

半夏芩连汤对干燥综合征模型 NOD 小鼠 Th17/IL-17 免疫炎性途径的影响

陆妍¹ 陈祎² 王亚南¹ 刘慧¹ 张继胜¹ 马卫国¹
沈志明¹ 王洁¹ 王康³ 孟凤仙¹

摘要 目的 探讨干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)外分泌腺免疫炎性损伤的分子机制及半夏芩连汤的干预作用。**方法** 将 18 只雌性 NOD 小鼠随机分为模型组、阳性药组、中药组,每组 6 只,将 6 只雌性 Balb/c 小鼠设为空白对照组。空白对照组及模型组每天予去离子水 0.1 mL/10 g 灌胃,阳性药组予雷公藤多甙片 10 mg/kg 灌胃,中药组每天予半夏芩连汤按生药 60 g/kg 灌胃。连续给药 12 周后,摘眼球取血处死,留取双侧腮腺、颌下腺组织。采用 RT-PCR 技术检测 IL-17、IL-6、毒蕈碱样胆碱能受体 3 (type 3 muscarinic acetylcholine receptors, M3R)、水通道蛋白 5 (aquaporin protein-5, AQP5) mRNA 转录水平,Western blot 技术检测 M3R、AQP5 蛋白表达水平,ELISA 法检测 IL-17、IL-6 蛋白表达水平。**结果** 与正常组比较,模型组 IL-17、IL-6、M3R、AQP5 mRNA 转录及蛋白的表达水平显著上调,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性药组、中药组 IL-17、IL-6、M3R、AQP5 mRNA 转录水平及 IL-17、IL-6、M3R、AQP5 蛋白表达显著下调,差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。治疗组间比较,与中药组比较,阳性药组 IL-17、IL-6、M3R mRNA 转录水平显著下调($P < 0.01$),M3R、AQP5 蛋白表达显著下调($P < 0.01$)。**结论** 半夏芩连汤抑制 SS 外分泌腺神经毒性损伤的分子机制可能与其调控 Th 17/IL-17 免疫炎性途径相关。

关键词 半夏芩连汤;干燥综合征;NOD 小鼠;免疫炎性损伤

Effect of Banxia Qinlian Decoction on Th17/IL-17 Immune Inflammatory Way of Sjögren's Syndrome NOD Model Mice LU Yan¹, CHEN Yi², WANG Ya-nan¹, LIU Hui¹, ZHANG Ji-sheng¹, MA Wei-guo¹, SHEN Zhi-ming¹, WANG Jie¹, WANG Kang³, and MENG Feng-xian^{1*} 1 Department of Rheumatology, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100078), China; 2 Department of Geriatrics, No. 3 Affiliated Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100029), China; 3 Department of Massage, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing (100078), China

ABSTRACT Objective To explore the molecular mechanism of exocrine immune inflammatory injury of Sjögren's Syndrome and the intervention of Banxia Qinlian Decoction (BQD). **Methods** Totally 18 female NOD mice were randomly divided into the model group, the positive drug group, and the BQD group, 6 in each group. Six female BALB/c mice were recruited as a blank control group. Mice in the blank control group and the model group were gavaged with deionized water at the daily dose of 0.1 mL/10 g body weight. Tripterygium Tablet was administered by gastrogavage to mice in the positive group at the daily dose of 10 mg/kg. BQD was administered by gastrogavage to mice in the BQD group at the daily dose of 60 g crude drugs/kg. After 12 weeks of medication, mice were sacrificed. Their eyeballs were excised and blood collected. Tissues of bilateral parotids and submandibular glands were kept. mRNA transcriptional levels of IL-17, IL-6, type 3 muscarinic acetylcholine receptors (M3R), aquaporin protein-5 (AQP5) were detected by RT-PCR. Expression levels of M3R and AQP5 protein were detected by Western blot. Protein expression levels of IL-17 and IL-6 were detected by ELISA. **Results** Compared with the

基金项目:教育部高等学校博士学科专项科研基金(No. 20120013110006)

作者单位:1. 北京中医药大学东方医院风湿科(北京 100078); 2. 北京中医药大学第三附属医院老年病科(北京 100029); 3. 北京中医药大学东方医院按摩科(北京 100078)

通讯作者:孟凤仙, Tel: 010-67689720, E-mail: mfx0823@163.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2015. 05. 0612

normal group, mRNA transcriptional levels and protein expression levels of IL-17, IL-6, M3R, and AQP5 were significantly up-regulated in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, mRNA transcriptional levels and protein expression levels of IL-17, IL-6, M3R, and AQP5 were significantly down-regulated in the positive drug group and the BQD group with statistical difference ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the BQD group, mRNA transcriptional levels of IL-17, IL-6, and M3R, as well as M3R and AQP5 protein expression levels were significantly down-regulated in the positive drug group (all $P < 0.01$). Conclusion The molecular mechanism of BQD in inhibiting SS exocrine neurotoxic injury might be possibly related to regulating Th17/IL-17 immune inflammatory way.

KEYWORDS Banxia Qinlian Decoction; Sjögren's syndrome; NOD mouse; immune inflammatory injury

原发性干燥综合征(primary Sjögren's syndrome, pSS)病因尚不明确,一般认为与遗传、免疫、病毒感染、内分泌及环境因素有关。现代医学认为,pSS 外分泌腺病理损伤机制是一种多因素综合作用的结果。治疗方面,2008 年美国风湿病年会仍然认为目前无 pSS 免疫抑制治疗的循证医学方案,传统的糖皮质激素、免疫抑制剂及现代生物制剂 TNF- α 拮抗剂均无肯定作用^[1]。中医治疗本病虽然历史悠久,经验丰富,但基本停留在临床阶段的个体化诊疗水平,特异性治疗手段少,并且缺乏作用机制、药效靶点、临床药理学等环节的系统研究^[2,3],极大地影响了药物的使用范围。本研究采用 NOD 小鼠体内实验方法,评价有良好临床疗效的半夏芩连汤对模型动物腮腺、颌下腺组织及血清 IL-17 途径的影响,以期探讨中药治疗 pSS 的生物学机制和作用靶点。

材料和方法

1 动物 SPF 级雌性 NOD/Ltj 小鼠 18 只,8~9 周龄,体重(19.63 \pm 1.91)g,购于北京华阜康生物科技股份有限公司。许可证号:SCXK(京)2009-0004。清洁级雌性 BALB/c 小鼠 6 只,8~9 周龄,体重(18.32 \pm 1.24)g,购于北京华阜康生物科技股份有限公司。许可证号:SCXK(京)2009-0007;饲养于北京中医药大学科研实验中心屏障环境动物实验室。单笼饲养,自由进食饮水。

2 药物 半夏芩连汤煎剂(组成:半夏 9 g 黄芩 9 g 黄连 9 g 北沙参 15 g 生石膏 30 g 白芍 9 g 山萸肉 30 g 等),由北京中医药大学东方医院药剂科提供。雷公藤多甙片:10 mg/片,湖南协力药物有限公司,生产批号:20130301。

3 试剂与仪器

3.1 仪器 Applied Biosystems 7500 型定量 PCR 仪[美国应用生物系统(ABI)公司];TC-96/G/H

(b) 梯度 PCR 仪(博日科技有限公司);HC-3018R 高速冷冻离心机(中科中佳公司);紫外分光光度计 UV-2000(尤尼柯,上海仪器有限公司);RT-6000 型酶标仪(深圳雷杜公司产品);DYY-10C 电泳仪(北京六一仪器厂);JY-2Y1 转膜仪(北京君意东方电泳设备有限公司);Sonic Ruptor 400 超声匀浆器(OMNI)。

3.2 试剂 Trizol 提取总 RNA 试剂(Invitrogen 公司);One Step SYBR RT-PCR Kit(Takara 公司);GAPDH、目标基因上下游引物(美国 Invitrogen,上海英骏生物技术有限公司);Mouse IL-17、IL-6 Platinum ELISA 试剂盒(美国 eBioScience 公司);AQP5 Antibody, M3R Antibody(英国 abcam 公司);Tris、APS、SDS、TEMED、Tween-20、丙烯酰胺、甘氨酸、甲叉双丙烯酰胺等(美国 Sigma 公司)。

4 造模方法 采用自发性 SS 动物模型 NOD 小鼠进行实验研究^[4]。

5 分组及给药方法 18 只雌性 NOD 小鼠适应性饲养 4 周后,根据体重进行随机分组。分为模型组、阳性药组、中药组,每组各 6 只。BALB/c 小鼠 6 只设为空白对照组。空白对照组与模型组每日予去离子水 0.1 mL/10 g 灌胃。阳性药组每日予雷公藤多甙片 10 mg/kg 灌胃(浓度 1 mg/mL,每 10 g 体重小鼠灌胃 0.1 mL,相当于成人 1kg 体重用量的 10 倍)。中药组每日予半夏芩连汤按生药 60 g/kg 灌胃(浓度 3.03 g/mL,每 10 g 体重小鼠灌胃 0.1 mL,相当于成人 1kg 体重用量的 10 倍)。各组小鼠每日灌胃 1 次,连续干预治疗 12 周。

6 标本处理 干预治疗 12 周后,各组小鼠摘眼球取血,室温静置 2 h,4 $^{\circ}$ C,3 500 r/min,离心 15 min,取上层血清,储存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱。动物取血处死后,迅速摘取双侧颌下腺、双侧腮腺组织,置于液氮保存备用。

7 观察指标及方法

7.1 RT-PCR 方法检测 M3R、AQP5、IL-17、IL-6 mRNA 转录水平 取各组小鼠腺体组织,使用 Trizol 试剂提取 RNA 后,进行一步法 RT-PCR 反应,检测 AQP5、M3R、IL-17、IL-6 水平。反应体积为 20 μ L,反应体系含样本 RNA 2 μ L,10 pmol 引物各 0.8 μ L。AQP5、M3R、IL-17、IL-6 基因序列:AQP5 基因序列上下游引物分别是:5'-GGGGCTGGCATC-CTCTACGGT-3'和 5'-CAAAGAGCGGGCTGGGT-TCA-3'。M3R 基因序列的上下游引物分别是:5-CATCATTGGCAACATCCTTG-3, 5-AGGCCAG-GCTTAAGAG GAAG-3;IL-6 基因序列上下游引物分别是:5'-GCCCCAGTACCCCCAGGAGAAAGATTCC A-3'和 5'-AAGATGTAGCCGCCCCACACAGA-CAGCCACTC-3'。IL-17 基因序列上下游引物分别是:5'-AGATCCATTGATGCCTTCAAGGACTTTGT-3'和 5'-ATCTGAACTAGT GATTGTGTGGTT-3'。针对看家基因 actin 基因序列引物分别为:5'-CCCATCTATGAGGGTTACGC-3'和 5'-TTTAATGT-CACGCACGATTTTC-3'。扩增条件为:42 $^{\circ}$ C 灭活 5 min,95 $^{\circ}$ C 变性 10 s,95 $^{\circ}$ C 退火 5 s,60 $^{\circ}$ C 延伸 34 s,共 40 个循环。反应结束后进行熔解曲线分析,以鉴定 PCR 产物的特异性。使用 SDS 软件分析 RT-PCR 过程各检测样本的 Ct(Threshold of cycle)值。

7.2 Western blot 方法测定 AQP5、M3R 蛋白表达水平 取腺体组织 30 mg,加入 200 μ L 蛋白裂解液,彻底混匀。冰上组织裂解 15 min。匀浆后,4 $^{\circ}$ C,12 000 r/min,离心 10 min。取上清,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度后,将各样本蛋白调整至相同,将定量好的各样本按 1:1 比例加入 2 \times loading buffer 混匀,煮沸变性 5 min 后,保存于 -20 $^{\circ}$ C 备用。采用 SDS 聚丙烯酰胺电泳,电泳时依次配制 12% 分离胶,5% 浓缩胶,加定量后蛋白样本,电泳,浓缩胶 80 V,分离胶 120 V,待溴酚蓝电泳至胶底部时终止电泳。湿法电转移至 PVDF 膜,约 120 min,放入 TBST 中洗 1 次,5 min。将 PVDF 膜放入封闭袋中,根据膜面积以 0.1 mL/cm² 量加入封闭液 TBST(含 5% 脱脂奶粉),将膜浸入后,在水平摇床上缓缓摇动,室温 2 h。用封闭液将一抗按照 1:1 000 比例稀释,与膜共同孵育,4 $^{\circ}$ C 过夜。孵育结束,TBST 洗 3 次,每次 10 min。用封闭液稀释辣根过氧化物酶(Horse Reddish Peroxidase,HRP)标记的二抗,稀释比例 1:5 000,将稀释后的二抗与膜共同孵育 2 h。孵育结束,TBST 洗 4 次,每次 10 min。ECL 化学发光显色液曝光,采用凝胶图

像分析系统对 Western blot 蛋白杂交条带进行扫描,并用 gel-pro 软件对图像进行灰度分析。AQP5 相对含量的变化 = 目的蛋白灰度/Actin 灰度。M3R 相对含量的变化 = 目的蛋白灰度/Actin 灰度。

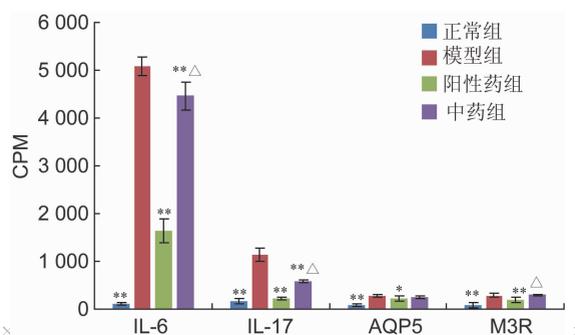
7.3 ELISA 方法检测血清 IL-6、IL-17 蛋白含量 取出 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存的血清置于 -20 $^{\circ}$ C 冰箱过夜后,于 4 $^{\circ}$ C 环境解冻。严格按照 ELISA 试剂盒说明书检测 IL-17、IL-6 在小鼠血清中的表达。

8 统计学方法 采用 SPSS 20.0 进行数据统计,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析比较,方差齐时两两比较应用 LSD 法,方差不齐时用 Games Howell 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

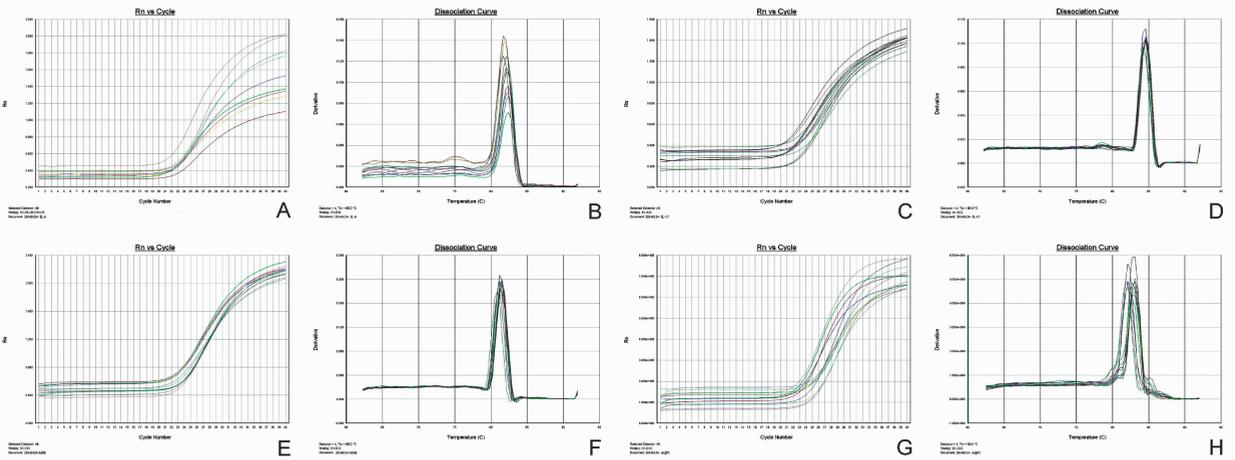
1 各组小鼠一般情况变化 正常组 BALB/c 小鼠生长状态良好,毛色光泽柔顺,饮食及活动正常,反应灵敏。实验过程中模型组部分小鼠出现消瘦、饮水量增多、躁动不安、毛发干枯脱毛症状,或出现腮腺肿大。实验 4 周后,中药组小鼠焦躁状态逐渐减轻,较模型组安静,反应无迟缓。6~7 周后阳性药组小鼠焦躁状态开始减轻。至实验结束前,模型组小鼠消瘦、毛发干枯等症状未改善。

2 各组 IL-6、IL-17 mRNA 水平比较(图 1,2) 与正常组比较,模型组 IL-6、IL-17、AQP5、M3R mRNA 表达显著上调,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性药组、中药组 IL-6、IL-17 mRNA 表达显著下调,差异有统计学意义($P < 0.01$);阳性药组 AQP5、M3R mRNA 表达显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与中药组比较,阳性药组 IL-6、IL-17、M3R mRNA 转录水平显著下调,差异有统计学意义($P < 0.01$),AQP5 mRNA 表达则差异无统计学意义($P > 0.05$)。扩增曲线及熔解曲线(图 2)。



注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与阳性药组比较, $\Delta P < 0.01$ 。

图 1 各组小鼠腺体 IL-6、IL-17、AQP5、M3R mRNA 表达水平比较

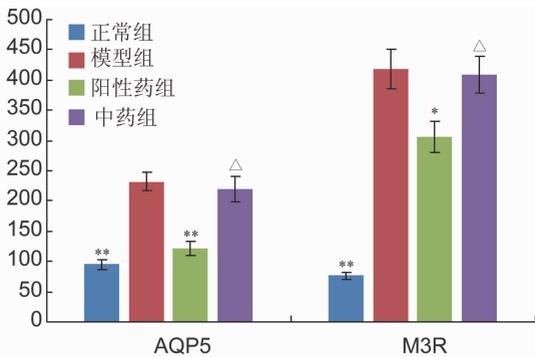


注:A~H 分别为 IL-6、IL-17、M3R、AQP5 mRNA 扩增曲线及溶解曲线

图 2 IL-6、IL-17、M3R、AQP5 mRNA 扩增曲线及溶解曲线图像

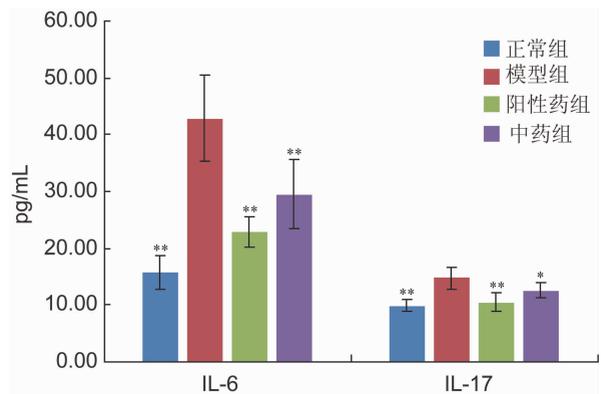
3 各组 AQP5、M3R 蛋白表达水平比较(图 3、4) 与正常组比较,模型组 AQP5、M3R 蛋白表达上调,差异有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,阳性药组 AQP5、M3R 蛋白表达下调,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。阳性药组较中药组 AQP5、M3R 蛋白表达下调明显,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

4 各组 IL-6、IL-17 蛋白表达水平比较(图 5) 与正常组比较,模型组 IL-6、IL-17 蛋白表达上调,差异有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较,阳性药组、中药组 IL-6、IL-17 蛋白表达下调,差异亦有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与中药组比较,阳性药组 IL-6、IL-17 蛋白表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。



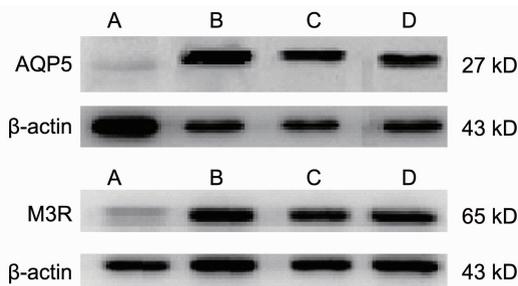
注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与阳性药组比较, $\Delta P < 0.01$

图 3 各组小鼠腺体组织 AQP5、M3R 蛋白表达水平比较



注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

图 5 各组小鼠血清 IL-6、IL-17 蛋白水平比较



注:A 为正常组;B 为模型组;C 为阳性药组;D 为中药组

图 4 各组 AQP5、M3R 蛋白印记图

讨 论

关于 pSS 发病机制,最新研究认为,支配外分泌腺的神经毒性损伤,造成其调节腺体分泌功能的效应蛋白 M3R 以及下游信号转导效应蛋白 AQP5 的表达和分布异常,导致唾液、泪液分泌障碍。而且认为,免疫炎症因子不仅介导免疫炎症反应,破坏腺泡细胞组织结构,更是介导神经毒性损伤的直接原因之一,诱发乃至加重外分泌腺组织病理损伤,加速病情发展恶化^[5]。

毒蕈碱样胆碱酯酶受体(MR),属于 G 蛋白耦联

受体,广泛分布于中枢及周围神经组织、心肌、平滑肌和各种腺体。M3R 为该家族成员,主要分布于外分泌腺。M3R 受体可与神经系统释放的乙酰胆碱和神经肽结合触发二级信号转导级联反应,使 Ca^{2+} 浓度增加,激活 Cl^- 通道,引起水分、电解质的分泌。各种原因引起神经递质和 M3R 结合能力的下降均可使信号转导异常,造成分泌功能障碍。或 M3R 缺陷;或受体后缺陷;及抗 M3R 抗体导致受体敏感性下降,使腺泡细胞内分泌颗粒中的物质丢失,均可导致口干、眼干的发生。临床应用 M3R 激动剂 (pilocarpine 和 cevimeline) 治疗干燥综合征有效^[6-8],M3R 抗原表位多肽可成功诱导 SS 小鼠模型^[9],有学者通过实验证明 pSS 患者自身产生抗 M3R 抗体,诱导 M3R 异位表达于导管^[10]。均证实 M3R 在 SS 发病过程中起重要作用。

AQP 是一族以选择性转运水为主要功能的膜蛋白,在上皮细胞及内皮细胞中含量较多,参与水的分泌、吸收及细胞外水的平衡^[11]。其中,AQP5 作为自主神经调控涎腺分泌的效应蛋白对水分子有高通道性,是最早被报道发现于唾液腺内的水通道蛋白,对唾液分泌的影响被肯定。目前研究认为,当 AQP1 和 AQP5 蛋白表达量减低可导致唾液量减少^[12],或 AQP5 异常分布^[13],即 AQP5 的表达由腺泡上皮细胞顶膜转移至基侧膜,造成水分子从腺泡细胞顶膜向基侧膜的逆向转运,可加重唾液分泌的减少。而且 AQP5 尚存在于肾脏、呼吸系统、消化系统、神经系统^[14,15],泪腺^[16],是否与 SS 多系统损伤有关联,有待进一步研究。

而免疫炎症因子在 pSS 外分泌腺损伤中的重要作用机制仍是目前国际风湿免疫学领域研究的热点。Th17 细胞是导致自身免疫疾病发生的关键性免疫应答细胞。Th17/IL-17 免疫途径是自身免疫性疾病发生的重要机制^[17]。过量的 Th17 细胞反应或 IL-17 过表达,启动下游 NF- κ B、P38 MAPK、P13K 等一系列信号转导通路,通过协同及负性调节信号转导机制,影响 IL-6、TNF- α 、IL-8、COX₂ 等众多炎症因子转录表达,诱导炎症反应,以及介导炎症细胞在组织中浸润,协同 B 细胞产生抗体,放大靶器官的免疫反应及炎症性破坏,从而参与自身免疫性疾病的发生。IL-6 是第一个被认识的 IL-17 的靶基因,同时作为 Th17 细胞分化过程中的必须因子,正反馈调节 IL-17 的产生及功能^[18]。IL-6 亦能促进自身抗体产生 B 细胞分化因子,是 pSS 体内 B 细胞高表达的原因之一。有学者推测,B 细胞通过细胞表面免疫球蛋白与注入的抗原物

质如 M3R 受体蛋白多肽相结合,结合后的分子被抗原递呈系统捕获并递呈,触发了自身免疫,造成组织损伤,从而暴露类似 pSS 的新的抗原表位,如 M3R 受体蛋白多肽、 α -胞衬蛋白、ANA,导致抗原表位扩展,进一步加重腺体损伤^[19]。研究认为,TNF- α 可引起 pSS 涎腺腺泡细胞表面 AQP5 异常表达或异常分布,导致对水分泌的抑制。另外,TNF- α 对副交感神经造成神经毒性,导致神经递质不能正常释放,无法使 M3R 激活,而致使对唾液分泌的抑制^[20]。大量关于 pSS 的研究报道 pSS 患者血清及唇腺组织中 IL-17 表达增加。一些学者认为 IL-17 是 pSS 唾液腺损害的重要炎症因子。由此可见,IL-17、IL-6、TNF- α 的协同作用,可能是影响 M3R、AQP5 的生物学功能,乃至影响 pSS 的发展转归的重要或首要因素^[21,22]。

SS 在中医古代文献中无相似记载,归燥病门。后世医家称之为燥痹。笔者认为本病病机特点为:或伤于外感,失治误治,邪毒内侵,久留入血,化热化燥,热燥瘀毒,互相为用,损伤气机,发为本病;或发于内伤,气机阻滞,气化失调,升降失序,气滞血凝,津不上乘,液不布散,败血浊津,留于血分,化火成毒,伤及脏腑,发于本病。故病位在脾胃,病性属气机失调,热毒瘀浊内阻。半夏芩连汤为治疗 SS 经验方,临床疗效显著。该方诸药配伍,辛开温散,理气降浊,苦寒泻热,酸甘化阴,补益肝肾,共达条畅气机,解毒升津之功,方可使气行、血行、水行,气机升降有序,津液布散有常,从而改善病情,改善本病漫长的病理损伤过程。本实验结果显示:阳性对照药与治疗药明显下调 NOD 小鼠颌下腺、腮腺组织及血清 IL-17、IL-6、M3R、AQP5 mRNA 转录及蛋白表达水平。提示该中药制剂抑制 NOD 模型鼠外分泌腺免疫炎症损伤的分子机制可能与其调控 Th17/IL-17 免疫途径有关。可见本方的分子药理机制与中医学功效特点有殊途同归之意。AQP5 实验结果显示,阳性药组及治疗组 mRNA 转录及蛋白表达水平低于模型组,高于正常对照组,与文献报道相符^[20]。该报道提示,pSS 患者唇腺 AQP5 mRNA 水平表达与非结缔组织病组比较明显升高 ($P < 0.05$),并与病程呈正相关;而 pSS 患者唇腺腺泡细胞腔内 AQP5 蛋白表达与非结缔组织病组相比较明显降低 ($P < 0.05$),并与唇腺淋巴细胞浸润灶评分呈负相关。认为 SS 患者唇腺 AQP5 的表达异常提示,在 SS 发病机制中,AQP5 的转录、转运过程中某些环节可能发生了改变。其他学者有报道:SS 患者泪腺中 AQP5 含量明显高于非 SS 的干眼症患者及正常人^[23]。进一步深入研究正在进行中。

参 考 文 献

- [1] 李梦涛, 赵岩, 董怡. 干燥综合征亟待更多的关注[C]. 2008 年北京医学会风湿病学术年会论文汇编.
- [2] 林青, 张前德, 魏睦新. 干燥综合征中西医结合研究进展[J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(4): 778-781.
- [3] 何慧珍, 金桂兰. 干燥综合征中医论治近况[J]. 环球中医药, 2011, 4(6): 481-489.
- [4] 陈海英, 栗占国. 干燥综合征动物模型的研究与应用现状[J]. 中华风湿病学杂志, 2004, 8(8): 493-496.
- [5] 何菁, 王慧, 栗占国. M3 受体蛋白多肽在干燥综合征发病中作用的实验研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2008, 12(7): 439-441.
- [6] Beroukas D, Goodfenow R, Hiscock J, et al. Up-regulation of M3-muscarinic receptors in labial salivary gland acini in primary Sjögren Syndrome [J]. Lab Invest, 2002, 82(2): 203-210.
- [7] Dawson IJ, Christmas SE, Smith PM. An investigation of interactions between the immune system and stimulus-secretion coupling in mouse submandibular acinar cells: a possible mechanism to account for reduced salivary flow rates associated with the onset of Sjögren's syndrome [J]. Rheumatology, 2000, 39(11): 1226-1233.
- [8] Bacman S, Perez Leiros C, Sterin-Borda L, et al. Autoantibodies against lacrimal gland M3 muscarinic acetylcholine receptors in patients with primary Sjögren's syndrome [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998, 39(1): 155-156.
- [9] 邹新乐, 李想, 徐凯彪, 等. 毒蕈碱受体 3 抗原表位多肽诱导干燥综合征动物模型的研究[J]. 现代免疫学, 2009, 29(1): 25-29.
- [10] 罗慧臣, 李萍, 肖卫国. M3R 与 AQP5 在干燥综合征患者唇腺中的表达与意义[J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(1): 79-87.
- [11] 才丽平, 赵金茹, 庶茹, 等. 水通道蛋白研究进展[J]. 解剖科学进展, 2003, 9(2): 167-170.
- [12] 肖林, 杨军, 胡静, 等. 水通道蛋白 1-5 在干燥综合征小鼠颌下腺中的表达[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2005, 3(4): 325-329.
- [13] 杨军, 肖林, 孙远, 等. AQP-5 在干燥综合征小鼠颌下腺中的表达[J]. 第三军医大学学报, 2004, 26(2): 122-124.
- [14] 侯彩云, 陈超. 水通道蛋白的结构与功能研究[J]. 生命的化学, 2008, 28(2): 169-171.
- [15] 杨文茜, 潘冰冰, 王云姣, 等. 水通道蛋白 4 的研究进展[J]. 中国实用医药, 2009, 4(20): 238-241.
- [16] 李菁, 赵岩, 唐福林. 水通道蛋白在干燥综合征发病机制中的作用[J]. 中华免疫学杂志, 2004, 8(2): 105-107.
- [17] 王晨宇, 王星, 王琳, 等. Th17 细胞分化调节机制及与自身免疫性疾病关系研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2014, 30(6): 660-662.
- [18] 郭小芹, 韩根成, 黎燕. IL-17/IL-17R 信号转导机制及功能的研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2012, 35(6): 416-421.
- [19] 何菁, 王慧, 栗占国. M3 受体蛋白多肽在干燥综合征发病中作用的实验研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2008, 12(7): 439-442.
- [20] 李菁, 赵岩, 唐福林. 水分子通道蛋白-5 在干燥综合征唇腺中的异常表达[J]. 中华风湿病学杂志, 2005, 9(8): 453-457.
- [21] 孟洁, 俞大亮, 厉子梅, 等. 干燥综合征中白细胞介素-17 与 B 细胞活化因子对 B 细胞功能异常的协同作用[J]. 中华风湿病学杂志, 2013, 17(6): 369-372.
- [22] 王喜梅, 厉子梅, 李向培, 等. 白细胞介素-17 在原发性干燥综合征患者唇腺组织和外周血的表达[J]. 中华风湿病学杂志, 2009, 13(5): 29-295.
- [23] Ohashi Y, Ishida R, Kojima T, et al. Abnormal protein profiles in tears with dry eye syndrome [J]. Am J Ophthalmol, 2003, 136(2): 291-299.

(收稿:2014-11-14 修回:2015-02-09)