

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.21.003

## 炙甘草汤通过抗氧化抑制博莱霉素诱导的小鼠肺纤维化\*

盛春瑞<sup>1</sup> 刘珊珊<sup>1</sup> 陈以文<sup>1</sup> 张迪<sup>1</sup> 宗晨钟<sup>1</sup> 杜庆红<sup>1,2</sup> 仁青加<sup>2</sup>

王珊珊<sup>1</sup> 董瑞娟<sup>1</sup> 葛东宇<sup>1</sup> 王淑艳<sup>1</sup> 李丽娜<sup>1Δ</sup>

(1 北京中医药大学中医学院 北京 100029; 2 西藏藏医药大学 西藏 拉萨 850000)

**摘要 目的:**探讨炙甘草汤对特发性肺纤维化(Idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)小鼠纤维化相关指标的影响,挖掘炙甘草汤治疗 IPF 的机制。**方法:**将 60 只 SPF 级 ICR 小鼠随机分为空白组、模型组、吡菲尼酮组和炙甘草汤组,除空白组外,其余组采用气管滴注博莱霉素(5 mg/kg)方法复制 IPF 小鼠模型,并给予相应的药物治疗。空白组和模型组小鼠灌胃生理盐水,吡菲尼酮组和炙甘草汤组小鼠分别灌胃吡菲尼酮(50 mg/kg)和炙甘草汤(25.4 g/kg),各组均连续给药 4 周后取材,记录各组小鼠的死亡情况,计算各组肺系数;观察肺组织切片病理变化;碱水解法检测肺组织羟脯氨酸(HYP)含量;比色法检测肺组织丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性;免疫组化、荧光定量 PCR 检测 $\alpha$ -SMA、COL1A 蛋白和 mRNA 的表达水平。**结果:**炙甘草汤组小鼠死亡数减少,肺系数显著降低( $P<0.01$ ),炎性细胞浸润和胶原沉积面积大量减少,肺泡结构逐渐修复,HYP、MDA 含量降低( $P<0.01$ ),SOD 活性( $P<0.05$ )和 GSH-Px 活性( $P<0.01$ )显著增强; $\alpha$ -SMA、COL1A 蛋白和 mRNA 表达均降低( $P<0.01$ )。**结论:**炙甘草汤通过抑制氧化应激反应,从而抑制成纤维细胞活化,减少细胞质基质沉积,从而减缓 IPF 疾病进程。

**关键词:**特发性肺纤维化;炙甘草汤;氧化应激

**中图分类号:**R-33;R562;R285.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)21-4014-06

## Zhigancao Decoction Inhibits Bleomycin Induced Pulmonary Fibrosis in Mice through Antioxidation\*

SHENG Chun-rui<sup>1</sup>, LIU Shan-shan<sup>1</sup>, CHEN Yi-wen<sup>1</sup>, ZHANG Di<sup>1</sup>, ZONG Chen-zhong<sup>1</sup>, DU Qing-hong<sup>1,2</sup>, REN Qing-jia<sup>2</sup>,

WANG Shan-shan<sup>1</sup>, DONG Rui-juan<sup>1</sup>, GE Dong-yu<sup>1</sup>, WANG Shu-yan<sup>1</sup>, LI Li-na<sup>1Δ</sup>

(1 Beijing University of Chinese Medicine school of Chinese medicine, Beijing, 100029, China;

2 University of Tibetan Medicine, Lasa, Tibetan, 850000, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the effect of Zhigancao decoction on fibrosis related indexes in mice with idiopathic pulmonary fibrosis (IPF), and to explore the mechanism of Zhigancao decoction in the treatment of IPF. **Methods:** 60 SPF ICR mice were divided randomly into blank group, model group, pifenedone group and Zhigancao decoction group. In addition to the blank group, the other groups were treated with bleomycin (5 mg/kg) by intratracheal drip, and the corresponding drug treatment was given: the blank group and model group were given normal saline by gavage. Mice in pifenedone group and Zhigancao decoction group were given pifenedone (50 mg/kg) and Zhigancao decoction (25.4 g/kg) by gavage, respectively. After 4 weeks of continuous administration, the death of mice in each group was recorded and the lung coefficient of each group was calculated; The pathological changes of lung tissue sections were observed; The content of hydroxyproline (HYP) in lung tissue was detected by alkaline hydrolysis method; The content of malondialdehyde (MDA), the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) in lung tissue were detected by colorimetry; The expression of  $\alpha$ -SMA, COL1A protein and mRNA was detected by immunohistochemistry and fluorescence quantitative PCR. **Results:** The death number of mice in Zhigancao decoction group decreased and the lung coefficient decreased significantly ( $P<0.01$ ), the inflammatory cell infiltration and collagen deposition area decreased significantly, the alveolar structure was repaired gradually, the contents of HYP and MDA decreased ( $P<0.01$ ), and the activities of SOD ( $P<0.05$ ) and GSH-PX ( $P<0.01$ ) increased; The expression of  $\alpha$ -SMA, COL1A protein and mRNA decreased ( $P<0.01$ ). **Conclusion:** Zhigancao decoction can inhibit the activation of fibroblasts and reduce the deposition of cytoplasmic matrix by inhibiting oxidative stress, so as to slow down the process of IPF disease.

**Key words:** Idiopathic pulmonary fibrosis; Zhigancao decoction; Oxidative stress

**Chinese Library Classification (CLC):** R-33; R562; R285.5 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2022)21-4014-06

\* 基金项目:西藏自治区重点研发计划项目(XZ202001ZY0001G);西藏自治区藏医药管理局级科技专项(JJKT2020006)

作者简介:盛春瑞(1996-),男,硕士研究生,主要研究方向:经方治疗疑难病的分子机制,E-mail: 2996523568@qq.com

Δ 通讯作者:李丽娜(1974-),女,硕士生导师,副教授,主要研究方向:经方治疗疑难病的分子机制,

E-mail: lilina1024@126.com,电话:18201012962

(收稿日期:2022-02-27 接受日期:2022-03-23)

## 前言

特发性肺纤维化 (Idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种间质性肺疾病, 肺部瘢痕形成为其主要特征, 呼吸困难, 干咳为其主要临床表现<sup>[1-3]</sup>, 确诊后, 患者的中位生存期为 2-3 年<sup>[4,5]</sup>。此病主要发生在 50-70 岁的男性, 发病率与年龄呈正相关<sup>[6]</sup>, 在治疗上, 主要采用吡菲尼酮和尼达尼布两种药物进行治疗, 虽然可以暂时控制症状, 但不能延缓疾病的进展速度。肺移植手术是唯一能够根治的方法, 但肺脏资源获取有限且费用较高, 因此寻找新的治疗方法已迫在眉睫<sup>[7]</sup>。近年来, 研究发现, 中医药疗法能明显改善患者的临床症状, 提高肺功能以及降低急性发作次数, 炙甘草汤是行之有效的经典名方。既往研究表明, 炙甘草汤可改善博莱霉素诱导的肺纤维化<sup>[8,9]</sup>, 但具体机制尚不明确。本文通过观察 IPF 模型小鼠肺组织胶原含量 (HYP) 和胶原纤维 (COL1A) 的表达, 以及肌成纤维细胞标志物 ( $\alpha$ -SMA) 和氧化抗氧化指标 (SOD、MDA、GSH-Px) 的表达情况, 分析炙甘草汤治疗肺纤维化的可能机制, 为临床治疗提供指导。

## 1 材料

### 1.1 实验动物

SPF 级雄性 ICR 小鼠 60 只, 体质量 ( $20 \pm 2$ ) g, 6-8 周龄, 订购于北京维通利华生物技术有限公司, 许可证号: SCXK (京) 2019-0010。

### 1.2 药物与试剂

炙甘草汤由炙甘草 12 g、阿胶 6 g、麦冬 10 g、生地 50 g、人参 6 g、桂枝 9 g、生姜 9 g、麻仁 10 g、大枣 15 g 组成 (购于北京德寿堂药房); 注射用盐酸博莱霉素 (浙江海正; 批号: H20055883); 吡菲尼酮 (源叶生物; 货号: S80784); Masson 三色染色试剂盒 (索莱宝; 货号: G1340); MDA 试剂盒、SOD 试剂盒、GSH-Px 试剂盒 (南京建成, 货号分别为: A003-1、A001-3、A005); 总 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、PCR 扩增试剂盒 (艾科瑞; 货号分别为: AG21017、AG11705、AG11701)。

### 1.3 仪器

多功能台式离心机 (德国 Eppendorf 5424R); 酶标仪 (瑞士 Tecan Infinite 200 Pro); 电热恒温水箱 (长风 HW-SY11-K2C); 生化培养箱 (上海博讯 GXZ9070Mbe); 实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-rad CFX96 Touch); 石蜡包埋机 (德国 Leica HistoCoreArcadia); 全自动切片机 (德国 Leica RM2255); 全自动免疫组化染色仪 (Thermo Scientific Autostainer 360); 研究级高分辨显微分析系统 (德国 Leica DM4B); 研究级正置显微镜 (德国 Leica DM1000)。

## 2 方法

### 2.1 IPF 模型建立

将 60 只 ICR 小鼠随机分为空白组、模型组、吡菲尼酮组和炙甘草汤组, 每组 15 只, 适应性喂养 2-3 天。除空白组外, 在其余各组小鼠体内建立 IPF 模型, 即麻醉小鼠, 气管内注入博莱霉素 (5 mg/kg)。

### 2.2 治疗与取材

造模 24 h 后各组小鼠分别灌胃给药, 吡菲尼酮组和炙甘草汤组分别灌胃吡菲尼酮 (50 mg/kg) 和炙甘草汤 (25.4 g/kg),

空白组和模型组灌胃生理盐水, 0.2 mL/次/d, 各组分别连续给药 4 周后取材。

### 2.3 指标检测

**2.3.1 小鼠死亡率和肺脏系数测定** 造模后, 每天观察各组小鼠的死亡情况并记录。取材时首先称量小鼠体重, 麻醉小鼠, 迅速打开胸腔, 暴露肺部, 小心摘取肺叶, 并用滤纸吸去残留的血液, 称量全肺湿重, 计算肺脏系数, 肺脏系数 = 全肺湿重 / 体重  $\times 100\%$ 。

**2.3.2 肺组织病理切片观察** 取小鼠肺组织左下叶, 用 4% 甲醛溶液固定 24 h, 常规脱水、石蜡包埋、切片, 进行 HE、Masson 染色, 分别评价炎症、病理改变以及胶原沉积情况。

**2.3.3 肺组织 HYP 含量测定** 取小鼠肺组织左上叶, 放入离心管中称量肺湿重, 再将离心管放入 70 °C 烘箱烘烤肺组织, 至湿重不再发生变化 (约 6 h), 取出离心管, 按照组织原湿重以 1:9 的比例, 加入 2.5 mol/L 的 NaOH 溶液, 用玻璃匀浆器充分研磨, 制备组织匀浆液, 并在管口钻一小孔, 用铝箔纸包住, 经 0.1 kpa, 121 °C 水解 20 min, 将水解液在 4 °C, 12000 rpm 离心 10 min, 取上清作为待测样品, 按照试剂盒说明书进行操作, 在 560 nm 波长处测定吸光度, 并按照标准曲线计算各样本的 HYP 含量。

**2.3.4 肺组织 SOD、MDA 和 GSH-Px 含量的测定** 取小鼠肺组织右上叶, 与 9 倍量生理盐水混合, 用玻璃匀浆器充分研磨, 将组织匀浆在 4 °C, 12000 rpm 离心 10 min, 并根据试剂盒操作说明书测定 SOD、MDA 和 GSH-Px 的含量。

**2.3.5 肺组织  $\alpha$ -SMA 与 COL1A 蛋白表达量的测定** 取切片组织, 用二甲苯和 100%、90%、80%、70%、50% 的梯度浓度酒精进行脱水, 加入柠檬酸盐缓冲液, 热修复 45 min, 滴加阻断剂 - 内源性过氧化物酶; 滴加一抗  $\alpha$ -SMA、COL1A, 稀释比例为 1:500; 滴加二抗, 稀释比例为 1:5000; 加入 DAB 显色液, 去离子水冲洗, 苏木素染色液孵育 1 min; 分化、冲洗返蓝, 梯度脱水、二甲苯透明、封片, 并用 40 倍显微镜观察切片和 Image J 软件分析组织切片图像。

**2.3.6 肺组织  $\alpha$ -SMA 与 COL1A mRNA 表达量的测定** 取小鼠肺组织右中叶, 提取总 RNA, 进行反转录和 qPCR 反应, 反转录反应条件: 37 °C 15 min, 85 °C 5 s; 以 GAPDH 为内参, 进行 qPCR 的扩增, qPCR 反应条件: 95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 重复 40 个循环, 用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  表示  $\alpha$ -SMA 和 COL1A mRNA 相对表达量。其中引物序列见表 1。

**2.3.7 统计学方法** 数据用均值加减标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS 26.0 软件对数据进行正态性检验和方差齐性检验, 若方差齐, 则采用单因素方差分析 (ANOVA); 若方差不齐, 则用非参数检验; 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 炙甘草汤对小鼠死亡率和肺系数的影响

空白组无小鼠死亡, 模型组小鼠一共死亡 7 只, 吡菲尼酮组死亡 4 只, 炙甘草汤组一共死亡 3 只。与空白组相比, 模型组的肺系数显著增加 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比, 炙甘草汤组肺系数显著降低 ( $P < 0.01$ ), 差异具有统计学意义。见表 2。

表 1 引物序列表

Table 1 Primer sequence table

Gene	Primer sequence (5'-3')	Length
α-SMA	Forward Primer: GTCCAGACATCAGGGAGTAA	21
	Reverse Primer: TCGGATACTTCAGCGTCAGGA	21
COL1A	Forward Primer: GCTCCTCTAGGGGCCACT	19
	Reverse Primer: CCACGTCTCACCATTGGGG	19
GAPDH	Forward Primer: AGGTCGGTGTGAACGGATTG	21
	Reverse Primer: TGTAGACCATGTAGTTGAGGTGA	23

表 2 各组小鼠肺系数比较( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 2 Comparison of lung coefficient in each group of mice( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Groups	Lung coefficient
Control group	0.75± 0.02
Model group	1.83± 0.36 <sup>#</sup>
Pifnidone group	0.65± 0.16
Zhigancao decoction group	0.84± 0.20 <sup>**</sup>

Note: compared with blank groups, <sup>#</sup> $P < 0.01$ ; compared with model groups, <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ .

### 3.2 炙甘草汤对肺组织病理变化的影响

3.2.1 HE 染色结果 空白组小鼠肺组织无炎性细胞浸润或偶见炎性细胞,肺泡隔清晰且均匀分布;模型组小鼠肺泡内有大量

炎性细胞浸润,肺泡膈断裂增多,肺泡破坏严重;吡菲尼酮组和炙甘草汤组可见少量炎性细胞浸润,肺组织逐渐修复。见图1。

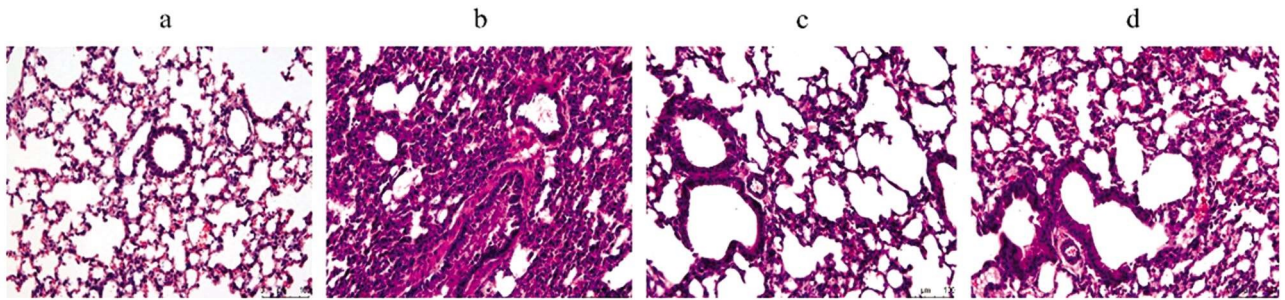


图 1 各组肺组织 HE 染色(20×)

Fig. 1 HE staining of lung tissue of mice in each group (20×)

Note: a, Control group; b, Model group; c, Pifnidone group; d, Zhigancao decoction group.

3.2.2 Masson 染色结果 空白组小鼠无明显胶原纤维沉积,模型组有大量蓝色胶原纤维沉积,肺纤维化程度较重,吡菲尼

酮组和炙甘草汤组有少量蓝色胶原纤维沉积,纤维化明显改善。见图 2。

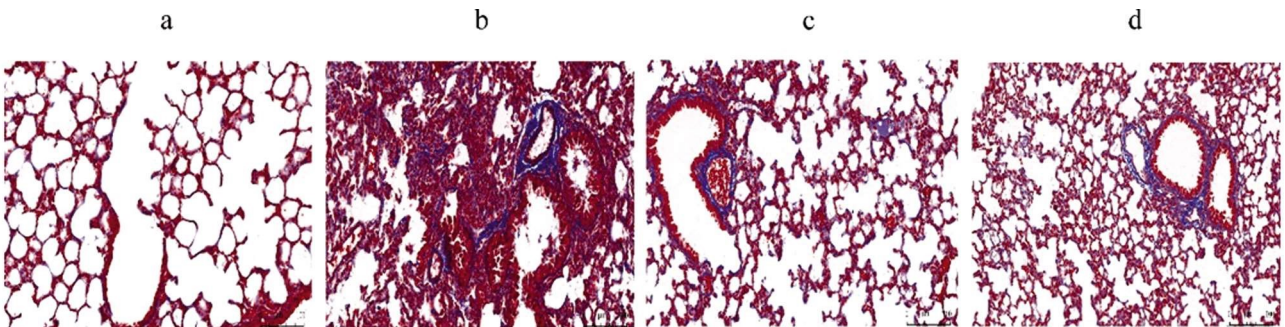


图 2 各组肺组织 Masson 染色(20×)

Fig. 2 Masson staining of lung tissue of mice in each group (20×)

Note: a, Control group; b, Model group; c, Pifnidone group; d, Zhigancao decoction group.

### 3.3 炙甘草汤对肺组织 HYP 含量的影响

与空白组相比, 模型组小鼠肺组织中 HYP 含量显著增加 ( $P<0.01$ ); 与模型组相比, 吡菲尼酮组和炙甘草汤组小鼠肺组织中 HYP 含量均显著降低 ( $P<0.01$ ), 差异具有统计学意义。见表 3。

### 3.4 炙甘草汤对肺组织 SOD、MDA 和 GSH-Px 含量的影响

与空白组相比, 模型组小鼠肺组织中 SOD、GSH-Px 含量明显降低 ( $P<0.01$ ), MDA 含量明显升高 ( $P<0.01$ ), 炙甘草汤

组 SOD 活性明显增强 ( $P<0.05$ ), GSH-Px 活性显著增强 ( $P<0.01$ ), MDA 含量显著降低 ( $P<0.01$ ), 差异均具有统计学意义。见表 4。

### 3.5 炙甘草汤对肺组织 $\alpha$ -SMA 与 COL1A 蛋白表达的影响

与空白组相比, 模型组小鼠肺组织中  $\alpha$ -SMA、COL1A 的蛋白表达量均显著增加 ( $P<0.01$ ); 与模型组相比, 吡菲尼酮组和炙甘草汤组  $\alpha$ -SMA、COL1A 蛋白含量均显著降低 ( $P<0.01$ )。差异具有统计学意义。评分表见表 5, 免疫组化图见图 3。

表 3 各组小鼠 HYP 含量比较 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 3 Comparison of HYP content in each group of mice ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Groups	HYP ( $\mu\text{g/g}$ )
Control group	86.31 $\pm$ 11.11
Model group	130.75 $\pm$ 21.43 <sup>#</sup>
Pifnidone group	71.04 $\pm$ 15.06
Zhigancao decoction group	78.24 $\pm$ 6.90 <sup>**</sup>

Note: compared with blank group, <sup>#</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ .

表 4 各组小鼠 SOD、MDA 和 GSH-Px 含量比较 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 4 Comparison of SOD, MDA and GSH-Px content in each group of mice ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Groups	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)	GSH-Px (nmol/g*min)
Control group	132.06 $\pm$ 12.27	0.65 $\pm$ 0.17	4290.24 $\pm$ 336.58
Model group	79.15 $\pm$ 15.45 <sup>#</sup>	1.59 $\pm$ 0.60 <sup>#</sup>	2202.30 $\pm$ 469.39 <sup>#</sup>
Pifnidone group	143.63 $\pm$ 49.15	1.13 $\pm$ 0.89	6680.99 $\pm$ 1429.83
Zhigancao decoction group	117.89 $\pm$ 17.00 <sup>*</sup>	0.76 $\pm$ 0.13 <sup>**</sup>	4265.60 $\pm$ 545.18 <sup>**</sup>

Note: compared with blank group, <sup>#</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>\*</sup> $P<0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ .

表 5  $\alpha$ -SMA 和 COL1A 免疫组化评分表 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 5 Chemical score table of  $\alpha$ -SMA and COL1A ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Groups	$\alpha$ -SMA	COL1A
Control group	0.45 $\pm$ 0.11	1.60 $\pm$ 0.31
Model group	5.32 $\pm$ 1.08 <sup>#</sup>	15.09 $\pm$ 2.23 <sup>#</sup>
Pifnidone group	1.07 $\pm$ 0.36	2.07 $\pm$ 0.13
Zhigancao decoction group	1.68 $\pm$ 0.31 <sup>**</sup>	4.33 $\pm$ 0.62 <sup>**</sup>

Note: compared with blank group, <sup>#</sup> $P<0.01$ ; compared with model group, <sup>\*\*</sup> $P<0.01$ .

### 3.6 炙甘草汤对肺组织 $\alpha$ -SMA 与 COL1A mRNA 表达的影响

与空白组相比, 模型组小鼠肺组织中  $\alpha$ -SMA、COL1A mRNA 表达量均显著升高 ( $P<0.01$ ); 与模型组相比, 吡菲尼酮组和炙甘草汤组小鼠肺组织中  $\alpha$ -SMA、COL1A mRNA 表达量均显著降低, 差异均具有统计学意义。见表 6。

## 4 讨论

IPF 是一种慢性间质性肺疾病, 中医医家依据患者的临床表现, 将其归属于中医 "肺痹"、"肺痿" 等疾病范畴<sup>[10,11]</sup>。"肺痹" 首见于《黄帝内经》,《素问·玉机真脏论篇》: "今风寒客于人, 使人毫毛毕直……弗治, 病入舍于肺, 名曰肺痹"<sup>[12]</sup>, 陈士铎在《辨证录》中描述: "肺痹之成于气虚, 尽人而不知也……肺病

则气病, 而气病则肺亦病"<sup>[13]</sup>, 表明肺纤维化与气虚有关。肺痿首见于《金匮要略》: "热在上焦者, 因咳为肺痿, 肺痿治病, 何从得之? 师曰: 或从汗出……重亡津液, 故得之", 表明汗、吐、下等多种因素导致津液亏虚是肺痿形成的重要病因<sup>[14]</sup>。《医门法律》有言 "肺痿者, 肺气痿而不振也"<sup>[15]</sup>, 亦表明肺纤维化与气虚联系紧密。由于阴阳互根互用, 阴虚则阳无以化, 因此在肺纤维化的治疗上应着重益气养阴, 滋阴温阳, 达到阴阳平衡。

炙甘草汤由炙甘草、人参、桂枝、麦冬、生地、麻仁、阿胶、黄酒、生姜、大枣等药物组成。本方重用炙甘草, 取其甘温补中之性, 与生地配伍, 以益气养血; 人参、大枣补气养血, 助炙甘草以资化源; 麦冬、阿胶、麻仁滋阴润燥; 桂枝、生姜通阳复脉, 使厚味之品滋而不腻; 清酒煎服, 辛热温通, 引热上行。全方体现了

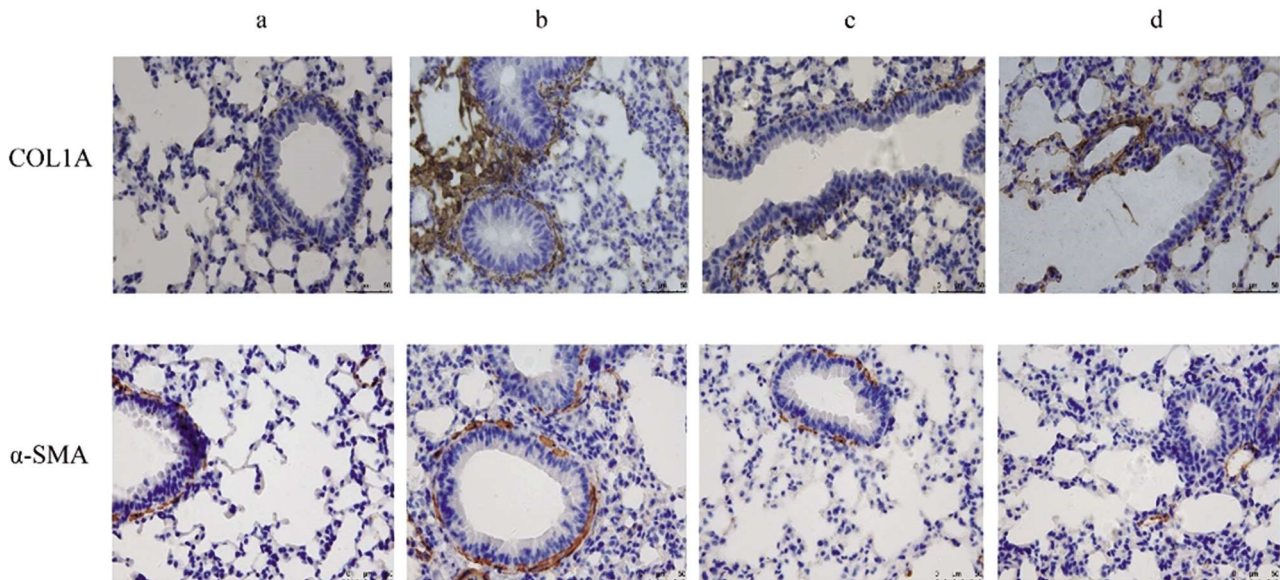


图 3 各组小鼠肺组织 COL1A 和  $\alpha$ -SMA 免疫组化染色(40 $\times$ )

Fig. 3 Immunohistochemical staining of COL1A and  $\alpha$ -SMA in lung tissue of mice in each group (40 $\times$ )

Note: a, Control group; b, Model group; c, Pifnidone group; d, Zhigancao decoction group.

表 6 各组小鼠  $\alpha$ -SMA 和 COL1A mRNA 含量比较 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Table 6 Comparison of  $\alpha$ -SMA and COL1A mRNA content in each group of mice ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

Groups	$\alpha$ -SMA/GAPDH mRNA	COL1A /GAPDH mRNA
Control group	1.02 $\pm$ 0.14	1.08 $\pm$ 0.22
Model group	1.32 $\pm$ 0.09 <sup>#</sup>	2.29 $\pm$ 0.41 <sup>#</sup>
Pifnidone group	0.69 $\pm$ 0.12	1.00 $\pm$ 0.14
Zhigancao decoction group	0.46 $\pm$ 0.19 <sup>**</sup>	0.37 $\pm$ 0.07 <sup>**</sup>

Note: compared with blank group, <sup>#</sup> $P < 0.01$ ; compared with model group, <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ .

益气补血、滋阴温阳之功。本文结果显示,炙甘草汤治疗后,小鼠死亡率和肺系数均降低,肺组织中炎性细胞浸润减少,胶原沉积面积减少,表明炙甘草汤对 IPF 有显著的治疗作用。HYP 是胶原蛋白的主要成分,可以直接反映组织纤维化的程度,HYP 含量越高,纤维化越严重<sup>[16,17]</sup>。MDA 是评估氧化应激的生物标志物和脂质过氧化的代谢产物,可以反映组织细胞氧化损伤的程度<sup>[18]</sup>,与肺功能呈负相关,并可能导致不可逆转的肺损伤<sup>[19]</sup>;SOD 具有消除氧自由基的作用<sup>[20]</sup>,GSH-Px 是细胞内重要的抗氧化酶,维持着氧化和抗氧化的平衡,一旦氧化损伤和抗氧化损伤失衡,就会导致免疫功能下降和炎症发生,使生物膜脂质过氧化,导致大面积细胞损伤和组织器官纤维化<sup>[21]</sup>。本文结果表明,经炙甘草汤治疗后,IPF 小鼠肺组织 HYP 含量显著降低,纤维化减轻;同时 MDA 含量显著降低,SOD 和 GSH-Px 含量显著升高,表明炙甘草汤降低了胶原含量,并可能具有一定的抗氧化能力。

IPF 的发生和发展以成纤维细胞增殖和细胞外基质(ECM)过度沉积为特征<sup>[22]</sup>。成纤维细胞活化是 IPF 进程中的重要环节<sup>[23]</sup>,以 $\alpha$ -SMA 高表达为主要标志<sup>[24]</sup>。COL1A 是细胞外基质的主要成分,由肺成纤维细胞合成与分泌,在致纤维化因素的作用下,COL1A 合成代谢增加,分解代谢减少,导致其在肺组织中不断沉积,加重肺纤维化<sup>[25-27]</sup>。本文结果显示,模型组小鼠肺

组织中  $\alpha$ -SMA、COL1A 蛋白和 mRNA 表达均增加,而炙甘草汤组表达均降低,提示炙甘草汤可能通过抑制成纤维细胞活化,减少细胞外基质沉积而发挥作用。

综上所述,炙甘草汤能降低博来霉素诱导的 IPF 模型小鼠肺组织 HYP、MDA、 $\alpha$ -SMA 与 COL1A 的表达,提高 SOD 和 GSH-Px 的表达,提示炙甘草汤可能通过参与氧化应激,抑制成纤维细胞活化,减少细胞外基质沉积,从而减轻 IPF。本文研究结果为中医药治疗 IPF 提供了新的研究方向。

#### 参 考 文 献(References)

- [1] Alfaro TM, Robalo Cordeiro C. Comorbidity in idiopathic pulmonary fibrosis - what can biomarkers tell us?[J]. Ther Adv Respir Dis, 2020, 14: 1-10
- [2] Ammar R, Sivakumar P, Jarai G, et al. A robust data-driven genomic signature for idiopathic pulmonary fibrosis with applications for translational model selection[J]. PLoS One, 2019, 14(4): e0215565
- [3] Xu X, Dai H, Wang C. Epithelium-dependent profibrotic milieu in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis: current status and future directions[J]. Clin Respir J, 2016, 10(2): 133-141
- [4] Kulkarni T, Willoughby J, Acosta Lara Mdel P. A bundled care approach to patients with idiopathic pulmonary fibrosis improves transplant-free survival[J]. Respir Med, 2016, 115: 33-38
- [5] Witt S, Krauss E, Barbero MAN, et al. Psychometric properties and

- minimal important differences of SF-36 in Idiopathic Pulmonary Fibrosis[J]. *Respir Res*, 2019, 20(1): 47-48
- [6] Fang C, Huang H, Zhang Q. Relation between sex hormones and leucocyte telomere length in men with idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Respirology*, 2020, 25(12): 1265-1273
- [7] Salisbury ML, Conoscenti CS, Culver DA, et al. IPF-PRO Registry principal investigators as follows. Antifibrotic Drug Use in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. Data from the IPF-PRO Registry [J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2020, 17(11): 1413-1423
- [8] 宗晨钟. 真武汤与炙甘草汤对肺纤维化新模型的疗效对比实验[D]. 北京中医药大学, 2019
- [9] 陈以文. 基于“方证相应”思想对两个小鼠肺纤维化模型的比较研究[D]. 北京中医药大学, 2020
- [10] 向仕友, 张金红, 舒孟仙, 等. 中医益气活血散结法治疗特发性肺纤维化疗效及对肺功能、生活质量的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2021, 30(33): 3715-3719
- [11] 王琦, 赵亚茜, 谌晓莉, 等. 中医治疗肺纤维化的研究进展[J]. *河北医学*, 2021, 27(10): 1751-1753
- [12] 李想, 常虹, 石松利, 等. 肺纤维化的中医病机及中医药治疗研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(01): 240-247
- [13] 刘晓明, 高善语, 李芮. 从肾虚湿阻血瘀论治肺纤维化合并新型冠状病毒感染 [J]. *世界科学技术 - 中医药现代化*, 2021, 23(02): 522-525
- [14] 孟令鑫, 吴聪, 温宇龙, 等. 区分肺痿和肺癰论治间质性肺疾病经验[J]. *环球中医药*, 2021, 14(11): 2064-2066
- [15] 童佳欢, 刘肇恒, 龙祀, 等. 黄芪甲苷对博来霉素肺纤维化模型小鼠 miR-29b 及其相关因子表达的影响 [J]. *环球中医药*, 2021, 14(06): 1013-1019
- [16] Chen L, Lan C, Xiao H, et al. Mechanism of Yifei Decoction Combined with MitoQ on Inhibition of TGF $\beta$ 1/NOX4 and PDGF/ROCK Signal Pathway in Idiopathic Pulmonary Fibrosis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021(4): 1-11
- [17] Li S, Shao L, Fang J, et al. Hesperetin attenuates silica-induced lung injury by reducing oxidative damage and inflammatory response[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(4): 297-307
- [18] Nardi J, Nascimento S, Göethel G, et al. Inflammatory and oxidative stress parameters as potential early biomarkers for silicosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2018, 484: 305-313
- [19] Huang H, Chen M, Liu F, et al. N-acetylcysteine therapeutically protects against pulmonary fibrosis in a mouse model of silicosis [J]. *Biosci Rep*, 2019, 39(7): BSR20190681
- [20] 李星, 朱振华, 吴仲敏, 等. PPAR $\gamma$  激活剂对博来霉素诱导小鼠肺纤维化的改善作用 [J]. *中华全科医学*, 2021, 19(09): 1455-1458+1473
- [21] Li L, Cai L, Zheng L, et al. Gefitinib Inhibits Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis via Alleviating the Oxidative Damage in Mice [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018(4): 1-12
- [22] Wuyts WA, Agostini C, Antoniou KM, et al. The pathogenesis of pulmonary fibrosis: a moving target [J]. *Eur Respir J*, 2013, 41(5): 1207-1218
- [23] Wu G, Xie B, Lu C, et al. microRNA-30a attenuates TGF- $\beta$ 1-induced activation of pulmonary fibroblast cell by targeting FAP- $\alpha$  [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(6): 3745-3750
- [24] Yang DX, Qiu J, Zhou HH, et al. Dihydroartemisinin alleviates oxidative stress in bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *Life Sci*, 2018, 205: 176-183
- [25] Tao J, Zhang M, Wen Z, et al. Inhibition of EP300 and DDR1 synergistically alleviates pulmonary fibrosis in vitro and in vivo[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1727-1733
- [26] Murtha LA, Schuliga MJ, Mabotuwana NS, et al. The Processes and Mechanisms of Cardiac and Pulmonary Fibrosis [J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 777
- [27] Li LC, Xu L, Hu Y, et al. Astragaloside IV Improves Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Rats by Attenuating Extracellular Matrix Deposition[J]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 513