

引用格式: 丁宁, 韦庆波, 刘成勇, 邓伟民, 徐倩, 高卫萍. 针刺对于干眼兔角膜形态学及角膜组织 NF- κ B 信号通路的影响[J]. 眼科新进展, 2024, 44(3): 173-177. doi:10.13389/j.cnki.rao.2024.0034

【实验研究】

针刺对于干眼兔角膜形态学及角膜组织 NF- κ B 信号通路的影响[△]

丁宁 韦庆波 刘成勇 邓伟民 徐倩 高卫萍

作者简介: 丁宁 (ORCID:0000-0003-2259-9053), 女, 1992年3月出生, 山东威海人, 讲师, 博士。研究方向: 中西医结合治疗眼病。E-mail: 270551@njucm.edu.cn

通信作者: 高卫萍 (ORCID:0000-0003-0370-6503), 女, 1963年3月出生, 江苏盐城人, 教授, 博士生导师。研究方向: 中西医结合治疗眼病。E-mail: 260790@njucm.edu.cn

收稿日期: 2023-02-01

修回日期: 2023-10-19

本文编辑: 董建军

△基金项目: 国家自然科学基金资助 (编号: 82074526, 82305377, 82205259); 江苏省自然科学基金青年基金资助 (编号: BK20230455)

作者单位: 210008 江苏省南京市, 南京中医药大学 (丁宁, 韦庆波, 徐倩); 210029 江苏省南京市, 南京中医药大学附属医院 (刘成勇, 高卫萍); 210029 江苏省南京市, 东南大学附属中大医院 (邓伟民)

【摘要】 目的 探讨针刺对于干眼兔角膜形态学及角膜组织 NF- κ B 信号通路的影响, 分析针刺对于干眼的作用机制。方法 取雌雄不拘的健康新西兰兔 24 只, 随机分为空白组、模型组、针刺组、假针刺组, 每组 6 只。空白组为正常对照组, 不加任何处理; 其余 3 组动物每天 8:00、11:00、14:00 和 18:00 时于皮下注射氢溴酸东莨菪碱 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 连续 35 d 直至实验结束。假针刺组: 于造模后第 22 天给予假针刺治疗 (睛明 BL1、攒竹 BL2、丝竹空 SJ23、太阳穴 EX-HN5、瞳子髎 GB1), 钝针头点刺穴位, 不刺进穴位, 每天 1 次, 连续 14 d。针刺组: 于造模成功后第 22 天给予针刺治疗, 穴位同假针刺组。造模后第 0、21、28、35 天分别进行角膜荧光素染色, 第 35 天进行角膜共焦显微镜检查, 之后处死动物, 在光学显微镜、透射电子显微镜下观察角膜形态学变化, 采用 Western blot 检测角膜组织 NF- κ B 蛋白的表达。**结果** 与模型组相比, 造模后第 28、35 天, 针刺组、空白组角膜荧光素染色评分均减小, 差异均有统计学意义 (均为 $P < 0.05$)。造模后第 35 天共焦显微镜检查结果显示, 模型组和假针刺组与其他组相比, 兔角膜基质层出现大量球状免疫细胞和边界不清大小不规则的活化基质层细胞, 可见具有不规则细胞间间隙的区域, 存在炎症; 针刺组基质层细胞形态得到改善, 细胞呈轻微激活状态, 角膜神经形态未见明显异常。造模后第 35 天光学显微镜检查结果显示, 模型组和假针刺组兔角膜组织表面可见角化过度的扁平上皮细胞, 淋巴细胞浸润, 局灶上皮细胞层数增多, 表面上皮细胞脱落; 针刺组角膜上皮有接近 4~6 层上皮细胞, 上皮脱落减少, 与模型组相比, 淋巴细胞浸润减少。造模后第 35 天透射电子显微镜检查结果显示, 模型组和假针刺组兔角膜上皮细胞出现异常的微绒毛结构和上皮细胞缺失, 细胞间隙增宽, 粗面内质网严重扩张, 桥粒解体伴随线粒体肿胀; 针刺组上皮细胞微绒毛结构稀疏且短, 仍见局部缺失, 粗面内质网轻度扩张, 线粒体未见明显肿胀。造模后第 35 天 Western blot 检测结果显示, 与空白组相比, 模型组、假针刺组 p-NF- κ B p65 表达均上调 (均为 $P < 0.05$); 与模型组、假针刺组相比, 针刺组 p-NF- κ B p65 表达均下调 (均为 $P < 0.05$)。**结论** 针刺可以抑制 NF- κ B 信号通路从而发挥抗炎作用, 改善兔干眼模型角膜炎症和损伤。

【关键词】 针刺; 干眼; 角膜形态学; NF- κ B 信号通路

【中图分类号】 R772.2

干眼是一种常见的眼科疾病, 由于患者泪液分泌不足或蒸发过多, 导致泪液的质和量、自然流动性出现异常, 引起泪膜不稳定、眼表损害, 从而导致眼部不适及视功能障碍。患者通常会感觉眼睛疲劳、干涩、异物感、烧灼感、眼胀感、疼痛甚至畏光^[1]。流行病学调查显示, 干眼的发病率为 5%~50%, 女性患者多于男性, 老年患者多于青年^[2]。炎症反应是干眼发生的核心病理机制^[3], 抑制眼表炎症是治疗干眼的关键。目前, 针对水液缺乏型干眼的局部抗炎治疗中, 最常使用皮质类固醇 (氟米龙和洛替泼诺依特博酯) 和环孢素 A 等药物, 但是长期使用皮质类固醇会出现明显的副作用, 如继发性青光眼、眼部感染和白内障等^[4]。研究发现, 针刺可以促进泪腺代谢, 增加泪液分泌, 缓解干眼症状^[5-6]。尽管临床研究支持使用针刺治疗干眼, 但针刺发挥作用的机制尚不明确。本研究通过全身施用氢溴酸东莨菪碱建立兔干眼模型^[7], 探讨针刺对于干眼兔角膜形态学及

角膜组织 NF- κ B 信号通路的影响, 分析针刺对于干眼的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验仪器与试剂

角膜染色滤纸条 (天津晶明新技术开发有限公司), 华佗牌一次性无菌针灸针 (苏州医疗器械厂), WQ1002 韩氏电针治疗仪 (安隆光电技术公司), 酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司), 凝胶成像仪 (美国 BioRad Laboratories 公司), 角膜共焦显微镜 (德国 Heidelberg 公司); 盐酸奥布卡因滴眼液 (日本参天制药有限公司), BCA 试剂盒 (美国 Pierce 公司), 氢溴酸东莨菪碱标准品 (成都普菲德生物技术有限公司), 抗体 pNF- κ B p65 (美国 Cell Signaling Technology 公司), β -actin (美国 Santan Cruz 公司), NK- κ B p65 (美国 ENZO 公司), 辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔 IgG (美国 FcMACS 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验动物及分组

选择 24 只 2~3 个月龄健康新西兰兔(南京青龙山动物养殖场),雌雄不拘,体重约 1.5 kg。实验前所有动物眼前节检查均无异常,泪液流量每 5 min 均大于 10 mm。将动物安置于室温安静环境中,相对湿度为 60%±5%,交替 12 h 光暗循环,提供充足水和标准饲料。依据随机数字表法将兔分为 4 组,每组 6 只,分别为空白组、模型组、假针刺组、针刺组。

空白组为正常对照组,不加任何处理;其余 3 组动物每天 8:00、11:00、14:00 和 18:00 时于皮下注射氢溴酸东莨菪碱 2.0 mg·kg⁻¹,连续 35 d 直至实验结束。假针刺组:于造模后第 22 天给予假针刺治疗(睛明 BL1、攒竹 BL2、丝竹空 SJ23、太阳穴 EX-HN5、瞳子髎 GB1),钝针头点刺穴位,不刺进穴位,每天 1 次,连续 14 d。针刺组:于造模成功后第 22 天给予针刺治疗,穴位同假针刺组,用固定盒固定兔,露出头部,使用 1 寸针刺一半,睛明穴针尖向内下方斜刺入皮下 0.5 寸,攒竹穴向下平刺 0.5 寸,太阳穴直刺 0.5 寸,瞳子髎向外平刺 0.5 寸,均不行针,留针 15 min。丝竹空透太阳穴,每侧电针正极接丝竹空穴,无关电极接太阳穴。选用 WQ1002 韩氏电针治疗仪,采用疏密波,频率 4~20 Hz,脉冲宽度 0.5 ms,强度 1 mA(强度以针刺部位肌肉出现轻微抽动为准),留针 15 min,每天 1 次,连续治疗 14 d。

本实验方案经南京中医药大学动物保护与使用委员会批准(批号:201809A018)。本研究动物处理遵循《实验动物管理条例》(2017 修订版)的规定。

1.2.2 观察指标

造模后第 0、21、28、35 天分别进行角膜荧光素染色,第 35 天进行角膜共焦显微镜检查,之后处死动物,在光学显微镜、透射电子显微镜下观察角膜形态学变化,采用 Western blot 检测角膜组织 NF-κB 蛋白的表达。

1.2.3 角膜荧光素染色评分

将角膜染色滤纸条湿润后轻点下眼睑穹隆部,使兔眨眼数次,让其弥散分布。用钴蓝滤光片对角膜上皮损伤进行分级。把角膜分为四个象限,分别进行评分,每个象限 0~3 分,0 分不染色,1 分为 5 个以下点染,2 分为 5 个及以上点染,3 分为块状染色,最后将各象限分数相加,满分 12 分。

1.2.4 角膜共焦显微镜检查

将实验兔头部固定于角膜激光共焦显微镜前,用盐酸奥布卡因滴眼液行表面麻醉,置开睑器,在 40 倍水浸式圆锥状物镜表面上涂唯地息透明凝胶,将镜头缓慢前移,当角膜细胞可见,图像清晰地位于显示器视屏中央时按下摄录按钮,拍摄角膜中央基质层照片。

1.2.5 光学显微镜检查

处死兔后取出角膜在多聚甲醛中固定 24 h。角膜大小均为 2 mm×2 mm。进一步解剖后进行石蜡包埋并用 RM2135 切片机切片,HE 染色,光学显微镜下观察。

1.2.6 透射电子显微镜检查

将样品固定在体积分数为 2.5% 戊二醛溶液中,用 0.1 mol·L⁻¹ 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)冲洗后,在 10 g·L⁻¹ 锇酸中固定。酒精脱水,样品被嵌入到环氧树脂中。从角膜中部切出一小段(1 mm×1 mm×1 mm)。切片用醋酸铅和醋酸铀双染色,用透射电子显微镜观察。

1.2.7 Western blot 检测

用 RIPA 裂解液提取每组兔角膜蛋白质,离心取上清液,BCA 法测定总蛋白浓度,计算上样量。按计算的上样量加至十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳分离。电泳完毕后切胶转膜,转膜完成后,用 50 g·L⁻¹ 奶粉封闭 1 h,将膜与 pNF-κB p65、NK-κB p65、β-actin 的一抗于 4 °C 孵育过夜。用含 0.5 g·L⁻¹ Tween-20 的 Tris 缓冲液洗涤 3 次,每次 10 min,随后将膜与辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔 IgG 孵育 1 h。TBST 缓冲液洗 3 次,每次 10 min, ECL 发光液涂抹,凝胶成像仪显影、曝光、成像。

1.3 统计学分析

所有数据经 SPSS 25.0 统计学软件进行处理,计量资料采用均数±标准差表示,组间比较采用单因素方差分析,检验水准:α=0.05。

2 结果

2.1 各组兔造模后不同时间角膜荧光素染色评分

角膜荧光素染色评分结果显示,与造模后第 0 天相比,造模后第 21、28、35 天模型组、针刺组和假针刺组角膜荧光素染色评分均增加,差异均有统计学意义(均为 P<0.05);与模型组相比,造模后第 28、35 天,针刺组、空白组角膜荧光素染色评分均减小,差异均有统计学意义(均为 P<0.05)(表 1)。

表 1 各组兔造模后不同时间角膜荧光素染色评分

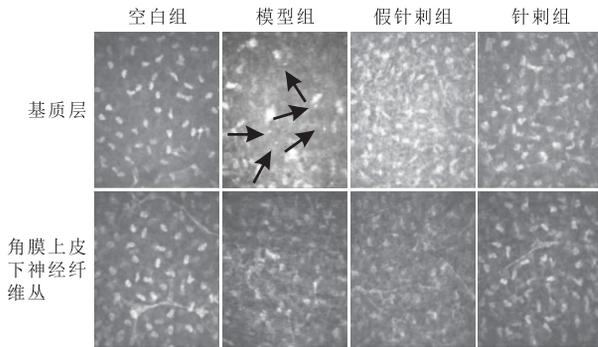
组别	第 0 天	第 21 天	第 28 天	第 35 天
空白组	0.280±0.574	0.170±0.383	0.440±0.784 [▲]	0.280±0.575 [▲]
模型组	0.280±0.518	4.880±1.356 [*]	6.630±1.506 [*]	7.750±3.059 [*]
针刺组	0.230±0.612	4.360±1.432 [*]	3.410±1.403 ^{*▲}	2.680±1.937 ^{*▲}
假针刺组	0.250±0.447	4.500±1.366 [*]	6.000±1.414 [*]	7.250±2.380 [*]

注:与同组造模后第 0 天相比,*P<0.05;与同一时间模型组相比,▲P<0.05。

2.2 针刺对角膜形态学的影响

2.2.1 角膜共焦显微镜检查结果

造模后第35天共焦显微镜检查结果显示,空白组兔角膜前弹力层细胞呈安静状态,未见形态异常的神经纤维。模型组和假针刺组与其他组相比,基质层出现大量球状免疫细胞和边界不清、大小不规则的活化基质层细胞,可见具有不规则细胞间间隙的区域,提示存在炎症;针刺组基质层细胞形态得到改善,细胞呈轻微激活状态,神经形态未见明显异常(图1)。



模型组箭头处可见球状免疫细胞。

图1 各组兔造模后第35天角膜共焦显微镜检查结果

2.2.2 角膜组织光学显微镜检查结果

造模后第35天光学显微镜检查结果显示,空白组兔角膜组织存在4~6层上皮细胞,基质均匀,未见血管。模型组和假针刺组兔角膜组织表面可见角化过度的扁平上皮细胞,淋巴细胞浸润,局灶上皮细胞层数增多,表面上皮细胞脱落。针刺组兔角膜上皮有接近4~6层上皮细胞,上皮脱落减少,与模型组相比,淋巴细胞浸润减少(图2)。

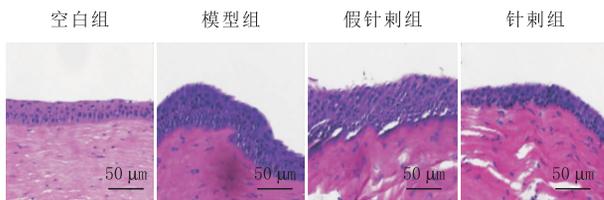


图2 各组兔造模后第35天角膜组织光学显微镜检查结果

2.2.3 角膜组织透射电子显微镜检查结果

造模后第35天透射电子显微镜检查结果显示,空白组兔角膜上皮细胞未出现异常。而模型组和假针刺组兔角膜上皮细胞出现异常的微绒毛结构和上皮细胞缺失,细胞间隙增宽,粗面内质网严重扩张,桥粒解体伴随线粒体肿胀,这意味着发生炎症反应甚至细胞死亡。针刺组兔角膜上皮细胞微绒毛结构稀疏且短,仍见局部缺失,粗面内质网轻度扩张,线粒体未见明显肿胀(图3)。

2.3 各组兔角膜组织 NF-κB 蛋白表达情况

造模后第35天 Western blot 检测结果显示,与

空白组相比,模型组、假针刺组兔角膜组织中 p-NF-κB p65 表达均上调(均为 $P < 0.05$);针刺组 p-NF-κB p65 的表达水平与空白组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型组、假针刺组相比,针刺组兔角膜组织中 p-NF-κB p65 表达均下调(均为 $P < 0.05$) (图4)。

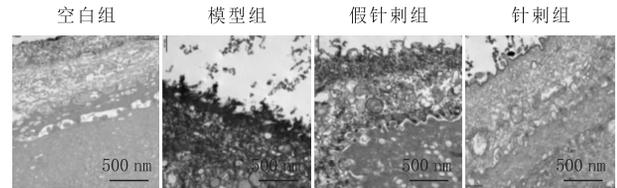
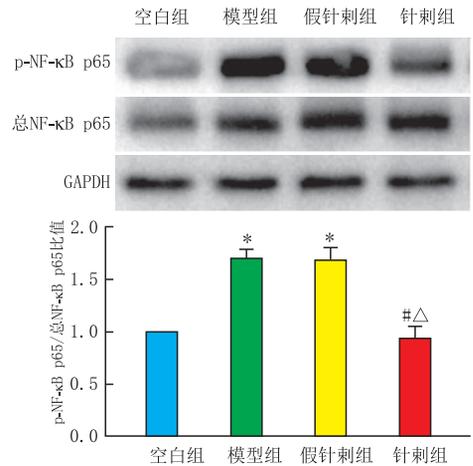


图3 各组兔造模后第35天角膜组织透射电子显微镜检查结果



与空白组相比,* $P < 0.05$;与模型组相比,# $P < 0.05$;与假针刺组相比,△ $P < 0.05$ 。

图4 各组兔造模后第35天角膜组织 NF-κB 蛋白表达情况

3 讨论

干眼是全球普遍发生的眼科疾病。目前,对干眼多采用人工泪液、抗炎等药物治疗,以及雾化物理治疗等。这些治疗方法均存在治标不治本、远期疗效差等问题。针灸属于中医药治疗疾病的手段之一,具有2000多年的历史,其治疗效果已被很多国家认可和使用^[8]。当前,针刺已经广泛用于治疗许多眼科疾病,如青光眼、眼肌麻痹、眼球震颤、干眼等^[9-12]。临床研究发现,针刺治疗干眼时,选取眼周穴位可以明显改善患者症状,这可能与针刺改善患者眼周组织微循环有关^[13]。而实验研究发现,针刺可有效修复泪腺细胞,促进泪液分泌,抑制泪腺组织细胞凋亡,抑制炎症因子促炎活性反应,调节性激素水平,且具有促进乙酰胆碱神经递质兴奋的作用^[14]。因此,我们推断针刺治疗可以作为干眼常规临床治疗的有效手段。本研究中我们用氢溴酸东莨

砒碱诱导兔干眼模型作为观察对象,研究发现,模型组兔角膜损伤严重,角膜荧光素染色评分明显增加,共焦显微镜检查可见角膜基质层出现大量球状免疫细胞和边界不清大小不规律的活化基质层细胞,透射电镜检查发现角膜组织存在异常的超微结构,此干眼模型具有与人类干眼炎症和损伤很强的相似性^[15]。在本研究中,我们为针刺治疗干眼提供了新的证据,发现针刺可以减小角膜荧光素染色评分,抑制角膜上皮层异常增多和淋巴细胞浸润,改善角膜上皮微绒毛结构,减轻角膜上皮粗面内质网和线粒体的扩张,抑制角膜基质层细胞活化,改善角膜神经病变,这些结果证明针刺可以改善兔干眼模型角膜炎症和损伤,抑制干眼。

NF- κ B 是在炎症反应中无法代替的转录因子。在炎症反应中它能够与多种调控基因的启动子相结合,从而调控炎症反应。它几乎存在于所有的组织和细胞中,在哺乳动物细胞中包括五种 NF- κ B/Rel 家族成员: NF- κ B1 (p50/p105)、NF- κ B2 (p52/p100)、RelA (p65)、RelB 和 c-Rel。NF- κ B 信号通路的激活主要分为经典途径和非经典途径。在经典途径中, NF- κ B 与其抑制蛋白 I κ B 结合呈非活性状态,肿瘤坏死因子- α 等细胞因子的刺激可导致 IKK 活化,进而引起 I κ B 降解和 I κ B 磷酸化,从而触发细胞向核内释放 p65/p50 二聚体,转录多种炎症因子,产生大量的促炎因子释放到外周血中。近年来研究发现, NF- κ B 在眼部疾病的发生发展中起到重要作用,如白内障、青光眼、视网膜病变等。通过抑制 NF- κ B 的活性可以抑制相关眼病的发展^[16]。炎症是干眼发病的核心病理机制,研究发现,各种干眼模型与 NF- κ B 的活化密切相关^[17-19]。在本研究中,使用氢溴酸东莨菪碱诱导兔干眼模型后 p-NF- κ B p65 明显被激活,而使用针刺后可降低 p-NF- κ B p65 的活化,这表明针刺可以通过抑制 NF- κ B 信号途径发挥作用,进而对干眼具有抗炎作用。

4 结论

本研究结果表明,针刺可以抑制 NF- κ B 信号通路从而发挥抗炎作用,改善兔干眼模型角膜炎症和损伤。

参考文献

- [1] JONES L, DOWNIE L E, KORB D, BENITEZ-DEL-CASTILLO J M, CRAIG J P. TFOS DEWS II management and therapy report[J]. *Ocul Surf*, 2017, 15(3): 575-628.
- [2] STAPLETON F, ALVESS M, BUNYA V Y, JALBERT I, LEKHA-

- NONT K. TFOS DEWS II epidemiology report[J]. *Ocul Surf*, 2017, 15(3): 334-365.
- [3] PODOLSKY D K. Inflammatory bowel disease[J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(6): 417-429.
- [4] SY A, OBTIEN K S, LIU M P, CUDDAPAH P A, ACHARYA N R, LIETMAN T M, et al. Expert opinion in the management of aqueous deficient dry eye disease[J]. *BMC Ophthalmol*, 2015, 15: 133.
- [5] JANG H, LEE S, KIM T H, KIM A R, LEE M, LEE J H. Acupuncture for dry eye syndrome after refractive surgery: study protocol for a randomized controlled trial[J]. *Trials*, 2013, 14: 351.
- [6] LEE M S, SHIN B C, CHOI T Y, ERNST E. Acupuncture for treating dry eye: a systematic review[J]. *Acta Ophthalmol*, 2011, 89(2): 101-106.
- [7] 仇晶晶, 袁进, 周世有, 刘菲, 陈家祺. 皮下注射氢溴酸东莨菪碱建立兔干眼模型的实验研究[J]. *眼科*, 2009, 18(6): 404-409.
- QIU J J, YUAN J, ZHOU S Y, LIU F, CHEN J Q. An experimental of rabbit tear-deficient dry eye model by subcutaneous injection of scopolamine hydrobromide[J]. *Ophthalmol CHN*, 2009, 18(6): 404-409.
- [8] YANG Y, SHEN Z, WU Z, LUO L, LIU J, LIU B. Strategy programming for acupuncture development along One-Belt-One-Road countries[J]. *Chin Acupunct Moxibus*, 2017, 37(4): 343.
- [9] LAW S K, LI T. Acupuncture for glaucoma[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, 5(5): CD006030.
- [10] JI M, QIN Y, ZI Y, RUI W, MING J. Acupuncture for ophthalmoplegia: protocol for a systematic review[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(24): e11065.
- [11] BLECHSCHMIDT T, KRUMSIEK M, TODOROVA M G. The effect of acupuncture on visual function in patients with congenital and acquired nystagmus? [J]. *Medicines (Basel)*, 2017, 4(2): 33.
- [12] KIM T H, KIM J I, SHIN M S, LEE M S, CHOI S M. Acupuncture for dry eye: a randomised controlled trial protocol[J]. *Trials*, 2009, 10: 112.
- [13] 王健, 高卫萍. 针刺治疗更年期干眼症的临床研究[J]. *辽宁中医杂志*, 2007, 34(8): 1142-1143.
- WANG J, GAO W P. The research of treating dry-eye syndrome in menopause period with acupuncture[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*, 2007, 34(8): 1142-1143.
- [14] 颜承凤, 万红棉. 针灸治疗干眼研究进展[J]. *针灸临床杂志*, 2019, 35(6): 96-99.
- YAN C F, WAN H M. Research progress of acupuncture treating dry eye[J]. *J Clin Acupunct Moxibust*, 2019, 35(6): 96-99.
- [15] DURSUN D, WANG M, MONRO D, LI D Q, PFLUGFELDER S C. A mouse model of keratoconjunctivitis sicca[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(3): 632-638.
- [16] 楼红, 李志坚. NF- κ B 在眼科领域的研究进展[J]. *国际眼科杂志*, 2017, 17(2): 266-269.
- LOU H, LI Z J. Research progress of NF- κ B in the field of ophthalmology[J]. *Int Eye Sci*, 2017, 17(2): 266-269.
- [17] LEE H, KIM E K, KANG S W, KIM J H, HWANG H J, KIM T I. Effects of ozone exposure on the ocular surface[J]. *Free Radic Biol Med*, 2013, 63: 78-89.
- [18] LI J, TAN G, DING X, WANG Y, WU A, YANG Q, et al. A mouse dry eye model induced by topical administration of the air pollutant particulate matter 10[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 96: 524-534.
- [19] GUZMÁN M, KEITELMAN I, SABBIONE F, TREVANI A S, GIORDANO M N, GALLETTI J G. Desiccating stress-induced disruption of ocular surface immune tolerance drives dry eye disease[J]. *Clin Exp Immunol*, 2016, 184(2): 248-256.

Effect of acupuncture on corneal morphology and nuclear factor κ B signaling pathway of dry eye rabbits

DING Ning¹, WEI Qingbo¹, LIU Chengyong², DENG Weimin³, XU Qing¹, GAO Weiping²

1. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

2. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

3. Zhongda Hospital, Southeast University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Corresponding author: GAO Weiping, E-mail: 260790@njucm.edu.cn

[Abstract] Objective To investigate the effect of acupuncture on the morphology of the dry eye rabbit's cornea and the nuclear factor κ B (NF- κ B) signaling pathway of the corneal tissue to analyze the mechanism of acupuncture on dry eyes. **Methods** Twenty-four healthy New Zealand rabbits, without restriction on sex, were randomly divided into four groups, including a blank group, a model group, an acupuncture group, and a sham acupuncture group, with 6 in each group. Rabbits in the blank group were not treated; rabbits in the other three groups were treated with scopolamine hydrobromide $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ by subcutaneous injection at 8 : 00, 11 : 00, 14 : 00 and 18 : 00 each day for 35 consecutive days until the end of the experiment. Rabbits in the sham acupuncture group were treated with sham acupuncture on the 22nd day after successful modeling by quickly pricking acupoints (Jingming BL1, Cuanzhu BL2, Sizhukong SJ23, Taiyang EX-HN5 and Tongziliao GB1) with a blunt acupuncture needle, once a day, for a total of 14 days. Rabbits in the acupuncture group were treated with acupuncture at the same acupoints as the sham acupuncture group after successful modeling. The corneal fluorescence staining was conducted on Days 0, 21, 28 and 35 after modeling. On Day 35, corneal confocal microscope examinations were conducted. Then, the rabbits were sacrificed, the corneal morphological changes were observed by light microscope and transmission electron microscope, and the expression of corneal NF- κ B protein was detected by Western blot. **Results** Compared with the model group, the score of rabbit corneal fluorescein staining in the acupuncture group and blank group decreased on the 28th and 35th days after modeling, and the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). The results of the confocal microscope examination on Day 35 after modeling showed that, compared with other groups, there were a large number of globular immune cells and activated stromal cells with unclear boundaries and irregular sizes in the stromal layer and inflammation in the area with irregular intercellular space in the model group and the sham acupuncture group. In the acupuncture group, the morphology of stromal layer cells improved, the cells were slightly activated, and there were no obvious abnormalities in the corneal nerve morphology. On the 35th day after modeling, the results of the light microscope showed that, the surface of the corneal tissue in the model group and the sham acupuncture group showed hyperkeratinized flat epithelial cells, lymphocyte infiltration, increased number of focal epithelial cell layers, and epithelial cell detachment. In the acupuncture group, there were 4–6 layers of epithelial cells in the corneal epithelium, and epithelial shedding decreased. In addition, the lymphocyte infiltration decreased compared with the model group. On the 35th day after modeling, the results of the transmission electron microscope showed that abnormal microvilli occurred and epithelial cells were absent in the corneal epithelial cells of rabbits in the model group and the sham acupuncture group, the cell space was widened, the rough endoplasmic reticulum was severely expanded, and desmosomes were disbanded with mitochondrial swelling. In the acupuncture group, the microvilli structure of epithelial cells was sparse and short, local deletion was still observed, the rough endoplasmic reticulum was slightly expanded, and no obvious swelling of mitochondria was observed. On the 35th day after modeling, the Western blot examination results showed that, compared with the blank group, the expression of p-NF- κ B p65 was up-regulated in both the model group and sham acupuncture group (both $P < 0.05$); compared with the model group and sham acupuncture group, the expression of p-NF- κ B p65 in the acupuncture group was down-regulated (both $P < 0.05$). **Conclusion** Acupuncture can inhibit the NF- κ B signaling pathway to play an anti-inflammatory role and relieve corneal inflammation and injury of dry eye rabbit models.

[Key words] acupuncture; dry eye; corneal morphology; nuclear factor κ B signaling pathway signaling pathway