

引文格式:李娟,周颖,李康骞,白海燕,马爱洁,谭钢,等.角膜基质透镜泪道栓治疗兔干眼的实验研究[J].
眼科新进展,2019,39(11):1014-1018. doi:10.13389/j.cnki.rao.2019.0232

【实验研究】

角膜基质透镜泪道栓治疗兔干眼的实验研究[△]

李娟 周颖 李康骞 白海燕 马爱洁 谭钢 李勇

Corneal stromal lenticule punctal plug for the treatment of dry eye in rabbits

LI Juan, ZHOU Ying, LI Kang-Jun, BAI Hai-Yan, MA Ai-Jie, TAN Gang, LI Yong

[Abstract] Objective To investigate the effects of corneal stromal lenticule punctal plug in the treatment of dry eye rabbits. **Methods** A total of 24 New Zealand white rabbits (48 eyes) were selected in this study and divided into 3 groups randomly (group A, B and C), with each group consisting of 8 rabbits (16 eyes). Except for the 8 rabbits of group C as normal controls without any treatment, the other 16 rabbits were treated with 1 g · L⁻¹ benzalkonium chloride eye drops for 2 consecutive weeks to establish a moderate to severe dry eye model. Group A was the experimental group, and the corneal stromal lenticule punctal plug was implanted after the modeling; Group B was the model group, and no treatment was given after modeling. The clinical manifestations of tear film function were measured before and 2 weeks, 4 weeks, 6 weeks after injection respectively, which included the tear volume (SIT), tear break-up time (BUT), corneal fluorescein staining (FL). Corneal and lacrimal duct tissues were collected according to the groups at the corresponding time points, histological investigation of corneal epithelium was observed by hematoxylin and eosin staining, and ultrastructure of corneal epithelial cells was further examined by transmission electron microscopy (TEM). **Results** After modeling, the tear secretion in the group A and group B was (9.88 ± 1.54) mm per 5 min and (9.66 ± 1.64) mm per 5 min, and the tear break up time was (3.25 ± 0.50) s and (3.50 ± 0.58) s, respectively. There were no statistically significant differences between the two groups (both P > 0.05). In group A, 2 weeks after implantation of the corneal stromal lenticule punctal plug for treatment, SIT increased to (13.75 ± 1.61) mm per 5 min, BUT increased to (6.50 ± 1.29) s, and FL scores decreased from 4.424 ± 1.178 to 2.132 ± 1.175. The differences between the three dry eye indicators before and after treatment were statistically significant (all P < 0.05). At 4 weeks after implantation, BUT, FL score and SIT had no statistical differences in group A and group C (all P > 0.05). TEM showed the microvilli of corneal epithelium in group A and group C was regular and fingerlike arrangement. In contrast, a cluster of disordered, shorter and fewer microvilli was observed in group B. **Conclusion** Implantation of corneal stromal lenticule punctal plug has a certain effect on the treatment of dry eye syndrome in rabbits, so it is expected to provide a new method for clinical treatment of dry eye.

[Key words] corneal stromal lenticule punctal plug; dry eye; tear film function

[摘要] 目的 探讨角膜基质透镜泪道栓治疗兔干眼的疗效。方法 选取新西兰大白兔24只(48眼),随机分为A、B、C三组,每组各8只(16眼)。除C组正常对照的8只不予处理外,其余16只均用1 g · L⁻¹苯扎氯铵滴双眼,连续2周,建立中重度兔干眼模型。A组为实验组,于造模结束后予以置入基质透镜泪道栓治疗;B组为模型组,造模后不予治疗。分别在干预后0周、

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,陕西省青年科技新星。研究方向:眼表疾病及屈光不正防治。联系电话:18229017197; E-mail: cornea@163.com; ORCID: 0000-0001-9831-3686

作者简介:周颖,女,1992年8月出生,湖南常德人,在读硕士研究生。研究方向:眼表及角膜疾病。联系电话:15570972455; E-mail: 472779506@qq.com; ORCID: 0000-0002-3739-3093
注:李娟和周颖同为第一作者。

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

About ZHOU Ying: Female, born in August, 1992. Tel: 15570972455; E-mail: 472779506@qq.com; ORCID: 0000-0002-3739-3093

收稿日期:2019-04-15

修回日期:2019-06-08

本文编辑:方红玲

△基金项目:国家自然科学基金资助(编号:81400424);2017年陕西省创新人才推进计划项目-青年科技新星项目(编号:2017KJXX-87);陕西省科学技术研究发展计划项目(编号:2014K11-03-07-04、2017SF-285);中央高校基本科研业务费专项资金资助(编号:xyy012019122)

作者单位:710004 陕西省西安市,西安市第四医院眼科、陕西省眼科医院(李娟,李勇);421000 湖南省衡阳市,南华大学附属第一医院眼科(周颖,谭钢);710004 陕西省西安市,西安爱尔眼科医院屈光手术科(李康骞);710021 陕西省西安市,西安工业大学材料与化工学院(白海燕,马爱洁)

通讯作者:李勇, E-mail: 344813995@qq.com; ORCID: 0000-0002-4488-2741

Received date: Apr 15, 2019

Accepted date: Jun 8, 2019

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No:81400424); Innovative Talents Promotion Project of Shaanxi Province (No:2017KJXX-87); Science and Technology Research and Development Project of Shaanxi Province (No:2014K11-03-07-04, 2017SF-285); The Fundamental Research Funds for the Central Universities (No:xyy012019122)

From the Department of Ophthalmology, Xi'an No. 4 Hospital, Shaanxi Province Eye Hospital (LI Juan, LI Yong), Xi'an 710004, Shaanxi Province, China; Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of South China University (ZHOU Ying, TAN Gang), Hengyang 421000, Hunan Province, China; Department of Refractive Surgery, Xi'an Aier Eye Hospital (LI Kang-Jun), Xi'an 710004, Shaanxi Province, China; Xi'an Technological University (BAI Hai-Yan, MA Ai-Jie), Xi'an 710021, Shaanxi Province, China

Responsible author: LI Yong, E-mail: 344813995@qq.com; ORCID: 0000-0002-4488-2741

2周、4周、6周观察实验兔泪膜功能相关检查,包括 Schirmer 泪液分泌试验(SIT)、泪膜破裂时间(break-up time, BUT)测定、角膜荧光素染色(fluorescein staining, FL)评分。根据分组于相应时间点收集其角膜及泪道组织,行 HE 染色观察角膜上皮情况及透射电子显微镜下观察角膜上皮细胞超微结构变化。**结果** A、B 两组造模结束后泪液分泌量分别为(9.88 ± 1.54) mm、(9.66 ± 1.64) mm, BUT 分别为(3.25 ± 0.50) s、(3.50 ± 0.58) s, 两组差异均无统计学意义(均为 $P > 0.05$)。A 组植入角膜基质透镜泪道栓治疗后2周,其泪液分泌量增加为(13.75 ± 1.61) mm, BUT 增加为(6.50 ± 1.29) s, 角膜 FL 评分由(4.424 ± 1.178) 分减少为(2.132 ± 1.175) 分, 3 种干眼指标治疗前后差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。植入角膜基质透镜泪道栓治疗后4周, A 组和 C 组泪液分泌量、BUT、角膜 FL 评分差异均无统计学意义(均为 $P > 0.05$)。电镜观察可见 A 组、C 组角膜上皮微绒毛呈指状突起, 微绒毛数量多, 排列整齐, 细胞连接排列规则; 而 B 组角膜上皮微绒毛减少、变短、排列紊乱, 可见微绒毛脱落, 细胞连接破坏。**结论** 角膜基质透镜泪道栓对兔干眼模型有一定的治疗作用, 有望为临床干眼的治疗提供一种新的方法。

【关键词】 角膜基质透镜泪道栓; 干眼; 泪膜功能

【中图分类号】 R777.3

目前, 干眼是除屈光不正以外最常见的眼科疾病, 我国的流行病学调查显示, 40 岁以上的人群发病率为 21% ~ 30%, 在眼科门诊中, 干眼患者约占所有病例的 30% 以上, 轻者常表现为眼睛干涩、异物感、痒、烧灼感、畏光、眼部充血、视物模糊、易疲劳等不适症状, 而严重者甚至可以致盲^[1]。泪道栓是一种人为堵塞泪液排出系统而增加自然泪液在眼表的停留时间, 以减少干眼体征和症状的一种相对安全、有效和可逆的物理治疗方法。目前, 关于泪道栓材料的研究相对较多^[2-3], 主要分为可降解和不可降解两种类型, 但是无论是可降解还是不可降解材料, 大都是各种化学材料聚合而成。因此, 角膜基质透镜泪道栓, 即将全飞秒激光手术微小切口基质透镜切除术(small incision lenticule extraction, SMILE)中获得的人源性角膜基质透镜进行一定程度的物理加工改造成泪道栓, 相比之下具有抗原性低、组织相容性好的优势。本研究通过建立苯扎氯铵诱导的兔干眼模型, 探讨角膜基质透镜泪道栓对兔干眼的治疗效果, 以便为临床上开发新的治疗干眼的方法提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料 角膜基质透镜泪道栓(中国发明专利申请号: 201811457265.9), 采用由全飞秒激光 SMILE 手术所得的角膜基质透镜作为材料, 术中取得后保存于装有 PBS 液的 EP 管中, 经 PBS 液洗涤后卷曲、冷冻干燥、紫外照射杀菌等步骤处理后制成短棒状(直径 1.0 ~ 1.4 mm、长度 5 ~ 6 mm)的泪道栓, 室温保存备用。

1.1.2 实验动物 24 只(48 眼)健康成年新西兰大白兔, 体质量 1.8 ~ 2.2 kg, 购于西安交通大学医学部实验动物中心。使用裂隙灯显微镜及眼底镜检查眼前节、眼底无异常。在整个研究过程中将 24 只新西兰大白兔置于标准环境: 室温(25 ± 1) °C, 湿度(60 ± 10)%, 交替 12 h 明暗周期(8:00 ~ 20:00)。所有大白兔都给予相同的水量和食物。本研究所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部动物

伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 24 只健康成年新西兰大白兔随机分为 A、B、C 3 组, 每组各 8 只(16 眼)。除 C 组作为正常对照的 8 只不予处理外, 其余 16 只均采用 1 g · L⁻¹ 苯扎氯铵滴双眼, 每天 2 次, 连续 2 周, 建立中重度干眼模型。A 组为实验组, 于造模结束后予以置入角膜基质透镜泪道栓治疗; B 组为模型组, 造模后不予治疗; C 组为正常对照组。分别在干预后 0 周、2 周、4 周、6 周观察实验兔泪膜功能, 相关检查包括 Schirmer 泪液分泌试验(Schirmer I test, SIT)、泪膜破裂时间(break-up time, BUT)、角膜荧光素染色(fluorescein staining, FL)评分。B 组于造模结束(干预 2 周后)收集实验动物角膜及泪道组织, 干预 6 周后收集其余各组角膜及泪道组织, 行苏木精-伊红染色观察角膜上皮情况及透射电子显微镜下观察角膜上皮细胞超微结构变化。

1.2.2 SIT 检测 取有刻度的泪液分泌试纸条(5 mm × 35 mm), 将一端反折轻轻置于被测兔眼下结膜囊的中外 1/3 处, 其余部分悬空垂直于皮肤表面, 记录 5 min 后取出滤纸上泪痕的长度。每组动物均由同一人检查, 每次检查时间、地点、温度、湿度及照明亮度相同。

1.2.3 BUT 检测 使用 1 滴(1 μL) 10 g · L⁻¹ 荧光素钠滴眼, 使其瞬目, 在裂隙灯显微镜钴蓝光下观察记录角膜染色区出现第 1 个破裂点的时间。进行每次检查时应注意控制变量, 应由同一人在相同的时间、地点、照明亮度、湿度及温度下操作。

1.2.4 角膜 FL 评分 使用 1 滴 10 g · L⁻¹ (1 μL) 荧光素钠滴眼, 使其瞬目, 在裂隙灯显微镜钴蓝光下观察各组兔角膜上皮缺损的部分及范围。评分参考文献^[4]将角膜划分为 4 个象限, 每一象限 0 ~ 3 分, 每个象限评分标准为: (1) 0 分: 无染色; (2) 1 分: 轻度染色 < 5 个点; (3) 2 分: 中度染色 ≥ 5 个点; (4) 3 分: 重度染色 ≥ 5 个点并有丝状染色或溃疡, 总分上限为 12 分。

1.2.5 HE 染色 于相应时间点收集各组角膜及泪道组织, 40 g · L⁻¹ 多聚甲醛固定 24 h 后, 乙醇梯度脱水, 二甲苯透明后浸蜡、包埋, 之后平行于眼轴方向切片, 厚度为 4 μm, 行苏木精-伊红染色。显微镜

下观察、拍照。

1.2.6 透射电子显微镜及扫描电子显微镜观察 角膜标本置于体积分数 2.5% 戊二醛内固定 2 h, 经 $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 锇酸固定 1 h, 乙醇梯度脱水, 环氧树脂浸透、包埋、修块, 经枸橼酸铅和醋酸双氧铀双重染色后于透射电子显微镜及扫描电子显微镜下观察并拍照。

1.3 统计学方法 使用 SPSS 20.0 统计学软件处理数据, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料用 χ^2 检验; 3 组治疗前后及组间同一时间点的均数比较采用重复测量设计方差分析, 3 组比较采用方差分析。检验水准: $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组干预前后干眼检测指标结果比较

2.1.1 泪液分泌量及 BUT 比较 干预前泪液分泌量各组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。干预后 2 周 (即造模后), A 组、B 组泪液分泌量及 BUT 显著减少, 干预前后差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.05$), 与 C 组相比, 差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.05$)。实验第 4 周, A 组泪液分泌量及 BUT 显著增加, B 组较前稍增加 (均为 $P < 0.05$), 实验第 6 周, A 组、B 组泪液分泌量及 BUT 较第 4 周无明显变化, 差

异均无统计学意义 (均为 $P > 0.05$), A、B 组间差异也无统计学意义。见表 1 和表 2。

表 1 各组兔干预前和干预后不同时间泪液分泌量比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 泪液分泌量/mm | | | |
|-----|----|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 干预前 | 干预后 2 周 | 干预后 4 周 | 干预后 6 周 |
| A 组 | 16 | 15.03 ± 1.55 | 9.88 ± 1.54 | 13.75 ± 1.61 | 14.94 ± 2.17 |
| B 组 | 16 | 15.13 ± 2.13 | 9.66 ± 1.64 | - | - |
| C 组 | 16 | 15.19 ± 1.52 | 14.75 ± 1.44 | 14.94 ± 1.65 | 15.09 ± 1.41 |

表 2 各组兔干预前和干预后不同时间 BUT 比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | BUT/s | | | |
|-----|----|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 干预前 | 干预后 2 周 | 干预后 4 周 | 干预后 6 周 |
| A 组 | 16 | 7.00 ± 0.82 | 3.25 ± 0.50 | 6.50 ± 1.29 | 6.75 ± 0.96 |
| B 组 | 16 | 6.75 ± 0.50 | 3.50 ± 0.58 | - | - |
| C 组 | 16 | 6.75 ± 0.96 | 6.50 ± 0.58 | 7.00 ± 0.82 | 6.75 ± 0.50 |

2.1.2 角膜 FL 染色及评分 角膜 FL 染色显示: A 组角膜经基质透镜泪道栓干预后 2 周基本透明, 未见明显荧光素着染 (图 1A); 而 B 组角膜中央区及下方均可见点片状着染 (图 1B); C 组角膜透明, 未见着染 (图 1C)。FL 染色评分见表 3, 干预后 4 周、6 周 A 组角膜 FL 染色评分均明显减少 (均为 $P < 0.05$)。见表 3。

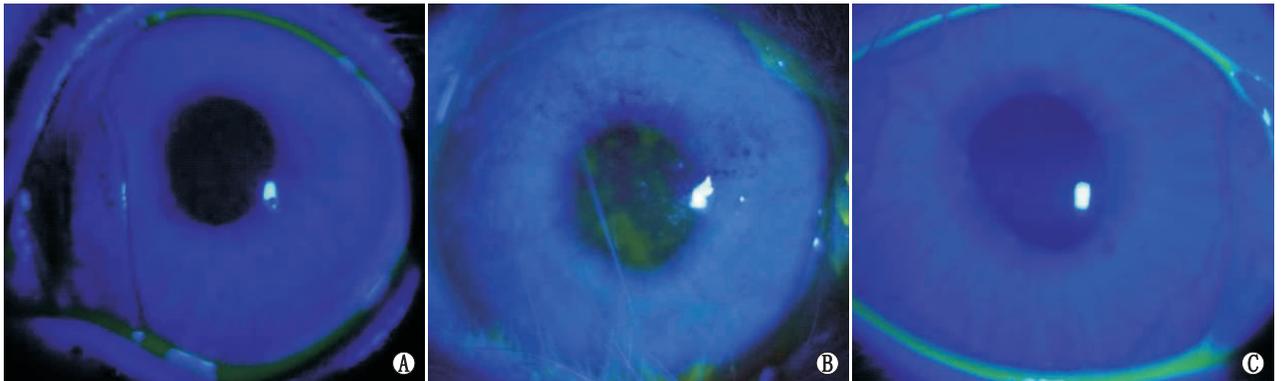


图 1 各组兔角膜 FL 染色情况。A: A 组; B: B 组; C: C 组

表 3 各组兔干预前和干预后不同时间 FL 染色评分情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | FL 染色评分/分 | | | |
|-----|----|-----------|---------------|---------------|---------------|
| | | 干预前 | 干预后 2 周 | 干预后 4 周 | 干预后 6 周 |
| A 组 | 16 | 0 | 4.424 ± 1.178 | 2.132 ± 1.175 | 0.438 ± 0.496 |
| B 组 | 16 | 0 | 4.354 ± 1.274 | - | - |
| C 组 | 16 | 0 | 0 | 0 | 0 |

2.2 各组角膜 HE 染色比较 HE 染色结果显示, 经角膜基质透镜泪道栓治疗后, A 组角膜上皮细胞排列整齐, 基本趋于正常 (图 2A)。苯扎氯铵滴眼 2 周后, 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 2B)。C 组

正常角膜上皮由整齐排列的 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 (图 2C)。

2.3 各组角膜超微结构的变化 正常角膜上皮细胞会向外伸出许多微绒毛和微皱襞, 排列整齐。透射电子显微镜下可见, A 组干预后 6 周表层上皮细胞向外可见丰富的微绒毛, 呈指状突起, 排列较规则 (图 3A); B 组角膜上皮微绒毛可见明显减少, 微绒毛形态也与 A 组和 C 组有很大差别, 偶见指状突起, 大部分微绒毛变短, 可见脱落, 排列紊乱 (图 3B); C 组微绒毛形态正常, 排列规则、整齐 (图 3C)。

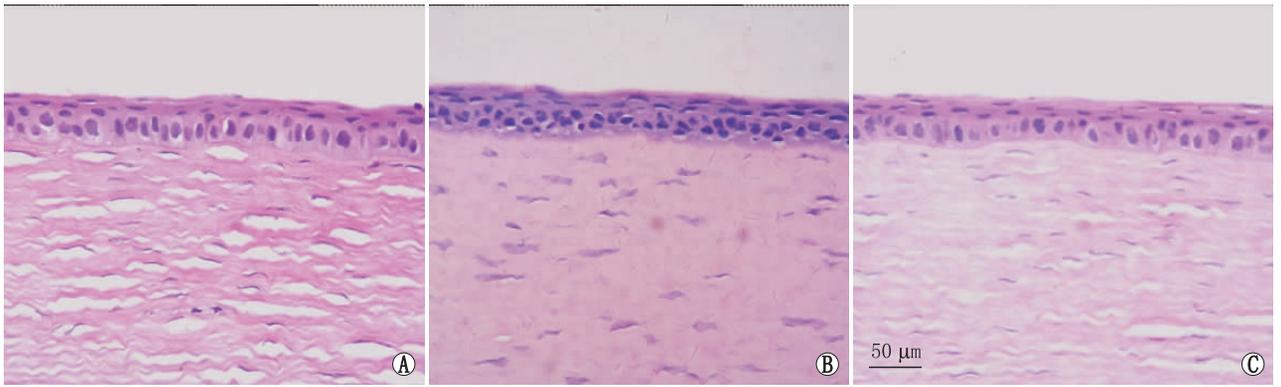


图2 各组兔干眼后6周角膜HE染色情况。A:A组;B:B组;C:C组

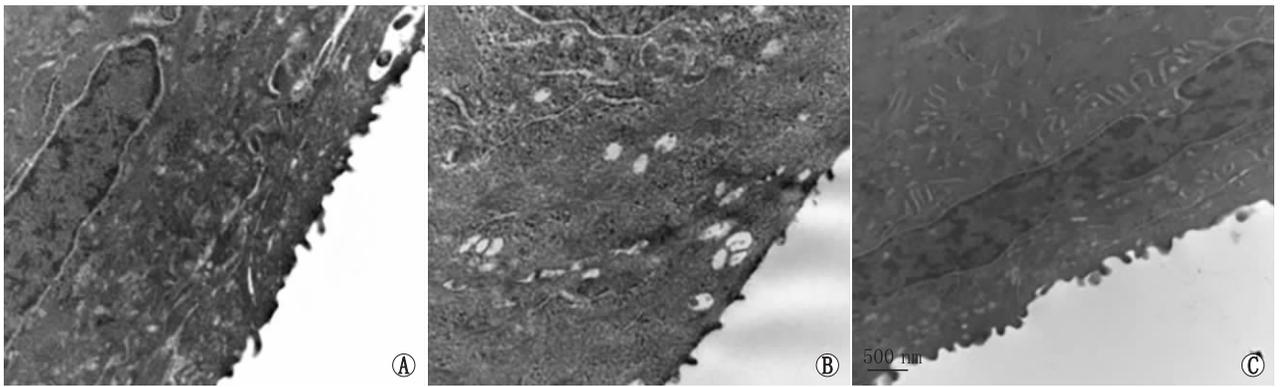


图3 各组兔干眼后6周角膜上皮细胞微绒毛形态比较(×30 000)。A:A组;B:B组;C:C组

3 讨论

据统计,现今全球有14%~33%的人被干眼所困扰,由此可见,干眼已经成为一个重要的公众健康问题^[5]。干眼的症状通常包括干涩、畏光、烧灼感、刺痛、瘙痒、眼疲劳、疼痛和充血等不适。目前干眼尚无治愈方法,但是有很多可供选择以减轻症状的治疗策略。泪液替代品,又称为人工泪液,可以改善眼部表面的润滑和增强眼表湿度而减轻干眼的症状,是目前治疗干眼的主要方法^[6],因其为局部给药,给药的便捷性和依从性高而广为人们所接受和偏爱。然而,使用人工泪液仅能提供短期的症状缓解,并不能解决长期潜在的问题。而泪道栓作为一种小型的医用植入物^[7],通过暂时或永久阻塞泪液引流的通道而使泪液的积聚增加,从而保持眼表的湿润,对长期潜在的问题提供了解决办法。自1975年推出以来,许多由不同材料和设计的泪道栓逐渐进入医疗领域。根据其在泪道中是否降解,分为可吸收泪道栓和不可吸收泪道栓。用于制成可吸收泪道栓的材料主要有明胶、肠线和羟丙基纤维素,最常用的临时泪道栓是用于短期阻塞泪道的胶原栓^[8-10]。然而,如果使用人体来源的角膜基质透镜作为生物材料,那相对于这些商业化的植入物在组

织相容性上可能会有一定的优势。

近年来,全飞秒激光SMILE已成为矫正近视和散光的主要方式之一,手术中利用飞秒激光仪精准定位后,在角膜基质层内立体切割出一定大小和厚度的透镜,然后经过周边角膜微小切口取出,从而达到屈光矫正的目的^[11]。对于术中取出的基质透镜往往是直接废弃,如何更好地利用SMILE手术的副产品?目前,国内外已有文献报道将取下的角膜基质透镜用于角膜移植的植片,对一些难治性角膜溃疡、角膜穿孔或者角膜局部厚度缺陷进行治疗或修补^[12-16],以及将取下的角膜基质透镜移植到角膜基质层中用以治疗圆锥角膜或远视,而且未见诸如同种异体排斥或角膜混浊等明显的术后并发症报道,说明角膜基质透镜组织相容性好。治疗干眼所用的泪道栓作为一种植入材料,对组织相容性也有较高的要求,因此,我们设计将SMILE术取出的角膜基质透镜制成短棒状的泪道栓用于干眼的治疗,以期对干眼的治疗提供安全有效的新方法。

本研究选取SMILE术后直径为6.5 mm、中央厚度为100~150 μm的角膜基质透镜为原材料,用3~4片堆叠卷曲,经真空冷冻干燥及紫外照射杀菌处理后制成长度为5~6 mm、直径1.0~1.4 mm且有一定硬度的短棒状栓子,用镊子夹取植入兔泪道

中,直至泪道栓的端点在泪小点口不可见,以避免泪道栓外露对角结膜造成损伤。体外观察发现,基质透镜泪道栓经泪液浸泡,会再次变软并且有一定程度的膨胀,但并不会由卷曲状散开,考虑角膜基质透镜实质为角膜组织,吸水会引起一定程度的水肿,又因人角膜基质为中层结缔组织,其间可能具有一定的组织黏附性而使其不易分散。基质透镜泪道栓植入兔泪道后行泪道冲洗,可见少量液体从兔鼻腔漏出,说明基质透镜泪道栓并未将兔泪道完全栓塞,从而避免了干眼兔经栓塞治疗后出现流泪、溢泪的可能,干预后6周,透镜组织未出现外排现象,并且实验动物未出现分泌物增多、眼部充血、溢泪等不适症状,而且检测结果提示,干眼兔经基质透镜泪道栓治疗后,SIT延长,角膜FL评分下降,组织学观察也证实A组的角膜上皮细胞超微结构相对于B组有明显的改善,因此我们得出结论:基质透镜泪道栓对干眼症状能够起到一定的治疗效果,因此短期植入基质透镜泪道栓治疗干眼是相对安全有效的,但是长期疗效仍需进一步随访观察。

综上所述,角膜基质透镜作为一种新型材料,在不添加任何化学成分、完全以物理方法制备成泪道栓植入泪道,保证了良好的组织相容性,同时达到部分堵塞泪小点的目的,减少了泪液的排出,以增加泪液在眼表的停留时间,从而为干眼的治疗提供了安全有效的新方法。

参考文献

[1] TANG Y, TIAN T, GE H Y. Research development of pathogenesis and influence factors in xerophthalmia[J]. *Med Recap*, 2019, 26(11): 2196-2201
唐颖, 田甜, 葛红岩. 干眼症发病机制与发病因素的研究进展[J]. *医学综述*, 2019, 26(11): 2196-2201.

[2] YELLEPEDDI V K, SHESHALA R, MCMILLAN H, GUJRAL C, JONES D, RAGHU RAJ SINGH T. Punctal plug: a medical device to treat dry eye syndrome and for sustained drug delivery to the eye[J]. *Drug Discov Today*, 2015, 20(7): 884-889.

[3] ERIVIN AM, LAW A, PUCHER A D. Punctal occlusion for dry eye syndrome: summary of a cochrane systematic review[J]. *Br J Ophthalmol*, 2019, 103(3): 301-306.

[4] LEMP M A. Report of the national eye institute/industry workshop on clinical trials in dry eyes[J]. *CLAO J*, 1995, 21(4): 221-232.

[5] LIU Z G, WANG H. Focusing on the management of chronic dry eye disease[J]. *Chin J Ophthalmol*, 2018, 54(2): 81-83.
刘祖国, 王华. 关注干眼慢性疾病管理体系的建设[J]. *中华眼科杂志*, 2018, 54(2): 81-83.

[6] MA B K, LIU R J, QI H. Development of dry eye research based on international dry eye new consensus[J]. *Chin J Ophthalmol Med (Electr Edit)*, 2018, 8(1): 36-43.
马佰凯, 刘容均, 齐虹. 基于国际干眼新共识的干眼研究进展[J]. *中华眼科医学杂志(电子版)*, 2018, 8(1): 36-43.

[7] SONG J S, WOO I H, EOM Y, KIM H M. Five misconceptions related to punctal plugs in dry eye management[J]. *Cornea*, 2018, 37 (Suppl 1): S58-61.

[8] TONG L, ZHOU L, BEUERMAN R, SIMONYI S, HOLLANDER D A, STERN M E. Effects of punctal occlusion on global tear proteins in patients with dry eye[J]. *Ocul Surf*, 2017, 15(4): 736-741.

[9] BAXTER S A, LAIBSON P R. Punctal plugs in the management of dry eyes[J]. *Ocul Surf*, 2004, 2(4): 255-265.

[10] SAID A M, FARAG M E, ABDULLA T M, ZIKO O A, OSMAN W M. Corneal sensitivity, ocular surface health and tear film stability after punctal plug therapy of aqueous deficient dry eye[J]. *Int J Ophthalmol*, 2016, 9(11): 1598-1607.

[11] ZHANG N N, YAN Z G. Advance of small incision lenticule extraction with femtosecond laser[J]. *Int Eye Sci*, 2016, 16(8): 1492-1494.
张娜娜, 燕振国. 全飞秒激光小切口角膜基质透镜取出术研究进展[J]. *国际眼科杂志*, 2016, 16(8): 1492-1494.

[12] GAO Y, ZHANG L N, HE N, YANG Y, LI Q Q, CHENG X Y. Application of corneal stromal lenticules in heterogeneous peripheral lamellar keratoplasty in rabbits[J]. *Zhejiang Med J*, 2018, 40(2): 126-129, 216-217.
高颖, 张俐娜, 何娜, 杨咏, 厉青青, 程雪莹. 飞秒激光角膜基质透镜用于周边板层角膜移植的实验研究[J]. *浙江医学*, 2018, 40(2): 126-129, 216-217.

[13] LIU Y C, TEO E P W, ANG H P, SEAH X Y, LWIN N C, YAM G H F, et al. Biological corneal inlay for presbyopia derived from small incision lenticule extraction (SMILE) [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1831.

[14] HAO X F, XIE L K, ZHANG J, ZHANG Z F, QIN R, QI Y X, et al. Repair of corneal ulcer or perforation using the corneal stromal lenticule[J]. *Int Eye Sci*, 2018, 18(1): 150-152.

[15] JIANG Y, LI Y, YANG S, LU T C. Tuck-in lamellar keratoplasty with an lenticule obtained by small incision lenticule extraction for treatment of post-LASIK ectasia[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 17806.

[16] YIN H F. Construction of a tissue-engineered corneal stroma with smile-derived lenticules and fibrin glue[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017.
尹厚发. SMILE来源的人角膜基质透镜联合纤维蛋白胶构建组织工程角膜基质的实验研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2017.