

# 润目灵方激活 LC3-ATG5 自噬通路抑制炎症因子表达改善干眼大鼠眼表损伤的机制

李凯<sup>1</sup>, 罗丹<sup>2</sup>

1. 南京中医药大学附属医院 眼科, 江苏 南京 210029
2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210046

**摘要:**目的 探讨润目灵方激活 LC3-ATG5 自噬通路并抑制炎症因子表达改善干眼大鼠眼表损伤的作用机制。方法 采用氢溴酸东莨菪碱皮下注射构建干眼模型, 将 60 只 SD 大鼠随机分为空白对照、模型、润目灵方、自噬激活剂、自噬抑制剂及润目灵方联合自噬抑制剂干预组, 每组各 10 只。通过角膜荧光素染色 (corneal fluorescein staining, CFS) 评分、泪膜破裂时间 (tear break-up time, TBUT)、酚红棉线试验 (phenol red tear test, PRTT) 评估眼表功能; HE 染色及透射电镜观察角膜病理与超微结构; RT-qPCR/Western blot 检测自噬相关指标 (LC3、ATG5、P62) 及炎症因子 (IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$ ) 的表达。统计学处理采用单因素方差分析或重复测量资料方差分析。结果 模型组较空白组 TBUT 缩短 ( $P < 0.001$ ), CFS 评分升高 ( $P < 0.001$ ), PRTT 减少 ( $P < 0.001$ ), 角膜上皮细胞空泡化增加。润目灵方干预后显著恢复眼表稳态 (TBUT, CFS 和 PRTT, 均  $P < 0.05$ ), 电镜显示自噬小体数量较模型组增加。分子机制显示, 润目灵方显著激活 LC3-ATG5 自噬通路, 表现为上调 LC3-II/LC3-I 比值 ( $P < 0.05$ ) 及 ATG5 表达 ( $P < 0.05$ ), 同时显著抑制炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-18 的表达 (均  $P < 0.05$ )。结论 润目灵方可有效改善干眼大鼠眼表炎症及损伤, 其机制与激活 LC3-ATG5 自噬通路并抑制 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-18 等炎症因子表达密切相关。

**关键词:** 润目灵方; 干眼; 动物模型; 自噬; 炎症因子

**中图分类号:** R771 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673-3770(2026)03-0092-10

**引用格式:** 李凯, 罗丹. 润目灵方激活 LC3-ATG5 自噬通路抑制炎症因子表达改善干眼大鼠眼表损伤的机制 [J]. 山东大学耳鼻喉眼学报, 2026, 40(3): 92-101. LUO Dan, LI Kai. Runmu ling formula ameliorates ocular surface damage in dry eye rats by activating the LC3-ATG5 autophagy pathway and inhibiting inflammatory factor expression [J]. Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University, 2026, 40(3): 92-101.

## Runmu ling formula ameliorates ocular surface damage in dry eye rats by activating the LC3-ATG5 autophagy pathway and inhibiting inflammatory factor expression

LI Kai<sup>1</sup>, LUO Dan<sup>2</sup>

1. Department of Ophthalmology, Jiangsu Province Hospital of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu, China
2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu, China

**Abstract: Objective** The objective of this study is to investigate the mechanism by which Runmu Ling Formula (RML) ameliorates ocular surface damage in rats with dry eye through activation of the LC3-ATG5 autophagy pathway and inhibition of inflammatory factor expression. **Methods** A dry eye model was established via subcutaneous injection of scopolamine hydrobromide. A total of 60 Sprague-Dawley (SD) rats were randomly assigned to six groups, with ten rats per group: a blank control group, a model group, an RML-treated group, an autophagy activator group, an autophagy inhibitor group, and an RML combined with autophagy inhibitor group. The ocular surface function of the subjects was assessed using a variety of methods, including corneal fluorescein staining (CFS) scores, tear break-up time (TBUT), and the phenol red thread test (PRTT). The corneas were subjected to a comprehensive evaluation that entailed the application of hematoxylin-eosin (HE) staining and transmission electron microscopy. RT-qPCR and Western blotting were employed to measure the expression of autophagy-related markers (LC3, ATG5, P62) and inflammatory factors (IL-1 $\beta$ , IL-18, TNF- $\alpha$ ). **Results** In comparison with the blank control group, the model group demonstrated a significant reduction in TBUT ( $P < 0.001$ ), elevated CFS scores ( $P < 0.001$ ), diminished PRTT values ( $P < 0.001$ ), and augmented vacuolation of corneal epithelial cells. RML intervention led to a significant restoration of ocular surface

**收稿日期:** 2025-05-23

**基金课题:** 江苏省中医药科技发展计划重点项目 (ZD202102); 全国名老中医药专家传承工作室建设项目 (2024YL03204)

**通信作者:** 李凯. E-mail: likai8922@163.com

homeostasis, as evidenced by substantial improvements in TBUT, CFS, and PRIT (all  $P < 0.05$ ). The transmission electronmicroscopy revealed an increase in the formation of autophagosomes in the RML group compared to the model group. Mechanistically, RML significantly activated the LC3-ATG5 autophagy pathway, as evidenced by increased LC3-II/LC3-I ratios ( $P < 0.05$ ) and elevated ATG5 expression ( $P < 0.05$ ). Concurrently, RML potently suppressed the expression of inflammatory factors TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-18 (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The efficacy of Runmu Ling Formula in alleviating ocular surface inflammation and injury in rats with dry eye has been demonstrated by its ability to activate the LC3-ATG5 autophagy pathway and inhibit the expression of key inflammatory factors, including TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-18.

**Key words:** Runmu Ling Formula; Dry eye; Animal model; Autophagy; Inflammatory factors

干眼(dry eye, DE)是一种以泪膜稳态失衡为核心特征的多因素眼表疾病,典型临床表现包括眼部干涩、异物感、烧灼感及视物疲劳等<sup>[1-2]</sup>。受现代生活方式与环境因素影响,干眼的全球患病率持续上升,亚洲人群发病率为 17%~33%,我国患病率达 21.0%~52.4%,已成为重要的公共卫生问题<sup>[3-6]</sup>。干眼发病机制复杂,主要涉及泪膜不稳定、泪液高渗性、眼表炎症及神经感觉异常等<sup>[7-8]</sup>。近年研究<sup>[9]</sup>揭示,眼表慢性炎症在干眼发生发展中起关键作用,其诱导的炎性细胞因子释放可形成恶性循环,加剧眼表损伤,自噬作为维持细胞内稳态的核心调控机制,其功能失调与干眼密切相关。自噬可通过调控炎症级联反应影响眼表炎症水平<sup>[10]</sup>,这为探索干眼治疗新靶点提供了重要方向。目前临床主要依靠人工泪液和免疫调节剂(如环孢素 A)治疗干眼,但存在疗效局限及副作用等问题<sup>[11-12]</sup>。中医药以其多成分、多靶点等特点,在干眼治疗中展现出独特潜力<sup>[13-14]</sup>。润目灵方是本院清热养阴经验复方,前期研究证实其可缓解干眼症状,并降低眼表组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-18 等促炎因子表达<sup>[15-17]</sup>。然而,润目灵方改善干眼眼表炎症的具体机制,尚待深入研究。因此,本研究旨在阐明润目灵方对干眼模型大鼠眼表炎症损伤的改善作用,并重点探究其是否通过 LC3-ATG5 自噬通路调控炎症因子发挥治疗效应,以期为干眼的临床治疗提供新依据与策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 实验动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠,8 周龄,体质量(200±20)g,购自北京斯贝福生物技术有限公司(动物生产许可证号:SCXK[京]2024-0010),选择泪液分泌量 >7 mm/20 s、裂隙灯检查无眼疾大鼠 60 只纳入实验。大鼠饲养于南京中医药大学附属医院药理实验室,相对湿度为 50%~55%,室温为 21~25 °C,自由饮食饮水,昼夜节律光照。本研究通过了南京中医药大学附属医院实验动物伦理委员会批准(2022DW-39-02)。

#### 1.1.2 药物与试剂

润目灵方颗粒剂购自南京中医药大学附属医院,由天江药业股份有限公司生产。润目灵方组成:鬼针草 30 g、枸杞子 10 g、菊花 10 g(批号分别为 21100553、21102513、21091323)。氢溴酸东莨菪碱(scopolamine hydrobromide, SCOP)(JOT-10515,成都普菲德,中国);雷帕霉素(rapamycin, RAPA)(HY-10219, MCE, 美国);3-甲基腺嘌呤(3-Methyladenine, 3-MA)(S2767, Selleck, 美国)。

LC3 抗体(T55992, 上海 Abmart, 中国),P62 抗体(T55546, 上海 Abmart, 中国),ATG5 抗体(66744-1-Ig, 武汉三鹰, 中国),IL-1 $\beta$  抗体(66737-1-Ig, 武汉三鹰, 中国),IL-18 抗体(60070-1-Ig, 武汉三鹰, 中国),TNF- $\alpha$  抗体(60291-1-Ig, 武汉三鹰, 中国),Beta Actin 抗体(ab8227, 上海 Abmart, 中国)。动物 RNA 提取试剂盒(R0026, 上海碧云天, 中国),cDNA 合成试剂盒(D7180L, 上海碧云天, 中国),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(P0010S, 上海碧云天, 中国),极超敏 ECL 化学发光试剂盒(P0018FM, 上海碧云天, 中国)。

#### 1.1.3 主要仪器

手持裂隙灯显微镜(LS-1B, 重庆上邦, 中国);倒置显微镜(MF52-N, 广东明美, 中国);透射电子显微镜(HT7700, 日立, 日本);高速台式冷冻离心机(TGL-16, 湖南湘仪, 中国);高通量组织研磨仪(MB-48S, 浙江美壁, 中国);实时荧光定量 PCR 仪(MA-6000, 苏州雅睿, 中国);酶联免疫分析仪(AMR-100, 杭州奥盛, 中国);垂直电泳转印系统(EPS 300, 上海天能, 中国);全自动化学发光图像处理系统(Tanon-4600, 上海天能, 中国)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 干眼模型建立

通过皮下注射 SCOP 溶液建立干眼大鼠模型。将 SCOP 粉末溶解于生理盐水中,配制成终浓度为 3 mg/mL 的 SCOP 溶液,于大鼠下肢皮下注射,每次注射剂量为 0.6 mg/0.2 mL,每日 4 次(8:00、11:00、14:00、17:00),持续 10 d<sup>[18]</sup>。该干眼模型的

成功构建依赖于以下三大标志性特征:①角膜上皮细胞出现明显损伤,具体表现为荧光素斑点状或斑块状染色增多;②泪膜破裂时间缩短;③泪液分泌量明显减少<sup>[19]</sup>。

### 1.2.2 分组及给药

经过一周的适应性喂养期后,将 60 只 SD 大鼠分为空白对照组 10 只和造模组 50 只,造模组采用上述方法建立干眼动物模型,空白对照组下肢皮下注射等体积生理盐水。造模成功后,将造模组按照随机数字表法随机分为模型组、润目灵方组,自噬激活剂组、自噬抑制剂组、润目灵方+自噬抑制剂组,每组 10 只,干预时间为 14 d。

润目灵方的临床剂量 50 g/d,根据人(60 kg)-大鼠体表面积换算法计算大鼠等效剂量为 5.25 g/(kg·d),结合课题组前期实验经验,润目灵方最佳给药剂量为等效剂量的 2 倍,即 10.5 g/(kg·d)<sup>[17]</sup>。润目灵方组大鼠每日灌胃 10.5 g/kg 润目灵方溶液,其余组大鼠灌胃等体积生理盐水。自噬激活剂组予腹腔注射自噬激活剂 APA 溶液(2 mg/kg),自噬抑制剂组予腹腔注射自噬抑制剂 3-MA 溶液(15 mg/kg)<sup>[20]</sup>,润目灵方+自噬抑制剂组予润目灵方及 3-MA 联合治疗,均为每日一次,连续 14 d。干预期间继续予 SCOP 皮下注射维持干眼模型。

### 1.2.3 检测指标

#### 1.2.3.1 泪膜稳定性

通过检测泪膜破裂时间(tear break-up time, TBUT)评估泪膜稳定性。市售荧光素钠眼科检测试纸(天津晶明)用生理盐水蘸湿后,将染色试纸条顶端轻擦拭下睑结膜,轻揉上下睑,使其弥散分布。手动使角膜充分暴露于裂隙灯显微镜钴蓝光下,观察自末次瞬目至泪膜表面出现第一个破裂斑的时长,3 次取平均值。

#### 1.2.3.2 眼表损伤检查

采用角膜荧光素染色(corneal fluorescein stai-

ning, CFS)评分评估大鼠眼表损伤的程度。角膜经过荧光素染色后,在裂隙灯显微镜钴蓝光下观察角膜荧光素染色情况、上皮缺损的部位及范围。将角膜分为 4 个象限,染色程度分为 0~3 分,共计 12 分。无染色为 0 分;1 分为染色少于 30 个点;3 分为出现块状染色或丝状物;2 分介于两者之间。

#### 1.2.3.3 泪液分泌量

采用酚红棉线法(phenol red tear test, PRTT)检测大鼠泪液分泌量。将酚红棉线(天津晶明)顶端放置于大鼠下眼睑距离外眦 1/3 处的穹隆部结膜上,检测时间为 20 s,测量酚红棉线由黄色变为红色的长度。

#### 1.2.3.4 HE 染色观察角膜组织病理变化

大鼠角膜组织用 4%多聚甲醛溶液固定 24 h,梯度乙醇逐级脱水,二甲苯透明,石蜡包埋后制备 4 μm 厚度的切片,然后用苏木精和伊红(hematoxylin-eosin, H&E)染色切片,光学显微镜观察及拍照。

#### 1.2.3.5 透射电镜观察角膜组织超微结构及自噬小体

将大鼠角膜组织样本置于 2.5%戊二醛溶液中固定 2 h(4 ℃),0.1 mol/L 磷酸缓冲液漂洗 3 次,1%锇酸固定液后固定 2 h(4 ℃),梯度乙醇逐级脱水,环氧树脂浸透包埋,恒温箱内加温聚合。制备 70 nm 超薄切片,醋酸铀和柠檬酸铅双染色,透射电镜观测及采集图像。

#### 1.2.3.6 RT-qPCR 检测角膜组织 LC3、P62、ATG5 mRNA 表达

采用 Trizol 法从大鼠角膜组织中提取总 RNA,微量分光光度计测定 RNA 浓度,cDNA 合成试剂盒将 RNA 逆转录为模板 cDNA。实时荧光定量 PCR 仪设定反应程序并进行 PCR 检测,反应条件设置为 95 ℃预变性 5 min,95 ℃变性 10 s,60 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 30 s,共 40 次循环。以 GAPDH 为内参基因,采用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  计算各靶基因的 mRNA 相对表达水平。基因引物均由通用生物(安徽)股份有限公司设计合成,引物序列见表 1。

表 1 基因引物序列  
Table 1 Geneprimer sequences

基因名称	引物序列	产物长度/(bp)
LC3		
F	5'-CGTCCTGGACAAGACCAAGTTCC-3'	112
R	5'-CAGGAGGAAGAAGGCTTGTTAGC-3'	
P62		
F	5'-TGCCACGGTAGTTAAGTATG-3'	38
R	5'-GTCATGCTAGTGTGAGACA-3'	
ATG5		
F	5'-CCCTGAAGACGGAGAGAAGA-3'	122
R	5'-TGCTGATGTGAAGGAAGTTGTC-3'	
GAPDH		
F	5'-AAGGTCGGTGTGAACGGATT-3'	157
R	5'-TGAAGTCCGTTGGGTAGAG-3'	

### 1.2.3.7 Western blot 检测角膜组织 LC3、P62、ATG5、IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$ 蛋白表达

使用 RIPA 裂解液提取大鼠角膜组织总蛋白, BCA 法检测蛋白浓度, 将蛋白样品与等体积上样缓冲液混匀后, 沸水浴 10 min。蛋白样品经 8%~15% SDS-PAGE 凝胶电泳后, 转移至 PVDF 膜上。5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h, 一抗 4  $^{\circ}$ C 下孵育过夜, 二抗室温孵育 1 h, 使用化学发光显色法曝光显影, 以  $\beta$ -actin 作为内参, 使用 Image J 图像处理软件分析条带的灰度值并进行统计分析。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 软件。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 不符合正态分布的计量资料以 M ( $P_{25}, P_{75}$ ) 表示, 采用秩和检验、多组间比较采用单因素方差分析或重复测量资料的方差分析。检验水

准取  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 润目灵方对干眼大鼠泪膜稳定性的影响

造模前, 各组大鼠 TBUT 比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 造模后/治疗 0 d, 各组大鼠 TBUT 较空白对照组显著降低 ( $P < 0.001$ ); 治疗 14 d 后, 润目灵方组、自噬激活剂组 TBUT 较模型组显著升高 ( $P < 0.001$ ), 润目灵方+自噬抑制剂组 TBUT 较自噬抑制剂组显著升高 ( $P < 0.01$ )。重复测量方差分析结果显示, 组间 TBUT 的变化存在显著差异 ( $F_{\text{组间}} = 20.01, P < 0.001$ ), 组内 TBUT 具有时间变化趋势 ( $F_{\text{组内}} = 58.82, P < 0.001$ ), 且组别与干预前后存在交互作用 ( $F_{\text{组内} \times \text{组间}} = 5.83, P < 0.001$ )。见表 2。

表 2 各组大鼠 TBUT 比较 ( $n = 10$ )  
Table 2 Comparison of TBUT in rats of each group ( $n = 10$ )

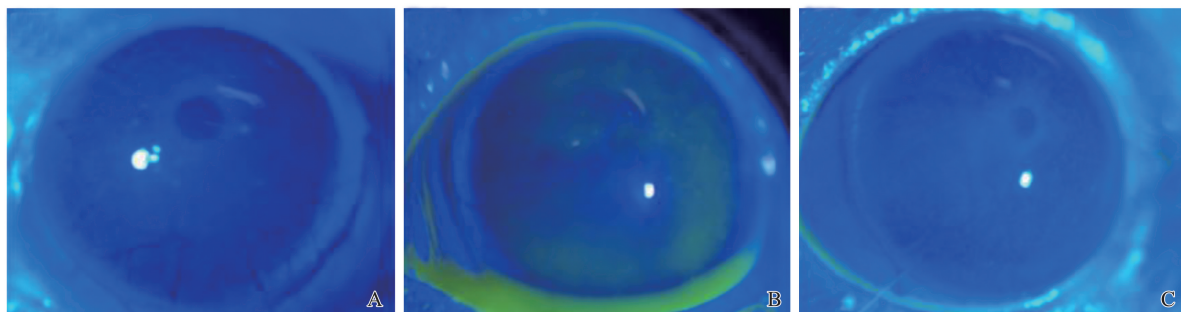
组别	造模前	治疗 0 d	治疗 7 d	治疗 14 d
空白对照组	4.90 $\pm$ 1.52	5.20 $\pm$ 1.75	4.70 $\pm$ 1.49	5.10 $\pm$ 1.52
模型组	4.80 $\pm$ 0.79	1.50 $\pm$ 1.27***	1.40 $\pm$ 0.97***	1.20 $\pm$ 0.92***
润目灵方组	5.20 $\pm$ 0.92	1.20 $\pm$ 0.92***	3.20 $\pm$ 1.55***	4.10 $\pm$ 1.60###
自噬激活剂组	4.60 $\pm$ 1.17	1.40 $\pm$ 1.17***	3.20 $\pm$ 1.40***	4.40 $\pm$ 1.84###
自噬抑制剂组	5.30 $\pm$ 1.49	1.50 $\pm$ 0.85***	1.30 $\pm$ 0.67***	1.40 $\pm$ 0.84***
润目灵方+自噬抑制剂组	5.30 $\pm$ 1.57	1.50 $\pm$ 1.18***	2.40 $\pm$ 1.35***	3.60 $\pm$ 1.71***▲▲
F/H	2.699	15.947	10.090	12.440
P	0.746	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与空白对照组比较, \*  $P < 0.05$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ; 与模型组比较, ##  $P < 0.01$ , ###  $P < 0.001$ ; 与自噬抑制剂组比较, ▲  $P < 0.01$ 。

### 2.2 润目灵方对干眼大鼠眼表损伤的影响

造模前, 各组大鼠 CFS 评分比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 造模后/治疗 0 d, 各组大鼠 CFS 评分较空白对照组显著升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.001$ ); 治疗 14 d 后, 润目灵方组、自噬激活剂组 CFS 评分较模型组显著降低 ( $P < 0.01$ ), 润目灵方

+自噬抑制剂组 CFS 评分较自噬抑制剂组显著降低 ( $P < 0.01$ )。重复测量方差分析结果显示, 组间 CFS 评分的变化存在显著差异 ( $F_{\text{组间}} = 23.80, P < 0.001$ ), 组内 CFS 评分具有时间变化趋势 ( $F_{\text{组内}} = 90.50, P < 0.001$ ), 且组别与干预前后存在交互作用 ( $F_{\text{组内} \times \text{组间}} = 6.59, P < 0.001$ )。见图 1, 表 3。



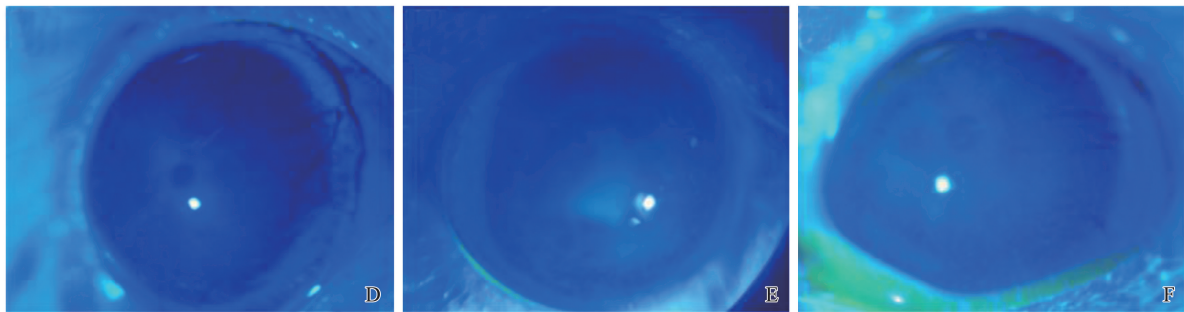


图 1 治疗结束后各组大鼠角膜荧光素染色

A: 空白对照组; B: 模型组; C: 润目灵方组; D: 自噬激活剂组; E: 自噬抑制剂组; F: 润目灵方+自噬抑制剂组

Figure 1 Corneal fluorescein staining of rats in each group after treatment

A: Blank control group; B: RML-treated group; C: Moisturizing Eye Formula group; D: Autophagy activator group; E: Autophagy inhibitor group; F: RML+autophagy inhibitor group

表 3 各组大鼠 CFS 评分比较 (n = 10)  
Table 3 Comparison of CFS scores in rats of each group (n = 10)

组别	造模前	治疗 0 d	治疗 7 d	治疗 14 d
空白对照组	3.60±2.46	3.10±2.23	3.40±2.22	2.60±2.22
模型组	3.20±2.04	9.80±1.69 <sup>***</sup>	9.90±1.85 <sup>***</sup>	10.20±1.40 <sup>***</sup>
润目灵方组	3.50±2.07	9.40±2.01 <sup>***</sup>	7.20±2.10 <sup>***##</sup>	7.10±3.00 <sup>***##</sup>
自噬激活剂组	3.00±1.94	9.10±1.79 <sup>***</sup>	6.50±2.07 <sup>***###</sup>	6.50±2.12 <sup>***###</sup>
自噬抑制剂组	3.40±2.12	9.90±2.23 <sup>***</sup>	10.70±1.34 <sup>***</sup>	10.00±1.76 <sup>***</sup>
润目灵方+自噬抑制剂组	3.40±2.72	10.20±1.81 <sup>***</sup>	8.50±1.72 <sup>***▲</sup>	7.30±1.77 <sup>***##▲▲</sup>
F/H	0.094	25.288	37.062	17.347
P	0.993	<0.001	<0.001	<0.001

注:与空白对照组比较,\*\*\*P<0.001;与模型组比较,##P<0.01,###P<0.001;与自噬抑制剂组比较,▲P<0.05,▲▲P<0.01。

### 2.3 润目灵方对干眼大鼠泪液分泌量的影响

造模前,各组大鼠 PRTT 比较差异无统计学意义 (P>0.05);造模后/治疗 0 d,各组大鼠 PRTT 较空白对照组显著降低,差异均有统计学意义 (P<0.001);治疗 14 d 后,润目灵方组、自噬激活剂组 PRTT 较模型组显著升高 (P<0.001),润目灵方+自

噬抑制剂组 PRTT 较自噬抑制剂组显著升高 (P<0.001)。重复测量方差分析结果显示,组间 PRTT 的变化存在显著差异 (F<sub>组间</sub> = 54.50, P<0.001),组内 PRTT 具有时间变化趋势 (F<sub>组内</sub> = 81.96, P<0.001),且组别与干预前后存在交互作用 (F<sub>组内\*组间</sub> = 8.08, P<0.001)。见表 4。

表 4 各组大鼠 PRTT 比较 (n = 10)  
Table 4 Comparison of PRTT in rats of each group (n = 10)

组别	造模前	治疗 0 d	治疗 7 d	治疗 14 d
空白对照组	9.60±2.76	10.10±3.00	10.30±1.77	10.60±2.76
模型组	9.50±2.72	2.40±0.97 <sup>***</sup>	2.50±1.18 <sup>***</sup>	2.80±1.14 <sup>***</sup>
润目灵方组	9.20±2.39	2.40±0.84 <sup>***</sup>	5.40±2.72 <sup>***###</sup>	8.10±2.18 <sup>***##</sup>
自噬激活剂组	9.40±1.65	1.80±0.79 <sup>***</sup>	4.90±1.97 <sup>***###</sup>	9.00±2.16 <sup>###</sup>
自噬抑制剂组	9.60±2.50	2.00±1.25 <sup>***</sup>	2.20±1.03 <sup>***</sup>	2.30±1.06 <sup>***</sup>
润目灵方+自噬抑制剂组	9.10±2.33	2.90±1.10 <sup>***</sup>	3.60±1.96 <sup>***</sup>	7.30±4.00 <sup>***###▲▲▲</sup>
F/H	0.456	30.283	36.445	19.423
P	0.994	<0.001	<0.001	<0.001

注:与空白对照组比较,\*P<0.05,\*\*\*P<0.001;与模型组比较,##P<0.01,###P<0.001;与自噬抑制剂组比较,▲▲▲P<0.001。

### 2.4 润目灵方对干眼大鼠角膜组织病理形态的影响

角膜组织 HE 染色结果显示:空白对照组大鼠角膜组织结构完整,可见 4~6 层角膜上皮细胞,细胞大小均匀,排列紧密,层次清楚,基质层胶原纤维一致,极向正常;模型组和自噬抑制剂组大鼠角膜上皮细胞形状不规则,角膜表面可见角化过度

的扁平上皮细胞,细胞密度降低,局灶上皮细胞质空泡化,表面上皮细胞脱落,极向紊乱;润目灵方组和自噬激活剂组大鼠角膜组织可见角膜层数正常,基底细胞极向稍紊乱,角膜上皮细胞轻微脱落;润目灵方+自噬抑制剂组大鼠可见角膜上皮层稍薄,角膜上皮细胞轻微脱落。见图 2。

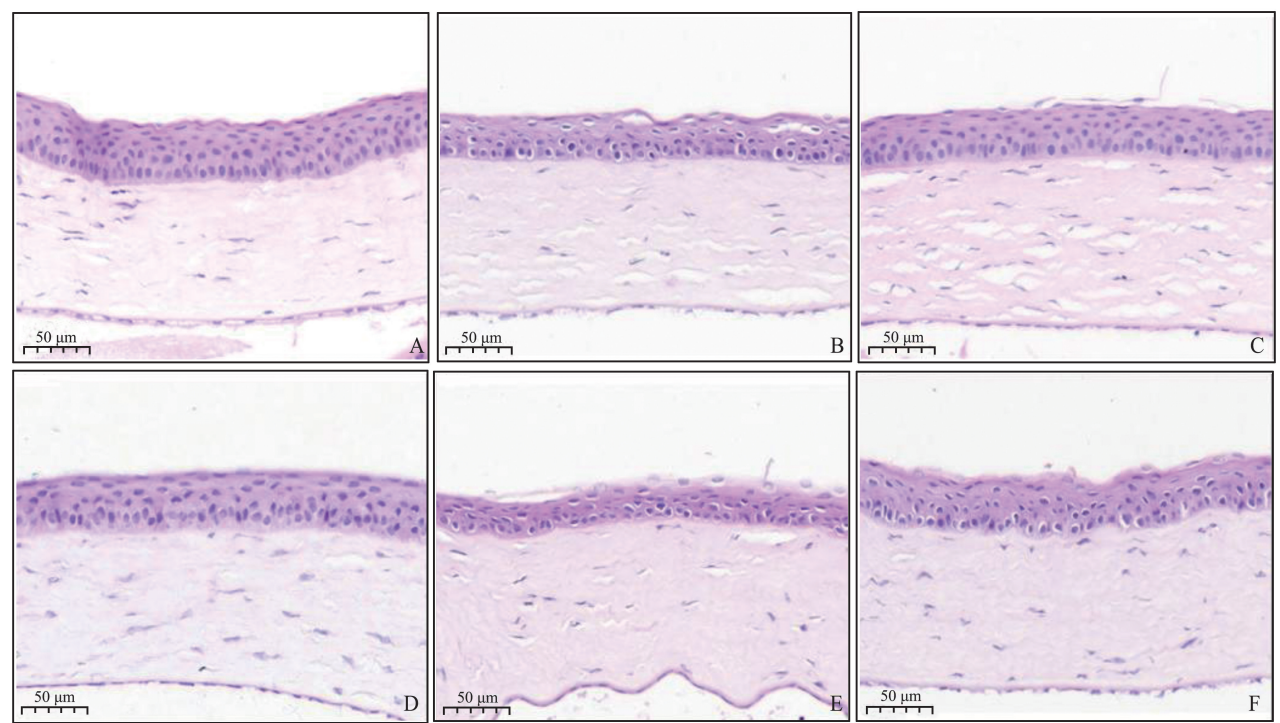


图 2 各组大鼠角膜组织病理形态(×200)

A: 空白对照组; B: 模型组; C: 润目灵方组; D: 自噬激活剂组; E: 自噬抑制剂组; F: 润目灵方+自噬抑制剂组

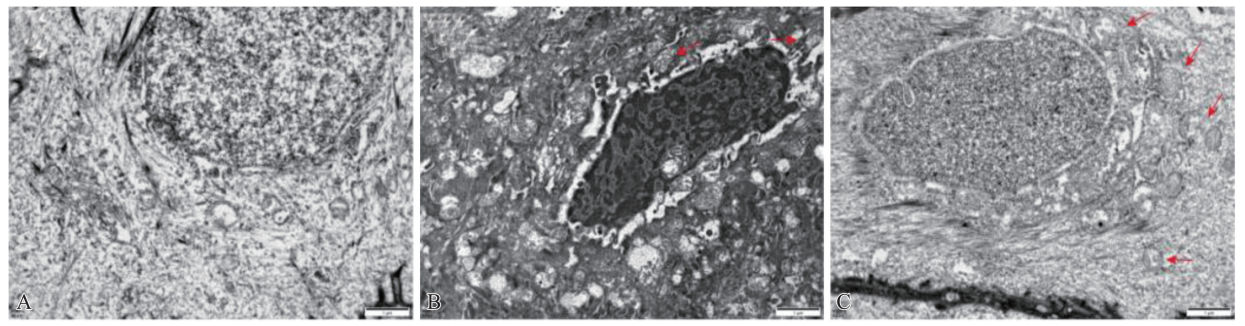
Figure 2 Corneal tissue pathological morphology of rats in each group (×200)

A: Blank control group; B: RML-treated group; C: Moisturizing Eye Formula group; D: Autophagy activator group; E: Autophagy inhibitor group; F: RML+autophagy inhibitor group

### 2.5 润目灵方对干眼大鼠角膜组织超微结构及自噬小体的影响

角膜组织透射电镜结果显示:空白对照组大鼠角膜细胞结构正常完整,存在极少量自噬小体;模型组大鼠角膜细胞明显肿胀,线粒体水肿扩张,细胞核密度增加,见少量自噬小体形成;润目灵方组及自噬

激活剂组大多数细胞形态较好,线粒体损伤程度明显较模型组减轻,胞浆内自噬小体数量明显增多;自噬抑制剂组大鼠角膜细胞超微结构如模型组,未见自噬小体;润目灵方+自噬抑制剂组可见少部分线粒体轻度肿胀,膜密度增加,偶见少量自噬小体形成。见图 3。



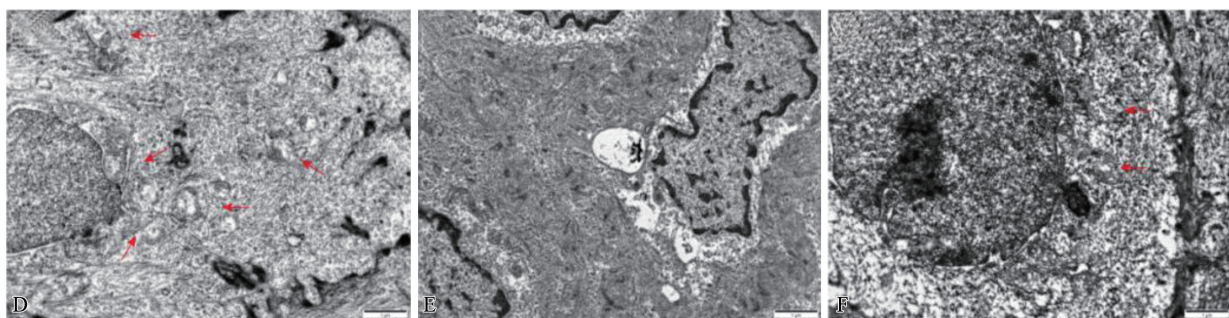


图 3 各组大鼠角膜组织超微结构及自噬小体( $\times 5000$ )

A: 空白对照组; B: 模型组; C: 润目灵方组; D: 自噬激活剂组; E: 自噬抑制剂组; F: 润目灵方+自噬抑制剂组

Figure 3 Corneal tissue ultrastructure and autophagosomes in rats of each group ( $\times 5000$ )

A: Blank control group; B: RML-treated group; C: Moisturizing Eye Formula group; D: Autophagy activator group; E: Autophagy inhibitor group; F: RML+autophagy inhibitor group

**2.6 润目灵方对干眼大鼠角膜组织 LC3、P62、ATG5 mRNA 表达的影响**

LC3、ATG5 mRNA 表达显著升高( $P < 0.001$ ); 与自噬抑制剂组比较, 润目灵方+自噬抑制剂组 LC3、ATG5 mRNA 表达显著升高( $P < 0.001$ )。见表 5。

与模型组比较, 润目灵方组及自噬激活剂组

表 5 各组大鼠角膜组织 LC3、P62、ATG5 mRNA 表达( $n=3$ )

Table 5 Expression of LC3, P62, and ATG5 mRNA in corneal tissue of rats in each group ( $n=3$ )

组别	LC3	P62	ATG5
空白对照组	1.01±0.13	1.00±0.00	1.00±0.03
模型组	1.12±0.20	0.63±0.39	0.97±0.04
润目灵方组	2.31±0.07 <sup>***###</sup>	0.87±0.36	2.95±0.27 <sup>***###</sup>
自噬激活剂组	2.23±0.09 <sup>***###</sup>	1.22±0.49	3.18±0.07 <sup>***###</sup>
自噬抑制剂组	1.26±0.07	1.22±0.71	1.26±0.22
润目灵方+自噬抑制剂组	2.12±0.15 <sup>***###▲▲▲</sup>	0.54±0.09	2.99±0.10 <sup>***###▲▲▲</sup>
F	67.955	0.944	146.731
P	<0.001	0.488	<0.001

注: 与空白对照组比较, <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ ; 与模型组比较, <sup>###</sup> $P < 0.001$ ; 与自噬抑制剂组比较, <sup>▲▲▲</sup> $P < 0.001$ 。

**2.7 润目灵方对干眼大鼠角膜组织 LC3、P62、ATG5、IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$  蛋白表达的影响**

0.01), LC3、ATG5 蛋白表达显著升高( $P < 0.01$ ); 与自噬抑制剂组比较, 润目灵方+自噬抑制剂组 P62、IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$  蛋白表达显著降低( $P < 0.01$ ), ATG5 蛋白表达显著升高( $P < 0.01$ )。见图 4, 表 6。

与模型组比较, 润目灵方组及自噬激活剂组

P62、IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$  蛋白表达显著降低( $P <$

表 6 各组大鼠角膜组织 LC3、P62、ATG5、IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$  蛋白表达( $n=3$ )

Table 6 Expression of LC3, P62, ATG5, IL-1 $\beta$ , IL-18, and TNF- $\alpha$  proteins in corneal tissue of rats in each group ( $n=3$ )

组别	LC3 II/LC3 I	P62/ $\beta$ -actin	ATG5/ $\beta$ -actin	IL-1 $\beta$ / $\beta$ -actin	IL-18/ $\beta$ -actin	TNF- $\alpha$ / $\beta$ -actin
空白对照组	0.45±0.05	0.89±0.05	0.45±0.09	0.47±0.01	0.39±0.14	0.27±0.05
模型组	0.52±0.11	1.00±0.14	0.67±0.11	0.92±0.08 <sup>***</sup>	1.07±0.27 <sup>***</sup>	0.87±0.03 <sup>***</sup>
润目灵方组	1.07±0.10 <sup>***###</sup>	0.57±0.06 <sup>***###</sup>	1.06±0.16 <sup>***###</sup>	0.60±0.03 <sup>##</sup>	0.52±0.13 <sup>##</sup>	0.46±0.03 <sup>***###</sup>
自噬激活剂组	1.29±0.14 <sup>***###</sup>	0.47±0.08 <sup>***###</sup>	1.04±0.14 <sup>***###</sup>	0.31±0.04 <sup>###</sup>	0.45±0.06 <sup>###</sup>	0.38±0.04 <sup>###</sup>
自噬抑制剂组	0.67±0.27	0.97±0.08	0.56±0.07	1.23±0.25 <sup>***</sup>	1.26±0.24 <sup>***</sup>	1.10±0.14 <sup>***</sup>
润目灵方+自噬抑制剂组	0.72±0.30	0.72±0.08 <sup>***###▲▲</sup>	0.99±0.16 <sup>***###▲▲</sup>	0.38±0.08 <sup>###▲▲▲</sup>	0.79±0.09 <sup>*▲▲</sup>	0.53±0.12 <sup>***###▲▲▲</sup>
F	9.423	18.822	13.153	28.442	13.051	45.859
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与空白对照组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , <sup>\*\*\*</sup> $P < 0.001$ ; 与模型组比较, <sup>##</sup> $P < 0.01$ , <sup>###</sup> $P < 0.001$ ; 与自噬抑制剂组比较, <sup>▲▲</sup> $P < 0.01$ , <sup>▲▲▲</sup> $P < 0.001$ 。

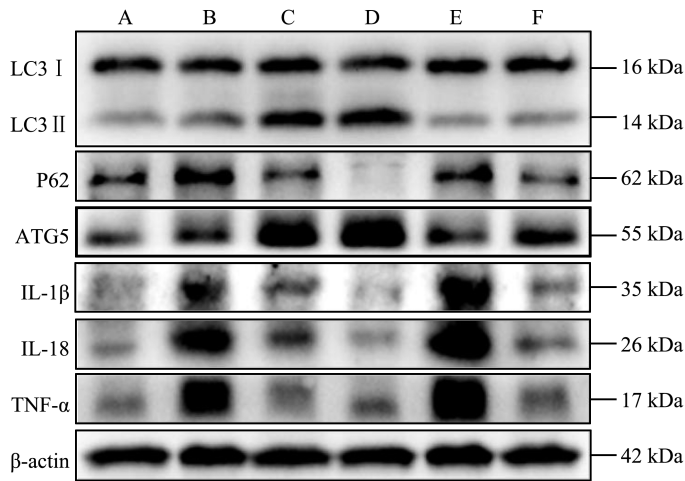


图 4 各组大鼠角膜组织 LC3、P62、ATG5、IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$  蛋白的表达

A: 空白对照组; B: 模型组; C: 润目灵方组; D: 自噬激活剂组; E: 自噬抑制剂组; F: 润目灵方+自噬抑制剂组

Figure 4 Expression of LC3, P62, ATG5, IL-1 $\beta$ , IL-18, and TNF- $\alpha$  proteins in corneal tissue of rats in each group

A: Blank control group; B: RML-treated group; C: Moisturizing Eye Formula group; D: Autophagy activator group; E: Autophagy inhibitor group; F: RML+autophagy inhibitor group

### 3 讨论

本研究采用皮下注射 SCOP 成功建立干眼大鼠模型,该模型操作简便、重复性好,病理表现与人类干眼相似。模型组大鼠呈现典型干眼特征:泪液分泌减少、TBUT 缩短、角膜荧光素染色(CFS)评分升高、角膜上皮病理性损伤,以及角膜组织中 IL-1 $\beta$ 、IL-18、TNF- $\alpha$  等促炎因子表达显著上调。自噬激活剂干预有效改善了上述眼表功能障碍、角膜组织病理及超微结构损伤,并抑制了炎症因子表达,而自噬抑制剂则加剧了这些异常变化。这证实了自噬激活在干眼炎症反应中发挥负反馈调节作用。润目灵方干预后,干眼大鼠的泪液分泌量增加、TBUT 延长、CFS 评分降低、角膜炎症因子表达减少、上皮损伤显著缓解,其疗效与自噬激活剂相当,有力支持了润目灵方改善干眼眼表炎性损伤的作用。

本研究深入探讨了润目灵方的作用机制,结果显示,模型组大鼠角膜 LC3-II/I 比值虽较空白组略有升高,但差异无统计学意义。润目灵方干预则显著上调了 LC3-II/I 比值及 ATG5 蛋白表达,表明该方能有效促进自噬体形成及溶酶体降解功能,恢复自噬稳态。透射电镜结果进一步佐证:模型组仅见轻度自噬现象,自噬抑制剂组自噬小体形成明显受抑;润目灵方组及自噬激活剂组均观察到自噬小体数量显著增加。空白对照组自噬水平维持基础状态,符合生理情况<sup>[21]</sup>。综上,润目灵方在促进自噬活性、降低炎症水平、减轻 SCOP 诱导的角膜组织损伤方面,展现出与自噬激活剂相似的效应。此外,润目灵方与自噬抑制剂联用,可部分拮抗抑制剂的不

良效应,提供更好的组织保护作用,提示其作用机制并非完全依赖单一自噬通路激活。研究显示干眼模型组 P62 mRNA 表达显著降低,而其蛋白水平却明显升高,这种转录与翻译层面的显著背离本质上是自噬流受阻的核心病理特征:mRNA 下调反映炎症应激通过 TFEB/Nrf2 通路介导的转录抑制<sup>[22]</sup>,而蛋白累积则直接标志自噬-溶酶体降解功能障碍—尤其在高渗微环境下,受损溶酶体无法有效水解与底物结合的 P62<sup>[23]</sup>;该现象完美符合国际指南诊断自噬流阻滞的黄金标准,即当 LC3-II/I 比值未升高(本研究模型组变化不显著)而 P62 蛋白持续堆积时,确证自噬体清除机制受损;润目灵方通过特异性激活 LC3-ATG5 通路恢复自噬流,使 P62 蛋白降至生理水平(如表 6 所示),同步提升的 LC3-II/I 比值及自噬小体数量进一步验证此背离现象的科学合理性,并揭示其作为干眼治疗靶标的价值。

在炎症调控层面,润目灵方表现出与经典自噬激活剂相似的抗炎谱,能显著下调 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-18 等关键炎症因子。结合前期研究,其潜在机制可能包括:①增强自噬促进受损线粒体清除,减少 ROS/NLRP3 炎性体通路激活<sup>[19]</sup>;②通过自噬降解泛素化蛋白聚集体,阻断 NF- $\kappa$ B 核转位及下游炎症基因表达<sup>[20]</sup>;③方中活性成分(如枸杞多糖)直接调控 TLR4/MyD88 等固有免疫信号通路<sup>[24-27]</sup>。润目灵方组对部分炎症因子的抑制效果显著优于单纯自噬激活剂组,这提示其抗炎功效可能同时源于自噬通路的激活以及中药复方固有的多成分、多靶点调控特性。

综上所述,润目灵方通过激活 LC3-ATG5 自噬

通路,有效抑制角膜组织炎症级联反应(特别是下调 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-18 等关键因子),从而改善干眼大鼠眼表损伤。这一发现为阐明干眼的“自噬-炎症”调控机制提供了重要的实验依据,为开发靶向自噬调节的新型干眼治疗策略奠定了理论基础。但本研究仍有以下局限性:①使用 SCOP 诱导的大鼠干眼模型,主要模拟泪液分泌不足型干眼,而人类干眼具有高度异质性(如蒸发过强型、混合型)。未来需在更多样化的模型(如环境诱导型、自身免疫型干眼模型)中验证润目灵方的疗效和机制普适性;②虽然明确了润目灵方激活 LC3-ATG5 通路并抑制炎症因子,但对该方如何“上游”启动自噬及其活性成分如何“下游”精准影响特定炎症通路的解析尚不够深入。未来研究应结合基因敲除/敲降、特异性通路抑制剂、以及分离纯化方中关键活性成分进行更深入的机制探索。

## 参考文献:

- [1] Morthen MK, Magno MS, Utheim TP, et al. The physical and mental burden of dry eye disease: a large population-based study investigating the relationship with health-related quality of life and its determinants[J]. *Ocul Surf*, 2021, 21: 107-117. doi:10.1016/j.jtos.2021.05.006
- [2] 王佳慧, 刘学勤. 全球近 10 年干眼相关生活质量研究: 基于 VOSviewer 和 CiteSpace 的文献计量学及可视化分析[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2024, 38(2): 61-72. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2023.035  
WANG Jiahui, LIU Xueqin. A global study on quality of life related to dry eye in the last ten years: bibliometrics and visualization analysis through VOSviewer and CiteSpace[J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2024, 38(2): 61-72. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2023.035
- [3] Zemanová M. Dry eyes disease. a review[J]. *Czech Slovak Ophthalmol*, 2021, 77(3): 107-119. doi:10.31348/2020/29
- [4] 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 我国角膜上皮损伤临床诊治专家共识(2016 年)[J]. *中华眼科杂志*, 2016, 52(9): 644-648. doi:10.3760/cma.j.issn.0412-4081.2016.09.002
- [5] Tsai CY, Jiesisibieke ZL, Tung TH. Association between dry eye disease and depression: an umbrella review[J]. *Front Public Health*, 2022, 10: 910608. doi:10.3389/fpubh.2022.910608
- [6] Greco G, Pistilli M, Asbell PA, et al. Association of severity of dry eye disease with work productivity and activity impairment in the dry eye assessment and management study[J]. *Ophthalmology*, 2021, 128(6): 850-856. doi:10.1016/j.ophtha.2020.10.015
- [7] Mohamed Z, Alrasheed S, Abdu M, et al. Dry eye disease prevalence and associated risk factors among the middle east population: a systematic review and meta-analysis [J]. *Cureus*, 2024, 16(9): e70522. doi:10.7759/cureus.70522
- [8] Mohamed HB, Abd El-Hamid BN, Fathalla D, et al. Current trends in pharmaceutical treatment of dry eye disease: a review[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2022, 175: 106206. doi:10.1016/j.ejps.2022.106206
- [9] Li S, Lu ZY, Huang Y, et al. Anti-oxidative and anti-inflammatory micelles: break the dry eye vicious cycle[J]. *Adv Sci*, 2022, 9(17): 2200435. doi:10.1002/adv.202200435
- [10] Liu Z, Chen D, Chen X, et al. Autophagy activation protects ocular surface from inflammation in a dry eye model in vitro[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(23): 8966. doi:10.3390/ijms21238966
- [11] 王明武, 于莉. 干眼药物研究的沿革与展望[J]. *中华实验眼科杂志*, 2021, 39(2): 97-101. doi:10.3760/cma.j.cn115989-20200204-00049  
WANG Mingwu, YU Li. Evolution and outlook of dry eye pharmaceutical research [J]. *Chinese Journal of Experimental Ophthalmology*, 2021, 39(2): 97-101. doi:10.3760/cma.j.cn115989-20200204-00049
- [12] 狄宇, 李莹. 干眼炎症反应机制及抗炎治疗的研究进展[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2022, 36(2): 144-150. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2020.484  
DI Yu, LI Ying. Research progress in the inflammatory reaction and anti-inflammatory treatments in dry eye[J]. *Journal of Otolaryngology and Ophthalmology of Shandong University*, 2022, 36(2): 144-150. doi:10.6040/j.issn.1673-3770.0.2020.484
- [13] 庞莹, 张永刚, 南雨杰, 等. 滋阴养血和解汤治疗干眼的疗效观察[J]. *中国中医眼科杂志*, 2025, 35(1): 30-35. doi:10.13444/j.cnki.zgzyykzz.2025.01.005  
PANG Ying, ZHANG Yonggang, NAN Yujie, et al. Observation on the therapeutic effect of Ziyin Yangxue hejie decoction in the treatment of dry eye[J]. *China Journal of Chinese Ophthalmology*, 2025, 35(1): 30-35. doi:10.13444/j.cnki.zgzyykzz.2025.01.005
- [14] 李卓, 亢泽峰, 袁慧艳, 等. 养血润目方治疗蒸发过强型干眼的疗效观察[J]. *中国中医眼科杂志*, 2025, 35(2): 127-131. doi:10.13444/j.cnki.zgzyykzz.2025.02.005  
LI Zhuo, KANG Zefeng, YUAN Huiyan, et al. Observation on the therapeutic effect of Yangxue runmu prescription in the treatment of evaporative dry eye[J]. *China Journal of Chinese Ophthalmology*, 2025, 35(2): 127-131. doi:10.13444/j.cnki.zgzyykzz.2025.02.005
- [15] 杭丽, 张传伟, 李凯. 中药润目灵颗粒联合 0.1% 玻璃酸钠滴眼液治疗高度近视飞秒激光微小切口基质透镜取出术(SMILE)术后患者干眼的疗效分析[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2017, 4(A1): 19869-19870. doi:10.16281/j.cnki.jocml.2017.a1.047

- HANG Li, ZHANG Chuanwei, LI Kai. Efficacy of Run-muling Granule combined with 0.1% sodium hyaluronate eye drops in the treatment of dry eyes of patients with high myopia after femtosecond laser micro-incision stromal lens extraction (SMILE) [J]. *Electronic Journal of Clinical Medical Literature*, 2017, 4 (A1): 19869-19870. doi:10.16281/j.cnki.jocml.2017.a1.047
- [16] 杨继红, 李凯, 王育良, 等. 鬼针草水提物对雄激素缺乏性干眼大鼠泪液分泌和泪腺炎症的影响 [J]. *中国中医眼科杂志*, 2017, 27(4): 211-217. doi:10.13444/j.cnki.zgzyykzz.2017.04.001
- YANG Jihong, LI Kai, WANG Yuliang, et al. Effects of aqueous extract of *Bidens pilosa* L. on tear secretion and lacrimal gland inflammation of dry eye due to androgen deficiency in rats [J]. *China Journal of Chinese Ophthalmology*, 2017, 27(4): 211-217. doi:10.13444/j.cnki.zgzyykzz.2017.04.001
- [17] Luo D, Ji HJ, Yan XQ, et al. Run-mu-Ling granules mitigate ocular surface inflammatory injury associated with dry eye by suppressing the NLRP3/GSDMD-mediated pyroptosis pathway [J]. *J Inflamm Res*, 2024, 17: 10769-10784. doi:10.2147/JIR.S496231
- [18] Chaudhari P, Satarker S, Thomas R, et al. Rodent models for dry eye syndrome: Standardization using benzalkonium chloride and scopolamine hydrobromide [J]. *Life Sci*, 2023, 317: 121463. doi:10.1016/j.lfs.2023.121463
- [19] Liu P, Jiang PF, Yu YF, et al. Modified Danzhi Xiaoyao Powder (MDXP) improves the corneal damage in dry eye disease (DED) mice through phagocytosis [J]. *J Ethnopharmacol*, 2024, 321: 117544. doi:10.1016/j.jep.2023.117544
- [20] Gui JX, Liu J, Wang LM, et al. Autophagy alleviates hippocampal neuroinflammation by inhibiting the NLRP3 inflammasome in a juvenile rat model exposed particulate matter [J]. *Toxicology*, 2024, 502: 153730. doi:10.1016/j.tox.2024.153730
- [21] Rolando M, Barabino S. The subtle role of para-inflammation in modulating the progression of dry eye disease [J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2021, 29(4): 811-816. doi:10.1080/09273948.2021.1906908
- [22] Al Saihati HA, Badr OA, Dessouky AA, et al. Exploring the cytoprotective role of mesenchymal stem Cell-Derived exosomes in chronic liver Fibrosis: Insights into the Nrf2/Keap1/p62 signaling pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 141: 112934. doi:10.1016/j.intimp.2024.112934
- [23] Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition) (1) [J]. *Autophagy*, 2021, 17(1): 1-382. doi:10.1080/15548627.2020.1797280
- [24] Orioli E, De Marchi E, Giuliani AL, et al. P2X7 receptor orchestrates multiple signalling pathways triggering inflammation, autophagy and metabolic/trophic responses [J]. *Curr Med Chem*, 2017, 24(21): 2261-2275. doi:10.2174/0929867324666170303161659
- [25] Rivera M, Ramos Y, Rodríguez-Valentín M, et al. Targeting multiple pro-apoptotic signaling pathways with curcumin in prostate cancer cells [J]. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179587. doi:10.1371/journal.pone.0179587
- [26] Yang Q, Wan Q, Wang Z. Curcumin mitigates polycystic ovary syndrome in mice by suppressing TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signaling pathway activation and reducing intestinal mucosal permeability [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 29848. doi:10.1038/s41598-024-81034-5
- [27] Sun Q, Du M, Kang YF, et al. Prebiotic effects of goji berry in protection against inflammatory bowel disease [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63(21): 5206-5230. doi:10.1080/10408398.2021.2015680

(编辑:李伟)

(上接第 91 页)

- [10] Koo TK, Li MY. A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research [J]. *J Chiropr Med*, 2016, 15(2): 155-163. doi:10.1016/j.jcm.2016.02.012
- [11] Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies [J]. *Stat Methods Med Res*, 1999, 8(2): 135-160. doi:10.1191/096228099673819272
- [12] Carracedo G, Carpena-Torres C, Pastrana C, et al. Accuracy and precision of automated subjective refraction in young hyperopes under cycloplegia [J]. *J Optom*, 2023, 16(4): 252-260. doi:10.1016/j.optom.2023.03.001
- [13] Liu XT, Ye L, Chen C, et al. Evaluation of the necessity for cycloplegia during refraction of Chinese children between 4 and 10 years old [J]. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2020, 57(4): 257-263. doi:10.3928/01913913-20200407-01
- [14] Wilson S, Ctori I, Shah R, et al. Systematic review and meta-analysis on the agreement of non-cycloplegic and cycloplegic refraction in children [J]. *Ophthalmic Physiol Opt*, 2022, 42(6): 1276-1288. doi:10.1111/opo.13022
- [15] Guo XX, Shakarchi AF, Block SS, et al. Noncycloplegic compared with cycloplegic refraction in a Chicago school-aged population [J]. *Ophthalmology*, 2022, 129(7): 813-820. doi:10.1016/j.ophtha.2022.02.027
- [16] Lin JJ, Chen T, Lin ZQ, et al. Optical fogging is an effective method of reducing overestimation of myopia [J]. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2025, 55: 104751. doi:10.1016/j.pdpdt.2025.104751
- [17] Sha J, Fedtke C, Tilia D, et al. Effect of cylinder power and axis changes on vision in astigmatic participants [J]. *Clin Optom*, 2019, 11: 27-38. doi:10.2147/OPTO.S190120

(编辑:郑潇)