

糖尿病小鼠相关干眼眼表组织动态变化特征

王茜¹ 万磊² 李晶¹ 周庆军²

¹ 济南大学 山东省医学科学院医学与生命科学学院, 济南 250000; ² 山东第一医科大学(山东省医学科学院) 山东省眼科研究所 山东省眼科学重点实验室—省部共建国家重点实验室培育基地, 青岛 266071

通信作者: 周庆军, Email: qjzhou2000@hotmail.com

【摘要】 目的 研究链脲佐菌素(STZ)腹腔内注射诱导的 1 型糖尿病小鼠干眼相关症状的发生和发展特征。方法 SPF 级 6~8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠 60 只, 按照随机数字表法随机分为对照组和糖尿病组, 分别每日腹腔内注射枸橼酸盐缓冲液和 50 mg/kg STZ-枸橼酸盐缓冲液, 连续注射 5 d。分别于注射前、末次注射后 1、2、4 个月检测各组小鼠体质量、血糖浓度、泪腺质量; 同时采用酚红棉线法和虎红染色检测泪液分泌量和眼表情况; 采用角膜知觉测量仪检测角膜敏感度; 采用过碘酸希夫染色法检测结膜杯状细胞密度; 采用组织病理学染色和 Masson 染色观察泪腺组织变化。结果 糖尿病组小鼠注射后 1、2 和 4 个月体质量和泪腺质量与注射前比较, 差异均无统计学意义(均 $P>0.05$), 但明显低于相应时间点对照组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。糖尿病组小鼠注射后 1、2 和 4 个月血糖值明显高于注射前和相应时间点对照组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。注射后 1、2 和 4 个月糖尿病组小鼠泪液分泌量明显低于注射前值和相应时间点对照组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。注射后 2 个月糖尿病组小鼠眼表虎红染色开始出现阳性着色。注射后 2 个月和 4 个月糖尿病组小鼠角膜敏感度明显低于注射前和相应时间点对照组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。注射后 4 个月糖尿病组小鼠结膜杯状细胞密度明显低于注射前和相应时间点对照组, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$)。注射后 4 个月糖尿病组小鼠泪腺组织出现明显纤维化和炎性细胞浸润。结论 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠早期主要表现为泪腺发育停滞, 泪液分泌量下降, 且随糖尿病病程延长而逐渐加重; 后期出现角膜敏感度下降、眼表结构损伤、泪腺结构变化、杯状细胞密度下降等现象。

【关键词】 糖尿病; 干眼; 泪液分泌; 泪腺; 角膜敏感度

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81770904)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.06.004

Dynamic changes of ocular surface tissue of diabetic dry eye in mice

Wang Qian¹, Wan Lei², Li Jing¹, Zhou Qingjun²

¹ School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan-Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250000, China; ² State Key Laboratory Cultivation Base, Shandong Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, Shandong Eye Institute, Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences, Qingdao 266071, China

Corresponding author: Zhou Qingjun, Email: qjzhou2000@hotmail.com

[Abstract] **Objective** To explore the occurring and developing characteristics of dry eye syndrome in type 1 diabetic mouse model induced with streptozotocin (STZ)-intraperitoneal injection. **Methods** Completely randomized design method was performed. Sixty SPF degree male C57BL/6 mice (6-8 weeks old) was randomly divided into diabetic group and control group, which were intraperitoneally injected with citrate buffer and STZ-citrate buffer (50 mg/kg per day), respectively. The average weight, blood glucose level and lacrimal gland weight were examined before injection and 1 month, 2 months, 4 months after the last injection; meanwhile, phenol cotton thread and rose bengal staining methods were used to check tear formation and ocular surface condition; corneal perception meter was used to test corneal sensitivity; periodic acid-schiff (PAS) staining method was used to test the density of conjunctival goblet cells; histopathological staining and Masson staining methods were used to test the tissue changes of lacrimal gland. **Results** Compared with before injections, the body weight and lacrimal gland weight in diabetic group were not significantly changed 1 month, 2 months and 4 months after injection (all at $P>0.05$), but these measurements in diabetic group 1 month, 2 months and 4 months after injection were significantly lower than those in

control group at corresponding time points (all at $P < 0.05$). Compared with before injections and control group at corresponding time points, the blood glucose level were dramatically higher and the tear formation were significantly decreased in diabetic group at 1 month, 2 months, 4 months after injection (all at $P < 0.05$). The ocular surface of diabetic model mice showed positive rose bengal staining 2 months after STZ injections. The corneal sensitivities were significantly lower in diabetic model mice 2 months and 4 months after injection than those before injection and in control group at corresponding time points (all at $P < 0.05$). The density of conjunctival goblet cells in diabetic group 4 months after injection was significantly decreased than those before injection in diabetic group and 4 months after injection in control group (all at $P < 0.05$). The apparent collagen fibrosis and inflammatory cell infiltration were observed at lacrimal gland in diabetic model mice 4 months after injection. **Conclusions** The major early stage manifestations of STZ induced type 1 diabetes mice include retarded growth of lacrimal gland and decreased tear secretion volume, which gradually develop along the course of diabetes; in the later stage, the manifestations include decreased corneal sensitivity, ocular structural damage, structural changes of lacrimal gland and decreased conjunctival goblet cell density.

[Key words] Diabetes mellitus; Dry eye; Tear formation; Lacrimal gland; Corneal sensitivity

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81770904)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.06.004

糖尿病引发一系列生理病理改变,导致多种组织出现慢性损害和功能障碍^[1-2]。2017 年国际糖尿病联盟调查表明,全世界糖尿病患者已超过 4.51 亿^[3],糖尿病及其并发症已成为严重危害人类健康的世界性问题。糖尿病相关干眼是近年来糖尿病眼病的研究热点,其主要临床表现是泪液分泌量减少、结膜杯状细胞减少、泪液黏蛋白含量减少、泪膜功能与结构改变、角膜敏感度下降等^[4-5]。在 2017 版国际干眼专家指南中,糖尿病被认为是干眼发病的可能危险因素。然而,约 50% 糖尿病患者会合并干眼,15% ~ 33% 的 65 岁以上患者会出现干眼症状^[6]。临床研究发现,与非糖尿病干眼患者相比,糖尿病干眼患者泪膜破裂时间和泪液分泌量均显著减少,泪液渗透压升高,并随着糖尿病病程的延长而逐渐加重^[7-8]。另有研究表明,与单纯白内障患者相比,糖尿病合并白内障患者在行超声乳化白内障摘出术后患者干眼症状发生得越早,症状更明显,持续时间更长^[9]。与其他因素引发的干眼不同,糖尿病相关干眼患者的角膜敏感度下降,有角膜神经病变的糖尿病患者干眼发病率更高,症状更严重^[10-12]。糖尿病相关干眼症状与糖尿病病程及其严重程度等因素密切相关,且重症糖尿病患者感知干眼症状的能力下降^[4,13],严重影响糖尿病相关干眼症状的确诊和治疗。糖尿病相关干眼动物模型是研究其发病机制的有效手段。本研究拟观察链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)诱导 1 型糖尿病小鼠模型眼表组织特征的变化以明确糖尿病相关干眼的发生和发展特征。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 60 只 SPF 级 6 ~ 8 周龄健康雄性 C57BL/6 小鼠(北京维通利华实验动物技术有限公司),饲养于山东省眼科研究所实验动物中心,饲养与实验操作符合美国视觉与眼科学研究协会制定的 ARVO 声明。

1.1.2 主要试剂及仪器 STZ(美国 Sigma-Aldrich 公司);过碘酸希夫染色试剂盒、Masson 染色试剂盒(福建迈新公司);酚红棉线(天津晶明公司)。血糖测量仪(美国 Lifescan 公司);BT125D 分析天平(德国 Sartorius 公司);BQ900 裂隙灯显微镜(瑞士 Haag-Streit 公司);BX60 显微镜(日本 Olympus 公司);Cochet-Bonnet 角膜知觉测量仪(法国 Luneau Ophtalmologie 公司)。

1.2 方法

1.2.1 糖尿病干眼小鼠模型的建立 取 60 只 C57BL/6 雄性小鼠按照随机数字表法随机分为对照组和糖尿病组,每组 30 只。对照组连续 5 d 腹腔内注射枸橼酸盐缓冲液,糖尿病组连续 5 d 每日 50 mg/kg 腹腔内注射 STZ-枸橼酸盐缓冲液。各组随机选取 6 只小鼠分别在注射前,末次注射后 1、2、4 个月进行体质量和血糖检测,糖尿病组选取血糖水平 > 16.7 mmol/L 的小鼠。

1.2.2 角膜敏感度检测 各组随机选取 6 只小鼠,分别于末次注射后 1、2、4 个月采用角膜知觉测量仪测量小鼠角膜敏感度。将小鼠背部和颈部固定,待小鼠安静之后,用角膜知觉测量仪轻触角膜中央位置,从 60 到 10 mm 依次调整尼龙线长度,调整间距为 5 mm,每个长度重复测量 3 次,直到 3 次中出现 2 次以上眼睑闭合为止,以引起瞬目的最长尼龙线长度作为角膜敏

感度阈值^[14-16]。测量过程中小鼠所处环境温度、湿度、光线强度均与动物房一致。

1.2.3 泪液分泌量检测 各组随机选取 6 只小鼠,分别于末次注射后 1、2、4 个月使用酚红棉线检测小鼠泪液分泌量。测量前将小鼠头部固定,用棉签吸除结膜囊泪液,将酚红棉线置于下眼睑 1/3 睑结膜处,15 s 后取出棉线测量红色浸润长度。每只眼重复测量 3 次,取平均值。酚红棉线浸润长度少于 10 mm 为泪液分泌量少。检测后辅助小鼠闭合眼睑,避免眼表过度暴露。

1.2.4 角膜虎红染色 各组随机选取 6 只小鼠,分别于末次注射后 1、2、4 个月将 1 μ l 质量分数 1% 虎红染料滴于小鼠结膜囊内,闭合眼睑 1 min,使染料充分分布于眼表,于裂隙灯显微镜下观察角膜着色情况并拍照。

1.2.5 眼表组织取材及石蜡切片制作 每组每个时间点随机选取 3 只小鼠,采用颈椎脱臼法进行处死。分别于注射前和末次注射后 1、2、4 个月,完整取出对照组和糖尿病组小鼠眶外泪腺,每只 2 个泪腺,于分析天平称质量。同时摘取小鼠整个眼球。将泪腺和眼球放于体积分数 10% 中性甲醛溶液中常温固定 24 h,在自动脱水机中进行梯度乙醇脱水,二甲苯透明处理后石蜡包埋,4~5 μ m 厚切片,烘干后用于后续实验。

1.2.6 结膜杯状细胞染色 将带结膜组织的眼球切片置于二甲苯中脱蜡 3 次,梯度乙醇复水,蒸馏水冲洗后按照过碘酸希夫染色试剂盒说明书进行染色,主要步骤包括高碘酸氧化 8 min,蒸馏水冲洗,希夫试剂染色 20 min,偏重亚硫酸钠漂洗 2 次,每次 2 min,苏木素复染 2 min,蒸馏水冲洗,无水乙醇脱水封片后于 BX60 显微镜下观察染色结果并拍照记录。在每张结膜染色图片中任意选取 3 处长度为 100 μ m 的区域统计结膜杯状细胞数目,取平均值作为该小鼠结膜杯状细胞密度。

1.2.7 泪腺组织病理学染色和 Masson 染色 制作好的泪腺组织切片于二甲苯中脱蜡 3 次,梯度乙醇复水,蒸馏水冲洗后行常规苏木精-伊红染色。同法处理组织切片后按照 Masson 染色试剂盒说明书进行染色,主要步骤包括 Masson 试剂 A 染色 5 min,蒸馏水冲洗,试剂 C 染色 5 min,甩干,试剂 D 复染 5 min,蒸馏水冲洗,试剂 B 处理 2 次,每次 30 s,无水乙醇脱水封片后于 BX60 显微镜下观察染色情况并拍照记录。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。本研究测量指标的计量资料经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布,以 mean \pm SD 表示,组间均数经 Levene 检验方差

齐。采用均衡分组单因素干预多水平研究设计,各组不同时间点小鼠血糖浓度、体质量、泪液分泌量、结膜杯状细胞数目、角膜敏感度和泪腺重量的总体差异比较采用区组设计两因素方差分析,组间多重比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组不同时间点小鼠体质量和血糖变化

注射前后不同时间点体质量总体比较,差异均有统计学意义($F_{\text{分组}} = 436.539, P < 0.001; F_{\text{时间}} = 92.230, P < 0.001$)。对照组中小鼠在末次注射后 1~4 月体质量随时间延长而逐渐增加,注射后 1、2、4 个月小鼠体质量均高于注射前,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);糖尿病组小鼠注射后 1、2、4 个月体质量均低于相应时间点对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。糖尿病组各时间点体质量两两比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$) (表 1)。各组注射前后不同时间点血糖总体比较,差异均有统计学意义($F_{\text{分组}} = 511.750, P < 0.001; F_{\text{时间}} = 55.633, P < 0.001$);注射后 1、2、4 个月糖尿病组血糖浓度均高于相应时间点对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);糖尿病组注射后 1、2、4 个月血糖浓度两两比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$) (表 2)。

表 1 各组注射前后时间点体质量比较 (mean \pm SD, g)

组别	样本量	注射前后不同时间点体质量			
		注射前	注射后 1 个月	注射后 2 个月	注射后 4 个月
对照组	6	20.30 \pm 0.70	24.37 \pm 0.68 ^a	26.64 \pm 0.69 ^a	29.03 \pm 0.53 ^a
糖尿病组	6	20.50 \pm 0.66	21.33 \pm 1.00 ^b	20.78 \pm 0.73 ^b	20.92 \pm 0.44 ^b

注: $F_{\text{分组}} = 436.539, P < 0.001; F_{\text{时间}} = 92.230, P < 0.001$ 。与组内注射前比较, ^a $P < 0.05$; 与同时时间点对照组比较, ^b $P < 0.05$ (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

表 2 各组注射前后不同时间点血糖浓度比较 (mean \pm SD, mmol/L)

组别	样本量	注射前后不同时间点血糖浓度			
		注射前	注射后 1 个月	注射后 2 个月	注射后 4 个月
对照组	6	7.68 \pm 1.69	6.85 \pm 0.68	6.73 \pm 0.54	7.55 \pm 0.85
糖尿病组	6	7.15 \pm 1.10	27.82 \pm 3.48 ^{ab}	25.90 \pm 2.77 ^{ab}	29.63 \pm 4.40 ^{ab}

注: $F_{\text{分组}} = 511.750, P < 0.001; F_{\text{时间}} = 55.633, P < 0.001$ 。与组内注射前比较, ^a $P < 0.05$; 与同时时间点对照组比较, ^b $P < 0.05$ (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

2.2 各组不同时间点泪液分泌量变化

注射前后不同时间点小鼠泪液分泌量总体比较,差异有统计学意义($F_{\text{时间}} = 10.747, P < 0.001$);对照组注射前后不同时间点泪液分泌量两两比较,差异均无

统计学意义(均 $P > 0.05$);糖尿病组注射后 1、2、4 个月泪液分泌量均低于注射前,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。各组小鼠泪液分泌量总体比较差异有统计学意义($F_{\text{分组}} = 45.187, P < 0.001$);注射后 1、2、4 个月糖尿病组泪液分泌量均低于相应时间点对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 3)。

表 3 各组注射前后不同时间点泪液分泌量比较 (mean±SD, mm)

组别	样本量	注射前后不同时间点泪液分泌量			
		注射前	注射后 1 个月	注射后 2 个月	注射后 4 个月
对照组	6	5.33±0.98	5.67±0.82	5.17±0.68	5.17±0.52
糖尿病组	6	5.42±0.49	4.33±0.93 ^{ab}	3.50±0.63 ^{ab}	2.58±0.38 ^{ab}

注: $F_{\text{分组}} = 45.187, P < 0.001$; $F_{\text{时间}} = 10.747, P < 0.001$ 。与组内注射前比较, ^a $P < 0.05$;与同时点对照组比较, ^b $P < 0.05$ (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

2.3 各组不同时间点泪腺质量变化

不同时间点小鼠泪腺质量总体比较,差异有统计学意义($F_{\text{时间}} = 178.724, P < 0.001$);对照组小鼠注射后 1、2、4 个月泪腺质量均较注射前增加,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);糖尿病组小鼠注射后各时间点泪腺质量与注射前相比无明显变化,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。各组小鼠泪腺质量总体比较差异有统计学意义($F_{\text{分组}} = 742.151, P < 0.001$);糖尿病组注射后 1、2、4 个月小鼠泪腺质量均低于相应时间点对照组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 4)。

表 4 各组注射前后不同时间点泪腺质量比较 (mean±SD, mg)

组别	样本量	注射前后不同时间点泪腺质量			
		注射前	注射后 1 个月	注射后 2 个月	注射后 4 个月
对照组	6	9.33±0.82	12.50±0.55 ^a	20.50±0.55 ^a	23.33±0.82 ^a
糖尿病组	6	9.67±0.82	9.33±1.03 ^b	10.00±1.10 ^b	9.50±1.05 ^b

注: $F_{\text{分组}} = 742.151, P < 0.001$; $F_{\text{时间}} = 178.724, P < 0.001$ 。与组内注射前比较, ^a $P < 0.05$;与同时点对照组比较, ^b $P < 0.05$ (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

2.4 各组眼表虎红染色表现

对照组小鼠末次注射后各时间点眼表虎红染色均无明显着色。糖尿病组小鼠在末次注射后 1 个月未发现明显着色,末次注射后 2 个月角膜出现明显虎红着色。随糖尿病病程的延长,角膜着色逐渐加重,末次注射后 4 个月角膜出现连续或片状着色(图 1)。

2.5 各组不同时间点角膜敏感度变化

不同时间点小鼠角膜敏感度总体比较,差异有统计学意义($F_{\text{时间}} = 10.460, P < 0.001$);对照组小鼠注射后 1、2 和 4 个月角膜敏感度与注射前比较,差异均无

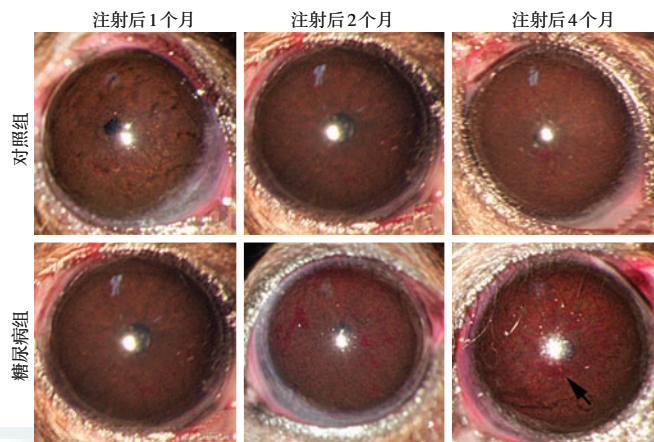


图 1 各组小鼠角膜上皮虎红染色观察 对照组小鼠末次注射后各时间点均未发现阳性着色;糖尿病组小鼠末次注射后 1 个月未见阳性着色,2 个月开始出现明显着色,4 个月角膜着色加深,出现连续或片状着色(箭头)

统计学意义(均 $P > 0.05$);糖尿病组小鼠角膜敏感度在末次注射后 1 个月与注射前比较差异无统计学意义($P > 0.05$),末次注射后 2 个月和 4 个月角膜敏感度显著低于注射前,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。各组小鼠角膜敏感度总体比较差异有统计学意义($F_{\text{分组}} = 21.000, P < 0.001$),其中糖尿病组小鼠末次注射后 2 个月和 4 个月角膜敏感度均较相应时间点对对照组降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 5)。

表 5 各组注射前后不同时间点角膜敏感度比较 (mean±SD, mm)

组别	样本量	注射前后不同时间点角膜敏感度			
		注射前	注射后 1 个月	注射后 2 个月	注射后 4 个月
对照组	6	5.58±0.38	5.67±0.26	5.67±0.26	5.58±0.20
糖尿病组	6	5.75±0.27	5.58±0.38	5.00±0.45 ^{ab}	4.41±0.38 ^{ab}

注: $F_{\text{分组}} = 21.000, P < 0.001$; $F_{\text{时间}} = 10.460, P < 0.001$ 。与组内注射前比较, ^a $P < 0.05$;与各自时间点对对照组比较, ^b $P < 0.05$ (两因素方差分析, LSD-*t* 检验)

2.6 各组注射前后不同时间点结膜杯状细胞密度变化

各组不同时间点结膜杯状细胞密度总体比较,差异均有统计学意义($F_{\text{时间}} = 31.301, P < 0.001$; $F_{\text{分组}} = 47.956, P < 0.001$);对照组小鼠注射后各时间点结膜杯状细胞密度与注射前比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);糖尿病组小鼠末次注射后 1 个月和 2 个月结膜杯状细胞密度与注射前以及相应时间点对对照组小鼠比较,差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);而糖尿病组小鼠末次注射后 4 个月结膜杯状细胞密度较注射前及相应时间点对对照组小鼠降低,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 6,图 2)。

表 6 各组注射前后不同时间点结膜杯状细胞密度比较 (mean±SD, /100 μm)

组别	样本量	注射前后不同时间点结膜杯状细胞密度			
		注射前	注射后 1 个月	注射后 2 个月	注射后 4 个月
对照组	3	21.89±1.26	22.78±1.17	20.67±1.00	20.11±0.51
糖尿病组	3	20.89±0.51	20.56±1.02	19.22±0.69	12.11±2.01 ^{ab}

注: $F_{\text{分组}}=47.956, P<0.001$; $F_{\text{时间}}=31.301, P<0.001$ 。与组内注射前比较, $^a P<0.05$; 与各自时间点对照组比较, $^b P<0.05$ (两因素方差分析, LSD- t 检验)

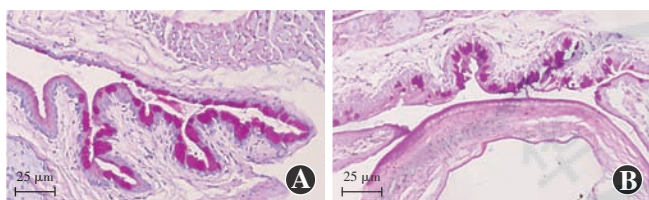


图 2 各组小鼠末次注射后 4 个月结膜杯状细胞染色情况 (PAS ×400, 标尺=25 μm) 糖尿病组小鼠结膜杯状细胞较对照组减少 A: 对照组小鼠 B: 糖尿病组小鼠

2.7 各组小鼠泪腺组织 Masson 染色和组织病理学染色情况

对照组小鼠注射后 1、2 和 4 个月泪腺组织结构正常, 无明显细胞外基质胶原染色和炎性细胞浸润现象。糖尿病组小鼠在末次注射后 1 个月和 2 个月无明显纤维化以及炎症浸润现象, 但末次注射后 4 个月可观察到明显胶原阳性染色和炎性细胞浸润 (图 3)。

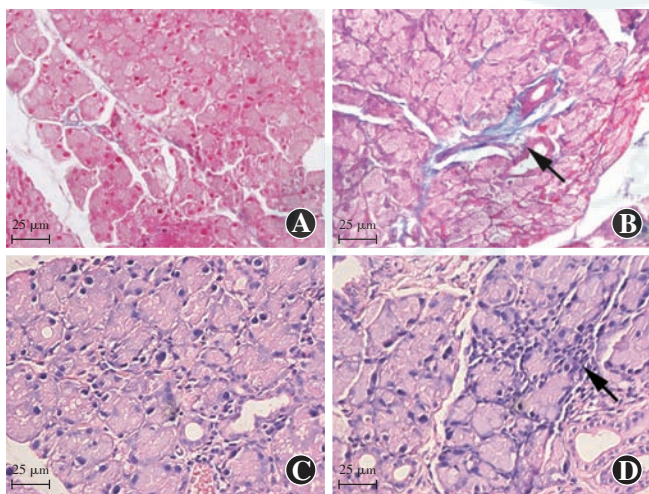


图 3 各组小鼠泪腺组织 Masson 染色和组织病理学染色表现 (标尺=25 μm, ×400) A: 对照组小鼠在末次注射后 4 个月泪腺组织正常, 纤维化程度低 (Masson) B: 糖尿病组小鼠在末次注射后 4 个月泪腺组织发生明显纤维化 (箭头) (Masson) C: 对照组小鼠在末次注射后 4 个月泪腺组织无明显炎症浸润现象 (HE) D: 糖尿病组小鼠在末次注射后 4 个月泪腺组织有明显的炎症浸润现象, 炎症反应明显 (箭头) (HE)

3 讨论

临床研究发现, 糖尿病相关干眼主要表现为泪液分泌减少和角膜敏感度下降, 其病情与糖尿病病程和严重程度等因素密切相关^[11,13,17]。本研究中发现 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠可出现典型干眼症状, 主要表现为泪液分泌量减少、角膜上皮虎红着色明显、结膜杯状细胞密度和角膜敏感度下降等特征, 并随着糖尿病病程的延长逐渐加重, 与临床研究发现相似。因此, 该糖尿病小鼠可作为研究糖尿病相关干眼发病进程的动物模型。

干眼是多因素疾病, 临床研究发现糖尿病患者泪液分泌量减少是干眼的普遍特征。作为泪液成分的主要来源, 泪腺生理功能的异常直接影响干眼的发生和发展^[6,18]。实验研究发现, 持续高血糖水平会加重泪腺组织的氧化应激压力, 引起泪腺组织病变^[19-20]。本研究中发现糖尿病小鼠在 STZ 注射后 1 个月即出现泪液分泌量显著下降, 同时泪腺生长停滞; 但组织染色未见纤维化或炎性浸润, 眼表虎红染色、角膜敏感度、结膜杯状细胞密度也未见异常, 由此推测糖尿病早期泪液分泌量减少可能与泪腺生长停滞直接相关。在 STZ 注射后 2 个月, 泪液分泌量持续减少, 泪腺重量仍处于注射前水平, 泪腺组织染色未见纤维化或炎性浸润, 眼表出现连续点状着色, 角膜敏感度开始下降, 但结膜杯状细胞密度仍处于正常范围, 推测该阶段眼表上皮损伤和角膜敏感度下降参与了干眼的进展。在 STZ 注射后 4 个月时, 糖尿病模型组小鼠泪液分泌量和泪腺质量均低至对照组小鼠的 1/2 水平, 泪腺组织出现明显纤维化及炎性细胞浸润, 眼表虎红染色可见大面积着色, 角膜敏感度和结膜杯状细胞密度均出现明显下降, 推测随着糖尿病病程的延长, 泪腺及眼表等多种组织出现病变, 其复合影响使干眼症状更加严重。角膜敏感度下降不仅影响反射性泪液分泌, 增加眼表蒸发, 还会影响泪腺功能^[21]。然而本研究中糖尿病小鼠角膜敏感度的变化发生在泪液分泌量下降之后, 推测角膜敏感度下降可能不是糖尿病相关干眼的首发因素。

综上所述, 本研究结果表明 STZ 诱导的 1 型糖尿病小鼠可作为糖尿病相关干眼的动物模型, 其早期泪液分泌量减少主要与泪腺生长停滞有关, 后期的进展主要与泪腺病理改变、眼表组织损伤、角膜敏感度下降和结膜杯状细胞密度降低有关。

参考文献

[1] Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications [J].

- Physiol Rev, 2013, 93 (1) : 137-188. DOI: 10. 1152/physrev. 00045. 2011.
- [2] Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism [J]. Diabetes, 2005, 54 (6) : 1615-1625.
- [3] Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045 [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 138 : 271-281. DOI: 10. 1016/j. diabres. 2018. 02. 023.
- [4] Manaviat MR, Rashidi M, Afkhami-Ardekani M, et al. Prevalence of dry eye syndrome and diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients [J/OL]. BMC Ophthalmol, 2008, 8 : 10 [2018-09-21]. http://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/18513455. DOI: 10. 1186/1471-2415-8-10.
- [5] Beckman KA. Characterization of dry eye disease in diabetic patients versus nondiabetic patients [J]. Cornea, 2014, 33 (8) : 851-854. DOI: 10. 1097/ICO. 0000000000000163.
- [6] Craig JP, Nelson JD, Azar DT, et al. TFOS DEWS II report executive summary [J]. Ocul Surf, 2017, 15 (4) : 802-812. DOI: 10. 1016/j. jtos. 2017. 08. 003.
- [7] Lyu H, Li A, Zhang X, et al. Meta-analysis and review on the changes of tear function and corneal sensitivity in diabetic patients [J]. Acta Ophthalmol, 2014, 92 (2) : 96-104. DOI: 10. 1111/aos. 12063.
- [8] 王玮, 李贵刚, 张虹. 泪液渗透压的研究进展 [J]. 中华实验眼科杂志, 2016, 34 (2) : 189-192. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 02. 020.
Wang W, Li GG, Zhang H. Research advances of tear osmolarity [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2016, 34 (2) : 189-192. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 02. 020.
- [9] 吴娜, 孙丰源, 唐东润, 等. 糖尿病合并白内障患者超声乳化术后干眼分析 [J]. 中华实验眼科杂志, 2012, 30 (10) : 922-925. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2012. 10. 016.
Wu N, Sun FY, Tang DR, et al. Dry eye analysis of diabetes with cataract patients after phacoemulsification [J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2012, 30 (10) : 922-925. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2012. 10. 016.
- [10] Achtsidis V, Eleftheriadou I, Kozanidou E, et al. Dry eye syndrome in subjects with diabetes and association with neuropathy [J]. Diabetes Care, 2014, 37 (10) : 210-211. DOI: 10. 2337/dc14-0860.
- [11] Misra SL, Patel DV, McGhee CN, et al. Peripheral neuropathy and tear film dysfunction in type 1 diabetes mellitus [J/OL]. J Diabetes Res, 2014, 2014 : 848659 [2018-08-11]. http://www. ncbi. nlm. nih. gov/pubmed/25177708. DOI: 10. 1155/2014/848659.
- [12] Esteghamati A, Momeni A, Abdollahi A, et al. Serum fibroblast growth factor 21 concentrations in type 2 diabetic retinopathy patients [J]. Ann Endocrinol (Paris), 2016, 77 (5) : 586-592. DOI: 10. 1016/j. ando. 2016. 01. 005.
- [13] Fuerst N, Langelier N, Massaro-Giordano M, et al. Tear osmolarity and dry eye symptoms in diabetics [J]. Clin Ophthalmol, 2014, 8 : 507-515. DOI: 10. 2147/OPHT. S51514.
- [14] Yang L, Di G, Qi X, et al. Substance P promotes diabetic corneal epithelial wound healing through molecular mechanisms mediated via the neurokinin-1 receptor [J]. Diabetes, 2014, 63 (12) : 4262-4274. DOI: 10. 2337/db14-0163.
- [15] Dong M, Di G, Zhang X, et al. Subconjunctival bevacizumab injection impairs corneal innervations and epithelial wound healing in mice [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58 (3) : 1469-1477. DOI: 10. 1167/iov. 16-20926.
- [16] Di G, Qi X, Zhao X, et al. Corneal epithelium-derived neurotrophic factors promote nerve regeneration [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2017, 58 (11) : 4695-4702. DOI: 10. 1167/iov. 16-21372.
- [17] Baek J, Doh SH, Chung SK. Assessment of the tear meniscus using optical coherence tomography in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Cornea, 2015, 34 (12) : 1534-1540. DOI: 10. 1097/ICO. 0000000000000651.
- [18] Pflugfelder SC, de Paiva CS. The pathophysiology of dry eye disease: what we know and future directions for research [J]. Ophthalmology, 2017, 124 (11S) : S4-4S13. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2017. 07. 010.
- [19] Uchino Y, Kawakita T, Ishii T, et al. A new mouse model of dry eye disease: oxidative stress affects functional decline in the lacrimal gland [J]. Cornea, 2012, 31 Suppl 1 : S63-67. DOI: 10. 1097/ICO. 0b013e31826a5de1.
- [20] Módulo CM, Jorge AG, Dias AC, et al. Influence of insulin treatment on the lacrimal gland and ocular surface of diabetic rats [J]. Endocrine, 2009, 36 (1) : 161-168. DOI: 10. 1007/s12020-009-9208-9.
- [21] Subcommittee of the International Dry Eye Workshop. The definition and classification of dry eye disease: report of the definition and classification (2007) [J]. Ocul Surf, 2007, 5 : 75-92.

(收稿日期: 2018-10-25 修回日期: 2019-04-25)

(本文编辑: 张宇)

读者·作者·编者

本刊投稿方式

初次投稿作者请按照下列步骤投稿: 登陆中华医学会网站 (<http://www.cma.org.cn>) → 点击页面右上角的“注册” → 选项注册账号 → 返回首页 → 点击页面右下方的“申请成为杂志作者”成为本刊作者进行投稿。投稿时请使用 Word 格式 (.doc 文件类型), 投稿后请注意自留原稿, 并保留论文相关的原始资料, 以备稿件修改补充所用。投稿后请从“业务中心”下载“中华医学会系列杂志论文投送介绍信及授权书(中文版)”, 填写有关项目并请每位作者亲笔签字, 加盖单位公章后寄 2 份至本刊编辑部, 其中作者签名顺序和作者单位署名名称应与投稿时文章中著录的相一致, 如有变更应由每位作者同意并请通信作者告知编辑部。投稿请注意: (1) 在非公开刊物发表的稿件、学术会议交流的文章、已用非中文文字期刊发表的文稿不属于一稿两投, 但投稿时应向编辑部说明, 非中文文字期刊已发表的文稿须征得首次发表期刊的同意。(2) 作者须告知与该研究有关的利益冲突, 如该研究被某机构资金资助的声明或与审稿人的利益关系。(3) 如涉及保密问题, 需附有关部门审查同意发表的证明。

欢迎订阅《中华实验眼科杂志》

《中华实验眼科杂志》为中国科技论文统计源期刊和中国中文核心期刊、中国科学引文数据库 (CSCD) 核心期刊, 月刊, 80 面, 每月 10 日出版, 每期定价 16 元, 邮发代号: 36-13, 国内外公开发售, 欢迎到各地邮局订阅或直接与本刊编辑部联系订购。联系电话: 0371-87160872。

(本刊编辑部)