

· 基础研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.16.001

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240621.1836.006\(2024-06-24\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240621.1836.006(2024-06-24))

基于 TGF- β 1/JNK 信号通路探讨补肺益气通络方治疗特发性肺纤维化的作用机制^{*}

白文梅,李凤森[△]

(新疆医科大学附属中医医院呼吸科,乌鲁木齐 830000)

[摘要] **目的** 基于转化生长因子- β 1(TGF- β 1)/c-Jun 氨基末端激酶(JNK)信号通路探讨补肺益气通络方治疗特发性肺纤维化(IPF)的作用机制。**方法** 网络药理学富集分析关键靶点,构建 IPF 大鼠模型,分为空白对照组、IPF 模型组及补肺益气通络方组。观察各组肺组织病理变化,分析支气管肺泡灌洗液(BALF)中 WBC 水平,ELISA 检测血清、BALF、肺组织中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)、磷酸化 JNK(p-JNK)/JNK、TGF- β 1、基质金属蛋白酶组织抑制因子-1(TIMP-1)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)等蛋白表达水平,RT-PCR 检测血清、BALF、肺组织中 p-JNK/JNK、TGF- β 1、TIMP-1、MMP-9 等 mRNA 表达水平。**结果** 网络药理学的富集分析结果显示,TGF- β 1 和 JNK 信号通路与 IPF 密切相关。与 IPF 模型组比较,补肺益气通络方的肺组织有序性提高,实变范围减少,纤维组织增生明显减少,BALF 中 WBC 水平和 TNF- α 、IL-6 表达水平降低。与空白对照组相比,IPF 模型组血清、BALF 和肺组织中 TGF- β 1、p-JNK/JNK、TIMP-1、MMP-9 及其 mRNA 表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);补肺益气通络方对模型大鼠进行干预后,除血清中 MMP-9 表达水平和 BALF 中 TGF- β 1、血清中 TIMP-1、肺组织中 MMP-9 mRNA 表达水平无差异,其他指标均降低($P<0.05$)。**结论** 补肺益气通络方对 IPF 的治疗作用可能与其调控 TGF- β 1/JNK 信号通路相关。

[关键词] 网络药理学;补肺益气通络方;特发性肺纤维化;TGF- β 1/JNK 信号通路

[中图分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2024)16-2401-07

Action mechanism of Bufeiyiqi Tongluo formula in treating idiopathic pulmonary fibrosis based on TGF- β 1/JNK signaling pathway^{*}

BAI Wenmei, LI Fengsen[△]

(Department of Respiration, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the action mechanism of Bufeiyiqi Tongluo formula in treating idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) based on the transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)/c-Jun N-terminal kinase (JNK) signaling pathway. **Methods** The key targets of network pharmacology conducted the enrichment analysis and the IPF rat model was constructed, which was divided into the blank control group, IPF model group and Bufeiyiqi Tongluo formula group. The pathological changes of lung tissue in various groups were observed, and the levels of white blood cells (WBC) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were analyzed. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the protein expression levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), phosphorylated JNK (p-JNK)/JNK, TGF- β 1, tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in serum, BALF and lung tissue. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the mRNA expression levels of these proteins in serum, BALF and lung tissue. **Results** The network pharmacology enrichment analysis results revealed that TGF- β 1 and JNK signaling pathways were closely related with IPF. Compared with the IPF model group, the lung tissue orderliness in the Bufeiyiqi Tongluo formula group was increased, the consolidation range was decreased, the fibrotic tissue proliferation was significantly reduced, the WBC level and expression levels of TNF- α and IL-6 in BALF were significantly decreased. Compared with the blank control group, the mRNA expression levels of TGF- β 1, p-JNK/JNK, TIMP-1 and MMP-9 in serum, BALF and lung tissues in the IPF model group were increased with statistical difference ($P<0.05$). After the intervention on the model

^{*} 基金项目:新疆维吾尔自治区卫生健康青年医学科技人才专项项目(WJWY-202229);新疆维吾尔自治区青年拔尖人才项目(20232112215)。 [△] 通信作者, E-mail: fensen602@163.com。

rats by the Bufei Yiqi Tongluo formula,except there was no difference in the expression level of MMP-9 protein in serum,TGF- β 1 in BALF,TIMP-1 in serum and MMP-9 mRNA in lung tissue,but the other indicators were decreased ($P<0.05$).**Conclusion** The therapeutic effect of Bufei Yiqi Tongluo formula in IPF may be related to its regulation on the TGF- β 1/JNK signaling pathway.

[Key words] network pharmacology;Bufei Yiqi Tongluo formula;idiopathic pulmonary fibrosis;TGF- β 1/JNK signaling pathway

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一种慢性炎症性间质性疾病,其特征性病理改变为间质性肺炎,主要病理表现包括弥漫性肺泡炎、肺泡单位结构紊乱及肺纤维化^[1-3]。该疾病呈进行性发展,研究表明确诊 IPF 后中位生存期仅为 3 年,5 年生存率为 20%左右^[4]。由于不断发展的间质性肺部病变,IPF 具有预后不良和死亡率较高的特征,患者往往经历生活自理能力减退、劳动能力丧失及生存质量降低^[5-7]。

从疾病的病程角度看,IPF 属于一种病程较长的消耗性疾病,可归类于传统中医学的“肺痿”和“肺痹”范畴。《临证指南医案》明确指出:“凡经主气,络主血,久病多虚,久病多瘀”,其中肺脾亏虚可导致气血不足。若肺脏中血行迟滞、脉络失养、脾虚蕴痰、痰瘀相互结合,可致肺络痹阻^[8]。在临床实践中,课题组多采用补肺益气通络方,以固本、化痰、通络为主要治疗手段。黄芪益气扶正,红景天、当归、三棱、莪术则活血化瘀通络,蜂房、金银花、远志则具有解毒、化痰散结之功效,佐以甘草调和诸药。初期临床研究显示,该方能够改善 IPF 患者的肺功能,提高生活质量^[9]。然而,目前补肺益气通络方治疗 IPF 的具体机制仍未明确。因此,本研究拟采用网络药理学方法预测补肺益气通络方对 IPF 的作用靶点,构建 IPF 大鼠模型并采用该方进行干预,以探究其防治 IPF 的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选取 4~6 周龄,体重(200 $\pm$ 20)g 的无特殊病原体(specific pathogen free,SPF)级雄性大鼠 18 只(实验动物质量合格证号:20220718Aaaz0100018343),由杭州医学院提供[实验动物生产许可证号:SCXK(浙)2019-0002]。本研究经新疆医科大学附属中医医院伦理委员会批准(审批号:2020XE0150)。

1.2 方法

1.2.1 网络药理学分析

1.2.1.1 构建补肺益气通络方作用靶点的蛋白质互作网络(protein-protein interaction networks,PPI)

本研究基于中医药整合药理学研究平台(<http://www.tcmip.cn/TCMIP/index.php/home/login/login.html>)寻找补肺益气通络方的化学成分及其作用靶点。设置条件:生物利用度 $>30\%$ 和类药性 >0.18 ^[10],运用 STRING 工具构建补肺益气通络方作用靶点的 PPI。

1.2.1.2 补肺益气通络方作用靶点的基因本体

(gene ontology,GO)及京都基因与基因组百科全书(Kyoto encyclopedia of genes and genomes,KEGG)富集分析

利用 FunRich_3.1.3 进行 GO 富集分析,包括生物过程、细胞成分、分子功能。此外,使用 DAVID 数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)进行 KEGG 富集分析,以全面地了解补肺益气通络方干预 IPF 的可能路径。

1.2.2 构建 IPF 大鼠模型及分组

采用舒泰 50(10 mg/kg)联合盐酸赛拉嗪(10 mg/kg)混合麻醉剂进行肌肉注射麻醉;通过气管插管缓慢滴注博来霉素(10 mg/kg 溶于 100 μ L 生理盐水中)于大鼠肺部以构建 IPF 大鼠模型^[11-12]。将大鼠分为空白对照组、IPF 模型组及补肺益气通络方组,每组 6 只。补肺益气通络方由黄芪 20 g,红景天 15 g,当归 10 g,三棱 9 g,莪术 9 g,蜂房 6 g,金银花 18 g,远志 9 g,甘草 6 g 组成,由新疆医科大学附属中医医院中药房制备。动物用量按体表面积等效剂量折算,大鼠临床等效剂量为 12.68 生药/kg。造模同时,补肺益气通络方组大鼠采用灌胃给药方式,给药量为 10 mL/kg,空白对照组和 IPF 模型组大鼠则接受相等剂量的蒸馏水灌胃,每天 2 次,连续 30 d。

1.2.3 苏木素-伊红(hematoxylin-eosin,HE)染色

处死大鼠后收集肺组织,4%多聚甲醛固定。随后制备 4 μ m 厚度的切片,进行 HE 染色,显微镜观察各组大鼠肺组织的肺实质、支气管、肺泡及炎性浸润变化。

1.2.4 检测 WBC 水平

大鼠经腹腔注射 1%戊巴比妥钠(剂量为 40 mg/kg)进行麻醉,对右肺进行结扎处理,左肺通过气管插管固定,采用预冷至 4 $^{\circ}$ C 的生理盐水(每次 2 mL,共 3 次)进行灌洗。收集支气管肺泡灌洗液(broncho alveolar lavage fluid,BALF),完成细胞计数后离心分离出上清液(800 $\times$ g 离心 5 min),沉淀物染色以便进行炎症细胞的分类与计数。

1.2.5 ELISA 检测相关蛋白表达水平

使用弯头剪剔除大鼠腹部毛发,在腹部上方用直头剪做一个小切口,沿着腹部中线从上到下剪开一条纵向切口,以充分暴露内脏。确定腹主动脉后,用采血针朝心脏方向穿刺抽血,并连接到无菌真空采血管中,采集血液标本 8~10 mL。使用台式离心机对血液标本进行离心处理,获取上清液,并将其储存在-20 $^{\circ}$ C 冰箱中以备后续分析使用。精确称量 100 mg

大鼠肺组织标本,然后将其剪切成小片;在冰水环境中按照每克组织添加 9 mL 生理盐水的比例进行混合,使用超声波均质器处理得到混合物;将此混合物以 3 000 r/min 离心 10 min;收集上层液体,并将其置于-20 ℃冰箱中保存以备分析。在 37 ℃的室温条件下通过支气管注入 30 mL 生理盐水,4 ℃ 3 000×g 离心 15 min;收集 BALF,取上清液,在-80 ℃下进行保存。使用 ELISA 试剂盒(杭州联科生物技术有限公司,型号:70-EK981-96)检测血清、BALF、肺组织中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α ,TNF- α)、白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)、转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1,TGF- β 1)、磷酸化 c-Jun 氨基末端激酶(phosphorylated c-Jun N-terminal kinase,JNK)/JNK、基质金属蛋白酶组织抑制因子-1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1,TIMP-1)、基质金属蛋白酶-9(matrix metallo protein-9,MMP-9)表达水平。

1.2.6 RT-PCR 检测 TGF- β 1、p-JNK/JNK、TIMP-1、MMP-9 等 mRNA 表达水平

血清、BALF、肺组织标本留取步骤同上。使用无

RNA 酶的水解溶液溶解 RNA,55 ℃孵育 5 min,进行 PCR 扩增,检测 TGF- β 1、p-JNK/JNK、TIMP-1、MMP-9 等 mRNA 表达水平。

1.3 统计学处理

采用 Prism 9.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间存在统计学差异的指标进一步采用 LSD-*t* 检验进行两两比较。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

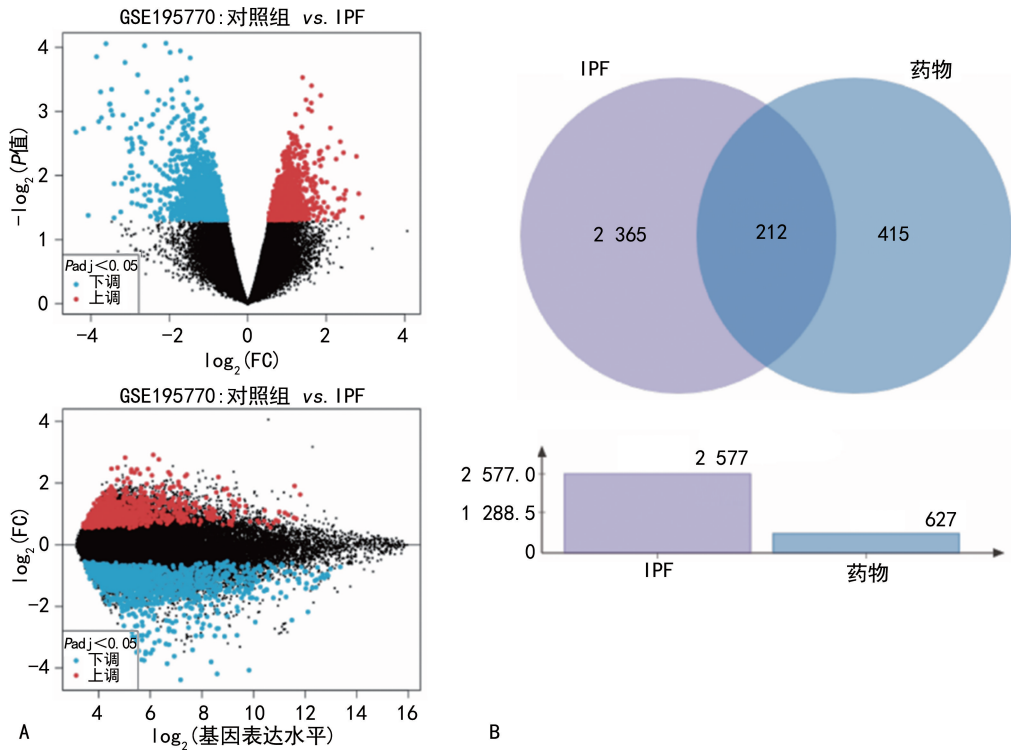
2 结 果

2.1 补肺益气通络方活性成分筛选

通过中医药整合药理学研究平台数据库筛选补肺益气通络方活性成分,最终获得白桦脂酸、4',5-二羟基-3,7-二甲氧基黄酮、常春藤皂苷元等 63 个活性化合物。

2.2 补肺益气通络方作用靶点的筛选

对 GSE195770 数据集进行差异基因筛选(图 1A)。利用中医药整合药理学研究平台数据库获取补肺益气通络方活性成分的潜在靶点总计 627 个,与 GSE195770 数据集中获得的差异基因取交集,共得到 212 个作用靶点,见图 1B。



A:差异基因筛选;B:差异基因比较;FC:差异倍数。

图 1 补肺益气通络方作用靶点筛选

2.3 作用靶点的 GO 和 KEGG 富集分析

GO 富集分析结果显示,在生物过程方面,主要富集于细胞质溶胶、胞外空间、线粒体外膜、核质、质膜等。在分子功能方面,主要富集于 GTP 酶、蛋白丝氨酸/苏氨酸激酶、激酶、配体依赖核受体、半胱氨酸型肽酶等。在细胞成分方面,主要富集于信号转导、细胞通讯、细胞凋亡、能量通路等。

KEGG 富集分析结果显示,TGF- β 1 和 JNK 信号通路与 IPF 密切相关,见图 2。

2.4 各组病理变化

在显微镜下仔细观察各组大鼠肺组织变化。空白对照组大鼠的肺组织表现出正常的结构,支气管形态规则,黏膜上皮整齐排列,肺泡及肺泡间隔结构完整,未观察到明显异常。IPF 模型组大鼠的肺组织呈

现严重紊乱,支气管大小不一,黏膜受损及增生,支气管腔内可见脱落的上皮细胞和分泌物,部分管腔外有大量炎症细胞浸润,部分肺泡增大,肺泡隔断裂或薄化,部分肺泡腔塌陷或消失,呈现实变状态,间质中散在大量炎症细胞浸润,纤维组织明显增生。与 IPF 模

型组相比,补肺益气通络方组大鼠的肺组织呈现紊乱程度降低,实变范围减小,支气管黏膜破坏减缓,肺泡间隔增宽,肺泡隔断裂减少,肺泡壁增厚,间质中炎症细胞数量减少,纤维组织增生明显减弱,见图 3。

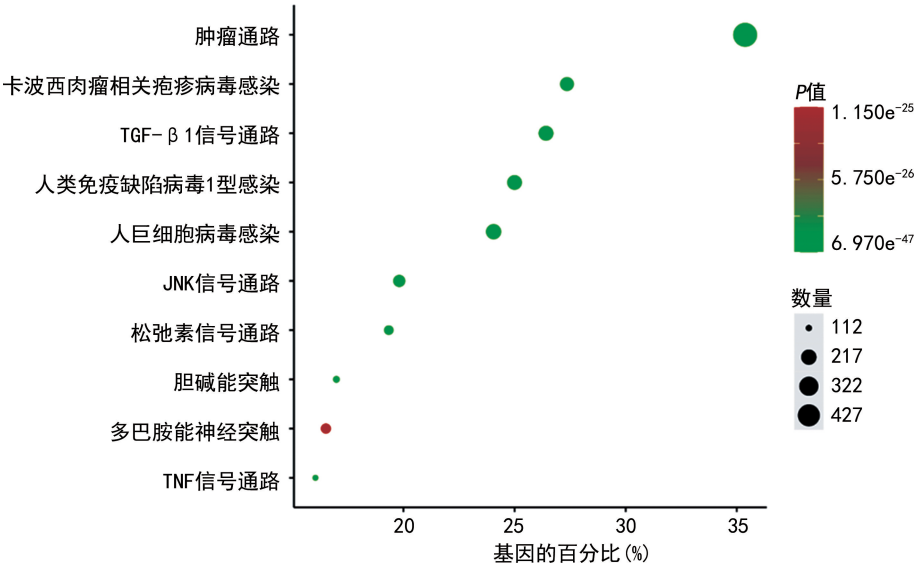


图 2 相关靶点的 KEGG 富集分析

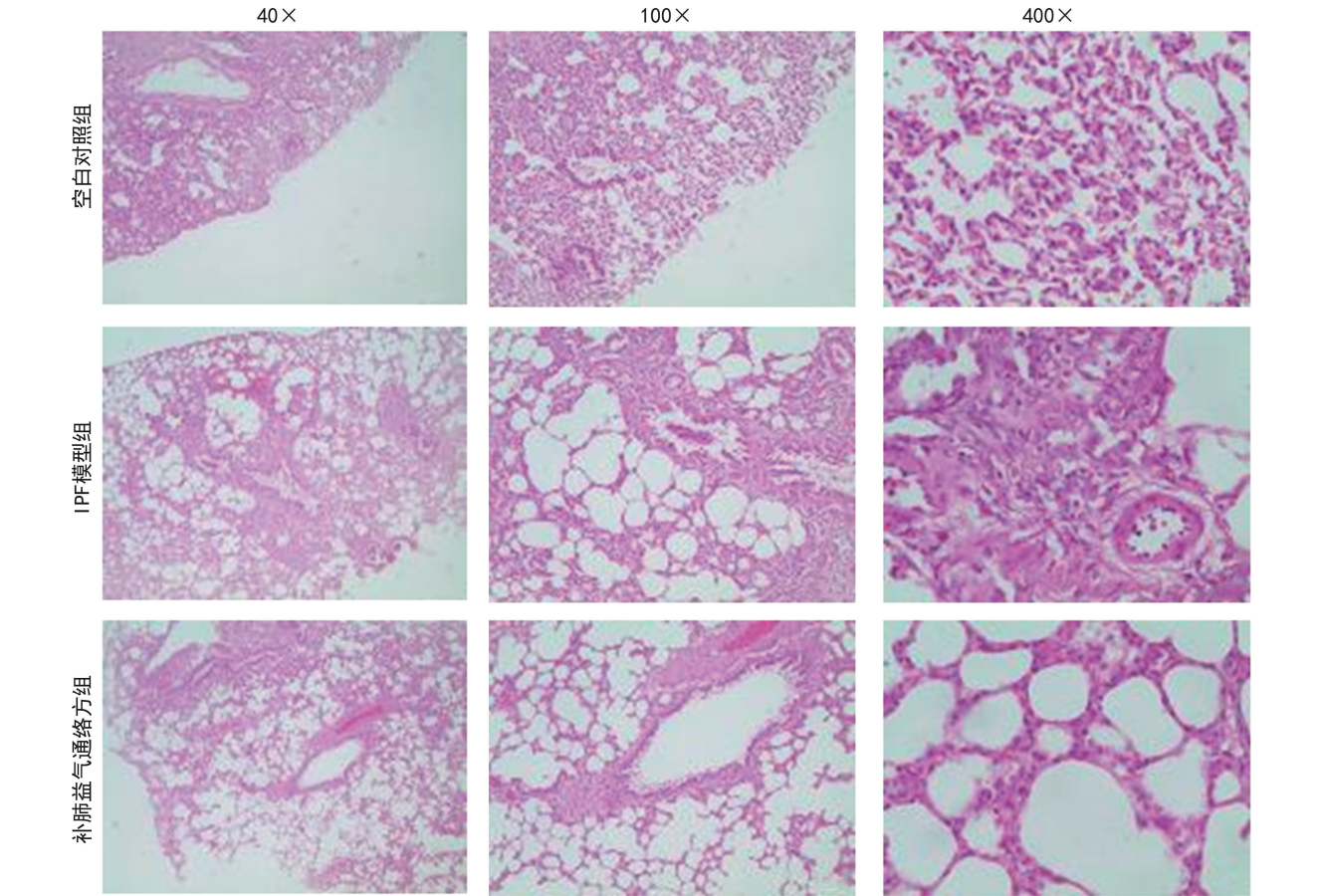


图 3 各组大鼠肺组织 HE 染色

2.5 各组 BALF 中 WBC 水平比较

与空白对照组[(2.933±1.048)×10⁹/L]相比, IPF 模型组大鼠 WBC[(8.083±1.528)×10⁹/L]升

高(P<0.05);补肺益气通络方对模型大鼠进行干预后, WBC[(4.883±1.216)×10⁹/L]降低(P<0.05)。

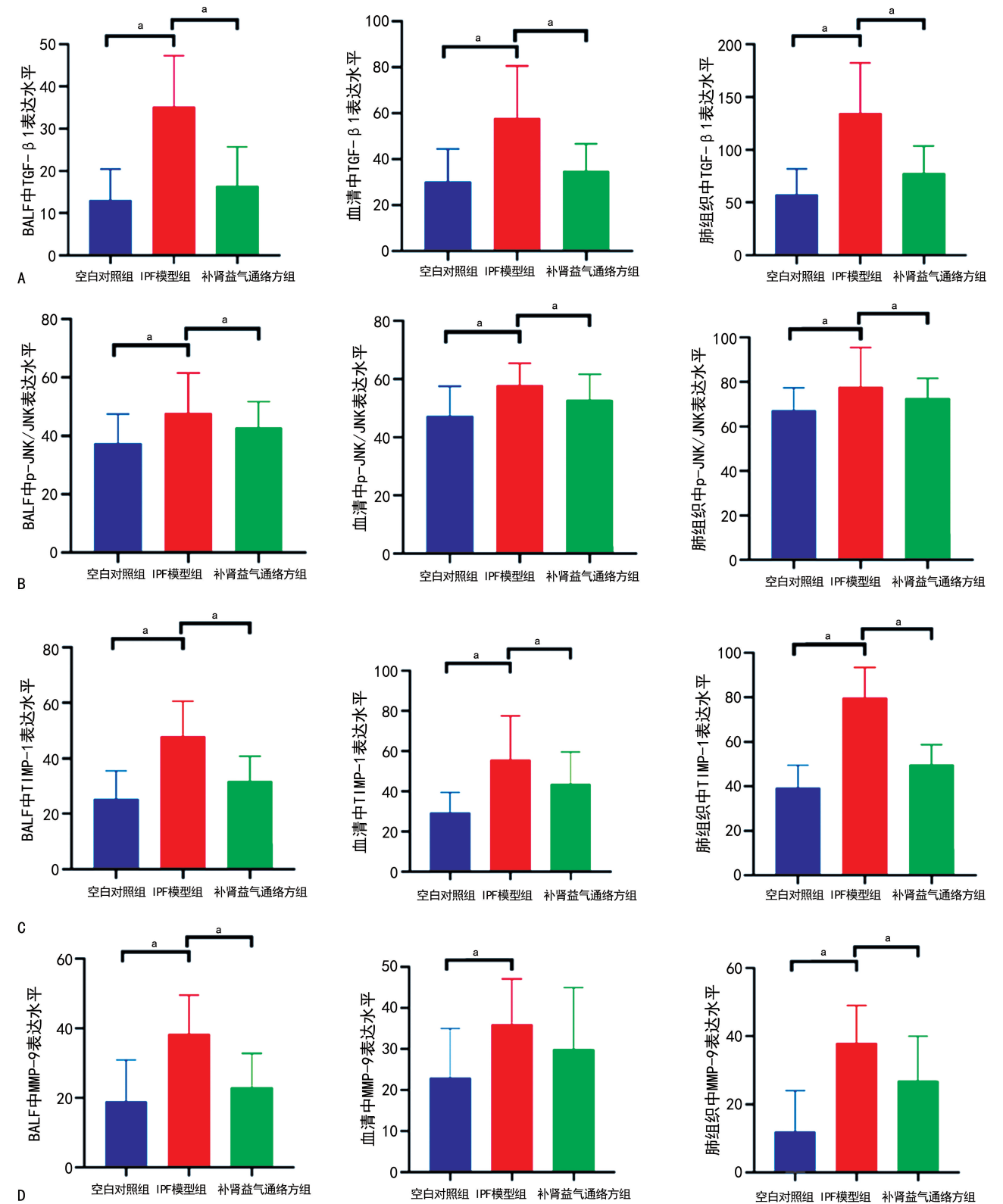
2.6 各组 TNF-α、IL-6 表达水平比较

与空白对照组相比,IPF 模型组血清、BALF 和肺组织中 TNF- α 、IL-6 表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);而补肺益气通络方对模型大鼠进行干预后,血清、BALF 和肺组织中 TNF- α 、IL-6 表达水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.7 各组 TGF- β 1、p-JNK/JNK、TIMP-1、MMP-9 表

达水平比较

与空白对照组相比,IPF 模型组血清、BALF 和肺组织中 TGF- β 1、p-JNK/JNK、TIMP-1、MMP-9 表达水平升高,差异有统计学意义($P<0.05$);补肺益气通络方对模型大鼠进行干预后,除血清中 MMP-9 表达水平无差异外,其他指标均降低($P<0.05$),见图 4。



A: TGF- β 1 表达水平; B: p-JNK/JNK 表达水平; C: TIMP-1 表达水平; D: MMP-9 表达水平; *: $P<0.05$ 。

图 4 各组大鼠血清、BALF、肺组织中相关指标比较

表 1 各组大鼠血清、BALF、肺组织中 TNF-α、IL-6 表达水平比较(̄x±s)

组别	TNF-α			IL-6		
	血清	BALF	肺组织	血清	BALF	肺组织
空白对照组	34.46±14.09	13.04±7.44	57.88±24.10	44.73±11.02	22.14±8.10	57.48±17.38
IPF 模型组	55.87±22.71 ^a	37.23±12.05 ^a	94.56±48.03 ^a	61.77±19.02 ^a	32.07±13.59 ^a	85.61±34.90 ^a
补肺益气通络方组	35.90±11.83 ^b	17.45±9.26 ^b	77.95±25.59 ^b	56.82±9.83 ^b	27.40±10.03 ^b	69.19±21.11 ^b

^a:*P*<0.05,与空白对照组比较;^b:*P*<0.05,与 IPF 模型组比较。

2.8 各组 TGF-β1、p-JNK/JNK、TIMP-1、MMP-9 mRNA 表达水平比较

与空白对照组相比,IPF 模型组血清、BALF 和肺组织中 TGF-β1、p-JNK/JNK、TIMP-1、MMP-9 mRNA 表达水平升高,差异有统计学意义(*P*<0.05)。经补肺益气通络方对模型大鼠进行干预后,除 BALF 中 TGF-β1、血清中 TIMP-1、肺组织中 MMP-9 mRNA 表达水平无差异外,其他指标均降低(*P*<0.05),见表 2。

表 2 各组大鼠血清、BALF、肺组织中相关指标比较(̄x±s)

项目	空白对照组	IPF 模型组	补肺益气通络方组
TGF-β1 mRNA			
血清	1.21±0.08	3.02±0.21 ^a	2.13±0.13 ^b
BALF	1.52±0.11	3.29±0.18 ^a	3.17±0.44
肺组织	1.32±0.13	3.07±0.07 ^a	2.31±0.09 ^b
p-JNK/JNK mRNA			
血清	1.01±0.07	3.59±0.13 ^a	2.17±0.18 ^b
BALF	1.32±0.06	3.55±0.22 ^a	2.05±0.28 ^b
肺组织	1.36±0.14	3.14±0.09 ^a	2.43±0.21 ^b
TIMP-1 mRNA			
血清	1.09±0.10	3.42±0.26 ^a	3.27±0.31
BALF	1.12±0.09	3.51±0.12 ^a	2.86±0.16 ^b
肺组织	1.30±0.07	3.27±0.19 ^a	2.34±0.24 ^b
MMP-9 mRNA			
血清	0.21±0.30	1.12±0.11 ^a	0.73±0.09 ^b
BALF	0.31±0.11	1.13±0.14 ^a	0.86±0.07 ^b
肺组织	0.36±0.26	1.06±0.05 ^a	0.47±0.17

^a:*P*<0.05,与空白对照组比较;^b:*P*<0.05,与 IPF 模型组比较。

3 讨 论

肺痹的基本病机在于肺气亏虚、脾失健运,导致气血迟涩、脉络失于濡养,最终引发肺络痹阻^[13-15]。历代医家多倾向于采用益气养阴、化痰通络的治疗方法对其进行干预。临床实践证明,通过采用汤剂、针灸、雾化、敷贴等治疗方法,能够缓解肺痹的症状,改善肺功能。这种治疗的有效性可能与炎症控制、免疫调控、损伤修复及血液流变改善等因素相关^[16-18]。在中医基础理论的指导下,本研究团队在前期临床研究中

发现,补肺益气通络方对 IPF 有一定的临床治疗效果,但其确切作用机制尚未明确。本研究的首要目标是通过网络药理学方法,深入探讨补肺益气通络方治疗 IPF 的潜在机制。随后在动物实验中使用补肺益气通络方对 IPF 模型大鼠进行干预,以验证前述作用机制。

根据网络药理学的结果,本研究筛选出 JNK 信号通路为补肺益气通络方治疗 IPF 的潜在治疗靶点。JNK 信号通路调控多种生理过程,包括炎症反应、细胞分化、细胞增殖、细胞死亡及细胞存活等,同时也是 TGF-β1 下游的重要信号转导通路。该通路的激活在 IPF 的疾病进程中发挥着关键作用。临床上 IPF 的肺病变主要表现为肺组织内正常区域出现黏液样基质小灶,伴随纤维化和显微蜂窝状结构,同时伴有一定的纤维细胞灶^[19-21]。相比于正常肺组织,IPF 患者的成纤维细胞灶表现为异常的间质细胞,最终导致病理性的成纤维细胞表型,这是由分化成纤维细胞、循环成纤维细胞前体和上皮细胞等转化而来。本研究在 IPF 大鼠模型中观察到肺组织表现为结构严重紊乱,支气管腔内存在脱落的上皮细胞及分泌物,黏膜出现破坏和增生,外部呈现炎症细胞浸润,肺泡隔出现断裂、变薄,部分肺泡腔甚至发生塌陷或消失,肺间质表现为大量炎症细胞浸润和纤维组织增生。通过补肺益气通络方的干预,肺组织结构的混乱、黏膜破坏和增生等病理变化得以改善。

IPF 的危险因素包括吸烟、感染、污染物及某些药物等。虽然当前的基础研究已经揭示了辅助性 T 淋巴细胞(helper T cell,Th)1/Th2 失衡、端粒缩短、异常修复等因素可能参与了 IPF 的疾病进程^[21-23],但是该病的确切患病机制仍未完全阐明。尽管如此,目前普遍认为是肺泡上皮细胞遭受反复的损伤-炎症-修复失衡,导致肺纤维化。这一过程会引发肺间质细胞的增殖和迁移,形成纤维细胞灶,从而破坏肺间质。JNK 信号通路是调节细胞分化、炎症反应和细胞存活等多种生理及病理过程的重要调控点,对于调节肺纤维化具有重要作用。TGF-β1 则是 JNK 信号通路下游的关键靶基因,其诱导纤维母细胞增殖、转化为肌成纤维细胞及细胞外基质等过程,最终导致肺组织等多器官的纤维化^[24-27]。与此同时,TGF-β1 又能促进 JNK、p38、胞外

信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)等相关因子的磷酸化,从而减弱 TGF- β 1 的表达,进而导致肺间质纤维化的减弱^[26,28-30]。

本研究发现补肺益气通络方通过抑制 JNK 的磷酸化,降低 TGF- β 1 的表达,从而抑制肺组织的纤维化和下调机体炎症水平,减轻了 IPF 模型大鼠肺组织的病变程度。通过网络药理学结合动物实验,本研究提示补肺益气通络方治疗 IPF 可能与调控 TGF- β 1/JNK 信号通路有关,可作为治疗 IPF 的潜在靶点。

参考文献

- [1] SPAGNOLO P, KROPSKI J A, JONES M G, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: disease mechanisms and drug development[J]. *Pharmacol Ther*, 2021, 222: 107798.
- [2] MOSS B J, RYTER S W, ROSAS I O. Pathogenic mechanisms underlying idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Annu Rev Pathol*, 2022, 17: 515-546.
- [3] 熊安英, 牛斌, 张雷, 等. 赶黄草调控 Wnt4 抑制 TGF- β 诱导肺纤维化相关基因表达的研究[J]. *重庆医学*, 2021, 50(18): 3073-3078.
- [4] SGALLA G, FRANCIOSA C, SIMONETTI J, et al. Pamrevlumab for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2020, 29(8): 771-777.
- [5] WERDERMAN D S. Idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Radiol Technol*, 2020, 91(4): 361-376.
- [6] PHAN T H G, PALIOGIANNIS P, NASRALLAH G K, et al. Emerging cellular and molecular determinants of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(5): 2031-2057.
- [7] WAKWAYA Y, BROWN K K. Idiopathic pulmonary fibrosis: epidemiology, diagnosis and outcomes[J]. *Am J Med Sci*, 2019, 357(5): 359-369.
- [8] 刘晓红, 李光熙. 基于“络以通为用”探讨马钱子在特发性肺纤维化治疗中的应用[J]. *吉林中医药*, 2024, 44(7): 749-753.
- [9] 白文梅, 马红霞, 同立宏. 益气活血通络膏方治疗气虚血瘀型特发性肺纤维化 60 例疗效观察[J]. *新疆中医药*, 2018, 36(6): 7-8.
- [10] MAO T, XIE L, GUO Y, et al. Mechanistic exploration of Yiqi Liangxue Shengji formula prescription on restenosis after balloon injury by integrating metabolomics with network pharmacology[J]. *Pharm Biol*, 2023, 61(1): 1260-1273.
- [11] HIROYAMA S, MATSUNAGA K, ITO M, et al. Usefulness of ¹⁸F-FPP-RGD₂ PET in pathophysiological evaluation of lung fibrosis using a bleomycin-induced rat model[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 49(13): 4358-4368.
- [12] ZHANG X, SU J, LIN J, et al. Fu-Zheng-Tong-Luo formula promotes autophagy and alleviates idiopathic pulmonary fibrosis by controlling the Janus kinase 2/signal transducer and activator of transcription 3 pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2023, 314: 116633.
- [13] 范艺龄, 袁沙沙, 宗慧琪, 等. 特发性肺纤维化相关咳嗽的中医治疗策略[J]. *中医杂志*, 2022, 63(1): 21-25.
- [14] 王琦, 赵亚茜, 谌晓莉, 等. 中医治疗肺纤维化的研究进展[J]. *河北医学*, 2021, 27(10): 1751-1753.
- [15] 李想, 常虹, 石松利, 等. 肺纤维化的中医病机及中医药治疗研究进展[J]. *中药药理与临床*, 2021, 37(1): 240-247.
- [16] 李壮花, 董瑞, 信富荣, 等. 养阴益肺通络丸治疗特发性肺纤维化疗效观察[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2015, 17(11): 163-165.
- [17] 赵家亮, 杨胜利, 颜昭君, 等. 通肺络丸治疗特发性肺纤维化临床观察[J]. *湖北中医杂志*, 2012, 34(1): 11-12.
- [18] XIE Y, WANG J J, LI G Y, et al. Acupuncture for idiopathic pulmonary fibrosis: protocol for a systematic review[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(52): e9114.
- [19] NOBLE P W, BARKAUSKAS C E, JIANG D. Pulmonary fibrosis: patterns and perpetrators[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(8): 2756-2762.
- [20] GLASS D S, GROSSFELD D, RENNA H A, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis: current and future treatment[J]. *Clin Respir J*, 2022, 16(2): 84-96.
- [21] PARIMON T, YAO C, STRIPP B R, et al. Alveolar epithelial type II cells as drivers of lung fibrosis in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(7): 2269.
- [22] WATERS D W, BLOKLAND K E C, PATHINAYAKE P S, et al. Fibroblast senescence in the pathology of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2018, 315(2): L162-172. (下转第 2413 页)