

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.21.001

文章编号: 1005-8982(2016)21-0001-07

论著

孟鲁司特联合强的松对博莱霉素诱导的肺纤维化大鼠模型的干预作用*

陈菊屏, 刘茗心, 罗秀芳, 范贤明, 王文军, 湛晓勤

(西南医科大学附属医院 呼吸内科, 四川 泸州 646000)

摘要: **目的** 研究孟鲁司特联合强的松对博莱霉素诱导的肺纤维化(PF)大鼠模型的干预作用。**方法** 将 60 只 Wistar 大鼠随机分成 5 组, 即空白对照组、模型对照组、孟鲁司特(MK)组、强的松组及联合干预组。空白对照组以生理盐水 0.2 ml 注入气管内, 其余 4 组以气管内滴注博莱霉素(5 mg/kg)建立 PF 模型。分别在造模后第 7 天和第 28 天 5 组各处死 6 只大鼠取材。采用苏木精-伊红和 Masson 染色法观察肺组织纤维化改变, 酶联免疫吸附试验检测血清结缔生长因子(CTGF)、转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)的水平, 免疫组织化学法染色检测肺组织中 CTGF 和 TGF- β_1 的表达水平。**结果** 联合干预组和模型对照组比较, 第 7 天肺泡炎评分为(1.63±0.16)和(2.73±0.15), 第 28 天肺间质纤维评分(1.66±0.10)和(2.76±0.13)分, 差异有统计学意义($P<0.01$)。第 7 天, 各组肺组织 TGF- β_1 表达水平均低于模型对照组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。第 28 天, 各组肺组织 CTGF、TGF- β_1 表达水平均低于模型对照组, 差异有统计学意义($P<0.01$)。第 7 天、第 28 天血清中 CTGF 和 TGF- β_1 水平均低于模型对照组, 差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** MK 联合强的松更能显著减轻大鼠肺组织肺泡炎及 PF 程度, 其机制与降低血清及组织中 CTGF 和 TGF- β_1 的表达水平相关。

关键词: 肺纤维化; 强的松; 博莱霉素; 孟鲁司特

中图分类号: R595.3; R563.9

文献标识码: A

Intervention of Montelukast plus Prednisone on Bleomycin-induced acute exacerbation of pulmonary fibrosis in rats*

Ju-ping Chen, Ming-xin Liu, Xiu-fang Luo, Xian-ming Fan, Wen-jun Wang, Xiao-qin Zhan
(Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract: **Objective** To study the intervention of Montelukast plus Prednisone in a rat model of pulmonary fibrosis (PF) induced by Bleomycin. **Methods** Sixty Wistar rats were randomly divided into 5 groups including blank control, model control, Montelukast, Prednisone and combined Montelukast and Prednisone treatment groups. Pulmonary fibrosis model was induced by Bleomycin. The rats were sacrificed on the 7th and 28th day after modeling respectively. The degrees of lung inflammation and pulmonary fibrosis were detected by hematoxylin and eosin staining and Masson staining. The serum levels of connective tissue growth factor (CTGF) and TGF- β_1 were assessed by enzyme-linked immunosorbent assay. The expressions of CTGF and TGF- β_1 in lung tissues were evaluated by immunohistochemical staining. **Results** The scores of alveolitis in the model control group and the Montelukast group on day 7 were (1.63 ± 0.16) and (2.73 ± 0.15) respectively, the difference was significant between the two groups ($P < 0.01$). The scores of pulmonary fibrosis in the model control group and the Montelukast group on day 28 were (1.66 ± 0.10) and (2.76 ± 0.13) respectively, the difference was significant between the two groups ($P < 0.01$). On day 7, the TGF- β_1 level in the lung tissues of the blank control, Montelukast, Prednisone and combined Montelukast and Prednisone treatment groups

收稿日期: 2016-05-31

* 基金项目: 四川省泸州市科技局项目[No: 2011-S-39(5/6)]

decreased as compared to the model control group with significant differences ($P < 0.05$). Compared with the model control group, the CTGF and TGF- β_1 levels in the lung tissues of other groups significantly decreased on day 28 ($P < 0.01$). On day 7 and 28, the serum levels of CTGF and TGF- β_1 in the model control group were significantly higher than those of other groups ($P < 0.01$). **Conclusions** The combined treatment of Montelukast and Prednisone can alleviate alveolitis and pulmonary fibrosis induced by Bleomycin, and its mechanism is associated with the reduced CTGF and TGF- β_1 expressions in lung tissues.

Keywords: pulmonary fibrosis; Prednisone; Bleomycin; Montelukast

肺纤维化(pulmonary fibrosis, PF)是由多种原因引起的肺间质的慢性病变, 主要病理改变存在于支气管、肺泡及肺间质等部位, 按病因可大致分为原发性、特发性、免疫性和药物性等几大类^[1]。针对 PF 不同的病因, 治疗方案也不完全相同, 主要为抗炎药物、抗感染、抗肿瘤和手术治疗等多种方式的对症治疗^[2]。孟鲁司特(Montelukast, MK)是典型的白三烯受体拮抗剂, 对不同类型的炎症因子、细胞因子等均有抑制作用。研究结果显示, MK 对嗜酸性粒细胞、杯状细胞、平滑肌细胞等均有抑制作用, 主要是通过通过对上皮组织中的纤维化改变、胶原沉淀等产生抑制, 进而发挥作用^[3-4]。然而, 目前涉及 MK 对 PF 干预效果的研究较少, 相关作用机制仍不清楚。本研究采用博来霉素建立大鼠 PF 模型, 并采用 MK 联合强的松进行干预治疗, 观察干预前后肺泡炎症和 PF 病理程度、PF 相关因子表达水平的变化, 探讨 MK 联合糖皮质激素对 PF 干预效果及机制。

1 材料与方 法

1.1 材料及试剂

选取西南医科大学附属医院中心实验室的 75 只 Wistar 大鼠, 重量(208 ± 12)g, 均达到清洁级别。注射用盐酸博来霉素(批号: 201550, 日本化药株式会社, 15 mg/瓶)。孟鲁司特(10 mg/片, 批号: H200833 72, 山东鲁南贝特制药有限公司)。强的松(125 mg/支, 批号: H32022728, 江苏扬州制药有限公司)。转化生长因子 β_1 (transforming growth factor β_1 , TGF- β_1) 和结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的检测采用酶联免疫法, 试剂盒、抗 CTGF 多克隆抗体购自英国 Abcam 公司, 抗 TGF- β_1 多克隆抗体、多克隆抗体由武汉博士德公司提供, 辣根过氧化物酶标记二抗由北京中山公司提供, 大鼠 Masson 三色染色法试剂盒由珠海贝素生物技术公司提供。

1.2 动物分组及模型制备

60 只选定的 Wistar 大鼠按照随机数字表法划分为 5 个组, 即空白对照组、模型对照组、MK 组、强

的松组及联合干预组, 每组 12 只大鼠。取生理盐水 0.2 ml 滴入空白对照组大鼠气管内, 余下的 4 个组取 0.2 ml 博来霉素缓慢注入, 剂量为 5 mg/kg。注入药物后将大鼠直立并旋转, 保证药物均匀分散在肺部, 处理完成后放置在实验室进行喂养观察。建模后 48 h, 空白对照组与模型对照组经腹腔注射生理盐水 5.0 ml/(kg·d), MK 组生理盐水处置与空白对照组相同, 另给予孟鲁司特 10 mg/(kg·d)灌胃处理, 强的松组经腹腔注射强的松 1.0 g/L[5.0 ml/(kg·d)], 联合干预组处置方法为将 MK 组和强的松组处理方法联合。空白对照组与模型对照组、强的松组都采用等量的生理盐水进行灌胃处理。

1.3 标本取材及处理

各组分别于第 7 天和第 28 天予以氯胺酮麻醉后腹主动脉放血法, 处死 6 只大鼠。大鼠处死后打开胸腔, 结扎右肺门, 分离气管和肺组织, 迅速将右下肺组织置于 10%中性甲醛缓冲液中固定 24 h, 常规脱水和包埋制备石蜡切片, 用苏木精-伊红染色法(hematoxylin-eosin staining, HE)染色和免疫组织化学法进行病理学检测, 第 28 天动物肺组织石蜡切片用 Masson 染色进行病理学检测。左肺置于液氮中, 过夜后置入 -70℃冰箱低温保存, 取大鼠肺组织 100 mg, 用研磨制备组织匀浆, 严格按酶联免疫吸附试验试剂盒说明书要求, 测定肺组织 CTGF 和 TGF- β_1 的表达水平。

1.4 标本检测

将标本制作为石蜡切片, 分别完成染色处理, 方法分别为 HE 染色、Masson 染色, 将切片放置于光学显微镜下观察, 分析肺部组织的改变。肺泡、肺纤维化改变的评定根据 SZAPIEL 等^[5]方法进行评定, 对其进行分级, 并以评分系统完成测评。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 19.0 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, 用单因素方差分析, 组间多重比较用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 标本观察

空白对照组第 7 天、第 28 天肉眼观察大鼠肺组织呈鲜红色,质地饱满柔韧。模型对照组第 7 天外观明显肿胀,有新鲜出血点;第 28 天时大鼠两肺呈灰白色,肺表面皱缩,表面可见散在结节样改变,质稍硬。MK 组、强的松组及联合干预组与模型对照组比较,在第 7 天时两肺肿胀程度减轻,表面鲜见出血点;第 28 天时时大鼠两肺呈灰白相间,质韧,表面无结节样改变。

2.2 肺病理组织学改变及肺泡炎、肺纤维化评分

空白对照组肉眼观察大鼠肺组织呈鲜红色,质地饱满柔韧。HE 染色显示,肺泡结构清晰,肺泡壁薄未发生塌陷,无其他异常现象,如炎症浸润、出血等。模型对照组第 7 天两肺支气管壁炎症渗出明显,伴有肺泡出血,肺泡间隔增宽;第 28 天镜下可见肺泡组织炎症浸润减少,但结构被严重破坏,纤维化发生。MK 组、强的松组及联合干预组 3 组第 7 天镜下观察可见双肺支气管壁发生炎症浸润;对照组模型组相对较轻,肺泡间隔呈轻度水肿,略增厚,肺泡炎症细胞较之前减少;第 28 天时 3 个组肺部组织炎

症浸润均改善,对照组模型组肺泡结构破坏程度最轻,联合组纤维化最轻微。各组第 7 天和第 28 天肺泡炎、肺纤维化评分比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=192.757$ 和 76.408 , $P=0.000$)。其中,模型对照组肺泡炎评分在第 7 天和第 28 天均高于其他 4 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Masson 染色显示,模型对照组第 28 天大鼠肺间质组织和肺泡机构破坏严重,胶原纤维明显增多,见弥漫、致密的纤维化。MK 组、强的松组及联合干预组染色较模型对照组明显减轻,程度最轻的为联合干预组, MK 组与强的松组相比稍显严重。经方差分析,差异有统计学意义($F=335.236$ 和 339.181 , $P=0.000$)。其中,模型对照组肺纤维化评分在第 7 天、第 28 天均高于其他 4 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1、2 和图 1。

2.3 肺内组织 TGF- β_1 、CTGF 表达的变化

免疫组织化学法染色显示,间质组织中出现棕黄色为阳性显色。各组第 7 天和第 28 天肺内组织 TGF- β_1 、CTGF 表达比较,经方差分析,差异有统计学意义(TGF- β_1 : $F=155.029$ 和 71.405 , $P=0.000$; CTGF: $F=42.405$ 和 46.577 , $P=0.000$)。空白对照组肺组织仅较大血管平滑肌和气道平滑肌见少量 TGF- β_1 、CTGF 阳染组织,模型对照组肺组织可见

表 1 5 组肺泡炎评分比较 ($n=6$,分, $\bar{x}\pm s$)

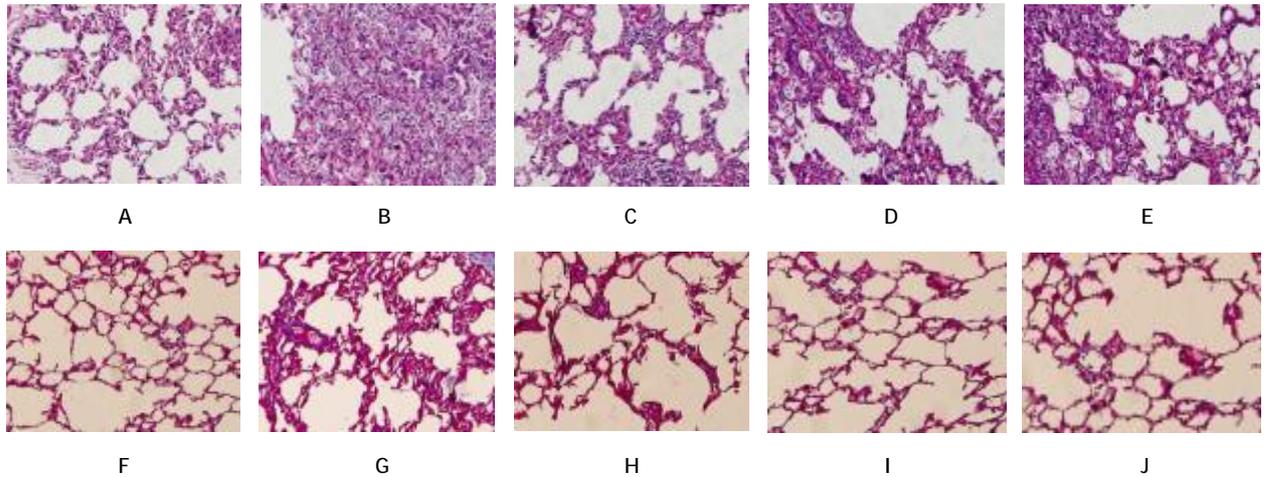
组别	第 7 天	t_1 值	P_1 值	第 28 天	t_2 值	P_2 值
空白对照组	0.47 ± 0.16	27.488	0.000	0.25 ± 0.06	16.637	0.000
模型对照组	2.73 ± 0.15	-	-	1.84 ± 0.18	-	-
孟鲁斯特组	1.75 ± 0.14	11.919	0.000	1.26 ± 0.16	6.069	0.000
强的松组	1.86 ± 0.09	10.582	0.000	1.02 ± 0.15	8.580	0.000
联合干预组	1.63 ± 0.16	13.379	0.000	0.75 ± 0.23	11.405	0.000
F 值	192.757			76.408		
P 值	0.000			0.000		

注: t_1 、 P_1 : 与第 7 天模型对照组比较; t_2 、 P_2 : 与第 28 天模型对照组比较

表 2 5 组肺纤维化评分比较 ($n=6$,分, $\bar{x}\pm s$)

组别	第 7 天	t_1 值	P_1 值	第 28 天	t_2 值	P_2 值
空白对照组	0.23 ± 0.08	35.181	0.000	0.32 ± 0.11	36.266	0.000
模型对照组	2.59 ± 0.12	-	-	2.76 ± 0.13	-	-
孟鲁斯特组	1.86 ± 0.11	10.883	0.000	1.91 ± 0.08	12.634	0.000
强的松组	1.91 ± 0.15	10.137	0.000	1.72 ± 0.15	15.458	0.000
联合干预组	1.73 ± 0.11	12.820	0.000	1.66 ± 0.10	16.350	0.000
F 值	335.236			339.181		
P 值	0.000			0.000		

注: t_1 、 P_1 : 与第 7 天模型对照组比较; t_2 、 P_2 : 与第 28 天模型对照组比较



A: 第 7 天空白对照组 HE 染色; B: 第 7 天模型对照组 HE 染色; C: 第 7 天 MK 组 HE 染色; D: 第 7 天强的松组 HE 染色; E: 第 7 天联合干预组 HE 染色; F: 第 28 天空白对照组 Masson 染色; G: 第 28 天模型对照组 Masson 染色; H: 第 28 天 MK 组 Masson 染色; I: 第 28 天强的松组 Masson 染色; J: 第 28 天联合干预组 Masson 染色

图 1 第 7 天和第 28 天的 HE 染色、Masson 染色 (× 400)

TGF-β₁、CTGF 大量阳染细胞, 阳染细胞聚集成片, 形成典型的成纤维细胞灶, 与空白对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); MK 组、强的松组及联合干预组大鼠肺组织仍可见成纤维细胞灶存在, 其中联合干预组在第 28 天免疫组织化学法染色阳性面积率低于模型对照组 ($P < 0.05$)。见表 3、4 和图 2。

2.4 血清 CTGF、TGF-β₁ 水平的变化

各组第 7 天和第 28 天血清 CTGF、TGF-β₁ 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 (CTGF: $F = 80.573$ 和 117.861 , $P = 0.000$; TGF-β₁: $F = 6.727$ 和 18.937 , $P = 0.000$)。MK 组、强的松组、联合干预组血清 CTGF、TGF-β₁ 水平均低于模型对照组。其中联

表 3 5 组大鼠不同时间肺组织 TGF-β₁ 阳性染色面积比 ($n = 6, \%, \bar{x} \pm s$)

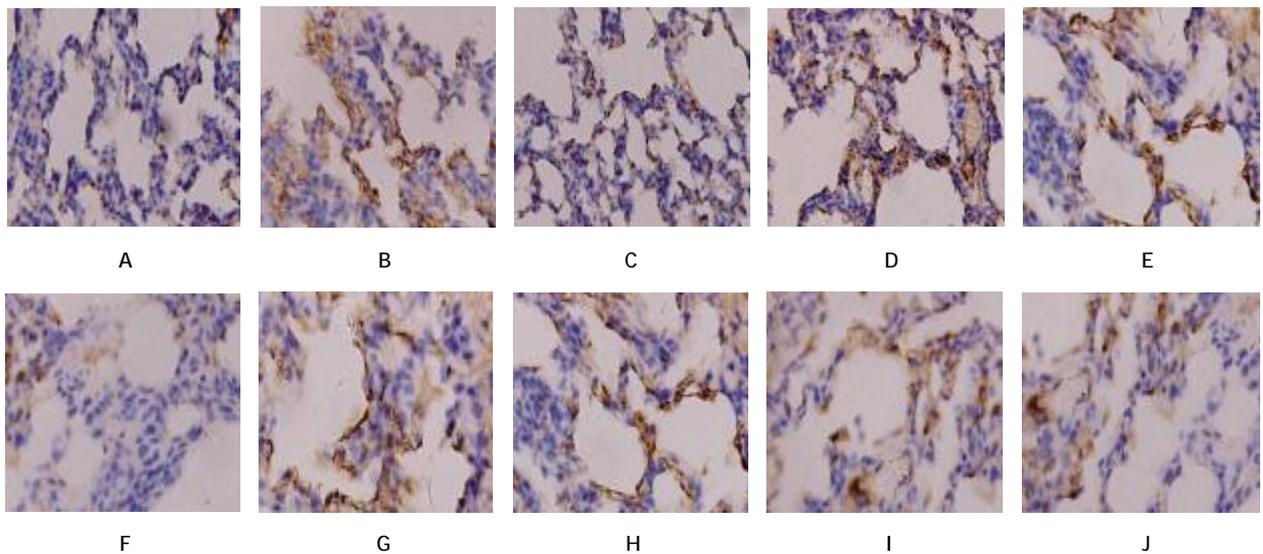
组别	第 7 天	t_1 值	P_1 值	第 28 天	t_2 值	P_2 值
空白对照组	3.331 ± 1.093	20.390	0.000	3.34 ± 0.99	14.926	0.000
模型对照组	18.402 ± 1.625	-	-	19.50 ± 1.86	-	-
孟鲁斯特组	17.857 ± 1.121	0.737	0.468	17.20 ± 0.97	2.124	0.044
强的松组	17.65 ± 1.232	1.017	0.319	17.10 ± 2.85	2.217	0.036
联合干预组	17.56 ± 1.259	1.139	0.265	16.52 ± 2.02	2.752	0.011
F 值	155.029			71.405		
P 值	0.000			0.000		

注: t_1, P_1 : 与第 7 天模型对照组比较; t_2, P_2 : 与第 28 天模型对照组比较

表 4 5 组大鼠不同时间肺组织 CTGF 阳性染色面积比 ($n = 6, \%, \bar{x} \pm s$)

组别	第 7 天	t_1 值	P_1 值	第 28 天	t_2 值	P_2 值
空白对照组	2.44 ± 0.86	11.326	0.000	2.34 ± 0.99	12.432	0.000
模型对照组	15.68 ± 1.68	-	-	15.80 ± 1.86	-	-
孟鲁斯特组	15.05 ± 0.93	0.539	0.595	13.3 ± 0.97	2.309	0.029
强的松组	13.14 ± 2.48	2.173	0.039	13.10 ± 2.85	2.494	0.020
联合干预组	12.74 ± 3.15	2.515	0.019	12.52 ± 2.02	3.030	0.006
F 值	42.405			46.577		
P 值	0.000			0.000		

注: t_1, P_1 : 与第 7 天模型对照组比较; t_2, P_2 : 与第 28 天模型对照组比较



A: 第 7 天空白对照组;B: 第 7 天模型对照组;C: 第 7 天 MK 组;D: 第 7 天强的松组;E: 第 7 天联合干预组;F: 第 28 天空白对照组;G: 第 28 天模型对照组;H: 第 28 天 MK 组;I: 第 28 天强的松组;J: 第 28 天联合干预组

图 2 第 7 天和第 28 天免疫组织化学法染色 (× 400)

表 5 5 组大鼠不同时间血清 TGF-β₁ 水平变化比较 (n=6, ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	第 7 天	t ₁ 值	P ₁ 值	第 28 天	t ₂ 值	P ₂ 值
空白对照组	22.19 ± 1.51	15.108	0.000	22.44 ± 1.71	18.714	0.000
模型对照组	64.16 ± 2.27	-	-	66.44 ± 2.22	-	-
孟鲁斯特组	64.66 ± 6.30	-0.180	0.859	61.10 ± 2.38	2.271	0.032
强的松组	57.64 ± 5.20	2.347	0.027	63.55 ± 5.52	1.229	0.230
联合干预组	56.52 ± 6.45	2.750	0.011	57.30 ± 6.24	3.887	0.001
F 值	80.573			117.861		
P 值	0.000			0.000		

注: t₁、P₁: 与第 7 天模型对照组比较; t₂、P₂: 与第 28 天模型对照组比较

表 6 5 组大鼠不同时间血清 CTGF 水平变化比较 (n=6, pg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	第 7 天	t ₁ 值	P ₁ 值	第 28 天	t ₂ 值	P ₂ 值
空白对照组	178.26 ± 18.40	4.478	0.000	169.68 ± 10.60	8.350	0.000
模型对照组	248.08 ± 34.40	-	-	281.06 ± 27.27	-	-
孟鲁斯特组	239.64 ± 32.43	0.541	0.593	246.35 ± 31.74	2.602	0.015
强的松组	237.06 ± 24.98	0.707	0.486	249.94 ± 17.97	2.333	0.028
联合干预组	210.11 ± 21.19	2.435	0.022	240.29 ± 21.96	3.057	0.005
F 值	6.727			18.937		
P 值	0.000			0.000		

注: t₁、P₁: 与第 7 天模型对照组比较; t₂、P₂: 与第 28 天模型对照组比较

合干预组血清 CTGF、TGF-β₁ 水平均低于模型对照组, 差异有统计学意义 (P<0.05)。见表 5、6。

3 讨论

PF 病因众多, 发病机制复杂, 属于弥漫性肺部疾病, 主要病理表现为大量成纤维细胞生成和肺泡

上皮受损^[6]。现代临床医学针对肺纤维化的治疗为抗炎、抗感染及避免向肿瘤转变等多种方式的对症治疗。糖皮质激素具有有效的抗炎作用, 且在病程早期能减轻肺间质水肿, 增加氧弥散能力, 是治疗肺纤维化最常用的抗炎药物^[7]。目前, 肺纤维化的治疗已成为临床学者的研究重点, 新型的抗纤维化制剂、白三

烯受体及细胞因子受体拮抗剂逐渐受到临床医师的关注^[8-9]。孟鲁司特是目前临床使用效果最佳的白三烯受体拮抗剂,其应用范围逐渐增宽,可有效阻止白三烯受体结合,对不同类型的炎性介质、细胞因子(促进纤维化)的生物特性有抑制作用^[10-11]。故笔者做出孟鲁司特与糖皮质激素联合使用可能对肺纤维化病变产生协同抑制作用的假设。本实验对大鼠进行建模研究(经气管滴注盐酸博莱霉素),分别在建模后第 7 天和第 28 天观察。模型对照组第 7 天发生炎症,肺纤维化改变在第 28 天达峰值,并与空白对照组产生明显的差异,与肺纤维化病变相符,说明本实验建模成功且具有有效性。

目前,认为多种炎症细胞激活和细胞因子异常表达共同刺激肺成纤维细胞增殖,细胞外基质合成增多,是导致肺泡壁和间质发生纤维化主要原因。在多种引起肺纤维化的细胞因子中,TGF- β_1 是最重要的调控因子^[12]。一方面 TGF- β_1 可促进成纤维细胞异常增殖,刺激成纤维细胞合成细胞外基质,使细胞外基质在肺间质和肺泡间过度积聚。另一方面,TGF- β_1 可诱导蛋白酶抑制剂的表达,最终导致基质的异常积聚和纤维形成^[13]。研究发现,孟鲁司特可通过抑制 TGF- β_1 、CTGF、白介素-6(Interleukin-6,IL-6)及 IL-13 等细胞因子和炎性介质的表达,起抑制上皮下结构胶原沉积、纤维化的作用^[14-16]。本研究结果发现,模型对照组血清和肺组织 TGF- β_1 水平在第 28 天显著升高,提示 TGF- β_1 可能促进肺纤维化的发生、发展。MK 组血清和肺组织 TGF- β_1 水平在第 28 天降低,结合 Masson 染色说明孟鲁司特可能抑制 TGF- β_1 的表达,延缓肺纤维化的进程。

结缔组织生长因子是在组织纤维化过程中发挥关键作用的细胞因子,是 TGF- β_1 的下游效应介质,能刺激成纤维细胞异常分泌外细胞外基质和肌成纤维母细胞激活^[17-18]。TGF- β_1 可通过与 CTGF 启动子区域结合,上调 CTGF 表达,两者共同促进肺纤维化的发生^[19]。本研究发现,模型对照组血清和肺组织 CTGF、TGF- β_1 水平在第 28 天显著升高,在 MK 组、强的松组、联合干预组血清和肺组织中 CTGF、TGF- β_1 水平均有不同程度的降低,其中联合干预组 CTGF、TGF- β_1 水平降低最明显,提示 MK 组和强的松可能通过协同下调 CTGF、TGF- β_1 在大鼠体内的表达水平,缓解大鼠肺纤维化的进程。

综上所述,孟鲁司特联合强的松对建模(博莱霉素)肺纤维化大鼠的干预具有有效性,可明显缓解肺

泡组织、肺纤维化病变程度。主要机制可能是通过对血清和肺部组织中的 CTGF、TGF- β_1 产生抑制作用,阻碍其生成表达,进而对肺泡壁、肺间质的纤维化产生抑制作用。两种药物的联合干预与单一使用时相比,疗效更佳,为临床治疗 PF 提供新的途径。

参 考 文 献:

- [1] KULKARNI T, O'REILLY P, ANTONY V B, et al. Matrix remodeling in pulmonary fibrosis and emphysema [J]. *American Journal of Respiratory Cell Molecular Biology*, 2016, 54(6): 751-760.
- [2] 刘静莎,陈献,高红梅,等.肿瘤标志物与特发性肺间质纤维化相关性的临床研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 8: 51-55.
- [3] SHIN I S, JEON W Y, SHIN H K, et al. Effects of montelukast on subepithelial/peribronchial fibrosis in a murine model of ovalbumin induced chronic asthma [J]. *International Immunopharmacology*, 2013, 17(3): 867-873.
- [4] RICCIONI G, DI I C, CONTI P, et al. Advances in therapy with antileukotriene drugs [J]. *Annals of Clinical Laboratory Science*, 2004, 34(4): 379-387.
- [5] SZAPIEL S V, ELSON N A, FULMER J D, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse. *Am rev respir dis* [J]. *American Review of Respiratory Disease*, 1979, 120(4): 893-899.
- [6] PHAN S H. Genesis of the myofibroblast in lung injury and fibrosis [J]. *Proceedings of the American Thoracic Society*, 2012, 9(3): 148-152.
- [7] ZHANG H T, FANG S C, WANG C Y, et al. MMP-9 1562C>T gene polymorphism and efficacy of glucocorticoid therapy in idiopathic pulmonary fibrosis patients [J]. *Genetic Testing Molecular Biomarkers*, 2015, 19(11): 125-134.
- [8] RANGARAJAN S, LOCY M L, LUCKHARDT T R, et al. Targeted therapy for idiopathic pulmonary fibrosis: where to now [J]. *Drugs*, 2016, 76: 1-10.
- [9] FRANCESCO B, SUSANNE S, LUTZ W. Idiopathic pulmonary fibrosis: current treatment options and critical appraisal of nintedanib [J]. *Psyche A Journal of Entomology*, 2015, 9(6): 22-26.
- [10] SOUZA F C R, GOBBATO N B, MACIEL R G, et al. Effects of corticosteroid, montelukast and iNOS inhibition on distal lung with chronic inflammation [J]. *Respiratory Physiology Neurobiology*, 2013, 185(2): 435-445.
- [11] SHIN I S, JEON W Y, SHIN H K, et al. Effects of montelukast on subepithelial/peribronchial fibrosis in a murine model of ovalbumin induced chronic asthma [J]. *International Immunopharmacology*, 2013, 17(3): 867-873.
- [12] RITTIÉ L. Another dimension to the importance of the extracellular matrix in fibrosis [J]. *Journal of Cell Communication Signaling*, 2015, 9(1): 99-100.
- [13] NHO R S, POLUNOVSKY V. Translational control of the fi-

- broblast-extracellular matrix association: An application to pulmonary fibrosis[J]. *Translation*, 2013, 1(1): DOI: 10.4161/tria.23934.
- [14] IZUMO T, KONDO M A. Effects of a leukotriene B-4 receptor antagonist on bleomycin-induced pulmonary fibrosis[J]. *European Respiratory Journal*, 2009, 34(6): 1444-1451.
- [15] SHIMBORI C, SHIOTA N, OKUNISHI H. Effects of montelukast, a cysteinyl-leukotriene type 1 receptor antagonist, on the pathogenesis of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice[J]. *European Journal of Pharmacology*, 2011, 650(650): 424-430.
- [16] SHIN I S, JEON W Y, SHIN H K, et al. Effects of montelukast on subepithelial/peribronchial fibrosis in a murine model of ovalbumin induced chronic asthma [J]. *International Immunopharmacology*, 2013, 17(3): 867-873.
- [17] YAN L F, WEI Y N, NAN H Y, et al. Proliferative phenotype of pulmonary microvascular endothelial cells plays a critical role in the overexpression of CTGF in the bleomycin-injured rat[J]. *Experimental & Toxicologic Pathology Official Journal of the Gesellschaft Fur Toxikologische Pathologie*, 2014, 66(1): 61-71.
- [18] KONO M, NAKAMURA Y, SUDA T, et al. Plasma CCN2 (connective tissue growth factor; CTGF) is a potential biomarker in idiopathic pulmonary fibrosis (IPF)[J]. *International Journal of Clinical Chemistry*, 2011, 412(23/24): 2211-2215.
- [19] SHENG H, WHITAKER B, BECK H, et al. Hyper-responsiveness of IPF/UIP fibroblasts: interplay between TGF beta1, IL-13 and CCL2[J]. *International Journal of Biochemistry Cell Biology*, 2008, 40(10): 2174-2182.

(童颖丹 编辑)