

麝香酮通过促进 p53 泛素化修饰抑制肾小管上皮细胞凋亡并改善顺铂诱导的急性肾损伤

张海宴¹, 薛晨¹, 马敬茹¹, 郭家琪¹, 施建羽¹, 隋阳⁴, 刘海静³, 王嫦鹤^{1,2*}, 张珍^{1*}

1. 陕西中医药大学 陕西中药资源产业化省部共建协同创新中心, 陕西 咸阳 712046

2. 陕西省医疗器械质量检验院, 陕西 咸阳 712046

3. 陕西省食品药品检验研究院, 陕西 西安 712065

4. 山东中医药大学基础医学院, 山东 烟台 264000

摘要: 目的 探究麝香酮改善顺铂诱导的急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 的作用机制。方法 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组、模型组、地塞米松 (2 mg/kg) 组和麝香酮低、中、高剂量 (24、36、48 mg/kg) 组, 建立顺铂诱导的 AKI 小鼠模型, 给予药物干预后, 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察肾脏组织病理变化; 免疫组化检测肾脏中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) 和肾损伤分子-1 (kidney injury molecule-1, Kim-1) 的表达和分布; 检测血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 和血肌酐 (serum creatinine, SCr) 水平; 免疫荧光染色检测肾脏组织中剪切型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cleaved cysteine-aspartate protease-3, cleaved Caspase-3) 的表达和分布。采用顺铂诱导建立 NRK-52E 细胞损伤模型, MTT 法检测顺铂、麝香酮、p53 抑制剂 pifithrin- μ 对细胞活力的影响; 倒置显微镜观察细胞形态变化; Calcein AM/PI 染色观察细胞死亡情况; Hoechst 33342 染色观察细胞核碎裂情况; 透射电子显微镜观察细胞死亡类型; 免疫荧光染色检测 p53 的表达和分布; Western blotting 检测 Caspase-3、cleaved Caspase-3 和 p53 的表达; MitoSOX 染色检测线粒体活性氧 (mitochondrial reactive oxygen species, mtROS) 水平; 免疫共沉淀检测 p53 泛素化修饰水平。结果 麝香酮显著减轻顺铂引起的肾脏病理损伤, 恢复肾小管形态 ($P < 0.01$), 降低肾脏组织 NGAL、Kim-1、cleaved Caspase-3 的表达和分布 ($P < 0.01$), 降低 BUN、SCr 水平 ($P < 0.01$); 麝香酮和 pifithrin- μ 显著抑制顺铂诱导的 NRK-52E 细胞凋亡及 mtROS 水平 ($P < 0.01$), 上调 Caspase-3 蛋白表达 ($P < 0.05, 0.01$), 下调 cleaved Caspase-3、p53 蛋白表达 ($P < 0.05, 0.01$), 促进 p53 泛素化修饰 ($P < 0.05$)。结论 麝香酮通过促进 p53 泛素化修饰抑制肾小管上皮细胞凋亡, 从而改善顺铂诱导的 AKI。

关键词: 麝香酮; 顺铂; p53; 凋亡; 泛素化修饰; 急性肾损伤

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2026)10-3807-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.10.012

Muscone ameliorates cisplatin-induced acute kidney injury by inhibiting apoptosis of renal tubular epithelial cells via promotion of p53 ubiquitination

ZHANG Haiyan¹, XUE Chen¹, MA Jingru¹, GUO Jiaqi¹, SHI Jianyu¹, SUI Yang⁴, LIU Haijing³, WANG Changhe^{1,2}, ZHANG Zhen¹

1. Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Ministry of Education & Shaanxi Province, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China

2. Shaanxi Medical Device Quality Inspection Institute, Xianyang 712046, China

3. Shaanxi Institute for Food and Drug Control, Xi'an 712065, China

4. School of Basic Medicine, Shandong Medical University, Yantai 264000, China

Abstract: Objective To explore the mechanism by which muscone improves cisplatin-induced acute kidney injury (AKI). **Methods** C57BL/6J mice were randomly divided into control group, model group, dexamethasone (2 mg/kg) group, muscone low-, medium-,

收稿日期: 2026-01-26

基金项目: 秦创原中医药产业创新聚集区项目 (L2024-QCY-ZYYJQ-202); 陕西省秦创原“科学家+工程师”队伍建设项目 (2023KXJ-128)

作者简介: 张海宴, 硕士研究生, 研究方向为中药学。E-mail: 223120012130@email.sntcm.edu.cn

*通信作者: 王嫦鹤, 主任药师, 从事药品质量控制技术研究及中药活性成分高通量筛选技术的建立和应用。E-mail: sendtoher@126.com

张珍, 博士, 讲师, 主要从事慢性肾病发病机制及中药抗肾脏纤维化研究。E-mail: zhzh626@outlook.com

and high-dose (24, 36, 48 mg/kg) groups, a cisplatin-induced AKI mouse model was established. After drug intervention, renal tissue pathological changes were observed using hematoxylin-eosin (HE) staining. Immunohistochemistry was used to detect the expressions and distribution of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and kidney injury molecule-1 (Kim-1) in kidney. Blood urea nitrogen (BUN) and serum creatinine (SCr) levels were detected. Immunofluorescence staining was used to detect the expression and distribution of cleaved cysteine aspartate protease-3 (cleaved Caspase-3) in renal tissue. An NRK-52E cell injury model induced by cisplatin was established, the effects of cisplatin, muscone and p53 inhibitor pifithrin- μ on cell viability were detected using MTT assay. The morphological change of cells was observed under an inverted microscope. Calcein AM/PI staining was used to observe cell death. Hoechst 33342 staining was used to observe the fragmentation of cell nuclei. Cell death types was observed using transmission electron microscopy. Immunofluorescence staining was used to detect the expression and distribution of p53. Western blotting was used to detect the expressions of Caspase-3, cleaved Caspase-3 and p53. MitoSOX staining was used to detect the levels of mitochondrial reactive oxygen species (mtROS). Immunoprecipitation was used to detect the level of p53 ubiquitination modification. **Results** Muscone significantly reduced the renal pathological damage caused by cisplatin, restored the morphology of renal tubules ($P < 0.01$), decreased the expressions and distribution of NGAL, Kim-1 and cleaved Caspase-3 in renal tissue ($P < 0.01$), reduced the levels of BUN and SCr ($P < 0.01$). Muscone and pifithrin- μ significantly inhibited cisplatin-induced apoptosis and mtROS level in NRK-52E cells ($P < 0.01$), upregulated Caspase-3 protein expression ($P < 0.05, 0.01$), downregulated cleaved Caspase-3 and p53 protein expressions ($P < 0.05, 0.01$), and promoted p53 ubiquitination modification ($P < 0.05$). **Conclusion** Muscone inhibits apoptosis of renal tubular epithelial cells by promoting p53 ubiquitination modification, thereby improving cisplatin-induced AKI.

Key words: muscone; cisplatin; p53; apoptosis; ubiquitination; acute kidney injury

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是由多种病因引起的短时间内肾功能快速减退而出现的临床综合征, 主要临床表现为血肌酐 (serum creatinine, SCr)、血尿素氮 (blood urea nitrogen, BUN) 水平升高和尿量减少。AKI 的主要病因包括严重感染、休克、大手术、严重创伤、泌尿系统梗阻及肾毒性药物 (如抗癌药、抗生素) 等^[1-2]。顺铂是临床上常用的治疗实体瘤药物, 疗效显著, 但在抗癌治疗的同时常引起顺铂相关性 AKI, 严重影响患者的生活质量、治疗耐受性及长期生存预后^[3-4]。目前, 顺铂相关性 AKI 尚缺乏行之有效的防治策略。因此, 寻找有效防治顺铂相关性 AKI 的药物至关重要。

麝香酮是麝香 *Moschus* 的主要活性成分, 主要通过人工合成, 是心脑血管疾病 (如麝香保心丸)、骨科跌打损伤 (如云南白药系列、各种麝香止痛膏)、急救开窍 (如安宫牛黄丸) 等的主要活性成分^[5-8]。麝香酮具有强大的抗炎与免疫调节、双向调节神经系统、心血管系统保护、抗肿瘤以及兴奋子宫平滑肌等药理作用^[9-10]。麝香酮因其相对分子质量小、脂溶性高的特性, 易于吸收并透过生物屏障, 因此具有起效快的特点。舌下给药 2~5 min 起效, 外用约 30 min 局部起效, 口服则需 15~60 min 起效^[11-12]。张惠娜等^[13]发现麝香酮可抑制高糖诱导的人肾小管上皮 HK-2 细胞凋亡; 药动学研究表明麝香酮在肾脏中有分布且能够快速起效^[14], 表明麝香酮可能对顺铂相关性 AKI 具有保护作用。因

此, 本研究建立顺铂诱导的小鼠 AKI 模型, 探究麝香酮对顺铂相关性 AKI 的影响及其作用机制。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠, 体质量 (21 ± 1) g, 购自成都达硕实验动物有限公司, 动物生产许可证号 SCXK (川) 2020-0030。小鼠饲养于温度 20~26 °C、相对湿度 50%~65%、12 h 光照和黑暗循环的环境中, 适应性喂养 1 周, 自由进食饮水。动物实验经陕西中医药大学伦理委员会的批准 (批准号 SUCMDL20241025002)。

1.2 细胞株

大鼠肾小管上皮细胞 NRK-52E 细胞系, 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞研究所。

1.3 药品与试剂

麝香酮 (批号 A2419510, 质量分数为 97%)、顺铂 (批号 K2314537) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 地塞米松片 (批号 LB2383, 国药准字 H33020822, 0.75 mg/片) 购自浙江仙琚制药有限公司; 胎牛血清 (批号 SO20250305) 购自武汉赛维爾生物科技有限公司; DMEM 培养基 (批号 6125347)、Protein A/G 磁珠 (批号 YH378481)、MitoSOX™ (批号 M36009) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; Calcein-AM/PI 细胞活性与细胞毒性检测试剂盒 (批号 VG541) 购自日本同仁化学研究所; DAPI 试剂盒 (批号 20250905) 购自北京索莱宝科技有限公司; 免

疫组化 DAB 显色剂试剂盒 (批号 GR2501100)、电镜固定液 (批号 CR2408054) 购自武汉赛维尔生物科技有限公司; SCr 测定试剂盒 (批号 20241108)、BUN 测试盒 (批号 20250912) 购自南京建成生物工程研究所; ECL 发光底物 (批号 BC0703) 购自陕西中晖赫彩生物医药科技有限公司; RIPA 强裂解液 (批号 A598260310)、Hoechst 33342 (批号 C1168S)、p53 抑制剂 pifithrin- μ (批号 J2214130) 购自上海碧云天生物技术有限公司; PVDF 膜 (批号 0000464982) 购自德国 Merck 公司; 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (cystein-asparatase protease-3, Caspase-3) 抗体 (批号 9662S) 购自美国 CST 公司; p53 抗体 (批号 10024097)、肾损伤分子-1 (kidney injury molecule-1, Kim-1) 抗体 (批号 00159058)、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) 抗体 (批号 00142515)、ubiquitin 抗体 (批号 00185982)、 β -actin 抗体 (批号 10025459) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; HRP 标记山羊抗兔二抗 (批号 A0208)、HRP 标记山羊抗鼠二抗 (批号 A0216)、AF647 标记山羊抗小鼠 IgG 二抗 (批号 A0473) 购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.4 仪器

MultiskanGO1510 型多功能酶标仪、Qubit2.0 型荧光定量仪、311 型细胞培养箱 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); LD5-2A 型低速离心机 (北京雷博尔离心机有限公司); TH4-200 型倒置显微镜、BX43 型光学显微镜 (日本奥林巴斯公司); 1203061S 型 ChemiDoc 凝胶成像仪 (美国 Bio-Rad 公司); SWCJ-2FD 型超净工作台 (江苏苏净集团有限公司); Operetta CLS 型高内涵荧光显微镜 (美国 PerkinElmer 公司); HT7800 型透射电子显微镜 (日本日立高新技术公司)。

2 方法

2.1 体内实验

2.1.1 分组、造模与给药 C57BL/J 小鼠适应性饲养 1 周后, 随机分为对照组、模型组、地塞米松 (2 mg/kg, 配制成 0.25 mg/mL 的给药溶液) 组和麝香酮低、中、高剂量 (24、36、48 mg/kg^[15-17], 配制成 4 mg/mL 的给药溶液) 组, 每组 8 只。地塞米松组 ip 0.18 mL 给药溶液, 麝香酮低、中、高剂量组分别 ip 0.13、0.20、0.26 mL 给药溶液, 对照组和模型组 ip 0.20 mL 生理盐水, 1 次/d, 连续给药 6 d。于给药第 3 天, 除对照组外其余组单次 ip 0.44 mL 顺

铂 (20 mg/kg, 配制成 1 mg/mL 的给药溶液) 诱导 AKI 模型。末次给药后 1 h 收集样本。

2.1.2 样本采集和处理 小鼠 ip 1%戊巴比妥钠麻醉, 眼球取血, 分离血清, 保存于-80 °C 冰箱。取肾脏, 剥离肾包膜, 4 °C 生理盐水冲洗干净。将小鼠左肾以最大面积纵切, 一半固定于 4%多聚甲醛缓冲液中, 并于 4 °C 冰箱保存以备后续病理和免疫组化分析, 另一半及完整右肾切块分装冻入液氮, 随后-80 °C 冻存以备后续蛋白分析。

2.1.3 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色 观察肾脏组织病理变化 肾脏组织经 4%多聚甲醛缓冲液固定 24 h, 常规脱水、包埋、切片, 进行 HE 染色, 观察肾脏组织病理变化。根据 Paller 分级法评估肾小管损伤严重程度, 评分标准: 0 分, 无损伤, 肾小管结构正常, 上皮细胞完整; 1 分, 轻度损伤, 肾小管上皮细胞肿胀、空泡变性 (细胞损伤但结构完整); 2 分, 中度损伤, 肾小管上皮细胞坏死、脱落, 但基底膜未完全裸露 (部分区域仍有细胞附着); 3 分, 重度损伤, 肾小管上皮细胞完全坏死、脱落, 导致基底膜完全裸露; 4 分, 极重度损伤, 在基底膜裸露的基础上, 出现肾小管结构崩解、管型堵塞或间质扩张。

2.1.4 肾功能测定 按照试剂盒说明书检测 BUN 和 SCr 水平。

2.1.5 免疫组化检测肾脏组织 NGAL 和 Kim-1 表达 肾脏组织石蜡切片脱水后, 放入枸橼酸缓冲液中煮沸 15 min。随后置于 3%过氧化氢溶液中灭活内源性过氧化物酶活性, 用 3%牛血清白蛋白室温封闭 1 h。滴加 NGAL、Kim-1 一抗, 置于 4 °C 冰箱孵育过夜; 于室温下孵育二抗 1 h, 按照 DAB 显色试剂盒说明书配制显色液, 滴加显色液后在显微镜下控制反应时间。经洗涤、苏木素复染、脱水、透明处理后封片。阳性表达区域呈棕黄色至深棕色。利用 Image J 软件对阳性表达区域进行定量分析。

2.1.6 免疫荧光染色检测肾脏组织 cleaved Caspase-3 表达 肾脏组织石蜡切片脱水后, 置于柠檬酸盐缓冲液 (10 mmol/L, pH 6.0) 中加热 20 min, 随后用 0.1% Triton X-100 室温处理 10 min, 采用 3%牛血清白蛋白室温封闭 1 h。切片经 cleaved Caspase-3 一抗 4 °C 孵育过夜后, 室温孵育二抗 50 min。用 PBST 洗涤后, 滴加 DAPI (0.1 μ g/mL) 室温避光孵育 10 min, 随后加入自发荧光淬灭剂 5 min, 最后用抗荧光淬灭封片剂封片, 使用高内涵荧光显微镜拍照。

2.2 体外实验

2.2.1 细胞培养 NRK-52E 细胞用含 5%胎牛血清、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素的高糖 DMEM 培养基, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养。

2.2.2 MTT 法检测细胞活力

(1)不同浓度顺铂对 NRK-52E 细胞活力的影响: 取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中, 培养 24 h。加入不同浓度 (10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 顺铂处理 24 h, 对照组加入不含药物的培养基。每孔加入 10 μL MTT 溶液, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育 1 h, 弃上清, 加入 50 μL DMSO 溶液, 振荡摇匀后, 490 nm 处测定吸光度 (A) 值, 计算细胞存活率。

$$\text{细胞存活率} = A_{\text{实验}} / A_{\text{对照}}$$

(2)不同浓度麝香酮对顺铂诱导的 NRK-52E 细胞活力的影响: 取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中, 培养 24 h。加入不同浓度 (12.5、25.0、50.0、100.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 麝香酮处理 1 h 后加入 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 顺铂, 处理 24 h。采用 MTT 法计算细胞存活率。

(3) pifithrin- μ 对顺铂诱导的 NRK-52E 细胞活力的影响: 取处于对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中, 培养 24 h。加入 50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 麝香酮或 2.5 $\mu\text{mol}/\text{L}$ pifithrin- μ 处理 1 h 后加入 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 顺铂, 处理 24 h。采用 MTT 法计算细胞存活率。

2.2.3 Calcein-AM/PI 染色检测细胞死亡情况 Calcein-AM 被活细胞内的活性酯酶水解, 生成不能透出细胞膜的绿色荧光物质 Calcein, 在活细胞内发出强绿色荧光, 死细胞因酯酶失活或流失, 几乎无绿色荧光, PI 可进入死细胞或细胞膜完整性丧失的细胞, 与细胞核内的 DNA/RNA 结合, 产生红色荧光。取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中, 培养 24 h。设置对照组、模型组和麝香酮 (12.5、25.0、50.0 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 组, 加入不同浓度的麝香酮预处理 1 h 后, 加入 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 顺铂处理 24 h, 对照组加入不含药物的培养基。每孔加入 10 μL Calcein-AM/PI 染色液 (3 $\mu\text{mol}/\text{L}$), 避光孵育 15 min, 于荧光显微镜下观察细胞并拍照, 分析活细胞和死亡细胞比例。

2.2.4 Hoechst 33342 染色检测细胞核碎裂情况 取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 12 孔板中, 培养 24 h。按“2.2.3”项下方法

进行分组和给药, 处理 24 h 后, 每孔加入 5 μL Hoechst 33342 染色液 (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 避光孵育 10 min, 荧光显微镜下观察细胞核形态变化并拍照, 统计分析细胞核碎裂比例。

2.2.5 透射电子显微镜观察细胞超微结构 取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 6 孔板中, 培养 24 h。设置对照组、模型组和麝香酮 (25 $\mu\text{mol}/\text{L}$) 组, 加入麝香酮处理 1 h 后加入 100 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 顺铂, 处理 18 h, 对照组加入不含药物的培养基。加入含有 2.5%戊二醛的溶液避光固定 5 min, 使用细胞刮刀收集细胞, 随后在含有 2.5%戊二醛的溶液中固定 1 h。样本在 1%锇酸中再次固定 2 h, 经梯度乙醇、100%丙酮脱水后, 嵌入 Epon812 环氧树脂中, 并在 60 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 48 h, 制备超薄切片 (厚度 60~80 nm), 用含有 2%醋酸铀和柠檬酸铅的溶液染色, 于透射电子显微镜下观察并拍照。

2.2.6 免疫荧光染色检测 p53 表达 取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 24 孔板中, 培养 24 h, 按“2.2.3”项下方法进行分组和给药, 处理 12 h 后, 4%多聚甲醛固定细胞, 0.2% Triton X-100 透化细胞, 用 3%牛血清白蛋白封闭 1 h, 滴加 p53 抗体, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; 滴加 AF647 标记山羊抗小鼠 IgG 抗体, 室温孵育 1 h; 加入 DAPI 孵育 10 min, 使用高内涵荧光显微镜拍照。

2.2.7 Western blotting 检测 cleaved Caspase-3、Caspase-3、p53 蛋白表达 取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 12 孔板中, 培养 24 h。按“2.2.3”项下方法进行分组和给药, 处理 18 h 后, 收集细胞, 加入含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 强裂解液, 提取总蛋白, 采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 加入含 DTT 的上样缓冲液, 100 $^{\circ}\text{C}$ 金属浴 5 min 使蛋白变性。蛋白样品经 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离后, 转移至 PVDF 膜, 封闭 2 h 后加入一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜; PBST 洗膜, 加入二抗, 室温孵育 1 h; PBST 洗膜, 曝光并拍照, 采用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.2.8 免疫共沉淀检测 p53 的泛素化修饰

(1)总蛋白样品的制备: 取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 12 孔板中, 培养 24 h。按“2.2.3”项下方法进行分组和给药, 处理 18 h 后, 收集细胞, 加入含蛋白酶和磷酸酶抑制剂的 RIPA 强裂解液, 提取总蛋白, 采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。

(2) IP 样品的制备: 将提前预洗好并已结合 p53 抗体的磁珠加入到总蛋白样品中, 孵育过夜; PBS 洗去未结合的蛋白, 磁珠悬浮于 50 μ L IP 裂解液中, 加 1 \times 上样缓冲液(含 DTT), 100 $^{\circ}$ C 金属浴 5 min, 取上清即为 IP 样品。

(3) Input 样品的制备: 取总蛋白样品 20 μ L, 加 1 \times 上样缓冲液(含 DTT), 100 $^{\circ}$ C 金属浴 5 min, 即为 Input 样品。

(4) Western blotting 分析: 蛋白样品经 10% SDS-PAGE 电泳后转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶封闭 1 h, 对于 IP 样品, 加入 ubiquitin 一抗, 室温孵育 2 h, PBST 洗膜, 孵育二抗 1 h。Input 样品用来检测总蛋白中的 β -actin, 室温孵育 β -actin 一抗 2 h, PBST 洗膜, 孵育二抗 1 h。孵育结束后, 均用 PBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 使用 ECL 化学发光试剂显影, 凝胶成像系统拍照。

2.2.9 MitoSOXTM 染色检测线粒体活性氧

(mitochondrial reactive oxygen species, mtROS) 水平取对数生长期的 NRK-52E 细胞, 以 1.5×10^5 个/mL 接种于 24 孔板中, 培养 24 h。设置对照组、模型组、麝香酮 (50 μ mol/L) 组、pifithrin- μ (2.5 μ mol/L) 组和麝香酮+pifithrin- μ 组, 加入麝香酮或 pifithrin- μ 处理 1 h 后, 加入 100 μ mol/L 顺铂处理 12 h, 对照组加入不含药物的培养基。加入 MitoSOXTM 工作液 (5 μ mol/L), 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 10 min, Hanks 清洗细胞 2 次, 使用酶标仪测定荧光强度, 高内涵荧光显微镜拍照。

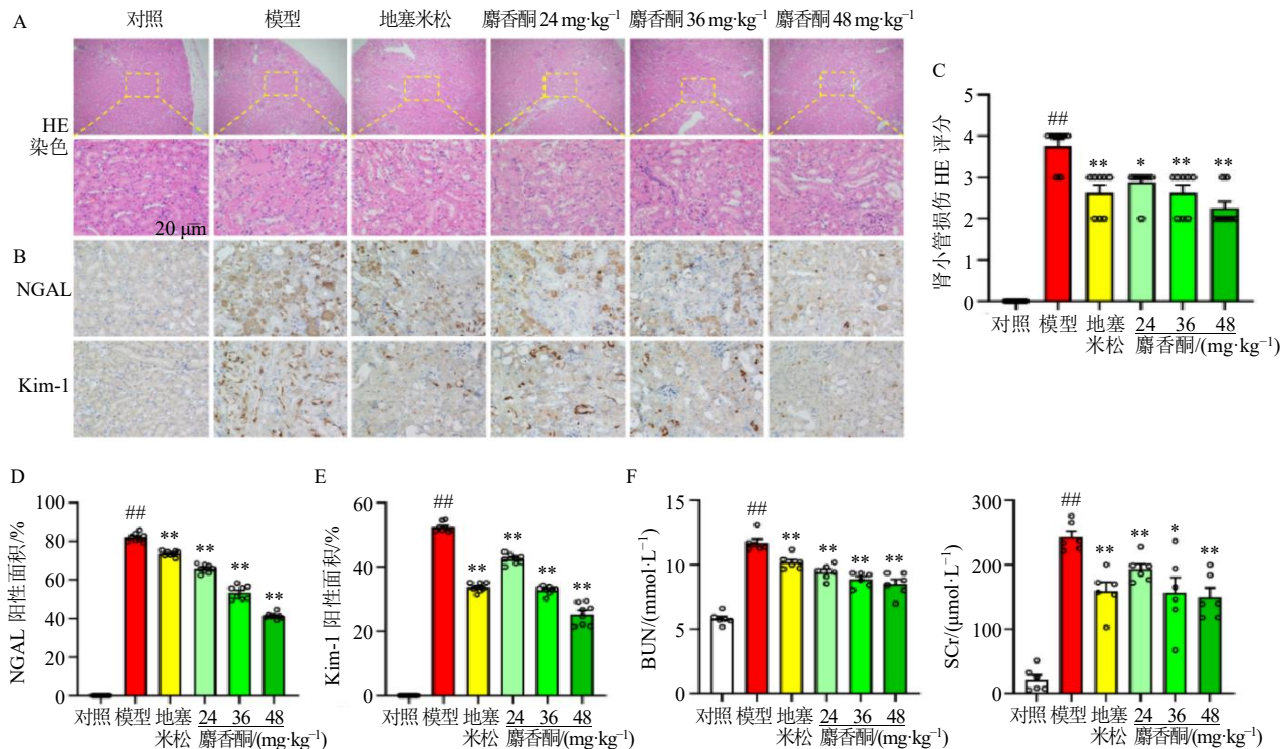
2.3 统计学分析

使用 IBM SPSS Statistics 27 软件中的单因素方差分析 (ANOVA) 对数据进行统计分析, 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。若方差齐, 选用 LSD 法进行事后两两比较; 若方差不齐, 则采用 Dunnett's T3 检验。

3 结果

3.1 麝香酮减轻顺铂诱导的小鼠 AKI

HE 染色结果 (图 1-A、C) 显示, 与对照组比



A-肾脏组织的 HE 染色 (上图 $\times 30$, 下图 $\times 120$); B-免疫组化检测肾脏组织 NGAL 和 Kim-1 的表达 ($\times 120$); C-HE 染色评分 ($n = 8$); D-NGAL 阳性面积百分比 ($n = 8$); E-Kim-1 阳性面积百分比 ($n = 8$); F-BUN 和 SCr 水平 ($n = 6$); 与对照组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$, 下图同。

A-HE staining of kidney tissue (upper figure $\times 30$, lower figure $\times 120$); B-NGAL and Kim-1 expression in renal tissue detected by immunohistochemistry ($\times 120$); C-HE staining score ($n = 8$); D-NGAL positive area percentage ($n = 8$); E-Kim-1 positive area percentage ($n = 8$); F-BUN and SCr levels ($n = 6$); [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group, same as below figures.

图 1 麝香酮减轻顺铂诱导的小鼠 AKI ($\bar{x} \pm s$)

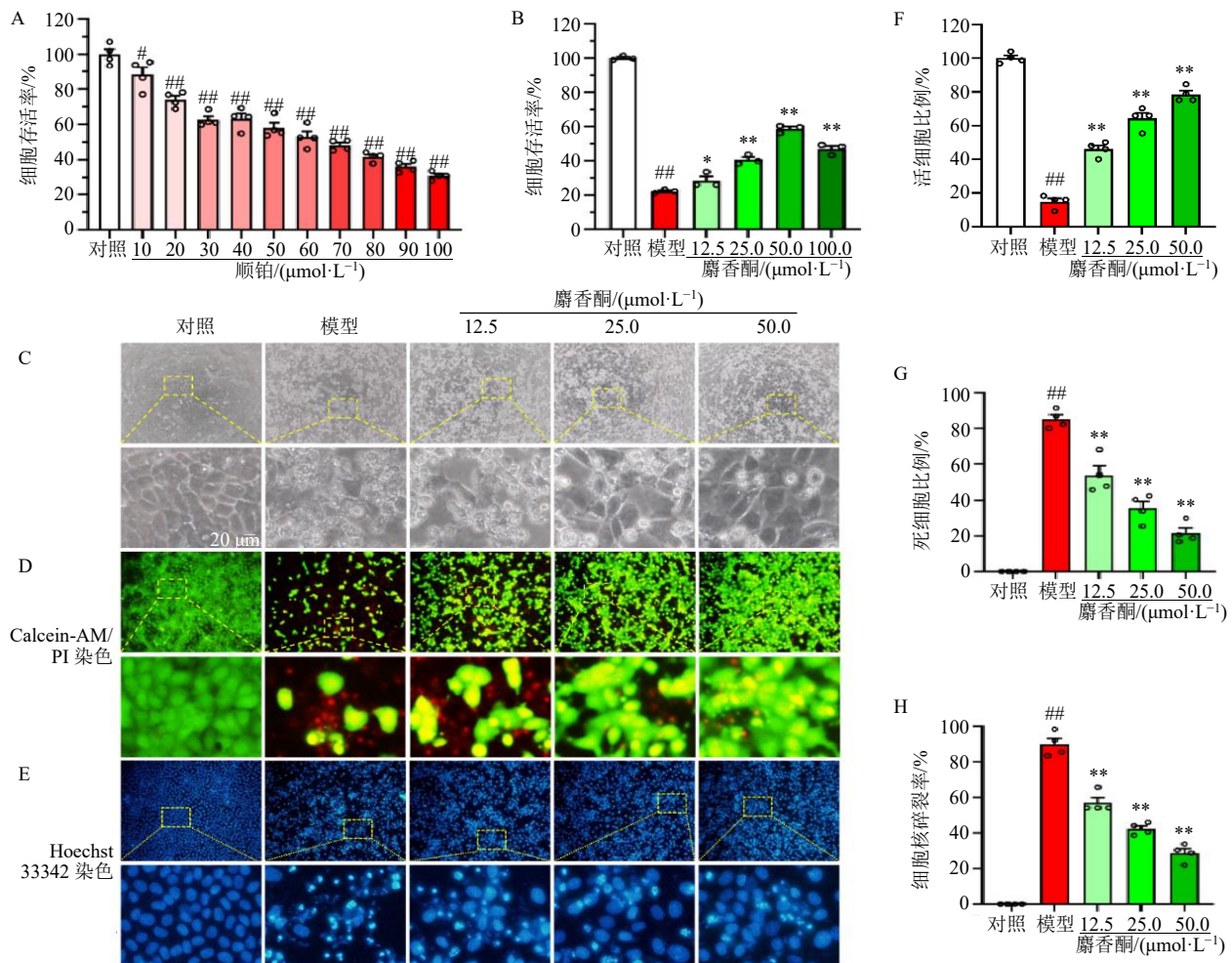
Fig. 1 Muscone alleviates cisplatin-induced AKI in mice ($\bar{x} \pm s$)

较，模型组肾小管基底膜裸露，肾小管上皮细胞肿胀，空泡变性，颗粒管型形成，肾小管损伤较严重 ($P < 0.01$)；麝香酮干预后，肾小管损伤减轻 ($P < 0.05$ 、 0.01)。免疫组化染色结果 (图 1-B、D、E) 显示，与对照组比较，模型组肾脏组织肾小管损伤标志物 NGAL 和 Kim-1 表达明显增加 ($P < 0.01$)，且主要分布于肾小管；麝香酮干预后，NGAL 和 Kim-1 的表达和分布均显著减少 ($P < 0.01$)。如图 1-F 所示，与对照组比较，模型组肾功能指标 BUN 和 SCr 水平显著升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，麝香酮各剂量组 BUN 和 SCr 水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。以上结果表明，麝香酮能够减轻顺铂

诱导的小鼠 AKI，与阳性对照药地塞米松作用一致。

3.2 麝香酮抑制顺铂诱导的 NRK-52E 细胞死亡

如图 2-A 所示，不同浓度 (10、20、30、40、50、60、70、80、90、100 $\mu\text{mol/L}$) 顺铂刺激 NRK-52E 细胞 24 h 后，细胞存活率显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)，且呈剂量相关性，选用对细胞活力抑制率最高的 100 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂建立 NRK-52E 细胞损伤模型。如图 2-B 所示，与模型组比较，不同浓度 (12.5、25.0、50.0、100.0 $\mu\text{mol/L}$) 麝香酮干预后，细胞存活率显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)，且在 50.0 $\mu\text{mol/L}$ 时细胞存活率最高，因此后续选择 12.5、25.0、50.0 $\mu\text{mol/L}$ 麝香酮进行研究。如图 2-C 所示，与对照组



A-不同浓度顺铂对 NRK-52E 细胞活力的影响；B-不同浓度麝香酮对顺铂诱导的 NRK-52E 细胞活力的影响；C-各组细胞形态变化 (上图×20，下图×100)；D、F、G-Calcein-AM/PI 染色检测细胞死亡情况 (上图×20，下图×100)；E、H-Hoechst 33342 染色检测细胞核碎裂情况 (上图×20，下图×100)。

A-effect of different concentrations of cisplatin on viability of NRK-52E cells; B-effect of different concentrations of muscone on cisplatin-induced viability of NRK-52E cells; C-morphological changes of cells in each group (upper figure × 20, lower figure × 100); D, F, G-cell death detected by Calcein-AM/PI staining (upper figure × 20, lower figure × 100); E, H-nuclear fragmentation status detected by Hoechst 33342 staining (upper figure × 20, lower figure × 100).

图 2 麝香酮对顺铂诱导的 NRK-52E 细胞死亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

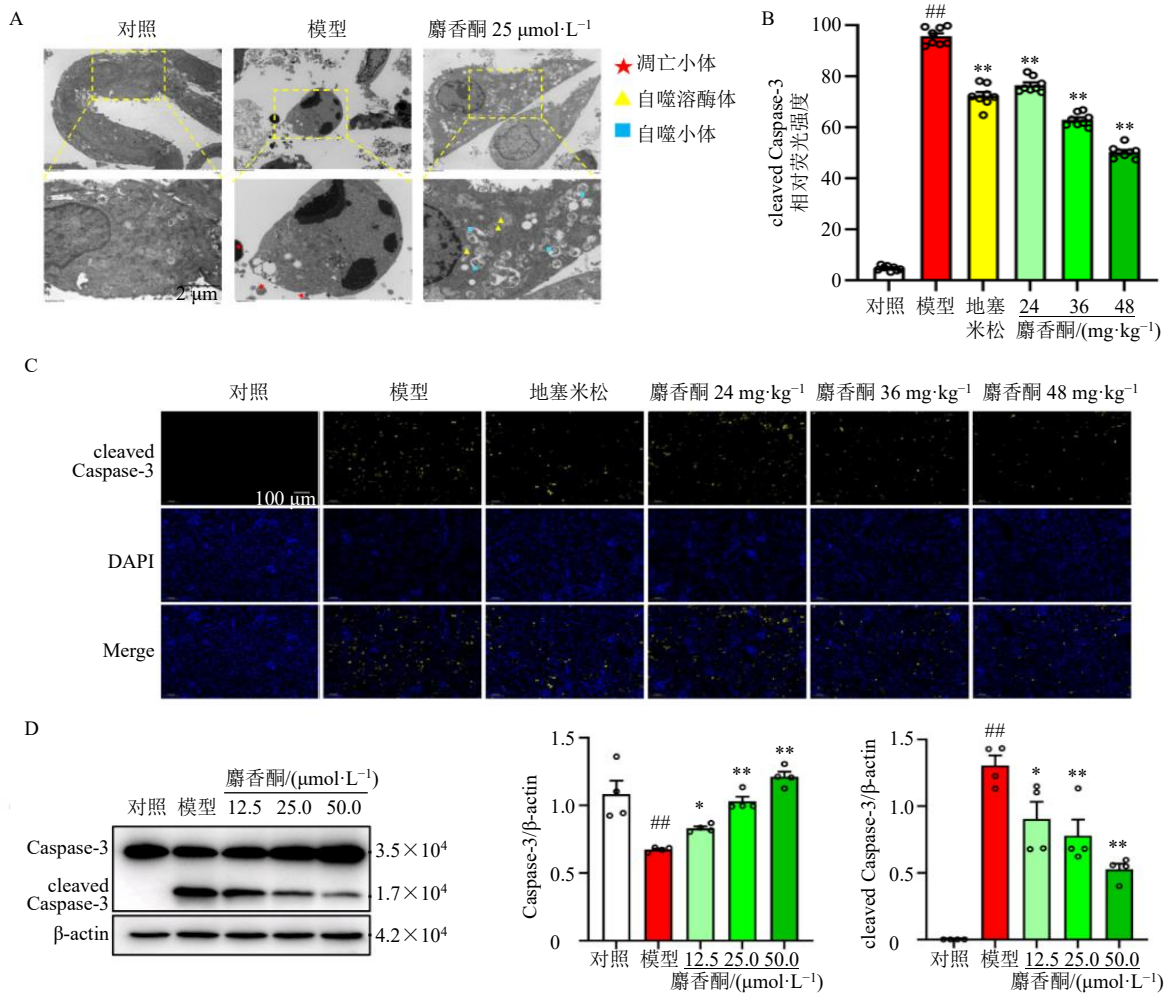
Fig. 2 Effect of muscone on cisplatin-induced NRK-52E cell death ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

比较, 模型组细胞变圆变碎; 给予麝香酮干预后, 变圆碎裂的细胞减少, 贴壁展开的细胞增加。Calcein-AM/PI 染色结果 (图 2-D、F、G) 显示, 与对照组比较, 模型组活细胞 (绿色) 减少 ($P < 0.01$); 给予麝香酮干预后, 活细胞显著增加 ($P < 0.01$), 死细胞 (红色) 相应减少 ($P < 0.01$), 呈剂量相关性。Hoechst 33342 染色结果 (图 2-E、H) 显示, 与对照组比较, 模型组细胞核碎裂, 发出亮蓝色荧光; 给予麝香酮干预后, 碎裂细胞核显著减少 ($P < 0.01$)。以上结果表明, 麝香酮能够抑制顺铂诱导的 NRK-52E 细胞死亡。

3.3 麝香酮抑制顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡

透射电镜结果 (图 3-A) 显示, 模型组凋亡特

征明显, 细胞皱缩, 染色质凝集并边缘化, 形成致密的半月形或块状结构, 细胞膜向外凸起, 形成凋亡小体; 与模型组比较, 麝香酮 (25 $\mu\text{mol/L}$) 组细胞形态改善, 染色质凝集减少, 且存在较多的自噬小体和自噬溶酶体。如图 3-B、C 所示, 模型组 cleaved Caspase-3 在肾脏组织中的表达和分布增加 ($P < 0.01$); 麝香酮干预后, cleaved Caspase-3 在肾脏组织中的表达和分布明显减少 ($P < 0.01$)。如图 3-D 所示, 与模型组比较, 麝香酮显著上调 NRK-52E 细胞中 Caspase-3 的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 下调 cleaved Caspase-3 的表达 ($P < 0.05$ 、 0.01), 且呈剂量相关性。以上结果表明, 麝香酮能够抑制顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡。



A-各组细胞超微结构变化 (上图 $\times 900$, 下图 $\times 3\ 500$); B、C-免疫荧光检测各组小鼠肾脏组织中 cleaved Caspase-3 的表达和分布 ($\times 30$, $n = 8$); D-Western blotting 检测各组细胞 Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达 ($n = 4$)。

A-changes in ultrastructure of cells in each group (upper figure $\times 900$, lower figure $\times 3\ 500$); B, C-expression and distribution of cleaved Caspase-3 in renal tissues of mice in each group detected by immunofluorescence ($\times 30$, $n = 8$); D-expressions of Caspase-3 and cleaved Caspase-3 protein in cells of each group detected by Western blotting ($n = 4$).

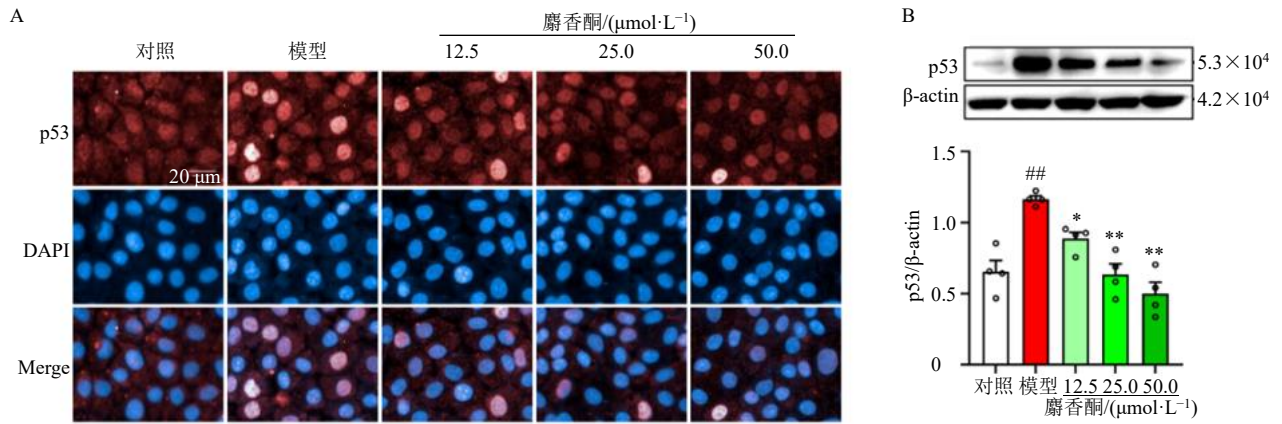
图 3 麝香酮抑制顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 3 Muscone inhibits cisplatin-induced apoptosis of renal tubular epithelial cells ($\bar{x} \pm s$)

3.4 麝香酮通过下调 p53 抑制顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡

如图 4-A 所示, 模型组 p53 在细胞质和细胞核的表达均大幅度增加; 麝香酮干预后, p53 在细胞质和细胞核的表达减少。如图 4-B 所示, 与对照组

比较, 模型组 p53 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 不同剂量麝香酮干预后 p53 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05, 0.01$)。如图 5-A、B 所示, 麝香酮和 p53 抑制剂 pifithrin- μ 干预 12 h 后, 均显著降低 mtROS 水平 ($P < 0.01$), 且联合给

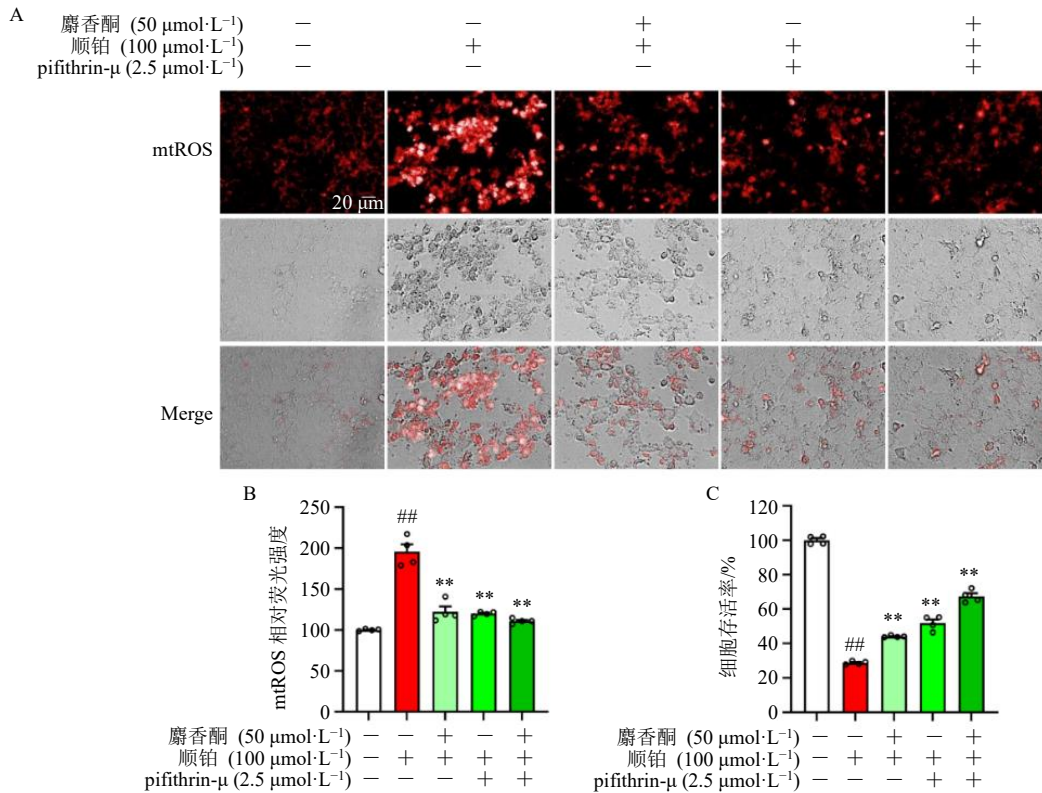


A-免疫荧光检测 p53 表达 ($\times 250, n = 3$); B-Western blotting 检测 p53 蛋白表达 ($n = 4$)。

A-p53 expression detected by immunofluorescence ($\times 250, n = 3$); B-p53 protein expression detected by Western blotting ($n = 4$).

图 4 麝香酮对顺铂诱导的 NRK-52E 细胞 p53 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Fig. 4 Effect of muscone on p53 expression in cisplatin-induced NRK-52E cells ($\bar{x} \pm s$)



A、B-各组细胞 mtROS 水平 ($\times 120$); C-麝香酮和 pifithrin- μ 对顺铂诱导的 NRK-52E 细胞活力的影响。

A, B-mtROS level of cells in each group ($\times 120$); C-effects of muscone and pifithrin- μ on cisplatin-induced viability of NRK-52E cells.

图 5 麝香酮和 pifithrin- μ 对顺铂诱导的 NRK-52E 细胞 mtROS 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 5 Effects of muscone and pifithrin- μ on mtROS level in cisplatin-induced NRK-52E cells ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

药组 mtROS 水平进一步降低 ($P < 0.01$)。如图 5-C 所示, 麝香酮和 pifithrin- μ 干预 24 h 后, 均显著升高顺铂诱导的 NRK-52E 细胞存活率 ($P < 0.01$), 且联合给药组细胞存活率进一步升高 ($P < 0.01$)。以上结果表明, 麝香酮通过下调 p53 抑制顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡。

3.5 麝香酮通过促进 p53 泛素化抑制顺铂诱导的肾小管上皮细胞凋亡

如图 6 所示, 与对照组比较, 模型组 NRK-52E

细胞中 p53 泛素化修饰基本不变; 与模型组比较, 不同剂量的麝香酮干预后, p53 泛素化修饰水平显著升高 ($P < 0.05$)。IP-p53 和 Input-p53 表达趋势一致, 与对照组比较, 模型组 IP-p53 和 Input-p53 表达显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与模型组比较, 不同剂量麝香酮干预后, IP-p53 和 Input-p53 表达显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)。以上结果表明, 麝香酮促进 p53 泛素化修饰水平升高, 进而降解 p53, 降低 p53 的表达, 最终抑制肾小管上皮细胞凋亡。

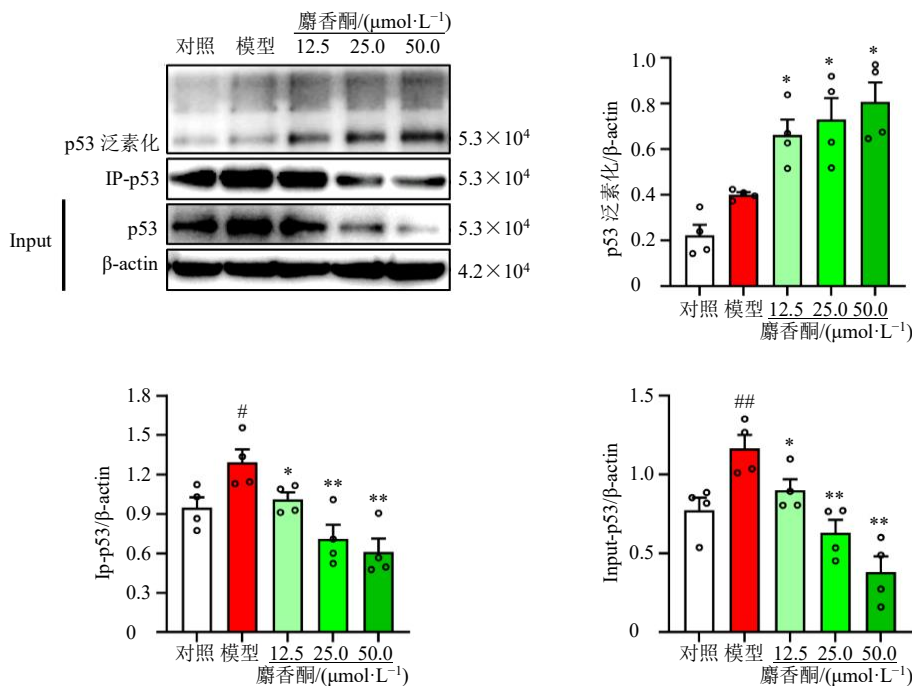


图 6 麝香酮促进顺铂诱导的 NRK-52E 细胞中 p53 的泛素化修饰 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 6 Muscone enhances cisplatin-induced p53 ubiquitination in NRK-52E cells ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

4 讨论

顺铂在化疗的过程中, 大量聚集在肾小管的部位, 进入肾小管上皮细胞后, 1 个顺铂分子会结合在同一条 DNA 链上 2 个相邻鸟嘌呤的 N7 位点上, 形成链内交联, 造成 DNA 局部扭曲和螺旋结构变形, 导致 DNA 损伤, 当 DNA 损伤过于严重而无法修复时, 便会启动程序性死亡, 引起肾小管上皮细胞死亡, 这是肾小管损伤的主要原因, 也是顺铂杀死癌细胞的主要方式之一^[18-19]。肾小管损伤后, 肾小管上皮细胞损伤标志蛋白 (NGAL、Kim-1) 表达升高, 继而发生肾小管上皮细胞功能障碍、凋亡以及脱落, 肾小管上皮细胞脱落后, 肾小管管腔堵塞与回漏, 引起肾小球滤过率下降, 最终导致肾功能丧失。目前, 临床上并没有有效手段阻止顺铂化疗引起的肾毒性, 只能采取充分水化与利尿的方法

尽可能减少其肾毒性, 但效果不佳^[20-22]。本研究发现, 麝香酮可改善肾小管病理损伤, 减少 NGAL 和 Kim-1 的表达和分布, 降低 BUN 和 SCr 的水平, 改善肾功能, 表明麝香酮可改善顺铂相关性 AKI。体外采用肾小管上皮细胞建立顺铂诱导的 NRK-52E 细胞损伤模型, MTT 和 Calcein AM/PI 染色结果发现麝香酮可呈剂量相关性地抑制顺铂诱导的 NRK-52E 细胞死亡, Hoechst 33342 染色结果显示麝香酮可减少顺铂诱导的细胞核碎裂。鉴于地塞米松在治疗心脏手术引起的 AKI、药物性肾毒性等方面已有明确的应用先例, 以及参考顺铂诱导的 AKI 的相关研究^[15-16,23-27], 本研究选用地塞米松作为阳性对照药物, 结果发现, 在改善 HE 病理评分方面, 地塞米松的保护作用与麝香酮低、中剂量组相当; 在减少 Kim-1 的表达与分布方面, 地塞米松与麝香

酮中剂量组效果相近；在降低 SCr 水平方面，地塞米松与麝香酮中剂量组相当；而在其他观察指标中，麝香酮的保护效果优于地塞米松。

在顺铂诱导的 AKI 中，目前报道的细胞死亡种类主要包括凋亡、铁死亡、焦亡和坏死^[3,28]。本研究采用透射电镜观察，发现模型组细胞核内染色质高度凝集、浓缩，形成致密的半月形或帽状结构，核膜完整，核膜周围有少量凋亡小体形成，初步表明顺铂诱导 NRK-52E 发生凋亡；而麝香酮干预后，细胞存活，细胞核形态改善，细胞质中可观察到自噬小体和溶酶体自噬，推测麝香酮的保护作用可能与自噬有关。分析肾脏组织中凋亡的关键执行蛋白 cleaved Caspase-3 表达，发现麝香酮可显著减少 cleaved Caspase-3 的表达和分布，进一步在 NRK-52E 细胞中分析 Caspase-3 和 cleaved Caspase-3 的表达，得出和肾脏组织相似的结论。此外，麝香酮可升高 Caspase-3 表达，降低 cleaved Caspase-3 的表达，二者之间呈现良好的剂量相关性和上下转换关系，证实麝香酮可抑制顺铂诱导肾小管上皮细胞凋亡。本研究发现顺铂诱导肾小管上皮细胞凋亡，这与文献报道的其可引发多种细胞死亡类型的结论存在差异，这种差异可能源于顺铂研究所用的药物浓度等条件不同，通常低浓度诱导凋亡，高浓度易致坏死^[29]。目前，顺铂肾毒性引起的细胞死亡类型及占比仍不明确。未来，采用单细胞测序等技术有望揭示其在肾脏组织中的真实全景。

顺铂进入肾小管上皮细胞后造成 DNA 损伤，迅速激活 DNA 损伤应答（DNA-damage response, DDR），传感器蛋白共济失调毛细血管扩张突变蛋白（ataxia telangiectasia-mutated, ATM）及 ATM 和 Rad3 相关蛋白（ATM and Rad3-related protein, ATR）被上调，进一步放大 DDR，进而激活下游效应因子如 p53，调控 DNA 修复、细胞周期阻滞和细胞凋亡在内的多种细胞应答。p53 在执行细胞凋亡过程中至关重要^[30-31]，因此，本研究聚焦 p53，发现顺铂诱导后 p53 表达大幅度上调，麝香酮干预后显著降低顺铂诱导的 p53 的表达；免疫荧光染色发现麝香酮同时降低细胞质和细胞核 p53 的表达。目前研究认为，p53 诱导细胞凋亡主要通过其上调 mtROS 水平。一方面，mtROS 本身可以作为上游信号，通过磷酸化（如 Ser15 位点）等翻译后修饰稳定并激活 p53；另一方面，被激活的 p53 通过转录激活一些促氧化基因 [p53 诱导基因 3（p53-inducible gene 3,

PIG3）、p53 诱导基因 6（p53-inducible gene 6, PIG6）、SCO 细胞色素氧化酶缺陷同源物 2（SCO cytochrome oxidase deficient homolog 2, SCO2）] 和促凋亡基因 [B 细胞淋巴瘤-2 相关 X 蛋白（B-cell lymphoma-2, Bcl-2 associated X protein, Bax）、PUMA]，促进 mtROS 的产生，形成一个放大信号的正反馈循环，最终推动细胞走向凋亡^[32-34]。为了探究麝香酮降低 p53 抑制肾小管上皮细胞凋亡是否与 mtROS 有关，本研究采用 p53 抑制剂 pifithrin- μ 发现麝香酮可降低 mtROS 水平，且抑制 NRK-52E 细胞凋亡，得到与目前研究一致的结果。

p53 的功能主要受翻译后修饰的调控，包括泛素化、乙酰化、甲基化、类泛素化修饰等^[35]，在这些翻译后修饰中只有泛素化修饰是降解 p53，使 p53 水平下降，而泛素连接酶 MDM2 与 p53 结合，负反馈调节 p53 泛素化修饰^[36-38]。因此，检测 p53 泛素化修饰，发现麝香酮升高了 p53 的泛素化修饰，表明麝香酮降低 p53 表达是使其发生了促进降解的泛素化修饰。推测麝香酮升高 p53 泛素化修饰后，可降低 mtROS 水平，进而抑制肾小管上皮细胞凋亡。然而，麝香酮是否影响 MDM2 与 p53 结合促进 p53 的泛素化修饰有待进一步研究。

综上，本研究发现麝香酮可改善顺铂相关性 AKI，主要通过泛素化修饰 p53 抑制肾小管上皮细胞凋亡。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Ostermann M, Lumlertgul N, Jeong R, *et al.* Acute kidney injury [J]. *Lancet*, 2025, 405(10474): 241-256.
- [2] Baker M L, Cantley L G. Adding insult to injury: The spectrum of tubulointerstitial responses in acute kidney injury [J]. *J Clin Invest*, 2025, 135(6): e188358.
- [3] Tang C Y, Livingston M J, Safirstein R, *et al.* Cisplatin nephrotoxicity: New insights and therapeutic implications [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2023, 19(1): 53-72.
- [4] 左振宇, 高焕芝, 化敏, 等. 甘草多糖通过调控 Nrf2 信号通路改善顺铂诱导的急性肾损伤 [J]. *中草药*, 2025, 56(24): 9003-9014.
- [5] 汪紫阳, 田丁元, 郑攀, 等. 麝香酮通过促进 VEGF 表达介导的微血管生成改善冠状动脉微血管疾病 [J]. *陆军军医大学学报*, 2025, 47(19): 2374-2384.
- [6] 周文杰, 李宁, 谢兴文, 等. 天然麝香的化学成分及药理研究进展 [J]. *时珍国医国药*, 2022, 33(1): 185-188.
- [7] 姜徽. 基于“引经”理论探索麝香酮对外源性大鼠骨髓间充质干细胞在体内迁移的作用及其机制 [D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2014.
- [8] 肖珍科, 黎贤泰, 王保, 等. 麝香酮处理后 CIRI 模型大

- 鼠海马组织中 S100 β 、NF- κ B 表达变化研究 [J]. 陕西中医, 2019, 40(10): 1327-1329.
- [9] 杨晓莉, 常艳, 郭东贤, 等. 麝香酮药理学作用研究进展 [J]. 中国药业, 2025, 34(5): 129-133.
- [10] Wang J, Xing H, Qin X M, *et al.* Pharmacological effects and mechanisms of muscone [J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 262: 113120.
- [11] 方永奇, 李翎. 醒脑开窍中药治疗脑病的共性作用概况 [J]. 广州中医药大学学报, 2008, 25(5): 470-473.
- [12] Song J, Liao W, Deng X, *et al.* Analysis of the pharmacodynamic difference between Xiaojin Pills taken with Chinese Baijiu and water based on serum pharmacochimistry and pharmacokinetics [J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 300: 115723.
- [13] 张惠娜, 谷巍, 王菲. 麝香酮减轻高糖诱导的肾小管上皮细胞炎症损伤的机制研究 [J]. 解放军医药杂志, 2021, 33(9): 1-5.
- [14] Phung H M, Lee S, Hwang J H, *et al.* Preventive effect of muscone against cisplatin nephrotoxicity in LLC-PK1 cells [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(10): 1444.
- [15] 刘朋飞. 麝香酮辅助骨髓间充质干细胞治疗大鼠急性肾损伤的作用研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2016.
- [16] Guo Y J, Wang M, Mou J Y, *et al.* Pretreatment of Huaqihuang Extractum protects against cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 7333.
- [17] Liu Y X, Huang H, Wang F, *et al.* Lipin3 deficiency aggravates cisplatin induced acute kidney injury via activating Sirt1-p21-Caspase 3-GSDME pyroptosis pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2025, 21(12): 5185-5205.
- [18] Olaizola I, Odriozola M, Asensio M, *et al.* THU-116 Novel chemotherapy selectively induces double-strand DNA breaks and death in naïve and cisplatin-resistant cholangiocarcinoma tumours [J]. *J Hepatol*, 2025, 82: S444.
- [19] Ye D K, Wang J, Shen H G, *et al.* An oligonucleotide-distortion-responsive organic transistor for platinum-drug-induced DNA-damage detection [J]. *Adv Mater*, 2021, 33(25): 2100489.
- [20] Yang C, Xu H D, Yang D, *et al.* A renal YY1-KIM1-DR5 axis regulates the progression of acute kidney injury [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 4261.
- [21] Yuan Y J, Yuan L H, Yang J C, *et al.* Autophagy-deficient macrophages exacerbate cisplatin-induced mitochondrial dysfunction and kidney injury via miR-195a-5p-SIRT3 axis [J]. *Nat Commun*, 2024, 15: 4383.
- [22] Cai F F, Li D R, Zhou K Q, *et al.* Tiliroside attenuates acute kidney injury by inhibiting ferroptosis through the disruption of NRF2-KEAP1 interaction [J]. *Phytomedicine*, 2024, 126: 155407.
- [23] Yadav P, Cook M, Cockwell P. Current trends of renal impairment in multiple myeloma [J]. *Kidney Dis*, 2016, 1(4): 241-257.
- [24] Jacob K A, Leaf D E, Dieleman J M, *et al.* Intraoperative high-dose dexamethasone and severe AKI after cardiac surgery [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(12): 2947-2951.
- [25] Shi H, Chen Z J, Xie J Y, *et al.* The prevalence and management of multiple myeloma-induced kidney disease in China [J]. *Kidney Dis*, 2016, 1(4): 235-240.
- [26] Parikh C R, Schaub J A. Steroids for prevention of AKI after cardiopulmonary bypass [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2015, 11(9): 509-510.
- [27] Shord S S, Thompson D M, Krempel G A, *et al.* Effect of concurrent medications on cisplatin-induced nephrotoxicity in patients with head and neck cancer [J]. *Anticancer Drugs*, 2006, 17(2): 207-215.
- [28] Chen Z M, Li Y S, Yuan Y, *et al.* Single-cell sequencing reveals homogeneity and heterogeneity of the cytopathological mechanisms in different etiology-induced AKI [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14: 318.
- [29] Sancho-Martínez S M, Prieto-García L, Prieto M, *et al.* N-acetylcysteine transforms necrosis into apoptosis and affords tailored protection from cisplatin cytotoxicity [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 349: 83-93.
- [30] Wang H L, Guo M, Wei H D, *et al.* Targeting p53 pathways: Mechanisms, structures, and advances in therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 92.
- [31] Boon N J, Oliveira R A, Körner P R, *et al.* DNA damage induces p53-independent apoptosis through ribosome stalling [J]. *Science*, 2024, 384(6697): 785-792.
- [32] Rius-Pérez S. p53 at the crossroad between mitochondrial reactive oxygen species and necroptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2023, 207: 183-193.
- [33] Zhang Y J, Zhang Y Y, Zhong C G, *et al.* Cr(VI) induces premature senescence through ROS-mediated p53 pathway in L-02 hepatocytes [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 34578.
- [34] Liu Y Q, Gu W. The complexity of p53-mediated metabolic regulation in tumor suppression [J]. *Semin Cancer Biol*, 2022, 85: 4-32.
- [35] Liu Y Q, Su Z Y, Tavana O, *et al.* Understanding the complexity of p53 in a new era of tumor suppression [J]. *Cancer Cell*, 2024, 42(6): 946-967.
- [36] Zhu H H, Gao H, Ji Y Y, *et al.* Targeting p53-MDM2 interaction by small-molecule inhibitors: Learning from MDM2 inhibitors in clinical trials [J]. *J Hematol Oncol*, 2022, 15(1): 91.
- [37] Zhao S Y, Liu X L, Luo R K, *et al.* USP38 functions as an oncoprotein by downregulating the p53 pathway through deubiquitination and stabilization of MDM2 [J]. *Cell Death Differ*, 2025, 32(6): 1128-1141.
- [38] Liu J, Guan D, Dong M G, *et al.* UFMylation maintains tumour suppressor p53 stability by antagonizing its ubiquitination [J]. *Nat Cell Biol*, 2020, 22(9): 1056-1063.

[责任编辑 李亚楠]