DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2026.07.002

雷公藤甲素通过 Integrin 介导的细胞外基质重塑对博来霉素诱导肺纤维化小鼠的保护作用

陈宏[1],张宁[2],张伟[1],李可心[2],于佳琪[2],齐鑫[2]
(1.黑龙江中医药大学附属第一医院,黑龙江 哈尔滨 150040;2.黑龙江中医药大学,黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:目的 探讨和分析雷公藤甲素(TPL)通过整合素(Integrin)介导的细胞外基质重塑对博来霉素(BLM)诱导肺纤维化小鼠的保护作用。方法 将60只C57BL/6雄性小鼠作为研究样本并进行组别划分,即对照组、模型组、地塞米松组(DXM组)、TPL低剂量组及TPL高剂量组5组,每组12只。进行腹主动脉全血血气分析,记录氧分压(PO_2)和血氧饱和度(SO_2),应用HE染色进行肺病理组织学观察,进而确定各组小鼠氧化指标超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)等的含量,通过细胞热迁移实验(CESTA)、表面等离子共振实验(SPR)确证雷公藤甲素与整合素-β1(ITG-β1)相互作用,以蛋白免疫印迹法(Western blot)确定ITG-β1、转化生长因子-β1(TGF-β1)和Smad3蛋白相对表达水平。结果 TPL处理组和DXM组小鼠肺组织完整性较好,且两组的肺间质扩张减轻;同时,观察到两组小鼠肺泡之间缺失与融合得到修复,样本未伴有明显的间质炎性浸润,纤维增生得以有效缓解。与对照组比较,模型组小鼠PO_2、SO_2、SOD和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)均显著下降,MDA含量明显升高($P<0.01$);与模型组比较,DXM组、TPL低剂量组和TPL高剂量组PO_2、SO_2、SOD和GSH-Px的水平明显升高,MDA含量明显下降($P<0.05$);与TPL低剂量组比较,TPL高剂量组作用效果更明显,PO_2、SOD和GSH-Px的水平升高更明显($P<0.05$)。CESTA和SPR实验研究发现,雷公藤甲素与ITG-β1具有相互作用,因此推测是抗肺纤维化作用靶点。与对照组比较,模型组小鼠肺组织中ITG-β1、TGF-β1、Smad3的蛋白表达水平均升高($P<0.01$);DXM组、TPL低和高剂量组小鼠肺组织中ITG-β1、TGF-β1、Smad3的蛋白表达水平均低于模型组($P<0.05$),且与DXM组、TPL低剂量组比较,TPL高剂量组小鼠肺组织中ITG-β1、TGF-β1、Smad3的蛋白表达水平均降低($P<0.05$)。结论 雷公藤甲素可通过整合素介导的细胞外基质重塑对博来霉素诱导肺纤维化小鼠起到保护作用,整合素引起的肺纤维化相关变化蛋白可作为雷公藤甲素治疗肺纤维化的靶点。

关键词:雷公藤甲素;整合素;细胞外基质重塑;肺纤维化;保护作用
中图分类号:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2026)07-0008-06

Analysis on Protective Effect of Triptolide on Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis in Mice Through Integrin-mediated Extracellular Matrix Remodeling

CHEN Hong[1], ZHANG Ning[2], ZHANG Wei[1], LI Kexin[2], YU Jiaqi[2], QI Xin[2]
(1. The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, Heilongjiang, China;
2. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

Abstract: *Objective* To investigate and analyze the protective effect of triptolide (TPL) on bleomycin (BLM)-induced pulmonary fibrosis in mice induced by integrin-mediated extracellular matrix remodeling. *Methods* Sixty male C57BL/6 mice were randomly divided into control group, model group, dexamethasone group (DXM group), TPL low and high dose groups, with 12 mice in each group. Blood gas analysis was performed in whole blood of abdominal aorta, oxygen partial pressure (PO_2) and blood oxygen saturation (SO_2) were recorded, the pulmonary histology was observed by HE staining, and the contents of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in mice sample in each group were detected. The interaction between triptolide and integrin β1 (ITG-β1) was confirmed by cell thermal migration assay (CESTA) and surface plasmonresonance assay (SPR), and the relative expression levels of ITG-β1, transforming growth factor-β1 (TGF-β1) and Smad3 were detected by Western blot. *Results* The lung tissue integrity of mice in TPL low and high dose groups and DXM group was better, and the interstitial expansion of the lungs was reduced in these groups. At the same time, it was observed that the loss and fusion between the alveoli of the mice in TPL groups and DXM group were repaired, and the samples did not show significant interstitial inflammatory infiltra-

基金项目:中国博士后科学基金第13批特别项目(2020T130178);黑龙江省自然科学基金项目(LH2023H074);黑龙江省卫生健康委员会项目(20230202040115)

作者简介:陈宏(1977-),男,黑龙江哈尔滨人,主任医师,博士研究生导师,博士,研究方向:中医药防治小儿肺系疾病与心肝系统疾病。

tion, effectively alleviating fibrosis. Compared with those in the control group, the levels of PO_2, SO_2, SOD and GSH - Px in the model group were significantly decreased, and MDA content was significantly increased ($P<0.01$). Compared with those in the model group, the levels of PO_2, SO_2, SOD and GSH - Px in the DXM group, TPL low and high dose groups were significantly increased, while the content of MDA was significantly decreased ($P<0.05$). Compared with those in the TPL low dose group, the effect of TPL high dose group was more obvious, and the levels of PO_2, SOD and GSH - Px were increased more significantly ($P<0.05$). The results of CESTA and SPR experiments indicated that triptolide interacted with ITG - β1 and was a possible anti - pulmonary fibrosis target. Compared with those of the control group, the protein expression levels of ITG - β1, TGF - β1 and Smad3 in lung tissue of the model group were increased ($P<0.01$). The protein expression levels of ITG - β1, TGF - β1 and Smad3 in lung tissue of mice in the DXM group, TPL low and high dose groups were lower than those in the model group ($P<0.05$), and compared with those in the DXM group and TPL low dose group, the protein expression levels of ITG - β1, TGF - β1 and Smad3 in lung tissue of mice in the TPL high dose group were decreased ($P<0.05$). *Conclusion* TPL can protect pulmonary fibrosis induced by bleomycin through extracellular matrix remodeling mediated by integrin, and the fibrosis - related change protein induced by integrin can be used as the target of TPL in the treatment of pulmonary fibrosis.

Keywords: triptolide; integrin; extracellular matrix remodeling; pulmonary fibrosis; protective effect

肺纤维化(PF)是一种原因不明的慢性、进行性和破坏性的间质性肺病,患者肺部出现纤维化,临床上最常见的是特发性肺间质纤维化[1]。临床中多数肺纤维化患者在发病后会表现出呼吸困难、咳嗽、咳痰等临床症状,造成生活质量严重降低。中医学中无肺纤维化的病名,根据其临床表现可归属于"肺痹""肺痿"范畴[2-4]。本病的病因为外感六淫,内伤情志,其病位在肺,常累及脾、肾,以湿、痰、瘀、虚贯穿病程始终。其中,气虚、痰瘀、血瘀是疾病发生发展的根本原因。通过文献检索"肺痿""治疗"等关键词,时限为2016年2月—2024年2月,根据中药单方、性味归经以及有效成分和有效部位治疗肺纤维化进展结果显示,临床上应用最广泛的是补阴药、活血化瘀药等。有学者指出,目前针对PF,治疗药物以甘、苦为主,另外辛味药亦较为常用;相对而言,咸、酸的药物最少;而大部分中药归属肺经[5]。目前临床上治疗肺纤维化的一线用药主要有吡非尼酮、尼达尼布和地塞米松等,但治疗效果均不能达到最佳的效果,或者相对比较稳定,因此寻找新型的治疗肺纤维化药物迫在眉睫。而中药作为天然产物,其生物活性成分已作为许多疾病的新治疗靶标,近年来越来越多的研究表明中药在治疗PF中起到极其重要的作用。《中国药用植物志》对雷公藤的药性以及药效进行了详细记载。本品性味:苦,涩,寒;功效:消肿止痛,活血通络。现代医学研究表明雷公藤具有抗炎、抗肿瘤作用,优点在于毒性小,治疗安全性高,能够多靶点、多途径发挥药效,因而其抗炎、抗肿瘤作用显著[6-7]。据研究雷公藤中的主要活性成分为雷公藤甲素(TPL),其生物活性广泛。本实验研究将探讨和分析雷公藤甲素通过整合素(Integrin)介导的细胞外基质重塑对博来霉素(BLM)诱导肺纤维化小鼠的保护作用,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

将60只C57BL/6雄性小鼠,雄鼠体质量为18~20 g。购于青龙山动物繁殖中心,饲养过程中环境温度(23.0±1.5)℃,相对湿度(50.0±3.5)%,常规自由饮食饮水。动物引进严格按照相关规范进行。

1.2 实验药物

盐酸雷公藤甲素(百灵威科技公司),99%纯度,在无光照的环境中密封低温保存。博来霉素(硫酸盐)(大连美仑生物技术公司)。地塞米松(DXM,广东南国药业有限公司,国药准字H44024618)。

1.3 试剂与仪器

本实验中使用的仪器包括型号为CKX41的倒置相差显微镜,型号为Bio Ⅱ A的生物安全柜,以及型号为PICO 17的台式离心机。

TPL混悬液制备方法:精密称取雷公藤甲素0.001 g,并将其与10 mL 0.5%的羧甲基纤维素溶液相混合,由此制备出研究所需的0.1 mg/mL混悬液。

BLM溶液制备方法:精密称取0.010 0 g硫酸博来霉素,并将其与10 mL生理盐水相混合,由此制备出浓度为1 mg/mL的溶液。

生理盐水的制备方法:精密萃取0.900 0 g NaCl,并将其与100 mL无菌水相混合。

1.4 模型制备与分组

将小鼠划分为5组,各组小鼠数量均等。本实验中,模型制备方法:气管灌注5 mg/kg BLM水溶液,对照组采用等体积的生理盐水。分组后次日对实验动物进行药物干预,开始给予DXM或TPL治疗;用药频率和用药时长:每2 d给药1次,持续28 d。采用DXM治疗的实验动物按照0.405 mg/kg腹腔注射;采用TPL进行治疗时,划分为两组并分别给予0.50、1.00 mg/kg剂量的药物干预。实验过程中,密切观察实验动物的活动状态,每天称重。

1.5 实验方法

1.5.1 腹主动脉血气分析检测 取腹主动脉血1 mL,收集于干净的抗凝试管中;及时开展腹主动脉全血血气分析,记录氧分压(PO_2)和血氧饱和度(SO_2)。

1.5.2 肺病理组织学观察 造模后的动物牺牲后,准确剪下肺组织,然后放入预冷的PBS缓冲液中,使用PBS将肺组织漂洗多次,直至血被洗净。放入4%多聚甲醛中固定,持续时间为24 h;上述步骤完成后,采用乙醇梯度脱水,石蜡包埋、切片以备后续HE染色。经脱蜡、染色、脱水等一系列处理后,显微镜采集图像并分析。

1.5.3 肺组织匀浆中氧化指标的检测 予1%戊巴比妥钠腹

腔注射,待药物充分发挥药效后,将实验动物仰面固定于恒温手术台上,立即处死,摘取研究所需的肺组织标本。按照不同试剂盒的说明书,分别采用黄嘌呤氧化酶法确定超氧化物歧化酶(SOD)的活力,同时以硫代巴比妥酸确定出丙二醛(MDA)水平,并以化学法测定谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的含量。

1.5.4 细胞热迁移实验(CESTA) 将HPF以每毫升1.2×10^5个细胞数接种于10 cm培养皿中,将长势良好的细胞样本小心加入10 μmol·L^{-1}雷公藤甲素和相等体积DMSO,之后分别转移至培养箱中培养1 h。接着,收集样本,均分至准备好的10个PCR小管中。借助梯度PCR仪进行加热处理,初始温度为43 ℃,加热至70 ℃;持续时间为3 min。对样本进行冻融裂解,重复数次并进行离心处理,收集上清变性,以便展开后续研究;浓度依赖的CESTA:将HPF以1.2×10^5的浓度接种于6孔板,将长势良好的细胞样本分别加入0.156、0.312 5、0.625、1.25、2.5、5、10 μmol·L^{-1}雷公藤甲素和DMSO,然后培养1 h。上述操作结束后,收集样本并将其转移至PCR小管中。之后借助PCR仪进行加热处理,在61 ℃温度条件下加热3 min,反复冻融裂解,离心后收集上清变性以便展开后续研究。

1.5.5 表面等离子共振实验(SPR) 本环节的实验中,使用到Open SPRTM仪器,Sensor Chip NTA芯片,二者均来源于Nicoya公司。具体操作流程:①芯片活化。配制200 mmol·L^{-1}咪唑和40 mmol·L^{-1}氯化镍溶液;将溶液小心注入芯片使其表面活化。以HEPES(pH 7.4)溶液将整合素-β1(ITG-β1)蛋白稀释至30 μg·mL^{-1}。将ITG-β1溶液注入芯片,操作时设定其流速为20 μL·min^{-1}。②样品检测。将雷公藤甲素与1% DMSO PBS(pH 7.4)相混合,由此准备出浓度为40、20、10、5、2.5 μmol·L^{-1}的溶液。将雷公藤甲素注入芯片中,操作时将其流速控制在20 μL·min^{-1},结合时间以及解离时间分别设为240、360 s。每次解离完毕,均以浓度为10 mmol·L^{-1} glycine-HCl解离液进行充分冲洗,操作时将流速设定为100 μL·min^{-1}。实验所得数据均输入TraceDrawer软件处理。

1.5.6 Western blot检测 小鼠造模后,于3周时采集各组肺组织样本,采用蛋白免疫印迹法检测ITG-β1、转化生长因子-β1(TGF-β1)和Smad3蛋白相对表达水平。具体流程:在3个时间点上,每组选取6只小鼠处死,立即收集新鲜肺组织并称重;将样本于冰上研磨并进行裂解。上述步骤完成后提取细胞总蛋白,并通过BCA法确定出蛋白浓度。精密量取变性的蛋白150 μg,然后借助SDS-PAGE方法分离等量蛋白,将蛋白转至聚偏氟乙烯膜。4 ℃温度条件下,以5%脱脂牛奶封闭聚偏氟乙烯膜1 h,再用TBST缓冲液洗膜3次,每次持续时间为5 min;完成后继续加入一抗(1∶500),4 ℃湿盒孵育过夜,TBST洗膜3次;使用辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠的二抗对膜进行处理,完成后转移至室温环境中培养1 h,TBST洗膜5次。本实验中主要是以GAPDH(1∶2000)作为内参蛋白,显影曝光后,借助Image-Pro Plus工具确定出蛋白条带的灰度值。

1.6 统计学方法

本研究中获取的所有资料均采用SPSS 26.0软件处理。对于满足正态分布的计量资料,以均数±标准差进行统计。采用两组间对比的独立样本t检验。多组对比用One-way ANOVA分析。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肺病理组织学分析

HE染色结果见插页Ⅳ图1。可以观察到对照组肺组织结构完整,形态正常,不存在炎症浸润,纤维组织均匀分布,同时还伴有肺泡间隔轻微断裂。模型组肺泡完整度低,能够观察到大量炎性细胞浸润,同时伴有肺间质扩张、多个肺泡融合;该组小鼠肺组织样本中肺泡间隔增厚,存在炎症,肺泡腔存在一定的炎性渗出物,同时观察到纤维组织增生及纤维化。DXM组、TPL高/低剂量组样本结构的完整度较好,可见肺间质扩张减轻,并清晰观察到该组肺泡之间缺失与融合得到修复,伴有轻微的间质炎性浸润,纤维增生得以缓解。

2.2 各组肺纤维化小鼠的氧分压和血氧饱和度

与对照组比较,模型组小鼠PO_2和SO_2均显著下降($P<0.01$);与模型组比较,DXM组、TPL低剂量组和TPL高剂量组PO_2和SO_2水平均明显提高($P<0.05$);与TPL低剂量组比较,TPL高剂量组作用效果更明显,小鼠PO_2的水平升高更明显($P<0.05$)。见表1所示。

表1 各组肺纤维化小鼠的氧分压和血氧饱和度比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	PO_2/(mmHg)	SO_2/(%)
对照组	12	70.02±4.46	90.52±1.95
模型组	12	49.04±4.21**	79.02±3.72**
DXM组	12	64.59±5.82*△	89.14±2.03*△
TPL高剂量组	12	66.78±5.63*△▲	90.41±1.86*△
TPL低剂量组	12	59.06±4.97*△	88.56±1.95*△
F值		20.186	16.295
P值		0.000	0.000

注:*与对照组比较,$P<0.05$;**与对照组比较,$P<0.01$;△与模型组比较,$P<0.05$;▲与TPL低剂量组比较,$P<0.05$。

2.3 各组小鼠SOD、MDA和GSH-Px水平的变化

与对照组相比,模型组样本中MDA水平显著提高($P<0.05$),而SOD和GSH-Px明显降低($P<0.01$);与模型组比较,DXM组、TPL低剂量组和TPL高剂量组样本中MDA显著下降($P<0.05$),而SOD和GSH-Px均明显升高($P<0.05$)。与TPL低剂量组相比,TPL高剂量组样本中MDA明显降低,而SOD和GSH-Px明显升高($P<0.05$)。见表2。

表2 各组小鼠SOD、MDA和GSH-Px水平的变化($\bar{x}\pm s$)

组别	n	SOD/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)	GSH-Px/(pg/mL)
对照组	12	90.83±4.06	1.86±0.10	42.78±1.43
模型组	12	45.76±4.35**	3.25±0.18**	21.05±2.86**
DXM组	12	79.84±3.92*△	2.13±0.12*	34.19±1.15*
TPL高剂量组	12	83.02±4.17*△▲	2.02±0.11*△▲	38.26±1.32*△▲
TPL低剂量组	12	58.79±4.26*△	2.98±0.14*△	27.96±1.84*△
F值		28.394	18.756	20.013
P值		0.000	0.000	0.000

注:*与对照组比较,$P<0.05$;**与对照组比较,$P<0.01$;△与模型组比较,$P<0.05$;▲与TPL低剂量组比较,$P<0.05$。

2.4 ITG-β1是雷公藤甲素在肺成纤维细胞中的结合靶点

为了确证ITG-β1是对应的作用靶点,本文在研究室基于SPR方法分析二者的相互作用,结果如插页Ⅳ图2,表明雷

公藤甲素对 ITG－β1 的表达会产生显著调节作用。此外本文还基于温度和浓度依赖的 CESTA 法，在细胞水平验对二者的关系进行验证，首先利用 10 μmol·L^{-1}剂量的雷公藤甲素干预细胞 1 h，接着从 37 ℃不断升温，结果表明随着温度升高，对照组ITG－β1 蛋白浓度持续下降，而处理组 ITG－β1 浓度降低有一定滞后性，采用 0.5、1.0 mg/kg 梯度浓度的雷公藤甲素处理细胞 1 h，使用 61 ℃加热处理细胞，如图 3。根据此图结果可发现，随着雷公藤甲素浓度逐渐升高，ITG－β1 的条带显著变强。CESTA 实验研究发现，这种药物与 ITG－β1 存在相互作用，ITG－β1 在其中可能发挥了靶点作用。

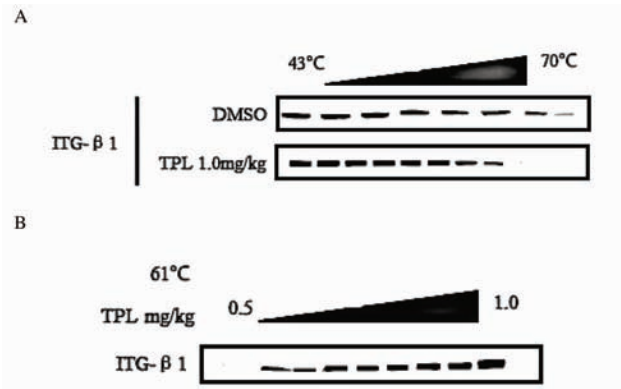
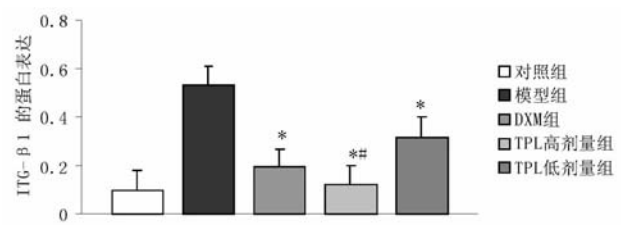


图 3 不同温度梯度(A)和不同浓度 TPL(B)检测小鼠肺组织中 ITG－β1 蛋白表达

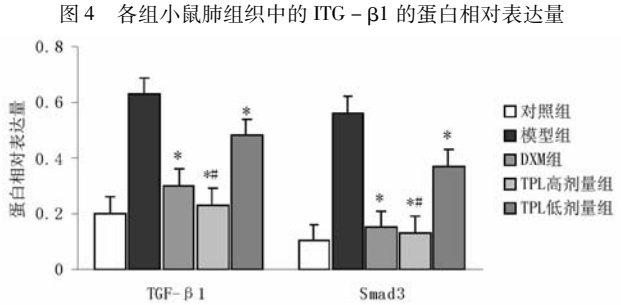
2.5 各组小鼠肺组织中的 ITG－β1、TGF－β1 和 Smad3 蛋白表达

与对照组比较，模型组小鼠肺组织中 ITG－β1、TGF－β1、Smad3 的蛋白表达水平均升高($P<0.01$)；DXM 组、TPL 低和高剂量组小鼠肺组织中 ITG－β1、TGF－β1、Smad3 的蛋白表达水平均低于模型组($P<0.05$)，且与 DXM 组、TPL 低剂量组比较，TPL 高剂量组小鼠肺组织中 ITG－β1、TGF－β1、Smad3 的蛋白表达水平均降低($P<0.05$)。见图 4－图 6 所示。



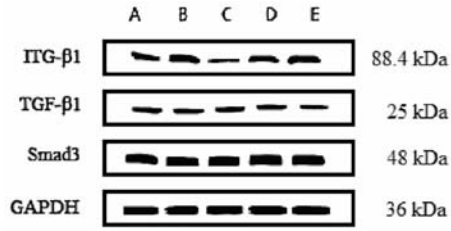
注：＊与模型组比较，$P<0.05$；#与 TPL 低剂量组比较，$P<0.05$。

图 4 各组小鼠肺组织中的 ITG－β1 的蛋白相对表达量



注：＊与模型组比较，$P<0.05$；#与 TPL 低剂量组比较，$P<0.05$。

图 5 各组小鼠肺组织中 TGF－β1 和 Smad3 蛋白相对表达量



注：A. 对照组，B. 模型组，C. DXM 组，D. TPL 高剂量组，E. TPL 低剂量组。

图 6 ITG－β1、TGF－β1、Smad3 蛋白条带

3 讨论

PF 是肺组织异常修复引发持久性损伤的一类肺部病变，其特征表现为炎症和细胞外基质沉积，在中医学中，肺纤维化的临床特征与“肺痹”“肺痿”的描述相符，故多将其归属于这两个范畴。“肺痹”强调肺气痹阻、络脉不通，与肺纤维化早期痰瘀阻肺、气机不畅的表现相关；“肺痿”则侧重肺叶痿弱不用，与疾病后期肺之气阴耗伤、肺脏虚损的病理状态一致[8]，对患者的肺结构和功能都会产生明显影响，其中特发性肺间质纤维化发病率最高[9－11]。雷公藤甲素性味“苦、涩、寒”，其药性与肺纤维化“痰瘀互结”“气虚血瘀”的核心病机存在一定关联。苦能泄、能燥：可清泄肺热、燥湿化痰，针对肺纤维化中痰浊内蕴、郁而化热的病理环节，有助于消散痰结[12]。涩能收敛、固络：可收敛肺气、固涩络脉，对肺络受损、血行失畅所致的血瘀状态有一定缓解作用，辅助改善气虚血瘀之证[13]。寒能清热：可清解肺中郁热，若肺纤维化病程中存在热毒伤肺、灼伤肺络的情况，其寒性可起到清热凉血、减轻肺络损伤的作用[14]。

构建一个理想的肺纤维化模型，不仅有助于筛选 PF 生物标志物，同时对明确其机理可提供支持，同时也为研发新药起到参考作用[15－16]。本实验在建立 PF 小鼠模型时选择的方法为气管灌注给予一定剂量的博来霉素(BLM)水溶液[17－20]。BLM 为一种碱性糖肽类物质的抗生素，表现出抗癌作用，其不良反应主要是引发 PF[21－22]。目前学术界一般认为，BLM 诱发 PF 的机理为其可促使 DNA 断裂，产生自由基，通过氧化应激引起细胞凋亡或坏死，诱导炎症反应和纤维化[23－24]。为了消除体内的活性氧，体内各项机能(抗氧化能力)起着作用，正常的状态下，通过抗氧化能力是可以消除活性氧的，但是如果体内的抗氧化机能无法消除多余的活性氧时，就会氧化担负着生物构造和机能的核酸、蛋白质和类脂体，从而造成损伤构造和妨碍机体功能的情况[25]。本研究结果显示，与对照组相比，模型组样本中 MDA 含量显著增加($P<0.05$)，而 SOD 和 GSH－Px 明显降低；与模型组比较，DXM 组、TPL 低剂量组和高剂量组小鼠样本中 MDA 含量显著下降，而 SOD 和 GSH－Px 均明显升高。与 TPL 低剂量组相比，TPL 高剂量组样本中的 MDA 明显降低，而 SOD 和 GSH－Px 明显升高，表明 TPL 在 BLM 诱导的 PF 中可缓解肺组织的过氧化损伤及纤维化，对肺组织起到保护作用。

整合素是介导细胞与 ECM 间信号转导的细胞表面黏附受体，研究发现其在组织发育及创伤愈合中都发挥关键调节作用。整合素与细胞外基质蛋白结合，可以激活黏着斑激酶，促

进成纤维细胞迁移[26-27]。在被激活时,整合素与其配体相互作用,介导白细胞的滚动、黏附、迁移,以便经历组织归巢和炎症[28]。整合素功能的适当调节对于控制炎症反应至关重要。整合素 β1 被证明可以调节肺部炎症,因为从 2 型肺泡上皮细胞(AECs)中删除 β1 会导致肺气肿和成年小鼠肺部巨噬细胞激增[29]。本实验研究结果显示,通过细胞热迁移实验、表面等离子共振实验确证 TPL 与 ITG-β1 存在相互作用,是其可能的抗 PF 的靶点。基于蛋白质印记法测定小鼠肺组织中的 ITG-β1、TGF-β1 和 Smad3 蛋白表达结果显示,与对照组比较,模型组小鼠肺组织中ITG-β1、TGF-β1、Smad3 的蛋白表达水平均升高;DXM 组、TPL 低和高剂量组小鼠肺组织中 ITG-β1、TGF-β1、Smad3 的蛋白表达水平均低于模型组,且与 DXM 组、TPL 低剂量组比较,TPL 高剂量组小鼠肺组织中 ITG-β1、TGF-β1、Smad3 的蛋白表达水平均降低。雷公藤甲素可通过整合素介导的细胞外基质重塑博来霉素诱导肺纤维化小鼠的保护作用,整合素引起的肺纤维化相关变化蛋白可作为雷公藤甲素治疗肺纤维化的靶点。综上所述,雷公藤甲素可能通过下调 TGF-β/Integrin 信号通路的表达,减轻细胞外重构,具有理论可行性。但是,雷公藤甲素对肺纤维化的作用及机制较为复杂,因此,本研究后期还需要进一步探究详细的分子机制。

参考文献

[1] 李雅馨,丁露,杨映映,等. 基于数据挖掘和网络药理学探讨中药复方治疗特发性肺纤维化的组方规律和潜在机制[J]. 中国老年学杂志,2022,42(9):2119-2124.
[2] 李红梅,张旭辉,武妍琳,等. TGF-β1/Smad 信号通路在肺纤维化中的作用及中医药调控研究进展[J]. 中药药理与临床,2024,40(1):123-128.
[3] 陈中沛,李洁,陈阳,等. 培元通闭散结中药治疗新型冠状病毒肺炎恢复期肺纤维化的临床研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2023,25(1):380-386.
[4] KAWAMI M,OJIMA T,YUMOTO R,et al. Role of integrin α2 in methotrexate-induced epithelial-mesenchymal transition in alveolar epithelial A549 cells[J]. Toxicol Res,2022,38(4):449-458.
[5] 刘喜红,杜晓丹,范孟杨,等. miR-328-3p-Akt/mTOR 轴在雷公藤甲素抑制脑胶质瘤细胞生长中的作用及机制研究[J]. 中国实验动物学报,2023,31(6):697-705.
[6] 李世杰,张诗雨,孙阳,等. 雷公藤甲素对 ox-LDL 诱发的血管内皮细胞炎症反应的抑制作用及机制研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化,2023,25(4):1341-1349.
[7] 张艺,郭芬. 雷公藤甲素联合吉非替尼对 EGFR 突变 NSCLC 细胞的协同效应分析[J]. 中国药房,2023,34(18):2219-2225.
[8] 李建生,李素云. 肺痿肺痹与肺纤维化[J]. 中医杂志,2003,44(11):878-879.
[9] RITZENTHALER J D,ZHANG M,TORRES-GONZALEZ E,et al. The integrin inhibitor cilengitide and bleomycin-induced pulmonary fibrosis: cilengitide and bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. Lung,2020,198(6):947-955.
[10] NANRI Y,NUNOMURA S,TERASAKI Y,et al. Cross-talk between transforming growth factor-β and periostin can be targeted for pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Cell Mol Biol,2020,62(2):204-216.
[11] 张彩霞,王伟艳,李会芳,等. miR-20a 通过 ATG16L1 影响细胞自噬并参与调节雷公藤甲素肝毒性[J]. 中草药,2023,54(13):4214-4223.
[12] 周平安,杨效华. 肺间质纤维化的中医认识与治疗[J]. 北京中医药大学学报,2000,23(2):48-50.
[13] 王承德,沈丕安,胡荫奇. 实用中医风湿病学[M]. 2 版. 北京:人民卫生出版社,2009:789-792.
[14] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草-1[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:2136-2138.
[15] 梁晓,李昂昂,彭勃,等. LPS 诱导的小鼠急性肺损伤后肺纤维化模型构建与机制研究[J]. 中国实验动物学报,2025,33(6):848-857.
[16] 李乔,王苗风,田宇,等. 一种改良的博来霉素诱导的肺纤维化模型造模方法[J]. 空军军医大学学报,2024,45(4):425-429.
[17] 赵琰,韩雯雯,赵琳,等. ICU 机械通气患者呼吸机相关性肺炎的危险因素及 WISP1/TLR4/整合素 β5 通路基因变化[J]. 中华医院感染学杂志,2023,33(23):3557-3561.
[18] VILLAS BOAS C W,LO W,HUYNH T,et al. PET/CT imaging of avb6 integrin to monitor radiation-induced pulmonary fibrosis[J]. Nucl Med Biol,2023,126:108434.
[19] 张海龙,王露,郭雯,等. 抗纤缓急方治疗特发性肺纤维化急性加重患者多中心随机对照研究[J]. 中国中西医结合杂志,2024,44(2):163-168.
[20] ZHANG Y W,ZHU L H,HONG J S,et al. Extracellular matrix of early pulmonary fibrosis modifies the polarization of alveolar macrophage[J]. Int Immunopharmacol,2022,111:109179.
[21] 刘晋芳,周儒奎,高艳,等. 博莱霉素在恶性肿瘤中应用的研究进展[J]. 山西中医药大学学报,2021,22(1):75-79.
[22] 王搏,宋庆华,唐会猛,等. 博来霉素诱导的肺纤维化动物模型研究进展[J]. 中国实验动物学报,2023,31(12):1617-1628.
[23] 丁香,刘健,陈晓露,等. 雷公藤甲素通过 miR-23a-3p/PTEN/PI3K/AKT/mTOR 改善强直性脊柱炎滑膜成纤维细胞作用机制[J]. 中华中医药杂志,2023,38(12):6024-6029.
[24] 檀丽丽,黄巍,杨子璇,等. 特发性肺纤维化动物模型的研究进展[J]. 中国实验动物学报,2025,33(5):756-769.
[25] 卫博凯,胡静. 基于中医传承辅助平台与网络药理学探析中药干预新型冠状病毒感染后遗症肺纤维化的作用机制[J]. 中草药,2024,55(1):190-204.
[26] SIME P,JENKINS G. Goldilocks and the three trials: clinical trials targeting the $\alpha_v\beta_6$ integrin in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med,2022,206(9):1062-1063.
[27] 徐义峰,柯诗文,李可可,等. 氧化应激和免疫浸润在特发性肺纤维化中的作用及中药防治研究[J]. 中国免疫学杂志,2024,40(10):2108-2115.
[28] KIM J W,JEONG M H,YU H T,et al. Fibrinogen on extracellular vesicles derived from polyhexamethylene guanidine phosphate-exposed mice induces inflammatory effects *via* integrin β[J]. Ecotoxicol Environ Saf,2023,252:114600.
[29] MEI S,TANG R,HU Y,et al. Integrin β3 mediates sepsis and mechanical ventilation-associated pulmonary fibrosis through glycometabolic reprogramming[J]. Lab Invest,2023,103(1):100021.

雷公藤甲素通过 Integrin 介导的细胞外基质重塑对博来霉素诱导肺纤维化小鼠的保护作用

(正文见 8 – 12 页)

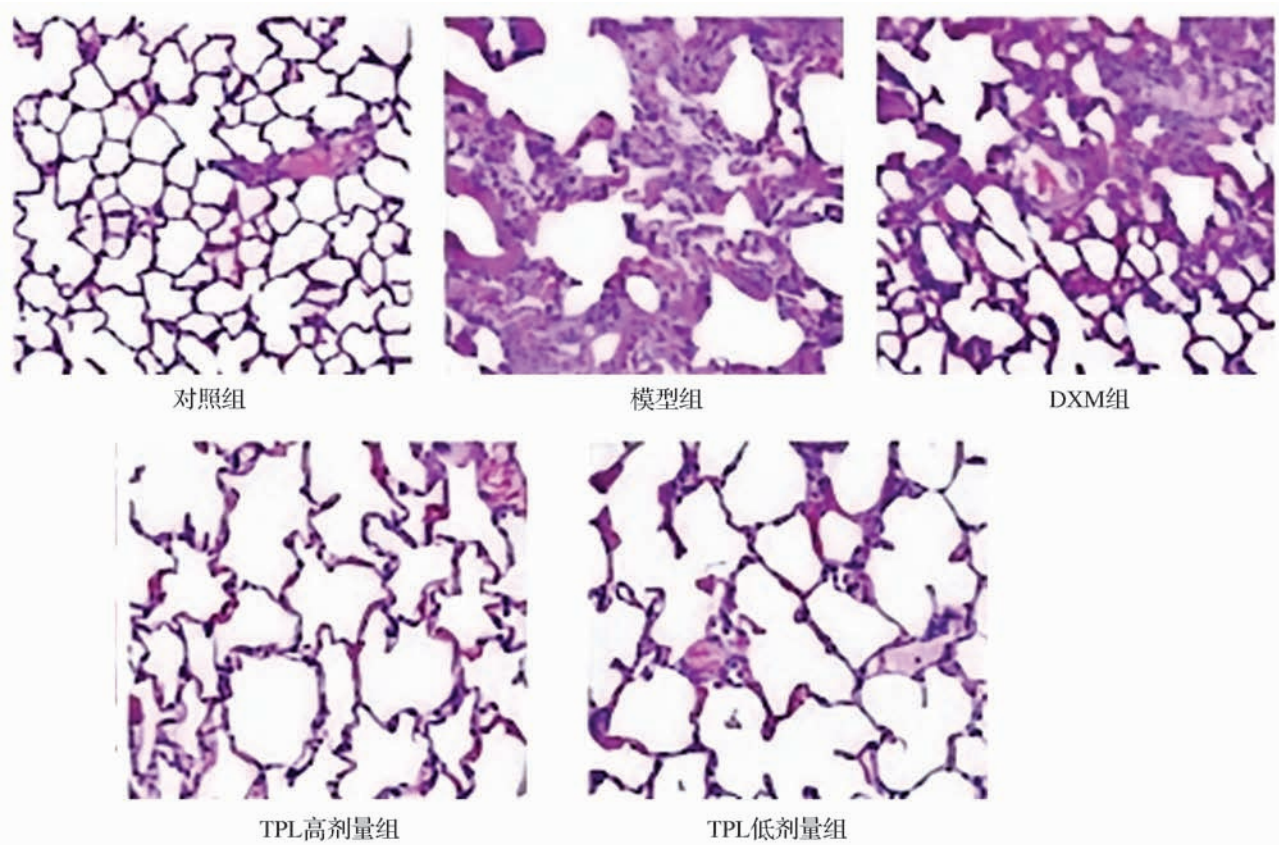


图 1 雷公藤甲素对肺纤维化小鼠肺组织病理形态的影响(HE, ×200)

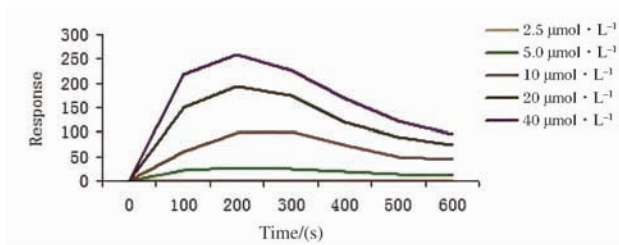


图 2 不同浓度雷公藤甲素与 ITG – β1 的 SPR 结合动力学曲线