



# LPS/D-gal 诱导小鼠急性肝炎模型及 mTOR 信号的变化

李晓菲<sup>1</sup>, 陶玉芬<sup>1</sup>, 刘建生<sup>1</sup>, 李超<sup>1</sup>, 梁新新<sup>1</sup>, 叶尤松<sup>2</sup>, 唐东红<sup>2</sup>, 刘红旗<sup>1\*</sup>

(1. 中国医学科学院和北京协和医学院医学生物学研究所感染与免疫学实验室, 昆明 650118;  
2. 中国医学科学院医学生物学研究所小动物实验部, 昆明 650118)

**【摘要】** 目的 探索 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎中 mTOR 信号的变化。方法 LPS/D-gal 通过腹腔注射 ICR 雌性小鼠诱导急性肝炎模型。观察记录 24 h 内的存活率或在注射后 6 h 收集血清和肝脏组织样本, 进行相关的分析。结果 LPS/D-gal 注射 24 h 内引起小鼠急性死亡。注射后 6 h, 引起血清中转氨酶水平明显升高。肝脏组织炎症因子 *Tnfa* 和 *Il6* 表达水平上调。HE 染色显示明显的炎症细胞浸润, 研究结果表明 LPS/D-gal 可诱导 ICR 小鼠成为急性肝炎动物模型。此外, 肝脏组织免疫印迹分析发现, mTOR 和 NF- $\kappa$ B 信号通路被激活, 凋亡相关蛋白 Caspase-3 的活性增加, 凋亡特征性的 DNA 片段化也显著增强。然而 mTOR 信号的抑制剂雷帕霉素并不能控制 LPS/D-gal 引起的肝脏凋亡和提高存活率。结论 mTOR 信号在 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎的致病机制中可能发挥多重作用。

**【关键词】** LPS/D-gal; 急性肝炎; 凋亡; 小鼠模型

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2015) 03-0306-06

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2015.03.016

## A murine model of LPS/D-gal-induced acute hepatitis and alterations in mTOR signaling

LI Xiao-fei<sup>1</sup>, TAO Yu-fen<sup>1</sup>, LIU Jian-sheng<sup>1</sup>, LI Chao<sup>1</sup>, LIANG Xin-xin<sup>1</sup>, YE You-song<sup>2</sup>, TANG Dong-hong<sup>2</sup>, LIU Hong-qi<sup>1</sup>

(1. Infection and Immunity Laboratory, 2. Department of Small Laboratory Animals, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Kunming 650118, China)

**【Abstract】 Objective** To explore the changes of mTOR signaling in LPS/D-gal-induced acute hepatitis in mice.

**Methods** Twenty-six healthy adult female ICR mice were divided into two groups: the control group and experimental group, 13 mice in each group. LPS/D-gal was used to induce acute hepatitis in the mice. The survival of mice was monitored within 24 hours after LPS/D-gal challenge. At 6 hours after challenge, samples of serum and liver tissue were collected for further analysis. **Results** Injection of LPS/D-gal resulted in acute death of the mice within 24 hours. At 6 hours post LPS/D-gal injection, the blood levels of ALT and AST were significantly increased. The mRNA expression of inflammatory cytokines *Tnfa* and *Il6* was up-regulated in LPS/D-gal-induced hepatitis, in which DNA fragmentation and activation of caspase-3 were subsequently observed. Immunoblot analysis showed that both mTOR pathway and NF- $\kappa$ B pathway were activated. Unexpectedly, inhibition of mTOR signaling could neither decrease the apoptosis in the liver nor increase the survival of mice. **Conclusions** The results of the present study indicate that mTOR signaling may play pleiotropic roles in the pathogenesis of LPS/D-gal-induced hepatitis.

**【Key words】** LPS/D-gal; Acute hepatitis; Apoptosis; Murine model

[基金项目] 医学生物学研究所人才引进项目 (IMB201); 云南省应用基础研究计划项目 (2013FZ143)。

[作者简介] 李晓菲 (1990-), 女, 硕士研究生。研究方向: 急性肝炎模型建立及致病机制的研究。Email: fantayeah@yeah.net

[通讯作者] 刘红旗, 博士。研究方向: 炎症、感染和免疫。Email: lhq@imbcams.com.cn

急性肝炎是临床上的一种常见病症,根据流行病学分析,每年的发病率和死亡率都居高不下。急性肝炎最主要的致病因素是肝炎病毒的感染,其次为药物引起肝损伤<sup>[1]</sup>。多种机制可能参与了急性肝炎的致病作用,包括固有免疫调节、炎症细胞浸润、炎症因子参与和细胞凋亡等<sup>[2-4]</sup>,然而其致病机制目前为止还没有明确的定论。

动物模型是研究急性肝炎致病机制的重要手段。LPS/D-gal 诱导的小鼠急性肝炎模型从多方面模拟了临床上的各种肝炎疾病,如:肝功能受损,表现为转氨酶水平的上升;炎症因子分泌增加和肝细胞凋亡等<sup>[5]</sup>。该模型目前被广泛地用于急性肝炎疾病机制研究和各种抗肝炎药物的筛选<sup>[6]</sup>。

mTOR 途径主要通过响应外界环境中能量、营养和生长因子等刺激,参与调控细胞生长、增殖和存活等病理生理过程<sup>[7]</sup>,包括:炎症过程<sup>[8]</sup>和细胞凋亡的调控<sup>[9]</sup>。在体内,mTOR 可与机体其他蛋白形成两种不同的复合物 mTORC1 和 mTORC2,各自发挥不同的功能<sup>[10]</sup>。其中 mTORC1 主要通过调控其下游的效应分子核糖体蛋白 S6 激酶 1(S6K1)以及核糖体蛋白 S6 的磷酸化,进而促进蛋白合成和细胞增殖,发挥其对细胞的调节作用。因此,S6 蛋白的磷酸化反应了 mTORC1 信号通路的激活情况。mTORC 的抑制剂雷帕霉素(Rapamycin)早期主要作为免疫抑制剂用于临床。然而,近期的研究表明 Rapamycin 能控制某些癌症增殖和转移,其作用机制是通过抑制 mTORC1 及其下游的效应分子。关于 mTOR 信号途径的研究目前多集中于肿瘤、器官移植以及自噬等方面,而对其是否参与 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎过程还不是很清楚。本文主要通过建立 LPS/D-gal 诱导的 ICR 小鼠急性肝炎模型,研究 mTOR 信号在该模型中的变化情况,并通过其抑制剂 Rapamycin 来调节 mTOR 途径,从而研究 mTOR 信号的变化对急性肝炎的影响。本研究对进一步了解急性肝炎的致病机制具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试剂

LPS 和 D-gal 购自 Sigma 公司。PBS 购于 Hyclone 公司。Rapamycin 购于 Gene Operation。DMSO 购于 MP Biomedicals。AST 和 ALT 检测试剂为 Mindray 公司 BS200 全自动生化分析仪配套试剂。

RNAiso-plus 试剂盒及逆转录酶相关试剂均购自 Takara 公司。PCR 体系采用 GoTaq © G2 Green Master Mix (Promega 公司)。抗体购自 Cell Signaling Technology 和 Santa Cruz 公司。DNA 片段化检测所用试剂根据参考文献<sup>[11]</sup>配制。

#### 1.1.2 实验动物

68 只清洁级性成熟雌性 ICR 小鼠,体重为(25 ± 1)g,由中国医学科学院医学生物学研究所小动物实验部(云南昆明)[SCXK(滇)K2014-0002]提供。所有的操作均按照医学生物研究所动物实验伦理委员会要求进行,实验在医学生物学研究所小动物实验部(云南昆明)动物实验设施内进行[SYXK(滇)K2014-0007]。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 实验动物分组及处理

(1)动物模型建立:取 26 只 ICR 雌性小鼠,随机均等分为两组,实验组和对照组各 13 只。根据文献报道<sup>[12]</sup>,采用腹腔注射的方式,实验组按 40 μg/kg 体重 LPS + 800 mg/kg 体重 D-gal 的药物剂量,每只注射 200 μL,对照组采用同体积 PBS 处理,两组各随机分出 8 只进行存活率实验,观察记录注射药物后 24 h 内小鼠的存活情况,剩余每组取 5 只进行组织样品分析,在注射药物后 6 h,解剖小鼠和收集样本。

(2)Rapamycin 药物处理实验:取 42 只 ICR 雌性小鼠,随机均等分为三组,每组 14 只。第一组为 PBS 处理组,第二组则利用已建立的 ICR 小鼠模型,在腹腔注射 LPS/D-gal 45 min 后注射 Rapamycin (5 mg/kg 体重),第三组为 LPS/D-gal 药物处理组,三组各随机分出 8 只进行存活率实验,剩余每组分别取 6 只进行样品采集分析实验。

#### 1.2.2 肝组织病理学观察

小鼠肝脏组织经 4% 甲醛固定后,进行常规石蜡包埋、切片,进行 HE 染色,显微镜下观察记录结果。

#### 1.2.3 血清 ALT 和 AST 水平检测

眼球采血,每只小鼠收集血液 1mL 左右,于 37℃ 存放 1 h 后,置于 4℃ 过夜处理,3000 g 离心 10 min 后分离血清。取 100μL 血清送至医学生物学研究所灵长类实验动物中心检测。检测系统为 Mindray 公司 BS200 全自动生化分析仪及配套试剂。

#### 1.2.4 半定量 RT-PCR 检测肝组织炎性细胞因子的变化

取 ICR 小鼠肝脏组织,利用 RNAiso-plus 试剂

盒进行组织裂解,再通过酚-氯仿的方法提取 RNA,具体操作参照使用说明书。利用 Nanodrop2000 分光光度计(Thermo 公司)测定的浓度和纯度,最终以 2 $\mu$ g RNA 合成 cDNA。通过特异性引物 PCR 扩增炎症细胞因子 *Tnfa*, *Il6* 及 *Il1 $\beta$* ,扫描电泳图谱,以 *actin* 为参考标准比较实验组与对照组 *Tnfa*, *Il6* 及 *Il1 $\beta$*  转录水平的差异。其中 *Tnfa*, *Il6*, *Il1 $\beta$*  以及 *actin* 引物设计分别为: *Tnfa*-F: CTCTTCAAGGGACAAG-GCTG, *Tnfa*-R: CGGACTCCGCAAAGTCTAAG; *Il6*-F: GAGACTTCCATCCAGTTCGCC, *Il6*-R: CAGAATT-GCCATTGCACAAC; *Il1 $\beta$* -F: GACCTTCCAGGAT-GAGGACA, *Il1 $\beta$* -R: AGGCCACAGGTATTTTGTCC; *actin*-F: ACGGCCAAGTCATCACTATTG, *actin*-R: AGCCACCGATCCACACAGA。

### 1.2.5 免疫印迹检测蛋白表达情况

取 30mg 大小的 ICR 小鼠肝脏组织,加入 500 $\mu$ L RIPA 蛋白裂解液,组织匀浆机进行研磨,于 4 $^{\circ}$ C 12 000 g 离心 10 min,收集上清,利用 BCA 法检测蛋白浓度后,调整至统一浓度,25 mg 或 50 mg 总蛋白 SDS-PAGE 电泳后,用相应的抗体进行免疫印迹分析。利用 ECL 免疫印迹底物(Thermo 公司)显色,经 Bio-Rad 凝胶成像系统拍照记录结果。

### 1.2.6 DNA 片段化检测细胞凋亡情况

取 30 mg 大小的 ICR 小鼠肝脏组织,加入

500  $\mu$ L 裂解液进行裂解,组织匀浆机进行研磨,冰置 15 min,于 4 $^{\circ}$ C 12 000 g 离心 20 min,转移上清至新管,参照文献报道的方法<sup>[11]</sup>,提取和纯化 DNA,经琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 片段化情况。

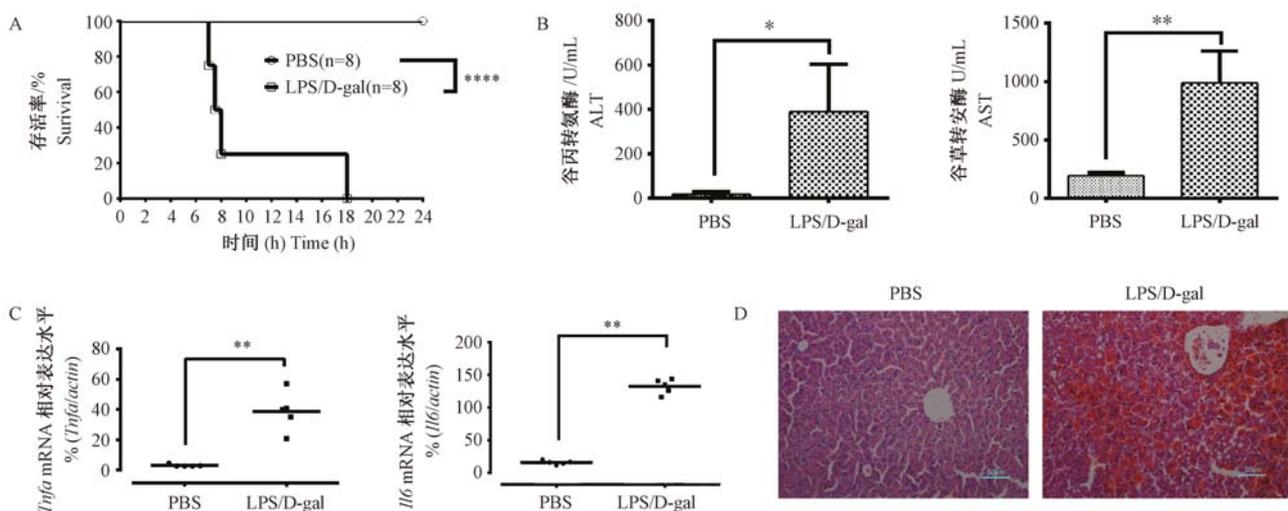
### 1.2.7 统计学分析

利用 GraphPad Prism 6 软件进行分析,组间比较采用 unpaired *t* 检验;存活率曲线比较采用 Log-rank (Mantel-Cox) 检验。 $P > 0.05$  表示没有统计学差异,用 ns 表示; $P < 0.05$  表示具有统计学差异,用 \* 表示。

## 2 结果

### 2.1 建立 ICR 小鼠急性肝炎模型

我们通过联合 LPS 和 D-gal 成功地诱导了 ICR 小鼠的急性肝炎模型。小鼠在腹腔注射 LPS/D-gal 后 24h 内发生急性死亡,死亡率高达 100% (图 1A)。LPS/D-gal 诱导 6h 后,血清中转氨酶 AST 和 ALT 的水平显著上升(图 1B),表明肝功能发生异常。半定量 RT-PCR 结果显示炎症因子 *Tnfa* 和 *Il6* 的 mRNA 表达水平显著升高(图 1C)。进一步的组织病理学检查发现,LPS/D-gal 处理引起肝脏组织严重的炎症细胞浸润以及坏死等病理变化(图 1D)。以上研究结果表明,LPS/D-gal 在此剂量条件下能够成功诱导 ICR 小鼠的急性肝炎。



注:A:小鼠存活率;B:谷丙转氨酶(ALT)和谷草转氨酶(AST)活性;C:炎症因子 *Tnfa* 和 *Il6* 的 mRNA 相对表达水平;D:肝脏组织 HE 染色(200 $\times$ )。\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ ,代表差异有显著性。

图 1 LPS/D-gal 诱导 ICR 小鼠的肝炎模型

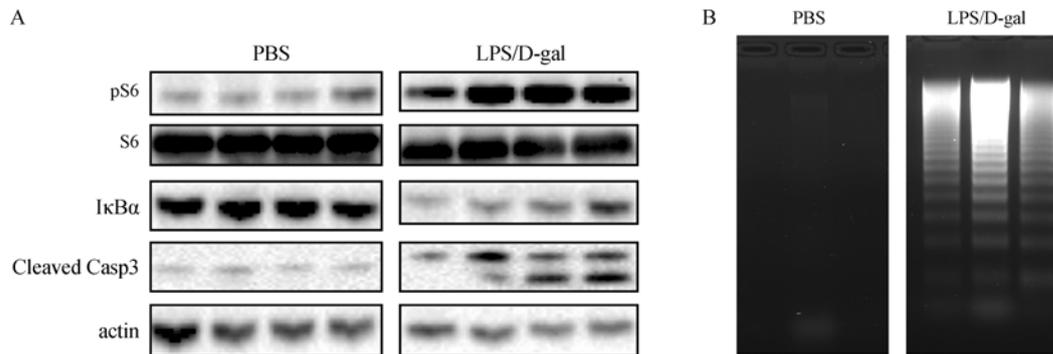
Note. A: Mice survival; B: Activity of ALT and AST; C: Relative mRNA levels of inflammatory cytokines *Tnfa* and *Il6*; D: H&E staining of liver tissue (200 $\times$ ). \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ , representing the significant difference.

Fig. 1 LPS/D-gal-induced hepatitis in the ICR mice

## 2.2 mTOR 信号途径在 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎模型中被激活

免疫印迹分析结果显示, LPS/D-gal 处理诱导了核糖体蛋白 S6 的磷酸化水平 (pS6) 显著升高 (图 2A), 表明肝脏组织中 mTOR 信号途径在 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎模型中被激活。LPS/D-gal 也导致了肝脏组织中 NF- $\kappa$ B 抑制蛋白 I $\kappa$ B $\alpha$  的下调, 表明

调控炎症因子表达的 NF- $\kappa$ B 信号途径被激活。此外, LPS/D-gal 还激活了凋亡相关蛋白 caspase-3, 肝脏组织表现为高水平裂解的 caspase-3 (图 2A) 和凋亡特征性的 DNA 片段化 (图 2B)。这些结果表明 LPS/D-gal 诱导激活的 mTOR 信号途径, 可能与肝细胞的凋亡及炎症反应有一定的相关性。



注: A: pS6, S6, I $\kappa$ B $\alpha$ , Cleaved Casp3, Actin western blot 结果; B: DNA 片段化结果。

图 2 mTOR 信号途径与 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎之间相关性分析

Note. Representative results of Western blotting (A) and DNA fragmentation (B).

Fig. 2 Correlation analysis of mTOR signaling pathway and LPS/D-gal-induced hepatitis

## 2.3 抑制 mTOR 信号途径对 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎的影响

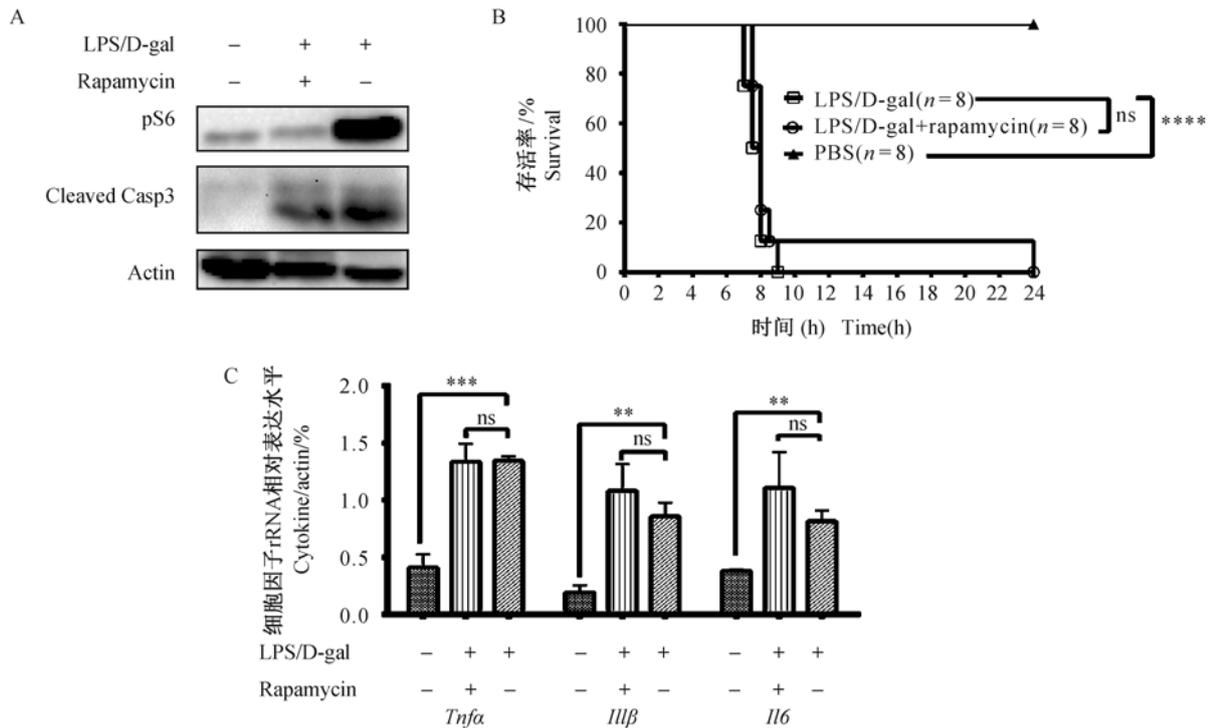
以前的研究表明, 在 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎模型中, 小鼠死亡的直接原因可能与 LPS/D-gal 诱导产生的 *Tnfa* 引起的肝细胞凋亡有关。本研究中 mTOR 信号途径和 caspase-3 的激活暗示它们与肝脏组织的细胞凋亡有一定的相关性 (图 2A)。因此, 我们假设可以通过抑制 mTOR 信号途径来调控细胞凋亡, 从而降低 LPS/D-gal 诱导的急性肝炎引起的死亡。本研究表明, 尽管 mTOR 抑制剂 Rapamycin 在 45 min 内能够明显地抑制 mTOR 信号途径的效应分子 S6 的磷酸化 (图 3A), 但其并不能降低 LPS/D-gal 导致的高死亡率 (图 3B)。我们又进一步分析了 Rapamycin 对 LPS/D-gal 诱导的肝脏组织中炎症因子的影响。半定量 RT-PCR 结果表明, Rapamycin 处理并不能抑制 LPS/D-gal 诱导的炎症因子 *Tnfa*, *Il6* 及 *Il1 $\beta$*  的 mRNA 表达 (图 3C)。免疫印迹分析结果表明, Rapamycin 处理也不能完全抑制凋亡相关蛋白 caspase-3 的活性 (图 3A)。这些结果提示 LPS/D-gal 激活的 mTOR 信号途径在急性肝炎致病机制中可能起多重作用。

## 3 讨论

肝炎是目前世界上危害相当严重的一种疾病。

多种因素可以引起肝脏的炎症, 这种炎症不仅可导致肝脏组织的细胞凋亡和坏死, 最终还可能导致肝癌。早期常用于研究肝炎的模型是通过高剂量的细菌内毒素 LPS 进行诱导。后来发现 D-gal 与 LPS 联合运用可以大大降低 LPS 的用量, 而且通过该方法建立的急性肝炎模型, 能基本模拟病毒性肝炎等多种肝炎的病理过程。因此, 该模型引起了越来越多的关注。本研究通过 LPS/D-gal 联合作用 ICR 小鼠成功地建立了急性肝炎模型。

mTOR 信号途径的异常出现在多种疾病环境中, 是目前研究多种疾病治疗性药物的靶点。而 Rapamycin 作为 mTOR 信号抑制剂, 是研究其功能的常用药物。已有的研究表明, Rapamycin 能阻断 caspase-3 的激活, 从而提高细胞的存活率<sup>[13]</sup>。Rapamycin 还可以通过抑制趋化因子和炎症因子的表达来抑制炎症反应<sup>[14,15]</sup>。然而, 在一些疾病模型中, Rapamycin 预处理反而加速了炎症和细胞凋亡<sup>[16]</sup>。在肝脏枯否细胞中, 真核延长因子 2 (eEF2) 能调控 *Tnfa* 的翻译水平, 进而控制 LPS 诱导的肝炎<sup>[17]</sup>。mTOR/S6K1 则能调控真核延长因子 2 激酶 (eEF2K) 活性, 激活 eEF2, 因此, Rapamycin 处理则反向加重了肝炎的发生<sup>[18]</sup>。Baker 等<sup>[19]</sup>也发现在巨噬细胞中, Rapamycin 能减少 IL-10 的表达从而增



注: A: pS6, Cleaved Casp3, Actin western blot 结果; B: 小鼠存活率; C: 炎症因子 *Tnfa*、*Il1β* 和 *Il6* 的 mRNA 相对表达水平。ns 表示没有统计学差异, \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ , 差异有显著性。

图 3 抑制 mTOR 信号通路对 LPS/D-gal 诱导肝炎的影响

Note. A: Representative results of Western blotting; B: Mice survival; C: Relative mRNA levels of inflammatory cytokines *Tnfa*, *Il1β* and *Il6*. ns represents no significant difference, \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ , \*\*\*\*  $P < 0.0001$ , representing significant differences.

Fig. 3 Effects of inhibition of mTOR signaling pathway on the LPS/D-gal-induced hepatitis

强 LPS 诱导产生的 *Tnfa* 水平<sup>[19]</sup>。因此,尽管我们能利用 Rapamycin 有效地抑制整个肝脏组织中 LPS/D-gal 诱导上调的 mTOR 信号,但由于其作用的双向性,导致其不能有效地控制炎症、肝脏细胞的凋亡以及存活率。另外, Rapamycin 对肿瘤和细胞凋亡的作用还与其工作浓度有关,低浓度 Rapamycin 能诱导自噬作用,对细胞有保护作用<sup>[13]</sup>,而高浓度的 Rapamycin 通过抑制蛋白合成相关的 4EBP1 来调控凋亡相关因子的表达,从而促进细胞凋亡,达到抗肿瘤的目的<sup>[20]</sup>。

尽管 Rapamycin 的主要靶标是 mTORC1,是目前较常用的用于抑制 mTOR 信号途径的药物,然而由于 mTORC1 是多种信号途径的节点,它被抑制后,对其下游的多种信号途径都有影响,因此有时会引起与预期不一致的结果。Rapamycin 和其他药物的联合使用是克服这一现象的有效方法之一<sup>[21]</sup>。此外,最近的研究表明 mTORC1 下游的效应分子 S6K1 是 mTOR 信号途径药物研究很好的靶点<sup>[22]</sup>。小鼠中 S6K1 基因的缺陷能显著减弱人工诱导的肝

脏炎症<sup>[23]</sup>,这暗示了通过药物抑制 mTOR 信号途径下游的 S6K1 活性可能改善肝脏的炎症反应。

综上所述, mTOR 信号途径尽管可能参与了 LPS/D-gal 诱导的 ICR 小鼠急性肝炎的致病机制,然而直接利用 Rapamycin 抑制 mTOR 信号,并不能缓解急性肝炎的病理表现,这些结果提示了 mTOR 信号途径下游可能存在正反两种调节功能参与了急性肝炎致病机制。本研究结果对深入研究急性肝炎致病机制和设计相应的药物靶点具有重要的指导意义。

#### 参 考 文 献

- [1] Bernal W, Auzinger G, Dhawan A, et al. Acute liver failure [J]. Lancet, 2010, 376(9736): 190-201.
- [2] Szabo G, Mandrekar P, Dolganiuc A. Innate immune response and hepatic inflammation [J]. Semin Liver Dis, 2007, 27(4): 339-350.
- [3] Mandrekar P, Szabo G. Signalling pathways in alcohol-induced liver inflammation [J]. J Hepatol, 2009, 50(6): 1258-1266.
- [4] Rutherford A, Chung RT. Acute liver failure: mechanisms of

- hepatocyte injury and regeneration [J]. *Semin Liver Dis*, 2008, 28 (2): 167–174.
- [ 5 ] Wang X, Zhang L, Wei Z, et al. The inhibitory action of PDCD4 in lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced acute liver injury [J]. *Lab Invest*, 2013, 93 (3): 291–302.
- [ 6 ] Wang H, Xu DX, Lv JW, et al. Melatonin attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced apoptotic liver damage in D-galactosamine-sensitized mice [J]. *Toxicology*, 2007, 237 (1–3): 49–57.
- [ 7 ] Yang H, Rudge DG, Koos JD, et al. mTOR kinase structure, mechanism and regulation [J]. *Nature*, 2013, 497 (7448): 217–223.
- [ 8 ] 林骏, 白晓春. mTOR 信号通路与“炎-癌”转变 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2014, (01): 79–86.
- [ 9 ] Castedo M, Ferri KF, Kroemer G. Mammalian target of rapamycin (mTOR): pro- and anti-apoptotic [J]. *Cell Death Differ*, 2002, 9 (2): 99–100.
- [ 10 ] Bhaskar PT, Hay N. The two TORCs and Akt [J]. *Dev Cell*, 2007, 12 (4): 487–502.
- [ 11 ] Hugh J. Brady M. *Apoptosis Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol. 282)* [M]. First ed. Totowa, NJ: Humana Press. 2004. 1–17.
- [ 12 ] Hartman AL, Santos P, Dolce A, et al. The mTOR inhibitor rapamycin has limited acute anticonvulsant effects in mice [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7 (9): e45156.
- [ 13 ] Ravikumar B, Berger Z, Vacher C, et al. Rapamycin pre-treatment protects against apoptosis [J]. *Hum Mol Genet*, 2006, 15 (7): 1209–1216.
- [ 14 ] 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.
- [ 15 ] Lin H, Chang KT, Hung CC, et al. Effects of the mTOR inhibitor rapamycin on monocyte-secreted chemokines [J]. *BMC Immunol*, 2014, 15 (1): 1–9.
- [ 16 ] Fielhaber JA, Carroll SF, Dydensborg AB, et al. Inhibition of mammalian target of rapamycin augments lipopolysaccharide-induced lung injury and apoptosis [J]. *J Immunol*, 2012, 188 (9): 4535–4542.
- [ 17 ] Gonzalez-Teran B, Cortes JR, Manieri E, et al. Eukaryotic elongation factor 2 controls TNF-alpha translation in LPS-induced hepatitis [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123 (1): 164–178.
- [ 18 ] Wang X, Li W, Williams M, et al. Regulation of elongation factor 2 kinase by p90(RSK1) and p70 S6 kinase [J]. *EMBO J*, 2001, 20 (16): 4370–4379.
- [ 19 ] Baker AK, Wang R, Mackman N, et al. Rapamycin enhances LPS induction of tissue factor and tumor necrosis factor-alpha expression in macrophages by reducing IL-10 expression [J]. *Mol Immunol*, 2009, 46 (11–12): 2249–2255.
- [ 20 ] Yellen P, Saqcena M, Salloum D, et al. High-dose rapamycin induces apoptosis in human cancer cells by dissociating mTOR complex 1 and suppressing phosphorylation of 4E-BP1 [J]. *Cell Cycle*, 2011, 10 (22): 3948–3956.
- [ 21 ] Shappley RK, Spentzas T. Differential role of rapamycin and Torin/KU63794 in inflammatory response of 264.7 RAW macrophages stimulated by CA-MRSA [J]. *Int J Inflam*, 2014, 2014: 1–9.
- [ 22 ] Barger JF, Gallo CA, Tandon P, et al. S6K1 determines the metabolic requirements for BCR-ABL survival [J]. *Oncogene*, 2013, 32 (4): 453–461.
- [ 23 ] Gonzalez-Rodriguez A, Alba J, Zimmerman V, et al. S6K1 deficiency protects against apoptosis in hepatocytes [J]. *Hepatology*, 2009, 50 (1): 216–229.

[ 收稿日期 ] 2005-01-04