

文章编号:1005-0957(2024)12-1396-07

• 动物实验 •

基于 GSK3 β /mTOR 信号通路探讨电针对快速衰老小鼠肝脏炎性反应的影响

李蔚娴¹, 孙国杰², 刘欣媛¹, 张帅¹, 陈江敏¹, 许淑鱼¹, 王丽¹, 杜艳军^{1,2}

(1. 湖北中医药大学, 武汉 430061; 2. 全国名中医孙国杰传承工作室, 武汉 430061)

【摘要】 目的 观察快速老化(senescence-accelerated mouse prone 8, SAMP8)小鼠的肝脏炎性反应, 探讨电针通过调控肝脏组织中糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)/雷帕霉素机械靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)通路对 SAMP8 小鼠肝脏炎性反应的影响。**方法** 选用 7 月龄的 SAMP8 小鼠及同龄且遗传背景相同的抗快速老化(senescence-accelerated mouse resistant 1, SAMR1)小鼠作为实验对象。随机将 SAMP8 小鼠分为电针组和模型组, 每组 12 只; 正常组为 12 只 SAMR1 小鼠。电针组分别在“百会”穴和双侧“肾俞”穴进行针刺, 电针双侧“肾俞”穴。在相同时间, 正常组和模型组进行与电针组一样的抓取束缚, 不作任何干预。干预后, 观察 3 组小鼠一般情况, 采用免疫印迹法(Western blot)检测 3 组小鼠肝组织 GSK-3 β 、mTOR、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-4(interleukin-4, IL-4)蛋白表达, 采用苏木素-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色观察肝组织病理改变。**结果** 模型组肝组织 GSK-3 β 、mTOR、IL-6 蛋白表达水平均高于正常组($P<0.05$), IL-4 蛋白表达水平低于正常组($P<0.05$), 肝组织炎性细胞浸润程度较严重。电针组肝组织 GSK-3 β 、mTOR、IL-6 表达均低于模型组($P<0.05$), IL-4 蛋白表达高于模型组($P<0.05$), 肝组织炎性细胞浸润程度较模型组减轻。**结论** 电针可能通过抑制肝脏组织中 GSK3 β /mTOR 促炎通路的表达, 降低肝脏组织中的炎性反应。

【关键词】 针刺疗法; 电针; 肝脏; 炎性; 小鼠**【中图分类号】** R2-03 **【文献标志码】** A

DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2024.12.1396

Research on the effect of electroacupuncture on inflammatory responses in liver in rapidly aging mice based on the GSK3 β /mTOR signaling pathway LI Weixian¹, SUN Guojie², LIU Xinyuan¹, ZHANG Shuai¹, CHEN Jiangmin¹, XU Shuyi¹, WANG Li¹, DU Yanjun^{1,2}. 1.Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan 430061, China; 2.Inheritance Studio of National Famous Traditional Chinese Medicine Expert SUN Guojie, Wuhan 430061, China

[Abstract] Objective By observing the inflammatory responses in the liver of senescence-accelerated mouse prone 8 (SAMP8) mice, to investigate the effect of electroacupuncture (EA) on inflammatory responses by regulating the glycogen signaling pathway synthase kinase-3 β (GSK-3 β)/mechanistic target of rapamycin (mTOR) in the liver tissues. **Method** Seven-month-old SAMP8 mice and senescence-accelerated mouse resistant 1 (SAMR1) mice of the same age and genetic background were taken as the subjects. The SAMP8 mice were randomized into an EA group and a model group, with 12 mice in each group; 12 SAMR1 mice were taken as the normal group. Mice in the EA group received acupuncture at “Baihui (GB20)” and bilateral “Shenshu (BL23)”, with bilateral “Shenshu” connected to EA. Simultaneously, the normal and model groups received the same grasping and binding as the EA group without any

基金项目: 国家自然科学基金项目(81873380;82074566); 国家中医药管理局“全国名中医传承工作室”建设项目[国中医药人教发(2022)5号]; 世界针联孙国杰中医针灸传承基地项目[(2019)26号]

作者简介: 李蔚娴(1999—), 女, 2022 级硕士生, Email:1552588137@qq.com

通信作者: 杜艳军(1975—), 女, 教授, Email:dyjhbtcm2013@163.com

intervention. When the intervention finished, the three groups of mice were observed for their general condition; Western blot was used to detect the protein expression of GSK-3 β , mTOR, interleukin-6 (IL-6), and interleukin-4 (IL-4); the histopathological changes of liver tissues were observed using hematoxylin-eosin (HE) staining. **Result** Compared to the normal group, the protein expression levels of GSK-3 β , mTOR, and IL-6 in the liver tissues were higher in the model group ($P<0.05$), and the protein expression level of IL-4 was lower in the model group ($P<0.05$); the liver tissues showed more severe inflammatory cell infiltration in the model group. Compared to the model group, the expression levels of GSK-3 β , mTOR, and IL-6 in the liver tissues were lower in the EA group ($P<0.05$), and the protein expression level of IL-4 was higher in the EA group ($P<0.05$); inflammatory cell infiltration in the liver tissues improved in the EA group compared to the model group. **Conclusion** EA may reduce inflammatory responses in the liver tissues by inhibiting the expression of the proinflammatory signaling pathway GSK3 β /mTOR in the liver.

[Key words] Acupuncture therapy; Electroacupuncture; Liver; Inflammation; Mice

由于医疗保健和科学的进步以及公共卫生政策的变化,中国人口的平均寿命已经延长,并已步入重度老龄化社会,阿尔茨海默病、类风湿关节炎等衰老相关疾病发病率逐年攀升。衰老相关疾病存在共同的病理基础,即细胞衰老^[1]。如何延缓衰老及衰老相关疾病的发生发展,成为当今需要解决的重要问题。在衰老过程中,机体全身或局部器官促炎因子与抗炎因子间稳态失衡,出现慢性促炎性反应状态^[2]。目前,炎性反应是宿主对消除异生素和免疫系统未识别的内源性信号的反应。成功清除病原体后炎症消退,但未消退的急性炎症会导致疾病加重或变成慢性炎症^[3]。慢性炎性反应累积是衰老的重要特征之一,参与衰老及与衰老相关疾病的发生发展^[4],炎性反应被认为是衰老的内源性因素,消除炎性反应可能是抗衰老的潜在策略^[5],阐明慢性炎性反应的传导和作用途径,发掘可干预的炎性反应靶点,对延缓衰老以及干预、治疗衰老相关疾病具有重大意义。

肝脏属于机体内重要的高代谢率器官,参与营养物质代谢、凝血因子支持、消化免疫、稳态调控等诸多生理过程,随着机体衰老进程加快,肝脏细胞衰老,会加重肝损伤和炎性反应^[6]。轻度炎性反应有利于肝脏维持自身稳态^[7],但在长期慢性炎症环境中,炎症因子对肝脏损伤的敏感性增强,肝脏再生能力和防御能力遭到持续性破坏,更易导致机体衰老并促发多种疾病^[8]。糖原合酶激酶 3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路是诱发机体炎性反应的主要通路,在肝脏中广泛表达^[3,6]。减少炎性反应的干预措施会延迟早衰小鼠模型中与年龄相关的特征

的发生,从而延长它们的寿命^[9]。快速老化 (sence-accelerated mouse prone 8, SAMP8) 小鼠是一种快速衰老模型,与抗快速老化 (senescence-accelerated mouse resistant 1, SAMR1) 小鼠相比, SAMP8 小鼠伴有持续的肝脏炎性反应,是研究衰老状态下肝脏炎性反应机制的理想模型^[10]。因此,本实验以 SAMP8 小鼠为病理模型,旨在观察电针干预前后 SAMP8 小鼠一般情况、肝脏组织中 GSK-3 β /mTOR 通路及炎性反应的变化,以期寻找可减轻肝脏组织炎性反应的靶点,为后续研究电针是否通过抑制炎性反应延缓 SAMP8 小鼠衰老提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物和分值

24 只 7 月龄雄性 SAMP8 小鼠与 12 只相同品系相同月龄雌性 SAMR1 小鼠,体质量约为 (31 $\pm$ 2) g,均为 SPF 级且购自北京大学医学部(实验动物科学部)[许可证号 SCXK(京)2021-0013]。小鼠于湖北中医药大学实验动物中心适应性喂养 1 周后,无不良反应,饮食、饮水正常。根据随机数字表随机将 SAMP8 小鼠分为电针组和模型组,每组 12 只;正常组纳入 12 只 SAMR1 小鼠。每组 6 只用于免疫印迹法 (Western blot) 检测,另外 6 只用于苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin staining, HE) 染色。本实验通过了湖北中医药大学动物实验伦理委员会批准 (伦理编号 HUCMS1103321941-64424311),实验严格遵守《关于善待实验动物的指导性意见》相关规定。

1.2 主要试剂与仪器

戊巴比妥钠、多聚甲醛、乙醇、石蜡、苏木精水

溶液、乙醇伊红染色液和二甲苯均来自国药集团;PBS 缓冲液(皮诺飞生物,PN0001);SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒、RIPA 总蛋白裂解液、BCA 蛋白质浓度测定试剂盒、ECL 化学发光检测试剂盒、100×PMSF、5×蛋白上样缓冲液、TBS(粉剂)、电泳液(粉剂)、转膜液(粉剂)、脱脂奶粉均购自 ASPEN;蛋白 Marker (Thermo, 26616); β -actin(Proteintech, 20536-1-AP);白介素-4(interleukin-4, IL-4)(Proteintech, 66142-1-Ig);白介素-6(interleukin-6, IL-6)(Proteintech, 66146-1-Ig);GSK-3 β (cellsignal, 12456);mTOR(Proteintech, 20657-1-AP);HRP-conjugated Affinipure Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)(Proteintech, SA00001-2)。

针灸针(0.16 mm×7 mm, 佳兴医疗器械有限公司);韩氏电针仪(HANS-100A);Morris 水迷宫(成都泰盟, MWT-100S);扫描仪(Canon, LiDE110);倒置荧光显微镜(日本尼康);成像系统(日本尼康, Nikon DS-U3);干燥箱(苏州顺妙工业设备有限公司);切片刀(徕卡显微系统贸易有限公司, 徕卡 819)。

1.3 干预方法

电针组参照《实验动物常用穴位名称与定位第 3 部分:小鼠》^[11]相关内容选取双侧“肾俞”穴(第 2 腰椎下两旁,背正中线旁开 3 mm)以及“百会”穴(顶骨正中)。电针组分别在“百会”穴和双侧“肾俞”穴进行针刺,“百会”穴稍向前平刺 1~2 mm,“肾俞”穴稍向内斜刺 2~3 mm。双侧“肾俞”穴连接韩氏电针仪,采用连续波,电流为 1 mA,频率为 2 Hz,15 min/次,每日 1 次,10 d 为 1 个疗程,共进行 4 个疗程,疗程间间隔 1 d。正常组与模型组不予任何刺激,但与电针组同时时间抓取小鼠并以相同方法束缚。

1.4 标本采集

干预后,称重待麻醉的小鼠,根据每 10 g 体质量用 0.1 mL 计算需要使用的麻醉剂数量,腹腔注射 0.3%戊巴比妥钠麻醉小鼠。将麻醉后小鼠仰卧固定,开始取材。每组取 6 只小鼠的肝脏组织由 4%多聚甲醛进行固定,其余小鼠肝脏组织在 -80 °C 冰箱进行保存。

1.5 标本检测

1.5.1 Western blot 法检测小鼠肝脏组织中 IL-4、IL-6、GSK-3 β 、mTOR 蛋白表达水平

每组各取 6 只小鼠,每组取约 40 mg 的新鲜肝脏组织用预冷的 PBS 缓冲液漂洗 3 次,剪成小块置于超声波

细胞粉碎机中,充分研磨后加入适当体积的组织裂解液 RIPA 及 PMSF,使组织匀浆完全裂解。在 4 °C 下,以 12 000 r/min 速度离心 15 min,收集上清液即为总蛋白溶液。使用 BCA 蛋白质浓度测定试剂盒测定样品蛋白浓度。SDS-PAGE 电泳步骤如下。蛋白样品中加入 5×蛋白上样缓冲液,100 °C 沸水浴 15 min。制胶与上样方法如下。按浓缩胶 80 V、分离胶 110 V 进行恒压电泳,至溴酚蓝到达胶板下沿。转膜方法如下。按照正负极的方向摆放转膜“三明治”结构,350 mA 恒流转膜 1 h。封闭方法如下。用牛奶封闭,置于 4 °C 摇床,封闭 1 h。封闭完成后用 TBST 洗膜,每次 5 min,共 3 次。孵育一抗如下。 β -Actin(1:2 500);IL-4(1:1 000);IL-6(1:3 000);GSK-3 β (1:1 000);mTOR(1:500)。4 °C 摇床,过夜。用 TBST 洗膜,在摇床上洗 3 次,每次 5 min。孵育二抗如下。HRP-conjugated Affinipure Goat Anti-Rabbit IgG(H+L)(1:5 000)。4 °C 摇床,2 h。用 TBST 洗膜,在摇床上洗 3 次,每次 5 min。曝光方法如下。配 ECL 显影液,A、B 液各 1 mL。将显影液均匀滴于膜上,进行化学发光检测。根据不同的光强度调整曝光条件,显影。将胶片进行扫描存档,用 Image J 软件处理系统分析条带灰度值。

1.5.2 HE 染色观察小鼠肝脏病理形态变化

每组取小鼠 6 只,麻醉后将胸腹腔打开并用止血钳固定,使心脏充分暴露,剪破右心耳,将输血器针头自心尖部插入 5~6 cm,快速灌注已经预冷的 0.9%氯化钠溶液约 250 mL,然后较缓慢灌注预冷的 4%多聚甲醛固定液约 250 mL,至小鼠四肢出现僵直时取出肝脏,于 4%多聚甲醛中固定 48 h,石蜡包埋,冠状切片,HE 染色(脱蜡,梯度乙醇水化,苏木素染色,盐酸乙醇分色,自来水浸泡返蓝,伊红染色,脱水,透明,封片),镜下观察。

1.6 统计学方法

采用 Graphpad9.4.1 统计软件分析所有数据。计量资料若符合正态分布则以均数±标准差表示,若方差齐性,组内比较采用单因素方差分析,组间比较采用 LSD 检验。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组小鼠一般情况比较

正常组小鼠皮毛光泽,毛发不易脱落,反应灵敏,进食正常,精神可;模型组小鼠状态较差,毛发干枯脱

落,行动明显迟缓;与模型组比较,电针组小鼠上述精神状态、毛发色泽和心态活动情况均有所改善。

2.2 3组小鼠肝组织 HE 染色病理改变

正常组小鼠肝脏组织结构完整,肝组织和肝小叶结构清晰完整,肝细胞呈放射状排列整齐,无明显炎性

细胞浸润。模型组小鼠肝脏组织和肝小叶结构紊乱,甚至结构被破坏,肝细胞部分肿胀破裂,有明显炎性细胞浸润。电针组小鼠肝脏组织肝细胞受损和炎性浸润现象减轻。详见图 1。

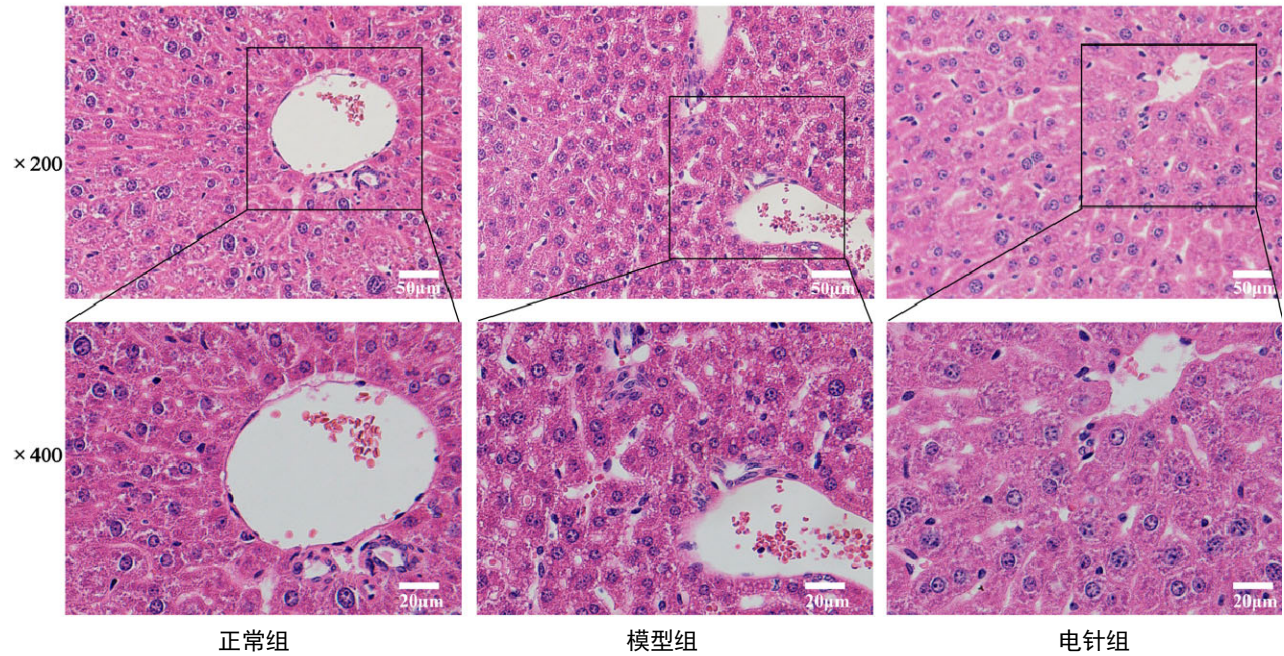
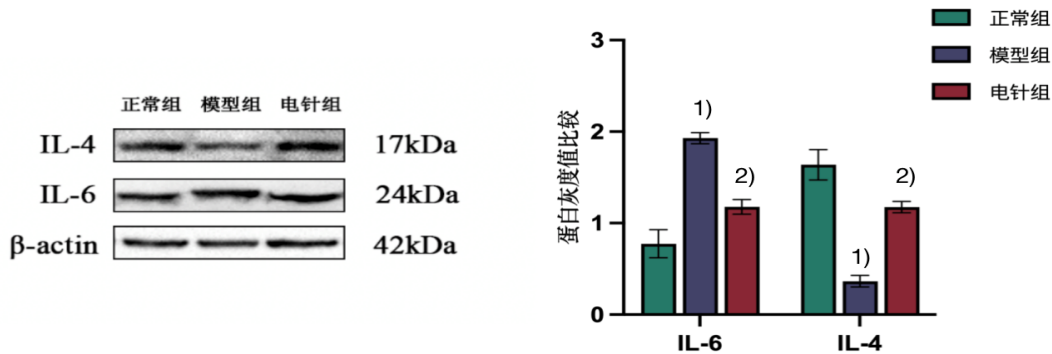


图 1 3组小鼠肝组织病理切片(HE)

2.3 小鼠肝组织 IL-6、IL-4 蛋白表达水平比较

模型组小鼠肝脏 IL-6 蛋白表达高于正常组($P<0.05$), IL-4 蛋白表达低于正常组($P<0.05$);电针组

小鼠肝脏 IL-6 蛋白表达低于模型组($P<0.05$), IL-4 蛋白表达高于模型组($P<0.05$)。详见图 2。



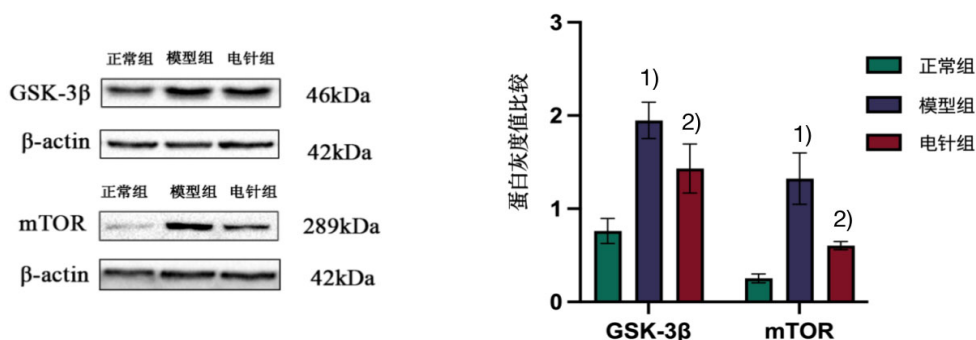
注:与正常组比较¹⁾ $P<0.05$;与模型组比较²⁾ $P<0.05$ 。

图 2 3组小鼠肝组织 IL-6 和 IL-4 蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.4 3组小鼠肝组织 GSK-3β和 mTOR 蛋白表达水平比较

模型组小鼠肝脏 GSK-3β和 mTOR 蛋白表达高于正

常组($P<0.05$);电针组小鼠肝脏 GSK-3β蛋白表达低于模型组($P<0.05$), mTOR 蛋白表达低于模型组($P<0.05$)。详见图 3。



注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

图3 3组小鼠肝组织 GSK-3β和 mTOR 蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3 讨论

糖原合酶激酶 3(GSK-3)最初被认为是响应胰岛素信号和葡萄糖代谢的关键糖原合酶和糖原调节剂,关于糖原主要在肝脏中制造和储存,特别是在肝细胞中,通过 GSK-3 控制糖原是必不可少的^[12]。糖原合酶激酶β(GSK-3β)已被证实可以调节组织炎症^[13],但其是否调节炎症反应以及如何调节炎症缓解和激活尚不清楚。从机制上讲,抑制 GSK-3 能通过增强 CREB/AP1 与核内受体激活因子 CBP 的结合来增加 IL-10 的分泌,同时通过阻断 NF-κB p65 与 CBP 的结合来抑制促炎细胞因子的表达^[14]。此外, GSK-3 还能促进 JAK/STAT 通路通过激活 STAT1、STAT3 和 STAT5,调节 LPS 和 IFN-γ 的协同作用,诱导 IL-6 的产生^[15]。GSK-3β作为 GSK-3 组成成分之一,能调节包括巨噬细胞、T 细胞、神经胶质细胞等在内的多种免疫细胞,通过影响它们的增殖、分化、存活、迁移和巨噬细胞极化来参与多种炎症反应^[16-18]。GSK-3β诱导小胶质细胞激活 NF-κB 和内源性 NO 产生 IL-6,促进小胶质细胞迁移和炎症激活^[19]。靶向沉默小鼠 GSK-3β基因,再用 IFN-γ处理其巨噬细胞,发现 GSK-3β表达增加,IL-10 分泌减少,提示 GSK-3β 是调节 IFN-γ炎症通路的关键因素^[20]。另有研究表明,活化的 GSK-3β是 TLRs 刺激后促炎细胞因子产生的必需条件之一^[21],给予 GSK-3β抑制剂可有效抑制多种配体如 Toll 样受体激活导致的促炎因子 IL-6、IL-1β、TNF-α、IL-12 和 IFN-γ表达,同时促进抑炎因子 IL-10 表达^[22]。此外, GSK-3β还可通过调控 NFAT、Smads、β-catenin 等多种转录因子以发挥调节促炎与抗炎作用,进而影响炎症反应过程的发生发展^[23]。mTOR 作为一种葡萄糖代谢调节剂,已被证实是 GSK-3β发挥作用的经典下游靶点^[24],通过自噬从而维持慢性炎症相互作用间的平衡^[25]。

电针作为一种常用的物理刺激,能预防炎症和感染性疾病中器官的损伤^[26]。目前关于电针降低全身炎症反应的机制研究已取得较大进展,多项研究表明,电针可以驱动交感神经反射,激活肾上腺素以诱导局部或全身儿茶酚胺的释放^[27]或驱动迷走神经反射,产生乙酰胆碱达到抗炎作用^[28-29]。

《素问·上古天真论》中女子以七为时间节点,男子以八为时间节点,分别描述了生命衰老周期中存在的生理表现。《灵枢·天年》中载有“五十岁,肝气始衰,肝叶始薄,胆汁始灭,目始不明……百岁五脏皆虚,神气皆去,形骸独居而终矣”,表明人体衰老过程具有整体性,其中肝脏在衰老过程中处于重要作用^[30]。清·陈士铎《辨证录》中有记载“人有老年而健忘者,近事多不记忆,虽人述其前事”,可见衰老是自然界的普遍规律,是生命的正常现象,而衰老过程中伴有疾病发生,则归于已病状态。现代医学认为,人类衰老是一个终身的过程,在促炎反应和抑炎反应之间维持动态平衡,这一过程被称为“炎症衰老”^[31]。《素问·金匱真言》中所述有“东风生于春,病在肝……。东方青色,入通于肝,开窍于目,藏精于肝”,春为一年四季之始,肝属木,喜条达,恶抑郁,承袭春季生生不息之气,肝体阴而用阳,“肝主疏泄”,能促进人体生命活动,调畅全身气机。在五脏生理过程中,肾为先天之本,肝藏血,肾藏精,精血互化,肝肾同源。肾精与肝血共荣共衰。肝调畅气机协助肾之气化,通调水道,促进水液代谢。足厥阴肝经与督脉会于巅而交穴于百会,百会居高而督一身之阳,交经而总气机之会,助肝调畅气机,属气机开阖之要。前期研究基于“益肾调督”原则研究了电针对快速老化小鼠认知障碍及中枢炎症反应的影响,未聚焦外周器官,但肝脏炎症反应也是衰老的表征之一,故本实验在前期的研究基础上,基于肝肾的生理病

理联系,研究电针对肝脏的保护作用以期靶向调控外周器官延缓衰老提供新策略。

本实验结果显示,与正常组比较,模型组小鼠肝脏内 IL-4 表达水平降低,IL-6、GSK-3 β 和 mTOR 表达水平升高,说明在衰老模型组小鼠肝脏内存在典型的炎症反应。与模型组比较,电针组小鼠肝脏内 IL-4 蛋白表达增加,IL-6、GSK-3 β 和 mTOR 蛋白表达降低,IL-4 是多效的抗炎因子,与多种肝脏疾病的发生发展相关^[32],说明电针可能通过下调 GSK-3 β /mTOR 信号通路,降低 IL-6 表达,提高 IL-4 表达,以改善 SAMP8 小鼠肝脏炎症反应。肝脏 HE 染色结果也证实了电针能减轻肝脏炎症损伤的作用。

研究表明,GSK-3 β /mTOR 信号通路能激活 NF- κ B 等多种下游信号靶向调节通路之间的串扰,加速小鼠衰老^[33]。现阶段实验证明,电针能改善 SAMP8 小鼠肝脏促炎因子分泌及炎症细胞浸润等炎症反应,可能与下调 GSK-3 β /mTOR 信号通路有关,但电针有效调控 GSK-3 β /mTOR 信号通路减轻 SAMP8 小鼠肝脏炎症反应乃至调控全身炎症反应的中间环节有待进一步研究。

参考文献

- [1] 王凌,尤鸿美,潘雪银,等.老年性疾病通过 cGAS-STING 通路调控衰老相关分泌表型[J].中国药理学通报,2021(4):450-454.
- [2] KALYAKULINA A, YUSIPOV I, KONDAKOVA E, *et al.* Small immunological clocks identified by deep learning and gradient boosting[J]. *Front Immunol*, 2023(14):1177611.
- [3] MA J, HONG Y, ZHENG N, *et al.* Gut microbiota remodeling reverses aging-associated inflammation and dysregulation of systemic bile acid homeostasis in mice sex-specifically[J]. *Gut Microbes*, 2020(5):1450-1474.
- [4] LÓPEZ-OTÍN C, BLASCO M A, PARTRIDGE L, *et al.* Hallmarks of aging: an expanding universe[J]. *Cell*, 2023(2):243-278.
- [5] LI X, LI C, ZHANG W, *et al.* Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023(1):239.
- [6] 焦梦婷,刘小慧,刘朝奇,等.竹节参总皂苷对衰老大鼠肝脏内质网应激及自噬介导的炎症反应影响[J].中国新药杂志,2020(16):1886-1893.
- [7] BRENNER C, GALLUZZI L, KEPP O, *et al.* Decoding cell death signals in liver inflammation[J]. *J Hepatol*, 2013(3):583-594.
- [8] 刘锐.衰老相关自噬缺失调控巨噬细胞重编程加重肝损伤[D].合肥:安徽医科大学,2022.
- [9] NEVES J, SOUSA-VICTOR P. Regulation of inflammation as an anti-aging intervention[J]. *FEBS J*, 2020(1):43-52.
- [10] CUESTA S, KIREEV R, FORMAN K, *et al.* Melatonin improves inflammation processes in liver of senescence-accelerated prone male mice (SAMP8)[J]. *Experiment Gerontol*, 2010(12):950-956.
- [11] 实验动物常用穴位名称与定位第 3 部分:小鼠[J].针刺研究,2021(5):445-446.
- [12] CHEN C L, TSENG P C, SATRIA R D, *et al.* Role of glycogen synthase kinase-3 in interferon- γ -mediated immune hepatitis[J]. *Internat J Molecul Sci*, 2022(9):4669.
- [13] ZHANG H, NI M, WANG H, *et al.* Gsk3 β regulates the resolution of liver ischemia/reperfusion injury via MerTK[J]. *JCI Insight*, 2023(1):e151819.
- [14] WANG L, LI J, DI L J. Glycogen synthesis and beyond, a comprehensive review of GSK3 as a key regulator of metabolic pathways and a therapeutic target for treating metabolic diseases[J]. *Med Res Rev*, 2022(2):946-982.
- [15] BEUREL E, JOPE R S. Glycogen synthase kinase-3 promotes the synergistic action of interferon-gamma on lipopolysaccharide-induced IL-6 production in RAW264.7 cells[J]. *Cellul Signal*, 2009(6):978-985.
- [16] HAJKA D, BUDZIAK B, PIETRAS Ł, *et al.* GSK3 as a regulator of cytoskeleton architecture: consequences for health and disease[J]. *Cells*, 2021(8):2092.
- [17] PATEL S, WERSTUCK G H. Macrophage function and the role of GSK3[J]. *Internat J Molecul Sci*, 2021(4):2206.
- [18] LAURETTI E, DINCER O, PRATICÒ D. Glycogen synthase kinase-3 signaling in Alzheimer's disease[J]. *Biochimica Et Biophysica Acta Molecul Cell Res*, 2020(5):118664.
- [19] YANG W, LIU Y, XU Q Q, *et al.* Sulforaphene ameliorates neuroinflammation and hyperphosphorylated

- tau protein via regulating the PI3K/Akt/GSK-3 β pathway in experimental models of Alzheimer's disease[J]. *Oxidat Med Cellul Longevity*, 2020:4754195.
- [20] HU X, PAIK P K, CHEN J, *et al.* IFN-gamma suppresses IL-10 production and synergizes with TLR2 by regulating GSK3 and CREB/AP-1 proteins[J]. *Immunity*, 2006 (5) :563–574.
- [21] BEUREL E, MICHALEK S M, JOPE R S. Innate and adaptive immune responses regulated by glycogen synthase kinase-3 (GSK3)[J]. *Trends Immunol*, 2010(1) :24–31.
- [22] MARTIN M, REHANI K, JOPE R S, *et al.* Toll-like receptor-mediated cytokine production is differentially regulated by glycogen synthase kinase 3[J]. *Nature Immunol*, 2005 (8) :777–784.
- [23] DUGO L, COLLIN M, THIEMERMANN C. Glycogen synthase kinase 3 beta as a target for the therapy of shock and inflammation[J]. *Shock (Augusta, Ga.)*, 2007 (2) : 113–123.
- [24] LIU H, PANG Q, CAO F, *et al.* Number 2 feibi recipe ameliorates pulmonary fibrosis by inducing autophagy through the GSK-3 β /mTOR pathway[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2022 (13) :921209.
- [25] DING M R, QU Y J, HU B, *et al.* Signal pathways in the treatment of Alzheimer's disease with traditional Chinese medicine[J]. *Biomed Pharmacother*, 2022 (152) : 113208.
- [26] ULLOA L, QUIROZ-GONZALEZ S, TORRES-ROSAS R. Nerve stimulation: immunomodulation and control of inflammation[J]. *Trends Molecul Med*, 2017 (12) :1103–1120.
- [27] KIM H W, UH D K, YOON S Y, *et al.* Low-frequency electroacupuncture suppresses carrageenan-induced paw inflammation in mice via sympathetic post-ganglionic neurons, while high-frequency EA suppression is mediated by the sympathoadrenal medullary axis[J]. *Brain Res Bulletin*, 2008 (5) :698–705.
- [28] SONG X M, WU X J, LI J G, *et al.* The effect of electroacupuncture at ST36 on severe thermal injury-induced remote acute lung injury in rats[J]. *Burns*, 2015 (7) :1449–1458.
- [29] CHI L, DU K, LIU D, *et al.* Electroacupuncture brain protection during ischemic stroke: a role for the parasympathetic nervous system[J]. *J Cerebral Blood Flow Metabol*, 2018 (3) :479–491.
- [30] 张月, 白德高, 霍冉, 等. 基于线粒体自噬研究补肝散对衰老大鼠肝脏损伤的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2023 (3) :1039–1045.
- [31] FRANCESCHI C, BONAFÈ M, VALENSIN S, *et al.* Inflamm-aging an evolutionary perspective on immuno-senescence[J]. *Ann New York Acade Sci*, 2000 (908) : 244–254.
- [32] 赵春娥, 田冰, 刘刚, 等. IL-4 和 IL-10 基因多态性与肺结核患者抗结核药物性肝损伤的关联[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022 (4) :535–539.
- [33] SAUL D, KOSINSKY R L. Epigenetics of aging and aging-associated diseases[J]. *Internat J Molecul Sci*, 2021 (1) :401.

收稿日期 2024-03-02