网络出版时间:2018 - 4 - 27 9:40 网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180426.1411.013.html

CRAE 对百草枯中毒大鼠肺纤维化的保护作用机制

郭启芬[1,2],谢来柱[3],张 泓[1]

摘要 **目的** 观察复方赤芍黄芪提取物(CRAE)对百草枯中毒大鼠肺纤维化的保护作用,并探讨其可能机制。**方法** 采用百草枯诱导大鼠肺纤维化模型,分成正常对照组、模型组、阳性药组、CRAE 0.6 g/kg 组、CRAE 1.2 g/kg 组、CRAE 2.4 g/kg 组。观察 CARE 对模型大鼠肺脏重量、肺脏脏器指数,血清透明质酸(HA)、Ⅲ型胶原蛋白(PC-Ⅲ)、层粘连蛋白(LN)含量,肺组织中金属基质蛋白酶9(MMP-9)、基质金属蛋白酶抑制剂1(TIMP-1)、羟脯氨酸(Hyp)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白介素17(IL-17)、白介素6(IL-6)、转化生长因子1(TGF-β1)、Ⅰ型纤溶酶原激活抑制因子(PAI-1)含量。Western blot 分析 P-Smad2、Smad2、P-Smad3、Smad3、Smad7 和 PAI-1 蛋白的含量。Q-PCR 法检测 PAI-1 mRNA 的含量。**结果** CRAE 1.2 g/kg 组和 CRAE 2.4 g/kg 组能显著减少模型大鼠肺脏重量、肺脏脏器指数、血清 HA、PC-Ⅲ、LN 含量及肺组织中 TIMP-1、Hyp、MDA、TNF-α、IL-17、IL-6、TGF-β1、PAI-1 的表达水平,增加肺组织中 SOD、GSH-Px 和 MMP-9 的含量;下调 P-Smad2、P-Smad3、PAI-1 水平,上调 Smad7 蛋白的表达。**结论** CRAE 对百草枯诱导的大鼠肺纤维化具有一定的抑制作用,其机制可能与 TGF-β1/Smad 信号通路有关。

关键词 复方赤芍黄芪提取物;肺纤维化;百草枯;TGF-β1/Smad 信号通路;PAI-1

中图分类号 R 969.4

文献标志码 A **文章编号** 1000 - 1492(2018)05 - 0722 - 05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2018.05.013

随着百草枯(paraquat)在农业中广泛应用,百草枯中毒事件越来越多,而百草枯中毒的患者往往会继发性肺纤维化从而引起限制性肺通气障碍。现代医学认为,肺纤维化一种以肺间质炎症、纤维组织增生、胞外基质代谢异常的弥漫性肺间质疾病[1]。本病的平均生存期不高,且临床上缺乏有效的治疗手段。中医治疗肺部疾病已有数千年历史,有丰富的经验和理论基础。该课题组根据当地治疗"肺疾"偏方,结合传统中医理论及西医肺纤维化相关的基础研究,使用现代水提法制备出复方赤芍黄芪提取物(compound of Radix Paeoniae Rubra and Astragalus extract,CRAE),并观察其对百草枯引起的肺纤维化等方面的疗效。

2018 - 01 - 25 接收

基金项目:国家临床重点专科建设项目

作者单位:[1] 安徽医科大学第一附属医院急诊医学科,合肥 230022

太和县人民医院[2] 重症医学科、[3] 心内二科,太和 236600

作者简介:郭启芬,女,硕士研究生;

张 泓,女,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:hongzhah@163.com

1 材料与方法

1.1 药物制备 复方赤芍黄芪提取物是根据当地治疗"肺疾"偏方和单剂药物成分修正,以赤芍、黄芪、鳖甲以及其他辅料按照(2∶2∶1∶1)配伍,使用现代水提法工艺制备而成。其主要成分有芍药苷、芍药内脂苷、黄芪多糖、鳖甲多糖等。

1.2 实验试剂 转化生长因子(transforming growth factor-β,TGF-β1) ELISA 试剂盒、Ⅰ型纤溶酶原激活抑制因子(plasminogen activator inhibitor 1,PAI-1) ELISA 试剂盒、金属基质蛋白酶9(matrix metallopeptidase 9,MMP-9) ELISA 试剂盒、基质金属蛋白酶抑制剂1(tissue inhibitor of metallopeptidase 1,TIMP-1) ELISA 试剂盒、羟脯氨酸(hydroxyproline,Hyp)试剂盒、透明质酸(hyaluronic acid,HA)试剂盒、Ⅲ型胶原蛋白(collagen protein type Ⅲ,PC-Ⅲ)试剂盒、层粘连蛋白(laminin,LN)试剂盒、丙二醛(malonaldehyde,MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,SOD)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase,GSH-Px)试剂盒、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor α,TNF-α) ELISA 试剂盒、白介素17(interleukin 17,IL-17) ELISA 试剂盒、白介素6(interleukin 6,IL-6) ELISA 试剂盒、BCA 法蛋白测定试剂盒均购自南京建成生物公司;TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司;P-Smad2、Smad2、P-Smad3、Smad3、Smad7、GAPDH、PAI-1 一抗及二抗购自美国 Sigma 公司;qPCR 试剂盒购自美国 Thermo Fisher 公司;PAI-1 引物购自上海生工生物公司。

1.3 实验动物及分组 选用雄性 SD 大鼠 90 只,体重 260 g 左右,由安徽医科大学动物实验中心提供,许可证号 2008003。将动物饲养于恒温无菌动

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

物房中，随机分成6组，每组15只，分别为正常对照组、模型组、阳性对照组(泼尼松5.0 mg/kg)、CRAE 0.6 g/kg组、CRAE 1.2 g/kg组、CRAE 2.4 g/kg组。

1.4 实验动物造模[2] 将模型组、阳性对照组、CRAE 0.6 g/kg组、CRAE 1.2 g/kg组、CRAE 2.4 g/kg组大鼠称重后按照0.1 ml/100 g百草枯药液灌胃造模。造模结束24 h后，按照相应给药方式进行灌胃处理，每天1次。造模后各组大鼠均出现呼吸变浅、呼吸频率加快、呼吸困难等症状。实验进行至4周时，有大鼠开始死亡，结束灌胃并处死大鼠。摘取大鼠肺脏称重并计算肺脏脏器指数。肺脏脏器指数=肺脏重量/大鼠体重。腹主动脉取血，以1 000 r/min离心20 min分离血清后置于-20 ℃冷冻备用。取大鼠肺脏并使用组织均浆机均浆组织液，置于-80 ℃冷冻备用。

1.5 大鼠血清HA、PC-Ⅲ、LN含量和肺组织中MMP-9、TIMP-1、Hyp、MDA、SOD、GSH-Px、TNF-α、IL-17、IL-6、TGF-β1、PAI-1含量测定 取出冻存的大鼠血清和组织液，按照ELISA试剂盒说明书步骤检测大鼠血清中HA、PC-Ⅲ、LN含量和肺组织中MMP-9、TIMP-1、Hyp、MDA、SOD、GSH-Px、TNF-α、IL-17、IL-6、TGF-β1、PAI-1含量。

1.6 Q-PCR法检测PAI-1 mRNA的含量 使用TRIzol试剂盒提取大鼠组织液中的总RNA。使用qPCR试剂盒检测各组PAI-1的mRNA含量。以GAPDH作为标准校准。使用的qPCR引物见表1。

表1 PCR所用引物及其序列

引物名称	引物序列(5′-3′)
PAI-1	F: TCATCATCAATGACTGGGTGAAGAC
	R: TTCCACTGGCCGTTGAAGTAGAG
GAPDH	F: TGTTGCCATCAACGACCCCTT
	R: CTCCACGACATACTCAGCA

1.7 Western blot法分析P-Smad2、Smad2、P-Smad3、Smad3、Smad7和PAI-1蛋白的含量 将冻存的肺组织液与RIPA组织裂解液混合后，4 ℃冰上静置30 min，4 ℃、13 000 r/min离心30 min，离心结束后取上清液。使用BCA法测定各组蛋白浓度，按照Western blot法将蛋白变性、电泳、转膜后置于4 ℃一抗杂交袋过夜，TBST清洗后，室温孵育二抗2 h。使用ECL发光试剂盒进行曝光并分析统计。

1.8 统计学处理 采用SPSS 15.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用方差分析，方差不齐则采用秩和检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CRAE对百草枯诱导的肺纤维化大鼠存活率、肺脏重量和肺脏脏器指数的影响 与正常对照组相比，模型组大鼠的肺脏重量和肺脏脏器指数明显升高($P<0.05$)，存活率明显降低；与模型组相比，阳性对照组、CRAE 1.2 g/kg和CRAE 2.4 g/kg组可以明显降低肺纤维化大鼠的肺脏重量和肺脏脏器指数，升高大鼠的存活率，差异具有统计学意义($P<0.05$)，见表2。

2.2 CRAE对百草枯诱导的肺纤维化大鼠血清中HA、PC-Ⅲ、LN含量的影响 与正常对照组相比，模型组大鼠血清中HA、PC-Ⅲ、LN含量明显升高($P<0.05$)；与模型组相比，阳性对照组、CRAE 1.2 g/kg和CRAE 2.4 g/kg组可以明显降低肺纤维化大鼠血清中HA、PC-Ⅲ、LN的含量，差异具有统计学意义($P<0.05$)，见表2。

2.3 CRAE对百草枯诱导的肺纤维化大鼠肺组织中MDA、SOD和GSH-Px含量的影响 与正常对照组相比，肺纤维化大鼠肺组织中MDA的含量明显升高，SOD和GSH-Px的含量明显降低($P<0.05$)；与模型组相比，阳性对照组、CRAE 1.2 g/kg和CRAE 2.4 g/kg组大鼠肺组织中MDA含量明显降低，SOD和GSH-Px的含量明显升高，差异具有统计学意义($P<0.05$)，见表3。

表2 CRAE对百草枯诱导的肺纤维化大鼠存活率、肺脏重量、肺脏脏器指数和血清中HA、PC-Ⅲ、LN含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n=15$)

项目	正常对照组	模型组	阳性对照组	CRAE (0.6 g/kg)	CRAE (1.2 g/kg)	CRAE (2.4 g/kg)	*F*值
存活率(%)	100(15/15)	46.5(7/15)	73.3(11/15)	53.3(8/15)	66.7(10/15)	80(12/15)	-
肺脏重量(g)	2.35±0.22	3.05±0.42*	2.58±0.34#	2.97±0.46	2.64±0.37#	2.55±0.35#	11.589
肺脏脏器指数	0.54±0.05	0.78±0.08*	0.75±0.08#	0.74±0.07	0.62±0.06#	0.59±0.06#	27.669
HA(pg/ml)	91.2±15.2	186.2±23.4*	123.5±21.6#	168.4±20.8	143.9±18.6#	136.5±17.3#	32.041
PC-Ⅲ(ng/ml)	9.2±2.1	17.5±2.2*	12.3±2.3#	16.8±2.4	14.5±2.2#	13.6±2.3#	12.460
LN(ng/ml)	55.2±18.2	106.3±23.6*	65.8±21.6#	97.6±22.4	76.1±20.1#	64.8±19.4#	9.004

与正常对照组相比：* $P<0.05$；与模型组相比：# $P<0.05$

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表3 CRAE 对百草枯诱导肺纤维化模型大鼠肺组织中 MDA、SOD、GSH-Px、MMP-9、TIMP-1 和 Hyp 含量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

项目	正常对照组	模型组	阳性对照组	CRAE (0.6 g/kg)	CRAE (1.2 g/kg)	CRAE (2.4 g/kg)	*F* 值
MDA(μmol/g)	14.56 ± 6.32	46.38 ± 9.35*	18.83 ± 7.64#	38.76 ± 8.35	26.49 ± 8.61#	23.54 ± 8.27#	25.972
SOD (kU/g)	73.54 ± 7.68	36.19 ± 5.34*	65.42 ± 6.84	42.85 ± 6.27	59.38 ± 5.87#	63.58 ± 6.35#	46.033
GSH-Px (kU/g)	45.68 ± 5.24	15.48 ± 4.82*	22.18 ± 5.37	18.69 ± 5.12	29.35 ± 4.87#	34.19 ± 5.28#	53.493
MMP-9 (ng/ml)	4.23 ± 0.21	2.89 ± 0.24*	3.86 ± 0.32#	2.94 ± 0.34	3.52 ± 0.32#	3.78 ± 0.31#	29.067
TIMP-1 (ng/ml)	3.52 ± 0.36	7.32 ± 0.48*	4.35 ± 0.38#	7.13 ± 0.42	5.34 ± 0.48#	4.86 ± 0.44#	166.162
Hyp(μg/ml)	0.45 ± 0.15	1.26 ± 0.31*	0.58 ± 0.22#	1.13 ± 0.32	0.82 ± 0.25#	0.62 ± 0.21#	15.543

与正常对照组相比: * $P < 0.05$; 与模型组相比: # $P < 0.05$

表4 CRAE 对百草枯诱导肺纤维化模型大鼠肺组织 TNF-α、IL-17、IL-6 、TGF-β1 和 PAI-1 的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

项目	正常对照组	模型组	阳性对照组	CRAE (0.6 g/kg)	CRAE (1.2 g/kg)	CRAE (2.4 g/kg)	*F* 值
TNF-α(ng/L)	22.54 ± 4.35	62.48 ± 5.82*	29.61 ± 5.28#	57.34 ± 5.34	45.82 ± 4.62#	36.82 ± 5.47#	100.031
IL-17(ng/L)	37.9 ± 5.1	110.3 ± 11.9*	58.2 ± 10.6#	99.7 ± 9.7	78.8 ± 8.5#	68.3 ± 7.4#	87.644
IL-6(ng/L)	35.4 ± 16.1	115.6 ± 25.4*	56.8 ± 18.3#	106.1 ± 22.8	75.3 ± 21.6#	64.8 ± 20.3#	32.222
TGF-β1(pg/ml)	26.43 ± 3.64	84.29 ± 7.15*	42.73 ± 4.83#	76.15 ± 8.34	62.82 ± 5.64#	53.67 ± 5.28#	94.158
PAI-1(pg/ml)	35.42 ± 5.48	126.84 ± 10.37*	56.83 ± 6.42#	112.37 ± 8.69	76.35 ± 8.16#	63.94 ± 7.68#	177.269

与正常对照组相比: * $P < 0.05$; 与模型组相比: # $P < 0.05$

2.4 CRAE 对百草枯诱导的肺纤维化大鼠肺组织中 MMP-9、TIMP-1 和 Hyp 含量的影响 与正常对照组相比,模型组大鼠肺组织中 MMP-9 的含量明显降低,TIMP-1 和 Hyp 含量明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,阳性对照组、CRAE 1.2 g/kg 和 CRAE 2.4 g/kg 组大鼠肺组织中 MMP-9 的含量明显升高,而 TIMP-1 和 Hyp 的含量明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表3。

2.5 CRAE 对百草枯诱导的肺纤维化大鼠肺组织中 TNF-α、IL-17 和 IL-6 含量的影响 与正常对照组相比,模型组大鼠肺组织中 TNF-α、IL-17 和 IL-6 的含量明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,阳性对照组、CRAE 1.2 g/kg 和 CRAE 2.4 g/kg 组 TNF-α、IL-17 和 IL-6 的含量明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表4。

2.6 CRAE 对百草枯诱导的肺纤维化大鼠肺组织中 TGF-β1 和 PAI-1 含量的影响 与正常对照组相比,模型组大鼠肺组织中 TGF-β1 和 PAI-1 的含量明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,阳性对照组、CRAE 1.2 g/kg 和 CRAE 2.4 g/kg 组大鼠肺组织中 TGF-β1 和 PAI-1 的含量明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表4。

2.7 CRAE 对百草枯诱导的肺纤维化大鼠肺组织中 P-Smad2、P-Smad3 和 Smad7 蛋白水平的影响 与正常对照组相比,模型组肺纤维化大鼠肺组织中 P-Smad2 和 P-Smad3 蛋白的表达水平显著升高,Smad7 蛋白的表达水平降低($P < 0.05$);与模型组相比,CRAE 1.2 g/kg 和 CRAE 2.4 g/kg 组能明显降低大鼠肺组织中 P-Smad2 和 P-Smad3 蛋白水平,升高 Smad7 蛋白水平,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见图1。

2.8 CRAE 对百草枯诱导的肺纤维化大鼠肺组织中 PAI-1 及 mRNA 水平的影响 与正常对照组相比,模型组肺纤维化模型大鼠肺组织中 PAI-1 蛋白及 mRNA 水平显著升高($P < 0.05$);与模型组相比,CRAE 1.2 g/kg 和 CRAE 2.4 g/kg 组肺纤维化大鼠肺组织中 PAI-1 蛋白及 mRNA 的水平明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见图2。

3 讨论

百草枯中毒后绝大部分集中在肺组织,引起肺泡损伤以及炎细胞浸润,最终导致肺泡内及间质纤维化,影响气体交换,死亡率高,且存活者中大部分存在肺纤维化。因此,有效干预及减轻肺损伤及继发肺纤维化可以减少百草枯中毒的病死率。现代医学关于肺纤维化研究显示,许多细胞因子,如 TNF-α、IL-17、IL-6、PDGF、TGF-β,通过自分泌或旁分泌形式启动细胞内级联信号转导,调控相应基因表达,从而导致肺纤维化的发生。其中,TGF-β1 在肺纤维化病理过程中起重要作用。有研究[3]表明,TGF-β1 基因表达广泛表达于肺损伤至肺纤维化各个阶段,在趋化巨噬细胞和成纤维细胞,诱导相关炎症因子释放,促进成纤维细胞增生,增加胞外 ECM 沉积等方面均有重要的作用。在本研究中,CRAE 1.2 g/kg 组和 CRAE 2.4 g/kg 组可以明显降低肺脏重量和肺脏脏器指数,降低TGF-β1在肺组织中的含量,提示

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

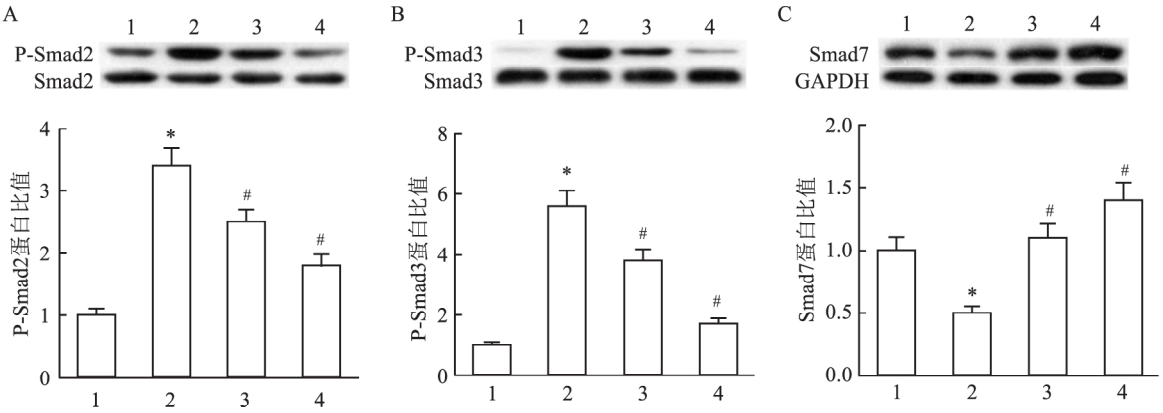

图1 CRAE 对百草枯诱导的肺纤维化模型中大鼠肺组织中 P-Smad2、P-Smad3 和 Smad7 蛋白水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

A: P-Smad2; B: P-Smad3; C: Smad7; 1: 正常对照组; 2: 模型组; 3: CRAE 1.2 g/kg 组; 4: CRAE 2.4 g/kg 组; 与正常对照组相比: $^{*}P < 0.05$; 与模型组相比: $^{\#}P < 0.05$

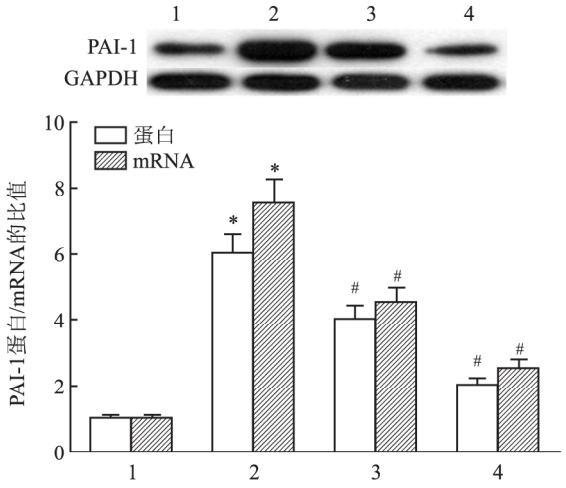

图2 CRAE 对百草枯诱导的肺纤维化模型中大鼠肺组织中 PAI-1 蛋白和 mRNA 水平的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 15$)

1: 正常对照组; 2: 模型组; 3: CRAE 1.2 g/kg 组; 4: CRAE 1.4 g/kg 组; 与正常对照组相比: $^{*}P < 0.05$; 与模型组相比: $^{\#}P < 0.05$

CRAE 1.2 g/kg 组和 CRAE 2.4 g/kg 组对肺纤维化有一定的疗效。

百草枯中毒后,机体产生活性氧自由基和活性氮自由基可导致生物大分子发生脂质过氧化,从而引起细胞和组织损伤。MDA 作为脂质过氧化产物之一,是判断细胞受损的重要标志物。SOD 和 GSH-Px 可清除体内产生的自由基,减轻和阻断脂质过氧化物对机体的损害,保护机体免受各类自由基的损害[4]。在本次实验中,模型组大鼠的 MDA 显著升高,而 SOD 和 GSH-Px 含量显著下降,提示百草枯可引起大鼠产生自由基损害肺泡细胞,而 CARE 1.2 g/kg 组和 CRAE 2.4 g/kg 组可以明显降低肺组织中 MDA 含量,升高 SOD 和 GSH-Px 的水平,提示 CARE 可以保护肺脏对抗百草枯中毒引起氧化应激反应。在肺纤维化发生的过程中,细胞外 ECM 降解与重塑失衡。MMP-9 可以降解肺 ECM 和基底膜,并能调节其他细胞因子及细胞,从而抑制肺纤维化的发生发展,而 TIMP-1 可特异性抑制 MMP-9 的降解作用。MMP-9 和 TIMP-1 作为影响 ECM 代谢的主要酶类,在肺纤维化过程中对 ECM 平衡起着关键作用[5]。HA、PC-Ⅲ、LN、Hyp 等可反应肺纤维化形成,胶原增生和肺脏纤维化程度,是肺纤维化活动性的指标[6]。在本次研究中,CARE 1.2 g/kg 组和 CRAE 2.4 g/kg 组可以升高模型大鼠肺组织中 MMP-9 的含量,抑制 TIMP-1 的水平,提示 CARE 可以调控肺纤维化的胞外 ECM 失衡; 进一步的,CARE 1.2 g/kg 组和 CRAE 2.4 g/kg 组可以降低模型大鼠肺组织中的 HA、PC-Ⅲ、LN、Hyp 含量,提示 CARE 可以抑制胞外 ECM 的堆积,抑制大鼠的肺纤维化的生成。

在肺纤维化的发生过程中,大量的细胞因子如 TNF-α、IL-17、IL-6 等也发挥了重要的作用。TNF-α 参与肺脏损伤,引起大量胶原合成和沉积,IL-17 和 IL-6 是细胞炎性因子,介导肺脏炎症反应,导致肺纤维化[7]。在不同结构的 TGF-β 中,TGF-β1 表达最久,作用最重要,其高低直接影响肺纤维化的程度。其信号主要是通过 TGF-β 跨膜受体(TGF-β receptor R,TGF-βR)及胞内 Smad 信号通路介导。当 TGF-β1 与 TGF-βR 结合后,可磷酸化胞内的 Smad2 和 Smad3 蛋白,继而与 Smad4 结合形成复合物(P-Smad2/3/4),转位入核调节相应靶基因的表达。

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Smad7 可与 TGF-TGF-βRⅡ结合，抑制 Smad2/3 磷酸化，从而抑制 TGF-β/Smad 通路[8-9]。PAI-1 是 TGF-β1 重要的靶基因，作为纤溶酶原激活物抑制剂，能通过抑制纤溶酶的生成，增加细胞外基质的沉积[10]。在本次实验中，CARE 1.2 g/kg 组和 CRAE 2.4 g/kg 组可以显著降低模型大鼠肺组织中 P-Smad2 和 P-Smad3 蛋白水平，升高 Smad7 的水平；而且 CARE 1.2 g/kg 组和 CRAE 2.4 g/kg 组还可以升高 PAI-1 蛋白和 mRNA 水平。以上结果提示 CARE 可以通过抑制 TGF-β1/Smad 通路中 Smad2 和 Smad3 的磷酸化水平，提高 Smad7 蛋白，降低 PAI-1 的表达，抑制肺纤维化的发生。

综上所述，CARE 对百草枯引起的肺纤维化有一定的保护作用，其机制可能与抑制 TGF-β1/Smad 通路，上调 Smad7 表达，降低 PAI-1 表达等有关。

参考文献

[1] Raghu G. Pharmacotherapy for idiopathic pulmonary fibrosis: current landscape and future potential [J]. Eur Respir Rev, 2017, 26(145). pii: 170071.

[2] Li L R, Sydenham E, Chaudhary B, et al. Glucocorticoid with cyclophosphamide for paraquat-induced lung fibrosis [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2014, 7(8): CD008084.

[3] Lee C M, Park J W, Cho W K, et al. Modifiers of TGF-β1 effector function as novel therapeutic targets of pulmonary fibrosis [J]. Korean J Intern Med, 2014, 29(3): 281-90.

[4] Cheresh P, Kim S J, Tulasiram S, et al. Oxidative stress and pulmonary fibrosis [J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1832(7): 1028-40.

[5] Zuo W L, Zhao J M, Huang J X, et al. Effect of bosentan is correlated with MMP-9/TIMP-1 ratio in bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. Biomed Rep, 2017, 6(2): 201-5.

[6] Kolb M, Bonella F, Wollin L. Therapeutic targets in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. Respir Med, 2017, 131: 49-57.

[7] Cantin A M, Hartl D, Konstan M W, et al. Inflammation in cystic fibrosis lung disease: Pathogenesis and therapy [J]. J Cyst Fibros, 2015, 14(4): 419-30.

[8] Cutroneo K R, White S L, Phan S H, et al. Therapies for bleomycin induced lung fibrosis through regulation of TGF-beta1 induced collagen gene expression [J]. J Cell Physiol, 2007, 211(3): 585-9.

[9] Kajdaniuk D, Marek B, Borgiel-Marek H, et al. Transforming-growthfactor β1 (TGFβ1) in physiology and pathology [J]. Endokrynol Pol, 2013, 64(5): 384-96.

[10] Liu R M. Oxidative stress, plasminogen activator inhibitor 1, and lung fibrosis [J]. Antioxid Redox Signal, 2008, 10(2): 303-19.

Effects and mechanism of CRAE on pulmonary fibrosis induced by paraquat in rats

Guo Qifen[1,2], Xie Laizhu[3], Zhang Hong[1]

([1]*Dept of Emergency, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei* 230022;
[2]*Dept of Critical Care Medicine*, [3]*Dept of Cardiology, Taihe County People's Hospital, Taihe* 236600)

Abstract ***Objective*** To evaluate the effects and mechanism of the compound of Radix Paeoniae Rubra and Astragalus extract on pulmonary fibrosis induced by paraquat in rats. ***Methods*** The model of pulmonary fibrosis induced by paraquat was used to detect the effects of CRAE on lung weight, lung organ ratio, HA, PC-Ⅲ, LN, MMP-9, TIMP-1, Hyp, MDA, SOD, GSH-Px, TNF-α, IL-17, IL-6, TGF-β1, PAI-1 in rats serum and tissues. The protein and mRNA expression of P-Smad2, Smad2, P-Smad3, Smad3, Smad7 and PAI-1 were detected by Western blot and Q-PCR was used to evaluate the protective effect of CRAE. ***Results*** CRAE (1.2 g/kg and 2.4 g/kg) significant decreased lung weight, lung organ ratio, HA, PC-Ⅲ, LN, TIMP-1, Hyp, MDA, TNF-α, IL-17, IL-6, TGF-β1, PAI-1 in rats serum and tissues, and increased the content of MMP-9, SOD and GSH-Px in rats tissues. In addition, CRAE (1.2 g/kg and 2.4 g/kg) reduced the protein of P-Smad2, P-Smad3, PAI-1 expression and increased the expression of Smad7. ***Conclusion*** CRAE could improve the prognosis of pulmonary fibrosis induced by paraquat in rats and its mechanism may be related to TGF-β/Smad pathway.

Key words compound of Radix Paeoniae Rubra and Astragalus extract; pulmonary fibrosis; paraquat; TGF-β/Smad pathway; PAI-1

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net