

马兜铃酸 I 致急性肾损伤的分子机制研究

王帆¹, 王静¹, 黄恺², 彭渊¹, 刘成海^{1,2}, 陶艳艳^{1*}

¹ 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所; ² 上海市中医临床重点实验室, 上海 201203

摘要:本研究通过开展马兜铃酸 I(aristolochic acid I, AAI)致急性肾损伤的转录组学分析,以探讨 AAI 肾毒性的分子机制。雄性 C57BL/6 小鼠 15 只,随机分为正常组($n=6$)和模型组($n=9$)。模型组小鼠腹腔注射 AAI 20 mg/kg,每天 1 次,连续 5 天,第 6 天处死。检测血清肌酐(Scr)、尿素氮(BUN)水平,苏木精-伊红染色(HE)观察肾组织病理变化;两组各随机选取 3 例肾组织提取 RNA 进行高通量转录组测序,将两组间差异倍数(fold change, FC) ≥ 2.0 且 P 值 < 0.01 定义为差异基因,筛选正常肾与模型肾组织差异基因,应用 GO、KEGG 数据库进行功能分析;并选择两组间差异倍数变化最为明显的前 5 个基因进行 qRT-PCR 验证。最终发现,与正常组相比,模型组小鼠血清 Scr、BUN 含量明显升高;HE 染色显示,正常肾组织结构正常,肾小球、肾小管、肾间质均未见到明显改变;模型组肾组织结构紊乱,肾小球水肿、固缩,近曲小管上皮细胞脱落。采用高通量转录组测序,按照筛选条件最终获得差异基因共计 4 975 个,其中上调基因有 2 511 个,下调基因有 2 464 个。聚类分析发现差异表达基因中前 5 位为 kap、Spp1、Aldh1a2、Serpine1、Tnc。GO 与 KEGG 富集分析发现,差异基因主要在小分子代谢过程、胞外间质组织、中性粒细胞参与的免疫应答、颗粒腔、细胞质囊泡腔等相关的 GO 分类中显著富集;在炎症信号通路、过氧化反应、糖代谢等途径中富集明显。qRT-PCR 检测提示,模型组 kap 表达减少,Spp1、Aldh1a2、Serpine1 与 Tnc 表达增加,与转录组结果一致。这表明 AAI 具有明显的肾毒性,其毒性机制可能与炎症反应、氧化应激、糖代谢等途径相关。

关键词:马兜铃酸;转录组;肾毒性;作用机制

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)5-0848-08

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.5.014

Study on mechanism of aristolochic acid I induced acute kidney injury

WANG Fan¹, WANG Jing¹, HUANG Kai², PENG Yuan¹, LIU Cheng-hai^{1,2}, TAO Yan-yan^{1*}

¹ Institute of Liver Diseases, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine;

² Shanghai Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Abstract: In this study, transcriptomics analysis of aristolochic acid I (AAI) induced acute kidney injury was carried out to explore the molecular mechanism of AAI nephrotoxicity. Fifteen male C57BL/6 mice were randomly divided into normal group ($n=6$) and model group ($n=9$). The mice in the model group were intraperitoneally injected with 20 mg/kg AAI once a day for consecutive 5 days and sacrificed on the 6th day. Serum and renal tissue were collected for later detection, Scr and BUN values were detected, and HE staining of renal tissue was performed to observe pathological changes. High-throughput transcriptome sequencing was performed on RNA extracted from kidney tissue samples, which randomly selected from each group. Fold change ≥ 2.0 as well as P -value < 0.01 were defined as differentially expressed genes, which screened separately. Meanwhile, functional analysis was performed using GO and KEGG databases. The top 5 genes with the most obvious difference multiple changes between the two groups were selected for qRT-PCR verification. Compared with the normal group, Scr and BUN of the model group were significantly increased, HE staining showed that the kidney tissue in normal group had a normal structure, and the glomeruli, tubules, interstitium were not obviously changed. While in model group, the kidney tissue turned out globular edema, glomerular pyknosis, and loss of proximal convoluted tubule epithelial cells. Through high-throughput transcriptome sequencing, a total of 4 975 differential mRNAs were obtained, of which 2 511 were up-regulated

收稿日期:2021-08-26 接受日期:2022-01-14

基金项目:2019 年上海市科委“科技创新行动计划”(19401901500);上海市中医药三年行动计划[ZY-(2018-2020)-CCCX-5001];“重大新药创制”科技重大专项(2019ZX09201001)

* 通信作者 E-mail:taoyanyan1023@126.com

genes and 2 464 were down-regulated genes. Cluster analysis identified Kap, Spp1, Aldh1a2, Serpine1, Tnc as the top 5 differentially expressed genes. GO and KEGG enrichment analysis found that these differential genes were mainly significantly enriched in GO categories related to small molecule metabolism, extracellular matrix tissue, immune response involving neutrophils, granular cavity and cytoplasmic vesicle cavity. It is also significantly enriched in pathways such as inflammatory signaling, peroxidation, and glucose metabolism. qRT-PCR indicated that the expression of Kap decreased, while the expression of Spp1, Aldh1a2, Serpine1 and Tnc increased in model group, which were consistent with the transcriptome results. The results suggest that AAI has obvious nephrotoxicity, and its toxic mechanism may be related to inflammatory response, oxidative stress, glucose metabolism and other pathways.

Key words: aristolochic acid; transcriptome; renal toxicity; mechanism

马兜铃酸(aristolochic acid, AA)天然存在于马兜铃科植物中,具有抗肿瘤、抗感染、抗炎等功效,含AA的中药及成药制剂广泛应用于临床^[1],包括马兜铃属木香、防己、朱砂莲、细辛属的细辛、山慈姑等中药以及复方胃痛胶囊、喘息灵胶囊、十三味疏肝胶囊等中成药^[2]。研究也表明,AA暴露与肾病和上尿路癌的发生存在高风险相关^[3];作为AA的主要成分之一,马兜铃酸I(aristolochic acid I, AA I)同样具有肾毒性与致癌性^[4];长期服用含此类物质的中药可引起马兜铃酸肾病(aristolochic acid nephropathy, AAN)^[5]。目前已有不少关于AAI肾毒性的研究,但全面表征其毒理机制的报道并不多^[6],大多为针对某一细胞或者信号通路的研究。因此仍需要进一步探索AAI毒性机制。转录组是细胞内所有基因转录产物的总和^[7],转录组学是对转录组的研究,涵盖了与RNA相关的内容,如转录、表达、功能等。为了更全面了解AAI肾毒性机制,本研究采用 Illumina高通量测序平台对肾组织进行转录组学测序,进行差异表达及GO、KEGG富集分析,以明确AAI致肾毒性的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验药物

AAI(纯度>98.5%,批号:3503),购自上海诗丹德标准技术服务有限公司,4℃冰箱存放备用;羧甲基纤维素钠(批号:F20051103),购自国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 实验动物

雄性C57BL/6小鼠15只,体质量23~25 g,6~8周龄,SPF级,购于上海南方模式生物科技股份有限公司,动物生产许可证号:SCXK(沪)2017-0010。于上海南方模式生物科技股份有限公司SPF级环境饲养,动物使用许可证号:SYXK(沪)2019-0003。所有操作均由上海南方模式生物科技股份有

限公司实验动物管理和使用委员会(IACUC)审批通过(审批号:IACUC号2018-0026)。

1.1.3 试剂

血肌酐(serum creatinine, Scr)试剂盒(批号:20150526)、尿素氮(urea nitrogen, BUN)试剂盒(批号:20150511)均购自南京建成生物工程研究所;Trizol Reagent(批号:F919KB3054)、总RNA提取试剂盒(批号:B518811)均购自上海生工生物工程股份有限公司;反转录试剂盒(批号:AJ92014A,日本TAKARA公司);扩增试剂盒(批号:AJF0343A,日本TAKARA公司)。

1.1.4 主要仪器

实时荧光定量PCR仪(美国Life Technonogy公司);荧光倒置显微镜(Olympus IX70,日本)。

1.2 方法

1.2.1 AAI溶液配置

100 mg 羧甲基纤维素钠溶解于20 mL双蒸水中配置成0.5%的混悬液。40 mg AAI加入20 mL 0.5%羧甲基纤维素钠混悬液中制备成2 mg/mL贮存液,超声震荡直至完全溶解,4℃保存备用。

1.2.2 动物分组及模型建立

小鼠适应性喂养1周后,随机分为正常组(N,n=6)和模型组(M,n=9)。模型组小鼠以AAI 20 mg/kg剂量连续腹腔注射,每天1次,连续5天,正常组小鼠注射相同容积的0.5%羧甲基纤维素钠混悬液。

1.2.3 样本采集

造模第6日,小鼠用3%戊巴比妥钠进行麻醉,打开腹腔取下腔静脉血,置于-80℃冰箱保存,用于测定Scr、BUN。摘除肾脏,一侧肾脏组织沿矢状面剖开,取二分之一用4%甲醛固定,用于HE染色;另取100 mg 肾组织存于Trizol中用于提取RNA。

1.2.4 血清检测及HE染色

按试剂盒说明书进行Scr、BUN水平的检测。

肾组织经 4% 中性甲醛缓冲液固定, 自动脱水机脱水, 石蜡包埋, 4 μm 切片, 苏木精-伊红染色(HE 染色), 光学显微镜观察并拍照。肾组织病理改变参照文献^[8]以评估肾小管和肾间质病变程度。

1.2.5 肾组织 RNA 提取及转录组测序

Trizol 提取肾组织总 RNA, Agilent 2100 Bioanalyzer(Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) 进行质量检测; 使用 Qubit 2.0 RNA 检测试剂盒测定 RNA 浓度, 包括 mRNA 分离/片段化、双链 DNA 合成、末端修复、末端 dA-Tailing、桥头连接、连接产物纯化、片段大小分选以及文库扩增等; 精确定量后回收的 DNA, 按 1:1 比例定量混合, Illumina HiSeq X Ten 测序仪用于测序, 产生 150 bp 的双端数据。建库测序及数据分析部分由上海欧易生物医学科技有限公司完成。

1.2.6 质量控制及参考基因组比对

使用 Trimmomatic (version 0.36) 软件进行质控并去除接头, 在此基础上过滤掉低质量碱基以及 N 碱基, 最终得到高质量的 Clean reads。hisat2 (v2.2.1.0) 软件用于将得到的 Clean Reads 与小鼠参考基因组(从 NCBI 中下载参考基因组, 基因组版本为 GRCm38. p6) 进行序列比对, 以获取在参考基因组或基因上的位置信息和测序样品特有的序列信息。各样本的有效数据量分布在 5.99 ~ 6.83 G, Q30 碱基分布在 93.97% ~ 95.01%, 平均 GC 含量为 47.90%。通过将 reads 比对到参考基因组上, 得到各个样本的基因组比对情况, 比对率为 92.6% ~ 98.23%。

表 1 荧光定量 PCR 各基因引物序列

Table 1 qRT-PCR primer sequences of each gene

基因名称 Gene symbol	正向引物 Forward primer(5'-3')	反向引物 Reverse primer(5'-3')
Kap	TTTGACCAACTGGGATCATACA	TGATGTCTGTCTCTCAGTGA
Spp1	AAACACACAGACTTGAGCATTC	TTAGGGTCTAGGACTAGCTGT
Aldh1a2	ATGTTCACCTGGAAAATTGCTC	CAATCTTGTCTATGCCGATGTG
Serpine1	ATCTTGATGCTGAACTCATCA	GAGAGAACTTAGGCAGGATGAG
Tnc	CTCTCTGTGAGGTCTTGAC	GAACGACAAAGTGCTTATAGGC
β-actin	TGACGAGGCCAGAGCAAGA	ATGGGCACAGTGTGGGTGAC

1.2.10 统计学方法

采用 SPSS 24.0 软件进行统计分析, 研究所得数据以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 不同样本间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

1.2.7 差异表达基因筛选

导出各样本测序结果, 并运用 R 语言中的“Affy”“limma”软件包分析差异表达基因。Affy 包去除原始数据中系统误差, 从而得到标准化的基因表达数据; Limma 包用于对正常组织和肾损伤组织标准化之后的数据进行差异表达分析。筛选条件为 $P < 0.01$ 且差异倍数(fold change, FC) ≥ 2.0 , 获取上调和下调的差异基因。使用 Pheatmap 包绘制热图和火山图。

1.2.8 差异表达基因的 GO 和 KEGG 富集分析

得到差异表达基因后, 采用“clusterProfiler”“colorspace”“enrichplot”“ggplot2”“org. Mm. eg. db”“stringi”R 语言包对差异表达基因进行 GO 和 KEGG 富集分析, 筛选条件为 $P_{\text{value}} \text{ cutoff} < 0.05$ 和 $Q_{\text{value}} \text{ cutoff} < 0.05$ 。计算生物学过程(biological process, BP)、细胞组分(cellular component, CC) 以及分子功能(molecular function, MF) 的基因富集数, 最后将排名前 20 的 GO 生物过程和 KEGG 通路绘制为气泡图。

1.2.9 差异表达基因的 qRT-PCR 验证

基于转录组结果, 选择两组间 FC 最为明显的前 5 个基因(见图 3)进行 qRT-PCR 验证。使用 NCBI 在线引物设计软件 Primer-Blast 设计引物, 由上海生工生物工程有限公司合成(基因名称、引物序列见表 1)。Trizol 提取肾组织总 RNA, 采用试剂盒进行逆转录, 按照 SYBR Premix Ex Taq II 荧光染料法实时定量试剂盒说明进行 cDNA 扩增, 每个样品重复 3 次。以 β -actin 为内参, 采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法进行分析定量。

2 结果

2.1 AAI 处理小鼠肾损伤的血清生化和肾组织病理变化

分别对正常组、模型组小鼠进行血清生化检测与肾组织 HE 染色。结果发现, 与正常组相比, 模型组小

鼠 Scr 增高约 12 倍、BUN 增高约 3 倍(见图 1A、图 1B)。HE 染色显示,正常肾组织结构正常,肾小球、肾

小管、肾间质均未见到明显改变;模型组肾小球水肿、肾小球固缩,近曲小管上皮细胞脱落(见图 2)。

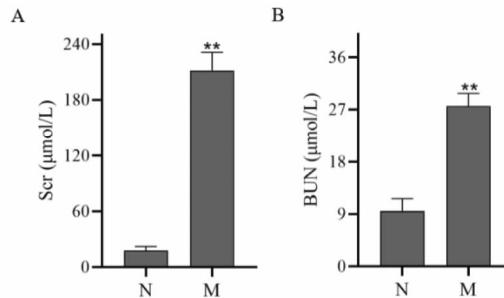


图 1 正常组与模型组小鼠血清生化变化

Fig. 1 Serum biochemical changes in normal and model group

注:A:两组小鼠血清 Scr 水平;B:两组小鼠血清 BUN 水平。与正常组比较, ** $P < 0.01$ 。Note: A: Serum Scr levels in both groups of mice; B: Serum BUN levels in both groups of mice. Compared with normal group, ** $P < 0.01$.

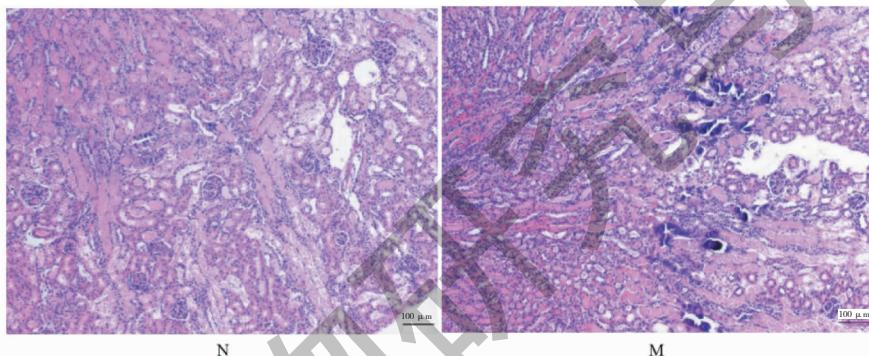


图 2 正常组与模型组小鼠肾组织病理变化($\times 100$, 标尺 = 100 μm)

Fig. 2 Mice kidney tissue sections in normal and model group ($\times 100$, Bar = 100 μm)

2.2 AAI 处理小鼠肾损伤差异表达基因筛选及 GO 富集分析

对 AAI 处理小鼠表达差异基因进行筛选与 GO 富集分析(见图 3)。发现达到筛选标准的基因($FC \geq 2.0$ 且 P 值 < 0.01)共有 4 975 个,其中上调基因有 2 511 个,下调基因有 2 464 个。热图(见图 3A)显示出多个基因在两个组别中的表达水平。与正常组相比,模型组主要有以下基因发生差异性表达:Kap、Spp1、Aldh1a2、Serpine1、Tnc 等。火山图(见图 3B)用于展示基因表达差异的分布,其中横轴为差异倍数的对数,越偏离中心差异倍数越大;纵轴为多差异显著性 P 值的负对数,值越大表明差异越显著,红点代表显著上调的基因,绿点代表显著下调的基因。

2.3 AAI 处理小鼠肾损伤差异表达基因的生物功能分析

为进一步了解差异表达基因的功能及其在分子水平上的作用,并针对差异表达基因进行 GO 注释

(见图 4)。Gene Ratio 表明差异基因中与该 Term 相关的基因数与差异基因总数的比值,圆圈大小代表基因的多少, Q value 为对 P 值进行统计学检验的 Q 值, Q value 值越小说明富集程度越明显。

GO-BP 分析显示涉及的生物学过程主要有:小分子分解代谢过程;中性粒细胞参与的免疫应答;胞外间质组织;脂肪酸代谢过程;有机酸分解代谢过程;羧酸分解代谢过程;对有毒物质的反应;免疫应答;对金属离子的反应;血小板脱粒等。

GO-CC 分析结果提示涉及的细胞组分主要有:颗粒腔;细胞质囊泡腔;质膜的外侧;含胶原的细胞外基质;血液微粒;血小板 α 颗粒;过氧化物酶基质;微体腔等。

GO-MF 分析结果提示涉及的分子功能主要有:硫化合物的结合;酰胺结合;氧化还原酶活性;抗氧化活性;氨肽酶活性;过氧化物酶活性;胱甘肽过氧化物酶活性等。

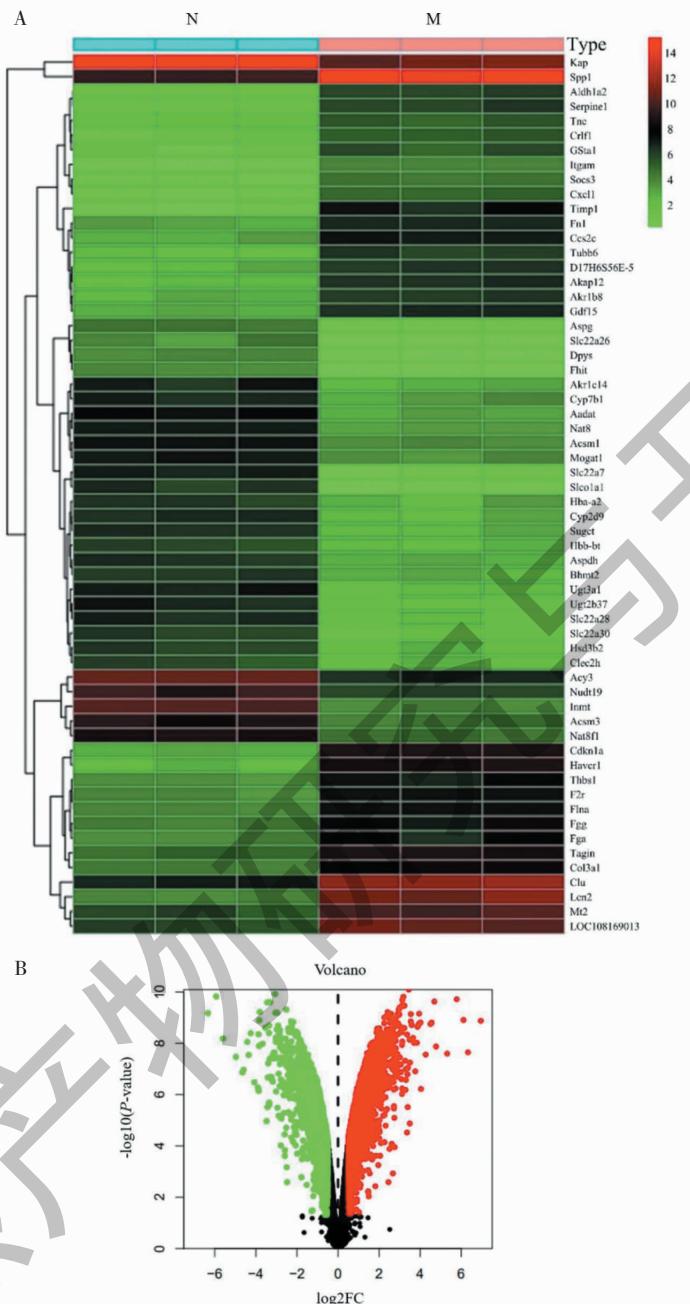


图 3 AAI 作用下正常组与模型组小鼠差异表达基因

Fig. 3 Differentially expressed genes of AAI-treated mice

注: A: AAI 作用下正常组与模型组小鼠差异表达基因热图; B: AAI 作用下正常组与模型组小鼠差异基因火山图。Note: A: Heatmap of differentially expressed genes in normal and model group under effect of AAI; B: Volcano plot of differentially expressed genes in normal and model group under effect of AAI.

2.4 马兜铃酸 I 处理小鼠肾损伤差异表达基因的 KEGG 分析

对 AAI 作用下表达的差异基因进行 KEGG 富集分析(见图 5),其中富集因子(enrichment score, ES)代表基因的富集程度, *P*-value 值越接近 0 表示

富集程度越显著。结果发现与 AAI 处理后肾损伤相关的通路包括 JAK-STAT、NF- κ B、PPAR 信号通路;补体系统激活和凝血级联反应;过氧化反应;糖酵解/糖异生、胰岛素抵抗;缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的降解;类固醇激素合成等途径。

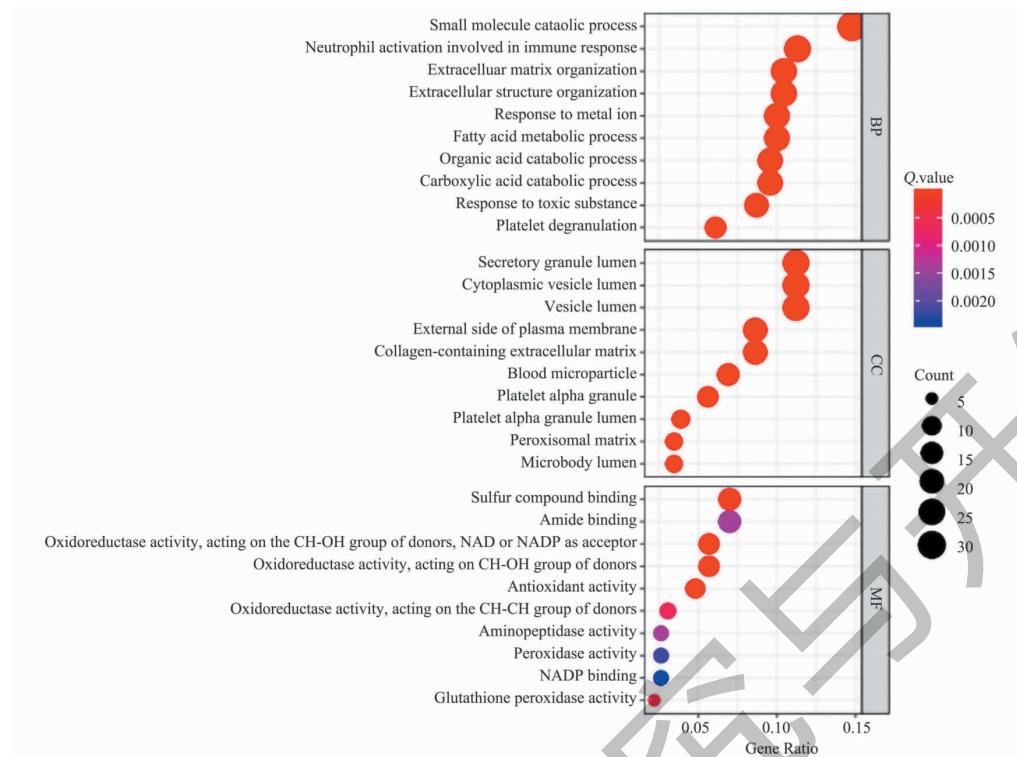


图 4 AAI 作用下差异表达基因的 GO 注释

Fig. 4 GO annotation of differentially expressed genes under effect of AAI

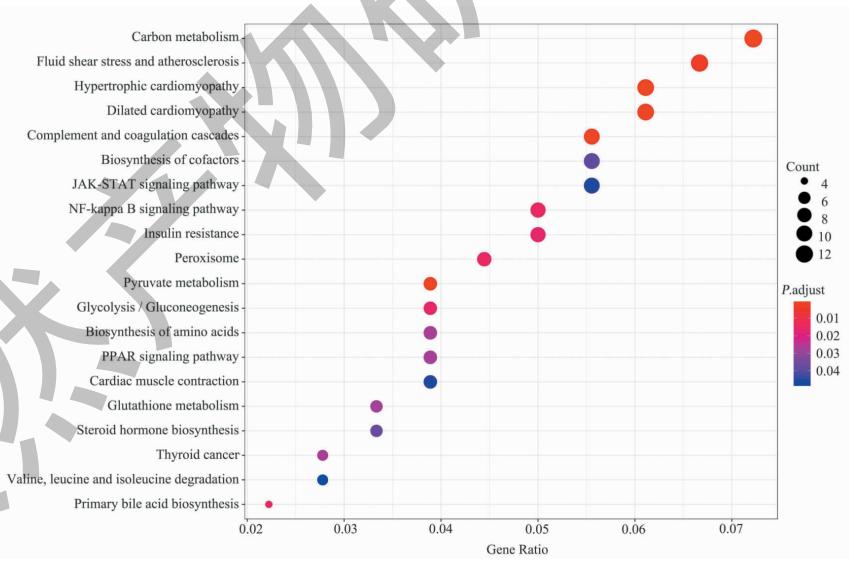


图 5 AAI 作用下差异表达基因 KEGG 富集分析

Fig. 5 KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes under AAI

2.5 差异表达基因的 qRT-PCR 验证

在表达的差异基因中挑选 5 个差异基因,以 β -actin 为内参,运用 qRT-PCR 以验证 RNA-seq 的可靠性(见图 6)。结果发现,与正常组相比,模型组 Kap 基因表达量明显减少;Spp1、Aldh1a2、Serpine1、

Tnc 基因表达量显著增加,与转录组结果一致,验证了转录组结果的可靠性。

3 讨论与结论

AA 的毒性作用早在 20 世纪 90 年代已被报道,随后被世界卫生组织国际癌症研究机构列为一级致

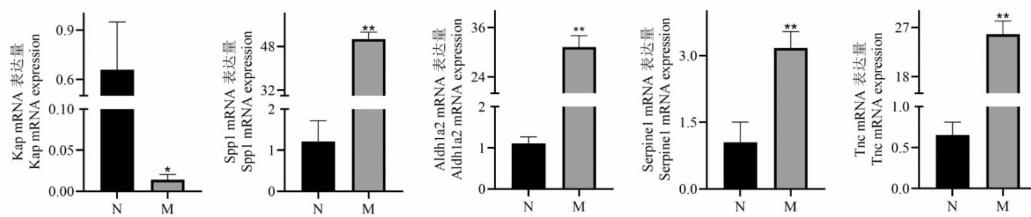


图 6 差异表达基因的 qRT-PCR 验证

Fig. 6 qRT-PCR verification of differentially expressed genes

注:与正常组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。Note: Compared with normal group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

瘤物^[9]。目前我国已禁止诸如广防己、关木通等 AA 含量较高药材的使用,而相对含量较低的马兜铃科植物及其制剂仍应用于临床治疗^[10]。AAI 是 AA 的主要成分,不同中药材中 AAI 含量亦不同,如细辛类药材中 AAI 含量在 10 $\mu\text{g/g}$ 左右^[11],朱砂莲中 AAI 的含量介于 0.938 6 ~ 3.567 5 mg/g 之间^[12]。朱砂莲临床给药 5 ~ 10 g 时 AAI 量达到 9.386 ~ 35.675 mg 之间。本文参考他人研究^[13,14],小鼠以 AAI 20 mg/kg 剂量给药 5 天,即出现明显肾损伤:血肌酐、尿素氮均明显升高;肾小球水肿、肾小球固缩,近曲小管上皮细胞脱落。

RNA-seq 是以高通量测序技术为基础,对组织细胞中的所有 mRNA 进行高通量测序分析的技术。本研究利用转录组学对 AAI 处理的小鼠肾组织 RNA 进行转录组学分析,发现与正常组差异表达基因共 4 975 个,其中上调的基因有 2 511 个,下调的基因有 2 464 个,其中差异表达基因中前 5 位为 kap、Spp1、Aldh1a2、Serpine1、Tnc。

Kap 为肾脏雄激素调节蛋白,是肾脏近端肾小管细胞中一种具有高度特异性,并且受到严格调节的蛋白,研究表明 Kap 与亲环蛋白 B 相互作用可以保护近端小管细胞免受环孢霉素 A 毒性的影响^[15]。Spp1 也被称为骨桥蛋白,是一种细胞外基质趋化因子样磷酸糖蛋白,与免疫调节,肿瘤发生和细胞信号传导相关^[16],有研究发现 Spp1 的上调可激活 NF- κ B 信号通路促进癌症进展^[17]。Aldh1a2 属于醛脱氢酶 1 家族,参与肾脏发育过程中内源性全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)的合成^[18]。作为一种维生素 A 的活性代谢产物,ATRA 在细胞增殖,分化以及凋亡中均起着重要作用^[19]。Serpine1 为 I 型纤溶酶原激活物抑制剂,许多研究指出其在癌症中存在异常表达,如口腔鳞状细胞癌,食道癌,膀胱癌等^[20]。Tnc 是一种大分子细胞外基质(ECM)糖蛋白,在胚胎发育过程中高度表达^[21]。它能够与

ECM 结构蛋白和细胞表面受体(如 EGFR、整联蛋白)结合,激活下游途径,从而调节细胞的粘附,扩散,迁移和增殖,研究显示 Tnc 是促进成纤维细胞增殖的主要成分,在肾纤维化中起着关键作用^[22]。但在急性肾损伤期,Tnc 亦可被诱导,进而增强 Wnt/ β -catenin 信号传导,以起到保护肾脏的作用^[23]。上述基因与 AAI 肾毒性相关报道不多。

AAI 肾毒性差异表达的基因主要在小分子代谢过程、胞外间质组织以及中性粒细胞参与的免疫应答等 GO 分类中显著富集。KEGG 分析表明差异表达基因在 JAK-STAT、NF- κ B 信号通路;过氧化反应;糖酵解/糖异生;胰岛素抵抗;缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸降解等途径中富集明显。由此提示 AAI 导致的肾毒性可能与炎症反应、氧化应激、糖代谢等途径相关。

鉴于 AAI 对肾脏具有明显的毒副作用,临幊上在使用青木香、朱砂莲、寻骨风^[24]等含马兜铃酸中药的过程中应注意监测肾功能;同时,转录组学揭示的 AAI 肾毒性的基因及相关信号通路,可能为 AAI 肾毒性提供一定的治疗思路。

参考文献

- Zhang HM, Zhao XH, Sun ZH, et al. Recognition of the toxicity of aristolochic acid[J]. J Clin Pharm Ther, 2019, 44(2): 157-162.
- Zheng L. Research progress of traditional Chinese medicine containing aristolochic acid[J]. Pharm Clin Chin Mater Med (中药与临幊), 2020, 11(1): 74-80.
- Pu XY, Shen JY, Deng ZP, et al. Plasma-specific microRNA response induced by acute exposure to aristolochic acid I in rats[J]. Arch Toxicol, 2017, 91: 1473-1483.
- Li Y, Xu HX, Cai DH, et al. Integration of transcriptomic, proteomic and metabolomic data to reveal the biological mechanisms of AAI injury in renal epithelial cells[J]. Toxicol In Vitro, 2021, 70: 105054.

- 5 Ma LS, Xiao ZT, Ye JC, et al. Protective effect of astragaloside IV on acute tubular injury induced by aristolochic acid I [J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志), 2012, 28: 1966-1970.
- 6 Anger EE, Yu F, Li J. Aristolochic acid-induced nephrotoxicity: molecular mechanisms and potential protective approaches[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(3):1157.
- 7 Tang Q, Tang XH, Sun WJ. Review on the application of transcriptomics approach in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发), 2018, 30: 900-906.
- 8 Peng J, Li X, Zhang D, et al. Hyperglycemia, p53 and mitochondrial pathway of apoptosis are involved in the susceptibility of diabetic models to ischemic acute kidney injury[J]. Kidney Int, 2015, 87(1):137-150.
- 9 Jadot I, Colombaro V, Martin B, et al. Restored nitric oxide bioavailability reduces the severity of acute-to-chronic transition in a mouse model of aristolochic acid nephropathy[J]. PLoS One, 2017, 12(8):e0183604.
- 10 Tian JZ, Liang AH, Liu J, et al. Risk control of traditional Chinese medicine containing aristolochic acids (AAs) based on influencing factors of content of AAs[J]. Chin J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2017, 42:4679-4686.
- 11 Li GH, Chen S, Wu L, et al. Determination of aristolochic acid I in traditional Chinese medicine by UPLC-QQQ-MS [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2017, 23(13):61-65.
- 12 Guo N, Zhao Y, Sun Y, et al. Qualitative and quantitative analysis of aristolochic acids in *Aristolochia cinnabarin*a dried root tubers by UPLC-QTOF-MS/MS[J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2021, 27(11):162-170.
- 13 Cui Y, Li HS, Song NN, et al. Metabonomics reveals that aristolochic acid I affects β -oxidation of fatty acids, glucose metabolism and the TCA cycle in the mice liver[J]. Chin J Pharmcov(中国药物警戒), 2019, 16:449-466.
- 14 Liu X, Xiao Y, Gao HC, et al. Metabonomic study of aristolochic acid I-induced acute renal toxicity urine at female and male C57BL/6J mice based on 1 H NMR[J]. Chem J Chin Univ(高等学校化学学报), 2010, 31:927-932.
- 15 Cebrián C, Aresté C, Nicolás A, et al. Kidney androgen-regulated protein interacts with cyclophilin B and reduces cyclosporine A-mediated toxicity in proximal tubule cells[J]. J Biol Chem, 2001, 276:29410-29419.
- 16 Chen JW, Hou CX, Zheng ZT, et al. Identification of secreted phosphoprotein 1 (SPP1) as a prognostic factor in lower-grade gliomas[J]. World Neurosurg, 2019, 130:e775-e785.
- 17 Wang Y, Su J, Wang YT, et al. The interaction of YBX1 with G3BP1 promotes renal cell carcinoma cell metastasis via YBX1/G3BP1-SPP1-NF- κ B signaling axis[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1):386.
- 18 Li Y, Gong H, Ding J, et al. Inhibition of GSK3 represses the expression of retinoic acid synthetic enzyme ALDH1A2 via Wnt/ β -Catenin signaling in WiT49 cells[J]. Front Cell Dev Biol, 2020, 8:94.
- 19 Ni X, Hu G, Cai X. The success and the challenge of all-trans retinoic acid in the treatment of cancer[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2019, 59(sup1):S71-S80.
- 20 Yang JD, Ma L, Zhu Z. SERPINE1 as a cancer-promoting gene in gastric adenocarcinoma; facilitates tumour cell proliferation, migration, and invasion by regulating EMT[J]. J Chemother, 2019, 31(7-8):408-418.
- 21 Tucker RP, Chiquet-Ehrismann R. Tenascin-C: Its functions as an integrin ligand[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2015, 65: 165-168.
- 22 Fu H, Tian Y, Zhou L, et al. Tenascin-C is a major component of the fibrogenic niche in kidney fibrosis[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28:785-801.
- 23 Chen SQ, Fu HY, Wu SZ, et al. Tenascin-C protects against acute kidney injury by recruiting Wnt ligands[J]. Kidney Int, 2019, 95(1):62-74.
- 24 Mi SL, Shi HW, Tan L, et al. Qualitative and quantitative analysis of aristolochic acid components in nine Chinese medicinal materials containing toxic aristolochic substances[J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2021, 56:1980-1987.