

# 角膜力学生物学研究进展

李晓娜<sup>1,2,3</sup>, 魏俊超<sup>1,2,3</sup>, 王晓君<sup>1,2,3</sup>, 陈维毅<sup>1,2,3</sup>

1. 太原理工大学应用力学与生物医学工程研究所, 太原 030024
2. 太原理工大学力学学院, 材料强度与结构冲击山西省重点实验室, 太原 030024
3. 太原理工大学力学国家级实验教学示范中心, 太原 030024

**摘要** 作为眼屈光系统的重要组成部分, 角膜组织在眼内压的作用下, 受到复杂载荷作用, 角膜细胞能够感受力学刺激并做出积极响应。本文通过分析角膜组织的受力情况, 综述了力学刺激下角膜细胞的生物学响应及其与角膜损伤修复和相关眼疾患之间的关系。

**关键词** 角膜细胞; 力学刺激; 张应力; 切应力; 力学生物学

角膜是眼球屈光系统的重要组成部分, 属于承载组织, 在眼内压的作用下处于复杂的力学环境中, 屈光手术或圆锥角膜发生发展过程中, 其受力环境会随之发生改变。认识力学微环境下角膜细胞的增殖、迁移、凋亡及基因表达与信号调控途径等生命活动, 有助于深入理解如屈光术后角膜组织的损伤修复及重塑、圆锥角膜发生发展、大泡性角膜病变等生理病理过程和相关机理, 为术后并发症及疾病的诊治提供新思路。本文综述角膜组织受力和角膜细胞对力学刺激的生物学响应研究进展。

## 1 角膜组织受力分析

### 1.1 正常角膜组织受力分析

正常角膜组织基质层约占角膜厚度的90%, 富含I型胶原, 是角膜主要的承载结构。前部基质层由于排列致密, 且具有更多倾斜分支和交联, 因此承担了较大的生物力学作用。此外, 角膜基质相邻胶原纤维板层之间的相互交织为角膜抵抗剪切力提供了重要的结构

基础, 同时实现了载荷在各个板层之间的传递。角膜后弹力层富含IV型胶原, 质地均匀且富有弹性, 可以缓冲眼内压对角膜形态的作用<sup>[1]</sup>。部分圆锥角膜患者患有全身性结缔组织疾病, 如成骨不全和二尖瓣脱垂综合征, 提示圆锥角膜可能与胶原代谢紊乱导致的角膜胶原结构破坏有关。研究发现, 圆锥角膜组织不仅胶原板层数量减少, 且排列紊乱, 胶原之间交联障碍。这不仅影响角膜力学性能, 还会引起板层之间发生相对滑动, 导致角膜组织结构力学稳定性下降<sup>[2]</sup>。

角膜属于典型的黏弹性材料, 在眼内压的作用下, 主要承受拉伸和剪切载荷作用。眼压在一些条件下会发生改变, 如挤压上眼睑或揉眼、体位变化、昼夜节律等。因此, 角膜组织承受的载荷为动载。角膜基质内部则由于氨基聚糖的亲水性产生膨胀压; 而眼内压及角膜板层间的黏合力又对抗了角膜基质内部的膨胀压。此外, 泪膜蒸发、上皮细胞和内皮细胞屏障、内皮细胞的主动运输以及周边组织对角膜的牵拉等因素也参与了膨胀压的平衡<sup>[3]</sup>。

收稿日期: 2018-05-08; 修回日期: 2018-05-30

基金项目: 山西省重点研发计划国际科技合作项目(201703D421019); 国家自然科学基金项目(11572213); 山西省自然科学基金项目(201701D121144)

作者简介: 李晓娜, 副教授, 研究方向为眼力学生物学, 电子邮箱: lixiaona@tyut.edu.cn; 陈维毅(通信作者), 教授, 研究方向为眼生物力学, 电子邮箱:

chenweiyi@tyut.edu.cn

引用格式: 李晓娜, 魏俊超, 王晓君, 等. 角膜力学生物学研究进展[J]. 科技导报, 2018, 36(13): 18-22; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2018.13.002

## 1.2 角膜组织变薄后的受力分析

角膜屈光能力约占全眼的70%,通过改变角膜的厚度改变眼球屈光度的方法行之有效。准分子激光原位角膜磨镶术(laser in situ keratomileusis, LASIK)是中国眼科临床目前开展广泛且技术较成熟的屈光纠正手术。手术过程中需要对角膜基质进行切削来改变角膜曲率,达到矫正视力的目的。LASIK手术破坏了被切削的角膜板层正常结构,导致周边基质板层的张力降低,角膜拮抗膨胀压的能力也随之降低,引起角膜周边基质体积急性扩张,形成中央切削后的残余基质床受拉、周边基质受压的力学环境<sup>[3-5]</sup>。

有限元模拟结果显示,基质切削使LASIK术后角膜组织上的最大张应力增加约20%<sup>[6]</sup>。术后角膜基质层越薄,在眼内压作用下变形也越明显;眼压越高,角膜顶点相对边缘的位移越大。这就提示了如果基质过薄或眼压增高,均可能导致继发性角膜扩张发生的风险<sup>[7]</sup>。如果把眼球简化成一个球形薄壁压力容器,将角膜组织视为各向同性的线弹性材料,根据材料力学基本原理,角膜组织材料应变 $\varepsilon$ 表示为

$$\varepsilon = \frac{pr(1-v)}{2tE} \quad (1)$$

式中, $p$ 为眼内压; $r$ 为角膜曲率半径, $v$ 为泊松比, $t$ 为角膜厚度, $E$ 为角膜组织弹性模量。

无论是原发性圆锥角膜还是屈光手术(如LASIK术)引起的继发性圆锥角膜,局部组织变薄、结构破坏、材料性能降低,都将导致角膜内部应力发生重新分布,容易发生应力集中,所受张应变增加<sup>[2,8]</sup>。

## 1.3 揉眼引起的角膜组织受力变化

部分圆锥角膜及LASIK术后干眼症患者常伴有频繁用力揉眼的习惯<sup>[9]</sup>。揉眼作为一种动态压力外载荷,使角膜法向受压、纵向受拉、表面受剪切力作用。揉眼后角膜温度升高,角膜基质中蛋白多糖类物质黏度下降,角膜基质中的胶原纤维因受压发生弯曲,并将这种变形传至角膜的圆锥顶端,造成该区域胶原纤维之间发生相对滑动,使角膜组织更易发生变形<sup>[10]</sup>。研究显示揉眼使眼压、角膜黏滞因子(corneal hysteresis, CH)和角膜阻滞因子(corneal resistance factor, CRF)持续下降<sup>[11]</sup>。变态反应性结膜炎患者揉眼后的眼内压略有升高,并伴有瞬时角膜中央厚度变薄<sup>[12]</sup>。对离体狗眼施加揉眼刺激后,角膜条带弹性模量和黏性均呈现下降趋势,眼压瞬间增高为基础眼压的2倍<sup>[13]</sup>。高频的揉眼刺激还容易

使角膜组织产生动态疲劳,在眼内压作用下由于屈服产生弯曲变形。LASIK术后或圆锥角膜发生时角膜组织变薄,同等程度的揉眼可能会产生更大的副作用。

## 1.4 角膜细胞与剪切力

角膜细胞还会受到剪切力作用。如瞬目或揉眼、房水循环分别使角膜上皮细胞和内皮细胞处于剪切力作用之中<sup>[14-15]</sup>。瞬目引起泪膜流动产生的剪切力与干眼症、上缘角膜结膜炎、眼睑拨水板结构异常导致的角膜上皮病(lid-wiper epitheliopathy)等眼表疾患有关<sup>[14]</sup>。揉眼不仅会在眼表产生剪切力,还会引起角膜基质板层之间产生相对滑动,对角膜基质细胞产生剪切作用。激光周边虹膜切开术(laser peripheral iridectomy, LPI)是治疗闭角型青光眼的有效方式之一,它的原理是改善房水循环动力学;但LPI术会改变眼内温度分布和房水流动状态,使靠近激光孔附近角膜内皮受到的切应力增加,导致角膜内皮细胞丢失,增加了术后大泡性角膜病变的发生风险<sup>[15]</sup>。

## 2 角膜细胞对力学刺激的生物学响应

通常情况下,角膜细胞的生命活动存在精确的网络调控,以满足角膜发育、组织重塑、损伤修复等动态平衡的需要。LASIK术后或圆锥角膜发生时角膜变薄、房水动力学发生变化均可改变角膜细胞的受力环境。角膜细胞如何感受应力或应变的变化并做出应答,对深入理解角膜损伤修复及相关疾病(角膜扩张性疾病、大泡性角膜病变等)的发病机理与防治具有重要意义。

### 2.1 角膜细胞对拉应力刺激的生物学响应

角膜基质损伤修复过程中,角膜成纤维细胞及肌成纤维细胞不断合成各种细胞外基质和蛋白酶等,对基质进行重塑,并经过不断的修饰以期达到最佳修复状态。其中,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)及其抑制因子(tissue inhibitor of metal proteases, TIMPs)在角膜基质损伤修复中发挥了重要作用。

MMPs是一类锌离子依赖的蛋白酶家族,以酶原形式分泌,激活后可降解细胞外基质中的绝大多数成分。如果MMPs和TIMPs之间的平衡遭到破坏,则可能造成角膜基质降解,引发继发性圆锥角膜。其中,力学因素在角膜基质细胞MMPs和TIMPs表达调控中发挥了重要作用<sup>[16-17]</sup>。

研究发现,周期性拉伸对角膜成纤维细胞可产生

双向效应:5%低幅度拉伸可使MMP-2、MMP-14表达降低,使TIMP-1/-2/-3、Collagen I表达上调,促进了细胞外基质合成行为;15%高幅度拉伸的作用则产生了相反的效应,促进了角膜基质降解行为。ERK1/2信号途径参与了15%拉伸引起的MMP-2的表达上调<sup>[18]</sup>。

角膜力学环境变化的同时常伴有炎症介质的释放,如炎症介质在LASIK术后干眼症及圆锥角膜患者泪液或角膜组织中长期存在。圆锥角膜患者泪液中炎症介质,如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ )、白介素(interleukin, IL)-1/-4/-5/-6/-8/-17、细胞间黏附分子-1(intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)等均显著高于正常人群<sup>[19-22]</sup>。采用环孢素A可降低圆锥角膜患者泪液中TNF- $\alpha$ 、IL-6和MMP-9的表达,延缓圆锥角膜病情的进展<sup>[23]</sup>。揉眼和角膜接触镜的配戴等慢性机械损伤可导致炎症介质释放等。在对大鼠及兔的揉眼实验中发现,上睑结膜肥大细胞出现明显的脱颗粒,中性粒细胞和巨噬细胞的数量显著增加<sup>[24]</sup>。揉眼可以使正常人泪液中TNF- $\alpha$ 、IL-6以及MMP-13表达显著增高<sup>[25]</sup>。炎症介质在角膜组织修复机制中发挥着重要的作用,但角膜细胞过度释放炎症介质,则可能导致基质细胞凋亡和基质降解<sup>[26]</sup>,破坏角膜组织结构和微环境,使角膜组织稳态失衡,促进圆锥角膜发生发展<sup>[18,27-28]</sup>。

研究发现,与正常人相比,圆锥角膜患者角膜成纤维细胞MMP-1/-2/-3/-9均显著增高<sup>[29]</sup>,TNF- $\alpha$ 可以进一步促进角膜成纤维细胞MMPs的表达。圆锥角膜患者角膜成纤维细胞IL-6表达明显高于正常人。IL-6可诱导角膜成纤维细胞表达MMP-1,并具有浓度和时间依赖性;而TNF- $\alpha$ 可以诱导IL-6表达;添加IL-6抗体可以抑制TNF- $\alpha$ 诱导MMP-1表达。这说明TNF- $\alpha$ 可通过IL-6诱导的MMP-1表达上调<sup>[30]</sup>。IL-1 $\beta$ 与15%拉伸共同作用可进一步上调MMP-1/-2/-3/-9表达,同时伴有TIMP-1和I型胶原mRNA表达下调,这说明炎症介质启动了MMPs表达后,机械拉伸对IL-1 $\beta$ 诱导的MMPs有放大的作用,导致MMPs和TIMPs失衡<sup>[31-32]</sup>;提示角膜变薄、张应变增加时,若同时伴有炎症介质存在,则可能增加角膜基质降解的风险(图1)。

## 2.2 角膜细胞对流体剪切力刺激的生物学响应

流体剪切力主要影响角膜上皮细胞、角膜缘干细胞和角膜内皮细胞的生物学功能。研究发现,佩戴接

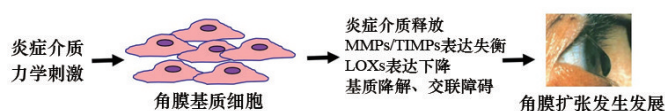


图1 力学刺激和炎症介质共同作用参与角膜扩张性疾病的发生发展

Fig. 1 The mechanical stimulus and inflammatory mediators contribute to the development of the keratectasia

触镜和睡眠时眼睑闭合可以减少角膜上皮细胞死亡<sup>[33]</sup>,提示瞬目产生的剪切力可能会增加角膜上皮细胞脱落速度和细胞死亡数量。剪切力可通过影响角膜上皮细胞骨架重排、integrin  $\beta$ 1和ICAM-1参与角膜上皮的损伤修复。0.4 N/m<sup>2</sup>流体剪切力能够增强角膜上皮细胞增殖和迁移能力;而0.8 N/m<sup>2</sup>则诱导角膜上皮细胞凋亡<sup>[34]</sup>。剪切力可通过TGF- $\beta$ /SMAD2信号途径实现对角膜上皮细胞增殖的调控,影响角膜细胞伤口愈合<sup>[35]</sup>。

此外,持续的流体剪切力可促进兔角膜缘干细胞增殖,而间歇性流体剪切力则诱导其向角膜上皮细胞分化,促进角膜上皮细胞更新<sup>[36]</sup>。流体剪切力导致的角膜内皮细胞脱落与剪切力和作用时间密切相关<sup>[37-38]</sup>。

## 3 结论

生理和病理条件下角膜细胞受到拉伸和剪切等不同类型的力学载荷作用。角膜细胞处的力学环境对其增殖、分化、凋亡以及基因蛋白表达等生命活动均具有重要影响。深入研究力学刺激对角膜细胞包括角膜上皮、基质细胞和内皮细胞生物学行为的影响,获得关键分子及信号转导途径,揭示其分子调控机制;并通过构建疾病模型或模式动物,从在体水平对关键分子进行验证,明确力学因素在眼科相关疾病发生发展中的作用,可为认识角膜生理病理过程、疾病的诊治及视觉健康的提高提供新思路。

## 参考文献(References)

- [1] Bron A J. The architecture of the corneal stroma[J]. *British Journal of Ophthalmology*, 2001, 85(4): 379-381.
- [2] Vellara H R, Patel D V. Biomechanical properties of the keratoconic cornea: A review[J]. *Clinical and Experimental Optometry*, 2015, 98(1): 31-38.
- [3] Jr D W, Wilson S E. Biomechanics and wound healing in the cornea[J]. *Experimental Eye Research*, 2006, 83(4): 709-720.
- [4] Meghpara B, Nakamura H, Macsai M, et al. Keratectasia after

- laser in situ keratomileusis: A histopathologic and immunohistochemical study[J]. *Archives of Ophthalmology*, 2008, 126(12): 1655–1663.
- [5] Piñero D P, Alcón N. Corneal biomechanics: A review[J]. *Clinical and Experimental Optometry*, 2015, 98(2): 107–116.
- [6] Pandolfi A, Fotia G, Manganiello F. Finite element simulations of laser refractive corneal surgery[J]. *Engineering with Computers*, 2009, 25(1): 15–24.
- [7] 祝雅利, 陈维毅. LASIK 术后眼球受力变形的有限元模拟研究[J]. *太原理工大学学报*, 2009, 39(增刊2): 257–260.  
Zhu Yali, Chen Weiyi. The simulation study on the finite element analysis of the eyeball deformation after LASIK[J]. *Journal of Taiyuan University of Technology*, 2009, 39(Suppl 2): 257–260.
- [8] McMonnies C W, Schief W K. Biomechanically coupled curvature transfer in normal and keratoconus corneal collagen[J]. *Eye Contact Lens*, 2006, 32(1): 51–62.
- [9] Hawkes E, Nanavaty M A. Eye rubbing and keratoconus: A literature review[J]. *International Journal of Keratoconus and Ectatic Corneal Disease*, 2014, 3(3): 118–121.
- [10] McMonnies C W, Korb D R, Blackie C A. The role of heat in rubbing and massagerelated corneal deformation[J]. *Contact Lens Anterior Eye*, 2012, 35(4): 148–154.
- [11] Liu W C, Lee S M, Graham A D, et al. Effects of eye rubbing and breath holding on corneal biomechanical properties and intraocular pressure[J]. *Cornea*, 2011, 30(8): 855–860.
- [12] Osuagwu U L, Alanazi S A. Eye rubbing-induced changes in intraocular pressure and corneal thickness measured at five locations, in subjects with ocular allergy[J]. *International Journal of Ophthalmology*, 2015, 8(1): 81–88.
- [13] Liu M Y. Effects of eye-rubbing on corneal biomechanical properties[D]. Columbus: The Ohio State University, 2013.
- [14] Jones M B, Fulford G R, Please C P, et al. Elastohydrodynamics of the eyelid wiper[J]. *Bulletin of Mathematical Biology*, 2008, 70(2): 323–343.
- [15] 王静波. 眼部的剪切力效应[J]. *中华眼底病杂志*, 2010, 26(3): 297–299.  
Wang Jingbo. The effect of shear stress on the eye[J]. *Chinese Journal of Ocular Fundus Diseases*, 2010, 26(3): 297–299.
- [16] 刘成星. 机械牵拉对角膜成纤维细胞增殖、迁移及基质代谢影响的体外实验研究[D]. 太原: 太原理工大学, 2014.  
Liu Chengxing. The effects of mechanical stretch on the proliferation, migration, and extracellular matrix metabolism of cultured corneal fibroblasts in vitro[D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2014.
- [17] 冯鹏飞. 扩张性角膜疾病的力学生物学研究[D]. 太原: 太原理工大学, 2016.  
Feng Pengfei. Research on ectatic corneal disorders in mechanobiology[D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2016.
- [18] Liu C X, Feng P F, Li X N, et al. Expression of MMP-2, MT1-MMP, and TIMP-2 by cultured rabbit corneal fibroblasts under mechanical stretch[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2014, 239(8): 907–912.
- [19] McMonnies C W. Inflammation and keratoconus[J]. *Optometry Vision Science*, 2015, 92(2): e35–e41.
- [20] Ionescu C, Corbu C G, Tanase C, et al. Inflammatory biomarkers profile as microenvironmental expression in keratoconus[J]. *Disease Markers*, 2016, 2016(9): 1–8.
- [21] Nishtala K, Pahuja N, Shetty R, et al. Tear biomarkers for keratoconus[J]. *Eye Vision*, 2016, 3(1): 19.
- [22] Galvis V, Sherwin T, Tello A, et al. Keratoconus: An inflammatory disorder[J]. *Eye*, 2015, 29(7): 843–859.
- [23] Rohit S, Anuprita G, Lim R R, et al. Elevated expression of matrix metalloproteinase-9 and inflammatory cytokines in keratoconus patients is inhibited by cyclosporine A[J]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2015, 56(2): 1–13.
- [24] Kumagai N, Fukuda K, Fujitsu Y, et al. Role of structural cells of the cornea and conjunctiva in the pathogenesis of vernal keratoconjunctivitis[J]. *Progress in Retinal and Eye Research*, 2006, 25(2): 165–187.
- [25] Balasubramanian S A, Pye D C, Willcox M D. Effects of eye rubbing on the levels of protease, protease activity and cytokines in tears: Relevance in keratoconus[J]. *Clinical and Experimental Optometry*, 2013, 96(2): 214–218.
- [26] McMonnies C W. Mechanisms of rubbing-related corneal trauma in keratoconus[J]. *Cornea*, 2009, 28(6): 607–615.
- [27] McMonnies C W. The biomechanics of keratoconus and rigid contact lenses[J]. *Eye Contact Lens*, 2005, 31(2): 80–92.
- [28] McMonnies C W, Boneham G C. Corneal curvature stability with increased intraocular pressure[J]. *Eye Contact Lens*, 2007, 33(3): 130–137.
- [29] 冯鹏飞, 李晓娜, 陈维毅, 等. 肿瘤坏死因子对圆锥角膜成纤维细胞基质金属蛋白酶及其抑制剂表达的影响[J]. *生物医学工程学杂志*, 2016, 33(6): 1139–1144.  
Feng Pengfei, Li Xiaona, Chen Weiyi, et al. Effects of tumor factor alpha on the expression of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinases in keratoconus fibroblasts[J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 2016, 33(6): 1139–1144.
- [30] Du G L, Liu C X, Li X N, et al. Induction of matrix metalloproteinases-1 by tumor necrosis factor- $\alpha$  is mediated by interleukin-6 in cultured fibroblasts of keratoconus[J]. *Experimental Biology and Medicine*, 2016, 241(18): 2033–2041.
- [31] 刘成星, 冯鹏飞, 李晓娜, 等. 机械牵张对兔角膜成纤维细胞

- 细胞外基质基因表达的影响[J]. 医用生物力学, 2014, 29(5): 447-453.
- Liu Chengxing, Feng Pengfei, Li Xiaona, et al. Effects of mechanical stretch on gene expression of extracellular matrix in rabbit corneal fibroblasts[J]. Journal of Medical Biomechanics, 2014, 29(5): 447-453.
- [32] Feng P F, Li X N, Chen W Y, et al. Combined effects of interleukin-1 $\beta$  and cyclic stretching on metalloproteinase expression in corneal fibroblasts in vitro[J]. Biomedical Engineering OnLine, 2016, 15(1): 1-10.
- [33] Yamamoto K, Ladage P M, Ren D H, et al. Effect of eyelid closure and overnight contact lens wear on viability of surface epithelial cells in rabbit cornea[J]. Cornea, 2002, 21(1): 85-90.
- [34] Molladavoodi S, Robichaud M, Wulff D, et al. Corneal epithelial cells exposed to shear stress show altered cytoskeleton and migratory behaviour[J]. PLoS One, 2017, 12(6): e0178981.
- [35] Utsunomiya T, Ishibazawa A, Nagaoka T, et al. Transforming growth factor- $\beta$  signaling cascade induced by mechanical stimulation of fluid shear stress in cultured corneal epithelial cells[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2016, 57(14): 6382-6388.
- [36] Kang Y G, Shin J W, Park S H, et al. Effects of flow-induced shear stress on limbal epithelial stem cell growth and enrichment[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e93023.
- [37] Kaji Y, Oshika T, Usui T, et al. Effect of shear stress on attachment of corneal endothelial cells in association with corneal endothelial cell loss after laser iridotomy[J]. Cornea, 2005, 24(24): S55-S58.
- [38] Yamamoto Y, Uno T, Joko T, et al. Effect of anterior chamber depth on shear stress exerted on corneal endothelial cells by altered aqueous flow after laser iridotomy[J]. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2010, 51(4): 1956-1964.

## Advances in corneal mechanobiology

LI Xiaona<sup>1,2,3</sup>, WEI Junchao<sup>1,2,3</sup>, WANG Xiaojun<sup>1,2,3</sup>, CHEN Weiyi<sup>1,2,3</sup>

1. Institute of Applied Mechanics and Biomedical Engineering, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China
2. Shanxi Key Laboratory of Material Strength & Structural Impact; College of Mechanics, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China
3. National Demonstration Center for Experimental Mechanics Education, Taiyuan University of Technology, Taiyuan 030024, China

**Abstract** As an important part of the ocular dioptric system, the corneal tissue is subject to the load under intra-ocular pressure. Corneal cells can sense and respond positively to the mechanical stimulation. In this paper, we review force analysis of corneal tissue borne, biological response of corneal cells to mechanical stimulation, and the relation with the repair after injury and relative diseases.

**Keywords** corneal cells; mechanical stimulation; tensile stress; shear stress; mechanobiology ●



(责任编辑 王丽娜)