

# 去势雄性小鼠泪膜功能异常及角膜上皮细胞超微结构改变

黎黎 王双梅 郑璇 康前雁

710061 西安交通大学第一附属医院眼科

通信作者:康前雁, Email: eyelili2010@mail. xjtu. edu. cn

DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2016. 02. 002

**【摘要】** 背景 体内雄性激素水平的下降对睑板腺与泪腺上皮细胞的分泌功能产生不利影响,导致泪膜质与量的异常,但与泪膜稳定性密切相关的黏蛋白层是否受雄激素水平下降的影响尚不清楚。目的 探讨去势手术对雄性小鼠泪膜功能及角膜上皮细胞超微结构的影响。方法 采用随机数字表法将 56 只 SPF 成年 BALB/c 雄性小鼠分为正常对照组、伪手术组、和去势术后 1、2、4、6、8 周组,各手术组小鼠均实施双侧睾丸摘除术,伪手术组小鼠仅切开局部组织而不摘出睾丸。分别于术前和术后 1、2、4、6、8 周采集各组小鼠外周血样本,采用竞争放射免疫法检测血清睾酮的质量浓度。各组小鼠干眼功能相关检查包括采用酚红棉线法检测泪液分泌功能,检测泪膜破裂时间(BUT)及角膜荧光素染色评分。根据分组于相应时间点颈椎脱臼法处死各组小鼠后收集其角膜组织,透射电子显微镜下观察小鼠角膜上皮组织超微结构的变化。结果 正常对照组、伪手术组血清睾酮质量浓度分别为(573.87±6.74)ng/μl 和(579.74±8.24)ng/μl,组间差异无统计学意义( $t=1.432, P=0.251$ ),但各手术组小鼠血清睾酮质量浓度均为 0 ng/μl。正常对照组、伪手术组及去势术后 1、2、4、6、8 周组小鼠泪液分泌量分别为(5.26±0.99)、(4.89±0.56)、(4.62±0.83)、(4.28±0.63)、(3.36±0.56)、(2.60±0.27)和(2.08±0.35)mm/5 min,其中术后 2、4、6、8 周组小鼠泪液分泌量均明显低于正常对照组,差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ );正常对照组、伪手术组及去势术后 1、2、4、6、8 周组小鼠 BUT 分别为(68.33±12.86)、(62.47±3.75)、(58.67±10.03)、(47.17±7.64)、(39.51±3.39)、(32.67±3.88)和(31.00±2.36)s,其中术后 2、4、6、8 周组小鼠泪液 BUT 较正常对照组均明显缩短,差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ );小鼠角膜荧光素染色评分随术后时间的延长逐渐增加。透射电子显微镜下可见手术组小鼠角膜上皮细胞微绒毛数量减少、变短和肿胀,细胞间桥粒连接分离。结论 去势小鼠血清雄激素水平骤降,小鼠泪液量分泌减少,泪膜稳定性下降,角膜上皮细胞结构损坏,与人类干眼的临床表现吻合。

**【关键词】** 雄激素; 角膜上皮细胞; 干眼; 泪膜; 超微结构; 睾丸切除术; 动物模型; BALB/c 小鼠

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81100647); 陕西省科技攻关项目(2010K16-04)

**Dysfunction of tear film and ultrastructural changes of corneal epithelial cells in castrated male mice** Li Li,

Wang Shuangmei, Zheng Xuan, Kang Qianyan

Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Corresponding author: Kang Qianyan, Email: eyelili2010@mail. xjtu. edu. cn

**[Abstract]** **Background** Studies indicate that the decline of androgen level affects the secretion function of epithelial cells of meibomian glands and lacrimal glands, which results in the abnormality of tear quality and quantity. However, whether androgen level regulates the mucin adhesion to ocular surface is still not elucidated. **Objective** This study was to investigate the tear functional changes and corneal ultrastructural changes in castrated male mice. **Methods** Fifty-six SPF male BALB/c mice were divided into normal control group, sham group, and orchectomy 1-week group, orchectomy 2-week group, orchectomy 4-week group, orchectomy 6-week group, orchectomy 8-week group according to random number table. Orchectomy was performed in the mice of the orchectomy 1-, 2-, 4-, 6- and 8-week group, and only incision rather than enucleation of testis was carried out in the mice of the sham group. Peripheral venous blood samples were collected during eyeball enucleation in all the mice and serum androgen concentration was detected by radioimmunoassay. Tear secretion level was measured with phenol red thread. Break-up time of tear film (BUT) was tested, and corneal inflorescence staining was scored based on the criterion of Toshida.

The corneas of all the mice were collected for ultrastructural examination under the transmission electron microscope. The study complied with the Regulations for the Administration of Affairs Concerning Experimental Animals by State Science and Technology Commission. **Results** Mouse serum androgen concentration was  $(573.87 \pm 6.74) \text{ ng}/\mu\text{l}$  in the normal control group and  $(579.74 \pm 8.24) \text{ ng}/\mu\text{l}$  in the sham group, and there was no significant difference between these two groups ( $t = 1.432, P = 0.251$ ), however, the serum androgen concentration was  $0 \text{ ng}/\mu\text{l}$  in all castrated mice after orchectomy. The tear secretion levels were  $(5.26 \pm 0.99), (4.89 \pm 0.56), (4.62 \pm 0.83), (4.28 \pm 0.63), (3.36 \pm 0.56), (2.60 \pm 0.27)$  and  $(2.08 \pm 0.35) \text{ mm}/5$  minutes in the normal control group, sham group and orchectomy 1-, 2-, 4-, 6- and 8-week groups, respectively, and the tear secretion levels were significantly lower in the orchectomy 2-, 4-, 6- and 8-week groups than those in the normal control group (all at  $P < 0.05$ ). The BUT were  $(68.33 \pm 12.86), (62.47 \pm 3.75), (58.67 \pm 10.03), (47.17 \pm 7.64), (39.51 \pm 3.39), (32.67 \pm 3.88)$  and  $(31.00 \pm 2.36)$  seconds in the normal control group, sham group and orchectomy 1-, 2-, 4-, 6- and 8-week groups, respectively, and the BUTs were significantly shorter in the orchectomy 2-, 4-, 6- and 8-week groups than those in the normal control group (all at  $P < 0.05$ ). The fluorescein stain score of corneal epithelium was gradually increased with the lapse of castrated time. The decrease of number, shortening and edema of microvilli as well as separation of desmosomes of corneal epithelial cells were found under the transmission electron microscope in castrated mice. **Conclusions** Decreasing of serum androgen level, declining of aqueous tears, instability of tear film and damage of corneal epithelial cell ultrastructures occur in castrated male mice, and these manifestations are similar to dry eyes.

**[Key words]** Androgen; Epithelial cells, corneal; Dry eye; Tear; Ultrastructure; Orchectomy; Disease models, animal; Mice, BALB/c

**Fund program:** National Science Foundation of China (81100647); Science and Technology Project of Shanxi Province (2010K16-04)

干眼是因泪液的量或质等发生异常,引起的泪膜不稳定和/或眼表损害及视功能的障碍<sup>[1]</sup>,是目前常见的眼表疾病。研究显示体内雄性激素水平的下降可影响睑板腺与泪腺上皮细胞的分泌功能,导致泪膜脂质层与水样层的异常变化,而与泪膜稳定性密切相关的黏蛋白层是否也受雄激素水平的调节尚不清楚<sup>[2-3]</sup>。角膜上皮微绒毛可锚定大量膜结合型黏蛋白,后者是泪膜中黏蛋白层的重要成分,在维持泪膜稳定与眼表稳态方面发挥重要作用<sup>[4]</sup>。相关研究受到关注,而建立干眼动物模型是基础研究的第一步。建立干眼动物模型的方法有很多,与性激素相关的动物模型中以去势手术最为简单有效<sup>[5-6]</sup>。本研究拟建立去势小鼠模型,观察小鼠泪膜功能及角膜上皮细胞超微结构的变化,探讨干眼的发病机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 6~8 周龄 SPF 级 BALB/c 雄性小鼠 56 只,无眼部疾病,体质量  $(20 \pm 2) \text{ g}$ ,由西安交通大学医学院动物中心提供。本研究中实验动物的使用和饲养遵循国家科学技术部颁布的《实验动物管理条例》。

**1.1.2 主要试剂及仪器** 酚红棉线(天津晶明医用器材公司);荧光素钠(广州白云山明兴制药有限公司);H-7650 透射电子显微镜(德国 HITACHI 公司);

眼前节照相系统(苏州 66 视觉科技股份有限公司);游标卡尺(上海仪器一厂)。

### 1.2 方法

**1.2.1 干眼模型的建立及分组** 按照随机数字表法将小鼠随机分为正常对照组、伪手术组、术后 1 周组、术后 2 周组、术后 4 周组、术后 6 周组和术后 8 周组,每组 8 只小鼠。各手术组小鼠盐酸氯胺酮  $100 \text{ mg}/\text{kg}$  腹腔内注射行全身麻醉,无菌条件下经阴囊正中切口,摘除小鼠双侧睾丸,立即缝合切口,术毕肌内注射青霉素 G  $0.1 \text{ ml}$ 。伪手术组小鼠麻醉方法及阴囊正中皮肤切开法同手术组,但不摘除睾丸,术后处理同手术组。

**1.2.2 竞争放射免疫法检测小鼠外周血睾酮质量浓度** 正常对照组、伪手术组于术后 1 周,各手术组分别于术后 1、2、4、6、8 周颈椎脱臼法处死小鼠,摘除小鼠右眼眼球,同时采集外周血  $500 \mu\text{l}$  以上,室温下静置 2~3 h,收集析出的血清,转移至  $1 \text{ ml}$  离心管中,置于  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱内保存。加样前融化摇匀,采用竞争放射免疫法检测并建立标准曲线,计算样品中睾酮质量浓度。

**1.2.3 酚红棉线试验测定小鼠泪液分泌量** 正常对照组、伪手术组于术后 1 周,各手术组分别于术后 1、2、4、6、8 周将酚红棉线一端置于小鼠右眼外眦处,其余部分自然垂置于眼外 60 s,用游标卡尺测量酚红棉线红色部分的长度,计算泪液分泌量。

**1.2.4 泪膜破裂时间测定** 正常对照组、伪手术组于

术后 1 周,各手术组分别于术后 1、2、4、6、8 周用微量注射器将质量分数 1% 荧光素钠 1  $\mu$ l 滴入各组小鼠右眼下穹隆部,瞬目后荧光素钠均匀分布于眼表面。在裂隙灯显微镜钴蓝光下进行观察,记录小鼠出现第 1 个泪膜破裂斑所需的时间,即泪膜破裂时间 (break-up time, BUT),重复测量 3 次,取其平均值。

**1.2.5 角膜荧光素染色评分** 参照 1.2.4 方法对各组小鼠角膜进行荧光素染色裂隙灯显微镜的钴蓝光下观察角膜上皮缺损的部位及范围。角膜荧光素钠染色评分参照文献[7]的标准,即将角膜等分为 4 个象限,对每个象限进行单独评分,无染色者为 0 分,染色少于 5 个点者为 1 分,出现 5~10 个点状着色但未融合者为 2 分,出现块状染色者为 3 分。4 个象限的评分相加即角膜荧光素染色评分。

**1.2.6 透射电子显微镜下观察角膜上皮超微结构** 正常对照组、伪手术组于术后 1 周,各手术组分别于术后 1、2、4、6、8 周摘取小鼠右眼,剪取角膜缘组织,置于体积分数 4% 戊二醛溶液中固定 2~4 h,应用 0.1 mol/L PBS 冲洗 3 次以上,用四氧化锇固定 1~2 h, PBS 冲洗 2 次。应用丙酮逐级脱水,在纯丙酮:包埋剂为体积比 1:1 的溶液中 37  $^{\circ}$ C 温箱浸透 1 h,在纯丙酮:包埋剂为体积比 1:3 的溶液中 37  $^{\circ}$ C 温箱浸透 3 h,然后在纯包埋剂中 37  $^{\circ}$ C 温箱浸透 5 h。将脱水后的组织包埋于包埋板内形成包埋块,烘烤后组织切片,厚度为 50 nm。采用醋酸双氧铀与枸橼酸铅进行组织双染色,透射电子显微镜下观察角膜上皮细胞超微结构。

**1.3 统计学方法**

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计分析,本研究测量指标的数据资料经 W 检验呈正态分布,以  $\bar{x} \pm s$  表示。采用完全随机分组单因素干预多水平实验设计,正常对照组、伪手术组、术后 1 周组、术后 2 周组、术后 4 周组、术后 6 周组和术后 8 周组间泪液分泌量和 BUT 总体差异比较采用单因素方差分析,多重比较采用 Dunnett *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组小鼠外周血清睾酮质量浓度的比较**

正常对照组、伪手术组小鼠血清睾酮质量浓度分别为 (573.87  $\pm$  6.74) ng/ $\mu$ l 和 (579.74  $\pm$  8.24) ng/ $\mu$ l,组间差异无统计学意义 ( $t = 1.432, P = 0.251$ )。各手术组小鼠行去势术后血清睾酮质量浓度均为 0 ng/ $\mu$ l。

**2.2 各组小鼠干眼相关检测指标的比较**

正常对照组、伪手术组角膜上皮完整,未见角膜上皮荧光素染色,但术后 1 周组、术后 2 周组、术后 4 周组、术

后 6 周组、术后 8 周组小鼠均可见角膜荧光素着色,术后小鼠角膜荧光素染色评分随着时间的延长逐渐增高(图 1)。各组小鼠随着术后时间的延长泪液分泌量逐渐减少, BUT 逐渐缩短,正常对照组、伪手术组、术后 1 周组、术后 2 周组、术后 4 周组、术后 6 周组和术后 8 周组间泪液分泌量和 BUT 总体比较差异均有统计学意义(泪液分泌量:  $F = 6.832, P = 0.000$ ; BUT:  $F = 66.698, P = 0.000$ ),其中术后 1 周组小鼠泪液分泌量、BUT 与正常对照组比较差异均无统计学意义 ( $P = 0.157, 0.087$ ),而术后 2 周组、术后 4 周组、术后 6 周组和术后 8 周组小鼠泪液分泌量、BUT 均明显低于正常对照组,差异均有统计学意义(泪液分泌量:  $P = 0.034, 0.001, 0.000, 0.000$ ; BUT:  $P = 0.041, 0.002, 0.001, 0.000$ ) (表 1)。

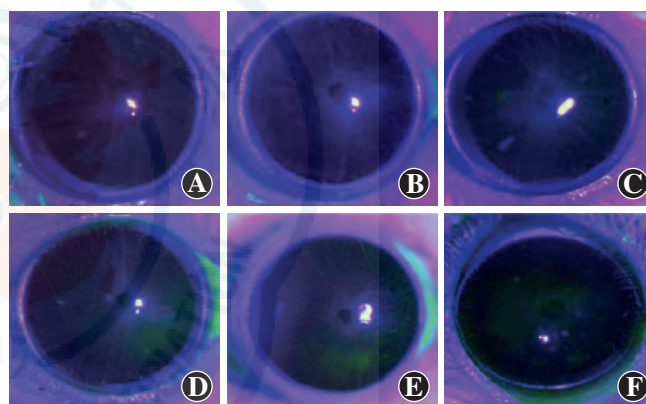


图 1 各组小鼠角膜荧光素染色 A: 正常对照组小鼠角膜上皮完整,未见角膜上皮荧光素染色 B: 去势术后 1 周组小鼠仅见极少数点状角膜荧光素染色 C: 去势术后 2 周组小鼠可见大的点状角膜荧光素染色 D: 去势术后 4 周组小鼠角膜荧光素染色融合成片,但面积较小 E: 去势术后 6 周组小鼠角膜荧光素染色面积增加 F: 去势术后 8 周组小鼠可见大面积角膜荧光素染色

表 1 小鼠造模前及造模后不同时间组干眼相关检测指标的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	泪液分泌量 (mm/5 min)	BUT (s)	角膜荧光素染色评分
正常对照组	8	5.26 $\pm$ 0.99	68.33 $\pm$ 12.86	0.00 $\pm$ 0.00
伪手术组	8	4.89 $\pm$ 0.56	62.47 $\pm$ 3.75	0.00 $\pm$ 0.00
手术 1 周组	8	4.62 $\pm$ 0.83	58.67 $\pm$ 10.03	0.68 $\pm$ 0.78
手术 2 周组	8	4.28 $\pm$ 0.63 <sup>a</sup>	47.17 $\pm$ 7.64 <sup>a</sup>	2.17 $\pm$ 1.53
手术 4 周组	8	3.36 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	39.51 $\pm$ 3.39 <sup>a</sup>	2.67 $\pm$ 0.52
手术 6 周组	8	2.60 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>	32.67 $\pm$ 3.88 <sup>a</sup>	4.67 $\pm$ 0.82
手术 8 周组	8	2.08 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	31.00 $\pm$ 2.36 <sup>a</sup>	7.83 $\pm$ 0.75
<i>F</i>		6.832	66.698	-
<i>P</i>		0.000	0.000	-

注:与各自正常对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$  (单因素方差分析, Dunnett *t* 检验) BUT:泪膜破裂时间; -:未进行统计学处理

**2.3 角膜上皮细胞超微结构的变化**

正常对照组与伪手术组间角膜上皮超微结构未见明显异常。正常对照组角膜上皮微绒毛呈指状突起,



微绒毛数量多,去势后小鼠角膜上皮微绒毛减少、变短、肿胀,微绒毛间开始融合、脱落。术后 8 周组小鼠角膜浅表 2~3 层上皮细胞形态不规则,出现卷曲样剥脱,呈游离的叶片状或索条状(图 2)。术后 1 周组小鼠角膜上皮细胞间桥粒连接数量及形态均未发现明显异常,术后 8 周组小鼠角膜上皮浅层部分桥粒连接分离,细胞间连接断裂,角膜基底层细胞间桥粒及半桥粒连接未发现明显异常(图 3)。

### 3 讨论

干眼是一类常见的眼表疾病,其病因多样,发病机制复杂。根据不同发病机制而建立合适的干眼动物模型是干眼发病机制和相关实验研究的关键。目前建立干眼动物模型的方法有泪腺注射肉毒素等药物<sup>[5-6]</sup>、去除泪腺或眼表的神经支配<sup>[7]</sup>、诱导泪腺产生自身免疫反应<sup>[8]</sup>、手术摘除泪腺及手术封闭睑板腺开口<sup>[9-10]</sup>、去势动物模型<sup>[11]</sup>等,这些动物模型在干眼的持续时间及病情严重程度等方面各有特点,其中去势手术建模方法的可行性已得到证实。需要强调的是,动物模型的选择方法应该根据研究组织的分子生物学特点的不同而定。已有研究显示,小鼠不适合作为研究泪腺和 Meibomian 腺基因异常相关干眼研究的动物模型,因为小鼠这些组织中的基因与人类的相似度低<sup>[12-13]</sup>。对于干眼过程中角膜、结膜组织病变的研究而言,有关人类与小鼠角膜的基因相关性的研究还在进行中。拟进行细胞水平的研究多采用小鼠模型,并取得一定的进展<sup>[14-15]</sup>。基于以往的研究,干眼产生的重要原因之一可能是雄激素缺乏,本研究中用雄性成年小鼠建立去势小鼠干眼模型,操作较简单,成功率高,而且不直接破坏动物眼部的正常组织结构,制作的鼠干眼模型与人类雄激素水平下降引起的干眼自然病程较为一致。此外这种模型与哺乳动物不同,因为小鼠的性激素全来自于性腺分泌,没有肾上腺等非性腺来源的性激素,因此去势小鼠干眼模型更容易建立。本研究结果显示,去势术后小鼠外周血雄激素水平消失,说明去势小鼠可以很好地模拟雄激素水平剧烈变化引起的病理生理改变,易于建立干眼模型。

眼表上皮是泪膜附着的基础,完整的眼表上皮结构有利于泪膜稳定性和张力的维持。作为眼表的特殊屏障,泪膜完整性的破坏会损伤眼表上皮,使泪膜附着功能受损,加重眼表上皮损伤。正常角膜上皮表层细胞的微绒毛和微皱襞结构有利于角膜上皮对泪膜中各

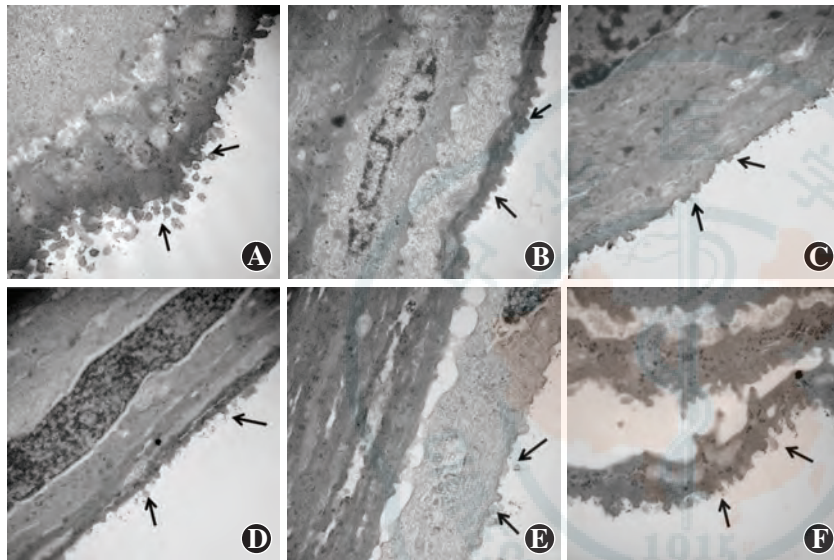


图 2 各组小鼠角膜上皮细胞微绒毛形态的比较(醋酸双氧铀,枸橼酸铅 ×30 000) A: 正常对照组小鼠角膜上皮细胞微绒毛呈指状突起(箭头) B: 术后 1 周组小鼠角膜上皮细胞微绒毛稍缩短(箭头) C: 术后 2 周组小鼠角膜上皮细胞微绒毛变短,数量减少(箭头) D: 术后 4 周组小鼠角膜上皮细胞微绒毛减少(箭头) E: 术后 6 周组角膜上皮细胞小鼠微绒毛肿胀(箭头) F: 术后 8 周组小鼠角膜上皮卷曲剥脱(箭头)

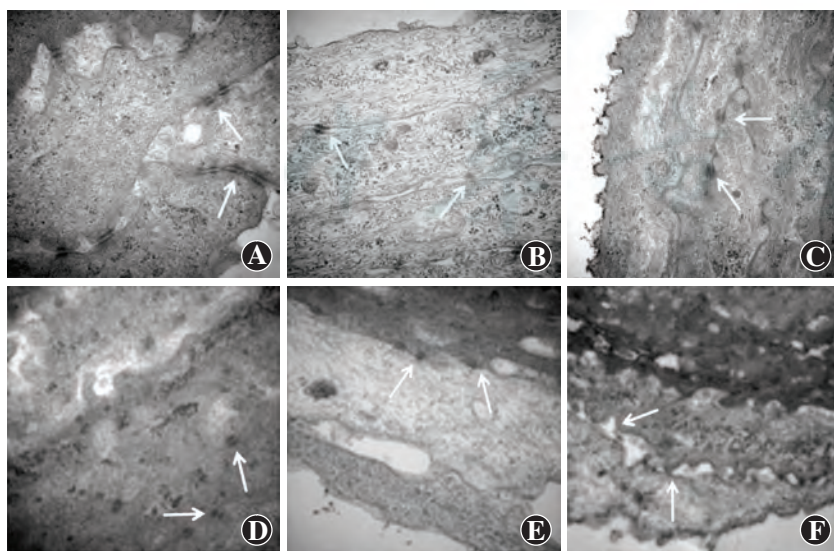


图 3 各组小鼠角膜上皮细胞间桥粒形态的比较(醋酸双氧铀,枸橼酸铅 ×60 000) A: 正常对照组小鼠角膜上皮桥粒连接紧密(箭头) B: 术后 1 周组小鼠角膜上皮细胞间桥粒连接数量和形态未见明显异常(箭头) C: 术后 2 周组小鼠仍可见较多细胞间桥粒连接(箭头) D: 术后 4 周组小鼠细胞间桥粒连接仍接近正常(箭头) E: 术后 6 周组小鼠角膜上皮桥粒连接减少(箭头) F: 术后 8 周组小鼠角膜上皮浅层部分桥粒连接分离,细胞间连接断裂(箭头)

种成分的黏附,特别是角膜上皮细胞所分泌的膜结合型黏蛋白,如 Muc1、Muc4 和 Muc16 等,正常情况下这些黏蛋白可锚定结合在角膜上皮微绒毛上,作为极化跨膜大分子物质,疏水端跨膜固定于微绒毛上,而亲水端则游离在泪膜中,以此方式将疏水性的角膜上皮细胞与亲水性的泪膜水样层联系起来。角膜上皮细胞微绒毛与其上面的膜结合型 Mucins 分子共同作用才可以将泪膜通过瞬目均匀地涂布在角膜表面,保护上皮细胞免受瞬目摩擦带来的损伤,维持角膜上皮细胞的非角化特性<sup>[16]</sup>。干眼可能存在角膜上皮超微结构如微绒毛异常、泪膜的黏蛋白层损伤或缺失,并最终导致干眼。本研究结果显示,去势前小鼠角膜上皮微绒毛数量多,桥粒连接紧密,而去势后小鼠微绒毛减少并变短,角膜上皮浅层细胞间部分桥粒连接分离,这一现象与泪膜功能密切相关。雄激素对上皮细胞微绒毛形态的改变在非眼部组织也有相似的研究结果,如 Primiani 等<sup>[17]</sup>发现雄激素浓度增加可以增加附睾的主细胞微绒毛的数量,这种作用呈剂量-依赖关系。本研究中雄激素水平降低导致角膜上皮超微结构的改变,很可能是引起干眼相关改变的机制之一。此外研究表明雄激素在乳腺癌细胞和前列腺癌细胞中对 Mucins 的表达具有调节作用<sup>[18-19]</sup>,推测雄激素在眼表组织中也可通过影响微绒毛等角膜上皮细胞形态而调节眼表黏蛋白表达,但这种推测需进一步证实。

综上所述,去势小鼠的雄激素水平下降可导致水样泪液量的减少、泪膜稳定性下降以及角膜上皮细胞形态学改变,影响眼表稳态,从而诱发干眼。然而,雄激素对眼表稳态的影响涉及多种机制,除了已证实其对泪腺、睑板腺分泌功能及其脂质与蛋白合成的影响外,可能也与其引起角膜上皮微绒毛等结构的改变,导致泪膜中蛋白层损伤或缺失有关。

## 参考文献

- [1] 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) [J]. 中华眼科杂志, 2013, 49(1): 73-75. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0412-4081. 2013. 01. 020.
- [2] Khandelwal P, Liu S, Sullivan DA. Androgen regulation of gene expression in human meibomian gland and conjunctival epithelial cells [J]. Mol Vis, 2012, 18: 1055-1067.
- [3] Richards SM, Liu M, Jensen RV, et al. Androgen regulation of gene expression in the mouse lacrimal gland [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2005, 96(5): 401-413. DOI: 10. 1016/j. jsbmb. 2005. 04. 037.
- [4] 蔡蓉蓉, 张朝然. 粘蛋白与干眼症 [J]. 眼科研究, 2008, 26(11): 877-880. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2008. 11. 019. Cai RR, Zhang CR. Mucins and dry eye [J]. Chin Ophthalmol Res, 2008, 26(11): 877-880.
- [5] 蒋晶晶, 齐惠, 黄一飞. 干眼动物模型的最新研究进展 [J]. 中国实用眼科杂志, 2012, 30(4): 359-363. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1006-4443. 2012. 04. 001.
- [6] Suwan-apichon O, Rizen M, Rangsin R, et al. Botulinum toxin B-induced mouse model of keratoconjunctivitis sicca [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006, 47(1): 133-139. DOI: 10. 1167/iops. 05-0380.
- [7] Tshida H, Nguyen DH, Beuerman RW, et al. Evaluation of novel dry eye model: Preganglionic parasympathetic denervation in rabbit [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(10): 4468-4475. DOI: 10. 1167/iops. 06-1486.
- [8] Ding C, Lu M, Huang J. Na<sup>(+)</sup>/K<sup>(+)</sup>-ATPase in the lacrimal glands of rabbits and its changes during induced autoimmune dacryoadenitis [J]. Mol Vis, 2011, 17: 2368-2379.
- [9] 周杨, 王传富, 姜涛. 摘除主泪腺干眼鼠泪液功能变化与凋亡相关基因蛋白的表达 [J]. 中华眼科杂志, 2007, 43(1): 18-22. DOI: 10. 3760/j. issn. 0412-4081. 2007. 01. 007. Zhou Y, Wang CF, Jiang T. Expression of apoptosis related genes and changes of lacrimal functions in main lacrimal gland extirpation xerophthalmia model [J]. Chin J Ophthalmol, 2007, 43(1): 18-22.
- [10] 王晓冬, 盛敏杰, 林安娟. 烧灼睑板腺开口并摘除第三眼睑制作兔睑板腺功能障碍性干眼模型的评价 [J]. 眼科研究, 2010, 28(9): 827-830. DOI: 10. 3969/j. issn. 1003-0808. 2010. 09. 008. Wang XD, Sheng MJ, Lin AJ. Evaluation of establishing meibomian gland dysfunction dry eye model by cauterizing the meibomian gland orifices and excising the tertiary eyelid [J]. Chin Ophthalmol Res, 2010, 28(9): 827-830.
- [11] 李海中, 彭清华, 王芬, 等. 密蒙花总黄酮对去势雄鼠干眼病血清睾酮水平的影响 [J]. 国际眼科杂志, 2013, (11): 2174-2178. DOI: 10. 3980/j. issn. 1672-5123. 2013. 11. 03. Li HZ, Peng QH, Wang F, et al. Effects of buddleja officinalis total flavonoids on serum testosterone level of castrated male rats with xeroma [J]. Intern Eye Sci (Chin), 2013, (11): 2174-2178.
- [12] Ozyildirim AM, Wistow GJ, Gao J, et al. The lacrimal gland transcriptome is an unusually rich source of rare and poorly characterized gene transcripts [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46(5): 1572-1580. DOI: 1167/iops. 04-1380.
- [13] Butovich IA, Lu H, McMahon A, et al. Toward an animal model of the human tear film: biochemical comparison of the mouse, canine, rabbit, and human meibomian lipidomes [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(11): 6881-6896. DOI: 10. 1167/iops. 12-10516.
- [14] Zhang Z, Yang WZ, Zhu ZZ, et al. Therapeutic effects of topical doxycycline in a benzalkonium chloride-induced mouse dry eye model [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(5): 2963-2974. DOI: 10. 1167/iops. 13-13577.
- [15] Yeh S, Song XJ, Farley W, et al. Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003, 44(1): 124-129. DOI: 10. 1167/iops. 02-0581.
- [16] Ashutosh S. Energetics of corneal epithelial cell-ocular mucus-tear film interactions: some surface-chemical pathways of corneal defense [J]. Biophysical Chemistry, 1993, 47(1): 87-99. DOI: 10. 1016/0301-4622(93)80036-1.
- [17] Primiani N, Gregoty M, Dufresne J, et al. Microvillar size and aspirin expression in principal cells of the adult rat epididymus are regulated by androgens [J]. J Androl, 2007, 28(5): 659-669. DOI: 10. 2164/jandrol. 107. 002634.
- [18] Rajabi H, Joshi MD, Jin C, et al. Androgen receptor regulates expression of the MUC1-C oncoprotein in human prostate cancer cells [J]. Prostate, 2011, 71(12): 1299-1308. DOI: 10. 1002/pros. 21344.
- [19] Zhang J, Xiang JQ, Zhang YW, et al. Cell adhesion regulates expression of the androgen receptor and coregulators in different prostate cancer cells [J]. Int J Mol Sci, 2007, 8(2): 156-165. DOI: 10. 3390/i8020156.

(收稿日期: 2015-07-03)

(本文编辑: 尹卫靖 张宇)