

当归补血汤总苷联合水蛭治疗大鼠肺纤维化

李术钗¹， 杨宁线¹， 夏忠玉¹， 龚国芬²， 田 津³， 孙国兵^{1*}
(1. 贵阳护理职业学院, 贵州 贵阳 550081; 2. 遵义医药高等专科学校, 贵州 遵义 563000; 3. 贵阳中医药大学第二附属医院, 贵州 贵阳 550081)

摘要：目的 研究当归补血汤总苷联合水蛭对大鼠肺纤维化的治疗作用及其机制。**方法** 选取 120 只雄性 SD 大鼠，18 只作为正常组（生理盐水），其余 102 只建立肺纤维化模型。72 只造模大鼠随机分为模型组（生理盐水）、当归补血汤总苷组（13 mg/kg）、水蛭组（水蛭粉，4 g/kg）、联合组（当归补血汤总苷，13 mg/kg；水蛭粉，4 g/kg），每组 18 只，灌胃给药。**结果** 造模后第 7、14、28 天，模型组肺泡炎性评分、肺纤维化程度评分、肺组织中转化生长因子 $\beta 1$ （TGF- $\beta 1$ ）和纤溶酶原激活物抑制因子-1（PAI-1）、肺泡灌洗液中白细胞介素-4（IL-4）和白介素-17（IL-17）表达水平、肺组织中羟脯氨酸（HYP）含量均显著高于正常组（ $P < 0.05$ ）；当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组肺泡炎性评分、肺纤维化程度评分、TGF- $\beta 1$ 、PAI-1、IL-4、IL-17 表达水平、羟脯氨酸含量均显著低于模型组（ $P < 0.05$ ）；联合组肺泡炎性评分、肺纤维化程度评分、TGF- $\beta 1$ 、PAI-1、IL-4、IL-17 表达水平、HYP 含量显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组（ $P < 0.05$ ）。**结论** 当归补血汤总苷联合水蛭治疗大鼠肺纤维化的效果较好，主要是通过降低肺组织中 TGF- $\beta 1$ 、PAI-1 表达水平、HYP 含量所致。

关键词：当归补血汤；水蛭；肺纤维化；大鼠
中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**1001-1528(2017)11-2243-06
doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2017.11.004

Danggui Buxue Decoction total glycosides combined with *Hirudo* in the treatment of pulmonary fibrosis in rats

LI Shu-chai¹， YANG Ning-xian¹， XIA Zhong-yu¹， GONG Guo-fen²， TIAN Jin³， SUN Guo-bing^{1*}
(1. Guiyang Nursing Vocational College, Guiyang 550081, China; 2. Zunyi Medical College, Zunyi 563000, China; 3. NO. 2 Hospital Affiliated to TCM College of Guiyang, Guiyang 550081, China)

ABSTRACT: AIM To study the effects of Danggui Buxue Decoction total glycosides combined with *Hirudo* in the treatment of pulmonary fibrosis in rats and its mechanism. **METHODS** One hundred and twenty male SD rats were selected, eighteen of which were taken as normal group (normal saline), the remaining 102 rats were used to establish model for pulmonary fibrosis. Seventy-two modeled rats were randomly divided into model group (normal saline), Danggui Buxue Decoction total glycosides group (13 mg/kg), *Hirudo* group (*Hirudo* powder, 4 g/kg) and combination group (Danggui Buxue Decoction total glycosides, 13 mg/kg; *Hirudo* powder, 4 g/kg), eighteen rats in each group with intragastric administration. **RESULTS** On the 7th, 14th and 28th days after modeling, alveolar inflammatory score, pulmonary fibrosis degree score, TGF- $\beta 1$ and PAI-1 expression levels in lung tissue, IL-4 and IL-17 expression levels in alveolar lavage fluid, hydroxyproline (HYP) content in lung tissue in the model group were significantly higher than those in the normal group ($P < 0.05$). Alveolar inflammatory score, pulmonary fibrosis degree score, TGF- $\beta 1$, PAI-1, IL-4, IL-17 expression levels and HYP content in the Danggui Buxue Decoction total glycosides group, *Hirudo* group and combination group were significantly lower than those in the model group ($P < 0.05$). In the combination group, alveolar inflammatory score, pulmonary fibrosis degree score,

收稿日期：2017-04-19
基金项目：贵州省科技厅项目（黔科合中药字〔2012〕5022）；遵义市汇川区规划课题（2011-2013）
作者简介：李术钗（1974—），女，硕士，副教授，从事中医药方向研究。Tel: 18551762328
* 通信作者：孙国兵（1967—），男，副教授，从事药学方向研究

TGF- β 1, PAI-1, IL-4, IL-17 expression levels and HYP content were significantly lower than those in the Danggui Buxue Decoction total glycosides group and *Hirudo* group ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Danggui Buxue Decoction total glycosides combined with *Hirudo* have good therapeutic effects on pulmonary fibrosis in rats mainly by reducing TGF- β 1, PAI-1 expression levels and HYP content in lung tissue.

KEY WORDS: Danggui Buxue Decoction; *Hirudo*; pulmonary fibrosis; rats

肺间质纤维化是常见呼吸系统疾病, 西医临床多采用糖皮质激素、细胞毒药物、免疫抑制药物等治疗方法, 但均未取得较好效果^[1]。传统中医认为, 肺纤维的病机在于气阴两虚, 并兼有痰、瘀、热之邪, 中医治疗以益气养阴为主, 活血化瘀为辅, 标本兼治, 临床证明中医治疗肺纤维化具有较好疗效^[2]。当归补血汤由黄芪和当归 2 味药以 5:1 比例组成, 具有生血养阴之功效, 是目前组织纤维化研究的重点方剂; 水蛭素是凝血酶特异性抑制剂, 水蛭具有活血化瘀之功效, 目前有研究表明其具有抑制肺纤维化的作用^[3-4]。为探讨当归补血汤联合水蛭治疗肺纤维化的作用及其机制, 本研究采用博来霉素对大鼠进行肺纤维化造模, 按不同干预方案分为对照组、模型组、当归补血汤总苷组、水蛭组和联合治疗组, 分别于造模后第 7、14、28 天观察各组大鼠肺组织病理学特征, 比较 TGF- β 1、PAI-1 表达水平和 HYP 含量, 以期提高肺纤维化治疗效果。

1 材料与方法

1.1 动物 选取 120 只 SPF 级雄性 SD 大鼠, 购自遵义医学院动物实验室, 动物合格证证号 SYXK(黔) 2015-0004, 体质量 (210 ± 20) g, 喂养于光照 12 h、湿度 45% ~ 60%、温度 22 ~ 25 °C 的环境中, 自由进食进水。

1.2 仪器与药品 注射用盐酸博来霉素(国药准字 H20055883, 海正辉瑞制药有限公司); 水蛭粉购于河北省中医药研究所; 当归补血总苷由本实验室自提(1 000 g 当归补血汤干燥饮片可得总苷粉末约 4.0 g, 总苷含量大于 50%)。大鼠羧脯氨酸(HYP) ELISA 检测试剂盒, 由上海宝曼生物科技有限公司提供; TGF- β 1、PAI-1 抗体均购自武汉博士德生物技术有限公司; IX-70 光学显微镜由日本 Olympus 提供; BI-2000 医学图像分析仪由成都泰盟科技有限公司提供; 美国 Bio-Rad 680 酶标仪。

1.3 造模及给药分组方法 造模方法^[5]: 102 只大鼠用 10% 水合氯醛麻醉(0.4 mL/100 g), 呈仰卧位固定, 颈部被毛, 在大鼠颈正中作切口, 将筋膜和肌肉分离, 气管暴露, 无菌注射器气管穿刺注

入博来霉素(5 mg/kg), 分 3 次注射完毕, 每次注入后, 将大鼠直立旋转, 使药液在肺内分布均匀。造模完毕, 缝合切口。

对照组: 随机选取 18 只作为对照组, 经气管注入 0.1 mL/100 g 生理盐水进行假造模, 然后用 1 mL/100 g 生理盐水灌胃。

当归补血汤总苷组: 采用 50 mL 蒸馏水配制 4 g 总苷, 于造模当天开始灌胃(1 mL/100 g, 13 mg 总苷/kg 体质量)。

水蛭组: 采用 50 mL 蒸馏水配制 4 g 水蛭粉, 于造模当天开始灌胃(1 mL/100 g, 4 g 水蛭粉/kg 体质量)。

联合组: 采用 25 mL 蒸馏水配制 4 g 总苷和 4 g 水蛭粉, 于造模当天开始灌胃(各 0.5 mL/100 g, 13 mg 总苷/kg 体质量 + 4 g 水蛭粉/kg 体质量)。

1.4 观察指标及检测方法 分别于造模后第 7、14、28 天采用 HE、Masson 染色观察各组大鼠肺组织的病理变化情况; 采用免疫组化染色观察各组大鼠造模后第 7、14、28 天肺组织中转化生长因子 β 1(TGF- β 1)、纤溶酶原激活物抑制因子-1(PAI-1)的表达情况, 采用 ELISA 测定各组大鼠肺组织中造模后第 7、14、28 天羧脯氨酸(HYP)的含量。

1.4.1 HE 染色 取大鼠肺组织标本, 放入 4% 多聚甲醛溶液中进行固定, 24 h 后脱水, 石蜡包埋、切片。将切片分别置于二甲苯 I、II 和 100%、95%、90%、80%、70% 乙醇中各 10 min, 自来水冲洗, 苏木精染色, 1% 盐酸分化, 1% 氨水蓝化, 伊红染色, 由低到高体积分数乙醇梯度脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片。Masson 染色后, 进行肺组织病理形态观察。

1.4.2 免疫组化染色测量 TGF- β 1、PAI-1 表达 取各组大鼠肺组织石蜡切片, 进行去蜡水化。为封闭内源性过氧化物酶, 采取 3% 过氧化氢孵育 0.5 h, 微波修复后, 采取 BSA 封闭 0.5 h, 加入 1:100 稀释后的一抗, 孵育 1 h, 依次加入二抗, DAB 显色, 苏木素复染, 封片。再进行图像采集分析, 检测 TGF- β 1、PAI-1 的免疫组化染色结果,

进行灰度值（*D*）测定，灰度越低，免疫组化染色越强，染色越强，则蛋白表达越高；反之，蛋白表达越低。每次染色作阴性对照。

1.4.3 HYP 测量 采用 ELISA 法测定大鼠肺组织 HYP 含有量，严格按照试剂盒说明书操作。提取石蜡包埋组织总蛋白，在 450 nm 波长处采用酶标仪测定各孔的吸光度（*A*）。根据标准品的 *D* 值绘制曲线，并计算各样本浓度。

1.4.4 肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平检测 采用 ELISA 法测定肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平，严格按照说明书操作。

1.5 肺泡炎性程度及肺纤维化程度判断标准 肺泡炎性程度判断：HE 染色采用 Szapie 评价方法^[6]：无肺泡炎，0 分；轻度肺泡炎，单核细胞浸润，肺泡间隔增宽，局限于局部或胸膜部，<20% 全肺面积，肺泡结构正常，1 分；中度肺泡炎，占全肺面积的 20% ~50%，近胸膜处较重，2 分；重度肺泡炎，可见炎性细胞及出血引起的肺实变，

3 分。
肺纤维化程度判断：无肺纤维化，0 分；轻度肺纤维化，<20% 全肺面积，肺泡结构正常，1 分；中度肺纤维化，占全肺面积的 20% ~50%，2 分；重度肺纤维化，超过全肺面积的 50%，3 分。
1.6 统计学方法 数据分析及统计经 SAS 9.0 软件处理，计量指标采用均数 ± 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，多组间比较采用方差分析，组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肺组织病理学观察 造模后第 7、14、28 天，模型组大鼠 HE、Masson 染色的肺泡炎性评分和肺纤维化程度评分均显著高于正常组（*P* < 0.05）；当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组大鼠的肺泡炎性评分、肺纤维化程度评分均显著低于模型组（*P* < 0.05）；联合组大鼠的肺泡炎性评分、肺纤维化程度评分显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组（*P* < 0.05）。见表 1、图 1 ~2。

表 1 肺组织病理学评分（ $\bar{x} \pm s$ ，分，*n* = 18）
Tab. 1 Lung tissue histopathological scores（ $\bar{x} \pm s$ ，score，*n* = 18）

组别	肺泡炎性			肺纤维化程度		
	造模后第 7 天	造模后第 14 天	造模后第 28 天	造模后第 7 天	造模后第 14 天	造模后第 28 天
正常组	0	0	0	0	0	0
模型组	2.15 ± 0.17 *	2.45 ± 0.30 *	2.61 ± 0.28 *	1.56 ± 0.19 *	1.80 ± 0.22 *	1.94 ± 0.24 *
当归补血汤总苷组	1.71 ± 0.29 *#	1.66 ± 0.21 *#	1.45 ± 0.23 *#	1.31 ± 0.20 *#	1.19 ± 0.15 **	1.10 ± 0.19 **
水蛭组	1.63 ± 0.28 *#	1.51 ± 0.19 **	1.37 ± 0.20 *#	1.28 ± 0.18 *#	1.14 ± 0.17 **	1.03 ± 0.15 **
联合组	1.35 ± 0.24 **★	1.10 ± 0.18 **★	0.76 ± 0.20 **★	1.04 ± 0.11 **★	0.83 ± 0.13 **★	0.66 ± 0.15 **★

注：与正常组比较，* *P* < 0.05；与模型组比较，# *P* < 0.05；与当归补血汤总苷组、水蛭组比较，★ *P* < 0.05

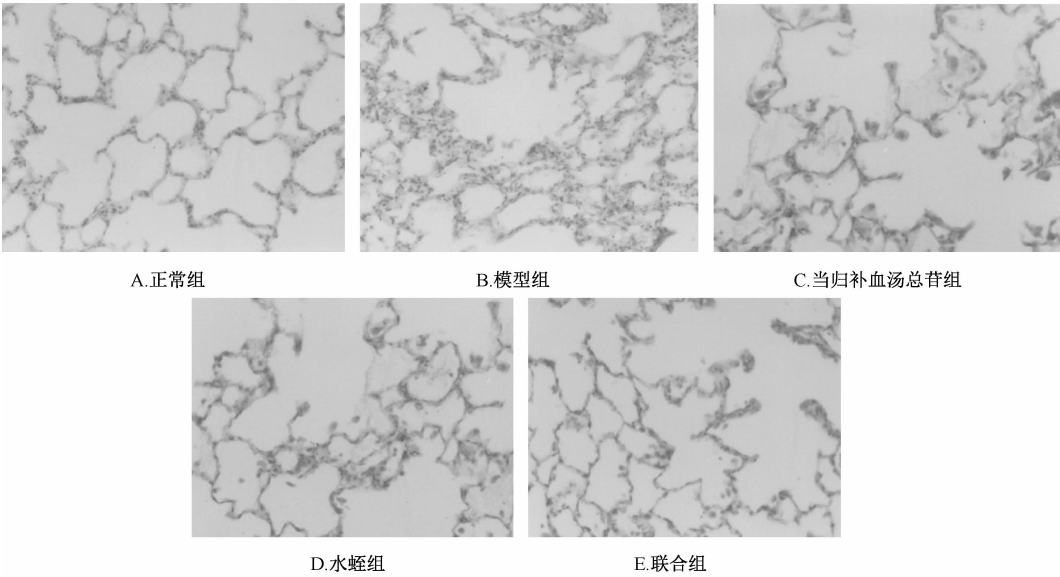


图 1 造模后 28 d 大鼠肺组织 HE 染色（×200）
Fig. 1 HE staining of lung tissue of rats on the 28th day after modeling（×200）

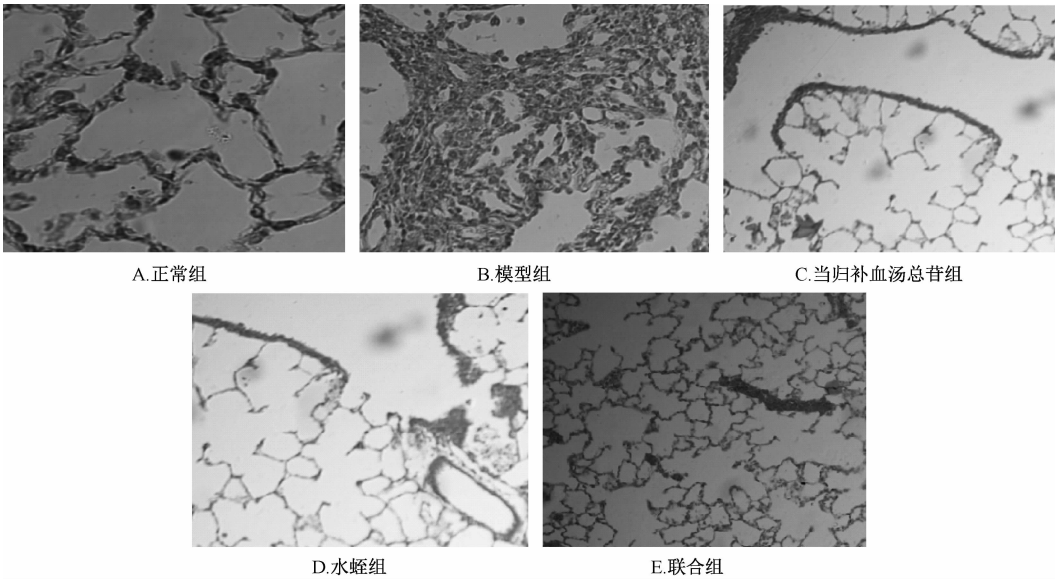


图 2 造模后 28 d 大鼠肺组织 Masson 染色 (×200)

Fig. 2 Masson staining of lung tissue of rats on the 28th day after modeling (×200)

2.2 肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平比较 造模后第 7、14、28 天，模型组大鼠肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平均显著高于正常组 ($P < 0.05$)；当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组大鼠肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平均显著低于模型组 ($P < 0.05$)；联合组大鼠肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 18$)

Tab. 2 Expression levels of TGF-β1 and PAI-1 in lung tissue ($\bar{x} \pm s, n = 18$)

组别	TGF-β1/(μg·mg ⁻¹)			PAI-1/(μg·mg ⁻¹)		
	造模后第 7 天	造模后第 14 天	造模后第 28 天	造模后第 7 天	造模后第 14 天	造模后第 28 天
正常组	3.71 ± 0.47	3.80 ± 0.52	3.76 ± 0.49	3.64 ± 0.55	3.68 ± 0.56	3.72 ± 0.62
模型组	9.82 ± 1.67 *	18.30 ± 2.77 *	24.95 ± 3.76 *	10.15 ± 2.74 *	21.62 ± 3.86 *	27.04 ± 4.19 *
当归补血汤总苷组	5.44 ± 0.98 **	7.20 ± 1.53 **	10.19 ± 1.72 **	7.30 ± 2.11 **	8.59 ± 2.28 **	11.73 ± 2.39 **
水蛭组	5.62 ± 1.15 **	7.57 ± 1.69 **	9.85 ± 2.16 **	6.94 ± 2.35 **	8.20 ± 2.14 **	11.42 ± 2.50 **
联合组	4.35 ± 1.20 **★	5.81 ± 1.36 **★	6.33 ± 1.42 **★	5.29 ± 1.55 **★	6.95 ± 1.73 **★	7.38 ± 1.68 **★

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ；与当归补血汤总苷组、水蛭组比较，★ $P < 0.05$

2.3 肺组织中 HYP 含有量比较 造模后第 7、14、28 天，模型组大鼠肺组织中 HYP 含有量均显著高于正常组 ($P < 0.05$)；当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组大鼠肺组织中 HYP 含有量均显著低于模型组 ($P < 0.05$)；联合组大鼠肺组织中 HYP 含有量显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 肺组织中 HYP 含有量 ($\bar{x} \pm s, n = 18$)

Tab. 3 HYP content in lung tissue ($\bar{x} \pm s, n = 18$)

组别	HPY/(μg·mg ⁻¹)		
	造模后第 7 天	造模后第 14 天	造模后第 28 天
正常组	0.731 ± 0.075	0.742 ± 0.069	0.735 ± 0.070
模型组	1.481 ± 0.184 *	1.893 ± 0.207 *	2.157 ± 0.226 *
当归补血汤总苷组	1.103 ± 0.095 **	1.228 ± 0.103 **	1.429 ± 0.175 **
水蛭组	1.095 ± 0.100 **	1.216 ± 0.126 **	1.395 ± 0.193 **
联合组	0.896 ± 0.082 **★	0.968 ± 0.114 **★	1.183 ± 0.130 **★

注：与正常组比较，* $P < 0.05$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ；与当归补血汤总苷组、水蛭组比较，★ $P < 0.05$

2.4 肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平比较 造模后第 7、14、28 天,模型组肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平均显著高于正常组 ($P<0.05$);当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组肺泡灌洗液中 IL-4、

IL-17 水平均显著低于模型组 ($P<0.05$);联合组肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组 ($P<0.05$)。见表 4。

表 4 肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平 ($\bar{x} \pm s$, %, $n=18$)						
Tab. 4 Expression levels of TGF-β1 and PAI-1 in lung tissue ($\bar{x} \pm s$, %, $n=18$)						
组别	IL-4/(pg·mL ⁻¹)			IL-17/(pg·mL ⁻¹)		
	造模后第 7 天	造模后第 14 天	造模后第 28 天	造模后第 7 天	造模后第 14 天	造模后第 28 天
正常组	8.31 ± 1.62	8.43 ± 1.70	8.50 ± 1.68	38.95 ± 9.37	39.00 ± 10.04	38.61 ± 10.53
模型组	24.86 ± 3.11 *	29.57 ± 3.72 *	24.63 ± 3.80 *	106.55 ± 17.76 *	98.97 ± 21.34 *	102.28 ± 20.59 *
当归补血汤总苷组	16.72 ± 4.16 **	21.85 ± 3.98 **	18.04 ± 4.29 **	70.14 ± 14.39 **	73.00 ± 12.63 **	61.10 ± 11.84 **
水蛭组	17.00 ± 5.14 **	19.85 ± 3.72 **	17.98 ± 4.09 **	73.39 ± 15.13 **	69.48 ± 13.17 **	63.02 ± 12.85 **
联合组	11.06 ± 2.25 ***	13.57 ± 2.38 ***	10.99 ± 2.76 ***	54.98 ± 12.09 ***	57.37 ± 11.65 ***	51.13 ± 9.82 ***

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与当归补血汤总苷组、水蛭组比较,★ $P<0.05$

3 讨论

肺间质纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是临床呼吸科常见疾病,可分为继发性和特发性,具有进行性、纤维化和非实质性损害特征,常造成患者干咳、呼吸困难,甚至出现呼吸衰竭导致死亡^[7-8]。PF可由各种原因引起,其发病并机制尚不明确,其近年来呈现逐年上升趋势,严重威胁人类生命健康^[9]。本研究将当归补血汤与水蛭联合应用于PF治疗,取得了较好的治疗效果。

3.1 各组大鼠肺组织病理学观察 通过对大鼠肺组织病理学观察显示,造模后第7、14、28天,模型组大鼠HE、Masson染色的肺泡炎性评分、肺纤维化程度评分均显著高于正常组;当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组大鼠的肺泡炎性评分、肺纤维化程度评分均显著低于模型组;联合组大鼠的肺泡炎性评分、肺纤维化程度评分显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组。补血当归汤与水蛭联合应用治疗效果优于单独使用,大鼠肺泡炎性评分以及纤维化程度得到改善。

3.2 大鼠肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平比较 TGF-β1是致纤维化细胞因子之一,与PF的炎症、损伤以及修复过程密切相关^[10]。其作用机制为刺激成纤维细胞分化为肌成纤维细胞,并抑制其凋亡;能够直接有效刺激胶原,诱导胶原蛋白合成增加,抑制胶原蛋白降解;与成纤维细胞受体结合,将TGF-β1/Smads信号传导通路激活,胶原过度沉积,肺纤维化进一步发展^[11]。纤溶酶原激活物抑制因子-1(PAI-1)是纤溶系统的主要抑制物,属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族,其水平升高和活性

增强能够抑制纤溶酶原激活剂(PA)对纤溶酶活化的过程,纤溶酶活化受阻,细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解和纤维蛋白水解被抑制,造成其在组织内大量积聚,进而导致器官纤维化^[12]。

通过对各组大鼠肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平比较显示,造模后第7、14、28天,模型组大鼠肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平均显著高于正常组;当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组大鼠肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平均显著低于模型组;联合组大鼠肺组织中 TGF-β1、PAI-1 表达水平显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组。联合用药组大鼠 TGF-β1、PAI-1 表达水平低于单独用药,肺纤维化程度得到改善,进程得到控制,具有较好的治疗效果。

3.3 各组大鼠肺组织中 HYP 含有量比较 李晓娟等通过测量血浆 PAI-1 和肺组织羟脯氨酸(HYP)含有量,发现水蛭可能通过抑制 PAI-1 生成及活性、提高尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)活性、减少纤维蛋白沉积的机制抑制大鼠肺组织纤维化^[13]。羟脯氨酸 HYP 是机体胶原蛋白的主要成分,其在不同组织中含有量不同,正常胶原蛋白中约占 13.4%,弹性蛋白中含有量极少,其他机体蛋白不存在,故可将 HYP 含有量作为衡量胶原组织代谢的重要指标,它是胶原纤维所特有的氨基酸,其在肺组织中的含有量与肺间质纤维化程度密切相关,故常将 HYP 含有量作为判断肺间质纤维化程度的重要指标^[14]。通过对各组大鼠肺组织中 HYP 含有量比较显示,造模后第7、

14、28 天，模型组大鼠肺组织中 HYP 含有量均显著高于正常组，当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组大鼠肺组织中 HYP 含有量均显著低于模型组，联合组大鼠肺组织中 HYP 含有量显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组，表明联合组水蛭发挥活血化瘀之功效，当归补血汤益气养阴，共同作用于肺纤维化，抑制其发展过程。

本研究通过比较肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平显示，造模后第 7、14、28 天，模型组肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平均显著高于正常组；当归补血汤总苷组、水蛭组和联合组肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平均显著低于模型组；联合组肺泡灌洗液中 IL-4、IL-17 水平均显著低于当归补血汤总苷组、水蛭组，与窦昊颖等^[15] Meta 分析具有相同结果，说明当归补血汤联合水蛭具有降低大鼠机体炎症的作用。

综上所述，当归补血汤联合水蛭治疗肺纤维化效果较好，主要通过降低肺组织中 TGF- β 1、PAI-1 表达水平、HYP 含有量来发挥作用。

参考文献：

[1] 徐冰珠, 康建磊. 特发性肺纤维化治疗药物的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2015, 30(7): 897-902.

[2] 李 瑶, 刘新桥. 中医药治疗肺纤维化研究进展[J]. 中医学报, 2015, 30(3): 340-342.

[3] 王志新, 张志立, 李哲诚, 等. 当归补血汤加味抗肝炎肝纤维化临床研究[J]. 亚太传统医药, 2014, 10(23): 101-103.

[4] Guo F, Sun Y B, Su L, *et al.* Losartan attenuates paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2015, 34(5): 497-505.

[5] 杨 宇, 袁晓梅, 吴敏娜, 等. 气管内注射博来霉素致小

鼠肺纤维化造模方式改良[J]. 新乡医学院学报, 2015, 32(9): 807-809.

[6] 罗本涛, 宇小婷, 易祥华. 外源性过敏性肺炎 21 例病理和临床分析[J]. 同济大学学报: 医学版, 2015, 51(3): 63-67.

[7] 郭 芳, 于文成, 孙家兴, 等. 特发性肺纤维化发病机制研究新进展[J]. 青岛大学医学院学报, 2015, 49(3): 368-370.

[8] You H, Wei L, Sun W L, *et al.* The green tea extract epigallocatechin-3-gallate inhibits irradiation-induced pulmonary fibrosis in adult rats[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34(1): 92-102.

[9] Roels E, Couvreur T, Clercx C, *et al.* Standardized characterization of thoracic HRCT findings in West Highland white terriers with canine idiopathic pulmonary fibrosis: Effect of sedation vs. anaesthesia in healthy and diseased dogs [J]. *Allergy*, 2015, 63(3): 284-291.

[10] 满红霞, 肖培云, 杨永寿, 等. 特发性肺纤维化的发病机制及药物治疗研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(8): 1024-1028.

[11] 蔡 杰, 谭利平, 冯 佳, 等. 益气养阴方对肺间质纤维化大鼠肺组织 TNF- α 、TGF- β 1 和 IFN- γ mRNA 水平的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(7): 894-897, 904.

[12] 王海燕, 何 创, 肖建斌, 等. 转化生长因子- β 1 抗体对肺损伤纤维化大鼠细胞外基质重建紊乱的调控[J]. 医学研究生学报, 2014, 27(4): 368-372.

[13] 李晓娟, 张骞云, 马洪霞, 等. 水蛭对肺纤维化大鼠的影响及机制探讨[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(2): 155-156.

[14] 肖 洁, 张惠丽, 徐米清, 等. 冬虫夏草菌粉对梗阻性肾病大鼠肾组织羟脯氨酸含量及 p21 表达的影响[J]. 中华生物医学工程杂志, 2015, 21(4): 156-159.

[15] 窦昊颖, 张盼盼, 高晓宁, 等. 当归补血汤加味治疗白细胞减少症疗效的 Meta 分析[J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(9): 1807-1811.