

清眩润目饮治疗干眼症的网络药理学研究

丛凡, 姚晓峰, 刘韦辰, 杨绪广, 李翠*

青岛大学附属医院眼科, 山东 青岛

收稿日期: 2024年3月17日; 录用日期: 2024年4月11日; 发布日期: 2024年4月16日

摘要

目的: 应用网络药理学和分子对接方法深入研究清眩润目饮治疗干眼症(Dry Eye Disease, DED)的作用机制。方法: 首先, 利用TCMSP、UniProt数据库收集清眩润目饮的活性成分及相关靶点, 通过Cytoscape 3.9.1软件进行可视化, 检索GeneCards与OMIM数据库获取DED的相关靶点。然后, 借助venny 2.1平台绘制韦恩图, 利用STRING平台构建蛋白相互作用(PPI)网络, 并用Cytoscape进行可视化分析。将靶点信息导入Metascape数据库, 进行后续的GO功能和KEGG通路富集分析, 通过微生信平台进行可视化。最后使用AutoDock进行分子对接。结果: 共获得清眩润目饮活性成分204个, 对应靶点574个, DED相关靶点2621个, 得到294个交集靶点; 网络分析的结果显示TNF、IL-6、TP53、JUN、STAT3和AKT1为清眩润目饮治疗DED的核心靶点, 槲皮素、山柰酚、木犀草素、维生素和腺苷为关键活性成分。共富集得到827条GO条目, 154条KEGG通路。分子对接结果表明2种核心活性成分与TP53和AKT1均有较好结合活性。结论: 清眩润目饮可能通过槲皮素、山柰酚、木犀草素、维生素和腺苷等核心活性成分作用于TP53、AKT1等核心靶点治疗DED, 为清眩润目饮治疗DED提供理论依据。

关键词

清眩润目饮, 干眼症, 网络药理学, 分子对接, 作用机制

Network Pharmacology Study of Qingxuan Runmu Decoction in the Treatment of Dry Eye Disease

Fan Cong, Xiaofeng Yao, Weichen Liu, Xuguang Yang, Cui Li*

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

Received: Mar. 17th, 2024; accepted: Apr. 11th, 2024; published: Apr. 16th, 2024

*通讯作者。

文章引用: 丛凡, 姚晓峰, 刘韦辰, 杨绪广, 李翠. 清眩润目饮治疗干眼症的网络药理学研究[J]. 临床医学进展, 2024, 14(4): 996-1005. DOI: 10.12677/acm.2024.1441118

Abstract

Objective: To explore the mechanism of Qingxuan Runmu Decoction in the treatment of Dry Eye Disease (DED) by network pharmacology and molecular docking methods. **Methods:** Firstly, TCMSP and UniProt databases were used to collect the active ingredients and related targets of Qingxuan Runmu Decoction, and Cytoscape 3.9.1 software was used for visualization. GeneCards and OMIM databases were used to obtain the related targets of DED. Then, venny 2.1 platform was used to draw Venn diagram, STRING platform was used to construct protein-protein interaction (PPI) network, and Cytoscape was used for visual analysis. The target information was imported into the Metascape database for subsequent GO function and KEGG pathway enrichment analysis, which was visualized through the WeChat platform. Finally, AutoDock was used for molecular docking. **Results:** A total of 204 active ingredients of Qingxuan Runmu Decoction were obtained, with 574 corresponding targets, and 2621 DED related targets were obtained, with 294 intersection targets. The results of network analysis showed that TNF, IL-6, TP53, JUN, STAT3 and AKT1 were the core targets of Qingxuan Runmu Decoction in the treatment of DED, and quercetin, kaempferol, luteolin, vitamin and adenosine were the key active components. A total of 827 GO entries and 154 KEGG pathways were enriched. Molecular docking results showed that the two core active components had good binding activities with TP53 and AKT1. **Conclusion:** Qingxuan Runmu Decoction may treat DED by acting on the core targets such as TP53 and AKT1 through the core active components such as quercetin, kaempferol, luteolin, vitamin and adenosine, which provides a theoretical basis for the treatment of DED.

Keywords

Qingxuan Runmu Decoction, Dry Eye Disease, Network Pharmacology, Molecular Docking, Mechanism

Copyright © 2024 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

2020年《中国干眼专家共识》[1]中将DED定义为一种眼表的慢性疾病，其主要表现为泪膜稳定性差或失去平衡状态的眼表微环境，伴随局部的慢性炎症、组织及神经性的损伤。此病为患者带来多种眼部主观症状，如眼涩、畏光、眼部瘙痒、刺痛感及沙砾感、视疲劳、烧灼感和视物模糊等，角结膜干燥，甚至溃疡等严重后果也时有发生，对患者生活质量造成严重影响。据流行病学调查显示，亚洲地区的干眼患病率全球最高[2]，女性患者数量明显多于男性。老年，吸烟，熬夜和缺乏锻炼均为DED的危险因素[3]。目前临床的常用药物主要是环孢素、玻璃酸钠、普拉洛芬及氟米龙等西药[4][5]，可快速改善局部症状，但效果短且长期应用可能会引起一系列并发症，如眼痛、刺激感及眼压升高等表现[6][7]，而中医讲究整体观念，中医药具有据法选方、合理搭配、高安全性和价格低廉的特色优势，治疗效果更为持久，且不良反应较少，值得临床应用。

清眩润目饮是一款由多种成分组成的复合中药颗粒，其主要成分包括白术、桔梗、玄参、甘草、金银花、连翘、生地黄、防风和麦冬[8]。清眩润目饮目前已应用于包括自身免疫性干眼症[9]、睑板腺功能障碍致蒸发过强型干眼症[10]、水液缺乏型干眼症[11]和术后干眼症[12]等类型干眼症的临床治疗，临床表现优异，能明显的改善睑板腺功能并减轻炎症反应。有研究表明，清眩润目饮治疗后，明显下调泪液

中的 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平[8] [13], 但其具体的分子机制尚不明确, 为了更加深入了解清眩润目饮治疗 DED 的作用机制, 通过网络药理学, 我们成功构建了“化合物-蛋白质/基因-疾病”网络, 以高通量方法揭示了小分子的调控机制[14]。进一步探讨了清眩润目饮在治疗 DED 病方面的分子机制与疗效, 为临床治疗提供了新的研究方向。

2. 材料与方法

2.1. 清眩润目饮的活性成分及靶点

我们在 TCMSp 数据库(<https://old.tcmsp-e.com/tcmsp.php>)和 BATMAN-TEM 数据库(<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/>)中对清眩润目饮的活性成分及可能与活性成分相关的靶点进行了检索, 检索的中药成分有白术、麦冬、玄参、生地黄、金银花、连翘、防风、桔梗和甘草。检索 UniProt 数据库(<https://www.uniprot.org/>)中所有靶点蛋白的官方名称, 并限定靶点物种为 Human。

2.2. Dry Eye Disease 相关靶点预测

我们以“Dry Eye Disease”为关键词, 经在线人类孟德尔遗传数据库(online mendelian inheritance in man, OMIM)和人类基因数据库(the human gene database, GeneCards)获取 DED 基因, 将重复基因进行筛选并剔除, 收集 DED 靶点。

2.3. 获取交集靶点并绘制韦恩图

将检索获得的清眩润目饮的药物活性成分的相关靶点与 DED 疾病靶点进行交叉对比, 使用 venny 2.1 (<https://bioinfo.gp.cnb.csic.es/tools/venny/>)绘图软件构建成靶点与疾病靶点的韦恩图, 图中交汇部分即为交集靶点, 其包含了清眩润目饮活性成分中可能与 DED 相关的所有基因靶点。

2.4. 药物-活性成分-作用靶点-疾病网络图

利用 Cytoscape 3.9.1 构建清眩润目饮-活性成分-作用靶点-DED 网络图, 图中的节点(Node)分别代表清眩润目饮的活性成分、DED 及二者的交集靶点, 各节点之间则由边(Edge)来绘制其关联性。

2.5. PPI 网络构建

基于清眩润目饮的潜在靶点与 DED 靶点的匹配结果, 通过 STRING 数据库(<https://string-db.org/>)构建 PPI 网络, 分析这些靶点之间的相互作用。设置物种为“*Homo sapiens* (人)”, 并将最高相互作用评分设置为“Highest Confidence (最高置信度)”, 其余参数保持默认设置, 剔除独立节点后, 利用 Cytoscape 3.9.1 绘图, 得到蛋白的相互作用关系, 并探索关键靶蛋白。

2.6. GO 和 KEGG 富集分析

通过 Metascape (<http://metascape.org/>)数据库对清眩润目饮治疗 DED 的关键靶点进行 GO 功能富集分析和 KEGG 通路富集分析, 对其通路信息、分子功能、细胞化合物和生物过程进行分布检验, 以 $P < 0.05$ 为基准对结果进行可视化分析, 并经微信信平台(<https://www.bioinformatics.com.cn/>)制作柱状图。

2.7. 分子对接

利用 PubChem 数据库(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)中获得活性成分化合物, 并通过 PDB 数据库(<https://www.rcsb.org/>)获取核心靶点蛋白, 将配体及溶剂使用 AutoDock 软件去除, 添加极性氢离子并进行分子对接, 从而明确清眩润目饮中有效成分与核心靶点间的结合和相互作用程度, 最后使用 PyMol 软

件进行可视化。

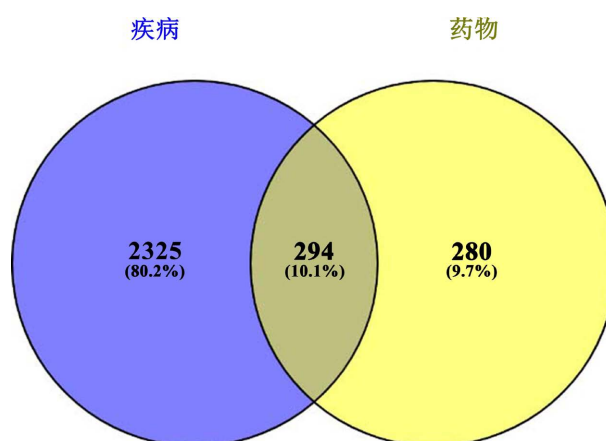
3. 结果

3.1. 清眩润目饮的活性成分和成分 - 靶点网络

把口服生物利用度(OB) $\geq 30\%$ 及类药性(DL) ≥ 0.18 作为条件, 筛选出清眩润目饮的活性成分, 分别得到白术 55 种、玄参 5 种、金银花 17 种、连翘 19 种、防风 18 种、桔梗 4 种以及甘草 88 种。麦冬及生地黄活性成分的检索则依靠 BATMAN-TEM 数据库进行, 设定 $\text{Score} > 0.84$ (LR = 80.88), $P < 0.05$ 后筛选出 41 种麦冬相关活性成分, 27 种生地黄相关活性成分。归纳所有活性成分后去除重复部分, 获得 204 种清眩润目饮的有效成分, 并利用 UniProt 数据库对 204 种活性成分进行对应靶点基因检索, 再次去重, 共得到 574 个靶基因。

3.2. 药物 - 疾病靶点韦恩图

限定相关性评分大于 10 后, 运用 GeneCards 获取 2141 个相关靶点, OMIM 数据库获取 567 个 DED 相关靶点, 将重复靶点去除后, 能够获得 2621 个靶点。将清眩润目饮药物靶点与疾病靶点绘制韦恩图后交集出 294 个药物 - 疾病靶点(图 1)。



注: 左边圆圈为与 DED 相关的作用靶点, 右边圆圈代表与清眩润目饮相关的作用靶点, 交集处代表二者的关联靶点。

Figure 1. Intersection target map of Qingxuan Runmu Decoction and DED
图 1. 清眩润目饮与 DED 的交集靶点图

3.3. “清眩润目饮 - 活性成分 - 交集靶点-DED” 网络图

利用 Cytoscape 软件构建“清眩润目饮 - 活性成分 - 交集靶点-DED”网络图(图 2), 该网络包含 497 个节点, 2553 条边。通过 CytoNCA 插件进行拓扑分析, 得到度值排名前 5 的关键活性成分: 木犀草素(luteolin)、维生素 D3 (Vitamin D3)、槲皮素(quercetin)、山柰酚(kaempferol)和腺苷(Adenosine)。

3.4. PPI 网络

在 STRING 中将清眩润目饮与 DED 靶点的交集蛋白构建为如图 3 所示的 PPI 网络, 得到 TSV 文件后, 由 Cytoscape 3.9.1 进行可视化分析(图 4)。以度值 ≥ 20 界定关键靶点, 再次进行拓扑分析, 得到 23 个“节点”即交集蛋白, 114 条“边”即蛋白间的关联作用, 得到前 6 名的度值排名包括有: STAT3、TP53、IL-6、TNF、AKT1 和 JUN。

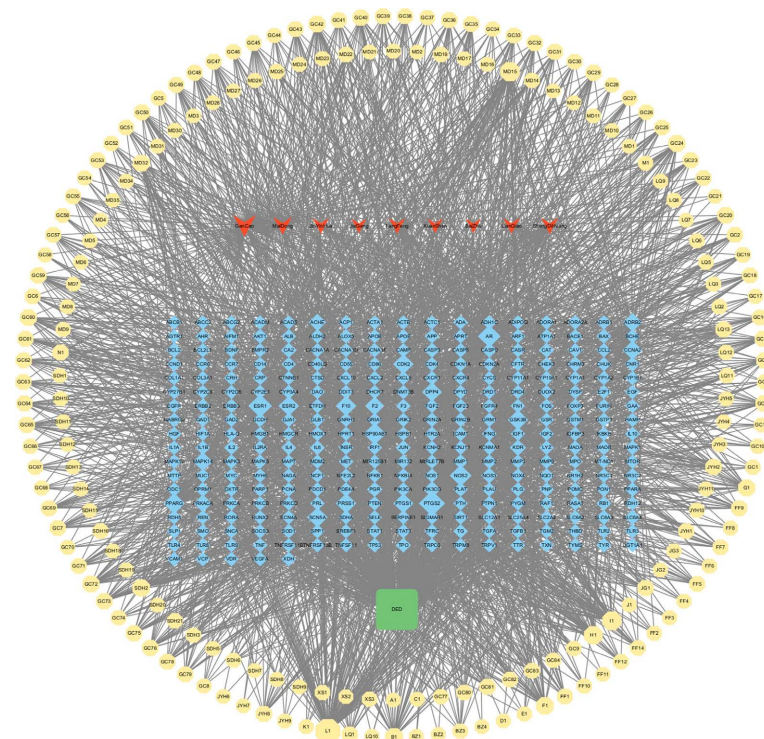


Figure 2. Qingxuan Runmu Decoction drug active ingredient-intersection target-DED
图 2. 清眩润目饮药物活性成分 - 交集靶点-DED

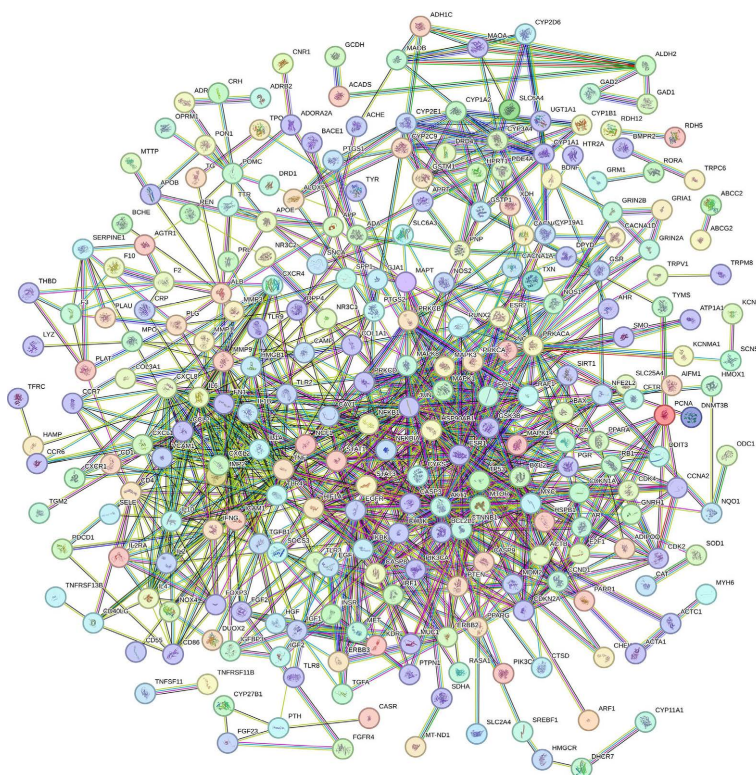


Figure 3. PPI network of Qingxuan Runmu Decoction in treating DED
图 3. 清眩润目饮治疗 DED 的 PPI 网络

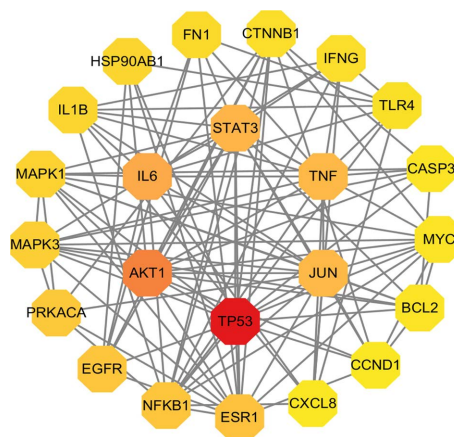
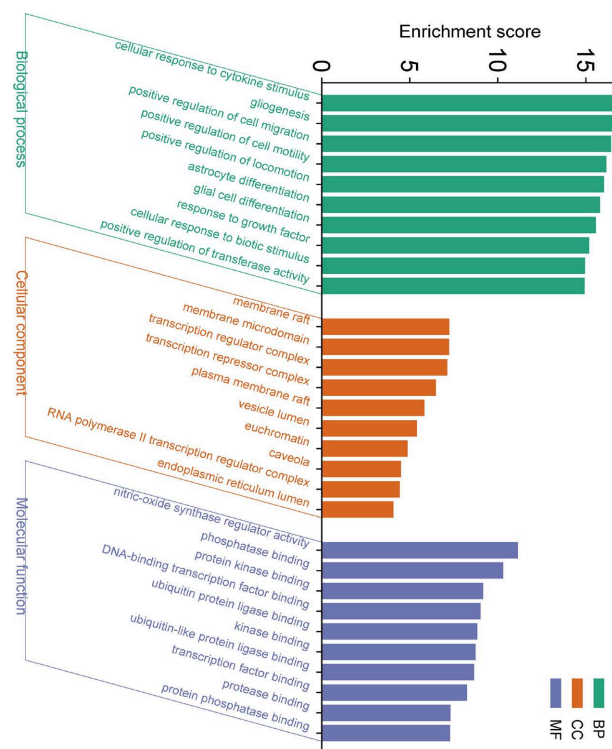


Figure 4. Visual analysis of active constituents and shared targets
图 4. 活性成分与共有靶点可视化分析

3.5. GO 富集分析结果

我们利用 Metascape 数据库检索，最终得出 PPI 核心靶点中 827 个生物过程，30 个细胞组分以及 43 个分子功能，限定 $-\log_{10}(P)$ 值为 Enrichment score，排序后，分别绘制排名前 10 的柱状图(见图 5)。GO 功能富集的分析结果可由图中看出，核心靶点主要涉及细胞对细胞因子作出的反应、胶质细胞再生、刺激细胞迁移等生物过程，而其主要分布在膜筏、膜微区、转录调节因子复合物等微小结构，其主要分子功能涵盖了线粒体一氧化氮合酶调节活性、磷酸酶及蛋白激酶结合活性等。



注：BP：生物过程，CC：分布区域，MF：分子功能。

Figure 5. GO enrichment analysis
图 5. GO 富集分析

3.6. KEGG 通路分析结果

在进行 KEGG 通路分析时,我们采用了 Metascape 数据库对 PPI 网络的核心靶点进行查找,设定 $P < 0.05$,并按照 Count 值及 P 值进行排序,得到的 154 条通路中只将前 20 条通路进行柱状图展示(图 6)。由图中结果可以得出,清眩润目饮能起到治疗 DED 的作用,与 PI3K-Akt 信号通路、IL-17 信号通路、人乳头瘤病毒感染、MAPK 信号通路及癌症中的通路等相关。

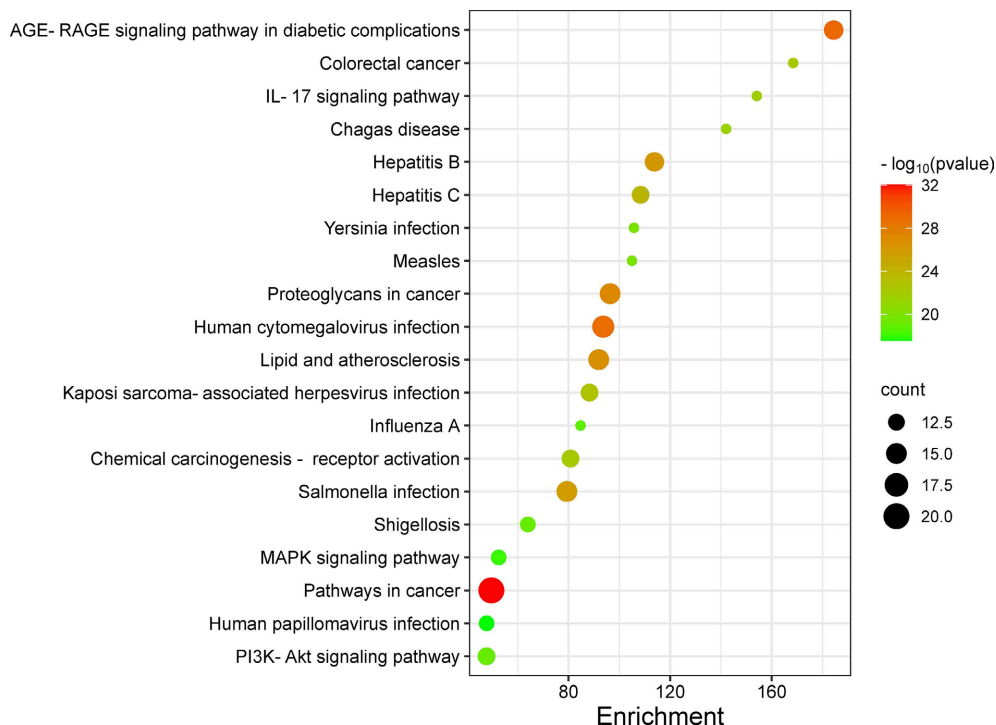


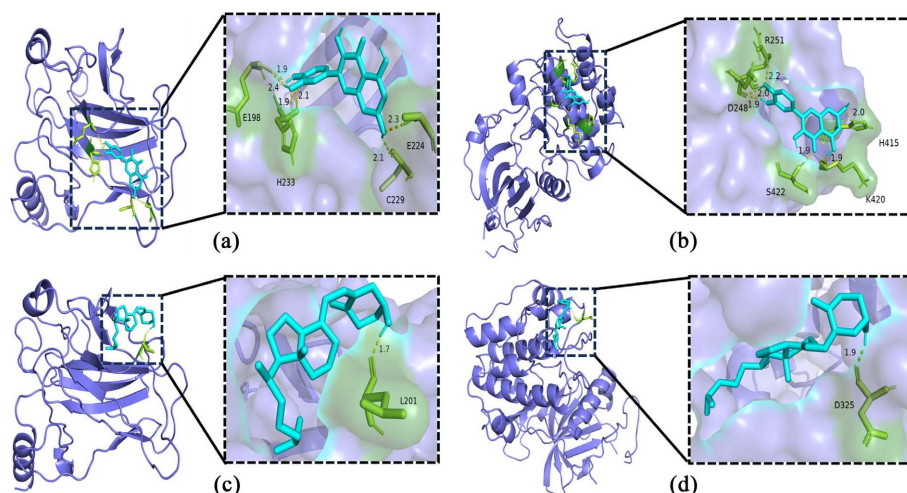
Figure 6. KEGG pathway analysis
图 6. KEGG 通路分析

3.7. 分子对接结果分析

我们选取 TCMSPP 中获得的清眩润目饮中度值最高的前 2 种共同生物活性成分,分别是槲皮素(Quercetin)和维生素 D3 (Vitamin D3),将其二者分别与 PPI 蛋白互作中最重要的核心靶点 TP53 和 AKT1 进行分子对接。可以见到不论是槲皮素还是维生素 D 均展现出了好的结合活性(表 1),通过 PyMoL 软件可视化其对接关系,结果见图 7。

Table 1. Molecular docking results
表 1. 分子对接结果

配体	受体	Compound CID	PDB ID	结合能/(kcal/mol)
槲皮素	TP53	5,280,343	8E7A	-7.5
槲皮素	AKT1	5,280,343	4EKL	-5.9
维生素 D3	TP53	5,280,795	8E7A	-6.95
维生素 D3	AKT1	5,280,795	4EKL	-7.44



注：(a) 槲皮素-TP53；(b) 槲皮素-AKT1；(c) 维生素 D-TP53；(d) 维生素 D-AKT1。

Figure 7. Analysis of molecular docking results

图 7. 分子对接结果分析

4. 讨论

大多数干眼患者都能获得良好的最佳矫正视力，除了晚期或严重病例外，使用常规视力测量很难检测到视力下降，这使得患者对此种疾病的警惕性明显下降，但干眼带来的痛苦却很多，包括但不限于眼部干涩、异物感、疲劳感、刺痛、畏光和灼热感等[15]，严重影响患者的生活质量。DED 属于典型的多因素疾病，目前没有十分明确的发病机制，大多数与泪腺的慢性炎症相关，在眼表产生炎症细胞因子和趋化因子等，使眼表感觉神经的活动减弱，从而使泪液的分泌减弱，进而引发泪膜完整性破坏和功能障碍[16]。因而，根据 DED 的多个发病机制，寻找能同时起效的药物是十分必要的。

清眩润目饮是由我国医师以增液汤为基础随证加减而创，已被应用于多种类型干眼，包括：水液缺乏型、蒸发过强型及肺阴不足型等[11] [17] [18]，主要成分白术、甘草、玄参、麦冬、桔梗、生地黄、防风、金银花和连翘、防风，多味合用，既能健脾生津润肺养阴，肺脾同治，又能除湿解毒清热祛风，是临床治疗 DED 的有效方剂。但目前暂无清眩润目饮方剂治疗 DED 的机制研究，故本文章基于网络药理学方法研究清眩润目饮治疗 DED 的作用机制，筛选出活性成分和核心靶点，并进一步得到涉及到的相关通路。发现清眩润目饮治疗 DED 的主要活性成分为槲皮素和维生素 D，核心靶点为 TP53 和 AKT1，涉及了多条通路：PI3K-Akt 信号通路、MAPK 信号通路和 IL-17 信号通路等。

多项研究表明，槲皮素可以降低泪液 IL-1 α 浓度，降低 CD4+ T 细胞水平，展现出优秀的抗氧化和抗炎特性[19] [20]。全身性的补充维生素 D 作为常规 DED 治疗的辅助剂明显改善了泪液稳定性和泪液渗透压[21]。此前还有研究观察到，DED 患者泪液中 IL-6、IL-17 和 TNF- α 水平明显高于对照组，抗 IL-17 治疗抑制了 DED 症诱导的角结膜杯状细胞丢失以及角膜血管化、混浊和老化溃疡等[22] [23]。除此之外，Han 等人发现抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 和 MAPK 通路对 DED 症具有治疗作用，能明显降低结膜炎因子和 CD4+T 细胞浸润，还可避免严重的细胞凋亡和降低 MMP-3 和 MMP-9 的水平来保护眼表[24]。Ma 等人发现 DED 时抑制人角膜上皮细胞中 MAPK、p38 和 JNK 的磷酸化，可进一步抑制促炎细胞因子的水平，包括 IL-6、IL-17、TNF- α 和 IL-1 β 等[25]。Zhu 等学者的研究表明，PI3K-Akt 通路增强的小鼠，表现出炎症性病理变化和功能障碍，易出现 DED 样症状，如角膜角化、角膜细胞凋亡和泪液减少[26]。

综上所述，清眩润目饮从多成分、多通路调控 DED，体现中医药防治疾病的整体观念和辩证论治指导思想，为明确清眩润目饮治疗 DED 的作用机制提供了重要依据，为中医药治疗 DED 方面提供了新思

路。但本研究也存在一些缺陷, 仅从理论水平上探讨清眩润目饮的作用机制, 下一步将通过实验进一步验证, 以此提供一定的科学支持。

参考文献

- [1] 亚洲干眼协会中国分会, 海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会眼表与泪液病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼表与干眼学组. 中国干眼专家共识: 检查和诊断[J]. 中华眼科杂志, 2020, 56(10): 741-747.
- [2] Papas, E.B. (2021) The Global Prevalence of Dry Eye Disease: A Bayesian View. *Ophthalmic & Physiological Optics*, **41**, 1254-1266. <https://doi.org/10.1111/opo.12888>
- [3] Li, X., Wang, Z., Mu, J., et al. (2023) Prevalence and Associated Risk Factors of Dry Eye Disease in Hotan, Xinjiang: A Cross-Sectional Study. *BMC Ophthalmology*, **23**, Article No. 214. <https://doi.org/10.1186/s12886-023-02955-9>
- [4] 李贵明, 苏杭, 毛祖红. 0.05% 环孢素滴眼液联合玻璃酸钠滴眼液治疗白内障术后干眼症的临床效果[J]. 临床合理用药, 2024, 17(1): 139-141, 145.
- [5] 邓洁, 庞媛. 普拉洛芬联合氟米龙滴眼液治疗中重度干眼症的临床疗效研究[J]. 中国处方药, 2023, 21(12): 119-121.
- [6] Ebihara, N., Ohashi, Y., Uchio, E., et al. (2009) A Large Prospective Observational Study of Novel Cyclosporine 0.1% Aqueous Ophthalmic Solution in the Treatment of Severe Allergic Conjunctivitis. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, **25**, 365-372. <https://doi.org/10.1089/jop.2008.0103>
- [7] Lee, J.E., Kim, S., Lee, H.K. et al. (2022) A Randomized Multicenter Evaluation of the Efficacy of 0.15% Hyaluronic Acid versus 0.05% Cyclosporine a in Dry Eye Syndrome. *Scientific Reports*, **12**, Article No. 18737. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21330-0>
- [8] 王佳娣, 安百平, 刘悦, 等. 清眩润目饮颗粒治疗糖尿病干眼患者的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2023, 39(22): 3257-3261.
- [9] 张婷, 张娟, 余琴. 清眩润目饮结合角膜吸氧对自身免疫性干眼症的治疗效果[J]. 吉林中医药, 2023, 43(9): 1059-1062.
- [10] 王佳娣, 姚靖, 曹丛红, 于珂鑫. 清眩润目饮对蒸发过强型干眼模型鼠角膜炎症因子表达的影响[J]. 中国中医眼科杂志, 2018, 28(5): 286-291.
- [11] 王小会. 清眩润目饮加减联合刮痧治疗水液缺乏型干眼(肺阴不足证)的临床研究[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2022.
- [12] 宗贝婷. 清眩润目饮加减内外并用对 LASIK 术后干眼的临床疗效观察[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2020.
- [13] 于珂鑫. 清眩润目饮对水液缺乏型干眼兔角、结膜 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 表达影响的实验研究[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2019.
- [14] Zhang, R.Z., Yu, S.J., Bai, H. and Ning, K. (2017) TCM-Mesh: The Database and Analytical System for Network Pharmacology Analysis for TCM Preparations. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 2821. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03039-7>
- [15] Zhang, S.Y., Yan, Y. and Fu, Y. (2020) Cosmetic Blepharoplasty and Dry Eye Disease: A Review of the Incidence, Clinical Manifestations, Mechanisms and Prevention. *International Journal of Ophthalmology*, **13**, 488-492. <https://doi.org/10.18240/ijo.2020.03.18>
- [16] 袁慧艳, 刘健, 张明明, 李书娇, 亢泽峰. 干眼发病机制及致病因素的研究进展[J]. 中国中医眼科杂志, 2023, 33(7): 675-678, 683.
- [17] 于珂鑫, 姚靖, 王佳娣, 曹丛红. 清眩润目饮治疗兔蒸发过强型干眼的作用机制[J]. 国际眼科杂志, 2018, 18(7): 1192-1196.
- [18] 刘畅. 针刺联合中药清眩润目饮治疗水液缺乏性干眼的临床观察[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2016.
- [19] Krstić, L., Jarho, P., Rupunon, M., et al. (2022) Improved Ocular Delivery of Quercetin and Resveratrol: A Comparative Study between Binary and Ternary Cyclodextrin Complexes. *International Journal of Pharmaceutics*, **624**, Article ID: 122028. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.122028>
- [20] Abengózar-Vela, A., Schaumburg, C.S., Stern, M.E., et al. (2019) Topical Quercetin and Resveratrol Protect the Ocular Surface in Experimental Dry Eye Disease. *Ocular Immunology and Inflammation*, **27**, 1023-1032. <https://doi.org/10.1080/09273948.2018.1497664>

-
- [21] Najjaran, M., Zarei-Ghanavati, S., Arjmand Askari, E., Eslampoor, A. and Ziaei, M. (2023) Effect of Oral Vitamin D Supplementation on Dry Eye Disease Patients with Vitamin D Deficiency. *Clinical & Experimental Optometry*, **106**, 257-262. <https://doi.org/10.1080/08164622.2022.2033601>
- [22] Alam, J., Yazdanpanah, G., Ratnapriya, R., *et al.* (2022) IL-17 Producing Lymphocytes Cause Dry Eye and Corneal Disease with Aging in RXRa Mutant Mouse. *Frontiers in Medicine*, **9**, Article 849990. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.849990>
- [23] Mrugacz, M., Ostrowska, L., Bryl, A., *et al.* (2017) Pro-Inflammatory Cytokines Associated with Clinical Severity of Dry Eye Disease of Patients with Depression. *Advances in Medical Sciences*, **62**, 338-344. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2017.03.003>
- [24] Han, Y., Guo, S., Li, Y., *et al.* (2023) Berberine Ameliorate Inflammation and Apoptosis *via* Modulating PI3K/AKT/NFκB and MAPK Pathway on Dry Eye. *Phytomedicine*, **121**, Article ID: 155081. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2023.155081>
- [25] Ma, B., Zhou, Y., Liu, R., *et al.* (2021) Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF) Plays Anti-Inflammatory Roles in the Pathogenesis of Dry Eye Disease. *The Ocular Surface*, **20**, 70-85. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2020.12.007>
- [26] Zhu, J.Y., Zhang, X., Zheng, X., *et al.* (2022) Dry Eye Symptoms in Interferon Regulatory Factor 3-Deficient Mice Due to Herpes Simplex Virus Infection in Harderian Gland and Lacrimal Gland. *Experimental Eye Research*, **219**, Article ID: 109053. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2022.109053>