补阳还五汤对特发性肺纤维化模型大鼠的改善作用机制Δ

刘必旺[1]*，赵　换[2]（1.山西中医药大学傅山学院，山西 晋中　030619；2.山西中医药大学附属医院药剂科，太原　030024）

中图分类号　R965　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2023）14-1671-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2023.14.02

摘　要　目的　研究补阳还五汤（BYHW）对特发性肺纤维化模型大鼠的改善作用机制。**方法**　将96只Wistar大鼠随机分成空白组、模型组、阳性对照组和BYHW低、中、高剂量组，每组16只。除空白组外，其余各组大鼠采用气管滴注博来霉素（5 mg/kg）方法造模。造模当天开始给药，空白组和模型组大鼠按10 mL/kg灌胃生理盐水，阳性对照组大鼠按5 mg/kg灌胃地塞米松溶液，BYHW低、中、高剂量组大鼠按2.5、5、10 g/kg（以生药量计）灌胃药液，每天1次，连续给药28 d。测量各组大鼠造模第0、7、14、21、28天的体重；动态可视化观察肺细静脉内黏附白细胞数量；检测血清中肿瘤坏死因子α（TNF-α）、白细胞介素6（IL-6）含量，肺组织中TNF-α、IL-6、羟脯胺酸（HYP）、转化生长因子β$_1$（TGF-β$_1$）含量，肺组织中紧密连接蛋白1（ZO-1）蛋白表达；观察肺组织的病理形态学变化。**结果**　与模型组比较，补阳还五汤高、中剂量组和阳性对照组大鼠造模第14、21、28天时体重均显著升高，肺细静脉内黏附白细胞数量均显著减少，血清和肺组织中TNF-α（BYHW中剂量组血清除外）、IL-6含量以及肺组织中HYP、TGF-β$_1$含量均显著降低，肺组织中ZO-1蛋白表达均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）；肺组织病理变化均不同程度改善。**结论**　BYHW可能从改善肺微循环的白细胞黏附、抗炎、抗纤维化等方面发挥抗肺纤维化的作用。

关键词　补阳还五汤；肺纤维化；微循环；紧密连接蛋白1

Improving mechanism of Buyang huanwu decoction on idiopathic pulmonary fibrosis model rats

LIU Biwang[1], ZHAO Huan[2] (1. Fushan College, Shanxi University of Chinese Medicine, Shanxi Jinzhong 030619, China; 2. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Shanxi University of Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the improving mechanism of Buyang huanwu decoction (BYHW) on idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) model rats. **METHODS** Ninety-six Wistar rats were randomly divided into blank group, model group, positive control group, and BYHW low-dose, middle-dose and high-dose groups, with 16 rats in each group. Except for the blank group, the IPF model was induced in other groups by intratracheal instillation of bleomycin (5 mg/kg). Starting from the day of modeling, the blank group and model group were given normal saline (10 mL/kg) intragastrically, while the rats in the positive control group were given dexamethasone solution (5 mg/kg) intragastrically, BYHW low-dose, middle-dose and high-dose groups were treated with BYHW (2.5, 5, 10 g/kg, by crude drug) intragastrically, once a day, for 28 consecutive days. The body mass of rats in each group was measured on days 0, 7, 14, 21 and 28 after modeling. The number of adherent white blood cells in pulmonary veins was observed by a dynamic visualization system. The contents of TNF-α and IL-6 in serum and TNF-α, IL-6, HYP and TGF-β$_1$ in lung tissue were detected; the protein expression of ZO-1 was also detected. The pathomorphological changes in lung tissue were observed. **RESULTS** Compared with the model group, the body weight of rats all increased significantly in BYHW high-dose and middle-dose groups, positive control group, while the number of adherent white blood cells in pulmonary veins was decreased significantly; the contents of TNF-α (except for serum in BYHW middle-dose group) and IL-6 in serum and lung tissue, the contents of HYP and TGF-β$_1$ in lung tissue were decreased significantly, while the protein expression of ZO-1 in the lung tissue was increased significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). The pathological changes of lung tissue were improved to varying degrees. **CONCLUSIONS** BYHW may play anti-pulmonary fibrosis role by improving leukocyte adhesion, anti-inflammatory, anti-fibrosis, and other aspects of pulmonary microcirculation.

KEYWORDS Buyang huanwu decoction; pulmonary fibrosis; microcirculation; zonula occludens-1

Δ**基金项目** 国家自然科学基金重点支持项目（No.U21A20410）；山西省自然科学研究面上项目（No.202203021211217）；山西中医药大学2022年度科技创新团队项目（No.2022TD2005）

＊**第一作者** 副教授，硕士生导师，博士。研究方向：方剂药理学。电话：0351-3179717。E-mail：LBW3084@sina.com

肺纤维化是由多种病因引起的一种慢性炎症性间质性肺疾病。不明原因引起的肺间质纤维化称为特发性肺纤维化（idiopathic pulmonary fibrosis，IPF），其主要病理表现为成纤维细胞过度增殖和细胞外基质的过度沉积[1]。IPF因其病因和发病机制复杂，导致其预后较差，且无法治愈。目前IPF治疗多选择糖皮质激素、免疫抑制剂和抗纤维化药物等，但疗效有限且存在副作用[2-3]。

补阳还五汤（BYHW）由清代名医王清任创立，由黄芪、当归尾、赤芍、红花、川芎、地龙等组成，原方主治中风后遗症。现有报道表明，该方可改善肺纤维化患者肺功能、运动功能和生活质量[4]。方中黄芪、当归、川芎、赤芍等单药均有一定的抗肺纤维化作用[5]，但该方的作用机制尚不完全清楚。本研究通过博来霉素诱导IPF大鼠模型，考察BYHW对模型大鼠肺微循环及纤维化相关指标羟脯胺酸（hydroxyproline，HYP）、转化生长因子β_1（transforming growth factor-β_1，TGF-β_1）等的影响，以期为阐明BYHW干预IPF的作用机制以及中医药治疗肺纤维化提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究主要仪器包括L535R-1型低速冷冻离心机（长沙高新技术产业开发区湘仪离心机仪器有限公司）、Agilent1260型高效液相色谱（HPLC）仪[奥豪斯仪器（上海）有限公司]、BXS1W1型正置荧光显微镜（日本Olympus公司）等。

1.2 主要药品与试剂

BYHW[批号20210113，规格25.35 μg/g（以黄芪甲苷计）]由山西中医药大学附属医院药剂科制剂室按照生黄芪120 g、当归尾6 g、赤芍4.5 g、桃仁3 g、红花3 g、川芎3 g、地龙3 g比例制备[6]，其中生黄芪于2018年8月采自山西省应县南泉乡麻峪村，经应县乾宝黄芪种植专业合作社专家刘仲秀药师鉴定为豆科植物蒙古黄芪*Astragalus membranaceus*（Fisch.）Bge. var. *mongholicus*（Bge.）Hsiao的根，3～4年生，制成饮片备用；当归尾、赤芍、桃仁、红花、川芎、地龙饮片均由山西中医药大学附属医院提供，经其药剂科武晓红副主任药师鉴定均为真品，当归尾原产地甘肃（批号200318），赤芍、川芎原产地均为四川（批号分别为200524、200209），桃仁原产地山东（批号200415），红花原产地新疆（批号200111），地龙原产地广东（批号200119）。地塞米松片（阳性对照药物，批号20210514，规格0.75 mg×100片）购自天津力生制药股份有限公司；注射用盐酸博来霉素（批号21043821，规格15 mg/支）购自浙江海正辉瑞制药有限公司；HYP酶联免疫吸附实验（ELISA）试剂盒（批号22211107）购自南京建成生物工程研究所；TGF-β_1 ELISA试剂盒（批号201706）购自上海研吉生物科技有限公司；肿瘤坏死因子α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）ELISA试剂盒、白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）ELISA试剂盒、β-肌动蛋白（β-actin）抗体（批号分别为ab575438、ab6842340、ab367894）均购自武汉博士德生物工程有限公司；BCA蛋白定量试剂盒（批号EKPR1764c）购自美国Pierce公司；兔抗大鼠紧密连接蛋白1（zonula occludens-1，ZO-1）多克隆抗体（批号20210105）购自北京索莱宝科技有限公司；辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗（批号GB21306）购自武汉赛维尔生物科技有限公司；罗丹明6G（批号252414，纯度99%）购自德国AG Chemie公司；苏木精、伊红染液（批号分别为YL2102151、YL2101231）均购自北京益利精细化学品有限公司；其余试剂均为分析纯，水为超纯水。

1.3 动物

SPF级Wistar大鼠96只，雌雄各半，6周龄，体重200～220 g，由山西医科大学动物实验中心提供，动物生产许可证号为SCXK（晋）2019-0004。大鼠在山西中医药大学屏障实验室适应性喂养1周后进行实验。所有涉及的实验动物操作均严格按照山西中医药大学动物伦理相关规定和要求执行，动物伦理批准编号为AWE202102267。

2 方法

2.1 动物分组与给药

将96只大鼠随机分为空白组、模型组、阳性对照组和BYHW低、中、高剂量组，每组16只。除空白组以外，其余各组大鼠参照文献方法通过气管注入盐酸博来霉素溶液（5 mg/kg）建立大鼠IPF模型[7]。造模当天开始给药，空白组和模型组大鼠按10 mL/kg灌胃生理盐水，阳性对照组大鼠按5 mg/kg灌胃地塞米松溶液，BYHW低、中、高剂量组大鼠给药剂量依据鼠与人的体表面积进行换算，分别按2.5、5、10 g/kg（以生药量计，低剂量相当于成人常用量）灌胃BYHW药液，每天1次，连续给药28 d。

2.2 行为学和一般状态观察

观察所有大鼠在实验过程中的毛皮光亮润泽程度，呼吸、饮食、活动等状态。

2.3 体重测量

分别在造模后第0、7、14、21、28天测量各组大鼠体重，进一步评估大鼠的整体状况。

2.4 肺细静脉内黏附白细胞微循环动态可视化观察

末次给药后，每组取6只大鼠，按1 mL/kg腹腔注射20%乌拉坦溶液进行麻醉，用带有肺脏压片固定装置的固定板将大鼠固定，剥离左侧股静脉，插管，固定，颈部正中切开2 cm切口，剥离气管，连接呼吸机，于左侧胸腔第3～5肋间部位行胸廓切开术，暴露左肺内侧，观察5 min。经左侧股静脉插管缓慢注入罗丹明6G 0.1 mg/kg，用以标记白细胞；使用呼吸机通过三通管接持续气流，将氧气含量控制在33%左右，维持肺扩张状态。使用正置显微镜观察肺微循环并录像，观察时选择直径30～50 μm的肺细静脉，用Image-Pro Plus 5.0软件，分析200 μm长肺细静脉内的黏附白细胞的数量[8]。

2.5 血清中TNF-α、IL-6和肺组织中TNF-α、IL-6、HYP、TGF-β_1含量检测

末次给药后，取每组剩余的全部大鼠，腹主动脉采血后，处死，分离肺脏，取右肺中叶制成10%的组织匀浆，按ELISA试剂盒说明书操作，检测血清中TNF-α、IL-6含量和肺组织中TNF-α、IL-6、HYP、TGF-β_1含量。

2.6 肺组织中ZO-1蛋白表达检测

2.6.1 免疫荧光染色法

取“2.4”项下大鼠的左肺下叶组织，切片，脱蜡，置于枸橼酸缓冲液中进行微波修复15 min，冷却至室温，室温封闭30 min，加入兔抗大鼠ZO-1多克隆抗体（稀释比为1∶50），4 ℃孵育过夜；次日用磷酸盐缓冲液洗涤后，加入山羊抗兔IgG二抗（稀释比为1∶1 000），室温孵育1 h后，封片，于暗室条件下采用荧光显微镜观察并拍照，记录ZO-1阳性表达情况。

2.6.2 Western blot法

取“2.5”项下大鼠的左肺上叶组织100 mg，裂解后制成匀浆，于4 ℃下以12 000 r/min离心10 min，取上清液，按BCA法测定蛋白浓度，然后100 ℃加热变性5 min，电泳，转膜，封闭；洗涤后加入一抗ZO-1、β-actin（稀释比分别为1∶1 000、1∶6 000），4 ℃孵育过夜；次日用TBST缓冲液洗脱3次，加入相应二抗（稀释比为1∶20 000），室温孵育1 h后，ECL显色。采用Quantity One软件进行图像分析，以β-actin为内参，以目的条带与内参条带的灰度值比值作为ZO-1蛋白表达水平。

2.7 肺组织病理形态学观察

取“2.5”项下大鼠的右肺下叶组织适量，用甲醛固定，离心，包埋，切片，经苏木精-伊红染色后，用显微镜观察并拍照，记录肺组织病理形态变化。

2.8 统计学方法

采用SPSS 23.0和Origin 7.5软件进行数据处理。数据用$\bar{x}\pm s$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 行为学和一般状态变化

实验过程中，空白组大鼠饮食正常，呼吸平稳顺畅，毛皮光亮润泽，活泼好动，强壮肥硕。与空白组比较，模型组大鼠24 h内进食量相对减少，活动明显减少，其他无明显变化；24～48 h内进食量和饮水量明显下降，呼吸急促，身体抖动、集聚成团，皮毛耸立、似恶寒颤栗状，部分大鼠出现眼、鼻出血；第3、4天各死亡1只；7 d后进食量和饮水量开始逐渐增加，一般状态逐渐恢复。与模型组比较，各药物组大鼠上述症状均有不同程度改善，且没有出现死亡情况。

3.2 体重变化

与空白组同时间比较，模型组大鼠造模第14、21、28天时体重均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；与模型组同时间比较，BYHW高、中剂量组和阳性对照组大鼠造模第14、21、28天时体重均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见表1。

表1 各组大鼠体重变化（$\bar{x}\pm s$，g）

组别	n	第0天	第7天	第14天	第21天	第28天
空白组	16	198.5±14.9	235.4±20.7	287.5±21.6	338.5±26.7	381.4±28.6
模型组	16或14	203.2±15.1	186.6±22.1	196.9±30.1[a]	204.8±32.4[b]	218.2±35.5[b]
阳性对照组	16	202.8±15.3	203.9±23.2	244.7±27.5[c]	295.5±28.7[c]	341.4±33.6[d]
BYHW低剂量组	16	200.4±16.0	187.3±22.6	211.8±31.0	220.7±29.6	223.6±35.7
BYHW中剂量组	16	197.5±15.3	185.9±20.8	211.5±26.3[c]	249.5±25.5[c]	288.8±30.4[c]
BYHW高剂量组	16	201.1±14.8	191.7±22.7	232.5±25.3[c]	276.6±27.6[c]	334.7±32.7[d]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与空白组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$；d：与模型组比较，$P<0.01$。

3.3 肺细静脉内黏附白细胞数量变化

与空白组比较，模型组大鼠肺细静脉内黏附白细胞数量显著增加（$P<0.01$）；与模型组比较，BYHW高、中剂量组和阳性对照组大鼠肺细静脉内黏附白细胞数量均显著减少（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图1和图2。

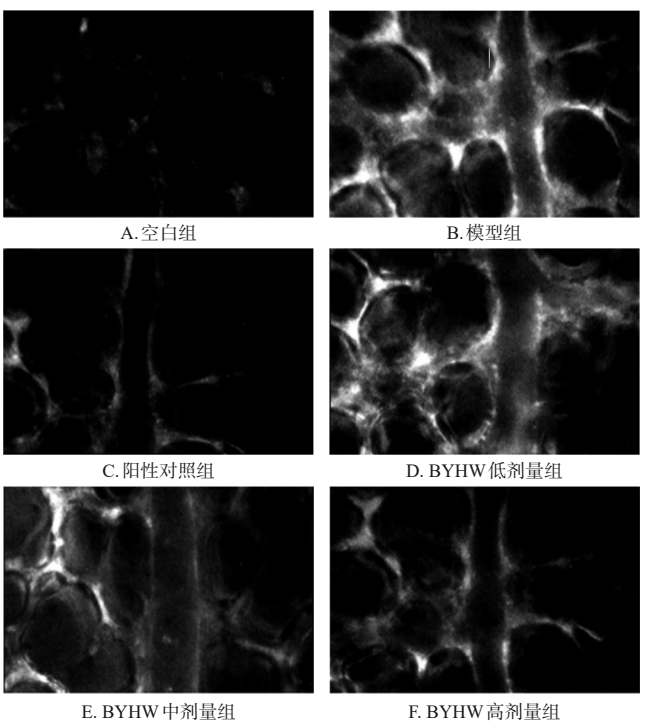
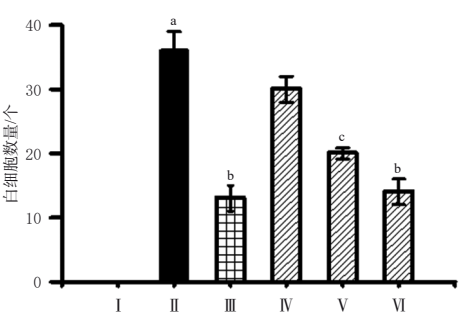


图1 各组大鼠肺细静脉内黏附白细胞的显微图（×200）



Ⅰ：空白组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：阳性对照组；Ⅳ：BYHW低剂量组；Ⅴ：BYHW中剂量组；Ⅵ：BYHW高剂量组；a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$。

图2 各组大鼠肺细静脉内黏附白细胞数量比较（$n=6$）

3.4 血清和肺组织中TNF-α、IL-6含量变化

与空白组比较，模型组大鼠血清和肺组织中TNF-α和IL-6含量均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）；与模型组比较，BYHW高、中剂量组和阳性对照组大鼠血清和肺组织中TNF-α（BYHW中剂量组血清除外）和IL-6含量均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见表2。

表2 各组大鼠血清和肺组织中TNF-α、IL-6含量比较（$\bar{x}\pm s$，pg/mL）

组别	n	血清TNF-α	血清IL-6	肺组织TNF-α	肺组织IL-6
空白组	10	123.25±13.04	32.98±2.02	198.57±21.93	38.01±2.62
模型组	8	188.46±33.58[a]	59.06±3.83[b]	534.46±40.78[b]	77.11±6.01[b]
阳性对照组	10	135.64±28.73[c]	37.52±3.62[d]	226.91±29.25[d]	41.63±3.81[d]
BYHW低剂量组	10	171.13±30.82	52.29±5.94	468.85±38.81	67.38±6.19
BYHW中剂量组	10	166.83±29.77	45.43±4.08[c]	364.59±39.29[c]	54.94±5.38[c]
BYHW高剂量组	10	141.61±29.07[c]	40.56±3.97[d]	231.98±37.96[d]	45.04±3.66[d]

a：与空白组比较，$P<0.05$；b：与空白组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$；d：与模型组比较，$P<0.01$。

3.5 肺组织中HYP和TGF-β_1含量变化

与空白组比较，模型组大鼠肺组织中HYP和TGF-β_1含量均显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，BYHW高、中、低剂量组和阳性对照组大鼠肺组织中HYP和TGF-β_1（BYHW低剂量组除外）含量均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见表3。

表3 各组大鼠肺组织中HYP和TGF-β_1含量比较（$\bar{x}\pm s$）

组别	n	HYP/（μg/mL）	TGF-β_1/（ng/mL）
空白组	10	0.361 9±0.035 6	40.83±2.45
模型组	8	0.731 7±0.098 7[a]	63.66±3.73[a]
阳性对照组	10	0.546 1±0.040 1[b]	41.35±3.57[b]
BYHW低剂量组	10	0.619 3±0.059 7[c]	50.84±5.78
BYHW中剂量组	10	0.553 1±0.055 8[b]	46.33±4.58[b]
BYHW高剂量组	10	0.549 5±0.051 5[b]	43.56±3.36[b]

a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$。

3.6 肺组织中ZO-1蛋白表达变化

3.6.1 免疫荧光染色结果

绿色荧光为ZO-1阳性表达，蓝色荧光为细胞中的一些细胞器。如图3所示，空白组大鼠肺组织微血管内皮细胞间ZO-1形态紧密连续，且表达量较多；模型组和BYHW低剂量组大鼠肺组织微血管内皮细胞间ZO-1形态明显不连续，且表达量较少；BYHW高、中剂量组和阳性对照组大鼠肺组织微血管内皮细胞间ZO-1蛋白表达量较模型组明显增加，形态基本连续。

3.6.2 Western blot结果

与空白组比较，模型组大鼠肺组织中ZO-1蛋白表达水平显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，BYHW高、中剂量组和阳性对照组大鼠肺组织中ZO-1蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图4。

3.7 肺组织病理形态学变化

如图5所示，空白组大鼠肺组织结构清晰，肺泡壁完整，肺泡隔完整，未见炎症细胞浸润，无肺萎陷及血管壁增厚，支气管腔及肺泡腔内未见炎性渗出物。模型组大鼠肺组织可见实变，实变区呈斑片状分布；肺泡腔内见大量炎症细胞浸润，局部见陈旧性出血灶，以及大量增生的纤维细胞和胶原纤维沉积；局部Ⅱ型肺泡上皮细胞增生，成纤维细胞及纤维细胞增生，纤维化区可见数量不等的胶原纤维沉积，也可见大小不等的囊性纤维气腔。与模型组比较，BYHW高、中、低剂量组和阳性对照组大鼠上述病变均减轻，胶原纤维沉积、炎症细胞、囊性纤维气腔都有所减少。

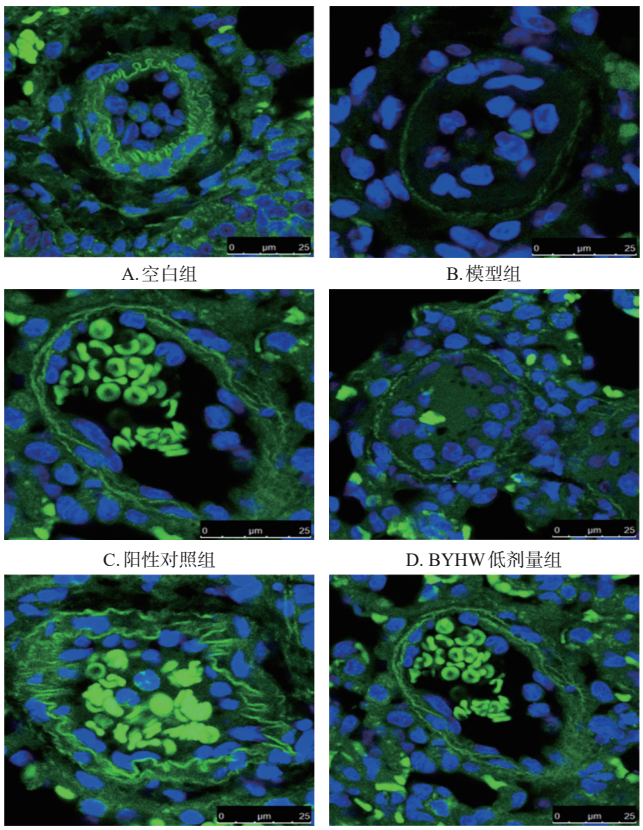
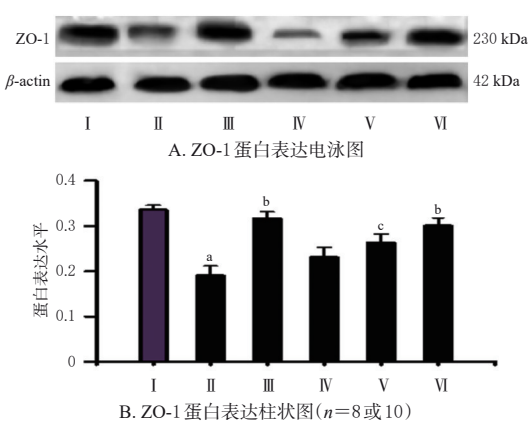


图3 各组大鼠肺组织中ZO-1蛋白阳性表达荧光图



Ⅰ：空白组；Ⅱ：模型组；Ⅲ：阳性对照组；Ⅳ：BYHW低剂量组；Ⅴ：BYHW中剂量组；Ⅵ：BYHW高剂量组；a：与空白组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与模型组比较，$P<0.05$。

图4 各组大鼠肺组织中ZO-1蛋白表达情况

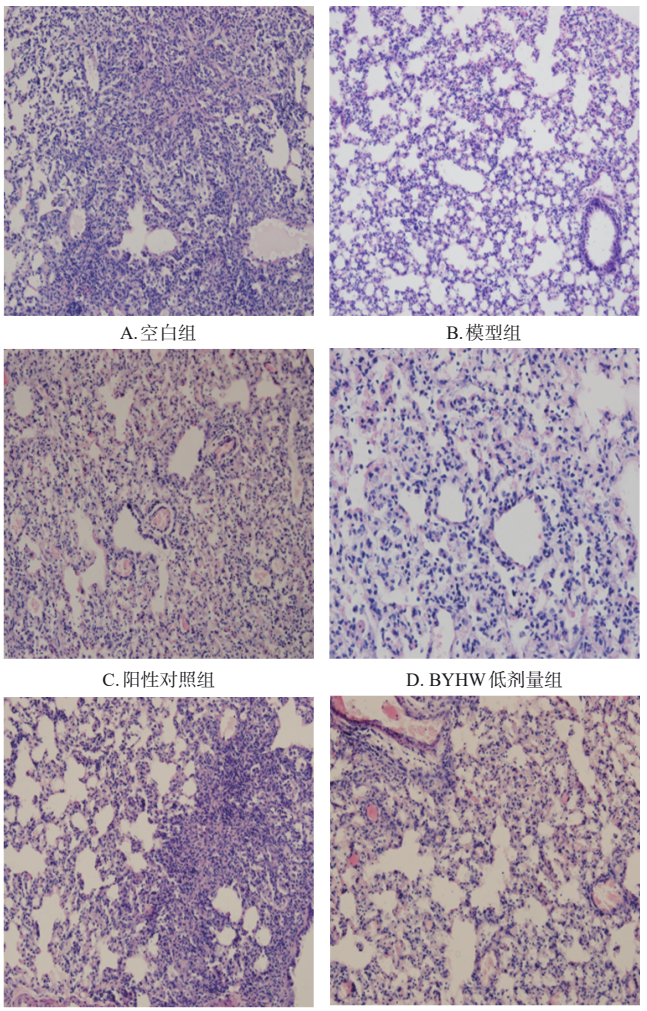


图5　各组大鼠肺组织病理形态学显微图（苏木精-伊红染色，×40）

4　讨论

盐酸博来霉素是一种临床上常用的抗肿瘤药物，给药后广泛分布到各个组织，其主要的不良反应是肺毒性，会引起肺泡炎并很快进展为肺间质纤维化。目前博来霉素诱导的鼠肺间质纤维化模型已经成为当今国际上研究肺间质纤维化普遍采用的实验方法[5]。本文参考相关文献，选择了一次性的盐酸博来霉素气管内给药方法建立大鼠IPF模型[6-7]。

微循环障碍主要指微血管和微血流的形态异常及功能紊乱，直接影响细胞和组织的物质、能量、信息传递系统，在现代医学研究中具有重要的地位。近年来，国内的部分学者已开始采用动态实验研究与微观指标相结合，以揭示中药作用机制，验证中药或中药复方对微循环障碍的干预效果[9]。ZO是维持黏膜上皮及内皮机械屏障和通透性的重要结构，其功能主要是调节屏障结构的渗透性，人类的很多呼吸系统疾病与ZO-1蛋白有关。当肺损伤因素持续存在时，肺泡上皮细胞增殖和分化能力明显降低，在促纤维化因子如TGF-β_1、TNF-α和IL-6等的作用下肺泡上皮细胞标志物（即ZO-1）逐渐丢失，肺泡上皮间质分化产生障碍，逐渐导致肺纤维化[10]。肺纤维化是一个复杂的过程，特征是大量炎症细胞浸润、成纤维细胞异常增殖、肺泡结构受损、胶原纤维沉积等[4]。目前HYP含量是评价肺纤维程度的常用指标，其与肺纤维化成正相关。TGF-β_1被证明是肺纤维化过程中的一种重要的细胞因子，在肺纤维化的病理变化过程中可以发现成纤维细胞的过度增殖、分化，胶原纤维及其他细胞外基质的过度沉积，这些都与TGF-β_1的过度活化相关[11]。本实验结果显示，模型组大鼠肺组织中的HYP、TGF-β_1含量比空白组均显著升高，血清和肺组织中的TNF-α、IL-6含量也显著升高，肺组织中ZO-1蛋白表达显著降低，肺细静脉内黏附白细胞数量明显增加，说明IPF造模成功。经BYHW干预后，上述指标都有不同程度改善，且高剂量组所有指标较模型组均显著改善。

综上所述，BYHW可能从改善肺微循环的白细胞黏附、抗炎、抗纤维化等方面发挥抗肺纤维化的作用。

参考文献

[1] 杨昆，龚新月，王飞. 补阳还五汤治疗肺纤维化作用机制研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志，2020，26(7)：1034-1036，1040.

[2] 黄蓓. 中医药治新冠肺纤维化研究启动[J]. 中医药管理杂志，2020，28(8)：104.

[3] 魏耕树，朱恩林，王欣，等. 益气宣痹汤治疗新冠肺炎后肺纤维化倾向可行性探讨[J]. 陕西中医药大学学报，2020，43(5)：7-10，21.

[4] 林咏梅，肖勇洪. 中医药治疗特发性肺纤维化研究进展[J]. 世界中医药，2020，15(21)：3348-3350.

[5] 张喆，赵舒，韩云鹏，等. 补阳还五汤对特发性肺纤维化大鼠Keap1/Nrf2/HO-1抗氧化信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(17)：9-16.

[6] 郑留燕，万浩芳，鲁一航，等. 基于HPLC-Q-Exactive MS的补阳还五汤化学成分快速识别及多成分含量测定[J]. 浙江大学学报(医学版)，2022，51(5)：534-543.

[7] 刘娜，王杰鹏，鲁辰希，等. 当归补血汤对博莱霉素致肺纤维化大鼠PKD1/NF-κB/MnSOD信号通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2020，26(13)：66-72.

[8] 刘必旺，赵换，马一方，等. 黄芪及其发酵产物对PM2.5肺损伤动态可视化微循环的影响[J]. 中华中医药杂志，2021，36(9)：5581-5585.

[9] 蒋桓宇，杨晗，代倩，等. 补阳还五汤治疗气虚血瘀证型结缔组织病相关性肺纤维化的临床疗效[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(21)：104-112.

[10] HONG H H，UZEL M I，DUAN C，et al. Regulation of lysyl oxidase，collagen，and connective tissue growth factor by TGF-β_1 and detection in human gingiva[J]. Lab Invest，1999，79(12)：1655-1667.

[11] 高云星，蒋莉莉，张倩，等. 吴茱萸次碱通过抑制Notch1/eIF3a信号通路保护博莱霉素诱导的大鼠肺纤维化[J]. 中国中药杂志，2018，43(17)：3530-3538.

（收稿日期：2023-02-06　修回日期：2023-06-17）
（编辑：邹丽娟）