

# 基于 Cyt-C/Caspase-3 信号通路探讨生腺布液汤对干燥综合征小鼠颌下腺细胞凋亡的影响

刘龙霞<sup>1</sup>, 张寒<sup>2</sup>, 王金娥<sup>1</sup>, 张正国<sup>3</sup>, 侯小双<sup>4</sup>, 罗亚萍<sup>4\*</sup>, 靳可心<sup>1</sup>, 张莹<sup>1</sup>

(1. 河北中医药大学研究生学院, 河北石家庄 050091; 2. 河北省胸科医院结核三科, 河北石家庄 050041; 3. 邯郸市中医院重症医学科, 河北邯郸 056001; 4. 河北中医药大学第一附属医院风湿病科, 河北石家庄 050011)

**摘要:** **目的** 探讨生腺布液汤对干燥综合征(SS)小鼠颌下腺细胞凋亡的影响。**方法** 40只非肥胖糖尿病(NOD)小鼠随机分为模型组(蒸馏水灌胃)、羟氯喹组(0.052 g/kg)及生腺布液汤低、中、高剂量组(4.98、9.88、19.76 g/kg), 每组8只, 另取8只BALB/c小鼠为正常组(蒸馏水灌胃), 连续给药8周。记录小鼠一般状态及饮水量; HE染色观察颌下腺组织损伤情况; TUNEL染色检测颌下腺细胞凋亡情况; 免疫组化法检测颌下腺组织细胞色素C(Cyt-C)、凋亡蛋白酶激活因子1(Apaf-1)、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(Caspase-3)蛋白表达; Western blot法检测颌下腺组织Bcl-2相关X蛋白(Bax)、B细胞淋巴瘤-2蛋白(Bcl-2)、Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3蛋白表达。**结果** 与正常组比较, 模型组小鼠饮水量增多( $P<0.05$ ), 颌下腺淋巴细胞浸润加重, 凋亡率及Bax、Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3蛋白表达升高( $P<0.05$ ), Bcl-2蛋白表达降低( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 除生腺布液汤低剂量组颌下腺细胞凋亡率无明显变化外( $P>0.05$ ), 羟氯喹组及生腺布液汤各剂量组小鼠饮水量减少( $P<0.05$ ), 颌下腺病理损伤减轻, 凋亡率及Bax、Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3蛋白表达降低( $P<0.05$ ), Bcl-2蛋白表达升高( $P<0.05$ )。**结论** 生腺布液汤可有效减轻SS小鼠颌下腺组织病理损伤, 改善腺体分泌功能, 其机制可能与调控Cyt-C/Caspase-3信号通路, 抑制细胞凋亡有关。

**关键词:** 生腺布液汤; 干燥综合征; 细胞凋亡; Cyt-C/Caspase-3 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2026)02-0424-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2026.02.010

## Effects of Shengxian Buye Decoction on apoptosis of submandibular gland cells in mice with Sjögren's syndrome based on the Cyt-C/Caspase-3 signaling pathway

LIU Long-xia<sup>1</sup>, ZHANG Han<sup>2</sup>, WANG Jin-e<sup>1</sup>, ZHANG Zheng-guo<sup>3</sup>, HOU Xiao-shuang<sup>4</sup>, LUO Ya-ping<sup>4\*</sup>, JIN Ke-xin<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1</sup>

(1. Graduate School of Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050091, China; 2. The Third Department of Tuberculosis, Hebei Chest Hospital, Shijiazhuang 050041, China; 3. Department of Critical Care Medicine, Handan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Handan 056001, China; 4. Department of Rheumatology, The First Affiliated Hospital of Hebei University of Chinese Medicine, Shijiazhuang 050011, China)

**ABSTRACT: AIM** To investigate the effects of Shengxian Buye Decoction on the apoptosis of submandibular gland cells in mice with Sjögren's syndrome (SS). **METHODS** Forty non-obese diabetic (NOD) mice were randomly divided into model group (distilled water), hydroxychloroquine group (0.052 g/kg) and low, medium and high dose groups (4.98, 9.88, 19.76 g/kg) of Shengdan Buye Decoction, with 8 mice in each group, and another eight BALB/c mice were taken as normal group (distilled water), and the drug was administered for 8

收稿日期: 2025-07-14

基金项目: 河北省重点研发计划项目(192777123D); 政府资助临床医学优秀人才项目(ZF2025296); 河北省老年病防治项目(2019064577)

作者简介: 刘龙霞(2000—), 女, 硕士, 从事中西医防治风湿病的研究。E-mail: YJS20234134@hebcm.edu.cn

\*通信作者: 罗亚萍(1970—), 女, 博士, 主任医师, 从事中西医防治风湿病的研究。E-mail: luoya58@163.com

weeks. The general state and water consumption were recorded. HE staining was used to observe The damage of submandibular gland tissue. TUNEL staining was used to detect the apoptosis of submandibular gland cells. Immunohistochemical method was used to detect the expressions of cytochrome C (Cyt-C), activator of apoptotic protease 1 (Apaf-1) and cysteine-dependent aspartate-directed protease 3 (Caspase-3) in submandibular gland. The expressions of Bcl-2 related X protein (Bax), B-cell lymphom -2 protein (Bcl-2), Cyt-C, Apaf-1 and Caspase-3 in submandibular gland were detected by Western blot. **RESULTS** Compared with the normal group, the water consumption of mice in the model group increased ( $P < 0.05$ ), the infiltration of submandibular gland lymphocytes increased, the apoptosis rate and the protein expressions of Bax, Cyt-C, Apaf-1 and Caspase-3 increased ( $P < 0.05$ ), and the expression of Bcl-2 decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, except for the apoptosis rate of submandibular gland cells in low dose group of Shengan Buye Decoction ( $P > 0.05$ ), the water consumption of mice in hydroxychloroquine group and each dose group of Shengan Buye Decoction group decreased ( $P < 0.05$ ), the pathological damage of submandibular gland was alleviated, and the apoptosis rate and the protein expressions of Bax, Cyt-C, Apaf-1 and Caspase-3 decreased ( $P < 0.05$ ), and the protein expression of Bcl-2 increased ( $P < 0.05$ ). **CONCLUSION** Shengxian Buye Decoction can effectively reduce the histopathological injury of submandibular gland in SS model mice and improve the secretory function of the gland, and its mechanism may be related to the regulation of Cyt-C/Caspase-3 signaling pathway and the inhibition of cell apoptosis.

**KEY WORDS:** Shengxian Buye Decoction; Sjögren's syndrome; apoptosis; Cyt-C/Caspase-3 signaling pathway

干燥综合征 (Sjögren's syndrome, SS) 是一种以慢性炎症及自身免疫系统紊乱为特征的系统性自身免疫病, 其病理特点为淋巴细胞浸润外分泌腺致其结构和功能损伤, 临床以口眼干燥为主症, 严重时累及多器官、多系统<sup>[1]</sup>。流行病学显示, SS 好发于 40 岁至 60 岁女性, 我国患病率约 0.3% ~ 0.7%, 女性发病率约为男性的 9 ~ 20 倍<sup>[2]</sup>。目前该病因机制尚未完全阐明, 治疗以局部及系统治疗为主, 系统治疗含糖皮质激素、免疫抑制剂及生物制剂, 但存在局限与不良反应, 探寻有效治疗 SS 的药物是临床亟待解决的问题<sup>[3]</sup>。唾液腺细胞凋亡是 SS 发展的重要机制<sup>[4]</sup>, 其信号通路调控涉及 Bcl-2、Caspase 家族等蛋白, 相关蛋白表达及活性变化会影响凋亡状态<sup>[5]</sup>。细胞凋亡是由 Cytochrome C (Cyt-C) 等诱导因子释放、激活 Caspase 级联反应引发<sup>[6]</sup>, 且凋亡调控紊乱可激活自身反应性淋巴细胞, 进而诱导 SS 发展<sup>[7]</sup>。

中医药治疗 SS 具有多层次、多靶点的优势<sup>[8]</sup>, 本课题组在临床实践中总结出 SS 的病机为热毒内结, 拟定以解毒散结为治法的生腺布液汤, 临床研究证实, 该方治疗热毒内结型 SS 疗效明确<sup>[9-10]</sup>。前期研究发现, 生腺布液汤可减轻 SS 模型小鼠颌下腺淋巴细胞损伤, 其可能是通过降低颌下腺及血清 BAFF、BAFFR 水平发挥作用<sup>[11]</sup>, 但对颌下腺细胞凋亡的调控机制尚不明确。因此, 本

研究拟以 Cyt-C/Caspase-3 信号通路为切入点, 探究生腺布液汤对 SS 小鼠颌下腺细胞凋亡的影响, 并剖析其潜在机制。

## 1 材料

1.1 实验动物 40 只雌性 SPF 级非肥胖糖尿病 (non-obese diabetic, NOD) 小鼠、8 只雌性 SPF 级 BALB/c 小鼠, 8 周龄, 体质量 18 ~ 22 g, 均购自北京华阜康生物科技有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2019-0008], 饲养于河北中医药大学第一附属医院动物实验中心 [实验动物使用许可证号 SYXK (冀) 2023-012], 温度 20 ~ 26 °C, 相对湿度 40% ~ 60%, 12 h/12 h 明暗循环, 自由饮水。实验方案经河北中医药大学伦理委员会审批通过 (伦理号 DWLL202401023)。

1.2 药物 生腺布液汤由金银花、连翘各 15 g, 黄芪、石斛各 30 g, 夏枯草 20 g, 浙贝母、炙鳖甲各 10 g, 土鳖虫 8 g, 鸡内金、淫羊藿、穿山龙、山药、密蒙花、葛根各 15 g, 炙甘草、赤芍、牡丹皮、秦艽各 10 g 组成, 以上药物采用由神威药业集团有限公司生产的颗粒剂, 均购自河北省中医院中药房。阳性对照药硫酸羟氯喹片 (国药准字 H19990263) 购自上海上药中西制药有限公司。

1.3 试剂 Bax、Bcl-2、Apaf-1、Cyt-C、Caspase-3 抗体 (上海泊湾生物科技有限公司, 批号分别为 CY5059、CY6717、CY5263、CY5628、CY5048);

DAPI 染色试剂、抗荧光淬灭封片剂、蛋白酶 K、TUNEL 试剂盒（武汉赛维尔生物科技有限公司，批号分别为 G1012、G1401、G1205、G1502）。

1.4 仪器 LT602 型精密电子天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；D3024R 型台式高速冷冻离心机（上海力申科学仪器有限公司）；RM2016 型病理切片机（上海徠卡仪器有限公司）；E100 型生物显微镜 [尼康仪器（上海）有限公司]；RM2016 型石蜡切片机（德国徠卡公司）；Donatello 型生物组织包埋机（浙江省金华市科迪仪器设备有限公司）；SVE-2 型垂直电泳仪、SVT-2 型转印电泳仪（美国伯乐公司）；G9055-4 型抗体孵育盒、SCG-W2000 型化学发光成像系统（武汉赛维尔生物科技有限公司）。

## 2 方法

2.1 分组及给药 40 只 NOD 小鼠采用随机数字表法分为模型组、羟氯喹组及生腺布液汤低、中、高剂量组，每组 8 只，另取 8 只 BALB/c 小鼠作为正常组。给药剂量根据《药理实验方法学》<sup>[12]</sup> 记载的人与小鼠体表面积折算方法计算，生腺布液汤低、中、高剂量组给药剂量分别为 4.98、9.88、19.76 g/kg（相当于 70 kg 成人每日临床剂量的 0.5、1 和 2 倍）；羟氯喹组给药剂量为 0.052 g/kg（相当于成人每日剂量 0.4 g）；正常组和模型组灌胃给予等量蒸馏水，每天 1 次，每次 0.2 mL，连续干预 8 周。

2.2 样本采集 给药 8 周后，各组小鼠禁食不禁水 24 h，脱颈法处死小鼠，分离颌下腺组织。取一侧腺体置于 4% 多聚甲醛中固定，用于 HE 染色、TUNEL 荧光染色及免疫组化检测；另一侧颌下腺置于 -80 °C 冰箱中保存，用于蛋白定量分析。

2.3 小鼠一般状态及饮水量观察 每日给药前，观察并记录各组小鼠精神状态、肢体活动及皮毛色泽等一般情况。采用标准化饮水量监测，每日上午 10 时，将水瓶注水至 150 mL，次日同一时间记录剩余水量后补充至 150 mL。

2.4 HE 染色观察颌下腺组织病理形态变化 取出于 4% 多聚甲醛中固定的颌下腺组织，依次进行脱水、浸蜡和包埋处理，制备成 5 μm 切片，进行常规 HE 染色，于光学显微镜下观察组织病理形态变化。

2.5 TUNEL 法观察颌下腺组织细胞凋亡情况 取颌下腺组织切片，用组化笔圈组织，滴加蛋白酶 K 于 37 °C 孵育 20 min，PBS 洗涤 3 次；滴加 Buffer

室温孵育 10 min，加入 TUNEL 反应液于 37 °C 湿盒内孵育 1 h，加入 DAPI 避光孵育 10 min，封片，于荧光显微镜下观察。采用 Image J 软件对凋亡细胞数与总细胞数进行定量统计，并计算细胞凋亡率，公式为细胞凋亡率 = 凋亡细胞数/总细胞数 × 100%。

2.6 免疫组化法检测颌下腺组织 Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3 蛋白表达 取颌下腺组织切片，置于 1 : 50 稀释的 EDTA 修复液，煮沸修复 20 min 后自然冷却 10~20 min，组化笔圈组织，PBS 洗涤 3 次；使用 3% BSA 37 °C 封闭 30 min，滴加稀释后的一抗 4 °C 孵育过夜，再滴加相对应的二抗室温孵育 50 min，DAB 显色、冲洗，苏木素复染 3 min，脱水后中性树胶封片，于显微镜下观察。采用 Image J 软件对切片进行半定量分析，计算各组小鼠颌下腺阳性细胞百分比。

2.7 Western blot 法检测颌下腺组织 Bax、Bcl-2、Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3 蛋白表达 取出于 -80 °C 冰箱中保存的颌下腺组织，剪碎后置于 EP 管中，加入 200 μL 裂解液，匀浆，离心后得到上清液，采用 BCA 蛋白定量法测定蛋白浓度，随后进行电泳、转膜和封闭，并分别加入一抗 Bax、Bcl-2、Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3（1 : 1 000）4 °C 孵育过夜，再加入相对应的二抗（1 : 5 000）室温孵育 2 h，加入 ECL 进行显色，通过 Image J 6.0 软件对蛋白条带进行灰度值分析，根据目的蛋白与内参灰度值比值计算目的蛋白相对表达。

2.8 统计学分析 通过 SPSS 26.0 软件进行处理，符合正态分布的计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，组间比较采用单因素方差分析，事后检验采用 LSD 法；若数据不满足正态分布或方差齐性要求，则采用 Kruskal-Wallis 检验，显著性水平设定为  $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

3.1 生腺布液汤对 SS 小鼠一般状态及饮水量的影响 实验过程中，正常组小鼠状态良好，被毛光洁，摄食饮水正常；模型组小鼠则出现精神萎靡、被毛粗糙及脱毛等病理表现；羟氯喹组及生腺布液汤各剂量组小鼠精神状态较好，偶见毛发脱落、分布不均现象。

与正常组比较，第 0、4、8 周时模型组小鼠饮水量增加 ( $P < 0.05$ )。第 4、8 周时，与模型组比较，羟氯喹组及生腺布液汤各剂量组小鼠饮水量均

减少 ( $P < 0.05$ ), 且各给药组饮水量随时间延长呈持续下降趋势 ( $P < 0.05$ ), 见表1。

表1 各组小鼠饮水量比较 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

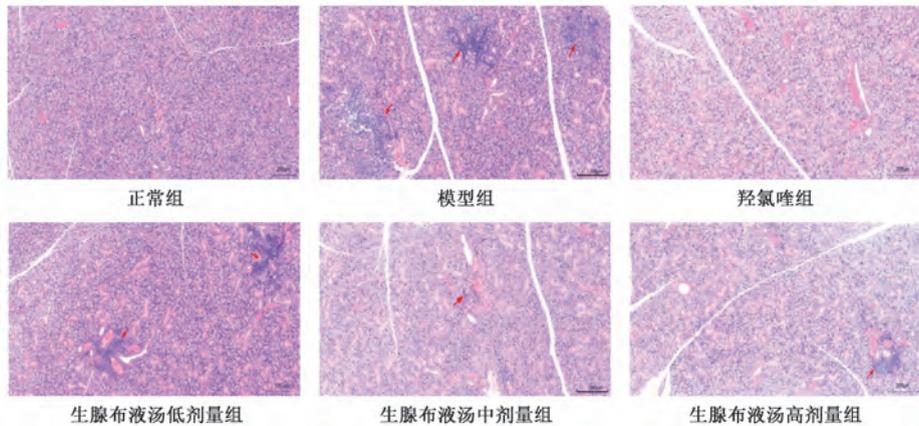
Tab. 1 Comparison of water intake among mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	0周	4周	8周
正常组	19.76±0.88	19.75±0.95	19.69±1.00
模型组	34.81±0.30*	35.42±0.17*	35.98±0.23*
羟氯喹组	34.78±0.28	33.05±0.38 <sup>#△</sup>	31.06±0.55 <sup>#▲</sup>
生腺布液汤低剂量组	34.59±0.24	34.03±0.20 <sup>#△</sup>	33.08±0.23 <sup>#▲</sup>
生腺布液汤中剂量组	34.66±0.27	33.10±0.39 <sup>#△</sup>	31.38±0.25 <sup>#▲</sup>
生腺布液汤高剂量组	33.98±0.37	32.01±0.19 <sup>#△</sup>	29.75±0.23 <sup>#▲</sup>

注: 与正常组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ ; 与同组0周比较, <sup>△</sup>  $P < 0.05$ ; 与同组4周比较, <sup>▲</sup>  $P < 0.05$ 。

3.2 生腺布液汤对SS小鼠颌下腺组织病理形态的影响 正常组小鼠颌下腺组织结构完整, 腺泡排列规则, 仅见少量散在淋巴细胞; 与正常组比较, 模型组小鼠颌下腺呈现明显的淋巴细胞浸润性病变, 可见多处浸润灶, 腺体结构受损, 腺体及腺管均呈萎缩状态, 腺泡形态各异、大小不均; 与模型组比

较, 羟氯喹组及生腺布液汤中、高剂量组小鼠颌下腺细胞及腺体实质受损程度较轻, 各给药组小鼠淋巴细胞浸润程度显著降低, 腺体实质损伤显著减轻, 而生腺布液汤低剂量组小鼠淋巴细胞浸润程度和实质损伤程度改善幅度相对较小, 见图1。



注: 红色箭头表示淋巴细胞浸润。

图1 各组小鼠颌下腺组织形态学 (HE染色, ×200)

Fig. 1 Histomorphology of submandibular gland of mice in each group (HE staining, ×200)

3.3 生腺布液汤对SS小鼠颌下腺组织细胞凋亡的影响 与正常组比较, 模型组小鼠颌下腺组织细胞凋亡率升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 羟氯喹组及生腺布液汤中、高剂量组细胞凋亡率均降低 ( $P < 0.05$ ), 见图2、表2。

表2 各组小鼠颌下腺细胞凋亡率比较 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab. 2 Comparison of apoptosis rate of submandibular gland cells in each group of mice ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	细胞凋亡率/%
正常组	0.16±0.03
模型组	6.83±0.44*
羟氯喹组	2.58±0.33 <sup>#</sup>
生腺布液汤低剂量组	6.71±0.45
生腺布液汤中剂量组	3.17±0.15 <sup>#</sup>
生腺布液汤高剂量组	3.13±0.14 <sup>#</sup>

注: 与正常组比较, \*  $P < 0.05$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ 。

3.4 生腺布液汤对SS小鼠颌下腺组织Cyt-C/Caspase-3信号通路相关蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组小鼠颌下腺组织Cyt-C、Apaf-1及Caspase-3蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比较, 羟氯喹组及生腺布液汤各剂量组小鼠颌下腺组织Cyt-C、Apaf-1及Caspase-3蛋白表达均降低 ( $P < 0.05$ ); 与羟氯喹组比较, 生腺布液汤高剂量组Cyt-C蛋白表达降低 ( $P < 0.05$ ), Apaf-1及Caspase-3蛋白表达升高 ( $P < 0.05$ ), 低、中剂量组Cyt-C、Apaf-1及Caspase-3蛋白表达均升高 ( $P < 0.05$ ), 见图3~4、表3。

3.5 生腺布液汤对SS小鼠颌下腺组织Bax、Bcl-2蛋白表达的影响 与正常组比较, 模型组小鼠颌下腺组织促凋亡蛋白Bax表达升高 ( $P < 0.05$ ), 抑凋亡蛋白Bcl-2表达降低 ( $P < 0.05$ ); 与模型组比

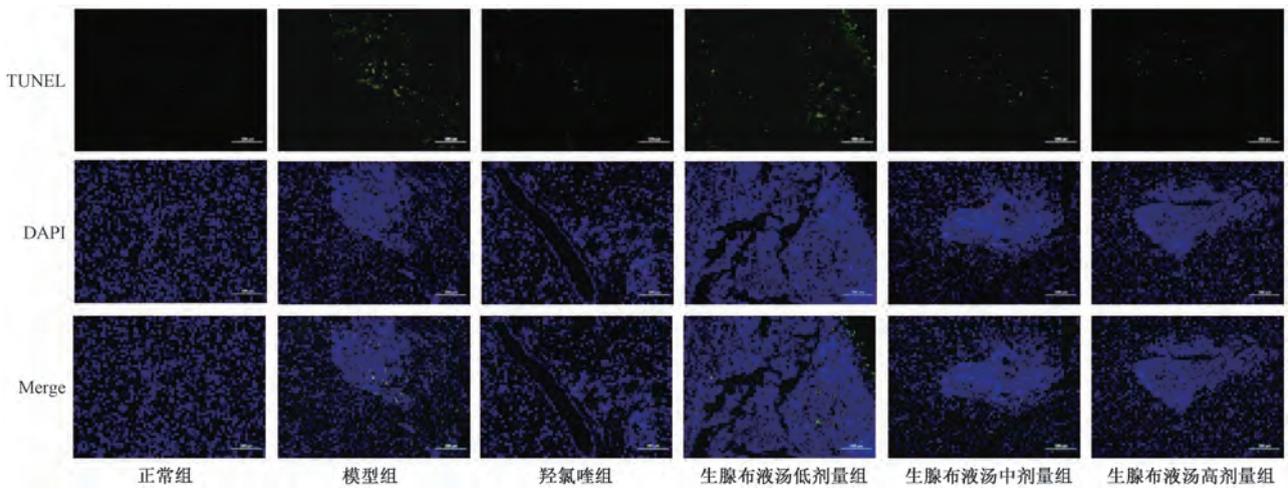


图2 各组小鼠颌下腺组织细胞凋亡情况 (TUNEL 染色, ×200)

Fig. 2 Apoptosis of submandibular gland cells in mice of each group (TUNEL staining, ×200)

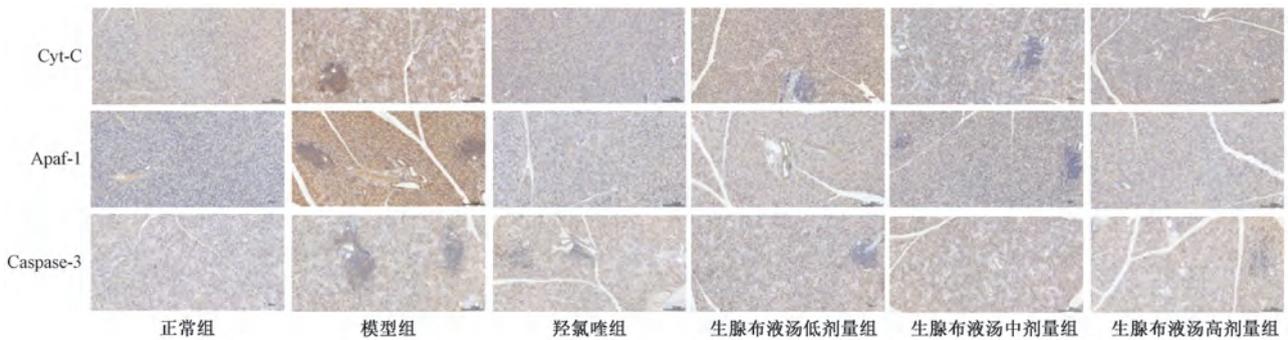


图3 各组小鼠颌下腺组织 Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3 蛋白免疫组化染色图 (×200)

Fig. 3 Immunohistochemical staining of Cyt-C, Apaf-1 and Caspase-3 proteins in submandibular gland of mice in each group (×200)

表3 各组小鼠颌下腺组织 Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3 蛋白表达比较 ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=8$ )

Tab. 3 Comparison of protein expressions of Cyt-C, Apaf-1 and Caspase-3 in submandibular gland of mice in each group ( $\bar{x}\pm s$ ,  $n=8$ )

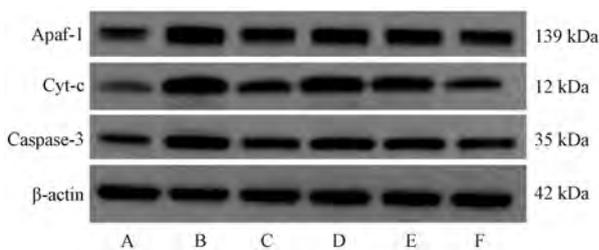
组别	免疫组化			Western blot		
	Cyt-C	Apaf-1	Caspase-3	Cyt-C	Apaf-1	Caspase-3
正常组	28.59±0.54	20.45±1.02	18.65±1.91	0.15±0.05	0.19±0.06	0.21±0.12
模型组	43.42±2.70*	30.95±1.72*	36.47±1.66*	1.34±0.13*	1.11±0.10*	1.06±0.12*
羟氯喹组	31.44±1.37 <sup>#</sup>	22.10±0.96 <sup>#</sup>	22.66±1.64 <sup>#</sup>	0.68±0.10 <sup>#</sup>	0.45±0.07 <sup>#</sup>	0.39±0.09 <sup>#</sup>
生腺布液汤低剂量组	38.36±2.01 <sup>#△</sup>	27.81±1.59 <sup>#△</sup>	33.47±1.46 <sup>#△</sup>	1.16±0.12 <sup>#△</sup>	0.95±0.12 <sup>#△</sup>	0.88±0.16 <sup>#△</sup>
生腺布液汤中剂量组	34.01±1.45 <sup>#△</sup>	26.15±1.19 <sup>#△</sup>	30.95±1.97 <sup>#△</sup>	0.86±0.16 <sup>#△</sup>	0.79±0.16 <sup>#△</sup>	0.71±0.10 <sup>#△</sup>
生腺布液汤高剂量组	31.56±1.13 <sup>#</sup>	24.13±0.67 <sup>#△</sup>	28.56±2.16 <sup>#△</sup>	0.52±0.14 <sup>#△</sup>	0.61±0.14 <sup>#△</sup>	0.55±0.07 <sup>#△</sup>

注: 与正常组比较, \* $P<0.05$ ; 与模型组比较, <sup>#</sup> $P<0.05$ ; 与羟氯喹组比较, <sup>△</sup> $P<0.05$ 。

较, 羟氯喹组及生腺布液汤各剂量组小鼠颌下腺组织 Bax 蛋白表达均降低 ( $P<0.05$ ), Bcl-2 蛋白表达均升高 ( $P<0.05$ ); 与羟氯喹组比较, 生腺布液汤高剂量组小鼠颌下腺组织 Bax 蛋白表达无明显变化 ( $P>0.05$ ), Bcl-2 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ), 低、中剂量组 Bax 蛋白表达升高 ( $P<0.05$ ), Bcl-2 蛋白表达降低 ( $P<0.05$ ), 见图 5、表 4。

#### 4 讨论

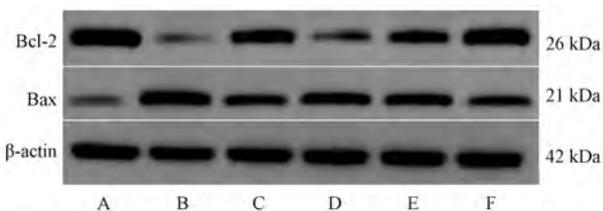
中医学将 SS 归于燥证及燥痹范畴, SS 病性属本虚标实, 阴虚津亏为本, 燥毒瘀结为标, 医家多以养阴生津润燥治之<sup>[13]</sup>。本课题组在多年临床观察与研究中发现, 内毒是 SS 发病的关键, 热毒分为外感、内生两类, 外感燥热毒邪易耗津致瘀伤气血, 内生热毒多由阴虚、肝郁等酿生, 久则毒瘀互



注：A为正常组，B为模型组，C为羟氯喹组，D~F分别为生腺布液汤低、中、高剂量组。

图4 各组小鼠颌下腺组织 Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3 蛋白条带图

Fig. 4 Protein bands of Cyt-C, Apaf-1 and Caspase-3 in the submandibular gland of mice in each group



注：A为正常组，B为模型组，C为羟氯喹组，D~F分别为生腺布液汤低、中、高剂量组。

图5 各组小鼠颌下腺组织 Bcl-2、Bax 蛋白条带图

Fig. 5 Protein bands of Bcl-2 and Bax in the submandibular gland of mice in each group

表4 各组小鼠颌下腺组织 Bcl-2、Bax 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

Tab. 4 Comparison of Bcl-2 and Bax protein expressions in the submandibular gland of mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n=8$ )

组别	Bcl-2	Bax
正常组	1.27±0.13	0.14±0.05
模型组	0.17±0.07*	0.96±0.15*
羟氯喹组	0.88±0.22#	0.35±0.10#
生腺布液汤低剂量组	0.35±0.06# <sup>△</sup>	0.78±0.19# <sup>△</sup>
生腺布液汤中剂量组	0.64±0.14# <sup>△</sup>	0.62±0.11# <sup>△</sup>
生腺布液汤高剂量组	1.07±0.10# <sup>△</sup>	0.36±0.05#

注：与正常组比较，\* $P<0.05$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ；与羟氯喹组比较，<sup>△</sup> $P<0.05$ 。

结，诸热毒结于关节、组织及脏腑，可致关节肿痛、颌下腺淋巴细胞灶性浸润、腮腺肿大及间质性肺病等病变<sup>[14]</sup>，故提出热毒内结是 SS 的重要发病机制，自拟以解毒散结为治法的生腺布液汤，前期临床研究证实其能有效改善 SS 患者的干燥症状，降低疾病活动度<sup>[9-10]</sup>。

SS 主要累及唾液腺、泪腺等外分泌腺体，核心病理改变是唾液腺上皮细胞 (SGECs) 的自身免疫性损伤<sup>[15]</sup>，SGECs 稳态失衡可导致外分泌功能

障碍、自身免疫反应及炎症介导的腺体损伤<sup>[16]</sup>。研究表明，外分泌腺上皮细胞凋亡是 SS 中自身抗原暴露的关键病理环节<sup>[5]</sup>。细胞凋亡作为程序性细胞死亡的重要形式，可由细胞损伤或外界应激触发，在维持机体正常生理过程发挥关键作用<sup>[17]</sup>，其调控异常与自身免疫性疾病发病机制密切相关<sup>[18]</sup>。另有研究发现，唾液腺上皮细胞中的自身抗原在凋亡过程中呈动态转位：早期至细胞膜、晚期至凋亡小体，进一步提示凋亡参与 SS 发病<sup>[6]</sup>。现有研究表明，细胞凋亡与 Hippo-YAP/TAZ、PI3K/Akt 等信号通路相关<sup>[2,19]</sup>；此外，水通道蛋白 5 也参与调控，可通过调节细胞渗透压激活 TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B、Fas/FasL 等炎症因子通路诱导凋亡<sup>[17]</sup>。细胞凋亡经内、外源性信号通路启动，均依赖 Caspase 家族蛋白的级联激活执行，线粒体内途径 Cyt-C/Caspase-3 信号通路在 SS 及细胞凋亡中起到关键作用<sup>[4]</sup>。Bcl-2 蛋白家族是线粒体凋亡途径的核心调控分子，包含促凋亡蛋白 Bax 与抗凋亡蛋白 Bcl-2，两者动态平衡决定细胞凋亡进程<sup>[20]</sup>。Cyt-C 是凋亡起始因子，Caspase-3 是凋亡的最终执行者，Bax 与 Bcl-2 失衡使线粒体膜通透性增加，Cyt-C 释放入细胞质与 Apaf-1 结合，再与 Caspase-9 形成凋亡小体，进而激活下游 Caspase-3，通过级联反应促使细胞凋亡<sup>[21-22]</sup>。黄子玮等<sup>[2]</sup>研究发现，下调 Bax/Beclin-1 表达、上调 Bcl-2 表达可抑制颌下腺细胞凋亡。另有研究表明，SS 患者唇腺组织中 Cyt-C、Caspase-3 表达均上调，且 Cyt-C 与凋亡程度呈正相关<sup>[22-24]</sup>。Cyt-C 的释放受 Bcl-2/Bax 的平衡调控，基因敲除研究证实其是线粒体损伤的关键标志物<sup>[25]</sup>。故干预线粒体依赖性凋亡通路 (Cyt-C/Caspase-3 轴) 是减缓 SS 唾液腺损伤的重要机制。本研究结果显示，生腺布液汤可减少 SS 小鼠的饮水量，有效降低 Bax、Cyt-C、Apaf-1、Caspase-3 蛋白表达及细胞凋亡率，升高 Bcl-2 表达，减少淋巴细胞浸润，提示生腺布液汤可能是通过抑制 Cyt-C/Caspase-3 信号通路，减轻腺体病理损伤，增加唾液分泌，改善 SS 小鼠的干燥症状。

综上所述，生腺布液汤可有效减轻 SS 小鼠颌下腺组织病理损伤，改善分泌功能，其机制可能是通过调节 Bax、Bcl-2 凋亡相关蛋白，影响 Cyt-C/Caspase-3 信号通路以抑制细胞凋亡。本研究从凋亡角度初步验证其机制，但动物实验有局限性，后续将开展细胞实验进行体外验证。

参考文献:

- [ 1 ] 石燕楠,徐蕊,钱捷,等.干燥综合症的发病机制及治疗研究进展[J].南通大学学报(医学版),2024,44(5):473-478.
- [ 2 ] 黄子玮,陶庆文,廖佳禾,等.化湿润燥方调控 Hippo-YAP/TAZ 表达对干燥综合征小鼠颌下腺细胞凋亡和功能的影响[J].北京中医药大学学报,2024,47(11):1527-1540.
- [ 3 ] 张文,厉小梅,徐东,等.原发性干燥综合征诊疗规范[J].中华内科杂志,2020,59(4):269-276.
- [ 4 ] Zhou J N, Pathak J L, Liu Q W, et al. Modes and mechanisms of salivary gland epithelial cell death in Sjogren's syndrome[J]. *Adv Biol*, 2023, 7(12): e2300173.
- [ 5 ] 张赛,沈正东,郑凌琦,等.活血解毒方对HSG细胞凋亡中Caspase家族及关键蛋白的影响[J].中华中医药杂志,2023,38(7):3310-3313.
- [ 6 ] 李奇玮,田森元,梁华,等.细胞凋亡在干燥综合征中的研究进展[J].中国医药导报,2023,20(11):41-44.
- [ 7 ] Okuma A, Hoshino K, Ohba T, et al. Enhanced apoptosis by disruption of the STAT3-IκB-ζ signaling pathway in epithelial cells induces Sjogren's syndrome-like autoimmune disease[J]. *Immunity*, 2013, 38(3): 450-460.
- [ 8 ] 刘维,岳青云,陈常青,等.中医药在干燥综合征治疗中的应用[J].中草药,2024,55(10):3516-3528.
- [ 9 ] 郜晨静,侯小双,马琳,等.生腺布液汤对干燥综合征临床疗效影响的研究[J].河北中医药学报,2023,38(5):41-45.
- [ 10 ] 王可心,郜晨静,罗亚萍,等.生腺布液汤治疗热毒内结型原发性干燥综合征临床观察[J].河北中医,2023,45(11):1787-1791.
- [ 11 ] 张寒,郝梦桃,王可心,等.生腺布液汤对干燥综合征NOD小鼠B细胞活化因子及B细胞活化因子受体表达的影响[J].陕西中医,2024,45(8):1036-1041.
- [ 12 ] 徐叔云,卞如濂,陈修.《药理学实验方法学》第二版出版发行[J].中国药理学通报,1992,8(1):19.
- [ 13 ] 黄心雨,苏虹,栗胜勇.中医药治疗干燥综合征研究进展[J].广西中医药大学学报,2025,28(2):55-59.
- [ 14 ] 郜晨静,侯小双,郝梦桃,等.罗亚萍教授应用中医药治疗干燥综合征临床经验[J].河北中医,2022,44(9):1539-1542.
- [ 15 ] 何伟倩,吴春风,李小芬,等.梓醇调控涎腺上皮细胞Inc-NONHSAT071210表达治疗干燥综合征模型小鼠的作用机制[J].中国免疫学杂志,2025,41(4):798-802.
- [ 16 ] Carvajal P, Aguilera S, Jara D, et al. hsa-miR-424-5p and hsa-miR-513c-3p dysregulation mediated by IFN-γ is associated with salivary gland dysfunction in Sjogren's syndrome patients[J]. *J Autoimmun*, 2023, 138: 103037.
- [ 17 ] 王友霞,李翠娟,巩振东,等.AQP5调控细胞程序性死亡在干燥综合征中的研究现状[J].重庆医科大学学报,2025,50(10):1385-1391.
- [ 18 ] 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.
- [ 19 ] Fan Z Y, Liu Y H, Shi Z L, et al. MiR-155 promotes interleukin-1β-induced chondrocyte apoptosis and catabolic activity by targeting PIK3R1-mediated PI3K/Akt pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(15): 8441-8451.
- [ 20 ] Ola M S, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351(1-2): 41-58.
- [ 21 ] 羊璞,栗胜勇,王甜.电针对慢性疼痛抑郁共病大鼠海马组织Cyt-C、Caspase-9表达的影响[J].中国中医药信息杂志,2024,31(3):85-91.
- [ 22 ] 包慧琦,张英,彭川洋,等.原发性干燥综合征患者唇腺组织中Caspase-3表达研究[J].中国实用口腔科杂志,2014,7(9):538-540.
- [ 23 ] Kang Y, Sun Y, Zhang Y, et al. Cytochrome c is important in apoptosis of labial glands in primary Sjogren's syndrome[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(1): 1993-1997.
- [ 24 ] 康媛媛,张英. CytC在原发性干燥综合征患者唇腺中的异常表达[J].上海口腔医学,2013,22(6):680-683.
- [ 25 ] 高慧,王帅,何璠珂,等.通脉降浊颗粒对动脉粥样硬化伴情志失调合病的细胞凋亡机制及相关因子表达的影响[J].时珍国医国药,2024,35(11):2581-2586.