

汉防己方剂对二氧化硅颗粒致肺纤维化的缓解作用研究

陈天源, 姜逸林, 李泽艳, 鲍其雪, 姚于勤, 伍东升, 彭莉君, 张凌

四川大学华西公共卫生学院 / 华西第四医院卫生毒理学与病理学系, 四川省教育厅分子毒理学重点实验室, 四川 成都 610041

摘要: **目的** 探讨汉防己方剂对二氧化硅颗粒诱导小鼠肺纤维化的干预作用及可能机制。 **方法** 采用一次性气管内滴注二氧化硅悬液建立小鼠矽肺模型, 将 70 只 C57 小鼠随机分为空白对照组、暴露组、中药低、中、高剂量组、药物安全性组及阳性对照组(尼达尼布), 暴露后连续灌胃给药 56 d。检测小鼠体重、肺重系数及外周血白细胞计数; 采用流式细胞术检测肺及脾组织 CD86⁺ 巨噬细胞比例; Western blot 检测肺组织 α -SMA 与 GSDMD-NT 蛋白表达; 苏木精-伊红染色及 Masson 染色观察肺组织病理改变及胶原沉积。 **结果** 二氧化硅暴露后, 小鼠肺组织 Ashcroft 评分由空白组的 (0.48 ± 0.20) 分升高至 (6.72 ± 0.28) 分 ($P < 0.01$); CD86⁺ 巨噬细胞比例由 $(17.0\% \pm 1.6\%)$ 升高至 $(40.2\% \pm 5.0\%)$ ($P < 0.001$), 同时 α -SMA 及 GSDMD-NT 蛋白表达显著增加。汉防己方剂干预后上述指标均明显改善, 其中中剂量组 Ashcroft 评分降至 (1.68 ± 0.24) 分 ($P < 0.01$)。 **结论** 汉防己方剂可缓解二氧化硅诱导的小鼠肺纤维化, 其作用可能与抑制炎症反应、调节巨噬细胞极化及减轻 GSDMD 介导的细胞焦亡有关。

关键词: 矽肺; 汉防己方剂; 肺纤维化; 细胞焦亡; 巨噬细胞

中图分类号: R135.2 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2026)15-2872-09

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202604068

Alleviating effect of Hanfangji formula on silica particle-induced pulmonary fibrosis

CHEN Tian-yuan, JIANG Yi-lin, LI Ze-yan, BAO Qi-xue, YAO Yu-qin, WU Dong-sheng, PENG Li-jun, ZHANG Ling
Department of Health Toxicology and Pathology, West China School of Public Health / West China Fourth Hospital, Sichuan University, Key Laboratory of Molecular Toxicology of Sichuan Provincial Department of Education, Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: **Objective** To investigate the therapeutic effect of Hanfangji formula on silica particle-induced pulmonary fibrosis in mice and to explore its potential mechanisms. **Methods** A mouse model of silicosis was established by a single intratracheal instillation of silica suspension. Seventy C57 mice were randomly divided into a blank control group, exposure group, low-, medium-, and high-dose Hanfangji groups, drug safety group, and positive control group (nintedanib). Mice were administered drugs by gavage for 56 days after exposure. Body weight, lung weight coefficient, and peripheral blood leukocyte counts were measured. Flow cytometry was used to determine the proportion of CD86⁺ macrophages in lung and spleen tissues. Western blot was performed to detect the expression of α -SMA and GSDMD-NT proteins in lung tissues. Histopathological changes and collagen deposition were assessed by HE staining and Masson staining. **Results** Following silica exposure, the Ashcroft score of lung tissue in mice increased from 0.48 ± 0.20 points in the control group to 6.72 ± 0.28 points ($P < 0.01$). The proportion of CD86⁺ macrophages increased from $17.0\% \pm 1.6\%$ to $40.2\% \pm 5.0\%$ ($P < 0.001$), accompanied by significant upregulation of α -SMA and GSDMD-NT protein expression. After intervention with Hanfangji Formula, all of the above indicators were markedly improved. Among them, the Ashcroft score in the medium-dose group decreased to 1.68 ± 0.24 points ($P < 0.01$). **Conclusion** Hanfangji formula can alleviate silica-induced pulmonary fibrosis in mice, which may be associated with inhibition of inflammatory responses, regulation of macrophage polarization, and reduction of GSDMD-mediated pyroptosis.

Keywords: Silicosis; Hanfangji formula; Pulmonary fibrosis; Pyroptosis; Macrophages

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFC2509300); 国家自然科学基金联合项目(U23A20495)

作者简介: 陈天源(1999—), 男, 硕士在读, 研究方向: 卫生毒理学

通信作者: 张凌, E-mail: zhangling83@scu.edu.cn

在全球公共卫生领域, 职业性尘肺病仍是一项严峻挑战。尘肺病是由于工人在职业活动中长期吸入生产性粉尘, 粉尘在肺内蓄积并诱导持续的氧化应激和慢性炎症反应, 最终导致成纤维细胞异常增殖及肺纤

维化^[1]。尽管各国疾病负担存在差异,但总体形势依然严峻。在发展中国家,尘肺发病率虽有所下降,但庞大的患者基数仍造成沉重医疗负担^[2]。在美国、澳大利亚等发达国家,人工石材加工及牛仔布喷砂等新兴行业中矽肺和煤工尘肺病例也不断被报道^[3]。

中医药在慢性肺部疾病防治方面具有独特优势。中药复方通过多成分、多靶点和多通路协同作用,可在炎症调控、免疫调节及抗纤维化等方面发挥综合干预作用。研究表明,具有清热解毒、活血化瘀和化痰散结作用的中药或复方可在一定程度上减轻矽肺动物模型中的炎症反应和胶原沉积,延缓肺纤维化进程,其机制可能与调控氧化应激、抑制炎症因子释放及干预成纤维细胞活化有关^[4]。

汉防己(*Stephania tetrandrine* S. Moore)是传统中药,其主要活性成分汉防己甲素(tetrandrine)具有抗炎、抗纤维化和免疫调节作用。研究显示,汉防己甲素可减轻二氧化硅诱导的肺组织炎症和纤维化,降低炎症因子和纤维化相关蛋白表达并减少胶原沉积^[5],同时抑制 IL-6 等炎症介质产生及氧自由基释放^[6]。既往研究亦提示含汉防己的复方中药在职业性肺病及其他肺纤维化中具有改善炎症和纤维化进程的作用^[7]。基于此,本研究构建由汉防己、生地、太子参、丹参、浙贝母和甘草组成的汉防己方剂,通过多成分协同干预炎症反应、免疫失衡及纤维化过程,和汉防己甲素单体相比,复方配伍可能通过协同作用增加疗效并减少毒性。系统评价该方剂对二氧化硅诱导肺纤维化的干预效果并探讨其作用机制,对阐明其防治矽肺的潜在价值具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验动物 实验动物选用 SPF 级 8 周龄 C57 雄性小鼠(25 ± 3) g,购自北京维通利华实验动物有限公司,在四川大学华西药学院动物房适应性饲养 1 周。饲养条件为温度(22 ± 2) °C、湿度 50%~60%,正常昼夜节律,自由饮食饮水。实验动物管理符合《四

川大学实验动物管理条例》,并经四川大学华西第四医院机构动物护理与使用委员会(IACUC)批准(Gwll2025069),实验过程遵循美国国立卫生研究院指南。

1.2 主要试剂与材料 二氧化硅粉末购自北京福斯曼科技有限公司;汉防己方剂(汉防己、生地、太子参、丹参、浙贝母、甘草)购自四川大学华西第四医院。主要试剂包括 Tris、SDS、Glycine、BSA、4%多聚甲醛固定液及 Western blot 相关试剂购自赛默飞;Anti-GSDMD、Anti-GAPDH、Anti- α -SMA 抗体及 HRP 标记二抗购自华安生物。

汉防己方剂配伍为:粉防己、熟地黄、太子参、丹参各 9 g,浙贝母 6 g,甘草 3 g。药材均为同一批次(批号:20230801),按药材量 8 倍体积加水浸泡 30 min 后煎煮 3 次(每次 1 h),合并滤液浓缩制成颗粒剂。粉防己中汉防己甲素含量经高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)检测为 1.8 mg/g。制备过程中统一加水量、煎煮次数、浓缩温度及干燥条件,以保证方剂稳定性与可重复性。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物分组与处理 本实验选用健康雄性 C57 小鼠 70 只,随机分为七组(每组 10 只)。中药复方总量 45 g/d,按成人与小鼠体重折算得低剂量 6.75 g/(kg·d)^[8],对应提取液浓度 1 g/ml,灌胃 135 μ l/20 g。低、中、高剂量组分别为 6.75、13.5 和 27 g/(kg·d)(对应提取液浓度 1、2 和 4 g/ml)。硅尘暴露采用一次性气管内灌注二氧化硅悬液(50 μ l/20 g, 50 mg/ml),暴露后每日给予相应中药液灌胃,连续 56 d。各组安排如下:(1)空白对照组:灌注生理盐水,灌胃等体积生理盐水;(2)暴露组:灌注二氧化硅,灌胃生理盐水;(3)中药治疗低、中、高剂量组:暴露后分别灌胃 6.75、13.5 和 27 g/(kg·d)中药液;(4)药物安全性组:灌注生理盐水,灌胃 27 g/(kg·d)中药液;(5)阳性对照组:暴露后灌胃尼达尼布 60 mg/(kg·d)。见表 1。

表 1 动物实验分组及处理方式

Table 1 Animal experimental groups and treatments

组别	动物数量	给药浓度	给药方式
空白对照组	10	一次性气管内滴注生理盐水(50 μ l/20 g),每日灌胃生理盐水(135 μ l/20 g)	气管插管+灌胃
暴露组	10	一次性气管内滴注二氧化硅悬液(50 μ l/20 g),每日灌胃生理盐水(135 μ l/20 g)	气管插管+灌胃
中药低剂量组	10	一次性气管内滴注二氧化硅悬液(50 μ l/20 g),每日灌胃低浓度中药液(135 μ l/20 g)	气管插管+灌胃
中药中剂量组	10	一次性气管内滴注二氧化硅悬液(50 μ l/20 g),每日灌胃中浓度中药液(135 μ l/20 g)	气管插管+灌胃
中药高剂量组	10	一次性气管内滴注二氧化硅悬液(50 μ l/20 g),每日灌胃高浓度中药液(135 μ l/20 g)	气管插管+灌胃
药物安全性组	10	一次性气管内滴注生理盐水(50 μ l/20 g),每日灌胃低浓度中药液(135 μ l/20 g)	气管插管+灌胃
阳性对照组	10	一次性气管内滴注二氧化硅悬液(50 μ l/20 g),每日灌胃尼达尼布 60 mg/(kg·d)	气管插管+灌胃

1.3.2 实验动物体重测量 小鼠体重用于评估生长状况及药物安全性。实验在第 0 d 及灌胃处理后的第

5、8、14、30 和 56 d 共测定 6 次。

1.3.3 小鼠肺重系数计算 实验结束后,小鼠处死并迅速解剖,收集两肺,吸干表面血液后称取湿重(mg)。肺重系数按下式计算:

$$\text{肺重系数}(\text{mg/g}) = \frac{\text{肺组织湿重}(\text{mg})}{\text{实验结束时小鼠体重}(\text{g})}$$

1.3.4 小鼠血常规 为评估不同处理对小鼠炎症反应的影响,实验在第 14 d 和第 30 d 通过眶静脉采血进行血常规检测。血样短期于 4 °C 保存,并尽量在 1 h 内完成检测,使用自动血细胞分析仪小鼠模式测定白细胞总数(white blood cell count, WBC)等指标。通过比较各组 WBC 变化评估矽肺模型诱导的炎症及中药干预作用。

1.3.5 流式细胞术 小鼠处死后立即解剖获取肺脏和脾脏,制备单细胞悬液。肺组织研磨后,细胞悬液 4 °C、离心半径 8 cm、4 000 r/min 离心 5 min,弃上清,加入 1 ml 红细胞裂解液室温孵育 5 min,再加 1 ml 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)终止裂解并离心,重悬于 200 μl PBS 备用。脾脏置于生理盐水中研磨成均匀悬液,加入 1 ml 红细胞裂解液室温孵育 5 min,加入 1 ml PBS 混匀后 4 °C、2 500 r/min 离心 5 min,重悬于 200 μl PBS。流式染色时,将肺或脾细胞 3 000 r/min、4 °C 离心 5 min 后弃上清,加入 CD45、F4/80、CD86、CD206、CD11b 抗体混合液冰上避光孵育 30 min。孵育后离心洗涤两次,最终重悬于 100 μl 流式细胞缓冲液,立即进行检测与分析。

1.3.6 Western Blotting 小鼠肺组织加入放射免疫沉淀裂解液及苯甲基磺酰氟充分研磨裂解,离心收集上清作为总蛋白,二喹啉甲酸法(bicinchoninic acid assay, BCA)法测定浓度并调整一致后于 -20 °C 保存。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)分离后转移至聚偏二氟乙烯(polyvinylidene difluoride, PVDF)膜,封闭后一抗 4 °C 孵育过夜,洗膜后加入二抗室温孵育并再次洗膜,随后加入显影液显影。利用凝胶成像系统获取条带图像,Image J 软件定量分析,计算目标蛋白相对内参蛋白的表达水平。

1.3.7 组织切片与染色 小鼠肺组织经气管灌注 10% 中性福尔马林固定约 24 h,常规脱水、透明、石蜡包埋后切制约 4 μm 连续切片。切片脱蜡复水后进行苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)评估肺部病理改变,并进行 Ashcroft 评分;并行 Masson 三色染色显示胶原沉积及纤维化。Masson 切片在显微镜下随机选取高倍视野,利用 Image J 测定胶原纤维面积占比,计算胶原容积分数(collagen volume

fraction, CVF),客观评价肺组织纤维化程度。

1.4 统计学方法 本文中图表用 Graphpad Prism 9 生成与分析,数据以来表示。样本多组间比较用单因素方差分析(血常规分析中第 14 d 与第 30 d 数据采用重复测量方差分析),组间比较采用 Dunnett-*t* 检验。两组间数据若呈正态分布且方差齐则比较时采用 *t* 检验,否则使用 Mann-Whitney *U* 检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 实验动物体重变化 在 56 d 实验周期内,各组小鼠体重总体均缓慢增加。空白组体重由 23.6 g 增至 26.9 g,二氧化硅暴露组由 23.5 g 增至 27.9 g,与空白组差异无统计学意义($P>0.05$),提示短期暴露对体重影响有限。中药低、中、高剂量组体重分别由 23.7、24.2 和 24.5 g 增至 27.4、28.9 和 31.7 g,呈一定剂量依赖趋势。药物安全性组与高剂量组体重变化相近,差异无统计学意义($P>0.05$)。阳性对照组体重由 23.3 g 增至 29.8 g,与各组比较差异均无统计学意义。见图 1。

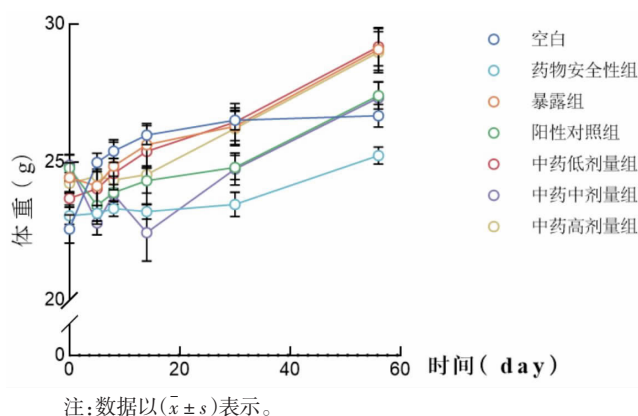


图 1 小鼠体重变化($n=9$)

Figure 1 Body weight changes of mice ($n=9$)

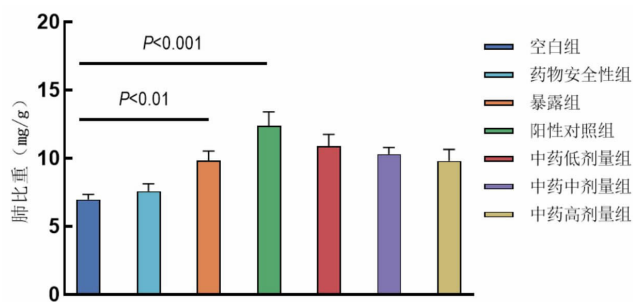
2.2 汉防己方剂对二氧化硅暴露小鼠肺比重的影响

实验结束后测定各组小鼠肺比重,见图 2。空白组及药物安全性组肺比重较低且稳定。与空白组相比,二氧化硅暴露组肺比重显著升高($P<0.01$)。各中药治疗组肺比重较暴露组略有变化,但差异无统计学意义($P>0.05$);阳性对照组肺比重亦高于空白组($P<0.001$)。结果表明,二氧化硅暴露可显著增加小鼠肺比重,而中药干预改善作用有限。

2.3 汉防己方剂对二氧化硅暴露小鼠白细胞计数的影响

为评估二氧化硅暴露后的炎症反应及药物干预效果,于第 14 d 和第 30 d 检测外周血 WBC,见图 3。第 14 d,各组 WBC 差异无统计学意义($P>0.05$)。第 30 d,暴露组 WBC 较第 14 d 显著升高($P<0.001$);中药低、中剂量组及阳性对照组 WBC 较暴露

组明显下降($P<0.001$),部分指标接近空白组,提示



注:数据以($\bar{x} \pm s$)表示。

图2 小鼠肺比重($n=7 \sim 9$)

Figure 2 Lung relative weight of mice ($n=7 \sim 9$)

2.4 汉防己方剂对二氧化硅暴露小鼠炎症细胞的影响

2.4.1 肺组织 CD86 阳性细胞比例变化 为评价二氧化硅暴露后的肺部炎症反应,检测肺组织 CD86 阳性细胞比例,见图 4。空白组($17.0\% \pm 1.6\%$)及药物安全性组($21.5\% \pm 0.9\%$)水平较低,暴露组($40.2\% \pm 5.0\%$)显著升高($P<0.001$)。药物干预后,各治疗组

药物干预可减轻炎症反应。

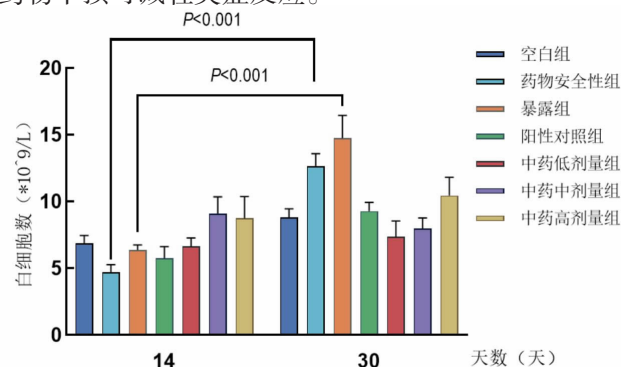
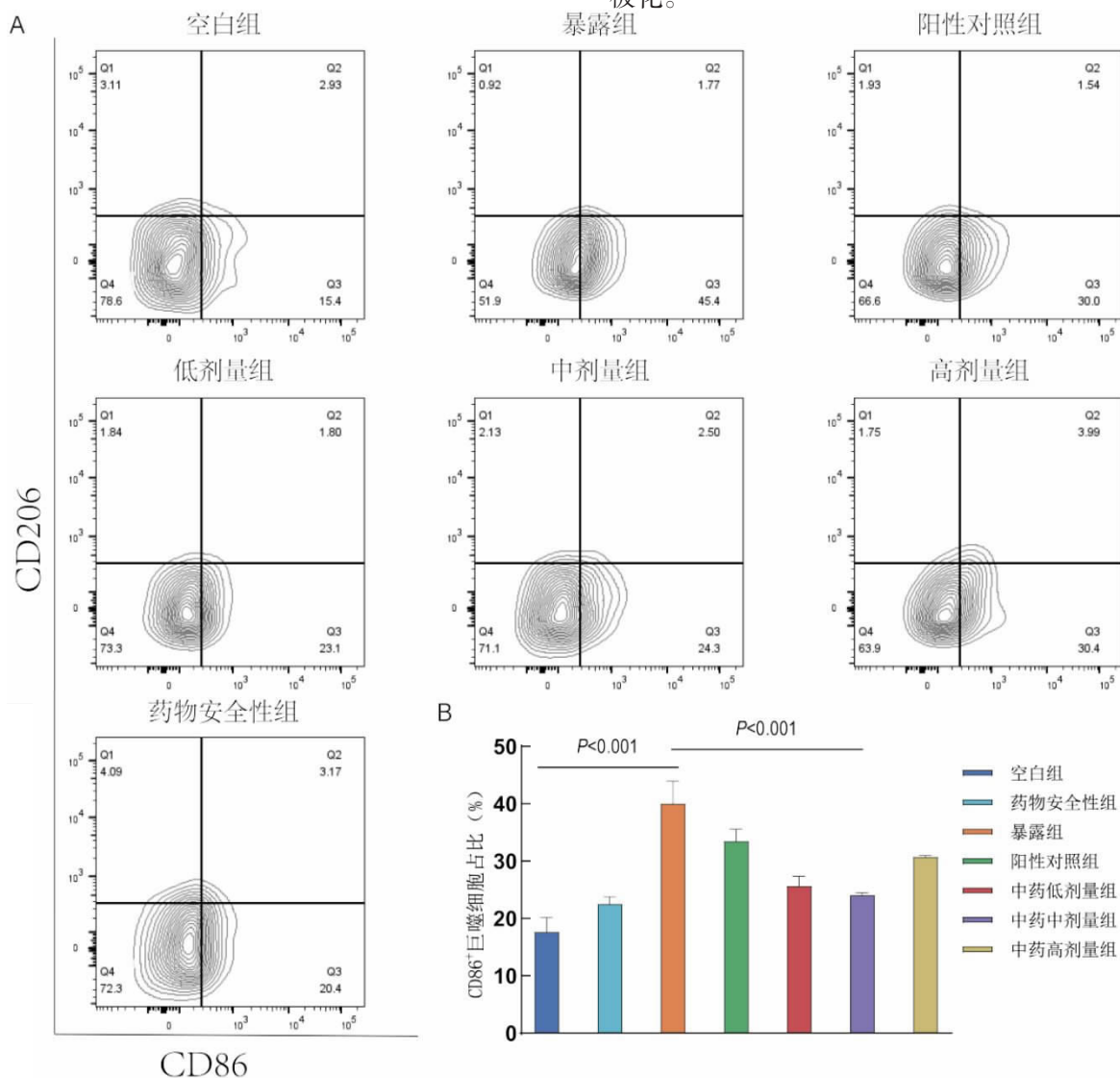


图3 汉防己方剂处理后二氧化硅暴露小鼠血液 WBC 随时间变化($n=6 \sim 9$)

Figure 3 Time-course of blood leukocyte counts in silica-exposed mice after Hanfangji formula treatment ($n=6 \sim 9$)

CD86 阳性细胞比例均较暴露组下降,其中低、中剂量组下降最明显($P<0.001$)。结果表明,中药干预可在一定程度上抑制二氧化硅诱导的促炎型巨噬细胞极化。



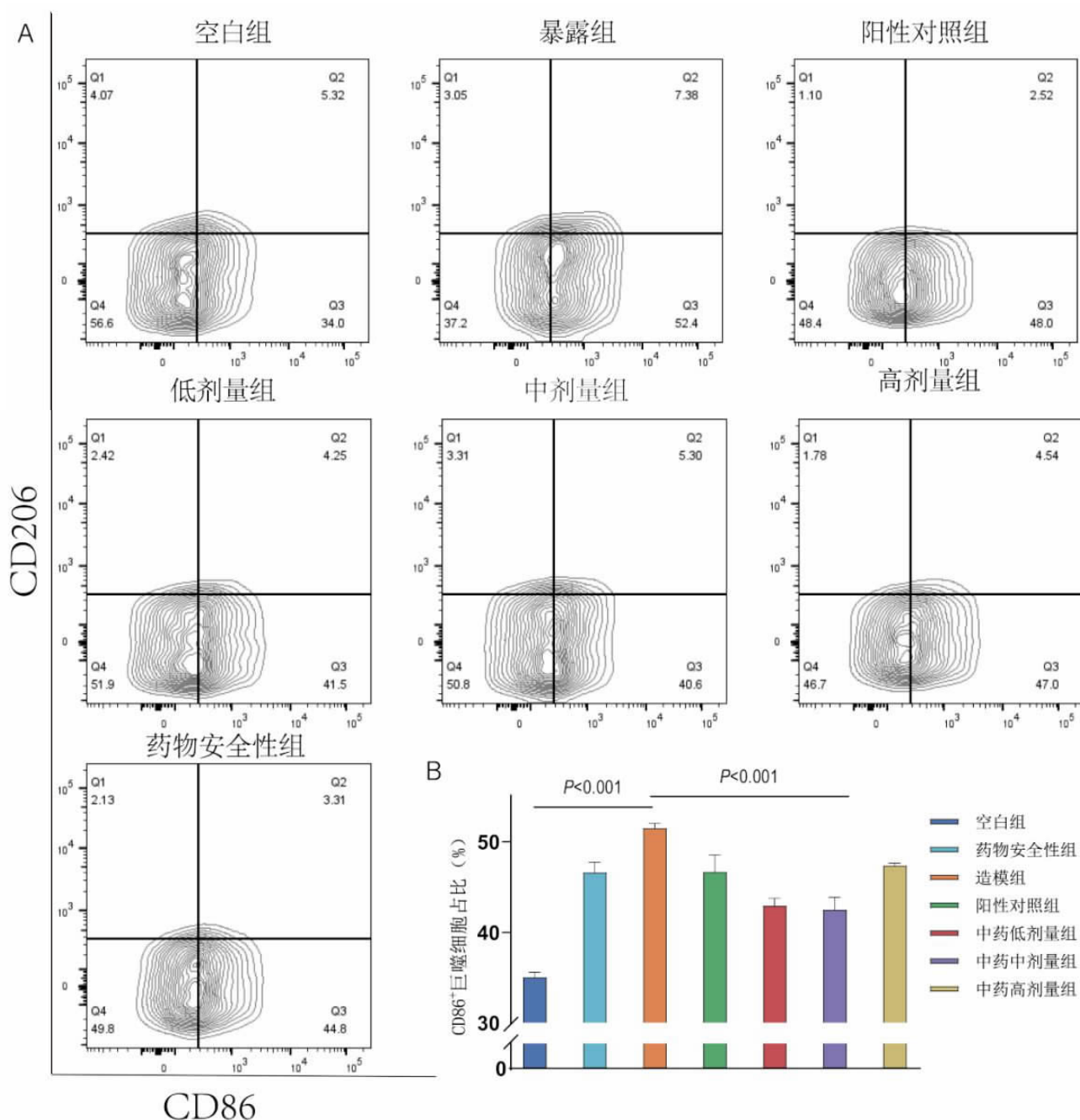
注:图 A 为各组小鼠肺组织流式细胞术等高线图;图 B 为各组小鼠肺组织流式细胞术显示的 CD86⁺ 细胞占比。

图4 汉防己方剂处理后二氧化硅暴露小鼠肺组织巨噬细胞流式细胞术($n=3$)

Figure 4 Flow cytometry analysis of pulmonary macrophages in silica-exposed mice after treatment with Hanfangji formula ($n=3$)

2.4.2 脾组织 CD86 阳性细胞比例变化 为进一步评估二氧化硅暴露对整体免疫系统的影响,检测脾组织 CD86 阳性细胞比例,见图 5。与空白组相比,药物安全性组及暴露组 CD86 阳性细胞比例均显著升高 ($P<0.001$),其中暴露组为 ($51.2\% \pm 1.2\%$)。药物干预

后,各治疗组 CD86 阳性比例均较暴露组下降 ($P<0.001$),其中低、中剂量组下降更明显。结果表明,二氧化硅暴露可促进促炎免疫细胞活化,而中药干预可在一定程度上抑制该过程。



注:图 A 为各组小鼠脾组织流式细胞术等高线图;图 B 为各组小鼠脾组织流式细胞术显示的 CD86⁺ 细胞占比。

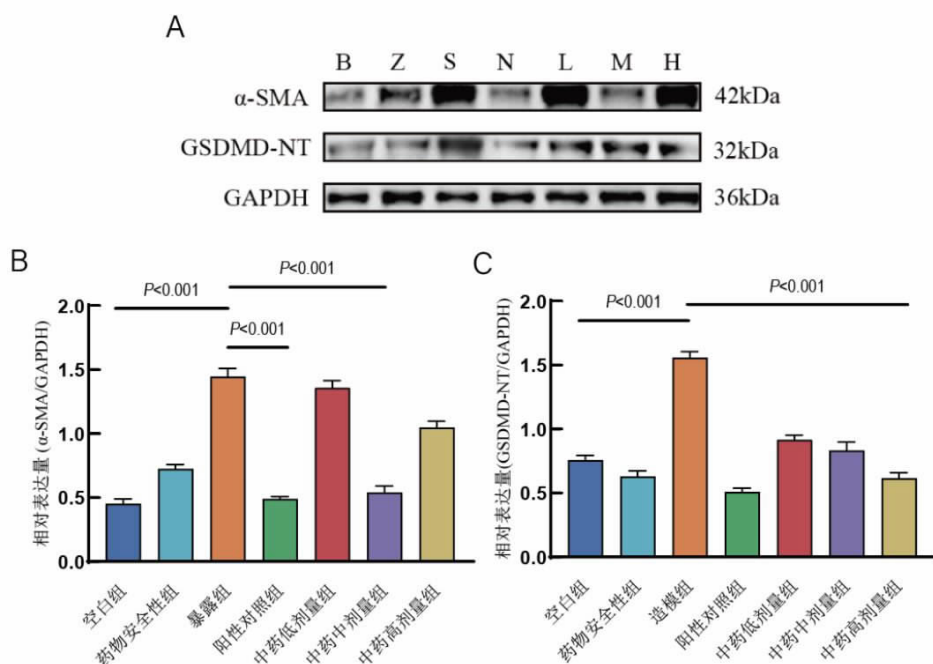
图 5 汉防己方剂处理后矽肺小鼠脾组织巨噬细胞流式细胞术($n=3$)

Figure 5 Flow cytometry analysis of splenic macrophages in silicosis mice after Hanfangji formula treatment ($n=3$)

2.5 汉防己方剂对二氧化硅暴露小鼠肺组织蛋白表达变化的影响 为探讨二氧化硅暴露及中药干预对肺纤维化及细胞焦亡的影响,检测肺组织 α -SMA 及 GSDMD-NT 蛋白表达,见图 6。与空白组相比,暴露组

α -SMA 及 GSDMD-NT 表达均显著升高 ($P<0.001$)^[9]。中药干预效果呈剂量依赖性,中剂量组 α -SMA 表达量降低最明显,低、高剂量组仍偏高,提示中剂量抑制纤维化效果最佳^[10]。各治疗组 GSDMD-NT 表达均下

降,其中高剂量组下降最显著($P<0.001$)。结果表明,焦亡及肺纤维化相关蛋白表达^[11-13]。中药干预可在一定程度上抑制二氧化硅诱导的细胞



注:图 A 为各组小鼠肺组织蛋白印迹结果(图中 B、Z、S、N、L、M、H 组分别为空白组、药物安全性组、暴露组、阳性对照组、中药低、中、高剂量组);图 B 为各组小鼠 α -SMA 的相对表达量;图 C 为各组小鼠 GSDMD-NT 的相对表达量。

图 6 小鼠肺组织中 α -SMA 和 GSDMD-NT 的表达($n=3$)

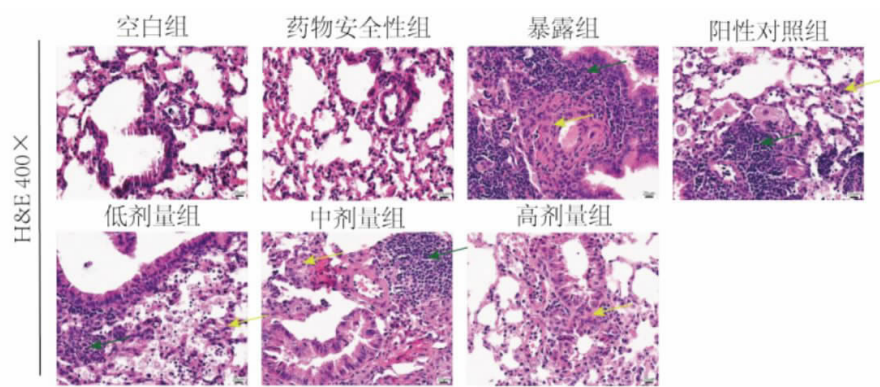
Figure 6 Expression of α -SMA and GSDMD-NT in mouse lung tissues ($n=3$)

2.6 汉防己方剂对二氧化硅暴露小鼠肺组织病理及血清代谢学变化的影响 为评价二氧化硅暴露及中药干预对肺组织病理损伤和纤维化的影响,对各组小鼠肺组织进行 HE 染色和 Masson 染色观察。

2.6.1 汉防己方剂剂量依赖性缓解二氧化硅引起的肺部炎症与纤维化 HE 染色结果显示,空白组及药物安全性组肺组织结构完整,无明显炎细胞浸润及纤维化。与空白组相比,二氧化硅暴露组肺组织病变明显,可见大量炎性细胞浸润、肺间质增厚及纤维化形

成。经汉防己方剂干预后,各给药组肺组织病理损伤均有所改善,其中中剂量组改善最明显,高剂量组次之。见图 7。

Ashcroft 评分结果显示,模型组评分较空白组显著升高($P<0.01$);各中药干预组评分均明显下降($P<0.01$)。其中,中剂量组评分最低,且优于高剂量组($P<0.05$)。阳性对照组评分亦显著下降,与中剂量组差异无统计学意义($P>0.05$),评分结果与 HE 染色结果一致。见表 2。



注:图中绿色箭头表示炎性细胞浸润(HE 染色, $\times 400$);黄色箭头表示肺间隔增厚与肺泡结构破坏。

图 7 小鼠肺组织 HE 染色病理学变化

Figure 7 Histopathological changes in mouse lung tissues by H&E staining

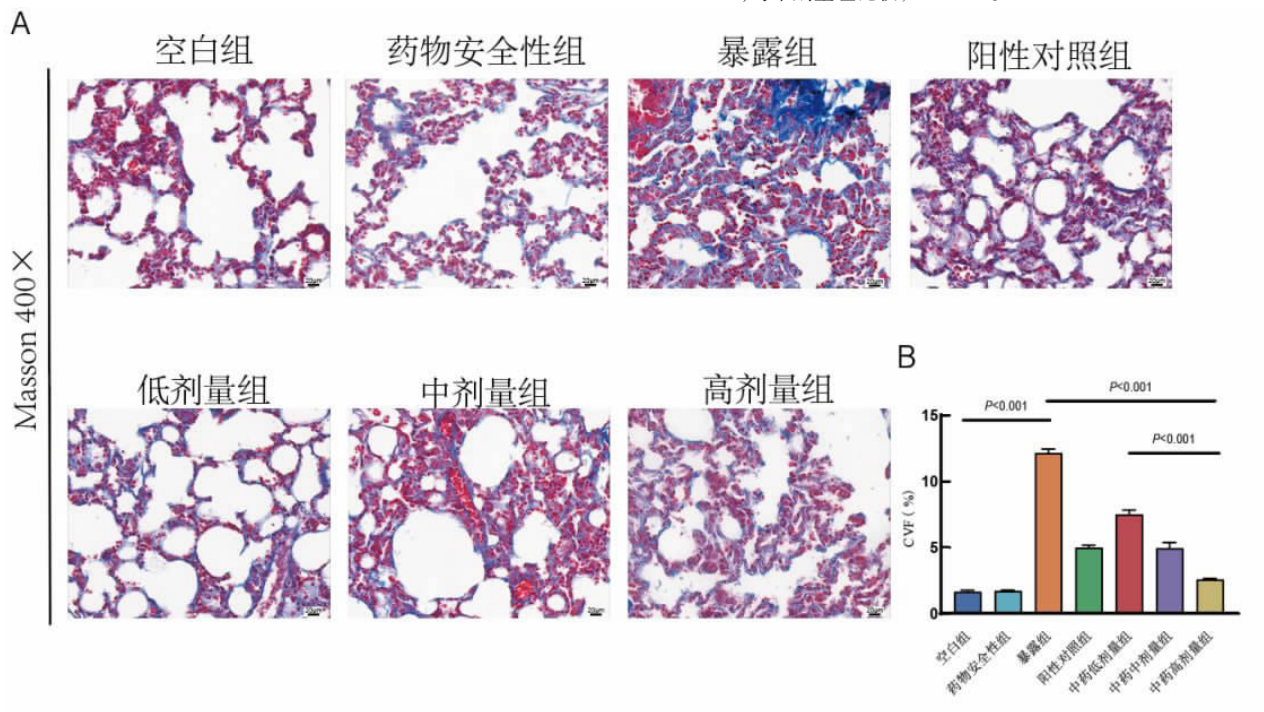
2.6.2 中剂量汉防己方剂抑制二氧化硅引起的肺胶原沉积与纤维化效果最佳 Masson 染色及 CVF 定量结果显示, 空白组和药物安全性组胶原沉积较少, 未见明显纤维化; 暴露组 CVF 显著升高($P<0.001$), 提示二氧化硅可促进肺间质胶原沉积及纤维化形成。中药干预后, 各剂量组 CVF 均较暴露组下降, 其中中剂量组下降最明显($P<0.001$), 接近阳性对照组($P>0.05$); 高剂量组 CVF 亦明显降低。见图 8。

表 2 各组小鼠肺组织 Ashcroft 评分 $[n=6, (\bar{x} \pm s)]$

Table 2 Ashcroft score of pulmonary fibrosis in each group

$[n=6, (\bar{x} \pm s)]$		
组别	<i>n</i>	Ashcroft 评分(分)
空白对照组	6	0.48 ± 0.20
药物安全性组	6	0.55 ± 0.23
暴露组	6	$6.72 \pm 0.28^{**}$
阳性对照组	6	$2.05 \pm 0.26^{##}$
低剂量组	6	$3.62 \pm 0.31^{##}$
中剂量组	6	$1.68 \pm 0.24^{##}$
高剂量组	6	$2.42 \pm 0.29^{##\Delta}$

注: 数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示; 与空白组比较 $^{**}P<0.01$, 与模型组比较, $^{##}P<0.01$; 与中剂量组比较, $^{\Delta}P<0.05$ 。



注: Masson 染色($\times 400$); 图 A 为各组小鼠肺组织 Masson 染色切片; 图 B 为各组小鼠肺组织胶原容积分数($n=3$)。

图 8 小鼠肺组织 Masson 染色胶原沉积情况

Figure 8 Collagen deposition in mouse lung tissues assessed by Masson's trichrome staining

综合 HE 及 Masson 染色结果, 二氧化硅暴露可显著诱导肺组织炎症及胶原沉积。中药干预后, 各剂量组病理损伤均有所改善, 其中中剂量组在减轻炎症及抑制胶原沉积方面效果综合最佳。该结果与肺比重、流式 CD86 及 WB 结果基本一致, 提示中药干预可在一定程度上减轻肺纤维化。

2.6.3 汉防己方剂对小鼠血清肝功能指标的影响 为评估不同剂量汉防己方剂的安全性及其对肝功能的影响, 检测各组小鼠血清中天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 和丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 水平。

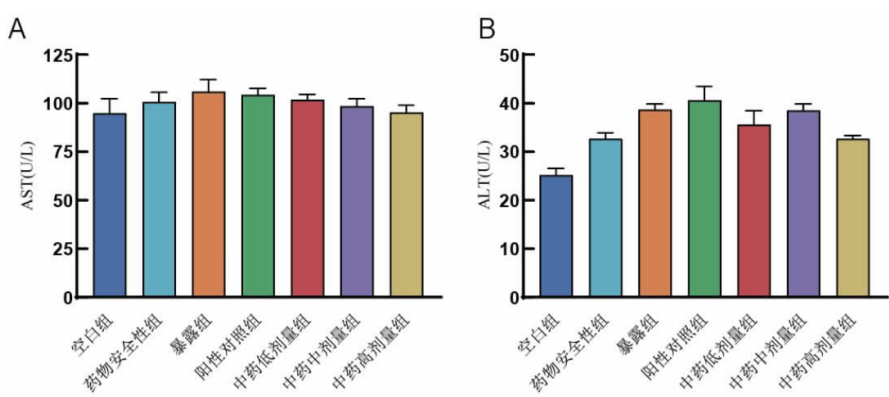
结果显示, 与空白对照组相比, 模型组小鼠 AST 及 ALT 水平未见显著升高($P>0.05$)。各剂量汉防己方剂干预后, 小鼠 AST 及 ALT 水平均未出现明显异常变化, 与空白组及药物安全性组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。同时, 高剂量组亦未观察到 AST

或 ALT 水平升高的趋势, 见图 9。上述结果表明, 在本研究给药剂量范围内, 汉防己方剂未对小鼠肝功能产生明显不良影响, 高剂量干预亦未引起显著肝毒性改变。

3 讨论

本研究系统评估了汉防己方剂对二氧化硅诱导小鼠肺纤维化的干预作用。结果显示, 汉防己方剂可在一定程度上减轻肺组织炎症及纤维化病变, 降低 α -SMA、GSDMD-NT 表达及 CD86⁺ 巨噬细胞比例, 提示其具有抗炎和抗纤维化作用。该结果与既往中药复方及中药活性成分干预矽肺纤维化的研究结果一致^[14-15]。

本研究采用暴露后早期给药模式, 以期阻断炎症向纤维化进展。既往研究表明, 早期干预可有效抑制炎症反应及细胞外基质沉积, 从而延缓纤维化进程^[4,16]。



注:图 A 为各组小鼠血清 AST 指标;图 B 为各组小鼠血清 ALT 指标(n=3)。

图 9 小鼠血清肝功能指标

Figure 9 Serum liver function markers in mice

但该模式主要反映疾病早期干预效果,对已形成明显纤维化后的治疗作用仍需进一步研究。

本研究中方剂的给药剂量是基于临床人体等效剂量换算至小鼠后进行梯度设计的结果。具体而言,低剂量组对应小鼠的临床人体等效剂量($1 \times$),中剂量组和高剂量组分别设定为该等效剂量的 2 倍和 4 倍。该换算过程参考体表面积换算方法,并结合预实验中小鼠的耐受情况进行适当调整,旨在保证安全性的前提下初步探索剂量-效应关系。中剂量组在肺组织纤维化标志物 α -SMA、焦亡执行蛋白 GSDMD-NT 及免疫细胞极化等指标上的改善最显著,而高剂量组虽对焦亡抑制仍有效,但纤维化改善不如中剂量组。这种非线性剂量效应可能反映了中药复方在多成分协调作用下存在的“剂量窗口”特性,即不同剂量在多个信号通路上的调节倾向可能不同,并非剂量越高疗效越强^[17-19]。在复杂疾病中,这种现象并不罕见,因为方剂成分可能对免疫调节、炎症抑制及纤维化通路存在浓度依赖性响应。在高剂量条件下,成分间可能产生拮抗或负反馈效应,从而疗效不如中剂量明显^[20]。

本研究还发现药物安全性组部分免疫指标(如脾细胞 CD86⁺ 比例)出现较高水平变化,这可能与方剂对正常免疫功能的调节作用有关,而非病理性炎症表现。本研究中 CD206⁺ M2 型巨噬细胞比例整体较低,同时,汉防己方剂对 M2 型极化的调控作用在本研究中未表现出显著变化,提示其抗炎作用可能主要通过抑制巨噬细胞向 M1 型分化实现,并且在当前条件及炎症观察阶段,肺组织中巨噬细胞以促炎 M1 型极化为主。这一结果与矽肺早中期以炎症反应持续激活为主要特征的病理过程相一致。这提示在无病理刺激条件下,方剂成分可能具有一定免疫激活作用,可增强免疫监视和细胞活性,但对炎症过程影响需结合病理条件解读^[4, 18, 21]。此外,尽管 AST/ALT

结果提示未出现明显肝毒性,但仍不能完全排除其他潜在毒性或组织特异性效应,后续研究将通过更密集剂量梯度设计及药代动力学研究进一步明确最佳剂量范围及其作用机制。

总体而言,汉防己方剂通过调节肺组织免疫状态、抑制促炎型 M1 巨噬细胞活化及 GSDMD 介导的焦亡、降低成纤维细胞活化和胶原沉积,实现了显著的抗炎和抗纤维化作用。与西药单靶点机制不同,中药方剂通过多靶点、多通路的整体调控,更适合应对复杂纤维化病理过程。尽管在小鼠早期暴露模型中获得系统性疗效,本研究仍存在局限:早期给药模式未评估中后期病变治疗作用;方剂具体活性成分及分子靶点尚未深入解析,需要后续结合网络药理学、分子对接等方法进一步明确机制;本研究尚未对方剂中关键活性成分(如汉防己甲素)进行定量检测,亦未建立系统化质量控制评价体系。后续研究将结合液相色谱-质谱联用技术对方剂主要活性成分进行定性定量分析,以进一步提升研究结果的可重复性及规范性。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

参考文献

- [1] 毛翎,彭莉君,王焕强,等. 尘肺病治疗中国专家共识(2024 年版)[J]. 环境与职业医学, 2024, 41(1): 1-21.
Mao L, Peng LJ, Wang HQ, et al. Consensus of Chinese experts on pneumoconiosis treatment (2024)[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2024, 41(1): 1-21. (In Chinese)
- [2] Hoy RF, Chambers DC. Silica-related diseases in the modern world [J]. Allergy, 2020, 75(11): 2805-2817.
- [3] Zhang S, Xiong J, Ruan X, et al. Global burden of pneumoconiosis from 1990 to 2021: a comprehensive analysis of incidence, mortality, and socio-demographic inequalities in 204 countries and territories [J]. Front Public Health, 2025, 25: 13.
- [4] 杜琪斌,吴冬晴,谭艺莲,等. 中药活性成分对矽肺的药理作用机制研究进展[J]. , 2023, 40(8): 981-988.

- Du QB, Wu DQ, Tan YL, et al. Progress on pharmacological mechanism of active components of Chinese materia medica on silicosis [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2023, 40(8): 981–988. (In Chinese)
- [5] Wang Y, Cheng B, Lin YJ, et al. Preliminary study on the effect and molecular mechanism of tetrandrine in alleviating pulmonary inflammation and fibrosis induced by Silicon dioxide [J]. Toxics, 2023, 11(9): 765.
- [6] Kang HS, Kim YH, Lee CS, et al. Anti-inflammatory effects of Stephania tetrandra S.Moore on interleukin-6 production and experimental inflammatory disease models [J]. Mediators of Inflammation, 1996, 5(4): 280–291.
- [7] Liu Q, Wei G, Wan P, et al. The immunoregulatory function and therapeutic potential of tetrandrine in connective tissue disease-associated interstitial lung disease[J]. Respiratory Medicine, 2025, 249: 108453.
- [8] Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human [J]. J Basic Clin Pharm, 2016, 7(2): 27–31.
- [9] Liu TT, Sun HF, Tang MZ, et al. Bicyclol attenuates pulmonary fibrosis with silicosis via both canonical and non-canonical TGF- β 1 signaling pathways [J]. Journal of Translational Medicine, 2024, 22(1): 682.
- [10] Menu P, Vince JE. The NLRP3 inflammasome in health and disease: the good, the bad and the ugly [J]. Clinical and Experimental Immunology, 2011, 166(1): 1–15.
- [11] Zhou LX, Tong AP, Wang HX, et al. TUG-891 inhibits neuronal endoplasmic reticulum stress and pyroptosis activation and protects neurons in a mouse model of intraventricular hemorrhage [J]. Neural Regeneration Research, 2023, 18(10): 2278–2284.
- [12] Xie Y, Chen XJ, Li Y, et al. Transforming growth factor- β 1 protects against LPC-induced cognitive deficit by attenuating pyroptosis of microglia via NF- κ B/ERK1/2 pathways [J]. Journal of Neuroinflammation, 2022, 19(1): 194.
- [13] Sun B, Pokhrel S, Dunphy DR, et al. Reduction of acute inflammatory effects of fumed silica nanoparticles in the lung by adjusting silanol display through calcination and metal doping[J]. ACS Nano, 2015, 9(9): 9357–9372.
- [14] Yang F, Hou RS, Liu XG, et al. Yangqing chenfei formula attenuates silica-induced pulmonary fibrosis by suppressing activation of fibroblast via regulating PI3K/AKT, JAK/STAT, and Wnt signaling pathway[J]. Phytomedicine, 2023, 110: 154622.
- [15] Zhang Y, Liu F, Jia Q, et al. Baicalin alleviates silica-induced lung inflammation and fibrosis by inhibiting TLR4/NF- κ B pathway in rats [J]. Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca, 2023, 72(2): 221–233.
- [16] 熊敏, 田家齐, 杨玉姗, 等. 纳米二氧化硅诱导巨噬细胞焦亡对肺成纤维细胞的影响[J]. 中国工业医学杂志, 2024, 37(1): 1–4, 18, 112.
- Xiong M, Tian JQ, Yang YS, et al. Effect of macrophage pyroptosis induced by nano silica on pulmonary fibroblasts [J]. Chinese Journal of Industrial Medicine, 2024, 37(1): 1–4, 18, 112. (In Chinese)
- [17] 李争云, 曾平, 李跃维, 等. 中药汤剂(19 味中药)对实验性矽肺大鼠的疗效观察[J]. 湖南省预防医学会劳动卫生专业委员会 2010 年学术交流会议论文集, 2010, 3(1): 268–270.
- Li ZY, Zeng P, Li YW, et al. Observation on the therapeutic efficacy of a traditional chinese medicine decoction (Comprising 19 Herbs) in rats with experimental silicosis[J]. Proceedings of the 2010 Academic Exchange Conference of the Professional Committee on Occupational Health, Hunan Provincial Preventive Medicine Association, 2010, 3(1): 268–270. (In Chinese)
- [18] 李建生, 侯润苏, 闫鑫华, 等. 3 种中药方剂对矽肺大鼠的干预效果[J]. 中国职业医学, 2024, 51(6): 629–637, 644.
- Li JS, Hou RS, Yan XH, et al. Intervention effect of three formulations of Chinese herbs in rats with silicosis [J]. China Occupational Medicine, 2024, 51(6): 629–637, 644. (In Chinese)
- [19] 杭文璐, 武琦, 赵莹, 等. 中药提取物干预矽肺纤维化的研究进展[J]. 环境与职业医学, 2022, 39(2): 229–235.
- Hang WL, Wu Q, Zhao Y, et al. Research progress of traditional Chinese medicine extracts in intervention of fibrosis caused by silicosis [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(2): 229–235. (In Chinese)
- [20] 丁大力, 沈学彬, 姚佳慧, 等. 中药治疗肺纤维化的研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(22): 7006–7024.
- Ding DL, Shen XB, Yao JH, et al. Research progress on traditional Chinese medicine against treating pulmonary fibrosis [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(22): 7006–7024. (In Chinese)
- [21] 陈磊, 赵明方, 叶宇, 等. 浙贝母及其炮制品灰贝的药效作用比较[J]. 华西药学杂志, 2026, 41(1): 21–25.
- Chen L, Zhao MF, Ye Y, et al. Comparative study on pharmacological effects of Fritillaria thunbergii and its processed product Huibei[J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2026, 41(1): 21–25. (In Chinese)

收稿日期: 2026–04–06