

清眩润目饮治疗兔蒸发过强型干眼的作用机制

于珂鑫, 姚靖, 王佳娣, 曹丛红

基金项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (No. H2015027); 哈尔滨市科技创新人才 (No. 2017RAXXJ062); 黑龙江中医药大学科研基金 (No. 201708)

作者单位: (150001) 中国黑龙江省哈尔滨市, 黑龙江中医药大学附属第一医院眼科

作者简介: 于珂鑫, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 干眼、眼表疾病。

通讯作者: 姚靖, 女, 博士, 主任医师, 科主任, 硕士研究生导师, 研究方向: 干眼、眼表疾病. 1273830946@qq.com

收稿日期: 2018-01-02 修回日期: 2018-06-12

Experimental study on the mechanism of evaporative dry eye treated by Qingxuan decoction in rabbits

Ke - Xin Yu, Jing Yao, Jia - Di Wang, Cong - Hong Cao

Foundation items: Heilongjiang Natural Science Foundation (No. H2015027); Innovative Talents of Science and Technology Supporting Project (No. 2017RAXXJ062); Scientific Research Foundation of Heilongjiang University of Chinese Medicine (No. 201708)

Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Jing Yao. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. 1273830946@qq.com

Received: 2018-01-02 Accepted: 2018-06-12

Abstract

• **AIM:** To study the mechanism and effect of Qingxuan decoction on evaporative dry eye in rabbit model.

• **METHODS:** Totally 25 healthy male Japanese white rabbits were randomly divided into 5 groups: control group, model group, western medicine group, high dose of Qingxuan decoction group, low dose of Qingxuan decoction group. The blank control group did not do any treatment. The improved dry eye model of rabbit was prepared by the improved method of glandular burning of the eyelid plate. The high and low dose group were given daily 27.2mg/kg, 6.8mg/kg Qingxuan decoction by gavage. The model group was intragastric with the same amount of normal saline every day. The western medicine group with tobramycin and dexamethasone ophthalmic ointment 1 drops, once a day. The treatment were

administered continuously for 28d. At 14d before the experiment, 7d before the experiment, 7d after the model, and 14d after the model, all the rabbits were tested by Schimer I test (S I t) and break-up time (BUT). On the 15d after modeling, the animals were sacrificed by excessive anaesthesia. Rabbit ocular surface tissue sections were prepared. Hematoxylin - eosin staining method was used to observe the corneal morphological changes in each group. The concentrations of TNF- α , IL-1 and IL-6 in the ocular surface of rabbits were detected by ELISA.

• **RESULTS:** (1) BUT, S I t: 7d after the model had been prepared, BUT and S I t of the model group and the western medicine group, high dose and low dose of Qingxuan decoction group was improved ($P < 0.05$); Those of western medicine group, high dose and low dose of Qingxuan Decoction group compared with the model group, were significantly different ($P < 0.05$). (2) TNF- α , IL-1, IL-6: The ELISA assay showed that TNF- α and IL-1, IL-6 concentration in the model group rabbits was significantly higher than those of the control group, TNF- α and IL-1, IL-6 concentration in western medicine group and high dose group of rabbits was significantly lower than those in the model group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$), and in high dose group the effect was better than that of Western medicine group. (3) Histopathological examination: on the 14d after the model, the corneal epithelium in the blank control group was stratified well. The cells in the base were columnar, near the surface, the cornea epithelium showed a squamous change. Conjunctiva showed complete epithelial layer and subconjunctival tissue layer, and goblet cells arranged closely. The number of corneal epithelial cells in model group was reduced or even stripped, and the matrix layer was disorder; Irregular loss of conjunctival epithelial cell layer and a large decrease in goblet cells. The corneal morphology of the rabbits in the western medicine group and the high dose group was close to the normal group, and the number of conjunctival goblet cells was not significantly different from that in the blank control group.

• **CONCLUSION:** The expression of Qingxuan decoction can inhibit the inflammatory reaction through down-regulation of TNF- α and IL-1, IL-6 and in evaporative dry eye rabbit cornea and conjunctiva, so as to improve the ocular symptoms, increase tear secretion, prolong the time of BUT.

• **KEYWORDS:** evaporative dry eye; Qingxuan decoction; TNF- α ; IL-1; IL-6

Citation: Yu KX, Yao J, Wang JD, *et al.* Experimental study on the mechanism of evaporative dry eye treated by Qingxuan decoction in rabbits. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2018;18(7):1192-1196

摘要

目的:研究清眩润目饮对蒸发过强型干眼模型兔的作用机制和疗效。

方法:将 25 只雄性健康日本大耳白兔随机分为 5 组:空白对照组、模型组、西药组、高剂量清眩润目饮组、低剂量清眩润目饮组。空白对照组不做任何处理,采用改良睑板腺口灼烧法制备兔蒸发过强型干眼模型;造模后,高、低剂量组每天分别予 27.2mg/kg、6.8mg/kg 的清眩润目饮灌胃,模型组每天以等量生理盐水灌胃,西药组以妥布霉素地塞米松眼膏 1 滴,1 次/d 点双眼,各组连续给药 28d。各组分别在实验前第 14d、实验前第 7d、造模后当天、造模后第 7d、造模后第 14d,对全部实验兔行 Schimer I 试验 (Schimer I test, S I t) 和泪膜破裂时间 (break-up time, BUT) 测定。造模后 15d 以过量麻醉法处死动物,制备兔角膜结膜组织切片,采用苏木精-伊红染色法,观察各组兔角膜组织形态变化;采用 ELISA 法检测兔角膜中 TNF- α 、IL-1、IL-6 的浓度含量。

结果:(1) BUT、S I t:造模后 7d,西药组、高、低剂量清眩润目饮组的 BUT、S I t 较造模时均有不同程度的改善 ($P < 0.05$);西药组、高、低剂量清眩润目饮组与模型组比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。(2) TNF- α 、IL-1、IL-6:ELISA 法检测显示,模型组兔角膜中的 TNF- α 、IL-1、IL-6 浓度含量明显高于空白对照组,西药组和高、低剂量组兔角膜中的 TNF- α 、IL-1、IL-6 浓度明显低于模型组,差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$),且高剂量组作用优于西药组。(3) 病理组织学检查:造模后 14d,空白对照组角膜上皮分层好,基底部细胞排列呈柱状,靠近角膜上皮呈鳞状改变,结膜可见完整的上皮层和结膜下组织层,杯状细胞排列紧密;模型组角膜上皮层细胞数减少甚至剥脱缺失,基质层分层紊乱,结膜上皮细胞层不规则脱落,杯状细胞大量减少;西药组、高剂量组兔角膜形态接近正常组,结膜杯状细胞数量与空白对照组无明显差异。

结论:清眩润目饮可以通过下调蒸发过强型干眼兔角膜和结膜中 TNF- α 、IL-1、IL-6 的表达而抑制炎症反应,从而改善眼表症状,增加泪液分泌,延长泪膜破裂时间。

关键词:蒸发过强型干眼;清眩润目饮;TNF- α ;IL-1;IL-6
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2018.7.06

引用:于珂鑫,姚靖,王佳娣,等.清眩润目饮治疗兔蒸发过强型干眼的作用机制.国际眼科杂志 2018;18(7):1192-1196

0 引言

蒸发过强型干眼是由于泪膜中油脂类物质减少,造成泪膜各组成成分的量(或)质的变化,从而影响泪膜的稳定性,造成眼部不适甚至有角膜上皮的改变而出现的干眼病。TNF- α 、IL-1、IL-6 的水平在干眼病患者泪液和结膜上皮中较正常人显著升高,且与干眼的严重程度呈正相关^[1-2]。通过抑制炎症因子的表达可抑制炎症信号通路及抗原呈递细胞的激活,并可抑制细胞凋亡,减少结膜杯状细胞的损害,增加表皮生长因子的表达,保持泪膜稳定。

本研究采用改良睑板腺口灼烧法建立兔干眼模型,讨论清眩润目饮对 TNF- α 、IL-1、IL-6 的调节作用及对眼表损伤修复的影响,并研究其可能的作用机制,为临床开发干眼治疗药物提供理论支持。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物和分组 3~4 月龄健康日本大耳白兔 25 只,体质量 2.0~3.0kg[许可证号:SCXK(黑)2015-003],普通饲料喂养,实验过程遵循国家科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》。经裂隙灯检查眼前节无异常者,采用完全随机法,分 5 组:空白对照组、模型组、西药组、高剂量清眩润目饮组和低剂量清眩润目饮组,每组 5 只。空白对照组不做任何处理,模型组、西药组、高剂量和低剂量清眩润目饮组进行造模。

1.1.2 主要试剂药物和仪器 清眩润目饮(组成:玄参、生地、麦冬、金银花、连翘、白鲜皮、甘草),由天阴天江药业有限公司提供(批号:1610073)。多聚甲醛(编号:XSD-2017-05-26-00002)、兔 IL-6 ELISA 试剂盒(SEA079Ra)、兔 IL-1 ELISA 试剂盒(SEA563Ra)、兔 TNF- α ELISA 试剂盒(SEA133Ra),均由优尔生公司提供。妥布霉素地塞米松眼膏(国药准字 H20020496)。泪液检测试纸条(许可证号:津食药监械生产许 2400041 号)。荧光素钠眼科检测试纸(许可证号:津食药监械生产许 20100040 号)。眼科手术显微镜(编号:JX7-130213),由上海轶得医疗设备有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制作 首先测量 5 组兔的体质量。除空白对照组外,用 10% 水合氯醛腹腔麻醉(3~5mL/kg),15min 左右进入麻醉维持期,麻醉满意后,用眼科手术显微镜,冷光源下采用改良睑板腺灼烧法,对兔双眼上下睑缘所有睑板腺口逐一灼烧,时间约为 5s,术后不使用药物涂抹兔结膜囊,从而建立稳定的蒸发过强型干眼模型(图 1)。

1.2.2 干预方法 人工自行配制清眩润目饮,根据动物与人的体质量折算系数,计算高剂量组与低剂量组分别每天予 27.2mg/kg、6.8mg/kg 清眩润目饮灌胃。西药组予妥布霉素地塞米松眼膏 1 滴,1 次/d 点兔眼。模型组每天以等量生理盐水灌胃。空白对照组不予任何处理。连续灌胃 28d,每周测量体质量 1 次,根据体质量调整给药量。

1.2.3 干眼相关指标检测 各组兔子左眼在不麻醉状态下于实验前第 14d、实验前第 7d、造模后当天、造模后第 7d、造模后第 14d 进行以下检查:(1)泪膜破裂时间 (break-up time, BUT):将荧光素钠染色试纸条溶于 1mL 生理盐水中,取 50 μ L 滴于兔双眼眼表,协助兔眨眼数次,使荧光素液均匀平铺,打开上下眼睑,计时,手持裂隙灯(钴蓝光下)观察并记录最后 1 次瞬目开始到泪膜上出现第一个破裂点(黑斑)的时间。(2)Schimer I 试验 (Schimer I test, S I t):将 1mm \times 35mm 的滤纸一端于 2.5mm 处折叠,置于兔下睑穹窿中外 1/3 处,检查者辅助闭合兔眼,5min 后取出,记录试纸湿润长度。

1.2.4 ELISA 法检测兔角膜结膜中 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 浓度含量 于造模后 15d 过量麻醉法分别处死各组兔 3 只,立即摘除左眼球,取眼球前 2/3 部分(包括角膜与球结

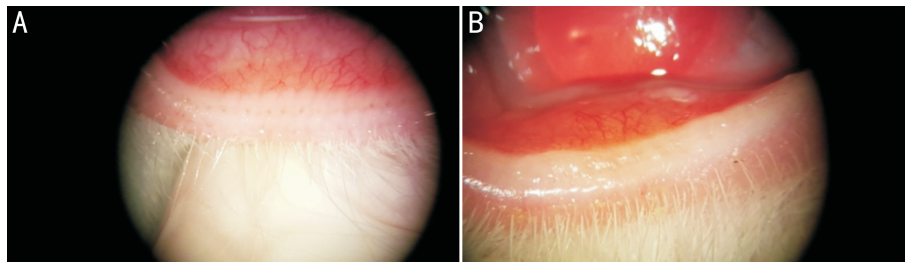


图1 造模前与造模后睑缘对比图 A:造模前;B:造模后。

表1 各组实验兔不同时间点 BUT 的变化

| 组别 | 样本量(眼) | 实验前 14d | 实验前 7d | 造模时 | 造模后 7d | 造模后 14d |
|----------|--------|-----------|-----------|------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 空白对照组 | 5 | 4.80±0.84 | 4.80±0.84 | 4.80±0.84 | 4.80±0.84 | 4.80±0.84 |
| 模型组 | 5 | 4.80±0.84 | 5.20±0.84 | 1.60±0.89 ^d | 1.60±0.89 ^{d,e} | 1.60±0.89 ^{d,e} |
| 西药组 | 5 | 5.00±0.71 | 5.20±0.84 | 1.60±0.89 ^d | 3.00±0.71 ^{a,d} | 4.80±0.84 ^a |
| 高剂量组 | 5 | 4.80±0.84 | 5.00±0.71 | 1.60±0.89 ^d | 3.80±0.84 ^a | 4.60±0.89 ^a |
| 低剂量组 | 5 | 4.60±0.89 | 4.80±0.84 | 1.60±0.89 ^d | 3.00±0.71 ^{a,d} | 4.00±0.71 ^a |
| <i>F</i> | | 0.147 | 0.303 | 13.128 | 10.844 | 13.200 |
| <i>P</i> | | 0.962 | 0.872 | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

注:^a*P*<0.05 vs 模型组;^d*P*<0.01 vs 空白对照组;^e*P*<0.05 vs 西药组。

表2 各组实验兔不同时间点 S I t 的变化

| 组别 | 样本量(眼) | 实验前 14d | 实验前 7d | 造模时 | 造模后 7d | 造模后 14d |
|----------|--------|------------|------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| 空白对照组 | 5 | 23.60±3.21 | 23.60±3.65 | 23.00±2.45 | 23.40±1.82 | 23.80±3.90 |
| 模型组 | 5 | 23.20±4.66 | 23.40±1.52 | 14.00±2.55 ^d | 14.40±3.05 ^d | 16.4±2.97 ^{d,e} |
| 西药组 | 5 | 23.80±3.19 | 25.00±5.74 | 12.20±3.56 ^d | 15.20±4.87 ^d | 22.40±3.13 ^a |
| 高剂量组 | 5 | 22.60±3.13 | 24.00±4.64 | 13.80±3.63 ^d | 15.20±4.87 ^d | 23.20±4.71 ^a |
| 低剂量组 | 5 | 23.20±2.68 | 23.40±3.92 | 14.20±2.39 ^d | 15.20±2.49 ^d | 20.40±3.05 |
| <i>F</i> | | 0.090 | 0.132 | 10.481 | 5.375 | 3.433 |
| <i>P</i> | | 0.985 | 0.969 | <0.001 | 0.004 | 0.027 |

注:^a*P*<0.05 vs 模型组;^d*P*<0.01 vs 空白对照组;^e*P*<0.05 vs 西药组。

膜),放于冻存管中置于-70℃液态氮冻存。按照兔 TNF-α、IL-1、IL-6 试剂盒说明书步骤,收集各组兔角结膜组织上清液,室温下在相应孔中加入相应浓度的标准品和标本,37℃下避光温育 30min;洗涤 5 次;在相应孔中加入 50μL 酶标试剂,密封避光,37℃下温育 30min;洗涤 5 次;每孔先加入显色剂 A 50μL,再加入显色剂 B 50μL,避光 37℃下显色 15min;每孔加入 50μL 终止液,用酶联免疫检测仪在波长 450nm 处测量各孔吸光度(A)值,计算出相应兔角结膜中 TNF-α、IL-1 和 IL-6 浓度含量。

1.2.5 组织病理学检查 过量麻醉法分别处死各组兔 2 只,立即摘除双侧眼球及眼睑,将整个眼球及眼睑置于 4% 多聚甲醛中固定,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,常规石蜡包埋。制备 4μm 厚全眼球及眼睑切片,行苏木精-伊红染色,封片,光学显微镜下观察组织形态并拍照。

统计学分析:采用 SPSS 20.0 统计学软件进行统计分析。本研究检测指标的数据资料经 Shapiro-Walk 检验呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。BUT、S I t 各时期差异比较均采用重复测量资料的方差分析,兔角结膜中 TNF-α、IL-1 和 IL-6 含量采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组实验兔不同时间点 BUT 的变化 实验前 7 ~

14d,各组实验兔间 BUT 比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05)。与空白对照组比较,模型组造模时、造模后 7d、造模后 14d 时 BUT 明显缩短,差异均有统计学意义(*P*<0.01)。与模型组比较,西药组和高、低剂量清眩润目饮组的造模后 7d、造模后 14d,BUT 时间明显延长,差异均有统计学意义(西药组:*P*=0.012、<0.001;高剂量组:*P*<0.001、<0.001;低剂量组:*P*=0.012、<0.001)。高、低剂量清眩润目饮组与西药组比较,造模后 7d,高剂量清眩润目饮组作用优于西药组和低剂量组(表 1)。

2.2 各组实验兔不同时间点 S I t 的变化 实验前 7 ~ 14d,各组间 S I t 比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。与空白对照组比较,模型组造模时、造模后 7d、造模后 14d 时 S I t 明显减少,差异均有统计学意义(*P*<0.001、0.001、0.004),说明模型复制成功。与模型组比较,西药组与高剂量清眩润目饮组造模后 14d 的 S I t 明显增多(*P*=0.016、0.007)。高剂量组与西药组比较,造模后 14d,高剂量清眩润目饮组作用优于西药组(*P*=0.007,表 2)。

2.3 各组兔角结膜中 TNF-α、IL-1、IL-6 相对表达量的比较 通过 ELISA 法检测结果显示,空白对照组、模型组、西药组及高、低剂量清眩润目饮组,兔角结膜中 TNF-α、IL-1、IL-6 含量总体比较,差异有统计学意义(*F*=5.927、5.816、8.386,均 *P*<0.05)。模型组兔角结膜中 TNF-α、

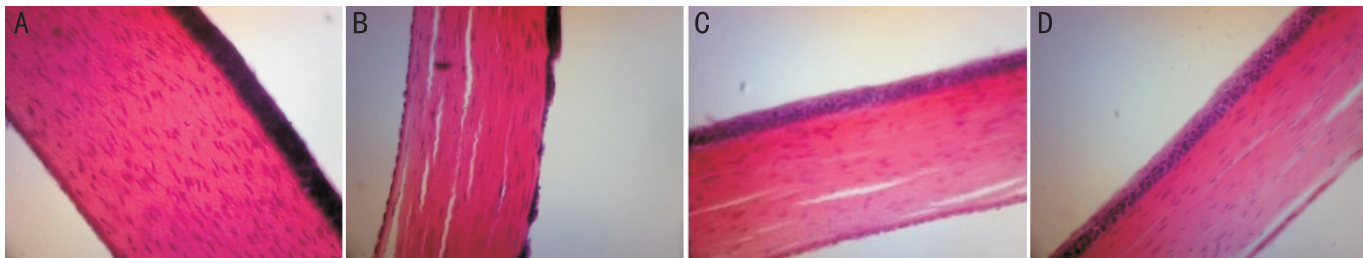


图2 各组兔角膜组织病理学表现(HE染色x200) A:空白对照组;B模型组;C西药组;D高剂量组。

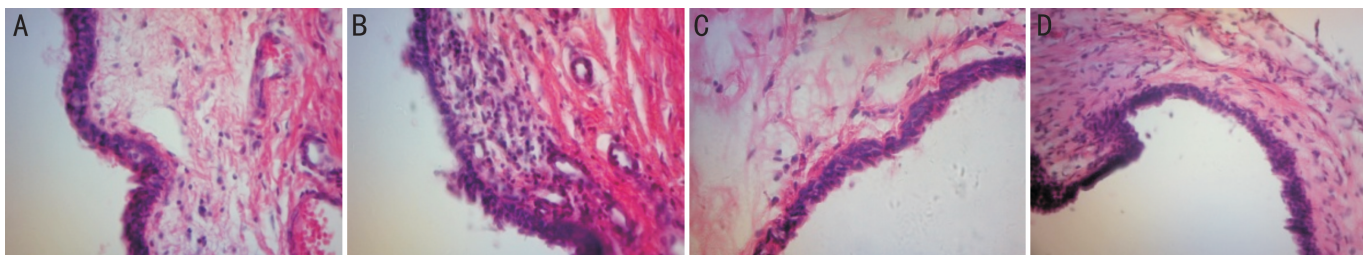


图3 各组兔结膜组织病理学表现(HE染色x200) A:空白对照组;B模型组;C西药组;D高剂量组。

表3 各组兔角膜结膜中 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 相对表达量的比较

| 组别 | 样本量(眼) | TNF- α | IL-1 | IL-6 |
|-------|--------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 空白对照组 | 3 | 505.17 \pm 35.82 | 505.92 \pm 54.09 | 119.89 \pm 13.00 |
| 模型组 | 3 | 640.37 \pm 70.84 ^{d,e} | 678.83 \pm 43.06 ^{d,e} | 210.15 \pm 50.00 ^{d,e} |
| 西药组 | 3 | 557.14 \pm 52.90 ^a | 574.03 \pm 46.87 ^a | 168.49 \pm 23.92 ^{a,d} |
| 高剂量组 | 3 | 526.27 \pm 61.39 ^a | 517.01 \pm 116.40 ^a | 138.74 \pm 16.20 ^a |
| 低剂量组 | 3 | 565.30 \pm 24.26 ^a | 634.49 \pm 90.05 ^d | 175.92 \pm 29.27 ^d |
| F | | 5.927 | 5.816 | 8.386 |
| P | | <0.05 | <0.05 | <0.01 |

($\bar{x}\pm s$, pg/mL)注:^a $P<0.05$ vs 模型组;^d $P<0.01$ vs 空白对照组;^e $P<0.05$ vs 西药组。

IL-1、IL-6 含量明显高于空白对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。西药组和高、低剂量清眩润目饮组兔角膜结膜中 TNF- α 、IL-1、IL-6 含量较模型组下降,差异均有统计学意义(西药组: $P=0.01$ 、 0.024 、 0.022 ;高剂量组: $P=0.001$ 、 0.001 、 <0.001)。高、低剂量清眩润目饮组与西药组比较,高剂量组作用优于西药组和低剂量组(表3)。

2.4 各组兔组织病理学表现 苏木精-伊红染色结果显示,造模后 14d,空白对照组(图 2A)角膜表面光滑,上皮分层好(分 4~6 层),基质层纤维细胞排列规则、致密,靠近角膜上皮处细胞呈鳞状改变;模型组(图 2B)角膜粗糙,见上皮层细胞数减少甚至剥脱缺失,分层紊乱,位于上皮层基底部的鳞状上皮细胞和基质层的纤维细胞排列紊乱、疏松;西药组、高剂量组(图 2C、D)兔角膜与空白对照组(图 2A)比较相似,角膜上皮较光滑,上皮各细胞层排列较规则,基质层纤维细胞层稍疏松和紊乱。西药组、高剂量组(图 2C、D)与模型组(图 2B)比较,角膜上皮分层和基质层纤维细胞排列可见明显差异,两组治疗后角膜形态明显优于模型组。

造模后 14d,空白对照组(图 3A)结膜可见上皮层和结膜下组织层,上皮层为 4~5 层排列整齐的柱状上皮,上皮细胞层完整光滑,细胞紧密压缩,核椭圆淡染,其间见富含分泌颗粒的杯状细胞。模型组(图 3B)结膜上皮细胞层不规则脱落,杯状细胞大量减少,基质细胞成分增多,可见大量炎性细胞浸润。西药组、高剂量组(图 3C、D)与空白对照组(图 3A)比较,结膜杯状细胞数量未见明显差异,但

结膜上皮细胞排列欠规则,较少量剥脱缺失,层数较空白对照组减少。西药组、高剂量组(图 3C、D)与模型组(图 3B)比较,结膜上皮层、结膜下组织层及杯状细胞数量有明显差异性,两组治疗后结膜形态接近正常组,且无异常炎性细胞浸润。

3 讨论

清眩润目饮以增液汤为主方加味而成,增液汤是治疗多种阴虚津亏之基础方。方中玄参,甘苦咸而微寒,入肺经,即清热生津,滋阴润燥,又泻火凉血,为君药。生地、麦冬甘苦而寒,滋养肺胃阴津,使水液生化有源,与生地共为臣药。金银花甘寒,连翘味苦,二药合用共奏疏散风热、清热解毒之效,且连翘又可消肿散结,增加君、臣药的清热作用。白藜皮苦寒,防风甘温,寒热并用,同入脾经行清热燥湿、祛风止痒之功。四药合用可有效改善睑弦赤烂、刺痒等症状,共为佐药。甘草,调和诸药而为使药。上药合用既能养阴生津润肺健脾,又能清热解毒祛风除湿,是治疗睑弦赤烂所致白涩症的有效方剂。现代研究表明,玄参具有抗炎、免疫调节等功效,其有效成份可通过 NF- κ B 通路抑制 IL-1 及 TNF 的表达^[3],降低炎症因子的浓度。地黄多糖能促进树突状细胞的成熟,下调由于 IL-12 和 TNF- α 生成诱导的胞饮作用和吞噬作用,增强宿主免疫^[4]。金银花对急性炎症有良好的治疗作用, Park 等^[5]研究表明,金银花的抗炎机制是金银花中的多酚类物质,通过 NF- κ B 和有丝分裂激活蛋白酶(MAPKs)途径,多酚类物质能够抑制 COX-2、iNOS 和 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 等促炎细胞因子。

IL-1由激活的单核巨噬细胞和上皮细胞产生,在多种慢性炎症中均有表达,是机体重要的免疫介质。IL-1可诱导IL-6/IL-8和TNF- α 等其他炎症因子,还能够刺激基质金属蛋白酶的产生,从而加重对眼表组织的损害。TNF- α 是细胞增生、分化、凋亡和代谢的核心调控因子,能够激活细胞,促进IL-1、IL-6的产生及分泌,诱发炎症反应,参与干眼的病理生理过程。其具有双重生物学效应,在浓度较低(0.01~10mmol/L)时,调节炎症反应,抵抗细菌、病毒和寄生虫的感染;在较高能浓度时(≥ 10 mmol/L),则会破坏机体的免疫平衡,与其他炎症因子一起产生多种病理损伤^[6-7]。Oshida等^[8]用荧光素钠染色评分评价33例干眼患者的角膜上皮受损程度,并检测于眼症患者泪液中TNF- α 的含量,结果发现,干眼症患者泪液中TNF- α 显著高于正常者,且水平与荧光素钠染色评分呈正相关,实验证实泪液中TNF- α 水平与角膜上皮受损具有相关性。IL-6是一种强有力的促炎细胞因子,大部分产生于受到刺激的多种细胞,如巨髓细胞、树突状细胞和肥大细胞,而致炎性细胞因子IL-1和TNF- α 就是其重要的刺激物。IL-6通常并不能独立发挥作用,而是与IL-1、TNF- α 发挥交互性协同作用。有关干眼的研究发现,SS患者的唾液和血清中IL-6持续增高^[9]。与之一致的是,Pflugfelder等^[10]研究显示,KCS患者泪液中的IL-1和IL-6含量显著高于正常人,其中有显著意义的是IL-6。证实IL-6的浓度升高与很多的炎症性疾病相关,被认为是炎症反应的副产物和炎症的标志物。

本研究结果显示,高、低剂量清眩润目饮组较模型组的各干眼指标均明显改善。BUT、S I t时间延长,角膜上皮面更加光滑,结膜充血减轻;角膜上皮面平整,上皮细胞层数和形态接近正常状态;结膜上皮层中杯状细胞数量及形态与正常组无明显差异,且TNF- α 、IL-1、IL-6表达有下调趋势(高剂量组尤甚,接近空白对照组水平),提示清眩润目饮可促进干眼模型的眼表修复,抑制炎症因子TNF- α 、IL-1、IL-6的表达。西药组各评估指标也有所改善,角膜、结膜上皮细胞均有一定修复,与高剂量清眩润目饮组比较,差异无统计学意义($P > 0.01$),但TNF- α 、IL-1、IL-6表达量较高剂量组偏高,说明清眩润目饮在抗

炎作用上优于西药组。

综上所述,清眩润目饮能够有效改善眼表症状,增加泪液分泌量,延长泪膜破裂时间,下调蒸发过强型干眼兔角结膜中TNF- α 、IL-1、IL-6蛋白表达,进一步证实炎症反应在蒸发过强型干眼发病机制中的作用。

参考文献

- 1 El Annan J, Goyal S, Zhang Q, *et al.* Regulation of T-Cell Chemotaxis by Programmed Death - Ligand 1 (PD - L1) in Dry Eye - Associated Corneal Inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010; 51 (7): 3418-3423
- 2 Bikker A, van Woerkom JM, Kruijze AA. Increased expression of interleukin- 7 in labia salivary Glands of patients with primary Sjögren's syndrome correlates with increased inflammation. *Arthritis Rheum* 2010; 62(4):969-977
- 3 Zhu TT, Zhang LQ, Ling S, *et al.* Scropolioside B inhibits IL-1 β and Cytokines Expression through NF - kappaB and inflammasome NLRP3 pathways. *Mediators Inflamm* 2014;2014:819053
- 4 Zhang Z, Meng Y, Guo Y, *et al.* Rehmanna glutinosa polysaccharide induces maturation of murine bone marrow derived Dendritic cells (BMDCs). *Int J Biol Macromol* 2013;54:136-143
- 5 Park KI, Kang SR, Park HS, *et al.* Regulation of Proinflammatory Mediators via NF - κ B and p38 MAPK - Dependent Mechanisms in RAW264. 7 Macrophages by Polyphenol Components Isolated from Korea Lonicera japonica THUNB. *Evid Based Complement Altern Med* 2012;2012:1-10
- 6 Roescher N, Tak PP, Illei GG. Cytokines in Sjögren's syndrome. *Oral Diseases* 2009;15(8):519-526
- 7 Rashid G, Benchetrit S, Fishman D, *et al.* Effect of advanced glycation end-products on gene expression and synthesis of TNF- α and endothelial nitric oxide synthase by endothelial cells. *Kidney Int* 2004; 66 (3): 1099-1106
- 8 Oshida T, Iwata M, Sakimoto T, *et al.* Tumor necrosis factor- α in tears of patients with Sjögren's syndrome. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2004;108(5):297-301
- 9 Valente P, Arzani D, Cesario A, *et al.* TNF increases camptothecin-induced apoptosis by inhibition of NF- κ B. *Eur J Cancer* 2003;39(10):1468-1477
- 10 Pflugfelder SC, Jones D, Ji Z, *et al.* Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca. *Curr Eye Res* 1999;19(3):201-211