

结膜杯状细胞特性与眼表健康相关性的研究进展

钟煜,朱继开,王璐璇,徐敬东

基金项目:国家自然科学基金项目(No. 81274173, 81673671);北京市自然科学基金项目(No. 7122017);首都医科大学基础与临床基金资助项目(No. 2015JL55);首都医科大学创新基金资助项目(No. xsky2015011)

作者单位:(100069)中国北京市,首都医科大学基础医学院
作者简介:钟煜,男,首都医科大学临床医学5+3在读,研究方向:黏液分泌与临床医学。

通讯作者:徐敬东,女,博士,副教授,博士研究生导师,研究方向:平滑肌运动和黏膜分泌的相关科研工作. xujingdong@163.com

收稿日期:2017-04-07 修回日期:2017-07-24

Research progress in characteristics of conjunctiva goblet cells and its relationship with ocular surface health

Yu Zhong, Ji - Kai Zhu, Lu - Xuan Wang, Jing - Dong Xu

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (No. 81274173, 81673671); Natural Science Foundation of Beijing (No. 7122017); Basic and Clinical Foundation of Capital Medical University (No. 2015JL55); Innovation Foundation of Capital Medical University (No. xsky2015011)

School of Basic Medical Science, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Correspondence to: Jing - Dong Xu. School of Basic Medical Science, Capital Medical University, Beijing 100069, China. xujingdong@163.com

Received:2017-04-07 Accepted:2017-07-24

Abstract

• Conjunctiva goblet cells are spread out within a stratified epithelium, and keep ocular surface homeostasis by secreting mucin. Previous research has shown conjunctiva goblet cells can secrete mucin, remove debris and modulate ocular surface immune function. In this review, we will focus on biological characteristics of conjunctiva goblet cells and the effect of key factors SAM pointed domain Ets factor (SPDEF) on differentiation and function of conjunctiva goblet cells, and further understand relationship between goblet cells and eye health.

• **KEYWORDS:** conjunctiva goblet cell; SAM pointed domain Ets factor; ocular surface function; regulation; dry eye

Citation: Zhong Y, Zhu JK, Wang LX, et al. Research progress in characteristics of conjunctiva goblet cells and its relationship with

ocular surface health. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2017; 17(9):1667-1670

摘要

结膜杯状细胞散在分布于复层上皮中,可分泌黏蛋白来维持眼表环境稳定。有研究证明结膜杯状细胞具有分泌黏液、眼表废物清除以及免疫调节功能。本文着重阐述结膜杯状细胞的生物学特性以及对其分化起调节作用的关键性因子 SPDEF (SAM pointed domain Ets factor) 对该细胞功能的影响,进一步明确杯状细胞与眼健康的相关性。

关键词: 结膜杯状细胞; SPDEF; 眼表功能; 调节; 干眼症

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2017.9.15

引用: 钟煜,朱继开,王璐璇,等. 结膜杯状细胞特性与眼表健康相关性的研究进展. 国际眼科杂志 2017; 17(9):1667-1670

0 引言

杯状细胞 (goblet cell) 作为单细胞腺在人体扮演了重要的保护者的角色。杯状细胞分泌的黏蛋白建立了天然屏障,在维持眼表环境稳态方面的作用不容小视。杯状细胞分化受阻、数量明显减少和分泌受抑制可导致干眼症,严重时致眼失明。近年来,对结膜杯状细胞的来源分布、结构、分化、功能及分泌调节已有研究,尤其在结膜杯状细胞分泌黏蛋白方面,这为干眼症的预防和治疗提供了新的思路。本文基于近年对杯状细胞结构和功能调节的研究进展,就结膜杯状细胞来源、增殖分化及其影响因素、功能和与临床联系进行综述。

1 结膜杯状细胞结构及来源

迄今为止发现结膜杯状细胞是由结膜角质细胞分化而来。其形似酒杯,内容饱满,基底膜与上皮基底膜接触,充满整个复层上皮,自底层向表层,细胞形态由圆形变为椭圆形。杯状上皮细胞与相邻复层上皮细胞形成紧密连接。电镜下,基部含有丰富的粗面内质网和游离核糖体。杯状细胞为单分泌腺,分泌高度加工的黏蛋白至细胞外与水结合成黏液,作为角膜与外界屏障,在细胞表面起着润滑和保护的作用。

研究表明当把从克隆培养的兔结膜上皮细胞中取出的单细胞注入 BALB/c 时,它们会分化为角质细胞和杯状细胞^[1],这揭示结膜角质细胞具有双向分化潜能,且杯状细胞来自结膜;进一步研究发现使用³H 的胸腺嘧啶核苷标记滞留细胞出现在结膜上皮的所有区域,但在穹隆上皮里最多^[2],这提示结膜穹隆富含成体干细胞;另外用 BrdU 标记兔眼结膜细胞的定位研究证明了 BrdU 标记细胞主要集中在皮肤黏膜交界处,提示上皮干/祖细胞是作为迁移向穹隆的短暂扩充细胞的来源^[3]。这些研究表明干细胞特异性存在于上皮组织中,但内眦和下穹隆区域有着高水

平的克隆率和标记,即结膜干细胞群分布于整个结膜,但富集于人内眦和下穹隆。结膜干细胞具有双向分化潜能,并向角质细胞和杯状细胞分化,穹隆部的上皮细胞在生长末期向杯状细胞分化。

2 结膜杯状细胞的发育

在人类,结膜杯状细胞出现在孕期第8~9wk 胚胎的睑缘附近,孕期第11~12wk 睑结膜上可观察到具有分泌颗粒的成熟结膜杯状细胞,孕期第20wk 球结膜可见杯状细胞^[4]。杯状细胞在发育过程中,随基底上层皮细胞逐渐迁移至表层分泌黏蛋白后,一部分细胞可在静息一段时间后再次合成黏液,一部分细胞以顶浆形式分泌黏蛋白颗粒,随后其体积变小,以脱屑形式从结膜上皮脱落^[5]。

2.1 影响结膜杯状细胞增殖因素 最新研究证明类胆碱能物质可与结膜杯状细胞表面副交感神经 M2 和 M3 受体结合促进细胞分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPK)的活性,依次激活 Ras, c-Raf, MEK1/2, ERK1/2 来激活转录因子 Elk-1, Elk-1 结合到 SRE 启动转录,进而促进杯状细胞发育;表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)通过与杯状细胞表面生长因子受体结合来活化 MAPKKK-MAPKK-MAPK 级联反应通路促进其增殖;血管内皮生长因子(VEGF)则可通过 VEGFR-1 刺激杯状细胞增殖^[6];还有一些研究表明核苷酸 UTP 类似物 INS365 可作用于 G 蛋白偶联 P2Y2 受体促进杯状细胞增殖^[7]。值得关注的是烟雾如二手烟^[8]、 β 受体阻滞剂^[9]、渗透压增加^[10]和防腐剂^[5]会导致杯状细胞密度减小。

2.2 调节结膜杯状细胞分化的主要信号通路 结膜杯状细胞的分化与增殖受到多个信号通路的调节,尤其值得关注的是,SPDEF(SAM pointed domain Ets factor)在杯状细胞分化和增殖中扮演着关键角色。Marko 等^[11]研究发现 SPDEF 转录因子可直接促进杯状细胞的分化。Gipson^[12]进一步揭示 SPDEF 在杯状细胞中也可受其它因子间接作用,后续研究表明 Notch 通路和 dnMam1 可通过调节 Klf4 和 Klf5 来调控 SPDEF;SPDEF 通过促进 Wnt 通路拮抗剂 Frzb 和被 TGF β 抑制来限制自身的过度表达,也通过调控 FOXA3 来控制杯状细胞分化(图1)。

首先,Notch 通路调节转录因子家族成员 Klf4 和 Klf5 参与杯状细胞分化,抑制或干扰这些信号通路和转录因子会导致结膜杯状细胞缺失^[13]。研究发现 Klf4 能直接结合在人结膜杯状细胞产物 MUC5AC 促进因子区域中 Klf4 结合序列(Klf4-binding motif)CACCC 上。随后 RT-qPCR 分析揭示 Klf4 mRNA 在表达主要负性操控样因子(dominant negative mastermind-like 1, dnMam1)小鼠有下调^[14]。实验也发现在 HEK293 细胞内转染 Klf4 cDNA 能显著加快 Muc5AC 促进因子活动^[14],Klf 因子可维持结膜杯状细胞正常及分泌功能。Kenchegowda 等^[15]进一步发现 Klf4/5 任何一个在 Notch 通路中缺失会导致在结膜上皮杯状细胞的减少,因为实验表明 Klf4 基因敲除小鼠 SPDEF 因子会减少^[16],且小鼠角膜脆化和角膜基质水肿^[16],而 Klf5 基因敲除小鼠存在眼睑缺失,睑板腺畸形和角膜异常^[15]。此外已证实通过在眼表表达 dnMam1 条件性抑制 Notch 通路会抑制杯状细胞发育及其分化^[14]。因为对结膜杯

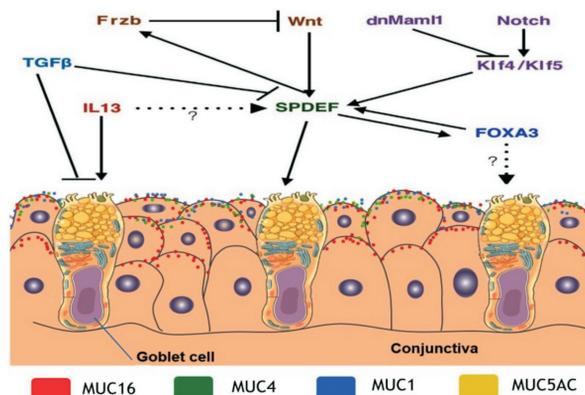


图1 结膜杯状细胞分化机制的信号通路模式图 SPDEF 是参与杯状细胞分化的核心转录因子,受 Notch、dnMam1、Wnt 和 TGF β 通路调控。IL-13 间接通过 SPDEF 诱导结膜杯状细胞数量增加机制不明^[35]。结膜杯状细胞分化中 FOXA3 的作用不明;人类中 MUC16 出现于角膜和结膜上皮顶层细胞胞膜的顶端,MUC1 在结膜和角膜上皮表面层均存在,MUC4 普遍存在于结膜上皮,分泌蛋白 MUC5AC 存在于杯状细胞。

状细胞产物 MUC5AC 进行免疫荧光染色发现 dnMam1 鼠没有检测到阳性指征,而野生型鼠的眼睑、穹隆以及结膜根部都表现出明显的阳性指征^[14]。其原因是 Klf4 和 Klf5 在 dnMam1 鼠结膜上皮相比野生型鼠有明显减少^[14]。此外,PAS 染色发现在正常小鼠,富含黏蛋白的杯状细胞在出生第7~9d 从结膜上皮出现,在第2~3wk 数量增长形成集落,而 dnMam1 小鼠在第9~16d 没有表现杯状细胞分化迹象^[14]。通过以上实验证据可得出,由 Notch 活动、dnMam1 的过表达、Klf4 和 Klf5 的缺失所导致的发育异常表明它们处于级联通路的上游,调节包括杯状细胞分化在内的上皮细胞分化。这些结果证明 Notch 通路在结膜杯状细胞的分化及发育中起到促进作用,而过度表达 dnMam1 会抑制杯状细胞的产生,导致杯状细胞的缺失。

其次,大量研究证实 Wnt 通路在杯状细胞分化中具有调节作用。SPDEF 转录因子由 SPDEF 基因编码,该基因是 Wnt 通路应答基因^[17]。Marko 等^[11]利用消减微阵列分析比较野生型和杯状细胞 SPDEF^{-/-}小鼠结膜发现,在 Wnt 通路中,Frzb、Dix1、Wnt5b 和 Wnt11 在 SPDEF^{-/-}结膜上皮中有下调,这揭示它们可能通过 SPDEF 表达来参与结膜上皮代谢或杯状细胞分化。特别是 Frzb 在四种 Wnt 通路相关基因中下调最明显(达 115 倍),这表明 Frzb 可能是杯状细胞特异基因,并且通过进一步实时定量 PCR 技术发现,除杯状细胞外的结膜复层上皮中 Frzb mRNA 含量比结膜杯状细胞中低了 100 倍,这揭示 Frzb mRNA 是结膜杯状上皮的产物,后来使用激光捕捉杯状细胞 mRNA 和免疫组织化学的实验中也证实 Frzb 是结膜杯状细胞基因^[11]。也有实验发现 Frzb 敲除小鼠杯状细胞数量明显减少,且小鼠结膜发生改变。这些证据表明 Wnt 通路通过 Frzb、SPDEF 参与调节结膜杯状细胞分化。

再次,TGF β 信号通路在结膜上皮代谢和杯状细胞分化中作用也已被证实。跨膜丝氨酸/苏氨酸激酶受体 TGF β R(transforming growth factor beta receptor)是 TGF β 细胞因子 TGFBR1/2/3 的特异性受体,其作用是将 TGFBR1/2/3 的信号从细胞表面转化到细胞质,调控其生理和病理过

程。研究表明条件性敲除 K14 细胞中 TGF β R2 会导致眼表上皮异常增生和杯状细胞数量增加,同时 SPDEF 表达也出现增加^[18],这提示 TGF β 抑制 SPDEF 的转录。进一步的实验分析得出其机制如下:TGF β 与 TGF β R 结合后会磷酸化 Smad2,随后 P-Smad2/Smad3 与 Smad4 形成复合物后结合到 SPDEF 启动子上阻止其转录^[18]。眼表缺乏 TGF β 后上皮正常生长,但是结膜杯状细胞增加^[18],这证明 TGF β 信号通路在结膜内限制杯状细胞增殖。此外,K14 上皮中 SPDEF 的过度表达会导致成年鼠眼睑和周边角膜杯状细胞异位的形成,这或许可以进一步确定 TGF β 通过抑制 SPDEF 来调控杯状细胞分化的正常进行。

另有研究发现,SPDEF 和 FOXA3 相互调节。FOXA3 是结合 DNA 激活转录因子,其存在于气管上皮和结膜。在气管上皮发现 FOXA3 可不依赖于 SPDEF 诱导杯状细胞分化;而在肺和结膜,FOXA3 在 SPDEF 敲除小鼠中明显下调^[11],这表明 SPDEF 参与调节 FOXA3,但遗憾的是这些具体的分化机制尚未在人体得到充分明确的证明。

3 结膜杯状细胞产物功能及调节因素

3.1 杯状细胞产物 研究表明膜锚定蛋白 MUC16 在人类和小鼠的杯状细胞中均有表达^[19]。这种黏蛋白是最大的黏蛋白种类,也是人体内最大糖蛋白,由 22 152 个氨基酸组成,出现在人角膜和结膜上皮顶端的糖蛋白复合物上^[20]。在人类中 MUC16 出现于角膜和结膜上皮顶层细胞膜的顶端。最新研究发现人结膜杯状细胞中包围黏蛋白颗粒的膜结合在膜锚定黏蛋白 MUC16 上^[19],而该处具有屏障功能^[21],可防止细胞和病原菌入侵,还可分泌蛋白 MUC5AC 黏附于眼表^[20]。除此之外,其他杯状细胞产物如 MUC1 在结膜和角膜上皮表面层均存在,而 MUC4 普遍存在于结膜上皮,随着向角膜中心方向迁移明显减少。

人类结膜杯状细胞黏蛋白主要是 MUC5AC,其次还有 MUC2,但其含量远远低于 MUC5AC^[22]。新进研究表明小鼠杯状细胞在结膜中分为两个群,一个群表达 MUC5AC,另外一个较小的群表达 MUC5B^[23]。随后进一步的实验通过用 MUC5AC 或 MUC5B 敲除的小鼠来测试这两种黏蛋白在小鼠眼表的功能,结果小鼠没有明显表型,但在 MUC5AC 敲除小鼠中 MUC5B 有明显的上调,这可能表明 MUC5AC 和 MUC5B 在小鼠眼表功能基本相同,且可以相互补充。

3.2 杯状细胞的功能

3.2.1 杯状细胞分泌黏蛋白可润滑、湿润表面、维持泪膜

已证实上皮杯状细胞不断产生和分泌黏液,黏液覆盖其上形成薄胶样黏液丝,当黏液丝达一定长度时,即可在眼睑瞬目运动作用下,从杯状细胞顶端分泌区游离至结膜表面^[5]。由于结膜表面无纤毛运动,游离的黏液丝则随眨眼而均匀分布于眼表,从而使眼睑与眼球间始终保持一定润滑程度,减少眼睑结膜与眼球表面之间活动的摩擦力,维持结膜和角膜上皮湿润的微环境^[5]。值得注意的是人类患严重的眼干燥症时结膜内杯状细胞数量明显减少,最终发展成角膜角化和混浊^[24],这可能与杯状细胞的黏蛋白分泌异常有关。

3.2.2 杯状细胞可清理眼表碎片 虽然 SPDEF 敲除小鼠缺少杯状细胞^[11],但 SPDEF^{-/-}小鼠没有明显表型,在对其

眼表更进一步的检查中显示小鼠角膜荧光素染色增加,泪量增加和结膜上皮炎症细胞增加^[11]。此外,相比于野生型小鼠,SPDEF 敲除小鼠的结膜穹隆有碎片累积,这些研究证据提示 SPDEF 可能具有清除眼表碎片的功能。

3.2.3 杯状细胞可以维持眼表内环境稳态、参与免疫反应

结膜是眼表免疫反应最活跃的区域,多种结膜免疫反应能被过敏、感染、炎症所激发。结膜杯状细胞不止产生黏蛋白,也作为眼表先天免疫系统的一部分,维持上皮屏障和调节眼表对 Th2 细胞因子 IL-13 的免疫应答。结膜杯状细胞为 IL-13 应答细胞,Tukler Henriksson 等^[25]对 95 个已知具有防护和免疫调节作用的杯状细胞相关基因进行 PCR 分析得出 46% 显示受 IL-13 影响。对结膜杯状细胞和 IL-13 关系的进一步研究发现,IL-13 可刺激结膜杯状细胞产生 MUC5AC 和 MUC2,并刺激免疫调节基因的表达增加,进而使 CCL26 的表达增加,而 CCL26 通过与表达在嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、一些树突状细胞和 Th2 的趋化因子受体 CXCR1 结合来维持眼表免疫稳定^[25]。

3.3 调节因素 黏液分泌受到多种因素的调节。其研究进展如下,睁眼状态下,副交感神经通过 M2、M3 受体调节黏蛋白的分泌;此外,胆碱能激动剂可以通过 EGFR 激活 MAPK,促进杯状细胞分泌;NGF 可刺激大鼠结膜杯状细胞分泌黏蛋白活动增强^[26];Dartt 等^[27]发现眼表感觉神经末梢释放 CGRP 和 SP 可直接作用于杯状细胞,刺激黏蛋白的分泌;Ca²⁺浓度对杯状细胞的分泌有重要的作用。已有实验证实结膜杯状细胞中存在 PKC 亚型(经典 PKC 同工酶 PKC α 、 β I 和 β II,新型 PKC 同工酶 PKC ϵ 、 θ 和 μ 以及非典型 PKC 同工酶 PKC ξ),Ca²⁺可以诱导 PKC 部分亚型(PKC α 、 β I 和 β II)活化,导致杯状细胞分泌黏蛋白增加^[5];值得注意的是,P2Y2 受体近年来逐渐被关注,其广泛存在于眼部各种细胞,包括睑结膜和球结膜上皮、杯状细胞、角膜上皮、睑板腺腺体和导管细胞^[28]。最新研究发现 P2Y2 受体可以被胞外核苷酸激动剂激活,通过改变细胞内 Ca²⁺和 Cl⁻浓度、激活 PKC 等机制发挥多种生理作用,包括使泪液和黏蛋白分泌增加^[29]。

4 眼表疾病中杯状细胞变化

干眼症是一类因各种原因导致泪液质或量的异常而引起的常见眼表疾病,也是当今眼科研究的热点之一。迄今为止,有实验证明干眼疾病患者可见杯状细胞数量减少,尤其在眼瘢痕性天疱疮和 Stevens Johnson 综合征中杯状细胞数量有显著下降,减少了 95%^[30]。在对干眼症患者进一步的研究中已经证实杯状细胞数量^[31]和 MUC5AC 的表达^[32]以及 SPDEF^[11]均减少,因此杯状细胞数量可能依赖于 SPDEF 的水平。这提示提高结膜 SPDEF 含量是治疗干燥和降低干眼疾病的有效疗法。

相比于异基因造血干细胞移植的无干眼症患者和正常人,患有移植物抗宿主(GVHD)干眼症的患者杯状细胞数量减少^[33]。患有 GVHD 和杯状细胞减少的患者其结膜炎症细胞更多。而过过敏性结膜炎患者 MUC5AC 表达显著下降^[34]。NK 或 NKT 的 IL-13 可诱导杯状细胞分化^[35]。细胞因子在干眼疾病中调节炎症反应,进而调节杯状细胞功能发挥一定的调节作用^[36]。

5 小结

结膜杯状细胞由原始多能干细胞发育而来,其分泌的黏蛋白保证了眼表和黏膜上皮的湿润,并具有清除眼表碎片、减少角膜表面受损、维持眼表免疫屏障的功能;其分化

受到 SPDEF 的直接和间接诱导,调节杯状细胞分化与增殖的主要途径是 Notch 通路,其中 TGF β 、FOXA3、IL-13 等通过与 SPDEF 形成的级联反应通路参与正向调节。反之,杯状细胞数量、结构、功能的缺陷及其分泌物的缺陷都会对眼表生态及免疫的平衡产生不利影响。由此可见,杯状细胞为眼名副其实的有力“保护者”。总之,杯状细胞可作为眼表疾病的指标,为临床判断眼表疾病提供诊断依据,也对深入研究杯状细胞与眼表疾病的发生机制有重要意义。然而,结膜杯状细胞的增殖分化和黏蛋白分泌调控因素中还存在更多细节问题待发现、研究和探讨。

参考文献

- 1 Wei ZG, Lin T, Sun TT, *et al.* Clonal analysis of the *in vivo* differentiation potential of keratinocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997; 38(3):753-761
- 2 Wei ZG, Cotsarelis G, Sun TT, *et al.* Label-retaining cells are preferentially located in fornical epithelium; implications on conjunctival epithelial homeostasis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36(1):236-246
- 3 Su L, Cui H, Xu C, *et al.* Putative rabbit conjunctival epithelial stem/progenitor cells preferentially reside in palpebral conjunctiva. *Curr Eye Res* 2011;36(9):797-803
- 4 李志杰,王嫦君.关注结膜杯状细胞在维持眼表完整性中的作用. *中华实验眼科杂志* 2017;35(2):97-101
- 5 王志昕,孙旭光.结膜杯状细胞研究进展. *国际眼科纵览* 2005;29(4):224-227
- 6 Torricelli AA, Singh V, Santhiago MR, *et al.* The corneal epithelial basement membrane: structure, function, and disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54(9):6390-6400
- 7 Murakami T, Fujihara T, Nakamura M, *et al.* P2Y(2) receptor elicits PAS-positive glycoprotein secretion from rabbit conjunctival goblet cells *in vivo*. *J Ocul Pharmacol Ther* 2003;19(4):345-352
- 8 Uchino Y, Uchino M, Yokoi N, *et al.* Impact of cigarette smoking on tear function and correlation between conjunctival goblet cells and tear MUC5AC concentration in office workers. *Sci Rep* 2016;(6):27699
- 9 王镇,谭晓俊,程钧,等.药物性角膜炎的研究进展. *眼科新进展* 2017;37(2):192-195
- 10 Zhao H, Jumblatt JE, Wood TO, *et al.* Quantification of MUC5AC protein in human tears. *Cornea* 2001;20(8):873-877
- 11 Marko CK, Menon BB, Chen G, *et al.* Spdef null mice lack conjunctival goblet cells and provide a model of dry eye. *Am J Pathol* 2013;183(1):35-48
- 12 Gipson IK. Goblet cells of the conjunctiva: A review of recent findings. *Prog Retin Eye Res* 2016;54:49-63
- 13 Delp EE, Swamynathan S, Kao WW, *et al.* Spatiotemporally Regulated Ablation of Klf4 in Adult Mouse Corneal Epithelial Cells Results in Altered Epithelial Cell Identity and Disrupted Homeostasis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015; 56(6):3549-3558
- 14 Zhang Y, Lam O, Nguyen MT, *et al.* Mastermind-like transcriptional co-activator-mediated Notch signaling is indispensable for maintaining conjunctival epithelial identity. *Development* 2013; 140(3): 594-605
- 15 Kenchegowda D, Swamynathan S, Gupta D, *et al.* Conditional disruption of mouse Klf5 results in defective eyelids with malformed meibomian glands, abnormal cornea and loss of conjunctival goblet cells. *Dev Biol* 2011; 356(1): 5-18
- 16 Swamynathan SK, Katz JP, Kaestner KH, *et al.* Conditional deletion of the mouse Klf4 gene results in corneal epithelial fragility, stromal edema, and loss of conjunctival goblet cells. *Mol Cell Biol* 2007; 27

- (1): 182-194
- 17 Gregorieff A, Stange DE, Kujala P, *et al.* The ets-domain transcription factor Spdef promotes maturation of goblet and paneth cells in the intestinal epithelium. *Gastroenterology* 2009;137(4):1333-1345
- 18 McCauley HA, Liu CY, Attia AC, *et al.* TGFbeta signaling inhibits goblet cell differentiation via SPDEF in conjunctival epithelium. *Development* 2014; 141(23):4628-4839
- 19 Gipson IK, Spurr-Michaud STisdale A. Human conjunctival goblet cells express the membrane associated mucin MUC16: Localization to mucin granules. *Exp Eye Res* 2016; 145: 230-234
- 20 Govindarajan B, Gipson IK. Membrane-tethered mucins have multiple functions on the ocular surface. *Exp Eye Res* 2010; 90(6):655-663
- 21 Gipson IK, Spurr-Michaud S, Tisdale A, *et al.* Comparison of the transmembrane mucins MUC1 and MUC16 in epithelial barrier function. *PLoS One* 2014; 9(6): e100393
- 22 Floyd AM, Zhou X, Evans C, *et al.* Mucin deficiency causes functional and structural changes of the ocular surface. *PLoS One* 2012; 7(12): e50704
- 23 Marko CK, Tisdale AS, Spurr-Michaud S, *et al.* The Ocular Surface Phenotype of Muc5ac and Muc5b Null Mice No Ocular Surface Phenotype in Mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(1):291-300
- 24 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
- 25 Tukler Henriksson J, Coursey TG, Corry DB, *et al.* IL-13 Stimulates Proliferation and Expression of Mucin and Immunomodulatory Genes in Cultured Conjunctival Goblet Cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2015;56(8):4186-4197
- 26 Rios JD, Ghinelli E, Gu J, *et al.* Role of neurotrophins and neurotrophin receptors in rat conjunctival goblet cell secretion and proliferation. *Invest Ophthalmol vis Sci* 2007; 48(4):1543-1551
- 27 Dartt DA, Masli S. Conjunctival epithelial and goblet cell function in chronic inflammation and ocular allergic inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2014;14(5):464-470
- 28 李海燕,庞国祥.眼表粘蛋白的调节因素. *眼科新进展* 2005;25(2):187-189
- 29 孙嘉悦,刘涛. P2Y-2 受体激动剂用于干眼治疗的研究进展. *眼科新进展* 2016;36(8):796-800
- 30 Frank J. Holly. The preocular tear film in health, disease, and contact lens wear. ed: Dry Eye Institute, Lubbock, TX 1986:140-156
- 31 Kunert KS, Tisdale AS, Gipson IK. Goblet cell numbers and epithelial proliferation in the conjunctiva of patients with dry eye syndrome treated with cyclosporine. *Arch Ophthalmol* 2002;120(3):330-337
- 32 Argueso P, Balam M, Spurr-Michaud S, *et al.* Decreased levels of the goblet cell mucin MUC5AC in tears of patients with Sjogren syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(4):1004-1011
- 33 Wang Y, Ogawa Y, Dogru M, *et al.* Baseline profiles of ocular surface and tear dynamics after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with or without chronic GVHD-related dry eye. *Bone Marrow Transplantation* 2010;45(6):1077-1083
- 34 Dogru M, Matsumoto Y, Okada N, *et al.* Alterations of the ocular surface epithelial MUC16 and goblet cell MUC5AC in patients with atopic keratoconjunctivitis. *Allergy* 2008;63(10):1324-1334
- 35 De Paiva CS, Raince JK, McClellan AJ, *et al.* Homeostatic control of conjunctival mucosal goblet cells by NKT-derived IL-13. *Mucosal Immunol* 2011;4(4):397-408
- 36 Pflugfelder SC, Corrales RM, de Paiva CS. T helper cytokines in dry eye disease. *Exp Eye Res* 2013;117:118-125