

巨噬细胞在真菌性角膜溃疡中的作用

罗艳婷^{1,2}, 杨珺铭², 罗雅琪², 吴瞬亮², 彭梓轩², 何宏², 钟兴武²

引用: 罗艳婷, 杨珺铭, 罗雅琪, 等. 巨噬细胞在真菌性角膜溃疡中的作用. 国际眼科杂志, 2024, 24(10): 1582-1587.

基金项目: 海南省卫生健康科技创新联合项目 (No. WSJK2024MS128); 海南省临床医学研究中心项目 (No. LCYX202406); 海南省重点研发项目 (No. ZDYF2022SHFZ326)

作者单位: ¹(570102) 中国海南省海口市, 海南医科大学第一附属医院眼科; ²(570311) 中国海南省海口市, 中山大学中山眼科中心海南眼科医院 海南省眼科医院 海南省眼科学重点实验室

作者简介: 罗艳婷, 海南医科大学在读硕士研究生, 研究方向: 眼表与角膜病、眼视光学。

通讯作者: 何宏, 博士, 主任医师, 研究方向: 眼表与角膜病、白内障. 32841542@qq.com; 钟兴武, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 研究方向: 眼表与角膜病、眼视光学. zhongxwu@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2024-02-27 修回日期: 2024-08-22

摘要

真菌性角膜溃疡是严重的致盲性眼病。真菌感染的发生主要取决于真菌毒力和宿主免疫防御因素之间的相互作用。角膜被认为是免疫特权器官, 驻留的巨噬细胞是主要的免疫细胞, 其极化响应微环境表现出的异质性。感染早期, 巨噬细胞向 M1 极化, 促进炎症发生, 利于真菌清除但产生细胞风暴加重免疫损伤; 感染后期, 巨噬细胞向 M2 极化, 可抑制炎症反应、促进组织修复但可能产生免疫抑制甚至免疫逃逸, 不利于病原清除。促炎反应与抗炎反应之间的平衡是保持角膜功能完整性的关键。目前抗真菌药物治疗有限, 因此除了抗真菌治疗外, 寻找一种针对免疫反应引发的炎症反应的治疗靶点尤为重要。文章综述了真菌性角膜溃疡中巨噬细胞亚群的表型特征和功能, 需要更深入的研究来探索巨噬细胞极化的具体机制及其对真菌性角膜溃疡的影响, 基于巨噬细胞的表型和功能对巨噬细胞分化进行靶向调节可能是未来治疗和管理真菌性角膜溃疡的有效方法。

关键词: 巨噬细胞; 极化; M1/M2; 真菌性角膜溃疡; 免疫; 中性粒细胞

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2024.10.11

Role of macrophages in fungal keratitis

Luo Yanting^{1,2}, Yang Junming², Luo Yaqi², Wu Shunliang², Peng Zixuan², He Hong², Zhong Xingwu²

Foundation items: Hainan Provincial Health Science and Technology Innovation Joint Project (No. WSJK2024MS128); Hainan Province Clinical Medical Center Project (No. LCYX202406); Key

Research and Development Project of Hainan Province (No. ZDYF2022SHFZ326)

¹Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570102, Hainan Province, China; ²Hainan Eye Hospital, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University; Hainan Eye Hospital; Hainan Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, Haikou 570311, Hainan Province, China

Correspondence to: He Hong. Hainan Eye Hospital, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University; Hainan Eye Hospital; Hainan Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, Haikou 570311, Hainan Province, China. 32841542@qq.com; Zhong Xingwu. Hainan Eye Hospital, Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University; Hainan Eye Hospital; Hainan Provincial Key Laboratory of Ophthalmology, Haikou 570311, Hainan Province, China. zhongxwu@mail.sysu.edu.cn

Received: 2024-02-27 Accepted: 2024-08-22

Abstract

• Fungal keratitis is a serious blinding eye disease. The development of fungal infections depends primarily on the interaction of fungal virulence with host immune defense factors. The cornea is considered an immune-privileged organ, and resident macrophages are the main immune cells that respond to the heterogeneity exhibited by the microenvironment with their polarization. In the early stage of infection, macrophages polarize towards M1, which promotes inflammation and facilitates fungal clearance but produces a cellular storm that exacerbates immune damage; in the late stage of infection, macrophages polarize towards M2, which suppresses the inflammatory response and facilitates tissue repair, but may be immunosuppressed or even immune escape to the detriment of pathogen clearance. The balance between pro-inflammatory and anti-inflammatory responses is key to maintaining the functional integrity of the cornea. Current antifungal drug therapy is limited, so it is particularly important to find a therapeutic target for the inflammatory response triggered by the immune response in addition to antifungal therapy. In this review, the functional and phenotypic characterization of macrophage subsets associated with fungal keratitis was reviewed, more in-depth research is needed to explore the specific mechanisms by which macrophage polarization and their impact on fungal keratitis. Targeted regulation of macrophage differentiation based on their phenotype and function could be an effective approach to treat and manage fungal keratitis in the future.

• KEYWORDS: macrophages; polarization; M1/M2; fungal keratitis; immune; neutrophils

Citation: Luo YT, Yang JM, Luo YQ, et al. Role of macrophages in fungal keratitis. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)*, 2024,24(10): 1582-1587.

0 引言

真菌性角膜炎是一种严重的致盲性眼病。近年来,真菌性角膜溃疡的发病率呈逐年上升趋势^[1]。镰刀菌、曲霉菌和念珠菌是最常见的致病菌,主要危险因素是与农业相关的植物外伤史^[2]。抗真菌药物及手术治疗是目前真菌性角膜溃疡的主要治疗手段^[3]。即使接受了准确的诊断和适当的治疗,真菌性角膜溃疡的预后也并不乐观,抗真菌治疗后出现的死真菌丝可能会引发强烈的炎症细胞反应,从而引起基质溶解,约20%的患者可能出现角膜穿孔。Zhong等^[4]认为这可能是由于过度炎症反应引起的继发性角膜损伤。所以,控制炎症细胞反应对于治疗真菌性角膜溃疡至关重要。

1 真菌性角膜溃疡中巨噬细胞参与的抗真菌免疫机制

巨噬细胞识别、摄取和杀死真菌病原体的效率主要取决于真菌的细胞壁组成和形态以及各种真菌免疫逃避机制的成功或失败。真菌细胞壁主要由 α -葡聚糖和 β -葡聚糖、几丁质、半乳糖甘露聚糖及其他多糖组成,其细胞壁上含有多种病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMP),能够被模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)所识别,进而启动免疫应答反应^[5]。不同吞噬细胞能够对不同的真菌形态表现出不同的反应:巨噬细胞能够迅速吞噬分生孢子,抑制菌丝发芽;而中性粒细胞反应主要取决于菌丝的存在,它会强烈地向菌丝迁移并黏附在菌丝上,而不吞噬分生孢子(仅针对烟曲霉)^[6]。真菌性角膜溃疡主要的病原体可分为两类,丝状真菌如镰刀菌、曲霉菌,酵母样真菌如白色念珠菌,体外研究表明,白色念珠菌在进入巨噬细胞后就会从酵母形态转变为菌丝^[7],真菌的菌丝往往由于其长度而难以吞噬,而巨噬细胞可以通过折叠真菌的菌丝,对菌丝进行破坏,抑制其生长,并促进它们完全吞噬^[8];同为酵母菌的新型隐球菌在感染过程中不会形成菌丝,而是增大细胞形成“泰坦细胞”,其为多倍体,细胞壁和荚膜发生改变,对吞噬作用具有更强的抵抗力^[9]。另外,真菌常采用多种策略来进行免疫逃逸^[10],包括:(1)隐藏细胞壁PAMP避免识别;(2)通过分泌特异性调节机制的分子来控制免疫反应^[11];(3)如果不能完全避免或充分控制,真菌病原体的最后手段就是共同生存或破坏防御。

2 巨噬细胞与中性粒细胞在真菌性角膜溃疡中的相互作用

2.1 协同杀菌作用 角膜对真菌感染的防御主要由先天免疫和适应性免疫介导,又称为双臂免疫,其中先天免疫系统是抵御感染等角膜损伤的第一道防线。巨噬细胞和中性粒细胞是先天免疫的重要组成部分,也是介导杀灭真菌的关键吞噬细胞,在真菌免疫中发挥着核心的作用,两者各尽其职,相互作用。巨噬细胞的功能是通过识别和杀

灭入侵的病原体、清除组织碎片以及进一步触发适应性免疫应答^[12-13]。中性粒细胞的功能主要通过脱颗粒、吞噬作用和胞外陷阱(neutrophil extracellular traps, NETs)的形成来实现,其中NETs能够直接固定和杀死病原体。有研究表明,NETs可以驱动巨噬细胞的极化,反过来,巨噬细胞还能调节NETs的形成和清除^[14]。在感染发生后,角膜上皮细胞首先分泌促炎细胞因子,将炎症细胞募集到感染部位,巨噬细胞能快速感知组织状况将局部信号翻译给中性粒细胞^[15],并吞噬大部分的分生孢子,吞噬后,溶酶体中的各种过氧化物酶可产生大量活性氧(ROS),从而迅速杀死被吞噬的病原体^[16];中性粒细胞迁移到菌丝并黏附其中继而杀死病原体,产生ROS及促炎因子并释放NETs,发挥作用后会程序性死亡被巨噬细胞清除^[17]。在整个过程中,巨噬细胞和中性粒细胞产生的ROS是杀死病原体的主要机制,还涉及促炎细胞因子的产生、以及炎症细胞的重新激活,尽管这些反应对于杀灭真菌至关重要,但也会导致角膜细胞严重损害。总的来说,巨噬细胞对于介导有效抗真菌宿主防御的第一步至关重要,而中性粒细胞是杀伤真菌的主要驱动力,对于消除真菌入侵不可或缺。

2.2 协同促修复作用 巨噬细胞表型可塑性是修复过程的关键,中性粒细胞与巨噬细胞的相互作用可以促进组织修复。当炎症开始消退时,巨噬细胞通过胞葬作用对凋亡细胞进行清除。在此过程中,凋亡的中性粒细胞可促进巨噬细胞由促炎表型转换为抗炎表型^[18]。另外,中性粒细胞分泌的可溶性分子以及释放微泡也可以直接影响该过程,以进一步支持炎症的消退并促进组织修复的增殖阶段。抗炎症巨噬细胞释放抗炎因子IL-4、IL-10和基质金属蛋白酶(MMP),有助于组织重塑^[19]。目前关于中性粒细胞-巨噬细胞的相互作用对组织修复的贡献的大部分研究是来自于不同实验室模型,不同的炎症水平及炎症的恢复程度不一,因此对中性粒细胞-巨噬细胞串扰如何影响组织修复的理解可能存在偏差。

3 角膜组织驻留的巨噬细胞

组织驻留巨噬细胞存在于眼睛的各种组织中,包括结膜、角膜、睫状体、葡萄膜和视网膜^[20-21]。研究表明,小鼠角膜巨噬细胞群主要分布在角膜基质的前部和后部,大多数CD45+骨髓来源的细胞表达巨噬细胞标记物,包括F4/80、CD11b+、CD68等^[22],角膜基质中的所有CD45+细胞也是CD11b+细胞,这就说明角膜基质中的白细胞均来自髓系,并且大约50%的髓系细胞是F4/80+巨噬细胞^[23]。Liu等^[24]的研究系统将胚胎期小鼠及成年小鼠进行角膜免疫荧光染色和切片、铺片以及流式分析发现CD45+CD11b+F4/80+CD64巨噬细胞持续存在角膜中,进一步将角膜巨噬细胞分为CCR2+和CCR2-两个亚群,并推断出不同的巨噬细胞亚群在不同的胚胎时间点迁移到角膜中,具有不同的表型和维持机制。Wieghofer等^[20]首次通过scRNA-seq在小鼠角膜中鉴定出巨噬细胞亚群,并揭示了角膜巨噬细胞命运图谱,其特征是双重起源,最初是来自胚胎卵黄囊;但在成年小鼠中,其不断被来自造血系统的单核细胞取代,另外还通过流式分析鉴定出CD45+CD11b+F4/80+CD64角膜巨噬细胞亚型。这与之前Liu

等^[24] 研究结果基本一致。总之,越来越多的研究证明,在免疫豁免的角膜中也存在巨噬细胞。

4 巨噬细胞极化

巨噬细胞 M1/M2 极化概念是在 2000 年代初提出的^[25]。存在于不同组织中的巨噬细胞能够根据其环境的变化而极化,根据刺激类型、表面分子和分泌的细胞因子模式以及功能特性,定义了极化巨噬细胞的两个主要子集:经典激活的巨噬细胞(M1)和替代激活的巨噬细胞(M2)^[26-27],在 LPS 和 Th1 细胞因子(如 IFN γ 和 TNF α)的激活后,会形成 M1 巨噬细胞;在 IL-4、IL-13、IL-10 和 TGF- β 的激活下,会形成 M2 巨噬细胞^[27],而 M1 和 M2 巨噬细胞在其特定的微环境中可以相互转化。M1 型巨噬细胞通过分泌促炎性细胞因子和趋化因子,并专职呈呈抗原,参与正向免疫应答,发挥免疫监视的功能;M2 型巨噬细胞仅有较弱抗原呈呈能力,并通过分泌抑制性细胞因子 IL-10 和/或 TGF- β 等下调免疫应答,在免疫调节中发挥重要作用^[28]。Mantovani 等^[28] 认为巨噬细胞存在一系列连续的功能状态,而 M1 型和 M2 型巨噬细胞是这一连续状态的两个极端。M1 型和 M2 型巨噬细胞之间的不平衡诱导真菌性角膜溃疡的发生和发展。虽然 M1 和 M2 是目前普遍研究和应用的主要巨噬细胞表型,但巨噬细胞极化的表型并不局限于它们^[29]。在 Erbel 等^[30] 研究中发现血小板趋化因子 CXCL4 可以诱导 M4 的巨噬细胞表型,而 MMP-7 和钙结合蛋白 S100A8 的共表达是仅在 M4 巨噬细胞中发现的标记组合。Malyshev 等^[31] 提出了一个假设,巨噬细胞可能通过形成 M3 转换表型来实现 M1 和 M2 的相互转化。

5 巨噬细胞对真菌性角膜溃疡的影响

在真菌性角膜溃疡不同的病程阶段,不同巨噬细胞状态对真菌性角膜溃疡有着截然不同的影响。炎症阶段, M1 型巨噬细胞释放并募集多种促炎细胞因子,与中性粒细胞协同产生 ROS 杀灭真菌,支持宿主防御;修复阶段, M2 型巨噬细胞促血管及淋巴管生成、诱导细胞增殖、分泌胶原降解酶并促进产生新的 ECM。

5.1 M1 型巨噬细胞对真菌性角膜溃疡的杀菌作用 Hu 等^[32] 研究表明,活化的巨噬细胞可以大量杀灭真菌孢子和菌丝,增强中性粒细胞浸润和促炎细胞因子表达,但也可能引起过度的免疫反应,导致严重的角膜损伤。在烟曲霉角膜炎中,促进角膜巨噬细胞向 M1 极化,有利于消灭侵入性的烟曲霉,而减少巨噬细胞向角膜基质的浸润水平,可以防止过度的炎症反应^[33]。另外也有研究表明, M1 巨噬细胞的缺失会导致高水平的促炎细胞因子募集和更严重的感染^[34-35]。M1 巨噬细胞分泌及招募的促炎因子,是真菌性角膜溃疡早期杀菌的关键,同时也是炎症失衡的关键。简而言之,在真菌性角膜溃疡中,促炎反应与抗炎反应之间的平衡是保持角膜功能完整性的关键。

5.2 巨噬细胞对真菌性角膜溃疡新生血管及新生淋巴管的影响 角膜中的血管生成促进因子,如血管内皮生长因子(VEGF)、成纤维细胞生长因子(FGF)、血管生成抑制因子,如血管抑素、内皮抑素、色素上皮衍生因子(PEDF)之间存在平衡使角膜保持无血管特性,由于感染、创伤、炎症使血管生成因子的上调或抗血管生成因子的下调导致

血管内皮细胞出芽性增生^[36]。角膜新生血管的形成是一个血管内皮细胞释放蛋白酶、降解基底膜及角膜基质、向损伤部位迁移生长及管腔融合的过程。血管与淋巴管是免疫细胞“传入”与“传出”的通道。越来越多的研究表明,血管、淋巴管不仅仅是引流通道,而且积极参与多种生物学效应,对免疫调节和炎症反应至关重要,也是免疫治疗的相关靶点^[37]。Cursiefen 等^[38] 通过耗竭巨噬细胞发现会抑制血管和淋巴管生成,证明了巨噬细胞是角膜新生血管和淋巴管生成的关键介质^[39,23]。巨噬细胞通过产生 VEGF 和 FGF 影响血管生成级联的每个阶段,包括内皮细胞的增殖和迁移以及血管芽的形成^[40]。VEGF-A、VEGF-C 和 VEGF-D 主要由巨噬细胞通过旁分泌机制分泌,VEGF-A 通过结合 VEGFR-2 促进血管生成,VEGF-C 和 VEGF-D 主要通过结合 VEGFR-3 促进淋巴管生成^[41-42]。促血管生成方面, M1 巨噬细胞分泌的 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 VEGF-A 也被证明可以加速血管萌芽^[43]。在促淋巴管生成方面,巨噬细胞除了能分泌促进相关生成因子之外, M1 巨噬细胞还可以通过转化为淋巴内皮细胞(LECs),通过增加 LECs 中 VEGF-C 的表达来促进淋巴内皮细胞增殖来促进淋巴管生成^[44]。尽管如此, M2 巨噬细胞被证明具有更高的血管生成潜力, Jetten 等^[40] 首次证明了 M2a 和 M2c 巨噬细胞在体内和体外均可促进血管生成。另外,巨噬细胞还被证明可以介导受损血管组织的修复,其衍生的双调蛋白在恢复血管完整性过程中起着重要的作用^[45]。从目前的研究来看,对于特定巨噬细胞亚群在角膜新生血管、新生淋巴管形成过程中的作用知之甚少,根据现有的研究结果我们推断 M1 巨噬细胞启动了角膜早期血管生成,而 M2 巨噬细胞在后期维持新血管的吻合和稳定发挥重要的作用。

5.3 M2 型巨噬细胞对真菌性角膜溃疡愈合的影响 巨噬细胞和中性粒细胞之间的相互作用有助于巨噬细胞极化为不同的亚型,影响组织修复或不适当的修复(如纤维化)^[19]。M2 型巨噬细胞可分泌 TGF- β 、PDGF、IL-10 等抑炎和促纤维化因子改变微环境,还可分泌 MMP-2、9、13 以及其他蛋白酶类等成分影响 ECM 降解与重塑,参与调控组织修复和纤维化进程。在没有任何角膜损伤的情况下,基底膜(EBM)和后弹力层基底膜(DBM)能够阻止 TGF- β 和 PDGF 进入基质。然而在 EBM 和 DBM 损伤后, TGF- β 和 PDGF 进入基质并激活角质细胞,将其转化为成纤维细胞,并进一步分化为成熟肌成纤维细胞;在严重感染或损伤中, TGF- β 和 PDGF 会诱导肌成纤维细胞的形成,从而分泌过量的 ECM 成分并产生基质纤维化或瘢痕形成^[46]。ECM 是一种动态结构,在组织中不断重塑自身,以维持组织特异性结构和功能。MMPs 是与 ECM 成分、基底膜的降解、血管生成和伤口愈合有关的酶,主要由巨噬细胞分泌, MMPs 在为新细胞生长和扩增方面发挥着重要的作用,同时在重塑阶段也转化了更多的 ECM^[47]。累积的研究表明,通过局部巨噬细胞的耗竭会损害和延迟角膜中的真菌清除,并可能导致角膜溃疡的恶化甚至穿孔^[38,48]。Liu 等^[24] 研究发现,角膜巨噬细胞可分为 CCR2+ 亚群和 CCR2- 亚群,分别通过释放促炎细胞因子刺激炎症,并通过产生免疫抑制细胞因子抑制炎症反应,两者之

间协调平衡炎症反应,参与角膜的愈合。总而言之,巨噬细胞可以促血管及淋巴管生成、诱导细胞增殖、分泌重塑细胞外基质的 MMPs 以及促进伤口愈合的生长因子来修复角膜伤口。

6 巨噬细胞极化相关信号通路

巨噬细胞重编程信号通路主要有两种类型:(1)通过促炎刺激来激活转录因子(如 NF- κ B、STAT1、C/EBP α 和 IRF5) 诱导 Notch、TLR/NF- κ B (p65/p50)、PI3K/Akt2、JAK/STAT1 的 M1 极化通路;(2)通过抗炎因子激活转录因子 STAT6、GATA3、PPAR γ 诱导 PI3K/Akt1、JAK/STAT3/6 的 M2 极化通路^[29,49]。

6.1 TLR4/NF- κ B 信号通路 NF- κ B 是促炎细胞因子的关键转录因子,NF- κ B 信号通路是调控巨噬细胞极化的经典通路。当该通路失调时,可能会导致多种自身免疫性疾病和炎症性疾病的发生。巨噬细胞表面的 TLR 与 LPS 结合,通过衔接分子 MyD88 的 TLR4 信号传导导致 NF- κ B、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和 IRF3 途径的激活,并导致促炎因子的转录,控制巨噬细胞 M1 极化^[50]。

6.2 PI3K/Akt 信号通路 Akt 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶,可作为各种细胞功能的信号转导枢纽。PI3K/Akt 轴能够通过招募和激活巨噬细胞来改变炎症反应,该通路转导来自各种受体的信号,包括生长因子和细胞因子等激活后会抑制 M1 型巨噬细胞极化并促进 M2 型巨噬细胞极化^[51],对细胞迁移至关重要,其功能减弱会阻碍上皮-间充质转化(EMT)、细胞增殖和伤口愈合^[52]。

6.3 JAK/STAT 信号通路 JAK 激酶家族可以磷酸化 STATs,称为 JAK/STAT 信号通路。不同的表型表现出不同的功能特征:STAT1 是 M1 巨噬细胞极化的重要介质,而 STAT3、STAT6 激活 M2 巨噬细胞的极化^[49]。有研究表明,PPAR γ 过表达抑制 M1 相关促炎因子的分泌,而促进 M2 相关抗炎因子的分泌,这一过程被证明是通过 JAK/STAT 通路来调节巨噬细胞极化的^[53]。

总的来说,几种信号通路相互干扰,共同决定巨噬细胞极化的方向^[54]。

7 miRNA 介导巨噬细胞功能的调控

MicroRNA (miRNA)是控制巨噬细胞基因表达和功能的关键分子。miRNA 与巨噬细胞基本功能有关,包括经典的促炎激活、替代激活、代谢和先天免疫训练,可能直接促进疾病的发生发展,并为调节巨噬细胞行为提供有力的治疗靶点^[55]。研究表明 miRNA 参与调节巨噬细胞极化,影响促炎和抗炎反应的平衡。近年来,miRNA 调控巨噬细胞极化对疾病的治疗取得了重大的进展^[56]。研究表明,MiR-27a、miR-29b、miR-125a、miR-146a 和 miR-155 在 M1 巨噬细胞中显著上调,而 miR-26a 和 miR-193b 在 M2 巨噬细胞中上调^[57]。目前许多研究已经发现各种巨噬细胞类型的 miRNA 模式及其在巨噬细胞中的潜在作用,已经证明了特定的 miRNA 模拟物或抗炎药物可以控制免疫和炎症反应^[49]。miRNA 在巨噬细胞中的分子机制相对复杂,了解 miRNA 的调控增强了我们对稳态和损伤情况下病原体入侵反应期间巨噬细胞功能的理解,并有可能开发基于 miRNA 的治疗方法^[55]。但目前的研究仅局限于单独改变时会影响巨噬细胞炎症基因的表达情况,在

体内复杂的情况下,多种 miRNA 共同作用,其中的机制仍需要进一步阐明。

8 巨噬细胞靶向治疗

目前,大多数使用巨噬细胞离体极化和过继转移的临床试验处于 II 期或 III 期,目标疾病包括肝病、心肌病、骨坏死、肢体缺血、动脉疾病等^[58]。其中一项为“自体巨噬细胞治疗肝硬化的安全性”,该研究在肝病终末患者中首次以剂量递增的方式接受自体巨噬细胞输注,所有参与者白细胞分离术和巨噬细胞输注耐受性良好,无输血反应、剂量限制性毒性或巨噬细胞活化综合征,并且在 1 a 的随访时间内均不需要接受肝移植且无死亡,满足了治疗的安全性和可行性^[59]。最近一项研究表明,MEK、PPAR γ 的药物抑制剂可以有效阻断 M2 巨噬细胞极化,因此这些小分子抑制剂可能与 M2 巨噬细胞加重的疾病具有治疗相关性^[60]。衣康酸酯是一种有效的琥珀酸脱氢酶(SDH)内源性抑制剂,已被证明在抑制巨噬细胞活化和炎症方面发挥自动调节作用^[61]。最近开发的嵌合抗原受体巨噬细胞揭示了基因工程巨噬细胞用于细胞治疗的潜力^[58]。

9 总结与展望

在真菌性角膜溃疡的发生发展过程中,角膜先天免疫首先被激活,M1 巨噬细胞通过不断分泌及招募炎症因子与中性粒细胞协同杀灭真菌;随着感染的进展,M2 巨噬细胞增多,免疫应答不断增强抑制促炎反应持续状态,以避免过度的组织损伤。巨噬细胞通过核转录因子、不同信号通路、miRNA 调控等方式调节促炎和抗炎基因的表达。M1 巨噬细胞的过早抑制可能会导致炎症迁延不愈、伤口愈合延迟,而 M2 巨噬细胞的过度促进会使 ECM 过度沉积、角膜疤痕和纤维化形成等。调控巨噬细胞 M1/M2 极化可能是真菌性角膜溃疡免疫调节治疗的新方向,而目前对于炎症反应的临界点,即何时以及如何变成消退的过程,知之甚少。近年来,对于角膜中免疫细胞类型的了解逐渐增加,包括中性粒细胞、巨噬细胞、T 细胞和自然杀伤细胞(NK)等在角膜稳态、伤口修复、病原体检测和角膜反应中发挥不同的作用。有研究表明胞葬作用可调控巨噬细胞极化影响高铁环境下的眼表炎症发生^[62],另外也有研究表明调节 M1 巨噬细胞活化是治疗角膜炎和角膜新生血管的一种有前景的方法^[43],抑制 M1 巨噬细胞极化可以提高角膜移植存活率^[63]。基于巨噬细胞的表型和功能进一步探究对巨噬细胞分化进行靶向调节可能是未来治疗和管理真菌性角膜溃疡的新靶点。

参考文献

- [1] Yang RB, Wu LP, Lu XX, et al. Immunologic mechanism of fungal keratitis. *Int J Ophthalmol*, 2021,14(7):1100-1106.
- [2] Brown L, Leck AK, Gichangi M, et al. The global incidence and diagnosis of fungal keratitis. *Lancet Infect Dis*, 2021,21(3):e49-e57.
- [3] 何宏,刘红山,陈晓莲,等.海南省 81 例真菌性角膜溃疡病原学分析. *国际眼科杂志*, 2017,17(7):1330-1333.
- [4] Zhong J, Huang W, Deng Q, et al. Inhibition of TREM-1 and Dectin-1 Alleviates the Severity of Fungal Keratitis by Modulating Innate Immune Responses. *PLoS ONE*,2016,11(3):e0150114.
- [5] Erwig LP, Gow NA. Interactions of fungal pathogens with phagocytes. *Nat Rev Microbiol*, 2016,14(3):163-176.
- [6] Knox BP, Deng Q, Rood M, et al. Distinct innate immune

phagocyte responses to *Aspergillus fumigatus* conidia and hyphae in zebrafish larvae. *Eukaryot Cell*, 2014,13(10):1266-1277.

[7] Olivier FAB, Hilsenstein V, Weerasinghe H, et al. The escape of *Candida albicans* from macrophages is enabled by the fungal toxin candidalysin and two host cell death pathways. *Cell Rep*, 2022, 40(12):111374.

[8] Bain JM, Alonso MF, Childers DS, et al. Immune cells fold and damage fungal hyphae. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2021, 118(15):e2020484118.

[9] Cao C, Wang K, Wang Y, et al. Ubiquitin proteolysis of a CDK-related kinase regulates titan cell formation and virulence in the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. *Nat Commun*, 2022,13(1):6397.

[10] Pradhan A, Ma Q, de Assis LJ, et al. Anticipatory Stress Responses and Immune Evasion in Fungal Pathogens. *Trends Microbiol*, 2021,29(5):416-427.

[11] Mousa HM, Saban DR, Perez VL. The cornea IV immunology, infection, neovascularization, and surgery chapter 1: Corneal immunology. *Exp Eye Res*, 2021,205:108502.

[12] Xu Q, Zhao G, Lin J, et al. Role of Dectin-1 in the innate immune response of rat corneal epithelial cells to *Aspergillus fumigatus*. *BMC Ophthalmol*, 2015, 15:126.

[13] Fortingo N, Melnyk S, Sutton SH, et al. Innate immune system activation, inflammation and corneal wound healing. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23):14933.

[14] Fang Q, Stehr AM, Naschberger E, et al. No NETs no TIME: Crosstalk between neutrophil extracellular traps and the tumor immune microenvironment. *Front Immunol*, 2022,13:1075260.

[15] Schulz C, Petzold T, Ishikawa - Ankerhold H. Macrophage regulation of granulopoiesis and neutrophil functions. *Antioxid Redox Signal*, 2021,35(3):182-191.

[16] Long Y, Li L, Xu T, et al. Hedgehog artificial macrophage with atomic - catalytic centers to combat Drug - resistant bacteria. *Nat Commun*, 2021,12(1):6143.

[17] Kourtzelis I, Hajishengallis G, Chavakis T. Phagocytosis of apoptotic cells in resolution of inflammation. *Front Immunol*, 2020, 11:553.

[18] Gerlach BD, Ampomah PB, Yurdagul A Jr, et al. Efferocytosis induces macrophage proliferation to help resolve tissue injury. *Cell Metab*, 2021,33(12):2445-2463.e8.

[19] Bouchery T, Harris N. Neutrophil-macrophage cooperation and its impact on tissue repair. *Immunol Cell Biol*, 2019,97(3):289-298.

[20] Wieghofer P, Hagemeyer N, Sankowski R, et al. Mapping the origin and fate of myeloid cells in distinct compartments of the eye by single-cell profiling. *EMBO J*, 2021,40(6):e105123.

[21] Alam J, Yazdanpanah G, Ratnapriya R, et al. Single - cell transcriptional profiling of murine conjunctival immune cells reveals distinct populations expressing homeostatic and regulatory genes. *Mucosal Immunol*, 2022,15(4):620-628.

[22] Chinnery HR, McMenamin PG, Dando SJ. Macrophage physiology in the eye. *Pflugers Arch*, 2017,469(3-4):501-515.

[23] Hadrian K, Willenborg S, Bock F, et al. Macrophage-mediated tissue vascularization: similarities and differences between Cornea and skin. *Front Immunol*, 2021,12:667830.

[24] Liu J, Xue Y, Dong D, et al. CCR2 - and CCR2 + corneal macrophages exhibit distinct characteristics and balance inflammatory responses after epithelial abrasion. *Mucosal Immunol*, 2017, 10(5):1145-1159.

[25] Mills CD, Kincaid K, Alt JM, et al. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol*, 2000,164(12):6166-6173.

[26] Yunna C, Mengru H, Lei W, et al. Macrophage M1/M2 polarization. *Eur J Pharmacol*, 2020,877:173090.

[27] Bosco MC. Macrophage polarization: Reaching across the aisle? *J Allergy Clin Immunol*, 2019,143(4):1348-1350.

[28] Mantovani A, Sica A, Sozzani S, et al. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol*, 2004,25(12):677-686.

[29] Wang C, Ma C, Gong L, et al. Macrophage polarization and its role in liver disease. *Front Immunol*, 2021,12:803037.

[30] Erbel C, Tyka M, Helmes CM, et al. CXCL4-induced plaque macrophages can be specifically identified by co-expression of MMP7+ S100A8+ invitro and invivo. *Innate Immun*, 2015,21(3):255-265.

[31] Malyshev I, Malyshev Y. Current concept and update of the macrophage plasticity concept: intracellular mechanisms of reprogramming and M3 macrophage "switch" phenotype. *Biomed Res Int*, 2015,2015:341308.

[32] Hu J, Hu Y, Chen S, et al. Role of activated macrophages in experimental *Fusarium solani* keratitis. *Exp Eye Res*, 2014,129:57-65.

[33] Jiang N, Zhang L, Zhao G, et al. Indoleamine 2, 3-dioxygenase regulates macrophage recruitment, polarization and phagocytosis in *Aspergillus fumigatus* keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, 61(8):28.

[34] Lee DH, Jaggi U, Ghiasi H. CCR2+ migratory macrophages with M1 status are the early-responders in the cornea of HSV-1 infected mice. *PLoS One*, 2019,14(4):e0215727.

[35] Jaggi U, Matundan HH, Yu J, et al. Essential role of M1 macrophages in blocking cytokine storm and pathology associated with murine HSV-1 infection. *PLoS Pathog*, 2021,17(10):e1009999.

[36] Ellenberg D, Azar DT, Hallak JA, et al. Novel aspects of corneal angiogenic and lymphangiogenic privilege. *Prog Retin Eye Res*, 2010,29(3):208-248.

[37] Liao S, von der Weid PY. Lymphatic system; an active pathway for immune protection. *Semin Cell Dev Biol*, 2015,38:83-89.

[38] Cursiefen C, Chen L, Borges LP, et al. VEGF - A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *J Clin Invest*, 2004,113(7):1040-1050.

[39] Kiesewetter A, Cursiefen C, Eming SA, et al. Phase-specific functions of macrophages determine injury-mediated corneal hem- and lymphangiogenesis. *Sci Rep*, 2019,9(1):308.

[40] Jetten N, Verbruggen S, Gijbels MJ, et al. Anti-inflammatory M2, but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis in vivo. *Angiogenesis*, 2014,17(1):109-118.

[41] Hadrian K, Cursiefen C. The role of lymphatic vessels in corneal fluid homeostasis and wound healing. *J Ophthalmic Inflamm Infect*, 2024,14(1):4.

[42] Maruyama K, Nakazawa T, Cursiefen C, et al. The maintenance of lymphatic vessels in the cornea is dependent on the presence of macrophages. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2012,53(6):3145-3153.

[43] Yu J, Shen Y, Luo J, et al. Upadacitinib inhibits corneal inflammation and neovascularization by suppressing M1 macrophage infiltration in the corneal alkali burn model. *Int Immunopharmacol*, 2023,116:109680.

[44] Zhang Y, Zhang C, Li L, et al. Lymphangiogenesis in renal

fibrosis arises from macrophages via VEGF – C/VEGFR3 – dependent autophagy and polarization. *Cell Death Dis*, 2021,12(1):109.

[45] Minutti CM, Modak RV, MacDonald F, et al. A macrophage – pericyte axis directs tissue restoration via amphiregulin – induced transforming growth factorbeta activation. *Immunity*, 2019,50(3):645–654.e6.

[46] Kempuraj D, Mohan RR. Autophagy in extracellular matrix and wound healing modulation in the Cornea. *Biomedicines*, 2022, 10 (2):339.

[47] El Ayadi A, Jay JW, Prasai A. Current approaches targeting the wound healing phases to attenuate fibrosis and scarring. *Int J Mol Sci*, 2020,21(3):1105.

[48] Hu J, Wang Y, Xie L. Potential role of macrophages in experimental keratomycosis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009, 50 (5): 2087–2094.

[49] Wang C, Wang X, Zhang D, et al. The macrophage polarization by miRNAs and its potential role in the treatment of tumor and inflammation (Review). *Oncol Rep*, 2023,50(4):190.

[50] Dorrington MG, Fraser IDC. NF – κ B signaling in macrophages: dynamics, crosstalk, and signal integration. *Front Immunol*, 2019, 10:705.

[51] Acosta–Martinez M, Cabail MZ. The PI3K/Akt pathway in meta–inflammation. *Int J Mol Sci*, 2022,23(23):15330.

[52] Li YJ, Sun RP, Zou JR, et al. Dual roles of the AMP–activated protein kinase pathway in angiogenesis. *Cells*, 2019,8(7):752.

[53] Wang S, Cai Y, Bu R, et al. PPAR γ regulates macrophage polarization by inhibiting the JAK/STAT pathway and attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in vivo. *Cell Biochem Biophys*, 2023,81(2):349–358.

[54] Xia T, Fu S, Yang R, et al. Advances in the study of macrophage polarization in inflammatory immune skin diseases. *J Inflamm*, 2023,20 (1):33.

[55] Sprengle NT, Serezani CH, Pua HH. MicroRNAs in macrophages: regulators of activation and function. *J Immunol*, 2023, 210 (4): 359–368.

[56] Bi J, Liu J, Chen X, et al. MiR–155–5p–SOCS1/JAK1/STAT1 participates in hepatic lymphangiogenesis in liver fibrosis and cirrhosis by regulating M1 macrophage polarization. *Hum Exp Toxicol*, 2023, 42:9603271221141695.

[57] Khayati S, Dehnavi S, Sadeghi M, et al. The potential role of miRNA in regulating macrophage polarization. *Heliyon*, 2023, 9 (11):e21615.

[58] Na YR, Kim SW, Seok SH. A new era of macrophage–based cell therapy. *Exp Mol Med*, 2023,55(9):1945–1954.

[59] Moroni F, Dwyer BJ, Graham C, et al. Safety profile of autologous macrophage therapy for liver cirrhosis. *Nat Med*, 2019, 25 (10): 1560–1565.

[60] He L, Jhong JH, Chen Q, et al. Global characterization of macrophage polarization mechanisms and identification of M2 – type polarization inhibitors. *Cell Rep*, 2021,37(5):109955.

[61] Eming SA, Murray PJ, Pearce EJ. Metabolic orchestration of the wound healing response. *Cell Metab*, 2021,33(9):1726–1743.

[62] 郑景怡, 孟霞, 王智, 等. 胞葬作用调控巨噬细胞极化影响高铁环境下眼表炎症发生. *国际眼科杂志*, 2022,22(7):1085–1091.

[63] Yu J, Li P, Li Z, et al. Topical administration of 0.3% tofacitinib suppresses M1 macrophage polarization and allograft corneal rejection by blocking STAT1 activation in the rat Cornea. *Transl Vis Sci Technol*, 2022,11(3):34.