

## · 临床研究 ·

## 首诊干眼患者结膜黏蛋白表达变化及临床意义

欧阳维杰<sup>1</sup> 刘祖国<sup>1</sup> 孙旭光<sup>2</sup> 邓应平<sup>3</sup> 李青松<sup>4</sup> 黄彩虹<sup>1</sup> 林祥<sup>1</sup> 朱莉<sup>1</sup><sup>1</sup>厦门大学附属厦门眼科中心 厦门大学附属翔安医院 厦门大学眼科研究所 福建省眼科与视觉科学重点实验室, 厦门 361102; <sup>2</sup>首都医科大学附属北京同仁医院眼科, 北京 100069;<sup>3</sup>四川大学华西医院眼科, 成都 610044; <sup>4</sup>上海市普陀区中心医院眼科, 上海 200062

通信作者: 刘祖国, Email: zuguoliu@xmu.edu.cn

**【摘要】 目的** 了解首诊干眼患者结膜黏蛋白 MUC1、MUC4、MUC5AC 和 MUC16 表达情况及其与干眼症状体征的相关性。**方法** 采用横断面研究方法, 于 2016 年 12 月至 2018 年 5 月在厦门大学附属厦门眼科中心、首都医科大学附属北京同仁医院、四川大学华西医院和上海市普陀区中心医院 4 个临床研究中心纳入首次就诊干眼患者 69 例 69 眼作为干眼组, 正常志愿者 40 例 40 眼作为正常对照组。受检者均填写中国干眼问卷、眼表疾病指数量表 (OSDI) 和干眼相关生活质量评分问卷 (DEQS), 以评估干眼相关症状; 采用泪膜破裂时间 (TBUT) 检查、角结膜荧光素钠染色、基础泪液分泌试验 (Schirmer 试验 I) 以评估干眼相关体征; 采用结膜印迹细胞学方法采集结膜细胞, 采用实时荧光定量 PCR 法检测受检者结膜中 MUC1、MUC4、MUC5AC 和 MUC16 mRNA 表达情况; 采用 Spearman 秩相关分析探讨结膜黏蛋白表达量与干眼症状体征之间的关联。

**结果** 干眼组患者结膜黏蛋白 MUC1 和 MUC16 mRNA 相对表达量分别为 3.277 (0.568, 5.790) 和 1.815 (1.048, 3.694), 均较正常对照组的 1.055 (0.550, 2.010) 和 1.024 (0.541, 1.965) 升高, 差异均有统计学意义 ( $Z=819.00, P=0.008; Z=861.00, P=0.002$ )。根据 OSDI 症状分级, 轻中度干眼 (评分 12-32) 以 MUC1 表达升高为主 [ $3.277 (1.161, 6.226), Z=9.04, P=0.029$ ], 重度干眼 (评分 >32) 主要以 MUC16 表达升高为主 [ $1.968 (1.074, 3.726), Z=12.24, P=0.007$ ]。MUC1 mRNA 相对表达量与 TBUT 呈正相关, 与角膜染色评分和角结膜染色评分呈负相关 ( $r_s=0.270, P=0.025; r_s=-0.331, P=0.006; r_s=-0.325, P=0.007$ )。MUC16 mRNA 相对表达量与 TBUT 呈正相关, 与视物模糊症状评分、阅读时症状加重评分、开夜车影响程度评分、使用计算机影响程度评分及看电视影响程度评分均呈负相关 ( $r_s=0.249, P=0.039; r_s=-0.359, P=0.047; r_s=-0.370, P=0.034; r_s=-0.558, P=0.016; r_s=-0.498, P=0.006; r_s=-0.515, P=0.002$ )。

**结论** 干眼患者结膜黏蛋白 MUC1 与 MUC16 mRNA 表达水平升高, MUC1 mRNA 表达与患者体征相关, MUC16 mRNA 表达与患者的生活质量相关。

**【关键词】** 干眼; 黏蛋白; MUC1; MUC16**基金项目:** 国家重点研发计划项目 (2018YFA0107304); 国家自然科学基金项目 (81870627、81900825)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20211128-00652

**Changes in conjunctival mucin expressions in patients with first diagnosis of dry eye and its clinical significance**Ouyang Weijie<sup>1</sup>, Liu Zuguoli<sup>1</sup>, Sun Xuguang<sup>2</sup>, Deng Yingping<sup>3</sup>, Li Qingsong<sup>4</sup>, Huang Caihong<sup>1</sup>, Lin Xiang<sup>1</sup>, Zhu Li<sup>1</sup><sup>1</sup>Xiamen University Affiliated Xiamen Eye Center, The Affiliated Xiang'an Hospital of Xiamen University, Eye Institute of Xiamen University, Fujian Provincial Key Laboratory of Ophthalmology and Visual Science, Xiamen 361102, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China; <sup>3</sup>Department of Ophthalmology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610044, China; <sup>4</sup>Department of Ophthalmology, Putuo District Center Hospital, Shanghai 200062, China

Corresponding author: Liu Zuguoli, Email: zuguoliu@xmu.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the expressions of MUC1, MUC4, MUC5AC and MUC16 in patients with first diagnosis of dry eye and their correlation with dry eye symptoms and signs. **Methods** A cross-sectional

study was conducted. Sixty-nine dry eye patients (69 eyes) as dry eye group and 40 normal volunteers (40 eyes) as normal control group were recruited in Xiamen Eye Center of Xiamen University, Beijing Tongren Hospital, West China Hospital of Sichuan University and Shanghai Puotuo District Center Hospital from December 2016 to May 2018. Symptoms were evaluated by Chinese dry eye questionnaire, Ocular Surface Disease Index (OSDI) and Dry Eye-Related Quality-of-Life Score Questionnaire (DEQS). Signs were assessed by tear film breakup time (TBUT), keratoconjunctival fluorescein sodium staining, and Schirmer I test. Conjunctival cells were collected by conjunctival impression cytology. The expression levels of MUC1, MUC4, MUC5AC and MUC16 mRNA in the two groups were determined by real-time fluorescence quantitative PCR. The correlation between the mRNA levels of conjunctival mucins and dry eye symptoms and signs were analyzed by Spearman correlation analysis. This study adhered to the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Ethics Committees of Xiamen Eye Center of Xiamen University (No. 2017003), Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University (No. TREC2016-29), West China Hospital of Sichuan University (No. 2016310) and Shanghai Puotuo District Center Hospital (No. PTEC-A-2016-18-1). Written informed consent was obtained from each subject before any medical examination. **Results** The expression levels of MUC1 and MUC16 mRNA in dry eye patients were 3.277(0.568, 5.790) and 1.815(1.048, 3.694), which were higher than 1.055(0.550, 2.010) and 1.024(0.541, 1.965) in normal control group ( $Z=819.00, P=0.008$ ;  $Z=861.00, P=0.002$ ). According to OSDI scores, MUC1 was mainly increased to 3.277(1.161, 6.226) in mild to moderate (12-32 points) dry eye patients ( $Z=9.04, P=0.029$ ), and MUC16 was mainly increased to 1.968(1.074, 3.726) in severe (>32 points) dry eye patients ( $Z=12.24, P=0.007$ ). MUC1 expression was positively correlated with TBUT, and was negatively correlated with corneal staining scoring and keratoconjunctival staining scoring ( $r_s=0.270, P=0.025$ ;  $r_s=-0.331, P=0.006$ ;  $r_s=-0.325, P=0.007$ ). MUC16 expression was positively correlated with TBUT, and was negatively correlated with blurred vision scoring, symptom exacerbation scoring during reading, impact scoring of driving at night, impact scoring of computer and impact scoring of TV use ( $r_s=0.249, P=0.039$ ;  $r_s=-0.359, P=0.047$ ;  $r_s=-0.370, P=0.034$ ;  $r_s=-0.558, P=0.016$ ;  $r_s=-0.498, P=0.006$ ;  $r_s=-0.515, P=0.002$ ). **Conclusions** The gene expressions of MUC1 and MUC16 are higher in conjunctiva of dry eye patients. MUC1 mRNA expression is related to patients' signs. MUC16 mRNA expression is related to the quality of life of patients.

[Key words] Dry eye; Mucin; MUC1; MUC16

**Fund program:** National Key R&D Program of China (2018YFA0107304); National Natural Science Foundation of China (81870627, 81900825)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20211128-00652

干眼是一种多因素引起的慢性眼表疾病,患者可出现眼干、异物感等一系列眼部不适症状,严重影响患者的生活质量<sup>[1]</sup>。泪膜不稳定是干眼发生的核心机制<sup>[2-3]</sup>。眼表组织中的黏蛋白分为跨膜型和分泌型黏蛋白,主要由结膜、角膜及泪腺所分泌,其质或量的异常可导致泪膜稳定性下降,泪液无法停留在眼表,引发干眼<sup>[4-5]</sup>,进而引起眼表上皮细胞损伤,加重黏蛋白的异常。因此,关注眼表黏蛋白的变化是干眼研究中的一个重要领域。已有多项研究对干眼患者眼表黏蛋白含量的变化进行检测,但研究报道的结果有所不同。部分研究发现干眼患者眼表杯状细胞数量减少, MUC5AC 蛋白水平下降<sup>[6-8]</sup>,结膜上皮中 MUC1、MUC4 及 MUC16 表达量下降<sup>[9-10]</sup>,而另有研究发现在干燥综合征及非干燥综合征患者的眼表及泪液中 MUC1 和 MUC16 表达量增加<sup>[11-13]</sup>。最新版的国际泪

膜和眼表协会干眼疾病工作组第二次会议制定的国际干眼指南虽然对所有研究结果进行了全面总结,但仍无法准确对干眼患者眼表组织中黏蛋白的变化进行定论<sup>[14]</sup>。本研究拟探讨干眼患者结膜组织中黏蛋白表达量变化及其与干眼症状和体征之间的关联,为干眼防控和治疗措施的制定提供参考依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

采用横断面研究方法,纳入 2016 年 12 月至 2018 年 5 月在厦门大学附属厦门眼科中心(27 例)、首都医科大学附属北京同仁医院(20 例)、四川大学华西医院(3 例)、上海市普陀区中心医院(19 例)首次就诊、未曾接受干眼相关药物干预的干眼患者 69 例 69 眼作为干眼组,各分中心干眼诊断均依据《干眼临床诊疗专

家共识(2013年)》标准<sup>[5]</sup>,同期纳入健康志愿者40人40眼作为正常对照组。干眼组患者平均年龄(39.7±13.3)岁,正常对照组平均年龄(22.2±2.8)岁。干眼组患者MUC1、MUC4、MUC5AC和MUC16表达量与年龄无明显相关性( $r_s = -0.065, P = 0.598; r_s = -0.014, P = 0.911; r_s = -0.247, P = 0.081; r_s = -0.029, P = 0.815$ )。干眼组男女比例为1:2,正常对照组为7:3。干眼组男和女MUC1 mRNA相对表达量分别为2.96(0.80, 4.05)、2.39(0.01, 5.67),MUC4 mRNA相对表达量分别为2.02(0.91, 3.96)、2.50(1.09, 4.90),MUC5AC mRNA相对表达量分别为0.21(0.02, 1.13)、0.06(0.02, 3.41),MUC16 mRNA相对表达量分别为2.20(1.20, 3.80)、1.67(0.99, 3.62),不同性别间各黏蛋白表达量比较差异均无统计学意义( $Z = 522.0, P = 0.94; Z = 486.5, P = 0.69; Z = 184.0, P = 0.84; Z = 457.5, P = 0.37$ )。其中来自北京的患者MUC1 mRNA相对表达量较其他地区低( $Z = 35.78, P = 0.0001$ ),来自厦门的患者泪液分泌量和泪膜破裂时间(tear breakup time, TBUT)较其他地区低( $Z = 20.68, P = 0.0001; Z = 19.91, P = 0.0001$ )。考虑到病例数量较少,可能会产生偏倚,故暂不对3例四川地区的患者与其他地区的患者结果进行比较。

干眼患者纳入标准:(1)年满18周岁;(2)首次门诊就诊患者;(3)症状和体征符合中国干眼诊断标准<sup>[5]</sup>。排除标准:(1)已诊断为干眼且接受过治疗的患者;(2)对荧光素钠溶液有变态反应史者;(3)有除干眼外的其他眼部疾病者或接受过任何眼部手术者;(4)有眼部用药史者;(5)有全身疾病史或全身用药史者;(6)主要研究者和/或协助研究者认为不适合参加此项研究的患者。纳入研究的患者双眼均接受检查,选择干眼症状评分高的一侧眼作为研究眼;若双眼干眼评分相等,则纳入角膜荧光素钠染色较重的一侧眼;若双眼荧光素钠染色程度相等则取右眼为研究眼。

正常受检者入组标准:(1)年满18周岁;(2)不存在任何需接受治疗的眼科疾病;(3)至少有一侧眼符合以下标准:①未出现干眼症状;②TBUT>5 s;③无麻醉Schirmer试验I结果>5 mm/5 min;④角膜无荧光素钠染色。排除标准:(1)诊断为干眼或存在疑似干眼症状或体征者;(2)既往有眼科疾病史者;(3)有荧光素钠变态反应史者;(4)主要研究者和/或协助研究者认为不适合参加此项研究者。纳入研究的正常受检者双眼均接受相应检查,若双眼均符合入组标准则以右眼为研究眼。本试验方案分别经厦门大学附属厦门眼科中心、首都医科大学附属北京同仁医院、四川大学

华西医院、上海市普陀区中心医院伦理委员会批准[批文号:2017003、TREC2016-29、2016年审(310)号、PTEC-A-2016-18-1],研究过程遵循《赫尔辛基宣言》和中国有关临床试验研究规范和法规,患者进入研究前均了解本研究的方法和目的并自愿签署知情同意书。

## 1.2 方法

**1.2.1 质量控制** 4家眼科中心研究人员在项目启动前进行统一培训,规范检查设备,统一检查和干眼诊断标准,检查人员具有药物临床试验质量管理规范培训证书。试验全程由临床协调员监察临床研究质量、跟踪研究进度及临床试验工作协调。

**1.2.2 眼科临床检查** 对所有受检者进行临床检查,包括记录患者病史、干眼症状评分、TBUT、角膜结膜荧光素钠染色评分、Schirmer试验I。本研究按照如下顺序依次对受试者进行检查。

**1.2.2.1 干眼症状评分** 先后采用中国干眼问卷、眼表疾病指数量表(Ocular Surface Disease Index, OSDI)和干眼相关生活质量评分问卷(Dry Eye-Related Quality-of-Life Score Questionnaire, DEQS)对受检者进行干眼症状评估,所有受检者在研究者的监督指导下独立填写并完成3份问卷。根据OSDI问卷症状评分<sup>[17]</sup>将干眼组受检眼进行症状分组:总分≤12为无症状组,共9眼;总分>12~32为轻中度症状组,共40眼;总分>32为重度症状组,共20眼。

**1.2.2.2 TBUT测定** 将用1滴生理盐水湿润的荧光素钠试纸条接触受检者下睑结膜囊,嘱受检者瞬目数次,使试纸条与泪液充分混合。采用16倍裂隙灯显微镜(SL220,德国蔡司公司)的钴蓝光观察受检者末次瞬目至出现第1个泪膜破裂点的时间,TBUT<5 s为异常。检查重复3次,取平均值。

**1.2.2.3 荧光素钠染色评估角结膜上皮完整性** TBUT测定结束后继续在16倍裂隙灯显微镜钴蓝光下观察角结膜荧光素钠染色。根据国际眼科机构染色分级标准<sup>[15]</sup>对角膜上皮完整性进行评估。将角膜分为上、鼻、中、下、颞侧5个区域,每个区域评分均为0~3分,总分为各区域评分之和,总分≥1分为异常。参照Van Bijsterveld评分体系<sup>[16]</sup>对角膜上皮完整性进行评分。将角结膜分为颞侧、角膜和鼻侧3个区域,每个区域评分0~3分,总分为各区评分之和,总分≥1分为异常。

**1.2.2.4 Schirmer试验I评估泪液分泌量** 在无局部麻醉情况下,将Schirmer试纸弯折处放入患者下睑结膜囊中外1/3处,嘱患者平视前方后闭眼,5 min后

取出试纸条,测量泪液浸润长度。泪液浸润长度  $\leq 5$  mm 为异常。

**1.2.2.5 干眼症状体征评估** 在干眼症状方面,OSDI 评分  $\leq 32$  分为轻中度干眼, $>32$  分为重度干眼。在体征方面,根据有无角膜荧光素钠染色将干眼分为轻度和重度干眼。

**1.2.3 结膜印迹细胞学标本采集** 采用盐酸丙美卡因滴眼液点眼行表面麻醉,嘱患者注视下方,暴露受检眼上方球结膜,并用无齿镊夹取醋酸纤维素膜轻贴于患者上方球结膜,在膜上均匀轻压数次,3~5 s 后取下醋酸纤维素膜,并用另一无齿镊将膜放入 350  $\mu$ l 保存液中(裂解液: $\beta$ -巯基乙醇体积比为 100:1),漩涡振荡 1 min,使细胞充分裂解, $-80$   $^{\circ}$ C 保存。操作结束后受检眼用氧氟沙星滴眼液点眼。

**1.2.4 实时荧光定量 PCR 法测定标本中 MUC1、MUC4、MUC5AC 及 MUC16 mRNA 相对表达量** 根据 RNA 提取试剂盒[DP420,天根生化科技(北京)有限公司]操作步骤,将 $-80$   $^{\circ}$ C 保存的标本室温下溶解,涡旋振荡混匀,转移至过滤柱 CS 上,离心半径 10 cm,12 000 r/min 离心 2 min,收集滤液,加入 1 倍体积分数 70% 乙醇,用移液器混匀,全部转移至吸附柱 CR1 上,12 000 r/min 离心 30~60 s,弃废液。向吸附柱中加入 350  $\mu$ l 去蛋白液 RW1,12 000 r/min 离心 30~60 s,弃废液。向吸附柱中加入 80  $\mu$ l DNase I 工作液,室温下放置 15 min,加入 350  $\mu$ l 去蛋白液 RW1,12 000 r/min 离心 30~60 s,弃废液。向吸附柱中加入 500  $\mu$ l 漂洗液 RW,室温静置 2 min,12 000 r/min 离心 30~60 s,弃废液,重复漂洗 2 次。12 000 r/min 离心 2 min,弃废液。将吸附柱在室温下放置数分钟,以彻底晾干残余的漂洗液。将吸附柱置入新的 RNase-free 离心管中,加入 14  $\mu$ l RNase-free ddH<sub>2</sub>O,室温放置 2 min,12 000 r/min 离心 1 min,所得溶液即为 RNA 溶液。采用 RNA 逆转录试剂盒(KIT0204,美国 Thermo Fisher Scientific 公司)进行逆转录,得到 cDNA。采用 SYBR 预混试剂盒(RR420A,日本 TaKaRa 公司),反应体系为 10.0  $\mu$ l,包括 1.0  $\mu$ l cDNA,0.2  $\mu$ l 正向和反向引物,5.0  $\mu$ l 混合液及 3.6  $\mu$ l DEPC 水。PCR 反应条件:95  $^{\circ}$ C 变性 10 s,60  $^{\circ}$ C 退火 5 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 20 s,共 45 个循环。引物序列(5'-3'):MUC1 正向序列为 ACAATTGACTCTGGCCTTCC,反向序列为 CAGACTGGCAGAGAAAGGA;MUC4 正向序列为 CTTACTCTGGC CAACTCTGTAGTG,反向序列为 GAGAAGTTGGGCTTG ACTGTC;MUC5AC 正向序列为 TCCACCATATACCGC CACAGA,反向序列为 TGGACCGACAGTCACTGTCAAC;

MUC16 正向序列为 GCCTCTACCTTAACGGTTACAATG AA,反向序列为 GGTACCCCATGGCTGTTGTG; $\beta$ -actin 正向序列为 CATGTACGTTGCTATCCAGGC,反向序列为 CTCCTTAATGTCACGCACGAT。以  $\beta$ -actin 为内参,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  计算各目的黏蛋白基因相对表达量。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件进行统计分析。计量资料采用 Shapiro-Wilk 检验法行正态分布检验,均不满足正态分布,以  $M(Q_1, Q_3)$  表达。2 个组间相关评估指标差异比较采用 Wilcoxon 秩和检验,多个组间评估指标总体差异比较采用 Kruskal-Wallis  $H$  检验,多重比较采用 Nemenyi 检验。采用 Spearman 秩相关分析法评估干眼患者结膜黏蛋白表达水平与受检眼症状评分及体征相关指标间的关联性。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 干眼组和正常对照组受检者结膜中 MUC1、MUC4、MUC5AC 及 MUC16 mRNA 相对表达量比较

干眼组受检眼结膜中跨膜黏蛋白 MUC1 和 MUC16 mRNA 相对表达量分别为 3.277 (0.568, 5.790) 和 1.815 (1.048, 3.694),分别高于正常对照组的 1.055 (0.550, 2.010) 和 1.024 (0.541, 1.965),差异均有统计学意义 ( $Z = 819.00, P = 0.008; Z = 861.00, P = 0.002$ );干眼组受检眼结膜中 MUC4 mRNA 相对表达量为 2.465 (1.016, 4.881),高于正常对照组的 1.356 (0.371, 3.082),差异无统计学意义 ( $Z = 1.029.00, P = 0.055$ )。干眼组受检眼结膜中 MUC5AC mRNA 相对表达量为 0.075 (0.022, 1.725),与正常对照组的 0.288 (0.075, 2.325) 比较差异无统计学意义 ( $Z = 438.00, P = 0.226$ ) (图 1)。

### 2.2 干眼组和正常对照组受检眼临床症状评分比较

干眼组 TBUT 和平均泪液分泌量明显小于正常对照组,角膜染色评分、角结膜染色评分、中国干眼问卷评分、OSDI 评分以及 DEQS 评分均高于正常对照组,差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ ) (表 1)。干眼患者中,症状轻体征轻者 28 例、症状重体征轻者 10 例、症状轻体征重者 21 例、症状重体征重者 10 例。

### 2.3 各组受检眼结膜中 MUC1、MUC4、MUC5AC 及 MUC16 mRNA 表达量与干眼症状评分的关联

干眼组中结膜 MUC1、MUC4、MUC5AC 和 MUC16 mRNA 相对表达量与中国干眼问卷、OSDI 和 DEQS 总分间均无明显相关性(均  $P > 0.05$ )。无症状组、轻中度症状组和重度症状组受检眼结膜中 MUC1 mRNA

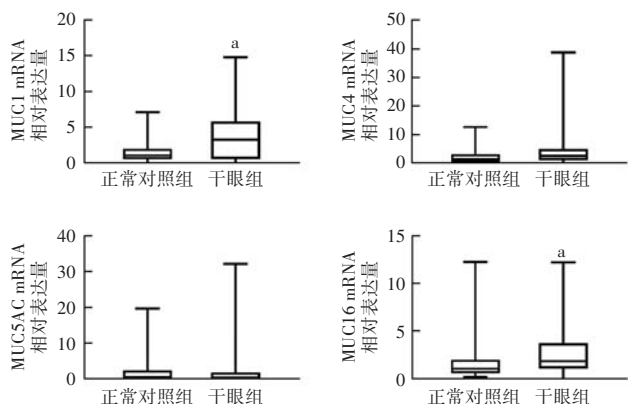


图 1 各组受检眼结膜中 MUC1、MUC4、MUC5AC 和 MUC16 mRNA 相对表达量比较 与正常对照组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05 (Wilcoxon 秩和检验, 正常对照组 *n*=40, 干眼组 *n*=69)

Figure 1 Comparison of relative expression levels of MUC1, MUC4, MUC5AC and MUC16 mRNA in conjunctiva between two groups Compared with normal control group, <sup>a</sup>*P*<0.05 (Wilcoxon rank sum test, normal control group *n*=40, dry eye group *n*=69)

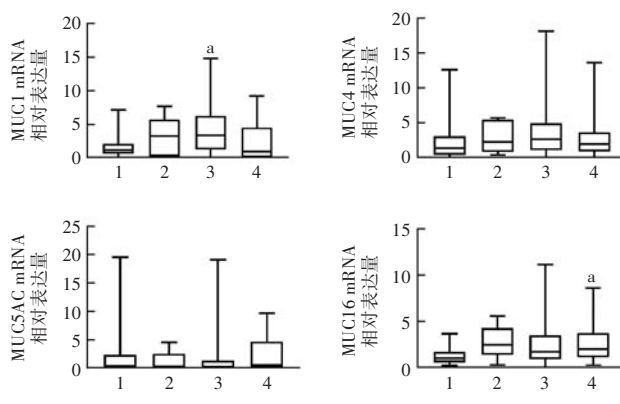


图 2 不同干眼症状评分组 MUC1、MUC4、MUC5AC 及 MUC16 mRNA 表达量比较 与正常对照组比较, <sup>a</sup>*P*<0.05 (Kruskal-Wallis *H* 检验, 正常对照组 *n*=40, 无症状组 *n*=9, 轻中度症状组 *n*=40, 重度症状组 *n*=20) 1: 正常对照组; 2: 无症状组; 3: 轻中度症状组; 4: 重度症状组 MUC: 黏蛋白

Figure 2 Comparison of relative expression levels of MUC1, MUC4, MUC5AC and MUC16 mRNA among groups with various dry eye symptom severities (Kruskal-Wallis *H* test, normal control group *n*=40, nonsymptom dry eye group *n*=9, mild to moderate dry eye group *n*=40, severe dry eye group *n*=20) 1: normal control group; 2: nonsymptom dry eye group; 3: mild to moderate dry eye group; 4: severe dry eye group MUC: mucin

相对表达量分别为 3.209(0.157, 5.666)、3.277(1.161, 6.226) 和 0.859(0.015, 4.472), 轻中度症状组结膜中 MUC1 mRNA 表达量明显高于正常对照组, 差异有统计学意义 ( $Z=9.04, P=0.029$ )。重度症状组 MUC16 mRNA 相对表达量明显高于正常对照组, 差异有统计学意义 ( $Z=12.24, P=0.007$ )。各不同症状评分组间 MUC4、MUC5AC mRNA 相对表达量比较, 差异均无统计学意义 ( $Z=4.69, P=0.196; Z=2.72, P=0.437$ ) (图 2)。

#### 2.4 干眼患者结膜 MUC1、MUC4、MUC5AC 及 MUC16 mRNA 相对表达量与干眼体征评分的相关性

干眼患者结膜 MUC1 mRNA 相对表达量与 TBUT 呈正相关 ( $r_s=0.270, P=0.025$ ), 与角膜染色评分呈负相关 ( $r_s=-0.331, P=0.006$ ), 与角结膜染色评分呈负相关 ( $r_s=-0.325, P=0.007$ ), 与视频播放终端使用时间呈正相关 ( $r_s=0.547, P=0.001$ )。MUC1、MUC4、MUC5AC 及 MUC16 mRNA 相对表达量与泪液分泌量均不相关 ( $r_s=-0.184, P=0.134; r_s=0.066, P=0.596$ ;

$r_s=-0.230, P=0.108; r_s=-0.117, P=0.343$ ) (表 2)。

角膜染色阳性患者中, MUC1 mRNA 相对表达量与 DEQS 中难以睁眼的症状评分呈正相关 ( $r_s=0.275, P=0.035$ ), 与角膜染色评分、泪液分泌量均呈负相关 ( $r_s=-0.331, P=0.006; r_s=-0.437, P=0.016$ )。MUC4 表达与眼痛症状评分呈正相关 ( $r_s=0.371, P=0.044$ )。MUC16 mRNA 相对表达量与 DEQS 中视物模糊症状评分呈负相关 ( $r_s=-0.359, P=0.047$ ) (表 3)。MUC4 与 MUC16 的表达呈正相关 ( $r_s=0.455, P=0.012$ )。在角膜染色阴性患者中, MUC1 表达与视频播放终端使用时间呈正相关 ( $r_s=0.622, P=0.003$ ), 与晨起分泌物出现频率评分呈负相关 ( $r_s=-0.498, P=0.001$ ), 与 MUC16 呈正相关 ( $r_s=0.635, P<0.001$ )。MUC4 表达与干燥感症状评分呈负相关 ( $r_s=-0.393, P=0.015$ ); MUC16 与干眼患者生活质量评分, 如阅读

表 1 各组受检眼临床症状比较 [ $M(Q_1, Q_3)$ ]

Table 1 Comparison of clinical symptoms between two groups [ $M(Q_1, Q_3)$ ]

组别	眼数	TBUT(s)	平均泪液分泌量(mm)	角膜染色评分(分)	角结膜染色评分(分)	中国干眼问卷评分(分)	OSDI 评分(分)	DEQS 评分(分)
正常对照组	40	7.67(5.75, 9.33)	19.00(9.75, 30.00)	0.00(0.00, 0.00)	0.00(0.00, 0.00)	5.00(3.00, 7.00)	8.33(4.17, 19.17)	9.17(3.33, 16.25)
干眼组	69	3.00(2.33, 4.00)	9.00(5.00, 13.00)	0.00(0.00, 2.00)	0.00(0.00, 1.00)	10.00(7.00, 14.50)	22.50(16.67, 34.75)	23.33(16.67, 39.17)
Z 值		147.0	614.0	827.5	960.0	487.0	522.5	535.0
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: (Wilcoxon 秩和检验) TBUT: 泪膜破裂时间; OSDI: 眼表疾病指数量表; DEQS: 干眼相关生活质量评分问卷

Note: (Wilcoxon rank sum test) TBUT: tear film breakup time; OSDI: Ocular Surface Disease Index; DEQS: Dry Eye-Related Quality-of-Life Score Questionnaire

**表 2 结膜黏蛋白与干眼体征评分的相关性**  
**Table 2 Correlation between conjunctival mucins and dry eye signs**

黏蛋白	眼数	TBUT		角膜染色评分		VDT时间		中国干眼问卷		OSDI评分		DEQS评分		角结膜染色评分	
		$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$
MUC1	69	0.270	0.025	-0.331	0.006	0.547	0.001	-0.083	0.498	-0.170	0.889	0.044	0.717	-0.325	0.007
MUC4	69	0.135	0.272	-0.197	0.108	-0.096	0.590	-0.197	0.108	-0.107	0.383	-0.176	0.151	-0.022	0.549
MUC16	69	0.249	0.039	0.109	0.373	-0.239	0.240	-0.010	0.936	-0.052	0.672	-0.086	0.481	0.055	0.656
MUC5AC	51	-0.082	0.567	0.083	0.563	0.012	0.943	-0.016	0.912	-0.032	0.823	-0.007	0.963	-0.087	0.549

注:(Spearman 秩相关分析) MUC:黏蛋白;TBUT:泪膜破裂时间;VDT:视频播放终端;OSDI:眼表疾病指数数量表;DEQS:干眼相关生活质量评分问卷

Note:(Spearman correlation analysis) MUC:mucin;TBUT:tear breakup time;VDT:video display terminal;OSDI:Ocular Surface Disease Index;DEQS:Dry Eye-Related Quality-of-Life Score Questionnaire

**表 3 角膜染色阳性患者黏蛋白表达与症状体征评分的相关性**  
**Table 3 Correlation between expression levels of conjunctival mucins and symptoms, signs in dry eye patients with positive corneal fluorescein staining**

黏蛋白	眼数	难以睁眼评分(DEQS)		角膜染色评分		眼痛评分(OSDI)		视物模糊评分(DEQS)		MUC4		泪液分泌量	
		$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$
MUC1	31	0.275	0.035	-0.331	0.006	-0.308	0.092	0.141	0.451	-0.189	0.818	-0.437	0.016
MUC4	30	-0.166	0.381	-0.006	0.976	0.371	0.044	-0.093	0.624	—	—	-0.037	0.849
MUC16	31	0.323	0.076	0.122	0.514	0.258	0.162	-0.359	0.047	0.455	0.012	-0.068	0.722

注:(Spearman 秩相关分析) MUC:黏蛋白;OSDI:眼表疾病指数数量表;DEQS:干眼相关生活质量评分问卷

Note:(Spearman correlation analysis) MUC:mucin;OSDI:Ocular Surface Disease Index;DEQS:Dry Eye-Related Quality-of-Life Score Questionnaire

**表 4 角膜染色阴性患者黏蛋白表达与症状体征评分的相关性**  
**Table 4 Correlation between expression levels of conjunctival mucins and symptoms, signs in dry eye patients with negative corneal fluorescein staining**

黏蛋白	眼数	VDT时间(h/周)		晨起分泌物评分(中国干眼问卷)		干燥感评分(中国干眼问卷)		阅读时症状加重评分(OSDI)		影响开夜车程度评分(OSDI)		影响电脑工作程度评分(OSDI)		影响看电视程度评分(OSDI)		MUC16	
		$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$	$r_s$	$P$
MUC1	38	0.622	0.003	-0.498	0.001	-0.084	0.616	0.079	0.664	-0.012	0.963	0.093	0.631	-0.087	0.624	0.635	0.0001
MUC4	38	-0.026	0.914	-0.119	0.478	-0.393	0.015	-0.244	0.172	-0.276	0.268	-0.28	0.141	-0.153	0.388	0.128	0.445
MUC16	34	0.235	0.319	-0.219	0.187	-0.273	0.098	-0.370	0.034	-0.558	0.016	-0.498	0.006	-0.515	0.002	—	—

注:(Spearman 秩相关分析) MUC:黏蛋白;VDT:视频播放终端;OSDI:眼表疾病指数数量表

Note:(Spearman correlation analysis) MUC:mucin;VDT:video display terminal;OSDI:Ocular Surface Disease Index;DEQS:Dry Eye-Related Quality-of-Life Score Questionnaire

时症状加重评分、影响开夜车程度评分、影响计算机工作程度评分、影响看电视程度评分均呈负相关( $r_s = -0.370, P = 0.034; r_s = -0.558, P = 0.016; r_s = -0.498, P = 0.006; r_s = -0.515, P = 0.002$ )(表4)。

**2.5 不同程度症状体征组干眼患者结膜 MUC1、MUC4、MUC5AC 及 MUC16 mRNA 相对表达量比较**

症状体征较轻的患者 MUC1、MUC4 及 MUC16 mRNA 相对表达量均较正常对照组升高,差异有统计学意义( $Z = 245, P < 0.001; Z = 342, P = 0.009; Z = 366, P = 0.022$ ), MUC5AC mRNA 相对表达量较正常对照组降低,差异有统计学意义( $Z = 106, P = 0.015$ );症状重体征轻的患者 MUC1 mRNA 相对表达量较正常对照组升高,差异有统计学意义( $Z = 112, P = 0.039$ )。症状轻体征重和症状重体征重者 MUC16 mRNA 相对表达量均较正常对照组升高,差异有统计学意义( $Z = 236, P = 0.010; Z = 80, P = 0.004$ ), MUC1、MUC4

及 MUC5AC mRNA 相对表达量与正常对照组比较差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )(表5~8)。

**表 5 不同程度症状体征组结膜中 MUC1 mRNA 相对表达量比较 [ $M(Q_1, Q_3)$ ]**  
**Table 5 Comparison of relative expression of MUC1 mRNA in conjunctiva among groups with different degrees of symptoms and signs [ $M(Q_1, Q_3)$ ]**

组别	眼数	MUC1 mRNA 相对表达量
正常对照组	39	1.52(0.55, 2.01)
干眼组症状轻体征轻	28	4.47(2.01, 6.57) <sup>a</sup>
干眼组症状重体征轻	10	5.02(0.67, 8.70) <sup>a</sup>
干眼组症状轻体征重	21	1.81(0.001, 3.81)
干眼组症状重体征重	10	2.11(0.01, 4.75)
H 值		18.49
P 值		0.001

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ (Kruskal-Wallis H 检验, Nemenyi 检验) MUC1:黏蛋白 1

Note: Compared with normal control group, <sup>a</sup> $P < 0.05$  (Kruskal-Wallis H test, Nemenyi test) MUC1:mucin 1

**表 6 不同程度症状体征组结膜中 MUC4 mRNA 相对表达量比较 [M(Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>)]**

**Table 6 Comparison of relative expression of MUC4 mRNA in conjunctiva among groups with different degrees of symptoms and signs [M(Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>)]**

组别	眼数	MUC4 mRNA 相对表达量
正常对照组	39	2.72(1.36, 3.08)
干眼组症状体征轻	28	6.29(3.05, 9.27) <sup>a</sup>
干眼组症状体征重	10	2.51(1.09, 4.08)
干眼组症状体征重	21	2.49(0.92, 4.38)
干眼组症状体征重	9	2.85(0.53, 3.09)
H 值		8.07
P 值		0.089

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup>P<0.05( Kruskal-Wallis H 检验, Nemenyi 检验) MUC4:黏蛋白 4

Note: Compared with normal control group,<sup>a</sup>P<0.05 ( Kruskal-Wallis H test, Nemenyi test) MUC4: mucin 4

**表 7 不同程度症状体征组结膜中 MUC5AC mRNA 相对表达量比较 [M(Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>)]**

**Table 7 Comparison of relative expression of MUC5AC mRNA in conjunctiva among groups with different degrees of symptoms and signs [M(Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>)]**

组别	眼数	MUC5AC mRNA 相对表达量
正常对照组	26	2.76(0.07, 2.33)
干眼组症状体征轻	15	0.25(0.01, 0.51) <sup>a</sup>
干眼组症状体征重	3	5.35(0.001, 9.67)
干眼组症状体征重	15	3.40(0.02, 5.93)
干眼组症状体征重	7	0.87(0.06, 0.95)
H 值		6.26
P 值		0.181

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup>P<0.05( Kruskal-Wallis H 检验, Nemenyi 检验) MUC5AC:黏蛋白 5AC

Note: Compared with normal control group,<sup>a</sup>P<0.05 ( Kruskal-Wallis H test, Nemenyi test) MUC5AC: mucin 5AC

**表 8 不同程度症状体征组结膜中 MUC16 mRNA 相对表达量比较 [M(Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>)]**

**Table 8 Comparison of relative expression of MUC16 mRNA in conjunctiva among groups with different degrees of symptoms and signs [M(Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>)]**

组别	眼数	MUC16 mRNA 相对表达量
正常对照组	38	1.29(0.54, 1.97)
干眼组症状体征轻	27	2.19(0.91, 3.75) <sup>a</sup>
干眼组症状体征重	10	1.86(0.97, 2.76)
干眼组症状体征重	21	2.61(0.98, 3.91) <sup>a</sup>
干眼组症状体征重	10	3.21(1.57, 5.15) <sup>a</sup>
H 值		11.65
P 值		0.02

注:与正常对照组比较,<sup>a</sup>P<0.05( Kruskal-Wallis H 检验, Nemenyi 检验) MUC16:黏蛋白 16

Note: Compared with normal control group,<sup>a</sup>P<0.05 ( Kruskal-Wallis H test, Nemenyi test) MUC16: mucin 16

### 3 讨论

研究表明,干眼的病理改变伴随着眼表黏蛋白的改变<sup>[14]</sup>。本研究结果显示,与正常人相比,干眼患者眼表跨膜黏蛋白 MUC1 和 MUC16 mRNA 表达水平升高,并且 MUC1 mRNA 表达水平与 TBUT、角膜染色评分显著相关。研究表明,跨膜黏蛋白具有润滑、抗炎、抗菌以及亲水作用<sup>[18]</sup>。有研究报道炎症介质释放可促进 MUC1 表达升高,MUC1 表达上调可通过抑制 Toll 样受体通路而抑制炎症,并且 MUC1 和 MUC16 通过抑制白细胞介素 6、白细胞介素 8 及肿瘤坏死因子  $\alpha$  来调节眼表炎症<sup>[19-21]</sup>。本研究入组患者主要以轻中度干眼患者为主,我们推测干眼早期阶段,其结膜上皮细胞功能尚完好,眼表微环境还未完全失衡,机体受到干眼刺激及引起的轻微炎症而处于应激状态,结膜上皮细胞可能应激过表达黏蛋白用于抵抗眼表刺激和早期炎症<sup>[11,18]</sup>。

跨膜黏蛋白在干眼中的变化情况一直未明确,其结果差异较大。其中一个主要原因是这些研究中患者入组标准不完全相同,一些研究纳入了有全身因素(如干燥综合征)的患者<sup>[12]</sup>,而一些研究同时纳入首诊和复诊干眼患者<sup>[11]</sup>。由于入组条件不一致,其可比性较差。应用治疗干眼药物可影响患者黏蛋白表达<sup>[22]</sup>。因而只有纳入未影响眼表的全身性疾病、未进行过眼表药物治疗的患者才能反映患者黏蛋白表达的真实情况。本研究是目前首次研究无全身性疾病首诊干眼患者的结膜黏蛋白表达情况,能更清晰地反映干眼原始的病理改变情况。

MUC1 是最小的黏蛋白,但其具有许多功能,MUC1 有利于黏蛋白层的分布,并且被认为是黏膜细胞表面形成黏膜屏障的关键黏蛋白,失去 MUC1 的黏膜上皮易受病原微生物感染<sup>[23]</sup>及增加染料渗透。另有报道称,MUC1 缺失的小鼠结膜炎和睑缘炎的发生率更高<sup>[24]</sup>。因此,MUC1 对维持眼表正常微环境具有重要作用。本研究中通过 Spearman 秩相关分析发现,MUC1 的表达与 TBUT 呈正相关,与角膜及结膜染色评分呈负相关,说明 MUC1 表达影响干眼体征的严重程度。

MUC16 是位于角膜和结膜上皮细胞顶端膜上的跨膜黏蛋白,在抗菌、维持角膜屏障功能和信号转导等方面起着重要作用<sup>[25]</sup>。一些研究发现在干眼患者中 MUC16 表达增加<sup>[11,13]</sup>。MUC16 上调被认为是眼表上皮细胞处于应激状态时释放的保护性信号<sup>[26]</sup>。本研究发现干眼患者结膜组织中 MUC16 表达增加。

Spearman 秩相关分析发现, MUC16 表达与干眼患者生活质量相关, 反应了 MUC16 具有保护性作用。

本研究还存在一些不足: 首先, 所检测的 MUC5AC 相对表达量较低, 甚至部分样本测不出 MUC5AC 序列, 考虑与样本收集后未及时冷冻而造成部分 RNA 降解有关。其次, 首诊干眼患者多数以轻中度干眼为主, 极少数为重度干眼患者, 因此重度干眼患者数量较少, 可能存在偏倚, 仍需增大样本量进一步研究。此外, 由于条件不足, 印迹细胞采集无法满足实验室蛋白检测所需的样本浓度, 因此未检测干眼患者黏蛋白的蛋白水平, 同时在基因层面仅选择最常研究的 4 种黏蛋白作为研究对象。而随着泪液蛋白质检测手段的不断更新, 泪液蛋白质组学的检测方式将为我们提供更加全面的蛋白层面的分析<sup>[27]</sup>, 这将是今后进一步的研究工作。

综上所述, 首诊干眼患者结膜黏蛋白 MUC1 和 MUC16 表达增加, 其中 MUC1 表达与患者干眼体征相关, MUC16 表达与患者的生活质量相关。

**利益冲突** 资金提供者与 ADES/主要研究者/协助研究者在计划、实施和报告研究方面的关系不影响研究结果及其解读。参与者的权益可得到保障

**作者贡献声明** 刘祖国、邓应平、孙旭光: 参与选题、研究设计和研究标准化制定、数据分析结果的审核、论文智力性内容的修改及定稿; 欧阳维杰: 参与研究实施、数据采集及分析、论文撰写及修改; 李青松、黄彩虹、林祥、朱莉: 参与研究实施、参数测量、数据采集及分析、论文修改  
**志谢** 感谢日本参天株式会社对本研究提供资金支持

## 参考文献

- [1] Craig JP, Nichols KK, Akpek EK, et al. TFOS DEWS II definition and classification report [J]. *Ocul Surf*, 2017, 15 (3) : 276-283. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.05.008.
- [2] Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, et al. TFOS DEWS II pathophysiology report [J]. *Ocul Surf*, 2017, 15 (3) : 438-510. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.05.011.
- [3] Zhang X, M VJ, Qu Y, et al. Dry eye management: targeting the ocular surface microenvironment [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18 (7) : 1398 [2022-05-16]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28661456>. DOI: 10.3390/ijms18071398.
- [4] 洪晶. 密切关注眼表黏蛋白研究及其在干眼诊疗中的意义 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2020, 38 (11) : 910-915. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200715-00499.  
Hong J. Paying close attention to advanced researches of ocular surface mucin and significance in the diagnosis and management of dry eye [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2020, 38 (11) : 910-915. DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20200715-00499.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] Moore JE, Vasey GT, Dartt DA, et al. Effect of tear hyperosmolarity and signs of clinical ocular surface pathology upon conjunctival goblet cell function in the human ocular surface [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (9) : 6174-6180. DOI: 10.1167/iovs.10-7022.
- [8] 邹新蓉, 陆丽娜, 徐艺, 等. 2 型糖尿病患者与正常人泪液学检测及泪膜功能比较 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2019, 37 (10) : 814-819. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.009.

- Zou XR, Lu LN, Xu Y, et al. Comparison of tear index and tear film function between type 2 diabetic patients and normal subjects [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2019, 37 (10) : 814-819. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2019.10.009.
- [9] Shimazaki-Den S, Dogru M, Higa K, et al. Symptoms, visual function, and mucin expression of eyes with tear film instability [J]. *Cornea*, 2013, 32 (9) : 1211-1218. DOI: 10.1097/ICO.0b013e318295a2a5.
- [10] Corrales RM, Narayanan S, Fernández I, et al. Ocular mucin gene expression levels as biomarkers for the diagnosis of dry eye syndrome [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52 (11) : 8363-8369. DOI: 10.1167/iovs.11-7655.
- [11] Gipson IK, Spurr-Michaud SJ, Senchyna M, et al. Comparison of mucin levels at the ocular surface of postmenopausal women with and without a history of dry eye [J]. *Cornea*, 2011, 30 (12) : 1346-1352. DOI: 10.1097/ICO.0b013e31820d852a.
- [12] Caffery B, Heynen ML, Joyce E, et al. MUC1 expression in Sjogren's syndrome, KCS, and control subjects [J]. *Mol Vis*, 2010, 16 : 1720-1727.
- [13] Caffery B, Joyce E, Heynen ML, et al. MUC16 expression in Sjogren's syndrome, KCS, and control subjects [J]. *Mol Vis*, 2008, 14 : 2547-2555.
- [14] Willcox M, Argüeso P, Georgiev GA, et al. TFOS DEWS II tear film report [J]. *Ocul Surf*, 2017, 15 (3) : 366-403. DOI: 10.1016/j.jtos.2017.03.006.
- [15] Lemp MA. Report of the National Eye Institute/Industry workshop on clinical trials in dry eyes [J]. *CLAO J*, 1995, 21 (4) : 221-232.
- [16] van Bijsterveld OP. Diagnostic tests in the Sicca syndrome [J]. *Arch Ophthalmol*, 1969, 82 (1) : 10-14. DOI: 10.1001/archophth.1969.00990020012003.
- [17] The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007) [J]. *Ocul Surf*, 2007, 5 (2) : 93-107. DOI: 10.1016/s1542-0124(12)70082-4.
- [18] Uchino Y. The ocular surface glycocalyx and its alteration in dry eye disease: a review [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2018, 59 (14) : DES157-DES162. DOI: 10.1167/iovs.17-23756.
- [19] Kato K, Lillehoj EP, Lu W, et al. MUC1: the first respiratory mucin with an anti-inflammatory function [J/OL]. *J Clin Med*, 2017, 6 (12) : 110 [2022-06-06]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29186029>. DOI: 10.3390/jcm6120110.
- [20] Albertsmeier AC, Kakkassery V, Spurr-Michaud S, et al. Effect of pro-inflammatory mediators on membrane-associated mucins expressed by human ocular surface epithelial cells [J]. *Exp Eye Res*, 2010, 90 (3) : 444-451. DOI: 10.1016/j.exer.2009.12.009.
- [21] Menon BB, Kaiser-Marko C, Spurr-Michaud S, et al. Suppression of Toll-like receptor-mediated innate immune responses at the ocular surface by the membrane-associated mucins MUC1 and MUC16 [J]. *Mucosal Immunol*, 2015, 8 (5) : 1000-1008. DOI: 10.1038/mi.2014.127.
- [22] Kim JR, Oh TH, Kim HS. Effects of benzalkonium chloride on the ocular surface of the rabbit [J]. *Jpn J Ophthalmol*, 2011, 55 (3) : 283-293. DOI: 10.1007/s10384-011-0008-4.
- [23] McAuley JL, Linden SK, Png CW, et al. MUC1 cell surface mucin is a critical element of the mucosal barrier to infection [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117 (8) : 2313-2324. DOI: 10.1172/JCI26705.
- [24] Kardon R, Price RE, Julian J, et al. Bacterial conjunctivitis in Muc1 null mice [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1999, 40 (7) : 1328-1335.
- [25] Perez BH, Gipson IK. Focus on molecules: human mucin MUC16 [J]. *Exp Eye Res*, 2008, 87 (5) : 400-401. DOI: 10.1016/j.exer.2007.12.008.
- [26] Yazu H, Kozuki N, Dogru M, et al. The effect of long-term use of an eyewash solution on the ocular surface mucin layer [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (20) : 5078 [2022-06-12]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31614909>. DOI: 10.3390/ijms20205078.
- [27] Zhou Lei, 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: 2022-08-03 修回日期: 2023-04-06)

(本文编辑: 尹卫靖 张宇)