

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.07.002

文章编号: 1005-8982 (2019) 07-0007-06

## 二甲双胍对博来霉素诱导大鼠肺纤维化的影响 \*

简悦<sup>1</sup>, 赵勇<sup>2</sup>, 江洪艳<sup>1</sup>, 王先梅<sup>2</sup>, 伍义兰<sup>2</sup>, 刘洪艳<sup>2</sup>

(1. 遵义市第一人民医院 呼吸科, 贵州 遵义 563002; 2. 遵义医科大学附属医院  
呼吸一科, 贵州 遵义 563000)

**摘要:** **目的** 探讨二甲双胍对博来霉素诱导的中晚期肺纤维化的治疗效果。**方法** 将 44 只 SD 雄性大鼠分为 5 组。空白对照组 4 只, 模型复制成功的 24 只又随机分为模型组、二甲双胍组、泼尼松组及吡非尼酮组, 每组 6 只。除空白对照组外 (予以气管内注射生理盐水 1 ml/kg), 其余各组予以气管内单次注入博来霉素 5 mg/kg 以复制肺纤维化模型, 模型复制 14 d 后再予以相应药物干预, 用药 14 d 后处死大鼠取材。采用 HE 染色和 Masson 染色观察肺组织病理变化。通过 ELISA 检测肺组织匀浆液、肺泡灌洗液中转化生长因子  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 及羟脯氨酸 (HYP) 的含量。**结果** 通过气管内单次注射博来霉素能够诱导大鼠肺纤维化。二甲双胍、吡非尼酮在一定程度上能减轻由博来霉素所诱导的肺部炎症及肺纤维化。二甲双胍、吡非尼酮可抑制 TGF- $\beta$ 、HYP 的产生, 且二甲双胍与吡非尼酮比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。泼尼松对中晚期肺纤维化无治疗作用。**结论** 二甲双胍、吡非尼酮可缓解由博来霉素所诱导的中晚期大鼠肺纤维化。泼尼松对博来霉素所诱导的中晚期大鼠肺纤维化无治疗作用。

**关键词:** 肺纤维化; 二甲双胍; 转化生长因子  $\beta$ ; 羟脯氨酸

**中图分类号:** R563

**文献标识码:** A

## Therapeutic effect of Metformin on Bleomycin induced pulmonary fibrosis in rats\*

Yue Jian<sup>1</sup>, Yong Zhao<sup>2</sup>, Hong-yan Jiang<sup>1</sup>, Xian-mei Wang<sup>2</sup>, Yi-lan Wu<sup>2</sup>, Hong-yan Liu<sup>2</sup>

(1. Department of Respiratory Medicine, The First People's Hospital of Zunyi, Zunyi, Guizhou 563002, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Affiliated Hospital of Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou 563000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the therapeutic effect of Metformin on Bleomycin induced pulmonary fibrosis. **Methods** Rat model of pulmonary fibrosis was established by inhalation of Bleomycin (with 24 successful rats model). Rats in control group (4 rats) received normal saline. Rats were administrated with Metformin, Prednisone or Pirfenidone 14 days after insults (6 for each group). No treatment was applied to rats in model group (6 rats). The pathological changes of lung tissue were observed by HE staining and Masson staining. Levels of TGF-beta and Hyp in bronchoalveolar lavage fluid and lung tissue were determined by ELISA. **Results** Rat model of Bleomycin induced pulmonary fibrosis was established successfully. HE staining and Masson staining suggested that Bleomycin induced pulmonary inflammation and fibrosis were mitigated by Metformin and Pirfenidone. Metformin and Pirfenidone inhibited the production of Hyp and TGF-beta. Prednisone exerted no obvious therapeutic effect on pulmonary fibrosis in late stage. **Conclusions** Metformin and Pirfenidone excluding Prednisone relieve advanced pulmonary fibrosis.

收稿日期: 2018-09-27

\* 基金项目: 贵州省科技合作计划 (No: 黔科合 LH 字 [2015]7447)

[通信作者] 赵勇, E-mail: zhaoyongwxm@163.com; Tel: 13985653397

**Keywords:** pulmonary fibrosis; Metformin; transforming growth factor- $\beta$ ; hydroxyproline

特发性肺纤维化 (idiopathic pulmonary fibrosis, IPF) 是一种原因不明的慢性进行性肺间质纤维化性疾病, 多预后不良。IPF 好发于老年患者, 50 岁以下人群罕见, 男性发病率高于女性, 一般生存期为确诊后的 2 ~ 3 年, 发病率 6.8 ~ 16.3 人 /10 万。在 1991 ~ 2003 年间 IPF 的发病率每年上升约 11%, 且 IPF 发病率和患病率仍在持续增加<sup>[1]</sup>, 因此寻找 IPF 合适的治疗方法迫在眉睫。SUN 等<sup>[2]</sup>发现, 二甲双胍能减少肺纤维化模型小鼠肺泡灌洗液中炎症细胞数量, 同时抑制转化生长因子  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、胶原蛋白的产生, 使支气管周围胶原沉积减少, 从而抑制肺纤维化的发生发展, 且本实验前期已证明二甲双胍对于早期肺纤维化 (7 d) 有一定的治疗效果, 故本实验探讨对中晚期肺纤维化的治疗效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器、动物与试剂

电子天平 (北京赛多利斯天平有限公司), 高压蒸汽灭菌器 (日本 TOMY 公司), 纯水系统 (美国 Millipore 公司), 酶标仪 (美国 Thermo 公司), 手持超声匀浆机 (日本 Sanyo 公司), 微量可调节移液器、IP Win32 采图系统 DM4000B (德国 Eppendorf 公司), Germany 光学显微镜 NIKON & ys100 (德国 Leica 公司), 冷冻台式离心机 (美国 Eppendorf 公司), 石蜡包埋机 (银河实验仪器有限公司), -20℃低温冰箱、-80℃超低温冰箱 (日本 Sanyo 公司), 37℃孵箱 (美国 HIRASMA 公司)。SD 雄性大鼠 44 只, 购自第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心, 寄养于遵义医学院实验动物中心。

Masson 染色剂、HE 染色剂 (北京诚林生物科技有限公司), 二甲双胍片 (中美上海施宝制药有限公司), 吡非尼酮 (北京康蒂尼药业有限公司), 泼尼松 (浙江仙据制药有限公司), 博来霉素 (浙江海正辉瑞制药有限公司), 大鼠 TGF- $\beta$  及 HYP 酶联免疫试剂盒 (贵州晟瑞达生物科技有限公司)。

### 1.2 动物模型的复制及分组

空白对照组 (4 只) 大鼠气管注射生理盐水 1 ml/kg。成功复制模型的 24 只大鼠随机分为 4 组, 每组 6 只。模型组、二甲双胍组、泼尼松组、吡非尼酮组大鼠气管内单次注入博来霉素 5 mg/kg (按 5 mg/ml

溶于生理盐水) 复制肺纤维化模型。于模型复制后第 15 天起据体重予以每日灌服相应药物 (其中空白对照组和模型组为生理盐水 5 ml/kg, 其余各组分别予以: 二甲双胍 250 mg/kg、泼尼松 5 mg/kg、吡非尼酮 50 mg/kg, 每间隔 24 h 给药 1 次, 用药 14 d 后处死大鼠并取材)。

通过 ELISA 双抗体夹心法检测支气管肺泡灌洗液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中 TGF- $\beta$  的含量及肺组织匀浆液中羟脯氨酸 (Hydroxyproline, HYP) 的含量。并取肺组织行 Masson 染色及 HE 染色以观察大鼠肺组织病理变化。

### 1.3 标本的收集

BALF 收集及制备: 将采血完毕的大鼠, 沿前正中中线剪开颈部和胸腔, 用手术线结扎右主支气管。然后用组织剪在颈部气管远心端处剪开一小口, 并插入去掉针芯的留置针软管, 用丝线结扎气管防止留置针脱落, 将 3 ml 生理盐水缓慢注入气管, 然后回抽, 反复重复 3 次, 若收集 BALF 占原液的 60% 以上算合格, 将收集的 BALF 离心 (3 000 r/min, 20 min, 4℃), 收集上清液分装于 EP 管中, 置于 -80℃冰箱冷冻保存待用。

肺组织采集及匀浆液制备: 将结扎的右肺切除, 取右肺上叶和 / 或中叶用生理盐水冲洗表面血液, 然后用滤纸吸干。取出少量肺组织称取重量, 置于 9 倍重量的生理盐水中, 用眼科剪剪碎肺组织, 后用超声匀浆机将肺组织充分匀浆 (整个过程都需低温进行), 在 4℃、3 000 r/min 离心 20 min, 收集上清液分装于 EP 管中待检测或存于 -80℃冰箱冷冻保存待用。

### 1.4 肺组织病理检查

肺组织病理标本的制备: 取右肺下叶 (若肺组织较小可加采集右肺中叶) 并固定于 10% 多聚甲醛中。由遵义医学院附属医院病理科行 HE 染色、Masson 染色 (严格按说明书执行)。病理结果评分: 在光学显微镜下观察 HE、Masson 染色病理切片, 采取计算机图像分析软件 IP Win32 采图系统采集图片, 放大倍数 200 倍, 并严格根据 SZAPIEL 等<sup>[3]</sup>的评分标准, 采取双盲法由 2 人评分并取平均数记分, 其中肺泡炎症及肺纤维化程度评分为 1 级: 0 分, 无肺泡炎; 2 级: 1 分, 有轻度肺泡炎和肺纤维化, 局部单核细胞浸润不到全肺 20%, 肺泡结构无明显破坏; 3 级: 2 分, 中度肺泡

炎和肺纤维化,面积约占全肺的20%~50%;4级:3分,重度肺炎和肺纤维化。面积 $\geq$ 全肺50%,肺泡腔内偶有单核细胞和/或出血造成实变。

### 1.5 双抗体夹心法检测 BALF 中 TGF- $\beta$ 及 HYP 的含量

①加样。分别设标准孔、待测样品孔、空白孔。设标准孔7孔,依次加入100  $\mu$ l不同浓度的标准品。空白孔加100  $\mu$ l标准品稀释液,余孔加待测样品100  $\mu$ l,酶标板上覆膜,37 $^{\circ}$ C温育1h;②弃去液体,甩干,不用洗涤;③每孔加检测溶液A工作液100  $\mu$ l(临用前配制),酶标板覆膜,37 $^{\circ}$ C温育1h;④弃去孔内液体,每孔用350  $\mu$ l的洗涤液洗涤,浸泡1~2min,在吸水纸上轻拍酶标板来移除孔内所有液体。重复洗板3次。最后1次洗涤后,吸取或倒出剩余的洗涤缓冲液,将酶标板倒扣在吸水纸上,将残留在孔内的液体全部吸干。此过程也可采用喷射瓶,多道移液器或自动洗板机来完成;⑤每孔加检测溶液B工作液(临用前配制)100  $\mu$ l,酶标板覆膜,37 $^{\circ}$ C温育30min;⑥弃去孔内液体,甩干,洗板5次,方法同步步骤4;⑦每孔加TMB底物溶液90  $\mu$ l,酶标板覆膜,37 $^{\circ}$ C避光显色(反应时间控制在10~20min,不要超过30min。当标准孔的前3或4孔有明显的梯度蓝色,后3或4孔梯度不明显时,即可终止);⑧每孔加终止溶液50  $\mu$ l,终止反应,此时蓝色立转黄色。终止液的加入顺序应尽量与底物溶液的加入顺序相同。如出现颜色不匀一,请轻轻晃动酶标板以使溶液混合均匀;⑨在确保酶标板底无水滴及孔内无气泡后,立即用酶标仪在450nm波长测量各孔的光密度(OD)值;⑩HYP的检测方法与TGF- $\beta$ 相同,具体操作步骤如上。

### 1.6 统计学方法

数据分析采用SPSS 20.0统计软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,用单因素方差分析,两两比较用LSD- $t$ 检验,用Prism 5软件绘图, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠模型复制及用药后死亡情况

空白对照组于灌服生理盐水后第13天死亡1只,其余大鼠予以博来霉素模型复制后14d内间断出现死亡,死亡的大鼠主要集中在模型复制后前5d 15只。各组大鼠在予以相应药物干预期间,除模型组及泼尼松组各死亡1只外,其余各组均无大鼠死亡。见图1、2。

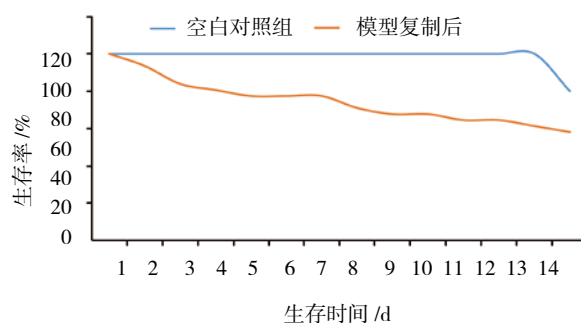
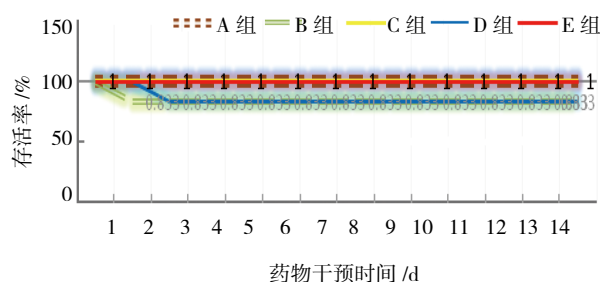


图1 空白对照组与模型复制后大鼠存活率



A组:空白对照组;B组:模型组;C组:二甲双胍组;D组:泼尼松组;E组:吡非尼酮组

图2 各组大鼠用药干预期间存活率

### 2.2 各组大鼠肺组织病理特征

光镜下肺组织肺泡炎症及肺纤维化程度及病理评分:空白对照组( $0.250\pm 0.289$ )分,模型组( $2.000\pm 0.707$ )分,二甲双胍组( $0.917\pm 0.548$ )分,泼尼松组( $1.600\pm 0.5478$ )分,吡非尼酮组( $1.333\pm 0.516$ )分,经方差分析,差异有统计学意义( $F=8.554, P=0.000$ );模型组高于空白对照组、二甲双胍组、吡非尼酮组( $P<0.05$ ),泼尼松组高于二甲双胍组( $P<0.05$ )。

空白对照组:光学显微镜下对照组大鼠肺泡结构清晰,肺泡壁完整且连续,肺泡腔透亮,肺泡间隔偶可见少量炎症细胞浸润。模型组:大鼠肺组织肺泡腔内可见大量炎症渗出,可见单核细胞、淋巴细胞和中性粒细胞等炎症细胞浸润,肺泡间隔明显增宽,可见大量肺实变。二甲双胍组:大鼠肺组织肺泡结构基本完整,肺泡腔内可见散在炎症细胞浸润,肺泡间隔稍有增宽,无明显实变,肺血管腔内可见充血及炎症渗出。泼尼松组:大鼠肺组织肺泡腔可见片状炎症渗出,肺泡间隔明显增宽,肺泡间隔及肺泡腔内可见大量炎症细胞浸润,肺泡结构破坏明显。吡非尼酮组:大鼠肺组织内可见肺泡结构部分被破坏,肺泡壁稍有增厚,部分肺泡腔及肺泡间隔内可见炎症细胞浸润及散在充血。见图3、4。

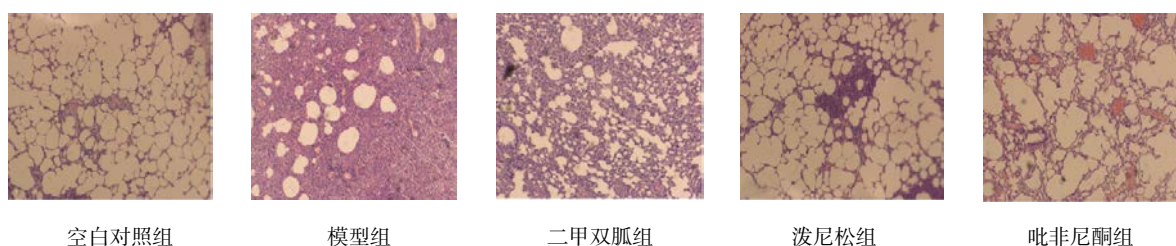
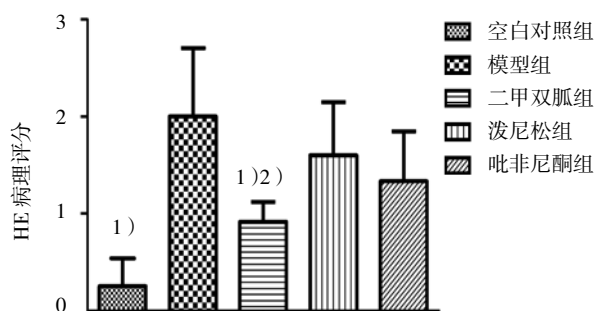


图 3 各组大鼠肺组织病理特征 (HE × 200)



1) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与泼尼松组比较,  $P < 0.05$

图 4 各组大鼠 HE 病理评分比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

### 2.3 各组大鼠 Masson 染色及肺纤维化评分

空白对照组 (0.125 ± 0.250) 分, 模型组 (2.200 ± 0.447) 分, 二甲双胍组 (1.333 ± 0.516) 分, 泼尼松组 (1.800 ± 0.447) 分, 吡非尼酮组 (1.168 ± 0.408) 分, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 14.372$ ,  $P = 0.000$ )。空白对照组: 光镜下可见大鼠肺组织结构基本完整, 肺泡间隔内未见明显胶原沉积, 在支气管和血管周围见少量胶原沉积; 模型组: 肺泡间隔明显增宽, 肺泡间隔内可见大量胶原沉积成片状、絮状沉积, 肺泡结构破坏, 肺泡间隔充血明显, 与空白对照组相比较 ( $P < 0.05$ ); 二甲双胍组: 大鼠肺泡结构基本完整, 肺泡间隔内可见散在点状、絮状胶原沉积, 在终末气管、支气管及血管周围纤维化病灶相对较为明显, 与模型组比较 ( $P < 0.05$ ); 泼尼松组: 大鼠肺组织内可见条索状纤维化病灶, 广泛分布肺组织, 其中以支气管及血管周围纤维化病灶尤其明显, 肺泡间隔稍有增宽伴胶原沉积明显, 肺泡壁结构破坏, 在肺泡间隔内可见

充血明显, 与模型组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 吡非尼酮组: 肺泡结构基本完整, 肺泡壁稍有增厚, 肺泡间隔内可见散在线性及絮状纤维化病灶, 肺泡间隔及肺泡腔内稍有充血水肿, 在支气管及血管周围纤维化不明显, 与模型组和泼尼松组比较, 差异有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ); 但相较于二甲双胍组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 5、6。

### 2.4 各组大鼠肺组织中 HYP 含量比较

空白对照组 (188.211 ± 15.551)  $\mu\text{g/ml}$ , 模型组 (285.046 ± 17.046)  $\mu\text{g/ml}$ , 二甲双胍组 (245.996 ± 10.132)  $\mu\text{g/ml}$ , 泼尼松组 (269.546 ± 13.402)  $\mu\text{g/ml}$ , 吡非尼酮组 (230.238 ± 11.049)  $\mu\text{g/ml}$ , 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 30.999$ ,  $P = 0.000$ )。在肺组织匀浆液中模型组 HYP 的含量较各组有所增高, 除与泼尼松组无差异外 ( $P > 0.05$ ), 与其余各组差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 且二甲双胍组相较泼尼松组 ( $P < 0.05$ ); 吡非尼酮组较泼尼松组有所降低 ( $P < 0.05$ )。见图 7。

### 2.5 各组大鼠 BALF 中 TGF- $\beta$ 含量比较

空白对照组 (64.799 ± 5.111)  $\text{pg/ml}$ , 模型组 (106.553 ± 9.995)  $\text{pg/ml}$ , 二甲双胍组 (85.731 ± 3.631)  $\text{pg/ml}$ , 泼尼松组 (96.751 ± 7.912)  $\text{pg/ml}$ , 吡非尼酮组 (80.511 ± 2.748)  $\text{pg/ml}$ , 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F = 25.333$ ,  $P = 0.000$ )。在 BALF 中模型组 TGF- $\beta$  的含量较空白对照组有所增高 ( $P < 0.05$ ); 二甲双胍组较模型组 TGF- $\beta$  的含量有所降低 ( $P <$

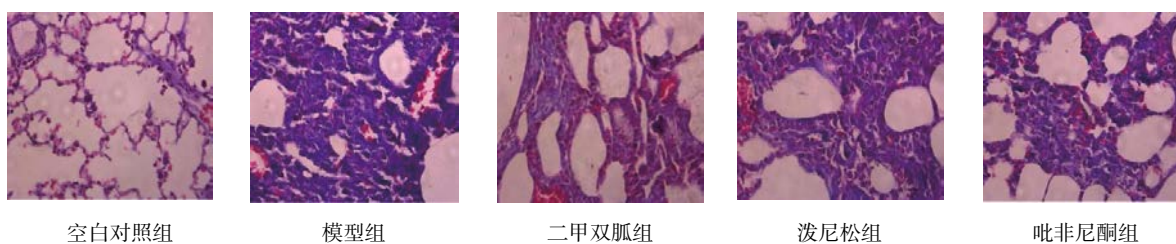
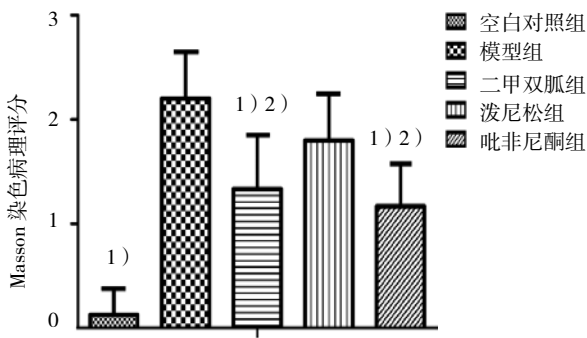


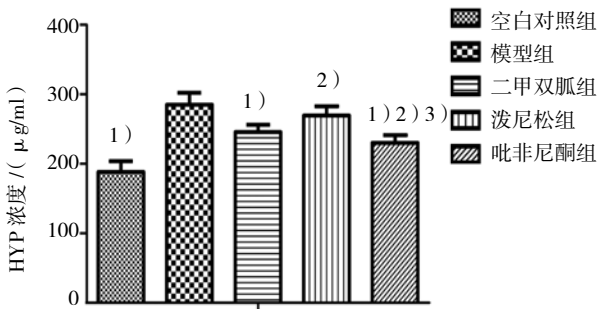
图 5 各组大鼠肺组织结构变化 (Masson × 200)



1) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与泼尼松组比较,  $P < 0.05$

图 6 各组大鼠肺组织 Masson 染色病理评分 ( $\bar{x} \pm s$ )

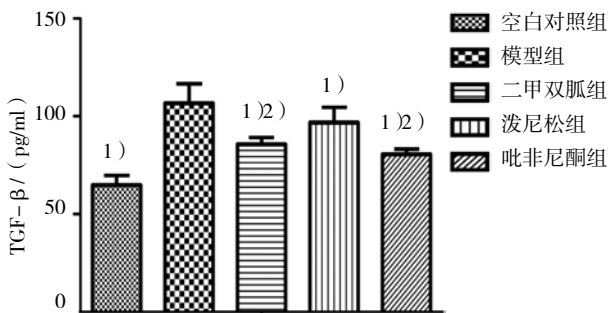
0.05); 泼尼松组较模型组 TGF- $\beta$  的含量有所降低 ( $P < 0.05$ ); 吡非尼酮较模型组 TGF- $\beta$  的含量有所降低 ( $P < 0.05$ ); 二甲双胍组相较泼尼松组有所降低 ( $P < 0.05$ ), 但相较于吡非尼酮组较泼尼松组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见图 8。



1) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与二甲双胍组比较,  $P < 0.05$ ;

3) 与泼尼松组比较,  $P < 0.05$

图 7 各组大鼠肺组织中 HYP 含量 ( $\bar{x} \pm s$ )



1) 与模型组比较,  $P < 0.05$ ; 2) 与泼尼松组比较,  $P < 0.05$

图 8 各组大鼠 BALF 中 TGF- $\beta$  的含量 ( $\bar{x} \pm s$ )

### 3 讨论

目前许多学者认为, 炎症是特发性肺纤维化早期的主要作用机制之一, 但较少参与中晚期特发性肺

纤维化的发生、发展。在前期实验研究中发现, 二甲双胍能够有效抑制由博来霉素诱导的早期 (7 d) 肺纤维化, 考虑其作用机制可能是二甲双胍通过抑制 TGF- $\beta$  的分泌和 HYP 的产生, 从而达到抑制肺纤维化的作用。为探讨二甲双胍对中晚期肺纤维化是否有疗效, 且为更加符合临床干预过程, 故选择在模型复制 14 d 后予以相应药物干预以观察疗效。实验结果显示二甲双胍能够降低由博来霉素诱导的肺纤维化大鼠死亡率。

通过 HE 染色并采用 SZAPIEL 等评分标准以了解肺部炎症变化情况, 结果显示二甲双胍具有一定的抗炎作用。HE 染色显示模型组炎症渗出明显, 而二甲双胍组炎症减轻, 与此前许多实验报道二甲双胍能减轻肺部相关疾病炎症的结论相一致<sup>[4-5]</sup>。尽管有学者认为在肺纤维化中晚期炎症较少参与其中, 但本实验通过 HE 染色发现在模型复制 28 d 后仍有炎症细胞浸润、渗出, 且 CHEN 等<sup>[6]</sup> 研究也发现, 在博来霉素模型复制 42 d 后肺组织仍有炎症表现, 故推测在博来霉素诱导的中晚期肺纤维化中炎症仍参与其中, 因此二甲双胍抗炎作用在缓解大鼠肺纤维化中也有着积极的治疗作用。在本实验中吡非尼酮的抗炎作用可能与 CHAN 等<sup>[7]</sup> 的研究发现相一致, 认为吡非尼酮抑制纤维化的机制可能是通过能调节多种细胞因子相关, 其中包括 TGF- $\beta$ 、结缔组织生长因子、血小板衍生因子和肿瘤坏死因子等。本实验提示吡非尼酮的抗炎作用较二甲双胍弱, 可能为本实验中吡非尼酮的剂量为 50 mg/kg 属于一个低剂量或是中等剂量, 而有研究报道称吡非尼酮在抗肺纤维化疾病中有药物浓度依赖性, 因此加用剂量可能会有更加积极的治疗效果; 其次吡非尼酮的吸收部位主要在肠道, 本实验采用去除胶囊的吡非尼酮溶液灌胃, 故而会导致药物破坏增加, 吸收减少。有研究发现, 静脉予以吡非尼酮治疗效果较口服给药效果更佳。最后也不排除本实验结果是由取材部位及灌药物时误入气管等所致。

在模型组病理提示胶原纤维在肺间质呈片状、团块状沉积, 提示模型复制成功。二甲双胍和吡非尼酮能够减轻由博来霉素诱导的肺纤维化, 其中吡非尼酮组治疗效果更加明显, 但两者之间差异并无统计学意义。

众所周知肺纤维化的病理表现主要为细胞外基质的过度沉积, 当肺胶原蛋白合成增加, 降解减少时, 导致胶原纤维增多, 最终使胶原过度沉积。HYP 在胶

原蛋白中约占 13.4%，是胶原蛋白一种特有的氨基酸，几乎所有 HYP 都存在于胶原中，而胶原是肺纤维化时细胞外基质的主要成分，故 HYP 水平能反映肺组织纤维化的严重程度<sup>[8]</sup>。

本实验中模型组 HYP 的含量比空白对照组高，进一步证明模型复制成功。其中二甲双胍组及吡非尼酮组 HYP 的含量比模型组低，提示二甲双胍及吡非尼酮对博来霉素诱导的肺纤维化是有一定的治疗意义，而泼尼松组肺纤维化并未明显得到改善，与目前大家认为的激素不能改变中晚期 IPF 患者的死亡率及预后相一致。

在前期实验发现二甲双胍能够有效抑制由博来霉素诱导的早期肺纤维化，考虑其作用机制可能是二甲双胍通过抑制 TGF- $\beta$  的分泌和 HYP 的产生，从而达到抑制肺纤维化的作用，且 TGF- $\beta$  被认为是最为关键的致纤维化因子，它在肺的发育过程中是一个负性调控因子。目前认为 TGF- $\beta$  通过 Smad 途径调节细胞的增殖、分化、迁移、黏附及凋亡等，从而调控肺纤维化的发生、发展<sup>[7]</sup>。

进一步检测 TGF- $\beta$ ，发现通过博来霉素模型复制后 TGF- $\beta$  的含量增加，而二甲双胍组及吡非尼酮组 TGF- $\beta$  的含量降低，两者之间差异无统计学意义。有研究发现<sup>[10]</sup>，二甲双胍及吡非尼酮通过减少 TGF- $\beta$  的产生，从而使未成熟成纤维细胞生长受限，抑制了成纤维细胞迁移、增殖，导致成纤维细胞表型转换为肌成纤维细胞发生障碍，继而减轻胶原蛋白等细胞外基质在肺间质和肺泡间过度积聚，从而抑制肺纤维化的发生与发展，本实验中二甲双胍及吡非尼酮能减少 TGF- $\beta$  的产生，从而考虑其对肺纤维化的发生、发展起着一定的调控作用。

总的来说，二甲双胍能减少 TGF- $\beta$  分泌及 HYP

的产生，对由博来霉素诱导的中晚期肺纤维化是有一定的疗效。但是其具体作用机制仍不清楚，有待进一步研究。

#### 参 考 文 献：

- [1] RAGHU G, COLLARD H R, EGAN J J, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2011, 183(6): 788-824.
- [2] SUN M C, JANG A H, KIM H, et al. Metformin reduces bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. *Journal of Korean Medical Science*, 2016, 31(9): 1419-1425.
- [3] SZAPIEL S V, ELSON N A, FULMER J D, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse[J]. *The American Review of Respiratory Disease*, 1979, 120(4): 893-899.
- [4] PARK C S, BANG B R, KWON H S, et al. Metformin reduces airway inflammation and remodeling via activation of AMP-activated protein kinase[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2012, 84(12): 1660-1670.
- [5] HITCHINGS A W, LAI D, JONES P W, et al. Metformin in severe exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial[J]. *Thorax*, 2016, 71(7): 587-593.
- [6] CHEN S S, YIN Z F, CHEN T, et al. Development of a non-infectious rat model of acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Journal of Thoracic Disease*, 2017, 9(1): 96-105.
- [7] CHAN A L, RAFII R, LOUIE S, et al. Therapeutic update in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2013, 44(1): 65-74.
- [8] 王笑英, 韩玲, 干泳华. 桔梗总皂苷抗大鼠肺纤维化作用的机制[J]. *中国老年学*, 2015, 35(11): 2957-2958.
- [9] LIU R M, DESAI L P. Reciprocal regulation of TGF- $\beta$  and reactive oxygen species: A perverse cycle for fibrosis[J]. *Redox Biology*, 2015, 6: 565-577.
- [10] WEI J, BHATTACHARYYA S, TOURTELLOTTE W G, et al. Fibrosis in systemic sclerosis: Emerging concepts and implications for targeted therapy[J]. *Autoimmunity Reviews*, 2011, 10(5): 267-275.

(王荣兵 编辑)