

# 共聚焦显微镜在观察单纯疱疹病毒性角膜炎的应用

金银铃<sup>1</sup>, 林永帅<sup>1</sup>, 郑金华<sup>2</sup>

1. 贵州医科大学, 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州医科大学附属医院眼科, 贵州 贵阳 550001

**摘要:** 单纯疱疹病毒性角膜炎(HSK)是由1型单纯疱疹病毒(HSV-1)引起的角膜感染,其发病率和致盲率均占角膜病首位,由于单纯疱疹病毒的神经易嗜性,使得 HSK 患者的角膜神经减少,易出现角膜神经萎缩,可发生角膜感知减退,上皮完整性丧失,更严重的会导致角膜溃疡、溶解,甚至穿孔。角膜神经的再生对维持角膜的健康和功能起着至关重要的作用。活体共聚焦显微镜(IVCM)是唯一能观察到角膜神经的一种非侵入性成像技术,它已经成为研究健康和疾病中角膜细胞结构的一种强有力的技术,在角膜疾病的诊断和临床研究中表现出独特的优势。因此,本文将从 IVCM 在观察 HSK,特别是角膜神经特征性表现进行综述,为进一步推动共聚焦显微镜在 HSK 诊疗中的应用。

**关键词:** 单纯疱疹病毒性角膜炎; 单纯疱疹病毒; 活体共聚焦显微镜; 角膜神经

**中图分类号:** R772.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2022)08-1142-05

## Application of confocal microscopy in observation of herpes simplex keratitis

JIN Yin-ling\*, LIN Yong-shuai, ZHENG Jin-hua

\* Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550001, China

Corresponding author: ZHENG Jin-hua, E-mail: 7325754@qq.com

**Abstract:** Herpes simplex keratitis (HSK) is a corneal infection caused by herpes simplex virus type 1 (HSV-1). Its incidence rate and blindness rate row the forefront of corneal diseases. Because of the nerve susceptibility of herpes simplex virus, the corneal nerves of HSK patients are reduced. HSK is prone to corneal nerve atrophy, corneal hypoesthesia and loss of epithelial integrity. The more serious situation is corneal ulcer, dissolution and even perforation. Corneal nerve regeneration plays an important role in maintaining corneal health and function. In vivo confocal microscopy (IVCM) is the only non-invasive imaging technology that can observe corneal nerves. It has become a powerful technology to study the structure of corneal cells in health and diseases. It shows unique advantages in the diagnosis and clinical research of corneal diseases. Therefore, this paper will review the application of ivcm in the observation of HSK, especially the characteristic manifestations of corneal nerve, in order to further promote the application of confocal microscope in the diagnosis and treatment of HSK.

**Keywords:** Herpes simplex keratitis; Herpes simplex virus; In vivo confocal microscope; Corneal nerve

**Fund program:** Guiyang Science and Technology Plan Fund (ZKHT [2019] 9-1-21)

单纯疱疹病毒性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)是临床上最常见的病毒性感染性角膜炎,根据目前国际分类将其分为四种类型:上皮型、基质型、内皮性和神经营养型。尽管针对不同类型的 HSK 可根据不同临床特征及实验室检查确诊,但共聚焦显微镜也是不可或缺的一种检查手段<sup>[1-2]</sup>。由于1型单纯疱疹病毒(herpes simplex virus type 1, HSV-1)容易引起角膜神经的改变,致角膜知觉的减退,溃疡不易修复,而共聚焦是唯一能直观的观察角膜神经的手段,这对判断疾病的预后,指导后续治疗有极其重要的作用。通过活体共聚焦显微镜(in vivo confocal microscopy, IVCM)观察,在角膜的上皮深层、上皮下层及基质层均可见高反光的神经纤维<sup>[3]</sup>。角膜

中央前弹力层神经分布相对致密,走行方向基本平行,周边角膜神经纤维分布明显不规则,周边前弹力层走行不平行,屈曲、分叉较多。中央角膜基质神经较纤细、走形较规则,周边角膜基质内神经较粗,且分叉较多<sup>[4]</sup>。

HSV-1可感染眼睑、结膜、角膜、葡萄膜和视网膜,并可分为原发性和复发性。病毒在初始感染之后,HSV-1沿轴浆运输逆行至三叉神经节,进入病毒潜伏期,将它的基因组转移至神经细胞核内,但并不产生感染性病毒颗粒。一些非特异性刺激可以引起潜伏的 HSV-1病毒被重新活化激活,沿三叉神经其中一支的神经轴突移行到角膜,引起角膜病变<sup>[5]</sup>。上皮型表现为树枝状的角膜着染进一步发展可演变成地图状,

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2022.08.024

基金项目: 贵阳市科技计划基金(筑科合同[2019]9-1-21)

通信作者: 郑金华, E-mail: 7325754@qq.com

出版日期: 2022-08-20

基质型特征是由自身免疫反应引起的角膜混浊和新生血管,预后极差<sup>[6]</sup>。最终引起角膜溶解或瘢痕化导致失明,而内皮型和神经营养型则是疾病浸润更深层次和并发更严重的神经损伤的表现。

IVCM 虽不能像实验室培养直接观察到病毒,但却可以发现病毒感染后的角膜结构改变,例如 HSK 的角膜表层上皮细胞面积增大,不规则,密度降低,高反光细胞比例增高,上皮基底层可见树枝状高反光物质聚集<sup>[7]</sup>。基底膜下神经纤维密度、神经主干的分支数减少,神经纤维直径变小,还可见大量活化的树突状细胞<sup>[8]</sup>。由于 HSV-1 嗜神经的特点,HSK 角膜神经损伤的观察十分关键。因此其角膜神经的结构模式(包括密度、数量、分支程度和迂曲度)具有重要临床意义<sup>[9-10]</sup>。故本文将就 IVCM 在 HSK 观察中的角膜神经特征性表现进展进行综述,为进一步推动 IVCM 在 HSK 的诊疗中的应用,为 HSK 的诊断及治疗提供依据对预后进行判断。

## 1 IVCM 观察角膜神经的优势

目前实践中最常见的共聚焦显微镜是激光扫描共聚焦显微镜(laser scanning confocal microscopy, LSCM),如 HRT 或 HRT3<sup>[11]</sup>和 IVCM<sup>[12]</sup>(海德堡工程)。尽管以前使用串联扫描共聚焦显微镜的研究描述了 HSK 中神经丛的各种变化,但由于共聚焦显微镜相关因素的差异,包括照明类型和强度、放大倍数和图像分辨率,结果存在不一致<sup>[13]</sup>。使用串联扫描共聚焦显微镜和狭缝扫描共聚焦显微镜,正常眼睛的基底下角膜神经密度范围分别在 5 534~10 658  $\mu\text{m}/\text{mm}^2$ , LSCM 示基底下神经密度高达 21 668  $\mu\text{m}/\text{mm}^2$ <sup>[14-15]</sup>。而 IVCM 能提供更高质量、高分辨率的角膜神经丛图像。能够直接和可重复地比较角膜感觉神经支配和证明角膜感觉和基底下神经丛变化之间有很强的相关性。

然而,在 IVCM 更广泛的临床应用之前,显然有必要对图像的采集、采样和分析方法进行标准化。而且有必要采用一种全局标准的方法来量化角膜神经形态学,对每个形态学参数进行严格的定义,以便能够在不同的研究之间比较。使用标准化的人工分析软件将部分解决这一问题,但由于观察者在识别角膜神经结构方面的差异,观察员间的差异仍然存在<sup>[16]</sup>。这可以通过使用最近开发的自动图像分析软件来克服,这些软件能够可靠地提取神经路线和布局并量化其几何特征(例如长度、密度、弯曲度),将提供更容易、客观和临床可用的程序。因此有望提高衍生临床参数的可靠性并提高其诊断价值<sup>[17-18]</sup>。

目前,大多数研究为探索疾病或药物对角膜神经的影响,均采用患者健康对侧眼或年龄匹配的健康对照者作为对照组,并无角膜神经各项参数的具体参考值,在 2015 年 Tavakoli 等<sup>[19]</sup>研究中用 IVCM 对 343 名健康志愿者采集了 1 965 张角膜神经图像,分别总结出不同年龄组男性及女性正常角膜神经纤维密度、角膜神经纤维分支密度、角膜神经纤维长度和角膜神经纤维弯曲度参考值,及临床用角膜神经参数临界值,在这之前也有不少学者探索过,但都是单中心、小样本的,显然 Tavakoli 等<sup>[19]</sup>的研究对临床实践提供了强有力的全球规范参考值。

## 2 IVCM 下 HSK 角膜神经特征性改变

HSK 早期可有角膜知觉减退,视力下降严重的表现。Müller 等<sup>[20]</sup>在 IVCM 下观察到的 HSK 上皮神经丛改变有神经纤维密度、神经主干的分支数降低,神经纤维直径变小,呈弯曲或串珠样改变。同时他们还观察到 HSK 发病后迅速发生神经纤维的损伤,并长期持续的存在,研究进一步阐明了 HSK 角膜知觉明显减退的发生机制。然而角膜病变的部位虽常伴随角膜知觉减低或消失,但周围角膜的敏感性却相对增加,故患者主观症状上有显著疼痛、异物感、流泪等刺激症状。IVCM 下 HSK 不仅有角膜神经丛数目明显变少,弯曲不连续且分叉较多,在神经周围有大量的郎罕氏细胞呈树枝样浸润,同时上皮细胞密度降低<sup>[21]</sup>。王小东等<sup>[22]</sup>认为 HSK 导致角膜层上皮细胞密度降低,通过细胞体积增大来代偿,这些改变与角膜神经功能改变密切相关。有研究指出,树枝样浸润可反映病毒存在于角膜中的运动神经元<sup>[23]</sup>。然而到目前为止这个理论还没有实验证实。

尽管目前研究表明 HSV 角膜炎通常是单侧的,但 IVCM 下角膜神经的改变通常为双侧,对侧眼睛变化的确切机制仍不清楚<sup>[21,24-25]</sup>。可能是由于:(1) 双侧不对称疾病;(2) HSV 在神经吻合处或从三叉神经节到中脑三叉神经核的交叉,导致远端神经丛对侧损伤;(3) 由于中枢对侧眼的神经系统下调<sup>[24]</sup>。

HSV(上皮、基质、内皮型)感染眼角膜感觉测量和 IVCM 显示角膜亚基底神经纤维显著下降,6 个月后,角膜敏感性和亚基底神经参数增加;然而,感染眼和对侧眼均未达到正常水平<sup>[26-27]</sup>,这说明神经的修复是有限的。还有学者发现首次发生 HSV 角膜炎的患者 6 个月后角膜神经纤维密度恢复最好,这与临床上首次发作 HSK 的患者较多次反复发作者治疗相对容易具有一致性。角膜神经总分支密度和角膜敏感性的最佳恢复是上皮性角膜炎患者<sup>[26]</sup>,这是因为角膜神经的分布结构特点,上皮型病灶仅累及上皮层或少量浅基质层,HSV 在角膜上皮细胞内复制,而角膜神经由基质层发出向各个象限分散,逐渐深向上皮下,故病灶累及的越浅,恢复的越佳。

Nagasato 等<sup>[25]</sup>发现 HSK 长神经纤维密度、神经分支密度、神经厚度的降低在上皮型和基质型中比在内皮型中更显著。角膜上皮下神经丛的形态可能随着上皮和基质 HSK 的反复发作而逐渐被破坏。然而,内皮型 HSK 的破坏似乎并不显著,他们认为这表明这种类型的病毒可能有不同的募集途径。可能是通过角膜三叉神经以外的途径产生的,例如通过睫状体或房水。

据报道,IVCM 显示中央上皮树突细胞的密度和形态变化增加与角膜下基底神经的减少之间存在强烈而显著的相关性,表明角膜中的免疫系统和神经系统之间存在潜在的相互作用<sup>[28]</sup>,用环孢素滴眼液进行免疫调节会降低角膜中细胞因子的表达,并阻止横断的角膜基质神经干的再生萌芽<sup>[29]</sup>。故治疗上应谨慎使用免疫抑制剂,可以通过 IVCM 观察角膜树突细胞及神经,合理选择用药时机。来自受感染角膜的神经过度支配角膜基质,但不会在上皮下层形成神经丛或延伸至上皮,避免角膜过度敏感,交感神经参与角膜炎症反应并对角膜基质的过度

神经支配决定了 HSV 角膜炎的严重程度、感觉神经丛的紊乱和上皮神经末梢的再生,这在小鼠模型中得到证明<sup>[30]</sup>。

HSK 患者角膜神经纤维的显著减少不仅意味着这些患者的感觉丧失,而且可能会影响角膜的其他层。IVCM 对角膜神经支配的量化展示了一种监测 HSK 患者的客观方法,可能预测神经营养性角膜病变(neutrotrophic keratopathy, NTK) 的风险。由于 NTK 最初通常缺乏体征和症状,因此防止上皮分解至关重要,因为这会发展为炎症、角膜融化和角膜穿孔。

### 3 角膜神经再生

HSV 角膜炎角膜神经再生的确切机制以及影响这种再生的因素尚不清楚。在 HSV 角膜炎小鼠模型中,Chucair-Elliott 等<sup>[31]</sup>证明 HSV 感染的角膜初始角膜感觉神经丧失,与感染后第 8 天角膜感觉丧失一致,在最初丧失后 30 d 重新神经支配,Sema7A 表达在第 8 天开始增加,这可能是神经再生机制的一部分,尽管角膜神经再生,但在感染后 30 d 没有观察到感觉恢复。这与 Moein 等<sup>[32]</sup>的临床研究一致。可以推测新再生的神经可能功能不全,也可能神经密度没有达到一定的阈值来影响角膜感觉。在一项研究中,已经证明 HSV 角膜炎后的神经再生主要来自交感神经而不是感觉神经<sup>[30]</sup>。因此,可以解释研究中看到的神经密度增加,但角膜感觉却没有增加。在 HSK 中,受损的角膜基质成纤维细胞释放信号素、神经营养因子、免疫调节因子和基质细胞蛋白,这些因子在神经再生生长、分化和伤口愈合中发挥重要作用<sup>[33-34]</sup>。未来的研究有必要确定是否随着随访时间的延长,角膜神经结构和功能完全恢复也有可能发生。

已有研究表明,长期严重的 HSK 无法控制会导致角膜感觉神经功能消退,但如果及时采取保护措施(如佩戴角膜绷带镜、积极用药)来减少角膜暴露和干燥可以减轻这种状况<sup>[35]</sup>,这表明 HSK 相关的神经回缩、角膜知觉丧失和严重病理损伤都是可逆的。Yun 等<sup>[30]</sup>通过小鼠实验证明在缺乏 CD4<sup>+</sup>T 的小鼠中神经回缩、角膜知觉丧失和角膜炎症都是短暂的,证明角膜神经再生受 CD4<sup>+</sup>T 细胞调节。各种神经营养因子和神经引导因子如信号蛋白、再生相关基因和炎症介质都与角膜神经再生有关<sup>[36]</sup>;然而,它们在 HSV 角膜炎后神经再支配中的作用仍有待阐明。一项关于 HSV 角膜炎小鼠模型的研究表明,Sema7A 作为一种促进轴突生长和再生的神经引导分子,这种免疫信号蛋白将角膜中的神经再生和炎症过程联系起来<sup>[31]</sup>。

HSV 感染角膜后神经再生缓慢,在 HSV 脑炎中,患者产生针对 NMDA 受体的自身抗体通过神经表达<sup>[37]</sup>。可以推测,这种自身抗体也是在 HSV 角膜炎后产生,从而阻止或减缓角膜神经再生。Namavari 等<sup>[29]</sup>证明了在用环孢素(cyclosporine, CsA)进行免疫调节会降低角膜中细胞因子(白细胞介素-6)的表达,并阻止横切角膜基质神经干的再生萌芽。此外,CsA 对神经突也有直接的生长抑制作用<sup>[38]</sup>。这对以后进一步研究促进角膜神经再生和修复治疗方法提供了基础。

角膜神经再生率似乎取决于初始角膜神经损伤的深度和程度。由于 HSV 中的间质性角膜炎可能不同程度地累及间质

神经,因此再生可能非常缓慢和持久。因此,测量基质神经的密度作为再生的预测指标可能更为重要。迄今为止已发表的关于 HSV 角膜炎的研究已经评估了基底神经,可以以标准化的方式对其进行量化。需要更多的研究来将间质神经受累的程度与再生率联系起来。

就治疗方面而言,研究表明,感觉神经丧失后过度支配角膜基质的神经纤维是由颈上神经节(superior cervical ganglia, SCG)衍生的交感神经向内生长和发芽引起的;切除 SCG 可抑制交感神经过度支配;防止角膜基质的交感神经过度支配可显著降低 HSK 的严重程度,允许感觉神经丛和上皮神经末梢的再生,并重新建立角膜敏感性。角膜神经移植术是一种新兴的革命性技术,目前也被广泛关注,但是其手术费用高,时间长<sup>[39-41]</sup>。国外的研究表明,术后 IVCM 确实显示出接受神经化的双眼中角膜神经的密度和突出度增加<sup>[42]</sup>。Chucair-Elliott 等<sup>[43]</sup>提供小鼠实验在共聚焦激光扫描显微镜下证明局部地塞米松治疗 HSK 可以保留角膜神经支配的结构并维持角膜的无血管状态。

目前缺乏能够刺激角膜神经再生和恢复角膜神经功能的特定治疗方法,在过去的几十年中,已经提出了旨在刺激上皮愈合和/或角膜神经再生以及恢复角膜神经功能和敏感性的新型治疗方法。几种生长因子和神经肽已被证明对角膜神经再生发挥积极作用,包括神经生长因子、表皮生长因子、SP 和胰岛素样生长因子-1、血管内皮生长因子、信号素、神经营养因子 3 和 4、生长相关蛋白 43,所有这些药剂都为眼表提供生长因子、神经介质和营养物质,尽管不同营养因子在刺激 HSK 患者的角膜愈合方面显示出较好的效果,但很少有研究证明其在恢复角膜敏感性和神经形态方面的功效<sup>[44-45]</sup>。

作为神经元再生和感觉恢复的增强剂,各种疗法正在脱颖而出。一种新型重组人神经生长因子已开发完成并已成功完成临床开发阶段,最近在欧洲获得了上市许可(EU/1/17/1197),为其下一次用于诱导角膜神经再生的临床应用开辟了新的前景。

目前正在对神经再生的新手术和药物治疗进行大量研究,将有可能开发出新的策略来防止神经破坏或刺激神经再生,以恢复角膜感觉并保持透明度。IVCM 可以通过量化角膜中的细胞和神经变化来客观评估治疗反应。

### 4 展望

目前 HSK 的诊断主要根据患者的症状、体征以及实验室检查,但角膜刮片培养病毒检出率并不高,病毒检测困难等一系列原因,造成临床无法早期明确诊断,故 IVCM 对角膜各层组织、病情发展的研究证明了 IVCM 是监测 HSK 的良好的客观方法,可以预测神经营养性角膜病变的风险。同时可以对感染性角膜炎尤其是真菌性及棘阿米巴性角膜溃疡进行鉴别诊断。借助 IVCM 结合自动分析软件开发快速、准确且临床适用性强的观察角膜各层结构的版块成为新的研究热点。将来的工作需逐渐完善角膜神经数据库,不断优化 IVCM,并进行前瞻性、多中心、大样本的正常人群角膜神经的研究,同时通过大数据分析对 HSK 人群进行早期预警诊断,早期精准判

断用药时机及预后等,进一步提高 HSK 的总体诊疗成功率。

利益冲突 无

#### 参考文献

- [1] 李莹. 单纯疱疹病毒性角膜炎的临床特点及诊疗思维[J]. 眼科, 2012, 21(3): 157-161.  
Li Y. Clinical characteristics and diagnosis and treatment of herpes simplex keratitis [J]. Ophthalmol China, 2012, 21(3): 157-161.
- [2] Elliott AD. Confocal microscopy: principles and modern practices [J]. Curr Protoc Cytom, 2020, 92(1): e68.
- [3] 汪美免, 施昀青, 王林农. 系统性疾病患者角膜神经丛和郎格汉斯细胞的共聚焦显微镜观察[J]. 国际眼科杂志, 2019, 19(7): 1138-1141.  
Wang MH, Shi YQ, Wang LN. Confocal microscopy observation of corneal nerve plexus and Langerhans cells in patients with systemic diseases[J]. Int Eye Sci, 2019, 19(7): 1138-1141.
- [4] 徐建江, 乐琦骅. 眼表活体共聚焦显微镜[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2009.  
Xu JJ, Yue QH. Ocular surface in vivo confocal microscope [M]. Shanghai: Fudan University Press, 2009.
- [5] 吴甦潜, 徐建江. 单纯疱疹病毒性角膜炎的发病机制[J]. 中国眼耳鼻喉科杂志, 2014, 14(5): 330-332, 336.  
Wu SQ, Xu JJ. Pathogenesis of herpes simplex keratitis [J]. Chin J Ophthalmol Otorhinolaryngol, 2014, 14(5): 330-332, 336.
- [6] 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.
- [7] 赵波. 活体共聚焦显微镜在单纯疱疹病毒性角膜炎中的应用[J]. 中华实验眼科杂志, 2015, 33(5): 474-477.  
Zhao B. Research advance on application of in vivo confocal microscopy in Herpes simplex keratitis[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2015, 33(5): 474-477.
- [8] 蓝倩倩, 陈丽妃, 黄慧, 等. 共聚焦显微镜对感染性角膜炎病原学的诊断价值[J]. 中国临床新医学, 2019, 12(6): 626-629.  
Lan QQ, Chen LF, Huang H, et al. Diagnostic efficiency of confocal microscopy in aetiology of infectious keratitis[J]. Chin J New Clin Med, 2019, 12(6): 626-629.
- [9] Tang Q, Hendricks RL. Interferon gamma regulates platelet endothelial cell adhesion molecule 1 expression and neutrophil infiltration into Herpes simplex virus-infected mouse corneas [J]. J Exp Med, 1996, 184(4): 1435-1447.
- [10] Tang Q, Chen W, Hendricks RL. Proinflammatory functions of IL-2 in Herpes simplex virus corneal infection [J]. J Immunol, 1997, 158(3): 1275-1283.
- [11] Erie JC, McLaren JW, Patel SV. Confocal microscopy in ophthalmology [J]. Am J Ophthalmol, 2009, 148(5): 639-646.
- [12] Teo AWJ, Mansoor H, Sim N, et al. In vivo confocal microscopy evaluation in patients with keratoconus [J]. J Clin Med, 2022, 11(2): 393.
- [13] Erie EA, McLaren JW, Kittleson KM, et al. Corneal subbasal nerve density: a comparison of two confocal microscopes [J]. Eye Contact Lens, 2008, 34(6): 322-325.
- [14] Patel DV, McGhee CNJ. Mapping of the normal human corneal sub-Basal nerve plexus by in vivo laser scanning confocal microscopy [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005, 46(12): 4485-4488.
- [15] Cruzat A, Witkin D, Baniyadi N, et al. Inflammation and the nervous system: the connection in the cornea in patients with infectious keratitis [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011, 52(8): 5136-5143.
- [16] Petropoulos IN, Manzoor T, Morgan P, et al. Repeatability of in vivo corneal confocal microscopy to quantify corneal nerve morphology [J]. Cornea, 2013, 32(5): e83-e89.
- [17] Scarpa F, Grisan E, Ruggeri A. Automatic recognition of corneal nerve structures in images from confocal microscopy [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49(11): 4801-4807.
- [18] Salahuddin T, Qidwai U. Computational methods for automated analysis of corneal nerve images; lessons learned from retinal fundus image analysis [J]. Comput Biol Med, 2020, 119: 103666.
- [19] Tavakoli M, Ferdousi M, Petropoulos IN, et al. Normative values for corneal nerve morphology assessed using corneal confocal microscopy: a multinational normative data set [J]. Diabetes Care, 2015, 38(5): 838-843.
- [20] Müller RT, Pourmirzaie R, Pavan-Langston D, et al. In vivo confocal microscopy demonstrates bilateral loss of endothelial cells in unilateral Herpes simplex keratitis [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015, 56(8): 4899-4906.
- [21] 梁玲玲, 王艳, 郝倩, 等. 基质型单疱病毒性角膜炎共聚焦显微镜表现 [J]. 中国实用眼科杂志, 2015, 33(6): 667-669.  
Liang LL, Wang Y, Hao Q, et al. The characteristics detected with confocal microscopy in corneas with stromal Herpes simplex virus (I-ISV) keratitis [J]. Chin J Pract Ophthalmol, 2015, 33(6): 667-669.
- [22] 王小东, 程钰, 李宏松, 等. 单纯疱疹病毒性角膜炎对角膜表层上皮细胞的影响 [J]. 陕西医学杂志, 2016, 45(10): 1377-1379.  
Wang XD, Cheng Y, Li HS, et al. The morphologic features of corneal superficial epithelial cells and keratocytes in patients with Herpes simplex keratitis [J]. Shaanxi Med J, 2016, 45(10): 1377-1379.
- [23] Krug A, Luker GD, Barchet W, et al. Herpes simplex virus type 1 activates murine natural interferon-producing cells through toll-like receptor 9 [J]. Blood, 2004, 103(4): 1433-1437.
- [24] Hamrah P, Cruzat A, Dastjerdi MH, et al. Corneal sensation and subbasal nerve alterations in patients with Herpes simplex keratitis: an in vivo confocal microscopy study [J]. Ophthalmology, 2010, 117(10): 1930-1936.
- [25] Nagasato D, Araki-Sasaki K, Kojima T, et al. Morphological changes of corneal subepithelial nerve plexus in different types of herpetic keratitis [J]. Jpn J Ophthalmol, 2011, 55(5): 444-450.
- [26] Danileviciene V, Zemaitiene R, Gintauskiene VM, et al. Corneal sub-basal nerve changes in patients with herpetic keratitis during acute phase and after 6 months [J]. Medicina (Kaunas), 2019, 55(5): 214.
- [27] Zemaitiene R, Rakauskiene M, Danileviciene V, et al. Corneal es-

- thesiometry and sub-basal nerves morphological changes in Herpes simplex virus keratitis/uveitis patients[J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 12(3): 407-411.
- [28] Yun HM, Rowe AM, Lathrop KL, et al. Reversible nerve damage and corneal pathology in murine Herpes simplex stromal keratitis[J]. *J Virol*, 2014, 88(14): 7870-7880.
- [29] Namavari A, Chaudhary S, Chang JH, et al. Cyclosporine immunomodulation retards regeneration of surgically transected corneal nerves [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012, 53(2): 732-740.
- [30] Yun HM, Lathrop KL, Hendricks RL. A central role for sympathetic nerves in Herpes stromal keratitis in mice[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2016, 57(4): 1749-1756.
- [31] Chucair-Elliott AJ, Zheng M, Carr DJJ. Degeneration and regeneration of corneal nerves in response to HSV-1 infection [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2015, 56(2): 1097-1107.
- [32] Moein HR, Kheirkhah A, Muller RT, et al. Corneal nerve regeneration after Herpes simplex keratitis: a longitudinal in vivo confocal microscopy study[J]. *Ocul Surf*, 2018, 16(2): 218-225.
- [33] Yam GHF, Williams GP, Setiawan M, et al. Nerve regeneration by human corneal stromal keratocytes and stromal fibroblasts [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45396.
- [34] Wilson SE. Corneal wound healing [J]. *Exp Eye Res*, 2020, 197: 108089.
- [35] Padro CJ, Sanders VM. Neuroendocrine regulation of inflammation [J]. *Semin Immunol*, 2014, 26(5): 357-368.
- [36] Shaheen BS, Bakir M, Jain S. Corneal nerves in health and disease [J]. *Surv Ophthalmol*, 2014, 59(3): 263-285.
- [37] Bradshaw MJ, Venkatesan A. Herpes simplex virus-1 encephalitis in adults: pathophysiology, diagnosis, and management [J]. *Neurotherapeutics*, 2016, 13(3): 493-508.
- [38] Modugno RL, Scalora T, Bonaldo A, et al. Corneal microstructural changes by confocal microscopy in vernal keratoconjunctivitis patients treated with topical cyclosporine [J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 2021, 29(7/8): 1599-1605.
- [39] Koalk M, Baig K. Corneal neurotization [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2019, 30(4): 292-298.
- [40] 接英, 王怡, 李上, 等. 穿透性角膜移植术后植片神经再生的共聚焦显微镜观察 [J]. *首都医科大学学报*, 2016, 37(3): 370-375. Jie Y, Wang Y, Li S, et al. Characteristics of nerve regeneration after penetrating keratoplasty observed by confocal microscopy [J]. *J Cap Med Univ*, 2016, 37(3): 370-375.
- [41] Pan YJ, Liu F, Qi XF, et al. Nerve growth factor changes and corneal nerve repair after keratoplasty [J]. *Optom Vis Sci*, 2018, 95(1): 27-31.
- [42] Ting DSJ, Figueiredo GS, Henein C, et al. Corneal neurotization for neurotrophic keratopathy: clinical outcomes and in vivo confocal microscopic and histopathological findings [J]. *Cornea*, 2018, 37(5): 641-646.
- [43] Chucair-Elliott AJ, Carr MM, Carr DJJ. Long-term consequences of topical dexamethasone treatment during acute corneal HSV-1 infection on the immune system [J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 101(5): 1253-1261.
- [44] You L, Kruse FE, Völcker HE. Neurotrophic factors in the human cornea [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41(3): 692-702.
- [45] Markoulli M, Colorado LH, Edwards K. The relationship between corneal nerve morphology and inflammatory mediators and neuropeptides in healthy individuals [J]. *Optom Vis Sci*, 2020, 97(3): 145-153.
- 收稿日期:2021-12-15 修回日期:2022-03-15 编辑:王娜娜

(上接第 1141 页)

- [31] Zhou B, Mei FY, Wu CH, et al. Protective effect of trichostatin A on CD19<sup>+</sup>CD5<sup>+</sup>CD1d<sup>high</sup> regulatory B cells in heart transplantation [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(5): 339.
- [32] Kimura S, Rickert CG, Kojima L, et al. Regulatory B cells require antigen recognition for effective allograft tolerance induction [J]. *Am J Transplant*, 2020, 20(4): 977-987.
- [33] Bottomley MJ, Chen M, Fuggle S, et al. Application of operational tolerance signatures are limited by variability and type of immunosuppression in renal transplant recipients: a cross-sectional study [J]. *Transplant Direct*, 2016, 3(1): e125.
- [34] Nova-Lamperti E, Chana P, Mobillo P, et al. Increased CD40 ligation and reduced BCR signalling leads to higher IL-10 production in B cells from tolerant kidney transplant patients [J]. *Transplantation*, 2017, 101(3): 541-547.
- [35] Chesneau M, Michel L, Dugast E, et al. Tolerant kidney transplant patients produce B cells with regulatory properties [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2015, 26(10): 2588-2598.
- [36] Clatworthy MR, Watson CJE, Plotnek G, et al. B-cell-depleting induction therapy and acute cellular rejection [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(25): 2683-2685.
- [37] Zhou HM, Zhan F, Zhang H, et al. The proportion of CD19<sup>+</sup>CD24<sup>hi</sup>CD27<sup>+</sup> regulatory B cells predicts the occurrence of acute allograft rejection in liver transplantation [J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(18): 465.
- [38] Bergantini L, D'Alessandro M, de Vita E, et al. Regulatory and effector cell disequilibrium in patients with acute cellular rejection and chronic lung allograft dysfunction after lung transplantation: comparison of peripheral and alveolar distribution [J]. *Cells*, 2021, 10(4): 780.
- [39] Song JY, Du GS, Chen W, et al. The advantage of Sirolimus in amplifying regulatory B cells and regulatory T cells in liver transplant patients [J]. *Eur J Pharmacol*, 2020, 869: 172872.
- [40] Xu H, Mehta AK, Gao QM, et al. B cell reconstitution following alemtuzumab induction under a belatacept-based maintenance regimen [J]. *Am J Transplant*, 2020, 20(3): 653-662.
- [41] Banham GD, Flint SM, Torpey N, et al. Belimumab in kidney transplantation: an experimental medicine, randomised, placebo-controlled phase 2 trial [J]. *Lancet*, 2018, 391(10140): 2619-2630.
- 收稿日期:2021-12-23 编辑:王海琴