

山茱萸对苯扎氯铵诱导的干眼症小鼠视黄醇转运调控作用研究

陈宇, 马贤德, 刘昱麟, 宫照东, 姜开运

辽宁中医药大学, 辽宁 沈阳 110847

摘要: 目的 探讨山茱萸对视黄醇转运的调控作用, 阐述其治疗干眼症的作用机制, 丰富“酸补肝明目”的分子基础。方法 60只 BALB/c 小鼠随机分为6组, 每组10只, 分别为对照组、模型组、阳性对照(石斛夜光丸 2.9 g/kg)组及山茱萸低、中、高剂量(12、24、48 g/kg)组。采用苯扎氯铵滴眼法诱导干眼症模型小鼠, ig 给予不同剂量的山茱萸水煎液, 通过检测各组小鼠泪液分泌量、泪膜破裂时间, 评价山茱萸水煎剂对干眼症模型小鼠的干预作用。ELISA 法检测血清前蛋白(PA)、视黄醇结合蛋白(RBP)水平、肝脏中视黄醇水平; 免疫组织化学法(IHC)及 Western blotting 法检测泪腺组织中胞内视黄醇结合蛋白(CRBP)及 RBP 受体(STRA6)的表达水平。结果 与对照组比较, 模型组小鼠泪液分泌量显著减少, 泪膜破裂时间显著缩短($P<0.01$), 泪腺组织中 CRBP 及 STRA6 蛋白表达水平显著降低($P<0.01$)。与模型组比较, 各给药组小鼠血清 PA、RBP 及肝脏组织中视黄醇水平显著升高($P<0.01$), 泪腺组织中 CRBP 及 STRA6 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$ 、 0.01)。结论 干眼症发生时, 机体伴随视黄醇缺乏和转运障碍, 而酸味药山茱萸水煎液可以促进视黄醇吸收, 改善机体视黄醇缺乏状态, 进而调控其转运过程, 这可能是“酸入肝, 明目”的分子机制之一。

关键词: 干眼症; 视黄醇; 山茱萸; 视黄醇转运; 血清前蛋白; 视黄醇结合蛋白; 胞内视黄醇结合蛋白; RBP 受体

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)14-3403-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.14.020

Effects of *Corni Fructus* on retinol transport in mice with dry eye syndrome induced by benzalkonium chloride

CHEN Yu, MA Xian-de, LIU Yu-lin, GONG Zhao-dong, JIANG Kai-yun

Liaoning University of traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China

Abstract: objective To investigate the regulatory effect of *Corni Fructus* on retinol transport, and to elucidate its molecular mechanism in the treatment of dry eye syndrome and enrich the basis of “acid tonifying liver and improving vision”. **Methods** A total of 60 BALB/c mice were randomly divided into six groups with 10 mice in each group, including control group, model group (saline 0.02 mL/g), positive control group (Dendrobium Nocturnal Pills 2.9 g/kg), *Corni Fructus* low, medium, and high dose group (12, 24, and 48 g/kg). The dry eye model mice were induced by the benzalkonium chloride eye drops. After successful modeling, mice were treated with different doses of *Corni Fructus* decoction for four consecutive weeks. One hour after the last dose, the intervention of *Corni Fructus* decoction on dry eye model mice was evaluated by determining the amount of tear secretion and tear film rupture time. The content of serum preprotein (PA), RBP, and retinol in liver was detected by ELISA method. The expression of CRBP and STRA6 in lacrimal gland was detected by IHC and Western blotting. **Results** Compared with the control group, the tear secretion and tear film rupture time in the model group were significantly decreased, and the serum PA, RBP, and the content of vitamin A in the liver of the other groups were significantly lower than those of the control group ($P<0.01$). Compared with the model group, the levels of serum PA, RBP, and vitamin A in liver were significantly increased in each drug intervention group ($P<0.01$). Compared with the control group, the content of CRBP and STRA6 in the lacrimal gland of the model group decreased significantly ($P<0.01$). Compared with the model group, the content of CRBP and STRA6 in the lacrimal gland of each drug intervention group was significantly higher than those in the model group ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** During the occurrence of dry eye, there are vitamin A deficiency and retinoic acid abnormal transportation in the body. The acid drug *Corni Fructus* can improve the status of vitamin A deficiency by increasing the absorption of vitamin A, and then regulate the process of retinol transport. This may

收稿日期: 2019-01-19

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目: 基于“酸入肝”“肝开窍于目”探讨酸味中药及五味间的作用机制(81603312)

作者简介: 陈宇(1978—), 女, 辽宁锦州人, 讲师, 学士, 主要从事基础医学教学及科研工作。

*通信作者 姜开运(1976—), 女, 副教授, 医学博士, 硕士生导师, 临床中药学方向, 主要从事中药药性理论文献与实验研究。

be one of the molecular mechanisms of acid entering the liver and improving vision.

Key words: dry eye; retinol; *Corni Fructus*; retinol transport; PA; RBP; CRBP; STRA6

干眼症, 又称结膜干燥症, 是多种原因引起的泪液质或量的异常, 或泪液动力学异常所导致的泪膜稳定性下降, 并伴有眼部不适等症状的多种疾病的总称^[1-2]。视黄醇(即维生素 A)及其主要衍生物(全反式视黄酸和视黄醛)能够调控脂肪细胞及肌纤维细胞的分化、迁移、侵袭和增殖, 上皮细胞的完整性和功能, 类固醇和干扰素的生成以及免疫细胞的功能, 尤其对胚胎发育有极其重要的影响^[1]。视黄醇主要存在于肝脏中, 在视黄醇结合蛋白(RBP)、血清前蛋白(PA)的参与下, 完成在血液中的转运, 在 RBP 受体(STRA6)和胞内视黄醇结合蛋白(CRBP)的参与下, 完成向细胞内部的转运, 从而发挥相应的生物学作用。

中医学认为酸入肝, 酸补肝, 而肝开窍于目。中医学范畴无干眼症之说, 但有“白涩症”的古籍记载, 与现代的干眼症极其相似。其发病机制为“阴虚津亏”。而视黄醇又存在于肝脏中, 故本研究采用酸味中药山茱萸对苯扎氯铵诱导的干眼症模型小鼠进行干预, 观察酸味中药对干眼症小鼠视黄醇转运的干预作用, 揭示“酸补肝明目”的分子机制。

1 材料

1.1 药材

山茱萸(批号 1802263), 安徽普仁中药饮片有限公司生产, 经辽宁中医药大学药学院尹海波教授鉴定为山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 正品。

1.2 实验动物

SPF 级 BALB/c 小鼠 60 只, 6~8 周龄, 体重 18~22 g, 雌雄各半, 购自辽宁长生生物科技有限公司, 实验动物生产许可证号 SCXK(辽)2010-0001。饲养于辽宁中医药大学实验动物中心, 实验动物饲养许可证号 SYXK(辽)2013-0009。适应性饲养 1 周后开始实验。

1.3 药品与试剂

苯扎氯铵购自 Sigma 公司, 批号 12060; 石斛夜光丸, 北京同仁堂股份有限公司同仁堂制药厂生产, 批号 16013364。PA 检测试剂盒、视黄醇检测试剂盒、RBP 检测试剂盒购于武汉优尔生商贸有限公司; RBP、STRA6 抗体购自 Abcam 公司。

1.4 仪器

Antho2010 型酶标仪, 奥地利安图公司生产;

RM2235 型切片机, 德国徕卡公司; SHA-B 型恒温水浴振荡器, 常州国华仪器厂; EPS200 型电泳仪, 上海天能科技有限公司; 4200 SF 型凝胶成像分析系统, 上海天能科技有限公司。

2 方法

2.1 山茱萸水煎液的制备

山茱萸水煎剂的制备参考“中药配方颗粒质量控制与标准”中的制备方法^[3]。称取山茱萸饮片 100 g, 加 8 倍量水, 浸泡 30 min, 武火煮沸并保持微沸 30 min, 趁热 3 层纱布滤过, 药渣再加 6 倍量水煎煮 20 min, 趁热滤过, 合并 2 次滤液并水浴加热浓缩, 放冷, 转移至 500 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 即得规格为 0.2 g/mL 的山茱萸饮片传统汤剂。测定莫诺昔和马钱苷质量分数分别为 1.68% 和 0.92%, 总质量分数为 2.60%, 符合《中国药典》2015 年版中总含量高于 1.20% 的限量要求^[4]。以山茱萸传统汤剂为基础进行浓缩, 分别浓缩至 0.6、1.2、2.4 g/mL, 4 °C 保存备用。

2.2 分组及模型制备

60 只 BALB/c 小鼠随机分为 6 组, 每组 10 只。分别为对照组, 模型组, 阳性对照石斛夜光丸组及山茱萸低、中、高剂量(12、24、48 g/kg)组。除对照组外, 其余各组小鼠均给予双眼滴苯扎氯铵溶液复制干眼症模型。苯扎氯铵质量浓度为 0.2%, 滴眼量 5 μ L/眼。每日 1 次, 连续 6 周。

滴眼 6 周后, 各组小鼠采用泪液测定滤纸测定基础泪液分泌量。采用荧光素染色法观察泪膜破裂时间以评价模型是否成功。

2.3 药物干预

模型制备成功后, 次日开始, 对照组小鼠不作处理, 正常饲养。模型组小鼠 ig 生理盐水 0.02 mL/g, 每日 1 次, 连续 4 周。阳性对照组 ig 石斛夜光丸 2.9 g/kg, 每日 1 次, 连续 4 周。据文献报道^[5-6], 以正常成人用量 30 g 为标准, 根据小鼠与人等效剂量换算公式进行换算, 确定山茱萸低、中、高剂量分别为小鼠与人等效剂量的 3、6、12 倍, 所以给药剂量为 12、24、48 g/kg。每日 1 次, 连续给药 4 周。

2.4 酶联免疫吸附法检测血清 PA、RBP 水平

末次给药后, 各组小鼠再次测定泪液分泌量和

泪膜破裂时间, 麻醉, 经球后静脉丛采集全血, 分离血清, 采用酶联免疫吸附(双抗体夹心)法检测血清 PA、RBP 水平, 按照试剂盒说明书操作。

2.5 酶联免疫吸附法检测肝脏中视黄醇水平

各组小鼠取血后处死, 迅速置于冰面上, 剖开腹部, 采集肝脏组织 200 mg 左右, 装于 1.5 mL 冻存管中, -80°C 保存。采用酶联免疫吸附(竞争抑制)法检测肝脏组织匀浆中视黄醇水平, 操作步骤按照说明书进行。

2.6 IHC 法检测泪腺组织中 CRBP 及 STRA6 蛋白表达水平

各组小鼠随机选取 6 只(12 眼), 以眼科剪及眼科镊摘取左侧眼球后泪腺组织, 浸泡于 4%多聚甲醛溶液中, 常温固定 24 h 后, 制备石蜡切片, 采用 IHC 法检测 CRBP 及 STRA6 的表达水平。

常规制备石蜡切片, 脱蜡至水, 抗原修复并去除内源性过氧化物酶后, 封闭 1 h, 一抗(1:400) 4°C 冰箱孵育过夜, 二抗室温孵育 2 h, DAB 显色, 并以苏木素复染, 镜下观察并采集照片, 测定 5 个随机视野的平均吸光度(A)值, 以其均值作为该样本中目的蛋白表达水平, 进行统计分析。

2.7 Western blotting 法检测泪腺组织中 CRBP 及 STRA6 蛋白表达水平

各组小鼠以“2.6”项下方法采集右侧眼球泪腺组织, 冷冻保存, 采用 Western blotting 法检测 CRBP 及 STRA6 的表达水平。采用裂解法抽提泪腺组织中总蛋白, 蛋白定量后测定蛋白浓度, 加入 $5\times$ 上样缓冲液, 沸水浴变性 5 min, 以每孔 50 μg 的蛋白量进行上样, 并垂直电泳, 湿转法将凝胶中蛋白转印至 PVDF 膜, 一抗(1:500) 4°C 冰箱孵育过夜, 二抗室温孵育 2 h, 洗膜后滴加 ECL 发光液, 凝胶成像分析系统中采集图像, 并测定条带灰度值, 以目的蛋白灰度值与内参条带灰度值的比值作为该蛋白的相对表达水平进行统计分析。

2.8 统计学方法

用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析, 先进行方差的齐性检验, 然后采用完全随机设计方差分析(One-way ANOVA 法), 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间两两比较采用 LSD 法。

3 结果

3.1 山茱萸对干眼症模型小鼠泪液分泌量和泪膜破裂时间的影响

实验结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠泪

液测试滤纸湿润长度显著减少($P<0.01$), 泪膜破裂时间显著缩短($P<0.01$), 见表 1 和 2。与模型组比较, 各药物干预组小鼠泪液测试滤纸湿润长度不同程度增加($P<0.01$), 泪膜破裂时间不同程度增加($P<0.01$)。

3.2 山茱萸对干眼症模型小鼠血清中 PA、RBP 水平的影响

各组小鼠血清 PA、RBP 检测结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清 PA、RBP 水平显著降低($P<0.01$)。与模型组比较, 各药物干预组小鼠血清 PA、RBP 水平显著升高($P<0.01$), 见表 3。

3.3 山茱萸对干眼症模型小鼠肝脏组织视黄醇水平的影响

与对照组比较, 模型组小鼠肝脏组织视黄醇水平显著降低($P<0.01$)。与模型组比较, 除山茱萸低剂量组, 各药物干预组小鼠肝脏组织视黄醇水平显著升高($P<0.01$)。与阳性对照组比较, 山茱萸低、中剂量组小鼠肝脏组织视黄醇水平显著降低($P<0.01$), 见表 4。

表 1 山茱萸对干眼症模型小鼠泪液分泌量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 1 Effect of *Corni Fructus* on tear secretion of mice with dry eye ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	试纸湿润长度/mm	
		给药前	给药后
对照	—	6.95±1.01	6.98±0.64
模型	—	2.24±0.52 ^{**}	2.21±0.57 ^{**}
石斛夜光丸	2.9	2.27±0.48 ^{**}	6.21±1.04 ^{***}
山茱萸	12.0	2.10±0.50 ^{**}	4.11±0.77 ^{***}
	24.0	2.22±0.54 ^{**}	4.69±0.67 ^{***}
	48.0	2.20±0.49 ^{**}	6.64±0.92 ^{***}

与对照组比较: ^{**} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{***} $P<0.01$, 表 2、3 同

^{**} $P<0.01$ vs control group; ^{***} $P<0.01$ vs model group, same as tables

2 and 3

表 2 山茱萸对干眼症模型小鼠泪膜破裂时间的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 2 Effect of *Corni Fructus* on tear film rupture time of mice with dry eye ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	泪膜破裂时间/s	
		给药前	给药后
对照	—	6.85±0.49	6.84±0.45
模型	—	1.96±0.25 ^{**}	1.67±0.23 ^{**}
石斛夜光丸	2.9	1.92±0.21 ^{**}	4.47±0.59 ^{***}
山茱萸	12.0	1.84±0.24 ^{**}	3.66±0.54 ^{***}
	24.0	1.92±0.21 ^{**}	3.96±0.65 ^{***}
	48.0	1.93±0.22 ^{**}	4.92±0.54 ^{***}

表 3 山茱萸对干眼症模型小鼠血清中 PA、RBP 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 Effect of *Corni Fructus* on content of PA and RBP in serum of mice with dry eye ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	PA/(ng·mL ⁻¹)	RBP/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	1.209±0.177	2.486±0.387
模型	—	0.424±0.052**	0.724±0.144**
石斛夜光丸	2.9	0.683±0.070***	1.517±0.227***
山茱萸	12.0	0.643±0.077***	1.311±0.198***
	24.0	0.715±0.097***	1.569±0.263***
	48.0	0.796±0.135***	1.858±0.360***

表 4 山茱萸对干眼症模型小鼠肝脏组织视黄醇水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 4 Effect of *Corni Fructus* on content of retinol in liver tissue of mice with dry eye ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	视黄醇/(μg·mL ⁻¹)
对照	—	1.609±0.195
模型	—	0.640±0.166**
石斛夜光丸	2.9	1.070±0.146***
山茱萸	12.0	0.664±0.153**△△
	24.0	0.864±0.138***△△
	48.0	1.057±0.172***

与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: *** $P < 0.01$; 与石斛夜光丸组比较: △△ $P < 0.01$

** $P < 0.01$ vs control group; *** $P < 0.01$ vs model group, △△ $P < 0.01$ vs *Dendrobium nocturnal* Pills group

3.4 山茱萸对干眼症模型小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平的影响

IHC 法检测结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各药物干预组小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与阳性对照组比较, 山茱萸高剂量组小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平显著升高 ($P < 0.01$)。见表 5 与图 1。

Western blotting 法检测结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠泪腺组织中 CRBP 及 STRA6 表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 各药物干预组小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与阳性对照组比较, 山茱萸高剂量组小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01)。见表 6 与图 2。

表 5 山茱萸对干眼症模型小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平的影响 (IHC 法, $\bar{x} \pm s, n = 6$)Table 5 Effect of *Corni Fructus* on expression of CRBP and STRA6 in lacrimal gland of mice with dry eye (IHC, $\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	A 值	
		CRBP	STRA6
对照	—	0.257±0.027	0.254±0.038
模型	—	0.113±0.021**	0.120±0.019**
石斛夜光丸	2.9	0.180±0.017***	0.182±0.020***
山茱萸	12.0	0.161±0.017***	0.153±0.018***
	24.0	0.212±0.028***△	0.208±0.031***
	48.0	0.230±0.029***△△	0.229±0.030***△△

与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$

*** $P < 0.01$; 与石斛夜光丸组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$, 表 6 同

** $P < 0.01$ vs control group; *** $P < 0.01$ vs model group, △ $P < 0.05$

△△ $P < 0.01$ vs *Dendrobium nocturnal* Pills group, same as Table 6

4 讨论

干眼症与视黄醇密切相关。肝脏是人体内含视黄醇最多的器官, 能合成在体内转运视黄醇的 RBP, 在肝功能障碍时肝细胞对其的合成减少, 造成血浆视黄醇水平降低, 导致对弱光敏感性下降, 严重时发生夜盲^[7]。

视黄醇是一类脂溶性的化合物。研究表明, 视黄醇对角膜上皮细胞具有非常重要的作用, 当视黄醇缺乏时, 杯状细胞化角膜上皮细胞微绒毛减少, 从而导致角膜上皮不能正常的生长及分化, 而发生角膜上皮角化或鳞化。而视黄醇可逆转这一改变, 使角膜上皮细胞重新转化为分泌上皮细胞, 促进眼表上皮细胞和杯状细胞分泌黏蛋白^[8]。因此, 视黄醇的转运过程在干眼症的发生过程中发挥着至关重要的作用。

视黄醇主要存在于肝脏中, 当机体组织需要视黄醇时, 酯酶会将肝脏中的视黄醇水解, 然后再与 RBP 及 PA 结合形成复合体 (复合体为水溶性, 并且能够被细胞膜识别), 并释放至肝脏外, 进入血液循环中, 运输至靶组织中^[9]。视黄醇-RBP-PA 复合体进入靶组织后, 通过 RBP 与细胞膜上的受体结合, 并将视黄醇释放至细胞内, RBP 即完成使命, 从复合体中解离, 并发生变性, 失去结合到细胞膜受体的能力, 经过肾小球滤过和肾小管的重吸收, 分解为氨基酸^[10]。另一方面, 进入靶细胞的视黄醇会立即与膜受体结合, 然后再与 CRBP 相结合形成复合体, 从而与膜受体分离并转运至胞内^[11]。视黄

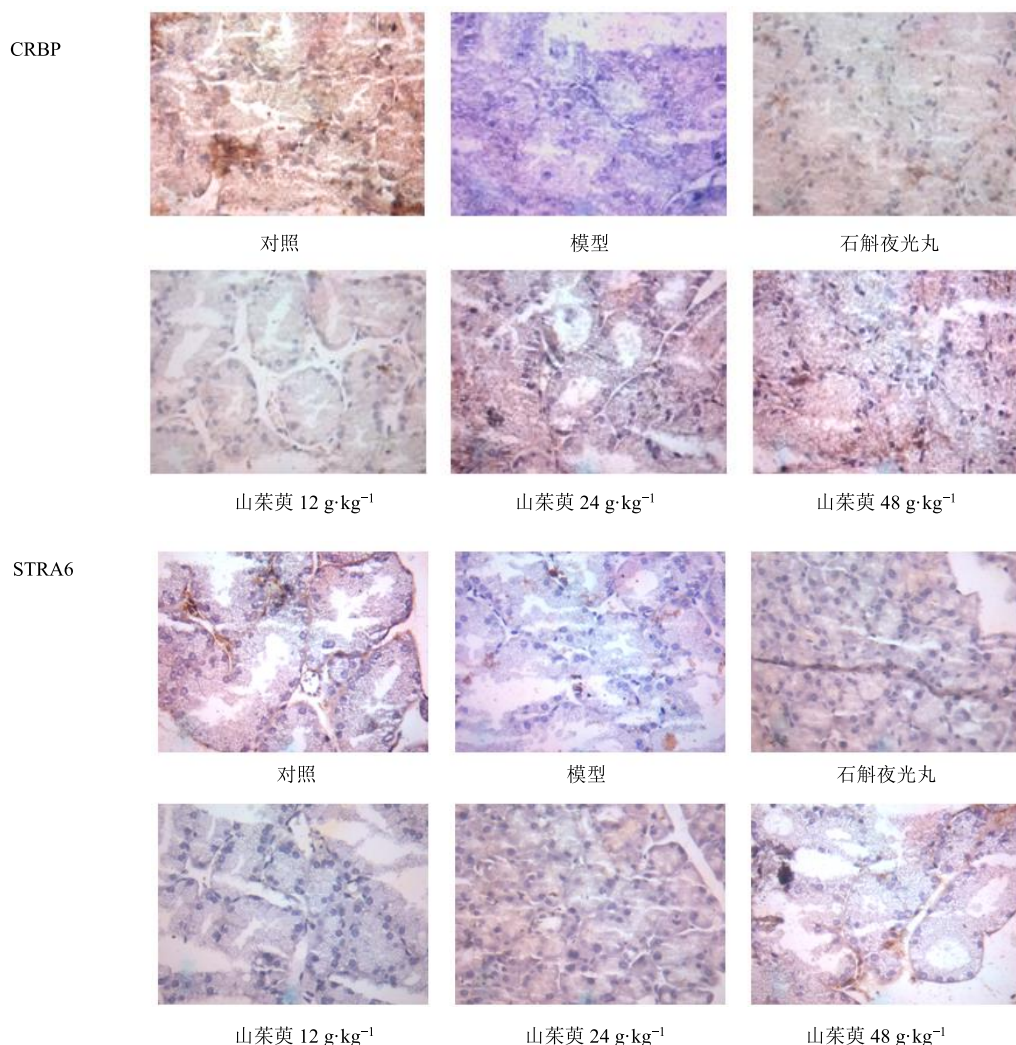


图 1 山茱萸对干眼症模型小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平的影响 (IHC, $\times 400$)

Fig. 1 Effect of *Corni Fructus* on protein expression of CRBP and STRA6 in lacrimal gland of mice with dry eye (IHC, $\times 400$)

表 6 山茱萸对干眼症模型小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平的影响 (Western blotting, $\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 6 Effect of *Corni Fructus* on protein expression of CRBP and STRA6 in lacrimal gland of mice with dry eye (Western blotting, $\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	蛋白相对表达量	
		CRBP	STRA6
对照	—	0.570 $\pm$ 0.064	0.582 $\pm$ 0.071
模型	—	0.260 $\pm$ 0.047**	0.257 $\pm$ 0.049**
石斛夜光丸	2.9	0.433 $\pm$ 0.055***	0.415 $\pm$ 0.056***
山茱萸	12.0	0.326 $\pm$ 0.034*** Δ	0.342 $\pm$ 0.043*** Δ
	24.0	0.437 $\pm$ 0.052***	0.446 $\pm$ 0.066***
	48.0	0.499 $\pm$ 0.060*** $\Delta\Delta$	0.497 $\pm$ 0.067*** $\Delta\Delta$

醇的转运中, PA、RBP、STRA6 发挥了重要作用。最终使视黄醇在胞内发挥生物学作用。而视黄醇的缺乏会造成上皮组织的干燥, 全身各种组织的上皮

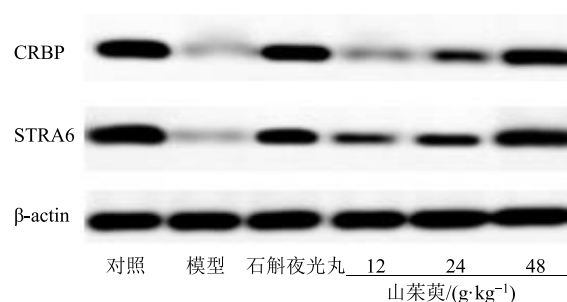


图 2 山茱萸对干眼症模型小鼠泪腺组织中 CRBP、STRA6 表达水平的影响 (Western blotting)

Fig. 2 Effect of *Corni Fructus* on protein expression of CRBP and STRA6 in lacrimal gland of mice with dry eye (Western blotting)

细胞都会受到影响, 受累最早的是眼结膜、角膜和泪腺上皮细胞^[12-13]。因此, 调控视黄醇的转运对于眼症的治疗具有十分重要的意义。

本研究结果显示,苯扎氯铵滴眼6周,小鼠泪液分泌量显著下降,泪膜破裂时间显著缩短,结合以往文献的报道,提示苯扎氯铵诱导的干眼症小鼠模型稳定可靠^[14-15]。给予山茱萸水煎剂进行干预后,发现山茱萸能够明显改善苯扎氯铵导致的干眼症状。进一步检测小鼠肝脏组织中的视黄醇及血清中PA、RBP,结果发现与对照组比较,模型组小鼠血清PA、RBP水平及肝脏组织中视黄醇水平显著降低,而药物干预后,小鼠血清中PA、RBP水平及肝脏组织中视黄醇水平显著升高。结果提示,干眼症发生时,机体处于视黄醇缺乏状态,同时,因较低水平的视黄醇不能有效刺激RBP和PA的分泌,血清PA及RBP表达水平也较低。由此可见,山茱萸对视黄醇吸收利用具有促进作用,可能是通过促进视黄醇的吸收而实现上调PA和RBP的表达水平,进而加快了视黄醇的转运。

泪腺组织中CRBP、STRA6表达水平的检测结果显示,与对照组比较,模型组小鼠泪腺组织中CRBP及STRA6表达水平显著降低,而与模型组比较,各药物干预组小鼠泪腺组织中CRBP、STRA6表达水平不同程度的升高。结果提示,干眼症的发生伴随胞内RBP和其受体的低表达,也就是说干眼症的发生不仅仅是视黄醇转运发生了障碍,胞内的转运过程也受到了影响,该影响主要表现为RBP和其受体的表达水平较低^[16]。而山茱萸干预后,二者的低表达状态得以纠正,加强了胞内视黄醇的转运,从而发挥对泪腺上皮细胞的保护作用,最终实现抗干眼作用。

综上所述,山茱萸通过增加视黄醇的吸收及转运而调控视黄醇转运相关蛋白的表达,发挥抗干眼作用,为“酸补肝明目”的中医学基础理论奠定了实验依据。

参考文献

- [1] Zeev M S, Miller D D, Latkany R. Diagnosis of dry eye disease and emerging technologies [J]. *Clin Ophthalmol*, 2014, doi: 10.2147/OPTH.S45444.
- [2] 薛 研, 赵耀东, 颀瑞萍, 等. “进火补”针法治疗气阴两虚型干眼症 [J]. *中国针灸*, 2018, 38(6): 609-612.
- [3] 中药配方颗粒质量控制与标准制定技术要求 (征求意见稿) [S]. 2016.
- [4] 严安定, 程 钢, 高昌琨, 等. 山茱萸饮片与市售配方颗粒的含量对比 [J]. *中国医院药学杂志*, 2018, 38(22): 2314-2318.
- [5] 邸 莎, 杨映映, 赵林华, 等. 山茱萸的临床应用及其用量探究 [J]. *吉林中医药*, 2018, 38(12): 1454-1457.
- [6] 张 宏, 王旭昀, 刘美奇, 等. 中药含药血清实验动物灌胃给药剂量探讨 [J]. *吉林中医药*, 2015, 35(6): 623-625.
- [7] 王朝晖. 羟糖苷滴眼液联合维生素A棕榈酸酯凝胶治疗视网膜脱离术后干眼的疗效观察 [J]. *临床眼科杂志*, 2018, 26(3): 243-245.
- [8] Noecker R J, Herrygers L A, Anwaruddin R. Corneal and conjunctival changes caused by commonly used glaucoma medications [J]. *Corneal*, 2004, 23(5): 490-496.
- [9] Monaco H L, Rizzi M, Coda A. Structure of a complex of two plasma protein: Transthyretin and retinol-binding protein [J]. *Science*, 1995, 268(1): 1039-1041.
- [10] 金 宏. 视黄醇转运的分子机制 [J]. *生理科学进展*, 1997, 23(2): 166-168.
- [11] Malpeli G, Stoppini M, Zapponi M C, et al. Interactions with retinol and retinoids of bovine cellular retinol-binding protein [J]. *Eur J Biochem*, 1995, 229(2): 486-493.
- [12] 付 玉, 张 盼, 张雅文, 等. 猪视黄醇结合蛋白基因研究进展 [J]. *中国畜牧杂志*, 2018, 54(12): 10-13.
- [13] Shils M E, Shike M, Ross A C. *Modern Nutrition in Health and Disease* [M]. 10th edition. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
- [14] Lin Z, Liu X, Zhou T, et al. A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride [J]. *Mol Vis*, 2011, 17(25): 257-264.
- [15] Ru Y, Yue H, Liu H, et al. α -Melanocyte-stimulating hormone ameliorates ocular surface dysfunctions and lesions in a scopolamine-induced dry eye model via PKA-CREB and MEK-Erk pathways [J]. *Sci Rep*, 2015, doi: 10.1038/srep18619.
- [16] 姜开运, 于凯洋. 五味子对维生素A缺乏型干眼症RBP、STRA6蛋白表达的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2016, 18(8): 27-29.