

补阳还五汤延缓细胞衰老改善特发性肺纤维化的机制研究[△]

陈 隆*, 渠景连[#](贵州中医药大学基础医学院, 贵阳 550025)

中图分类号 R965;R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2025)10-1186-05
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2025.10.06



摘要 **目的** 探讨补阳还五汤对特发性肺纤维化(IPF)大鼠的改善作用及机制。**方法** 将大鼠随机分为正常组、模型组、吡非尼酮组(阳性对照, 0.162 g/kg)和补阳还五汤低、中、高剂量组(6.435、12.87、25.74 g/kg), 每组6只。除正常组外, 其余各组大鼠采用气管内注射硫酸博来霉素的方法制备IPF大鼠模型。造模成功第2天开始给药, 每天1次, 连续28 d。末次给药后, 观察大鼠肺组织外观形态、病理学形态变化、纤维化情况; 检测大鼠肺组织中细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂2A(P16)、1A(P21)及转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)、Smad同源物3(Smad3)、Smad7、表皮生长因子(EGF)、表皮生长因子受体(EGFR)、基质金属蛋白酶12(MMP-12)、趋化因子配体2(CCL2)、白细胞介素4(IL-4)蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织颜色灰白、质地变硬, 有明显的瘀斑和囊肿; 肺泡间隔增厚、结构被严重破坏, 出现大量炎症细胞浸润, 且纤维化程度严重; 肺组织中胶原沉积分数和P16、P21、TGF- β_1 、Smad3、EGF、EGFR、IL-4蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), Smad7、MMP-12、CCL2蛋白表达水平均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 补阳还五汤各剂量组大鼠肺组织外观、病理学形态、纤维化程度均明显改善, 上述定量指标均显著逆转($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 补阳还五汤可改善大鼠IPF, 其作用机制可能与抑制TGF- β_1 /Smad信号通路活性、延缓细胞衰老有关。

关键词 补阳还五汤; 特发性肺纤维化; 细胞衰老; TGF- β_1 /Smad信号通路

Mechanism of Buyang huanwu tang in improving idiopathic pulmonary fibrosis by delaying cellular senescence

CHEN Long, QU Jinglian (College of Basic Traditional Chinese Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To investigate the improvement effect and mechanism of Buyang huanwu tang on idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) model rats. **METHODS** The rats were randomly divided into normal group, model group, pirfenidone group (positive control, 0.162 g/kg), Buyang huanwu tang low-, medium- and high-dose groups (6.435, 12.87, 25.74 g/kg), with 6 rats in each group. Except for the normal group, IPF model was established in the remaining groups by intratracheal injection of bleomycin sulfate. On the second day after successful modeling, medication was administered once a day for 28 consecutive days. After the last medication, the appearance and morphology, pathological changes, and fibrosis status of the lung tissues in rats were observed. cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (P16), P21, transforming growth factor- β_1 (TGF- β_1), Smad3, Smad7, epidermal growth factor (EGF), epidermal growth factor receptor (EGFR), matrix metalloproteinase 12 (MMP-12), chemokine ligand 2 (CCL2) and interleukin-4 (IL-4) protein expression in lung tissue were all determined. **RESULTS** Compared with the normal group, the lung tissue of rats in the model group exhibited gray-white color, harder texture, obvious bruising and cysts. Additionally, alveolar septa were significantly thickened, their structural integrity severely compromised, accompanied by pronounced infiltration of inflammatory cells and severe pulmonary fibrosis. Collagen volume fraction, protein expressions of P16, P21, TGF- β_1 , Smad3, EGF, EGFR and (IL-4) in lung tissue significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), while Smad7, MMP-12 and CCL2 protein expressions were significantly decreased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, the appearance, pathological morphology, and fibrosis degree of rat lung tissue in Buyang huanwu tang groups were significantly improved, and the above quantitative indicators were significantly reversed ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **CONCLUSIONS** Buyang huanwu tang can ameliorate IPF in rats, and its underlying mechanism may be associated with the inhibition of TGF- β_1 /Smad signaling pathway activity and the attenuation of cellular senescence.

KEYWORDS Buyang huanwu tang; idiopathic pulmonary fibrosis; cellular senescence; TGF- β_1 /Smad signaling pathway

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)

[△] 基金项目 国家自然科学基金项目(No.82160892)

* 第一作者 硕士研究生。研究方向: 中医药防治肺纤维化机制。

E-mail: 2647877588@qq.com

[#] 通信作者 副教授, 博士。研究方向: 名医名方防治肺纤维化机制。

E-mail: qqpsy2009@126.com

是一类慢性、进展性间质肺损伤疾病, 目前认为其发病机制主要包括肺泡上皮细胞损伤修复异常和肌成纤维细胞过度活化, 导致细胞外基质(extracellular matrix, ECM)过度沉积, 形成肺纤维化^[1]。目前, IPF患者的数量呈逐年增加趋势^[2], 因该发病隐匿且肺纤维化不可逆, 患者的中位生存期仅为2~3年^[3]。临床针对IPF的治疗

手段有肺移植和药物治疗,虽然药物治疗能暂缓IPF进程,但对肺部炎症、持续性纤维化等均无显著作用^[4]。

有研究表明,细胞衰老可能是IPF发生的重要因素^[5]。IPF患者肺组织中细胞周期抑制蛋白[如细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂2A(cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, CDKN2A; 简称为P16)、CDKN1A(简称为P21)]表达明显升高,且与IPF的病情严重程度呈正相关^[6];此外,增多的衰老细胞可通过促进衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)等关键效应因子的释放加速IPF发展^[7]。在细胞衰老这一过程中,转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1)/Smad信号通路扮演了重要角色,抑制该信号通路可延缓细胞衰老,从而缓解IPF^[8]。

中医认为IPF属“肺痹”“肺痿”疾病范畴。本课题组前期研究发现,IPF发病的关键环节乃“肺损络伤”,以肺气亏虚为本、痰瘀伏络为标。因此,临床常以益气活血通络疗法为主要治法。补阳还五汤出自清代王清任《医林改错》,是益气活血的代表方剂,具有补而不滞、活血不伤正的特点。近年来,补阳还五汤被广泛用于IPF的治疗,且取得了较好疗效^[9]。基于此,本研究通过建立IPF大鼠模型,从细胞衰老的角度,探究补阳还五汤治疗IPF的作用机制,以期能为临床治疗IPF提供理论基础。

1 材料

1.1 主要仪器

EG1150H型包埋机、RM2265型切片机购自德国Leica公司;H185OR型台式高速冷冻离心机购自湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;BX35型正置光学显微镜购自日本Olympus公司;PowerPac Basic型电泳仪、165-8004型湿法转膜仪、ChemiDoc™型化学发光检测系统均购自美国Bio-Rad公司。

1.2 主要药品与试剂

黄芪、赤芍、川芎、当归、地龙、红花、桃仁饮片(批号分别为211101、210101、210301、220201、211001、211201、20211208)均购自贵阳市同仁堂大南门店,经贵州中医药大学药学院中药鉴定教研室吴之坤教授鉴定为真品。硫酸博来霉素(批号B802467,规格25 mg)、吡非尼酮(批号M823668,纯度98%)均购自上海麦克林生化科技有限公司;兔源TGF- β_1 、Smad同源物3(Smad3)、Smad7、P16、P21、表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)多克隆抗体(批号分别为bs-0086R、bs-3484r、bs-0566R、bs-0740R、bs-55160R、bs-2010R、bs-0165R)均购自北京博奥森生物技术有限公司;鼠源基质金属蛋白酶12(matrix metalloproteinase 12, MMP-12)单克隆抗体(批号sc-390863)购自圣克鲁斯生物技术(上海)有限公司;兔源趋化因子配体2(chemokine ligand 2, CCL2)、白细胞介素4(interleukin-4, IL-4)多克隆抗体,兔源GAPDH单克隆抗体,辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(批号分别为66272-1-Lg、66142-1-Lg、60004-1-Lg、SA00001-2)均购自武汉三鹰生物技术有限公司;苏

木素-伊红(HE)染色液、Masson染色试剂盒(批号分别为G1120、G1340)购自北京索莱宝科技有限公司;免疫组化试剂盒(批号为PV-9000)购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.3 实验动物

本研究所用动物为8周龄SPF级SD大鼠,体重200~220 g,共36只,雌雄各半,均购自长沙市天勤生物技术有限公司,动物生产许可证号为SCXK(湘)2019-0014。大鼠饲养于贵州中医药大学动物实验中心,环境温度(22±2)℃、相对湿度(40±5)%,光照明暗12 h交替饲养。大鼠适应性喂养1周后进行实验,本实验经过贵州中医药大学伦理委员会批准(编号为20220117)。

2 方法

2.1 补阳还五汤药液制备

取黄芪120 g、当归6 g、赤芍4.5 g、地龙3 g、川芎3 g、红花3 g、桃仁3 g混匀,加入10倍量水浸泡1 h,煮沸后以小火煎煮90 min,过滤;再加入10倍量水,煮沸后以小火煎煮1 h,过滤;合并2次滤液,浓缩,即得质量浓度为1.287 g/mL的补阳还五汤药液(以生药量计)。

2.2 分组、造模与给药

将36只大鼠随机分为正常组、模型组、吡非尼酮组(阳性对照,0.162 g/kg,剂量根据临床等效剂量换算)和补阳还五汤低、中、高剂量组(6.435、12.87、25.74 g/kg,其中中剂量为临床等效剂量),每组6只。除正常组外,其余各组大鼠吸入异氟烷麻醉后,参照文献[10]方法构建IPF模型:将大鼠以30°仰卧位固定,用18号套管针经声门插入气管,确认插管成功后,迅速经套管针注射硫酸博来霉素(5 mg/mL),然后快速将大鼠直立并沿纵轴旋转促进药物在其肺内分散;当大鼠出现喜静倦动、皮毛微黄枯燥、口唇爪甲紫绀、摄食饮水量减少、弓背姿态等,表明造模成功。造模成功第2天开始给药,各给药组大鼠灌胃相应药液,正常组大鼠灌胃等体积生理盐水,每天1次,连续28 d。

2.3 取材及肺组织外观形态观察

末次给药后,各组大鼠吸入异氟烷麻醉后处死;取大鼠全肺,以生理盐水冲洗表面,滤纸吸干表面水分,称重并拍照(以观察大鼠肺组织结构、出血、瘀斑等病理改变);然后将左肺置于4%多聚甲醛中固定,右肺置于-80℃条件下冻存,备检。

2.4 肺组织病理学形态观察

将各组大鼠固定的肺组织取出,修剪平整,经梯度乙醇脱水、浸蜡、包埋后,制成厚度为4 μm的切片;取部分切片分别进行HE染色和Masson染色,然后置于光学显微镜下观察肺组织切片的病理学形态变化,并采用Image J软件计算胶原沉积分数(胶原沉积分数=视野下胶原纤维面积/总面积×100%)。

2.5 肺组织中P16、P21、TGF- β_1 、Smad3、Smad7、EGF、EGFR蛋白表达检测

采用免疫组化法进行检测。取“2.4”项下各组3只大鼠切片,经脱蜡至水、抗原修复、阻断后,加入P16、

P21、TGF- β_1 、Smad3、Smad7、EGF、EGFR 一抗(稀释度均为 1:100), 4 °C 孵育过夜; 次日加入相应二抗(稀释度均为 1:100), 室温孵育 20 min; 以 DAB 显色, 经苏木素复染、分化、返蓝、封片后, 采用光学显微镜观察, 并拍照; 采用 Image J 软件测定每个视野下各蛋白阳性染色的平均光密度值, 以表示相应蛋白的表达水平。

2.6 肺组织中 MMP-12、CCL2、IL-4 蛋白表达检测

采用 Western blot 法进行检测。取“2.3”项下各组大鼠冻存肺组织 50 mg, 充分剪碎后, 加入 RIPA 裂解液裂解, 提取总蛋白。以 GAPDH 为内参, 经上样、电泳、转膜和封闭后, 加入 MMP-12、CCL2、IL-4 一抗(稀释度均为 1:1 000), 孵育过夜; 加入相应二抗(稀释度均为 1:1 000), 常温孵育 1 h。经化学发光试剂显色后, 置于凝胶成像系统中成像, 再采用 Image J 软件分析灰度值, 以目的蛋白与内参蛋白(GAPDH)的灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

2.7 统计学方法

采用 GraphPad Prism 10.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 补阳还五汤对 IPF 大鼠肺组织外观形态的影响

正常组大鼠肺组织的结构正常、光滑红润、柔软有弹性; 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织的颜色灰白、质地变硬, 有明显的瘀斑和囊肿; 吡非尼酮组和补阳还五汤各剂量组大鼠肺组织的外观形态均较模型组有所改善, 且随着补阳还五汤剂量的增加, 改善效果越明显, 其中补阳还五汤中、高剂量组大鼠肺组织的外观形态与吡非尼酮组相似。结果见图 1。

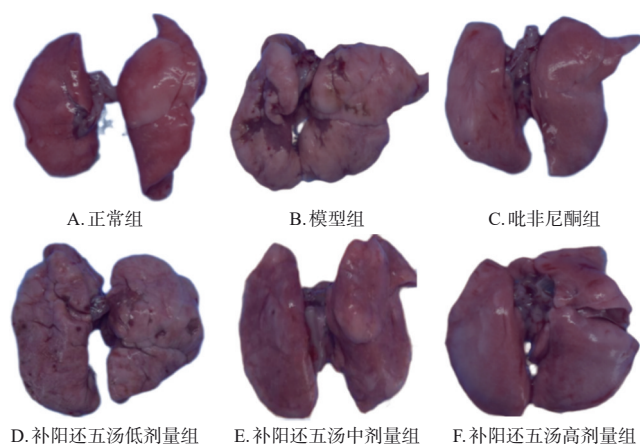


图 1 大鼠肺组织外观形态学观察

3.2 补阳还五汤对 IPF 大鼠肺组织病理学形态的影响

HE 染色结果显示, 正常组大鼠肺组织正常; 模型组大鼠肺组织中肺泡间隔增厚、肺血管基底膜增厚, 肺泡结构被严重破坏, 肺实质结构紊乱, 有大量的炎症细胞

浸润; 与模型组比较, 吡非尼酮组和补阳还五汤各剂量组大鼠肺组织损伤均明显减轻, 仅有少部分肺泡结构被破坏, 肺实质结构规则, 炎症细胞浸润明显减少, 其中补阳还五汤中、高剂量组大鼠肺组织改善情况与吡非尼酮组相似。结果见图 2。

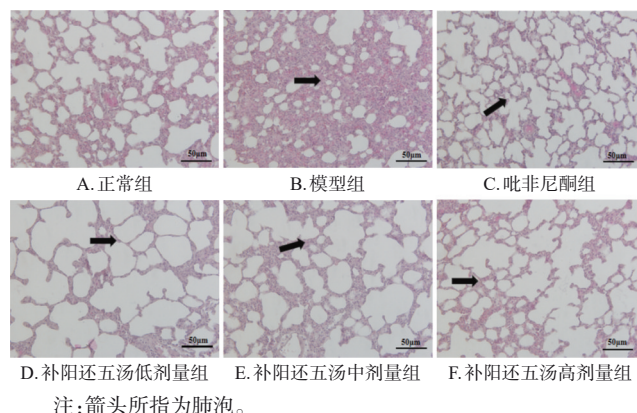


图 2 大鼠肺组织病理学形态 HE 染色显微图

Masson 染色结果显示, 正常组大鼠肺组织有少量纤维化[胶原沉积分数为 $(1.118 \pm 0.087)\%$]; 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织可见大量的胶原纤维增生, 纤维化程度明显, 胶原沉积分数 $[(1.531 \pm 0.093)\%]$ 显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 吡非尼酮组和补阳还五汤低、中、高剂量组大鼠纤维化程度减弱, 胶原沉积分数 $[(1.137 \pm 0.091)\%、(1.309 \pm 0.121)\%、(1.207 \pm 0.045)\%、(1.246 \pm 0.122)\%]$ 均显著降低 ($P < 0.01$)。结果见图 3。

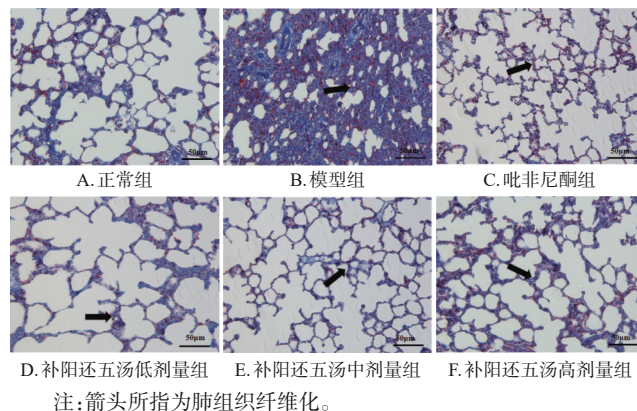


图 3 大鼠肺组织病理学形态 Masson 染色显微图

3.3 补阳还五汤对 IPF 大鼠肺组织中 P16、P21、TGF- β_1 、Smad3、Smad7、EGF、EGFR 表达的影响

与正常组比较, 模型组大鼠肺组织中 P16、P21、TGF- β_1 、Smad3、EGF、EGFR 蛋白表达水平均显著升高 ($P < 0.05$), Smad7 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 吡非尼酮组和补阳还五汤各剂量组大鼠肺组织中 P16、P21、TGF- β_1 、Smad3、EGF、EGFR 蛋白表达水平均显著降低 ($P < 0.05$), Smad7 蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。结果见图 4(鉴于篇幅有限, 仅展示 P16、P21、TGF- β_1 蛋白表达的免疫组化图)、表 1。

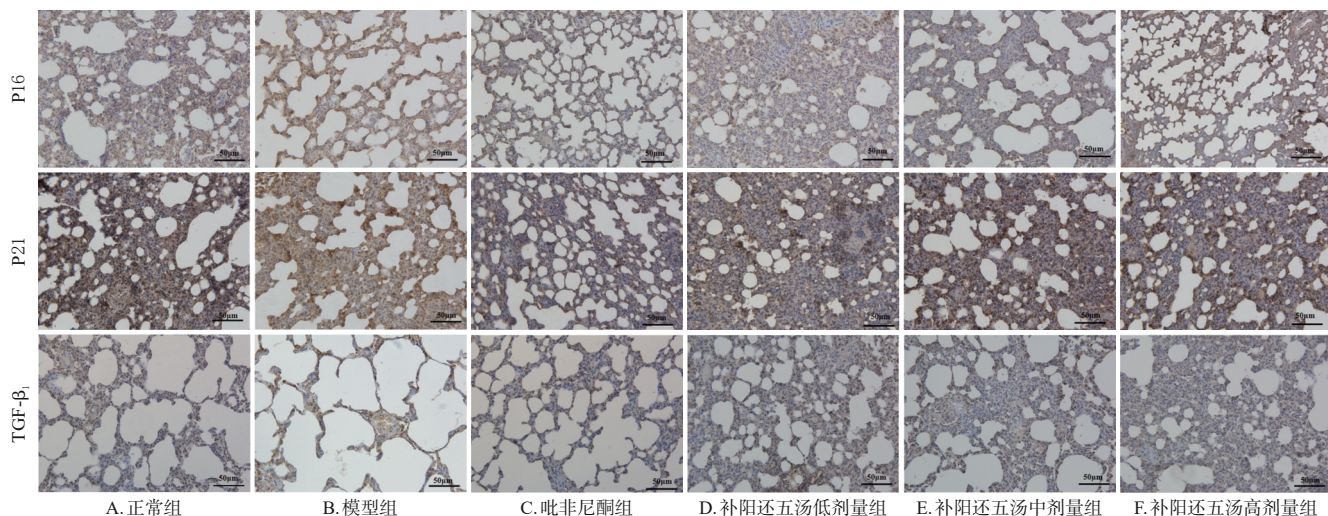


图4 各组大鼠肺组织中P16、P21、TGF-β₁蛋白表达的免疫组化图

表1 各组大鼠肺组织中P16、P21、TGF-β₁、Smad3、Smad7、EGF、EGFR蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	P16	P21	TGF-β ₁	Smad7	Smad3	EGF	EGFR
正常组	158.300 ± 0.728	125.000 ± 4.003	161.100 ± 1.692	171.700 ± 4.434	113.600 ± 11.390	168.700 ± 5.432	178.700 ± 10.37
模型组	180.500 ± 3.204 ^a	157.800 ± 6.008 ^a	203.300 ± 4.648 ^a	144.400 ± 6.142 ^a	145.800 ± 12.050 ^a	204.000 ± 2.264 ^a	217.500 ± 4.959 ^a
吡非尼酮组	165.200 ± 5.064 ^b	130.200 ± 7.161 ^b	151.000 ± 9.535 ^b	164.100 ± 1.641 ^b	105.000 ± 7.986 ^b	168.900 ± 2.212 ^b	179.500 ± 16.23 ^b
补阳还五汤低剂量组	165.700 ± 5.117 ^b	137.400 ± 8.734 ^b	150.300 ± 7.213 ^b	164.100 ± 6.408 ^b	109.400 ± 5.751 ^b	171.100 ± 4.332 ^b	183.100 ± 4.667 ^b
补阳还五汤中剂量组	162.400 ± 1.576 ^b	132.200 ± 7.517 ^b	152.500 ± 2.450 ^b	165.400 ± 3.076 ^b	114.500 ± 3.042 ^b	173.800 ± 14.80 ^b	167.000 ± 11.30 ^b
补阳还五汤高剂量组	162.200 ± 3.621 ^b	132.797 ± 7.338 ^b	153.900 ± 6.677 ^b	162.000 ± 2.745 ^b	121.200 ± 4.790 ^b	178.000 ± 6.971 ^b	159.500 ± 17.12 ^b

a: 与正常组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$ 。

3.4 补阳还五汤对IPF大鼠肺组织中MMP-12、CCL2、IL-4蛋白表达的影响

与正常组比较, 模型组大鼠肺组织中MMP-12、CCL2蛋白表达水平均显著降低($P < 0.01$), IL-4蛋白表达水平显著升高($P < 0.01$); 与模型组比较, 吡非尼酮组和补阳还五汤各剂量组大鼠肺组织中MMP-12、CCL2蛋白表达水平均显著升高($P < 0.01$), IL-4蛋白表达水平均显著降低($P < 0.01$)。结果见图5、表2。

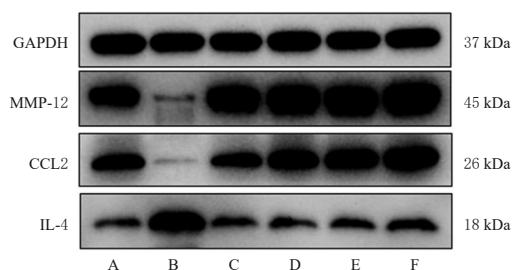


图5 各组大鼠肺组织中MMP-12、CCL2、IL-4蛋白表达的电泳图

4 讨论

IPF是一种慢性进行性间质性肺病, 多见于中老年人群, 因其治疗手段有限、预后不良, 严重威胁患者生命健康, 因此探寻IPF的有效治疗方法是目前学者们研究的热点。硫酸博来霉素诱导的IPF模型与人类IPF发生发展的病理进程最为相符, 故本研究采用气道注射硫酸博来霉素的方法复制IPF模型, 以研究补阳还五汤对IPF大鼠的改善作用。本研究结果显示, 模型组大鼠肺组织

表2 各组大鼠肺组织中MMP-12、CCL2、IL-4蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	MMP-12/GAPDH	CCL2/GAPDH	IL-4/GAPDH
正常组	0.732 ± 0.116	0.851 ± 0.148	0.604 ± 0.132
模型组	0.403 ± 0.186 ^a	0.156 ± 0.137 ^a	1.098 ± 0.195 ^a
吡非尼酮组	0.965 ± 0.229 ^b	0.739 ± 0.144 ^b	0.460 ± 0.092 ^b
补阳还五汤低剂量组	0.944 ± 0.136 ^b	0.748 ± 0.147 ^b	0.658 ± 0.195 ^b
补阳还五汤中剂量组	0.970 ± 0.074 ^b	0.830 ± 0.157 ^b	0.460 ± 0.150 ^b
补阳还五汤高剂量组	0.974 ± 0.165 ^b	0.913 ± 0.213 ^b	0.469 ± 0.155 ^b

a: 与正常组比较, $P < 0.01$; b: 与模型组比较, $P < 0.01$ 。

颜色灰白、质地变硬, 有明显的瘀斑; 进一步HE染色和Masson染色结果显示, 模型组大鼠肺泡结构被严重破坏, 肺组织存在大量炎症细胞浸润, 纤维化程度明显。

目前, 细胞衰老已被认为是IPF发生的重要机制^[5]。本课题组前期研究发现, P16、P21与细胞衰老密切相关, 激活P16、P21蛋白表达, 可导致细胞周期停滞^[11]。因此, 抑制P16、P21蛋白表达是延缓细胞衰老的有效方法。衰老细胞可通过表达SASP, 促进炎症因子、趋化因子、生长因子等的表达, 从而加速IPF发展^[7]。IL-4是重要的促纤维化因子, 研究指出, 成纤维细胞中的IL-4结合相应受体后, 可在M2极化巨噬细胞中激活相关通路, 进而加速IPF^[12]。CCL2可募集纤维细胞向肺泡损伤部位迁移分化为成纤维细胞并产生过多的ECM从而促进IPF发展^[13]。MMP-12是ECM降解的主要效应物, IPF发生时, ECM出现大量沉积, MMP-12蛋白表达水平降低^[14]。本研究结果显示, 与正常组比较, 模型组大鼠肺组织中P21、P16蛋白表达水平显著升高, 说明IPF大鼠表现出细胞衰老过程; 进一步发现, 模型组大鼠肺组织中IL-4

蛋白表达水平升高,CCL2、MMP12-蛋白表达水平降低,说明IPF过程分泌大量SASP。

有研究发现,衰老周期抑制蛋白和TGF- β_1 /Smad信号通路密切相关,敲除P16可抑制TGF- β_1 相关通路活性,进而改善肺纤维化模型小鼠的衰老相关肺纤维化^[15]。有研究发现,Smad7是一种负性调控因子,在TGF- β_1 /Smad信号通路中参与逆向改善机制,其表达升高可抑制此通路信号转导^[16]。此外,衰老细胞可分泌EGF使上皮细胞和内皮细胞所处的微环境发生转变^[17]。TGF- β_1 属于EGF家族中的成员,与EGF的表达呈正相关,有研究发现,EGF可以促进TGF- β_1 的产生,进而加速组织纤维化^[18]。EGFR是一种多功能的信号转导子,与细胞衰老密切相关^[19],过量的EGFR可促进TGF- β_1 的表达,加速纤维化^[20]。本研究结果显示,与正常组比较,模型组大鼠肺组织中TGF- β_1 、Smad3、EGF、EGFR蛋白表达水平升高,Smad7蛋白表达水平降低,说明TGF- β_1 /Smad信号通路被激活。

IPF的治疗以益气活血为主,补阳还五汤为益气活血的代表方剂。方中君药黄芪补气行血;臣药当归活血通络;佐药赤芍、川芎、桃仁、红花化瘀,地龙通络;诸药共奏益气活血、化瘀通络的功效。本研究结果显示,经补阳还五汤干预后,IPF大鼠肺组织外观和病理学形态均明显改善,炎症细胞浸润减少,肺纤维化程度减弱;肺组织中P16、P21、IL-4蛋白表达下调,CCL-2、MMP-12蛋白表达上调,提示补阳还五汤可抑制IPF大鼠肺组织细胞衰老。进一步研究发现,补阳还五汤还可下调TGF- β_1 、Smad3、EGF、EGFR蛋白表达,上调Smad7蛋白表达,提示抑制TGF- β_1 /Smad信号通路活性,可能是补阳还五汤延缓IPF大鼠细胞衰老的机制之一。

综上所述,补阳还五汤可改善大鼠IPF,其作用机制可能与抑制TGF- β_1 /Smad信号通路活性、延缓细胞衰老有关。

参考文献

[1] MEI Q R, LIU Z, ZUO H, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: an update on pathogenesis[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 12: 797292.

[2] HARARI S, DAVI M, BIFFI A, et al. Epidemiology of idiopathic pulmonary fibrosis: a population-based study in primary care[J]. *Intern Emerg Med*, 2020, 15(3): 437-445.

[3] OKUNO D, SAKAMOTO N, AKIYAMA Y, et al. Two distinct mechanisms underlying $\gamma\delta$ T cell-mediated regulation of collagen type I in lung fibroblasts[J]. *Cells*, 2022, 11(18): 2816.

[4] VANCHERI C, KREUTER M, RICHELDI L, et al. Nintedanib with add-on pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis: results of the INJOURNEY trial[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 197(3): 356-363.

[5] YAO C F, GUAN X R, CARRARO G, et al. Senescence of alveolar type 2 cells drives progressive pulmonary fibrosis[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2021, 203(6): 707-717.

[6] ÁLVAREZ D, CÁRDENES N, SELLARÉS J, et al. IPF lung fibroblasts have a senescent phenotype[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2017, 313(6): L1164-L1173.

[7] PHAN T H G, PALIOGIANNIS P, NASRALLAH G K, et al. Emerging cellular and molecular determinants of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(5): 2031-2057.

[8] YUAN J H, MA Y, YUAN L H, et al. Baicalein attenuates bleomycin-induced lung fibroblast senescence and lung fibrosis through restoration of Sirt3 expression[J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1): 288-297.

[9] 赵惠亮, 渠景连. 补阳还五汤在特发性肺纤维化中的应用探讨[J]. *辽宁中医杂志*, 2021, 48(10): 53-59.

[10] LIU T J, DE LOS SANTOS F G, PHAN S H. The bleomycin model of pulmonary fibrosis[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1627: 27-42.

[11] 李洋, 周禹, 张振豪, 等. 补阳还五汤防治特发性肺纤维化机制研究[J]. *国医论坛*, 2023, 38(5): 68-72.

[12] XU L P, ZHANG Y, DAI Q D, et al. Scorpion venom polypeptide governs alveolar macrophage M1/M2 polarization to alleviate pulmonary fibrosis[J]. *Tissue Cell*, 2022, 79: 101939.

[13] YANG J B, AGARWAL M, LING S, et al. Diverse injury pathways induce alveolar epithelial cell CCL2/12, which promotes lung fibrosis[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2020, 62(5): 622-632.

[14] LI G Q, JIN F Q, DU J X, et al. Macrophage-secreted TSLP and MMP9 promote bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2019, 366: 10-16.

[15] GU X, MENG H Y, PENG C Y, et al. Inflammasome activation and metabolic remodelling in p16-positive aging cells aggravates high-fat diet-induced lung fibrosis by inhibiting NEDD4L-mediated K48-polyubiquitin-dependent degradation of SGK1[J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13(6): e1308.

[16] AN M J, ZHENG H H, HUANG J, et al. Aberrant nuclear export of circNCOR1 underlies SMAD7-mediated lymph node metastasis of bladder cancer[J]. *Cancer Res*, 2022, 82(12): 2239-2253.

[17] 董丹, 张立, 邹洪斌. 衰老与EMT关系及限食和二甲双胍对二者作用[J]. *中国公共卫生*, 2011, 27(11): 1439-1441.

[18] 鲁佳伟. 表皮生长因子调控肺腺癌IRF-1表达的生物学作用和机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2021.

[19] COCHARD L M, LEVROS L C Jr, JOPPÉ S E, et al. Manipulation of EGFR-induced signaling for the recruitment of quiescent neural stem cells in the adult mouse forebrain[J]. *Front Neurosci*, 2021, 15: 621076.

[20] 张康, 赵婷婷, 张波, 等. 基于网络药理学探究布地奈德治疗IgA肾病的作用机制[J]. *中国全科医学*, 2023, 26(35): 4453-4458, 4463.

(收稿日期:2024-12-09 修回日期:2025-04-16)

(编辑:唐晓莲)