

· 综述 ·

单纯疱疹性角膜炎发病机制的研究进展

曹楠珏 综述 夏丽坤 审校

110004 沈阳,中国医科大学附属盛京医院眼科

通信作者:夏丽坤,Email:xialk@sj-hospital.org

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.02.017

【摘要】单纯疱疹性角膜炎(HSK)是一种全球高发的严重感染性致盲眼病,视力的慢性损害常与感染的复发、角膜瘢痕、角膜白斑、新生血管以及新生淋巴管等相关。根据目前的研究,角膜的损伤是免疫系统对单纯疱疹病毒(HSV)抗原反应的结果。由于HSK发病机制尚不明确,治疗效果不满意,因此全面了解其初次感染、潜伏、复发的机制是有效治疗的前提。本文分别阐述自噬、免疫系统、细胞因子和微小RNA等几个方面在HSK感染与发病中的作用机制,以了解HSK的发生和发展过程,在一定程度上为HSK的诊断提供参考,并为HSK的治疗及药物研制等研究带来新的启发。

【关键词】单纯疱疹病毒;角膜炎;免疫机制

基金项目:国家自然科学基金项目(30772394);沈阳市高技术产业发展计划项目(2011-154);沈阳市科学技术计划项目(F13-318-1-03, F16-205-1-43)

Research progress in pathogenesis of herpes simplex keratitis Cao Nanjue, Xia Likun

Department of Ophthalmology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China

Corresponding author: Xia Likun, Email: xialk@sj-hospital.org

[Abstract] Herpes simplex keratitis (HSK) is a global high incidence of serious infectious cause of blindness. Chronic visual impairment and visual loss are caused by recurrence of infection, corneal scarring, keratoleukoma, corneal vascularization, lymphangion and so on. According to the current study, corneal injury is the result of chronic inflammatory reaction against herpes simplex virus (HSV) antigens. Because of its unclear pathogenesis, the treatment methods do not get satisfactory results. Overall understanding of first infection, latent and recurrent mechanism of the disease is the precondition for its effective treatment. By describing the role of autophagy, immune system, cytokines and miRNAs in the mechanism of HSK infection and pathogenesis, the readers can understand the process of the occurrence and development in HSK, to some degree, it will not only provide some references for the diagnosis of HSK, but also bring some new inspiration in treatment and drug development.

[Key words] Herpes simplex virus; Keratitis; Immunopathogenesis

Fund program: National Natural Science Foundation of China (30772394); Shenyang High Tech Industry Development Project Plan (2011-154); Shenyang Science and Technology Project of China (F13-318-1-03, F16-205-1-43)

单纯疱疹性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)是一种缺乏有效治疗方法的致盲眼病。原发性感染患者通常早期无明显症状,进入潜伏期后可在一定条件下复发,视力的慢性损害常常与感染的复发、角膜瘢痕、角膜白斑、新生血管以及新生淋巴管等相关。HSK的发病机制复杂,目前尚不完全明确。根据目前的研究,角膜瘢痕和血管慢性炎症反应的发生是机体自身免疫系统对单纯疱疹病毒(herpes simplex virus, HSV)抗原反应的结果^[1],如何在免疫反应与清除病毒之间平衡,免除角膜损伤,将是我们今后研究的重点。本文综述HSK的发病机制,以期为HSK的治疗研究带来新的启发。

1 HSV

1.1 HSV 的类型

HSK是一种人类常见的角膜病^[2-3],也是常见的致盲眼病。目前已知HSV有2种类型可致病,即HSV-1和HSV-2。HSV-1一般通过黏膜接触传播,HSV-2则通过性传播和垂直传播。HSV-1感染后一般潜伏于三叉神经节内^[4],在机体免疫力下降、免疫功能失调时,可以诱导潜伏于三叉神经节和角膜中的HSV-1再活化而复发,发病区域多在三叉神经节分布部位,如口腔黏膜区和眼部。HSV-2一般潜伏于脊神经结内^[5],发病

多为生殖器官感染。临床医生若发现局部 HSV 感染复发,可以同时检查以上部位是否同时发病,尽早治疗,减轻 HSV 对机体的影响。

1.2 HSV 与细胞自噬

自噬是宿主固有免疫的一个重要组成部分,是指从粗面内质网的无核糖体附着区脱落的双层膜包裹部分胞质和细胞内需降解的细胞器、蛋白质等成分形成自噬体,并与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其所包裹的内容物,以实现细胞本身代谢需要和某些细胞器的更新^[6-7]。病毒若想在宿主体内生存,必须以各种方式逃避细胞自噬。DNA 感受器是宿主感受细胞质中游离 DNA 和免疫防御的桥梁,干扰素刺激基因(stimulator of interferon genes, STING)是天然免疫信号通路中一种新发现的蛋白质,是 DNA 感受器下游的关键接头分子,在防御病毒及胞内细菌感染、介导 I 型干扰素(interferon, IFN)产生过程中发挥重要作用^[8]。有研究表明,在 STING(-/-)型小鼠中,HSV-1 在眼及神经系统中的复制和传播增加,与对照组相比,STING(-/-)小鼠的肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α, TNF-α)和趋化因子配体(C-X-C motif chemokine, CXCL)-9 的表达相对增加,I 型 IFN 的表达却变化不大,认为 STING 是一种重要的抗 HSV 感染的蛋白,可以介导细胞的抗病毒和细胞自噬^[9]。在对病毒毒力和发病机制的研究中,细胞自噬是一项宿主防御机制。有研究证明细胞自噬的诱导可能成为一种新的抗病毒药物的作用靶点,在 HSV 感染的细胞,诱导其细胞自噬,将抑制 HSV 的感染。自噬体是可以抑制病毒感染的一种新的抗病毒治疗方法^[10]。ICP34.5 (infected cell protein 34.5) 是 HSV 研究中常提到的一种神经毒性因子,是一种蛋白激酶 R 的抑制剂,其可拮抗细胞凋亡,促进 HSV 的复制。当敲除该蛋白的基因时,HSV 的毒力减弱。BECNI 是哺乳动物参与细胞自噬的特异性基因,是形成自噬体的必需分子,其功能是介导其他的自噬蛋白定位于吞噬泡,进而调控自噬体的形成与成熟^[11]。BECNI 翻译的蛋白 Beclin 是自噬的执行者,可以与 ICP34.5 相互作用,从而抑制细胞自噬,增加 HSV 在体内的复制^[12]。怎样增加或诱导细胞自噬,从而破坏感染细胞,抑制 HSV 的复制与发病,将是一个新的研究热点。

2 HSK

2.1 HSK 与免疫系统

在 HSV 初次感染机体后,可无明显症状,免疫系统在控制病毒的感染和复发上起到关键作用。病毒经过感染、潜伏后可以复发,称为复发性单纯疱疹性角膜炎(recurrent herpes simplex keratitis, rHSK),rHSK 是 HSV 在角膜内重新激活,并产生免疫反应与炎症反应,属于迟发型超敏反应(delayed type hypersensitivity, DTH),严重者可导致角膜盲。固有免疫和适应性免疫在急性 rHSK 中均发挥着重要作用,未来的潜在治疗措施可能是基于免疫干预的新疗法。参与机体免疫反应的细胞,如自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)、树突状细胞(dendritic cell, DC)、单核-巨噬细胞,都可以减少病毒载量^[13-14],小胶质细胞产生的 TNF-α 具有维持 HSV-1 潜伏在三叉神经节的作用^[4]。

参与免疫的细胞因子,如 I 型干扰素(IFN-α 和 IFN-β),主要由 DC 产生,其作用是一种广谱抗病毒、抗肿瘤、免疫调节剂,并不直接杀伤或抑制病毒,而主要是通过细胞表面受体作用使细胞产生抗病毒蛋白,从而抑制病毒的复制,被认为在 HSV 感染转归中起着举足轻重的作用^[15]。II 型干扰素(IFN-γ)由 NK 细胞产生,具有抗病毒、抗增生活性和免疫调节作用,其在处于潜伏状态的病毒激活的预防和维持中扮演着重要角色^[4,16]。潜伏相关转录子(latency-associated transcript, LAT)导致大量病毒基因组潜伏于三叉神经节,是病毒复发的必要条件^[17]。角膜的损伤多来自于中性粒细胞和 CD4⁺ T 细胞^[18],减少两者的含量将有助于减轻角膜的炎症和损伤^[16,19]。CD8⁺ T 细胞被证明有助于角膜感染后期 HSV 的清除^[20],在 HSV 潜伏于三叉神经节期间,LAT 和 CD8 的 mRNA 表达增多,相反的程序死亡分子 1(programmed death 1, PD-1)受体水平被抑制。与 LAT(+) 的 HSV-1 的传染性相比,LAT(-) 的传染性显著降低。CD8α⁺ DCs 和 PD-1 与 HSV 的潜伏-再复发有关,有学者证明 LAT(+) 的 HSV-1 感染后,CD8α⁺ DCs 可导致 T 细胞消耗,产生大量潜伏病毒基因。因此,改变 CD8α⁺ DCs 的这种不利功能将有可能产生一种更为有效的 HSV 感染疫苗^[21]。有报道称泪液中可以检测到 HSV-1 的 DNA^[22];在兔 rHSK 的研究中发现,rHSK 发病前 4~5 d 可以在泪液中检测出大量激活的病毒,rHSK 总是出现在 4~5 d 后^[23];在泪液中检测病毒活性也许能够早期防止 rHSK 的发生。实时荧光探针定量 PCR(real-time PCR)可检测 HSK 患眼角膜上皮组织和泪液中 HSV 的表达,病变区角膜上皮组织中有较高的 HSV 检出率^[24]。以往 HSK 的诊断主要依靠临床症状和体征,缺乏特异性诊断方法,有效应用 real-time PCR 检测技术也许将为 HSK 的实验室诊断提供依据。怎样将 HSK 与机体免疫系统相关指标联系起来应用于临床的诊断与治疗将成为未来研究的新方向。

2.2 HSK 与细胞因子

免疫系统中 NLRP3 (nucleotide-binding oligomerization domain-leucine-rich repeats containing pyrin domain 3) 炎症复合体近期得到了广泛研究,其是一种细胞质内的多蛋白聚合物,属于 NOD 样受体(NOD-like receptors, NLRs)家族中的一员,主要在中性粒细胞、巨噬细胞、平滑肌细胞、上皮细胞等多种细胞中表达^[25];其作用机制是当配体与 NLRP3 受体结合后,促进炎症复合物的形成。NLRP3 分子通过接头蛋白 ASC,招募激活半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白水解酶 1(cysteinyl aspartate-specific protease-1, caspase-1),使炎症小体切割白细胞介素(interleukin, IL)-1β 前体和 IL-18 前体,使其转变为 IL-1β 和 IL-18,最终导致 IL-1β 和 IL-18 的成熟及分泌,影响下一步免疫反应^[26]。NLRP3 蛋白可以在正常角膜上皮细胞的细胞质中表达,但细胞核中无表达。有学者研究 HSK 感染后的第 7 天,NLRP3 一部分被重新分配到角膜上皮细胞的细胞核中,并通过加入氯化钾可以减少细胞核中的 NLRP3 浓度,使其返回到细胞质中^[27],这说明 HSV 感染后的某一时期激活 NLRP3,并使其重新定位,产生后续的炎症效应,使细胞凋亡,并释放大量炎症因子。是否可以通过抑制 NLRP3 进而减轻角膜炎症反应,需

要进一步研究。

IL-2/抗 IL-2 抗体复合物可以增加 CD4⁺Foxp3⁺调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 的表达, 叉头/翼状螺旋转录因子 p3 (forkhead/winged helix transcription factor p3, Foxp3) 是一种转录因子, 不仅是 Treg 的重要标志, 也参与 Treg 的分化和功能^[28]。有研究证明在早期 HSK 感染后, 上调 Foxp3 可以使 HSK 感染减轻, 早期使用抗原抗体复合物治疗组与对照组相比, 可以显著减少病毒载量, 其与 NK 细胞数量增加 2 倍相关, 在 7 d、16 d 检测 CD4⁺ T 细胞可以发现其流入显著减少。在感染晚期, 使用免疫复合物治疗可增加 Foxp3, 但未能降低 HSK 的严重程度, CD4⁺ T 细胞流入也未发生明显变化^[28]。所以早期使用该免疫复合物治疗 HSK 也许将减轻 HSK 患者的角膜损伤程度。

神经保护素 D1 (neuroprotectin D1, NPD1) 是一种重要的内源性脂质介质, 其前体是 ω-3 多不饱和脂肪酸二十二碳六烯酸。NPD1 对很多炎症细胞及基因有着广泛的调节作用, 可以促进炎症反应的消退, 改善多种炎症反应疾病的转归^[29]。其作用机制与免疫细胞与细胞因子相关, 可以减少促炎细胞因子和趋化因子的生产, 从而减少炎症细胞聚集, 减少氧化应激, 促进角膜伤口愈合。Rajasagi 等^[30]用 NPD1 局部治疗, 对照组使用磷酸盐缓冲液治疗, NPD1 组显著降低基质性角膜炎病变的严重程度和角膜新生血管的程度, 并检测到效应 CD4⁺ T 细胞和中性粒细胞内流减少, 同时减少促炎性细胞因子、趋化因子, 如 IL-6、IL-17、IFN-γ、CXCL10、趋化因子配体 (chemokine ligand, CCL)-20, 促血管生成的分子也相应减少, 如血管内皮生长因子 A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)、基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-9; 相反地, IL-10 却增加了。有研究证明, IL-10 和调节性 T 细胞是 2 个独立的抗炎机制^[31]。IL-10 可以抑制 HSK 鼠的 DTH, 降低 HSK 的发病率, 减轻角膜混浊程度、角膜新生血管化程度及角膜内炎症细胞浸润^[32]。研究表明, IL-6 可诱导初级 T 细胞分化为辅助性 T 细胞 17 (T helper cells 17, Th17)^[33], 降低 IL-6 可以减少 Th17 细胞, 同时减少其分泌的 IL-17, 减轻基质性角膜炎^[34]。有研究证明, IL-17 在 HSK 模型中通过上调 TNF-α, 增强 DTH 反应, 进而加重角膜炎症^[35]。因此, NPD1 治疗可能是控制基质性角膜炎病变的一种有价值的方法。

角膜新生血管可以使角膜混浊, 降低角膜透明度, 有效抑制 HSK 中角膜新生血管的发生将有利于患者视力的恢复。神经肽 P 物质 (substance P, SP) 是由神经纤维和抗原递呈细胞产生的一种神经肽类物质, 可以参与不同的细胞反应, 调节炎症反应, 增加新生血管^[36~37]。SP 已被检测到可出现于角膜基质中^[38]。通过轻型、重型 HSK 的对比发现, 重型 HSK 角膜中高表达的 SP 同样伴随着 IL-6、INF-α 等促炎症细胞因子和 CCL3、CXCL2 等趋化因子的高表达, 而轻型 HSK 与此相反。研究表明, 结膜下注射 SP 受体拮抗剂 Spantide I 可以显著减少新生血管生成, 增加角膜透明度, 降低 IL-6 和 CCL3 蛋白, 降低中性粒细胞和 CD4⁺ T 细胞的比例^[39~40]。结膜下注射 SP 受体拮抗剂对于角膜新生血管的患者来说, 也许是一个新的希望, 有待进一步研究。

角膜新生血管是 HSK 发展中的一个重要因素, 但不可忽略的是角膜新生淋巴管同样也是一个重要的因素。淋巴管不同于血管, 其作用不是提供氧气和营养, 而是回收组织液和大分子, 最终回流入血液循环, 其中大分子包括可溶性抗原、免疫细胞、炎症介质等^[41]。在大部分组织中淋巴管是必需的, 但在角膜组织中新生淋巴管可以使角膜混浊加重, 进而影响视力。有研究证明, TNF-α 和 VEGF-A 联合应用可以促进角膜的淋巴管增多, Terasaka 等^[42]分别研究了这 2 个因子, 在已经发生 HSK 的小鼠结膜下注射抗 TNF-α 抗体, 对照组注射 IgG, 结果发现与对照组相比, TNF-α 抗体注射组小鼠角膜的淋巴管面积显著减小; 在 TNF-α 缺陷小鼠角膜中进行进一步研究发现, 与正常小鼠相比, 两者同时感染 HSV-1 5 d 后角膜新生淋巴管无明显区别, 均同时增多, 认为可能有其他因子代替了 TNF-α; 进一步筛查发现, IL-6、IL-1β、胰岛素样生长因子-2 (insulin like growth factor 2, IGF-2)、血小板衍生生长因子 (platelet derived growth factor, PDGF)、促血管生成素 2 (angiopoietin 2, ANGPT2) 表达增加, 其中最有可能的是 IL-6 替代了 TNF-α 的作用。Bryant-Hudson 等^[43]在 TNF-α 缺陷小鼠结膜下注射 IL-6 抗体, 对照组注射 IgG, 结果显示 IL-6 显著减少, 但不影响其他 IL-1β、IGF-2、PDGF、ANGPT2 的含量, IL-6 抗体组显著减少了角膜新生淋巴管的生成, 说明 IL-6 替代了 TNF-α 的作用。TNF-α、IL-6 以及 VEGF-A 的协同作用可能是增加角膜新生血管及淋巴管生成的原因。Petrera 等^[44]研究显示, 豆甾醇衍生物可以对抗病毒活性、阻止 HSV-1 感染引起的 IL-6 和 IFN-γ 分泌, 这种衍生物的抗病毒和抗炎作用是否可以用于减轻 HSK 损害, 值得进一步研究。角膜新生血管和淋巴管影响角膜透明度, 严重影响患者视力, 着眼于此, 有更多此方面的研究将会出现。

West 等^[45]在 rHSK 模型中发现, CXCL1 是 rHSK 的主要参与者。角蛋白趋化因子 (keratinocyte-derived chemokine, KC) 是 CXC 类趋化因子中的重要成员, 实验组注射 anti-KC (CXCL1), 结果显示与对照组相比, rHSK 的复发率和严重程度明显降低, 其作用机制为 CXCL1/KC 是中性粒细胞等炎症细胞的趋化因子, 而中性粒细胞在 rHSK 中起着重要作用^[45~46], 减少 CXCL1/KC 可以减少中性粒细胞的聚集, 从而降低 HSK 的复发率和严重程度, Th17 细胞可能在 rHSK 中也起着潜在作用。能否将 CXCL1/KC 应用于临床, 减轻 rHSK 严重程度, 降低 HSV-1 对角膜的损伤, 仍有待进一步研究。

2.3 HSK 与微小 RNA

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是一种广泛存在于真核细胞生物中的内源性单链小分子 RNA, 现有研究已经证明 miRNA 在真核生物的基因调控中起着重要作用, 可通过降解 mRNA 或抑制 mRNA 转录后的蛋白质翻译, 从而抑制靶基因的表达^[47]。miR-155 被证明可促进基质性角膜炎的发生, 敲除此基因则可以减少炎症细胞的浸润和病理损害。抑制 miR-155, 可显著降低 CD4⁺ Th 1 细胞的反应和减少非特异性炎性细胞浸润到角膜。miR-155 也通过靶向结合 IFN-γ 受体 α 链的 mRNA, 从而抑制其表达, 使 IFN-γ 减少, 进一步减少 IFN-γ 受体活化的 CD4⁺ T 细胞分化为 Th1 细胞, 拮抗 miR-155 可以减

少基质性角膜炎的损伤和角膜血管化,miR-155 可以促进基质性角膜炎的发生和发展^[48]。另外,还有研究证明,miR-23a 与 HSV 的复制有关。干扰素调节因子 1 (interferon regulatory factor 1, IRF1) 是一种核转录因子,在分子水平上被广泛研究。IRF1 具有调节干扰素表达、抗病毒、抗肿瘤等多种作用^[49]。miR-23a 可以负向调控 IRF1 的表达,而 IRF1 可以正向调控 S-腺苷甲硫氨酸基区域蛋白 2 (radical s-adenosyl methionine domain containing 2, RSAD2), RSAD2 可以抑制 HSV-1 的复制,所以 miR-23a 可以间接地使 HSV 的复制增加^[50]。在 HSK 发病过程中,角膜新生血管影响角膜透明是一个令人头疼的问题,有研究证明 miR-132 在 HSK 中可诱导 VEGF 和 IL-17 的产生,增加角膜新生血管的生长^[51]。抑制 miR-23a、miR-132 和 miR-155 可以作为治疗 HSK 新的方案^[48,50-51]。

3 小结

HSK 的发病机制尚不十分明确,HSV 潜伏时与机体和谐相处,发病时机体的免疫系统与病毒共同作用,使大量免疫细胞与细胞因子浸润角膜,产生临床症状,形成角膜新生血管和淋巴管,增加角膜混浊程度,严重者可发生角膜盲。近年对 HSK 的研究机制主要有几大方向,分别为表观遗传学(如 miRNA 等)、各种信号传导通路以及各种细胞因子。进一步了解 HSK 的发展机制,有助于新的临床治疗方案的产生。但是,目前的研究仍不能满足对 HSK 的充分认知,更不能满足临床新的治疗方案产生的需求,我们需要更完整地了解 HSK 发生和发展的全过程,才能制定出有效控制 HSK 的新方案,从而使更多 HSK 患者的角膜免于损伤。有效清除体内病毒是一个长远的治疗目标,这些均有待进一步研究。

参考文献

- [1] Rolinski J, Hus I. Immunological aspects of acute and recurrent herpes simplex keratitis [J/OL]. *J Immunol Res*, 2014, 2014: 513560 [2015-09-30]. <https://www.hindawi.com/journals/jir/2014/513560/>. DOI: 10.1155/2014/513560.
- [2] Liesegang TJ, Melton LJ 3rd, Daly PJ, et al. Epidemiology of ocular herpessimplex. Incidence in Rochester, Minn, 1950 through 1982 [J]. *Arch Ophthalmol*, 1989, 107(8): 1155-1159.
- [3] Young RC, Hodge DO, Liesegang TJ, et al. Incidence, recurrence, and outcomes of herpes simplex virus eye disease in Olmsted County, Minnesota, 1976-2007: the effect of oral antiviral prophylaxis [J]. *Arch Ophthalmol*, 2010, 128(9): 1178-1183. DOI: 10.1001/archophthalmol.2010.187.
- [4] Bigley NJ. Complexity of interferon-γ interactions with HSV-1 [J/OL]. *Front Immunol*, 2014, 5: 15 [2016-03-10]. <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2014.00015/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00015.
- [5] Cunningham AL, Diefenbach RJ, Miranda-Saksena M, et al. The cycle of human herpes simplex virus infection: virus transport and immune control [J]. *J Infect Dis*, 2006, 194 Suppl 1: S11-18. DOI: 10.1086/505359.
- [6] Mizushima N. Autophagy: process and function [J]. *Genes Dev*, 2007, 21(22): 2861-2873. DOI: 10.1101/gad.1599207.
- [7] 杨礼,周海燕. 自噬及其与疾病和凋亡的关系 [J]. 中华医学杂志, 2011, 91(18): 1292-1294. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2011.18.019.
- Yang L, Zhou HY. Autophagy and its relationship with disease and apoptosis [J]. *Nat Med J China*, 2011, 91(18): 1292-1294. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2011.18.019.
- [8] Ishikawa H, Barber GN. STING is an endoplasmic reticulum adaptor that facilitates innate immune signalling [J]. *Nature*, 2008, 455(7213): 674-678. DOI: 10.1038/nature07317.
- [9] Parker ZM, Murphy AA, Leib DA. Role of the DNA sensor STING in protection from lethal infection following corneal and intracerebral challenge with herpes simplex virus 1 [J]. *J Virol*, 2015, 89(21): 11080-11091. DOI: 10.1128/JVI.00954-15.
- [10] Yakoub AM, Shukla D. Autophagy stimulation abrogates herpes simplex virus-1 infection [J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 9730 [2016-03-10]. <http://www.nature.com/articles/srep09730>. DOI: 10.1038/srep09730.
- [11] Aita VM, Liang XH, Murty VV, et al. Cloning and genomic organization of beclin 1, a candidate tumor suppressor gene on chromosome 17q21 [J]. *Genomics*, 1999, 59(1): 59-65. DOI: 10.1006/geno.1999.5851.
- [12] Gross C, Buckingham EM, Jackson W, et al. The pros and cons of autophagic flux among herpesviruses [J]. *Autophagy*, 2015, 11(4): 716-717. DOI: 10.1080/15548627.2015.1017223.
- [13] Frank GM, Buela KA, Maker DM, et al. Early responding dendritic cells direct the local NK response to control herpes simplex virus 1 infection within the cornea [J]. *J Immunol*, 2012, 188(3): 1350-1359. DOI: 10.4049/jimmunol.1101968.
- [14] Conrady CD, Zheng M, Mandal NA, et al. IFN-α-driven CCL2 production recruits inflammatory monocytes to infection site in mice [J]. *Mucosal Immunol*, 2013, 6(1): 45-55. DOI: 10.1038/mi.2012.46.
- [15] de Regge N, van Opdenbosch N, Nauwynck HJ, et al. Interferon alpha induces establishment of alphaherpesvirus latency in sensory neurons *in vitro* [J/OL]. *PLoS One*, 2010, 5(9): e13076 [2016-04-09]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0013076>. DOI: 10.1371/journal.pone.0013076.
- [16] 夏丽坤,张劲松,陈晓隆,等. 细胞因子在鼠复发性单纯疱疹性角膜基质炎角膜组织中的表达 [J]. 中华眼科杂志, 2005, 41(5): 403-408.
- Xia LK, Zhang JS, Chen XL, et al. Cytokine expression in murine cornea tissue during recurrent herpetic stromal keratitis [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2005, 41(5): 403-408.
- [17] Kaye S, Choudhary A. Herpes simplex keratitis [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2006, 25(4): 355-380. DOI: 10.1016/j.preteyes.2006.05.001.
- [18] Heiligenhaus A, Bauer D, Zheng M, et al. CD4⁺ T-cell type 1 and type 2 cytokines in the HSV-1 infected cornea [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 1999, 237(5): 399-406.
- [19] Xia L, Zhang S, Zhou J, et al. A crucial role for B and T lymphocyte attenuator in preventing the development of CD4⁺ T cell-mediated herpetic stromal keratitis [J]. *Mol Vis*, 2010, 16: 2071-2083.
- [20] Conrady CD, Zheng M, Stone DU, et al. CD8⁺ T cells suppress viral replication in the cornea but contribute to VEGF-C-induced lymphatic vessel genesis [J]. *J Immunol*, 2012, 189(1): 425-432. DOI: 10.4049/jimmunol.1200063.
- [21] Mott KR, Allen SJ, Zandian M, et al. Coregulatory interactions among CD8α dendritic cells, the latency-associated transcript, and programmed death 1 contribute to higher levels of herpes simplex virus 1 latency [J]. *J Virol*, 2014, 88(12): 6599-6610. DOI: 10.1128/JVI.00590-14.
- [22] Kaufman HE, Azcuy AM, Varnell ED, et al. HSV-1 DNA in tears and saliva of normal adults [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2005, 46(1): 241-247. DOI: 10.1167/iovs.04-0614.
- [23] Perng GC, Osorio N, Jiang X, et al. Large amounts of reactivated virus in tears precedes recurrent herpes stromal keratitis in stressed rabbits latently infected with herpes simplex virus [J]. *Curr Eye Res*, 2016, 41(3): 284-291. DOI: 10.3109/02713683.2015.1020172.
- [24] 马君鑫,王林农,周如侠,等. 实时荧光探针定量 PCR 法在坏死性基质型单纯疱疹病毒性角膜炎病原检测中的应用 [J]. 中华实验眼科杂志, 2015, 33(5): 446-450. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.012.
- Ma JX, Wang LN, Zhou RX, et al. Application of real-time PCR in pathogenic detection of necrotizing herpes stromal keratitis [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2015, 33(5): 446-450. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.012.

- [25] 王位, 马远方, 韩根成. NLRP3 炎性小体激活调控机制研究新进展 [J]. 国际免疫学杂志, 2015, 38(4): 343–347. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2015.04.010.
- Wang W, Ma YF, Han GC. New progress on the activation mechanisms of NOD-like receptor, pyrin domain-containing 3 inflammasome [J]. Int J Immunol, 2015, 38(4): 343–347. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4394.2015.04.010.
- [26] González-Benítez JF, Juárez-Verdayes MA, Rodríguez-Martínez S, et al. The NALP3/Cryopyrin-inflammasome complex is expressed in LPS-induced ocular inflammation [J/OL]. Mediators Inflamm, 2008, 2008: 614345 [2015-11-16]. <https://www.hindawi.com/journals/mi/2008/614345/>. DOI: 10.1155/2008/614345.
- [27] Wang SL, Zhao C, Zhu W, et al. Herpes simplex virus-1 infection or Simian virus 40-mediated immortalization of corneal cells causes permanent translocation of NLRP3 to the nuclei [J]. Int J Ophthalmol, 2015, 8(1): 46–51. DOI: 10.3980/j.issn.2222-3959.2015.01.08.
- [28] Gaddipati S, Estrada K, Rao P, et al. IL-2/anti-IL-2 antibody complex treatment inhibits the development but not the progression of herpetic stromal keratitis [J]. J Immunol, 2015, 194(1): 273–282. DOI: 10.4049/jimmunol.1401285.
- [29] Schwab JM, Chiang N, Arita M, et al. Resolvin E1 and protectin D1 activate inflammation-resolution programmes [J]. Nature, 2007, 447(7146): 869–874. DOI: 10.1038/nature05877.
- [30] Rajasagi NK, Reddy PB, Mulik S, et al. Neuroprotectin D1 reduces the severity of herpes simplex virus-induced corneal immunopathology [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2013, 54(9): 6269–6279. DOI: 10.1167/ios.13-12152.
- [31] Sarangi PP, Sehrawat S, Suvas S, et al. IL-10 and natural regulatory T cells: two independent anti-inflammatory mechanisms in herpes simplex virus-induced ocular immunopathology [J]. J Immunol, 2008, 180(9): 6297–6306.
- [32] 夏丽坤, 高殿文, 濮伟, 等. 白细胞介素 10 对小鼠单纯疱疹性角膜基质炎作用的实验研究 [J]. 中华眼科杂志, 2003, 39(10): 592–596.
- Xia LK, Gao DW, Pu W, et al. Suppression effects of interleukin-10 on mouse herpetic stromal keratitis [J]. Chin J Ophthalmol, 2003, 39(10): 592–596.
- [33] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells [J]. Nature, 2006, 441(7090): 235–238. DOI: 10.1038/nature04753.
- [34] Suryawanshi A, Veiga-Parga T, Rajasagi NK, et al. Role of IL-17 and Th17 cells in herpes simplex virus-induced corneal immunopathology [J]. J Immunol, 2011, 187(4): 1919–1930. DOI: 10.4049/jimmunol.1100736.
- [35] Xia L, Zhang S, Cao Z, et al. Interleukin-17 enhanced immunoinflammatory lesions in a mouse model of recurrent herpetic keratitis [J]. Microbes Infect, 2013, 15(2): 126–139. DOI: 10.1016/j.micinf.2012.10.017.
- [36] Harrison S, Geppetti P. Substance p [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2001, 33(6): 555–576.
- [37] Fan TP, Hu DE, Guard S, et al. Stimulation of angiogenesis by substance P and interleukin-1 in the rat and its inhibition by NK1 or interleukin-1 receptor antagonists [J]. Br J Pharmacol, 1993, 110(1): 43–49.
- [38] Sloniecka M, Le Roux S, Boman P, et al. Expression profiles of neuropeptides, neurotransmitters, and their receptors in human keratocytes *in vitro* and *in situ* [J/OL]. PLoS One, 2015, 10(7): e134157 [2015-07-21]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0134157>.
- [39] Twardy BS, Channappanavar R, Suvas S. Substance P in the corneal stroma regulates the severity of herpetic stromal keratitis lesions [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(12): 8604–8613. DOI: 10.1167/ios.11-8089.
- [40] Backman LJ, Eriksson DE, Danielson P. Substance P reduces TNF- α -induced apoptosis in human tenocytes through NK-1 receptor stimulation [J]. Br J Sports Med, 2014, 48(19): 1414–1420. DOI: 10.1136/bjsports-2013-092438.
- [41] Karpanen T, Alitalo K. Molecular biology and pathology of lymphangiogenesis [J]. Annu Rev Pathol, 2008, 3: 367–397. DOI: 10.1146/annurev.pathmechdis.3.121806.151515.
- [42] Terasaka Y, Miyazaki D, Yakura K, et al. Induction of IL-6 in transcriptional networks in corneal epithelial cells after herpes simplex virus type 1 infection [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010, 51(5): 2441–2449. DOI: 10.1167/ios.09-4624.
- [43] Bryant-Hudson KM, Gurung HR, Zheng M, et al. Tumor necrosis factor alpha and interleukin-6 facilitate corneal lymphangiogenesis in response to herpes simplex virus 1 infection [J]. J Virol, 2014, 88(24): 14451–14457. DOI: 10.1128/JVI.01841-14.
- [44] Petrera E, Nittolo AG, Alché LE. Antiviral action of synthetic stigmasterol derivatives on herpes simplex virus replication in nervous cells *in vitro* [J/OL]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 947560 [2016-04-10]. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/947560/>. DOI: 10.1155/2014/947560.
- [45] West DM, Del RCR, Yin XT, et al. CXCL1 but not IL-6 is required for recurrent herpetic stromal keratitis [J]. J Immunol, 2014, 192(4): 1762–1767. DOI: 10.4049/jimmunol.1302957.
- [46] Divito SJ, Hendricks RL. Activated inflammatory infiltrate in HSV-1-infected corneas without herpetic stromal keratitis [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49(4): 1488–1495. DOI: 10.1167/ios.07-1107.
- [47] Bushati N, Cohen SM. MicroRNA functions [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2007, 23(1): 175–205. DOI: 10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123406.
- [48] Bhela S, Mulik S, Gimenez F, et al. Role of miR-155 in the pathogenesis of herpetic stromal keratitis [J]. Am J Pathol, 2015, 185(4): 1073–1084. DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.12.021.
- [49] Taniguchi T, Ogasawara K, Takaoka A, et al. IRF family of transcription factors as regulators of host defense [J]. Annu Rev Immunol, 2001, 19: 623–655. DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.623.
- [50] Ru J, Sun H, Fan H, et al. MiR-23a facilitates the replication of HSV-1 through the suppression of interferon regulatory factor 1 [J/OL]. PLoS One, 2014, 9(12): e114021 [2016-03-27]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0114021>.
- [51] Mulik S, Xu J, Reddy PB, et al. Role of miR-132 in angiogenesis after ocular infection with herpes simplex virus [J]. Am J Pathol, 2012, 181(2): 525–534. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.04.014.

(收稿日期: 2016-05-08)

(本文编辑: 尹卫靖)

读者·作者·编者

本刊对来稿中组织病理学彩色图片及电子显微镜图片中标尺的要求

如果作者稿件中包含有组织病理图、免疫荧光染色图、免疫组织化学图、电子显微镜图片,为了反映组织标本大小的最精确尺度,请在电子版图片的左下方附注标尺。

(本刊编辑部)