

扶正化癥方调控 TGF- β /Smad 信号通路对博来霉素诱导小鼠肺纤维化的影响

冯嘉文¹, 黄 恺², 景 菲¹, 邢 枫¹, 彭 渊^{1*}, 刘成海^{1,2,3*}

(1. 上海中医药大学附属曙光医院肝病研究所, 上海 201203; 2. 上海市中医临床重点实验室, 上海 201203; 3. 肝肾疾病病证教育部重点实验室, 上海 201203)

摘要: **目的** 探讨扶正化癥方对博来霉素诱导肺纤维化小鼠的作用。**方法** 将小鼠随机分为模型组、扶正化癥方组 (5.6 g/kg) 和尼达尼布组 (60 mg/kg), 每组 15 只, 采用无创气管插管经气道滴注博来霉素 (2.5 mg/kg) 复制小鼠肺纤维化模型; 另取 10 只正常小鼠予气道滴注等体积生理盐水, 作为正常组。造模 7 d 后, 各组灌胃相应剂量药物, 连续给药 14 d。末次给药 24 h 后, 使用肺功能仪测定小鼠气道狭窄指数、呼吸频率和潮气量, 试剂盒检测血清羟脯氨酸 (Hyp) 水平, 苏木素-伊红和 Masson 染色分别观察肺组织炎症和胶原沉积水平, ELISA 法检测肺泡灌洗液中 TNF- α 、IL-6 水平, 免疫组化观察肺组织 α -SMA 表达, 蛋白印迹法检测小鼠肺组织 α -SMA、TGF- β 1、Smad2/3、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠呼吸急促, 体质量降低 ($P<0.01$), Penh 值增加 ($P<0.01$), f、TV 减少 ($P<0.01$), 肺组织大量炎性细胞浸润和大量胶原纤维沉积并有纤维节结生成, 血清 Hyp、IL-6、TNF- α 水平升高 ($P<0.01$), 肺组织 α -SMA、TGF- β 1、Smad2/3、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 扶正化癥方组和尼达尼布组小鼠呼吸平稳, Penh 值降低 ($P<0.01$), f、TV 增加 ($P<0.01$), 肺组织炎性细胞浸润和胶原纤维沉积减少 ($P<0.01$), 血清 Hyp、IL-6、TNF- α 水平降低 ($P<0.01$), 肺组织 α -SMA、TGF- β 1、Smad2/3、p-Smad2、p-Smad3 蛋白表达降低 ($P<0.01$)。**结论** 扶正化癥方可抑制博来霉素诱导的小鼠实验性肺纤维化, 其作用机制可能与调控 TGF- β /Smad 信号通路有关。

关键词: 扶正化癥方; 博来霉素; 肺纤维化; TGF- β /Smad 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)06-2042-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.045

肺纤维化是临床常见的一种纤维化肺间质疾病, 病理变化为弥散性的肺泡炎、肺间质炎症和间质性纤维化, 以进行性呼吸困难、干咳、乏力等症状为临床表现^[1-2], 发病机制较为复杂。研究报道, 在肺纤维化形成过程中 IL-6、TNF- α 引起的细胞因子失衡起关键作用^[3-5]。细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 在肺脏的大量沉积是肺纤维化的病理特点之一^[6], TGF- β 1/Smad 通路也参与 ECM 的发育、迁移和沉积, 促使 ECM 合成增加, 导致肺纤维化^[7-8]。目前临床上针对肺纤维化的一线用药以吡啡尼酮和尼达尼布为主, 但存在恶心、呕吐、光过敏等不良反应, 严重影响患者的生存质量^[9-10]。中医在肺纤维化的治疗上具有独特的诊疗优势, 进一步探索中医药对肺纤维化的药理机制具有极为重要的意义^[11]。

扶正化癥方是经国家药品监督管理局批准上市的中成

药, 具有益精补肾、活血祛瘀功效^[12-13]。课题组前期研究结果表明, 该药可改善肺纤维化症状^[14], 但具体作用机制尚不明确, 因此本研究采用博来霉素 (bleomycin, BLM) 诱导肺纤维化小鼠模型^[15], 探讨扶正化癥方调节 TGF- β 1/Smad 通路对 BLM 诱导肺纤维化的作用机制。

1 材料

1.1 动物 C57BL/6 小鼠, 雄性, SPF 级, 55 只, 体质量 (28 $\pm$ 2) g, 购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (沪) 2018-0006], 饲养于上海中医药大学实验动物中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (沪) 2020-0009]。本次实验经上海中医药大学实验动物福利伦理委员会批准 (伦理号 PZSHUTCM200821006), 并按 3R 原则给予人道关怀。

1.2 药物 扶正化癥方浸膏粉 (批号 200414, 得膏率

收稿日期: 2024-01-24

基金项目: 上海市“科技创新行动计划”生物医药科技支撑专项项目 (21S21900300); 上海市临床重点专科建设项目 (shslczdk01201)

作者简介: 冯嘉文 (1996—), 女, 硕士生, 研究方向为中医药抗肺纤维化。Tel: 15649052256, E-mail: fengjiawen0926@163.com

* **通信作者:** 彭 渊 (1983—), 女, 博士, 副研究员, 研究方向为中医药调节肝脏免疫。Tel: (021) 20256521, E-mail: pengyuan1026@shutcm.edu.cn

刘成海 (1965—), 男, 博士, 研究员, 研究方向为中西医结合防治慢性肝病。Tel: (021) 20256521, E-mail: chenghailiu@hotmail.com

14%，上海现代中医药股份有限公司)；尼达尼布（批号 656247-17-5，纯度≥98%，上海英索生物科技中心）。

1.3 试剂 BLM（批号 CSN10472，美国 CSNpharm 公司）；羧甲基纤维素钠（CMC，批号 F20051103，国药集团上海化学试剂有限公司）；Masson 染色液、苏木精-伊红（HE）染色液（批号 511340、D006-1-1，南京建成生物工程研究所）；兔 IgG-免疫组化学试剂盒（批号 SA1028，北京蓝博斯特生物技术有限公司）；α-SMA、p-Smad3、Smad2/3 抗体（批号 19245S、9520、8685S，美国 Cell Signaling Technology 公司）；重组 Anti-TGF-β1 抗体、重组 Anti-Smad2（phospho S255）抗体（批号 ab215715、ab188334，英国 Abcam 公司）；GAPDH 抗体（批号 10494-1，美国 Proteintech 公司）；IL-6、TNFα ELISA 试剂盒（批号 88-7064-88、88-7324-88，美国赛默飞世尔科技公司）。

1.4 仪器 BJ-L-M 型小动物喉镜、BJ-PW-M 型液体定量雾化器、BJ-P-M 型小鼠固定台（上海伯建生物科技有限公司）；3-18KS 型高速冷冻离心机（德国 Sigma 公司）；BSA3202SCW 型电子天平（德国 Sartorius 公司）；数字病理扫描仪（日本 Olympus 公司）；病理脱水机、包埋机、切片机、展片水浴锅（德国 Leica 公司）；FinePointe WBP 型全身体积描记系统、全自动样品快速研磨仪（上海净信实业发展有限公司）；微孔板扫描分光光度计 [迪图（上海）生物科技有限公司]；化学发光图像分析系统（南京伊若达仪器设备有限公司）。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 将小鼠按体质量随机分为正常组（10 只）、模型组（15 只）、扶正化痰方组（15 只）和尼达尼布组（15 只）。模型组、扶正化痰方组、尼达尼布组经气道滴注 2.5 mg/kg BLM 诱导肺纤维化模型^[16]，共造模 1 次。从造模第 1 天起开始称重，每天 1 次。造模 7 d 后，扶正化痰方组灌胃给予 5.6 g/kg 扶正化痰方浸膏粉（相当于 60 kg 体质量成人临床剂量的 10 倍）^[17]；尼达尼布组灌胃给予 60 mg/kg 尼达尼布^[18]；正常组与模型组均于相同时间点灌胃给予等体积 0.5% CMC，每天 1 次，连续 14 d。所有小鼠于最后 1 次给药 24 h 后腹腔注射 0.3% 戊巴比妥钠（30 mg/kg）^[19]进行麻醉，称重后下腔静脉取血，收集血清、肺泡灌洗液及肺组织，称量肺质量后进行检测。

2.2 肺系数检测 处死小鼠并进行开胸，完整分离出双肺，用 PBS 将肺组织表面的血迹清洗干净，吸干肺脏表面水分，立即称量肺湿重，计算肺系数。

2.3 肺功能检测 将小鼠放置在全身体积描记系统的检测仓中，系统平衡后记录 10 min 内气道狭窄指数（Penh）、呼吸频率（frequency，f）和潮气量（tidal volume，TV）等数值，评估小鼠的肺功能情况。

2.4 血清羟脯氨酸水平检测 取各组血清标本，按试剂盒说明书检测血清羟脯氨酸（Hyp）水平，于 550 nm 波长处检测吸光度值^[20]。

2.5 肺泡灌洗液收集 小鼠经 3% 戊巴比妥钠麻醉后，用

酒精消毒小鼠颈部表面，分离周围的骨骼和肌肉组织，充分暴露小鼠肺部，结扎左侧肺脏，将 1 mL 4 ℃ 预冷的 PBS 经 1 mL 注射器缓缓注入小鼠右肺支气管，反复冲洗 3~5 次。收集肺泡灌洗液，4 ℃、1 500 r/min 离心 10 min，收集上清，于-20 ℃保存。

2.6 肺组织病理检测 取经中性福尔马林固定的肺组织，常规石蜡包埋，切片，贴附于载玻片上，脱蜡至水，乙醇梯度脱水，HE 染色或 Masson 染色，中性树胶封片，于显微镜下观察并拍片。参照文献 [21] 报道对肺组织 HE 染色纤维化程度进行半定量分析，按照 Ashcroft 评分将纤维化程度分级 0~8 级。评分标准为 0 级，正常肺组织；1 级，支气管肺泡壁轻度增厚，纤维化程度轻；2~3 级，纤维化程度加重，细支气管肺泡壁或肺泡壁中度增厚；4~5 级，重度纤维化改变，支气管肺泡壁增厚明显，有纤维条索形成，结构明显破坏；6~7 级，大范围肺组织结构严重破坏，纤维化极重度改变；8 级，胶原纤维占据整个视野。为避免误差，请 3 位病理科老师对切片进行评分，每个样本随机选取 3 个视野，评分均数作为该样本的 Ashcroft 评分值。采用 Image J 软件分析 Masson 染色胶原沉积面积。

2.7 ELISA 法检测肺泡灌洗液中 IL-6、TNF-α 水平 按照 ELISA 试剂盒说明书检测肺泡灌洗液中 IL-6、TNF-α 水平。

2.8 免疫组化法检测肺组织 α-SMA 表达 将肺组织石蜡切片分级脱蜡水，柠檬酸盐缓冲液高压热修复，3% 双氧水去除内源性酶，5% BSA 室温下封闭 30 min，使用一抗 α-SMA（1：400）4 ℃ 摇床孵育过夜。PBS 洗涤，滴加辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG（H+L）二抗（1：50），室温孵育 1 h。PBS 洗涤，滴加 SABC 链霉素室温孵育 30 min。加入 DAB 显色液，在显微镜下控制显色，苏木素复染细胞核，冲洗返蓝，0.4% 盐酸乙醇分化，中性树胶封片^[22]。数字病理扫描仪采集图片，使用 Image J 软件分析肺组织 α-SMA 表达情况。

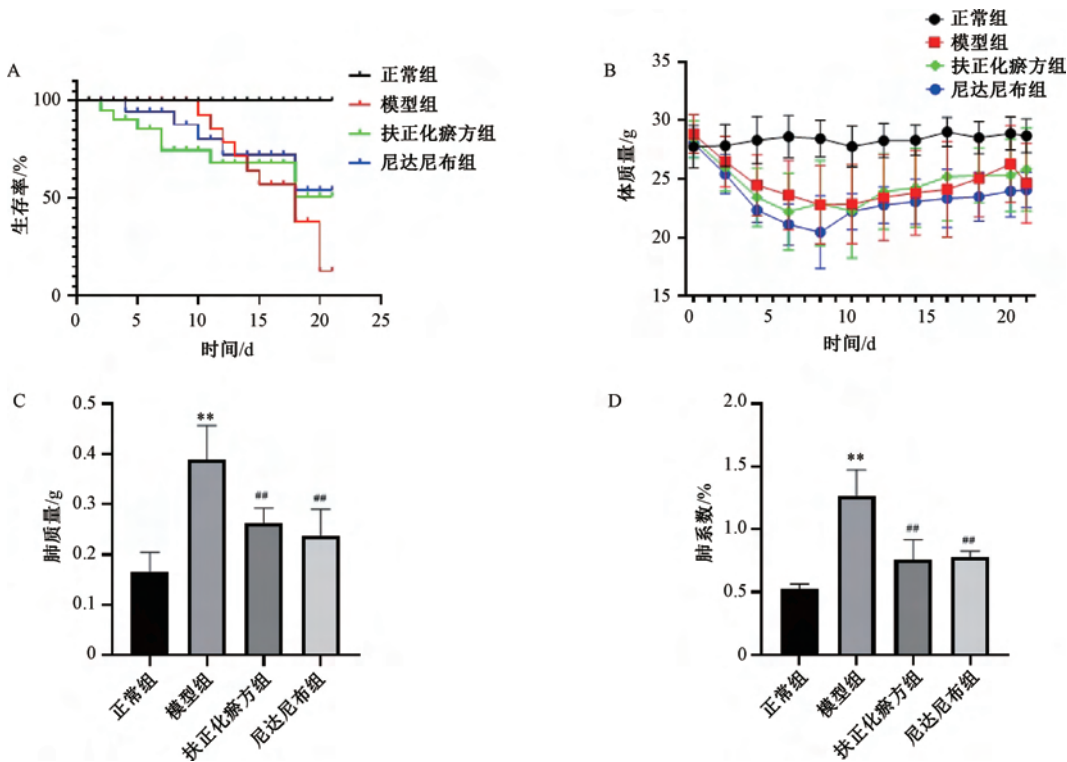
2.9 蛋白免疫印迹法检测肺组织 α-SMA，p-Smad3、p-Smad2、Smad2/3 和 TGF-β 蛋白表达 取 50 mg 肺组织，加入 1 mL 预冷的生理盐水充分匀浆，4 ℃、12 000 r/min 离心 10 min，取上清备用。采用 BCA 试剂盒检测肺组织总蛋白浓度，蛋白变性后上样，经电泳、转膜后，室温封闭 0.5 h，分别用 α-SMA（1：1 000），p-Smad3（1：1 000）、p-Smad2（1：1 000）、Smad2/3（1：1 000）、TGF-β（1：1 000）、GAPDH（1：5 000）抗体 4 ℃ 孵育过夜。分别使用辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG（H+L）二抗（1：1 000）、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG（H+L）二抗（1：1 000）室温孵育 1 h。经 ECL 显影后使用化学发光图像分析系统成像。采用 Image J 软件分析各组 α-SMA，p-Smad3、p-Smad2、Smad2/3 和 TGF-β 蛋白表达。

2.10 统计学分析 通过 SPSS 21.0 软件进行处理，计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较采用 LSD 法；若前后差值不符合正态分布则采用 Mann-Whitney 秩和检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠一般情况 正常组小鼠一般状态良好，皮毛顺滑有光泽，活动正常，呼吸平稳，饮食饮水不受限；与正常组比较，模型组小鼠精神萎靡，呼吸急促，动作迟缓，皮毛稀疏无光泽，体质量降低 ($P<0.01$)，肺质量、肺系数升高 ($P<0.01$)，死亡 7 只；与模型组比较，扶正化癆

方组小鼠精神良好，呼吸平稳，动作敏捷，皮毛顺滑，体质量无明显变化 ($P>0.05$)，肺质量、肺系数降低 ($P<0.01$)，死亡 7 只；尼达尼布组小鼠精神良好，呼吸平稳，动作敏捷，皮毛顺滑，体质量升高 ($P<0.01$)，肺质量、肺系数降低 ($P<0.01$)，死亡 6 只；与尼达尼布组比较，扶正化癆方组的死亡率无明显变化 ($P>0.05$)，见图 1。



注：A 为各组小鼠生存曲线，B 为各组小鼠体质量变化，C 为各组小鼠肺质量，D 为各组小鼠肺系数。

图 1 各组小鼠一般情况 ($\bar{x}\pm s$, $n=8\sim10$)

3.2 扶正化癆方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺功能的影响 与正常组比较，模型组小鼠 Penh 值增加 ($P<0.01$)，f、TV 降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，扶正化癆方组和尼

达尼布组小鼠 Penh 值减少 ($P<0.01$)，f、TV 升高 ($P<0.01$)；与尼达尼布组比较，扶正化癆方组肺功能无明显变化 ($P>0.05$)，见表 1。

表 1 扶正化癆方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺功能的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	Penh	F/bpm	TV/mL
正常组	10	1.05±0.07	460.6±6.1	0.43±0.02
模型组	8	1.49±0.43**	383.1±0.7**	0.26±0.02**
扶正化癆方组	8	1.15±0.55 ^{##}	415.8±14.0 ^{##}	0.34±0.03 ^{##}
尼达尼布组	9	1.14±0.12 ^{##}	412.9±11.6 ^{##}	0.35±0.03 ^{##}

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，^{##} $P<0.01$ 。

3.3 扶正化癆方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠血清 Hyp 水平的影响 与正常组比较，模型组小鼠血清 Hyp 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，扶正化癆方组和尼达尼布组小鼠血清 Hyp 水平均降低 ($P<0.01$)；与尼达尼布组比较，扶正化癆方组小鼠血清 Hyp 水平无明显变化 ($P>0.05$)，见表 2。

表 2 扶正化癆方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠血清 Hyp 水平的影响 ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	Hyp/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
正常组	10	4.43±0.31
模型组	8	5.82±0.13**
扶正化癆方组	8	4.73±0.11 ^{##}
尼达尼布组	9	4.55±0.22 ^{##}

注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，^{##} $P<0.01$ 。

降低 ($P<0.01$)，见表 3。

3.4 扶正化癆方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺泡灌洗液促炎因子水平的影响 与正常组比较，模型组小鼠肺泡灌洗液中 IL-6、TNF- α 水平升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，扶正化癆方组和尼达尼布组小鼠肺泡灌洗液 IL-6、TNF- α 水平均

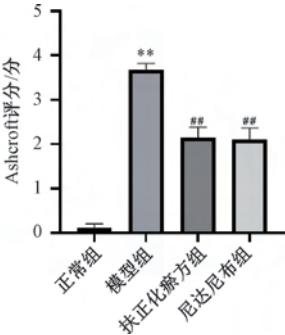
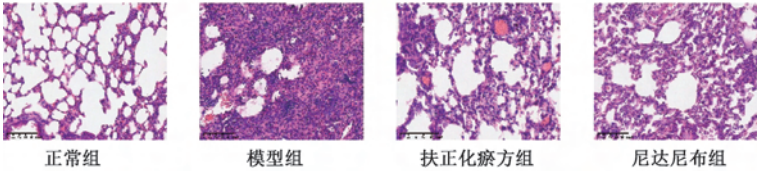
正常组小鼠肺组织结构正常，肺泡腔和肺原沉积的影响 正常组小鼠肺组织结构正常，肺泡腔和肺

表 3 扶正化痰方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺泡灌洗液 IL-6、TNF-α 水平的影响 (x̄±s)

组别	动物数/只	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	TNF-α/(pg·mL ⁻¹)
正常组	10	68.55±8.75	20.58±2.34
模型组	8	169.30±10.45**	37.09±6.27**
扶正化痰方组	8	108.30±15.84##	24.21±3.43##
尼达尼布组	9	84.37±11.97##	20.23±2.91##

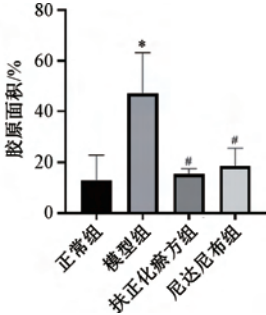
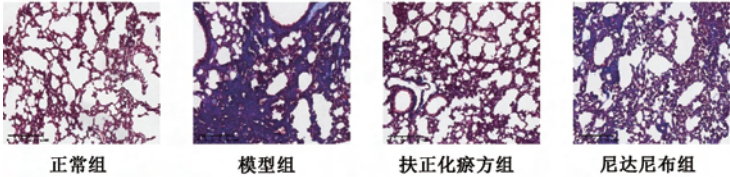
注：与正常组比较，** P<0.01；与模型组比较，## P<0.01。
泡间隔正常，无炎症细胞浸润和间质增生。与正常组比较，

模型组小鼠肺泡腔缩小或萎陷，肺泡壁小叶间隔增宽，有大量炎性细胞浸润，大量胶原纤维沉积并有纤维节结生成，Ashcroft 评分和胶原面积均升高 (P<0.05, P<0.01)；与模型组比较，扶正化痰方组和尼达尼布组小鼠肺泡塌陷、肺泡间隔增厚、肺组织结构破坏程度、炎症细胞浸润程度、胶原沉积等情况均好转，Ashcroft 评分和胶原面积均降低 (P<0.05, P<0.01)；与尼达尼布组比较，扶正化痰方组小鼠 Ashcroft 评分和胶原面积无明显变化 (P>0.05)，见图 2~3。



注：与正常组比较，** P<0.01；与模型组比较，## P<0.01。

图 2 扶正化痰方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺组织炎症的影响 (HE 染色，×400，x̄±s，n=3)

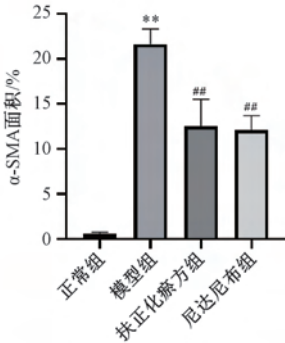
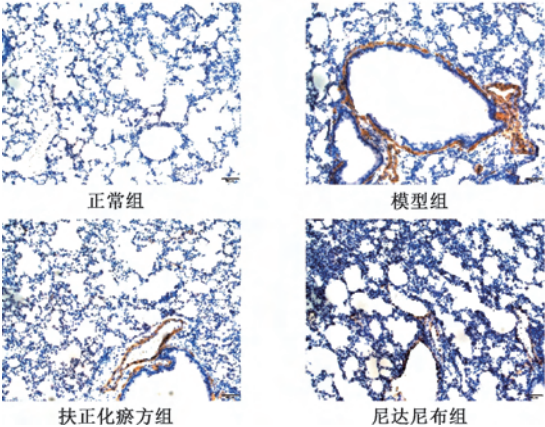


注：与正常组比较，* P<0.05；与模型组比较，# P<0.05。

图 3 扶正化痰方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺组织胶原纤维沉积的影响 (Masson 染色，×200，x̄±s，n=3)

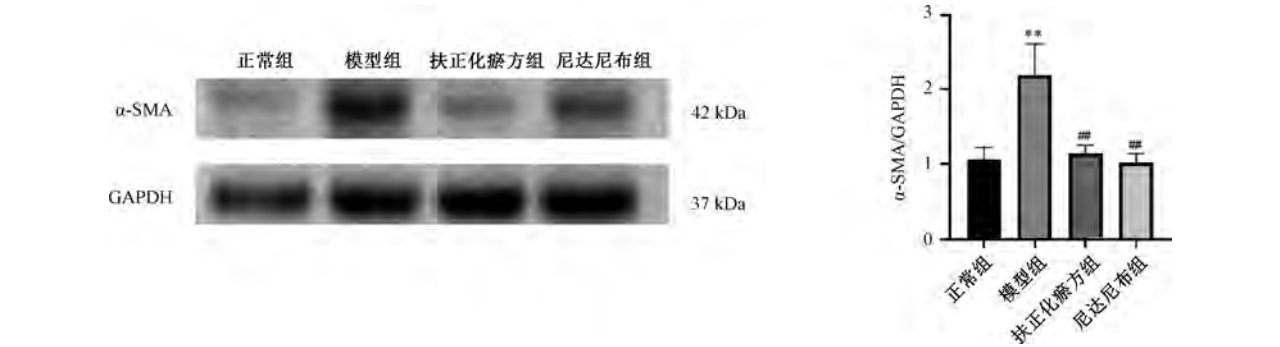
3.6 扶正化痰方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺组织 α-SMA 表达的影响 与正常组比较，模型组小鼠肺组织 α-SMA 表达升高 (P<0.01)；与模型组比较，扶正化痰方组和尼达

尼布组小鼠肺组织 α-SMA 表达均降低 (P<0.01)；与尼达尼布组比较，扶正化痰方组小鼠肺组织 α-SMA 表达无明显变化 (P>0.05)，见图 4~5。



注：与正常组比较，** P<0.01；与模型组比较，## P<0.01。

图 4 扶正化痰方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺组织 α-SMA 表达 (棕色) 的影响 (免疫组化染色，×200，x̄±s，n=3)

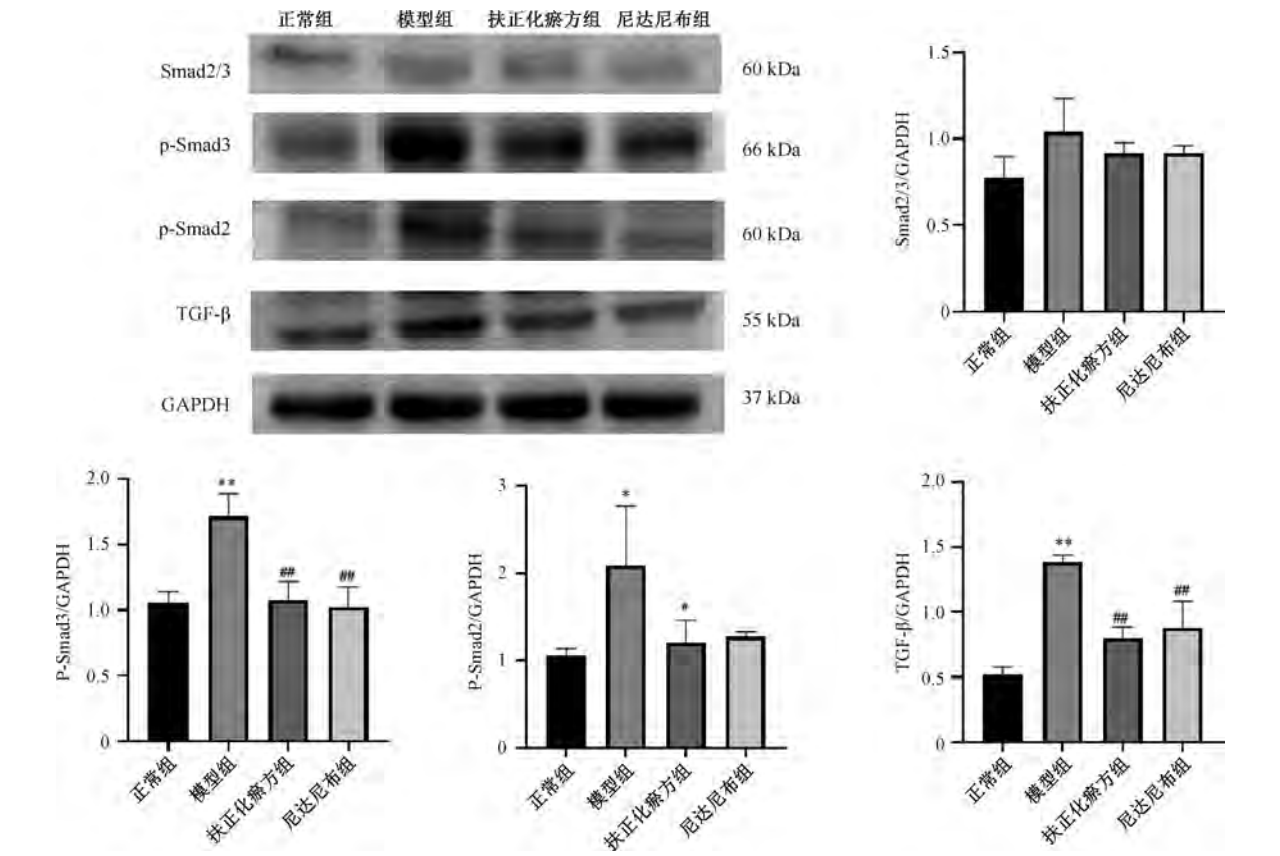


注：与正常组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

图 5 扶正化癥方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺组织 α-SMA 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

3.7 扶正化癥方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺组织 TGF-β/Smad 信号通路的影响 与正常组比较，模型组小鼠肺组织 p-Smad2、p-Smad3、TGF-β 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与模型组比较，扶正化癥方组和尼达尼布组小鼠肺组织 p-Smad3、TGF-β 蛋白表达降低 ($P<0.01$)，扶正化癥

方组小鼠肺组织 p-Smad2 蛋白表达降低 ($P<0.05$)；与尼达尼布组比较，扶正化癥方组小鼠肺组织 p-Smad2、p-Smad3、TGF-β 蛋白表达无明显变化 ($P>0.05$)；各组小鼠肺组织 Smad2/3 蛋白表达无明显差异 ($P>0.05$)，见图 6。



注：与正常组比较，* $P<0.05$, ** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$, ## $P<0.01$ 。

图 6 扶正化癥方对 BLM 诱导肺纤维化小鼠肺组织 TGF-β/Smad 信号通路的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

4 讨论

肺纤维化的发病机制较为复杂，其详细的机制并不清楚。BLM 诱导肺纤维化模型是经典的肺纤维化模型制备方法，具有全肺产生炎症浸润等病理特点^[23]。因此，本研究采用气道滴注 BLM 复制肺纤维化模型，给予扶正化癥方，以尼达尼布为阳性对照药，观察扶正化癥方对 BLM 诱导肺

纤维化小鼠的作用。结果显示，扶正化癥方可抑制小鼠肺部纤维化，减轻肺组织炎症细胞浸润，与阳性对照药尼达尼布比较，两者抗肺部炎症和抗肺纤维化均无显著差异，提示扶正化癥方在体内可能具备与尼达尼布相同的抗肺纤维化作用。

TGF-β1/Smad 通路失调是组织纤维化的重要致病机制，

TGF-β1/Smad 信号通路的激活可通过刺激胶原合成同时抑制 ECM 降解来促 TGF-β 的生成，同时 TGF-β 也可以减少 ECM 的降解，而 TGF-β 是主要的促纤维化细胞因子之一，Smad2 和 Smad3 在 TGF-β 信号通路中发挥着重要作用^[24]。肺纤维化的发病过程往往伴随着细胞外基质的沉积和特征性的成纤维灶存在，而成纤维灶的核心是由活化的肌成纤维细胞组成，参与形成纤维细胞灶，α-SMA 是肌成纤维细胞的特征性标志物，也是肌成纤维细胞具有收缩活性的基础^[25]。本研究结果表明，BLM 可通过 TGF-β1/Smad 通路诱导小鼠形成明显肺纤维化，经扶正化痰方干预后小鼠肺纤维化程度评分降低，肺泡灌洗液 TNF-α、IL-6 水平降低；肺泡间隔出现纤维细胞、炎症细胞浸润、胶原沉积情况明显减少；α-SMA、TGF-β1、p-Smad2、p-Smad3 表达下调。与阳性对照药物比较无明显差异，这些结果提示抑制 TGF-β1/Smad 信号通路是扶正化痰方抗肺纤维化的重要机制之一。

综上所述，扶正化痰方对 BLM 诱导的肺纤维化小鼠有保护作用，其机制与抑制 TGF-β1/Smad 信号通路活化相关，但在细胞水平的相关机制探讨还需进一步深入研究。

致谢 本研究中的药物扶正化痰方由上海现代中药药股份有限公司潘一峰先生提供，谨致谢意。

参考文献：

[1] 边富华, 刘荣奎, 李 雯, 等. 基于肺肾相关探讨特发性肺间质纤维化治疗 [J]. 中医药信息, 2022, 39 (6): 17-21.

[2] 杨 丽, 吕晓东, 王斯涵, 等. 中医药抗氧化治疗肺纤维化研究概况 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2017, 19 (6): 59-62.

[3] 潘 英. 特发性肺纤维化患者免疫指标检测的临床意义 [J]. 临床肺科杂志, 2016, 21 (3): 531-532; 540.

[4] 李 磊, 夏宏盛. 阳和益肺汤辅助治疗对肺纤维化患者血清 TGF-β, TNF-α 水平的影响 [J]. 中华保健医学杂志, 2022, 24 (4): 266-269.

[5] 李运军, 陈玉秋, 何仁增, 等. N-乙酰半胱氨酸雾化吸入对特发性肺纤维化患者肺泡灌洗液 TGF-β1、IL-6、VEGF 的影响 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2021, 31 (3): 230-233.

[6] 程 雪, 方 泓, 张运克, 等. 肺痹方干预肺纤维化模型小鼠细胞外基质转化的机制 [J]. 中国组织工程研究, 2020, 24 (31): 5038-5043.

[7] 吴鹏飞, 但梦霞, 邱立志, 等. 肺 ECM 水凝胶抑制 TGF-β1/Smad3 通路减轻大鼠放射性肺纤维化 [J]. 临床肺科杂志, 2022, 27 (6): 833-837.

[8] Jin H, Yoo Y, Kim Y, *et al.* Radiation-induced lung fibrosis: Preclinical animal models and therapeutic strategies [J].

Cancers (Basel), 2020, 12 (6): 1561.

[9] 肖雪童, 赵克明. 益气活血法治疗特发性肺纤维化进展 [J]. 中医药临床杂志, 2022, 34 (10): 1963-1967.

[10] 于睿智, 庞立健, 王天娇, 等. 从虚、毒、痰、瘀辨治特发性肺纤维化 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37 (10): 5815-5818.

[11] 孙文字, 张雪芹, 郭玉杰, 等. 中医药干预肺纤维化的证据图谱分析 [J]. 中国中药杂志, 2023, 48 (20): 5641-5650.

[12] Liu C H, Hu Y Y, Xu L M, *et al.* Effect of Fuzheng Huayu formula and its actions against liver fibrosis [J]. *Chin Med*, 2009, 4: 12.

[13] 范海纳, 黄 恺, 代云凯, 等. 扶正化痰方对肝纤维化小鼠肝癌发生的影响与机制 [J]. 中国中西医结合消化杂志, 2023, 31 (2): 110-117.

[14] 景 菲, 邢 枫, 范海纳, 等. 扶正化痰片对 COVID-19 患者肺部炎症的临床疗效 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28 (11): 125-131.

[15] 陈孟毅, 姜爱民. 肺纤维化动物模型及研究进展 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26 (6): 88-93.

[16] Pan T, Zhou Q, Miao K, *et al.* Suppressing Sart1 to modulate macrophage polarization by siRNA-loaded liposomes: a promising therapeutic strategy for pulmonary fibrosis [J]. *Theranostics*, 2021, 11 (3): 1192-1206.

[17] 景 菲, 胡旭东, 彭 渊, 等. 结合网络药理学探讨扶正化痰方对肺纤维化小鼠 PI3K-Akt 信号通路的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2022, 29 (2): 28-33.

[18] 吕紫薇, 黄 凯, 甘文华, 等. 吡非尼酮和尼达尼布抑制博来霉素诱导的小鼠肺纤维化药效比较 [J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36 (1): 112-118.

[19] 雷 艳, 郭洪峰, 侯晓宇, 等. 鼠腹腔注射戊巴比妥钠的麻醉技巧 [J]. 局解手术学杂志, 2015, 24 (6): 694-695.

[20] 杨小瑜, 吴 玲, 李国平, 等. 阿尔法骨化醇联合地塞米松减轻小鼠的肺纤维化及其机制 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2017, 33 (4): 488-491; 496.

[21] Ashcroft T, Simpson J M, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale [J]. *J Clin Pathol*, 1988, 41 (4): 467-470.

[22] 陈高峰, 马园园, 陶艳艳. 肝组织切片不同保存时间抗原丢失比较 [J]. 肝脏, 2019, 24 (10): 1186-1189.

[23] 燕苗苗, 赵亚昆, 王 搏, 等. 博来霉素诱导大鼠与小鼠肺纤维化模型的评价 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31 (2): 179-186.

[24] Hu H H, Chen D Q, Wang Y N, *et al.* New insights into TGF-β/Smad signaling in tissue fibrosis [J]. *Chem Biol Interact*, 2018, 292: 76-83.

[25] 吴延龙, 崔轶霞, 刘宇宏, 等. 兰石草对小鼠肺纤维化的抑制作用 [J]. 中成药, 2022, 44 (3): 976-979.