

• 院士论坛 •



王红阳 中国工程院院士, 发展中国家科学院院士, 主任医师, “长江学者奖励计划”特聘教授, 博士生导师, 肿瘤学、分子生物学专家。现任海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院国际合作生物信号转导研究室主任及肿瘤临床医学中心主任。兼任中国女科技工作者协会会长、中国抗癌协会副理事长等。是首届国家创新团队奖带头人和全国创新争先奖章获得者。长期从事感染性疾病、肿瘤的基础与临床研究, 在肿瘤的炎-癌转化、信号网络调控研究及肝胆肿瘤的早期诊断与治疗新策略等领域有重要建树。以通信作者在 *Sci Transl Med*、*Cancer Cell*、*Cell Metab* 等期刊发表论文 300 余篇, 主持研发的 Glypican-3 肝癌诊断试剂已获国家食品药品监督管理总局批复并已应用于临床。

DOI:10.16781/j.0258-879x.2021.01.0001

马兜铃酸肝脏致癌性争议及药物安全性思考

陈淑桢^{1,2}, 董亚萍^{1,2,3}, 文 文^{1,2}, 王红阳^{1,2*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)国家肝癌科学中心, 上海 200438
2. 海军军医大学(第二军医大学)东方肝胆外科医院国际合作生物信号转导研究室, 上海 200438
3. 复旦大学附属肿瘤医院肿瘤研究所, 上海 200032

[摘要] 马兜铃酸是一类硝基菲类羧酸, 广泛分布于马兜铃科植物中, 主要化合物包括马兜铃酸 I、II、III、IV 4 种。长期服用含马兜铃酸药物可导致马兜铃酸肾病, 诱发泌尿系统肿瘤。马兜铃酸的活性代谢产物可与 DNA 形成加合物, 诱导基因发生 A-T 颠换突变, 该突变常被称为马兜铃酸特征性标签。2017 年 *Sci Transl Med* 报道指出, 马兜铃酸及其衍生物与包括中国台湾在内的亚洲地区肝癌发生相关, 认为应避免使用马兜铃酸列为肝癌的一级预防策略。该报道引发了国内外研究者对于马兜铃酸是否具有肝脏致癌性的一系列探讨, 本文即针对这一热点问题进行分析, 主要讨论已有报道中马兜铃酸肝脏致癌性的争议点, 科学客观地评价马兜铃酸与中国人群肝癌发生的关系, 同时探讨含马兜铃酸药物安全使用仍需解决的问题, 提出药物安全使用的一些思考。

[关键词] 马兜铃酸; 肾毒性; 致癌性; 肝肿瘤; 用药安全

[中图分类号] R 965.3; R 735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2021)01-0001-07

Liver carcinogenicity caused by aristolochic acids: controversy and drug safety

CHEN Shu-zhen^{1,2}, DONG Ya-ping^{1,2,3}, WEN Wen^{1,2}, WANG Hong-yang^{1,2*}

1. National Center for Liver Cancer, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200438, China
2. International Cooperation Laboratory on Signal Transduction, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200438, China
3. Cancer Institute, Fudan University Shanghai Cancer Center, Shanghai 200032, China

[Abstract] Aristolochic acids (AAs) is a group of nitrophenanthrene compounds comprised of AA I, AA II, AAIII and AAIV, which are widely distributed in *Aristolochiaceae* plants. Long-term use of drugs containing AAs could lead to aristolochic acid nephropathy (AAN) and urinary tract tumors. Active metabolites of AAs could form AA-DNA adducts with DNA, which subsequently induce characteristic A-T transversion mutation known as AA mutational signature. In 2017,

[收稿日期] 2021-01-10

[接受日期] 2021-01-15

[基金项目] 国家科技重大专项重大新药创制专项(2018ZX09101002, 2018ZX09101002-001-001)。Supported by National Major Science and Technology Project for New Drug Creation and Development (2018ZX09101002, 2018ZX09101002-001-001)。

[作者简介] 陈淑桢, 博士, 助理研究员。E-mail: superellechen@163.com

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81875361, E-mail: hywangk@vip.sina.com

Sci Transl Med reported that AAs and their derivatives were widely implicated in liver cancers in Taiwan, China and throughout Asia, suggesting that additional measure should be taken for primary prevention through avoidance of AAs exposure. This report has triggered a series of worldwide discussion on whether AAs could cause liver cancer. We analyze this research focus in the present paper and mainly discuss the controversial points of the liver carcinogenicity related to AAs in the literature, so as to provide scientific and objective evidence to evaluate the association of AAs exposure with liver cancer development in Chinese population; meanwhile, the questions that need to be solved for the safety use of AAs are also presented, and some thoughts on them were put forward.

[Key words] aristolochic acid; renal toxicity; carcinogenesis; liver neoplasms; drug safety

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(1): 1-7]

马兜铃酸 (aristolochic acid) 是一类植物次生代谢产物, 广泛存在于马兜铃科植物中, 在马兜铃属中常见, 细辛属中也可检出^[1]。马兜铃科植物共有 500 多种, 在亚洲地区被作为传统药物用于治疗多种疾病^[2]。中国地区的马兜铃科植物主要有 4 属共 70 余种, 其中大多数是药用植物, 例如马兜铃、细辛、青木香、广防己、关木通、天仙藤等^[3], 常作为中药材配伍使用, 具有止咳平喘、祛风止痛和清热活血等功效。马兜铃酸为一类硝基菲类羧酸, 已知的马兜铃酸类化合物主要有 4 种, 分别为马兜铃酸 I、II、III、IV, 其结构差异主要是甲氧基或羟基的位置不同, 其中马兜铃酸 I ($C_{17}H_{11}NO_7$) 为主要毒性成分^[4]。

马兜铃酸的肾毒性已成为共识, 早在 20 世纪 60 年代就有将食用含马兜铃酸植物与肾脏毒性相关联的报道^[5]。泌尿系统致癌性的发现使马兜铃酸被列为 I 类致癌物, 多个国家和地区开始禁售禁用含马兜铃酸类药物^[6], 我国也对其使用进行了严格控制和监管^[7-8]。2017 年, *Sci Transl Med* 刊载的一项研究认为马兜铃酸与中国台湾及亚洲其他地区的肝癌发生密切相关^[9], 而此前的临床病例研究和动物实验鲜有马兜铃酸致肝癌的报道^[10-13], 因此, 该研究结果引起了广泛关注。随后, 研究人员开展了多项马兜铃酸与肝癌发生的关联性研究, 国内多个团队也针对马兜铃酸是否为我国肝癌的致病因素展开了探讨。本文从马兜铃酸的肾毒性和致癌性入手, 重点讨论马兜铃酸与肝癌相关的争论点及含马兜铃酸药物研究中尚待解决的问题, 并对中药安全使用展开思考。

1 马兜铃酸的肾毒性和致癌性

1.1 马兜铃酸的肾毒性 20 世纪 20 年代, 在多瑙河流域出现了一种聚集性间质性肾病, 称为巴尔

干半岛地方性肾病 (Balkan endemic nephropathy, BEN) 或多瑙河地区性家族性肾病 (Danubian endemic familial nephropathy, DEFN)。该病具体病因不明, 直到 1957 年, 巴尔干地区的兽医发现马在食用含有马兜铃的草料后出现了进行性肾功能衰竭, 且症状与人类十分相似, 自此将马兜铃科植物与慢性肾功能衰竭关联起来。1969 年, 克罗地亚微生物学家发现巴尔干地区的肾病可能与马兜铃酸中毒密切相关^[5]。20 世纪 90 年代初, Vanherweghem 等^[14]发现 2 例比利时女性患者在服用含马兜铃科植物广防己的草药减肥丸后出现以肾间质纤维化为主的进行性肾损害, 次年又发现 7 例相似的患者, 该研究发表在 *Lancet* 上, 很快引起了全世界对于马兜铃酸相关肾病的密切关注。我国早在 20 世纪 60 年代就有学者报道大剂量使用马兜铃科植物关木通可导致急性肾功能衰竭^[15]; 20 世纪 90 年代末, 黎磊石院士团队再次报道关木通可导致肾功能损伤^[16]; 此外, 国外还报道了多起因大量服用龙胆泻肝丸 (含关木通) 而出现肾功能损伤的病例^[17-18]。

1.2 马兜铃酸的致癌性 马兜铃酸与泌尿系统和胃部肿瘤的发生密切相关^[10-13]。具有强亲电能力的马兜铃酸内酰胺氮离子能与 DNA 碱基环外氨基亲电结合, 生成相应的脱氧腺昔加合物和脱氧鸟昔加合物^[17-18], 进而诱导基因产物 A-T 颠换突变, 形成与马兜铃酸致癌和致突变活性相关的生物标志物, 在国际基因组数据库中这一特征性突变被称为马兜铃酸突变标签^[19]。A-T 颠换突变标签在马兜铃酸导致的尿路上皮癌和膀胱癌中均有报道^[20-22]。大量动物实验也表明, 泌尿系统与胃部是小鼠和大鼠暴露于马兜铃酸后最常观察到肿瘤的部位^[23-25]。

2 马兜铃酸与肝癌的关系

2.1 马兜铃酸肝脏致癌性的报道 2017 年, *Sci*

Transl Med 刊发了 Ng 等^[9]的研究成果,指出马兜铃酸与中国台湾及亚洲其他地区肝癌的发生相关。该研究通过全外显子测序分析发现,我国台湾地区 98 例肝癌患者样本中有 78% 存在马兜铃酸特征性 A>T : T>A 突变,而在我国内地的 89 例肝癌患者样本中有 47% 存在马兜铃酸相关特征性突变,该结论一经报道即引起我国医学界的高度关注。2018 年, *Int J Cancer* 刊发了一项基于我国台湾地区全民医疗数据库的流行病学研究,指出马兜铃酸暴露可能是台湾地区 HBV 相关肝癌发生的重要风险因素^[26]。同时,在丙型肝炎病毒阳性感染的患者中,马兜铃酸也会增加其罹患原发性肝癌的风险^[27]。2019 年,上海交通大学团队研究发现,2 周龄小鼠腹腔注射马兜铃酸 I 可在小鼠 9 个月龄时诱发肝癌,并且可在小鼠肝脏组织中检出马兜铃酸-DNA 加合物;对小鼠肝癌进行基因组测序发现肿瘤中存在典型的 A>T 颠换,并导致 *H-ras* 等癌基因突变;该研究同时检测了 62 例肝细胞癌样本,发现其中 16 例 (25.8%) 存在马兜铃酸-DNA 加合物^[28]。同年,复旦大学附属中山医院樊嘉院士团队的研究表明,在 159 例 HBV 相关肝细胞癌患者中,总体突变图谱显示 A>T 突变比例并无显著优势,其中约 1/3 的样本可检出突变标签 22 (signature 22),但值得注意的是,突变标签 22 并非都为该研究样本的主要突变类型^[29]。此外,一项基于细胞实验的研究报道了马兜铃酸 I 可通过介导上皮间质转化促进肝癌细胞的侵袭、转移^[30]。

2.2 马兜铃酸肝脏致癌性存在争议 马兜铃酸及其衍生物与亚洲地区肝癌发生广泛相关的研究结果^[9]一经报道就引起了广泛的争论,马兜铃酸是否具有直接的肝脏致癌性、是否为中国肝癌患者的致癌原因之一至今仍未有定论。

2.2.1 目前尚无中国内地发布的马兜铃酸导致肝癌的大型队列流行病学证据 马兜铃酸相关化合物在中草药中分布广泛,且在不同生药和方剂中含量差异较大,目前难以实现对其明确定量。同时,我国医疗记录电子化在近年来才逐步实现,对于 2004 年起我国逐步限制使用马兜铃酸药材之前的用药史较难追溯。上述原因导致大规模的马兜铃酸暴露与肝癌相关性的临床流行病学调查难度很大。此外,临床上鲜有确诊为马兜铃酸肾病或马兜铃酸所致泌尿系统肿瘤患者并发原发性肝癌的病例报

道,也不支持含马兜铃酸中药是中国大陆肝癌患者致癌原因的推断。

2.2.2 临床样本中马兜铃酸暴露与肝癌发生直接关联的证据不足 (1) 目前关于马兜铃酸肝脏致癌性的相关报道主要为基因组数据分析,受病例背景、数据质量及分析方法影响较大。2017 年 Ng 等^[9]的研究主要应用自行开发的算法 mSigAct (mutational signature activity, 突变标签活性) 分析了 98 例中国台湾地区及多个数据库中亚洲其他地区肝癌患者的基因组数据,得到马兜铃酸与中国台湾及亚洲其他地区肝癌发生广泛相关的结论。但该研究样本量有限,且使用了大量公共数据库中的资源,数据质量参差不齐。有研究者采用其他算法重新分析该研究中肝癌样本数据,只发现 5 个 (5.7%) 具有马兜铃酸相关特征突变的样本,认为 mSigAct 算法会将 A>T 颠换突变较多但占总突变比例不高的样本判定为马兜铃酸特征突变,导致阳性率偏高;他们还分析了肿瘤基因组图谱 (The Cancer Genome Atlas, TCGA) 数据库中 187 例亚洲肝癌患者的基因组数据,其中马兜铃酸标签检测阳性的病例仅有 19 例^[31]。

(2) 定义马兜铃酸阳性暴露的方法存疑。目前大部分研究将 A>T : T>A 突变或基因标签 22 作为马兜铃酸的特征性突变,然而,任何可以加合到 DNA 腺嘌呤上并导致 A>T 颠换突变的致癌物都会形成该突变特征,如氯乙烯导致的肝血管肉瘤和肝细胞癌样本中也可检测到 A>T 颠换突变^[32]。马兜铃酸-DNA 加合物为马兜铃酸暴露更加直观的检测指标,但由于高纯度的标准品较难获得、检测的精确度有待提高等问题,尚未实现在大样本病例中的检测。

(3) 针对中国肝癌患者样本的研究无法排除 HBV 感染这一重要病因对基因突变的干扰。2019 年在第 22 届全国临床肿瘤学大会上公布的中国原发性肝癌临床登记调查中期报告显示,中国肝癌的主要病因仍为 HBV 慢性感染,占比高达 92.05%。因此研究中国地区肝癌发生的高危因素时,必须考虑慢性乙型肝炎这一高权重影响因素,以准确反映不同国家和地区肝癌的病因学特点。

2.2.3 动物实验中支持马兜铃酸对肝脏具有直接致癌性的证据有限 大量既往研究表明,马兜铃酸小剂量长期灌胃主要导致小鼠前胃肿瘤,大剂量给药则以诱导肾功能衰竭或泌尿系统肿瘤为主,并未

发现肝脏是马兜铃酸致癌的主要靶器官,表明马兜铃酸系统性给药导致的毒性可能具有一定的器官特异性^[10-13]。2019年上海交通大学团队的研究使用2周龄小鼠建立腹腔注射马兜铃酸动物模型,发现小鼠9个月龄后可观察到肝脏肿瘤的形成^[28]。但需要注意的是,该模型中2周龄小鼠处于肝脏细胞快速增殖期,DNA的快速复制利于突变的形成;且小鼠出生7~15 d具有解毒功能的肝脏酶系活性尚未达到成体水平,对致癌物具有高易感性^[33]。另有研究比较了不同性别和年龄小鼠肝脏代谢谱的差异,表明2周龄和8周龄小鼠肝脏I相和II相代谢酶存在显著差异,内源性代谢物质含量也不同^[34]。因此,在幼鼠模型中评估马兜铃酸的致癌性具有一定偏倚,其在成年鼠中是否具有致肝癌作用仍有待证实。此外,在无HBV感染的动物模型中评估马兜铃酸系统性给药的致肝癌风险无法模拟人群中的真实情况。

本研究团队针对以上争论点已展开大样本的人群流行病学调查和多中心肝癌样本全基因组突变分析,期望确定中国大陆肝癌患者中A>T:T>A突变比例及其与HBV感染的相关性。本研究团队与中国科学院上海药物研究所团队合作,正对检测组织中马兜铃酸I-DNA加合物的液相色谱-串联质谱(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)方法进行改进,以用于人组织样本中马兜铃酸I-DNA加合物的痕量检测^[35],将用于评价临床患者组织中马兜铃酸I-DNA加合物的水平。同时,我们也已开展马兜铃酸长期系统性给药动物实验,在正常基因型和HBV转基因成年及幼年小鼠中观察小剂量马兜铃酸长期暴露对肝脏的毒性和成瘤作用,并全面考察其对各脏器的影响。这些结果将为马兜铃酸是否可直接导致肝细胞癌提供证据。

3 含马兜铃酸药物研究中尚待解决的问题

2002年,国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)将马兜铃酸列为I类致癌物。英国、加拿大、德国、澳大利亚等国陆续禁止了含马兜铃酸草药的进口和使用^[6]。我国政府相关部门和医药界也非常关注马兜铃酸的毒性作用,台湾和香港分别于2003年和2004年禁止了含马兜铃酸类药物的使用^[7],内地也于2004年开始逐步取消含马兜铃酸药物的使用^[8],并对仍记录

在《中华人民共和国药典》中的药物进行了马兜铃酸含量限制。但因临床需求,仍有一些含马兜铃酸的药材允许配伍使用。2017年10月30日,国家食品药品监督管理总局发布了含马兜铃属药材且已上市中成药品种名单,其中共有47种中成药,可能含有马兜铃酸的马兜铃科药材中仍有24种在配伍使用^[36]。含马兜铃酸中草药的安全使用还需解决以下几个问题。

3.1 马兜铃酸毒性预警标志物的鉴定 已有研究表明服用含马兜铃酸的药物后可在肾脏组织中检测到马兜铃酸-DNA加合物,且加合物可以稳定存在数年^[18]。目前,马兜铃酸-DNA加合物可以通过LC-MS/MS、液相色谱-电喷雾质谱(liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry, LC-ESI-MS)、超高效液相色谱-串联质谱(ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)、³²P后标记和HPLC荧光等方法进行检测^[37-38],可以在10⁹数量级的核苷酸中检测出马兜铃酸-DNA加合物^[39]。然而,目前的研究并没有明确的马兜铃酸毒性阈值,无法通过马兜铃酸-DNA加合物定量预警潜在的器官毒性或成瘤风险。虽然大量动物实验证实了马兜铃酸-DNA加合物与马兜铃酸的暴露具有一定的量效关系,但由于人体马兜铃酸的摄入量难以量化,在人的肾脏或其他组织样本中尚未建立这种正相关的量效关系。同时,正常情况下,人体肝脏中马兜铃酸-DNA加合物含量极低,对检测方法灵敏度要求较高,也容易出现假阳性结果。此外,肝脏代谢酶系的个体差异也会使定量马兜铃酸-DNA加合物的毒性阈值更加困难。因此,更加系统地研究马兜铃酸的代谢过程和致毒机制、鉴定其毒性标志物、明确其毒性阈值是实现马兜铃酸毒性作用早期预警的关键。

3.2 含马兜铃酸药材的安全剂量问题 马兜铃酸类似物包括20多种化合物,广泛地分布在马兜铃属和细辛属植物^[40]中。不同的马兜铃科植物所含马兜铃酸类似物的种类及含量均不同^[41]。有研究对北马兜铃的外果皮、内果皮、隔膜和种子等进行分析,鉴定出10种马兜铃酸类似物,并且不同部位含有的马兜铃酸类似物成分也存在较大差异^[42]。目前尚有几十种含马兜铃属药材的中成药在市场销售,已有对含马兜铃属药材的复方制剂进行马兜铃

酸类似物检测的研究,但是目前的研究大多数只局限在对马兜铃酸 I 的限量检测^[43-44],对其他众多衍生物类化合物尚缺乏有效的系统风险评估。因此,开展含马兜铃酸中药材及其相关中成药中马兜铃酸及马兜铃酸内酰胺类成分的含量测定十分必要。

3.3 马兜铃酸联合减毒药物的开发 由于含马兜铃酸药材在药物中配伍使用的需求,其减毒药物的开发也已展开。将含马兜铃酸的中药与某些单味中药或复方药剂配伍使用可达到减毒的效果,例如,黄芪^[45]、牡丹皮^[46]、生地黄^[47]、竹叶^[48]、黄连^[49]等单味中药与含马兜铃酸的药材共煎可以显著降低马兜铃酸的溶出率;冬虫夏草、丹参等中药则可减轻马兜铃酸引起的肾小管损伤,抑制肾小管纤维化^[50-52];炮附子联合干姜与关木通配伍使用时药物中马兜铃酸 I 水平显著降低,同时可减轻大鼠急性肾功能损伤^[53];传统复方导赤散配伍使用后可降低关木通煎液中马兜铃酸 I 的溶出量^[54]。另有研究通过加强马兜铃酸主要代谢酶的解毒作用以减轻其毒性^[55]。例如,在小鼠体内诱导 P4501A1/2 表达后,马兜铃酸 I 的清除率显著提高;且 P4501A1/2 诱导剂预处理可保护小鼠免于马兜铃酸 I 引起的肾功能衰竭^[13]。双香豆素预处理可抑制小鼠肾脏醌氧化还原酶 1 (NADPH quinone oxidoreductase 1, NQO1) 活性,减轻马兜铃酸 I 引起的小鼠肾损伤,提高存活率^[12]。然而,以上研究均从单一药物的减毒作用展开,筛选效率较低,且实验体系各不相同,较难进行数据的有效整合利用。在今后的研究中如何借助高通量的药物筛选平台进行减毒药物的高效快速筛选,并通过标准化流程确立最合适的药物配伍是值得关注的一个方向。同时,药物重定向,尝试老药新用,扩大已知药物的适应证也是减毒药物开发的一个新思路^[56]。

4 关于中药安全使用的思考

我国是中药消费大国,近年来随着我国中医药发展战略的实施,中医药发展迎来了新的历史机遇,一大批源自中医药的研究成果在世界范围内获得广泛认可。但同时近年来中药不良反应/事件频频发生,增加了部分民众对中药安全性的疑虑和担忧。目前中药标准化安全性研究还相对滞后,服用中药患者的健康档案等基础性工作也不够完善,严重影响了中医药事业的健康可持续发展。将中药使

用纳入电子档案,做到药物使用可追溯,是保障中药安全使用的重要一步。随着生物学技术的进步和大数据时代的到来,利用组学技术、大数据信息对传统中药、道地药材和中药复方进行组分确定,可进一步完善质量控制与药效评价体系;将先进的制药技术用于中药制剂,可进一步加强药物天然活性成分的鉴定和分离;同时,建立和完善现代中药制剂的研究平台,培养相关人才和团队,展开作用机制研究,揭示方剂功效成分与其生物效应相关性,才能保障中药安全有效的使用,服务大众健康,并加快国际化的进程。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:化学工业出版社,2005:159.
- [2] AGRAWAL P, LADDHA K. Development of validated high-performance thin layer chromatography for quantification of aristolochic acid in different species of the *Aristolochiaceae* family[J]. *J Food Drug Anal*, 2017, 25: 425-429.
- [3] 中国科学院植物志委员会. 中国植物志:第二十四卷[M]. 北京:科学出版社,1988:159-160.
- [4] ZHANG H C, LIU R, AN Z P, LI H, ZHANG R, ZHOU F. Aristolactam-type alkaloids and aristolochic acids from *Aristolochia moupinensis* and *Aristolochia cathcartii*[J]. *Biochem Syst Ecol*, 2016, 65: 198-201.
- [5] IVIĆ M. [Etiology of endemic nephropathy][J]. *Lijec Vjesn*, 1969, 91: 1273-1281.
- [6] MARTENA M J, VAN DER WIELEN J C, VAN DE LAAK L F, KONINGS E J, DE GROOT H N, RIETJENS I M. Enforcement of the ban on aristolochic acids in Chinese traditional herbal preparations on the Dutch market[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 389: 263-275.
- [7] 梁爱华,高月,张伯礼. 含马兜铃酸中药的安全性问题及对策[J]. *中国食品药品监管*, 2017, 11: 17-20.
- [8] 高月,肖小河,朱晓新,梁爱华,张伯礼. 马兜铃酸的毒性研究及思考[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42: 4049-4053.
- [9] NG A W T, POON S L, HUANG M N, LIM J Q, BOTT A, YU W, et al. Aristolochic acids and their derivatives are widely implicated in liver cancers in Taiwan and throughout Asia[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2017, 9: eaan6446. DOI: 10.1126/scitranslmed.aan6446.
- [10] MENG S U. Tumour induction in mice following exposure to aristolochic acid[J]. *Arch Toxicol*, 1988, 61: 504-505.
- [11] MENG S U, LANG W, POCH J A. The carcinogenic action of aristolochic acid in rats[J]. *Arch Toxicol*, 1982, 51: 107-119.

- [12] CHEN M, GONG L, QI X, XING G, LUAN Y, WU Y, et al. Inhibition of renal NQO1 activity by dicoumarol suppresses nitroreduction of aristolochic acid I and attenuates its nephrotoxicity[J]. *Toxicol Sci*, 2011, 122: 288-296.
- [13] XUE X, XIAO Y, ZHU H, WANG H, LIU Y, XIE T, et al. Induction of P450 1A by 3-methylcholanthrene protects mice from aristolochic acid- I -induced acute renal injury[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2008, 23: 3074-3081.
- [14] VANHERWEGHEM J L, 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: 387-391.
- [15] 吴松寒. 木通所致急性肾功能衰竭二例报告[J]. *江苏中医*, 1964(10): 12-13.
- [16] 尹广, 胡伟新, 黎磊石. 木通中毒的肾脏损害[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 1999, 8: 10-14, 99.
- [17] SCHMEISER H H, BIELER C A, WIESSLER M, VAN YPERSELE DE STRIHOUC, COSYNS J P. Detection of DNA adducts formed by aristolochic acid in renal tissue from patients with Chinese herbs nephropathy[J]. *Cancer Res*, 1996, 56: 2025-2028.
- [18] NORTIER J L, MARTINEZ M C, SCHMEISER H H, ARLT V M, BIELER C A, PETEIN M, et al. Urothelial carcinoma associated with the use of a Chinese herb (*Aristolochia fangchi*)[J]. *N Engl J Med*, 2000, 342: 1686-1692.
- [19] 马红, 黄超, 王方园, 王亦男, 刘淑清, 杨凌. 马兜铃酸致癌作用的分子毒理学关键点[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2019, 21: 1287-1294.
- [20] JELAKOVIĆ B, KARANOVIC S, VUKOVIĆ-LELA I, MILLER F, EDWARDS K L, NIKOLIĆ J, et al. Aristolactam-DNA adducts are a biomarker of environmental exposure to aristolochic acid[J]. *Kidney Int*, 2012, 81: 559-567.
- [21] POON S L, HUANG M N, CHOO Y, MCPHERSON J R, YU W, HENG H L, et al. Mutation signatures implicate aristolochic acid in bladder cancer development[J/OL]. *Genome Med*, 2015, 7: 38. DOI: 10.1186/s13073-015-0161-3.
- [22] CHEN C H, DICKMAN K G, MORIYA M, ZAVADIL J, SIDORENKO V S, EDWARDS K L, et al. Aristolochic acid-associated urothelial cancer in Taiwan[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 8241-8246.
- [23] WANG L, LI C, TIAN J, LIU J, ZHAO Y, YI Y, et al. Genome-wide transcriptional analysis of *Aristolochia manshuriensis* induced gastric carcinoma[J]. *Pharm Biol*, 2020, 58: 98-106.
- [24] WANG L, DING X, LI C, ZHAO Y, YU C, YI Y, et al. Oral administration of *Aristolochia manshuriensis* Kom in rats induces tumors in multiple organs[J]. *J Ethnopharmacol*, 2018, 225: 81-89.
- [25] CUI Y, HAN J, REN J, CHEN H, XU B, SONG N, et al. Untargeted LC-MS-based metabolomics revealed that aristolochic acid I induces testicular toxicity by inhibiting amino acids metabolism, glucose metabolism, β -oxidation of fatty acids and the TCA cycle in male mice[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, 373: 26-38.
- [26] CHEN C J, YANG Y H, LIN M H, LEE C P, TSAN Y T, LAI M N, et al; Health Data Analysis in Taiwan (hDATA) Research Group. Herbal medicine containing aristolochic acid and the risk of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis B virus infection[J]. *Int J Cancer*, 2018, 143: 1578-1587.
- [27] CHEN C J, YANG Y H, LIN M H, LEE C P, TSAN Y T, LAI M N, et al. Herbal medicine containing aristolochic acid and the risk of primary liver cancer in patients with hepatitis C virus infection[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2019, 28: 1876-1883.
- [28] LU Z N, LUO Q, ZHAO L N, SHI Y, WANG N, WANG L, et al. The mutational features of aristolochic acid-induced mouse and human liver cancers[J]. *Hepatology*, 2020, 71: 929-942.
- [29] GAO Q, ZHU H, DONG L, SHI W, CHEN R, SONG Z, et al. Integrated proteogenomic characterization of HBV-related hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Cell*, 2019, 179: 561-577.e22. DOI: 10.1016/j.cell.2019.08.052.
- [30] LI Y, ZHU S, XUE M, JING Y, LIU X, CAI D, et al. Aristolochic acid I promotes the invasion and migration of hepatocellular carcinoma cells by activating the C3a/C3aR complement system[J/OL]. *Toxicol Lett*, 2020: S0378-4274(20)30410-0. DOI: 10.1016/j.toxlet.2020.08.014.
- [31] JI X, FENG G, CHEN G, SHI T. Lack of correlation between aristolochic acid exposure and hepatocellular carcinoma[J]. *Sci China Life Sci*, 2018, 61: 727-728.
- [32] HOLLSTEIN M, MARION M J, LEHMAN T, WELSH J, HARRIS C C, MARTEL-PLANCHE G, et al. *p53* mutations at A:T base pairs in angiosarcomas of vinyl chloride-exposed factory workers[J]. *Carcinogenesis*, 1994, 15: 1-3.
- [33] VESSELINOVITCH S D. Infant mouse as a sensitive bioassay system for carcinogenicity of N-nitroso compounds[J]. *IARC Sci Publ*, 1980(31): 645-655.
- [34] 李海山, 姬海南, 宋乃宁, 李斌, 隋峰, 李鹏飞, 等. 不同种间、性别和年龄小鼠肝脏代谢谱的差异研究[J]. *中国药物警戒*, 2020, 17: 6-16.
- [35] WANG X, SONG J, DONG Y, HU L, CHEN X, YANG F, et al. Qualitative and quantitative bioanalytical methods

- validation of aristolochic acid DNA adducts and application in human formalin-fixed paraffin-embedded hepatocellular carcinoma tissues[J/OL]. bioRxiv, 2020: 2020.08.20.260331. DOI: 10.1101/2020.08.20.260331.
- [36] 贲凯祎, 徐志超, 宋经元. 含马兜铃酸中药及其检测研究进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 238-249.
- [37] CHAN W, YUE H, POON W T, CHAN Y W, SCHMITZ O J, KWONG D W, et al. Quantification of aristolochic acid-derived DNA adducts in rat kidney and liver by using liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. Mutat Res, 2008, 646(1/2): 17-24.
- [38] GUO L, WU H, YUE H, LIN S, LAI Y, CAI Z. A novel and specific method for the determination of aristolochic acid-derived DNA adducts in exfoliated urothelial cells by using ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2011, 879: 153-158.
- [39] ARLT V M, PFOHL-LESZKOWICZ A, COSYNS J, SCHMEISER H H. Analyses of DNA adducts formed by ochratoxin A and aristolochic acid in patients with Chinese herbs nephropathy[J]. Mutat Res, 2001, 494(1/2): 143-150.
- [40] 刘静, 郭日新, 戴忠, 马双成. 马兜铃酸类成分研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21: 1280-1286.
- [41] KONG D Q, GAO H Y, LI X, LU J C, YUAN D. Rapid determination of eight aristolochic acid analogues in five *Aristolochiaceae* plants by ultra-high performance liquid chromatography quadrupole/time-of-flight mass spectrometry[J]. J Chin Pharmaceut Sci, 2015, 24: 364-375.
- [42] MAO W W, GAO W, LIANG Z T, LI P, ZHAO Z Z, LI H J. Characterization and quantitation of aristolochic acid analogs in different parts of *Aristolochiae Fructus*, using UHPLC-Q/TOF-MS and UHPLC-QqQ-MS[J]. Chin J Nat Med, 2017, 15: 392-400.
- [43] 甘盛, 韩婷, 刘华钢, 施晓光, 吴超权. 液相色谱-质谱串联法测定清血内消丸中马兜铃酸A含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19: 163-167.
- [44] 张俐, 王玉. LC-MS法检测消风止痒颗粒中马兜铃酸A[J]. 药物分析杂志, 2012, 32: 78-81.
- [45] 梁琦, 张艳霞, 许刚, 倪诚, 谢鸣. 黄芩对广防己中马兜铃酸与粉防己中粉防己碱含量的影响研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18: 111-114.
- [46] 朱杰华. 丹皮与关木通配伍减毒作用研究[J]. 中国实用医药, 2012, 7: 164.
- [47] 冯振宇, 闫润红, 李艳彦, 王永辉, 刘必旺, 马艳苗. 生地对抗防己减毒作用最佳配伍比例的研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2009, 4: 251-253.
- [48] 王奇君. 竹叶对关木通及青木香中马兜铃酸A煎出量影响的实验研究[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2009.
- [49] 吴建红, 张智华, 吕银娟, 孙康, 李汉鑫. 黄连配伍降低马兜铃酸A含量的研究[J]. 湖北中医药大学学报, 2012, 14: 39-42.
- [50] 刘茂东, 李英, 迟雁青, 王保兴, 顾连方. 冬虫夏草对马兜铃酸肾病保护作用的研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2007, 8: 158-159.
- [51] 王巍巍, 张金元, 程劲. 丹参对马兜铃酸肾损害大鼠肾组织病理学改变及ACE、ACE2表达的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2009, 10: 109-112.
- [52] 王巍巍, 张金元, 韩国锋, 黄健. 丹参对慢性马兜铃酸肾病大鼠肾损害的保护作用[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41: 69-71.
- [53] 张月婵, 王建春, 潘金火, 张婧, 杜佳, 王雯意. 基于“扶阳补虚”理论探讨炮附子、干姜配伍关木通的减毒存效机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23: 7-12.
- [54] 李春香, 丁里玉, 李国川, 窦玉红, 郝蕾. 配伍减低关木通中马兜铃酸A溶出量的研究[J]. 河北医科大学学报, 2006, 27: 354-357.
- [55] 马虹莹, 吴敬敬, 葛广波, 杨凌. 马兜铃酸体内代谢及致毒过程研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21: 182-189.
- [56] PUSHPAKOM S, IORIO F, EYERS P A, ESCOTT K J, HOPPER S, WELLS A, et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations[J]. Nat Rev Drug Discov, 2019, 18: 41-58.

[本文编辑] 孙岩