

# 密蒙花提取物滴眼剂对实验性干眼症鼠泪腺组织细胞凋亡的影响

彭清华<sup>1</sup>, 姚小磊<sup>1</sup>, 彭俊<sup>2</sup>, 吴权龙<sup>1</sup>, 谭涵宇<sup>1</sup>, 张菁蓉<sup>1</sup>

**基金项目:**中国国家自然科学基金资助项目(No. 30772824); 中国教育部高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(No. 200805410004); 中国湖南省自然科学基金资助项目(No. 07JJ3049); 中国湖南省科技厅科研基金资助项目(No. 2009FJ3001); 中国2008 湖南省研究生创新基金资助项目

**作者单位:**<sup>1</sup>(410007) 中国湖南省长沙市, 湖南中医药大学第一附属医院眼科学重点学科;<sup>2</sup>(421001) 中国湖南省衡阳市, 南华大学医学院

**作者简介:**彭清华, 男, 教授, 主任医师, 博士, 博士生导师, 1999年获教育部全国高等院校青年教师奖, 2000年获湖南省人民政府优秀博士学位论文奖, 2001年获上海颜德馨中医药人才奖, 2005年获湖南省青年科技奖, 2003年度卫生部有突出贡献中青年专家, 第二届全国百名杰出青年中医, 2008年入选湖南省121人才工程第一层次, 2002年享受国务院政府特殊津贴, 兼中国中西医结合学会眼科专业委员会副主任委员、世界中医药学会联合会眼科分会常务理事、中华中医药学会眼科分会常务委员、湖南省中西医结合眼科专业委员会主任委员, 主要从事中西医结合防治眼底病、青光眼和眼表疾病的研究。

**通讯作者:**彭清华. pqhz\_520@163.com; 吴权龙, 男, 中西医结合眼科硕士, 副教授, 研究方向: 青光眼和眼表疾病. WQL9638@sina.com

收稿日期: 2009-11-06 修回日期: 2009-12-03

## Effects of extract of *buddleja officinalis* eye drops on lacrimal gland cells apoptosis of castrated rabbits with dry eye

Qing-Hua Peng<sup>1</sup>, Xiao-Lei Yao<sup>1</sup>, Jun Peng<sup>2</sup>, Quan-Long Wu<sup>1</sup>, Han-Yu Tan<sup>1</sup>, Jing-Rong Zhang<sup>1</sup>

**Foundation items:** General Project of National Natural Science Fund of China(No. 30772824); Project of Doctor Fund of University of Ministry of Education, China(No. 200805410004); Project of Hunan Provincial Natural Science Fund, China(No. 07JJ3049); Project of Scientific Research Fund of Hunan Provincial Science and Technology Department of China(No. 2009FJ3001); Project of Hunan Provincial Master's Innovation Fund in 2008 of China

<sup>1</sup>Key Discipline of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China; <sup>2</sup>Medical School of Nanhua University, Hengyang 421001, Hunan Province, China

**Correspondence to:** Qing-Hua Peng and Quan-Long Wu. Key Discipline of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China. pqhz\_520@163.com; WQL 9638@sina.com

Received: 2009-11-06 Accepted: 2009-12-03

## Abstract

• **AIM:** To evaluate the effects of the extract of *buddleja*

*officinalis* eye drops in basic tears secretory volume, tear film stability, expression of Bax and Bcl-2 in castrated rats with dry eye, and to investigate the therapeutic effects of extract of *buddleja officinalis* on dry eye caused by gonadal hormones level imbalance.

• **METHODS:** Forty-five Wister masculinity rats were divided randomly into 9 groups, including normal group (A1, A2 and A3), model group (B1, B2 and B3), therapy group with *buddleja officinalis* extract eye drops (C1, C2 and C3). The "1" stood for being fed for 1 month, and the "2" stood for being fed for 2 months, and the "3" stood for being fed for 3 months. The dry eye model was established with orchietomy on group B, C. Group C were treated with *buddleja officinalis* extract eye drops. All rats were detected with S I t and BUT. Bax, Bcl-2 were checked on immunohistochemistry.

• **RESULTS:** The S I t value of group C was significantly higher than that of group B ( $P < 0.01$ ) and the BUT value of group C was significantly longer than that of group B ( $P < 0.01$ ), which indicated the eye drop could significantly keep basic tears secretory volume and tear film stability. The quantity of expression of Bax in acinar epithelial cell and glandular tube cell of group C were significantly higher than that of group B ( $P < 0.01$ ) and the expression of Bcl-2 in acinar cell and glandular tube cell of group C were significantly higher than that of group B too ( $P < 0.01$ ).

• **CONCLUSION:** The main components of extract of *buddleja officinalis* is the flavonoids, which could significantly inhibit happening of dry eye of rat after androgen level lowered and lacrimal gland apoptosis and keep basic tears secretory volume and tear film stability

• **KEYWORDS:** castrate; dry eye; lacrimal gland; apoptosis; extract of *buddleja officinalis*; eye drops

Peng QH, Yao XL, Peng J, *et al.* Effects of extract of *buddleja officinalis* eye drops on lacrimal gland cells apoptosis of castrated rabbits with dry eye. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010; 10(1):40-43

## 摘要

**目的:** 观察密蒙花提取物滴眼剂对去势所致干眼症雄鼠基础泪液分泌量、泪膜稳定性、泪腺凋亡相关基因蛋白 Bax 和 Bcl-2 表达的影响。

**方法:** 将 45 只 Wister 雄性大鼠随机分为空白组 (A1, A2, A3)、模型组 (B1, B2, B3)、密蒙花提取物滴眼剂治疗组 (C1, C2, C3), 共 9 组, 1: 饲养 1mo, 2: 饲养 2mo, 3: 饲养 3mo, 每组 5 只。B, C 组行去势术建立动物模型, C 组以密蒙花提取物滴眼剂连续滴眼治疗, 对全部实验大鼠行 Schirmer I 试验、测量泪膜破裂时间, 采用免疫组织化学的方法, 对

大鼠泪腺组织中凋亡相关基因蛋白 Bax 和 Bcl-2 进行检测。

**结果:** C 组 Schirmer I 试验测量值明显高于 B 组 ( $P < 0.01$ ), 泪膜破裂时间明显长于 B 组 ( $P < 0.01$ )。泪腺导管及腺泡上皮细胞中 Bax 阳性表达的细胞数均明显低于 B 组, 而 Bcl-2 阳性表达的细胞数均明显高于 B 组 ( $P < 0.01$ )。

**结论:** 密蒙花提取物滴眼剂可显著抑制雄激素水平降低后大鼠干眼症的发生, 抑制泪腺细胞凋亡, 维持泪腺基础分泌量和泪膜的稳定性。

**关键词:** 去势; 干眼症; 泪腺; 细胞凋亡; 密蒙花提取物; 滴眼剂

DOI: 10.3969/j.issn.1672-5123.2010.01.011

彭清华, 姚小磊, 彭俊, 等. 密蒙花提取物滴眼剂对实验性干眼症大鼠泪腺组织细胞凋亡的影响. 国际眼科杂志 2010; 10(1): 40-43

## 0 引言

干眼症可导致视力明显下降, 发病率很高, 已成为目前研究的热点问题。雄激素水平下降是干眼症的重要发病原因, 雄激素替代疗法是治疗雄激素水平下降所致干眼症唯一的对因治疗方法, 但是长期使用将会带来许多难以避免的副作用。现有其他治疗方法均存在着一定的缺陷和局限性。密蒙花有效部位为黄酮类物质。雄激素和黄酮类化合物均为杂环多酚类化合物, 利用其化学结构的相似性, 发挥其拟内源性雄激素作用, 可治疗雄激素水平下降所致的干眼症。本实验观察密蒙花提取物滴眼剂去势大鼠干眼症模型泪腺组织细胞凋亡的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 取健康 1 月龄 Wistar 雄性大鼠 45 只, 体质量 0.2kg, 由湖南中医药大学动物实验中心提供。裂隙灯显微镜和眼底镜检查眼前节及眼底无异常, 地卡因眼液表面麻醉后 Schirmer I 试验 (S I t)  $\geq 10\text{mm}/5\text{min}$ , 泪膜破裂时间 (BUT)  $\geq 10\text{s}$ 。密蒙花提取物滴眼剂由湖南中医药大学第一附属医院药剂科制备。50g/L BSA 封闭液, 鼠抗鼠 Bax 和 Bcl-2 多抗, 生物素化山羊抗兔 IgG (FITC-IgG), 过氧化物酶标记链酶白卵素 (strept avidin-biotin complex, SABC) 免疫组织化学试剂盒, 3, 3'-二氨基联苯胺 (3, 3'-diaminobenzidine, DAB) 显色剂购自武汉博士德生物工程有限公司。Waters1525-2996 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司, 含 2996 二极管阵列检测器, 1525 泵, 717 自动进样器); Empower 中文色谱工作站 (美国 Waters 公司); 双光束紫外可见分光光度计 (北京普新通用仪器有限公司); LEICA DM LB2 型双目显微镜 (德国 LEICA 公司产); Shandon325 型石蜡切片机 (英国 Shandon 公司生产); DNP-9162 型电热恒温培养箱 (上海精宏实验设备有限公司生产); Motic B<sub>3</sub> 显微摄像系统 (麦克奥迪实业集团公司生产)。

**1.2 方法** 将 Wistar 雄性大鼠 45 只, 随机分为 A1, B1, C1, A2, B2, C2, A3, B3, C3, 共 9 组, 每组 5 只。A: 假手术空白组; B: 手术对照组; C: 密蒙花提取物滴眼剂治疗组; 1: 饲养 1mo; 2: 饲养 2mo; 3: 饲养 3mo。雄激素水平下降导致干眼症动物模型的制作参照马轶群等<sup>[1]</sup>的方法, 行双侧睾丸切除术 (ORX), 将 B1, B2, B3, C1, C2, C3 组实验鼠术前 12h 禁食水, 后肢大腿外侧肌肉碘伏消毒, 盐酸氯胺酮注射液 30mg/kg ip 麻醉, 雄鼠取仰卧位, 四肢张开并固定, 下腹部褪毛剂褪毛, 阴囊皮下加用 20g/L 利多卡因局部麻

醉, 碘伏消毒, 铺无菌巾单, 将一侧睾丸由腹腔挤入阴囊并捏紧, 勿使其滑动。用消毒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, 连续缝合阴囊皮肤后局部涂碘酊预防感染。另侧睾丸及附睾同法切除。A1, A2, A3 组只切开阴囊, 不切除睾丸, 术后连续缝合阴囊皮肤。术前 im 青霉素针 20 万 U, 术后连续 3d im 青霉素针 20 万 U, 预防感染。A1, B1 组每日以生理盐水滴眼, ou, tid; C1 组每日以密蒙花滴眼剂滴眼, 1 滴/次, ou, tid; 每组均滴眼 1mo。以常规饲料喂养 1mo 后处死。A2, B2 组每日以生理盐水滴眼, ou, tid; C2 组每日以密蒙花滴眼剂滴眼, 1 滴/次, ou, tid; 每组均滴眼 2mo。以常规饲料喂养 2mo 后处死。A3, B3 组每日以生理盐水滴眼, ou, tid; C3 组每日以密蒙花滴眼剂滴眼, 1 滴/次, ou, tid; 每组均滴眼 3mo。分别于分组前和常规饲料喂养末次给药完成后进行 Schirmer I 试验 (S I t) 和泪膜破裂时间 (BUT) 检查, 检测标准参照 S I t 与 BUT 的诊断标准。检查完后立即以断头法处死动物, 即刻摘除泪腺。予以 40g/L 多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 每组石蜡块予以 Shandon325 型石蜡切片机连续切片, 常规脱蜡至水, 蒸馏水洗涤 2min  $\times 2$  次。免疫组化检测严格按照说明书操作。木素轻度复染, 脱水, 透明, 封片, 显微镜观察, Motic B<sub>3</sub> 显微摄像系统进行摄像。

统计学分析: 用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析, 双侧检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 基础泪液分泌量比较** 空白组 S I t 测量值比较, 经方差分析, A1, A2, A3 各组之间均无显著性差异, 以及经自身前后配对  $t$  检验, 各组生理盐水滴眼前后, 大鼠 S I t 均无显著性差异。模型组 (B1, B2, B3) S I t 测量值比较: 经自身前后配对  $t$  检验, 雄鼠模型组去势后 1, 2, 3mo 后基础泪液分泌量明显减少, 滤纸湿长缩短, 与去势前有明显差异 ( $P < 0.01$ ), 另外经方差分析, 与 B1 组去势 1mo 后基础泪液分泌量比较, 去势 2mo 和去势 3mo 的 B2, B3 组泪腺分泌量要更低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ), 可见去势后, 泪腺的基础分泌量随着时间的增长而降低。治疗组 S I t 测量值比较, 雄鼠去势后经密蒙花提取物滴眼剂治疗后, 经方差分析, C1, C2, C3 各组之间均无显著性差异, 以及经自身前后配对  $t$  检验, 各组滴眼前后, 大鼠 S I t 均无显著性差异, 表明密蒙花提取物滴眼剂能够较好地维持泪液基础分泌量。治疗后治疗组与模型组 (C1 与 B1, C2 与 B2, C3 与 B3) S I t 测量值比较: 以滴眼前的试纸湿长为协变量, 经协方差分析, C1, C2, C3 组去势后经密蒙花提取物滴眼剂治疗, 基础泪液分泌量增加, 滤纸湿长与相应的模型组 B1, B2, B3 组比较增长明显 ( $P < 0.01$ , 表 1)。

**2.2 泪膜稳定性比较** 大鼠各组 BUT 测量值见表 2。空白组 BUT 测量值比较, 经方差分析, A1, A2, A3 各组之间均无显著性差异, 以及经自身前后配对  $t$  检验, 各组生理盐水滴眼前后, 大鼠 BUT 均无显著性差异。模型组 (B1, B2, B3) BUT 测量值比较, 经自身前后配对  $t$  检验, 雄鼠模型组去势后 1, 2, 3mo 后泪膜稳定性明显下降, 泪膜破裂时间明显缩短, 与去势前有明显差异 ( $P < 0.01$ ), 另外经方差分析, 与 B1 组去势 1mo 后泪膜稳定性比较, 去势 3mo 的 B3 组的泪膜破裂时间要更低 ( $P < 0.05$ ), 可见去势后, 泪膜稳定性随着时间的增长而逐渐呈现降低的趋势。治疗组 BUT 测量值比较, 雄鼠去势后经密蒙花提取物滴眼剂治疗后, 经方差分析, C1, C2, C3 各组之间 BUT 测量值均无

表1 大鼠各组治疗前后 S I t 测量值 ( $\bar{x} \pm s, \text{mm}$ )

分组	滴眼		1mo(1)		2mo(2)		3mo(3)
空白组	前	A1	15.3 ± 5.7	A2	14.8 ± 5.2	A3	15.3 ± 4.2
	后		15.4 ± 5.9		15.3 ± 5.0		16.1 ± 5.9
模型组	前	B1	13.4 ± 2.3	B2	15.5 ± 4.3	B3	14.5 ± 3.1
	后		6.7 ± 2.3 <sup>d</sup>		4.7 ± 1.0 <sup>a,d</sup>		2.7 ± 2.0 <sup>b,d</sup>
治疗组	前	C1	13.4 ± 3.3	C2	14.7 ± 3.7	C3	14.5 ± 3.0
	后		14.7 ± 5.3 <sup>f</sup>		13.3 ± 5.7 <sup>f</sup>		12.7 ± 5.2 <sup>f</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05, <sup>b</sup>*P* < 0.01 vs 饲养 1mo; <sup>d</sup>*P* < 0.01 vs 滴眼前; <sup>f</sup>*P* < 0.01 vs 模型组。

表2 大鼠各组治疗前后 BUT 测量值 ( $\bar{x} \pm s, \text{s}$ )

分组	滴眼		1mo(1)		2mo(2)		3mo(3)
空白组	前	A1	14.3 ± 3.2	A2	15.3 ± 0.3	A3	14.8 ± 5.7
	后		14.5 ± 2.6		14.1 ± 6.0		15.3 ± 4.4 <sup>a</sup>
模型组	前	B1	13.6 ± 1.8	B2	14.5 ± 4.1	B3	14.5 ± 4.1
	后		7.4 ± 1.1 <sup>f</sup>		6.7 ± 2.3 <sup>f</sup>		4.7 ± 2.1 <sup>a,f</sup>
治疗组	前	C1	14.6 ± 2.8	C2	14.6 ± 2.2	C3	13.8 ± 1.7
	后		14.9 ± 4.4 <sup>d</sup>		12.8 ± 2.7 <sup>d</sup>		11.8 ± 4.4 <sup>a,d</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 饲养 1mo; <sup>d</sup>*P* < 0.01 vs 模型组; <sup>f</sup>*P* < 0.01 vs 滴眼前。

表3 各组治疗后 Bax 和 Bcl-2 表达及细胞凋亡数的变化  $\bar{x} \pm s$

分组			1mo(1)		2mo(2)		3mo(3)
空白组	Bax(A)	A1	0.12 ± 0.04 <sup>d</sup>	A2	0.16 ± 0.04 <sup>d</sup>	A3	0.15 ± 0.04 <sup>d</sup>
	Bcl-2(A)		0.31 ± 0.05		0.32 ± 0.03		0.36 ± 0.09
	凋亡数		11.34 ± 4.67 <sup>d</sup>		12.01 ± 5.55 <sup>d</sup>		11.87 ± 3.22 <sup>d</sup>
模型组	Bax(A)	B1	0.64 ± 0.13	B2	0.76 ± 0.08	B3	0.80 ± 0.04
	Bcl-2(A)	B1	0.27 ± 0.07	B2	0.24 ± 0.05	B3	0.23 ± 0.02
	凋亡数		45.45 ± 9.27		58.23 ± 10.32		70.41 ± 11.68 <sup>a</sup>
治疗组	Bax(A)	C1	0.24 ± 0.09 <sup>d</sup>	C2	0.27 ± 0.16 <sup>d</sup>	C3	0.34 ± 0.07 <sup>d</sup>
	Bcl-2(A)	C1	0.50 ± 0.11 <sup>d</sup>	C2	0.49 ± 0.02 <sup>d</sup>	C3	0.52 ± 0.06 <sup>d</sup>
	凋亡数		12.77 ± 7.91 <sup>d</sup>		21.27 ± 8.89 <sup>d</sup>		31.89 ± 6.67 <sup>d</sup>

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 饲养 1mo, <sup>d</sup>*P* < 0.01 vs 模型组。

显著性差异,以及经自身前后配对 *t* 检验,各组滴眼前后,大鼠 BUT 均无显著性差异,表明密蒙花提取物滴眼剂能够较好地维持泪膜稳定性。治疗后治疗组与模型组(C1 与 B1, C2 与 B2, C3 与 B3) BUT 测量值比较,以滴眼前的泪膜破裂时间为协变量,经协方差分析, C1, C2, C3 组去势后经密蒙花提取物滴眼剂治疗,泪膜稳定性增加,泪膜破裂时间与相应的模型组 B1, B2, B3 组比增长明显 (*P* < 0.01),另外经方差分析,与 C1 组去势治疗 1mo 后泪膜稳定性比较,去势治疗 3mo 的 C3 组的泪膜破裂时间要相对较低 (*P* < 0.05),可见去势后,密蒙花提取物滴眼剂维持泪膜稳定性的能力,随着时间的增长而逐渐呈现降低的趋势。

**2.3 泪腺细胞凋亡比较** 各组细胞凋亡数量的比较:模型组(B1, B2, B3 组)去势后 1, 2, 3mo 后细胞凋亡明显增强,泪腺腺泡和导管上皮中均可见散在的阳性凋亡细胞,平均每高倍视野 45.4 ± 9.3 和 58.2 ± 10.3 和 70.4 ± 11.7) 个,经方差分析,与相应空白组(A1, A2, A3 组)比较有明显差异 (*P* < 0.01);另外经方差分析,与 B1 组比较, B3 组的细胞凋亡数量要更多 (*P* < 0.05)。光镜下可见凋亡细胞核呈棕黄色,有的细胞核中染色物质集中于核膜下呈不规则环形或半月形,有的可见分裂的细胞核。C1, C2, C3 组去势后经密蒙花提取物滴眼剂治疗 1, 2, 3mo, 细胞凋亡缓

解, C1, C2, C3 组平均每高倍视野 12.8 ± 7.9 和 21.3 ± 8.9 和 31.9 ± 6.7) 个,经方差分析,与相应模型组(B1, B2, B3 组)比较有明显差异 (*P* < 0.01, 表 3)。凋亡相关基因蛋白 Bax 及 Bcl-2 的表达:采用电子计算机图像分析技术检测各组泪腺细胞 Bax 及 Bcl-2 染色的平均吸光度值。大鼠各组治疗后 Bax 和 Bcl-2 平均吸光度测量值见表 3。结果表明空白组(A1, A2, A3) Bax 及 Bcl-2 的表达均不明显。模型组(B1, B2, B3) 去势后 1, 2, 3mo, 均可见 Bax 大量表达于细胞膜和细胞质中,呈棕黄色颗粒,而 Bcl-2 表达不明显。治疗组(C1, C2, C3) 经密蒙花提取物滴眼剂治疗后, Bcl-2 表达增强,可见其大量表达于细胞膜和细胞质中,呈棕黄色颗粒, Bax 表达较相应模型组减弱。

### 3 讨论

干眼症暂无确切的中医病名,根据其症状,轻症可归属于“白涩症”,重症可归属于“神水将枯”、“外障翳症”的范畴。而雄激素水平下降所致干眼症常属于重症干眼症,应归属于“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。”可见“神水将枯”病理机制为内因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”,可见“神水将枯”所病脏腑在肝,所以治疗原则应该在内清肝热、养肝阴,在外清卫表风热。密蒙花既能清肝,又能养肝,为厥阴肝经之正药<sup>[2]</sup>。《银海精微·药性论》曰:“密蒙花,……,入肝经,能明目。”所收录代表方剂为密蒙花散,以密蒙花为君药。《银海精微·卷之下》说:“密蒙花散:治久患内外障翳,羞明怕日,……风热气障等病皆治之。”《秘传眼科龙木论》有其治疗眼表干燥的论述:“密蒙花散:治风气攻注,两眼昏暗,眵多羞明。睑生风栗,隐涩难开,或痒或痛,……昏涩隐疼,并暴赤肿疼皆治之。”可见密蒙花在内可清肝之积热,滋肝之阴液,在外清卫表风热,恰中干眼症中医病因病机,拥有中医理论依据,为治疗干眼症的理想药物,成为其治疗干眼症的一大优势。

**3.1 密蒙花提取物治疗干眼症的可能机制** 雄激素、黄酮均为杂环多酚类化合物,可以利用其化学结构的相似性,与 AR 结合。目前研究已证明某些黄酮类化合物具有拟雄激素作用<sup>[3]</sup>,可以用于治疗因雄激素水平下降所致的某些疾病<sup>[4]</sup>。利用放射性示踪标记的方法研究还表明黄酮是细胞 AR 的刺激物,可以与细胞 AR 结合发挥生物学效应<sup>[5]</sup>。已有研究证明在密蒙花花蕾中可分离得到 8 个黄酮类化合物,密蒙花中所含黄酮也应可与 AR 结合,产生拟雄激素效应,治疗雄激素水平下降导致的疾病,自然也可包括干眼症,其可能在治疗性激素水平下降导致干眼症方面起到独到的效果<sup>[6-10]</sup>。符合干眼症西医药因病理,拥有西医理论依据。密蒙花所含黄酮可作为治疗干眼症理想的雄激素替代药物,成为其治疗干眼症的另一大优势。

**3.2 密蒙花提取物对泪腺局部细胞凋亡的影响** 细胞凋亡在免疫性疾病中起到十分重要的作用。已有研究表明正常结膜上皮和泪腺极少发生细胞凋亡现象<sup>[11]</sup>,而在干眼症患者和 KCS 的动物模型中发现结膜上皮细胞和泪腺腺泡细胞的凋亡增加<sup>[11,12]</sup>。Toda 等<sup>[13]</sup>发现,MRL/lpr 雌鼠泪腺中 *bcl-2*, *c-myb*, *c-myc*, P53 及 AR mRNA 均显著高于雄鼠。应用雄激素后,除使腺体中淋巴细胞浸润程度明显减轻的同时,泪腺中的 Bax mRNA 也明显减少,而 *bcl-2*, *c-myb* 及 AR mRNA 都明显增加。Toda 等<sup>[11]</sup>研究还发现,免疫性动物和非免疫性动物中雄激素水平与泪腺组织中 *bcl-2*, *c-myb* 的 mRNA 的含量有关,因此这可能是女性易患干眼症的原因之一,但其具体调控机制尚不清楚。另外, Azzarolo 等<sup>[14]</sup>还发现,雄激素有防止泪腺细胞凋亡,坏死和淋巴细胞浸润的作用。这说明雄激素水平高低与干眼症的泪腺细胞凋亡和炎症之间有密切的关系。本实验研究表明,通过密蒙花提取物滴眼剂的干预,抑制了细胞凋亡,表现为 C1, C2, C3 组泪腺组织中 Bcl-2 表达显著提高,而 Bax 显著降低,因此泪腺局部的细胞凋亡数量减少,正常泪腺细胞得到保护,使处于凋亡早期宣判阶段的细胞退出凋亡程序。对于雄性去势大鼠来说,这可能密蒙花总黄

酮发挥了雄激素替代的作用有关,黄酮类物质与泪腺组织中雄激素受体结合后,泪腺中的 *Bax* mRNA 明显减少,而 *bcl-2*, *c-myb* 及 AR mRNA 都明显增加,从而抑制了泪腺局部的细胞凋亡,与 Toda 等实验结果相符合。根据本研究结果,我们认为,密蒙花提取物滴眼剂一方面可以发挥拟雄激素效应,另一方面还可以抑制泪腺腺泡和腺管细胞的细胞凋亡,打破泪腺损伤的恶性循环,从而提高泪液基础分泌量,维持泪膜稳定性,改善眼表干燥状态,尤其适合围绝经期、衰老、自身免疫性疾病、服用抗雄激素药物等引起雄激素水平下降所导致的干眼症,具有良好的治疗效果。

#### 参考文献

- 1 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. 眼科研究 2004;22(3):286-289
- 2 李传课,曹建辉,彭清华,等. 中医眼科学. 北京:人民卫生出版社 2001;261
- 3 黄秀兰,周亚伟,王伟. 淫羊藿黄酮类化合物药理研究进展. 中成药 2005;27(6):19-21
- 4 Moyad MA. Complementary therapies for reducing the risk of osteoporosis in patients receiving luteinizing hormone-releasing hormone treatment/orchiectomy for prostate cancer: a review and assessment of the need for more research. *Urology* 2002;59(4 Suppl 1):34-40
- 5 Nifli AP, Bosson-Kouame A, Papadopoulou N, et al. Monomeric and oligomeric flavanols are agonists of membrane androgen receptors. *Exp Cell Res* 2005;309(2):329-339
- 6 彭清华,姚小磊,吴权龙,等. 密蒙花提取物对去势雄兔干眼症的预防作用. 中华眼科杂志 2008;44(11):1011-1019
- 7 姚小磊,彭清华,吴权龙. 密蒙花提取物治疗兔去势所致干眼症. 眼视光学杂志 2008;10(1):21-26
- 8 李怀凤,彭清华,姚小磊,等. 密蒙花总黄酮对去势雄鼠干眼症模型角膜和泪腺组织中 TNF, IL-1 表达的影响. 国际眼科杂志 2009;9(7):1248-1251
- 9 姚小磊,彭清华,吴权龙,等. 密蒙花提取物对去势导致干眼症白兔泪腺细胞凋亡的影响. 中国中医眼科杂志 2007;17(3):139-144
- 10 吴权龙,彭清华,姚小磊,等. 密蒙花提取物滴眼剂对实验性干眼症大鼠泪腺组织形态学的影响. 湖南中医药大学学报 2009;29(5):22-25
- 11 Toda I, Sullivan BD, Wickham LA, et al. Gender- and androgen-related influence on the expression of proto-oncogenes and apoptotic factors mRNA in lacrimal glands of autoimmune and non-autoimmune mice. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999;71(1-2):49-61
- 12 Gao J, Schwal TA, Addeo JV, et al. The role of apoptosis in the pathogenesis of canine keratoconjunctivitis sicca: the effect of topical cyclosporin A therapy. *Cornea* 1998;17(6):654-663
- 13 Toda I, Wickham LA, Sullivan DA. Gender and androgen treatment influence the expression of proto-oncogenes and apoptotic factors in lacrimal and salivary tissues of MRL/lpr mice. *Clin Immunol Immunopathol* 1998;86(1):59-71
- 14 Azzarolo AM, Wood RL, Mircheff AK, et al. Androgen influence on lacrimal gland apoptosis, necrosis, and lymphocytic infiltration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(3):592-602