

· 基础研究 ·

芦荟大黄素通过血小板凝血酶蛋白-1-PI3k-Akt 通路抑制瘢痕组织纤维化的研究

耿红宝¹ 张星懿² 周思玮³ 李娜⁴ 刘佳⁴ 苑学微⁴ 宁春柳² 张旭东² 黄威²

1. 石家庄市妇幼保健院口腔科, 石家庄 050000;

2. 河北医科大学口腔医学院·口腔医院 河北省口腔医学重点实验室

河北省口腔疾病临床医学研究中心, 石家庄 050017;

3. 石家庄市第四医院口腔科, 石家庄 050011; 4. 石家庄市第二医院口腔科, 石家庄 050051

[摘要] **目的** 探讨芦荟大黄素通过血小板凝血酶蛋白-1 (THBS1) — 磷脂酰肌醇3-激酶 (PI3K) — 蛋白激酶 B (Akt) 抑制瘢痕组织纤维化的机制。**方法** 对人腭裂术后瘢痕组织来源成纤维细胞进行培养, 采用不同浓度 (10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$) 芦荟大黄素作用于该细胞并检测其细胞活性, 同时对瘢痕组织及细胞进行转录组测序, 采用生物信息学方法挖掘瘢痕组织纤维化的潜在靶点及信号通路。**结果** 芦荟大黄素对成纤维细胞增殖有抑制作用, 其中 40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组最明显; 瘢痕组织及细胞测序结果提示, 差异基因在细胞外基质与受体相互作用通路中显著富集, 且组织与细胞拥有共同差异基因 THBS1; 过表达分析结果提示, 差异基因 THBS1 在 PI3K-Akt 信号通路中显著富集。**结论** 芦荟大黄素可能通过下调 THBS1, 抑制 PI3K-Akt 通路, 从而降低术后腭部瘢痕组织来源的成纤维细胞增殖活性。

[关键词] 芦荟大黄素; 血小板凝血酶蛋白-1; PI3K-Akt 信号通路; 纤维化; 腭部瘢痕

[中图分类号] R782.2 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.7518/hxkq.2025.2024422



本文链接 开放科学标识码

Aloe-emodin inhibits scar tissue fibrosis through thrombospondin-1-PI3k-Akt pathway

Geng Hongbao¹, Zhang Xingyi², Zhou Siwei³, Li Na⁴, Liu Jia⁴, Yuan Xuewei⁴, Ning Chunliu², Zhang Xudong², Huang Wei²

1. Dept. of Stomatology, Women and Children's Health Hospital in Shijiazhuang, Shijiazhuang 050000, China; 2. Hebei Key Laboratory of Stomatology, Hebei Clinical Research Center for Oral Disease, School and Hospital of Stomatology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, China; 3. Dept. of Stomatology, Shijiazhuang Fourth Hospital, Shijiazhuang 050011, China; 4. Dept. of Stomatology, Shijiazhuang Second Hospital, Shijiazhuang 050051, China.

Supported by: Medical Science Research Project in Hebei Province (20240510)

Correspondence: Huang Wei, E-mail: huangwei@hebm.edu.cn

[Abstract] **Objective** To propose a hypothesis that aloe-emodin may inhibit scar tissue fibrosis through thrombospondin-1(THBS1)-PI3K-Akt pathway. **Methods** By cultivating fibroblasts derived from scar tissue after cleft palate surgery in humans, aloe emodin of different concentrations (10, 20, 30, 40 and 50 $\mu\text{mol/L}$) was added to the cells which activity was detected. At the same time, transcriptome sequencing was performed on scar tissue and cells, and bioinformatics methods were used to explore potential targets and signaling pathways of scar tissue fibrosis. **Results** Aloe-emodin had a concentration dependent inhibitory effect on fibroblast proliferation, with the 40 $\mu\text{mol/L}$ concentration group showing the most significant effect. The results of tissue and cell sequencing indicated that differentially expressed genes

were significantly enriched in extracellular matrix-receptor interaction pathway, and shared a common differential gene which was THBS1. The ORA analysis results indicated that differentially expressed genes, including TH-

[收稿日期] 2024-11-17; **[修回日期]** 2025-05-08

[基金项目] 河北省医学科学研究课题计划 (20240510)

[第一作者] 耿红宝, 主治医师, 硕士, E-mail: 861181470@qq.com

[通信作者] 黄威, 副教授, 硕士, E-mail: huangwei@hebm.edu.cn

BS1, were significantly enriched in the PI3K-Akt signaling pathway. **Conclusion** Aloe emodin may inhibit the PI3K-Akt pathway by downregulating THBS1, thereby reducing the proliferation activity of fibroblasts derived from postoperative palatal scar tissue.

[Key words] aloe-emodin; thrombospondin-1; PI3K-Akt signaling pathway; fibrosis; palatal scar

唇腭裂是口腔颌面部最常见的先天发育异常性疾病^[1],手术仍是其主要治疗手段。然而,术后患儿常继发上颌骨发育不足,严重影响身心健康^[2],研究^[3]表明,瘢痕组织的形成是导致患儿上颌骨发育异常的关键因素之一。组织纤维化是瘢痕形成的重要原因,因此,抑制组织纤维化对改善腭裂术后瘢痕形成显得尤为重要。

本研究对人腭裂瘢痕组织来源成纤维细胞进行培养,探究芦荟大黄素对该细胞增殖是否存在影响,并结合生物信息学方法期望为后续机制研究提供一种相对合理的假设。

1 材料和方法

1.1 瘢痕组织转录组测序

选取3例腭裂二期手术患者瘢痕及周围正常组织样本进行转录组学测序,已获石家庄市妇幼保健院伦理委员会批准[批准号:(2023)0601]。筛选差异基因标准:差异基因倍数>2,校正 P 值(Padj)<0.05,使用R工具包DESeq2软件进行分析。

1.2 瘢痕组织来源成纤维细胞培养及鉴定

将上述人腭裂术后瘢痕组织来源成纤维细胞进行培养,采用组织块培养法,剥离上皮组织保留结缔组织行原代细胞培养,并按照1:3比例传代培养。选取第3代培养细胞行免疫细胞化学染色鉴定,分别加入抗波形蛋白(浓度1:800)及抗角形蛋白(浓度1:800)。

1.3 细胞增殖活力浓度检测

将芦荟大黄素按照不同浓度分为5组,分别为10、20、30、40、50 $\mu\text{mol/L}$,另设一空白对照组,将其分别加入成纤维细胞中,采用细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK8)法检测各组细胞的活力情况。使用酶标仪测定在波长450 nm处各孔光密度值(optical density, OD)以计算6组活细胞的数量。

1.4 细胞转录组测序

随机选取3瓶细胞样本进行转录组测序,实验组为加入40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度芦荟大黄素处理的成纤维细胞,对照组为成纤维细胞空白对照。

1.5 实时荧光定量聚合酶链式反应(quantitative polymerase chain reaction, qPCR)检测血小板凝血酶蛋白-1(thrombospondin-1, THBS1)相对表达量

采用qPCR法分别检测瘢痕组织与正常组织,40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度芦荟大黄素处理的成纤维细胞与空白对照成纤维细胞中RNA相对表达量。

1.6 组织测序KEGG富集分析

根据瘢痕组织与正常组织测序所确定的差异基因情况行富集分析,探寻通路。富集分析采用超几何分布算法,使用聚类分析与功能富集分析工具包(clusterProfiler)进行分析。

1.7 细胞测序富集分析

根据芦荟大黄素处理的成纤维细胞与阴性对照成纤维细胞测序所确定的差异基因情况行富集分析,探寻通路。富集分析采用超几何分布算法,使用R包clusterProfiler进行分析。

1.8 蛋白质免疫印迹(western blotting, WB)法检测人腭裂术后腭部瘢痕组织来源的成纤维细胞中PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt蛋白的表达

采用WB法分别检测加入50 $\mu\text{mol/L}$ 的LY294-002(PI3K抑制剂)或40 $\mu\text{mol/L}$ 的芦荟大黄素处理的成纤维细胞与空白对照成纤维细胞中蛋白相对表达量。

加药24 h后,提取并收集总蛋白,测定其浓度。蛋白样品在10%的凝胶中分离后转膜。室温下用5%脱脂奶粉封闭2 h,加入PI3K(1:1000)、p-PI3K(1:1000)、Akt(1:1000)、p-Akt(1:1000)、 β -肌动蛋白(β -actin)(1:8000)的特异性一抗,4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,次日加入山羊抗兔二抗(1:5000),室温孵育1 h。使用增强化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)底物进行蛋白检测,条带强度通过ImageJ软件进行分析。

2 结果

2.1 组织测序差异基因

瘢痕组织与正常黏膜组织测序所得部分差异基因显示THBS1在瘢痕组织中高表达,在周围正常组织中低表达,见图1。

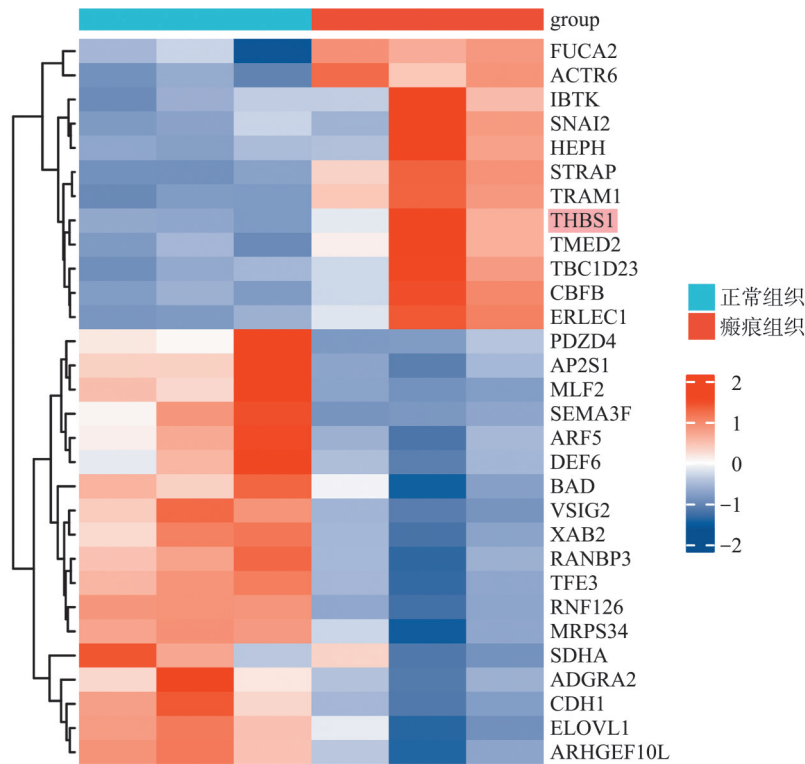


图 1 组织测序热图

Fig 1 Organizational sequencing heatmap

2.2 细胞培养

成功培养人腭裂术后腭部瘢痕组织来源的原代及传代成纤维细胞，见图2。显微镜下可见：有少许长梭形细胞由组织块周围放射状离散出来，渐成晕状。成纤维细胞呈现长梭形或放射星形，细胞胞浆丰满，有2~4个不等的胞浆突，细胞核大多为1个且为椭圆形，细胞紧贴培养瓶壁爬行生长。细胞较少密度低时细胞间呈网状，细胞密度高时则排成旋涡状或者束状。同时给予细胞鉴定，传代细胞抗波形蛋白染色阳性，抗角形蛋白染色

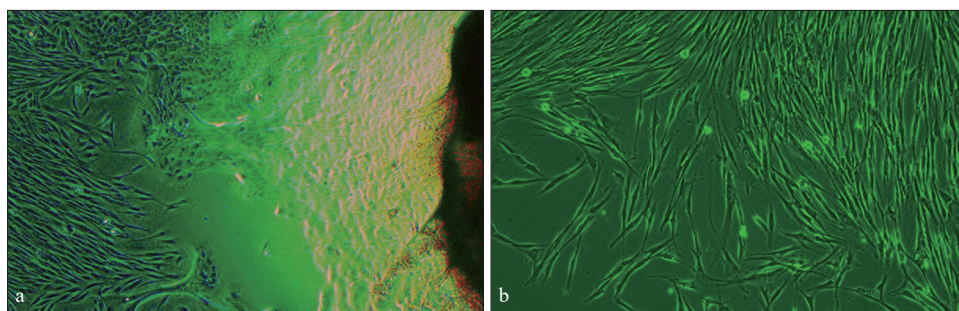
阴性，符合结缔组织中成纤维样细胞，见图3。

2.3 分组比较细胞增殖活性

CCK8法细胞增殖浓度检测结果见图4，5个实验组与对照组间均存在统计学差异 ($P < 0.001$)，其中40 $\mu\text{mol/L}$ 组OD值最小 ($P < 0.01$)。

2.4 细胞测序差异基因

40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度芦荟大黄素处理的成纤维细胞与空白对照成纤维细胞进行测序所得部分差异基因显示THBS1在40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组中低表达，而在空白对照组中高表达，见图5。



a: 原代细胞; b: 传代细胞。倒置显微镜 ×40。

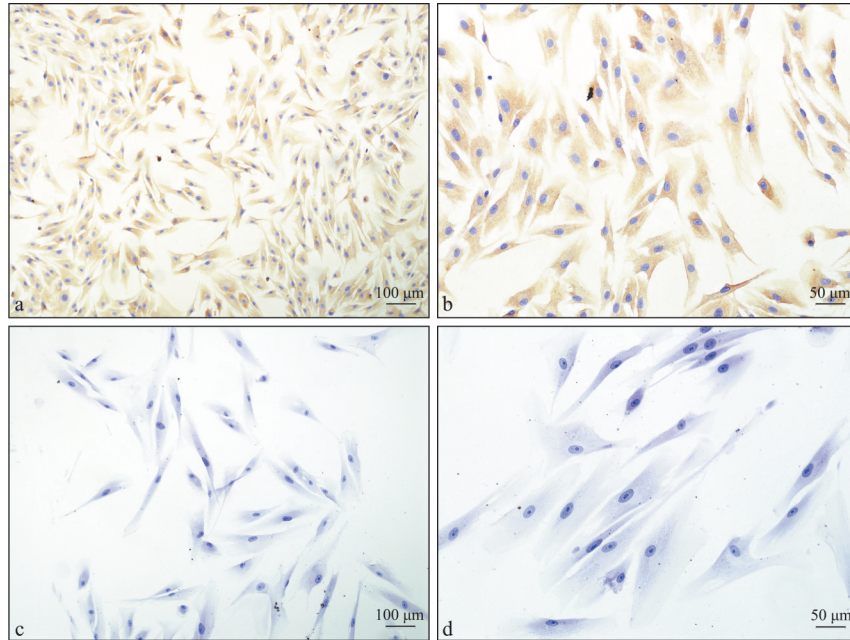
图 2 成纤维细胞图

Fig 2 Fibroblast diagrams

2.5 THBS1 基因表达情况

THBS1基因在RNA水平相对表达情况见图6，瘢痕组织与正常组织中THBS1表达差异有统计学

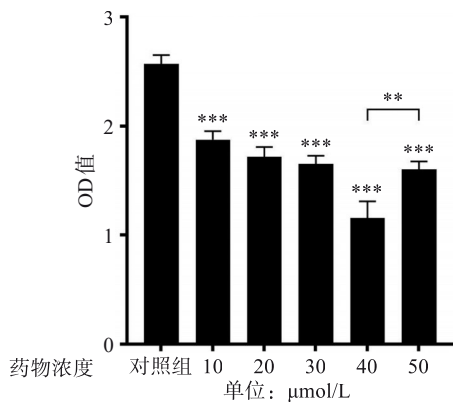
意义，40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度芦荟大黄素处理的成纤维细胞与空白对照成纤维细胞中THBS1表达差异有统计学意义。



a: 抗波形蛋白, 光学显微镜 ×100; b: 抗波形蛋白, 光学显微镜 ×200; c: 抗角形蛋白, 光学显微镜 ×100; d: 抗角形蛋白, 光学显微镜 ×200。

图 3 成纤维细胞免疫细胞化学染色

Fig 3 Immunocytochemical staining of fibroblasts



注: ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$ 。

图 4 成纤维细胞CCK8吸光度值检测

Fig 4 Detection of absorbance value of CCK8 in fibroblasts

2.6 组织测序富集分析

组织测序富集分析结果见图7~8, 差异基因在细胞外基质与受体相互作用 [extracellular matrix (ECM) -receptor interaction] 通路中显著富集, ECM-receptor interaction 通路中有 25 个差异基因富集。

2.7 细胞测序富集分析

细胞测序富集分析结果差异基因在 PI-3K-Akt 信号通路和 ECM-receptor interaction 信号通路中显著富集, PI3K-Akt 信号通路富集到 38 个差异基因, ECM-receptor interaction 信号通路富集到 15 个差异基因, 见图9~10。

2.8 芦荟大黄素抑制 PI3K/Akt 信号通路

p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白水平相对表达情况, 见图 11。

与空白对照成纤维细胞相比, 加入 50 μmol/L LY294002 (PI3K 抑制剂) 或加入 40 μmol/L 芦荟大黄素的成纤维细胞, PI3K 及 Akt 的磷酸化蛋白的表达水平均降低。

3 讨论

组织纤维化的过程涉及成纤维细胞增殖和细胞外基质积聚: 包括转化生长因子、血小板源性生长因子、内皮细胞生长因子、纤维母细胞生长因子等生长因子和促纤维化细胞因子如白细胞介素-1和肿瘤转化生长因子在内的多种因子可促进成纤维细胞向损伤部位迁移和增殖, 继而合成分泌以胶原为主的 ECM 并在细胞外积聚, 促进组织纤维化。随着伤口愈合, 白细胞和成纤维细胞进一步合成并分泌以上促纤维化因子, 促进胶原合成与细胞外积聚^[4], 加剧组织纤维化。因此, 成纤维细胞在组织纤维化中起到核心作用^[5-6]。

越来越多的证据表明, 来源于某些植物的天然化合物成分能够抑制成纤维细胞增殖, 发挥抗组织纤维化的作用。例如, β-谷甾醇能抑制皮肤增生性瘢痕成纤维细胞增殖^[7], 川芎嗪可抑制皮肤

增生性瘢痕成纤维细胞的增殖并下调相关促纤维化因子的表达^[8]，人参皂苷 Rg3 既可抑制皮肤增生性瘢痕成纤维细胞增殖，同时一定程度上抑制部分 ECM 的沉积^[9]。综上，药理抑制成纤维细胞可

发挥抗组织纤维化及瘢痕组织形成的作用，从而为继发性上颌发育不足的治疗提供丰富的治疗思路。

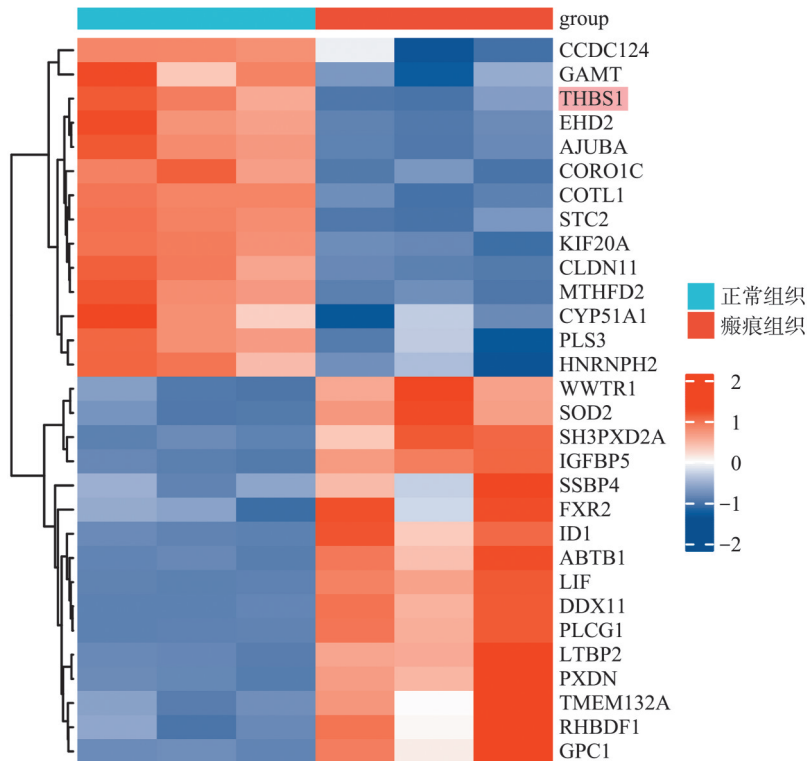
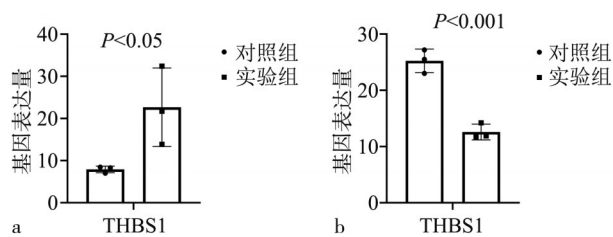


图 5 细胞测序热图

Fig 5 Cell sequencing heatmap



a: 瘢痕组织与正常组织中 THBS1 表达情况; b: 40 μmol/L 浓度芦荟大黄素处理的成纤维细胞与空白对照成纤维细胞中 THBS1 表达情况。

图 6 THBS1 基因表达差异图

Fig 6 Expression difference diagrams of gene THBS1

3.1 芦荟大黄素对人腭裂术后瘢痕成纤维细胞增殖产生抑制

芦荟大黄素是一种天然蒽醌类化合物，具有多种药理作用，包括抗癌、抗病毒、抗炎、抗菌、抗寄生虫、神经保护和肝脏保护等作用^[10]。张培华等^[11]发现芦荟大黄素以剂量、时间依赖性的方式对人皮肤增生性瘢痕来源的成纤维细胞 (human hypertrophic scar derived fibroblasts, hHSFs) 生长起到抑制作用。Dou 等^[12]发现芦荟大黄素可以降

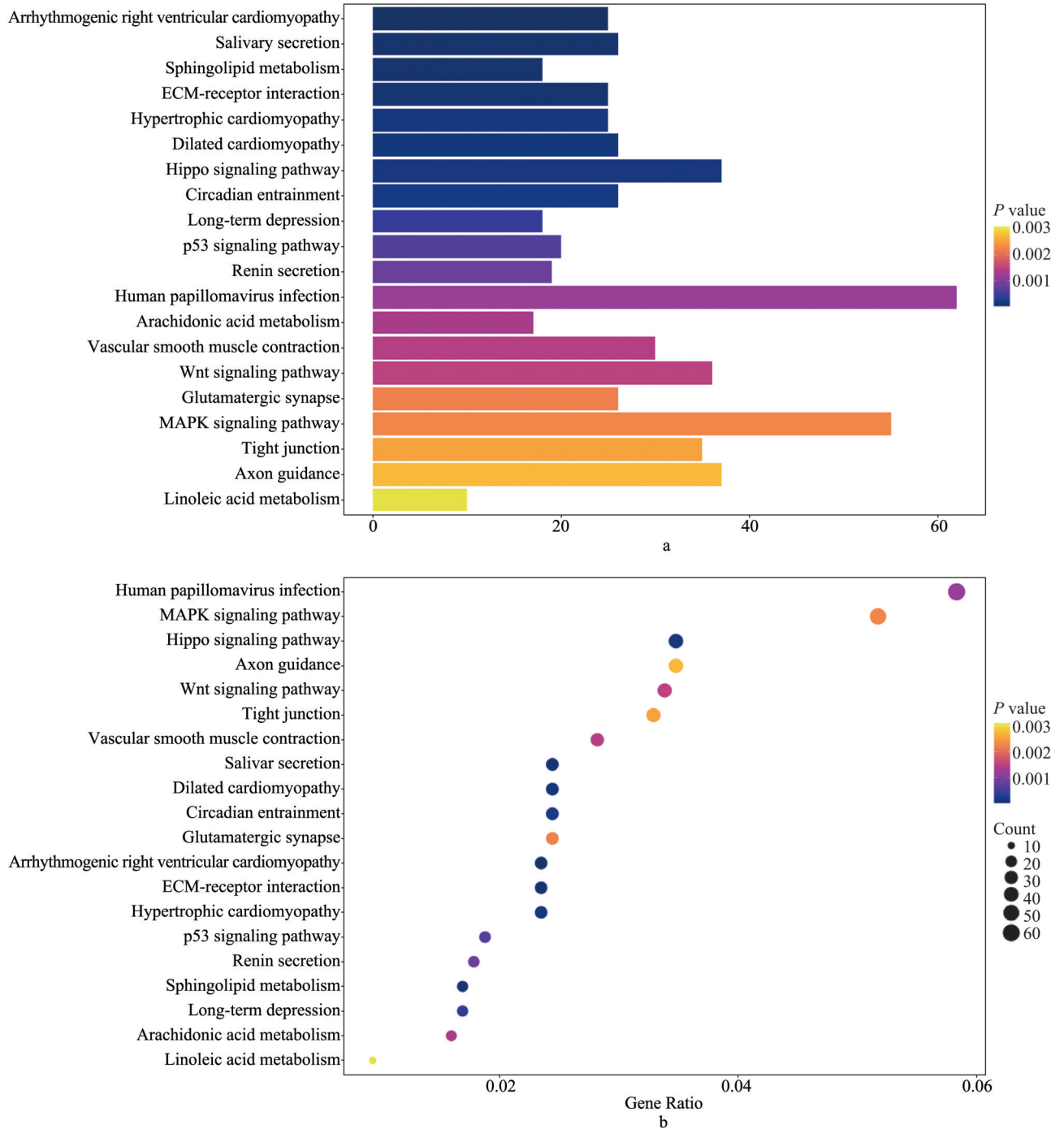
低小鼠肾纤维化相关蛋白的水平。也有报道^[13-15]显示，以芦荟大黄素为主要成分的中药合剂可对肝、肾纤维化起到改善作用。本实验对人腭裂术后腭部瘢痕组织来源的成纤维细胞进行培养 (图 2~3)，结果表明芦荟大黄素对成纤维细胞增殖的抑制作用呈浓度依赖性，其中 40 μmol/L 浓度组抑制最明显 (图 4)。然而，芦荟大黄素抑制成纤维细胞增殖并发挥抗瘢痕组织形成的作用及相关分子机制仍需进一步阐明。

3.2 芦荟大黄素下调 THBS1 的表达，抑制腭部组织纤维化

THBS1 是一种细胞外基质蛋白，在肿瘤发生、纤维化、白细胞募集等过程中发挥重要作用^[16]。Bige 等^[17]认为 THBS1 是肾脏疾病重要的促纤维化和炎症介质。THBS1 结合并激活 TGF-β1 促进肝、肾纤维化^[18-20]，也可以通过激活成人心脏组织中 TGF-β1 并促进基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 的表达，从而导致心肌重塑和纤维化^[21]。研究^[22]表明，抑制 THBS1 的表达可有效预防肺纤维化。Zhou 等^[23]利用 miR-221 靶向

THBS1, 从而抑制 TGF- β 1, 改善肾功能衰竭所致的心肌纤维化。同样, Asama 等^[24]利用 let-7d 靶向 THBS1 来抑制人多能干细胞 (human pluripotent stem cells, hPSC) 的激活, 进而调节胰腺纤维化。Jiang 等^[25]通过阻断 THBS1 下调 TGF- β 1/Smad3 信号通路进而减轻高糖诱导下的腹膜纤维化。还有研究^[26]表明, THBS1 是隐性营养不良型大疱性表

皮松懈症 (recessive dystrophic epidermolysis bullosa, RDEB) 成纤维细胞 TGF- β 信号的主要激活物, 即 THBS1 可能是降低 RDEB 患者纤维化的有效靶点。然而 THBS1 在口腔相关疾病或瘢痕组织形成导致上颌发育不足的相关领域仍然缺乏相关研究, 因此亟待阐明 THBS1 在相关领域的作用及机制。



a: 差异基因在细胞外基质与受体相互作用 [extracellular matrix (ECM) -receptor interaction] 通路中显著富集; b: ECM-receptor interaction 通路中有 25 个差异基因富集。

图 7 组织测序 KEGG 富集分析图

Fig 7 KEGG enrichment analysis charts of tissue sequencing

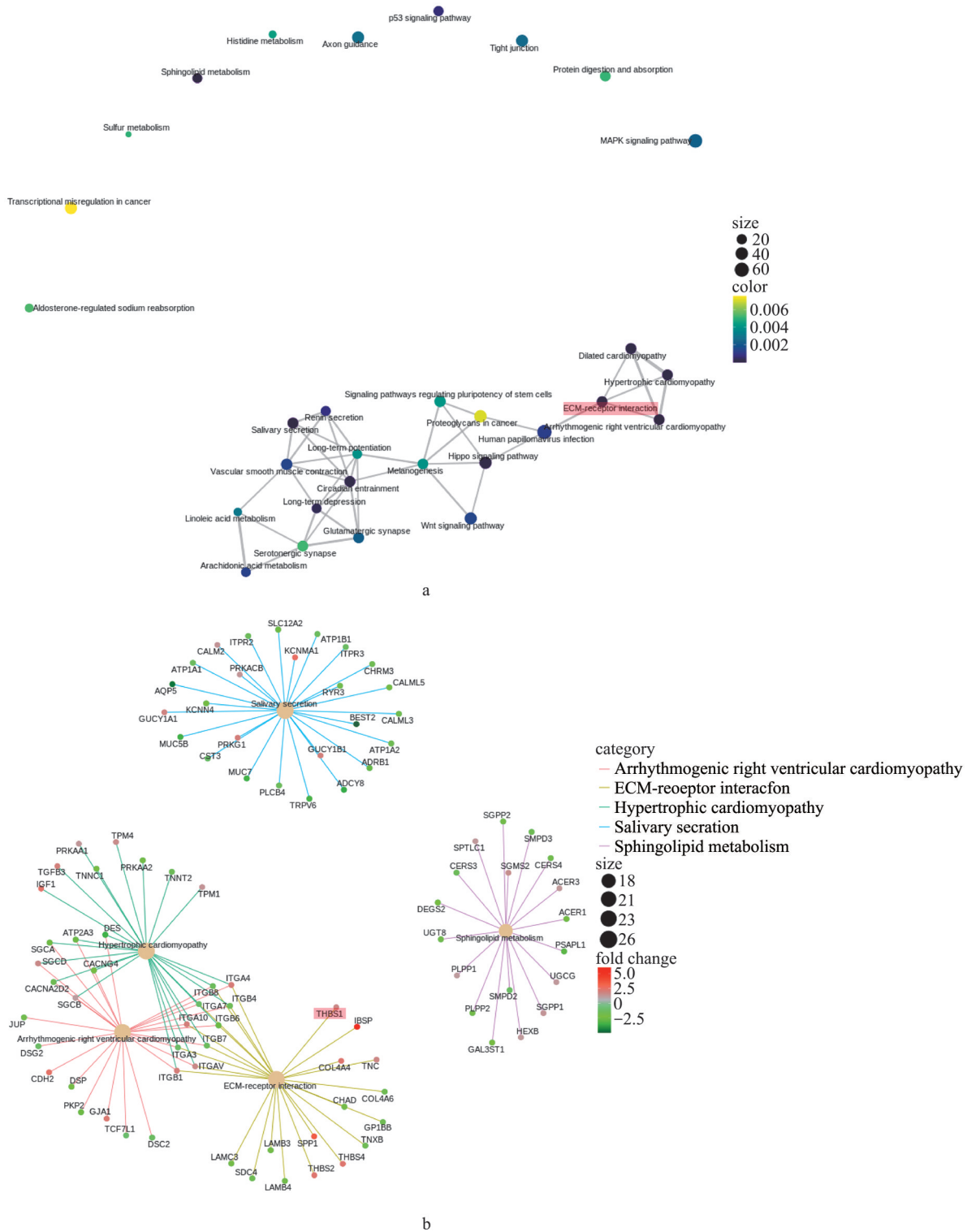
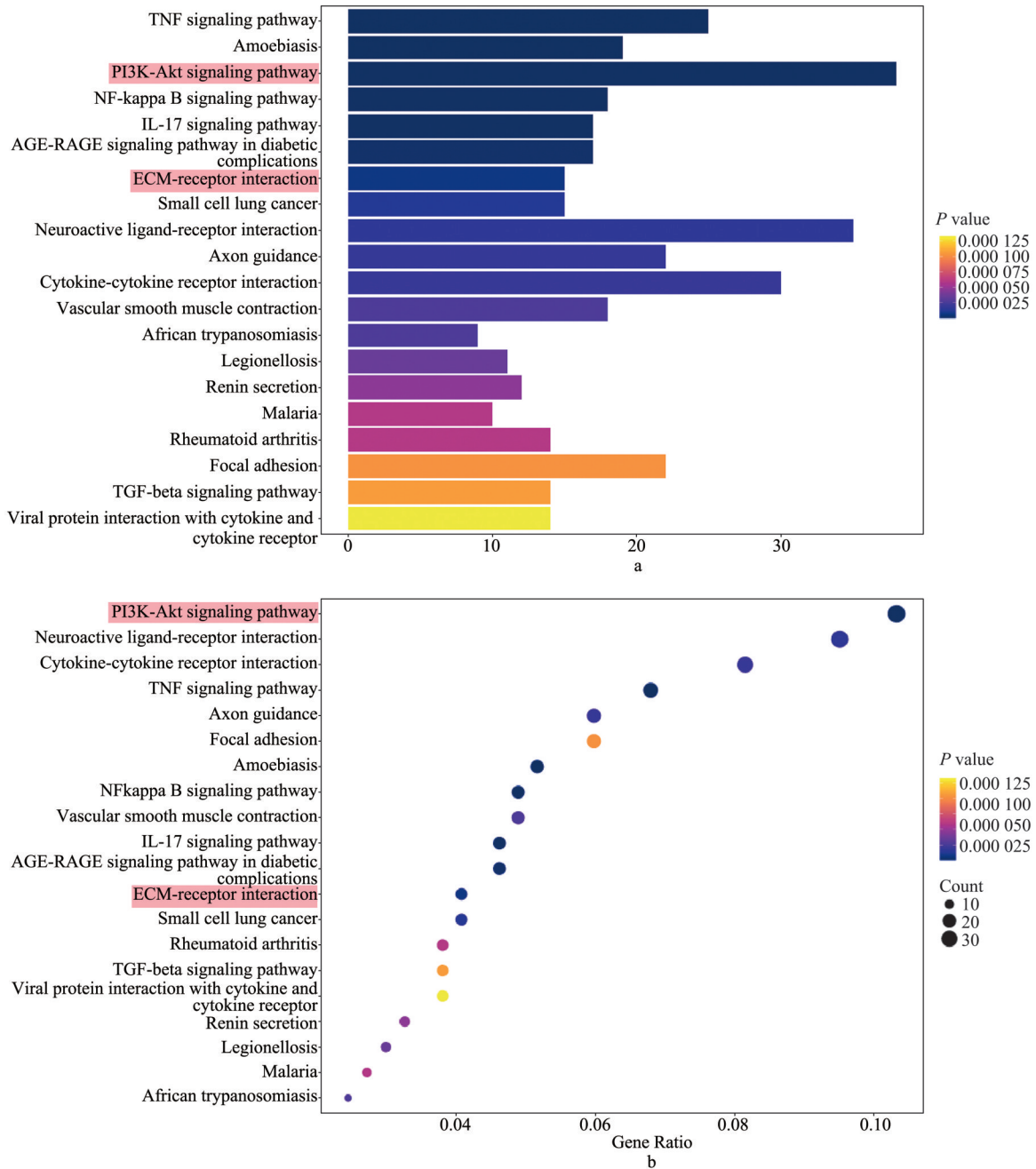


图 8 组织测序富集分析网络图

Fig 8 Enrichment analysis network diagrams in tissue sequencing

通过对 3 例患者瘢痕组织和周围正常组织进行转录组测序，我们发现，瘢痕组织中 THBS1 表达显著高于正常组织（图 1）。同样，利用 40 μmol/L 浓度芦荟大黄素处理腭裂术后瘢痕组织来源的成纤维细胞并进行转录组学分析，结果显示芦荟大

黄素可显著下调 THBS1 的表达（图 5）。上述结果提示 THBS1 可能在纤维化所致的口腔上颌发育不足过程中发挥关键作用。同上述转录组测序结果一致，利用 qPCR 检测 THBS1 的表达量，结果显示芦荟大黄素可显著下调 THBS1 的表达（图 6）。



a: 差异基因在 PI3K-Akt 信号通路和 ECM-receptor interaction 信号通路中显著富集; b: PI3K-Akt 信号通路富集到 38 个差异基因, ECM-receptor interaction 信号通路富集到 15 个差异基因。

图 9 细胞测序差异基因富集分析图

Fig 9 Enrichment analysis charts of differentially expressed genes in cell sequencing

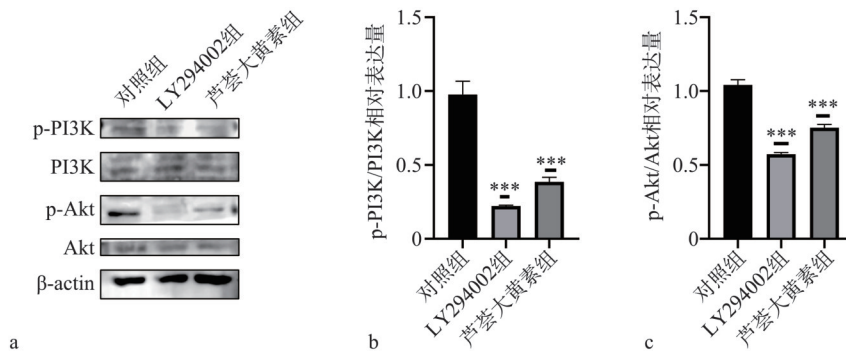
3.3 THBS1-PI3K-Akt 促进肺部瘢痕成纤维细胞增殖

THBS1 通过与纤维蛋白原、纤维连接蛋白、层粘连蛋白、V 型胶原、整合素、CD47 及 CD36 等结合,从而介导细胞与细胞、细胞与 ECM 之间的相互作用,进而影响细胞功能^[27-28]。PI3K/Akt 信号通路是调控细胞生长、增殖、迁移、代谢和存活的核心通路之一^[29],可通过激活参与细胞周期转换和细胞增殖的下游效应分子,在调节多种生

理过程中发挥重要作用^[30]。越来越多的研究^[31-35]表明该信号通路与组织纤维化过程高度相关。有报道^[31]显示,PI3K/Akt 在内质网应激的上游发挥作用,影响肺成纤维细胞的增殖,促进博来霉素诱导的肺纤维化。一些促纤维化因子,如 α 平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) 和 TGF- β 均可激活 PI3K/Akt,促进肺纤维化的形成^[32-33]。其中,TGF- β 激活 PI3K 诱导 Akt 磷酸化,抑制 Akt 可显著缓解由压力超负荷引起的心肌纤维化^[34]。

黄素能通过调控 PI3K/Akt 信号通路,改善非酒精性脂肪性肝炎大鼠肝脏脂质沉积,减轻炎症细胞浸润,改善肝脏纤维化病变。以芦荟大黄素为主

要成分的复方中药合剂通过网络药理学及转录组学分析,发现可能通过 PI3K/Akt 等一些通路发挥抗纤维化作用^[13,38-39]。



a: WB印迹条带; b: PI3K、p-PI3K 蛋白水平的相对表达量; c: Akt、p-Akt 蛋白水平的相对表达量。***P<0.001。

图 11 各组腭裂术后瘢痕组织来源的成纤维细胞 PI3K、Akt 及其磷酸化蛋白表达水平

Fig 11 Expression levels of PI3K, Akt and their phosphorylated proteins in fibroblasts derived from scar tissues after cleft palate repair in each group

对瘢痕组织及成纤维细胞转录组测序结果进行 KEGG 富集分析,结果均显示,差异基因在 ECM-receptor interaction 通路中显著富集,且拥有共同差异基因 THBS1 (图 7~10)。ORA 分析结果提示,包括 THBS1 在内的差异基因在 PI3K-Akt 信号通路中显著富集 (图 9~10),提示 THBS1 可能

通过与受体相互作用激活 PI3K-Akt,从而促进成纤维细胞增殖及腭部瘢痕形成。据此可提出假设:芦荟大黄素可能通过下调 THBS1,抑制 PI3K-Akt,从而降低术后腭部瘢痕组织来源的成纤维细胞增殖活性,发挥抗腭部组织纤维化及瘢痕形成的作用 (图 12)。

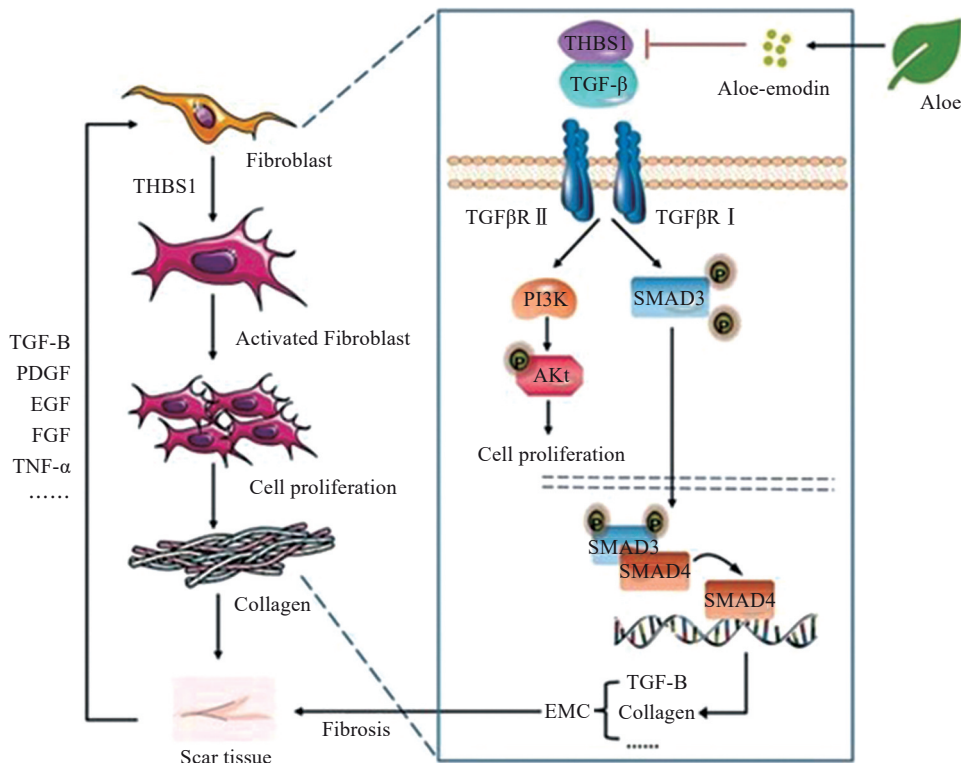


图 12 假设图

Fig 12 Assumption diagram

本研究期望通过以上基础研究结果,为后续机制探究提出一种相对合理假设,有望为腭裂瘢

痕治疗提供一个新的靶点——THBS1,为临床治疗提供一种新的药物选择——芦荟大黄素。

利益冲突声明：作者声明本文无利益冲突。

[参考文献]

- [1] Harikrishnan P, Balakumaran V. Analysis of intramaxillary and mid-face skeletal asymmetry in a three-dimensional model with complete unilateral cleft lip and palate [J]. J Craniofac Surg, 2018, 29(8): e759-e762.
- [2] Shi B, Losee JE. The impact of cleft lip and palate repair on maxillofacial growth[J]. Int J Oral Sci, 2015, 7(1): 14-17.
- [3] Xu X, Kwon HJ, Shi B, et al. Influence of different palate repair protocols on facial growth in unilateral complete cleft lip and palate[J]. J Craniomaxillofac Surg, 2015, 43(1): 43-47.
- [4] 步宏, 李一雷. 病理学[M]. 9版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 40-41.
- Bu H, Li YL. Pathology[M]. 9th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018: 40-41.
- [5] Talbott HE, Mascharak S, Griffin M, et al. Wound healing, fibroblast heterogeneity, and fibrosis[J]. Cell Stem Cell, 2022, 29(8): 1161-1180.
- [6] Buechler MB, Fu WX, Turley SJ. Fibroblast-macrophage reciprocal interactions in health, fibrosis, and cancer [J]. Immunity, 2021, 54(5): 903-915.
- [7] 左俊, 马少林. β -谷甾醇对增生性瘢痕成纤维细胞作用机制的网络药理学分析[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(2): 216-223.
- Zuo J, Ma SL. Mechanism of beta-sitosterol on hypertrophic scar fibroblasts: an analysis based on network pharmacology[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2024, 28(2): 216-223.
- [8] Wu X, Wang Z, Wu GF, et al. Tetramethylpyrazine induces apoptosis and inhibits proliferation of hypertrophic scar-derived fibroblasts *via* inhibiting the phosphorylation of AKT[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 602.
- [9] Tang MY, Wang WB, Cheng LY, et al. The inhibitory effects of 20(R)-ginsenoside Rg3 on the proliferation, angiogenesis, and collagen synthesis of hypertrophic scar derived fibroblasts *in vitro*[J]. Iran J Basic Med Sci, 2018, 21(3): 309-317.
- [10] Dong X, Zeng YW, Liu Y, et al. Aloe-emodin: a review of its pharmacology, toxicity, and pharmacokinetics[J]. Phytother Res, 2020, 34(2): 270-281.
- [11] 张培华, 梁杰, 罗少军, 等. 芦荟大黄素对瘢痕成纤维细胞增殖的时间-剂量依赖性效应[J]. 中国组织工程研究, 2005, 9(22): 172-174, 292.
- Zhang PH, Liang J, Luo SJ, et al. Effect of aloe-emodin on proliferation of scar fibroblasts in a time-and dose-dependent manner[J]. Chin J Tissue Eng Res, 2005, 9(22): 172-174, 292.
- [12] Dou F, Liu YT, Liu LM, et al. Aloe-emodin ameliorates renal fibrosis via inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway *in vivo* and *in vitro*[J]. Rejuvenation Res, 2019, 22(3): 218-229.
- [13] Zhou Y, Wu R, Cai FF, et al. Development of a novel anti-liver fibrosis formula with luteolin, licochalcone A, aloe-emodin and acacetin by network pharmacology and transcriptomics analysis[J]. Pharm Biol, 2021, 59(1): 1594-1606.
- [14] Zeng X, Cai G, Liang T, et al. Rhubarb and astragalus capsule attenuates renal interstitial fibrosis in rats with unilateral ureteral obstruction by alleviating apoptosis through regulating transforming growth factor beta1 (TGF- β 1)/p38 mitogen-activated protein kinases (p38 MAPK) pathway[J]. Med Sci Monit, 2020, 26: e920720.
- [15] Zhang DQ, Zhang LJ, Chen GF, et al. Hepatoprotective effect of Xiayuxue decoction ethyl acetate fraction against carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in mice *via* inducing apoptosis and suppressing activation of hepatic stellate cells[J]. Pharm Biol, 2020, 58(1): 1229-1243.
- [16] Bronson SM, Westwood B, Cook KL, et al. Discrete correlation summation clustering reveals differential regulation of liver metabolism by thrombospondin-1 in low-fat and high-fat diet-fed mice[J]. Metabolites, 2022, 12(11): 1036.
- [17] Bige N, Shweke N, Benhassine S, et al. Thrombospondin-1 plays a profibrotic and pro-inflammatory role during ureteric obstruction[J]. Kidney Int, 2012, 81(12): 1226-1238.
- [18] Murphy-Ullrich JE, Suto MJ. Thrombospondin-1 regulation of latent TGF- β activation: a therapeutic target for fibrotic disease[J]. Matrix Biol, 2018, 68-69: 28-43.
- [19] Li YZ, Turpin CP, Wang SX. Role of thrombospondin 1 in liver diseases[J]. Hepatol Res, 2017, 47(2): 186-193.
- [20] Murphy-Ullrich JE. Thrombospondin 1 and its diverse roles as a regulator of extracellular matrix in fibrotic disease[J]. J Histochem Cytochem, 2019, 67(9): 683-699.
- [21] Jana S, Zhang H, Lopaschuk GD, et al. Disparate remo-

- deling of the extracellular matrix and proteoglycans in failing pediatric versus adult hearts[J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(19): e010427.
- [22] Shi Z, Xu L, Xie H, et al. Attenuation of intermittent hypoxia-induced apoptosis and fibrosis in pulmonary tissues via suppression of ER stress activation[J]. *BMC Pulm Med*, 2020, 20(1): 92.
- [23] Zhou Y, Ng DYE, Richards AM, et al. microRNA-221 inhibits latent TGF- β 1 activation through targeting thrombospondin-1 to attenuate kidney failure-induced cardiac fibrosis[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 22: 803-814.
- [24] Asama H, Suzuki R, Hikichi T, et al. microRNA let-7d targets thrombospondin-1 and inhibits the activation of human pancreatic stellate cells[J]. *Pancreatol*, 2019, 19(1): 196-203.
- [25] Jiang N, Zhang Z, Shao XH, et al. Blockade of thrombospondin-1 ameliorates high glucose-induced peritoneal fibrosis through downregulation of TGF- β 1/Smad3 signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(1): 364-379.
- [26] Atanasova VS, Russell RJ, Webster TG, et al. Thrombospondin-1 is a major activator of TGF- β signaling in recessive dystrophic epidermolysis bullosa fibroblasts[J]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139(7): 1497-1505.e5.
- [27] Roberts DD, Miller TW, Rogers NM, et al. The matricellular protein thrombospondin-1 globally regulates cardiovascular function and responses to stress via CD47[J]. *Matrix Biol*, 2012, 31(3): 162-169.
- [28] Bissinger R, Petkova-Kirova P, Mykhailova O, et al. Thrombospondin-1/CD47 signaling modulates transmembrane cation conductance, survival, and deformability of human red blood cells[J]. *Cell Commun Signal*, 2020, 18(1): 155.
- [29] Yang J, Nie J, Ma XL, et al. Targeting PI3K in cancer: mechanisms and advances in clinical trials[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 26.
- [30] Shi X, Wang JJ, Lei Y, et al. Research progress on the PI3K/AKT signaling pathway in gynecological cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2019, 19(6): 4529-4535.
- [31] Hsu HS, Liu CC, Lin JH, et al. Involvement of ER stress, PI3K/AKT activation, and lung fibroblast proliferation in bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 14272.
- [32] Conte E, Fruciano M, Fagone E, et al. Inhibition of PI3K prevents the proliferation and differentiation of human lung fibroblasts into myofibroblasts: the role of class I P110 isoforms[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e24663.
- [33] Sun YW, Zhang YY, Chi P. Pirfenidone suppresses TGF- β 1-induced human intestinal fibroblasts activities by regulating proliferation and apoptosis via the inhibition of the Smad and PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(4): 3907-3913.
- [34] Wei WY, Ma ZG, Xu SC, et al. Pioglitazone protected against cardiac hypertrophy via inhibiting AKT/GSK3 β and MAPK signaling pathways[J]. *PPAR Res*, 2016, 2016: 9174190.
- [35] Xu XW, Khoong YM, Gu SC, et al. Investigating the potential of LSKL peptide as a novel hypertrophic scar treatment[J]. *Biomedecine Pharmacother*, 2020, 124: 109824.
- [36] 赵小萍, 曾嵘, 王俭勤, 等. 大黄素对高糖介导的大鼠 NRK52E TSP1 和 TGF- β 1 表达的影响[J]. *中国民族民间医药*, 2009, 18(14): 1-3.
- Zhao XP, Zeng R, Wang JQ, et al. Effect of rhein on expression of thrombospondin-1 and transforming growth factor β 1 in NRK52E cells stimulated by high glucose[J]. *Chin J Ethnomed Ethnopharm*, 2009, 18(14): 1-3.
- [37] 刘鸣昊, 张丽慧, 马庆亮, 等. 基于 PI3K/AKT/NF- κ B 信号传导通路探讨大黄素对非酒精性脂肪性肝炎模型大鼠的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(3): 1428-1432.
- Liu MH, Zhang LH, Ma QL, et al. Effects of emodin based on PI3K/AKT/NF- κ B signaling pathway in rats with non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Chin J Trad Chin Med Pharm*, 2020, 35(3): 1428-1432.
- [38] Fu SJ, Zhou YN, Hu C, et al. Network pharmacology and molecular docking technology-based predictive study of the active ingredients and potential targets of rhubarb for the treatment of diabetic nephropathy[J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1): 210.
- [39] Cai FF, Bian YQ, Wu R, et al. Yinchenhao decoction suppresses rat liver fibrosis involved in an apoptosis regulation mechanism based on network pharmacology and transcriptomic analysis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 114: 108863.