

·基础研究·

# TGF- $\beta$ 3 通过抑制上皮间质转化拮抗放射性肺纤维化

胡蝶 杨陟华 王易龙 罗祥智 潘秀颀 姚振江 徐龙 顾永清 朱茂祥

510006 广州, 广东药科大学公共卫生学院(胡蝶、罗祥智、姚振江); 100850 北京, 军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所(胡蝶、杨陟华、王易龙、潘秀颀、徐龙、顾永清、朱茂祥)

通信作者: 朱茂祥, Email: zhumx@nic.bmi.ac.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2018.02.006

**【摘要】目的** 检测分析放射性肺纤维化过程中上皮间质转化(EMT)情况, 探索转化生长因子  $\beta$ 3(TGF- $\beta$ 3)是否通过 EMT 途径抑制放射性肺纤维化的发生。**方法** 将 180 只 C57BL/6 雌性小鼠按体重完全随机分为对照组、单纯照射组(简称照射组)和照射+TGF- $\beta$ 3 组(简称 TGF- $\beta$ 3 组), 照射组和 TGF- $\beta$ 3 组经 20 Gy  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线单次胸部照射后, 分别腹腔注射 0.5 mL 0.9%的生理盐水和 TGF- $\beta$ 3(1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), 每周 1 次, 于照射后 1、3 和 6 个月活杀, 用苏木素-伊红(HE)染色、Masson 三色染色后观察肺组织病理学改变, 用免疫组化法检测肺组织 EMT 相关的上皮标志物紧密连接蛋白(ZO-1)和间质标志物 N-钙粘蛋白(N-cadherin)的表达, 用 *Mann-Whitney U* 秩和检验和 *Fisher* 确切概率法对结果进行统计分析。**结果** HE 和 Masson 染色结果显示, 照射能够引起小鼠肺泡壁增厚、肺泡间隔明显增宽、肺泡结构严重破坏、胶原纤维大量沉积等典型纤维化病理改变; 照射后 3 和 6 个月, 与照射组比较, TGF- $\beta$ 3 组小鼠肺纤维化病变明显减轻, 差异有统计学意义( $Z=-2.562$ 、 $-2.807$ , 均  $P<0.05$ ), 胶原沉积显著减少, 差异有统计学意义( $Z=2.442$ 、 $2.529$ , 均  $P<0.05$ )。免疫组化结果显示, 与对照组比较, 照射后 1、3 和 6 个月, 小鼠肺组织 ZO-1 的表达量明显减少, 差异有统计学意义( $Z=4.492$ 、 $5.831$ 、 $6.064$ , 均  $P<0.05$ ), N-cadherin 的表达量显著增高, 差异有统计学意义( $Z=-3.269$ 、 $-5.520$ 、 $-6.063$ , 均  $P<0.05$ ); 与照射组比较, TGF- $\beta$ 3 组 ZO-1 表达量显著增高, 差异有统计学意义( $Z=-2.881$ 、 $-4.220$ 、 $-5.695$ , 均  $P<0.05$ ), 而 N-cadherin 表达量显著减少, 差异有统计学意义( $Z=4.546$ 、 $3.560$ 、 $4.919$ , 均  $P<0.05$ )。**结论** TGF- $\beta$ 3 可通过抑制 EMT 拮抗放射性肺纤维化。

**【关键词】** 特发性肺纤维化; 辐射损伤, 实验性; 转化生长因子  $\beta$ 3; 上皮间质转化**基金项目:** 国家自然科学基金(81472910)

**TGF- $\beta$ 3-ameliorated radiation-induced pulmonary fibrosis by inhibiting epithelial-mesenchymal transition** Hu Die, Yang Zhichua, Wang Yilong, Luo Xiangzhi, Pan Xiujie, Yao Zhenjiang, Xu Long, Gu Yongqing, Zhu Maoxiang

School Public Health, Guang Dong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China(Hu D, Luo XZ, Yao ZJ); Institute of Radiation Medicine, Academy of Military Medical Sciences, Academy of Military Sciences, Beijing 100850, China(Hu D, Yang ZH, Wang YL, Pan XJ, Xu L, Gu YQ, Zhu MX)

Corresponding author: Zhu Maoxiang, Email: zhumx@nic.bmi.ac.cn

**【Abstract】 Objective** To detect and analyze the influence of epithelial-mesenchymal transition (EMT) on radiation-induced pulmonary fibrosis and explore whether the anti-fibrosis effect of transforming growth factor- $\beta$ 3 (TGF- $\beta$ 3) is mediated by EMT. **Methods** C57BL/6 female mice were randomly divided into three groups: control group, irradiation group only (irradiated group), and irradiation and TGF- $\beta$ 3 group (TGF- $\beta$ 3 group). The irradiation group received intraperitoneal injections of 0.5 ml saline, and the TGF- $\beta$ 3 group received intraperitoneal injections of 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  human recombinant TGF- $\beta$ 3 every week after single dose of 20 Gy irradiation to their thoraxes. The mice in each group were sacrificed for 1, 3, and 6 months

after irradiation. The mouse lung pathological changes were evaluated by hematoxylin-eosin and Masson trichrome. The expression of EMT epithelium-marked protein zonula occludens-1(ZO-1) and interstitial-marked protei N-cadherin were measured by immunohistochemistry. The results were analyzed using *Mann-Whitney U* test and *Fisher's* exact probability. **Results** Alveolar walls thickened, collagen fibers were deposited, and other typical fibrosis changed after irradiation. Unlike those in the irradiation group, pulmonary fibrosis lesions were significantly reduced ( $Z=-2.562, -2.807$ , both  $P<0.05$ ) and collagen deposition was obviously decreased ( $Z=2.442, 2.529$ , both  $P<0.05$ ) in the TGF- $\beta$ 3 group. The expression of ZO-1 was markedly decreased ( $Z=4.492, 5.831, 6.064$ , all  $P<0.05$ ) and the expression of N-cadherin was significantly increased ( $Z=-3.269, -5.520, -6.063$ , all  $P<0.05$ ) in the lung tissues of mice at 1, 3, and 6 months after irradiation. Unlike the irradiation group, the expression of ZO-1 was increased ( $Z=-2.881, -4.220, -5.695$ , all  $P<0.05$ ) and the expression of N-cadherin was decreased ( $Z=4.546, 3.560, 4.919$ , all  $P<0.05$ ) in the TGF- $\beta$ 3 group. The differences were significant. **Conclusion** TGF- $\beta$ 3 may antagonize radiation-induced pulmonary fibrosis by inhibiting EMT.

**【Key words】** Idiopathic pulmonary fibrosis; Radiation injuries, experimental; Transforming growth factor beta 3; Epithelial mesenchymal transition

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81472910)

放射性肺纤维化(radiation-induced pulmonary fibrosis, RPF)是临床胸部肿瘤放疗常见的并发症之一,也可发生于骨髓移植手术前的放疗预处理及其他意外照射中。临床上对RPF缺乏特异、有效的治疗措施,患者预后较差<sup>[1]</sup>。因此如何减少RPF的发生、减轻RPF的程度已成为肿瘤放疗基础和临床研究的一个热点。

RPF的发生是多种效应细胞、细胞因子及炎性介质综合作用的结果<sup>[2-4]</sup>,其中,转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )是最重要的参与因子之一<sup>[5]</sup>。在哺乳动物中,TGF- $\beta$ 主要有TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 2和TGF- $\beta$ 3 3种亚型<sup>[6]</sup>,其中TGF- $\beta$ 1是已知的最重要的致纤维化因子之一<sup>[7]</sup>。笔者所在军事科学院军事医学研究院辐射医学研究所实验室前期研究结果表明TGF- $\beta$ 3具有拮抗RPF的作用<sup>[8]</sup>,但具体的作用机制目前还不清楚。业已证实上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肺纤维化的重要机制之一<sup>[9]</sup>,笔者利用<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 射线胸部照射诱发小鼠RPF模型,探索TGF- $\beta$ 3在小鼠RPF发生过程中的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及其处理方法

选取辐射敏感的雌性C57BL/6小鼠建立RPF动物模型<sup>[8-11]</sup>。清洁级雌性C57BL/6小鼠180只,体重(20 $\pm$ 2)g,购自北京维通利华生物科技有限公司

[动物许可证号:SCXK(京)2012>0001],完全随机分为对照组、单纯照射组(简称照射组)和照射+TGF- $\beta$ 3组(简称TGF- $\beta$ 3组)。照射组和TGF- $\beta$ 3组小鼠在军事科学院军事医学研究院钴源室进行单次<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 射线胸部照射,照射剂量20 Gy<sup>[10]</sup>,照射前小鼠用戊巴比妥钠(德国Merck公司)腹腔注射麻醉,通过固定四肢固定在木板上,与升起的钴源摆放在同一高度,两者间距3 m(剂量率为215 cGy/min),除胸部照射部位3 cm $\times$ 1.5 cm区域外,其余部位用10 cm厚铅砖完全屏蔽。照射组和TGF- $\beta$ 3组每周1次分别腹腔注射0.9%生理盐水和TGF- $\beta$ 3(1  $\mu$ g/kg)各0.5 mL,对照组不予处理。分别于照射后的1、3和6个月处死小鼠取材。

### 1.2 主要试剂

重组人TGF- $\beta$ 3(美国Peprotech公司);胶原检测试剂盒(英国Biocolor公司);紧密连接蛋白1(zonula occludens-1, ZO-1)抗体、N-钙粘蛋白(N-cadherin)抗体(英国Abcam公司);山羊抗兔IgG/HRP聚合物(HRP:辣根过氧化物酶)、二氨基联苯胺(DAB)显色液、苏木素(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

### 1.3 肺组织病理染色

小鼠活杀后迅速取出肺脏,经生理盐水漂洗后,用4%中性甲醛溶液固定,常规病理组织切片,进行苏木精-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色和Masson三色染色,观察肺组织病理和

胶原蛋白的表达情况。其中对肺纤维化的程度按无肺间质纤维化(-)、轻度肺间质纤维化(+, 病变范围局限在全肺 20%以下)、中度肺间质纤维化(++ , 病变范围占全肺 20%~50%)、重度肺间质纤维化(+++ , 病变范围大于 50%, 肺泡融合, 肺实质结构紊乱)进行分级, 分别计 0 分、1 分、2 分、3 分, 进行半定量统计分析<sup>[12]</sup>。用胶原检测试剂盒检测右肺组织胶原蛋白含量。

#### 1.4 EMT 免疫组化检测肺组织 ZO-1、N-cadherin 的表达

采用免疫组化法观察上皮标志物 ZO-1 和间质标志物 N-cadherin 在肺组织中的表达情况。每张切片观察 1000 个细胞, 计数阳性细胞数。另完全随机选择 5 个视野, 用 Image Pro Plus 5.1 软件分析每个视野中阳性表达的积分光密度 (integrated optical density, IOD)。

#### 1.5 统计学方法

采用 Stata 10 软件进行数据统计学分析, 计量资料以均数±标准差表示。用两因素一元定量资料方差分析分析数据, 方差齐性的数据采用 ANOVA 检验, 方差不齐的数据采用 Mann-Whitney U 秩和检验; 定性资料用  $\chi^2$  检验和 Fisher 确切概率法进行统计学分析,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 小鼠肺组织 HE 染色结果

小鼠照射后肺组织病理改变及纤维化程度分析统计结果见图 1。对照组小鼠肺泡壁无增厚, 肺组织结构大致正常。照射后 1 个月, 照射组小鼠肺组织可见炎症细胞浸润, 部分肺泡腔融合扩大, 部分肺泡壁增厚, 与对照组相比, 差异有统计学意义 ( $Z = -2.882, P < 0.05$ ); TGF- $\beta 3$  组虽有炎症细胞浸润及少数肺泡腔融合扩大, 明显轻于对照组, 但差异无统计学意义 ( $Z = -1.845, P > 0.05$ )。照射后 3 个月, 照射组肺泡结构进一步破坏, 肺泡壁进一步增厚,

与对照组相比, 差异有统计学意义 ( $Z = -2.887, P < 0.05$ ); TGF- $\beta 3$  组仍以炎症细胞浸润为主, 部分肺泡腔融合扩大, 与照射组相比, 差异有统计学意义 ( $Z = -2.562, P < 0.05$ )。照射后 6 个月, 照射组肺组织结构紊乱, 肺泡壁明显增厚, 大量肺泡萎陷, 可见明显的纤维化病灶形成, 与对照组相比, 差异有统计学意义 ( $Z = -2.903, P < 0.05$ ); 而 TGF- $\beta 3$  组虽然局部肺泡萎陷, 肺泡壁增厚, 但大体肺泡完整, 与照射组相比明显减轻, 差异有统计学意义 ( $Z = -2.807, P < 0.05$ )。

### 2.2 小鼠肺组织胶原沉积分析结果

小鼠照射后 Masson 三色染色分析肺组织胶原沉积结果见图 2。照射后 1 个月, 照射组肺组织可见少量蓝染的胶原纤维, 照射后 3 和 6 个月, 可见大量蓝染的胶原纤维弥散至整个肺部; 而相应的 TGF- $\beta 3$  组蓝染的胶原纤维明显减少 (图 2 中 A)。与对照组比较, 照射小鼠 (照射组和 TGF- $\beta 3$  组) 经照射 1、3、6 个月后, 肺组织胶原蛋白表达量显著增高, 差异有统计学意义 ( $Z = -2.713、-2.600、-2.737、-2.591、-2.434、-2.236$ , 均  $P < 0.05$ ), 而与照射组相比, TGF- $\beta 3$  组小鼠照射后 3 和 6 个月肺组织胶原表达量明显减少, 差异有统计学意义 ( $Z = 2.442、2.529$ , 均  $P < 0.05$ ), 这表明 TGF- $\beta 3$  对辐射诱发小鼠肺纤维化有拮抗作用 (图 2 中 B)。

### 2.3 EMT 免疫组化测量结果

小鼠照射后肺组织中上皮细胞特征分子标志物 ZO-1 和间质细胞特征分子标志物 N-cadherin 的免疫组化及分析结果见图 3。其中, 肺组织 ZO-1 阳

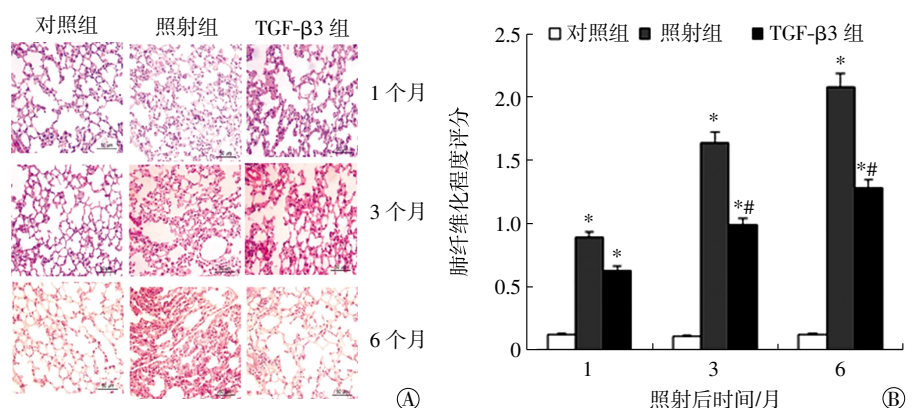


图 1 照射后不同时间小鼠肺组织纤维化病变结果 图中, TGF- $\beta 3$ : 转化生长因子  $\beta 3$ ; A: 照射后不同时间小鼠肺组织病理图(苏木精-伊红染色结果,  $\times 400$ ); B: 照射后不同时间小鼠肺组织纤维化程度评分; \* 表示与对照组比较, 差异有统计学意义 ( $Z = -2.903 \sim -2.882$ , 均  $P < 0.05$ ); # 表示与照射组比较, 差异有统计学意义 ( $Z = -2.562、-2.807$ , 均  $P < 0.05$ )。

Fig.1 Pulmonary fibrosis lesion of mice at different time after irradiation

性细胞率及其表达水平的 IOD 检测结果见图 3 中 B、C, N-cadherin 阳性细胞率及其表达水平的 IOD 检测结果见图 3 中 E、F。从图示可以看出,与对照组比较,照射后 1、3 和 6 个月,照射组和 TGF-β3 组肺组织 ZO-1 阳性细胞率( $P < 0.05$ )与表达水平( $Z = 4.492、2.784、5.831、3.425、6.064、4.511$ , 均  $P < 0.05$ )均显著降低,

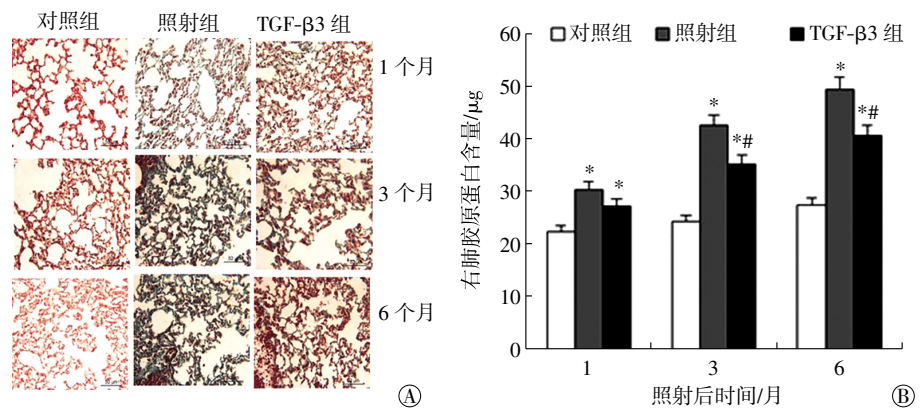


图2 照射后不同时间小鼠肺组织胶原蛋白沉积结果 图中, TGF-β3: 转化生长因子 β3; A: 照射后不同时间小鼠肺组织病理图(Masson 三色染色, ×400); B: 照射后不同时间小鼠右肺胶原蛋白的含量; \*表示与对照组比较, 差异有统计学意义( $Z = -2.713 \sim -2.236$ , 均  $P < 0.05$ ); #表示与照射组比较, 差异有统计学意义( $Z = 2.442、2.529$ , 均  $P < 0.05$ )。

Fig.2 The deposition of collagen in lung tissues of mice at different time after irradiation

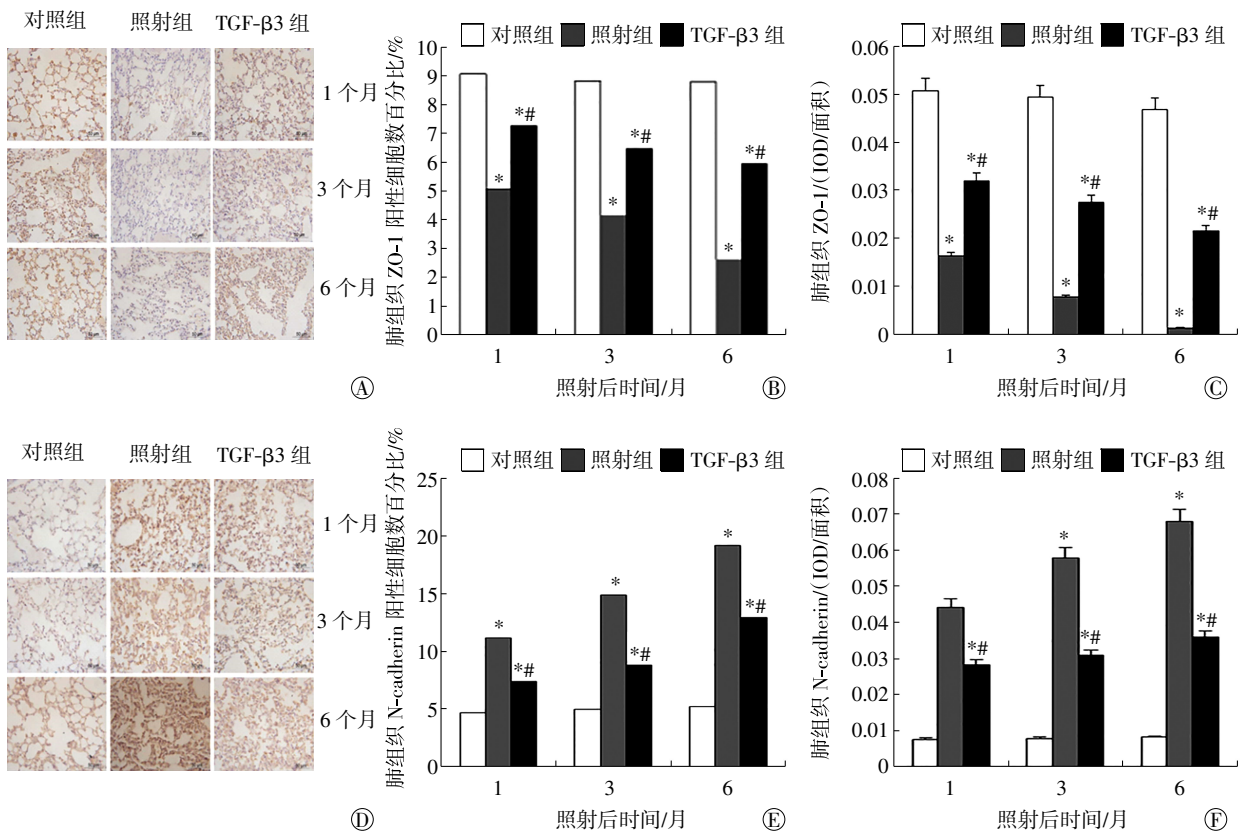


图3  $^{60}\text{Co}$  γ射线胸部照射诱发小鼠肺组织 EMT 检测结果 图中, TGF-β3: 转化生长因子 β3; ZO-1: 紧密连接蛋白 1; IOD: 积分光密度; N-cadherin: N-钙粘蛋白; EMT: 上皮间质转化; A: 照射后不同时间小鼠肺组织中 EMT 相关上皮标志物 ZO-1 的表达(Masson 三色染色, ×400); B: 照射后不同时间小鼠肺组织中表达 ZO-1 的阳性细胞计数结果比较(均  $P < 0.05$ ); C: 照射后不同时间小鼠肺组织中 ZO-1 阳性表达的 IOD 比较( $Z = 4.492、2.784、-2.881、5.831、3.425、-4.220、6.064、4.511、-5.695$ , 均  $P < 0.05$ ); D: 照射后不同时间小鼠肺组织中 EMT 相关上皮标志物 N-cadherin 的表达(Masson 三色染色, ×400); E: 照射后不同时间小鼠肺组织中表达 N-cadherin 的阳性细胞计数结果比较( $P < 0.05$ ); F: 照射后不同时间小鼠肺组织中 N-cadherin 阳性表达的 IOD 比较( $Z = -3.269、-3.095、4.546、-5.520、-5.423、3.560、-6.063、-5.675、4.919$ , 均  $P < 0.05$ ); \*表示与对照组比较,  $P < 0.05$ ; #表示与照射组比较,  $P < 0.05$ 。

Fig.3 Immunohistochemistry results of epithelial-mesenchymal transition features in irradiated mice with and without the treatment of transforming growth factor-β3

差异有统计学意义,而 N-cadherin 阳性细胞率( $P < 0.05$ )及表达水平( $Z = 3.269$ 、 $-3.095$ 、 $-5.520$ 、 $-5.423$ 、 $-6.063$ 、 $-5.675$ ,均  $P < 0.05$ )均显著增高,差异有统计学意义,并呈现良好的时间效应关系,这表明随着 RPF 发生、发展,EMT 也显著增高。而与照射组相比,TGF- $\beta 3$  组 ZO-1 阳性细胞率( $P < 0.05$ )及表达水平( $Z = -2.881$ 、 $-4.220$ 、 $-5.695$ ,均  $P < 0.05$ )均明显增高,差异有统计学意义,N-cadherin 阳性细胞率( $P < 0.05$ )和表达水平( $Z = 4.546$ 、 $3.560$ 、 $4.919$ ,均  $P < 0.05$ )均明显减少,差异有统计学意义,这表明 TGF- $\beta 3$  组 EMT 发生率显著低于照射组。提示 TGF- $\beta 3$  对 RPF 的拮抗作用与其抑制 EMT 的发生有关。

### 3 讨论

RPF 的病理改变主要为肺组织中结缔组织增多,实质细胞减少,持续进展可致肺结构破坏和功能减退<sup>[11-14]</sup>。肺纤维化发生最主要的效应细胞是肺成纤维细胞和(或)肌成纤维细胞。其来源主要有 3 种:(1)肺内损伤部位或周边原位的成纤维细胞和(或)肌成纤维细胞的增殖分化;(2)外周血循环池中骨髓来源的循环纤维细胞通过特定的趋化因子的作用迁移至损伤部位并分化为成纤维细胞和(或)肌成纤维细胞;(3)EMT 这部分细胞来源约占所有效应细胞的 30%以上<sup>[15]</sup>。

目前已有研究结果表明, $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线照射小鼠胸部后会诱导小鼠肺发生 RPF,并且小鼠肺组织中的上皮细胞也会发生 EMT<sup>[16]</sup>;EMT 定义为细胞逐步丧失上皮细胞标志物,同时逐步获得间质细胞标志物的过程,上皮细胞标志物包括 E-cadherin、ZO-1 等,而间质细胞标志物包括 N-cadherin、波形蛋白(vimentin)、 $\alpha$  平滑肌肌动蛋白( $\alpha$  smooth muscle actin)等<sup>[17]</sup>。也有文献报道 TGF- $\beta 3$  可部分拮抗  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线诱导的小鼠肺发生的 RPF<sup>[18]</sup>。

然而,TGF- $\beta 3$  是否通过 EMT 途径拮抗 RPF 目前尚不清楚,为了弄清楚这个问题,我们用  $^{60}\text{Co}$   $\gamma$  射线照射 C57BL/6 小鼠胸部建立 RPF 动物模型,同时给予 TGF- $\beta 3$  干预,结果表明,经照射后,小鼠肺部出现了肺泡壁增厚、肺泡腔融合和胶原纤维沉积增多等典型的纤维化病理改变,这说明我们已成功建立了辐射诱导的 RPF 的动物模型,给予 TGF- $\beta 3$  干预后,小鼠肺的病理变化和胶原蛋

白的沉积情况均较单纯照射后的小鼠轻微,这说明 TGF- $\beta 3$  可拮抗辐射诱导的 RPF 的发生,这与已有的文献结果一致<sup>[15]</sup>。同时,我们用免疫组织化学法也检测了小鼠肺组织中 EMT 的表达情况,发现与对照组相比,经照射和照射并给予 TGF- $\beta 3$  干预后,小鼠肺组织上皮细胞明显发生了 EMT,但与单纯照射相比,经 TGF- $\beta 3$  干预后,小鼠肺组织上皮细胞 EMT 的发生强度明显减弱。

综上所述,我们的实验结果表明了 TGF- $\beta 3$  可能通过 EMT 途径减轻或延缓 RPF 的发生,我们提出了从 EMT 方面着手来探索 TGF- $\beta 3$  拮抗 RPF 的机制并探索了二者之间的关系,为进一步研究 TGF- $\beta 3$  拮抗 RPF 的具体的信号转导机制及为临床 RPF 的预防和治疗提供了新的线索。

**利益冲突** 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

**作者贡献声明** 胡蝶负责研究的实施,数据的获取、提供和分析,以及论文的撰写与修订;杨陟华、王易龙、潘秀颖负责方法的设计、研究实验保障和质量保证;罗祥智、姚振江和顾永清负责研究实施的管理和监督;徐龙负责方法的设计和数据分析;朱茂祥负责命题的提出、设计,以及论文的修订与审核。

### 参 考 文 献

- [1] Straub JM, New J, Hamilton CD, et al. Radiation-induced fibrosis: mechanisms and implications for therapy[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2015, 141(11): 1985-1994. DOI: 10.1007/s00432-015-1974-6.
- [2] 郑盛盛,刘培勋.放射性肺纤维化的分子机制及其防治药物综述[J].辐射研究与辐射工艺学报,2016,34(1): 1-10. DOI: 10.11889/j.1000-3436.2016.rj.34.010101.
- Zheng QS, Liu PX. Review on molecular mechanisms and protective drugs research on radiation-induced lung fibrosis[J]. J Radiat Res Radiat Process, 2016, 34(1): 1-10.
- [3] 朱玉凤.肺纤维化细胞因子机制研究进展[J].当代医药论丛,2015,13(5): 157-157,158.
- Zhu YF. Progress of cytokine mechanism in pulmonary fibrosis[J]. Contemporary Med Forum, 2015, 13(5): 157-157, 158.
- [4] 王司仪,原铭贞,刘笑珂,等.细胞因子与肺纤维化相关性的研究进展[J].吉林大学学报(医学版),2014,40(6): 1325-1329. DOI: 10.13481/j.1671-587x.20140641.
- Wang SY, Yuan MZ, Liu XD, et al. Advance research on relationship between cytokines and pulmonary fibrosis[J]. J Jilin Univ Med Edit, 2014, 40(6): 1325-1329.
- [5] Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response [J]. FASEB J, 2004, 18(7): 816-827. DOI: 10.1096/fj.03-1273rev.
- [6] Hall BE, Wankhade UD, Konkel JE, et al. Transforming growth



- factor- $\beta 3$  (TGF- $\beta 3$ ) knock-in ameliorates inflammation due to TGF- $\beta 1$  deficiency while promoting glucose tolerance[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(44): 32074–32092. DOI: 10.1074/jbc.M113.480764.
- [ 7 ] Ask K, Bonniaud P, Maass K, et al. Progressive pulmonary fibrosis is mediated by TGF- $\beta$  isoform 1 but not TGF- $\beta 3$ [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(3): 484–495. DOI: 10.1016/j.biocel.2007.08.016.
- [ 8 ] Xu L, Xiong S, Guo R, et al. Transforming growth factor  $\beta 3$  attenuates the development of radiation-induced pulmonary fibrosis in mice by decreasing fibrocyte recruitment and regulating IFN- $\gamma$ /IL-4 balance[J]. *Immunol Lett*, 2014, 162(1 Pt A): 27–33. DOI: 10.1016/j.imlet.2014.06.010.
- [ 9 ] Horowitz JC, Thannickal VJ. Epithelial-mesenchymal interactions in pulmonary fibrosis[J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2006, 27(6): 600–612. DOI: 10.1055/s-2006-957332.
- [10] 杜雪梅, 柳晓兰, 崔玉芳, 等. 放射性肺损伤小鼠动物模型的建立及其病变规律[J]. *中国体视学与图像分析*, 2003, 8(4): 203–206. DOI: 10.3969/j.issn.1007-1482.2003.04.003.
- Du XM, Liu XL, Cui YF, et al. ESTABLISHMENT OF IRRADIATION-INDUCED LUNG INJURY MOUSE MODEL AND ITS PATHOLOGICAL CHANGES REGULARITY[J]. *CHIN J STEREOLOGICAL IMAGE ANALYSIS*, 2003, 8(4): 203–206.
- [11] 杨燕光, 王金云, 张珏, 等. 局部晚期非小细胞肺癌调强放疗与三维适形放疗的剂量学及临床疗效分析[J]. *中国肿瘤*, 2014, 23(10): 873–877. DOI: 10.11735/j.issn.1004-0242.2014.10.A017.
- Yang YG, Wang JY, Zhang J, et al. An Analysis of Dosimetric and Clinical Effect of Intensity Modulated Radiotherapy and Three-dimensional Conformal Radiotherapy for Locally Advanced Non-small Cell Lung Cancer[J]. *China Cancer*, 2014, 23(10): 873–877.
- [12] Xiong SS, Guo RF, Yang ZH, et al. Regulatory T Cells Promote  $\beta$ -Catenin-Mediated Epithelium-to-Mesenchyme Transition During Radiation-Induced Pulmonary Fibrosis[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2015, 93(2): 425–435. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2015.05.043.
- [13] 陈忠杰, 王莉, 方银善, 等. 放射线剂量和剂量率对小鼠肺纤维化的影响[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(2): 117–121. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2016.02.010.
- Chen ZJ, Wang L, Fang YS, et al. Effect of radiation dose and dose rate on pulmonary fibrosis in mice[J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2016, 39(2): 117–121.
- [14] 赵利强. 沙百润肺颗粒干预大鼠放射性肺纤维化的实验研究[D]. 太原: 山西省中医药研究院, 2016: 1–46.
- Zhao LQ. The experimental study of Shabai Moistening Lung particles intervening in radiation-induced pulmonary fibrosis in rats[D]. Taiyuan: Shanxi Traditional Chinese Medicine Institute, 2016: 1–46.
- [15] Reilkoff RA, Bucala R, Herzog EL. Fibrocytes: emerging effector cells in chronic inflammation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(6): 427–435. DOI: 10.1038/nri2990.
- [16] 熊珊珊. 调节性 T 淋巴细胞在放射性肺纤维化中的作用及机制研究[D]. 北京: 军事医学科学院, 2015: 1–135.
- Xiong SS. The roles and mechanisms of Regulatory T cells (Tregs) in radiation-induced pulmonary fibrosis[D]. Beijing: Academy of Military Medical Sciences, 2015: 1–135.
- [17] Hay ED. The mesenchymal cell, its role in the embryo, and the remarkable signaling mechanisms that create it[J]. *Dev Dyn*, 2005, 233(3): 706–720. DOI: 10.1002/dvdy.20345.
- [18] 徐龙. 转化生长因子- $\beta 3$  调控循环纤维细胞在放射性肺纤维化中的作用研究[D]. 北京: 军事医学科学院, 2015: 1–101.
- Xu L. Study on the role of transforming growth factor- $\beta 3$  by regulating fibrocytes in radiation-induced pulmonary fibrosis[D]. Beijing: Academy of Military Medical Sciences, 2015: 1–101.

(收稿日期: 2018-01-12)