

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.06.009

黄芪甲苷对马兜铃酸诱导的巨噬细胞 M1 型极化的作用及机制研究 *

徐维佳^{1,2} 陈揭剑^{1,2} 严丽群² 张 勇^{1,2Δ} 王丽萍^{1,2} 庄永泽^{1,2}

(1 中国人民解放军联勤保障部队第九〇〇医院肾脏病科 福建 福州 350025; 2 福建医科大学福总临床医学院 福建 福州 350004)

摘要 目的:探讨黄芪甲苷对马兜铃酸诱导的 RAW264.7 细胞向 M1 型极化的影响,并初步探索其可能的作用机制。**方法:**分别采用马兜铃酸和脂多糖(LPS)刺激 RAW264.7 细胞 24 h,伴或不伴黄芪甲苷进行药物干预处理。采用细胞计数检测试剂盒-8(CCK 8)检测细胞活性变化,流式细胞仪检测巨噬细胞分型,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测细胞上清液中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的分泌量。反转录实时定量 PCR(RT-qPCR)技术检测 RAW264.7 细胞 IL-6、TNF- α mRNA 表达。蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 RAW264.7 细胞 p-p38 和 p38 MAPK 蛋白表达水平。**结果:**CCK8 结果提示黄芪甲苷在 5~50 μ g/mL 浓度范围对 RAW264.7 巨噬细胞无明显毒性,本研究选取 10 μ g/mL 作为实验干预浓度。黄芪甲苷能够显著改善马兜铃酸诱导的巨噬细胞活性($P<0.05$),同时减少 IL-6 和 TNF- α 的分泌水平和 mRNA 表达水平(均 $P<0.05$),抑制马兜铃酸和 LPS 诱导的 M1/M2 巨噬细胞比例($P<0.05$)。黄芪甲苷可部分抑制马兜铃酸诱导的巨噬细胞 p38 MAPK 磷酸化水平($P<0.05$)。**结论:**黄芪甲苷可减少巨噬细胞 M1 型极化,降低炎症因子 IL-6 和 TNF- α 水平,减少巨噬细胞的活性,从而起到减缓马兜铃酸肾损害的作用,其作用机制可能与部分抑制 p38 MAPK 信号活性有关。

关键词:黄芪甲苷;马兜铃酸;巨噬细胞;M1 型极化;p38 MAPK 信号通路

中图分类号:R-33;R692;R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)06-1040-06

Effect of Astragaloside IV on Aristolochic Acid-induced M1-type Polarization of Macrophages and Its Mechanism Study*

XU Wei-jia^{1,2}, CHEN Jie-jian^{1,2}, YAN Li-qun², ZHANG Yong^{1,2Δ}, WANG Li-ping^{1,2}, ZHUANG Yong-ze^{1,2}

(1 Department of Nephrology, 900 Hospital of PLA Joint Service Support Force, Fuzhou, Fujian, 350025, China;

2 Fuzhou General Hospital of Clinical Medicine, Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian, 350004, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of astragaloside IV on the polarization of RAW264.7 cells induced by aristolochic acid to M1-type, and to explore its possible mechanism. **Methods:** Aristolochic acid and Lipopolysaccharide (LPS) were used to stimulate RAW264.7 cells for 24 h successively, with or without astragaloside IV for drug intervention. Cell counting kit-8 (CCK-8) was used to detect the change of cell activity, flow cytometry was used to detect the type of macrophages, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the secretion of interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor - α (TNF- α) in cell supernatant. The expression of IL-6 and TNF- α mRNA in RAW264.7 cells were detected by real-time quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR). The protein expression levels of p-p38 and p38 MAPK in RAW264.7 cells were detected by Western blot. **Results:** The results of CCK8 indicated that astragaloside IV had no obvious toxicity to RAW264.7 macrophages in the concentration range of 5-50 μ g/mL, and 10 μ g/mL was selected as the experimental intervention concentration in this study. Astragaloside IV could significantly improve the increase of macrophage activity induced by aristolochic acid ($P<0.05$), and decreased the secretion and expression levels of IL-6, TNF- α and mRNA expression (all $P<0.05$), inhibit the increase of M1/M2 macrophage ratio induced by aristolochic acid and LPS ($P<0.05$). Astragaloside IV could partially inhibited the increased phosphorylation of p38 MAPK in macrophages induced by aristolochic acid ($P<0.05$). **Conclusions:** Astragaloside IV can reduce the M1-type polarization of macrophages, reduce the levels of inflammatory cytokines IL-6 and TNF- α , and reduce the activity of macrophages, thus playing a role in slowing the renal damage of aristolochian acid. The mechanism of action may be related to the partial inhibition of p38 MAPK signaling activity.

Key words: Astragaloside IV; Aristolochic acid; Macrophages; M1-type polarization; p38 MAPK signaling pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R692; R285.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)06-1040-06

* 基金项目:福建省自然科学基金面上项目(2017J01324);国家自然科学基金面上项目(81373837);

福建省临床重点专科建设项目(闽卫医政函[2017]739 号)

作者简介:徐维佳(1987-)女,硕士,主治医师,研究方向:中西医结合治疗慢性肾脏病,E-mail: xwj1707@163.com

Δ 通讯作者:张勇(1979-),男,博士,副主任医师,研究方向:中西医结合治疗慢性肾脏病,E-mail: 13705069487@163.com

(收稿日期:2020-08-28 接受日期:2020-09-22)

前言

马兜铃酸肾病泛发于世界各地,尤其在亚洲人群中更为多见,常见于服用含有马兜铃酸的中草药后引起的肾脏损伤,可导致包括急性肾小管坏死、进行性的慢性肾功能衰竭、泌尿系恶性肿瘤等不良预后,近年来受到全球学者的广泛关注^[1-3]。研究发现,在马兜铃酸诱导的大鼠肾损害模型中可见大量巨噬细胞浸润在坏死的肾小管周围^[4]。在人类马兜铃酸肾损害的肾活检病理中也观察到相似的表现,甚至在终末期肾损害阶段^[5,6],这提示巨噬细胞在马兜铃酸肾损害的发生、发展过程中起到关键作用。黄芪甲苷是肾脏病常用中药黄芪的主要活性成分之一,具有抗炎、抗氧化、抗纤维化等作用^[7-9]。Xu^[10]等人研究发现黄芪甲苷可减少马兜铃酸诱导的炎症反应,改善远期肾脏纤维化。目前黄芪甲苷是否通过调节巨噬细胞进而改善马兜铃酸诱导的炎症反应尚不明确。因此,本研究通过体外实验探讨黄芪甲苷对马兜铃酸诱导的巨噬细胞极化的调节作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 细胞

小鼠巨噬细胞系 RAW264.7 细胞购自中国科学院。

1.2 主要试剂及仪器

黄芪甲苷(纯度>98.0%,批号 18065)购自美国 MCE 公司,马兜铃酸(纯度≥97%,批号 A5512)购自美国 Sigma 公司,CD11c 抗体(批号 117309)、CD206 抗体(批号 141705)均购自美国 BIOLEND 公司,p38 MAPK 抗体(批号 8690T)和 p-p38 MAPK 抗体(批号 4511T)均购自 CST 公司,GAPDH 抗体购自杭州华安生物技术有限公司(批号 HL1019),细胞计数试剂盒(CCK 8)购自上海碧云天生物技术有限公司,实时荧光定量 PCR 试剂盒购自日本 Toyobo 公司,Quant Studio DX qPCR 仪购自美国 Applied Biosystems 公司,Odysey CLx 荧光成像系统购自 LI-COR 公司,流式细胞仪购自 BD 公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 RAW264.7 巨噬细胞采用含 10%灭活胎牛血清的 RPMI1640 培养基,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,隔天传代,取 4-5 代生长状态良好的细胞进行分组干预。

1.3.2 实验分组 取对数生长期的 RAW264.7 细胞,采用 0.25%的胰酶消化,离心收集细胞,调整细胞浓度至 5×10⁴/mL,接种细胞至 96 孔板中,100 μL/孔。随机分组:① 马兜铃酸刺激巨噬细胞实验:空白对照组(CTL 组)、马兜铃酸造模组(AAI 组)(给予马兜铃酸 1 μg/mL)、黄芪甲苷药物干预组(AS-IV 组)(给予等剂量马兜铃酸+黄芪甲苷 10 μg/mL),刺激 24 h 后收集细胞及其上清液。② LPS 刺激巨噬细胞实验:空白对照组(CTL 组)、脂多糖(LPS 组)刺激组(LPS 组)(给予 LPS 1 μg/mL)、黄芪甲苷药物干预组(AS-IV 组)(给予等剂量 LPS+黄芪甲苷 10 μg/mL),刺激 24 h 后收集细胞上清液及细胞供蛋白和 RNA 的提取和检测。

1.3.3 细胞计数检测试剂盒-8(CCK 8)检测黄芪甲苷细胞毒性和细胞活性 按照 CCK-8 检测试剂盒说明书操作。简述如下:RAW264.7 巨噬细胞以 5×10⁴ 个细胞/孔密度接种在 96 孔板,分别加入不同浓度药物(0、5、10、50、100 μg/mL)刺激,每个浓度设置 6 个复孔,作用 24 小时后,每孔加入 10 μL CCK-8 检测试剂,37℃孵育 2 小时,于 450 nm 波长处读取吸光度,计算每组细胞活性。

1.3.4 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 收集细胞培养上清液,参照 ELISA 检测试剂盒说明书分别检测细胞上清液中白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)的分泌量。

1.3.5 反转录实时定量 PCR(RT-qPCR)实验 按试剂盒说明书,将处理过的细胞采用 4℃PBS 漂洗 3 次后,用细胞刮刀将细胞刮去并收集到 Ependoff 管中,根据 RNA 提取试剂盒的步骤进行提取 RNA,并对其纯度及完整性进行检测。以 GAPDH 为内参,采用 RT-qPCR 检测 IL-6、TNF-α、GAPDH 的 mRNA 表达水平。引物序列见表 1。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 mRNA 相对表达量。

表 1 PCR 各基因引物序列

Table 1 Primer sequences of each gene for PCR

Gene name	Primer sequence(5'~3')	Product length/bp
TNF-α	F: CCTGTAGCCACGTCGTAG	148
	R: GGGAGTAGACAAGGTACAACCC	
IL-6	F: CCGGAGAGGAGACTTCACAG	102
	R: TCCACGATTTCAGAGAAC	
GAPDH	F: TGTGTCCGTCGTGGATCTGA	163
	R: TTGCTGTTGAAGTCGAGGAGGAC	

1.3.6 流式细胞仪检测巨噬细胞分型 制作单细胞悬液,经 PBS 洗涤后,调整细胞浓度为 10⁷ 个/mL 加入 100 μL 于 Ependoff 管,分别加入 FITC anti-mouse F4/80、APC anti-mouse CD11c 和 PE anti-mouse CD206,分别作为巨噬细胞共同表面标志、M1 型巨噬细胞特异性标志和 M2 型巨噬细胞特异性标志。在冰上完成上述步骤后上机检测,并用 Flowjo 软件分析检测结果。

1.3.7 Western blot 印迹检测 p38 MAPK 蛋白磷酸化及表达水平 收集细胞后,加入含有磷酸酶抑制剂和蛋白酶抑制剂 RIPA 裂解液冰上裂解 30 min,4℃、12000×g 离心 15 min,收取上清液。BCA 法蛋白定量后进行蛋白变性、电泳、转膜。使用含 5%BSA 封闭 1 h 后与兔抗小鼠和人 GAPDH、p38、p-p38 抗体(稀释度分别 1:2000、1:1000、1:1000)4℃孵育过夜,洗膜后再结合辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗(1:5000 TBST

稀释)室温孵育 1 h,ECL 发光显影试剂反应,采用 Western 印迹自动成像仪扫描并获得显影图像。

1.4 统计学处理

使用 SPSS 20.0 统计软件进行数据的统计学分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。非正态分布计量资料两组间比较采用非参数秩和检验;正态分布的计量资料两组间比较采用 t 检验; $P < 0.05$ 定义为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 黄芪甲苷对 RAW264.7 巨噬细胞活性的影响

与 0 $\mu\text{g/mL}$ 比较,黄芪甲苷在 100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度时对 RAW264.7 巨噬细胞活性具有抑制作用,而在 5~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围对 RAW264.7 巨噬细胞无明显毒性(图 1)。因此,为了进一步研究黄芪甲苷对巨噬细胞 M1 极化作用的影响,本研究选取 10 $\mu\text{g/mL}$ 作为实验干预浓度。

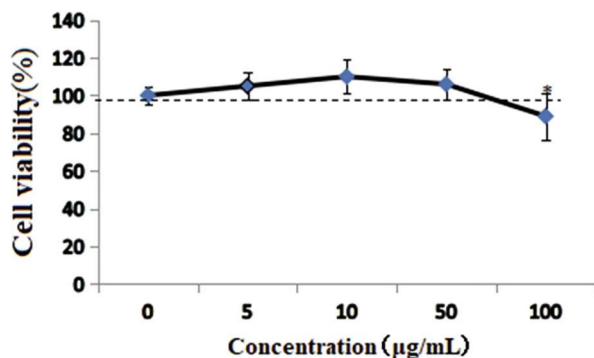


图 1 不同浓度黄芪甲苷对 RAW264.7 巨噬细胞活性的影响

Fig.1 Effect of astragaloside IV on RAW264.7 macrophage activity

Note: compared with 0 $\mu\text{g/mL}$, * $P < 0.05$.

2.2 黄芪甲苷对马兜铃酸诱导的 RAW264.7 细胞活性的影响

采用马兜铃酸伴或不伴黄芪甲苷刺激 RAW264.7 细胞,CCK-8 检测 24 h 后细胞活性。结果显示,与 CTL 组比较,AAI 组细胞活性明显增加($P < 0.05$),AS-IV 组细胞活性较 AAI 组下降($P < 0.05$)。见图 2。

2.3 黄芪甲苷对马兜铃酸诱导的炎症因子分泌和 mRNA 水平

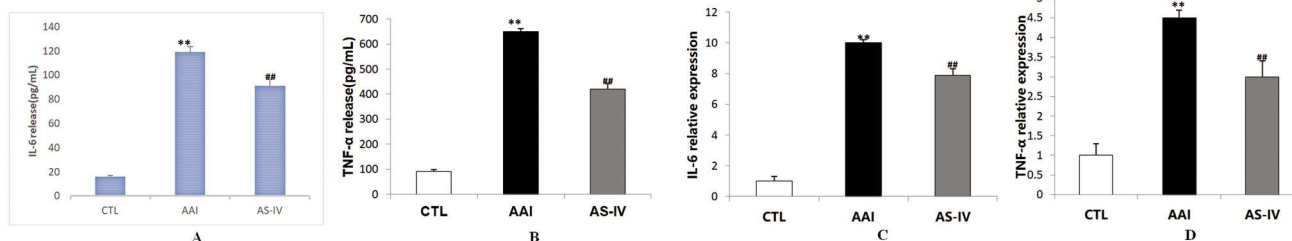


图 3 各组马兜铃酸诱导的 IL-6、TNF- α 分泌水平和 mRNA 相对表达量

Fig.3 The secretion level and mRNA relative expression of IL-6 and TNF- α induced by aristolochic acid in each group

Note: A. the secretion of IL-6 was detected by ELISA; B. the secretion of TNF- α was detected by ELISA; C. the relative expression of IL-6 mRNA was detected by PCR; D. the relative expression of IL-6 mRNA was detected by PCR. Compared with CTL group, ** $P < 0.05$; compared with AAI group, ## $P < 0.05$.

2.5 黄芪甲苷对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 M1 极化的影响

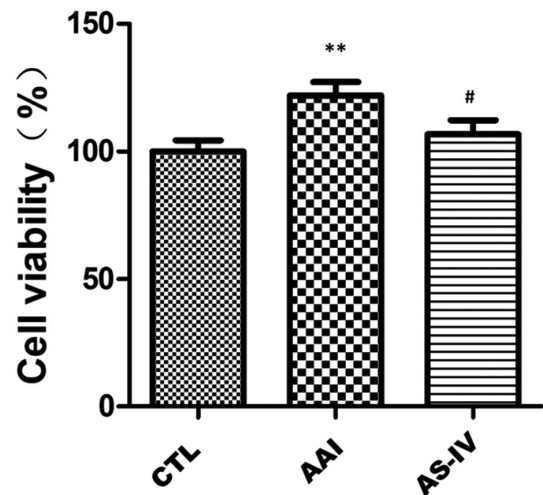


图 2 黄芪甲苷对马兜铃酸诱导的 RAW264.7 细胞活性的影响

Fig.2 The effect of astragaloside IV on the activity of RAW264.7 cells induced by aristolochic acid

Note: compared with CTL group, ** $P < 0.05$; compared with AAI group, # $P < 0.05$.

的影响

采用 ELISA 技术检测细胞上清液中炎症因子 IL-6、TNF- α 的分泌情况。结果提示,与 CTL 组比较,AAI 组 RAW264.7 细胞 IL-6、TNF- α 分泌水平显著增加(均 $P < 0.05$)。与 AAI 组比较,AS-IV 组细胞上清液中 IL-6、TNF- α 分泌水平均显著下降(均 $P < 0.05$)。见图 3A 和 3B。采用 RT-qPCR 检测各组 RAW264.7 细胞促炎因子 IL-6、TNF- α mRNA 表达情况。结果提示,与 CTL 组比较,马兜铃酸诱导 RAW264.7 细胞 IL-6、TNF- α mRNA 表达显著增加(均 $P < 0.05$)。与 AAI 组比较,AS-IV 组细胞 IL-6、TNF- α mRNA 表达显著下降(均 $P < 0.05$)。见图 3C 和 3D。

2.4 黄芪甲苷对马兜铃酸刺激 RAW264.7 细胞极化的影响

采用流式细胞检测各组的巨噬细胞极化情况。与 CTL 组比较,经马兜铃酸刺激后 AAI 组 RAW264.7 细胞 M1/M2 比例增高($P < 0.05$)。与 AAI 组比较,AS-IV 组 RAW264.7 细胞 M1/M2 比例降低($P < 0.05$)。见图 4。

有研究已证实,LPS 可激活巨噬细胞并使其向 M1 型极

化,是 M1 型巨噬细胞实验的经典诱导方法^[1]。为了进一步明确黄芪甲苷对 RAW264.7 细胞 M1 极化的影响,本研究进一步选用经典的 LPS 诱导 RAW264.7 细胞 M1 极化,并观察黄芪甲苷对巨噬细胞 M1 极化的作用。流式细胞检测结果显示,经 1 $\mu\text{g/mL}$ LPS 刺激后 (LPS 组)RAW264.7 细胞 M1/M2 比例较 CTL 组升高 ($P<0.05$),而黄芪甲苷干预后 (AS-IV 组)RAW264.

7 细胞 M1/M2 比例较 LPS 组下降 ($P<0.05$)。见图 5。

2.6 黄芪甲苷对马兜铃酸诱导后的 RAW264.7 细胞 p38 蛋白磷酸化水平的影响

与 CTL 组比较,马兜铃酸刺激 24 h 的 AAI 组 p-p38/p38 蛋白相对表达量显著上调 ($P<0.05$);与 AAI 组比较,AS-IV 组 p-p38/p38 蛋白相对表达量有所下降 ($P<0.05$)。见图 6A 和 6B。

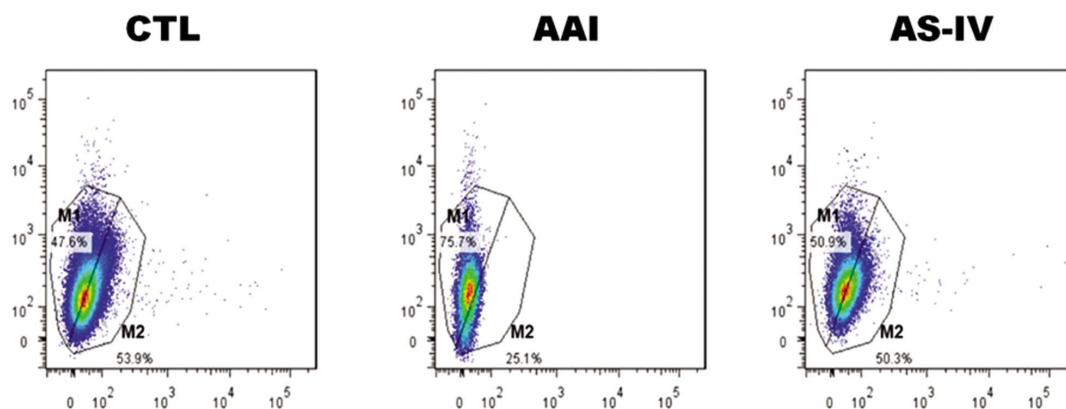


图 4 黄芪甲苷对马兜铃酸刺激 RAW264.7 细胞极化的影响

Fig.4 Effect of astragaloside IV on polarization of RAW264.7 cells stimulated by aristolochic acid

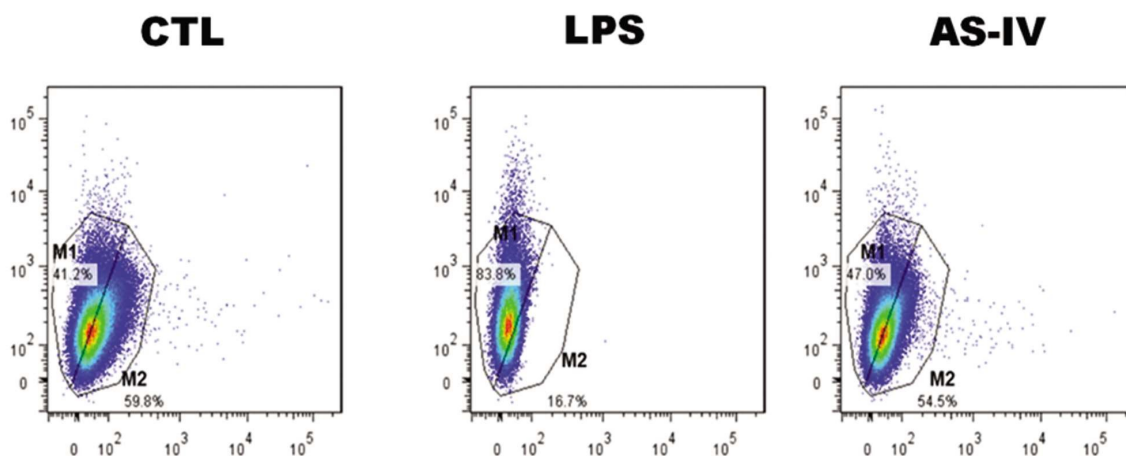


图 5 黄芪甲苷对 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 M1 极化的影响

Fig. 5 Effect of astragaloside IV on LPS induced M1 polarization in RAW264.7 cells

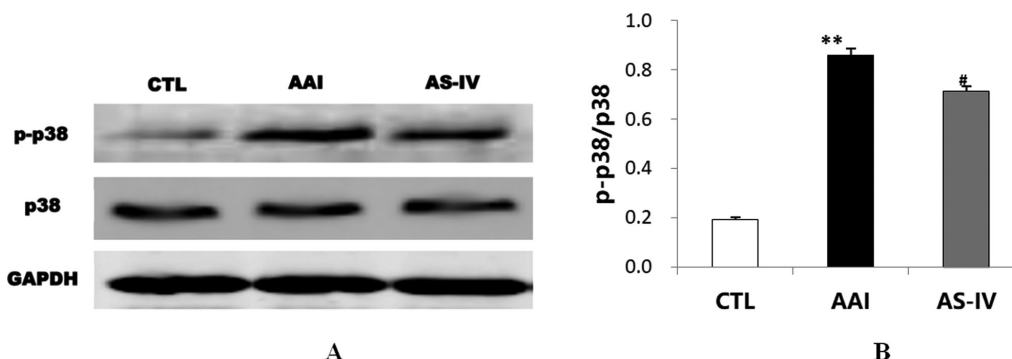


图 6 黄芪甲苷对马兜铃酸诱导后的 RAW264.7 细胞 p38 蛋白磷酸化的影响

Fig.6 Effect of astragaloside IV on p38 protein phosphorylation induced by aristolochic acid in RAW264.7 cells

Note: A: results of Western blot; B: relative expression of p-p38/p38 protein in each group

Compared with CTL group, ** $P<0.05$; compared with AAI group, # $P<0.05$.

3 讨论

巨噬细胞在肾组织浸润及活化,不同亚型的转化与肾脏损

伤、修复或纤维化关系密切,其中在马兜铃酸肾损害的急性损伤期和慢性进展阶段均起到重要作用^[12]。巨噬细胞是一种异质性细胞,不同的活化表型发挥不同的生物学效应,既有致病作用,也有保护作用^[13]。根据其表面标志及功能的不同,巨噬细胞可以分为两种主要的亚型:M1(经典活化型)、M2(替代活化型)^[14]。目前普遍认为,M1型巨噬细胞分泌促炎因子如IL-6、TNF- α 、IL-1 β 等,主要发挥促炎、促纤维化的作用;而M2型巨噬细胞则参与损伤早期的修复、后期纤维化的发生发展,主要分泌IL-10、TGF- β 1等^[15]。Pozdzik等人^[4]通过建立马兜铃酸肾病的大鼠模型观察到坏死的肾小管周围可见大量单核细胞/巨噬细胞浸润、炎症因子分泌。而人类马兜铃酸肾损害的肾活检病理中也有同样的发现,且在肾损害的终末期仍有大量炎性细胞在肾小管间质浸润^[4],提示巨噬细胞在马兜铃酸介导的慢性肾损害的发生、发展全过程起到重要作用。本研究采用CD11c、CD206分别作为M1型和M2型巨噬细胞表面的特异性标志物,IL-6、TNF- α 作为M1型巨噬细胞的分泌型特异性标志物。结果显示,马兜铃酸刺激后巨噬细胞M1/M2比例明显增高,同时分泌IL-6、TNF- α 炎症因子增多,提示马兜铃酸可诱导巨噬细胞向M1型极化增加,M1型巨噬细胞可能在马兜铃酸肾病的致病中起关键作用。

黄芪甲苷提取自肾内科常用中药黄芪,是黄芪药理作用的主要活性成分之一,具有抗炎、减轻细胞凋亡、改善肾纤维化等作用^[15,16]。Wang等^[17]发现,黄芪甲苷能抑制小鼠腹腔巨噬细胞活性,减少IL-1和TNF- α 的分泌。Zhou等^[18]在单侧输尿管梗阻(UUO)动物模型中发现,黄芪甲苷可通过下调IL-1 β 、TNF- α 等炎症因子的水平,进而减少肾小管上皮细胞转分化。体内研究提示,黄芪甲苷可改善UUO诱导的IL-6和TNF- α 等炎症因子释放,从而改善肾纤维化^[19]。Xu等人^[10]研究通过建立小鼠UUO模型发现,黄芪甲苷能显著减少肾间质巨噬细胞的浸润程度,减少TGF- β 1分泌,从而改善肾小管间质纤维化。本研究通过马兜铃酸刺激巨噬细胞,采用流式细胞技术检测M1/M2巨噬细胞比例,结果显示,马兜铃酸可诱导巨噬细胞向M1型极化增加,而黄芪甲苷干预后M1/M2比例明显减少。同时,ELISA和RT-qPCR检测细胞炎症因子的分泌和表达,结果提示黄芪甲苷可抑制马兜铃酸诱导的M1型巨噬细胞分泌和表达IL-6和TNF- α 水平。为了进一步明确黄芪甲苷对M1型巨噬细胞的作用,本研究进一步采用经典的LPS刺激巨噬细胞M1极化,结果显示黄芪甲苷同样可减少LPS诱导的巨噬细胞M1/M2比例,这提示黄芪甲苷对马兜铃酸诱导的巨噬细胞M1极化有抑制作用,并减少M1型巨噬细胞分泌IL-6和TNF- α 水平。

大量研究报道证实,丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路参与巨噬细胞的调节,在慢性肾损伤的发生过程中起到重要作用^[20,21]。p38 MAPK是主要亚族通路之一,调节下游炎性细胞因子的表达,在组织细胞的凋亡、炎性免疫调控中具有重要作用^[22]。体外研究发现,通过抑制p38 MAPK活性,改善顺铂诱导的巨噬细胞聚集,减少TNF- α 的分泌,从而减轻肾损伤^[23]。研究发现,MAPKs信号通路参与了LPS对巨噬细胞极化的调节,影响包括IL-6等炎症因子的分泌^[20]。Stambe等人^[24]通过建立抗

肾小球基膜(GBM)肾小球肾炎模型发现,p38 MAPK信号通路活化参与巨噬细胞的浸润过程,抑制p38 MAPK磷酸化可减轻巨噬细胞介导的肾脏损伤。随着学者们对黄芪甲苷研究的逐步深入,发现其对肾脏MAPK信号通路具有调节作用。Gui等^[25]发现黄芪甲苷可通过部分抑制p38 MAPK信号通路减轻顺铂诱导的肾损害,并减少肾组织细胞凋亡。Xu等人^[10]报道了在UUO模型中发现黄芪甲苷可部分抑制p38和JNK MAPK信号通路活化,从而起到肾保护作用。本研究采用马兜铃酸刺激巨噬细胞后可见p38 MAPK信号通路激活,而黄芪甲苷干预后可见巨噬细胞p38磷酸化相对水平明显降低。

综上所述,黄芪甲苷可能通过部分抑制p38 MAPK信号通路活性,减少M1型巨噬细胞极化,降低炎症因子IL-6和TNF- α 水平,减少巨噬细胞的浸润,从而起到减缓马兜铃酸肾损害的作用。这为黄芪甲苷在马兜铃酸肾损害的临床应用方面提供潜在的理论依据。

参考文献(References)

- [1] Feng W, Ying WZ, Li X, et al. Renoprotective effect of Stat1 deletion in murine aristolochic acid nephropathy[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2021, 320(1): F87-F96
- [2] Zhu Z, Xu X, Wang F, et al. Integrative microRNA and mRNA expression profiling in acute aristolochic acid nephropathy in mice [J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(4): 3367-337
- [3] Wang X, Xue N, Zhao S, et al. Upregulation of miR-382 contributes to renal fibrosis secondary to aristolochic acid-induced kidney injury via PTEN signaling pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(8): 620
- [4] Pozdzik AA, Salmon IJ, Husson CP, et al. Patterns of interstitial inflammation during the evolution of renal injury in experimental aristolochic acid nephropathy [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23(8): 2480-2491
- [5] Shan H, Tian W, Hong Y, et al. Clinicopathologic characteristics and prognosis of upper tract urothelial carcinoma complicated with aristolochic acid nephropathy after radical nephroureterectomy [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2020, 20(1): 166
- [6] Wu M, Tang L, Chen B, et al. Blockade of the mTOR signaling pathway with rapamycin ameliorates aristolochic acid nephropathy [J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(4): 2887-2894
- [7] Mao Q, Chen C, Liang H, et al. Astragaloside IV inhibits excessive mesangial cell proliferation and renal fibrosis caused by diabetic nephropathy via modulation of the TGF- β 1/Smad/miR-192 signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4): 3053-3061
- [8] Ji C, Luo Y, Zou C, et al. Effect of astragaloside IV on indoxyl sulfate-induced kidney injury in mice via attenuation of oxidative stress [J]. *BMC Pharmacol Toxicol*, 2018, 19(1): 53
- [9] 高崇婷, 桂定坤, 翟若男, 等. 黄芪甲苷联合骨髓间充质干细胞对糖尿病肾病大鼠的肾脏保护作用研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(6): 1006-1010, 1021
- [10] Xu W, Shao X, Tian L, et al. Astragaloside IV ameliorates renal fibrosis via the inhibition of mitogen-activated protein kinases and anti-apoptosis in vivo and in vitro[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 350(3): 552-562
- [11] Cao Q, Wang Y, Wang XM, et al. Renal F4/80+ CD11c+ mononucle-

- ar phagocytes display phenotypic and functional characteristics of macrophages in health and in adriamycin nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(2): 349-363
- [12] Honarpisheh M, Foresto-Neto O, Steiger S, et al. Aristolochic acid I determine the phenotype and activation of macrophages in acute and chronic kidney disease[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 12169
- [13] 谢杨, 陶立坚. 巨噬细胞在肾脏损伤与修复中的作用[J]. *中华肾脏病杂志*, 2015, 31(3): 237-240
- [14] Nikolic-Paterson DJ, Wang S, Lan HY. Macrophages promote renal fibrosis through direct and indirect mechanisms[J]. *Kidney Int Suppl*, 2014, 4(1): 34-38
- [15] 陆振强. 羟基红花黄色素 A 联合黄芪甲苷对慢性肾脏病的保护作用[J]. *南京中医药大学学报*, 2018, 34(6): 589-592
- [16] 蒋微, 蒋式骊, 刘平. 黄芪甲苷的药理作用研究进展 [J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(9): 2121-2124
- [17] Wang YP, Li XY, Song CQ, et al. Effect of astragaloside IV on T, B lymphocyte proliferation and peritoneal macrophage function in mice [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(3): 263-266
- [18] Zhou X, Sun X, Gong X, et al. Astragaloside IV from *Astragalus membranaceus* ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting inflammation via TLR4/NF- κ B in vivo and in vitro[J]. *Int Immunopharmacol*, 2017, 42(1): 18-24
- [19] 杨茹茜, 徐倩, 杨涛, 等. 黄芪甲苷对肾纤维化小鼠 Toll/MyD88 依赖性通路的作用研究[J]. *中草药*, 2017, 48(18): 3775-3782
- [20] Islam SU, Lee JH, Shehzad A, et al. Decursinol angelate inhibits LPS-induced macrophage polarization through modulation of the NF κ B and MAPK signaling pathways [J]. *Molecules*, 2018, 23(8): 1880
- [21] 陈丽娟, 周春雷, 陆融, 等. MAPK 途径与巨噬细胞介导的肾损伤 [J]. *国际泌尿系统杂志*, 2007, 27(5): 683-686
- [22] Kang L, Zhang ZH, Zhao Y. SCAMP3 is regulated by miR-128-3p and promotes the metastasis of hepatocellular carcinoma cells through EGFR-MAPK p38 signaling pathway [J]. *Am J Transl Res*, 2020, 12(12): 7870-7884
- [23] Ramesh G, Reeves WB. p38 MAP kinase inhibition ameliorates cisplatin nephrotoxicity in mice [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2005, 289(1): F166-F174
- [24] Stambe C, Atkins RC, Tesch GH, et al. Blockade of p38 α MAPK ameliorates acute inflammatory renal injury in rat anti-GBM glomerulonephritis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2003, 14(2): 338-351
- [25] Gui D, Huang J, Liu W, et al. Astragaloside IV prevents acute kidney injury in two rodent models by inhibiting oxidative stress and apoptosis pathways[J]. *Apoptosis*, 2013, 18(4): 409-422

(上接第 1128 页)

- [17] Pan X, Kaminga AC, Wen SW, et al. Omentin-1 in diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2019, 14(12): e0226292
- [18] Rothermel J, Lass N, Barth A, et al. Link between omentin-1, obesity and insulin resistance in children: Findings from a longitudinal intervention study[J]. *Pediatr Obes*, 2020, 15(5): e12605
- [19] Tahmasebpour N, Hosseinpour Feizi MA, Ziamajidi N, et al. Association of Omentin-1 with Oxidative Stress and Clinical Significances in Patients with Breast Cancer [J]. *Adv Pharm Bull*, 2020, 10(1): 106-113
- [20] Fu J, Han Y, Wang J, et al. Irisin Lowers Blood Pressure by Improvement of Endothelial Dysfunction via AMPK-Akt-eNOS-NO Pathway in the Spontaneously Hypertensive Rat[J]. *J Am Heart Assoc*, 2016, 5(11): 003433
- [21] He H, Wu S, Hao J, et al. Serum omentin-1 level in patients with benign prostatic hyperplasia[J]. *BMC Urol*, 2020, 20(1): 52
- [22] Chai B, Zheng ZH, Liao X, et al. The protective role of omentin-1 in IL-1 β -induced chondrocyte senescence [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48(1): 8-14
- [23] Lee J, Park J, Kim YH, et al. Irisin promotes C2C12 myoblast proliferation via ERK-dependent CCL7 upregulation [J]. *PLoS One*, 2019, 14(9): e0222559
- [24] Maciorkowska M, Musiałowska D, Małyszko J. Adropin and irisin in arterial hypertension, diabetes mellitus and chronic kidney disease[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2019, 28(11): 1571-1575
- [25] Bi J, Zhang J, Ren Y, et al. Irisin reverses intestinal epithelial barrier dysfunction during intestinal injury via binding to the integrin α V β 5 receptor[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(1): 996-1009
- [26] 潘建安, 顾俊. Irisin 在心血管疾病中作用研究的进展 [J]. *心血管康复医学杂志*, 2020, 29(2): 249-252
- [27] Li C, Zhou L, Xie Y, et al. Effect of irisin on endometrial receptivity of rats with polycystic ovary syndrome[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2019, 35(5): 395-400
- [28] 程启慧, 余丹, 杨国帅, 等. 血清 TN-C 和 Irisin 在 H 型高血压合并急性缺血性脑卒中患者中的临床意义 [J]. *天津医药*, 2019, 47(8): 828-832
- [29] Zhang M, Xu Y, Jiang L. Irisin attenuates oxidized low-density lipoprotein impaired angiogenesis through AKT/mTOR/S6K1/Nrf2 pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(10): 18951-18962
- [30] 程启慧, 余丹, 杨国帅, 等. H 型高血压合并急性缺血性脑卒中患者血清可溶性凝集素样氧化型低密度脂蛋白受体 -1、网膜素 -1 水平变化及意义[J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(3): 346-349