

干眼细胞模型的研究进展

沈家朝^{1,2} 李元彬²

(1 滨州医学院第二临床医学院 山东 烟台 264000

2 青岛大学附属烟台毓璜顶医院 山东 烟台 264000)

【摘要】干眼模型分为动物模型和细胞模型,其构建对探究干眼疾病的病理机制和药物研发筛选非常重要。目前,国内外干眼动物模型的构造已经十分成熟,其发病机制尚不明确,且人与动物之间存在着较大的差异性,因此通过体外细胞模型的探究仍存在不足之处。干眼细胞模型实验周期较短,操作较为简单,其总结性研究较为少见。本文主要对常用于构建干眼细胞模型的造模细胞进行综述,对其在干眼疾病造模的基本原理进行概述,从而为干眼疾病在体外的研究提供一定的参考价值。

【关键词】干眼疾病;细胞模型;造模方法;研究进展

【中图分类号】R285.5

【文献标识码】B

【文章编号】1002-8714(2023)02-0296-03

干眼为多因素引起的慢性眼表疾病,是由泪液的质、量及动力学异常导致的泪膜不稳定或眼表微环境失衡,可伴有眼表炎性反应、组织损伤及神经异常,造成眼部多种不适症状和(或)视功能障碍^[1]。为了更好的研究干眼疾病的病理机制并有效的筛选治疗干眼疾病的药物,构建合适的、稳定的干眼模型十分重要。目前干眼疾病的模型主要以动物模型为主,如小鼠、大鼠、兔等,且动物模型的研究中取得了许多关键性的成果。动物模型在探究干眼疾病中具有一定的局限性,在稳定性、时效性以及药物代谢途径存在着不足。干眼细胞模型作为一种更为直接的模型,其实验周期短、操作简单、耗材剂量少,更为适合探究干眼疾病中的病理机制和药物作用机理。目前干眼细胞模型构建的研究较少,本文就其研究情况作一综述。

1 造模细胞的选择

1.1 人角膜上皮细胞

人角膜上皮细胞(human corneal epithelial cells, HCEC)位于角膜的最外层,承受着外部环境的各种变化,任何因素使外部环境改变均可刺激 HCEC 引起细胞凋亡和炎症的激活。Li L 等人^[2]研究发现梗稻提取物在

HCEC 干眼模型中可有效改善细胞活力和线粒体功能,且能够显著的降低 HCEC 中细胞活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平。Marek V 等人^[3]通过研究发现,蓝光照射下 HCEC 干眼模型中 ROS 水平显著升高且细胞活性显著下降。

HCEC 无论是在生理机制的研究中,还是在药物机理研究以及干眼药物治疗的探索中,HCEC 干眼模型都起到了至关重要的作用。同样,在 HCEC 干眼模型的构造中,因其简单获取、细胞活性强、耐受性强等优势特点已经被广泛的用于干眼细胞模型的实验研究中。

1.2 结膜上皮细胞

结膜上皮细胞在眼表中起到了至关重要的作用,其可以保护眼睛免受暴露于各种因素的刺激影响,因此其在干眼疾病的研究中也起到了至关重要的作用。Postorino E I 等人^[4]研究发现干眼患者人结膜上皮细胞中的炎性细胞、炎症因子显著增加且细胞凋亡更为严重,这都进一步说明干眼疾病对结膜上皮细胞同样产生着不利影响。Marek V 等人^[3]研究发现蓝光照射结膜上皮细胞构造的体外干眼细胞模型中细胞活力显著下降且干眼相关因子 ROS 显著升高。

结膜上皮制备的细胞干眼模型中更有助于我们更加深入的了解干眼症的病理生理学。随着人们对于干眼病理生理机制的不断探究,结膜上皮细胞在干眼模型中的应用也会趋向于成熟。

1.3 睑板腺上皮细胞

睑板腺功能障碍 (meibomian gland dysfunction, MGD) 是全世界干眼症的主要原因, 2010 年人类睑板腺上皮细胞系 (human meibomian gland epithelial cell line, HMGEC) 建立, 为干眼细胞模型的构造创建了新的方向, 同时也为 MGD 所致干眼中的病理生理机制探究提供了帮助。Jungert K 等人^[5]通过实验发现 HMGEC 存在催乳素、催乳素受体和催乳素诱导蛋白, 其与泪膜水分的产生有关, 表明 HMGEC 可以用于 MGD 干眼中的病理机制研究。

目前 HMGEC 已经广泛的用于 MGD 的病理生理机制研究中, 无论是睑板腺对泪膜的影响还是信号通路之间的作用, 其在 MGD 的探究中都发挥了关键的作用。HMGEC 的研究还在不断探究中, 但其与 MGD 干眼有关的生理机制已然成为目前的热点。

2 模型的构建方法

2.1 高渗性溶液刺激法

泪膜高渗的增加可能通过炎症级联导致角膜上皮损伤, 这是干眼疾病中常见的关键机制^[6]。Li H^[7]等人通过给予 HCEC 高渗盐溶液刺激诱导干眼细胞模型, 结果表明高渗盐溶液刺激下的 HCEC 中炎症因子显著增高, 这与动物模型中研究结果一致。Versura P 等人^[8]通过使结膜上皮细胞暴露于高渗溶液下发现其白细胞抗原表达水平显著升高, 证明了高渗溶液能够诱导人结膜上皮细胞的炎症反应。目前高渗溶液刺激诱导下的干眼细胞模型越来越趋于成熟, 其在药物筛选和机制探究中都极其重要。

2.2 苯扎氯铵溶液刺激法

苯扎氯铵溶液局部点眼是干眼动物模型中最常见的方法, 在实验性研究中, 为了保证体内外实验的一致性, 在细胞实验中也会使用苯扎氯铵溶液刺激细胞进行实验研究^[9]。Chu C 等人^[10]通过苯扎氯铵溶液刺激 HCEC 发现其自噬水平显著升高, 结果同动物实验研究一致。因此在探究体内外实验一致性的时候, 应用苯扎氯铵溶液进行诱导干眼细胞模型可以减少其他因素干扰。

2.3 空气暴露法

在动物实验中, 长时间的角结膜暴露于空气中也会产生相关炎症因子, 诱导干眼疾病的发生。Lin H 等人^[11]通过对结膜上皮细胞在 5% CO₂ 下和 95% 的空气中进行孵育, 结果表明在该环境条件下培养的人结膜上皮细胞粘蛋白模式改变、凋亡和促炎细胞因子表达上调。这种对应关系表明, 通过使用气举式结膜上皮细胞培养可能有助于深入了解干眼症的病理生理学。

2.4 蓝光照射法

干眼疾病的全球发病机制以及干眼与可见光暴露之间的关系仍不清楚。到目前为止, 蓝光对眼的有害影响已被广泛调查, 角膜和结膜是暴露在周围环境中最多的结构, 最容易受到蓝光的影响。Marek V 等人^[3]通过利用不同的蓝色光波对 HCEC 和人结膜上皮细胞进行照射, 结果发现蓝光诱导细胞死亡并改变炎症基因的表达和细胞防御系统的运作。根据干眼疾病的相关发病机制及其诱因, 利用蓝光照射诱导干眼细胞模型对今后的研究具有一定的参考价值。

2.5 过氧化氢溶液刺激

干眼疾病中氧化应激刺激导致的炎症反应目前是研究的热点。有相关研究^[12]通过利用过氧化氢溶液刺激 HCEC 模拟各种氧化应激反应下的干眼机制, 探究药物的治疗作用。这种方法可以更有目的性的探究药物对该病理机制的作用, 使得体外实验更加具有针对性, 值得进一步研究。

3 小结

综上所述,干眼疾病的病理机制研究虽尚未完全阐述清楚,但因其对人们生活质量的影响得到了研究者极大的重视。目前,干眼动物模型在干眼疾病研究中已经取得了巨大的成果,但其也具有不足之处。干眼细胞模型无论是细胞的选择还是模型的构建方法,目前都处于不断探索阶段。因此进一步的干眼细胞实验模型的完善对于干眼疾病的病理机制探究及药物研发及其关键。

参考文献

- [1] 亚洲干眼协会中国分会, 海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会眼表与泪液病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼表与干眼学组. 中国干眼专家共识:定义和分类(2020年)[J]. 中华眼科杂志, 2020,56(06):418-422.
- [2] Li L, Jin R, Li Y, et al. Effects of *Eurya japonica* extracts on human corneal epithelial cells and experimental dry eye[J]. *Exp Ther Med*, 2020,20(2):1607-1615.
- [3] Marek V, Melik-Parsadaniantz S, Villette T, et al. Blue light phototoxicity toward human corneal and conjunctival epithelial cells in basal and hyperosmolar conditions[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018,126:27-40.
- [4] Postorino E I, Aragona P, Rania L, et al. Changes in conjunctival epithelial cells after treatment with 0.2% xanthan gum eye drops in mild-moderate dry eye[J]. *Eur J Ophthalmol*, 2020,30(3):439-445.
- [5] Jungert K, Paulsen F, Jacobi C, et al. Prolactin Inducible Protein, but Not Prolactin, Is Present in Human Tears, Is Involved in Tear Film Quality, and Influences Evaporative Dry Eye Disease[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2022,9:892831.
- [6] 赵磊, 杨笑薇, 左韬, 等. 杞参方对高渗透诱导的干眼模型角膜上皮细胞保护机制的研究[J]. 中国医科大学学报, 2022,51(01):12-16.
- [7] Li H, Li J, Hou C, et al. The effect of astaxanthin on inflammation in hyperosmolarity of experimental dry eye model in vitro and in vivo[J]. *Exp Eye Res*, 2020,197:108113.
- [8] Versura P, Profazio V, Schiavi C, et al. Hyperosmolar stress upregulates HLA-DR expression in human conjunctival epithelium in dry eye patients and in vitro models[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011,52(8):5488-5496.
- [9] 刘扬, 刘祖国, 许传超, 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(01):62-66.
- [10] Chu C, Huang Y, Ru Y, et al. alpha-MSH ameliorates corneal surface dysfunction in scopolamine-induced dry eye rats and human corneal epithelial cells via enhancing EGFR expression[J]. *Exp Eye Res*, 2021,210:108685.
- [11] Lin H, Qu Y, Geng Z, et al. Air exposure induced characteristics of dry eye in conjunctival tissue culture[J]. *PLoS One*, 2014,9(1):e87368.
- [12] Lee H S, Choi J H, Cui L, et al. Anti-Inflammatory and Antioxidative Effects of *Camellia japonica* on Human Corneal Epithelial Cells and Experimental Dry Eye: In Vivo and In Vitro Study[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017,58(2):1196-1207.