

基于 IKK α /p65/AQP5 信号通路研究白首乌醇提取物对干燥综合征小鼠的保护作用

张霞^{1,2}, 张雄伟^{1,2}, 高铭^{1,2}, 雷紫琴^{1,2}, 芮翊馨^{1,2}, 胡靖文^{1,2}, 李香妤^{1,2}, 黄张君³, 王德建^{1,2}, 曾南^{1,2*}

1. 成都中医药大学 西南中药资源国家重点实验室, 四川 成都 611137
2. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137
3. 泸州品创科技有限公司, 四川 泸州 646000

摘要: 目的 研究白首乌乙醇提取物(ethanol extract of *Cynanchum auriculatum*, EECA)对干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)小鼠模型颌下腺功能障碍的影响及其潜在机制。方法 采用 LC-MS 鉴定 EECA 的化学成分。用颌下腺自身抗原免疫 C57BL/6 小鼠, 建立 SS 小鼠模型, 设置对照组、模型组、硫酸羟氯喹(0.03 g/kg)组和 EECA 低、中、高剂量(0.4、0.8、1.6 g/kg)组, 给予药物干预 60 d。给药期间记录唾液分泌量和饮水量, 采用流式细胞术检测各组小鼠脾脏中记忆 B 细胞数量和 Th1/Th2 细胞比例; 采用苏木素-伊红(hematoxylin-eosin staining, HE)染色评估各组小鼠颌下腺组织病理变化; 检测血清中细胞因子[白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、IL-17、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、IL-4]、免疫球蛋白[免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)、IgA、IgM]和抗血清淀粉样蛋白 A (serum amyloid A, SSA) 抗体、抗 SSB 抗体水平; 采用免疫组化检测颌下腺组织水通道蛋白 5 (aquaporin 5, AQP5) 的分布表达情况; 采用 Western blotting 测定颌下腺组织中 AQP5、p65、p-p65、抑制因子激酶 α (inhibitor of kappa B kinase α , IKK α) 和 p-IKK α 蛋白表达; 采用 qRT-PCR 检测颌下腺组织中螺旋环螺旋结构域扩散激酶基因 (*Chuk*)、核因子- κ B 二聚体基因 (*Rela*)、*AQP5* mRNA 表达。结果 EECA 能显著升高记忆 B 细胞数量 ($P < 0.01$), 调节 Th1/Th2 细胞比例, 从而调控 SS 小鼠的异常免疫反应。EECA 能显著降低 SS 小鼠血清中 IL-1 β 、IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IL-4、IgG、IgA、IgM、抗 SSA 抗体、抗 SSB 抗体水平 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 下调 *Chuk*、*Rela*、*AQP5* mRNA 表达及下调核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路相关蛋白表达 ($P < 0.01$ 、0.001), 减轻颌下腺炎症反应, 上调 AQP5 表达 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001), 改善 SS 小鼠颌下腺分泌功能。结论 EECA 对 SS 小鼠颌下腺功能的保护作用可能与抑制炎症反应、调节免疫稳态和促进 AQP5 表达有关。

关键词: 白首乌; 干燥综合征; 炎症; 记忆 B 细胞; Th1/Th2 细胞; IKK α /p65/AQP5 信号通路; 1,4-雄烯二酮; 单乙酸雷琐辛; 邻香豆酸; 亚油醇乙醇胺; 麦芽酚; 香草醛; 桦木素; 东莨菪素; C₂₁甾体苷元告达庭

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)10-3547-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.10.013

Protective effect of ethanol extract of *Cynanchum auriculatum* on Sjögren's syndrome mice based on IKK α /p65/AQP5 signaling pathway

ZHANG Xia^{1,2}, ZHANG Xiongwei^{1,2}, GAO Ming^{1,2}, LEI Ziqin^{1,2}, RUI Yixin^{1,2}, HU Jingwen^{1,2}, LI Xiangyu^{1,2}, HUANG Zhangjun³, WANG Dejian^{1,2}, ZENG Nan^{1,2}

1. State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resources, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
3. Luzhou Pinchuang Technology Co., Ltd., Luzhou 646000, China

收稿日期: 2025-01-14

基金项目: 四川省科技厅应用基础研究项目(20YYJC0640); 成都中医药大学西南地区特色中药资源系统研究重点实验室开放研究基金(2020XSGG002); 四川固态酿造技术创新中心建设项目(2021ZYD0102)

作者简介: 张霞(1995—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药药理与毒理学研究。Tel: 17830363356 E-mail: 2447369208@qq.com

*通信作者: 曾南(1969—), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事中药药效学与毒理学研究。Tel: 13198502352 E-mail: 19932015@cdutcm.edu.cn

Abstract: Objective To study the effect and potential mechanism of ethanol extract of *Cynanchum auriculatum* (EECA) on submandibular gland dysfunction in Sjögren's syndrome (SS) mice model. **Methods** LC-MS was used to identify the chemical components of EECA. C57BL/6 mice were immunized with submandibular gland autoantigen to establish an SS mouse model. Control group, model group, hydroxychloroquine sulfate (0.03 g/kg) group, EECA low-, medium-, and high-dose (0.4, 0.8, 1.6 g/kg) groups were set up, and drug intervention was given for 60 d. During the administration period, saliva secretion and water intake were recorded, and flow cytometry was used to detect the number of memory B cells and Th1/Th2 cell ratio in spleen of mice in each group; Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to evaluate the pathological changes of submandibular gland tissues of mice in each group; The levels of cytokines [interleukin-1 β (IL-1 β), IL-17, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ), IL-4], immunoglobulins [immunoglobulin G (IgG), IgA, IgM], serum amyloid A (SSA) antibodies and anti SSB antibodies in serum were detected; Immunohistochemistry was used to detect the distribution and expression of aquaporin 5 (AQP5) in submandibular gland tissue; Western blotting was used to detect the protein expressions of AQP5, p65, p-p65, inhibitor of kappa B kinase α (IKK α), and p-IKK α in submandibular gland tissue; qRT-PCR was used to detect the mRNA expressions of *Chuk*, *Rela* and *AQP5* in submandibular gland tissue. **Results** EECA could significantly increase the number of memory B cells ($P < 0.01$), regulate the Th1/Th2 cell ratio, and thus regulate the abnormal immune response in SS mice. EECA could significantly decrease the levels of IL-1 β , IL-17, TNF- α , IFN- γ , IL-4, IgG, IgA, IgM, anti SSA and anti SSB antibodies in serum of SS mice ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), down-regulate mRNA expressions of *Chuk*, *Rela* and *AQP5* and nuclear factor- κ B (NF- κ B) signaling pathway related protein expressions ($P < 0.01, 0.001$), alleviate submandibular gland inflammation response, up-regulate AQP5 expression ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), and improve submandibular gland secretion function in SS mice. **Conclusion** The protective effect of EECA on submandibular gland function in SS mice may be related to the inhibition of inflammatory response, regulation of immune homeostasis and promotion of AQP5 expression.

Key words: *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight.; Sjögren's syndrome; inflammation; memory B cells; Th1/Th2 cells; IKK α /p65/AQP5 signaling pathway; 1,4-androstadiene-3,17-dione; resorcinol monoacetate; 2-hydroxycinnamic acid; linoleoyl ethanolamide; maltol; vanillin; botulin; scopoletin; caudatin

干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 是一种由淋巴细胞浸润介导的外分泌腺慢性自身免疫性疾病, 以产生自身抗体以及高度淋巴细胞浸润唾液腺和泪腺而导致口干、眼干为主要特征^[1-2]。我国 SS 患病率为 0.29%~0.77%, 且女性患病率高于男性, 多见于围绝经期或绝经后妇女, 多数患者出现明显的外分泌腺腺体功能障碍、外分泌腺上皮炎症和损伤, 严重时可引起其他脏器功能受损, 严重影响患者生活质量^[3-4]。目前尚无用于 SS 特异性治疗的理想药物, 其发病诱因、机制尚不完全清楚, 病情程度轻重不一, 可能与免疫、遗传、环境等多种因素相关, 所以药物开发也面临着诸多挑战^[5]。研究认为 SS 发病机制与免疫细胞功能和细胞因子异常表达有关, 比如 T、B 淋巴细胞的异常活化, 除了产生自身抗体外, B 细胞还参与各种促炎细胞因子的合成和抗原呈递, 治疗上主要以免疫抑制和对症治疗为主, 通常用于缓解症状和延缓疾病的发展^[6-7]。

白首乌为萝藦科鹅绒藤属植物, 根据其主要产地不同分为 3 种, 分别是耳叶牛皮消 *Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight. 隔山牛皮消 *C. wilfordii* Hemsl. 及戟叶牛皮消 *C. bungei* Decne. 的块根^[8]。本研究使用的白首乌基原为耳叶牛皮消, 具有补肝

肾、益精血、强筋骨、健脾消食、解毒疗疮等功效^[9], 用于肝肾阴虚所致的头昏眼花、腰膝酸软、须白、体虚多梦、失眠健忘、皮肤瘙痒等多种疾病^[10]。据本草考证, 白首乌始用于晚唐, 盛行于宋明, 沿用至今, 在国内外享有盛誉, 被历代医家视为养生防老、益精养颜的珍品, 是我国传统的药、食、美容兼用植物^[11]。现代药理学研究表明, 白首乌有抗肿瘤、保肝护肝、抗炎、抗氧化等药理活性^[12-14]。本研究建立自身抗原免疫诱导的 SS 小鼠模型, 观察白首乌乙醇提取物 (ethanol extract of *C. auriculatum*, EECA) 对 SS 的干预作用及其作用机制, 旨在为白首乌的临床应用拓展提供药理学基础。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠, 6 周龄, 体质量 20~22 g, 由斯贝福 (北京) 生物技术有限公司提供, 许可证号 SCXK (京) 2019-0010。动物饲养于成都中医药大学药学院动物观察室, 许可证号 SYXK (川) 2020-124, 温度为 (25 \pm 1) $^{\circ}$ C, 相对湿度为 40%~60%, 12 h 光暗交替, 自由进食饮水。动物实验通过成都中医药大学实验动物福利伦理委员会批准 (批准号 2023016)。

1.2 药材

白首乌饮片(批号 20200715)由泸州品创科技有限公司提供,经成都中医药大学药学院严铸云教授鉴定为耳叶牛皮消 *C. auriculatum* Royle ex Wight. 的块根。

1.3 药品与试剂

硫酸羟氯喹(批号 210360)购自上海上药中西制药有限公司;弗氏完全佐剂(批号 P2036)、弗氏不完全佐剂(批号 P2031)购自上海碧云天生物科技有限公司;CBA 试剂盒(批号 R0205)购自成都诺和生物科技有限公司;免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)、IgA、IgM 检测试剂盒(批号分别为 144321006、148821004、144221005)购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;抗血清淀粉样蛋白 A (serum amyloid A, SSA) 抗体、抗 SSB 抗体 ELISA 试剂盒(批号分别为 JM-12306M1、JM-12312M1)购自江苏晶美生物科技有限公司;CD19、CD27、 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4)、CD3e、CD4 流式抗体(批号分别为 557655、560691、563376、554436、553061、566407)购自美国 BD 公司; β -actin 兔抗(批号 AF7018)购自 Affinity 公司;水通道蛋白 5 (aquaporin 5, AQP5)、磷酸化抑制因子激酶 α (phosphorylated inhibitor of kappa B kinase α , p-IKK α)、p65 抗体(批号分别为 59558S、2697、8342)均购自美国 CST 公司;p-p65、IKK α 抗体(批号分别为 TP56372、T55735S)均购自上海艾比玛特生物医药有限公司,HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗(批号 BA1054)购自博士德生物工程有限公司;增强化学发光 (ECL) 试剂盒(批号 4AW01-100)购自四正柏生物技术有限公司。

1.4 仪器

Q EXACTIVE 四极杆静电场轨道阱高分辨质谱、Nanodrop 2000 型分光光度计、CO₂ 恒温孵育箱、Varioskan Flash 全波长多功能酶标仪、ST16R 型低温高速冷冻离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);DYY-6C 型电泳仪电源(北京市六一仪器厂);KZ-11 型高速组织研磨仪(武汉赛维尔生物科技有限公司);PannoramicSCAN II 型病理切片扫描仪(匈牙利 3DHISTECH Kft 公司);ChemiDoc XRS+ 化学发光成像系统(美国 Bio-Rad 公司);BS-240VET 型动物血液生化测定仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);FACSCanto II 流式细胞仪

(美国 BD 公司)。

2 方法

2.1 EECA 的制备

将白首乌饮片和 75%乙醇按 1:10 比例混合,回流提取 2 h。残留物经减压滤过后,用同样的方法再次提取 2 次。将 3 次提取物混合,真空浓缩、收集并冷冻干燥,获得 EECA。

2.2 LC-MS 测定 EECA 中的化学成分

精确称量 35 mg EECA,用 50%甲醇溶解至 1 mg/mL,通过 0.22 μ m 滤膜滤过,转入进样小瓶中备用,待 LC-MS 上机检测分析。

2.2.1 色谱条件 Thermo Fisher Scientific™ Acclaim™ 120 C₁₈ 色谱柱(100 mm×2.1 mm, 2.2 μ m),流动相为 0.1%甲酸水溶液(A)-含 0.1%甲酸的甲醇溶液(B),梯度洗脱:0~25 min, 95%~5% A; 25~30 min, 5% A。体积流量 0.2 mL/min;柱温 30 $^{\circ}$ C;进样量 1 μ L。

2.2.2 质谱条件 HESI 离子源,正、负离子模式下检测;质量扫描范围 m/z 100~1 500;电压 \pm 3 000 V;叠环离子导向器压力 50 V;鞘气体积流量 35 mL/min;辅助气体积流量 10 mL/min;离子传输管温度 320 $^{\circ}$ C;辅助气加热温度 350 $^{\circ}$ C。使用 Compound discoverer 软件对数据进行分析,包括保留时间、分子式、相对分子质量和峰面积。获得的信息与 mzCloud 和 mzVault 数据库进行比对,得出对应的化学物质结构。

2.3 抗原制备与造模

参考文献造模方法^[15-16],为了保持腺体活性,在低温条件下,脱颈椎处死 C57BL/6 雌性小鼠,先用 75%乙醇浸泡 2 min,然后在无菌工作台上立即取出小鼠的双侧颌下腺,剥离脂肪和结缔组织。每 20 mg 腺体组织加入 0.2 mL 生理盐水,将腺体组织剪碎、匀浆,4 $^{\circ}$ C 离心 15 min,取上清液用作抗原备用。测定蛋白质含量,然后用 PBS 缓冲溶液将抗原稀释至 5.0 mg/mL,并加入等体积的弗氏完全佐剂,配制成质量浓度为 2.5 mg/mL 的注射用抗原,用于建立 SS 小鼠模型。

在小鼠背部多点皮下随机注射制备的抗原,每只小鼠注射总量为 0.1 mL。首次注射后的第 3、7 天,再次在小鼠脚垫和背部多点 sc 相同剂量和质量浓度的抗原。第 14、21 天,用弗氏不完全佐剂配制 2.5 mg/mL 的注射用抗原,以同样的方式注射,对照组小鼠背部随机多点注射等体积的生理盐水。

2.4 动物分组和给药

72 只雌性 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、模型组、硫酸羟氯喹 (30 mg/kg) 组和 EECA 低、中、高剂量 (0.4、0.8、1.6 g/kg) [17] 组, 每组 12 只。于造模第 1 天起开始 ig 给药 (10 mL/kg), 连续给药 60 d, 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水。

2.5 唾液分泌和饮水量的测量

每天定时记录每笼小鼠饮水量。每 15 天测量 1 次各组小鼠的唾液分泌量, 将干棉球放入小鼠颊部, 3 min 后取出称定质量, 计算小鼠唾液分泌量。

小鼠唾液分泌量 = 棉球湿质量 - 棉球干质量

2.6 血清中炎症因子、抗核抗体和免疫球蛋白水平的测定

末次给药结束后处死小鼠, 眼眶取血, 室温静置 2 h 后, 3 500 r/min 离心 15 min, 收集血清, 按照 CBA 试剂盒说明书测定各组小鼠血清中细胞因子 IL-1 β 、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-17、IFN- γ 、IL-4 水平, 按照 ELISA 试剂盒测定各组小鼠血清中 SSA、SSB 抗体水平, 采用全自动生化分析仪测定各组小鼠血清中免疫球蛋白 IgG、IgA、IgM 水平。

2.7 流式细胞术检测 B 淋巴细胞、Th1 细胞和 Th2 细胞数量

解剖取出小鼠脾脏后, 立即浸泡在 PBS 缓冲液中, 制备脾脏单细胞悬液、裂解红细胞、离心、重悬, 将 100 μ L 细胞悬液 (约 1×10^6 个细胞) 转移至流式管中。每管加入 2.5 μ L CD19 和 2.5 μ L CD27 抗体, 混匀, 冰上避光孵育 30 min, 润洗 2 次, 重悬, 流式细胞仪上机检测。

另将细胞悬浮于含 10% 热灭活胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中, 以只含细胞悬液的样本作为对照, 设置样本管和对照管。每 1 毫升细胞悬液 (约 1×10^6 个细胞) 加入 2 μ L 细胞因子刺激剂, 混匀, 在 37 $^{\circ}$ C 的 CO₂ 培养箱中培养 4~6 h。清洗, 重悬, 计数后每管加入 2.5 μ L CD3e 和 2.5 μ L CD4 抗体, 混匀, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min。加入 Cytotfix/Cytoperm Soln Kit 固定和透化细胞, 于 4 $^{\circ}$ C 放置 20 min。重悬, 加入 2.5 μ L IFN- γ 和 2.5 μ L IL-4 抗体, 避光 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 洗涤细胞 2 次, 重悬, 流式细胞仪上机检测。

2.8 颌下腺组织病理学观察

取各组小鼠的颌下腺, 放入 4% 多聚甲醛溶液中固定过夜, 通过脱水、包埋、切片、苏木素-伊红

(HE) 染色、封片等步骤, 于显微镜下观察颌下腺组织形态变化, 并进行病理评分。评分标准见表 1。

表 1 颌下腺淋巴细胞浸润表现病理形态学评分标准

Table 1 Pathomorphologic scoring criteria for manifestation of lymphocytic infiltration of submandibular gland	
评分	诊断标准
0	偶见淋巴细胞浸润
1	少量散在淋巴细胞浸润
2	淋巴细胞中度浸润 (未成灶), 伴有轻度实质损伤
3	每 5 个低倍视野偶见 0~1 个淋巴细胞浸润灶, 伴有中度实质损伤
4	每 5 个低倍视野 2~3 个淋巴细胞浸润灶, 伴有重度实质损伤

2.9 免疫组化检测颌下腺组织 AQP5 定位表达与分布

取各组小鼠的颌下腺, 于 4% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 连续切片; 脱蜡, 浸洗, 抗原修复, 内源性过氧化物酶阻断, 血清封闭; 加入兔抗 AQP5 (1:100), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜; 加入二抗, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min; 滴加 DAB 显色液, 复染细胞核, 脱水, 封片, 使用病理扫描系统对切片进行观察、拍照采集图像, 并用 Image J 软件对阳性表达率进行统计, 棕色区域为阳性表达。

2.10 qRT-PCR 检测颌下腺组织 AQP5、Chuk、Rela mRNA 表达

取各组小鼠的颌下腺, 使用动物总 RNA 分离试剂盒提取总 RNA, 然后检测总 RNA 浓度和纯度, 并将其逆转录成 cDNA, 以 β -actin 为内参进行 qRT-PCR 反应, 引物由北京擎科生物科技有限公司成都分公司合成, 引物序列见表 2, 采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算各基因的相对 mRNA 表达量。

2.11 Western blotting 检测颌下腺组织 AQP5、p65、p-p65、IKK α 、p-IKK α 蛋白表达

取各组小鼠的颌下腺, 加入含 1% 蛋白酶抑制剂和 1% 磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液, 提取蛋白,

表 2 引物序列

Table 2 Primer sequences	
基因	引物序列 (5'-3')
β -actin	F: ACAGCTGAGAGGGAAATCGTG R: AGAGGTCTTTACGGATGTCAACG
Chuk	F: TCTACTCCCCAAGGTGGAAG R: GTCAGAGGATGTTCCACGGTC
Rela	F: TATCTCGCTTTCGGAGGTGC R: GCGTGGAGGAAGCACTTGA
AQP5	F: CAACAACACAACACCAGGCAA R: CATGGAACAGCCGGTGAAGT

采用 BCA 法测定蛋白质浓度。调节各样本总蛋白至等浓度，经电泳、转膜后，分别加入一抗 AQP5 (1:1 000)、p65 (1:1 000)、p-p65 (1:2 000)、IKK α (1:1 000)、p-IKK α (1:1 000)，4 $^{\circ}$ C 孵育过夜，加入二抗，孵育 1.5 h，使用 ChemiDocTM 成像系统显影。

2.12 统计学分析

采用 SPSS 26.0 软件进行数据统计分析，所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示，计量数据符合正态性分布的采用单因素方差分析或 *T* 检验，不符合正态者则采用非参数检验法分析；计数数据采用等级资料的非

参数检验。用 GraphPad Prism 5 软件绘制统计图。

3 结果

3.1 EECA 中主要化学成分分析

采用 LC-MS 法分析了 EECA 中的化学成分，总离子流色谱图见图 1。质谱结果通过与 mzCloud、mzVault 和文献数据的对比分析。结合文献资料，从结果中前 20 个有代表性的成分 (表 3)。其中，1,4-雄烯二酮、单乙酸雷琐辛、邻香豆酸、亚油醇乙醇胺、麦芽酚、香草醛、梓木素和东莨菪素具有抗炎和抗氧化作用，C₂₁ 甾体苷元告达庭具有抗炎和免疫调节作用。

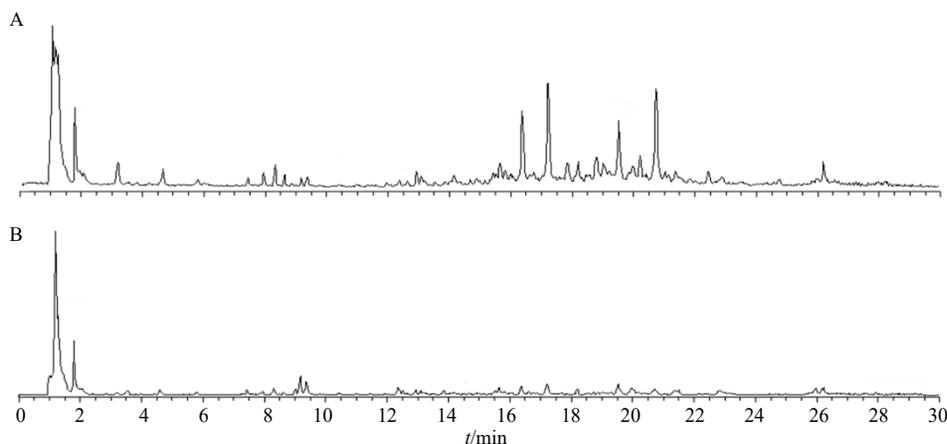


图 1 正 (A)、负 (B) 离子模式下 EECA 的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of EECA in positive (A) and negative (B) modes

表 3 LC-MS 鉴定 EECA 中的主要成分

Table 3 LC-MS identification of major components in EECA

序号	<i>t_R</i> /min	化学式	相对分子质量 (<i>m/z</i>)	误差 ($\times 10^{-6}$)	离子模式	MS/MS	化合物
1	17.22	C ₂₈ H ₄₂ O ₇	490.292 8	-0.43	正离子	491.300 1 [M+H] ⁺ , 981.592 9 [2M+H] ⁺	C ₂₁ 甾体苷元告达庭 ^[18-19]
2	1.28	C ₆ H ₈ O ₇	132.005 4	-2.28	负离子	130.997 9 [M-H] ⁻ , 191.019 3 [M-H+HAc] ⁻	柠檬酸 ^[20]
3	16.37	C ₁₉ H ₂₄ O ₂	284.177 5	-0.30	正离子	285.184 8 [M+H] ⁺ , 317.211 1 [M+H+MeOH] ⁺	1,4-雄烯二酮
4	19.99	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278.224 7	0.49	正离子	279.232 0 [M+H] ⁺ , 557.456 7 [2M+H] ⁺	α -桐酸
5	9.37	C ₈ H ₈ O ₃	152.046 6	-4.70	负离子	151.039 4 [M-H] ⁻	单乙酸雷琐辛
6	1.81	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	267.097 0	1.04	正离子	268.104 3 [M+H] ⁺	腺苷 ^[21]
7	19.09	C ₂₁ H ₂₆ O ₂	310.193 3	0.02	正离子	311.200 0 [M+H] ⁺	四烯雌酮
8	19.51	C ₁₉ H ₂₆ O ₃	302.188 1	-0.42	正离子	303.195 6 [M+H] ⁺	11-酮睾丸激素
9	1.89	C ₉ H ₈ O ₃	164.047 7	2.12	正离子	147.044 3 [M+H+H ₂ O] ⁺ , 165.055 0 [M+H] ⁺ , 182.081 5 [M+NH ₄] ⁺	邻香豆酸
10	22.79	C ₂₀ H ₃₇ NO ₂	323.282 6	0.56	正离子	324.289 9 [M+H] ⁺	亚油醇乙醇胺 ^[21]
11	1.28	C ₃ H ₄ O ₃	112.015 2	-7.98	负离子	111.007 9 [M-H] ⁻	2-糠酸
12	1.22	C ₆ H ₆ O ₃	126.031 9	1.53	正离子	127.039 2 [M+H] ⁺ , 168.065 6 [M+ACN+H] ⁺ , 253.070 7 [2M+H] ⁺	麦芽酚 ^[22]
13	1.80	C ₆ H ₆ N ₂ O	122.048 4	3.07	正离子	123.055 7 [M+H] ⁺	烟酰胺 ^[21]
14	8.64	C ₈ H ₈ O ₃	152.046 6	-4.70	负离子	151.039 4 [M-H] ⁻	香草醛 ^[23]
15	8.07	C ₁₁ H ₁₀ O ₅	222.053 2	1.76	正离子	223.060 5 [M+H] ⁺	异嗉皮啶 ^[24]
16	29.36	C ₁₈ H ₃₇ NO	283.287 5	0.03	正离子	284.294 8 [M+H] ⁺	硬脂酰胺
17	12.37	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194.130 8	0.54	正离子	195.138 0 [M+H] ⁺	新蛇床内酯
18	25.01	C ₂₀ H ₃₉ NO ₂	325.298 4	0.95	正离子	326.305 7 [M+H] ⁺	油酰乙醇胺
19	24.45	C ₃₀ H ₅₀ O ₂	442.381 2	0.16	正离子	443.388 4 [M+H] ⁺	梓木素 ^[25]
20	7.90	C ₁₀ H ₈ O ₄	192.042 5	1.32	正离子	193.049 8 [M+H] ⁺	东莨菪素 ^[24]

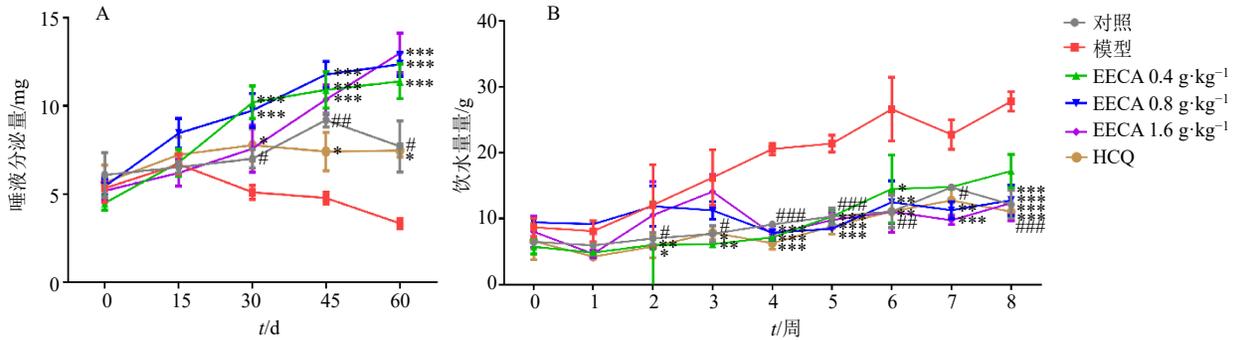
3.2 EECA 对 SS 小鼠唾液分泌量和饮水量的影响

如图 2-A 所示, 各组小鼠在造模前唾液分泌量无明显差异。造模第 30 天, 模型组小鼠唾液分泌量显著低于对照组 ($P < 0.05$), 且呈时间相关性; 与模型组比较, 各给药组唾液分泌量均显著升高 ($P < 0.05, 0.001$)。如图 2-B 所示, 模型组小鼠从第 2 周

开始饮水量持续升高, 各给药组小鼠饮水量明显低于模型组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 提示 EECA 能够缓解 SS 小鼠口干症状。

3.3 EECA 对 SS 小鼠 B 淋巴细胞数量及相关免疫球蛋白、抗核抗体水平的影响

如图 3-A、B 所示, 与对照组比较, 模型组小



HCQ-硫酸羟氯喹; 与对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同。
HCQ-hydroxychloroquine sulfate; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs control group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group, same as below figures.

图 2 EECA 对 SS 小鼠唾液分泌量 (A) 和饮水量 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

Fig. 2 Effect of EECA on salivary secretion (A) and water intake (B) in SS mice ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

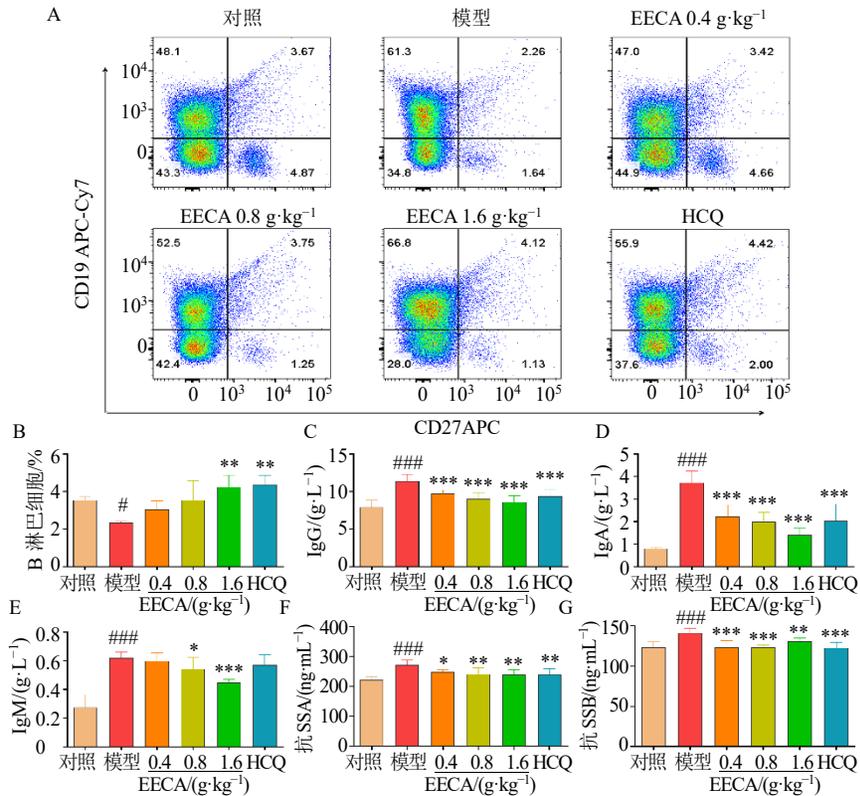


图 3 EECA 对 SS 小鼠 B 淋巴细胞数量 (A、B) 及相关免疫球蛋白 (C~E)、抗核抗体 (F、G) 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

Fig. 3 Effect of EECA on number of B-lymphocytes (A, B) and related immunoglobulin (C~E) and antinuclear antibody (F, G) levels in SS mice ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

鼠脾脏 B 淋巴细胞数量显著降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, EECA 高剂量组和硫酸羟氯喹组小鼠脾脏 B 淋巴细胞数量显著升高 ($P < 0.01$), EECA 低、中剂量组 B 淋巴细胞数量有升高趋势。如图 3-C~E 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中免疫球蛋白 IgM、IgG、IgA 水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 各给药组 IgG、IgA 水平均显著降低 ($P < 0.001$), EECA 中、高剂量组 IgM 水平显著降低 ($P < 0.05、0.001$)。此外, 还对抗 SSA 和抗 SSB 抗核抗体的水平进行了检测, 这些抗体在 SS 患者血清中的含量较高^[26], 是 SS 的重要免疫诊断指标, 也是确定 SS 诊断、分类和预后的关键工具。如图 3-F、G 所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中抗

SSA 和抗 SSB 抗体水平显著升高 ($P < 0.001$); 与模型组比较, 各给药组抗 SSA 和抗 SSB 抗体水平均显著降低 ($P < 0.05、0.01、0.001$)。

3.4 EECA 对 SS 小鼠脾脏 Th1/Th2 细胞比例的影响

通过流式细胞术分别检测小鼠脾脏中 Th1 细胞和 Th2 细胞数量, 并统计 Th1/Th2 细胞比例。结果如图 4 所示, 与对照组比较, 模型组 Th1 ($CD4^+ IFN-\gamma^+$) 细胞和 Th2 ($CD4^+ IL-4^+$) 细胞数均显著升高 ($P < 0.05、0.001$); 与模型组比较, 各给药组 Th1 细胞数显著降低 ($P < 0.01、0.001$), EECA 中、高剂量组和硫酸羟氯喹组 Th2 细胞数显著降低 ($P < 0.05、0.01$), 各给药组 Th1/Th2 细胞比例呈降低趋势, Th1/Th2 免疫趋于平衡。

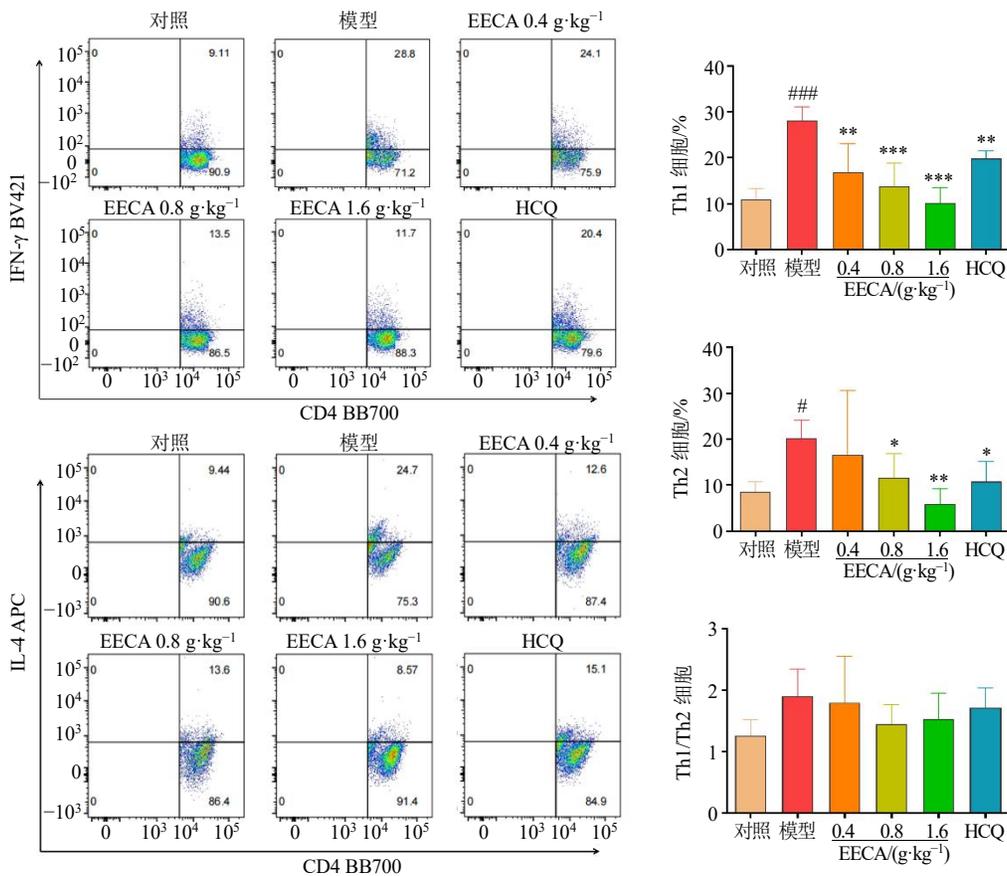


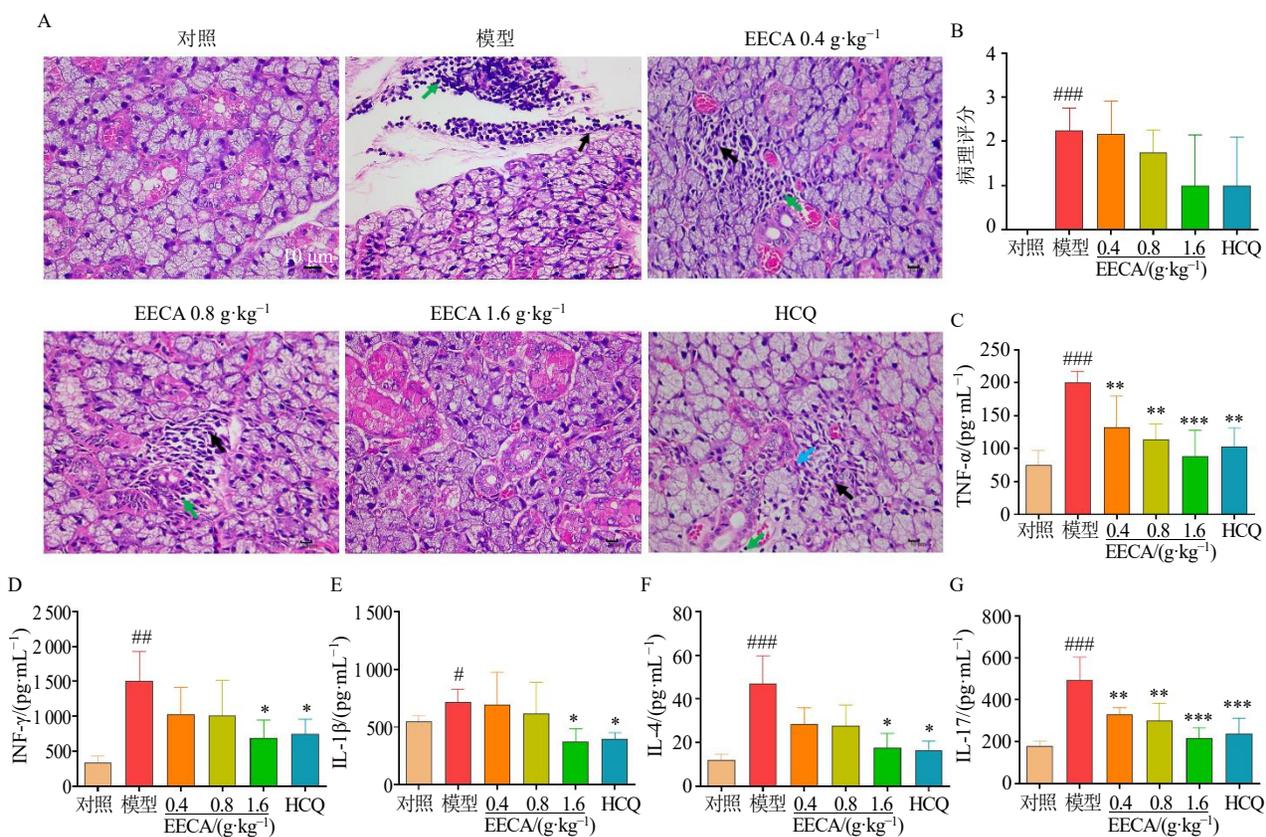
图 4 EECA 对 SS 小鼠脾脏 Th1/Th2 细胞比例的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

Fig. 4 Effect of EECA on ratio of Th1/Th2 cells in spleen of SS mice ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

3.5 EECA 对 SS 小鼠颌下腺组织病理变化的影响

各组小鼠颌下腺组织 HE 染色结果如图 5-A 所示, 对照组颌下腺组织形态正常, 未见病理损伤; 模型组颌下腺腺体出现萎缩, 腺泡大小不一, 数量减少, 排列松散, 伴有导管扩张和不同程度的淋巴

细胞浸润。与模型组比较, EECA 中、高剂量组和硫酸羟氯喹组小鼠颌下腺组织的炎性浸润、组织小叶分泌部腺泡坏死程度等病理变化均得到一定程度改善。病理评分 (图 5-B) 结果显示, 与模型组比较, 各给药组病理评分呈降低趋势。



A 图中绿色箭头表示淋巴细胞浸润, 黑色箭头表示腺泡坏死, 蓝色箭头表示导管扩张。

Green arrows indicate lymphocytic infiltration, black arrows indicate follicular necrosis, and blue arrows indicate ductal dilatation in figure A.

图5 EECA对SS小鼠颌下腺组织病理变化(A、B, ×400)及血清炎症因子水平(C~G)的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)
Fig. 5 Effect of EECA on histopathological changes in submandibular gland (A, B, × 400) and serum inflammatory factor levels (C~G) of SS mice ($\bar{x} \pm s, n = 4 \sim 6$)

3.6 EECA对SS小鼠血清中炎症细胞因子水平的影响

如图5-C~G所示, 与对照组比较, 模型组小鼠血清中IL-1β、TNF-α、IL-17、IL-4、IFN-γ水平均显著升高 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$); 与模型组比较, 各给药组小鼠血清中TNF-α、IL-17水平均显著降低 ($P < 0.01, 0.001$), EECA高剂量组和硫酸羟氯喹组IFN-γ、IL-1β、IL-4水平显著降低 ($P < 0.05$), 表明EECA可抑制SS小鼠炎症细胞因子分泌。

3.7 EECA对SS模型小鼠颌下腺组织中AQP5定位表达的影响

如图6所示, 与对照组比较, 模型组小鼠颌下腺组织中AQP5阳性表达显著减少 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各给药组小鼠腺泡细胞及导管上皮细胞中AQP5蛋白阳性表达显著增加 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$), 表明给药后胞内AQP5向细胞膜上转运并增加, 调节水分子转运从而促进水循环和唾液分

泌, 改善SS模型小鼠口干症状, 维持颌下腺的正常分泌与输出生理功能。

3.8 EECA对SS小鼠颌下腺组织IKKα/p65/AQP5通路的影响

qRT-PCR结果(图7)显示, 与对照组比较, 模型组颌下腺组织AQP5 mRNA表达水平明显降低 ($P < 0.001$), Relα和Chuk mRNA表达水平明显升高 ($P < 0.01, 0.001$)。Western blotting结果(图7)显示, 与对照组比较, 模型组颌下腺组织AQP5蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.001$), p-p65/p65、p-IKKα/IKKα值显著增加 ($P < 0.001$); 与模型组比较, EECA高剂量组和硫酸羟氯喹组AQP5蛋白表达水平显著升高 ($P < 0.05, 0.01$), p-p65/p65、p-IKKα/IKKα值显著降低 ($P < 0.05, 0.01$)。表明EECA可以抑制核因子-κB (nuclear factor-κB, NF-κB) 信号通路, 上调AQP5蛋白的表达, 从而改善SS小鼠颌下腺功能障碍。

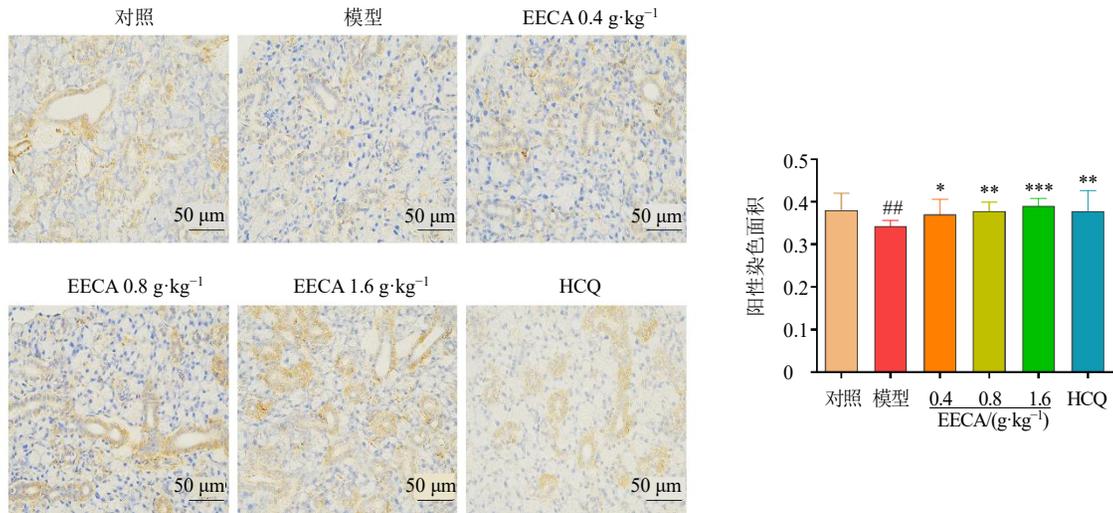


图6 EECA对SS模型小鼠颌下腺组织中AQP5定位表达的影响($\times 400$; $\bar{x} \pm s$, $n = 4 \sim 6$)

Fig. 6 Effect of EECA on localized expression of AQP5 in submandibular gland tissues of SS model mice ($\times 400$; $\bar{x} \pm s$, $n = 4 \sim 6$)

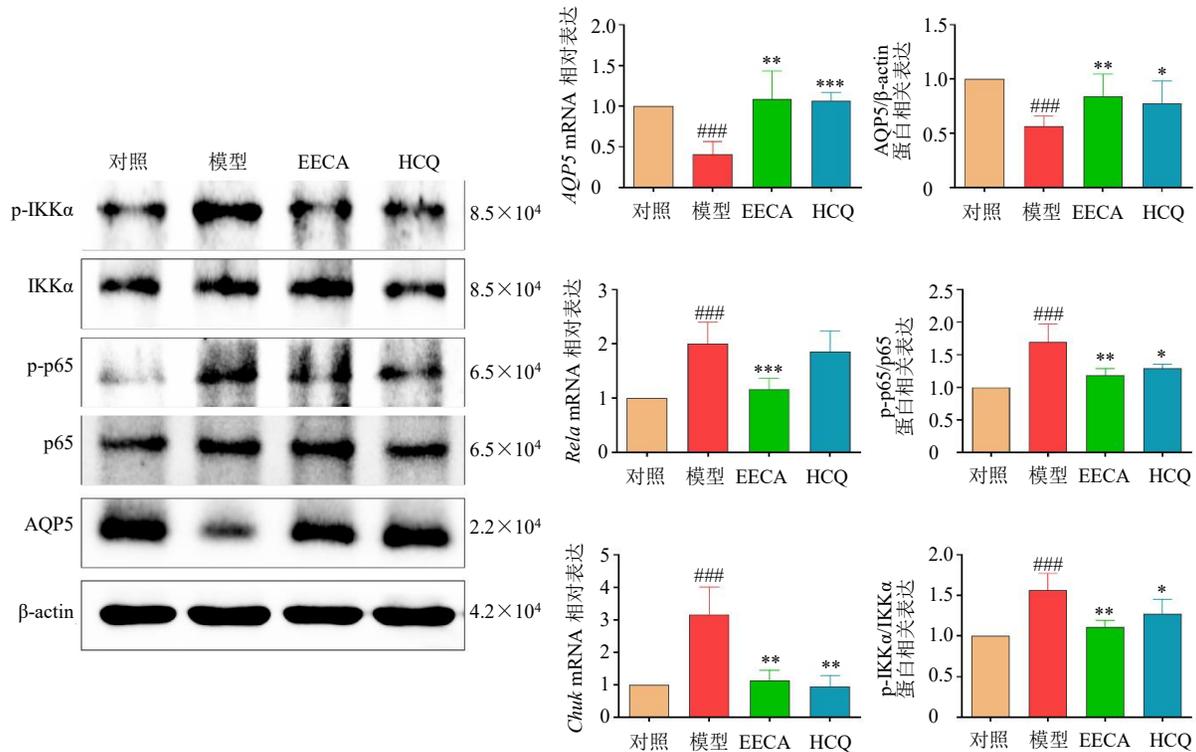


图7 EECA对SS小鼠颌下腺组织IKKα/p65/AQP5通路的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 4 \sim 6$)

Fig. 7 Effect of EECA on IKKα/p65/AQP5 pathway in submandibular gland tissues of SS mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 4 \sim 6$)

4 讨论

研究显示,白首乌的C₂₁甾体萜类化合物具有免疫调节作用^[27]。本研究LC-MS结果显示,告达庭是一种C₂₁甾体萜元类。此外,提取物中其他成分如1,4-雄烯二酮、单乙酸雷琐辛、邻香豆酸、麦芽酚、香草醛和东莨菪素具有抗炎和抗氧化作用,能抑制炎症介质的产生、抑制细胞过度免疫、减少

自由基损伤等^[28-32]。上述成分可能是EECA发挥抗炎和免疫调节作用的主要物质基础。

作为一种复杂的自身免疫性疾病,SS的致病机制与机体免疫功能息息相关。B细胞过度活跃是SS的显著特征,而B细胞亚群尤其是记忆B细胞和浆细胞在SS的发病机制中至关重要。B细胞过度活化可导致机体产生大量自身免疫性抗体,50%~

70%的SS患者体内可检测到抗SSA或抗SSB抗体,可导致外分泌腺腺体功能障碍、唾液分泌功能受损而引起口干^[33-36]。如果抑制过度激活的B细胞将减少自身抗体的产生,从而缓解对自身颌下腺组织的攻击。B细胞产生的抗体还能通过抗原呈递激活T细胞^[37],因此T细胞会通过分泌细胞因子加剧炎症过程,而细胞因子又会进一步诱导B细胞活化、增殖和生成抗体,从而形成恶性循环,促进SS的恶性发展^[38]。Th1和Th2细胞相互调节,在动态平衡中共存,对整个免疫系统产生调节作用,Th1和Th2细胞之间的平衡失调会导致许多疾病的发生和发展^[39]。Th1/Th2平衡失调会影响细胞因子的分泌,抑制免疫细胞凋亡,刺激自身反应性B细胞产生自身抗体,从而加剧自身免疫反应、组织和器官损伤以及SS发病^[40]。因此,Th1和Th2细胞之间的失衡是SS发病的重要诱因^[41]。本研究采用流式细胞术分析了各组小鼠脾脏中B、T淋巴细胞的活化情况,并测定了小鼠血清中免疫球蛋白(IgM、IgG、IgA)和炎性细胞因子(IL-1 β 、IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IL-4)的水平。结果显示,与模型组比较,各给药组过度活化的B细胞均受到不同程度的抑制,小鼠血清中免疫球蛋白(IgM、IgG、IgA)水平下降。此外,EECA能显著降低SS小鼠血清中炎性细胞因子(IL-1 β 、IL-17、TNF- α 、IFN- γ 、IL-4)水平,使Th1和Th2细胞之间趋于平衡,提示EECA的抗炎特性可能是其作用机制。

NF- κ B在一些疾病的炎症部位被高度激活,如多种自身免疫性疾病、慢性炎症和许多癌症中NF- κ B信号的异常传递^[42]。NF- κ B通路通过免疫细胞的激活和炎症因子的产生而不断被激活,在SS的发生和发展过程中发挥重要作用^[43]。NF- κ B是AQP5的上游调节因子^[44],据报道,TNF- α 与其受体形成复合物,通过与AQP5启动子上的NF- κ B响应元件结合,下调AQP5转录,从而通过NF- κ B途径下调AQP5的表达^[45]。AQP5是细胞跨膜转运蛋白之一,主要与泪液和唾液的分泌有关,在腺体腺泡细胞顶膜分布时发挥水通道功能,由此途径水分子可以透过质膜,迅速转移到高渗区^[46],可见AQP5与唾液分泌功能密不可分。SS的疾病发生通常会引起AQP5功能失调,其机制可能与AQP5的异常表达或分布有关^[47]。本研究发现,EECA可以抑制NF- κ B信号通路,下调Chuk、Rela的mRNA表达及对应蛋白p-p65/p65、p-IKK α /IKK α 值表达,上调AQP5

蛋白的表达,从而改善SS小鼠的颌下腺功能障碍,促进唾液分泌,减轻口干症状。此外,EECA可以抑制SS小鼠记忆B细胞过度分化,从而减少自身抗体的产生,同时使Th1/Th2细胞趋于免疫平衡,有效治疗SS口干症状。因此,EECA对增强SS小鼠颌下腺分泌功能具有积极的益处,为中药治疗SS提供了研究基础与应用前景。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Gao Y Z, Chen Y, Zhang Z J, et al. Recent advances in mouse models of sjögren's syndrome [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1158.
- [2] Huang Y P, Li R C, Ye S, et al. Recent advances in the use of exosomes in sjögren's syndrome [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1509.
- [3] 杨晓倩, 张艺文, 秦莉, 等. 原发性干燥综合征患者慢性心力衰竭的横断面研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(7): 848-852.
- [4] 赵永璐, 奚然然, 胡袁悦, 等. 干燥综合征从三焦论治的研究进展 [J]. *风湿病与关节炎*, 2021, 10(10): 70-73.
- [5] Tian Y, Yang H Y, Liu N, et al. Advances in pathogenesis of sjögren's syndrome [J]. *J Immunol Res*, 2021, 2021: 5928232.
- [6] Mielle J, Tison A, Cornec D, et al. B cells in sjögren's syndrome: From pathophysiology to therapeutic target [J]. *Rheumatology: Oxford*, 2021, 60(6): 2545-2560.
- [7] 姜小芳, 李晓朋, 钟新林. 基于中医传承辅助平台分析中医药治疗原发性干燥综合征气阴两虚证用药规律 [J]. *中医临床研究*, 2022, 14(13): 26-29.
- [8] 孙彦敏, 王辉, 徐凌川. 近10年白首乌研究进展 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2015, 22(7): 131-136.
- [9] 贺艳, 董玲玲, 方丽, 等. 三峡隔山牛皮消中C₂₁甾体酯苷的分离提取研究 [J]. *时珍国医国药*, 2006, 17(12): 2530-2532.
- [10] Chen W H, Zhang Z Z, Ban Y F, et al. *Cynanchum bungei* Decne and its two related species for "Baishouwu": A review on traditional uses, phytochemistry, and pharmacological activities [J]. *J Ethnopharmacol*, 2019, 243: 112110.
- [11] 印鑫, 丁永芳, 邵久针, 等. 白首乌的研究进展 [J]. *中草药*, 2019, 50(4): 992-1000.
- [12] Zhen X, Choi H S, Kim J H, et al. Caudatin isolated from *Cynanchum auriculatum* inhibits breast cancer stem cell formation via a GR/YAP signaling [J]. *Biomolecules*, 2020, 10(6): 925.
- [13] 庄子锐, 王明亮, 彭蕴茹, 等. 白首乌C₂₁甾体通过TLR4通路防治大鼠肝肾纤维化的作用研究 [J]. *中国中药杂志*, 2021, 46(11): 243-250.
- [14] Qin T T, Wang M L, Zhang T, et al. Total C-21 steroidal glycosides from *Baishouwu* ameliorate hepatic and renal fibrosis by regulating IL-1 β /MyD88 inflammation signaling [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 775730.
- [15] 周瑾, 周全, 李纪高, 等. 增液润燥汤对干燥综合征模

- 型小鼠颌下腺 INF- γ 、TNF- α 及水通道蛋白 5 的影响 [J]. 中医学报, 2020, 35(11): 2407-2411.
- [16] Wu H X, Chen X Y, Gu F, *et al.* CP-25 alleviates antigen-induced experimental Sjögren's syndrome in mice by inhibiting JAK1-STAT1/2-CXCL13 signaling and interfering with B-cell migration [J]. *Lab Invest*, 2021, 101(8): 1084-1097.
- [17] 张霞, 雷紫琴, 秦甜甜, 等. 白首乌对干燥综合征模型小鼠影响的实验研究 [J]. 中药与临床, 2023, 14(5): 50-55.
- [18] 费洪荣. 白首乌中告达庭的制备及其抗肿瘤活性研究 [D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [19] 韩斌青, 冯冰, 马百平. 皂苷的生物转化研究进展 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1664-1668.
- [20] 宋婉钰, 李勇, 李春阳, 等. 基于网络药理学及代谢产物分析白首乌对乙醇性肝损伤的作用机制 [J]. 江苏农业科学, 2023, 51(9): 166-174.
- [21] 褚琳, 朱邵晴, 杨紫轩, 等. 基于动物实验、UPLC Q-Exactive Orbitrap MS 和网络药理学探究制天南星治疗慢性阻塞性肺病的物质基础和作用机制 [J]. 中国中药杂志, 2025, 50(7): 1792-1802.
- [22] 曹晓燕, 石中唯, 阮静雅, 等. 白扁豆花化学成分的分离与结构鉴定 (II) [J]. 中国药物化学杂志, 2025, 35(2): 110-116.
- [23] 钱玺丞. 牛皮消化学成分研究 [J]. 河南农业, 2019, 29(11): 40.
- [24] 张明, 沈明晨, 陈镭, 等. 白首乌的化学成分、药理作用及栽培技术综述 [J]. 江苏农业科学, 2022, 50(2): 22-29.
- [25] 孙得峰, 孙敬勇, 郑重飞, 等. 泰山白首乌的化学成分研究 [J]. 食品与药品, 2015, 17(2): 90-93.
- [26] 张卫华, 刘舟, 王俊壹, 等. 桂枝汤对 AR 大鼠鼻黏膜上皮细胞 AQP5 表达及 cAMP/PKA-CREB 信号通路的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(1): 283-287.
- [27] 汤俊杰, 谷巍, 钱旭东, 等. 江苏道地药材滨海白首乌的药用价值与资源评估研究 [J]. 南京中医药大学学报, 2023, 39(8): 794-800.
- [28] 刘瑾林, 周红, 郭富友, 等. 香豆素类化合物的农药活性及东莨菪内酯杀螨作用机理研究进展 [J]. 农药学报, 2019, 21(S1): 692-708.
- [29] Karkhanis P P, Edlund D O, Anfinsen J R. Quantitative GLC determination of resorcinol monoacetate in dermatological products [J]. *J Pharm Sci*, 1973, 62(5): 804-806.
- [30] Şen A, Göğçer F, Dogan A, *et al.* Two acylated isoscutellarein glucosides with anti-inflammatory and antioxidant activities isolated from endemic *Stachys subnuda* Montbret & Aucher ex Benth [J]. *Acta Chim Slov*, 2019, 66(4): 831-838.
- [31] Ciciliato M P, de Souza M C, Tarran C M, *et al.* Anti-inflammatory effect of vanillin protects the stomach against ulcer formation [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(4): 755.
- [32] Sakthivel K M, Vishnupriya S, Priya Dharshini L C, *et al.* Modulation of multiple cellular signalling pathways as targets for anti-inflammatory and anti-tumorigenesis action of scopoletin [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2022, 74(2): 147-161.
- [33] 林东方, 张文, 赵岩. B 细胞在原发性干燥综合征中的作用 [J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2009, 3(3): 216-220.
- [34] Barcelos F, Martins C, Papoila A, *et al.* Association between memory B-cells and clinical and immunological features of primary Sjögren's syndrome and Sicca patients [J]. *Rheumatol Int*, 2018, 38(6): 1063-1073.
- [35] 周俞, 吴培豪, 陈素峰, 等. 抗 SSA+/SSB+ 和抗 SSA+/SSB- 原发性干燥综合征患者临床及实验室特征分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2021, 31(3): 314-317.
- [36] Li D F, Li H B, Li W, *et al.* Anti-Ro52 antibody as a protective factor for pulmonary fibrosis in primary sjögren's syndrome [J]. *Iran J Immunol*, 2022, 19(2): 161-171.
- [37] 王丹, 薛鸾, 陆秋菊. 解毒通络生津法对干燥综合征大鼠免疫功能影响的初步研究 [J]. 浙江中医杂志, 2011, 46(11): 837-839.
- [38] 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.
- [39] 马武开, 和秀丽, 曾苹, 等. 润燥灵方对干燥综合征模型小鼠血清 Th1/Th2 的影响 [J]. 中医杂志, 2017, 58(4): 329-333.
- [40] 周强, 柏涛, 吴鸿雁. 干燥综合征患者唇腺黏膜淋巴细胞 Th1/Th2 和 Fas/FasL 表达的相关性研究 [J]. 徐州医学院学报, 2008, 28(1): 28-30.
- [41] Wang D, Zhao H, Li B, *et al.* Mechanism of cAMP-PKA signaling pathway mediated by Shaoyao Gancuo Decoction on regulation of aquaporin 5 and muscarinic receptor 3 levels in sjögren's syndrome [J]. *Chin J Integr Med*, 2020, 26(7): 502-509.
- [42] Chen W Q, Lin J, Cao H, *et al.* Local and systemic IKK ϵ and NF- κ B signaling associated with sjögren's syndrome immunopathogenesis [J]. *J Immunol Res*, 2015, 2015: 534648.
- [43] Sisto M, Lisi S, Lofrumento D D, *et al.* A failure of TNFAIP3 negative regulation maintains sustained NF- κ B activation in Sjögren's syndrome [J]. *Histochem Cell Biol*, 2011, 135(6): 615-625.
- [44] Chang Y L, Jian K R, Lin C S, *et al.* Dexamethasone attenuates methacholine-mediated aquaporin 5 downregulation in human nasal epithelial cells via suppression of NF- κ B activation [J]. *Int Forum Allergy Rhinol*, 2018, 8(1): 64-71.
- [45] Hosoi K. Physiological role of aquaporin 5 in salivary glands [J]. *Pflugers Arch*, 2016, 468(4): 519-539.
- [46] D'Agostino C, Elkashty O A, Chivasso C, *et al.* Insight into salivary gland aquaporins [J]. *Cells*, 2020, 9(6): 1547.
- [47] Chivasso C, Nesverova V, Järvå M, *et al.* Unraveling human AQP5-PIP molecular interaction and effect on AQP5 salivary glands localization in SS patients [J]. *Cells*, 2021, 10(8): 2108.

[责任编辑 李亚楠]