

补肾活血方对人胚肺成纤维细胞中 IL-17A 的影响*

刘晓明 李芮 高善语

(山东中医药大学附属医院, 山东 济南 250014)

【摘要】 目的 探讨补肾活血方对人胚肺成纤维细胞的作用机制。方法 应用 TGF- β 1 诱导人胚肺成纤维细胞, 将实验细胞分为空白组(A组), TGF- β 1 造模组(B组), TGF- β 1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h 组(C组), TGF- β 1 处理+shRNA-IL-17A 组(D组), TGF- β 1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h+IL-17A 过表达质粒组(E组), 进行相应药物培养后, 检测各组细胞的增值率、胶原蛋白及 IL-17A 表达量的变化。结果 B 组中人胚肺成纤维细胞的增殖率、胶原蛋白、IL-17A 蛋白含量及 IL-17A mRNA 表达量较 A 组明显增多($P < 0.05$); C 组、D 组细胞的增殖率、胶原蛋白、IL-17A 蛋白含量及 IL-17A mRNA 表达量较 B 组明显较少; 而 E 组以上各项指标较 C 组明显增多。结论 补肾活血方能有效降解人胚肺成纤维细胞中胶原蛋白的含量, 具有较强的降纤作用, 主要是通过阻断 IL-17A 通路降解胶原蛋白而引起抗纤维化作用的。

【关键词】 补肾活血方; 人胚肺成纤维细胞; 胶原蛋白; IL-17A

【中图分类号】 R329.1 **【文献标志码】** A **DOI:**10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 01. 009

Effect of Bushen huoxue recipe on IL-17A in human embryonic lung fibroblasts

LIU Xiaoming, LI Rui, GAO Shanyu

(The Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250014, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the mechanism of Bushen Huoxue decoction (BHXF) on human embryonic lung fibroblasts (HLF). **Methods** Human embryonic lung fibroblasts were induced by TGF-1. The experimental cells were divided into blank group (Group A), TGF-1 model group (Group B), TGF-1 treatment + best concentration of drug-containing Serum Intervention 1 hour group (Group C), TGF-1 treatment + Shrna-il-17a Group (Group D), tGF-1 treatment plus the best concentration of drug-containing serum interfered 1H + Il-17a overexpression plasmid group (Group E), after the corresponding drug culture, the changes of cell increment rate, Collagen and Il-17a expression were detected. **Results** The proliferation rate, Collagen, Il-17a and Il-17a Mrna expression of human embryonic lung fibroblasts in group B were significantly higher than those in group a ($P < 0.05$). The cell proliferation rate, Collagen protein, IL-17A protein content and IL-17AmRNA expression in Group C and D were significantly lower than those in Group B, while those in Group E were significantly higher than those in Group C. **Conclusion** Bushen Huoxue decoction can effectively degrade the content of Collagen in human embryonic lung fibroblasts, and it has a strong defibrination effect, which is mainly through blocking the IL-17A pathway and degrading Collagen.

【Key words】 Bushen huoxue recipe; Human Embryo Lung Fibroblast; Collagen; IL-17A

特发性肺纤维化(Idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)为发病原因不明的间质性肺疾病,目前临床缺乏

特效的治疗药物且无有效治疗方法。中医学常将其归入“肺痹”的范畴。其中,细胞外基质的过度沉积是肺纤维化的主要病理改变^[1],而细胞自噬正是保护细胞稳态的重要途径。近年来研究发现,细胞自噬调节与肺纤维化的发病密切相关,其通过参与成纤维细胞活化、肌成纤维细胞分化和细胞外基质沉积等途径促进肺纤维化^[1-4]。进一步研究发现,阻断 IL-17A 的活性,可激活细胞自噬的发生,进一步阻止中晚期胶原

基金项目:山东中医药科技发展计划项目(2019-0088);济南市科技创新计划项目(202019159)

通信作者:高善语,副主任医师,E-mail:lxm8002@163.com

引用本文:刘晓明,李芮,高善语.补肾活血方对人胚肺成纤维细胞中 IL-17A 的影响[J].西部医学,2022,34(1):45-50. DOI:10. 3969/j. issn. 1672-3511. 2022. 01. 009

蛋白的异常沉积。因此,通过阻断 IL-17A 靶向调控自噬有望成为肺纤维化诊疗的新靶点和方向^[5-6]。本实验应用补肾活血方对造模后的人胚肺成纤维细胞进行干预治疗,旨在观察 IL-17A 的含量,探讨补肾活血方在肺纤维化中的作用靶点。

1 材料与方法

1.1 实验细胞株、主要试剂和仪器 人胚肺成纤维细胞 MRC-5(南京凯基生物科技发展有限公司); MEM 培养基(美国 GIBCO);胎牛血清 FBS(Gibco, 10099-141)(赛默飞世尔科技有限公司);双抗:(南京凯基生物科技发展有限公司);TGF- β 1 细胞因子(派普泰克生物科技发展有限公司);CCK8(日本同仁化学研究所);定量 PCR 试剂盒(宝日医生物技术有限公司);二甲亚砜(DMSO)(Aladdin, B1328005)(西格玛奥德里奇贸易有限公司,批号:RNBJ1841)。1640 培养液(Gibco, 1171219)(南京凯基生物科技发展有限公司),磷酸缓冲液 PBS(南京凯基生物科技发展有限公司)。

1.2 主要实验仪器与设备 超净工作台(苏州净化 SW-CJ-IFD);RE200A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);HERACELL 150i 二氧化碳恒温培养箱(日本 SANYO);IX73 显微镜(奥林巴斯有限公司);台式低速离心机(中国上海医疗器械股份有限公司医疗设备厂);高速冷冻离心机(美国 Beckman Coulter);SYNERGY4 酶标仪(美国 BioTek);EPS-300 水平电泳仪(上海天能科技有限公司);VE-186 蛋白转膜仪(上海天能科技有限公司);VE-180 蛋白电泳仪(上海天能科技有限公司)。

1.3 实验方案

1.3.1 补肾活血方血清制备 ①补肾活血方中药汤药制备:根据人的用药量(人参 9 g,黄芪 30 g,熟地黄 15 g,山茱萸 9 g,麦冬 15 g,五味子 6 g,当归 15 g,丹参 15 g,黄芩 12 g,川贝母 6 g,虎杖 12 g,炙甘草 6 g),结合人和动物体表面积折算的等效剂量比值表分别计算。将 8 倍新西兰兔等效剂量的中药准确称取,加入 8 倍量的水浸泡后煎煮,水沸后小火煎煮约 30 min 后滤出药液;然后,再次加入 6 倍量的水继续煎煮 20 min 滤出药液。将两次药液合并后过滤浓缩,浓度为 3 g/mL,置 4℃ 冰箱保存备用。②制备过程:健康新西兰兔随机分为含药血清组和正常血清组。给予 8 倍新西兰兔等效剂量的中药灌胃,给药量为 56 g/kg(生药量),灌胃前禁食不禁水 12 h,每天 1 次,连续给药 7 天后,第 7 天灌胃 1 次,给足 1 天剂量。末次给药后 1 h 在家兔自然清醒状态下,以 1%利多卡因 5 mL 腹腔内注射麻药后从腹主动脉采血。血液于 37℃ 下静置 1 h,待凝血后以 5000 r/min 离心 10 min,常规分

离血清,并将同组家兔的血清合并,56℃ 水浴 30 min 灭活补体,用 0.22 μ m 醋酸纤维素膜过滤除菌,-20℃ 保存备用。正常血清组:以生理盐水灌胃,相同方法采血制备血清。

1.3.2 实验细胞的培养 使用含 10% 的牛胎血清的不完全 DMEM 培养基,置入 5% CO₂、37℃ 培养箱中培养 MRC-5 细胞,当培养瓶内细胞生长达 80% 左右时,用胰酶消化传代,选择第 3~4 代细胞用于下述实验。

1.3.3 实验分组及药物干预 参照文献^[7-8],确定 TGF- β 1 诱导成纤维细胞活化的最佳浓度及时间,TGF- β 1 诱导成纤维细胞活化的最佳浓度为 5 ng/mL,最佳刺激时间为 48 h。

实验分组一:对照组,含药血清(1 倍)组,含药血清(1/2 倍)组,含药血清(1/4 倍)组,含药血清(1/8 倍)组,含药血清(1/16 倍)组,含药血清(1/32 倍)组,含药血清(1/64 倍)组,含药血清(1/128 倍)组。

实验分组二:空白组(A 组),TGF- β 1 造模组(B 组),TGF- β 1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h 组(C 组),TGF- β 1 处理+shRNA-IL-17A 组(D 组),TGF- β 1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h+IL-17A 过表达质粒组(E 组)。

1.3.4 MTT 法测定不同浓度含药血清对人胚肺成纤维细胞增殖的抑制情况 将细胞随机分为正常组(正常 DMEM 培养基)及不同稀释浓度(1、1/2、1/4、1/8、1/16、1/32、1/64、1/128)含药血清干预组等 9 组,每组 8 个复孔。置于 37℃ 5% CO₂ 培养箱中,于培养 24 h 后,吸弃培养液,培养板每孔加入 20 μ L MTT 液,培养箱中孵育 4 h 后,吸弃 MTT 液,加入 DMSO,震荡摇匀后在避光孵育 15 min,选择波长 490 nm 处,酶标仪读取各孔 OD 值并记录。统计每组 OD 值,每组实验重复操作 3 次。

1.3.5 观察各组细胞形态、结构的变化 荧光显微镜下观察各组细胞形态、结构的变化。

1.3.6 CCK8 法检测含药血清对人胚肺成纤维细胞增殖的影响 将人胚肺成纤维细胞以 1×10^5 /孔接种于 96 孔板,培养 24 h,当细胞贴壁后,各干预组加入不同溶液,空白对照组加入等量 PBS 溶液,作用 24 h,吸去上清,除空白对照组外,每孔加入 TGF- β 1 继续培养 48 h。然后将 96 孔板中对应孔更换 100 μ L 新的培养基,分别加入 10% 的 CCK8,放入培养箱中继续培养,4 h 后取出,放入酶标仪中,450 nm 测 OD 值。细胞生长抑制率公式如下:细胞抑制率=[(模型对照组 OD 值-干预组 OD 值)/模型对照组 OD 值]×100%。

1.3.7 RT-qPCR 技术检测含药血清对人胚肺成纤维细胞中 IL-17A 含量的影响 用超纯 RNA 提取试

试剂盒提取样本中总 RNA, 具体操作按试剂盒说明进行。采用实时定量 PCR 方法检测 mRNA 的相对表达水平, 以 GAPDH 作为内参基因。引物序列见表 1~2。

表 1 IL-17A 引物序列
Table 1 IL-17A primer sequence

引物	序列
IL-17A	Forward: AGACCTCATTGGTGTCTACTGCT Reverse: TCAGGTTGACCATCACAGTCC
GAPDH	Forward: GCACCGTCAAGGCTGAGAAC Reverse: TGGTGAAGACGCCAGTGGA

表 2 COL- I 引物序列
Table 2 COL- I primer sequence

引物	序列
COL- I	Forward: TAAAGGGTCACCGTGGCTTC Reverse: GGGAGACCGTTGAGTCCATC
GAPDH	Forward: GCACCGTCAAGGCTGAGAAC Reverse: TGGTGAAGACGCCAGTGGA

1.3.8 Western blot 检测 COL- I、IL-17A 含量的变化 抽提总蛋白, 具体操作按试剂盒说明进行。最后按照 1:1 的比例将 ECL 发光液中的 A 液和 B 液混合, 将膜正面朝上平放(避免气泡), 均匀滴加显色液, 放入凝胶成像仪中显影。

1.4 统计学分析 数据采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析, 组间均数比较, 检验结果用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 应用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 最佳浓度含药血清的选择

2.1.1 各组含药血清对人胚肺成纤维细胞的抑制情况 与对照组相比, 随含药血清作用浓度的升高, 对人胚肺成纤维细胞均有明显的抑制作用, 抑制程度逐渐增强, 呈现剂量依赖性, 当含药血清的药物浓度达 0.0625 倍(1/16)时, 使细胞抑制率达到 10.06%, 该药物剂量下, 细胞抑制率较低, 对人胚肺成纤维细胞损伤小, 药物浓度相对安全, 可以考虑将含药血清浓度稀释 16 倍后的浓度定为该实验的药物最大无毒浓度, 见图 1。

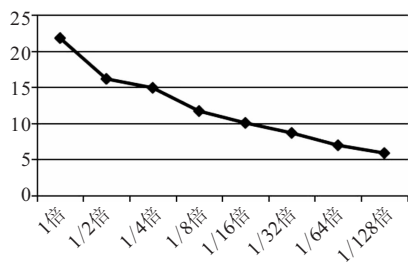


图 1 不同浓度含药血清对人胚肺成纤维细胞增殖的抑制情况

Figure 1 Inhibition of human embryonic lung fibroblasts proliferation by serum containing different concentrations of drugs

2.1.2 Western blot 法检测不同药物浓度作用后各组 COL- I 蛋白含量情况 人胚肺成纤维细胞加入含药血清干预后, 细胞内 COL- I 蛋白含量比对照组明显降低, 且具有剂量依赖性, 提示含药血清有一定降解胶原蛋白的作用或者对细胞内胶原蛋白的沉积/降解过程有一定的调节作用, 增强细胞的降解胶原蛋白的能力。组间分析显示, 最大无毒浓度组(a)降低最明显, 见图 2。

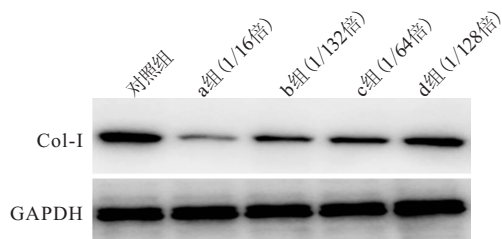


图 2 同浓度含药血清对细胞内 COL- I 蛋白含量的影响

Figure 2 The effect of drug-containing serum with different concentration on the content of COL- I protein in cells

2.2 含药血清对人胚肺成纤维细胞增殖的影响 与 A 组比较, B 组的人胚肺成纤维细胞增殖水平显著增加($P < 0.01$), 增殖率为 15.21%。与 B 组比较, C 组和 D 组细胞增殖水平降低(均 $P < 0.01$), C 组与 D 组之间细胞增殖率无明显差异($P > 0.05$); 而 E 组细胞增殖水平与 B 组相似, 两组无明显差异($P > 0.05$), 见表 3。

表 3 含药血清对人胚肺成纤维细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effects of medicated serum on proliferation of human embryonic lung fibroblasts

组别	OD 值	增殖抑制率($\times 10^{-2}$)
A 组	2.493±0.213	-
B 组	3.198±0.137 ^①	-
C 组	2.473±0.086 ^②	22.67
D 组	2.480±0.123 ^②	22.45
E 组	3.215±0.126	-

注: A. 空白组; B. TGF- β 1 造模组; C. TGF- β 1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h 组; D. TGF- β 1 处理+shRNA-IL-17A 组; E. TGF- β 1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h+IL-17A 过表达质粒组。与 A 组比较, ① $P < 0.01$; 与 B 组比较, ② $P < 0.01$

2.3 实验细胞形态观察 与 A 相比, 经 TGF- β 1 诱导后的 B 组的人胚肺成纤维细胞增殖明显提升, B 组和 E 组的细胞形态由较大的梭形或不规则星形转变成较为扁平的梭形结构。而 C、D 组与 A 组的细胞增殖及形态变化相似, 见图 3。

2.4 各组人胚肺成纤维细胞中胶原蛋白 COL- I、IL-17A 蛋白表达情况 TGF- β 1 处理组的胶原蛋白 COL- I 蛋白表达量较空白组明显增多, 而含药血清组的胶原蛋白 COL- I 蛋白表达量较 TGF- β 1 处理组明

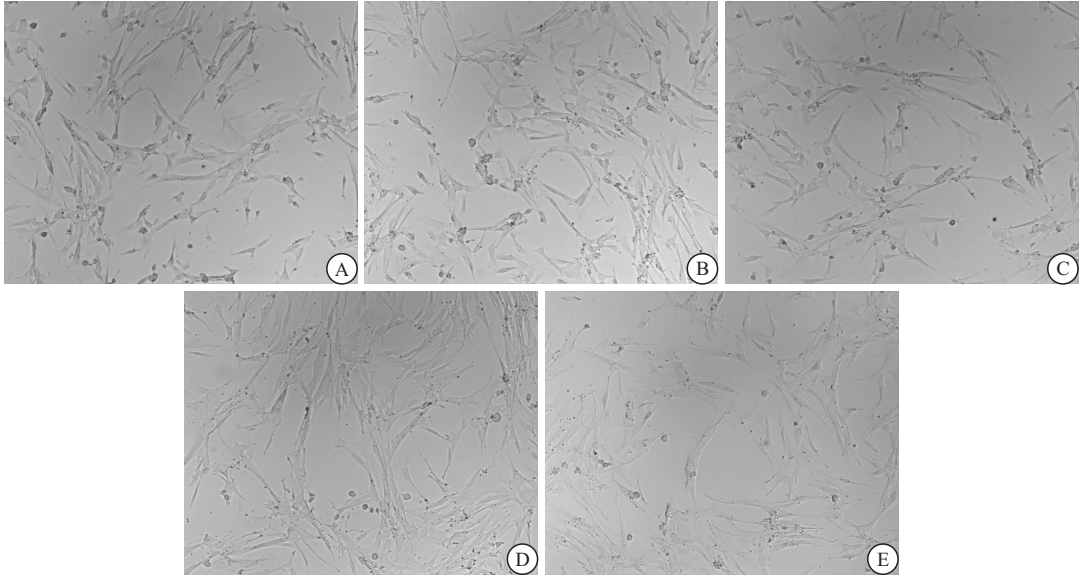


图 3 实验细胞形态观察

Figure 3 Morphological observation of the experimental cells

注: A. 空白组; B. TGF-β1 造模组; C. TGF-β1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h 组; D. TGF-β1 处理+shRNA-IL-17A 组; E. TGF-β1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h+IL-17A 过表达质粒组

显降低,见图 4。TGF-β1 处理组的 IL-17A 蛋白表达量较空白组明显增多,而含药血清组及基因敲减组的 COL- I 蛋白表达量较 TGF-β1 处理组及质粒过表达组明显降低,见图 5。

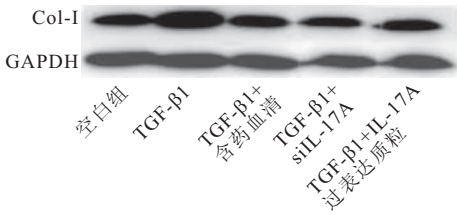


图 4 各组溶液对人胚肺成纤维细胞内 COL- I 蛋白表达量的影响

Figure 4 effects of different solutions on the expression of COL-I protein in human embryonic lung fibroblasts

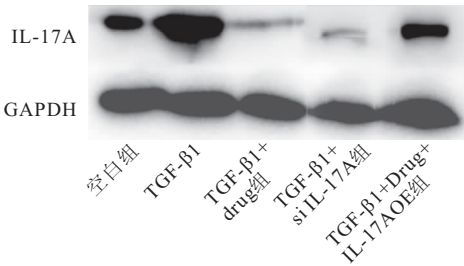


图 5 各组溶液对人胚肺成纤维细胞内 IL-17A 蛋白表达量的影响

Figure 5 Effects of different solutions on the expression of IL-17A in human embryonic lung fibroblasts

2.5 各组人胚肺成纤维细胞中 IL-7AmRNA 的表达量 与 A 组人胚肺成纤维细胞中的 IL-17AmRNA 表达量相比, B 组显著升高(P<0.05); 与 B 组人胚肺成

纤维细胞中的 IL-17AmRNA 表达量比较, C 组明显降低(P<0.05); D 组人胚肺成纤维细胞中的 IL-17AmRNA 表达量显著低于 B 组(P<0.05); E 组人胚肺成纤维细胞 IL-17AmRNA 表达量显著高于 C 组(P<0.05), 见表 4。

表 4 各组人胚肺成纤维细胞中 IL-7AmRNA 的表达量(̄x±s)

Table 4 Expression levels of IL-7A mRNA in human embryonic lung fibroblasts of each group

组别	IL-17A mRNA 表达量
A 组	1.030±0.282
B 组	9.756±1.560 ^①
C 组	1.907±0.679 ^②
D 组	0.471±0.072 ^②
E 组	6.730±1.271 ^③

注: A. 空白组; B. TGF-β1 造模组; C. TGF-β1 处理+最佳浓度含药血清干预 1 h 组; D. TGF-β1 处理+shRNA-IL-17A 组; 与 A 组比较, ①P<0.05; 与 B 组比较, ②P<0.05; 与 C 组比较, ③P<0.05

3 讨论

肺间质纤维化的形成与炎症反应、氧化应激、细胞因子异常释放、免疫系统失调、微循环障碍及细胞增殖、重构等有关, 最终导致细胞外基质的过度沉积, 其主要成分是由不溶性纤维蛋白组成^[9]。因此, 维持肺组织细胞稳态、降解胶原蛋白可能成为攻克 IPF 的关键之一。有研究发现阻断 IL-17A 的活性, 激活细胞自噬的发生, 进一步阻止中晚期胶原蛋白的异常沉积^[10]。因此, 靶向调控 IL-17A 有可能成为肺纤维化的诊疗新靶点。

2010 年,有研究^[11]发现白介素 17A 型细胞因子 (Interlukine-17A, IL-17A) 可促进肺纤维化的发生,而敲除 IL-17A 的受体则可以改善由博莱霉素 (Bleomycin, BLM) 诱导的肺纤维化发生。IL-17A 可通过 TGF- β 1 依赖及 TGF- β 1 非依赖两种途径诱导肺纤维化的发生。TGF- β 1 可促进胶原的转录,增加胶原的表达,IL-17A 可激活 TGF- β 1 促进胶原的表达。同时,IL-17A 还可以通过非 TGF- β 1 依赖途径抑制由饥饿诱导的自噬活化,抑制经自噬-溶酶体途径导致的胶原降解^[12-15]。因此,调节 IL-17A 引起的免疫反应有可能成为治疗肺纤维化疾病的潜在靶点。

本课题组在传统中医理论指导下,结合肺纤维化的临床特征及病理变化、病程进展,应用李芮教授治疗肺纤维化的经验方“补肾活血方”(人参、熟地黄、山茱萸、黄芪、麦冬、五味子、当归、丹参、黄芩、川贝母、虎杖、炙甘草)进行了一系列的实验研究。方中以人参、熟地黄为君,补气益肺、滋补肾阴;山茱萸补益肝肾,黄芪、麦冬健脾补中、补益肺气、养阴生津,五味子上敛肺气、下滋肾阴,四者共为臣药;佐以当归、丹参活血行气以化瘀毒,黄芩、川贝母清泄肺热化痰、润肺止咳以化痰毒,虎杖、炙甘草清热解聚、化痰止咳以祛毒热之邪;炙甘草兼为使药,调和诸药。中药复方“补肾活血方”具有扶助正气、化痰祛瘀、泄浊解毒之效,对正气亏虚、水津不布、瘀毒壅塞引起的痰瘀毒聚具有明显的改善作用,在间质纤维化的临床应用中具有显著的临床疗效^[16-19]。

通过测定不同浓度含药血清对人胚肺成纤维细胞增殖的抑制情况,最终选出含药血清的最大无毒浓度。而人胚肺成纤维细胞加入含药血清干预后,细胞内 COL- I 蛋白含量表达比对照组明显降低,且具有剂量依赖性,提示含药血清有一定降解胶原蛋白的作用或者对细胞内胶原蛋白的沉积/降解过程有一定的调节作用,增强细胞的降解胶原蛋白的能力。组间分析结果提示,考虑选定含药血清(1/16 倍)浓度为该实验的最佳有效浓度,即稀释 16 倍的含药血清浓度为该实验的最佳有效浓度,后续实验中含药血清均应用该浓度进行。

B 组人胚肺成纤维细胞的细胞增殖率明显高于 A 组,且 B 组细胞中 COL- I 的蛋白表达量明显高于 A 组,与文献报道基本一致,说明应用 TGF- β 1 作用于人胚肺成纤维细胞造模成功。

与 B 组比较,C 组和 D 组细胞增殖水平降低(均 $P < 0.01$),C 组与 D 组之间细胞增殖率无明显差异($P > 0.05$);而 E 组细胞增殖水平与 B 组相似,两组之间无明显差异($P > 0.05$)。同时与 B 组比较,C 组和

D 组细胞中胶原蛋白 COL- I 的蛋白表达量均明显降低,而 E 组细胞中的胶原蛋白含量较 C 组明显增多。这提示含药血清能够明显降低人胚肺成纤维细胞中胶原蛋白的含量,其作用途径可能与阻断 IL-17A 通路有关。

在各组 IL-17AmRNA 表达量及 IL-17A 蛋白含量比较中发现,B 组较 A 组 IL-17AmRNA 表达量及 IL-17A 蛋白含量明显增多,而 C 组的表达量较 B 组明显减少,且 D 组的表达量也较 B 组明显减少($P < 0.05$)。E 组与 C 组比较,明显增多($P < 0.05$)。进一步印证补肾活血方治疗肺纤维化通过阻断 IL-17A 通路而实现。

在治疗肺间质纤维化方面,临床应用疗效确切的补肾活血方主要是通过阻断 IL-17A 通路、降解胶原蛋白而实现的。许多研究发现,阻断 IL-17A 能够抑制 Vps34 (III 型磷酸肌醇 3-激酶, PI3K),进而通过 GSK3 β 信号通路激活抑制性蛋白 Bcl-2 的 ser70 位的磷酸化,抑制 Bcl-2 与 Beclin-1 结合,最终促进自噬活化,增加胶原蛋白的降解。LAMP-1 是溶酶体的表面标志,通过检测 LC3 + LAMP-1 + 自噬溶酶体,可评价自噬活性^[20-23]。目前已在进一步完善该实验,进行细胞的 GSK3 β 信号通路及 LC3 自噬小体的实验研究,因此补肾活血方具体通过阻断 IL-17A 的哪条信号通路实现降解胶原蛋白,以及胶原蛋白如何进行降解,目前正在实验进一步予以研究和验证。

4 结论

补肾活血方能有效降解人胚肺成纤维细胞中胶原蛋白的含量,具有较强的降纤作用,且主要是通过阻断 IL-17A 通路降解胶原蛋白而起到抗纤维化作用。

【参考文献】

- [1] HUTCHINSON J, FOGARTY A, HUBBARD R, *et al.* Global incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis: a systematic review[J]. *Eur Respir J*, 2015, 46:795-806.
- [2] NOBLE PW, BARKAUSKAS CE, JIANG D. Pulmonary fibrosis: patterns and perpetrators [J]. *J Clin Invest*, 2012, 122:2756-2762.
- [3] ARAYA J, KOJIMA J, TAKASAKA N, *et al.* Insufficient autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2013, 304:L56-69.
- [4] GUI YS, WANG L, TIAN X, *et al.* mTOR overactivation and compromised autophagy in the pathogenesis of pulmonary fibrosis [J]. *Plo S One*, 2015, 10:e0138625.
- [5] YANG HZ, WANG JP, MI S, *et al.* TLR4 activity is required in the resolution of pulmonary inflammation and fibrosis after acute and chronic lung injury [J]. *Am J Pathol*, 2012, 180:275-292.
- [6] YU G, IBARRA G H, KAMINSKI N. Fibrosis: lessons from

- OMICSAnalyses of the human lung[J]. *Matrix Biol*, 2018, 68(69):422-434.
- [7] 李鹏,刘咏梅,刘振华. 敲减 HMG2 基因抑制 TGF- β 1 诱导的人胚肺成纤维细胞生长及胶原合成[J]. *中国病理生理杂志*, 2019,35(9):1648-1653.
- [8] LI H, CAI H, DENG J, *et al.* TGF- β -mediated upregulation of Sox9 in fibroblast promotes renal fibrosis[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2018, 1864(2): 520-532.
- [9] 刘建,王玥,王玉光. 特发性肺纤维化发病机制及药物研究新进展[J]. *医学综述*, 2020,26(11):2111-2116.
- [10] 董昭兴,康庆鑫,雷雯等. IL-17 对肺成纤维细胞的增殖、转化和胶原合成作用[J]. *南方医科大学学报*, 2012,32(1):75-79.
- [11] 宋桂芹,赵铁军,唐红悦,等. 中和白介素-17 对博来霉素诱导的特发性肺纤维化及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2020,40(11):1617-1622.
- [12] LEI LING, ZHAO CHENG, QIN FANG, *et al.* Th17 cells and IL-17 promote the skin and lung inflammation and fibrosis process in a bleomycin-induced murine model of systemic sclerosis. [J]. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 2016, 34 Suppl 100(5):14-22.
- [13] ARAYA JUN, KOJIMA JUN, TAKASAKA NAOKI, *et al.* Insufficient autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 2013, 304(1):L56-69.
- [14] RAI SHASHANK, ARASTEH MARYAM, JEFFERSON MATTHEW, *et al.* The ATG5-binding and coiled coil domains of ATG16L1 maintain autophagy and tissue homeostasis in mice independently of the WD domain required for LC3-associated phagocytosis[J]. *Autophagy*, 2019, 15(4):599-612.
- [15] 郭小旭,贺艳飞,姚培学,等. IL-17A、自噬在肺部疾病中的研究进展[J]. *临床肺科杂志*, 2021,26(1):147-150.
- [16] 李芮,陈泽涛,姚莉,等. 补肾活血法治疗老年慢性阻塞性肺疾病合并肺间质纤维化临床[J]. *山东中医杂志*, 2011,30(2):88-90.
- [17] 贺启萌,孟泳,任璐瑶,等. 孟泳教授益气养阴法治特发性肺纤维化经验总结[J]. *智慧健康*, 2020,6(2):112-114.
- [18] 吴洪波,付义,杨春艳,等. 基于“象思维”解析中医对特发性肺纤维化的认识[J]. *云南中医中药杂志*, 2019,40(9):20-23.
- [19] 潘嘉祥,吕晓东,庞立健,等. 基于肺络病理理论探讨补肺通络法治特发性肺纤维化的效应原理[J/OL]. *中华中医药学刊*:1-9 [2020-04-09].
- [20] LIU H, MI S, LI Z, *et al.* Interleukin 17A inhibits autophagy through activation of PIK3CA to interrupt the GSK3B-mediated degradation of BCL2 in lung epithelial cells[J]. *Autophagy*, 2013,9:730-742.
- [21] HUANG C, LIN M Z, CHENG D, *et al.* KCa3. 1 mediates dysfunction of tubular autophagy in diabetic kidneys via PI3k/Akt/mTOR signaling pathways[J]. *Sci Rep-Uk*, 2016,31(6): 23884-23887.
- [22] ARAYA J, KOJIMA J, TAKASAKA N, *et al.* Insufficient autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Physiol-Lung C*, 2013,304(1): L56-L69.
- [23] MARGARITOPOULOS G A, VASARMIDI E, ANTONIOU K M. Pirfenidone in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis: an evidence-based review of its place in therapy[J]. *Core Evid*, 2016,11(3): 11-22.
- (收稿日期:2021-03-29;修回日期:2021-08-29;编辑:郭翠)
- ~~~~~
- (上接第 44 页)
- [12] SONG S, QIU D, WANG Y, *et al.* Txnip deficiency mitigates podocyte apoptosis via restraining the activation of mtor or p38 mapk signaling in diabetic nephropathy[J]. *Exp Cell Res*, 2020, 388(2):111862.
- [13] WANG L, ZHANG S, CHENG G, *et al.* Mir-145 reduces the activity of pi3k/akt and mapk signaling pathways and inhibits adipogenesis in bovine preadipocytes[J]. *Genomics*, 2020,112(4):2688-2694.
- [14] WANG X, XING Y, TANG Z, *et al.* Thioredoxin-2 impacts the inflammatory response via suppression of nf- κ b and mapk signaling in sepsis shock[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524(4):876-882.
- [15] ZHOU J, LIU Q, QIAN R, *et al.* Paeonol antagonizes oncogenesis of osteosarcoma by inhibiting the function of tlr4/mapk/nf- κ b pathway[J]. *Acta Histochem*, 2020,122(1):151455.
- [16] 何梅英,陈文婷. 白藜芦醇抑制 NF- κ B 通路对脓毒症大鼠急性肺损伤的保护作用[J]. *实用药物与临床*, 2019,22(9):904-907.
- [17] 陈昱晓,王娜,徐李玲,等. 金桔精油通过抑制 p38 MAPK 和 NF- κ B 信号通路减轻脂多糖诱导的小鼠急性肺损伤(英文)[J]. *广西医科大学学报*, 2019,36(6):863-868.
- [18] ZHANG Y, ZHOU S, ZHOU J, *et al.* Regulation of nf- κ b/mapk signaling pathway attenuates the acute lung inflammation in klebsiella pneumonia rats by mollugin treatment[J]. *Microb Pathog*, 2019,132:369-373.
- [19] 陈丽红,唐于平,王强. 葛根苓连汤的现代研究进展[J]. *中草药*, 2010,41(4):8-12.
- [20] 李津,宋强,杜晨晖,等. 基于 p38MAPK 信号转导通路探讨葛根苓连汤发酵液对 T2DM 大鼠的降糖机理[J]. *时珍国医国药*, 2018,29(10):45-47.
- [21] 陈丽. 葛根苓连汤对溃疡性结肠炎小鼠模型肠黏膜内 NF- κ B、TNF- α 、MFG-E8 及 occludin 表达的影响[J]. *实用医院临床杂志*, 2018,15(6):12-16.
- [22] KHAN J, NOBORU N, YOUNG A, *et al.* Pro and anti-inflammatory cytokine levels (tnf- α , il-1 β , il-6 and il-10) in rat model of neuroma[J]. *Pathophysiology*, 2017,24(3):155-159.
- [23] BERRY LJ, SHEIL B, GARRATT L, *et al.* Stability of interleukin 8 and neutrophil elastase in bronchoalveolar lavage fluid following long-term storage [J]. *Journal of Cystic Fibrosis*, 2010,9(5):346-350.
- [24] YIN Y, HAN W, CAO Y. Association between activities of SOD, MDA and Na⁺-K⁺-atpase in peripheral blood of patients with acute myocardial infarction and the complication of varying degrees of arrhythmia [J]. *Hellenic Journal of Cardiology*, 2019,60(6):366-371.
- (收稿日期:2020-11-13;修回日期:2021-10-25;编辑:郭翠)