

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2024.05.005
文章编号: 1005-8982 (2024) 05-0032-05

实验研究·论著

SHP2过表达抑制人肝星状细胞LX-2凋亡*

郝礼森, 苗笑佳, 宋洁, 蒋美钰, 何宇, 潘恩亮, 莫艳波, 王静
(华北理工大学附属医院 消化内科, 河北 唐山 063000)

摘要: 目的 探讨含SH2结构域的蛋白酪氨酸磷酸酶2(SHP2)过表达对人肝星状细胞LX-2凋亡的影响。
方法 将表达绿色荧光蛋白(GFP)的空病毒Ad-GFP、表达野生型SHP2及GFP的腺病毒Ad-SHP2转染LX-2细胞。实验分为3组: ①Control组, 以DMEM代替腺病毒转染LX-2细胞; ②Ad-GFP组, 转染空病毒Ad-GFP; ③Ad-SHP2组, 转染重组腺病毒Ad-SHP2。Western blotting检测3组LX-2细胞的SHP2、Bax、Bcl-2蛋白表达; 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测3组LX-2细胞的SHP2 mRNA表达; TUNEL及膜联蛋白-V/碘化丙啶双标记流式细胞术检测3组LX-2细胞凋亡情况。**结果** Ad-SHP2组LX-2细胞的SHP2蛋白及mRNA相对表达量高于Control组及Ad-GFP组($P < 0.05$); Ad-GFP组与Control组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。TUNEL及膜联蛋白-V/碘化丙啶双标记流式细胞术检测结果显示, 与Control组LX-2细胞凋亡率($3.08 \pm 0.73\%$)、($9.44 \pm 0.80\%$)及Ad-GFP组($3.25 \pm 0.85\%$)、($8.89 \pm 1.98\%$)比较, Ad-SHP2组($1.52 \pm 0.26\%$)、($2.44 \pm 0.93\%$)降低($P < 0.05$); Ad-GFP组与Control组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。3组LX-2细胞的Bax及Bcl-2蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); Ad-SHP2组LX-2细胞的Bax蛋白相对表达量(1.55 ± 0.21)低于Control组(1.99 ± 0.15)及Ad-GFP组(2.00 ± 0.16)($P < 0.05$); 而Bcl-2蛋白相对表达量(2.13 ± 0.25)则高于Control组(1.71 ± 0.15)及Ad-GFP组(1.52 ± 0.14)($P < 0.05$); 但Ad-GFP组与Control组Bax及Bcl-2蛋白相对表达量比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** SHP2过表达通过升高Bcl-2/Bax抑制体外人肝星状细胞LX-2凋亡。

关键词: 肝纤维化; 肝星状细胞; SHP2; 细胞凋亡

中图分类号: R575

文献标识码: A

Overexpression of SHP2 inhibits apoptosis of human hepatic stellate cells LX-2*

Hao Li-sen, Miao Xiao-jia, Song Jie, Jiang Mei-yu, He Yu, Pan En-liang, Mo Yan-bo, Wang Jing
(Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of overexpression of Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase 2 (SHP2) on apoptosis in human hepatic stellate cells (LX-2). **Methods** LX-2 cells were transfected with adenoviruses expressing green fluorescent protein (GFP) alone (Ad-GFP), wild-type SHP2 and GFP (Ad-SHP2). The experiment was divided into three groups: Control group, in which LX-2 cells were transfected with DMEM instead of adenovirus; Ad-GFP group, transfected with empty adenovirus Ad-GFP; Ad-SHP2 group, transfected with recombinant adenovirus Ad-SHP2. Western blotting was used to detect the expression of SHP2, Bax, and Bcl-2 proteins in the three groups of LX-2 cells. Real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was performed to measure SHP2 mRNA expression in LX-2 cells. Apoptosis of LX-2 cells in the three groups was detected by TUNEL assay and annexin V/propidium iodide double staining flow cytometry. **Results** The relative expression levels of SHP2 protein and mRNA in LX-2 cells in the Ad-SHP2 group were higher than those in

收稿日期: 2023-02-22

* 基金项目: 河北省自然科学基金面上项目(No: H2018209366)

the Control group and Ad-GFP group ($P < 0.05$). There was no significant difference in SHP2 expression between the Control group and Ad-GFP group ($P > 0.05$). TUNEL assay and annexin V/propidium iodide double staining flow cytometry showed that the apoptosis rate of LX-2 cells in the Ad-SHP2 group ($1.52 \pm 0.26\%$) and ($2.44 \pm 0.93\%$) was lower compared to the Control group ($3.08 \pm 0.73\%$) and ($9.44 \pm 0.80\%$) and the Ad-GFP group ($3.25 \pm 0.85\%$) and ($8.89 \pm 1.98\%$) ($P < 0.05$). There was no significant difference in apoptosis between the Control group and Ad-GFP group ($P > 0.05$). The relative expression levels of Bax and Bcl-2 proteins in LX-2 cells in the three groups were significantly different ($P < 0.05$). The relative expression level of Bax protein in the Ad-SHP2 group (1.55 ± 0.21) was lower than that in the Control group (1.99 ± 0.15) and the Ad-GFP group (2.00 ± 0.16) ($P < 0.05$), while the relative expression level of Bcl-2 protein (2.13 ± 0.25) was higher than that in the Control group (1.71 ± 0.15) and the Ad-GFP group (1.52 ± 0.14) ($P < 0.05$). There was no significant difference in the expression of Bax and Bcl-2 proteins between the Control group and Ad-GFP group ($P > 0.05$). **Conclusion** Overexpression of SHP2 inhibits apoptosis of human hepatic stellate cells LX-2 in vitro by increasing the Bcl-2/Bax ratio.

Keywords: Liver fibrosis; hepatic stellate cells; SHP2; apoptosis

含 SH2 结构域的蛋白酪氨酸磷酸酶 2 (SH2 domain-containing tyrosine phosphatase 2, SHP2) 是由蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 11 基因编码的具有促癌作用的蛋白酪氨酸磷酸酶,其在某些肿瘤中表达异常,不仅参与了肿瘤发生、发展,也在某些非肿瘤性疾病的病理过程中起重要作用^[1-3]。在肝纤维化方面,有研究发现体外活化大鼠肝星状细胞的 SHP2 低表达可抑制其增殖^[4],大鼠肝纤维化病程中其肝组织的 SHP2 表达逐渐升高^[5]。而肝星状细胞是参与肝纤维化的主要细胞,这提示在肝纤维化病理过程中肝组织的 SHP2 表达升高,并可能通过影响肝星状细胞参与肝纤维化。本研究拟探讨 SHP2 过表达对体外培养的人肝星状细胞 LX-2 的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂

LX-2 细胞由上海美轩生物科技公司提供。表达绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 的空病毒 Ad-GFP、表达野生型 SHP2 及 GFP 的腺病毒 Ad-SHP2 由上海汉恒生物科技公司协助构建,兔抗 Bax 单克隆抗体及兔抗 Bcl-2 多克隆抗体购自台湾 arigo Biolaboratories 公司,兔抗 SHP2 多克隆抗体购自武汉爱博泰克 (ABclonal) 生物科技有限公司, TUNEL 荧光试剂盒购自大连美仑生物科技公司,膜联蛋白-V (annexin-V)/碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 细胞凋亡检测试剂盒购自江苏凯基生物科技公司。

1.2 方法

1.2.1 腺病毒转染 LX-2 细胞 体外培养 LX-2 细

胞,细胞生长至 80% 左右时进行腺病毒转染。转染前先计算病毒载量 (细胞数 \times 感染倍数 = 病毒载量,感染倍数: Ad-GFP 为 100、Ad-SHP2 为 300),将病毒液稀释后加入培养的 LX-2 细胞,在 5% 二氧化碳、37 $^{\circ}\text{C}$ 的孵育箱中孵育 2 h 后加入 DMEM 培养。将培养 LX-2 细胞的培养皿放于倒置荧光显微镜下计数细胞的 GFP 表达,并计算转染效率。LX-2 细胞的 GFP 表达随着感染时间的推移逐渐增强,感染 48 及 72 h 腺病毒转染效率均达 80% 以上,但 72 h 的 LX-2 细胞出现明显脱落,故本研究均采用腺病毒感染 48 h 的 LX-2 细胞进行实验。实验分为 ①Control 组:以 DMEM 代替病毒液转染 LX-2 细胞;②Ad-GFP 组:转染空病毒 Ad-GFP;③Ad-SHP2 组:转染重组腺病毒 Ad-SHP2。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 检测 SHP2 mRNA 表达 应用 TRIzol 试剂盒,按说明提取 LX-2 细胞的总 RNA,逆转录合成 cDNA;引物由上海生工生物公司协助设计合成。SHP2 正向引物 5'-GCCGC TCATGACTATACGCT-3',反向引物 5'-GACCGTTCTC TCCGTATTCCC-3',长度 84 bp; GAPDH 正向引物 5'-GCACCGTCA AGGCTGAGAAC-3',反向引物 5'-TGTT GAAGACGCCAGTGGA-3',长度 138 bp。在实时荧光定量 PCR 仪上进行实时定量扩增。扩增体系 20 μL ,扩增条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 扩增 34 s,共 40 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算各组 LX-2 细胞的 SHP2 mRNA 相对表达量^[6]。

1.2.3 Western blotting 检测 SHP2、Bcl-2、Bax 蛋白表达 提取各组 LX-2 细胞蛋白,BCA 法测定蛋白含量,SDS-PAGE 电泳后于冰上湿转,在含 5% 的

BSA 的 TBST 中封闭 2 h, 加入一抗 1:500 稀释的兔抗 SHP2 多克隆抗体及兔抗 Bcl-2 多克隆抗体、1:1 000 稀释的兔抗 Bax 单克隆抗体、1:5 000 稀释的小鼠抗 GAPDH 单克隆抗体, 4 ℃ 过夜后 TBST 洗 4 次, 10 min/次, 分别加入 HPR 标记的山羊抗兔及山羊抗小鼠 IgG (1:5 000) 孵育 2 h, TBST 洗 4 次, 10 min/次, 加入 ECL 显色液 (1:1) 后于生物分子显像仪显色。GAPDH 为内参蛋白。采用 Image J 1.47 软件分析 SHP2、Bcl-2、Bax 蛋白的吸光度值。各检测蛋白的相对表达量以该检测蛋白的吸光度值与 GAPDH 蛋白的吸光度值比值表示。

1.2.4 TUNEL 法检测 LX-2 细胞凋亡率 在 24 孔培养板上接种 LX-2 细胞, 加入 DMEM 完全培养基培养, 按上述实验分组转染腺病毒, 转染 48 h 收集 LX-2 细胞并用多聚甲醛固定 30 min, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer solution, PBS) 洗 1 次; 各组细胞滴加蛋白酶 K (1:100 稀释), 孵育 15 min, PBS 洗 3 次, 5 min/次; 滴加配制好的 TUNEL 检测液 (红色 TRITC 标记), 避光于 37 ℃ 孵育 1 h, PBS 洗 3 次, 5 min/次; 滴加 DAPI 复染细胞核 5 min, 在激光共聚焦显微镜下观察, 凋亡细胞核为红色荧光, 正常细胞核为蓝色荧光, 随机选取 6 个视野进行拍照; 用 Image-pro plus 6.0 软件分析图像, 计算细胞凋亡率 (凋亡率 = 凋亡细胞核/蓝色细胞核 × %)。

1.2.5 Annexin-V/PI 双标记流式细胞术检测 LX-2 细胞凋亡 用 6 孔板培养 LX-2 细胞, 按实验分组转染腺病毒, 转染 48 h 弃除培养基并用 PBS 清洗细胞后加入 0.25% 胰酶消化细胞, 终止消化后将细胞悬液移入离心管离心; 倒掉培养基、PBS 再次洗涤 2 次后 800 r/min 离心 10 min, 滴加 500 μL Binding Buffer 重悬细胞, 先后滴加 5 μL Annexin-V 及 5 μL PI 液, 室温下避光反应 10 min。采用流式细胞仪检测细胞凋亡。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 野生型 SHP2 基因在 LX-2 细胞内大量表达

Control 组 LX-2 细胞的 SHP2 mRNA 相对表达量为 (1.00 ± 0.00), Ad-GFP 组为 (1.10 ± 0.10), Ad-SHP2 组为 (7.55 ± 0.72), 3 组比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=482.678, P=0.000$)。进一步两两比较, Ad-SHP2 组高于 Ad-GFP 组及 Control 组 ($P < 0.05$); Ad-GFP 组与 Control 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

Control 组 LX-2 细胞 SHP2 蛋白相对表达量为 (1.27 ± 0.21)、Ad-GFP 组为 (1.34 ± 0.20)、Ad-SHP2 组为 (1.85 ± 0.14), 3 组比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=18.225, P=0.000$)。进一步两两比较, Ad-SHP2 组高于 Control 组及 Ad-GFP 组 ($P < 0.05$); Ad-GFP 组与 Control 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。上述结果显示野生型 SHP2 基因成功转染入 LX-2 细胞并上调 LX-2 细胞的 SHP2 表达。见图 1。

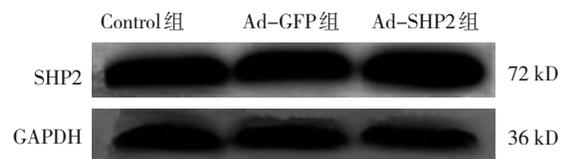


图 1 3 组 LX-2 细胞的 SHP2 蛋白表达

2.2 SHP2 过表达抑制 LX-2 细胞凋亡

TUNEL 检测结果显示, Control 组 LX-2 细胞凋亡率为 (3.08 ± 0.73)%、Ad-GFP 组为 (3.25 ± 0.85)%、Ad-SHP2 组为 (1.52 ± 0.26)%, 3 组比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=12.317, P=0.000$)。进一步两两比较, Ad-SHP2 组较 Control 组及 Ad-GFP 组降低 ($P < 0.05$); Ad-GFP 组与 Control 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 2。

Annexin-V/PI 双标记流式细胞术检测结果显示, Control 组 LX-2 细胞凋亡率为 (9.44 ± 0.80)%、Ad-GFP 组为 (8.89 ± 1.98)%、Ad-SHP2 组为 (2.44 ± 0.93)%, 3 组比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F=50.101, P=0.000$)。进一步两两比较, Ad-SHP2 组较 Control 组及 Ad-GFP 组降低 ($P < 0.05$); Ad-GFP 组与 Control 组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 3。

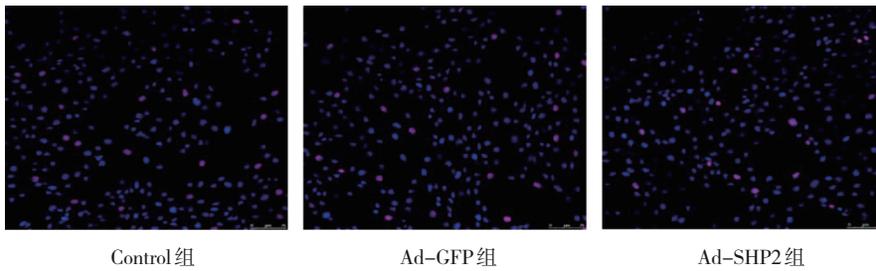


图2 3组 LX-2细胞凋亡图 (TUNEL法 × 200)

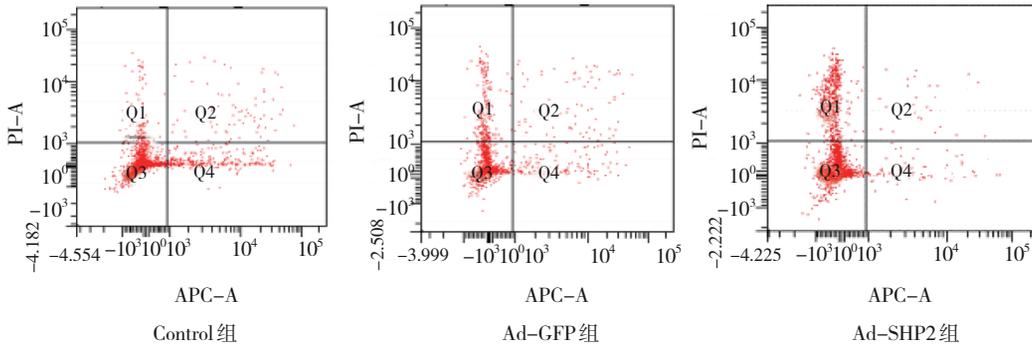


图3 3组 LX-2细胞凋亡 Annexin-V/PI 双标记流式细胞图

2.3 SHP2过表达对LX-2细胞Bax及Bcl-2蛋白表达的影响

3组 LX-2细胞的Bax、Bcl-2蛋白相对表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义($P < 0.05$)。进一步两两比较,Ad-SHP2组Bax蛋白相对表达量较Control组及Ad-GFP组降低($P < 0.05$);Ad-GFP组与Control组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。Ad-SHP2组Bcl-2蛋白相对表达量较Control组及Ad-GFP组升高($P < 0.05$);Ad-GFP组与Control组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1和图4。

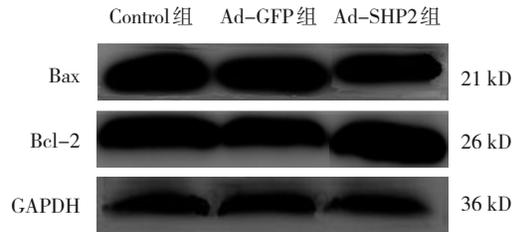


图4 3组 LX-2细胞的Bax及Bcl-2蛋白表达

表1 3组 LX-2细胞的Bax、Bcl-2蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	Bax 蛋白	Bcl-2 蛋白
Control组	1.99 ± 0.15	1.71 ± 0.15
Ad-GFP组	2.00 ± 0.16	1.52 ± 0.14
Ad-SHP2组	1.55 ± 0.21 ^{①②}	2.13 ± 0.25 ^{①②}
F值	13.241	17.343
P值	0.000	0.000

注: ①与Control组比较, $P < 0.05$; ②与Ad-GFP组比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

SHP2是具有促癌作用的蛋白酪氨酸磷酸酶,在乳腺癌、口腔鳞状细胞癌、黑色素瘤、白血病多种肿瘤中过表达或异常激活,通过抑制这些肿瘤细胞的凋亡发挥促肿瘤作用^[7-11]。本研究发现,SHP2过表达可显著抑制体外培养的人肝星状细胞LX-2凋亡,这与SHP2过表达对肿瘤细胞凋亡的影响一致。而肝星状细胞是参与肝纤维化的主要细胞,在进展期肝纤维化,活化肝星状细胞增殖、产生过多的细胞外间质,促进肝纤维化发展;在恢复期肝纤维化,肝星状细胞凋亡明显增多,导致活化肝星状细胞数量明显减少,促进肝纤维化逆转^[12-14]。结合本课题组的前期动物实验发现,在四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化病程中,肝组织的SHP2表达随着肝纤维化加重逐渐升高^[5],并且与在体肝星状细胞凋亡呈显著负

相关^[15]。本研究结果提示在肝纤维化病理过程中 SHP2 过表达可能通过抑制活化肝星状细胞凋亡参与肝纤维化,如果下调 SHP2 表达则可能通过诱导活化肝星状细胞凋亡促进肝纤维化逆转。

众所周知,细胞凋亡是细胞的程序性死亡,是机体为了维持内环境稳态细胞遵循的一种自我结束生命的方式。在众多调控细胞凋亡的蛋白中,Bcl-2 和 Bax 蛋白发挥着至关重要的作用,Bcl-2 为抗凋亡因子,可抑制细胞凋亡,而 Bax 则可抑制 Bcl-2 的抗凋亡功能促进细胞凋亡,二者比例升高则抑制细胞凋亡^[16-18]。本研究显示 LX-2 细胞的 SHP2 过表达上调了抗凋亡的 Bcl-2 表达、下调了促凋亡的 Bax 表达,从而导致 Bcl-2/Bax 升高。这表明在 SHP2 过表达抑制 LX-2 细胞凋亡的作用中 Bcl-2/Bax 机制发挥了作用。

综上所述,本研究发现蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP2 过表达可抑制体外培养的 LX-2 细胞凋亡,并且发现 Bcl-2/Bax 机制发挥了作用,即 SHP2 过表达可升高 LX-2 细胞的 Bcl-2/Bax 比值。但参与细胞凋亡调控的机制复杂,有关 SHP2 对 LX-2 细胞凋亡影响的机制还有待进一步研究。

参 考 文 献 :

- [1] ZHU G Y, XIE J J, KONG W N, et al. Phase separation of disease-associated SHP2 mutants underlies MAPK hyperactivation[J]. *Cell*, 2020, 183(2): 490-502.e18.
- [2] HUANG W Q, LIN Q, ZHUANG X, et al. Structure, function, and pathogenesis of SHP2 in developmental disorders and tumorigenesis[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2014, 14(6): 567-588.
- [3] TAJAN M, DE ROCCA SERRA A, VALET P, et al. SHP2 sails from physiology to pathology[J]. *Eur J Med Genet*, 2015, 58(10): 509-525.
- [4] TIBALDI E, ZONTA F, BORDIN L, et al. The tyrosine phosphatase SHP-1 inhibits proliferation of activated hepatic stellate cells by impairing PDGF receptor signaling[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843(2): 288-298.
- [5] 郝礼森,宋洁,吴荣鹏,等.蛋白酪氨酸磷酸酶 SHP2 在四氯化碳诱导的肝纤维化大鼠肝组织中的动态表达[J]. *中华肝脏病杂志*, 2021, 29(9): 844-848.
- [6] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [7] JIE Z, FEI Z, NIU R F. Functions of Shp2 in cancer[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(9): 2075-2083.
- [8] YUAN Y, FAN Y L, GAO Z C, et al. SHP2 promotes proliferation of breast cancer cells through regulating Cyclin D1 stability via the PI3K/AKT/GSK3 β signaling pathway[J]. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(3): 707-725.
- [9] XIE H J, HUANG S Y, LI W G, et al. Upregulation of Src homology phosphotyrosyl phosphatase 2 (Shp2) expression in oral cancer and knockdown of Shp2 expression inhibit tumor cell viability and invasion *in vitro*[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 2014, 117(2): 234-242.
- [10] HILL K S, ROBERTS E R, WANG X, et al. PTPN11 plays oncogenic roles and is a therapeutic target for BRAF wild-type melanomas[J]. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(2): 583-593.
- [11] XU R Z, YU Y Z, ZHENG S, et al. Overexpression of Shp2 tyrosine phosphatase is implicated in leukemogenesis in adult human leukemia[J]. *Blood*, 2005, 106(9): 3142-3149.
- [12] 郝礼森,宋小杰,王玉兰,等.野生型 PTEN 过表达对体外活化肝星状细胞内钙离子浓度的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2017, 27(28): 12-15.
- [13] KISSELEVA T, BRENNER D. Molecular and cellular mechanisms of liver fibrosis and its regression[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(3): 151-166.
- [14] de OLIVEIRA da SILVA B, RAMOS L F, MORAES K C M. Molecular interplays in hepatic stellate cells: apoptosis, senescence, and phenotype reversion as cellular connections that modulate liver fibrosis[J]. *Cell Biol Int*, 2017, 41(9): 946-959.
- [15] 郝礼森,杨小师,张朋垒,等.大鼠肝纤维化病理过程中肝组织 SHP2 表达与在体肝星状细胞凋亡的关系[J]. *肝脏*, 2022, 27(4): 451-454.
- [16] 王乔雨,孙洪娜,周齐,等.叶酸和维生素 B12 通过 Bcl-2/Bax 途径抑制神诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡[J]. *中华地方病学杂志*, 2021, 40(1): 5-11.
- [17] TAKAHASHI S, YOSHIMURA Y, YAMAMOTO T, et al. Cellular expression of Bcl-2 and Bax in atrophic submandibular glands of rats[J]. *Int J Exp Pathol*, 2008, 89(5): 303-308.
- [18] SUROTO H, ASRIEL A, de VEGA B, et al. Early and late apoptosis protein expression (Bcl-2, BAX and p53) in traumatic brachial plexus injury[J]. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2021, 21(4): 528-532.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 郝礼森,苗笑佳,宋洁,等. SHP2 过表达抑制人肝星状细胞 LX-2 凋亡[J]. *中国现代医学杂志*, 2024, 34(5): 32-36.

Cite this article as: HAO L S, MIAO X J, SONG J, et al. Overexpression of SHP2 inhibits apoptosis of human hepatic stellate cells LX-2[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2024, 34(5): 32-36.