

· 基础研究 ·

青蒿琥酯对肺泡上皮细胞 TGF- β_1 /MAPK 通路的影响*陈娟, 王昌明[△], 周燕, 黎红秀

(桂林医学院附属医院呼吸内科, 广西桂林 541001)

摘要:目的 探讨青蒿琥酯在转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)诱导的上皮细胞-间质细胞转分化(EMT)过程中的作用及其可能机制。方法 体外培养大鼠肺泡 II 型上皮细胞, 四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测青蒿琥酯半数抑制浓度(IC₅₀), 根据 IC₅₀ 选择药物干预浓度。细胞分为 6 组, 对照组, TGF- β_1 3 ng/mL 组(TGF- β_1 组), TGF- β_1 3 ng/mL+青蒿琥酯 1、2、4、8 mg/L 组(分别为 TGF- β_1 联合 1、2、3、4 组)。培养 24 h 后, 在倒置显微镜下观察细胞形态; 收集细胞, 提取总蛋白进行 Western blot 检测各组 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38MAPK)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、V-波形蛋白(Vim)的表达情况。结果 青蒿琥酯作用于 TGF- β_1 诱导的肺 II 型上皮细胞 24 h 的 IC₅₀ 为 8.86 mg/L; 在 TGF- β_1 作用下, 与对照组比较, p38MAPK、 α -SMA、Vim 蛋白表达增加($P < 0.05$); 在 TGF- β_1 诱导细胞时给予青蒿琥酯作用, p38MAPK、 α -SMA、Vim 蛋白较 TGF- β_1 组均表达明显减少($P < 0.01$), 且呈浓度依赖性。结论 青蒿琥酯能抑制 TGF- β_1 诱导的 EMT 过程, 且呈浓度依赖性。其机制可能为抑制 p38MAPK 的表达。

关键词: 转化生长因子 β_1 ; 青蒿素; p38 丝裂原活化蛋白激酶; 上皮细胞; 间质细胞; 细胞转分化

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.14.015

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)14-1604-03

Effects of artesunate on expression of TGF- β_1 /MAPK signal pathway in alveolar epithelial cells*Chen Juan, Wang Changming[△], Zhou Yan, Li Hongxiu

(Department of Respiratory Medicine, Affiliated Hospital, Guilin Medical College, Guilin, Guangxi 541001, China)

Abstract: Objective To study the effect of artesunate on the process of TGF- β_1 induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) and its possible mechanism. **Methods** To establish the in vitro experimental-model of rat alveolar epithelial type II (AT2) cells RLE-6TN. To detect artesunate IC₅₀ by MTT assay and select the concentration of drug intervention based on artesunate IC₅₀. The cells were divided into 6 groups randomly, blank control group, TGF- β_1 (3 ng/mL), TGF- β_1 (3 ng/mL) + Art (1 mg/L) group, TGF- β_1 (3 ng/mL) + Art (2 mg/L) group, TGF- β_1 (3 ng/mL) + Art (4 mg/L) group and TGF- β_1 (3 ng/mL) + Art (8 mg/L) group. The cell morphology was observed by inverted microscope after 24 h culturing. Then cells were collected and total protein was extracted from them for detecting the expression of p38MAPK, α -SMA and Vim of each group by Western blot assay. **Results** Artesunate IC₅₀ was 8.86 mg/L at 24 h. Under the effects of TGF- β_1 , compared with the blank control group, p38MAPK, α -SMA and Vim protein expressions were increased ($P < 0.05$). To give artesunate effect after TGF- β_1 inducing cells, compared with the TGF- β_1 group, p38MAPK, α -SMA and Vim protein expressions were significantly reduced with the concentration-dependence ($P < 0.01$). **Conclusion** Artesunate can inhibit the TGF- β_1 induced epithelial-mesenchymal transition process with the concentration-dependence. The possible mechanism is the inhibition of p38MAPK protein expression.

Key words: transforming growth factor beta1; artemisinin; p38 mitogen-activated protein kinases; epithelial cells; stromal cells; cell transdifferentiation

特发性肺纤维化(idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是一组多种病因引起的以气道受损、炎症因子大量分泌、间充质细胞增生和细胞外基质异常沉积为特点的渐进性疾病, 患者确诊后平均生存期仅 3~5 年^[1]。IPF 发病机制不明, 近年来国内外研究表明肺泡上皮细胞-间质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肺纤维的重要机制之一, 细胞因子转化生长因子- β_1 (transforming growth factor beta1, TGF- β_1) 可通过活化 p38 丝裂原活化蛋白激酶类(p38 mitogen-activated protein kinases, p38MAPK)诱导 EMT 过程^[2]。目前, 对 IPF 尚缺乏有效的治疗方法, 临床上常用糖皮质激素和免疫抑制剂, 但效果并不满意。本课题组前期研究表明, 青蒿素衍生物青蒿琥酯除抗疟疾外, 还具有抗纤维化作用^[3-4]。本研究用青蒿琥酯为工具药, 研究在其干预下对 TGF- β_1 诱导的 EMT 过程中的影响及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料 永生化大鼠肺泡 II 型上皮细胞(rat lung epithelial-t-antigen negative, RLE-6TN)株购自中南大学湘雅实验中心细胞库。TGF- β_1 购自 Peprotech 公司(美国); 四甲基偶氮唑盐(MTT)粉剂购自 sigma 公司(美国); Total RNA 提取试剂、逆转录试剂盒购自 TaKaRa 宝生物工程大连有限公司; 引物由 Invitrogen 公司设计合成; 组织细胞裂解液(tissue and cell lysis solution, WIP)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自北京博奥森生物技术有限公司; p38MAPK 兔抗人一抗购自 Santa cruz(美国); α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)兔抗人单克隆抗体购自 ABBOTEC 公司(美国); V-波形蛋白(vimentin, Vim)兔抗人一抗购自 Bioworld Technology; 辣根酶标记山羊抗兔 IgG 购自中杉金桥; 胎牛血清购自 GIBCO 公司; 1640 培养基购自 HyClone 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 RLE-6TN 细胞在 37 ℃、5% CO₂、饱和湿度的条件下用含 10% 胎牛血清的 1640 培养基培养。稳定传代后用含 1% 胎牛血清的培养液培养细胞同步化 24 h, 根据相关文献及预实验结果, 诱导剂 TGF-β₁ 按说明书配置好母液后稀释于含 1% 胎牛血清的培养液中, 终浓度为 3 ng/mL, 青蒿琥酯用 NaHCO₃ 溶解后再调整到相应终浓度作用于细胞。

1.2.2 细胞分组 MTT 粉剂用 PBS 配成 5 mg/mL 的存储液, 过滤除菌, 4 ℃ 保存。将细胞分为 6 组, 1 个对照组、5 个实验组 (其中 1 个诱导组, 4 个药物干预组)。计数细胞, 3 000 个/孔细胞种植 96 孔板, 设 5 个复孔, 在 1% FBS (对照组)、TGF-β₁ 3 ng/mL (TGF-β₁ 组)、TGF-β₁ 3 ng/mL + 青蒿琥酯 1 mg/L (TGF-β₁ 联合 1 组)、TGF-β₁ 3 ng/mL + 青蒿琥酯 2 mg/L (TGF-β₁ 联合 2 组)、TGF-β₁ 3 ng/mL + 青蒿琥酯 4 mg/L (TGF-β₁ 联合 3 组)、TGF-β₁ 3 ng/mL + 青蒿琥酯 8 mg/L (TGF-β₁ 联合 4 组) 作用细胞 24 h 后加入 MTT 溶液至终浓度 0.5 mg/mL, 继续培养 4 h, 吸干净 MTT 溶液, 加入二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 150 μL, 避光平摇 10 min, 用酶标仪测定 490 nm 处的吸光度值 (A)。根据抑制率 = [(对照组 OD₄₉₀ 值 - 实验组 OD₄₉₀ 值) / 对照组 OD₄₉₀ 值] × 100% 计算细胞抑制率。用寇式改良法计算 IC₅₀, 根据 IC₅₀ 选择药物干预浓度进行以下实验。

1.2.3 倒置显微镜观察 当细胞生长融合至 60%~80% 时, 弃培养液, 换含 1% 胎牛血清的 1640 培养液静置 24 h, 换新鲜静止液, 于对照组、TGF-β₁ 组及 TGF-β₁ 联合 1、2、3、4 组培养液中分别加入 1% FBS、TGF-β₁ 3 ng/mL 及 TGF-β₁ 3 ng/mL + 青蒿琥酯 1、2、4、8 mg/L 作用细胞 24 h 后, 使用倒置相差显微镜观察细胞形态学的改变并拍照。

1.2.4 Western blot 检测上皮及间质细胞标志物的表达 各组细胞生长、培养同 1.2.3, 培养细胞 24 h 后用 WIP 裂解液 (1 mL) + 蛋白酶抑制剂 (10 μL) + 磷酸酶抑制剂 (10 μL) 混合, 每皿 (d=10 cm) 加入 WIP 裂解液混合液 200 μL, 冰上裂解 45

min, 用细胞刮刮下后离心取上清液, BCA 蛋白测定试剂盒做标准曲线测定蛋白浓度后, 取 30 μg 样品蛋白进行 10% 的十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺 (SDS-PAGE) 凝胶变性电泳, 然后转膜至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜, 加入一抗, 37 ℃ 孵育 2 h, Tris-Buffered-Saline with Tween-20 (TBST) 洗涤后加辣根酶标记二抗, 37 ℃ 孵育 2 h, TBST 洗涤后加适量 ECL 发光液 (ECL luminous liquid) 暗室发光, 曝光后在凝胶成像系统下扫描并获取密度值。

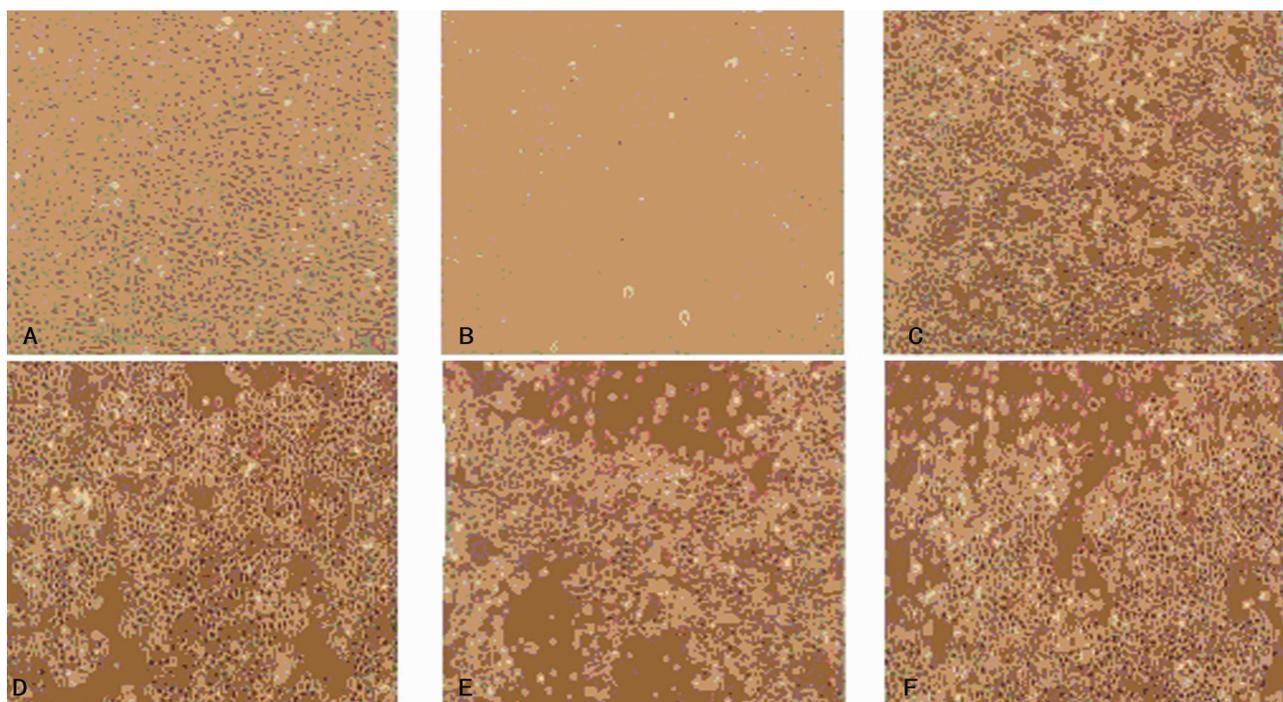
1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析, 各实验均重复 3 次。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 差异显著性分析采用 One-way ANOVA 分析, 组间采用方差分析比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 青蒿琥酯对 TGF-β₁ 诱导的 RLE-6TN 细胞增殖的影响 TGF-β₁ 作用于 RLE-6TN 24 h 后, 细胞较对照组增殖明显 ($P < 0.05$); 青蒿琥酯不同浓度作用于 TGF-β₁ 诱导的 RLE-6TN 24 h 后, 细胞增殖受到抑制 (表 1)。根据抑制率用寇式改良法计算 IC₅₀, 24 h IC₅₀ = 8.86 mg/L。

2.2 青蒿琥酯对 TGF-β₁ 诱导的 RLE-6TN 细胞形态的影响 与对照组比较, 加入 TGF-β₁ 后, RLE-6TN 由铺路石状上皮形态变成梭形、纺锤形, 而且其细胞间隙略变大, 细胞和细胞之间的连接变得松散。在 TGF-β₁ 诱导后再加入青蒿琥酯, 即 TGF-β₁ 联合 1、2、3、4 组, 与 TGF-β₁ 组比较, 细胞的梭形结构减少, 部分恢复铺路石状上皮形态, 但细胞之间连接仍松散, 见图 1。

2.3 青蒿琥酯对 TGF-β₁ 诱导的 RLE-6TN 细胞 p38MAPK 及间质细胞标志蛋白表达的影响 细胞培养 24 h 后, TGF-β₁ 诱导 RLE-6TN 表达 p38MAPK、α-SMA、Vim 均较对照组明显增加 ($P < 0.05$), 青蒿琥酯作用于 TGF-β₁ 诱导的 RLE-6TN 后, p38MAPK、α-SMA、Vim 表达均较 TGF-β₁ 组明显减少 ($P < 0.01$), 且各组间减少呈剂量依赖性 ($P < 0.05$)。内参为甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH), 各组蛋白表达的电泳图, 见图 2。



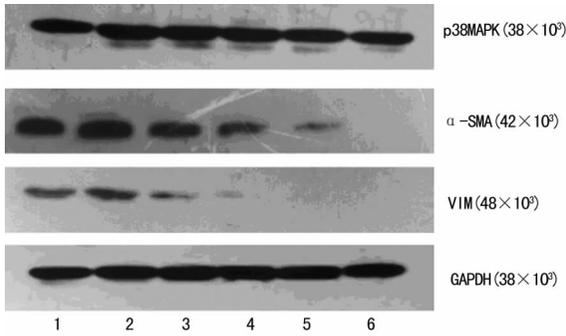
A: 对照组; B: TGF-β₁ 组; C: TGF-β₁ 联合 1 组; D: TGF-β₁ 联合 2 组; E: TGF-β₁ 联合 3 组; F: TGF-β₁ 联合 4 组。

图 1 倒置显微镜下各组细胞形态 (×100)

表 1 各组细胞 24 h 后增殖抑制率比较

组别	OD 值	抑制率 (%)
对照组	0.26±0.09	—
TGF-β ₁ 组	0.38±0.05*	—
TGF-β ₁ 联合 1 组	0.31±0.04*▲	18.42
TGF-β ₁ 联合 2 组	0.28±0.02*▲	26.32
TGF-β ₁ 联合 3 组	0.27±0.06*▲	28.95
TGF-β ₁ 联合 4 组	0.20±0.02*▲	47.37

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; ▲: $P < 0.05$, 与 TGF-β₁ 组比较; —: 此项无数据。



1: 对照组; 2: TGF-β₁ 组; 3: TGF-β₁ 联合 1 组; 4: TGF-β₁ 联合 2 组; 5: TGF-β₁ 联合 3 组; 6: TGF-β₁ 联合 4 组。

图 2 各组蛋白表达的电泳图

3 讨 论

肺间质纤维化 (Pulmonary fibrosis, PF) 是一组多种病因引起的以气道、肺泡结构排列紊乱, 胶原大量沉积为特点的渐进性疾病。临床表现为刺激性干咳、无痰、进行性的呼吸困难等, 最终可以引起呼吸功能衰竭而死亡。目前肺纤维化的病因及其发病机制尚未完全阐明, 但都有其共同规律, 肺部受感染或损伤后, 损伤的肺上皮细胞和血管内皮细胞产生大量的细胞因子, 刺激炎症细胞的聚集、活化, 分泌胶原等细胞外基质, 沉积在肺间质, 导致肺纤维化^[5]。

TGF-β₁ 是一种多效性的细胞因子, 是目前肺纤维化的研究热点和重要药物作用靶点。TGF-β₁ 可由淋巴细胞、单核细胞、上皮细胞和成纤维细胞等多种细胞产生, 通过自分泌和旁分泌的方式调节细胞的增殖、分化、迁移、黏附、调节细胞外基质的代谢, 参与肺胚胎发育、组织损伤和修复^[6]。

Furukawa 等^[7]研究表明, TGF-β₁ 诱导 MAPK 磷酸化活性变化, 通过 MAPK 信号转导途径调节人肺上皮细胞向肌纤维母细胞转化, 产生大量的细胞外基质, 导致肺间质纤维化。肺泡上皮细胞 (alveolar epithelial cell, AEC) 包括 I 和 II 型, 肺泡 II 型上皮细胞 (type II alveolar epithelial cell or type II pneumocyte, AT II) 是一种多功能细胞, 对维持肺泡结构和功能有重要意义。它是 I、II 型上皮细胞的祖细胞^[8-9], 在正常细胞更新和损伤修复过程中, AT II 可以分化为 I 型细胞, 也可通过有丝分裂补充自身的数量。此外, AT II 具有合成和分泌肺表面活性物质, 维持肺泡内外液体平衡, 免疫调节等作用^[10]。

丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 (MAPKs) 信号通路是真核细胞转导细胞外信号到细胞内引起细胞反应的四大信号系统之一, 其参与了细胞生长、发育及细胞间功能同步等多种生理功能, 目前已知 MAPKs 由 4 个主要成员构成, 即细胞外信号调节激酶 (ERK1/ERK2)、应激活化蛋白激酶 (SAOK/JNK)、p38MAPK 和 ERK5。其中 p38MAPK 与肺纤维化过程密切相关^[11]。TGF-β₁ 诱导活化 TGF-β₁ 受体复合物, 级联活化

p38MAPK, p38MAPK 把信号传递到细胞核内, 活化 EMT 相关转录因子 Snail 家族蛋白中的 Snail1 和 Slug 表达, 从而引起细胞形态及分泌功能的改变。Snail 家族蛋白通过锌指结构域及 N- 末端结构域起着转录抑制子的作用, Snail1 在 EMT 过程中的作用早已有报道^[12]。

张新志等^[13]用抗纤灵冲剂作用于 SD 大鼠后, 发现抗纤灵冲剂可通过调节 TGF-β₁/p38MAPK 信号转导通路, 发挥抗肾小管间质纤维化效应。Matsuoka 等^[14]研究也证实, 用 p38MAPK 拮抗剂干预由博来霉素诱导的肺纤维化动物模型后纤维化程度明显减轻, 以上资料均显示 p38MAPK 的活化与纤维化的发生、发展密切相关。

Willis 等^[15]研究表明 Vim 是一种中间丝蛋白, 是间质细胞的典型标记物, α-SMA 是一种肌动蛋白, 几乎所有的真核细胞都表达肌动蛋白, 常用于标记间质细胞。TGF-β₁ 诱导的 EMT 早期变化就是细胞质内细胞骨架进行重排, 表达新的表型蛋白如 α-SMA, 细胞质内肌丝也从上皮型的角蛋白 (cytokeratin, CK) 转变为间质细胞的 Vim。细胞黏附连接主要成分 E-钙黏蛋白的下调或丢失, 紧密连接成分的下调, 以及间充质细胞特异性的蛋白标记, 如纤维连接蛋白、Vim 和 N-钙黏蛋白的表达上调已成为人们判断 EMT 发生的重要的分子指标^[16]。

青蒿琥酯是抗疟疾的有效单体, 近年来研究发现青蒿琥酯除了有很好的抗疟作用外, 还具有抗炎、抗肿瘤、抗纤维化等作用^[17]。本课题前期研究表明青蒿琥酯可以抑制人胚肺成纤维细胞增殖、促进其凋亡^[3-4], 且呈剂量依赖性。以上的研究结果为青蒿素防治肺纤维化提供了理论依据。但是目前国内外关于青蒿琥酯防治肺纤维化的研究报道较少, 主要是关于其对成纤维细胞增殖的抑制作用, 而对青蒿琥酯调控 TGF-β₁ 诱导的 EMT 的作用机制研究少见报道。

本研究稳定传代 AT II RLE-6TN 后, 予 TGF-β₁ 3 ng/mL 诱导 AT II 转分化为间质细胞, 结果表明, TGF-β₁ 作用于 RLE-6TN 24 h 后, p38MAPK、α-SMA、Vim 蛋白均表达增加 ($P < 0.05$)。可认为 TGF-β₁ 成功诱导 RLE-6TN 转分化为间质细胞, 其可能机制为活化 p38MAPK 蛋白。给予不同剂量的青蒿琥酯作用于 TGF-β₁ 诱导后的 RLE-6TN 24 h 后, 信号蛋白 p38MAPK 及间质细胞标志物 α-SMA、Vim 蛋白均较 TGF-β₁ 组表达明显减少 ($P < 0.01$), 且呈浓度依赖性。可认为青蒿琥酯对 TGF-β₁ 诱导的转分化过程有抑制作用, 且随着青蒿琥酯浓度的增加, 这种抑制作用逐渐增强。

综上所述, TGF-β₁ 能诱导 EMT 过程。青蒿琥酯具有抗纤维化作用, 其可能机制为抑制 p38MAPK 的活性从而抑制 EMT 过程。

参考文献:

- [1] 陈恒屹, 崔社怀. 特发性肺间质纤维化发病机制及治疗进展[J]. 中华肺部疾病杂志: 电子版, 2009, 2(1): 58-62.
- [2] 李飞凤, 周建华, 胡永斌, 等. p38MAPK 信号通路调控二氧化硅诱导的人支气管上皮细胞上皮-间质转型[J]. 工业卫生与职业病, 2011, 37(2): 69-73.
- [3] 王昌明, 张孝飞, 谭宁, 等. 青蒿琥酯对人胚肺成纤维细胞系 HFL-I 细胞增殖, 凋亡的影响及机制[J]. 山东医药, 2009, 50(3): 33-35.
- [4] 王昌明, 张孝飞, 黄岚珍, 等. 青蒿琥酯诱导人胚肺成纤维细胞凋亡的分子机制研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(11): 2837-2838.

iNOS/eNOS-NO 系统, 保护内皮功能, 抑制炎症反应, 减轻 AMI 后的梗死及无复流范围。

本研究结果还显示 SF 可以减轻缺血再灌注损伤, 减小梗死面积。SF 减少心肌 I/R 后梗死范围的机制是否与缩小无复流范围有关尚不清楚, Reffelmann 等^[10]认为无复流范围可能会减少灌注挽救的心肌组织, 因此无复流或许与心肌坏死之间存在因果关系。

综上所述, SF 可以通过保护内皮功能, 抑制炎症反应, 从而改善微循环, 减小大鼠心肌缺血再灌注后无复流面积, 这可能是其防治无复流, 改善预后的一条重要途径。但是 AMI 再灌注后无复流现象的发生机制复杂, 各种因素间可能相互促进、相互影响, 有待进一步探讨。

参考文献:

[1] 刘玲梅, 张梅, 刘艳红, 等. 替罗非班对大鼠心肌缺血再灌注后无复流及 NF- κ B 激活的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(10):1892-1897.

[2] 钱国强, 蔡川, 梁雪冰, 等. 当归四逆汤有效成分组合对大鼠缺血再灌注模型中 iNOS eNOS 表达相关性的实验研究[J]. 中成药, 2011, 33(6):1039-1041.

[3] 吕宏升, 朱庆生, 王军, 等. 全自动显微镜及图像分析系统处理免疫组化图像[J]. 中国体视学与图像分析, 2004, 9(1):37-40.

[4] Reffelmann T, Kloner RA. Microvascular reperfusion injury: rapid expansion of anatomic no reflow during reperfusion in the rabbit[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 283(3):H1099-1107.

[5] 黄雨胜, 张英杰, 阿托伐他汀对大鼠心肌缺血再灌注后无复流的影响[J]. 广东医学, 2012, 33(7):890-893.

[6] 李海英, 吕艳霞. 阿魏酸钠对缺血-再灌注损伤影响的研究进展[J]. 河北医药, 2009, 31(8):995-996.

[7] Helmy SA, Wahby MA, El-Nawaway M. The effect of anaesthesia and surgery on plasma cytokine production[J]. *Anaesthesia*, 1999, 54(8):733-738.

[8] Rabelink TJ, Luscher TF. Endothelial nitric oxide synthase: host defense enzyme of the endothelium? [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(2):267-271.

[9] Movahed MR, Butman SM. The pathogenesis and treatment of no-flow occurring during percutaneous coronary intervention[J]. *Cardiovasc Revasc Med*, 2008, 9(1):56-61.

[10] Reffelmann T, Kloner RA. The no-reflow phenomenon: A basic mechanism of myocardial ischemia and reperfusion [J]. *Basic Res Cardiol*, 2006, 101(5):359-372.

[11] 刘现亮, 丁玲岩, 赵希军, 等. 阿魏酸对兔急性心肌梗死再灌注后无复流的影响[J]. 岭南心血管病杂志, 2009, 15(2):140-145.

[12] 姚素艳, 郑德宇, 李淑云, 等. 阿魏酸钠抑制 A β 25-35 诱导的小鼠腹腔巨噬细胞 p38MAPK 活化[J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23(3):449-452.

[13] Zhang B, Li S, Harbrecht BG. Akt-mediated signaling is induced by cytokines and cyclic adenosine monophosphate and suppresses hepatocyte inducible nitric oxide synthase expression Independent of MAPK P44/42 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1813(1):73-79.

[14] Allan RB. The nuclear factor- κ B-interleukin-6 signalling pathway mediating vascular inflammation[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 86(2):211-218.

[15] 潘会君, 唐宁, 华晓东, 等. 中药调控一氧化氮合酶-一氧化氮系统的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12):202-205.

[16] Liu CM, Ma JQ, Sun YZ. Puerarin protects rat kidney from lead-induced apoptosis by modulating the PI3K/Akt/eNOS pathway[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2012, 258(3):330-342.

(收稿日期:2012-09-08 修回日期:2013-01-22)

(上接第 1606 页)

[5] 孔琪, 秦川. 肺纤维化的发病机制及关键靶点[J]. 国外医学: 呼吸系统分册, 2005, 25(5):331-333, 336.

[6] 石永利, 孟凡青. TGF- β_1 诱导的上皮-间叶转变与肺纤维化[J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(5):527-529.

[7] Furukawa F, Matsuzaki K, Mori S, et al. p38MAPK mediates fibrogenic signal through Smad3 phosphorylation in rat myofibroblasts[J]. *Hepatology*, 2003, 38(4):879-889.

[8] Emura M. Stem cells of the respiratory epithelium and their in vitro cultivation[J]. *In Vitro Cell Dev Biol*, 1997, 33(1):3-14.

[9] Uhal BD. Cell cycle kinetics in the alveolar epithelium[J]. *Am J Physiol*, 1997, 272(6 Pt 1):L1031-1045.

[10] Pison U, Wright JR, Hawgood S. Specific binding of surfactant apoprotein SP-A to rat alveolar macrophages[J]. *Am J Physiol*, 1992, 262(4 Pt 1):L412-417.

[11] 黄政坤, 包建东, 戴军, 等. p38MAPK 抑制剂对急性肺损伤大鼠肺组织核因子- κ B 表达的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2007, 23(4):323-325.

[12] Nieto MA. The snail superfamily of zinc-finger transcription factors[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2002, 3(3):155-166.

[13] 张新志, 黄迪, 吴锋, 等. TGF- β_1 /p38MAPK 通路对肾间质纤维化影响及抗纤灵冲剂干预机制的实验研究[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(2):245-248.

[14] Matsuoka H, Arai T, Mori M, et al. A p38 MAPK inhibitor, FR-167653, ameliorates murine bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 283(1):L103-112.

[15] Willis BC, Dubois RM, Borok Z. Epithelial origin of myofibroblasts during fibrosis in the lung[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, 3(4):377-382.

[16] 宋建国, 王冬梅. 上皮细胞向间质细胞转变的调控及其与细胞凋亡的关系[J]. 生命科学, 2010, 22(11):1147-1153.

[17] 杨耀芳. 青蒿素及衍生物的药理作用和临床应用[J]. 中国临床药理学杂志, 2003, 12(4):253-254.

(收稿日期:2012-10-18 修回日期:2013-02-20)