

马兜铃酸细胞分子毒理学研究进展

乔洪翔, 李连达, 吴理茂*

(浙江大学药学院中药研究所, 浙江 杭州 310031)

摘要: 马兜铃酸属于硝基菲类化合物, 广泛存在于马兜铃属中药中, 具有肾毒性和潜在的致癌作用。马兜铃酸诱导肾小管上皮细胞纤维化及凋亡; 促进细胞周期加速, 而导致泌尿道上皮异常增殖; 经还原代谢, 并与 DNA 形成加合物, 使 *ras* 基因和 *p53* 基因突变, 进而诱发癌变。本文对马兜铃酸的细胞分子毒性机制进行了综述, 并对可能的减毒方法进行了探讨。

关键词: 马兜铃酸; DNA 加合物; 毒理学

中图分类号: R996.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3002(2006)06-0515-06

马兜铃属 (*Aristolochia*) 植物广泛分布于热带和亚热带, 据报道全世界约有 200 余种, 我国约有 40 余种。其中常见的马兜铃属中草药有关木通、广防己、汉中防己、马兜铃、青木香、天仙藤及朱砂莲等。常见的含马兜铃属植物的中成药和方剂有龙胆泻肝丸、妇科分清丸、排石冲剂、甘露消毒丹、纯阳正气丸、冠心苏合丸、十香返生丸、舒筋活血丸和玄珠狼疮丸等。由此可见, 马兜铃属的植物在中医药领域应用非常广泛, 影响相当大。马兜铃属植物中已得到并鉴定的化学成分有 140 种, 主要包括马兜铃酸 (aristolochic acid, AA) 及其衍生物、生物碱、萜类及甾体化合物、黄酮类化合物、苯丙素类化合物等。AA 属于硝基菲类化合物, 过去临床上用于镇痛、消炎、祛痰、利尿、感染性疾病和癌症辅助用药等。

1964 年, 吴松寒^[1]首次报道了 2 例因大剂量服用关木通导致急性肾功能衰竭的病例, 但在医学界未能引起足够的重视。直到 1991 年, 比利时学者 Vanherweghem 等^[2,3] 发现一妇女在服用含有广防己的中草药减肥时出现进行性肾损害, 表现为肾间质纤维化。这一事件引起了世界范围内的关注。此后十几年, 因服用含 AA 的药物而产生肾损害的病例在欧洲、亚洲等国家均有报道, 美国 FDA 及其他国家政府均将此类药物撤出了市场^[4], 并命名此类肾病为“中草药肾病” (Chinese herbs nephropathy, CHN)。

因 CHN 均是由 AA 诱导产生的, 故有学者认为用马兜铃酸肾病 (aristolochic acid nephropathy, AAN) 来定义这一类肾

病更为合适^[5,6]。另有研究表明, AA 在啮齿类动物中具有潜在的致癌作用^[7] 和致突变作用^[8,9]。这些研究的发现, 使对 AA 的研究进入了一个新的领域, 越来越多的研究从细胞甚至基因水平来研究 AA 的毒性机制。本文综述了 AA 潜在的细胞分子毒性机制, 并通过干预这些毒性作用环节来探讨可能的减毒方法。

1 马兜铃酸及其衍生物的代谢与毒性成分

AA 类化合物中, 主要的毒性成分为 AA I 和 AA II, 其在硝基还原酶的催化下, 一部分被还原为马兜铃内酰胺 (aristololactam, AL), 另一部分在还原过程中进一步与 DNA 作用, 形成加合物^[10,11]。AA 类衍生物结构见图 1^[12], 代谢过程见图 2^[13]。

在 AA 类衍生物对猪肾小管上皮细胞的毒性研究^[12] 中发现, 各衍生物毒性的强弱与其化学结构有关。硝基是 AA 类衍生物中最主要的毒性基团^[14], 此外甲氧基和羟基的存在可以使 AA 的毒性进一步加强。其中 AA I 是马兜铃属植物中毒性最强的成分^[12]。另有研究^[15,16] 发现, 不但 AA 具有很强的肾毒性, 其代谢产物 AL 同样具有肾毒性。后来又通过对 AA 代谢过程及代谢酶的研究^[13,17,18] 证实, AA 致突变和致癌毒性是由其代谢的中间产物马兜铃内酰胺氮鎓离子 (aristolactam-nitrium ion, 图 2) 引起的, 因为它具有很强的亲电能力, 能与 DNA 碱基环外氨基亲电结合, 生成相应的加合物, 使 *ras* 基因和 *p53* 基因发生突变, 进而诱发肿瘤。

2 毒性机制

2.1 对泌尿系统的细胞毒性机制

2.1.1 诱导泌尿道上皮异常增殖

真核细胞能够在精确的细胞周期调控下进行增殖^[19]。细胞周期的调控是通过激活和灭活细胞周期调节蛋白等一系列复杂的过程来完成的。

AA 通过激活细胞周期蛋白 D/细胞周期依赖性蛋白激酶 4 (cyclin D1/cdk4) 和细胞周期蛋白 E/细胞周期依赖性蛋白激酶 2 (cyclin E/cdk2), 使成视网膜细胞瘤蛋白 (Rb) 磷酸化, 进而激活转录因子 E2F 家族蛋白, 使 Rb-E2F 复合物解离产生 E2F 蛋白, 促进细胞周期从 G₁ 期过度到 S 期, 使细胞周期加速, 结果导致泌尿道上皮异常增殖^[20]。这可能是泌尿道上皮癌发生的机制之一, 但仍需进一步考证。

2.1.2 诱导肾小管上皮细胞纤维化及凋亡

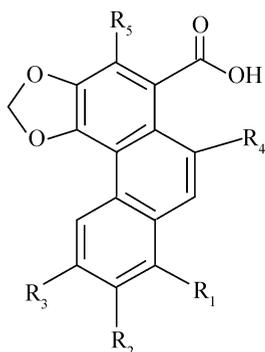
AAN 的特征是进行性肾损害, 表现为肾间质纤维化。而 AA 诱导肾间质纤维化的主要机制是 AA 诱导肾小管上皮细

来稿日期: 2006-02-08 接受日期: 2006-06-30

基金项目: 国家十五科技攻关计划 (2004BA721A10)

作者简介: 乔洪翔 (1983 -), 男, 博士研究生, 研究方向为中药心血管药理学。

* 联系作者 E-mail: wulimao@zju.edu.cn Tel: (0571) 87217250



AA类衍生物	R1	R2	R3	R4	R5
AA I	OCH ₃	H	H	NO ₂	H
AA II	H		H	NO ₂	H
AAIII	H	H	OCH ₃	NO ₂	H
AA Ia	OH	H	H	NO ₂	
7-OH AA I	OCH ₃	OH	H	NO ₂	H
AAVIa	OCH ₃	H	H	NO ₂	OH
AAVIIIa	OH	OCH ₃	H	NO ₂	H
AA C	H	H	OH	NO ₂	H
AA D	OCH ₃	H	OH	NO ₂	H
Aristolochic acid	OCH ₃	H	H	H	
Aristofolin B	OCH ₃	OH	H	H	H

图1 马兜铃酸类衍生物化学结构

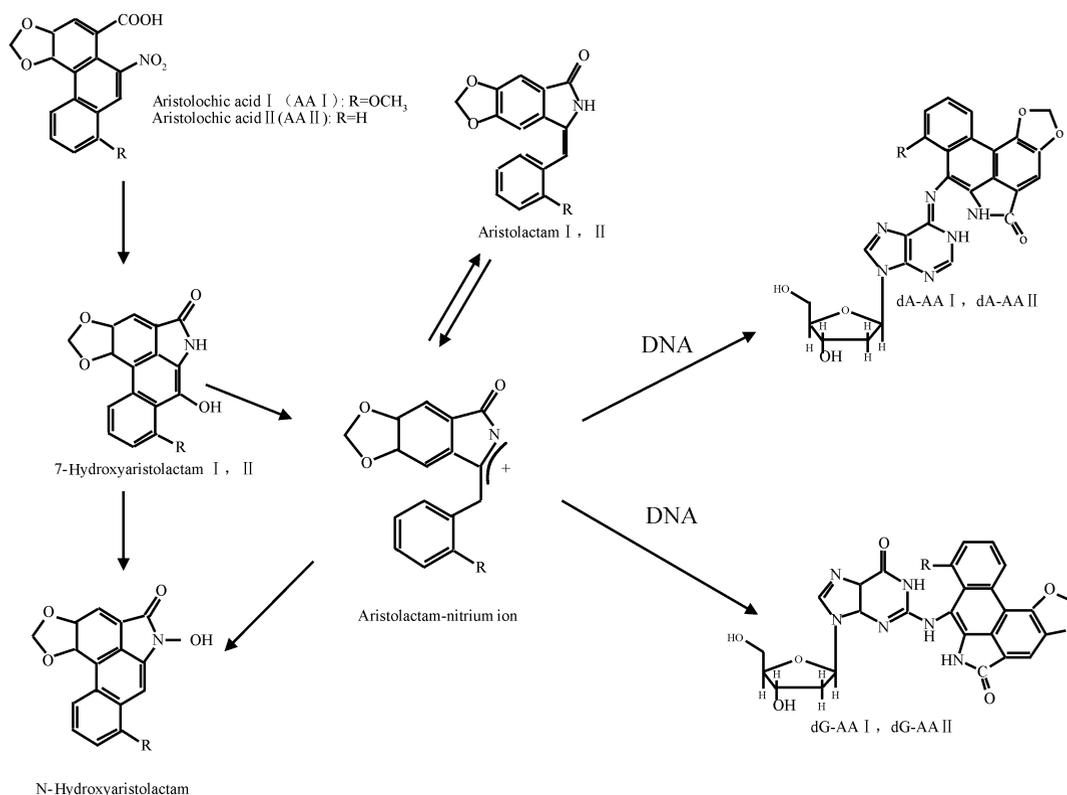


图2 马兜铃酸代谢过程

胞转分化为成纤维细胞。苏震等^[21]研究发现,AA 在低浓度 (10 mg · L⁻¹) 就可以使肾小管上皮细胞轻微的转分化,高浓度 (40 mg · L⁻¹) 则产生明显的转分化作用和凋亡作用。在 AA 诱导的转分化作用过程中,一些分泌异常的细胞因子起主要作用。AAN 患者肾小管周边的毛细血管显著性损伤,并

伴随血管内皮生长因子 (VEGF) 表达的下降,同时转化生长因子-β (TGF-β) 的表达显著升高,从而促进了肾小管上皮细胞纤维化^[22],这是主要原因。另外,AA 诱导肾小管上皮细胞纤维化还通过结缔组织生长因子 (CTGF) 表达的增加^[23]和肥大细胞的浸润^[24]而加重。

AA对肾脏细胞毒性的另一机制,即AA诱导肾小管上皮细胞的凋亡^[25]。AA诱导肾小管上皮细胞L型电压依赖性钙通道开放,大量外钙内流^[26],使细胞内游离钙离子浓度显著升高;同时抑制上皮生长因子(EGF)^[27]和增加TGF- β 1的表达,并通过激活细胞半胱天冬酶3(caspase-3)的活性^[12],使肾小管上皮细胞发生凋亡。

2.2 致癌和致突变机制

AA-DNA加合物的形成是AA致癌和致突变的主要机制。AA能使原癌*ras*基因发生A-T颠换突变而活化^[28],使抑癌*p53*基因多点突变导致其呈过度表达状态^[29],失去正常功能,引起促增殖信号的增强和细胞分化的异常,进而导致泌尿道上皮肿瘤的发生。

其实,真正与DNA形成加合物的并非AA本身,而是AA在体内通过还原代谢的中间产物氮鎓离子,因为它具有很强的亲电能力,能与DNA碱基环外氨基亲电结合,生成相应的加合产物。而具有环外氨基的碱基有腺嘌呤、鸟嘌呤和胞嘧啶^[10,11],其中以腺嘌呤和鸟嘌呤生成的加合产物为主,它们分别是7-(脱氧腺苷酸-N6基)-马兜铃内酰胺I(dA-AA I)、7-(脱氧腺苷酸-N6基)-马兜铃内酰胺II(dA-AA II)、7-(脱氧鸟苷酸-N2基)-马兜铃内酰胺I(dG-AA I)和7-(脱氧鸟苷酸-N2基)-马兜铃内酰胺II(dG-AA II),见图2。其中dA-AA I是主要的加合产物,也是这些加合物中最主要的致癌物质。此外,Arlt等^[30]用化学药品和酶分别激活AA I和AA II,使其与修饰过的人乳癌细胞(MCF-7)反应,结果得到了另一个加合物:7-(脱氧胞嘧啶-N4基)-马兜铃内酰胺II(dC-AA II)。

2.2.1 催化加合物形成的酶

在比利时,服用过含AA减肥丸的人中,只有5%患有AAN^[13],其原因是参与催化AA生物转化的酶因个体差异而呈现出不同的活性。参与致癌物代谢的酶的基因,存在多态现象,导致产生不同活性的基因产物。这些遗传变异现象是决定癌症发生率的重要因素^[31]。因此,对参与AA代谢的酶基因遗传变异现象的分析,可以帮助人们找到基因型与AA-DNA加合物水平及癌症发生率之间的关系。

参与激活AA活性的酶主要有:大鼠微粒体酶和重组人细胞色素P450(CYP)1A1和CYP1A2,NADPH:CYP还原酶^[17,32];大鼠肝脏细胞溶质NAD(P)H:醌氧化还原酶(NQO1,DT-硫辛酸脱氢酶)^[33];黄嘌呤氧化酶^[34];过氧化物酶,如羊的前列腺素H合成酶^[35],乳酸过氧化物酶^[34]。这些酶都可以通过还原代谢活化AA,使其中间产物氮鎓离子与DNA碱基环外氨基亲电结合,生成相应的DNA加合产物,使*ras*基因和*p53*基因发生突变,进而诱发肿瘤。

CYP1A2, CYP1A1和NADPH:CYP还原酶催化激活AA I形成加合物的DNA结合半数最大量分别为38,65和126 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。计算机分析AA I与CYP1A1和CYP1A2对接的活性位点,揭示AA I结合于血红素铁配位体中轴,同时也揭示了AA I的硝基和CYP1A2的血红素铁在一定的取向上互相接近,可以有效地还原硝基。而CYP1A1的活性中心与AA I的硝基和羧基都可发生反应,因此CYP1A1对AA I的还原能力小于CYP1A2^[18]。

NQO1是人体泌尿道上皮细胞溶质中主要激活AA形成DNA加合物的酶,dA-AA I是NQO1系统的主要产物。用计算机分子模型分析发现,AA I与NQO1分子结构中黄素辅基的异咯嗪环互相靠拢结合,即AA I与NQO1的活性位点能很好地结合,形成NQO1-AA I复合物,更有利于NQO1催化AA I使其还原活化,形成DNA加合物^[13]。

2.2.2 致癌途径之一:影响*ras*基因

原癌*ras*基因对细胞的正常生长发育起着重要的调节作用。每一种*ras*基因都分别编码一种鸟苷酸结合蛋白,*ras*蛋白在细胞增殖和分化信号从激活的跨膜受体传递到下游蛋白激酶的过程中起作用^[36-39],*ras*基因第12,13及61位致癌性点突变降低了*ras*蛋白水解三磷酸鸟苷(GTP)为二磷酸鸟苷(GDP)的能力。突变的*ras*蛋白降低了自身内源性鸟苷三磷酸酶(GTPase)的活性及它们与GTPase活化蛋白的结合能力,使*ras*蛋白持续与GTP结合,从而改变了正常细胞的生长与调控,引起促增殖信号的增强和细胞分化的异常,最终导致肿瘤的形成。

AA I在体内被CYP和过氧化物酶等激活,形成氮鎓离子^[13,18]。氮鎓离子受到*ras*基因外显子2密码子61(腺嘌呤)的环外氨基攻击,而形成dA-AA I,使密码子61发生A-T颠换突变,DNA聚合酶的活性也在此位点被抑制^[40]。而密码子61正是致癌性点,它的突变直接导致了促增殖信号的增强和细胞分化的异常,最终引起贲门窦的癌变。

2.2.3 致癌途径之二:影响*p53*基因

*p53*基因家族具有调节细胞生长^[41,42]、促进细胞凋亡^[43]和损伤DNA的修复功能^[44,45],因此,*p53*基因异常可导致细胞DNA修复不良,进而引发基因突变,这可能与AAN患者的肿瘤发生具有密切关系。目前已证明*p53*基因突变广泛存在于众多人类肿瘤中,是最常发生突变的基因之一^[46]。

P53蛋白在正常细胞中表达很低,而且代谢极不稳定,但在许多肿瘤和肿瘤细胞系中却有高水平的表达。在AAN兼患泌尿系统肿瘤患者的泌尿道上皮,P53蛋白表达过量^[29],提示患者*p53*基因发生突变。后有研究^[30]表明,AA可以引起*p53*基因外显子5~8发生多点突变(外显子5的密码子156,158~159,166,167,外显子6的密码子196,198~199,202,209,214~215,220,外显子7的密码子234~235,236~237,248~249,外显子8的密码子283~284,290~291),并在这些突变位点都检测到AA-DNA的存在。这些突变位点中,密码子220是唯一与腺嘌呤有关的突变密码子,也是在其他原因引起的人类泌尿道肿瘤中没有出现过的突变部位。提示这些位点的突变可能是AA导致人类泌尿道肿瘤的特异性位点和主要原因。

3 可行的减毒机制

大量研究与临床病例已经证明AA具有很强的肾毒性,是马兜铃属中药毒性标志性成分之一,其主要作用的靶器官是贲门窦、肾脏和膀胱^[47],毒性机制简单归纳如下。

(1)AA通过激活cyclin D1/cdk4和cyclin E/cdk2,使Rb磷酸化,激活E2F家族蛋白,促进细胞周期从G₁期过度到S

期,导致泌尿道上皮异常增殖。

(2) AA 诱导 TGF- β 的表达升高,促进肾小管上皮细胞纤维化。

(3) AA 诱导细胞钙通道开放,使大量外钙内流,并激活 caspase3 的活性,使肾小管上皮细胞发生凋亡。

(4) AA 在 CYP1A1 和 CYP1A2 等酶的催化下,被激活,还原并形成 AA-DNA 加合物,使 *ras* 基因密码子 61 发生 A-T 颠换突变,导致贲门窦癌变;使 *p53* 基因发生多点突变,导致泌尿道肿瘤的发生。

通过干预上述毒性作用环节,可以找到可行的减毒方法。首先,可以应用活血化瘀中药,同时配合补肾益气健脾药以补肾活血,扩张肾血管,增加肾血流量,促进纤维组织吸收,防治肾纤维化^[48]。方静等^[49]研究发现益肾软坚散通过下调 AA 所致的 TGF- β_1 和 CTGF 的高表达,来对抗肾纤维化。其次,使用钙拮抗剂^[26]或具有钙拮抗作用的中药^[50],抑制肾小管上皮细胞的外钙内流,对抗 AA 升高细胞内游离钙离子浓度的作用,防止肾小管上皮细胞凋亡。

此外,还可以通过 AA 的另一种毒性机制,即活化代谢后产生的致癌作用,来寻找减毒的方法。通过检测病人体内与 AA 代谢有关酶的活性,选用相应酶的抑制剂,来抑制催化 AA 活化的酶活力,以阻止 AA-DNA 加合物的形成,预防肿瘤的发生,例如双香豆素为 DT-硫辛酸脱氢酶的抑制剂、 α -萘黄酮为选择性 CYP1A1 和 CYP1A2 的抑制剂、呋拉茶碱为 CYP1A2 的抑制剂、 α -硫辛酸为选择性 NADPH: CYP 还原酶的抑制剂等。这种方法到目前为止还没有被报道过,但在理论上却有一定的指导意义,如何有效地利用这些酶抑制剂来抑制 AA 的致癌毒性,还需医药工作者的努力。

4 结语与展望

中药是我国医药数千年发展积累而得的,在中医理论的指导下,临床上有其独特的疗效,相对安全,副作用小,但我们也不能因此忽视中药的安全性。随着中药各种新剂型的增加、用药范围的拓展,中药的不良反应与毒性反应也日益严重地表现出来且呈逐年上升的趋势。中药的毒性靶点涉及全身各组织脏器。因此,对中药的安全性评价及临床上对有毒中药的减毒有其特殊的重要性。

含马兜铃属植物的药物中,因含有马兜铃酸,使其具有潜在的肾毒性和致癌毒性^[10]。AA 通过诱导肾小管上皮细胞纤维化及凋亡来发挥其潜在的肾毒性;通过促进细胞周期加速,导致泌尿道上皮异常增殖;通过还原代谢,并与 DNA 形成加合物,使 *ras* 基因和 *p53* 基因突变,进而诱发癌症。至于行之有效的减毒方法,可以通过干预以上 AA 细胞分子毒性作用环节来寻找。

活血化瘀药和钙拮抗剂已在实验中被证实对肾小管上皮细胞有保护作用,但对 AA 潜在的致癌毒性的预防或治疗在国内外还是空白。

AA 致癌毒性发生过程中,CYP1A1, CYP1A2 及 NADPH: CYP 还原酶等的催化起到决定性作用。若能抑制或消除这些酶的活性,AA 的致癌性也将受到抑制。但如何利用这些

酶的抑制剂或其他药物来抑制 AA 的致癌性,是将来研究的趋势。

此外,对于其他有毒的中药,也可以通过对其潜在的毒性机制进行深入地研究,来寻找减毒的方法,这样不仅使中药更加安全可靠,而且可以从根本上避免中药潜在的各种毒性。

5 参考文献:

- [1] Wu SH. Acute renal failure caused by *Caulis Hecquartiae* in 2 cases[J]. *Jiangsu J Trad Chin Med*(江苏中医), 1964, **10**:4.
- [2] Vanherweghem JL, Depierreux M, Tielemans C, Abramowicz D, Dratwa M, Jadoul M, *et al*. Rapidly progressive interstitial renal fibrosis in young women: association with slimming regimen including Chinese herbs[J]. *Lancet*, 1993, **341**(8842):387-391.
- [3] Vanhaelen M, Vanhaelen-Fastre R, But P, Vanherweghem JL. Identification of aristolochic acid in Chinese herbs[J]. *Lancet*, 1994, **343**(8890):174.
- [4] Arlt VM, Alunni-Perret V, Quatrehomme G, Ohayon P, Albano L, Gaid H, *et al*. Aristolochic acid (AA)-DNA adduct as marker of AA exposure and risk factor for AA nephropathy-associated cancer[J]. *Int J Cancer*, 2004, **111**(6):977-980.
- [5] Gillerot G, Jadoul M, Arlt VM, van Ypersele De Strihou C, Schmeiser HH, But PP, *et al*. Aristolochic acid nephropathy in a Chinese patient: time to abandon the term "Chinese herbs nephropathy"[J]? *Am J Kidney Dis*, 2001, **38**(5):E26.
- [6] Cosyns JP. When is "aristolochic acid nephropathy" more accurate than "Chinese herbs nephropathy"[J]? *Kidney Int*, 2002, **61**(3):1178.
- [7] Mengs U. On the histopathogenesis of rat forestomach carcinoma caused by aristolochic acid[J]. *Arch Toxicol*, 1983, **52**(3):209-220.
- [8] Schmeiser HH, Pool BL, Wiessler M. Identification and mutagenicity of metabolites of aristolochic acid formed by rat liver[J]. *Carcinogenesis*, 1986, **7**(1):59-63.
- [9] Pezzuto JM, Swanson SM, Mar W, Che CT, Cordell GA, Fong HH. Evaluation of the mutagenic and cytostatic potential of aristolochic acid (3, 4-methylenedioxy-8-methoxy-10-nitrophenanthrene-1-carboxylic acid) and several of its derivatives[J]. *Mutat Res*, 1988, **206**(4):447-454.
- [10] Nortier JL, Martinez MC, Schmeiser HH, Arlt VM, Bieler CA, Pletin M, *et al*. Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*)[J]. *N Engl J Med*, 2000, **342**(23):1686-1692.
- [11] Stiborova M, Frei E, Sopko B, Wiessler M, Schmeiser HH. Carcinogenic aristolochic acids upon activation by DT-diaphorase form adducts found in DNA of patients with Chinese herbs nephropathy[J]. *Carcinogenesis*, 2002, **23**(4):617-625.
- [12] Balachandran P, Wei F, Lin RC, Khan IA, Pasco DS. Structure activity relationships of aristolochic acid analogues: toxicity in cultured renal epithelial cells[J]. *Kidney Int*, 2005, **67**(5):1797-1805.
- [13] Stiborova M, Frei E, Sopko B, Sopkova K, Markova V, Lankova M, *et al*. Human cytosolic enzymes involved in the metabolic ac-

- tivation of carcinogenic aristolochic acid: evidence for reductive activation by human NAD(P)H:quinone oxidoreductase[J]. *Carcinogenesis*, 2003, **24**(10):1695-1703.
- [14] Chung KT, Murdock CA, Zhou Y, Stevens SE Jr, Li YS, Wei CI, et al. Effects of the nitro-group on the mutagenicity and toxicity of some benzamines [J]. *Environ Mol Mutagen*, 1996, **27**(1):67-74.
- [15] Li B, Li XM, Zhang CY, Wang X, Cai SQ. Injury in renal proximal tubular epithelial cells induced by aristololactam I [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2004, **29**(1):78-83.
- [16] Zhang CY, Wang X, Su T, Ma CM, Wen YJ, Shang MY, et al. New aristolochic acid, aristololactam and renal cytotoxic constituents from the stem and leaves of *Aristolochia contorta* [J]. *Pharmazie*, 2005, **60**(10):785-788.
- [17] Stiborova M, Frei E, Wiessler M, Schmeiser HH. Human enzymes involved in the metabolic activation of carcinogenic aristolochic acids: evidence for reductive activation by cytochromes P450 1A1 and 1A2 [J]. *Chem Res Toxicol*, 2001, **14**(8):1128-1137.
- [18] Stiborova M, Sopko B, Hodek P, Frei E, Schmeiser HH, Hudecek J. The binding of aristolochic acid I to the active site of human cytochromes P450 1A1 and 1A2 explains their potential to reductively activate this human carcinogen[J]. *Cancer Lett*, 2005, **229**(2):193-204.
- [19] Vermeulen K, Van Bockstaele DR, Berneman ZN. The cell cycle: a review of regulation, deregulation and therapeutic targets in cancer[J]. *Cell Prolif*, 2003, **36**(3):131-149.
- [20] Chang HR, Lian JD, Lo CW, Chang YC, Yang MY, Wang CJ. Induction of urothelial proliferation in rats by aristolochic acid through cell cycle progression via activation of cyclin D1/cdk4 and cyclin E/cdk2[J]. *Food Chem Toxicol*, 2006, **44**(1):28-35.
- [21] Su Z, Xu SW, Zheng FL, Li Y. Aristolochic acid induced trans-differentiation and apoptosis in human tubular epithelial cells *in vitro*[J]. *Chin J Prev Med*(中华预防医学杂志), 2002, **36**(5):301-304.
- [22] Li B, Li XM, Zhang CY, Wang X, Cai SQ. Cellular mechanism of renal proximal tubular epithelial cell injury induced by aristolochic acid I and aristololactam I [J]. *J Peking Univ(Health Sci)*[北京大学学报(医学版)], 2004, **36**(1):36-40.
- [23] Yang L, Li XM, Wang HY. Roles of connective tissue growth factor in the fibrosis of Manchurian dutchmanspipe induced tubulointerstitial nephropathy[J]. *Chin J Nephrol*(中华肾脏病杂志), 2003, **19**(4):213-218.
- [24] Tan Z, Tian XF, Chen YP, Dong HR. Preliminary studies on relationship between mast cells and renal interstitial fibrosis with chronic aristolochic acid nephropathy[J]. *Chin J Integrated Tradit West Nephrol*(中国中西医结合肾病杂志), 2005, **6**(8):441-444.
- [25] Liu MC, Maruyama S, Mizuno M, Morita Y, Hanaki S, Yuzawa Y, et al. The nephrotoxicity of *Aristolochia manshuriensis* in rats is attributable to its aristolochic acids [J]. *Clin Exp Nephrol*, 2003, **7**(3):186-194.
- [26] Gao RT, Zheng FL, Liu YX, Zheng DX, Li XM, Bo YH, et al. Aristolochic acid I-induced apoptosis in LLC-PK1 cells and amelioration of the apoptotic damage by calcium antagonist [J]. *Natl Med J China*(中华医学杂志), 2000, **113**(5):418-424.
- [27] Wen XY, Zheng FL, Gao RT, Li Y, Sun Y, Zhang XM, et al. Transdifferentiation of cultured human tubular epithelial cells induced by aristolochic acid I [J]. *Chin J Nephrol Dialysis Transplant*(肾脏病透析与肾移植杂志), 2000, **9**:206-209.
- [28] Schmeiser HH, Janssen JW, Lyons J, Scherf HR, Pfau W, Buchmann A, et al. Aristolochic acid activates ras genes in rat tumors at deoxyadenosine residues [J]. *Cancer Res*, 1990, **50**(17):5464-5469.
- [29] Cosyns JP, Jadoul M, Squifflet JP, Wese FX, van Ypersele de Strihou C. Urothelial lesions in Chinese-herb nephropathy [J]. *Am J Kidney Dis*, 1999, **33**(6):1011-1017.
- [30] Arlt VM, Schmeiser HH, Pfeifer GP. Sequence-specific detection of aristolochic acid-DNA adducts in the human p53 gene by terminal transferase-dependent PCR [J]. *Carcinogenesis*, 2001, **22**(1):133-140.
- [31] Smith G, Stanley LA, Sim E, Strange RC, Wolf CR. Metabolic polymorphisms and cancer susceptibility [J]. *Cancer Surv*, 1995, **25**:27-65.
- [32] Stiborova M, Hajek M, Frei E, Schmeiser HH. Carcinogenic and nephrotoxic alkaloids aristolochic acids upon activation by NADPH: cytochrome P450 reductase form adducts found in DNA of patients with Chinese herbs nephropathy [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2001, **20**(4):375-392.
- [33] Stiborova M, Frei E, Sopko B, Wiessler M, Schmeiser HH. Carcinogenic aristolochic acids upon activation by DT-diaphorase form adducts found in DNA of patients with Chinese herbs nephropathy [J]. *Carcinogenesis*, 2002, **23**(4):617-625.
- [34] Schmeiser HH, Frei E, Wiessler M, Stiborova M. Comparison of DNA adduct formation by aristolochic acids in various *in vitro* activation systems by ³²P-post-labelling: evidence for reductive activation by peroxidases [J]. *Carcinogenesis*, 1997, **18**(5):1055-1062.
- [35] Stiborova M, Frei E, Breuer A, Wiessler M, Schmeiser HH. Evidence for reductive activation of carcinogenic aristolochic acids by prostaglandin H synthase-³²P-postlabeling analysis of DNA adduct formation [J]. *Mutat Res*, 2001, **493**(1-2):149-160.
- [36] Bourne HR, Sanders DA, McCormick F. The GTPase superfamily: a conserved switch for diverse cell functions [J]. *Nature*, 1990, **348**(6297):125-132.
- [37] Boguski MS, McCormick F. Proteins regulating Ras and its relatives [J]. *Nature*, 1993, **366**(6456):643-654.
- [38] Lowy DR, Willumsen BM. Function and regulation of ras [J]. *Annu Rev Biochem*, 1993, **62**:851-891.
- [39] McCormick F. Signal transduction. How receptors turn Ras on [J]. *Nature*, 1993, **363**(6424):15-16.
- [40] Arlt VM, Wiessler M, Schmeiser HH. Using polymerase arrest to detect DNA binding specificity of aristolochic acid in the mouse *H-ras* gene [J]. *Carcinogenesis*, 2000, **21**(2):235-242.
- [41] Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction [J]. *Cell*, 1992, **70**(4):523-526.
- [42] Friend S. p53: a glimpse at the puppet behind the shadow play

- [J]. *Science*, 1994, **265**(5170):334-335.
- [43] Fisher DE. Apoptosis in cancer therapy: crossing the threshold [J]. *Cell*, 1994, **78**(4):539-542.
- [44] Kastan MB, Onyekwere O, Sidransky D, Vogelstein B, Craig RW. Participation of P53 protein in the cellular response to DNA damage[J]. *Cancer Res*, 1991, **51**(23 Pt 1):6304-6311.
- [45] Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome[J]. *Nature*, 1992, **358**(6381):15-16.
- [46] Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, Harris CC. Mutations in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis[J]. *Cancer Res*, 1994, **54**(18):4855-4878.
- [47] Kohara A, Suzuki T, Honma M, Ohwada T, Hayashi M. Mutagenicity of aristolochic acid in the lambda/lacZ transgenic mouse (MutaMouse) [J]. *Mutat Res*, 2002, **515**(1-2):63-72.
- [48] Zhang MZ, Zhang DN. Kidney-nourishing and blood-activating therapy for aristolochic acid nephropathy in 65 cases[J]. *Shanghai J Trad Chin Med*(上海中医药杂志), 2003, **37**(1):30-32.
- [49] Fang J, Chen YP, Yang YF, Zhang W. Antagonistic effect of Yishen Ruanjian San contained serum against aristolochic acid in antagonizing human renal interstitial fibroblasts[J]. *Chin J Integrated Tradit West Med*(中国中西医结合杂志), 2004, **24**(9):811-815.
- [50] Chen JL, Wu YH, Deng YY, Chen YP, Su ZH, Zhang HH. Protective effect of Radix Salviae Miltiorrhizae on the aristolochic acid induced renal tubular epithelial cell injury[J]. *Chin J Integrated Tradit West Nephrol*(中国中西医结合肾病杂志), 2005, **6**(8):445-448.

Molecular cellular toxicology of aristolochic acid and its advances

QIAO Hong-Xiang, LI Lian-Da, WU Li-Mao *

(*Institute of Chinese Herb Medicine, College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310031, China*)

Abstract: Aristolochic acid is a nitrophenanthrene derivative isolated from most of *Aristolochia* species and has been shown to be a nephrotoxicity and a potent carcinogen to both rats and human. Aristolochic acid induced transdifferentiation and apoptosis in human tubular epithelial cells, and induced proliferation anormally through cell cycle progression, and induced mutation in the *ras* and *p53* genes by DNA adduct formation via reductive metabolism, and then induced cancer. In this paper, the underlying cellular and molecular

mechanisms of toxicity of aristolochic acid and methods of attenuation are elucidated.

Key words: aristolochic acid; DNA adduct; toxicology

Foundation item: The project supported by National Key Sciences and Technologies Research and Development Program in the 10th Five Year Plan of China(2004BA721A10)

* Corresponding author.

(本文编辑 乔虹)

新书介绍

《毒理学教程》(教育部十五规划教材,7年制),周宗灿编著。

本书是供7年制医学院校公共卫生和药学专业的本科生和研究生教学用,也是毒理学工作者有用的参考书。为达到系统性、科学性、先进性和实用性的目标,本书对上一版进行了全面修订。毒理学的定义更新为研究环境因子与生物机体的有害交互作用的科学。交互作用分为毒物对机体作用(毒效学)和机体对毒物作用毒动学(毒动学/代谢),并以毒效学和毒动学/代谢为主线展开毒理学的论述。讨论了外源化学物对重要靶器官系统的毒效应,并编写了新的一章——靶器官毒理学概论。本书以专论的方式介绍了毒理学8个方面重要的成果和展望。并与国际接轨,全面反映了有关国际组织获得公认的观点。本书列入4个附录。其中附录2为美国毒理学家资格考试样题,附录3为WHO颁布的全球化学品统一分类和标签制度(GHS)第3部分健康危害;附录4为53个毒理学研究中有实用价值的数据库,包括法规毒理学试验参考值等。

本书由北京大学医学出版社2006年6月出版。双色印刷,共812页,85.60元/本。邮购地址:100083北京市学院路38号北京大学医学部北京大学医学出版社邮购部。电话:(010)82802495