

# 山柰酚对博来霉素诱导小鼠肺纤维化、MRC-5细胞胶原蛋白生成的影响

王远敏, 罗敏, 苏穆\*, 李美燕, 徐明兴

[遵义市第一人民医院(遵义医科大学第三附属医院), 贵州遵义563000]

**摘要:** **目的** 探讨山柰酚对博来霉素诱导小鼠肺纤维化的预防作用和对MRC-5细胞胶原蛋白生成的影响。**方法** 将C57BL/6小鼠随机分为假手术组、模型组、吡非尼酮组(100 mg/kg)、山柰酚组(20 mg/kg), 每组10只。在假手术组气管内注射生理盐水, 模型组气管内注射博来霉素诱导肺纤维化模型。术后第2天开始给药, 连续28 d, 检测小鼠呼吸功能、肺组织羟脯氨酸水平, Masson染色观察肺组织胶原活性, 免疫组化法检测肺组织TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、I型胶原、III型胶原表达量。培养MRC-5细胞株, 设置空白组、TGF- $\beta$ 1组和山柰酚20、40、80  $\mu$ mol/L组, 分别干预48 h后, CCK-8检测山柰酚对MRC-5细胞抑制率, ELISA检测培养基中I型胶原和III型胶原水平。**结果** 与模型组比较, 山柰酚能改善博来霉素诱导小鼠肺纤维化后的呼吸功能, 减轻肺组织胶原沉积, 降低肺组织羟脯氨酸水平和TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、I型和III型胶原蛋白表达( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。细胞实验表明, 山柰酚能抑制TGF- $\beta$ 1对MRC-5细胞的增殖和I型、III型胶原生成( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** 山柰酚能预防博来霉素诱导小鼠肺纤维化, 抑制体外MRC-5细胞株增殖、胶原生成。

**关键词:** 山柰酚; 肺部纤维化; 细胞外基质; 胶原沉积; MRC-5细胞

**中图分类号:** R285.5

**文献标志码:** B

**文章编号:** 1001-1528(2023)10-3425-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1528.2023.10.045

肺部纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是由于慢性支气管疾病、病毒性肺炎等肺部疾病, 以及长期的吸烟、环境等因素导致的不同程度呼吸困难的疾病, 是一种慢性、进行性、致命性的纤维化间质疾病, 可导致肺组织硬化、肺功能丧失, 最终死亡, 临床治疗多以激素控制, 副作用较大<sup>[1]</sup>。尼达尼布和吡非尼酮是最新开发的抗纤维化药物, 在减轻肺功能下降和肺部纤维化进展方面有一定的应用前景<sup>[2-3]</sup>, 但它们不能逆转或阻止结构损伤和肺功能的丧失, 因此, 开发治疗肺纤维化的新药或治疗方法仍任重道远。现有研究表明, 山柰酚属于黄酮类化合物, 存在于多种药材、水果、蔬菜中, 如八角茴香、白果、贯众黄芪等<sup>[4]</sup>, 其因具有防癌、抗癌、抗感染、抗菌、抗病毒等多种功效而受到人们的广泛关注<sup>[5]</sup>, 可用于治疗多种急慢性炎症、椎间盘退变、结肠炎、绝经后骨丢失、急性肺损伤等疾病。此外, 山柰酚有益于癌症、肝损伤、糖尿病、肥胖患者, 可抑制血管内皮炎症, 保护颅神经和心脏功能, 但其对于肺部纤维化是否具有预防或治疗作用未见报道。本研究探索山柰酚对博来霉素诱导小鼠肺纤维化的作用和对MRC-5人胚肺成纤维细胞的增殖、胶原生成的影响。

## 1 材料

1.1 药物 山柰酚对照品, 购自成都德思特生物技术有限公司, 纯度 $\geq 98\%$ , 批号1092382910。

1.2 动物与细胞 SPF级C57BL/6小鼠40只, 雌雄各半, 体质量(20 $\pm$ 2)g, 由长沙天勤生物技术有限公司提供[实验动物生产许可证号SCXK(湘)2019-0014]。MRC-5人胚肺成纤维细胞株, 购自中国科学院上海细胞库。

1.3 试剂 磷酸缓冲盐(phosphate buffer saline, PBS)溶液; 博来霉素(批号S1214, 上海蓝木化工有限公司); 二甲苯、无水乙醇分析纯溶液(批号20190801、20180907, 天津市科密欧化学试剂有限公司);  $\beta$ -actin蛋白抗体[批号4970, 赛信通(上海)生物试剂有限公司]; 转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)抗体、 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白(alpha-smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)抗体、I型胶原蛋白(Collagen I)、III型胶原蛋白(Collagen III)抗体[批号ab215715、ab124964、ab270993、ab7778, 艾博抗(上海)贸易有限公司]; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L)、极超敏(enhanced chemiluminescent, ECL)化学发光试剂盒、苏木素伊红染

收稿日期: 2022-05-08

基金项目: 遵义市科技局-遵义市第一人民医院2019年度联合科技研发资金项目[遵市科合HZ字(2019)136号, 遵市科合HZ字(2019)137号]; 遵义市科学技术局-遵义市第一人民医院防控新型冠状病毒技术攻关及集成应用项目[遵市科合HZ字(2020)6号]

作者简介: 王远敏(1990—), 女, 主管药师, 从事中药基础、临床研究。Tel: 18798084502, E-mail: wym01234@sina.com

\*通信作者: 苏穆(1986—), 女, 主管药师, 从事药物临床研究。Tel: (0851)23236042, E-mail: 565169543@qq.com

色液、CCK-8 试剂盒 (批号 A0181、P0018FS、C0105M、C0037, 上海碧云天生物技术有限公司); 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 制备试剂盒、Masson 染色试剂盒、羧甲基纤维素钠、MEM 培养基、羟脯氨酸试剂盒 (批号 P1200、G1340、C8621、41500、BC0250, 北京索莱宝生物科技有限公司); Minute™ 动物细胞/组织总蛋白提取试剂盒 (批号 SD-1, 北京英文特生物技术有限公司); 微量 BCA 蛋白定量试剂盒 (批号 CW0014, 北京康为世纪生物科技有限公司); PVDF 膜 (批号 ISEQ00010, 密理博中国有限公司); 免疫组化试剂盒、DAB 显影液 (批号 PV-9000、ZLI-9018, 北京中杉金桥生物技术有限公司); GIBCO 胎牛血清 (批号 2045512CP, 上海赛默飞世尔科技公司); 重组人 TGF- $\beta$ 1 蛋白 [批号 abs04204, 爱必信 (上海) 生物科技有限公司]; Collagen I、Collagen III ELISA 试剂盒 (批号 CSB-E08082h、CSB-E04799h, 武汉华美生物工程有限公司)。

1.4 仪器 WBP 动物无创肺功能呼吸检测系统 (上海塔望智能科技有限公司); 免疫组化成像系统 (日本奥林巴斯公司); 酶标分析仪和细胞培养箱 (上海赛默飞世尔科技公司); SW-CJ-2D 超净工作台 (上海谷宁仪器有限公司)。

## 2 方法

2.1 动物分组及处理 将小鼠随机分为假手术组 (10 只) 和模型组 (30 只), 腹腔注射 4% 水合氯醛溶液进行麻醉, 碘伏酒精消毒颈部皮肤, 剪开颈部皮肤, 剥离颈前组织 (避免出血) 并仔细分离出气管, 假手术组气管内注射 0.1 mL 生理盐水, 模型组气管内注射生理盐水溶解的博来霉素 (5 mg/kg), 每组 0.1 mL, 注射后小鼠快速倒立旋转, 使博来霉素注射液或生理盐水混匀于肺组织内, 术后小鼠保温苏醒后正常喂食喂水饲养。将博来霉素诱导后肺纤维化小鼠模型随机分为假手术组、模型组、山柰酚组 (20 mg/kg)、吡非尼酮组 (100 mg/kg), 每组 10 只。第 2 天开始, 假手术组和模型组灌胃纯净水, 给药组灌胃相应剂量药物, 给药 28 d, 其间小鼠正常饮水进食。末次给药 1 h 后检测每组小鼠呼吸功能, 随后颈动脉处死并测量脏器系数, 摘取左肺用于检测羟脯氨酸水平, 右肺用于 Masson 胶原染色、免疫组化检测。

2.2 小鼠呼吸功能检测和脏器系数分析 将小鼠放入 WBP 动物无创肺功能呼吸检测系统附带的密闭容器内, 设定参数, 先让其适应陌生黑暗环境 10 min, 启动机器监测记录潮气量 (tidal volume, TVB)、吸气时间 (inspiration time, Ti)、呼气时间 (expiration time, Te)。小鼠称重后快速颈动脉处死, 摘取肺脏并称重, 记录并计算脏器系数。

2.3 小鼠肺组织羟脯氨酸水平检测 根据试剂盒要求将 0.2 g 小鼠左肺样本组织放入试管中, 将组织尽量剪碎以便消化, 盖子稍稍不密闭, 加入 2 mL 的提取液, 置于 110 °C 烘箱中消化 6 h 至无明显团块, 25 °C、16 000 r/min 离心 20 min, 用 10 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值至 6~8, 蒸馏水定容至 4 mL, 取上清液并加入相应检测试剂, 混匀, 60 °C

水浴 20 min 后室温静置 15 min, 于 560 nm 波长处测定吸光度。

2.4 Masson 胶原染色观察小鼠肺组织胶原增殖情况 取每组左肺于多聚甲醛中固定 12 h, 自来水冲洗, 70% 乙醇中浸泡 24 h, 随后经 80%、90%、100% 乙醇各浸泡 3 h, 二甲苯透明 20 min, 液体石蜡浸泡 3 h, 包埋组织, 蜡块室温冷却后以 4  $\mu$ m 厚度切片, 37 °C 烘干后二甲苯脱蜡 30 min, 切片分别经 100%、90%、80%、70% 乙醇浸泡, Masson 胶原染色试剂染色, 90% 乙醇脱水后二甲苯浸泡 5 min, 中性树胶封片, 镜下观察并评价肺组织胶原增殖程度变化。根据 Szapiel 病理评价方法评分, 0 分为无纤维化; 1 分为轻度纤维化, 病变范围  $\leq$  全肺 20%; 2 分为中度纤维化, 病变范围全肺 20%~50%; 3 分为重度纤维化, 病变范围  $\geq$  全肺 50%, 并且结构改变。

2.5 免疫组化法检测小鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、Collagen I、Collagen III 蛋白表达 每组右肺石蜡切片后二甲苯脱蜡 30 min, 切片分别经 100%、90%、80%、70% 乙醇浸泡, PBS 水化组织切片, 根据 PV-9000 试剂盒说明书进行操作, 3% 过氧化氢封闭 30 min, PBS 缓冲液冲洗后滴加一抗 (1:100), 4 °C 孵育过夜后 PBS 缓冲液冲洗, 滴加二抗室温孵育 60 min, PBS 缓冲液冲洗后, DAB 显影 5 min, 自来水冲洗, 苏木素复染 5 min, 自来水冲洗, 95% 乙醇浸泡 10 min, 二甲苯浸泡透明 10 min 后中性树胶封片, 镜下观察棕黄色颗粒为阳性表达, 计算光密度。

2.6 细胞培养及处理 MRC-5 细胞采用含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养, 细胞生长至 80% 时胰酶消化传代, 以每孔 5.0  $\times$  10<sup>3</sup> 个的密度接种至 96 孔板, 贴壁 24 h 后参考文献 [6] 报道设置空白组、TGF- $\beta$  组 (10 ng/mL) 和 20、40、80  $\mu$ mol/L 山柰酚组 (10 ng/mL TGF- $\beta$ 1+20、40、80  $\mu$ mol/L 山柰酚), 每组 4 个复孔, 加入相应试剂和药物后孵育 48 h, 加入 CCK-8 试剂继续孵育 4 h, 于酶标仪上 450 nm 波长处检测吸光度, 计算抑制率, 重复上述操作, 取细胞培养基, 检测 Collagen I、Collagen III 水平。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 20.0 软件进行处理, 数据以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 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。P < 0.05 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 山柰酚对肺纤维化小鼠呼吸功能的影响 如表 1 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠呼吸功能明显受到限制, 潮气量降低 (P < 0.01), 且吸气时间和呼吸时间延长 (P < 0.01); 与模型组比较, 山柰酚组和吡非尼酮组小鼠呼吸功能有所改善, 潮气量增加 (P < 0.05), 吸气时间、呼吸时间缩短 (P < 0.05)。

3.2 山柰酚对肺纤维化小鼠肺脏系数的影响 如表 2 所示, 与假手术组比较, 模型组小鼠肺脏系数升高 (P < 0.01); 与模型组比较, 山柰酚组和吡非尼酮组小鼠肺脏系数降低 (P < 0.05)。

表 1 山柰酚对肺纤维化小鼠呼吸功能的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	TVB/mL	Ti/ms	Te/ms
假手术组	0.44±0.12	66.60±15.25	52.11±12.49
模型组	0.24±0.11**	164.30±32.11**	154.30±20.20**
山柰酚组	0.36±0.08#	90.41±22.21#	101.50±11.38#
吡非尼酮组	0.38±0.11#	88.43±20.46#	99.40±14.06#

注：与假手术组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ 。

表 2 山柰酚对肺纤维化小鼠肺脏系数的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	肺脏系数/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )
假手术组	0.004±0.002
模型组	0.024±0.010**
山柰酚组	0.013±0.002#
吡非尼酮组	0.013±0.004#

注：与假手术组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ 。

### 3.3 山柰酚对肺纤维化小鼠肺组织羟脯氨酸水平的影响

如表 3 所示，与假手术组比较，模型组小鼠肺组织羟脯氨酸水平升高 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，山柰酚组和吡非尼酮组小鼠肺组织羟脯氨酸水平降低 ( $P<0.01$ )。

表 3 山柰酚对肺纤维化小鼠肺组织羟脯氨酸水平的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	羟脯氨酸/( $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ )
假手术组	0.88±0.54
模型组	2.27±1.15**
山柰酚组	1.10±0.66##
吡非尼酮组	1.03±0.49##

注：与假手术组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

### 3.4 山柰酚对肺纤维化小鼠肺组织胶原蛋白增殖的影响

如图 1、表 4 所示，假手术组箭头所示在肺泡和细支气管周围有少量的胶原，组织结构完整，无出血渗出；与假手术组比较，模型组箭头所示胶原蛋白围绕气管和肺泡大量增殖，导致正常肺泡结构消失并有粘连、充血，病理评分升高 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，山柰酚组和吡非尼酮组小鼠肺组织肺泡结构较完整，虽有胶原蛋白异常增殖，但程度较轻，病理评分降低 ( $P<0.01$ )。

### 3.5 山柰酚对肺纤维化小鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、

表 5 山柰酚对肺纤维化小鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、Collagen I、Collagen III 蛋白表达的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	TGF- $\beta$ 1	$\alpha$ -SMA	Collagen I	Collagen III
假手术组	0.22±0.10	0.11±0.05	0.02±0.01	0.06±0.04
模型组	0.44±0.11**	0.43±0.10**	0.33±0.06**	0.34±0.06**
山柰酚组	0.25±0.09##	0.22±0.12##	0.14±0.11#	0.24±0.06##
吡非尼酮组	0.26±0.13##	0.19±0.16##	0.15±0.10#	0.19±0.10##

注：与假手术组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

### 3.6 山柰酚对 MRC-5 人胚肺成纤维细胞增殖活性和

Collagen I、Collagen III 水平的影响 如表 6 所示，与空白组比较，TGF- $\beta$ 1 组 MRC-5 细胞增殖抑制率无明显变化 ( $P>0.05$ )，Collagen I、Collagen III 水平升高 ( $P<0.01$ )；与 TGF- $\beta$ 1 组比较，各浓度山柰酚组 MRC-5 细胞增殖抑制率升高 ( $P<0.01$ )，Collagen I、Collagen III 水平降低 ( $P<0.01$ )，并呈剂量依赖性。

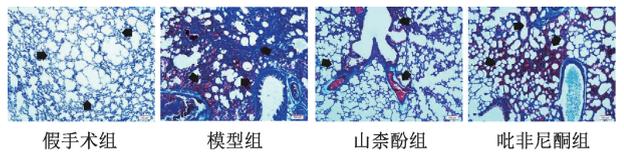


图 1 各组小鼠肺组织 Masson 染色 ( $\times 100$ )

表 4 山柰酚对肺纤维化小鼠肺组织胶原蛋白增殖的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

组别	病理评分/分
假手术组	0.13±0.32
模型组	2.22±0.71**
山柰酚组	1.47±0.70##
吡非尼酮组	1.73±0.48##

注：与假手术组比较，\*\* $P<0.01$ ；与模型组比较，## $P<0.01$ 。

Collagen I、Collagen III 蛋白表达的影响 如图 2、表 5 所示，假手术组 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、Collagen I、Collagen III 蛋白平均光密度较低；与假手术组比较，模型组 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、Collagen I、Collagen III 蛋白平均光密度升高 ( $P<0.01$ )；与模型组比较，山柰酚组、吡非尼酮组小鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、Collagen I、Collagen III 蛋白平均光密度降低 ( $P<0.05, P<0.01$ )。

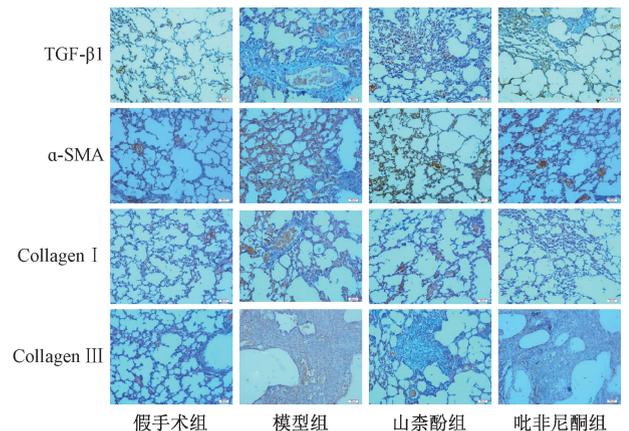


图 2 各组小鼠肺组织 TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、Collagen I、Collagen III 免疫组化染色 ( $\times 200$ )

表 6 山柰酚对 MRC-5 细胞增殖和 Collagen I、Collagen III 水平的影响 ( $\bar{x}\pm s, n=4$ )

组别	抑制率/%	Collagen I/( $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	Collagen III/( $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
空白组	0.00±0.00	25.35±0.43	28.76±0.35
TGF- $\beta$ 1 组	0.00±0.00	40.78±0.67**	47.44±0.61**
20 $\mu\text{mol/L}$ 山柰酚组	14.37±2.35##	35.12±0.35##	37.23±0.58##
40 $\mu\text{mol/L}$ 山柰酚组	21.56±1.73##	36.22±0.21##	36.55±0.62##
80 $\mu\text{mol/L}$ 山柰酚组	26.15±2.43##	33.37±0.40##	36.79±0.43##

注：与空白组比较，\*\* $P<0.01$ ；与 TGF- $\beta$ 1 组比较，## $P<0.01$ 。

#### 4 讨论

肺部纤维化是以肌成纤维细胞异常活化、细胞外基质过度积聚、肺瘢痕形为主要特征<sup>[7]</sup>，其中肺细胞外基质在肺纤维化过程中可发生生物特性的改变并促进肺纤维化的发展。多种细胞外基质相关蛋白参与了肺纤维化的病理过程，如胶原蛋白、羟脯氨酸等蛋白与细胞增殖、迁移、分化、气道上皮细胞的上皮-间质转换以及各种分泌型介质的产生和激活，在肺纤维化的发展中起重要的促进作用，因此，细胞外基质可作为肺纤维化治疗的潜在靶点<sup>[8]</sup>。

本研究发现，博来霉素诱导的肺部纤维化小鼠肺组织潮气量降低，呼气时间和吸气时间延长，经山柰酚干预可有效改善肺部纤维化小鼠的呼吸功能，增加小鼠肺组织潮气量，缩短吸气时间，与阳性药相当。Masson染色发现，模型组肺部纤维化小鼠肺组织胶原蛋白水平升高，肺组织结构病理性改变，正常的肺泡结构被大量异常增殖的胶原组织替代，肺泡间气体交换功能损害；经山柰酚和吡非尼酮干预后，小鼠胶原蛋白水平整体下降，残留的肺泡结构较多，有效改善了肺纤维化小鼠的通气功能。羟脯氨酸是胶原蛋白的组成成分，占其氨基酸总量的13%，本研究结果表明，模型组小鼠肺组织羟脯氨酸水平较高；给予山柰酚和吡非尼酮干预后降低，提示山柰酚和吡非尼酮都具有改善博来霉素诱导小鼠肺纤维化胶原形成的作用。

TGF- $\beta$ 1是一种重要的生长因子，参与了成纤维细胞的分化和微环境的形成<sup>[9]</sup>，是目前已开发肺纤维化治疗药物针对的关键靶点之一，如吡非尼酮<sup>[10-11]</sup>。 $\alpha$ -SMA作为细胞骨架蛋白，是成纤维细胞活化的标志，其表达与肺纤维化程度呈正相关性<sup>[12-13]</sup>。I型胶原蛋白和III型胶原蛋白是肺组织细胞外基质中胶原的主要成分<sup>[14]</sup>，肺组织细胞外基质与肺纤维化关系最为密切，肺组织损伤后，细胞外基质过量沉积于肺间质，使肺结构破坏，换气面积减少，肺泡膜增厚，最终发生呼吸衰竭<sup>[15-16]</sup>。本研究发现，模型组肺组织TGF- $\beta$ 1、 $\alpha$ -SMA、Collagen I和Collagen III表达均升高；经山柰酚和吡非尼酮干预后，这些蛋白表达降低，表明山柰酚和吡非尼酮都能够改善肺纤维化小鼠肺组织细胞外基质的过度沉积或表达。体外MRC-5人胚肺成纤维细胞增殖实验验证，山柰酚能降低MRC-5细胞分泌Collagen I和Collagen III水平。

综上所述，山柰酚能够改善因博来霉素引发的小鼠肺纤维化病理改变，抑制体外TGF- $\beta$ 1刺激的MRC-5细胞增殖活性，其机制可能与下调TGF- $\beta$ /smad通路中的TGF- $\beta$ 1蛋白表达来减少胶原蛋白和纤维的形成，以及下调 $\alpha$ -SMA、Collagen I、Collagen III蛋白表达有关。

#### 参考文献:

[1] Moua T, Ryu J H. Obstacles to early treatment of idiopathic

pulmonary fibrosis: current perspectives [J]. *The Clin Risk Manag*, 2019, 15: 73-81.

[2] Tanaka S, Miyoshi K, Higo H, et al. Lung transplant candidates with idiopathic pulmonary fibrosis and long-term pirfenidone therapy: Treatment feasibility influences waitlist survival [J]. *Respir Investig*, 2019, 57(2): 165-171.

[3] Wang C B, Zhang S, Zhang Q, et al. Research progress of two new antifibrotic drugs for idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Chin Pharm J*, 2019, 54(9): 682-686.

[4] Ru J L, Li P, Wang J N, et al. TCMSp: a database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines [J]. *J Cheminformatics*, 2014, 6(1): 13.

[5] 雷晓青, 陈 鳌, 刘 毅, 等. 山柰酚药理作用的研究进展 [J]. *微量元素与健康研究*, 2017, 34(2): 61-62.

[6] 席 苑, 张海静, 高云航, 等. 汉防己甲素对TGF- $\beta$ 1诱导的MRC-5细胞中Col-I及FN表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(12): 94-99.

[7] Zhou H F, Zhou Y, Sun G Y, et al. EETs inhibits the bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. *Regul Peptides*, 2012, 177(supp-S): S36-S37.

[8] Sundarakrishnan A, Chen Y, Black L D, et al. Engineered cell and tissue models of pulmonary fibrosis [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018, 129: 78-94.

[9] Lv L Y, Li R Q, Sun C X, et al. Key cells and extracellular matrix in pulmonary fibrosis [J]. *Current Physician*, 2020, 26(12): 192-194.

[10] Tang P M, Zhang Y Y, Mak T S, et al. Transforming growth factor- $\beta$  signalling in renal fibrosis: from Smads to non-coding RNAs [J]. *J Physiol*, 2018, 596(16): 3493-3503.

[11] Wei Y, Kim T J, Peng D H, et al. Fibroblast-specific inhibition of TGF- $\beta$ 1 signaling attenuates lung and tumor fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(10): 3675-3688.

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

[13] Bagalad B S, Mohan K K P, Puneeth H K. Myofibroblasts: master of disguise [J]. *J Oral Maxillofac Pathol*, 2017, 21(3): 462-463.

[14] Darby I A, Zakuan N, Billet F, et al. The myofibroblast, a key cell in normal and pathological tissue repair [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(6): 1145-1157.

[15] Huang L H, Han J, Xu C J, et al. Effects of astragaloside IV on the expression of  $\alpha$ -SMA at the pulmonary fibrosis mice [J]. *J Liaoning Univ Tradit Chin Med*, 2019, 21(1): 47-50.

[16] Koo H Y, El-Baz L M, House S, et al. Fibroblast growth factor 2 decreases bleomycin-induced pulmonary fibrosis and inhibits fibroblast collagen production and myofibroblast differentiation [J]. *J Pathol*, 2018, 246(1): 54-66.