

# AUF1 负向调控 p21 对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响<sup>\*</sup>

范金柱<sup>1</sup> 郭云山<sup>2</sup> 任小宇<sup>1</sup> 从飞<sup>1</sup> 张文韬<sup>1</sup> 田小宁<sup>1</sup> 杨艳<sup>1</sup> 宋涛<sup>1</sup>

(西安交通大学附属红会医院 1. 骨显微修复外科; 2. 脊柱外科, 陕西 西安 710054)

**【摘要】** 目的 探讨 AU 结合因子 1(AUF1)调控 p21 对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响及机制。方法 采用 qRT-PCR 和 Western blot 分别检测 AUF1 在骨肉瘤组织 mRNA 和蛋白表达水平。在骨肉瘤 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后, CCK8 检测细胞增殖情况; qRT-PCR 检测增殖相关分子 PCNA 的表达水平; 流式细胞术检测细胞凋亡情况; Western blot 检测凋亡相关分子 Cleaved-caspase-3 的表达水平。RNA 结合蛋白免疫沉淀实验和 RNA 半衰期实验检测 AUF1 调控 p21 的机制。结果 AUF1 mRNA 和蛋白的表达水平在骨肉瘤组织中明显高于癌旁正常组织 ( $P < 0.05$ ), AUF1 mRNA 的表达水平在骨肉瘤伴转移的患者中明显高于骨肉瘤不伴转移的患者 ( $P < 0.05$ )。在 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1, AUF1 mRNA 和蛋白的表达水平在转染 sh-AUF1 组较 sh-NC 组明显下降 ( $P < 0.05$ )。低表达 AUF1 能够明显抑制 U2OS 和 HOS 细胞的增殖和增殖相关分子 PCNA 的表达 ( $P < 0.05$ ), 促进细胞凋亡和凋亡相关分子 Cleaved-caspase-3 的表达 ( $P < 0.05$ )。低表达 AUF1 能够明显促进 U2OS 和 HOS 细胞中 p21 mRNA 和蛋白的表达水平 ( $P < 0.05$ )。AUF1 蛋白能够与 p21 mRNA 结合, 同时低表达 AUF1 能够明显抑制 p21 mRNA 的降解速度 ( $P < 0.05$ )。结论 AUF1 在骨肉瘤组织和细胞中明显高表达, 低表达 AUF1 能够抑制 p21 mRNA 降解, 增加 p21 蛋白的表达, 进而抑制骨肉瘤细胞增殖和促进细胞凋亡。

**【关键词】** 骨肉瘤; AUF1; p21; 增殖; 凋亡

**【中图分类号】** R329.2<sup>+</sup>5; R738 **【文献标志码】** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-3511.2023.04.003

## The effect of AUF1 negatively regulating p21 on the proliferation and apoptosis of osteosarcoma cells

FAN Jinzhu<sup>1</sup>, GUO Yunshan<sup>2</sup>, REN Xiaoyu<sup>1</sup>, CONG Fei<sup>1</sup>, ZHANG Wentao<sup>1</sup>, TIAN Xiaoning<sup>1</sup>, YANG Yan<sup>1</sup>, SONG Tao<sup>1</sup>

(1. Department of Bone Microsurgery, Honghui Hospital, Xian Jiaotong University, Xian 710054, China;  
2. Department of Spinal Surgery, Honghui Hospital, Xian Jiaotong University, Xian 710054, China)

**【Abstract】** **Objective** To investigate the effect and mechanism of AUF1 regulating p21 on the proliferation and apoptosis of osteosarcoma cells. **Methods** qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression level of AUF1 in osteosarcoma tissues and cells. After transfection of sh-NC and sh-AUF1 into U2OS and HOS cells, CCK8 was used to detect cell proliferation. qRT-PCR was used to detect the expression level of proliferation-related molecule PCNA. The flow cytometry was used to detect cell apoptosis. Western blot was used to detect the expression level of apoptosis-related molecule Cleaved-caspase-3. RIP and RNA half-life experiments were used to measure the mechanism of AUF1 regulating p21. **Results** The expression level of AUF1 mRNA and protein in osteosarcoma tissues and cells was significantly higher than that in normal tissues adjacent to cancer ( $P < 0.05$ ), and the expression level of AUF1 mRNA in osteosarcoma patients with metastasis was significantly higher than in patients without metastasis ( $P < 0.05$ ). U2OS and HOS cells were transfected with sh-NC and sh-AUF1, respectively. The expression levels of AUF1 mRNA and protein in the sh-AUF1 group were significantly lower than those in the sh-NC group ( $P < 0.05$ ). Low expression of AUF1 could significantly inhibit the proliferation of U2OS and HOS cells and the expression of proliferation-related molecule PCNA ( $P < 0.05$ ), and promote cell apoptosis and the expression of apoptosis-related molecule Cleaved-caspase-3 ( $P < 0.05$ ). Low

基金项目: 陕西省 2020 年自然科学基金基础研究计划(2020JM-687); 西安交通大学基本科研业务费(xzy01201923)

通讯作者: 郭云山, 博士, E-mail: 183869503@qq.com

引用本文: 范金柱, 郭云山, 任小宇, 等. AUF1 负向调控 p21 对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响[J]. 西部医学, 2023, 35(4): 480-484, 489. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2023.04.003

expression of AUF1 significantly promoted the expression of p21 mRNA and protein in U2OS and HOS cells ( $P < 0.05$ ). AUF1 protein bound to p21 mRNA ( $P < 0.05$ ), while low expression of AUF1 significantly inhibited the degradation rate of p21 mRNA ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** AUF1 was highly expressed in osteosarcoma tissues and cells. The low expression of AUF1 could inhibit the degradation of p21 mRNA and increase the protein expression of p21, thereby inhibiting the proliferation of osteosarcoma cells and promoting cell apoptosis.

**【Key words】** Osteosarcoma; AUF1; p21; Proliferation; Apoptosis

骨肉瘤是最常见的原发性骨肿瘤,好发于青少年,具有较强的侵袭性,预后差<sup>[1]</sup>。尽管手术和新辅助化疗被广泛应用于骨肉瘤的治疗,但疗效依然欠佳,骨肉瘤患者近 30 年的预后未明显改变<sup>[2]</sup>。因此,充分阐明骨肉瘤的发病机制在骨肉瘤的诊断和治疗中具有重要意义。AU 结合因子 1(AU-rich RNA-binding factor, AUF1)又称异质核糖核蛋白 D,是一种腺苷酸-尿嘧啶富集元件(AU-rich elements, AREs)结合蛋白,位于 4 号染色体,通过 ARE 结合于 3' 非翻译区(UTR)调节许多基因的 mRNA 稳定性<sup>[3-4]</sup>。研究显示 AUF1 促进了乳腺癌细胞的增殖和侵袭能力<sup>[5]</sup>,并与肝癌的大小和恶性程度密切相关,可能导致患者预后较差<sup>[6]</sup>。此外,表达 AUF1 的转基因小鼠更有可能发展为未分化肉瘤<sup>[7]</sup>。近期有研究显示, AUF1 在骨肉瘤中明显高表达,并能调控骨肉瘤血管生成,然而其生物学功能尚未进一步阐释<sup>[8]</sup>。因此,本研究选取我院 40 例骨肉瘤患者检测 AUF1 的表达水平,并在细胞水平验证 AUF1 对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响及机制。

## 1 材料与方 法

1.1 组织标本 选取我院 2018 年 8 月—2019 年 5 月在我院住院治疗的 40 例骨肉瘤患者术中切取骨肉瘤组织和癌旁组织标本。标本来源的所有患者病理诊断明确,男性 22 例,女性 18 例,24 例伴有远处转移,平均年龄( $13.20 \pm 4.90$ )岁。所有患者在术前均未接受过放化疗和生物治疗等,术前签署知情同意书。

1.2 主要试剂 DMEM/F12 培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司,细胞凋亡试剂盒购自上海弗元生物科技有限公司,CCK-8 试剂盒中国上海碧云天生物技术有限公司,qRT-PCR 试剂盒和 Triazol 试剂购自日本 TaKaRa 公司,Cleaved-caspase-3、p21、AUF1 和 GAPDH 抗体购自美国 Sigma-Aldrich 公司,lipo-fectamine 2000 和 Protein A 磁珠购自美国 Invitrogen 公司, RNA 合成抑制剂 Actinomycin D 购自美国 Abcam 公司。

1.3 细胞培养与转染 成骨细胞 NHOst、骨肉瘤 U2OS 和 HOS 细胞购自中国科学院上海细胞库。采用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 细胞培养基在

37 °C、5% CO<sub>2</sub> 平衡湿度培养箱中培养。采用 Lipofectamine 2000 转染 sh-NC、sh-AUF1 至 U2OS 和 HOS 细胞,转染 48 h 后进行后续实验。

1.4 qRT-PCR 检测 mRNA 表达水平 按照 Trizol 试剂说明书提取组织和细胞中总 RNA,采用 Nano-Drop2000 检测 RNA 浓度。逆转录合成 cDNA 后,采用 SYBRGreen 实时荧光定量 PCR 检测 AUF1、PCNA 和 p21 的表达水平。以 GAPDH 作为内参,采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法计算相对表达量。

1.5 CCK-8 方法检测各组细胞活性 检测细胞增殖将转染 48 h 后的 U2OS 和 HOS 细胞接种于 96 孔,每个组 5 个复孔,分别培养 1、2、3 和 4 d,每个培养孔中加入 CCK-8 溶液 10  $\mu$ L,在培养箱中孵育 2 h 后采用酶标仪测量 450 nm 波长 OD 值。

1.6 流式细胞术检测各组细胞蛋白水平 细胞凋亡收集转染 48 h 后的 U2OS 和 HOS 细胞,PBS 清洗两次后重悬,加入 Annexin-V-FITC 和 PI 在室温下避光 10 min,采用流式细胞仪检测各组细胞的凋亡率。

1.7 Western blot 检测蛋白表达水平 蛋白表达水平采用 RIPA 裂解液提取组织和细胞中总的蛋白,使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。SDS-PAGE 电泳分离蛋白后转移至 PVDF 膜,在室温条件下 5% 脱脂奶粉封闭,加入一抗 Cleaved-caspase-3、p21、AUF1 和 GAPDH 后,在 4 °C 下孵育过夜,次日加入二抗孵育 2 h,ECL 显影并检测灰度值。

1.8 RNA 结合蛋白免疫沉淀实验 RIP 裂解液进行 U2OS 和 HOS 细胞裂解,将 AUF1 抗体或 IgG 对照与 Protein A 磁珠孵育,洗去未结合的抗体后 4 °C 下孵育过夜,依次加入蛋白酶 K、DNase I,消化蛋白和 DNA。提取 RNA 后采用 qRT-PCR 检测 p21 mRNA 的表达水平。

1.9 RNA 半衰期检测 将转染 48 h 后的 U2OS 和 HOS 细胞中加入放线菌素 D(5 mg/mL),分别培养 0、1、2、3 和 4 h 后,收集各组细胞,提取 RNA 后采用 qRT-PCR 检测 p21 mRNA 的表达水平。

1.10 统计学分析 采用 SPSS 21.0 进行统计学分析,计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用配对  $t$  检验或两独立样本  $t$  检验,两组间不用时间点的比较

采用重复测量的方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 骨肉瘤组织和细胞中 AUF1 的表达水平

AUF1 mRNA 和蛋白的表达水平在骨肉瘤组织中明显高于癌旁正常组织 ( $P < 0.05$ ), 见图 1A、B; 进一步

分析 AUF1 和骨肉瘤患者临床特征的关系, AUF1 mRNA 的表达水平在骨肉瘤伴转移的患者中明显高于骨肉瘤不伴转移的患者 ( $P < 0.05$ ), 见图 1C。在细胞水平上, AUF1 mRNA 和蛋白在骨肉瘤 U2OS 和 HOS 细胞中的表达水平明显高于成骨细胞 NHOst ( $P < 0.05$ ), 见图 1D~F。

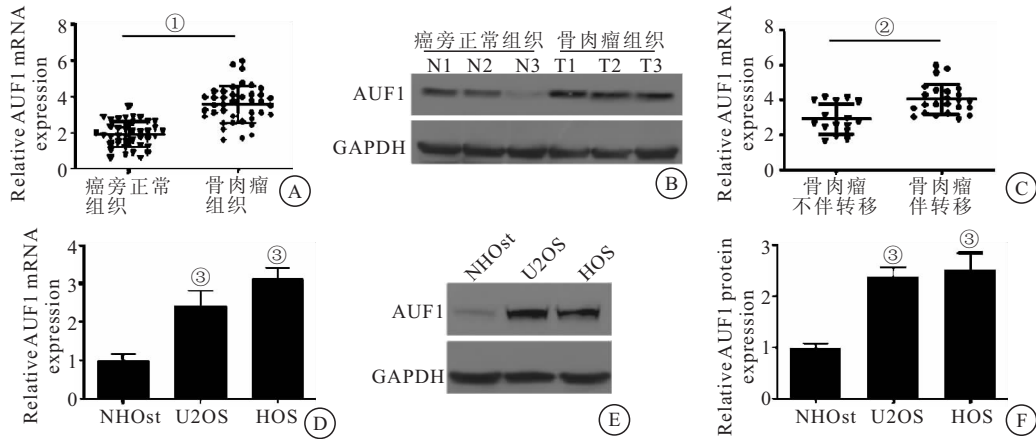


图 1 骨肉瘤组织和细胞中 AUF1 的表达水平

Figure 1 AUF1 expression levels in osteosarcoma tissues and cells

注: A. AUF1 mRNA 在骨肉瘤组织和癌旁正常组织中的表达水平; B. AUF1 蛋白在 3 对骨肉瘤组织和癌旁正常组织中的表达水平; C. AUF1 mRNA 在骨肉瘤伴或不伴转移患者中的表达水平; D. AUF1 mRNA 在成骨细胞 NHOst、骨肉瘤 U2OS 和 HOS 细胞中的表达水平; E 和 F 为 AUF1 蛋白在成骨细胞 NHOst、骨肉瘤 U2OS 和 HOS 细胞中的表达水平。与癌旁正常组织相比, ①  $P < 0.05$ ; 与骨肉瘤不伴转移患者相比, ②  $P < 0.005$ ; 与成骨细胞 NHOst 相比, ③  $P < 0.05$ 。

2.2 低表达 AUF1 抑制骨肉瘤细胞增殖细胞功能验证中, 在 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1, 结果显示 U2OS 和 HOS 细胞中转染 sh-AUF1 后, AUF1 mRNA 和蛋白的表达水平较转染 sh-NC 后明显下降 ( $P < 0.05$ ), 见图 2A~C。低表达

AUF1 能够明显抑制 U2OS 和 HOS 细胞中增殖相关分子 PCNA mRNA 的表达水平 ( $P < 0.05$ ), 见图 2D; 抑制 U2OS 和 HOS 细胞的增殖能力 ( $P < 0.05$ ), 见图 2E、F。

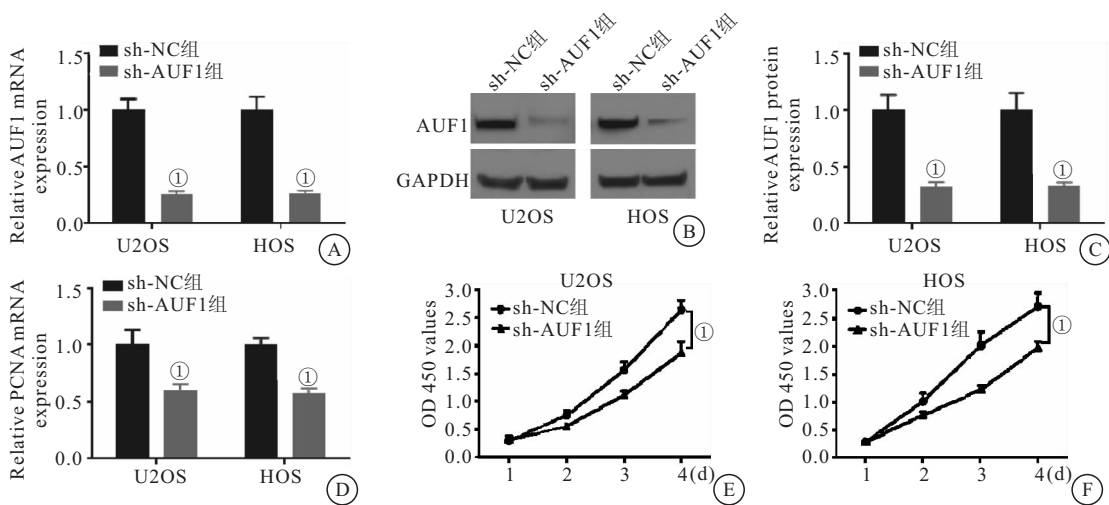


图 2 低表达 AUF1 抑制骨肉瘤细胞增殖

Figure 2 Low expression of AUF1 inhibits osteosarcoma cell proliferation

注: A. U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后 AUF1 mRNA 的表达水平; B 和 C 为 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后 AUF1 蛋白的表达水平; D. U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后 PCNA mRNA 的表达水平; E 和 F 为 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后 CCK8 检测细胞增殖情况。与 sh-NC 组相比, ①  $P < 0.05$ 。

2.3 低表达 AUF1 促进骨肉瘤细胞凋亡 流式结果显示,低表达 AUF1 能够明显促进 U2OS 和 HOS 细胞的凋亡( $P < 0.05$ ),见图 3A~D;同时促进凋亡相关

分子 Cleaved-caspase-3 蛋白的表达水平( $P < 0.05$ ),见图 3E、F。

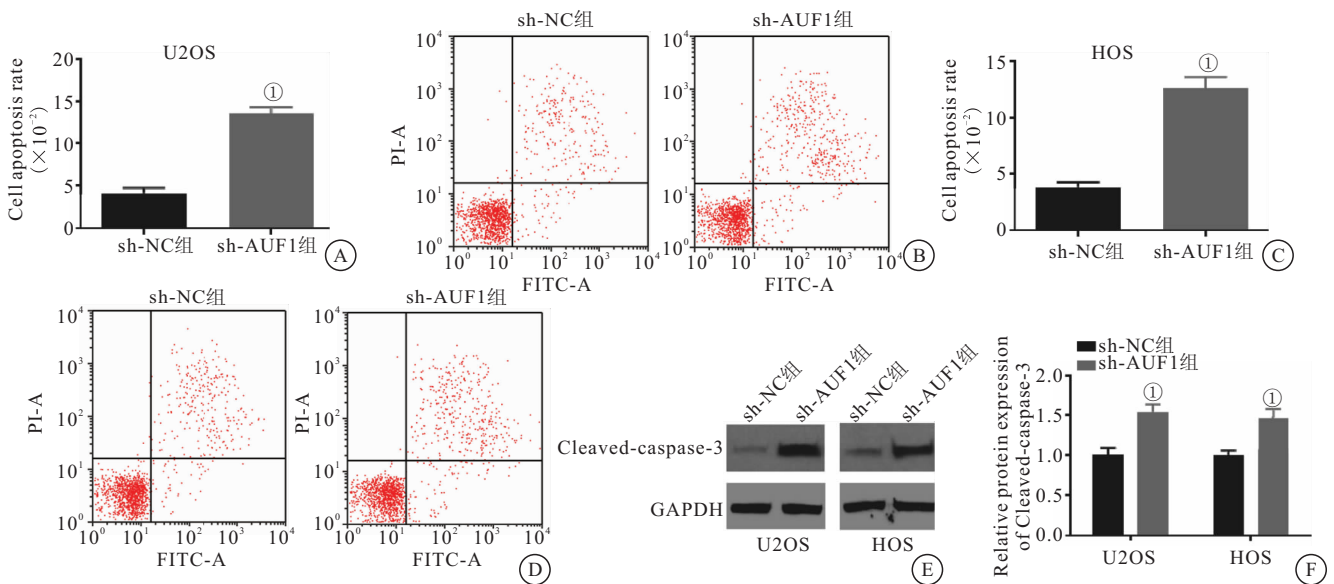


图 3 低表达 AUF1 促进骨肉瘤细胞凋亡

Figure 3 Low expression of AUF1 promotes apoptosis of osteosarcoma cells

注:A~D 为 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后细胞凋亡情况;E 和 F 为 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后 Cleaved-caspase-3 蛋白的表达水平。与 sh-NC 组相比,① $P < 0.05$ 。

2.4 低表达 AUF1 抑制 p21 mRNA 降解 增加 p21 蛋白的表达在机制研究的结果显示,低表达 AUF1 能够明显促进 U2OS 和 HOS 细胞中 p21 mRNA 和蛋白的表达水平( $P < 0.05$ ),图 4A~C; RIP 结果证实 AUF1 蛋白能够和 p21 mRNA 结合( $P < 0.05$ ),见图

4D。同时低表达 AUF1 能够明显抑制 p21 mRNA 的降解速度( $P < 0.05$ ),见图 4E、F。提示低表达 AUF1 能够抑制 p21 mRNA 降解,增加 p21 蛋白的表达,进而参与调控骨肉瘤细胞的增殖和凋亡。

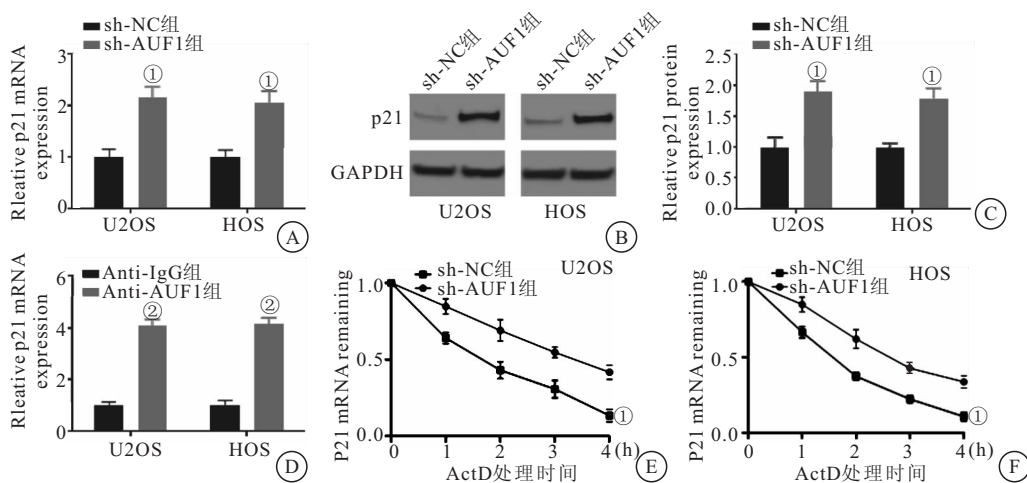


图 4 低表达 AUF1 抑制 p21 mRNA 降解增加 p21 蛋白的表达

Figure 4 Low expression of AUF1 inhibited p21 mRNA degradation and increased p21 protein expression

注:A. U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后 p21 mRNA 的表达水平;B 和 C 为 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后 p21 蛋白的表达水平;D. RIP 检测 AUF1 蛋白和 p21 mRNA 结合;E 和 F 为 U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1 后 RNA 半衰期实验检测 p21 mRNA 的降解速度。与 sh-NC 组相比,① $P < 0.05$ ;与 Anti-IgG 组相比,② $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

AUF1 作为 ARE 结合蛋白,主要定位在细胞核,

参与细胞周期调节蛋白、炎症细胞因子、癌蛋白和凋亡相关蛋白的 mRNA 调控<sup>[9]</sup>。研究显示 AUF1 在多

种肿瘤中高表达,并参与肿瘤的发生、发展,包括甲状腺癌、非小细胞肺癌和结直肠癌等<sup>[10-12]</sup>。Al-Khalaf<sup>[8]</sup>的研究显示,AUF1 能够通过直接结合 VEGF-A 和 HIF-1 mRNA 参与骨肉瘤中血管的生成。本研究结果显示 AUF1 mRNA 和蛋白在骨肉瘤组织和细胞中明显高表达,AUF1 的表达水平与骨肉瘤患者伴转移密切相关,提示 AUF1 能够参与骨肉瘤的进展。

研究显示,AUF1 能够通过下调 ZBTB2 促进甲状腺癌的增殖和侵袭<sup>[10]</sup>,低表达 AUF1 也能够促进结直肠癌细胞的凋亡<sup>[13]</sup>。本研究在细胞生物学功能验证中,U2OS 和 HOS 细胞中分别转染 sh-NC 和 sh-AUF1,结果显示转染 sh-AUF1 后,AUF1 mRNA 和蛋白的表达水平明显下降。同时低表达 AUF1 能够明显抑制 U2OS 和 HOS 细胞的增殖和增殖相关分子 PCNA 的表达,促进细胞凋亡和凋亡相关分子 Cleaved-caspase-3 的表达。提示低表达 AUF1 能够明显抑制骨肉瘤细胞的增殖和促进骨肉瘤细胞的凋亡,AUF1 在骨肉瘤中起促癌作用。

研究显示,AUF1 配体 circPCNX 通过与 p21 mRNA 竞争,增加 p21 表达,从而抑制细胞增殖<sup>[9]</sup>。细胞增殖和细胞凋亡之间的不平衡导致了肿瘤的发生,p21 是一种广泛存在的周期蛋白依赖性激酶抑制剂,在调控细胞周期进程中起重要作用<sup>[14]</sup>。p21 诱导可通过抑制细胞周期蛋白激酶复合物、PCNA、转录因子和辅助活化因子导致肿瘤生长停滞,还能通过非 p53 依赖的途径促进细胞凋亡,p21 的诱导已被证明能够促进癌细胞凋亡和抑制肿瘤的发生<sup>[15]</sup>。研究显示 p21 在多种肿瘤中明显低表达,并能够直接调控肿瘤细胞周期,参与肿瘤的增殖和凋亡<sup>[16-17]</sup>。目前也有多种药物能够通过上调 p21 作为癌症的治疗方式,在前列腺癌、食管癌和神经母细胞瘤等肿瘤的治疗中均能发挥作用<sup>[18-20]</sup>。本研究结果显示,低表达 AUF1 能够明显促进 U2OS 和 HOS 细胞中 p21 mRNA 和蛋白的表达水平,RIP 结果证实 AUF1 蛋白能够和 p21 mRNA 结合,同时低表达 AUF1 能够明显抑制 p21 mRNA 的降解速度。提示低表达 AUF1 能够抑制 p21 mRNA 降解,增加 p21 蛋白的表达。因此,AUF1 可能通过直接靶向调控 p21 参与骨肉瘤的进展。

#### 4 结论

AUF1 在骨肉瘤组织和细胞中明显高表达,低表达 AUF1 能够抑制 p21 mRNA 降解,增加 p21 蛋白的表达,进而抑制骨肉瘤细胞增殖和促进细胞凋亡。AUF1 可能成为骨肉瘤的治疗干预靶点。

#### 【参考文献】

- [1] SADYKOVA L R, NTEKIM A I, MUYANGWA-SEMENOVVA M, *et al.* Epidemiology and Risk Factors of Osteosarcoma [J]. *Cancer Investigation*, 2020, 38(5): 259-269.
- [2] PRUDOWSKY Z D, YUSTEIN J T. Recent Insights into Therapy Resistance in Osteosarcoma[J]. *Cancers*, 2021, 13(1): 83.
- [3] ABBADI D, ANDREWS J J, KATSARA O, *et al.* AUF1 gene transfer increases exercise performance and improves skeletal muscle deficit in adult mice[J]. *Molecular Therapy-Methods & Clinical Development*, 2021, 22: 222-236.
- [4] SÄNGER L, BENDER J, ROSTOWSKI K, *et al.* Alternatively spliced isoforms of AUF1 regulate a miRNA-mRNA interaction differentially through their YGG motif[J]. *RNA Biology*, 2021, 18(6): 843-853.
- [5] AL-ANSARI M M, HENDRAYANI S F, SHEHATA A I, *et al.* p16INK4A Represses the paracrine tumor-promoting effects of breast stromal fibroblasts[J]. *Oncogene*, 2013, 32(18): 2356-2364.
- [6] YANG Y, KANG P, GAO J, *et al.* AU-binding factor 1 expression was correlated with metastasin expression and progression of hepatocellular carcinoma[J]. *Tumor Biology*, 2014, 35(3): 2747-2751.
- [7] GOUBLE A, GRAZIDE S, MEGGETTO F, *et al.* A new player in oncogenesis: AUF1/hnRNPd overexpression leads to tumorigenesis in transgenic mice[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(5): 1489-1495.
- [8] AL-KHALAF H H, ABOUSSEKHRA A. AUF1 positively controls angiogenesis through mRNA stabilization-dependent up-regulation of HIF-1 $\alpha$  and VEGF-A in human osteosarcoma[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(47): 4868-4879.
- [9] TSITSIPATIS D, GRAMMATIKAKIS I, DRISCOLL R K, *et al.* AUF1 ligand circPCNX reduces cell proliferation by competing with p21 mRNA to increase p21 production [J]. *Nucleic Acids Research*, 2021, 49(3): 1631-1646.
- [10] DU X, WANG J, ZHANG D, *et al.* AUF1 Promotes Proliferation and Invasion of Thyroid Cancer via Downregulation of ZBTB2 and Subsequent TRIM58 [J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11: 681736.
- [11] DU Z, NIU S, WANG J, *et al.* SchLAP1 contributes to non-small cell lung cancer cell progression and immune evasion through regulating the AUF1/PD-L1 axis[J]. *Autoimmunity*, 2021, 54(4): 225-233.
- [12] TIAN X Y, LI J, LIU T H, *et al.* The overexpression of AUF1 in colorectal cancer predicts a poor prognosis and promotes cancer progression by activating ERK and AKT pathways [J]. *Cancer Medicine*, 2020, 9(22): 8612-8623.
- [13] DAI W, MU L, CUI Y, *et al.* Berberine Promotes Apoptosis of Colorectal Cancer via Regulation of the Long Non-Coding RNA (lncRNA) Cancer Susceptibility Candidate 2 (CASC2)/AU-Binding Factor 1 (AUF1)/B-Cell CLL/Lymphoma 2 (Bcl-2) Axis[J]. *Medical Science Monitor*, 2019, 25: 730-738.

酸诱导的氧化损伤,进一步加重草酸钙晶体在损伤的肾小管上皮细胞上黏附成石。

#### 【参考文献】

- [1] KHAN A. Prevalence, pathophysiological mechanisms and factors affecting urolithiasis[J]. *Int Urol Nephrol*, 2018, 50(5): 799-806.
- [2] 赵宇,陈忠敏. 草酸钙结石的研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2018, 31(5): 555-560.
- [3] ZHU J, WANG Q, LI C, *et al.* Inhibiting inflammation and modulating oxidative stress in oxalate-induced nephrolithiasis with the Nrf2 activator dimethyl fumarate[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019, 134: 9-22.
- [4] 王敬坤,郝志强,杨恒等. 氧自由基在纳米细菌致肾结石形成过程中的作用[J]. *吉林医学*, 2020, 41(9): 2053-2057.
- [5] KURO-O M. The Klotho proteins in health and disease[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2019, 15(1): 27-44.
- [6] 王喆,姜埃利. Klotho 在急性肾损伤诊断和治疗的研究进展[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2021, 30(2): 159-164.
- [7] 梁雄发,卢小刚,陈东,等. 肾小管上皮细胞损伤促进草酸钙结石形成的研究进展[J]. *中华腔镜泌尿外科杂志(电子版)*, 2018, 12(4): 281-283.
- [8] KHAN S R, CANALES B K, DOMINGUEZ-GUTIERREZ P R. Randall's plaque and calcium oxalate stone formation: role for immunity and inflammation[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2021, 17(6): 417-433.
- [9] ZHU W, ZHAO Z, CHOU F J, *et al.* The Protective Roles of Estrogen Receptor  $\beta$  in Renal Calcium Oxalate Crystal Formation via Reducing the Liver Oxalate Biosynthesis and Renal Oxidative Stress-Mediated Cell Injury[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: 5305014.
- [10] LIM K, GROEN A, MOLOSTVOV G, *et al.*  $\alpha$ -Klotho Expression in Human Tissues[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2015, 100(10): E1308-1318. doi: 10.1210/jc.2015-1800.
- [11] 刘蕾,朱锦明,李亚楠,等. 胎儿生长受限孕妇血清、胎盘组织中 Klotho 及 VEGFR2 蛋白的表达及其临床意义[J]. *实用医学杂志*, 2021, 37(3): 331-335.
- [12] KURO-O M, MATSUMURA Y, AIZAWA H, *et al.* Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing[J]. *Nature*, 1997, 390(6655): 45-51.
- [13] HU M C, SHI M, ZHANG J, *et al.* Renal Production, Uptake, and Handling of Circulating  $\alpha$ Klotho[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2016, 27(1): 79-90.
- [14] WANG Y, KURO-O M, SUN Z. Klotho gene delivery suppresses Nox2 expression and attenuates oxidative stress in rat aortic smooth muscle cells via the cAMP-PKA pathway[J]. *Aging Cell*, 2012, 11(3): 410-417.
- [15] SUGIURA H, YOSHIDA T, SHIOHIRA S, *et al.* Reduced Klotho expression level in kidney aggravates renal interstitial fibrosis[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2012, 302(10): F1252-1264. doi: 10.1152/ajprenal.00294.2011.
- [16] ABHISHEK A, BENITA S, KUMARI M, *et al.* Molecular analysis of oxalate-induced endoplasmic reticulum stress mediated apoptosis in the pathogenesis of kidney stone disease[J]. *J Physiol Biochem*, 2017, 73(4): 561-573.
- [17] 叶涛,叶章群. 炎症和氧化应激反应与肾结石形成的研究进展[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2018, 39(9): 711-713.
- [18] JOSHI S, KHAN S R. Opportunities for future therapeutic interventions for hyperoxaluria: targeting oxidative stress[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2019, 23(5): 379-391.
- [19] CHAIYARIT S, THONGBOONKERD V. Mitochondrial Dysfunction and Kidney Stone Disease[J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 566506. doi: 10.3389/fphys.2020.566506.
- [20] 王成材,郝鹏. 白藜芦醇对乙二醇所致大鼠肾结石形成的影响[J]. *黑龙江医药科学*, 2020, 43(1): 17-19.
- [21] KHAN S R. Reactive oxygen species as the molecular modulators of calcium oxalate kidney stone formation: evidence from clinical and experimental investigations[J]. *J Urol*, 2013, 189(3): 803-811.
- [22] ALBERT A, PAUL E, RAJAKUMAR S, *et al.* Oxidative stress and endoplasmic stress in calcium oxalate stone disease: the chicken or the egg? [J]. *Free Radic Res*, 2020, 54(4): 244-253. doi: 10.1080/10715762.2020.1751835
- [23] DUAN X, KONG Z, MAI X, *et al.* Autophagy inhibition attenuates hyperoxaluria-induced renal tubular oxidative injury and calcium oxalate crystal depositions in the rat kidney[J]. *Redox Biol*, 2018, 16: 414-425. doi: 10.1016/j.redox.2018.03.019
- (收稿日期: 2021-08-06; 修回日期: 2022-11-14; 编辑: 黎仕娟)
- (上接第 484 页)
- [14] SHAMLOO B, USLUER S. p21 in Cancer Research[J]. *Cancers*, 2019, 11(8): 1178.
- [15] MARHENKE S, BUITRAGO-MOLINA L E, ENDIG J, *et al.* p21 promotes sustained liver regeneration and hepatocarcinogenesis in chronic cholestatic liver injury[J]. *Gut*, 2014, 63(9): 1501-1512.
- [16] HERŮDKOVÁ J, PARUCH K, KHIRSARIYA P, *et al.* Chk1 Inhibitor SCH900776 Effectively Potentiates the Cytotoxic Effects of Platinum-Based Chemotherapeutic Drugs in Human Colon Cancer Cells[J]. *Neoplasia*, 2017, 19(10): 830-841.
- [17] DAABOUL H E, DAGHER C, TALEB R I, *et al.* The chemotherapeutic effect of  $\beta$ -2-himachalen-6-ol in chemically induced skin tumorigenesis[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2018, 103: 443-452.
- [18] LING Z, GUAN H, YOU Z, *et al.* Aloperine executes antitumor effects through the induction of apoptosis and cell cycle arrest in prostate cancer in vitro and in vivo[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 2735-2743.
- [19] JIANG J H, PI J, JIN H, *et al.* Oridonin-induced mitochondria-dependent apoptosis in esophageal cancer cells by inhibiting PI3K/AKT/mTOR and Ras/Raf pathways[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2019, 120(3): 3736-3746.
- [20] AL-GHABKARI A, NARENDRAN A. In Vitro Characterization of a Potent p53-MDM2 Inhibitor, RG7112 in Neuroblastoma Cancer Cell Lines[J]. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 2019, 34(4): 252-257.
- (收稿日期: 2022-05-18; 修回日期: 2022-07-14; 编辑: 黎仕娟)