doi:10.11659/jjssx.02E025007

·基础研究·

甘氨酰-tRNA合成酶肌内注射改善小鼠失神经肌萎缩的机制研究

王 猛[1],李旭灿[2],王 宇[2],余佳燕[2],杨利霞[2],吴政啸[2] (1.遵义医科大学人体解剖学教研室,贵州 遵义 563000;2.遵义医科大学2022级第一临床学院,贵州 遵义 563000)

[摘 要] **目的** 探讨甘氨酰-tRNA合成酶(GlyRS)肌内注射改善小鼠失神经肌萎缩的作用机制。**方法** 构建GlyRS过表达腺病毒载体,进行PCR鉴定和测序。将54只雄性SPF级昆明小鼠随机分为对照(C)组(暴露坐骨神经,但不离断损伤)、坐骨神经离断损伤(SNI)组(构建SNI致胫骨前肌萎缩模型)、SNI+NC组(建模后转染空病毒载体)、SNI+GlyRS组(建模后转染GlyRS过表达腺病毒载体),每组12只,其余6只小鼠胫骨前肌作冰冻切片。荧光显微镜检测GlyRS过表达腺病毒载体转染昆明小鼠胫骨前肌的效果;测量各组小鼠胫骨前肌肌重和肌纤维横截面积。qRT-PCR和Western blot检测各组小鼠胫骨前肌的GlyRS、mTOR的mRNA和蛋白表达水平。**结果** GlyRS过表达腺病毒载体经PCR鉴定和测序正确,并成功转染小鼠患侧胫骨前肌。与C组相比,SNI组小鼠胫骨前肌肌重和肌纤维横截面积明显减少($P<0.01$),GlyRS和mTOR的mRNA和蛋白表达水平升高($P<0.01$);与SNI组相比,SNI+NC组小鼠胫骨前肌肌重和肌纤维横截面积无显著变化($P>0.05$),GlyRS和mTOR的mRNA和蛋白表达水平升高($P<0.01$),SNI+GlyRS组小鼠胫骨前肌肌重和肌纤维横截面积明显增加($P<0.01$),GlyRS和mTOR的mRNA和蛋白表达水平明显升高($P<0.01$);与SNI+NC组相比,SNI+GlyRS组小鼠胫骨前肌肌重和肌纤维横截面积明显增加($P<0.01$),GlyRS和mTOR的mRNA和蛋白表达水平明显升高($P<0.01$)。**结论** GlyRS肌内注射可能通过促进mTOR的合成改善小鼠坐骨神经离断损伤所致的胫骨前肌萎缩。

[关键词] 骨骼肌萎缩;甘氨酰-tRNA合成酶;哺乳动物雷帕霉素靶蛋白;神经损伤

[中图分类号] R322 [文献标志码] A [收稿日期] 2025-02-05

Mechanism of intramuscular injection of glycyl-tRNA synthetase in improving denervated muscular atrophy in mice

WANG Meng[1], LI Xu-can[2], WANG Yu[2], YU Jia-yan[2], YANG Li-xia[2], WU Zheng-xiao[2] (1. Department of Human Anatomy, Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou 563000, China; 2. Grade 2022, the First Clinical Institute, Zunyi Medical University, Zunyi Guizhou 563000, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of intramuscular injection of glycyl tRNA synthetase (GlyRS) in improving denervated muscular atrophy in mice. **Methods** GlyRS overexpression adenovirus vector was constructed for PCR identification and sequencing. A total of 54 male SPF Kunming mice were randomly divided into control (C) group (the sciatic nerve was exposed, but not transection injury), sciatic nerve transection injury (SNI) group (constructing a model of tibialis anterior muscle atrophy induced by SNI), SNI+NC group (transfected an empty viral vector after modeling), and SNI+GlyRS group (transfected with GlyRS overexpression adenoviral vector after modeling), with 12 mice in each group; and the tibialis anterior muscle of the remaining 6 mice were used to make frozen sections. Fluorescence microscope was used to detect the transfection effect of GlyRS overexpression adenovirus vector on tibialis anterior muscle of Kunming mice. Tibialis anterior muscle weight and muscle fiber cross-sectional area of mice in each group were measured. qRT-PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression levels of GlyRS and mTOR in tibialis anterior muscle of mice in each group. **Results** The GlyRS overexpression adenoviral vector was identified and sequenced correctly by PCR, and successfully transfected into the affected tibialis anterior muscle of mice. Compared with group C, the tibialis anterior muscle weight and muscle fiber cross-sectional area of mice in SNI group were significantly decreased ($P<0.01$), and the mRNA and protein expression levels of GlyRS and mTOR were increased ($P<0.01$). Compared with SNI group, the tibialis anterior muscle weight and muscle fiber cross-sectional area of mice in SNI+NC group had no significant changes ($P>0.05$), and the mRNA and protein expression levels of GlyRS and mTOR were increased ($P<0.01$); the tibialis anterior muscle weight and muscle fiber cross-sectional area of mice in the SNI+GlyRS group were significantly increased ($P<0.01$), and the mRNA and protein expression levels of GlyRS and mTOR were significantly increased ($P<0.01$). Compared with SNI+NC group, the tibialis anterior muscle weight and muscle fiber cross-sectional area of mice in SNI+GlyRS group were

[基金项目] 贵州省科技计划项目(黔科合基础-ZK[2022]一般608);贵州省卫生健康委员会科学技术基金项目(gzwkj2021-505)

[通信作者] 王 猛,E-mail:932051454@qq.com

significantly increased (P<0.01), and the mRNA and protein expression levels of GlyRS and mTOR were significantly increased (P<0.01). **Conclusion** Intramuscular injection of GlyRS may improve tibialis anterior muscle atrophy induced by sciatic nerve transection injury in mice by promoting the synthesis of mTOR.

Keywords: skeletal muscle atrophy; glycyl-tRNA synthetase; mammalian target of rapamycin; nerve injury

骨骼肌在运动、姿态维持与力量产生过程中发挥着至关重要的作用,而在多种病理或生理条件下,如骨骼肌废用、恶病质、衰老等,其蛋白质合成与降解之间的平衡易被打破,进而引发骨骼肌萎缩[1]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路与蛋白质合成密切相关,该通路功能下调,被认为是骨骼肌萎缩的主要参与者[2-3]。

甘氨酰-tRNA合成酶(glycyl-tRNA synthetase, GlyRS)可在细胞质与线粒体中催化甘氨酸与同源转移RNA的连接及氨酰化反应,是蛋白质翻译合成过程中不可或缺的关键催化酶[4]。当GlyRS基因发生突变时,会导致神经元轴突末端的局部蛋白质合成出现缺陷,进而引发腓骨肌萎缩症2D型[5-6]。研究发现,GlyRS可介导氨基酸诱导的mTOR通路激活,促进牛乳腺上皮细胞乳蛋白和脂肪合成[7]。大鼠坐骨神经损伤后,GlyRS表达下调,腓骨长肌萎缩;针刺腧穴可上调GlyRS表达并改善肌萎缩,提示肌萎缩改善可能与GlyRS表达上调有关[8]。然而GlyRS改善肌萎缩的作用机制目前尚不清楚。因此,本研究拟使昆明小鼠坐骨神经离断损伤(sciatic nerve transection injury, SNI),建立失神经支配致胫骨前肌萎缩模型,将GlyRS过表达腺病毒载体注射于胫骨前肌,探讨GlyRS改善小鼠胫骨前肌萎缩的作用,从蛋白质合成途径解析骨骼肌萎缩的机制,以期为临床骨骼肌萎缩的防治提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

PrimeScript™ RT reagent Kit、TB Green® Premix Ex Taq™ Ⅱ、RNAiso Plus、DH5a感受态细胞(日本Takara公司);pBHG lox ΔE1,3 Cre质粒(加拿大Microbix公司);HEK293细胞(美国ATCC);GlyRS抗体(英国Abcam公司);mTOR抗体(美国CST公司);GAPDH抗体、二抗、ECL发光剂(美国Proteintech公司);蛋白裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);10% PAGE凝胶快速制备试剂盒(上海雅酶生物);PMT587质粒、阳性克隆测序及引物合成由生工生物工程(上海)股份有限公司提供并进行。

1.2 实验动物及分组处理

6周龄雄性SPF级昆明小鼠54只,体质量(39.75±0.44)g,来自遵义医科大学实验动物中心[使用许可证号:SYXK(黔)2021-0004)]。小鼠单笼喂养,标准进食,自由饮水,适应性喂养3 d后,随机分为对照(Control, C)组(暴露坐骨神经,但不离断损伤,然后逐层缝合)、SNI组(构建SNI致胫骨前肌萎缩模型)、SNI+NC组(建模后转染空病毒载体溶液10 μL,病毒量为2.7×10^7 ifu)、SNI+GlyRS组(建模后转染GlyRS过表达腺病毒载体溶液10 μL,病毒量为2.7×10^7 ifu),每组12只;剩余6只小鼠SNI后,转染空病毒载体溶液10 μL,病毒量为2.7×10^7 ifu,用于制作冰冻切片验证转染效果。转染方法:1%戊巴比妥钠溶液按剂量50 mg/kg腹腔注射麻醉小鼠,离断坐骨神经,同时于右后肢小腿前外侧常规备皮、消毒,切口,显露胫骨前肌,统一采用微量注射器的注射针头于胫骨前肌止点沿肌肉走行方向穿刺到起点处,边退针边改变针尖方向注射,尽可能使溶液均匀分布于肌肉组织中,注射完毕,生理盐水清洗、消毒并逐层缝合伤口,术毕抗感染。各组小鼠在转染10 d后采用颈椎脱臼法处死;另外6只小鼠转染3 d后处死,快速完整取下右后肢胫骨前肌,立即制作冰冻切片,于荧光显微镜下观察GFP绿色荧光信号,分析转染效果。本研究经遵义医科大学实验动物福利伦理委员会批准(批准号:ZMU21-2107-006),严格按照中国动物福利法的规定和外科无菌手术原则执行。

1.3 GlyRS过表达腺病毒载体的构建、鉴定及包装

根据NCBI基因库中小鼠GlyRS和用于蛋白追踪的多肽标签序列3FLAG+P2A+EGFP的基因序列分别设计相应的引物,PCR扩增,凝胶电泳,将目的片段与经双酶切的PMT587质粒进行重组,得到重组质粒PSE5855,将该产物转染到DH5a感受态细胞并培养,提取阳性克隆菌落进行PCR鉴定和测序,扩增抽提重组质粒PSE5855后,将PSE5855与pBHG lox ΔE1,3 Cre质粒共转染于HEK293细胞进行病毒包装。GlyRS、3FLAG+P2A+EGFP和阳性克隆的引物序列见表1。

1.4 小鼠SNI方法

麻醉状态下,小鼠右后肢股部区域备皮、消毒、铺

表1 小鼠GlyRS、3FLAG+P2A+EGFP和阳性克隆引物

基因		引物序列	产物长度(bp)
GlyRS	正向	5′-AGCTCAAGCTTCGAATTCGCCACCATGCCCTGTCTGCTCCCCTC-3′	2 211
	反向	5′-TTCCTCTACTGTCTCCTTCTTGC-3′	
3FLAG+P2A+EGFP	正向	5′-AAGGAGACAGTAGAGGAAGACTACAAGGATGA-3′	914
	反向	5′-CCTACCCGGTAGAATTAGTCGACTCACTTGTACAGCTCGTCCATG-3′	
阳性克隆	正向	5′-CCAGCTTGATAACTATGGACAAC-3′	1 706
	反向	5′-CGTCGCCGTCCAGCTCGACCAG-3′	

巾,作纵行切口,在坐骨切迹处钝性分离小鼠股二头肌,暴露并离断坐骨神经,近端折回用9-0显微缝合线结扎,术毕常规消毒,逐层缝合伤口,抗感染。

1.5 称量肌重

4组小鼠处死后,完整取下胫骨前肌,称重并记录,-80 ℃保存待用。

1.6 HE染色后测量肌纤维横截面积

取胫骨前肌横向切成大小约5 mm×5 mm×2 mm的组织块,4%多聚甲醛固定过夜,石蜡包埋,切片。HE染色后光镜下观察,每个样品观察6张切片,每张随机取5个视野,应用Cellsens standard 1.11图像分析软件测量胫骨前肌肌纤维横截面积。

1.7 qRT-PCR

取适量胫骨前肌组织于液氮中研磨,用RNAiso Plus提取总RNA,测定总RNA浓度,逆转录合成cDNA,以cDNA为模版,建立20 μL qRT-PCR反应体系。以GAPDH为内参,采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$计算相对表达量。GlyRS、mTOR、GAPDH引物序列见表2。

表2 小鼠GlyRS、mTOR和GAPDH引物序列

基因		引物序列
GlyRS	正向	5′-GGAGGCAGCACTTTATCCAAG-3′
	反向	5′-TCGGAAGCACTCTCCGTTCT-3′
mTOR	正向	5′-GGCACACATTTGAAGAAGCAG-3′
	反向	5′-CTCGTTGAGGATCAGCAAGG-3′
GAPDH	正向	5′-GGTGAAGGTCGGTGTGAACG-3′
	反向	5′-CTCGCTCCTGGAAGATGGTG-3′

1.8 Western blot

取适量组织,于液氮中研磨,加入蛋白裂解液充分裂解,4 ℃下12 000 r/min离心10 min,吸取上清,BCA法测定蛋白浓度。以GAPDH为内参,进行SDS-PAGE电泳分离,湿转法转移至PVDF膜,用封闭液室温封闭2 h,加入一抗GlyRS、mTOR和GAPDH于4 ℃共孵育过夜,TBST溶液洗涤3次,每次10 min,加入二抗于37 ℃摇床孵育2 h,TBST溶液洗涤5次,每次7 min,ECL发光法显影,置于ChemiDoc全能型凝胶成像仪曝光,用BandScan分析各条带灰度值。

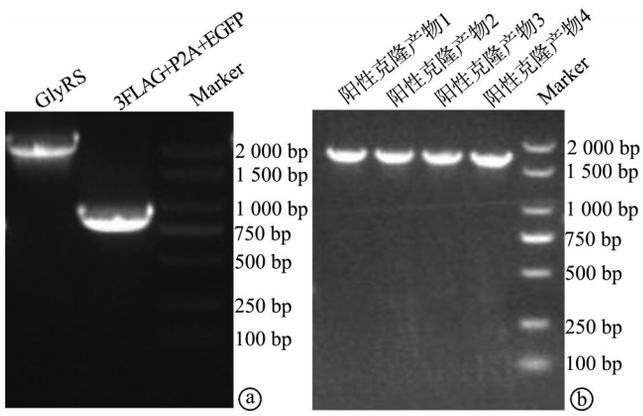
1.9 统计学分析

采用SPSS 29.0统计学软件进行分析,数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。组间比较采用单因素方差分析,检验水准α=0.05,P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GlyRS过表达腺病毒载体构建及鉴定

GlyRS和3FLAG+P2A+EGFP的PCR产物经凝胶电泳鉴定,结果显示明显的特异性目的条带,见图1a;阳性克隆菌落PCR产物经凝胶电泳和测序鉴定,结果与目的基因一致,见图1b、图2;转染HEK293细胞后,细胞表达清晰绿色荧光,说明转染成功,见图3。



a:GlyRS和3FLAG+P2A+EGFP产物电泳条带;b:阳性克隆产物电泳条带

图1 PCR扩增产物电泳

2.2 GlyRS过表达腺病毒载体肌内注射转染胫骨前肌

注射转染3 d后,立即取胫骨前肌作纵向冰冻切片,荧光显微镜下观察到清晰绿色荧光,说明GlyRS过表达腺病毒载体成功转染小鼠胫骨前肌,见图4。

2.3 各组小鼠胫骨前肌肌重

与C组相比,SNI组小鼠胫骨前肌肌重明显减少(P<0.01);与SNI组相比,SNI+NC组小鼠胫骨前肌肌重无显著变化(P>0.05),SNI+GlyRS组小鼠胫骨前肌肌重明显增加(P<0.01);与SNI+NC组相比,SNI+GlyRS组小鼠胫骨前肌肌重明显增加(P<0.01),见图5。

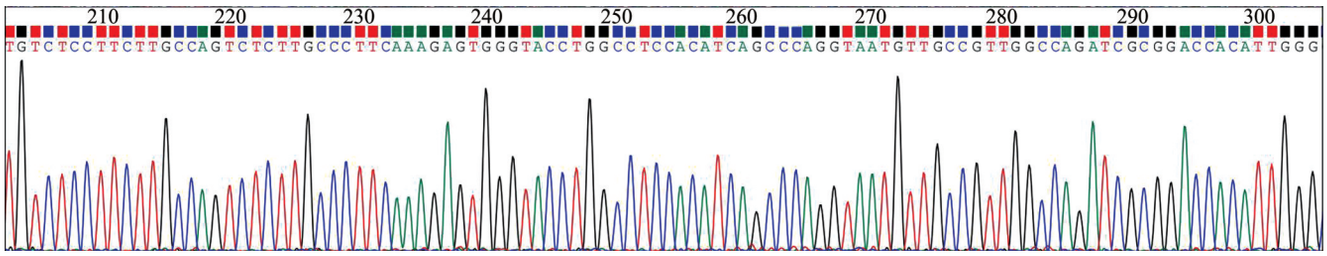


图2 阳性克隆菌落PCR扩增产物测序

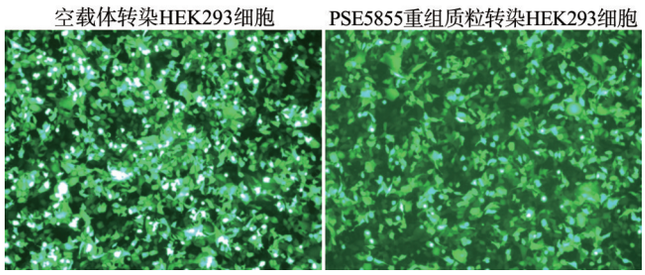


图3 转染的HEK293细胞(×100)

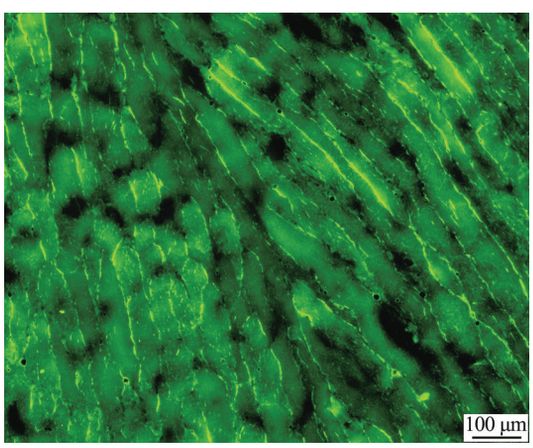
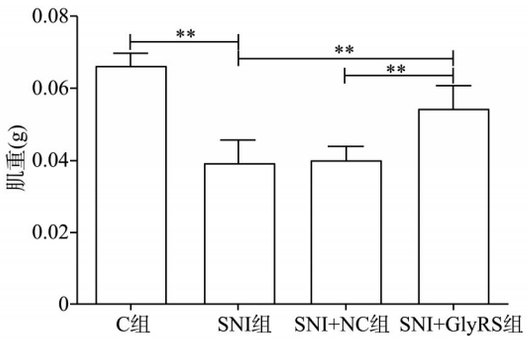


图4 GlyRS过表达腺病毒载体转染胫骨前肌

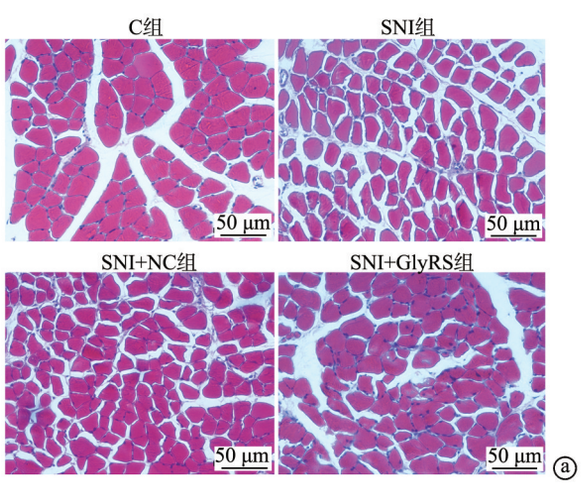


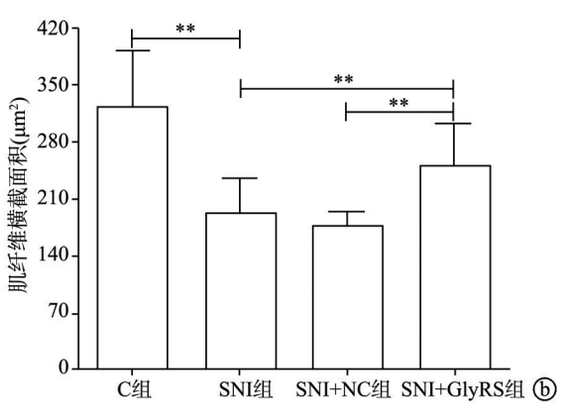
**:P<0.01

图5 各组小鼠胫骨前肌肌重比较

2.4 各组小鼠胫骨前肌HE染色和肌纤维横截面积

光镜下可见C组胫骨前肌肌纤维横断面呈网格式分布,细胞质红色,细胞核蓝色。与C组相比,SNI组小鼠肌纤维横截面积明显减小(P<0.01);与SNI组相比,SNI+NC组小鼠肌纤维横截面积无显著变化(P>0.05),SNI+GlyRS组小鼠肌纤维横截面积明显增加(P<0.01);与SNI+NC组相比,SNI+GlyRS组小鼠肌纤维横截面积明显增加(P<0.01),见图6。



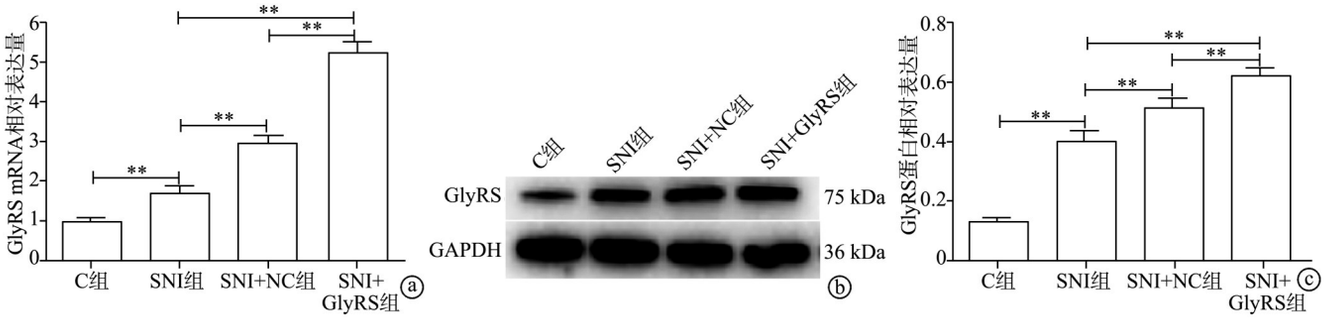


a:HE染色;b:肌纤维横截面积 **:P<0.01

图6 各组小鼠胫骨前肌肌纤维横截面积比较

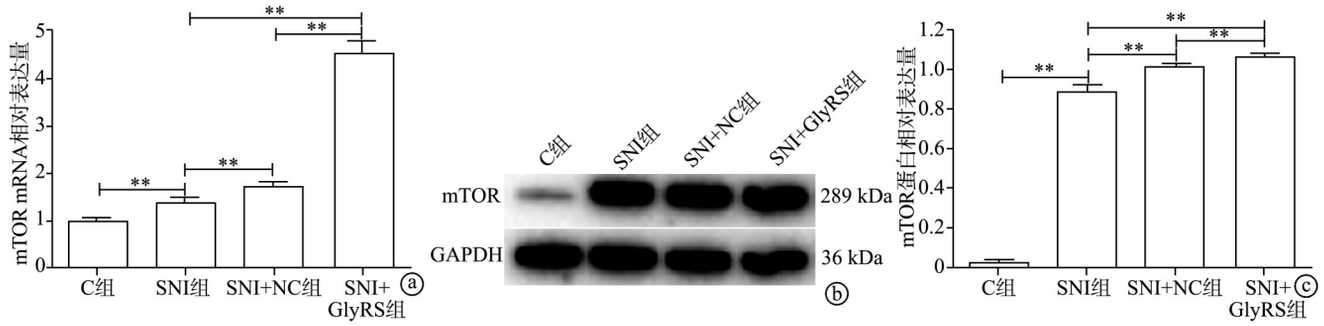
2.5 各组小鼠胫骨前肌GlyRS及mTOR表达

与C组相比,SNI组小鼠胫骨前肌GlyRS、mTOR的mRNA和蛋白表达水平均升高(P<0.01);与SNI组相比,SNI+NC组和SNI+GlyRS组小鼠胫骨前肌GlyRS、mTOR的mRNA和蛋白表达水平均升高(P<0.01);与SNI+NC组相比,SNI+GlyRS组小鼠胫骨前肌GlyRS、mTOR的mRNA和蛋白表达水平均升高(P<0.01),见图7、8。



a:mRNA相对表达量;b:蛋白条带图;c:蛋白相对表达量 **:$P<0.01$

图7 各组小鼠胫骨前肌GlyRS的表达比较



a: mRNA相对表达量;b:蛋白条带图;c:蛋白相对表达量 **:$P<0.01$

图8 各组小鼠胫骨前肌mTOR的表达比较

3 讨论

GlyRS是生物体内普遍存在的蛋白质,具有重要的生理功能,可参与生物体的内部核糖体进入位点的翻译起始调节[9]、影响mRNA 3′末端的形成[10]、催化四磷酸二腺苷的合成[11]等。有研究发现,蛋氨酸等会触发牛乳腺上皮细胞GlyRS的磷酸化和细胞核定位,增强牛乳腺上皮细胞mTOR的mRNA表达[12],而mTOR与蛋白质合成和分解代谢平衡密切相关[13-14]。mTOR还可调控自噬、核糖体生物发生和细胞增殖等生物过程[15],并在调控T细胞免疫应答中有重要作用[16]。

本研究构建了SNI致胫骨前肌萎缩模型,并将GlyRS过表达腺病毒载体成功转染小鼠胫骨前肌,结果显示,离断小鼠右后肢坐骨神经后,GlyRS及mTOR的mRNA和蛋白表达水平有所升高,但小鼠胫骨前肌肌重和肌纤维横截面积减少,说明小鼠坐骨神经离断损伤可导致胫骨前肌萎缩;而注射GlyRS过表达腺病毒载体后,胫骨前肌GlyRS及mTOR的mRNA和蛋白表达水平显著升高,肌重和肌纤维横截面积明显增加,这些结果表明肌内注射GlyRS过表达腺病毒载体可使GlyRS表达水平大幅度升高,进而通过促进mTOR的表达而使蛋白质合成增加,改善小鼠的胫骨前肌萎缩。但GlyRS是如何作用于PI3K/Akt/mTOR通路来调控mTOR的表达?GlyRS是直接作用于胫骨前肌还是作用于仍分布在胫骨前肌内的神经末梢而改善肌萎缩,或者是两者都有?目前尚不清楚,仍需进一步研究。有趣的是,本研究中,坐骨神经离断后,胫骨前肌肌内GlyRS及mTOR的mRNA和蛋白表达水平有所升高,提示可能与小鼠胫骨前肌启动了自我修复有关。吴梦佳等[17]观察到损伤大鼠坐骨神经致腓肠肌萎缩后,腓肠肌mTOR的表达及mTOR的磷酸化水平升高,可能与腓肠肌启动自我修复有关,本研究结果与之相似。有研究报道,小鼠肌内注射腺病毒载体后会在肌肉组织中诱导免疫反应,肌内注射腺病毒载体疫苗可诱导相应的体液免疫[18-19]。本研究中,与坐骨神经离断损伤后比较,小鼠胫骨前肌GlyRS及mTOR的表达水平升高,但胫骨前肌萎缩仍无明显改变,分析其原因可能还与胫骨前肌注射腺病毒载体后,诱导了小鼠机体产生免疫应答有关。

失神经支配后骨骼肌细胞会逐渐出现凋亡,使肌肉质量和肌纤维横截面积显著降低,导致肌萎缩[20]。敲低GlyRS可通过NF-κB/MAPK信号通路抑制角质形成细胞增殖并促进细胞凋亡[21]。体外肝癌细胞中降低GlyRS可抑制癌细胞增殖和细胞周期进展,促进细胞凋亡[22]。GlyRS作用于细胞外信号调节激酶活化的肿瘤细胞,诱导肿瘤细胞凋亡[23]。GlyRS与泛素样蛋白NEDD8、E1和E2等直接作用进行泛素化修饰,调节细胞周期进展[24]。这些研究结果表明,GlyRS还可能通

过多种通路参与对细胞增殖、凋亡及细胞周期的调控,这些调节可能在改善骨骼肌萎缩过程中也具有重要作用,但需进一步研究证实。

综上所述,GlyRS肌内注射可能通过促进mTOR的合成改善小鼠坐骨神经离断损伤所致的胫骨前肌萎缩。

[参考文献]

[1] Kubat GB, Bouhamida E, Ulger O, et al. Mitochondrial dysfunction and skeletal muscle atrophy: causes, mechanisms, and treatment strategies [J]. Mitochondrion, 2023, 72: 33-58. doi: 10.1016/j. mito. 2023. 07. 003.

[2] Yin L, Li N, Jia W, et al. Skeletal muscle atrophy: from mechanisms to treatments [J]. Pharmacol Res, 2021, 172: 105807. doi: 10.1016/j. phrs. 2021. 105807.

[3] Ito N, Ruegg UT, Takeda S. ATP-induced increase in intracellular calcium levels and subsequent activation of mTOR as regulators of skeletal muscle hypertrophy [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 2804. doi: 10.3390/ijms19092804.

[4] Oprescu SN, Chepa-Lotrea X, Takase R, et al. Compound heterozygosity for loss-of-function GARS variants results in a multisystem developmental syndrome that includes severe growth retardation [J]. Hum Mutat, 2017, 38: 1412-1420. doi:10.1002/humu.23287.

[5] Matthew CC, Michael R, Mark B, et al. Conformational sampling of CMT-2D associated GlyRS mutations [J]. Brain Multiphys, 2022, 3: 100054. doi:10.1016/j. brain. 2022. 100054.

[6] Niehues S, Bussmann J, Steffes G, et al. Impaired protein translation in Drosophila models for Charcot-Marie-Tooth neuropathy caused by mutant tRNA synthetases [J]. Nat Commun, 2015, 3(6): 7520. doi: 10.1038/ncomms8520.

[7] Luo C, Qi H, Huang X, et al. GlyRS is a new mediator of amino acid-induced milk synthesis in bovine mammary epithelial cells [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(3): 2973-2983. doi:10.1002/jcp.27115.

[8] Wang M, Zhang XM, Yang SB. Effect of electroacupuncture on the expression of Glycyl-tRNA synthetase and ultrastructure changes in atrophied rat peroneus longus muscle induced by sciatic nerve injection injury [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2016: 7536234. doi:10.1155/2016/7536234.

[9] Nikonova EY, Mihaylina AO, Nemchinova MS, et al. Glycyl-tRNA synthetase as a potential universal regulator of translation initiation at IRES-I [J]. Mol Biol (Mosk), 2018, 52(1): 10-18. doi:10.7868/S0026898418010020.

[10] Johanson K, Hoang T, Sheth M, et al. GRS1, a yeast tRNA synthetase with a role in mRNA 3′ end formation [J]. J Biol Chem, 2003, 278(38): 35923-35930. doi:10.1074/jbc.M304978200.

[11] Guo RT, Chong YE, Guo M, et al. Crystal structures and biochemical analyses suggest a unique mechanism and role for human glycyl-tRNA synthetase in Ap4A homeostasis [J]. J Biol Chem, 2009, 284(42): 28968-28976. doi:10.1074/jbc.M109.030692.

[12] Yu M, Luo C, Huang X, et al. Amino acids stimulate glycyl-tRNA synthetase nuclear localization for mammalian target of rapamycin expression in bovine mammary epithelial cells [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(5): 7608-7621. doi:10.1002/jcp.27523.

[13] Yoshida T, Delafontaine P. Mechanisms of IGF-1-mediated regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy [J]. Cells, 2020, 9(9): 1970. doi:10.3390/cells9091970.

[14] Grüner S, Peter D, Weber R, et al. The structures of eIF4E-eIF4G complexes reveal an extended interface to regulate translation initiation [J]. Mol Cell, 2016, 64(3): 467-479. doi:10.1016/j. molcel. 2016. 09. 020.

[15] Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(4): 183-203. doi: 10.1038/s41580-019-0199-y.

[16] Huang K, Fingar DC. Growing knowledge of the mTOR signaling network [J]. Semin Cell Dev Biol, 2014, 36: 79-90. doi: 10.1016/j. semcdb. 2014. 09. 011.

[17] 吴梦佳,唐成林,黄思琴,等. 电针对大鼠失神经腓肠肌中哺乳动物雷帕霉素靶蛋白/70KD核糖体蛋白S6激酶信号通路的影响 [J]. 中国康复理论与实践, 2018, 24(9): 1022-1026. doi:10.3969/j. issn. 1006-9771. 2018. 09. 006.

[18] Baden LR, Liu J, Li H, et al. Induction of HIV-1-specific mucosal immune responses following intramuscular recombinant adenovirus serotype 26 HIV-1 vaccination of humans [J]. J Infect Dis, 2014, 211(4): 518-528. doi:10.1093/infdis/jiu485.

[19] Bricker TL, Darling TL, Hassan AO, et al. A single intranasal or intramuscular immunization with chimpanzee adenovirus vectored SARS-CoV-2 vaccine protects against pneumonia in hamsters [J]. Cell Rep, 2021, 36(3): 109400. doi:10.1016/j. celrep. 2021. 109400.

[20] 刘洪文,朱国涛,陈锦成,等. 失神经骨骼肌萎缩的机制及防治研究进展 [J]. 中国临床研究, 2019, 32(8): 1116-1118. doi:10.13429/j. cnki. cjcr. 2019. 08. 029.

[21] Zheng YX, Chen XB, Xu F, et al. Glycyl-tRNA synthetase induces psoriasis-like skin by facilitating skin inflammation and vascular endothelial cell angiogenesis [J]. J Invest Dermatol, 2024, 144(4): 774-785. doi:10.1016/j. jid. 2023. 09. 270.

[22] Wang JH, Yang B, Wang DX, et al. GARS is implicated in poor survival and immune infiltration of hepatocellular carcinoma [J]. Cell Signal, 2022, 94: 110302. doi:10.1016/j. cellsig. 2022. 110302.

[23] Park MC, Kang T, Jin D, et al. Secreted human glycyl-tRNA synthetase implicated in defense against ERK-activated tumorigenesis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(11): E640-E647. doi: 10.1073/pnas.1200194109.

[24] Mo ZY, Zhang Q, Liu Z, et al. Neddylation requires glycyl-tRNA synthetase to protect activated E2 [J]. Nat Struct Mol Biol, 2016, 23: 730-737. doi:10.1038/nsmb.3250.

(编辑:贺绍梅)