

神经肽在干眼发病机制中的作用研究进展

王 烽^{1*}, 邵 毅^{2*}, 梁 栋¹

引用:王烽,邵毅,梁栋.神经肽在干眼发病机制中的作用研究进展.国际眼科杂志 2022;22(10):1642-1646

基金项目:国家自然科学基金项目(No.82160195);江西省重点研发计划项目(No.20181BBG70004,20203BBG73059);广东省梅州市人民医院科研培育项目(No.PY-C2021043, PY-C2021060)

作者单位:¹(514000)中国广东省梅州市人民医院眼科;
²(330006)中国江西省南昌市,南昌大学第一附属医院眼科

*:王烽和邵毅对本文贡献一致。

作者简介:王烽,毕业于南昌大学,硕士,住院医师,研究方向:角膜病、眼表疾病;邵毅,毕业于中山大学,博士,主任医师,研究方向:角膜病、眼表疾病。

通讯作者:梁栋,毕业于广东医科大学,副主任医师,研究方向:白内障、眼底病. 836807132@qq.com

收稿日期:2022-01-28 修回日期:2022-08-28

摘要

干眼是一种多因素的眼表疾病,干眼的发病机制仍不完全清楚,其中炎症和免疫反应被认为是干眼发病机制的核心机制之一。神经肽是感觉神经末梢受损伤或刺激后产生的小分子肽,在触发和调节炎症反应中起重要作用,是神经系统和免疫系统之间的重要介质。最近研究发现由眼表神经分泌的神经肽被认为是干眼发病机制的重要因素。因此,本文总结了神经肽在干眼发病机制中的作用的研究,分析最新观点和研究热点,为干眼的防治提供参考。

关键词:神经肽;干眼;发病机制;神经源性炎症;P物质;降钙素基因相关肽;血管活性肠肽

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2022.10.09

Research progress on the role of neuropeptides in the pathogenesis of dry eye

Feng Wang^{1*}, Yi Shao^{2*}, Dong Liang¹

Foundation items: National Natural Science Foundation (No. 82160195); Key Research Foundation of Jiangxi Province (No. 20181BBG70004, 20203BBG73059); Research and Cultivation Project of Guangdong Meizhou People's Hospital (No. PY - C2021043, PY-C2021060)

¹Department of Ophthalmology, Meizhou People's Hospital, Meizhou 514000, Guangdong Province, China; ²Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Co-first authors: Feng Wang and Yi Shao

Correspondence to: Dong Liang, Department of Ophthalmology, Meizhou People's Hospital, Meizhou 514000, Guangdong Province, China. 836807132@qq.com

Received: 2022-01-28 Accepted: 2022-08-28

Abstract

• Dry eye (DE) is a multi-factorial ocular surface disease. The mechanisms underlying the pathogenesis of DE is still unclear. Inflammation and immune response are considered to be one of the core mechanisms among the pathogenesis of DE. Neuropeptides are small molecular peptides generated after the sensory nerve endings damaged or stimulated. They play an important role in triggering and regulating inflammatory response. Thus, they are important mediums between the nervous system and immune system. Recent studies have revealed that neuropeptides secreted by ocular surface nerves are considered to be an important factor involved in the pathogenesis of DE. Therefore, this paper summarized the research progress on the roles of neuropeptides underlying the mechanisms of the pathogenesis of DE, analyzed the latest points of view and research hot spots, so as to provide references for the prevention and treatment of DE.

• KEYWORDS: neuropeptides; dry eye; pathogenesis; neurogenic inflammation; substance P; calcitonin gene related peptide; vasoactive intestinal peptide

Citation: Wang F, Shao Y, Liang D. Research progress on the role of neuropeptides in the pathogenesis of dry eye. *Guji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(10):1642-1646

0 引言

干眼是一种高度流行的多因素眼表疾病,患病率为5%~50%,其特征是泪液减少、结膜炎症、角膜敏感性受损、杯状细胞密度降低、上皮化生和角膜损伤,可导致视力障碍^[1]。已知炎症和免疫反应是干眼发病的核心机制之一^[2]。病原体或机械损伤对感觉神经末梢的损伤或刺激导致神经肽的分泌,在触发和调节炎症反应中起重要作用,这一系列过程称为神经源性炎症^[3]。眼表具有完善的防御系统和用于持续监测损伤和病原体进入的系统,其中神经源性炎症起着重要作用^[3]。神经源性炎症是由传导速度相对较慢的小感觉神经(无髓鞘C纤维和细有髓鞘A纤维、Aδ纤维)引起的,它们在眼表密集分布^[3]。

神经肽是指以P物质(substance P, SP)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptide, CGRP)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)和神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)为代表的神经末梢分泌的小分子肽,被认为是神经免疫串扰的重要参与者^[4]。尽管神经源性炎症对伤口愈合和防止感染非常重要^[5],但其也被视为某些疾病的重要致病机制,有研究证明眼表面存在密集神

经支配的感觉神经末梢及自身免疫性炎症在干眼的发病机制中发挥作用^[6]。近年来,神经源性炎症和神经肽在干眼中的可能致病作用已被提出,本文总结了近年关于神经肽在干眼中的研究进展,以期有助于拓宽和加深对干眼发病机制的理解。

1 神经肽在干眼发病机制中的作用

神经肽是感觉神经末梢受损伤或刺激后产生的小分子肽,神经肽通过诱导血管舒张/血浆外渗和水肿并刺激趋化因子的释放,导致白细胞外渗和免疫细胞趋化到炎症部位从而产生先天/适应性免疫反应^[7]。这种炎症过程通常被认为是由神经和免疫细胞之间的串扰控制的。然而,破坏神经系统和免疫系统之间平衡的严重神经损伤会导致炎症部位的神经肽过度或延长释放。由此产生的神经源性炎症成为各种疾病的致病机制。众所周知正常的泪液流动受副交感神经、交感神经和感觉神经之间的精细平衡调节^[8]。事实上,自主神经和感觉神经局部释放多种介质,这些介质能够影响腺泡分泌及泪腺和结膜的炎症反应,这种神经源性炎症的主要原因被认为是由于感觉神经释放 SP 和 CGRP^[3]。眼球表面丰富的感觉和自主神经纤维在维持角膜上皮健康方面起着重要作用,是神经源性炎症的主要来源^[3]。与角膜基质细胞一样,基底神经丛分泌大量神经肽和神经营养因子,据报道,在诱导的干眼角膜中,基底神经的密度降低和形态结构发生改变,这些异常通常与干眼的严重程度相关^[9]。泪液高渗透压介导的角膜上皮损伤或高渗透压本身可使角膜神经末梢受到机械性和炎症性损伤^[10]。干眼中角膜敏感性的降低促进了神经源性应激,导致眼表稳态受损^[11]。此外,释放的炎性细胞因子反过来促进刺激神经生长的神经营养因子的产生,这可能解释了在干眼中常见的神经形态结构改变,包括神经芽、弯曲和变薄^[12]。角膜神经异常会导致进一步的眼表损伤,并有助于维持干眼的恶性炎症循环^[13]。据报道,神经感觉功能障碍在干眼的病理生理学中起重要作用^[14]。通过释放神经肽诱导眼表和泪腺内的神经源性炎症被认为是干眼发病机制的一个因素^[15]。发炎的泪腺可能产生含有促炎细胞因子的“有毒眼泪”,破坏眼表稳态,加剧炎症反应^[4]。炎症部位眼表上皮细胞、泪腺组织和神经末梢释放的神经肽可调节免疫细胞的浸润和激活,导致反射性流泪和眼部不适^[16]。

2 代表性神经肽及其在干眼中的作用

2.1 SP SP 是速激肽家族中的一种由 11 个氨基酸组成的神经肽,与各种炎症性疾病的发病机制有关,是疼痛传递的关键介质,主要由神经元和炎症细胞分泌^[17]。SP 的生物活性受三种速激肽受体的激活调节,即神经激肽 1 受体(neurokinin 1 receptor, NK1R)、NK2R 和 NK3R^[18]。据报道,SP 是神经源性炎症的关键分子,其作为肥大细胞特异性受体 Mrgprb2 的内源性激动剂,独立于 NK1R,诱导肥大细胞活化,从而导致神经源性炎症^[19]。SP 在角膜上皮和基质细胞中表达,其在维持正常角膜上皮和角膜损伤刺激后的愈合过程中具有重要作用^[20]。Chao 等^[21]发现与健康受试者相比,准分子激光原位角膜磨镶术(laser-assisted *in situ* keratomileusis, LASIK)术后患者泪液 SP 水平与干眼症状的严重程度呈正相关。同样, Tummanapalli

等^[22]发现 1 型糖尿病周围神经病变患者泪液中 SP 浓度较健康对照者显著降低,且与角膜神经纤维密度显著相关。因此,SP 可作为评估激光屈光手术后干眼和 1 型糖尿病周围神经病变的非侵入性生物标志物。

2.2 CGRP CGRP 是一种多功能神经肽,由 37 个氨基酸组成。CGRP 是储存在感觉神经元中的神经肽,广泛表达于中枢和外周神经系统。CGRP 是神经源性炎症的有效血管舒张成分,可介导疼痛传递^[23]。CGRP 是淋巴细胞分化和细胞因子产生的关键调节因子。在 Th1 型免疫反应中,CGRP 主要发挥抗炎和免疫抑制作用,抑制促炎细胞因子的产生,降低免疫细胞向 T 细胞提供抗原的能力^[24]。此外,CGRP 在某些主要与 Th2 型免疫反应相关的疾病中却显示出促炎症作用^[25]。因此,CGRP 表现出促炎或抗炎作用取决于疾病的情况。CGRP 在维持正常角膜上皮中发挥重要的作用,角膜损伤后其分泌增加^[20]。CGRP 可通过促进狗角膜上皮细胞迁移及兔角膜细胞分化增强角膜上皮的再形成^[26]。CGRP 还通过上调环磷酸腺苷和白细胞介素(interleukin, IL)-8 的表达调节先天性免疫,从而促进中性粒细胞对角膜急性炎症区域的趋化性^[27]。因此,许多研究人员建议将其与 SP 一起作为干眼的生物标志物^[28-29]。

2.3 VIP VIP 是由前体分子合成的具有 28 个氨基酸的活性肽,编码该肽的基因位于 6 号染色体^[30]。VIP 主要在源自中枢神经系统的副交感神经末梢中表达^[31]。VIP 在神经源性炎症过程中具有免疫调节特性,有助于调节免疫偏离和控制外周器官的急性炎症^[31]。除了神经元,VIP 在免疫细胞中高度合成,VIP 通过诱导 Th2 细胞因子 IL-4 和 IL-5 促进巨噬细胞和树突状细胞的 Th2 型免疫应答,而 VIP 通过下调 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、IL-2、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、促炎趋化因子和 Toll 样受体表达抑制 Th1 型免疫应答,导致 Th2/Th1 细胞比率增加^[32]。此外,VIP 通过产生 IL-10 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)抑制自身反应性 T 细胞的激活,还可抑制主要组织相容性复合物 II、CD80、CD86 和促炎趋化因子^[33]。VIP 在角膜上皮的伤口愈合中发挥重要作用。Zhang 等^[34]证明 VIP 在调节角膜上皮愈合和神经再生中发挥作用,并以信号通路依赖的方式发挥抗炎作用。作为角膜内皮中的自分泌营养因子,VIP 也被证明可以促进角膜内皮细胞在氧化应激下的存活,推测是通过激酶 A 抑制剂依赖性机制中抗凋亡因子 Bcl-2 和分化标志物 N-钙黏蛋白的上调发挥作用^[35]。因此,VIP 有助于在神经源性炎症环境中维持抗炎作用并控制免疫耐受。

2.4 NPY NPY 由 36 个氨基酸构成,末端带有酪氨酸残基,主要存在于交感神经元中^[36]。NPY 通过激活表达 NPY 受体的免疫细胞促进免疫反应。在免疫系统中,NPY 主要来源于作用于免疫器官的交感神经^[37]。NPY 刺激白细胞黏附和迁移,并诱导单核细胞和巨噬细胞活化,产生促炎和抗炎分子,如 IL-4、IL-6、IL-12、IL-1 β 、TNF- α 和 TGF- β ^[38]。与 CGRP 和 VIP 类似,NPY 诱导抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)迁移并招募到炎症部位,主要通过上调 APC 中的细胞因子 IL-6 和 IL-10 促进 Th2

极化,从而发挥抗炎作用^[39]。此外,NPY通过介导作为炎症细胞负调控因子的耐受性APC细胞和调节性T细胞(T regulatory cells, Tregs)的激活,促进单核细胞和T细胞的免疫耐受活性。

3 神经肽在干眼中的研究

3.1 干眼与神经肽 眼表免疫反应是一个严格而复杂的调节过程,旨在保护和防御眼表,但如果调节不当,就会导致干眼^[2]。Tepelus等^[40]发现干眼患者角膜基底神经丛结构发生变化,特别是角膜基底神经减少、角膜神经形态改变和角膜敏感性降低。在Sjögren综合征患者的泪液中观察到的促炎细胞因子和唾液腺中发现的神经肽水平的改变提示眼表功能障碍相关的神经源性炎症的可能作用^[41]。多项研究表明,免疫抑制Tregs功能障碍会导致干眼的发生,Tregs能够被效应Th17抑制,从而加重干眼眼表炎症损伤^[6,42]。Yu等^[43]评估了SP对APC成熟的影响,APC是参与诱导干眼中Th17介导反应的关键细胞,结果发现使用NK1R拮抗剂局部治疗干眼小鼠可抑制APC的产生,降低Th17细胞活性,从而改善干眼的严重程度。同时,Taketani等^[44]研究发现使用NK1R拮抗剂在干眼小鼠中进行在体治疗可有效恢复Tregs功能,抑制致病性Th17反应,并显著改善干眼。提示SP水平的显著增加促进了干眼中的Tregs功能障碍,而SP的阻断有效恢复了Tregs功能并抑制了干眼的加重。因此,SP/NK1R拮抗剂可能是一种可行的治疗策略,通过挽救Tregs功能障碍和抑制Th17反应抑制干眼加重。有报道称,已被临床证实为干眼治疗剂的环孢素A可抑制SP与NK1R结合,从而抑制SP诱导的IL-6分泌^[45]。尽管临床上还没有明确证据表明环孢素A对SP/NK1R系统的抑制作用有助于提高干眼的治疗效果,但IL-6在干眼的发病机制中起着重要作用,因此也表明抑制SP/NK1R系统可能有助于治疗干眼。此外,神经肽还可以成为评估干眼严重程度的有效标志物。Lambiasi等^[46]通过酶联免疫吸附法分析干眼患者泪液中的神经肽水平,并确定与临床检查结果的相关性,结果发现,与健康对照组相比,干眼严重程度与泪液中CGRP和NPY水平呈负相关,NPY与泪膜破裂时间呈负相关,而泪液中SP和VIP水平无显著变化。上述研究表明,泪液中NPY和CGRP水平与干眼的严重程度相关。另有研究报道,角膜感觉迟钝或糖尿病性神经病变患者泪液中SP水平降低,且与基底神经丛中神经纤维密度的减少有关^[23]。因此,关于神经肽在干眼病理生理学中的作用仍需要更为详细的研究,而干眼患者泪液中VIP没有显著变化可能反映了表达VIP的副交感神经对角膜的神经支配非常有限^[47]。

3.2 屈光手术后干眼与神经肽 屈光手术导致泪液生成、泪膜质量和眨眼反射减少,这与干眼的发病机制有关^[48]。在进行LASIK或激光光学角膜切削术(photorefractive keratectomy, PRK)术后可观察到各种神经肽的变化^[21,48-49]。Chao等^[49]评估了20例非干眼志愿者行LASIK术后1d,1wk,1,3,6mo的角膜神经形态及SP和CGRP浓度,结果发现,LASIK术后角膜神经形态立即改变,且在术后6mo未恢复到术前水平,而在术后3mo观察到泪液中的SP浓度增加。该研究首次证明了泪液SP与

LASIK术后神经再支配之间的关联,表明操纵神经肽浓度以改善神经再支配的策略可能会提高LASIK术后的眼部舒适度。此外,Chao等^[21]使用酶联免疫吸附法测定20例LASIK术后患者泪液中SP和CGRP浓度,并确定其与临床检查结果的相关性,与正常组比较,LASIK术后组眼部不适、泪液CGRP浓度和结膜敏感性更高,且干眼症状与角膜敏感性和泪液SP浓度呈正相关。这项研究表明LASIK术后有症状和无症状患者在神经形态、神经肽和眼表敏感性方面的差异有助于更好地了解LASIK术后干眼的机制。Mertaniemi等^[50]使用酶联免疫吸附法测定正常人泪液中神经肽CGRP的含量,并探讨行PRK对其在泪液中释放的影响。研究发现行PRK术后,与术前相比,泪液中CGRP水平升高,在术后第2d达到峰值,在术后第7d下降,推测术后第1~2dCGRP水平的显著增加可能是由于受损角膜基质神经的分泌所致。尽管术后泪液分泌过多,但泪液中CGRP浓度没有显著降低,这表明CGRP可能是通过角膜感觉神经同时分泌到泪液中。总之,上述研究表明屈光手术后SP和CGRP水平是会发生改变的,但是需要进一步研究分析神经肽随时间的变化情况,并探讨其与干眼的临床结果之间的关联性。

3.3 隐形眼镜相关干眼与神经肽 据报道,由于角膜接触镜的磨损,泪膜和眼表面发生了多种生物物理变化,包括泪膜不稳定、泪液蒸发速率增加、泪液渗透性增加、结膜充血增加和上皮损伤^[51],从而导致干眼的发生。Zhang等^[34]研究了VIP在角膜伤口愈合中的作用,包括上皮伤口愈合和感觉神经再生,结果发现VIP通过抑制Shh(sonic hedgehog)信号通路调节角膜上皮伤口愈合、炎症反应和神经再生,这项研究表明VIP在治疗角膜上皮损伤方面具有治疗潜力。Golebiowski等^[52]分别评估了20例隐形眼镜佩戴者和20例非佩戴者泪液中神经肽水平,并评估与角膜神经支配、泪液功能和眼部不适指数的关系,结果发现各组之间泪液中SP和CGRP的水平没有差异,神经形态或眼表敏感性也没有差异。然而,该研究发现神经密度、泪液中CGRP水平与角膜敏感性密切相关。López-de la Rosa等^[51]测量了30例有症状和30例无症状隐形眼镜佩戴者的舒适度和泪液中SP水平,结果发现有症状隐形眼镜佩戴者泪液中SP水平显著升高,表明SP可能成为配戴隐形眼镜不适的潜在生物标志物。尽管配戴隐形眼镜对神经肽影响的相关研究很少,结果仍存在争议,需要更多的研究,但迄今为止的研究结果表明,泪液中SP水平升高可能与配戴隐形眼镜引起的不适或干眼有关,而与隐形眼镜本身无关。

4 小结和展望

本文总结了目前神经肽在干眼中的研究,神经肽在干眼的病理生理机制中发挥着不同的作用,其中在干眼炎症中发挥了关键作用,通过抑制SP/NK1R系统,特别是在干眼的早期阶段,可能防止干眼的恶化和进展为更慢性的形式。然而,由于免疫反应是一种全身反应,各种免疫过程同时发挥作用,因此很难确定每个过程的贡献。此外,需要扩大致病机制的研究范围,包括与干眼相关的多种神经肽和多器官,包括角膜、结膜、主泪腺和副泪腺、睑板腺和神经网络等。然而,考虑到神经肽具有类似于双刃剑的作

用^[3],其积极作用(如抑制干眼的致病机制)与消极作用(如抑制伤口愈合和对感染的先天性免疫)之间的平衡,应在开始临床试验前进行彻底评估。尽管关于神经肽在干眼中的致病作用的研究仍处于起步阶段,这将有助于拓宽和加深对于眼发病机制的理解,并在未来帮助干眼患者。

参考文献

- 1 Ji YW, Lee JL, Kang HG, *et al.* Corneal lymphangiogenesis facilitates ocular surface inflammation and cell trafficking in dry eye disease. *Ocular Surf* 2018; 16(3): 306–313
- 2 Pflugfelder SC, de Paiva CS. The pathophysiology of dry eye disease: what we know and future directions for research. *Ophthalmology* 2017; 124(11S): S4–S13
- 3 Lasagni Vitar RM, Rama P, Ferrari G. The two-faced effects of nerves and neuropeptides in corneal diseases. *Prog Retin Eye Res* 2022; 86: 100974
- 4 Mantelli F, Micera A, Sacchetti M, *et al.* Neurogenic inflammation of the ocular surface. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2010; 10(5): 498–504
- 5 Logashina YA, Korolkova YV, Kozlov SA, *et al.* TRPA1 channel as a regulator of neurogenic inflammation and pain: structure, function, role in pathophysiology, and therapeutic potential of ligands. *Biochemistry Moscow* 2019; 84(2): 101–118
- 6 Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol* 2012; 130(1): 90–100
- 7 Hwang DD, Lee SJ, Kim JH, *et al.* The role of neuropeptides in pathogenesis of dry eye. *J Clin Med* 2021; 10(18): 4248
- 8 Stern ME, Gao JP, Siemasko KF, *et al.* The role of the lacrimal functional unit in the pathophysiology of dry eye. *Exp Eye Res* 2004; 78(3): 409–416
- 9 Tsubota K, Pflugfelder SC, Liu ZG, *et al.* Defining dry eye from a clinical perspective. *Int J Mol Sci* 2020; 21(23): E9271
- 10 Guzmán M, Miglio M, Keitelman I, *et al.* Transient tear hyperosmolarity disrupts the neuroimmune homeostasis of the ocular surface and facilitates dry eye onset. *Immunology* 2020; 161(2): 148–161
- 11 Meng ID, Kurose M. The role of corneal afferent neurons in regulating tears under normal and dry eye conditions. *Exp Eye Res* 2013; 117: 79–87
- 12 Lee HK, Ryu IH, Seo KY, *et al.* Topical 0.1% prednisolone lowers nerve growth factor expression in keratoconjunctivitis sicca patients. *Ophthalmology* 2006; 113(2): 198–205
- 13 Matsumoto Y, Ibrahim OMA. Application of *In vivo* confocal microscopy in dry eye disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018; 59(14): DES41–DES47
- 14 Craig JP, Nelson JD, Azar DT, *et al.* TFOS DEWS II report executive summary. *Ocular Surf* 2017; 15(4): 802–812
- 15 Baudouin C, Irkeç M, Messmer EM, *et al.* Clinical impact of inflammation in dry eye disease; proceedings of the ODISSEY group meeting. *Acta Ophthalmol* 2018; 96(2): 111–119
- 16 Kovács I, Ludány A, Köszei T, *et al.* Substance P released from sensory nerve endings influences tear secretion and goblet cell function in the rat. *Neuropeptides* 2005; 39(4): 395–402
- 17 Suvas S. Role of substance P neuropeptide in inflammation, wound healing, and tissue homeostasis. *J Immunol* 2017; 199(5): 1543–1552

- 18 Steinhoff MS, von Mentzer B, Geppetti P, *et al.* Tachykinins and their receptors: contributions to physiological control and the mechanisms of disease. *Physiol Rev* 2014; 94(1): 265–301
- 19 Green DP, Limjunyawong N, Gour N, *et al.* A mast-cell-specific receptor mediates neurogenic inflammation and pain. *Neuron* 2019; 101(3): 412–420.e3
- 20 Al-Aqaba MA, Dhillon VK, Mohammed I, *et al.* Corneal nerves in health and disease. *Prog Retin Eye Res* 2019; 73: 100762
- 21 Chao C, Golebiowski B, Zhao XT, *et al.* Long-term effects of LASIK on corneal innervation and tear neuropeptides and the associations with dry eye. *J Refract Surg* 2016; 32(8): 518–524
- 22 Tummanapalli SS, Willcox MDP, Issar T, *et al.* Tear film substance P: a potential biomarker for diabetic peripheral neuropathy. *Ocular Surf* 2019; 17(4): 690–698
- 23 Charles A, Pozo-Rosich P. Targeting calcitonin gene-related peptide: a new era in migraine therapy. *Lancet* 2019; 394(10210): 1765–1774
- 24 Ding WH, Stohl LL, Wagner JA, *et al.* Calcitonin gene-related peptide biases Langerhans cells toward Th2-type immunity. *J Immunol* 2008; 181(9): 6020–6026
- 25 Eftekhari S, Warfvinge K, Blixt FW, *et al.* Differentiation of nerve fibers storing CGRP and CGRP receptors in the peripheral trigeminovascular system. *J Pain* 2013; 14(11): 1289–1303
- 26 Garcia-Hirschfeld J, Lopez-Briones LG, Belmonte C. Neurotrophic influences on corneal epithelial cells. *Exp Eye Res* 1994; 59(5): 597–605
- 27 Tran MT, Ritchie MH, Lausch RN, *et al.* Calcitonin gene-related peptide induces IL-8 synthesis in human corneal epithelial cells. *J Immunol* 2000; 164(8): 4307–4312
- 28 Di Zazzo A, Micera A, De Piano M, *et al.* Tears and ocular surface disorders: usefulness of biomarkers. *J Cell Physiol* 2019; 234(7): 9982–9993
- 29 Tamhane M, Cabrera-Ghayouri S, Abelian G, *et al.* Review of biomarkers in ocular matrices: challenges and opportunities. *Pharm Res* 2019; 36(3): 40
- 30 Gozes I, Nakai H, Byers M, *et al.* Sequential expression in the nervous system of C-MYB and VIP genes, located in human chromosomal region 6q24. *Somat Cell Mol Genet* 1987; 13(4): 305–313
- 31 Fahrenkrug J. Transmitter role of vasoactive intestinal peptide. *Pharmacol Toxicol* 1993; 72(6): 354–363
- 32 Pozo D, Gonzalez-Rey E, Chorny A, *et al.* Tuning immune tolerance with vasoactive intestinal peptide: a new therapeutic approach for immune disorders. *Peptides* 2007; 28(9): 1833–1846
- 33 Gonzalez-Rey E, Chorny A, Delgado M. Regulation of immune tolerance by anti-inflammatory neuropeptides. *Nat Rev Immunol* 2007; 7(1): 52–63
- 34 Zhang YY, Gao N, Wu L, *et al.* Role of VIP and sonic hedgehog signaling pathways in mediating epithelial wound healing, sensory nerve regeneration, and their defects in diabetic corneas. *Diabetes* 2020; 69(7): 1549–1561
- 35 Koh SW, Waschek JA. Corneal endothelial cell survival in organ cultures under acute oxidative stress: effect of VIP. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000; 41(13): 4085–4092
- 36 Gray TS, Morley JE. Neuropeptide Y: Anatomical distribution and possible function in mammalian nervous system. *Life Sci* 1986; 38(5): 389–401

37 Straub RH, Schaller T, Miller LE, *et al.* Neuropeptide Y cotransmission with norepinephrine in the sympathetic nerve-macrophage interplay. *J Neurochem* 2000; 75(6): 2464-2471

38 Dimitrijević M, Stanojević S, Vujić V, *et al.* Neuropeptide Y and its receptor subtypes specifically modulate rat peritoneal macrophage functions *in vitro*: counter regulation through Y1 and Y2/5 receptors. *Regul Pept* 2005; 124(1-3): 163-172

39 Buttari B, Profumo E, Domenici G, *et al.* Neuropeptide Y induces potent migration of human immature dendritic cells and promotes a Th2 polarization. *FASEB J* 2014; 28(7): 3038-3049

40 Tepelus TC, Chiu GB, Huang JY, *et al.* Correlation between corneal innervation and inflammation evaluated with confocal microscopy and symptomatology in patients with dry eye syndromes: a preliminary study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2017; 255(9): 1771-1778

41 Kontinen YT, Hukkanen M, Kemppinen P, *et al.* Peptide - containing nerves in labial salivary glands in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 1992; 35(7): 815-820

42 Foulsham W, Marmalidou A, Amouzegar A, *et al.* Review: The function of regulatory T cells at the ocular surface. *Ocular Surf* 2017; 15(4): 652-659

43 Yu M, Lee SM, Lee H, *et al.* Neurokinin - 1 receptor antagonism ameliorates dry eye disease by inhibiting antigen - presenting cell maturation and T helper 17 cell activation. *Am J Pathol* 2020; 190(1): 125-133

44 Taketani Y, Marmalidou A, Dohlman TH, *et al.* Restoration of regulatory T-cell function in dry eye disease by antagonizing substance

P/neurokinin-1 receptor. *Am J Pathol* 2020; 190(9): 1859-1866

45 Gitter BD, Waters DC, Threlkeld PG, *et al.* Cyclosporin A is a substance P (tachykinin NK₁) receptor antagonist. *Eur J Pharmacol Mol Pharmacol* 1995; 289(3): 439-446

46 Lambiase A, Micera A, Sacchetti M, *et al.* Alterations of tear neuromediators in dry eye disease. *Arch Ophthalmol* 2011; 129(8): 981-986

47 Marfurt CF, Murphy CJ, Florczak JL. Morphology and neurochemistry of canine corneal innervation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001; 42(10): 2242-2251

48 Yang LWY, Mehta JS, Liu YC. Corneal neuromediator profiles following laser refractive surgery. *Neural Regen Res* 2021; 16(11): 2177-2183

49 Chao C, Stapleton F, Zhou XT, *et al.* Structural and functional changes in corneal innervation after laser *in situ* keratomileusis and their relationship with dry eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2015; 253(11): 2029-2039

50 Mertaniem P, Yläupa S, Partanen P, *et al.* Increased release of immunoreactive calcitonin gene-related peptide (CGRP) in tears after excimer laser keratectomy. *Exp Eye Res* 1995; 60(6): 659-665

51 López - de la Rosa A, García - Vázquez C, Fernández I, *et al.* Substance P level in tears as a potential biomarker for contact lens discomfort. *Ocul Immunol Inflamm* 2021; 29(1): 43-56

52 Golebiowski B, Chao C, Stapleton F, *et al.* Corneal nerve morphology, sensitivity, and tear neuropeptides in contact lens wear. *Optom Vis Sci* 2017; 94(4): 534-542