

干眼症眼表损害炎症机制

宿梦苍^{1,2}, 郝晓琳¹, 张仲臣¹

作者单位:¹(100049)中国北京市,航天中心医院眼科;
²(121001)中国辽宁省锦州市,辽宁医学院研究生学院

作者简介:宿梦苍,辽宁医学院在读硕士研究生,研究方向:白内障。

通讯作者:张仲臣,教授,主任医师,主任,硕士研究生导师,研究方向:白内障、青光眼、眼外伤、眼底病. zyc0710337@sohu.com

收稿日期:2015-02-05 修回日期:2015-04-22

Inflammatory mechanisms in ocular surface damage of dry eye

Meng - Cang Su^{1,2}, Xiao - Lin Hao¹, Zhong - Chen Zhang¹

¹Department of Ophthalmology, Aerospace Center Hospital, Beijing 100049, Beijing City, China; ² Department of Postgraduate, Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Zhong - Chen Zhang. Department of Ophthalmology, Aerospace Center Hospital, Beijing 100049, Beijing City, China. zyc0710337@sohu.com

Received:2015-02-05 Accepted:2015-04-22

Abstract

• Dry eye is a multi-factorial disease of tear film and ocular surface, and it can result in discomfort, visual disturbance and tear film instability and potential damage of ocular surface, accompanied by hyper osmolarity of tears and ocular surface inflammation. Inflammation is the key factor to dry eye. Many kinds of immune cells and inflammatory factors are involved in the occurrence and development of dry eye syndrome. Cell apoptosis, nerve dysregulation, disorders of sex hormones also play an important role in pathologic process of dry eye. Recently, while illustrating the pathophysiology and pathogenesis of dry eye has been made some progress, there is still no single standard. The possible mechanisms of ocular surface inflammation and tear dysfunction of dry eye were reviewed in this article.

• **KEYWORDS:** dry eye syndrome; inflammation; T lymphocyte; cytokines; tear osmolarity

Citation: Su MC, Hao XL, Zhang ZC. Inflammatory mechanisms in ocular surface damage of dry eye. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2015;15(5):821-824

摘要

干眼症为一种多因素造成泪膜稳定性和眼表功能损害的

疾病,易引起眼部不适、视力障碍、泪膜不稳定与眼表的潜在危害,可伴有泪液渗透压升高及眼表炎症反应。炎症是干眼发病中最关键因素,多种免疫细胞和炎症因子参与了干眼症的发生与发展过程。细胞凋亡、神经调节异常、性激素失调等也共同参与了干眼的发病过程。最近尽管在阐述干眼的病理生理和发病机制取得了一定进展,但目前还未形成统一标准。本文将对炎症造成干眼症眼表和泪液功能损害的可能机制进行综述。

关键词:干眼症;炎症;T淋巴细胞;细胞因子;泪液渗透压

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2015.5.20

引用:宿梦苍,郝晓琳,张仲臣.干眼症眼表损害炎症机制.国际眼科杂志 2015;15(5):821-824

0 引言

国际干眼工作组于2007年定义干眼为:多种因素所致的一种泪液和眼表疾病,包括眼表不适症状,视力变化和泪膜不稳定并且伴有潜在的眼表损害,伴随泪液渗透压升高和眼表炎症反应^[1]。干眼常见眼部症状包括干涩、眼痒、异物感、视疲劳、灼痛、分泌物黏稠、怕风、畏光等症状。由于基本泪液分泌不足、眼部干涩,反射性刺激使泪液分泌增加,经常引起流泪。严重患者眼睛会出现红肿、充血及角质化、角膜上皮剥脱、丝状物黏附等,并且能引起角结膜病变影响视力^[2]。目前干眼的致病机制尚未完全阐明,但炎症与干眼的发生发展密切相关,炎症可损害眼表泪膜稳定性,且能升高泪液渗透压,这些改变反过来又可以诱发眼表的损害,并启动先天和适应性免疫反应的炎症级联反应。现有的研究显示干眼症患者泪腺和结膜组织中可见大量淋巴细胞浸润,浸润的炎症细胞产生促炎因子,泪液中天然抗炎因子(乳铁蛋白)分泌减少,并逐步扩大炎症范围^[3]。本文将从眼表炎症、炎症因子和介导炎症的细胞等方面对干眼症的发病机制做一概述。

1 细胞因子与干眼

1.1 白细胞介素 白细胞介素-1(interleukin-1,IL-1), IL-6,IL-8,TNF- α 和TNF- β 等的水平在干眼病患者泪液和结膜上皮中较正常人要显著升高,且与干眼的严重程度相关^[4,5]。IL-1(IL-1 α 和IL-1 β)是一种重要的炎症介质,IL-1可诱导IL-6/IL-8和TNF- α 等其他炎症因子,还能够刺激基质金属蛋白酶的产生。IL-1 β 作为一种促炎因子,与受体结合后引起多种炎症因子释放与信号转导通路介导的生物效应发生,如丝裂原激活的蛋白激酶(MAPK)通路、蛋白激酶C(PKC)通路、PKD通路等。IL-1 β 还能减少乙酰胆碱和去甲肾上腺素等神经递质的释放,从而影响神经调控的泪液分泌,造成泪液分泌缺乏,促进水样液缺乏型干眼症的发生^[6]。Peck等研究发现,在干

眼病患者的唾液腺、泪腺等组织中,IL-6水平显著升高^[7],与其受体结合形成的受体复合物可活化磷酸化信号转导、诱导转录活化因子-3(signal transduction and transcription activation factor-3,STAT3)转录,将细胞外信号转导至胞内,从而使Th17细胞分泌IL-17等细胞因子^[8],加重炎症反应与细胞凋亡^[9,10],参与干眼病的发病。Turner等^[11]运用免疫抑制剂0.5g/L的环孢素A对干眼病患者治疗,发现患者眼表组织IL-6的表达水平及干眼症状明显改善。IL-17参与包括干眼病多种自身免疫性疾病的发病^[12],Pflugfelder等^[13]通过实验研究发现,IL-17不仅能够直接破坏角膜上皮屏障,还可诱导其他促炎因子释放,进而促进干眼病的发展^[14]。TNF- α 是一种重要的炎症因子,可促进T细胞分化及调节其生长。Yang等通过对18例干眼病患者和14例正常人的泪液检测发现,干眼病患者泪液中TNF- α 和IL-6水平升高^[15]。此外,另有研究发现IL-2,4,5,10与INF- γ 等在干眼患者泪液中水平升高^[16]。

1.2 基质金属蛋白酶 众多研究证明基质金属蛋白酶(MMPs)在胚胎发育、组织形成、肿瘤、血管形成、创伤愈合和炎症反应等生理和病理学方面发挥重大作用。干眼病中,泪液的高渗透可刺激角膜上皮细胞分泌各型MMPs。角膜疾病中泪膜功能障碍可由MMPs介导,如无菌性的角膜溃疡和点状上皮糜烂等^[17]。Sobrin等^[18]发现干眼患者中角膜上皮与泪液中MMP-9和MMP-3表达增加,MMP-3可激活MMP-9。在角膜屈光手术和其他类型干眼病中均发现MMP-9水平升高^[19]。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^[20]。研究还发现MMP-9在胶原、角膜上皮基底膜和紧密连接蛋白的降解过程中发挥重要作用^[21],多西环素通过抑制MMP的活性,可促进眼表修复,使干眼症状得到改善。

1.3 黏蛋白 眼表黏蛋白(Mucin,MUC)主要来源于角膜上皮细胞,为一种膜结合型黏蛋白,包括MUC1,MUC4及MUC16,其主要作用是在眼表上皮细胞表面形成一层糖被膜,改变上皮细胞的疏水性;泪膜中分泌型黏蛋白MUC5AC具有高亲水性,能将泪液变成水合凝胶状态锚定在眼表面。因此,眼表黏蛋白对维持泪膜的稳定和眼表上皮细胞的正常生理功能是必需的^[22]。大量研究表明,干眼患者眼表黏蛋白表达异常。眼表黏蛋白MUC1及MUC16蛋白在绝经后干眼病妇女表达水平显著升高^[23]。Corrales等^[24]应用印迹细胞学研究显示,泪液中MUC1,MUC2,MUC4及MUC5AC mRNA在中重度干眼患者的表达均显著低于正常受试者。对体外培养的人角膜缘上皮细胞的研究发现,当角膜上皮MUC16正常表达时,虎红染色呈阴性,然而当其表达水平下降则出现虎红的着色^[25],说明其在维持泪膜稳定性中起到重要作用。MUC5AC黏蛋白与许多眼表疾病有关,免疫性疾病、感染性疾病、配戴角膜接触镜、准分子激光手术及维生素缺乏等均可导致MUC5AC表达水平的下降或反应性升高,引起多种临床症状,并使眼表抵御外界侵袭的能力下降。MUC5AC在眼表中的表达已越来越受到重视。Zhang等^[26]发现MUC5AC的表达水平与泪膜破裂时间(BUT)呈明显正相关性。另外发现干眼症状越重,MUC5AC的分泌量越低。干眼症泪膜不稳定、泪液渗透压升高、炎症性反应、眼表的损伤、杯状细胞数量下降、上皮细胞凋亡

等均与黏蛋白尤其是MUC5AC的改变有关,而这些病理改变又可诱导黏蛋白的改变,继而形成一个黏蛋白与干眼的恶性循环。研究证实,MUC5AC在干眼泪液中的含量下降与角膜荧光染色级数存在相关性^[27]。

1.4 其他 干眼症患者趋化因子的表达较正常明显增加,趋化因子CXCL8,9,10,11水平在泪液和眼表组织中明显增加。El Annan等^[28]在干眼症患者泪液中发现T细胞趋化因子CCL5明显高于对照组,角膜特异性趋化因子受体和配体表达增加,可诱导T细胞向眼表病变组织归巢,加重干眼的炎症反应和上皮病变的程度。另一种重要的炎症因子TGF- β 是一个多功能细胞因子,其可抑制T细胞、B细胞增殖与分化,调节淋巴细胞聚集与免疫反应,在干眼病患者中,由于泪液高渗透压,TGF- β 可增强Th0细胞向Th17细胞分化^[29]。

2 T淋巴细胞与干眼

T淋巴细胞在眼表炎症反应发生与发展过程中起重要作用,初始T细胞在抗原刺激作用下分化为效应T细胞,参与适应性免疫反应。依据细胞因子谱系不同,效应CD4⁺T细胞分为Th1和Th2型。Th1细胞主要对细菌、病毒和真菌感染等反应起作用,其一旦被激活,继而激活巨噬细胞,诱导B细胞分泌抗体。Th2细胞的分化主要由受IL-4刺激,激活后分泌IL-4,IL-5和IL-13,Th2细胞可促进IgG₁与IgE的转型,可使嗜酸性粒细胞聚集,该反应与过敏反应和哮喘有关。Th1细胞可能是介导干眼眼表免疫炎症反应的主要T细胞亚型。Th1细胞和抗原呈递细胞表面的MHC-II分子共同识别抗原成分,进而释放炎症介质,使得血管通透性增加,使更多的炎症细胞到达炎症损伤部位。Th17细胞是新近发现的CD4⁺T细胞的亚型,主要分泌IL-17,在自身免疫性疾病与机体防御反应中起着重要作用。研究表明IL-6和TGF- β 可诱导初始T细胞通过核转录因子维甲酸相关孤独受体C(retinoid-related orphan nuclear receptor-C,ROR-C)途径分化为Th17。由于初始T细胞表面不表达IL-23受体,所以IL-23并不具备诱导初始T细胞分化为Th17的功能,ROR-C途径的激活可促进Th17表达IL-23受体,进而使IL-23诱导Th17进一步增生并产生IL-22等促炎因子^[30,31]。最近Ji等^[32]发现干眼症眼角膜中CCR7+CD11b+细胞表达显著增加,推测其能促进Th17细胞增殖。高彩凤等^[33]采用PCR-Array法测定眼表Th17相关细胞因子含量,包括IL-17A,IL-6,IL-8,IL-22,IL-23 mRNA的表达,发现结膜中IL-17A的表达水平与干眼的严重程度呈明显相关,表明干眼是由Th17细胞介导的免疫性炎症,且在干眼的发展中发挥重要地位。Tregs作为一类负性调节的T细胞亚群,能抑制多种免疫细胞,包括CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞和DC,从而抑制干眼症的眼表炎症损害。最近在小鼠模型中发现,Tregs T细胞被去除后,小鼠最终会发生干眼症状^[34]。所以Tregs T细胞可能成为干眼治疗的新的靶点细胞。Tregs T细胞能够被IL-17抑制,加重干眼眼表炎症损伤。CD8⁺和NK T淋巴细胞能够抑制眼表炎症与自身免疫反应。在干燥环境中,CD8⁺T细胞能够诱导干眼模型^[35]。目前,研究的重点集中在确定其他类型的调节细胞与其抑制T细胞激活、分化、增殖和致病的特异机制。

3 渗透压与干眼

2007年“国际干眼工作组”将泪液渗透压升高引入

到干眼的概念中,表明泪液渗透压升高为干眼病理损害的重要特点。Tomlinson 等^[36]将渗透压超过 316mOsm/L 作为干眼诊断的标准,并发现其敏感性与特异性分别为 59% 和 94%。Suzuki 等^[37]评估了 19 例干眼患者的症状和体征,发现泪液渗透压升高与干眼的严重程度高度相关。干眼症患者中泪液渗透压升高可诱导眼表炎症, VanDerMeid 等^[38]发现泪液渗透压升高与细胞因子(IL-1 α , IL-6, TNF- α)和基质金属蛋白酶 2, 9, 10 浓度增加呈正相关。Lee 等^[39]应用 1% 甲基强的松龙对中重度干眼进行抗炎治疗,发现泪液渗透压与泪液中 IL-1 β 和 IL-8 浓度均下降,改善了干眼症患者干眼症状。当前研究热点为如何开发检测泪液渗透压装置和确定渗透压诊断标准。

4 炎症与眼表相关组织的改变

Stern 等^[40]把主泪腺、角膜、结膜、副泪腺、睑板腺及其间的神经支配统称为泪腺功能单元(LFU)。LFU 各成员间的相互影响与干眼症的发生发展密切相关。研究表明,干眼患者的眼表和泪液中增加的炎症细胞和炎症介质可对角结膜上皮细胞的结构与功能造成了损害。应用印迹细胞学及活检发现,干眼症患者可出现结膜鳞状上皮化生、杯状细胞减少、上皮细胞凋亡增多,且 CD4⁺, CD8⁺ T 细胞及巨噬细胞角结膜浸润增多。长期干眼症患者出现结膜角质化,眼表黏蛋白减少,角蛋白 keratin1, 10 表达上调^[41]。通过对体外培养的角膜上皮细胞研究发现,炎症因子 IL-1 α , TNF- α 及 TGF- β 均可促进 MMPs 产生,而 MMPs 又可以活化潜在的炎症因子如 IL-1 β , TNF- α 和 TGF- β 等,形成角膜上皮炎症的循环。Lam 等对干眼患者进行临床研究,发现其泪液中细胞因子 IL-1 α , IL-1 β 、趋化因子 MIP-1 α /CCl3, IL-8/CXCL8 的浓度与角膜荧光染色、结膜丽丝胺染色得分呈正相关,IL-6 浓度与干眼的刺激症状的严重程度相关,可能是 IL-6 能降低眼表感觉神经的阈值,造成患者对外界环境刺激更加敏感,提出炎症因子诱导痛觉过敏可能是造成干眼症患者眼部刺激症状的原因^[42]。此外, MMPs 可使角膜上皮的紧密连接程度以及连接角结膜的基底膜蛋白质降低,这些变化均可破坏角膜上皮细胞的完整性。IFN- γ 使分泌 MUC5AC 的杯状细胞减少,杯状细胞减少既可导致干眼症发病,又是干眼症发展的结果^[43]。眼表的炎症环境还可以激活凋亡途径,引起角结膜上皮的凋亡^[44]。对小鼠干眼模型眼表细胞凋亡的研究显示,在中央和周边角膜上皮、球结膜、睑缘均可出现细胞凋亡,其中促凋亡标志物在球结膜最多。炎症还可引起结膜杯状细胞数量减少和功能下降,使其分泌黏蛋白减少,上皮细胞中炎症活化标志物的增加,例如 HLA-DR, ICAM-1, CD40, CD40 配体或趋化因子受体 CCR5^[45]。而结膜上皮 CD8⁺ 和 CD103⁺ T 细胞的数量减少可破坏阻止致病性自身反应性 T 细胞浸润的细胞屏障^[46,47]。

5 小结

目前研究证明,炎症是引起干眼病理损害的重要机制,大量研究表明在干眼患者的泪液和眼表组织中各种炎症介质表达增加,并破坏泪膜稳定性和引起眼表结构损害。但是不同类型干眼中炎症产生的机制,炎症引起干眼病理损害的机制以及如何通过有效的抗炎来减轻干眼的病理损害等还有很多问题有待进一步研究。进一步对炎症在干眼眼表病理损害中的作用机制进行深入研

究,有助于阐明干眼的发病机制和为探索针对性的抗炎治疗方法提供科学依据。

参考文献

- Lemp M, Baudouin C, Baum J, et al. The definition and classification of dry eye disease: report of the definition and classification subcommittee of the international dry eye workshop. *Ocul Surf* 2007;5(2):75-92
- 刘祖国, 杨文照. 加强干眼的临床研究. *中华眼科杂志* 2013;49(10):865-868
- Tan X, Sun S, Liu Y, et al. Analysis of Th17-associated cytokines in tears of patients with dry eye syndrome. *Eye (Lond)* 2014;28(5):608-613
- El Annan J, Goyal S, Zhang Q. Regulation of T-cell chemotaxis by programmed death-ligand 1 (PD-L1) in dry eye-associated corneal inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(7):3418-3423
- Bikker A, van Woerkom JM, Kruijze AA. Increased expression of interleukin-7 in labial salivary Glands of patients with primary Sjogren's syndrome correlates with increased inflammation. *Arthritis Rheum* 2010;62(4):969-977
- Zoukhri D, Hodges RR, Byon D, et al. Role of proinflammatory cytokines in the impaired lacrimation associated with autoimmune xerophthalmia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(5):1429-1436
- Nquyen CQ, Hu MH, Li Y, et al. Salivary gland tissue expression of interleukin-23 and interleukin-17 in sj(o)gren's syndrome: findings in humans and mice. *Arthritis Rheum* 2009;58(7):734-743
- Bi Y, Yang R. Direct and indirect regulatory mechanisms in TH17 cell differentiation and functions. *Scand J Immunol* 2012;75(6):543-552
- Sugaya S, Sakimoto, Shoji J, et al. Regulation of soluble interleukin-6 (IL-6) receptor release from corneal epithelial cells and its role in the ocular surface. *Jpn J Ophthalmol* 2011;55(3):277-282
- Marquez-Velasco R, Rodriguez-Henriquez P, Bojalil R, et al. Interleukin 6 is associated with pulmonary involvement in primary Sjogren's syndrome. *J Rheumatol* 2009;36(11):2615-2616
- Turner K, Pflugfelder SC, Ji L, et al. Interleukin-6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. *Cornea* 2000;19(4):492-496
- Moriyama M, Hayashida JN, Toyoshima T, et al. Cytokine/chemokine profiles contribute to understanding the pathogenesis and diagnosis of primary Sjogren's syndrome. *Clin Exp Immunol* 2012;169(1):17-26
- De Paiva CS, Chotikavanich S, Pangelinan SB, et al. IL-17 disrupts corneal barrier following desiccating stress. *Mucosal Immunol* 2009;2(3):243-253
- Katsifis GE, Moutsopoulos NM, Wahl SM. T lymphocytes in Sjogren's syndrome: contributors to and regulators of pathophysiology. *Clin Rev Allergy Immunol* 2009;32(3):252-264
- Postal M, Appenzeller S. The role of Tumor Necrosis Factor-alpha (TNF- α) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cytokine* 2011;56(3):537-543
- Narayanan S, Miller WL, McDermott AM. Conjunctival cytokine expression in symptomatic moderate dry eye subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(6):2445-2450
- Durslm D, Kiln MC, Solomon A, et al. Treatment of recalcitrant recurrent corneal erosions with inhibitors of matrix metalloproteinase-9, doxycycline and corticosteroids. *Am J Ophthalmol* 2001;132(1):8-13
- Sobrin L, Liu Z, Pflugfelder SC, et al. Regulation of MMP-9 Activity in Human Tear Fluid and Corneal Epithelial Culture Supernatant. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41(7):1703-1709
- Sambursky R, O'Brien TP. MMP-9 and the perioperative management of LASIK surgery. *Curr Opin Ophthalmol* 2011;22(4):294-303

20 Pflugfelder SC, Farley W, Luo L. Matrix metalloproteinase - 9 knockout confers resistance to corneal epithelial barrier disruption in experimental dry eye. *Am J Pathol* 2005;166 (1) :61-71

21 Meloni M, De Servi B, Marasco D. Molecular mechanism of ocular surface damage: application to an *in vitro* dry eye model on human corneal epithelium. *Mol Vis* 2011;30(2) :113-126

22 Arglesso P, Gipson IK. Assessing mucin expression and function in human ocular surface epithelia *in vivo* and *in vitro*. *Methods Mol Biol* 2012;842:313-325

23 Gipson IK, Spurr-Miehaud SJ, Senchyna M, *et al.* Comparison of mucin levels at the ocular surface of postmenopausal women with and without a history of dry eye. *Cornea* 2011;30(12) :1346-1352

24 Corrales RM, Narayanan S, Femndez I, *et al.* Ocular mucin gene expression levels as biomarkers for the diagnosis of dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(5) :8363-8369

25 Blalock TD, Spun" - Michaud SJ, Tisdale AS, *et al.* Functions of MUC16 in corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48 (10) :4509-4518

26 Zhang J, Yan X, Li H. Analysis of the correlations of mucins, inflammatory markers, and clinical tests in dry eye. *Cornea* 2013;32 (7) :928-932

27 Corrales RM, Narayanan S, Fernandez I, *et al.* Ocular mucin gene expression levels as biomarkers for the diagnosis of dry eye syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(11) :8363-8369

28 El Annan J, Goyal S, Zhang Q. Regulation of T-cell chemotaxis by programmed death-ligand 1 (PD-L1) in dry eye-associated corneal inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(7) :3418-3423

29 谭莲, 谢汉平. T细胞介导的炎症反应机制在干眼病中的研究现状. *国际眼科杂志* 2013;13(3) :485-488

30 Sonnenberg GF, Nair MG, Kirn TJ, *et al.* Pathological versus protective functions of IL-22 in airway inflammation are regulated by IL-17A. *J Exp Med* 2010;207(6) :1293-1305

31 Rashid S, Jin Y, Ecoiffier T, *et al.* Topical omega-3 and omega-6 fatty acids for treatment of dry eye. *Arch Ophthalmol* 2008;126(2) :219-225

32 Ji YW, Seo Y, Choi W, *et al.* Dry eye-induced CCR7+CD11b+ cell lymph node homing is induced by COX-2 activities. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(10) :6829-6838

33 高彩凤, 陈慧瑾, 靳瑛, 等. Th17相关细胞因子在干眼患者眼表的表达及其相关性研究. *中华实验眼科杂志* 2014;32(7) :641-646

34 Niederkorn JY, Stern ME, Pflugfelder SC, *et al.* Desiccating stress

induces T cell - mediated Sjogren's syndrome - like lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol* 2006;176(7) :3950-3957

35 Sacks EH, Wieczorek R, Jakobiec FA, *et al.* Lymphocytic subpopulations in the normal human conjunctiva. A monoclonal antibody study. *Ophthalmology* 1986;93(10) :1276-1283

36 Tomlinson A, Khanal S, Ramaesh K, *et al.* Tear film osmolarity: determination of a referent for dry eye diagnosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(10) :4309-4315

37 Suzuki M, Massingale ML, Ye F, *et al.* Tear osmolarity as a bio-marker for dry eye disease severity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51 (9) :4557-4561

38 VanDerMeid KR, Su SP, Ward KW, *et al.* Correlation of tear inflammatory cytokines and matrix metalloproteinases with four dry eye diagnostic tests. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(3) :1512-1518

39 Lee JH, Min K, Kim SK, *et al.* Inflammatory Cytokine and Osmolarity Changes in the Tears of Dry Eye Patients Treated with Topical 1% Methylprednisolone. *Yonsei Med J* 2014;55(1) :203-208

40 Stern ME, Schaumburg CS, Siemasko KF. Autoantibodies contribute to the immunopathogenesis of experimental dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(4) :2062-2075

41 Chen YT, Li SM, Nikulina K. Immune profile of squamous metaplasia development in autoimmune regulator-deficient dry eye. *Mol Vis* 2009;15 (57-58) :563-576

42 Yeh S, Song XJ, Farley W, *et al.* Apoptosis of ocular surface cells in experimentally induced dry eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(1) :124-129

43 Lam H, Bleiden L, de Paiva CS, *et al.* Tear cytokine profiles in dysfunctional tear syndrome. *Am J Ophthalmol* 2009;147(2) :198-205

44 Moore JE, Vasey GT, Dartt DA. Effect of tear hyperosmolarity and signs of clinical ocular surface pathology upon conjunctival goblet cell function in the human ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52 (9) :6174-6180

45 Calonge M, Enríquez-de-Salamanca A, Diebold Y, *et al.* Dry Eye Disease as an Inflammatory Disorder. *Ocul Immunol Inflamm* 2010;18 (4) :244-253

46 De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, *et al.* Dry eye - induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon-gamma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(6) :2553-2560

47 Yoon KC, De Paiva CS, Qi H, *et al.* Desiccating environmental stress exacerbates autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis in non - obese diabetic mice. *J Autoimmun* 2008;30(4) :212-221