

· 临床研究 ·

密蒙花颗粒剂对干眼患者泪液白细胞介素1-β 和白细胞介素18的影响※

● 刘培^{1,2} 李书楠¹ 彭俊² 曾志成^{1,3} 黄学思^{1,4} 蒋鹏飞¹ 陈向东² 彭清华^{1,2}▲

摘要 目的:观察密蒙花颗粒剂对干眼患者泪液白细胞介素-1β(Interleukin-1β, IL-1β)和白细胞介素-18(Interleukin-18, IL-18)表达的影响。方法:将70位干眼患者按随机数字表法平均分为2组,对照组以玻璃酸钠滴眼液治疗,治疗组在对照组的基础上口服密蒙花颗粒剂。治疗4周后,随访4个月,观察两组患者干眼症状评分、泪膜破裂时间(break up time, BUT)、泪液分泌试验(Schirmer I test, SIT)、角膜荧光素钠染色评分(fluorescent, FL)的情况,ELISA法检测患者泪液中IL-1β、IL-18的表达。结果:治疗组治疗后2周、4周干眼症状评分和FL较治疗前降低($P < 0.05$),SIT和BUT较治疗前升高($P < 0.05$);对照组治疗后2周、4周干眼症状评分和FL较治疗前降低($P < 0.05$),SIT和BUT较治疗前升高($P < 0.05$)。治疗组治疗后4周干眼症状评分和FL较治疗后2周降低($P < 0.05$),SIT和BUT较治疗后2周升高($P < 0.05$);对照组治疗后4周干眼症状评分和FL较治疗后2周降低($P < 0.05$),SIT和BUT较治疗后2周升高($P < 0.05$)。治疗后2周、4周两组干眼症状评分、SIT、BUT及FL相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。治疗组治疗后2周、4周泪液IL-1β和IL-18表达较治疗前降低($P < 0.05$);对照组治疗后2周、4周泪液IL-1β和IL-18表达较治疗前降低($P < 0.05$)。治疗组治疗后4周泪液IL-1β和IL-18表达较治疗后2周降低($P < 0.05$);对照组治疗后4周泪液IL-1β和IL-18表达较治疗后2周降低($P < 0.05$)。治疗后2周、4周两组泪液IL-1β和IL-18表达相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论:密蒙花颗粒剂对干眼患者泪液中IL-1β、IL-18的表达具有抑制作用,这可能是密蒙花颗粒剂治疗干眼的分子生物学机制。

关键词 密蒙花颗粒剂;干眼;泪液;白细胞介素1-β;白细胞介素18

干眼(Dry eye disease, DED)是多种致病因素共同作用的结果^[1],致病部位涉及泪液、泪腺、眼球表面等,

全球发病率较高,我国眼科门诊DED患者数量众多,就诊率在4.7%~59.1%不等,我国DED发病率有逐年增高的趋势^[2-3]。随着电子产品的普及,导致年轻人DED患病率增加,长期使用电子产品可导致瞬目减少,增加了泪腺蒸发,导致眼表面干燥,形成DED。因此国内外对DED的临床与实验研究也越来越多,对DED病机认识也逐步加深。目前认为DED与眼表及泪腺的免疫反应、炎性反应等因素关系密切,也与全身激素水平改变、泪腺细胞凋亡等因素相关。此外,角膜接触镜、隐性眼镜的使用也会增加患DED的风险。近年来,在DED的发病机制研究中,泪腺细胞炎症反应的主要炎症因子如白细胞介素-1β(Interleu-

※基金项目 国家自然科学基金面上资助项目(No.30772824; No.81574031);中医药防治五官科疾病湖南省重点实验室建设项目(No.2017TP1018);长沙市科技计划项目(No.K1501014-31; No.kc1704005);中央财政支持地方高校建设项目(2018-2019年);国家中医药管理局中医眼科学重点学科建设项目;湖南省中医五官科学重点学科建设项目;湖南省研究生科研创新项目(No.CX2018B497)

▲通讯作者 彭清华,男,教授。研究方向:中医药防治眼底病、青光眼、眼表疾病。E-mail:pqh410007@126.com

• 作者单位 1.湖南中医药大学(湖南长沙410208);2.湖南中医药大学第一附属医院(湖南长沙410007);3.湖南省桂阳县第一人民医院(湖南郴州424400);4.湖南省直中医医院(湖南株洲412008)

kin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-18 (Interleukin-18, IL-18) 受到更多的关注^[4-5]。本研究以 DED 患者为研究对象,通过观察密蒙花颗粒剂对 DED 患者干眼症状评分、泪液分泌试验 (Schirmer I test, SIT)、角膜染色评分 (fluorescent, FL)、泪膜破裂时间 (break up time, BUT)、泪液中 IL-1 β 及 IL-18 表达的影响,探讨其治疗 DED 的部分作用机制。

1 资料与方法

1.1 诊断标准^[1,3] 眼部存在干涩感、烧灼感等主观不适症状, SIT \leq 5mm/5min、BUT \leq 5s、FL 见角膜荧光着色阳性。

1.2 纳入标准 (1) 年龄 18~65 岁; (2) 符合诊断标准; (3) 未接受本研究以外的药物治疗; (4) 无药食物过敏史, 非易敏体质; (5) 自愿参加本研究; (6) 签署知情同意书。

1.3 排除标准 (1) 合并有严重基础疾病; (2) 合并有泪腺或眼表异常; (3) 有 DED 外的其它眼病者; (4) 合并眼睑闭合异常者; (5) 近 3 个月内行眼部手术者; (6) 妊娠或哺乳期患者。

1.4 一般资料 选取 2017 年 10 月至 2018 年 9 月在湖南中医药大学第一附属医院眼科、湖南省桂阳县第一人民医院眼科和湖南中医药高等专科学校第一附属医院眼科门诊确诊为双眼 DED 患者 70 例 (140 只眼), 按随机数字表法分为治疗组和对照组各 35 例 (70 眼)。治疗组中男 15 例, 女 20 例; 对照组中男 13 例, 女 22 例。治疗组患者年龄 23~52 岁, 平均年龄 (41.07 \pm 9.43) 岁; 对照组患者年龄 22~53 岁, 平均 (39.28 \pm 7.54) 岁。治疗组患者病程 3~15 个月, 平均 (11.23 \pm 2.59) 个月; 对照组患者病程 4~15 个月, 平均 (11.01 \pm 4.27) 个月。两组患者一般资料具有可比性 ($P>0.05$)。

1.5 治疗方法 对照组患者以玻璃酸钠滴眼液滴双眼, 每次 1 滴, 每日 3 次。治疗组在对照组的基础上予以密蒙花颗粒剂口服, 每日 10g, 分 2 次温水送服。两组治疗周期均为 4 周。

1.6 观察指标检测方法

1.6.1 干眼症状评分 根据《干眼临床诊疗专家共识》^[3] 中干眼的 7 个主观症状及评分标准评价患者干眼症状严重程度, 每个症状的评分相加, 即为干眼症状评分。

1.6.2 SIT 将基础泪液分泌检测试纸放入患者眼

下穹隆处 5 分钟, 测量试纸被浸润长度。

1.6.3 BUT 将荧光素钠试纸尾部轻触患者眼下穹隆处, 荧光素与下穹隆处泪液接触后嘱患者眨眼 3 次, 在裂隙灯显微镜的钴蓝光下观察泪膜破裂时间。

1.6.4 FL 角膜荧光染色后, 在裂隙灯显微镜的钴蓝光下观察角膜上皮染色情况, 根据《干眼临床诊疗专家共识》^[3] 中的 FL 评分标准进行评分。

1.6.5 泪液 IL-1 β 、IL-18 表达 将定量分析滤纸用打孔器做成圆形滤纸片, 直径均为 12mm, 将滤纸消毒后置于患者下睑穹隆中外 1/3 处, 2min 后取出, 将滤纸片放入 EP 管中, 低温保存。ELISA 法检测泪液中 IL-1 β 和 IL-18 表达。

1.6.6 复发情况 治疗结束后, 随访 4 个月。双眼干眼症状无好转或加重, SIT 与 BUT 试验较治疗前未见变化或加重, 角膜染色无变化或增多即视为复发。

1.7 疗效判定标准 参照《常见疾病诊断依据与疗效判定结果》^[6] 评估疗效。

1.8 统计学方法 使用 SPSS19.0 软件进行统计分析。计数资料用 χ^2 检验; 计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用 t 检验或秩和检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者不同时间干眼症状评分、SIT、FL 及 BUT 比较 两组患者治疗前干眼症状评分、SIT、FL 及 BUT 相比, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗组患者治疗后 2 周、4 周干眼症状评分、SIT、FL 及 BUT 与治疗前相比, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 对照组患者治疗后 2 周、4 周干眼症状评分、SIT、FL 及 BUT 与治疗前相比, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。治疗组患者治疗后 4 周干眼症状评分、SIT、FL 及 BUT 与治疗前相比, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 对照组患者治疗后 4 周干眼症状评分、SIT、FL 及 BUT 与治疗前相比, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。治疗后 2 周、4 周, 治疗组患者干眼症状评分、SIT、FL 及 BUT 均优于对照组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

2.2 两组患者治疗前后不同时间泪液 IL-1 β 和 IL-18 表达比较 两组患者治疗前泪液 IL-1 β 和 IL-18 表达相比, 差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。治疗组患者治疗后 2 周、4 周泪液 IL-1 β 和 IL-18 表达与治疗前

表1 两组患者不同时间干眼症状评分、SIT、FL及BUT比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	眼数	干眼症状评分(分)	BUT(s)	SIT(mm)	FL(分)
治疗组	治疗前	70	16.56±2.83	3.27±1.46	3.18±0.83	1.87±0.54
	治疗2周	70	9.87±2.18 ^{▲△}	7.38±1.69 ^{▲△}	7.93±1.46 ^{▲△}	0.87±0.23 ^{▲△}
	治疗4周	70	5.34±1.41 ^{▲△○}	12.04±3.68 ^{▲△○}	12.88±2.35 ^{▲△○}	0.38±0.09 ^{▲△○}
对照组	治疗前	70	16.32±3.22	3.28±1.15	3.16±1.20	1.80±0.63
	治疗2周	70	12.24±1.55 [△]	5.29±1.62 [△]	5.18±2.05 [△]	1.35±0.40 [△]
	治疗4周	70	8.79±2.69 ^{△○}	8.83±2.75 ^{△○}	8.02±1.73 ^{△○}	0.87±0.26 ^{△○}

注:与同时期对照组比较,▲ $P < 0.05$;与治疗前比较,△ $P < 0.05$;与治疗2周比较,○ $P < 0.05$

相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$);对照组患者治疗后2周、4周泪液IL-1 β 和IL-18表达与治疗前相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。治疗组患者治疗后4周泪液IL-1 β 和IL-18表达与治疗前2周相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$);对照组患者治疗后4周泪液IL-1 β 和IL-18表达与治疗前2周相比,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后2周、4周,治疗组患

者泪液IL-1 β 和IL-18表达均低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 两组患者疗效比较 治疗4周后,治疗组治愈20例,有效12例,总有效率为91.43%;对照组治愈12例,有效17例,总有效率为82.86%。治疗组疗效优于对照组($P < 0.01$)。

表2 两组患者不同时间IL-1 β 、IL-18表达情况($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	眼数	IL-1 β (pg/ml)	IL-18(pg/ml)
治疗组	治疗前	70	205.86±22.45	181.36±34.51
	治疗2周	70	126.27±21.91 ^{▲△}	134.25±17.24 ^{▲△}
	治疗4周	70	76.25±10.12 ^{▲△○}	85.62±11.28 ^{▲△○}
对照组	治疗前	70	202.61±24.84	179.18±24.92
	治疗2周	70	169.74±22.86 [△]	157.25±16.32 [△]
	治疗4周	70	137.36±21.03 ^{△○}	120.24±13.36 ^{△○}

注:与同时期对照组比较,▲ $P < 0.05$;与治疗前比较,△ $P < 0.05$;与治疗2周比较,○ $P < 0.05$

2.4 两组患者复发率比较 随访4个月,治疗组35例(70眼)中随访到30例(60眼),复发4例(8眼),复发率为13.33%;对照组35例(70眼)中随访到31例(62眼),复发11例(22眼),复发率为35.48%。两组复发率差异有统计学意义($P < 0.05$),治疗组复发率低于对照组。

3 讨论

在DED的发生、发展中涉及到包括炎性细胞因子增加、泪液渗透压改变、泪腺细胞程序化死亡等许多生物过程^[7-10],其中慢性炎症在DED的发生、发展中尤为重要^[11],介导了DED许多病理改变。泪腺细胞发生炎症后,可激活先天性免疫通路,触发免疫应答,引起泪腺细胞变性,逐渐发展为泪腺细胞程序化死亡,如

泪腺细胞的凋亡、焦亡等^[12-13]。泪腺细胞的变性又可引起泪液分泌不足、炎症因子增加,进而形成恶性循环,破坏泪腺细胞功能。炎症因子随泪液到达眼表,不断侵害眼表组织如角膜、结膜等,引起畏光、疼痛、异物感等不适症状^[14]。炎症因子表达增高造成泪液分泌不足,也能降低泪膜稳定性、诱导眼表上皮细胞鳞状化^[15-16],可引起干燥感、疲劳感、烧灼感等不适症状。泪液炎症因子越多,患者主观不适症状越明显^[6]。

DED患者泪液因炎症因子的增加而改变了物理性质进而渗透压增高,这种改变引起角膜上皮细胞发生变化,刺激半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1表达增加。半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1激活后将IL-1 β 和IL-18切割成活性形式,导致IL-1 β 和IL-18在泪液中表达快速增高,引起眼表的炎症反应^[17-18]。IL-1 β 可由多种

细胞分泌,具有多种功能^[19],包括促进血小板活化因子及前列腺素的产生、促进新生血管形成等。IL-1 β 是介导DED患者眼表炎症反应的主要炎症因子之一^[20-22],其表达增高可引起IL-18表达增高。反之,DED患者泪液中IL-1 β 与IL-18表达降低,炎症反应与症状也会有所缓解^[6]。

研究表明,中医药治疗DED有较好的疗效^[23]。密蒙花颗粒剂由密蒙花、枸杞、菊花组成。密蒙花有清热明目的功效。现代研究发现密蒙花中的蒙花苷等物质具有拟雄激素的作用^[24-25],拟雄激素作用可以抑制泪腺组织炎症反应^[26-27]从而治疗DED。目前的研究认为性激素水平改变是诱发DED的重要因素,绝经女性由于性激素水平变化,泪液渗透压明显增高,性激素水平的变化可引起泪液渗透压增高,这可能是性激素水平改变引起DED的机制之一。但对患有DED的绝经期或围绝经期综合征女性使用激素替代治疗存在一定争议,虽然激素替代治疗可在一定程度上改善泪液功能、增加杯状细胞密度,但单独使用雌激素有可能加重DED。相对于激素替代治疗,中药密蒙花无明显不良反应,因此有更加广阔的应用前景。枸杞子滋补肝肾、养阴明目。菊花长于平肝、清热、明目,为佐药。实验研究证明,菊花中所含的黄酮类物质可抑制DED动物模型泪腺细胞凋亡^[28]。三药共用,有清热养阴明目之功。

本研究发现,密蒙花颗粒剂可显著抑制DED患者泪液中炎症因子IL-1 β 和IL-18表达,相较于单纯使用玻璃酸钠滴眼液,密蒙花颗粒剂联合玻璃酸钠滴眼液的治疗方式在抑制泪腺炎症因子IL-1 β 和IL-18表达、提高BUT和SIT、改善DED患者干眼症状及FL方面有较大优势,值得在临床推广。

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)[J]. *Ocul Surf*, 2007,5(2):75-92.
 [2] Yen JC, Hsu CA, Li YC, et al. The prevalence of dry eye syndrome's and the likelihood to develop sjögren's syndrome in Taiwan: a population-based study[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2015,12(7):7647.
 [3] 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.
 [4] Bucolo C, Musumeci M, Musumeci S, et al. Acidic mammalian chitinase and the eye: implications for ocular inflammatory diseases[J]. *Frontiers*

in pharmacology, 2011,2(7):43.
 [5] 蒋鹏飞,彭清华,彭俊. 普拉洛芬联合玻璃酸钠治疗干眼疗效评价的Meta分析[J]. *国际眼科杂志*, 2019,19(2):225-231.
 [6] 蒋鹏飞,黎冬冬,彭俊,等. 干眼症患者泪液炎症因子与症状体征相关性研究[J]. *国际眼科杂志*, 2020,20(4):699-702.
 [7] 宿梦苍,郝晓琳,张仲臣. 干眼症眼表损害炎症机制[J]. *国际眼科杂志*, 2015,15(5):821-824.
 [8] 蔡丽萍,张宏. 炎症免疫相关信号通路在干眼发病机制中的研究进展[J]. *国际眼科杂志*, 2016,16(6):1084-1088.
 [9] 彭清华,姚小磊,吴权龙,等. 密蒙花提取物滴眼剂对实验性干眼症大鼠泪腺组织细胞凋亡的影响(英文)[J]. *中西医结合学报*, 2010,8(3):244-249.
 [10] 姚小磊,彭清华,吴权龙,等. 密蒙花提取物对去势导致干眼症兔泪腺细胞凋亡的影响[J]. *中国中医眼科杂志*, 2007,17(3):139-144, 122.
 [11] Suzanne Hagan, Matthew C. T. Fyfe, Boatemaa Ofori-Frimpong, et al. Narrow Spectrum Kinase Inhibitors Demonstrate Promise for the Treatment of Dry Eye Disease and Other Ocular Inflammatory Disorders [J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* March, 2018, 59 (3), 1443-1453.
 [12] 李翔,覃艮艳,彭俊,等. 密蒙花颗粒剂对去势雄兔泪腺组织细胞Caspase-1和IL-18的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2019, 39(12):1440-1443.
 [13] 蒋鹏飞,覃艮艳,彭晓芳,等. 密蒙花颗粒剂对去势雄兔泪腺细胞凋亡因子Bax、Caspase-3、Fas和FasL的影响[J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(12):2820-2822.
 [14] 覃艮艳,蒋鹏飞,彭俊,等. 普拉洛芬联合玻璃酸钠治疗干眼的临床观察[J]. *湖南中医药大学学报*, 2020,40(4):490-493.
 [15] Dietrich T, Renner AB, Helbig H, et al. Dry eye syndrome and neurotrophic keratitis in childhood: causes and therapy [J]. *Ophthalmologie*, 2010,107(10):911.
 [16] McCabe E, Narayanan S. Advancements in anti-inflammatory therapy for dry eye syndrome[J]. *Optometry*, 2009,80(10):555.
 [17] Jiang D, Liu X, Hu J. Topical administration of Esculetin as a potential therapy for experimental dry eye syndrome [J]. *Eye*, 2017, 31(12):1724.
 [18] Chi W, Hua X, Chen X, et al. Mitochondrial DNA oxidation induces imbalanced activity of NLRP3/NLRP6 inflammasomes by activation of caspase-8 and BRCC36 in dry eye [J]. *Journal of autoimmunity*, 2017, 80(2):65-76.
 [19] Yerramothu P, Vijay A K, Willcox M D P. Inflammasomes, the eye and anti-inflammasometherapy [J]. *Eye*, 2018, 32(3):491.
 [20] 张又玮,覃艮艳,彭晓芳,等. 密蒙花滴眼液对去势雄兔干眼泪腺组织中ICAM-1、IL-6、IL-17表达的影响[J]. *湖南中医药大学学报*, 2019,39(4):448-452.
 [21] 曾志成,彭俊,姚小磊,等. 中药密蒙花离子导入对干眼患者泪液白细胞介素6、细胞间黏附分子1表达的影响[J]. *中医杂志*, 2019,60(3):219-223.

(下转第39页)