舍格伦综合征患者用盐酸毛果芸香碱长期治疗前后白色念珠菌水平的初步研究

Candida albicans levels in patients with Sjogren's syndrome before and after long - term use of pilocarpine hyrochloride: A pilot study

Nelson L. Rhodus, William Liljemark, Cynthia Bloomquist, Janna Bereuter

原载 Quintessence Int 1998; 29: 705 - 710. (英文)

徐岩英 译　　曹采方 校

摘要　**目的**　本研究旨在比较原发及继发性舍格伦综合征患者口服盐酸毛果芸香碱治疗一年前后白色念珠菌定量变化。

材料和方法　选择根据严格的诊断标准确诊的 12 例舍格伦综合征患者，均为女性，平均年龄 56.7 ± 5.7 岁，其中原发性舍格伦综合征 4 例，继发性舍格伦综合征 8 例。每位患者治疗前均在口咽部取材及培养。用 Oricult 试剂盒进行白色念珠菌选择性培养，同时经倍比稀释用链霉素 - 万古霉素培养基进行培养，37 ℃培养 48 小时。每位患者口服盐酸毛果芸香碱 5mg，每日 3 次，共服一年。服药后同样作上述两种培养。所有病例均未使用抗真菌药物。

结果　用盐酸毛果芸香碱治疗前后白色念珠菌的存在频率有显著差别。在治疗前，75% 的研究对象念珠菌阳性，而治疗后 25% 念珠菌阳性。念珠菌的数量也有显著下降。临床体征在盐酸毛果芸香碱治疗后也从 75% 下降为 25%。

结论　长期应用盐酸毛果芸香碱可显著减少原发及继发性舍格伦综合征患者口腔内白色念珠菌的定植。

念珠菌是人类口腔中常见的真菌。当宿主的防御机能下降，如免疫功能低下时，念珠菌可以大量异常繁殖。

以往研究表明，唾液腺功能障碍时唾液流率下降，导致念珠菌在口腔的高定植率较高。多数研究表明，念珠菌感染的程度与唾液流率成反比。有研究表明，舍格伦综合征患者其口腔菌丛中白色念珠菌(白念)的数量增加。

译者：北京医科大学口腔医学院
北京海淀区白石桥路 38 号　100081

唾液中富有较多的抗真菌物质，在机体防御真菌特别是念珠菌中起重要作用。由放疗、舍格伦综合征(Sjogren syndrome，SS)、抗胆碱能药物所致的口干患者念珠菌感染的比例较高。除口干外，最常见的主诉之一为舌痛，它与白色念珠菌感染高度相关。

SS 是一种自身免疫病，临床上有三大表现，即干燥性角结膜炎、口干症及结缔组织病（多为类风湿关节炎）。原发性 SS(SS - 1)临床上仅有干燥性角结膜炎和口干症；而继发性 SS(SS - 2) 表现为干燥性角结膜炎或口干，加上有全身结缔组织病。

从病理学角度，SS 是一种良性淋巴腺上皮病变，表现为唾液腺被自身免疫所致的淋巴细胞浸润。除白念感染外，其他临床表现还有典型的唾液量减少、舌炎、粘膜炎、口角炎及龋齿增多。

毛果芸香碱是一种从毛果芸香属植物中提取出的拟副交感能生物碱类药物，是拟胆碱能递质，具有刺激平滑肌和外分泌功能的作用。Mandel 和 Katz 等在 1971 年报道毛果芸香碱能促进泪液、唾液、胃肠道和呼吸道以及胰腺的分泌。

其他一些学者研究表明毛果芸香碱可促进唾液流率。以往研究所用的毛果芸香碱有不同的剂量及剂型。虽有可能在刺激唾液流率的同时有唾液抗真菌物质的增加，但尚未见有关用毛果芸香碱后口腔白念下降的报道。

本研究目的在于比较原发及继发性舍格伦综合征患者，口服小剂量毛果芸香碱治疗一年前后白色念珠菌在口腔的定植情况。

材料和方法

12 例确诊为 SS(SS－1 患者 4 例，SS－2 患者 8 例)的患者来自美国明尼苏达口腔内科学诊室。经人类临床研究委员会批准后，所有患者均填写了知情同意书。

SS－1 和 SS－2 的入选诊断标准为圣地亚哥的修改标准：有口干及眼干的症状和体征，施墨试验 <9mm/5min，角膜荧光染色阳性，加上血清化验(抗核抗体> 1: 160，或 类风湿因子> 1: 160，或抗 SSA(Ro) 或抗 SSB(La) 抗体阳性)或唇腺活检(4 个腺小叶的灶性浸润指数> 2)，且全口非刺激唾液和刺激腮腺流率 <0. 2ml/min。该标准的概括见表 1。

每位患者的药物使用方法均有详细记录，而且均未使用其它可引起唾液分泌下降的药物如抗胆碱药、抗组胺药、抗高血压药、β 受体阻滞剂及抗抑郁药物等。所有患者均为有牙者，在 30 天内未使用过抗生素或抗真菌药，不吸烟。

所有符合入选标准的病例经临床有经验的医师进行详细口腔检查，完成口干症的特有临床症状的问卷。

表 1 舍格伦综合征患者的诊断标准及数据

标　准		研究对象(n = 12)
年龄(均数 ± 范围)		56. 7 岁(39 ~ 62 岁)
抗 SS－A(Ro)		
阳性率		78%
滴度	均数 *	> 1: 100, 000
	范围	1: 51, 200 － 1: 102, 400
抗 SS－B(La)		
阳性率		67%
滴度	均数 *	1:8000
	范围	1: 3200 － 1: 51, 200
ANA(抗核抗体)#		
阳性率		89%
滴度	均数 *	> 1: 900
	范围	1: 640 － 1: 2560
RF(类风湿因子)**		
阳性率		44%
滴度	均数 *	22. 1
	范围	22. 1 － 22. 3
唇腺活检##		
浸润指数	均数 *	4. 0
	范围	3. 0 － 5. 0
施墨试验		
(mm/5min)	均数 *	3. 9
	范围	1. 1 － 6. 0

*：检测阳性者的均数
#：抗核抗体(自身抗体与正常抗体的比值)
**：类风湿因子(单位/ml)
##：唇腺活检灶性浸润指数(> 2 灶/4mm)

在早晨 9 至 11 点收集全口非刺激唾液。先让病人吞咽，然后不断地将唾液吐于 10ml 试管中，历时 5 分钟，根据重量确定其最后体积及流率。

经有经验的医生对病人进行口腔检查确定有无与口腔念珠菌感染有关的任何粘膜病损。根据 Hernandez 和 Daniels 的标准，将这些病损分为以下 4 型，即伪膜型、红斑型、念珠菌性口角炎及增殖型。

培养的取材方法是用需氧培养的棉拭子擦取舌背及软腭，立即将棉拭子放入试管内。将该棉拭子接种在琼脂培养基试纸条上，放入 Oricult 培养管（Orion Diagnostic，Ivoclar－Vivadent）中，37℃需氧培养 48 小时。Oricult 培养基是白色念珠菌的特异培养基。通过检查棕色、光滑的菌落多少来计算白念的菌落形成单位（CFU）。由于只是粗略计数，该培养方法是半定量

的。

另外一个棉拭子放入 1ml Todd - Hewitt 液体培养基中振荡 1 分钟。用该液体培养基 1:10 系列稀释后,接种在选择性链霉素 - 万古霉素培养基上，每一稀释度接种 2 份用于分离白念。该培养基含胰蛋白酶 - 大豆琼脂（BBL），加入 2.0mg% 链霉素和 0.75mg% 万古霉素。同样 37℃需氧培养 48 小时。记录每毫升的白念单位(CFU)数量。

每位患者在基线时收集上述资料，治疗开始时嘱病人口服盐酸毛果芸香碱 5mg，每日 3 次。为观察用药的安全性、有效性及依从性,要求病人定期复查(1 个月，3、6、9 个月)。并用电话联系加强指导。每次复查均进行临床检查及口头和书面问卷，但未进行念珠菌检测或培养。 在治疗后 12 个月，重复治疗前的详细各项检查。所有检查均在早晨口服毛果芸香碱后的 9 - 11 时进行。

通过记录念珠菌阳性（Oricult 技术）的百分比确定所有研究对象的念珠菌定植率及临床表现。在治疗后 12 个月用双向 t 检验进行白念（CFU/ml）均数的统计学分析。

结果

患者平均年龄 56.7 ± 5.7 岁(范围为 39 - 62 岁),均为女性,无吸烟史,无义齿。入选标准详见表 1。

基线时所有 SS 患者的非刺激唾液流率均值为 0.11 ± 0.03ml/min(表 2)。盐酸毛果芸香碱治疗后唾液流率均值为 0.22 ± 0.03，有明显增加(207%)。

在用药前 75%(9/12)的患者念珠菌培养阳性。SS - 1 患者 100%（4/4）阳性，而 SS - 2 患者 63%（5/8）阳性。在服用盐酸毛果芸香碱后,25% 患者(3/12)念珠菌阳性,其中 SS - 1 患者 25%（1/4）阳性,SS - 2 患者 25%(2/8)阳性。

所有 SS 患者在治疗前的念珠菌均数为 $4.79 \times 10^4 \pm 0.11 \times 10^4$CFU/ml。SS - 1 与 SS - 2 患者略有差别，SS - 1 和 SS - 2 患者的念珠菌均数分别为 $6.20 \times 10^4 \pm 1.10 \times 10^4$CFU/ml 和 $4.10 \times 10^4 \pm 1.10 \times 10^4$CFU/ml。服药后的所有患者念珠菌菌落均数为 $1.43 \times 10^4 \pm 0.04 \times 10^4$CFU/ml，同样 SS - 1 和 SS - 2 患者略有不同，其念珠菌均数分别为 $1.56 \times 10^4 \pm 0.09 \times 10^4$ CFU/ml 和 $1.19 \times 10^4 \pm 0.10 \times 10^4$CFU/ml。表明服用毛果芸香碱后念珠菌数量有 3 倍下降。

表 2 舍格伦综合征患者的白念水平

	治疗前	治疗后
白念(cfu/ml)*		
均数 ± 标准差	47891.70 ± 1143.22	14325.20 ± 319.67**
白念阳性患者#	75%	25%
白念感染有临床表现者	75%	25%
全唾流率		
均数 ± 标准差	0.11 ± 0.03	0.22 ± 0.03**
提高的百分比		207%

*: 用链霉素 - 万古霉素培养基定量培养
**: t 检验统计学有显著意义(P <0.01)
#: 用 Oricult 试验检测白念

不同的口腔粘膜临床表现见表 3。治疗前 12 例患者中有 9 例(75%）符合前述白念感染的临床表现。其中最常见的为红斑型念珠菌病(67%，8/12)，50%（6/12）患者有念珠菌性口角炎(图 1)。口角炎与红斑型念珠菌病有重叠，因为 6 例患者既有口角炎又有粘膜红斑。仅一例(8%)表现为典型的伪膜型念珠菌病。无一例表现为增殖型。

每位念珠菌培养阳性的患者均伴有某种临床表现。在治疗前仅 3 例患者念珠菌培养阴性且无念珠菌病的临床表现。在用毛果芸香碱治疗一年后仅 3 例(25%）患者的念珠菌培养阳性并具有临床表现，且该 3 例患者均为红斑型，其中一例伴发有口角炎。经毛果芸香碱治疗后无一例有典型的伪膜型或增殖型念珠菌病的表现。9 例(75%）患者在治疗后念珠菌培养为阴性且无临床表现。

讨论

以往的研究普遍认为白念的存在与唾液腺功能障碍所致的唾液流率下降有关。Navazesh 等 近年来报道唾液流率与白念计数呈显著负相关，其研究对象并非仅

表 3 舍格伦综合征患者口腔念珠菌病的临床表现

	治疗前(n = 12)	治疗后(n = 12)
口腔表现	75% (9/12)	25% (3/12)
红斑型念珠菌病	67% (8/12)	25% (3/12)
念珠菌性口角炎	50% *(6/12)	8% *(1/12)
伪膜型念珠菌病	8% (1/12)	0% (0/12)
增殖型念珠菌病	0% (0/12)	0% (0/12)
合计	75% **(9/12)	25% (3/12)

*：同时伴有伪膜型或红斑型念珠菌病
**：调整了重叠的病例

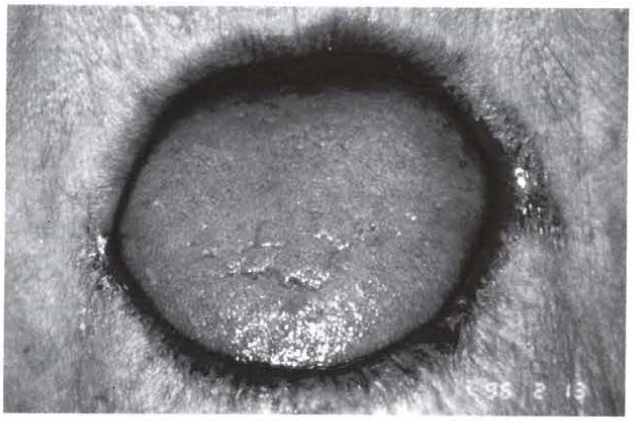

图 1 舍格伦综合征患者口腔粘膜疼痛、干燥、萎缩(即口角炎和舌炎)，且由于唾液分泌减少，发生红斑型念珠菌感染

仅是 SS 病人；但也支持以往报道全口唾液流率与白念感染的易感性有关。Navazesh 研究的唾液流率的水平比本研究的治疗前水平要高。

本研究结果与以往研究比较有特别意义之处在于：

1. SS 患者在治疗前白念的存在及数量极高，其临床体征多数也较明显(特别是白念计数最高者)。

2. 用盐酸毛果芸香碱治疗一年后白念存在及数量以及临床体征均显著下降。

3. 用毛果芸香碱治疗前后的念珠菌病的主要类型均为红斑型(分别为 63% 和 25%)。

正常及健康人有牙者念珠菌的存在是常见的。有研究表明正常人群念珠菌培养阳性者占 40% 之多。MacFarlane 报告成人有牙者达 71% 的白念正常带菌率。而 Arendorf 和 Walker 发现同类人群仅 17% 的带菌率，且数量少。Wright 等报告为 34%，计数极低(约 40CFU/ml)。上述研究虽然培养阳性，但均无白念感染征象及口腔病变。

我们知道在某些病理情况下如患有 SS，则白念异常增殖造成各种临床表现，如红斑型念珠菌病、口角炎及伪膜型白色病损。本研究中发现不仅 SS 患者在治疗前多数存在白念，而且原发性及继发性 SS 患者白念的数量极高。此外，念珠菌数量极高的 SS 患者的临床感染征象明显。所有 SS 患者用毛果芸香碱治疗前有较低唾液流率(< 0.15ml/min)。

在本研究前，对使用药物的副反应的设计方案得到了药审委员会的同意，要求患者报告任何严重灼伤或不适。研究方案中未将抗真菌治疗包括在内，除非病人的口腔感染造成严重后果。所有 SS 患者虽然有念珠菌病的体征，但无严重的口腔症状。研究设计中，仅记录与念珠菌病有关的症状。虽然在用药后 3、6、9 个月进行了复查，但未进行与念珠菌病有关的口腔检查及念珠菌培养。如果进行了该方面的定期检查则会更有意义。

本研究结果说明，口服毛果芸香碱一年后白念在口腔的存在明显减少。

在治疗前后最常见的白念感染的类型是红斑型（见图 1）。口角炎也是感染类型之一，但往往伴有其它类型的念珠菌病。传统的白念感染的伪膜型并不常见，这与病人口腔中念珠菌计数极高不相适应，其原因尚不清楚。

本研究中，所有红斑型念珠菌病或口角炎患者的白念计数较高(均值为 2.7×10^4CFU/ml)。虽然多数认为白念的减少会影响口角炎的临床表现，但是可能有包括唾液流率在内的其它因素会影响口角炎的消退，如

本研究中在用盐酸毛果芸香碱使唾液流率增加后，口角炎减少。由于影响临床表现的因素较多，本试验研究尚不能下肯定的结论，对该问题的回答尚需进一步研究。

Navazesh 等的研究虽然白念的数量很高（> 500CFU/ml），但多数并无念珠菌病的临床体征。其研究中念珠菌的最高计数是 3.88×10^4CFU/ml。本研究中白念的计数相对较高（见表 2），且本研究中有口腔念珠菌病的临床表现的患者百分比较 Navazesh 的研究为高，这可能与免疫功能状况等其它因素有关。

结论

本试验研究证实了以往的研究结果，并对以往研究的内容进行了扩展。唾液量减少与白念在口腔的定植与数量有关，但在唾液流率极少的情况下，白念的数量与唾液流率并非绝对呈线性相关关系。即使在使用毛果芸香碱后唾液流率增加了，有些患者仍有白念，有些则培养转阴。SS－1 和 SS－2 患者的白念定植情况相同。SS 患者最常见的白念感染的临床类型为红斑型。

目前对本研究结果尚缺乏很好的解释。本研究设计是限于一年作为终点的定量研究，得出了具有显著性的结果。本研究提示 SS 患者的低唾液流率与念珠菌病可能有关。使用盐酸毛果芸香碱可作为附加的治疗方法。今后有必要进一步研究唾液流率与白念定植和/或感染的确切关系。