

·临床研究·

本文引用:曾志成,彭俊,姚小磊,彭清华. 密蒙花颗粒离子导入对干眼患者泪液质量及基质金属蛋白酶-9表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2020, 40(3): 364-368.

密蒙花颗粒离子导入对干眼患者泪液质量及基质金属蛋白酶-9表达的影响

曾志成¹, 彭俊², 姚小磊², 彭清华^{1*}

(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眼科, 湖南长沙 410007)

〔摘要〕 **目的** 观察中药密蒙花颗粒离子导入对干眼患者泪液质量及基质金属蛋白酶-9(matrix metalloprotein, MMP-9)的影响及可能作用机制。**方法** 将70例(140眼)干眼患者随机分为治疗组(35例70眼)和对照组(35例70眼)。治疗组予以中药密蒙花颗粒离子导入和玻璃酸钠滴眼液点眼,对照组仅予以玻璃酸钠滴眼液点眼,共治疗4周。于治疗前及治疗2、4周后比较两组患者的干眼症状、基础泪液分泌(Schimer-I)、泪膜破裂时间(break-up time, BUT)、角膜染色评分和泪液MMP-9表达情况,治疗4周后评价临床疗效。**结果** 治疗2、4周后,两组患者干眼症状评分、Schimer-I、BUT、角膜染色评分和泪液MMP-9表达与本组治疗前比较均有改善($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且不同时间点比较,治疗组均优于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。治疗组总有效率为91.43%,对照组为80.00%,治疗组临床疗效优于对照组($P<0.05$)。**结论** 中药密蒙花颗粒离子导入联合玻璃酸钠滴眼液点眼,可改善干眼患者干眼症状和泪液质量,降低泪液中MMP-9的表达,提高临床疗效,并且降低泪液中MMP-9的表达是其作用机制之一。

〔关键词〕 干眼; 密蒙花; 泪液质量; 基质金属蛋白酶-9

〔中图分类号〕 R276.7

〔文献标志码〕 B

〔文章编号〕 doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.03.023

Effects of Flos Buddlejae Granules Iontophoresis on Tear Quality and Matrix Metalloprotein-9 Expression in Tears of Dry Eye Patients

ZENG Zhicheng¹, PENG Jun², YAO Xiaolei², PENG Qinghua^{1*}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China; 2. Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

〔Abstract〕 **Objective** To observe the effects of Flos Buddlejae Granules iontophoresis on tear quality and matrix metalloprotein-9 (MMP-9) expression in tears of dry eye patients. **Methods** A total of 70 cases (140 eyes) of dry eye patients were randomly divided into a treatment group (35 cases with 70 eyes) and a control group (35 cases with 70 eyes). The treatment group was given Chinese medicine Flos Buddlejae Granules iontophoresis and sodium hyaluronate eye drops, and the control group was only given sodium hyaluronate eye drops, for a total of 4 weeks' treatment. The dry eye symptoms, tear quality [foundation tear secretion (Schimer-I), break-up time (BUT), the cornea dyeing scoring] and MMP-9 expression of the two groups were compared before treatment, 2 weeks, and 4 weeks after treatment. The clinical curative effect was evaluated after 4 weeks' treatment. **Results** After 2 and 4 weeks of treatment, the dry eye symptom score, Schimer-I, BUT, corneal staining score and tear MMP-9 expression of the two groups were improved than before treatment ($P<0.05$ or $P<0.01$), and at different time points, the treatment group was better than

〔收稿日期〕 2019-08-11

〔基金项目〕 国家自然科学基金(30772824, 81574031); 中医药防治五官科疾病湖南省重点实验室建设项目(2017TP1018); 中医药防治眼耳鼻喉疾病与视功能保护湖南省工程技术研究中心建设项目(2018TP2008); 中央财政支持地方高校建设项目(湘财教指[2016]75号); 国家中医药管理局中医眼科学重点学科建设项目(国中医药[2009]30号); 湖南省中医五官科学重点学科建设项目(湘财教指[2015]229号); 湖南中医药大学中医学国内一流建设学科(湘教通[2018]469号); 湖南中医药大学2019年“一方”研究生创新项目(研函[2019]8号)。

〔作者简介〕 曾志成, 男, 在读博士研究生, 研究方向: 眼表疾病、青光眼及眼底病的中医药研究。

〔通讯作者〕 * 彭清华, 男, 博士, 教授, 博士研究生导师, E-mail: pqh410007@126.com。

the control group ($P<0.05$ or $P<0.01$). The total effective rate of the treatment group was 91.43%, and the control group was 80.00%. The clinical efficacy of the treatment group was better than the control group ($P<0.05$). **Conclusion** The combination of Flos Buddlejae Granules iontophoresis and sodium hyaluronate eye drops can improve dry eye symptoms and tear quality in dry eye patients, reduce the expression of MMP-9 in tears, improve clinical efficacy, and reducing the expression of MMP-9 in tears is one of its mechanisms.

[**Keywords**] dry eyes; *Flos Buddlejae*; tear quality; matrix metalloprotein-9

干眼是目前世界和我国最为常见的眼表疾病之一,由于近年电子产品的普及,发病率愈来愈高,我国干眼发病率达到 17.0%^[1],严重危害患者的身心健康。免疫炎症反应是干眼主要病理生理改变^[2],其中基质金属蛋白酶-9(matrix metalloprotein, MMP-9)又是反应眼表炎症程度的重要指标^[3]。人工泪液替代疗法是目前干眼的主要治疗手段,但不能从根本上消除炎症反应,容易复发^[4]。现我们采用密蒙花颗粒离子导入渗入干眼患者眼表,局部配合点玻璃酸钠滴眼液,观察其对患者干眼症状评分、泪液质量[schirmer I 实验、泪膜破裂时间(break-up time,BUT)及角膜染色]和泪液 MMP-9 表达的影响。

1 资料与方法

1.1 诊断标准

参照《干眼临床诊疗专家共识(2013年版)》^[5]中的干眼诊断标准:(1)有视力波动、疲劳感、异物感、干燥感、烧灼感等主观症状之一;(2)Schirmer I ≤ 5 mm/5 min;(3)5 mm/5 min < Schirmer I ≤ 10 mm/5 min;(4)BUT ≤ 5 s;(5)5 s < BUT ≤ 10 s;(6)角膜荧光素染色(fluorescent,FL)呈阳性。(1)+(2)(或(4))可诊断为干眼;(1)+(3)(或(5))+(6)亦可诊断为干眼。

1.2 纳入、排除标准

纳入标准:符合干眼诊断标准;年龄 18~75 岁;签署知情同意书。

排除标准:(1)眼睑位置异常或眼睑缺损;(2)泪道阻塞和急慢性泪囊炎、眼球突出、角结膜化学伤、角膜斑翳及白斑、青光眼、增生性玻璃体视网膜病变等;(3)眼前段急性炎症者等;(4)合并有心脑血管疾病、肝肾功能不全、造血系统等严重原发性疾病,Sjogren 综合征、系统性红斑狼疮者;(5)近 3 个月内曾接受眼部手术者;(6)近 1 个月眼局部使用人工泪液者。

1.3 一般资料

自 2018 年 3 月至 2019 年 6 月在湖南中医药大学第一附属医院眼科门诊就诊的干眼患者,共 70 例(140 眼)。按随机数字表分为治疗组(密蒙花颗粒离子导入+玻璃酸钠滴眼液点眼)和对照组(玻璃酸钠滴眼液点眼),每组各 35 例(70 眼)。治疗组男 15 例,女 20 例;年龄 23.17~72.33(46.06 \pm 12.70)岁;病程 2~24(13.92 \pm 4.72)月。对照组男 12 例,女 23 例;年龄 23.5~75.25(49.22 \pm 14.20)岁;病程 0.5~30(14.49 \pm 5.37)月。2 组患者性别、年龄、病程方面比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.4 治疗方法

两组患者予以玻璃酸钠滴眼液(德国 EUSAN GmbH 公司生产,进口药品注册证号:H20150150,批号:250750)点双眼,每日 4 次,连用 4 周。治疗组同时予以密蒙花颗粒(广东一方制药有限公司生产)离子导入。先将 20 g 密蒙花颗粒用 100 mL 温水溶解,4 cm \times 5 cm 的四层专用敷料放入药液中浸润备用,使用 DY-LDY3 多功能眼病治疗仪(西安华亚电子有限公司生产,陕食药监械生产许可号 20102060),药物导入采用眼枕导入法。每眼离子导入 15 min,2 日 1 次,连续 4 周。

1.5 观察指标

1.5.1 干眼症状评分 参照《干眼临床诊疗专家共识》^[5]中主观症状制定干眼症状评分表:详细询问患者眼部有无视力波动、疲劳感、异物感、干燥感、烧灼感 5 个症状。无症状计 0 分,偶尔出现症状计 1 分,间断出现轻度症状计 2 分,持续出现明显症状计 3 分。5 个症状的评分相加,即为干眼症状评分。于治疗前及治疗 2 周、4 周各检测 1 次。

1.5.2 Schirmer I 实验 采用泪液检测滤纸条测定,规格 40 mm \times 5 mm,将滤纸条首端反折放入下眼睑结膜囊中外 1/3 交界处,尽量避免接触角膜,自

然轻闭双眼 5 min,取出滤纸条,观察泪液湿润的长度,读取数据。于治疗前及治疗 2 周、4 周各检测 1 次。

1.5.3 BUT 实验 患者取坐位,将 2% 荧光素钠点 1 滴至其结膜囊内,患者眨眼数次后睁眼注视前方,检查者裂隙灯下用钴蓝光观察,记录患者从最后 1 次眨眼后睁眼至角膜表面出现第 1 个黑斑的时间,即为 BUT。于治疗前及治疗 2 周、4 周各检测 1 次。

1.5.4 角膜染色评分 BUT 实验后,裂隙灯钴蓝光下观察 FL 情况。角膜染色评分采用 12 分制记录方法^[3]。(1)将角膜分为 4 个象限,各象限均采用 4 级(0~3 分)评分法;(2)每个象限无染色记 0 分,有 1~30 个点状着色记 1 分,>30 个点状着色,但未融合记 2 分,角膜呈现溃疡、丝状物及点状着色融合等为 3 分。于治疗前及治疗 2 周、4 周各检测 1 次。

1.5.5 泪液 MMP-9 表达 收集泪液标本,采用毛细吸管法在每位患者下泪河处采集约 15 uL 泪液,放入 EP 管中,-80 °C 冰箱中保存。采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测泪液 MMP-9(试剂盒购自武汉华联科生物技术有限公司,批号:180317)表达。

1.6 疗效判定标准

参照《中医病证诊断疗效标准》^[9]制定。(1)治愈:症状消失,Schirmer I 实验>10 mm,BUT>10 s,角膜染色消退;(2)好转:症状缓解,Schirmer I 实验泪液分泌量有所增加,BUT 有所延长,角膜染色减少;(3)未愈:症状无改善,Schirmer I 实验测定泪液分泌量未增加,BUT 时间未延长,角膜染色无变化或增多。

总有效率=(治愈例数+好转例数)/总例数×100%。

1.7 统计学方法

运用统计软件 SPSS 19.0 分析数据,计数资料采用 χ^2 检验,等级资料采用秩和检验,计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,方差齐采用 t 检验,如方差不齐,采用 t ,检验或者秩和检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者治疗前及治疗后第 2、4 周干眼症状评分、Schirmer I 及 BUT 比较

2 组患者治疗后第 2、4 周干眼症状评分、Schirmer I 及 BUT 与治疗前比较均有改善($P<0.05$

或 $P<0.01$);治疗后第 2、4 周治疗组干眼症状评分、Schirmer I 及 BUT 与对照组同时间点比较,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$),明显优于对照组。见表 1。

表 1 两组干眼患者治疗前及治疗 2 周、4 周干眼症状评分、Schirmer I 及 BUT 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	眼数	干眼症状评分	Schirmer I/mm	BUT/s
治疗组	治疗前	70	8.41±2.25	4.81±1.61	4.98±2.04
	治疗 2 周	70	6.47±2.04** Δ	6.01±1.80** Δ	6.73±2.25** Δ
	治疗 4 周	70	4.83±1.92** Δ	8.36±2.04** Δ	9.04±2.58** Δ
对照组	治疗前	70	8.86±2.44	4.66±1.54	4.85±2.13
	治疗 2 周	70	7.65±2.36*	5.32±1.76*	5.79±2.16*
	治疗 4 周	70	6.16±2.21**	6.84±1.95**	7.82±2.40**

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组同时间点比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

2.2 两组患者治疗前及治疗后第 2、4 周角膜染色评分比较

治疗前治疗组有 10 例(15 眼)、对照组有 12 例(18 眼)角膜染色。治疗后第 2、4 周,2 组角膜染色评分与治疗前比较均有降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且治疗组角膜染色评分均低于对照组($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组干眼患者治疗前及治疗后 2 周、4 周角膜染色评分情况比较(分, $\bar{x}\pm s$)

组别	时间	眼数	角膜染色评分
治疗组	治疗前	15	3.06±1.39
	治疗 2 周	15	1.32±1.25** Δ
	治疗 4 周	15	0.93±0.87** Δ
对照组	治疗前	18	3.16±1.34
	治疗 2 周	18	2.25±1.28*
	治疗 4 周	18	1.66±0.95**

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组同时间比较, $\Delta P<0.05$

2.3 两组患者治疗前及治疗后第 2、4 周泪液 MMT-9 表达比较

2 组患者治疗后第 2、4 周泪液 MMT-9 表达与治疗前比较均有降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$);治疗第 2、4 周治疗组泪液 MMT-9 表达与对照组同时间点比较,差异均有显著统计学意义($P<0.01$),明显低于对照组。见表 3。

2.4 两组患者治疗 4 周疗效比较

治疗 4 周后,治疗组治愈 19 例(38 眼),好转 13 例(26 眼),未愈 3 例(6 眼),总有效率为 91.43%;对

表3 两组干眼患者治疗前及治疗2周、4周泪液
MMT-9表达情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	时间	眼数	MMT-9/(ng·mL ⁻¹)
治疗组	治疗前	70	65.43±14.31
	治疗2周	70	45.17±12.53** $\Delta\Delta$
	治疗4周	70	28.58±11.69** $\Delta\Delta$
对照组	治疗前	70	70.20±16.48
	治疗2周	70	63.93±14.42*
	治疗4周	70	48.39±13.57**

注:与本组治疗前比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与对照组同时间比较, $\Delta\Delta P<0.01$

照组治愈13例(26眼),好转15例(30眼),未愈7例(14眼),总有效率为80.00%;治疗组疗效优于对照组($P<0.05$)。

3 讨论

任何原因引起的泪液质或量异常,或动力学异常导致的泪膜稳定性下降,并伴有眼部不适和(或)眼表组织病变特征的多种疾病都可归属于干眼范畴^[7]。干眼诊断及疗效判断主要根据患者临床症状和泪液质量的变化,其临床症状主要表现为眼部视力波动、疲劳感、异物感、干燥感、烧灼感等;泪液质量变化常通过Schirmer-I试验、BUT试验和角膜染色去评判,其中Schirmer-I试验反映泪液基础分泌量,BUT试验反映黏蛋白缺乏情况,角膜染色反映角膜上皮细胞的屏障功能^[3]。

引起干眼的病因繁多,病理过程复杂,其中基于免疫的炎症反应是其发病机制中最关键的病理改变^[2]。干燥环境、泪液高渗等外界环境刺激可激活MAPK信号传导通路与NF- κ b信号传导通路并影响细胞的增殖、分化、凋亡以及炎性介质的释放。有研究表明,干燥环境、泪液的高渗透压可直接导致眼表上皮细胞释放前炎症因子。这些前炎症因子包括白介素-1 α (IL-1 α)、白介素-1 β (IL-1 β),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白介素-6(IL-6)、基质金属蛋白酶(MMPs)等^[3]。其中MMP-9是MMPs家族中一员,是一种炎症生物标志物,已被证明在干眼患者的眼泪中升高^[8-9],并且MMP-9的浓度与角膜染色呈正相关,与Schirmer、BUT呈负相关^[10-11]。MMP-9主要存在于近角膜上皮基底细胞层,它可降解多种基质成分,包括角膜上皮细胞基底层和紧密连接蛋白^[12]。角膜中

MMP-9是首要的基底层角膜上皮降解酶,MMP-9的过度表达(活动和非活动形式)具有明胶活性,主要的水解底物为变性胶原及I型和IV型胶原^[13]。MMP-9在眼表的过度表达使MMPs/基质蛋白酶组织抑制剂(TIMPs)系统失去平衡,导致球结膜基质和Tenon囊的过度降解,引起眼表泪液异常的病理循环。在MMP-9基因敲除的小鼠模型中发现,高水平的MMP-9能使角膜去鳞状化,损害角膜的屏障作用^[14]。因此MMP-9参与干眼眼表损害过程,在干眼的发生和发展中起重要作用,通过检测泪液中MMP-9的水平,有助于干眼早期诊断与疗效判断。

中医认为干眼的病机主要为肺燥津亏,或肝肾阴虚^[15]。治疗方法主要为清燥润肺,滋养肝肾等。密蒙花味甘,性微寒,归肝经,具有祛风凉血、润肝明目之功效,前期研究^[16-19]发现,密蒙花主要成分黄酮类物质,可显著抑制雄激素水平降低后大鼠干眼的发生,起到拟雄激素效应,抑制泪腺组织炎症反应和细胞凋亡,改善泪腺和角膜超微结构,从而维持泪腺基础分泌量和泪膜的稳定性。采用密蒙花颗粒离子导入的方法治疗干眼,能提高密蒙花药物的透过率,导入的药物离子在眼表局部组织内能保持较高浓度和较长时间^[20]。

本研究结果显示,中药密蒙花颗粒离子导入联合玻璃酸钠滴服液点眼能够明显消除或缓解患者干眼症状,改善泪液质量,修复角膜上皮,同时能够明显抑制泪液MMP-9的表达。但本研究仍有不足之处,样本量较少,且未对患者的远期疗效进行随访观察,因此,需进一步扩大样本、延长随访时间进行研究。

参考文献

- [1] LIU N N, LIU L, LI J, et al. Prevalence of and risk factors for dry eye symptom in mainland china: a systematic review and meta-analysis[J]. Journal of Ophthalmol, 2014,2014:748654.
- [2] 刘祖国,杨文照.干眼症的发病机制[J].眼科,2005,14(5):342-345.
- [3] 刘祖国.干眼[M].北京:人民卫生出版社,2017:82-86,42-46.
- [4] 童毅,李晴,杨光.干眼症的中医药治疗进展[J].湖南中医杂志,2016,32(8):228-230.
- [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.

- [6] 国家中医药管理局医政司. 中医病症诊断疗效标准[S]. 北京: 中国中医药出版社, 2016: 75.
- [7] 赵堪兴, 杨培增. 眼科学[M]. 7版, 北京: 人民卫生出版社, 2010: 77-80.
- [8] PFLUGFELDER S C, JONES D, JI Z, et al. Altered cytokine balance in the tear fluid and conjunctiva of patients with Sjögren's syndrome keratoconjunctivitis sicca [J]. *Current Eye Research*, 1999, 19(3): 201-211.
- [9] SOLOMON A, DURSUN D, LIU Z, et al. Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease [J]. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 2001, 42(10): 2283-2292.
- [10] MESSMER E M, VONLINDENFELS V, GARBE A, et al. Matrix Metalloproteinase 9 Testing in Dry Eye Disease Using a Commercially Available Point-of-Care Immunoassay [J]. *Ophthalmology*, 2016, 123(11): 2300-2308.
- [11] PARK J Y, KIM B G, KIM J S, et al. Matrix Metalloproteinase 9 Point-of-Care Immunoassay Result Predicts Response to Topical Cyclosporine Treatment in Dry Eye Disease [J]. *Translational Vision Science & Technology*, 2018, 7(5): 31.
- [12] ASAH I M, WANG X, MORI T, SUMII T, et al. Effects of matrix metalloproteinase -9 gene knock-out on the proteolysis of blood-brain barrier and white matter components after cerebral ischemia [J]. *Journal of Neuroscience*, 2001, 21(19): 7724-7732.
- [13] BORDEN P, HELLER R A. Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases [J]. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 1997, 7(1/2): 159-178.
- [14] PFLUGFELDER S C, FARLEY W, LUO L, et al. Matrix metalloproteinase-9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye [J]. *American Journal of Pathology*, 2005, 166(1): 61-71.
- [15] 张健, 张清. 中西医结合眼科临床证备要 [M]. 山西: 山西科学技术出版社, 2008: 90-91.
- [16] 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雄激素受体数量的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(1): 72-75, 114.
- [17] 李怀凤, 彭清华, 姚小磊, 等. 密蒙花总黄酮对去势雄鼠干眼症模型角膜和泪腺组织的保护作用 [J]. *中国中医眼科杂志*, 2010, 20(1): 1-6.
- [18] 彭俊, 欧阳云, 谭涵宇, 等. 密蒙花滴眼液对去势雄兔干眼症泪腺细胞炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 的影响 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2017, 37(5): 469-472.
- [19] 欧阳云, 彭俊, 彭清华, 等. 密蒙花颗粒剂对去势雄兔泪腺细胞凋亡因子 Bax、Bcl-2、Fas 和 FasL 的影响 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2017, 37(7): 858-862.
- [20] 马宏杰, 郑燕林. 中医治疗干眼方法研究新进展 [J]. *中华中医药杂志*, 2018, 33(4): 1469-1473.

(本文编辑 马薇)