

## 2 型糖尿病患者与正常人泪液学检测及泪膜功能比较

邹新蓉<sup>1</sup> 陆丽娜<sup>2</sup> 徐艺<sup>2</sup> 张波<sup>2</sup> 邹海东<sup>3</sup>

<sup>1</sup>上海市奉贤区奉城医院眼科 201411; <sup>2</sup>上海市眼病防治中心 上海市眼科医院 200040; <sup>3</sup>上海交通大学附属第一人民医院 上海市眼底病重点实验室 200080

通信作者:邹海东, Email: zouhaidong@hotmail.com

**【摘要】目的** 比较社区 2 型糖尿病患者与正常人群泪液检测指标的差异,为研究糖尿病患者干眼患病率及其发病机制提供理论依据。**方法** 采用病例对照研究设计,2016 年 4 月 20 日至 6 月 6 日在社区干眼流行病学调查过程中随机抽取受试对象。糖尿病组 79 例 158 眼,年龄性别相匹配、未患有糖尿病的社区人群作为正常对照组,74 人 148 眼,完成泪膜破裂时间(BUT)、基础泪液分泌试验(S I t)、角膜荧光素染色检测及泪液采集。采用 ELISA 法测定泪液黏蛋白-5AC(MUC-5AC)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、糖基化终产物受体(RAGEs)、胰岛素含量。参照 2013 年《干眼临床诊疗专家共识》将糖尿病组患者亚分为干眼组和非干眼组。

**结果** 糖尿病组 BUT、S I t 值低于对照组,角膜荧光素染色值高于对照组;糖尿病组的 MMP-9、RAGE 高于对照组,胰岛素值、MUC-5AC 低于对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。糖尿病人群中干眼组女性患者数量多于男性,差异有统计学意义( $t = 4.35, P = 0.04$ );干眼组糖尿病病程长于非干眼组,差异有统计学意义( $t = 2.56, P = 0.01$ );干眼组 MMP-9 含量为  $(1\ 052.37 \pm 157.68)$  pg/ml,明显高于非干眼组的  $(459.11 \pm 258.67)$  pg/ml,差异有统计学意义( $t = 11.92, P < 0.01$ );干眼组 MUC-5AC 含量为  $(867.83 \pm 121.82)$  pg/ml,明显低于非干眼组的  $(972.93 \pm 153.53)$  pg/ml,差异有统计学意义( $t = -3.30, P < 0.01$ )。Pearson 相关分析显示, MMP-9 与 BUT 呈负相关( $r = -0.349, P < 0.01$ ),与角膜荧光素染色呈正相关( $r = 0.181, P = 0.026$ ), MUC-5AC 与 S I t 呈正相关( $r = 0.367, P < 0.01$ )。**结论** 社区糖尿病患者罹患干眼与泪液中 MUC-5AC 减少、MMP-9 增加显著相关。

**【关键词】** 糖尿病;泪液/检测;泪膜/功能;干眼

**基金项目:**上海市加强公共卫生体系建设三年行动计划项目(2015-2017);上海市“建立糖尿病眼病综合防治服务模式项目”(GWIV3.3)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.009

### Comparison of tear index and tear film function between type 2 diabetic patients and normal subjects

Zou Xinrong<sup>1</sup>, Lu Lina<sup>2</sup>, Xu Yi<sup>2</sup>, Zhang Bo<sup>2</sup>, Zou Haidong<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Fengcheng Hospital, Fengxian District, Shanghai 201411, China; <sup>2</sup>Department of Preventative Ophthalmology, Shanghai Eye Disease Prevention and Treatment Center, Shanghai Eye Hospital, Shanghai 200040, China; <sup>3</sup>Department of Ophthalmology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai Key Laboratory of Fundus Disease, Shanghai 200080, China

Corresponding author: Zou Haidong, Email: zouhaidong@hotmail.com

**【Abstract】Objective** To compare the tear related indexes of patients with type-2 diabetes and the healthy subjects, analyze the functions of tear film of these two groups and provide significant theoretical evidences for the causes of the increased prevalence of dry eye in patients with type-2 diabetes and their pathogenesis. **Methods** A case-control study was designed. During the epidemiological investigation of dry eye in communities, 79 patients with diabetes and 74 normal healthy subjects were randomly selected as participants in this case-control study. Dry eye tests including tear film break-up time (BUT), Schirmer I test (S I t) and corneal fluorescein staining were performed. The tears were collected to detect mucoprotein-5AC (MUC-5AC), matrix metalloproteinase 9 (MMP-9), receptor of advanced glycation endproducts (RAGEs) and the content of insulin. The diagnosis standard referred to *Experts Consensus on Clinical Diagnosis and Treatment of Dry Eye* published in 2013. The study was followed the Declaration of Helsinki. This study protocol was approved by Medical Ethics Committee of the Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University (No. 2016KY005), and written informed consent was obtained from all subjects.

**Results** There were significant differences between 79 diabetes patients and 74 normal healthy subjects in the value of BUT, S I t and corneal fluorescein staining (all at  $P < 0.05$ ). The value of BUT and S I t in patients with diabetes were lower than those in the control group, while the corneal fluorescein staining scores of patients were higher than

those of normal healthy subjects, with significant differences ( $P < 0.05$ ). In addition, compared with normal healthy subjects, the diabetic patients were higher in the value of MMP-9 and RAGEs, but lower in the content of insulin and MUC-5AC, with significant differences ( $P < 0.05$ ). There were significant differences in gender, diabetes duration, MMP-9, and MUC-5AC between the dry and non-dry eyes in the diabetic group ( $P < 0.05$ ). Women were more likely to develop dry eyes with a significant difference ( $t = 4.35, P = 0.04$ ). The duration of diabetes in dry eye group was higher than that in non-dry eye group, with a significant difference ( $t = 2.56, P = 0.01$ ); the value of MMP-9 in dry eye group was  $(1\ 052.37 \pm 157.68)$  pg/ml, which was significantly higher than that in non-dry eye group ( $[459.11 \pm 258.67]$  pg/ml) ( $t = 11.92, P < 0.01$ ); the value of MUC-5AC in dry eye group was  $(867.83 \pm 121.82)$  pg/ml, which was significantly lower than in non-dry eye group ( $[972.93 \pm 153.52]$  pg/ml) ( $t = -3.30, P < 0.01$ ). There was no statistical difference in age and insulin between the two groups. Pearson correlation analysis showed that MMP-9 was negatively correlated with BUT ( $r = -0.349, P < 0.01$ ), and positively correlated with corneal fluorescein staining ( $r = 0.181, P = 0.026$ ). MUC-5AC was positively correlated with S I t ( $r = 0.367, P < 0.01$ ). **Conclusions** Dry eye prevalence is significantly related with the decrease in MUC-5AC and the increase in MMP-9 in community-based diabetic patients.

**[Key words]** Diabetes mellitus; Tear index detection; Tear film function; Dry eye

**Fund Program:** Shanghai Three Year Public Health Action Program (2015–2017); Building Comprehensive Prevention and Treatment Model for Diabetic Eye Diseases in Shanghai (GWIV-3.3)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.009

糖尿病是由多种病因引起的慢性代谢性疾病,是目前全球面临的严重公共卫生问题。截至 2010 年,中国成年人糖尿病患病率约为 11.6%<sup>[1]</sup>。糖尿病可引起多种眼部并发症,包括以泪膜功能异常为特征的干眼,眼科医生门诊中也多会遇到糖尿病患者主诉眼部干涩、异物感<sup>[2]</sup>。多项以糖尿病医院人群为研究对象的调查也表明,干眼在糖尿病患者中的患病率明显高于正常人<sup>[3-5]</sup>。既往关于干眼发病机制的多项研究发现,干眼发生与泪液中多种蛋白成分改变及胰岛素含量变化有关<sup>[6-14]</sup>。糖尿病导致泪膜及眼表上皮细胞呈高糖及高渗状态,会引发眼表的炎症反应,产生一系列炎症因子,如肿瘤坏死因子  $\alpha$  (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF  $\alpha$ )、白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase 9, MMP-9) 等。MMP-9 被证实在干眼患者泪液中含量显著升高,且与干眼严重程度密切相关<sup>[9-10]</sup>。糖基化终产物 (advanced glycation endproducts, AGEs) 的形成会随着年龄和血糖的增加而增加,它存在于眼部的多处组织,参与多种眼病发生<sup>[11]</sup>。糖尿病患者泪液中葡萄糖水平的升高,导致泪液中 AGEs 的表达增多,而 AGEs 与糖基化终产物受体 (receptor of advanced glycation endproducts, RAGEs) 的结合,将会诱发角膜上皮细胞的氧化应激反应,造成角膜敏感性下降,从而导致干眼的发生<sup>[12]</sup>。黏蛋白-5AC (mucoprotein-5AC, MUC-5AC) 是泪膜中主要的分泌型黏蛋白,在泪膜的构成和功能稳定方面起重要作用,其在干眼患者泪液中的水平显著降低<sup>[13]</sup>。胰岛素同样被证明在维持泪膜及眼表的稳定性中起作用,糖尿病患者胰岛素缺乏,泪膜稳定性下降,这也是糖尿病患者干眼患病率上升的原因

之一<sup>[14]</sup>。鉴于 MMP-9、MUC-5AC 同泪膜功能联系密切,糖尿病患者眼表 AGEs 表达增多,而胰岛素水平下降均与干眼患病有关,且在社区糖尿病患者中,糖尿病干眼患者泪液中的泪液蛋白、泪液胰岛素变化与泪膜功能参数的相关性如何还不明确,因此本研究选取 MMP-9、RAGEs、MUC-5AC、泪液胰岛素作为测试对象,通过比较社区 2 型糖尿病患者与正常人群泪液检测指标的差异,并对 2 个组泪膜功能进行分析,为糖尿病患者干眼患病率升高的原因和发病机制,提供理论依据,进而指导糖尿病干眼的预防和治疗。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

采用病例-对照研究设计。在上海市北新泾社区普通糖尿病患者和健康人群的干眼流行病学调查过程中,按照检查号分别从每组随机抽取受试对象。在 2016 年 4 月 20 日至 2016 年 6 月 6 日,从北新泾社区糖尿病慢性病管理档案中,按照随机整群的抽样方法,从 10 个居委抽取 1 503 例糖尿病患者参与糖尿病干眼的流行病学调查,最终 1 360 例患者符合病例纳入标准并完成调查,作为糖尿病组。2016 年 8 月 20 日至 9 月 26 日,在老年人屈光筛查的项目中,同样采用随机整群抽样的方法,从 8 个居委 1 173 名调查对象作为对照组,最终 1 044 名调查对象符合病例纳入标准并完成调查,作为正常对照组。分别在 1 360 例糖尿病患者及 1 044 名正常对照组调查对象中,按检查号随机抽取泪液学检测对象<sup>[15]</sup>。

糖尿病患者诊断标准:依据 WHO 提供的 2 型糖尿病诊断标准<sup>[16]</sup>。眼部疾病排除标准:(1)有眼睑外

翻、睑内翻、倒睫、上睑下垂等眼部疾病；(2)有结膜松弛症、翼状胬肉等结膜疾病；(3)6 个月内有眼手术史、眼化学伤史、眼部使用滴眼液或人工泪液者。正常对照组纳入标准：未患糖尿病及上述眼部疾病的社区居民。本研究遵循赫尔辛基宣言，通过上海交通大学附属第一人民医院医学伦理委员会批准（伦审号：2016KY005），所有受试者均签署书面知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 调查内容** 泪液学检测的现场调查工作，由 2 位高年资、临床经验丰富的眼科医师和 1 位眼科技师完成，由 1 位具备丰富临床和流行病学研究经验的眼科主任医师（项目负责人）全程质控。现场调查过程包括干眼主观症状询问，眼前节基本检查，泪膜破裂时间（tear film break-up time, BUT），基础泪液分泌试验（schirmer I test, S I t），角膜荧光素染色以及泪液采集。

**1.2.2 泪液采集** 眼科医师采用玻璃毛细管法，抽取每位受试者 10  $\mu$ l 泪液。为保证泪液稳定性，抽取时间均为 8:00 ~ 9:00。抽取泪液时不触碰受试者角膜或结膜，避免刺激性泪液分泌。泪液收集完成后，由玻璃毛细管放入 1.5 ml Eppendorf 管中，-70  $^{\circ}$ C 保存，直至检测。

**1.2.3 ELISA 法测定胰岛素含量** 胰岛素含量检测采用 Mereodia 超敏胰岛素检测试剂盒（瑞典 Mereodia 公司）。将所有试剂和泪液样本平衡至室温；在微孔板中加入 25  $\mu$ l 校准品、标本（用质量分数 5% BSA 和磷酸盐缓冲液将 10  $\mu$ l 泪液补足为 25  $\mu$ l 的上样量），均设 2 个复孔；每孔加入酶结合液 100  $\mu$ l；室温避光振荡孵育 1 h；手工洗板：每孔加 200  $\mu$ l 洗液，将微孔板内液体甩出，倒扣于吸水纸上使孔内液体完全流出，重复 6 次；每孔加入 200  $\mu$ l 的 TMB；室温避光孵育 30 min；在微孔板中每孔加入 50  $\mu$ l 终止液，振荡 5 s 确保溶液充分混合；读取波长 450 nm 处吸光度（A）值，根据标准品绘制标准曲线，代入曲线计算胰岛素含量，所得结果乘以 2.5，为实际泪液胰岛素含量。

**1.2.4 泪液蛋白检测** 泪液分泌试验完成后，收集每组受试者泪液分泌试纸，分别装入 5 ml Eppendorf 管中，-70  $^{\circ}$ C 保存。检测时将放置试纸条的离心管中加入 pH 7.2 的 0.1 mol/L PBS 500  $\mu$ l，反复冲洗吹打，10 000  $\times$ g 离心 30 min，取上清，用 ELISA 法测量泪液中 MMP-9、MUC-5AC 和 RAGEs 质量浓度，蛋白质量浓度检测均采用 Immunoway 检测试剂盒（美国 Immunoway 公司）。

分别设空白孔、标准孔和待测样品孔。分别加入样品稀释液、标准品和待测样品 100  $\mu$ l，酶标板加上覆膜，37  $^{\circ}$ C 温育 2 h。弃去液体，甩干，洗涤 4 次。每孔加检测溶液 100  $\mu$ l，酶标板加上覆膜，37  $^{\circ}$ C 孵育 2 h。

弃去孔内液体，甩干，洗板 4 次，每次浸泡 1 ~ 2 min，每孔约 400  $\mu$ l，甩干。每孔加酶标抗体工作液 100  $\mu$ l，加上覆膜，37  $^{\circ}$ C 温育 30 min。弃去孔内液体，甩干，洗板 4 次，方法同 1.2.3 中手工洗板步骤。每孔加底物液 100  $\mu$ l，酶标板加上覆膜，避光显色。每孔加终止溶液 100  $\mu$ l，终止反应。用酶标仪测定波长 450 nm 处各孔 A 值。根据标准品绘制标准曲线，代入曲线计算各蛋白的质量浓度。

**1.2.5 干眼指标检测 BUT**：用生理盐水将荧光素试纸条浸湿，轻触受检者上方球结膜，瞬目数次。待荧光素均匀分布时，裂隙灯显微镜下用钴蓝光检查，计数末次瞬目至出现首个黑斑的时间，重复测量 3 次，取其平均值。

**S I t**：将泪液分泌试验滤纸一端沿标记位置折叠 5 mm，置于双眼下睑中外 1/3 穹隆部，沿睑缘自然垂下，嘱受检者轻闭眼，5 min 后取出滤纸，记录滤纸被泪液浸润的长度。

**角膜荧光素染色**：将浸润的荧光素试纸湿润结膜囊后观察角膜荧光素染色情况。将角膜分为 4 个象限，每个象限 0 ~ 3 分，共计 0 ~ 12 分<sup>[17]</sup>。

**1.2.6 干眼诊断标准** 参照 2013 年《干眼临床诊疗专家共识》诊断标准<sup>[17]</sup>：(1)有干燥感、异物感、烧灼感、疲劳感、不适感、视力波动等主观症状之一和 BUT  $\leq$  5 s 或 S I t  $\leq$  5 mm/5 min 可诊断干眼。(2)有干燥感、异物感、烧灼感、疲劳感、不适感、视力波动等主观症状之一和 5 s < BUT  $\leq$  10 s 或 5 mm/5 min < S I t  $\leq$  10 mm/5 min 时，同时有角膜荧光素染色阳性可诊断干眼。

**1.2.7 质量控制** 本调查由项目负责人在正式调查前培训调查队工作人员，培训结束后，在调查社区中选择一个非纳入抽样单位的居委会进行预试验，并检验测量工具。每次调查后项目负责人复核数据。干眼测试项目均进行一致性检验。

## 1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。糖尿病组与正常对照组、干眼组与非干眼组性别构成比的比较采用  $\chi^2$  检验。定量资料经正态性检验，符合正态分布，以 mean  $\pm$  SD 表示。偏态分布连续性资料以 M( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ ) 表示。糖尿病组与正常对照组、干眼组与非干眼组基线资料（除外性别构成比）以及泪液检测指标（除外角膜荧光染色评分）比较均采用独立样本 t 检验，角膜荧光染色评分比较采用 Wilcoxon 检验。MMP-9 与 BUT、MMP-9 与角膜荧光染色评分、MUC-5AC 与 S I t 相关性分析采用 Pearson 相关分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。



2 结果

2.1 2 型糖尿病患者与正常对照组基线资料比较

分别从干眼流行病学研究的 1 360 例糖尿病患者及 1 044 名正常对照组调查对象中,按检查号随机抽取泪液学检测对象。最终抽取糖尿病组 79 例,正常对照组 74 人。2 个组性别和年龄比较,差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。糖尿病组 BUT、S I t 值低于对照组,糖尿病组角膜荧光染色评分高于对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )(表 1)。

2.2 2 型糖尿病患者与正常对照组泪液学检测比较

糖尿病组 MMP-9、RAGEs 质量浓度均高于正常对照组,胰岛素值、MUC-5AC 质量浓度低于正常对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )(表 2)。

2.3 2 型糖尿病干眼与非干眼患者泪液学检测结果比较

2 型糖尿病干眼组女性患者例数多于非干眼组,干眼组糖尿病病程长于非干眼组,干眼组 MMP-9 质量浓度高于非干眼组,干眼组 MUC-5AC 质量浓度低于非干眼组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )。2 个组年龄、胰岛素含量比较,差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )(表 3)。

2.4 干眼检测指标与泪膜功能相关性分析

根据 Pearson 相关分析可知,MMP-9 与 BUT 呈负相关( $r = 0.349, P < 0.01$ ),MMP-9 与角膜荧光素染色评分呈弱正相关( $r = 0.181, P = 0.026$ ),MUC-5AC 与 S I t 呈正相关( $r = 0.367, P < 0.01$ )(图 1 ~ 3)。

表 1 2 个组患者基线资料比较

组别	例数/眼数	性别 (男/女, n/n) <sup>a</sup>	年龄 (mean±SD, 岁) <sup>b</sup>	BUT (mean±SD, s) <sup>b</sup>	S I t (mean±SD, mm) <sup>b</sup>	角膜荧光素染色 评分[M(P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> )] <sup>c</sup>
糖尿病组	79/158	28/51	69.80±8.83	5.27±2.82	9.32±7.39	0(0,6)
正常对照组	74/148	19/55	68.42±10.93	6.25±2.75	13.56±7.46	0(0,0)
$\chi^2/t$ 值		1.71	0.86	-2.18	-3.53	3.971
P 值		0.19	0.39	0.00	0.00	0.00

注: BUT: 泪膜破裂时间; S I t: 基础泪液分泌试验(a:  $\chi^2$  检验; b: 独立样本 t 检验; c: Wilcoxon 秩和检验)

表 2 2 型糖尿病患者与正常对照组泪液学检测结果

组别	例数/眼数	MMP-9 质量浓度 (mean±SD pg/ml) <sup>a</sup>	RAGEs 质量浓度 (mean±SD pg/ml) <sup>a</sup>	MUC-5AC 质量浓度 (mean±SD pg/ml) <sup>a</sup>	胰岛素含量 [M(P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> )u/ml] <sup>b</sup>	糖尿病病程 (mean±SD 年) <sup>c</sup>
糖尿病组	79/158	722.07±368.47	28.43±8.25	926.20±161.53	0.38±0.50	9.44±7.06
正常对照组	74/148	445.51±357.04	17.04±8.78	1 127.20±231.76	2.35±3.98	-
t 值		4.71	8.27	6.26	-4.37	
P 值		0.00	0.00	0.00	0.00	

注: MMP: 基质金属蛋白酶; RAGEs: 糖基化终产物受体; MUC-5AC: 黏蛋白-5AC (a: 独立样本 t 检验; b: Wilcoxon 秩和检验)

表 3 2 型糖尿病患者干眼与非干眼患者基线资料泪液学检测结果比较

组别	例数/眼数	性别构成比 (男/女, n/n) <sup>a</sup>	年龄 (mean±SD, 岁) <sup>b</sup>	糖尿病病程 (mean±SD, 年) <sup>b</sup>	MMP-9 (mean±SD, pg/ml) <sup>b</sup>	RAGEs (mean±SD, pg/ml) <sup>b</sup>	MUC-5AC (mean±SD, pg/ml) <sup>b</sup>	胰岛素值 [M(P <sub>25</sub> , P <sub>75</sub> ), u/ml] <sup>c</sup>
干眼组	35/70	8/27	68.46±7.92	12.71±10.21	1 052.37±157.68	27.82±7.34	867.83±121.82	0.195(0.124, 0.337)
非干眼组	44/88	20/24	70.86±9.44	8.17±5.24	459.11±258.67	28.92±8.97	972.93±153.52	0.249(0.134, 0.523)
t 值		4.35	-1.21	2.56	11.92	-0.59	-3.30	0.997
P 值		0.04	0.23	0.01	0.00	0.56	0.00	0.319

注: MMP: 基质金属蛋白酶; RAGEs: 糖基化终产物受体; MUC-5AC: 黏蛋白-5AC (a:  $\chi^2$  检验; b: 独立样本 t 检验; c: Wilcoxon 秩和检验)

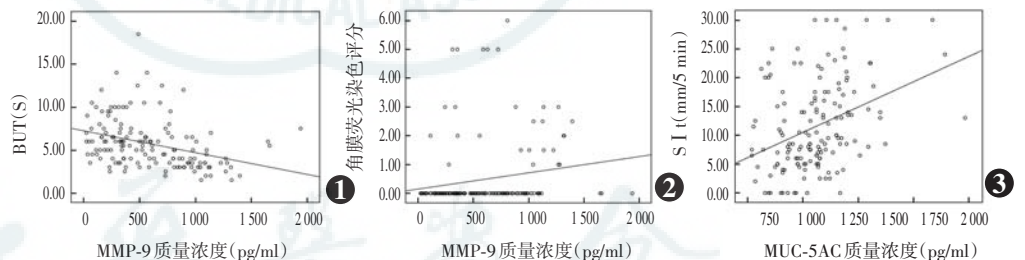


图 1 MMP-9 与 BUT 的相关性分析  $r = 0.349, P < 0.01$  (Pearson 相关分析,  $n = 153$ ) MMP: 基质金属蛋白酶; BUT: 泪膜破裂时间 图 2 MMP-9 与角膜荧光素染色的相关性分析  $r = 0.181, P = 0.026$  (Pearson 相关分析,  $n = 153$ ) MMP: 基质金属蛋白酶 图 3 MUC-5AC 与 S I t 的相关性分析  $r = 0.367, P = 0.000$  (Pearson 相关分析,  $n = 153$ ) MUC-5AC: 黏蛋白-5AC; S I t: 基础泪液分泌试验

3 讨论

干眼的临床表现包括眼表不适、视觉障碍和泪膜不稳定,有潜在的眼表损害并伴有泪液渗透压升高和眼表炎症,是多种因素所致的一种泪液和眼表疾病<sup>[18]</sup>。糖尿病患者干眼患病率高于正常人群,干眼患病率与糖尿病病程、糖尿病视网膜病变程度、糖化血红蛋白水平等因素相关<sup>[3-5]</sup>。本研究中发现,糖尿病组 BUT、S I t 均低于正常对照组,角膜荧光素染色评分高于正常对照组,说明糖尿病组泪膜功能更差。糖尿病

患者干眼组糖尿病病程显著高于非干眼组,也能一定程度上反映糖尿病病程对于干眼患病的影响。

泪膜成分改变会导致泪液渗透压以及眼表环境的变化,因此与干眼的发生有密切的关系。MMP-9 已被证实存在干眼患者中。泪液渗透压会影响 MMP-9 在角膜上皮细胞中的水平。MMP-9 还会引起角膜细胞外基质以及角膜上皮丢失<sup>[19]</sup>。研究表明,干燥综合征患者以及睑板腺功能障碍患者泪液中 MMP-9 质量浓度高于正常人<sup>[20-21]</sup>。Messmer 等<sup>[10]</sup>研究发现,泪膜中 MMP-9 水平升高与干眼症状严重程度显著相关,与干眼的体征(BUT、S I t、角膜荧光素染色评分)也显著相关。Messmer 等<sup>[10]</sup>认为,尽早发现泪膜中 MMP-9 质量浓度升高,可早期诊断患者眼表可能存在的问题,有助于改进眼表疾病的治疗,这些结论与本次研究的结果一致。本研究中也发现,糖尿病组 MMP-9 质量浓度显著高于正常对照组,且糖尿病组干眼患者泪液 MMP-9 质量浓度明显高于糖尿病非干眼患者。Pearson 相关性分析发现,MMP-9 与 BUT 呈负相关,说明 MMP-9 水平影响泪膜的稳定性。

AGEs 在糖尿病患者的角膜上皮及基底膜会有异常累积<sup>[22]</sup>。AGEs 异常累积也会发生在角膜内皮功能异常的高龄人群的角膜内皮中<sup>[11]</sup>。Zhao 等<sup>[23]</sup>研究发现,糖尿病患者泪液中可检测到 AGEs,且糖尿病患者泪液中 AGEs 含量显著高于正常对照组,但糖尿病组 AGEs 含量在有糖尿病视网膜病变患者和无糖尿病视网膜病变患者中差异无统计学意义。本研究未发现泪液中 RAGEs 质量浓度与干眼的相关性,但发现糖尿病组 RAGEs 质量浓度高于正常对照组。正常对照组泪液中会出现 RAGEs,糖化反应是自然化学反应过程,随年龄增大,糖化反应的发生也会增多<sup>[24-25]</sup>。本组研究对象平均年龄偏大,这可能是正常对照组泪液中检出 RAGEs 的另一原因。AGEs 在干眼的发病机制中的作用可能是其通过与 RAGEs 结合,诱导角膜上皮细胞产生大量活性氧簇,激活下游信号转导通路,诱发角膜上皮细胞的氧化损伤,这一过程可能导致糖尿病角膜敏感性下降以及角膜上皮创伤愈合延迟<sup>[12]</sup>。角膜敏感性下降、上皮修复延迟均是糖尿病角膜病变的临床表现,糖尿病角膜病变会引起角膜上皮细胞损伤及泪膜成分改变,从而诱发干眼<sup>[26]</sup>。另外,角膜敏感性降低,还会减少瞬目次数,加快泪液蒸发,同样也诱发干眼<sup>[27]</sup>。

MUC-5AC 是人睑结膜和穹窿结膜的杯状细胞分泌合成的黏蛋白,其参与泪膜的构成,形成眼表黏蛋白凝胶,维持泪膜的稳定性,保护眼表上皮的湿润和健

康<sup>[13]</sup>。黏蛋白是高度糖基化的糖蛋白,其 50% ~ 80% 的成分是碳水化合物,亲水性强。泪液 MUC-5AC 质量浓度下降将降低眼表上皮的湿润性<sup>[8]</sup>。研究表明,干眼患者泪液中 MUC-5AC 质量浓度会显著降低<sup>[8-9,13,28]</sup>。Zhang 等<sup>[9]</sup>报道,MUC-5AC 的质量浓度与 OSDI 评分结果呈明显负相关,即泪液中 MUC-5AC 含量越低,干眼症状越严重。Argüeso 等<sup>[28]</sup>研究发现,干燥综合征患者泪液 MUC-5AC 含量明显降低,而 MUC-1 与 MUC-4 含量无明显变化,干燥综合征患者泪膜稳定性的下降主要与泪液中 MUC-5AC 的水平有关。本研究中糖尿病组 MUC-5AC 质量浓度值低于正常对照组,且糖尿病组中干眼患者 MUC-5AC 质量浓度值明显低于非干眼组,说明糖尿病患者干眼发生率升高与泪液中 MUC-5AC 质量浓度降低有关。Pearson 相关性分析发现,MUC-5AC 质量浓度与 S I t 呈正相关,证实其在维持眼表湿润中的作用。

Rocha 等<sup>[7]</sup>研究发现,泪膜中存在胰岛素,眼表组织中存在胰岛素受体,并认为胰岛素可能参与了眼表细胞的代谢和有丝分裂。宋秀君等<sup>[14]</sup>通过将正常人与干眼患者泪液中胰岛素含量进行比较,发现干眼患者泪液中胰岛素含量较正常人显著降低,因此认为胰岛素在维持泪膜和眼表稳定方面起作用。胰岛素在眼表分泌且半衰期短,因此在健康泪膜中胰岛素水平和功能也是稳定的,而干眼和糖尿病患者则不能维持这种稳定的状态<sup>[14]</sup>。2 型糖尿病患者体内胰岛素相对缺乏,泪液中胰岛素的含量也会相应降低,导致泪膜稳定性下降,是糖尿病患者干眼患病率升高的原因之一。本研究中发现,糖尿病患者泪液中胰岛素含量显著低于正常对照组,但并未发现糖尿病干眼与糖尿病非干眼患者泪液胰岛素含量有差异。

本研究存在的不足在于所测得泪液蛋白及胰岛素的含量较以往报道偏低,考虑与泪液未及时冷冻,造成部分蛋白分解有关。本研究在社区进行,没有条件配备液氮罐,泪液收集后只能暂时放入冰袋,由物流送至实验室冷冻,这样的保存条件可能影响实验结果。Pearson 相关性分析发现,MMP-9 与 BUT 呈负相关,MMP-9 与角膜荧光素染色评分呈正相关,MUC-5AC 与 S I t 呈正相关,相关性较弱,相关系数分别为 -0.349、0.181 和 0.367,考虑与病例数较少有关,仍需大样本研究进一步验证。另外,泪液富含多种蛋白质成分,此次研究仅选取 4 个项目作为检测指标,有一定的局限性。近年来,泪液蛋白质组学研究逐渐深入,已有不同的泪液蛋白组学检测技术应用,并在不同眼部疾病中发现不同的泪液蛋白变化,泪液蛋白组学分析将是进

一步的研究工作<sup>[29-30]</sup>。

总之,糖尿病患者易发生干眼,与多种泪液成分的变化有关。社区糖尿病患者干眼的患病与泪液中 MUC-5AC 的减少、MMP-9 的增加相关。因此,干眼诊断除了关注泪膜功能的变化,泪液成分的改变同样值得关注。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在任何利益冲突

## 参考文献

- [1] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults[J]. *JAMA*, 2013, 310(9): 948-959. DOI: 10.1001/jama.2013.168118.
- [2] Dogru M, Katakami C, Inoue M. Tear function and ocular surface changes in noninsulin-dependent diabetes mellitus[J]. *Ophthalmology*, 2001, 108(3): 586-592. DOI: 10.1016/s0161-6420(00)00599-6.
- [3] 金姬,陈丽红,刘秀伦,等. 糖尿病患者泪膜功能的研究[J]. *中华眼科杂志*, 2003, 39(1): 10-13.  
Jin J, Chen LH, Liu XL. Tear film function in non-insulin dependent diabetics[J]. *Chin J Ophthalmol*, 2003, 39(1): 10-13.
- [4] Manaviat MR, Rashidi M, Afkhami-Ardekani M, et al. Prevalence of dry eye syndrome and diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients[J]. *BMC Ophthalmol*, 2008, 8: 10-15. DOI: 10.1186/1471-2415-8-10.
- [5] Najafi L, Malek M, Valojerdi AE, et al. Dry eye and its correlation to diabetes microvascular complications in people with type 2 diabetes mellitus[J]. *J Diabetes Complications*, 2013, 27(5): 459-462. DOI: 10.1016/j.jdiacomp.2013.04.006.
- [6] Gipson IK, Argüeso P. Role of mucins in the function of the corneal and conjunctival epithelia[J]. *Int Rev Cytol*, 2003, 231: 1-49.
- [7] Rocha EM, Cunha DA, Carneiro EM, et al. Identification of insulin in the tear film and insulin receptor and IGF-1 receptor on the human ocular surface[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002, 43(4): 963-967.
- [8] Uchino Y, Uchino M, Yokoi N, et al. Alteration of tear mucin 5AC in office workers using visual display terminals: The Osaka Study[J]. *JAMA Ophthalmol*, 2014, 132(8): 985-992. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2014.1008.
- [9] Zhang J, Yan X, Li H. Analysis of the correlations of mucins, inflammatory markers, and clinical tests in dry eye[J]. *Cornea*, 2013, 32(7): 928-932. DOI: 10.1097/ICO.0b013e3182801622.
- [10] Messmer EM, von LV, Garbe A, et al. Matrix metalloproteinase 9 testing in dry eye disease using a commercially available point-of-care immunoassay[J]. *Ophthalmology*, 2016, 123(11): 2300-2308. DOI: 10.1016/j.ophtha.2016.07.028.
- [11] Kandarakis SA, Piperi C, Topouzis F, et al. Emerging role of advanced glycation-end products (AGEs) in the pathobiology of eye diseases[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2014, 42: 85-102. DOI: 10.1016/j.preteyeres.2014.05.002.
- [12] Shi L, Yu X, Yang H, et al. Advanced glycation end products induce human corneal epithelial cells apoptosis through generation of reactive oxygen species and activation of JNK and p38 MAPK pathways[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66781 [2017-03-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23776698>. DOI: 10.1371/journal.pone.0066781.
- [13] Jumblatt MM, McKenzie RW, Jumblatt JE. MUC5AC mucin is a component of the human precorneal tear film[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40(1): 43-49.
- [14] 宋秀君,王金华. 干眼患者和正常人泪液中胰岛素含量的测定及比较[J]. *中华实验眼科杂志*, 2007, 25(5): 367-369. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2007.05.016.  
Song XJ, Wang JH. Measurement of insulin level in tear with dry eye and normal individuals[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2007, 25(5): 367-369. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2007.05.016.
- [15] Zou X, Lu L, Xu Y, et al. Prevalence and clinical characteristics of dry eye disease in community-based type 2 diabetic patients: the Beixinjing eye study[J]. *BMC Ophthalmol*, 2018, 18(1): 117-125. DOI: 10.1186/s12886-018-0781-7.
- [16] Du J, Shi H, Lu Y. Tagging single nucleotide polymorphisms in the PPAR- $\gamma$  and RXR- $\alpha$  gene and type 2 diabetes risk: a case-control study of a Chinese Han population[J]. *J Biomed Res*, 2011, 25(1): 33-41. DOI: 10.1016/S1674-8301(11)60004-3.
- [17] 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 干眼临床诊疗专家共识(2013年)[J]. *中华眼科杂志*, 2013, 49(1): 73-75. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2013.020.
- [18] Lemp M, Baudouin C, Baum J, et al. The definition and classification of dry eye disease: report of the definition and classification subcommittee of the international dry eye workshop[J]. *Ocul Surf*, 2007, 5(2): 75-92.
- [19] Corrales RM, Stern ME, de Paiva CS, et al. Desiccating stress stimulates expression of matrix metalloproteinases by the corneal epithelium[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2006, 47(8): 3293-3302.
- [20] 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[J]. *Curr Eye Res*, 1999, 19(3): 201-211.
- [21] Aragona P, Aguenouz M, Rania L, et al. Matrix metalloproteinase 9 and transglutaminase 2 expression at the ocular surface in patients with different forms of dry eye disease[J]. *Ophthalmology*, 2015, 122(1): 62-71. DOI: 10.1016/j.ophtha.2014.07.048.
- [22] Kim J, Kim CS, Sohn E, et al. Involvement of advanced glycation end products, oxidative stress and nuclear factor-kappa B in the development of diabetic keratopathy[J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2011, 249(4): 529-536. DOI: 10.1007/s00417-010-1573-9.
- [23] Zhao ZJ, Liu JF, Shi BY, et al. Advanced glycation end product (AGE) modified proteins in tears of diabetic patients[J]. *Mol Vis*, 2010, 16: 1576-1584.
- [24] Baca JT, Finegold DN, Asher SA. Tear glucose analysis for the noninvasive detection and monitoring of diabetes mellitus[J]. *Ocul Surf*, 2007, 5(4): 280-293.
- [25] Sensi M, Pricei F, Andreani D, et al. Advanced nonenzymatic glycation endproducts (AGE): their relevance to aging and the pathogenesis of late diabetic complications[J]. *Diabetes Res*, 1991, 16(1): 1-9.
- [26] Song XJ, Li DQ, Farley W, et al. Neurturin-deficient mice develop dry eye and keratoconjunctivitis sicca[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2003, 44(10): 4223-4229.
- [27] Inoue KI, Okugawa K, Amano S, et al. Blinking and superficial punctate keratopathy in patients with diabetes mellitus[J]. *Eye (Lond)*, 2005, 19(4): 418-421.
- [28] Argüeso P, Balam 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.
- [29] Zhou L, 刘丹宁. 关注和了解人泪液蛋白质组学的研究及其临床意义[J]. *中华实验眼科杂志*, 2015, 33(5): 385-388. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.001.  
Zhou L, Liu DN. Proteomics of human tears: towards clinical applications[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(5): 385-388. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.001.
- [30] Zhou L, 刘丹宁. 关注泪液蛋白质组学研究在眼表疾病中的临床意义和应用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34(2): 97-102. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.02.001.  
Zhou L, Liu DN. Paying attention to proteomics of human tear: clinical significance and application in ocular surface diseases[J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2016, 34(2): 97-102. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2016.02.001.

(收稿日期:2017-03-06 修回日期:2019-07-25)

(本文编辑:杜娟)