

研究论文

人脐带间充质干细胞缓解马兜铃酸诱导小鼠肾纤维化的作用及机制

余熠杭 张德迎* 胡东 周宇 刘博 向涵 龙春兰
沈炼桔 刘星 林涛 何大维 魏光辉*

(重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科, 儿童泌尿生殖发育与组织工程重点实验室, 儿童发育疾病研究教育部重点实验室, 儿童发育重大疾病国家国际科技合作基地, 国家儿童健康与疾病临床医学研究中心(重庆), 儿科学重庆市重点实验室, 重庆 400014)

摘要 该实验探究了人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell, huc-MSC)缓解马兜铃酸(aristolochic acid, AA)诱导小鼠肾纤维化的作用及可能机制。我们将huc-MSC经尾静脉注射干预AA诱导的肾纤维化小鼠模型。HE、PAS和Masson染色观察肾脏形态变化, Western blot和免疫组化检测上皮间质转化相关标志物E-cadherin、N-cadherin和TGF- β /Smad信号通路蛋白TGF- β 1和p-Smad2/3表达水平。组织形态学染色结果显示, AA可诱导小鼠出现肾小管扩张、结构破坏, 肾间质区胶原纤维沉积, 呈纤维化改变; Western blot和免疫组化结果显示, 其E-cadherin表达降低, N-cadherin、TGF- β 1及p-Smad2/3表达增高。huc-MSC干预后, 肾脏形态明显改善, 胶原纤维沉积减少, E-cadherin表达增高, N-cadherin、TGF- β 1及p-Smad2/3表达受到降低。研究结果表明, huc-MSC能够通过抑制TGF- β /Smad信号通路减轻肾脏上皮间质转化, 从而缓解马兜铃酸诱导的小鼠肾纤维化。

关键词 人脐带间充质干细胞; 肾纤维化; 马兜铃酸; 上皮间质转化; TGF- β /Smad信号通路

Effects of Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells on Aristolochic Acid-induced Renal Fibrosis in Mice and Its Mechanism

YU Yihang, ZHANG Deying*, HU Dong, ZHOU Yu, LIU Bo, XIANG Han, LONG Chunlan, SHEN Lianju,
LIU Xing, LIN Tao, HE Dawei, WEI Guanghui*

(Department of Urology, Children's Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing Key Laboratory of Children Urogenital Department and Tissue Engineering, Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders, China International Science and Technology Cooperation base of Child Development and Critical Disorders, National Clinical Research Center for Child Health and Disorders (Chongqing), Chongqing Key Laboratory of Pediatrics, Chongqing 400014, China)

Abstract In this study, we investigated the effect of huc-MSC (human umbilical cord mesenchymal stem

收稿日期: 2019-06-06 接受日期: 2019-09-03

国家自然科学基金(批准号: 81800618)、重庆市留学人员回国创业创新支持计划(批准号: cx2017015)和重庆市中青年医学高端后备人才培养计划(批准号: 渝卫办发〔2018〕230号)资助的课题

*通讯作者。Tel: 023-63633264, E-mail: zdy@hospital.cqmu.edu.cn; E-mail: u806806@cqmu.edu.cn

Received: June 6, 2019 Accepted: September 3, 2019

This work was supported by the Natural Science Foundation of China (Grant No.81800618), the Entrepreneurship and Innovation Support Program for Returned Overseas Chinese Scholars, Chongqing (Grant No.cx2017015) and the High-Level Medical Reserved Personnel Training Project of Chongqing (Grant No.YWBF (2018) 230)

*Corresponding authors. Tel: +86-23-63633264, E-mail: zdy@hospital.cqmu.edu.cn; E-mail: u806806@cqmu.edu.cn

网络出版时间: 2019-12-11 11:34:07 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20191211.1133.042.html>

cell) on AA (aristolochic acid)-induced renal fibrosis in mice and its possible mechanism. We injected huc-MSC into the mouse model of renal fibrosis induced by AA via tail vein injection. HE, PAS and Masson staining were used to observe the renal morphology. Western blot and immunohistochemistry were used to examine the expression of EMT (epithelial to mesenchymal transition) markers including E-cadherin, N-cadherin and proteins of TGF- β /Smad signaling pathway. The results showed that renal fibrosis could be induced by aristolochic acid in mice, which characterized by tubular dilatation and structural destruction, visible collagen fiber deposition in the renal interstitial region. The down-regulation of E-cadherin and up-regulation of the N-cadherin, TGF- β 1 and p-Smad2/3 were also detected in the kidney of aristolochic acid-induced fibrotic mice by Western blot and immunohistochemistry. After the intervention of huc-MSC, renal fibrosis was significantly alleviated with the decrease of deposition of collagen fibers. Besides, the expression of E-cadherin was up-regulated, while the expression of N-cadherin and TGF- β 1, p-Smad2/3 were reduced. We concluded that renal fibrosis in mice could be induced by aristolochic acid, and huc-MSC could interfere with the process of epithelial to mesenchymal transition by inhibiting TGF- β /Smad signaling pathway and alleviating aristolochic acid-induced renal fibrosis in mice.

Keywords human umbilical cord mesenchymal stem cell; renal fibrosis; aristolochic acid; epithelial to mesenchymal transition; TGF- β /Smad signaling pathways

目前我国慢性肾病(chronic kidney disease, CKD)发病率为10.8%, 预计患病人数高达1亿人以上^[1], 是一种严重影响个体健康和社会经济的公共卫生问题。慢性肾病是指肾脏结构、功能持续改变, 进而对人体健康造成损害的一类综合征^[2]。肾纤维化目前被认为是所有慢性肾病的特征性改变, 并且是预测疾病进展的独立因素^[3-4]。在纤维化的过程中, 可出现肾小球硬化、肾小管萎缩、成纤维细胞、炎症细胞以及胶原蛋白的积聚和管周毛细血管的丢失等现象^[5]。慢性肾病最终可进展成为终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD), 尽管当前的替代治疗能起到一定的作用, 却也面临着高发病率、高死亡率以及对病人巨大经济负担等弊端^[6-7]。因此, 找出新的预防或治疗干预手段面临巨大的挑战。

近年来文献报道, 中草药马兜铃酸(aristolochic acid, AA)摄入可能引发马兜铃酸肾病, 其表现为进行性的间质性肾炎, 并出现急进性的肾功能持续恶化和肾脏瘢痕形成, 最终可导致ESRD^[8]。部分研究者利用AA成功构建出小鼠肾纤维化模型^[9-10], 发现该动物模型肾脏病理特征与慢性肾病患者类似, 表现为肾小管-间质的广泛纤维化伴萎缩^[8,11], 因此本研究将其作为肾纤维化的模型。

间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)是一类在体外具有自我更新能力和多向分化潜能的细胞, 此外, 还具有分泌生长因子和免疫调控作用^[12]。相关研究表明, MSC可通过旁分泌的方式参与机体

炎症调控、免疫激活等过程, 从而发挥抗炎、抗纤维化以及促血管再生的作用^[13]。目前, MSC在泌尿系统中已经进入临床试验治疗, 但主要应用于急性肾病和肾移植^[14-15], 而对于慢性肾病而言, 目前的研究仍局限于临床前阶段, 且相关基础研究的报道较少, 相关机制也有待于进一步探讨。因此, 本研究选用AA腹腔注射建立小鼠肾纤维化模型, 并通过尾静脉注射人脐带间充质干细胞(human umbilical cord mesenchymal stem cell, huc-MSC)进行干预, 研究huc-MSC对慢性肾纤维化的作用, 初步探讨其可能机制, 为慢性肾纤维化的干细胞治疗提供理论基础和实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物和细胞 8周龄C57BL/6雄性小鼠, 购自重庆医科大学实验动物中心(许可证号SCXK(渝)2017-0001), huc-MSC由重庆医科大学附属儿童医院干细胞中心实验室分离并鉴定, 以上实验通过重庆医科大学附属儿童医院伦理委员会许可。

1.1.2 主要试剂及仪器 马兜铃酸钠、DMEM/F12培养基购自美国Sigma-Aldrich公司; 胎牛血清购自美国Gemini公司; PAS染色试剂盒、Masson染色试剂盒购自北京雷根生物技术有限公司; E-cadherin、N-cadherin和TGF- β 1抗体购自美国Abcam公司; p-Smad2/3、Smad2/3抗体购自美国Santa Cruz公司; Collagen I抗体购自北京博奥森生物技术有限公司;

β -actin抗体及DAB显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

二氧化碳恒温细胞培养箱购自美国Thermo Scientific公司;光学显微镜购自日本Olympus公司;组织切片机购自德国徕卡公司;石蜡包埋机购自常州中威电子仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 P₂-P₅人脐带间充质干细胞(huc-MSC)用10%胎牛血清的DMEM/F12培养基于37 °C、5% CO₂细胞培养箱中常规培养。

1.2.2 动物模型构建 雄性小鼠32只饲养于重庆医科大学附属儿童医院动物中心,常规饲料及饮水,随机分为4组($n=8$)并处理如下。(1)Control组:腹腔隔天注射PBS,共注射5次;(2)MSC组:每只小鼠尾静脉注射huc-MSC(1×10^6 个/200 μ L)后腹腔隔天注射PBS,共注射5次;(3)AA组:腹腔隔天注射马兜铃酸钠(5 mg/kg),共注射5次;(4)MSC+AA:每只小鼠尾静脉注射huc-MSC(1×10^6 个/200 μ L)后腹腔隔天注射马兜铃酸钠(5 mg/kg),共注射5次。注射完成后第4周处死小鼠并收集肾脏组织进行相关指标检测。

1.2.3 组织形态学观察 取各组标本置于4%多聚甲醛固定,脱水后石蜡包埋,切片后行苏木素-伊红(HE)染色、糖原PAS染色及Masson三色染色于光镜下观察。

1.2.4 免疫组织化学法检测上皮、间质标志物及TGF- β /Smad信号通路上关键蛋白的表达及磷酸化 各组石蜡组织切片常规脱蜡至水,放入枸橼酸盐缓冲溶液中微波加热修复抗原15 min,内源性过氧化物酶阻断液孵育15 min后PBS清洗10 min \times 3次,加入含有0.1% Triton X-100、10%马血清的5% BSA室温封闭2 h,切片上滴加一抗E-cadherin(1:200)、N-cadherin(1:200)、TGF- β 1(1:200)、p-Smad2/3(1:200)于4 °C孵育过夜。PBS清洗10 min \times 3次,滴加辣根过氧化物酶标记的二抗(1:200)室温孵育1 h, PBS清洗10 min \times 3次, DAB显色后置于去离子水中终止显色,苏木素染核后封片光镜下观察。

1.2.5 Western blot检测上皮、间质标志物及TGF- β /Smad信号通路上关键蛋白的表达及磷酸化 取适量肾脏组织,放入1 mL含有10 μ L PMSF的组织裂解液中在冰上充分研磨,4 °C超声破碎15 min,4 °C离心12 000 r/min \times 20 min,去上清经BCA法测定蛋白浓度。将各组蛋白样本经SDS-PAGE凝胶电泳

后,湿转法转至PVDF膜,5%脱脂奶粉封闭1 h。4 °C孵育一抗E-cadherin(1:1 000)、N-cadherin(1:1 000)、TGF- β 1(1:1 000)、p-Smad2/3(1:1 000)过夜。TBST清洗10 min \times 3次,加入稀释的二抗(1:5 000),室温孵育1 h。TBST清洗10 min \times 3次,配置ECL显色液,均匀滴在PVDF膜上,显影并保存图片。

1.3 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,显著性差异分析用GraphPad prism 7.0软件进行分析,两组间均数比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表明差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 huc-MSC干预后肾脏组织形态学表现

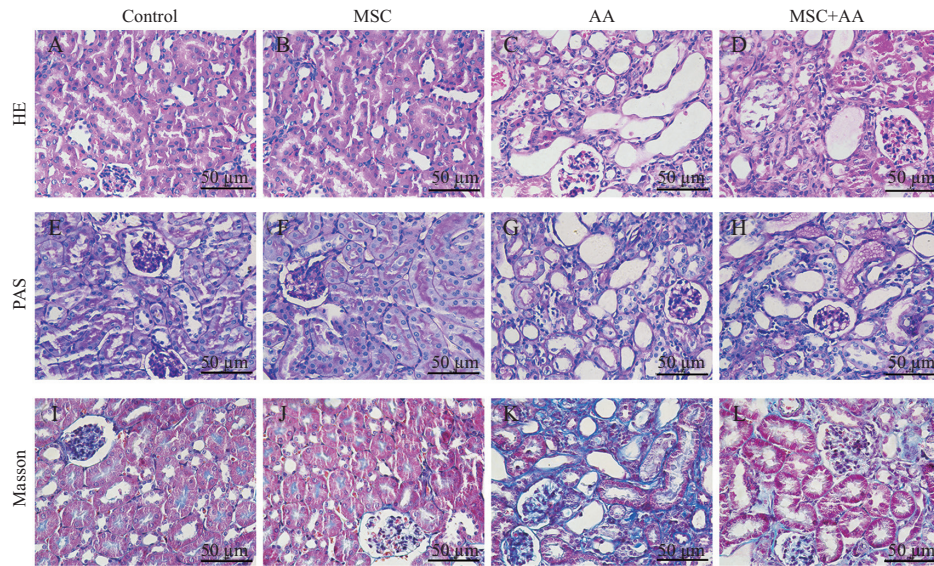
HE染色和PAS染色显示,Control组和MSC组肾小球和肾小管细胞清晰,结构完整,组织形态无明显异常;AA组可见近曲小管和远曲小管明显扩张,肾小管结构破坏,管腔内可见脱落后,肾小管上皮细胞扁平,肾间质可见大量炎症细胞浸润;与AA组相比, MSC+AA组炎症细胞浸润程度明显减轻,肾小管损害较为改善,较Control组仍可见部分炎症浸润及肾小管扩张。Masson染色显示,Control组和MSC组肾小球和肾小管形态结构未见明显异常,无明显胶原纤维沉积;AA组可见肾脏形态结构破坏,间质区域胶原纤维大量沉积;与AA组相比, MSC+AA组可见间质区域胶原纤维沉积明显减少(图1),较Control组仍有部分胶原纤维沉积。

2.2 免疫组化检测EMT标志物及肾纤维化标志物的表达

免疫组化检测检测上皮标志物E-cadherin、间质标志物N-cadherin及肾纤维化标志物Collagen I的表达(图2)。与Control组及MSC组相比, AA组E-cadherin表达明显降低, N-cadherin和Collagen I表达明显增高;与AA组相比, MSC+AA组E-cadherin表达增高, N-cadherin和Collagen I表达降低。

2.3 Western blot检测EMT标志物及肾纤维化标志物的表达

Western blot定量上皮标志物E-cadherin、间质标志物N-cadherin及肾纤维化标志物Collagen I的表达(图3)。结果发现, MSC组E-cadherin、N-cadherin以及Collagen I表达较Control组无明显统计学差异;与Control相比, AA组E-cadherin的表达明显减少($P < 0.05$), N-cadherin和Collagen I表达明显增高($P < 0.001$, $P < 0.05$);与AA组相比, MSC+AA组E-cad-

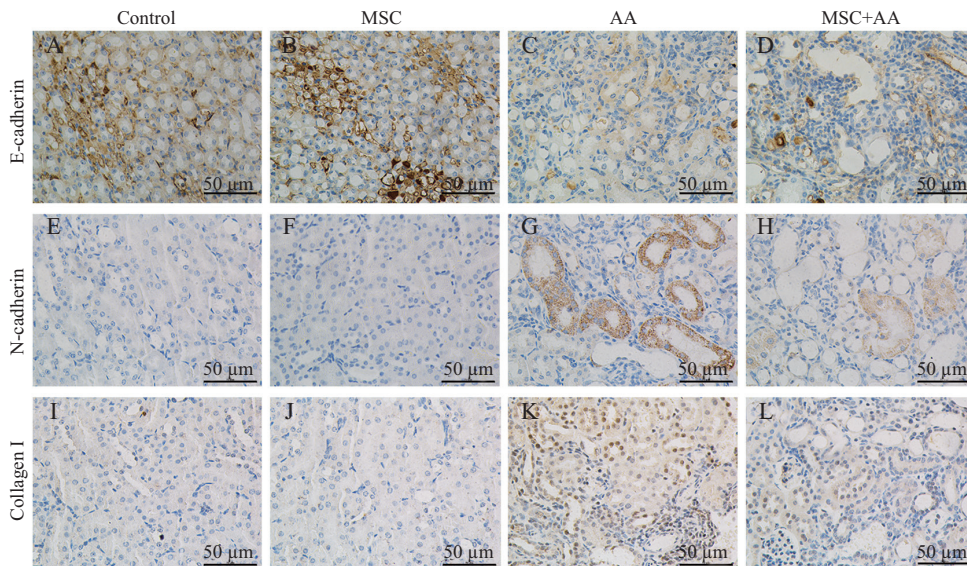


A~D: 各组肾脏HE染色; E~H: 各组肾脏PAS染色; I~L: 各组肾脏Masson染色。

A-D: results of HE staining; E-H: results of PAS staining; I-L: results of Masson staining.

图1 HE、PAS、Masson染色观察肾脏组织形态变化

Fig.1 Observation of kidney morphology by HE, PAS and Masson staining



A~D: 各组肾脏E-cadherin免疫组化染色结果; E~H: 各组肾脏N-cadherin免疫组化染色结果; I~L: 各组肾脏Collagen I免疫组化染色结果。

A-D: expression of E-cadherin; E-H: expression of N-cadherin; I-L: expression of Collagen I.

图2 各组肾脏中E-cadherin、N-cadherin和Collagen I免疫组化染色结果

Fig.2 Result of E-cadherin, N-cadherin and Collagen I in kidney tissue detected by IHC

herin的表达增高($P < 0.05$), 而N-cadherin和Collagen I的表达降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

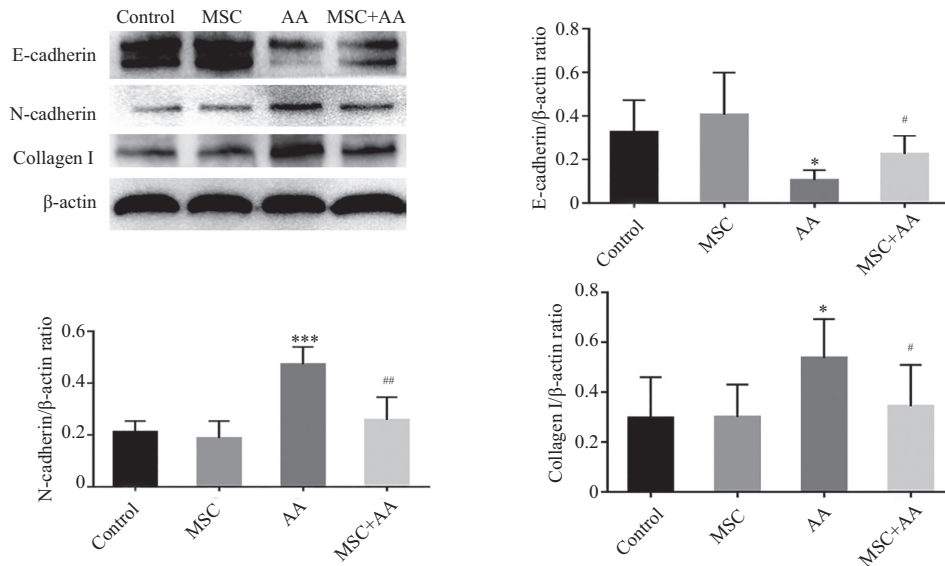
2.4 免疫组化检测TGF- β /Smad信号通路上关键蛋白的表达

免疫组化检测TGF- β /Smad信号通路相关蛋白TGF- β 1和p-Smad2/3的表达发现, AA组TGF- β 1和p-Smad2/3表达较Control组和MSC组明显升高, 而

MSC+AA组TGF- β 1和p-Smad2/3表达较AA组降低(图4)。

2.5 Western blot检测TGF- β /Smad信号通路上关键蛋白的表达

Western blot检测TGF- β 1和p-Smad2/3的表达发现, MSC组TGF- β 1及p-Smad2/3的表达与Control相比无明显统计学差异, AA组TGF- β 1和p-Smad2/3的表达较Control组明显升高($P < 0.01$, $P < 0.01$), 而

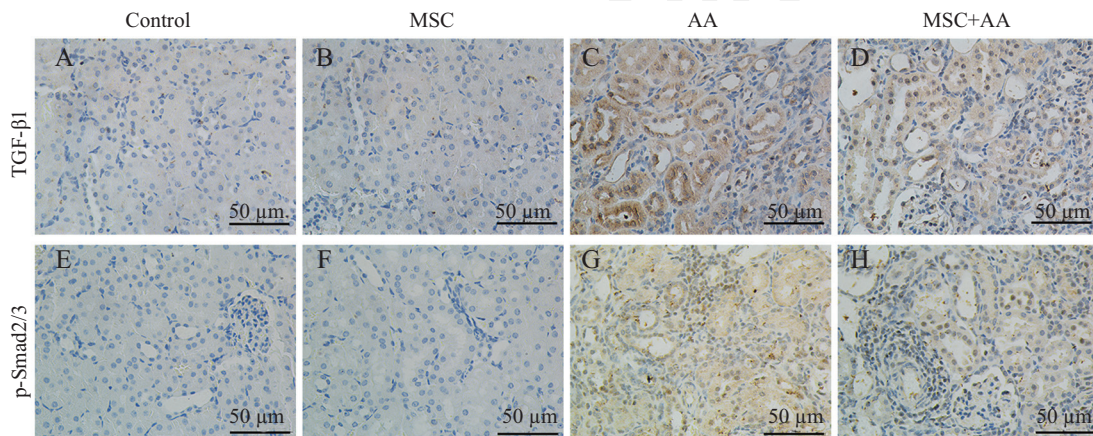


* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, 与对照组相比; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与AA组相比。

* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, compared with control group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, compared with AA group.

图3 Western blot检测各组肾脏中E-cadherin、N-cadherin和Collagen I蛋白的表达

Fig.3 Expression of E-cadherin, N-cadherin and Collagen I in kidney tissue detected by Western blot



A~D: 各组中TGF- β 1的免疫染色结果; E~H: 各组中p-Smad2/3的免疫染色结果。

A-D: expression of TGF- β 1; E-H: expression of p-Smad2/3.

图4 各组肾脏中TGF- β 1和p-Smad2/3免疫组化染色结果

Fig.4 Result of TGF- β 1 and p-Smad2/3 in kidney tissue detected by IHC

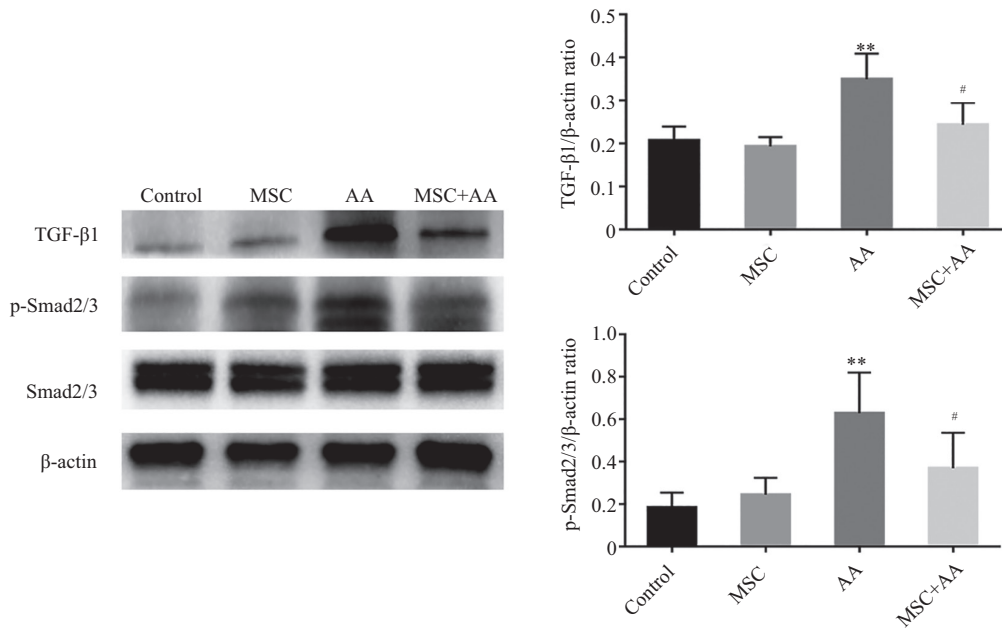
MSC+AA组TGF- β 1和p-Smad2/3的表达较AA组降低($P < 0.05$, $P < 0.05$)(图5)。

3 讨论

肾纤维化是多种慢性肾病的共同病理转归, 其中上皮-间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)是其发生的关键因素之一^[16]。EMT过程是指上皮细胞形态和功能转变成成为间质细胞的过程。肾小管上皮细胞转分化成为肌成纤维细胞, 细胞外基质(extracellular matrix, ECM)大量沉积, 伴随

炎症反应的产生, 最终导致肾纤维化^[17-18]。目前, 针对肾纤维化尚无特效治疗方法。有学者研究证明, EMT可以作为治疗靶点, 通过抑制EMT进程来缓解肾脏炎症及纤维化的发生发展^[19-21]。近年研究发现, 干细胞具有修复肾脏损伤的潜在能力, 主要与其分泌作用有关^[22]。因此, 我们选用huc-MSC干预慢性肾病小鼠模型, 并探索其对EMT损伤作用及其相关机制。

本实验采用马兜铃酸构建慢性肾病小鼠模型。相较于传统构建慢性肾病模型的方法, 如单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction, UO)、肾脏次



** $P < 0.01$, 与对照组相比; # $P < 0.05$, 与AA组相比。

** $P < 0.01$, compared with control group; # $P < 0.05$, compared with AA group.

图5 Western blot检测各组肾脏中TGF-β1和p-Smad2/3蛋白的表达

Fig.5 Expression of TGF-β1 and p-Smad2/3 in kidney tissue detected by Western blot

全切除术等, 本方法造模方式难度较小, 且可以作为间质纤维化的一般模型, 同时具有多种类型间质性肾病的特征, 如缺血性肾病、狼疮性肾炎、部分输尿管梗阻和肾小管毒性肾病等^[9]。此外, 相比于UUO模型中另一侧肾脏代偿, 本模型能更有效地对肾脏功能进行测量, 并更贴近临床病例研究。目前研究证明, AA可在体内外分别诱导小鼠肾脏及人肾小管上皮细胞发生EMT, 其机制可能是AA促进细胞之间黏附丢失, 导致细胞骨架的转变, 进而引起细胞表型由上皮向间质转化^[23], 并且在这一过程中, TGF-β/Smad信号通路关键蛋白表达增高, 提示TGF-β/Smad信号通路的激活在AA诱导EMT中可能发挥重要作用^[24-25]。

本研究中, 我们发现马兜铃酸诱导小鼠肾纤维化后, 肾脏质量较Control组及MSC组明显减小。此外, HE及PAS染色后可见肾小管扩张、结构破坏、间质区域结构明显紊乱, Masson染色可见间质区域胶原纤维大量沉积, 肾纤维化标志物Collagen I呈高表达, 提示肾脏纤维化改变明显。而在加入huc-MSC干预后, 可见肾脏结构破坏及纤维化程度明显减轻, 提示huc-MSC可能对马兜铃酸诱导的肾纤维化具有保护作用。

由于EMT是肾纤维化中的关键因素, 我们进一步对肾纤维化病理变化过程中的EMT相关指标进

行检测。在EMT研究过程中, E-cadherin被认为是上皮标志物之一, N-cadherin也被认为是重要的间质标志物^[26-27], 我们选取以上指标进行检测。发现AA组中E-cadherin低表达, N-cadherin高表达, 表明在马兜铃酸诱导后肾脏细胞表型呈现上皮向间质转化; 在huc-MSC干预后, E-cadherin表达上升, N-cadherin表达降低, 由此我们推测, huc-MSC抑制了马兜铃酸诱导的肾纤维化过程中的EMT进程。

有研究指出, 肾纤维化是一种多层次的细胞反应, 多个信号通路可以在纤维化微环境中被激活, 重要的信号分子有TGF-β、Notch、PI3K/Akt和NF-κB等, 这些信号通路之间相互协同, 促进成纤维细胞增殖, 细胞外基质积聚来促进疤痕形成^[28]。TGF-β是肾脏进行性纤维化中最普遍存在的促纤维化细胞因子, 通过Smad通路产生多重下游生物效应, TGF-β/Smad信号通路的激活可以通过胶原基因的表达直接刺激成纤维细胞产生ECM^[29]。TGF-β发挥作用的机制主要通过以下几个方面, 分别是(1)增加ECM蛋白的合成; (2)减少ECM的降解; (3)增强细胞表面的ECM受体-整合素的表达, 使细胞与基质黏附增强, 促使ECM沉积; (4)TGF-β1自我诱生作用^[17]。因此, 为进一步探究huc-MSC抑制EMT的可能机制, 我们对EMT经典信号通路TGF-β/Smad的表达进行检

测。实验中发现, AA组TGF- β 1和p-Smad2/3表达较Control及MSC组增高, 而huc-MSC干预后TGF- β 1及p-Smad2/3表达受到抑制。由此我们可以推测, huc-MSC可能通过抑制TGF- β /Smad信号通路的表达来缓解EMT进程形成的纤维化。MSC可通过免疫调节、旁分泌在内的多种途径发挥抗炎、抗纤维化作用^[30], 但在本研究中其具体机制目前尚不明确, 有待进一步探究。

综上所述, 对于马兜铃酸诱导的肾纤维化小鼠, huc-MSC静脉注射可能通过抑制TGF- β /Smad信号通路的表达来干预EMT进程, 从而抑制肾纤维化的进展来保护肾脏。本实验对临床防治肾纤维化的进展, 以及间充质干细胞应用于临床干预肾纤维化提供新思路及理论依据。

参考文献 (References)

- Zhang L, Wang F, Wang L, Wang W, Liu B, Liu J, *et al.* Prevalence of chronic kidney disease in China: a cross-sectional survey. *Lancet* 2012; 379(9818): 815-22.
- Zoccali C, Vanholder R, Massy Z, Ortiz A, Sarafidis P, Dekker F, *et al.* The systemic nature of CKD. *Nat Rev Nephrol*. 2017; 13(6): 344-58.
- Leaf IA, Duffield JS. What can target kidney fibrosis? *Nephrol Dial Transplant* 2017; 32(suppl 1): i89-97.
- Han SH, Wu MY, Nam BY, Park JT, Yoo TH, Kang SW, *et al.* PGC-1 α protects from notch-induced kidney fibrosis development. *J Am Soc Nephrol* 2017; 28(11): 3312-22.
- Boor P, Ostendorf T, Floege J. Renal fibrosis: novel insights into mechanisms and therapeutic targets. *Nat Rev Nephrol* 2010; 6(11): 643-56.
- Mutsaers HA, Olinga P. Editorial: organ fibrosis: triggers, pathways, and cellular plasticity. *Front Med* 2016; 3: 55.
- Hickson LJ, Cosio FG, El-Zoghby ZM, Gloor JM, Kremers WK, Stegall MD, *et al.* Survival of patients on the kidney transplant wait list: relationship to cardiac troponin T. *Am J Transplant* 2008; 8(11): 2352-9.
- Debelle FD, Vanherweghem JL, Nortier JL. Aristolochic acid nephropathy: a worldwide problem. *Kidney Int* 2008; 74(2): 158-69.
- Huang L, Scarpellini A, Funck M, Verderio EA, Johnson TS. Development of a chronic kidney disease model in C57BL/6 mice with relevance to human pathology. *Nephron Extra* 2013; 3(1): 12-29.
- Zhou L, Fu P, Huang XR, Liu F, Chung AC, Lai KN, *et al.* Mechanism of chronic aristolochic acid nephropathy: role of Smad3. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298(4): F1006-17.
- Debelle FD, Nortier JL, De Prez EG, Garbar CH, Vienne AR, Salmon IJ, *et al.* Aristolochic acids induce chronic renal failure with interstitial fibrosis in salt-depleted rats. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(2): 431-6.
- El Agha E, Kramann R, Schneider RK, Li X, Seeger W, Humphreys BD, *et al.* Mesenchymal stem cells in fibrotic disease. *Cell Stem Cell* 2017; 21(2): 166-77.
- Hickson LJ, Eirin A, Lerman LO. Challenges and opportunities for stem cell therapy in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int* 2016; 89(4): 767-78.
- Westenfelder C, Tögel FE. Protective actions of administered mesenchymal stem cells in acute kidney injury: relevance to clinical trials. *Kidney Int Suppl* 2011; 1(3): 103-6.
- Tan J, Wu W, Xu X, Liao L, Zheng F, Messinger S, *et al.* Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants: a randomized controlled trial. *JAMA* 2012; 307(11): 1169-77.
- Zhu FQ, Chen MJ, Zhu M, Zhao RS, Qiu W, Xu X, *et al.* Curcumin suppresses epithelial-mesenchymal transition of renal tubular epithelial cells through the inhibition of Akt/mTOR pathway. *Biol Pharm Bull* 2017; 40(1): 17-24.
- Zeisberg EM, Potenta SE, Sugimoto H, Zeisberg M, Kalluri R. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19(12): 2282-7.
- Allison SJ. Fibrosis: targeting EMT to reverse renal fibrosis. *Nat Rev Nephrol* 2015; 11(10): 565.
- Lovisa S, LeBleu VS, Tampe B, Sugimoto H, Vlodavets K, Carstens JL, *et al.* Epithelial-to-mesenchymal transition induces cell cycle arrest and parenchymal damage in renal fibrosis. *Nat Med* 2015; 21(9): 998-1009.
- Ovadya Y, Krizhanovsky V. A new Twist in kidney fibrosis. *Nat Med* 2015; 21(9): 975-7.
- Fragiadaki M, Mason RM. Epithelial-mesenchymal transition in renal fibrosis-evidence for and against. *Int J Exp Pathol* 2011; 92(3): 143-50.
- Camussi G, Deregibus M, Tetta C. Paracrine/endocrine mechanism of stem cells on kidney repair: role of microvesicle-mediated transfer of genetic information. *Curr Opin Nephrol Hyperten* 2010; 19(1): 7-12.
- Monzani E, Bazzotti R, Perego C, La Porta CA. AQP1 is not only a water channel: it contributes to cell migration through Lin7/beta-catenin. *PLoS One* 2009; 4(7): e6167.
- Li J, Zhang M, Mao Y, Li Y, Zhang X, Peng X, *et al.* The potential role of aquaporin 1 on aristolochic acid I induced epithelial mesenchymal transition on HK-2 cells. *J Cell Physiol* 2018; 233(6): 4919-25.
- Man YL, Rui HL, Chen YP, Wang GQ, Sun LJ, Cheng H. Aristolochic acid-induced autophagy promotes epithelial-to-myofibroblast transition in human renal proximal tubule epithelial cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017; 2017: 9596256.
- Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(3): 178-96.
- Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2009; 119(6): 1420-8.
- Liu M, Ning X, Li R, Yang Z, Yang X, Sun S, *et al.* Signalling pathways involved in hypoxia-induced renal fibrosis. *J Cell Mol Med* 2017; 21(7): 1248-59.
- Sutariya B, Jhonsa D, Saraf MN. TGF-beta: the connecting link between nephropathy and fibrosis. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2016; 38(1): 39-49.
- Uccelli A, de Rosbo NK. The immunomodulatory function of mesenchymal stem cells: mode of action and pathways. *Ann N Y Acad Sci* 2015; 1351: 114-26.