

单纯疱疹病毒 I 型在三叉神经节潜伏复发机制的研究进展

董亚慧¹, 赵格², 周庆军³

引用:董亚慧,赵格,周庆军.单纯疱疹病毒 I 型在三叉神经节潜伏复发机制的研究进展.国际眼科杂志 2023;23(5):787-790

作者单位:¹(250200)中国山东省济南市,济南明水眼科医院;
²(266032)中国山东省青岛市,中国动物卫生与流行病学中心;
³(266071)中国山东省青岛市,山东第一医科大学(山东省医学科学院)山东省眼科研究所 山东第一医科大学附属青岛眼科医院 山东省眼科学重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地

作者简介:董亚慧,硕士,主治医师,研究方向:角膜屈光手术与角膜病。

通讯作者:周庆军,研究员,博士研究生导师,山东第一医科大学附属青岛眼科医院副院长,山东省眼科学重点实验室常务副主任,研究方向:角膜病. qjzhou2000@126.com

收稿日期:2022-06-20 修回日期:2023-03-31

摘要

单纯疱疹病毒 I 型(HSV-1)感染引起的单纯疱疹病毒性角膜炎(HSK)是全球性的致盲性眼病。病毒在眼表发生原发感染后,转运并终生潜伏在三叉神经节内,反复复发引起角膜病变。在对 HSV 潜伏机制方面的研究过程中,人们逐渐认识到病毒自身和宿主反应两方面共同调控了病毒的潜伏过程。近年来,嗜神经病毒的侵袭、免疫、潜伏复发等各方面的分子机制研究取得大量研究成果,为 HSK 的防治提供了新思路。本文将主要对 HSV-1 角膜初发感染后在三叉神经节内潜伏分子机制方面的研究进展进行介绍,并对目前 HSK 的基础研究和临床治疗存在的问题进行探讨。

关键词:单纯疱疹病毒;潜伏;分子机制;三叉神经节

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.5.14

Research progress on the mechanisms of the latency and recurrence of herpes simplex virus type I in trigeminal ganglion

Ya-Hui Dong¹, Ge Zhao², Qing-Jun Zhou³

¹Jinan Mingshui Eye Hospital, Jinan 250200, Shandong Province, China; ²China Animal Health and Epidemiology Center, Qingdao 266032, Shandong Province, China; ³Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences; Shandong Eye Institute; Qingdao Eye Hospital of Shandong First Medical University; State Key Laboratory Cultivation Base, Shandong Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Correspondence to: Qing-Jun Zhou. Shandong First Medical University & Shandong Academy of Medical Sciences; Shandong Eye Institute; Qingdao Eye Hospital of Shandong First Medical University; State Key Laboratory Cultivation Base, Shandong Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, Qingdao 266071, Shandong Province, China. qjzhou2000@126.com

Received:2022-06-20 Accepted:2023-03-31

Abstract

• Herpes simplex keratitis (HSK), caused by the infection of herpes simplex virus type I (HSV-1) in cornea, is a global blinding corneal disease. After the primary infection in ocular surface, HSV-1 is transported into trigeminal ganglion and establishes the life-lasting latency, and it results in recurrent keratopathy. In the process of studying the latent mechanism of HSV, it has been gradually recognized that both the virus itself and the host response regulate the latent process of HSV. In recent years, a large number of research results have been obtained on the molecular mechanisms of invasion, immunity, latency and recurrence of neurotropic viruses, which provide new ideas for the prevention and treatment of HSK. In the present review, the recent progress of HSV latency mechanism in trigeminal ganglion after the primary infection in corneal surface was introduced, and the unsolved basic and clinical problems in HSK were discussed.

• KEYWORDS: herpes simplex virus; latency; molecular mechanisms; trigeminal ganglion

Citation: Dong YH, Zhao G, Zhou QJ. Research progress on the mechanisms of the latency and recurrence of herpes simplex virus type I in trigeminal ganglion. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(5):787-790

0 引言

单纯疱疹病毒 I 型(herpes simplex virus type I, HSV-1)感染所致的单纯疱疹病毒性角膜炎(herpes simplex keratitis, HSK)是一种全球性的严重致盲性眼病。HSV-1 在角膜初发感染后被转运至三叉神经节(trigeminal ganglion, TG)进入潜伏状态,在宿主免疫能力下降等因素的影响下,潜伏的 HSV-1 会再次活化,并转运至原发感染部位,引起 HSK 的复发^[1],临床主要表现为角膜知觉减退、新生血管和瘢痕化,最终需行角膜移植复明。根据统计,虽然 92% 的正常人泪液中可以检测到 HSV-1 的 DNA^[2],但只有 28%~32% 的患者会出现复发的症状^[3],在我国人群中 HSK 的患病率为 11/10000^[4]。同时,

HSV-1 初发感染症状较轻,甚至无明显症状,临床上最常见的是复发性 HSK。因此,阐明 HSV-1 在三叉神经节内潜伏复发的分子机制对于 HSK 的临床防治十分重要。

1 HSV-1 感染潜伏的基本过程

HSV-1 是一种典型的嗜神经病毒。目前的研究发现:角膜上皮细胞表达一系列介导 HSV-1 感染的蛋白,如 Nectin 1, HVEM (herpes virus entry mediator), PILR- α (paired immunoglobulin-like type 2 receptor- α)^[5-6], 病毒感染后在角膜上皮细胞内完成其复制组装过程,而后扩散至角膜上皮层中的三叉神经节末梢,并沿三叉神经节轴突反向转运至神经元胞体,在胞体中病毒基因组整合到宿主细胞核中,并通过宿主的调控机制转录,最终导致大量复制或者建立潜伏。研究表明,通过神经元轴突逆行转运感染胞体的途径容易建立潜伏,而直接感染胞体或树突则更易导致病毒的大量复制^[7-8]。HSK 初发感染后潜伏的建立,是由病毒自身的调控以及神经元胞体的特殊结构所导致的宿主反应共同影响的^[1]。在三叉神经节细胞中,病毒裂解相关的基因表达受到明显抑制,其部分 DNA 序列整合到宿主细胞基因组中,只表达潜伏相关转录体 (latency-associated transcripts, LAT),最终完成 HSV-1 在三叉神经节细胞中的潜伏。

2 HSV-1 在三叉神经节潜伏的调控机制

虽然早在 1973 年即已证实 HSV-1 在角膜感染后转运至三叉神经节内潜伏^[9],但又经过 10 余年的探索,研究者才逐渐发现 HSV-1 病毒自身和宿主反应都参与并维持着其在三叉神经节内潜伏的调控。

2.1 病毒的调控

2.1.1 抑制病毒增殖性基因的表达 人受 HSV 原发感染后,HSV 常在感觉神经节中终身潜伏,有时也能在迷走神经、肾上腺组织和脑中检出。病毒的 DNA 以游离环状附加体 (episome) 形式存在。潜伏状态下只有很少的病毒基因表达。研究表明,病毒进入神经元的位置可影响病毒增殖性基因的表达,从而对感染结果有相当大的影响^[7]。一些病毒相关的调节因子,例如病毒的细胞溶解启动蛋白 VP16,在轴突中的运输相当低效,这样就能通过抑制增殖性基因的高效表达来促进潜伏。实验发现,轴突途径感染所导致的潜伏,可被胞体途径的二次感染破坏,二次感染的病原体使用的是可释放 VP16 的病毒或是具有类似刺激作用的复合物。VP16 蛋白的缺乏可降低几种早期毒力基因 (immediate-early gene) 的表达,其中包括 ICP0——一种重要的病毒基因表达调控因子,可拮抗宿主的抑制因子,且在潜伏模型的复发中也起到重要作用^[10]。以上结果强调了神经元在结构上的独特性质,并警示我们包括 HSV-1 在内的神经元营养性病毒可以利用这种特性作为自己的感染优势。

2.1.2 潜伏相关的 miRNA miRNA 是近代生物医学研究中最重要发现,它可为宿主基因提供一种特殊水平的转录后调控。多数疱疹病毒在潜伏期间可以产生一定数量的 miRNA,进而可以影响病毒和宿主细胞的基因表达。宿主中同样有 miRNA,病毒感染可对其表达产生重要影响^[11]。目前主要的研究发现,HSV-1 的 LAT 与其在三叉神经节内潜伏的建立和维持密切相关。LAT 类似于哺乳动物细胞中稳定的长链非编码 RNA (lncRNA),是一种 miRNA 前体,可编码产生几种不同的 miRNA (包括 miR-H2-3p, miR-H6, miR-I 等),从而可以在宿主细胞中抑制

几种关键的毒力因子 ICP0、ICP4 和 ICP34.5 的表达^[11-13]。LAT 在潜伏期的 TG 内大量转录,主要通过下调病毒增殖性基因的表达和抵抗宿主神经元凋亡两种机制维持 HSV-1 在 TG 内的潜伏^[14]。与 LAT 相关的 miRNA (如 miR-LAT 和 miR-I) 可以通过影响 TGF- β 信号通路介导的抗凋亡功能,控制 HSV-1 毒力因子 ICP34.5 表达的开关功能来调控 HSV-1 在神经细胞中的潜伏和复发^[12,15]。

2.1.3 抵抗宿主神经元坏死 尽管维持 HSV 潜伏感染和控制复发频率的病毒基因编码机制依然不甚明确,但已有重要证据显示 HSV-1 中的 LAT 有助于维持病毒的长期潜伏,并能保护感染的宿主神经元免于坏死的命运。在小型动物模型中,缺乏 LAT 基因的突变病毒依然能够复制和建立潜伏,然而却更易复发。小鼠的体内实验表明,在三叉神经节中,LAT 可以影响潜伏感染的神经元的绝对数量,但在颈背根神经节中就没有这种影响,说明这与感染途径或神经元类型也有一定关系^[16]。神经元特异的 miR-138 能够通过抑制病毒即早期毒力基因 ICP0 的表达和促进神经细胞的存活^[17]来维持潜伏。

2.1.4 表观遗传调控 一些机制与毒力基因沉默相关,其中包括表观遗传调控 (甲基化和乙酰化)。研究者用小鼠三叉神经节细胞为感染模型进行染色质免疫沉淀 (ChIP) 实验,来探究潜伏期 HSV-1 的游离环状附加体基因组成。结果显示与毒力调节基因相关的组蛋白带有抑制性染色质的典型标记,即组蛋白 3 的第 9 位赖氨酸 (H3K9me2/3) 和第 27 位赖氨酸 (H3K27me3) 的二甲基化或三甲基化,还有降低的组蛋白乙酰化程度^[18-19]。

2.2 宿主的调控

2.2.1 潜伏的维持 在潜伏的建立过程中,HSV-1 基因组可能通过宿主 DNA 的修复机制,被核心组蛋白以规律排列的核小体形式组装起来。包括转录活跃区在内的所有基因组关键区域,都被证明与核小体有关,该结构被认为在 HSV-1 潜伏过程的基因表达中起重要作用^[20]。所有潜伏的疱疹病毒采用相似的排列形式,这也许就是它们不整合基因组却可以长期在细胞中维持的原因^[21]。

早在一个世纪之前,人们在治疗三叉神经痛时,发现相应神经的创伤可引发其所支配的皮肤区域的疱疹^[22],这最终使人们意识到,感觉神经节是复发病毒的来源之处,且复发极有可能是因为神经失去了营养支持。许多细胞能够分泌神经生长因子 (NGF)——一种首次被认可的神经营养因子。NGF 可以结合膜相关受体,即由 NGF 依赖性感觉和交感神经元所表达的酪氨酸激酶 TrkA。TrkA 受体被 NGF 激活后产生信号,持续激活的 PI3-K/Akt 信号通路,对维持 HSV-1 在神经细胞内的潜伏起关键作用 (图 1),此通路一方面可通过活化下游具有调节蛋白翻译功能的 mTOR (mammalian target of rapamycin) 因子来抑制 HSV-1 即早期毒力因子的表达,另一方面可诱导抗细胞凋亡的功能促进细胞的存活,从而促进并维持 HSV-1 在神经细胞内潜伏^[23-24]。Du 等^[25-26]利用潜伏感染的小鼠 TG 器官培养模型证明抗 NGF 的抗体可以促进 HSV-1 的活化,地塞米松诱导的凋亡可以加速潜伏的 HSV-1 的再活化,这些都进一步验证了 NGF 激活的通路和抗凋亡功能在 HSV-1 神经细胞内潜伏的重要性。

2.2.2 免疫的调控 自体免疫系统在病毒性角膜炎中发挥重要作用,新近发现该系统的表面活性蛋白 (SP) A 和 D 在角膜炎中至关重要,SP 通过对病毒配体的高度亲和,抑

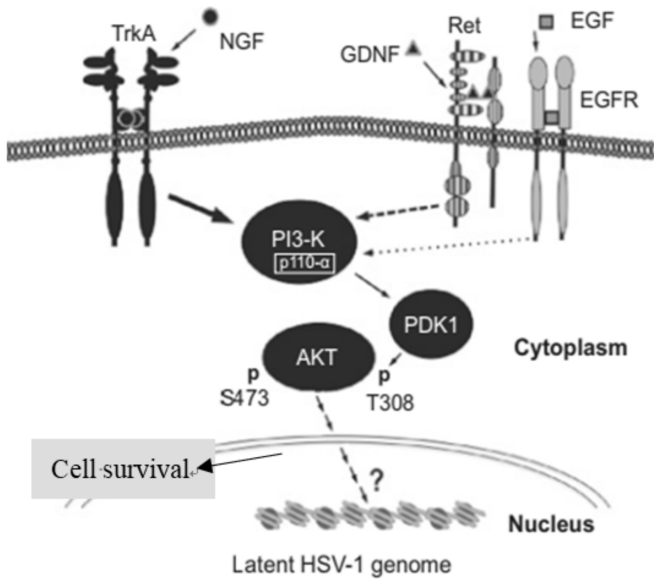


图1 PI3-K/Akt 信号通路对 HSV-1 神经细胞内潜伏的调控作用示意图^[23]。

制其黏附宿主细胞,进一步促进吞噬病毒,同时 SP 调节免疫细胞功能,保持组织在病毒感染早期的非炎症状态,而在病原菌入侵、机体呈应激状态时,SP-A 和 SP-D 又能促进炎症反应,帮助杀灭病原菌^[27]。

HSV 原发感染后 1wk 左右,血中出现中和抗体 (IgM、IgG、IgA)。严重的原发感染或经常性复发感染,抗体水平有所增高。这些抗体不能阻止重复感染或潜伏病毒的复发,但可以减轻疾病的严重程度。目前研究发现,宿主免疫相关因子、miRNA 以及细胞存活相关信号通路参与调控了 HSV-1 在宿主体内的潜伏,T 细胞对维持 HSV-1 潜伏状态、抑制复发起关键作用。当机体受到多种因素如紫外照射 (太阳暴晒)、压力等刺激下的应激反应、性激素改变、免疫抑制剂的应用、糖皮质激素、角膜移植创伤等^[28-33],潜伏的病毒被激活,病毒沿感觉神经纤维轴索下行至神经末梢,感染上皮细胞。上述条件同样可以导致机体免疫失调,产生复杂的免疫反应,多项动物实验研究表明,应激状态会减少驻三叉神经节 CD8⁺T 细胞和记忆细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTLm) 产生,并促进生成 IL-6 等促炎细胞因子,导致 HSV-1 从潜伏期重新激活^[34]。潜伏感染的神经元也可以刺激免疫系统产生病毒特异性的 CD8⁺T 细胞,对三叉神经节中的 CD8⁺T 细胞进行处理,使其功能增强或数量增加,可抑制复发^[35]。而最新研究表明,反复激活 HSV-1 可诱导局部 HSV 特异性 CD8⁺T 细胞的衰竭,而阻断有症状患者宿主细胞的衰竭通路可恢复 CD8⁺T 细胞的保护作用从而减少复发^[36],特定的病毒抗原决定簇的表达会产生具有免疫优势的 CD8⁺T 细胞群^[37],这些成果为 HSK 的免疫靶向治疗提供了新方向。

3 存在的问题

3.1 潜伏的基因组是否都可被重新激活 大多数潜伏感染的神经元都包含多种游离环状附加体,但不能确定是否这些附加体拥有一致的染色质结构,也不明确它们是否有相同的复发能力。有关感染的进一步研究显示,只有有限数量的整合基因组可以在单个细胞中成功复制,但引起这种限制的原因尚未可知^[38]。

3.2 防治手段缺乏 目前,针对 HSV 的不同治疗方式正在

逐渐更新,局部和全身治疗都有其特定的治疗模式,有时联合疗法也可以提高其治疗效果^[39]。还寄希望于疫苗,特别是新型疫苗,如亚单位疫苗、重组活疫苗、DNA 疫苗的研究。在对动物模型进行紫外照射复发前,用毒力减弱的 HSV-1 病毒作为疫苗产生免疫反应,角膜发病程度减轻,小鼠体内抗 HSV 抗体增多^[40]。在抗 HSV 的药物中,临床常用的有无环鸟苷 (acyclovir)、丙氧鸟苷 (ganciclovir)、阿糖腺苷 (vidarabine) 等。这些药物均能抑制病毒 DNA 合成,使病毒在细胞内不能复制,从而减轻临床症状,但不能彻底防止潜伏感染的复发。随着研究的不断深入,人们对病毒的潜伏复发机制了解的愈加透彻,Pegg 等^[41]深入研究了嗜神经病毒的神经侵袭机制,并证明这些嗜神经病毒可以将首轮感染的上皮细胞中的驱动蛋白同化为一种必需的前病毒结构组件,继而继续感染神经元细胞,这一原理可能同样存在于其他病毒系列的感染机制,还有近年来对疱疹病毒从潜伏期重新激活后从感觉神经元到上皮组织的顺行转运能力的研究也在不断完善^[42],这些成果都为抗击病毒复发提供了新思路。

4 小结

反复发生的角膜炎反应可导致角膜敏感度降低、瘢痕形成甚至失明,但类似的症状并不能作为诊断复发性 HSK 的确凿证据。HSK 患者在发现初发感染症状时,应及时请医生确诊,积极治疗。目前,HSK 主要依据裂隙灯检查中的临床表现来诊断,但文献中并没有确切的诊断标准。其他检查如聚合酶链式反应测定、酶联免疫吸附测定,免疫荧光抗体和病毒培养可提供更明确的诊断,但也有一定的局限性。目前的治疗方式仅能在减少角膜损伤和控制病毒扩散两方面展开,尚未有治愈措施^[43]。

参考文献

- 1 Zhu SY, Viejo - Borbolla A. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence* 2021;12(1):2670-2702
- 2 Kaufman HE, Azcuy AM, Varnell ED, et al. HSV-1 DNA in tears and saliva of normal adults. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(1):241-247
- 3 Wilhelmus KR, Beck RW, Moke PS, et al. Acyclovir for the prevention of recurrent herpes simplex virus eye disease. *N Engl J Med* 1998;339(5):300-306
- 4 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 感染性角膜病临床诊疗专家共识 (2011 年). *中华眼科杂志* 2012;48(1):72-75
- 5 Shah A, Farooq AV, Tiwari V, et al. HSV-1 infection of human corneal epithelial cells: receptor-mediated entry and trends of re-infection. *Mol Vis* 2010;16:2476-2486
- 6 Shukla SD, Valyi - Nagy T. Host molecules that promote pathophysiology of ocular herpes. *Front Microbiol* 2022;13:818658
- 7 Wilson AC, Mohr I. A cultured affair; HSV latency and reactivation in neurons. *Trends Microbiol* 2012;20(12):604-611
- 8 Hafezi W, Lorentzen EU, Eing BR, et al. Entry of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) into the distal axons of trigeminal neurons favors the onset of nonproductive, silent infection. *PLoS Pathog* 2012;8(5):e1002679
- 9 Kelly JM, Swoveland P, Baringer JR. Latent herpes simplex virus infection in human trigeminal ganglia. *Trans Am Neurol Assoc* 1973;4(4):168-170
- 10 Liu X, Acharya D, Krawczyk E, et al. Herpesvirus-mediated stabilization of ICP0 expression neutralizes restriction by TRIM23. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021;118(51):e2113060118
- 11 Umbach JL, Kramer MF, Jurak I, et al. microRNAs expressed by

herpes simplex virus 1 during latent infection regulate viral mRNAs. *Nature* 2008;454(7205):780-783

12 Tang S, Bertke AS, Patel A, et al. An acutely and latently expressed herpes simplex virus 2 viral microRNA inhibits expression of ICP34.5, a viral neurovirulence factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105(31):10931-10936

13 Kopp F, Mendell JT. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs. *Cell* 2018;172(3):393-407

14 Watson ZL, Washington SD, Phelan DM, et al. *In vivo* knockdown of the herpes simplex virus 1 latency-associated transcript reduces reactivation from latency. *J Virol* 2018;92(16):e00812-e00818

15 Gupta A, Gartner JJ, Sethupathy P, et al. Anti-apoptotic function of a microRNA encoded by the HSV-1 latency-associated transcript. *Nature* 2006;442(7098):82-85

16 Nicoll MP, Proença JT, Connor V, et al. Influence of herpes simplex virus 1 latency-associated transcripts on the establishment and maintenance of latency in the ROSA26R reporter mouse model. *J Virol* 2012;86(16):8848-8858

17 Sun B, Yang X, Hou F, et al. Regulation of host and virus genes by neuronal miR-138 favours herpes simplex virus 1 latency. *Nat Microbiol* 2021;6(5):682-696

18 Cliffe AR, Garber DA, Knipe DM. Transcription of the herpes simplex virus latency-associated transcript promotes the formation of facultative heterochromatin on lytic promoters. *J Virol* 2009;83(16):8182-8190

19 Gao C, Chen L, Tang SB, et al. The epigenetic landscapes of histone modifications on HSV-1 genome in human THP-1 cells. *Antivir Res* 2020;176:104730

20 Deshmane SL, Fraser NW. During latency, Herpes simplex virus type 1 DNA is associated with nucleosomes in a chromatin structure. *J Virol* 1989;63(2):943-947

21 Thompson RL, Sawtell NM. The herpes simplex virus type 1 latency associated transcript locus is required for the maintenance of reactivation competent latent infections. *J Neurovirol* 2011;17(6):552-558

22 Cushing H. The surgical aspects of major neuralgia of the trigeminal nerve. *J Am Med Assoc* 1905;44:773-779

23 Camarena V, Kobayashi M, Kim JY, et al. Nature and duration of growth factor signaling through receptor tyrosine kinases regulates HSV-1 latency in neurons. *Cell Host Microbe* 2010;8(4):320-330

24 Kobayashi M, Wilson AC, Chao MV, et al. Control of viral latency in neurons by axonal mTOR signaling and the 4E-BP translation repressor. *Genes Dev* 2012;26(14):1527-1532

25 Du T, Zhou GY, Roizman B. HSV-1 gene expression from reactivated ganglia is disordered and concurrent with suppression of latency-associated transcript and miRNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(46):18820-18824

26 Du T, Zhou GY, Roizman B. Induction of apoptosis accelerates reactivation of latent HSV-1 in ganglionic organ cultures and replication in cell cultures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109(36):14616-14621

27 万琪, 张志勇, 杨硕. 表面活性蛋白在病毒性角膜炎中的作用. 国

际眼科杂志 2021;21(12):2072-2075

28 Blyth WA, Hill TJ, Field HJ, et al. Reactivation of herpes simplex virus infection by ultraviolet light and possible involvement of prostaglandins. *J Gen Virol* 1976;33(3):547-550

29 Openshaw H, Asher LV, Wohlenberg C, et al. Acute and latent infection of sensory ganglia with herpes simplex virus; immune control and virus reactivation. *J Gen Virol* 1979;44(1):205-215

30 Sainz B, Loutsch JM, Marquart ME, et al. Stress-associated immunomodulation and herpes simplex virus infections. *Med Hypotheses* 2001;56(3):348-356

31 Vicetti Miguel RD, Sheridan BS, Harvey SA, et al. 17-beta estradiol promotion of herpes simplex virus type 1 reactivation is estrogen receptor dependent. *J Virol* 2010;84(1):565-572

32 Nicholls SM, Shimeld C, Easty DL, et al. Recurrent herpes simplex after corneal transplantation in rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37(2):425-435

33 Harrison KS, Zhu LQ, Thunuguntla P, et al. Antagonizing the glucocorticoid receptor impairs explant-induced reactivation in mice latently infected with herpes simplex virus 1. *J Virol* 2019;93(13):e00418-e00419

34 Freeman ML, Sheridan BS, Bonneau RH, et al. Psychological stress compromises CD8+ T cell control of latent herpes simplex virus type 1 infections. *J Immunol* 2007;179(1):322-328

35 Khanna KM, Bonneau RH, Kinchington PR, et al. Herpes simplex virus-specific memory CD8+ T cells are selectively activated and retained in latently infected sensory ganglia. *Immunity* 2003;18(5):593-603

36 Coulon PG, Roy S, Prakash S, et al. Upregulation of multiple CD8+ T cell exhaustion pathways is associated with recurrent ocular Herpes simplex virus type 1 infection. *J Immunol* 2020;205(2):454-468

37 Treat BR, Bidula SM, St Leger AJ, et al. Herpes Simplex Virus 1-Specific CD8+ T Cell Priming and Latent Ganglionic Retention Are Shaped by Viral Epitope Promoter Kinetics. *J Virol* 2020;94(5):e01193-19

38 Kobiler O, Lipman Y, Therkelsen K, et al. Herpes viruses carrying a Brainbow cassette reveal replication and expression of limited numbers of incoming genomes. *Nat Commun* 2010;1:146

39 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

40 Keadle TL, Laycock KA, Morris JL, et al. Therapeutic vaccination with vhs(-) herpes simplex virus reduces the severity of recurrent herpetic stromal keratitis in mice. *J Gen Virol* 2002;83(Pt 10):2361-2365

41 Pegg CE, Zaichick SV, Bomba-Warczak E, et al. Herpes viruses assimilate kinesin to produce motorized viral particles. *Nature* 2021;599(7886):662-666

42 DuRaine G, Johnson DC. Anterograde transport of α -herpes viruses in neuronal axons. *Virology* 2021;559:65-73

43 Azher TN, Yin XT, Tajfirooz D, et al. Herpes simplex keratitis: challenges in diagnosis and clinical management. *Clin Ophthalmol* 2017;11:185-191