

• 论著-实验研究 •

芹菜素-7-葡萄糖苷通过 IRE1/ASK1/P38 MAPK 途径对草酸诱导的 HK-2 细胞损伤发挥修复作用*

李德¹ 刘俊炜¹ 宋钱林¹ 何子奇¹ 孙畅¹ 姜声明¹ 董才韬¹ 杨嗣星¹

[摘要] 目的:探讨自然界中常见的类黄酮糖苷化合物芹菜素-7-葡萄糖苷(A7DG)对草酸诱导的人近端肾小管上皮细胞 HK-2 损伤是否具有修复作用及其具体作用途径。方法:培养 HK-2 细胞到 80% 生长密度后分成 3 组并进行不同处理:①NC 组:换用基础培养液继续培养;②OX 组:换用含浓度为 2 mmol/L 草酸的基础培养液进行培养;③A7DG 药物干预组:换用含 2 mmol/L 草酸和不同浓度的 A7DG 的基础培养液进行培养。经不同条件处理 24 h 后,分别对 3 组 HK-2 细胞进行细胞活力检测(CCK-8)、乳酸脱氢酶(LDH)及抗氧化能力相关指标还原型谷胱甘肽(GSH)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)检测,使用荧光显微镜检测线粒体膜电位(MMP)的变化,使用蛋白质印迹法(Western blot)检测细胞内 NOX4、NOX2、p22、GRP78/BIP、IRE1、p-IRE1、p-ASK1、p38、p-p38、CHOP 以及炎症相关因子 IL-2、IL-6 的蛋白表达情况。结果:CCK-8 实验结果表明 OX 组细胞存活率较 NC 组明显降低,而 A7DG 减轻了 OX 对 HK-2 细胞的损伤。LDH、GSH、SOD 及 MDA 检测结果表明 A7DG 可降低草酸预处理后 HK-2 细胞 NADPH 氧化酶的释放,通过干预草酸介导的活性氧(ROS)减轻草酸对 HK-2 细胞产生的损伤,并使异常的 MMP 恢复至正常。此外,蛋白质印迹显示 A7DG 干预下氧化应激特征蛋白如 GRP78、CHOP 以及 IRE1 途径关键蛋白 p-IRE1、p-ASK、p-MAPK 的蛋白表达显著降低,氧化应激损伤途径中 IL-2、IL-6 等炎症因子的表达也降低。结论:本研究结果证实 A7DG 在草酸诱导的 HK-2 细胞损伤中具有积极修复作用,且通过 IRE1/ASK1/P38MAPK 信号通路发挥积极地抗氧化作用,A7DG 可为草酸介导的肾损伤和尿路结石的治疗提供新的参考。

[关键词] 芹菜素-7-葡萄糖苷;草酸;细胞凋亡;肾结石;氧化应激;活性氧

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2022.06.008

[中图分类号] R692.4 **[文献标志码]** A

Repairing effect of apigenin-7-glucoside on oxalate-mediated HK-2 cell damage via the IRE1/ASK1/P38 MAPK pathway

LI De LIU Junwei SONG Qianlin HE Ziqi SUN Chang JIANG Shengming
DONG Caitao YANG Sixing

(Department of Urology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, 430060, China)

Corresponding author: YANG Sixing, E-mail: sxyang2004@163.com

Abstract Objective: To investigate whether apigenin-7-glucoside (A7DG) has a repairing effect on oxalic acid-induced damage in HK-2 cells and its specific mechanism. **Methods:** HK-2 cells were cultured to 80% growth density and divided into 3 groups for different treatments: ①NC group: cultured in basal medium; ②OX group: cultured in basal medium containing 2 mmol/L oxalic acid concentration; ③A7DG drug intervention group: cultured in basal medium containing 2 mmol/L oxalic acid and different concentrations of A7DG. After 24 hour of treatment, three groups of HK-2 cells were extracted for cell viability test (CCK-8), lactate dehydrogenase (LDH) test and related antioxidant capacity-related indicators such as reduced glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) test. Mitochondrial membrane potential (MMP), the protein expression of NOX4, NOX2, p22, GRP78/BIP, IRE1, p-IRE1, p-ASK1, p38, p-p38, CHOP and inflammation-related factors IL-2 and IL-6 were also tested. **Results:** The results of CCK-8 assay showed that the cell growth rate of OX group was significantly lower than that of NC group, and A7DG attenuated the damage of OX on HK-2 cells. The results of LDH, GSH, SOD and MDA assays showed that A7DG reduced the release of NADPH oxidase

*基金项目:国家自然科学基金面上项目(No:82070723)

¹武汉大学人民医院泌尿外科(武汉,430060)

通信作者:杨嗣星,E-mail:sxyang2004@163.com

引用本文:李德,刘俊炜,宋钱林,等.芹菜素-7-葡萄糖苷通过 IRE1/ASK1/P38 MAPK 途径对草酸诱导的 HK-2 细胞损伤发挥修复作用[J].临床泌尿外科杂志,2022,37(6):440-446. DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2022.06.008.

from HK-2 cells after oxalic acid pretreatment, attenuated the damage of oxalic acid on HK-2 cells by interfering with oxalic acid-mediated reactive oxygen species (ROS) damage and restored the abnormal mitochondrial membrane potential to normal. In addition, the results of WB test showed that the protein expression of oxidative stress signature proteins such as GRP78, CHOP and key proteins of the IRE1 pathway, p-IRE1, p-ASK and p-MAPK, as well as the expression of inflammatory factors such as IL-2 and IL-6 in the oxidative stress damage pathway were significantly reduced by A7DG intervention. **Conclusion:** The results of this study confirmed that A7DG has a positive repairing effect on oxalic acid-induced HK-2 cell injury and exerts a positive antioxidant effect through the IRE1/ASK1/P38MAPK signaling pathway, which means it may provide a new reference for the treatment of oxalate-mediated renal injury and nephrolithiasis.

Key words apigenin-7-glucoside; oxalate; apoptosis; kidney stones; oxidative stress; reactive oxygen species

肾结石是我国常见的泌尿系统疾病之一^[1-3],其发病率与复发率居高不下。目前对肾结石的形成机制尚未完全阐明,其中肾小管上皮细胞暴露在高浓度草酸后导致的不可逆损伤被普遍认为是结石形成的诱因之一^[4],该过程通过激活肾素/血管紧张素 II 使机体产生炎症反应,导致体内 NADPH 氧化酶与活性氧(ROS)的激活,进而诱导细胞的损伤^[5]。

芹菜素-7-葡萄糖苷(apigenin 7-glucoside, A7DG)是天然植物中最常见的类黄酮糖苷类化合物之一,具有强大的抗炎、抗氧化作用^[6-7]。A7DG 的抗炎、抗氧化活性在视网膜退行性疾病^[8]、癌症^[9]、代谢性疾病^[10]、血液系统疾病^[11-12]及神经系统疾病^[13]中得到了良好的证明。但迄今为止,A7DG 在减轻草酸介导的肾小管上皮细胞损伤以及肾结石病因学领域还未见报道,其作用效果及具体的作用机制仍有待探索。本项研究将评估 A7DG 是否对草酸介导的肾小管上皮细胞损伤中起到缓解作用,探讨 A7DG 干预的草酸组 HK-2 细胞时炎症因子以及相关信号通路的具体表达。

1 材料与方 法

1.1 实验材料及试剂

人近端肾小管上皮细胞(HK-2 细胞)(中国科学院细胞库,中国上海),DMEM/F12 培养液(Gibco 美国),胎牛血清(Biological industries,以色列),青霉素-链霉素(1×10^5 单位/l 青霉素和 100 mg/L 链霉素,Merck KGaA),A7DG 药物(MedChemExpress,美国, HY-N0578),草酸 OX(Sigma,德国),CCK-8 试剂盒(东仁,日本),乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒(碧云天,中国),还原型谷胱甘肽(GSH)试剂盒(南京建成生物工程研究所,中国,A006-2-1),超氧化物歧化酶(SOD)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,中国,A001-3-2),丙二醛(MDA)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所,中国,A003-4-1),NOX4(Proteintech,中国,14347-1-AP)、NOX2(Proteintech,中国,190131-AP),p22(Proteintech,12345-1-AP),p38(Proteintech,中国,14064-1-AP),IL-2(Proteintech,中国,26156-1-AP),IL-6(Proteintech,中国,21865-1-

AP),IRE1(Proteintech,中国,27528-1-AP),CHOP(Proteintech,中国,15204-1-AP),p-IRE1(Affinity,美国,AF7150),pp38MAPK(Affinity,美国,AF4001),p-ASK1(Affinity,美国,AF3477),GRP78/BIP(abcam,英国,ab21685)。

1.2 方 法

1.2.1 HK-2 细胞培养与单纯 A7DG 药物作用检测 HK-2 细胞置于温度 37°C ,含 $5\% \text{CO}_2$,并保持一定湿度的细胞培养箱中,使用 DMEM/F12 完全培养液(DMEM/F12 基础培养液加入 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素)进行培养。当生长密度达到 80% 后,分别换用含 6 种不同浓度($10 \mu\text{mol/L}$ 、 $20 \mu\text{mol/L}$ 、 $30 \mu\text{mol/L}$ 、 $40 \mu\text{mol/L}$ 、 $50 \mu\text{mol/L}$ 、 $60 \mu\text{mol/L}$)的 A7DG 药物的基础培养液或单纯基础培养液培养细胞,干预 12、24、36、48 h 后进行细胞活力检测。

1.2.2 实验分组及细胞活力检测(CCK-8) 当细胞生长密度达到 80% 时,即可进行分组并行不同处理:① NC 组:换用基础培养液继续培养;② OX 组:换用含浓度为 2 mmol/L 草酸的基础培养液进行培养;③ A7DG 药物干预组:换用含 2 mmol/L 草酸和不同浓度的 A7DG 的基础培养液进行培养。不同组干预 12、24、36、48 h 后进行细胞活力检测。

1.2.3 LDH 测定 HK-2 细胞转移至 96 孔板中培养,每孔加入 $150 \mu\text{L}$ 细胞悬液并进行干预处理,干预 24 h 后去除废液并向样品最大酶活性对照孔加入 LDH 释放试剂,使样品的酶活力达到最大。样品在 37°C 培养箱中孵育 1 h 后离心 5 min ,每孔取上清液 $120 \mu\text{L}$,转移到新的 96 孔板中。每孔加入 LDH 工作液并室温避光孵育 30 min ,使用酶标仪检测 490 nm 处的 OD 值。

1.2.4 细胞 MDA 测定 HK-2 细胞转移至 6 孔板中培养,药物干预 24 h 后用 PBS 清洗 2 次,加入 MDA 提取液后刮取细胞并移入离心管,离心去除上清液并使用细胞超声破碎仪进行破碎,取 $100 \mu\text{L}$ 细胞悬液后,按照检测试剂盒的操作说明进行操作,最终每组取 $250 \mu\text{L}$ 上清液加入到新的 96 孔板中,使用酶标仪检测 530 nm 处的 OD 值。

1.2.5 SOD 检测 HK-2 细胞转移至 6 孔板中,

干预结束后用 PBS 清洗 2 次,加入 2 mL PBS 后刮取细胞并移入离心管,离心去除上清液并使用细胞超声破碎仪进行破碎,取 20 μ L 细胞悬液后按检测试剂盒的操作说明进行操作,将上清液加入到新的 96 孔板中,使用酶标仪检测 450 nm 处的 OD 值。

1.2.6 GSH 检测 HK-2 细胞转移至 6 孔板中,干预结束后用 PBS 清洗 2 次,加入 2 mL PBS 后刮取细胞并移入离心管,离心去除上清液并使用超声破碎仪进行破碎,取 100 μ L 细胞悬液后按照检测试剂盒的操作说明进行操作,将上清液加入到新的 96 孔板中,使用酶标仪检测 405 nm 处的 OD 值。

1.2.7 荧光显微镜检测线粒体膜电位(MMP)
在 6 孔板使用细胞爬片技术培养 HK-2 细胞至玻璃片以便操作,干预结束后将 CCCP 工作液加入 CCCP 组孵育 30 min,结束后所有样品均用 PBS 洗涤 2 次,加入 2 mL JC-1 染色工作液进行孵育,抗荧光淬灭封片液(含 DAPI)封片,在正置荧光显微镜 200 倍视野下观察。用 Image J 软件分析平均荧光强度值,以红色荧光与绿色荧光强度比代表各组干预后的 MMP。

1.2.8 蛋白印迹(Western blot)分析 使用 6 孔板培养 HK-2 细胞,3 组干预结束后将细胞洗涤并用放射免疫沉淀法(RIPA),进行裂解并获取细胞蛋白。将蛋白样本进行蛋白质凝胶电泳,转膜并封闭后,将蛋白条带置于一抗(NOX4、NOX2、p22、GRP78/BIP、IRE1、p-IRE1、p-ASK1、p38、p-p38、CHOP、IL-2、IL-6)稀释液中 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。TBST

缓冲液清洗 5 次后,置于相对应的二抗稀释液中进行室温孵育 1 h, TBST 清洗 5 次后使用化学发光成像仪进行曝光, Image J 软件分析蛋白条带的灰度值。

1.3 统计学方法

所有实验均重复至少 3 次,并取平均值。使用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{X} \pm S$ 表示,多组间的比较采用单因素方差分析(ANOVA),事后检验采用 Tukey's 法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

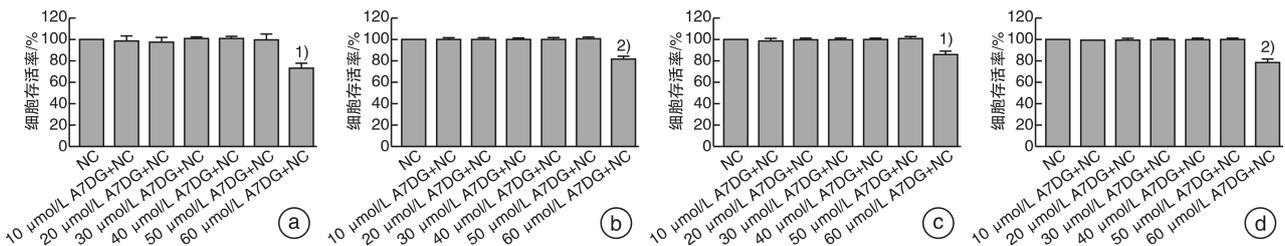
2 结果

2.1 A7DG 对 HK-2 细胞活力的影响

用 6 种不同浓度的 A7DG (10 μ mol/L、20 μ mol/L、30 μ mol/L、40 μ mol/L、50 μ mol/L、60 μ mol/L)在不同时间内干预正常 HK-2 细胞,验证其对 HK-2 细胞的毒性作用。结果表明,培养 12、24、36、48 h 后,除 60 μ mol/L 组以外,其余浓度组对 HK-2 细胞的细胞活力影响差异均无统计学意义(图 1),表明 10 μ mol/L、20 μ mol/L、30 μ mol/L、40 μ mol/L、50 μ mol/L 浓度的 A7DG 对 HK-2 细胞无明显毒性作用。

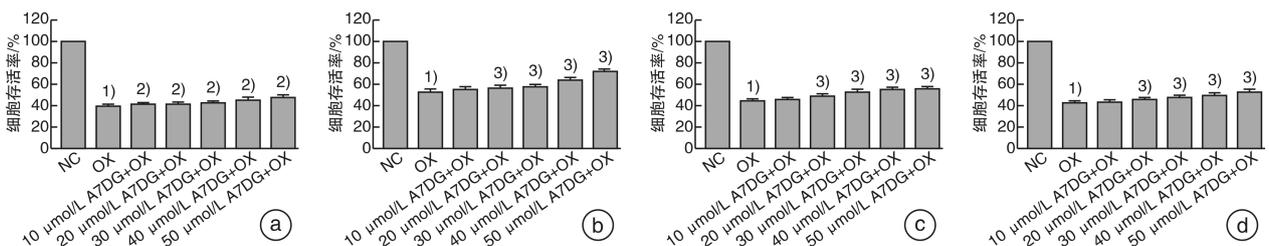
2.2 A7DG 对 OX 干预后 HK-2 细胞活力的影响

当 OX 和 5 种不同浓度的 A7DG(10 μ mol/L、20 μ mol/L、30 μ mol/L、40 μ mol/L、50 μ mol/L)同时干预 HK-2 细胞时,与 NC 组比较,OX 组细胞存活率明显降低,而 A7DG 减轻了 OX 对 HK-2 细胞的损伤,细胞活力差异有统计学意义。



a: 干预 12 h; b: 干预 24 h; c: 干预 36 h; d: 干预 48 h。所有浓度 A7DG 干预组与 NC 组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.05$ 。

图 1 用 6 种不同浓度的 A7DG 干预正常 HK-2 细胞



a: 干预 12 h; b: 干预 24 h; c: 干预 36 h; d: 干预 48 h。与 NC 组比较,¹⁾ $P < 0.0001$; A7DG 干预组与 OX 组比较,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.0001$ 。

图 2 5 种不同浓度的 A7DG 对 HK-2 细胞活力的影响

2.3 A7DG 显著减少 OX 干预后 LDH 的释放活性

为验证 A7DG 对 OX 干预后 HK-2 细胞损伤的保护机制,进一步检测各个干预组之间 LDH 释放活性的差异。结果表明单纯草酸干预的 HK-2 细胞其 LDH 释放程度显著高于 NC 组 $[(5.66 \pm 0.45) \text{ vs. } (12.30 \pm 1.14), P < 0.0001]$,而将草酸与 $50 \mu\text{mol/L}$ A7DG 同时暴露与 HK-2 细胞时,LDH 的释放量显著降低并趋于正常值 $(5.88 \pm 0.49, P < 0.0001)$,见图 3a。

2.4 A7DG 减少了 OX 对 HK-2 细胞的氧化应激损伤

MDA、SOD、GSH 均是体内氧化应激与氧化损伤的重要标志。实验结果表明与单纯 OX 介导细胞比较,A7DG 干预组可显著改变 HK-2 细胞中 MDA、SOD、GSH 的表达水平。与 NC 组比较,OX 组的 MDA 明显升高 $[(0.83 \pm 0.06) \text{ vs. } (5.94 \pm 0.72), P < 0.0001]$,而 A7DG 干预组中 MDA 明显降低 $(3.10 \pm 0.46, P < 0.0001)$,见图 3b。与

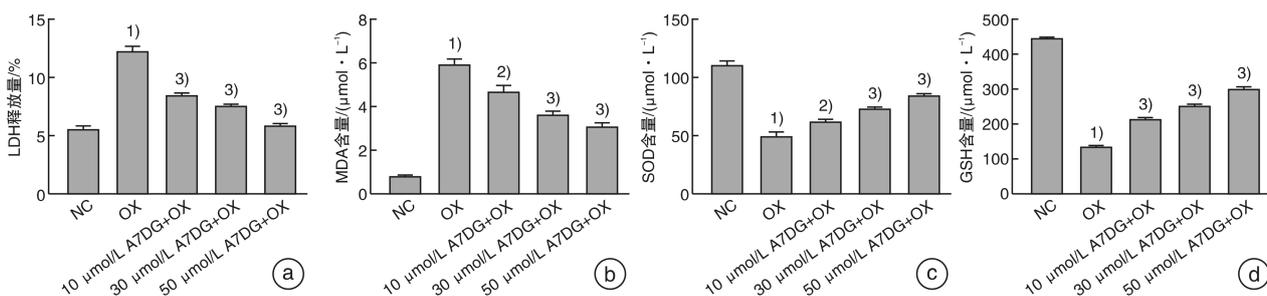
NC 组比较,OX 组中 SOD 表达量明显降低 $[(111.09 \pm 9.36) \text{ vs. } (50.14 \pm 9.03), P < 0.0001]$,而 A7DG 干预组中可增加 OX 干预后 HK-2 细胞内的 SOD 表达量 $(84.86 \pm 3.77, P < 0.0001)$,见图 3c。OX 组与 NC 组比较,GSH 含量明显降低 $[(447.33 \pm 3.14) \text{ vs. } (135.69 \pm 9.13), P < 0.0001]$,A7DG 干预后 HK-2 细胞中 GSH 含量显著提高 $(302.11 \pm 12.54, P < 0.0001)$,见图 3d。

2.5 A7DG 可升高 OX 介导后降低的 MMP

与 NC 组比较,OX 干预 24 h 后 MMP 显著降低 $[(2.02 \pm 0.21) \text{ vs. } (1.01 \pm 0.02), P < 0.05]$,而 A7DG 使受损 HK-2 细胞 MMP 恢复并趋于正常水平 $(1.47 \pm 0.09, P < 0.01)$,见图 4。

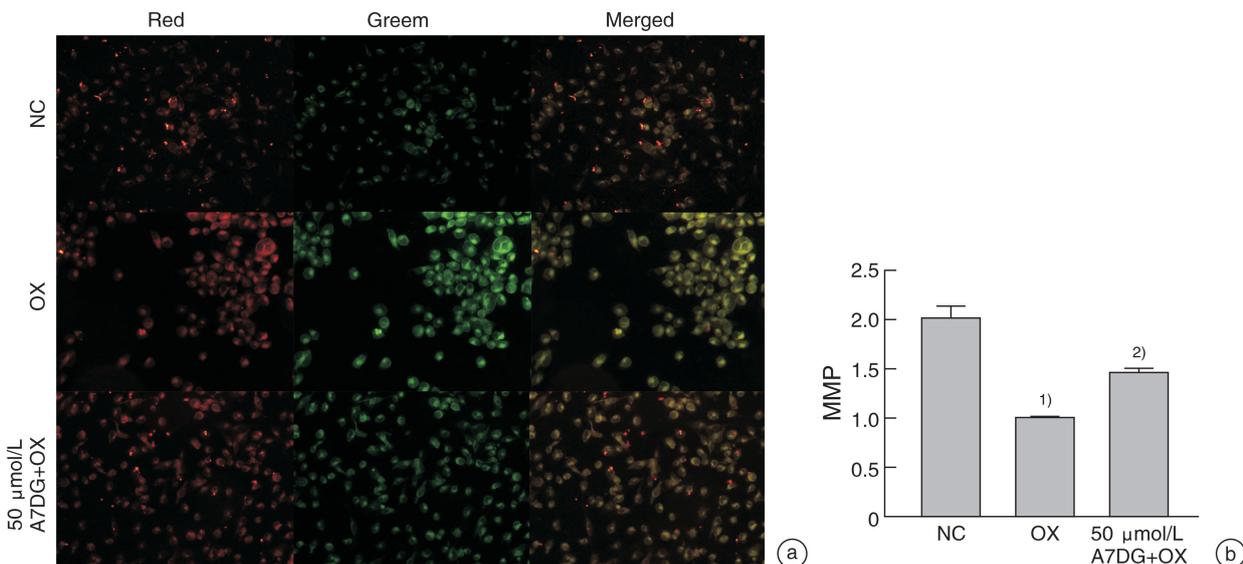
2.6 蛋白免疫印迹(Western blot)检测结果

Western blot 检测各组细胞蛋白中内质网应激和凋亡相关蛋白的表达变化,见图 5。



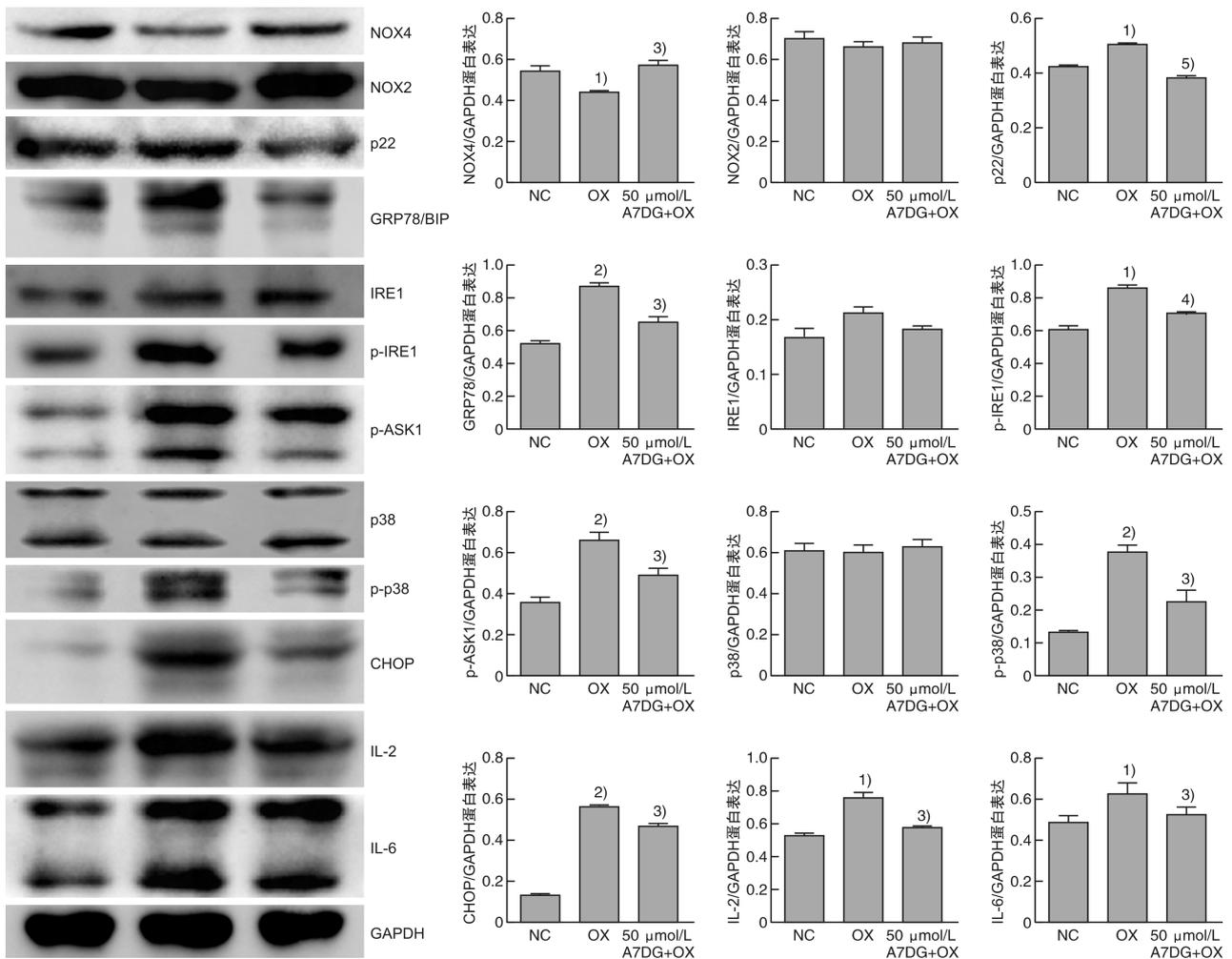
a: A7DG($50 \mu\text{mol/L}$)干预 24 h 后, HK-2 细胞中 LDH 释放量的变化; b: A7DG($50 \mu\text{mol/L}$)干预 24 h 后, HK-2 细胞中 MDA 含量的变化; c: A7DG($50 \mu\text{mol/L}$)干预 24 h 后, HK-2 细胞中 SOD 含量的变化; d: A7DG($50 \mu\text{mol/L}$)干预 24 h 后, HK-2 细胞中 GSH 含量的变化。OX 组与 NC 组比较,¹⁾ $P < 0.0001$; A7DG 干预组与 OX 组比较,²⁾ $P < 0.01$,³⁾ $P < 0.0001$ 。

图 3 A7DG 干预后 HK-2 细胞中 LDH、MDA、SOD 与 GSH 等指标的变化



a: 红色荧光强度与绿色荧光强度之比越大, MMP 越高($\times 200$ 倍); b: NC 组为 2.02 ± 0.21 , OX 组为 1.01 ± 0.02 , 而 A7DG 显著升高 HK-2 细胞的 MMP 为 1.47 ± 0.09 。OX 组与 NC 组比较,¹⁾ $P < 0.05$; A7DG 干预组与 OX 组比较,²⁾ $P < 0.01$ 。

图 4 用 JC-1 试剂盒检测 MMP



A7DG 干预后 HK-2 细胞中 NADPH 相关蛋白 NOX4、NOX2 和 p22,氧化应激相关蛋白 GRP78/BIP、IRE1、p-IRE1、p-ASK1、p38/MAPK、p-p38/MAPK 和 CHOP 以及炎症相关因子 IL-2、IL-6 的 Western blot 表达和直方图的变化趋势, OX 组与 NC 组比较,¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$; A7DG 干预组与 OX 组比较,³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$,⁵⁾ $P < 0.0001$ 。

图 5 A7DG 干预后 HK-2 细胞内 Western blot 表达趋势变化

3 讨论

已知尿液中高浓度的草酸导致体内 ROS 失衡与肾小管上皮细胞的氧化应激损伤是肾结石形成的主要因素之一^[4],因此,抗氧化是目前干预肾结石形成机制中的重点研究之一。目前天然抗氧化物在缓解体内氧化应激损伤过程中的研究处于瓶颈状态,主要原因在于 ROS 本身维持着体内稳态,在细胞间信息传递过程中起着双重作用,而多数基础研究忽略了该特性,总是强调抑制体内全部的氧化应激过程,反而加重了细胞的损伤^[14]。

与其他氧化应激抑制剂比较,芹菜素及其糖苷不仅在各个疾病的转归与防治过程中具有良好的抗炎、抗氧化活性,其抗氧化还具有一定的选择性^[9-11,15];而且还具有不良代谢反应少,生物利用度高特点,已证实食品和制药行业中具有良好的前景^[16]。

本研究过程中证实了 A7DG 可以降低草酸的毒性进而有效提高了 HK-2 活力,恢复 OX 导致的

细胞内促氧化系统与抗氧化系统间的稳态失衡,纠正细胞内异常的 LDH 的释放量,改变细胞中内源性抗氧化酶如 SOD、GSH 及 MDA 等脂质过氧化物的表达水平。通过 MMP 的检测我们发现 A7DG 通过干预草酸作用于线粒体 ROS 的产生,进而恢复了 MMP,抑制凋亡,减少草酸介导的 HK-2 细胞损伤。

NADPH 可以解释上游的氧化应激损伤机制,其中 NOX4 和 NOX2 主要在肾脏表达,两者的激活均依赖于 p22^[17-18]。Western blot 结果表明,草酸的处理降低了 NOX4 的蛋白表达,显著提高了 p22 的蛋白表达,但并没有改变 NOX2 的蛋白表达。从而可以判断 A7DG 对草酸介导的 HK-2 细胞缓解作用是通过调节 NADPH 氧化酶中特定的 NOX 方式进行。

GRP78 是内质网应激的标志性蛋白之一,在细胞受到缺氧等应激刺激时,该蛋白从跨膜蛋白上解离,激活并诱导未折叠蛋白(UPR)的形成,进而

改变跨膜蛋白 IRE1 的表达^[19]。不仅如此,此过程通过凋亡信号激酶 1 (ASK1) 激活下游的 p38 MAPK 信号通路,在草酸介导的 HK-2 细胞损伤和凋亡中起着重要作用^[4,20]。此外,IL-2、IL-6 作为促炎性细胞因子之一,均参与了 p38 MAPK 细胞通路,是 ROS 应激后形成的产物,参与了尿路结石的发病机制^[21]。同时,p38 MAPK 通过其反式激活结构域的磷酸化激活活化转录因子 CHOP,后者通过激活多种炎性小体,共同促进细胞的凋亡,在结石钙化斑早期形成过程中起着重要作用^[22]。

本研究结果表明 A7DG 在草酸介导的 HK-2 细胞损伤中发挥正向作用,可显著降低草酸介导的氧化应激相关蛋白如 GRP78、IRE1、ASK1、CHOP 以及促炎性细胞因子 IL-2、IL-6 等蛋白表达水平。A7DG 通过抑制草酸以及氧化应激介导的 IRE1/ASK1/P38 MAPK 信号通路发挥抗炎、抗氧化作用,从而降低了草酸对 HK-2 细胞的损伤,在减少炎性因子释放同时,恢复了 MMP,抑制了细胞的损伤及凋亡,表明其在对草酸诱导的肾小管上皮细胞损伤形成结石过程中可能起到缓解抑制作用。

本实验也存在一定局限性。首先,本次研究仅使用了 HK-2 单个细胞系,也仅证明了 A7DG 会减轻草酸带来的损伤,而探究 A7DG 是否在尿路结石形成过程中发挥重要作用需要更多细胞系及肾结石的动物模型研究的支持;其次,只探究了氧化应激过程中 IRE1/ASK1/P38 MAPK 通路的相关变化及作用,其他内质网应激通路的作用还有待完善,且 A7DG 如何影响 IRE1/ASK1 的其他下游的氧化还原信号,例如 JNK 和 ERK1/2 途径,尚不清楚。尽管需要进一步研究确切的潜在机制,但该实验结果仍表明 A7DG 作为新兴的天然抗氧化成分,可以为控制草酸引起的肾损伤和尿路结石的预防及精准治疗提供新的策略及方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 杨嗣星,叶章群.再谈尿路结石治疗中需重视的几个关键问题[J].中华泌尿外科杂志,2018,39(9):644-646.
- [2] Yang SX,Song C,Xiong YH. Current perspectives on urolithiasis management in China[J]. World J Urol, 2020,38(11):2997-2998.
- [3] 杨嗣星,廖文彪,宋超,等.湖北省尿路结石患者的临床流行病学调查[J].中华泌尿外科杂志,2018,39(9):647-650.
- [4] Daudon M,Bazin D,Letavernier E. Randall's plaque as the origin of calcium oxalate kidney stones[J]. Urolithiasis,2015,43 Suppl 1:5-11.
- [5] Khan SR,Canales BK,Dominguez-Gutierrez PR. Randall's plaque and calcium oxalate stone formation:role for immunity and inflammation[J]. Nat Rev Nephrol, 2021,17(6):417-433.
- [6] Rahman N,Khan H,Zia A,et al. Bcl-2 Modulation in p53 Signaling Pathway by Flavonoids: A Potential Strategy towards the Treatment of Cancer[J]. Int J Mol Sci,2021,22(21):11315.
- [7] Fidelis QC,Faraone I,Russo D,et al. Chemical and Biological insights of Ouratea hexasperma (A. St.-Hil.) Baill.: a source of bioactive compounds with multifunctional properties[J]. Nat Prod Res,2019,33(10):1500-1503.
- [8] Bian M,Zhang Y,Du X,et al. Apigenin-7-diglucuronide protects retinas against bright light-induced photoreceptor degeneration through the inhibition of retinal oxidative stress and inflammation[J]. Brain Res,2017,1663:141-150.
- [9] Nasr Bouzaïene N,Chaabane F,Sassi A,et al. Effect of apigenin-7-glucoside,genkwanin and naringenin on tyrosinase activity and melanin synthesis in B16F10 melanoma cells[J]. Life Sci,2016,144:80-85.
- [10] Kim MA,Kang K,Lee HJ,et al. Apigenin isolated from Daphne genkwa Siebold et Zucc. inhibits 3T3-L1 preadipocyte differentiation through a modulation of mitotic clonal expansion[J]. Life Sci,2014,101(1-2):64-72.
- [11] Nakazaki E,Tsolmon S,Han J,et al. Proteomic study of granulocytic differentiation induced by apigenin 7-glucoside in human promyelocytic leukemia HL-60 cells[J]. Eur J Nutr,2013,52(1):25-35.
- [12] Samet I,Villareal MO,Motojima H,et al. Olive leaf components apigenin 7-glucoside and luteolin 7-glucoside direct human hematopoietic stem cell differentiation towards erythroid lineage [J]. Differentiation, 2015,89(5):146-155.
- [13] Kumar D,Bhat ZA. Apigenin 7-glucoside from Stachys tibetica Vatke and its anxiolytic effect in rats[J]. Phytomedicine,2014,21(7):1010-1014.
- [14] Casas AI,Dao VT,Daiber A,et al. Reactive Oxygen-Related Diseases: Therapeutic Targets and Emerging Clinical Indications[J]. Antioxid Redox Signal,2015,23(14):1171-1185.
- [15] 赵婷婷,姜胜,杨一波,等.芹菜素对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J].中国临床药理学杂志,2021,37(20):2809-2812.
- [16] Alam W,Rocca C,Khan H,et al. Current Status and Future Perspectives on Therapeutic Potential of Apigenin: Focus on Metabolic-Syndrome-Dependent Organ Dysfunction [J]. Antioxidants (Basel), 2021, 10(10):1643.
- [17] Ogbo BC,Grabovyy UV,Maini A,et al. Architecture of the NADPH oxidase family of enzymes[J]. Redox Biol,2022,52:102298.
- [18] Sedeeq M,Nasrallah R,Touyz RM,et al. NADPH oxidases,reactive oxygen species,and the kidney: friend and foe [J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24(10):1512-1518.

- [19] Liang Y, Liang L, Liu Z, et al. Inhibition of IRE1/JNK pathway in HK-2 cells subjected to hypoxia-reoxygenation attenuates mesangial cells-derived extracellular matrix production[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(22): 13408-13420.
- [20] Bak MJ, Truong VL, Ko SY, et al. Induction of Nrf2/ARE-mediated cytoprotective genes by red ginseng oil through ASK1-MKK4/7-JNK and p38 MAPK signaling pathways in HepG2 cells [J]. J Ginseng Res, 2016, 40(4): 423-430.
- [21] Nayak TK, Mamidi P, Sahoo SS, et al. P38 and JNK Mitogen-Activated Protein Kinases Interact With Chikungunya Virus Non-structural Protein-2 and Regulate TNF Induction During Viral Infection in Macrophages[J]. Front Immunol, 2019, 10: 786.
- [22] García-Hernández L, García-Ortega MB, Ruiz-Alcalá G, et al. The p38 MAPK Components and Modulators as Biomarkers and Molecular Targets in Cancer[J]. Int J Mol Sci, 2021, 23(1): 370.

(收稿日期: 2022-02-18)

读者 · 作者 · 编者

作者署名规范

作者是指对医学论文做出了实质性贡献的人(包括自然人、法人或组织)。作者必须同时满足国际医学杂志编辑委员会规定的以下 4 条标准:①参与选题和设计,或参与资料的分析与解释者;②起草或修改论文中关键性理论或其他主要内容者;③能对编辑部的修改意见进行核修,在学术界进行答辩,并最终同意该文发表者;④除了负责本人的研究贡献外,同意对研究工作各方面的诚信问题负责者。未同时满足全部 4 条标准的人应该被志(致)谢,而且只能被(志)致谢。

通信作者:指课题的负责人,承担课题的经费、设计;对选题的先进性、首创性、实验设计和方法的合理性、结论的可信性、严谨性等负首要责任;在投稿、同行评议及出版过程中主要负责与期刊联系的人。对多中心或多学科协作研究,如主要责任者确实超过一位的,可酌情增加通信作者。一般情况下,增加的通信作者应是合作研究的不同研究机构或不同研究小组的学术负责人。

集体作者:指一些多作者组成的大型团队将作者署名为团队名称,或署以团队名称加上各个作者的姓名。如:多中心研究、临床随机对照研究、指南、共识等。一般署名集体名称外,还应著录项目责任作者、通信作者和执笔者或协调者。

作者排序原则上以贡献大小为先后排序,由论文署名作者在投稿前共同商定,投稿后原则上不得变更。确需改动时,必须出示该论文产出单位证明、所有作者亲笔签名的署名无异议的书面证明,以及所有作者贡献声明。

《临床泌尿外科杂志》编辑部