



实验性干眼大鼠的角结膜上皮组织学改变

张慧芹^{1,2}, 李颖¹, 许永根¹

(1. 北京大学第三医院眼科中心, 北京 10091; 2. 沧州市中心医院眼一科, 沧州 061000)

【摘要】目的 建立大鼠干眼模型并进行评价, 比较正常大鼠和干眼大鼠角结膜上皮组织形态学特点。**方法** 采用苯扎氯铵滴眼诱导大鼠出现干眼, 麻醉后处死动物, 取正常大鼠和干眼大鼠角结膜组织行 HE 染色, 及电镜下观察大鼠角结膜超微结构。**结果** 干眼大鼠角膜上皮和结膜上皮出现上皮细胞缺失, 结膜上皮杯状细胞减少, 电镜下观察干眼大鼠角膜结膜上皮细胞微绒毛缺失, 断裂, 出现基底膜溶解, 细胞内线粒体溶解。**结论** 苯扎氯铵诱导的大鼠干眼模型与人干眼发生后角膜结膜发生的改变相似, 此干眼模型在动物实验研究中具有重要的参考价值。

【关键词】 干眼, 苯扎氯铵, 上皮细胞, 超微结构

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2016) 12-0045-06

doi: 10.3969.j.issn.1671-7856.2016.12.009

Morphological changes of corneal and conjunctival epithelia in a rat model of dry eye

ZHANG Hui-qin^{1,2}, LI Ying¹, XU Yong-gen¹

(1. Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China;
2. The First of the Department of Ophthalmology, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou 061000)

【Abstract】 Objective To evaluate the rat model of dry eye induced by topical administration of benzalkonium chloride and compare the morphological characteristics of corneal and conjunctival tissues of the normal and model rats. **Methods** Topical administration of benzalkonium chloride (0.3%) twice per day for seven days to induce the rat model of dry eye. Pathology with HE and periodic acid-Schiff staining and transmission electron microscopy were performed to evaluate the corneal and conjunctival changes. **Results** The corneal and conjunctival epithelial cells were sloughed off, the number of goblet cells was decreased in the dry eye model. Microvilli were obviously lost in the surface epithelial cells of the dry eye rat cornea and conjunctiva compared with the normal rats, as indicated by the amount and size of microvilli. **Conclusions** The changes in the corneal and conjunctival epithelia of BAC-induced rat dry eye are similar to the changes in human dry eye. This rat model may play an essential role for dry eye studies in the future.

【Key words】 Dry eye; Benzalkonium chloride; Epithelial cells; Cornea; Conjunctive; Pathology; Ultrastructure; Rat

干眼是一种多因素造成的眼表及泪液异常的疾病, 可导致眼部不适和视力下降, 破坏泪膜稳定性进而造成眼表的损害, 并伴有泪液渗透压升高和眼表炎症反应^[1]。动物模型是进行临床研究和基

[作者简介] 张慧芹(1988-), 女, 硕士生, 研究方向: 眼表损伤、修复。E-mail: zhanghuiqinzjk@163.com。

[通讯作者] 许永根(1966-), 男, 研究方向: 角膜病, 白内障眼表损伤、修复。Email: edman1029@aliyun.com。

基础研究的重要载体,直接影响实验结果的准确性,根据不同的发病机制建立合适的动物模型是进行实验研究的基础。目前通常根据干眼发病的假定原因建立干眼动物模型,如维生素 A 缺乏、药物作用、改变动物性激素水平、手术摘除泪腺等^[2,3],研究干眼的发病机制和治疗方法。

苯扎氯铵是滴眼液中最常用的防腐剂^[4],它可破坏泪膜,损伤角、结膜上皮和细胞间连接蛋白,损伤杯状细胞分泌功能,诱发眼表炎症等^[3]。苯扎氯铵制造干眼模型对干眼的发病因素不能进行准确的单因素模仿,但苯扎氯铵作用的复杂性可用于解释泪膜异常进而导致干眼的重要机制。苯扎氯铵诱导的大鼠干眼模型,临床表现及病理变化类似人干眼的发生过程且模型稳定。因此,我们采用了苯扎氯铵诱导大鼠干眼模型。

本研究拟通过苯扎氯铵诱导干眼建立泪膜异常型大鼠干眼模型,进而对其发生的病理学改变进行观察,分析该方法作为干眼研究动物模型的科学性,为应用此模型探讨泪膜稳定性与干眼发生机制的关系提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物:6 周龄 SPF 级 SD 雄性大鼠 20 只,无眼部疾病,体重(220 ± 5)g,均购于北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2011-0012],饲养于北京大学医学部实验动物科学部[SYXK(京)2011-0039]。本实验中实验动物的喂养和使用遵循国家科学技术部颁布的《实验动物管理条例》。按照实验动物使用的“3R”原则给与人道关怀。实验前适应性饲养 1 周,自由摄取食水。

1.1.2 药品与试剂:苯扎氯铵(美国 Sigma 公司),泪液试纸条(天津晶明医用器材公司);荧光素钠试纸(天津晶明医用器材公司),HE 染料(美国 Sigma 公司),PAS 染料(北京天合利恩化学试剂公司)。

1.1.3 主要仪器:体式显微镜(德国 Leica 公司);光学显微镜(日本 Nikon 公司);JEM-1400 透射电子电镜(北京交通大学提供);裂隙灯显微镜眼前节照相系统(日本 Topcon 公司)

1.2 方法

1.2.1 苯扎氯铵诱导大鼠干眼模型的建立:使用 0.3% 苯扎氯铵滴至 SD 大鼠左眼^[3], $5 \mu\text{L}/\text{次}$,3 次/d,连续 7 d。右眼不做任何处理,作为正常对照。

1.2.2 大鼠干眼临床评估:正常大鼠在实验开始前腹腔注射麻醉后进行泪膜破裂时间(BUT),Schirmer 实验 I(Schirmer I test,SI_t),角膜荧光素钠染色检查,裂隙灯显微镜观察大鼠眼表。在滴加苯扎氯铵 7 d 后再次行左眼 BUT,SI_t,角膜荧光素钠染色评分。所有检查由同一个人完成。检查前将泪液试纸条修剪成 $1 \text{ mm} \times 35 \text{ mm}$ 大小,大鼠腹腔注射盐酸氯胺酮和盐酸赛拉嗪混合液($1.5 \text{ mL}/\text{kg}$ 体重)。全身麻醉后,将滤纸头端折叠 2.5 mm ,置于下眼睑结膜囊内侧 $1/3$ 处,其余部分悬垂于皮肤表面,闭合大鼠眼睛,5 min 后测量滤纸被渗湿的长度(不包括反折处)^[5]。将 $3 \mu\text{L}$ 的 1% 的荧光素钠滴至结膜囊,使大鼠眼睛闭合,在裂隙灯显微镜(Topcon, Japan, PS-75E)钴蓝光下观察,3 次瞬目后,以最后一次瞬目至角膜出现第一个黑斑的时间为 BUT,观察 3 次取平均值。角膜荧光素钠染色评分:结膜囊内滴入荧光素钠 2 min 后,在裂隙灯显微镜钴蓝光下进行角膜上皮荧光素钠染色分级。角膜平均分成 4 个象限,各自评分,然后相加。评分标准^[6]:无染色,0 分。点状染色少于 30 个,1 分。多于 30 个但不弥散,2 分。弥散染色但无斑块状染色,3 分。斑块状染色,4 分。将 20 只大鼠的各项指标进行统计学分析,选出指标在均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)范围内最接近指标均值的大鼠进入后续实验,采用随机数字表法进行分组。

1.2.3 取材:临床指标检测后,安乐死处死动物。各组随机选取 3 只,立即摘除眼球,快速分离角膜,结膜,4% 多聚甲醛或 2.5% 戊二醛固定,备用。

1.2.4 组织病理学检查:处死动物后立即摘除眼球,体积分数 4% 多聚甲醛固定,梯度酒精脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、 $5 \mu\text{m}$ 厚切片、行苏木精-伊红染色或高碘酸-希夫试剂染色、封片,显微镜观察。

1.2.5 透射电镜检查:处死动物后立即摘除眼球,2.5% 戊二醛固定 2 h,1% 锇酸固定,梯度酒精脱水,树脂包埋,超薄切片,JEM-1400 电镜观察。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行统计分析 本研究检测指标的数据资料经 w 检验呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用完全随机分组实验设计,单因素干预多水平实验设计,正常对照组、干眼模型组泪液分泌量,BUT 和角膜荧光素钠染色评分总体差异比较采用单因素方差分析。采用双尾检测法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析

对 20 只大鼠的各项临床指标进行统计学分析,将各项临床指标在 $\bar{x} \pm s$ 范围内的大鼠共 16 只入选造模实验,随机分为两组:正常组和模型组。将模型组大鼠的各项临床指标在 $\bar{x} \pm s$ 范围内的大鼠进行后续的数据分析。

2.2 大鼠干眼相关检测指标

正常大鼠泪膜破裂时间 > 10 s,苯扎氯铵造模后泪膜破裂时间明显缩短。裂隙灯显微镜下观察正常大鼠,角、结膜光滑,角膜无水肿,结膜无充血,角膜荧光素钠染色呈阴性。造模后,出现角膜水肿结膜充血,角膜荧光素钠染色阳性。正常大鼠泪液分泌量 > 4.5 mm,苯扎氯铵诱导干眼后明显缩短,泪液分泌量减少。两组大鼠干眼相关检测指标差异有统计学意义($P < 0.05$) (图 1,2)。

2.3 HE 染色结果分析

光镜下观察角、结膜组织结构。正常角膜由 2~3 层鳞状上皮细胞,排列整齐均匀;上皮光滑完整,无水肿及炎症细胞浸润。结膜由 2~7 层非角化鳞状柱状上皮细胞组成,形态规则完整细胞排列紧密,可见散在分布的杯状细胞,上皮表面平滑。模型组:角膜结膜上皮出现缺损,可见细胞浸润,角膜结膜上皮细胞形态异常,排列紊乱,结膜上皮杯状细胞明显减少,分布稀疏。角膜基质层水肿,结膜固有层可见炎性细胞浸润(图 3)。

2.4 结膜 PAS 染色

正常结膜组织可见较多的散在杯状细胞,细胞形态饱满,呈开口向外的杯状, PAS 染色阳性,绛红色,每组取 6 张不同等分位置的切片分别计数,取其平均值为该眼的杯状细胞数量。正常组大鼠结膜杯状细胞的数量为 (84 ± 10.57) 个,模型建立后杯状细胞的数量下降为 (48 ± 16.92) 个,两组相比差异有统计学意义($P < 0.05$) (图 4)。

2.5 透射显微镜观察超微结构改变

透射显微镜观察角结膜上皮超微结构,正常上皮表层细胞微绒毛丰富,呈指状突起,经过苯扎氯铵作用后,上皮细胞的微绒毛和微皱襞肿胀,融合、卷曲断裂、脱落,干眼大鼠角膜结膜浅表 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。干眼大鼠角结膜上皮浅层部分桥粒连接分离,细胞间连接断裂,角膜基底细胞间

桥粒及半桥粒连接明显异常。上皮细胞内线粒体出现空泡,溶解。正常大鼠结膜杯状细胞形态饱满,功能正常,干眼发生后整个结膜上皮结膜杯状细胞几乎消失(图 5,6)。

3 讨论

干眼是眼科常见的疾病之一,为了便于对干眼的研究,目前干眼研究领域有多种建立干眼动物模型的方法。苯扎氯铵可以破坏眼表上皮细胞的紧密连接^[7,8],损害角膜上皮细胞的功能^[9,10],进而影响角膜泪膜稳定性,从而使眼表平衡状态异常^[9,11,12]。苯扎氯铵还可以造成结膜上鳞状化生,结膜基质层炎细胞浸润,细胞凋亡^[9,10,13],使杯状细胞数量减少^[14-16],这些病理改变类似干眼发生的晚期病理改变。近年来的干眼研究通常采用苯扎氯铵滴眼诱导干眼模型的建立^[3]。在本实验苯扎氯铵诱导的干眼模型中,干眼相关临床评估指标 BUT, SIt, 角膜荧光素钠染色评分异常,组织病理检查发现角、结膜上皮层数均有不同程度减少,细胞肿胀,形态变异,部分结膜杯状细胞丢失、破坏,很好地模拟了干眼引起的眼表组织病理生理改变,说明此方法可以成功建立干眼模型同时模拟干眼发生后眼表的生理病理改变。实验过程中选用了大鼠作为实验动物,由于虽然兔眼球体积大,性格温顺,可直接观察到荧光素染色、虎红染色、Schiemer 试验等各项泪液学指标的变化,是常用的干眼动物模型之一,但是兔的泪腺非常发达,杯状细胞密度高,加之有第三眼睑(相当于一个软性接触镜)的存在,增加了兔干眼模型制作的难度。所以本研究采

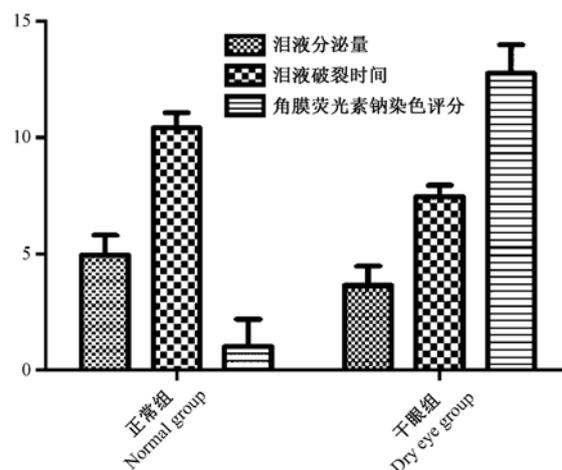
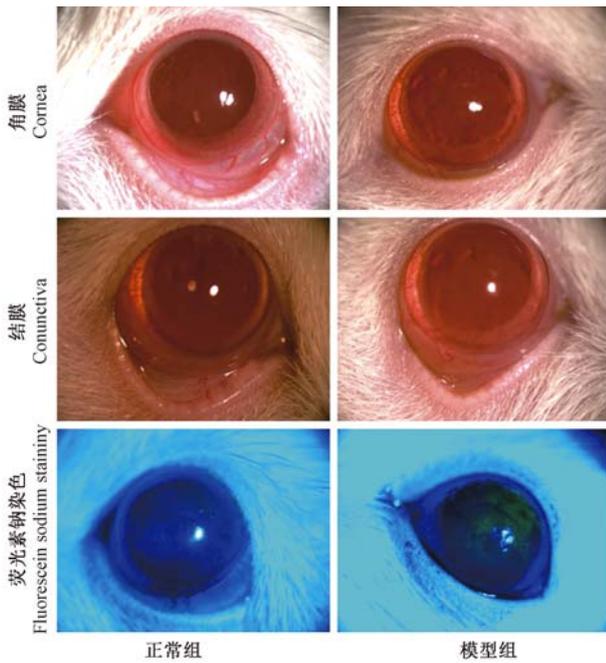


图 1 大鼠干眼相关检测指标
Fig. 1 Related indicators of rat dry eye



注,正常大鼠角膜光滑透明,结膜光滑无充血,角膜荧光素钠染色阴性干眼大鼠角膜不光滑,上皮水肿,结膜充血明显,角膜荧光素钠染色阳性

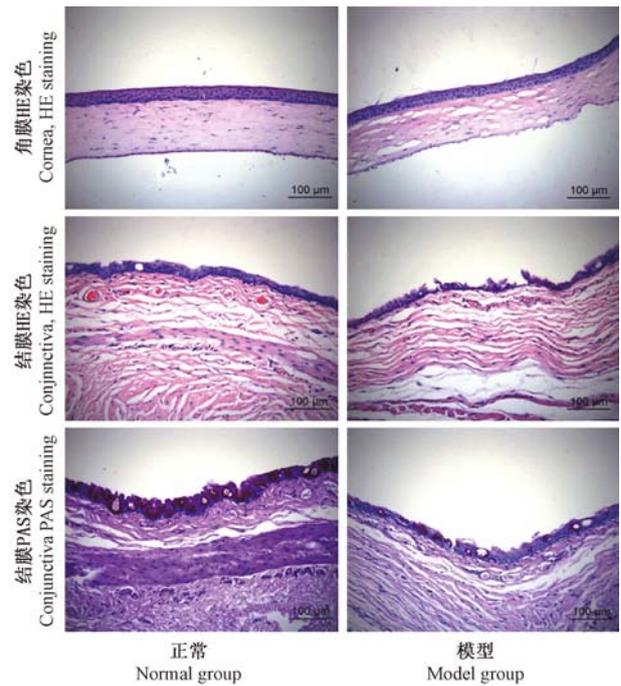
图2 眼表裂隙灯显微镜

Note. In normal eyes, the cornea is smooth and transparent, and no abnormal fluorescein staining was detected. In the model eyes, the cornea had oedema and hyperemia, and a diffuse fluorescein staining was observed.

Fig.2 Slit-lamp photographs of the ocular surface

用苯扎氯铵滴眼液诱导大鼠干眼模型来观察干眼发生后眼表组织出现的组织病理学改变尤其是超微结构发生改变。

眼表面覆盖一层泪膜,正常稳定的泪膜是维持眼表上皮正常结构功能的基础,而眼表上皮细胞(包括杯状细胞及非杯状细胞)分泌的黏蛋白又是泪膜的主体结构^[17],眼表上皮细胞的正常结构是泪膜附着的基础,完整的眼表上皮结构有利于泪膜稳定性和张力的维持^[18]。因此眼表上皮细胞和泪膜之间相互影响相互依赖,任何一方异常均可导致眼表功能异常。角、结膜上皮细胞的微绒毛结构是泪膜得以涂布于眼表的必需亚细胞结构。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种成分的黏附^[19],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^[20]。这些黏蛋白均为疏水性黏蛋白,正常情况下,可锚定结合在角膜结膜上皮微绒毛上,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

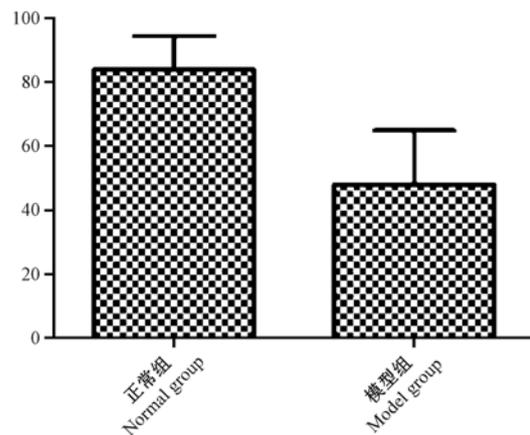


注:正常大鼠角膜上皮细胞排列整齐,结膜复层鳞状上皮,结膜杯状细胞散在分布模型组大鼠角膜上皮层有明显缺损,结膜上皮缺损,排列紊乱,结膜杯状细胞明显减少

图3 角膜结膜组织病理学检查(×200)

In the normal rat, there were three to five layers of corneal epithelial cells and stroma with regular collagen fibrils. The conjunctiva is composed of one cuboidal basal layer and three to four layers of epithelial cells with numerous interspersed goblet cells. In the dry eye rat, the corneal epithelium became thinner than normal, and the conjunctival epithelium became thinner. There was obvious loss of goblet cells in the cuboidal basal layer of cornea.

Fig.3 Histological examination of the rat cornea and conjunctiva. (×200)

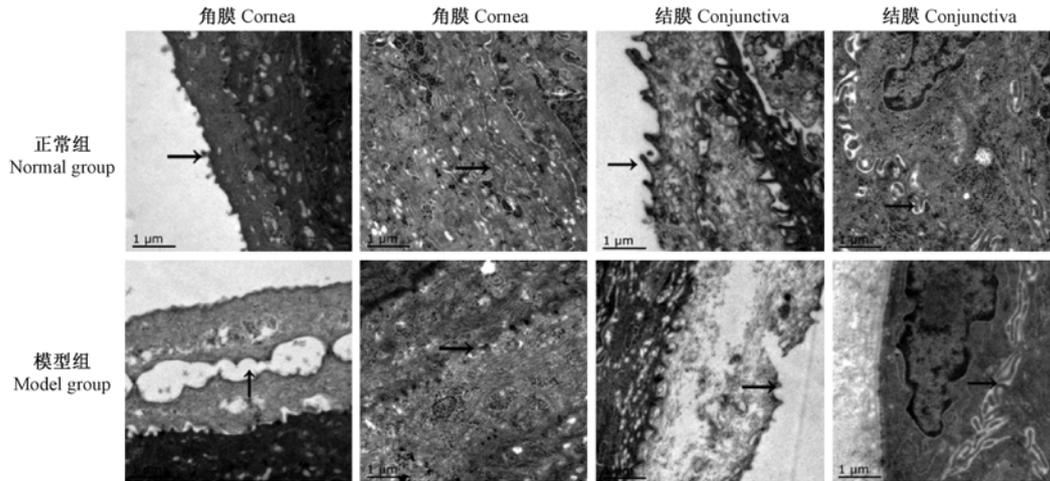


注,正常结膜杯状细胞散在分布于上皮层经苯扎氯铵刺激,结膜杯状细胞数量减少。

图4 结膜杯状细胞数量

Note. There are some goblet cells diffusely among the conjunctival epithelial cells. Once dry eye occurred, the number of goblet cells is decreased.

Fig.4 Number of goblet cells diffusely distributed in the conjunctiva

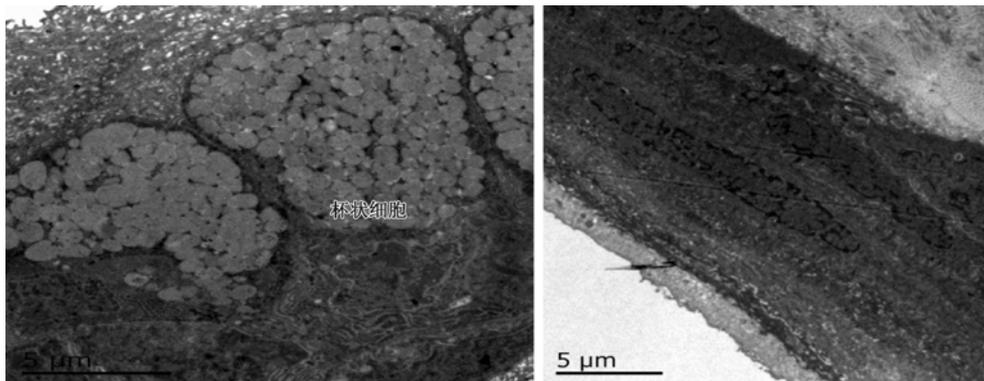


注,正常角膜和结膜上皮细胞表面有丰富的微绒毛结构(→),细胞连接紧密(→)
模型组角膜和结膜上皮细胞微绒毛消失(→),细胞连接断裂(↑),或松散(→)

图5 角膜结膜上皮细胞显微结构

Note. In the normal group, there were many microvilli on the corneal or conjunctival epithelial cells(→), which had cell-cell junctions (→). The microvilli were sharply reduced in the cornea or conjunctiva (→) of the BAC-treated model group, and beaken (↑) or loosened (→) cell-cell junctions in the rat model group of dry eye.

Fig.5 Ultrastructural changes of the corneal or conjunctival epithelium in the rat eyes



注,正常大鼠结膜杯状细胞丰富,胞内丰富的分泌颗粒,干眼大鼠,结膜杯状细胞明显减少。

图6 结膜杯状细胞显微结构

Note. There are numerous goblet cells in the conjunctival epithelium containing secretory granules in the normal conjunctiva. The number of goblet cells is decreased in the dry eye rats.

Fig.6 Ultrastructure of the conjunctival goblet cells

性的角膜结膜上皮细胞与亲水性的泪膜水样层联系起来^[18]。膜结合型黏蛋白形成的多糖蛋白质复合物是防御致病微生物的屏障,它的湿润性使覆盖的泪膜保持稳定;在眼表上皮变性或脱屑引起表面不润滑时,泪液中的跨膜黏蛋白可以嵌入眼表面的间隙,从而保持了泪膜的稳定性^[21]。角膜上皮细胞微绒毛与其上面的膜结合型黏蛋白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^[22]。

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。上皮细胞的微绒毛结构异常时,黏蛋白将不能涂布在眼表,不能紧紧铆钉于上皮细胞表面。当眼表上皮细胞及杯状细胞受损时,泪膜中的黏蛋白将会出现质或量的异常。黏蛋白质或量的异常导致泪膜异常^[23],进而发生干眼,泪膜破裂时间缩短,导致炎症发生,进一步造成眼表上皮细胞结构功能的受损,进而泪膜异常加剧。泪膜稳定性下降,眼表损伤加剧,形成恶性循环。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,透射电

镜中角、结膜上皮细胞微绒毛明显减少,部分细胞表面微绒毛缺失,残存微绒毛也呈短、细状;这一现象与泪膜功能密切相关。我们推测本研究中苯扎氯铵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。

综上所述,苯扎氯铵诱导的大鼠干眼模型可导致泪液分泌量的减少、泪膜稳定性下降以及角膜结膜上皮细胞形态学改变,影响眼表稳态,从而诱发干眼。然而,苯扎氯铵对眼表稳态的影响涉及多种机制,除了已证实其对角结膜细胞生长活性剂分泌功能的影响外,可能也与其引起角结膜上皮亚细胞结构改变如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] The definition and classification of dry eye disease; report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocular Surface* 2007; 5(2): 75 - 92
- [2] 肖启国,刘祖国. 干眼模型的建立方法及评价 [J]. *眼科研究* 2004; 22(4): 438 - 441.
- [3] Lin Z, Liu X, Zhou T, et al. A mouse dry eye model induced by topical administration of benzalkonium chloride [J]. *Mol Vision* 2011; 17: 257 - 264.
- [4] 刘扬,刘祖国,许传超,李等. 苯扎氯铵对人结膜上皮细胞黏蛋白 MUC1 表达的影响 [J]. *中华眼科杂志* 2010; 46(10): 62 - 66.
- [5] 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 Visual Sci* 2001, 42(1): 96 - 100.
- [6] Pauly A, Brignole-Baudouin F, Labbe A, et al. New tools for the evaluation of toxic ocular surface changes in the rat. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2007, 48(12): 5473 - 5483.
- [7] Uematsu M, Kumagami T, Kusano M, et al. Acute corneal epithelial change after instillation of benzalkonium chloride evaluated using a newly developed in vivo corneal transepithelial electric resistance measurement method [J]. *Ophthalmic Res*, 2007, 39(6): 308 - 314.
- [8] McCarey B, Edelhauser H. In vivo corneal epithelial permeability following treatment with prostaglandin analogs [correction of analoges] with or without benzalkonium chloride [J]. *J Ocular Pharmacol Therapeutics*. 2007, 23(5): 445 - 451.
- [9] Freeman PD, Kahook MY. Preservatives in topical ophthalmic medications: historical and clinical perspectives [J]. *Expert Rev Ophthalmol*. 2009, 4(1): 59 - 64.
- [10] Rosin LM, Bell NP. Preservative toxicity in glaucoma medication: clinical evaluation of benzalkonium chloride-free 0.5% timolol eye drops [J]. *Clin Ophthalmol (Auckland, N. Z.)* 2013; 7: 2131 - 2135.
- [11] Ishibashi T, Yokoi N, Kinoshita S. Comparison of the short-term effects on the human corneal surface of topical timolol maleate with and without benzalkonium chloride [J]. *J Glaucoma*, 2003, 12(6): 486 - 490.
- [12] Asbell PA, Potapova N. Effects of topical antiglaucoma medications on the ocular surface [J]. *Ocular Surface* 2005, 3(1): 27 - 40.
- [13] Stevens AM, Kestelyn PA, De Bacquer D, et al. Benzalkonium chloride induces anterior chamber inflammation in previously untreated patients with ocular hypertension as measured by flare meter: a randomized clinical trial [J]. *Acta Ophthalmol*, 2012, 90(3): e221 - 224.
- [14] Pisella PJ, Debbasch C, Hamard P, et al. Conjunctival proinflammatory and proapoptotic effects of latanoprost and preserved and unpreserved timolol: an ex vivo and in vitro study [J]. *Invest Ophthalmol Visual Sci*, 2004, 45(5): 1360 - 1368.
- [15] Walimbe T, Chelerkar V, Bhagat P, et al. Effect of benzalkonium chloride-free latanoprost ophthalmic solution on ocular surface in patients with glaucoma [J]. *Clin Ophthalmol (Auckland, N. Z.)* 2016, 10: 821 - 827.
- [16] Li C, Song Y, Luan S, et al. Research on the stability of a rabbit dry eye model induced by topical application of the preservative benzalkonium chloride [J]. *PLoS One* 2012, 7(3): e33688.
- [17] Ablamowicz AF, Nichols JJ. Ocular surface membrane-associated mucins [J]. *Ocular Surface*, 2016 14(3): 331 - 341.
- [18] 黎黎,王双梅,郑璇,等. 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 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2016, 34(2): 103 - 107
- [19] 蔡蓉蓉,张朝然. 粘蛋白与干眼症 [J]. *眼科研究*, 2008, 26(11): 877 - 880.
- [20] Schrader S, Notara M, Beaconsfield M, et al. Tissue engineering for conjunctival reconstruction: established methods and future outlooks [J]. *Curr Eye Res*, 2009, 34(11): 913 - 924.
- [21] 王时力,顾扬顺. 泪膜的结构及功能研究进展 [J]. *浙江医学* 2006, 28(12): 1053 - 1056.
- [22] 高阳,周瑾,孙晓芳. 雄激素疗法对去势雌性大鼠泪膜稳定性的改善作用 [J]. *中华实验眼科杂志* 2015, 33(7): 595 - 599.
- [23] 祁俏然,沈光林,马晓萍. 眼表黏蛋白在干眼中的研究进展 [J]. *中国临床医学* 2015, 22(5): 710 - 714.

[修回日期] 2016 - 07 - 19