

益肺健脾方调控 TGF- β 1/Smad 信号通路对肺纤维化小鼠炎症及上皮-间质转化的影响

吴亚娜, 宋忠阳, 王功臣, 张志明*

(甘肃中医药大学, 甘肃中医药大学附属医院, 甘肃省中医院, 甘肃兰州 730000)

摘要: **目的** 研究益肺健脾方对肺纤维化小鼠炎症及上皮-间质转化的改善作用。**方法** 随机选取 12 只 C57BL/6 小鼠作为空白组, 其余小鼠经气管滴注盐酸博来霉素 (BLM) 诱导建立肺纤维化小鼠模型。造模 72 h 后存活 55 只小鼠, 随机分为模型组、吡非尼酮组 (200 mg/kg) 和益肺健脾方低、中、高剂量组 (2.13、4.26、8.52 g/kg), 每天灌胃给药 1 次, 连续给药 21 d。小动物 PET/SPECT/CT 检查小鼠肺组织影像学表现; 苏木精-伊红 (HE) 和马松 (Masson) 染色检测肺组织病理形态及纤维化情况; ELISA 法检测肺组织氢脯氨酸 (HYP) 水平和肺泡灌洗液 (BALF) 中 IL-6、TNF- α 水平; Western blot 及 RT-qPCR 法检测肺组织 TGF- β 1、Smad2、E-cadherin、Vimentin 蛋白和 mRNA 表达。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠肺间质增厚, 弥漫性小叶间隔增加, 磨玻璃影和网格状特征显著, 病理损伤明显, 纤维化程度高; 肺组织 HYP 水平和 BALF 中 IL-6、TNF- α 水平升高 ($P < 0.01$); 肺组织 TGF- β 1、Smad2/3、p-Smad2/3、Vimentin 蛋白表达和 TGF- β 1、Smad2、Vimentin mRNA 表达均升高 ($P < 0.01$), E-Cadherin 蛋白和 mRNA 表达均降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 吡非尼酮组和益肺健脾方中、高剂量组小鼠肺纹理较清晰, 原有弥漫性磨玻璃影减轻; 肺组织 HYP 水平和 BALF 中 IL-6、TNF- α 水平降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 肺组织 TGF- β 1、Smad2/3、p-Smad2/3、Vimentin 蛋白表达和 TGF- β 1、Smad2、Vimentin mRNA 表达降低 ($P < 0.01$), E-Cadherin 蛋白和 mRNA 表达均升高 ($P < 0.01$)。**结论** 益肺健脾方可能通过抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路活化, 减轻肺病理损伤, 抑制炎症反应及上皮-间质转化, 从而改善小鼠肺纤维化。

关键词: 益肺健脾方; 肺纤维化; 炎症; 上皮-间质转化; TGF- β 1/Smad 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0977-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.038

肺纤维化是一种慢性、进行性的肺部疾病, 其显著病理特征为肺泡疤痕形成, 肺组织异常重塑和重建过程中细胞外基质过度积累, 最终导致肺结构破坏及呼吸衰竭^[1-2]。研究发现, 炎症损伤及上皮-间质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 是肺纤维发生的重要环节, 转化生长因子 β 1 (transforming growth factor β 1, TGF- β 1) 是肺纤维化发生的启动因子, 活化下游 Smad 蛋白导致了组织纤维化, 并加剧了疾病进展^[3]。因此, 抑制 TGF- β 1 相关靶点是治疗肺纤维化的有效策略。中医药具有多靶点、多途径特点, 在肺纤维化治疗中突显出巨大优势^[4-5]。可根据中医“肺痿”“肺胀”进行施治, 本虚标实是其基本特征, 故治法多以扶正 (如益气、补虚) 和祛邪 (化痰、活血) 为主, 方药以益气养阴类、活血化瘀通络类最为常见^[6]。

研究证实, 益气活血之经典方剂补阳还五汤在体内外实验中均能有效抑制肺纤维化^[7-8]。益肺健脾方为甘肃中医药大学附属医院院内制剂, 以“培土生金”为治则, 针对肺纤维化病程中“虚”“痰”“瘀”病理特征, 整体调节, 发挥抗纤维化作用^[9]。本研究旨在探究益肺健脾方调节炎症反应及 EMT 防治肺纤维化的作用机制, 以期为肺纤维化临床用药开发提供参考。

1 材料

1.1 动物 72 只 SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠, 6 周龄, 体质量 (20.58 \pm 2.15) g, 购自斯贝福 (北京) 生物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0010], 饲养于甘肃中医药大学 SPF 实验动物中心, 室温 20 ~ 24 $^{\circ}$ C, 相对湿度 40% ~ 60%, 12 h/12 h 明暗交替。本研究动物实验

收稿日期: 2025-06-27

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82460925); 甘肃省科技重大专项计划项目 (22ZD1FA001); 兰州市科技发展计划项目 (2023-4-46); 甘肃中医药大学附属医院青年课题 (gzfy-2022-08)

作者简介: 吴亚娜 (1991—), 女, 博士, 主治医师, 从事急危重症及肿瘤的防治研究。E-mail: wuyana0903@163.com

* **通信作者:** 张志明 (1964—), 男, 主任医师, 从事急危重症及肿瘤的防治研究。E-mail: zhangzhimingys@163.com

经甘肃中医药大学动物实验伦理委员会审核批准后进行(伦理备案编号2022-132)。

1.2 药物 益肺健脾方由炙黄芪、党参、炒白术、陈皮、柴胡、生麦芽、桔梗、赤芍、当归、玉竹、丹参、炙甘草组成,为排除中药熬制工艺差异等因素造成的实验差异,采用中药颗粒剂,免煎颗粒(由广东一方制药有限公司生产)购自甘肃中医药大学附属医院中药房。盐酸博来霉素(bleomycin hydrochloride, BLM),规格10 mg,购自美国MCE公司;吡非尼酮胶囊,规格100 mg/粒,国药准字H20133376,购自北京康蒂尼药业股份有限公司。

1.3 试剂 TGF- β 1 抗体(英国Abcam公司,批号ab215715); E-Cadherin、Vimentin 抗体(美国GeneTex公司,批号GTX100619、GTX100443); Smad2/3、GAPDH 抗体(美国ImmunoWay公司,批号YT4332、YM3215); 羟脯氨酸(hydroxyproline, HYP)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所公司,货号A030-2-1); ECL 发光液、反转录试剂盒[上海翊圣生物科技有限公司,批号36208-A/B、11141ES60(H8203970)]; 小鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素6(IL-6) ELISA 检测试剂盒(江苏酶免实业有限公司,批号2312M10、2312MI0); PVDF 膜(美国Millipore公司,批号IRVH00010); RIPA 组织/细胞裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号20220927、20220910); SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(北京百奥莱博科技有限公司,批号20221216)。

1.4 仪器 JXFSTPRP-24L 型全自动样品研磨仪(上海净信实业发展有限公司); AD0412LS-C50 型电泳转印系统全套(美国Bio-Rad公司); HBS-1096A 型酶标仪(南京德铁实验设备有限公司); WD-9423C 型全自动化学发光成像系统(北京六一生物科技有限公司); CFX-96 型PCR仪(美国BD公司); TGL-1850 型高速冷冻离心机(四川蜀科仪器有限公司); LnIivew-3000B 型小动物PET/SPECT/CT 检查机(成都永新医疗设备股份有限公司)。

2 方法

2.1 模型建立 参考文献[10-11]报道,小鼠腹腔注射0.3%、戊巴比妥溶液(0.2 mL/10 g)进行麻醉,颈部消毒备皮,纵向切开皮肤,充分暴露气管,使用超微量定量器通过气管环间隙向肺脏注入5 mg/kg BLM 溶液,用敷料包扎伤口后提尾倒悬使

药液均匀浸润肺组织。术后保温,小鼠苏醒后常规饲养。各组小鼠分别于手术后第21天处死,快速取出肺组织,置于4%甲醛溶液中固定,用于病理切片分析,评价模型是否构建成功。

2.2 分组及给药 小鼠适应性喂养1周后,选取12只作为空白组,其余60只小鼠按照“2.1”项下方法建立肺纤维化小鼠模型。造模72 h后存活55只小鼠,随机分为模型组、吡非尼酮组和益肺健脾方低、中、高剂量组,每组11只。根据人与小鼠剂量换算系数约9.1,分别给予益肺健脾方2.13、4.26、8.52 g/(kg·d),吡非尼酮200 mg/(kg·d),连续给药21 d。

2.3 肺组织显微CT成像 使用小动物PET/SPECT/CT InIivew-3000B 对小鼠肺部进行CT成像。将小鼠麻醉后,借助心肺门控窗对肺部进行扫描成像,完成后取出动物。数据处理,根据所需要的图像序列,进行融合显示及MIP图显示。

2.4 样本采集 肺泡灌洗液(BALF)收集:将小鼠以仰卧位固定于操作台上,沿气管正中部纵向切开颈部皮肤,充分暴露气管分叉上端至气管甲状软骨下端部分,用5 mL注射器针头刺破暴露段气管中部,以平头针从气管处刺破并沿向心方向插入1 cm左右,用丝线将针头固定,抽吸0.4 mL生理盐水,以1 mL注射器沿平头针缓慢注入肺内,反复抽吸3次后回吸BALF,先后共灌洗3次,保证回吸的BALF在1 mL以上。所得BALF置于离心管中,4℃、3 000 r/min离心10 min,所得上清液分装后进行炎症指标检测。

组织样品采集:给药21 d后,小鼠腹腔注射0.3%戊巴比妥溶液(0.2 mL/10 g)进行麻醉,收集血清、肺泡灌洗液后,打开胸腔,充分暴露心肺,完整取出肺脏,剪下一侧肺叶置于4%多聚甲醛中固定,用于苏木精-伊红(HE)和马松(Masson)染色,剩余肺组织于-80℃冰箱保存备用。

2.5 HE染色和Masson染色观察肺组织病理学变化 取于4%多聚甲醛中固定的肺组织,脱水、石蜡包埋、切片,每个蜡块连切4片备用,行常规HE染色后,于光学显微镜下观察肺组织炎性改变;行Masson染色后,于光学显微镜下观察肺纤维化程度。根据Szapiel分级标准^[12],对各组Masson染色结果进行评分,以评定肺纤维化程度。0级(0分):肺泡结构正常,无纤维化病变;1级(1分):部分肺泡间隔增厚,可见少量胶原沉积,

病变范围不足全肺面积 20%，轻度纤维化；2 级（2 分）：肺泡结构紊乱，呈较多胶原沉积，成纤维细胞增多，病变范围 20%~50%，为中度纤维化；3 级（3 分）：肺实质结构紊乱，肺泡融合，大量胶原沉积，病变范围大于 50%，为重度纤维化。

2.6 RT-qPCR 法检测肺组织 *TGF-β1*、*Smad2*、*E-cadherin*、*Vimentin* mRNA 表达 取出于-80℃冻存的肺组织约 100 mg，将其剪成细小碎块并加液氮研磨，随后在组织中加入 TRIzol 进行匀浆，提取肺组织 mRNA，逆转录成 cDNA 后，各组样本进行 PCR 扩增反应，用 PCR 仪检测各孔的荧光值并获得 CT 值，每个样本设 3 个复孔，以 *GAPDH* 为内参，采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算各组肺组织 *TGF-β1*、*Smad2*、*E-cadherin*、*Vimentin* mRNA 相对表达量。引物由北京博迈德基因技术有限公司合成，序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')
<i>TGF-β1</i>	正向 CTGCTGACCCCACTGATAC
	反向 GGCTGATCCCGTTGATTTTC
<i>Smad2</i>	正向 TCCGGCTGAACTGTCTCCTA
	反向 ATACAAGCGCACTCCCTTC
<i>E-cadherin</i>	正向 AACCCAAGCACGTATCAGG
	反向 CTGCTGGTCAGGATCGTTG
<i>Vimentin</i>	正向 TGCTTCAAGACTCGGTGGAC
	反向 TGTGCTTGGTGAGCTGATCC
<i>GAPDH</i>	正向 CTTAAGAGGGATGCTGCC
	反向 ACTGTGCCGTTGAATTTGCC

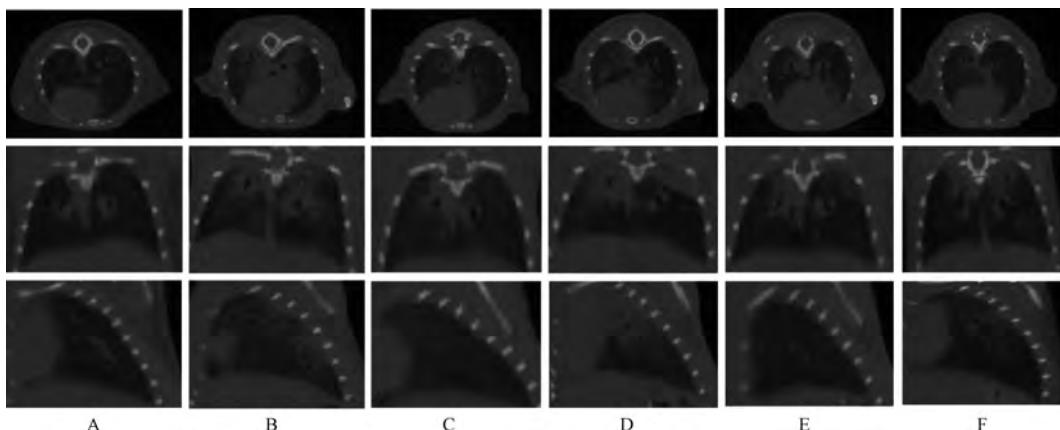
2.7 Western blot 法检测肺组织 *TGF-β1*、*Smad2/3*、*p-Smad2/3*、*Vimentin* 蛋白表达 取出于-80℃冻存的肺组织，加入 RIPA 裂解液提取肺组织蛋白，进行蛋白含量测定，SDS-PAGE 配胶、蛋白上样、电泳、转膜，封闭液封闭，加一抗 *TGF-β1*、*Smad2/3*、*p-Smad2/3*、*Vimentin*、*GAPDH* 室温孵育 1.5 h，加二抗室温孵育，滴加 ECL 发光液，在曝光仪中曝光、成像，利用 Image J 软件分析条带灰度值。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 22.0 和 GraphPad Prism 8.0.1 软件进行处理，符合正态分布和方差齐性的计量资料以平均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示，组间比较采用单因素方差分析；非正态分布数据采用秩和检验。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 益肺健脾方对肺纤维化小鼠肺部 CT 影像的影响 空白组肺组织纹理清晰，无异常密度影，支气管血管束运行正常；模型组可见支气管血管束周围间质增厚、弥漫性小叶间隔增加，胸膜下多处可见线状阴影，表明 BLM 诱导的肺组织具有明显的磨玻璃密度和网格状变化特征；与模型组比较，益肺健脾方中、高剂量组肺纹理更清晰，支气管血管束增粗情况减少，原有弥漫性磨玻璃影减轻，见图 1。

3.2 益肺健脾方对肺纤维化小鼠肺组织病理改变的影响 HE 染色显示，空白组小鼠肺泡形态规整清晰，肺泡壁无增厚改变，肺泡间隔正常，间质无

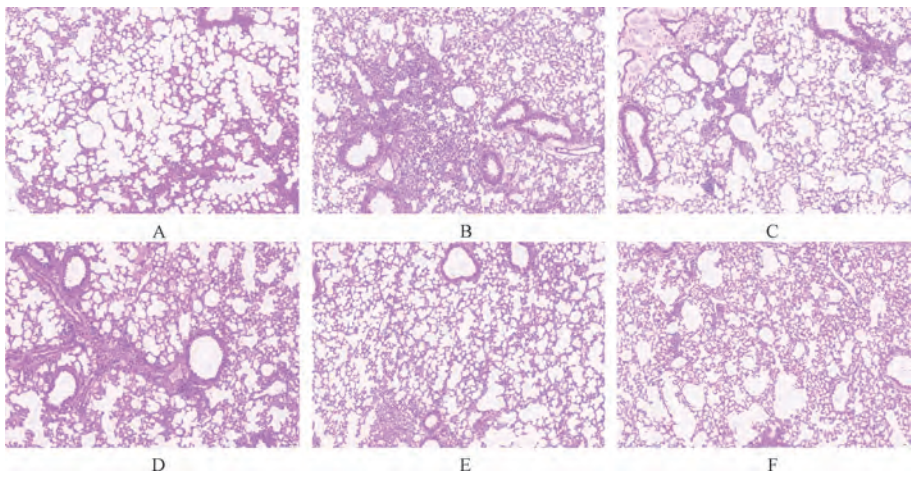


注：A 为空白组，B 为模型组，C 为吡非尼酮组，D~F 分别为益肺健脾方低、中、高剂量组。

图 1 各组小鼠肺部 CT 表现

明显炎性细胞浸润迹象；模型组肺泡腔结构破坏、融合严重，肺泡壁增厚，肺泡间隔明显增宽，肺泡腔内可见较多的炎性细胞。与模型组比较，吡非尼酮组及益肺健脾方各剂量组肺组织病理损伤均减轻，其中低剂量组肺泡可见变形，肺泡腔缩小，肺

间质内有相对较多的炎性细胞浸润；中、高剂量组肺泡结构较完整，肺泡腔内有少量的炎性细胞，组织损伤区域明显较少，说明益肺健脾方可以减轻 BLM 诱导产生的小鼠肺组织损伤程度，减少炎性渗出，见图 2。

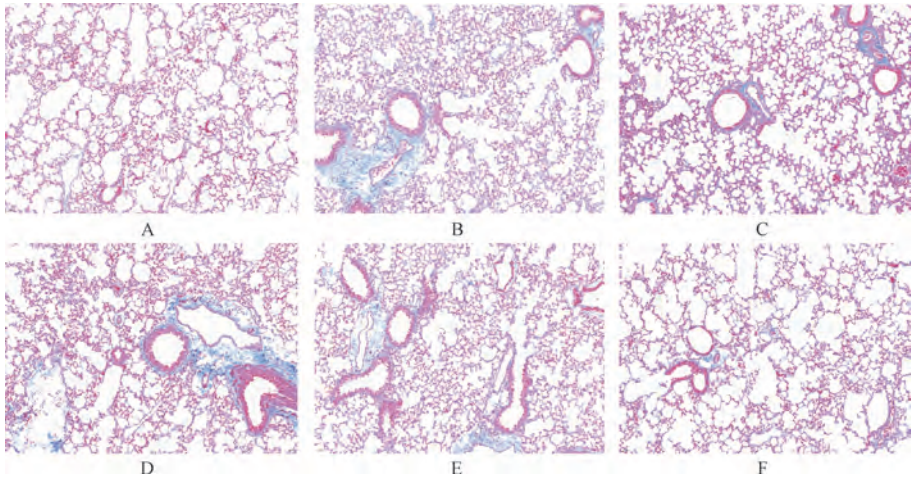


注：A 为空白组，B 为模型组，C 为吡非尼酮组，D~F 分别为益肺健脾方低、中、高剂量组。

图2 各组小鼠肺组织 HE 染色 (×200)

Masson 染色显示，空白组肺组织结构正常，肺内无明显蓝色胶原纤维沉积；模型组大量肺泡萎缩、塌陷，支气管周围及肺实质内可见大量成团状或条带状分布的蓝色胶原纤维。与模型组比较，吡非尼酮组及益肺健脾方各剂量组肺组织纤维化程度均减轻，其中中剂量组部分血管周围及肺泡壁有较

少量蓝色胶原沉积；高剂量组肺泡壁可见少量胶原沉积，纤维化及肺泡损伤程度明显缓解，见图3。与空白组比较，模型组纤维化评分升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，吡非尼酮组及益肺健脾方中、高剂量组纤维化评分降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见表2。



注：A 为空白组，B 为模型组，C 为吡非尼酮组，D~F 分别为益肺健脾方低、中、高剂量组。

图3 各组小鼠肺组织 Masson 染色 (×200)

表2 各组小鼠肺纤维化评分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	肺纤维化评分/分
空白组	12	0.33±0.15
模型组	11	2.18±0.72 ^{###}
吡非尼酮组	11	1.35±0.50 ^{**}
益肺健脾方低剂量组	11	1.83±0.75 [*]
益肺健脾方中剂量组	11	1.33±0.52 ^{**}
益肺健脾方高剂量组	11	1.12±0.41 ^{**}

注：与空白组比较，^{###} $P < 0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P < 0.05$ ，^{**} $P < 0.01$ 。

3.3 益肺健脾方对肺纤维化小鼠肺组织 HYP 水平和 BALF 中促炎因子水平的影响 与空白组比较，模型组小鼠肺组织 HYP 水平和 BALF 中 IL-6、

TNF- α 水平均升高 ($P < 0.01$)；与模型组比较，吡非尼酮组及益肺健脾方中、高剂量组小鼠肺组织 HYP 水平和 BALF 中 IL-6、TNF- α 水平均降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)，见表3。

3.4 益肺健脾方对肺纤维化小鼠肺组织 TGF- β 1、Smad2、E-cadherin、Vimentin mRNA 表达的影响 与空白组比较，模型组小鼠肺组织 TGF- β 1、Smad2、Vimentin mRNA 表达升高 ($P < 0.01$)，E-Cadherin mRNA 表达降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，吡非尼酮组及益肺健脾方中、高剂量组小鼠肺组织 TGF- β 1、

Smad2、*Vimentin* mRNA 表达降低 ($P < 0.01$), *E-Cadherin* mRNA 表达升高 ($P < 0.01$), 见表 4。

表 3 各组小鼠肺组织 HYP 水平和 BALF 中 IL-6、TNF- α 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	HYP/($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	IL-6/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	TNF- α /($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
空白组	12	0.31 \pm 0.07	62.06 \pm 2.69	138.38 \pm 19.02
模型组	11	1.02 \pm 0.08 ^{##}	93.63 \pm 2.94 ^{##}	492.79 \pm 18.01 ^{##}
吡非尼酮组	11	0.60 \pm 0.06 ^{**}	72.43 \pm 2.06 ^{**}	292.43 \pm 19.11 ^{**}
益肺健脾方低剂量组	11	0.90 \pm 0.05 [*]	84.64 \pm 2.51 [*]	425.51 \pm 27.68 ^{**}
益肺健脾方中剂量组	11	0.80 \pm 0.05 [*]	77.67 \pm 2.26 ^{**}	376.25 \pm 20.53 ^{**}
益肺健脾方高剂量组	11	0.56 \pm 0.07 ^{**}	71.11 \pm 3.44 ^{**}	283.24 \pm 22.86 ^{**}

注:与空白组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

表 4 各组小鼠肺组织 TGF- β 1、*Smad2*、*E-cadherin*、*Vimentin* mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	TGF- β 1	<i>Smad2</i>	<i>E-Cadherin</i>	<i>Vimentin</i>
空白组	12	1.00 \pm 0.04	1.00 \pm 0.06	1.02 \pm 0.03	1.00 \pm 0.06
模型组	11	1.74 \pm 0.02 ^{##}	1.71 \pm 0.04 ^{##}	0.43 \pm 0.03 ^{##}	2.01 \pm 0.05 ^{##}
吡非尼酮组	11	1.23 \pm 0.05 ^{**}	1.21 \pm 0.06 ^{**}	0.79 \pm 0.02 ^{**}	1.25 \pm 0.03 ^{**}
益肺健脾方低剂量组	11	1.57 \pm 0.06 [*]	1.60 \pm 0.03	0.56 \pm 0.03 [*]	1.68 \pm 0.02 [*]
益肺健脾方中剂量组	11	1.37 \pm 0.06 ^{**}	1.34 \pm 0.01 ^{**}	0.70 \pm 0.04 ^{**}	1.57 \pm 0.01 ^{**}
益肺健脾方高剂量组	11	1.28 \pm 0.05 ^{**}	1.24 \pm 0.03 ^{**}	0.84 \pm 0.03 ^{**}	1.43 \pm 0.04 ^{**}

注:与空白组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。

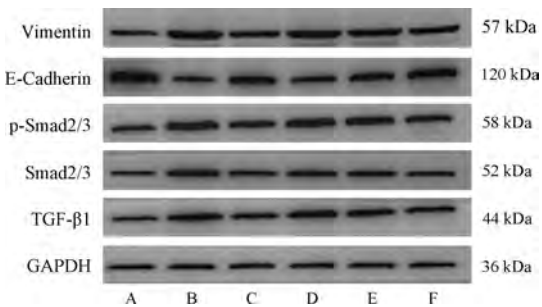
3.5 益肺健脾方对肺纤维化小鼠肺组织 TGF- β 1、*Smad2*/3、p-*Smad2*/3、*E-cadherin*、*Vimentin* 蛋白表达的影响 与空白组比较,模型组小鼠肺组织 TGF- β 1、*Smad2*/3、p-*Smad2*/3、*Vimentin* 蛋白表达升高 ($P < 0.01$), *E-Cadherin* 蛋白表达降低

($P < 0.01$);与模型组比较,吡非尼酮组及益肺健脾方中、高剂量组小鼠肺组织 TGF- β 1、*Smad2*/3、p-*Smad2*/3、*Vimentin* 蛋白表达降低 ($P < 0.01$), *E-Cadherin* 蛋白表达升高 ($P < 0.01$), 见表 5、图 4。

表 5 各组小鼠肺组织 TGF- β 1、*Smad2*/3、p-*Smad2*/3、*E-Cadherin*、*Vimentin* 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	TGF- β 1	<i>Smad2</i> /3	p- <i>Smad2</i> /3	<i>E-Cadherin</i>	<i>Vimentin</i>
空白组	12	1.00 \pm 0.08	1.00 \pm 0.04	1.00 \pm 0.11	1.00 \pm 0.03	1.00 \pm 0.04
模型组	11	2.29 \pm 0.09 ^{##}	3.07 \pm 0.08 ^{##}	2.20 \pm 0.24 ^{##}	0.40 \pm 0.04 ^{##}	2.39 \pm 0.08 ^{##}
吡非尼酮组	11	1.32 \pm 0.09 ^{**}	2.12 \pm 0.08 ^{**}	1.42 \pm 0.11 ^{**}	0.71 \pm 0.03 ^{**}	1.53 \pm 0.10 ^{**}
益肺健脾方低剂量组	11	1.82 \pm 0.08 ^{**}	2.68 \pm 0.07	1.80 \pm 0.09 [*]	0.47 \pm 0.05	2.03 \pm 0.04 [*]
益肺健脾方中剂量组	11	1.52 \pm 0.08 ^{**}	2.38 \pm 0.05 ^{**}	1.63 \pm 0.10 ^{**}	0.57 \pm 0.03 ^{**}	1.89 \pm 0.05 ^{**}
益肺健脾方高剂量组	11	1.31 \pm 0.06 ^{**}	1.99 \pm 0.07 ^{**}	1.40 \pm 0.09 ^{**}	0.72 \pm 0.05 ^{**}	1.55 \pm 0.04 ^{**}

注:与空白组比较,^{##} $P < 0.01$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$ 。



注: A 为空白组, B 为模型组, C 为吡非尼酮组, D~F 分别为益肺健脾方低、中、高剂量组。

图 4 各组小鼠肺组织 TGF- β 1、*Smad2*/3、p-*Smad2*/3、*E-Cadherin*、*Vimentin* 蛋白条带图

4 讨论

肺纤维化作为慢性进展性疾病,目前仍难以治愈,生存率低,治疗措施有限^[13],其主要原因为疾病进展过程中病理变化复杂,涉及到慢性炎症刺

激、免疫介导、巨噬细胞极化、细胞外基质形成等多环节^[14]。研究显示,TGF- β 1 诱导的 EMT 是肺纤维化的中心介导过程^[15]。TGF- β 1 信号转导途径分为 Smad 和非 Smad 途径,其中 TGF- β 1/Smad 蛋白途径被认为是 TGF- β 1 信号转导的经典途径。非 Smad 信号通路包括 ERK、PI3K/Akt、Notch 等^[16]。TGF- β 1 能够直接启动 Smad 信号通路,进而促使促纤维化基因过表达。其中,Smad2 和 Smad3 是推动 TGF- β 1 介导的组织纤维化进程的 2 个关键下游调控因子。众多研究均已证实,TGF- β 1/Smad 通路调节异常是引发组织纤维化的重要致病机理^[17-18]。

炎症反应是肺纤维化发生的重要环节。各类刺激因素均可导致肺组织损伤,损伤部位会募集炎症细胞,炎症细胞通过分泌细胞因子、趋化因子和生

长因子促进炎症反应,进一步发挥促纤维化作用^[19]。肺纤维化患者 IL-1 β 、TNF- α 、TGF- β 等细胞因子水平升高^[20]。炎症相关基因可以很好地评估肺纤维化的预后,并为治疗和随访管理提供新思路^[21]。课题组前期研究发现,益肺健脾方可能通过抑制 Wnt3a/ β -catenin 通路,对肺纤维化模型大鼠起到保护作用^[9],但对炎症及关键促纤维化因子的研究未进一步深入。本研究采用 BLM 建立小鼠肺纤维化模型,是目前最广泛使用和研究最多的造模方式^[22],其通过引起细胞周期阻滞和细胞凋亡,诱导肺泡上皮细胞损伤,破坏细胞修复功能,最终导致肺纤维化^[23]。研究发现,模型小鼠血清中 IL-6、TNF- α 表达高于正常小鼠,与文献报道一致,提示肺纤维化过程中肺组织出现炎性浸润。HYP 是评估组织胶原沉积、纤维化程度的重要指标^[24],经益肺健脾方干预后,小鼠 HYP 显著降低。EMT 作为肺纤维化进展中的重要机制,导致细胞表型发生变化^[25]。E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 具有很强的粘附作用,能促进组织内细胞紧密连接,纤维化过程中 E-cadherin 表达显著降低^[26-27]。间质细胞基因表达激活,促进间质细胞标记物波形蛋白 (vimentin) 等表达升高^[28]。本研究探讨益肺健脾方对小鼠肺纤维化的影响,发现益肺健脾方可下调 TGF- β 1、Smad2/3、Vimentin 基因及蛋白表达,促进 E-Cadherin 表达,以上结果提示抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路是益肺健脾方抗肺纤维化的重要机制之一。

综上所述,益肺健脾方可能通过抑制 TGF- β 1/Smad 信号通路,减轻肺病理损伤,抑制炎症反应及 EMT,从而改善小鼠肺纤维化。

参考文献:

[1] Kleiner R, Pohle S. Progressive pulmonary fibrosis[J]. *Ther Umsch*, 2024, 81(1): 12-15.

[2] Vats A, Chaturvedi P. The regenerative power of stem cells: treating bleomycin-induced lung fibrosis[J]. *Stem Cells Cloning*, 2023, 16: 43-59.

[3] Selvarajah B, Platé M, Chambers R C. Pulmonary fibrosis: emerging diagnostic and therapeutic strategies[J]. *Mol Aspects Med*, 2023, 94: 101227.

[4] 李 宁, 邵明义, 汪 青, 等. 中医药治疗特发性肺纤维化的系统评价再评价[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2022, 24(8): 2898-2913.

[5] 段春磊, 王明航, 周林琼, 等. 肺纤维化中医药治疗述评[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2023, 29(4): 672-674.

[6] 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.

[7] 杜全宇, 安丽萍, 周 芮, 等. 补阳还五汤干预肺泡上皮细胞抑制肺纤维化的作用研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(23): 3228-3231; 3239.

[8] 曾 珠, 王 飞, 张 巍, 等. 补阳还五汤联合黄芩素对肺纤维化大鼠炎症因子表达的影响研究[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(1): 29-31; 53.

[9] 冯周利. 基于 Wnt3a/ β -catenin 通路探讨益肺健脾方对 IPF 大鼠上皮间质转化的干预机制[D]. 兰州: 甘肃中医药大学, 2023.

[10] Ding L, Li Y, Yang Y, *et al.* Wenfei Buqi Tongluo Formula against bleomycin-induced pulmonary fibrosis by inhibiting TGF- β /Smad3 pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 762998.

[11] Shahbaz M, Kamran S H, Anwar R. Amelioration of bleomycin and methotrexate-induced pulmonary toxicity by serratiopeptidase and fisetin[J]. *Nutr Cancer*, 2021, 73(11-12): 2774-2784.

[12] 殷晓红, 白云苹, 邵 栋, 等. 金水缓纤组方 II 通过抑制氧化应激改善大鼠肺纤维化[J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(3): 1213-1217.

[13] Strykowski R, Adegunsoye A. Idiopathic pulmonary fibrosis and progressive pulmonary fibrosis[J]. *Immunol Allergy Clin North Am*, 2023, 43(2): 209-228.

[14] Koudstaal T, Funke-Chambour M, Kreuter M, *et al.* Pulmonary fibrosis: from pathogenesis to clinical decision-making [J]. *Trends Mol Med*, 2023, 29(12): 1076-1087.

[15] Park S J, Ryu H W, Kim J H, *et al.* Daphnetin alleviates bleomycin-induced pulmonary fibrosis through inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition and IL-17A [J]. *Cells*, 2023, 12(24): 2795.

[16] Ye Z, Hu Y. TGF- β 1: gentlemanly orchestrator in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 48(1): 132.

[17] 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.

[18] Zhao M, Wang M, Chen X, *et al.* Targeting progranulin alleviated silica particles-induced pulmonary inflammation and fibrosis via decreasing IL-6 and TGF- β 1/Smad[J]. *J Hazard Mater*, 2024, 465: 133199.

[19] Yang G, Yang Y, Liu Y, *et al.* Regulation of alveolar macrophage death in pulmonary fibrosis: a review[J]. *Apoptosis*, 2023, 28(11-12): 1505-1519.

[20] Singh V, Ulasov I, Gupta S, *et al.* Idiopathic pulmonary fibrosis: where do we stand and how far to go? [J]. *Discov Med*, 2024, 36(180): 22-47.

[21] Yin Y Q, Peng F, Situ H J, *et al.* Construction of prediction model of inflammation related genes in idiopathic pulmonary fibrosis and its correlation with immune microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1010345.

[22] Zhou Y, Zhang B, Li C, *et al.* Megakaryocytes participate in the occurrence of bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(9): 648.

- [23] Rangarajan S, Bone N B, Zmijewska A A, et al. Metformin reverses established lung fibrosis in a bleomycin model[J]. *Nat Med*, 2018, 24: 1121-1127.
- [24] Wu H, Sun W, Zeng Z, et al. Baihe Gujin Decoction attenuates idiopathic pulmonary fibrosis via regulating proline metabolism[J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 49: 119934.
- [25] Wang X C, Song K, Tu B, et al. New aspects of the epigenetic regulation of EMT related to pulmonary fibrosis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 956: 175959.
- [26] Huang C, Liang C, Tong J, et al. Soluble E-cadherin participates in BLM-induced pulmonary fibrosis by promoting EMT and lung fibroblast migration[J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(1): 435-443.
- [27] He H, Ji X, Cao L, et al. Medicine targeting epithelial-mesenchymal transition to treat airway remodeling and pulmonary fibrosis progression[J]. *Can Respir J*, 2023, 2023: 3291957.
- [28] Li Q, Deng M S, Wang R T, et al. PD-L1 upregulation promotes drug-induced pulmonary fibrosis by inhibiting vimentin degradation[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 187: 106636.

基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠的改善作用

窦桢媛¹, 施正梅¹, 罗菊¹, 韦佳¹, 李婷^{2*}, 刘衡^{1*}

(1. 大理大学药学院, 云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 药用特种昆虫开发国家地方联合工程研究中心, 云南大理 671000; 2. 滇西应用技术大学健康科技学院, 云南大理 671000)

摘要: 目的 探讨绿花白千层精油栓对宫颈炎大鼠的改善作用。方法 将大鼠随机分为正常组、模型组、保妇康栓组 (14.13 mg/kg) 和绿花白千层高、中、低剂量组 (34、17、8.5 mg/kg 绿花白千层精油栓剂), 通过宫颈穹窿腔注入 20% 苯酚胶浆建立大鼠宫颈炎模型, 造模结束后给予栓剂干预 7 d。给药结束后第 2 天处死大鼠, 取血清和宫颈组织, HE 染色观察宫颈组织病理改变; 采用试剂盒检测血清超氧化物歧化酶 (SOD) 活性; ELISA 法检测血清前列腺素 E2 (PGE2) 及宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平; 免疫组织化学法和 Western blot 法检测宫颈组织 Toll 样受体 4 (TLR4)、髓样分化因子 88 (MyD88)、核转录因子- κ B (NF- κ B) p50 蛋白表达。结果 与模型组比较, 绿花白千层精油栓能在一定程度上减轻大鼠外阴红肿症状, 减少分泌物分泌; 减轻宫颈组织炎症细胞浸润面积; 降低血清 PGE2 水平 ($P < 0.01$), 升高血清 SOD 活性 ($P < 0.05$), 降低宫颈组织 TNF- α 、IL-6 水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 下调宫颈组织 TLR4、MyD88 及 NF- κ B p50 蛋白表达 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 绿花白千层精油栓能减轻大鼠宫颈炎反应, 其作用与抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路活化有关。

关键词: 绿花白千层; 精油; 栓剂; 宫颈炎; 炎症反应; TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)03-0983-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.03.039

宫颈炎是常见的妇科炎症, 多由外部损伤、个人卫生等原因导致, 临床表现为宫颈和阴道分泌物增多、腹痛及经间期出血等^[1]。据 WHO 数据显示, 1990 年至 2019 年间, 我国宫颈癌发病率增长了 169.80%^[2]。目前常用的抗生素疗法易导致耐药性和过敏反应^[3-4]。因此, 开发有效且不良反应小的治疗方案十分重要。

绿花白千层 *Melaieuca viridiflora* Sol. ex Gaertn. 是桃金娘科千层木属常绿乔木, 主要生长在我国东南部和西南部热带亚热带地区^[5]。研究显示, 其精油具有抗炎、抑菌和抗氧化等活性^[6-8]。研究表明, 绿花白千层精油能显著抑制宫颈炎大鼠促炎因子 (TNF- α 、IL-1 β 、IL-6) 表达, 展现出良好的治疗潜力^[9-10]。但其具体的分子作用机制尚待阐明。

收稿日期: 2025-06-20

基金项目: 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目 (202305AC160034); 滇西应用技术大学引进人才科研启动项目 (2023RCKY0004)

作者简介: 窦桢媛 (1999—), 女, 硕士, 研究方向为中药药理学。E-mail: 1346231665@qq.com

* 通信作者: 李婷 (1980—), 女, 博士, 副教授, 从事云南高原植物芳香疗法研究。E-mail: dlhlylt@163.com

刘衡 (1989—), 男 (回族), 博士, 副研究员, 从事芳香植物功效物质基础研究。E-mail: lheng125@126.com