

· 临床研究 ·

TGF- β 1、 α -SMA、Smad7在中药复方补肺理气汤治疗肺纤维化小鼠模型中的表达研究

郑旭旭 李丽燕 方燕 李献超

[摘要] 目的 研究中药复方补肺理气汤对肺纤维化小鼠模型转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、母亲信号蛋白同源物7(Smad7)表达的影响。方法 选取60只SD小鼠,随机分为6组,每组10只,随机取1组为正常组,其余5组构建肺纤维化小鼠模型,分别为模型组,复方补肺理气汤低、中、高剂量组,醋酸泼尼松组。记录各组小鼠一般情况;末次灌胃后24 h取小鼠肺组织进行HE及Masson染色观察病理损伤;免疫组化法观察肺组织TGF- β 1、 α -SMA、Smad7蛋白表达;RT-qPCR法检测TGF- β 1、 α -SMA、Smad7 mRNA表达。结果 正常组小鼠精神状态良好,饮食正常,皮毛有光泽,体重稳定;构建模型后小鼠精神萎靡,进食减少,皮毛黯淡无光,体重降低;醋酸泼尼松及复方补肺理气汤用药后精神逐渐恢复,进食量逐渐增加,皮毛光泽度增加,体重也逐渐上升,与正常组小鼠基本相同。构建肺纤维化模型后,小鼠肺组织中可见大量炎症细胞浸润,给予复方补肺理气汤低、中、高剂量及醋酸泼尼松治疗后,肺组织形态改善,肺组织中炎症细胞浸润减少,纤维化程度逐渐缓解,与模型组比较差异显著,且复方补肺理气汤高剂量组及醋酸泼尼松组改变最为明显。与正常组比较,模型组TGF- β 1、 α -SMA蛋白表达明显增多,Smad7蛋白表达明显减少(LSD-*t*分别=16.88、13.89、-11.33, *P*均<0.05);与模型组比较,复方补肺理气汤低、中、高剂量组及醋酸泼尼松组TGF- β 1、 α -SMA蛋白表达减少,Smad7蛋白表达增加(LSD-*t*分别=5.11、9.29、15.15、15.02;3.74、7.93、12.91、13.13;4.42、8.92、14.78、12.67, *P*均<0.05)。模型组TGF- β 1、 α -SMA mRNA表达较正常组升高,Smad7 mRNA表达较正常组降低(LSD-*t*分别=22.52、20.00、-38.59, *P*均<0.05);复方补肺理气汤低、中、高剂量组及醋酸泼尼松组TGF- β 1、 α -SMA mRNA表达较模型组降低,Smad7 mRNA表达较模型组增加(LSD-*t*分别=8.42、13.79、21.50、21.28;8.14、12.77、18.79、19.88;11.64、17.19、58.24、47.95, *P*均<0.05)。结论 中药复方补肺理气汤能够改善肺纤维化,降低TGF- β 1、 α -SMA mRNA表达,增加Smad7 mRNA表达。

[关键词] TGF- β 1; α -SMA; Smad7; 复方补肺理气汤; 肺纤维化

Expressions of TGF- β 1, α -SMA and Smad7 in the mice model of pulmonary fibrosis treated with a Chinese herbal formula Bufe Liqi decoction ZHENG Xuxu, LI Liyan, FANG Yan, et al. Department of Pathology, Wenzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wenzhou 325000, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of Chinese herbal formula Bufe Liqi decoction on TGF- β 1, α -SMA, Smad7 expressions in the mice model of pulmonary fibrosis. **Methods** A total of 60 SD mice were randomly divided into 6 groups with 10 mice in each group. One group was randomly selected as normal group, and the other 5 groups constructed pulmonary fibrosis mouse models, including model group, compound Bufe Liqi decoction low-dose group, medium-dose group and high-dose group, and prednisone acetate group. The general condition of mice in each group was recorded. 24h after the last intragastric administration, lung tissues of mice were collected for HE and Masson staining to observe pathological damage. The expressions of TGF- β 1, α -SMA, and Smad7 protein in lung tissue were observed by immunohistochemistry. The mRNA expressions of TGF- β 1, α -SMA and Smad7 were detected by RT-qPCR. **Results** Mice in normal group had good mental state, normal diet, shiny fur and stable body weight. After building the model, the mice were depressed, ate less, and lost weight. After receiving the treatment of prednisone acetate and compound Bufe Liqi decoction, the mental outlook gradually recovered, the food intake gradually increased, the

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2022.008.008

基金项目:温州市基础性科研项目(Y20210691)

作者单位:325000 浙江温州,温州市中医院病理科

fur gloss increased, the body weight also increased, and the mice were basically the same as the normal group. After the establishment of pulmonary fibrosis model, a large number of inflammatory cell infiltration could be seen in the lung tissues of mice. After treatment with compound Bufeiliqi decoction with low, medium and high doses and prednisone acetate, the morphology of lung tissues was improved, inflammatory cell infiltration in lung tissues was reduced, and the degree of fibrosis was gradually relieved, with significant differences when compared with the model group. The change of compound Bufeiliqi decoction with high-dose group and prednisone acetate group was the most obvious. Compared with normal group, TGF- β 1, α -SMA protein expressions in model group increased significantly, Smad7 protein expression decreased significantly (LSD- $t=16.88, 13.89, -11.33, P<0.05$). Compared with the model group, the TGF- β 1, α -SMA protein expressions of compound Bufeiliqi decoction with low, medium and high doses and prednisone acetate group decreased, while the Smad7 protein expression increased (LSD- $t=5.11, 9.29, 15.15, 15.02; 3.74, 7.93, 12.91, 13.13; 4.42, 8.92, 14.78, 12.67, P<0.05$). The TGF- β 1, α -SMA mRNA expressions of model group were higher and Smad7 mRNA expression was lower than those in normal group (LSD- $t=22.52, 20.00, -38.59, P<0.05$). Compared with the model group, the TGF- β 1, α -SMA mRNA expressions of compound Bufeiliqi decoction with low, medium and high dose groups and prednisone acetate group decreased, while Smad7 mRNA expression increased (LSD- $t=8.42, 13.79, 21.50, 21.28; 8.14, 12.77, 18.79, 19.88; 11.64, 17.19, 58.24, 47.95, P<0.05$). **Conclusion** Traditional Chinese medicine compound Bufeiliqi decoction can improve pulmonary fibrosis, decrease the expression of TGF- β 1, α -SMA mRNA, and increase the expression of Smad7 mRNA.

[Key words] TGF- β 1; α -SMA; Smad7; compound Bufeiliqi decoction; pulmonary fibrosis

肺纤维化是成纤维细胞增殖,大量细胞外基质聚集,并伴炎症损伤、组织结构破坏为特征的一大类肺疾病终末期改变,也就是正常的肺泡组织被破坏后,经过异常修复导致的结构异常^[1,2]。肺纤维化患者常伴有呼吸困难、干咳、乏力、体重减轻等临床症状^[3,4],且近年来,肺纤维化患者发病率逐渐增加,并以40~50岁男性多发^[5],这可能与吸烟、衰老、基础肺功能差等因素相关^[6~8]。目前肺纤维化的发病机制尚不清楚。研究表明,转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)是肺纤维化发生发展多的关键致纤维化因子,平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)是反映肺纤维化疾病进程的常见指标,母亲信号蛋白同源物7(mothers against decapentaplegic homolog 7, Smad7)是TGF- β 1的主要抑制性蛋白,对肺损伤的修复有促进作用^[9~11]。另外,中医认为肺纤维化属于肺气虚、肺寒之症,需补肺益气、健脾化痰、活血化瘀等。中药复方补肺理气汤具有补肺健脾益肾,止咳化痰平喘、降逆止咳之功效。本次研究旨在探讨经中药复方补肺理气汤治疗后,肺纤维化小鼠模型TGF- β 1、 α -SMA及Smad7表达的变化并初步探索其可能的原因。

1 材料与方法

1.1 实验动物及饲养 清洁级成年SD小鼠60只[合格证号:SCXK(浙)2020-0052],鼠龄10周,体重(190 \pm 20)g,采用笼养方式饲养。标准光照,饲料

喂养,自由摄食,室温20℃~25℃,相对湿度45%~55%。适应性喂养1周。本次研究时间为2021年12月。

1.2 中药复方补肺理气汤 组方:麻黄5g、杏仁10g、白术10g、茯苓10g、石膏30g、玉竹10g、石斛10g、枇杷叶9g、百部10g、诃子10g、地龙10g、桃仁15g、甘草5g。全方共奏补肺生津、理气止咳的功效。将上述药物煎制、复渣,两次药液混合,再将其浓缩为每毫升含生药2.925g、5.85g、11.7g的药液,装瓶低温冷藏备用,应用时以蒸馏水调配。

1.3 实验分组及构模 将60只小鼠适应性喂养1周后随机分为正常组,模型组,复方补肺理气汤低、中、高剂量组,醋酸泼尼松组,每组10只。第8天,除正常组外,其余组小鼠腹腔注射4%水合利醛0.1ml/10g麻醉,气管内一次性滴入博来霉素5mg/kg建立肺纤维化模型^[12],正常组给予等量0.9%氯化钠注射液。

小鼠造模后均予标准饲料饲养,自由饮水,正常组及模型组给予0.9%氯化钠注射液0.1ml/10g灌胃,复方补肺理气汤低、中、高剂量组给药剂量经人与小鼠体表面积比值折算,低剂量为2.925g/kg,中剂量为5.85g/kg,高剂量为11.7g/kg,每次给予药物体积为0.1ml/10g灌胃,醋酸泼尼松组小鼠给予醋酸泼尼松5mg/kg,各组小鼠每日给药1次,持续28d,28d后进行相关检测。

1.4 观察指标

1.4.1 一般情况 记录各组小鼠造模及用药前后的一般情况:包括精神状态、饮食情况、皮毛及体重变化等。

1.4.2 肺组织病理观察 苏木精-伊红染色法(he-matoxylin-eosin staining, HE):小鼠肺组织用4%多聚甲醛固定,乙醇脱水,石蜡包埋切片,脱蜡后苏木精染色,水洗后用1%盐酸酒精分化,冲洗,再脱水,透明,中性树脂封片,镜下观察,图像采集分析。Masson染色:包埋同HE染色,取肺组织蜡块,脱蜡、乙醇脱水,根据Masson试剂盒操作,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂封片,镜下观察拍照。

1.4.3 免疫组化法观察肺组织 TGF- β 1、 α -SMA、

Smad7 蛋白表达 各组随机取3只小鼠制作肺组织切片,切片脱蜡,高压热修复抗原,去除内源性过氧化物酶,加一抗1:200,4℃过夜,磷酸缓冲盐溶液水洗,加二抗1:500,37℃孵育30min,冲洗。二氨基联苯胺显色,乙醇脱水,二甲苯透明,中树胶封固,镜下拍照读片,图片分析。

1.4.4 定量逆转录PCR (quantitative reverse transcription PCR, RT-qPCR)检测 TGF- β 1、 α -SMA、Smad7 mRNA 表达 提取RNA,逆转录为cDNA,PCR扩增。cDNA合成采用20 μ l体系,实时定量PCR采用20 μ l体系,将预混好的试剂加入8联管内,封好放入仪器内,设置反应参数进行扩增,结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 进行计算。所用引物见表1。

表1 引物序列

引物	序列	产物长度/bp
TGF- β 1	上游 5' - GGCGGTGCTCGCTTTGTAC -3'	131
	下游 5' - TCCCGAATGTCTGA CGTATTGA -3'	131
α -SMA	上游 5' - TGAGCGTGGCTATTCCCTTCGT -3'	105
	下游 5' - GCAGTGGCCATCTCATTTTCAA -3'	105
Smad7	上游 5'-CCAACTGCAGACTGTCCAGA-3'	106
	下游 5'-CAGGCTCCAGAAGAAGTTGG-3'	106
β -actin	上游 5' -GTGACGTTGACATCCGTAAGA-3'	287
	下游 5' -GTAACAGTCCGCCAGAAGCAC -3'	287

1.5 统计学方法 实验数据采用SPSS 21.0软件分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)描述,组间比较采用单因素方差分析及LSD- t 检验。设 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠一般状况 实验观察期间,各组小鼠均存活。正常组小鼠精神状态良好,饮食正常,皮毛有光泽,体重稳定;模型组、复方补肺理气汤低、中、高剂量组及醋酸泼尼松组小鼠构建模型后精神萎靡,进食减少,皮毛黯淡无光,体重降低;复方补肺理气汤低、中、高剂量组及醋酸泼尼松组用药后精神逐渐恢复,进食量逐渐增加,皮毛光泽度增加,体重也逐渐上升,与正常组小鼠基本相同。

2.2 肺组织病理观察见封二图1、图2

由封二图1、2可见,构建肺纤维化模型后,小鼠肺组织中可见大量炎症细胞浸润,给予复方补肺理气汤低、中、高剂量及醋酸泼尼松治疗后,肺组织形态改善,肺组织中炎症细胞浸润减少,纤维化程度逐渐缓解,与模型组比较差异显著,且复方补肺理

气汤高剂量组及醋酸泼尼松组改变较复方补肺理气汤低、中剂量组更为明显。

2.3 各组肺组织TGF- β 1、 α -SMA、Smad7蛋白免疫组化见表2

表2 各组肺组织TGF- β 1、 α -SMA、Smad7蛋白阳性率比较/%

组别	TGF- β 1蛋白 阳性率	α -SMA蛋白 阳性率	Smad7蛋白 阳性率
正常组	22.56 \pm 4.38	38.26 \pm 3.26	62.26 \pm 9.85
模型组	84.26 \pm 10.69*	85.36 \pm 10.21*	25.16 \pm 3.16*
复方补肺理气 汤低剂量组	62.43 \pm 8.26*#	69.25 \pm 9.01*#	32.68 \pm 4.35*#
复方补肺理气 汤中剂量组	47.38 \pm 6.58*# Δ	51.46 \pm 8.85*# Δ	40.12 \pm 4.25*# Δ
复方补肺理气 汤高剂量组	27.26 \pm 5.21*# Δ	40.25 \pm 4.21*# Δ	57.38 \pm 6.12*# Δ
醋酸泼尼松组	27.86 \pm 5.16*# Δ	39.65 \pm 4.12*# Δ	60.43 \pm 8.21*# Δ

注:*,与正常组比较, $P<0.05$;#,与模型组比较, $P<0.05$; Δ :与复方补肺理气汤低剂量组比较, $P<0.05$ 。

由表2可见,各组间肺组织TGF- β 1、 α -SMA、Smad7蛋白阳性率比较,差异均有统计学意义(F 分别=119.045、72.426、60.147, P 均 <0.05)。进一步两两比较,正常组TGF- β 1蛋白阳性率与模型组及复方补肺理气汤低、中剂量组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=16.88、13.49、9.93, P 均 <0.05);模型组TGF- β 1蛋白阳性率与复方补肺理气汤低、中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=5.11、9.29、15.15、15.02, P 均 <0.05);复方补肺理气汤低剂量组TGF- β 1蛋白阳性率与中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=4.51、11.39、11.23, P 均 <0.05);复方补肺理气汤中剂量组TGF- β 1蛋白阳性率与高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=7.58、7.38, P 均 <0.05),呈剂量依赖性。

正常组 α -SMA蛋白阳性率与模型组及复方补肺理气汤低、中剂量组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=13.89、10.23、4.42, P 均 <0.05);模型组 α -SMA蛋白阳性率与复方补肺理气汤低、中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=3.74、7.93、12.91、13.13, P 均 <0.05);复方补肺理气汤低剂量组 α -SMA蛋白阳性率与中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=4.45、9.22、9.45, P 均 <0.05);复方补肺理气汤中剂量组 α -SMA蛋白阳性率与高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=3.61、3.82, P 均 <0.05),呈剂量依赖性。

正常组Smad7蛋白阳性率与模型组及复方补肺理气汤低、中剂量组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=-11.33、8.68、6.52, P 均 <0.05);模型组Smad7蛋白阳性率与复方补肺理气汤低、中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=4.42、8.92、14.78、12.67, P 均 <0.05);复方补肺理气汤低剂量组Smad7蛋白阳性率与中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=-3.86、10.40、9.44, P 均 <0.05);复方补肺理气汤中剂量组Smad7蛋白阳性率与高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=-7.32、6.94, P 均 <0.05)。

2.4 各组肺组织TGF- β 1、 α -SMA、Smad7 mRNA表达比较见表3

表3 各组肺组织TGF- β 1、 α -SMA、Smad7 mRNA表达比较

组别	TGF- β 1 mRNA	α -SMA mRNA	Smad7 mRNA
正常组	0.21 \pm 0.03	0.29 \pm 0.04	1.02 \pm 0.05
模型组	1.03 \pm 0.11*	1.08 \pm 0.12*	0.37 \pm 0.02*
复方补肺理气汤 低剂量组	0.66 \pm 0.08*	0.70 \pm 0.09*	0.52 \pm 0.04*
复方补肺理气汤 中剂量组	0.49 \pm 0.05* [#] [△]	0.52 \pm 0.07* [#] [△]	0.71 \pm 0.06* [#] [△]
复方补肺理气汤 高剂量组	0.25 \pm 0.03 [#] [△]	0.31 \pm 0.05 [#] [△]	0.99 \pm 0.03 [#] [△]
醋酸泼尼松组	0.23 \pm 0.04 [#] [△]	0.32 \pm 0.03 [#] [△]	1.00 \pm 0.04 [#] [△]

注: *: 与正常组比较, $P < 0.05$; #: 与模型组比较, $P < 0.05$; Δ : 与复方补肺理气汤低剂量组比较, $P < 0.05$ 。

由表3可见,各组间肺组织TGF- β 1、 α -SMA、Smad7 mRNA表达比较,差异均有统计学意义(F 分别=249.82、177.16、466.39, P 均 <0.05)。进一步两两比较,正常组TGF- β 1 mRNA与模型组及复方补肺理气汤低、中剂量组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=22.52、16.47、14.74, P 均 <0.05);模型组TGF- β 1 mRNA与复方补肺理气汤低、中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=8.42、13.79、21.50、21.28, P 均 <0.05);复方补肺理气汤低剂量组TGF- β 1 mRNA与中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=5.51、15.11、14.88, P 均 <0.05);复方补肺理气汤中剂量组TGF- β 1 mRNA与高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=12.81、12.30, P 均 <0.05),呈剂量依赖性。正常组 α -SMA mRNA与模型组及复方补肺理气汤低、中剂量组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=20.00、13.08、8.80, P 均 <0.05);模型组 α -SMA mRNA与复方补肺理气汤低、中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=8.14、12.77、18.79、19.88, P 均 <0.05);复方补肺理气汤低剂量组 α -SMA mRNA与中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=4.85、11.73、12.76, P 均 <0.05);复方补肺理气汤中剂量组 α -SMA mRNA与高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD- t 分别=7.38、8.21, P 均 <0.05),呈剂量依赖性。正常组Smad7 mRNA与模型组及复方补

肺理气汤低、中剂量组比较,差异均有统计学意义(LSD-*t* 分别=-38.59、25.24、12.54, *P* 均<0.05);模型组 Smad7 mRNA 与复方补肺理气汤低、中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD-*t* 分别=11.64、17.19、58.24、47.95, *P* 均<0.05);复方补肺理气汤低剂量组 Smad7 mRNA 与中、高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD-*t* 分别=8.47、31.73、28.74, *P* 均<0.05);复方补肺理气汤中剂量组 Smad7 mRNA 与高剂量组、醋酸泼尼松组比较,差异均有统计学意义(LSD-*t* 分别=13.52、13.11, *P* 均<0.05)。

3 讨论

肺纤维化是临床常见的慢性、进行性肺间质疾病,具有较高的致死性,最终会引起肺组织的结构损坏^[13]。目前,临床尚未明确肺纤维化的发病机制,且未有治疗该病的特效药物,这给临床肺纤维化的防治带来巨大挑战。中医上,肺纤维化属于“肺痿”范畴,肺纤维化的发病原因与心肾阳虚密切相关,而血瘀阻滞也贯穿肺纤维化发生发展的整个过程^[14]。也有研究指出,肺虚是肺纤维化产生的病源,同时患者会有痰液、瘀血产生^[15,16]。由此可见,“气虚血瘀”为其重要的病机,中医认为可尝试以益气活血为基本法则进行治疗。中药复方补肺理气汤中麻黄、杏仁理气宣肺;白术、茯苓健脾补肺;石膏、玉竹、石斛清肺润燥;枇杷叶、百部、诃子收涩止咳;地龙祛风通络;桃仁活血祛瘀;甘草调和诸药。全方共奏补肺生津、理气止咳的功效。本研究旨在探讨经中药复方补肺理气汤治疗后,肺纤维化小鼠模型 TGF- β 1、 α -SMA 及 Smad7 表达的变化并初步探索其可能的原因。

本研究通过对小鼠气管内一次性滴入博来霉素构建肺纤维化模型,观察小鼠一般情况发现,正常组小鼠精神状态良好,饮食、进水正常,皮毛有光泽,体重恒定无明显变化;而模型组、复方补肺理气汤低、中、高剂量组,醋酸泼尼松组小鼠构建模型后精神萎靡,进食、饮水减少,皮毛黯淡无光,体重降低;复方补肺理气汤低、中、高剂量组,醋酸泼尼松组用药后精神逐渐恢复,进食、饮水量逐渐增加,皮毛光泽度逐渐恢复,体重也稳步增加,其中复方补肺理气汤高剂量组、醋酸泼尼松组与正常组小鼠基本相同。实验中通过 HE 染色及 Masson 染色来观察肺组织,研究发现,模型组较正常组出现了明显的肺组织及肺泡结构破损、炎症细胞浸润、成纤维细

胞聚集以及蓝色胶原纤维堆积,这表明了博来霉素可诱导小鼠产生明显的肺纤维化病理特征,经复方补肺理气汤低、中、高剂量及醋酸泼尼松治疗后,肺泡结构有不同程度的改善,肺泡间质增厚减轻,炎症细胞浸润减少,蓝色胶原纤维堆积减少,并且各组中复方补肺理气汤高剂量组及醋酸泼尼松组改变最为明显,这证实复方补肺理气汤对肺纤维化具有较好的治疗效果,能够改善肺纤维化病理损伤,减轻肺组织炎症反应。

临床上认为 TGF- β 1 是肺纤维化发生发展的重要细胞因子,它在肺纤维化的进展过程中占据重要地位,能够促进炎症因子产生并到特定位置,从而对成纤维细胞的增殖产生影响,使得上皮间质转化发生^[17],上皮间质转化是肺纤维化发病的重要原因,而 α -SMA 增高是上皮间质转化的形成的标志^[18,19]。Smad7 是 TGF- β 1 信号通路的抑制因子,能阻止 Smad2/3 发生磷酸化,负性调控 TGF- β 1/Smad 信号通路转导^[20]。本研究通过免疫组化及 RT-qPCR 法检测 TGF- β 1、 α -SMA、Smad7 蛋白及 mRNA 表达发现,与正常组比较,模型组 TGF- β 1、 α -SMA 蛋白及 mRNA 表达升高,Smad7 蛋白及 mRNA 表达降低。经复方补肺理气汤干预后,TGF- β 1、 α -SMA 蛋白及 mRNA 表达降低,Smad7 蛋白及 mRNA 表达增加,复方补肺理气汤高剂量组 TGF- β 1、 α -SMA 蛋白及 mRNA 表达低于中剂量组,中剂量组 TGF- β 1、 α -SMA 蛋白及 mRNA 表达低于低剂量组;复方补肺理气汤高剂量组 Smad7 蛋白及 mRNA 表达高于中剂量组,中剂量组 Smad7 蛋白及 mRNA 表达高于低剂量组,证实复方补肺理气汤呈现剂量依赖性,其中高剂量组各指标水平最接近正常组及醋酸泼尼松组。

综上所述,复方补肺理气汤能够改善肺纤维化,减轻炎症反应,这可能是通过调节控制 TGF- β 1、 α -SMA、Smad7 表达来实现的。本研究仅在小鼠体内进行研究,在人体内是否有同样效果还需进一步探索,另外关于其具体的机制通路还需进一步实验研究。

参考文献

- 1 张旭辉,刘喜平,孙杰,等.升陷汤对肺纤维化大鼠肺组织 α -平滑肌肌动蛋白、肺表面活性蛋白 D 及 TGF- β 1/Smads 通路蛋白表达的影响[J].中国中医药信息杂志,2021,28(4):63-68.

(下转第712页)

- 2022,35(3):324-327.
- 10 郭伟洁,刘泽雅,张凡,等.中国献血人群意外抗体阳性率的Meta分析[J].临床输血与检验,2021,23(2):202-212.
 - 11 朱红芹,史丽莉,陈新.无偿献血者意外抗体检测情况调查[J].临床血液学杂志(输血与检验),2019,32(2):139-141.
 - 12 Castilho L.An update on the MNS blood group system[J]. Immunohematology,2019,35(2):61-62.
 - 13 Malhotra S,Negi G,Tiwari AK.Clinically significant naturally occurring anti-N and anti-S in a blood donor: A rare finding[J].Immunohematology,2018,34(2):66-68.
 - 14 Yazer M,Triulzi D,Sperry J,et al.Rate of RhD-alloimmunization after the transfusion of RhD-positive red blood cell containing products among injured patients of childbearing age:Single center experience and narrative literature review[J].Hematology,2021,26(1):321-327.
 - 15 Berentsen S.How I manage patients with cold agglutinin disease[J].Br J Haematol,2018,181(3):320-330.
- (收稿日期 2022-06-16)
(本文编辑 高金莲)

(上接第701页)

- 2 陈思,高俊玲.Micro-RNA在肺纤维化中的研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(52):66-67,71.
 - 3 仇煜,钱晓君,张雪,等.肺纤维化合并肺气肿和单纯慢阻肺肺气肿临床特点比较[J].临床肺科杂志,2018,23(9):1634-1637.
 - 4 李想,刘畅.二母散对博来霉素诱导大鼠肺纤维化模型FGF、CTGF和Collagen I表达的影响[J].实验动物科学,2021,38(2):1-7.
 - 5 贾茹珺,李铁刚.非编码RNA及竞争性内源RNA调控网络在肺纤维化中的研究进展[J].实用药物与临床,2020,23(7):655-659.
 - 6 郑钰,吕晓东,庞立健,等.中医药治疗特发性肺纤维化临床研究方法初探[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(11):102-105.
 - 7 杨松昊,朱光荣,丁宁,等.D-半乳糖对大鼠肺组织MMP-2表达水平及HA、LN和COL3含量的影响及相关性分析[J].中国动脉硬化杂志,2017,25(9):885-889.
 - 8 陈雨燕,罗斌,刘宏波,等.老年慢性阻塞性肺疾病合并呼吸衰竭患者的临床诊治分析[J].中外医学研究,2018,16(35):169-171.
 - 9 Weng D,Chen JX,Li HH,et al.2-aminopurine suppresses the TGF- β 1-induced epithelial-mesenchymal transition and attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J].Cell Death Dis,2018,4(1):17.
 - 10 Bei YH,Hua-HUY T,DUONG-QU S,et al.Long-term treatment with fasudil improves bleomycin-induced pulmonary fibrosis and pulmonary hypertension via inhibition of Smad2/3 phosphorylation[J].Pulmon Pharm Ther,2013,26(6):635-643.
 - 11 侯燕,冯一中,蒋小岗,等.沙苑子总黄酮对博来霉素致大鼠肺纤维化的干预作用及其机制研究[J].中国药理学通报,2013,29(1):88-93.
 - 12 卢锦辉,张丽,刘子豪,等.博来霉素诱导小鼠肺纤维化模型的建立及评价[J].兰州大学学报(医学版),2019,45(6):37-42.
 - 13 吴立艳,郑金旭.HELF中IL-33/ST2L-TRAF-6信号通路的激活对其增殖、活化及胶原合成的影响[J].免疫学杂志,2015,31(9):742-747.
 - 14 任玉娇,朱雪,张伟.益气温阳活血化痰法论治特发性肺纤维化合并肺动脉高压[J].中医杂志,2017,58(14):1186-1188,1195.
 - 15 苏健,张伟.基于肺络癥瘕聚散理论探讨特发性肺间质纤维化的病机及治疗[J].中医杂志,2021,62(11):947-950,970.
 - 16 代瑜,肖书熠,齐凤军.从中医痰病角度辨治特发性肺纤维化[J].天津中医药大学学报,2021,40(5):572-577.
 - 17 Lim WC,Choi JW,Song NE,et al.Polysaccharide isolated from persimmon leaves(Diospyros kaki Thunb.)suppresses TGF- β 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition in A549 cells[J].Int J Biol Macromol,2020,164(6):3835-3845.
 - 18 Dotan Y,Shapiro WB,Male E,et al.Clinical predictors and explant lung pathology of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis[J].ERJ Open Res,2020,6(4):00261-2019.
 - 19 Yamada M,Kubo H,Ota C,et al.The increase of micro RNA-21 during lung fibrosis and its contribution to epithelial-mesenchymal transition in pulmonary epithelial cells[J].Respir Res,2013,14(1):95.
 - 20 Wang RQ,Mi HM,Li H,et al.Modulation of IKK β /NF- κ B and TGF- β 1/Smad via Fuzheng Huayu recipe involves in prevention of nutritional steatohepatitis and fibrosis in mice[J].Iran J Basic Med Sci,2015,18(4):404-411.
- (收稿日期 2022-03-26)
(本文编辑 葛芳君)