

HMGB1 对人肺成纤维细胞 ERK1/2-NF- κ B 信号通路的影响及补阳还五汤含药血清的干预作用

杜全宇, 王振兴, 孙中莉, 季节, 郝丽君, 王飞*

(成都中医药大学 临床医学院, 成都 610075)

[摘要] **目的:**观察肺纤维化中诱导免疫损伤的高迁移率族蛋白 Box-1 (high mobility group Box-1 protein, HMGB1) 刺激人肺成纤维细胞 (HFL1) 后细胞外调节蛋白激酶 1/2 (extracellular regulated protein kinase 1/2, ERK1/2), 核转录因子- κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B) 信号通路的活化情况, 以及补阳还五汤含药血清对 HMGB1 刺激 HFL1 后以上信号通路的干预作用。**方法:**采用含药血清药理学的实验方法, 以 5%, 10%, 15%, 20% 的补阳还五汤含药血清和空白血清来干预 HMGB1 诱导刺激的 HFL1 细胞。采用酶联免疫吸附测定 (ELISA) 法检测白细胞介素-1 β (IL-1 β) 的含量; 采用蛋白质免疫印迹法 (Western blot) 检测细胞总蛋白中 ERK1/2, 胞浆胞核中 NF- κ B p65 蛋白的表达。**结果:**与空白组比较, HMGB1 刺激组诱导后 ERK1/2 蛋白, 胞浆和胞核中 NF- κ B p65 蛋白及 IL-1 β 含量的表达均增高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与 20% 空白血清预培养加 HMGB1 组比较, HMGB1 刺激组诱导后 ERK1/2 蛋白, 胞浆和胞核中 NF- κ B p65 蛋白及 IL-1 β 含量的表达均增高 ($P < 0.05$); 与 HMGB1 刺激组比较, 补阳还五汤含药血清各组能够降低 ERK1/2 蛋白, 胞浆和胞核中 NF- κ B p65 蛋白及 IL-1 β 含量的表达, 其中 15% 和 20% 补阳还五汤含药血清组降低 ERK1/2 的表达 ($P < 0.05$); 胞浆 10% 补阳还五汤含药血清组和胞核 20% 补阳还五汤含药血清组降低 NF- κ B p65 蛋白的表达 ($P < 0.05$); 15% 补阳还五汤含药血清组降低 IL-1 β 的含量 ($P < 0.05$)。**结论:**补阳还五汤含药血清在体外实验中, 可抑制 HMGB1 引起的人肺成纤维细胞中 ERK1/2/NF- κ B 信号通路的活化, 减少 IL-1 β 等炎症因子分泌。提示补阳还五汤可能通过调控人肺成纤维细胞中 ERK1/2/NF- κ B 信号通路, 防治肺纤维化的发生发展。

[关键词] 高迁移率族蛋白 Box-1; 特发性肺纤维化; 人肺成纤维细胞; 细胞外调节蛋白激酶 1/2/核转录因子- κ B; 补阳还五汤

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)13-0153-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017130153

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170420.1044.038.html>

[网络出版时间] 2017-04-20 10:44

Effect of HMGB1 on ERK1/2-NF κ B Signaling Pathway and Intervening Effect of Buyang Huanwu Tang-Containing Serum

DU Quan-yu, WANG Zhen-xing, SUN Zhong-li, JI Jie, HAO Li-jun, WANG Fei*

(School of Clinical Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the activation of extracellular regulated protein kinase 1/2 (ERK1/2) and nuclear factor kappa B (NF- κ B) signaling pathway after stimulating normal lung fibroblasts (HFL1) by high mobility group Box-1 protein (HMGB1), which can induce immune damage in pulmonary fibrosis, as well as the intervening effect of Buyang Huanwu Tang-containing serum on above signal pathways. **Method:** The drug-containing serum pharmacological methodology was adopted. Buyang Huanwu Tang-containing serum with concentrations of 5%, 10%, 15%, 20%, and blank serum were adopted to intervene normal lung fibroblasts (HFL1) stimulated by HMGB1. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method was used to detect the

[收稿日期] 20161205(010)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81373597)

[第一作者] 杜全宇, 博士, 讲师, 从事中医药防治呼吸和老年病学研究, Tel:18990209695, E-mail:14238028@qq.com

[通讯作者] *王飞, 教授, 博士生导师, 从事中医药防治呼吸和老年病学研究, Tel:18980880213, E-mail:wangfei896@163.com

expression of interleukin-1 β (IL-1 β), and the immune protein imprinting method (Western blot method) was applied to detect total protein expression of ERK1/2 and cell cytoplasm and nucleus protein expression of NF- κ B p65. **Result:** Compared with blank control group, HMGB1 can promote the expressions of IL-1 β , ERK1/2, NF- κ B p65 in HFL1 cell ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the 20% serum control added with HMGB1 group, the expressions of IL-1 β , ERK1/2, NF- κ B p65 were increased in HMGB1 stimulation group. Compared with HMGB1 stimulation group, all of Buyang Huanwu Tang-containing serum groups could reduce the expressions of IL-1 β , ERK1/2, NF- κ B p65. Among them, 15% and 20% Buyang Huanwu Tang-containing serum could obviously reduce the expression of ERK1/2 ($P < 0.05$); 10% Buyang Huanwu Tang-containing serum in cell cytoplasm, and 20% Buyang Huanwu Tang containing-serum in cell nucleus could clearly decrease the expression of NF- κ B p65 ($P < 0.05$); And 15% Buyang Huanwu Tang-containing serum could visibly reduce the expression of IL-1 β ($P < 0.05$). **Conclusion:** In the in vitro experiment, Buyang Huanwu Tang-containing serum can inhibit the activation of ERK1/2-NF- κ B signaling pathways caused by HMGB1 in HFL-1, and reduce the secretion of inflammatory factor IL-1 β . The results suggest that Buyang Huanwu Tang may prevent and treat pulmonary fibrosis by regulating ERK1/2-NF- κ B signaling pathways.

[**Key words**] high mobility group Box-1 protein (HMGB1); idiopathic pulmonary fibrosis (IPF); HFL1; extracellular regulated protein kinase 1/2-nuclear factor kappa B; Buyang Huanwu Tang

特发性肺纤维化 (IPF) 是一种病因不明的、慢性、进行性、弥漫性肺纤维化疾病,其主要病理改变为早期的弥漫性肺泡炎和后期的大量成纤维细胞病理性增殖转型、细胞外基质的异常积聚^[1-2]。目前认为 IPF 成纤维细胞灶中成纤维细胞的来源大体分为三条途径,即循环中的纤维细胞,肺局部的成纤维细胞和上皮-间质转化 (EMT)^[3-5]。IPF 的病因和发病机制尚不十分清楚,潜在危险因素有微生物感染、吸烟、环境暴露、胃食管返流及遗传等,与炎症、免疫损伤、异常修复等机制相关^[6-7]。研究显示,高迁移率族蛋白 Box-1 (HMGB1) 在细胞外可与晚期糖基化终产物受体 (RAGE), Toll 样受体等结合,通过激活核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路,刺激白细胞介素 1 β (IL-1 β) 等炎症因子的表达,促进肺纤维化进程中的免疫炎症及免疫损伤的发生^[8]。IPF 在中医学中多归属到“肺痿”、“肺痹”等疾病范畴^[9],主要由外邪、瘀血、痰浊、热毒等致病因素,引起肺肾亏虚、气虚血瘀、痰热互结、痹阻肺络等病机改变。其中气虚血瘀、肺络闭阻是肺纤维化疾病发生发展过程中的重点病机^[10],在临床上使用益气活血法进行治疗可较好的改善患者症状及生存质量^[11]。本研究选用益气活血代表方补阳还五汤,以人肺成纤维细胞 (HFL1) 为受试细胞,通过细胞外调节蛋白激酶 1/2 (ERK1/2) 核转录因子- κ B (NF- κ B) 信号通路,进一步探索补阳还五汤防治肺纤维化的分子机制。

1 材料

1.1 动物及细胞 雄性 SPF 级 SD 大鼠购于成都

达硕实验动物有限公司,体重 (220 \pm 20) g,动物合格证号 SCXK (川) 2008-0024。本研究获得成都中医药大学实验动物伦理委员会批准 (编号 2014DL-023),所有实验研究均符合中国伦理委员会有关动物研究指导原则。HFL1 购于中国科学院上海生命科学研究所细胞资源中心。

1.2 药物及试剂 补阳还五汤按《医林改错·瘫痿论》所载药物和配比 [黄芪 (生) 120 g, 当归尾 6 g, 赤芍 4.5 g, 地龙、川芎、桃仁、红花各 3 g], 转换为大鼠等效剂量使用,水提液浓缩至每 1 mL 药液含原生药材 3 g,灭菌后于 4 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。补阳还五汤饮片: 黄芪 (批号 1503072), 当归尾 (批号 1412031), 赤芍 (批号 1407105), 地龙 (批号 1511049), 川芎 (批号 1405227), 桃仁 (批号 1509053) 和红花 (批号 1402080); 以上所有中药饮片均购于四川新荷花中药饮片股份有限公司,经成都中医药大学药学院马云桐教授鉴定为正品。重组人 HMGB-1 (纯度 > 90%, 美国 Sigma 公司,批号 02K0720); 抗体 ERK1/2, NF- κ B p65 (美国 CST 公司,批号分别为 PA16739, PA67413); 抗体甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) (美国 Abcam 公司,批号 201502); 人 IL-1 β 酶联免疫吸附测定 (ELISA) 试剂盒 (美国 Biologend 公司,批号 20151207)。

1.3 仪器 Midi40 型二氧化碳恒温细胞培养箱 (美国 Thermo 公司), DMi1 型倒置显微镜 (德国徕卡公司), Varioskan 型全波长多功能酶标仪 (美国 Thermo Fisher), HC-1605 型超净台 (苏州净化设备

公司), Zj-003 型台式高速离心机(科大中佳公司), DQHY-2000M 型恒温摇床(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), JY300C 型通用电泳仪(北京六一仪器厂), IMS-40 型制冰机(常熟雪科电器有限公司), Typhoon FLA7000 型多功能激光分子成像系统(通用电气医疗系统贸易发展有限公司)。

2 方法

2.1 含药血清制备 将 30 只健康的 SD 大鼠适应性喂养 1 周后,随机分为空白组和补阳还五汤含药血清制备组,每组各 15 只。根据文献《血清药理实验中采血时间的通法方案》^[12]和《补阳还五汤血清药理学的方法学研究进展》^[13]中的方法进行含药血清制备。补阳还五汤使用 $13.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 的剂量进行灌胃,空白组给予等体积的生理盐水。每天早晚各灌胃 1 次,连续给药 7 d。在末次灌胃后 1 h,使用 10% 水合氯醛 $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉大鼠,行腹主动脉采血,采血前禁食 12 h。取血后室温静置 4 h, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,收获上清, $56 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴灭活 30 min, $0.22 \text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过除菌后分装,置于 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱冻存备用。

2.2 细胞培养及分组 取对数生长期 HFL1 细胞,以 1×10^5 个/mL 的密度接种于 6 孔板中,采用含 10% 胎牛血清, 1% 双抗(青霉素-链霉素混合溶液)的 F12K 培养液,在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ $5\% \text{ CO}_2$ 及饱和湿度条件培养 48 h,细胞融合达 80% 后,换用无血清培养液继续培养 24 h,使细胞同步化。将细胞分为 7 组,分别为空白组, HMGB1 刺激组, 20% 空白血清预培养加 HMGB1 组,补阳还五汤含药血清预培养加 HMGB1 刺激组,含药血清终体积分数分别为 5% , 10% , 15% , 20% 。补阳还五汤含药血清预培养组按分组加入对应体积的含药血清,再加入空白血清,使各组血清终体积均为 20% 。 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ $5\% \text{ CO}_2$ 及饱和湿度条件培养 0.5 h 后,加入 HMGB1 蛋白(终质量浓度为 $100 \text{ }\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)刺激 24 h 后收集培养上清并抽提细胞总蛋白。

2.3 蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测 ERK1/2, NF- κ B p65 的表达 制备 SDS-PAGE 凝胶,将提取的蛋白样品进行蛋白定量后上样,每孔 $20 \text{ }\mu\text{g}$ 。于电压 120 V 和 180 V 进行电泳,电泳完成后取出 PAGE 凝胶,按 3 张滤纸/PAGE 胶/PVDF 膜/3 张滤纸的顺序层叠排列,于 110 V 电压下转膜 2 h。取出 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,漂洗 3 次,加入稀释好的 ERK1/2 抗体, p-ERK1/2 抗体, NF- κ B p65 抗体,室温孵育 1~2 h, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜。漂洗 3 次,加

入稀释的 HRP 标记二抗,室温孵育 1 h,漂洗 3 次。使用 ECL 发光液对已孵育完成的 PVDF 膜进行显色,凝胶成像分析系统对显影条带进行扫描分析。

2.4 ELISA 法检测 IL-1 β 的表达 按照 ELISA 试剂盒说明书所要求的操作步骤,检测细胞培养上清液中 IL-1 β 的表达。

2.5 统计学分析 采用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析,其中计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐时采用 LSD 法,方差不齐时用 Tamhane'S T2 法,两组间均数比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 HMGB1 刺激后 HFL1 细胞中 ERK1/2/NF- κ B 信号通路的影响 与空白组比较, HMGB1 诱导 HFL1 细胞 24 h 后 ERK1/2 表达增高,其中 HMGB1 刺激组和 20% 空白血清预培养加 HMGB1 组 ERK1/2 表达显著增高($P < 0.01$)。补阳还五汤含药血清能降低 HFL1 细胞中 ERK1/2 的表达,与 20% 空白血清预培养加 HMGB1 组比较, 15% 和 20% 补阳还五汤含药血清组 ERK1/2 明显降低($P < 0.05$)。与空白组比较, HMGB1 诱导 24 h 后胞浆和胞核中 NF- κ B p65 均增高。胞浆中 20% 空白血清预培养加 HMGB1 组 NF- κ B p65 显著增高($P < 0.01$);胞核中 20% 空白血清预培养加 HMGB1 组 NF- κ B p65 增高($P < 0.05$)。补阳还五汤含药血清干预后,可降低 HMGB1 刺激引起的 NF- κ B p65 的高表达。与 20% 空白血清预培养加 HMGB1 组比较,胞浆中 10% 补阳还五汤含药血清组 NF- κ B p65 明显降低($P < 0.05$);胞核中 20% 补阳还五汤含药血清组 NF- κ B p65 含量明显减少,低于胞浆中的含量($P < 0.05$)。见表 1 及图 1。

3.2 对 HMGB1 刺激后 HFL1 细胞中 IL-1 β 的影响 HMGB1 诱导 24 h 后,与空白组比较,其余各组 IL-1 β 的表达显著增高($P < 0.01$)。使用补阳还五汤含药血清干预后, HFL1 细胞中 IL-1 β 的表达降低,与 20% 空白血清预培养加 HMGB1 组比较, 15% 补阳还五汤含药血清预培养加 HMGB1 刺激组 IL-1 β 明显降低($P < 0.05$)。见表 2。

4 讨论

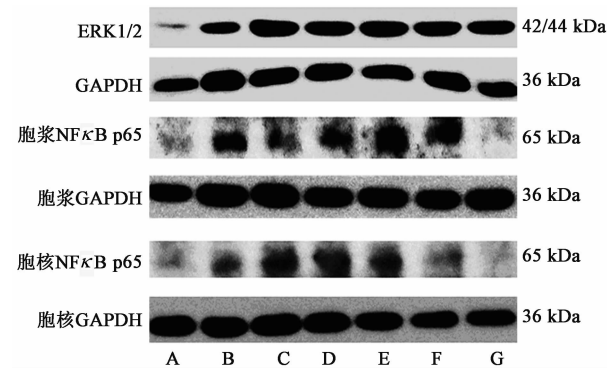
IPF 是一种慢性、进行性、致死性的纤维化疾病,诊断后中位生存期为 3~5 年^[14]。根据美国一个大规模健康保险数据库的资料推算, IPF 的年发病率为 $6.8 \sim 16.3/10$ 万,并呈逐年上升趋势,男性多于女性^[15]。IPF 缺乏有效的药物治疗,由美国胸

表 1 补阳还五汤含药血清对 HFL1 细胞中 ERK1/2 和 NF-κB p65 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 1 Effect of Buyang Huanwu Tang on ERK1/2 and NF-κB p65 five in HFL1 cells ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	体积分数/%	ERK1/2	胞浆 NF-κB p65	胞核 NF-κB p65
空白	-	0.15 ± 0.01	0.78 ± 0.16	0.48 ± 0.50
HMGB1	-	0.52 ± 0.03	0.82 ± 0.03	1.32 ± 0.51
空白血清	20	1.06 ± 0.03 ²⁾	1.69 ± 0.09 ²⁾	1.71 ± 0.75 ¹⁾
补阳还五汤	5	0.97 ± 0.02	1.21 ± 0.58	1.74 ± 0.83
	10	1.05 ± 0.02	1.43 ± 0.25 ³⁾	1.71 ± 0.72
	15	0.83 ± 0.03 ³⁾	1.31 ± 0.25	1.38 ± 0.50
	20	0.75 ± 0.04 ³⁾	1.75 ± 0.30	0.54 ± 0.82 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与空白血清比较³⁾ $P < 0.05$ 。



A. 空白组; B. HMGB1 组; C. 20% 空白血清组; D. 5% 含药血清组; E. 10% 含药血清组; F. 15% 含药血清组; G. 20% 含药血清组

图 1 补阳还五汤对 HFL1 细胞中 ERK1/2, NF-κB p65 表达的影响
Fig. 1 Effect of Buyang Huanwu Tang on HFL1 cells in ERK1/2 and NF-κB p65

表 2 补阳还五汤含药血清对 IL-1β 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

Table 2 Effect of Buyang Huanwu Tang serum on IL-1β ($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	体积分数/%	IL-1β/ng·L ⁻¹
空白	-	24.62 ± 4.16
HMGB1	-	33.28 ± 2.04
空白血清	20	63.19 ± 6.56 ¹⁾
空白还五汤	5	56.03 ± 3.91
	10	53.05 ± 6.93
	15	49.31 ± 1.37 ²⁾
	20	53.70 ± 6.93

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与空白血清比较²⁾ $P < 0.05$ 。

科协会/欧洲呼吸协会/日本呼吸协会/拉丁美洲胸科协会联合发布的 IPF 诊治循证指南, 强烈推荐患者接受肺移植和吸氧, 在 2015 年新指南中有条件的推荐使用尼达尼布和吡非尼酮等药物治疗。这 2 种治疗 IPF 的新药均为针对肺化发病过程中的细胞因子产生作用^[16], 包括转化生长因子 β, 成纤维细胞生长因子, 血小板源性生长因子等, 说明针对细胞因

子产生作用的药物, 已成为 IPF 治疗的新方向。

HMGB1 是一种非组蛋白核蛋白, 在细胞核内参与 DNA 的复制、转录及修复等, 可通过活化的免疫细胞和损伤坏死的细胞释放至细胞外^[17]。在细胞外通过与 RAGE, Toll 样受体结合, 活化 CDC42/Rac, MAPKs, NF-κB 等多条信号通路, 发挥调节免疫、促进炎症和损伤修复、趋化组织细胞或干细胞等多种生物学作用^[18]。ERK 属于丝氨酸/苏氨酸残基蛋白激酶, 是 MAPKs 家族成员之一, 也是 MAPK 信号转导通路中迄今研究最为透彻的一条。活化的 ERK 通过磷酸化形式, 将生长因子、细胞因子、肿瘤启动因子等多种细胞外信号传递至细胞核, 调控细胞生长发育、促进细胞分裂及调节细胞间功能等。在纤维化疾病的发生发展中活化的 ERK 可通过生长因子、纤维连接蛋白、层粘连蛋白 B 及胶原蛋白酶基因等调控细胞增殖分裂及分化, 促进细胞的增殖和细胞外基质的积聚^[19]。NF-κB 主要由 p50, p65 (RelA), p52, c-Rel 和 RelB 等 5 个相关的转录因子组成, 与许多炎症因子的表达相关。在细胞质中存在着 NF-κB 抑制剂蛋白 (inhibitor of NF-κB, IκB), 当 NF-κB 信号传导通路被激活, IκB 蛋白发生降解, 使 p65 亚基进入细胞核, 调节炎性介质、细胞因子、趋化因子、黏附分子、生长因子等的表达, 从而刺激肿瘤坏死因子-α (TNF-α), 转化生长因子-β (TGF-β), IL-6, IL-1β, IL-8 等多种与纤维化相关的细胞因子生成^[20]。

补阳还五汤出自王清任的《医林改错》, 原方主治中风, 半身不遂, 现代研究显示补阳还五汤可改善机体血流动力学、血液流变学、抗血栓形成和抑制血小板聚集、调节免疫、修复神经组织、抗微生物感染、保护血脑屏障、抑制细胞凋亡等作用^[21]。方中重用生黄芪, 大补肺脾之气, 使气旺血行, 配伍少量活血

化痰药,化痰而不伤正,因久病入络,佐以地龙祛风通络。补阳还五汤无论是整体复方还是各单味中药在实验研究中均表现出较好的防治肺纤维化的作用,如降低 TGF- β_1 的表达,减少 I 和 III 型胶原的生成^[22];降低 IL-4, TNF- α ^[23],调节 Th1/Th2 细胞因子和基质金属蛋白酶/基质金属蛋白酶抑制剂的平衡^[24],通过抑制成纤维细胞增殖、减少胶原分泌、减轻炎症起到抗纤维化作用。

本研究结果显示, HMGB1 在体外可刺激引起人肺成纤维细胞中 ERK1/2, NF- κ B p65, IL-1 β 的表达增加,补阳还五汤含药血清对此有抑制作用,以 20% 含药血清组效果最显著。补阳还五汤含药血清能抑制 NF- κ B 信号通路中的关键转录因子 p65 进入细胞核,减轻 IL-1 β 等炎症因子的表达。综上所述,补阳还五汤含药血清在体外可通过调控人肺成纤维细胞中 ERK1/2-NF- κ B 信号通路,减轻 IPF 中成纤维细胞分泌 IL-1 β 等炎症因子,对肺纤维化的发生发展具有一定的防治作用。

[参考文献]

[1] 辛丽丽,姜淼,张赓,等. 丹红注射液治疗特发性肺纤维化临床疗效及安全性的 Meta 分析[J]. 中国中药杂志,2016,41(20):3859-3865.

[2] 王振兴,张秀,王宇帆,等. 从大气下陷论治肺间质纤维化[J]. 中医杂志,2016,57(7):567-569.

[3] Zeisberg E M, Potenta S E, Sugimoto H, et al. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition[J]. J Am Soc Nephrol,2008,19(12):2282-2287.

[4] Challa A A, Stefanovic B. A novel role of vimentin filaments: binding and stabilization of collagen mRNAs [J]. Mol Cell Biol,2011,31(18):3773-3789.

[5] Willis B C, Liebler J M, Luby-Phelps K, et al. Induction of epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial cells by transforming growth factor- β : potential role in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Am J Pathol,2005,166(5):1321-1332.

[6] Miyake Y, Sasaki S, Yokoyama T, et al. Occupational and environmental factors and idiopathic pulmonary fibrosis in Japan [J]. Ann Occup Hyg,2005,49(3):259-265.

[7] 王振兴,王飞. 环境毒邪对肺系疾病的影响初探[J]. 中国中医基础医学杂志,2016,22(2):206-208.

[8] van Beijnum J R, Buurman W A, Griffioen A W. Convergence and amplification of toll-like receptor (TLR) and receptor for advanced glycation end products (RAGE) signaling pathways via high mobility group B1 (HMGB1)[J]. Angiogenesis, 2008, 11(1): 91-99.

[9] 鞠铮嵘. 肺痿理论—晁恩祥名老中医治疗肺纤维化

经验总结[D]. 北京:北京中医药大学,2014.

[10] 李霞. 宫晓燕治疗肺纤维化理论探讨[J]. 辽宁中医杂志,2012,39(1):47-48.

[11] 田同德,杨峰,唐静雯,等. 清热活血散结复方对放射性肺炎及肺纤维化血清细胞因子 IL-6, TNF- α , TGF- β_1 水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(5):127-130.

[12] 李仪奎,吴健宇. 血清药理实验中采血时间的通法方案[J]. 中国药理学通报,1999,15(6):93-94.

[13] 宫丽,张继平. 补阳还五汤血清药理学的方法学研究进展[J]. 中医药信息,2007,24(1):43-45.

[14] Katzenstein A L, Zisman D A, Litzky L A, et al. Usual interstitial pneumonia: histologic study of biopsy and explant specimens [J]. Am J Surg Pathol, 2002, 26(12):1567-1577.

[15] Meltzer E B, Noble P W. Idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Orphanet J Rare Dis,2008, doi: 10.1186/1750-1172-3-8.

[16] Richeldi L, Costabel U, Selman M, et al. Efficacy of a tyrosine kinase inhibitor in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. N Engl J Med,2011,365(12):1079-1087.

[17] YANG H, WANG H, Czura C J, et al. The cytokine activity of HMGB1 [J]. J Leukoc Biol,2005,78(1):1-8.

[18] Lotze M T, Zeh H J, Rubartelli A, et al. The grateful dead: damage-associated molecular pattern molecules and reduction/oxidation regulate immunity [J]. Immunol Rev,2007,220(1):60-81.

[19] 李鑫,朱文浩,高颖,等. ERK1/2 通路及其介导多发性硬化发病的研究进展[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2015,17(4):880-883.

[20] Goebeler M, Gillitzer R, Kilian K, et al. Multiple signaling pathways regulate NF- κ B-dependent transcription of the monocyte chemoattractant protein-1 gene in primary endothelial cells [J]. Blood,2001,97(1):46-55.

[21] ZHANG J P, LI C L, GUO X X, et al. Effect of buyang huanwu decoction on platelet activating factor content in arterial blood pre-and post-arterial thrombosis in rats [J]. J Tradit Chin Med,2001,21(4):299-302.

[22] 刘秀芳,王炳胜,李凤玉,等. 益气活血中药对放射损伤大鼠肺组织 TGF- β_1 和 I、III 型胶原合成的影响[J]. 现代肿瘤医学,2010,18(8):1477-1480.

[23] 刘永琦,李金田,李娟,等. 黄芪对肺纤维化大鼠血清细胞因子及肺超微结构的影响[J]. 中国免疫学杂志,2008,24(11):980-983.

[24] 彭清,辛建保,苏良平,等. 黄芪对肺纤维化大鼠 MMP-2 和 TIMP-1 表达的影响[J]. 华中科技大学学报:医学版,2007,36(1):35-37.

[责任编辑 周冰冰]