丹参素定向诱导骨髓间质干细胞分化为神经元样细胞的研究

余 勤[1] 罗 依[2] 鄂 艳[1] 盛丽先[1] 董 勤[3] 丁 伟[2] 郭 莹[1]

摘要 目的 研究丹参素体外定向诱导骨髓间质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)分化为神经元样细胞。**方法** 利用 Ficoll-Paque 液将骨髓细胞进行密度梯度离心和贴壁筛选分离出 MSC,体外扩增,流式细胞仪检测 MSC 表面抗原表达。采用含丹参素的无血清 L-DMEM 诱导 MSC 分化为神经元样细胞,并且探讨丹参素不同浓度及不同作用时间对 MSC 诱导分化为神经元样细胞的影响。以免疫组化方法检测神经元特异性烯醇化酶(NSE)、神经丝蛋白(NF-M)、巢蛋白(nestin)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)的表达。**结果** MSC 在体外传代扩增后,流式细胞仪检测结果显示 CD29、CD44、CD166 表达阳性,CD14、CD34、CD45、HLA-DR 为阴性。丹参素诱导后,MSC 胞体收缩,突起伸出,呈典型的核周体形态,类似神经元;免疫组化显示诱导出的神经元样细胞 NSE、NF-M、nestin 表达阳性,GFAP 阴性。**结论** 丹参素可以在体外诱导 MSC 分化为神经元样细胞,其诱导转化率与丹参素浓度和作用时间有关。

关键词 间质干细胞;神经元;丹参素;诱导;分化

Study on Effect of Danshensu in Directional Differentiation of Mesenchymal Stem Cells into Neuron-like Cells

YU Qin, LUO Yi, E Yan, et al *Zhejiang TCM College, Hangzhou* (*310053*)

Objective To study the effect of Danshensu (DSS) on directional differentiation of mesenchymal stem cells (MSC) into neuron-like cells. **Methods** MSC were separated from bone marrow with density gradient centrifugation, wall sticking screening and amplified *in vitro*. Flow cytometry was used to monitor the expression of surface antigens. DSS contained in non-serum L-DMEM was used to induce differentiation of MSC to neuron-like cells, and the effect of DSS when different concentration and acting time used was explored. And levels of neuron-specific enolase (NSE), neurofilament protein (NF-M), nestin, and expression of glial fibrillary acidic protein (GFAP) were measured by immunohistochemical method. **Results** After being propagated and amplified *in vitro*, MSC were positively expressed for CD29, CD44, CD166, and negatively expressed for CD14, CD34, CD45、HLA-DR. After induction of DSS, MSC exhibited the typical form of perikaryon with pyknotic cell body and prominence projected like that of neuron. These cells were positively expressed in NSE, NF-M and nestin, and negatively expressed in GFAP. **Conclusion** DSS could induce differentiation of MSC to neuron-like cells *in vitro*, the action is concentration- and time-dependent.

Key words mesenchymal stem cell; neuron; Danshensu; induction; differentiation

骨髓间质干细胞(mesenchymal stem cells, MSC)具有多向分化潜能,近年来研究发现在一定条件下,MSC 可以向神经细胞元样细胞分化,这为神经系统损伤和退行性疾病的治疗提供了新的思路。如何筛选和优化诱导 MSC 向神经元样细胞转化的最佳条件是细胞治疗的前提。目前国外研究主要集中于化学制剂如2-硫基乙醇、二甲亚砜、硫代甘油[1]等,但这些诱导剂均有一定毒性,不能应用于人体内。中药丹参是已经证实对神经系统疾病确有临床疗效并可用于人体注射的中药,药理研究发现,其主要成分为脂溶性成分和水溶性成分两大类。其中,水溶性成分主要为酚酸类物质,具有抗氧化、抗缺血、改善微循环等功效,近年还发现其对神经细胞损伤具有保护作用[2]。丹酚酸不稳定,主要以钠盐(丹参素)的形式存在,而丹参素是丹参中主要有效成分之一。本实验旨在探讨丹参素对 MSC 分化成神经元中的作用及其最佳条件。

基金项目:国家中医药管理局留学回国人员资助课题(No. 2003LHR11),浙江省自然科学基金资助项目(No. M303707)

作者单位:1. 浙江中医学院(杭州 310053);2. 浙江大学附属第一医院;3. 浙江省中医院

通讯作者:余 勤, Tel: 0571 - 86613712, E-mail: qinyu3587@yahoo.com.cn

万方数据

材料和方法

1　材料和试剂

成人健康骨髓(浙江大学医学院附属一院血液科提供)、Ficoll-paque 淋巴细胞分离液(上海试剂二厂)、胎牛血清(GIBCO 公司)、L-DMEM 培养基(GIBCO 公司)、0.5%胰蛋白酶-1 mmol EDTA(GIBCO 公司)、硫代甘油(Sigma 公司)、碱性成纤维生长因子(bFGF, R&D 公司)、丹参素(中国药品生物制品检定所)、小鼠抗人巢蛋白单抗(nestin, Maxim 公司)、小鼠抗人神经元特异性烯醇酶(NSE)单抗、小鼠抗人神经丝蛋白(NF-M)单抗和神经胶质酸性蛋白(GFAP)单抗(均来源于美国 Zymed)、荧光标记小鼠抗人单抗 CD29-PE、CD44-FITC、CD166-PE、CD14-FITC、CD34-PE、CD45-PE、HLA-DR-FITC(美国 Beckman-Coulter)、Envision 二步法试剂盒(DAKO 公司)。

2　实验方法

2.1　MSC 的体外培养和扩增　无菌条件下采集正常人骨髓 10～20 ml,肝素抗凝,与等体积 PBS 混匀,轻轻叠加到密度 1.077 g/ml 等量 Ficoll-paque 分离液上,2 500 r/min 离心 25 min,收集单个核细胞层,用 PBS 洗涤两次,1 500 r/min 离心 10 min。细胞重悬于含 10%胎牛血清(FCS)的 L-DMEM 培养液,以 2.0×10^6/ml 密度接种于 25 cm^2 塑料培养瓶,置 37 ℃、5%CO_2 饱和湿度的细胞培养箱培养。48 h 后更换培养液,弃去未贴壁细胞,以后 3～4 天换液 1 次。贴壁细胞接近 80%～90%融合后,用 0.25%胰蛋白酶-1mmol EDTA 消化 0.5～1 min, 1 000 r/min 离心 10 min,弃上清,加入 L-DMEM 培养液,重悬细胞,按 1∶3 比例传代培养。

2.2　MSC 表面抗原检测　取扩增传代的 1、3、5 代细胞,用 0.25%胰蛋白酶-1mmol EDTA 消化收获细胞,PBS 洗涤后制成 1.0×10^6/ml 的单细胞悬液,分别加入抗 CD14、CD29、CD34、CD44、CD45、CD166、HLA-DR 单抗,室温孵育 30 min,流式细胞仪(FACSVantage 型)检测,各代骨髓 MSC 表面抗原检测值采用单因素方差分析统计。

2.3　MSC 细胞周期的测定　经扩增传代的 MSC 消化后 PBS 洗涤两次,RNA 酶 Ⅰ 处理,PI 染色。用流式细胞仪计数 10^6 细胞,应用 ModFIT 软件分析结果。

2.4　定向诱导 MSC 向神经元分化　bFGF 预诱导－丹参素诱导组(实验组):传至 P3、P5、P7 的骨髓 MSC 按 0.4×10^6/ml 接种于事先放置有消毒盖玻片的 6 孔板内制备细胞爬片。当细胞达到 60%～70%融合时,弃培养液,加入含 bFGF(10 μg/L)的 L-DMEM 培养液(含 20%的 FCS)预诱导 24h 后,更换培养液,PBS 洗涤 2 次,再分别加入不同浓度丹参素对 MSC 进行诱导分化,并在丹参素 10 μg/ml 条件下,观察不同时间对 MSC 诱导分化后的影响。空白对照组:不加任何诱导剂;硫代甘油诱导对照组:用含 1 mmol/L 的硫代甘油的 L-DMEM 预诱导,再加入含 5 mmol/L 的硫代甘油的 L-DMEM 诱导;单用丹参素对照组:不用 bFGF 预诱导,直接加入 10 μg/ml 丹参素的无血清 L-DMEM 诱导;单用 bFGF 对照组:用 bFGF 预诱导,不加入诱导剂。每组包括 12 个细胞爬片。采用免疫组化进行鉴定。

2.5　诱导细胞免疫组化鉴定　为进一步确定 MSC 是否分化为神经元样细胞,采用神经元标志物 NSE、NF-M、nestin、GFAP 进行鉴定。诱导细胞用 40g/L 多聚甲醛固定 15min,洗涤后加入过氧化物酶阻断剂,非免疫性动物羊血清封闭,分别加入 nestin(1∶50 稀释)、NSE(1∶50 稀释)、NF-M(1∶100 稀释)和 GFAP(1∶50 稀释)单抗 4℃ 孵育过夜,PBS 洗涤后加入 Envision 孵育 30min,TBS 洗涤,DAB 显色,苏木素复染,中性树胶封固。各诱导组的细胞免疫组化染色后光镜下随机读取 10 个非重叠视野(×100),计算 nestin、NSE、NF-M 和 GFAP 阳性细胞占总细胞数的比例,结果用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 t 检验。

结　果

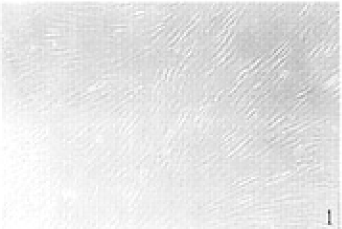
1　MSC 形态学和生长特性　骨髓单个核细胞悬液接种于塑料培养瓶后,24 h 细胞贴壁,呈圆形或多角形,散在分布于瓶底。48 h 后更换培养液后,2～3 天出现梭形贴壁细胞。7～10 天细胞迅速增生,贴壁细胞呈旋涡状、辐射状排列生长。培养 2～3 周,贴壁细胞接近 80%～90%融合(见图 1)。传代细胞在 12h 内完全贴壁,重新变成梭形细胞。细胞传代后生长迅速,增生快,大约 7～10 天达到完全融合。原代细胞经消化后细胞数达$(6\sim8)\times10^5$,扩增至第 5 代细胞数可达$(2\sim3)\times10^8$。

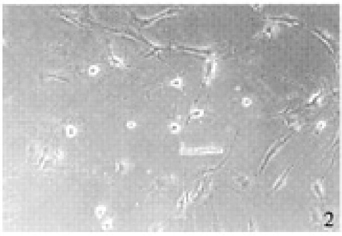
2　MSC 表达抗原特性　见表 1。流式细胞仪检测结果显示,骨髓 MSC 表面抗原细胞 CD29、CD44、CD166 表达阳性,而 CD14、CD34、CD45、HLA-DR 为表达阴性。扩增后的各代 MSC CD29、CD44、CD166、CD14、CD34、CD45 及 HLA-DR 表达情况差异无显著性。

万方数据

表 1　MSC 表面抗原表达情况　(%, $\bar{x} \pm s$)

代数	CD14	CD29	CD34	CD44	CD45	CD166	HLA-DR
1	2.76±3.28	73.40±29.26	1.47±0.99	92.53±8.67	6.21±5.71	98.95±0.35	2.52±1.73
3	1.88±0.54	87.17±11.24	2.55±2.11	91.73±10.81	6.73±4.63	98.90±0.85	1.97±0.43
5	0.76±0.87	89.57±6.70	2.54±2.05	93.00±9.34	6.14±1.60	98.93±0.49	0.88±1.05





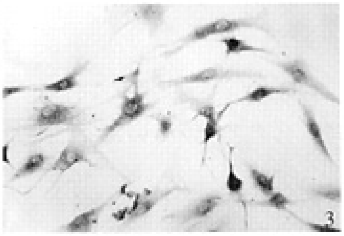


图 1　原代骨髓 MSC 贴壁 16 天后达融合(×100);**图 2**　丹参素诱导 5h 时神经样细胞(×100);**图 3**　丹参素诱导 MSC 分化为神经元样细胞 NSE 染色阳性(×200)

3　MSC 细胞周期特性　原代细胞只有极少数细胞处于 S + G_2 + M 期,90%以上细胞处于 G_0/G_1 期。

4　光镜下观察 MSC 诱导为神经元的形态变化　MSC 在含 bFGF 的 DMEM 预诱导液中处理 24 h 后,细胞形态无明显变化。加入丹参素诱导液 0.5 h 后,部分细胞形态开始改变,原来宽大扁平的 MSC 胞质向核收缩,呈典型的核周体形态,胞体周围伸出较长的突起(轴突),突起末端出现一级和二级分支,类似神经元,随着时间的推移,转变为神经元形态的 MSC 逐渐增加,部分细胞拉成网状(见图 2)。超过 5 h 后,小部分细胞从盖玻片上脱落,呈现悬浮状态。空白对照组细胞形态未见任何变化;硫代甘油诱导对照组诱导 5 h 后,多数细胞呈较典型的神经元样细胞形态,但部分细胞脱落。单用丹参素对照组和单用 bFGF 对照组中仅有少量神经元样细胞出现。

5　免疫组化鉴定　免疫组化染色显示,实验组中神经元样细胞的胞体及部分突起 NSE、NF-M、nestin 染色为阳性,呈棕黄色(见图 3),GFAP 染色呈阴性。

5.1　不同浓度丹参素对 NSE、NF-M、nestin、GFAP 阳性率的影响　见图 4。实验组在丹参素 1、5、10、20、40、80 μg/ml 不同浓度诱导作用下,NSE 阳性细胞占总细胞数的比例分别为(3.08 ± 0.38)%、(30.72 ± 4.31)%、(53.20 ± 2.80)%、(41.08 ± 3.13)%、(21.73 ± 1.19)、(17.73 ± 1.10)%,NSE 染色阳性细胞呈棕黄色,随着浓度的增加,NSE 阳性细胞率增加,当诱导浓度为 10 μg/ml 时,阳性细胞率最高,为 53.20%,但是之后随着浓度的增加,NSE 阳性细胞率减少。空白对照组细胞形态未见任何变化;硫代甘油诱导对照组有大量神经元样细胞(NSE 阳性细胞率约为 69.10%);单用丹参素对照组有少量神经元样细胞(NSE 和 NF-M 阳性细胞率<2%);单用 bFGF 对照组有部分神经元样细胞(NSE 和 NF-M 阳性细胞率<15%)。

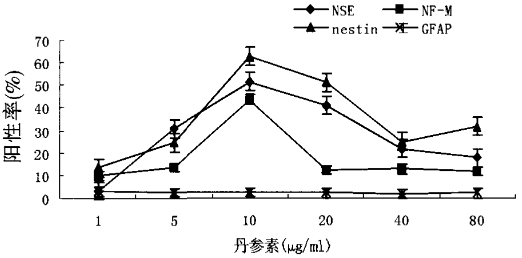


图 4　不同浓度丹参素对 NSE、NF-M、nestin、GFAP 阳性率的影响

5.2　各组诱导时间与 NSE 阳性率关系　见图 5。实验组和硫代甘油诱导对照组随着时间的推移,NSE 阳性细胞率增加,且胞浆棕黄颜色加深,丹参素(10μg/ml)诱导时间为 0、0.5、1、3、5、7 h 时,NSE 阳性细胞率分别为 0、(11.51 ± 1.02)%、(36.72 ± 2.50)%、(46.83±1.81)%、(53.20±2.59)%、(51.82 ±2.11)%,以 5 h 阳性细胞率最高,但是之后随着时间的增加,NSE 阳性细胞数目基本不变。

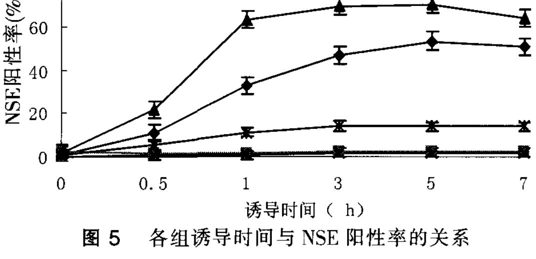


图 5　各组诱导时间与 NSE 阳性率的关系

5.3　丹参素(10 μg/ml)诱导 MSC 后对 NSE、NF-M、nestin、GFAP 表达的影响　见图 6。丹参素

万方数据

(10 μg/ml)诱导 1 h 后，诱导细胞 NSE、NF-M、nestin 阳性率均呈上升，并在诱导 5 h 时最为显著，而 GFAP 免疫组化均为阴性。

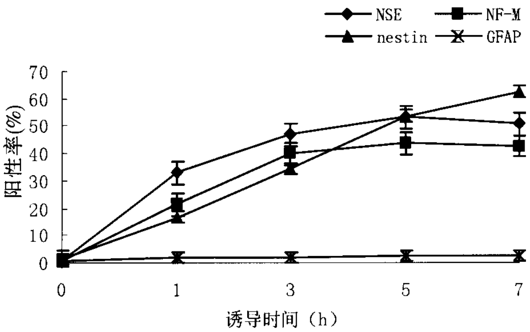


图 6　丹参素(10μg/ml)诱导 MSC 后对 NSE、NF-M、nestin、GFAP 表达的影响

讨　论

干细胞研究以及利用干细胞进行细胞治疗已经成为继人类基因大规模测序完成后生命科学中最活跃的研究领域之一。干细胞由于自身治疗疾病的优点使其成为组织工程及细胞和基因治疗中重要的种子和载体细胞。MSC 是骨髓造血微环境的重要组成部分，并具有多向分化潜能，可分化为多种中胚层来源的间质细胞，如软骨细胞、成骨细胞、脂肪细胞、成肌细胞等。近年来研究发现 MSC 还具有跨越胚层界限向神经细胞分化的潜能，已有多项动物实验表明，MSC 可促进脑出血及脊髓损伤的神经修复[3]，Kopen[4]、Zhao[5] 和 Chen 等[6]3 个研究小组分别采用不同的方法证实小鼠 MSC 在脑内可转变为神经元，Woodbury 等[1]体外诱导 MSC 也得到同样的结果，提示 MSC 在特定的条件下可转化为神经细胞，MSC 将在神经退行性疾病和中枢神经损伤治疗中起重要作用。在体外建立 MSC 分离、纯化和扩增，以及 MSC 向神经细胞分化的最佳方案，是进一步研究 MSC 细胞治疗作用和机理的必要条件。

本研究采用密度梯度离心贴壁培养方法，原代可获得(6～8)×10^5 个细胞，每传代 1 次细胞数可增加 2 倍左右，传至第 5 代可达(2～3)×10^8 个细胞，表明该分离培养获得的 MSC 在体外有较大的扩增能力。目前常规的细胞表面抗原单抗尚不能特异性检测 MSC，一般认为 CD29、CD44、CD166 等为 MSC 的重要表面标记。MSC 与造血干细胞共存于骨髓中，但流式细胞仪检测结果显示 MSC 不表达造血细胞表面抗原，如造血干细胞标志抗原 CD34、白细胞标志抗原 CD45、单核/巨噬细胞表面抗原 CD14 等均为阴性，证明 MSC 为非造血类细胞。本研究采用的分离培养和扩增方法，细胞经多次传代仍保持其增殖能力，细胞形态趋于一致，多种单抗联合检测结果显示，CD29、CD44、CD166 阳性标记出现单峰，CD14、CD34、CD45、HLA-DR 均表达阴性，经 5 次传代细胞各表面抗原表达亦无明显差别，表明本研究所采用的细胞培养条件适于 MSC 的纯化和扩增，培养细胞为 MSC。

丹参是临床上常用的治疗心脑疾病的常用药物，具有活血祛瘀、凉血安神的作用。丹参素是丹参的重要的水溶性成分，具有抗氧化作用。本研究证实丹参有效成分之一丹参素具有诱导 MSC 转化为神经元样细胞的作用，且在经 bFGF 预诱导后，用 10 μg/ml 丹参素诱导 5 h 时作用最为显著，其作用具有与时间和浓度相关的特点。丹参素诱导 5 h 后，大部分 MSC 可转变为神经元样细胞，并有轴突和树突出现，多个神经元之间可形成网络。对照组中，单用 bFGF 和单用丹参素诱导组均不能达此效果，说明 bFGF 和丹参素联合应用具有协同作用。其中 bFGF 可能参与了 MSC 向神经元分化的启动，而丹参素在其后向神经元样细胞转化及扩增中起重要作用。本研究采用多种单抗的免疫组化法对神经元样细胞进行鉴定。nestin 是一种分布在神经前体细胞的中间丝蛋白，是神经干细胞特异性标志物，待神经前体细胞分化为神经元，这种中间丝蛋白将逐渐消失。本研究结果显示，诱导 1h 后的神经元 nestin 表达阳性，证明该细胞属于分化早期神经元。而神经元标志物 NSE、NF-M 表达也为阳性，证明该细胞不仅形态学发生改变，而且在分子水平上也发生改变。GFAP 标志物染色呈阴性，证明该神经元样细胞不是星形胶质细胞。

MSC 取材方便，易从自体获取，回植后不会发生免疫排斥反应；易于在体外分离、培养和扩增；体外基因转染率高并能稳定高效表达外源基因，因此是理想的种子细胞。而 MSC 体内及体外具有向神经细胞分化的潜能，为多种疑难神经系统疾病的治疗开辟了新的途径。因丹参素为可用于人体内的中药单体成分，该培养方法的建立对于中药有效成分诱导 MSC 向神经细胞转化，并进一步应用于人体内细胞治疗提供了实验依据。

参 考 文 献

1 Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, et al. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J Neur Sci Res 2000;61(4):364—370.

2 吴俊芳、王　洁，张均田. 总丹酚酸对小鼠脑缺氧的保护作

万方数据

用.中国临床药理学与治疗学杂志 1999;4(4):261—264.
Wu JF, Wang J, Zhang JT. Protective effect of total salvianolic acids against anoxia of brain injuries in mice. Chin J Clin Pharmacol Ther 1999;4(4):261—264.
3 Guevas P, Carceller F, Dujovny M, et al. Peripheral nerve regeneration by bone marrow stromal cells. Neurol Res 2002;24(7):634—638.
4 Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96(19): 10711—10716.
5 Zhao LR, Duan WM, Reyes M, et al. Human bone marrow stem cells exhibit neural phenotypes and ameliorate neurological deficits after grafting into the ischemic brain of rats. Exp Neurol 2002;174(1):11—20.
6 Chen J, Li Y, Wang L, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. Stroke 2001;32(4):1005—1011.

(收稿:2004-03-18 修回:2004-06-18)

清燥方治疗干燥综合征临床观察

刘 维 王 慧 杨晓砚 左 芳 陈伏宇

2002 年 6 月—2003 年 12 月,笔者以中药清燥方治疗干燥综合征 30 例,并以泼尼松为对照组,现将临床结果报告如下。

临床资料 60 例患者(住院 24 例,门诊 36 例)符合 2002 年修订的干燥综合征国际分类(诊断)标准〔董怡.2002 年修订的干燥综合征国际分类(诊断)标准.中华风湿病学会杂志 2002;(6):257〕。按随机数字表法随机分为治疗组和对照组,治疗组 30 例,男 3 例,女 27 例,年龄 35~60 岁,平均 48.5 岁,病程 4~12 年,平均 8 年。对照组 30 例,男 2 例,女 28 例,年龄 34~60 岁,平均 48 岁,病程 3.5~12.0 年,平均 7.5 年。两组资料比较具有可比性。

治疗方法 治疗组用中药清燥方,组成:生地、白花蛇舌草各 30g,生黄芪、当归、沙参、麦冬、王不留行、夏枯草、露蜂房各 15g,水煎,每日 1 剂,分两次口服,每次 200ml。对照组口服泼尼松,每天 0.5mg/kg,每月减量 5mg,两组均以 3 个月为 1 个疗程。两组患者治疗前后查血沉(ESR)、C 反应蛋白(CRP)、免疫球蛋白、唾液流率、滤纸试验(Schirmer 试验)、关节肿数、关节痛数、血、尿常规、肝、肾功能、血糖,并做角膜荧光染色检查,记录不良反应发生情况。

结 果

1 疗效评定标准 显效:口干、眼干症状明显好转;全身症状好转,角膜荧光染色明显好转,ESR、CRP、唾液流率、Schirmer 试验、免疫球蛋白 5 项中 3 项化验指标有改善。有效:口干、眼干症状好转,全身症状好转,角膜荧光染色好转,实验室指标 5 项中有 1~2 项有改善。无效:口干、眼干症状改善不明显或不稳定,角膜荧光染色变化不大,实验室指标改善不明显或不稳定。

2 两组疗效比较 治疗组:显效 9 例(30.0%),有效 14 例(46.7%),无效 7 例(23.3%),总有效率 76.7%。对照组:显效 10 例(33.3%),有效 12 例(40.0%),无效 8 例(26.7%),总有效率 73.3%。两组疗效差异无显著性($\chi^2=0.089$, $P>0.05$)。

3 两组患者治疗前后临床及实验室指标变化情况 见表 1。两组患者治疗后临床及实验室指标与治疗前比较差异均有显著性($P<0.01$)。

4 并发症改善情况 治疗组治疗前食道干涩,主食需水送者 18 例,治疗后改善者 13 例;干咳者 11 例,治疗后改善者 8 例。对照组治疗前主食需水送者 17 例,治疗后改善者 13 例;干咳者 10 例,治疗后改善者 7 例。两组并发症改善情况比较差异无显著性($P>0.05$)。

5 药物不良反应 对照组向心性肥胖 12 例,空腹血糖升高 2 例,失眠 1 例,血压升高 1 例,继发真菌感染 1 例。治疗组无副反应发生,两组副反应发生率差异有显著性($P<0.05$)。

表 1 两组患者治疗前后临床及实验室指标变化 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	时间	ESR (mm/h)	CRP (mg/L)	唾液流率 (ml/15min)	Schirmer 试验 (mm/5min)	关节肿数 (个)	关节痛数 (个)
治疗	30	治疗前	78.20±25.25	15.58±12.14	1.58±1.03	3.85±1.70	10.50±4.88	12.50±5.30
		治疗后	21.13±18.72*	6.96±3.87*	7.60±3.70*	8.99±2.84*	3.50±1.33*	4.50±2.50*
对照	30	治疗前	73.79±26.08	15.32±11.44	1.66±1.21	3.92±1.96	10.00±4.50	11.50±5.25
		治疗后	24.56±20.21*	7.15±3.92*	7.19±3.86*	8.73±2.61*	4.00±1.20*	5.00±2.00*

注:与本组治疗前比较,* $P<0.01$

讨 论 干燥综合征属中医学"燥症"、"燥痹"的范畴,历代医家多以阴虚论治。笔者临床体会,本病多为正虚邪盛、阴虚内热、毒蕴血瘀所致。方中生地益肾养肝、滋阴润燥,生黄芪益气助阴,当归、沙参、麦冬滋阴养血,白花蛇舌草、夏枯草、露蜂房清热解毒,王不留行活血化瘀通络,诸药合用,肝肾濡润,津液得生,瘀血得祛,热毒得清,共奏清润干燥,清热解毒之功。经过临床观察,发现该方治疗干燥综合征疗效安全可靠,其作用机制尚待进一步深入研究。

(收稿:2004-04-05 修回:2004-06-28)

作者单位:天津中医学院第一附属医院风湿科(天津 300193)

万方数据