

文章编号: 1004-7220(2023)05-1044-07

细胞外基质刚度改变在肝细胞癌发生发展中的作用

邓博文, 宋关斌, 罗庆

(重庆大学 生物工程学院, 生物流变科学与技术教育部重点实验室, 重庆 400044)

摘要: 肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是一种严重危害人类健康的恶性疾病。在其发生发展过程中, 肝组织内细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的刚度不断提高。近年来, 研究人员针对生物力学因素在 HCC 发生发展过程中的作用机制的研究表明, ECM 刚度增加在 HCC 发生发展的过程中发挥着重要作用。本文主要就 HCC 发生发展过程中 ECM 刚度的变化规律以及引起其变化的原因, ECM 刚度增加对肝癌相关细胞的影响、HCC 中基质刚度变化引起的力信号转导等方面进行综述, 为 HCC 临床治疗提供新的思路 and 方向。

关键词: 基质刚度; 肝癌; 肝癌细胞; 力信号转导

中图分类号: R 318.01 **文献标志码:** A

DOI: 10.16156/j.1004-7220.2023.05.029

The Role of Altered Extracellular Matrix Stiffness in Occurrence and Development of Hepatocellular Carcinoma

DENG Bowen, SONG Guanbin, LUO Qing

(Key Laboratory of Biorheological Science and Technology, Ministry of Education, College of Bioengineering, Chongqing University, Chongqing 400044, China)

Abstract: Hepatocellular carcinoma (HCC) is a malignant disease that seriously endangers human health. The stiffness of the extracellular matrix (ECM) in liver is increasing in the occurrence and development of HCC. In recent years, studies on the role of biomechanical factors in HCC have shown that the increase of ECM stiffness plays an important role in the occurrence and development of HCC. This article mainly reviewed the changes of ECM stiffness as well as the causes of such changes in the occurrence and development of HCC, and the effect of increased ECM stiffness on HCC-associated cells and the mechanotransduction therein, so as to provide new ideas and directions for the clinical treatment of HCC.

Key words: matrix stiffness; hepatocellular carcinoma (HCC); hepatocellular carcinoma cell; mechanotransduction

细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 是由细胞周围的胶原蛋白、蛋白聚糖、糖胺聚糖等多种大分子组成的三维结构网络。除了生化特性外, ECM 所具有的生物物理特性, 如刚度、流体静压、剪切应力等, 同样调控着细胞的生物学行为^[1-3]。其中, 基

质刚度这一重要的细胞微环境力学特性, 能够影响细胞的铺展、生长和增殖等多种生物学行为^[4]。

肝癌是一种严重危害人类健康的恶性疾病。全球癌症数据统计结果显示, 2020 年原发性肝癌新发病例 90.6 万, 死亡病例 83 万, 使其成为全球第 6

收稿日期: 2022-11-16; 修回日期: 2022-12-29

基金项目: 国家自然科学基金项目 (11832008)

通信作者: 罗庆, 副教授, 硕士生导师, E-mail: qing.luo@cqu.edu.cn

大最常诊断出的癌症,以及第3大癌症死因。同年,我国肝癌新发病例41万例,死亡病例39万,对我国造成了极大的疾病负担^[5]。由于肝癌的病因复杂,初期诊断困难以及针对不同类型和阶段的肝癌可选的治疗措施有限,肝癌治疗目前仍存在预后差、复发转移率高和5年生存率极低等问题^[6]。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的一种原发性肝癌,具有多诱因、高发病率和高致死率等特点。研究显示,近90% HCC患者具有肝纤维化或肝硬化的基础^[7]。HCC的发生发展常常经过慢性肝炎到肝纤维化、肝硬化再到肝癌的过程。在此过程中,肝组织内ECM的基质刚度不断增加,表明肝组织ECM基质刚度的增加与肝癌的发生发展之间存在密切的联系。基质刚度能够调控肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)、肝癌细胞等肝癌相关细胞的多种生物学行为,进而推动HCC的发生发展^[8-9]。了解ECM基质刚度在肝癌发生发展过程中如何发生变化,以及ECM基质刚度增加与肝癌进展之间相互作用的机制将有助于开发新的肝癌治疗手段。

1 肝癌进展过程中ECM刚度的变化规律

目前,研究人员已采用多种技术对HCC发生

发展过程中肝组织ECM的基质刚度进行了检测。瞬时弹性技术目前在临床上广泛用于检测肝脏硬化程度,以监测肝脏疾病的发展或评估抗纤维化治疗的疗效,具有较强的临床诊断价值。此外,磁共振弹性成像、二维横波弹性成像也被用于肝脏硬度的检测。另外,利用原子力显微镜也可以直接对肝组织切片的基质刚度进行检测(见表1)。研究人员利用这些技术对处于不同肝癌发生发展阶段的人或动物模型肝脏组织的基质刚度进行检测。例如:利用原子力显微镜(球形探针)测得人或鼠的正常肝组织和处于肝癌发生发展阶段(包括肝炎、肝纤维化、肝硬化、肝癌)的肝组织的基质刚度分别在0.113~1.130 kPa和0.19~6.00 kPa的范围内。而利用原子力显微镜(锥形探针)测得人或鼠的正常肝组织和处于肝癌发生发展阶段的肝组织的基质刚度分别在0.14~0.22 MPa和0.25~0.40 MPa范围内。采用瞬时弹性成像等非侵入性检测技术测得的正常肝组织基质刚度为3.5~6.7 kPa,而处于肝炎至肝癌阶段的肝组织的基质刚度则在4.8~44.4 kPa范围内。不同研究测得的基质刚度有所差异,推测原因是所采用的检测技术、检测参数不同以及检测样本的差异等因素导致。

表1 使用不同方法检测得到的处于生理或病理状态下的肝组织基质刚度

Tab. 1 The matrix stiffness of liver in the physiological or pathological state which detected by using different methods								单位: kPa
物种	肝病诱因	检测方法	正常肝组织	肝炎	肝纤维化	肝硬化	肝癌	参考文献
人	自身免疫性肝炎					3.22±0.61		[10]
	非酒精性脂肪肝					2.3±0.39		
	丙型/乙型肝炎病毒	AFM(球形探针)	1.13±0.26			2.5±2.22		
人	原发性胆管炎					2.24±0.41		
	酒精					3.05±0.46		
	未区分	AFM(锥形探针)	183±48			411±63	456±95	[11]
小鼠	CCl ₄	AFM(球形探针)	0.15		2			[12]
	DDC				6			
大鼠	DEN	AFM(锥形探针)	180±40		250±60	390±60	420±70	[13]
大鼠	DEN+NMOR	AFM(球形探针)	0.113±0.06	0.19±0.16	0.245±0.190	0.79±0.43	1.65±0.87	[14]
人	丙型/乙型肝炎病毒	TE		10.9±8.4			24.9±19.5	[15]
人	丙型肝炎病毒	TE	3.5~4.9		4.8~18.6	15.4~28.0		[16]
人	未区分	MRE	2.20±0.31		5.80±2.57			[17]
大鼠	CCl ₄	2D-SWE	5.3~6.7		6.1~11.6			[18]

注:CCl₄:四氯化碳;DDC:3,5-二乙酯基-1,4-二氢三甲吡啶;DEN:二乙基亚硝酸胺;NMOR:N-亚硝基吗啉。AFM:原子力显微镜;TE:瞬时弹性成像;MRE:磁共振弹性成像;2D-SWE:二维横波弹性成像。

2 肝癌进展中 ECM 刚度增加的原因

在 HCC 发生发展过程中,ECM 各组分的大量合成和沉积是导致 ECM 基质刚度增加的一个重要原因。当肝脏受到病毒感染、酗酒或肝脏脂肪变性等病理因素持续地刺激时,肝脏正常的修复愈合功能发生失调,形成免疫细胞浸润的炎症环境。在该炎症环境下,Kupffer 细胞、自然杀伤细胞和肝窦内皮细胞等细胞大量分泌白细胞介素-13(interleukin-13, IL-13)、IL-21、转化生长因子(transforming growth factor- β , TGF- β)等细胞因子,刺激肝星状细胞^[19]和其他由常驻成纤维细胞、间充质细胞等细胞转分化而来的肌成纤维细胞^[20]的活性,使其大量合成并分泌 I、III、IV 型胶原蛋白^[21]以及层黏连蛋白^[22]、纤维连接蛋白^[23]等 ECM 组分,引起 ECM 的沉积,提高其基质刚度^[24]。

ECM 各组分之间的过度交联也是引起 ECM 基质刚度增加的一个重要原因。在病理状态下,赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)家族的过量表达会引起 ECM 的纤维化和基质刚度的提高,促进肿瘤的形成与转移^[25]。研究发现,肝癌干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)能够通过分泌 LOX,促进其周围胶原的交联,进而形成利于其自身干性维持的高基质刚度的微环境^[26]。也有研究表明,慢性乙型肝炎病毒能够上调宿主细胞中赖氨酰氧化酶家族蛋白的表达,增加胶原的交联,进而提高 ECM 的刚度,促进肝癌的转移^[27]。

3 基质刚度增加对肝癌相关细胞的影响

肝癌发生发展中,ECM 基质刚度的增加密切影响着肝星状细胞的激活以及肝癌细胞、LCSCs 的增殖、迁移和上皮-间充质转换(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等生物学行为。有研究发现,基质刚度的增加会通过 RhoA 激活 HSCs,推进肝纤维化^[28]。也有研究表明,基质刚度的增加能够通过激活 ERK 或 PKB/Akt 信号通路,以及通过提高泛素化蛋白 1(ubiquitin domain-containing protein 1, UBD1)的泛素化水平,激活 YAP 信号通路,促进肝癌细胞的增殖^[29-31]。除促进肝癌细胞增殖外,基质刚度的增加也会促进其转移。Wu 等^[32]研究发现,在高基质刚度(16 kPa)中,肝癌细胞的 Integrin

β 1/ α 5/JNK/c-JUN 信号通路被激活,LOXL2、纤连蛋白、基质金属蛋白酶 9(matrix metalloproteinase 9, MMP9)的表达增加,由此促进肝癌细胞转移前微环境的形成。Dong 等^[33]也发现高基质刚度(16 kPa)能够通过整联蛋白介导的钙结合蛋白 S100A11(S100 calcium-binding protein A11, S100A11)膜易位、真核翻译起始因子 eIF4E(eukaryotic translation initiation factor 4E, eIF4E)磷酸化和 TGF β 1 自分泌这 3 条信号通路调控 Snail 的表达,独立诱导肝癌细胞发生 EMT,促进其转移。研究表明,基质刚度的增加会通过 PTEN/PI3K/Akt 信号通路或 YAP 信号通路提高肝癌细胞对多种抗癌药物的耐药能力^[34-36]。另一方面,硬化的 ECM 能够阻碍免疫细胞的浸润或诱导免疫细胞和炎症细胞中的免疫抑制信号,抑制抗肿瘤的免疫活动,进而促进 HCC 进展^[7,37]。

LCSCs 是肝癌中一种具有自我更新能力和分化潜力的肿瘤细胞亚群,可能是导致肝癌复发和转移的重要原因。You 等^[8]研究发现,随着基质刚度的增加(6 kPa 增至 16 kPa),肝癌细胞中 CD133⁺/EpCAM⁺细胞的比例上升,且 CD133、EpCAM 和 Nanog 等干性基因的表达上调。Li 等^[38]研究表明,硬基质(72.2 kPa)中培养的 LCSCs 与软基质(7.7 kPa)中培养的相比,细胞中 YAP 信号通路被激活,干性基因的表达水平上调。但与之矛盾的是, Tian 等^[39]研究认为,在软基质(5.9 kPa)培养 LCSCs,能够促进其 Oct-4、Sox-2、CXCR4、CD133 等干性基因的表达以及增加侧群细胞的数量。Ng 等^[40]也研究认为,CD133⁺肝癌干细胞会通过重塑 ECM,在其自身周围形成局部软基质刚度的微环境,以此增强和维持其自身的干性和耐药性。由此可见,基质刚度对 LCSCs 干性的影响仍有待进一步明确。引起上述研究结果矛盾的原因也有可能源于基质刚度以外的其他因素,如基质材料的种类、孔隙度、黏弹性等。

4 肝癌进展中基质刚度介导的力信号转导

在 HCC 发生发展过程中,肝癌细胞等肝癌相关细胞能够通过 Integrin-FAK 相关信号通路、Hippo-YAP/TAZ 相关信号通路、Rho-ROCK 相关信号通路等多条信号通路进行力信号转导^[7],将基质刚度变

化所产生的生物物理信号转导为生化信号,促进相关细胞的恶性表型,进而影响 HCC 的发生发展。

4.1 Integrin-FAK 相关信号通路

整联蛋白(integrin)又被称为整联素,是由 α 亚基和 β 亚基组成的异源二聚体^[41]。ECM 基质刚度增加所产生的力信号会通过胶原等 ECM 组分,传递至细胞膜上与这些组分连接的整联蛋白受体。接受到力学信号刺激的整联蛋白会被激活,发生构象变化和聚集,以及表达水平的上调,进而将力学刺激转导至下游各信号通路。Friedland 等^[42]研究证实,ECM 刚度的增加能够激活整联蛋白 $\alpha_5\beta_1$ 这一力学信号响应受体,该受体被激活后能够通过 FAK 的磷酸化进行相应的力学信号转导。Ge 等^[43]研究发现,整联蛋白 α_7 与临床上 HCC 治疗预后差之间存在相关性。而其进一步研究发现,整联蛋白 α_7 能够通过 PTK2/PI3K/Akt 信号通路调控肝癌细胞的增殖、凋亡及其干性的表达。此外, Juratli 等^[44]研究表明,肝癌细胞的生长、增殖和侵袭受到整联蛋白 α_2/β_1 -FAK 信号通路、AKT-mTOR 信号通路和 CDK-Cyclin 信号通路组成的通路网络的共同调控。上述研究结果提示,整联蛋白作为肝癌细胞中多条力信号转导通路上游的分子开关,在肝癌细胞感受 ECM 基质刚度变化,促进 HCC 进展的过程中发挥了关键的作用。

4.2 Hippo-YAP/TAZ 相关信号通路

Hippo-YAP/TAZ 信号通路在细胞生理及病理状态下的力信号转导过程中扮演着关键的角色。YAP/TAZ 是位于 Hippo 信号通路下游的转录共激活因子。在正常的肝组织中,Hippo 信号通路通过促进 YAP/TAZ 的降解抑制其功能的发挥。而在病理状态下,基质刚度的变化及其诱导产生的力信号会抑制 Hippo 信号通路,导致 YAP/TAZ 表达水平的提高,并促进其核转移^[45-46]。而作为转录激活因子,YAP/TAZ 入核后会上调一系列基因的表达,进而促进肝星状细胞等多种肝癌相关细胞的恶性转变^[47]。临床数据表明,YAP 或 TAZ 的高表达与 HCC 肿瘤分化不良以及预后差相关^[48]。且动物实验显示,YAP 的过表达或 YAP/TAZ 信号通路的激活能够诱导或加速肝肿瘤的形成^[49-50],而通过抑制 YAP 的表达能够抑制 Mst1/Mst2 敲除小鼠 HCC 的进展,恢复正常肝脏的生长^[51]。上述研究结果提

示,YAP/TAZ 与 HCC 的进展密切相关。此外,不少研究利用可调节基质刚度的水凝胶构建细胞体外培养体系,发现基质刚度的增加能够激活 YAP/TAZ 信号通路,促进肝癌细胞或 LCSCs 的增殖、转移和耐药等,进而促进肝癌的进展^[9,31,35,38]。

4.3 Rho-ROCK 相关信号通路

Rho GTP 酶蛋白家族有 22 个成员,属于 Ras 超家族。Rho 激酶(Rho-associated kinase, ROCK)是 Rho GTP 酶下游的靶效应分子。Rho-ROCK 相关信号通路能够调控细胞内肌动蛋白的聚合,肌球蛋白的收缩以及中间丝状体组装等^[38],进而调控细胞的增殖、迁移以及细胞与基质的相互作用等生物学行为^[52]。而在 HCC 的发生发展过程中,Rho-ROCK 相关信号通路也在基质刚度变化引起的力信号转导中发挥着关键的作用。Dou 等^[28]研究发现,肝组织基质刚度的提高会通过 RhoA 激活 Akt 信号通路,诱导 p300 的磷酸化及其核转移,进而启动 α -SMA 的转录,导致 HSC 的激活,加重肝的纤维化。Desai 等^[12]研究发现,在肝纤维化的过程中,基质刚度的增加会通过 Rho/Rho 相关蛋白激酶的信号通路抑制肝细胞核因子 4 α (hepatocyte nuclear factor 4 alpha, HNF4 α)的转录,进而抑制正常肝细胞的功能。研究也表明,Rho-ROCK 相关信号通路在 HCC 的转移过程中扮演着重要的角色^[53]。Wu 等^[54]研究发现,ROCK1 和 ROCK2 在人体 HCC 组织和 HCC 细胞系中过表达,而敲低 ROCK1 和 ROCK2 的表达能够抑制肝癌细胞的分裂和生长。

4.4 其他基质刚度相关的力信号转导信号通路

除上述几种信号通路外,Wnt/ β -catenin、Notch 等多条信号通路同样也介导了 HCC 中的力信号转导过程。Xu 等^[55]研究发现,基质刚度的提高会通过 NEAT1/Wnt/ β -catenin 信号通路促进肝癌细胞的增殖和 EMT。在其他肿瘤中的研究也发现,ECM 刚度的增加会激活 Wnt/ β -catenin,引起肿瘤的发生发展^[56]。Notch 信号通路在 HCC 中同样也被激活^[57],并被证实与 Hippo-YAP/TAZ 信号通路、Wnt/ β -catenin 信号通路之间存在交互,与之共同介导 HCC 中的力信号转导过程^[47]。

从以上结果可见,在 HCC 的发生发展过程中,Integrin-FAK 相关信号通路、Hippo-YAP/TAZ 相关信号通路、Rho-ROCK 相关信号通路等多条信号通

路,介导了 HCC 中基质刚度的提高引起的力信号转导过程。这些与 HCC 发生发展相关的力信号转导信号通路可以作为靶点,以相应的药物对其进行抑制,进而实现对 HCC 的预防和治疗。目前已有研究报道,泮托拉唑、桑黄素、美妥珠单抗等药物能够通过抑制 Hippo-YAP/TAZ 或 Integrin-FAK 等信号通路,达到抗纤维化或抑制 HCC 生长的效果^[58]。

5 总结与展望

由多种蛋白和聚糖组成的 ECM 作为支撑和连接细胞的架构,包含着大量与细胞相关的生化信号和力信号,积极地参与着细胞生物学行为的调控过程。肝癌发生发展过程中,ECM 的增加主要是由 ECM 各组分的沉积与交联引起。而面对 ECM 刚度的改变,细胞中存在 Integrin-FAK、Hippo-YAP/TAZ、Rho-ROCK 等多条力信号转导途径,将 ECM 刚度这一显著的生物物理特性所产生的力信号转导为生化信号,使得细胞对相应的力学刺激做出响应。基质刚度的增加对肝癌细胞增殖、迁移、耐药以及 LCSCs 的干性维持与表达等多种生物学行为均有显著的影响,在肝癌的发生发展中扮演着重要的角色。目前,在基质刚度的增加影响肝癌的发生发展的研究中,仍存在一些问题有待进一步地探究和解决,如基质刚度改变到底会如何影响 LCSCs 的干性,以及不同研究中测得的同一生理及病理状态下的肝组织基质刚度差异较大等。而在临床上,针对肝硬化、肝癌阶段肝组织基质刚度增加的不可逆性,以及 ECM 硬化阻碍免疫细胞浸润和抗癌药物的递送等问题也尚未有很好的解决方法。今后,随着对 HCC 发生发展过程中 ECM 生化、物理特性的变化及其对肝癌相关细胞产生影响的作用机制了解的深入,有望从干预 ECM 这一新的切入点出发,开发更有效的肝癌治疗手段,改善肝癌治疗预后。

参考文献:

[1] 张颖,王钰岚,王楷群,等. 基质刚度调节细胞-细胞外基质间黏附对肿瘤细胞迁移影响的模型研究[J]. 医用生物力学, 2021, 36(4): 604-611.
ZHANG Y, WANG YL, WANG KQ, *et al.* Influences of cell-ECM adhesion on migration of tumor cells regulated by ECM stiffness: A model study [J]. J Med Biomech, 2021, 36(4): 604-611.

[2] TANG Y, FAN Y, LUO Q, *et al.* Pressure loading induces DNA damage in human hepatocyte line L02 cells via the Erk1/2-dicer signaling pathway [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(10): 5342.
[3] 何佳,冯唐,苏冠月,等. 流体剪切力通过 integrin-Yap-细胞骨架信号轴调控肝癌 hepg2 细胞迁移[J]. 医用生物力学, 2021, 36(S1): 453.
[4] CHAUDHURI O, COOPER-WHITE J, JANMEY PA, *et al.* Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour [J]. Nature, 2020, 584 (7822): 535-546.
[5] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, *et al.* Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
[6] YANG J D, HAINAUT P, GORES GJ, *et al.* A global view of hepatocellular carcinoma: Trends, risk, prevention and management [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2019, 16(10): 589-604.
[7] FILLIOL A, SCHWABE RF. Contributions of fibroblasts, extracellular matrix, stiffness, and mechanosensing to hepatocarcinogenesis [J]. Semin Liver Dis, 2019, 39(3): 315-333.
[8] YOU Y, ZHENG Q, DONG Y, *et al.* Matrix stiffness-mediated effects on stemness characteristics occurring in hcc cells [J]. Oncotarget, 2016, 7(22): 32221-32231.
[9] LIU QP, LUO Q, DENG B, *et al.* Stiffer matrix accelerates migration of hepatocellular carcinoma cells through enhanced aerobic glycolysis via the Mapk-Yap signaling [J]. Cancers, 2020, 12(2): 490.
[10] KHAJEH AHMADI Z, MOHAGHEGHI S, NIKEGHBALIAN S, *et al.* Liver stiffness correlates with serum osteopontin and Taz expression in human liver cirrhosis [J]. Ann N Y Acad Sci, 2020, 1465(1): 117-131.
[11] ZHAO G, CUI J, QIN Q, *et al.* Mechanical Stiffness of liver tissues in relation to integrin B1 expression may influence the development of hepatic cirrhosis and hepatocellular carcinoma [J]. J Surg Oncol, 2010, 102(5): 482-489.
[12] DESAI SS, TUNG JC, ZHOU VX, *et al.* Physiological ranges of matrix rigidity modulate primary mouse hepatocyte function in part through hepatocyte nuclear factor 4 alpha [J]. Hepatology, 2016, 64(1): 261-275.
[13] GANG Z, QI Q, JING C, *et al.* Measuring microenvironment mechanical stress of rat liver during diethylnitrosamine induced hepatocarcinogenesis by atomic force microscope [J]. Microsc Res Tech, 2009, 72(9): 672-678.
[14] SUN Y, LI H, CHEN Q, *et al.* The distribution of liver

- cancer stem cells correlates with the mechanical heterogeneity of liver cancer tissue [J]. *Histochem Cell Biol*, 2021, 156(1): 47-58.
- [15] AKIMA T, TAMANO M, HIRAISHI H. Liver stiffness measured by transient elastography is a predictor of hepatocellular carcinoma development in viral hepatitis [J]. *Hepatol Res*, 2011, 41(10): 965-970.
- [16] TAKEDA T, YASUDA T, NAKAYAMA Y, *et al.* Usefulness of noninvasive transient elastography for assessment of liver fibrosis stage in chronic hepatitis C [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(48): 7768-7773.
- [17] YIN M, TALWALKAR JA, GLASER KJ, *et al.* Assessment of hepatic fibrosis with magnetic resonance elastography [J]. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2007, 5(10): 1207-1213. e1202.
- [18] GU LH, GU GX, WAN P, *et al.* The utility of two-dimensional shear wave elastography and texture analysis for monitoring liver fibrosis in rat model [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2021, 20(1): 46-52.
- [19] TSUCHIDA T, FRIEDMAN SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2017, 14(7): 397-411.
- [20] WYNN TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis [J]. *J Pathol*, 2008, 214(2): 199-210.
- [21] KARSDAL MA, DETLEFSEN S, DANIELS SJ, *et al.* Is the total amount as important as localization and type of collagen in liver fibrosis attributable to steatohepatitis? [J]. *Hepatology*, 2020, 71(1): 346-351.
- [22] SANTAMATO A, FRANSVEA E, DITURI F, *et al.* Hepatic stellate cells stimulate hcc cell migration via laminin-5 production [J]. *Clin Sci*, 2011, 121(4): 159-168.
- [23] MATSUI S, TAKAHASHI T, OYANAGI Y, *et al.* Expression, localization and alternative splicing pattern of fibronectin messenger rna in fibrotic human liver and hepatocellular carcinoma [J]. *J Hepatol*, 1997, 27(5): 843-853.
- [24] FRIEDMAN SL. Hepatic stellate cells: Protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver [J]. *Physiol Rev*, 2008, 88(1): 125-172.
- [25] LEVENTAL KR, YU H, KASS L, *et al.* Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling [J]. *Cell*, 2009, 139(5): 891-906.
- [26] ZHAO W, LV M, YANG X, *et al.* Liver tumor-initiating cells initiate the formation of a stiff cancer stem cell microenvironment niche by secreting lox [J]. *Carcinogenesis*, 2022, 43(8): 766-778.
- [27] TSE AP, SZE KM, SHEA QT, *et al.* Hepatitis transactivator protein X promotes extracellular matrix modification through HIF/LOX pathway in liver cancer [J]. *Oncogenesis*, 2018, 7(5): 44.
- [28] DOU C, LIU Z, TU K, *et al.* P300 Acetyltransferase mediates stiffness-induced activation of hepatic stellate cells into tumor-promoting myofibroblasts [J]. *Gastroenterology*, 2018, 154(8): 2209-2221. e2214.
- [29] SCHRADER J, GORDON-WALKER TT, AUCOTT RL, *et al.* Matrix stiffness modulates proliferation, chemotherapeutic response, and dormancy in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Hepatology*, 2011, 53(4): 1192-1205.
- [30] ZHANG R, MA M, DONG G, *et al.* Increased matrix stiffness promotes tumor progression of residual hepatocellular carcinoma after insufficient heat treatment [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(9): 1778-1786.
- [31] YANG N, CHEN T, WANG L, *et al.* Cxcr4 mediates matrix stiffness-induced downregulation of ubtd1 driving hepatocellular carcinoma progression via Yap signaling pathway [J]. *Theranostics*, 2020, 10(13): 5790-5801.
- [32] WU S, ZHENG Q, XING X, *et al.* matrix stiffness-upregulated loxl2 promotes fibronectin production, Mmp9 and Cxcl12 expression and bmdcs recruitment to assist pre-metastatic niche formation [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 99.
- [33] DONG Y, ZHENG Q, WANG Z, *et al.* Higher matrix stiffness as an independent initiator triggers epithelial-mesenchymal transition and facilitates HCC metastasis [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 112.
- [34] GAO X, QIAO X, XING X, *et al.* Matrix stiffness-upregulated microrna-17-5p attenuates the intervention effects of metformin on hcc invasion and metastasis by targeting the Pten/Pi3k/Akt Pathway [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 1563.
- [35] GAO J, RONG Y, HUANG Y, *et al.* Cirrhotic stiffness affects the migration of hepatocellular carcinoma cells and induces sorafenib resistance through Yap [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(3): 2639-2648.
- [36] LIU C, LIU Y, XIE HG, *et al.* Role of three-dimensional matrix stiffness in regulating the chemoresistance of hepatocellular carcinoma cells [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2015, 62(4): 556-562.
- [37] WANG S, CHEN L, LIU W. Matrix stiffness-dependent steap3 coordinated with Pd-L2 identify tumor responding to sorafenib treatment in hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 318.
- [38] LI H, SUN Y, LI Q, *et al.* Matrix stiffness potentiates stemness of liver cancer stem cells possibly via the Yes-associated protein signal [J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2022, 8(2): 598-609.

- [39] TIAN B, LUO Q, JU Y, *et al.* A soft matrix enhances the cancer stem cell phenotype of Hcc cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(11): 2831.
- [40] NG KY, SHEA QT, WONG TL, *et al.* Chemotherapy-enriched Thbs2-deficient cancer stem cells drive hepatocarcinogenesis through matrix softness induced histone H3 modifications [J]. *Adv Sci*, 2021, 8(5): 2002483.
- [41] SEETHARAMAN S, ETIENNE-MANNEVILLE S. Integrin diversity brings specificity in mechanotransduction [J]. *Biol Cell*, 2018, 110(3): 49-64.
- [42] FRIEDLAND JC, LEE MH, BOETTIGER D. Mechanically activated integrin switch controls alpha5beta1 function [J]. *Science*, 2009, 323(5914): 642-644.
- [43] GE JC, WANG YX, CHEN ZB, *et al.* Integrin alpha 7 correlates with poor clinical outcomes, and it regulates cell proliferation, apoptosis and stemness Via Ptk2-Pi3k-Akt Signaling pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Cell Signal*, 2020, 66: 109465.
- [44] JURATLI MA, ZHOU H, OPPERMAN E, *et al.* Integrin A2 and B1 cross-communication with Mtor/Akt and the CDK-cyclin axis in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancers*, 2022, 14(10): 2430.
- [45] PANCIERA T, AZZOLIN L, CORDENONSI M, *et al.* Mechanobiology of Yap and Taz in physiology and disease [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2017, 18(12): 758-770.
- [46] KIM W, KHAN SK, GVOZDENOVIC-JEREMIC J, *et al.* Hippo signaling interactions with wnt/ β -catenin and notch signaling repress liver tumorigenesis [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(1): 137-152.
- [47] PASSI M, ZAHLER S. Mechano-signaling aspects of hepatocellular carcinoma [J]. *J Cancer*, 2021, 12(21): 6411-6421.
- [48] HAN SX, BAI E, JIN GH, *et al.* Expression and clinical significance of Yap, Taz, and Areg in hepatocellular carcinoma [J]. *J Immunol Res*, 2014, 2014: 261365.
- [49] ZENDER L, SPECTOR MS, XUE W, *et al.* Identification and validation of oncogenes in liver cancer using an integrative oncogenomic approach [J]. *Cell*, 2006, 125(7): 1253-1267.
- [50] ZHOU D, CONRAD C, XIA F, *et al.* Mst1 and Mst2 maintain hepatocyte quiescence and suppress hepatocellular carcinoma development through inactivation of the Yap1 oncogene [J]. *Cancer Cell*, 2009, 16(5): 425-438.
- [51] KIM W, KHAN SK, LIU Y, *et al.* Hepatic hippo signaling inhibits protumoural microenvironment to suppress hepatocellular carcinoma [J]. *Gut*, 2018, 67(9): 1692-1703.
- [52] AMANO M, NAKAYAMA M, KAIBUCHI K. Rho-Kinase/Rock: A key regulator of the cytoskeleton and cell polarity [J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2010, 67(9): 545-554.
- [53] WONG CC, WONG CM, AU SL, *et al.* RhoGTPases and Rho-effectors in hepatocellular carcinoma metastasis: Rock N' rho move it [J]. *Liver Int*, 2010, 30(5): 642-656.
- [54] WU H, CHEN Y, LI B, *et al.* Targeting Rock1/2 blocks cell division and induces mitotic catastrophe in hepatocellular carcinoma [J]. *Biochem Pharmacol*, 2021, 184: 114353.
- [55] XU X, ZHANG Y, WANG X, *et al.* Substrate stiffness drives epithelial to mesenchymal transition and proliferation through the Neat1-Wnt/B-catenin pathway in liver cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 12066.
- [56] FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ ME, BARBIER S, WHITEHEAD J, *et al.* Mechanical induction of the tumorigenic β -catenin pathway by tumour growth pressure [J]. *Nature*, 2015, 523(7558): 92-95.
- [57] VILLANUEVA A, ALSINET C, YANGER K, *et al.* Notch signaling is activated in human hepatocellular carcinoma and induces tumor formation in mice [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(6): 1660-1669. e1667.
- [58] LI N, ZHANG X, ZHOU J, *et al.* Multiscale biomechanics and mechanotransduction from liver fibrosis to cancer [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 188: 114448.