子机制,认为 TLR4 的配体至少需要乙酰基结构与阴离子基团,LPS 具备这个条件;而 5-TGA 中的羧基,既属于阴离子基团,又有酰基的结构特点,也具备与 TLR4 结合的条件,但 LPS 与 TGA 同时作用于 TLR4 时对 TLR4 信号通路产生抑制作用。

本研究则运用 TGA 对 TLR4 信号通路进行调控,结果显示 TNF-α、IL-1、IL-10 水平 LPS 组较空白对照组高,与前期研究^[2,9]结果一致;TGA 组细胞因子水平较空白对照组高,与 LPS 组无明显差异,提示 TGA 可能与 LPS 有相同的作用,即可与 TLR4 结合并激活下游信号通路;TGA 浓度(0.25、0.5、1.0 mg/ml)的变化,细胞因子水平逐渐降低,在 1.0 mg/ml 浓度时最低,提示 TGA、LPS 同时与 TLR4 作用时可能使下游信号途径受到抑制,最终导致细胞因子释放减少。

本研究选取 TLR 信号通路 TLR4、NF-κB p65 蛋白这两个关键点对其进行监测,结果表明 LPS 组、TGA 组与空白对照组比较,其 TLR4、NF-κB p65 蛋白条带加深,其蛋白表达量升高;LPS 组、TGA 组蛋白条带深浅较一致,表达量无明显差异;LPS + TGA 组随着 TGA 浓度的变化,其蛋白条带较 LPS 组、TGA 组逐渐变淡,其中 LPS + 1.0 mg/ml TGA 组蛋白条带最淡,表达量也逐渐降低。TLR4、NF-κB p65 蛋白表达量变化趋势与细胞因子变化趋势相同,本研究对 TLR4 与 NF-κB p65 蛋白表达量做相关分析,结果显示各组两者均呈正相关性,可认为 TGA/LPS 介导了 TLR4-NF-κB 信号通路。由细胞因子及蛋白表达量变化水平可得知,TGA 可激活 TLR4 信号通路,LPS 与 TGA 同时与 TLR4 作用可抑制此通路,且 LPS + 1.0 mg/ml TGA 作用最明显,可视为最适抑制浓度。

TGA 也有羧基,具备与 TLR4 结合的条件,且 TGA 浓度的选择是根据 5-TGA 的最适浓度(1.0 mg/ml)^[14]上下波动进行预实验摸索得出,因此其单独使用与 LPS 有相同的作用,使得 TGA 组与 LPS 组蛋白及细胞因子变化趋势一致。TGA 对通路竞争抑制的可能原因是其使细胞膜上的 TLR4 受体减少,或 TGA-TLR4 作用位点与 LPS-TLR4 作用位点相互干扰,但其具体机制尚需进一步探讨。而且,本研究只限于体外细胞刺激,体外环境不受机体内环境的影响,因此 TGA 是否适用于机体及其安全性等问题需进一步探究。

综上所述,TGA 可激活 TLR4 信号通路,也可与 LPS 竞争抑制 GDM 孕妇外周血单核细胞 LPS-TLR4-NF- κ B 信号通路,此通路的抑制为 GDM 的靶向治疗提供理论依据,有利于 GDM 防治工作的开展。

参考文献

- [1] Spyridaki E C, Simos P, Avgoustinaki P D, et al. The association between obesity and fluid intelligence impairment is mediated by chronic low-grade inflammation [J]. Br J Nutr, 2014, 112(10): 1724-34.
- [2] 李从青,姚洁,刘长明,等. 内毒素对妊娠期糖尿病患者外周血单核细胞 TLR4 mRNA 及 NF- κ B mRNA 表达的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(3): 254-7.
- [3] 秦文星. AOG 抑制 LPS 诱导的 TLR4/MD-2/NF- κ B 信号通路活化的机制研究[D]. 第二军医大学, 2013.
- [4] 魏玉梅,杨慧霞. 妊娠期糖尿病诊断标准变迁[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2013, 29(4): 295-8.
- [5] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. Diabetes Care, 2011, 34 Suppl 1: s62-9.
- [6] Ramirez Alvarado M M, Sanchez Roitz C. Relationship between serum levels of C-reactive protein and alpha-antitrypsin and insulin resistance in obese women [J]. Invest Clin, 2014, 55(3): 249-59.
- [7] Korkmaz E, Solak N. Correlation between inflammatory markers and insulin resistance in pregnancy [J]. J Obstet Gynaecol, 2015, 35(2): 142-5.
- [8] 丛林,严小艳,祝艺虹,等. 妊娠期糖尿病孕妇血清甘露糖结合凝集素水平和胰岛素抵抗的关系[J]. 中华围产医学杂志, 2009, 12(6): 458-9.
- [9] 丛林,李从青,姚洁,等. LPS-TLR4-NF- κ 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): 820-2.
- [10] Xie B G, Jin S, Zhu W J. Expression of toll-like receptor 4 in maternal monocytes of patients with gestational diabetes mellitus [J]. Exp Ther Med, 2014, 7(1): 236-40.
- [11] Vallejo J G. Role of toll-like receptors in cardiovascular diseases [J]. Clin Sci (Lond), 2011, 121(1): 1-10.
- [12] Dange R B, Agarwal D, Masson G S, et al. Central blockade of TLR4 improves cardiac function and attenuates myocardial inflammation in angiotensin II-induced hypertension [J]. Cardiovasc Res, 2014, 103(1): 17-27.
- [13] Dange R B, Agarwal D, Teruyama R, et al. Toll-like receptor 4 inhibition within the paraventricular nucleus attenuates blood pressure and inflammatory response in a genetic model of hypertension [J]. J Neuroinflammation, 2015, 12: 31.
- [14] Li Y, Fan L, Sun Y, et al. An apple oligogalactan suppresses endotoxin-induced cyclooxygenase-2 expression by inhibition of LPS pathways [J]. Int J Biol Macromol, 2013, 61: 75-81.
- [15] Liu L, Li Y H, Niu Y B, et al. An apple oligogalactan prevents against inflammation and carcinogenesis by targeting LPS/TLR4/NF- κ B pathway in a mouse model of colitis-associated colon cancer [J]. Carcinogenesis, 2010, 31(10): 1822-32.

Trigalacturonic acid competing with lipopolysaccharide inhibit the TLR4 signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells of gestational diabetes

Yang Qin, Cong Lin, Yuan Jing, et al

(Prenatal Diagnosis Center, Dept of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To study the inhibition of trigalacturonic acid and lipopolysaccharide (LPS) in LPS-TLR4-NF- κ B signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells of gestational diabetes. **Methods** 15 ml of peripheral venous blood was obtained from 30 pregnant women with gestational diabetes and mononuclear cells were isolated. They were cultured with LPS, trigalacturonic acid (TGA), LPS combining with TGA respectively. Western blot and ELISA were used to detect the expressions of TLR4, NF- κ B p65 and the level of TNF- α , IL-1, IL-10. **Results** The expressions of TLR4, NF- κ B p65 and the TNF- α , IL-1, IL-10 were higher than the control after stimulated with LPS alone or TGA. And the difference was clearly statistically significant ($P < 0.05$). The

TSG-6对人病理性瘢痕成纤维细胞增殖与凋亡的影响

张苏文, 李小静, 陈 钊, 王 晖

摘要 目的 探讨肿瘤坏死因子 α 刺激基因6(TSG-6)对人病理性瘢痕成纤维细胞增殖与凋亡的影响。方法 取人病理性瘢痕组织共6例,用组织块培养法培养人病理性瘢痕成纤维细胞,体外培养的第3、4代细胞,用浓度为2 $\mu\text{g/ml}$ 的重组人TSG-6蛋白处理,在作用48 h后,用免疫组化法检测TSG-6作用前后人病理性瘢痕成纤维细胞增殖细胞核抗原(PCNA)的变化,并计算PCNA阳性细胞率;流式细胞术计算、分析人重组TSG-6蛋白作用前后,人病理性瘢痕成纤维细胞的凋亡率;Western blot法检测细胞凋亡相关蛋白p53、半胱天冬酶3(caspase-3)表达的变化。结果 2 $\mu\text{g/ml}$ TSG-6体外干预人病理性瘢痕成纤维细胞48 h情况下,人病理性瘢痕成纤维细胞PCNA的阳性细胞率显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);细胞凋亡率增高,差异有统计学意义($P < 0.05$);Western blot法检测显示细胞凋亡相关蛋白p53、caspase-3表达明显增多。结论 TSG-6在体外能够抑制人病理性瘢痕成纤维细胞的增殖并促进其凋亡,TSG-6对细胞的抑制作用可能与TSG-6抑制PCNA基因表达有关,TSG-6诱导人病理性瘢痕成纤维细胞凋亡的作用可能与TSG-6促进细胞凋亡相关蛋白p53、caspase-3表达有关。

关键词 肿瘤坏死因子 α 刺激基因6;病理性瘢痕;成纤维细胞;细胞增殖;细胞凋亡

中图分类号 R 619+.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)01-0102-04

肿瘤坏死因子 α 刺激基因6(tumor necrosis fac-

tor alpha stimulated gene-6,TSG-6)是Lee et al^[1]发现的一种参与多种炎症反应的抗炎因子。病理性瘢痕是由皮肤创伤过度愈合而形成,增生的病理性瘢痕组织高于周围正常皮肤,不仅影响美观,而且可出现瘙痒、疼痛等症状,甚至会发生瘢痕挛缩,发生在关节处瘢痕挛缩常造成关节严重的功能障碍,因此皮肤创伤后瘢痕形成的防治是创伤愈合领域的一个重要问题。Tan et al^[2]首次证明抗炎因子TSG-6表达的减少可能是导致病理性瘢痕形成的一个重要因素。该研究探讨2 $\mu\text{g/ml}$ TSG-6对人病理性瘢痕成纤维细胞增殖与凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 病例资料 人病理性瘢痕组织标本均来源于安徽医科大学第一附属医院整形外科病房与门诊手术中切除的病理性瘢痕组织,全部征得患者同意并签署知情同意书,组织标本共6例(男2例,女4例),年龄4~27(16.82 \pm 1.35)岁,患者均属于首次治疗,未经其他治疗,且病理性瘢痕症状突出,病程6~12个月。

1.2 主要试剂及仪器 TSG-6蛋白购自美国R&D Systems公司;胎牛血清、PBS、DMEM(高糖)培养基均购自美国HyClone公司;增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen,PCNA)单克隆抗体及免疫组化SP试剂盒均购自福州迈新生物技术开发有限公司;BD 556547 AnnexinV-FITC/PI细胞凋亡双染试剂盒、流式细胞仪购自美国BD公司;Western blot试剂盒购自美国Sigma公司;CO₂细胞培养箱购自德国Heraeus公司;Western blot检测全套设备购

2015-09-30 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81272107)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院整形外科,合肥 230022

作者简介:张苏文,男,硕士研究生;

李小静,女,主任医师,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:lixiaojing5@163.com

expressions of TLR4, NF- κ B p65 and the TNF- α , IL-1, IL-10 were lower compared with LPS alone or TGA when stimulated with LPS combined with TGA. However it was high compared with the control. The differences were both clearly statistically significant($P < 0.05$). And the correlations between the TLR4 and NF- κ B p65 were clearly statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** Trigalacturonic acid competing with LPS may inhibit the TLR4 signaling pathway in peripheral blood mononuclear cells of gestational diabetes. And it can provide a guide to the prevention and treatment of gestational diabetes mellitus.

Key words trigalacturonic acid; endotoxin; gestational diabetes mellitus; TLR4 signaling pathway