

· 基础研究 ·

养肺滋阴汤对干燥综合征小鼠模型干预作用

田孟江¹ 涂志华¹ 胡 瑞¹ 朱莹莹²

摘要 目的 观察养肺滋阴汤对干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)小鼠模型症状、血清 TNF- α 、IL-6、水通道蛋白-5(aquaporin-5, AQP-5)及病理学的影响。**方法** 60 只小鼠按随机数字表分成模型组、正常组、养肺滋阴汤(中药)高剂量组、中剂量组、低剂量组(36.7、18.4、9.2 g/kg, 0.2 mL/10 g)及白芍总苷(白芍)组(0.6 g/kg), 每组 10 只。各组每周连续干预 6 日, 停药 1 日, 共 50 日。实验第 10、20、30、40、50 日测量各组小鼠体重、唾液分泌量、进食量、饮水量, 并于第 50 日取血, 摘取小鼠颌下腺、胸腺、脾脏称重, 采用 ELISA 法检测血清 TNF- α 、IL-6、AQP-5 含量, 并观察颌下腺组织病理学变化。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠饮水量无变化, 唾液分泌量减少($P < 0.01$, $P < 0.05$)。模型组胸腺、脾脏、颌下腺重量及指数升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组同期比较, 白芍组、中药各剂量组唾液分泌量均增加($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较, 白芍组胸腺、脾脏、颌下腺重量及指数降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 中药低剂量组胸腺、颌下腺重量及指数降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 中药中、高剂量组胸腺、颌下腺重量及指数、脾脏指数降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 白芍组 TNF- α 、IL-6 降低, AQP-5 升高($P < 0.05$); 中药中、高剂量组 AQP-5 升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。模型组颌下腺组织内腺泡及导管破坏, 腺泡及导管不规则, 上皮变性坏死脱落, 周围有轻至中度淋巴细胞浸润, 中药各剂量组及白芍总苷组病理破坏减轻。**结论** 养肺滋阴汤可改善 SS 模型小鼠症状、血清 TNF- α 、IL-6、AQP-5 及病理学改变。

关键词 养肺滋阴汤; 干燥综合征; 颌下腺; 水通道蛋白-5

Intervention of Yangfei Ziyin Decoction on Sjögren's Syndrome Model Mice TIAN Meng-jiang¹, TU Zhi-hua¹, HU Rui¹, and ZHU Xuan-xuan² 1 Department of Rheumatology & Immunology, Yili Kazak Autonomous Prefecture Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang (835000); 2 Department of Science and Technology, Affiliated Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210029)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Yangfei Ziyin Decoction (YZD) on symptoms, serum levels of TNF- α , IL-6, and aquaporin-5 (AQP-5), and pathology of Sjögren's syndrome (SS) model mice. **Methods** Totally 60 mice were divided into 6 groups according to random digit table, i.e., the model group, the normal control group, the high, medium, low dose YZD groups (administered with YZD at 36.7, 18.4, 9.2 g/kg, 0.2 mL/10 g), the Chinese patent medicine group [CPM, administered with total glucosides of paeony at 0.6 g/kg], 10 mice in each group. All intervention was performed for six successive days in a week, with an interval of one day, a total of 50 days. Body weight, salivary secretion, food and water intake were measured at day10, 20, 30, 40, and 50, respectively. At day 50 blood was collected. Submandibular gland, thymus, and spleen were weighed. Serum levels of TNF- α , IL-6, and AQP-5 were detected by ELISA. Pathological changes of submandibular gland were observed. **Results** Compared with the normal control group, there was no change in water intake of mice in the model group, but with reduced salivary secretion ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Thymus/spleen/submandibular gland weight and index increased in the model group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the model group at the same time point, salivary secretion increased in the CPM group and 3 YZD groups ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Compared with the model group, thymus/spleen/submandibular gland weight and index decreased in the CPM group

基金项目:新疆名医名方与特色方剂学实验室开放课题资助项目(No.XJDX0910-2012-2)

作者单位:1. 新疆伊犁哈萨克自治州中医医院风湿科(新疆 835000); 2. 南京中医药大学附属医院科技处(南京 210029)

通讯作者:涂志华, Tel: 0999-8998109, E-mail: drong-tian@163.com

DOI: 10.7661/CJIM.2016.01.0063

($P < 0.01$, $P < 0.05$). Thymus/submandibular gland weight and index decreased in the low dose YZD group ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Thymus/submandibular gland weight and index, and spleen index decreased in high and medium dose YZD groups ($P < 0.01$, $P < 0.05$). Levels of TNF- α and IL-6 decreased, but AQP-5 level increased in the CPM group ($P < 0.05$). AQP-5 level increased in high and medium dose YZD groups ($P < 0.01$, $P < 0.05$). In the model group alveoli and duct of salivary gland were destroyed, alveoli and duct were irregular, epithelial cells were degenerated, necrotic, and desquamated. Mild-to-moderate lymphocytic infiltration occurred around submandibular gland. Pathological changes were alleviated in the CPM group and 3 YZD groups. Conclusion YZD could improve clinical symptoms, serum levels of TNF- α , IL-6, AQP-5, and pathological changes of SS model mice.

KEYWORDS Yangfei Ziyin Decoction; Sjögren's syndrome; submandibular gland; aquaporin-5

干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 是一种主要累及全身外分泌腺的慢性炎症性自身免疫疾病, 以唾液腺和泪腺症状为主, 呼吸系统、消化系统、皮肤、阴道等外分泌腺也有相应表现, 常伴有腺体外病变, 较易累及肾脏、肺脏及甲状腺, 与边缘区 B 细胞淋巴瘤关系密切。该病在我国人群患病率为 0.29% ~ 0.77%, 在老年人群中患病率达 3% ~ 4%^[1], 研究表明, 我国 SS 患者发病到确诊时间长, 约 24 ~ 48 个月, 且脏器受累率较国外明显增高^[2], 提示我国 SS 人群诊治滞后, 并发症更为严重, 预后更差。

目前尚无有效 SS 治疗方法, 中医药改善 SS 症状是研究热点^[3,4]。新疆地处西北, 气候干燥而少雨, 故 SS 患者多以口干、眼干、干咳为主要表现, 利用中医四诊辨证分析以肺阴不足多见, 伊犁哈萨克自治州中医医院风湿科医师依据既往文献研究^[5,6], 并根据中医辨证论治, 结合新疆本地气候特点自拟的养肺滋阴汤, 治疗以口干、眼干为主要表现的阴虚血瘀型 SS, 取得了良好的临床疗效。本实验采用免疫诱导制备 SS 小鼠模型^[7-12], 观察养肺滋阴汤对 SS 小鼠症状、血清抗体及病理学的改善作用, 探讨该方对 SS 症状改善的可能作用机制。

材料与方法

1 实验动物 SPF 级 C57BL/6 小鼠, 8 周龄, 雌性, 18 ~ 22 g, 由扬州大学比较医学中心提供, 合格证号: SCXK(苏)2012-0004。适应性饲养 5 日, 条件: 室温(20 ± 2) °C, 湿度 55% ~ 65%, 光照适度, 通风洁净良好, SPF 实验环境, 全价营养颗粒饲料: 由江苏省协同医药生物技术有限公司提供, 批号: 20140103。

2 药物 养肺滋阴汤(组成: 北沙参 15 g 麦冬 15 g 生地 20 g 乌梅 10 g 玉竹 10 g 鲜石斛 10 g 五味子 15 g 当归 15 g 生黄芪 10 g 密蒙花 10 g) 饮片均购于南京中医药大学附属江苏省中医

院中药房, 经南京药业股份有限公司中药饮片厂鉴定, 由江苏省中医院煎药中心提供原药液, 每毫升含 0.61 g 生药。分别准确量取养肺滋阴汤原液 150.4、75.2、37.7 mL, 浓缩或加蒸馏水至 50 mL, 配成每毫升含 1.835、0.918、0.460 g 原药材的药液。白芍总苷胶囊(主要成分为芍药苷, 每粒含芍药苷 ≥ 104 mg): 0.3 g/粒, 宁波立华制药有限公司, 批号: 140202。取 10 粒白芍总苷胶囊, 加蒸馏水至 100 mL, 配成每毫升含 0.03 g 原药药液, 吸附百白破联合疫苗: 2.0 mL/瓶, 武汉生物制品研究所, 批号: 20130101-4。

3 试剂及仪器 弗氏完全佐剂, 购自上海西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司(Sigma-Aldrich), 批号: SLBH7316V; TNF- α 试剂盒, 美国 R&B 公司, 批号: 20140520FV; IL-6 试剂盒, 美国 R&B 公司, 批号: 20140523BN; 水通道蛋白 5(aquaporin-5, AQP-5)试剂盒, 美国 R&B 公司, 批号: 20140531MN。FA1004 型电子分析天平, 上海精科天平厂; LDZ5-2 型离心机, 北京京立离心机有限公司; Sunrise 酶联免疫检测仪, 瑞士 Tecan 公司; HPX-9052MBE 电热恒温培养箱, 上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

4 抗原制备 取 10 只 C57BL/6 小鼠颌下腺, 分离包膜及结缔组织, 剔除淋巴结, 用氯化钠注射液洗净, 在冰浴中用匀浆器 5 000 r/min 匀浆 20 s, 4 °C 3 000 r/min 离心 10 min 弃上层脂质, 吸出上清液, 置无菌试管中, 以上操作均在低温下进行。考马斯亮蓝法(Bradford 法)测定蛋白浓度。将抗原上清液加入灭菌生理盐水中稀释成 0.4 mg/mL 上清液, 再与 CFA 混合, 制备 0.2 mg/mL 终浓度的乳化抗原液。

5 模型制备、分组及干预方法 取 C57BL/6 小鼠按随机数字表分为正常组、模型组、白芍总苷胶囊组(白芍组)、养肺滋阴汤(中药)高、中低剂量组, 每组 10 只。除正常组外, 分别在每组小鼠两侧腹股沟和两后脚掌皮下注射 0.2 mL 乳化抗原液, 同时腹腔注射

0.1 mL 白百破三联疫苗。于首次免疫后第 3、7 天,背部皮下多点注射 0.2 mL 乳化抗原液加强 2 次免疫。第 21、35 日用乳化抗原各加强免疫 1 次,剂量、方法同第 2 次,正常组不作任何处理。参照 Chisholm DM 等^[13]方法进行评价:0 分,未见淋巴细胞浸润;1 分,少量散在淋巴细胞浸润;2 分,淋巴细胞中度浸润(未成灶),伴有轻度实质损伤;3 分,偶见 0~1 个淋巴细胞浸润灶/5 个低倍视野,伴有中度实质损伤;4 分,易见 2~3 个淋巴细胞浸润灶/5 个低倍视野,伴有重度实质损伤。2 分以上造模成功。本实验造模成功率 100%。

白芍组灌胃白芍总苷胶囊药液(0.6 g/kg, 0.2 mL/10 g,相当于成人临床用量 20 倍);中药高、中、低剂量组分别灌胃养肺滋阴汤 36.7、18.4、9.2 g/kg(0.2 mL/10 g),分别相当于临床成人剂量 20、10、5 倍,正常组及模型组灌胃等量生理盐水。首次免疫当天开始给药,每周连续 6 日,停药 1 日。灌胃至首次免疫后第 50 日。

6 观察指标及方法

6.1 小鼠一般状态观察 每隔 10 日(首次免疫第 10、20、30、40、50 日)上午 11:00 测小鼠体重并记录。每日上午 10:00 用电子天平称量 100 g 饲料,200 mL 水,次日用天平称剩余的饲料量,量筒量水,测定小鼠的摄食量、饮水量。

6.2 小鼠唾液分泌量测定 每隔 10 日(首次免疫第 10、20、30、40、50 日)分别测定给药后小鼠唾液分泌量。测量前禁食 1 h,不禁水。将无菌脱脂棉球制成干重 5 mg 棉球。测唾液分泌时,小鼠取坐位,头朝下,将已经称好干重的棉球放入小鼠后颊部,1 min 后取出,电子天平上称湿重。唾液分泌量(mg) = 棉球湿重 - 棉球干重。

6.3 颌下腺指数、胸腺、脾指数测定 于实验结束,小鼠眼眶取血后脱颈椎处死,取颌下腺、胸腺、脾脏称重。器官指数 = 器官质量(g)/小鼠体重(g) × 10。

6.4 ELISA 法检测小鼠血清 TNF-α、IL-6、AQP-5 含量 实验末小鼠禁食不禁水,眼眶取血后血标本行 3 000 r/min 离心 10 min 后取血清,根据试剂盒检测方法测定 TNF-α、IL-6、AQP-5 含量。

6.5 病理学观察 取一侧颌下腺经 10% 中性福尔马林固定,常规石蜡包埋,切片厚度为 4 μm,HE 染色,光学显微镜下观察颌下腺组织形态变化。

7 统计学方法 采用 SPSS 16.0 软件,所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组小鼠一般状态比较(表 1) 实验中未见动物死亡,各组小鼠活动量,毛色无明显差异。各组小鼠干预期间摄食量及饮水量比较,差异无统计学意义。与正常组同期比较,模型组免疫 20、40 日体重升高($P < 0.05$)。与模型组同期比较,各给药组免疫 20、30、40、50 日体重降低($P < 0.01, P < 0.05$)。

表 1 各组各时间点摄食量、饮水量及体重比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	时间	体重(g)	摄食量(g/10 g)	饮水量(mL/10 g)
正常	10	免疫前	19.5 ± 1.0	1.312 ± 0.125	1.532 ± 0.061
		免疫 10 日	20.1 ± 0.6	1.481 ± 0.163	1.840 ± 0.272
		免疫 20 日	20.7 ± 0.7	1.530 ± 0.114	1.600 ± 0.274 *
		免疫 30 日	21.2 ± 0.8	1.632 ± 0.162	1.891 ± 0.213
		免疫 40 日	21.9 ± 1.5	1.611 ± 0.060	1.472 ± 0.252 *
		免疫 50 日	21.3 ± 1.2	1.622 ± 0.192	1.374 ± 0.161
模型	10	免疫前	19.8 ± 1.2	1.371 ± 0.142	1.573 ± 0.022
		免疫 10 日	19.8 ± 1.2	1.352 ± 0.094	2.471 ± 0.052
		免疫 20 日	20.6 ± 1.0	1.365 ± 0.012	2.871 ± 0.084
		免疫 30 日	21.6 ± 0.7	1.354 ± 0.015	2.780 ± 0.023
		免疫 40 日	22.0 ± 0.7	1.421 ± 0.021	2.500 ± 0.024
		免疫 50 日	21.0 ± 0.8	1.512 ± 0.094	2.472 ± 0.131
白芍	10	免疫前	19.9 ± 0.7	1.372 ± 0.112	1.550 ± 0.152
		免疫 10 日	19.8 ± 0.6	1.463 ± 0.083	2.162 ± 0.144
		免疫 20 日	21.3 ± 0.4	1.344 ± 0.080	2.212 ± 0.161 *
		免疫 30 日	21.5 ± 0.5	1.390 ± 0.082	2.050 ± 0.082 **
		免疫 40 日	21.7 ± 0.8	1.474 ± 0.022	1.710 ± 0.143 *
		免疫 50 日	21.0 ± 0.7	1.442 ± 0.045	1.625 ± 0.053 *
中药低剂量	10	免疫前	19.6 ± 0.9	1.311 ± 0.123	1.521 ± 0.200
		免疫 10 日	19.5 ± 0.7	1.412 ± 0.134	2.564 ± 0.041
		免疫 20 日	21.1 ± 0.9	1.402 ± 0.111	2.002 ± 0.241 *
		免疫 30 日	21.3 ± 0.8	1.421 ± 0.072	1.652 ± 0.142 **
		免疫 40 日	21.8 ± 0.8	1.483 ± 0.401	1.701 ± 0.013 **
		免疫 50 日	21.4 ± 0.9	1.451 ± 0.010	1.735 ± 0.141 *
中剂量	10	免疫前	19.6 ± 0.9	1.382 ± 0.142	1.582 ± 0.143
		免疫 10 日	20.0 ± 1.0	1.461 ± 0.043	2.152 ± 0.035 *
		免疫 20 日	21.3 ± 0.8	1.434 ± 0.023	1.870 ± 0.064 **
		免疫 30 日	21.8 ± 0.7	1.422 ± 0.031	1.700 ± 0.255 *
		免疫 40 日	22.3 ± 0.7	1.465 ± 0.032	1.883 ± 0.078 **
		免疫 50 日	21.5 ± 0.9	1.453 ± 0.091	1.682 ± 0.219 *
高剂量	10	免疫前	19.3 ± 0.7	1.442 ± 0.172	1.661 ± 0.097
		免疫 10 日	20.1 ± 1.4	1.491 ± 0.062	2.045 ± 0.085 *
		免疫 20 日	21.5 ± 1.0	1.470 ± 0.044	1.484 ± 0.042 **
		免疫 30 日	21.8 ± 1.2	1.460 ± 0.063	1.783 ± 0.091 **
		免疫 40 日	22.4 ± 1.0	1.490 ± 0.021	1.752 ± 0.152 *
		免疫 50 日	21.7 ± 0.7	1.464 ± 0.023	1.661 ± 0.062 *

注:与模型组同期比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2 各组各时间点唾液分泌量比较(表 2) 与正常组同期比较,模型组干预期间唾液分泌量减少($P < 0.01, P < 0.05$)。与模型组同期比较,白芍组免疫 10、20、40、50 日唾液分泌量增加($P < 0.01$);中药低剂量组免疫 10、40、50 日唾液分泌量增加($P < 0.01$,

表 2 各组各时间点唾液分泌量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	唾液分泌量 (mg)				
		免疫 10 日	免疫 20 日	免疫 30 日	免疫 40 日	免疫 50 日
正常	10	6.5 ± 5.1 *	5.7 ± 3.3 *	7.5 ± 5.2 *	7.3 ± 6.1 **	7.1 ± 6.0 **
模型	10	1.9 ± 1.4	2.6 ± 2.1	2.6 ± 2.6	1.6 ± 1.0	1.1 ± 0.7
白芍	10	5.7 ± 3.6 **	11.3 ± 6.1 **	5.7 ± 5.2	4.6 ± 2.7 **	7.6 ± 4.4 **
中药低剂量	10	4.2 ± 2.4 *	5.4 ± 6.1	4.5 ± 3.7	6.2 ± 3.5 **	8.0 ± 3.7 **
中剂量	10	7.1 ± 3.8 *	10.4 ± 5.5 **	5.9 ± 4.1 *	8.6 ± 5.9 **	6.8 ± 4.3 **
高剂量	10	6.5 ± 5.7 *	9.9 ± 7.5 **	8.3 ± 5.3 **	7.9 ± 5.0 **	8.6 ± 5.5 **

注:与模型组同期比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 3 各组 SS 小鼠脏器重量及指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	胸腺重量 (g)	胸腺指数 (g/10 g)	脾脏重量 (g)	脾脏指数 (g/10 g)	颌下腺重量 (g)	颌下腺指数 (g/10 g)
正常	10	0.039 1 ± 0.002 1 *	0.018 1 ± 0.001 2 *	0.069 ± 0.008 **	0.032 ± 0.002 **	0.061 ± 0.011 **	0.028 ± 0.004 **
模型	10	0.042 1 ± 0.003 3	0.020 0 ± 0.002 3	0.124 ± 0.020	0.059 ± 0.010	0.076 ± 0.008	0.036 ± 0.003
白芍	10	0.034 1 ± 0.002 9 **	0.016 4 ± 0.001 2 **	0.102 ± 0.010 *	0.051 ± 0.004 *	0.065 ± 0.008 **	0.031 ± 0.004 **
中药低剂量	10	0.035 1 ± 0.006 3 **	0.016 3 ± 0.002 6 **	0.117 ± 0.018	0.055 ± 0.007	0.063 ± 0.015 *	0.030 ± 0.007 *
中剂量	10	0.037 1 ± 0.004 2 **	0.017 1 ± 0.002 4 **	0.108 ± 0.013	0.050 ± 0.007 *	0.062 ± 0.009 **	0.029 ± 0.005 **
高剂量	10	0.032 1 ± 0.004 6 **	0.015 2 ± 0.001 6 **	0.105 ± 0.023	0.048 ± 0.010 *	0.063 ± 0.015 *	0.029 ± 0.007 **

注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

$P < 0.05$); 中药中、高剂量组各时间点唾液分泌量均增加($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

3 各组小鼠脏器重量及指数比较(表 3) 与正常组比较,模型组胸腺、脾脏、颌下腺重量及指数升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。与模型组比较,白芍组胸腺、脾脏、颌下腺重量及指数降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 中药低剂量组胸腺、颌下腺重量及指数降低($P < 0.01$, $P < 0.05$); 中药中、高剂量组胸腺、颌下腺重量及指数、脾脏指数降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

4 各组干预后血清 TNF- α 、IL-6 及 AQP-5 比较(表 4) 与正常组比较,模型组血清 AQP-5 降低($P < 0.05$)。与模型组比较,白芍组 TNF- α 、IL-6 降低, AQP-5 升高($P < 0.05$); 中药中、高剂量组 AQP-5 升高($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

表 4 各组干预后血清 TNF- α 、IL-6 及 AQP-5 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)	AQP-5 (ng/mL)
正常	10	19 ± 12	74 ± 17	3.8 ± 1.6 *
模型	10	45 ± 30	91 ± 35	1.4 ± 0.9
白芍	10	14 ± 14 *	55 ± 20 *	3.2 ± 1.6 *
中药低剂量	10	35 ± 21	90 ± 53	3.2 ± 2.2
中剂量	10	23 ± 15	65 ± 21	4.1 ± 1.5 **
高剂量	10	29 ± 10	65 ± 17	3.9 ± 2.3 *

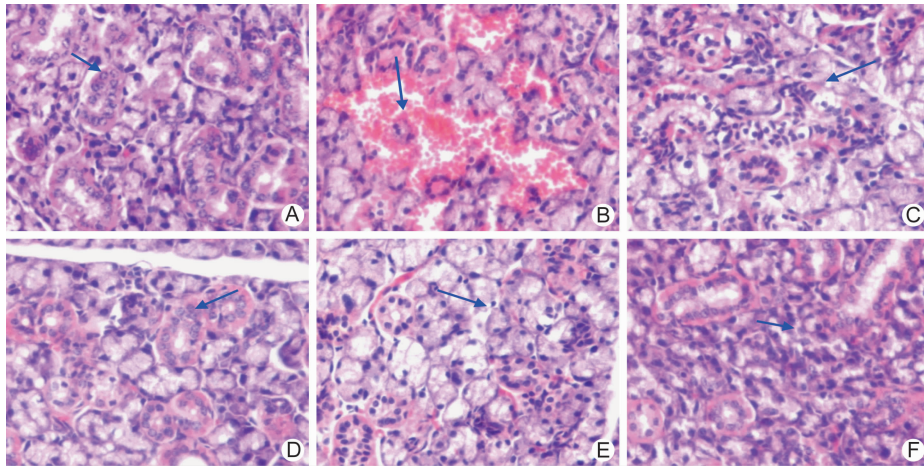
注:与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

5 各组病理组织学结果比较(图 1) 正常组颌下腺组织腺泡及导管上皮完整,无炎细胞浸润,间质血

管无扩张。模型组颌下腺组织内腺泡及导管破坏,腺泡及导管不规则,上皮变性坏死脱落,周围有轻至中度淋巴细胞浸润,可见多个散在浸润灶,每个灶内浸润炎细胞数量 < 50 个炎细胞,间质血管明显扩张充血,与模型组比较,各给药组病变减轻,中药高剂量组效果最好。

讨 论

养肺滋阴汤以补养肺气、养阴润燥活血为治疗原则,方中以沙参麦冬汤为底方,主要用北沙参以养肺胃之阴为君药,辅以麦冬清肺胃之热。用玉竹以补虚,黄芪以除湿益燥,和中益气,去脾胃中湿,除胃热,强脾胃,进饮食,止渴;石斛、乌梅、当归以滋阴养血柔肝,益胃生津;密蒙花以养肝明目,宣肺热,佐以生地,取其生津润燥之效,以解口干,大便干燥之苦。《本草新编》云:“生地凉头面之火,清肺肝之热……热血妄行,或吐血、或衄血、或下血,宜用之为君”^[14];《得配本草》云:“世人动云生地妨胃,其能开胃,人实不晓;惟胃中阳气不足者,服之则胃气不远而饮食减,若胃阴虚,而胃土干燥,致胃气不远者,生地滋其阴,以清其火,而胃气从此运行,饮食自然渐进”^[15]。沙参麦冬汤中加用地以养胃阴,取培土生金之意,胃阴得养则能补益脾胃之气,继而肺金得生,以达生津润燥之效。本研究选用养肺滋阴汤,主以脏腑辨证中阴虚血瘀之证,以滋阴养血,酸甘润燥为主要治疗手段,本实验表明不同剂量



注:A 为正常组,颌下腺腺泡大小规则,排列紧密,箭头所示为正常腺泡组织;B 为模型组,部分腺泡破坏,箭头所示血管高度扩张充血;C 为白芍组,箭头所示少数腺泡和导管破坏;D 为中药低剂量组,箭头所示少数腺泡破坏,多灶性少量炎细胞浸润;E 为中药中剂量组,箭头所示少数腺泡和导管破坏;F 为中药高剂量组,基本正常,箭头所示为正常腺泡组织

图 1 各组颌下腺病理组织学结果(HE, ×400)

养肺滋阴汤均能有效改善 SS 小鼠饮水量、唾液流量及血清学抗体,尤其对血清学 AQP-5 影响明显。

SS 发病机制复杂,近年研究提示 SS 可能与支配腺体的自主神经传导功能抑制相关^[16-18],目前对 SS 的发病机制研究多集中在用于 SS 临床研究的生物制剂,主要有干扰素 γ (Interferon- γ , IFN- γ)、TNF- α 和以 IL 细胞为靶向的生物制剂。但是由于成本较高以及技术难度较大,限制了这些生物制剂的广泛应用。有研究表明,SS 发病过程可能是某种抗原首先活化了易感人群腺泡上皮细胞,分泌以 TNF 为主的细胞因子,致使局部唾液腺遭到破坏,同时 TNF 分泌又激发了其他细胞因子的表达和局部炎症细胞的浸润,最终导致唾液腺严重损伤,发展成自身免疫性唾液腺炎^[19]。对于血清 TNF- α 与 SS 的相关报道虽然不多,但已有研究证实在 SS 的免疫发病机制中,血清 TNF- α 与 SS 发病呈正相关,其作用可能是对副交感神经的神经毒性作用,阻碍唾液分泌的神经传导信号,从而抑制唾液分泌,降低唾液流率,并且 TNF- α 也可能是引起 SS 患者涎腺腺泡细胞表面 AQP-5 异常分布的因素之一^[20]。Hamano H 等^[21]报道了 MRL/Lpr 小鼠自身免疫性涎腺炎发生发展过程中,首先出现 IL-1 和 TNF- α 表达,然后才有 IL-6 的表达,IL-6 作为 IL-1 和 TNF- α 的第二介质发挥作用。在动物实验研究中,细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4-Ig (cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4) 重组腺病毒载体,CTLA4-Ig 可正向调节小鼠颌下腺 AQP-5 的表达,并可有效抑制小鼠 SS 的发生。提示 AQP-5 在原发 SS 发病中可能有积极作

用,Steinfeld SD 等^[22]采用英夫利昔单抗生物制剂治疗原发 SS 研究提示,该药可以显著改善疾病活动的各项指标(包括口干症状的程度和语言的流畅程度)和无刺激状态下的唾液流率。TNF- α 在 SS 的免疫发病机制中的作用可能是降低唾液流率,因其对副交感神经的神经毒性可以导致对唾液分泌的抑制。在使用英夫利昔单抗前后,涎腺活检标本中对淋巴细胞聚集灶的评分差异无统计学意义,而 AQP-5 在腺泡细胞表面的分布则从用药前的顶面及基底侧面转换为主要集中在顶面,因此推测英夫利昔单抗是通过恢复 AQP-5 在涎腺腺泡细胞顶面的适当分布,从而改善 SS 患者无刺激状态下的唾液流率,提示 AQP-5 可能是 SS 将来研究方向。本实验采用的白芍总苷是白芍的提取物,主要成分包括芍药苷、羟基芍药苷、芍药花苷、芍药内酯及苯甲酰芍药苷等。经临床及动物实验均验证了该中成药在多个环节影响细胞免疫、体液免疫、以及炎症过程,具有多重药理作用,可浓度依赖性地及机能依赖性地双向调节 T、B 淋巴细胞的增殖,促进或抑制 IL-1、IL-2 及 TNF 的产生^[23]。调节 T 淋巴细胞 Th/Ts 亚群的平衡^[24,25]。对治疗干燥综合征有效,且不良反应轻微,耐受性良好^[26-28],本实验结果证实了白芍总苷对血清学特异性抗体 AQP-5 有提升作用,且中药组较模型组数据差异有统计学意义,表明中药组有提高 AQP-5 表达作用,虽然 TNF- α 及 IL-6 的表达在中药组及白芍总苷组较模型组有所减低,但差异无统计学意义,考虑与样本量过小,观察时间过短相关,将来的实验可延长动物实验时间,扩大样本量。

中医学对 SS 的认识均是围绕其本虚标实的病理特点进行的。本虚即为诸脏腑气血阴阳亏虚,其中主要为阴液亏损,津枯液涸,脏腑不荣,津液输布失常;而标实主要是瘀毒互结,养肺滋阴汤即是通过滋阴益气辅以活血化瘀的方法治疗该病,临床疗效显著,动物实验提示对 AQP-5 有显著提升作用,表明对中药组对 AQP-5 的调节作用可能是养肺滋阴汤作用机制。本实验不同剂量组与模型组比较病理学及症状改善差异有统计学意义,提示该复方对 SS 症状有改善作用,但其用药剂量与中药单药比例对 AQP-5 的调节作用关系尚须进一步实验验证。

参 考 文 献

- [1] 中华医学会风湿病学分会. 干燥综合征诊断及治疗指南[J]. 中华风湿病学杂志, 2012, 16(2): 30-32.
- [2] 颜淑敏, 张文, 李梦涛, 等. 原发性干燥综合征 573 例临床分析[J]. 中华风湿病学杂志, 2010, 14(4): 223-227.
- [3] 孙丽英, 张亮, 秦鹏飞, 等. 增液汤对干燥综合征模型鼠血清 TNF- α 和 IL-1 β 影响的研究[J]. 中医药信息, 2014, 31(5): 9-11.
- [4] 张前德, 魏睦新, 林青. 丹芪颗粒干预干燥综合征模型大鼠颌下腺水通道蛋白-5 的表达研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15): 105-109.
- [5] 陈浩, 陈湘君. 酸甘化阴法治疗干燥综合征[J]. 上海中医药大学学报, 2005, 19(3): 22-23.
- [6] 吴国琳, 李天一, 普兴宏, 等. 养阴益气活血方药对干燥综合征 NOD 小鼠血清及颌下腺 TNF- α , IL-1 β 表达的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(3): 413-416.
- [7] Dean DH, Hiramoto RN. Experimental auto-allergic sialoadenitis in male rats[J]. J Oral Pathol, 1984, 13(1): 63-68.
- [8] Saegusa K, Ishimaru N, Yanagi K, et al. Prevention and induction of autoimmune exocrinopathy is dependent on pathogenic autoantigen cleavage in murine Sjögren's syndrome[J]. J Immunol, 2002, 169(2): 1050-1057.
- [9] 厉小梅, 李向培, 汪国生, 等. 白芍总苷治疗干燥综合征的有效性和安全性评价[J]. 安徽医学, 2006, 27(5): 370-371.
- [10] 肖林, 杨军, 暨兴华, 等. 干燥综合征动物模型的建立[J]. 重庆医学, 2003, 32(3): 306-309.
- [11] 周定华, 张前德, 魏睦新, 等. 丹地琼玉颗粒对干燥综合征小鼠唾液腺的影响[J]. 南京医科大学学报, 2005, 25(4): 266-272.
- [12] 钱先, 王剑蓉, 汪红仪, 等. 津血源颗粒上调干燥综合征模型鼠唾液腺水通道蛋白 5 表达的实验研究[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(10): 2375-2377.
- [13] Chisholm DM, Mason DK. Labial salivary gland biopsy in Sjögren's syndrome[J]. J Clin Pathol, 1968, 21(5): 656-660.
- [14] (清)陈士铎著. 刘璇, 宋白杨校注. 本草新编[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2011: 44.
- [15] (清)严西亭著. 周德生, 刘志龙, 董小峰编著. 《得配本草》释义[M]. 太原: 山西科学技术出版社, 2009: 240.
- [16] Segawa A, Yamashina S, Murakami M. Visualization of 'water secretion' by confocal microscopy in rat salivary glands: possible distinction of para- and transcellular pathway[J]. Eur J Morphol, 2002, 40(4): 241-246.
- [17] Murakami M, Wei MX, Ding W, et al. Effects of Chinese herbs on salivary fluid secretion by isolated and perfused rat submandibular glands[J]. World Gastroenterol, 2009, 15(31): 3908-3915.
- [18] 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.
- [19] 丁大成, 董怡, 李申德, 等. 干燥综合征病人小涎腺中细胞因子的表达[J]. 中华医学杂志, 1996, 76(6): 427-430.
- [20] 李菁, 赵岩, 唐福林, 等. 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] Hamano H, Satio I, Haneji N, et al. Expressions of cytokine genes during development of autoimmune sialoadenitis in MRL/LPR mice[J]. Eur J Immunol, 1993, 23(10): 2387-2391.
- [22] Steinfeld SD, Appelboom T, Delporte C. Treatment with infliximab restores normal aquaporin 5 distribution in minor salivary glands of patients with Sjögren's syndrome[J]. Arthritis Rheum, 2002, 46(8): 2249-2251.
- [23] 李俊, 梁君山, 周爱武, 等. 白芍总苷对 B 淋巴细胞增殖和白介素 1 生成的调节作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1994, 8(1): 53-54.
- [24] 王斌, 陈敏珠, 徐叔云. 白芍总苷对大鼠腹腔巨噬细胞产生肿瘤坏死因子的调节机制[J]. 中国药理学通报, 1997, 13(3): 255-257.
- [25] 王兴旺, 魏伟, 陈敏珠, 等. 白芍总苷调节小鼠免疫功能的机理[J]. 中国药理学通报, 1990, 6(6): 363-366.
- [26] 鲁静, 沈晖, 刘永斌, 等. 白芍总苷治疗干燥综合征的临床观察[J]. 中国现代医学杂志, 2006, 16(1): 78-80.
- [27] 钟琴, 曹跃朋, 刘正奇, 等. 白芍总苷对干燥综合征模型小鼠饮水量和唾液量及 T 细胞亚群的影响[J]. 风湿病与关节炎, 2013, 2(11): 39-41.
- [28] 厉小梅, 李向培, 汪国生, 等. 白芍总苷治疗干燥综合征的有效性和安全性评价[J]. 安徽医学, 2006, 27(5): 370-371.

(收稿: 2015-01-11 修回: 2015-10-22)