

蛇床子素对博莱霉素致肺纤维化小鼠的干预作用及其机制研究

夏 维¹, 马荣林², 崔红霞¹

¹苏州大学附属第二医院病理科, 江苏 苏州

²苏州市立医院, 江苏 苏州

收稿日期: 2022年6月11日; 录用日期: 2022年7月3日; 发布日期: 2022年7月13日

摘 要

目的: 观察蛇床子素(Osthole, Ost)对博莱霉素(BLM)致小鼠肺纤维化的干预作用及可能的作用机制。方法: 小鼠随机分为对照组、模型组、醋酸泼尼松组和Ost大、中、小剂量组。BLM气管内给药复制小鼠肺纤维化模型, 于造模成功后第2天各治疗组Ost灌胃给药, 给药后第28天处死小鼠, 观察肺组织形态学变化, 并测定肺纤维化相关生化指标。结果: Ost能减少BLM致肺纤维化小鼠肺组织中胶原沉积, 降低肺系数($P < 0.05$), 增强肺组织及血清中总抗氧化能力(T-AOC)及增强其抑制羟自由基($\cdot\text{OH}$)能力, 降低肺组织中羟脯氨酸(HYP)及丙二醛(MDA)含量, 减弱肺血清中总一氧化氮合酶的活力(T-NOS) ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), 减轻小鼠肺组织纤维化改变。结论: Ost对BLM诱导肺纤维化有一定程度的干预与治疗作用。

关键词

蛇床子素, 博莱霉素, 肺纤维化, 羟脯氨酸, 总抗氧化能力, 丙二醛

Effects of Osthole on Mice with Pulmonary Fibrosis Induced by Bleomycin

Wei Xia¹, Ronglin Ma², Hongxia Cui¹

¹Department of Pathology, The Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou Jiangsu

²Suzhou Municipal Hospital, Suzhou Jiangsu

Received: Jun. 11th, 2022; accepted: Jul. 3rd, 2022; published: Jul. 13th, 2022

Abstract

Objective: To observe the intervention effect and possible mechanism of phylogenetic fibrosis in mice caused by bleomycin (BLM) by Osthole (Ost). **Methods:** Mice were randomly divided into

control group, modal group, prednisone acetate group and Ost large, medium and small dose group. BLM endotracheal administration replicated the mouse pulmonary fibrosis model, and on the second day after successful molding, each treatment group was gastrically administered Ost, and the mice were sacrificed on the 28th day after administration, and the morphological changes of lung tissue were observed, and the biochemical indicators related to pulmonary fibrosis were measured. Results: Ost can reduce collagen deposition in lung tissue of BLM-induced pulmonary fibrosis mice, reduce lung coefficient ($P < 0.05$), enhance total antioxidant capacity (T-AOC) in lung tissue and serum, and enhance its inhibition of hydroxyl radicals ($\cdot\text{OH}$) ability, reduce the content of hydroxyproline (HYP) and malondialdehyde (MDA) in lung tissue, weaken the activity of total nitric oxide synthase (T-NOS) in lung serum ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$), and reduce the fibrosis changes in mouse lung tissue. Conclusion: Ost has a certain degree of intervention and therapeutic effect on BLM-induced pulmonary fibrosis.

Keywords

Osthole, Bleomycin, Pulmonary Fibrosis, HYP, T-AOC, MDA

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

肺纤维化(Pulmonary fibrosis)是一组免疫介导的炎症性疾病,主要表现为肺泡炎症性损伤,肺内间质细胞增生以及细胞外基质(ECM)的大量沉积和广泛的肺实质重建,其发病率及死亡率逐年增高,目前临床上尚无理想的治疗方法[1]。祖国传统医学以其独特的医学思维和疗效,在肺纤维化的临床治疗中,许多单味中药及复方予以应用,并且取得了一定的治疗效果。蛇床子素(Osthole)又名甲氧基欧芹酚或欧芹酚甲醚,是从伞形科植物蛇床成熟果实蛇床子中提取的香豆素类化合物,其化学名称为7-甲氧基18-异戊烯基香豆素。Ost可作用于机体免疫系统、内分泌系统、心血管系统、呼吸系统等,具有抗氧化、抗炎镇痛、增强免疫功能、抗变态反应、解痉等的药理作用[2]。国外曾有研究显示[3],Ost可经过抗细胞氧化反应缓解硫代乙酰胺诱导的肝损伤,进而减低组织内胶原蛋白与 α -SMA表达,达到改善肝纤维化的目的。另外体外试验中发现,Ost能够调控TGF- β 1导致的肝星状细胞迁移与侵袭,并改善TGF- β 1激活的核转录因子kB水平,除此之外,Ost还可改善TGF- β 1以及内皮素-1引导的肝性状细胞的收缩功能。随着临床不断深入研究,国内开展动物实验[4],选择节段性肾小球硬化小鼠模型进行观察,发现Ost可利用核转录因子kB信号通道抑制肾小球炎症,并调节巨噬细胞内氧化应激水平,促进肾功能改善。还有报道指出,Ost能够抑制心肌成纤维细胞的激活以及细胞外基质沉积,以此避免心肌纤维化产生。但Ost对肺纤维化的治疗至今少有报道,仅认为Ost在抗纤维化上存在一定药理活性,但具体机制尚不清楚。因此本文展开试验,本实验用Ost对BLM致小鼠肺纤维化进行干预,初步探讨其机制及疗效,为临床治疗提供指导意义。

2. 材料与方法

2.1. 实验动物、试剂与仪器

昆明种小鼠60只,体重18~22g,清洁级,由上海斯莱克实验动物有限公司提供,实验动物生产许

可证: SCXK(沪)2007-0005。博莱霉素 A5 由日本化药株式会社生产, 产品批号 570630, 药品进口注册证号 H20040205; 蛇床子素购自西安旭煌生物技术有限公司, 纯度为 95%, 批号: 090717; 醋酸泼尼松由江苏徐州平光制药有限责任公司生产。羟脯氨酸(HYP)批号: A0302-1、总抗氧化能力(T-AOC)批号: A95-1、丙二醛(MDA)批号: A003-1、羟自由基($\cdot\text{OH}$)批号: A0181-1、总一氧化氮合酶活力(T-NOS)批号: A014-2, 试剂盒由南京建成生物研究所提供。光学显微镜 OLYMPUS CX21; 紫外可见分光光度计, T6 新世纪型, 为北京普析通用仪器有限责任公司生产, 仪器编号: 18-1650-01-016; 低温冷冻离心机, KDC-2044 型, 科大创新股份有限公司中佳分公司生产。

2.2. 实验分组及造模

60 只昆明种小鼠, 随机分为对照组、模型组、Ost 大剂量($20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、中剂量($10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)、小剂量($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)治疗组和醋酸泼尼松治疗组($6.67\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$)。实验小鼠用 4%水合氯醛($0.01\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$)腹腔注射麻醉后, 取仰卧位固定于手术板上, 常规消毒, 行颈正中切口, 钝性分离暴露气管, 模型组、Ost 治疗组和醋酸泼尼松治疗组于气管软骨环间隙穿刺气管缓缓注入 BLM ($5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 对照组注入等体积生理盐水。注药后缝合皮肤, 立即将小鼠直立旋转 3~5 min, 使药液均匀分布于两侧肺内。各治疗组造模后第 2 天开始灌胃给药, 对照组及模型组灌胃给予 5%羧甲基纤维素钠(CMC Na), 每天 1 次。

2.3. 取材方法

造模后第 28 天处死小鼠, 腹腔注射 4%水合氯醛($0.01\text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$)麻醉后, 眼眶静脉取血, 分离血清。同时取出双肺, 称重, 根据公式: 肺重(mg)/体重(g), 计算肺系数。取右肺用 10%福尔马林固定, 常规石蜡包埋, 切片, HE 染色。左肺用作 HYP 含量、T-AOC 活性、MDA 含量等生化指标的测定。

2.4. 生化指标的测定

肺组织 HYP 含量、MDA 含量、T-AOC 能力、抑制 $\cdot\text{OH}$ 能力和血清 T-NOS 的活力、T-AOC 能力、抑制 $\cdot\text{OH}$ 能力的测定分别按照试剂盒说明书进行。

2.5. 组织病理学观察

光镜下观察小鼠肺组织病理形态学特征。依据 Szapiel 等[5]的方法将肺炎和肺纤维化的程度分为四级。肺炎: 0 级, 无肺炎; 1 级, 轻度肺炎, 肺泡隔因细胞浸润增宽, 病变范围局限在全肺的 20%以下; 2 级, 中度肺炎, 病变范围占全肺的 20%~50%; 3 级, 重度肺炎, 呈弥漫性分布, 病变范围大于 50%。肺纤维化: 0 级, 无肺间质纤维化; 1 级, 轻度肺间质纤维化, 病变范围局限在全肺 20%以下; 2 级, 中度肺间质纤维化, 病变范围占全肺的 20%~50%, 肺泡结构紊乱; 3 级, 重度肺间质纤维化, 病变范围大于 50%, 肺泡融合, 肺实质结构紊乱。

2.6. 免疫组织化学染色观察

光学显微镜下观察小鼠肺组织免疫组织化学染色着色情况, 阳性结果判定标准: 以细胞浆或胞核中出现棕黄色颗粒为阳性细胞, 以组织中无明显阳性细胞为阴性(0 级)。每个视野计数 100 个细胞, 观察阳性细胞数。计数 12 个高倍视野中阳性细胞的百分比, 依此将阳性表达又分为: 弱阳性(1 级), 阳性细胞数 < 10%; 中等阳性(2 级), 阳性细胞数为 10%~50%; 强阳性(3 级), 阳性细胞数 > 50%。

2.7. 统计方法

采用 spss11.5 软件处理系统, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料采用 t 检验; 为了归一化统计分析, 将等级计数资料转化为计量资料, 方法如下: 0 级计为 0 分, 1 级计为 1 分, 依此类推, 然后进行 t 检验,

比较组间差异性。 $P > 0.05$ 表示组间无显著性差异, $P < 0.05$ 表示组间有差异, $P < 0.01$ 表示组间有显著差异, $P < 0.001$ 表示组间有极显著差异。

3. 结果

3.1. Ost 对 BLM 致肺纤维化大鼠体重及肺系数的影响

造模后, 模型组小鼠体重较对照组降低极显著($P < 0.001$), Ost 各剂量组小鼠与模型组相比体重增加或显著增加($P < 0.05, P < 0.01$), 醋酸泼尼松组小鼠体重呈增加趋势, 但无统计学显著性差异($P > 0.05$); 模型组小鼠肺系数极显著高于对照组($P < 0.001$), Ost 各治疗组及醋酸泼尼松组肺系数与对照组相比均有不同程度的降低($P < 0.05$) (表 1)。

3.2. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠肺组织 HYP 含量的影响

与对照组小鼠相比, 模型组小鼠肺组织 HYP 含量增加极显著($P < 0.001$)。与模型组小鼠相比, 醋酸泼尼松组小鼠肺组织 HYP 含量减少极显著($P < 0.001$), Ost 各剂量组小鼠肺组织 HYP 含量均显著减少($P < 0.01$) (表 1), 表明 Ost 可以降低 BLM 致肺纤维化小鼠肺组织中 HYP 含量。

Table 1. Effects of Ost on body weight, lung coefficient and HYP content in BLM-induced pulmonary fibrosis mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

表 1. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠体重、肺系数及肺组织 HYP 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/mg·kg	体重(g)	肺系数(mg/g)	HYP(mg/g)
对照		38.52 ± 2.41	4.772 ± 0.179	0.851 ± 0.095
模型		31.4 ± 3.54 ^{###}	6.78 ± 1.699 ^{###}	1.053 ± 0.132 ^{###}
醋酸泼尼松	6.67	31.76 ± 2.43	5.384 ± 0.717 [*]	0.929 ± 0.091 ^{***}
小剂量	5	34.44 ± 2.27 ^{**}	5.751 ± 0.583 [*]	0.937 ± 0.189 ^{**}
蛇床子素	10	34.32 ± 1.74 [*]	5.514 ± 0.539 [*]	0.924 ± 0.109 ^{**}
大剂量	20	35.00 ± 1.18 [*]	5.347 ± 0.562 [*]	0.905 ± 0.134 ^{**}

与对照组比较, ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$, ^{***} $P < 0.001$ 。

3.3. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠肺组织 T-AOC 能力、抑制·OH 的能力和 MDA 含量的影响

与对照组小鼠相比造模组小鼠, 肺组织 T-AOC、抑制·OH 的能力极显著减弱($P < 0.001$), 氧化代谢产物 MDA 含量增加极显著($P < 0.001$)。与模型组小鼠相比, Ost 各剂量组及醋酸泼尼松组小鼠肺组织 T-AOC 能力及抑制·OH 的能力不同程度增强($P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001$)且呈剂量依赖趋势; 与模型组小鼠肺组织氧化代谢产物 MDA 含量相比, Ost 大剂量组小鼠肺组织中 MDA 含量显著降低($P < 0.01$), 中剂量组及醋酸泼尼松组小鼠肺组织 MDA 含量降低($P < 0.05$), 小剂量组小鼠肺组织中 MDA 含量有降低趋势但无统计学意义(表 2)。

3.4. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠血清中 T-AOC、T-NOS 活力和抑制·OH 产生的影响

与对照组小鼠相比模型组小鼠, 血清中 T-AOC 能力及抑制·OH 能力极显著或显著减弱($P < 0.01, P < 0.001$)。与模型组相比, Ost 各剂量组血清中 T-AOC 能力增强极显著($P < 0.001$), 抑制·OH 产生的能力增强($P < 0.05$), 醋酸泼尼松组小鼠血清抑制·OH 产生的能力显著增强($P < 0.01$); Ost 大、中剂量组和醋酸泼尼松组小鼠血清中 T-NOS 活力显著减弱或减弱($P < 0.05, P < 0.01$), Ost 小剂量组小鼠血清中 T-NOS 活

力有减弱趋势但无统计学意义(表 3)。

Table 2. Effects of Ost on T-AOC capacity, inhibition of ·OH and MDA content in BLM-induced pulmonary fibrosis mice (u/mgprot, $\bar{x} \pm s$, n = 10)

表 2. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠肺组织 T-AOC 能力、抑制·OH 的能力和 MDA 含量的影响(u/mgprot, $\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量/mg·kg	T-AOC	·OH	MDA
对照		6.634 ± 0.614	20.26 ± 3.87	2.63 ± 0.52
模型		3.803 ± 1.322 ^{###}	10.13 ± 4.70 ^{###}	3.40 ± 0.30 ^{###}
醋酸泼尼松	6.67	6.113 ± 0.883 ^{***}	14.33 ± 4.55 [*]	2.91 ± 0.71 [*]
小剂量	5	4.641 ± 1.234 [*]	15.50 ± 2.69 ^{**}	3.28 ± 0.96
蛇床子素	10	5.443 ± 0.707 ^{**}	15.75 ± 5.58 [*]	3.07 ± 0.41 [*]
大剂量	20	6.054 ± 0.588 ^{***}	16.09 ± 4.34 ^{**}	2.77 ± 0.49 ^{**}

与对照组比较, ^{###}P < 0.001; 与模型组比较, ^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01, ^{***}P < 0.001。

Table 3. Effects of Ost on serum activity of T-AOC and T-NOS and serum inhibition of the generation of OH in BLM-induced pulmonary fibrosis mice (u/ml, $\bar{x} \pm s$, n = 10)

表 3. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠血清中 T-AOC、T-NOS 活力和抑制·OH 产生的影响(u/ml, $\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量/mg·kg	T-AOC	·OH	MDA
对照		5.40 ± 0.60	1074.92 ± 62.82	40.29 ± 3.42
模型		3.21 ± 0.48 ^{###}	925.71 ± 157.34 ^{##}	43.88 ± 2.89 ^{##}
醋酸泼尼松	6.67	5.04 ± 0.65 ^{***}	1059.68 ± 62.07 ^{**}	40.43 ± 2.04 ^{**}
小剂量	5	4.34 ± 0.34 ^{***}	1017.17 ± 74.66 [*]	42.87 ± 0.56
蛇床子素	10	4.79 ± 0.48 ^{***}	1026.79 ± 43.45 [*]	41.99 ± 1.02 [*]
大剂量	20	4.97 ± 0.52 ^{***}	1042.03 ± 51.22 [*]	40.66 ± 2.57 ^{**}

与对照组比较, ^{##}P < 0.01, ^{###}P < 0.001; 与模型组比较, ^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01, ^{***}P < 0.001。

3.5. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠肺组织形态学的影响

HE 染色形态学观察结果显示: 正常组肺组织结构清晰, 肺泡上皮细胞结构完整, 肺泡壁未见增厚。模型组肺泡炎明显, 肺泡结构比较紊乱, 肺泡间隔见成纤维细胞及基质大量增多, 少量巨噬细胞、淋巴细胞和浆细胞浸润, 形成弥漫性肺纤维化。Ost 各剂量组小鼠肺泡间隔增宽较模型组明显减轻, 胶原沉积减少, 巨噬细胞、淋巴细胞和浆细胞浸润较轻, 肺泡结构有明显改善, 与模型组相比纤维化程度及肺泡炎症程度明显减轻(P < 0.05, P < 0.01, P < 0.001) (表 4, 图 1(A)~(F))。

Table 4. Effects of Ost on lung tissue morphology in BLM-induced pulmonary fibrosis mice (u/ml, $\bar{x} \pm s$, n = 10)

表 4. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠肺组织形态学的影响(u/ml, $\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量/mg·kg	T-AOC	MDA
对照		0.44 ± 0.53	0.50 ± 0.53
模型		1.33 ± 0.50 ^{###}	1.75 ± 0.46 ^{###}
醋酸泼尼松	3.33	0.75 ± 0.71 [*]	1.00 ± 0.53 ^{**}

Continued

蛇床子素	小剂量	5	$0.78 \pm 0.44^*$	$1.13 \pm 0.64^*$
	中剂量	10	$0.67 \pm 0.50^{**}$	$1.00 \pm 0.53^{**}$
	大剂量	20	$0.56 \pm 0.53^{**}$	$0.88 \pm 0.35^{***}$

与对照组比较, $^{##}P < 0.01$, $^{###}P < 0.001$; 与模型组比较, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$ 。

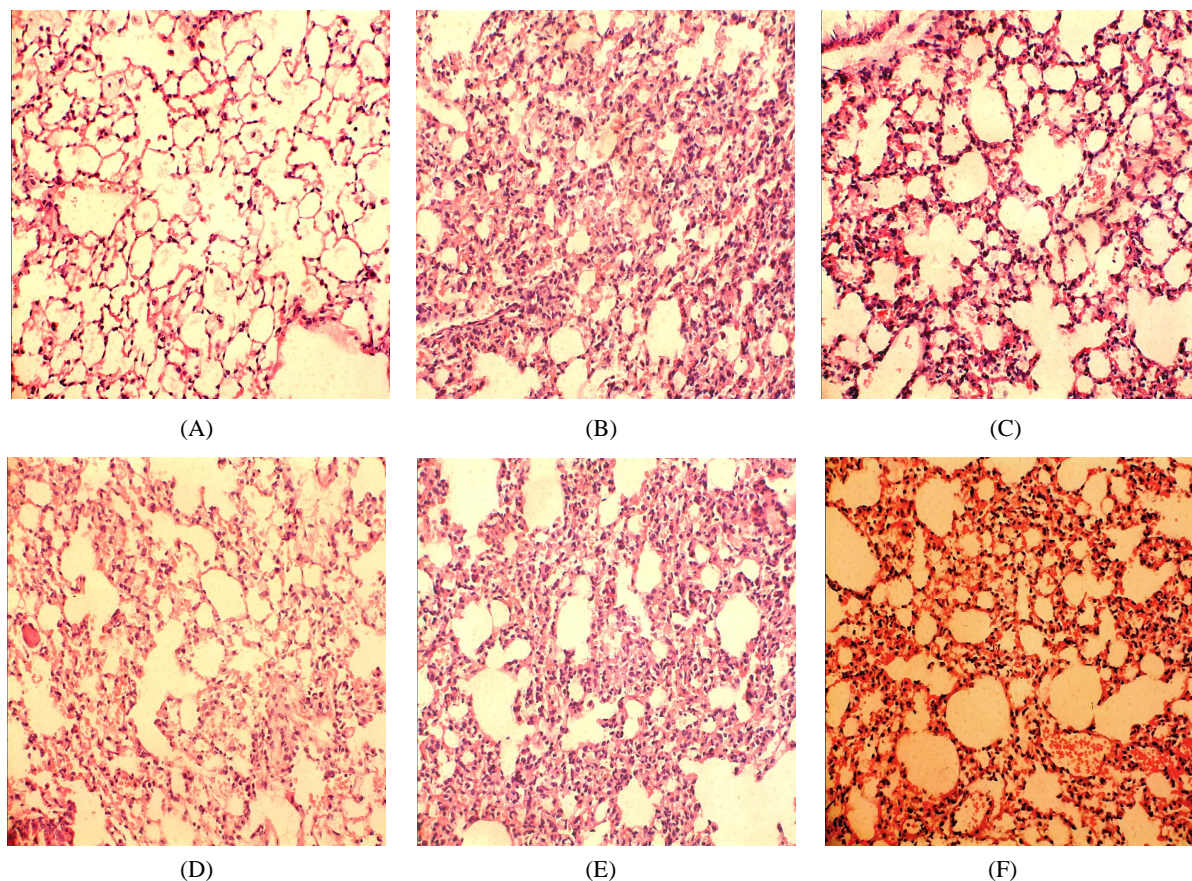


Figure 1. Pathological observations of the effect of ost on BLM-induced pulmonary fibrosis in mice ($E \times 100$). (A) Normal control group; (B) Model group; (C) Ost high-dose group; (D) Ost medium-dose group; (E) Ost low-dose group; (F) Positive control prednisone group

图 1. 蛇床子素对博来霉素致小鼠肺纤维化影响的病理观察结果($E \times 100$)。 (A) 正常对照组; (B) 模型组; (C) 蛇床子素大剂量组; (D) 蛇床子素中剂量组; (E) 蛇床子素小剂量组; (F) 阳性对照药泼尼松组

3.6. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠肺组织 α -SMA、Col III 的影响

平滑肌肌动蛋白 α (α -SMA) 主要分布在肺内活化的肌成纤维细胞及血管平滑肌中, 胶原蛋白 III (Col-III) 主要分布在细支气管上皮组织、肺间质及血管平滑肌中。 α -SMA、Col III 经免疫组织化学染色后呈现棕色、棕黄色或棕褐色, 正常对照组小鼠肺间质内仅有少量的 α -SMA、Col-III 表达, 本实验结果显示, 与正常对照组小鼠相比模型组小鼠支气管粘膜上皮及肺间质中 α -SMA、Col-III 表达极显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组小鼠相比泼尼松组及 Ost 各给药组 α -SMA、Col-III 表达均有不同程度的降低, 有统计学意义并且具有一定的剂量依赖性 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$) (表 5, 图 2(A)~(F), 图 3(A)~(F))。

4. 讨论

BLM 是一种碱性水溶性糖肽类抗肿瘤抗生素，具有广谱抗癌作用。肺组织对 BLM 特别敏感，肺纤维化是 BLM 最严重的副反应。应用 BLM 制作肺纤维化动物模型是目前国内外应用最广泛、最常用的方法。近年来研究发现，该模型导致的肺纤维化中，自由基及其引发的过氧化是其损伤的主要机制[6]。

Table 5. Effects of Ost on lung tissue α -SMA and Col III of BLM-induced pulmonary fibrosis mice (u/ml, $\bar{x} \pm s$, n = 10)

表 5. Ost 对 BLM 致肺纤维化小鼠肺组织 α -SMA、Col III 的影响(u/ml, $\bar{x} \pm s$, n = 10)

组别	剂量/mg·kg	α -SMA 表达程度	Col III 表达程度
对照		0.42 ± 0.51	0.33 ± 0.49
模型		2.16 ± 0.83 ^{###}	2.58 ± 0.67 ^{###}
醋酸泼尼松	3.33	1.33 ± 0.89 ^{**}	1.67 ± 0.65 ^{**}
蛇床子素 小剂量	5	1.50 ± 0.80 ^{**}	1.75 ± 0.62 ^{**}
蛇床子素 中剂量	10	1.42 ± 0.79 ^{**}	1.67 ± 0.65 ^{**}
蛇床子素 大剂量	20	1.08 ± 0.67 ^{***}	1.25 ± 0.45 ^{***}

与对照组比较，^{###}P < 0.001；与模型组比较，^{*}P < 0.05，^{**}P < 0.01，^{***}P < 0.001。

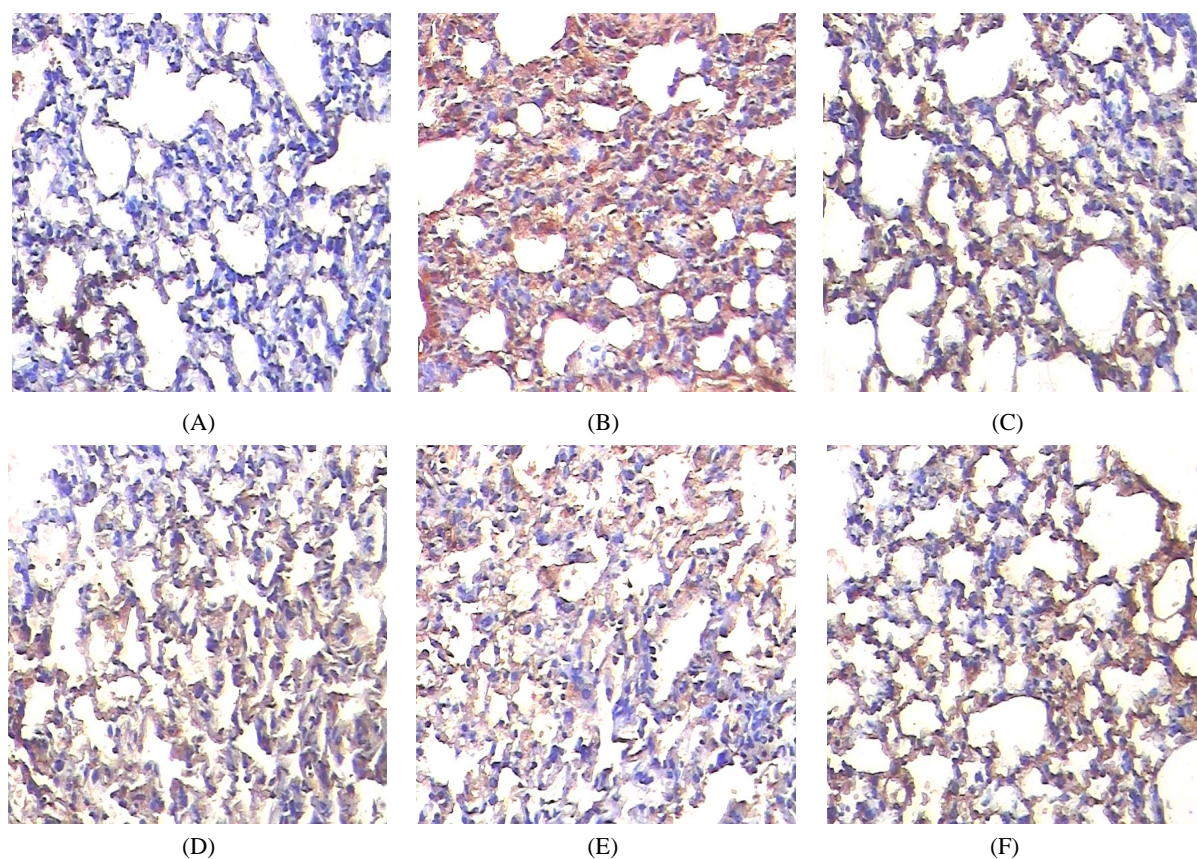


Figure 2. Effect of Ost on BLM-induced expression of pulmonary fibrosis α -SMA in mice (E × 100). (A) Normal control group; (B) Model group; (C) Ost high-dose group; (D) Ost medium-dose group; (E) Ost low-dose group; (F) Positive control prednisone group

图 2. 蛇床子素对博莱霉素致小鼠肺纤维化 α -SMA 表达的影响(E × 100)。 (A) 正常对照组； (B) 模型组； (C) 蛇床子素大剂量组； (D) 蛇床子素中剂量组； (E) 蛇床子素小剂量组； (F) 阳性对照药泼尼松组

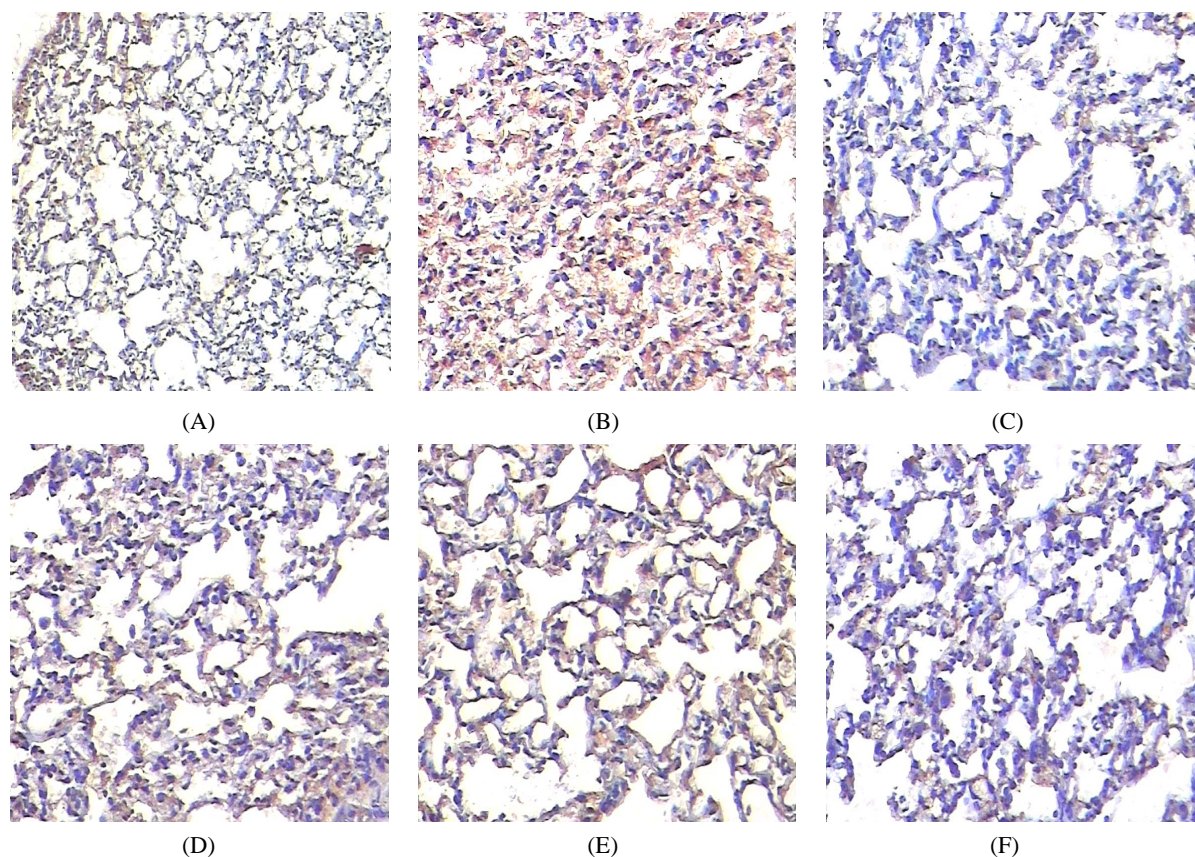


Figure 3. Effect of Ost on the expression of BLM-induced pulmonary fibrosis Col III in mice ($E \times 100$). (A) Normal control group; (B) Model group; (C) Ost high-dose group; (D) Ost medium-dose group; (E) Ost low-dose group; (F) Positive control prednisone group

图 3. 为蛇床子素对博莱霉素致小鼠肺纤维化 Col III 表达的影响($E \times 100$)。 (A) 正常对照组; (B) 模型组; (C) 蛇床子素大剂量组; (D) 蛇床子素中剂量组; (E) 蛇床子素小剂量组; (F) 阳性对照药泼尼松组

体内在氧化应激的状态下产生的自由基可以攻击细胞膜导致过氧化, 使肺细胞损伤, 通过一系列的反应激活肺肌成纤维细胞, 分泌大量的胶原主要是 Col-III使细胞外基质(ECM)大量增多, 沉积于细胞间隙。 α -SMA 是肌成纤维细胞最重要的细胞因子, 肺纤维化的形成激活了静息状态的成纤维细胞, 使之转化为肌成纤维细胞, α -SMA 是肌成纤维细胞形成的标志。本实验应用经气管注入 BLM 制备小鼠肺纤维化模型, 肺组织 HE 染色光镜观察结果显示, 模型组小鼠肺炎程度及肺纤维化程度明显重于正常对照组。免疫组织化学染色结果显示模型组 α -SMA 及 Col-III 的表达明显高于正常对照组。羟脯氨酸含量可以反映肺纤维化程度[7], 模型组 HYP 含量显著高于正常对照组, 与文献报道结果一致, 以上结果提示本实验肺纤维化模型造模成功[8]。

本实验用 Ost 治疗 BLM 诱导的小鼠肺纤维化后, 结果显示, 给药 28 天后, 小鼠肺纤维化程度明显减轻。Ost 各剂量组小鼠体重较模型组均增高; 肺系数、肺组织羟脯氨酸含量均降低; 肺组织的肺炎和纤维化程度明显减轻, α -SMA、Col-III 的表达显著降低。提示 Ost 具有一定程度的抗肺纤维化作用, 其抗纤维化的机制可能与减少成纤维细胞向肌成纤维细胞转化, 从而减少肌成纤维细胞分泌 Col-III 的沉积有关。Ost 各剂量组小鼠肺组织匀浆和血清内 T-AOC 能力及抑制 $\cdot\text{OH}$ 产生能力明显增强, 同时肺组织中 MDA 的含量, 血清中 T-NOS 的活力则显著性地降低。提示 Ost 可能通过提高机体抗氧化能力, 抑制自由基引发的细胞和组织损伤来实现其对肺纤维化小鼠肺组织的保护作用, 从而抑制肺纤维化的发生和发

展。Ost 的抗炎、抗氧化、抗变态反应及增强免疫力等作用的发挥是一个综合复杂的过程, 有研究证实 Ost 对氧自由基和羟自由基具有直接清除作用, 可作为氧自由基清除剂从而发挥抗氧化作用[9], 而其抗炎反应又是通过增强非特异性免疫功能和/或抗变态反应来实现的[10], 但其在抗 BLM 致小鼠肺纤维化过程中具体的作用机制还有待进一步的研究。

参考文献

- [1] Lasky, J.A. and Ortiz, L.A. (2001) Antifibrotic Therapy for the Treatment of Pulmonary Fibrosis. *The American Journal of the Medical Science*, **322**, 213-221. <https://doi.org/10.1097/00000441-200110000-00012>
- [2] 汤群芳, 孔令军, 顾振纶, 等. 蛇床子素抑制大鼠骨质疏松的实验研究[J]. 中草药, 2006, 37(11): 1700-1702.
- [3] 贺海彪, 蒋小岗, 顾振纶, 等. 肺特灵 III 对博莱霉素致小鼠肺纤维化的影响[J]. 苏州大学学报(医学版), 2010, 30(2): 257-259.
- [4] Szapiel, S.V., Elson, N.A., Fulmer, J.D., et al. (1979) Bleomycin Induced Interstitial Pulmonary Disease in the Nude, Athymic Mouse. *American Review of Respiratory Disease*, **120**, 893-899.
- [5] Maria, M.M., Javier, P. and Antoni, X. (2007) Experimental Models for the Study of Pulmonary Fibrosis: Current Usefulness and Future Promise. *Archivos de Bronconeumología*, **43**, 501-507. [https://doi.org/10.1016/S1579-2129\(07\)60115-3](https://doi.org/10.1016/S1579-2129(07)60115-3)
- [6] Ono, A., Utsugi, M., Masubuchi, K., et al. (2009) Glutathione Redox Regulates TGF-Beta-Induced Fibrogenic Effects through Smad3 Activation. *FEBS Letters*, **583**, 357-362. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2008.12.021>
- [7] Kang, H.C., Nan, J.X., Park, P.H., et al. (2002) Curcumin Inhibits Collagen Synthesis and Hepatic Stellate Cell Activation *in Vivo* and *in Vitro*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **54**, 119-126. <https://doi.org/10.1211/0022357021771823>
- [8] 曹志飞, 蒋小岗, 张洪涛, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯对博莱霉素所致小鼠肺纤维化的干预作用及其机制探讨[J]. 苏州大学学报(医学版), 2010, 30(2): 265-268.
- [9] 马同强, 梁智星. 蛇床子素预处理对兔心肌缺血/再灌注损伤的保护[J]. 山西职工医学院院报, 2008, 5(12): 6-8.
- [10] 马玉明. 蛇床子素的药理进展及剂型开发[J]. 中国现代药物应用, 2008, 2(15): 112-114.