

文章编号: 1005-8982(2016)01-0035-06

论著

## 白藜芦醇抑制 Sonic hedgehog 信号 并减轻大鼠肺纤维化的研究

李利华, 卢滨, 吴红科, 张浩, 姚菲菲  
(郑州人民医院 呼吸科, 河南 郑州 450000)

**摘要:目的** 研究白藜芦醇对博莱霉素诱导大鼠肺纤维化的影响。**方法** 完全随机分组法将 40 只 SD 雄性大鼠分为 4 组:对照组、模型组、25  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组。模型组大鼠气管内滴注博莱霉素, 25 和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组大鼠气管内滴注博莱霉素后分别用 25 和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇灌胃, 对照组大鼠气管内滴注生理盐水。处理 30 d 后, 观察各处理组大鼠肺组织病理变化并检测大鼠肺组织羟脯氨酸(HYP)和 I 型胶原蛋白含量。分离各组大鼠肺成纤维细胞, 并利用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)和 Western blot 检测细胞中 SHH(Sonic hedgehog, SHH)、Smo、Gli-1 mRNA 和蛋白的表达, 同时检测细胞增殖和凋亡。**结果** 模型组大鼠肺泡结构严重破坏并伴有胶原纤维沉淀, 白藜芦醇处理可减轻纤维化病变。白藜芦醇可降低肺组织中博莱霉素诱导的 HYP 和 I 型胶原蛋白含量。博莱霉素能显著上调成纤维细胞中 SHH、Smo、Gli-1 mRNA 和蛋白的表达, 而白藜芦醇则可抑制 SHH、Smo 和 Gli-1 的表达。博莱霉素促进成纤维细胞增殖并减少凋亡, 白藜芦醇抑制细胞增殖并促进细胞凋亡。**结论** 白藜芦醇可抑制博莱霉素诱导的 SHH 信号活化并减轻大鼠肺纤维化。

**关键词:** 白藜芦醇; sonic hedgehog 信号; 肺纤维化; 博莱霉素; 成纤维细胞

**中图分类号:** R563.9; R332

**文献标识码:** A

## Resveratrol inactivates sonic hedgehog signaling and alleviates lung fibrosis in rats

Li-hua Li, Bin Lu, Hong-ke Wu, Hao Zhang, Fei-fei Yao  
(Department of Respiratory Diseases, People's Hospital of Zhengzhou,  
Zhengzhou, Henan 450000, China)

**Abstract: Objective** To investigate the effect of resveratrol on lung fibrosis in rats. **Methods** Forty SD male rats were randomly allocated to four groups: control, model, 25- $\mu\text{mol}$  resveratrol and 50- $\mu\text{mol}$  resveratrol groups. Rats in the model group were intratracheally administrated with Bleomycin. Rats in the 25- $\mu\text{mol}$  resveratrol and 50- $\mu\text{mol}$  resveratrol groups were administrated with Bleomycin before intragastric administration of resveratrol. Rats in the control group were administrated with normal saline. After 30 d pathological changes of the lungs in each group were observed and the levels of hydroxyproline (HYP) and type I collagen were determined. Lung fibroblasts in the rats of each group were isolated and the expression of SHH, Smo and Gli-1 were analyzed by qRT-PCR and Western blot, along with the evaluation of proliferation and apoptosis in these cells. **Results** The pulmonary alveoli structures of model rats were damaged seriously with the deposition of collagen, while resveratrol attenuated the progression of lung fibrosis. Resveratrol reduced HYP content and type I collagen expression induced by Bleomycin in the lung tissue. Moreover, Bleomycin significantly upregulated the expressions of Sonic hedgehog (SHH), Smo and Gli-1 mRNAs and proteins, which were inhibited by resveratrol. In addition, Bleomycin enhanced the proliferation and reduced apoptosis of fibroblasts, while resveratrol inhibited fibroblast proliferation and promoted apoptosis. **Conclusions** Resveratrol

might impede Bleomycin-induced SHH signaling and contribute to the alleviation of lung fibrosis in rats.

**Keywords:** resveratrol; sonic hedgehog; lung fibrosis; Bleomycin; fibroblast

肺间质纤维化是一种多诱因的慢性肺疾病<sup>[1]</sup>。肺间质纤维化病变过程中,肺泡上皮细胞和内皮细胞损伤,肺泡基底膜破坏,细胞外基质沉积并成纤维细胞聚集和增殖<sup>[2]</sup>。白藜芦醇是非黄酮类多酚化合物,广泛存在于葡萄、虎杖、花生、桑葚等植物中,有抗氧化、消炎、抗肿瘤、调节激素等作用<sup>[3]</sup>。近年来,多个实验证明白藜芦醇可对实验动物肺纤维化疾病进展产生影响<sup>[4-6]</sup>,但具体作用机制还不清楚。因此,本研究着眼于白藜芦醇对博来霉素诱导的大鼠肺纤维化的影响,分析白藜芦醇的作用机制,为肺纤维化的治疗提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与主要试剂

40 只 4 周龄雄性 SD 大鼠购自上海斯莱克实验动物公司,将实验动物饲养于 12 h 昼/夜循环照明、恒温、恒湿的清洁级环境中,自由饮食,饲养 1 周后备用。白藜芦醇、戊巴比妥钠、聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜购自美国 Sigma 公司,博来霉素购自美国 Invitrogen 公司,羟脯氨酸 (Hydroxyproline, HYP) 检测试剂盒购自南京建成生物,Trizol 试剂和 Dy NAmo SYBR Green 荧光定量聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 试剂盒购自大连宝生生物有限公司,抗 I 型胶原蛋白抗体、抗 SHH (sonic hedgehog, SHH) 抗体、抗 Smo 抗体、抗 Gli-1 抗体购自美国 Santa Cruz Biotech 公司,辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠二抗购自英国 Abcam 公司,Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购自北京索莱宝公司,噻唑蓝 [3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT] 试剂盒购自北京百浩生物公司,其余常见试剂为国产。

### 1.2 动物分组处理

利用随机数字法将 40 只 5 周龄雄性 SD 大鼠随机分为 4 组:对照组、模型组、25  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组,每组 10 只。模型组大鼠气管内注射 4 mg/kg 博来霉素建立肺纤维化模型,25 和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组大鼠气管注射博来霉素后第 2 天分别用 25 和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇灌胃,处理 30 d。对照组和模型组利用生理盐水灌胃。模型组大

鼠于博来霉素滴注后死亡 2 只,对照组和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组灌胃第 6 天分别死亡 1 只大鼠,25  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组分别于博来霉素滴注后及白藜芦醇灌胃第 3 天死亡 1 只大鼠。处理结束后,利用戊巴比妥钠深度麻醉处死大鼠,分离大鼠肺成纤维细胞备用。检测各组大鼠肺组织 HYP 和 I 型胶原蛋白表达,制作病理切片,观察肺纤维化病变。

### 1.3 肺成纤维细胞分离和培养

大鼠肺成纤维细胞的分离参考朱天琦等<sup>[7]</sup>的方法。将分离得到的成纤维细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%二氧化碳 CO<sub>2</sub> 培养箱,用含 15%胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 的 H-DMEM 培养液培养,隔天换液 1 次。细胞生长接近融合时,弃培养液, D-Hanks 液轻洗 3 次,加入 0.25%胰酶消化 1 min,用含 15%FBS 的 H-DMEM 培养液终止消化,吸管轻轻吹打细胞,收集细胞悬液,1 000 r/min 离心 2 min,弃上清液,用 15% FBS 的 H-DMEM 培养液,按 1:2 接种传代培养。利用免疫细胞化学方法检测细胞中波形蛋白和 CD31 的表达,对原代肺成纤维细胞进行鉴定。

### 1.4 MTT 检测细胞增殖

分离肺成纤维细胞,将来源于对照组、模型组、25 和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组大鼠的肺成纤维细胞,按  $3 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔培养板。每孔细胞加入含 15%FBS 的 H-DMEM 培养液进行培养。细胞培养 24、48、72 和 96 h 后分别进行 MTT 实验检测。按实验分组,每孔加入 20  $\mu\text{l}$  MTT (5 mg/ml) 后培养 4 h。去上清液,每孔加入 150  $\mu\text{l}$  二甲基亚砷 (dimethyl sulfoxide, DMSO)。混匀后用酶标仪 (Instruments, 美国 Bio-tek 公司) 测定 (测量波长为 490 nm)。实验重复 3 次,取平均数作为实验结果。

### 1.5 流式细胞术检测细胞凋亡

收集分离培养的大鼠肺成纤维细胞,分别对应对照组、模型组、25 和 50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组。首先用 PBS 洗涤细胞,细胞计数后调整细胞密度为  $1 \times 10^6/\text{L}$ ,制成单细胞悬液,加入 100  $\mu\text{l}$  结合缓冲液与 FITC-Annexin V (20  $\mu\text{g/ml}$ ) 10  $\mu\text{l}$ ,室温避光放置 30 min,加入 5  $\mu\text{l}$  PI (50  $\mu\text{g/ml}$ ),室内避光反应 5 min,加入 400  $\mu\text{l}$  结合缓冲液,上流式细胞仪检测。

### 1.6 HYP 含量测定

采用商业化 HYP 试剂盒检测各组大鼠肺组织中

HYP 含量。试剂盒主要原理是利用氧化 HYP 与 4-(二甲氨基)苯甲醛(DMAB)的生色反应来测定 HYP 浓度,反应生成与样品中 HYP 含量成正比的比色(560 nm)产物。

实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real time-polymerase chain reaction,qRT-PCR)使用 Tri-zol 试剂提取大鼠肺组织总 RNA,并逆转录成 cDNA,并以该 cDNA 为模板扩增基因片段,所用引物见表 1。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后染色、拍照。采用 ABI 7500 型实时荧光定量 PCR 仪和 Dy NAmo SYBR Green qPCR 试剂盒对目的基因表达进行测定。分别根据产生的 Ct 值从各自的标准曲线获得目的基因和  $\beta$ -actin 基因的拷贝数。取 3 次的平均值,以目的基因的拷贝数除以  $\beta$ -actin 的拷贝数作为靶基因的相对表达量。

表 1 实时定量 PCR 引物序列

基因	引物序列
SHH	正向引物:5'-CCAATTACAACCCCGACATC-3'
	反向引物:5'-GCATTTAACTTGTCTTTGCACCT-3'
Smo	正向引物:5'-GGCTGCTGAGTGAGAAG-3'
	反向引物:5'-CTGGTTGAAGAAGTCGTAGAAG-3'
Gli-1	正向引物:5'-CCAAGCCAACCTTTATGTCAGGG-3'
	反向引物:5'-AGCCCGCTTCTTTGTTAATTTGA-3'
$\beta$ -actin	正向引物:5'-TACAACCTTCTTGCAGCTCC-3'
	反向引物:5'-ATCTTCATGAGGTAGTCTGTGTC-3'

### 1.7 Western blot 检测

提取肺组织总蛋白,利用 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶恒压电泳分离蛋白,随后转移蛋白至 PVDF 膜上,用含 5%脱脂奶粉的 Tris-HCl 缓冲盐溶液+Tween(TBS+Tween, TBST)室温下水平摇床慢摇封闭 1 h。利用抗 I 型胶原蛋白抗体、抗 SHH 抗体、抗 Smo 抗体或抗 Gli-1 抗体 4℃孵育过夜。隔天 TBST 漂洗 3 遍,加入辣根过氧化物酶标记的兔抗鼠二抗(1:20 000),室温下水平摇床慢摇孵育 1 h。选取  $\beta$ -actin 作为蛋白表达内参。TBST 漂洗 3 遍后进行增强化学发光法(enhanced chemiluminescence, ECL)显色,凝胶成像分析系统进行拍照分析。

### 1.8 肺组织病理切片与 Masson 染色

将大鼠肺组织用 4%甲醛固定,将固定好的样本按顺序置于脱水机中脱水。将过夜的肺组织取出,置于沾有少量蜡液的包埋盒中包埋。将蜡块固定于切片机上,切成 4~6  $\mu$ m 薄片。采用 Masson 三色染

色法分析,切片常规脱蜡至水,置于 Bouin 液室温过夜或 56℃中处理 1 h,自来水冲洗至黄色消失后蒸馏水洗。Weigert 铁苏木精染核 10 min,盐酸乙醇分化,自来水冲洗 10 min,蒸馏水洗。按照 I 液染 2 min,II 液染 15 min,III 液染 5 min 的顺序进行处理;蒸馏水洗 1 min 后,1%冰乙酸溶液浸洗 5 min,常规脱水透明,中性树胶封片。

### 1.9 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,用  $t$  检验和单因素方差分析,用 LSD 法进行多重比较, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

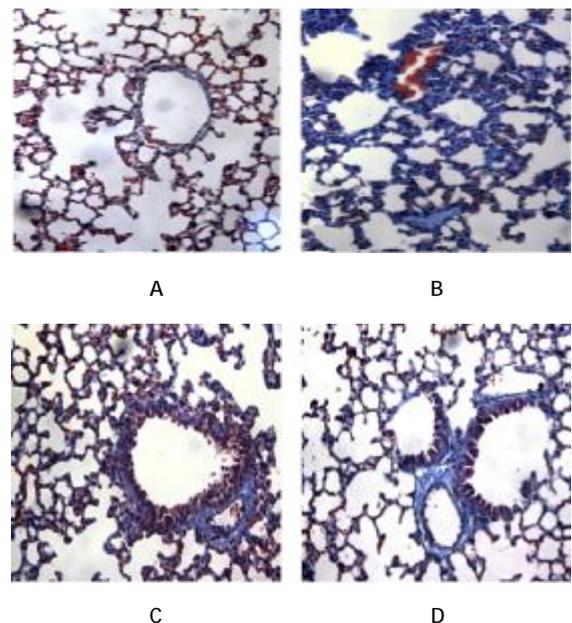
## 2 结果

### 2.1 白藜芦醇抑制博来霉素诱导的大鼠肺纤维化

病理结果显示,对照组大鼠肺组织结构正常,肺泡结构完整。模型组大鼠肺组织肺泡壁增厚,肺泡结构破坏严重,可见大量胶原纤维沉淀以及成纤维细胞增生。白藜芦醇处理大鼠肺泡结构破坏相对较轻,同时可见少量胶原纤维沉淀和成纤维细胞增生,肺组织中性粒细胞浸润减少。见图 1。

### 2.2 白藜芦醇降低模型大鼠肺组织 HYP 和 I 型胶原蛋白的含量

与对照组比较,模型组大鼠肺组织 HYP 含量



A: 对照组; B: 模型组; C: 25  $\mu$ mol 白藜芦醇组; D: 50  $\mu$ mol 白藜芦醇组

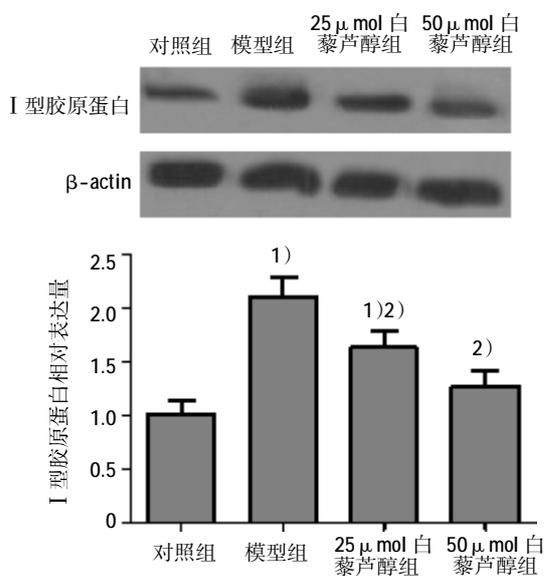
图 1 各组大鼠肺组织病理切片观察 (Masson 染色  $\times 400$ )

明显升高( $P=0.002$ )。白藜芦醇可明显降低肺组织 HYP 含量,并具有剂量效应;25  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组 HYP 含量与对照组、模型组比较,差异有统计学意义( $P=0.024$  和  $0.015$ );50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组 HYP 含量与模型组比较,差异有统计学意义( $P=0.003$ )(见表 2)。与对照组比较,博莱霉素诱导的大鼠肺组织中 I 型胶原蛋白表达显著上调( $P=0.001$ );白藜芦醇则显著下调模型大鼠 I 型胶原蛋白表达(25  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组  $P=0.032$ ,50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组  $P=0.011$ )。见图 2。

表 2 各组大鼠肺组织 HYP 含量测定

组别	例数	HYP 含量/(mg/g, $\bar{x} \pm s$ )
对照组	9	0.79 $\pm$ 0.06
模型组	8	1.15 $\pm$ 0.13 <sup>1)</sup>
25 $\mu\text{mol}$ 白藜芦醇组	8	0.91 $\pm$ 0.07 <sup>1)2)</sup>
50 $\mu\text{mol}$ 白藜芦醇组	9	0.86 $\pm$ 0.08 <sup>2)</sup>

注:1)与对照组比较,  $P < 0.05$ ;2)与模型组比较,  $P < 0.05$



1)与对照组比较,  $P < 0.05$ ;2)与模型组比较,  $P < 0.05$

图 2 各组大鼠肺组织 I 型胶原蛋白免疫印迹法定量分析

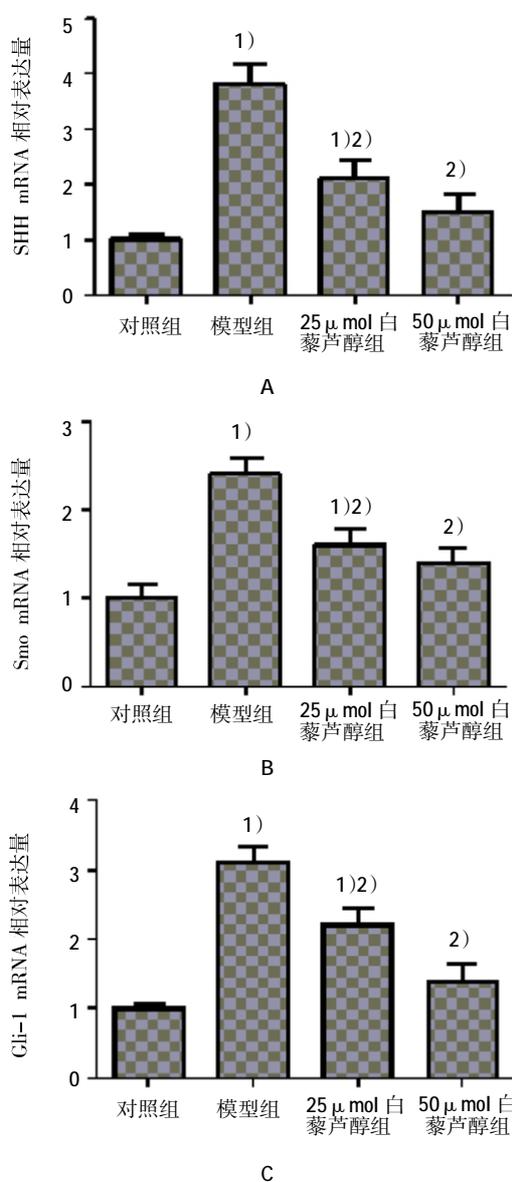
### 2.3 白藜芦醇下调模型大鼠肺成纤维细胞 SHH 信号的表达

与对照组比较,模型组大鼠成纤维细胞中 SHH、Smo 和 Gli-1 mRNA 和蛋白表达水平显著上升(mRNA:  $P_{\text{SHH}}=0.000$ ,  $P_{\text{Smo}}=0.000$ ,  $P_{\text{Gli-1}}=0.000$ ;蛋白:  $P_{\text{SHH}}=0.000$ ,  $P_{\text{Smo}}=0.000$ ,  $P_{\text{Gli-1}}=0.000$ );白藜芦醇显著降低博莱霉素诱导的 SHH、Smo 和 Gli-1 mRNA 和蛋白表达(25  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组 mRNA:  $P_{\text{SHH}}=0.000$ ,

$P_{\text{Smo}}=0.022$ ,  $P_{\text{Gli-1}}=0.000$ ;蛋白:  $P_{\text{SHH}}=0.002$ ,  $P_{\text{Smo}}=0.024$ ,  $P_{\text{Gli-1}}=0.021$ ;50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组 mRNA:  $P_{\text{SHH}}=0.000$ ,  $P_{\text{Smo}}=0.013$ ,  $P_{\text{Gli-1}}=0.000$ ;蛋白:  $P_{\text{SHH}}=0.000$ ,  $P_{\text{Smo}}=0.018$ ,  $P_{\text{Gli-1}}=0.000$ )。见图 3、4。

### 2.4 白藜芦醇降低成纤维细胞的增殖

与对照组比较,博莱霉素能显著提高大鼠肺成纤维细胞增殖速率( $P=0.033$ );与模型组比较,白藜芦醇能明显降低成纤维细胞的增殖(25  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组  $P=0.027$ ,50  $\mu\text{mol}$  白藜芦醇组  $P=0.024$ )。见图 5。



A: 大鼠肺成纤维细胞 SHH mRNA 表达;B: 大鼠肺成纤维细胞 Smo mRNA 表达;C: 大鼠肺成纤维细胞 Gli-1 mRNA 表达。1)与对照组比较,  $P < 0.05$ ;2)与模型组比较,  $P < 0.05$

图 3 各组大鼠肺成纤维细胞 SHH、Smo 和 Gli-1 mRNA 的荧光定量 PCR

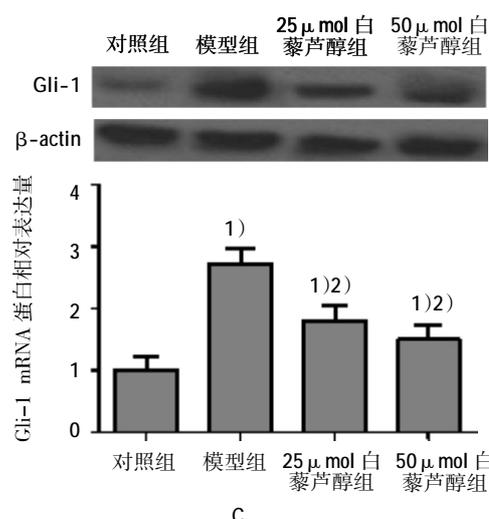
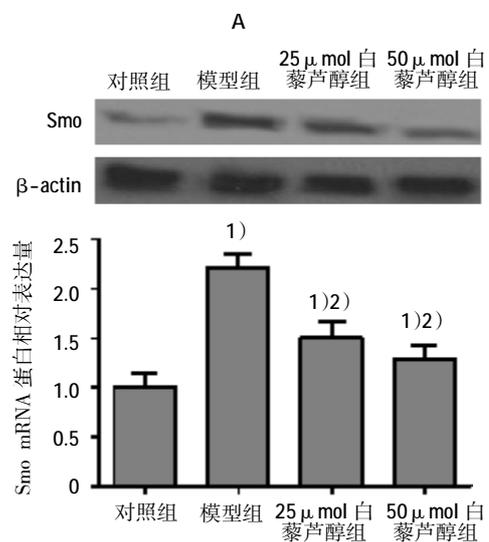
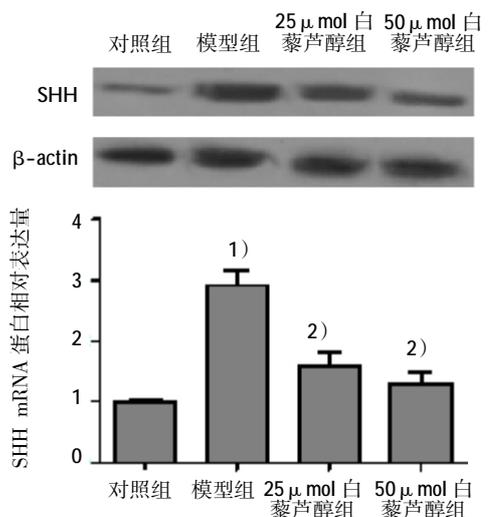


图 4 A:大鼠肺成纤维细胞 SHH 蛋白表达;B:大鼠肺成纤维细胞 Smo 蛋白表达;C:大鼠肺成纤维细胞 Gli-1 蛋白表达。1)与对照组比较  $P < 0.05$ ;2)与模型组比较,  $P < 0.05$

图 4 各组大鼠肺成纤维细胞 SHH、Smo 和 Gli-1 蛋白的荧光定量 PCR

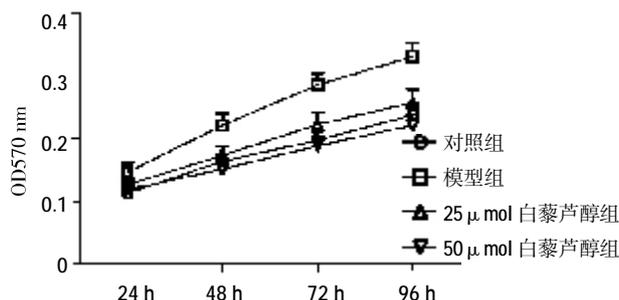
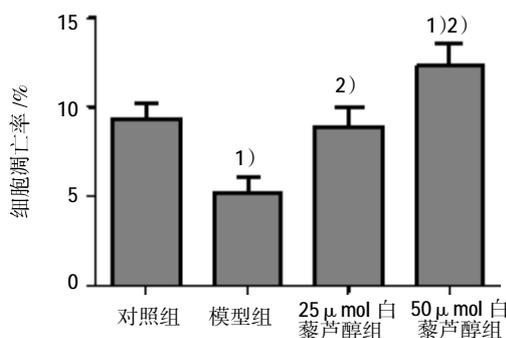


图 5 MTT 法测定各组大鼠肺成纤维细胞体外增殖

### 2.5 白藜芦醇促进成纤维细胞凋亡

流式细胞术结果显示,博来霉素能降低成纤维细胞凋亡率( $P=0.041$ ),而白藜芦醇则能显著促进成纤维细胞的凋亡(25  $\mu$ mol 白藜芦醇组  $P=0.036$ , 50  $\mu$ mol 白藜芦醇组  $P=0.021$ )。见图 6。



1)与对照组比较,  $P < 0.05$ ;2)与模型组比较,  $P < 0.05$

图 6 流式细胞术测定各组大鼠肺成纤维细胞凋亡比率

## 3 讨论

作为一种进行性肺疾病,肺纤维化患者在诊断后 5 年病死率达 65%<sup>[8]</sup>,目前还没有公认的有效治疗方法,主要采用抗炎、抗纤维化、抗凝血及肺移植等治疗措施,疗效各有优劣<sup>[9]</sup>。因此,迫切需要探索新的有效而副作用低的治疗方法。白藜芦醇是一种从植物中提取的天然药物,在抗肿瘤、治疗心血管疾病、抗氧化等方面疗效显著,毒性低,便于长期服药<sup>[10]</sup>。白藜芦醇在实验性肺纤维化模型中的作用越来越受到关注,有望开发为治疗人体肺纤维化的临床用药。

本研究通过向大鼠气管滴注博来霉素建立肺间质纤维化模型,病理、组织结果发现,模型大鼠较对照组肺泡结构受损严重,有明显的胶原蛋白沉积,成纤维细胞大量增生。另建的立白藜芦醇处理组,结果发现,白藜芦醇能够保护肺泡结构,减少组织损伤,并减轻模型大鼠肺间质纤维化和炎症反应,表明白藜芦醇有拮抗博来霉素的作用,能减轻博来霉素

诱导的大鼠肺纤维化。

本研究中,肺纤维化模型大鼠肺组织 HYP 含量和 I 型胶原蛋白表达水平明显增高。白藜芦醇处理后,模型大鼠肺组织中 HYP 含量减少, I 型胶原蛋白水平降低。多种信号途径包括 STAT、酪氨酸蛋白激酶、MAPK、TGF- $\beta$  参与肺纤维化进展<sup>[1]</sup>。SHH 途径参与肺脏在胚胎期的发育<sup>[2]</sup>,并且在成体胚胎干细胞的维持中具有重要作用<sup>[3]</sup>。Teglund 等<sup>[4]</sup>的研究也发现其参与多种癌症的发生。最近多个研究发现,SHH 参与肺纤维化病变<sup>[5]</sup>。Hu 等<sup>[6]</sup>证明 SHH 在体外可通过 Smo 和 Gli1 促进成纤维细胞分化为肌成纤维细胞。Moshai 等<sup>[7]</sup>发现,抑制 Gli 的活性可减缓小鼠肺纤维化,减小肺胶原蛋白的沉积,促进肺组织内抗炎、抗纤维化环境形成。国内研究报道,百草枯可导致 SHH 途径中 Smo、Gli1 的表达水平在肺纤维化大鼠肺组织中显著上调<sup>[8]</sup>。本研究发现,在模型大鼠肺成纤维细胞中,SHH、Smo、Gli-1 mRNA 和蛋白的表达水平较对照组显著上调,而白藜芦醇则可以抑制 SHH、Smo 和 Gli-1 的表达,结果表明,博莱霉素诱导的肺纤维化过程具有活化成纤维细胞中 SHH 信号途径的作用;与之相反,白藜芦醇则可以抑制成纤维细胞中 SHH 信号的活化,下调相关信号蛋白的表达水平。其他研究同样证明白藜芦醇对 SHH 信号的调控作用。在急性髓系白血病 HL-60 细胞中,白藜芦醇能够拮抗白介素 -6 (interleukin-6, IL-6) 的作用,降低细胞中 SHH 和 Gli-1 的表达,从而抑制细胞生长<sup>[9]</sup>。本研究还发现,博莱霉素促进成纤维细胞增殖,而白藜芦醇则可以抑制细胞增殖。此外,博莱霉素降低成纤维细胞凋亡,白藜芦醇则促进成纤维细胞凋亡。

综上所述,本研究观察到白藜芦醇可减轻博莱霉素诱导的大鼠肺纤维化,抑制成纤维细胞干细胞 SHH 信号活化及成纤维细胞增殖,促进细胞凋亡,为明确白藜芦醇在预防和治疗肺纤维化中的作用机制提供实验和理论支持。

#### 参 考 文 献:

- [1] Noble PW, Barkauskas CE, Jiang D. Pulmonary fibrosis: patterns and perpetrators[J]. J Clin Invest, 2012, 122(8): 2756-2762.
- [2] Spagnolo P, Maher TM, Richeldi L. Idiopathic pulmonary fibrosis: recent advances on pharmacological therapy[J]. Pharmacol Ther,

2015, 152: 18-27.

- [3] 韩晶晶,刘炜,毕玉平.白藜芦醇的研究进展[J].生物工程学报,2008,24(11):1851-1859.
- [4] 曹国文,毛卫东.白藜芦醇对博莱霉素诱导的小鼠纤维化的作用[J].现代医药卫生,2008,24(24):3643-3645.
- [5] 刘理静,于小华,张平.白藜芦醇通过 TGF- $\beta$  /ADAMTS-1 信号通路抑制肺纤维化[J].中国药理学通报,2013,29(3):425-431.
- [6] Akgedik R, Akgedik S, Karamanli H, et al. Effect of resveratrol on treatment of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats[J]. Inflammation, 2012, 35(5): 1732-1741.
- [7] 朱天琦,郑声星.大鼠肺成纤维细胞的体外培养及急性炎症模型的建立[J].温州医学院学报,2012,42(3):143-150.
- [8] Brown KK, Raghu G. Medical treatment for pulmonary fibrosis: current trends, concepts, and prospects[J]. Clin Chest Med, 2004, 25(4): 759-772.
- [9] 崔冰,胡卓伟.抗纤维化药物治疗研究进展[J].生理科学进展,2008,39(3):233-238.
- [10] 白杨,潘隽丽,苏薇薇.白藜芦醇与白藜芦醇甙的研究进展[J].中药材,2004,27(1):55-59.
- [11] 刘涛,宋良文.肺纤维化发生的分子机制和早期防治研究进展[J].军事医学科学院院刊,2003,27(4):312-316.
- [12] Maeda Y, Dave V, Whitsett JA. Transcriptional control of lung morphogenesis[J]. Physiol Rev, 2007, 87(1): 219-244.
- [13] Brownell I, Guevara E, Bai CB, et al. Nerve-derived sonic hedgehog defines a niche for hair follicle stem cells capable of becoming epidermal stem cells[J]. Cell Stem Cell, 2011, 8(5): 552-565.
- [14] Teglund S, Toftgard R. Hedgehog beyond medulloblastoma and basal cell carcinoma[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1805(2): 181-208.
- [15] Cigna N, Farrokhi Moshai E, Brayer S, et al. The hedgehog system machinery controls transforming growth factor-beta-dependent myofibroblastic differentiation in humans: involvement in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Am J Pathol, 2012, 181(6): 2126-2137.
- [16] Hu B, Liu J, Wu Z, et al. Reemergence of hedgehog mediates epithelial-mesenchymal crosstalk in pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2015, 52(4): 418-428.
- [17] Moshai EF, Wemeau-Stervinou L, Cigna N, et al. Targeting the hedgehog-glioma-associated oncogene homolog pathway inhibits bleomycin-induced lung fibrosis in mice[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2014, 51(1): 11-25.
- [18] 周媛媛,曾凡军.百草枯致肺纤维化大鼠肺组织中 Smo、Gli1 的表达变化及意义[J].山东医药,2014,54(7):31-32.
- [19] Su YC, Li SC, Wu YC, et al. Resveratrol downregulates interleukin-6-stimulated sonic hedgehog signaling in human acute myeloid leukemia[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, DOI:10.1155/2013/547430.

(童颖丹 编辑)