

## · 基础研究 ·

# 密蒙花滴眼液对去势兔干眼模型泪腺细胞凋亡相关因子 Caspase-3、Caspase-8 的干预作用

覃艮艳<sup>1,2</sup> 张又玮<sup>1</sup> 彭晓芳<sup>1</sup> 周亚莎<sup>1</sup> 彭清华<sup>1,3</sup> 彭俊<sup>3</sup>

**摘要 目的** 通过建立去势兔干眼模型,观察密蒙花滴眼液对其泪腺细胞凋亡相关因子 Caspase-3、Caspase-8 的干预作用。**方法** 将 35 只新西兰白兔随机分为正常组(A 组)、模型组(B 组)、0.3、0.5、1.0 mg/mL、1.5、3.0 mg/mL 密蒙花滴眼液(C、D、E、F、G 组)。A、B 组不予处理,C、D、E、F、G 组分别予以相应密蒙花滴眼液局部滴眼,3 次/日。疗程为 4 周。造模前、用药前及用药后检测各组基础泪液分泌试验(Schirmer's test I, SIT)水平,免疫组化检测各组泪腺组织中 Caspase-3、Caspase-8 的表达情况,Real-time PCR 法检测各组泪腺组织中 Caspase-3、Caspase-8 mRNA 的相对表达情况。**结果** 与 A 比较,用药前及用药后 B 组 SIT 值降低( $P < 0.01$ );与 B 组比较,各治疗组用药后 SIT 值升高( $P < 0.01$ );各治疗组用药后与本组用药前比较,SIT 值升高( $P < 0.01$ )。与 A 组比较,B 组 Caspase-3、Caspase-8 表达及 mRNA 相对表达量升高( $P < 0.01$ )。与 B 组比较,D、F、G 组 Caspase-3 及 C、D、E、F、G 组 Caspase-8 表达降低( $P < 0.01$ );C、D、E、F、G 组 Caspase-3 及 D、E、F、G 组 Caspase-8 mRNA 相对表达量降低( $P < 0.01$ )。与 C 组比较,Caspase-3 表达降低( $P < 0.05$ );D、E、F、G 组 Caspase-8 mRNA 相对表达量降低( $P < 0.01$ )。除 D 与 G 组比较外,其他各浓度组间 Caspase-3 mRNA 相对表达量比较均有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论** 密蒙花滴眼液可以通过下调去势兔干眼模型泪腺细胞凋亡因子 Caspase-3 和 Caspase-8 的表达,达到维持泪腺基础分泌量和保护泪腺的作用。

**关键词** 干眼; 密蒙花滴眼液; 去势兔干眼模型; 泪腺

Effect of Buddlejae Officinalis Eyedrops on the Apoptosis-related Factors Caspase-3, Caspase-8 in Lacrimal Glands of Experimental Dry Eye Rabbit Model QIN Gen-yan<sup>1,2</sup>, ZHANG You-wei<sup>1</sup>, PENG Xiao-fang<sup>1</sup>, ZHOU Ya-sha<sup>1</sup>, PENG Qing-hua<sup>1,3</sup> and PENG Jun<sup>3</sup> 1 The Domestic First-class Discipline Construction Project of Chinese Medicine of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha (410208); 2 Department of Ophthalmology, No. 1 Traditional Chinese Medicine Hospital in Changde, Hunan (415000); 3 Department of Ophthalmology, the First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha (410007)

**ABSTRACT Objective** To investigate the effects of Buddlejae officinalis eyedrops on the apoptosis-related factors Caspase-3 and Caspase-8 in lacrimal glands of experimental dry eye rabbit model. **Methods** A total of thirty-five male rabbit were divided into seven study groups, consisting of the control group (group A) and the treatment group (group B, without any treatment), the dry eye rabbit model group treated with different concentration Buddlejae officinalis eyedrops (0.3, 0.5, 1, 1.5 mg/mL and 3 mg/mL) as group C, D, E, F, 3 times a day. The course of treatment was 4 weeks. Schirmer's test I was

基金项目: 国家自然科学基金面上资助项目(No. 30772824, No. 81574031); 湖南省高层次卫生人才“225”工程培养项目资助(No. 湘卫人发[2013]13 号); 湖南省科技厅科研基金资助项目(No. 2015SK2016-6); 湖南省发展改革委科研基金资助项目(湘发改投资[2014]658 号); 长沙市科技计划重大专项(No.K1501014-31); 湖南中医药大学研究生创新项目(No. 2016CX19); 国家中医药管理局中医眼科学重点学科建设项目; 中医药防治眼耳鼻喉疾病湖南省重点实验室建设项目

作者单位: 1. 湖南中医药大学中医学国内一流建设学科(长沙 410208); 2. 常德市第一中医医院眼科(湖南 415000); 3. 湖南中医药大学第一附属医院眼科(长沙 410007);

通讯作者: 彭俊, Tel: 0731-88458010, E-mail: 154451101@qq.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20190809.246

detected before modeling, before and after treatment. The Caspase-3 and Caspase-8 expressions were evaluated by immunohistochemistry and Real-time PCR. Results Compared with group A, the SIT value of the model group was decreased before and after treatment ( $P < 0.01$ ). Compared with group B, the SIT values of each treatment groups were increased after treatment ( $P < 0.01$ ), and the SIT value of each treatment group was higher than that before treatment ( $P < 0.01$ ). Compared with group A, the expression of Caspase-3, Caspase-8 and its mRNA in group B increased ( $P < 0.01$ ). Compared with group B, the expression of Caspase-3 in group D, F, and G decreased ( $P < 0.01$ ), and the expression of Caspase-8 in group C, D, E, F and G was lower ( $P < 0.01$ ). The relative expression of Caspase-3 mRNA in group C, D, E, F, G and the relative expression of Caspase-8 mRNA in group D, E, F, G were decreased ( $P < 0.01$ ). Compared with group C, the expression of Caspase-3 decreased ( $P < 0.05$ ), and the relative expression of Caspase-8 mRNA in group D, E, F and G was lower than that in group C ( $P < 0.01$ ). Except for group D and G, the relative expression of Caspase-3 mRNA in other concentration groups was statistically significant ( $P < 0.01$ ). Conclusion Buddlejae eyedrops can maintain the basic secretion of lacrimal gland and protect lacrimal gland by down-regulating the expression of apoptotic factor Caspase-3 and Caspase-8 in lacrimal gland in castrated rabbit dry eye model, and then, 1.5 mg/mL and 3.0 mg/mL Buddlejae eyedrops have better effects.

**KEYWORDS** dry eye disease; Buddlejae eyedrops; dry eye model of castrated rabbits; lacrimal glands

干眼(dry eye disease, DED)是以泪膜稳态失衡为主要特征并伴有眼部不适症状的多因素眼表疾病,泪膜不稳定、泪液渗透压升高、眼表炎症与损伤以及神经感觉异常是其主要病理生理机制<sup>[1]</sup>。目前已经成为除屈光不正以外最常见的眼科疾病,2007 年国际干眼工作组(International Dry Eye Workshop, DWES)调查显示:目前全球干眼发病率约为 5% ~ 35%,不同人种、不同年龄、不同地区,其发病率会有所差异<sup>[2]</sup>。目前干眼的治疗方法众多,但均存在其局限性,疗效不满意,甚至造成许多难以避免的不良反应,而中医药在干眼治疗领域拥有广阔的前景。

密蒙花总黄酮是密蒙花主要有效部位之一,属于植物激素,具有和雄激素相似的化学结构——杂环多酚,所以密蒙花总黄酮也可以与雄激素受体(androgen receptor, AR)相结合,产生拟雄激素效应<sup>[3]</sup>。AR 是一种转录因子,属于核受体超家族成员,一旦被雄激素激活,便进入靶细胞的核内,以高专一性、高亲和力与雄激素应答元件(androgen response element, ARE)结合以调控基因转录<sup>[4]</sup>。密蒙花总黄酮可以通过雄激素受体途径作用于雄激素眼部靶器官,产生拟雄激素效应,治疗雄激素水平下降所致干眼。

本实验通过高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)提取密蒙花,检测发现密蒙花总黄酮和总苯丙素为密蒙花的主要组成部分,并制备成滴眼液,通过对去势兔干眼模型给药来进一步验证密蒙花滴眼液对实验性干眼泪腺细胞凋亡相

关因子 Caspase-3、Caspase-8 的干预作用,从而进一步探讨密蒙花滴眼液治疗干眼的确切效用及其可能作用机制,以寻求干眼新的治疗方式。

## 材料与方法

1 动物 普通新西兰白兔 35 只,雄性,体重 1.5 ~ 2.0 kg,均由湖南中医药大学实验动物中心提供,质量合格证编号:No. 43608300000370。动物饲养于湖南中医药大学动物实验中心豚鼠兔动物房,饲养温度 22 ~ 25 °C,湿度 40% ~ 60%,自然采光,定期定量添加饲料,动物自由摄食,饮用水瓶供应足量的三级饮用水,动物自由饮用,每日更换水瓶及饮用水,所有动物到达本实验室后均要进行检疫观察 7 d 以上,在此时间内,观察动物的疾病指征和死亡,任何异常现象均向负责人和临床兽医报告,异常动物在实验动物分组给药前进行剔除,若在给药前个别动物出现异常,用健康动物进行替换。实验通过湖南中医药大学实验动物中心审核(No. 20161104)。

2 药物 密蒙花总黄酮和总苯丙素提取物:由中南大学湘雅医院药剂科制备,具体提取工艺如下:密蒙花 100 kg,60%乙醇提取 2 次,第 1 次加入 10 倍量,第 2 次加入 8 倍量,合并乙醇提取液,减压回收乙醇至无醇味,将浓缩液用 ZTC 澄清剂处理,滤过,滤液上 HPD-100 大孔树脂柱,不同浓度乙醇梯度洗脱,收集 60%乙醇洗脱液,真空干燥,粉碎即得干膏 1.5 kg。密蒙花总黄酮和总苯丙素提取物的得率为 1.5%。

密蒙花滴眼液:由湖南中医药大学药学院制备,将密蒙花提取物按滴眼液制备工艺制成,最终滴眼液浓度包括 0.3、0.5、1、1.5、3 mg/mL。

### 3 主要试剂及仪器

3.1 实验试剂 4%多聚甲醛(E672002)、Harris 苏木素(E607317)、伊红(E607321)、二步法免疫组化检测系统(美国 GBI, WK150917)、Trizol(In-vitrogen, 15596026)、逆转录试剂盒(promega, A3500)、Real-time PCR mix(Bio-rad, A25780)、DNA Marker(Fermentas)、无水乙醇(8001H-04)、引物(上海生工生物工程股份有限公司, B662202)

3.2 仪器 轮转石蜡切片机(徕卡 RM2235)、生物组织摊片机(金迪 YD-A)、冰箱、电热恒温培养箱(上海一恒 DNP-9162)、微波炉、研究型显微镜(Motic BA410)、数码医学图像分析系统(Motic 6.0)、紫外分光光度计(美国 Perkin Elmer 公司 Lambda 35)、精密分析天平(瑞士 Mettler 公司 AE240)、医用净化工作台(吴江市净化设备总厂 YJ-875A)、-80℃超低温冰箱(美国 Thermo)、核酸蛋白分析仪(德国 eppendorf)、电泳仪(北京六一仪器厂)、凝胶成像分析仪(美国 Bio-Rad)、实时定量 PCR 仪(美国 Bio-Rad CFX Connect)、微量移液器(德国 Eppendorf)、无 RNA 酶 EP 管(1.5 mL, 0.5 mL)、无 RNA 酶 Tip 头(10 μL、200 μL、1 000 μL)、PCR 管(0.2 mL)、常规手术台、手术器械等。

### 4 动物造模、分组及干预方法

4.1 去势兔干眼模型的建立 采用去势的方法,行双侧睾丸切除术:25%乌拉坦 4 mL/kg 耳缘静脉麻醉新西兰白兔,麻醉满意,仰卧位固定于固定架上,固定四肢,睾丸区消毒,铺无菌巾,将一侧睾丸由腹腔挤入阴囊并固定,用无菌刀片将阴囊切一小口,用力挤出睾丸,结扎精索静脉及输精管,切除睾丸及附睾,局部涂抹适量青霉素粉预防感染,连续缝合阴囊皮肤组织后局部消毒;另一侧睾丸及附睾切除法同前<sup>[5,6]</sup>。造模 8 周后,检测基础泪液分泌试验(Schirmer's test I, SIT)证实去势兔干眼模型成模后开始给药<sup>[12]</sup>。

4.2 分组及干预方法 新西兰白兔 35 只,其中 5 只新西兰白兔不造模为正常组(A组);另外 30 只造模成功后采用数字表法将实验动物随机分为模型组(B组);0.3 mg/mL 密蒙花滴眼液组(C组);0.5 mg/mL 密蒙花滴眼液组(D组);1 mg/mL 密蒙花滴眼液组(E组);1.5 mg/mL 密蒙花滴眼液组(F组);3 mg/mL 密蒙花滴眼液(G组)。A、B 组不予处理,C、D、E、F、G 组分别予以密蒙花滴眼液局部滴眼,

3 次/日。连续用药 4 周,至实验结束。此次实验过程中无实验动物死亡,造模成功率 100%。

### 5 检测指标及方法

5.1 SIT 检测 各实验组于造模前、用药前、用药后分别测量 SIT 值并记录。SIT 试验:按照说明书用法,取泪液分泌试纸置于被测眼下结膜囊中外 1/3 交界处,轻闭双眼,5 min 后取出滤纸,测量滤纸条湿长度,按 mm 计算。

5.2 免疫组化法检测去势雄兔泪腺细胞凋亡因子 Caspase-3、Caspase-8 表达 将泪腺标本脱蜡、水化后,按照二步法免疫组化检测系统进行操作。高倍镜下观察 Caspase-3、Caspase-8 蛋白的表达情况,判断标准:免疫组化反应后阳性标记的细胞胞浆着色呈棕色或深棕色。高倍镜下随机选取泪腺视野,用图像分析系统进行图像分析处理。

5.3 Real-time PCR 检测去势雄兔泪腺细胞凋亡因子 Caspase-3、Caspase-8 mRNA 表达

5.3.1 引物设计 从 NCBI 中下载以下基因序列,引物设计采用 Primer 5.0 软件,引物序列如下表 1。

表 1 引物序列

引物	序列(5'-3')	产物大小 (bp)	退火温度 (℃)
Caspase-3-F	ATGGACAACAACGAAACCTC	143	57
Caspase-3-R	CCACTCCCAGTCATTCCTT		
Caspase-8-F	GGCCCTTCCTCGTTCATCTC	153	59
Caspase-8-R	GGTCCTGGGCCTTCCTGGT		
β-actin-F	ACGTTGCTATCCAGGCTGT	161	60
β-actin-R	CTCGGTGAGGATCTTCATG		

5.3.2 检测过程 RNA 提取及逆转录、超微量分光光度计检测 RNA 浓度与纯度、第一链 cDNA 合成,最后按 Bio-Rad CFX Connect 进行操作,实验结果计算: $\Delta\Delta Ct$  法计算相对表达量(RQ)的公式如下: $\Delta Ct = Ct$  目的基因 -  $Ct$  内参基因,  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$  实验组 -  $\Delta Ct$  对照组(此次结果选空白组为对照组),相对表达量(RQ) =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

6 统计学方法 采用 SPSS 25.0 系统软件进行实验数据分析,实验结果所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。两组比较,如果满足正态及方差齐性,采用独立样本  $t$  检验,不满足者采用秩和检验;多组比较,满足正态及方差齐性,采用单因素方差分析,不满足者采用秩和检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 各组 SIT 值水平比较(表 1) 造模前,各组

SIT 值比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 用药前及用药后与正常组比较, 模型组 SIT 值均降低 ( $P < 0.01$ ); 用药后与模型组比较, 各浓度治疗组 SIT 值升高 ( $P < 0.01$ ); 各浓度治疗组用药后与本组用药前比较, SIT 值升高 ( $P < 0.01$ )。

表 1 各组 SIT 值水平比较 (mm/5 min,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	眼数	造模前	用药前	用药后
A	10	15.17 ± 1.722	14.33 ± 3.077	14.83 ± 2.401
B	10	14.50 ± 3.834	7.17 ± 3.488*	7.67 ± 2.066*
C	10	14.00 ± 3.817	4.88 ± 2.295	12.50 ± 5.237 <sup>△△</sup>
D	10	14.20 ± 3.584	6.00 ± 3.127	14.20 ± 4.662 <sup>△△</sup>
E	10	16.88 ± 3.796	6.38 ± 2.925	14.75 ± 4.400 <sup>△△</sup>
F	10	16.00 ± 5.270	5.00 ± 2.160	17.20 ± 4.733 <sup>△△</sup>
G	10	15.20 ± 5.371	5.10 ± 2.283	15.80 ± 5.095 <sup>△△</sup>

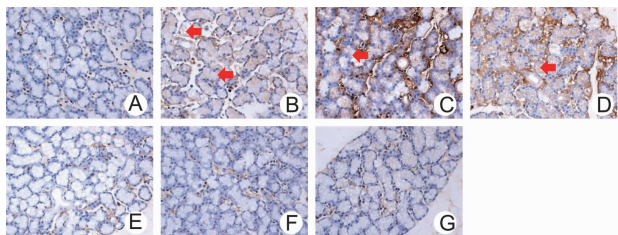
注: 与 A 组同期比较, \* $P < 0.01$ ; 与 B 组同期比较, <sup>△</sup> $P < 0.01$ ; 与本组用药前比较, <sup>▲</sup> $P < 0.01$

2 各组细胞凋亡因子 Caspase-3、Caspase-8 的表达比较 (表 2, 图 1、2) 与 A 组比较, B 组 Caspase-3、Caspase-8 表达升高 ( $P < 0.01$ )。与 B 组比较, D、F、G 组 Caspase-3 及 C、D、E、F、G 组 Caspase-8 表达降低 ( $P < 0.01$ )。各治疗组 Caspase-3 表达的比较, C 与 G 组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其他各治疗组之间比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 各治疗组 Caspase-8 表达的比较, C、D、E、F 和 G 组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

表 2 各组雄兔泪腺 Caspase-3、Caspase-8 表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

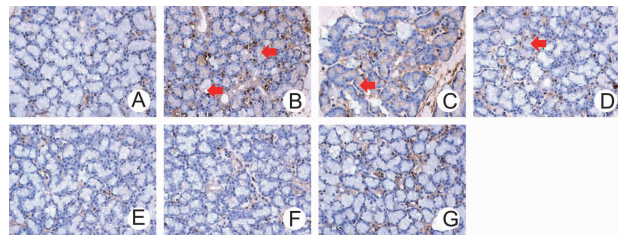
组别	眼数	Caspase-3	Caspase-8
A	10	0.226 ± 0.027	0.217 ± 0.021
B	10	0.324 ± 0.045*	0.322 ± 0.050*
C	10	0.276 ± 0.049	0.272 ± 0.033 <sup>△</sup>
D	10	0.264 ± 0.056 <sup>△</sup>	0.260 ± 0.041 <sup>△</sup>
E	10	0.270 ± 0.053	0.257 ± 0.034 <sup>△</sup>
F	10	0.244 ± 0.023 <sup>△</sup>	0.246 ± 0.026 <sup>△</sup>
G	10	0.235 ± 0.019 <sup>△▲</sup>	0.248 ± 0.012 <sup>△</sup>

注: 与 A 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 B 组比较, <sup>△</sup> $P < 0.01$ ; 与 C 组比较, <sup>▲</sup> $P < 0.05$



注: 箭头表示泪腺腺泡萎缩、空泡形成及 Caspase-3 在泪腺的表达

图 1 各组泪腺组织 Caspase-3 蛋白表达 (HE, ×400)



注: 图中箭头表示泪腺腺泡萎缩、空泡形成及 Caspase-8 在泪腺的表达

图 2 各组泪腺组织 Caspase-8 蛋白表达 (HE, ×400)

3 各组细胞凋亡因子 Caspase-3、Caspase-8 mRNA 相对表达量比较 (表 3, 图 3、4) 与 A 组比较, B 组 Caspase-3、Caspase-8 mRNA 相对表达量升高 ( $P < 0.01$ )。与 B 组比较, C、D、E、F、G 组 Caspase-3 及 D、E、F、G 组 Caspase-8 mRNA 相对表达量降低 ( $P < 0.01$ )。Caspase-3 mRNA 相对表达量组间比较, 除 D 与 G 组比较外, 其他各浓度组间比较均有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 与 C 组比较, D、E、F、G 组 Caspase-8 mRNA 相对表达量降低 ( $P < 0.01$ )。

表 3 各组 Caspase-3、Caspase-8 mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	眼数	Caspase-3	Caspase-8
A	10	1.032 ± 0.329	1.008 ± 0.153
B	10	48.685 ± 1.528*	16.849 ± 1.570*
C	10	35.958 ± 1.999 <sup>△</sup>	17.782 ± 7.535
D	10	16.681 ± 4.345 <sup>△▲</sup>	4.791 ± 1.052 <sup>△▲</sup>
E	10	23.218 ± 2.796 <sup>△▲○</sup>	5.112 ± 2.378 <sup>△▲</sup>
F	10	7.246 ± 0.926 <sup>△▲●</sup>	1.591 ± 0.896 <sup>△▲</sup>
G	10	16.036 ± 3.522 <sup>△▲●▽</sup>	3.368 ± 1.137 <sup>△▲</sup>

注: 与 A 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与 B 组比较, <sup>△</sup> $P < 0.01$ ; 与 C 组比较, <sup>▲</sup> $P < 0.01$ ; 与 D 组比较, <sup>○</sup> $P < 0.01$ ; 与 E 组比较, <sup>●</sup> $P < 0.01$ ; 与 F 组比较, <sup>▽</sup> $P < 0.01$

### 讨 论

干眼, 中医学尚无确切病名, 但根据其病情进展程度, 轻症者可归属于“白涩症”, 重症者可归属于“神水将枯”、“外障翳症”的范畴。而雄激素水平下降所致干眼常归属于重症干眼, 应属于“神水将枯”的范畴, “外障翳症”则是其病程转归的不良结果。《秘传眼科龙木论》论: “目涩者何也? 答曰: 此乃熏脏腑也。……液道枯干, 脏腑邪热传于卫, 真气不荣于目, 故目涩也”<sup>[7]</sup>, 可见“神水将枯”中医病机为内在脏腑之邪热伤阴液, 邪热传于卫表则为风热。而《素问·宣明五气篇》说: “五脏化液, 肝为泪”, 《银海精微》说: “泪乃肝之液”<sup>[8]</sup>, 可见“神水将枯”所病脏腑在肝。

本课题组经过相关理论调研和患者临床资料证实<sup>[9,10]</sup>:干眼基本病机为肝肾肺三脏阴虚,兼夹风热,并提出“滋补肝肾、养阴润肺、兼祛风热”的治疗方法。在此理论的指导下,研制了密蒙花系列制剂,如密蒙花颗粒剂、密蒙花提取物滴眼液、密蒙花总黄酮滴眼液等。本实验基于密蒙花系列制剂的主药密蒙花进行深入研究。《本草经疏》:“密蒙花为厥阴肝家之正药,所主无非肝虚有热所致。此药甘以补血,寒以除热,肝血足而诸证无不愈矣”<sup>[11]</sup>,《本草求真》:“密蒙花,甘而微寒……入肝经,除热养营”<sup>[12]</sup>,可见密蒙花外可清卫表风热,内可清肝之积热、滋肝之阴液,具有清热养肝、明目退翳之功效,切中干眼中医基本病机。

眼是性激素的主要靶器官之一,性激素受体(包括雄激素、雌激素和孕激素等)广泛存在于人、鼠、兔的泪膜功能单位中,如泪腺、睑板腺、角膜和结膜等<sup>[13]</sup>。泪腺作为雄激素的靶器官,其合成及分泌等功能受到雄激素水平的调节<sup>[14-17]</sup>。目前,雄激素替代治疗是治疗干眼的主要方法之一,但雄激素替代治疗存在不可避免的不良反应,如肝功能损害、痤疮、多毛症等<sup>[18]</sup>。密蒙花滴眼液的主要成分之一密蒙花总黄酮具有与雄激素类似的化学结构,是植物激素的一种,能起到拟雄激素作用,治疗雄激素水平下降所致干眼。

前期临床研究表明:密蒙花颗粒治疗肝肾阴亏型干眼,有较好的临床疗效<sup>[9]</sup>;实验研究证实:密蒙花颗粒能够下调去势雄兔泪腺细胞凋亡因子 Bax、Fas 和 FasL 的表达,同时能上调 Bcl-2 的表达,从而抑制泪腺细胞凋亡,维持泪腺基础分泌量,但其作用弱于雄激素<sup>[10]</sup>。并进一步研究了密蒙花初步提取物及密蒙花总黄酮治疗雄激素水平下降所致干眼均有积极的治疗作用。

滴眼液是眼科治疗最常用剂型之一,本实验对密蒙花颗粒的君药密蒙花进行高通量筛选,提取出密蒙花总黄酮和总苯丙素混合物,制备成密蒙花滴眼液并进行动物试验研究,结果显示:不同浓度的密蒙花滴眼液能有效提高去势雄兔泪腺的泪液基础分泌量;去势雄兔泪腺细胞凋亡因子 Caspase-3、Caspase-8 的检测结果显示:不同浓度的密蒙花滴眼液能下调泪腺细胞凋亡因子 Caspase-3、Caspase-8 的表达,其中,1.5 mg/mL、3.0 mg/mL 密蒙花滴眼液组下调作用更强,且各治疗组对 Caspase-8 的下调作用较 Caspase-3 更明显,导致该结果的原因可能是 Caspase-8 位于凋亡途径上游,药物对其作用更加明显。

密蒙花滴眼液可通过拟雄激素作用抑制泪腺细胞凋亡达到保护泪腺的作用<sup>[19]</sup>。相关研究发现,密蒙花

的另一主要成分密蒙花总苯丙素具有抗炎、抗氧化的作用<sup>[20]</sup>,但是其对去势雄兔泪腺的具体作用机制还有待进一步研究,密蒙花滴眼液的最佳治疗浓度也需进一步摸索,以便于科研成果转化。

**利益冲突:**所有研究人员都声明,本文的研究或发表无利益冲突。

## 参 考 文 献

- [1] Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, et al. TFOS DEWS II definition and classification report [J]. *Ocular Surface*, 2017, 15(3): 276-283.
- [2] Lemp MA. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Work Shop (2007) [J]. *Ocular Surface*, 2007, 5(2): 75-92.
- [3] 彭清华,姚小磊,吴权龙,等.密蒙花提取物滴眼剂对实验性干眼大鼠泪腺组织雄激素受体数量的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(1): 72-75.
- [4] Culig Z. Androgen receptor coactivators in regulation of growth and differentiation in prostate cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2016, 231(2): 270-274.
- [5] 魏世辉,王志军主编.眼科实验动物学[M].北京:人民军医出版社,2010: 94.
- [6] 马轶群,王传富,刘美光.去势雄兔干眼病模型角膜上皮细胞凋亡及相关基因表达的研究[J]. *眼科研究*, 2004, 22(3): 286-289.
- [7] 接传红主编.秘传眼科龙木论[M].北京:人民卫生出版社,2006: 171
- [8] 唐·孙思邈.银海精微[M].北京:人民卫生出版社,1956: 4.
- [9] 李逢春,彭清华.密蒙花复方治疗肝肾阴亏型干眼的临床疗效观察[A].第八届全国中医中西医结合眼科学术交流会议论文集汇编[C].天津:中国中西医结合学会眼科专业委员会,2009: 166-169.
- [10] 欧阳云,彭俊,彭清华,等.密蒙花颗粒剂对去势雄兔泪腺细胞凋亡因子 Bax、Bcl-2、Fas 和 FasL 的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(7): 858-862.
- [11] 明·缪希雍.神农本草经疏[M].北京:中国医药科技出版社,1997: 208.
- [12] 清·黄宫绣.本草求真[M].北京:中国中医药出版社,2008: 234.
- [13] Li L, Kang Q, Wang S, et al. Effects of androgen on ultrastructure of corneal epithelium and function of the tear film in BALB/c mice [J]. *Cornea*, 2015, 34(3): 334-341.
- [14] Schaumberg DA, Dana R, Buring JE, et al. Prev-

- alence of dry eye disease among US men: estimates from the Physicians' Health Studies [J]. Arch Ophtholmo, 2009, 127(6): 763-768.
- [15] Versura P, Giannaccare G, Campos EC. Sex-steroid imbalance in females and dry eye [J]. Curr Eye Res, 2015, 40(2): 162-175.
- [16] Truong S, Cole N, Stapleton F, et al. Sex hormones and the dry eye [J]. Clin Exp Optom, 2014, 97(4): 324-336.
- [17] 许文婧, 周波, 孙中义. 女性雄激素缺乏症的研究进展 [J]. 实用妇产科杂志, 2016, 32(9): 669-672.
- [18] 郭雷, 朱文成, 刘超. 密蒙花化学成分及生物活性研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2012, 33(7): 222-225.
- [19] 邵毅. 国际干眼新共识 (TFOS DEWS II) 解读 [J]. 眼科新进展, 2018, 38(1): 1-12.
- [20] Qin G, Zhou Y, Peng J, et al. The effect of *Buddleja officinalis maxim* eye drops on morphology and apoptosis in lacrimal gland of experimental dry eye rabbit model [J]. J Ophthalmol, 2019: 5916243.

(收稿: 2018-08-25 在线: 2019-09-06)

责任编辑: 汤 静

## 文化自信 科学发展

### ——2019 年中国医师协会中西医结合医师大会在京召开

2019 年 8 月 23—25 日, 由中国医师协会、中国医师协会中西医结合医师分会主办, 中国中医科学院西苑医院、上海长征医院、广东省中医院、中国中西医结合学会、中国中西医结合杂志社、福建省中西医结合研究院协办的 2019 年中国医师协会中西医结合医师大会在京召开。中国医师协会副会长杨民, 中国医师协会中西医结合医师分会会长、国医大师陈可冀院士, 中国工程院秦伯益院士等领导 and 嘉宾出席大会开幕式。会议开幕式由中国医师协会中西医结合医师分会常务副会长张允岭主持。

中国医师协会杨民副会长在致辞中表示, 中国医师协会中西医结合医师分会在陈可冀会长的带领下, 在全国委员的共同努力下, 始终坚持服务协调、自律维权、监督管理的办会宗旨, 在中西医结合医师队伍建设、人才培养、学术交流、规范化培训以及继续教育等方面做了大量卓有成效的工作, 为推动我国中西医结合事业的发展作出了贡献。中国医师协会将积极支持中西医结合医师分会的发展, 相信在陈可冀会长的领导下, 中西医结合医师分会一定能不负众望, 团结广大中西医结合医师, 推动行业进步, 为我国中西医结合医师队伍建设的全面发展作出新贡献。杨会长表示, 本次大会为广大中西医结合医师搭建了一个互相交流学习的平台, 希望与会代表抓住机会, 共同讨论研究中西医结合的发展之路。

中国医师协会中西医结合医师分会陈可冀会长在致辞中表示, 本届年会以“文化自信, 科学发展”为主题, 邀请了知名专家学者进行了专题讲座、主题报告、学术讨论和案例分析, 设有基础转换医学、男科、心力衰竭、呼吸病学、眼科、脑心同治以及综合医院等 7 个专场, 希望与会代表在本次会议上能有新的收获。

开幕式后, 秦伯益院士作了《医学科技创新与伦理道德考量》的主题报告; 阜外医院杨进刚教授作了《从经验医学到人工智能: 科研理念变迁和疾病防治面临的机遇和挑战》的主题报告; 中国中医科学院西苑医院马晓昌教授作了《活血化瘀法则在心力衰竭治疗中的地位和作用》的学术报告; 中国中医科学院广安门医院吴敏教授作了《从 ESC 指南探讨稳定性冠心病的治疗策略》的学术报告。

会上举行了“继承与创新”沙龙座谈, 在刘龙涛教授的主持下, 徐凤芹、张学智、陈志强、吴永健、亢泽峰、彭军教授与参会代表从理论、实践、政策、行业等不同维度, 就中西医结合事业的继承与创新的现状、难点、未来发展等方面进行了讨论。

本次年会推广了中西医结合领域的的前沿进展, 普及传播了中西医结合专业的基础知识和临床技巧, 大力促进了本领域从业人员基本理论、基本技能和基本操作水平的提高, 为推动我国中西医结合事业的发展、助力健康中国建设作出了贡献。

(中国医师协会办公室 整理)