

· 基础研究 ·

mTOR 蛋白对老龄大鼠肌腱干细胞修复能力影响[△]

谷成毅, 陈明亮, 丁松, 周游*

(三峡大学附属仁和医院骨科, 湖北宜昌 443001)

摘要: [目的] 探讨 mTOR 蛋白对老龄大鼠肌腱干细胞肌腱损伤修复能力的影响。[方法] 体外培养青年组和老年组大鼠肌腱干细胞, 使用腺病毒转染调控 mTOR 表达, Western blot 检测 mTOR 和相关蛋白。制作老龄大鼠髌腱损伤模型, 分为 mTOR 表达、mTOR 干扰、GFP (green fluorescent protein 绿色荧光蛋白) 和空白组, 在 2 周和 4 周取大鼠修复肌腱组织, 行组织学、组织免疫化学和生物力学检测。[结果] 体外试验方面, Western blot 结果显示, 老年组 mTOR [(1.8±0.1) vs (0.9±0.1), $P<0.05$]、Raptor [(4.1±0.3) vs (2.2±0.3), $P<0.05$] 及 P-Raptor [(1.8±0.1) vs (0.9±0.1), $P<0.05$] 均显著高于青年组; 而两组间 AKT、P-Akt、S6K、P-S6k 的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。老年大鼠 TSCs 体外转染后 mTOR、Raptor 及 P-Raptor 表达从高到低的顺序: mTOR 的表达组>GFP 组>mTOR 干扰组 ($P<0.05$)。体内试验方面, 与术后 2 周相比, 术后 4 周四组 HE 组织评分均显著增加 ($P<0.05$), 相应时间点分数从高到低的顺序依次为 mTOR 干扰组>GFP 组>mTOR 表达组>空白组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与术后 2 周相比, 术后 4 周, Col1 及 SCX 的表达均无显著变化 ($P>0.05$), 相应时间点, 四组间 Col1、SCX 的表达定量从高到低依次为 mTOR 干扰组>GFP 组>空白组>mTOR 表达组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与术后 2 周相比, 术后 4 周四组最大损毁强度均显著增加 ($P<0.05$), 相应时间点, 最大损毁强度值从大到小依次为 mTOR 干扰组>GFP 组>空白组>mTOR 表达组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。[结论] 抑制 mTOR 蛋白可加强老龄大鼠肌腱干细胞的修复能力。

关键词: mTOR 蛋白, 肌腱干细胞, 肌腱损伤, 肌腱病

中图分类号: R318 **文献标志码:** A **文章编号:** 1005-8478 (2023) 23-2172-07

Effect of mTOR protein on repair capacity of tendon stem cells in aged rats // GU Cheng-yi, CHEN Ming-liang, DING Song, ZHOU You. Department of Orthopaedics, Renhe Hospital, China Three Gorges University, Yichang 443001, China

Abstract: [Objective] To investigate the effect of mTOR protein on tendon repair ability of tendon stem cells in aged rats. **[Methods]** Young and old rat tendon stem cells were cultured in vitro, and mTOR expression was regulated by adenovirus transfection, and mTOR and related proteins were detected by Western blot. Aged rat patellar tendon injury models were made, and divided into mTOR expression, mTOR interference, green fluorescent protein (GFP) and blank groups. The repaired tendon tissues of the rats were harvested at 2 and 4 weeks for histological, tissue immunochemical and biomechanical assays. **[Results]** In vitro test, the western blot results showed that the aged rats presented significantly higher level of mTOR [(1.8±0.1) vs (0.9±0.1), $P<0.05$], Raptor [(4.1±0.3) vs (2.2±0.3), $P<0.05$] and P-Raptor [(1.8±0.1) vs (0.9±0.1), $P<0.05$] than the young group, despite of insignificant differences in Akt, p-Akt, S6k and P-S6K between the two groups ($P>0.05$). The expression sequence of mTOR, Raptor and P-Raptor after transfection of TSCs in aged rats ranked from high to low: mTOR expression group > GFP Group > mTOR interference group ($P<0.05$). In vivo test, HE tissue scores significantly increased in all the 4 groups 4 weeks after surgery group compared with those 2 weeks after surgery ($P<0.05$), which ranked from high to low as the mTOR interference group > GFP Group > mTOR expression group > blank control group at time points accordingly with statistically significant differences ($P<0.05$). Compared with those 2 weeks after surgery, the Col1 and SCX expressions remained unchanged at 4 weeks after surgery ($P>0.05$), which ranked among the 4 groups from high to low as the mTOR interference group > GFP Group > Blank group > mTOR expression group, with statistical significance ($P<0.05$). Compared with those 2 weeks after surgery, the maximum failure strength in biomechanical test significantly increased in 4 weeks after surgery ($P<0.05$), which ranked up-down as mTOR interference group > GFP Group > blank group > mTOR expression group with statistical significances at time points accordingly ($P<0.05$). **[Conclusion]** Inhibition of mTOR protein does enhance the repair capacity of tendon stem cells in aged rats in this study.

Key words: mTOR protein, tendon stem cells, tendon injury, tendinopathy

DOI:10.3977/j.issn.1005-8478.2023.23.11

[△]基金项目:湖北省自然科学基金面上项目(编号:2021CFB414)

作者简介:谷成毅,住院医师,硕士研究生,研究方向:肌腱病,(电话)18372501547,(电子信箱)949510434@qq.com

*通信作者:周游,(电话)18671749303,(电子信箱)zhouyou8010@163.com

雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 是一类大分子蛋白质, 分子量为 289 kDa, 作为细胞多种病理生理过程的关键调控分子, 在不同的组织细胞中均有表达, 在细胞病理生理过程中的作用至关重要^[1]。mTOR 存在两种不同复合物形式, 即 mTORC1 和 mTORC2^[2]。mTOR 整合细胞外多种信号刺激, 参与体内多条信号通路, 影响转录及蛋白质合成, 与细胞凋亡、自噬、生长等均有重要联系^[3]。mTORC1 在干细胞自我更新和分化方面也起到很重要的作用^[4]。

肌腱干细胞 (tendon stem cell, TSC) 是一群存在于肌腱中具有多向分化能力的间充质干细胞, 在合适的条件下可以分化为肌腱组织、骨骼组织或者软骨组织^[5]。有研究发现肌腱干细胞在肌腱病的发生、发展中也扮演着重要角色^[6, 7]。当肌腱干细胞处于异常的诱导环境时, 会朝着非肌腱细胞方向分化^[8]。老龄化会使肌腱干细胞的干性降低, 增殖能力、克隆能力都显著下降, 从而更易于向非肌腱细胞方向分化^[9]。肌腱中残存的干细胞对于组织的再生、修复非常重要, 然而老龄化会导致肌腱中肌腱干细胞数目下降而且功能减弱^[10]。有临床研究表明, 老龄化肌腱的愈合能力很差, 严重影响老龄人群肌腱病的术后康复效果^[11]。

mTOR 参与干细胞的更新分化, 故本研究拟通过调控 mTOR 蛋白观察其对老年大鼠肌腱干细胞成肌腱分化的影响, 从而找出针对老年肌腱损伤、疾病修复的新思路, 为临床提供帮助。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠, 老年大鼠 (1 年, 28 只) 和青年大鼠 (12 周, 4 只), 清洁级, 由陆军军医大学实验动物中心提供。体外实验分为老年大鼠 (4 只) 和青年大鼠 (4 只) 两组; 体内实验分为 mTOR 表达 (6 只)、mTOR 干扰 (6 只)、GFP (6 只)、空白 (6 只)。

1.2 体外试验

1.2.1 TSCs 的分离培养

老年和青年 SD 大鼠各 4 只 CO₂ 安乐处死, 取跟腱剪碎, 0.25% 胰酶消化 1 h。4℃ 1 000 r/min 离心, 加 10% 胎牛血清 DMEM 培养液 (1×10⁶/ml)。接种于 25 cm² 培养瓶中, 37℃、5% CO₂ 培养。2 d 后换液, 2~3 d 换液 1 次, 细胞占瓶底 80% 左右时进行传代。

传至 3 代, 进行后续实验。

1.2.2 老年大鼠 TSCs 转染

将老年大鼠 TSCs 分为 mTOR 表达、mTOR 干扰、GFP 和空白四组。使用腺病毒转染制作 mTOR 表达、mTOR 干扰和 GFP 的 TSCs。取第 3 代老年大鼠 TSCs, 通过重组腺病毒 Ad-mTOR 按照预实验测定的最大 MOI 值 (100) 转染, 12 h 后换完全培养基, 培养 48 h, 倒置荧光显微镜下观察绿色荧光蛋白的表达情况。

1.2.3 Western blot 检测

各组细胞加入 RIPA 裂解液置于冰上 30 min。然后 12 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, 检测总蛋白浓度。4%~20% 梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜, 室温 5% 的脱脂牛奶封闭 1 h。加入一抗 mTOR (1:1 000)、Raptor (1:500)、S6K (1:1 000)、Akt (1:1 000) 摇晃过夜。TBST 清洗 3 遍, 加二抗 (1:10 000) 避光摇晃 1 h, 洗涤 3 次。BIO-RAD 凝胶电泳图像分析仪采图, 图像分析软件统计分析, 检测各指标的表达强度。

1.2.4 肌腱修复材料制备

(1) 3 瓶上述 SD 老龄大鼠 TSCs, 腺病毒处理分为 mTOR 过表达、mTOR 干扰、GFP。转染 72 h 后收细胞备用; (2) 称 2.2 g 脱乙酰度 >95% 的壳聚糖溶于 100 ml 的 0.1 mol/L 的冰醋酸溶液中, 配成 2.15 wt% 壳聚糖 C 溶液。磁力搅拌器保持 50℃ 左右搅拌 4 h, 121℃ 消毒 10 min。称 5 g β-甘油磷酸钠溶于 5 ml 去离子水中, 搅拌均匀得到 50 wt% GP 溶液, 用 0.22 μm 的滤器过滤除菌。取 6 ml C 溶液, 再将 1 ml 的 GP 溶液逐滴加入到 C 溶液中, 混合均匀获得 C/GP 溶液; (3) 将水凝胶和目的细胞悬液按照 2:1 的体积比配置备用。

1.3 体内试验

1.3.1 髌腱损伤与修复

将 24 只老年大鼠分为 mTOR 表达、mTOR 干扰、GFP 和空白四组, 每组 6 只。异氟醚麻醉, 取仰卧位, 酒精消毒双侧膝关节。以右侧膝关节为例, 膝屈曲 30°, 取正中切口, 全长 2 cm 至髌骨上下缘, 切开皮肤、筋膜显露髌腱, 使用 2 mm×5 mm 的模版去掉髌腱组织, 得到损伤模型。在髌腱缺损处加入 50 μl 的水凝胶和实验细胞混合液, 关闭切口, 同法处理对侧。待术后 2 周和 4 周, 每组每次 3 只取髌腱进行检测。

1.3.2 HE 染色

制作 SD 老龄大鼠髌腱损伤修复模型, 分别在 2

周、4 周收取髌腱标本经处理成石蜡切片，将组织用 4%多聚甲醛固定 24 h，石蜡包埋，后切片机冠状面连续切片 (5 μm)，脱蜡后 HE 染色。每组随机取 5 张切片置于 IX70 显微镜下观察 3 个视野中髌腱缺损的修复情况。组织学评分标准：从纤维结构、纤维排列、核圆程度、炎症细胞、静脉数量和细胞数量等方面进行评分。

1.3.3 免疫组化

先石蜡组织脱蜡后水化，再用胰酶修复法修复，使用 SCX、Col1 的 1 抗抗体溶液。染色液镜下染色苏木素染核，90s 后 60℃水浴环境下返蓝 10 min。梯度乙醇脱水，常温下晾干，中心树胶封片。使用光密度 (optical density, OD) 计量。

1.3.4 生物力学测试

采用 CO₂安乐处死模型大鼠。取 2、4 周大鼠髌腱缺损模型的完整下肢，保留髌骨和胫骨髌腱，使用生物力学测试仪进行生物力学检测，测量修复组织的最大损毁强度 (单位 N)。

1.4 统计学方法

采用 GraphPad Prism 7.0 统计软件对数据进行分析，计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，资料呈正态分布时，采用单因素方差分析，两两比较采用 LSD 法；资料呈非正态分布时，采用秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 青年与老年大鼠 TSCs 的 mTOR 相关蛋白表达比较

青年与老年大鼠肌腱干细胞中 mTOR 及相关蛋白的表达 Western blot 见表 1 所示：mTOR、Raptor、P-Raptor 表达老年组显著高于青年组 ($P < 0.05$)；而 AKT、P-Akt、S6K、P-S6k 两组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 青年与老年大鼠 TSCs 的 mTOR 相关蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of relative expression mTOR-related proteins in TSCs between young and old rats ($\bar{x} \pm s$)

指标	青年组 (n=3)	老年组 (n=3)	P 值
mTOR	0.9±0.1	1.8±0.1	0.032
Raptor	2.2±0.3	4.1±0.3	0.028
P-Raptor	0.7±0.0	2.1±0.1	0.012
Akt	2.3±0.1	2.3±0.0	0.083
P-Akt	0.8±0.0	0.8±0.1	0.102
S6k	6.2±0.6	6.2±0.6	0.096
P-S6k	4.7±0.4	4.6±0.4	0.094

2.2 老年大鼠 TSCs 体外转染后 mTOR 相关蛋白表达比较

老年大鼠 TSCs 体外转染后 mTOR 及相关蛋白的表达 Western blot 见表 2。mTOR、Raptor 及 P-Raptor 表达从高到低的顺序：mTOR 的表达组 > GFP 组 > mTOR 干扰组 ($P < 0.05$)；而 AKT、P-Akt、S6K 和 P-S6k 的表达三组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 老年大鼠 TSCs 体外转染后 mTOR 相关蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of relative expression mTOR-related proteins in TSCs transfected differently in the old rats ($\bar{x} \pm s$)

指标	mTOR 表达组 (n=3)	mTOR 干扰组 (n=3)	GFP 组 (n=3)	P 值
mTOR	3.9±0.1	1.2±0.0	2.1±0.1	0.015
Raptor	1.0±0.0	0.3±0.0	0.6±0.1	0.021
P-Raptor	4.2±0.6	1.5±0.2	2.1±0.2	0.032
Akt	1.2±0.1	1.2±0.0	1.2±0.1	0.076
P-Akt	3.4±0.5	3.1±0.4	3.6±0.6	0.082
S6k	4.1±0.7	3.9±0.6	4.1±0.6	0.091
P-S6k	3.7±0.4	3.3±0.4	3.6±0.4	0.094

2.3 体内修复检测结果

HE 染色观察髌腱损伤的修复效果见图 1、表 3，与术后 2 周相比，术后 4 周四组 HE 组织评分均显著增加 ($P < 0.05$)，相应时间点分数从高到低的顺序依次为 mTOR 干扰组 > GFP 组 > mTOR 表达组 > 空白组，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。组织学评分 mTOR 干扰组相对其他三组纤维排列相对更整齐，炎症细胞数量更少，静脉数量和细胞数量明显增多。

石蜡切片免疫组化 Col1 和 SCX 检测结果见图 2、图 3、表 3，与术后 2 周相比，术后 4 周，Col1 及 SCX 的表达均无显著变化 ($P > 0.05$)，相应时间点，四组间 Col1、SCX 的表达定量从高到低依次为 mTOR 干扰组 > GFP 组 > 空白组 > mTOR 表达组 ($P < 0.05$)，差异均有统计学意义。

生物力学结果见表 3，与术后 2 周相比，术后 4 周四组最大损毁强度均显著增加 ($P < 0.05$)，相应时间点，最大损毁强度值从大到小依次为 mTOR 干扰组 > GFP 组 > 空白组 > mTOR 表达组，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

mTOR 是一类大分子蛋白质，存在两种不同复合物形式，即 mTORC1 和 mTORC2^[10, 12]。mTORC1 由

mTOR、RAPTOR 和 mLST8 组成^[3]。mTORC 1 在干细胞自我更新和分化方面也起到很重要的作用^[4]。mTOR 整合细胞外多种信号刺激，参与体内多条信号通路^[13, 14]，影响转录及蛋白质合成，与细胞凋亡、自噬和生长等生命活动均有很重要的联系^[15-17]。有研究表明使用 mTOR 抑制剂可以延长寿命减缓衰老，说明 mTOR 在衰老的过程中表达是增加的^[18]。本研究通过检测青年和老年大鼠 TSCs 中 mTOR 及与其相关的蛋白表达，也发现 mTOR、RAPTOR 在老年大鼠细胞中

表达远远高于青年大鼠，从而证实了 mTOR 的表达会随衰老而增强。众所周知，老龄化是导致肌腱损伤修复变得更加困难的一个重要因素，部分原因就是老龄化过程会使肌腱组织中的肌腱干细胞向肌腱方向分化的能力减弱^[5]。mTOR 对于干细胞的自我更新和分化很重要，而且本实验结果提示老年大鼠的 mTOR 蛋白表达相对青年大鼠增加，故此推断可能是 mTOR 蛋白表达的增加抑制老年大鼠肌腱干细胞的成肌腱分化，从而导致老龄化肌腱损伤修复能力减弱。

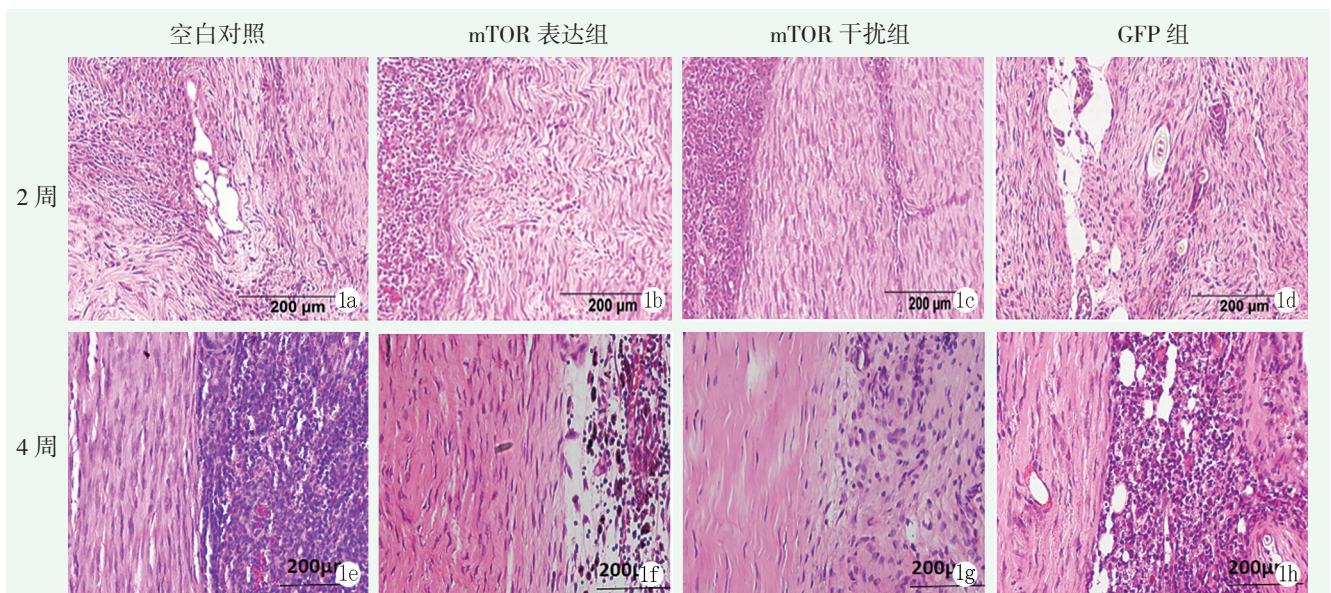


图 1 四组髌腱损伤修复组织学观察 (HE, ×200 μm)。1a, 1e: 空白对照; 1b, 1f: mTOR 表达组; 1c, 1g: mTOR 干扰组; 1d, 1h: GFP 组。

Figure 1. Histology of patellar tendon injury repair in four groups (HE, ×200 μm). 1a, 1e: Blank control. 1b, 1f: mTOR expression group. 1c, 1g: mTOR interference group. 1d, 1h: GFP group.

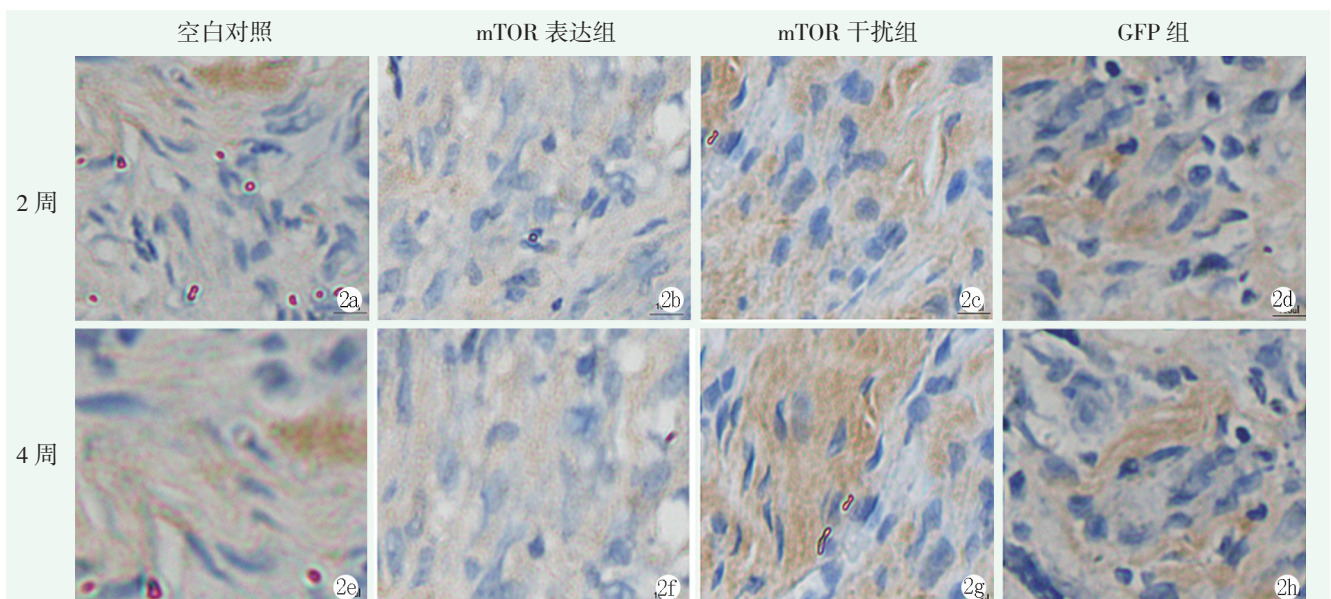


图 2 四组髌腱损伤修复组织学观察 (Col1 免疫组化, ×100 μm)。2a, 2e: 空白对照; 2b, 2f: mTOR 表达组; 2c, 2g: mTOR 干扰组; 2d, 2h: GFP 组。

Figure 2. Histology of patellar tendon injury repair in four groups (Col1 immunohistochemistry, ×100 μm). 2a, 2e: Blank control. 2b, 2f: mTOR expression group. 2c, 2g: mTOR interference group. 2d, 2h: GFP group.

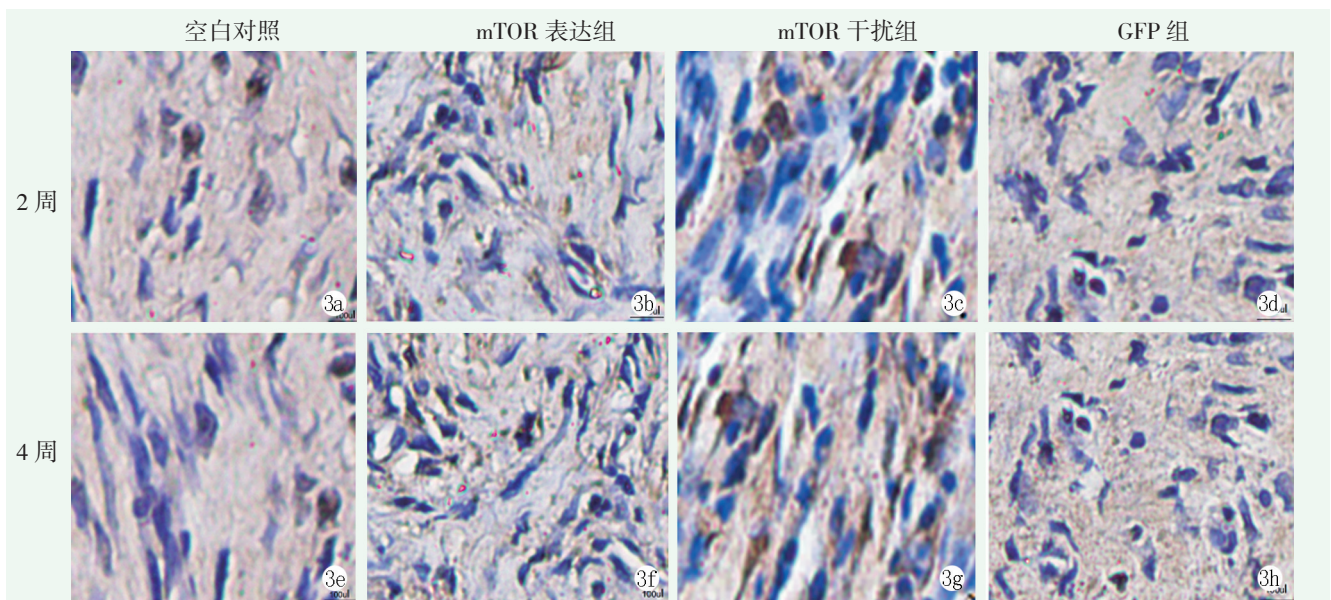


图 3 四组髌腱损伤修复组织学观察 (SCX 免疫组化×100 μm)。3a, 3e: 空白对照; 3b, 3f: mTOR 表达组; 3c, 3g: mTOR 干扰组; 3d, 3h: GFP 组。

Figure 3. Histology observation of patellar tendon injury repair in four groups (SCX immunohistochemistry×100 μm). 3a, 3e: Blank control. 3b, 3f: mTOR expression group. 3c, 3g: mTOR interference group. 3d, 3h: GFP group.

表 3 老年大鼠髌腱修复检测结果比较 (x̄ ± s)

Table 3 Comparison of assay consequences after patellar tendon repair in the old rats (x̄ ± s)

指标	时间点	空白对照组 (n=6)	mTOR 表达组 (n=6)	mTOR 干扰组 (n=6)	GFP 组 (n=6)	P 值
HE 组织评分	2 周	2.3±0.1	5.1±0.8	13.2±1.2	8.1±1.0	0.016
	4 周	3.3±0.7	7.2±1.0	17.5±1.4	11.5±1.2	0.021
	P 值	0.042	0.047	0.038	0.046	
Col1 组化 (OD)	2 周	1.1±0.1	0.4±0.1	4.3±0.2	2.7±0.2	0.006
	4 周	1.1±0.1	0.4±0.1	4.5±0.3	2.9±0.2	0.005
	P 值	0.085	0.079	0.063	0.068	
SCX 组化 (OD)	2 周	0.9±0.1	0.4±0.1	5.1±0.4	2.1±0.1	0.008
	4 周	1.0±0.1	0.4±0.1	5.6±0.5	2.2±0.1	0.009
	P 值	0.083	0.069	0.093	0.077	
最大损毁强度 (N)	2 周	15.0±0.1	17.1±0.2	36.2±0.2	25.1±0.2	0.038
	4 周	24.1±0.1	26.1±0.3	46.3±0.3	36.2±0.2	0.041
	P 值	0.044	0.041	0.037	0.035	

有研究通过构建肌腱损伤模型,在病变部位植入自体或异体来源干细胞,调控干细胞的分化方向达到促进肌腱再生修复的作用^[19-21]。Kokubu 等^[22]将脂肪来源的干细胞注射到跟腱损伤模型缺损处,证明了脂肪来源的干细胞能够促进损伤跟腱的修复。从晓霞等^[23]研究发现,AKT-mTOR 轴是肌腱分化关键调节信号,并为肌腱损伤和肌腱相关疾病提供了新的治疗靶点。本研究通过腺病毒转染将控制 mTOR 蛋白表达的老龄大鼠 TSCs 混合物植入大鼠髌腱缺损处建立髌腱缺损修复模型,通过调节 mTOR 蛋白的表达来探索修复效果的差异。研究结果显示,HE 染色抑制

mTOR 蛋白表达组中肌腱类似组织更多,其组织学评分、纤维结构评分均高于 mTOR 蛋白过表达组。免疫组化结果也显示抑制 mTOR 蛋白表达组 Col1 表达均高于 mTOR 蛋白过表达组。本研究的结果说明抑制 mTOR 蛋白的表达能够促进老龄大鼠肌腱干细胞成肌腱分化,利于老年肌腱损伤组织的修复。

有研究发现, mTOR 蛋白的活性在肌腱组织损伤后出现改变,参与肌腱组织的修复过程^[24]。另有研究发现,通过喂饲 mTOR 蛋白抑制剂,可使损伤的肌腱组织在结构和生物力学上与成年小鼠的肌腱相似^[25]。表明 mTOR 蛋白参与了肌腱组织损伤后的修

复过程。本实验生物力学研究结果显示,抑制 mTOR 蛋白表达后,修复的肌腱组织韧性更强,抗拉能力好,组织损伤修复效果相对较好。将来可通过对该信号通路进一步深入研究,明确其作用机制和下游的信号蛋白,为临床上使用药物抑制 mTOR 蛋白的表达,来预防和治疗老龄化的肌腱损伤和肌腱病提供理论依据。

本研究局限性在于实验动物性别差异(雌性动物缺乏)、数量少、随访观察时间短。然而,本研究结果支持了这样的假设,即 mTOR 蛋白调控 TSCs 向成肌腱方向分化,可以调节老年大鼠肌腱损伤的修复。笔者认为, mTOR 蛋白在老化肌腱损伤修复中起着重要作用,但是精确分子机制尚不明确,有待进一步深入研究。

参考文献

- [1] 胡凌云,张建英,刘康,等. mTOR/p70S6K 信号通路在大鼠脊髓损伤后运动功能恢复中的研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2013, 21(16): 1648-1656. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2013.16.12. Hu LY, Zhang JY, Liu K, et al. Study on the mTOR/p70S6K signaling pathway in motor function recovery after spinal cord injury in rats[J]. Orthop J Chin, 2013, 21(16): 1648-1656. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2013.16.12.
- [2] Kostrominova TY, Brooks SV. Age-related changes in structure and extracellular matrix protein expression levels in rat tendons[J]. Age (Dordr), 2013, 35(6): 2203-2214. DOI: 10.1007/s11357-013-9514-2.
- [3] Lui PP. Stem cell technology for tendon regeneration: current status, challenges, and future research directions[J]. Stem Cells Cloning, 2015, 8: 163-174. DOI: 10.2147/SCCAA.S60832.
- [4] Li Y. The potential roles of tendon stem/progenitor cells in tendon aging[J]. Curr Stem Cell Res Ther, 2019, 14(1): 34-42. DOI: 10.2174/1574888X13666181017112233.
- [5] Scott A, Backman LJ, Speed C. Tendinopathy: update on pathophysiology[J]. J Orthop Sports Phys Ther, 2015, 45(11): 833-841. DOI: 10.2519/jospt.2015.5884.
- [6] Kapahi P, Zid BM, Harper T, et al. Regulation of lifespan in *Drosophila* by modulation of genes in the TOR signaling pathway[J]. Curr Biol, 2004, 14(10): 885-890. DOI: 10.1016/j.cub.2004.03.059.
- [7] 雷昌斌,唐新文,郭志文,等. 多聚磷酸盐促进肌腱干细胞增殖和能量代谢的体外研究[J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30(6): 533-538. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.06.11. Lei CB, Tang XW, Guo ZW, et al. In vitro study of polyphosphates promoting proliferation and energy metabolism of tendon stem cells[J]. Orthop J Chin, 2022, 30(6): 533-538. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.06.11.
- [8] Loewith R, Jacinto E, Wullschlegel S, et al. Two TOR complexes, only one of which is rapamycin sensitive, have distinct roles in cell growth control[J]. Mol Cell, 2002, 10(3): 457-468. DOI: 10.1016/s1097-2765(02)00636-6.
- [9] Lee DY. Roles of mTOR signaling in brain development[J]. Exp Neurobiol, 2015, 24(3): 177-185. DOI: 10.5607/en.2015.24.3.177.
- [10] Oh WJ, Jacinto E. mTOR complex 2 signaling and functions[J]. Cell Cycle, 2011, 10(14): 2305-1216. DOI: 10.4161/cc.10.14.16586.
- [11] Ma XM, Blenis J. Molecular mechanisms of mTOR-mediated translational control[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(5): 307-318. DOI: 10.1038/nrm2672.
- [12] Boutouja F, Stiehm CM, Platta HW. mTOR: A cellular regulator interface in health and disease[J]. Cells, 2019, 8(1): 18. DOI: 10.3390/cells8010018.
- [13] Jin D, Yang JP, Hu JH, et al. MCP-1 stimulates spinal microglia via PI3K/Akt pathway in bone cancer pain[J]. Brain Res, 2015, 1599: 158-167. DOI: 10.1016/j.brainres.2014.12.043.
- [14] Han D, Li SJ, Zhu YT, et al. LKB1/AMPK/mTOR signaling pathway in non-small-cell lung cancer[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(7): 4033-4039. DOI: 10.7314/apjcp.2013.14.7.4033.
- [15] 徐伟,刘达,王维,等. 自噬在骨关节炎发病和治疗中的作用研究现状[J]. 中国矫形外科杂志, 2022, 30(10): 902-905, 910. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.10.08. Xu W, Liu D, Wang W, et al. The role of autophagy in the pathogenesis and treatment of osteoarthritis[J]. Orthop J Chin, 2022, 30(10): 902-905, 910. DOI: 10.3977/j.issn.1005-8478.2022.10.08.
- [16] Kumar A, Lawrence JC Jr, Jung DY, et al. Fat cell-specific ablation of rictor in mice impairs insulin-regulated fat cell and whole-body glucose and lipid metabolism[J]. Diabetes, 2010, 59(6): 1397-1406. DOI: 10.2337/db09-1061.
- [17] Meng DL, Frank AR, Jewell JL. mTOR signaling in stem and progenitor cells[J]. Development, 2018, 145(1): dev152595. DOI: 10.1242/dev.152595.
- [18] Kim J, Kundu M, Viollet B, et al. mTOR and AMPK regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk1[J]. Nat Cell Biol, 2011, 13(2): 132-141. DOI: 10.1038/ncb2152.
- [19] Ni M, Rui YF, Tan Q, et al. Engineered scaffold-free tendon tissue produced by tendon-derived stem cells[J]. Biomaterials, 2013, 34(8): 2024-2037. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.11.046.
- [20] Bucher TA, Ebert JR, Smith A, et al. Autologous tenocyte injection for the treatment of chronic recalcitrant gluteal tendinopathy: prospective pilot study[J]. Orthop J Sports Med, 2017, 5(2): 1-10. DOI: 10.1177/2325967116688866.
- [21] 曹法民, 亓建洪. 干细胞构建组织工程肌腱治疗腱病研究进展[J]. 中国运动医学杂志, 2015, 34(5): 500-505. Cao FM, Qi JH. Research progress in the construction of tissue engineered tendons using stem cells for the treatment of tendinosis[J]. Chin J Sports Med, 2015, 34(5): 500-505.
- [22] Kokubu S, Inaki R, Hoshi K, et al. Adipose-derived stem cells improve tendon repair and prevent ectopic ossification in tendinopa-

thy by inhibiting inflammation and inducing neovascularization in the early stage of tendon healing [J]. Regen Ther, 2020, 14: 103-110. DOI: 10.1016/j.reth.2019.12.003.

[23] 从晓霞. mTOR 信号通路在肌肉再生和肌腱分化中的作用和调控机制研究 [D]. 浙江大学, 2018.
Cong XX. The role and regulatory mechanism of mTOR signaling pathway in muscle regeneration and tendon differentiation [D]. Zhejiang Univ, 2018.

[24] Cao Y, Ye Q, Zhuang MF, et al. Ginsenoside Rg3 inhibits angio-

genesis in a rat model of endometriosis through the VEGFR-2-mediated PI3K/Akt/mTOR signaling pathway [J]. PLoS One, 2017, 12 (11): e0186520. DOI: 10.1371/journal.pone.0186520.

[25] Bell A, Grunder L, Sorisky A. Rapamycin inhibits human adipocyte differentiation in primary culture [J]. Obes Res, 2000, 8 (3): 249-254. DOI: 10.1038/oby.2000.29.

(收稿:2023-03-22 修回:2023-07-31)
(同行评议专家:李颖,张立峰,周兵华,李新志)
(本文编辑:宁桦)

读者·作者·编者

本刊提醒作者严防各种形式诈骗的公告

近期,骗子又出新花样,以主管编辑或杂志社编辑(如:主管编辑黄思敏、邢静静编辑、雷老师等)的名义,冒充本刊主编或编辑,以传送检索报告及电子全文等理由,通过电子邮件或短信要求本刊作者添加其个人微信(加微信后,以主办学术会议需要发邀约、征集稿件等理由,要求将其拉入相关的群中),其实际目的是从事稿件、专著挂名售卖等非法活动,此行为严重损害了学术界的形象,严重扰乱了广大读者、作者的正常工作,损害了编辑部的合法权益。

科研诚信是科技创新的基石,学术不端行为不仅背离科学的精神,更严重损害了学术环境的整体生态,最终将损害受害者的根本权益,敬请广大作者、读者坚决抵制此类行为。在此,我们提醒广大读者、作者:

(1) 本刊工作人员不会以邮件或短信的形式通知作者添加个人微信;(2) 以编辑部工作人员之名找各种借口要求与作者、读者添加微信的行为均为假冒;(3) 骗子的微信开头一般以“A”“B”“1”“2”等开头,请广大作者注意甄别;(4) 本刊专用电子邮箱:jiaoxingtougao@163.com; jxwk1994@126.com; 财务专用信箱:jiaoxingwaikecaiwu@163.com;(5) 不明事宜可电话咨询:0538-6213228。

请广大读者提高警惕,注意甄别消息来源和真伪,严防信息泄露,避免上当受骗。
特此公告!

《中国矫形外科杂志》编辑部
2023 年 10 月 7 日

附:诈骗微信的内容形式

