

中性粒细胞在角膜真菌感染病程中的双相作用

杨彪 综述 张红敏 王丽娅 审校

【摘要】 真菌性角膜炎是由真菌引起的角膜感染性疾病,致盲率高,且近几年其发病率逐年升高。机体对真菌的免疫包括特异性免疫和非特异性免疫,其中中性粒细胞介导的非特异性免疫对真菌的杀伤起着关键性的作用,其中不仅包括氧依赖型和非氧依赖型的杀菌方式,还包括近些年发现的中性粒细胞胞外捕获的杀菌方式。中性粒细胞通过释放酶以及活性氧簇(ROS)起到杀灭真菌的作用,但这些物质在杀伤真菌的同时也会造成组织损伤、瘢痕形成甚至角膜穿孔。本文主要介绍中性粒细胞杀伤真菌以及造成组织破坏的机制。

【关键词】 真菌性角膜炎; 中性粒细胞; 真菌; 组织损伤

Neutrophil as double-edged swords in fungal keratitis Yang Biao, Zhang Hongmin, Wang Liya. Department of Ophthalmology, People's Hospital of Zhengzhou University, Henan Eye Institute & Henan Eye Hospital, Zhengzhou, 450003, China

Corresponding author: Wang Liya, Email: wangliya55@126.com

【Abstract】 Fungal keratitis is a corneal disease caused by fungal infection with high possibility of blindness, and the morbidity is being higher year by year. Both native immune and adaptive immune are included during anti-fungi process in which the fungi is killed by native immune especially by neutrophil. The neutrophil kill the fungi not only by oxygen-dependent and oxygen-independent way but also by the neutrophil extracellular traps which is discovered in recent years. The enzyme and reactive oxygen species(ROS) released by the neutrophil are included in the process of fungi killing. But those materials can cause tissue damage which may cause the scar or even corneal perforation. This review mainly focused on the mechanism how the neutrophil kill fungi and cause tissue damage.

【Key words】 Fungal keratitis; Neutrophil; Fungi; Tissue damage

中性粒细胞是重要的天然免疫细胞,在对抗外来病原体的过程中发挥着重要的作用,其细胞质内含有多种颗粒酶,包括氧化酶和各种蛋白水解酶,是中性粒细胞杀伤病原体的基础。氧化酶通过一系列的反应产生活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)来杀伤病原体,而蛋白水解酶起到溶解微生物的作用,但是这些物质随中性粒的死亡、裂解释放到细胞外,并造成组织损伤。研究表明,去除中性粒细胞的小鼠真菌性角膜炎模型的组织损伤程度比正常小鼠真菌性角膜炎模型低,但是菌丝的量相对较高^[1],所以中性粒细胞在抗感染的过程中是一把双刃剑。正常的角膜组织中缺乏中性粒细胞,激活后的中性粒细胞才能自角膜缘进入角膜组织^[2]。自体细胞合成的活性物质,如白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-8、血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)以及病原体产生的物质,如脂多糖^[3]均可激活中性粒细胞。

中性粒细胞激活后,通过黏附、趋化、游走等一系列过程从角膜缘血管进入角膜。在炎症的起始阶段,特定的化学信号刺激血管内皮细胞,使其表面表达 P 选择素和 E 选择素^[4]。这些选择素能与中性粒细胞表面的寡聚糖结合,使中性粒细胞黏附于血管壁上。选择素介导的中性粒细胞与内皮细胞的黏附,加之炎症反应导致的血管扩张和血流剪应力的变化,使中性粒细胞在血管内皮上滚动。然后由细胞间黏附分子(intercellular adhesion molecule, ICAM)介导中性粒细胞变形,以阿米巴样运动穿过血管壁,进入组织^[5]。

角膜组织中虽然缺乏中性粒细胞,但是正常的角膜组织中存在巨噬细胞,且角膜缘血管内存在肥大细胞^[6],这 2 种细胞对中性粒细胞进入角膜组织起到一定辅助作用。巨噬细胞表面表达的 dectin-1 与真菌表面表达的 β -葡聚糖结合,并分泌 CXCL1[chemokine (C-X-C motif) ligand 1]和 IL-1 β ^[7-8],其中 CXCL1 是中性粒细胞的趋化因子,而 IL-1 β 可以促进巨噬细胞表达 CXCL1^[7,9]。肥大细胞在炎症的刺激下分泌 TNF- α 、组胺和其他各种蛋白酶,不仅可激活中性粒细胞还可以增加血管通透性^[10]。除了角膜内存留的免疫细胞,角膜组织细胞也有识别真菌并趋化中性粒的作用,如角膜上皮细胞表达 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR),包括 TLR2 和 TLR4,它们可以识别真

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.017

基金项目:国家自然科学基金项目(81170831、81270991);河南省基础与前沿计划项目(102300410024、112300410036、132102310087)

作者单位:450003 郑州大学人民医院 河南省眼科研究所 & 河南省立眼科医院

通信作者:王丽娅,Email:wangliya55@126.com

菌,并分泌中性粒细胞趋化因子,促进中性粒细胞的游走^[11]。另外,中性粒细胞表面表达的 TLR4 与对真菌的杀伤有关^[12]。在小鼠真菌性角膜炎模型中,中性粒细胞的数量从感染真菌后 9 h 开始升高,24 h 达高峰^[2]。对于人真菌性角膜炎,中性粒细胞量的变化趋势尚未见报道。

1 中性粒细胞对真菌的杀灭

1.1 中性粒细胞的氧依赖型和非氧依赖型杀菌

中性粒细胞对病原微生物的杀灭主要分为非氧依赖型和氧依赖型。非氧依赖型杀菌依赖于中性粒细胞内的嗜天青颗粒、特异性颗粒和白明胶酶颗粒,这 3 种颗粒内含有多种杀菌物质和蛋白酶。杀菌物质包括防御素、溶菌酶素和阳离子蛋白。蛋白酶包括弹性蛋白酶和组织蛋白酶 G。如果非氧依赖型的杀菌机制缺陷,就会导致机体易发感染性疾病,如 Chediak-Higashi 综合征以嗜天青颗粒与特异性颗粒融合为特点,导致反复感染^[13]。

氧依赖型杀菌机制系统包括 ROS 及产生 ROS 的酶。其中,ROS 包括 O_2^- 、 H_2O_2 、 $OH\cdot$ 和 $HOCl$,酶类包括磷酸酰胺腺嘌呤二核苷酸氧化酶(NADPH oxidase, NOX)和髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)。NOX 由 5 个亚基构成,分别是 p40^{PHOX}、p47^{PHOX}、p67^{PHOX}、p22^{PHOX} 和 gp91^{PHOX},其中 p22^{PHOX} 和 gp91^{PHOX} 构成膜蛋白,即细胞色素 b₅₅₈ 表达于细胞膜表面,它起着传递电子的作用,将一个电子传递给 O_2 形成 O_2^- ^[14]。 O_2^- 的形成具有重要意义,它是多种氧化代谢产物的基础:2 个分子 O_2^- 可以自发地发生歧化反应生成 H_2O_2 ,后者在 MPO 的作用下生成 $HOCl$ 。 $HOCl$ 与真菌作用,起到对真菌的杀灭。无论是 NOX 还是 MPO 的缺乏,都会使机体易感真菌^[15-16],提示氧依赖的杀菌机制的重要性。

中性粒细胞通过吞噬和非吞噬的途径杀灭真菌,但都是由氧依赖的途径和非氧依赖的途径介导的。研究表明,中性粒细胞可吞噬分生孢子和休眠孢子^[1],特别是经抗体或者补体调理后的孢子^[17-18]。由于菌丝体积较大,中性粒细胞无法直接吞噬,而是附着于表面,释放细胞质内的颗粒酶,对菌丝造成杀伤^[19]。这种杀伤方式未在细胞内形成吞噬体,而是将各种酶类释放到细胞外,包括 MPO、弹性蛋白酶和阳离子蛋白,它们通过氧依赖或者非氧依赖的机制对真菌造成杀伤,如弹性蛋白酶参与曲霉属的杀伤^[20]。阳离子蛋白,如溶菌酶素也可对烟曲霉菌和白色念珠菌造成杀伤^[21]。

1.2 中性粒细胞细胞外捕获

中性粒细胞除了吞噬清除真菌外,还可行形成中性粒细胞细胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)对真菌造成杀伤,特别是无法直接吞噬的菌丝。NETs 是近些年发现的中性粒细胞的杀菌机制。NETs 的形成是由中性粒细胞主动裂解释放出染色质和组蛋白包围病原体,并释放出各种酶类对病原体造成杀伤的。NETs 在真菌的杀灭清除中起着一定的作用,目前已知的可以被 NETs 清除的真菌有构巢曲霉菌、烟曲霉菌和白色念珠菌^[22-24]。NETs 的组成成分不仅有染色质、组蛋白,还有中性粒细胞颗粒蛋白酶和杀菌物质,包括 α 防御素、乳铁

蛋白和阳离子蛋白^[25]。这些物质参与 NETs 的形成,起到杀灭真菌的作用。组蛋白是构成 NETs 的主要成分之一,它可能会对组织产生毒性作用,但是其机制目前尚不清楚。败血症中 NETs 释放出组蛋白可对组织细胞造成伤害^[26]。中性粒细胞受到刺激后形成 NETs 是连续的过程。在受到刺激后 60 min,中性粒细胞形态学无明显变化,随后核膜、颗粒膜破裂,释放出染色质和蛋白酶;在受到刺激后 120 min,核膜的完整性瓦解,染色质释放到胞质中;180 min 时组成 NETs 的成分已经均匀地分布在细胞质中,然后这些物质释放到细胞外,NETs 形成^[27]。刺激 NETs 形成的物质有很多,如 IL-8、细菌、真菌和 PAF。中性粒细胞接受上述物质刺激后,激活下游的蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)^[28]。PKC 的激活和 NOX 活化及 ROS 产生关系密切。目前的研究认为,ROS 的形成介导 NETs 的形成,并认为 ROS 是 NETs 形成的第二信使^[29]。若无 ROS 的形成,NETs 也不会形成。如慢性肉芽肿病患者,在真菌或者细菌的刺激下都未能形成 NETs^[30]。此外,中性粒细胞弹性蛋白酶和 MPO 在 NETs 的形成中也发挥着重要作用。弹性蛋白酶受 ROS 刺激后迅速从颗粒中移出并进入细胞核,在 MPO 的协助下降解 H1 组蛋白^[31],促进 NETs 形成。

2 中性粒细胞对角膜组织的破坏

2.1 ROS 对角膜的损伤

中性粒细胞通过氧依赖途径产生 ROS,包括 O_2^- 、 H_2O_2 、 $OH\cdot$ 以及卤化物 $HOCl$,每种氧化产物都可能造成组织损伤,但其各自对组织损伤的能力有限。从 O_2^- 、 H_2O_2 到 $HOCl$ 是速度很快的连续过程, O_2^- 、 H_2O_2 在未释放到组织前就被消耗,因此对组织的破坏作用有限。 $OH\cdot$ 的生成量非常少,也不是主要的破坏因素^[32]。对组织最具有破坏力的是 $HOCl$,在体外实验中,它对组织有很强的破坏作用。在多数活体组织,它的损伤作用很有限,但不能认为 $HOCl$ 对组织无毒性作用,如 $HOCl$ 可造成肺的损伤^[33]。单独的氧化代谢产物对组织造成的损伤不大,但是它与蛋白酶共同作用就可能对组织造成严重损伤。

2.2 基质金属蛋白酶对角膜的损伤

基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是可以调节细胞与细胞,细胞与基质之间相互作用的重要酶类,它参与调节细胞外基质的塑型、生长因子的相互作用、细胞外的信号接收以及细胞的分化增生与凋亡^[34]。MMPs 可水解细胞间质成分,因此 MMPs 可能造成组织损伤。存在于中性粒细胞颗粒中的 MMPs 主要是 MMP-9 和 MMP-8^[35]。MMP-9 可水解多种细胞外基质成分,主要有胶原 IV、胶原 V 和胶原 XI,而 MMP-8 能够水解胶原 I、胶原 II 和胶原 III。翟华蕾等^[36]发现, MMP-9 和 MMP-2 在茄病镰孢菌、烟曲霉菌和白色念珠菌感染的兔真菌性角膜炎模型中对 NOX 角膜组织起重要作用。正常状态下 MMPs 以酶原的形式储存在中性粒细胞中,而在炎症反应中,中性粒细胞激活产生大量的氧化代谢产物,对 MMPs 的激活起着重要作用。

2.3 丝氨酸蛋白酶对角膜的损伤

丝氨酸蛋白酶主要存在于中性粒细胞的嗜天青颗粒中,包

括弹性蛋白酶、组织蛋白酶 G 和蛋白酶 3。丝氨酸蛋白酶以一级结构第 195 位氨基酸为丝氨酸残基为特点,其催化活性与丝氨酸、组氨酸和天冬氨酸有关,这 3 种氨基酸残基在蛋白质三级结构上相互接近,构成活性中心^[37],是中粒细胞内含量最多的水解酶类,其过度释放可能造成组织的损害。

弹性蛋白酶是相对分子质量为 3 300 的单链蛋白质,与丝氨酸蛋白酶有着相似的功能,主要由早幼粒细胞合成并储存在嗜天青颗粒内,平均每个成熟的中性粒细胞含 3 pg 弹性蛋白酶,并不再合成^[38]。中性粒细胞杀伤真菌,特别是菌丝的过程会释放出颗粒酶,而弹性蛋白酶作为一种重要的水解酶,可对真菌造成杀伤,但同时也会水解组织成分而造成组织损伤。弹性蛋白酶是中粒细胞中最具破坏性的酶类,它不仅可水解弹性蛋白,还可水解胶原、蛋白多糖和纤维连接蛋白^[39]。角膜基质是角膜中层的结缔组织,占角膜厚度的 90%。角膜基质主要由 3 种蛋白构成,包括胶原、聚合蛋白多糖和其他糖蛋白,这些成分可以被弹性蛋白酶分解,提示弹性蛋白酶可能在真菌性角膜炎组织破坏中起着一定作用。目前已证实,中性粒细胞弹性蛋白酶在急性肺损伤的过程中发挥着重要作用。另外,据 Čejková^[40]报道,中性粒细胞弹性蛋白酶在兔角膜碱烧伤的组织破坏中起着主要作用。

真菌感染角膜后,中性粒细胞被激活并在各种炎症因子和趋化因子的作用下向感染部位迁移。中性粒细胞被激活后,细胞内的嗜天青颗粒快速动员并向胞膜移动,使弹性蛋白酶在细胞膜上表达。膜结合的弹性蛋白酶可以分解角膜基质内的纤维连接蛋白和胶原,促进中性粒细胞向感染部位迁移^[41]。这样,中性粒细胞在迁移的过程中也造成了组织损伤。到达病灶后,中性粒细胞吞噬真菌后或者死亡后,弹性蛋白酶也会释放到组织^[28],不仅杀伤真菌,同时也造成组织的破坏。弹性蛋白酶可以分解细胞外间质,但是正常情况下这种破坏作用处于抑制状态,因为人体内存在弹性蛋白酶的内源性抑制剂,包括 α_1 抗胰蛋白酶、分泌性白细胞蛋白酶抑制剂 (secretory leucocyte protease inhibitor, SLPI) 和 α_2 巨球蛋白^[42],其中 α_1 抗胰蛋白酶在抑制弹性蛋白酶活性中起关键作用。 α_1 抗胰蛋白酶是一种相对分子质量为 52 000 的糖蛋白,由肝脏合成,主要存在于血浆中。 α_2 巨球蛋白由肝脏合成,但是血浆内含量较少。SLPI 主要由各种腺体合成,在其分泌液中含丰富,如呼吸道粘液、关节滑液、泪液等^[43]。在炎症反应中,中性粒细胞的聚集是否能造成组织的损伤与组织中弹性蛋白酶抑制剂的浓度和活性有关。中性粒细胞被激活后产生 ROS,ROS 对组织的直接破坏作用有限,但是它可抑制弹性蛋白酶抑制剂,打破弹性蛋白酶和弹性蛋白酶抑制剂的平衡,这样感染灶就形成了无抑制剂的微环境,促进弹性蛋白酶的基质降解作用^[32];另一方面,真菌性角膜炎病程中,中性粒细胞迁移至感染部位,与细胞外基质紧密接触,而抑制剂主要存在于血浆内,在角膜组织中并不能达到抑制大量弹性蛋白酶的作用,因此,为弹性蛋白酶造成组织破坏提供了条件。

3 中性粒细胞的死亡方式对组织破坏的影响

中性粒细胞有 4 种死亡方式,分别是坏死、凋亡、自我吞噬

和 NETs 形成^[28]。其中,凋亡、自我吞噬和 NETs 形成是程序化的死亡,坏死是非程序化的死亡并释放出细胞内的各种蛋白。目前认为坏死是造成组织损伤的主要死亡方式^[44]。中性粒细胞死亡以凋亡为主,如果炎症反应过于剧烈,其死亡方式会转变成以坏死为主,加重组织的损伤^[28]。炎症反应的程度与感染的菌量和菌种有关。如果感染的菌量较少,炎症反应较轻,那么中性粒细胞数量少且以凋亡为主,组织破坏较轻,预后好;反之,中性粒细胞数量较多且以坏死为主,组织破坏重,预后较差。中性粒细胞是杀灭真菌的主要炎性细胞,而炎症反应也是机体对抗真菌的保护性反应,因此,临床上必须在真菌得到控制的前提下,才能应用免疫抑制剂和酶抑制剂以减轻炎症反应,抑制酶活性,减少组织的破坏,但具体的控制组织破坏的方法还有待进一步研究。

综上所述,中性粒细胞可杀伤真菌,还可造成组织破坏,最终导致患者角膜瘢痕形成甚至致盲,因此研究中性粒细胞造成角膜损伤的机制有着广阔的前景。

参考文献

- [1] Leal Jr SM, Vareechon C, Cowden S, et al. Fungal antioxidant pathways promote survival against neutrophils during infection[J]. J Clin Invest, 2012, 122(7): 2482-2498. doi:10.1172/JCI63239.
- [2] 张红敏,刘素素,许中中,等.小鼠真菌性角膜炎中主要免疫细胞的作用[J].中华实验眼科杂志,2012,30(9):779-784. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2012.09.003.
- [3] Amulic B, Cazalet C, Hayes GL, et al. Neutrophil function: from mechanisms to disease[J]. Annu Rev Immunol, 2012, 30: 459-489. doi:10.1146/annurev-immunol-020711-074942.
- [4] Wright HL, Moots RJ, Bucknall RC, et al. Neutrophil function in inflammation and inflammatory diseases[J]. Rheumatology, 2010, 49(9):1618-1631. doi:10.1093/rheumatology/keq045.
- [5] Woodfin A, Voisin MB, Imhof BA, et al. Endothelial cell activation leads to neutrophil transmigration as supported by the sequential roles of ICAM-2, JAM-A, and PECAM-1[J]. Blood, 2009, 113(24): 6246-6257. doi:10.1182/blood-2008-11-188375.
- [6] Brissette-Storkus CS, Reynolds SM, Lepisto AJ, et al. Identification of a novel macrophage population in the normal mouse corneal stroma[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2002, 43(7): 2264-2271.
- [7] Leal SM Jr, Cowden S, Hsia YC, et al. Distinct roles for Dectin-1 and TLR4 in the pathogenesis of Aspergillus fumigatus keratitis[J/OL]. PLoS Pathog, 2010, 6(7): e1000976[2015-01-24]. http://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1000976. doi:10.1371/journal.ppat.1000976.
- [8] Drummond RA, Brown GD. The role of Dectin-1 in the host defence against fungal infections[J]. Curr Opin Microbiol., 2011, 14(4): 392-399. doi:10.1016/j.mib.2011.07.001.
- [9] Knop E, Knop N. Anatomy and immunology of the ocular surface[J]. Oncology, 2007, 92: 36-49. doi:10.1159/000099252.
- [10] Marshall JS, Jawdat DM. Mast cells in innate immunity[J]. J Allergy Clin Immunol, 2004, 114(1): 21-27. doi:10.1016/j.jaci.2004.04.045.
- [11] Redfern RL, McDermott AM. Toll-like receptors in ocular surface disease[J]. Exp Eye Res, 2010, 90(6): 679-687. doi:10.1016/j.exer.2010.03.012.
- [12] Leal Jr SM, Pearlman E. The role of cytokines and pathogen recognition molecules in fungal keratitis-Insights from human disease and animal models[J]. Cytokine, 2012, 58(1): 107-111. doi:10.1016/j.cyto.2011.12.022.
- [13] Farah C, Lynch N, McCullough M. Oral fungal infections: an update for the general practitioner[J]. Aust Dent J, 2010, 55(S1): 48-54. doi:10.1111/j.1834-7819.2010.01198.x.

- [14] Grimm MJ, Robert Vethanayagam R, Almyroudis NG, et al. Role of NADPH oxidase in host defense against aspergillosis[J]. *Med Mycol*, 2011, 49(S1) : S144-S149. doi:10.3109/13693786.2010.487077.
- [15] Boyle KB, Stephens LR, Hawkins PT. Activation of the neutrophil NADPH oxidase by *Aspergillus fumigatus*[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2012, 1273(1) : 68-73. doi:10.1111/j.1749-6632.2012.06821.x.
- [16] Homme M, Tateno N, Miura N, et al. Myeloperoxidase deficiency in mice exacerbates lung inflammation induced by nonviable *Candida albicans*[J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(11) : 981-990. doi:10.1007/s00011-013-0656-6.
- [17] Linden JR, Maccani MA, Laforce-Nesbitt SS, et al. High efficiency opsonin-independent phagocytosis of *Candida parapsilosis* by human neutrophils[J]. *Med Mycol*, 2010, 48(2) : 355-364. doi:10.1080/13693780903164566.
- [18] Boxx GM, Kozel TR, Nishiya CT, et al. Influence of mannan and glucan on complement activation and C3 binding by *Candida albicans*[J]. *Infect Immun*, 2010, 78(3) : 1250-1259. doi:10.1128/IAI.00744-09.
- [19] Brakhage AA, Bruns S, Thywissen A, et al. Interaction of phagocytes with filamentous fungi[J]. *Curr Opin Microbiol*, 2010, 13(4) : 409-415. doi:10.1016/j.mib.2010.04.009.
- [20] Prüfer S, Weber M, Stein P, et al. Oxidative burst and neutrophil elastase contribute to clearance of *Aspergillus fumigatus* pneumonia in mice[J]. *Immunobiology*, 2014, 219(2) : 87-96. doi:10.1016/j.imbio.2013.08.010.
- [21] Woods CM, Hooper DN, Ooi EH, et al. Human lysozyme has fungicidal activity against nasal fungi[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2011, 25(4) : 236-240. doi:10.2500/ajra.2011.25.3631.
- [22] Urban CF, Reichard U, Brinkmann V, et al. Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms[J]. *Cell Microbiol*, 2006, 8(4) : 668-676. doi:10.1111/j.1462-5822.2005.00659x.
- [23] McCormick A, Heesemann L, Wagener J, et al. NETs formed by human neutrophils inhibit growth of the pathogenic mold *Aspergillus fumigatus*[J]. *Microbes Infect*, 2010, 12(12) : 928-936. doi:10.1016/j.micinf.2010.06.009.
- [24] Bianchi M, Niemiec MJ, Siler U, et al. Restoration of anti-*Aspergillus* defense by neutrophil extracellular traps in human chronic granulomatous disease after gene therapy is calprotectin-dependent[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127(5) : 1243-1252. doi:10.1016/j.jaci.2011.01.021.
- [25] Kaplan MJ, Radic M. Neutrophil extracellular traps: double-edged swords of innate immunity[J]. *J Immunol*, 2012, 189(6) : 2689-2695. doi:10.4049/jimmunol.1201719.
- [26] Xu J, Zhang X, Pelayo R, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis[J]. *Nat Med*, 2009, 15(11) : 1318-1321. doi:10.1038/nm.2053.
- [27] Brinkmann V, Zychlinsky A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2007, 5(8) : 577-582. doi:10.1038/nrmicro.1710.
- [28] Iba T, Hashiguchi N, Nagaoka I, et al. Neutrophil cell death in response to infection and its relation to coagulation[J]. *J Intensive Care*, 2013, 1(1) : 13. doi:10.1186/2052-0492-1-13.
- [29] Tonks NK. Redox redux: revisiting PTPs and the control of cell signaling[J]. *Cell*, 2005, 121(5) : 667-670.
- [30] Metzler KD, Fuchs TA, Nauseef WM, et al. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity[J]. *Blood*, 2011, 117(3) : 953-959. doi:10.1182/blood-2010-06-290171.
- [31] Papayannopoulos V, Metzler KD, Hakkim A, et al. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps[J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(3) : 677-691. doi:10.1083/jcb.201006052.
- [32] Epstein FH, Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils[J]. *The New England journal of medicine*, 1989, 320(6) : 365-376. doi:10.1056/NEJM.198902093200606.
- [33] Ward PA. Oxidative stress: acute and progressive lung injury[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2010, 1203(1) : 53-59. doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05552.x.
- [34] Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research[J]. *Mol Aspects Med*, 2008, 29(5) : 290-308. doi:10.1016/j.mam.2008.05.002.
- [35] Arafat SN, Suelves AM, Spurr-Michaud S, et al. Neutrophil collagenase, gelatinase, and myeloperoxidase in tears of patients with Stevens-Johnson syndrome and ocular cicatricial pemphigoid[J]. *Ophthalmology*, 2014, 121(1) : 79-87. doi:10.1016/j.ophtha.2013.06.049.
- [36] 翟华蕾, 谢立信, 董晓光. 明胶酶在兔真菌性角膜炎病理改变中的作用研究[J]. *中华眼科杂志*, 2007, 43(9) : 817-822. doi:10.3760/j.issn:0412-4081.2007.09.012.
- [37] Korkmaz B, Horwitz MS, Jenne DE, et al. Neutrophil elastase, proteinase 3, and cathepsin G as therapeutic targets in human diseases[J]. *Pharmacol Rev*, 2010, 62(4) : 726-759. doi:10.1124/pr.110.002733.
- [38] Janoff A. Elastase in tissue injury[J]. *Annu Rev Med*, 1985, 36(1) : 207-216. doi:10.1146/annurev.me.36.020185.001231.
- [39] Ahn CM, Sandler H, Saldeen T. Decreased lung hyaluronan in a model of ARDS in the rat: Effect of an inhibitor of leukocyte elastase[J]. *Ups J Med Sci*, 2012, 117(1) : 1-9. doi:10.3109/03009734.2011.622812.
- [40] Čejková J. Histochemical study of leukocyte elastase activity in alkali-burned rabbit cornea[J]. *Ophthalmic Res*, 1997, 29(3) : 154-160. doi:10.1159/000268010.
- [41] Gehrig S, Mall MASchultz C. Spatially resolved monitoring of neutrophil elastase activity with ratiometric fluorescent reporters[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51(25) : 6258-6261. doi:10.1002/anie.201109226.
- [42] Groutas WC, Dou DAlliston KR. Neutrophil elastase inhibitors[J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2011, 21(3) : 339-354. doi:10.1517/13543776.2011.551115.
- [43] Pierce Campbell CM, Guan W, Sprung R, et al. Quantification of secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) in oral gargle specimens collected using mouthwash[J]. *J Immunol Methods*, 2013, 400(6) : 117-121. doi:10.1016/j.jim.2013.10.005.
- [44] Rydell-Törmänen K, Uller LERjefält JS. Direct evidence of secondary necrosis of neutrophils during intense lung inflammation[J]. *Eur Respir J*, 2006, 28(2) : 268-274. doi:10.1183/09031936.06.00126905.

(收稿日期:2015-01-19)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)

读者·作者·编者

《中华实验眼科杂志》声明

本刊自创刊以来,未曾委托和授权任何个人、单位及社会团体参与本刊的投稿、征稿和稿件发表等过程。请广大作者直接从中华医学会远程稿件管理系统投稿,并直接与本站编辑部联系,以免受到任何不必要的损失。

(本刊编辑部)