

本文引用:李玲,李点,李玲,袁婷,黄家望.基于p38 MAPK信号通路研究养阴润目丸治疗干眼兔的作用机制[J].湖南中医药大学学报, 2019,39(10):1189-1194.

基于 p38 MAPK 信号通路研究养阴润目丸治疗干眼兔的作用机制

李玲¹,李点^{2*},李玲³,袁婷¹,黄家望¹

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007;
3.江门市五邑中医院,广东 江门 529000)

〔摘要〕目的 探讨基于 p38 MAPK 信号通路研究养阴润目丸治疗干眼兔的作用机制。**方法** 采用氢溴酸东莨菪碱皮下注射途径制备干眼兔模型,按随机数字表法分成模型组、p38 抑制剂组、阳性药物(杞菊地黄丸)组和低、中、高剂量养阴润目丸组,同步设不造模的正常组,6只/组。各组按相应处理方式连续干预2周后,检测各组兔泪液分泌量、泪腺病理形态、泪腺组织凋亡细胞的表达及泪腺组织中 p38 MAPK、Bax、Bcl-2 蛋白和 mRNA 表达情况。**结果** 养阴润目丸组和阳性药物组能增加干眼兔模型泪液分泌量,抑制泪腺细胞的凋亡,下调 p38 MAPK、Bax 的蛋白和 mRNA 表达,上调 Bcl-2 的蛋白和 mRNA 表达水平,与模型组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 养阴润目丸能够通过纠正 Bax/Bcl-2 失衡,改善干眼泪腺细胞凋亡,进而减轻泪腺细胞损伤,恢复泪腺细胞的代谢功能,与调控 p38 MAPK 的关系极为密切,这可能是其治疗干眼的重要机制之一。

〔关键词〕 干眼;养阴润目丸;泪腺;细胞凋亡;p38 MAPK

〔中图分类号〕R285.5;R777 **〔文献标志码〕**A **〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2019.10.004

Study on the Mechanism of Yangyin Runmu Pills in the Treatment of Rabbit with Dry Eye Based on p38 MAPK Signaling Pathway

LI Ling¹, LI Dian^{2*}, LI Ling³, YUAN Ping¹, HUANG Jiawang¹

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China; 3. Jiangmen Wuyi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Jiangmen, Guangdong 529000, China)

〔Abstract〕 Objective To explore the mechanism of Yangyin Runmu Pills in the treatment of rabbit model with dry eye based on p38 MAPK signaling pathway. **Methods** Dry eye rabbit models were established by subcutaneous injection of scopolamine hydrobromide. According to random number table method, they were divided into model group, p38 inhibitor group, positive medicine (Qiju Dihuang Pills) group, low, medium and high dose Yangyin Runmu Pills groups, and normal group without modeling, 6 rabbits/group. After 2 weeks of continuous intervention, lacrimal secretion volume, pathological morphology of lacrimal gland, expression of apoptotic cells in lacrimal gland tissue, as well as expressions of p38 MAPK, Bax and Bcl-2 protein and mRNA in lacrimal gland tissue were detected. **Results** In the Yangyin Runmu Pills groups and the positive medicine group, the lacrimal secretion volume was increased, the apoptosis of lacrimal gland cells was inhibited, the expressions of p38 MAPK, Bax protein and mRNA were down-regulated, and the expression levels of Bcl-2 protein and mRNA were up-regulated, which were significantly different from those in the model group ($P<0.05$). **Conclusion** Yangyin Runmu Pills can improve the apoptosis of dry eye lacrimal gland cells by correcting the imbalance of Bax/Bcl-2, thereby alleviating the damage of lacrimal gland cells and restoring the metabolic function of lacrimal gland cells, and it is closely related to the regulation of p38 MAPK, which may be one of the important mechanisms in the treatment of dry eye.

〔Keywords〕 dry eye; Yangyin Runmu Pills; lacrimal gland; cell apoptosis; p38 MAPK

〔收稿日期〕2018-11-07

〔基金项目〕国家自然科学基金项目(81674030);长沙市科技局科技计划项目(Kq1606005);湖南省发展与改革委员会科研项目(湘财企指[2016]65号)。

〔作者简介〕李玲,女,高级实验师,研究方向:中医药抗菌抗病毒免疫学机制与药效物质基础研究。

〔通讯作者〕*李点,女,主任医师,教授,硕士研究生导师,E-mail:1103968933@qq.com。

干眼是指任何原因造成的一种泪液(质或量异常)和眼表疾病,包括眼表不适症状,视力变化和泪膜不稳定,并伴随泪液渗透压升高和眼表炎症反应为特征的多种疾病的总称^[1],这种损伤日久则可造成角膜结膜病变,并会影响视力,严重干眼可引起视力明显下降从而影响患者正常的工作和生活,甚至导致失明。随着现代生活使用电脑、电视、游戏机等终端屏幕的普及,环境中烟尘等颗粒物的污染,年龄、激素水平的影响,眼部创伤史、用药史及手术史,以及因年龄、性激素水平和自身免疫性疾病等因素引起的眼局部病变,使干眼的发病率呈逐年升高趋势^[2]。

本课题组多年临床实践治疗干眼的经验方养阴润目丸已成为湖南中医药大学第一附属医院院内制剂^[3-5]。本项目在前期研究的基础上,拟通过养阴润目丸干预氢溴酸东莨菪碱皮下注射途径建立的泪液缺乏性干眼兔模型,检测 p38 MAPK 蛋白和基因的表达特点及与泪腺细胞凋亡的规律,从新的视角阐释干眼发病、发展的可能机制以及养阴润目丸的干预作用。

1 实验材料

1.1 主要仪器

Synergy2 多功能酶标仪(美国 Bio-Tek);IQ5 实时定量 PCR 仪,Western blot 系统,ChemiDoc XRS+ 化学发光成像分析系统(美国 Bio-Rad)。

1.2 药品及主要试剂

养阴润目丸是湖南中医药大学第一附属医院眼科治疗干眼的院内制剂,规格为 1 g 丸剂相当于 8.4 g 生药;杞菊地黄丸(九芝堂股份有限公司,201505001);氢溴酸东莨菪碱注射液(成都第一药业,H51022122,10 mg/支);p38 MAPK 抑制剂 SB203580 (selleck, S1076);逆转录试剂盒(A3500)、qPCR mix(A6001),均来自美国 promega;p38 MAPK、Bax、Bcl-2 和 β -actin 引物(生工);Trizon Reagent(CW0580)、RIPA 蛋白裂解液(CW2334S)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(CW0014S)、SDS-PAGE 凝胶制备试剂盒(CW0022)、彩色预染蛋白 marker(CW2307M)、ECL 发光检测试剂盒(CW0048M),均来自江苏康为世纪公司;Tunel 细胞凋亡检测试剂盒(bs-8004-10)、p38 MAPK (bs-5476R)、Bax (bs-20386R)、Bcl-2 (bs-4563R)、 β -actin (bs-0061R),均来自北京 BIOSS 公司;HRP 标记的羊

抗鼠二抗(SA00001-1)、HRP 标记的羊抗兔二抗(SA00001-2)均来自美国 Proteintech。

1.3 实验动物

健康普通级新西兰兔,雌雄各半,体质量 2.0~2.5 kg,由湖南景莱克景达实验动物有限公司提供,动物许可证号:SCXK(湘)2016-0002,由湖南中医药大学实验动物中心提供饲养条件,在自由饮食、光/暗周期为 12 h/12 h(光照时间为 6:00-18:00)、背景噪音为(40±10) db、温度(20±3) °C 的条件下饲养。

2 实验方法

2.1 动物分组和药物干预

采用随机数字表法将 70 只实验兔随机分成 7 组,10 只/组,分别为正常组,模型组,p38 抑制剂组、阳性药物组和养阴润目低、中、高剂量组(简称养阴低、中、高剂组)。除正常对照组外,各实验兔均参照刘雪^[6]的水液缺乏型干眼模型制作,通过氢溴酸东莨菪碱皮下注射 4 次/d,剂量 2.0 mg/kg,持续 28 d。干眼模型建立后,p38 抑制剂组给予 p38 通路抑制剂 SB203580 皮下注射 0.1 mg/(kg·d),阳性药物组给予杞菊地黄丸 0.782 g/(kg·d)灌胃,养阴润目丸低、中、高剂量组分别给予 0.782、0.869、1.738 g/(kg·d)灌胃,正常组和模型组灌胃等量生理盐水,连续给药 2 周后,进行相应指标检测。

2.2 指标检测

2.2.1 Schirmer 试验检测泪液分泌量 根据 Tsutomu Fujihara 报道^[7]采用改良的 Schirmer 试验,将试纸前段 5 mm 反折于兔下眼睑颞侧结膜囊,其余部分悬垂于皮肤表面,检测记录 5 min 后试纸泪液浸湿长度(不包括反折部分的长度),记为基础泪腺分泌试验(Schirmer i test,SIT)长度。

2.2.2 HE 法检测泪腺组织病理变化 分离泪腺组织,4%多聚甲醛中固定、梯度脱水、二甲苯透明、石蜡包埋,间断连续 5 μ m 厚切片,HE 染色、脱水、透明、封片。光学显微镜下观察泪腺的病理学改变并拍照。

2.2.3 Tunel 法检测泪腺组织细胞凋亡情况 取病理形态检测用蜡块切片,常规脱蜡,Tunel 法检测泪腺组织细胞凋亡情况,Motic B5 显微摄像系统进行摄像。随机统计各组 5~7 个高倍视野($\times 400$ 倍)中的凋亡细胞总数,计算每高倍视野下的平均凋亡细胞数。

表 1 PCR 引物序列

基因	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')	片段大小/bp
p38	AGTCAACAGCTCCGCCATTATGC	GGCTCCTGAGATCATGCTGAACTG	187
MAPK	GACGCTGGACTTCCTCCGAGAG	AGATGGTGACTGAGGCGGTGAG	113
Bax	GTGGATGACTGAGTACCTGAACCG	CCGTACAGTCCACGAAGGCATC	120
Bcl-2	ACGCCAACACAGTGTCTGCTG	TGCTTGCTGATCCACATCTGCTG	118

β-actin

2.2.4 Western-blot 法检测泪腺组织 p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达 取兔泪腺组织于匀浆器中,剪碎,加 400 μL 单去污剂裂解液裂(含 PMSF)进行匀浆,冰上 30 min 后 4 ℃下 12 000 r/min 离心 5 min,取上清应用 BCA 法测定蛋白浓度;取 50 μg 总蛋白上样,进行 SDS-PAGE 电泳,转膜后,封闭处理 1 h,加入一抗 p38 MAPK、Bax、Bcl-2 和 β-actin 兔抗鼠多克隆抗体(1:1 000),孵育过夜,二抗(1:3 000)室温孵育 1 h,暗室加 ECL 化学发光剂于化学发光仪成像,用图像分析软件 Image Lab 5.0 对图像进行信号分析,并计算目的蛋白/β-actin 蛋白的比值。

2.2.5 Real-time PCR 法检测泪腺组织 p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2 基因的表达 取兔泪腺组织 Trizol 法提取各组泪腺组织总 RNA,并逆转录合成 cDNA,以此 cDNA 为模板用荧光定量 PCR 试剂盒进行扩增。实验操作均按相应试剂盒说明书进行。qPCR 反应条件为:95 ℃预变性 30 s,95 ℃变性 10 s,60 ℃退火延伸 30 s,循环 40 次。以 β-actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算各组相对表达量。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列见表 1。

2.3 统计学处理

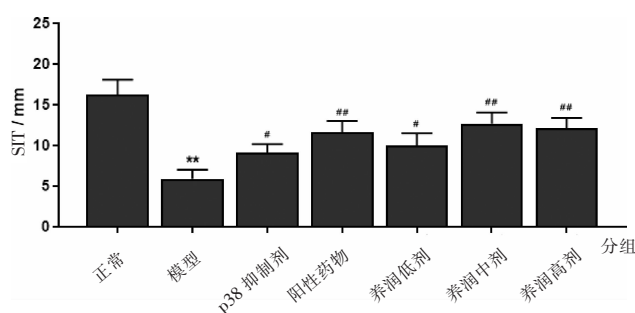
采用 SPSS 20.0 软件进行统计处理,计量资料以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,首先进行正态性、方差齐性检验。满足正态性者,不同组间比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),并用 LSD 法进行组间的多重比较;不满足正态性时选择秩和检验。先用 Kruskal-Wallis H 检验比较总的差异,再用 Mann-Whitney U 检验进行两组之间比较。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 养阴润目丸对干眼症兔模型泪液分泌量的影响

Schirmer 试验结果显示:干眼症兔模型的泪眼分泌明显减少,与正常组比较,模型组 SIT 值降低至正常组的 50%,差异有统计学意义($P<0.01$),符合干眼症造模标准。各干预组兔的泪眼分泌均有不同程

度的增加,与模型组比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。其中养阴润目丸呈正相关量效关系趋势,各干预组组间无差异,见图 1。



注:与正常组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$

图 1 各组兔泪腺泪液分泌量的比较

3.2 养阴润目丸对干眼症兔模型泪腺组织病理变化的影响

HE 病理结果显示:正常泪腺腺泡大小均匀,结构清楚,腺泡内层为柱状上皮细胞,可见微绒毛排列有序,胞浆丰富,细胞排列紧密,腺体间质偶见淋巴细胞浸润。模型组中所示泪腺腺泡内柱状上皮细胞萎缩,排列紊乱,细胞内物质减少,微绒毛稀疏,腺细胞代谢功能减弱。各干预组兔泪腺形态结构均有不同程度的改善。见图 2。

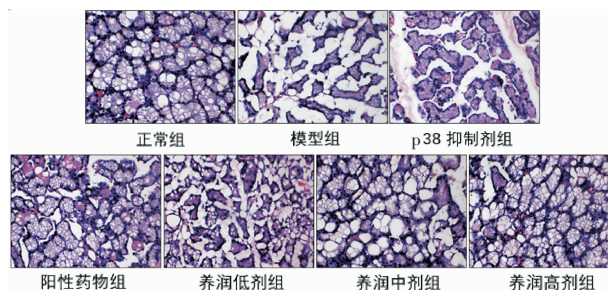


图 2 各组兔泪腺组织病理变化的光镜图(HE,×200)

3.3 养阴润目丸对干眼症兔模型泪腺组织细胞凋亡的影响

Tunel 检测结果显示:正常兔泪腺细胞存在局灶性、程度轻的凋亡。模型组泪腺腺泡上皮细胞中均可见大量散在的阳性凋亡细胞,呈棕黄色。各干预组兔泪腺细胞凋亡情况均有不同程度的改善。见图 3。

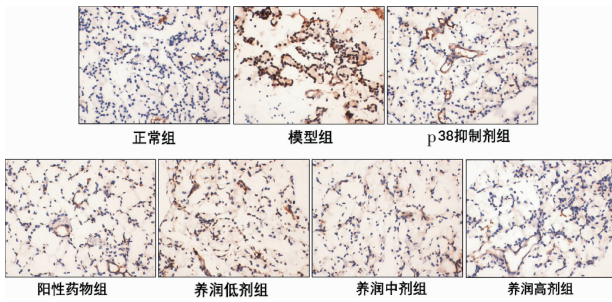
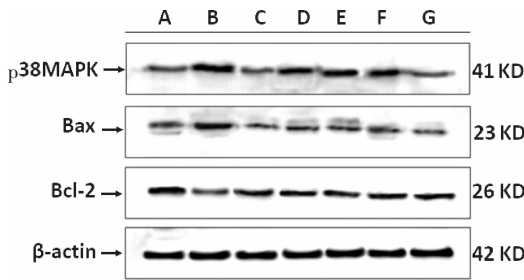


图 3 各组兔泪腺组织细胞凋亡光镜图 (Tunel, ×400)

3.4 养阴润目丸对于眼症兔模型泪腺组织p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2 蛋白的表达的影响

Western blot 结果显示:正常兔泪腺 p38 MAPK 和 Bax 蛋白表达呈低表达, Bcl-2 蛋白呈高表达, 模型组泪腺组织中 p38 MAPK 和 Bax 蛋白表达显著升高, Bcl-2 蛋白表达水平显著降低, Bax/Bcl-2 失衡, 与空白组比较, 差异显著 ($P<0.01$)。药物干预后各组兔泪腺组织中 p38 MAPK 和 Bax 蛋白表达不同程度下调, Bcl-2 蛋白表达不同程度上调, 与模型组比较, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。其中养阴润目丸呈正相关量效关系趋势, 各干预组间无差异。见图 4、图 5。



注: A.正常组; B.模型组; C.p38 抑制剂组; D.阳性药物组; E.养阴低剂组; F.养阴中剂组; G.养阴高剂组

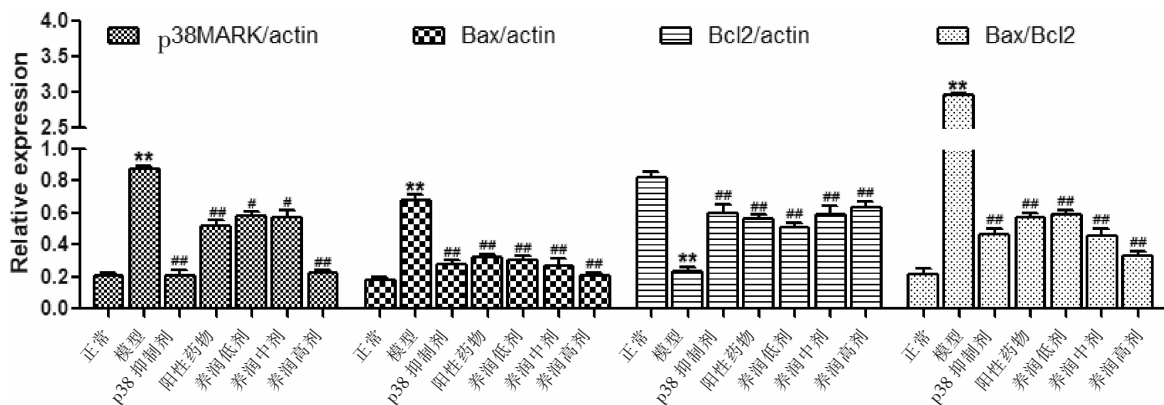
图 4 各组兔泪腺组织中 p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的情况

3.5 养阴润目丸对于干眼症兔模型泪腺组织p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2 mRNA 表达的影响

Real-time PCR 检测结果显示:正常兔泪腺 p38 MAPK 和 Bax mRNA 表达呈低表达, Bcl-2 蛋白呈高表达, 模型组泪腺组织中 p38 MAPK 和 Bax mRNA 表达显著升高, Bcl-2 mRNA 表达水平显著降低, Bax/Bcl-2 失衡, 与空白组比较, 差异显著 ($P<0.01$)。药物干预后各组兔泪腺组织中 p38 MAPK 和 Bax mRNA 表达不同程度下调, Bcl-2 mRNA 表达不同程度上调, 与模型组比较, 差异有统计学意义 ($P<0.01$)。其中养阴润目丸呈正相关量效关系趋势, 各干预组间无差异。见图 6-8。

4 讨论

目前我国干眼患者在 3 亿以上, 女性多于男性, 年龄在 30~40 岁人群中干眼的患病率超过 20%, 70 岁以上人群患病率则高达 36.1%^[8]。因此, 加强对干眼的基础研究和防治工作显得尤为迫切和重要。泪膜和眼表组织构成了一个复杂的系统, 各种刺激如瞬目异常、应激反应、激素失衡和神经功能障碍等均可损伤眼表正常的修复和/(或)防御机制, 导致泪腺和眼表组织处于一种慢性炎症状态^[9-11]。各类炎性细胞的浸润和细胞炎性因子的释放, 可通过细胞信号转导通路将信息传递至细胞核内, 调控相关基因和蛋白的表达, 进而对泪腺细胞的生长周期、形态及功能产生影响, 而 p38 MAPK 可由细胞外多种刺激包括炎性因子、应激反应、活性氧等活化, 参与细胞的凋亡调控过程^[12-14]。目前已有大量研究证实^[15-16], 多数细胞炎性因子在干眼发病过程中表达明显增强, 这些炎性因子的表达与释放与 p38 MAPK 通路的



注: 与正常组比较, ** $P<0.01$; 与模型组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$

图 5 各组兔泪腺组织中 p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达的比较

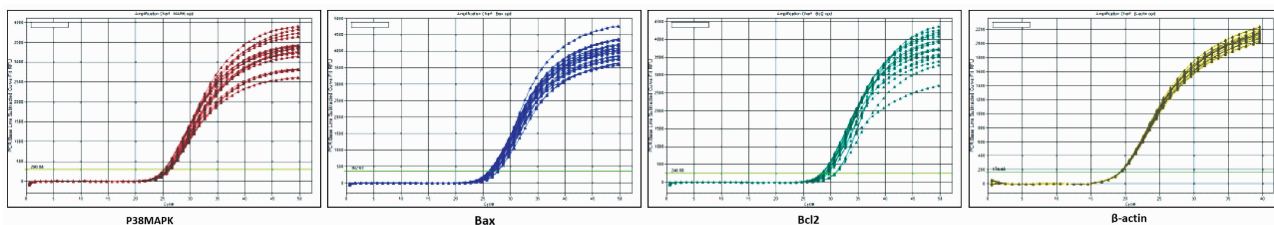


图 6 各组兔泪腺组织中 p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2mRNA 表达的扩增曲线

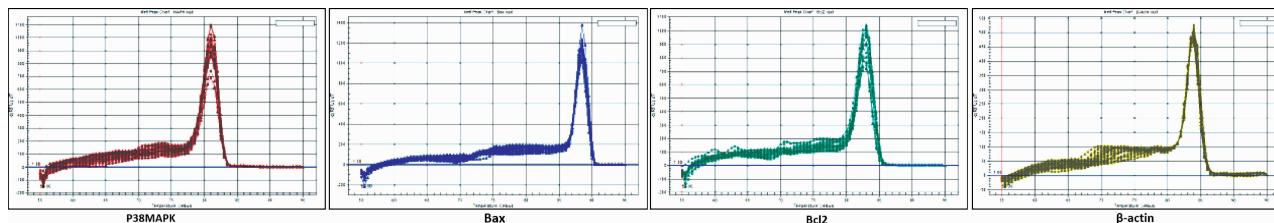
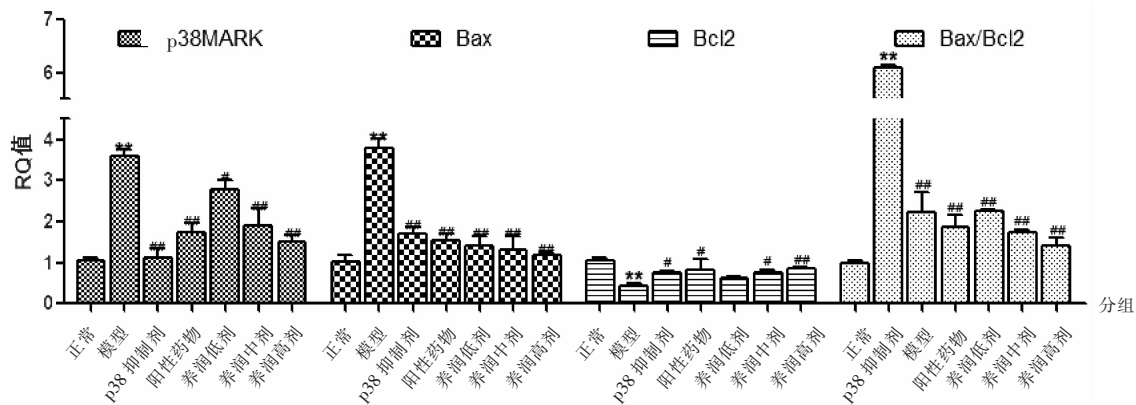


图 7 各组兔泪腺组织中 p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2mRNA 表达的溶解曲线



注:与正常组比较,**P<0.01;与模型组比较,#P<0.05,##P<0.01

图 8 各组兔泪腺组织中 p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2mRNA 表达的比较

激活密切相关。我们的前期研究结果也表明 p38 MAPK 能上调细胞炎症因子如 TNF- α 、IL-1、IL-6 的表达,促进泪腺细胞的凋亡,从而导致泪腺功能障碍,泪液分泌减少。活化的炎症因子可作用于 p38 MAPK 信号通路进而进一步使自身表达升高,从而加速眼表组织细胞凋亡进程。上述研究结论和前期研究结果提示可通过干预以 p38 MAPK 为核心的信号转导通路可抑制干眼状态下的炎症信号向细胞凋亡进行转导^[17-18]。

干眼在中医学中属“白涩症”范畴,又名“干涩昏花症”“神水将枯症”,其病机大多以肝肾不足,津液亏虚,目失润养为主^[19]。故我们在前期研究的基础上,提出从“肝主泪”学说探讨干眼的防治方法,而“肝主泪”理论认为补养肝肾,则津液充沛,入目为泪,故临床应以“补养肝肾”为中医药治疗干眼的基本策略。养阴润目丸正秉承“肝主泪”基本理论,是

湖南中医药大学第一附属医院眼科治疗干眼的院内制剂,已在临床安全、有效地使用多年,临床观察表明养阴润目丸能有效改善眼表症状,消、减角膜染色,增加泪液分泌量。

本研究通过兔皮下注射氢溴酸东莨菪碱的途径,建立泪液缺乏性干眼模型,在此模型上施加 p38 抑制剂、阳性药物杞菊地黄丸和低、中、高剂量养阴润目丸干预因素,对各组泪液分泌量,泪腺病理形态,泪腺组织凋亡细胞的表达、泪腺组织中 p38 MAPK、Bax 和 Bcl-2 蛋白和基因表达情况进行检测和分析。研究结果表明:干眼兔模型泪液分泌量明显减少,病理形态显示上皮细胞萎缩,排列紊乱,细胞内物质减少,微绒毛稀疏,泪腺细胞的凋亡细胞显著高于正常组,p38 MAPK 和 Bax 的蛋白和 mRNA 表达显著升高,Bcl-2 的蛋白和 mRNA 表达水平显著降低,Bax/Bcl-2 失衡。而各干预组能不同程度改善泪

腺细胞损伤,其中养阴润目丸组的干预效果呈剂量相关性(正相关)趋势。

综上所述,养阴润目丸可能通过纠正 Bax/Bcl-2 失衡,改善干眼泪腺细胞凋亡,进而减轻泪腺细胞损伤,恢复泪腺细胞的代谢功能,且与调控 p38 MAPK 的关系极为密切,这可能是其治疗干眼的重要机制之一,并为中医学“肝主泪”理论治疗干眼的作用提供新的认识。对于中医药探索干眼本质特征,以及有效理、法、方剂的提出具有重要的意义。

参考文献

- [1] NISREEN S E, KARAM A, ANAT G. Therapeutic strategies to treat dry eye in an aging population[J]. *Drugs & Aging*,2015,32(7):505-513.
- [2] LI J Y, ZHENG K, DENG K, et al. Prevalence and risk factors of dry eye disease among a hospital-based population in Southeast China[J]. *Eye & Contact Lens-Science and Clinical Practice*, 2014, 41(1):44-50.
- [3] 王超群,李 点,刘慧萍,等.养阴润目丸对干眼模型大鼠结膜上皮细胞中 Caspase-3、Caspase-6 表达的影响[J].*湖南中医药大学学报*,2019,39(7):848-850.
- [4] 李 点,廖亮英,胡 平,等.养阴润目丸对干眼大鼠结膜上皮细胞中 TNF- α 、NF- κ B 表达的影响[J].*中华中医药杂志*,2016,31(2):678-681.
- [5] 李 点,王超群.养阴润目丸治疗干眼症的临床观察[J].*南京中医药大学学报*,2016,32(4):386-388.
- [6] 刘 雪,徐 雯,高卫萍.硫酸阿托品滴眼液和氢溴酸东莨菪碱皮下注射制作水液缺乏型干眼兔模型实验研究[J].*临床眼科杂志*, 2015(3):263-266.
- [7] TSUTOMU F, TADAJIRO M, HIROMI F, et al. Improvement of corneal barrier function by the P2Y2 agonist INS365 in a rat dry eye model[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2001, 42: 96-100.
- [8] 蔡丽萍,张 宏.炎症免疫相关信号通路在干眼发病机制中的研究进展[J].*国际眼科杂志*,2016,16(6):1084-1088.
- [9] ALBERTO L M, MARISA T,VICENTE M M, et al .Clinical and molecular inflammatory response in Sjogren Syndrome-Associated dry eye patients under desiccating stress [J]. *American Journal of Ophthalmology*,2016, 16(1):133-141.
- [10] 邵 毅,余 瑶,余 静,等.鬼针草滴眼液治疗兔围绝经期干眼症的实验研究[J].*中国中药杂志*,2015,40(6):1151-1155.
- [11] COLLIGRIS B, ALKOZI HA, PINTOR J,et al. Recent developments on dry eye disease treatment compounds[J]. *Saudi Journal of Ophthalmology*, 2014, 28(1):19-30.
- [12] ZHOU F, XU Y, HOY X Y. MLK3-MKK3/6-p38 MAPK cascades following N-methyl-D-aspartate receptor activation contributes to amyloid- β peptide-induced apoptosis in SH-SY5Y cells[J]. *Journal of Neuroscience Research*, 2014,92(6):808-817.
- [13] HAM, MAKER D, BOYLE D L, TOPOLEWSKI K, et al. Differential regulation of anti-inflammatory genes by p38 MAP kinase and MAP kinase kinase 6[J]. *Journal of Inflammation*, 2014, 11(14):1-5.
- [14] YANG K, QIU B Y, YAN J, et al. Blockade of p38 mitogen-activated protein kinase pathway ameliorates delayed gastric emptying in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *International Immunopharmacology*,2014,23(2):696-700.
- [15] LI H Y, WANG X P, CHEN D S, et al. P38 inhibitor SB203580 sensitizes the resveratrolinduced apoptosis in human lung adenocarcinoma(AS-49) cells[J]. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2012,26(7):251-257.
- [16] CHEN Y, ZHANG X, YANG L, et al. Decreased PPAR- γ expression in the conjunctiva and increased expression of TNF- α and IL-1 β in the conjunctiva and tear fluid of dry eye mice[J]. *Molecular Medicine Reports*,2014,9(5):2015-2023.
- [17] VEGARD T, LINDA B, PER S, et al. IL-1 α expression in pancreatic ductal adenocarcinoma affects the tumor cell migration and is regulated by the p38 MAPK signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):70874.
- [18] DONG Z H, WANG D C, LIU T T, et al. The roles of MAPKs in rabbit nucleus pulposus cell apoptosis induced by high osmolality[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2014,18(19):2835-2845.
- [19] 傅彦江,黄 欣.中医对于干眼症的认识[J].*中医杂志*,2011,52(22):1978-1979.

(本文编辑 杨 瑛)