

黄芪及其药效成分干预肺纤维化 相关作用机制的实验研究进展

顾志荣¹, 李芳², 葛斌^{1*}

¹甘肃省人民医院药剂科; ²甘肃中医药大学, 兰州 730000

摘要: 黄芪含有皂苷类、黄酮类、多糖类、微量元素等多种药效成分。黄芪多糖(APS)、黄芪甲苷(AST)、环黄芪醇(CAG)、黄芪总皂苷(TSA)、黄芪黄酮(TFA)、黄芪水提物(WEA)等药效成分干预肺纤维化(PF)相关实验研究是黄芪研究的热点之一。大量国内外研究从调节多种信号传导通路, 调节细胞分化关键因子及基因的表达, 调节氧化应激(OS)反应, 调节炎症反应, 改善组织形态学, 端粒酶激活作用, 调节细胞外基质(ECM)及基质金属蛋白酶等多个方面, 试图揭示黄芪及其药效成分干预PF的作用机制。但多数研究均探讨了单一因子或信号通路, 而对于多种作用机制的网络调控关系缺少关注。基于多层次、多角度及系统生物学的思路研究黄芪及其药效成分干预PF的作用机制及治疗靶标应成为后续研究的重点。

关键词: 黄芪; 药效成分; 肺纤维化; 作用机制; 实验研究

中图分类号: R259

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.1.027

Experimental Research Progress on the Intervention Mechanism of Astragali Radix and Its Medicinal Composition on Pulmonary Fibrosis

GU Zhi-rong¹, LI Fang², GE Bin^{1*}

¹Department of Pharmacy, Gansu Provincial People's Hospital;

²Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: Astragali Radix had abundant medicinal compositions of saponins, flavonoids, polysaccharides and trace elements. A present hotspot was experiment mechanism study of Astragali Radix and its medicinal compositions on pulmonary fibrosis (PF), including astragalus polysaccharide (APS), astragaloside IV (AST), cycloastragenol (CAG), total saponins of astragalus (TSA), total flavonoids of astragalus (TFA), and watery extract of astragalus (WEA). A large number of domestic and foreign studies focused on revealing the intervention mechanism of Astragali Radix and its medicinal compositions on PF from the perspective of regulating signal transduction pathways, regulating key factors and gene expression of cell differentiation, regulating oxidative stress (OS) response, regulating inflammatory response, improving histomorphology, activating telomerase, and regulating extracellular matrix (ECM) and matrix metalloproteinases. However, most studies of them only investigated the single factor or signal pathway, and lacked of attention to network regulation relationship of multiple mechanisms. Based on multi-level, multi-angle and systematic biology, the study of intervention mechanism and treatment target of Astragali Radix and its medicinal compositions on PF should be the research emphasis in follow-up study.

Key words: Astragali Radix; medicinal compositions; pulmonary fibrosis; mechanism of action; experimental study

肺纤维化(Pulmonary fibrosis, PF)是一种肺部纤维增殖性疾病,其最终转归是并发肺部肿瘤、血管性疾病或进行性呼吸衰竭。特发性肺纤维化(Idiopathic pulmonary fibrosis, IPF)是PF最常见的类型,

是一种不可逆纤维化、原因不明、发生于成人、局限于肺及进行性致纤维化的间质性肺炎^[1]。PF主要累及肺间质、肺泡及细支气管,导致肺泡-毛细血管功能单位逐渐丧失,并最终发展为弥漫性PF及蜂窝肺。目前,PF及IPF的发病原因及分子机制仍不清楚。报道显示,IPF预后极差、死亡率极高,明确诊断后中位生存期在2~3年,除了肺移植及长期氧疗,目前尚无疗效确切的治疗手段^[2]。因此,探

收稿日期: 2017-09-06

接受日期: 2017-11-09

基金项目: 甘肃省人民医院青年科研项目(16GSSY7-2); 国家自然科学基金(81260597); 甘肃省中医药管理局科研项目(GZK-2015-45)

* 通信作者 E-mail: gjy0630@163.com

讨 PF 的发病机制,确定有效的治疗靶标,寻求疗效稳定且副作用小的治疗药物迫在眉睫。

2008 年日本率先批准了吡非尼酮(Pirfenidone, PFD)治疗 IPF,之后美国于 2014 年批准了尼达尼布(Nintedanib)用于治疗 IPF。PFD 的作用机制尚不清楚,在组织中的分布尚不明确,近十年来用于治疗 IPF 在国际上也引发了较大争议。Ⅲ期临床研究及一些 Cochrane 荟萃分析证实,PFD 用于治疗轻、中度 IPF 虽然有效,但相关研究均以用力肺活量(FVC%)为主要终点事件,而在改善生活质量、呼吸道症状及死亡率方面无可靠报道。PFD 最常见的严重不良事件为肝酶升高(3.7%)、对光敏感或皮疹(9.0%)以及胃肠道副作用(导致中断治疗患者比例为 2.2%),其常见副作用包括呼吸系统、消化系统、神经系统等数十种^[3]。尼达尼布是一种小分子酪氨酸激酶抑制剂(TKI),能够阻断多种生长因子受体参与 IPF 进程的信号通路,减少肺功能下降速度。但尼达尼布有支气管炎、心梗、体重下降、高血压等严重不良反应及多个系统的副作用,且不能用于中至重度肝病患者或孕妇^[4]。

当前,在西药治疗 PF 无能为力情况下,研究界将目光转向了中药。文献研究发现,采用中药治疗 PF 的药物多为具有补气益肺、化痰止咳、活血化瘀等功的单味药、单体成分、中药注射剂或中药复方,而黄芪及其药效成分则是相关研究的热点。黄芪含有皂苷、黄酮、多糖及微量元素等多种对人体有益的化学成分^[5]。其中,黄芪甲苷(Astragaloside IV, AST)及其皂苷元环黄芪醇(Cycloastragenol, CAG)、黄芪总皂苷(Total saponins of Astragalus, TSA)、黄芪多糖(Astragalus polysaccharide, APS)、黄芪黄酮(Total flavonoids of astragalus, TFA)、黄芪水提物(Watery extract of Astragalus, WEA)等多种药效成分均可通过多种机制干预 PF,本文试对相关实验研究作一综述。

1 调节多种信号传导通路

目前已知, TGF- β 、Wnt/ β -catenin/Fas、FasL、Btk、FGFR、Caspase、PI3K/Akt、MAPKs、p53、 β -catenin、Rho/Rock、bcl-2、酪氨酸激酶等多种信号传导通路参与了 PF 的细胞凋亡调节^[6]。一项 AST 干预大鼠 PF 相关基因的时空表达研究^[7]表明,模型组 28 天对比 7 天共有 2063 个基因表达差异,AST 干预后 28 天组对比模型 28 天组共有 4269 个基因表达差

异。这充分说明 FP 的进程及 AST 干预过程中,有多种不同的功能分类及信号传导途径参与。如徐昌君等^[8]研究表明,AST 可通过抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路增强 FP 模型动物肺组织的细胞自噬活性,阻止上皮间质分化的过程。Wang XH 等^[9]研究证实,APS 对大鼠肺组织中 Bax 及 Bcl-2 信号途径的相关蛋白表达有明显升高作用。李丽君等^[10]研究表明,大剂量黄芪煎剂能够通过抑制 Th17 细胞分化的关键基因 TGF- β 、IL-6 及 ROR γ t mRNA 信号通路,促进 Treg 细胞分化的关键信号通路 Foxp3 来抑制 IPF 模型小鼠的 PF 进程,提高其生存质量;大剂量黄芪煎剂发挥作用的机制也可能与 BASCs 细胞存活的关键通路 c-kit mRNA 表达水平被促进及 VEGF mRNA 的表达水平被抑制有关^[11]。

TGF- β 对肌成纤维的活化进行调控,目前认为其作用方式有 2 种:经典的 Smad 信号通路与非 Smad 信号通路,而 TGF- β /Smad 信号通路是目前研究最为成熟的通路。总结文献可知,黄芪中不同的化学组分干预 PF 的机制不尽相同。WEA 抑制 PF 可能与 TGF- β /Smad3/Flil 信号通路有关,可抑制成纤维细胞细胞外基质(Extracellular matrix, ECM)的过度生成^[12],而 ASP 可通过非 Smad 通路抑制 TGF- β 1 mRNA 表达来抗 PF^[13],黄芪注射液则通过参与调控 TGF- β /Smads 信号转导通路的传导抑制 PF^[14]。

总结文献可知,在诸多 PF 相关通路发挥信号传导、调节肺器官功能的过程中,它们存在密切的功能交互,单独研究某一个信号通路而忽略其它通路的交互功能机制,是目前黄芪及其药效成分干预 PF 相关研究的主要缺陷所在。并且,黄芪干预 PF 相关的诸多信号通路尚未开展研究,如与 PF 密切相关的 Rho/Rock 信号通路可能成为 PF 新的、有前景的治疗靶点;又如尼达尼布即是作用于酪氨酸激酶信号传导通路,而目前关于黄芪或其药效成分作用于该通道的相关研究鲜见报道。

2 调节细胞分化关键因子及基因的表达

TGF- β 在炎症形成的早期由巨噬细胞所分泌,一般被看作是 PF 启动及持续形成的枢纽所在。TGF- β 不仅能够促进肌成纤维细胞过度增值与分化,而且是促进肌成纤维细胞形成及胶原产生的关键因子,能够在肺间质及肺泡间产生大量 ECM,从

而导致 PF 发生^[15]。而血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)能够穿过细胞壁到达肺间质,促进内皮增殖、迁移及存活,刺激新生血管生成并增加血管通透性,维持血管完整性,因此在 PF 发生过程中发挥重要作用^[16]。如耿青霞等^[17]研究发现,WEA 能够抑制 IPF 模型小鼠肺中 TGF- β 基因、VEGF 基因及 I、III、IV、V 型胶原基因表达,促进肺中干细胞抗原 1(Sca-1)及上皮细胞粘附分子(EPCAM)生成,而孙增涛等^[18]研究得出了类似结论。王禹水等^[19]研究也发现,WEA 高、中、低剂量均能使 IPF 模型大鼠成纤维细胞及胶原纤维明显增生。

凝血活性降低是 IPF 患者的关键特征,但目前研究界对于内源性抗凝活性与 IPF 进展的潜在相关性仍然难以阐释。研究发现,内源性抗凝血蛋白 C(APC)途径对博来霉素(Bleomycin, BLM)所诱导 PF 的进展起到重要作用。最近一项体外实验表明,APC 通过抑制凝血酶依赖性巨噬细胞的迁移从而改变 PF 的进程^[20]。支气管肺泡干细胞(BASCs)具有分化成肺泡 II 型上皮细胞的能力,其作为肺泡 I 型上皮细胞的前体,是表面活性物质合成、分泌的主要场所,参与活性物质代谢、免疫调节、水及电解质转运等,而肺泡 II 型上皮细胞的凋亡能够促进炎症反应发生,并导致炎症后肺纤维的增生^[21]。李娟等^[22]研究发现,APS 能够明显降低 II 型细胞因子含量并升高 I 型细胞因子含量,从而调整 I 型/II 型细胞因子平衡及 TNF- α 表达,从而达到抗纤维化的作用。除了 Th17 细胞外,研究也发现 Th1/Th2 型细胞因子的平衡在 IPF 发病中至关重要。如张毅等^[23]研究发现,APS 能够通过维持 IPF 大鼠血清中 Th1/Th2 细胞因子平衡而达到减轻 IPF 的作用。此外,TFA 也能通过抑制 TNF- α 及 TGF- β 1 来有效抑制 PF 炎症反应及后期的纤维化过程^[24]。类表皮生长因子域 7 抗体(EGFL7)是内皮细胞分泌的蛋白质,研究发现其基因表达水平与肺细胞存活密切相关,因此被确定为治疗肺部损伤的潜在靶点之一^[25]。如 Wang XH 等^[9]研究证实,APS 对大鼠肺组织中 EGFL7 的表达有明显升高作用,而对 NF- κ Bp65、ICAM-1 和 TNF- α 的蛋白质和 mRNA 表达水平有明显的降低作用。

3 调节氧化应激反应

大量的自由基及低水平的抗氧化作用会产生氧

化应激(Oxidative stress, OS),此时机体肺部清除氧自由基的酶系统失去平衡,导致肺部生物分子产生化学变化,引起肺部结构及功能改变^[26]。动物实验表明,异常的抗氧化活性会使 PF 加剧。因此,氧化/抗氧化失衡被认为是 PF 的重要发病原因之一。目前,医学界已在 IPF 患者的肺部鉴定出 OS 的生物标志物^[27]。肺部 ECM 是调节细胞内稳态及伤口愈合的关键成分,因此作为 IPF 中 OS 的靶标,可能成为治疗 IPF 的重要靶点^[28]。目前大量研究证实^[29],黄芪、WEA、APS、TSA、黄芪注射液等均具有显著的抗氧化作用,其中尤以 APS 为研究热点。作为一种良好的抗氧化剂,APS 能明显抑制氧自由基生成,阻止氧自由基作用于膜脂质过氧化物,减少生物膜的损伤。如 Wang XH 等^[30]研究发现,APS 可通过抗氧化来减少气道重塑及肺泡损伤,具体表现为使超氧化物歧化酶(SOD)活性增加,而丙二醛(MDA)含量降低。刘永琦研究组^[31,32]发现,黄芪及 APS 对 BLM 诱导的小鼠 PF 有一定的缓解作用,其机制包括提高机体抗氧化、减轻自由基对机体的损伤及降低脂质过氧化物反应等。欧阳燕等^[33]研究发现,黄芪能通过降低 BLM 诱导的 IPF 小鼠肺组织中 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、丙二醛/总抗氧化能力比值(MDA/T-AOC)、NADPH 氧化酶 2(NOX2)、NOX4 和 SOD3 mRNA 表达而减缓 PF 形成,黄芪注射液^[14]也具有类似的作用。

4 调节炎症反应

炎症反应被认为是 IPF 发展过程中的继发反应。动物实验表明,IPF 所致肺损伤主要由巨噬细胞产生的 TNF- α 及 IL-1 β 介导,巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞等炎性细胞出现大量增殖并浸润,成纤维细胞增生并最终发生 PF^[34]。江龙等^[35]研究发现,APS 能够抑制肺部肿瘤坏死因子(TNF)、细胞间粘附分子-1(ICAM-1)和白细胞介素-6(IL-6)的过度表达,减轻肺部炎症级联反应;Wang XH^[30]等发现 APS 可通过调节炎症介质来减少气道重塑及肺泡损伤。耿青霞等^[17]发现,WEA 能使炎性渗出明显减少,IPF 病灶得到改善。TFA 与 TSA 均能抑制 BLM 诱导的 PF 炎症反应,但 TFA 优于 TSA,联合用药优于单独用药,且抗炎作用与抗 PF 作用具有一致性^[24]。尽管如此,我们也应认识到,虽然目前仍认为炎症反应是导致 PF 发生的首要原因之一,但临床采用抗炎药物及免疫抑制剂治疗 PF 的有效率不

足 30% ,且不良反应极为严重^[36]。

5 改善组织形态学

目前,BLM 诱导是否导致肺顺应性降低尚不明确,但 BLM 会导致肺体积缩小、变硬,肺总量、肺活量、功能残气量、残气量等肺功能明显降低^[37],而黄芪中 TFA、WEA、AST、ASP 等多种药效成分能够明显改善 BLM 诱导的实验动物肺部组织形态学。如蔺兴遥等^[38]研究发现,TFA 能够明显改善 IPF 模型大鼠肺动态顺应性的作用,潮气量、最大呼气量、肺泡通气量、每分钟通气量、最大呼气量等均有不同程度的升高。耿青霞等^[17]研究发现,WEA 能够促进 IPF 模型小鼠肺泡组织明显增生,肺泡干细胞数量明显升高,肺泡结构基本恢复。谢海彬等^[39]发现,AST 能通过有效抑制 IPF 大鼠肺组织中病理性微血管新生,从而达到干预 IPF 的作用,且其干预效果与剂量相关。此外,有研究证实 WEA、ASP 及 TSA 对 PF 大鼠肺泡 II 型上皮细胞超微结构均具有保护作用^[40]。

6 端粒酶激活作用

目前研究认为,PF 是端粒(Telomerase, TERT)所介导疾病的最常见表现之一。TERT 酶基因 hTERT 和 hTR 是 PF 患者家族的主要遗传缺陷,其突变在 PF 患者家族中高达 1/6^[41]。有证据表明,PF 是常见的染色体显性端粒综合征的先导表现,患者白细胞中 TERT 的长度明显较正常人的短。有研究提出,TERT 酶基因的突变状态能够通过缩短的 TERT 长度更为准确地预测出来,因此 TERT 基因突变是 PF 早期明显的临床前迹象^[42]。如 IP FC 等^[43]研究证实,CAG 能够刺激人类新生儿角质形成细胞的 TERT 酶活性并加快其细胞增殖。而 Saux CJL 等^[44]通过 mTERT 杂合小鼠 IPF 模型来研究 CAG 对 BLM 所诱导 IPF 的作用,发现经 CAG 干预的 IPF 模型小鼠在上皮细胞中实现了 TERT 酶的激活作用,并且延长了其复制寿命,具体表现是减少衰老细胞在肺脏中的堆积,明显抑制小鼠 PF 的进程。总结文献,我们认为 CAG 是一种作用可靠的 TERT 酶激活剂,存在治疗 IPF 的潜在能力。

7 调节细胞外基质及基质金属蛋白酶

肺部 ECM 是一种高度动态的结构,位于某些生理及发育途径的核心。IPF 患者的肺微环境能够激

活成纤维细胞及炎性细胞,通过生长因子及降解酶调节促纤维化的信号级联,并最终导致过度的 ECM 沉积^[28]。ECM 沉积主要是其主要成分糖胺聚糖(Glycosaminoglycan, GAG)的异常沉积,GAG 可通过影响生长因子等关键介质而在肺功能重塑过程中起到重要作用。目前一种假说认为,GAG 在 IPF 中的改变有助于产生促 PF 的环境。Gunilla WT 等^[45]研究证实,GAG 的数量及结构在 IPF 中均有变化,这些变化可能通过改变生长因子的保留时间及活性、产生原纤维化 ECM 等来促进 IPF 中的组织重塑。如 Chen F 等^[12]研究发现,WEA 抗 PF 可能与抑制成纤维细胞 ECM 的过度生成有关。

基质金属蛋白酶(MMPs)是锌、钙离子依赖性结构高度同源的一组内肽酶,而多功能蛋白基质金属蛋白酶组织抑制剂(TIMPs)是 MMPs 的组织抑制剂^[46]。MMPs 的主要作用是降解 ECM;而 TIMPs 不仅能够改变细胞活动,而且能够调整细胞基质的更新。在 PF 的病理过程中,MMP-2 扮演了关键角色,它能够通过使成纤维细胞向肺泡腔迁移而造成 PF,目前认为其机理在于 MMP-2 能够分解 IV 型胶原蛋白及糖蛋白成分,造成肺基质成分降解进而破坏肺泡壁结构的完整性^[47]。目前研究界认为,在 IPF 患者中 TIMPs 表达占优势,其引起 IPF 主要是造成了丝状胶原不降解的微环境。但也有观点认为 MMPs 的表达更为重要,其合成与活化导致 MMP-2 及 TIMP-1 的表达增高,但随着肺组织炎症反应的减弱,MMP-2 的产生及活化随之逐渐减少,而此时 TIMP-1 表达仍持续升高,这就造成了 MMP-2/TIMP-1 失去平衡,导致 ECM 大量积聚而造成 PF^[48]。目前,国外有报道采用 MMP 抑制剂巴马司他(Batimastat)治疗 BLM 诱导的 PF 大鼠,明显降低了实验动物的 PF 程度^[49];而文献研究发现,黄芪及 AST 具有与巴马司他类似的作用。如贺兼斌等^[50]研究认为,AST 通过抑制 TIMP-1 的过度表达,从而对实验性大鼠 PF 具有良好的治疗作用。但该项研究的缺陷在于未能考察 AST 对 MMP-2 的影响,从 MMP-2/TIMP-1 平衡的角度阐释 AST 干预 PF 的机制。如彭清等^[51]研究发现,黄芪对 IPF 模型大鼠不同时期肺组织中 MMP-2 及 TIMP-1 水平均具有降低作用,并且能够调整 MMP-2/TIMP-1 的比值,使其保持平衡水平,从而延缓甚至抑制 IPF 的进程。此外,有报道显示组织蛋白酶 B(Cathepsin B)过度激活在 PF 发病中起到重要作用,而 AST 可抑制 Cathepsin B 的过度表达而达

到抗 PF 的目的^[52]。

8 讨论与小结

IPF 作为一种致命的疾病,其预后甚至比肺癌更差,且目前尚无理想的治疗方法。终、末期 IPF 的唯一有效治疗方法是肺移植,在一定程度上能够改善患者生活质量、提高生存率,但肺移植因供体的来源、选择、切取、保存及免疫排斥反应等,生存率较低且费用昂贵,因此在临床应用中受到许多限制。目前,PF 的全球发病率仍在逐年增加,但抗 PF 药物的开发存在诸多风险,主要原因在于其发病机制尚不完全清楚,多个药物靶点在临床仍未得到验证。因此,对于更有效治疗靶标的探索与寻找,是目前研究的主要方向及亟待解决的主要问题。

目前,研究界对黄芪及其药效成分干预 PF 多研究单一因子或信号通路的相关机制,而对于多种作用机制的网络调控关系缺少关注,是目前研究的主要缺陷之一。在 PF 的一系列病理过程中,多种信号分子及通路被激活,参与调控细胞的分化、凋亡及迁移,如 TGF- β 、PI3K-Akt、Focal Adhesion 等,探索这些通路在 PF 过程中的作用,对于 PF 的诊断及确定治疗靶标均具有重要意义。在后基因组时代,各种模式生物基因测序图谱相继完成,多组学技术深入开展,各种先进的检测技术对 PF 基因的差异表达及突变数据有了更强的可分析性,也为全面的信号通路研究带来很好的契机。当前,基于多层次、多角度的采用系统生物学思路研究 PF 发病机制及生物标志物^[53],探讨治疗靶标,研发治疗药物,是研究界需要更加关注的问题。

经过连续多年的实验研究,目前研究界对 PF 的发病机制及治疗靶标积累了许多有益的认识。文献研究发现,利用氧化酶、抗氧化剂或基质作为控制 IPF 的 OS 治疗靶点,将是未来几年积极研究和创新发现的领域。通过调节 TGF- β 通路的某些信号分子,能够发现治疗 PF 的新靶点,这也是目前治疗 PF 的新思路之一^[54]。基于 ECM 在 IPF 发病机制中作用的认识,有人认为 ECM 也可能成为未来治疗 IPF 更有效的靶点之一,且已提出了基质沉积的特定抑制剂或基质降解途径的活化剂,并论证了其潜在的治疗有用性。此外,BASCs 能够分化 Clara 细胞,作为支气管上皮细胞的前体细胞,Clara 细胞具有分化成其他类型支气管上皮细胞的能力^[55],因此 Clara 细胞在 IPF 治疗中也可能发挥重要的作用。

对于上述可能有用的潜在治疗靶点,研究界对黄芪及其药效成分均作了相关实验研究,且得出了令人振奋的结果。但是,黄芪作为一种作用明确、安全可靠的治疗 IPF 的中药,其含有的 TFA、WEA、TSA 等成分组成复杂,干预 PF 虽符合中医药基本理论,但在机制研究及发现治疗靶标方面的精确性不足,改善组织形态学相关研究深入性欠缺,在分子、基因水平揭示其深层机理的研究不够。目前,miRNA 对 PF 的基因表达调控日益成为本研究领域的热点之一,miRNA 表达谱技术为研究 miRNA 引发 PF 的机制探讨、早期诊断和相关治疗提供了新视角与新思路,如当前已有以 miRNA 作为 IPF 的特异性新型生物标志物的构想^[56]。

参考文献

- 1 Wakamatsu K, *et al.* Prognostic value of serial serum KL-6 measurements in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Respir Investig*, 2017, 55(1):16.
- 2 Buendia-Roldán I, *et al.* Idiopathic pulmonary fibrosis: Clinical behavior and aging associated comorbidities [J]. *Respir Med*, 2017, 129:46.
- 3 Taguchi Y, *et al.* Efficacy of pirfenidone and disease severity of idiopathic pulmonary fibrosis: Extended analysis of phase III trial in Japan [J]. *Respir Investig*, 2015, 53:279-287.
- 4 Azuma A. Safety management of treatment with nintedanib in clinical practice of IPF [J]. *Respir Investig*, 2017, 55(1):1.
- 5 Wang SF, *et al.* Cycloastragenol, a triterpene aglycone derived from Radix astragali, suppresses the accumulation of cytoplasmic lipid droplet in 3T3-L1 adipocytes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 450:306-311.
- 6 Spagnolo P, *et al.* Clinical trial research in focus: why do so many clinical trials fail in IPF? [J]. *Lancet Respir Med*, 2017, 5:372-374.
- 7 Jia P (贾鹏), *et al.* Pulmonary fibrosis in rats: pathogenic gene and intervention therapy of Astragaloside [J]. *Prog Mod Biom (现代生物医学进展)*, 2010, 10:1227-1231.
- 8 Xu CJ (徐昌君), *et al.* Regulatory effect of PI3K /Akt /mTOR signal on autophagy in idiopathic pulmonary fibrosis and intervention effect of Astragaloside [J]. *Chin Exp Trad Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2017, 23:75-87.
- 9 Wang XH, *et al.* Astragalus polysaccharides exert protective effects in newborn rats with bronchopulmonary dysplasia by upregulating the expression of EGFL7 in lung tissue [J]. *Int J Mol Med*, 2014, 34:1529-1536.
- 10 Li LJ (李丽君), *et al.* Astragalus Angelica ratio of drug doses and on IPF mice survival condition and TGF-beta, IL-6,

- Foxp3, ROR Gamma t the influence of the level of gene expression [J]. *J Liaoning Univ TCM* (辽宁中医药大学学报), 2015, 17: 42-46.
- 11 Li LJ (李丽君). Study on changes of immune environment in IPF mice model and protective mechanism of Astragalus Angelica [D]. Beijing: Beijing University of TCM (北京中医药大学), MSc. 2015.
 - 12 Chen F, *et al.* Effect of Renshen Pingfei Decoction, a traditional Chinese prescription, on IPF induced by bleomycin in rats and regulation of TGF- β_1 /Smad 3 [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 186: 289-297.
 - 13 Zhou XM, *et al.* Inhibitory effects of Hu-qi-yin on the bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2007, 111: 255-264.
 - 14 Wang LL (王璐璐). Study on effect of Astragalus injection on Bleomycin - induced pulmonary fibrosis rats [D]. Changchun: Jilin University (吉林大学), MSc. 2014.
 - 15 Zhang Q, *et al.* miR-18a-5p inhibits sub-pleural pulmonary fibrosis by targeting TGF- β receptor II [J]. *Mol Ther*, 2017, 25: 728.
 - 16 Barratt SL, *et al.* Differential expression of VEGF-Axxx isoforms is critical for development of pulmonary fibrosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2017, 196: 479-493.
 - 17 Geng QX (耿青霞), *et al.* Effects of optimized formulas of Radix Astragali and Radix Angelicae Sinensis extracts on survival status of idiopathic pulmonary fibrosis mice and on expression of cytogenesis-related factors in lung tissues [J]. *J Guangzhou Univ TCM* (广州中医药大学学报), 2017, 34: 408-412.
 - 18 Sun ZT (孙增涛), *et al.* Expression of transforming growth factor- β_1 and transforming growth factor- β_1 mRNA in lung tissue of rats with pulmonary fibrosis and the intervention effect of Astragalus membranaceus mixture [J]. *Chin J Tissue Eng Res* (中国组织工程研究), 2007, 11: 2645-2647.
 - 19 Wang YS (王禹水). Study of Astragalus treatment mechanism for BLM-induced interstitial lung disease rat model [D]. Jinan: Shandong University of TCM (山东中医药大学), MSc. 2015.
 - 20 Lin C, *et al.* High endogenous activated protein C levels attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20: 2029-2035.
 - 21 Chao YH, *et al.* PG2, a botanically derived drug extracted from *Astragalus membranaceus*, promotes proliferation and immunosuppression of umbilical cord-derived mesenchymal stem cells [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 207: 184-191.
 - 22 Li J (李娟), *et al.* Effects of Astragalus polysaccharides on level of cytokines and pathological structure of lung tissue in rat model of pulmonary fibrosis [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2011, 22: 1684-1685.
 - 23 Zhang Y (张毅), *et al.* Effects of astragalus polysaccharides on immune balance and the expression of nitric oxide in pulmonary fibrosis rats [J]. *Chin J Gerontology* (中国老年医学杂志), 2009, 29: 1185-1187.
 - 24 Xu CJ (徐昌君), *et al.* Impacts of Astragalus extract on the alveolar inflammation and anti-fibrosis effects in pulmonary fibrosis mice [J]. *World Sci and Technol/Modern Tradit Chin Med Mater Med* (世界科学技术-中医药现代化), 2016, 18: 646-652.
 - 25 Mostmans Y, *et al.* The role of endothelial cells in the vasculopathy of systemic sclerosis: A systematic review [J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16: 774-786.
 - 26 Kliment CR, *et al.* Oxidative stress, extracellular matrix targets, and idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2010, 49: 707.
 - 27 Matsuzawa Y, *et al.* Change in serum marker of oxidative stress in the progression of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Pulm Pharmacol Ther*, 2015, 32: 1-6.
 - 28 Tomos IP, *et al.* Extracellular matrix remodeling in idiopathic pulmonary fibrosis. It is the 'bed' that counts and not 'the sleepers'. [J] *Expert Rev Respir Med*, 2017, 11: 1-11.
 - 29 Li R, *et al.* Antioxidant activity of Astragalus polysaccharides and antitumour activity of the polysaccharides and siRNA [J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 82: 240-244.
 - 30 Wang XH, *et al.* Astragalus polysaccharides mediated preventive effects on bronchopulmonary dysplasia in rats [J]. *Pediatr Res*, 2014, 76: 347-354.
 - 31 Liu YQ (刘永琦), *et al.* Effects of Astragalus on the balance of Th1 Th2 cytokines and free radical metabolism in rat model of pulmonary fibrosis [J]. *J Immunol* (免疫学杂志), 2009, 25: 290-292.
 - 32 Li JT (李金田), *et al.* Effect of astragalus polysaccharides on bleomycin-induced pulmonary fibrosis rats [J]. *Chin J Tradit Chin Med* (中华中医药杂志), 2011, 26: 2360-2362.
 - 33 Ouyang Y (欧阳燕), *et al.* Astragalus membranaceus inhibits bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice by antioxidant [J]. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志), 2017, 33: 1271-1277.
 - 34 Williamson JD, *et al.* The pathogenesis of bleomycin-induced lung injury in animals and its applicability to human idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Exp Lung Res*, 2015, 41: 57-73.
 - 35 Jiang L (江龙), *et al.* Protective effect of astragalus polysaccharide on rats with lipopolysaccharide-induced acute lung injury and expressions of tumor necrosis factor- α , intercellu-

- lar adhesion molecule-1 and interleukin-6 [J]. *Chin J Biologics* (中国生物制品学杂志), 2014, 27: 1416-1420.
- 36 Bois RMD. Strategies for treating idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9: 129.
- 37 Yan YS, et al. Discovery of enzymatically depolymerized heparins capable of treating bleomycin-induced pulmonary injury and fibrosis in mice [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 174: 82-88.
- 38 Lin XY (蔺兴遥), et al. Comparative study on effects of Astragalus flavone and Astragalus flavone on pulmonary function in pulmonary interstitial fibrosis model rats [J]. *Chin Tradit Patent Med* (中成药), 2013, 35: 1770-1773.
- 39 Xie HB (谢海彬). The experimentation about Astragaloside IV intervenes the CD34 and VEGF and Ang-2 of the rat model of idiopathic pulmonary interstitial fibrosis's lung tissue [D]. Lanzhou: Gansu University of TCM (甘肃中医药大学), MSc. 2016.
- 40 Liu YQ (刘永琦), et al. The effects of Astragalus on production of cytokines and ultrastructure in rat model of pulmonary fibrosis [J]. *Chin J Immunol* (中国免疫学杂志), 2008, 24: 980-983.
- 41 Mary A. Telomerase and idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Mutat Re*, 2012, 730: 52-58.
- 42 Alberto DL, et al. Subclinical lung disease, macrocytosis, and premature graying in kindreds with telomerase (TERT) Mutations [J]. *Chest*, 2011, 140: 753-763.
- 43 IP FC, et al. Cycloastragenol is a potent telomerase activator in neuronal cells; implications for depression management [J]. *Neurosignals*, 2014, 22: 52-63.
- 44 Saux CJL, et al. A novel telomerase activator suppresses lung damage in a murine model of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *PLoS One*, 2013, 8: 1-12.
- 45 Gunilla WT, et al. Increased deposition of glycosaminoglycans and altered structure of heparan sulfate in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2017, 83: 27-38.
- 46 Kocaturk M, et al. Effects of choline treatment in concentrations of serum matrix metalloproteinases (MMPs), MMP tissue inhibitors (TIMPs) and immunoglobulins in an experimental model of canine sepsis [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2016, 180: 9.
- 47 Pardo A, et al. Increased levels of matrix metalloproteinase (MMP)-9 and TGF- and lower levels of IL-8 differentiate combined pulmonary fibrosis with emphysema (CPFE) from idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) alone [J]. *Chest*, 2011, 140: 925A.
- 48 Xiang J, et al. Neotuberostemone attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis by suppressing the recruitment and activation of macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2016, 36: 158-164.
- 49 Yamashita M, et al. The definition of fibrogenic processes in fibroblastic foci of idiopathic pulmonary fibrosis based on morphometric quantification of extracellular matrices [J]. *Hum Pathol*, 2009, 40: 1278-1287.
- 50 He JB (贺兼斌), et al. The significance of serum and glucocorticoid-regulated protein kinase 1 expression in lung tissue of pulmonary fibrosis rats and the intervention effect of astragaloside [C]. Annual Meeting of Chinese Respiratory Diseases Society-The Fourteenth National Symposium on Respiratory Diseases of 2013 (中华医学会呼吸病学年会——2013第十四次全国呼吸病学学术会议论文汇编), 2013: 564.
- 51 Peng Q (彭清), et al. Effect of *Radix astragali* on the expression of MMP-2 and TIMP-1 in rats with pulmonary fibrosis [J]. *Acta Med Univ Sci Technol Huazhong* (华中科技大学学报, 医学版), 2007, 36: 35-37.
- 52 Li JP (李杰平). The expression of Cathepsin B in the lung on idiopathic pulmonary fibrosis of the rat and intervention study of astragaloside [D]. Hengyang: Nanhua University (南华大学), MSc. 2007.
- 53 Milara J, et al. Sphingosine-1-phosphate is increased in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and mediates epithelial to mesenchymal transition [J]. *Thorax*, 2012, 67: 147-156.
- 54 Wang CM, et al. Relationship between artesunate influence on the process of TGF-beta1 induced alveolar epithelial cells transform into mesenchymal cells and on idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2014, 49: 142-147.
- 55 Ferone G, et al. SOX2 is the determining on cogenic switch in promoting lung squamous cell carcinoma from different cells of origin [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30: 519.
- 56 Fukunaga S, et al. Integrative analyses of miRNA and proteomics identify potential biological pathways associated with onset of pulmonary fibrosis in the bleomycin rat model [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2015, 286: 188-197.