·重大新药创制专项巡礼·

双环醇抑制大鼠矽肺纤维化的机制研究

詹　芸,李　瑞,王璐璐,蒋建东,韩燕星
(中国医学科学院药物研究所,天然药物活性物质与功能国家重点实验室,北京 100050)

[**摘要**]　**目的**:研究双环醇对大鼠矽肺纤维化的抑制作用,并对其作用机制进行了初步探讨。**方法**:采用气管滴注二氧化硅(silicon dioxide, SiO_2)悬液的办法建立大鼠矽肺模型,通过对大鼠肺组织的苏木素-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色及 Masson 染色观察双环醇对肺纤维化的作用,通过免疫荧光(immunofluorescence,IF)和免疫组化(immunohistochemical,IHC)检测大鼠肺内巨噬细胞的活化及聚集情况,并用 Western Blot 方法在体外培养的细胞中进行验证。**结果**:气管滴注 SiO_2 28 d 之后,HE 染色显示大鼠肺组织中出现大量巨噬细胞聚集并形成大小不一的结节,证实大鼠矽肺模型的成功建立;给予矽肺大鼠双环醇治疗,HE 染色和 Masson 染色结果表明,与对照组相比,双环醇组大鼠肺纤维化程度及肺内巨噬细胞的聚集程度均有明显减弱;IF 和 IHC 染色结果表明双环醇组大鼠肺组织巨噬细胞中精氨酸酶 1(arginase-1, Arg1)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)的表达均明显降低;对体外培养的 RAW264.7 细胞进行 SiO_2 刺激然后给予双环醇处理,Western Blot 结果表明双环醇同样能够抑制 RAW264.7 细胞中的 Arg1 和 iNOS 的表达。**结论**:双环醇可以通过下调巨噬细胞中 Arg1 和 iNOS 的表达,抑制巨噬细胞的聚集与活化,进而抑制大鼠矽肺纤维化进程,对尘肺治疗药物的探索具有潜在价值。

[**关键词**]　双环醇;矽肺;肺纤维化;二氧化硅;巨噬细胞
[**中图分类号**] R965　　[**文献标志码**] A　　[**文章编号**] 1003－3734(2021)18－1655－06

The mechanism of action of bicyclol on suppressing pulmonary fibrosis in silicotic rats

ZHAN Yun, LI Rui, WANG Lu-lu, JIANG Jian-dong, HAN Yan-xing
(*State Key Laboratory of Bioactive Substances and Function of Natural Medicine*, *Institute of Materia Medica*, *Chinese Academy of Medical Sciences*, *Beijing* 100050, *China*)

[**Abstract**]　**Objective**: To explored the inhibitory effect as well as the mechanism of bicyclol on pulmonary fibrosis in silicotic rats. **Methods**: A silicotic rat model was established by intratracheal drip of silicon dioxide (SiO_2) suspension. Hematoxylin-eosin (HE) and Masson staining of rat lung tissues were performed for the exploration of the anti-fibrotic effect of bicyclol. Immunofluorescence (IF) and immunohistochemical (IHC) staining were used to observe macrophages aggregation and activation in rat lungs. Meanwhile, Western Blot assay was performed for further verification in cultured cells *in vitro*. **Results**: Both macrophage aggregation and nodule formation were observed in rat lungs by HE staining 28 days after intratracheal drip, indicating successful establishment of the

[**基金项目**]　国家"重大新药创制"科技重大专项资助项目(2018ZX09711001-011-003);中国医学科学院医学与健康科技创新工程资助项目(2020-I2M-1-003)

[**作者简介**]　詹芸,女,助理研究员,主要从事天然产物来源药物的药理研究。联系电话:(010)63017906,E-mail:zhanyun@imm.ac.cn。
[**通讯作者**]　韩燕星,男,硕士生导师,研究员,主要从事天然产物来源药物的药理研究。联系电话:(010)63017906,E-mail:hanyanxing@imm.ac.cn。

silicotic rat model. Compared with the control group, both pulmonary fibrosis and macrophage aggregation in lungs of silicotic rats with bicyclol treatment were suppressed significantly using HE and Masson staining. IF and IHC staining showed downregulation of the expression of both arginase-1 (Arg1) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) in macrophages of silicotic rat lungs by bicyclol. Furthermore, inhibition of the expression of Arg1 and iNOS by bicyclol in RAW264.7 cells stimulated with SiO_2 was observed using Western blot assay. **Conclusion**: Bicyclol suppresses macrophages aggregation and activation via down regulating Arg1 and iNOS, resulting in a slow-down of the process of pulmonary fibrosis in silicotic rats, which is likely to be a novel strategy for the treatment of silicosis.

[**Key words**] bicyclol; silicosis; pulmonary fibrosis; SiO_2; macrophage

尘肺病是由于在职业活动中长期吸入生产性粉尘,并在肺内潴留而引起的以肺组织弥漫性纤维化为主的全身性疾病,是我国发病人数最多、最常见的职业病,截至 2018 年底,全国累计尘肺病病例 87 万余例,严重危害人民身体健康[1]。然而目前,除了肺移植之外,对尘肺病并没有十分有效的治疗方法及药物[2],亟须寻找安全、有效、低毒的抗纤维化药物用于尘肺病的治疗。

双环醇是由我国研发、具有国际自主知识产权、用于治疗肝脏炎性损伤的首个 1 类化学新药,降低转氨酶作用显著,具有良好的安全性[3],在临床上用于慢性病毒性肝炎、脂肪性肝病、多种药物所致药物性肝损伤以及其他肝病的治疗[4]。研究表明,双环醇对不同类型的肝纤维化动物模型及临床患者的肝纤维化具有明显的抑制作用[5-7],此外,在单侧输尿管梗阻大鼠的肾脏模型及博来霉素诱导的小鼠肺间质纤维化模型中,同样观察到双环醇对这些脏器纤维化进程的延缓作用[8-9],表明双环醇具有广泛的抗纤维化作用。本课题组采用气管滴注 SiO_2 悬浊液的方法建立大鼠矽肺(silicosis)模型,模拟尘肺病的发病过程,并给予双环醇治疗,观察双环醇对 SiO_2 诱导的肺纤维化的抑制作用,并初步探讨其作用机制。

材料与方法

1 药物与试剂

二氧化硅颗粒(SiO_2,Sigma-Aldrich 公司,货号:S5631),直径为 1 ~ 5 μm,通过沉降、酸洗处理,200 ℃烘烤 16 h,然后重悬于无菌生理盐水(normal saline, NS)中,配成 100 mg·mL^{-1}的悬浊液;RAW264.7 细胞购自国家生物医学实验细胞资源库(中国北京);DMEM 高糖培养基、青链霉素和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)均购自美国 Gibco 公司;抗体 Arg1(美国 Abcam 公司,货号:ab91279);抗体 iNOS(美国 Proteintech Group 公司,货号:18985-1-AP);β-actin(美国 Cell Signaling Technology 公司,货号:CST-4970)。

2 仪器

倒置相差显微镜(美国 OLYMPUS 公司);垂直电泳仪及转膜系统(美国 Bio Rad 公司);ChemiDoxTM XRS + 全自动凝胶成像系统(美国 Bio Rad 公司);细胞培养箱(美国 Thermo Scientific 公司)。

3 实验动物

Wistar 雄性大鼠,6 周龄,体重 180 ~ 200 g,购自北京维通利华有限公司,动物实验均在中国医学科学院药物研究所动物实验中心完成,许可证号:SYKX(京)2019-0023。动物实验遵从中国医学科学院药物研究所标准操作程序(SOP)。在恒温(21 ℃ ~ 23 ℃)、恒湿(45% ~ 65%)、各 12 h 明暗周期的饲养室,同性别 3 只大鼠同笼饲养,用全价颗粒饲料喂养,自由进食和饮水。

4 动物实验及取材

Wistar 雄性大鼠经乙醚麻醉后采用气管滴注的方式小心向大鼠气管内滴注 1 mL 浓度为 100 mg·mL^{-1}的 SiO_2 悬浊液(染矽组)或者相同体积的 NS(NS 组)。28 d 后,取部分染矽组及 NS 组大鼠肺组织,4% 多聚甲醛固定,制作组织切片进行病理学检测,同时将余下染矽组大鼠随机分成 2 组,对照组和给药组,给药组给予 200 mg·kg^{-1}·d^{-1}的双环醇灌胃(*ig*)治疗,对照组给予同等体积的生理盐水 *ig*,*qd*。给药 6 周后,处死大鼠取出肺组织,4% 多聚甲醛固定,制作组织切片进行后续的检测。

5 组织切片染色

经 4% 多聚甲醛固定的大鼠肺组织,送武汉谷

歌生物科技有限公司按照病理实验检测 SOP 程序进行修剪、脱水、包埋、切片，根据不同的实验要求，分别对切片进行 HE 染色、Masson 染色、IF 染色和 IHC 染色，并将全部染色结果用 PANNORAMIC 全景切片扫描仪扫描保存。针对 Masson 染色结果，每张切片随机选取 3 个肺组织的目的区域进行 200 倍成像，然后使用 Image J 分析软件，以单位像素 Pixel 作为标准单位，分别测量每张图片中的蓝色胶原面积以及图片视野的像素面积，然后计算胶原面积占比；针对 IHC 染色结果，采用 Aperio ImageScope 软件（美国 Aperio 公司）进行定量分析。

6 细胞培养及处理

采用含有 10% 胎牛血清及 1% 青链霉素的 DMEM 高糖培养基对 RAW264.7 细胞进行培养。RAW264.7 细胞用 SiO_2（终浓度为 200 μg·mL^{-1}）预处理 24 h，DPBS 小心洗去多余的 SiO_2，改换新鲜的完全培养基，并加入双环醇（终浓度为 200 μmol·L^{-1}）或者对照溶剂处理 48 h，然后收取细胞蛋白检测 Arg1 和 iNOS 的表达情况。

7 Western Blot 法检测

提取细胞内总蛋白，用蛋白质定量法（BCA）测定蛋白浓度，取 30 μg 总蛋白进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺（SDS-PAGE）凝胶电泳，转膜，5% 脱脂牛奶封闭非特异性抗原，分别加入一抗（均为 1∶1 000 稀释）于 4 ℃孵育过夜，TBST 洗膜之后加入辣根过氧化物酶（horseradish peroxidase，HRP）标记的二抗（1∶5 000）室温孵育 2 h，TBST 洗膜后用电化学发光法（ECL）显色成像，得到蛋白免疫印记条带，以 β-actin 蛋白条带作为参照。用 Image J 分析软件对印记条带进行灰度扫描，计算目标蛋白的相对定量。

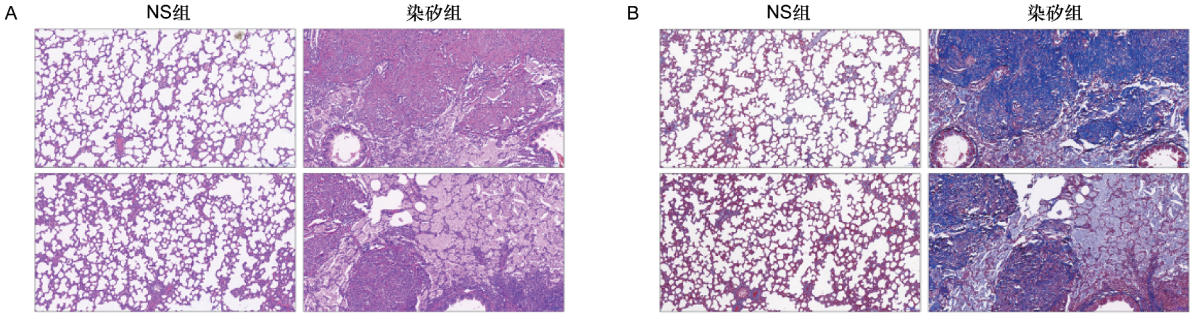
8 统计学分析

所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 GraphPad Prism 6.0 软件绘制统计图，采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析，以独立样本 t 检验，与对照组比较，以 a：$P < 0.05$，b：$P < 0.01$，c：$P < 0.001$ 具有统计学差异。

结　果

1 大鼠矽肺模型的建立

采用气管滴注的方法向大鼠气管内滴注 1 mL 浓度为 100 mg·mL^{-1} 的 SiO_2 悬浊液或者等体积的 NS，于滴注后 28 d 将大鼠处死，取肺组织进行病理学检测。从大体上观察，NS 组大鼠双肺未见明显病变，呈粉红色，质地均一柔软，表面光滑，无出血斑片、大泡及结节；染矽组大鼠双肺呈粉红色、灰白色相间，质地变硬，表面不光滑。对大鼠肺组织分别进行 HE 染色和 Masson 染色，结果显示 NS 组大鼠肺组织结构正常，无明显的纤维增生，染矽组大鼠肺组织结构紊乱，肺泡正常结构被破坏，肺泡内大量巨噬细胞浸润，结节可见，并存在广泛的蓝色条索状纤维增生（见图 1），证实大鼠矽肺模型的成功建立。



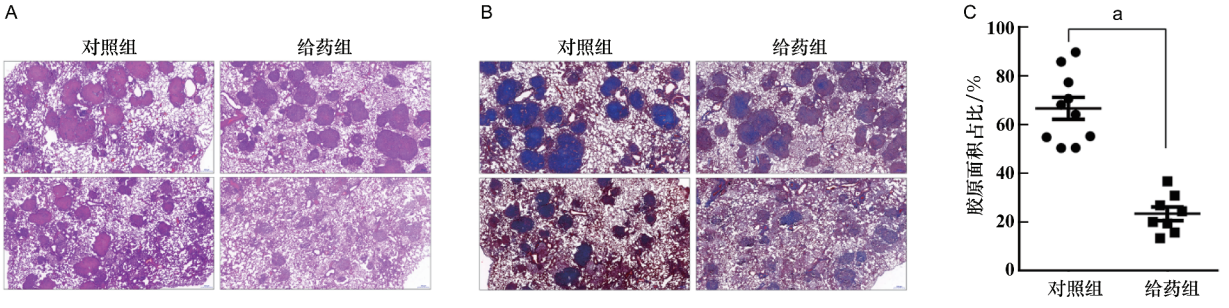
A：HE 染色；B：Masson 染色

图 1　气管滴注 SiO_2 悬浊液或者 NS 后两组大鼠肺组织染色结果（×10）

2 双环醇抑制大鼠矽肺组织的纤维化

将矽肺大鼠随机分成对照组和给药组 2 组，其中给药组给予 200 mg·kg^{-1}·d^{-1} 的双环醇 *ig*，对照组则给予同等体积的 NS *ig*，持续 6 周，然后将大鼠处死取肺组织进行病理学检测。从大体上观察，对照组和给药组大鼠的双肺均表现为质地较硬，表面凹凸不平，并可见多个大小不一的白色斑点和结节。对大鼠肺组织分别进行 HE 染色和 Masson 染色，HE 染色的结果表明两组大鼠的肺泡正常结构均被严重破坏，并可见数个大小不一的结节（见图 2A），大体观察及 HE 染色结果在肺组织形态、结节的大小及数量上并未存在明显差异。然而 Masson 染色结果

则表明对照组大鼠肺组织中存在大量的蓝色条索状纤维增生,以结节中的纤维增生尤为明显,而给药组大鼠肺组织中,包括结节内的纤维增生则少量存在(见图 2B)。采用分析软件测量两组大鼠肺组织切片中蓝色的胶原纤维面积和图片视野面积,计算胶原面积占比,结果表明给药组大鼠肺组织内的胶原面积占比远远低于对照组(见图 2C),说明双环醇能够抑制矽肺大鼠肺组织中的胶原纤维形成。

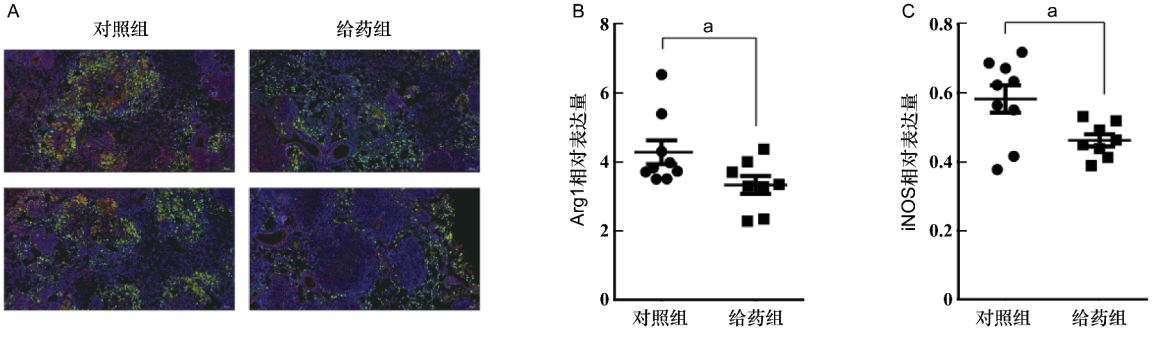


A:HE 染色结果;B:Masson 染色结果;C:计算肺组织 Masson 染色结果中胶原面积占比情况,与对照组比较,a:$P<0.000\ 1$

图 2 矽肺大鼠给予双环醇治疗后两组大鼠肺组织染色结果(×10)

3 双环醇抑制大鼠矽肺组织内巨噬细胞中 Arg1 和 iNOS 的表达

对两组大鼠肺组织切片进行 IF 染色检测精氨酸酶 1(arginase-1,Arg1)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase,iNOS)的定位,结果表明,在对照组大鼠肺组织中 Arg1 和 iNOS 主要定位于肺内血管周围以及结节周围,在肺泡内和结节内部则较少存在,但在给药组大鼠肺内血管周围以及结节周围 Arg1 和 iNOS 的定位较少,且在肺组织内的定位较为分散(图 3A),说明双环醇能够抑制巨噬细胞在肺组织内的聚集。对两组大鼠肺组织切片分别进行 Arg1 和 iNOS 的 IHC 染色,检测这 2 种蛋白在肺组织内的表达情况,结果表明 Arg1 和 iNOS 在给药组大鼠肺组织中的表达要低于对照组(图 3B 和图 3C),说明双环醇能够抑制矽肺大鼠肺组织内巨噬细胞中 Arg1 和 iNOS 的表达。

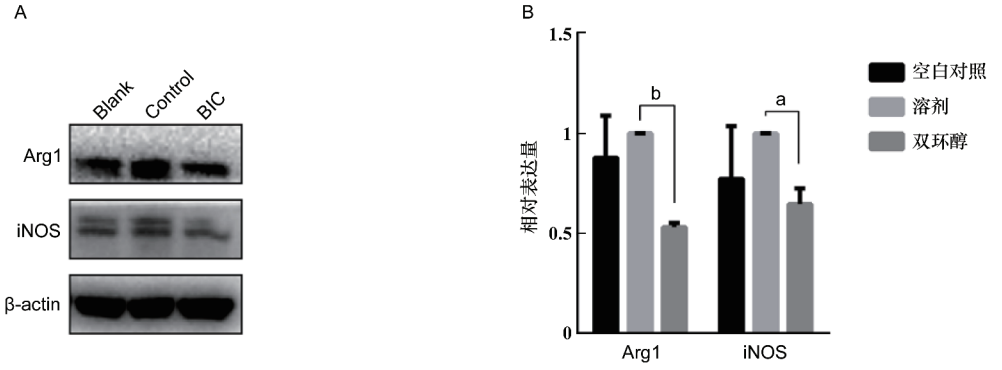


A:IF 染色结果(×10),绿色荧光为 Arg1,红色荧光为 iNOS,蓝色荧光为 DAPI;B:对矽肺大鼠肺组织中 Arg1 进行 IHC 染色结果;C:对矽肺大鼠肺组织中 iNOS 进行 IHC 染色;与对照组比较,a:$P<0.05$

图 3 矽肺大鼠肺组织中 Arg1 和 iNOS 的表达情况

4 双环醇下调体外培养的巨噬细胞中 Arg1 和 iNOS 的表达

在体外培养的巨噬细胞 RAW264.7 中加入 200 $\mu g\cdot mL^{-1}$ 的 SiO_2 悬浊液刺激 24 h,然后加入 200 $\mu mol\cdot L^{-1}$ 的双环醇或者对照溶剂处理 48 h,收取细胞蛋白进行 Western Blot 检测 Arg1 和 iNOS 的表达。结果表明,和对照组细胞相比,给予双环醇处理的 RAW264.7 细胞中 Arg1 和 iNOS 的表达均明显降低(见图 4),说明双环醇同样能够抑制体外吞噬 SiO_2 的巨噬细胞中的 Arg1 和 iNOS 的表达。



A:Western Blot 检测结果;B:针对 Western Blot 结果进行灰度扫描的半定量分析;与溶剂组比较,a:$P<0.05$, b:$P<0.01$

图 4 Western Blot 检测 RAW264.7 细胞中 Arg1 和 iNOS 的表达

讨　论

尘肺病是分布最广、最古老的职业病,在发达国家与发展中国家均有很高的发病率及死亡率[10]。长期吸入生产性环境中的游离粉尘是导致尘肺病的主要因素,由于吸入粉尘的种类不同,导致尘肺病也分为不同的类型,以游离 SiO_2 为主要致病因素的尘肺病又称矽肺,是尘肺中发展快、病情严重、预后较差的一种类型,在一些发展中国家的职业病发病率中位于前列,也是中国目前职业病防治的首要疾病。因此,在本研究中,采用气管滴注的方法将 SiO_2 滴入大鼠气管内,模拟短期大量接触游离 SiO_2 诱导尘肺建立大鼠矽肺模型,用于进一步的研究。

尘肺的基本病变包括巨噬细胞性肺泡炎、尘细胞肉芽肿(结节)和尘性纤维化 3 个阶段。随着染矽时间的增加,肺组织呈现肺泡炎-细胞性结节-纤维性结节的进展性变化。根据文献报道,在大鼠矽肺模型中,染尘后 7 ~ 15 d,以急性肺泡炎症反应为主;染尘后 21 ~ 45 d,大鼠肺组织内出现细胞性结节,结节中心出现纤维化;染尘后 60 ~ 90 d,大鼠肺组织出现纤维性结节和矽肺结节[11]。为了观察纤维化的情况,通常选择尘肺病理进展的第 2 个阶段,开始出现纤维化作为给药观察的起始点。本研究建立的大鼠矽肺模型中,染矽 28 d 后,肺内出现细胞性结节,并且结节中心出现纤维化作为给药的起始时间点,病理检测结果显示大鼠肺组织出现多个大小不一的结节,结节中有散在的条索状纤维化,表明在该阶段以细胞肉芽肿(结节)为主,肺组织开始出现纤维化,可以用于纤维化进展情况的观察。

双环醇是在联苯双酯的基础上,经过结构改造和筛选得到的Ⅰ类抗炎保肝新药,具有显著的降转氨酶效果。研究表明,在药物诱导、免疫性及胆汁淤积等多种原因诱发的肝纤维化动物模型中,双环醇均表现出良好的抑制效果[5-6,12],在临床患者的肝纤维化中,双环醇同样表现出了明显的抑制作用[13-14],提示双环醇可以作为潜在的抗纤维化药物。除了肝脏纤维化之外,在其他的脏器纤维化中,双环醇也表现出了良好的抗纤维化效果。其可以通过抑制单侧输尿管梗阻大鼠肾组织中核转录因子 κB(nuclear factor kappa B, NF-κB)、纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1)的表达,促进细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解,延缓肾间质纤维化的进程[8,15]。在博来霉素诱导的小鼠肺间质纤维化模型中,双环醇可以下调小鼠肺间质中转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)的表达,减轻小鼠肺间质纤维化的程度[9]。此外,双环醇还通过上调 miR-455-3p,抑制 Bax 的表达进而抑制大鼠的特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)[16]。在本研究中,我们观察到在 SiO_2 诱导的大鼠矽肺中,双环醇能够显著抑制大鼠肺组织中的纤维化增生,尤其是 SiO_2 所形成结节中的纤维化程度,说明其具有广泛的抗纤维化作用,但是给予双环醇的矽肺大鼠肺组织中的结节数量与对照组相比并未显著减少,说明其抗纤维化作用可以延缓矽肺大鼠肺组织的纤维化进程,却无法逆转该病理过程。

尽管目前,由 SiO_2 诱发尘肺、导致肺纤维化的发病机制尚未完全阐明[17-18],但可以肯定的是作为 SiO_2 进入肺部之后作用的最主要的靶细胞,肺巨噬细胞在尘肺发生发展中发挥了至关重要的作用[19]。一方面,巨噬细胞识别、吞噬进入肺组织中的 SiO_2

粉尘颗粒,产生大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),并分泌大量的炎性因子,引起炎症级联反应;另一方面,巨噬细胞作为抗原递呈细胞,吞噬 SiO_2 之后发生活化,诱导机体产生免疫应答,最终刺激肺成纤维细胞的增殖、活化和迁移,导致纤维化的发生[20]。Arg1 和 iNOS 是巨噬细胞活化之后表达的 2 种主要蛋白[21-22],实验证明,双环醇可以抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的巨噬细胞 iNOS 蛋白的表达[23]。在本研究中,大鼠矽肺早期(染矽后 28 d)的 HE 染色结果显示肺部存在大量巨噬细胞的聚集,针对矽肺大鼠肺组织切片的 IF 染色表明 Arg1 和 iNOS 主要在肺巨噬细胞中表达,在肺部其他细胞以及结节中几乎不表达,它们在大鼠肺内主要定位于肺血管及结节周围,在给予双环醇治疗后,Arg1 和 iNOS 在矽肺大鼠肺组织中的定位相对分散,说明双环醇可以减少巨噬细胞在肺内聚集。此外,矽肺大鼠肺组织切片的 IHC 结果及体外培养 RAW264.7 细胞中 Arg1 和 iNOS 的表达结果表明其可降低巨噬细胞中 Arg1 和 iNOS 的表达水平,抑制巨噬细胞的聚集与活化,发挥抗纤维化作用,减缓矽肺大鼠肺纤维化进程。

[参 考 文 献]

[1] 国家卫生健康委职业健康司. 尘肺病防治攻坚行动[J]. 人口与健康, 2020(12): 53-54.

[2] HOY R, CHAMBERS DC. Silicosis: an ancient disease in need of a dose of modern medicine[J]. *Respirology*, 2020, 25(5): 464-465.

[3] ZHANG QQ, LI Q, DONG L, *et al*. Genotoxicity and embryotoxicity study of bicyclol methyl ether, main impurity in bicyclol [J]. *Chin J Integr Med*, 2019, 25(10): 743-749.

[4] 双环醇临床应用专家委员会. 双环醇临床应用专家共识-2020 版[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2020,14(3):177-185.

[5] HU QW, LIU GT. Effects of bicyclol on dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in mice and its mechanism of action[J]. *Life Sci*, 2006, 79(6): 606-612.

[6] ZHEN YZ, LI NR, HE HW, *et al*. Protective effect of bicyclol against bile duct ligation-induced hepatic fibrosis in rats[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(23): 7155-7164.

[7] ZHAO T, MAO L, YU Z, *et al*. Therapeutic potential of bicyclol in liver diseases: Lessons from a synthetic drug based on herbal derivative in traditional Chinese medicine[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 91(765-783): 107308.

[8] 刘艳红, 韩子明. 双环醇对 UUO 模型大鼠肾间质核转录因子 κB 和纤溶酶原激活物抑制剂-1 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 205-209.

[9] 王文生, 陈百泉. 双环醇对肺间质纤维化小鼠 TGF-β1 表达的影响[J]. 中国医刊, 2017, 52(12): 72-76.

[10] LEUNG CC, YU IT, CHEN W. Silicosis[J]. *Lancet*, 2012, 379(9830): 2008-2018.

[11] 蔡婷峰, 宋向荣, 李宏玲, 等. 不同时间点大鼠矽肺模型病理改变观察[J]. 中国职业医学, 2020, 47(4): 385-389.

[12] GU Y, ZHAO J, YAO XM, *et al*. Effects of bicyclol on immunological liver fibrosis in rats[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2010, 12(5): 388-398.

[13] 李定坤. 双环醇联合异甘草酸镁对肝硬化患者肝功能及肝纤维化程度的影响[J]. 实用中西医结合临床, 2020, 20(9): 17-18.

[14] 易建华, 李伟, 曾令兰, 等. 双环醇治疗慢性乙型病毒性肝炎肝纤维化及其作用机制[J]. 大连大学学报, 2006, 27(4): 27-30.

[15] 刘艳红, 韩子明. 双环醇对单侧输尿管梗阻大鼠肾间质纤维化的影响及其机制[J]. 临床儿科杂志, 2011, 29(9): 876-879.

[16] ZHOU Y, CHAI X. Protective effect of bicyclol against pulmonary fibrosis via regulation of microRNA-455-3p in rats[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1): 651-660.

[17] LESO V, FONTANA L, ROMANO R, *et al*. Artificial stone associated silicosis: a systematic review[J]. *Int J Environ Res Public Heal*, 2019, 16(4): 568.

[18] AKGUN M, ERGAN B. Silicosis in Turkey: is it an endless nightmare or is there still hope? [J]. *Turk Thorac J*, 2018,19(2):89-93.

[19] 孔海霞, 陈娟娟, 刘伟, 等. 肺巨噬细胞在矽肺肺纤维化发生发展中的作用[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2012, 30(4): 318-320.

[20] 张元元, 薄存香, 张放. 肺泡巨噬细胞在矽肺发病机制中的研究进展[J]. 中国职业医学, 2020, 47(1): 109-113.

[21] ORECCHIONI M, GHOSHEH Y, PRAMOD AB, *et al*. Macrophage polarization: different gene signatures in M1(LPS+) vs. classically and M2(LPS-) vs. alternatively activated macrophages[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1084.

[22] ZHOU D, HUANG C, LIN Z, *et al*. Macrophage polarization and function with emphasis on the evolving roles of coordinated regulation of cellular signaling pathways[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(2): 192-197.

[23] 李敏, 刘耕陶. 双环醇对脂多糖诱导巨噬细胞 iNOS 蛋白的表达和 NF-κB 活化的抑制作用[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(12): 1438-1443.

编辑:刘卓越/接受日期:2021-05-20