

黄芩总黄酮对博莱霉素致大鼠肺纤维化的干预作用及其机制研究

蔡 健^{1,2}, 顾振纶^{1,2*}, 蒋小岗^{1,2}, 周 艳^{1,2}, 郭次仪^{2,3}

1. 苏州大学医学部 药理学系, 江苏 苏州 215123

2. 苏州中药研究所, 江苏 苏州 215007

3. 香港保健协会, 香港 中国

摘 要: **目的** 观察黄芩总黄酮对博莱霉素致大鼠肺纤维化的影响及其作用机制。**方法** SD大鼠随机分为5组: 对照组、模型组、泼尼松龙阳性对照(3.34 mg/kg)组、黄芩总黄酮高剂量和低剂量(50、25 mg/kg)组。大鼠气管内注射博莱霉素制备肺纤维化模型后, 各给药组ig给予相应药物, 每天给药1次。28 d后处死动物, 观察大鼠血清中总抗氧化能力(T-AOC)、还原性谷胱甘肽(GSH)、髓过氧化物酶(MPO)的水平; 取固定部位肺组织分别行HE、Masson染色, 进行病理组织学检查; RT-PCR法检测黄芩总黄酮对大鼠肺组织中TGF- β 1、Smad2、Smad7、 α -SMA、胶原I的mRNA表达水平。**结果** 与模型组相比, 黄芩总黄酮给药组大鼠血清中T-AOC、GSH水平均升高, MPO水平显著降低; 肺泡炎和肺纤维化程度明显减轻($P<0.05, 0.01$); TGF- β 1、Smad2、 α -SMA、胶原I基因表达显著降低, Smad7表达显著升高($P<0.05, 0.01$)。**结论** 黄芩总黄酮对博莱霉素所致大鼠肺纤维化具有一定的治疗作用, 其机制可能与抗氧化损伤、抑制炎症细胞的浸润活化及调控TGF- β 1/Smad信号通路有关。

关键词: 黄芩总黄酮; 肺纤维化; TGF- β 1/Smad信号通路; 抗氧化; 博莱霉素

中图分类号: R282.710.5

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)01-0119-06

Influence of total flavonoids from *Scutellaria baicalensis* on Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats and its mechanism

CAI Jian^{1,2}, GU Zhen-lun^{1,2}, JIANG Xiao-gang^{1,2}, ZHOU Yan^{1,2}, GUO Ci-yi^{2,3}

1. Department of Pharmacology, Medical College of Suzhou University, Suzhou 215123, China

2. Suzhou Institute of Chinese Materia Medica, Suzhou 215007, China

3. The Hong Kong Association for Health Care, Hong Kong, China

Abstract: **Objective** To observe the influence of total flavonoids from *Scutellaria baicalensis* (TFSB) on Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats and investigate the relative mechanism. **Methods** The pulmonary fibrosis model was established by intratracheal injection of Bleomycin. After 28 d, rats with TFSB treatment by ig administration once a day were killed. The levels of T-AOC, GSH, and MPO in serum were measured and analyzed and the fixed parts of the lung tissue were obtained for HE and Masson staining for histopathological examination. The influences of TFSB on the expression of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), Smad2, Smad7, α -SMA, and Collagen I mRNA in lung tissue of rats with Bleomycin-induced pulmonary fibrosis were assayed by RT-PCR. **Results** Compared with the model group, the levels of T-AOC and GSH in serum were dramatically increased and the level of MPO was decreased remarkably after TFSB treatment; The alveolitis and fibrosis extent were attenuated after TFSB treatment ($P<0.05, 0.01$), and the expression levels of TGF- β 1, Smad2, α -SMA, and Collagen I mRNA were decreased, and the expression level of Smad7 mRNA was increased ($P<0.05, 0.01$) significantly. **Conclusion** TFSB could have mitigable effect on Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. The mechanisms might be related to the anti-oxidative damage, the inhibition of activation of inflammatory cell infiltration, and the regulation of TGF- β 1/Smad signal pathway.

Key words: total flavonoids of *Scutellaria baicalensis* Georgi (TFSB); pulmonary fibrosis; TGF- β 1/Smad signal pathway; anti-oxidant; Bleomycin

肺纤维化是一种由多种原因引起的慢性过程性肺部疾病, 患者平均生存期为3年左右。由原发性肺纤维化, 其病理过程表现特征主要为弥漫性肺泡

收稿日期: 2011-08-30

基金项目: 香港保健协会研究资助项目(2005091622HK); 江苏省中医药管理局资助项目(HZ07088); 苏州市科技局资助项目(SZ08088)

作者简介: 蔡 健(1985—), 男, 江苏南通人, 硕士研究生, 研究方向为肺纤维化。Tel: 15195607858 E-mail: caijian210@163.com

*通讯作者 顾振纶 E-mail: zhenlungu.2003@163.com

炎和肺泡结构紊乱,肺间质细胞外基质蛋白的过度沉积,最终导致气道损伤和呼吸衰竭^[1-2]。虽然肺纤维化机制尚未完全阐明,但炎症、氧化应激和 TGF- β 1/Smad 信号介导在肺纤维化发病机制中起重要作用^[3],且目前尚无切实有效的治疗方法。

黄芩总黄酮 (total flavonoids of *Scutellaria baicalensis* Georgi, TFSB) 是从唇形科植物黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 干燥根中提取的有效部位,是黄芩提取物的主要成分,主要含黄芩苷、黄芩素、汉黄芩素等,具有抗氧化、抗肿瘤、抗炎、抗过敏、防治心血管疾病、抗菌、抗病毒等作用^[4-5]。有研究显示,黄芩茎叶总黄酮对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化具有保护作用^[6]。本实验用黄芩总黄酮对实验性大鼠肺纤维化进行干预,探讨其疗效和相关机制。

1 材料

1.1 药品与试剂

黄芩总黄酮 (质量分数 80%), 购于南京泽郎医药科技有限公司,批号 090629; 博莱霉素 A₅, 白色冻干粉末, 15 mg/支, 日本化药株式会社生产, 批号 640110; 醋酸泼尼松龙片, 5 mg/片, 江苏徐州平光制药有限责任公司, 批号 080140; 总抗氧化能力 (T-AOC)、谷胱甘肽 (GSH)、髓过氧化物酶 (MPO) 测定试剂盒, 购自南京建成生物工程公司。Trizol RNA 提取液、逆转录试剂盒、Taq 聚合酶, 购自大连 TaKaRa 公司。

1.2 动物

SD 大鼠, 雄性, 清洁级, 体质量 240~280 g, 由上海斯莱克实验动物有限公司提供, 合格证号: 2007000516945, 许可证号: SCXK (沪) 2009-005。

1.3 主要仪器

T6 新世纪紫外可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; XHF—D 高速分散器 (内切式匀浆机), 宁波新芝生物科技股份有限公司; X71 型倒置荧光显微镜, 日本 Olympus 公司; H—1650 台式高速离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; Fresco 21 型高速微量台式冷冻离心机, Thermo 公司; Tanon—2500 型凝胶成像系统, 上海天能科技有限公司; MyCycler Thermal Cycler 基因扩增仪, BIO-RAD 公司。

2 方法

2.1 肺纤维化大鼠模型制备、分组与给药

模型制备: 大鼠 ip 4% 水合氯醛 0.01 mL/g 麻醉, 在无菌条件下行颈部正中切口, 分离气管, 向气管

内缓慢注射博莱霉素 4.5 mg/kg, 对照组注入等体积的生理盐水, 注射后立刻缝合切口并消毒处理, 将大鼠直立旋转 3 min, 使药液在肺中分布均匀, 清醒后常规饲养。大鼠 40 只随机分为 5 组 (每组 8 只), 分别为对照组、模型组、醋酸泼尼松龙阳性对照 (3.34 mg/kg) 组、黄芩总黄酮高剂量和低剂量 (50、25 mg/kg) 组, 每日 ig 给药 1 次, 连续 28 d。对照组和模型组 ig 等体积蒸馏水。观察各组大鼠在给药 28 d 期间体质量、毛色、呼吸状态等的变化。

2.2 肺纤维化大鼠血液相关生化指标检测

给药 28 d 后, 大鼠麻醉, 腹主动脉取血, 离心制备血清, 检测血清中 T-AOC、GSH、MPO 水平, 各血液生化指标均严格按照试剂盒说明书操作检测。

2.3 肺组织病理学观察

采集血样后处死各组大鼠, 取右肺下叶用 4% 甲醛固定, 乙醇梯度脱水, 石蜡包埋切片, 行 HE 和 Masson 染色, 镜下 (200 $\times$) 观察肺组织形态的变化。参照 Szapiel 等^[7]的方法, 采用单盲法从每组肺纤维化样本中随机检查 8 个视野观察肺泡炎并计分: 0 级, 无明显病理改变, 肺泡结构清晰, 肺泡透亮, 肺泡间隔正常; 1 级, 轻度病理改变, 肺泡结构略有紊乱, 肺泡间隔因炎性细胞浸润和成纤维细胞增生而增宽, 少量炎性细胞浸润, 病变范围小于全肺的 20%; 2 级, 中度病理改变, 肺泡结构紊乱, 肺泡间隔明显增宽, 少量炎性细胞浸润, 病变范围占全肺的 20%~50%; 3 级, 重度病理改变, 肺泡结构紊乱, 肺泡融合, 肺泡间隔显著增宽, 炎性细胞浸润, 成纤维细胞增生, 大量胶原纤维沉积, 病变范围占全肺的 50% 以上。采用 Ashcroft 等^[8]和 Hübner 等^[9]的方法, 采用单盲法从每组肺纤维化样本中随机检查 8 个视野 (200 $\times$) 观察肺纤维化程度: 0 级, 正常肺; 1 级, 肺泡轻微肿胀, 局部轻微纤维出现; 2 级, 明显的纤维化出现 (肺泡壁大于正常的 3 倍), 出现纤维灶; 3 级, 连续的纤维区域 (肺泡壁大于正常 3 倍); 4 级, 出现纤维灶, 面积小于 10%; 5 级, 纤维灶融合, 纤维面积 10%~50%, 肺泡结构破坏显著; 6 级, 大片连续的纤维灶 (大于 50%); 7 级, 肺泡空隙消失, 肺泡腔充斥纤维组织; 8 级, 完全纤维化; 1 级计 1 分, 每组 8 个样本分别评分, 并求平均值。

2.4 肺纤维化大鼠 TGF- β 1/Smad 信号通路相关基因表达检测

正确提取 RNA, 计算浓度后按照逆转录体系和

条件合成 cDNA, 并转录成 DNA, 最后 PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 结束后于全自动凝胶成像分析系统进行灰度扫描并利用 SigmaScan Pro 5 软

件计算目的基因 mRNA 相对表达值(目的基因与内参基因条带灰度值比值)。实验重复 3 次。PCR 引物设计和 PCR 扩增程序分别见表 1 和 2。

表 1 PCR 扩增引物

Table 1 Primers used for PCR amplification

基 因	引物序列	片段长度 / bp
GAPDH	正向引物 5'-GTATGACGTGGAGTCTACTG-3' 反向引物 5'-TACTCCTTGGAGGCCATGTA-3'	728
Smad2	正向引物 5'-GATGACTATACCCACTCCATTCC-3' 反向引物 5'-CGCACTATCACTTAGGCACTCG-3'	483
TGF- β 1	正向引物 5'-CTTCAGCTCCACAGAGAAGAACTGC-3' 反向引物 5'-CACGATCATGTTGGACAAGTCTCC-3'	299
Smad7	正向引物 5'-ACAATAACTTGGACCTACAGCC-3' 反向引物 5'-GTCAACTGGTAGACAGCCTCA-3'	318
α -SMA	正向引物 5'-TGACTACTGCTGAGCGTGAGAT-3' 反向引物 5'-TGCTGTTATAGGTGGTTTCGTG-3'	243
胶原 I	正向引物 5'-GGTGGTTATGACTTCAGCTTCC-3' 反向引物 5'-ATGCTCTCTCCAAACCAGACAT-3'	410

表 2 PCR 扩增程序

Table 2 Amplification procedure used for PCR

基 因	反应条件
GAPDH	95 °C, 8 min→95 °C, 30 s; 60 °C, 30 s; 72 °C, 60 s, 31 个循环→72 °C, 10 min→4 °C
Smad2	95 °C, 8 min→95 °C, 30 s; 54 °C, 30 s; 72 °C, 60 s, 31 个循环→72 °C, 10 min→4 °C
TGF- β 1	95 °C, 8 min→95 °C, 30 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 60 s, 31 个循环→72 °C, 10 min→4 °C
Smad7	95 °C, 8 min→95 °C, 30 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 60 s, 31 个循环→72 °C, 10 min→4 °C
α -SMA	95 °C, 8 min→95 °C, 30 s; 55 °C, 30 s; 72 °C, 60 s, 31 个循环→72 °C, 10 min→4 °C
胶原 I	95 °C, 8 min→95 °C, 30 s; 60 °C, 30 s; 72 °C, 60 s, 31 个循环→72 °C, 10 min→4 °C

2.5 统计学处理

等级计数资料转化为计量资料, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异采用 SPSS 16.0 统计软件进行单因素方差分析。

3 结果

3.1 大鼠一般行为观察

对照组大鼠活动灵活, 精神状态佳, 进食、进水正常, 毛色泽光亮、洁净, 实验期间体质量稳定增加。模型组大鼠造模后随着时间的延长呼吸急促, 进食、进水量减少或不进, 精神反应差, 行为灵敏度降低, 行动协调性差, 攻击性低, 少动, 毛蓬松, 毛色污秽, 鼠尾、鼠爪出现紫绀等, 造模后 1~3 d 症状最重。黄芩总黄酮各给药组和泼尼松组大鼠身体状况明显好于模型组。

3.2 对肺纤维化大鼠血清相关生化指标的影响

与对照组比较, 模型组肺纤维化大鼠血清中的 T-AOC 和 GSH 水平显著降低 ($P < 0.01$), MPO 水平显著升高 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 黄芩总黄酮 25、50 mg/kg 组肺纤维化模型大鼠的 T-AOC、GSH 水平明显升高 ($P < 0.05$ 、 0.01), 黄芩总黄酮 50 mg/kg 组 MPO 水平明显降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 醋酸泼尼松龙效果显著 ($P < 0.01$)。结果见表 3。

3.3 对肺纤维化大鼠肺组织病理形态学的影响

肉眼观察可见, 对照组大鼠肺表面光滑、呈粉红色, 肺形态正常; 模型组双肺颜色暗淡、体积膨大、弹性较差、表面凹凸不平, 可见小片状凹凸不平苍白灶, 偶见肺大疱。给药 28 d 后, 醋酸泼尼松

表 3 黄芩总黄酮对肺纤维化大鼠血清 T-AOC、GSH、MPO 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Table 3 Effect of TFSB on levels of T-AOC, GSH, and MPO in serum of pulmonary fibrosis rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	T-AOC / (U·mL ⁻¹)	GSH / (g·L ⁻¹)	MPO / (U·L ⁻¹)
对照	—	11.29 ± 2.49	0.50 ± 0.05	22.75 ± 10.53
模型	—	6.70 ± 0.86 ^{▲▲}	0.34 ± 0.13 ^{▲▲}	39.17 ± 6.81 ^{▲▲}
黄芩总黄酮	25	8.21 ± 1.56 [*]	0.45 ± 0.09 [*]	35.59 ± 4.48
	50	8.87 ± 1.03 ^{**}	0.47 ± 0.09 [*]	33.05 ± 4.46 [*]
醋酸泼尼松龙	3.34	9.73 ± 0.82 ^{**}	0.46 ± 0.06 [*]	25.43 ± 4.89 ^{**}

与对照组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

龙组及黄芩总黄酮各组大鼠双肺弹性较好、体积无明显改变、呈不同程度的苍白,但总体好于模型组。

光镜下可见,对照组大鼠肺组织结构清晰,肺泡上皮细胞结构完整。模型组大鼠肺部有较多出血灶,肺泡隔增宽,炎性细胞浸润,巨噬细胞活化,肺体积明显增大,纤维化程度明显增加 ($P < 0.01$),形成弥散性肺纤维化,胶原纤维的量显著增加,细胞外基质沉积,肺泡断裂、融合、结构破坏明显。给药 28 d 后,黄芩总黄酮组大鼠肺组织纤维化程度明显减轻,与模型组比较差异显著 ($P < 0.01$),成纤维细胞无明显活化、聚集,无空泡化,无纤维条索形成及弥漫性肺泡壁纤维化现象。见表 4 和图 1、2。

表 4 黄芩总黄酮对肺纤维化模型大鼠肺炎和肺纤维化程度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)Table 4 Effect of TFSB on alveolitis and fibrosis extent of pulmonary fibrosis rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量 / (mg·kg ⁻¹)	肺炎程度	肺纤维化程度
对照	—	0.62 ± 0.52	1.37 ± 0.52
模型	—	2.50 ± 0.53 ^{▲▲}	5.75 ± 0.71 ^{▲▲}
黄芩总黄酮	25	1.88 ± 0.64 [*]	4.13 ± 1.12 ^{**}
	50	1.50 ± 0.53 ^{**}	3.25 ± 0.46 ^{**}
醋酸泼尼松龙	3.34	1.75 ± 0.46 ^{**}	3.63 ± 0.74 ^{**}

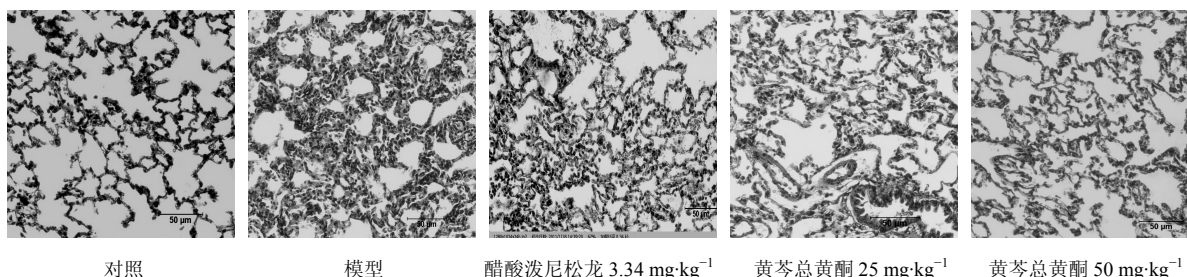
与对照组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

图 1 大鼠肺组织 HE 染色病理学观察

Fig. 1 Pathological observation on HE staining of lung tissue in rats

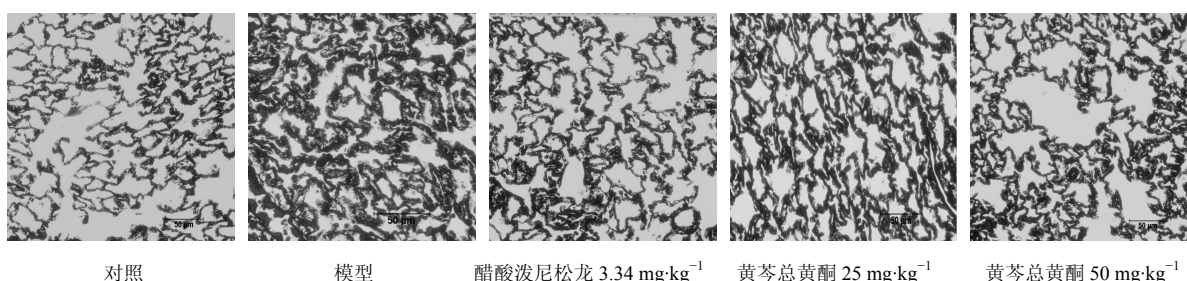
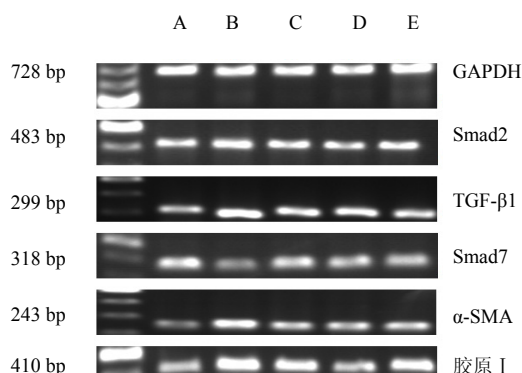


图 2 大鼠肺组织 Masson 染色病理学观察

Fig. 2 Pathological observation on Masson staining of lung tissue in rats

3.4 对肺纤维化大鼠 TGF- β 1/Smad 信号通路相关基因表达的影响

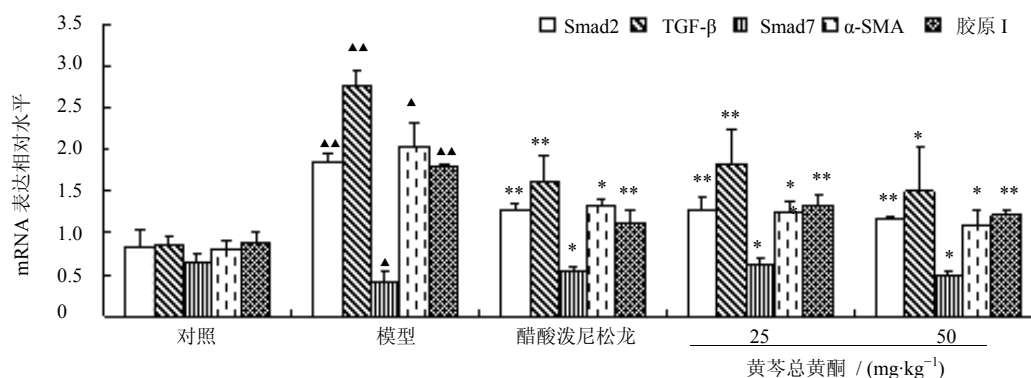
模型组肺纤维化大鼠肺组织中 TGF- β 1、Smad2、 α -SMA、胶原 I 的 mRNA 表达水平与对照组相比显著增加 ($P<0.05$ 、 0.01)，Smad7 mRNA 表达水平显著降低 ($P<0.05$)。黄芩总黄酮 25、50 mg/kg 能下调肺纤维化大鼠肺组织中 TGF- β 1、Smad2、 α -SMA、胶原 I 的 mRNA 表达水平 ($P<0.05$ 、 0.01)，上调 Smad7 mRNA 表达水平 ($P<0.05$)。结果见图 3、4。



A-对照组 B-模型组 C-醋酸泼尼松龙
D-黄芩总黄酮 50 mg·kg⁻¹ E-黄芩总黄酮 25 mg·kg⁻¹
A-control group B-model group C-Pawnee prednisolone
acetate group D-TFSB 50 mg·kg⁻¹ E-TFSB 25 mg·kg⁻¹

图 3 黄芩总黄酮对肺纤维化大鼠 TGF- β 1/Smad 信号通路相关基因的影响

Fig. 3 Effects of TFSB on TGF- β 1/Smad signal pathway related gene of pulmonary fibrosis rats



与对照组比较: ▲ $P<0.05$ ▲▲ $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$
▲ $P<0.05$ ▲▲ $P<0.01$ vs control group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

图 4 各组肺纤维化大鼠 TGF- β 1/Smad 信号通路相关基因定量分析

Fig. 4 Quantitative analysis on related gene of TGF- β 1/Smad signal pathway in pulmonary fibrosis rats of every group

4 讨论

博莱霉素系临床上常用的抗肿瘤药，其主要不良反应之一是引起肺纤维化。用博莱霉素制备肺纤维化动物模型，已被广泛用于研究肺纤维化的发病机制及药物筛选，其中经气管灌注博莱霉素制备肺纤维化模型的方法可靠、给药剂量小、容易掌握，已成为国内外公认的肺纤维化造模方法^[10-12]。博莱霉素致肺纤维化的机制可能涉及自由基损伤、免疫机制和胶原调节失衡^[13]。在本实验中，气管内注入的博莱霉素还原为自由基，与氧反应形成超氧阴离子，后者可产生更多的活性氧（如过氧化氢、羟自由基等）致肺泡上皮细胞和血管内皮细胞受损^[14]，破坏机体氧化应激水平，如 T-AOC 显著降低，体内重要的抗氧化剂 GSH 水平急剧下降。此外，注射博莱霉素早期带来的急性损伤导致炎症细胞增加，MPO 大量出现在细胞内。经过黄芩总黄酮治疗后，博莱霉素诱导的肺纤维化模型大鼠肺肺炎及肺纤维化程度明显减轻，T-AOC 和 GSH 与模型组相比显著上升，表明黄芩总黄酮可以提高机体的抗氧化能力；同时黄芩总黄酮降低血清中的 MPO 水平，表明黄芩总黄酮能减轻肺纤维化过程中的炎症反应。

TGF- β 1/Smad 信号通路在器官形成、肿瘤、炎症、组织修复和纤维化过程中起重要作用。肺纤维化的分子机制研究表明，TGF- β 1 是 TGF- β 1/Smad 信号通路中重要的调控因子之一，可促进肺成纤维细胞增殖、分化为肌成纤维细胞，肌成纤维细胞能产生大量基质蛋白成分并分泌到细胞外基质中，如 α -SMA 和胶原蛋白等细胞外基质蛋白在肺间质和肺

泡间过度积聚,从而导致肺纤维化发生与发展^[15]。本实验结果显示,与模型组相比,黄芩总黄酮显著降低肺组织中 TGF- β 1、 α -SMA、胶原 I 的表达,从而证明黄芩总黄酮通过抑制 TGF- β 1 而产生抗纤维化的作用。Smad2 可以接受 TGF- β 1 经 T β RII 受体传递的信号并进一步转导,诱导肺泡上皮细胞的转化、结缔组织生长因子的产生;细胞外基质蛋白沉积,增强 TGF- β 1 诱导肺成纤维细胞活化为肌成纤维细胞,从而加剧肺纤维化的过程^[16]。Smad7 作为 TGF- β 1/Smad 信号通路调控中的负性调节子,能阻滞 Smad2 的磷酸化和 Smad2/Smad4 复合体形成,其活化可以抑制 TGF- β 1 的活性,进而能沉默整个通路^[17]。本实验研究结果显示,与模型组相比,黄芩总黄酮组大鼠肺组织中 Smad2 mRNA 水平显著降低,Smad7 mRNA 水平则显著地升高,表明黄芩总黄酮抑制 TGF- β 1/Smad 信号途径。

总之,本实验结果表明,黄芩总黄酮抑制博来霉素诱导的大鼠肺纤维化过程,提高机体的抗炎、抗氧化损伤能力,其作用机制可能与通过调控 TGF- β 1/Smad 信号途径减少细胞外基质蛋白,如 I-型胶原蛋白和 α -SMA 的沉积有关。

参考文献

- [1] Douglas W W, Ryu J H, Schroeder D R. Idiopathic pulmonary fibrosis: impact of oxygen and colchicine, prednisone, or no therapy on survival [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2000, 161(4): 1172-1178.
- [2] Feng Y Z, Zhang Y S, Cao Z F, *et al.* Prevention of combination of *Hirsutiella sinensis* and *Panax notoginseng* extracts on Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. *Chin Herb Med*, 2010, 2(2): 118-124.
- [3] Anderw L, David J A. TGF- β -signaling and the fibrotic response [J]. *FASEB J*, 2004, 18(7): 816-827.
- [4] Krakauer T, Li B Q, Young H A. The flavonoid baicalin inhibits superantigen-induced inflammatory cytokines and chemokines [J]. *FEBS Lett*, 2001, 500(1/2): 52-55.
- [5] 商倩,刘巍,徐为人,等.黄芩中黄酮类成分活性作用的虚拟评价[J].*中草药*, 2010, 41(7): 1139-1142.
- [6] 李素婷,梅立新,杨鹤梅,等.黄芩茎叶总黄酮对实验性大鼠肝纤维化的影响[J].*辽宁中医杂志*, 2004, 31(10): 871-872.
- [7] Szapiel S V, Elson N A, Fulmer J D, *et al.* Bleomycin induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse [J]. *Am Rev Respir Dis*, 1979, 120: 893-899.
- [8] Ashcroft T, Simpson J M, Timbrell V. Simple method of estimating severity of pulmonary fibrosis on a numerical scale [J]. *J Clin Pathol*, 1988, 41(4): 467-470.
- [9] Hubner R H, Gitter W, Mokhtari N E E, *et al.* Standardized quantification of pulmonary fibrosis in histological samples [J]. *Biotechniques*, 2008, 44(4): 507-517.
- [10] Gharaee K M, Ullenbruch M, Phan S H. Animal models of pulmonary fibrosis [J]. *Methods Mol Med*, 2005, 117 (3): 251-259.
- [11] 张永胜,冯一中,曹志飞,等.复方虫草对博来霉素致大鼠肺纤维化的作用及其机制[J].*中草药*, 2011, 42 (9): 1766-1772.
- [12] 林军,冯一中,顾振纶,等.丹参总酚酸对博来霉素致肺纤维化小鼠的治疗作用[J].*中草药*, 2008, 39(3): 400-403.
- [13] 王昌明,黄慧,张珍祥,等.槲皮素对博来霉素致肺纤维化的防治作用[J].*中国药理学通报*, 2000, 16(1): 94-96.
- [14] 高晓玲,刘卓拉.氧自由基在急性肺损伤发病中的作用[J].*国外医学:呼吸系统分册*, 2002, 22(6): 310.
- [15] 祖金池,崔娜,段斐.特发性肺纤维化中的信号转导通路[J].*医学研究与教育*, 2009, 26(2): 79-81.
- [16] Gauldie D, Bonniaud P, Sime P J, *et al.* TGF- β , Smad3 and the process of progressive fibrosis [J]. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35(4): 661-664.
- [17] 巨春蓉,夏熙郑. Smad7 在大鼠肺间质纤维化中的表达及白介素-7 的治疗作用[J].*国际呼吸杂志*, 2006, 26(7): 486-489.