

# 雄激素疗法对去势雌性大鼠泪膜稳定性的改善作用

高阳 周瑾 孙晓芳

**【摘要】** **背景** 绝经期女性干眼的发病率明显高于男性,提示性激素在干眼的发病过程中可能发挥一定的作用,绝经期女性应用雌激素时干眼症状加重也提示雄激素可能参与干眼病程。雄激素的应用是否可以减轻干眼症状正在受到关注。**目的** 探讨雄激素对去卵巢雌鼠泪液及泪膜稳定性的影响,探讨雄激素维持泪膜稳定性的可能作用机制。**方法** 清洁级 3 月龄雌性成熟 Wistar 大鼠 48 只按照随机数字表法分为正常对照组、假手术组、去势模型组和丙酸睾酮组,去势模型组和丙酸睾酮组大鼠行双侧卵巢摘除术以制备去势模型,造模后 5 周始丙酸睾酮组大鼠按 3.75 mg/kg 剂量肌内注射丙酸睾酮,每 3 天 1 次,持续 6 周,而假手术组大鼠仅切除腹内脂肪组织而不摘除卵巢。于丙酸睾酮组大鼠给药后 6 周时测定各组大鼠血清雄激素质量浓度,检测并比较各组大鼠 Schirmer 试验 I (SIt)、泪膜破裂时间(BUT)结果。于丙酸睾酮组大鼠给药前及给药后 6 周时各组过量麻醉法任意处死 10 只大鼠,制备结膜和角膜组织切片,行角膜结膜免疫荧光染色,检测各组大鼠结膜表面 MUC5AC 的阳性表达;采用扫描电子显微镜检测角膜细胞表面的超微结构改变。实验动物的使用和喂养遵循南方医科大学实验动物管理细则,并通过南方医科大学实验动物伦理委员会审核批准。**结果** 去势模型组大鼠血清睾酮质量浓度为(1.83±0.12)ng/ml,SIt 值为(3.63±0.26)mm/5 min,BUT 值为(3.73±0.38)s,分别低于正常对照组的(2.56±0.14)ng/ml、(7.47±0.66)mm/5 min 和(9.57±0.76)s,差异均有统计学意义(均  $P=0.000$ );而丙酸睾酮组大鼠血清睾酮质量浓度为(3.38±0.24)ng/ml,SIt 值为(6.37±0.45)mm/5 min,BUT 值为(7.54±0.55)s,均明显高于去势模型组,差异均有统计学意义(均  $P=0.000$ )。去势模型组大鼠结膜组织中 MUC5AC 阳性染色强度明显较正常对照组减弱,呈线状或点状着色,丙酸睾酮组大鼠结膜中 MUC5AC 阳性染色明显强于去势模型组大鼠。正常对照组及假手术组大鼠角膜细胞表面微绒毛较长,排列规则,细胞新陈代谢的裂孔结构正常,去势模型组大鼠角膜细胞表面微绒毛短小,排列紊乱,细胞新陈代谢裂孔消失,而丙酸睾酮组大鼠角膜细胞表面微绒毛排列较去势模型组规则,细胞新陈代谢裂孔较去势模型组增多,但仍少于正常对照组。**结论** 去势模型大鼠的泪液分泌减少及泪膜不稳定可能与血清雄激素水平下降有关,给予全身雄激素疗法能改善泪液分泌及泪膜稳定性,减少眼表组织损害。

**【关键词】** 干眼/治疗; 泪液/分泌; 卵巢切除术; 雄激素/药物疗法; 动物模型; Wistar 大鼠; 雌性

**Ameliorative effect of androgen therapy tear on film stability in castrate female rats** Gao Yang, Zhou Jin, Sun Xiaofang. Department of Ophthalmology, Nanlang Hospital of Zhongshan City, Zhongshan 528451, China  
Corresponding author: Zhou Jin, Email: jane5188@163.com

**[Abstract]** **Background** Prevalence of dry eye is significantly increasing in postmenopausal women than that in men, suggesting that sex hormone plays a role in the pathogenesis of dry eye. In addition, dry eye might become worse following estrogen therapy in postmenopausal women. However, whether application of androgen can ameliorate dry eye is being concerned. **Objective** This study was to investigate the effect of androgen on tear film of ovariectomized female rats. **Methods** Forty-eight 3-month-old sexually mature female Wistar rats were randomized into the normal control group, sham group, ovariectomy (OVX) model group and testosterone-injected group. OVX

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.07.004

基金项目:国家自然科学基金项目(81200666);中山市科技局项目(20122A088)

作者单位:528451 中山市南朗医院眼科(高阳);510623 广州市妇女儿童医疗中心眼科(周瑾);528403 中山市博爱医院眼科(孙晓芳)

通信作者:周瑾,Email:jane5188@163.com

models were established by bilateral ovaries enucleation in the rats of the model group and testosterone-injected group, and then androgen (3.75 mg/kg) was intramuscularly injected since 5 months after OVX at 3-day interval for 6 weeks. Only intraperitoneal fat was cut off in the sham group. In 6 weeks after injection of androgen, serum androgen concentration detected and Schirmer I test (S I t), tear film break-up time (BUT) were performed. The rats were sacrificed to prepare the corneal and conjunctival samples. The expression of MUC5AC in conjunctival tissue was examined by immunofluorescence staining, and the microstructure of corneal cellular surface was observed under the scanning electron microscope before and 6 weeks after application of androgen. Animals in this study were treated in accordance with Animal Experimentation Ethic Committee Guidelines of Southern Medical University and the study protocol was approved by Ethic Committee of this University. **Results** The mean serum testosterone concentration was  $(1.83 \pm 0.12)$  ng/ml, and S I t or BUT was  $(3.63 \pm 0.26)$  mm/5 minutes or  $(3.73 \pm 0.38)$  seconds, respectively, in the OVX model group, which was significantly declined in comparison with  $(2.56 \pm 0.14)$  ng/ml,  $(7.47 \pm 0.66)$  mm/5 minutes or  $(9.57 \pm 0.76)$  seconds in the normal control group (all at  $P = 0.000$ ). However, the serum testosterone concentration was  $(3.38 \pm 0.24)$  ng/ml, S I t was  $(6.37 \pm 0.45)$  mm/5 minutes and BUT was  $(7.54 \pm 0.55)$  seconds in the testosterone-injected group, which was significantly higher than that in the OVX model group (all at  $P = 0.000$ ). The positive staining of MUC5AC in rat conjunctival tissue weakened in the OVX model group compared with the normal control group, and the fluorescence intensity in the testosterone-injected group was stronger than that in the OVX model group. Regularly arranged microvilli and cell metabolism hiatus on the surface of corneal cells were seen in the normal control group and the sham group; while the microvilli were shorter and irregularly arranged, and the cell metabolism hiatus were disappeared in the OVX model group. However, microvilli and cell metabolism hiatus were close to normal ones in the testosterone-injected group. **Conclusions** Deterioration of tear secretion and instability of tear film are probably associated with the lower serum androgen levels in castrated female rats. Systemic supplement of androgen can promote tear secretion, improve tear film stability and alleviate ocular surface damage.

**[Key words]** Dry eye/therapy; Tears/secretion; Ovariectomy; Androgens/drug therapy; Disease models, animal; Rats, Wistar; Female

干眼是常见眼病,发病机制复杂,目前认为主要与细胞凋亡、炎症、神经调节异常和性激素水平失调等因素有关。流行病学研究证实,女性干眼的发病率明显高于同年龄段男性<sup>[1]</sup>,因此,已有采用雌激素替代疗法治疗干眼者,但是对其疗效的评价存在争议<sup>[2-4]</sup>。在女性绝经期,雄激素合成大幅下降<sup>[5]</sup>,提示雄激素与干眼有关。本研究中探讨雄性激素的应用对去势雌性成熟 Wistar 大鼠泪液稳定性的影响及可能的作用机制,为干眼的预防及新药开发提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 健康清洁级 3 月龄雌性成熟 Wistar 大鼠 48 只,体质量 230 ~ 260 g,由南方医科大学动物中心提供。正常昼夜交替采光,生活环境温度维持在 21 °C。实验动物的使用遵循南方医科大学实验动物管理细则,并通过南方医科大学实验动物伦理委员会审核批准。

**1.1.2 主要试剂及仪器** 鼠抗鼠 MUC5AC 单克隆抗体(ab11335,美国 Abcam 公司)。泪膜分泌试验试纸(天津晶明新技术开发有限公司);M841 型眼科手术

显微镜(德国 Leica 公司);裂隙灯生物显微镜、Axiotron 研究型显微镜、显微摄影装置(德国 Zeiss 公司);双目光学显微镜、显微照相机(日本 Olympus 公司);NOVA 型超薄切片机(瑞典 LKB 公司);S-520 型扫描电子显微镜(日本日立公司);真彩色病理图像分析系统(北京航空航天大学)。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物模型的建立及分组** 将实验动物按照随机数字表法随机分为正常对照组、假手术组、去势模型组和丙酸睾酮组,其中去势模型组和丙酸睾酮组大鼠腹腔内注射体积分数 10% 水合氯醛溶液(2 ml/kg)行全身麻醉。剃去腹部鼠毛,局部消毒,无菌条件下行腹部正中切口,沿输卵管寻找并切除双侧卵巢建立去势动物模型,止血后分层缝合腹膜、肌肉层及皮肤,切口表面涂 0.5% 红霉素眼膏,每只大鼠肌内注射青霉素 G 0.1 ml 预防感染,每天 1 次,连续注射 3 d。造模后 5 个月,丙酸睾酮组大鼠按 3.75 mg/kg 剂量肌内注射丙酸睾酮,每 3 天 1 次,持续 6 周。假手术组大鼠打开腹腔后切除部分脂肪,不切除卵巢,其他处理同造模大鼠。

**1.2.2 放射免疫法检查血清睾酮质量浓度** 待丙

酸睾酮组大鼠给药后 6 周时,经心脏穿刺采血。在全身麻醉下常规消毒皮肤,用 5 ml 注射器针头紧贴剑突下呈 30°斜行向上进针刺入皮下并穿过横膈膜,继续斜行进针 3 cm,可感到针管轻微搏动,抽取 2~3 ml 心脏血液后轻按心脏搏动处。采集血液静置 30 min,离心半径 7.5 cm,3 000 r/min 离心 5 min,取上清液,用放射免疫法检查血清睾酮质量浓度。

**1.2.3 干眼相关检查** (1) Schirmer 试验 I (Schirmer I test, S I t) 检查按照 Fujihara 等<sup>[6]</sup>的方法,将 1 mm×17 mm 的滤纸一端折弯 2.5 mm,置于下睑外侧 1/3 结膜囊内,其余部分悬垂于下睑皮肤表面,闭眼 1 min,测量滤纸浸湿的长度(不包括反折处)。(2) 泪膜破裂时间(break up time, BUT)测定用消毒玻璃棒蘸荧光素钠涂抹于大鼠下方结膜囊内,裂隙灯显微镜下用钴蓝光观察大鼠瞬目后荧光素钠在泪膜中出现的第一个黑斑所需时间。上述检查均重复 3 次,取平均值。

**1.2.4 免疫荧光染色法检测结膜表面 MUC5AC 的表达** 分别于去势手术后 5 个月、药物注射前及注射后 6 周过量麻醉法任意处死各组 2 只大鼠,立即摘除术眼,剪取完整角膜及结膜,沿角膜中心将角膜及结膜平均分成 2 份,其中一份球结膜组织用 OCT 包埋剂包埋,-20℃ 冷冻 30 min,用冰冻切片机行连续 5 μm 厚切片,贴于多聚赖氨酸包被的硅化载玻片上,室温下自然风干 10 min,然后以冰丙酮固定 30 min,免疫荧光组织化学染色法检测 MUC5AC 在结膜中的表达量。

**1.2.5 扫描电子显微镜下观察大鼠角膜表面超微结构** 另一份眼表快速浸于质量分数 2.5% 的戊二醛溶液中,4℃ 固定 24 h,经锇酸后固定、梯度乙醇脱水、临界点干燥、铂金包埋后在扫描电子显微镜下观察。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件进行统计分析。本研究测量指标的数据资料经 K-S 检验证实呈正态分布,以  $\bar{x}\pm s$  表示,Bartlett 检验证实组间方差齐。采用完全随机分组单因素干预四水平实验设计,正常对照组、假手术组、去势模型组和丙酸睾酮组大鼠血清睾酮质量浓度、S I t 检查和 BUT 结果的差异比较均采用单因素方差分析,多重比较采用 LSD-*t* 检验。采用双尾检测法, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠血清雄激素质量浓度比较

丙酸睾酮组大鼠给药 6 周时,正常对照组、假手术组、去势模型组及丙酸睾酮组大鼠血清睾酮质量浓度总体比较差异有统计学意义( $F=144.349, P=$

0.000),其中正常对照组、假手术组和丙酸睾酮组大鼠血清睾酮质量浓度均明显高于去势模型组大鼠,差异均有统计学意义(均  $P=0.000$ ),丙酸睾酮组大鼠血清睾酮质量浓度明显高于正常对照组和假手术组大鼠,差异均有统计学意义(均  $P<0.01$ )(表 1)。

表 1 各组大鼠血清睾酮质量浓度( $\bar{x}\pm s, \text{ng/ml}$ )

组别	样本量	血清睾酮质量浓度
正常对照组	12	2.56±0.14 <sup>ab</sup>
假手术组	12	2.54±0.20 <sup>ab</sup>
去势模型组	12	1.83±0.12
丙酸睾酮组	12	3.38±0.24 <sup>a</sup>
<i>F</i>		144.349
<i>P</i>		0.000

注:与去势模型组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与丙酸睾酮组比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ (单因素方差分析,LSD-*t* 检验)

### 2.2 各组大鼠 S I t 值的比较

正常对照组、假手术组、去势模型组和丙酸睾酮组间大鼠 S I t 值的总体比较差异有统计学意义( $F=180.725, P=0.000$ ),其中去势模型组大鼠 S I t 值明显低于正常对照组、假手术组和丙酸睾酮组,差异均有统计学意义(均  $P=0.000$ ),但正常对照组、假手术组和丙酸睾酮组间大鼠 S I t 值的差异均无统计学意义(均  $P>0.05$ )(表 2)。

表 2 各组大鼠 S I t 值的比较( $\bar{x}\pm s, \text{mm/5 min}$ )

组别	样本量	S I t
正常对照组	12	7.47±0.66 <sup>a</sup>
假手术组	12	7.42±0.40 <sup>a</sup>
去势模型组	12	3.63±0.26
丙酸睾酮组	12	6.37±0.45 <sup>a</sup>
<i>F</i>		180.725
<i>P</i>		0.000

注:与去势模型组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ (单因素方差分析,LSD-*t* 检验)  
S I t: Schirmer 试验 I

### 2.3 各组大鼠 BUT 检测值的比较

4 个组间大鼠 BUT 检测值的总体比较差异有统计学意义( $F=261.588, P=0.000$ ),其中去势模型组大鼠 BUT 明显短于正常对照组、假手术组和丙酸睾酮组,差异均有统计学意义(均  $P=0.000$ ),但正常对照组、假手术组和丙酸睾酮组间大鼠 BUT 值的差异均无统计学意义(均  $P>0.05$ )(表 3)。



表 3 各组间大鼠 BUT 的比较 ( $\bar{x} \pm s, s$ )

组别	样本量	BUT
正常对照组	12	9.57±0.76 <sup>a</sup>
假手术组	12	9.94±0.68 <sup>a</sup>
去势模型组	12	3.73±0.38
丙酸睾酮组	12	7.54±0.55 <sup>a</sup>
F		261.588
P		0.000

注:与去势模型组比较,<sup>a</sup>P<0.01(单因素方差分析,LSD-t 检验)  
BUT:泪膜破裂时间

### 2.4 各组大鼠结膜组织中 MUC5AC 的阳性表达

去势后用药前可见正常对照组和假手术组的 MUC5AC 阳性区域饱满,密度高,形状规则,去势模型

组和丙酸睾酮组 MUC5AC 阳性区域明显减少,呈零星线状或点状着色。用药 6 周后丙酸睾酮组 MUC5AC 阳性区较用药前及去势模型组增多,但总体着色强度仍弱于正常对照组和假手术组(图 1)。

### 2.5 各组大鼠角膜组织表面的超微结构

正常对照组和假手术组大鼠角膜表面表现为微绒毛较长,密集,排列规则,代表细胞新陈代谢的裂孔形态正常,去势模型组角膜表面微绒毛明显减少,可见微绒毛短小,倒伏,排列紊乱,细胞新陈代谢裂孔完全消失。丙酸睾酮组微绒毛排列较去势模型组规则,但代表细胞新陈代谢的裂孔较正常对照组仍少,较去势模型组明显增多(图 2)。

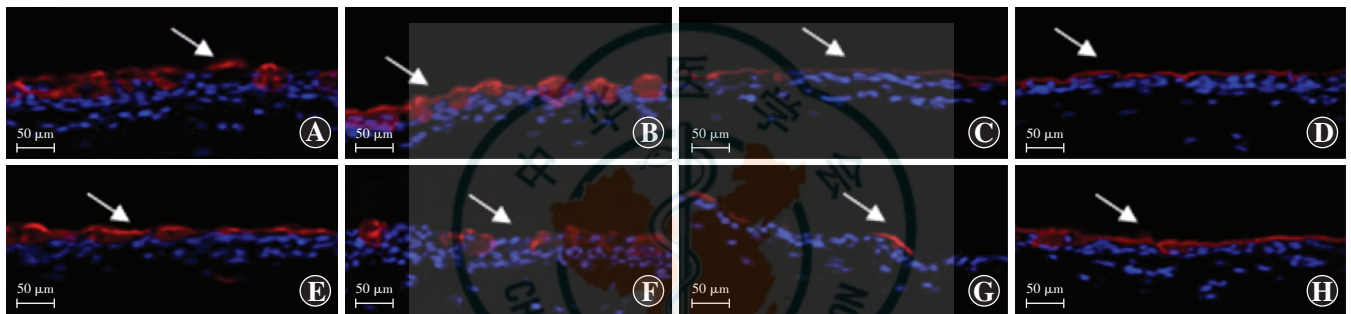


图 1 免疫荧光染色法检测各组大鼠眼表组织中 MUC5AC 的表达(标尺=50 μm,×200) A:丙酸睾酮注射前正常对照组可见结膜组织中大量 MUC5AC 的阳性表达,呈红色荧光(箭头) B:丙酸睾酮注射前假手术组可见结膜组织中大量 MUC5AC 的阳性表达(箭头) C:丙酸睾酮注射前去势模型组大鼠结膜组织中 MUC5AC 的表达明显减弱,呈点状、线状荧光(箭头) D:丙酸睾酮注射前丙酸睾酮组大鼠结膜组织中 MUC5AC 的表达明显减弱(箭头) E:丙酸睾酮注射后 6 周正常对照组结膜组织中 MUC5AC 的阳性表达(箭头) F:丙酸睾酮注射后 6 周假手术组结膜组织中 MUC5AC 的阳性表达(箭头) G:丙酸睾酮注射后 6 周去势模型组结膜组织中 MUC5AC 的阳性表达(箭头) H:丙酸睾酮注射后 6 周丙酸睾酮组结膜组织中 MUC5AC 的阳性表达较用药前(D)及去势模型组(G)增多,但总体着色仍弱于正常对照组(E)及假手术组(F)(箭头)

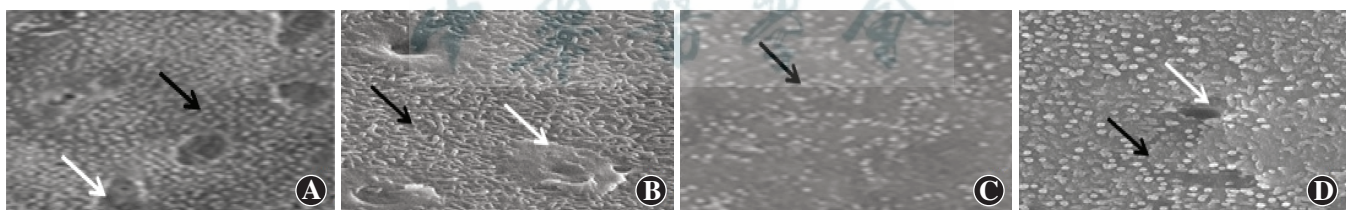


图 2 扫描电子显微镜下大鼠眼表组织超微结构(×10 000) A:正常对照组大鼠眼表微绒毛形态正常(黑箭头),可见新陈代谢的裂孔(白箭头) B:假手术组大鼠眼表组织超微结构接近正常对照组,可见清晰的微绒毛(黑箭头)和裂孔(白箭头) C:去势模型组大鼠眼表细胞微绒毛短小(黑箭头),新陈代谢裂孔消失 D:丙酸睾酮组大鼠眼表细胞微绒毛(黑箭头)长于去势模型组,但短于正常对照组和假手术组,可见细胞新陈代谢裂孔(白箭头)

### 3 讨论

流行病学调查证实,干眼多发生于老龄女性、长期配戴角膜接触镜者或行性激素替代治疗的患者<sup>[1]</sup>,性激素的改变增加一些眼表疾病发生的风险<sup>[7-8]</sup>。Mathers 等<sup>[9]</sup>研究发现,绝经期女性性激素水平的下降后泪液产生减少。Taiym 等<sup>[10]</sup>对正常人和 Sjögren 综合征患者体内雌激素和催乳素水平进行比较,发现 Sjögren 综合征患者血清雌激素和催乳素水平增加。

其他研究也显示使用性激素替代疗法的女性,特别是单独应用雌激素者,更可能引发干眼<sup>[11]</sup>,性激素水平的变化可能是引起围绝经期妇女干眼的重要原因之一<sup>[12-14]</sup>。然而,干眼究竟是由于雌激素不足还是雄激素的缺乏,或雌激素与雄激素之间的不平衡所引起目前尚有争议。本研究中利用性成熟 Wistar 雌鼠的去势模型模拟老年女性人群绝经状态,发现去势后大鼠血清中雄激素质量浓度降低,而采用雄激素替代疗法可回复到正常。



研究发现,在鼠、兔及人的泪腺、睑板腺、结膜和角膜中存在雄激素受体( androgen receptor, AR),雄激素与受体结合后刺激转化生长因子- $\beta$ 的合成,降低泪腺中白细胞介素-1 $\beta$ 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ 的水平,发挥免疫抑制作用,有效保护泪腺免于发生炎症反应,加速细胞的新陈代谢<sup>[15-16]</sup>。本研究中证实雄激素替代疗法能增加大鼠的泪液分泌量并延长 BUT,有助于维持泪膜的稳定性,提示雄激素可能与雌激素共同调节人体泪腺及睑板腺的形态和分泌功能。

干眼是一系列眼表病变的综合眼部表现,其本质是由任何原因引起的泪液质和量的异常导致泪膜稳定性下降而引起的眼部不适,因此泪膜稳定性在维持眼表健康方面具有重要作用。泪膜稳定性的维持依赖于黏蛋白与正常角膜结膜上皮的微绒毛及多糖类物质的紧密结合,使泪液水液层及脂质层均匀分布其上。近期的研究发现,在非眼部组织或器官中,AR可与 $\beta$ -catenin形成 AR/ $\beta$ -catenin 复合体,影响 AR 通路的靶基因 *MUC1* 等的表达,并调节 Wnt 经典通路的生物学作用<sup>[17]</sup>。关于雄激素对黏蛋白表达调节的研究主要集中在乳腺癌和前列腺癌方面,Bhulani 等<sup>[18]</sup>的研究显示黏蛋白-1 的表达呈 AR 剂量依赖性,进而影响细胞之间的黏附,参与癌细胞的转移等生物学行为。使用雄激素孵育前列腺癌细胞株 PC-3 后,黏蛋白-1 mRNA 表达增加<sup>[19]</sup>,说明雄激素与黏蛋白表达密切相关<sup>[20]</sup>。本研究中发现,雄激素替代疗法可以改变去势大鼠眼表黏蛋白表达降低的状态,并改善眼表微绒毛的形态,促进眼表组织的新陈代谢。角膜结膜表面具有疏水性,如无黏蛋白,或者角膜结膜上皮细胞微绒毛功能异常,水液就只能呈滴状附着于眼表,即使泪液分泌正常,也会出现干眼症状。本研究中,雄激素通过改善黏蛋白的表达及眼表微绒毛的形态及功能而有效维持泪膜稳定性,延长泪膜在眼表的破裂时间。

综上所述,女性绝经期干眼发病率较高的原因可能与体内雄激素水平下降引起的泪液量的减少及泪膜稳定性下降有关,雄激素能够促进泪液分泌,并通过调节眼表黏蛋白的表达而影响其微绒毛的形态,维持泪膜稳定性,减少眼表组织损害。

## 参考文献

- [1] Scott G, Yiu S, Wasilewski D, et al. Combined esterified estrogen and methyltestosterone treatment for dry eye syndrome in postmenopausal women[J]. *Am J Ophthalmol*, 2005, 139(6): 1109-1110.
- [2] Ozcura F, DüNDAR SO, Cetin ED, et al. Effects of estrogen replacement therapy on apoptosis and vascular endothelial growth factor expression in ocular surface epithelial cells: an experimental study[J]. *Int J Ophthalmol*, 2012, 5(1): 64-68. doi: 10. 3980/j. issn. 2222-3959. 2012. 01. 13.
- [3] 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(1): 88-97. doi: 10. 1016/j. exer. 2011. 12. 016.
- [4] 段辉. 多种激素对泪腺结构与功能的影响[J]. *中华实验眼科杂志*, 2012, 30(12): 1148-1152. doi: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2012. 12. 024.
- [5] Apte SS, Olsen BR, Murphy G. The gene structure of tissue inhibitor of metalloproteinases and its inhibitory activities define the distinct TIMP gene family[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(24): 14313-14318. doi: 10. 1074/jbc. 270. 24. 14313.
- [6] Fujihara T, Murakami T, Fujita H, et al. Improvement of corneal barrier function by the P2Y2 agonist INS365 in a rat dry eye model[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001, 42(1): 96-100.
- [7] Foulks GN. The correlation between the tear film lipid layer and dry eye disease[J]. *Surv Ophthalmol*, 2007, 52(4): 369-374.
- [8] 沙翔垠, 罗春云, 宋莉. 雌二醇及丙酸睾酮对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导泪腺上皮细胞凋亡的抑制作用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2011, 29(12): 1082-1086. doi: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2011. 12. 006.
- [9] Mathers WD, Stovall D, Lane JA, et al. Menopause and tear function: the influence of prolactin and sex hormones on human tear production[J]. *Cornea*, 1998, 17(4): 353-358.
- [10] Taiym S, Haghghat N, Al-Hashimi I. A comparison of the hormone levels in patients with Sjögren syndrome and healthy controls[J]. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 2004, 97(5): 579-583.
- [11] 钟蕾, 张晓峰, 夏静, 等. 去卵巢大鼠结膜组织中炎症因子的表达变化及干眼相关检查的评估[J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32(9): 807-812. doi: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2014. 09. 008.
- [12] Song X, Zhao P, Wang G, et al. The effects of estrogen and androgen on tear secretion and matrix metalloproteinase-2 expression in lacrimal glands of ovariectomized rats[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(2): 745-751. doi: 10. 1167/iov. 12-10457.
- [13] Gagliano C, Caruso S, Napolitano G, et al. Low levels of 17- $\beta$ -oestradiol, oestrone and testosterone correlate with severe evaporative dysfunctional tear syndrome in postmenopausal women: a case-control study[J]. *Br J Ophthalmol*, 2014, 98(3): 371-376. doi: 10. 1136/bjophthalmol-2012-302705.
- [14] Crow JM, Nelson JD, Remington SG. Human lipocalin-1 association with 3H-testosterone and 3H-estradiol[J]. *Curr Eye Res*, 2009, 34(12): 1042-1049. doi: 10. 3109/02713680903316290.
- [15] Azcarate PM, Venincasa VD, Feuer W, et al. Androgen deficiency and dry eye syndrome in the aging male[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(8): 5046-5053. doi: 10. 1167/iov. 14-14689.
- [16] 赵萍, 宋秀君, 赵霞. 雌雄激素对去卵巢雌鼠泪腺中基质金属蛋白酶-2 表达的影响[J]. *中华实验眼科杂志*, 2013, 31(10): 944-948. doi: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2013. 10. 009.
- [17] 李晶, 许中中, 余晓菲. 睑缘炎患者睑板腺形态变化及其与干眼的关系[J]. *中华实验眼科杂志*, 2012, 30(6): 557-561. doi: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2012. 06. 018.
- [18] Bhulani N, Lalani S, Ahmed A, et al. Knowledge of asthma management by general practitioners in Karachi, Pakistan: comparison with international guidelines[J]. *Prim Care Respir J*, 2011, 20(4): 448-451. doi: 10. 4104/perj. 2011. 00096.
- [19] 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.
- [20] 高彩凤, 陈慧瑾, 靳瑛. Th17 相关细胞因子在干眼患者眼表表达及其相关性研究[J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32(7): 641-646. doi: 10. 3760/cma. j. issn. 2095-0160. 2014. 07. 014.

(收稿日期: 2015-04-16)

(本文编辑: 尹卫靖)