

关注结膜杯状细胞在维持眼表完整性中的作用

李志杰 王嫦君

510632 广州,暨南大学医学院眼科研究所 & 国际眼表疾病研究中心 暨南大学再生医学教育部重点实验室(李志杰);Leukocyte Biology Laboratory, Children Nutrition Research Center, Baylor College of Medicine, 1100 Bates, Houston, TX 77030(李志杰);310009 杭州,浙江大学医学院附属第二医院眼科中心 浙江省重要致盲眼病防治技术研究重点实验室(王嫦君)

通信作者:李志杰, Email: zhijielee@yahoo.com; 王嫦君, Email: wangchangjun@zju.edu.cn

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.001

【摘要】 眼表组织易受到外界环境中的各种刺激而发生异常,包括微生物侵袭、机械性损伤、化学性刺激、粉尘、紫外线和变态反应原的刺激等。结膜杯状细胞在维持眼表自稳态和健康方面发挥着重要作用,尤其是结膜杯状细胞在眼表黏膜免疫调控中的作用近年来受到了更多的重视。杯状细胞是人和哺乳动物唯一的单细胞腺,主要分布于消化道、呼吸道和眼表等器官的上皮层,是一种典型的黏液细胞,其发育和分化受许多因素的影响,特别是最近发现的 ETS 家族中的转录因子 Spdef。结膜杯状细胞散在分布于结膜上皮细胞间,是结膜上皮层的重要组成部分,主要功能是分泌黏蛋白保护和润滑眼表,还分泌其他多种生物活性物质。近年来发现杯状细胞还参与抗原递呈,调控树突状细胞表型的分化,诱导免疫耐受,参与多种眼表疾病的发生和发展。许多眼表疾病,例如干眼,可造成结膜杯状细胞密度和功能的改变。因此,眼科医师应关注结膜杯状细胞的生物学行为与眼表疾病的关系。

【关键词】 杯状细胞/生理; 上皮细胞/细胞学; 眼表; 稳态; 黏膜/生理; 黏蛋白; 免疫; 眼病

基金项目: 国家自然科学基金项目 (39970250、30772387、81070703)

Focusing on the role of conjunctiva goblet cell in maintaining the health of ocular surface Li Zhijie, Wang Changjun

International Ocular Surface Center & Institute of Ophthalmology, Jinan University, Key Laboratory for Regenerative Medicine, Guangzhou 510632, China; Leukocyte Biology Laboratory, Children Nutrition Research Center, Baylor College of Medicine, 1100 Bates, Houston, TX 77030 (Li ZJ); Eye Center, Second Affiliated Hospital of Zhejiang University, School of Medicine, Zhejiang Provincial Key Lab of Ophthalmology, Hangzhou 310009, China (Wang CJ)

Corresponding authors: Li Zhijie, Email: zhijielee@yahoo.com; Wang Changjun, Email: wangchangjun@zju.edu.cn

【Abstract】 Ocular surface tissues are vulnerable to various stimuli from the external environment, including microbial invasion, mechanical damage, chemical stimulation, dust, UV light, and allergen stimulation. Conjunctival goblet cells play an important role in maintaining ocular surface self-homeostasis and health. These cells are the only unicellular glands in humans and mammals that are mainly distributed in the epithelium of the digestive tract, respiratory tract, and the ocular surface. Many factors affect goblet cell development and differentiation, especially the newly discovered molecule Spdef, which is a transcription factor found in the ETS family. The main function of conjunctival goblet cells is to secrete mucin to protect and lubricate the ocular surface; however, they also secrete a variety of other bioactive substances. Recent studies have demonstrated that goblet cells are involved in antigen presentation, regulation of dendritic cell phenotype differentiation, and induction of immune tolerance on the mucosa. Many ocular surface diseases, such as dry eye, will alter density and function of conjunctival goblet cells. Therefore, ophthalmologists should be concerned about the biological behavior of conjunctival goblet cells and the relationship between them and ocular surface diseases.

【Key words】 Goblet cell/physiology; Epithelial cells/cytology; Ocular surface; Homeostasis; Mucous membrane/physiology; Mucins; Immune; Eye diseases

Fund program: National Natural Science Foundation of China (39970250, 30772387, 81070703)

眼表是介于内眼组织和外界环境之间的特殊体表面。从解剖学上讲,眼表指起始于上、下睑缘灰线之间的全部黏膜上皮,包括角膜上皮和结膜上皮以及覆盖于眼球表面的泪膜。眼表易受外界环境中的非己物质以及各种微生物的刺激,包括机械性损伤、化学性刺激、粉尘、紫外线和病原菌的侵袭等。眼表组织及其环境的正常和稳定是维护眼球健康和维持清晰视觉的重要条件^[1]。作为一种重要的腺分泌细胞,结膜杯状细胞在眼表稳态的维持、眼表感染的预防方面发挥着重要作用,此外结膜杯状细胞在眼表免疫方面的作用也逐渐受到关注。杯状细胞是一种具有合成和分泌黏蛋白功能的柱状上皮细胞,存在于呼吸道、胃肠道、生殖道和眼结膜等组织的上皮细胞层。结膜的杯状细胞是分布于结膜上皮细胞间的单细胞黏液腺,是结膜上皮的重要组成部分^[2],主要功能是分泌特异性黏蛋白 MUC5AC、参与泪膜的形成及保护和润滑眼表,以保持清晰的视觉及防御微生物的感染,结膜杯状细胞也参与许多眼表疾病的发生和发展。最近的研究显示,杯状细胞还参与黏膜免疫应答的调节过程。因此,全面认识结膜杯状细胞的结构和功能及其与各种眼表疾病的关系有望为相关疾病的防治提供新的思路。

1 结膜杯状细胞的发育和来源

不同种属结膜杯状细胞的发育存在一定的差异。在人类,结膜杯状细胞出现在孕期第 8~9 周胚胎的睑缘附近,孕期第 11~12 周睑结膜上可观察到具有分泌颗粒的成熟结膜杯状细胞,孕期第 20 周球结膜可见杯状细胞^[3]。长期以来,关于结膜杯状细胞的来源问题一直存在争议。1993 年,Wei 等^[4]首先提出了结膜上皮与角膜-角膜缘上皮细胞来自于 2 个不同干细胞群的观点,他们对相同条件下体外培养的结膜上皮细胞、角膜-角膜缘上皮细胞的生长分化特性进行对比,发现角膜上皮细胞和角膜缘细胞均表达特异性细胞角蛋白(cytokeratin, CK)3/CK12,少量表达 CK8/CK18,而结膜上皮表达丰富的 CK8/CK18,仅微量表达 CK3/CK12;Meller 等^[5]研究发现,结膜上皮和角膜上皮表达的 CK、黏蛋白和蛋白复合物不同。以上研究均支持结膜上皮与角膜-角膜缘上皮系分别来源于各自干细胞群的观点。目前普遍接受的观点为眼表存在 2 种干细胞,即角膜缘干细胞和结膜上皮干细胞,两者均属于单能干细胞。结膜上皮干细胞与其他干细胞具有相同的性质,均可进行自我更新且处于相对静止状态,可被诱导增生,具有定向分化潜能,可以分化为结膜上皮细胞和杯状细胞。由于缺乏特异性的细胞表面标志物,

结膜上皮干细胞的鉴定仍然主要依赖于干细胞的 2 个显著特性,即慢周期和自我更新能力。慢周期可采用标记滞留细胞的分析方法来识别在体的静息干细胞,而自我更新能力表现为离体培养时呈克隆性生长。目前,对于结膜上皮干细胞的解剖位置尚无定论,主要存在以下几种不同的观点:(1)位于穹隆部。(2)位于角膜缘。(3)位于睑缘皮肤黏膜交界处。(4)位于球结膜处。(5)位于睑结膜处。由于不同研究中采用的技术手段以及研究对象的不同,得出的结论也不尽一致,但多数研究结果提示穹隆部分布的结膜干细胞数量较其他部位更多,可能与穹隆部可以提供更好的物理屏障,内含丰富的上皮间黏膜隐窝、血管、免疫细胞等特性有关,而这些特征正是人体内其他干细胞微环境的共有特征^[6]。

干细胞的分化依赖于局部微环境,即由细胞、细胞外环境以及细胞基质相互关联组成的复杂系统。目前,关于结膜上皮干细胞分化机制的研究仍未完全明确。Pellegrini 等^[7]对单个细胞的分化潜能分析研究发现,结膜上皮干细胞是双潜能祖细胞,能产生 2 个子细胞系,即杯状细胞系和非杯状细胞系。杯状细胞的定向分化发生在结膜克隆的较晚时期。在无血清培养基、含 3T3 培养层及有表皮生长因子、胰岛素的条件下,结膜上皮干细胞也可分化为杯状细胞。第 1 代杯状细胞产生于第 45~50 次的细胞倍增,第 2 代杯状细胞产生于衰老前 10~20 次的倍增,并且第 2 代杯状细胞产生的量更多。结膜干细胞分化为杯状细胞的过程中涉及多条信号通路和多种转录因子的相互作用,如 Wnt 信号通路、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)/Smad 信号通路和 Notch 信号通路及其转录因子 Krüppel-样因子 4 (Krüppel-like factor 4, Klf4)、Klf5、Foxa3、Spdef 等。Swamynathan 等^[8]发现 Klf4 基因敲除小鼠表现为眼表上皮脆性增加、基质水肿和杯状细胞缺失, Kenchegowda 等^[9]进一步证实 Klf5 基因敲除小鼠表现为睑板腺和角膜形态的异常及杯状细胞缺失。Marko 等^[10]和 Gupta 等^[11]研究发现, Spdef 基因敲除小鼠也表现为杯状细胞缺失,但未出现眼表其他结构的异常;同时基因芯片检测结果也显示 Spdef 基因敲除小鼠 Wnt 信号通路相关的基因,如 Wnt5b、Wnt11 和 Frzb 明显下调,而 Klf4 和 Klf5 基因表达却未见明显降低, Klf4 或 Klf5 基因敲除小鼠则出现明显的 Spdef 和 Foxa3 基因表达降低,提示 Klf4 和 Klf5 基因是 Spdef 基因的上游调控信号。McCauley 等^[12]研究发现, TGF- β 通过 Smad 依赖途径负向调节 Spdef, 进而调控结膜杯状细胞的正常分化。可见 Spdef 转录因子在结膜杯状细胞的终末分化中发挥关键作用。

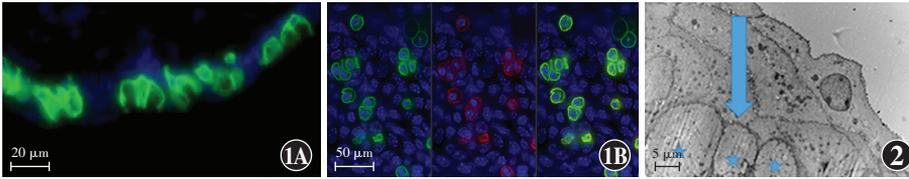


图 1 小鼠穹隆部结膜上皮层的杯状细胞 A: 结膜纵切面可见 MUC5AC 抗体染色的杯状细胞呈绿色荧光(标尺=20 μm) B: 平铺后穹隆部结膜可见 CK8 抗体染色的杯状细胞呈绿色荧光(Troma-1), MUC5AC 抗体染色的杯状细胞呈红色荧光, 二者融合图呈黄绿色荧光(标尺=50 μm)

图 2 透射电子显微镜下可见位于结膜深层的杯状细胞(箭头和五角星)(标尺=5 μm)

2 结膜杯状细胞的结构与分布

结膜杯状细胞是分布于结膜上皮细胞间的黏液分泌细胞, 具有明显的结构特点, 即细胞核扁平、位于基底侧、有较大的核周区、内有丰富的粗面内质网和巨大的高尔基体、顶部胞质饱满、含有大量黏液等^[13]。通过结膜铺片和切片研究发现, 结膜杯状细胞大小不一, 呈散在、团簇状或片状分布于结膜复层上皮中, 主要集中于穹隆部结膜, 尤以下穹隆鼻侧和半月皱襞处最多(图 1)。富含分泌泡的、大的杯状细胞呈卵圆形, 突出于结膜浅层表面, 而较小的杯状细胞呈圆形, 位于结膜上皮深层, 这提示杯状细胞在结膜中有一个分化、成熟、移行的过程(图 2)。随着其内分泌泡的不断成熟, 杯状细胞随上皮细胞自底层向表层迁移, 通过顶浆分泌的方式排出细胞的内容物。杯状细胞在整个结膜中均有分布, 数量约为 150 万个, 分布密度为 3 000 ~ 7 000 个/mm², 青壮年人杯状细胞的绝对数量达峰值, 约 35 岁之后数量逐渐减少, 老年时由于杯状细胞逐渐萎缩, 数量明显减少。

3 结膜杯状细胞的功能

结膜杯状细胞的主要功能是合成和分泌黏蛋白。黏蛋白是一种高度糖基化的大分子蛋白质, 含有许多串联重复的丝氨酸和苏氨酸, 是一种富有阴性电荷的大分子, 这可能构成了病原菌入侵的屏障。黏蛋白家族成员包括 MUC1、MUC2、MUC4 和 MUC16, 这些分子均存在于结膜。一旦结膜杯状细胞受到破坏, 即使泪腺功能正常, 眼部仍将出现干燥现象。反之, 若杯状细胞功能正常, 即使摘除泪腺, 临床上也可无任何损害。具有凝胶性质的 MUC5AC 是最早被证实的位于眼表的黏蛋白, 目前认为结膜杯状细胞是唯一分泌 MUC5AC 的眼表上皮细胞, 因此常将 MUC5AC 作为鉴定杯状细胞的标志物之一。MUC5AC 中大量的半胱氨酸通过二硫键与 MUC5AC 结合, 形成大的凝胶状物质, 将泪膜水液层固定于结膜和角膜表面, 从而起到稳定泪膜的作用。

4 结膜杯状细胞的分泌及其调控

结膜杯状细胞分泌黏蛋白的数量主要取决于结膜杯状细胞的数量以及黏蛋白的合成和分泌速度。大鼠角膜外伤可刺激杯状细胞分泌黏蛋白, 局部麻醉可阻断这种分泌过程, 提示杯状细胞可通过神经反射机制分泌黏蛋白以保护眼部组织^[14]。大鼠结膜杯状细胞受乙酰胆碱和血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)的刺激而分泌黏蛋白, 进一步的研究发现杯状细胞膜表面存在 M2、M3 毒蕈碱受体和 VIP 受体-II。虽然交感神经 β₁ 和 β₂ 肾上腺素受体也表达于杯状细胞表面, 但交感神经刺激杯状细胞分泌的机制仍不清楚。也有观点认为尽管杯状细胞存在交感神经递质受体, 但交感神经并不影响杯状细胞的分泌^[15]。此外, 眼表感觉神经末梢释放的活性多肽—降钙素基因相关肽和 P 物质可直接作用于杯状细胞, 刺激黏蛋白的分泌^[16]。另有一些可以刺激杯状细胞分泌的物质, 如组胺、白三烯、前列腺素、神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、表皮生长因子(epithelial growth factor, EGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-13 等, 其中组胺、白三烯、前列腺素等变态反应性炎症介质直接作用于杯状细胞表面受体, 促进杯状细胞增生, 刺激黏蛋白分泌^[16]。NGF 通过杯状细胞表面的酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TrkA)促进杯状细胞的增殖, 并影响 MUC5AC 的产生、储存和释放^[17], 犬干眼模型局部使用 NGF 后结膜杯状细胞的数量和黏蛋白分泌均明显增加^[18]。Shatos 等^[19]研究发现 EGF 激活其受体, 进而活化细胞外信号调节激酶通路, 活化蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC), 刺激大鼠结膜杯状细胞的增生。VEGF 也可通过其受体 Flt-1(VEGFR-1)促进杯状细胞增生^[20], PKC、丝裂原激活的蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)、一氧化氮、IL-6、IL-13 亦可促进结膜杯状细胞增生, 刺激黏蛋白分泌。局部应用拟胆碱类药物和毒蕈碱激动剂可增加黏蛋白分泌, 其主要途径为增加细胞内 Ca²⁺ 浓度或增加 PKC 的活性, 促进杯状细胞分泌。胆碱能激动剂还可通过 EGF 受体激活 MAPK, 从而促进杯状细胞的增生和分泌。维生素 D 可通过影响钙的代谢而调节黏蛋白的分泌, 增加细胞内 Ca²⁺ 浓度可促进杯状细胞分泌黏蛋白, Ca²⁺ 螯合剂则可抑制黏蛋白分泌^[21]。激素也可影响杯状细胞发

育,绝经期女性在接受性激素替代疗法后结膜杯状细胞密度增加^[22]。

杯状细胞除了分泌黏蛋白之外,还分泌其他多种生物活性物质,包括 NGF 和细胞因子等。大鼠结膜的杯状细胞和培养的杯状细胞可通过自分泌或旁分泌的方式产生 NGF,并与细胞自身表面的 NGF 受体结合,活化 Ras/Raf/MAPK 信号通路,促进杯状细胞的分泌^[23]。结膜杯状细胞受病原菌毒素刺激后可形成苷酸结合寡聚化结构域样受体含 pyrin 结构域蛋白 3 (nucleotide-binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain-containing-3, NLRP-3) 炎症小体,激活 caspase-1,进而促进 IL-1 β 的成熟和分泌,介导天然免疫应答^[24]。Wlodarska 等^[25]研究也发现,NLRP6 炎症小体在肠道杯状细胞内呈高表达,调控杯状细胞分泌黏蛋白颗粒的胞吐作用,NLRP6 缺陷会破坏杯状细胞中的自噬,导致杯状细胞无法向大肠中分泌黏液,肠黏膜表面缺乏黏液层,无法抵御病原体入侵,说明杯状细胞是关键的自然免疫的重要成分,参与控制肠道中与机体共生的细菌。最近一个突破性的研究进展是发现肠道杯状细胞可以将肠道内的食物抗原输送到黏膜固有层的树突状细胞,进而诱导免疫耐受^[26],杯状细胞这种独特的位置决定了其成为调控外环境诱导黏膜免疫耐受的最佳候选者。杯状细胞不仅表达和分泌 TGF- β_2 ,而且还可通过血小板反应蛋白-1 (thrombospondin-1, TSP-1) 依赖途径与细胞表面的 TSP-1 受体 CD36 特异性结合,活化 TGF- β_2 。此外,杯状细胞分泌的可溶性因子(包括 TGF- β_2)可下调树突状细胞表面主要组织相容性复合体-II 类分子和 CD80、CD86、CD40 共刺激分子的表达,调控树突状细胞的表型,使其维持未成熟状态及向免疫耐受方向分化^[27]。

5 结膜杯状细胞与眼表疾病

5.1 干眼

随着视频终端的普及和老龄化人口比例的升高,干眼的发病人群逐渐增加。最新的观点认为,泪膜是由黏蛋白和泪腺分泌的水液层形成的凝胶层,溶解于水液层的黏蛋白从眼表到泪膜形成一个浓度梯度,黏蛋白缺乏后,水液层和脂质层不能很好地附着于眼表,导致泪膜的稳定性降低。研究显示,干眼患者结膜杯状细胞数量明显减少,泪液中的 MUC5AC 含量也显著降低^[28]。

5.2 眼表变态反应性疾病

眼表变态反应性疾病是一种因变态反应造成的黏

液分泌过多的疾病。春季卡他性结膜炎患者可检测到杯状细胞密度的增高或杯状细胞的增生,黏液分泌增多。特应性角结膜炎患者的结膜活组织检查表明,杯状细胞有丝分裂率明显增高,与杯状细胞增生有关。变态反应性结膜炎是以 Th2 占优势、主要产生 IL-4 和 IL-13 的异常免疫应答。IL-4 促进结膜杯状细胞增生,IL-13 促进结膜杯状细胞的分化增生,并刺激黏蛋白的合成和分泌^[29]。

5.3 巨乳头性结膜炎

长期佩戴软性和硬性角膜接触镜均可诱发巨乳头性结膜炎,其他因素,如缝线、角膜异物和义眼等,也可导致乳头性结膜炎的发生。长期的机械性刺激可引起慢性肥大细胞脱颗粒^[30],而肥大细胞可产生和储存 IL-4,诱导 Th2 型反应,因此间接刺激结膜杯状细胞产生黏厚丝状分泌物。

5.4 免疫相关眼表疾病

Stevens-Johnson 综合征可因炎症反应造成结膜杯状细胞的破坏,从而导致泪膜黏液层缺乏和角膜干燥。Sjögren 综合征患者结膜上皮中杯状细胞密度降低,MUC5AC mRNA 的表达明显低于正常人,泪液中的 MUC5AC 黏蛋白含量也明显少于正常对照组^[31]。

5.5 引起眼部瘢痕的疾病

研究表明,沙眼、类天疱疮、麻风病、化学伤、热烧伤等均可造成杯状细胞的破坏和损伤^[32]。

6 应关注

结膜杯状细胞作为眼表的单细胞黏液腺,在维持眼表稳定性、润滑和保护眼表等方面起着重要作用。虽然目前对杯状细胞的形态结构和分布特征的研究已比较系统,但是关于杯状细胞的来源、分化和功能的调控机制还未完全阐明。最近,越来越多的证据表明杯状细胞除了分泌黏蛋白外,还分泌其他多种生物活性物质。另外,最近发现杯状细胞还参与黏膜部位的抗原递呈和免疫耐受的诱导。这些新发现为我们了解眼表杯状细胞在眼表自稳态和某些疾病中的作用提供了新的信息,也为药理性干预杯状细胞治疗某些眼表疾病提供了新的靶点。临床眼科医师应重视对结膜杯状细胞来源及其生物学行为的研究,进一步跟踪关于结膜杯状细胞的最新研究进展,充分了解结膜杯状细胞的分化来源、其在调节眼表稳态中的生物学功能及其在相关眼表疾病发病过程中的作用和机制,尤其是应该更好地认识结膜杯状细胞在眼表免疫中发挥的重要作用,为相关眼表疾病的靶向治疗提供依据。

参考文献

- [1] Cher I. Ocular surface concepts: development and citation [J]. *Ocul Surf*, 2014, 12(1) : 10–13. DOI:10.1016/j.jtos.2013.10.004.
- [2] McCauley HA, Guasch G. Three cheers for the goblet cell: maintaining homeostasis in mucosal epithelia [J]. *Trends Mol Med*, 2015, 21(8) : 492–503. DOI:10.1016/j.molmed.2015.06.003.
- [3] Dartt DA, Besharse JA, Dana R. *Encyclopedia of the Eye* [M]. Oxford: Elsevier LTD, 2010 : 345–349.
- [4] Wei ZG, Wu RL, Lavker RM, et al. *In vitro* growth and differentiation of rabbit bulbar, fornix, and palpebral conjunctival epithelia. Implications on conjunctival epithelial transdifferentiation and stem cells [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1993, 34(5) : 1814–1828.
- [5] Meller D, Pires RT, Tseng SC. Ex vivo preservation and expansion of human limbal epithelial stem cells on amniotic membrane cultures [J]. *Br J Ophthalmol*, 2002, 86(4) : 463–471.
- [6] Stewart RM, Sheridan CM, Hiscott PS, et al. Human conjunctival stem cells are predominantly located in the medial canthal and inferior forniceal areas [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(3) : 2021–2030. DOI:10.1167/iovs.14-16266.
- [7] Pellegrini G, Golisano O, Paterna P, et al. Location and clonal analysis of stem cells and their differentiated progeny in the human ocular surface [J]. *J Cell Biol*, 1999, 145(4) : 769–782.
- [8] Swamynathan SK, Katz JP, Kaestner KH, et al. Conditional deletion of the mouse *Klf4* gene results in corneal epithelial fragility, stromal edema, and loss of conjunctival goblet cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(1) : 182–194. DOI:10.1128/MCB.00846-06.
- [9] Kenchegowda D, Swamynathan S, Gupta D, et al. Conditional disruption of mouse *Klf5* results in defective eyelids with malformed meibomian glands, abnormal cornea and loss of conjunctival goblet cells [J]. *Dev Biol*, 2011, 356(1) : 5–18. DOI:10.1016/j.ydbio.2011.05.005.
- [10] Marko CK, Menon BB, Chen G, et al. Spdef null mice lack conjunctival goblet cells and provide a model of dry eye [J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(1) : 35–48. DOI:10.1016/j.ajpath.2013.03.017.
- [11] Gupta D, Harvey SA, Kaminski N, et al. Mouse conjunctival forniceal gene expression during postnatal development and its regulation by Krüppel-like factor 4 [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(8) : 4951–4962. DOI:10.1167/iovs.10-7068.
- [12] McCauley HA, Liu CY, Attia AC, et al. TGF β signaling inhibits goblet cell differentiation via SPDEF in conjunctival epithelium [J]. *Development*, 2014, 141(23) : 4628–4639. DOI:10.1242/dev.117804.
- [13] Mastropasqua L, Agnifili L, Fasanello V, et al. Conjunctival goblet cells density and preservative-free tafluprost therapy for glaucoma: an *in vivo* confocal microscopy and impression cytology study [J/OL]. *Acta Ophthalmol*, 2013, 91(5) : e397–405 [2016–06–10]. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aos.12131/pdf>. DOI:10.1111/aos.12131.
- [14] Kessler TL, Mercer HJ, Zieske JD, et al. Stimulation of goblet cell mucous secretion by activation of nerves in rat conjunctiva [J]. *Curr Eye Res*, 1995, 14(11) : 985–992.
- [15] Ríos JD, Forde K, Diebold Y, et al. Development of conjunctival goblet cells and their neuroreceptor subtype expression [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41(8) : 2127–2137.
- [16] Dartt DA, Masli S. Conjunctival epithelial and goblet cell function in chronic inflammation and ocular allergic inflammation [J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2014, 14(5) : 464–470. DOI:10.1097/ACI.000000000000098.
- [17] Lambiase A, Micera A, Pellegrini G, et al. *In vitro* evidence of nerve growth factor effects on human conjunctival epithelial cell differentiation and mucin gene expression [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50(10) : 4622–4630. DOI:10.1167/iovs.08-2716.
- [18] Coassin M, Lambiase A, Costa N, et al. Efficacy of topical nerve growth factor treatment in dogs affected by dry eye [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2005, 243(2) : 151–155. DOI:10.1007/s00417-004-0955-2.
- [19] Shatos MA, Gu J, Hodges RR, et al. ERK/p44p42 mitogen-activated protein kinase mediates EGF-stimulated proliferation of conjunctival goblet cells in culture [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(8) : 3351–3359. DOI:10.1167/iovs.08-1677.
- [20] Jousseaume AM, Poulaki V, Mitsiades N, et al. VEGF-dependent conjunctivalization of the corneal surface [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(1) : 117–123.
- [21] Paz HB, Tisdale AS, Danjo Y, et al. The role of calcium in mucin packaging within goblet cells [J]. *Exp Eye Res*, 2003, 77(1) : 69–75.
- [22] Pelit A, Bağış T, Kayaselçuk F, et al. Tear function tests and conjunctival impression cytology before and after hormone replacement therapy in postmenopausal women [J]. *Eur J Ophthalmol*, 2003, 13(4) : 337–342.
- [23] Ríos JD, Ghinelli E, Gu J, et al. Role of neurotrophins and neurotrophin receptors in rat conjunctival goblet cell secretion and proliferation [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2007, 48(4) : 1543–1551. DOI:10.1167/iovs.06-1226.
- [24] McGilligan VE, Gregory-Ksander MS, Li D, et al. *Staphylococcus aureus* activates the NLRP3 inflammasome in human and rat conjunctival goblet cells [J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(9) : e74010 [2016–04–20]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0074010>. DOI:10.1371/journal.pone.0074010.
- [25] Włodarska M, Thaiss CA, Nowarski R, et al. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interface by regulating goblet cell mucus secretion [J]. *Cell*, 2014, 156(5) : 1045–1059. DOI:10.1016/j.cell.2014.01.026.
- [26] McDole JR, Wheeler LW, McDonald KG, et al. Goblet cells deliver luminal antigen to CD103⁺ dendritic cells in the small intestine [J]. *Nature*, 2012, 483(7389) : 345–349. DOI:10.1038/nature10863.
- [27] Contreras-Ruiz L, Masli S. Immunomodulatory cross-talk between conjunctival goblet cells and dendritic cells [J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(3) : e0120284 [2016–04–23]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0120284>. DOI:10.1371/journal.pone.0120284.
- [28] 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 [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2008, 246(6) : 857–867. DOI:10.1007/s00417-008-0784-9.
- [29] García-Posadas L, Contreras-Ruiz L, Soriano-Romaní L, et al. Conjunctival goblet cell function: effect of contact lens wear and cytokines [J]. *Eye Contact Lens*, 2016, 42(2) : 83–90. DOI:10.1097/ICL.000000000000158.
- [30] Srinivasan BD, Jakobiec FA, Iwamoto T, et al. Giant papillary conjunctivitis with ocular prostheses [J]. *Arch Ophthalmol*, 1979, 97(5) : 892–895.
- [31] Argüeso P, Balaram M, Spurr-Michaud S, et al. Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjögren syndrome [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(4) : 1004–1011.
- [32] Zhu YF, Zheng LB, Yao YF. Impression cytological study for ocular surface disorders of late stage eye burns [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(4) : 605–612.

(收稿日期:2016-11-08)

(本文编辑:尹卫靖)