

肿节风在放射性肺损伤中的防护作用

岳海英¹, 胡凯¹, 蒋健¹, 陈玉华², 刘文其¹, 王仁生^{1*}

(1. 广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021;
2. 广西壮族自治区妇幼保健院, 南宁 530000)

[摘要] 目的:探讨肿节风对⁶⁰Co γ 射线照射后在小型猪放射性肺损伤中的防护作用和机制。方法:60头雄性巴马小型猪随机分为正常组、照射组和肿节风组,在麻醉条件下对动物行右胸单次15 Gy的照射,正常组不予照射。肿节风组于放疗前1周开始经口腔给予肿节风配方颗粒溶液(30 mg·kg⁻¹),正常组和单照组给予等量的生理盐水,直至实验结束。在照射后4, 8, 12, 24周,从3个组中分别随机取5头小型猪采集右肺组织,行羟脯氨酸测定检测肺组织中胶原含量;免疫印迹检测转化生长因子- β_1 (TGF- β_1),基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和MMP-9的蛋白表达;明胶酶谱法测定MMP-2和MMP-9的酶活性。结果:在照射后不同时间点,照射组中羟脯氨酸含量,TGF- β_1 ,MMP-2和MMP-9的蛋白表达,MMP-2,MMP-9的酶活性较正常组明显升高($P < 0.05$);与照射组比较,肿节风组的羟脯氨酸含量,TGF- β_1 ,MMP-2和MMP-9的蛋白表达,MMP-2,MMP-9的酶活性明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论:肿节风可通过降低TGF- β_1 ,MMP-2和MMP-9的蛋白表达和后的酶活性,减缓放射性肺纤维化的发展,从而发挥放射防护作用。

[关键词] 放射性肺损伤; 巴马小型猪; 肿节风; 基质金属蛋白酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)11-0121-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015110121

Effect of *Sarcandra Glabra* on Radiation-induced Lung Injury of Bama Minipigs YUE Hai-ying¹, HU Kai¹, JIANG Jian¹, CHEN Yu-hua², LIU Wen-qi¹, WANG Ren-sheng^{1*} (1. The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; 2. Guangxi Province Maternity and Child Care Hospital, Nanning 530000, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effect of *Sarcandra glabra* on radiation-induced lung injury of right thoracic irradiation of Bama minipigs. **Method:** Sixty miniature pigs were randomly divided into the control group, the radiotherapy group and the *S. glabra* group. The pigs except the control group received a single right thoracic irradiation under anesthesia. The pigs in the *S. glabra* group received *S. glabra* formula granule solution at 30 mg·kg⁻¹ one week before radiotherapy, and the pigs in other groups received the same volume of normal saline. Five pigs were randomly selected and sacrificed from the three groups at week 4, 8, 12 and 24 post-irradiation. The collagen deposition was measured by Masson's trichrome and hydroxyproline detection. The protein expressions of transforming growth factor β_1 (TGF- β_1), matrix metalloproteinase 2 (MMP-2) and MMP-9 were detected by Western Blot. The activities of MMP-2 and MMP-9 were tested by Gelatin zymography. **Result:** At different weeks after irradiation, the protein expressions of TGF- β_1 , MMP-2 and MMP-9, hydroxyproline content and gelatinase activities of MMP-2 and MMP-9 increased in the radiotherapy group as compare to the control group ($P < 0.05$). The protein expressions of TGF- β_1 , MMP-2 and MMP-9, hydroxyproline content and gelatinase activities of MMP-2 and MMP-9 decreased in the *S. glabra* group as compared with the radiotherapy group ($P < 0.05$). **Conclusion:** *S. glabra* could slow down the development of radiation pulmonary fibrosis and have radiological protection by reducing the protein of TGF- β_1 , MMP-2, MMP-9 and gelatinase activity.

[Key words] radiation-induced lung injury; minipigs; *Sarcandra glabra*; matrix metalloproteinases

[收稿日期] 20141031(013)

[基金项目] 广西科技攻关项目(1140003A-24)

[第一作者] 岳海英,在读博士,从事肿瘤放射治疗,Tel:18648940755,E-mail:614963036@qq.com

[通讯作者] *王仁生,博士,主任医师,从事肿瘤放射治疗,Tel:0771-5356509,E-mail:13807806008@163.com

放射治疗是肺癌、食管癌等胸部恶性肿瘤患者综合治疗的重要组成部分,治疗过程中可使肿瘤附近的肺组织因受到的放射剂量超过其生物效应的阈值而产生不同程度的损伤。因此,放射性肺损伤(radiation-induced lung injury, RILI)已经成为胸部肿瘤患者放射治疗的常见并发症,并制约放射剂量提高,可导致肿瘤局部控制率降低甚至是治疗的中断,同时,影响患者的生活质量^[1]。

目前,放射性肺损伤的相关防护药物由于价格昂贵及不良反应,不能广泛应用于临床。笔者的前期研究发现,肿节风可以通过清除自由基、抑制凋亡而对腮腺的放射性损伤发挥较好的防护和修复作用^[2-3],因此,本实验研究肿节风在⁶⁰CO γ 射线照射后小型猪肺组织内转化生长因子- β_1 (TGF- β_1),基质金属蛋白酶-2(MMP-2)和MMP-9蛋白表达和酶活性的作用,并初步探讨其可能的机制。

1 材料

1.1 动物 健康雄性巴马小型猪由广西医科大学动物实验中心提供,动物合格证号SCXK(桂)2009-0002,2~3个月龄,体重10~15 kg,该中心给予标准能量喂养,室温(25±1)℃,湿度(55±5)%,在此条件下饲养1周后无异常者入组实验。

1.2 药物及试剂 肿节风配方颗粒溶液(广西培力药业有限公司提供,批号A00884-01),羟脯氨酸试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号A030-3),RIPA裂解液和BCA法蛋白浓度测定试剂盒(北京碧云天生物技术研究所,批号分别为P0013-B,P-0012),鼠源的anti-MMP-2单克隆抗体、兔源的anti-MMP-9多克隆抗体和anti-GAPDH单克隆抗体(美国Millipore公司,批号分别为MAB3308,AB6001和ABS16),兔源的TGF- β_1 多克隆抗体(美Biovision公司,批号5559-100),HRP酶标记的二抗(广州聚研生物科技有限公司产品,批号as004,as007),明胶酶谱试剂盒(北京普利莱科技有限公司产品,批号P1700),ECL+化学发光试剂盒(美国Pierce公司,批号32109)。

1.3 仪器 GWXJ80型⁶⁰CO γ 射线放射治疗仪(中国核动力研究设计院设备制造厂),ImageQuant LAS500型凝胶图像处理系统(美国GE公司),LAMBDA1020型双光速紫外分光光度计(美国PE公司),Odyssey型双色红外激光成像系统(美国LICOR公司)。

2 方法

2.1 分组、照射方式及标本采集 采用⁶⁰CO γ 射线

放射治疗仪作为照射源,单次剂量15 Gy照射右全肺,源皮距80 cm,吸收剂量率3 Gy·min⁻¹。将入组的巴马小型猪随机分为正常组、照射组和肿节风组,每组20头。正常组不予照射。肿节风组于放疗前1周开始按30 mg·kg⁻¹经口腔给予肿节风配方颗粒溶液,正常组和单照组给予等量的生理盐水,直至实验结束。分别于照射后4,8,12,24周各组随机取5头小型猪以3%戊巴比妥钠(30 mg·kg⁻¹)腹腔麻醉后开胸,取右侧肺组织,上叶于4%多聚甲醛中固定;下叶称重后分装,于-80℃冰箱冻存。

2.2 肺组织病理学 石蜡包埋的肺组织以约4 μ m的厚度连续切片,行HE染色。

2.3 羟脯氨酸测定 利用酸性水解法检测肺组织中总羟脯氨酸含量。80~100 mg肺组织剪碎后加入1 mL 6 mol·L⁻¹盐酸于水解管中95℃水浴5 h,然后调pH至6.0~6.8,水解产物稀释后加适量活性炭,混匀,3 500 r·min⁻¹离心10 min,取上清液1 mL经双光速紫外分光光度计LAMBDA1020于550 nm处检测各管吸光度A。

2.4 Western blot方法 每40~80 mg肺组织在液氮中磨碎后加入700 μ L含PMSF的RIPA裂解液于冰上经匀浆机制成匀浆,匀浆液于4℃,12 000 \times g,离心10 min。收集上清贮存-80℃备用,并用BCA法测定蛋白浓度。蛋白样品(每孔40 μ g)经SDS-PAGE电泳后恒流(200 mA,80 min)转膜,然后将PVDF膜移至封闭液中并于摇床上室温封闭1 h,分别加入相应的抗体(GAPDH 1:5 000,MMP-2 1:500和MMP-9 1:2 000;TGF- β_1 1:50)于4℃孵育过夜。1 \times TBST洗膜后,分别加入相应的HRP酶标记的二抗室温孵育1 h,然后用ECL⁺化学发光试剂盒检测,最后将PVDF膜经ImageQuant LAS500扫膜并用凝胶图像处理系统进行半定量分析。

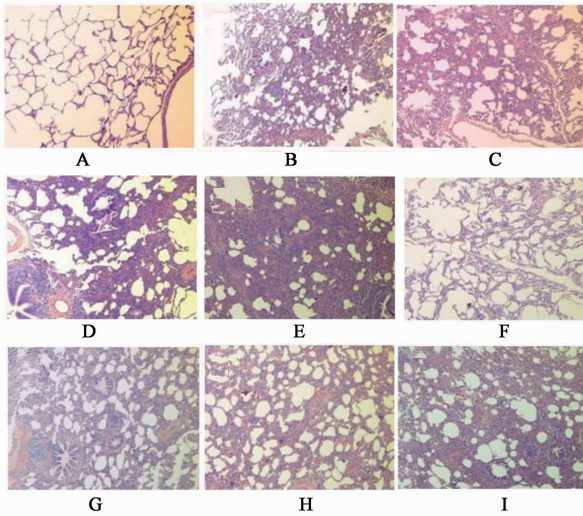
2.5 明胶酶谱 每50 mg左右的肺组织用生理盐水洗去血迹并剪碎后加入置有600 μ L裂解液(150 mmol·L⁻¹ NaCl,10 mmol·L⁻¹ CaCl₂,10 g·L TritonX-100,1 mmol·L⁻¹ PMSF)的组织匀浆管中,然后于冰上经匀浆机制成匀浆,匀浆液于4℃,12 000 \times g,离心10 min。收集上清贮存-80℃备用,并用BCA法测定蛋白含量。蛋白样品(每孔40 μ g)经SDS-PAGE恒流电泳(20 mA)后将凝胶取下进行染色,具体按试剂盒操作步骤进行。染色结束后用Odyssey双色红外激光成像系统扫胶并采用Odyssey2.1软件进行半定量分析,根据说明书,66~72 kDa为MMP-2,92 kDa为MMP-9,225 kDa为

proMMP-9。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计软件包进行数据处理,统计结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据经方差齐性检验后,各组间比较采用单因素方差分析,两两比较方差齐者采用 LSD-t 检验,方差不齐者采用 Games-Howell 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对肺组织病理形态的影响 肺组织 HE 染色光镜下所见:正常组肺组织结构清晰,肺泡腔结构正常,无炎症细胞浸润。在照射组,照射第 4 周,肺组织以渗出性病变为主,表现为肺间质及肺毛细血管充血,较多炎症细胞浸润,间质水肿致肺泡壁轻微增厚。照射第 8,12 周,肺组织渗出减轻,以纤维性病变为主,肺泡壁增厚明显,肺泡腔明显缩小,可见较多的成纤维细胞,纤维组织增生。照射第 24 周,肺组织结构消失,肺实质见大量纤维组织,较多肺泡腔塌陷消失。肿节风组的肺组织病理改变与照射组相似,但程度较轻。见图 1。



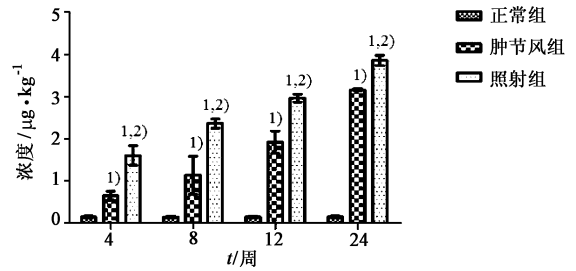
A. 正常组;B. 照射 4 周组;C. 照射 8 周组;D. 照射 12 周组;E. 照射 24 周组;F. 肿节风 4 周组;G. 肿节风 8 周组;H. 肿节风 12 周组;I. 肿节风 24 周组

图 1 肿节风对肺组织病理形态的影响(HE, $\times 100$)

Fig.1 Effects of *Sarcandra glabra* on lung tissue pathology (HE, $\times 100$)

3.2 对羟脯氨酸含量的影响 在同一时间点,与正常组比较,照射组羟脯氨酸含量明显升高($P < 0.01$)。在照射组中,照后第 4 周,肺组织中的羟脯氨酸含量即明显升高,并逐步增加,在照射的第 8,12 周上升较平稳至照射后第 24 周最高;与照射组比较,肿节风组明显降低羟脯氨酸含量,差异具有统

计学意义($P < 0.01$)。见图 2。



与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与肿节风组比较²⁾ $P < 0.05$ (图 3~4 同)。

图 2 肿节风对羟脯氨酸含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 5$)

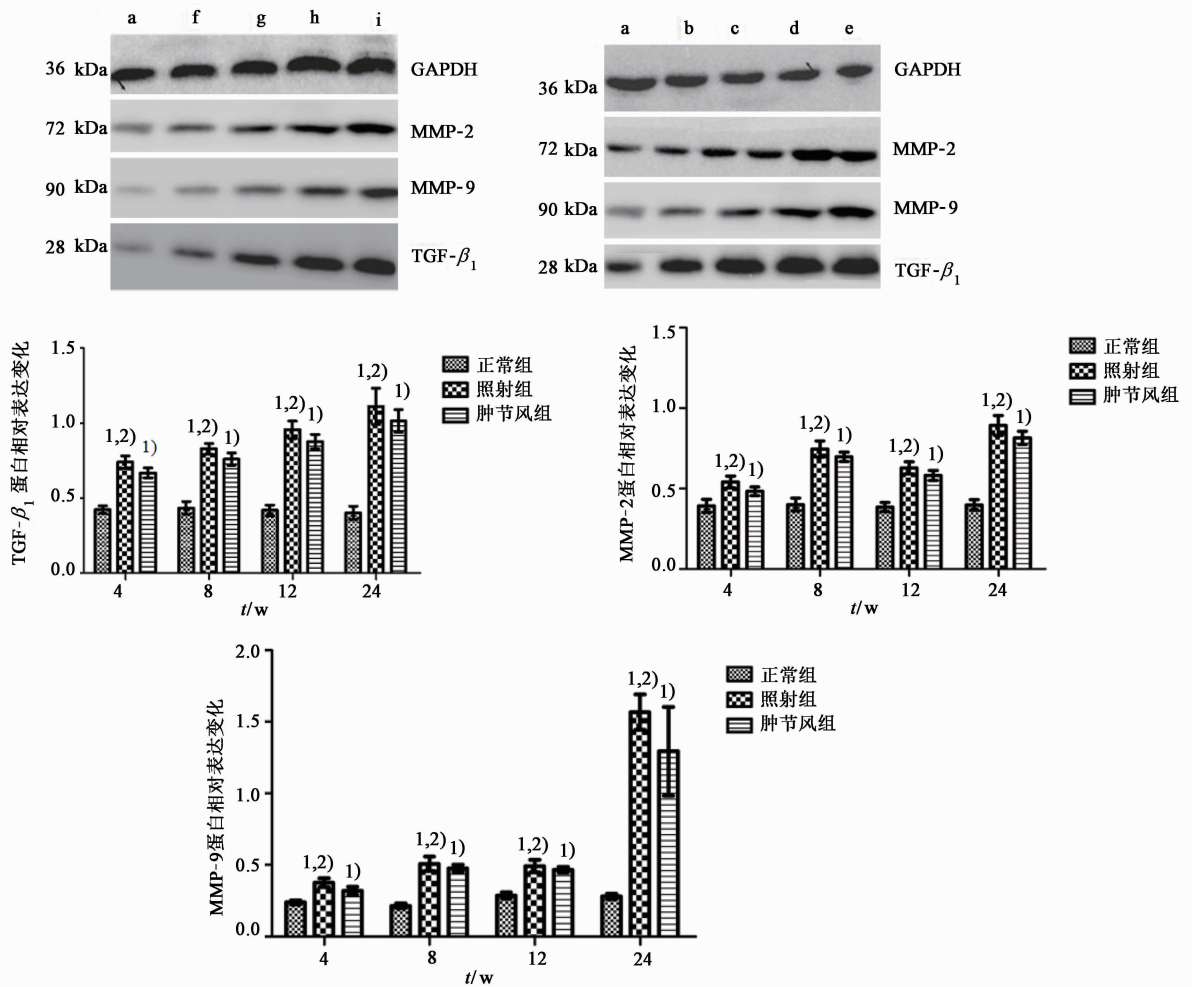
Fig.2 Effects of *Sarcandra glabra* on hydroxyproline content ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

3.3 对肺组织中 TGF- β_1 , MMP-2 和 MMP-9 的蛋白表达的影响 照射组中 TGF- β_1 , MMP-2, MMP-9 的表达均高于正常组和肿节风组,并随时间增加,且 MMP-2, MMP-9 的蛋白表达于照射 12 周时有所回落,但在第 24 周又开始升高($P < 0.05$);与照射组比较,肿节风组明显降低 TGF- β_1 , MMP-2, MMP-9 的表达($P < 0.05$)。见图 3。

3.4 对肺组织中 MMP-2 和 MMP-9 活性的影响 正常组比较,照射组 MMP-2 和 MMP-9 活性明显升高($P < 0.01$),MMP-2, MMP-9 的活性随时间升高;与照射组比较,肿节风组 MMP-2 和 MMP-9 的活性明显降低($P < 0.01$),但 MMP-2 的活性在第 4 周无显著差异。见图 4。

4 讨论

RILI 已经成为接受胸部放射治疗患者的常见并发症,基本病理过程表现为早期的放射性肺炎和后期的放射性纤维化。目前关于 RILI 的研究多采用啮齿类动物作为模型^[4-5],但啮齿类动物在肺的解剖结构及生理方面与人类肺组织不同,且不同小鼠品系的肺组织对放疗的反应也不相同^[6],而巴马小型猪除了在肺的解剖结构和生理上与人较接近外,且对于单次照射的剂量-效应关系也与人相似^[7],本研究选用巴马小型猪为实验对象。放射性肺炎一般发生在放疗后的 1~3 个月内,表现为肺间质水肿,毛细血管充血、瘀血,肺泡壁增厚及较多的炎症细胞浸润。肺纤维化多发生在照射后 6 个月到 1 年,表现为纤维母细胞过度增殖,胶原和基质蛋白沉积^[8]。在本研究中,小型猪在给与 15 Gy 的右胸单次照射后,于第 4 周可以看到放射性肺炎的变化,到第 8 周,则炎症细胞浸润、间质水肿等较减轻,而肺泡壁进一步增厚,并可见成纤维细胞。照射第 12 周则可以观察到肺纤维化的发生,在照射第 24 周,



a. 正常组; b. 照射 4 周组; c. 照射 8 周组; d. 照射 12 周组; e. 照射 24 周组; f. 肿节风 4 周组; g. 肿节风 8 周组; h. 肿节风 12 周组; i. 肿节风 24 周组

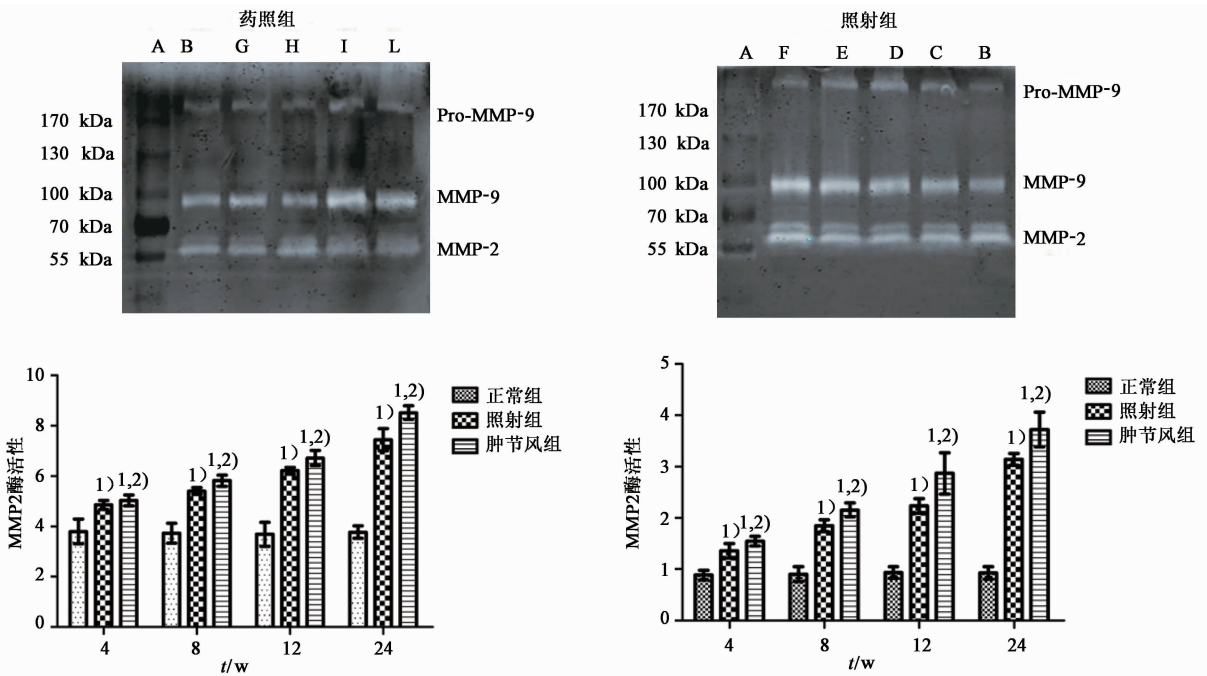
图 3 肿节风对 TGF-β₁, MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effects of *Sarcandra glabra* on expression of MMP-2, MMP-9 and TGF-β₁ protein ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

肺组织结构已基本消失,肺实质见大量的胶原纤维沉积,较多肺泡腔塌陷消失(见图 1)。同时,照射组肺组织内羟脯氨酸的含量也随时间逐步升高;肿节风组中,无论是肺组织的病理变化还是羟脯氨酸含量的变化,都与照射组相似,只是程度相对较轻,这些变化提示已建立了 RILI 的模型,与文献报道的关于放射性肺炎和纤维化的发生时间相符。

MMPs 为中性的蛋白水解酶家族,其中 MMP-2 和 MMP-9 可以降解基膜和 ECM 的一些成分,如 IV 型胶原等。肺组织受到各种因素的刺激后, MMP-9 可由支气管上皮细胞、II 型肺泡上皮细胞、纤维母细胞、炎症细胞如巨噬细胞等产生,除了降解和重塑 ECM,不仅能促进细胞迁移,还可激活细胞因子如 TGF-β₁, TNF-α 和 IL-1β^[9],提示 MMP-9 在纤维化疾病的发展中具有重要作用。且来自体内外的试验表

明,电离辐射可引起多种组织内 MMP-2 和 MMP-9 的活性升高。如 Yang 等^[10]发现经 12 Gy 的胸部照射后, MMP-2 和 MMP-9 的表达在照射后 4 周和 8 周均明显升高。Lee 等^[11]发现放射线可以导致 MMP-2/TIMP-1 平衡的改变,从而使 IV 型胶原蛋白降解减少,细胞外基质沉积。还有学者发现 RAW264.7 细胞被照射后 24 h, MMP-9 的 mRNA 和蛋白水平达到最高峰,在照射后 48 h 虽有所降低,但仍高于正常组^[12]。刘欣等^[13]用数字化基因表达谱分析大鼠 RILI 发生中的差异表达基因,发现大鼠在总剂量为 30 Gy 的分割照射后的第 6, 12 周, MMP-2, MMP-9 在肺组织中高表达,且在 12 周时差异表达更明显,胶原蛋白和层粘连蛋白等纤维化相关基因也明显高表达,提示 MMP-2, MMP-9 不仅参与了 RILI 形成,且在不同时期的作用也不尽相同。临床研究^[14]也



A. Mark; B. 正常组; C. 照射 4 周组; D. 照射 8 周组; E. 照射 12 周组; F. 照射 24 周组; G. 肿节风 4 周组; H. 肿节风 8 周组; I. 肿节风 12 周组; L. 肿节风 24 周组

图 4 肿节风对各组酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 4 Effects of *Sarcandra glabra* on gelatinolytic activity ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

发现了肺癌、乳腺癌患者放疗后血浆中 MMP-9 和 TIMP-1 水平升高。本研究中,照射后 MMP-2 和 MMP-9 的表达明显升高,虽在照射 12 周后,有所降低,但在 24 周后显著升高,而 MMP-2 和 MMP-9 酶活性呈时间依赖性增高;肿节风组中, MMP-2 和 MMP-9 的蛋白表达和酶活性的增加趋势都比照射组低(图 3, 4),提示肿节风可以降低 MMP-2 和 MMP-9 的蛋白表达和酶活性,减缓放射性肺纤维化的发展。MMP-9 表达和酶活性的基线在照射 12 周以前均较低,在 24 周时显著升高,并且,肿节风对其活性的下调作用在照射后 4 周就有显著差异,提示其调节十分复杂,可能为 MMP-9 功能多样的原因所在。活化的 MMP-9 可以降解肺内皮细胞基膜,引起肺内皮细胞和血管内皮细胞的损伤,增加肺毛细血管的渗透性,引起肺微循环失衡;还能降解肺上皮细胞基膜,损伤肺泡上皮细胞,造成肺组织结构的破坏,引起肺功能的下降;也可以降解 ECM,利于炎症细胞的浸润,反之,炎症细胞也可以产生更多的 MMP-9,从而形成一个恶性循环,进一步促进肺损伤的发展^[15]。本研究中, MMP-9 的表达在照射 12 周前较低,可能为 TGF- β_1 在一定程度上能抑制或下调 MMP-9 的活性有关,因已有研究发现 TGF- β_1 可以下调 MMP-9 的活性^[10],且在脂多糖诱导 C57BL/6

鼠肺损伤的研究中也发现抑制 TGF- β_1 /Smad 信号通路,可以促进 MMP-9 的产生和活性^[15]。但本研究中,照射组和肿节风组中 MMP-9 表达和活性都在照射 24 周后升高较明显,而照射后 TGF- β_1 的表达也是逐步升高(图 3),并且 MMP-9 也能促进 TGF- β_1 的释放^[16],提示关于 TGF- β_1 和 MMP-9 之间的相互作用与影响并不简单,还牵涉到其他因素,其具体机制仍有待于进一步的研究。

TGF- β_1 不仅为重要的促纤维因子,也是一个有效的促进 ECM 合成的刺激分子^[17-18];并且其放疗前后的血浆水平变化可以作为 RILI 发生的预测因子^[19]。先前的研究表明, TGF- β_1 可以激活巨噬细胞,活化的巨噬细胞则能分泌包括 TGF- β_1 在内的一系列细胞因子,从而形成一个正反馈的效应。而且, TGF- β_1 还可以上调 MMP-2 的表达^[4]和下调 MMP-9 的表达,且 MMP-9 与 CD44 结合可促进 TGF- β_1 的释放^[16],而 MMP-2 和 MMP-9 则能降解 ECM,由此形成一个恶性循环,不断促进 RILI 的发展,直至形成肺纤维化。而 TGF- β_1 作为组织纤维化的总开关^[20],不止一个信号通路参与了照射引起的肺纤维化,因此,阐明放射性肺纤维化的确切机制仍需进一步的研究。

肿节风,又名九节茶或草珊瑚,具有清热凉血、

活血消斑、祛风通络的功能,主要用于抗炎及抗肿瘤治疗,而本研究的数据表明,肿节风还可以通过下调 TGF- β_1 , MMP-2, MMP-9 的蛋白表达和 MMP-2, MMP-9 尤其是 MMP-9 的酶活性减缓放射性肺纤维化的发展,从而发挥放射防护作用。

[参考文献]

[1] Jenkins P, Watts J. An improved model for predicting radiation pneumonitis incorporating clinical and dosimetric variables [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011, 80(4):1023-1029.

[2] 张海东,王仁生,马姗姗,等. 肿节风颗粒对小型猪腮腺放射损伤所致活性氧簇的清除作用[J]. *南方医科大学学报*, 2013, 31(1):93-95.

[3] 张婷婷,王仁生,许卓华,等. 肿节风颗粒对⁶⁰Co γ 射线照射后小型猪腮腺细胞凋亡的抑制作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(5):170-174.

[4] Li M, Abdollahi A, Gröne H J, et al. Late treatment with imatinib mesylate ameliorates radiation-induced lung fibrosis in a mouse model [J]. *Radiat Oncol*, 2009, 4: 66-68.

[5] Molthen R C, Wu Q, Fish B L, et al. Mitigation of radiation induce pulmonary vascular injury by delayed treatment with captopril [J]. *Respirology*, 2012, 17(8):1261-1268.

[6] Williams J P, Brown S L, Georges G E, et al. Animal models for medical counter measures to radiation exposure [J]. *Radiat Res*, 2010, 173(4):557-578.

[7] Hopewell J W, Rezvani M, Moustafa H F. The pig as a model for the study of radiation effects on the lung [J]. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76(4):447-452.

[8] Travis E L. The sequence of histological changes in mouse lungs after single doses of x-rays [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 1980, 6(3):345-347.

[9] Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function and biochemistry [J]. *Circ Res*, 2003, 92(8):827-839.

[10] Yang K, Palm J, König J, et al. Matrix-Metallo-Proteinases and their tissue inhibitors in radiation-

induced lung injury [J]. *Int J Radiat Biol*, 2007, 83(10):665-676.

[11] Lee W H, Warrington J P, Sonntag W E, et al. Irradiation alters MMP-2/TIMP-2 system and collagen type IV degradation in brain [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2012, 82(5):1559-1566.

[12] Zhou Y, Xia L, He Z S, et al. Modulation of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in RAW264.7 cells by irradiation [J]. *Mol Med Rep*, 2010, 3(5):809-813.

[13] 刘欣,王炳胜,刘秀芳. 放射性肺损伤大鼠的数字化基因表达谱分析[J]. *解放军医药杂志*, 2013, 25(1):14-17.

[14] Susskind H, Hymowitz M H, Lau Y H, et al. Increased Plasma levels of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in lung and breast cancer are altered during chest radiotherapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2003, 56(4):1161-1169.

[15] Ma B, Zhou P Y, Ni W, et al. Inhibition of activin receptor-like kinase 5 induces matrix metalloproteinase 9 expression and aggravates lipopolysaccharide-induced pulmonary injury in mice [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(8):1051-1059.

[16] Atkinson J J, Senior R M. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2003, 28(1):12-24.

[17] Thannickal V J, Toews G B, White E S, et al. Mechanisms of pulmonary fibrosis [J]. *Annu Rev Med*, 2004, 55:395-417.

[18] Flanders K C. Smad3 as a mediator of the fibrotic response [J]. *Int J Exp Pathol*, 2004, 85(2):47-64.

[19] Zhao L, Sheldon K, Chen M, et al. The predictive role of plasma TGF- β_1 during radiation therapy for radiation-induced lung toxicity deserves further study in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2008, 59(2):232-239.

[20] Lo'pez-Novoa J M, Nieto M A. Inflammation and EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression [J]. *EMBO Mol Med*, 2009, 1(6/7):303-314.

[责任编辑 周冰冰]