

单纯疱疹病毒性角膜炎复发及治疗的研究进展

孙婉彤, 张红

引用:孙婉彤,张红.单纯疱疹病毒性角膜炎复发及治疗的研究进展.国际眼科杂志 2019;19(3):384-387

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81671844)

作者单位:(150001)中国黑龙江省哈尔滨市,哈尔滨医科大学附属第一医院眼科分院

作者简介:孙婉彤,在读硕士研究生,研究方向:感染性角膜炎。

通讯作者:张红,博士,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:眼角膜移植.1384505456@163.com

收稿日期:2018-08-15 修回日期:2019-01-17

摘要

单纯疱疹病毒性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)是由单纯疱疹病毒(HSV)引起的一种严重的感染性角膜疾病。HSV的感染有两种形式:原发性感染和复发性感染。其中,复发性HSV感染的相关机制和干预方式是近些年来的研究焦点。本文介绍了几种常见的HSK的复发免疫机制及治疗,分析了最新研究发现的抗HSV复发的药物,希望能尽早开发出新型的干预方式,开发出具有较强疗效和较小毒性的化合物,使其减少潜在的副作用,提供更好的治疗效果。

关键词:单纯疱疹病毒性角膜炎;发病机制;干预方式;复发;感染性眼部疾病

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.3.08

Research progress on recurrence and treatment of herpes simplex keratitis

Wan-Tong Sun, Hong Zhang

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No.81671844)

Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Hong Zhang. Eye Hospital, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. 1384505456@163.com

Received:2018-08-15 Accepted:2019-01-17

Abstract

• Herpes simplex viral keratitis (HSK) is caused by herpes simplex virus a serious infective corneal disease. Herpes simplex virus (HSV) infection comes in two forms: primary and recurrent. Between them, the recurrent herpes simplex virus infection way of relevant mechanisms and intervention is the research focus in recent years. In this article, we've introduced the recurrent

immune system and treatment of the recurrent herpes of herpes simplex, analysed the newly discovered drugs against herpes simplex virus recurrence, and we're hoping to develop a new form of intervention, a chemical that has a stronger effect and less toxic, so that we can reduce the potential side effects and provide better treatment results.

• **KEYWORDS:** herpes simplex virus keratitis; pathogenesis; medical interventions; recurrence; infectious eye disease

Citation: Sun WT, Zhang H. Research progress on recurrence and treatment of herpes simplex keratitis. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2019;19(3):384-387

0 引言

眼部单纯疱疹病毒感染是全国乃至全球眼部发病的主要原因之一。据估计,90%的成年人其单纯疱疹病毒(HSV)抗原血清呈阳性^[1]。众多HSV抗原血清阳性的人群中,只有20%~30%的疱疹病毒感染者会出现临床表现,大多数患者都患有疱疹病毒感染^[2]。其眼部感染通常是单侧的,而双侧的发生率仅为1.3%~12%,这种情况多见于年轻患者^[3]。

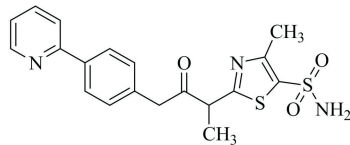
HSV属于类DNA病毒,分为两种血清型:HSV-1型和HSV-2型。其传播途径主要是与带有病毒分泌物的皮肤或黏膜直接接触造成的。HSV-1型的血清抗体阳性率是50%~90%,常引起眼部疱疹感染,这是导致感染性角膜炎的主要原因;HSV-2型则常由性传播,主要感染生殖器,偶尔也可引起眼部感染^[4]。

迄今为止,针对HSV的不同治疗方式正在逐渐更新,为取得更好的疾病治疗以及对目前使用的抗病毒药物抵抗的控制,单纯疱疹病毒性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)的治疗仍然备受关注。局部和全身治疗都有其特定的治疗模式,近几年的资料显示,有时联合疗法也可以提高其治疗效果。

1 HSV感染复发的免疫机制

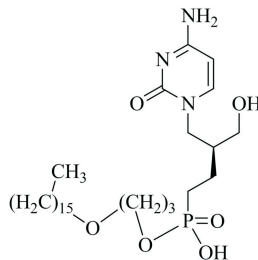
初次感染HSV后,在温度变化、精神压力、紫外线照射和手术等刺激下,可能会导致HSV感染的复发。复发性单纯疱疹病毒性角膜炎的危害远高于初次角膜感染本身,复发性感染的炎症反应可能导致无法挽回的组织损害,包括角膜新生血管的形成、角膜斑翳、甚至失明^[5]。

病毒感染史的患者与血清中存在中和抗体者是复发性感染的多发人群。HSV病毒的感染途径即从感染的上皮组织到达感觉神经末梢,沿神经轴突进入感觉神经节细胞体内,HSV染色体潜伏在神经元的细胞核中。原发感染后的1~2d,HSV即可潜伏,数周便可完成。HSV可潜伏在三叉神经节(trigeminal ganglion, TG)、交感神经节及



4-methyl-2-(3-oxo-4-(4-(pyridin-2-yl)phenyl)butan-2-yl)thiazole-5-sulfonamide

图1 AIC316的化学式。



3-(hexadecyloxy)propyl hydrogen ((S)-4-(4-amino-2-oxypyrimidin-1(2H)-yl)-3-(hydroxymethyl)butyl)phosphonate

图2 CMX001的化学式。

刀杆部位直至宿主死亡。潜伏过程中,病毒并不复制,而是将基因整合到宿主细胞 DNA 上。待病毒扩散到角膜上皮细胞,引起复发性、溶细胞性病变,病毒在上皮细胞内复制直致细胞溶解,从而表现出临床症状。

Portnoy 等^[6]对 HSK 稳定期的兔眼进行了穿透性角膜移植术 (penetrating keratoplasty, PTK), 术后长时间应用糖皮质激素,未引起 HSK 复发增加,这说明引起 HSK 复发的主要原因不一定是三叉神经内病毒的活化和释放,而更可能是角膜内潜伏的病毒在术中被清除。

徐欣等^[7]在进行病毒 PCR 检测中,发现感染的角膜组织和非感染的角膜组织中均有 HSV-1 型病毒的存在,引起疾病的原因主要是潜伏病毒的激活和复制。得出结论人的角膜也可能是潜伏和复发的场所。

Keadle 等^[8]发现在 HSK 的复发中,CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞发挥着不可取代的作用。HSK 是一种由病毒及其抗原引起的 T 淋巴细胞介导的免疫性疾病。研究显示,CD4⁺T 细胞是介导 HSK 免疫病理反应的主要免疫介质^[9-10]。

2 抗病毒治疗的最新进展

HSV 感染可以通过抗病毒药物的应用来有效治疗。疱疹病毒家族是造成人类各种疾病的罪魁祸首。治疗此类感染的标准疗法有阿昔洛韦 (ACV) 和喷昔洛韦 (PCV), 及其各自的原始药物伐昔洛韦 (valaciclovir) 和福昔洛韦 (famciclovir)。传统的阿昔洛韦属核苷酸类抗病毒药,对 HSV 具有高度的选择性和抑制作用。由于其对病毒特殊的亲和力,故对正常的宿主细胞则很少引起代谢改变。虽然有效,但长期的预防使用,其病毒耐药性不尽人意。有些药物为了控制毒性限制剂量,这也限制了其应用。因此,近几年开发出具有不同作用机制的新型抗疱疹化合物。

2.1 Pritelivir Pritelivir, 又称 BAY 57-1293 (AIC316), 是一种强效的解旋酶-引发酶抑制剂,对单纯疱疹病毒 HSV-1 型和 HSV-2 型具有强烈的抗病毒作用。其化学式为: -N-[5-(氨基磺酰基)-4-甲基-1,3-噻唑-2-[4-(2-吡啶基)苯乙酰胺] (图 1), 这类化合物的良好耐

受性,显著缩短了治疗时间,阻止了治疗后的反弹,最重要的是降低了复发性疾病的频率和严重程度。其作用机制为 BAY57-1293 以剂量依赖的方式直接抑制病毒解旋酶-引发酶复合物活性^[11]。HSV-1 型感染培养细胞的形成因为 β -amyloid ($A\beta$) 和异常 τ (P-tau)。临床试验中发现, BAY 57-1293 和无环鸟苷 (ACV) 相比,不仅能抑制 HSV-1 型的复制,并且降低了 $A\beta$ 和 P-tau 的形成。此外,在感染过程中形成的细胞团簇的大小,也比 ACV 更有效地减少了^[12]。这些数据表明, BAY 57-1293 比 ACV 控制 HSV 疾病的发展更有效。

2.2 Brincidofovir Brincidofovir (CMX001) 是作为一种活跃的、亲脂的西多福韦 (CDV) 形式发展而来的抗病毒药物,以改善 CDV 的口服生物利用度^[13-14], 其化学式见图 2。该化合物不但具有与 ACV、CDV 等同样有效对抗 HSV 的作用,更重要的是,其在体外比 CDV 本身对 HSV、VZV、CMV、EBV、HHV-6 和 HHV-8 更活跃,从而显示了其在治疗潜在 HSV 感染的效用^[15]。在病毒感染的细胞中, CMX001 代谢释放 CDV, 抑制病毒 DNA 聚合酶, 进而抑制病毒复制^[16]。CMX001 在体外对 HSV 复制的抑制比 ACV 或 CDV 高 300~400 倍^[17]。此外,这种化合物在接种 HSV-1 型或 HSV-2 型的 BALB/c 小鼠中也有效^[18]。同时, CMX001 增强了 ACV 的作用, 这种结合协同抑制了 HSV 在体外和体内的复制。该研究结果显示, CMX001 在抗 ACV 的 HSV 感染治疗中可能是有效的, 可作为对 ACV 有不良临床反应患者的辅助治疗药物^[19]。还有研究表明, 这种化合物有较好的耐受性, 可以显著减少肾的积累。CMX001 避免了与 CDV 相关的肾毒性^[15,18,20]。

2.3 抗病毒肽抑制剂 HSV-1 型进入宿主细胞的过程是通过病毒包膜和质膜融合而发生的。抑制其最常见的方法是使用特定的抑制剂来阻碍在进入过程中 gB、gH 和 gD 的功能。Bultmann 等^[21]已经证明, 由 16-氨基酸性 FGF4 信号肽所附的 RRKK 四聚体的 EB 肽, 显著抑制了 HSV-1 的进入, 并阻断细胞间传播过程中的病毒感染。研究发现, 抑制 HSV-1 型进入和斑块形成的过程依赖于 EB 肽在病毒血清中存在的浓度多少。

表1 抗病毒肽实例

抗病毒肽	序列	参考文献
EB	RRKKAVALLPVILLALLAP	[16]
gB122	GHRRYFTFGGGYVYF	
gB131	HEVVPLEVYTRHEIK	
gH220-262	TWLATRGLLRSPGRYVYFSPSASTWPVGIWTTGELVLCDAAL	[21]
gH381-420	RLTGLLATSGFVNAAHANGAVCLSDLLGFLAHSRALAG	
gH493-537	AAHLIDALYAEFLGGRVLTTPVVHRALFYASAVLRQPFLAGVPSA	
gH493-512	AAHLIDALYAEFLGGRVLT	
gH626-644	GLASTLTRWAHYNALIRAF	
DefensinHNP-2	CYCRIPACIAGERRYGTCTIYQGRWLAFCC	[22]
Brevinin-1	FLPVLAGIAAKVVPALFCKITKCC	
Tachyplesin	KWCFRVCYRGICYRRCR	[22]
Magainin-2	GIGKFLHSAKFKGAFVGEIMNS	[25]
Melittin	GIGAVLKVLTGTPALISWIKRKRQQ	
Dermaseptin S4	ALWMTLLKKVLKAAAKAALNAVLVGANA	[26]
Bovine Lactoferricin	FKCRRWQWRMCKLGAPSITCVRRAF	[27]
Indolicidin	ILPWKWPWPWRR	[28]

同时, Akkarawongsa 等^[20]合成了 138 个与 HSV-1 型病毒 gB 的 773 个胞外域残留同源的重叠肽库, 并对其抑制病毒感染的能力进行了筛选。其中, 有 7 种 15 碱基的多肽在浓度为 100 μ mol/L 时显著抑制了 50% 的 HSV-1 型的感染。3 种肽 (gB94、gB122、gB131) 的 EC50 标准值均低于 20 μ mol/L, gB131 是一种 EC50 值大约为 12 μ mol/L 左右的特定抑制剂, gB122 肽阻止病毒进入的 EC50 标准浓度为 18 μ mol/L, 保护细胞免受感染的 EC50 标准浓度为 72 μ mol/L, 灭活在溶液中的病毒粒子的 EC50 标准浓度为 138 μ mol/L。

HSV 膜融合似乎是抗 HSV 治疗的一个有力的靶点。Galdiero 等^[23]研究了 HSV-1 gH 包膜的糖蛋白不同的膜性结构域、HSV 膜融合的结构基础, 确定了抑制的新靶点。合成了 5 种融合肽: gH220-262、gH381-420、gH493-537、gH493-512 和 gH626-644, 并对其抑制 HSV 感染的作用进行了筛选。结果显示 gH493-537 和 gH626-644 被发现浓度分别在 500mmol/L 和 250mmol/L 时抑制了 50%~60% 和 60%~70% 的 HSV 病毒。然而, gH220-262 和 gH381-420 在浓度高达 500mmol/L 时仍未表现出抗病毒活性。gH493-512 作为唯一与 gH493-537 的 N 端相对应的短肽, 分别在浓度 250mmol/L 和 500mmol/L 抑制 HSV 病毒的 60% 和 90%。gH626-644 和 gH493-512 显示了对 HSV-1 型融合糖蛋白最强烈的抑制作用, 这些抑制作用可能是由于它们在膜上的分裂能力及其内部聚集能力。此外, 研究者推测, 这些肽可能会对他们的相关领域造成一定的阻碍, 无论是在膜融合前状态还是中间构象中, 这种构象以防止 gH 肽与膜之间融合的完整性和功能的相互作用^[24-25]。

这种肽的研究可能会成为识别各种糖蛋白或其他膜蛋白功能的重要领域, 进而帮助验证 HSV-1 型进入与膜融合的新型抑制剂。表 1 为总结的部分抗病毒肽的实例。
2.4 其他有效的新疗法 Nakama 等^[29]最近报道了 Bidenspilosa (B. pilosa), 一种热带杂草, 用于检测小鼠 HSV-1 型感染模型的抗病毒活性。B. pilosa 提取物表现

出强烈的抗病毒活性, 它抑制了在使用疫苗和 RAW264.7 癌细胞中感染 HSV-1 型和 HSV-2 型的斑块形成, 同时还抑制了病毒的产量。这种提取物阻断了病毒与宿主细胞的结合和病毒细胞的渗透。B. pilosa 提取物对 tk 和磷酸缺乏的 HSV-1 型菌株有效。此外, B. pilosa 的治疗提高了 HSV 感染小鼠的存活率, 阻止了皮肤病变的发展。

最近还研究了双歧杆菌对于 HSV-1 型的抗病毒活性。通过使用血小板减量和降压试验检测青春双歧杆菌 SPM 0214 抗 HSV-1 型的功效。HSV-1 型感染的细胞中, 高浓度的青春双歧杆菌 SPM 0214, 可以形成几乎很少的斑块。然而, 在青春双歧杆菌 SPM 0214 的浓度较低时, 却形成了许多斑块。青春双歧杆菌 SPM 0214 似乎是针对 HSV-1 型的一种潜在的新治疗手段, 尽管双歧杆菌的抗病毒作用机制尚不清楚^[30]。

3 小结

HSV 病毒引起人类各种各样形式的感染, 随着血清阳性率的增加, HSV 感染的治疗仍然是一项具有挑战性的任务。虽然目前治疗 HSV 感染的治疗方案较安全且有效, 然而耐药病毒株耐药性的出现, 尤其是在免疫系统受损的患者身上得到了观察, 这些患者使用抗病毒药物治疗时间较长, 其药物毒性将限制其药物的长期使用。因此, 开发一种新型的干预方式变得尤为重要, 使其提供更好的疗效, 并减少潜在的副作用。本文总结的所有新型抗 HSV 病毒化合物似乎都很有希望成为显著提高抑制 HSV 感染复发的治疗方法, 开发新的具有较强的疗效和较小毒性的化合物显然是必要的。由于目前许多新化合物都在临床开发中, 如果这些化合物不仅仅能用于抗病毒药物, 还能与其他抗病毒药物联合使用会更好。在不久的将来, 这些正在开发的新化合物将使 HSV 感染的管理不再复杂。

参考文献

- 1 Risinger C, Sørensen KK, Jensen KJ, et al. Linear Multiepitope (Glyco) peptides for Type-Specific Serology of Herpes Simplex Virus (HSV) Infections. *ACS Infect Dis* 2017;3 (5): 360-367
- 2 Mancini M, Vidal SM. Insights into the pathogenesis of herpes simplex

- encephalitis from mouse models. *Mamm Genome* 2018; 29(7-8):425-445
- 3 Kalezic T, Mazen M, Kuklinski E, et al. Herpetic eye disease study: lessons learned. *Curr Opin Ophthalmol* 2018;29(4):340-346
- 4 Roozbahani M, Hammersmith KM. Management of herpes simplex virus epithelial keratitis. *Curr Opin Ophthalmol* 2018;29(4):360-364
- 5 Yin J, Huang Z, Xia Y, et al. Lornoxicam suppresses recurrent herpetic stromal keratitis through down-regulation of nuclear factor- κ B: an experimental study in mice. *Mol Vis* 2009;15:1252-1259
- 6 Portnoy SL, Beyer CF, Hill JM, et al. The coincidence of HSV-1 ocular cultures with HSV-1 corneal epithelial defects in rabbits after experimental penetrating keratoplasty. *Cornea* 1991; 10(1):17-20
- 7 徐欣,张樱楠,骆非,等.单纯疱疹病毒性角膜炎角膜组织病毒潜伏感染的PCR检测分析.眼科 2013;22(1):45-48
- 8 Keadle TL, Morris JL, Pepose JS, et al. CD4(+) and CD8(+) cells are key participants in the development of recurrent herpetic stromal keratitis in mice. *Microb Pathog* 2002; 32(6):255-262
- 9 Banerjee K, Biswas PS, Rouse BT. Elucidating the protective and pathologic T cell species in the virus-induced corneal immunoinflammatory condition herpetic stromal keratitis. *J Leukoc Biol* 2005;77(1):24-32
- 10 Leoni V, Vannini A, Gatta V, et al. A fully-virulent retargeted oncolytic HSV armed with IL-12 elicits local immunity and vaccine therapy towards distant tumors. *PLoS Pathog* 2018;14(8):e1007209
- 11 Field HJ, Huang ML, Lay EM, et al. Baseline sensitivity of HSV-1 and HSV-2 clinical isolates and defined acyclovir-resistant strains to the helicase-primase inhibitor pritelivir. *Antiviral Res* 2013; 100(2):297-299
- 12 Wozniak MA, Frost AL, Itzhaki RF. The helicase-primase inhibitor BAY 57-1293 reduces the Alzheimer's disease-related molecules induced by herpes simplex virus type 1. *Antiviral Res* 2013; 99(3):401-404
- 13 Vadlapudi AD, Vadlapatla RK, Mitra AK. Current and emerging antivirals for the treatment of cytomegalovirus (CMV) retinitis: an update on recent patents. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov* 2012; 7(1):8-18
- 14 Hostetler KY. Synthesis and early development of hexadecyloxypropylcyclohexanecarboxamide: an oral antipoxvirus nucleoside phosphonate. *Viruses* 2010;2(10):2213-2225
- 15 Prichard MN, Kern ER, Hartline CB, et al. CMX001 potentiates the efficacy of acyclovir in herpes simplex virus infections. CMX001 potentiates the efficacy of acyclovir in herpes simplex virus infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(10):4728-4734
- 16 Field HJ, Biswas S. Antiviral drug resistance and helicase-primase inhibitors of herpes simplex virus. *Drug Resist Updat* 2011;14(1):45-51
- 17 Dropulic LK, Cohen JI. Update on new antivirals under development for the treatment of double-stranded DNA virus infections. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 88(5):610-619
- 18 Quenelle DC, Lampert B, Collins DJ, et al. Efficacy of CMX001 against herpes simplex virus infections in mice and correlations with drug distribution studies. *J Infect Dis* 2010;202(10):1492-1499
- 19 Lee YJ, Neofytos D, Kim SJ, et al. Efficacy of Brincidofovir as prophylaxis against HSV and VZV in hematopoietic cell transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2018;20(6):e12977
- 20 Akkarawongsa R, Pocaro NE, Case G, et al. Multiple peptides homologous to herpes simplex virus type 1 glycoprotein B inhibit viral infection. *Antimicrob Agents Chemother* 2009;53(3):987-996
- 21 Bultmann H, Busse JS, Brandt CR. Modified FGF4 Signal Peptide Inhibits Entry of Herpes Simplex Virus Type 1. *J Viro* 2001; 75(6):2634-2645
- 22 Falanga A, Vitiello M, D'Isanto M. Peptides containing membrane-interacting motifs inhibit herpes simplex virus type 1 infectivity. *Peptides* 2008; 29(9):1461-1471
- 23 Galdiero S, Falanga A, Tarallo R, et al. Peptide inhibitors against herpes simplex virus infections. *J Pept Sci* 2013;19(3):148-158
- 24 Vilas Boas LC, de Lima LM, Migliolo L, et al. Linear antimicrobial peptides with activity against herpes simplex virus 1 and Aichi virus. *Biopolymers* 2017;108(2)
- 25 Jenssen H, Hamill P, Hancock RE. Peptide antimicrobial agents. *Clin Microbiol Rev* 2006;19(3):491-511
- 26 Bergaoui I, Zairi A, Tangy F, et al. In vitro antiviral activity of dermaseptin S(4) and derivatives from amphibian skin against herpes simplex virus type 2. *J Med Virol* 2013;85(2):272-281
- 27 Gifford JL, Hunter HN, Vogel HJ. Lactoferricin: a lactoferrin-derived peptide with antimicrobial, antiviral, antitumor and immunological properties. *Cell Mol Life Sci* 2005;62(22):2588-2598
- 28 Chan DI, Prenner EJ, Vogel HJ. Tryptophan- and arginine-rich antimicrobial peptides: structures and mechanisms of action. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1758(9):1184-1202
- 29 Nakama S, Tamaki K, Ishikawa C, et al. Efficacy of Bidens pilosa Extract against Herpes Simplex Virus Infection In Vitro and In Vivo. *Evid Based Complement Alternat Med* 2012; 2012:413453
- 30 An HM, Lee DK, Kim JR, et al. Antiviral activity of Bifidobacterium adolescentis SPM 0214 against herpes simplex virus type 1. *Arch Pharm Res* 2015; 38(1):137