

引文格式:李娟,丁小艳,王亚虹,叶鳞泓,叶蕾,姜楠,等. PM_{2.5}对小鼠泪膜功能和角膜上皮组织结构的影响[J]. 眼科新进展,2017,37(3):201-204. doi:10. 13389/j. cnki. rao. 2017. 0052

【实验研究】

PM_{2.5}对小鼠泪膜功能和角膜上皮组织结构的影响[△]

李娟 丁小艳 王亚虹 叶鳞泓 叶蕾 姜楠 邵毅

作者简介:李娟,女,1981年4月出生,陕西西安人,博士,副主任医师,陕西省青年科技之星。研究方向:眼表、角膜疾病及屈光不正的防治。联系电话:18229017197;E-mail:cornea@163.com;ORCID:0000-0001-9831-3686

作者简介:丁小艳,女,1978年11月出生,陕西西安人,硕士,主治医师。研究方向:眼表疾病及白内障防治。联系电话:15339155673;E-mail:dkystudent@163.com;ORCID:0000-0001-7084-3183

注:李娟和丁小艳同为第一作者!

About LI Juan: Female, born in April, 1981. Tel: 18229017197; E-mail: cornea@163.com; ORCID: 0000-0001-9831-3686

About DING Xiao-Yan: Female, born in November, 1978. Tel: 15339155673; E-mail: dkystudent@163.com; ORCID: 0000-0001-7084-3183

收稿日期:2016-08-21

修回日期:2016-09-20

本文编辑:盛丽娜

△基金项目:国家自然科学基金资助(编号:81160118、81400372、81400424、81660158);陕西省科学技术研究发展计划项目(编号:2014K11-03-07-04);2017年陕西省创新人才推进计划项目:江西省远航工程(编号:2014022);江西省自然科学基金重大项目(编号:2016ACB21017);江西省青年科学基金(编号:20151BAB215016);江西省科技支撑计划项目(编号:20151BBG70223)

作者单位:710004 陕西省西安市,西安市第四医院眼科(李娟);710003 陕西省西安市,西安市第二医院眼科(丁小艳);710054 陕西省西安市,西安市环境监测站(王亚虹);330006 江西省南昌市,南昌大学第一附属医院眼科(叶鳞泓、叶蕾、姜楠、邵毅)

通讯作者:邵毅, E-mail: freebee99@163.com; ORCID: 0000-0003-1571-2433

Received date: Aug 21, 2016

Accepted date: Sep 20, 2016

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No: 81160118, 81400372, 81400424, 81660158); Science and Technology Research and Development Project of Shaanxi Province (No: 2014K11-03-07-04); Innovative Talents Promotion Project of Shaanxi Province (2017); Jiangxi Province Voyage Project (No: 2014022); Natural Science Key Project of Jiangxi Province (No: 20161ACB21017); Youth Science Foundation of Jiangxi Province (No: 20151BAB215016); Technology and Science Foundation of Jiangxi Province (No: 20151BBG70223)

From the Department of Ophthalmology, the Fourth Hospital of Xi'an (LI Juan), Xi'an 710004, Shaanxi Province, China; Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Xi'an (DING Xiao-Yan), Xi'an 710003, Shaanxi Province, China; Environmental Monitoring Station of Xi'an City (WANG Ya-Hong), Xi'an 710054, Shaanxi Province, China; Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University (YE Lin-Hong, YE Lei, JIANG Nan, SHAO Yi), Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Responsible author: SHAO Yi, E-mail: freebee99@163.com; ORCID: 0000-0003-1571-2433

Effects of PM_{2.5} on tear film function and corneal epithelial structure in mice

LI Juan, DING Xiao-Yan, WANG Ya-Hong, YE Lin-Hong, YE Lei, JIANG Nan, SHAO Yi

【Key words】 PM_{2.5}; tear film function; corneal epithelium; mouse

【Abstract】 Objective To investigate the effects of PM_{2.5} on tear film function and corneal epithelial structure in mice. Methods Totally 24 male BALB/c mice (24 eyes) were divided into two groups: group A (with PBS eye drops, n = 12), group B (5 mg · mL⁻¹ PM_{2.5} eye drop group, n = 12). PBS and PM_{2.5} eye drop were given with four times per day for 7 consecutive days in right eye. Tear secretion level was measured with phenol red thread. Break-up time (BUT) of tear film was tested, and corneal fluorescein staining (FL) was scored before therapy and 1 day, 4 days and 7 days after droppings and HE staining was performed 7 days after droppings, respectively. Results There was no significant difference in the tear secretion levels, BUT, FL between the groups A and B before treatment (all P > 0.05). At 4 days, 7 days after treatment with PM_{2.5}, the mean differences of the group B showed all items significantly changed compared with those before treatment (all P < 0.05). For the group A, there was no statistical change in tear secretion levels, BUT, FL at 7 days after treatment (all P > 0.05). There were statistical differences in all items between group A and B at each time point (all P < 0.05). At 7 days after therapy, the mean layers of corneal epithelial cells in the group A (4 ± 1) was significantly lower than that in the group B (7 ± 1) (P < 0.05). The group B showed that the whole corneal fluorescein staining obviously increased, and corneal epithelial cell layer was thickened. Conclusion PM_{2.5} can influence tears film function and damage the corneal epithelial structure in mice.

【中图分类号】 R772; R777

【关键词】 PM_{2.5}; 泪膜功能; 角膜上皮; 小鼠

【摘要】 目的 观察PM_{2.5}对小鼠泪膜功能和角膜上皮组织结构的影响。方法 24只雄性6~8周龄BALB/c小鼠,随机分为A、B两组,每组12只。B组采用5 mg · mL⁻¹ PM_{2.5}混悬液滴眼,A组采用PBS滴眼,每天4次。分别在干预后1 d、4 d、7 d对各组小鼠进行泪膜功能检测,包括泪液分泌功能、泪膜破裂时间(break-up time, BUT)、荧光素染色(fluorescein staining, FL),并于干预后7 d行苏木精-伊红染色观察角膜上皮情况。结果 干预后4 d、7 d, A组泪液分泌量、BUT较干预前无明显变化,差异均无统计学意义(均为P > 0.05),而B组泪液分泌量、BUT较干预前明显分别减少和恶化,差异均有统计学意义(均为P < 0.05)。干预后7 d, A组FL评分较干预前无明显变化,差异无统计学意义(P > 0.05),而B组FL评分较干预前明显增加,差异有统计学意义(P = 0.003)。干预后7 d, A组上皮细胞层数为(4 ± 1)层,而B组上皮细胞层数为(7 ± 1)层,差异有统计学意义(P < 0.05)。与A组比较,B组整个角膜FL着染明显增加,角膜表面上皮细胞层损伤,层数增厚。结论 PM_{2.5}会影响小鼠泪膜功能,损伤小鼠角膜上皮的组织结构。

空气污染已成为世界许多地区一个重要的公共卫生问题。越来越多的流行病学和临床证据表明,污染物使人群各种疾病的患病

率增加。大气颗粒物(particular matter, PM)是不同大小和化学特征的液体和固体材料的混合物,包括释放到空气中的烟尘、烟雾、灰尘、污垢等。人们将空气动力学直径 $\leq 2.5\ \mu\text{m}$ 的固体颗粒物称为 $\text{PM}_{2.5}$ ^[1]。 $\text{PM}_{2.5}$ 是各种气体的混合物和颗粒组件,主要由含碳物质、有机质、元素碳的总和、有机物组成^[2]。目前认为 $\text{PM}_{2.5}$ 主要是在人为燃烧、排放等过程中产生的,是雾霾的主要成分,可能对人体健康产生负面影响,因此对于 $\text{PM}_{2.5}$ 的监测和研究极为重要。眼球作为机体的一个重要器官,眼表直接暴露于外界,颗粒物 $\text{PM}_{2.5}$ 是否对眼表产生影响?本研究旨在探索 $\text{PM}_{2.5}$ 滴眼液对正常小鼠泪膜功能和角膜上皮组织结构的影响,以为临床防治提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取24只BALB/c雄性小鼠(6~8周龄,体质量18~22 g,由西安交通大学医学院实验动物中心提供),均为无特定病原体级实验动物(SPF级动物)。使用裂隙灯显微镜及眼底镜检查小鼠眼前节、眼底无异常。整个研究中24只小鼠均置于标准环境饲养:室温 $25\ ^\circ\text{C} \pm 1\ ^\circ\text{C}$,湿度 $60\% \pm 10\%$,以及交替的12 h明暗周期(早上8点到晚上8点)^[3]。所有小鼠都给予相同的水量和食物。本研究涉及的全部研究方法均遵循《赫尔辛基宣言》,动物实验符合视觉与眼科协会规定的对于动物眼科和视觉研究的使用,同时获得了西安交通大学医学院动物伦理委员会的批准^[4]。

1.2 滴眼液的制备

1.2.1 $\text{PM}_{2.5}$ 的采集 $\text{PM}_{2.5}$ 由西安环境监测站提供(2015年10月1日至31日,于西安市某超级站,采用武汉天虹仪表有限责任公司生产的TH-16A四通道大气颗粒物智能采样仪,切割粒径为 $2.5\ \mu\text{m}$,采用美国产Whatman聚四氟乙烯滤膜,进行采样。采样时间为当天10:30至第2天8:30,每天22 h,每日连续采样)。将载有 $\text{PM}_{2.5}$ 的聚四氟乙烯滤膜裁剪为 $1\ \text{cm} \times 1\ \text{cm}$,浸入蒸馏水中,超声振荡45 min $\times 3$ 次后用6层纱布滤过,真空下冷冻干燥,称质量,4 $^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.2.2 $\text{PM}_{2.5}$ 滴眼液的制备 $\text{PM}_{2.5}$ 稀释于无菌的PBS中,浓度为 $5\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,用超声漩涡处理。在100 g $\text{PM}_{2.5}$ 滴眼液及PBS滴眼液中分别加入保存剂苯扎溴铵0.005 g,其质量分数控制在0.005%,4 $^\circ\text{C}$ 冰箱保存备用。

1.3 分组及处理 24只小鼠随机分为A组和B组,每组12只,均选择右眼为实验眼,左眼为正常对照眼。A组采用PBS滴眼液滴眼,B组采用 $5\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ $\text{PM}_{2.5}$ 滴眼液滴眼,每天4次。分别在干预前和干预后1 d、4 d、7 d,观察两组小鼠的泪液分泌量、泪膜破裂时间(break-up time, BUT),并于干预后7 d行

角膜荧光素染色(fluorescein staining, FL)及苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)观察角膜上皮情况。

1.4 检测方法

1.4.1 泪液分泌检测 取酚红棉线,一端置于小鼠右眼外眦中外1/3处,计时60 s。用游标卡尺测量酚红棉线红色部分的长度,计算泪液分泌量。每次检查时应注意控制变量,由同一人在相同的时间、地点,相同的照明亮度、湿度及温度下操作。

1.4.2 BUT检测 参照文献[4-5],使用 $1\ \mu\text{L}$ $10\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 荧光素钠眼液滴眼,使其瞬目,瞬目后荧光素钠均匀分布于眼表面,在裂隙灯显微镜钴蓝光下观察记录角膜染色区出现第一个破裂点的时间,即为BUT。

1.4.3 FL像及其评分 参照1.4.2方法,在裂隙灯显微镜钴蓝光下观察各组小鼠角膜上皮缺损的部位及范围。角膜FL评分参见文献[6],即0分:没有染色;1分:轻微点状着染,少于30点;2分:点状染色超过30点,但没有成片;3分:严重弥漫性染色,但没有斑块;4分:有荧光素斑块。

1.4.4 角膜组织切片HE染色 于干预后7 d处死各组小鼠,摘取小鼠角膜组织,40 g $\cdot\text{L}^{-1}$ 多聚甲醛固定后,常规石蜡包埋、切片,行HE染色。显微镜下观察,拍照。

1.5 统计学方法 使用SPSS 17.0统计软件处理实验数据,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料用 χ^2 检验,检验水准均为 $\alpha = 0.05$;两组治疗前后及两组间同一时间点的均数比较采用单向方差分析 Student-*t* 检验及 Dunnett-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 泪膜功能检测指标评定结果比较

2.1.1 泪液分泌量 A、B两组内干预前和干预后1 d泪液分泌量相比,差异均无统计学意义($t = 0.524$ 、 0.681 ,均为 $P > 0.05$),两组间干预前、干预后1 d相比,差异均无统计学意义(均为 $P > 0.05$);干预后4 d、7 d, A组泪液分泌量较干预前均无明显变化,差异均无统计学意义($t = 0.632$ 、 0.647 ,均为 $P > 0.05$),而B组泪液分泌量较干预前均明显减少,差异均有统计学意义($t = 3.026$ 、 8.051 ,均为 $P < 0.05$);干预后4 d、7 d两组间泪液分泌量相比,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$;见表1)。

2.1.2 BUT A、B两组内干预前和干预后1 d BUT相比,差异均无统计学意义($t = 0.548$ 、 0.649 ,均为 $P > 0.05$),两组间干预前、干预后1 d相比,差异均无统计学意义(均为 $P > 0.05$);干预后4 d、7 d, A组BUT较干预前无明显变化,差异均无统计学意义($t = 0.462$ 、 0.591 ,均为 $P > 0.05$),而B组BUT较干预前均明显恶化,差异均有统计学意义($t = 5.281$ 、

6.726,均为 $P < 0.05$);干预后4 d、7 d 两组间 BUT 相比,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$;见表2)。

表1 A、B 两组小鼠干预前和干预后各时段泪液分泌情况

组别	干预前	干预后		
		1 d	4 d	7 d
A	6.16 ± 1.11	6.03 ± 1.05	6.05 ± 1.02	6.03 ± 0.98
B	6.22 ± 1.04	5.99 ± 1.26	4.02 ± 1.53	2.92 ± 1.64
<i>t</i>	0.342	0.506	3.124	6.732
<i>P</i>	0.997	0.754	0.039	0.007

表2 A、B 两组小鼠干预前和干预后各时段 BUT 情况

组别	干预前	干预后		
		1 d	4 d	7 d
A	6.59 ± 0.86	6.81 ± 0.99	6.93 ± 1.09	6.53 ± 1.03
B	6.83 ± 0.91	6.45 ± 2.02	5.03 ± 1.81	3.16 ± 1.09
<i>t</i>	0.465	0.618	4.489	9.147
<i>P</i>	0.092	0.072	0.022	0.013

2.1.3 FL 评分 A、B 两组内干预前和干预后1 d、4 d FL 评分相比,差异均无统计学意义(均为 $P > 0.05$),两组间干预前和干预后1 d、4 d 相比,差异亦均无统计学意义(均为 $P > 0.05$)。干预后7 d,A 组 FL 评分较干预前无明显变化,差异无统计学意义($t = 0.781, P > 0.05$),而 B 组 FL 评分较干预前明显增加,差异有统计学意义($t = 7.432, P < 0.05$);干预后7 d 两组 FL 评分相比,差异有统计学意义($t = 3.549, P = 0.011$;见表3)。

表3 A、B 两组小鼠干预前和干预后各时段角膜 FL 评分情况

组别	干预前	干预后		
		1 d	4 d	7 d
A	0	0.52 ± 0.39	0.43 ± 0.46	0.57 ± 0.28
B	0	0.55 ± 0.52	0.74 ± 0.67	3.02 ± 0.93
<i>t</i>	–	0.512	0.835	3.549
<i>P</i>	–	0.891	0.764	0.011

2.2 角膜 FL 像 角膜 FL 像显示,正常对照鼠眼角膜上皮完整,角膜 FL 着染呈阴性,不着染;A 组小鼠采用 PBS 滴眼液滴眼7 d 后角膜 FL 同正常对照,B 组小鼠采用 PM_{2.5}滴眼液滴眼7 d 后整个角膜 FL 着染区域明显增加,呈点片状着染(图1)。

2.3 角膜 HE 染色情况 HE 染色显示正常对照鼠眼角膜上皮由排列整齐的4~6层上皮细胞组成,基底细胞为一单层柱状上皮细胞层,排列紧密整齐。A 组使用 PBS 滴眼液滴眼7 d 后角膜上皮层数未见增加,基底细胞仍为一单层柱状上皮细胞层,角膜上皮厚度基本没有改变,表层上皮较为完整;而经过 PM_{2.5}滴眼液滴眼7 d 后的 B 组角膜上皮细胞层数开始增多,上皮厚度增加,翼状细胞及基底细胞排列紊乱,同时伴有表层上皮细胞损伤、脱落,角膜表面欠光滑(图2)。干预后7 d,A 组上皮细胞层数为(4 ± 1)层,而 B 组上皮细胞层数为(7 ± 1)层,两组比较差异有统计学意义($t = 8.614, P < 0.05$)。

图1 A、B 两组小鼠干预后7 d 角膜 FL 像。A:A 组;B:B 组

图2 A、B 两组小鼠干预后7 d 角膜 HE 染色情况。A:A 组;B:B 组

3 讨论

PM_{2.5}的体积小,因此在大气中滞留时间长,传播距离远,且很容易渗入肺,到达肺泡并不易清除^[7]。同时由于其表面积较大而易成为其他有毒有害物质的载体或反应体,如酸性氧化物、有毒重金属、有机污染物、一些细菌和病毒等^[8],因此当有毒物质进入人体后,影响人体的正常功能,延缓人类生长,甚至导致心脏病和癌症。当人体长期暴露于高浓度的 PM_{2.5}环境中,易导致呼吸道疾病和心血管疾病,其主要通过诱导系统性炎症、氧化损伤、免疫损伤等加速动脉粥样硬化和心脏自主神经功能改变等机制而产生^[9]。而眼表作为长期暴露于环境中的器官之一,同样也遭受着环境中 PM_{2.5}的侵害。

眼表被泪膜、角膜和结膜上皮细胞覆盖,其中角膜、结膜上皮细胞来源于表面外胚层,且维持分层及非角化状态^[10]。眼表面组织与腺体分泌之间的联系是通过中枢神经系统介导的,而这需要保持泪膜的光滑、眼部表面的舒适、正常的上皮细胞,并防止环境引起的感染^[11]。泪膜是一层很薄的液体层,厚约3 μm,它位于眼表表面,从外向内分为三层:脂质层、水液层、黏蛋白层。脂质层由睑板腺分泌,泪膜的中间层为水液层,由主、副泪腺分泌,黏蛋白层位于泪膜的最内侧,以前认为是由结膜杯状细胞分泌,近年来蛋白质组学的发展稍微改变了这种观点,认为角膜和结膜上皮细胞也可以分泌黏蛋白^[12]。此外,泪膜对于获得清晰的视力及维持眼睛的健康至关重要,它有助于保护眼球表面水分,减少水分的流失,从而维持光滑的眼球表面^[13]。泪膜的稳定是保

持在每个瞬目周期中泪液分泌和损失的关键。泪膜不稳定引起的各种眼部不适的总称即为干眼综合征 (dry eye syndrome, DES)^[14]。常见的干眼症状包括:眼部不适、疼痛感、异物感、视疲劳、眼睛发红肿胀、眼睛发痒、眼皮抽搐等^[15-16]。DES 可能导致角膜严重侵蚀和继发感染,甚至导致视力丧失^[17]。DES 目前没有明确的治疗方法,是导致患者找眼科医师和验光师的主要原因之一。而大多数情况下,患者必须处于低湿度等环境中或者配戴隐形眼镜。由于疼痛和发炎等症状,DES 明显影响患者生活质量^[18]。

我们采用 PM_{2.5} 混悬液滴眼,模拟空气中的 PM_{2.5} 黏附于眼表中的情况,结果发现用 PM_{2.5} 混悬液滴眼后 4 d、7 d,泪液分泌量减少,BUT、FL 较干预前明显恶化,整个角膜 FL 着色区域明显增加,角膜上皮细胞层增厚,这进一步说明 PM_{2.5} 破坏了角膜上皮细胞,使有害化学物质和病原体进一步侵袭眼表^[19]。研究表明,当人暴露于危害的环境中时,泪膜的稳定性将会下降,从而光滑的折光系统被破坏,视力下降^[20]。而泪膜的不稳定会导致 DES。目前干眼治疗是通过增加泪膜的湿润度,来弥补丢失的眼泪成分以及降低泪膜的渗透压和蒸发,从而减少过敏症状的^[21]。另一方面,对于 DES 的某些患者,虽然眼表面微环境被破坏,但它可通过增加上皮细胞来提高眼部自身防御力,维持一个相对良好的状态来防止感染^[19]。

综上所述,PM_{2.5} 会损伤小鼠泪膜功能,影响小鼠眼表的组织结构。我们将进一步研究 PM_{2.5} 损伤眼表是否与眼睑腺体(包括睑板腺和泪腺)的破坏,或者是对分泌黏蛋白的杯状细胞产生毒性,加重了眼表炎症细胞浸润和角膜上皮基底细胞萎缩等相关。同时我们还将积极寻找保护措施,减少 PM_{2.5} 对眼部的损害,以提高患者的生活质量。

参考文献

- [1] FENG C, LI J, SUN W, ZHANG Y, WANG Q. Impact of ambient fine particulate matter (PM_{2.5}) exposure on the risk of influenza-like-illness: a time-series analysis in Beijing, China [J]. *Environ Health*, 2016, 15(1): 17.
- [2] ROGULA-KOZŁOWSKA W, KLEJNOWSKI K, ROGULA-KOPIEC P, LOSRODKA L, KRAJNY E, BASZCZAK B, et al. Spatial and seasonal variability of the mass concentration and chemical composition of PM_{2.5} in Poland [J]. *Air Qual Atmos Health*, 2014, 7(1): 41-58.
- [3] YU Y, ZOU J, HAN Y, OUYANG LW, HE H, HU PH, et al. Effects of intravitreal injection of netrin-1 in retinal neovascularization of streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2015, 9: 6363-6377.
- [4] LIN Z, LIU X, ZHOU T, WANG Y, BAI L, HE H, et al. A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride [J]. *Mol Vis*, 2011, 17: 257-264.
- [5] 邵毅, 余静, 余瑶, 高桂平, 杨继玲, 裴重刚, 等. 无缝线骨髓间充质干细胞羊膜移植预防角膜缘干细胞缺乏的实验研究 [J]. *眼科新进展*, 2013, 33(11): 1011-1015.
- SHAO Y, YU J, YU Y, GAO GP, YANG JL, PEI CG, et al. Novel sutureless bone marrow mesenchymal stem cells with amniotic membrane transplantation for corneal limbus stem cells defect in rabbit model [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2013, 33(11): 1011-1015.
- [6] PAULY A, BRIGNOLE-BAUDOUIN F, LABBÉ A, LIANG H, WARNET JM, BAUDOUIN C. New tools for the evaluation of toxic ocular surface changes in the rat [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(12): 5473-5483.
- [7] SONG YZ, YANG HL, PENG JH, SONG YR, SUN Q, LI Y. Estimating PM_{2.5} concentrations in Xi'an City using a generalized additive model with multi-source monitoring data [J]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142149.
- [8] 张婷婷. PM_{2.5} 污染危害分析及防控措施研究 [J]. *中国环境管理*, 2012, 4(3): 19-23.
- ZHANG TT. The research of PM_{2.5} on pollution hazards and prevention measures [J]. *Chin Environ Manag*, 2012, 4(3): 19-23.
- [9] PEI Y, JIANG R, ZOU Y, YU W, ZHANG SH, WANG GH, et al. Effects of fine particulate matter (PM_{2.5}) on systemic oxidative stress and cardiac function in ApoE mice [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2016, 13(5): e484.
- [10] LI W, CHEN YT, HAYASHIDA Y, BLANCO G, KHEIRKAH A, HE H, et al. Down-regulation of Pax6 is associated with abnormal differentiation of corneal epithelial cells in severe ocular surface diseases [J]. *J Pathol*, 2008, 214(1): 114-122.
- [11] STERN ME, SCHAUMBURG CS, DANA R, CALONGE M, NIEDERKORN JY, PFLUFELDER SC. Autoimmunity at the ocular surface: pathogenesis and regulation [J]. *Mucosal Immunol*, 2010, 3(5): 425-442.
- [12] CONRADY CD, JOOS ZP, PATEL BC. Review: The lacrimal gland and its role in dry eye [J]. *J Ophthalmol*, 2016, 2016: 7542929.
- [13] BRAUN RJ, KING-SMITH PE, BEGLEY CG, BEGLEY CG, LI L, GEWECKE NR. Dynamics and function of the tear film in relation to the blink cycle [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2015, 45: 132-164.
- [14] LI L, BRAUN RJ, MAKI KL, HENSHAW WD, KING-SMITH PE. Tear film dynamics with evaporation, wetting, and time-dependent flux boundary condition on an eye-shaped domain [J]. *Phys Fluids*, 2014, 26(5): 052101.
- [15] 邵毅, 余瑶, 裴重刚, 童桂芳, 周琼, 贺鹏, 等. Pranoprofen 胶囊治疗造血干细胞移植术后慢性移植抗宿主病引起的中重度干眼症临床研究 [J]. *中国实用眼科杂志*, 2013, 31(5): 536-541.
- SHAO Y, YU Y, PEI CG, TONG GF, ZHOU Q, HE P, et al. Clinical study on pranoprofen drops of dry eye syndrome caused by chronic graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Chin J Pract Ophthalmol*, 2013, 31(5): 536-541.
- [16] 邵毅, 余瑶, 黄国栋, 谭钢, 裴重刚, 刘新华. 鬼针草叶治疗更年期女性中重度干眼症临床研究 [J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(19): 2985-2989.
- SHAO Y, YU Y, HUANG GD, TANG G, PEI CG, LIU XL. Clinical study on spanishneedles leaves in treatment of middle and severe xerophthalmia of menopausal females [J]. *Chin J Tradit Chin Med*, 2012, 37(19): 2985-2989.
- [17] LU H, WANG MR, WANG J, SHEN M. Tear film measurement by optical reflectometry technique [J]. *J Biomed Opt*, 2014, 19(2): 027001.
- [18] BARABINO S, CHEN Y, CHAUHAN S, DANA R. Ocular surface immunity: homeostatic mechanisms and their disruption in dry eye disease [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2012, 31(3): 271-285.
- [19] MCDERMOTT AM. Antimicrobial compounds in tears [J]. *Exp Eye Res*, 2013, 117: 53-61.
- [20] MOEN BE, NORBACK D, WIESLANDER G, BAKKE JV, MAGEROY N, GRANSL JT, et al. Can air pollution affect tear film stability? A cross-sectional study in the aftermath of an explosion accident [J]. *BMC Public Health*, 2011, 11: 235.
- [21] DIENES L, KISS HJ, PERENYI K, SZEPESSY Z, NAGY ZZ, BARSÍ Á, et al. The effect of tear supplementation on ocular surface sensations during the interblink interval in patients with dry eye [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135629.