

二至丸通过抑制NF- κ B通路对干眼小鼠炎症的调控研究

史向钊¹, 胡佩², 罗艳华², 李安琪¹, 林斌武², 张梅芳², 陈兹满²

1. 广州中医药大学第二临床医学院, 广东 广州 510405; 2. 广东省中医院, 广东 广州 510120

[摘要] 目的: 通过对比不同剂量二至丸对东莨菪碱诱导的小鼠干眼模型干眼症状及炎症状态的治疗效果, 从而探讨二至丸在干眼中的疗效及作用机制。方法: 选取 30 只 C57/BL6 小鼠, 将小鼠分为 5 组, 每组 6 只, 其中 24 只采用皮下注射东莨菪碱的方法诱导干眼模型, 最终分为: 空白对照组 (不建立干眼模型, 口服 0.9%氯化钠溶液 1 mL), 模型组 (建立干眼模型后, 口服 0.9%氯化钠溶液 1 mL), 高剂量组 (建立干眼模型后, 口服高剂量二至丸 12 g/kg), 中剂量组 (建立干眼模型后, 口服中剂量二至丸 6 g/kg), 低剂量组 (建立干眼模型后, 口服低剂量二至丸 3 g/kg), 分别在造模前 1 天, 造模后隔日检测各组小鼠泪液分泌量以及角膜荧光素染色评分的变化, 并于 14 d 后处死小鼠, 收集角结膜组织, 检测角结膜组织中炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-4 表达, 采用实时定量 PCR 技术检测 RNA 水平改变, 流式细胞仪的液相蛋白定量技术 (CBA) 检测蛋白水平的改变, 收集泪腺组织, 采用 Protein Simple 公司的 Wes 全自动蛋白质印迹定量分析系统对泪腺的核因子 κ B (NF- κ B) 通路核心蛋白 P65 以及磷酸化 P65 进行胞浆和胞核定性定量的检测验证。结果: 用药 14 d 后, 在对干眼症状的改善方面: 对比模型组, 二至丸各个剂量组的泪液分泌量及角膜荧光素染色评分均有不同程度改善 ($P < 0.05$), 其中低剂量组与中剂量组的治疗效果相近, 高剂量组的治疗效果最佳。在对眼表炎症的改善方面: ①mRNA 水平, 与模型组相比, 高剂量组的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-4 的 mRNA 水平均明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。高中低 3 个剂量组的 IL-4 的 mRNA 表达水平均低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明不同剂量的二至丸对眼表炎症因子 IL-4 的 mRNA 表达均具有抑制作用, 但高剂量组同时可以抑制 TNF- α 、IL-1 β 的 mRNA 表达。②蛋白水平: 高中低 3 个剂量组的 TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达量均低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。各实验组 IL-4 蛋白表达均小于模型组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。提示各剂量二至丸对 TNF- α 、IL-1 β 的蛋白表达均有抑制作用, 但对 IL-4 的蛋白表达抑制作用不明显。在对泪腺炎症相关通路影响方面: 高中低 3 个剂量组中二至丸均可抑制细胞浆内 P65 的磷酸化及磷酸化的 P65 向核内转运, 从而抑制 NF- κ B 通路的激活。结论: 二至丸不仅可以有效改善干眼小鼠的泪液分泌和角膜荧光色素染色评分, 同时也可以改善干眼小鼠眼表的炎症状态, 其对干眼小鼠的炎症抑制作用可能是通过抑制 NF- κ B 通路来实现。

[关键词] 干眼; 炎症; NF- κ B 通路; 二至丸; 小鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2023) 13-0016-06

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2023.13.003

Study on the Erzhi Pills Inhibits NF- κ B Pathway on the Regulation of Inflammation in Dry Eye Mice

SHI Xiangzhao¹, HU Pei², LUO Yanhua², LI Anqi¹, LIN Binwu², ZHANG Meifang², CHEN Ziman²

1. The Second Clinical Medical School of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou Guangdong 510405, China; 2. Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou Guangdong 510120, China

[收稿日期] 2022-12-29

[修回日期] 2023-04-19

[基金项目] 广东省科技计划项目 (粤科规财字 2015[110]号); 张梅芳全国名老中医药专家传承工作室 (粤中医办函[2104]76号); 广州中医药大学高水平大学建设面上项目 (广中医研[2017]10号); 广东省中医院拔尖人才项目 (广东省中医院[2021]138号)

[作者简介] 史向钊 (1997-), 女, 在读硕士研究生, E-mail: 1295915107@qq.com。

[通信作者] 陈兹满 (1975-), 男, 主任医师, E-mail: adyfl203@126.com。

Abstract: Objective: To compare the therapeutic effects of different doses of Erzhi Pills on dry eye symptoms and inflammatory status induced by scopolamine in the mouse dry eye model, in order to explore the therapeutic effect and mechanism of Erzhi Pills in dry eyes. **Methods:** Thirty C57/BL6 mice were selected and divided into 5 groups, with 6 mice in each group. Among them, 24 mice were induced into dry eye models by subcutaneous injection of scopolamine. They were ultimately divided into the blank control group (no dry eye model was established, oral administration of 1 mL of 0.9% sodium chloride solution), the model group (after establishing a dry eye model, oral administration of 1 mL of 0.9% sodium chloride solution), and the high-dose group (after establishing a dry eye model, oral administration of 12 g/kg of high-dose Erzhi Pills), the medium-dose group (after establishing a dry eye model, oral administration of medium-dose Erzhi Pills 6 g/kg) and the low-dose group (after establishing a dry eye model, oral administration of low-dose Erzhi Pills 3 g/kg) were tested for changes in tear secretion and corneal fluorescein staining scores in each group on the first day before and the next day after modeling. The mice were euthanized 14 days later, and the corneal conjunctiva tissue was collected to detect the inflammatory factor tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), IL-4 expression in the corneal conjunctiva tissue was detected using real-time quantitative PCR technology to detect changes in RNA levels. Flow cytometry was used to detect changes in protein levels using Cytometric Bead Array (CBA). Tear gland tissue was collected, and nuclear factors- κ B (NF- κ B) in the lacrimal gland were analyzed using Protein Simple's Wes fully automated protein blotting quantitative analysis system. Quantitative detection and validation of cytoplasmic and cytoplasmic validation were performed on pathway core protein P65 and phosphorylated P65. **Results:** After 14 days of medication, in terms of improving dry eye symptoms, compared with the model group, the tear secretion and corneal fluorescence staining scores of each dose group of Erzhi Pills were improved to varying degrees ($P < 0.05$). The treatment effect of the low-dose group and the medium dose-group was similar, while the treatment effect of the high-dose group was the best. In terms of improving ocular surface inflammation: ①mRNA levels, compared with the model group, the mRNA levels of TNF- α , IL-1 β , IL-4 in the high-dose group were significantly decreased, with statistically significant differences ($P < 0.05$). The mRNA expression levels of IL-4 in the high-, medium-, and low-dose groups were lower than those in the model group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). It indicates that different doses of Erzhi Pills have inhibitory effects on the mRNA expression of ocular surface inflammatory factor IL-4, but the high-dose group can also inhibit mRNA expression of TNF- α , IL-1 β . ②Protein level: the protein expression levels of TNF- α , IL-1 β in high-, medium-, and low-dose groups were lower than that of the model group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The protein expression of IL-4 in each experimental group was lower than that in the model group, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). Reminder of the effects of each dose of Erzhi Pills on the protein expression of TNF- α , IL-1 β is inhibited, but the inhibitory effect on IL-4 protein expression was not significant. In terms of its impact on the lacrimal gland inflammation related pathways, Erzhi Pills in the high-, medium-, and low dose groups can inhibit the phosphorylation of intracellular P65 and the transport of phosphorylated P65 to the nucleus, thereby inhibiting activation of the NF- κ B pathway. **Conclusion:** Erzhi Pills can not only effectively improve tear secretion and corneal fluorescent pigment staining scores in dry eye mice, but also improve the inflammatory state of the ocular surface in dry eye mice. Its anti-inflammatory inhibitory effect on dry eye mice may be achieved by inhibiting NF- κ B channel.

Keywords: Dry eye; Inflammation; NF- κ B pathway; Erzhi Pills; Mice

干眼是一种威胁到视力的常见眼表疾病,它的发生与多种因素相关,包括炎症反应、眼表的病理改变、全身性激素水平变化等。其特征性的表现有眼部不适(干涩、异物、灼烧感),畏光,视力下降,以及泪膜不稳定并伴随泪液渗透压的增加和眼表的炎症状态^[1]。西医目前对于干眼的治疗手段主要依靠滴眼液的使用,治疗干眼的滴眼液主要通过补充泪液成分(如各种人工泪液),控制眼表炎症(如双氯芬酸滴眼液、环孢霉素滴眼液等),促进泪液分泌(如地跨磷酸钠玻璃酸钠)^[2],这些滴眼液通过局部的对症治疗,可在短期内缓解患者眼部症状,但长期疗效欠佳。干眼在中医学中属于白涩症、神水将枯等范畴。肝藏血,肝失调和则泪液分泌不足,肾藏精,肾精不足则津液生化不足。肝肾阴虚则精血不足,目珠失于濡润。或因虚火上炎,灼津耗液,使泪液分泌减少,由此可见肝肾阴虚,虚火上炎,是干眼的主要病机之一。前期研究显示益眼明口服液可有效改善肝肾阴虚型干眼患者的临床症状^[3],因此笔者选取女贞子及墨旱莲(二至丸)用于动物实验,进一步研究滋阴补肾的二至丸对于干眼的治疗作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF级C57/BL6小鼠30只,雌雄各半,6~8周龄,体质量(11±0.5)g。由广东省医学实验动物中心提供(质量合格证号: NO.44007200034189),饲养于广东省中医院SPF级标准动物房,自由取食饮水。在实验组中对小鼠进行的所有实验操作均符合《国家实验动物管理条例》的规定。通过了广东省实验动物伦理委员会审查(编号: 2014049)。

1.2 实验药物 药物来源及组成: 二至丸(江西仁丰药业有限公司,国药准字Z36020854),药品规格: 9g×12袋。用法用量: 成人口服,每次9g,每天2次。药物的生产符合GMP的生产标准,不同批次药物的指纹图谱相同。

1.3 干眼动物模型的建立 C57/BL6小鼠每天皮下注射东莨菪碱溶液0.5mL,浓度为1mg/mL,两侧下肢交替进行,各组每天注射4次(时间分别为: 9点,12点,13点,16点),连续10d。

1.4 分组及处理 将30只小鼠随机分为5组,每组6只: 空白对照组(不建立干眼模型,口服0.9%氯化钠溶液1mL),模型组(建立干眼模型后,口服0.9%

氯化钠溶液1mL),高剂量组(建立干眼模型后,口服高剂量二至丸12g/kg),中剂量组(建立干眼模型后,口服中剂量二至丸6g/kg),低剂量组(建立干眼模型后,口服低剂量二至丸3g/kg)。给药方式: 灌胃,每天2次,连续服用14d。

1.5 泪液分泌量检测及角膜上皮荧光素染色 服用二至丸14d过程中,隔日检测记录各组小鼠泪液分泌量和角膜荧光素染色评分。具体如下: 将未麻醉状态的小鼠固置于手术显微镜下,用显微镊夹持一根酚红棉线,轻轻放置于小鼠的内眦部,操作注意不要刺激角膜,持续15s,使用游标卡尺测量泪液分泌长度并记录。用荧光素钠法评估小鼠角膜上皮的缺损情况。具体如下: 未麻醉状态的小鼠,0.5%荧光素染色,裂隙灯钴蓝光下评估角膜上皮愈合情况,上皮缺损处显示绿色,裂隙灯拍照并评分。评分标准: 将角膜分为5个区域,每个区域分别评分。0分,无染色;1分,散在点状染色;2分,弥漫点状染色;3分,片状染色。合计5个区域的评分^[4]。

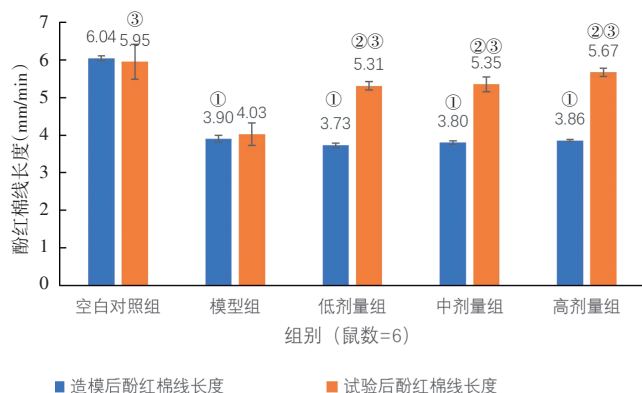
1.6 眼表及泪腺组织中炎症相关指标的表达式 在用药后2周,处死小鼠,收集小鼠角膜及泪腺组织检测相关炎症指标的改变。分别用实时定量PCR(Real-time PCR)检测炎症因子RNA水平的变化。Real-time PCR采用TAKARA公司PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit(6120A)在PCR仪中行cDNA的合成。设计相应引物,并将样本cDNA作倍比梯度稀释,共设5个梯度,按照以下qPCR反应体系反应,使用Applied Biosystems ViiA™ 7 Real-Time PCR System完成反应,其中试剂盒为Thermo公司SYBR Green Real-Time PCR Master Mixes。反应条件: ①UDG孵育: 50℃, 2min; ②预变性: 95℃, 10min; ③PCR反应: 95℃, 15s, 60℃, 60s, 40个循环。以β-actin为内参相对定量各组样品目的基因的表达水平,用2^{-ΔΔCT}法进行相对定量分析。采用流式细胞仪的液相蛋白定量技术(CBA)检测炎症因子蛋白水平的改变,使用Cytometric Bead Array(CBA) Mouse Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit(RUO)(560485)试剂盒进行相关炎症细胞因子检测。RNA及蛋白水平主要检测的炎症因子如下: 肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-1β(IL-1β)、IL-4。并采用Protein Simple公司的Wes全自动蛋白质印迹定

量分析系统对各组小鼠泪腺的核转录因子 κ B(NF- κ B) 通路核心蛋白 P65 以及磷酸化 P65 进行胞浆和胞核定性定量的检测验证。

1.7 统计学方法 采用统计学软件 SPSS19.0 进行统计分析。其中计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,根据数据的分布模式和方差齐性采取 t 检验或者秩和检验;计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验。其中 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 实验结果

2.1 实验造模后与试验后各组泪液分泌量 见图 1。经过 10 d, 东莨菪碱诱导法干眼小鼠模型处理后, 泪液分泌量试验结果显示, 与空白对照组比较, 模型组、各剂量组的酚红棉线长度明显减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 说明本次干眼小鼠造模成功。药物干预后, 二至丸各个剂量组的泪液分泌量有不同程度改善, 其中低剂量组与中剂量组的治疗效果相近, 高剂量组的治疗效果最佳。

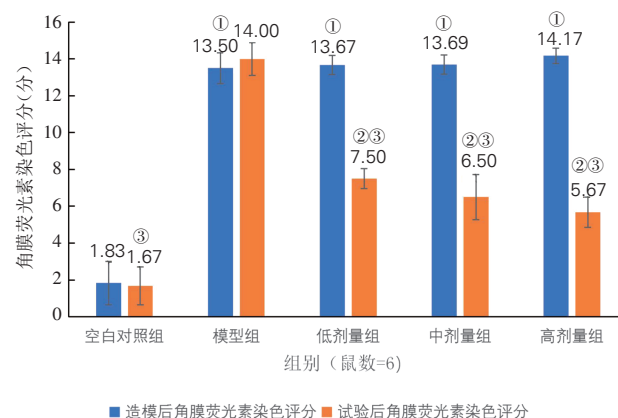


注: ①与对空白对照组同时时间比较, $P < 0.05$; ②与本组造模后比较, $P < 0.05$; ③与模型组同时时间比较, $P < 0.05$

图 1 实验造模后与试验后各组泪液分泌量

2.2 实验造模后与试验后各组角膜荧光素染色评分比较 见图 2。14 d 实验完成后, 二至丸各个剂量组角膜荧光素染色评分均有不同程度改善, 其中低剂量组与中剂量组的治疗效果相近, 高剂量组的治疗

效果最佳。



注: ①与对空白对照组同时时间比较, $P < 0.05$; ②与本组造模后比较, $P < 0.05$; ③与模型组同时时间比较, $P < 0.05$

图 2 实验造模后与试验后各组角膜荧光素染色评分比较

2.3 各组小鼠眼表及泪腺组织炎症相关指标 mRNA 表达比较 见表 1。与模型组相比, 高剂量组的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-4 的 mRNA 水平均明显下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。高中低 3 个剂量组的 IL-4 的 mRNA 表达水平均低于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。说明不同剂量的二至丸对眼表炎症因子 IL-4 的 mRNA 表达均具有抑制作用, 但高剂量组同时可以抑制 TNF- α 、IL-1 β 的 mRNA 表达。

2.4 各组小鼠眼表及泪腺组织炎症相关指标蛋白表达比较 见表 2。高中低 3 个剂量组的 TNF- α 、IL-1 β 蛋白表达量均低于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。各实验组 IL-4 蛋白表达均小于模型组, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。提示各剂量二至丸对 TNF- α 、IL-1 β 的蛋白表达均有抑制作用, 但对 IL-4 的蛋白表达抑制作用不明显。

2.5 各组 P65 及磷酸化 P65 表达情况 见图 3。高中低 3 个剂量组中二至丸均可抑制细胞浆内 P65 的磷酸化及磷酸化的 P65 向核内转运, 从而抑制 NF- κ B 的激活。

表 1 各组小鼠眼表及泪腺组织炎症相关指标 mRNA 表达比较($\bar{x} \pm s$)

指标	鼠数	空白对照组	模型组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
TNF- α	6	0.5627 $\pm$ 0.0770	0.7963 $\pm$ 0.0707	0.7722 $\pm$ 0.1235	0.6967 $\pm$ 0.0613	0.4625 $\pm$ 0.0595 ^①
IL-1 β	6	0.2545 $\pm$ 0.0612	0.8108 $\pm$ 0.1064	0.7263 $\pm$ 0.1018	0.6880 $\pm$ 0.0736	0.3462 $\pm$ 0.1391 ^①
IL-4	6	0.6992 $\pm$ 0.0866	1.2220 $\pm$ 0.1709	0.4445 $\pm$ 0.0562 ^①	0.3935 $\pm$ 0.0619 ^①	0.5495 $\pm$ 0.1017 ^①

注: ①与模型组比较, $P < 0.05$

表2 各组小鼠眼表及泪腺组织炎症相关指标蛋白表达比较($\bar{x} \pm s$)

指标	鼠数	空白对照组	模型组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
TNF- α	6	0.236 7 $\pm$ 0.169 7	15.160 0 $\pm$ 5.639 0	1.850 0 $\pm$ 0.332 7 ^①	1.553 0 $\pm$ 0.310 6 ^①	0.306 7 $\pm$ 0.135 6 ^①
IL-1 β	6	0.000 0 $\pm$ 0.000 0	16.140 0 $\pm$ 2.893 0	6.432 0 $\pm$ 3.028 0 ^①	3.065 0 $\pm$ 1.846 0 ^①	1.335 0 $\pm$ 0.510 4 ^①
IL-4	6	0.510 0 $\pm$ 0.203 5	3.345 0 $\pm$ 1.517 0	1.038 0 $\pm$ 0.703 9	0.511 7 $\pm$ 0.404 6	1.102 0 $\pm$ 0.646 4

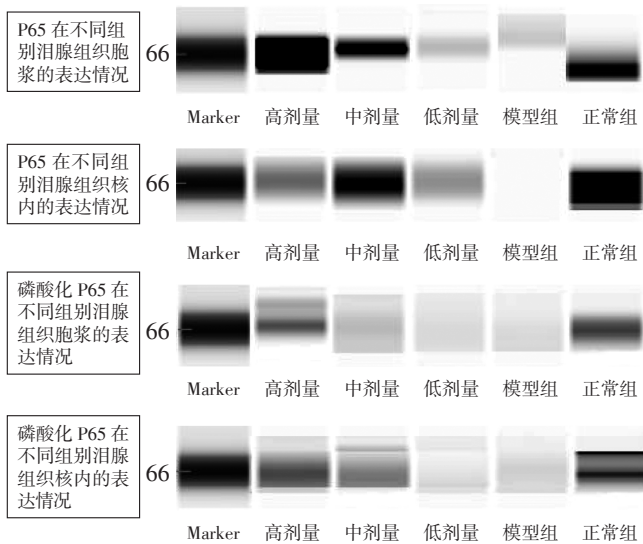
注: ①与模型组比较, $P < 0.05$ 

图3 各组P65及磷酸化P65表达情况

3 讨论

干眼发病率高,影响的人群范围广,流行病学研究显示,干眼发病率在30~40岁年龄段人群中已超过20%,在70岁以上人群中更是高达36.1%,并且近年来干眼的发病率有逐年增高的趋势^[5],故对干眼发病机制以及治疗方法的研究具有十分重要的意义。目前关于干眼发病机制的研究很多,如用眼过度、激素分泌异常、细胞凋亡、炎症因子、眼表黏蛋白改变等,但干眼发病的确切机制仍未明确。越来越多的证据表明,炎症在干眼的发病和进展过程中起着重要作用。虽然在干眼的起始阶段,有包括炎症、性激素水平、细胞凋亡及神经凋亡等多种因素参与,但是在进展阶段,干眼发病机制中最关键的因素是炎症,因而也解释了不同类型的干眼可表现出相似的病理生理改变,同时多种抗炎药物(如非甾体抗炎药,皮质类固醇和环孢霉素A等)成功应用于治疗干眼,均能对干眼起到不同程度的改善作用^[6-7],这些提示炎症在干眼发病及治疗中均起到重要作用。尽管西医目前有很多方法应用于干眼治疗,但通常短期内可改善干眼症状,长期应用则效

果不佳,且各种抗炎药物的长期使用均会产生不同程度的副作用。因此本次研究立足中医,以炎症为核心探讨二至丸对于干眼的治疗及其治疗机制。

中医学理论认为,肝开窍于目,泪为肝之液,肝火上炎可灼津耗液,使泪液分泌减少而诱发干眼。肾藏精,肾精不足则津液生化不足,使目珠失于濡润而发为干眼症。肝肾阴虚是干眼重要病机,治则以滋养肝肾、生津润燥为法。基于此本课题组基于益眼明口服液在临床上对于干眼患者进行治疗,并取得不错的疗效,可有效增加干眼患者的泪液分泌,促进泪膜的稳定性增加^[3]。在此基础上,本实验选取益眼明口服液的主要组成药物:女贞子、墨旱莲(二至丸)用于动物实验研究,以进一步研究二至丸对于干眼的治疗作用及其作用机制。研究结果提示:二至丸的使用可以有效改善干眼小鼠的泪液的分泌以及角膜荧光素染色评分。并且高中低3个剂量组应用二至丸后,均可抑制眼表炎症因子IL-4 mRNA的表达,且高剂量同时抑制IL-1 β 和TNF- α 的mRNA表达,在蛋白水平,高中低3个剂量组均可抑制IL-1 β 和TNF- α 蛋白水平的表达,但对于IL-4蛋白水平的抑制差异没有统计学意义,推测可能为实验周期太短,IL-4蛋白水平的改变还未体现。

目前对于干眼患者眼表炎症的发生,部分学者认为眼表的高渗状态起着重要作用,目前关于眼表的高渗环境和干眼的发病及其进展之间的关系被概括如下^[8-10]:各种原因导致的泪液分泌量不足或者泪液在眼表的停留时间减少均会造成眼表的干燥状态,进而使眼表形成高渗状态,而高渗环境则会进一步激活眼表的炎症相关通路,如JNK、ERK、P38 MAPK以及NF- κ B通路等,从而促进炎症因子(IL-1、TNF- α 、IL-4和IL-6等)的分泌,这些分泌的炎症因子又进一步激活和富集免疫提呈细胞(iAPC),并且上调细胞间黏附分子的表达(如ICAM-1),从而介导炎症状态下的眼表上皮的损伤。由此可见,ERK、

MAPK 以及 NF- κ B 通路均在干眼眼表的炎症诱发起着重要作用。模型组眼表及泪腺组织中 IL-4、IL-1、TNF- α 含量明显上升, P65 磷酸化及磷酸化的 P65 向核内转运, 表明在 NF- κ B 通路激活后, 释放炎症因子, 损伤泪腺细胞, 从而导致泪腺腺泡细胞凋亡, 泪液分泌量减少, 破坏泪膜稳定性, 从而诱发干眼。

本次实验中, 二至丸高中低 3 个剂量组均可抑制泪腺细胞胞浆内 P65 的磷酸化及磷酸化的 P65 向核内运, IL-4、IL-1、TNF- α 含量明显下降, 泪液分泌量增多, 因此推测, 二至丸对于干眼小鼠的炎症抑制作用可能是通过抑制 NF- κ B 的激活, 从而抑制炎症因子释放实现的。

综上所述, 二至丸不仅可以有效地改善干眼小鼠的泪液分泌和角膜荧光色素染色评分, 同时也可以改善干眼小鼠眼表的炎症状态, 其对于干眼小鼠的炎症抑制作用可能是通过抑制 NF- κ B 通路来实现的。

[参考文献]

- [1] Anon. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007)[J]. Ocul Surf, 2007, 5(2): 75-92.
- [2] 刘祖国, 谢立信, 孙旭光, 等. 干眼临床诊疗专家共识(2013年)[J]. 中华眼科杂志, 2013, 49(1): 73-75.
- [3] 陈兹满, 张梅芳, 李振萍, 等. 益眼明口服液治疗肝肾阴虚型干眼 30 例临床研究[J]. 新中医, 2014, 46(1): 107-108.
- [4] SUWAN-APICHON O, RIZEN M, RANGSIN R, et al. Botulinum toxin B-induced mouse model of keratoconjunctivitis sicca[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(1): 133-139.
- [5] ROUEN P A, WHITE M L. Dry Eye Disease: Prevalence, Assessment, and Management[J]. Home Healthc Now, 2018, 36(2): 74-83.
- [6] YAGCI A, GURDAL C. The role and treatment of inflammation in dry eye disease[J]. Int Ophthalmol, 2014, 34(6): 1291-1301.
- [7] ROLANDO M, BARABINO S. Are there Clinical Ways to Assess Inflammation in Dry Eye Disease?[J]. Ocul Immunol Inflamm, 2021, 29(6): 1183-1189.
- [8] PEREZ V L, STERN M E, PFLUGFELDER S C. Inflammatory basis for dry eye disease flares[J]. Exp Eye Res, 2020, 201: 108294.
- [9] YAMAGUCHI T. Inflammatory Response in Dry Eye[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(14): 192-199.
- [10] MA S, YU Z, FENG S, et al. Corneal autophagy and ocular surface inflammation: A new perspective in dry eye[J]. Exp Eye Res, 2019, 184: 126-134.

(责任编辑: 吴凌, 李海霞)