

· 基础研究 ·

益气养阴祛瘀方含药血清对干燥综合征人颌下腺细胞 AQP5 和 M3R 表达的影响

刘 丹¹ 秦 源¹ 谢志敏¹ 刘东洋¹ 王 静¹ 朱秋爽¹ 王新昌²

摘要 **目的** 观察益气养阴祛瘀方含药血清对干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)人颌下腺细胞(human submandibular gland cells, HSG cells)中水通道蛋白5(aquaporin protein-5, AQP5)和毒蕈碱样胆碱能受体3(type 3 muscarinic acetylcholine receptors, M3R)表达的影响。**方法** 制备益气养阴祛瘀方含药血清,将对数生长期的 HSG 细胞随机分为空白组(RPMI 1640 培养液)、空白血清组(10%的空白血清 + RPMI 1640 培养液)、含药血清组(10%的益气养阴祛瘀方含药血清 + RPMI 1640 培养液)、IFN- γ 组(IFN- γ + RPMI 1640 培养液)、IFN- γ + IFN- γ 拮抗剂组(IFN- γ + IFN- γ 拮抗剂 + RPMI 1640 培养液)、IFN- γ + 含药血清组(IFN- γ + 10%益气养阴祛瘀方含药血清 + RPMI 1640 培养液),共 6 组。培养 24 h 后,Western blot 法检测 HSG 细胞中 AQP5 和 M3R 蛋白表达;RT-PCR 法检测 HSG 细胞 AQP5 mRNA 和 M3R mRNA 表达;免疫荧光法观察 HSG 细胞 AQP5 蛋白通道表达变化。**结果** 与空白血清组比较,含药血清组 AQP5、M3R 蛋白及 AQP5 mRNA 和 M3R mRNA 表达升高($P < 0.05$)。与 IFN- γ 组比较,空白组、空白血清组、含药血清组、IFN- γ + IFN- γ 拮抗剂组 AQP5、M3R 蛋白及 mRNA 表达均升高($P < 0.05$)。**结论** 益气养阴祛瘀方具有与 IFN- γ 拮抗剂类似功效,能上调主管水运的 AQP5、M3R 表达,增加唾液量的分泌。

关键词 益气养阴祛瘀方;干燥综合征;水通道蛋白 5;毒蕈碱样胆碱能受体 3

Effects of Yiqi Yangyin Quyu Recipe Containing Serum on AQP5 and M3R of Human Submandibular Gland Cells with Sjögren's Syndrome LIU Dan¹, QIN Yuan¹, XIE Zhi-min¹, LIU Dong-yang¹, WANG Jing¹, ZHU Qiu-shuang¹, and WANG Xin-chang² 1 Second Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou (310053); 2 Department of Rheumatism Immunity, Second Hospital Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou(310005)

ABSTRACT **Objective** To observe effect of Yiqi Yangyin Quyu Recipe (YYQR) containing serum on aquaporin protein-5 (AQP5) and type 3 muscarinic acetylcholine receptors (M3R) of human submandibular gland cells with Sjögren's syndrome (SS). **Methods** YYQR containing serum was prepared. HSG cells in logarithmic growth phase were randomly divided into the blank group (RPMI 1640 medium), the blank serum group (10% blank serum + RPMI 1640 medium), the medicated serum group (10% YYQR containing serum + RPMI 1640 medium), the IFN- γ group (IFN- γ + RPMI 1640 medium), the IFN- γ + IFN- γ antagonist group (IFN- γ + IFN- γ antagonist + RPMI 1640 medium), and the IFN- γ + medicated serum group (IFN- γ + 10% YYQR containing serum + RPMI 1640 medium). After 24 hours of culture, protein and mRNA were extracted. Protein expressions of AQP5 and M3R in HSG cells were detected by Western blot. AQP5 and M3R mRNA expressions in HSG cells were detected by RT-PCR. Protein channel expression changes of AQP5 in HSG cells was observed by laser confocal microscope. **Results** Compared with the blank serum group, protein and mRNA expressions of AQP5 and M3R in the medicated serum group increased ($P < 0.05$). Compared with the IFN- γ group, protein and mRNA expressions of AQP5 and M3R

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81473646)

作者单位: 1. 浙江中医药大学第二临床医学院(杭州 310053); 2. 浙江中医药大学第二附属医院风湿免疫科(杭州 310005)

通讯作者: 王新昌, Tel: 0571-85288249, E-mail: ossani@126.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20181114.263

in the remaining five groups increased ($P < 0.05$). Conclusion YYQR has similar efficacy with IFN- γ antagonist, it can increase the AQP5 and M3R expressions which were in charge of water transportation, and increase the secretion of saliva.

KEYWORDS Yiqi Yangyin Quyu Recipe; Sjögren's syndrome; aquaporin protein-5; type 3 muscarinic acetylcholine receptors

干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 是一种典型的以淋巴细胞浸润唾液腺和泪腺, 引发口干、干燥性角结膜炎为特征的自身免疫性疾病^[1,2]。SS 近年来发病率持续升高, 发病机制复杂并难以治疗。现代医学治疗主要依靠激素, 长期服用会出现疗效降低、不良反应等问题。益气养阴祛瘀方为“生地黄、玄参、麦冬、石斛、白芍、黄芪、丹参、益母草”8 味药组成的基础方, 共奏“养阴、益气、祛瘀”之功效。本课题组前期研究表明, 益气养阴祛瘀方不仅能整体调节 SS 患者和 NOD 模型鼠的免疫功能, 还能明显改善 SS 患者口干、眼干症状^[3,4] 以及对 NOD 小鼠唾液分泌量、颌下腺损伤指数以及局部免疫微环境也有明显改善^[5]。本实验通过观察 HSG 细胞水通道蛋白 5 (aquaporin protein-5, AQP5) 和毒蕈碱样胆碱能受体 3 (type 3 muscarinic acetylcholine receptors, M3R) 相关表达, 为益气养阴祛瘀方对 SS 的作用机制做进一步探究。

材料与方法

1 动物及细胞株 SPF 级雌性 SD 大鼠 16 只, 体重 180 ~ 200 g, 购买自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 生产许可证: SCXK(沪)2013-0016。浙江中医药大学实验动物中心饲养, 饲养环境: 温度 (23 ± 2) °C, 相对湿度 (55 ± 10) %。动物伦理通过浙江中医药大学附属第二医院医学伦理委员会批准 (No. 2013 科研审 46 号)。HSG (人下颌腺细胞) 细胞株由中国科学院生物技术部 (转化医学科学中心) 提供。

2 药物 益气养阴祛瘀方 (药物组成: 黄芪 24 g 生地黄 24 g 玄参 15 g 麦冬 15 g 石斛 12 g 白芍 12 g 益母草 15 g 丹参 30 g) 由浙江中医药大学附属第二医院药剂科制备成含生药 1.47 g/mL 的浓缩煎剂。

3 试剂及仪器 RPMI 1640 培养液 (美国 Gibco 公司, 批号: 11875093), FBS 胎牛血清 (美国 Gibco 公司, 批号: 12484028), 0.25% 胰酶 (含 0.02% 的 EDTA, 杭州吉诺医药生物技术有限公司, 批号: GNM-25200), 一抗兔抗人 AQP5 单克隆抗体 (英国 Abcam 公司, 批号: ab92320), 一抗兔抗人 M3R 多克隆抗体 (英国 Abcam 公司, 批号: ab126168), 二

抗羊抗兔 IRDy800 抗体 (美国 LI-COR 公司, 批号: 926-32211), RIPA 快速裂解液 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号: P0013B), 干扰素- γ (interferon- γ , 杭州联科生物技术股份有限公司, 批号: 96-300-02-100), IFN- γ 拮抗剂 (杭州联科生物技术股份有限公司, 批号: 96-500-P32-100)。二氧化碳培养箱 (美国 Thermo Fisher, 型号: 3111), 激光共聚焦显微镜 (日本 Olympus, 型号: FV1000), iQ5 多重实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司), ODYSSEY 双色红外激光成像系统 (美国 LI-COR 公司, 型号: 9120)。

4 益气养阴祛瘀方含药血清制备 SD 大鼠适应性喂养一周后, 根据体重区组划分为益气养阴祛瘀方组和空白血清组, 每组 8 只。益气养阴祛瘀方组给予含生理盐水的益气养阴祛瘀方 9.2 g/kg 灌胃 (相当于成人剂量的 4 倍), 空白血清组以等量生理盐水灌胃, 两组均每次 2 mL, 一天 2 次, 连续 7 天。最后一次给药 2 h 后, 以 10% 戊巴比妥腹腔注射麻醉, 腹主动脉取血 8 mL (取血前禁食不禁水 12 h), 室温下静置 2 h 后 4 000 r/min 离心 10 min, 分离血清至 EP 管中, 56 °C 水浴 30 min 灭活补体, 0.22 μ m 滤膜过滤除菌后, -20 °C 保存备用。

5 细胞培养和处理 HSG 细胞常规培养在含 10% FBS 和 1% 青霉素-链霉素溶液的 RPMI 1640 培养液中。1 ~ 2 天更换培养液, 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养。用倒置相差显微镜观察, 细胞覆盖面积达 70% ~ 80% 时, 传代分瓶继续培养, 一周传代 1 ~ 2 次。选择对数生长期的 HSG 细胞, 用计数板计数, 调整细胞悬液浓度为 2 × 10⁶/mL, 种植于 6 孔板中。分别给予以下处理: 空白组 (RPMI 1640 培养液)、空白血清组 (10% 的空白血清 + RPMI 1640 培养液)、中药含药血清组 (10% 的益气养阴祛瘀方含药血清^[6] + RPMI 1640 培养液)、IFN- γ 组 (IFN- γ + RPMI 1640 培养液)、IFN- γ + IFN- γ 拮抗剂组 (IFN- γ + IFN- γ 拮抗剂 100 ng/mL + RPMI 1640 培养液)、IFN- γ + 中药含药血清组 (IFN- γ 100 ng/mL + 10% 益气养阴祛瘀方含药血清 + RPMI 1640 培养液)。

6 观察指标及检测方法

6.1 HSG 细胞 AQP5 和 M3R 蛋白表达水

平 采用 Western blot 法检测。将处理后的六孔板弃上清液,经 PBS 洗涤,直接刮取细胞,加入 1% PMSF 的 RIPA 细胞裂解液提取总蛋白。BCA 法检测蛋白浓度后变性。经电泳,转膜,室温封闭 90 min,一抗孵育过夜,二抗孵育 2 h,洗膜后获取图像并做分析。

6.2 HSG 细胞 AQP5、M3R mRNA 表达 采用 RT-PCR 法检测。RNA 采用 Trizol 法提取细胞总 RNA,紫外分光光度计测定浓度。逆转录及 PCR 操作步骤参照说明书。PCR 引物序列:AQP5 引物:上游:5'-CCCTACCCAGAAAACCCAGT- 3',下游:5'-GCCACCTTGTCGGAATCTAC- 3',引物长度:113 bp;M3R 引物:上游:5'-CACAGCCAGTAGC-CCAGATT- 3',下游:5'-TTGCTTGCCCTTCATCAT-CAC- 3',引物长度:110 bp;β-actin 引物:上游:5'-CCTGGCACCCAGCACAAT-3',下游:5'-GGGC-CGGACTCGTCATAC- 3',引物长度:144 bp。引物委托上海生物工程有限公司进行合成。引物使用前用 DEPC 水溶解。反应体系低速离心机离心并震荡均匀。荧光定量 PCR 仪设定如下:95 ℃ 15 s 变性,60 ℃ 60 s 退火、延伸,循环 40 次,得到扩增曲线。95 ℃ 15 s,60 ℃ 60 s,95 ℃ 15 s,得到溶解曲线。以 β-actin 为内参,应用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目标基因相对表达量。

6.3 HSG 细胞 AQP5 蛋白通道表达变化 采用激光共聚焦显微镜观察。将处理后的六孔板弃上清液,经 PBS 洗涤,加入聚甲醛固定液,室温下固定 15 min,PBS 洗涤,用含 1% BSA 的 PBS 溶液处理细胞,常温封闭 30 min。一抗孵育过夜,二抗孵育 1 h,PBS 洗涤细胞,置于激光共聚焦下观察,用 FV10-ASW 2.1 软件记录并分析荧光强度。

7 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件进行统计分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组 HSG 细胞 AQP5、M3R 蛋白表达比较 (表 1) 空白组与空白血清组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。与空白血清组比较,中药含药血清组 AQP5 和 M3R 蛋白表达增加,IFN-γ 组 AQP5 和 M3R 蛋白表达降低($P < 0.05$)。与 IFN-γ 组比较,中药含药血清组、IFN-γ + IFN-γ 拮抗剂组、IFN-γ + 含药血清组 AQP5 和 M3R 蛋白表达增加($P < 0.05$)。

表 1 各组 HSG 细胞 AQP5、M3R 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	AQP5	M3R
空白	3	0.811 ± 0.071	1.402 ± 0.059
空白血清	3	0.801 ± 0.078	1.399 ± 0.056
中药含药血清	3	1.108 ± 0.079 ^{*Δ}	1.688 ± 0.112 ^{*Δ}
IFN-γ	3	0.521 ± 0.085 [*]	0.831 ± 0.055 [*]
IFN-γ + IFN-γ 拮抗剂	3	0.875 ± 0.068 ^Δ	1.240 ± 0.092 ^Δ
IFN-γ + 中药含药血清	3	0.874 ± 0.071 ^Δ	1.403 ± 0.157 ^Δ

注:与空白血清组比较,^{*} $P < 0.05$;与 IFN-γ 组比较,^Δ $P < 0.05$

2 各组 HSG 细胞 AQP5、M3R mRNA 表达比较 (表 2) 与空白组比较,中药含药血清组和空白血清组 AQP5、M3R mRNA 升高($P < 0.05$)。与空白血清组比较,中药含药血清组 AQP5、M3R mRNA 升高($P < 0.05$)。与 IFN-γ 组比较,中药含药血清组、IFN-γ + IFN-γ 拮抗剂组、IFN-γ + 中药含药血清组 AQP5 和 M3R mRNA 表达增加($P < 0.05$)。

表 2 各组 HSG 细胞 AQP5、M3R mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

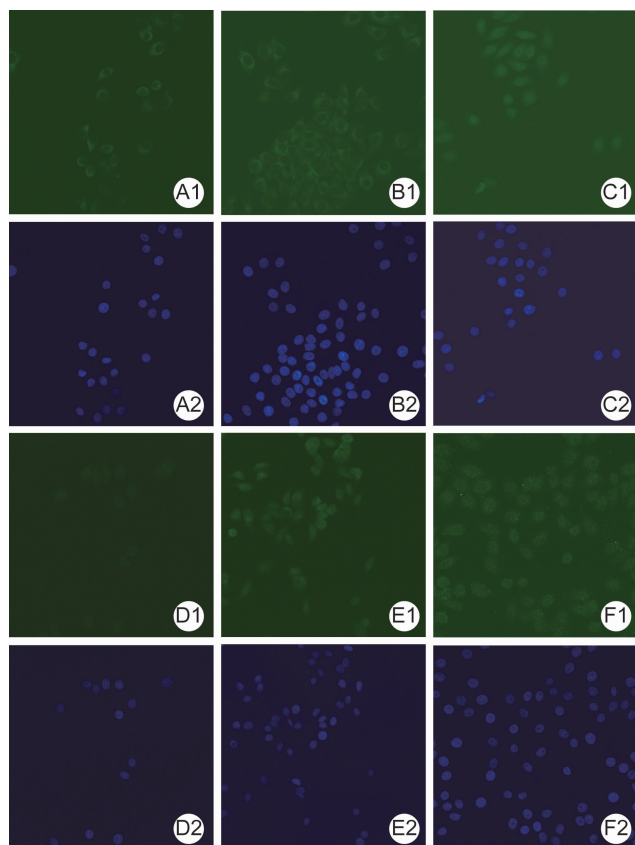
组别	n	AQP5 mRNA	M3R mRNA
空白	3	0.867 ± 0.079	1.242 ± 0.197
空白血清	3	1.011 ± 0.096 [*]	1.332 ± 0.210 [*]
中药含药血清	3	1.302 ± 0.081 ^{*Δ▲}	1.579 ± 0.219 ^{*Δ▲}
IFN-γ	3	0.522 ± 0.205	0.835 ± 0.203
IFN-γ + IFN-γ 拮抗剂	3	0.885 ± 0.090 [▲]	1.021 ± 0.241 [▲]
IFN-γ + 中药含药血清	3	0.828 ± 0.067 [▲]	1.148 ± 0.122 [▲]

注:与空白组比较,^{*} $P < 0.05$;与空白血清组比较,^Δ $P < 0.05$;与 IFN-γ 组比较,[▲] $P < 0.05$

3 各组 HSG 细胞 AQP5 通道蛋白表达比较 (图 1) 空白组 HSG 细胞经 AQP5 抗体染色后,表达量较少;比较空白组、空白血清组、含药血清组,含药血清组细胞中 AQP5 表达最高;IFN-γ 干预颌下腺细胞后,可见细胞中 AQP5 蛋白的表达量减少;而再经过 IFN-γ 拮抗剂处理后,AQP5 荧光的表达又增强;比较 IFN-γ 组、IFN-γ + IFN-γ 拮抗剂组、IFN-γ + 含药血清组可知,含药血清组与 IFN-γ 拮抗剂组相类似,能增加 HSG 细胞中 AQP5 的表达。

讨 论

SS 在中医学中无相似的病名记载,全国中医痹病专业委员会认为应归属“燥痹”。本课题组认为其病因病机为:先天禀赋不足,继而导致脏腑气虚,气虚则津液生成不足、阴津亏少,气虚则血行不畅,发为血瘀,血瘀又影响气和阴津的生成和输布,循环往复则气虚、阴亏和血瘀更甚,故在外气虚表现低热、乏力、多尿等,阴亏则表现为口干、眼干等,血瘀则表现为腮腺肿大、关节疼痛等。总之,SS 总属气虚、阴亏和血瘀为本,燥



注: A 为空白组; B 为空白血清组; C 为含药血清组; D 为 IFN- γ 组; E 为 IFN- γ + IFN- γ 拮抗剂组; F 为 IFN- γ + 含药血清组; 1 为 AQP5; 2 为 DAPI

图 1 各组 HSG 细胞 AQP5 及 DAPI 染色
(免疫荧光, $\times 400$)

热为标,故在治疗上以益气养阴祛瘀法为总则。益气养阴祛瘀方为本课题组自 1999 年以来拟定的经验方。方中玄参壮水制火,麦冬能补能润能通,生地补而不腻、兼能走络,三者共为君药;黄芪益气固表、利水消肿、脱毒生肌,丹参活血祛瘀、养血安神,益母草活血行瘀、清热解毒,三者共为为臣药。全方养阴则阴复,可使精血津液充足,干燥诸症可润泽;益气则能升清、化生精微,使营血运达、津液输布,益气可以生水以制燥火;祛瘀则使得气机通畅,致津液得以敷布,诸法合用则燥证自愈。

AQP 是特异性跨膜转运水的一组蛋白,能显著增加细胞膜水通透性,参与水的分泌、吸收及细胞内外水平衡。其中 AQP5 是最早被确定分布在唾液腺泡细胞的一种蛋白,分布于腺泡腔的顶膜、侧膜及导管上皮细胞中^[7]。有人发现 AQP5 经过胞内 PKA (蛋白激酶 A) 的激活,进行磷酸化反应,可使得该通道形成快速的“闸门”效应^[8],而如果腺体上皮细胞中缺乏 AQP5 的分布,则水转运功能发生异常,唾液流率下

降,于是就会产生口干的症状。同样有报道指出 AQP5 在有炎性细胞浸润的小鼠颌下腺腺体中顶质膜的分布减少,而在基底膜有所增加^[9]。本实验研究证明益气养阴祛瘀方能够明显提高颌下腺细胞中 AQP5 的表达。毒蕈碱样胆碱酯酶受体 MR,是一种单链跨膜糖蛋白,在体内主要参与肌肉收缩调节、呼吸、运动、体温调节、学习、记忆等重要的生理功能,是体内重要的受体之一。M3R 为该家族成员之一,主要分布于外分泌腺^[10]。M3R 影响着唾液腺的液体分泌,并且抗 M3R 的存在与 SS 患者亚群中的分泌功能障碍有直接的关联^[11]。而各种原因引起的 M3R 与神经递质结合能力下降都可能导致信号转导异常,最终造成唾液分泌功能的障碍^[12]。敲除 M3R 基因后小鼠唾液分泌量与正常小鼠相比明显减少,这表明 M3R 确确实实参与了唾液分泌的整个过程^[13]。

SS 患者涎腺组织被破坏的免疫机制目前尚未明确,但近年来国内外诸多研究提示其受到腺体组织免疫微环境的调控,细胞因子是免疫微环境的主要成分。IFN 是一种具有多种生物活性的糖蛋白,具有广谱抗病毒活性,对肿瘤细胞具有免疫监控、抑制细胞增殖和免疫调控等重要的作用^[14]。NOD/ShiLtJ 和其衍生的同类 C57BL/6NOD-Aec1Aec2 细胞系的小鼠早在出生时都检测到了高水平量的 IFN- γ 。相反,IFN- γ 基因未成功表达,将来并不会发展为 SS 样的疾病^[15,16]。另外有实验发现 SS 患者的颌下腺及血清中的 IFN- γ 的水平都是升高的,而经过中药方剂处理后降低^[17]。

本实验结果显示:HSG 细胞经益气养阴祛瘀方含药血清干预后,AQP5、M3R mRNA 和蛋白表达均增加,且高于其余 5 组。实验发现 AQP5 和 M3R 的表达趋乎一致,有实验证明经 M3R 激动剂刺激后,可以使 AQP5 从细胞质向细胞膜转运,并增加唾液的分泌量^[18,19]。因此,笔者认为益气养阴祛瘀方含药血清作用于细胞,能起到与 M3R 激动剂相同作用,来调控 AQP5 的转运与唾液的分泌,或者益气养阴祛瘀方可以直接增强 AQP5 蛋白通道的表达。IFN- γ 刺激 HSG 细胞后,AQP5、M3R mRNA 和蛋白表达明显减少,而经 IFN- γ 拮抗剂和含药血清刺激后,AQP5、M3R mRNA 和蛋白表达增加,这提示,益气养阴祛瘀方含药血清与 IFN- γ 拮抗剂功效类似,能上调因 IFN- γ 导致的 AQP5、M3R 表达减少,为 SS 的临床治疗提供了依据。

利益冲突:无任何利益冲突。

参 考 文 献

- [1] Baldini C, Talarico R, Tzioufas AG, et al. Classification criteria for Sjögren's syndrome: A critical review[J]. *J Autoimmun*, 2012, 39(1-2): 9-14.
- [2] Mavragani CP, Nezos A, Moutsopoulos HM. New advances in the classification, pathogenesis and treatment of Sjögren's syndrome[J]. *Curr Opin Rheumatol*, 2013, 25(5): 623-629.
- [3] 王新昌, 谢志军, 温成平, 等. 益气养阴祛瘀法治疗原发性干燥综合征的疗效观察[J]. *中国基层医药*, 2009, 16(1): 92-93.
- [4] 王新昌, 谢志军, 温成平, 等. 益气养阴祛瘀药对干燥综合征患者性激素水平影响的研究[J]. *浙江中医药大学学报*, 2009, 33(1): 48-49.
- [5] 王新昌, 范永升, 冯健, 等. 益气养阴祛瘀中药对干燥综合征自发性模型非肥胖糖尿病小鼠的治疗作用及机制[J]. *浙江中医药大学学报*, 2012, 36(2): 171-174.
- [6] 秦源, 林崇泽, 孙晗, 等. 益气养阴祛瘀方对干燥综合征颌下腺细胞 AQP5 及 M3R 表达的影响[J]. *中国中医急症*, 2017, 26(1): 5-8.
- [7] Moore M, Ma T, Yang B, et al. Tear secretion by lacrimal glands in transgenic mice lacking water channels AQP1, AQP3, AQP4 and AQP5[J]. *Exp Eye Res*, 2000, 70(5): 557-562.
- [8] Gresz V, Kwon TH, Hurley PT, et al. Identification and localization of aquaporin water channels in human salivary glands[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2001, 281(1): G247-G254.
- [9] Soyfoo MS, Konno A, Bolaky N, et al. Link between inflammation and aquaporin-5 distribution in submandibular gland in Sjögren's syndrome? [J]. *Oral Dis*, 2012, 18(6): 568-574.
- [10] Dawson L, Tobin A, Smith P, et al. Antimuscarinic antibodies in Sjögren's syndrome: where are we, and where are we going? [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 52(10): 2984-2995.
- [11] Cavill D, Waterman SA, Gordon TP. Antibodies raised against the second extracellular loop of the human muscarinic M3 receptor mimic functional autoantibodies in Sjögren's syndrome[J]. *Scand J Immunol*, 2004, 59(3): 261-266.
- [12] 陆妍, 陈祎, 王亚南, 等. 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[J]. *中国中西医结合杂志*, 2015, 35(5): 612-617.
- [13] Wang D, Yuan Z, Inoue N, et al. Abnormal subcellular localization of AQP5 and downregulated AQP5 protein in parotid glands of streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1810(5): 543-554.
- [14] 方祯, 华海清. 干扰素在胆系肿瘤治疗中的作用及其研究进展[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2014, 19(2): 180-185.
- [15] Cha S, Brayer J, Gao J, et al. A dual role for interferon-gamma in the pathogenesis of Sjögren's syndrome-like autoimmune exocrinopathy in the nonobese diabetic mouse[J]. *Scand J Immunol*, 2004, 60(6): 552-565.
- [16] Cha S, Nagashima H, Brown VB, et al. Two NOD ldd-associated intervals contribute synergistically to the development of autoimmune exocrinopathy (Sjögren's syndrome) on a healthy murine background[J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46(5): 1390-1398.
- [17] 葛琳, 张华东, 姜泉, 等. 路氏滋燥汤对干燥综合征小鼠颌下腺细胞因子 IFN- γ /IL-10 的影响[J]. *世界中西医结合杂志*, 2011, 6(1): 28-30.
- [18] Lee BH, Gauna AE, Perez G, et al. Autoantibodies against muscarinic type 3 receptor in Sjögren's syndrome inhibit aquaporin 5 trafficking[J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e53113.
- [19] Delporte C, Steinfeld S. Distribution and roles of aquaporins in salivary glands[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1758(8): 1061-1070.

(收稿: 2017-11-15 在线: 2019-01-03)

责任编辑: 汤 静