

芳香烃受体在干眼中的调控作用

周子微^{1,2}, 张德馨^{1,2}, 郑恒睿², 王 谦^{2*}

¹青岛大学医学部, 山东 青岛

²青岛大学附属医院眼科, 山东 青岛

收稿日期: 2023年2月21日; 录用日期: 2023年3月15日; 发布日期: 2023年3月22日

摘 要

目的: 探讨芳香烃受体(Aryl hydrocarbon receptor, AhR)在干眼中对结膜杯状细胞增殖分化及黏蛋白5AC (MUC5AC)分泌的调控作用。方法: 建立小鼠干眼动物模型, 采用酚红棉线法测量小鼠泪液分泌量, 使用裂隙灯观察小鼠角膜荧光素钠染色损伤情况, 并记录临床评分。给予AhR激动剂(FICZ)或AhR抑制剂(CH223191)处理七天, 采用RT-PCR检测小鼠结膜组织中AhR、MUC5AC和炎症因子(TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) mRNA的表达。提取C57BL/6小鼠结膜杯状细胞, 给予FICZ或CH223191处理, 采用RT-PCR检测小鼠结膜杯状细胞中AhR、MUC5AC和炎症因子(TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) mRNA的表达。结果: 与对照组相比, AhR在干眼小鼠结膜组织中表达降低。FICZ处理后AhR、MUC5AC表达升高, 炎症因子表达下降。CH223191处理后AhR、MUC5AC表达降低, 炎症因子表达升高。结论: AhR活化后促进结膜杯状细胞增殖分化, 增加MUC5AC分泌, 在治疗干眼中发挥重要作用。

关键词

芳香烃受体(AhR), 干眼, 结膜杯状细胞

The Regulation of Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR) in Dry Eye

Ziwei Zhou^{1,2}, Dexin Zhang^{1,2}, Hengrui Zheng², Qian Wang^{2*}

¹Department of Medicine, Qingdao University, Qingdao Shandong

²Department of Ophthalmology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

Received: Feb. 21st, 2023; accepted: Mar. 15th, 2023; published: Mar. 22nd, 2023

*通讯作者 Email: wangqian810@126.com

文章引用: 周子微, 张德馨, 郑恒睿, 王谦. 芳香烃受体在干眼中的调控作用[J]. 临床医学进展, 2023, 13(3): 4166-4175. DOI: 10.12677/acm.2023.133598

Abstract

Objective: To investigate the effect of Aryl hydrocarbon receptor (AhR) on the proliferation and differentiation of conjunctival goblet cells and the secretion of mucin 5AC (MUC5AC) in dry eye. **Methods:** Dry eye models of mice were developed to measure the tear volume by using phenolic cotton line method, observe the corneal injury stained with sodium fluorescein under a slit-lamp, and record the clinical scores. RT-PCR was used to detect the mRNA expressions of AhR, MUC5AC and inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) in conjunctiva tissues treated by the AhR agonist (FICZ) or the AhR inhibitor (CH223191) for 7 days. The conjunctiva goblet cells of C57BL/6 mice were collected and treated with FICZ or CH223191. RT-PCR was used to detect the mRNA expressions of AhR, MUC5AC and inflammatory cytokines (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8) in conjunctiva goblet cells of mice. **Results:** Compared with the control group, the expression of AhR was decreased in the conjunctiva tissue of dry eye mice. The expressions of AhR and MUC5AC were increased by FICZ, and the expressions of inflammatory factors were decreased by FICZ. The expressions of AhR and MUC5AC were decreased by CH223191, and the expressions of inflammatory factors were increased by CH223191. **Conclusion:** The activation of AhR plays an important role in the treatment of dry eye by promoting the proliferation and differentiation of conjunctival goblet cells and increasing the secretion of MUC5AC.

Keywords

Aryl Hydrocarbon Receptor, Dry Eye, Conjunctival Goblet Cells

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

干眼(dry eye disease, DED)是一种由多种致病因素引起的常见眼表疾病,其致病因素包括泪液分泌异常、泪膜不稳定和炎症[1]。干眼可引起眼部不适、干涩、眩光、视力模糊等症状,影响人们的生活质量。结膜杯状细胞是眼表主要的分泌细胞,可分泌黏蛋白 MUC5AC 等润滑眼表上皮细胞,稳定泪膜,阻挡病原体渗透[2] [3]。干眼患者的结膜杯状细胞数量减少,黏蛋白 MUC5AC 分泌含量下降[4],导致泪膜稳定性降低,促炎因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 分泌增多[5]。

芳香烃受体(Aryl hydrocarbon receptor, AhR)是螺旋-环-螺旋家族中的一种核转录因子,在多种人类细胞中广泛表达[6] [7]。非活性状态下,AhR 与分子伴侣结合于细胞质中。AhR 与配体结合后,与分子伴侣分离并与 AhR 核转录子(AhR Nuclear Translocator, ARNT)结合,并从细胞质转移至细胞核中激活下游目的基因序列的表达[8] [9]。AhR 可以通过激活蛋白激酶 C (PKC)、丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK)等,参与多种细胞信号通路的调节,在调控细胞增殖分化、凋亡、炎症反应等多种重要生物学过程中发挥作用[10] [11] [12]。6-甲酰基吲哚并[3,2-B]喹(FICZ)是 AhR 的一种内源性高亲和力配体,通过与 AhR 结合起活化作用[13],而 1-甲基-氮-[2-甲基-4-[2-(2-甲基苯基)二氮烯基]苯基-1H-吡啶-5-甲酰胺(CH223191)是 AhR 的有效特异性拮抗剂,抑制 AhR 的活化。近年来研究发现,在人气道上皮

细胞中, AhR 在被激活后可诱导 MUC5AC 过表达[14], 但 AhR 在干眼中对黏蛋白 MUC5AC 的调控作用鲜少研究。

本研究将通过皮下注射氢溴酸东莨菪碱溶液联合模拟干燥环境建立动物模型及结膜杯状细胞模型, 研究 AhR 在干眼中对结膜杯状细胞及黏蛋白 MUC5AC 的调控作用。

2. 实验材料

2.1. 实验对象

2.1.1. 实验动物

体重约为 20 g 的 7 周至 8 周龄健康 C57BL/6 雌性小鼠(济南鹏悦实验动物繁育有限公司)。

2.1.2. 小鼠结膜杯状细胞

利用组织块培养法从小鼠结膜组织中提取, 具体方法见下文(2.3.4 小鼠结膜杯状细胞体外原代培养、2.3.5 小鼠结膜杯状细胞的纯化和传代培养)。

2.2. 试剂和耗材

2.2.1. 干眼模型的建立

东莨菪碱氢溴酸盐 上海麦克林生化科技有限公司, 生理盐水溶液(0.9%) 青岛大学附属医院。

2.2.2. 小鼠结膜杯状细胞的提取及培养

MEM-ALPHA 培养基 美国 Hyclone 公司, 胎牛血清 美国 Hyclone 公司, 青霉素 - 链霉素溶液 北京 Solarbio 公司, L-谷氨酰胺 美国 Sigma 公司, HEPES 液 美国 Sigma 公司, PBS 缓冲液 北京 Solarbio 公司, 0.125% Trypsin-EDTA 美国 Gibco 公司。

2.2.3. 动物和细胞实验预处理

6-甲基苄咪唑并[3,2-B]吡(FICZ) 美国 Sigma 公司, 1-甲基-氮-[2-甲基-4-[2-(2-甲基苯基)二氮烯基]苯基-1H-吡啶-5-甲酰胺(CH223191) 美国 AbMole 公司。

2.2.4. RT-PCR

RNA 裂解液 大连 TaKaRa 公司, 异丙醇分析纯 江苏强盛功能化学股份有限公司, 逆转录试剂盒 南京挪威赞公司, 氯仿分析纯 江苏强盛功能化学股份有限公司, SYBR 大连 TaKaRa 公司, DEPC 水 上海生物工程有限公司, 引物的设计与合成 大连 TaKaRa 公司。

2.3. 实验方法

2.3.1. 建立干眼小鼠模型

将 C57BL/6 雌性小鼠随机分为四组(CON 组、干眼(DE)组、DE + FICZ 组、DE + CH223191 组), 模型组及处理组小鼠饲养于恒温($24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)、恒湿($30\% \pm 5\%$)、恒定风速($2.5 \pm 0.5 \text{ km/s}$)的环境中, 每天 4 次(10:00, 13:00, 16:00, 19:00)皮下注射 0.3% 氢溴酸东莨菪碱溶液 0.2 mL, 连续 14 天。CON 组小鼠置于正常环境中饲养, 每天相同时间皮下注射等量生理盐水。14 天后采用酚红棉线法检测各组小鼠泪液分泌量, 角膜荧光素钠染色检测各组小鼠眼表损伤情况。实验设计严格遵循实验动物使用的伦理准则, 并获取伦理委员会批准。

2.3.2. 小鼠干眼临床评分

在干眼小鼠模型建立后第 15 天, 对各组小鼠的眼表损伤程度进行评级划分, 将角膜分为 4 个象限,

每个象限单独计分，总分为4个象限评分之和(0~16分)，评分原则如表1 [15]。

Table 1. Clinical score of dry eye

表 1. 干眼临床评分

	0	1	2	3	4
损伤程度	无点状染色	轻微点状染色，少于30个点	点状染色多于30个点，但非弥漫	严重弥漫性染色但无阳性斑块	阳性荧光素斑块

2.3.3. AhR 激动剂 FICZ、抑制剂 CH223191 对动物模型的处理

建模后 DE + FICZ 组小鼠球结膜下注射 0.001% FICZ 溶液 0.1 mL，每天 2 次，DE + CH223191 组小鼠球结膜下注射 0.2% CH223191 溶液 0.1 mL，每天 2 次，连续给药 1 周。采用酚红棉线法检测各组小鼠泪液分泌量，角膜荧光素钠染色检测各组小鼠眼表损伤情况，引颈处死小鼠进行结膜收集。

2.3.4. 小鼠结膜杯状细胞体外原代培养

1) 引颈处死小鼠并使用 75% 乙醇消毒，立即无菌条件下切开皮肤，逐层分类结膜，摘除眼球，生理盐水冲洗干净。

2) 超净工作台内，0.001% 青霉素 - 链霉素溶液冲洗 2~3 次，浸泡 30 分钟，PBS 缓冲液冲洗 2~3 次。

3) 放入培养皿，置于手术显微镜下无菌分离出较纯的结膜组织，剪成约 1 mm³ 大小的组织块，均匀铺到 24 孔板中，每孔 10 块组织，放入 5% CO₂ 恒温培养箱中培养 20 分钟。

4) 加入 MEM-ALPHA 培养液(含 20% FBS、2 mM 谷氨酰胺、0.2 mM MHEPES、10 μg/mL 青霉素 - 链霉素溶液)至刚好没过孔板底部，放入 5% CO₂ 恒温培养箱中培养，24 小时后换液并加培养液至没过所有组织块，每天观察细胞生长状况，每 48 小时换液 1 次。

2.3.5. 小鼠结膜杯状细胞的纯化和传代培养

1) 组织块边缘形成细胞环，去除组织块继续培养至细胞融合达孔板 80% 进行传代。

2) 弃去培养液，PBS 缓冲液冲洗 3 次，0.125% Trypsin-EDTA 消化 3 分钟，加入含 20% FBS 的 MEM-ALPHA 培养液终止消化。

3) 吹打分散细胞，1000 r/min 离心 10 分钟收集细胞，弃去上清液，PBS 缓冲液洗 2 次。加入 MEM-ALPHA 培养液重悬细胞混匀，显微镜下计数，按 5 × 10⁴ 个/mL，1:3 传代至 24 孔板中培养。

2.3.6. 小鼠结膜杯状细胞的刺激与抑制实验

FICZ 组加入 FICZ (100 nM) 处理 12 小时，CH223191 组加入 CH223191 (10 μM) 处理 12 小时，收取细胞进行 RT-PCR 实验。

2.3.7. RT-PCR 实验方法

1) 总 RNA 的提取

收集小鼠结膜组织、结膜杯状细胞于 RNA 裂解液中裂解 30 分钟，4℃，12,000 rpm 转速条件下离心 5 分钟，吸取上清液移入新的 EP 管中。向上清液中加入 120 μL 三氯甲烷，混匀后在室温条件下静置 5 分钟，待分层后再次在 4℃，12,000 rpm 转速条件下离心 5 分钟。随后可见样本分为三层，吸取上层 RNA 移入新的 EP 管中。加入相同体积的异丙醇，充分混匀后再次在室温条件下静置 10 分钟。4℃，12,000 rpm 转速条件下离心 10 分钟。弃去上清液，沿管壁缓慢加入 500 mL 75% 的乙醇(无水乙醇:DEPC 水 = 3:1)，

充分混匀后在 4°C, 12,000 rpm 转速条件下离心 5 分钟。在室温条件下静置 20 分钟待乙醇挥发。加入适量 DEPC 水溶解 RNA, 可置于 -80°C 冰箱储存备用。

2) RNA 浓度检测

吸 1 μ l RNA, 使用核酸蛋白分析仪检测所有样本在 260 nm/280nm 处的 OD 值(吸光度值)及 A260/280 的比值。根据测得的 RNA 浓度计算 2 μ g RNA 的样本溶液体积。

3) 逆转录反应

逆转录反应按照逆转录试剂盒说明书进行。

4) PCR 反应

设置 PCR 反应条件, 重复 40 个循环, 循环结束后记录循环数阈值结果。引物序列见表 2。

Table 2. Primer sequence

表 2. 引物序列

Gene	Primer sequence
m- β -action	F: GATTACTGCTCTGGCTCCTAGC R: GACTCATCGTACTCCTGCTTGC
m-IL-1 β	F: CGCAGCAGCACATCAACAAGAGC R: TGCCTCATCCTGGAAGGTCCACG
m-IL-6	F: TGTATGAACAACGATGATGCAC R: CTGGCTTTGTCTTTCTTGTT
m-IL-8	F: TGCATGGACAGTCATCCACC R: ATGACAGACCACAGAACGGC
m-MUC5AC	F: GCTGCCCGACCCAGAACT R: AGCTGACCATAAAGACATCGGAAA
m-TNF- α	F: CCTGTAGCCCACGTCGTAG R: GGGAGTAGACAAGGTACAACCC
m-AhR	F: ATTGCCAAGTGCCAAATGGA R: GGTAAAGTGTTCAGGTGCTGTAAGA

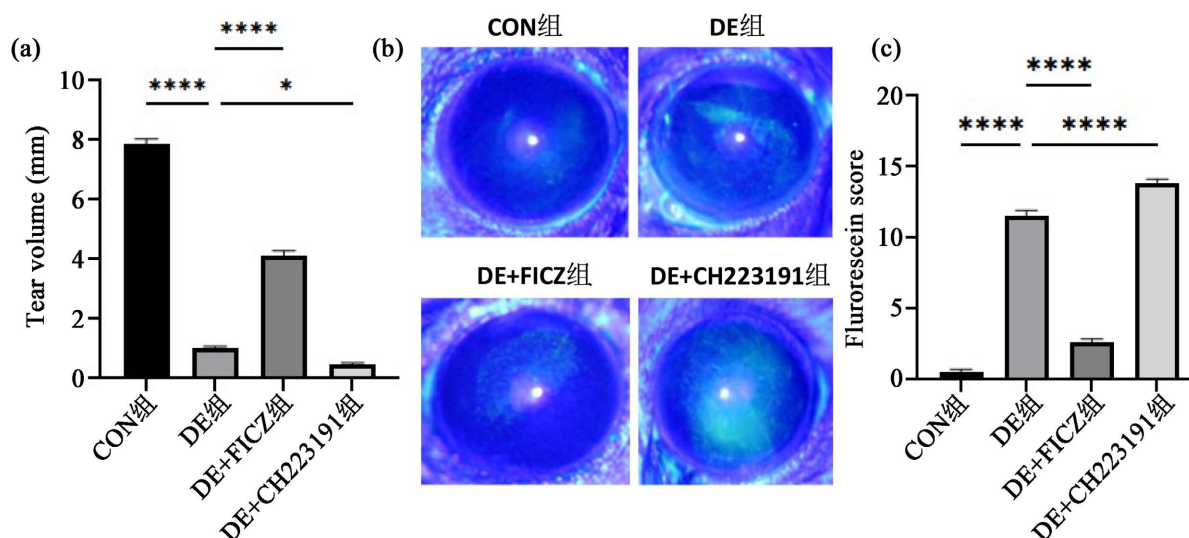
2.3.8. 统计学处理

各实验均独立操作, 各组样本量 $n \geq 6$, 至少重复操作三次。为了比较两组之间的差异, 采用 t 检验来确定差异的显著性。数据以 $x \pm s$ 表示, 采用 Graphpad Prism 8.0 软件, 对各组结果进行统计学分析, 以 $P < 0.05$ 为标准, 差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. AhR 活化对干眼的影响

首先, 我们建立了 CON 组、干眼(DE)组、DE + FICZ 组、DE + CH223191 组小鼠模型, 用酚红棉线法检测各组小鼠泪液分泌量, 在裂隙灯钴蓝光下观察各组小鼠角膜荧光素钠染色情况。结果发现, DE 组泪液分泌量明显减少, 角膜荧光素钠着色明显, 眼表损伤显著。与 DE 组相比, DE + FICZ 组的泪液分泌量增多, 临床评分减低, 角膜损伤减轻, DE + CH223191 组的泪液分泌量更少, 临床评分更高, 角膜损伤更严重(图 1(a), 图 1(b), 图 1(c), * $P < 0.05$; **** $P < 0.0001$), CON 组的角膜没有明显损伤。



注: (a): 小鼠泪液分泌量。(b): 小鼠角膜荧光素钠染色代表图像。(c): 小鼠角膜荧光素钠染色评分。CON 组、干眼(DE)组、DE + FICZ 组、DE + CH223191 组的小鼠泪液分泌量、角膜荧光素钠染色代表图像及临床评分。

Figure 1. AhR effect the progression and clinical score of dry eye

图 1. AhR 对小鼠干眼进展及临床评分的影响

3.2. AhR、MUC5AC 及炎症因子在小鼠结膜组织中的表达

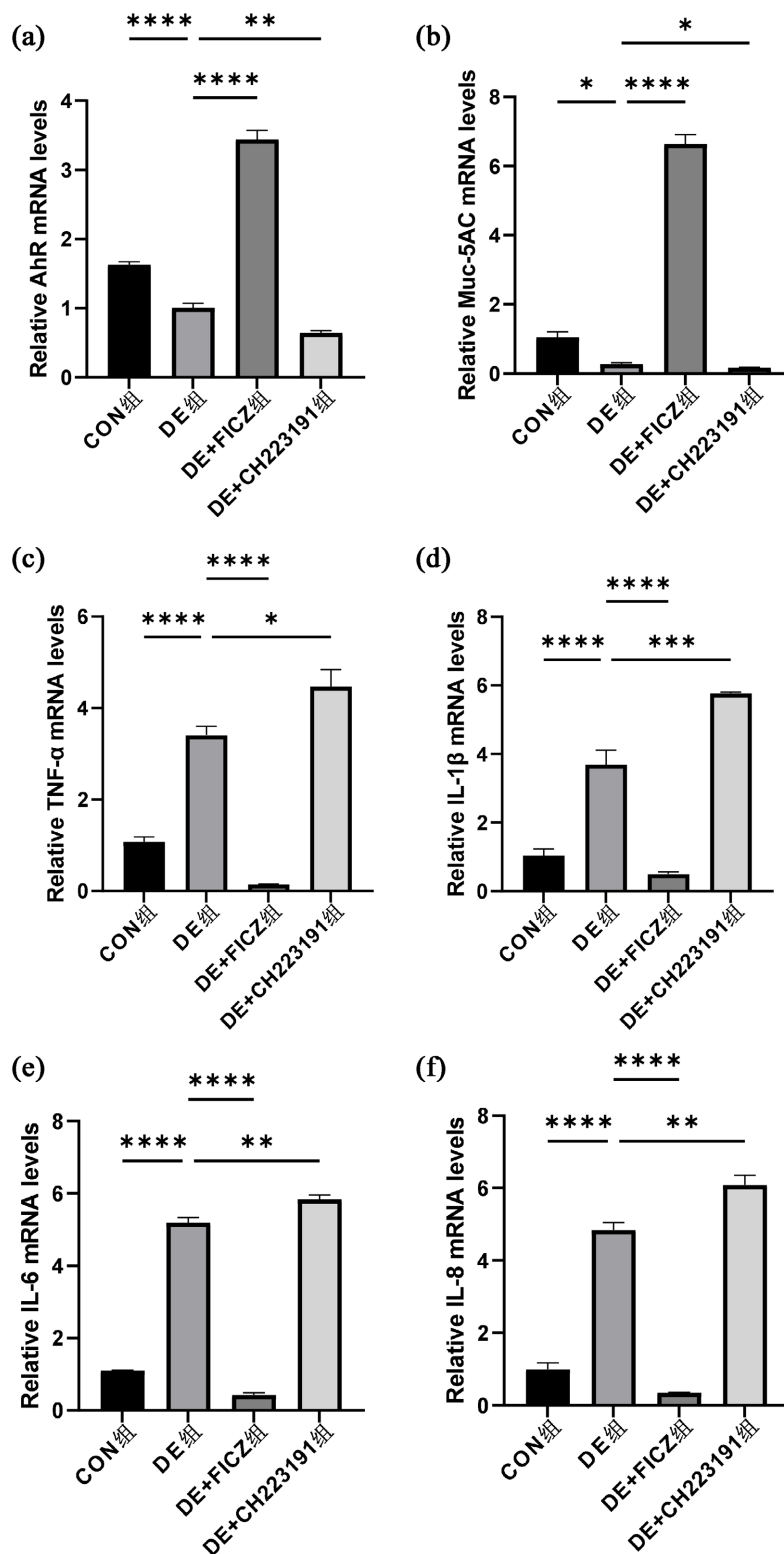
为了明确 AhR、MUC5AC 及炎症因子在小鼠结膜组织中的表达,我们建立干眼小鼠模型,并对各组进行相应处理,收集结膜组织进行研究。结果显示与 CON 组相比,DE 组 AHR mRNA 表达水平降低,与 DE 组比,DE + FICZ 组表达水平升高,DE + CH223191 组表达水平降低(图 2(a), ** $P < 0.01$; **** $P < 0.0001$)。MUC5AC 在 DE 组的 mRNA 表达降低,在 DE + FICZ 组的表达水平显著升高,在 DE + CH223191 组的表达水平最低(图 2(b), * $P < 0.05$; **** $P < 0.0001$)。DE 组小鼠结膜组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 的产生增加,给予 AhR 激动剂 FICZ 后,它们的水平降低,而给予 AhR 抑制剂 CH223191 后,它们的水平升高(图 2(c), 图 2(d), 图 2(e), 图 2(f), * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; **** $P < 0.0001$)。

3.3. AhR、MUC5AC 及炎症因子在小鼠结膜杯状细胞中的表达

为研究 AhR、MUC5AC 及炎症因子在小鼠结膜杯状细胞中的表达,提取小鼠结膜杯状细胞,设立 CON 组、FICZ 组、CH223191 组。FICZ 组给予 FICZ (100 nM)刺激 12 小时,CH223191 组给予 CH223191 (10 μ M) 处理 12 小时,RT-PCR 结果表明,AhR、MUC5AC 在 FICZ 刺激结膜杯状细胞后表达上调,而应用 CH223191 处理结膜杯状细胞后,AhR、MUC5AC mRNA 表达下调(图 3(a), 图 3(b), **** $P < 0.0001$)。而炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 在 FICZ 刺激结膜杯状细胞后表达下调,在 CH223191 处理结膜杯状细胞后表达上调(图 3(c), 图 3(d), 图 3(e), 图 3(f), **** $P < 0.0001$)。

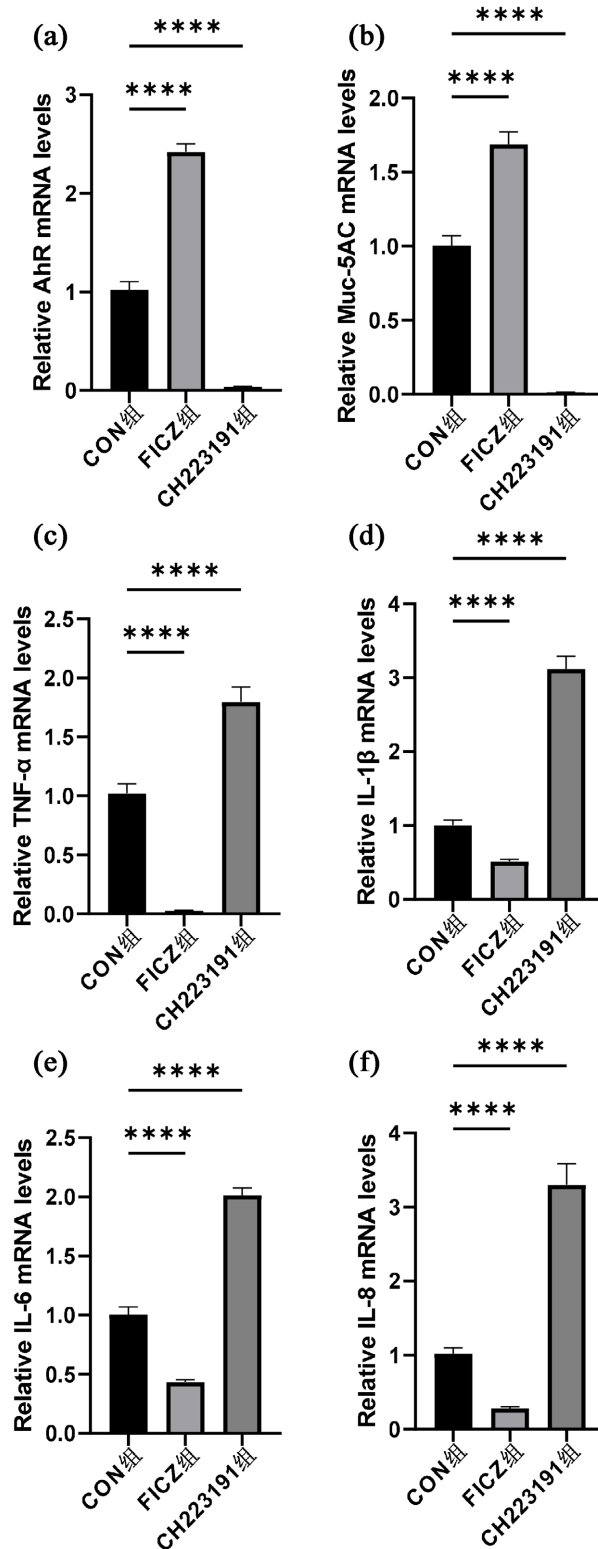
4. 讨论

干眼是由泪液分泌不足、蒸发过多或泪液中成分异常导致的疾病[16],且随着年龄增长患病率不断上升,严重者会导致角膜并发症,甚至失明等[17]。目前针对干眼的治疗方式主要为人工泪液和抗炎治疗,有研究表明环孢素 A (CsA)及部分人工泪液的使用会导致眼部烧灼感,甚至出现严重的炎症反应,加重干眼的发展[18] [19] [20]。已有研究证实,AhR 在大鼠和人的角膜等多种眼部结构中表达,在眼睛的发育及多种



注：CON 组、DE 组、DE + FICZ 组、DE + CH223191 组 AhR、MUC5AC 及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 mRNA 的表达。

Figure 2. Expressions of AhR, MUC5AC and inflammatory factors in conjunctiva of mice
图 2. AhR、MUC5AC 及炎症因子在小鼠结膜中的表达



注: CON 组、FICZ 组、CH223191 组在小鼠结膜杯状细胞中 AhR、MUC5AC 及炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 mRNA 的表达。

Figure 3. Expressions of AhR, MUC5AC and inflammatory factors in conjunctival goblet cells of mice
图 3. AhR、MUC5AC 及炎症因子在小鼠结膜杯状细胞中的表达

眼部疾病中起重要作用[21] [22]。活化的 AhR 可促进杯状细胞的增殖分化[23]，增加 MUC5AC 的分泌，维持泪膜稳定，保护眼表屏障，在治疗干眼中发挥重要作用。

为了明确干眼中结膜杯状细胞的变化及 AhR 在其中发挥的作用，本实验建立了小鼠干眼模型及结膜杯状细胞模型进行一系列研究。在体内实验中，我们发现 AhR 在干眼小鼠结膜组织中表达降低。干眼小鼠泪液分泌减少，眼表损伤加重，给予 AhR 激动剂 FICZ 后，损伤程度减轻，干眼临床评分降低，相反，给予 AhR 抑制剂 CH223191 后，眼表损伤进一步加重，临床评分显著升高。分别给予 FICZ、CH223191 处理后，MUC5AC 的表达趋势与 AhR 的表达趋势一致，而干眼相关促炎因子的表达趋势相反，TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 在 FICZ 处理后表达降低，在 CH223191 处理后表达升高。此外，我们建立了小鼠结膜杯状细胞的体外模型，通过 RT-PCR 证实 AhR 在结膜杯状细胞中表达，同体内实验研究结果，AhR 及 MUC5AC 均在 FICZ 处理后表达升高，在 CH223191 处理后表达下降，TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 表达趋势相反。

已有研究证实，在人结肠癌细胞中，AhR 被激活后通过促进杯状细胞增殖分化，正向调控 MUC5AC 分泌来发挥作用[24]。与已有研究结果一致，AhR 在结膜杯状细胞中表达，AhR 活化后可以促进结膜杯状细胞增殖分化，增加黏蛋白 MUC5AC 的表达，并减少炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 的产生，减轻炎症反应，延缓干眼进展。此外，有研究表明，AhR 被 FICZ 激活后通过 ERK 通路促进肠道杯状细胞增殖分化，增加黏蛋白的表达，改善结肠炎症[25]，另有研究显示，p-ERK1/2 参与调控杯状细胞增殖过程[26] [27]。在干眼中，AhR 是否通过 p-ERK1/2 通路调控结膜杯状细胞的增殖分化及 MUC5AC 的分泌有待于进一步探讨。未来，AhR 可能成为干眼治疗的新靶点。

参考文献

- [1] Craig, J.P., Nichols, K.K., *et al.* (2017) TFOS DEWS II Definition and Classification Report. *The Ocular Surface*, **15**, 276-283. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.008>
- [2] Gipson, I.K. and Inatomi, T. (1998) Cellular Origin of Mucins of *The Ocular Surface* Tear Film. In: Sullivan, D.A., Dartt, D.A. and Meneray, M.A., Eds., *Lacrimal Gland, Tear Film, and Dry Eye Syndromes 2: Basic Science and Clinical Relevance*, Advances in Experimental Medicine and Biology, Vol. 438, Springer, Berlin, 221-227. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5359-5_32
- [3] Pflugfelder, S.C. and de Paiva, C.S. (2020) Goblet Cells Promote Tolerance Induction in the Conjunctiva. *Mucosal Immunology*, **13**, 717-718. <https://doi.org/10.1038/s41385-020-0319-1>
- [4] Zhang, X.B., De Paiva, C.S., Su, Z.T., *et al.* (2014) Topical Interferon-Gamma Neutralization Prevents Conjunctival Goblet Cell Loss in Experimental Murine Dry Eye. *Experimental Eye Research*, **118**, 117-124. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2013.11.011>
- [5] Massingale, M.L., Li, X.H., Vallabhajosyula, M., *et al.* (2009) Analysis of Inflammatory Cytokines in the Tears of Dry Eye Patients. *Cornea*, **28**, 1023-1027. <https://doi.org/10.1097/ICO.0b013e3181a16578>
- [6] Gu, Y.-Z., Hogenesch, J.B. and Bradfield, C.A. (2000) The PAS Superfamily: Sensors of Environmental and Developmental Signals. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **40**, 519-561. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.40.1.519>
- [7] Um, J.Y., Kim, H.B., Kang, S.Y., *et al.* (2020) 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin Regulates the Expression of Aryl Hydrocarbon Receptor-Related Factors and Cytokines in Peripheral Blood Mononuclear Cells and CD4+ T Cells from Patients with Atopic Dermatitis and Psoriasis. *Annals of Dermatology*, **32**, 360-369. <https://doi.org/10.5021/ad.2020.32.5.360>
- [8] Kazuhiro, S. and Yoshiaki, F.-K. (2008) Ah Receptor, a Novel Ligand-Activated Transcription Factor. *The Journal of Biochemistry*, **122**, 1075-1079.
- [9] Uemura, S., Nakajima, Y., Yoshida, Y., *et al.* (2020) Biochemical Properties of Human Full-Length Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR). *Journal of Biochemistry*, **168**, 285-294. <https://doi.org/10.1093/jb/mvaa047>
- [10] Sherr, D.H. and Monti, S. (2013) The Role of the Aryl Hydrocarbon Receptor in Normal and Malignant B Cell Development. *Seminars in Immunopathology*, **35**, 705-716. <https://doi.org/10.1007/s00281-013-0390-8>
- [11] Yin, J.H., Sheng, B.F., Qiu, Y., *et al.* (2016) Role of AhR in Positive Regulation of Cell Proliferation and Survival.

- Cell Proliferation*, **49**, 554-560. <https://doi.org/10.1111/cpr.12282>
- [12] Puga, A., Ma, C. and Marlowe, J.L. (2008) The Aryl Hydrocarbon Receptor Cross-Talks with Multiple Signal Transduction Pathways. *Biochemical Pharmacology*, **77**, 713-722. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2008.08.031>
- [13] Farmahin, R., Crump, D., O'Brien, J.M., et al. (2016) Time-Dependent Transcriptomic and Biochemical Responses of 6-formylindolo[3,2-b]carbazole (FICZ) and 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) Are Explained by AHR Activation Time. *Biochemical Pharmacology*, **115**, 134-143. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2016.06.005>
- [14] Chiba, T., Uchi, H., Tsuji, G., et al. (2010) Arylhydrocarbon Receptor (AhR) Activation in Airway Epithelial Cells Induces MUC5AC via Reactive Oxygen Species (ROS) Production. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, **24**, 133-140. <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.08.002>
- [15] Lemp, M.A. (1995) Report of the National Eye Institute/Industry Workshop on Clinical Trials in Dry Eyes. *The CLAO Journal*, **21**, 221-232.
- [16] Ru, Y., Huang, Y., Liu, H., Du, J., Meng, Z., Dou, Z., Liu, X., Wei, R.H., Zhang, Y. and Zhao, S. (2015) α -Melanocyte-Stimulating Hormone Ameliorates Ocular Surface Dysfunctions and Lesions in a Scopolamine-Induced Dry Eye Model via PKA-CREB and MEK-Erk Pathways. *Scientific Reports*, **5**, Article No. 18619. <https://doi.org/10.1038/srep18619>
- [17] 付荣嵘. 瑞巴派特对小鼠干眼的治疗作用及其抗炎机制研究[D]: [博士学位论文]. 沈阳: 中国医科大学, 2018.
- [18] de Paiva Cintia, S., Pflugfelder, S.C., Ng Sueko, M. and Akpek, E.K. (2019) Topical Cyclosporine A Therapy for Dry Eye Syndrome. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, **9**, CD010051. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010051.pub2>
- [19] Park, D.H., Jin, H.N., Yoon, H.S., Yoon, H.J. and Yoon, K.C. (2021) Assessment of the Compliance with 0.1% Cyclosporine A in Dry-Eye Patients with Sjögren's Syndrome. *Journal of the Korean Ophthalmological Society*, **62**, 895-903. <https://doi.org/10.3341/jkos.2021.62.7.895>
- [20] 杨怡然, 胡皎月, 刘祖国. 环孢素 A 在干眼治疗中的价值及应用前景[J]. 中华眼科杂志, 2020, 56(10): 787-795.
- [21] Hammond, C.L., Roztocil, E., Gupta, V., et al. (2022) More than Meets the Eye: The Aryl Hydrocarbon Receptor Is an Environmental Sensor, Physiological Regulator and a Therapeutic Target in Ocular Disease. *Frontiers in Toxicology*, **4**, Article ID: 791082. <https://doi.org/10.3389/ftox.2022.791082>
- [22] Choudhary Mayur, Malek Goldis. (2020) The Aryl Hydrocarbon Receptor: A Mediator and Potential Therapeutic Target for Ocular and Non-Ocular Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, 6777. <https://doi.org/10.3390/ijms21186777>
- [23] Park, J.-H., Lee, J.-M., Lee, E.-J., et al. (2018) Kynurenine Promotes the Goblet Cell Differentiation of HT-29 Colon Carcinoma Cells by Modulating Wnt, Notch and AhR Signals. *Oncology Reports*, **39**, 1930-1938. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6266>
- [24] Sun, Y.P., Shi, Z.W., Lin, Y.H., Zhang, M.Z., et al. (2021) Benzo(a)pyrene Induces MUC5AC Expression through the AhR/Mitochondrial ROS/ERK Pathway in Airway Epithelial Cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **210**, Article ID: 111857. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111857>
- [25] Yin, J.H., Yang, K.Q., Zhou, C., et al. (2019) Aryl Hydrocarbon Receptor Activation Alleviates Dextran Sodium Sulfate-Induced Colitis through Enhancing the Differentiation of Goblet Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **514**, 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.04.136>
- [26] Wang, C., Xu, C.X., Bu, Y., et al. (2014) Beta-Naphthoflavone (DB06732) Mediates Estrogen Receptor-Positive Breast Cancer Cell Cycle Arrest through AhR-Dependent Regulation of PI3K/AKT and MAPK/ERK Signaling. *Carcinogenesis*, **35**, 703-713. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgt356>
- [27] Li, D., Shatos, M.A., Hodges, R.R. and Dartt, D.A. (2013) Role of PKC α Activation of Src, PI-3K/AKT, and ERK in EGF-Stimulated Proliferation of Rat and Human Conjunctival Goblet Cells. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **54**, 5661-5674. <https://doi.org/10.1167/iovs.13-12473>