

[9] Harris R B, Zhou J, Youngblood B D, *et al.* Failure to change exploration or saccharin preference in rats exposed to chronic mild stress[J]. *Physiol Behav*, 1998, 63(1): 91-100.

[10] Nudo R J. Recovery after brain injury: mechanisms and principles[J]. *Front Hum Neurosci*, 2013, 24(7): 887.

[11] Kolb B, Muhammad A, Gibb R. Searching for factors underlying cerebral plasticity in the normal and injured brain [J]. *J Commun Disord*, 2011, 44(5): 503-514.

[12] Duman R S, Aghajanian G K. Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets[J]. *Science*, 2012, 338(6103): 68-72.

[13] Duman R S, Aghajanian G K, Sanacora G, *et al.* Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants[J]. *Nat Med*, 2016, 22(3): 238-249.

[14] Price J L, Drevets W C. Neurocircuitry of mood disorders[J].

Neuropsychopharmacology, 2010, 35(1): 192-216.

[15] Paolicelli R C, Bisht K, Tremblay M È. Fractalkine regulation of microglial physiology and consequences on the brain and behavior[J]. *Front Cell Neurosci*, 2014, 8: 129.

[16] Winter A N, Subbarayan M S, Grimmig B. *et al.* Two forms of CX3CL1 display differential activity and rescue cognitive deficits in CX3CL1 knockout mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 157.

[17] Milior G, Lecours C, Samson L, *et al.* Fractalkine receptor deficiency impairs microglial and neuronal responsiveness to chronic stress[J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 55: 114-125.

[18] Hellwig S, Brioschi S, Dieni S, *et al.* Altered microglia morphology and higher resilience to stress-induced depression-like behavior in CX3CR1-deficient mice [J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 55: 126-137.

扶正化癥方对马兜铃酸 I 诱导肾小管上皮细胞损伤的影响

王 帆¹, 王四园¹, 王 静¹, 彭 渊¹, 刘成海^{1,2,3}, 陶艳艳^{1,2,3*}
(1. 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所, 上海 201203; 2. 上海市中医临床重点实验室, 上海 201203; 3. 肝肾疾病病证教育部重点实验室, 上海 201203)

摘要: **目的** 探讨扶正化癥方对马兜铃酸 I 诱导的肾小管上皮细胞 HK-2 损伤的保护作用。**方法** 以不同浓度马兜铃酸 I 孵育 HK-2 细胞 24 h, 确定最佳造模浓度。HK-2 细胞分为正常组、模型组、*N*-乙酰半胱氨酸组及扶正化癥方低、高剂量组, 模型组以 400 μmol/L 马兜铃酸 I 分别孵育 6、12、24 h, 扶正化癥方低、高剂量组及 *N*-乙酰半胱氨酸组分别以 100、200 μg/mL 扶正化癥方浸膏粉及 5 mmol/L *N*-乙酰半胱氨酸孵育 24 h。CCK8 法检测细胞活力, 试剂盒测定细胞上清 LDH 活性, RT-qPCR 法检测 *fos* mRNA 表达, 免疫荧光法检测细胞 FOS 蛋白表达, Western blot 法检测细胞 FOS、JNK、p-JNK、ERK、p-ERK、IL-1β 蛋白表达。**结果** HK-2 细胞活力随着马兜铃酸 I 处理时间延长而降低, 细胞损伤逐渐加重 ($P<0.01$)。与溶剂对照组比较, 马兜铃酸 I 作用后 HK-2 细胞 *fos* mRNA 表达及 FOS、p-JNK、p-ERK、IL-1β 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$); 与模型组比较, 扶正化癥方各剂量组和 *N*-乙酰半胱氨酸组细胞活力升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), *fos* mRNA 表达及 FOS、p-JNK、p-ERK 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), JNK、ERK 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$); 扶正化癥方高剂量组和 *N*-乙酰半胱氨酸组细胞 IL-1β 表达降低 ($P<0.01$)。**结论** 扶正化癥方可通过抑制 FOS 及 p-JNK、p-ERK 蛋白表达, 抑制炎症因子释放, 从而改善马兜铃酸 I 诱导的 HK-2 细胞损伤。

关键词: 扶正化癥方; 马兜铃酸 I; 慢性肾病; 肾小管上皮细胞; 炎症; FOS; JNK; ERK

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2024)10-3455-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.10.046

收稿日期: 2023-06-16

基金项目: 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)

作者简介: 王 帆 (1998—), 女, 硕士生, 从事中草药肝肾毒性的基础、临床研究。Tel: 18614980929, E-mail: wfddoi@163.com

* 通信作者: 陶艳艳 (1972—), 女, 研究员, 硕士生导师, 从事中草药肝肾毒性的基础、临床研究。Tel: 13761573407, E-mail: taoyanyan1023@126.com

慢性肾病（chronic kidney disease, CKD）患病率在全球已高达 14.3%^[1]，导致发病的原因有很多，如糖尿病、高血压、肾小球肾炎等^[2]。在发展中国家，毒素同样是其常见诱因^[3]。马兜铃酸主要存在于马兜铃科植物中，具有抗感染、抗肿瘤等功效，应用于多种疾病的治疗^[4]，但同时也有一定的毒副作用。研究表明，马兜铃酸与肾病的发生高风险相关^[5]，马兜铃酸 I 是其主要成员，具有肾毒性与致癌性^[6]，长期服用含此类物质的中药可引起马兜铃酸肾病，病理表现主要为肾小管损伤^[7]。中医针对慢性肾病的治疗有着独特的理论，可延缓 CKD 进展^[8]，扶正化癥方由虫草菌丝、桃仁、丹参、绞股蓝、松花粉、五味子 6 味中药组成，契合肝纤维化“血瘀阻络、正气亏虚”的基本病机^[9]，具有抗肝纤维化作用^[10]。慢性肝肾疾病具备“正虚血瘀”的特点，治以“补虚化癥”达到“异病同治”效果^[11]，前期研究表明，扶正化癥方可抑制氯化汞诱导的肾间质纤维化^[12]，亦可缓解马兜铃酸 I 诱导的慢性肾损伤^[13]。本研究采用马兜铃酸 I 诱导人肾小管上皮细胞 HK-2 损伤，观察扶正化癥方对该细胞损伤的影响，以期为该方临床治疗慢性肾病提供依据。

1 材料

1.1 细胞 人近端肾小管上皮细胞 HK-2（货号 CM-H507），购自上海盖宁生物科技有限公司。

1.2 药物 马兜铃酸 I（批号 3503）购自上海诗丹德标准技术服务有限公司，用 DMSO 制成 50 mmol/L 贮备液，浓度为 12.5 ~ 400 μmol/L。扶正化癥方浸膏粉（批号 200414）由上海黄海制药有限责任公司提供，用 DMSO 制成 100 mg/mL 贮备液，浓度为 12.5 ~ 800 μg/mL。*N*-乙酰半胱氨酸（货号 616-91-1），购自美国 Sigma 公司。

1.3 试剂 DMEM/F12 培养基（批号 2482906）购自美国 Gibco 公司；TRIzol 试剂（批号 F919KB3054）、总 RNA 提取试剂盒（批号 B518811）均购自生工生物工程（上海）股份有限公司；反转录试剂盒（货号 RR047A）、扩增试剂盒（货号 RR420A）均购自宝日医生物技术（北京）有限公司；QuickBlock™ Western 封闭液（货号 P0252）、QuickBlock™ Western 一抗稀释液（货号 P0256）均购自上海碧云天生物技术股份有限公司；FOS（货号 ab222699）、JNK1 抗体（货号 ab199380）、IL-1β（货号 ab283822）抗体、DAPI（货号 ab228549）、Anti-Rabbit IgG（Donkey）（Alexa Fluor® 594）（货号 ab150076）均购自英国 Abcam 公司；p-SAPK/JNK（Thr183/Tyr185）（货号 4668）、p44/42 MAPK（ERK1/2）（货号 4695）、p-p44/42 MAPK（p-ERK1/2）（货号 4370）、ECL 荧光二抗（抗兔）（货号 7074）、ECL 荧光二抗（抗鼠）（货号 7076）均购自美国 Cell Signaling Technology 公司；GAPDH 抗体（货号 60004-I-Ig）购自武汉三鹰生物技术有限公司；LDH 检测试剂盒（货号 CK12）购自东仁化学科技（上海）有限公司；Cell Counting Kit（货号 HY-K0301）购自美国 MedChemExpress 公司。

2 方法

2.1 CCK8 法检测细胞活力 细胞以每孔 5.0×10³ 个的密度接种于 96 孔板，镜下观察细胞生长至亚单层后饥饿 6 h，吸弃培养液，每孔加入 100 μL CCK8 检测液（CCK8 检测液与无血清细胞培养液比例为 1：9），培养箱中孵育约 100 min，于 630、450 nm 波长处检测光密度（OD）值，并计算细胞存活率，公式为细胞存活率 = （OD_{模型组}/OD_{正常组}）×100%。

2.2 分组及给药 动态实验分为模型组-6 h、模型组-12 h、模型组-24 h，并设正常组、溶剂对照组，共 5 组；药效实验分为正常组，溶剂对照组，模型组-24 h，扶正化癥方低、高剂量组，*N*-乙酰半胱氨酸组，共 6 组，孵育时间为 24 h。正常组以 DMEM/F12 培养，无干预；溶剂对照组以相同浓度的 DMSO 处理；模型组以 400 μmol/L 马兜铃酸处理；扶正化癥方低、高剂量组及 *N*-乙酰半胱氨酸组在马兜铃酸 I 造模基础上分别以 100、200 μg/mL 扶正化癥方^[14]及 5 mmol/L *N*-乙酰半胱氨酸^[15]处理。

2.3 细胞上清液 LDH 水平检测 参考 LDH 试剂盒说明书，以 10 μL Lysis Buffer 为高对照孔，培养箱中孵育 30 min。继而每孔加入 100 μL 工作液，避光室温孵育 25 min，结束后每孔中加入 50 μL 终止液，酶标仪测定 490 nm 波长处吸光度，计算细胞损伤率，公式为细胞损伤率 = [（A - C）/（B - C）] ×100%，其中 *A* 为样品吸光度（样品孔吸光度 - 样品空白孔吸光度），*B* 为高对照吸光度（高对照孔吸光度 - 高对照空白孔吸光度），*C* 为低对照吸光度（低对照孔吸光度 - 背景空白孔吸光度）。

2.4 RT-qPCR 法检测细胞 *fos* mRNA 表达 细胞以每孔 5.0×10⁵ 个的密度接种于 6 孔板，按“2.2”项下方法分组及给药，弃细胞上清，每孔加入 0.2 mL TRIzol 试剂并转移至 1.5 mL 无酶离心管中，吸附柱法抽提细胞 RNA 并测定浓度，每组 500 ng RNA 逆转录成 cDNA。按照 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒说明书配制反应体系，通过 VIIA™ 7 实时荧光定量 PCR 系统进行 PCR 反应，每个样品设 3 个复孔，2^{-ΔΔCT}法进行定量分析。引物使用 NCBI 在线引物设计软件 Primer-Blast 设计，由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')
<i>fos</i>	正向 TGAAGACCGTGTCAAGAG
	反向 CGCTTGGAGTGTATCTGTC
<i>β-actin</i>	正向 TGACGAGGCCCAAGCAAGA
	反向 ATGGGCACAGTGTGGGTGAC

2.5 Western blot 法检测细胞 FOS、p-JNK、p-ERK、IL-1β 蛋白表达 细胞以 5.0×10⁶ 个的密度接种于 10 cm 培养皿，按“2.2”项下方法分组及给药，吸弃细胞上清，每孔加入 100 μL 蛋白裂解液并转移至 1.5 mL 离心管，4 ℃、12 000 r/min 离心 20 min，取上清，即为总蛋白，BCA 法测定细胞蛋白浓度并定量，蛋白加热变性后保存。取蛋白

样品，10% SDS-PAGE 凝胶电泳，转膜，5% BSA 室温封闭 10 min，加入一抗（FOS、JNK、p-JNK、ERK、p-ERK、IL-1 β ，1：1 000），4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，次日加入二抗室温孵育 1 h，ECL 全自动化学发光分析系统进行显影，通过 Image J 软件测定条带灰度值，并以内参 GAPDH 条带的灰度值校正。

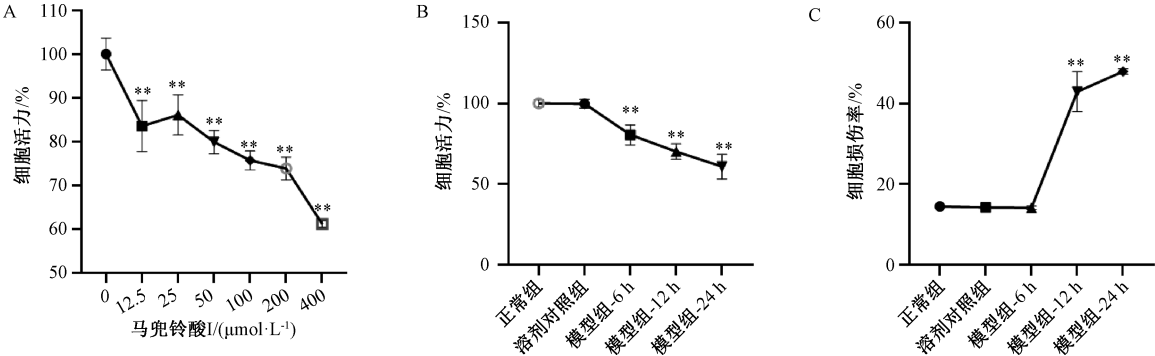
2.6 免疫荧光法检测细胞 FOS 表达 细胞以每孔 1.0×10^4 个的密度接种于 48 孔板，按“2.2”项下方法分组及给药，弃培养基，多聚甲醛固定 10 min，PBS 清洗 3 次，曲拉通 4 $^{\circ}$ C 孵育 20 s 进行破膜，PBS 清洗 3 次，加驴血清（1：200）室温封闭 30 min，加入 FOS 抗体（1：1 600），4 $^{\circ}$ C 冰箱中孵育过夜，PBS 清洗 3 次，加入荧光二抗（1：500）常温避光孵育 60 min，PBS 清洗 3 次，DAPI 细胞核染色液（1：500）常温孵育 15 min，PBS 洗脱 5 次。于激光共聚焦显微镜下扫描并观察，通过 Image J 软件测定平均荧光

强度。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理，满足正态分布的计量资料以（ $\bar{x}\pm s$ ）表示，组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用最小显著性差异（LSD）检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 马兜铃酸 I 致 HK-2 细胞损伤模型建立 以 12.5~400 $\mu\text{mol/L}$ 马兜铃酸 I 孵育 HK-2 细胞 24 h。如图 1A 所示，孵育后细胞活力逐渐降低（ $P<0.01$ ），400 $\mu\text{mol/L}$ 时下降至 60%~62%，故选择此浓度进行后续实验。如图 1B 所示，以 400 $\mu\text{mol/L}$ 马兜铃酸 I 孵育 HK-2 细胞 6、12、24 h，细胞活力均降低（ $P<0.01$ ），且具有时间依赖性。如图 1C 所示，以 400 $\mu\text{mol/L}$ 马兜铃酸 I 孵育 HK-2 细胞 12、24 h，细胞上清 LDH 活性高于溶剂对照组，即细胞损伤率升高（ $P<0.01$ ）。

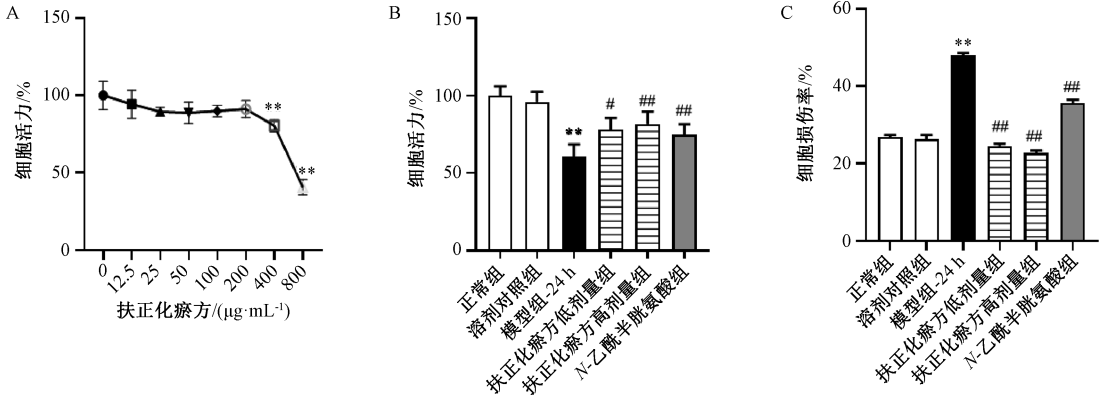


注：与溶剂对照组比较，** $P<0.01$ 。

图 1 马兜铃酸 I 对 HK-2 细胞损伤的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=6$ ）

3.2 扶正化癆方对马兜铃酸 I 致 HK-2 细胞损伤的影响 如图 2A 所示，以 12.5~800 $\mu\text{g/mL}$ 扶正化癆方孵育 HK-2 细胞 24 h，400、800 $\mu\text{g/mL}$ 对细胞有毒性（ $P<0.01$ ），故选择 100、200 $\mu\text{g/mL}$ 分别作为低、高剂量，后续以其及 5 mmol/L *N*-乙酰半胱氨酸开展药效实验。如图 2B 所示，与溶剂对照组比较，模型组细胞活力降低（ $P<0.01$ ）；与

模型组比较，扶正化癆方各剂量组及 *N*-乙酰半胱氨酸组细胞活力升高（ $P<0.05$ ， $P<0.01$ ）。如图 2C 所示，与溶剂对照组比较，模型组细胞 LDH 活性升高，即细胞损伤率升高（ $P<0.01$ ）；与模型组比较，扶正化癆方各剂量组及 *N*-乙酰半胱氨酸组细胞损伤率降低（ $P<0.01$ ）。



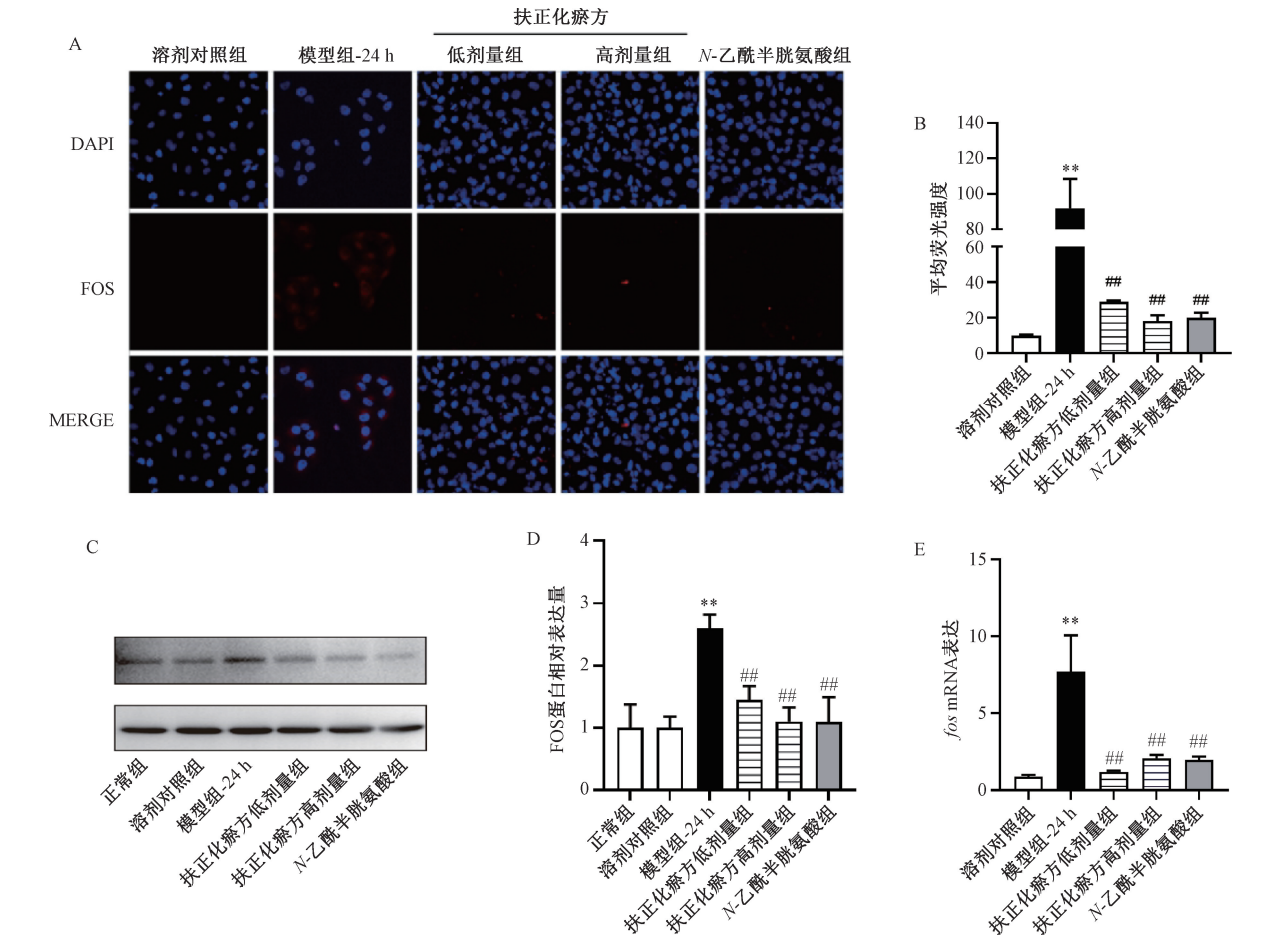
注：与溶剂对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组-24 h 比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 2 扶正化癆方对马兜铃酸 I 致 HK-2 细胞损伤的影响（ $\bar{x}\pm s$ ， $n=6$ ）

3.3 扶正化癆方对马兜铃酸 I 诱导 HK-2 细胞 FOS 表达的影响 如图 3 所示，与溶剂对照组比较，模型组 HK-2 细胞

fos mRNA 表达和 FOS 蛋白表达升高（ $P<0.01$ ），细胞核固缩，FOS 蛋白主要表达在胞核；与模型组比较，扶正化癆

方各剂量组及 *N*-乙酰半胱氨酸组 HK-2 细胞 *fos* mRNA 表达和 FOS 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。

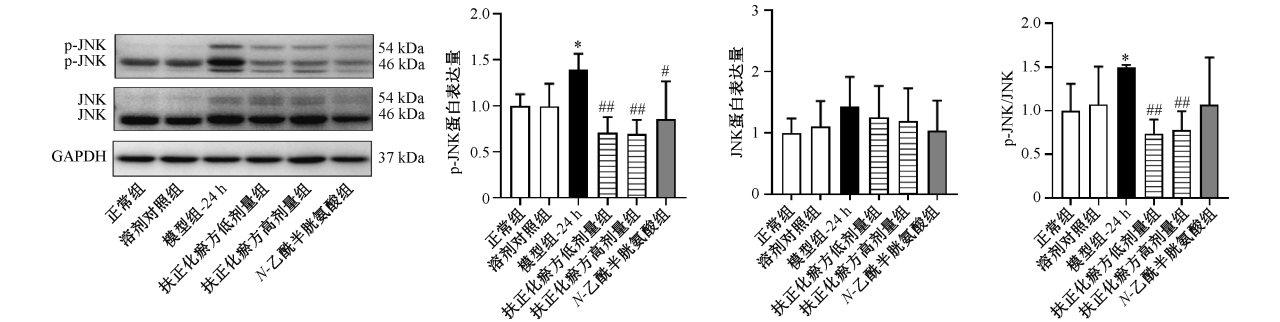


注：A~B 为细胞 FOS 蛋白表达（免疫荧光染色， $\times 400$ ），C~D 为细胞 FOS 蛋白表达（蛋白印迹法），E 为细胞 *fos* mRNA 表达。与溶剂对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组-24 h 比较，## $P<0.01$ 。

图 3 扶正化療方对马兜铃酸 I 诱导 HK-2 细胞 FOS 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.4 扶正化療方对马兜铃酸 I 诱导 HK-2 细胞 p-JNK/JNK 蛋白表达的影响 如图 4 所示，与溶剂对照组比较，模型组 HK-2 细胞 JNK 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)，p-JNK

蛋白表达、p-JNK/JNK 升高 ($P<0.05$)；与模型组比较，扶正化療方各剂量组 HK-2 细胞 JNK 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)，p-JNK 蛋白表达、p-JNK/JNK 降低 ($P<0.01$)。



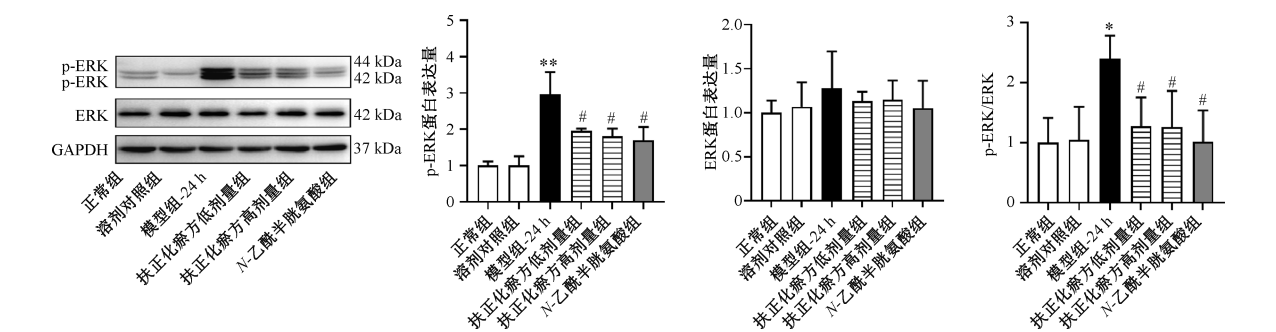
注：与溶剂对照组比较，* $P<0.05$ ；与模型组-24 h 比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

图 4 扶正化療方对马兜铃酸 I 诱导 HK-2 细胞 p-JNK/JNK 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.5 扶正化療方对马兜铃酸 I 诱导 HK-2 细胞 p-ERK/ERK 蛋白表达的影响 如图 5 所示，与溶剂对照组比较，模型组 HK-2 细胞 ERK 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)，p-ERK 蛋白表达、p-ERK/ERK 升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，扶正化療方各剂量组及 *N*-乙酰半胱氨酸组 HK-2

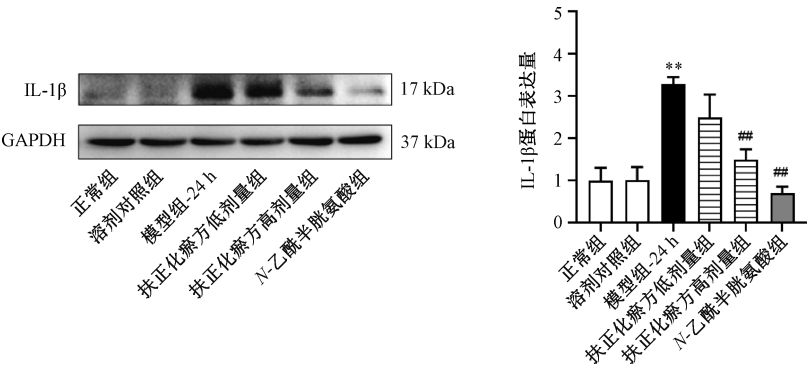
细胞 ERK 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)，p-ERK 蛋白表达、p-ERK/ERK 降低 ($P<0.05$)。

3.6 扶正化療方对马兜铃酸 I 诱导 HK-2 细胞 IL-1 β 蛋白表达的影响 如图 6 所示，与溶剂对照组比较，模型组 HK-2 细胞 IL-1 β 蛋白表达升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，



注：与溶剂对照组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组-24 h 比较，# $P<0.05$ 。

图 5 扶正化癆方对马兜铃酸 I 诱导 HK-2 细胞 p-ERK/ERK 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)



注：与溶剂对照组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图 6 扶正化癆方对马兜铃酸 I 诱导 HK-2 细胞 IL-1β 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

扶正化癆方高剂量组及 *N*-乙酰半胱氨酸组 HK-2 细胞 IL-1β 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。

4 讨论

一项针对我国成年人慢性肾病的流行病学调查发现，经常服用含马兜铃酸中药人群的慢性肾病患病率高于未服用此药物人群^[16]。肾小管上皮细胞是马兜铃酸 I 的优先作用靶细胞^[17]，其损伤与 CKD 进展密切相关^[18]，急性肾损伤过程中，肾小管上皮细胞持续分泌炎症因子和促纤维化因子，加速肾脏结构破坏，促进从急性肾损伤至 CKD 的发展^[19]。

FOS 蛋白在细胞的分化、凋亡、炎症等环节中有重要调节功能^[20]，其激活与有丝分裂原激活蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号通路有关^[21]。MAPK 信号通路是一类丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，主要包括氨基末端激酶 (JNK)、细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2)、p38 这 3 条信号通路，可协调蛋白质合成、细胞凋亡、炎症反应等^[22]，有毒金属镉可诱导肾小管上皮细胞中 MAPK 信号通路的激活及 FOS 蛋白的表达，造成肾小管上皮损伤^[23]；JNK、ERK 信号通路的激活可诱导 HK-2 细胞的铁死亡^[24]或焦亡^[15]。

近年来临床实践与基础研究表明，除了缓解肝纤维化以外，扶正化癆方在抗肾纤维化方面同样发挥着作用^[25]。研究发现，扶正化癆方可有效缓解马兜铃酸 I 诱导的小鼠肾脏损伤和纤维化^[13]，且主要与抑制 JNK、ERK 信号通路的激活有关。*N*-乙酰半胱氨酸是一种含巯基的化合物，作

为祛痰药应用于临床，具有抗氧化、抗细胞凋亡等作用^[26]，可缓解马兜铃酸 I 诱导的肾小管细胞内质网应激，减少细胞死亡^[27]。本研究采用马兜铃酸 I 模拟体外肾小管损伤，*N*-乙酰半胱氨酸作为阳性对照药，观察扶正化癆方对马兜铃酸 I 诱导肾小管细胞损伤的保护作用，发现 400 μmol/L 剂量抑制了细胞活力，增加了细胞上清 LDH 的释放，与既往研究相符^[28]。造模后，细胞 FOS 蛋白表达增加，p-JNK、p-ERK 蛋白表达升高，与 *N*-乙酰半胱氨酸效应相似；扶正化癆方作用后可上调细胞活力，减少 LDH 释放，抑制 p-JNK、p-ERK 蛋白表达，提示该方可以抑制马兜铃酸 I 造成的 MAPK (ERK、JNK) 信号通路激活。MAPK 信号通路的活化可引起上皮细胞的氧化应激、炎症反应等^[29]。马兜铃酸 I 诱导后 HK-2 细胞 IL-1β 蛋白表达升高；扶正化癆方和 *N*-乙酰半胱氨酸均可抑制 HK-2 细胞 IL-1β 蛋白表达，减轻炎症反应。

综上所述，马兜铃酸 I 可诱导肾小管上皮细胞损伤，包括核固缩及细胞膜的破裂溶解，引发炎症反应；扶正化癆方可有效缓解马兜铃酸 I 诱导的肾小管上皮细胞损伤，其机制可能与抑制 JNK、ERK 激活，减少 FOS 表达有关。

参考文献：

[1] 上海慢性肾脏病早发现及规范化诊治与示范项目专家组. 慢性肾脏病筛查、诊断及防治指南 [J]. 中国实用内科杂志, 2017, 37(1): 28-34.
[2] GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. Global, regional,

and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. *Lancet*, 2020, 395(10225): 709-733.

[3] Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, *et al.* Chronic kidney disease: global dimension and perspectives[J]. *Lancet*, 2013, 382(9888): 260-272.

[4] Zhang H M, Zhao X H, Sun Z H, *et al.* Recognition of the toxicity of aristolochic acid[J]. *J Clin Pharm Ther*, 2019, 44(2): 157-162.

[5] Pu X Y, Shen J Y, Deng Z P, *et al.* Plasma-specific microRNA response induced by acute exposure to aristolochic acid I in rats[J]. *Arch Toxicol*, 2017, 91(3): 1473-1483.

[6] Li Y, Xu H X, Cai D H, *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.

[7] Zhou L, Fu P, Huang X R, *et al.* Activation of p53 promotes renal injury in acute aristolochic acid nephropathy[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(1): 31-41.

[8] 何伟明, 刘不梅, 高 坤, 等. 中医药防治肾纤维化的研究现状及实践[J]. *南京中医药大学学报*, 2018, 34(2): 112-117.

[9] Wu M, Zhou Y, Qin S L, *et al.* Fuzheng Huayu capsule attenuates hepatic fibrosis by inhibiting activation of hepatic stellate cells[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 3468791.

[10] Wang T, Zhou X, Liu H, *et al.* Fuzheng Huayu capsule as an adjuvant treatment for HBV-related cirrhosis: A systematic review and meta-analysis[J]. *Phytother Res*, 2018, 32(5): 757-768.

[11] 刘成海, 郝 娟, 陶艳艳. 正虚血瘀是中医干预肝肾纤维化异病同治的重要病机基础[J]. *世界科学技术 (中医药现代化)*, 2016, 18(9): 1471-1476.

[12] Wang Q L, Tao Y Y, Xie H D, *et al.* Fuzheng Huayu recipe, a traditional Chinese compound herbal medicine, attenuates renal interstitial fibrosis *via* targeting the miR-21/PTEN/AKT axis[J]. *J Integr Med*, 2020, 18(6): 505-513.

[13] Wang F, Wang S Y, Wang J, *et al.* Pharmacological mechanisms of Fuzheng Huayu formula for aristolochic acid I-induced kidney fibrosis through network pharmacology[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1056865.

[14] 平大冰, 孙 鑫, 彭 渊, 等. 扶正化癥方对 NK92 细胞活化和杀伤功能的影响[J]. *中成药*, 2021, 43(12): 3310-3315.

[15] Shen X J, Wang H B, Weng C H, *et al.* Caspase 3/GSDME-dependent pyroptosis contributes to chemotherapy drug-induced nephrotoxicity[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(2): 186.

[16] 费 菲. 马兜铃酸肾损害: 从科学问题到临床意义的多轮审视——北京大学肾脏疾病研究所副所长杨莉谈马兜铃酸肾病的机制研究和临床诊疗策略[J]. *中国医药科学*, 2018, 8(24): 1-3.

[17] Shibutani S, Dong H, Suzuki N, *et al.* Selective toxicity of aristolochic acids I and II[J]. *Drug Metab Dispos*, 2007, 35(7): 1217-1222.

[18] Mackensen-Haen S, Bader R, Grund K E, *et al.* Correlations between renal cortical interstitial fibrosis, atrophy of the proximal tubules and impairment of the glomerular filtration rate[J]. *Clin Nephrol*, 1981, 15(4): 167-171.

[19] Liu B C, Tang T T, Lv L L, *et al.* Renal tubule injury: a driving force toward chronic kidney disease[J]. *Kidney Int*, 2018, 93(3): 568-579.

[20] Tsiambas E, Mastronikolis N, P Fotiades P, *et al.* c-Jun/c-Fos complex in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *J BUON*, 2020, 25(2): 618-620.

[21] Ye N, Ding Y, Wild C, *et al.* Small molecule inhibitors targeting activator protein 1 (AP-1) [J]. *J Med Chem*, 2014, 57(16): 6930-6948.

[22] Kyriakis J M, Avruch J. Mammalian MAPK signal transduction pathways activated by stress and inflammation: a 10-year update[J]. *Physiol Rev*, 2012, 92(2): 689-737.

[23] Iwatsuki M, Inageda K, Matsuoka M. Cadmium induces phosphorylation and stabilization of c-Fos in HK-2 renal proximal tubular cells[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2011, 251(3): 209-216.

[24] Su L J, Jiang X F, Yang C, *et al.* Pannexin 1 mediates ferroptosis that contributes to renal ischemia/reperfusion injury[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(50): 19395-19404.

[25] 赵志敏, 景 菲, 吕 靖, 等. 病证结合异病同治的中医药抗器官纤维化临床研究思路[J]. *世界中医药*, 2020, 15(19): 2864-2867.

[26] 杨琳琳, 王玉洁, 刘 刚, 等. N-乙酰半胱氨酸对膜性肾病大鼠肾脏的保护作用[J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(6): 848-854; 859.

[27] Zhu S H, Wang Y, Jin J, *et al.* Endoplasmic reticulum stress mediates aristolochic acid I-induced apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells[J]. *Toxicol In Vitro*, 2012, 26(5): 663-671.

[28] Upadhyay R, Batuman V. Aristolochic acid I induces proximal tubule injury through ROS/HMGB1/mt DNA mediated activation of TLRs[J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(15): 4277-4291.

[29] 张 霄, 张 睿, 吴 妍, 等. KIM-1 对 AGEs 诱导的肾小管上皮细胞 EMT 和凋亡的影响及其机制[J]. *中国病理生理杂志*, 2022, 38(11): 2005-2013.