

补阳还五汤对肺纤维化大鼠肺组织 TGF- β_1 /Smad3 表达的影响

杨晗¹, 王飞^{1*}, 王全林¹, 钟振东², 李斌¹, 杨昆¹

(1. 成都中医药大学, 成都 610075; 2. 四川省人民医院实验动物研究所, 成都 610212)

[摘要] **目的:** 观察补阳还五汤对博莱霉素致肺纤维化大鼠肺组织病理及转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) mRNA, Smad3 mRNA 表达的影响。**方法:** 将 144 只健康雄性 SD 大鼠随机分成 6 组, 即假手术 (NS) 组、模型 (BLM) 组、强的松 (P) 组、补阳还五汤高、中、低 (A, B, C) 组, 每组各 24 只。除 NS 组外, 其余各组采用一次性气管滴注博莱霉素复制肺纤维化大鼠模型, NS 组气管内滴注等量 NS, 造模第 2 天起, A, B, C 组用补阳还五汤 (剂量分别为 18.48, 9.24, 4.62 g·kg⁻¹) 灌胃, P 组用强的松混悬液 (4.2 mg·kg⁻¹) 灌胃, NS 组及 BLM 组用 NS (10 mL·kg⁻¹) 灌胃, 于造模后第 7, 14, 28 d 分 3 批处死动物, 每次 8 只, 取左肺制备病理切片, 行 HE, Masson 染色观察肺泡炎及肺纤维化程度改变情况; 取右肺上中叶组织, 采用逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR) 法检测各组大鼠肺组织 TGF- β_1 mRNA, Smad3 mRNA 的表达。**结果:** ①BLM 组大鼠肺泡炎及肺纤维化程度在不同时间点均明显高于同期 NS 组, 差异明显 ($P < 0.01$); ②与 BLM 组相比, 补阳还五汤各剂量组肺泡炎及肺纤维化程度有不同程度的改善 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); ③与 NS 组相比, BLM 组肺组织 TGF- β_1 , Smad3 表达水平在不同时间点均明显增高 ($P < 0.01$), 尤以第 7 天最为明显, 并随时间推移有逐渐下降的趋势; ④补阳还五汤各剂量组 TGF- β_1 , Smad3 表达水平与同期 BLM 组相比有不同程度的降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 其中 B 组在 7, 14, 28 d, C 组在 14, 28 d 下降较明显 ($P < 0.01$), A 组与同期 BLM 组相比虽有所降低, 但早期不如 B, C 组明显。**结论:** 补阳还五汤可以明显改善模型大鼠肺组织肺泡炎和肺纤维化程度, 抑制博莱霉素诱导的肺纤维化大鼠肺组织 TGF- β_1 mRNA, Smad3 mRNA 的表达上调, 从而减轻肺纤维化程度。

[关键词] 肺纤维化; 补阳还五汤; 转化生长因子 β_1 ; Smad3

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)24-0240-05

[doi] 10.11653/syfy2013240240

Effects of Buyang Huanwu Decoction on Expression of TGF- β_1 /Smad3 in Pulmonary Fibrosis Rats

YANG Han¹, WANG Fei^{1*}, WANG Quan-lin¹, ZHONG Zhen-dong², LI Bin¹, YANG Kun¹

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075, China;

2. Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610212, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Buyang Huanwu decoction on pathomorphology and the expression of transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1) mRNA and Smad3 mRNA in lung tissue of pulmonary fibrosis rats induced by bleomycin (BLM). **Method:** 144 healthy male SD rats were randomly divided into six groups: sham operation (NS) group, model (BLM) group, prednisone (P) group, Buyang Huanwu decoction high-dose, middle-dose, low-dose (A, B, C) group, 24 rats in each group. Pulmonary fibrosis model was established by injection of BLM into tracheal intubation, NS group was intratracheally instilled with equal NS. The rats of group A, B, C were given Buyang Huanwu decoction at the dose of 18.48, 9.24, 4.62 g·kg⁻¹, the rats

[收稿日期] 20130202(007)

[基金项目] 中国教育部博士点项目(20115132110002)

[第一作者] 杨晗, 博士, 助教, 主治医师, 从事中医药防治肺系病证的临床与实验研究, Tel: 15882458490, E-mail: 15882458490@163.com

[通讯作者] *王飞, 教授, 博士生导师, 从事中医药防治老年病与肺系病证的临床与实验研究, Tel: 18980880213, E-mail: wangfei896@163.com

of group P were given prednisone at the dose of $4.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the rats of group NS and BLM were given NS at the dose of $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$. 8 rats in each group were killed respectively on days 7, 14, 28 after intratracheal instillation. To measure alveolar catarrh and pulmonary fibrosis degrees in left lung dyed with HE and Masson, and TGF- β_1 mRNA, Smad3 mRNA in right lung tissue was assessed by RT-PCR. **Result:** ① Alveolar catarrh and pulmonary fibrosis degrees in group BLM were significantly higher than group NS ($P < 0.01$); ② The groups of Buyang Huanwu decoction could improve the alveolar catarrh and pulmonary fibrosis in varying degree by comparison with group BLM ($P < 0.01$ or $P < 0.05$); ③ At all time points, TGF- β_1 , Smad3 mRNA expression in group BLM was higher than that in group NS ($P < 0.01$), on the 7th day the change was significant; ④ TGF- β_1 , Smad3 mRNA expression of the groups Buyang Huanwu decoction was lower than that in group BLM ($P < 0.01$ or $p < 0.05$), TGF- β_1 , Smad3 mRNA expression of group B was lower than that in group BLM at all time points ($P < 0.01$), the levels of that in group C were significant lower than group BLM's on the 14th day and the 28th day ($P < 0.01$), the levels of group A's were lower than that in group BLM, but the differences were not more obvious on the 7th day than group B and C. **Conclusion:** Buyang Huanwu decoction could significantly alleviate alveolar catarrh and pulmonary fibrosis, efficiently regulate expression levels of TGF- β_1 , Smad3 mRNA in the lung tissues of pulmonary fibrosis rats induced by BLM, the degree of pulmonary fibrosis can be reduced.

[**Key words**] lung fibrosis; Buyang Huanwu decoction; TGF- β_1 ; Smad3

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是由多种原因引起的弥漫性肺部炎性疾病,病变主要累及肺间质,也可累及肺泡上皮细胞及肺血管。以肺间质细胞的增生和胶原蛋白为主的细胞外基质(extracellular marx, ECM)过度沉积为主要表现,至今发病机制不明,且没有理想的治疗方法^[1]。目前认为转化生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β)是致纤维化关键性的细胞因子,其介导的 Smad 通路是纤维化发生的可能机制之一^[2], Smads 家族中的 Smad3 是 TGF- β /Smads 信号通路活化蛋白,其正常表达与肺纤维化的形成直接相关^[3]。近年来中医药防治肺纤维化已成为肺科学界关注的重点,中医对该病的认识与研究日趋成熟,发现了很多在临床和实验中对预防和治疗肺纤维化有效的药物。笔者在前期对益气活血法干预肺纤维化的研究中发现,补阳还五汤具有抑制实验性肺纤维化大鼠血清 TGF- β_1 过度表达,减少肺组织中 HYP 及肺泡巨噬细胞 TNF- α 的含量^[4-6],提示益气活血法干预肺纤维化的作用可能与 TGF- β_1 /Smad/ERK 信号通路有关。本研究以博来霉素诱导大鼠肺纤维化模型为评价载体,观察补阳还五汤对实验性大鼠肺组织 TGF- β_1 , Smad3 mRNA 表达的影响,探讨其防治肺纤维化的可能机制,也为抗 PF 药物的研究提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠 144 只,雄性,体质量(200 ± 20) g,由成都达硕实验动物有限公司提供[合格证号 SCXK(川)2012-18],并饲养于成都中医

药大学中医脏腑病证实验室清洁动物室。

1.2 药物及仪器 硫酸博来霉素(美仑生物,批号 20111111),强的松(浙江仙居制药股份有限公司,批号 120447),补阳还五汤(黄芪、赤芍、桃仁、红花、当归、川芎、地龙组成,用药比例为 5:1:1:1:1:1:1,均为浓缩颗粒,四川新荷花中药饮品有限公司),BS-600L 型电子天平(上海友声衡器有限公司),UV1700 型紫外分光光度计(SHIMADZU,上海锐翔仪器公司),PIKORed96 型 RT-PCR 扩增仪(美国 ThermoFisher 仪器有限公司),MK3 型 Thermo 全功能酶标仪(美国 ThermoFisher 仪器有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组及模型制备 将 144 只 SD 大鼠在实验条件下饲养 1 周,随机分为 6 组,即假手术(NS)组、模型(BLM)组、强的松(P)组、补阳还五汤高剂量(A)组、补阳还五汤中剂量(B)组、补阳还五汤低剂量(C)组,每组各 24 只。大鼠适应环境 3 日后,除 NS 组外,余各组以 1.5% 戊巴比妥钠($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉后固定,将大鼠仰卧固定于实验台,固定头和四肢,常规消毒,沿颈部正中中线作一切口,钝性分离各层组织,暴露气管,经气管软骨环间隙向气管内缓慢注入博来霉素生理盐水溶液($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) $0.2 \sim 0.3 \text{ mL}$,注射后迅速将大鼠直立并旋转,使药液在肺内均匀分布,假手术组在相同条件下向气管内注入等容量生理盐水。术后 3 d,所有大鼠颈部缝合处喷涂阿米卡星洗剂。

2.2 给药 模型成功后第 2 天开始灌胃给药,NS

组、BLM 组给予 0.9% NS(10 mL·kg⁻¹·d⁻¹),P 组予强的松混悬液(4.2 mg·kg⁻¹·d⁻¹),补阳还五汤高、中、低(A, B, C)组分别予(18.48, 9.24, 4.62 g·kg⁻¹·d⁻¹),连续给药 28 d。

2.3 标本采集 于造模后第 7,14,28 天分 3 批取标本,每组随机 8 只,股静脉取血后处死动物,开胸分离肺组织,观察大体情况,取左肺放入经 DEPC 水处理的 4% 多聚甲醛固定,脱钙、脱水,常规石蜡包埋切片,备作病理检测;取右肺上中叶 100 mg 放入 EP 管中,迅速置于液氮中,备检测。

2.4 肺组织病理形态学观察 病理切片行 HE 染色和 Masson 染色,光镜下观察病理组织学变化并摄片,参照 Szapiel^[7]等方法评价各组大鼠肺组织肺泡炎程度及肺纤维化程度。

2.5 肺组织 TGF-β₁ mRNA, Smad3 mRNA 的表达检测 取 50~100 mg 大鼠肺组织,于匀浆器中制备肺组织匀浆。①从肺组织细胞提取总 RNA;②RNA 逆转录合成 cDNA;③从美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库中搜索下载大鼠 TGF-β₁, Smad3 及其相应的 β-actin 基因全序列,使用 Primer Premier 5 引物设计软件设计筛选各基因特异性引物。所有引物均交由上海生工生物工程技术有限公司设计合成,并以 ULTRAPAGE 纯化。TGF-β₁ 引物:上游 5'-CACCATCCATGACATGAACC-3'、下游 5'-TCATGTTGACAACCTGCTCC-3'、扩增产物 404 bp, β-action4 引物:上游 5'-TCCCTCAACATTGTCAGCAA-3'、下游 5'-AGCTCCACAACGGATACATT-3'、扩增产物 309 bp; Smad3 引物:上游 5'-GAAT

CCACGAGCAGAGCAACG-3'、下游 3'-TCGAGGTGACACGCCTCAGTC-5'、扩增产物 166 bp, β-action1 引物:上游 5'-TGGACACTACCGTCTCTCGTG-3'、下游 5'-CGTGCAGAGTTGAGTCAGATG-3'、扩增产物 209 bp;④PCR 反应程序:95 °C 热启动及预变形 30 s,共 40 个循环,95 °C 变性 5 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 充分延伸 30 s,采集荧光。⑤反应结束后,使用 Sequence Detection software version 1.2.3 软件(Applied Biosystems 公司)分析 PCR 过程各检测样本的 CT(Threshold cycle)值,通过 2^{-ΔΔCT} 计算 X 相对 mRNA 表达水平,并由熔解曲线判断 PCR 反应的特异性。

2.6 统计学处理 实验数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行单因素方差分析和组间比较(方差齐用 LSD 检验,不齐用 Games-Howell 检验),P < 0.05 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 补阳还五汤对大鼠肺泡炎和肺纤维化程度的影响 NS 组肺组织结构正常,肺泡结构清晰,无间隔水肿、炎细胞浸润和胶原纤维沉积;BLM 组第 7 天肺泡炎明显,肺泡结构紊乱,肺泡内可见大量炎细胞渗出,成纤维细胞增生,形成大面积纤维化病灶,第 14,28 天肺泡炎逐渐不明显,但肺纤维化程度呈进行性加重;BLM 组大鼠肺泡炎及肺纤维化程度在不同时间点均明显高于同期 NS 组,差异明显(P < 0.01);与 BLM 组相比,补阳还五汤各剂量组肺组织肺泡炎和肺纤维化程度均有不同程度的改善(P < 0.01 或 P < 0.05)(表 1)。

表 1 补阳还五汤对大鼠肺泡炎和肺纤维化程度的影响($\bar{x} \pm s, n = 24$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	7 d		14 d		28 d	
		肺泡炎	肺纤维化	肺泡炎	肺纤维化	肺泡炎	肺纤维化
NS	-	0.50 ± 0.27	0.29 ± 0.16	0.24 ± 0.10	0.17 ± 0.01	-	-
BLM	-	5.63 ± 0.39 ¹⁾	3.21 ± 0.27 ¹⁾	5.14 ± 0.36 ¹⁾	4.22 ± 0.15 ¹⁾	4.72 ± 0.57 ¹⁾	5.64 ± 0.42 ¹⁾
P	4.3 × 10 ⁻³	4.610 ± 0.31 ²⁾	2.56 ± 0.52 ²⁾	4.43 ± 0.26 ²⁾	3.18 ± 0.51 ²⁾	3.83 ± 0.44 ²⁾	3.66 ± 0.16 ²⁾
A	18.48	5.38 ± 0.22 ³⁾	2.87 ± 0.14 ³⁾	4.57 ± 0.33 ²⁾	3.26 ± 0.53 ²⁾	4.08 ± 0.56 ²⁾	3.73 ± 0.21 ²⁾
B	9.24	4.81 ± 0.13 ²⁾	2.46 ± 0.45 ²⁾	4.26 ± 0.17 ²⁾	2.77 ± 0.47 ²⁾	3.47 ± 0.28 ²⁾	3.13 ± 0.04 ²⁾
C	4.62	5.32 ± 0.46 ³⁾	2.49 ± 0.12 ²⁾	4.45 ± 0.29 ²⁾	3.18 ± 0.41 ²⁾	3.78 ± 0.16 ²⁾	3.47 ± 0.23 ²⁾

注:与 NS 组相比¹⁾P < 0.01;与 BLM 组比较²⁾P < 0.01,³⁾P < 0.05(表 2~3 同)。

3.2 补阳还五汤对大鼠肺组织 TGF-β₁ mRNA 表达的影响 与假手术(NS)组相比,模型(BLM)组在 7,14,28 d 肺组织 TGF-β₁ mRNA 表达水平明显增高(P < 0.01),尤以第 7 天最为明显,并随时间推移有逐渐下降的趋势;补阳还五汤各剂量组 TGF-β₁ 表达水平与同期 BLM 组相有不同程度的降低(P < 0.01 或 P < 0.05),其中 B 组在 7,14,28 d,C 组在 14,28

d 下降较明显(P < 0.01),A 组与同期 BLM 组相比虽有所降低,但在早期 7 d 时不如 B,C 组明显(P < 0.05)。见表 2。

3.3 补阳还五汤对大鼠肺组织 Smad3 mRNA 表达的影响(表 3) 与假手术(NS)组相比,模型(BLM)组在 7,14,28 d 肺组织 Smad3 mRNA 表达水平明显增高(P < 0.01);与同期 BLM 组相比,B 组 Smad3

表 2 补阳还五汤对大鼠肺组织 TGF-β_{1m} RNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	7 d	14 d	28 d
NS	-	0.495 ± 0.031	0.512 ± 0.069	0.488 ± 0.043
BLM	-	2.122 ± 0.614 ¹⁾	2.037 ± 0.217 ¹⁾	1.834 ± 0.386 ¹⁾
P	4.2 × 10 ⁻³	0.874 ± 0.315 ²⁾	1.144 ± 0.171 ²⁾	1.082 ± 0.261 ²⁾
A	18.48	1.717 ± 0.298 ³⁾	1.272 ± 0.159 ²⁾	1.146 ± 0.235 ²⁾
B	9.24	1.381 ± 0.163 ²⁾	0.993 ± 0.551 ²⁾	0.744 ± 0.147 ²⁾
C	4.62	1.785 ± 0.107 ³⁾	1.224 ± 0.186 ²⁾	0.893 ± 0.135 ²⁾

mRNA 表达在各时间点下降显著 ($P < 0.01$), C 组在第 14, 28 d Smad3 mRNA 表达下降较明显 ($P < 0.01$); A 组与同期 BLM 组相比虽有所降低,但在 7, 14 d 时不如 B, C 组明显 ($P < 0.05$)。

表 3 补阳还五汤对大鼠肺组织 Smad3mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	7 d	14 d	28 d
NS	-	0.523 ± 0.107	0.678 ± 0.083	0.616 ± 0.139
BLM	-	2.541 ± 0.183 ¹⁾	2.323 ± 0.096 ¹⁾	2.248 ± 0.211 ¹⁾
P	4.2 × 10 ⁻³	1.891 ± 0.116 ²⁾	1.522 ± 0.072 ²⁾	1.426 ± 0.283 ²⁾
A	18.4	2.315 ± 0.136 ³⁾	2.019 ± 0.241 ³⁾	1.623 ± 0.316 ²⁾
B	9.24	1.811 ± 0.173 ²⁾	1.643 ± 0.067 ²⁾	1.378 ± 0.126 ²⁾
C	4.62	2.297 ± 0.226 ³⁾	1.802 ± 0.113 ²⁾	1.512 ± 0.045 ²⁾

4 讨论

肺纤维化是一种渐进性的致死性疾病,发病率约为 6.8 ~ 16.3/10 万^[8-9],并且随着污染、环境恶化等因素呈不断上升的趋势,已成为严峻的健康问题^[10-11]。目前国内外均以糖皮质激素和免疫抑制剂为主要治疗手段,其主要作用为抑制炎症和免疫反应,减轻肺泡炎症,延缓肺纤维化的进程。长期大剂量服用副作用大,且对存在某些危险因素(如糖尿病、高血压)的患者其应用受到限制,某些病例甚至无效。研究表明^[12-13],细胞因子与细胞因子网络在肺纤维化发展中发挥着重要作用,而在这些细胞因子中 TGF-β 在刺激细胞间基质的积聚过程中所发挥的作用尤为重要,它可促进成肺成纤维细胞(fibroblast, FB)过度增殖、分化,继而促进胶原蛋白等细胞外基质在肺间质和肺泡间过度积聚,导致肺纤维化的发生与发展^[14]。现已证实 TGF-β₁ 在体内发挥促纤维化作用,其作用已得到肯定^[15]。实验表明, TGF-β₁ 可以促进 FB 增殖和聚集,并能刺激未成熟 FB 的生长。而应用 TGF-β₁ 单克隆抗体则可部分抑制其增殖和胶原合成^[16], TGF-β₁ 还可以促进 FB 表型向成肌纤维细胞表型转化,而成肌纤维细胞参与沉积,在肺纤维化发病机制中起着重要作

用^[17]。Smads 蛋白是 TGF-β 家族的特异性细胞内信号转导分子,其中 Smad3 是主要的 TGF-β/Smads 信号通路活化蛋白,大量资料证明^[18], TGF-β₁/Smad3 途径导致纤维化,给予 smad3 敲除的大鼠注射活性 TGF-β₁ 因子,由于阻碍了 TGF-β₁ 诱导基质基因、组织蛋白酶抑制剂(TIMP-1)的表达,从而阻碍基质积聚,不会促进瘢痕形成和纤维化发生,反之,未敲除 smad3 的大鼠出现明显肺纤维化。

肺纤维化归属于中医“肺痿”、“肺痹”等范畴。本病多由外邪入侵人体,留滞肺内,损害肺脏,导致肺气亏虚,令气失所主,肺为气之主,肾为气之根,肺病虚损,病久及肾,则肾气虚弱,不能纳气归元,气浮逆于上,则为喘促,动则尤甚。中医学认为,肺主治节、朝百脉,助心脉而行血,若肺气不足,“肺中之血凝而留止”,产生瘀血;肾藏精生髓,髓生血,阴精亏虚,则血生化乏源,或阳气亏虚则血液运行无力,可导致血瘀,故唐容川有“瘀血乘肺,咳逆喘促”的论述,表明瘀血也是肺纤维化的重要病理因素。综上,本病责之肺肾气虚,邪气入中,久留肺络,气血因瘀而滞,肺络因痹而痿,故气虚血瘀是肺纤维化的主要病机,益气活血法是治其之基本大法。实验研究表明^[19-22]益气养阴、活血化瘀中药无论单味、复方还是提取物对肺纤维化动物模型纤维化程度均有明显减轻作用,能够抑制肺间质内炎性细胞浸润,改善局部微循环,具有拮抗 TGF-β₁ 等致纤维化因子过度表达、抗脂质过氧化和抑制胶原沉积,降低肺组织的 HYP、血清 FN, LN 含量,调节 Th1/Th2 细胞因子失衡,调节 MMP-2/TIMP-1 使其趋于平衡,提高抗氧化能力,减少细胞因子和炎症介质的合成、释放,抑制胶原合成和沉积,减轻肺纤维化,从而发挥抗 PF 的作用。益气活血法的复方研究也表明能减轻肺纤维化大鼠肺泡炎症程度,下调黏附分子 ICAM-1, VCAM-1 在肺组织的表达,显著降低 TGF-β₁ 的过度表达,减轻肺胶原蛋白含量,从而达到防治肺纤维化的目的^[23-24]。补阳还五汤出自清代名医王清任的《医林改错》,是益气活血法的代表方剂,方中生黄芪大补元气使气旺血行为君,当归尾活血祛瘀为臣,川芎、赤芍、桃仁、红花助归尾活血行瘀,地龙通经活络,共为佐使药,诸药合参,共奏补气活血通络之功。现代药理研究表明^[25],该方的各主要单味中药均对实验性肺间质纤维化具有良好的防治作用,改善微循环,破坏致敏细胞的酶激化系统,抑制过敏介质的释放,从而可缓解支气管痉挛,促进炎症的吸收,减少巨噬细胞释放纤维联结蛋白,可延缓或阻断肺间质纤维

化进程。

本研究结果显示,与假手术相比,模型组及给药组大鼠可见肺泡结构有不同程度的破坏,肺间质增生,可见炎细胞浸润和胶原纤维增生;与模型组比较,给药组各时间点的肺炎和肺纤维化程度均有不同程度的改善;RT-PCR 结果显示,与各给药组相比,模型组大鼠肺组织 TGF- β_1 及 Smad3 表达水平明显上升,在第 7 天时达到高峰,第 14,28 天表达强度有所下降,提示 TGF- β_1 及 Smad3 的过度表达主要发生在急性肺炎期;各给药组在不同时间点 TGF- β_1 及 Smad3 的表达均低于模型组,其中补阳还五汤中剂量组的作用明显优于强的松组,在第 28 天小剂量组的作用优于强的松组,表明补阳还五汤中剂量为优选剂量。综上所述,在本次实验中,补阳还五汤对 BLM 所致大鼠肺纤维化有一定的治疗作用,其机制可能与调控 TGF- β /Smad 信号通路中的 TGF- β_1 , Smad3 过度表达有关。

[参考文献]

[1] 张丽. 肺纤维化的治疗现状及展望[J]. 肿瘤预防与治疗,2009,22(1):100.

[2] Bonniaud P, Margetts P J, Kolb M, et al. Transient transgene expression of CTGF in the lung induces moderate and reversible fibrosis[J]. Eur Respir J,2002,20(38):378.

[3] Flanders K C. Smad3 as a mediator of the fibrotic response[J]. Int J Exper Patho,2004,85(2):47.

[4] 王飞,陈平,曹国平,等. 补阳还五汤对博来霉素诱导大鼠肺间质纤维化过程中 TGF- β_1 含量的影响[J]. 四川中医,2005,23(9):31.

[5] 王飞,陈平,曹国平,等. 补阳还五汤对肺纤维化大鼠肺泡巨噬细胞肿瘤坏死因子的影响[J]. 中药药理与临床,2005,21(3):5.

[6] 曹国平,王飞,陈平. 补阳还五汤对博来霉素诱导大鼠肺间质纤维化过程中羟脯氨酸含量的影响[J]. 甘肃中医,2007,20(2):51.

[7] Szapiel S V, Elson Na, Fulmer J D, et al. Bleomycin induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse [J]. Am Rev Respir Dis, 1979, 120:893.

[8] Gharaee K M, Phan S H. Molecular mechanisms of and possible treatment strategies for idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Curr Pharm Des,2005,11:3943.

[9] Hunninghake G W. Antioxidant therapy for idiopathic pulmonary fibrosis[J]. N Engl J Med,2005,353:2285.

[10] K A sk, G E M. Martin, M. Kolb, et al. Targeting genes for treatment in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Proc Am Tho Rac Soc,2006,3:389.

[11] Tashkin D P, Elashoff R, Clements P J, et al. Effects of 1-year treatment with cyclophosphamide on out comes at 2 years in scleroderma a lung disease [J]. Am J Respir Crit Care Med,2007,176:1026.

[12] Isaka Y, Tsnjie M, Asado Y, et al. Transforming growth factor-beta 1 antisense oligodeoxy-nucleotides block interstitial fibrosis in un ilateral ureteral obstruction [J]. Kidney Int,2000,58(5):1885.

[13] Ten Dijke P, I-I511 C S. New insights into TGF-beta/Smad signaling [J]. Trends Biochem Sci, 2004, 29(5):265.

[14] Park SH. Fine tuning and cross-talking of TGF-beta singal by inhibitory smads [J]. J Biochem Mol Biol, 2005,38(1):9.

[15] Coker R K, Laurent G J, Shahzeidi S, et al. TGF- β_1 , β_2 , β_3 , stimulate fibroblast procollagen production *in vitro* but are differentially expressed during bleomycin-induced lung fibrosis [J]. Am J Pathol, 1997, 150(3):981.

[16] 李京红,何冰,翁保迎,等. 转化生长因子 β_1 单克隆抗体对大鼠肺纤维化的治疗观察[J]. 中华结核和呼吸杂志[J]. 1997,20(6):347.

[17] Ohta K, Mortenson R L, Clark R A, et al. Immune histochemical identification and characterization of smooth muscloclike cells in Idiopa thic Pulmonary fibrosis [J]. Am J ResPir Crit Care Med, 1995, 152(5ptl):1659.

[18] Gao J, Liu P Q. Connectivet issue growth factor and its role in cardio vascular disease [J]. Med Recap,2006, 12(20):1219.

[19] 彭清,辛建保,苏良平,等. 黄芪对肺纤维化大鼠 MMP-22 和 TIMP-1 表达的影响[J]. 华中科技大学学报:医学版,2006,36(1):35.

[20] 盛丽,姚岚,王丽,等. 水蛭、地龙抗实验性小鼠肺纤维化作用的研究[J]. 中医研究,2006,9(2):15.

[21] 葛敏,戴令娟. 川芎丹参提取液对大鼠肺纤维化的影响研究[J]. 实用临床医药杂志,2006,10(5):75.

[22] 柴文成,于镜泊,李永春. 当归对肺纤维化大鼠肺形态学及胶原的影响 [J]. 中国全科医学,2004,7(8):531.

[23] 刘玉庆,李谈. 益气活血方对肺纤维化黏附分子表达影响的实验研究[J]. 天津中医药,2009,26(1):54.

[24] 孙增涛,封继宏. 益气活血散结法对肺纤维化的干预效果及机制研究[J]. 天津中医药大学学报,2008,27(3):209.

[25] 齐杰,刘艳超,李清君,等. 银杏叶提取物对大鼠肺纤维化的影响及其机制的研究[J]. 中国中药杂志, 2010,35(22):3043.

[责任编辑 邹晓翠]