

非干燥综合征干眼动物模型研究进展

卢云琼¹, 郭潇聪¹, 杨延婷², 刘 婕², 洪 珏², 杨 光², 张 丹², 孔谐和², 赵 越²,
马晓芃^{1,2}

引用: 卢云琼, 郭潇聪, 杨延婷, 等. 非干燥综合征干眼动物模型研究进展. 国际眼科杂志 2022;22(11):1794-1799

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (No.81904302); 上海市自然科学基金项目 (No.21ZR1460100); 上海市青年科技英才扬帆计划项目 (No.19YF1445000); 上海市卫生健康委员会项目 (No. 20214Y0116, 201940130)

作者单位: ¹(201203) 中国上海市, 上海中医药大学; ²(200030) 中国上海市针灸经络研究所

作者简介: 卢云琼, 上海中医药大学在读博士研究生, 研究方向: 针灸治疗免疫相关疾病。

通讯作者: 马晓芃, 博士, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向: 针灸治疗免疫相关疾病. pengpengma@163.com

收稿日期: 2022-01-15 修回日期: 2022-10-08

摘要

干眼是一种会严重影响患者工作与生活的多因素疾病, 至今发生机制未完全明确, 尚无标准动物模型。非 Sjögren 综合征干眼作为干眼的主要类型之一, 需要进一步对其进行探究。随着干眼机制研究的深入, 干眼动物模型也不断发展和完善。因此本文综述了包括药物、手术、外源性损害、行为模式、饮食结构改变等在内的非 Sjögren 综合征干眼的动物造模方法, 阐释不同模型的特点, 分析存在的问题, 并对今后研究提出展望和思考。

关键词: 干眼; 非干燥综合征干眼; 动物模型

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2022.11.06

Research progress on animal models of non-Sjögren syndrome dry eye

Yun-Qiong Lu¹, Xiao-Cong Guo¹, Yan-Ting Yang²,
Jie Liu², Jue Hong², Guang Yang², Dan Zhang², Xie-
He Kong², Yue Zhao², Xiao-Peng Ma^{1,2}

Foundation items: The Youth Fund of National Natural Science Foundation of China (No. 81904302); Shanghai Natural Science Foundation (No.21ZR1460100); Shanghai Sailing Project of Young Science and Technology Talents (No.19YF1445000); Scientific Research Project of Shanghai Municipal Health Commission (No. 20214Y0116, 201940130)

¹Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; ²Shanghai Research Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai 200030, China

Correspondence to: Xiao-Peng Ma. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; Shanghai Research Institute of Acupuncture and Meridian, Shanghai 200030, China. pengpengma@163.com

Received: 2022-01-15 Accepted: 2022-10-08

Abstract

• Dry eye is a multifactorial disease, which seriously affect the work and life of patients. Since the pathogenesis of dry eye has not been clarified so far, there is no standard animal model available now. Non-Sjögren syndrome dry eye is one of the main types of dry eye, which requires further research. Studies on dry eye mechanisms have led to the development and improvement of animal models. In this paper, the methods of animal models of non-Sjögren syndrome dry eye, including drug treatments, surgery, exogenous injury, behavioral patterns, changes in diet, are reviewed. In addition, different models are described, the problems are analyzed and perspectives and reflections on future research are offered.

• KEYWORDS: dry eye; non-Sjögren syndrome dry eye; animal models

Citation: Lu YQ, Guo XC, Yang YT, et al. Research progress on animal models of non-Sjögren syndrome dry eye. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(11):1794-1799

0 引言

干眼(dry eye, DE)是一种多因素疾病, 泪膜不稳定、泪液高渗透压、眼表炎症都可导致不适和视觉障碍等干眼表现^[1]。根据病因学分类干眼可以分为水液缺乏型干眼(aqueous deficient dry eye, ADDE)、蒸发过强型干眼(evaporative dry eye, EDE)及混合型干眼。其中 ADDE 和 EDE 是主要但并非互相排斥的类别, 流行病学和临床证据表明二者在干眼的发展过程中可能同时存在。

需要注意的是, 自 2007 年起泪膜和眼表协会发布的国际专家共识中就将 ADDE 分为 Sjögren 综合征干眼(Sjögren syndrome dry eye, SSDE)和非 Sjögren 综合征干眼(non-Sjögren syndrome dry eye, NSDE)^[2]。二者症状、体征相似, 但后者发病年龄较早, 病情进展也较快。与人 Sjögren 综合征干眼相似, 诊断 SSDE 动物模型需要确切的组织学损伤和免疫失调表现, 包括淋巴细胞浸润、自身抗体产生、继发于上皮凋亡的腺体丢失等^[3]。结合此专家共

识中的分类方法,非 Sjögren 综合征干眼的定义有广义和狭义之分。广义的 NSDE 包括除 Sjögren 综合征干眼之外的所有干眼类型,狭义 NSDE 为非 Sjögren 综合征水液缺乏型干眼。本综述对广义概念的非 Sjögren 综合征干眼动物实验模型研究现状进行综述,以期为非 Sjögren 综合征干眼的实验研究及机制研究提供思路。

1 药物造模

1.1 全身用药

副交感神经系统通过激活泪腺中的毒蕈碱乙酰胆碱受体参与泪液分泌,目前已开发了各种靶向副交感神经通路的干眼动物模型,这些模型多数通过透皮应用、皮下注射等方式持续递送毒蕈碱受体阻滞剂。氢溴酸东莨菪碱(scopolamine hydrobromide, SCO)是毒蕈碱乙酰胆碱受体的非选择性拮抗剂,通过阻断毒蕈碱 ACh 受体(mAChR)抑制乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)介导的泪腺刺激。

国外研究者最早通过渗透泵对出生 6wk 的雌性 Lewis 大鼠进行全身性的持续输入莨菪碱诱发干眼,大鼠在 17d 后均出现了单侧或双侧角膜炎,结膜和泪腺中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 mRNA 表达均有所增加^[4-5]。还有研究采用皮下注射东莨菪碱氢溴酸盐造模,每天 4 次,连续注射 28d,检查结果显示大鼠基础泪液分泌试验(Schirmer I test, S I t)测试值降低,泪腺分泌包含水电解质和蛋白质的泪液显著减少,严重降低泪膜稳定性,导致泪膜破裂时间(tear break-up time, BUT)明显缩短^[6]。该团队近期使用该模型评估了包含羧甲基纤维素和 α -促黑素细胞激素药物治疗可以改善眼表功能^[7]。这种全身性、持续东莨菪碱诱导的大鼠干眼模型已成为研究干眼的重要工具。以上研究中乙酰胆碱受体阻滞剂的应用均减少了模型动物的泪液分泌,部分研究结果该造模方法亦影响泪液中炎症因子含量及泪膜稳定性。

1.2 局部用药

干眼是具有神经免疫病理表现的眼表疾病,泪液高渗被认为是干眼发病机制中的重要因素。在干眼患者中常检测到泪液高渗,与疾病严重程度密切相关。在小鼠双眼局部施用不同浓度的盐水及药物建立高渗眼表模型,可以发现泪液高渗破坏小鼠眼表黏膜免疫稳态,改变眼表免疫微环境,降低角膜上皮内神经末梢密度^[8]。泪液高渗模型可表现出干眼的病理特点,且该模型可更好地模拟干眼患者在恶劣环境中的间歇性暴露。

有研究每天 4 次在雄性 Sprague-Dawley 大鼠右眼局部施用 10% N-乙酰半胱氨酸(N-acetylcysteine, NAC)溶液,处理后大鼠泪液分泌量、MUC5AC 泪液浓度和结膜杯状细胞数量显著减少,因此认为局部 10% NAC 给药会引起眼表损伤和泪膜不稳定,该动物模型可用于干眼研究,尤其是黏蛋白缺乏症亚型^[9]。伴刀豆球蛋白 A(Concanavalin A, Con A)是一种植物来源的凝集素,已被用于干眼实验模型的诱导。泪腺注射 Con A 可诱发急性干眼模型,大约 1wk 后诱导的症状消退。有研究采用了在超声引导下、7~10d 重复多点注射的方法提高模型成功率,此造模方法的改进尽可能地规避了代偿、将急性模型转变为慢性模型^[10],具有借鉴意义。局部滴用浓度由

0.1%~0.5% 不等的苯扎氯铵(benzalkonium chloride, BAC)的方法已被广泛应用于干眼动物造模。研究发现 BAC 处理的大鼠呈现眼表损伤显著增加、角膜厚度降低、促炎细胞因子表达升高的表现^[11]。为了优化局部滴注苯扎氯铵造成的兔干眼模型,研究者将苯扎氯铵的浓度从 0.1% 提高为 0.2% 以减少原始模型的滴注天数,结果证明该给药浓度和剂量可成功诱导兔干眼模型,且比原方案节省了 2d 时间^[12]。还有研究在雌性新西兰白兔泪腺中注射 A 型肉毒杆菌毒素,观察到了 1wk 内泪液分泌量的减少^[13]。以上研究说明,局部药物的应用可有效建立干眼动物模型。

2 手术造模

2.1 泪腺切除术

有研究通过泪腺切除术(lacrimal gland excision, LGE)建立小鼠水液缺乏性干眼模型,结果提示 LGE 可有效诱导小鼠泪液缺乏型干眼,具体表现为泪液分泌减少、角膜上皮病变并伴有眼表炎症^[14]。另一个切除小鼠泪腺的研究发现该造模方法形成的干燥压力引发了异常的 T 细胞应答^[15]。

另有研究通过单侧切除成年雌性 C57BL/6 小鼠的泪腺和哈德氏腺建立模型,结果显示小鼠泪液量和角膜神经末梢密度均减少,且出现了时间依赖性的机械性角膜超敏反应,并伴有自发性睫状神经纤维电活动的增加,研究者认为该模型可能有助于干眼相关性疼痛治疗药物的开发^[16]。

还有研究对正常成年新西兰白兔包括下泪腺、眶上泪腺、脸上泪腺在内的所有泪腺进行了完整的手术切除,证实此种造模方法可以造出严重的兔干眼模型,且通过持续 8wk 的观察验证了该模型为慢性干眼模型^[17]。

2.2 泪腺导管结扎

有研究通过结扎泪腺的主要导管建立干眼模型,在麻醉后使用硅胶管将泪腺主要导管和伴行的动脉结扎在一起造成缺血性变化,阻塞泪液的输布。造模后模型动物的泪液分泌量下降,泪腺组织萎缩性变化、质量减轻,腺泡数量显著下降,导管数量上升,提示该模型可以诱导干眼的炎症和增殖过程^[18]。

2.3 性激素缺乏模型

以 Wistar 大鼠为实验对象,雄性大鼠予口服非那雄胺[1.16mg/(kg·d)]、雌性大鼠行双侧卵巢切除术建立大鼠干眼模型,结果显示去卵巢诱导大鼠出现了显著的泪液缺乏,泪膜稳定性降低,该模型常用于外用药物的药理学筛选,且该模型有助于了解绝经后和雄激素缺乏性干眼的疾病过程^[19]。

3 外源性损害造模

3.1 干燥环境应激模型

现有的干燥环境应激模型涵盖了干眼的若干特征,包括角膜着染、结膜杯状细胞缺失、CD4⁺ T 细胞浸润结膜、泪液中细胞因子增多和眼表上皮凋亡。

研究发现, BALB/c 小鼠^[20]与 C57BL/6J 雌性小鼠^[21]暴露在相对湿度为 13.1%±3.5%、气流为 2.2±0.2m/s、温度为 22℃±2℃ 的智能控制环境系统(intelligently controlled environmental system, ICES)中,会产生干燥压力。小鼠眼睛会显示出与人类干眼相似的表现:泪液分泌减

少,角膜荧光素染色增加,结膜上皮鳞状化生等。且针对这一模型的后续研究提示 ROS-NLRP3-IL-1 β 信号通路可能在环境诱导的干眼进程中起主要作用^[22]。

研究人员开发了可控环境室(controlled-environment chamber,CEC),调节和监测相对湿度、温度及气流(湿度 18.5% \pm 5.1%,气流 15L/min,温度 21 $^{\circ}$ C~23 $^{\circ}$ C),将正常小鼠暴露于 CEC 中的低湿度、高气流环境会导致泪液分泌、杯状细胞密度和干眼相关眼表体征的显著改变^[23]。

在此基础上,有研究将 C57BL/6 小鼠暴露于 CEC(湿度 20%,气流 15L/min,温度 21 $^{\circ}$ C~23 $^{\circ}$ C)诱导干眼模型,并将造模成功的干眼小鼠角膜移植给 BALB/c 小鼠。该研究发现,干眼小鼠的角膜组织增加了宿主中 T 细胞驱动的炎症,阻碍了移植物的存活,揭示了角膜供体干眼可能作为角膜移植预后不良的危险因素之一^[24]。另一研究将 CD11c YFP \times Thy1 YFP 小鼠放置于 CEC 中,亦诱导出了干眼症状,该实验结果提示眼表神经可能在介导干眼的免疫反应中起直接作用^[25]。

3.2 辐照模型 电离辐射会对位于辐射场的正常组织造成损伤,引起包括泪腺在内的腺体组织功能和形态变化^[26]。

研究者将兔子全身麻醉后行眼眶区域 15Gy 单剂量辐照,以验证放射性泪腺损伤干眼模型建立法,结果显示辐照后兔泪腺分泌功能显著降低^[27]。另一研究以雄性 Sprague-Dawley 大鼠为实验对象,每只大鼠的头部和颈部接受 18Gy 单剂量辐射,结果显示辐射组大鼠泪腺损伤、角膜上皮明显变薄,角膜荧光素染色增加^[28]。

3.3 蓝光照射模型 发光二极管(light emitting diode,LED)因具有节能持久的优点,已被开发为电视、电脑、智能手机等各种电器中的显示组件,但存在会发出大量蓝光的缺点。眼表是抵御辐射的第一道屏障,极易受到蓝光影响。有研究使用不同波长的 LED 以 50J/cm² 的能量剂量照射 C57BL/6 小鼠,每天 2 次,连续 10d。经对比发现,短波蓝光照射组的小鼠 TBUT 显著下降,角膜荧光素染色增加,角膜中 IL-1 β 和 IL-6 的水平显著增加^[29]。蓝光照射可在动物模型中诱导干眼体征,诱导的最低照射剂量和强度仍需进一步研究。蓝光危害眼表的机制涉及氧化应激损伤、眼表炎症和细胞凋亡^[30]。

3.4 环境污染相关 有害化学物质和颗粒物(particulate matter,PM)释放到大气中引起的空气污染对人类健康构成了较大威胁,眼睛容易直接受到 PM 影响。PM 暴露可通过降低泪膜稳定性、炎症和氧化应激等多种因素对角膜上皮细胞造成损伤。

基于空气污染可能对眼表造成的影响,有研究者设计了一种气溶胶暴露系统,将大鼠暴露于城市可吸入颗粒物(urban particulate matter,UPM)中,持续 5d,每天持续 5h,结果表明使用该系统可作为干眼造模的有效方法之一^[31]。

有研究同样基于污染物对眼表的影响制备干眼模型,从环境监测站获得 PM_{2.5} 样本,制备成 5mg/mL 浓度的 PM_{2.5} 滴眼液,每天滴眼 4 次,建立了用于干眼研究的新

型动物模型^[32]。另一研究以 5 周龄雄性 Sprague-Dawley 大鼠为观察对象,将 UPM 溶解在磷酸盐缓冲盐水中制备滴眼液滴眼,动态观察不同造模时间点眼表的损伤及修复情况,结果发现短期应用 UPM 后动物模型角膜表面损伤、泪膜稳定性下降,且 PM 暴露持续加重角膜损伤,在一定时间后无法自发恢复^[33]。

4 相关疾病造模

临床流行病学研究发现干眼经常发生在患有抑郁症和/或焦虑症的患者身上。为了证实抑郁症在干眼中的作用,有研究建立了大鼠抑郁症模型并观察到抑郁组大鼠泪液分泌显著减少,角膜组织及泪液中 IL-1 β 、TNF- α 的水平升高。因此研究者认为抑郁症可通过减少泪液分泌和诱发眼表炎症而导致干眼^[34]。

糖尿病也是干眼患病的相关因素,患有糖尿病的个体通常在感觉减退(神经营养性角膜炎)的情况下出现上皮病变^[35]。GK(Goto-Kakizaki)大鼠是 2 型糖尿病 Wistar 大鼠的自发模型。GK 大鼠表现出泪液分泌减少、角膜感觉降低和角膜上皮伤口愈合速度延迟的特征^[36]。

5 行为模式造模

2007 年 DEWS 报告中的干眼病分类中将“眨眼频率低”列为干眼内环境的影响因素之一,眨眼对泪膜及眼表完整性具有重要意义。研究证明,在每日完成视觉任务期间(如视频显示终端工作、凝视阅读、操作显示器、手持视频游戏等)记录到眨眼频率下降^[4]。结合现代社会视频终端对干眼发病的影响,有研究通过诱导泪液动力学、眨眼频率的变化建立了角膜上皮疾病的大鼠干眼模型,诱发了与人类相似的异常泪液动力学和浅表点状角膜病变^[37]。

睡眠是所有动物普遍存在的基本生理需求,睡眠不足与干眼发病的关系已受到重视。研究者通过自制装置建立睡眠剥夺(sleep deprivation,SD)的小鼠模型,随着 SD 时间延长,角膜荧光素染色评分逐渐增加,呈现进展性的角膜上皮损伤;伴随角膜敏感性增加、泪液分泌量下降,结膜杯状细胞密度降低;泪液成分分析显示两种乙酰胆碱和多巴胺在 SD 期间显著降低。研究还发现在终止造模后 14d 内,SD 造模 10d 引起的眼表和泪腺变化可以恢复到相对正常的状态^[38]。通过人为干预动物模型的行为模式,可建立干眼动物模型。

6 饮食结构造模

当前饮食结构改变对预防和治疗干眼的作用已越来越受重视,而饮食结构失衡作为干眼发病危险因素也得到了很多关注。众所周知,高脂饮食可导致身体多系统功能障碍。因此,有研究用小鼠模型研究了高脂饮食(high-fat diet,HFD)对眼表的影响,证实了 HFD 通过激活氧化应激和诱导眼表细胞凋亡引发小鼠干眼样眼表损伤,包括角膜上皮屏障功能障碍与角结膜上皮鳞状上皮化生等^[39]。对高脂饮食实验小鼠模型的进一步病理研究表明,HFD 会引起泪腺的病理生理变化和功能性失代偿^[40]。

7 年龄相关性模型

年龄与干眼患病率之间的强相关性已被证实^[41]。有

研究评估了三个不同年龄组的 C57BL/6 小鼠,结果表明衰老有诱发小鼠干眼的迹象,其特征是角膜不规则性增加、角膜屏障破坏和结膜杯状细胞的密度降低。将衰老小鼠的 CD4⁺T 细胞过继转移给 RAG1 敲除小鼠后使其出现干眼症状,说明衰老小鼠会自发形成自身反应性 T 细胞^[42]。

8 组合模型

很多研究采用两种或两种以上的方法组合造模,其中包括通过东莨菪碱(scopolamine, SCP)抑制全身毒蕈碱乙酰胆碱受体的全身阻断作用抑制泪液的产生,同时加大环境气流量增加泪液蒸发,这是一种被广泛采用的模型^[43]。该模型干眼程度较重,具备泪腺萎缩和几乎无泪腺分泌等特征。

为了比较泪液缺乏型干眼的不同模型,有研究同时实施了 SCP 注射、CEC 暴露、和泪腺切除等几种不同的造模方法。结果表明 CEC 与 SCP 皆可有效地诱导有明显症状的干眼。相比之下,SCP 抑制外分泌功能导致的泪液缺乏更显著,而 CEC 对调节性 T 细胞功能损害更明显^[44]。

9 总结与展望

流行病学调查显示,干眼严重影响患病人群的视觉相关生活质量,造成的负担高于常见的影响视力的眼部疾病^[45]。2017 年国际泪膜与眼表协会国际干眼工作组(TFOSDEWS)发布的报告指出,50 岁以上人群的干眼患病率为 5%~30%^[46]。且随着视频终端使用的增加,将有越来越多的人受其影响,目前尚缺乏可稳定控制症状的治疗手段。因此,不但要更新对干眼致病危险因素、病因和病理机制的认知,更需要不断革新治疗策略,而现阶段这些任务都需要借助动物模型才能完成。

动物模型可以模拟在任何体外模型中都难以实现的人体复杂性,不仅有助于更深入地了解人类疾病的致病机制,且有助于探索候选治疗方法与药物,在人类疾病研究中发挥的重要作用是不可替代的。鼠、兔模型在干眼研究中应用最为广泛,前者有培育成本相对较低、能够创建基因敲除模型的优点,且相关实验试剂市场化程度较高,方便实验人员研究信号通路传导相关因子。后者的平均寿命更长且眼体积更大,其泪腺的组织结构特征与人类更为相似^[47],都具备圆形或卵圆形、间质疏松、浆细胞丰富的腺泡腔^[48]。因此对泪腺组织形态变化较为敏感的干眼研究,兔模型可能是更好地选择。兔的眨眼频率较低,外用药物在角膜前的停留时间较长,因此在进行药物暴露量评估的时候需要考虑该因素^[49]。犬眼体积较大,故可以便捷地直接使用人类临床研究中的诊断方法,如泪液渗透压测量法、Schirmer 测试、结膜印迹细胞学检测法等^[50]。因此在具体实验操作过程中,可考虑上述动物模型特性结合实验需要进行选择。

自第一个干眼模型问世以来,干眼模型的造模方法不断发展,包括药物的使用、神经阻断、泪腺切除术等,还有降低、削弱泪腺功能的泪腺导管结扎、辐照等方法。

药物的使用方式包括全身给药以及眼表局部用药等,不仅涉及具体药物的药理作用,也关乎给药方式引发的药

物代谢、泪膜动力学作用差异。全身给药模型中,应用最广泛的是东莨菪碱阻断毒蕈碱 ACh 受体模型,该模型与水液缺乏型干眼的临床表现和发病机制较为相似。局部给药使用较多的药物是 BAC,通过制成 0.1%~0.2% 浓度不等的滴眼液局部滴用,造成大鼠、小鼠、兔等动物模型的眼表炎症及损害,因其具备侵入性、伤害性较小的优点,也已被广泛用于干眼造模^[11-12, 51-52]。

手术造模以泪腺切除为主,对泪腺部分或完全切除,或对泪腺的主要导管进行结扎。亦有对动物进行去势手术造成激素的变化,诱发激素相关性干眼的造模方法。前者直接造成泪液分泌的减少,形成以水液缺乏为主的干眼。后者与内分泌系统在眼表与生理性别相关差异中发挥的作用有关。DEWS II 的生理性别、社会性别和激素报告指出,雄激素缺乏与水液缺乏和蒸发过强型干眼均有关^[53],因此针对激素水平变化开发的干眼模型具有混合型干眼的特点。

外源性损害造模方法与流行病学因素结合较为紧密,探索例如低空气湿度、高气流量、辐射、蓝光照射、香烟烟雾环境^[54]等干眼危险因素对眼表的影响。低湿度、高气流量的受控环境室加快了泪液的蒸发,与睡眠剥夺模型、视频显示终端工作模型等行为模式造模方法相似,较符合蒸发过强型干眼的特点。目前研究可明确高脂饮食干眼模型泪腺功能的损害,符合水液不足型干眼的特点。

年龄相关性干眼小鼠模型表现出的干眼改变很难局限性地归结于水液不足或蒸发过强,因此混合型干眼可能是该模型较为合理的归类。组合模型一般采取泪腺功能破坏加上环境和个体行为促成眼表高渗性,包括诸如环境湿度、温度、风速在内的外在因素和诸如眨眼频率、睑裂大小、注视位置、全身性药物对泪液分泌的影响等个体因素。

2017 年 DEWS 的定义与分类报告中指出,水液缺乏型干眼主要与影响泪腺的疾病有关,而蒸发过强型干眼则与影响眼睑(如睑板腺功能障碍和眨眼异常)或眼表(如黏蛋白缺乏相关或配戴角膜接触镜)的疾病有关^[1]。“炎症恶性循环”是干眼发病过程中的核心驱动因素,包括泪膜不稳定、泪液渗透压过高、角膜/结膜细胞凋亡和眼表炎症。内在和外在因素都会对眼表造成压力,从而加速循环,进而加剧干眼^[55]。正因为干眼周而复始、自我持续的特性,泪液量和质的缺陷并存并不罕见。一旦进入恶性循环,继之而来的泪膜不稳定、高渗透压和炎症便会带来更多的不良改变。且随着干眼的进展,任一形式的干眼均可能出现蒸发过强的特征。这常常使水液缺乏和蒸发过强的发病机制之间不易区分,呈现混合型干眼的表现。

基于我们对动物模型的认识,并不存在可以囊括全部干眼特征的完美动物模型。无论何种病因导致,干眼的发声发展都会使泪膜完整性及稳定性丧失,促使眼表炎症和角膜上皮损伤。因此,眼表上皮细胞的凋亡损伤、结膜杯状细胞的缺失、眼表炎症的发生,以及泪液分泌量、角膜荧光素染色、角结膜知觉、角膜规则性等检查的阳性评估结果,可以作为非 Sjögren 综合征干眼模型鉴定的参考标准。

现有的干眼动物模型,推动了对干眼发病机制和治疗

方法的深入研究。干眼发病机制的不断进展,又能指导干眼模型的开发和建立,促进对于眼认识与治疗。但目前的干眼动物模型仍存在一些问题:(1)现有的干眼模型多是在急性处理条件下构建的,而临床上的干眼大多是慢性病程,这要求我们对模型的稳定性和急/慢性进一步研究和规范;(2)与造模方式和造模时间有关,各种干眼模型的严重程度不一,目前尚无针对动物模型干眼严重程度分级的统一标准。因此,需要对干眼模型的建立和验证进行更加系统的研究,不断探索、改进检测方法。发挥动物模型优势,指导干眼的临床诊疗,建立标准、避免不必要的重复和浪费是未来干眼动物模型研究的目标之一。

参考文献

1 Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, et al. TFOS DEWS II definition and classification report. *Ocular Surf* 2017;15(3):276-283

2 Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, et al. TFOS DEWS II pathophysiology report. *Ocul Surf* 2017;15(3):438-510

3 Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell LA, et al. American College of Rheumatology classification criteria for Sjögren's syndrome: a data-driven, expert consensus approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance cohort. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 2012;64(4):475-487

4 Belmonte C, Nichols JJ, Cox SM, et al. TFOS DEWS II pain and sensation report. *Ocul Surf* 2017; 15(3): 404-437

5 Viau S, Maire MA, Pasquis B, et al. Time course of ocular surface and lacrimal gland changes in a new scopolamine-induced dry eye model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2008;246(6):857-867

6 Ru YS, Huang Y, Liu HJ, et al. α -Melanocyte-stimulating hormone ameliorates ocular surface dysfunctions and lesions in a scopolamine-induced dry eye model via PKA-CREB and MEK-Erk pathways. *Sci Rep* 2015;5:18619

7 Lv Y, Chu CC, Liu K, et al. A combination of CMC and α -MSH inhibited ROS activated NLRP3 inflammasome in hyperosmolarity stressed HCECs and scopolamine-induced dry eye rats. *Sci Rep* 2021; 11(1):1184

8 Guzmán M, Miglio M, Keitelman I, et al. Transient tear hyperosmolarity disrupts the neuroimmune homeostasis of the ocular surface and facilitates dry eye onset. *Immunology* 2020;161(2):148-161

9 Li XZ, Kang B, Woo IH, et al. Effects of topical mucolytic agents on the tears and ocular surface: a plausible animal model of mucin-deficient dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(7):3104-3114

10 Honkanen RA, Huang L, Rigas B. A Rabbit Model of Aqueous-Deficient Dry Eye Disease Induced by Concanavalin A Injection into the Lacrimal Glands: Application to Drug Efficacy Studies. *J Vis Exp* 2020; (155)

11 Na YJ, Choi KJ, Jung WH, et al. A novel selective 11 β -HSD1 inhibitor, (E)-4-(2-(6-(2, 6-dichloro-4-(trifluoromethyl)phenyl)-4-methyl-1, 1-dioxido-1, 2, 6-thiadiazinan-2-yl)acetamido)adamantan-1-carboxamide (KR-67607), prevents BAC-induced dry eye syndrome. *Int J Mol Sci* 2020;21(10):E3729

12 Carpena-Torres C, Pintor J, Pérez de Lara MJ, et al. Optimization of a rabbit dry eye model induced by topical instillation of benzalkonium chloride. *J Ophthalmol* 2020;2020:7204951

13 Demetriades AM, Leyngold IM, D'Anna S, et al. Intraglandular injection of botulinum toxin a reduces tear production in rabbits. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg* 2013;29(1):21-24

14 Stevenson W, Chen YH, Lee SM, et al. Extraorbital lacrimal gland excision: a reproducible model of severe aqueous tear-deficient dry eye disease. *Cornea* 2014;33(12):1336-1341

15 Guzmán M, Keitelman I, Sabbione F, et al. Mucosal tolerance disruption favors disease progression in an extraorbital lacrimal gland excision model of murine dry eye. *Exp Eye Res* 2016;151:19-22

16 Fakh D, Zhao ZL, Nicolle P, et al. Chronic dry eye induced corneal hypersensitivity, neuroinflammatory responses, and synaptic plasticity in the mouse trigeminal brainstem. *J Neuroinflammation* 2019;16(1):268

17 Honkanen R, Huang W, Huang LQ, et al. A new rabbit model of chronic dry eye disease induced by complete surgical dacryoadenectomy. *Curr Eye Res* 2019;44(8):863-872

18 Liu Y, Hirayama M, Kawakita T, et al. A ligation of the lacrimal excretory duct in mouse induces lacrimal gland inflammation with proliferative cells. *Stem Cells Int* 2017;2017:4923426

19 Singh S, Moksha L, Sharma N, et al. Development and evaluation of animal models for sex steroid deficient dry eye. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2014;70(1):29-34

20 Chen W, Zhang XB, Zhang JN, et al. A murine model of dry eye induced by an intelligently controlled environmental system. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008;49(4):1386-1391

21 Chen W, Zhang XB, Liu MM, et al. Trehalose protects against ocular surface disorders in experimental murine dry eye through suppression of apoptosis. *Exp Eye Res* 2009;89(3):311-318

22 Zheng QX, Ren YP, Reinach PS, et al. Reactive oxygen species activated NLRP3 inflammasomes prime environment-induced murine dry eye. *Exp Eye Res* 2014;125:1-8

23 Barabino S, Shen LL, Chen L, et al. The controlled-environment chamber: a new mouse model of dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005; 46(8):2766-2771

24 Inomata T, Hua J, Nakao T, et al. Corneal tissue from dry eye donors leads to enhanced graft rejection. *Cornea* 2018;37(1):95-101

25 Jamali A, Seyed-Razavi Y, Chao C, et al. Intravital multiphoton microscopy of the ocular surface: alterations in conventional dendritic cell morphology and kinetics in dry eye disease. *Front Immunol* 2020;11:742

26 Wang K, Tobillo R, Mavroidis P, et al. Prospective assessment of patient-reported dry eye syndrome after whole brain radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2019;105(4):765-772

27 Beutel J, Schroder C, von Hof K, et al. Pharmacological prevention of radiation-induced dry eye-an experimental study in a rabbit model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007;245(9):1347-1355

28 Kim H, Yoo WS, Jung JH, et al. Alpha-lipoic acid ameliorates radiation-induced lacrimal gland injury through NFAT5-dependent signaling. *Int J Mol Sci* 2019;20(22):5691

29 Lee HS, Cui L, Li Y, et al. Influence of light emitting diode-derived blue light overexposure on mouse ocular surface. *PLoS One* 2016; 11(8):e0161041

30 Ouyang XL, Yang J, Hong ZX, et al. Mechanisms of blue light-induced eye hazard and protective measures: a review. *Biomed Pharmacother* 2020;130:110577

31 Song SJ, Hyun SW, Lee TG, et al. New application for assessment of dry eye syndrome induced by particulate matter exposure. *Ecotoxicol Environ Saf* 2020;205:111125

32 Tan G, Li J, Yang QC, et al. Air pollutant particulate matter 2.5 induces dry eye syndrome in mice. *Sci Rep* 2018;8:17828

33 Kang WS, Choi H, Jang G, et al. Long-Term Exposure to Urban

- Particulate Matter on the Ocular Surface and the Incidence of Deleterious Changes in the Cornea, Conjunctiva and Retina in Rats. *Int J Mol Sci* 2020;21(14):4976
- 34 Zhang XZ, Yin Y, Yue L, *et al.* Selective serotonin reuptake inhibitors aggravate depression-associated dry eye via activating the NF- κ B pathway. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019;60(1):407-419
- 35 Lee Y, Kim M, Galor A. Beyond dry eye: how co-morbidities influence disease phenotype in dryeye disease. *Clin Exp Optom* 2022;105(2):177-185
- 36 Wakuta M, Morishige N, Chikama TI, *et al.* Delayed wound closure and phenotypic changes in corneal epithelium of the spontaneously diabetic Goto-Kakizaki rat. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(2):590-596
- 37 Nakamura S, Shibuya M, Nakashima H, *et al.* D - beta - hydroxybutyrate protects against corneal epithelial disorders in a rat dry eye model with jogging board. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(7):2379-2387
- 38 Li SM, Ning K, Zhou J, *et al.* Sleep deprivation disrupts the lacrimal system and induces dry eye disease. *Exp Mol Med* 2018;50(3):e451
- 39 Wu Y, Wu JL, Bu JH, *et al.* High-fat diet induces dry eye-like ocular surface damages in murine. *Ocular Surf* 2020;18(2):267-276
- 40 He X, Zhao ZY, Wang SP, *et al.* High-fat diet-induced functional and pathologic changes in lacrimal gland. *Am J Pathol* 2020;190(12):2387-2402
- 41 Stapleton F, Alves M, Bunya VY, *et al.* TFOS DEWS II epidemiology report. *Ocular Surf* 2017;15(3):334-365
- 42 McClellan AJ, Volpe EA, Zhang XB, *et al.* Ocular surface disease and dacryoadenitis in aging C57BL/6 mice. *Am J Pathol* 2014;184(3):631-643
- 43 Krauss AH, Corrales RM, Pelegrino FS, *et al.* Improvement of outcome measures of dry eye by a novel integrin antagonist in the murine desiccating stress model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(10):5888-5895
- 44 Chen YH, Chauhan SK, Lee HS, *et al.* Effect of desiccating environmental stress versus systemic muscarinic AChR blockade on dry eye immunopathogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(4):2457-2464
- 45 Morthen MK, Magno MS, Utheim TP, *et al.* The vision-related burden of dry eye. *Ocular Surf* 2022;23:207-215
- 46 The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007;5(2):93-107
- 47 Singh S, Sharma S, Basu SY. Rabbit models of dry eye disease: current understanding and unmet needs for translational research. *Exp Eye Res* 2021;206:108538
- 48 Schechter JE, Warren DW, Mircheff AK. A lacrimal gland is a lacrimal gland, but rodent's and rabbit's are not human. *Ocular Surf* 2010;8(3):111-134
- 49 Maurice D. The effect of the low blink rate in rabbits on topical drug penetration. *J Ocul Pharmacol Ther* 1995;11(3):297-304
- 50 Sebbag L, Mochel JP. An eye on the dog as the scientist's best friend for translational research in ophthalmology: focus on the ocular surface. *Med Res Rev* 2020;40(6):2566-2604
- 51 Yang FM, Fan D, Yang XQ, *et al.* The artemisinin analog SM934 alleviates dry eye disease in rodent models by regulating TLR4/NF- κ B/NLRP3 signaling. *Acta Pharmacol Sin* 2021;42(4):593-603
- 52 Zhang R, Park M, Richardson A, *et al.* Dose-dependent benzalkonium chloride toxicity imparts ocular surface epithelial changes with features of dry eye disease. *Ocul Surf* 2020;18(1):158-169
- 53 Sullivan DA, Rocha EM, Aragona P, *et al.* TFOS DEWS II sex, gender, and hormones report. *Ocular Surf* 2017;15(3):284-333
- 54 Otsu W, Ishida K, Chinen N, *et al.* Cigarette smoke extract and heated tobacco products promote ferritin cleavage and iron accumulation in human corneal epithelial cells. *Sci Rep* 2021;11(1):18555
- 55 Yamaguchi T. Inflammatory Response in Dry Eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(14):DES192-DES199