

·论著·

·干眼·

# 去卵巢对大鼠泪腺中 IL-17A 等炎症因子表达的影响

钟蕾 张晓峰 夏静 夏蔚 孙正太 王英明

**【摘要】目的** 建立去卵巢大鼠模型,观察性激素水平改变对泪腺中 IL-17A 以及 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症因子表达的影响。**方法** 实验研究。健康雌性 SD 大鼠 20 只随机分为 2 组,实验组(10 只)摘除大鼠双侧卵巢,对照组(10 只)为未摘除卵巢的模拟手术组。术前及术后第 1 个月、第 2 个月、第 3 个月时 2 组均行泪液分泌试验(SIT)、角膜荧光染色检查进行眼表评估。于第 3 个月时放射免疫分析法分别检测 2 组大鼠血清雌二醇、睾酮含量,HE 染色观察泪腺上皮细胞形态,免疫组化染色法、Western Blot 法检测 2 组泪腺中 IL-17A、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达。2 组性激素质量浓度比较、炎症因子 A 值表达比较均应用独立样本  $t$  检验。2 组各时间点的 SIT 结果比较采用重复测量资料两因素方差分析。**结果** 实验组大鼠去卵巢后第 3 个月时,体内雌二醇浓度低于对照组( $t=-35.37, P<0.01$ ),睾酮浓度低于对照组( $t=-12.13, P<0.01$ )。2 组各时期 SIT 检查未见泪液分泌减少、均未见角膜荧光染色。HE 染色见实验组泪腺腺泡萎缩,排列紊乱,胞质内酶原颗粒明显减少。泪腺 IL-17A 表达量 2 组比较实验组高于对照组(免疫组化法: $t=7.56, P<0.01$ ;Western Blot 法: $t=20.90, P<0.01$ )。余各因子表达量实验组也均高于对照组(免疫组化法:IL-1 $\beta$ : $t=13.71, P<0.01$ ;IL-6: $t=13.92, P<0.01$ ;TNF- $\alpha$ : $t=6.11, P<0.01$ 。Western Blot 法:IL-1 $\beta$ : $t=16.93, P<0.01$ ;IL-6: $t=12.46, P<0.01$ ;TNF- $\alpha$ : $t=14.47, P<0.01$ )。**结论** 大鼠去卵巢 3 个月时性激素水平降低,未见明显眼表损害。但泪腺中炎症因子 IL-17A、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达增加。

**【关键词】** 去卵巢大鼠; 泪器; 白细胞介素 17A; 白细胞介素 1 $\beta$ ; 白细胞介素 6; 肿瘤坏死因子  $\alpha$

## Expression of IL-17A in the lachrymal glands of rats after ovariectomy

Zhong Lei,

Zhang Xiaofeng, Xia Jing, Xia Wei, Sun Zhengtai, Wang Yingming. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Zhang Xiaofeng, Email: zhangxiaofeng@suda.edu.cn

**【Abstract】Objective** To study the expression of inflammatory factors IL-17A, IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  in the lachrymal glands of ovariectomized rats when the level of sex hormones changes. **Methods** This was an experimental study. Twenty healthy female SD rats were divided randomly into a control group ( $n=10$ ) and an experimental group ( $n=10$ ). Ovariectomy was performed on the experimental group, while a sham operation was performed on the control group. A Schirmer I test (SIT) and corneal fluorescence staining were performed on both groups before surgery and at 1, 2, and 3 months after surgery. The results were analyzed with the repeated measurement ANOVA. Acinar cells from the lacrimal glands were examined by HE staining. At the 3rd month, the concentrations of estrogen and androgen were measured by radiation immunoassay detection and were analyzed with independent sample  $t$  tests. The expressions of IL-17A, IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$  were analyzed by immunohistochemical and Western blot methods with independent sample  $t$  tests. **Results** The concentration of estrogen and androgen in the experimental group decreased compared with the control group ( $t=-35.37, -12.13, P<0.01$ ). There were no differences between the control group and the experimental group for the SIT and corneal fluorescence staining at each time point ( $P>0.05$ ). HE staining showed that the enzymes of the original particles in the lacrimal cells were significantly reduced while acinar atrophy and cell arrangement disorder were observed in the experimental group. Immunohistochemical analysis showed that the expression of inflammatory factors in the lacrimal

glands was significantly higher in the experimental group compared with those in the control group (A value: IL-17A:  $t=7.56$ ,  $P<0.01$ , IL-1 $\beta$ :  $t=13.71$ ,  $P<0.01$ , IL-6:  $t=13.92$ ,  $P<0.01$ , TNF- $\alpha$ :  $t=6.11$ ,  $P<0.01$ ). Western blot analysis showed that the expression levels of inflammatory factors in the lachrymal glands were significantly higher in the experimental group compared with those in the control group (A value: IL-17A:  $t=20.90$ ,  $P<0.01$ , IL-1 $\beta$ :  $t=16.93$ ,  $P<0.01$ , IL-6:  $t=12.46$ ,  $P<0.01$ , TNF- $\alpha$ :  $t=14.47$ ,  $P<0.01$ ). **Conclusion** The levels of estrogen and androgen in the experimental group dropped at the 3rd month postoperatively but there were no obvious clinical signs found on the ocular surface. The expression of inflammatory factors, such as IL-17A, IL-1 $\beta$ , IL-6 and TNF- $\alpha$ , increased in the lachrymal glands of ovariectomized rats.

**[Key words]** Ovariectomized rat; Lachrymal apparatus; Interleukin-17A; Interleukin-1 $\beta$ ; Interleukin-6; Tumor necrosis factor-alpha

女性进入更年期后,体内的性激素水平明显下降,更年期女性是临床上干眼病的好发人群<sup>[1-2]</sup>。Sjögren 综合征患者泪腺可出现腺泡细胞萎缩、凋亡、纤维化的改变,继而引起泪腺功能的减退<sup>[3]</sup>。体内性激素水平的稳定对泪腺功能的正常运作起重要作用<sup>[4]</sup>。赵萍等<sup>[5]</sup>报道大鼠去卵巢后泪腺腺泡萎缩融合、大小不一、排列紊乱,腺泡细胞内酶原颗粒减少。Mostafa 等<sup>[6]</sup>发现,小鼠去除卵巢后泪腺出现了淋巴细胞浸润和腺泡细胞的萎缩。

泪腺、泪膜、角膜、结膜及睑板腺的正常工作对于维持眼表功能的完整性和视功能的正常都是必需的,它们共同组成泪腺功能单位。泪腺和眼表组织处于一个相互影响、相互调节的状态下<sup>[1]</sup>。泪腺的炎症可导致泪液分泌减少,而眼表组织的炎症可以导致其组织结构的损伤和破坏。目前,国内外有关性激素改变与干眼病泪腺中炎症因子的关系研究相对较少,尤其是性激素改变与泪腺组织中 IL-17A 表达变化的关系未见报道。我们通过对去卵巢大鼠和对照组大鼠泪腺进行免疫炎症方面的分子生物学研究,探讨体内性激素水平的改变与泪腺组织中炎症因子 IL-17A、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的关系,以期对绝经后女性干眼病的防治提供实验依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

1.1.1 实验动物与分组 健康清洁级雌性成年 SD 大鼠 20 只[苏州大学实验动物中心提供,许可证号:SCXK(苏)2012-0005],年龄均为 3 个半月,体质量 280~320 g。动物于室内标准化喂养,自然昼夜节律,室温控制在 20℃左右。实验动物的使用遵循国家科学技术委员会颁布的《实验动物管理条例》。实验动物按随机数字表法分成实验组(10 只)和对照组(10 只)。实验组大鼠摘除双侧卵巢,对照组找到卵巢后不摘除,分层缝合切口<sup>[5]</sup>。

1.1.2 主要试剂及材料 泪液检测试纸条、荧光素钠眼科检测试纸购自天津晶明新技术开发有限公司;雌二醇放射免疫试剂盒、睾酮放射免疫试剂盒购自北京华英生物技术研究所;IL-17A 一抗购自美国 Santa Cruz 公司;IL-1 $\beta$  一抗、IL-6 一抗购自北京博奥森生物技术有限公司;用于免疫组织化学检测的兔抗大鼠 TNF- $\alpha$ (bs-208R)购自上海博耀生物科技有限公司,用于 Western Blot 检测用的兔抗大鼠 TNF- $\alpha$ (500P72)购自上海研卉生物科技有限公司;二步法免疫组化试剂盒购自上海基因科技有限公司;总蛋白提取试剂盒购自上海纯优生物科技有限公司。

### 1.2 方 法

1.2.1 大鼠血清放射免疫法检测雌二醇、睾酮浓度 2 组均于术后第 3 个月时心脏穿刺取血。大鼠全身麻醉,仰卧位置于鼠架上,触及心脏搏动最强处后,碘伏消毒剑突下皮肤,2.5 ml 注射器在剑突下进针沿胸骨稍偏左直刺入心室,用真空采血促凝管抽取 1 ml 全血,离心(3000 r/min, 15 min)后用微量加样器吸取血清留存于-20℃冰箱,根据试剂盒说明,用放射免疫法(Radioimmunoassay, RIA)检测雌二醇、睾酮水平,RIA 检测由苏州大学附属第一医院核医学科完成。

1.2.2 大鼠眼表评估 实验组和对照组分别于术前及术后第 1 个月、第 2 个月、第 3 个月时行右眼泪液分泌试验(Schirmer I test, SIT)、角膜荧光染色检查,检查均由同一人在实验动物房完成,每次检查时间为上午 10:00~11:00,温度 21~23℃,湿度 60%~80%。

1.2.2.1 SIT 根据 Fujihara 等<sup>[7]</sup>报道采用改良的 SIT 试验,将试纸裁成 1 mm×17 mm,一端折弯 2.5 mm,置于下睑外侧 1/3 结膜囊内,其余部分悬垂于皮肤表面。1 min 后测量滤纸被浸湿的长度(不包括反折)。

1.2.2.2 角膜荧光染色 用纤维管将 1% 荧光素钠溶液滴于大鼠结膜囊内 1 滴, 1 min 后裂隙灯显微镜钴蓝光下观察, 染色阳性提示角膜上皮破损。使用 Park 等<sup>[8]</sup>介绍的计分方法: 0 分: 无着色点; 1 分: 点状着色  $\leq 1/8$  象限; 2 分: 点状着色  $\leq 1/4$  象限; 3 分: 点状着色  $\leq 1/2$  象限; 4 分: 点状着色  $> 1/2$  象限。

1.2.3 泪腺 HE 染色 于术后 3 个月过量腹腔麻醉处死各组大鼠, 摘除眶外泪腺组织, 10% 甲醛固定, 常规石蜡包埋并组织切片, 行 HE 染色。

1.2.4 免疫组化染色法检测泪腺中 IL-17A、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达 切片脱蜡、水化, PBS 漂洗 3 次, 0.01 mol/L 柠檬酸盐缓冲液 (pH 6.0) 高压加热法进行抗原修复, 体积分数 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 阻断内源性过氧化酶活性, 质量分数 2% 正常羊血清作用 20 min, 弃去血清, 分别加入一抗 (1:100) 50  $\mu$ l 于组织上, 室温孵育 30 min, 阴性对照采用 PBS 代替一抗, PBS 漂洗; 滴加 ChemMate EnVision (试剂盒中标记有辣根过氧化物酶和抗兔免疫球蛋白的多聚体分子, 相当于二抗) 50  $\mu$ l 于组织上, 室温孵育 30 min, PBS 漂洗, SABC 法染色, DAB 显色, 室温孵育 10 min, 在显微镜下控制显色程度, 显色完全后, 用蒸馏水冲洗终止染色。苏木素轻度复染, 脱水, 封片。免疫组化表达阳性的标志: 以深染褐色或有棕黄色颗粒为阳性细胞。每张切片随机选取 5 个不重叠视野, 400 倍显微镜下摄片, 采用 ImagePro Plus 软件分析, 选取图片上有棕黄色阳性染色的区域, 测量该区域的吸光度 (A); 选择并测量有效统计区域的面积, 计算选择区域内的 A 值; 计算同一组切片各照片的 A 值及标准差。

1.2.5 Western Blot 法检测泪腺中 IL-17A、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的表达 取深低温保存的泪腺组织, 加入 10 倍组织体积裂解液匀浆、裂解细胞, 收集总蛋白; 进行 SDS-PAGE 电泳、转膜、5% 的脱脂牛奶 (0.5% TBST 配), 封闭 1 h; 分别加入兔抗 IL-17A (稀释比 1:500)、兔抗 IL-1 $\beta$  (稀释比 1:400)、兔抗 IL-6 (稀释比 1:400)、兔抗 TNF- $\alpha$  抗体 (稀释比 1:5 000), 37  $^{\circ}$ C 1 h, 加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (稀释比 1:3 000), 用特异性的底物联苯二胺显色, 每步反应结束均用 TBST (10 mmol/L Tris, HCl pH 7.5, 100 mmol/L NaCl, 1 g/L Tween 20) 漂洗; 化学发光法曝光显影; Image J 软件处理系统分别检测样品的内参量和目的蛋白量。将样品目的蛋白量分别除以其内参含量, 得到的数值即为内参校正后的各样品中目的蛋白相对含量 (A 值)。

### 1.3 统计学方法

实验研究。采用 SPSS 16.0 软件进行数据分析。2 组大鼠血清性激素质量浓度、SIT 试验检测滤纸湿润长度以及各炎症因子表达的数据资料测试结果以  $\bar{x} \pm s$  表示。实验组与对照组性激素质量浓度比较、泪腺中炎症因子 A 值表达比较均应用独立样本 *t* 检验。2 组组间及组内去卵巢各时间点的 SIT 试验结果比较采用重复测量资料两因素方差分析, 设分组和时间 2 个因素。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠血清雌二醇、睾酮质量浓度

实验组大鼠血清雌二醇 [(23.53 $\pm$ 1.65) pg/ml] 和睾酮 [(1.84 $\pm$ 0.09) ng/ml] 的质量浓度低于对照组大鼠 [(47.89 $\pm$ 1.05) pg/ml、(2.47 $\pm$ 0.12) ng/ml], 差异均有统计学意义 ( $t = -35.37, -12.13, P$  均  $< 0.01$ )。

### 2.2 SIT

经重复测量资料方差分析, 2 组大鼠 SIT 平均滤纸湿润长度比较组间及组内各时间点差异均未见统计学意义 (组间比较:  $F = 0.376, P > 0.05$ ; 组内各时间点比较:  $F = 0.131, P > 0.05$ ) (见表 1)。

表 2 2 组大鼠泪液分泌试验平均滤纸湿润长度比较 (mm,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	术前	术后		
			第 1 个月	第 2 个月	第 3 个月
对照组	10	9.73 $\pm$ 0.12	9.74 $\pm$ 0.16	9.69 $\pm$ 0.12	9.71 $\pm$ 0.13
实验组	10	9.71 $\pm$ 0.04	9.70 $\pm$ 0.14	9.67 $\pm$ 0.16	9.72 $\pm$ 0.12

注: 组间比较,  $F = 0.376, P > 0.05$ ; 各时间点比较,  $F = 0.131, P > 0.05$

### 2.3 角膜荧光染色

2 组大鼠术前及术后第 1 个月、第 2 个月、第 3 个月时均未见角膜有染色。

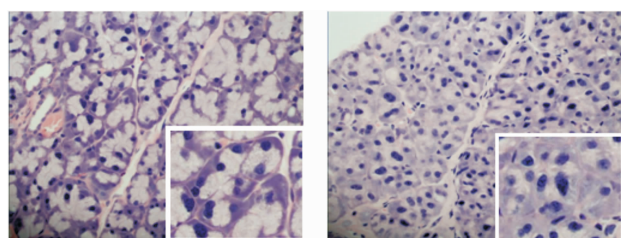
### 2.4 泪腺 HE 染色

泪腺是管状分支腺, 由很多被间质纤管嵴分隔开的小叶组成, 每一个小叶又由很多腺泡组成, 每个腺泡由单层柱状或立方状上皮组成, 顶部朝向中央管腔, 腺泡细胞内含有很多圆形或椭圆形的分泌 (酶原) 颗粒。几个腺泡的中央管腔相连就构成小叶内导管, 然后汇入小叶间导管, 最后汇入主导管分泌系统。本实验中泪腺 HE 染色可见, 对照组泪腺腺泡大小均匀, 细胞排列整齐, 细胞内可见大量酶原颗粒, 实验组泪腺腺泡萎缩变小, 细胞大小不一, 排列紊乱, 胞质内酶原颗粒明显减少。见图 1。

### 2.5 大鼠泪腺组织中 IL-17A 的表达

IL-17A 主要表达于细胞的胞浆, 呈淡黄色或棕黄色颗粒染色状。免疫组化染色结果表明, 2 组均有





对照组 实验组

放大像为局部腺泡:对照组可见胞浆内丰富的酶原颗粒;实验组腺泡萎缩,细胞大小不一,胞浆内酶原颗粒明显减少

图1 泪腺 HE 染色( $\times 200$ ,局部部分放大率为400倍)

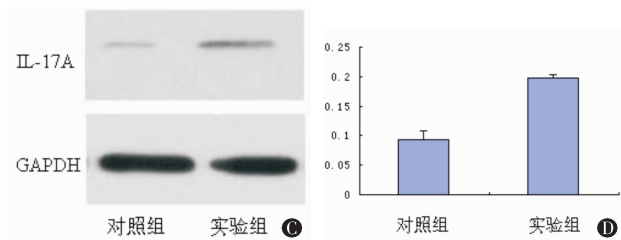
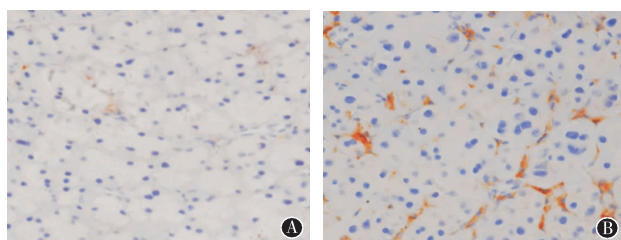
IL-17A 的表达,术后第3个月时实验组 IL-17A 的表达量( $A$  值: $310.53 \pm 53.66$ )高于对照组 IL-17A( $A$  值: $163.56 \pm 30.05$ )( $t=7.56, P<0.01$ )。见图 2A、2B。

Western Blot 结果显示,术后第3个月时2组在 17 000 相对分子质量左右出现表达条带,实验组大鼠泪腺组织中 IL-17A 的蛋白表达( $A$  值: $0.198 0 \pm 0.004 9$ )高于对照组( $A$  值: $0.093 5 \pm 0.015 0$ )( $t=20.90, P<0.01$ )。见图 2C、2D。

### 2.6 大鼠泪腺组织中 IL-1 $\beta$ 的表达

IL-1 $\beta$  主要表达于细胞的胞浆,呈淡黄色或棕黄色颗粒染色状。免疫组化结果表明,2组均有 IL-1 $\beta$  的表达,术后第3个月时实验组 IL-1 $\beta$  的表达量( $A$  值: $1441.5 \pm 27.54$ )高于对照组 IL-1 $\beta$  ( $A$  值: $231.05 \pm 31.33$ )( $t=13.71, P<0.01$ )。见图 3A、3B。

Western Blot 结果显示,术后第3个月时2组在 17 000 相对分子质量左右出现表达条带,实验组大鼠泪腺组织中 IL-1 $\beta$  的蛋白表达( $A$  值: $0.339 6 \pm 0.033 3$ )高于对照组( $A$  值: $0.150 3 \pm 0.012 0$ )( $t=16.93, P<0.01$ )。见图 3C、3D。



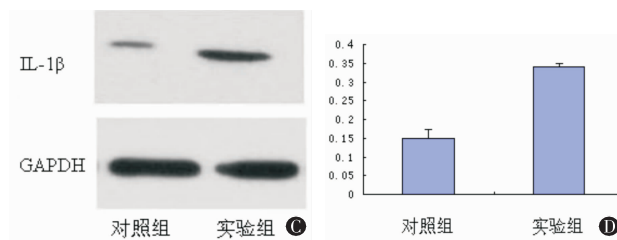
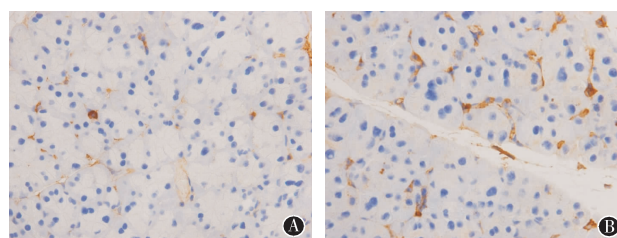
A, 对照组免疫组化结果( $\times 200$ );B, 实验组免疫组化结果( $\times 200$ ); C, Western Blot 检测 IL-17A 电泳条带;D: Western Blot 检测 IL-17A 表达柱状图

图2 大鼠泪腺组织 IL-17A 的表达( $n=10$ )

### 2.7 大鼠泪腺组织中 IL-6 的表达

IL-6 主要表达于细胞的胞浆和胞膜,呈淡黄色或棕黄色颗粒染色状。免疫组化结果表明,2组均有 IL-6 的表达,术后第3个月时实验组 IL-6 的表达量( $A$  值: $411.42 \pm 53.64$ )高于对照组 IL-6 ( $A$  值: $145.77 \pm 27.67$ )( $t=13.92, P<0.01$ )。见图 4A、4B。

Western Blot 结果显示,术后第3个月时2组在 23 000 相对分子质量左右出现表达条带,实验组大鼠泪腺组织中 IL-6 的蛋白表达( $A$  值: $0.376 3 \pm 0.010 2$ )高于对照组( $A$  值: $0.280 6 \pm 0.022 0$ )( $t=12.46, P<0.01$ )。见图 4C、4D。



A, 对照组免疫组化结果( $\times 200$ );B, 实验组免疫组化结果( $\times 200$ ); C, Western Blot 检测 IL-1 $\beta$  电泳条带;D, Western Blot 检测 IL-1 $\beta$  表达柱状图

图3 大鼠泪腺组织 IL-1 $\beta$  的表达( $n=10$ )

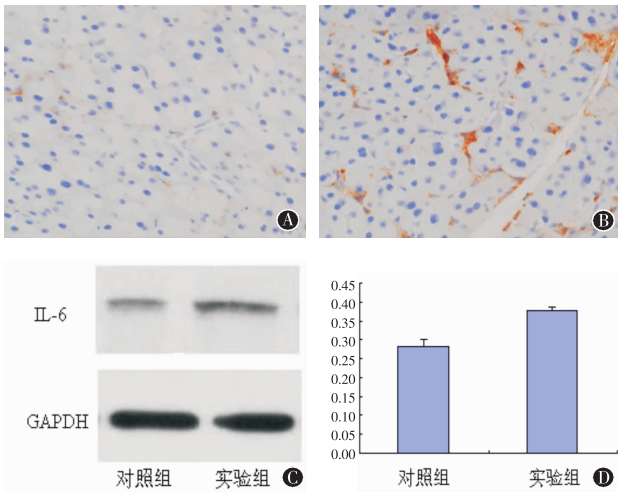
### 2.8 大鼠泪腺组织中 TNF- $\alpha$ 的表达

TNF- $\alpha$  主要表达于细胞的胞浆,呈淡黄色或棕黄色颗粒染色状。免疫组化结果表明,2组均有 TNF- $\alpha$  的表达,术后第3个月时实验组 TNF- $\alpha$  的表达量( $A$  值: $566.13 \pm 133.91$ )高于对照组 TNF- $\alpha$  的表达量( $A$  值: $229.47 \pm 111.45$ )( $t=6.11, P<0.01$ )。见图 5A、5B。

Western Blot 结果显示,术后第3个月时2组在 25 000 相对分子质量左右出现表达条带,实验组大鼠泪腺组织中 TNF- $\alpha$  的蛋白表达( $A$  值: $0.357 1 \pm 0.014 3$ )高于对照组( $A$  值: $0.240 2 \pm 0.021 7$ )( $t=14.47, P<0.01$ )。见图 5C、5D。

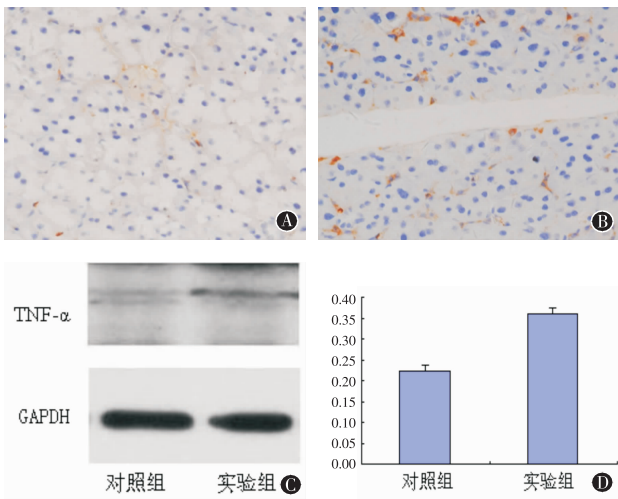
## 3 讨论

体内性激素水平的稳定对泪腺功能的正常运作起重要调控作用<sup>[3]</sup>。进入更年期后,体内的性激素水平会明显下降,这与临床上统计的干眼病发病年龄



A, 对照组免疫组化结果(x200); B, 实验组免疫组化结果(x200); C, Western Blot 检测 IL-6 电泳条带; D, Western Blot 检测 IL-6 表达柱状图

图 4 大鼠泪腺组织 IL-6 的表达(n=10)



A, 对照组免疫组化结果(x200); B, 实验组免疫组化结果(x200); C, Western Blot 检测 TNF-α 电泳条带; D, Western Blot 检测 TNF-α 表达柱状图

图 5 大鼠泪腺组织 TNF-α 的表达(n=10)

明显相关<sup>[1-2]</sup>。雌激素的减少能促进泪腺细胞的凋亡、坏死及淋巴细胞的浸润。雄激素可以对泪腺组织的形态、生理、生化及免疫功能产生影响,其水平的提高可以增加泪腺的质量。Corcoran 等<sup>[9]</sup>研究认为雄激素通过减少炎症因子 IL-1β 和 TNF-α 的表达而产生抗炎作用,可以增加泪腺的代谢活性和泪液分泌,减少 IL-1β 和 TNF-α 在泪腺中的含量,有效地阻止泪腺的退化和炎性改变。

炎症参与了干眼病的病理过程<sup>[10]</sup>。炎症因子能刺激炎症细胞、趋化因子在眼表和泪腺的聚集和表达,损害正常泪液分泌的神经传导<sup>[11]</sup>。Park 等<sup>[8]</sup>的研究发现小鼠干眼模型的泪腺中 IL-1 表达有统计学

意义的增高。Mostafa 等<sup>[6]</sup>研究发现小鼠去卵巢后泪腺中出现细胞凋亡、淋巴细胞浸润现象,而给予生理剂量激素替代后上述表现得以控制。

本实验对成年雌性大鼠行卵巢摘除术,术后 3 个月时实验组血清雌激素、雄激素浓度有统计学意义的降低,说明去卵巢鼠可成为模拟女性绝经后体内激素紊乱状态的理想模型。IL-17A 是 Th17 细胞的主要效应因子,是 T 细胞诱导的炎症反应的早期启动因子<sup>[12]</sup>,具有强大的致炎作用。本实验的结果证实大鼠去卵巢后 3 个月时泪腺中 IL-17A 表达增加,IL-1β、IL-6、TNF-α 的表达也相应增加,提示大鼠泪腺出现免疫炎症相关改变与去卵巢后体内性激素水平的降低有关。

本实验中大鼠去卵巢后 3 个月时泪腺中炎症因子的表达增加(P<0.05),但 SIT、角膜荧光染色检查未见明显异常。也有报道自身免疫性大鼠干眼模型中泪腺存在炎症性损害表现(泪腺中 CD4+T 细胞浸润增加),但眼表评估未见明显异常<sup>[13-14]</sup>。分析本实验大鼠去卵巢后眼表评估未见异常的原因:①大鼠存在双侧眶内眶外共 4 个泪腺,泪液分泌较人类发达,副泪腺的分泌也提供了足够的代偿有关。②是否是因为泪腺中的炎症因子未在泪液中表达,以至于没有出现眼表损害,这有待进一步研究。本实验的研究还有一定的局限性,研究的时间也有限,我们将在以后的研究中延长观察时间,增加对泪液、眼表炎症因子参数的分析。

参考文献:

- [1] Guillon M, Maïssa C. Tear film evaporation—effect of age and gender [J]. Cont Lens Anterior Eye, 2010, 33:171-175.
- [2] Scuderi G, Contestabile MT, Gagliano C, et al. Effects of phytoestrogen supplementation in postmenopausal women with dry eye syndrome: a randomized clinical trial[J]. Can J Ophthalmol, 2012, 47:489-492.
- [3] Jonsson R, Vogelsang P, Volchenkov R, et al. The complexity of Sjögren's syndrome: novel aspects on pathogenesis[J]. Immunol Lett, 2011, 141:1-9.
- [4] Sullivan DA. Tearful relationships? Sex, hormones, the lacrimal gland, and aqueous-deficient dry eye[J]. Ocul Surf, 2004, 2:92-123.
- [5] 赵萍,宋秀君,赵霞. 雌雄激素对去卵巢雌鼠泪液分泌及泪腺凋亡基因表达的影响[J]. 眼科研究, 2009, 27:1057-1062.
- [6] Mostafa S, Seamon V, Azzarolo AM. Influence of sex hormones and genetic predisposition in Sjögren's syndrome: a new clue to the immunopathogenesis of dry eye disease[J]. Exp Eye Res, 2012, 96:88-97.
- [7] Fujihara T, Murakami T, Fujita H, et al. Improvement of corneal barrier function by the P2Y (2) agonist INS365 in a rat dry eye model[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42:96-100.