

## 老鼠筋生物碱 A 对肝纤维化大鼠 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路的影响

黄秀昆, 孙雪梅, 韦秀桂, 王红园, 朱勋帅, 刘林, 林兴, 林军\*

广西医科大学药学院, 广西南宁 530021

**摘要:**目的 观察老鼠筋生物碱 A (HBOA) 对四氯化碳 (CCl<sub>4</sub>) 致肝纤维化大鼠磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)/p70 核糖体蛋白 S6 激酶 (p70S6K) 信号通路的影响, 探讨 HBOA 抗肝纤维化的作用机制。方法 大鼠随机分成对照组、模型组及 HBOA 高、中、低剂量 (100、50、25 mg/kg) 组和秋水仙碱 (0.4 mg/kg) 组。除对照组外, 其余各组 ig 给予 50% CCl<sub>4</sub> 橄榄油溶液, 每周 2 次, 连续 12 周, 诱导肝纤维化大鼠模型。于造模第 9 周起, 给药组分别 ig 给予相应的受试药物, 每天 1 次, 给药 4 周。实验结束后, 计算各组大鼠体质量变化、肝脏指数; 检测各组大鼠肝匀浆中丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST) 活性; 蛋白免疫印迹法 (Western blotting) 法检测肝组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 蛋白的表达。结果 与模型组比较, 各给药组大鼠体质量增加量显著升高, 均能降低肝脏指数及肝组织中 ALT、AST 活性; 此外, HBOA 高、中剂量组均能显著抑制 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 蛋白的表达。结论 HBOA 对肝纤维化大鼠具有一定的保护作用, 其机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路有关。

**关键词:** 老鼠筋生物碱 A; 肝纤维化; PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路; 丙氨酸转氨酶; 天冬氨酸转氨酶

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)02-0457-05

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.027

## Effect of *Acanthus ilicifolius* alkaloid A on PI3K/Akt/mTOR/p70S6K signaling pathway in rats with hepatic fibrosis

HUANG Xiu-kun, SUN Xue-mei, WEI Xiu-gui, WANG Hong-yuan, ZHU Xun-shuai, LIU Lin, LIN Xing, LIN Jun

College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

**Abstract: Objective** To observe the effect of *Acanthus ilicifolius* alkaloid A (HBOA) on PI3K/AKT/mTOR/p70S6K signaling pathway in rats with hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>), and to explore the mechanism of action of HBOA against liver fibrosis. **Methods** Rats were randomly divided into normal group, model group, high, medium; and low-dose HBOA groups (100, 50, 25 mg/kg), and colchicine group (0.4 mg/kg). Except for the normal group, the rats in other groups were given with a 50% CCl<sub>4</sub> olive oil solution twice a week for 12 weeks to induce a rat model of liver fibrosis. From the ninth week of modeling, the drug-administered group was given the corresponding test drug once daily for 4 weeks. After the experiment, the body mass change and liver index were calculated. The levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in the liver homogenate of each group were detected. The protein expression of p-PI3K, p-Akt, p-mTOR, and p-p70S6K in liver tissue was detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the body weight of mice of each drug-administered group was significantly increased, and the liver index, and ALT and AST levels were decreased in liver tissue. In addition, HBOA high and medium-dose groups significantly inhibited the protein expression of p-PI3K, p-Akt, p-mTOR, and p-p70S6K. **Conclusion** HBOA has a protective effect on hepatic fibrosis rats, and its mechanism may be related to the inhibition of PI3K/Akt/mTOR/p70S6K signaling pathway.

**Key words:** *Acanthus ilicifolius* alkaloid A; hepatic fibrosis; PI3K/Akt/mTOR/p70S6K signaling pathway; ALT; AST

肝纤维化是肝脏在不同的代谢、病毒和化学毒性刺激下急性或慢性损伤引起的持续疤痕反应所致的肝脏病理性特征<sup>[1]</sup>。而激活的肝星状细胞 (HSCs) 是肝纤维化发生发展的开端, 在肝纤维化过程中扮

收稿日期: 2018-11-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81660106)

作者简介: 黄秀昆, 硕士研究生, 研究方向为中药药理学。Tel: (0771)5302433 E-mail: hxk615386@163.com

\*通信作者 林军, 博士, 教授, 研究方向为中药药理学。Tel: (0771)5302433 E-mail: junlin898@126.com

扮演着重要的角色。活化的 HSCs 在肝损伤部位移行、增殖、分化,产生大量细胞外基质 (ECM) 和细胞因子,是肝纤维化形成的中心环节,而磷酸肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR)/p70 核糖体蛋白 S6 激酶 (p70S6K) 信号通路在肝纤维化的发生发展过程中有非常重要的调节作用,其参与细胞增殖、分化和凋亡等多种细胞功能的调节<sup>[2-5]</sup>。因此,调控 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路对抗肝纤维化有重要的意义。

老鼠筋 *Acanthus ilicifolius* L. 是一种爵床科老鼠筋属的红树林植物,其可用于急、慢性肝炎,淋巴肿大,肝脾肿大等<sup>[6]</sup>。国内外研究表明其乙醇提取物具有抗氧化、保肝、抗菌和抗肿瘤等药理作用<sup>[7-10]</sup>。老鼠筋生物碱 A (4-羟基苯并噁唑-2-酮, HBOA) 是本课题组用乙醇从老鼠筋中提取出来的一种生物碱,现在已经可以化学合成。本研究采用 CCl<sub>4</sub> 制备大鼠肝纤维化模型,观察大鼠肝组织中 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路变化,旨在探讨 HBOA 对 CCl<sub>4</sub> 诱导肝纤维化大鼠肝脏的保护作用及机制。

## 1 材料

### 1.1 仪器

Spectra Max Plus384 连续光谱扫描式酶标仪 (美国 Molecular Devices 公司); 5810R 型高速冷冻离心机 (德国 eppendorf 公司); DW-86L628 型超低温冰箱 (青岛海尔股份有限公司); Sa 型 Odyssey 双色红外荧光扫描成像系统 (美国 Licor 公司); SWB-20L-1 恒温摇床、MP-300V 型电泳仪、转膜仪 (Major Science 公司)。

### 1.2 药品与试剂

HBOA 由广西医科大学药学院药物化学教研室合成 (质量分数 99.4%); 丙氨酸转氨酶 (ALT), 天冬氨酸转氨酶 (AST) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); Akt、p-Akt、p-mTOR、p70S6K 抗体 (美国 CST 公司); PI3K、mTOR 抗体 (武汉三鹰生物技术有限公司); p-PI3K、p-p70S6K 抗体 (美国 SAB 公司); GAPDH 抗体 (美国 Abcam 公司); 二抗 (美国 LI-COR 公司); 秋水仙碱片 (批号 20160901, 规格 0.5 mg, 云南植物药业有限公司)。

### 1.3 动物

雄性 SD 大鼠 72 只, 体质量 (200±20) g, 由

广西医科大学实验动物中心提供, 实验动物使用许可证号 SYXK (桂) 2014-0003, 实验动物生产许可证号 SCXK (桂) 2014-0002。实验大鼠在标准实验室内饲养, 每天光照 12 h, 环境温度及湿度均适宜。

## 2 方法

### 2.1 分组及给药

大鼠适应性饲养后, 分为对照组、模型组及 HBOA 高、中、低剂量 (100、50、25 mg/kg) 组和阳性对照秋水仙碱 (0.4 mg/kg) 组, 每组 12 只。除对照组外, 其余各组 ig 给予 50% CCl<sub>4</sub> 橄榄油溶液, 对照组给予相应体积橄榄油, 每周 2 次, 连续 12 周。造模第 9 周起, 给药组分别 ig 给予相应的受试药物, 对照组和模型组 ig 等量溶媒, 每天 1 次, 连续 4 周。

### 2.2 标本的采集及处理

12 周后, 处死大鼠, 取新鲜肝组织 500 mg 左右, 按 1:9 加入枸橼酸缓冲液, 制成 10% 肝匀浆液, 4 °C、3 000×g 离心 15 min, 取上清液分装, -80 °C 保存备用。

### 2.3 各组大鼠生命体征、体质量变化、肝脏指数及大鼠肝组织中 ALT、AST 水平检测

大鼠适养 1 周后, 第 1 次 ig CCl<sub>4</sub> 前称量大鼠体质量。每天观察各组大鼠食欲及精神状况并记录, 使用酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒检测大鼠肝组织 ALT、AST 的量, 严格按照试剂盒的操作步骤进行检测。末次给药后禁食 8 h, 处死大鼠前称量各组大鼠体质量, 计算实验前后大鼠体质量变化。处死大鼠后, 取出肝脏, 称肝脏湿质量, 计算肝脏指数。

肝脏指数 = 肝脏湿质量 / 末次体质量

### 2.4 Western blotting 法检测大鼠肝组织中 p-PI3K、p-Akt、mTOR、p70S6K 蛋白表达

根据蛋白提取试剂盒说明书步骤提取蛋白, BCA 法检测样品蛋白浓度, 蛋白样品按照 4:1 加入 5×上样缓冲液, 95 °C 变性 10 min, 将分装好的蛋白置于 -80 °C 冰箱保存备用。取样品蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 再湿转法转移至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜, 用封闭液封闭 1 h 后, 再分别与一抗 PI3K (1:1 000)、p-PI3K (1:1 000)、Akt (1:1 000)、p-Akt (1:1 000)、mTOR (1:1 000)、p70S6K (1:1 000)、p-mTOR (1:1 000)、p-p70S6K (1:1 000) 抗体反应, 4 °C 孵育过夜, 经 TBST 摇床震荡漂洗 3 次各 10 min, 加入二抗室温孵育 1 h, 取出再 TBST

摇床震荡漂洗 3 次各 10 min 后, 扫膜。以 GAPDH 作为内参, 进行定量分析。

### 2.5 统计学分析

采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。实验数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 各项指标采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行组间比较, 组间差异用 LSD 检验。

## 3 结果

### 3.1 HBOA 对肝纤维化大鼠一般状态及体质量的影响

对照组大鼠精神状态好, 且食欲旺盛。模型组

大鼠毛发光泽度差, 体质量增长较缓慢, 多数大鼠食欲较差。HBOA 各剂量组和秋水仙碱组大鼠精神状态较好, 整体状态优于模型组大鼠。与对照组比较, 模型组大鼠体质量增加量明显降低 ( $P < 0.01$ )。与模型组比较, HBOA 各剂量组和秋水仙碱组大鼠体质量增加量明显升高 ( $P < 0.01$ )。见表 1。

### 3.2 HBOA 对肝纤维化大鼠肝脏指数的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肝脏指数明显增加 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, HBOA 各剂量组及秋水仙碱组大鼠肝脏指数明显降低 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 1 HBOA 对肝纤维化大鼠体质量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 1 Effect of HBOA on body weight of hepatic fibrosis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	体质量/g		体质量增加量/g
		实验前	实验后	
对照	—	195.14 ± 9.69	447.29 ± 28.64	252.14 ± 25.17
模型	—	194.67 ± 7.45	343.93 ± 23.70	149.27 ± 16.75**
秋水仙碱	0.4	199.80 ± 8.53	408.00 ± 44.94	208.20 ± 37.48##
HBOA	100.0	193.57 ± 10.49	412.64 ± 33.20	219.07 ± 23.57##
	50.0	189.83 ± 9.54	383.17 ± 19.01	193.33 ± 13.25##
	25.0	196.33 ± 10.54	388.02 ± 40.21	191.68 ± 30.17##

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: ## $P < 0.01$ , 表 2 同

\*\* $P < 0.01$  vs control group; ## $P < 0.01$  vs model group, same as table 2

表 2 HBOA 对肝纤维化大鼠肝脏指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 2 Effect of HBOA on liver index of hepatic fibrosis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	肝脏指数/%
对照	—	2.37 ± 0.10
模型	—	4.01 ± 0.65**
秋水仙碱	0.4	2.97 ± 0.68##
HBOA	100.0	2.85 ± 0.54##
	50.0	2.97 ± 0.47##
	25.0	3.09 ± 0.32##

### 3.3 HBOA 对肝纤维化大鼠肝组织 ALT、AST 含量的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肝组织 ALT、AST 水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, HBOA 各剂量组和秋水仙碱组大鼠肝组织 ALT、AST 水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

### 3.4 HBOA 对肝纤维化大鼠肝组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 蛋白表达的影响

与对照组比较, 模型组大鼠肝组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 蛋白表达显著升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较, HBOA 各剂量组和秋水仙碱组大鼠肝组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K

表 3 HBOA 对肝纤维化大鼠肝组织 ALT、AST 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Table 3 Effect of HBOA on liver tissue ALT and AST content of hepatic fibrosis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	ALT/(U·L <sup>-1</sup> )	AST/(U·L <sup>-1</sup> )
对照	—	32.65 ± 4.01	48.33 ± 9.22
模型	—	120.13 ± 24.34*	148.67 ± 16.51*
秋水仙碱	0.4	79.33 ± 13.08#	87.53 ± 12.20#
HBOA	100.0	54.57 ± 18.72#	64.50 ± 9.65#
	50.0	67.67 ± 15.63#	78.00 ± 11.67#
	25.0	83.24 ± 17.23#	90.17 ± 9.84#

与对照组比较: \* $P < 0.05$ ; 与模型组比较: # $P < 0.05$ , 表 4 同

\* $P < 0.05$  vs control group; # $P < 0.05$  vs model group, same as table 4

蛋白表达显著降低 ( $P < 0.05$ )。见表 4、图 1。

## 4 讨论

本研究发现, 大鼠 ig 50% CCl<sub>4</sub>, 每周 2 次, 连续 12 周后, 模型组大鼠体质量增加缓慢, 肝脏指数及肝匀浆 ALT、AST 水平明显增加, 提示模型制备成功。HBOA 干预 4 周后, 高、中、低剂量均能显著降低肝脏指数及肝组织 ALT、AST 的活性, 提示 HBOA 可改善 CCl<sub>4</sub> 引起的肝损伤, 对肝纤维化大鼠具有一定的保护作用。PI3K/Akt 信号通路对调控细

表 4 HBOA 对肝纤维化大鼠肝组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )  
Table 4 Effect of HBOA on p-PI3K, p-Akt, p-mTOR, and p-p70S6K expression in liver tissue of hepatic fibrosis rats ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-mTOR/mTOR	p-p70S6K/p70S6K
对照	—	0.25 ± 0.13	0.34 ± 0.16	0.32 ± 0.11	0.21 ± 0.12
模型	—	0.88 ± 0.19*	0.78 ± 0.17*	0.91 ± 0.22*	0.70 ± 0.18*
秋水仙碱	0.4	0.50 ± 0.22 <sup>#</sup>	0.52 ± 0.21 <sup>#</sup>	0.52 ± 0.19 <sup>#</sup>	0.40 ± 0.13 <sup>#</sup>
HBOA	100.0	0.54 ± 0.21 <sup>#</sup>	0.50 ± 0.16 <sup>#</sup>	0.49 ± 0.18 <sup>#</sup>	0.41 ± 0.14 <sup>#</sup>
	50.0	0.59 ± 0.23 <sup>#</sup>	0.57 ± 0.13 <sup>#</sup>	0.53 ± 0.17 <sup>#</sup>	0.58 ± 0.16 <sup>#</sup>
	25.0	0.75 ± 0.15 <sup>#</sup>	0.71 ± 0.15 <sup>#</sup>	0.83 ± 0.18 <sup>#</sup>	0.61 ± 0.13 <sup>#</sup>

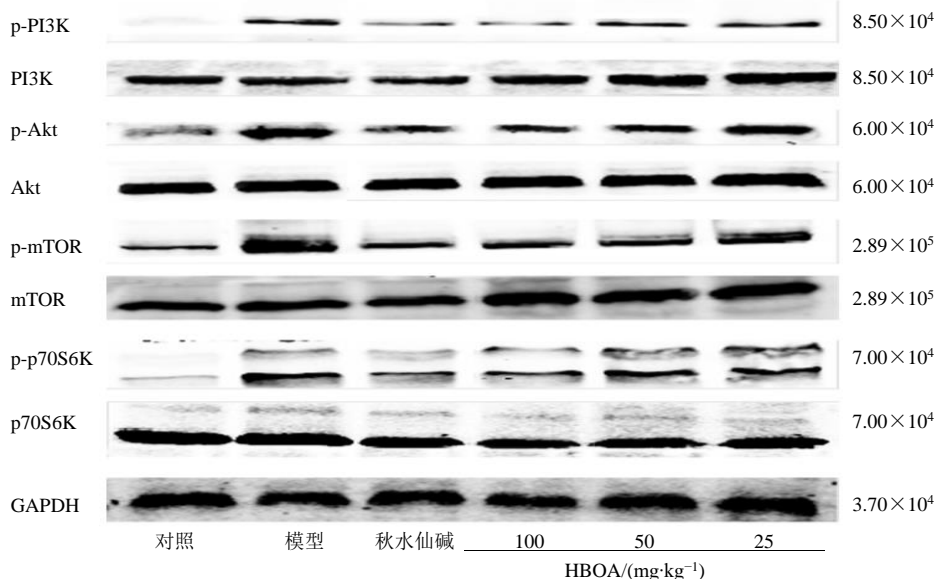


图 1 HBOA 对肝纤维化大鼠肝组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of HBOA on p-PI3K, p-Akt, p-mTOR, and p-p70S6K expression in liver tissue of hepatic fibrosis rats

胞分化、浸润和转移等具有非常重要的作用，其能够促进细胞增殖和避免凋亡<sup>[11-14]</sup>。PI3K 是 PI3K/Akt 信号通路的关键因子，能够特异性催化酯酰肌醇第 3 位羟基磷酸化，产生具有第二信使作用的肌醇脂物质<sup>[15]</sup>。PI3K 与酪氨酸残基受体结合后，PI3K 被激活，生成 3 位磷酸化的磷脂产物，该产物使得 Akt 从细胞质转位到细胞膜上，在磷酸肌醇依赖性酶 (PDK) 的作用下，Akt 磷酸化后进而正性调控细胞周期，促进细胞周期的转换、HSCs 增殖，加强 HSCs 胶原合成<sup>[16-18]</sup>。通过抑制 PI3K/Akt 信号通路能显著减少 HSCs 增殖、I 型胶原 mRNA 的表达和 I 型胶原蛋白的分泌<sup>[19]</sup>。mTOR 和 p70S6K 作为 Akt 下游靶点，其活化依赖 PI3K，降低 mTOR 和 p70S6K 活性可以显著抑制 HSCs 增殖、活化，抑制胶原分泌，mTOR/p70S6K 信号通路在 HSCs 活化过程中具有核心作用<sup>[19-23]</sup>。因此，本研究从 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路探讨 HBOA 抗大鼠肝纤维化的作用机制。

本研究结果显示，模型组大鼠肝组织中 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 蛋白水平较对

照组显著升高。经 HBOA 干预后，HBOA 高、中剂量组大鼠肝组织中 PI3K、Akt、mTOR、p70S6K 蛋白的磷酸化水平较模型组明显降低，提示 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 通路参与了肝纤维化的发生发展过程。多项研究表明，可以通过调控 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路抑制 HSCs 的增殖、活化和胶原的合成，从而达到抗纤维化的作用<sup>[24-26]</sup>。因此，降低 PI3K、Akt、mTOR、p70S6K 的活性可以抑制 HSCs 的活化和减少胶原分泌。进而表明，HBOA 对 CCl<sub>4</sub> 引起的肝纤维化发生发展过程具有一定干预作用，其机制可能与抑制 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路，下调 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR、p-p70S6K 蛋白表达水平有关。

综上所述，HBOA 可改善 CCl<sub>4</sub> 引起的肝损伤，对肝纤维化大鼠具有一定的保护作用，可能是通过阻断 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路来抑制 HSCs 活化，加快胶原的降解来改善肝纤维化。后续将进行体外实验的研究，探讨 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 通路与肝纤维化的关系。由于信号通路网

的相互作用十分复杂，还需探讨 PI3K/Akt/mTOR/p70S6K 信号通路与其他通路间的相互作用，进一步阐明 HBOA 抗肝纤维化的作用机制。

#### 参考文献

- [1] Lambrecht J, Mannaerts I. The role of miRNAs in stress-responsive hepatic stellate cells during liver fibrosis [J]. *Frontier Physiol*, 2015, doi: 10.3389/fphys.2015.00209
- [2] Zhao B. Regulation of TGF- $\beta$  signal transduction [J]. *Scientifica*, 2014, doi: 10.1155/2014/874065.
- [3] Kulkarni A A, Thatcher T H, Olsen K C, et al. PPAR- $\gamma$  ligands repress TGF- $\beta$ -induced myofibroblast differentiation by targeting the PI3K/Akt pathway: Implications for therapy of fibrosis [J]. *PLoS One*, 2011, 6(1): e15909.
- [4] Okamoto K, Tajima H, Ohta T, et al. Angiotensin II induces tumor progression and fibrosis in intrahepatic cholangiocarcinoma through an interaction with hepatic stellate cells [J]. *Int J Oncol*, 2010, 37(5): 1251-1259.
- [5] Mehal W, Imaeda A. Cell death and fibrogenesis [J]. *Semin Liver Dis*, 2010, doi: 10.1055/s-0030-1255352.
- [6] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1978.
- [7] Babu B, Shylesh B, Padikkala J. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Acanthus ilicifolius* [J]. *Fitoterapia*, 2001, 72(3): 272-277.
- [8] Kumar K M S, Puia Z, Samanta S K, et al. The gastroprotective role of *acanthus ilicifolius*-a study to unravel the underlying mechanism of anti-ulcer activity [J]. *Sci Pharm*, 2012, doi: 10.3797/scipharm.1108-11.
- [9] Bose S, Bose A. Antimicrobial activity of *Acanthus ilicifolius* (L.) [J]. *Ind J Pharm Sci*, 2008, 70(6): 821-823.
- [10] Babu B, Shylesh B, Padikkala J. Tumour reducing and anticarcinogenic activity of *Acanthus ilicifolius* in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2002, 79(1): 27-33.
- [11] Sasore T, Reynolds A L, Kennedy B N. Targeting the PI3K/Akt/mTOR Pathway in ocular neovascularization [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2014, doi: 10.1007/978-1-4614-3209-8\_101.
- [12] Magi S, Saeki Y, Kasamatsu M, et al. Chemical genomic-based pathway analyses for epidermal growth factor-mediated signaling in migrating cancer cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e96776.
- [13] Jung K H, Yan H H, Fang Z, et al. HS-104, a PI3K inhibitor, enhances the anticancer efficacy of gemcitabine in pancreatic cancer [J]. *Int J Oncol*, 2014, 45(1): 311-321.
- [14] Martelli A M, Lonetti A, Buontempo F, et al. Targeting signaling pathways in T-cell acute lymphoblastic leukemia initiating cells [J]. *Adv Biol Regul*, 2014, doi: 10.1016/j.jbior.2014.04.004.
- [15] Engelman J A. Targeting PI3K signaling in cancer: Opportunities, challenges and limitations [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(8): 550-562.
- [16] Hao L S, Zhang X L, Zhou Z H, et al. Relationship of PTEN expression withapoptosis of hepatic stellate cells in liver tissues of rats with hepatic fibrosis induced by bile stagnation [J]. *Med J Chin Lib Army*, 2010, 35(7): 836-838.
- [17] Yang L, Zhao Z X, Hou J L, et al. Hepatic expression of CB1 in rats with fibrosis and the relationship with FAK [J]. *J Clin Hepatol*, 2011, 27(8): 824-826.
- [18] Piguat A C, Dufour J F. PI3K/PTEN/Akt pathway [J]. *J Hepatol*, 2011, 54(6): 1317-1319.
- [19] Gäbele E, Reif S, Tsukada S, et al. The role of p70S6K inhepatic stellate cell collagen gene expression and cell proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(14): 13374-13382.
- [20] Wei L, Chen Q, Guo A, et al. Asiatic acid attenuates CCl<sub>4</sub>-induced liver fibrosis in rats by regulating the PI3K/AKT/mTOR and Bcl-2/Bax signaling pathways [J]. *Inter Immunopharmacol*, 2018, doi: 10.1016/j.intimp.2018.04.016.
- [21] 占书箱, 黄成, 马陶陶, 等. 抑制 p70S6K 对 HSC-T6 增殖活化的作用研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2014, 49(8): 1062-1067.
- [22] 张坤, 姜妙娜, 张彩华, 等. 中药肝复康对肝星状细胞 mTOR/P70S6K 信号通路的干预作用 [J]. 实用肝脏病杂志, 2012, 15(1): 34-36.
- [23] Coffey J C, Wang J H, Smith M J, et al. Phosphoinositide 3-kinase accelerates postoperative tumor growth by inhibiting apoptosis and enhancing resistance to chemotherapy-induced apoptosis: novel role for an old enemy [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(22): 20968-20977.
- [24] Son G, Hines I N, Lindquist J, et al. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase signaling in hepatic stellate cells blocks the progression of hepatic fibrosis [J]. *Hepatology*, 2009, 50(5): 1512-1523.
- [25] Urtasun R, Lopategi A, George J, et al. Osteopontin, an oxidant stress sensitive cytokine, up-regulates collagen-I via integrin  $\alpha(V)\beta(3)$  engagement and PI3K/pAkt/NF $\kappa$ B signaling [J]. *Hepatology*, 2012, 55(2): 594-608.
- [26] Peng R, Wang S, Wang R, et al. Antifibrotic effects of tanshinol in experimental hepatic fibrosis by targeting PI3K/AKT/mTOR/p70S6K1 signaling pathways [J]. *Discov Med*, 2017, 23(125): 81-94.