

睑板腺脂质在干眼症发病机制中的作用

尤宇辰 李学民

【摘要】 干眼症是眼科常见病,根据病因可分为泪液分泌不足和泪液蒸发过强两种类型。位于泪膜最外层的脂质层由睑板腺分泌,具有维持泪膜稳定和防止泪液蒸发的作用。脂质层的组成成分以及组织结构对它的稳定性有很大影响,睑板腺功能障碍患者由于脂质层功能紊乱,造成泪膜稳定性下降及眼表的破坏,引起蒸发过强型干眼症。(国际眼科纵览, 2014, 38: 316-319)

【关键词】 睑板腺;脂质层;干眼症

Roles of meibomian lipids in dry eyes YOU Yu-chen, LI Xue-min. Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China

Corresponding author: LI Xue-min, Email: lxmxm66@sina.com

【Abstract】 Both aqueous tear deficiency and increasing evaporation lead to dry eye. The outmost part of the tear film is the lipid layer secreted from the meibomian glands. The meibomian lipids maintain the stability and prevent evaporation of the tear film. The composition and construction of lipid layer influence the stability of itself. In the patients with meibomian gland dysfunction (MGD), the dysfunction of lipid layer leads to the reducing stability of tear film and destruction of ocular surface, and finally cause the over-evaporation dry eye. (Int Rev Ophthalmol, 2014, 38: 316-319)

【Key words】 meibomian gland; lipid layer; dry eye

泪膜脂质层是阻止泪液从眼表蒸发的屏障,当脂质层的功能或完整性破坏时,可以引起蒸发过强型干眼症。睑板腺分泌物是泪膜脂质层的主要来源,当睑板腺功能障碍时,会引起睑板腺分泌物的质或量的改变,对泪膜的稳定性造成影响。本文对睑板腺的结构、功能,睑板腺脂质的成分和作用以及其对干眼症的影响进行综述。

一、睑板腺的解剖结构和生理作用

睑板腺是位于睑缘的皮脂腺,垂直于眼睑排列,开口于皮肤粘膜交界处之前,上睑腺体数量约为 30~40 个、下睑约 20~30 个。睑板腺由许多囊状腺泡和其共同开口的一个直行的腺管组成,这些腺体细胞表达角蛋白,并含有张力微丝、透明角质颗粒以及层状小体,是部分角化的细胞^[1-2]。

睑板腺持续分泌富含脂质的分泌物,这些分泌物与泪蛋白相互作用而形成了泪膜外层完整的脂质层,通过睑板腺腺管分泌、以及眨眼的动作而均匀涂

布于眼表,起到保护泪膜、延缓眼表水分蒸发以及保护角膜的作用^[3-4],并降低泪液的表面张力以使水分回到泪膜中,从而增加泪河高度及泪膜的稳定性^[2]。睑板腺分泌物中的脂质熔点一般在 19℃~32℃,因此很容易从睑板腺腺管排出而涂布于泪膜,其熔点变化范围和泪膜外层的完整性都与其中的脂质种类及脂肪酸中不饱和成份以及支链的含量有关^[5-7]。

二、睑板腺分泌物中组成及作用

(一) 睑板腺分泌物中的成份

睑板腺分泌物由蜡酯、胆固醇脂和游离脂肪酸组成,包含有上百种脂类物质,其中简单脂类(即不可水解的脂类)包括油酸、十八醇、胆固醇、鲨烯等,在睑板腺分泌的脂质中占一小部分,占大部分的是复杂类脂。胆固醇脂在人类睑板腺分泌物中占总体积的 27.5%~40.0%,有 20 余种饱和或不饱和的胆固醇酯,含碳原子的数量从 18 至 34,其中超长链胆固醇脂是睑板腺分泌物中一种主要的脂类^[8-9]。分析显示其主要成分及含量为蜡酯 32.3%~47.0%、甾醇酯 27.5%~40.0%、极性脂类 12%~16%、甘油

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-5803.2014.05.006

作者单位:100191 北京大学第三医院眼科

通信作者:李学民,Email:lxmxm66@sina.com

三酯 3.0%~4.0%、甘油二酯 2.0%、游离脂肪酸 2.0%~3.0%、碳氢化合物 2.0%~7.0%，及少量单甘油酯和游离固醇类^[10-12]。磷脂为主要的极性脂类，这些极性脂类在水中的溶解性高于非极性脂类，非极性层覆盖于极性层之上，形成了空气与泪膜的交界，阻止水分蒸发，因此极性脂质层可提高脂质层整体的稳定性，增加与泪膜水层的联系，提供屏障，为极性层提供附着平面^[13]。睑板腺分泌物中这些不同的脂类通过极性脂质之间的离子键、极性或非极性脂质之间的氢键、长链脂肪酸和醇类或蜡酯之间的范德华力来维持完整结构、增加脂质膜的弹性和延展性^[14]。

(二) 睑板腺脂质与睑板腺功能障碍

睑板腺结构和功能受损可导致脂质分泌的紊乱，睑板腺相关疾病患者的睑板腺脂与正常人相比有所不同，睑板腺分泌物更加黏稠而溶点增加^[15]。McCulley 和 Shine^[16]的研究显示，与睑板腺功能正常的人相比，睑板腺相关角结膜炎患者的睑板腺分泌物中饱和脂肪酸所占比例较高，而单不饱和脂肪酸及酰基链所占的比例较少；Mathers 和 Lane^[10]对睑板腺功能障碍 (meibomian gland dysfunction, MGD) 患者睑板腺分泌物的分析显示出该类患者睑板腺分泌物中甘油三酯和胆固醇减少，非极性脂类、单不饱和脂肪酸——尤其是油酸以及支链酰基链，在有慢性睑缘炎和黏稠睑板腺分泌物的患者中也有所减少，这些脂质组成的变化能解释阻塞性 MGD 和泪膜不稳定的机制^[10, 16]：首先，含有不饱和链的脂质较饱和脂质溶点低，不饱和非极性脂肪酸含量减少可导致睑板腺分泌物溶点升高，使它们淤积在腺管内^[17]；其次，极性脂质亲水端连接泪液水层，而疏水端与非极性脂质相连，为非极性脂质提供附着的表面，极性脂质的改变可以引起非极性脂质的动力学状态变化——包括阻止水分蒸发的作用或调整极性和非极性脂质之间的接触，极性脂质的减少可降低泪膜的稳定性^[18]。磷脂在睑板腺极性脂肪酸中约占 70%^[19]，极性脂质的功能与磷脂的电离能力、酰基个数和碳链长度相关^[17]。一些对脂质分析的研究发现，在 MGD 患者睑板腺脂质中甘油三酯、胆固醇以及不饱和脂肪酸的总量减少，尤其是油酸减少更为明显^[20-21]，在一些睑板腺脂溢性皮炎合并感染患者中也观察到能够水解胆固醇油酸酯的凝固酶阴性葡萄球菌增多^[22]。Joffre 等^[19]利用气相色谱分析对正常人睑板腺脂、MGD 和水分缺乏两种类

型干眼症患者的睑板腺分泌物的研究中发现，单纯泪液缺乏型干眼症患者的睑板腺脂肪酸与健康人无明显差别，而 MGD 患者的睑板腺分泌物中含有较低比例的饱和脂肪酸及较高比例的支链脂肪酸和单不饱和脂肪酸。由于支链脂肪酸主要存在于碳链长度为 12-18 的蜡酯和甘油三酯中，因此这反映了 MGD 患者睑板腺脂质中含有更多的蜡脂、胆固醇酯和甘油三酯^[23-24]。蜡酯和胆固醇酯是睑板腺脂中的重要组成部分，可限制水分的扩散，睑板腺脂的成分差异是导致 MGD 患者泪膜脂质层流动性和稳定性差异的原因之一，而睑板腺功能障碍可能又会造成分泌物中的蜡酯、胆固醇增加^[19]。

脂质组成成分不同可以造成泪膜稳定性及泪液蒸发速度的差异。Borchman 等^[14]利用红外光谱对睑板腺分泌物进行成分分析，MGD 患者睑板腺分泌物中含有更多的来源于鞘脂类或蛋白质的酰胺键，而-CH₃和顺式 CH 键的含量相应减少，使睑板腺脂趋向饱和且支链碳氢化合物减少，这将导致睑板腺分泌物更加黏稠并且流动不畅，造成临床上观察到的睑板腺开口阻塞。Arciniega 等^[25]在研究中观察到，一定浓度的游离脂肪酸可使泪膜加速破裂，降低泪膜稳定性。中等长度的游离脂肪酸是潜在的表面活性物质，含量少时可增加睑板腺脂在泪液模拟溶液中的溶解度，脂质层尚可保持完整；含量增加时，由于表面活性作用使油酸与睑板腺脂形成不溶于水的微粒团，而使脂质层完整性破坏，即游离脂肪酸的存在破坏了睑板腺油脂的稳定性。

(三) 脂质层与泪膜其他成分的相互作用

脂质层的作用与泪液中蛋白和黏液成分密不可分，载脂蛋白是一种泪液白蛋白，它可以结合多种类型的配体，包括各类脂质，具有传送脂质的功能。载脂蛋白结合睑板腺脂并使它们在泪膜水分层上形成了稳定的脂质层。用共聚焦显微镜对脂质层的相互影响机制进行研究发现，MGD 患者泪膜脂质层变薄、脂质含量减少；而一部分正常人的脂质层也很薄，却组成了稳定的泪膜并且能够有效的阻止泪液蒸发，因此载脂蛋白和脂质的相互作用在正常人中活跃，但在疾病状态下可能被扰乱。现在已经研究证明泪液中的载脂蛋白是最重要的脂质转运体，并且对眼表脂质层的保护起到很大的作用。载脂蛋白以配体的形式与睑板腺脂结合并把它们运送到眼表，起到稳定泪膜和减少泪液蒸发的作用。但是这个过程是十分复杂的，并且会受到载脂蛋白结合的脂质

类型和睑板腺脂质成分的影响^[26-27]。

三、睑板腺脂质与干眼症

MGD 可以引起睑板腺分泌物的脂质成分的改变,这种改变可以引起泪膜构成和功能的异常,最终导致蒸发过强型的干眼症^[28]。干眼症的共同特点包括:(1)特征性的症状,例如眼疲劳、干涩、异物感等;(2)泪液高渗透压、泪膜稳定性下降及眼表损害对干眼症患者的视觉质量有较大影响^[3, 7]。MGD 是由上皮细胞过度角化引起的睑板腺腺管及开口的堵塞,引起睑板腺结构和功能的改变,造成睑板腺分泌物黏稠度、硬性增加^[7]。正常睑板腺分泌物为透明液体,而 MGD 患者的睑板腺分泌物如牙膏状混浊、黏稠,熔点增加,更易造成堵塞^[15]。

MGD 可导致睑缘和泪膜的脂质分布减少。睑板腺分泌物在空气和水的交界处可以形成一个固液双向的凝胶,由于脂质的存在,它在较大张力存在时具有变形的能力而不会破裂^[29];睑板腺脂质形成的膜弹性系数随着其压缩程度的增加而增加,它的流动性对阻止眼表水分蒸发起到重要作用^[30],正常睑板腺脂质的固液转换温度与眼表温度相近,使其保持“软固态”的特性流动于眼表形成保护层,维护泪膜的完整^[31]。脂质层功能障碍可以导致泪膜稳定性降低,造成泪液蒸发增多、渗透压增高,泪膜破裂时间(tear film breakup time, TBUT)减少,MGD 是干眼症的常见诱因。

四、睑板腺脂质的研究方法

对脂质的分析包括多种色谱和光谱技术、化学操作、元素分析、重量分析、热量测定、脂类特异染色等,其中在睑板腺分泌物研究中应用较广泛的有色谱分析和光谱分析两种方法。

色谱分析法主要包括薄层色谱分析、气相色谱分析、气液色谱分析技术以及液相色谱分析。薄层色谱分析的优势在于简单易行和高性价比,作为辅助手段应用于混合物的初步分离,但由于它的敏感性及分辨率较低,对少量而复杂的脂类如睑板腺分泌物的分析时会受到较大限制。气相色谱分析及气液色谱分析作为薄层色谱分析的补充,在薄层色谱分析分馏的基础上进一步对分离出的脂类进行气相或气液色谱分析,提高了脂类分析的敏感度和选择性。但气相及气液色谱分析也有局限性,包括分析过程中 200℃~400℃ 摄氏度的高温可能使混合物分解或异构、对待分析样本的挥发性要求等。近年来,质谱分析法在气相或气液色谱分析过程中使用较广

泛,能够准确分析样本分子量和裂解方式,但是对样本的要求与气相或气液色谱分析相同。相比较之下,液相色谱分析为样本的分离提供了一个最温和的条件:它的分析过程可以在室温下进行、不需要对样本水解或进行酯交换、对样本是否有挥发性没有要求,目前对有机混合物的液相色谱分析的标准技术称之为高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)或超高效液相色谱法(ultra performance liquid chromatography, UPLC),具有很高的敏感性、选择性和分辨率。在 HPLC/UPLC 中比较常用的探测技术有紫外和可见光光谱分析(ultra-violet-visible spectroscopy, UV-Vis)、荧光光谱法(fluorescence spectrum, FS)、质谱分析(mass spectrometry, MS)等^[11]。

UV-Vis、FS、MS 等方法单独应用时可以对包括睑板腺分泌物在内的有机物混合体提供有意义的分析信息。例如 UV-Vis 可以用来分析分子的电子吸收光谱,对顺式、反式等几何异构体或共轭双肩的研究和计数;FS 主要依据特定的分子具有被电磁辐射激发后发出更短波长光线的能力,用荧光素标记脂类后研究其构造及聚集形式;而 MS 以其敏感度和使用的灵活性而称为脂质分析中的一种很重要的方法,目前还没有另外的方法能像它一样在微克至毫微微克的质量水平上研究复杂的有机混合物。红外光谱分析能够探测多种脂类分子中振动和旋转的运动,因此可以对共价键的结构和类型提供准确的信息。目前应用最广泛、最有效的分析方法是 MS,尤其是与 HPLC 联合使用^[25, 32]。

五、小结及展望

睑板腺脂质对维持泪膜的稳定性起到主要的作用,MGD 可以导致泪膜及睑缘脂质分布异常,是引起蒸发型干眼症的最主要原因,MGD 患者的睑板腺脂质成分与健康人有所不同,对睑板腺脂质的研究目前尚无一致结论。MGD 造成睑板腺脂质成分的改变可影响到泪膜脂质层的性状,而这种变化又会影响到泪液中载脂蛋白对脂质的转运,进一步造成眼表脂质分布的变化,破坏泪膜的稳定性而引起泪液蒸发过强。MGD 与其造成的相关改变互为因果,引起干眼症患者眼表状况的持续破坏,这一过程的机制需进一步研究。另外,脂质层中各种成分对稳定泪膜的具体作用尚有待探索,目前已有研究证明局部应用脂类或口服补充特定的脂肪酸对治疗干眼症有一定效果^[33],对睑板腺脂的成分、作用等的研

究结果有望作为治疗干眼症的指导,提高干眼治疗的疗效。

参 考 文 献

- [1] Driver PJ, Lemp MA. Meibomian gland dysfunction. *Surv Ophthalmol*, 1996, 40: 343-367.
- [2] Foulks GN, Bron AJ. Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading. *Ocul Surf*, 2003, 1: 107-126.
- [3] Bron AJ, Tiffany JM. The contribution of meibomian disease to dry eye. *Ocul Surf*, 2004, 2: 149-165.
- [4] Butovich IA. Lipidomics of human meibomian gland secretions: chemistry, biophysics, and physiological role of meibomian lipids. *Prog Lipid Res*, 2011, 50: 278-301.
- [5] Borchman D, Foulks GN, Yappert MC, et al. Human meibum lipid conformation and thermodynamic changes with meibomian-gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52: 3805-3817.
- [6] McCulley JP, Shine WE. The lipid layer: the outer surface of the ocular surface tear film. *Biosci Rep*, 2001, 21: 407-418.
- [7] Knop E, Knop N, Millar T, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52: 1938-1978.
- [8] Butovich IA. Cholesteryl esters as a depot for very long chain fatty acids in human meibum. *J Lipid Res*, 2009, 50: 501-513.
- [9] Butovich IA. Fatty acid composition of cholesteryl esters of human meibomian gland secretions. *Steroids*, 2010, 75: 726-733.
- [10] Mathers WD, Lane JA. Meibomian gland lipids, evaporation, and tear film stability. *Adv Exp Med Biol*, 1998, 438: 349-360.
- [11] Shine WE, McCulley JP. The role of cholesterol in chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1991, 32: 2272-2280.
- [12] McCulley JP, Shine WE. Meibomian gland function and the tear lipid layer. *Ocul Surf*, 2003, 1: 97-106.
- [13] Bron AJ, Tiffany JM, Gouveia SM, et al. Functional aspects of the tear film lipid layer. *Exp Eye Res*, 2004, 78: 347-360.
- [14] Borchman D, Yappert MC, Foulks GN. Changes in human meibum lipid with meibomian gland dysfunction using principal component analysis. *Exp Eye Res*, 2010, 91: 246-256.
- [15] King-Smith PE, Bailey MD, Braun RJ. Four characteristics and a model of an effective tear film lipid layer (TFLL). *Ocul Surf*, 2013, 11: 236-245.
- [16] McCulley JP, Shine WE. The lipid layer of tears: dependent on meibomian gland function. *Exp Eye Res*, 2004, 78: 361-365.
- [17] Green-Church KB, Butovich I, Willcox M, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on tear film lipids and lipid-protein interactions in health and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52: 1979-1993.
- [18] Butovich IA, Wojtowicz JC, Molai M. Human tear film and meibum. Very long chain wax esters and (O-acyl)-omega-hydroxy fatty acids of meibum. *J Lipid Res*, 2009, 50: 2471-2485.
- [19] Joffre C, Souchier M, Grégoire S, et al. Differences in meibomian fatty acid composition in patients with meibomian gland dysfunction and aqueous-deficient dry eye. *Br J Ophthalmol*, 2008, 92: 116-119.
- [20] Shine WE, McCulley JP. Association of meibum oleic acid with meibomian seborrhea. *Cornea*, 2000, 19: 72-74.
- [21] Mathers WD, Stovall D, Lane JA, et al. Menopause and tear function: the influence of prolactin and sex hormones on human tear production. *Cornea*, 1998, 17: 353-358.
- [22] Dougherty JM, McCulley JP. Analysis of the free fatty acid component of meibomian secretions in chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1986, 27: 52-56.
- [23] Dougherty JM, Osgood JK, McCulley JP. The role of wax and sterol ester fatty acids in chronic blepharitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1991, 32: 1932-1937.
- [24] McCulley JP, Shine W. A compositional based model for the tear film lipid layer. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 1997, 95: 79-88.
- [25] Arciniega JC, Nadjji EJ, Butovich IA. Effects of free fatty acids on meibomian lipid films. *Exp Eye Res*, 2011, 93: 452-459.
- [26] Glasgow BJ, Gasymov OK. Focus on molecules: tear lipocalin. *Exp Eye Res*, 2011, 92: 242-243.
- [27] Millar TJ, Mudgil P, Butovich IA, et al. Adsorption of human tear lipocalin to human meibomian lipid films. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50: 140-151.
- [28] Nelson JD, Shimazaki J, Benitez-del-Castillo JM, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the definition and classification subcommittee. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52: 1930-1937.
- [29] Leiske DL, Raju SR, Ketelson HA, et al. The interfacial viscoelastic properties and structures of human and animal meibomian lipids. *Exp Eye Res*, 2010, 90: 598-604.
- [30] Sweeney DF, Millar TJ, Raju SR. Tear film stability: a review. *Exp Eye Res*, 2013, 117: 28-38.
- [31] Rosenfeld L, Fuller GG. Consequences of interfacial viscoelasticity on thin film stability. *Langmuir*, 2012, 28: 14238-14244.
- [32] Butovich IA. The meibomian puzzle: combining pieces together. *Prog Retin Eye Res*, 2009, 28: 483-498.
- [33] Geerling G, Tauber J, Baudouin C, et al. The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52: 2050-2064.

(收稿日期: 2014-01-14)