

通痹化纤方通过调节 TGF-β1 通路介导的上皮间质转化对特发性肺纤维化大鼠的改善作用

李 欣¹, 宋意亭¹, 李佳龙¹, 裴凤红¹, 牟春晓¹, 李成涵², 李志勇³, 王永辉¹, 周文静^{1*}
(1. 山西中医药大学基础医学院, 山西 晋中 030600; 2. 山西中医药大学第三临床学院, 山西 晋中 030600; 3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

摘要: **目的** 探讨通痹化纤方 (TBHX) 通过调节 TGF-β1 通路介导的上皮间质转化 (EMT) 对特发性肺纤维化 (IPF) 大鼠的改善作用。**方法** 60 只大鼠随机分为对照组、模型组、吡非尼酮组 (50 mg/kg) 和 TBHX 低、中、高剂量组 (12.6、25.2、50.4 g/kg), 一次性气管滴注博来霉素 (BLM) 制备 IPF 模型, 灌胃给药 4 周。采用透射电镜、光镜观察肺组织病理损伤, ELISA 法检测大鼠血清 HYP、TGF-β1、Vim 水平, 免疫组化法检测肺组织 Vim、E-cad、N-cad 蛋白表达, Western blot 法检测肺组织 α-SMA、E-cad、N-cad、Vim、FN 蛋白表达, RT-qPCR 法检测肺组织 *Col I*、*α-SMA*、*E-cad*、*N-cad*、*Vim*、*TGF-β1* mRNA 表达。**结果** 与对照组比较, 模型组大鼠肺组织病理损伤程度加重, 胶原沉积增加 ($P<0.01$), 血清 HYP、TGF-β1、Vim 水平升高 ($P<0.01$), 肺组织 E-cad 蛋白、mRNA 表达降低 ($P<0.01$), α-SMA、N-cad、Vim、FN 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$), *Col I*、*α-SMA*、*N-cad*、*Vim*、*TGF-β1* mRNA 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。与模型组比较, 吡非尼酮组和 TBHX 中剂量组大鼠肺组织病理损伤程度降低, 胶原沉积减少 ($P<0.01$), 血清 HYP、TGF-β1、Vim 水平降低 ($P<0.01$), 肺组织 E-cad 蛋白、mRNA 表达升高 ($P<0.01$), α-SMA、N-cad、Vim、FN 蛋白表达降低 ($P<0.01$), *Col I*、*α-SMA*、*N-cad*、*Vim*、*TGF-β1* mRNA 表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)。**结论** 通痹化纤方可通过调节 TGF-β1 通路介导的 EMT 来发挥对 IPF 大鼠症状的改善作用。**关键词:** 通痹化纤方; 特发性肺纤维化; 上皮间质转化; TGF-β1 通路
中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2026)09-2918-08
doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.09.010

Ameliorative effects of Tongbi Huaxian Formula on idiopathic pulmonary fibrosis rats by regulating TGF-β1 pathway-mediated epithelial-mesenchymal transition

LI Xin¹, SONG Yi-ting¹, LI Jia-long¹, PEI Feng-hong¹, MOU Chun-xiao¹, LI Cheng-han², LI Zhi-yong³, WANG Yong-hui¹, ZHOU Wen-jing^{1*}
(1. College of Basic Medical Sciences, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030600, China; 2. The Third Clinical School, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030600, China; 3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the therapeutic effect of Tongbi Huaxian Formula (TBHX) on idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) rats by modulating TGF-β1 pathway-mediated epithelial-mesenchymal transition. **METHODS** Sixty rats were randomly divided into a control group, a model group, a pirfenidone group (50 mg/kg), and low-, medium-, and high-dose TBHX groups (12.6, 25.2, and 50.4 g/kg). An IPF model was established *via* a single intratracheal instillation of bleomycin (BLM), and the rats were administered by gavage for

收稿日期: 2025-12-03
基金项目: 山西省基础研究计划项目 (20210302123314); 山西省中医药管理局重点研究室项目-方药配伍及功用重点研究室项目 (zyyyjs2024023); 山西中医药大学方剂学学科建设项目 (2025XK26)
作者简介: 李 欣 (1999—), 女, 硕士在读, 研究方向为中药方剂创新产品研制。E-mail: 1481796412@qq.com
* 通信作者: 周文静 (1984—), 女, 硕士, 副教授, 研究方向为中药方剂创新产品研制。E-mail: zhouwengjing0918@163.com

4 weeks. Pathological damage in lung tissues was observed using transmission electron microscopy and light microscopy. Serum levels of HYP, TGF- β 1, and Vim were detected by ELISA. The protein expressions of Vim, E-cad, and N-cad in lung tissues were detected by immunohistochemistry. The protein expressions of α -SMA, E-cad, N-cad, Vim, and FN in lung tissues were detected by Western blot. The mRNA expressions of *Col I*, α -SMA, *E-cad*, *N-cad*, *Vim*, and *TGF- β 1* in lung tissues were detected by RT-qPCR. **RESULTS** Compared with the control group, the model group exhibited aggravated pathological damage and increased collagen deposition in lung tissues ($P<0.01$), elevated serum levels of HYP, TGF- β 1, and Vim ($P<0.01$), decreased E-cad protein and mRNA expressions in lung tissues ($P<0.01$), and increased protein expressions of α -SMA, N-cad, Vim, and FN ($P<0.05$, $P<0.01$), as well as increased mRNA expressions of *Col I*, α -SMA, *N-cad*, *Vim*, and *TGF- β 1* ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared with the model group, the pirfenidone group and the medium-dose TBHX group showed alleviated pathological damage and reduced collagen deposition in lung tissues ($P<0.01$), decreased serum levels of HYP, TGF- β 1, and Vim ($P<0.01$), elevated E-cad protein and mRNA expressions in lung tissues ($P<0.01$), decreased protein expressions of α -SMA, N-cad, Vim, and FN ($P<0.01$), and decreased mRNA expressions of *Col I*, α -SMA, *N-cad*, *Vim*, and *TGF- β 1* ($P<0.05$, $P<0.01$). **CONCLUSION** TBHX can ameliorate IPF symptoms in rats by regulating EMT mediated by the TGF- β 1 pathway.

KEY WORDS: Tongbi Huaxian Formula; idiopathic pulmonary fibrosis; epithelial-mesenchymal transition; TGF- β 1 pathway

特发性肺纤维化（idiopathic pulmonary fibrosis, IPF）是一种慢性、具有破坏性的间质性肺疾病^[1]，常表现为呼吸困难、慢性咳嗽等症状^[2]，发病率呈逐年升高趋势，全球约有 300 万例患者^[3-4]，诊断后中位生存期仅 3~5 年^[5]。目前，相关治疗药物大多集中于减缓疾病进展^[6]，但其副作用对临床应用会产生一定的局限性。现代研究证明，中医药对 IPF 具有确切疗效，可改善患者症状，降低死亡率^[7]，具有良好的前景。

中医将 IPF 归为“肺痿”“肺痹”范畴，认为大多由肺虚不固、痰瘀阻滞所致^[8]，最终引起肺叶萎弱不用、呼吸困难等症状，故治疗时以补虚扶正，化痰祛瘀为主。通痹化纤方（TBHX）是陈银魁主任治疗肺纤维化的经验方，具有扶正固本、化痰祛瘀功效，临床上对 IPF 具有确切疗效。

IPF 的主要特征是上皮间质转化（epithelial-mesenchymal transition, EMT）、细胞外基质（extracellular matrix, ECM）过度积累，导致肺气体交换减少和功能减退，出现不可逆的损伤，其具体发病机制尚不明确^[9]，但 EMT 对 IPF 发生的影响尤为显著。转化生长因子 β 1（transforming growth factor- β 1, TGF- β 1）作为典型的纤维化因子^[10]，其激活可加重 ECM 沉积，导致 EMT，加速 IPF 发展。因此，本研究构建 IPF 大鼠模型，以 TGF- β 1 通路介导的 EMT 为切入点，探讨 TBHX 对 IPF 大鼠的改善作用，以期对相关临床治疗提供数据支撑与理论依据。

1 材料

1.1 动物 60 只雄性 Wistar 大鼠，体质量（200 $\pm$ 20）g，购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [质量合格证号 110011251101598347，实验动物生产许可证号 SCXK（京）2021-0011]，饲养于山西中医药大学科研楼 SPF 级动物房 [动物生产许可证号 SYXK（晋）2025-0009]，温度 22~26 $^{\circ}\text{C}$ ，相对湿度 40%~50%，12 h/12 h 明暗交替循环，自由进食饮水，适应性喂养 7 d 后开展研究。实验经山西中医药大学实验动物伦理委员会批准（批准编号 AWE202503033）。

1.2 药材与药物 黄芪（批号 26030302）、白花蛇舌草（批号 251012）、蒲公英（批号 250808）、瓜蒌（批号 251014）、薤白（批号 250724）、虎杖（批号 250402）、紫苏子（批号 25091702）、川芎（批号 2508023）、红景天（批号 250724）、麻黄（批号 250402）、葶苈子（批号 25062101）、黄精（批号 25051302）、甘草（批号 251201）均购自山西中医药大学国医堂中药房。盐酸博来霉素（bleomycin, BLM, 100 mg，批号 C17533440）购自上海麦克林生化科技股份有限公司；吡非尼酮胶囊（100 mg $\times$ 54 粒，国药准字 H20133376，批号 20240802）购自北京康蒂尼药业股份有限公司。

1.3 试剂 大鼠羟脯氨酸（hydroxyproline, HYP）、TGF- β 1、波形蛋白（vimentin, Vim）ELISA 检测试剂盒（货号 MM-0307R2、MM-0181R2、MM-

71770R2) 均购自江苏酶免实验有限公司; E-钙黏蛋白 (E-cadherin, E-cad) 抗体 (货号 62037-1) 购自美国 Signalway Antibody 公司; N-钙黏蛋白 (N-cadherin, N-cad) 抗体 (货号 22018-1-ap) 购自美国 Proteintech 公司; Vim 抗体 (货号 CY5134) 购自上海埃必威生物技术有限公司; α -平滑肌肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA)、纤维连接蛋白 (fibronectin, FN)、TGF- β 1、I 型胶原蛋白 (collagen I, Col I) 抗体 (货号 14395-1-AP、15613-1-AP、81746-2-RR、66761-1-Ig) 均购自武汉三鹰生物技术有限公司; 苏木素-伊红染液 (hematoxylin and eosin stain, HE)、马松 (Masson trichrome staining, Masson) 三色套盒 (货号 BP0211、BP0310) 均购自湖北百奥斯生物科技有限公司; 磷酸化蛋白酶抑制剂 (货号 MB12707) 购自大连美仑生物技术有限公司; 异氟烷 (批号 2025010601) 购自深圳瑞沃德生命科技公司。

1.4 仪器 F50 酶标仪 (奥地利 Tecan 公司); neofuge 15R 冷冻离心机 (力康生物医疗科技控股有限公司); CX-31 正置显微镜 (日本 Olympus 公司); NanoZoomer[®]S360 成像系统 (日本滨松公司); ABI QuantStudio 1 荧光定量 PCR 仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 1200EX 透射电子显微镜 (日本 JEOL 公司)。

2 方法

2.1 药液制备 取黄芪、白花蛇舌草、蒲公英、葶苈子、黄精各 30 g, 瓜蒌、薤白各 24 g, 紫苏子、红景天各 20 g, 虎杖 15 g, 川芎 12 g, 麻黄 9 g, 甘草 6 g, 放入洁净锅中, 加入 8 倍量水浸泡 1 h, 常规煎煮, 过滤后再加入 6 倍量水煎煮, 合并 2 次过滤的煎液, 浓缩至生药量分别为 1.26、2.52、5.04 g/mL (即低、中、高剂量), 即得, 冷藏备用。

2.2 分组、造模与给药 大鼠适应性喂养 7 d 后取 50 只, 一次性气管滴注 5 mg/kg BLM 以制备 IPF 模型^[11]。大鼠麻醉固定后颈部皮肤消毒, 小心切开使气管暴露, 紧贴气管壁缓慢注入 BLM 溶液, 缝合后直立并缓慢旋转以使药物分布均匀, 假手术组同法滴注等量 0.9% 氯化钠注射液, 再进行消毒、清除血迹, 苏醒后自由进食饮水。将造模后大鼠随机分为对照组、模型组、吡非尼酮组和 TBHX 低、中、高剂量组, 造模次日灌胃给药, 剂量 1 mL/100 g, 吡非尼酮组给予 50 mg/kg 药液, TBHX 低、中、高剂量组分别给予 12.6、25.2、

50.4 g/kg 药液, 对照组和模型组给予等体积生理盐水, 每天 1 次, 共 28 d。

2.3 标本采集与处理 灌胃结束后, 大鼠以异氟烷进行麻醉, 仰卧固定, 腹主动脉取血后打开胸腔, 取出肺脏, 冰盒上将肺组织分离, 左肺固定于 4% 多聚甲醛中, 右肺置于冻存管中, 经液氮速冻后保存于 -80 ℃ 冰箱中。各组随机选取 6 只大鼠进行指标检测, 剩余 4 只用于重复验证。

2.4 肺组织病理形态学检测 大鼠肺组织固定 24 h 后脱水, 石蜡包埋, 制成 4 μ m 切片, 分别进行 HE、Masson 染色, 观察肺组织炎性、纤维化程度。采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对 Masson 染色切片进行半定量分析, 计算胶原容积分数 (collagenvolume fraction, CVF) 以量化胶原沉积程度, 公式为 $CVF = (\text{胶原纤维面积} / \text{视野总面积}) \times 100\%$ 。

2.5 ELISA 法检测血清 HYP、TGF- β 1、Vim 水平 大鼠血液收集后静置凝固, 3 500 r/min 离心 10 min, 分离得到血清, 置于冻存管中后保存于 -80 ℃ 冰箱中, 根据试剂盒说明书检测 HYP、TGF- β 1、Vim 水平。

2.6 免疫组化检测肺组织 Vim、E-cad、N-cad 蛋白表达 大鼠肺组织切片经脱蜡、高压修复、冷却至室温后加入山羊血清, 室温孵育 30 min, 加入 Vim (1 : 2 000)、E-cad (1 : 400)、N-cad (1 : 1 000) 一抗, 4 ℃ 孵育过夜, 次日滴加二抗, 37 ℃ 孵育 45 min, DAB 显色, 苏木精复染, 晾干后环保封片剂封片, 晾干, 于显微镜下观察, 采用 Image-Pro Plus 6.0 软件对每张照片进行分析, 计算阳性率, 公式为 $\text{阳性率} = (\text{阳性染色面积} / \text{总视野面积}) \times 100\%$ 。

2.7 Western blot 法检测肺组织 α -SMA、E-cad、N-cad、Vim、FN 蛋白表达 取大鼠肺组织, 提取蛋白, SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 加入 α -SMA (1 : 2 000)、E-cad (1 : 1 000)、N-cad (1 : 1 000)、Vim (1 : 20 000)、FN (1 : 2 000)、GAPDH (1 : 5 000) 一抗, 4 ℃ 孵育过夜, 次日加入二抗 (1 : 5 000), 室温孵育, 采用化学发光法显色, ImageJ 软件测定目的蛋白、内参 GAPDH 条带积分光密度 (IOD), 以两者比值为目的蛋白相对表达量, 重复 3 次。

2.8 RT-qPCR 法检测肺组织 Col I、 α -SMA、E-cad、N-cad、Vim、TGF- β 1 mRNA 表达 取大鼠肺组织 30~50 mg, 提取 RNA, 反转录后进行 PCR 扩增反应, 条件为 94 ℃ 预变性 2 min, 进行 45 个循环

(94 ℃ 变性 5 s, 60 ℃ 退火/延伸30 s), 在 65 ~ 95 ℃ 下以 0.5 ℃/5 s 的速率进行熔解曲线分析。采用 2^{-ΔΔCT} 法计算目的基因 mRNA 相对表达, 引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成, 序列见表 1。

表 1 引物序列
Tab. 1 Primer sequences

基因	序列(5'→3')	产物长度/bp
GAPDH	正向 ACTCTACCCACGGCAAGTTC	72
	反向 TGGGTTTCCCGTTGATGACC	
Col I	正向 GACCCTAACCAAGGCTGCAA	235
	反向 GGAAGGTCAGCTGGATAGCG	
E-cad	正向 CAGTGTTTGCTCGGCGTTTG	297
	反向 ACTGTGATGACGCCATCTGT	
N-cad	正向 TTCAAGAAGCTGGCCGACAT	70
	反向 TGTCCAAAAGCCAAAGTCCGT	
TGF-β1	正向 AGTGCTGAGGAGAAACCGTG	111
	反向 TTGTGTCATCGGCTGAAAGC	
Vim	正向 GCAGCCTCTATTCTCGTCC	202
	反向 TAGTTGGCGAAGCGGTCATT	
α-SMA	正向 GCTGCTCCAGCTATGTGTGA	253
	反向 AGTTGGTGATGATGCCGTGT	

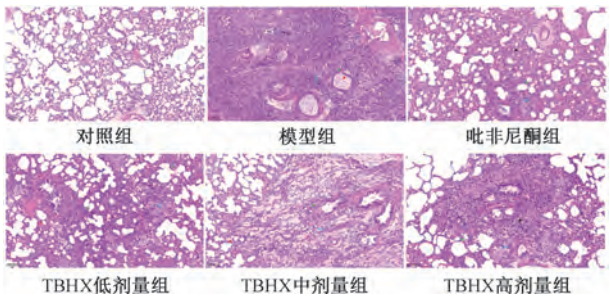
2.9 透射电镜观察肺组织超微结构 取大鼠新鲜肺组织, 预冷 PBS 快速清洗, 立即放入多聚甲醛、戊二醛混合固定液中, 修整至 1 mm×1 mm×3 mm 左右, 进行漂洗、1% 锇酸固定、脱水、Epon812 浸泡、包埋, 半薄切片与超薄切片分别采用甲苯胺蓝染色与柠檬酸铅、乙酸双氧铀染色, 在透射电子显微镜下观察, CCD 拍照记录。

2.10 统计学分析 通过 SPSS 27.0.1 软件进行处理, 符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 2 组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 TBHX 对 IPF 大鼠肺组织病理变化的影响 HE 染色显示, 对照组大鼠肺泡结构完整, 未见明显肺泡增厚及炎性浸润; 模型组大鼠可见组织边缘肺实变, 少许支气管增生, 支气管内可见泡沫细胞增生, 伴有较多炎性细胞浸润, 多见肺泡扩张, 局部可见出血; 吡非尼酮组和 TBHX 各剂量组大鼠均有不同程度的改善, 并且 TBHX 中剂量组效果最佳, 肺泡结构明显恢复, 炎性细胞、支气管增生显著减轻, 见图 1。

Masson 染色显示, 与对照组比较, 模型组大鼠肺组织胶原纤维大量沉积, 呈弥漫性分布, CVF 值升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 吡非尼酮组和 TBHX 中、高剂量组大鼠胶原沉积减少, CVF 值降



注: 蓝色箭头表示炎性细胞浸润, 绿色箭头表示支气管增生, 红色箭头表示肺泡扩张, 黑色箭头表示肺泡壁增厚。

图 1 各组大鼠肺组织 HE 染色 (×200)

Fig. 1 HE staining of lung tissue of rats from each group (×200)

低 (*P* < 0.01), 见图 2、表 2。

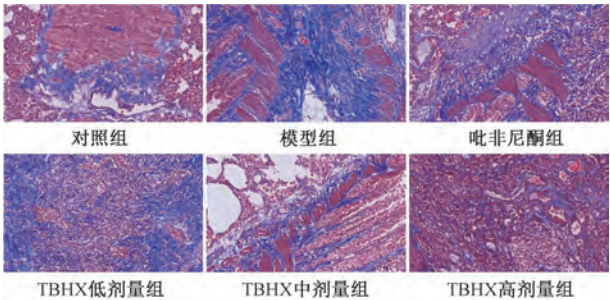


图 2 各组大鼠肺组织 Masson 染色 (×200)

Fig. 2 Masson staining of lung tissue of rats from each group (×200)

表 2 各组大鼠肺组织 CVF 值比较 ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

Tab. 2 Comparison of CVF values in rat lung tissue from each group ($\bar{x} \pm s$, *n* = 6)

组别	CVF/%
对照组	6.14±2.74
模型组	34.32±4.38 ^{##}
吡非尼酮组	23.58±3.44 ^{**}
TBHX 低剂量组	28.25±5.02
TBHX 中剂量组	15.88±4.36 ^{**}
TBHX 高剂量组	14.96±3.63 ^{**}

注: 与对照组比较, ^{##}*P* < 0.01; 与模型组比较, ^{**}*P* < 0.01。

3.2 TBHX 对 IPF 大鼠血清 HYP、TGF-β1、Vim 水平的影响 与对照组比较, 模型组大鼠血清 HYP、TGF-β1、Vim 水平升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 吡非尼酮组和 TBHX 各剂量组大鼠血清 HYP、TGF-β1、Vim 水平降低 (*P* < 0.01), 见表 3。

3.3 TBHX 对 IPF 大鼠肺组织 E-cad、N-cad、Vim 蛋白表达的影响 与对照组比较, 模型组大鼠肺组织 E-cad 蛋白阳性率降低 (*P* < 0.01), N-cad、Vim 蛋白阳性率升高 (*P* < 0.01); 与模型组比较, 吡非

表 3 各组大鼠血清 HYP、TGF-β1、Vim 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 3 Comparison of serum HYP, TGF-β1 and Vim levels in rats from each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	HYP/(mol·L ⁻¹)	TGF-β1/(pg·mL ⁻¹)	Vim/(ng·L ⁻¹)
对照组	386.68±40.11	917.361±76.47	8.26±1.20
模型组	838.24±49.18 ^{##}	1 720.28±228.16 ^{##}	16.31±1.51 ^{##}
吡非尼酮组	499.80±75.15 ^{**}	1 158.46±85.65 ^{**}	9.35±1.29 ^{**}
TBHX 低剂量组	607.16±28.54 ^{**}	1 443.88±110.82 ^{**}	12.82±3.09 ^{**}
TBHX 中剂量组	484.74±84.27 ^{**}	1 146.00±50.04 ^{**}	9.01±0.46 ^{**}
TBHX 高剂量组	536.22±46.01 ^{**}	1 087.78±106.05 ^{**}	11.67±1.88 ^{**}

注：与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

尼酮组和 TBHX 中、高剂量组大鼠肺组织 E-cad 蛋白阳性率升高 ($P<0.01$)，吡非尼酮组和 TBHX 各剂

量组大鼠肺组织 N-cad、Vim 蛋白阳性率降低 ($P<0.01$)，见图 3、表 4。

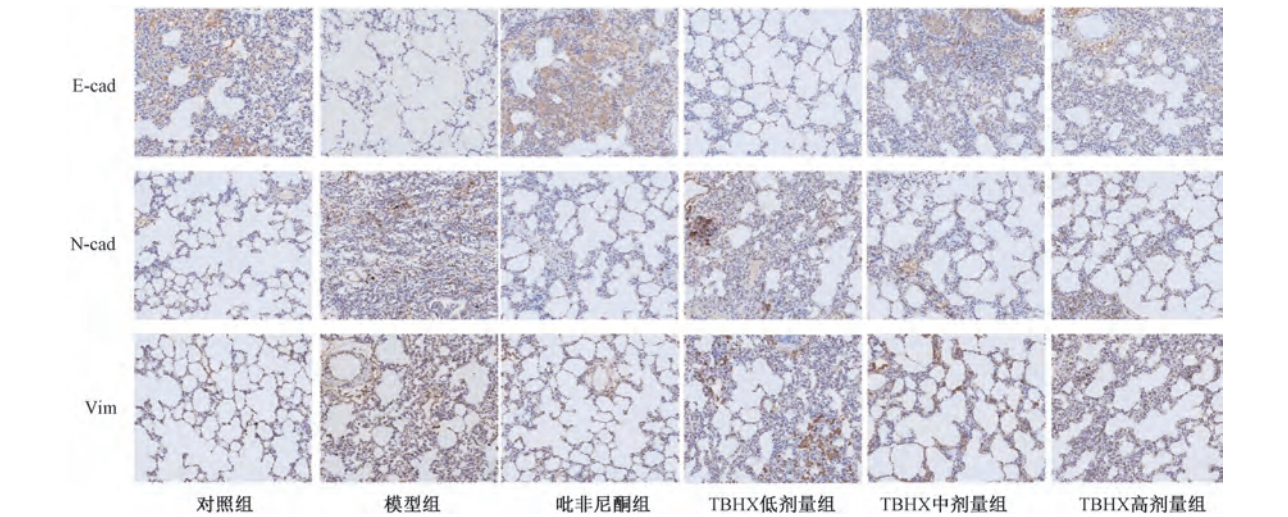


图 3 各组大鼠肺组织 E-cad、N-cad、Vim 蛋白免疫组化染色 (×200)

Fig. 3 Immunohistochemical staining of E-cad, N-cad and Vim proteins in rat lung tissue from each group (×200)

表 4 各组大鼠肺组织 E-cad、N-cad、Vim 蛋白表达比较 (% , $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 4 Comparison of E-cad, N-cad and Vim protein expressions in rat lung tissue from each group (% , $\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	E-cad	N-cad	Vim
对照组	2.88±0.17	0.08±0.04	0.95±0.09
模型组	0.06±0.03 ^{##}	3.15±0.14 ^{##}	5.18±0.10 ^{##}
吡非尼酮组	2.75±0.14 ^{**}	0.34±0.06 ^{**}	1.64±0.12 ^{**}
TBHX 低剂量组	0.07±0.03	2.15±0.12 ^{**}	3.67±0.09 ^{**}
TBHX 中剂量组	1.07±0.01 ^{**}	0.51±0.04 ^{**}	1.62±0.16 ^{**}
TBHX 高剂量组	0.55±0.04 ^{**}	1.08±0.14 ^{**}	2.30±0.09 ^{**}

注：与对照组比较，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{**} $P<0.01$ 。

3.4 TBHX 对 IPF 大鼠肺组织 α-SMA、E-cad、N-cad、Vim、FN 蛋白表达的影响 与对照组比较，模型组大鼠肺组织 α-SMA、N-cad、Vim、FN 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，E-cad 蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，吡非尼酮组和 TBHX 中剂量组大鼠肺组织 α-SMA、N-cad、FN、Vim 蛋白表达降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)，E-cad 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，TBHX 高剂量组大鼠肺组织 α-SMA、N-cad、FN 蛋白表达降低 ($P<0.05$,

$P<0.01$)，E-cad 蛋白表达升高 ($P<0.05$)，TBHX 低剂量组大鼠肺组织 N-cad 蛋白表达降低 ($P<0.01$)，见图 4、表 5。

3.5 TBHX 对 IPF 大鼠肺组织 Col I、α-SMA、E-cad、N-cad、Vim、TGF-β1 mRNA 表达的影响 与对照组比较，模型组大鼠肺组织 Col I、α-SMA、N-cad、Vim、TGF-β1 mRNA 表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，E-cad mRNA 表达降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，吡非尼酮组和 TBHX 各剂量组大鼠肺组织 E-cad

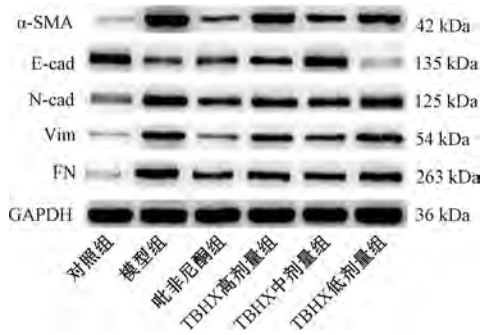


图 4 各组大鼠肺组织 α-SMA、E-cad、N-cad、Vim、FN 蛋白条带

Fig. 4 Protein bands of α-SMA, E-cad, N-cad, Vim and FN in rat lung tissue from each group

表 5 各组大鼠肺组织 α-SMA、E-cad、N-cad、Vim、FN 蛋白表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 5 Comparison of α-SMA, E-cad, N-cad, Vim and FN protein expressions in rat lung tissue from each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	α-SMA	E-cad	N-cad	Vim	FN
对照组	0.02±0.00	0.72±0.06	0.07±0.01	0.02±0.00	0.03±0.00
模型组	0.63±0.18 ^{##}	0.11±0.01 ^{##}	0.67±0.01 ^{##}	0.50±0.04 [#]	0.57±0.11 ^{##}
吡非尼酮组	0.14±0.05 ^{**}	0.68±0.06 ^{**}	0.23±0.02 ^{**}	0.05±0.00 [*]	0.16±0.08 ^{**}
TBHX 低剂量组	0.50±0.10	0.05±0.03	0.61±0.02 ^{**}	0.42±0.04	0.50±0.12
TBHX 中剂量组	0.31±0.04 ^{**}	0.53±0.07 ^{**}	0.39±0.03 ^{**}	0.13±0.03 ^{**}	0.28±0.09 ^{**}
TBHX 高剂量组	0.45±0.10 [*]	0.21±0.04 [*]	0.57±0.02 ^{**}	0.33±0.02	0.40±0.06 [*]

注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

mRNA 表达升高 ($P<0.01$)，吡非尼酮组和 TBHX 中剂量组大鼠肺组织 *Col I*、α-SMA、N-cad、Vim、TGF-β1 mRNA 表达降低 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，TBHX 低剂量组大鼠肺组织 *Col I*、N-cad、TGF-β1

mRNA 表达降低 ($P<0.01$)，TBHX 高剂量组大鼠肺组织 *Col I*、N-cad、Vim、TGF-β1 mRNA 表达降低 ($P<0.05$ ， $P<0.01$)，见表 6。

表 6 各组大鼠肺组织 Col I、α-SMA、E-cad、N-cad、Vim、TGF-β1 mRNA 表达比较 ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

Tab. 6 Comparison of Col I, α-SMA, E-cad, N-cad, Vim and TGF-β1 mRNA expressions in rat lung tissue from each group ($\bar{x}\pm s$, $n=6$)

组别	Col I	α-SMA	E-cad	N-cad	Vim	TGF-β1
对照组	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
模型组	4.14±0.09 ^{##}	4.31±0.08 ^{##}	0.51±0.01 ^{##}	4.51±0.26 ^{##}	4.16±0.26 [#]	6.11±0.86 ^{##}
吡非尼酮组	1.59±0.11 ^{**}	1.81±0.11 ^{**}	0.63±0.03 ^{**}	1.62±0.02 ^{**}	1.49±0.07 [*]	1.23±0.01 ^{**}
TBHX 低剂量组	2.45±1.18 ^{**}	4.08±0.08	0.43±0.02 [*]	3.53±0.22 ^{**}	3.38±0.11	5.79±0.26 ^{**}
TBHX 中剂量组	1.86±0.05 ^{**}	2.34±0.20 [*]	0.88±0.03 ^{**}	1.83±0.43 ^{**}	1.74±0.06 [*]	1.57±0.04 ^{**}
TBHX 高剂量组	2.34±1.33 ^{**}	2.73±0.56	0.77±0.03 ^{**}	2.53±0.04 ^{**}	2.48±0.19 [*]	3.40±0.21 ^{**}

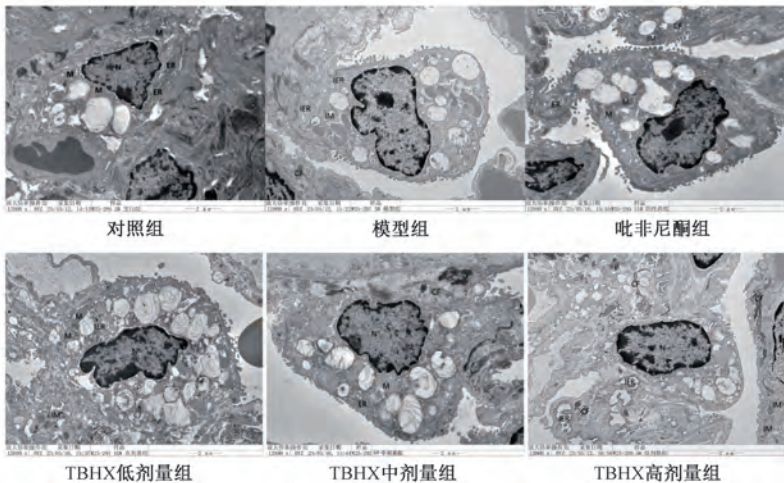
注：与对照组比较，[#] $P<0.05$ ，^{##} $P<0.01$ ；与模型组比较，^{*} $P<0.05$ ，^{**} $P<0.01$ 。

3.6 TBHX 对 IPF 大鼠肺组织超微结构的影响 与对照组比较，模型组大鼠Ⅱ型肺泡上皮细胞表面微绒毛减少甚至脱落，细胞质内出现大量空泡结构，功能紊乱，线粒体肿胀，嵴模糊，细胞核形态不规则，染色质异常，整体超微结构损伤明显；与模型组比较，吡非尼酮组和 TBHX 中、高剂量组大鼠细胞表面微绒毛分布均匀性有所升高，细胞质空泡数量明显减少，线粒体肿胀及嵴模糊情况明显改善，细胞核结构规则，染色质分布均匀，整体超微结构明显改善；TBHX 低剂量组大鼠细胞表面微绒毛缺失、分布不均匀，细胞质空泡明显，线粒体肿胀、嵴模糊明显，细胞核形态不规则，染色质分布异常，整体超微结构损伤较明显，见图 5。

4 讨论

IPF 是一种慢性致死性间质性肺疾病^[12]，其发病机制尚未完全阐明，典型病理变化涉及肺泡上皮细胞损伤、EMT、成纤维细胞异常增生及 ECM 过度沉积，受累范围广，整体病程长^[13]。当前相关治疗药物不良反应较大，效果欠佳，而中医药表现出多靶点、多途径、不良反应小的优势，具有良好的发展前景。

TBHX 由 13 味中药组成，方中黄芪补气升阳、



注：N 为细胞核，M 为线粒体，ER 为内质网，IM 为损伤线粒体，IRE 为肿胀内质网，CF 为胶原纤维。

图 5 各组大鼠肺组织超微结构 (×12 000)

Fig. 5 Ultrastructures of rat lung tissue from each group (×12 000)

培土生金，黄精补气养阴、健脾润肺，两者合用肺脾同补，气阴双调，增强肺部宣降功能，减少痰瘀生成；白花蛇舌草、蒲公英清热解毒、散结消肿，瓜蒌清热涤痰、宽胸润燥，薤白通阳散结、平衡药性，红景天、川芎、虎杖通肺活络、活血祛瘀，紫苏子、葶苈子、麻黄润肺止咳、降气平喘，甘草调和诸药并协助扶正祛邪，全方配伍标本兼治，具有扶正固本、化痰祛瘀功效，可达到延缓本病病理进程、改善临床症状的作用。

IPF 被认为是一种起始于肺泡上皮细胞持续微损伤与修复失常的疾病，呈现出肺泡构造受损、胶原累积明显、肺功能减退等关键病理特点^[14]。EMT 是连接肺泡上皮损伤与 IPF 的核心环节，在发展过程中具备极性与连接特性的肺泡上皮细胞逐渐失去上皮特性，转而表现出迁移、浸润、合成大量 ECM 成分的间质细胞行为^[15]。TGF-β1 作为肺纤维化病变的核心调控因子，可直接诱导肺泡上皮细胞启动 EMT 程序，也能直接作用于成纤维细胞，加快 ECM 沉积速率^[16]，而 ECM 沉积与 EMT 在纤维化过程中具有重要影响^[17-18]。在 EMT 发生过程中，上皮细胞 E-cad 表达明显降低，将造成细胞间连接破坏、细胞极性丢失，进而损害肺泡屏障正常功能，为细胞的迁移与进一步转化提供了必要条件^[19]。同时，间质细胞标志物表达呈现上调趋势，其中 α-SMA 可增强细胞的收缩能力与迁移活性，并推动 ECM 合成^[20]；Vim 能重构细胞骨架结构，提升其浸润能力^[21]；N-cad 可稳定细胞间质表型，保障细胞在间质环境中的存活^[22]。另外，经

历 EMT 转化的细胞会与经 TGF-β1 激活的成纤维细胞协同分泌 Col I、FN 等 ECM 组分，其间 FN 首先构建支架结构，为后续胶原的组装提供附着基础^[23]；Col I 大量沉积会引发肺组织硬化，并且过度沉积的 ECM 还可反向激活 TGF-β1 信号通路^[24]，最终加速 IPF 进程。

本研究发现，TBHX 可有效改善 IPF 大鼠炎症状态，修复损伤的肺泡结构，并减少胶原纤维沉积，表明它有效抑制了 IPF 大鼠肺组织纤维化进程；还降低 HYP、Vim、TGF-β1 水平，升高 E-cad 蛋白、mRNA 表达，降低 N-cad、Vim、α-SMA、FN 蛋白表达和 α-SMA、Vim、N-cad、TGF-β1、Col I mRNA 表达，可有效逆转 EMT 发展。

综上所述，TBHX 对 BLM 诱导 IPF 大鼠肺病理损伤具有显著的改善作用，其可能的作用机制为抑制 TGF-β1 信号通路并减弱其异常传导，解除对 E-cad 抑制，阻滞间质基因表达，最终减缓 EMT 进程及胶原沉积，使得 IPF 进程延迟，病情得到有效改善。

参考文献：

[1] Yao L, Qu L, Deng J, et al. Ginsenoside Rh4 alleviates idiopathic pulmonary fibrosis by enhancing the CXCL9-CXCR3 axis[J]. Food Front, 2024, 5(3): 1370-1386.

[2] Wang Z, Guo Y, Li K, et al. Targeting the PI3K/mTOR pathway in idiopathic pulmonary fibrosis: Advances and therapeutic potential[J]. Bioorg Med Chem, 2024, 115: 117908.

[3] Agustí A, Celli B R, Criner G J, et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease 2023 report: GOLD executive

summary[J]. *Arch Bronconeumol*, 2023, 59(4): 232-248.

[4] Fernández-Fabrellas E, Molina-Molina M, Soriano J B, *et al.* Demographic and clinical profile of idiopathic pulmonary fibrosis patients in Spain; the SEPAR national registry[J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 127.

[5] Wang D, Gong L, Li Z, *et al.* Antifibrotic effect of Gancao Ganjiang decoction is mediated by PD-1/TGF-β1/IL-17A pathway in bleomycin-induced idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *J Ethnopharmacol*, 2021, 281: 114522.

[6] Li J, Wei Q, Song K, *et al.* Tangeretin attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis by inhibiting epithelial-mesenchymal transition *via* the PI3K/Akt pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1247800.

[7] 赵梦雅, 刘 杨, 姜梦笔, 等. 加味补肺汤通过激活 Nrf2-Keap1 信号通路改善大鼠特发性肺纤维化的实验研究[J]. *中药药理与临床*, 2022, 38(3): 48-52.

[8] 吴孝政, 黄 高, 王力子, 等. 玉屏风散对博来霉素诱导的肺纤维化大鼠中 JAK2/STAT3 信号通路的干预机制研究[J]. *时珍国医国药*, 2025, 36(15): 2861-2870.

[9] Wang X, Gao J L, Zhao M M, *et al.* Therapeutic effects of conditioned medium from bone marrow-derived mesenchymal stem cells on epithelial-mesenchymal transition in A549 cells[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2): 659-668.

[10] 邹恩国, 黄天宇, 王木兰, 等. 特发性肺纤维化的发病机制及中药调节作用研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2024, 30(10): 280-289.

[11] 蔡 君, 林振伟, 林晓文. 木犀草素对急性呼吸窘迫综合征大鼠肺纤维化及 JAK2/STAT3 信号通路的影响[J]. *中成药*, 2025, 47(7): 2411-2415.

[12] American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: diagnosis and treatment. International consensus statement. American Thoracic Society (ATS), and the European Respiratory Society (ERS) [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161(2P1): 646-664.

[13] Raghu G, Remy-Jardin M, Myers J L, *et al.* Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis. An official ATS/ERS/JRS/ALAT clinical practice guideline[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 198(5): e44-e68.

[14] Fu J, Lu L, Wang H, *et al.* *Hirsutella sinensis* mycelium regulates autophagy of alveolar macrophages *via* TLR4/NF-κB signaling pathway[J]. *Int J Med Sci*, 2021, 18(8): 1810-1823.

[15] 罗 成, 叶远航, 宁 博, 等. 补阳还五汤组方原则及治疗肺纤维化的机制探究[J/OL]. *中华中医药学刊*: 1-13 (2026-02-09). <https://link.cnki.net/urlid/21.1546.R.20260208.1406.014>.

[16] Inui N, Sakai S, Kitagawa M. Molecular pathogenesis of pulmonary fibrosis, with focus on pathways related to TGF-β and the ubiquitin-proteasome pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(11): 6107.

[17] Li J, Yao W, Zhang L, *et al.* Genome-wide DNA methylation analysis in lung fibroblasts co-cultured with silica-exposed alveolar macrophages[J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 91.

[18] 吴亚娜, 宋忠阳, 王功臣, 等. 益肺健脾方调控 TGF-β1/Smad 信号通路对肺纤维化小鼠炎症及上皮-间质转化的影响[J]. *中成药*, 2026, 48(3): 977-983.

[19] Hewlett J C, Kropski J A, Blackwell T S. Idiopathic pulmonary fibrosis: Epithelial-mesenchymal interactions and emerging therapeutic targets[J]. *Matrix Biol*, 2018, 71-72: 112-127.

[20] Sala L, Franco-Valls H, Stanisavljevic J, *et al.* Abrogation of myofibroblast activities in metastasis and fibrosis by methyltransferase inhibition[J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(11): 3064-3077.

[21] 李 婧, 汪弋力, 王晓芳, 等. 艾灸肺俞、膏肓俞治疗肺纤维化大鼠对 E-cad、α-SMA、vimentin 的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2017, 44(5): 1078-1081; 1118.

[22] Sun Z, Parrish A R, Hill M A, *et al.* N-cadherin, a vascular smooth muscle cell-cell adhesion molecule: function and signaling for vasomotor control[J]. *Microcirculation*, 2014, 21(3): 208-218.

[23] 高东阳. 沙参麦冬汤对实验性肺纤维化的干预作用和机制研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2023.

[24] 马宁怡, 千孟丹, 何慧慧, 等. 保肺化纤方调控 TGF-β1/smαd2/3、Wnt1/β-catenin 信号通路对 BLM/PM2.5 诱导的特发性肺纤维化大鼠肺组织胶原沉积的影响[J]. *辽宁中医杂志*, 2024, 51(9): 191-195; 225.