

病毒性角膜内皮炎的研究现状

李燕玲, 苏旺铭, 何小辉

引用: 李燕玲, 苏旺铭, 何小辉. 病毒性角膜内皮炎的研究现状. 国际眼科杂志 2020; 20(12): 2074-2078

作者单位: (364000) 中国福建省龙岩市第二医院眼科中心
作者简介: 李燕玲, 女, 毕业于福建医科大学, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 角膜病。

通讯作者: 李燕玲. 765941290@qq.com

收稿日期: 2020-03-12 修回日期: 2020-10-30

摘要

病毒性角膜内皮炎诱因多样, 病因复杂, 发病机制尚不完全明确, 临床表现多样, 目前无统一分类, 辅助诊断技术不断提高, 环媒恒温扩增法、各种 PCR 对疾病的诊断有一定的辅助作用。但在临床上还主要依靠临床表现、病史来诊断, 其治疗临床上主要以抗病毒联合糖皮质激素为主, 耐药病毒株越来越多, 复发率高, 迫切需要研究新药及新的治疗方法, 基因工程药物比如疫苗、解旋-引物酶抑制剂、趋化因子受体等实验研究为病毒性角膜内皮炎的治疗带来希望。本文旨在对目前病毒性角膜内皮炎的相关研究作一综述。

关键词: 病毒; 角膜内皮炎; 辅助诊断技术; 治疗

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2020.12.12

Research status of virus-related corneal endotheliitis

Yan-Ling Li, Wang-Ming Su, Xiao-Hui He

Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Longyan City, Longyan 364000, Fujian Province, China

Correspondence to: Yan-Ling Li. Department of Ophthalmology, the Second Hospital of Longyan City, Longyan 364000, Fujian Province, China. 765941290@qq.com

Received: 2020-03-12 Accepted: 2020-10-30

Abstract

• The virus-related corneal endotheliitis has diverse inducement, complex etiology, unclear pathogenesis, diverse clinical manifestations. There is no unified classification at present. Auxiliary diagnosis technology is improving constantly, loop-mediated isothermal amplification and all kinds of PCR have a certain auxiliary role in the diagnosis of this disease. But the diagnosis also mainly relies on history and clinical manifestation in clinic. Anti-viral drug and glucocorticoid are the main treatment. Virus-related corneal endotheliitis has high recurrence rate, so there is an urgent need to research new drugs and new treatment. Experiment researches of genetic engineering drugs, such as vaccines, unwinding-primers

enzyme inhibitors, and chemokine receptors, bring hope to the treatment of virus-related corneal endotheliitis. The purpose of this article is to review the related research of virus-related corneal endotheliitis.

• KEYWORDS: virus; corneal endotheliitis; auxiliary diagnostic technique; treatment

Citation: Li YL, Su WM, He XH. Research status of virus-related corneal endotheliitis. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2020; 20(12): 2074-2078

0 引言

病毒性角膜内皮炎是一种发生于角膜内皮的急性非化脓性炎症, 以特征性的基质水肿, 而无基质浸润及新生血管, 仅出现于基质水肿区的角膜后沉着物 (keratic precipitates, KP) 为特征, 常伴小梁网炎、虹膜睫状体炎, 其临床表现复杂多样, 临床误诊率高。1982年首次报道2例以来, 病毒性角膜内皮炎逐渐受到人们的重视, 国内外均有越来越多的报道。现将其研究现状作一概述。

1 病毒性角膜内皮炎的诱因和病因及发病机制

1.1 病毒性角膜内皮炎的诱因 Shimomura^[1]通过一项研究发现压力尤其春夏季时、缺乏睡眠、肩部僵硬不适、身体的疲劳是诱发单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus, HSV) 激活的关键因素, 此外还包括暴露于紫外线辐射、月经期、发烧、滥用糖皮质激素和外伤^[2], 国外一些研究证明单纯疱疹病毒性角膜炎 (herpes simplex keratitis, HSK) 的发生率在老年人更高^[3-4], 故认为年龄可能也是发生病毒性角膜内皮炎的一个危险因素。

1.2 病毒性角膜内皮炎的病因 1985年, Robin等^[5]首次在进展性角膜内皮炎患者的房水中分离出 HSV, 并使用免疫荧光技术在前房细胞中检测到了 HSV-1 型抗原。2002年 Madhavan等^[6]从1例双眼角膜内皮炎患者房水中分离出水疱样病毒。有学者^[7-9]在 2009、2010、2011 年利用实时 PCR 检测出水痘带状疱疹病毒 (varicella zoster virus, VZV)、人类疱疹病毒-7 (human herpes virus-7, HHV-7)、人类疱疹病毒-8 (human herpes virus-8, HHV-8), 病毒性角膜内皮炎可由多种病毒引起, 而 HSV-1 是最常见的致病病毒。

1.3 病毒性角膜内皮炎的发病机制 病毒性角膜内皮炎的发病机制存在两大学说: 病毒感染学说和免疫炎症学说。相继在患者房水中检测出 HSV-1、水疱样病毒、流行性腺炎病毒、巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV)、VZV、HHV-7、HHV-8 的 DNA, 至此发现病毒感染可能是病毒性角膜内皮炎的重要发病机制。2002年 Zheng等^[10]通过在兔的角膜上成功建立了 HSV 角膜内皮炎的模型, 也揭示了 HSV-1 感染角膜内皮至少是角膜内皮炎的一个病因, 前房相关性免疫偏离 (anterior chamber-associated immune deviation, ACAID) 在病毒性角膜内皮炎中扮演一个

关键性的角色。ACAID 指眼源性抗原信号通过眼局部的抗原递呈细胞经血到达脾脏时,选择性地激活调节性 T 细胞抑制抗原特异性的迟发型超敏反应和补体结合性抗体的发生发展,保留抗原特异性致敏的细胞毒 T 淋巴细胞反应。而一些体外试验证明了 TOLL 样受体-9 引起的分子反应和调节性 T 细胞在病毒性角膜内皮炎中也发挥重要作用^[11-12]。目前主流观点认为病毒性角膜内皮炎是由病毒感染和病毒诱发的迟发型超敏反应共同作用的结果^[13-14]。

2 病毒性角膜内皮炎的临床表现及分类

2.1 病毒性角膜内皮炎的临床表现 病毒性角膜内皮炎表现为视力显著下降,结膜睫状充血或混合性充血,可有角膜上皮小水泡,角膜基质呈局限性或弥漫性水肿,而无基质浸润及新生血管,KP 呈尘状、灰白色,脂状或色素样,呈特征性分布,仅出现于水肿区,后弹力层皱褶,部分患者前房闪辉,伴发小梁膜炎时可有眼压升高,但常低于 40mmHg,反复发作导致角膜内皮失代偿时可发生角膜大泡。由于临床表现复杂多样,常被误诊为急性闭角型青光眼、虹膜睫状体炎、青光眼睫状体炎综合征、免疫性基质型角膜炎以及内眼手术特别是白内障手术后的内皮损伤。

2.2 病毒性角膜内皮炎的分类 国内外关于病毒性角膜内皮炎的分类多种多样,目前较统一的分类是根据 KP 的分布情况将其分为盘状型、弥漫型及线状型三类^[15]。线状型临床上较少见,其内皮细胞快速大量丢失,是最严重的类型,其 KP 类似角膜内皮排斥线,呈线状排列,向心性发展,KP 和角膜缘之间有基质和上皮水肿,KP 线内外角膜水肿边界清晰,线状型角膜内皮炎可单独发生于穿透性角膜移植术后或白内障术后,引起的病原体通常有 HSV 和 CMV。当 KP 呈钱币样排列时是 CMV 角膜内皮炎的特征性改变。盘状型是最常见的类型,角膜中央或旁中央呈圆形或盘状基质水肿,边界清晰,明显划分出感染区和非感染区,水肿区有大量 KP,引起的病原体通常有 HSV 和 VZV,角膜内皮细胞丢失不明显。弥漫型相对较少见,通常出现于流行性腮腺炎病毒全身感染时,角膜弥漫性水肿,KP 也弥漫性分布,当角膜内皮细胞密度下降到一定程度时,角膜水肿也在几周内消失,此型机制尚不明确,可能是病毒血症时病毒进入前房有关^[16]。

3 病毒性角膜内皮炎的辅助诊断技术

3.1 病毒分离 病毒分离法曾为诊断病毒感染的“金标准”,但检出率较低,花费时间长,其对本标运输、细胞培养及实验室设备要求较高,而且当病毒处于潜伏期,未进行复制时,可造成假阴性的结果。在临床上无法推广,只能在有条件的医院或实验室开展。

3.2 角膜内皮镜检查 病毒性角膜内皮炎时角膜内皮细胞表现为体积普遍增大、数目减少、大小不等、细胞边界不清、六边形细胞比例减少、细胞呈多形性、形态不规则^[17-18]。陈凯等^[19]通过对各型角膜内皮炎药物治疗前后内皮细胞的观察发现盘状型、线状型、弥漫型内皮细胞损伤程度不同,需要药物治疗的时间、恢复时间不同,弥漫型内皮细胞损伤最为严重,需要恢复的时间最长。

角膜内皮镜检查可观察内皮细胞形态改变,可判断内皮损伤严重程度,以及观察治疗前后病情恢复情况,但是缺乏特异性,多种疾病有共同表现,因此无法明确病因,只能作为一种辅助检查方法。

3.3 活体共聚焦显微镜 病毒性角膜内皮炎活体角膜共

聚焦显微镜下 (*in vivo* confocal microscope, IVCN) 表现为病变区角膜上皮细胞肿胀,细胞间出现大小不一的空泡,上皮下神经纤维丛密度下降,纤维变细,基质层可见树突状的朗格汉斯细胞聚集,基质细胞肿胀,活化,初发者基质内无炎症细胞浸润,无瘢痕,而病情迁延者基质层可见炎症细胞浸润甚至瘢痕形成,内皮细胞不同程度肿胀,失去多边形结构,边界模糊,核增大,细胞间隙增宽,出现形态各异的 KP。内皮炎时角膜各层均发生变化。经过治疗后角膜上皮细胞可恢复正常,上皮下神经纤维丛密度仍较低,基质层朗格汉斯细胞密度下降但仍比健康高,仍表现为树突样,角膜基质细胞肿胀减轻,炎症细胞减少,内皮细胞形态逐渐恢复正常,KP 吸收后内皮细胞覆盖原来缺损区域^[20-22]。Hillenaar 等^[23]也观察到类似表现,其还发现经过 1~3wk 的治疗,内皮细胞肿胀、边界不清、炎症细胞浸润等体征均可以消失,但是内皮细胞数却每年都在下降,以每年 10.3% 的速度在下降,内皮细胞发生了不可逆的反应。

跟裂隙灯的 40 倍的分辨率比起来,IVCM 的 500 倍的分辨率可以观察到裂隙灯无法观察到的细胞形态改变,比如细胞间间隙扩大,内皮层炎症细胞浸润,细胞边界不清,点状空洞,内皮缺失等,其可以早期发现疾病,通过细胞水平的观察,为临床探讨,治疗及转归提供形态学依据,观察治疗效果,通过检测形态学改变,把握临床治疗时间。共聚焦显微镜检查对于 HSK 的诊断无特异性,在临床上仅作辅助检查。

3.4 环媒恒温扩增法 环媒恒温扩增法 (loop-mediated isothermal amplification, LAMP) 由 Notomi 于 2000 年研发,是一种新式的恒温核酸扩增方法,与病毒培养相比, LAMP 的敏感性较高;与 RT-PCR 相比, LAMP 的敏感性较低。

3.5 间接免疫荧光法 间接免疫荧光法 (indirect immunofluorescent technique, IIF) 是组织化学和免疫学方法结合而成的一种比较灵敏的检测方法,主要借助显微镜检查来观察抗原-抗体反应。国内外均有学者利用此技术检测出病毒性角膜炎中的病毒, Kaufman 等^[24]利用 IIF 与病毒分离两种方法来检测病毒性角膜炎患者中的病毒,检测结果相符,证明了 IIF 检测病毒的可行性。王怡等^[25]利用间接免疫荧光技术在角膜内皮炎的患者房水及小梁组织中检测出了 HSV-1 病毒。

3.6 PCR、RT-PCR、巢式 PCR、多重 PCR PCR 是基于 DNA 的复制原理在体外对病毒 DNA 进行扩增,通过技术改进,又产生了 RT-PCR、巢式 PCR、多重 PCR。多重 PCR 可早期、快速检测出多种病原体,敏感性高,其最小检出量为 100fg DNA,相当于几十个拷贝的 HSV 或十几个真菌。但是多重 PCR 设计引物较困难,目前运用最广泛的病原学检测技术是 RT-PCR,张爱雪等^[26]证明了 RT-PCR 技术的高敏感性、高特异性和高精确性,其在疾病诊断、预后监测等方面有着广泛的应用前景。Inoue 等^[27]利用实时 PCR 在角膜内皮炎中检测出 HSV、CMV、VZV、HHV-7 及 HHV-8。其还利用 RT-PCR 检测出了在治疗前和治疗后的 HSK 病毒 DNA 拷贝数的变化由此发现治疗是否有效,而且还发现了阿昔洛韦耐药病毒株。因此在临床上运用抗病毒药物无效时可用此法检测,来判断是否耐药,从而及时更换治疗方案。PCR 检查还对潜伏在角膜组织中的病毒的检出具有较高的灵敏度^[28]。

IIF/PCR 及其改进技术用于病毒角膜内皮炎中检测病毒具有高敏感性、高特异性,但其设备昂贵、需要专业技术,价格较高,在临床上运用具有一定限制性,故主要用于实验室研究。目前对于病毒性角膜内皮炎的诊断还主要依靠临床观察。

4 病毒性角膜内皮炎的治疗

4.1 临床主要治疗方法 根据病毒性角膜内皮炎的发病机制,目前国内外较统一的观点是抗病毒治疗和糖皮质激素联合运用,在临床上,联合用药疗效确切^[18,28-30]。国内外专家均认为抗病毒为治疗的第一要素,只有在足量抗病毒的前提下联合应用适量激素才可迅速控制病情^[31-32]。

抗病毒药物中阿昔洛韦(acyclovir, ACV)是最早应用于临床,抗病毒疗效最好的药物之一。而 ACV 对正常细胞毒性小,特异性高。目前,ACV 仍为抗单纯疱疹病毒首选药物,静脉滴注时常采用阿昔洛韦。伐昔洛韦是阿昔洛韦的前体物质,可在小肠迅速转化为阿昔洛韦,生物利用度是后者的5倍,许多实验也证明口服伐昔洛韦比口服阿昔洛韦安全性有效性更强^[33]。故口服抗病毒药物时常用伐昔洛韦。更昔洛韦(Ganciclovir, GCV)是 ACV 的一个同族体,出于安全性、有效性、耐受性考虑,0.15%更昔洛韦凝胶现在认为是局部抗病毒药物的一线用药,局部运用更昔洛韦凝胶或滴眼液在角膜和前房能达到有效治疗剂量^[34]。

关于病毒性角膜内皮炎治疗中运用激素的问题,洪晶^[35]认为中重度病毒性角膜内皮炎可局部使用糖皮质激素,重度盘状型、弥漫型及所有线状型需全身运用,在药物治疗过程中,研究发现对内皮炎患者延期应用糖皮质激素会加重角膜内皮细胞的丢失。因此,早期应用皮质类固醇激素可减少内皮细胞的丢失,及时控制病情发展。邓世靖等^[20]通过共聚焦显微镜观察到角膜内皮炎时内皮细胞间有形态各异的炎症细胞的聚集和浸润,初发或病程较短的病例,基质层未见炎症细胞浸润,经及时治疗,角膜可无明显瘢痕形成;但反复发作,或病情迁延的患者,炎症可波及角膜基质,至基质内出现多量炎症细胞浸润,可见瘢痕形成,临床上表现为内皮型和基质型的混合类型。因此早期迅速控制炎症至关重要。

史伟云^[31]推荐阿昔洛韦静脉滴注7~10d后改口服抗病毒药3mo以上,局部抗病毒药至少1mo,应逐渐减量至停药,糖皮质激素在炎症消退后应停药,一般不超过4wk。洪晶等^[29]则认为激素应使用1mo以上,线性角膜内皮炎激素类药物使用时间不能少于3mo,但两者均推荐在炎症反应控制后还要使用一段时间的维持剂量药物。Basak等^[36]推荐口服及局部抗病毒药物1a或更长时间对预防复发是有用的。

4.2 其他治疗方法及研究现状

4.2.1 其他抗病毒药物 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^[37]。

4.2.2 前房和玻璃体腔注射抗病毒药物 Choi等^[38]成功利用前房 GCV 注射来治疗严重 CMV 内皮炎的患者,第一个证明了 GCV 前房注射治疗病毒性角膜内皮炎是可靠的、安全的。同时其发现 GCV 对角膜内皮细胞的毒性作用具有浓度依赖性,当 GCV 浓度大于5mg/mL时,细胞密

度下降,抑制了细胞增殖,而当浓度小于0.5mg/mL则不会降低内皮细胞密度,是安全、可靠的。前房注射抗病毒药物比全身用药副作用较少,对于有严重药物副作用的病毒性角膜内皮炎的患者,此方法也是一个很好的选择。利用玻璃体腔注射也被证明能有效治疗 CMV 角膜内皮炎的患者^[39]。相对于玻璃体腔注射,前房注射可能更有优势,其药物可迅速抵达角膜内皮发挥作用。

4.2.3 基因治疗 在美国,每年有59万的新发病例,其中25%~42%的患者初次发病1~2a间又复发。Young等^[40]报道341初次感染HSV者1、5、10、20a复发率分别为27%、50%、57%、63%,有复发史者复发率则更高。HSK的复发除了因HSV-1的再活体外,还可能重新感染了新亚型HSV, Remeijer等^[41]发现三分之一的复发疾病是角膜二次感染了HSV-1的新亚型,其中有63%的亚型是相同的。有HSK复发病史的血清阳性个体可能具有CC IL28B基因型。这种基因型可能与感染控制不完全以及三叉神经节第一神经支上周期性病毒脱落更为频繁有关,临床上表现为复发性疱疹性角膜炎。复发性HSV-1感染的临床表现似乎受IL28B基因型多态性的影响^[42]。此外HSV-1对治疗药物(多为阿昔洛韦)产生耐药也可能是引发HSV-1再次感染的原因之一。阿昔洛韦为抗病毒的一线药物,而临床及实验室不断发现对阿昔洛韦耐药的病例^[43]。患有HSK比患有HSV-1相关的其他疾病相比对ACV耐药更高^[44-45],报告显示,阿昔洛韦在角膜的耐药性高达6%^[46],耐药的病毒性角膜炎在其病毒潜伏期过后再次被激活时仍然耐药^[47]。全身抗病毒药物耐药性高,局部耐药较全身用药小,但局部用药的眼表停留时间短,导致局部用药效果差, Koganti等^[45]研究了一种新方法,将阿昔洛韦通过碳基药物传递系统也就是药物封装碳(drug-encapsulated carbon, DECON),可以增加局部阿昔洛韦的疗效。DECON是一种无毒黏合剂。它装载大量的药物并运送到角结膜,以一种持续的方式附着在黏膜表面,使其成为传统给药的一种新选择。

目前的治疗药物大多是作用在抑制病毒DNA聚合酶,对于耐药的HSV感染,目前的抗病毒二线药物有膦甲酸钠和西多福韦,但药物毒性大,临床很少用。长期口服阿昔洛韦及类似物等可预防复发,但其并不能根除潜伏感染的病毒^[48]。这就需要开发新药,来阻止复发和耐药,从而更好地预防和治疗病毒性角膜内皮炎。

4.2.3.1 疫苗 我国朱明昭等^[49]构建、制备I型单纯疱疹病毒糖蛋白D重组质粒DNA疫苗,免疫小鼠后,产生了特异性抗体,发现HSV-IgD重组质粒DNA有可能作为HSV-1的DNA疫苗。刘晓娟等^[50]研究了白介素2(IL-2)cDNA协同HSV-1gD核酸疫苗免疫对机体体液免疫和细胞免疫应答的影响,证明IL-2作为一种新型的免疫调节因子基因佐剂在抗HSV-1感染免疫中具有良好的应用前景。

Bettahi等^[51]用自身辅助的糖蛋白D脂肽免疫小鼠,可以预防小鼠病毒性角膜炎的发生,接种疫苗的小鼠的泪液中病毒的滴度减少,但HSV-1 CD4 T细胞增殖和细胞因子却增加了。Schrimpf等^[52]通过敲除感染细胞蛋白(infected cell protein 8, ICP8)基因、病毒宿主关闭蛋白增强了疫苗的效能,降低角膜炎的发生率。在小鼠的试验中学者证明了CJ83193可作为有效地防止HSV-1感染的疫苗^[53]。Lu等^[54]证明了CJ9-gD可以让UL9基因缺失,编

码额外的 gD 基因,感染后高表达 gD,相对于 CJ83193 可以产生更多的抗 HSV-1 的特定中和抗体,防止野生型 HSV-1 病毒株感染,而且它免疫的小鼠产生更强的 T 细胞反应,阻止了 80% 的野生型病毒的潜伏感染。

4.2.3.2 抗体 2013 年,Koganti 等^[45]开发了一种人源化单克隆抗体,命名为 mAb hu2c,是一种病毒糖蛋白 gB 的抗体。mAb hu2c 被证明能够有效中和 HSV-1 的野生型和耐药株,它阻断了病毒在细胞间的传播。

4.2.3.3 解旋-引物酶抑制剂 解旋-引物酶对于病毒复制是必不可少的,解旋-引物酶抑制剂是以包含了 UL5、UL8 和 UL52 的解旋-引物酶复合体为靶点,在动物模型上证实了其可有效控制病毒 HSV 感染^[55],这给病毒性角膜炎的治疗带来希望。

4.2.3.4 趋化因子受体 传统的药物治疗都是针对病毒酶的,所有可用药物控制的病毒蛋白和相关小分子不多,是有限的,而这些起直接作用的药物的主要使用缺点是耐药性的出现^[56-57]。这就使人们去发展宿主导向分子^[58],Shimomura^[1]通过在小鼠 HSK 模型上使用了 8 种趋化因子,发现这些趋化因子可以打开 HSV 的包膜,证明了其可以抑制 HSV 的感染。近年来基础及药物研究正在往病毒-宿主相互作用的网络中的蛋白为靶点的方向发展,FDA 批准了一个成功的抗病毒药物是马拉韦罗,是 CCR5 趋化因子受体,用来治疗 HIV 感染^[59]。相信近来比较热门的 VH protein-protein interactions (PPIs) 的研究会对探索宿主导向药物提供新方向。

4.2.3.5 其它方法 BX795 是一种著名的 PDK1 抑制剂,其能抑制下游许多其他激酶包括 TBK1、B 激酶和 IκB 激酶 (IKK)。与目前许多治疗眼部 HSV-1 感染的方法不同,它不是核苷类似物。相反,BX795 可以抑制 Akt 在 Ser473 位点的磷酸化并阻止其下游真核生物翻译起始因子 4e 结合蛋白 1 的过磷酸化 (4E-BP1)。Akt 信号通路的激活随后 mTORC1 的激活被证明可以增加病毒蛋白的合成,因此抑制该途径是抑制细胞内病毒活动的有效途径^[45]。

目前基因治疗还只是在动物模型上,分为以炎症介质为靶点的基因治疗和以病毒基因为靶点的基因治疗,但在不久的将来相信在人身上可以实现,更好地治疗和预防病毒性角膜炎。

5 展望

对于病毒性角膜炎发病机制,未来有望能更清楚地了解,实验室病原学检测技术的提高若能在临床上广泛推广,则可避免延误诊断,耐药病毒株的出现及高复发率,急需研究新药,基因工程药物的研究目前尚处于实验室研究阶段,在不久的将来有望在临床上推广,从而给更多病毒性角膜炎患者带去曙光。

参考文献

- Shimomura Y. Herpes simplex virus latency, reactivation, and a new antiviral therapy for herpetic keratitis. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 2008;112(3):247-264, 265
- Tabbara KF, Al Balushi N. Topical ganciclovir in the treatment of acute herpetic keratitis. *Clin Ophthalmol* 2010;4(1):905-912
- Butler TK, Spencer NA, Chan CC, et al. Infective keratitis in older patients: a 4 year review, 1998-2002. *Br J Ophthalmol* 2005;89(5):591-596
- van der Meulen IJ, van Rooij J, Nieuwendaal CP, et al. Age-related

risk factors, culture outcomes, and prognosis in patients admitted with infectious keratitis to two Dutch tertiary referral centers. *Cornea* 2008;27(5):539-544

5 Robin JB, Steigner JB, Kaufman HE. Progressive herpetic corneal endotheliitis. *Am J Ophthalmol* 1985;100(2):336-337

6 Madhavan HN, Goldsmith CS, Rao SK, et al. Isolation of a vesicular virus belonging to the family rhabdoviridae from the aqueous humor of a patient with bilateral corneal endotheliitis. *Cornea* 2002;21(3):333-335

7 Kandori M, Inoue T, Takamatsu F, et al. Two cases of varicella zoster virus keratitis with atypical extensive pseudodendrites. *Jpn J Ophthalmol* 2009;53(5):548-549

8 Inoue T, Kandori M, Takamatsu F, et al. Corneal endotheliitis with quantitative polymerase chain reaction positive for human herpesvirus 7. *Arch Ophthalmol* 2010;128(4):502-503

9 Inoue T, Takamatsu F, Kubota A, et al. Human herpesvirus 8 in corneal endotheliitis resulting in graft failure after penetrating keratoplasty refractory to allograft rejection therapy. *Arch Ophthalmol* 2011;129(12):1629-1630

10 Zheng X, Ohashi Y. Understanding corneal endotheliitis: an animal model approach. *Int Ophthalmol Clin* 2002;42(1):151-156

11 Takeda S, Miyazaki D, Sasaki S, et al. Roles played by toll-like receptor-9 in corneal endothelial cells after herpes simplex virus type 1 infection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(9):6729-6736

12 Miyazaki D, Haruki T, Takeda S, et al. Herpes simplex virus type 1-induced transcriptional networks of corneal endothelial cells indicate antigen presentation function. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(7):4282-4293

13 Kaye S, Choudhary A. Herpes simplex keratitis. *Prog Retin Eye Res* 2006;25(4):355-380

14 俞莹, 缪晚虹. 单纯疱疹病毒性角膜炎发病机制的研究进展. *中华实验眼科杂志* 2013;31(2):201-203

15 Holland EJ, Schwartz GS. Classification of herpes simplex virus keratitis. *Cornea* 1999;18(2):144-154

16 Suzuki T, Ohashi Y. Corneal endotheliitis. *Semin Ophthalmol* 2008;23(4):235-240

17 赵林, 孙洪臣. 角膜内皮炎的角膜内皮细胞形态改变. *眼科新进展* 2007;27(2):138-139

18 杜婧, 田芳, 刘建国, 等. 综合治疗病毒性角膜炎内皮炎的临床效果和形态学分析. *国际眼科杂志* 2018;18(3):528-531

19 陈凯, 张玉光, 韩旭光, 等. 角膜内皮炎药物治疗后内皮细胞的观察. *山东大学耳鼻喉眼学报* 2013;27(6):82-84

20 邓世靖, 李炜炜, 侯文博, 等. 角膜内皮炎的激光共聚焦显微镜活体观察. *中华眼科杂志* 2012;48(1):9-15

21 张佳男, 王海昆. 病毒性角膜炎角膜共聚焦显微镜的临床观察. *中华医学杂志* 2017;97(30):2384-2386

22 赵波, 邓应平. 活体共聚焦显微镜在单纯疱疹病毒性角膜炎中的应用. *中华实验眼科杂志* 2018;33(5):474-477

23 Hillenaar T, Weenen C, Wubbels RJ, et al. Endothelial involvement in herpes simplex virus keratitis: an *in vivo* confocal microscopy study. *Ophthalmology* 2009;116(11):2077-2086

24 Kaufman HE, Haw WH. Ganciclovir ophthalmic gel 0.15%: safety and efficacy of a new treatment for herpes simplex keratitis. *Curr Eye Res* 2012;37(7):654-660

25 王怡, 孙洪臣. 间接免疫荧光技术检测角膜内皮炎房水及小梁组织中的单纯疱疹病毒. *中国实用眼科杂志* 2003;21(11):820-824

26 张爱雪, 孙旭光, 王智群, 等. 疱疹病毒性角膜炎患者泪液病毒学检测及临床特征. *眼科* 2015;24(2):123-127

27 Inoue T, Kawashima R, Suzuki T, et al. Real-time polymerase chain reaction for diagnosing acyclovir-resistant herpetic keratitis based on changes in viral DNA copy number before and after treatment. *Arch*

Ophthalmol 2012;130(11):1462-1464

28 张凯,高胡进,肖立萍.单纯疱疹病毒性角膜炎感染的临床诊断及治疗.中华医院感染学杂志 2015;25(7):1640-1641

29 洪晶,顾绍峰,韩靖颐,等.单纯疱疹病毒性角膜内皮炎的诊治探讨.中国实用眼科杂志 2008;26(5):477-480

30 代艳.单纯疱疹病毒性角膜炎内皮型的诊治.国际眼科杂志 2013;13(3):565-566

31 史伟云.重视单纯疱疹病毒性角膜炎内皮型的诊治.中华眼科杂志 2011;47(1):4-6

32 Labetoulle M, Colin J. Current concepts in the treatment of herpetic keratitis. *J Fr Ophthalmol* 2012;35(4):292-307

33 Basak SK, Basak S. Recurrence of herpes simplex virus endotheliitis in a Descemet membrane endothelial keratoplasty graft: mimicking fungal interface infection. *BMJ Case Rep* 2019;12(5):e229441

34 Koizumi N, Miyazaki D, Inoue T, et al. The effect of topical application of 0.15% ganciclovir gel on cytomegalovirus corneal endotheliitis. *Br J Ophthalmol* 2017;101(2):114-119

35 洪晶.病毒性角膜内皮炎的诊治探讨.眼科 2010;19(3):158-160

36 Basak SK, Basak S. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty in Irreversible Corneal Edema Due to Herpes Simplex Virus Endotheliitis. *Cornea* 2020;39(1):8-12

37 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

38 Choi WS, Koh JW, Chung TY, et al. Cytotoxicity of ganciclovir on cultured human corneal endothelial cells. *Antivir Ther* 2013;18(6):813-820

39 Yu T, Peng RM, Xiao GG, et al. Clinical Evaluation of Intravitreal Injection of Ganciclovir in Refractory Corneal Endotheliitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2020;28(2):270-280

40 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. *Arch Ophthalmol* 2010;128(9):1178-1183

41 Remeijer L, Maertzdorf J, Buitenwerf J, et al. Corneal herpes simplex virus type 1 superinfection in patients with recrudescing herpetic keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(2):358-363

42 Borivoje S, Svetlana S, Milan HM, et al. IL28B Genetic Variations in Patients with Recurrent Herpes Simplex Keratitis. *Medicina (Kaunas)* 2019;55(10):642

43 Choong K, Walker NJ, Apel AJ, et al. Aciclovir-resistant herpes keratitis. *Clin Exp Ophthalmol* 2010;38(3):309-313

44 Rui D, Rory D, Albert DME, et al. Acyclovir-Resistant Corneal HSV-1 Isolates from Patients with Herpetic Keratitis. *J Infect Dis* 2008;198(5):659-663

45 Koganti R, Yadavalli T, Shukla D. Current and Emerging Therapies for Ocular Herpes Simplex Virus Type - 1 Infections. *Microorganisms*

2019;7(10):429

46 Piret J, Boivin G. Resistance of herpes simplex viruses to nucleoside analogues: mechanisms, prevalence, and management. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55(2):459-472

47 Duan R, de Vries RD, van Dun JM, et al. Acyclovir susceptibility and genetic characteristics of sequential herpes simplex virus type 1 corneal isolates from patients with recurrent herpetic keratitis. *J Infect Dis* 2009;200(9):1402-1414

48 Le Cleach L, Trinquart L, Do G, et al. Oral antiviral therapy for prevention of genital herpes outbreaks in immunocompetent and nonpregnant patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;8:CD009036

49 朱明昭,刘宏伟,刘晓娟,等.单纯疱疹病毒 I 型糖蛋白 D 核酸疫苗的构建及初步研究.中国医学科学院学报 2002;24(1):67-70

50 刘晓娟,朱明昭,宋国兴,等.白介素 2 基因佐剂协同单纯疱疹病毒 1 型糖蛋白 D 核酸疫苗免疫诱导的特异性免疫应答.中国医学科学院学报 2005;27(1):67-72

51 Bettahi I, Nesburn AB, Yoon S, et al. Protective immunity against ocular herpes infection and disease induced by highly immunogenic self-adjuncting glycoprotein D lipopeptide vaccines. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(10):4643-4653

52 Schrimpf JE, Tu EM, Wang H, et al. B7 costimulation molecules encoded by replication - defective, vhs - deficient HSV - 1 improve vaccine-induced protection against corneal disease. *PLoS One* 2011;6(8):e22772

53 Augustinova H, Hoeller D, Yao F. The dominant - negative herpes simplex virus type 1 (HSV - 1) recombinant CJ83193 can serve as an effective vaccine against wild - type HSV - 1 infection in mice. *J Virol* 2004;78(11):5756-5765

54 Lu Z, Brans R, Akhrameyeva NV, et al. High-level expression of glycoprotein D by a dominant - negative HSV - 1 virus augments its efficacy as a vaccine against HSV - 1 infection. *J Invest Dermatol* 2009;129(5):1174-1184

55 Frick DN. Helicases as antiviral drug targets. *Drug News Perspect* 2003;16(6):355-362

56 Kieffer TL, George S. Resistance to hepatitis C virus protease inhibitors. *Curr Opin Virol* 2014;8:16-21

57 Pennings PS. HIV Drug Resistance: Problems and Perspectives. *Infect Dis Rep* 2013;5(Suppl 1):e5

58 de Chasse B, Meyniel-Schicklin L, Aublin-Gex A, et al. New horizons for antiviral drug discovery from virus-host protein interaction networks. *Curr Opin Virol* 2012;2(5):606-613

59 Dorr P, Westby M, Dobbs S, et al. Maraviroc (UK-427, 857), a potent, orally bioavailable, and selective small-molecule inhibitor of chemokine receptor CCR5 with broad-spectrum anti-human immunodeficiency virus type 1 activity. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49(11):4721-4732