



安徽医科大学学报

Acta Universitatis Medicinalis Anhui

ISSN 1000-1492, CN 34-1065/R

《安徽医科大学学报》网络首发论文

题目：厚朴酚酯衍生物对顺铂诱导的急性肾损伤的作用及其初步机制研究
作者：施瑞，许浩宸，彭杰，林王辉，王旭蕾，魏伟，王春，徐丙发
收稿日期：2026-03-13
网络首发日期：2026-05-12
引用格式：施瑞，许浩宸，彭杰，林王辉，王旭蕾，魏伟，王春，徐丙发. 厚朴酚酯衍生物对顺铂诱导的急性肾损伤的作用及其初步机制研究[J/OL]. 安徽医科大学学报. <https://link.cnki.net/urlid/34.1065.r.20260511.1618.005>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

厚朴酚酯衍生物对顺铂诱导的急性肾损伤的作用及其初步机制研究

施 瑞¹, 许浩宸¹, 彭 杰¹, 林王辉¹, 王旭蕾², 魏 伟¹, 王 春¹, 徐丙发^{1,3}

(¹安徽医科大学药学科学学院, 合肥 230032; ²安徽医科大学实验动物中心, 合肥 230032; ³安徽医科大学第三附属医院, 合肥 230061)

摘要 目的 探究厚朴酚酯衍生物 YW 对顺铂 (Cis) 诱导的急性肾损伤 (AKI) 的保护作用, 并探讨其对 Cis 诱导 AKI 的作用及初步机制。**方法** 课题组以厚朴酚为母核设计合成了厚朴酚酯衍生物 YW, 采用分子对接技术预测 YW 与组蛋白乙酰转移酶 7 (KAT7) 之间的结合作用。建立 Cis 诱导的 C57BL/6J 小鼠 AKI 模型, 设置正常组、模型组、YW 低中高剂量组 (17.5、35、70 mg/kg) 及阳性药氨磷汀组; 检测各组小鼠血清肌酐 (Scr) 和尿素氮 (BUN) 水平以评估肾功能; 通过肾组织 HE 染色进行病理学评分; 采用蛋白质印迹法 (WB) 检测肾组织中肾损伤分子 1 (KIM-1)、KAT7 及细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 1A (p21) 的蛋白表达。不同浓度 YW 处理 HK-2 细胞, CCK-8 法检测细胞活力; WB 检测肾损伤标志物 KIM-1、KAT7 及其下游蛋白 p21 的表达水平; 衰老相关 β -半乳糖苷酶 (SA- β -Gal) 染色评估细胞衰老情况。**结果** YW 可以与 KAT7 稳定结合。动物实验表明, 与模型组相比, YW 各剂量组, 尤其是中、高剂量组, 能明显降低 AKI 小鼠血清中升高的 Scr 和 BUN 水平 ($P < 0.001$), 有效改善肾组织病理损伤; YW 能显著下调肾组织内 KIM-1、KAT7 及 p21 的蛋白表达水平 ($P < 0.05$); YW $\leq 10 \mu\text{mol/L}$ 浓度对 HK-2 细胞活力无显著影响, YW 抑制 Cis 诱导的 HK-2 细胞活力下降 ($P < 0.05$), 并抑制 Cis 诱导的 KIM-1、KAT7 和 p21 蛋白的上调 ($P < 0.05$), 显著降低 SA- β -Gal 阳性细胞百分比 ($P < 0.01$)。**结论** YW 抑制 Cis 诱导 AKI 中的 KAT7、p21 蛋白表达及 HK-2 细胞活力下降, 显著减轻 HK-2 细胞衰老, 改善肾功能, 为开发基于天然产物结构优化的 AKI 治疗策略提供了初步的实验依据。

关键词 厚朴酚酯衍生物; 顺铂; 急性肾损伤; 细胞衰老; KAT7; p21

中图分类号 R 961

文献标志码 A

Study on the effect and mechanism of magnolol derivative on cisplatin-induced

2026-03-13 接收

基金项目: 安徽省重点研究与开发计划项目 (编号: 2023s07020003); 安徽医科大学第三附属医院基础与临床合作研究提升计划培育专项项目 (编号: 2022sfy016)

作者简介: 施 瑞, 男, 硕士研究生;

王 春, 男, 副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: wangchun@ahmu.edu.cn;

徐丙发, 男, 主任药师, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: zcandxbf@163.com

acute kidney injury

Shi Rui¹, Xu Haochen¹, Peng Jie¹, Lin Wanghui¹, Wang Xulei², Wei Wei¹, Wang Chun¹, Xu Bingfa^{1,3}

(¹*School of Pharmaceutical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032*; ²*Laboratory Animal Center, Anhui Medical University, Hefei 230032*; ³*Department of Pharmacy, The Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230061*)

Abstract Objective To investigate the protective effect of magnolol ester derivative YW against cisplatin (Cis)-induced acute kidney injury (AKI) and to explore its effect and preliminary mechanisms on Cis-induced AKI. **Methods** The research group designed and synthesized the magnolol ester derivative YW using magnolol as the parent core. Molecular docking was employed to predict the binding interaction between YW and lysine acetyltransferase 7 (KAT7). A Cis-induced AKI model was established in C57BL/6J mice. Mice were divided into the normal control group, model group, YW low/medium/high dose groups (17.5, 35, 70 mg/kg), and the positive control amifostine group. Renal function was assessed by measuring serum creatinine (Scr) and blood urea nitrogen (BUN) levels. Pathological changes were evaluated via H&E staining and scoring of kidney tissues. Protein expression levels of kidney injury molecule 1 (KIM-1), lysine acetyltransferase 7 (KAT7), and cyclin-dependent kinase inhibitor 1A (p21) in kidney tissues were detected by Western blot (WB). HK-2 cells were treated with different concentrations of YW; cell viability was measured by CCK-8 assay. WB was used to detect the expression levels of the renal injury marker KIM-1, KAT7, and its downstream protein p21. Cellular senescence was assessed by senescence-associated β -galactosidase (SA- β -Gal) staining. **Results** YW could stably bind to KAT7. *In vivo* experiments showed that, compared with the model group, all YW dose groups, especially the medium and high doses, significantly reduced the elevated levels of Scr and BUN in AKI mice ($P < 0.001$) and effectively ameliorated renal histopathological damage. YW significantly downregulated the protein expression levels of KIM-1, KAT7, and p21 in kidney tissues ($P < 0.05$). Concentrations of YW ≤ 10 $\mu\text{mol/L}$ had no significant effect on HK-2 cell viability. YW inhibited the Cis-induced decline in HK-2 cell viability ($P < 0.05$), suppressed the Cis-induced upregulation of KIM-1, KAT7, and p21 proteins ($P < 0.05$), and significantly decreased the percentage of SA- β -Gal-positive cells ($P < 0.01$). **Conclusion** YW suppresses the expression of KAT7 and p21 proteins and inhibits the decline in HK-2 cell viability in cisplatin-induced AKI, significantly mitigates HK-

2 cell senescence, and improves renal function, providing preliminary experimental evidence for developing AKI treatment strategies based on structural optimization of natural products.

Key words magnolol ester derivative; cisplatin; acute kidney injury; cellular senescence; KAT7; p21

Fund programs Key Research and Development Program of Anhui Province (No. 2023s07020003); Cultivation Special Program for Basic and Clinical Collaborative Research Enhancement Project of The Third Affiliated Hospital of Anhui Medical University (No. 2022sfy016)

Corresponding authors Wang Chun, E-mail: wangchun@ahmu.edu.cn; Xu Bingfa, E-mail: zcandxbf@163.com

顺铂 (cisplatin, Cis) 是临床一线抗实体瘤化疗药, 常伴有显著肾毒性, 极易诱发急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI), 目前尚无有效治疗方法降低其发生率^[1]。AKI 的病理进程不仅涉及炎症与氧化应激, 细胞衰老也发挥重要作用^[2-3]。Cis 可诱导肾小管上皮细胞衰老, 进而阻碍组织修复并加剧肾功能恶化^[4]。组蛋白乙酰转移酶 7 (lysineacetyltransferase 7, KAT7) 是调控细胞衰老进程的关键因子, 可通过表观遗传机制驱动细胞周期停滞^[5]。现有 KAT7 抑制剂虽具有一定抗衰老作用, 但在炎症调控方面效果有限, 且治疗窗口较窄^[6]。厚朴酚作为中药厚朴的主要活性成分, 已被证实具有抗炎和肾保护潜能^[7]。本研究基于课题组对厚朴酚结构进行定向修饰, 设计合成了厚朴酚酯衍生物 (代号: YW), 旨在评估其对 Cis 诱导 AKI 的作用, 并探讨其是否通过调控 KAT7 发挥作用, 为将 YW 应用于 AKI 临床治疗提供初步的实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂、细胞和仪器

厚朴酚 (货号: 528-43-8)、对甲基苯甲酸 (货号: 99-94-5) 购自上海麦克林公司; GAPDH 抗体购自美国 Affinity 公司 (货号: AF7021); KIM-1 抗体 (货号: 30948-1-AP)、KAT7 抗体 (货号: 13751-1-AP)、p21 抗体 (货号: 10355-1-AP)、兔二抗 (货号: SA00001-2) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; CCK-8 试剂盒 (货号: BMU106-CN) 购自亚科因 (武汉) 生物技术有限公司; BUN 试剂盒 (货号: C013-2-1)、Scr 试剂盒 (货号: C011-2-1) 购自南京建成生物工程研究所; 衰老相关 β -半乳糖苷酶 (senescence-associated β -galactosidase,

SA- β -Gal) 试剂盒 (货号: C0602) 购自上海碧云天生物技术有限公司; 人肾小管上皮细胞 HK-2 (human kidney-2) 购自武汉普诺赛科技公司。正置荧光显微镜 (型号: DM48) 购自德国 Leica 公司; Infinite M1000 Pro 全波长多功能酶标仪 (型号: Infinite M1000 PRO) 购自瑞士 Tecan 公司; 艾本德离心机 (型号: Centrifuge 5810) 购自德国 Eppendorf 公司。

1.2 实验动物

36 只 6 周龄 SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠, 体质量 20~21g, 购于杭州子源实验动物科技有限公司[许可证编号: SCXK (浙) 2024-004], 饲养于 SPF 级动物房。实验方案经安徽医科大学临床药理研究所伦理委员会批准, 伦理批准编号: PZ-2024-024。

1.3 实验方法

1.3.1 分子对接

采用分子对接技术预测 YW 与 KAT7 之间的结合作用。首先, 从蛋白质结构数据库网站下载 KAT7 的晶体结构, 存为 pdbqt 格式。随后对蛋白质结构进行预处理, 包括提取原始配体小分子作为参考、去除水分子、添加氢原子并优化侧链氨基酸的质子化状态, 以得到适用于分子对接的、能量最低的稳定三维结构。同时, 从 ChemDraw 软件中画出 YW 的二维化学结构式, 并将其导入 Discovery Studio 2021 (DS 2021) 中, 进行能量最小化处理和三维结构优化, 以获得其最稳定的构象, 并准备好作为对接配体。在 DS 2021 中, 将预处理后的 KAT7 蛋白结构设置为受体, YW 分子设置为配体, 定义活性口袋。采用 CDOCKER 对接算法进行分子对接模拟, 计算 YW 与 KAT7 蛋白之间的结合模式和亲和力。

1.3.2 动物模型的建立

将 36 只 C57BL/6J 小鼠在 SPF 级动物房适应性喂养一周。Cis 用无菌生理盐水配制成 20 mg/kg, 单次腹腔注射 Cis 诱导 AKI 动物模型, 随机将小鼠分为正常组、模型组、YW 低剂量组 (17.5 mg/kg YW)、YW 中剂量组 (35 mg/kg YW)、YW 高剂量组 (70 mg/kg YW)、阳性药氨磷汀组 (200 mg/kg)^[8]。对照组和模型组小鼠分别腹腔注射生理盐水与 Cis, 各 YW 给药组在造模前 4 d 开始灌胃给药, 正常组和模型组给予等量的溶媒, 连续给药 7 d。

1.3.3 组织样本的收集

Cis 给药 72 h 后, 剪除小鼠胡须, 将小鼠麻醉, 通过眼球取血法收集血液样本, 然后将小鼠脱颈处死后剖开小鼠腹腔, 分离两侧肾脏组织。左侧肾经生理盐水冲洗并用滤纸吸干后, 置于 4% 多聚甲醛溶液中固定, 以备后续石蜡包埋、切片及 HE 染色。右侧肾脏置于 -80 °C 冰箱中冷冻备用。

1.3.4 生化指标的检测

采集的血液样本于室温下静置 2 h，随后在 4 °C 条件下以 3 500 r/min 离心 15 min，收集上清液即为血清。按照肌酐（serum creatinine, Scr）和尿素氮（blood urea nitrogen, BUN）试剂盒说明书操作，依次向待测样品中加入相应试剂，并使用酶标仪测定其吸光度值。根据公式计算出血液中的 Scr 和 BUN 浓度。剩余的血清样本则保存于 -80 °C 冰箱，以备后续使用。

1.3.5 肾脏 HE 染色

石蜡包埋的小鼠肾组织切片经 60 °C 烘箱脱蜡后，使用二甲苯与系列浓度乙醇进行梯度水化，PBS 漂洗后进行 HE 染色（苏木精 10 min，伊红 2 min）。染色切片经梯度乙醇脱水后在组织切片边缘滴加中性树脂在盖玻片周围封片，利用组织原位细胞扫描分析系统随机采集 3 个视野，以评估肾组织炎症浸润和肾小管损伤情况并进行病理学评分，肾小管损伤程度（0%~100%），评分 0~4 分^[9]。

1.3.6 HK-2 细胞的培养与分组

实验开始前配制 YW 溶液，取 3.84 mg 的 YW，使用 100 μ L 的 DMSO 溶液溶解，得到终浓度为 100 mmol/L 的母液，用 0.22 μ m 滤膜过滤，-20 °C 保存。将 HK-2 细胞培养于含 10% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基，放置于条件为 37 °C、5%CO₂ 的培养箱。将细胞随机分为：NC 组、Cis 组（10 μ mol/L）、Cis+YW 低浓度组（10 μ mol/L Cis +2.5 μ mol/L YW）、Cis+YW 中浓度组（10 μ mol/L Cis +5 μ mol/L YW）、Cis+YW 高浓度组（10 μ mol/L Cis +10 μ mol/L YW）、Cis+YW（10 μ mol/L Cis +20 μ mol/L YW）、Cis+YW（10 μ mol/L Cis +40 μ mol/L YW）后同步化培养，Cis 诱导在 YW 预处理 2 h 后加入培养基，检查各组指标变化，并收集数据。

1.3.7 CCK-8 实验

将 HK-2 细胞按照 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板中过夜培养，让细胞贴壁，空白组加入新鲜培养基 90 μ L，对照组更换不含药物的等量新鲜培养基，实验组更换含不同浓度 YW 的新鲜培养基干预 36 h，进行对应处理后，每孔加入 10 μ L CCK-8 溶液，避光处理，在 37 °C、5%CO₂ 环境中孵育 2 h，用酶标仪在 450 nm 波长下测量每孔的吸光度值，记录实验结果并计算细胞活力。

1.3.8 Western blot 实验

取小鼠肾脏组织，于冰上分离肾皮质。精确称取约 50 mg 组织，置于预冷的 1.5 mL 离心管中，随后加入 500 μ L 预冷的 RIPA 裂解液（含 1 °C 蛋白酶抑制剂）。使用组织研磨仪均质研磨 2 min，4 °C 静置 20 min 后，于 4 °C、12 000 r/min 离心 20 min。离心后，吸取上清液

至新离心管中，并按上清液体积的 1/4 加入蛋白上样缓冲液。100 °C 金属浴煮 10 min 使蛋白质变性得到蛋白样本，所得样品于 -80 °C 保存备用。收集 Cis 及药物干预后的 HK-2 细胞，提取细胞总蛋白并进行蛋白定量，等量蛋白样品进行电泳分离，通过湿转法将有目的蛋白区域的胶转移至聚偏二氟乙烯膜上，用无蛋白快速封闭液封闭 15 min 后，将膜与按说明书推荐比例配制的 KIM-1、KAT7、p21 一抗工作液在 4 °C 下孵育过夜。兔二抗用 5% 脱脂奶粉按 1 : 10 000 稀释并室温孵育 2 h。用化学发光成像仪显影，并使用 ImageJ 软件进行蛋白条带定量分析。

1.3.9 SA- β -Gal 染色

将 HK-2 细胞以每孔 1×10^5 个细胞密度接种在 6 孔板中培养 24 h，分组给药 36 h 后按照 SA- β -Gal 试剂盒说明书进行染色操作，用正置显微镜拍摄记录其结果，计算并统计阳性染色率。

1.4 统计学处理

用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计分析。数值结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，两组间比较采用独立样本 *t* 检验，多组间均数比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 分子对接模拟 YW 与 KAT7 的结合作用

分子对接技术预测 YW 与 KAT7 之间的潜在结合作用。对接结果如图 1 显示，YW 与 KAT7 蛋白之间的结合能为 -103.1313 kcal/mol，YW 分子能够嵌入 KAT7 的活性口袋中，并形成稳定的氢键、疏水相互作用等关键结合模式，表明两者之间具有较强的结合亲和力，提示 YW 可以与 KAT7 稳定结合。

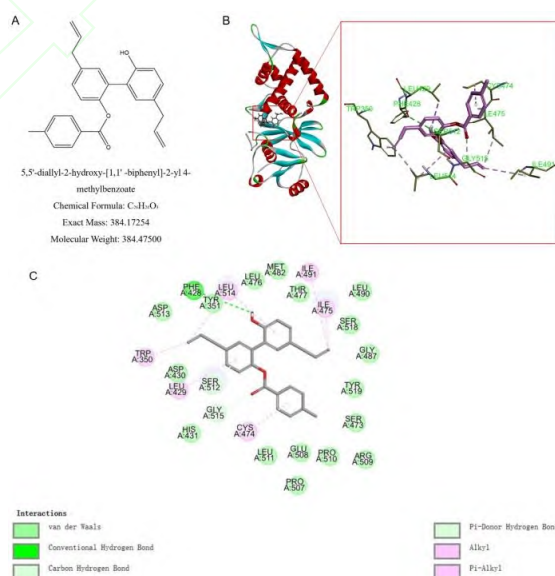


图 1 分子对接模拟 YW 与 KAT7 的结合作用

Fig.1 Molecular docking simulation of YW binding to KAT7

A: Molecular structure and chemical formula of YW; B: Three-dimensional structure diagram of YW and KAT7 protein docking; C: Two-dimensional structure diagram of the interaction between YW and KAT7 protein.

2.2 YW给药后对Cis-AKI小鼠生化指标的影响

结果显示,与正常组相比,造模72 h后的小鼠血清中Scr和BUN水平均明显升高($t=14.33$ 、 18.53 , 均 $P<0.001$),提示AKI小鼠肾功能出现明显异常。与AKI模型组相比较,YW三个剂量给药组、氨磷汀给药组能降低肾损伤小鼠Scr水平($t=9.11$ 、 11.95 、 12.31 、 13.69 , 均 $P<0.001$),YW给药组、氨磷汀给药组能显著降低肾损伤小鼠BUN水平($t=6.55$ 、 8.48 、 10.68 、 11.80 , $P<0.05$),提示YW给药组对Cis-AKI模型所致肾损伤具有明确的保护作用。见表1。

表 1 YW 给药后对 Cis-AKI 小鼠生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab.1 The effects of YW administration on biochemical indicators in Cis-AKI mice ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Detection index	Normal	Model	YW (17.5 mg/kg)	YW (35 mg/kg)	YW (70 mg/kg)	Amifostine
Scr ($\mu\text{mol/L}$)	7.57 \pm 2.64	139.39 \pm 22.38 ^{###}	42.56 \pm 13.32 ^{***}	26.13 \pm 6.17 ^{***}	17.96 \pm 6.17 ^{***}	12.91 \pm 3.36 ^{***}
BUN (mmol/L)	10.86 \pm 1.11	30.65 \pm 2.37 ^{###}	21.94 \pm 8.34 ^{**}	16.34 \pm 6.16 ^{***}	15.04 \pm 5.64 ^{***}	13.80 \pm 2.56 ^{***}

^{###} $P<0.001$ vs Normal group; ^{**} $P<0.01$, ^{***} $P<0.001$ vs Model group.

2.3 YW给药后对Cis-AKI小鼠肾脏病理影响

HE染色显示正常组小鼠肾组织肾小管、肾小球形态结构完整,未见相关病理改变。与对照组相比,Cis-AKI模型组可见严重的炎症细胞浸润、肾小球萎缩、肾小管坏死等,病理评分明显增加($t=19.76$, $P<0.001$),各剂量YW给药组均可以不同程度地改善上述组织病理学表现($t=3.97$ 、 8.72 、 10.06 、 12.47 , 均 $P<0.05$)。见图2。

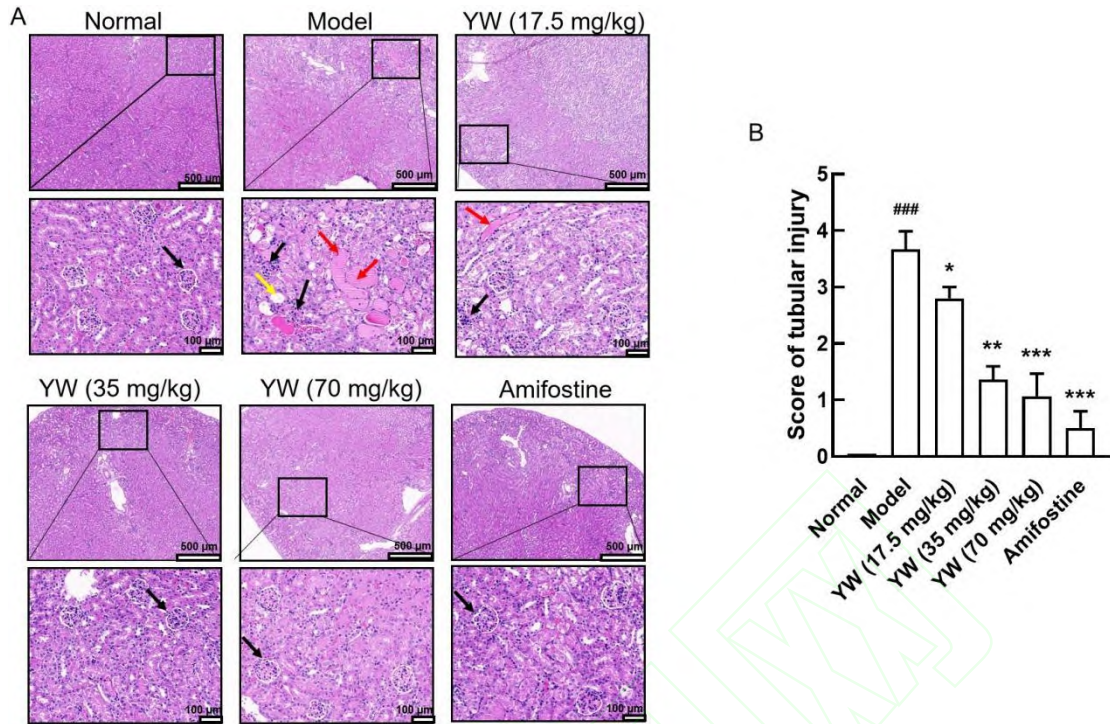


图2 YW给药后对Cis-AKI小鼠肾组织病理变化及评分图 ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.2 HE staining and pathological scoring of renal tissues in the Cis-AKI mouse after YW treatment ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

A: HE pathology of mouse kidney tissue $\times 100$ (top) $\times 400$ (bottom); Black arrow: Glomerulus; Red arrow: Renal tubular proteinaceous cast; Yellow arrow: Renal tubular vacuolization; B: HE pathological score map of mouse kidney tissue; ### $P < 0.001$ vs Normal group; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs Model group.

2.4 YW给药后对Cis-AKI小鼠模型肾组织中KIM-1、KAT7及p21蛋白表达的影响

Western blot实验结果如图3显示,与对照组相比,Cis-AKI模型组显著上调了肾脏组织中KIM-1、KAT7及p21蛋白的表达水平($t=9.47$ 、 20.64 、 9.48 ,均 $P < 0.001$),表明Cis成功诱导了AKI衰老相关通路的激活。与Cis-AKI模型组相比,YW各给药组肾脏组织中KIM-1($t=2.89$ 、 4.24 、 6.42 ,均 $P < 0.05$)、KAT7($t=6.24$ 、 14.89 、 17.73 ,均 $P < 0.05$)及p21($t=5.01$ 、 6.20 、 8.12 ,均 $P < 0.05$)蛋白的表达水平均下调,提示YW给药组对Cis-AKI模型肾损伤具有明确的保护作用。

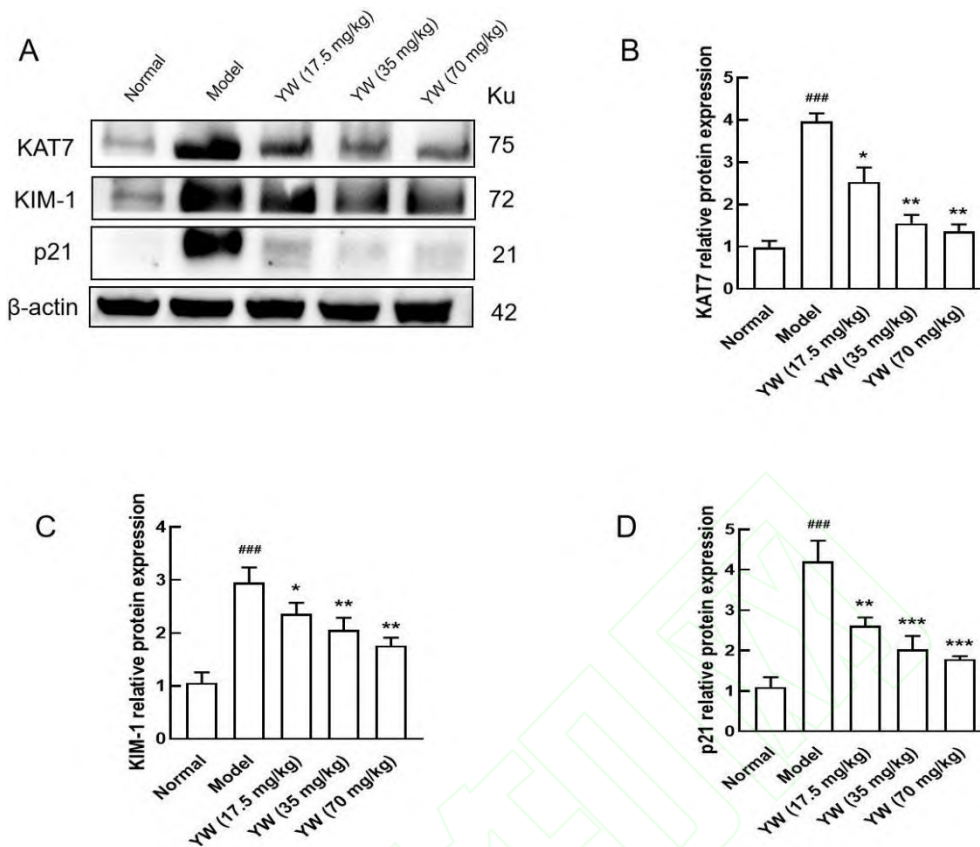


图 3 YW 下调 Cis-AKI 小鼠中肾组织 KIM-1、KAT7 及 p21 蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s, n=3$)
Fig.3 YW suppressed the expression of KIM-1, KAT7, and p21 proteins in renal tissue of the Cis-AKI mouse ($\bar{x} \pm s, n=3$)

A: Western blot analysis of KIM-1, KAT7, and p21 protein expression in kidney tissues from mice treated with YW at various doses; B-D: Relative expression of KAT7, KIM-1, and p21; ### $P<0.001$ vs Normal group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs Model group.

2.5 YW 给药对 Cis 诱导的 HK-2 细胞损伤的影响

以一定浓度梯度 (2.5、5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) 的厚朴酚酯衍生物 YW 干预 HK-2 细胞 36 h, 加入 CCK-8 试剂, 检测结果显示 (图 4A) YW 抑制了 HK-2 细胞活力下降, 当浓度 $\leq 10 \mu\text{mol/L}$ 时, YW 对 HK-2 细胞活力几乎无影响, 而当浓度 $\geq 20 \mu\text{mol/L}$ 时, YW 显著抑制细胞活力 ($t=19.65, P<0.001$); 结果显示 (图 4B), Cis 能显著降低 HK-2 细胞活力 ($t=27.61, P<0.001$), 而 YW 可以抑制 Cis 诱导的 HK-2 细胞活力下降 ($t=7.25, P<0.05$)。

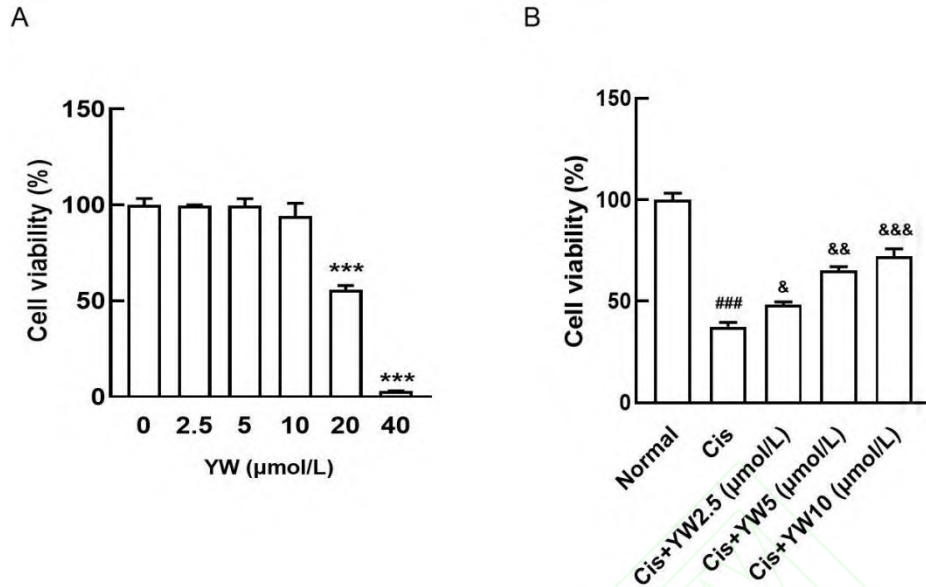


图 4 YW 给药对 Cis 诱导的 HK-2 细胞损伤的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.4 The effects of YW on Cis-induced HK-2 cell injury ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A: The effects of YW on HK-2 cell viability; B: The effects of YW on Cis-induced HK-2 cell viability; *** $P<0.001$ vs YW (0 $\mu\text{mol/L}$) group; ### $P<0.001$ vs Normal group; & $P<0.05$, && $P<0.01$, &&& $P<0.001$ vs Cis group.

2.6 YW 给药后对 Cis 诱导的 HK-2 细胞 KIM-1、KAT7 及 p21 蛋白表达的影响

Western blot 实验结果显示 (图 5A-5D), Cis 诱导明显上调了 HK-2 细胞中 KIM-1、KAT7 及 p21 蛋白的表达水平 ($t=12.87$ 、 12.39 、 21.95 , 均 $P<0.001$), 表明 Cis 成功诱导了 HK-2 细胞衰老相关通路的激活, 而 YW 干预 36 h 后, 上述蛋白的表达下调 ($t=3.90$ 、 3.37 、 4.00 , 均 $P<0.05$)。2.5、5、10 $\mu\text{mol/L}$ YW 给药组均下调了 Cis 诱导的 HK-2 细胞中 KIM-1 ($t=3.90$ 、 3.98 、 11.20 , $P<0.05$)、KAT7 ($t=3.37$ 、 4.93 、 13.02 , 均 $P<0.05$) 及 p21 ($t=4.00$ 、 7.56 、 8.84 , 均 $P<0.05$) 蛋白的表达。结果表明 YW 能够有效缓解 Cis 诱导的 HK-2 细胞衰老, 对 HK-2 细胞具有保护作用。

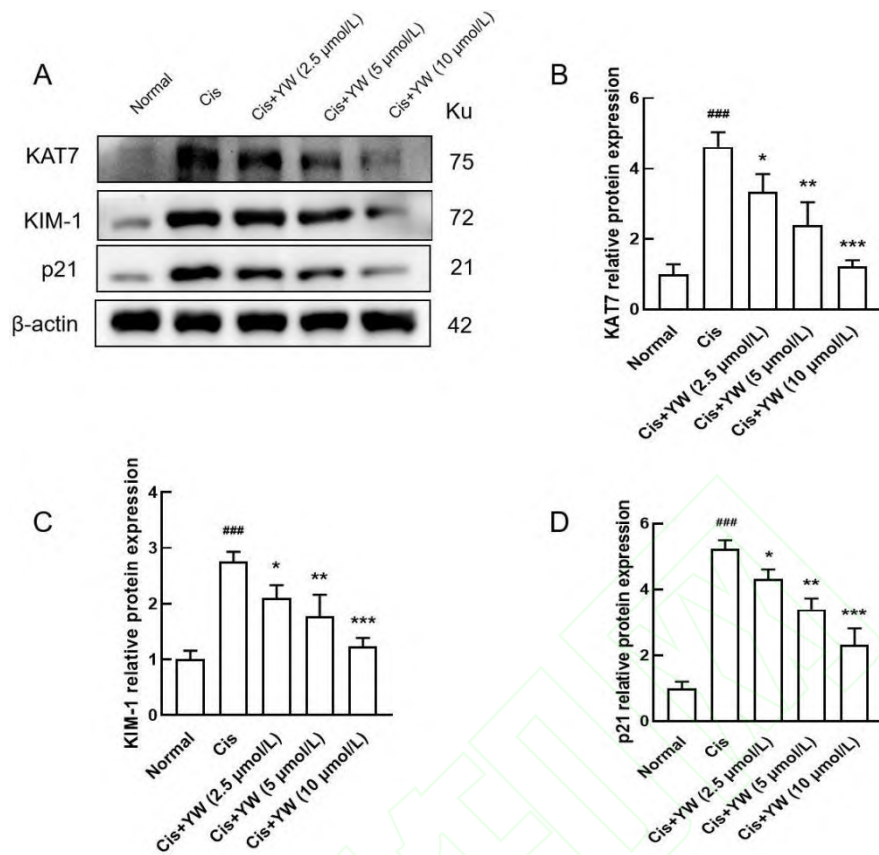


图5 YW下调Cis诱导的HK-2细胞中KIM-1、KAT7及p21蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.5 YW inhibited the expression of KIM-1, KAT7, and p21 proteins in Cis-induced HK-2 cells ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A: Western blot analysis of KIM-1, KAT7, and p21 protein expression in different groups of HK-2 cells; B-D: Relative expression of KAT7, KIM-1 and p21; ### $P<0.001$ vs Normal group; * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs Cis group .

2.7 YW给药后对Cis诱导的HK-2细胞SA-β-Gal染色的影响

通过SA-β-Gal染色检测HK-2细胞β-半乳糖苷酶活性, 结果如图5显示, 与对照组相比, Cis诱导后HK-2细胞β-半乳糖苷酶活性明显增强, 细胞蓝染率高于正常组($t=38.53$, $P<0.001$), 表明Cis组中衰老阳性细胞百分比比较正常组增加。与Cis组相比, 2.5、5、10 μmol/L YW给药组减少了衰老阳性细胞百分比 ($t=8.88$ 、11.62、17.13, 均 $P<0.01$), 表明YW能够有效改善Cis诱导的HK-2细胞衰老阳性细胞百分比, 从而改善HK-2细胞的衰老。

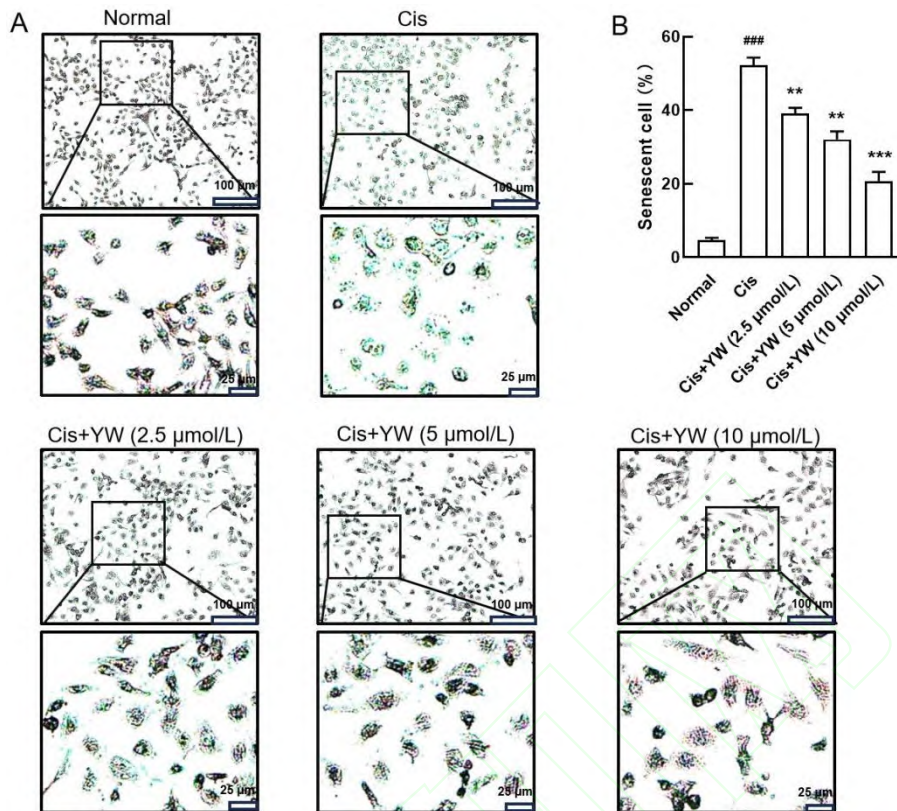


图6 YW给药后对Cis诱导的HK-2细胞SA-β-Gal染色情况 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.6 The effects of YW administration on SA-β-Gal staining in Cis-induced HK-2 cells

($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A: SA-β-Gal staining was used to detect β-galactosidase activity in HK-2 cells; B: Percentage of senescent cells; ### $P<0.001$ vs Normal group; ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ vs Cis group .

3 讨论

AKI是一种以肾功能急剧下降为特征的临床综合征，其发病率高且与慢性肾脏疾病（chronic kidney disease, CKD）进展、心血管事件风险增加及全因死亡率密切相关，构成重大的公共卫生负担^[10]。Cis因在肾小管上皮细胞蓄积，诱发DNA损伤、线粒体功能障碍、氧化应激及炎症反应，导致细胞凋亡与坏死，其剂量依赖性肾毒性严重限制了抗肿瘤疗效的应用^[11]。尽管其肾毒性机制已被部分阐明，但临床上除水化、利尿等支持疗法外，仅有氨磷汀等极少数保护剂被批准使用，且因其自身毒性及有限的疗效，临床应用存在显著局限^[12]。因此，寻找有效的靶点和探索靶向小分子治疗药物具有重要的意义。

近年来，细胞衰老在AKI发病机制中的作用备受关注。衰老细胞通过分泌表型引发慢性

炎症和促纤维化微环境，从而阻碍组织修复并促使AKI向CKD转变^[13]。Cis作为常见的AKI诱导模型，通过直接引起肾小管上皮细胞的DNA损伤、线粒体功能障碍及大量活性氧产生，激活p53/p21等衰老核心信号通路，导致细胞周期阻滞，从而诱发急性细胞衰老^[14]。p21作为p53下游关键的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子，是执行细胞周期G₁期停滞的核心效应分子^[15]。KIM-1在受损肾小管上皮细胞中特异性高表达，既是AKI早期诊断标志物，也通过参与凋亡细胞吞噬和促炎信号放大来加剧肾损伤^[16]。

KAT7作为近年来通过基因组CRISPR筛选发现的衰老驱动因子，通过组蛋白H3第14位赖氨酸乙酰化（H3K14），激活包括p21在内的多个细胞周期抑制基因的转录，主导衰老程序的启动^[17]。本研究显示，在Cis诱导的AKI中，KAT7与p21、KIM-1同步上调，而天然产物厚朴酚的酯化衍生物YW可能通过靶向KAT7抑制肾小管上皮细胞衰老，从而发挥治疗作用。

在AKI的治疗药物探索中，源于中药的天然产物因其多靶点、低毒性的特点展现出巨大潜力。厚朴酚虽具有抗炎等药理作用，但受限于水溶性差、生物利用度低、代谢快及靶点不特异等缺陷，需通过结构优化以推动其临床应用^[18]。课题组前期研究通过对厚朴酚进行定向酯化修饰，设计并合成了厚朴酚酯衍生物YW。本研究以此为契机，探究其对Cis诱导AKI的保护作用，以KAT7为靶点进行分子对接，预测YW可以与KAT7进行稳定结合。在体外，YW在 $\leq 10 \mu\text{mol/L}$ 时对HK-2细胞无明显毒性，且能够抑制Cis诱导的HK-2细胞活力下降，并下调Cis诱导的HK-2细胞中KAT7、p21及KIM-1蛋白表达，显著降低SA- β -Gal阳性细胞比例。在体内，其能显著降低AKI模型小鼠血清中急剧升高的Scr和BUN水平，有效改善Cis导致的肾小管扩张、坏死、管型形成及炎症细胞浸润。这表明YW能够缓解细胞衰老进程，从而减轻组织损伤。

本研究明确揭示了YW对Cis诱导AKI的保护作用，但其具体机制仍需通过验证KAT7/p21通路、明确YW与KAT7的直接结合以及评估体内药代动力学与长期安全性来进一步阐明。综上所述，本研究阐明KAT7介导的细胞衰老是Cis肾毒性的关键病理环节，证实YW可能通过抑制KAT7有效阻断AKI进展，为将YW开发为一种旨在通过抑制肾小管细胞衰老从而缓解AKI的新型AKI治疗药物提供初步的实验依据与理论支撑。

参考文献

- [1] Gupta S, Glezerman I G, Hirsch J S, et al. Intravenous magnesium and cisplatin-associated acute kidney injury[J]. *JAMA Oncol*, 2025, 11(6): 636. doi:10.1001/jamaoncol.2025.0756.
- [2] Rex N, Melk A, Schmitt R. Cellular senescence and kidney aging[J]. *Clin Sci*, 2023, 137(24):

1805-21. doi:10.1042/cs20230140.

- [3] Li Y, Lerman L O. Cellular senescence: a new player in kidney injury[J]. *Hypertension*, 2020, 76(4): 1069-75. doi:10.1161/hypertensionaha.120.14594.
- [4] Nakao Y, Mori M, Sekiguchi Y, et al. A human kidney tubuloid model of repeated cisplatin-induced cellular senescence and fibrosis for drug screening[J]. *Adv Healthc Mater*, 2026, 15(7): e01795. doi:10.1002/adhm.202501795.
- [5] Wang W, Zheng Y, Sun S, et al. A genome-wide CRISPR-based screen identifies *KAT7* as a driver of cellular senescence[J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(575): eabd2655. doi:10.1126/scitranslmed.abd2655.
- [6] Yang Y, Kueh A J, Grant Z L, et al. The histone lysine acetyltransferase HBO1 (KAT7) regulates hematopoietic stem cell quiescence and self-renewal[J]. *Blood*, 2022, 139(6): 845-58. doi:10.1182/blood.2021013954.
- [7] Tang C Y, Lai C C, Huang P H, et al. Magnolol reduces renal ischemia and reperfusion injury *via* inhibition of apoptosis[J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45(7): 1421-39. doi:10.1142/s0192415x1750077x.
- [8] Kemp G, Rose P, Lurain J, et al. Amifostine pretreatment for protection against cyclophosphamide-induced and cisplatin-induced toxicities: results of a randomized control trial in patients with advanced ovarian cancer[J]. *J Clin Oncol*, 1996, 14(7): 2101-12. doi:10.1200/jco.1996.14.7.2101.
- [9] Cheng J, Jiang X, Deng Q, et al. Inhibition of GRK2 mitigates renal fibrosis *via* oxidative stress pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2025, 1003: 177887. doi:10.1016/j.ejphar.2025.177887.
- [10] Xu X, Zeng T, Chen S, et al. Acute kidney injury: pathogenesis and therapeutic interventions[J]. *Mol Biomed*, 2025, 6(1): 61. doi:10.1186/s43556-025-00293-4.
- [11] 姬智博, 陈瑞果, 杨浩, 等. 口腔鳞状细胞癌化疗药物的现状及研究进展[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(4): 736-41. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.04.028.
- Ji Z B, Chen R G, Yang H, et al. Current situation and research progress of chemotherapy drugs for oral squamous cell carcinoma[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2024, 59(4): 736-41. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.04.028.
- [12] Duan Z, Cai G, Li J, et al. Cisplatin-induced renal toxicity in elderly people[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2020, 12: 1758835920923430. doi:10.1177/1758835920923430.

- [13] Ferenbach D A, Bonventre J V. Mechanisms of maladaptive repair after AKI leading to accelerated kidney ageing and CKD[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2015, 11(5): 264-76. doi:10.1038/nrneph.2015.3.
- [14] Lin X, Jin H, Chai Y, et al. Cellular senescence and acute kidney injury[J]. *Pediatr Nephrol*, 2022, 37(12): 3009-18. doi:10.1007/s00467-022-05532-2.
- [15] Engeland K. Cell cycle regulation: p53-p21-RB signaling[J]. *Cell Death Differ*, 2022, 29(5): 946-60. doi:10.1038/s41418-022-00988-z.
- [16] Chen J, Tang T T, Cao J Y, et al. KIM-1 augments hypoxia-induced tubulointerstitial inflammation through uptake of small extracellular vesicles by tubular epithelial cells[J]. *Mol Ther*, 2023, 31(5): 1437-50. doi:10.1016/j.ymthe.2022.08.013.
- [17] Tang L L, Xu X Y, Zhang M, et al. KAT7 contributes to ponatinib-induced hypertension by promoting endothelial senescence and inflammatory responses through activating NF- κ B signaling pathway[J]. *J Hypertens*, 2025, 43(5): 827-40. doi:10.1097/hjh.0000000000003979.
- [18] Guo M X, Wu X, Feng Y F, et al. Research progress on the structural modification of magnolol and honokiol and the biological activities of their derivatives[J]. *Chem Biodivers*, 2023, 20(8): e202300754. doi:10.1002/cbdv.202300754.