

FGF1 通过抑制内质网应激和自噬途径保护对乙酰氨基酚诱导的小鼠肝损伤

张谢 宋毓飞 张学松 王小芳 吴俊男 陈熠媛 陈硕威

【摘要】 目的 探讨成纤维细胞生长因子 1(FGF1)对对乙酰氨基酚(APAP)诱导的小鼠肝损伤的保护作用以及相应的机制。方法 将 30 只雄性 C57BL/6 小鼠随机分为 APAP+FGF1 组、APAP 组和正常对照组 3 组,每组 10 只;腹腔注射 500mg/kg APAP 诱导小鼠急性肝损伤,24h 后处死小鼠;收集 3 组小鼠血浆和肝脏组织。ELISA 法检测血浆 ALT 水平,HE 染色法观察肝脏组织形态学改变,Western blot 法检测内质网应激信号通路相关蛋白 GRP78、ATF6、PDI、XBP-1、Caspase-3 和 CHOP 表达,以及自噬信号通路相关蛋白 ATG7、Beclin-1、ATG5、LC-3/II 表达;免疫荧光染色法检测 GRP78、ATG7、LC-3 蛋白表达。结果 与正常对照组比较,APAP 组 ALT 水平上升($P<0.05$),肝细胞损伤及肝管内出血更为严重,肝组织内质网应激及自噬相关蛋白表达均明显增加(均 $P<0.05$);与 APAP 组比较,APAP+FGF1 组 ALT 水平明显下降($P<0.05$),肝细胞损伤程度减轻,肝组织内质网应激及自噬相关蛋白表达均明显下降(均 $P<0.05$)。结论 内质网应激和自噬途径在 APAP 诱导的小鼠肝损伤过程中起到重要作用,且 FGF1 通过抑制内质网应激、自噬途径保护 APAP 诱导的小鼠肝损伤。

【关键词】 成纤维细胞生长因子 1 内质网应激 自噬 对乙酰氨基酚 肝损伤

Fibroblast growth factor 1 protects acetaminophen-induced liver injury in mice by inhibiting endoplasmic reticulum stress and autophagy ZHANG Xie, SONG Yufei, ZHANG Xuesong, et al. Department of Pharmacy, Ningbo Medical Treatment Center Lihuli Hospital, Ningbo 315040, China

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of fibroblast growth factor 1 (FGF1) on liver injury induced by paracetamol (APAP) in mice and its mechanism. Methods Thirty male C57BL/6 mice were randomly divided into normal control group (control group), APAP treatment group (APAP group), APAP + FGF1 treatment group (APAP + FGF1 group) with 10 mice in each group. Acute liver injury was induced by intraperitoneal injection of 500 mg/kg APAP in mice. After 24 h, mice were sacrificed, plasma and liver tissue samples were collected from three groups of mice. The plasma ALT level was measured by ELISA kit. The histomorphological changes of liver were observed by light microscopy with HE staining. The expressions of GRP78, ATF6, PDI, XBP-1, Caspase-3 and CHOP as well as the expressions of autophagy-related proteins ATG5, ATG7, Beclin-1 and LC-3/II were detected by Western blot. The protein expressions of GRP78, ATG7 and LC-3 in liver tissue were detected by immunofluorescence staining. Results Compared with the control group, ALT level in APAP group increased significantly ($P<0.05$), and hepatocyte injury and intrahepatic hemorrhage in APAP group were more serious, and the expressions of endoplasmic reticulum stress and autophagy-related proteins in liver tissue were significantly increased (all $P<0.05$). After FGF1 treatment, compared with APAP group, the ALT level in APAP + FGF1 group decreased significantly ($P<0.05$), and the degree of hepatocyte injury decreased, and the expressions of endoplasmic reticulum stress and autophagy-related proteins in liver tissue decreased significantly ($P<0.05$). Conclusion Endoplasmic reticulum stress and autophagy pathway play an important role in APAP-induced liver injury of mice. FGF1 protects APAP-induced liver injury in mice by inhibiting endoplasmic reticulum stress

DOI: 10.12056/j.issn.1006-2785.2019.41.17.2019-1087

基金项目:宁波市自然科学基金项目(2018A610376);宁波市惠民项目(2016C51004);温州医科大学本专科学科生科研立项资助(wyx2018101021);国家级大学生创新创业训练计划项目(201810343024)

作者单位:315040 宁波市医疗中心李惠利医院药剂科(张谢),消化内科(宋毓飞、张学松);温州医科大学药学院(王小芳、吴俊男);温州医科大学仁济学院(陈熠媛、陈硕威);

通信作者:宋毓飞, E-mail: 517582445@qq.com

and autophagy.

【Key words】 Fibroblast growth factor 1 Endoplasmic reticulum stress Autophagy Acetaminophen Liver injury

对乙酰氨基酚(APAP)是世界上最流行和安全的止痛药之一,然而如过量使用会导致严重的肝损伤,甚至急性肝衰竭^[1-2]。正常情况下,APAP在经消化吸收后通过与葡萄糖醛酸结合被排出体外,但当机体摄入过量的APAP后,会产生毒性代谢物N-乙酰-对苯醌亚胺(NAPQI),可引起急性的、严重的肝细胞损伤^[1-4]。成纤维细胞生长因子1(FGF1)又名酸性成纤维细胞生长因子(aFGF),是庞大的生长因子家族中一员,在胚胎发育、血管生长、创伤愈合等过程中发挥重要作用^[5-6],目前已作为促进烧伤创面愈合的药物上市,但在肝损伤方面有何作用无详细报道。本研究通过建立APAP诱导的小鼠肝损伤模型,探究FGF1对APAP引起肝损伤的保护作用及相应机制,为开发治疗药物性肝损伤的新药提供理论依据和参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 雄性C57BL/6小鼠30只,SPF级,体重18~22g,8周龄,由温州医科大学动物实验中心提供[合格证号:SCXK(浙)2015-0001]。在温州医科大学动物实验中心分笼饲养。

1.1.2 主要试剂 FGF1由温州医科大学药学院提供;对乙酰氨基酚片(国药准字:H2022435)、葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、蛋白二硫键异构酶(PDI)、Beclin1抗体购自美国Abcam公司;C/EBP同源蛋白(CHOP)、X-框结合蛋白1(XBP-1)、微管相关蛋白1轻链3(LC3)、3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)抗体均购自美国Santa Cruz公司;激活转录因子6(ATF6)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶3(Caspase3)、自噬基因相关蛋白7(ATG7)、自噬基因相关蛋白5(ATG5)抗体均购自美国Bioworld公司;丙氨酸转氨酶(ALT)试剂盒购自南京建城生物工程研究所。

1.1.3 主要仪器 荧光倒置显微镜(日本Nikon公司,Ti-U型);高速冷冻离心机(美国Thermo Fisher公司,micro21R型);超纯水(美国Millipore公司,Direct-Q3型),凝胶成像系统(美国Bio-rad公司,chemidoc XRS+型)等。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型制备 将30只小鼠按随机数字表法分为APAP+FGF1处理组、APAP组及正常对照组

3组,每组10只。APAP+FGF1组:腹腔注射APAP 500mg/kg 0.5h后,腹腔注射FGF1 1.0mg/kg;APAP组:腹腔注射APAP 500mg/kg;正常对照组:给予同等剂量PBS作为对照。所有小鼠在给予APAP 24h后均经颈椎脱位法处死。造模24h后小鼠血浆ALT水平显著升高,表示造模成功。

1.2.2 ALT水平检测 采用ELISA法。3组小鼠给药后24h眼眶采血,3 000r/min离心10min,取血浆,按照试剂盒说明书进行检测。

1.2.3 病理检查 处死小鼠后,取各组小鼠肝组织约4g,4%多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋,5 μ m切片,作HE染色,显微镜下观察肝组织病变情况。

1.2.4 Western bolt法检测内质网应激及自噬信号通路相关蛋白的表达 BCA法测定肝组织总蛋白浓度,蛋白变性后行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,湿转法到聚偏氟乙烯(PVDF)膜上,加入3%牛血清白蛋白(BSA)封闭液,室温下孵育1h,加入GRP78、ATF6、PDI、XBP-1、Caspase3、CHOP、ATG7、Beclin1、ATG5、LC-3、GAPDH一抗(1:1 000),4 $^{\circ}$ C封闭过夜,弃一抗,TBST洗3遍;加入1:10 000的二抗,室温孵育2h后,弃二抗,TBST洗涤3遍,化学发光显色剂显色,曝光,观测GRP78、ATF6、PDI、XBP-1、Caspase-3和CHOP的表达量。

1.2.5 免疫荧光染色法检测肝组织内质网应激及自噬信号通路相关蛋白的表达 处死小鼠后,取各组小鼠肝组织约8g,4%多聚甲醛溶液固定,石蜡包埋,5 μ m切片,0.1%柠檬酸钠缓冲液进行抗原修复,5% BSA封闭,加入GRP78、ATG7、LC-3一抗(1:200),4 $^{\circ}$ C过夜;加入二抗(1:500),37 $^{\circ}$ C孵育1h,PBS洗涤3次,4',6-二脒基-2-苯基吡啶(DAPI)染核7min,抗荧光淬灭剂封片,显微镜下观察,再将观察到的目的蛋白荧光图和染核图片进行整合(Merge)。

1.3 统计学处理 采用GraphPad 5.0统计软件。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组小鼠血浆ALT水平比较 ELISA结果显示,APAP+FGF1组ALT水平为(29.33 \pm 5.05)U/L,APAP组为(48.00 \pm 10.93)U/L,正常对照组为(35.60 \pm 4.39)U/L,与正常对照组比较,APAP组ALT水平增加,而APAP+FGF1

组 ALT 水平下降,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2.2 3 组小鼠肝组织 HE 染色结果比较 在 APAP 注射后 24h,与正常对照组比较,APAP 组出现明显的片状和点状的肝细胞坏死,且肝索内出血较为显著,而 APAP+FGF1 组肝细胞损伤程度减轻,见图 1(见插页)。

2.3 3 组小鼠肝组织内质网应激信号通路相关蛋白检测结果比较 Western blot 法结果显示,与正常对照组比较,APAP 组 GRP78、ATF6、PDI、XBP-1、Caspase-3 和 CHOP 表达量均增高,而 APAP+FGF1 组上述蛋白又降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见图 2、表 1。免疫荧光法结果显示,与正常对照组比较,APAP 组 GRP78 表达量显著增高,而 APAP+FGF1 组 GRP78 又明显下降,见图 3(见插页)。

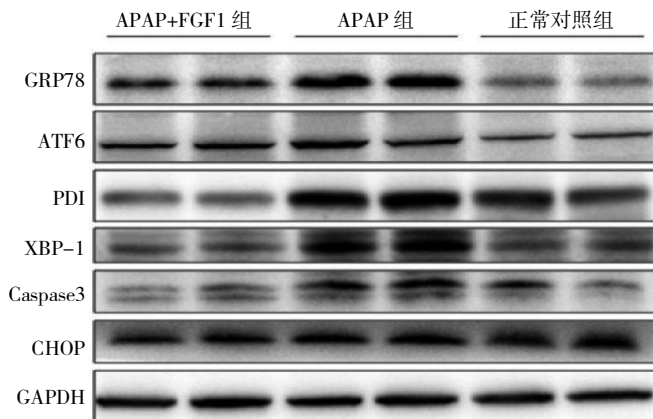


图 2 3 组小鼠肝组织内质网应激信号通路相关蛋白的电泳图

2.4 3 组小鼠肝组织自噬信号通路相关蛋白检测结果比较 Western blot 法结果显示,与正常对照组比较,APAP 组 ATG7、Beclin-1、ATG5、LC-3 I/II 表达量均明显增高,而 APAP+FGF1 组的均明显降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$),见图 4、表 2。免疫荧光法结果显示,与正常对照组比较,APAP 组 ATG7、LC-3 表达量均增高,而 APAP+FGF1 组的均降低,比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$),见图 5(见插页)。

3 讨论

近年来,APAP 引起的急性肝衰竭成为发达国家中急性肝衰竭导致死亡的最常见因素,由此引起了严重的

公共健康及安全问题^[7-8]。90%~95% 的 APAP 在肝脏代谢,其主要与葡萄糖醛酸、硫酸及半胱氨酸结合,在 24h 内以原型、葡萄糖醛酸、硫酸及半胱氨酸结合的形式从肾脏排泄^[1]。但小部分 APAP 在肝细胞内由细胞色素 P450 (CYP450)代谢转化为 NAPQI,NAPQI 与亲核性物质结合并由此进入细胞核内,引发肝细胞毒性^[1-4,9]。研究显示,APAP 引起急性肝损伤的病理生理过程主要是由代谢产物被激活、谷胱甘肽消耗及蛋白质的结合造成的^[10]。过量或长期服用 APAP 可引起肝细胞损伤、淤胆型肝炎,严重者可引起肝性昏迷甚至死亡。部分原因是由于 APAP 与肝细胞内线粒体功能降低、自由基代谢产物增多及氧化应激的密切关系^[11],同时固有免疫反应和炎症应答在 APAP 诱发的急性肝损伤也发挥重要作用^[12]。然而目前 APAP 引起肝细胞损伤具体机制尚不明确。

有研究表明内质网应激和未折叠蛋白反应(UPR)的激活是 APAP 激活的肝毒性反应级联反应中的晚期事件,ATF6 通过上调 CHOP 在 APAP 诱导的肝脂肪变性发病机制中起到关键作用^[13]。在内质网应激条件下 XBP1 被需要肌醇的酶-1(IRE1)的核糖核酸酶剪接,诱导内质网伴侣 GRP78 和 PDI 的表达水平增加^[14],并上调 Caspase 3 活性,诱导肝损伤。内质网应激可以通过激活 UPR 信号通路从而激活细胞自噬^[15],自噬也是对抗危险刺激的细胞防御机制^[16]。然而,当内质网应激太强或时间过长时,UPR 将过度激活自噬,促进细胞死亡并导致身体损伤^[17]。Beclin1 等上游因子参与自噬起始和成核,ATG5、ATG7 和 LC3 等下游因子促进自噬膜伸长和闭合^[18]。LC3 是自噬体膜上的标记蛋白。在异烟肼诱导斑马鱼肝损伤的模型中,异烟肼可以增强内质网应激信号通路相关蛋白(GRP78、ATF6、Perk、IRE1、XBP1S、GRP94 和 CHOP)和自噬相关蛋白(Beclin 1、LC3、ATG3 和 ATG12)的水平上升,提示内质网应激与自噬及肝损伤密切相关^[19]。

FGF1 是 FGFs 家族成员之一,对来源于中胚层及神经外胚层的细胞具有促分裂作用。人类 FGF1 是位于人体第 4 号染色体上的单拷贝基因,由 2 个内含子和 3 个外显子组成,蛋白由 154 个氨基酸残基组成,等电点为 5~7 个,通过与受体结合、启动信号转导机制诱导多

表 1 3 组小鼠肝组织内质网应激信号通路相关蛋白检测结果比较

组别	n	GRP78	ATF6	PDI	XBP-1	Caspase3	CHOP
FGF1+APAP 组	10	0.62 ± 0.06 [△]	0.18 ± 0.05 [△]	0.43 ± 0.09 ^{△△}	0.55 ± 0.07 ^{△△}	0.31 ± 0.06 ^{△△}	0.20 ± 0.04 ^{△△}
APAP 组	10	0.73 ± 0.07 ^{**}	0.56 ± 0.11 ^{**}	1.75 ± 0.33 ^{**}	1.06 ± 0.16 ^{**}	0.65 ± 0.15 ^{**}	0.40 ± 0.07 ^{**}
正常对照组	10	0.39 ± 0.08	0.41 ± 0.07	0.95 ± 0.18	0.61 ± 0.04	0.38 ± 0.05	0.25 ± 0.06

注:与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与 APAP 组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

表 2 3 组小鼠肝组织自噬信号通路相关蛋白检测结果比较

组别	n	ATG7	Beclin1	ATG5	LC-3 I / II
FGF1+APAP 组	10	0.09 ± 0.01 ^{△△}	0.04 ± 0.01 ^{△△}	0.43 ± 0.09 ^{△△}	0.14 ± 0.01 ^{△△}
APAP 组	10	0.13 ± 0.02 ^{**}	0.09 ± 0.01 ^{**}	1.75 ± 0.33 ^{**}	0.17 ± 0.01 ^{**}
正常对照组	10	0.08 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.95 ± 0.18	0.13 ± 0.02

注:与正常对照组比较,** $P < 0.01$;与 APAP 组比较,^{△△} $P < 0.01$

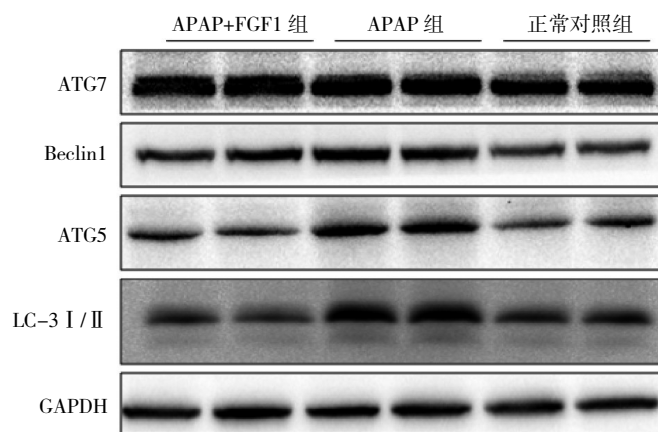


图 4 3 组小鼠肝组织自噬信号通路相关蛋白的电泳图

种细胞的分化、增殖^[20]。由于它具有营养和保护神经元、促进损伤修复、诱导缺血区血管形成等多个方面的作用而成为众多学者研究的热点。aFGF 主要通过成纤维细胞生长因子受体-1(FGFR-1)结合,启动丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路,刺激成纤维细胞、血管内皮细胞和神经细胞的生长^[21]。aFGF 与 FGFR-2 结合仅起保持 MAPK 通路活性的作用^[22],同时 aFGF 也可与 FGFR-4(神经元高亲和受体)结合,通过甲素核蛋白体基因的转录,以促进细胞分裂增殖;同时还通过细胞内蛋白和总 RNA 的合成表达,促进神经元突起生长^[23]。aFGF 与 FGFR 结合后启动的 MAPK 途径是调节各种细胞趋化应答、分化、分裂的重要途径,是细胞增殖、分化等信息传递途径的交集点和共同通路。

目前,国内外针对 FGF1 的研究主要集中在创伤修复、调节血糖、调节代谢及通过与受体结合启动 MAPK 信号通路从而刺激细胞的分裂及促进细胞生长、增殖、分化同时进行信息传递,而关于其在肝损伤尤其是药物性肝损伤方面的研究较少。只有少量的研究显示 FGF1 KO 小鼠的肝组织再生能力明显延缓^[24],APAP 会诱导 FGF1 表达降低^[25]。此外,在各种非酒精性脂肪性肝病小鼠模型中,重组 FGF1 可有效改善肝脏炎症和损伤^[26]。FGF1 还能促进肝源性干细胞的分化和成熟^[27],提示其在各种肝病中的潜在治疗作用。而本研究结果同样显示,当生物体摄入过量的 APAP 时,其在机体内转化为

毒性代谢产物,该毒性代谢产物进一步通过激发内质网应激和自噬引起肝细胞损伤,而 FGF1 通过抑制内质网应激和自噬达到对肝细胞的保护作用,说明 FGF1 有望成为治疗药物性肝损伤的一个新选择。

4 参考文献

- [1] Ramachandran A, Jaeschke H. Acetaminophen Hepatotoxicity[J]. *Semin Liver Dis*, 2019, 39(2):221-234. DOI: 10.1055/s-0039-1679919.
- [2] Bhushan B, Apte U. Liver Regeneration after Acetaminophen Hepatotoxicity: Mechanisms and Therapeutic Opportunities[J]. *Am J Pathol*, 2019, 189(4):719-729. DOI: 10.1016/j.ajpath.2018.12.006.
- [3] Heruth DP, Shortt K, Zhang N, et al. Genetic Association of Single Nucleotide Polymorphisms with Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2018, 367(1):95-100. DOI: 10.1124/jpet.118.248583.
- [4] Shan S, Shen Z, Song F. Autophagy and acetaminophen-induced hepatotoxicity[J]. *Arch Toxicol*, 2018, 92(7):2153-2161. DOI: 10.1007/s00204-018-2237-5.
- [5] Maciag T, Friesel RE. Molecular mechanisms of fibroblast growth factor-1 traffick, signaling and release[J]. *Thromb Haemost*, 1995, 74(1):411-414.
- [6] Tan Y, Wang KY, Wang N, et al. Ectopic expression of human acidic fibroblast growth factor 1 in the medicinal plant, *Salvia miltiorrhiza*, accelerates the healing of burn wounds[J]. *BMC Biotechnol*, 2014, 14:74. DOI: 10.1186/1472-6750-14-74.
- [7] Iorga A, Dara L, Kaplowitz N. Drug-Induced Liver Injury: Cascade of Events Leading to Cell Death, Apoptosis or Necrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(5):E1018. DOI: 10.3390/ijms18051018.
- [8] Jaeschke H. Acetaminophen: Dose-Dependent Drug Hepatotoxicity and Acute Liver Failure in Patients[J]. *Dig Dis*, 2015, 33(4):464-471. DOI: 10.1159/000374090.
- [9] da Rocha BA, Ritter AM, Ames FQ, et al. Acetaminophen-induced hepatotoxicity: Preventive effect of trans anethole[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 86:213-220. DOI: 10.1016/j.biopha.2016.12.014.
- [10] Nýdlová E, Vrbová M, Cesla P, et al. Comparison of inhibitory effects between acetaminophen-glutathione conjugate and reduced glutathione in human glutathione reductase[J]. *J Appl Toxicol*, 2014, 34(9):968-973. DOI: 10.1002/jat.2914.
- [11] Saini SP, Zhang B, Niu Y, et al. Activation of liver X receptor increases acetaminophen clearance and prevents its toxicity in mice[J]. *Hepatology*, 2011, 54(6):2208-2217. DOI: 10.1002/hep.24646.
- [12] Jaeschke H. Role of inflammation in the mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity. Expert opinion on drug metabolism & toxicology[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2005, 1(3):389-397.
- [13] Nagy G, Kardon T, Wunderlich L, et al. Acetaminophen induces ER dependent signaling in mouse liver[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2007, 459(2):273-279.

- [14] Chen L, Li Q, She T, et al. IRE1 α -XBP1 signaling pathway, a potential therapeutic target in multiple myeloma[J]. *Leuk Res*, 2016, 49:7-12. DOI: 10.1016/j.leukres.2016.07.006.
- [15] Yorimitsu T, Nair U, Yang Z, et al. Endoplasmic reticulum stress triggers autophagy[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(40):30299-30304.
- [16] Saha S, Panigrahi DP, Patil S, et al. Autophagy in health and disease: A comprehensive review[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104:485-495. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.05.007.
- [17] Rubiolo JA, Lopez-Alonso H, Martinez P, et al. Yessotoxin Induces Er-Stress Followed By Autophagic Cell Death In Glioma Cells Mediated By mTOR and BNIP3[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(2): 419-432.
- [18] Song S, Tan J, Miao Y, et al. Crosstalk of autophagy and apoptosis: Involvement of the dual role of autophagy under ER stress[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(11):2977-2984. DOI: 10.1002/jcp.25785.
- [19] Zhang Y, Cen J, Jia Z, et al. Hepatotoxicity Induced by Isoniazid-Lipopolysaccharide through Endoplasmic Reticulum Stress, Autophagy, and Apoptosis Pathways in Zebrafish [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2019, 63(5): e01639-e01718. DOI: 10.1128/AAC.01639-18.
- [20] Nies VJ, Sancar G, Liu W, et al. Fibroblast Growth Factor Signaling in Metabolic Regulation[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2016, 6:193. DOI: 10.3389/fendo.2015.00193.
- [21] Johnson DE, Williams LT. Structural and functional diversity in the FGF receptor multigene family[J]. *Adv Cancer Res*, 1993, 60: 1-41.
- [22] Nakamura T, Mochizuki Y, Kanetake H, et al. Signals via FGF receptor 2 regulate migration of endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 289(4):801-806.
- [23] Düsterhöft S, Pette D. Evidence that acidic fibroblast growth factor promotes maturation of rat satellite-cell-derived myotubes in vitro[J]. *Differentiation*, 1999, 65(3):161-169.
- [24] Jin SM, Park K. Acetaminophen induced cytotoxicity and altered gene expression in cultured cardiomyocytes of h(9)c(2) cells[J]. *Environ Health Toxicol*, 2012, 27:e2012011. DOI: 10.5620/eh.2012.27.e2012011.
- [25] Mao SA, Glorioso JM, Nyberg SL. Liver regeneration[J]. *Transl Res*, 2014, 163(4):352-362. DOI: 10.1016/j.trsl.2014.01.005.
- [26] Liu W, Struik D, Nies VJ, et al. Effective treatment of steatosis and steatohepatitis by fibroblast growth factor 1 in mouse models of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(8):2288-2293. DOI: 10.1073/pnas.1525093113.
- [27] Marsden ER, Hu Z, Fujio K, et al. Expression of acidic fibroblast growth factor in regenerating liver and during hepatic differentiation[J]. *Lab Invest*, 1992, 67(4):427-433.

(收稿日期:2019-04-09)

(本文编辑:俞骏文)

(上接第 1839 页)

- [5] Cheng AL, Kang YK, Chen Z, et al. Efficacy and safety of sorafenib in patients in the Asia-Pacific region with advanced hepatocellular carcinoma: a phase III randomised, double-blind, placebo-controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2009, 10(1):25-34. DOI:10.1016/S1470-2045(08)70285-7.
- [6] Kim YS, Lee YM, Oh TI, et al. Emodin sensitizes hepatocellular carcinoma cells to the anti-cancer effect of sorafenib through suppression of cholesterol metabolism[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(10):3127. DOI:10.3390/ijms19103127.
- [7] Lin W, Zhong M, Yin H, et al. Emodin induces hepatocellular carcinoma cell apoptosis through MAPK and PI3K/AKT signaling pathways in vitro and in vivo[J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(2):961-967. DOI:10.3892/or.2016.4861.
- [8] Goossens S, Vandamme N, Van Vlierberghe P, et al. EMT transcription factors in cancer development re-evaluated: Beyond EMT and MET[J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2017, 1868(2):584-591. DOI:10.1016/j.bbcan.2017.06.00.
- [9] van Malenstein H, Dekervel J, Verslype C, et al. Long-term exposure to sorafenib of liver cancer cells induces resistance with epithelial-to-mesenchymal transition, increased invasion and risk of rebound growth[J]. *Cancer Lett*, 2013, 329(1):74-83. DOI:10.1016/j.canlet.2012.10.021.
- [10] Chen W, Yang J, Zhang Y, et al. Regorafenib reverses HGF-induced sorafenib resistance by inhibiting epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma[J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(2):335-347. DOI:10.1002/2211-5463.12578.
- [11] Liu H, Wang M, Liang N, et al. PDCD2 sensitizes HepG2 cells to sorafenib by suppressing epithelial mesenchymal transition [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(3):2173-2179. DOI:10.3892/mmr.2019.9860.

(收稿日期:2019-03-20)

(本文编辑:俞骏文)