

论著·实验研究

## mTOR/4EBP1/HIF-1 $\alpha$ /VEGF 信号通路在哮喘小鼠肺组织中的表达及意义

王莉 张艳丽 王秀芳 宋哲 王伟

(郑州大学第三附属医院儿科, 河南 郑州 450052)

**【摘要】** **目的** 探讨哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)/真核生物始动因子4E结合蛋白1(4EBP1)/缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )/血管内皮生长因子(VEGF)信号通路在哮喘小鼠中的表达及意义。**方法** 40只SPF级6~8周龄雌性Balb/c小鼠随机分为对照组、哮喘组、布地奈德干预组及mTOR抑制剂(雷帕霉素)干预组,每组10只。卵清蛋白致敏激发建立哮喘小鼠模型,各干预组分别在激发前30 min给予雷帕霉素3 mg/kg腹腔注射或布地奈德混悬液1 mg雾化吸入,对照组和哮喘组以生理盐水代替。于末次激发24 h后处死小鼠,收集肺泡灌洗液(BALF),采用ELISA法测定HIF-1 $\alpha$ 、VEGF水平;取肺组织行苏木精-伊红(HE)染色观察其病理变化;免疫组化染色和Western blot法测定肺组织磷酸化的mTOR及4EBP1(p-mTOR及p-4EBP1)蛋白表达水平。Pearson法分析p-mTOR、p-4EBP1、HIF-1 $\alpha$ 、VEGF表达的相关性。**结果** 与对照组相比,哮喘组气管及其周围炎性细胞浸润明显,分泌物增多;BALF中HIF-1 $\alpha$ 、VEGF水平显著升高( $P<0.01$ );肺组织p-mTOR、p-4EBP1表达显著增加( $P<0.01$ )。与哮喘组相比,各干预组气道炎症浸润明显减轻,分泌物减少;BALF中HIF-1 $\alpha$ 、VEGF水平明显下降( $P<0.01$ );肺组织p-mTOR、p-4EBP1表达显著降低( $P<0.01$ )。对照组及两干预组间相比上述指标变化差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。哮喘组小鼠p-mTOR、p-4EBP1、HIF-1 $\alpha$ 、VEGF表达水平两两互呈正相关( $P<0.05$ ),而对照组及两干预组各指标间无相关性( $P>0.05$ )。**结论** 哮喘发生时p-mTOR、p-4EBP1、HIF-1 $\alpha$ 、VEGF可能协同参与了哮喘的发病过程。雷帕霉素能阻断这一过程,可能作为治疗哮喘的新靶点。**【中国当代儿科杂志, 2017, 19(1): 104-110】**

**【关键词】** 哮喘;哺乳动物雷帕霉素靶蛋白;真核生物始动因子4E结合蛋白1;缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ;血管内皮生长因子;小鼠

### Expression and significance of mTOR/4EBP1/HIF-1 $\alpha$ /VEGF signaling pathway in lung tissues of asthmatic mice

WANG Li, ZHANG Yan-Li, WANG Xiu-Fang, SONG Zhe, WANG Wei. Department of Pediatrics, Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China (Wang X-F, Email: wxf456@126.com)

**Abstract: Objective** To study the expression and significance of the mammalian target of rapamycin (mTOR)/eukaryote initiating factor 4E binding protein 1(4EBP1)/hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ )/vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway in asthmatic mice. **Methods** Forty SPF level 6-8 week-old female Balb/C mice were randomly divided into control, asthma, budesonide and mTOR inhibitor (rapamycin) intervention groups ( $n=10$  each). The asthmatic mouse model was prepared via OVA induction and challenge test. The intervention groups were administered with rapamycin at the dosage of 3 mg/kg by an intraperitoneal injection or budesonide suspension at the dosage of 1 mg by aerosol inhalation respectively 30 minutes before the OVA challenge. The control and asthma groups were treated with normal saline instead. The concentrations of HIF-1 $\alpha$  and VEGF in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were examined using ELISA 24 hours after the last challenge. The pathological changes of lung tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The p-mTOR and p-4EBP1 from the lung tissues were detected by immunohistochemistry and Western blot. Pearson analysis was used to study the correlation between p-mTOR, p-4EBP1,

[收稿日期] 2016-07-18; [接受日期] 2016-10-11

[基金项目] 2015年度河南省医学科技攻关计划项目(201503114)。

[作者简介] 王莉,女,硕士研究生。

[通信作者] 王秀芳,女,主任医师,教授。

HIF-1 $\alpha$ , and VEGF expression. **Results** Compared with the control group, inflammatory cell infiltration and secretions in the trachea increased in the asthma group. The levels of HIF-1 $\alpha$  and VEGF in BALF and p-mTOR and p-4EBP1 expression in lung tissues also increased ( $P<0.01$ ). Compared with the asthma group, inflammatory cell infiltration and secretions in the trachea were reduced in the two intervention groups, and the levels of HIF-1 $\alpha$  and VEGF in BALF and p-mTOR and p-4EBP1 expression in lung tissues were also reduced ( $P<0.01$ ). There were no significant differences in the above changes between the two intervention groups and control group ( $P>0.05$ ). In the asthma group, there was a pairwise positive correlation between lung p-mTOR and p-4EBP1 expression and HIF-1 $\alpha$  and VEGF levels in BALF ( $P<0.05$ ). However, there were no correlations in the above indexes in the intervention groups and control group. **Conclusions** p-mTOR, p-4EBP1, HIF-1 $\alpha$  and VEGF together are involved in the pathogenesis of asthma. Rapamycin treatment can block this signaling pathway, suggesting that this pathway can be used as a novel target for asthma treatment. [Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(1):104-110]

**Key words:** Asthma; Mammalian target of rapamycin; Eukaryote initiating factor 4E binding protein 1; Hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ ; Vascular endothelial growth factor; Mice

哮喘是由嗜酸性粒细胞、肥大细胞及多种细胞因子等共同作用,以气道慢性炎症浸润、气道重塑及可逆性气流受限为特征的慢性呼吸系统疾病<sup>[1]</sup>,至今发病机制并不完全清楚。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种高度保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,由于处于生长调节的中心环节而倍受关注,在炎症损伤、免疫应答及肿瘤等方面发挥重要作用<sup>[2-3]</sup>。研究发现 mTOR 高表达也同样存在于哮喘中,这可能因为 mTOR 参与了哮喘气道炎症浸润及气道重塑等病理过程<sup>[4]</sup>,而 mTOR 抑制剂雷帕霉素能阻断这一过程抑制哮喘的发生,但 mTOR 是如何通过下游靶蛋白参与哮喘的发生少见相关报道。真核生物始动因子 4E 结合蛋白 1(eukaryote initiating factor 4E binding protein 1, 4EBP1)是 mTOR 下游的一个重要靶蛋白,激活后可促进包括缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在内的调节细胞生长关键蛋白的翻译<sup>[5]</sup>,研究发现 HIF-1 $\alpha$  及 VEGF 在哮喘发生中发挥重要作用<sup>[6-8]</sup>,由此我们推测 mTOR 可能通过激活 4EBP1 从而引起 HIF-1 $\alpha$  及 VEGF 表达增加促进哮喘发生,而磷酸化的 mTOR、4EBP1(即 p-mTOR、p-4EBP1)被认为是该信号通路激活的标志,本研究通过建立小鼠哮喘模型,检测肺组织 p-mTOR、p-4EBP1 及肺泡灌洗液中 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 的表达,从而进一步明确哮喘的发病机制,寻找有效治疗哮喘的新方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与试剂

SPF 级 6~8 周龄雌性 Balb/c 小鼠 40 只,体重为 18~22 g,由河南省动物实验中心提供。p-mTOR、p-4EBP1 抗体(美国 Santa Cruz 公司),雷帕霉素、卵清蛋白(OVA)(美国 Sigma 公司)。

### 1.2 动物模型制备与分组

按随机数字表法将 40 只小鼠分为对照组、哮喘组、布地奈德干预组、雷帕霉素干预组,每组 10 只。模型制作参照文献<sup>[4]</sup>并加以改进:哮喘组、布地奈德干预组、雷帕霉素干预组小鼠均于第 1、8、15 天用 OVA(100  $\mu$ g)+氢氧化铝(1 mg)混悬液 0.2 mL 腹腔注射行基础致敏,对照组用生理盐水 0.2 mL 代替;自第 22 天开始,用 2% OVA 雾化吸入进行激发,每日 1 次,共 10 次,对照组以生理盐水代替 OVA 进行激发;每次激发前 30 min,雷帕霉素干预组给予雷帕霉素 3 mg/kg 腹腔注射,布地奈德干预组给予雾化吸入 1 mg 布地奈德混悬液,而哮喘组和对对照组均给予等量生理盐水进行替代。末次激发 24 h 后颈椎脱臼处死小鼠,打开胸腔,用改良后的 22 G 留置针行气管插管,结扎左侧主支气管,以磷酸盐缓冲液灌洗 0.5 mL $\times$ 3 次,收集肺泡灌洗液(BALF)并混匀。收集的 BALF 离心后取上清液于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱内保存待测。

### 1.3 小鼠 BALF 中 HIF-1 $\alpha$ 及 VEGF 含量测定

采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 的表达,实验步骤按试剂盒说明书进行。

### 1.4 肺组织病理改变

取肺组织常规制作石蜡切片后，行苏木精-伊红(HE)染色，显微镜下观察肺组织病理改变。

### 1.5 免疫组化染色检测各组小鼠肺组织 p-mTOR 及 p-4EBP1 的表达

取肺组织常规制作石蜡切片，采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶联结法进行检测。p-mTOR、p-4EBP1 以细胞质或细胞核出现棕黄染色判定为阳性细胞，采用软件(Image-pro Plus 6.0)测定 p-mTOR、p-4EBP1 阳性表达的总积分光密度值(IOD)，每份标本随机取 3 张切片，每张切片随机观察 5 个高倍镜视野，取其平均值为表达结果。

### 1.6 Western blot 法检测各组小鼠肺组织 p-mTOR 及 p-4EBP1 的表达

取 200 mg 肺组织用 RIPA 细胞裂解液研磨裂解并离心，取上清液测蛋白浓度。样本经 SDS-PAGE 电泳分离后转移至硝酸纤维素滤膜上，经 5% 脱脂奶粉 PBST 溶液室温下封闭 2 h 后分别加入一抗、二抗孵育。洗膜后暗室中加 ECL 发光试剂曝光、显色。应用  $\beta$ -actin 作为内参照，结果以目的蛋白与内参蛋白表达比值表示。

### 1.7 统计学分析

采用 SPSS 21.0 统计软件对数据进行统计学分析，计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示，多组间的比较经方差齐性检验后采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK-*q* 检验；相关分析采用 Pearson 直线相关分析， $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ELISA 法检测各组小鼠 BALF 中 HIF-1 $\alpha$ 及 VEGF 水平

哮喘组小鼠 BALF 中 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 水平均显著高于对照组、布地奈德干预组及雷帕霉素干预组( $P < 0.01$ )，而对照组与两干预组间相比，HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 水平差异无统计学意义( $P > 0.05$ )，见表 1。

### 2.2 各组小鼠肺组织病理学改变

对照组小鼠肺组织 HE 染色示支气管壁结构光滑完整，上皮细胞排列整齐，气道壁厚度适中，少量炎性细胞浸润；哮喘组小鼠肺组织 HE 染色示气管及其周围炎性细胞尤其是嗜酸性粒细胞等浸润明显，黏膜下水肿，皱襞增多，黏液分泌物增多，气道平滑肌肥大，管壁及基底膜增厚不规则。而布地奈德干预组及雷帕霉素干预组小鼠肺组织上述病理改变明显减轻。以上差异提示建立哮喘模型成功，且干预治疗有效。见图 1。

表 1 各组小鼠 BALF 中 HIF-1 $\alpha$  及 VEGF 水平比较  
( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

组别	n	HIF-1 $\alpha$	VEGF
对照组	10	12.5 $\pm$ 1.5	41 $\pm$ 11
哮喘组	10	21.7 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>	84 $\pm$ 15 <sup>a</sup>
布地奈德干预组	10	12.8 $\pm$ 1.6 <sup>b</sup>	44 $\pm$ 13 <sup>b</sup>
雷帕霉素干预组	10	13.7 $\pm$ 1.9 <sup>b</sup>	46 $\pm$ 12 <sup>b</sup>
F 值		58.38	24.33
P 值		<0.01	<0.01

注: [HIF-1 $\alpha$ ] 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; [VEGF] 血管内皮生长因子。  
a 示与对照组比较,  $P < 0.01$ ; b 示与哮喘组比较,  $P < 0.01$ 。

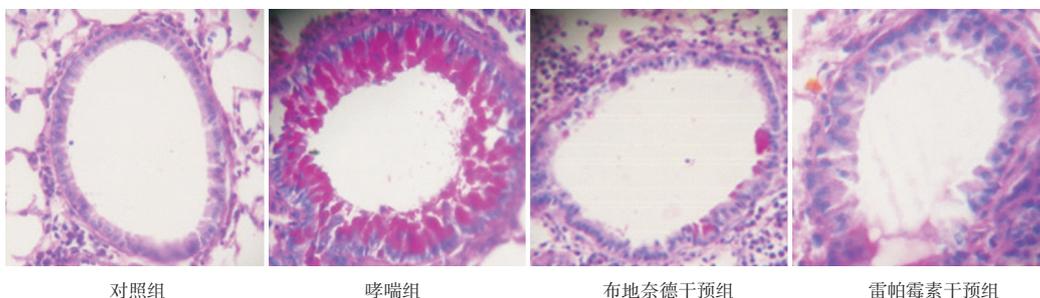


图 1 各组小鼠肺组织病理学改变(苏木精-伊红染色,  $\times 200$ ) 对照组小鼠支气管壁结构光滑完整, 上皮细胞排列整齐, 气道壁厚度适中, 少量炎性细胞浸润; 哮喘组小鼠气管及其周围炎性细胞浸润明显, 黏膜下水肿, 皱襞增多, 黏液分泌物增多, 气道平滑肌肥大, 管壁及基底膜增厚不规则; 布地奈德干预组及雷帕霉素干预组气管周围可见少量炎性细胞浸润, 气管内少量黏液分泌物, 气道壁稍增厚。

### 2.3 免疫组织化学法检测各组小鼠肺组织 p-mTOR 及 p-4EBP1 的表达

p-mTOR、p-4EBP1 在哮喘组小鼠气道平滑肌均呈深棕黄色强免疫反应表达，在对照组小鼠支气管呈淡棕黄色弱免疫反应表达，两组比较差

异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。与哮喘组比较，经雷帕霉素或布地奈德干预后，小鼠气道平滑肌 p-mTOR、p-4EBP1 蛋白表达明显减弱 ( $P < 0.01$ )。对照组与两干预组间两两比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 2，表 2。

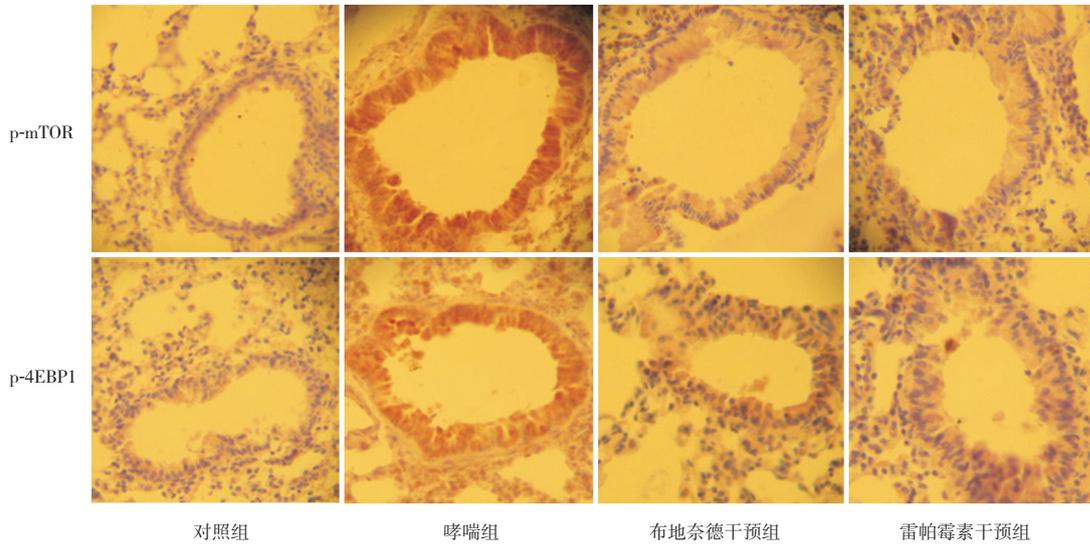


图 2 各组小鼠 p-mTOR 及 p-4EBP1 在肺组织内的表达 (免疫组织化学染色,  $\times 200$ ) p-mTOR 及 p-4EBP1 在对照组小鼠肺组织中呈淡棕黄色弱免疫反应表达, 在哮喘组小鼠肺组织中呈深棕黄色强免疫反应表达, 经布地奈德及雷帕霉素干预后, 两组小鼠肺组织 p-mTOR、p-4EBP1 的表达较哮喘组均减弱。

表 2 各组小鼠 p-mTOR 及 p-4EBP1 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ , IOD)

组别	n	p-mTOR	p-4EBP1
对照组	10	83 ± 13	92 ± 16
哮喘组	10	173 ± 23 <sup>a</sup>	164 ± 22 <sup>a</sup>
布地奈德干预组	10	89 ± 15 <sup>b</sup>	97 ± 17 <sup>b</sup>
雷帕霉素干预组	10	97 ± 16 <sup>b</sup>	106 ± 16 <sup>b</sup>
F 值		61.62	34.16
P 值		<0.01	<0.01

注: [mTOR] 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; [4EBP1] 真核生物启动因子 4E 结合蛋白 1。a 示与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b 示与哮喘组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.4 Western blot 检测各组小鼠肺组织 p-mTOR 及 p-4EBP1 的表达

哮喘组小鼠肺组织中 p-mTOR、p-4EBP1 的表达均较对照组明显升高 ( $P < 0.01$ )；与哮喘组相比，经雷帕霉素或布地奈德干预后，p-mTOR、p-4EBP1 表达均下降 ( $P < 0.01$ )；而雷帕霉素干预组、布地奈德干预组及对照组间两两比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 3。

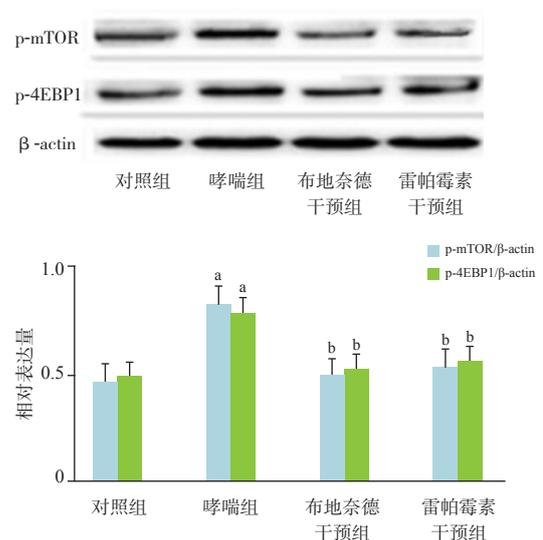


图 3 Western blot 检测各组小鼠肺组织 p-mTOR 及 p-4EBP1 的表达比较 上图为蛋白电泳条带图; 下图为统计图 ( $n=10$ )。a 示与对照组比较,  $P < 0.01$ ; b 示与哮喘组比较,  $P < 0.01$ 。

## 2.5 相关性分析

哮喘组小鼠肺组织 p-mTOR 的表达与肺组织 p-4EBP1 及 BALF 中 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 的表达水平分别呈正相关(分别  $r=0.921$ 、 $0.924$ 、 $0.887$ ,  $P<0.05$ ), 哮喘组小鼠肺组织 p-4EBP1 的表达与 BALF 中 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 的表达水平分别呈正相关(分别  $r=0.891$ 、 $0.843$ ,  $P<0.05$ ), 哮喘组小鼠 BALF 中 HIF-1 $\alpha$  与 VEGF 的表达水平呈正相关( $r=0.875$ ,  $P<0.05$ ) (图 4~9)。余各组各检测指标间不具有相关性( $P>0.05$ )。

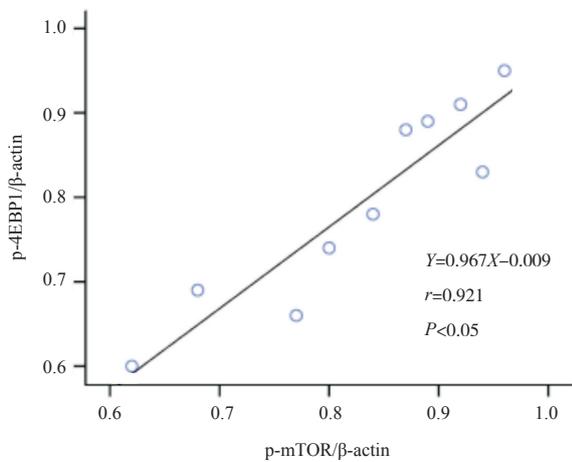


图4 哮喘组小鼠肺组织 p-mTOR 蛋白与 p-4EBP1 蛋白表达相关性分析

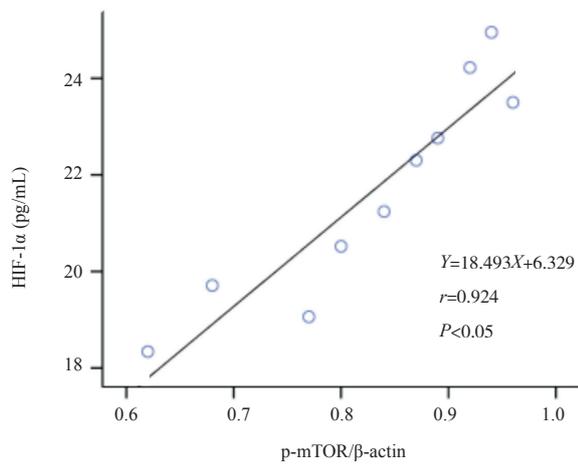


图5 哮喘组小鼠肺组织 p-mTOR 蛋白表达与 BALF 中 HIF-1 $\alpha$  表达水平相关分析图

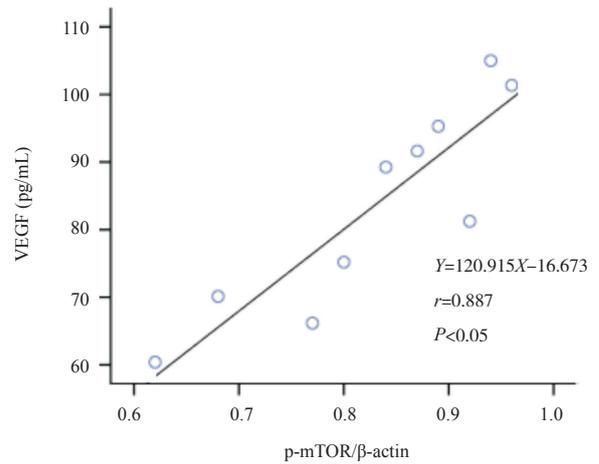


图6 哮喘组小鼠肺组织 p-mTOR 蛋白表达与 BALF 中 VEGF 表达水平相关分析图

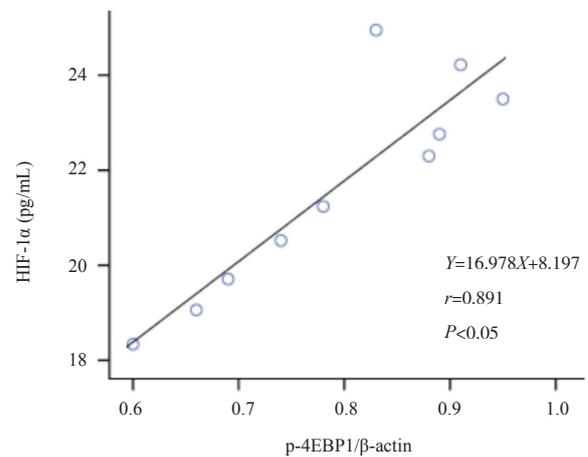


图7 哮喘组小鼠肺组织 p-4EBP1 蛋白表达与 BALF 中 HIF-1 $\alpha$  表达水平相关分析图

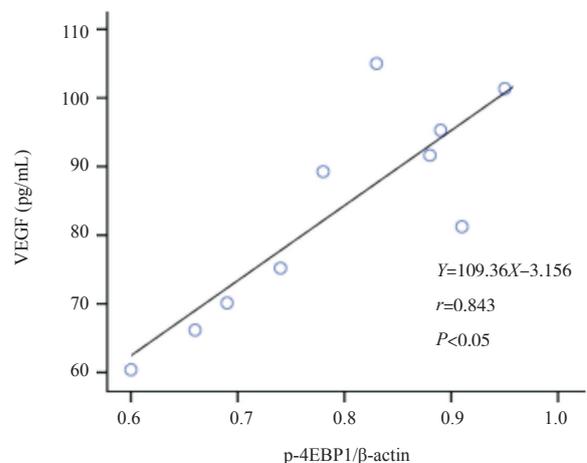


图8 哮喘组小鼠肺组织 p-4EBP1 蛋白表达与 BALF 中 VEGF 表达水平相关分析图

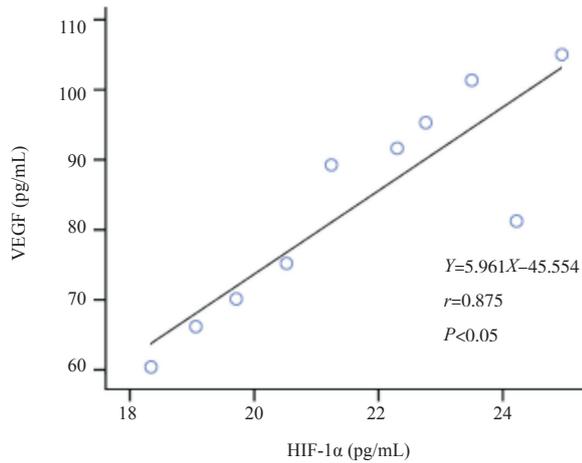


图 9 哮喘组小鼠 BALF 中 HIF-1 $\alpha$  与 VEGF 表达水平相关分析图

### 3 讨论

哮喘的发病机制一直是研究的热点, 气道炎症浸润及气道重塑是哮喘的重要特征<sup>[1]</sup>, 但具体机制未完全明确。已有研究发现哮喘时存在 mTOR 的高表达, 可能参与哮喘气道重塑的过程<sup>[4]</sup>, 查阅国内外文献发现目前关于 mTOR 相关信号通路在哮喘中的影响多集中在 mTOR 及其上游信号通路, 而其下游信号是如何发挥作用的研究较少。4EBP1 是 mTOR 下游的一个直接靶点, 通过整合内外环境信号被激活的 mTOR 可进一步磷酸化 4EBP1 而使后者活化发挥其一系列的病理生理作用<sup>[5]</sup>。雷帕霉素是目前研究最多的 mTOR 抑制剂, 其可以减弱气道的高反应性, 减轻如嗜酸性粒细胞、杯状细胞及其分泌的多种细胞因子等引起的气道炎症浸润, 抑制气道重塑<sup>[9-10]</sup>。与上述研究一致, 本研究中采用免疫组化及免疫印迹法发现哮喘组小鼠肺组织中 p-mTOR、p-4EBP1 均较对照组明显升高, 提示哮喘时存在 mTOR/4EBP1 的激活, 同时发现给予布地奈德或雷帕霉素干预后 p-mTOR、p-4EBP1 的表达较哮喘组明显下降, 而且 HE 染色发现布地奈德干预组和雷帕霉素干预组小鼠肺组织炎性细胞浸润、黏膜下水肿及气道平滑肌的增厚等病理改变均较哮喘组明显减轻, 而两干预组间 p-mTOR、p-4EBP1 的表达无明显差别, 病理改变也无显著差别。由此推测激活的 mTOR/4EBP1 可能在促进哮喘的气道炎症浸润及气道重塑等方面发挥重要作用, 而雷帕霉素可通过阻断 mTOR 及其下游信号

有效抑制哮喘的发生, 更证实雷帕霉素可作为哮喘的候选治疗这一推测。但也有研究发现雷帕霉素对减轻过敏性气道炎症和抑制气道的高反应性并无影响<sup>[11]</sup>, 以往的研究多只利用雷帕霉素干预观察对哮喘模型鼠的影响, 并未深入探讨其具体的作用机制, 两种结果的不一致, 考虑可能与雷帕霉素干预的时间及方式等不同有关。

HIF-1 $\alpha$  是存在于所有哺乳动物细胞中的一种氧依赖性的转录激活因子, 可以调节 100 多种功能基因, 其主要在缺氧条件下表达, 在免疫和炎症反应中起着重要作用<sup>[12]</sup>。VEGF 是内皮细胞特异性有丝分裂肽, 可调节血管生成, 参与炎症反应。已有研究证明, HIF-1 $\alpha$  及 VEGF 的过度表达参与发展过敏性气道炎症<sup>[13-14]</sup>。本研究亦发现在哮喘组小鼠 BALF 中 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 的表达明显高于对照组, 而经布地奈德或雷帕霉素干预后两者的表达明显下降。Crotty Alexander 等<sup>[6]</sup> 研究发现 HIF-1 $\alpha$  可使嗜酸性粒细胞、肥大细胞、巨噬细胞等在过敏性气道炎症中发挥重要作用的细胞聚集浸润于气道, 并活化分泌多种细胞因子, 损伤气道上皮细胞, 引起气道高反应及气道重塑等。Kim 等<sup>[7]</sup> 和 Lee 等<sup>[8]</sup> 发现 VEGF 作为 HIF-1 $\alpha$  下游的一个靶蛋白在过敏性气道疾病中能强烈刺激炎症并使血管通透性增加, 血浆外渗, 诱使气道壁充血水肿、管腔变窄, 参与气道重塑。结合本研究中哮喘组小鼠肺组织经 HE 染色较对照组明显可见气管及其周围炎症细胞尤其是嗜酸性粒细胞浸润明显、分泌物增多、气道壁增厚等病理改变, 进一步证实 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 协同促进哮喘时的炎症细胞浸润, 尤其是嗜酸性粒细胞及气道重塑等, 在哮喘的发生中发挥重要作用。

HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 是 mTOR/4EBP1 下游两个重要的效应分子, 活化的 4EBP1 可进一步促进 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 翻译的增加<sup>[9]</sup>, 由此构成 mTOR/4EBP1/HIF-1 $\alpha$ /VEGF 信号通路, 查阅国外文献发现该信号通路在肿瘤及血管生成等方面发挥重要作用<sup>[15]</sup>, 在过敏性气道炎症中 mTOR 亦可通过调节 HIF-1 $\alpha$  影响 VEGF 的表达<sup>[16]</sup>, 本研究发现哮喘组 p-mTOR、p-4EBP1、HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 两两互呈正相关, 而在对照组及各干预组无此相关性, 且给予 mTOR 抑制剂雷帕霉素干预后小鼠 BALF 中 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 明显下降, 由此推测 mTOR/4EBP1/HIF-1 $\alpha$ /

VEGF 信号通路在哮喘的发生发展中发挥重要协同作用。哮喘发生时 mTOR、4EBP1 激活, p-mTOR、p-4EBP1 与 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 表达水平均明显升高, 从而使嗜酸性粒细胞、巨噬细胞等炎症细胞及细胞因子聚集参与气道炎症、气道重塑等过程, 促进哮喘的发生发展, 而雷帕霉素能阻断这一过程成为理论上治疗哮喘的一个潜在靶点。至于 mTOR/4EBP1/HIF-1 $\alpha$ /VEGF 信号通路在哮喘发生中更具体的机制还需要进一步研究。

### [参 考 文 献]

- [1] Ferkol T, Schraufnagel D. The global burden of respiratory disease[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2014, 11(3): 404-406.
- [2] Lee GK, Shin H, Lim HJ. Rapamycin influences the efficiency of in vitro fertilization and development in the mouse: a role for autophagic activation[J]. *Asian-Australas J Anim Sci*, 2016, 29(8): 1102-1110.
- [3] 朱广倍, 周维英, 蔡家利. mTOR 调节免疫细胞分化与功能的研究进展 [J]. *免疫学杂志*, 2016, 32(2): 173-176.
- [4] 罗云海, 欧立文, 李晓玲. 哮喘大鼠气道中雷帕霉素靶蛋白的表达对气道重塑的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(2): 190-192.
- [5] Mi C, Ma J, Shi H, et al. 4',6-dihydroxy-4-methoxyisoaurone inhibits the HIF-1 $\alpha$  pathway through inhibition of Akt/mTOR/p70S6K/4E-BP1 phosphorylation[J]. *J Pharmacol Sci*, 2014, 125(2): 193-201.
- [6] Crotty Alexander LE, Akong-Moore K, Feldstein S, et al. Myeloid cell HIF-1 $\alpha$  regulates asthma airway resistance and eosinophil function[J]. *J Mol Med (Berl)*, 2013, 91(5): 637-644.
- [7] Kim SR, Lee KS, Park HS, et al. HIF-1 $\alpha$  inhibition ameliorates an allergic airway disease via VEGF suppression in bronchial epithelium[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(10): 2858-2869.
- [8] Lee CG, Ma B, Takyar S, et al. Studies of vascular endothelial growth factor in asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2011, 8(6): 512-515.
- [9] Mushaben EM, Kramer EL, Brandt EB, et al. Rapamycin attenuates airway hyperreactivity, goblet cells, and IgE in experimental allergic asthma[J]. *J Immunol*, 2011, 187(11): 5756-5763.
- [10] Kramer EL, Hardie WD, Mushaben EM, et al. Rapamycin decreases airway remodeling and hyperreactivity in a transgenic model of noninflammatory lung disease[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2011, 111(6): 1760-1767.
- [11] Eynott PR, Salmon M, Huang TJ, et al. Effects of cyclosporin A and a rapamycin derivative (SAR943) on chronic allergic inflammation in sensitized rats[J]. *Immunology*, 2003, 109(3): 461-467.
- [12] Mo JH, Kim JH, Lim DJ, et al. The role of hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  in allergic rhinitis[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2014, 28(2): e100-e106.
- [13] Huerta-Yepez S, Baay-Guzman GJ, Bebenek IG, et al. Hypoxia inducible factor promotes murine allergic airway inflammation and is increased in asthma and rhinitis[J]. *Allergy*, 2011, 66(7): 909-918.
- [14] Yuksel H, Yilmaz O, Karaman M, et al. Role of vascular endothelial growth factor antagonism on airway remodeling in asthma[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2013, 110(3): 150-155.
- [15] Chen MC, Hsu WL, Hwang PA, et al. Low molecular weight fucoidan inhibits tumor angiogenesis through downregulation of HIF-1/VEGF signaling under hypoxia[J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(7): 4436-4451.
- [16] Choi YH, Jin GY, Li LC, et al. Inhibition of protein kinase C delta attenuates allergic airway inflammation through suppression of PI3K/Akt/mTOR/HIF-1 alpha/VEGF pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e81773.

( 本文编辑: 万静 )