

## 活血解毒润燥方对干燥综合征小鼠颌下腺细胞凋亡抑制因子Survivin表达的影响

李方凯<sup>1</sup>, 朱跃兰<sup>1</sup>, 侯秀娟<sup>1</sup>, 张玉婷<sup>1</sup>, 谷新怡<sup>2</sup>, 王海波<sup>1</sup>, 沈潜<sup>1\*</sup>

(1. 北京中医药大学东方医院, 北京 100078;

2. 北京中医药大学东直门医院通州院区, 北京 101121)

**[摘要]** 目的:以干燥综合征(SS)模型小鼠颌下腺细胞凋亡抑制因子(Survivin)的表达为靶点,探讨活血解毒润燥方对SS模型小鼠颌下腺组织形态、细胞凋亡、腺体功能的影响及其干预机制。方法:实验选取雌性BALB/c57小鼠为正常组,自发性雌性非肥胖型糖尿病(NOD/Ltj)小鼠为SS模型并随机分为模型组、白芍总苷胶囊组(0.234 g·kg<sup>-1</sup>)和活血解毒润燥方低、中、高剂量(15.6, 31.2, 62.4 g·kg<sup>-1</sup>)组,每组15只。药物干预8周后,观察各组小鼠颌下腺形态、功能和凋亡抑制因子Survivin表达的改变,分别采用免疫组化法(IHC),蛋白免疫印迹法(Western blot),逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)检测细胞凋亡抑制因子Survivin蛋白及mRNA的表达。结果:与正常组比较,模型组小鼠唾液流量及颌下腺指数均显著降低( $P<0.01$ ),颌下腺组织病理学评分显著升高( $P<0.01$ ),Western blot结果显示,Survivin蛋白表达明显降低( $P<0.05$ ),IHC结果显示,Survivin表达显著降低( $P<0.01$ ),RT-PCR结果显示,Survivin mRNA表达显著降低( $P<0.01$ );与模型组比较,活血解毒润燥方各剂量组和白芍总苷胶囊组小鼠唾液流量及颌下腺指数均明显增高( $P<0.05$ ),颌下腺组织病理学评分明显降低( $P<0.05$ ),IHC结果显示,Survivin表达显著升高( $P<0.01$ ),Western blot和RT-PCR结果显示,活血解毒润燥方高剂量组与白芍总苷胶囊组Survivin蛋白及mRNA表达均明显升高( $P<0.05$ )。结论:活血解毒润燥方可以改善SS模型小鼠颌下腺腺泡的分泌功能,提高其颌下腺指数,增加SS模型鼠的唾液分泌量;其作用机制与上调SS模型鼠颌下腺细胞凋亡抑制因子Survivin的表达水平有关。

**[关键词]** 干燥综合征(SS); 颌下腺; 细胞凋亡; 细胞凋亡抑制因子(Survivin); 活血解毒润燥方

**[中图分类号]** R2-0;R289;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)24-0084-08

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20212438

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20211028.1836.006.html>

**[网络出版日期]** 2021-10-29 11:17

## Effect of Huoxue Jiedu Runzao Prescription on Expression of Apoptosis Inhibitor Survivin in Submandibular Gland Cells of Sjögren's Syndrome Mice

LI Fang-kai<sup>1</sup>, ZHU Yue-lan<sup>1</sup>, HOU Xiu-juan<sup>1</sup>, ZHANG Yu-ting<sup>1</sup>, GU Xin-yi<sup>2</sup>,  
WANG Hai-bo<sup>1</sup>, SHEN Qian<sup>1\*</sup>

(1. Dongfang Hospital of Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100078, China;

2. Tongzhou Branch of Dongzhimen Hospital of Beijing University of Chinese Medicine,  
Beijing 101121, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Huoxue Jiedu Runzao prescription on the morphology, apoptosis, and function of submandibular gland in the mouse model of Sjögren's syndrome (SS) and its functioning mechanism, we analyzed the expression of the apoptosis inhibitor Survivin in the submandibular gland cells of SS mice. **Method:** Female BALB/c57 mice were selected as the normal group. The naive non-obese diabetic (NOD/Ltj) female mice were selected as the SS model, which were randomly assigned

**[收稿日期]** 20210806(011)

**[基金项目]** 北京中医药大学2019年度自主课题青年教师项目(2019-JYB-JS-104)

**[第一作者]** 李方凯, 硕士, 主治医师, 从事中医药防治风湿免疫疾病研究, E-mail: lifangkai1324@163.com

**[通信作者]** \* 沈潜, 博士, 副主任医师, 从事中医药防治风湿免疫疾病研究, E-mail: rbd144@163.com

into the model group, Paeoniae Radix Alba total glucosides capsule ( $0.234 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) group, and low-, medium-, and high-dose ( $15.6, 31.2, 62.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , respectively) Huoxue Jiedu Runzao prescription groups. Each group had 15 mice. The morphological and functional changes of submandibular gland and the Survivin expression were observed and measured after 8 weeks of drug intervention. Survivin expression was determined by immunohistochemistry (IHC), Western blot, and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Result:** Compared with normal group, salivary flow and submandibular gland index in model group were significantly decreased ( $P < 0.01$ ), and histopathological score of submandibular gland was significantly increased ( $P < 0.01$ ). Western blot showed that Survivin protein expression was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). IHC showed that, Survivin mRNA expression was significantly decreased ( $P < 0.01$ ), and RT-PCR results showed that Survivin mRNA expression was significantly decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with model group, salivary flow and submandibular gland index of mice in Huoxue Jiudu Runzao prescription groups and Paeoniae Radix Alba total glucosides capsules groups were significantly increased ( $P < 0.05$ ), histopathological score of submandibular gland was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), IHC results showed that Survivin expression was significantly increased ( $P < 0.01$ ). Western blot and RT-PCR results showed that Survivin protein and mRNA expression of Huoxue Jiudu Runzao prescription high-dose group and Paeoniae Radix Alba total glucosides capsule group were significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Huoxue Jiedu Runzao prescription can improve the secretion function of submandibular acinus, increase the submandibular gland index, and saliva secretion of SS mice by up-regulating survivin in submandibular gland cells of SS mice.

**[Keywords]** Sjögren's syndrome (SS); submandibular gland; apoptosis; Survivin; Huoxue Jiedu Runzao prescription

干燥综合征(SS)是一种累及全身多系统的慢性炎症性自身免疫疾病,以高度淋巴细胞浸润为病理特征,主要侵犯唾液腺和泪腺等外分泌腺,临床以口干、眼干、关节肌肉疼痛等为主要表现。现代医学对SS的病因和发病机制尚不明确,可能与遗传、免疫、环境等多种因素相关<sup>[1-2]</sup>,近年来有研究证实细胞凋亡可能是SS自身免疫启动的重要因素<sup>[3]</sup>。细胞凋亡(apoptosis)是多细胞生物为维持体内稳态而形成的一种非炎症性的、主动死亡的过程,涉及多种细胞因子的表达和调控<sup>[4-6]</sup>。凋亡抑制蛋白(IAP)家族对细胞凋亡起抑制作用, Survivin作为IAP家族中的一种多功能蛋白,虽不能直接作用于半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶(Caspase)抑制凋亡,但具有保护X连锁凋亡抑制蛋白(XIAP)的功能,间接抑制细胞色素C(Cyt-C)和Caspases-3, Caspases-7, Caspases-9诱导的凋亡信号通路<sup>[7]</sup>。JAISWAL等<sup>[8]</sup>报道Survivin可抑制B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)或Bcl-2相关X蛋白(Bax)的激活,使Cyt-C等不能发挥作用从而抑制细胞凋亡。O'CONNOR等<sup>[9]</sup>证实Survivin可结合Caspase-9,形成复合物抑制线粒体通路的细胞凋亡。武云霞等<sup>[10]</sup>研究发现Survivin在SS患者唇腺组织腺泡和导管上皮细胞的凋亡中发挥重要的作用。基于以上研究结论笔者

认为,可将调控细胞凋亡抑制因子Survivin的表达作为中药干预的靶点,为临床应用中药治疗SS探索新的生物学依据。

关于SS中医病机的见解多数研究者遵循“燥盛则干”的病机理论,认为本病的基本病机乃阴液亏损,致津液枯竭、脏腑不荣而燥象丛生。北京中医药大学朱跃兰教授通过总结多年临证经验,发现SS的中医病机以阴津亏虚为基础,以燥、毒、瘀互结为病理关键,同时燥、毒贯穿始终,并以润燥解毒、活血化瘀为法自拟活血解毒润燥方长期应用于SS中医临床治疗。通过前期临床疗效研究发现,活血解毒润燥方可改善SS患者口干、眼干、便秘等症状,降低C反应蛋白(CRP),血细胞沉降率(ESR),免疫球蛋白(Ig),涎腺病变超声评分等相关指标,提示具有缓解SS疾病进展的作用<sup>[11]</sup>。前期实验研究通过“活血解毒法对干燥综合征小鼠颌下腺分泌功能的影响”的课题研究,结果证实活血解毒润燥方可以改善SS模型鼠颌下腺腺泡的分泌功能<sup>[12]</sup>,提高其颌下腺指数,增加SS模型鼠的唾液分泌量。基于上述前期研究基础,本研究针对活血解毒润燥方对SS颌下腺细胞凋亡的影响这一问题,通过观察活血解毒润燥方对SS模型鼠颌下腺组织形态、腺体功能和细胞凋亡抑制因子Survivin表达的影响,从细胞凋亡角

度探讨活血解毒润燥方在SS疾病发生发展中的可能调控机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 正常组为15只9~10周龄SPF级雌性BALB/c57小鼠,体质量18~20 g,购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,动物合格证号SCXK(京)2019-0010;实验组为75只9~10周龄SPF级雌性NOD/Ltj小鼠,体质量16~18 g,购自江苏集萃药康生物科技股份有限公司,动物合格证号SCXK(苏)2018-0008,两组动物体质量差异无统计学意义,实验前适应性饲养1周。本实验遵循北京中医药大学东方医院实验中心有关实验动物管理和使用的规定,通过实验动物伦理委员会批准(批准号202001)。根据前期研究结果,以及近年来SS实验动物模型的文献报道<sup>[13-14]</sup>,认为NOD/Ltj小鼠唾液分泌量低、发病晚和颌下腺组织病理变化等特点,基本符合SS模型阴虚血瘀毒结的要求。

**1.2 药物与试剂** 活血解毒润燥方由丹参30 g,当归15 g,川芎15 g,鸡血藤20 g,玄参20 g,连翘15 g,桔梗9 g,生甘草10 g,生地黄30 g,麦冬20 g,石斛20 g,南沙参15 g组成,以上药物采用中药颗粒剂(北京康仁堂药业有限公司生产),由北京中医药大学东方医院颗粒药房统一提供。将中药颗粒用蒸馏水进行溶解,分别制备成含生药质量浓度为2, 4, 8 g·mL<sup>-1</sup>的溶液。白芍总苷胶囊(帕夫林,宁波立华制药有限公司,批号110916,0.3 g/粒),胶囊去壳溶于蒸馏水中,超声波振荡溶解质量浓度为0.03 g·mL<sup>-1</sup>。

兔抗生存素抗体试剂盒(武汉三鹰生物技术有限公司,批号10508-1-AP);即用型快捷免疫组化试剂盒(鼠/兔),DAB试剂盒(福州迈新生物科技有限公司,批号分别为KIT-5002/5005,DAB-1031);磷酸缓冲盐液(PBS),兔抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶抗体(GAPDH)抗体,辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔免疫球蛋白G(IgG),羊抗鼠HRP标记IgG,BCA蛋白含量检测试剂盒,聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)试剂盒,苏木素-伊红(HE)染色液(江苏凯基生物技术有限公司,批号分别为KGB5001,KGAA002,KGAA35,KGAA37,KGA902,KGP113,KGA224);互补脱氧核糖核酸(cDNA)第一链合成试剂盒,反转录试剂盒PrimeScrip™ RT Master Mix(日本TaKaRa公司,批号分别为RR036B,RR086B)。

**1.3 仪器** E200型电子分析天平(德国赛多利斯

公司);Olympus BX43型生物荧光倒置显微镜(日本Olympus公司);Image Pro Plus5.0图像分析系统,Power Supplies Basic型电泳仪,Trans-Blot Turbo 170-4150全能型蛋白转印系统(美国Bio-Rad公司);G: BOXChemiXR5凝胶成像系统(英国Syngene公司);Spectramac M3型多功能酶标仪(美国MD公司);UV-2450型紫外光度仪(日本Shimadzu公司);Veriti 96 well Thermal cycler型普通梯度PCR仪(美国ABI公司)。

## 2 方法

**2.1 动物分组及给药** 正常组为BALB/c57小鼠15只,将NOD/Ltj小鼠75只按照体质量随机平均分为模型组、白芍总苷胶囊组、活血解毒润燥方低、中、高剂量组,每组15只;各组小鼠给药量按照人与动物体表面积比计算等效剂量<sup>[15]</sup>。正常组、模型组小鼠灌胃10 mL·kg<sup>-1</sup>蒸馏水,白芍总苷胶囊组(0.234 g·kg<sup>-1</sup>),活血解毒润燥方低、中、高剂量组(15.6, 31.2, 62.4 g·kg<sup>-1</sup>)分别灌胃给药,每天1次,给药8周。

**2.2 标本收集** 各组均在第1周起每天1次给药,至第8周实验结束时,每组取10只小鼠,经10%水合氯醛腹腔注射麻醉后,仰位固定于鼠板上,无菌分离颌下腺。

**2.3 唾液分泌量测定** 给药后动态测定小鼠唾液分泌量,将干棉球放入口颊内3 min后取出称湿质量,唾液分泌量(mg)=湿质量(mg)-干质量(mg)。

**2.4 颌下腺指数测定** 药物干预8周后摘取小鼠颌下腺称质量,颌下腺指数=颌下腺质量(g)/小鼠体质量(g)×100%。

**2.5 HE染色观察颌下腺组织病理形态学变化** 颌下腺行病理学评分,实验结束时眼球放血处死小鼠,取一侧颌下腺经10%中性甲醛固定,常规石蜡包埋,切片,行HE染色。光镜下观察,进行病理学评分。病理形态学参照Chisholm-Mason<sup>[16]</sup>组织学评分方法,将各组小鼠颌下腺病变程度和淋巴细胞浸润进行量化评定:0分,无淋巴细胞浸润;1分,轻度淋巴细胞浸润;2分,中度淋巴细胞浸润,每4 mm<sup>2</sup><1个淋巴细胞浸润灶;3分,每4 mm<sup>2</sup>有1个淋巴细胞浸润灶;4分,每4 mm<sup>2</sup>>1个淋巴细胞浸润灶。(1个淋巴细胞浸润灶有至少50个以上淋巴细胞浸润)。

**2.6 颌下腺细胞凋亡抑制因子Survivin表达测定**

**2.6.1 免疫组化法测定Survivin的表达** 每组取10只小鼠,经10%水合氯醛腹腔注射麻醉后,仰位

固定于鼠板上, 无菌分离颌下腺, 4%多聚甲醛固定, 脱水, 透明, 石蜡包埋, 连续切片。主要抗体兔抗Survivin稀释比例1:400, 抗原修复、灭活酶, 滴加牛血清白蛋白溶液(1%BSA)50~100 μL室温孵育20 min封闭。滴加一抗50~100 μL, 4 °C过夜, PBS浸洗3次, 每次3 min; 滴加羊抗兔/鼠聚合物50 μL, 室温湿盒孵育20 min, PBS浸洗3次, 每次3 min。每张片子加2滴新鲜配制的DAB溶液显色; 苏木素染液复染10 min, 蒸馏水冲洗, 脱水封片。使用Image Pro Plus软件图像半定量分析技术, 高倍镜下对免疫组化图片染色强度进行半定量分析, 用积分吸光度IA表示抗原表达水平, IA越大说明抗原表达的水平越高。

**2.6.2 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测Survivin蛋白表达** 每组取10只小鼠, 经10%水合氯醛腹腔注射麻醉后, 仰位固定于鼠板上, 无菌分离颌下腺, 称质量后加入组织裂解液, 进行组织匀浆, 4 °C, 12 000×g离心30 min, 留上清分装, -20 °C冻存备用。滴加Survivin一抗(1:100), GAPDH(1:5 000), 4 °C冰箱孵育过夜。滴加, 蛋白电泳胶的浓度10%; 将NC膜放入平皿中, 封闭, 摇床振荡2 h, 封闭结束后, 用TBST洗膜3次, 每次5 min, 将膜放入含一抗的平皿中, 4 °C摇床振荡孵育过夜, 第2天取出室温振荡30 min, 吸弃一抗, TBST洗3次, 每次10 min, 二抗(1:1 000)孵育, 室温摇床振荡反应2 h。以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值表示Survivin蛋白的表达, 使用G:BOX chemi XR 5凝胶成像系统成像, Gel-Pro 32软件对结果进行灰度分析。

**2.6.3 逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)测定小鼠颌下腺组织中Survivin的mRNA表达** 每组取10只小鼠, 经10%水合氯醛腹腔注射麻醉后, 仰位

固定于鼠板上, 无菌分离颌下腺, 无菌PBS清洗, 置离心管中, 放入液氮保存待测。以GAPDH为内参, PCR反应程序为94 °C变性3 min, 94 °C变性30 s, 55~59 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 循环30次, 72 °C温育10 min。PCR反应体系为2×Taq PCR Master Mix 10 μL, cDNA产物1 μL; 上游引物2 μL, 下游引物2 μL, 无菌水7 μL。取PCR产物上样于1.5%琼脂凝胶中电泳, 在紫外分光光度计上测定总RNA浓度及纯度, 运用Bio-Rad Quantity One软件对电泳结果进行扫描分析。引物由日本TaKaRa公司设计合成, 序列见表1。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequence

引物	序列(5'-3')	长度/bp
GAPDH	上游 AAGGTCGGTGTGAACGGATT	146
	下游 TGAGTGGAGTCATACTGGAACAT	
Survivin	上游 AGAACTACCGCATCGCCACCTT	87
	下游 TGAAGCCAGCCTCCGCCATT	

**2.7 统计学分析** 用SPSS 17.0软件进行数据分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 组间两两比较用最小显著性差异法(LSD)与SNK检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对小鼠唾液流量的影响** 正常组小鼠唾液流量保持稳定; 与正常组比较, 模型组小鼠唾液流量显著降低, 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ); 第8周时, 与模型组比较, 活血解毒润燥方各剂量组和白芍总苷胶囊组小鼠唾液流量明显增加, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 活血解毒润燥方对小鼠唾液流量的影响( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

Table 2 Effect of Huoxue Jiudu Runzao prescription on saliva flow in mice ( $\bar{x} \pm s, n=15$ )

mg·min<sup>-1</sup>

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	第1周	第2周	第4周	第6周	第8周
正常		16.33±1.94	17.50±2.24	17.33±2.08	18.33±1.88	19.33±2.09
模型		4.17±0.75 <sup>1)</sup>	4.67±1.21 <sup>1)</sup>	7.67±1.75 <sup>1)</sup>	5.67±1.67 <sup>1)</sup>	4.83±1.59 <sup>1)</sup>
活血解毒润燥方	15.6	3.81±0.95	4.16±0.72	5.83±1.65	6.34±1.37	12.16±0.98 <sup>2)</sup>
	31.2	4.02±1.67	4.28±1.54	6.23±1.39	6.51±1.09	12.67±0.36 <sup>2)</sup>
	62.4	4.07±1.52	4.33±1.29	6.19±1.04	6.58±1.74	13.23±0.65 <sup>2)</sup>
白芍总苷胶囊	0.234	4.03±1.28	4.35±1.05	6.72±1.34	6.59±1.62	13.05±0.27 <sup>2)</sup>

注: 与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ (表3~5, 7同)。

**3.2 对小鼠颌下腺指数的影响** 与正常组比较, 模型组小鼠颌下腺指数显著降低, 差异具有统计学意

义( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 活血解毒润燥方各剂量组和白芍总苷胶囊组小鼠颌下腺指数明显升高,

差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表3。

表3 活血解毒润燥方对小鼠颌下腺指数的影响( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

Table 3 Effect of Huoxue Jiudu Runzao prescription on submandibular gland index in mice ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	颌下腺指数/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
正常		7.61±1.56
模型		2.35±0.98 <sup>1)</sup>
活血解毒润燥方	15.6	4.90±0.73 <sup>2)</sup>
	31.2	5.16±0.92 <sup>2)</sup>
	62.4	5.23±1.05 <sup>2)</sup>
白芍总苷胶囊	0.234	5.19±0.87 <sup>2)</sup>

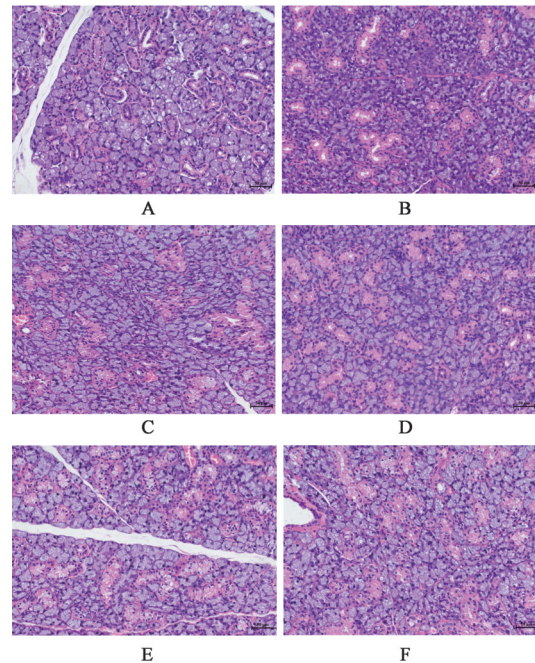
**3.3 对小鼠颌下腺病理学评分的影响** 正常组小鼠颌下腺组织呈分叶状,腺泡呈卵圆形结构正常,腺泡导管无扩张,导管和上皮未见变性、坏死,腺体间质无充血、水肿,无淋巴细胞浸润等病理变化。模型组小鼠颌下腺细胞间隙扩大,颌下腺腺泡大小不等,导管和腺泡上皮可见变性、增生,局部腺体萎缩,周围淋巴细胞浸润,部分成灶。与模型组比较,活血解毒润燥方各剂量组及白芍总苷胶囊组腺泡结构有不同程度改善,腺泡导管轻度扩张,间质充血水肿减轻,腺体萎缩得到不同程度抑制,浸润的淋巴细胞数量不同程度减少。见图1。与正常组比较,模型组小鼠颌下腺组织病理学评分显著升高( $P<0.01$ );与模型组比较,活血解毒润燥方各剂量组和白芍总苷胶囊组小鼠颌下腺组织病理学评分均明显降低,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见表4。

**3.4 对小鼠颌下腺细胞凋亡抑制因子Survivin表达的影响**

**3.4.1 对小鼠颌下腺Survivin表达的影响** 与正常组比较,模型组小鼠颌下腺Survivin表达明显降低,IA显著降低( $P<0.01$ );与模型组比较,活血解毒润燥方各剂量组和白芍总苷胶囊组Survivin表达明显升高,IA显著增高,差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。见图2,表5。

**3.4.2 对小鼠颌下腺Survivin蛋白表达的影响** 与正常组比较,模型组小鼠颌下腺Survivin蛋白表达明显降低( $P<0.05$ );与模型组比较,活血解毒润燥方高剂量组、白芍总苷胶囊组小鼠颌下腺Survivin蛋白表达明显升高( $P<0.05$ )。见图3,表6。

**3.4.3 对小鼠颌下腺Survivin mRNA表达的影响** 与正常组比较,模型组小鼠颌下腺Survivin mRNA表达显著降低( $P<0.01$ );与模型组比较,活血解毒润燥方高剂量组、白芍总苷胶囊组Survivin mRNA表达明显升高( $P<0.05$ )。见图4,表7。



A. 正常组;B. 模型组;C. 活血解毒润燥方低剂量组;D. 活血解毒润燥方中剂量组;E. 活血解毒润燥方高剂量组;F. 白芍总苷胶囊组(图2同)

图1 活血解毒润燥方对小鼠颌下腺组织病理形态的影响(HE,  $\times 400$ )

Fig. 1 Effect of Huoxue Jiudu Runzao prescription on pathological morphology of mice submandibular gland(HE,  $\times 400$ )

表4 活血解毒润燥方对小鼠颌下腺病理学评分的影响( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

Table 4 Effect of Huoxue Jiudu Runzao prescription on pathological score of mice submandibular gland ( $\bar{x}\pm s, n=15$ )

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	评分/分
正常		0.16±0.03
模型		3.69±0.75 <sup>1)</sup>
活血解毒润燥方	15.6	2.82±0.92 <sup>2)</sup>
	31.2	2.46±0.89 <sup>2)</sup>
	62.4	1.81±0.75 <sup>2)</sup>
白芍总苷胶囊	0.234	2.09±0.56 <sup>2)</sup>

#### 4 讨论

SS是一种以外分泌腺高度淋巴细胞浸润和血清中存在多种自身抗体为特征的慢性、炎症性自身免疫病,大量研究结果发现细胞凋亡异常是自身免疫性疾病的重要发病机制之一<sup>[17]</sup>。在诸多细胞凋亡相关因子中,Survivin是迄今为止发现的功能最强的凋亡抑制因子,在抑制细胞凋亡、参与细胞周期调节、促进肿瘤血管形成等方面发挥重要的作用<sup>[18-19]</sup>。近年来在对SS发病机制的探索中,Survivin作为细胞凋亡抑制蛋白IAP家族中的重要成员,已

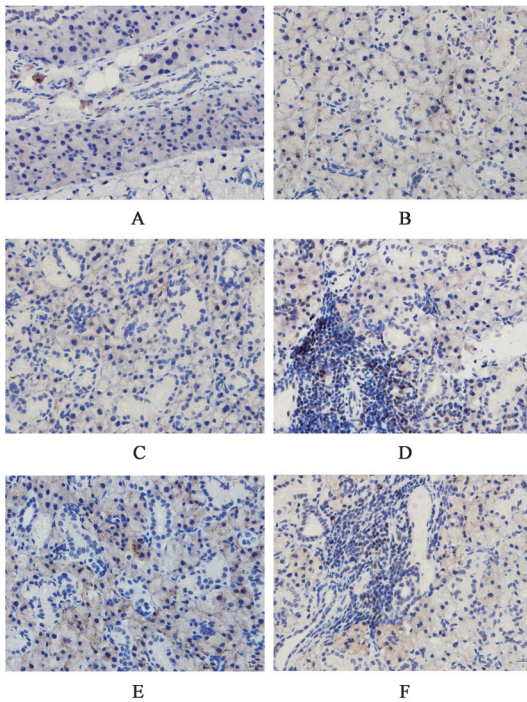


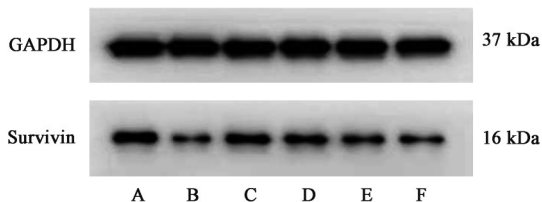
图2 活血解毒润燥方对小鼠颌下腺免疫组化检测Survivin表达的影响(免疫组化, ×400)

Fig. 2 Effect of Huoxue Jiudu Runzao prescription on Survivin expression detected by immunohistochemistry in mice submandibular gland(IHC, ×400)

表5 活血解毒润燥方对小鼠颌下腺Survivin IA的影响(̄x±s, n=10)

Table 5 Effect of Huoxue Jiudu Runzao prescription on Survivin IA value of mice submandibular gland(̄x±s, n=10)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	IA
正常		575 786.95±159 885.22
模型		35 254.65±18 815.11 <sup>1)</sup>
活血解毒润燥方	15.6	530 265.43±611 120.08 <sup>2)</sup>
	31.2	595 704.40±273 476.96 <sup>2)</sup>
	62.4	693 348.90±585 065.59 <sup>2)</sup>
白芍总苷胶囊	0.234	577 288.35±365 648.33 <sup>2)</sup>



A. 正常组; B. 模型组; C. 白芍总苷胶囊组; D. 活血解毒润燥方高剂量组; E. 活血解毒润燥方中剂量组; F. 活血解毒润燥方低剂量组(图4同)

图3 小鼠颌下腺Survivin蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of Survivin protein expression in submandibular gland of mice

表6 活血解毒润燥方对小鼠颌下腺Survivin蛋白表达的影响(̄x±s, n=3)

Table 6 Effect of Huoxue Jiudu Runzao prescription on Survivin protein expression in submandibular gland of mice(̄x±s, n=3)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Survivin/GAPDH
正常		0.725±0.139
模型		0.274±0.048 <sup>1)</sup>
活血解毒润燥方	15.6	0.281±0.040
	31.2	0.347±0.073
	62.4	0.510±0.088 <sup>2)</sup>
白芍总苷胶囊	0.234	0.624±0.070 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>P<0.05;与模型组比较<sup>2)</sup>P<0.05。

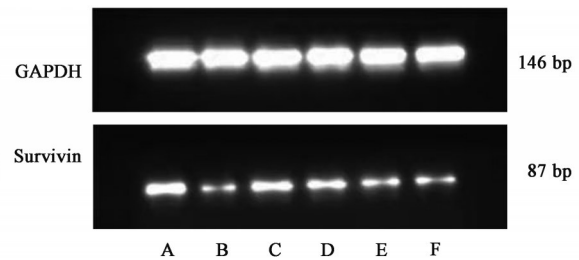


图4 小鼠颌下腺Survivin mRNA表达电泳

Fig. 4 Electrophoresis of Survivin mRNA expression in submandibular gland of mice

表7 活血解毒润燥方对小鼠颌下腺Survivin mRNA表达的影响(̄x±s, n=3)

Table 7 Effect of Huoxue Jiudu Runzao prescription on Survivin mRNA expression in submandibular gland of mice(̄x±s, n=3)

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Survivin/GAPDH
正常		1.01±0.14
模型		0.28±0.03 <sup>1)</sup>
活血解毒润燥方	15.6	0.41±0.06
	31.2	0.44±0.05
	62.4	0.78±0.09 <sup>3)</sup>
白芍总苷胶囊	0.234	0.84±0.13 <sup>2)</sup>

逐渐成为中医药干预SS发生和发展的研究焦点之一。

SS属于中医学“燥痹”范畴,其发病关键为毒、瘀、虚互结,故活血解毒、滋阴润燥为中医临床常用治法之一<sup>[20-22]</sup>。总结文献并结合多年临床经验,笔者认为本病的发病基础是阴津亏虚,疾病发展的病理关键是燥毒瘀互结,而燥毒则贯穿本病的始终。白芍具有养血敛阴、活血止痛、缓急止痛等功效,白芍总苷为白芍干燥根中提取的有效成分,主要成分为白芍总苷,其作为一种新型双向免疫调节剂,对多种炎症性病理模型具有明显的抗炎止痛、免疫调

节等作用,这与中药润燥解毒、活血化瘀之功效相仿,临床上广泛应用于治疗自身免疫性疾病<sup>[23-25]</sup>,可作为实验对照药物。活血解毒润燥方以丹参为君药主活血化瘀,佐以当归、川芎、鸡血藤等加强逐瘀通络之功;以玄参、连翘、生地黄、麦冬、石斛等为臣药,功效清热解渴、养阴润燥;使药予桔梗、生甘草以引药上行、调和诸药。全方配伍共奏活血化瘀、解毒润燥的功效,正切合SS阴津亏虚、燥毒瘀结之病机,并且方中活血与解毒之品力强而专,是针对燥毒瘀互结这一病机关键的体现。因此在临床治疗SS中强调应从养阴润燥立论的基础上,及时抓住燥毒这一核心病理环节及燥毒瘀互结的特点,在疾病的早期就重视解毒润燥、活血化瘀法的运用,配合益气养阴生津之品,取得良好临床疗效,在此基础上进行相关药物作用途径研究,为临床应用提供依据<sup>[26]</sup>。

本研究将SS模型鼠颌下腺细胞凋亡及凋亡抑制因子Survivin的表达作为观察焦点,通过观察实验各组小鼠颌下腺组织病理学改变,并运用免疫组化法,Western blot,RT-PCR等方法分别对Survivin在小鼠颌下腺组织中的表达进行检测,结果表明SS模型鼠唾液分泌量明显减少、颌下腺指数明显降低、组织形态学病理明显改变,均与其颌下腺细胞的Survivin表达显著下调有关,说明颌下腺细胞Survivin表达降低与SS发病的口干等症具有密切相关性。经过活血解毒润燥方高、中、低剂量和白芍总苷胶囊的干预措施,与模型组小鼠比较,活血解毒润燥方各剂量组和白芍总苷胶囊组小鼠的唾液流量、颌下腺指数、颌下腺组织病理学评分均有明显改善,颌下腺组织Survivin的蛋白及mRNA表达水平亦有不同程度提高,尤以活血解毒润燥方高剂量组和白芍总苷胶囊组显著,提示活血解毒润燥方具有与白芍总苷胶囊相似的抗炎、调节免疫等功效。

综上所述,本研究从细胞凋亡抑制因子Survivin在SS模型鼠颌下腺细胞表达变化的角度,证实了活血解毒润燥方可以改善SS模型鼠颌下腺腺泡的分泌功能,提高其颌下腺指数,增加SS模型鼠的唾液分泌量,其作用机制与上调SS模型鼠颌下腺细胞凋亡抑制因子Survivin的表达水平有关,为临床应用活血解毒润燥方治疗SS进一步提供了生物学依据。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

#### [参考文献]

[1] 王瑞婷,陈雁飞,汪钰涵,等. T细胞亚群在原发性干

燥综合征发病机制中的研究进展[J]. 兰州大学学报:医学版,2020,46(6):45-50.

- [2] VIVINO F B, BUNYA V Y, MASSARO-GIORDANO G, et al. Sjögren's syndrome: an update on disease pathogenesis, clinical manifestations and treatment [J]. Clin Immunol, 2019, 203: 81-121.
- [3] 侯佳奇,薛鸾. 原发性干燥综合征发病机制概述[J]. 现代免疫学, 2019, 39(1): 60-65.
- [4] NAGATA S, TANAKA M. Programmed cell death and the immune system [J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17(5): 333-340.
- [5] SAULER M, BAZAN I S, LEE P J. Cell death in the lung: the apoptosis-necroptosis axis [J]. Annu Rev Physiol, 2019, 81(1): 375-402.
- [6] ZAMARAEV A V, KOPEINA G S, PROKHOROVA E A, et al. Post-translational modification of Caspases: the other side of apoptosis regulation [J]. Trends Cell Biol, 2017, 27(5): 322-339.
- [7] 黄智超,李国峰,郎一帆,等. 中药诱导肺癌细胞凋亡机制的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, doi:10.13422/j.cnki.syfjx.20212326.
- [8] JAISWAL P K, GOEL A, MITTAL R D. Survivin: a molecular biomarker in cancer [J]. Indian J Med Res, 2015, 141(4): 389-397.
- [9] O'CONNOR D S, GROSSMAN D, PLESCIA J, et al. Regulation of apoptosis at cell division by p34cdc2 phosphorylation of Survivin [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(24): 13103-13107.
- [10] 武云霞,孙晓军,李伟丽,等. 干燥综合征唇腺组织中Survivin和Bcl-2蛋白的表达[J]. 山西医科大学学报, 2008(1): 86-87, 94, 96.
- [11] 徐江喜. 活血解毒方治疗原发性干燥综合征瘀毒证的疗效评价[D]. 北京:北京中医药大学, 2019.
- [12] 李方凯,谷新怡,崔民英,等. 活血解毒方对干燥综合征小鼠颌下腺AQP5表达的影响[J]. 西部中医药, 2016, 29(9): 19-22.
- [13] 毛晓娟. 干燥综合征患者外周血中Treg和Th17细胞绝对数量与肠道微生物菌落特征的相关性研究[D]. 太原:山西医科大学, 2020.
- [14] SU Y C, WU L L, XIANG R L. Progress in understanding the pathogenesis of Sjögren's syndrome in non-obese diabetic mice [J]. Prog Physiol Sci, 2012, 43: 171-175.
- [15] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1982: 129-131.
- [16] COSTA S, SCHUTZ S, CORNEC D, et al. B-cell and T-cell quantification in minor salivary glands in primary Sjögren's syndrome: development and validation of a pixel-based digital procedure [J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18: 21.

- [17] PLACZEK W J, WEI J, KITADA S, et al. A survey of the anti-apoptotic Bcl-2 subfamily expression in cancer types provides a platform to predict the efficacy of Bcl-2 antagonists in cancer therapy [J]. *Cell Death Dis*, 2010, 1(5): e40.
- [18] WARRIER N M, AGARWAL P, KUMAR P. Emerging importance of Survivin in stem cells and cancer: the development of new cancer therapeutics [J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2020, 16(5): 828-852.
- [19] GARG H, SURI P, GUPTA J C, et al. Survivin: a unique target for tumor therapy [J]. *Cancer Cell Int*, 2016, 16(1): 49-63.
- [20] 杜欣颖, 白云静, 申洪波, 胡荫奇从毒、瘀、虚论治原发性干燥综合征经验 [J]. *中医杂志*, 2020, 61(18): 1594-1597.
- [21] 王钢, 漆文霞, 闫彦峰, 等. 中医药治疗干燥综合征的作用机制研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(20): 227-235.
- [22] 刘兴艳, 马舒伟, 李雄伟, 等. 白芍总苷对干燥综合征小鼠肠道微环境的调节作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(13): 50-57.
- [23] LUO J, JIN D E, YANG G Y, et al. Total glucosides of paeony for rheumatoid arthritis: a systematic review of randomized controlled trials [J]. *Complement Ther Med*, 2017, 34: 46-56.
- [24] 杨夏, 李焕平. 白芍总苷治疗系统性红斑狼疮患者的临床疗效及对免疫功能的影响 [J]. *世界中医药*, 2019, 14(5): 1270-1273.
- [25] 李增变, 周全, 张国胜, 等. 基于津液代谢理论观察沙参麦冬汤联合白芍总苷胶囊治疗原发性干燥综合征 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(20): 100-104.
- [26] 朱跃兰. 干燥综合征从瘀毒论治机理初探 [J]. *中华中西医结合杂志*, 2006, 12(7): 1120.

[责任编辑 孙丛丛]

· 书讯 ·

## 控制医院手术室感染风险性和护理质量的影响 ——评《手术室护理操作指南》

手术室的感染风险性和护理质量安全评价,首先要掌握解剖学的重点知识、手术方法、护理操作要点,突出手术室护理操作的规范性。手术室护士作为手术中的重要组成人员,需要高精度的配合医生操作,才能提高手术效率与手术的成功。其次,感染风险是手术科室重点风险管理责任,其主要根源便是由于护士操作不当造成的伤口感染、器械感染以及体位不当感染等,规范护士操作是为感染风险提供质量依据,为手术室安全质量评价提供有效的方案。手术室工作重点是消毒、抗感染、仪器使用、职业防护等,手术室管理制度就是要提高护士的专业技能与综合素质。

《手术室护理操作指南》由孙育红主编,人民军医出版社2011年7月出版。全书增加了图、表形式,针对普外科、血管外科、肝胆外科、骨科等不同手术类型,手术护理效果明显,层次清晰,能够体现出国内的一线护理操作水准。本书以手术室培养高水平的护理人员为基础,集合无菌操作、手术体位、仪器使用、麻醉护理等各项常规标准护理内容,充分体现护理培训的职业性、开放性与实践性。本书通过对不同手术室护理操作以图文的形式呈现,读者更易吸收,能用于护理培训与规范护理操作上。本书共分为两大部分十八章,其中第一部分为第一章到第六章,对手术室护理的基础操作进行介绍,首先从手术室的基础护理开始,介绍了消毒铺巾、皮肤消毒等手术室无菌处理。其次对手术室中的医用仪器分别进行了介绍,包括手术灯、麻醉机、灭菌器等高新现代手术仪器,本章特别引用了现代先进仪器,减少了因不识别手术操作仪器而出现临床操作失误的发生。第三章是对基础护理的补充与扩展,主要介绍的是手术中发生感染的一些监测方法与评级体系。着重介绍了手术感染的基本护理要求,增强护士在护理感染方面的技能,手术区的消毒和铺巾的基本操作。第五章增加了人性化的职业防护篇章,主要讲述了手术室护士如何自我防护,降低手术护理风险,提高工作积极性。第六章介绍了手术麻醉护理,麻醉是外科手术的重要准备环节,麻醉需要根据患者的病情特点选取合适的麻醉方式,护理的要点则是如何配合麻醉医生,以及纠正患者体位,还有如何采取静脉输血与静脉输液等方法。第七章到第十八章是对不同科室手术中的护理要点进行阐述,包括基础护理、管理、操作与手术四位一体,如整形外科、眼科等手术操作性高、复杂的手术均有涉及。通过以上分析可知,在手术室护士需要增强培训,加强手术室管理制度,提高对手术室护士的专业技术和职业道德,只有充分了解手术室护士操作的重要性,才能发挥手术室护理的关键作用,为手术质量提高几个台阶。在创作的过程中,不仅引入了手术室的基础护理方法,也针对仪器、消毒、抗感染、职业防护作了介绍。同时根据不同科室的特点重点介绍了不同护理方案,方便了针对不同科室护士及护理人员的培训,帮助护士阅读与理解,提高培训的基点。本书通过图文并茂的方式,归纳总结了若干护理使用技巧,拉近了医生与护士的配合度,为手术室管理提供了切实有效的保障。本书作者在编著过程中分析了各项手术室护理中的要点,走访约谈了数十位不同科室的高年资护理人士,为本书打下了良好的理论基础,同时通过不断阅读文献弥补了其中可能存在的不足。

《手术室护理操作指南》一书为手术室护理质量提供了系统性的理论知识,能够增强护士对相关知识的理解,帮助护士减少在相关工作上的一些事物,本书以基础护理为主体,加以辅助不同科室的护理内容,充分而又完善的总结了手术室护理中操作要点与注意事项,能够增强护士对护理操作的认识,为其接下来的护理工作打下坚实的基础。适用于低年资护士的培训指导,以及相关从业人员的理论知识阅读。

(作者刘秀梅,北京中医药大学 房山医院,北京 102400)