

- [J]. 药学研究, 2017, 36(2): 99-103.
- [18] 李红, 张艳, 于宜平, 等. 大黄解热作用与降低血浆一氧化氮作用的 PK-PD 研究[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(8): 1231-1236.
- [19] Charalambous M, Lightfoot T, Speirs V, et al. Expression of COX-2, NF- κ B-p65, NF- κ B-p50 and IKK α in malignant and adjacent normal human colorectal tissue [J]. *Br J Cancer*, 2009, 101(1): 106-115.
- [20] 周蓓, 陈誉丹, 冯莉婷, 等. 石膏粳米汤对干酵母致热大鼠解热抗炎及核因子- κ Bp65、环氧合酶-2 表达的影响 [J]. 科学技术与工程, 2018, 18(26): 165-170.

委陵菜酸调控 PI3K/Akt/mTOR 通路对肝星状细胞活化增殖的影响

李艳¹, 张晓琳¹, 韦园园¹, 温淑娟¹, 林兴¹, 黄权芳^{2*}

(1. 广西医科大学, 广西南宁 530021; 2. 广西中医药大学第一附属医院, 广西南宁 530023)

摘要:目的 探讨委陵菜酸对人肝星状细胞 (LX-2) 细胞增殖、活化以及对 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响, 分析其抗肝纤维化的作用机制。方法 用人血小板衍生生长因子-BB (PDGF-BB) 刺激 LX-2 构建细胞模型。试剂盒检测细胞中 LDH 水平, MTT 法检测 LX-2 细胞增殖, 细胞划痕和集落生成实验观察 LX-2 细胞迁移和增殖情况, RT-qPCR 检测 Col-I、Col-III mRNA 表达, Western blot 检测 Col-I、PI3K、AKT、mTOR 等信号通路相关蛋白表达。结果 与正常组比较, PDGF-BB 促进 LX-2 细胞增殖, 增加 Col-I mRNA 和蛋白表达, 提高 PI3K、Akt、p70S6K、mTOR 蛋白的磷酸化水平; 与刺激组比较, 委陵菜酸和 LY294002 均能抑制细胞增殖和迁移, 减少 Col-I 蛋白表达、降低 Col-I 和 Col-III mRNA 表达, 抑制细胞内 PI3K、AKT、mTOR 蛋白的磷酸化水平。结论 委陵菜酸能抑制 LX-2 细胞的活化、增殖, 减少纤维化胶原的表达, 其机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关。

关键词: 委陵菜酸; 人肝星状细胞 (LX-2); PI3K/Akt/mTOR 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2022)06-1965-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2022.06.043

肝纤维化是肝脏对各种慢性刺激进行的损伤修复反应, 也是以胶原为主的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 在肝内大量沉积的病理过程^[1-2]。肝星状细胞 (hepatic stellate cells, HSCs) 是 ECM 的主要来源, 在肝纤维化的发展进程中发挥着关键的作用^[3]。活化的 HSCs 可通过在肝损伤部位移行、增殖, 表达各种信号传导蛋白, 并产生大量细胞因子和以胶原为主的细胞外基质成分, 是肝纤维化形成的始动环节^[4]。PI3K/Akt/mTOR 通路是参与肝纤维化发生发展的重要信号传导通路之一^[5], 可调节 HSCs 增殖、活化和凋亡, 是目前治疗肝纤维化较有效的干预靶点^[3]。

中药具有多成分、多环节、多靶点的作用特点, 对病理复杂的肝纤维化可发挥综合优势^[6]。委陵菜是蔷薇科植物委陵菜 *Potentilla chinensis* Ser. 的全草, 在前期对委陵菜进行化学成分提取、分离及其活性成分筛选研究中, 得到委陵菜酸, 并在 LPS/D-GalN 诱导的小鼠肝损伤模型中发现, 委陵菜酸可降低炎症相关因子的表达, 抑制 NF- κ B 活性, 减轻肝组织病理的损伤程度^[7]。本研究以 PI3K/Akt/mTOR 信号通路为切入点, 探讨委陵菜酸对血小板衍生因

子-BB (platelet derived growth factor-BB, PDGF-BB) 诱导活化的肝星状细胞 LX-2 的抗纤维化作用机制, 为其治疗肝纤维化提供依据。

1 材料

1.1 细胞 人肝星状细胞株 LX-2 购自上海美轩生物科技有限公司。

1.2 试剂与药物 人 PDGF-BB (美国 PeproTech 公司, 批号 0507CY420); PI3K 抑制剂 LY294002 (美国 Medchemexpress 公司); DMEM 高糖培养基 (美国 HyClone 公司); 胎牛血清 (澳大利亚 AusGeneX 公司); 兔抗 Collagen-I 多克隆抗体、鼠抗 PI3K 多克隆抗体、兔抗 mTOR 多克隆抗体 (美国 Proterntech 公司); 兔抗磷酸化 PI3K 多克隆抗体 (美国 Signalway Antibody 公司, 批号 5602); 兔抗 Akt 多克隆抗体、兔抗磷酸化 Akt 多克隆抗体、兔抗磷酸化 mTOR 多克隆抗体、兔抗 P70S6K 多克隆抗体、兔抗磷酸化 P70S6K 多克隆抗体 (美国 Cell Signaling Technology 公司); PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司); BCA 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); Western 转膜液、封闭液

收稿日期: 2020-09-03

基金项目: 国家自然科学基金 (81660686)

作者简介: 李艳 (1994—), 女, 硕士生, 从事肝纤维化研究。Tel: (0771) 5358129, E-mail: liyan260@163.com

*通信作者: 黄权芳 (1973—), 女, 硕士, 主任药师, 从事中药靶向治疗肝脏疾病研究。E-mail: hqf00@126.com

(上海碧云天生物技术有限公司); 聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜 (美国 Millipore 公司, 批号 R5HA8393E)。委陵菜酸 (纯度 90.08%), 提取分离参照前期研究方法^[7]。

1.3 仪器 超微量分光光度计、酶联免疫检测仪 (美国 Thermo Fisher 公司); 7300 荧光定量 PCR 仪 (美国 Applied Biosystem 公司); 双色红外荧光扫描成像系统 (美国 LICOR 公司)。

2 方法

2.1 委陵菜酸的配制 称取适量委陵菜酸加入 DMSO 溶解, 配置成浓度 10 mmol/L 的溶液, 用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 即得, 于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

2.2 细胞培养和分组 设置 6 个组, 分别为正常组、刺激组 (PDGF-BB 20 ng/mL)、LY294002 组 (PDGF-BB 20 ng/mL + LY294002 20 $\mu\text{mol/L}$) 和委陵菜酸高、中、低剂量组 (PDGF-BB 20 ng/mL + 委陵菜酸 35、25、15 $\mu\text{mol/L}$)。将 LX-2 细胞株置于含 10% 胎牛血清、1% 青霉素-链霉素的 1640 培养液中, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中贴壁培养, 每 1~2 d 更换培养液。待细胞生长至单层致密状, 弃培养液, PBS 洗 2 次, 用 0.25% 胰蛋白酶消化并传代或冻存。

2.3 MTT 法检测细胞增殖情况 取对数生长期 LX-2 细胞接种于 96 孔板培养 24 h, 加入委陵菜酸 (10~60 $\mu\text{mol/L}$) 继续培养 24 h, 加入 MTT 溶液 10 μL , 使用酶标仪于 490 nm 波长测各孔光密度 (OD) 值, 计算半抑制浓度 (IC_{50})。LX-2 细胞接种于 96 孔板, 除正常组外, 其余各组用 20 ng/mL PDGF-BB 预处理 30 min, 刺激组加入完全培养基, 药物组分别加入 15、25、35 $\mu\text{mol/L}$ 委陵菜酸和 20

$\mu\text{mol/L}$ 的 LY294002, 作用 24 h 后弃去原培养基, 每孔加入 90 μL 无血清培养基和 10 μL MTT 继续培养 4 h, 弃去培养基后加入 100 μL DMSO, 使用酶标仪在 490 nm 处检测每个孔的 OD 值, 计算抑制率。

2.4 LDH 活性的检测 将 LX-2 细胞以每孔 1×10^4 个的密度接种于 96 孔板, 待细胞生长贴壁后, 按“2.3”项下分组和给药, 培养 24 h。收集上清液, 按说明书步骤处理后, 使用酶标仪在 450 nm 处检测 OD 值, 并对细胞 LDH 值进行量化^[8]。

2.5 细胞迁移实验 取对数生长期 LX-2 细胞接种于 6 孔板, 待细胞贴壁后, 用枪头垂直于直尺, 对单层细胞划出一条无细胞的刮除带, 用 PBS 洗去划下的细胞后, 按“2.3”项下分组和给药, 并分 2 个时间段 (0、24 h) 观察并拍照^[9]。

2.6 集落生成实验 取对数生长期 LX-2 细胞接种于 6 孔板, 细胞密度为每孔 500 个。第 2 天更换为无血清培养基, 同步饥饿细胞 6 h。按“2.3”项下分组和给药, 将 6 孔板置于恒温培养箱中继续培养 7 d, 用 0.1% 结晶紫对细胞固定染色, 在显微镜下观察菌落大小和数量等集落的生成情况。50 个以上细胞组成的细胞团, 计为 1 个集落。

2.7 RT-qPCR 法检测相关基因 mRNA 表达 收集各组细胞, 采用 Trizol 一步法提取细胞 RNA, 用超微量分光光度法检测总 RNA 浓度, 并通过逆转录得到 cDNA。采用 PCR 仪以 20 μL 体系开始扩增, 扩增条件为 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 31 s, 循环 40 次^[10], 引物序列见表 1。

表 1 引物序列表

基因名称	正向引物 (5'→3')	反向引物 (5'→3')	长度/bp
Col-I	GACATGTTTCAGCTTTGTGGACCTC	AGGGACCCCTTAGGCCATTGTGTA	120
Col-III	TTTGGCACAGCAGTCCAATGTA	GACAGATCCCGAGTCGCAGA	121
GAPDH	GCACCGTCAAGGCTGAGAAC	TGGTGAAGACGCCAGTGGA	138

2.8 蛋白免疫印迹法检测相关蛋白表达 收集各组细胞, 加入含 RIPA 缓冲液、1% 蛋白酶抑制剂和 1% 磷酸酶抑制剂的裂解液裂解细胞, 冰面上静置 10 min, 离心取上清液^[11], 即得, 用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度。用 10% SDS-PAGE 凝胶将蛋白质按分子量大小进行分离, 电泳结束后, 将蛋白质转移到 PVDF 膜上, 封闭后与一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 辣根过氧化物酶标记的大鼠 IgG 二抗孵育, 免疫反应带的强度用双色红外荧光扫描成像测定, 采用 Image-Pro Plus 图像分析管理系统分析^[7]。

2.9 统计学分析 采用 SPSS 17.0 软件进行处理, 结果以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 经方差齐性检验, 方差齐则采用单因素方差分析; 方差不齐则采用秩和检验。P<0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞 LDH 活性的影响 委陵菜酸对 LX-2 细胞 IC_{50} 为 43.287 $\mu\text{mol/L}$ 。与刺激组比较, 药物干预后 LX-2 细胞 LDH 活性随浓度增加而升

高 ($P<0.01$), 对细胞有一定毒性, 见表 2。

表 2 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞 LDH 活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	LDH/($\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常组	274.986 $\pm$ 3.185
刺激组	294.208 $\pm$ 5.715 [#]
LY294002 组	418.784 $\pm$ 4.505 ^{**}
委陵菜酸高剂量组	398.813 $\pm$ 2.449 ^{**}
委陵菜酸中剂量组	387.722 $\pm$ 5.324 ^{**}
委陵菜酸低剂量组	346.909 $\pm$ 4.661 ^{**}

注: 与正常组比较, [#] $P<0.05$; 与刺激组比较, ^{**} $P<0.01$ 。

3.2 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞增殖的影响 与正常组比较, 20 ng/mL PDGF-BB 促进 LX-2 细胞的增殖 ($P<0.01$); 与刺激组比较, 委陵菜酸和 LY294002 对 PDGF-BB 引起的细胞增殖具有抑制作用 ($P<0.01$), 并呈剂量依赖性, 见表 3。

表 3 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞增殖的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	OD 值	抑制率/%
0.4% DMSO 组	0.860±0.026	—
正常组	0.869±0.041	—
刺激组	1.173±0.038 ^{##}	-34.98 ^{##}
LY294002 组	0.563±0.014 ^{**}	35.21 ^{**}
委陵菜酸高剂量组	0.542±0.033 ^{**}	37.63 ^{**}
委陵菜酸中剂量组	0.714±0.014 ^{**}	17.84 ^{**}
委陵菜酸低剂量组	0.797±0.023 ^{**}	8.29 ^{**}

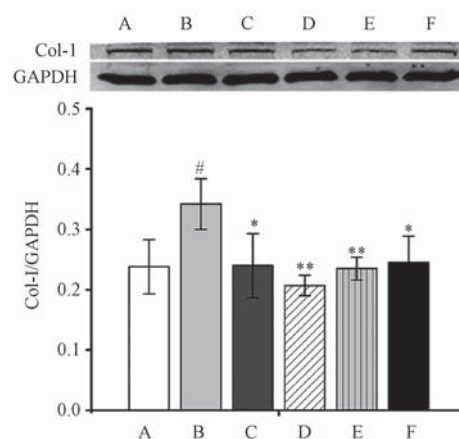
注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与刺激组比较,^{**} $P<0.01$ 。

3.3 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞活化的影响 与正常组比较,PDGF-BB 刺激后 LX-2 细胞 Col-I 蛋白表达升高 ($P<0.05$),表明 LX-2 细胞已被激活;与刺激组比较,委陵菜酸干预能抑制活化的 LX-2 细胞 Col-I 蛋白表达 ($P<0.05$, $P<0.01$),且呈现剂量依赖性,见图 1。与刺激组比较,委陵菜酸干预能抑制 Col-I 和 Col-III mRNA 表达 ($P<0.01$),见表 4。

表 4 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞 Col-I 和 Col-III mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	Col-I	Col-III
正常组	1.001±0.019	1.000±0.021
刺激组	1.224±0.010 ^{##}	1.312±0.032 ^{##}
LY294002 组	0.609±0.003 ^{**}	0.503±0.063 ^{**}
委陵菜酸高剂量组	0.543±0.023 ^{**}	0.566±0.016 ^{**}
委陵菜酸中剂量组	0.594±0.017 ^{**}	0.674±0.009 ^{**}
委陵菜酸低剂量组	0.710±0.034 ^{**}	0.801±0.037 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与刺激组比较,^{**} $P<0.01$ 。



注: A 为正常组, B 为刺激组, C 为 LY294002 组, D~F 为委陵菜酸高、中、低剂量组。与正常组比较,[#] $P<0.05$;与刺激组比较,^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

图 1 委陵菜酸对 PDGF-BB 激活的 LX-2 细胞 Col-I 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

3.4 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞迁移的影响 如图 2、表 5 所示,与正常组比较,刺激组 LX-2 细胞迁移距离增加 ($P<0.01$),PDGF-BB 促进了 LX-2 细胞的迁移;与刺激组比较,各给药组 LX-2 细胞迁移距离缩短 ($P<0.01$),委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞迁移具有抑制作用,且呈剂量依赖性。

3.5 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞集落形成的影响 如图 3、表 6 所示,与正常组比较,PDGF-BB 促进了 LX-2 细胞的集落形成 ($P<0.01$);与刺激组比较,药物

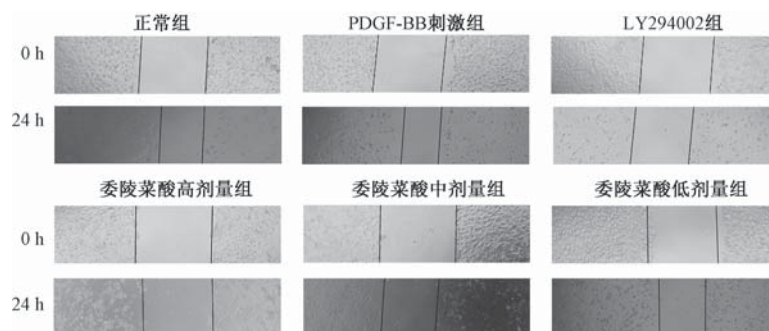


图 2 各组 LX-2 细胞迁移的情况 ($\times 100$)

表 5 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞迁移的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	划痕愈合率/%
正常组	39.33±1.13
刺激组	55.78±7.98 ^{##}
LY294002 组	21.49±3.45 ^{**}
委陵菜酸高剂量组	22.94±4.28 ^{**}
委陵菜酸中剂量组	28.66±1.71 ^{**}
委陵菜酸低剂量组	32.88±4.75 ^{**}

注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与刺激组比较,^{**} $P<0.01$ 。

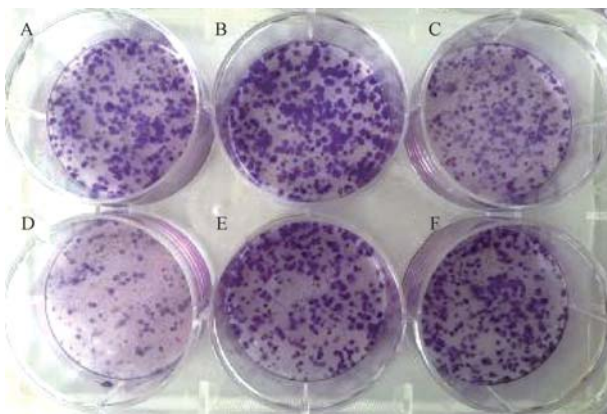
干预可抑制 LX-2 细胞的集落形成 ($P<0.01$),其抑制率呈剂量依赖性。

表 6 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞集落形成的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

组别	集落形成率/%
正常组	49.733±6.525
刺激组	68.400±6.609 ^{##}
LY294002 组	68.533±6.745
委陵菜酸高剂量组	18.067±2.318 ^{**}
委陵菜酸中剂量组	37.600±4.359 ^{**}
委陵菜酸低剂量组	44.500±3.764 ^{**}

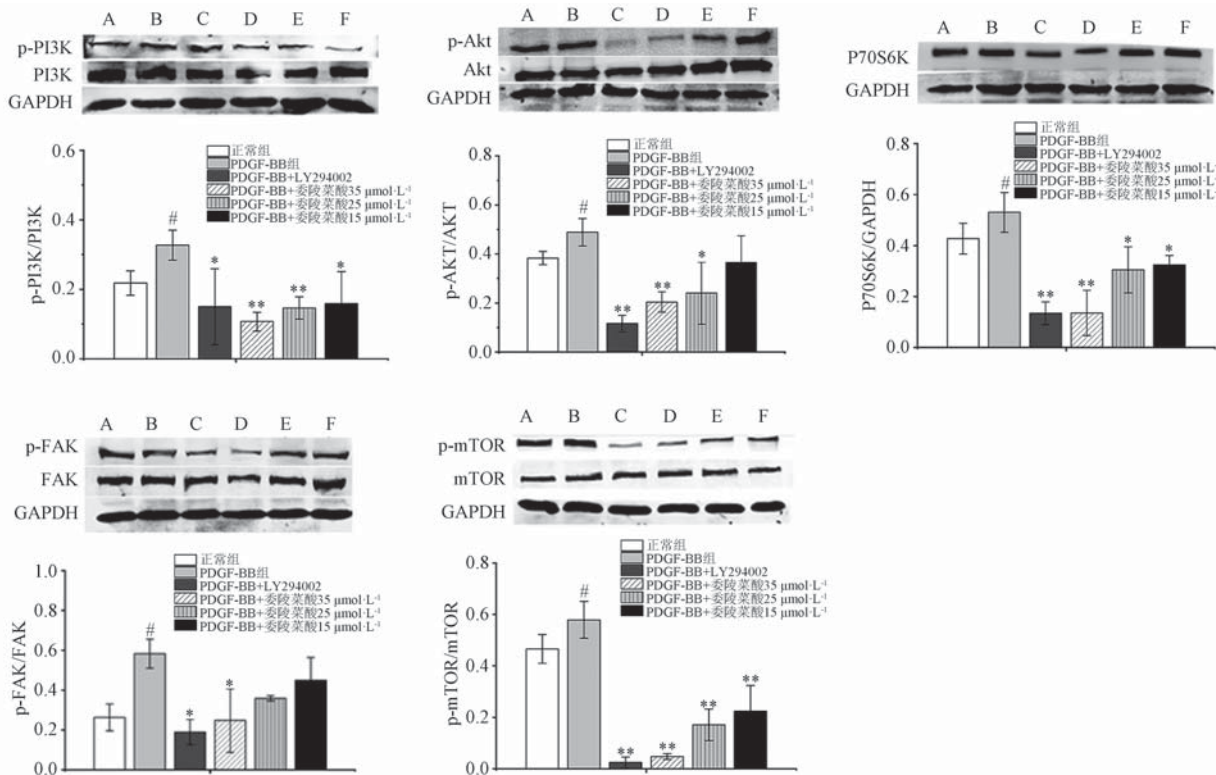
注:与正常组比较,^{##} $P<0.01$;与刺激组比较,^{**} $P<0.01$ 。

3.6 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞 PI3K/Akt/mTOR 信号通路蛋白表达的影响 如图 4 所示,与正常组比较,



注: A 为正常组, B 为刺激组, C 为 LY294002 组, D~F 为委陵菜酸高、中、低剂量组。

图3 各组 LX-2 细胞集落形成的情况



注: A 为正常组, B 为刺激组, C 为 LY294002 组, D~F 为委陵菜酸高、中、低剂量组。与正常组比较, # $P < 0.05$; 与刺激组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图4 委陵菜酸对 PDGF-BB 刺激 LX-2 细胞 PI3K/Akt/mTOR 信号通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

有效的激活剂,当肝脏受到刺激时,PDGF 被 HSCs 以自分泌或旁分泌途径被释放, HSCs 的 PDGF 受体被诱导至细胞表面,二者形成一个有效的正反馈环,不断激活 HSCs^[14],同时 PDGF 还可激活下游 PI3K、ERK 和其他途径的信号传导,促进其增殖、迁移和分泌 ECM^[12]。通过 PDGF-BB 刺激 HSCs 后,加入委陵菜酸 24 h,发现 LX-2 细胞增殖被抑制。提示委陵菜酸对活化的 LX-2 细胞有抑制作用。

HSCs 活化后,增殖和迁移能力增强^[14]。PDGF-BB 刺激后 LX-2 细胞的增殖率和迁移率升高;LY294002 和委陵菜酸均能抑制 LX-2 细胞的增殖和迁移,并呈剂量依赖性。

PDGF-BB 刺激上调了 LX-2 细胞 p-Akt、p-PI3K、P70S6K、p-FAK、p-mTOR 蛋白表达 ($P < 0.05$);与刺激组比较,药物干预下调了 LX-2 细胞 p-Akt、p-PI3K、P70S6K、p-FAK、p-mTOR 蛋白表达 ($P < 0.01$),且呈剂量依赖性。

4 讨论

肝纤维化是各种慢性肝脏疾病向肝硬化发展的必经阶段^[4]。HSCs 在肝纤维化过程中扮演着重要角色,其活化、增殖是肝纤维化形成的关键环节^[12]。在正常情况下, HSCs 处于静息状态,主要负责储存维生素 A,当受到外界刺激时,细胞形态发生改变,胞内的维生素 A 消失, HSCs 发生活化,转变成成为肌成纤维样细胞^[13],活化的 HSCs 增殖、迁移和收缩能力增强,以胶原为主的 ECM 释放增加,导致肝纤维化的发生^[5]。因此,抑制 HSCs 细胞活化和减少细胞外基质的合成是逆转肝纤维化的关键。PDGF-BB 是对 HSCs

提示委陵菜酸具有抑制 LX-2 细胞增殖和迁移的能力。

HSCs 细胞表型发生转化后,合成 ECM 的能力增加,大量 Col-I 和 Col-III 因溶解失衡而过度沉积,从而造成肝纤维化的发生^[5],胶原水平的高低可以反映肝纤维化程度。PDGF-BB 刺激后 LX-2 细胞 Col-I 表达增加,委陵菜酸干预能下调 Col-I 蛋白表达,且可降低 Col-I 和 Col-III mRNA 表达。提示委陵菜酸能抑制 HSCs 的 ECM 过度沉积及胶原的形成,从而达到抗肝纤维化的作用。

PI3K/Akt/mTOR 信号通路在促进细胞生长、增殖、分化,促进细胞运动、侵袭,抗凋亡以及肝纤维化的发展中

发挥重要作用^[9]。PI3K 是细胞生长信号通路中一个重要的激酶,当 PDGF 与相应的配体结合后,能与 PI3K 85 kDa 亚基结合,使其发生磷酸化活化^[15],磷酸化的 PI3K 促进 Akt 聚集于细胞膜上并被活化,活化的 Akt 可直接磷酸化 mTOR 致其激活,mTOR 激活后可通过下游核糖体 S6 蛋白激酶通路调控细胞的生长和增殖^[15]。细胞粘附斑激酶可作为 PI3K/Akt/mTOR 信号通路上游刺激因子,调节细胞生长^[8]。PDGF-BB 刺激 24 h, LX-2 细胞中 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-FAK 蛋白表达上调,PI3K/Akt 通路被激活。委陵菜酸和 LY294002 干预下调了细胞中 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-FAK 蛋白表达。提示委陵菜酸能够抑制 HSCs 活化和增殖、减少胶原沉积,其机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路有关。

综上所述,委陵菜酸可通过 PI3K/Akt/mTOR 信号途径有效抑制 HSCs 活化,起到抗纤维化的作用。

参考文献:

- [1] Puche J E, Saiman Y, Friedman S L. Hepatic stellate cells and liver fibrosis[J]. *Comprehensive Physiology*, 2013, 3(4): 1473.
- [2] 梁 群, 邢金梅, 何学斌. 缬草萜内酯对体外诱导肝星状细胞增殖及氧化应激反应的影响[J]. *中成药*, 2019, 41(5): 1168-1171.
- [3] 李丝冰, 贾玉杰. 肝纤维化细胞外基质和星状细胞间的相互作用[J]. *生理科学进展*, 2014, 45(6): 462-464.
- [4] Miao Y, Wu Y, Jin Y, *et al.* Benzoquinone derivatives with antioxidant activity inhibit activated hepatic stellate cells and attenuate liver fibrosis in TAA-induced mice[J]. *Chem Bio Inter*, 2020, 317: 108945.
- [5] Hernandez-Gea V, Friedman S L. Pathogenesis of liver fibrosis[J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6(1): 425-456.
- [6] Zou Y H, Yang Y, Li J, *et al.* Potential therapeutic effects of a traditional Chinese formulation, BJ-JN, on liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2008, 120(3): 452-457.
- [7] Lin X, Zhang S, Huang R, *et al.* Protective effect of tormentic acid from *Potentilla chinensis* against lipopolysaccharide/D-galactosamine induced fulminant hepatic failure in mice[J]. *Inter Immuno*, 2014, 19(2): 365-372.
- [8] Bai F, Huang Q, Nie J, *et al.* Trolline ameliorates liver fibrosis by inhibiting the NF-κB pathway, promoting hsc apoptosis and suppressing autophagy[J]. *Cell Physiol and Biochem*, 2017, 44(2): 436-446.
- [9] Xu A, Li Y Q, Zhao W, *et al.* PHP14 regulates hepatic stellate cells migration in liver fibrosis via mediating TGF-β1 signaling to PI3Kγ/AKT/Rac1 pathway[J]. *J Mole Med*, 2018, 96(2): 119-133.
- [10] Lin X, Wei J, Chen Y, *et al.* Isoorientin from *Gypsophila elegans* induces apoptosis in liver cancer cells via mitochondrial-mediated pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 187: 187-194.
- [11] Huang Q, Liang C, Wei L, *et al.* Raf kinase inhibitory protein down-expression exacerbates hepatic fibrosis *in vivo* and *in vitro* [J]. *Cell Physiol and Biochem*, 2016, 40(1-2): 49-61.
- [12] Lee U E, Friedman S L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis[J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2011, 25(2): 195-206.
- [13] Friedman S L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver[J]. *Physiol Rev*, 2008, 88(1): 125-172.
- [14] Higashi T, Friedman S L, Hoshida Y. Hepatic stellate cells as key target in liver fibrosis[J]. *Adv Drug Delivery Rev*, 2017, 121: 27-42.
- [15] Wei X, Luo L, Chen J. Roles of mTOR signaling in tissue regeneration[J]. *Cells*, 2019, 8(9): 1075.