doi:10.11659/jjssx.12E024109

·基础研究·

和厚朴酚调节mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路对烟曲霉菌性角膜炎大鼠角膜组织损伤的影响

王 敏[1],霍 楠[2],安伟乔[3],赵军波[2] (1.邯郸市中心医院感染性疾病科,河北 邯郸 056001;2.邯郸市中心医院眼科,河北 邯郸 056001;3.邯郸市中心医院老年病科,河北 邯郸 056001)

[摘 要] **目的** 探究和厚朴酚(HNK)调节哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)/缺氧诱导因子-1α(HIF-1α)/血管内皮生长因子(VEGF)信号通路对烟曲霉菌性角膜炎(AFK)大鼠角膜组织损伤的影响。**方法** 随机将SD大鼠分为Ctrl组(5 μL DMSO溶剂)、模型组(5 μL DMSO溶剂)、低剂量HNK(L-HNK)组(2 μg/mL HNK)、中剂量HNK(M-HNK)组(4 μg/mL HNK)、高剂量HNK(H-HNK)组(8 μg/mL HNK)和mTOR激活剂+H-HNK组(10 mg/kg MHY1485+8 μg/mL HNK)。除Ctrl组外,其余组均采用角膜接触镜法制备AFK大鼠模型。裂隙灯显微镜下观察、评估角膜组织损伤程度;平板菌落计数法评估角膜组织中烟曲霉菌含量;HE染色观察角膜组织病理学变化;ELISA检测角膜组织中炎症因子白细胞介素(IL)-1β、IL-6、肿瘤坏死因子α(TNF-α)水平;Western blot测定角膜组织中mTOR、HIF-1α、VEGF蛋白表达水平。**结果** 与Ctrl组比较,模型组大鼠角膜组织损伤评分、菌落数及IL-1β、TNF-α、IL-6表达增加($P<0.05$),同时角膜胶原纤维排列紊乱、肿胀,大量炎性细胞浸润,坏死组织脱落;与模型组比较,L-HNK组、M-HNK组、H-HNK组大鼠角膜组织损伤评分、菌落数及IL-1β、TNF-α、IL-6表达减少($P<0.05$),角膜组织上述变化均减轻,且H-HNK组减轻最为明显;与H-HNK组比较,mTOR激活剂+H-HNK组大鼠角膜组织损伤评分、菌落数及IL-1β、TNF-α、IL-6表达增加($P<0.05$),角膜组织上述变化均加重。与Ctrl组比较,模型组大鼠角膜组织中mTOR、HIF-1α、VEGF蛋白表达增加($P<0.05$);与模型组比较,H-HNK组大鼠角膜组织中上述蛋白表达均减少($P<0.05$);与H-HNK组比较,mTOR激活剂+H-HNK组大鼠角膜组织中上述蛋白表达均增加($P<0.05$)。**结论** HNK能够减轻AFK大鼠角膜组织损伤,可能通过抑制mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路而实现。

[关键词]和厚朴酚;mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路;烟曲霉菌性角膜炎;角膜组织损伤
[中图分类号]R772.21 [文献标志码]A [收稿日期]2024-12-19

Impact of honokiol on corneal tissue damage in rats with Aspergillus fumigatus keratitis by regulating mTOR/HIF-1α/VEGF signaling pathway

WANG Min[1], HUO Nan[2], AN Wei-qiao[3], ZHAO Jun-bo[2] (1.Department of Infectious Diseases, Handan Central Hospital, Handan Hebei 056001, China; 2.Department of Ophthalmology, Handan Central Hospital, Handan Hebei 056001, China; 3.Department of Geriatrics, Handan Central Hospital, Handan Hebei 056001, China)

Abstract: Objective To explore the impact of honokiol (HNK) on corneal tissue damage in rats with aspergillus fumigatus keratitis (AFK) by regulating mammalian target of rapamycin (mTOR)/hypoxia inducible factor-1α (HIF-1α)/vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling pathway. **Methods** SD rats were randomly divided into the Ctrl group (5 μL DMSO solvent), model group (5 μL DMSO solvent), low-dose HNK (L-HNK) group (2 μg/mL HNK), medium-dose HNK (M-HNK) group (4 μg/mL HNK), high-dose HNK (H-HNK) group (8 μg/mL HNK), and mTOR activator+H-HNK group (10 mg/kg MHY1485+8 μg/mL HNK). Except for the Ctrl group, the AFK rat models were established by the corneal contact lens method in the other groups. Slit-lamp microscopy was used to observe and evaluate the degree of corneal tissue damage. Plate colony counting was employed to assess aspergillus fumigatus content in corneal tissues. HE staining was performed to examine the histopathological changes in corneal tissues. ELISA was utilized to detect the levels of inflammatory cytokines interleukin (IL)-1β, IL-6, and tumor necrosis factor alpha (TNF-α) in corneal tissues. And Western blot was conducted to determine the protein expression levels of mTOR, HIF-1α, and VEGF in corneal tissues. **Results** Compared with the Ctrl group, the model group showed increased corneal tissue injury scores, colony counts, and elevated expression of IL-1β, TNF-α, and IL-6 ($P<0.05$), along with disordered collagen fiber arrangement, swelling, extensive inflammatory cell infiltration, and necrotic tissue shedding. In contrast to the model group, the L-HNK group, M-HNK group and H-HNK group exhibited reduced corneal tissue injury scores, colony counts, and decreased expression of IL-1β, TNF-α, and IL-6 ($P<0.05$), along with alleviated corneal tissue changes, the most pronounced in the H-HNK group. Compared with the H-HNK group, the mTOR activator+H-HNK group showed increased corneal

[基金项目]邯郸市科学技术研究与发展计划项目(21422083122)
[通信作者]霍 楠,E-mail:y05ya8c@163.com

tissue injury scores, colony counts, and elevated expression of IL-1β, TNF-α, and IL-6 ($P<0.05$), along with aggravated corneal tissue changes. Compared with the Ctrl group, the model group demonstrated increased protein expression of mTOR, HIF-1α, and VEGF in the corneal tissue ($P<0.05$). Compared with the model group, the H-HNK group exhibited decreased expression of these proteins ($P<0.05$). Compared with the H-HNK group, the mTOR activator+H-HNK group showed increased expression of these proteins ($P<0.05$). **Conclusion** HNK can alleviate corneal tissue damage in AFK rats, which may be achieved by inhibiting the mTOR/HIF-1α/VEGF signaling pathway.

Keywords: honokiol; mTOR/HIF-1α/VEGF signaling pathway; aspergillus fumigatus keratitis; corneal tissue damage

真菌性角膜炎(fungal keratitis,FK)是角膜炎的一种,是导致视力丧失及失明的重要危险因素。FK由曲霉菌、镰刀菌、念珠菌等主要致病真菌感染引起,其中烟曲霉菌(aspergillus fumigatus,AF)为最常见的曲霉菌之一[1]。除真菌的毒力作用外,炎症反应在FK的发生发展中亦起着关键作用,目前的治疗药物如两性霉素B、伏立康唑等存在穿透力不足、毒副作用大等局限性[2-3]。因此,开发新的抗真菌、抗炎药物具有重要临床意义。

和厚朴酚(honokiol,HNK)是从传统中草药厚朴枝皮、根皮中提取的天然双酚类物质,可发挥抗炎、抗肿瘤、神经保护和抗菌等作用[4]。有研究报道,HNK对AF有明显的抑菌、杀菌作用,能够减轻AF诱导的角膜炎的病变程度[5],但其具体作用机制目前仍不清楚。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,与炎症、肿瘤发生发展、组织增生及修复等诸多病理生理过程密切相关[6],而且已被证实能够调控缺氧诱导因子-1α(hypoxia inducible factor-1α,HIF-1α)的表达[7];而HIF-1α被认为是具有转录活性的核蛋白,能够通过上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)的表达对缺氧适应、肿瘤生长、炎症发展等发挥重要调节作用[8]。推测HIF-1α、VEGF等与烟曲霉菌性角膜炎(aspergillus fumigatus keratitis ,AFK)的发生发展具有一定的相关性,因此,本研究采用角膜接触镜法制备AFK大鼠模型,探究HNK基于mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路对AFK大鼠角膜组织损伤的调控作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物及AF菌种

176只SPF级雌性SD大鼠,8周龄,体质量(230±15) g,由北京华阜康生物公司提供,裂隙灯检查排除眼部疾患。在温度23~26 ℃、湿度45%~55%、12 h光照/黑暗模式下适应性喂养3 d后开始实验。

AF菌种(编号3.0772)购自中国微生物菌种保藏中心,置于Sabouroud琼脂培养基中于28 ℃培养箱内孵育,当AF长满培养基时,刮取菌丝及孢子,并用PBS冲洗菌面,调整AF悬浊液浓度为1×10^8 CFU/mL,4 ℃保存待用。

1.2 试剂与仪器

主要试剂:HNK(上海雅吉生物科技公司);Sabouroud琼脂培养基(广东环凯生物科技公司);mTOR激活剂MHY1485(MedChemExpress公司);HE染色试剂盒(Solarbio公司);兔抗小鼠二抗(Abcam公司);白细胞介素(interleukin,IL)-1β、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor alpha,TNF-α)、IL-6 ELISA试剂盒(Elabscience公司);BCA试剂盒、RIPA裂解液(Beyotime公司);小鼠抗大鼠anti-mTOR、anti-HIF-1α、anti-VEGF、anti-GAPDH一抗(Santa Cruz公司)。

主要仪器:S4型裂隙灯显微镜(上海玉研科学仪器公司);Olympus CX23光学显微镜(上海普赫光电科技公司);Multiskan™ FC酶标仪(赛默飞世尔科技公司);GenoSens 1860凝胶成像分析系统(上海臻诺生物公司)。

1.3 实验分组

将大鼠随机分为Ctrl组、模型组、低剂量HNK(L-HNK)组、中剂量HNK(M-HNK)组、高剂量HNK(H-HNK)组和mTOR激活剂+H-HNK组,Ctrl组、模型组、H-HNK组、mTOR激活剂+H-HNK组各32只,L-HNK、M-HNK组各24只。

1.4 AFK模型制备及干预

参照文献[9]制备AFK模型:2%戊巴比妥钠麻醉大鼠,双眼滴注1%盐酸丁卡因,用直径4 mm环钻刮除左眼中央角膜上皮,予以直径6 mm软性角膜接触镜覆盖,将1×10^8 CFU/mL AF悬浊液注入镜片与角膜层之间,用氧氟沙星眼膏涂抹结膜囊,并缝合上下眼睑。9 h后移除软性角膜接触镜,完成AFK模型制备。右眼不做任何处理。

完成模型制备1 h后,根据分组进行给药干预。

L-HNK组、M-HNK组、H-HNK组大鼠分别于左眼滴注2、4、8 μg/mL HNK[5]，每次5 μL，每天1次，持续5 d；mTOR激活剂+H-HNK组大鼠于左眼滴注5 μL的8 μg/mL HNK，于腹腔注射10 mg/kg MHY1485，每天1次，持续5 d。Ctrl组、模型组大鼠滴注5 μL DMSO溶剂。

1.5 裂隙灯显微镜下观察、评估角膜组织损伤程度

于末次给药2 h后，参照文献[10]，于裂隙灯显微镜下观察、评估角膜组织损伤程度，包含溃疡面积、浑浊程度、溃疡形态3项指标。溃疡面积：1%~25%计1分；>25%~50%计2分；>50%~75%计3分；>75%~100%计4分。浑浊程度：虹膜纹理尚清，可见瞳孔，轻度浑浊，计1分；可见虹膜，较浑浊，计2分；不见虹膜，不均匀浑浊，计3分；均匀重度浑浊，计4分。溃疡形态：轻度不规则，计1分；轻度水肿不规则，计2分；重度水肿，后弹力层膨出或龛样溃疡，计3分；穿孔，计4分。3项指标评分相加即为总评分(3~12分)，评分越高，角膜组织损伤越严重。

评估结束后处死大鼠，摘取角膜组织，分别随机选取8只角膜用于后续检测。

1.6 平板菌落计数法评估角膜组织中AF含量

将角膜组织置于1 mL PBS中用研磨棒磨碎，而后均匀涂布于Sabouroud琼脂培养基上，37 ℃恒温孵育48 h后，计数培养基上的菌落数。

1.7 HE染色观察角膜组织病理学变化

4%多聚甲醛固定角膜组织24 h，脱水、浸蜡后，制作4 μm切片，脱蜡至水后进行苏木素-伊红染色，封片后用显微镜观察、拍照。

1.8 ELISA测定角膜组织炎症因子水平

将角膜组织用PBS匀浆，离心，取上清液，按照说明书操作用ELISA试剂盒测定IL-1β、IL-6、TNF-α含量。

1.9 Western blot测定角膜组织mTOR、HIF-1α、VEGF蛋白表达

用RIPA裂解液从角膜组织中提取总蛋白，BCA法定量后变性，通过凝胶电泳分离蛋白，转膜、封闭后，加入兔抗大鼠anti-mTOR、anti-HIF-1α、anti-VEGF、anti-GAPDH一抗于4 ℃过夜孵育，加入山羊抗兔二抗室温孵育1 h，ECL发光液显示蛋白印迹，用Image J软件进行定量分析。

1.10 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行统计学分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，组间比较行单因素方差分析，进一步两两比较行*SNK-q*检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠角膜组织损伤程度

与Ctrl组比较，模型组大鼠表现为弥漫性角膜水肿、溃疡和炎症，经不同剂量HNK干预后，溃疡趋于愈合，病灶区域缩小，炎症减轻，见图1。与Ctrl组比较，模型组大鼠角膜组织损伤评分显著增加($P<0.05$)；与模型组比较，L-HNK组、M-HNK组、H-HNK组大鼠角膜组织损伤评分减少($P<0.05$)，且为剂量效应关系；与H-HNK组比较，mTOR激活剂+H-HNK组大鼠角膜组织损伤评分增加($P<0.05$)，见图2。

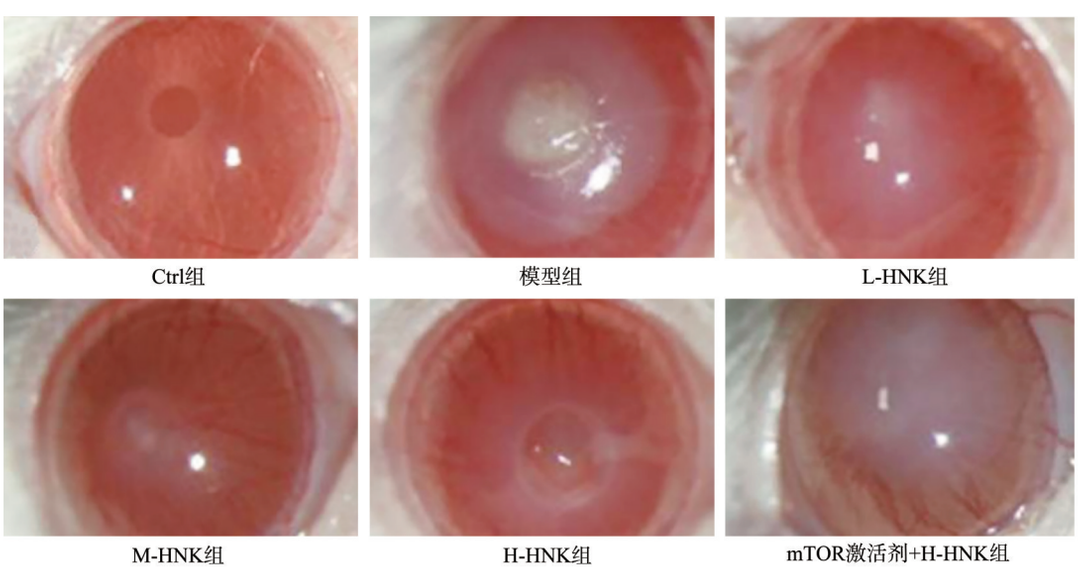
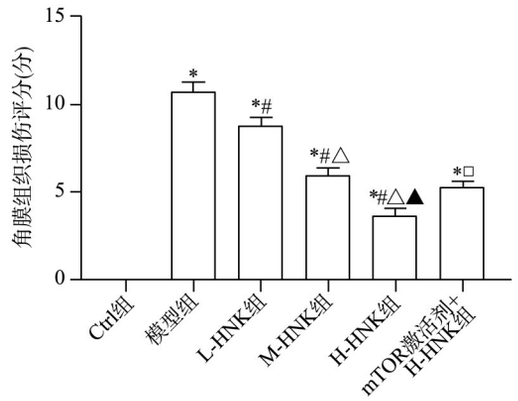


图1 各组角膜组织外观



*：与 Ctrl 组比较，$P<0.05$；#：与模型组比较，$P<0.05$；△：与 L-HNK 组比较，$P<0.05$；▲：与 M-HNK 组比较，$P<0.05$；□：与 H-HNK 组比较，$P<0.05$

图2 各组角膜组织损伤评分

2.2 各组角膜组织菌落数

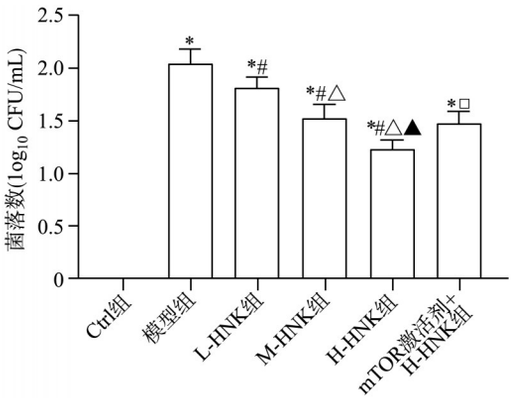
与 Ctrl 组比较，模型组大鼠角膜组织菌落数显著增加（$P<0.05$）；与模型组比较，L-HNK 组、M-HNK 组、H-HNK 组大鼠角膜组织菌落数减少（$P<0.05$），且为剂量效应关系；与 H-HNK 组比较，mTOR 激活剂+H-HNK 组大鼠角膜组织菌落数增加（$P<0.05$），见图3。

2.3 各组角膜组织病理学变化

Ctrl 组角膜上皮完整，无炎性细胞浸润；模型组角膜胶原纤维排列紊乱、肿胀，大量炎性细胞浸润，坏死组织脱落；与模型组比较，L-HNK 组、M-HNK 组、H-HNK 组上述变化均减轻，且 H-HNK 组减轻最为明显；与 H-HNK 组比较，mTOR 激活剂+H-HNK 组上述变化有所加重，见图4。

2.4 各组角膜组织中炎症因子水平

与 Ctrl 组比较，模型组大鼠角膜组织中 IL-1β、TNF-α、IL-6 表达增加（$P<0.05$）；与模型组比较，L-HNK 组、M-HNK 组、H-HNK 组大鼠角膜组织中 IL-1β、TNF-α、IL-6 表达减少（$P<0.05$），且为剂量效应关系；与 H-HNK 组比较，mTOR 激活剂+H-HNK 组大鼠角膜组织中 IL-1β、TNF-α、IL-6 表达增加（$P<0.05$），见图5。



*：与 Ctrl 组比较，$P<0.05$；#：与模型组比较，$P<0.05$；△：与 L-HNK 组比较，$P<0.05$；▲：与 M-HNK 组比较，$P<0.05$；□：与 H-HNK 组比较，$P<0.05$

图3 各组角膜组织菌落数

2.5 各组角膜组织中 mTOR/HIF-1α/VEGF 信号通路相关蛋白表达水平

与 Ctrl 组比较，模型组大鼠角膜组织中 mTOR、HIF-1α、VEGF 蛋白表达增加（$P<0.05$）；与模型组比较，H-HNK 组大鼠角膜组织中 mTOR、HIF-1α、VEGF 蛋白表达减少（$P<0.05$）；与 H-HNK 组比较，mTOR 激活剂+H-HNK 组角膜组织中 mTOR、HIF-1α、VEGF 蛋白表达增加（$P<0.05$），见图6。

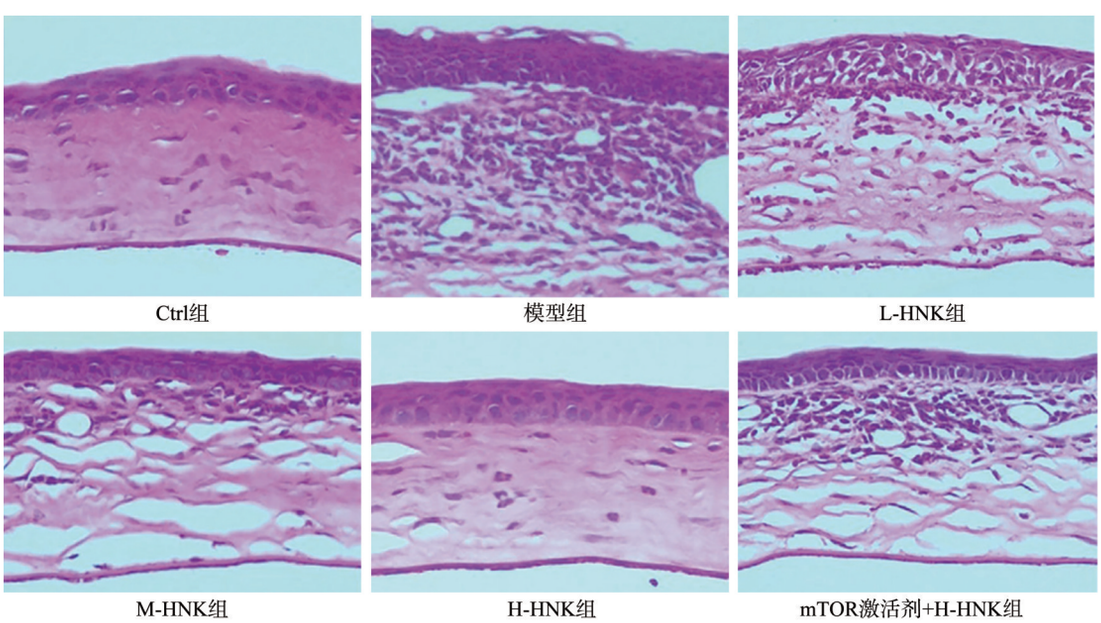
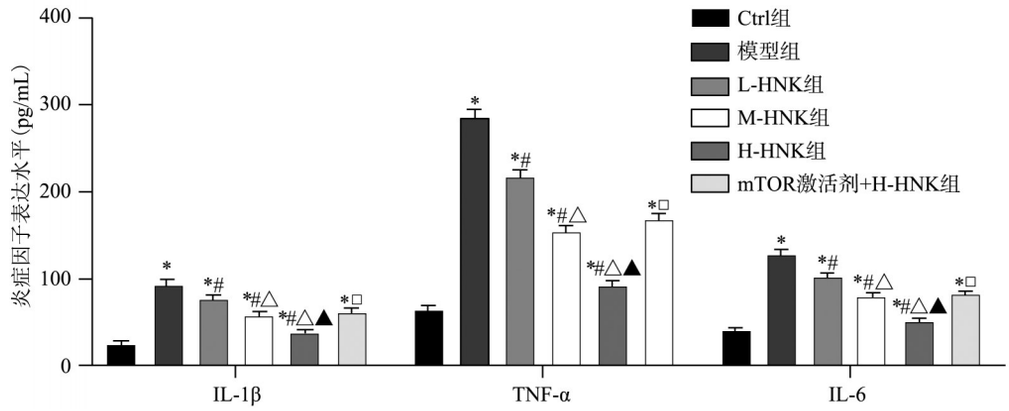
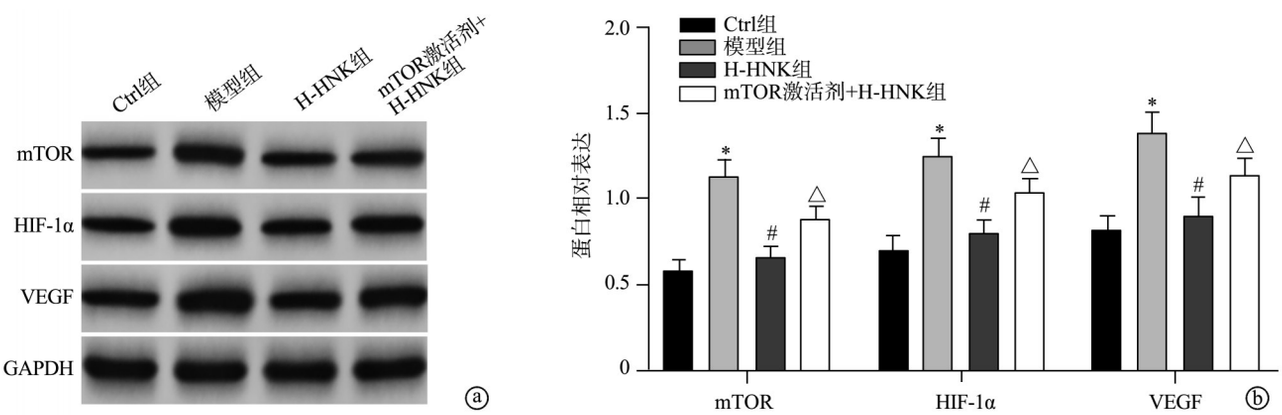


图4 各组角膜组织病理学变化（×200）



*:与Ctrl组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$;△:与L-HNK组比较,$P<0.05$;▲:与M-HNK组比较,$P<0.05$;□:与H-HNK组比较,$P<0.05$

图5 各组角膜组织中炎症因子水平



a:Western blot条带图;b:蛋白定量统计 *:与Ctrl组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$;△:与H-HNK组比较,$P<0.05$

图6 各组角膜组织中mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路相关蛋白表达水平

3 讨论

FK与多种风险因素相关,如长期佩戴隐形眼镜、农业相关性眼外伤、抗生素或激素的不合理使用等,真菌毒力作用和炎症反应为FK的两个关键致病机制,若未得到及时有效控制,可发展为角膜穿孔、眼内炎,甚至致盲,威胁患者身心健康[1]。当前主要采用广谱抗真菌药、免疫抑制药治疗FK,但存在疗效不理想且毒副作用大的局限性[11]。因此,探索疗效更佳、安全无毒的新药意义重大。

HNK是传统中药厚朴的主要活性成分之一,为一种小分子双酚类化合物,可以有效抑制炎症、抗肿瘤、抗血管新生、保护神经[12]。越来越多的研究表明,HNK亦具有明显的抑菌作用[12-13]。此外,Zhan等[5]报道,HNK能够在AFK中发挥抗真菌、抗炎作用,能够抑制AF活性,减少炎性细胞浸润,降低促炎因子表达,具有治疗AFK的潜在价值,但其具体作用机制尚未可知。本研究结果显示,与Ctrl组比较,模型组大鼠角膜组织损伤评分、菌落数及IL-1β、TNF-α、IL-6表达增加,角膜胶原纤维排列紊乱、肿胀,大量炎性细胞浸润,经L-HNK、M-HNK、H-HNK干预后角膜组织上述变化均减轻,且H-HNK减轻最为明显,提示HNK可减轻AFK大鼠炎症,改善角膜损伤,且高剂量作用更显著,故选取H-HNK探究其药理机制。

mTOR广泛表达于各种生物细胞中,能够通过整合生长因子、能量及营养等多种细胞外信号调控下游细胞因子的表达,从而参与炎症、组织损伤/修复、肿瘤进展等病理生理过程[14]。HIF-1α是机体在缺氧状态时的关键转录调节因子之一,可影响能量代谢、促进炎症进展、调节血管张力等,且多项研究证实HIF-1α是受mTOR调控的下游细胞因子[15-16]。VEGF是组织生长与修复所必需的因子,其表达水平可被HIF-1α诱导与调控[17-18]。Li等[19]报道,大黄素可通过下调mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路降低脂多糖导致的急性肺损伤大鼠肺部炎症反应。Zhong等[20]报道,激活mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路可促进慢性鼻窦炎伴鼻息肉的病情进展。本研究结果显示,与Ctrl组比较,模型组角膜组织中mTOR、HIF-1α、VEGF蛋白表达增加,表明

mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路参与大鼠AFK的发生发展;而经H-HNK干预后,上述蛋白表达减少;随后本研究在H-HNK干预的同时给予mTOR激活剂干预,结果发现,上述蛋白表达增加,同时大鼠角膜组织损伤评分、菌落数及IL-1β、TNF-α、IL-6表达增加,病理改变加重,即HNK对AFK大鼠的改善作用被削弱,证实抑制mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路为HNK的药理机制。

综上所述,HNK可能通过下调mTOR/HIF-1α/VEGF信号通路减轻AFK大鼠角膜组织损伤,这为未来开发HNK治疗AFK的新药提供了理论依据。

[参考文献]

[1] Manikandan P, Abdel-Hadi A, Randhir Babu Singh Y, et al. Fungal keratitis: epidemiology, rapid detection, and antifungal susceptibilities of fusarium and aspergillus isolates from corneal scrapings[J]. Biomed Res Int, 2019, 2019: 6395840. doi: 10.1155/2019/6395840.

[2] Li C, Wu M, Gu L, et al. α-MSH plays anti-inflammatory and anti-fungal role in aspergillus fumigatus keratitis[J]. Curr Eye Res, 2022, 47(3): 343-351. doi: 10.1080/02713683.2021.2006235.

[3] Tian X, Peng X, Lin J, et al. Isorhamnetin ameliorates aspergillus fumigatus keratitis by reducing fungal load, inhibiting pattern-recognition receptors and inflammatory cytokines[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2021, 62(3): 38-48. doi: 10.1167/iovs.62.3.38.

[4] Chen C, Zhang QW, Ye Y, et al. Honokiol: a naturally occurring lignan with pleiotropic bioactivities[J]. Chin J Nat Med, 2021, 19(7): 481-490. doi: 10.1016/S1875-5364(21)60047-X.

[5] Zhan L, Peng X, Lin J, et al. Honokiol reduces fungal load, Toll-like receptor-2, and inflammatory cytokines in aspergillus fumigatus keratitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2020, 61(4): 48-58. doi: 10.1167/iovs.61.4.48.

[6] ElHiani Y, Egom EE, Dong XP. mTOR signalling: jack-of-all-trades 1[J]. Biochem Cell Biol, 2019, 97(1): 58-67. doi: 10.1139/bcb-2018-0004.

[7] Al-Hashem F, Al-Humayed S, Amin SN, et al. Metformin inhibits mTOR-HIF-1α axis and profibrogenic and inflammatory biomarkers in thioacetamide-induced hepatic tissue alterations[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 9328-9337. doi: 10.1002/jcp.27616.

[8] Xu H, Abuduwufuer A, Lv W, et al. The role of HIF-1α-VEGF pathway in bronchiolitis obliterans after lung transplantation[J]. J Cardiothorac Surg, 2019, 14(1): 27-34. doi: 10.1186/s13019-019-0832-z.

[9] 张淑荣,张琦颖. 木犀草素通过TLR4/MyD88信号通路对大鼠烟曲霉菌性角膜炎的调控作用[J]. 吉林大学学报(医学版),2021,47(2):315-322. doi:10.13481/j.1671-587x.20210209.

[10] Zhu X, Peng X, Lin J, et al. Lipoxin A4 activates ALX/FPR2 to attenuate inflammation in Aspergillus fumigatus keratitis[J]. Int Immunopharmacol, 2021, 96: 107785. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107785.

[11] Zhu Y, Peng X, Zhang Y, et al. Baicalein protects against aspergillus fumigatus keratitis by reducing fungal load and inhibiting TSLP-induced inflammatory response[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2021, 62(6): 26-38. doi: 10.1167/iovs.62.6.26.

[12] Rauf A, Olatunde A, Imran M, et al. Honokiol: a review of its pharmacological potential and therapeutic insights[J]. Phytomedicine, 2021, 90: 153647. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153647.

[13] Sun L, Liao K, Hang C, et al. Honokiol induces reactive oxygen species-mediated apoptosis in Candida albicans through mitochondrial dysfunction[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172228. doi: 10.1371/journal.pone.0172228.

[14] Chen Y, Zhou X. Research progress of mTOR inhibitors[J]. Eur J Med Chem, 2020, 208: 112820. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112820.

[15] Li Y, Xiao X, Wang H, et al. Integrating network pharmacology and experimental models to investigate the mechanisms of dihydroartemisinin in preventing NSCLC progression via mTOR/HIF-1α signaling[J]. Eur J Pharmacol, 2021, 909: 174411. doi: 10.1016/j.ejphar.2021.174411.

[16] Sun P, Wang Y, Ding Y, et al. Canagliflozin attenuates lipotoxicity in cardiomyocytes and protects diabetic mouse hearts by inhibiting the mTOR/HIF-1α pathway[J]. iScience, 2021, 24(6): 102521. doi: 10.1016/j.isci.2021.102521.

[17] Cui K, Liu J, Huang L, et al. Andrographolide attenuates choroidal neovascularization by inhibiting the HIF-1α/VEGF signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 530(1): 60-66. doi: 10.1016/j.bbrc.2020.06.130.

[18] Liu ZZ, Tian YF, Wu H, et al. LncRNA H19 promotes glioma angiogenesis through miR-138/HIF-1α/VEGF axis[J]. Neoplasma, 2020, 67(1): 111-118. doi: 10.4149/neo_2019_190121N61.

[19] Li X, Shan C, Wu Z, et al. Emodin alleviated pulmonary inflammation in rats with LPS-induced acute lung injury through inhibiting the mTOR/HIF-1α/VEGF signaling pathway[J]. Inflamm Res, 2020, 69(4): 365-373. doi: 10.1007/s00011-020-01331-3.

[20] Zhong B, Du J, Liu F, et al. Activation of the mTOR/HIF-1α/VEGF axis promotes M1 macrophage polarization in non-eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps[J]. Allergy, 2022, 77(2): 643-646. doi: 10.1111/all.15050.

(编辑:杨 颖)