

中性粒细胞在真菌性角膜炎中的作用

杨珺铭^{1,2}, 罗艳婷², 何宏², 钟兴武²

引用:杨珺铭,罗艳婷,何宏,等. 中性粒细胞在真菌性角膜炎中的作用. 国际眼科杂志, 2025,25(2):230-234.

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

收稿日期:2024-05-15 修回日期:2024-12-19

摘要

真菌性角膜炎是一种高发的致盲性疾病,当前的治疗效果仍不理想。该疾病的发生和进展通常受到真菌毒力及宿主免疫反应的显著影响。在疾病进程中,先天性免疫反应首先被激活,其中中性粒细胞在抗真菌过程中发挥关键作用。虽然中性粒细胞在清除病原体方面具有重要功能,但其过度或异常激活可能引发组织损伤,从而加重病情。因此,探究中性粒细胞在真菌性角膜炎中的作用机制,对于优化治疗策略至关重要。文章旨在综述中性粒细胞的主要杀菌机制,包括吞噬作用、脱颗粒、中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)的形成,并探讨中性粒细胞与巨噬细胞的相互作用,以及其在真菌性角膜炎中的效应及潜在机制。对于真菌性角膜炎机制探究,有利于施行的精准干预并增强其治疗效果。

关键词:中性粒细胞;真菌性角膜炎;免疫;巨噬细胞;中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2025.2.09

Role of neutrophil in fungal keratitis

Yang Junming^{1,2}, Luo Yanting², He Hong², Zhong Xingwu²

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

Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Haikou 570311, Hainan Province, China

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

Received:2024-05-15 Accepted:2024-12-19

Abstract

• Fungal keratitis represents a significant cause of blindness, with current therapeutic approaches yielding limited success. The disease's onset and progression are primarily driven by fungal virulence factors and the host's immune response. The innate immune system is the first to respond, with neutrophils playing a pivotal role in the antifungal defense. Although neutrophils are critical for pathogen clearance, their excessive or abnormal activation can lead to tissue damage, exacerbating the disease. Thus, elucidating the mechanisms underlying neutrophil activity in fungal keratitis is crucial for refining treatment strategies. This article aims to systematically review the principal antimicrobial mechanisms employed by neutrophils, including phagocytosis, degranulation, and the formation of neutrophil extracellular traps (NETs). Furthermore, it explores the crosstalk between neutrophils and macrophages, alongside their collective impact and underlying mechanisms in the context of fungal keratitis. Exploration of the mechanisms of fungal keratitis facilitates precise intervention and enhances the efficacy of treatment.

• KEYWORDS: neutrophils; fungal keratitis; immune; macrophages; neutrophil extracellular traps(NETs)

Citation:Yang JM, Luo YT, He H, et al. Role of neutrophil in fungal keratitis. Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci), 2025,25(2):230-234.

0 引言

真菌性角膜炎是一种严重的致盲性角膜感染性疾病,主要流行于热带及亚热带地区,而海南作为中国热带及亚热带地区,真菌性感染眼病发病率高,其原因是高温的湿热环境以及农业为主的生活方式^[1]。研究表明,中国海南省及南海诸岛屿热带地区真菌性角膜炎的主要致病菌为镰刀菌属、不产孢子菌、曲霉属和茎点霉属^[2]。目前用于抗真菌性角膜炎治疗的药物主要是那他霉素、伏立康唑、两性霉素B、酮康唑、伊曲康唑和氟康唑^[3-4]。对于药物治疗欠佳的患者,一般进一步进行手术治疗,如角膜移植手

术或结膜瓣覆盖术等。而疾病的转归情况往往与病程、溃疡面积、浸润深度、前房积脓、致病菌属、居住地关系密切^[5],即使接受了积极的治疗,预后也不乐观。角膜是一个隔绝外部环境与机体的屏障,对微生物的防御由先天免疫和适应性免疫介导,先天免疫作为抵御角膜感染的第一道防线^[6],其中性粒细胞发挥重要的抗真菌作用。Leal等^[7]的研究表明中性粒细胞耗尽,小鼠的角膜在基质和前房中表现出中性粒细胞浸润的减少和真菌菌丝的显著增长。在印度南部的相关调查中也支持这一观点,真菌感染的角膜炎患者中,中性粒细胞占主导地位,巨噬细胞及T细胞数量较少,并指出了角膜感染后的中性粒细胞相关的受体的表达升高^[8]。这说明了真菌性角膜炎中,先天免疫中的中性粒细胞处于非常重要的地位。越来越多的研究表明,在真菌性角膜炎发生发展的进程中,炎症反应使得角膜中的免疫状态的平衡被打破,促成角膜炎的发展和较严重的宿主反应,因此免疫反应的调节是治疗真菌性角膜炎的主要方向与目标。

1 中性粒细胞在角膜新生血管中的迁移

在炎症中,生长因子和血管生成信号上调^[9],促使新生血管及淋巴管在角膜内生长,从而使中性粒细胞可通过角膜缘丰富的毛细血管和淋巴管迁入或迁出炎症部位^[10],并且中性粒细胞是通过多步级联反应最早到达炎症部位的细胞^[11]。该过程中内皮管腔表面的黏附因子上调,使血液中悬浮的中性粒细胞聚集在血管内皮细胞表面,并且发生黏附与滚动,随后由内皮管腔表面呈递的趋化因子刺激中性粒细胞,触发白细胞整合素的激活,使中性粒细胞牢固地黏附和停滞在内皮表面。一旦牢固附着,中性粒细胞就会变扁平并极化,在内皮腔表面爬行,找到一个允许的位点,通过内皮屏障进行迁移,最后穿过周细胞层并突破静脉基底膜,到达发炎的间质组织^[12]。

2 中性粒细胞在真菌性角膜炎中的作用

2.1 吞噬作用 中性粒细胞的吞噬作用是通过质膜内陷摄入微粒形成吞噬体,然后将吞噬体的惰性能环境转变成成为最适合降解微粒的环境从而进行杀菌^[13]。在吞噬过程中,氧化机制和非氧化机制两种杀菌机制起到协同杀灭微生物的作用。同时中性粒细胞可以分泌IL-1 β 和酸性哺乳动物几丁质酶(AMCase)起到抑制菌丝生长的作用^[14-15],并且IL-1 β 、Dectin-1、TLR4水平升高可以增加活性氧(ROS)的产生,从而促进真菌杀灭^[16-17]。氧化过程中吞噬体膜上存在NADPH氧化酶成分和离子通道,NADPH可以转移电子到吞噬体中形成超氧化物,并且在髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)氧化下形成可以形成具有直接杀菌作用的过氧化氢(H₂O₂)和次氯酸(HOCl)^[18]。当病原体与中性粒细胞接触后被激活,氧气被NADPH氧化酶复合物(NOX2)利用来生成超氧自由基(\cdot O₂⁻),大部分 \cdot O₂⁻经历歧化反应生成H₂O₂,中性粒细胞中的MPO也会利用H₂O₂生成HOCl,HOCl、H₂O₂和MPO通过中性粒细胞胞质的其他囊泡递送至吞噬体从而发挥杀灭微生物及抗真菌作用^[19]。Zhao等^[20]使用0.01%HOCl治疗大鼠烟曲霉菌角膜炎,有效减少了真菌负荷并抑制了炎症反应。但是烟曲霉菌具有一定的抗氧化能力,主要与超氧化物歧化酶(SOD)因子Yap1、Skn7相关,并且遇到ROS时会被激活,调控具有抗氧化特性的基因产物(如硫氧还蛋白、蛋白磷酸酶PhzA)表达,从而有助于抵抗

宿主的防御^[21]。另外,非氧化蛋白如弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)和凝血酶G等颗粒酶可进入吞噬体进行直接的杀菌作用^[18]。但是中性粒细胞的吞噬功能所作用的范围是有选择的,这与中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)的形成有所关联。真菌入侵机体后,吞噬作用主要针对小酵母颗粒或单个分生孢子,属于快速作用,而NETs的作用主要针对菌丝及聚集较大的分生孢子,过程较缓慢,并且两种作用之间存在竞争关系,吞噬体的形成可以隔离NE,防止NE易位至细胞核驱动NETs形成^[22]。总而言之,中性粒细胞可以感知微生物大小并对较小的微生物进行吞噬,而对于较大的则需要NETs的参与。而目前对于中性粒细胞的吞噬作用在真菌性角膜炎中的研究处于空白,由于近年来的实时成像技术的进步,如中性粒细胞的吞噬作用可通过活体显微镜^[23]、LnNPs@PG@C3纳米探针^[24]、高通量流式细胞术等技术进行表征^[25],可以对其吞噬功能的效果进行评估,区别于中性粒细胞的其他作用,因此研究中性粒细胞在真菌性角膜炎中的吞噬作用的相关研究具有一定的前景。

2.2 脱颗粒作用 脱颗粒作用是指中性粒细胞动员颗粒的过程,是颗粒存于预先形成的具有特定成分的囊泡,在受到刺激后释放^[26]。颗粒的运输是由微管招募和动员的,中性粒细胞通过表面受体被激活后,触发激酶级联Src家族激酶和蛋白信号激酶2(Pyk2)的激活,驱动微管的极化和肌动蛋白的重塑,通过使囊泡和质膜融合并释放颗粒内容物^[27]。颗粒主要由4种类型组成:初级颗粒、二级颗粒、三级颗粒以及分泌型颗粒。它们之间主要是通过每个囊泡的管腔或膜中所含的特定蛋白质来进行分类的^[28]。每一种类型的颗粒都是依次释放,分泌型颗粒在中性粒细胞周期中随时释放,它含有血浆蛋白以及Fc和补体受体^[28],可以补充细胞表面受体^[29]。初级颗粒含有最多的促炎和抗菌蛋白,如MPO、NE、防御素和氮质蛋白。MPO、NE是真菌感染期间中性粒细胞中的关键效应分子,MPO通过将H₂O₂和氯化物离子(Cl⁻)转化为HOCl进行微生物的杀灭,并且可能会对宿主组织造成损伤^[30]。NE可以通过切割细胞外基质中的蛋白质,从而通过调节NETs的形成来促进真菌杀伤^[31],但NE缺乏可导致念珠菌和曲霉菌的杀灭受到影响^[32]。防御素可以通透病原体膜并抑制细胞壁合成,从而导致靶细胞的细胞溶解,也是一种针对真菌病原体(如白色念珠菌)的抗菌化合物^[33]。二级颗粒包涵溶菌酶、前花生蛋白和乳铁蛋白等蛋白质。乳铁蛋白是一种铁结合蛋白,可通过抑制念珠菌铁吸收从而影响真菌活力,也可以抑制烟曲霉分生孢子萌发^[34],并且在酵母病原体的真菌治疗中,乳铁蛋白与两性霉素的联合使用表现出了广泛的协同作用^[35]。三级颗粒的内容物包括基质金属蛋白酶(MMPs),如金属蛋白酶9。高水平的MMP如2.9被证实与细菌、真菌等感染性角膜炎中的角膜过度破坏有关,如混浊、变薄和角膜穿孔。它可以裂解细胞外基质成分,导致胶原溶解和炎症物质的产生^[36]。

2.3 NETs NETs是中性粒细胞对病原体做出反应时释放的网状细胞外结构,这些网状结构由高度炎症性化合物组成^[37]。它分为非溶解性和溶解性NETs两种模式,非溶解性NETs指的是中性粒细胞激活后在核膜破裂和溶解的情况下快速释放染色质但中性粒细胞不因此死亡的模式,属于非氧化的过程,线粒体DNA所占的比例非常小^[38]。

溶解性 NETs 指的是中性粒细胞核膜和质膜破裂后释放核 DNA,并通常在 3-8 h 内死亡^[39]。

非溶解性 NETs 的激活可以由金黄色葡萄球菌通过补体受体和 TLR2 配体在几分钟内诱发,或者由大肠杆菌直接通过 TLR4 或间接通过 TLR4 激活的血小板诱导。可能在无须氧化剂的情况下激活肽酰基精氨酸脱亚氨酶 (PAD4),并诱导染色质解缩。然后 NE 易位到细胞核中,促进染色质进一步展开和核膜破坏,蛋白质修饰的染色质通过囊泡排出,中性粒细胞可以保持活力以发挥吞噬作用的功能^[40]。但有文章指出 TLR4 的激活有助于产生 ROS,从而激活 PAD4^[41]。

溶解性 NETs 的激活可分为经典途径和非经典途径。经典途径的激活可以由豆蔻酰佛波醇乙酯 (PMA)、自身抗体或胆固醇晶体刺激数小时后诱发,通过 NADPH 氧化酶激活,产生 ROS 并激活 PAD4,导致染色质解聚^[40]。并且中性粒细胞的 NE 和 MPO 也会从溶酶体中释放到细胞质中并易位到细胞核中,在细胞核中它们促进染色质的进一步展开^[42]。在形成 NETs 的中性粒细胞内,NE 会降解肌动蛋白细胞骨架,从而阻碍中性粒细胞的移动和吞噬能力,最后,NETs 在失去中性粒细胞质膜完整性后释放到细胞外空间^[43]。非经典途径的激活可以由革兰氏阴性菌如 (Δ sifA 肠沙门氏菌、嗜齿类柠檬酸杆菌) 诱发^[44],通过类似于细胞焦亡引起的细胞膜裂解的信号通路,导致 caspase-4/11 和 gasdermin (GSDMD) 蛋白驱动的 NETs 挤出^[45]。其中核膜中的 GSDMD 孔允许核膜破裂和 caspase-11 进入染色质,使其执行与 NE 类似的功能,从而松散染色质,但是 caspase-11 介导的 NETs 形成的过程独立于 NE、MPO 和 PAD4 进行^[46]。非经典 NETs 抑制细菌在中性粒细胞胞质中的停留,并防止体内微生物传播。在体外感染期间,非经典 NETs 途径可能通过诱导受感染的中性粒细胞死亡来抑制 Δ sifA 沙门氏菌的中性粒细胞胞浆感染^[44]。

Jin 等^[47] 在小鼠真菌性角膜炎中,发现较高数量的 NETs 可以获得更好的治疗效果,缩短感染的过程,并提出 NETs 的数量可用于评估感染性角膜炎的预后。Fan 等^[48] 也证实 NETs 的形成与角膜的感染相关,并且用糖皮质激素治疗后,真菌的侵袭性增加。Saffarzadeh 等^[49] 指出,NETs 中组蛋白发挥重要的作用,主要对上皮和内皮细胞造成损害。组蛋白在小鼠牙周炎模型中也可以触发 IL-17/Th17 反应的上调和骨质破坏^[50],并且使用组蛋白阻滞剂对小鼠脓毒血症和其他炎症性疾病具有治疗作用^[51]。而 Clark 等^[52] 指出,烟曲霉菌角膜炎中,发现 PAD4-/- 组与 C57BL/6 组小鼠在角膜混浊、RFP-Af293 菌丝团或 CFU 的严重程度方面没有显著差异,并且提出中性粒细胞 III 型补体受体 (complement receptor 3, CR3) 介导的钙卫蛋白 (S100A8/A9) 而非 NETs 的分泌在烟曲霉菌角膜炎中起到重要作用。Gazendam 等^[53] 认为,烟曲霉菌分生孢子的识别涉及 CR3 并触发非氧化杀伤机制,而当分生孢子逃脱并发芽后,则会主要涉及通过 Fc γ 受体的识别从而触发氧化杀伤机制,但 NETs 的形成并未导致烟曲霉菌的死亡。目前对于中性粒细胞 NETs 作用在真菌性角膜炎的文章较少,仍然具有广泛的探索空间。

3 中性粒细胞与巨噬细胞的相互作用

中性粒细胞与巨噬细胞在免疫反应中的关系密切。在炎症发生时,中性粒细胞的过度浸润可能会加剧炎症反

应,导致伤口的愈合不良^[54]。而巨噬细胞可以吞噬中性粒细胞,并影响其迁移,中性粒细胞又可以影响巨噬细胞的活化状态。他们之间的相互作用在感染性炎症中起着非常关键的作用。

中性粒细胞的募集与巨噬细胞关系密切。Wieghofer 等^[55] 首次通过单细胞测序证明在正常小鼠角膜中存在巨噬细胞。当真菌接触角膜后,真菌细胞壁中的 β -葡聚糖、甘露聚糖可被角膜上皮和组织驻留的巨噬细胞中模式识别受体 (PRRs) 识别^[56],如 TLR2、TLR4、Dectin-1、Dectin-2 和 Mincle 等,并且在相互影响的作用下使得 PRRs 受体的表达增加,增加的 PRRs 可以通过多种信号如 (MyD88/NF- κ B 信号或 Syk/PKC δ /Card9-Bcl-10-MALT1/NF- κ B 信号) 促进炎症因子的产生^[21]。分泌的炎症因子如 IL-1 α 和 CXCL 趋化因子进一步招募中性粒细胞,中性粒细胞同时分泌 CXCL1 和 CXCL2 从而产生正反馈通路,进一步加强浸润^[57]。Wang 等^[58] 的实验也支持这一观点,通过小鼠和体外实验,百里酚可以通过下调 MyD88/NF- κ B 的信号表达,抑制 IL-1 β 的激活和释放,减少细胞炎症性的死亡,进而改善烟曲霉菌角膜炎。也有研究指出缺乏 Card9 或 Syk 的小鼠对念珠菌病、曲霉菌病和隐球菌病高度敏感^[59]。

中性粒细胞的反向迁移也与巨噬细胞相关,这可以减少中性粒细胞在炎症部位的浸润。Tausin 等^[60] 在斑马鱼和人类上都观察到反向迁移的 ICAM^{hi} CXCR1^{lo} 型的中性粒细胞表型,指出反向迁移与中性粒细胞和巨噬细胞的接触是必要的,并且作者表明伤口周围没有巨噬细胞时,12 h 后中性粒细胞仍然存在于伤口。而 Loynes 等^[61] 认为在斑马鱼中,中性粒细胞的反向迁移不是巨噬细胞与中性粒细胞的直接接触而是巨噬细胞释放的前列腺素 E2 (PGE2) 起到重要的作用。

中性粒细胞可被巨噬细胞所吞噬,进而避免中性粒细胞在角膜当中的堆积。Rhys 等^[62] 证实凋亡的中性粒细胞释放微囊体 (MVs),可引起磷脂酰丝氨酸和 A1 型补体蛋白 (annexin-A1) 的表达上调,受体酪氨酸激酶 MerTK 与暴露的磷脂酰丝氨酸结合后,被巨噬细胞识别后所吞噬,此外 annexin-A1 也可以影响巨噬细胞的活化状态。

4 中性粒细胞在角膜愈合中的作用

在角膜中,细胞外基质 (ECM) 是保持角膜透明度的关键并受多种因素调节。角膜受到轻度损伤时可以从自我修复,但是重度的损伤会因大量无序 ECM 分泌而导致角膜混浊、瘢痕或纤维化的产生甚至导致视力的丧失^[63]。当角膜受到损伤后,中性粒细胞等免疫细胞募集至角膜基质,一方面中性粒细胞的吞噬作用和脱颗粒作用及 NETs 可清除受损的 ECM^[64],并且 NETs 可捕获病原体,可促进成纤维细胞向肌成纤维细胞的分化,也可促进胶原蛋白的产生和增殖、迁移,同时结合和固定炎症细胞因子,限制炎症反应,促进角膜的愈合^[65]。Tonello 等^[66] 也指出,低浓度 (0.01-50 ng/mL) 的 NETs 可以促进人角质形成细胞 (HaCaT 细胞) 的增殖,并且可以加速伤口愈合。另一方面,中性粒细胞在缺乏调控情况下可能导致炎症反应过度,He 等^[67] 指出,小鼠角膜碱烧伤后中性粒细胞和巨噬细胞密集浸润角膜组织,分泌的 PAF (具有强烈炎症特性的生物活性脂质介质) 增加,可减少细胞间的迁移,从而延缓上皮的愈合,但抑制 PAF 炎症反应后可促进角膜伤口愈合。Sumioka 等^[68] 指出角膜上皮的损伤中,通过

tenascin X 蛋白调控中性粒细胞的浸润的程度从而调节上皮创伤的愈合。因此,在角膜中,中性粒细胞的积极作用与消极作用之间存在着微妙的平衡关系。

5 总结与展望

在真菌性角膜炎中,免疫反应起到关键的作用,因此我们需要对疾病发生发展过程中有较全面的了解。在真菌接触角膜后,真菌细胞壁中的成分被巨噬细胞和上皮细胞识别,通过一系列级联反应,在角膜中募集中性粒细胞,进一步发挥中性粒细胞的吞噬作用、脱颗粒作用、NETs 的形成,以及 ROS 的激活对真菌进行杀灭。中性粒细胞与巨噬细胞之间的串扰对于疾病的进程也十分关键^[69]。真菌性角膜炎的中性粒细胞清除,募集和反向迁移可受到巨噬细胞的影响,从而调节炎症部位的中性粒细胞浸润程度。虽然目前多项研究集中于真菌性角膜炎的发生发展机制,提出了一定的潜在治疗靶点,如通过靶向 Dectin-1、MyD88、Syk、Card9 可对疾病预后产生影响,但是关键分子在真菌感染的不同病程中产生的影响仍然有待研究,并且对于不同因素之间的交叉影响也缺乏充分阐释,在真菌感染的不同阶段中,免疫系统所呈现的状态需要更清晰的描述,进而实现分段精准的调控。因此,仍需要我们进行进一步的探索。

利益冲突声明: 本文不存在利益冲突。

作者贡献声明: 杨珺铭论文选题与修改,初稿撰写;罗艳婷文章检索;钟兴武、何宏选题指导,论文修改及审阅。所有作者阅读并同意最终的文本。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 陈晓莲,刘红山,何宏,等.中国热带地区真菌性角膜溃疡致病菌种类及药物敏感性分析. 中华实验眼科杂志, 2017, 35(2):156-160.
- [3] Maharana PK, Sharma N, Nagpal R, et al. Recent advances in diagnosis and management of Mycotic Keratitis. *Indian J Ophthalmol*, 2016,64(5):346-357.
- [4] Qiu S, Zhao GQ, Lin J, et al. Natamycin in the treatment of fungal keratitis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Ophthalmol*, 2015,8(3):597-602.
- [5] 周晓丹,杨玉倩,徐强崧.真菌性角膜炎的致病菌属和转归及其影响因素分析. 国际眼科杂志, 2022,22(11):1892-1895.
- [6] Hori J, Yamaguchi T, Keino H, et al. Immune privilege in corneal transplantation. *Prog Retin Eye Res*, 2019,72:100758.
- [7] Leal SM Jr, Vareechon C, Cowden S, et al. Fungal antioxidant pathways promote survival against neutrophils during infection. *J Clin Invest*, 2012,122(7):2482-2498.
- [8] Karthikeyan RS, Leal SM Jr, Prajna NV, et al. Expression of innate and adaptive immune mediators in human corneal tissue infected with *Aspergillus* or *Fusarium*. *J Infect Dis*, 2011,204(6):942-950.
- [9] Nicholas MP, Mysore N. Corneal neovascularization. *Exp Eye Res*, 2021,202:108363.
- [10] Galletti JG, Guzmán M, Giordano MN. Mucosal immune tolerance at the ocular surface in health and disease. *Immunology*, 2017,150(4):397-407.
- [11] Nourshargh S, Alon R. Leukocyte migration into inflamed tissues. *Immunity*, 2014,41(5):694-707.
- [12] Muller WA. Transendothelial migration: unifying principles from the endothelial perspective. *Immunol Rev*, 2016,273(1):61-75.

- [13] Uribe - Querol E, Rosales C. Phagocytosis: our current understanding of a universal biological process. *Front Immunol*, 2020, 11:1066.
- [14] Karmakar M, Minns M, Greenberg EN, et al. N - GSDMD trafficking to neutrophil organelles facilitates IL-1 β release independently of plasma membrane pores and pyroptosis. *Nat Commun*, 2020, 11(1):2212.
- [15] de Jesus Carrion S, Abbondante S, Clark HL, et al. *Aspergillus fumigatus* corneal infection is regulated by chitin synthases and by neutrophil-derived acidic mammalian chitinase. *Eur J Immunol*, 2019,49(6):918-927.
- [16] Yuan KL, Zhao GQ, Che CY, et al. Dectin-1 is essential for IL-1 β production through JNK activation and apoptosis in *Aspergillus fumigatus* keratitis. *Int Immunopharmacol*, 2017,52:168-175.
- [17] Gao XR, Zhao GQ, Li C, et al. LOX-1 and TLR4 affect each other and regulate the generation of ROS in *A. fumigatus* keratitis. *Int Immunopharmacol*, 2016,40:392-399.
- [18] Naish E, Wood AJ, Stewart AP, et al. The formation and function of the neutrophil phagosome. *Immunol Rev*, 2023,314(1):158-180.
- [19] Halliwell B. Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2024,25(1):13-33.
- [20] Zhao K, Hu F, Zhang ZW, et al. 0.01% hypochlorous acid treats *Aspergillus fumigatus* keratitis in rats by reducing fungal load and inhibiting the inflammatory response. *Transl Vis Sci Technol*, 2023, 12(8):3.
- [21] Niu L, Liu X, Ma Z, et al. Fungal keratitis: Pathogenesis, diagnosis and prevention. *Microb Pathog*, 2020,138:103802.
- [22] Branzk N, Lubojemska A, Hardison SE, et al. Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nat Immunol*, 2014,15(11):1017-1025.
- [23] Wen SW, Shim R, Hall P, et al. Lung imaging reveals stroke-induced impairment in pulmonary intravascular neutrophil function, a response exacerbated with aging. *J Immunol*, 2022,208(8):2019-2028.
- [24] Zhang M, Wang ZJ, Shao YL, et al. Complement-opsonized NIR-IIb emissive immunotracers for dynamically monitoring neutrophils in inflammation-related diseases. *Adv Mater*, 2022,34(34):e2203477.
- [25] Karsten CB, Mehta N, Shin SA, et al. A versatile high-throughput assay to characterize antibody-mediated neutrophil phagocytosis. *J Immunol Methods*, 2019,471:46-56.
- [26] Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol*, 2013,13(3):159-175.
- [27] Mok AC, Mody CH, Li SS. Immune cell degranulation in fungal host defence. *J Fungi (Basel)*, 2021,7(6):484.
- [28] Cowland JB, Borregaard N. Granulopoiesis and granules of human neutrophils. *Immunol Rev*, 2016,273(1):11-28.
- [29] Mollinedo F. Neutrophil degranulation, plasticity, and cancer metastasis. *Trends Immunol*, 2019,40(3):228-242.
- [30] Rizo-Téllez SA, Sekheri M, Filep JG. Myeloperoxidase: regulation of neutrophil function and target for therapy. *Antioxidants*, 2022, 11(11):2302.
- [31] Wu SY, Weng CL, Jheng MJ, et al. *Candida albicans* triggers NADPH oxidase-independent neutrophil extracellular traps through dectin-2. *PLoS Pathog*, 2019,15(11):e1008096.
- [32] Tkalecic J, Novelli M, Phylactides M, et al. Impaired immunity and enhanced resistance to endotoxin in the absence of neutrophil elastase and cathepsin G. *Immunity*, 2000,12(2):201-210.
- [33] Tomalka J, Azodi E, Narra HP, et al. β -Defensin 1 plays a role in acute mucosal defense against *Candida albicans*. *J Immunol*, 2015,194(4):1788-1795.
- [34] Ballard E, Yucel R, Melchers WJG, et al. Antifungal activity of

antimicrobial peptides and proteins against *Aspergillus fumigatus*. *J Fungi*, 2020,6(2):65.

[35] Fernandes KE, Weeks K, Carter DA. Lactoferrin is broadly active against yeasts and highly synergistic with amphotericin B. *Antimicrob Agents Chemother*, 2020,64(5):e02284-19.

[36] García-López C, Rodríguez-Calvo-de-Mora M, Borroni D, et al. The role of matrix metalloproteinases in infectious corneal ulcers. *Surv Ophthalmol*, 2023,68(5):929-939.

[37] Adrover JM, McDowell SAC, He XY, et al. NETworking with cancer: The bidirectional interplay between cancer and neutrophil extracellular traps. *Cancer Cell*, 2023,41(3):505-526.

[38] Pilszczek FH, Salina D, Poon KK, et al. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*, 2010,185(12):7413-7425.

[39] Yipp BG, Petri B, Salina D, et al. Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking *in vivo*. *Nat Med*, 2012,18(9):1386-1393.

[40] Jorch SK, Kubes P. An emerging role for neutrophil extracellular traps in noninfectious disease. *Nat Med*, 2017,23(3):279-287.

[41] Favor OK, Pestka JJ, Bates MA, et al. Centrality of myeloid-lineage phagocytes in particle-triggered inflammation and autoimmunity. *Front Toxicol*, 2021,3:777768.

[42] Metzler KD, Goosmann C, Lubojemska A, et al. A myeloperoxidase-containing complex regulates neutrophil elastase release and actin dynamics during NETosis. *Cell Rep*, 2014,8(3):883-896.

[43] Silva CMS, Wanderley CWS, Veras FP, et al. Gasdermin D inhibition prevents multiple organ dysfunction during sepsis by blocking NET formation. *Blood*, 2021,138(25):2702-2713.

[44] Burgener SS, Schroder K. Neutrophil extracellular traps in host defense. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2020,12(7):a037028.

[45] Chen WJ, Zhao JJ, Mu D, et al. Pyroptosis mediates neutrophil extracellular trap formation during bacterial infection in zebrafish. *J Immunol*, 2021,206(8):1913-1922.

[46] Chen KW, Monteleone M, Boucher D, et al. Noncanonical inflammasome signaling elicits gasdermin D-dependent neutrophil extracellular traps. *Sci Immunol*, 2018,3(26):eaar6676.

[47] Jin X, Zhao Y, Zhang F, et al. Neutrophil extracellular traps involvement in corneal fungal infection. *Mol Vis*, 2016,22:944-952.

[48] Fan FL, Huang XD, Yuan KL, et al. Glucocorticoids may exacerbate fungal keratitis by increasing fungal aggressivity and inhibiting the formation of neutrophil extracellular traps. *Curr Eye Res*, 2020,45(2):124-133.

[49] Saffarzadeh M, Juenemann C, Queisser MA, et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death; a predominant role of histones. *PLoS One*, 2012,7(2):e32366.

[50] Kim TS, Silva LM, Theofilou VI, et al. Neutrophil extracellular traps and extracellular histones potentiate IL-17 inflammation in periodontitis. *J Exp Med*, 2023,220(9):e20221751.

[51] Xu J, Zhang XM, Pelayo R, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med*, 2009,15(11):1318-1321.

[52] Clark HL, Abbondante S, Minns MS, et al. Protein deiminase 4 and CR3 regulate *Aspergillus fumigatus* and β -glucan-induced

neutrophil extracellular trap formation, but hyphal killing is dependent only on CR3. *Front Immunol*, 2018,9:1182.

[53] Gazendam RP, van Hamme JL, Tool ATJ, et al. Human neutrophils use different mechanisms to kill *Aspergillus fumigatus* conidia and hyphae: evidence from phagocyte defects. *J Immunol*, 2016,196(3):1272-1283.

[54] Castanheira FVS, Kubes P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation. *Blood*, 2019,133(20):2178-2185.

[55] Wieghefer 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.

[56] Montgomery ML, Fuller KK. Experimental models for fungal keratitis: an overview of principles and protocols. *Cells*, 2020,9(7):1713.

[57] Abbondante S, Leal SM, Clark HL, et al. Immunity to pathogenic fungi in the eye. *Semin Immunol*, 2023,67:101753.

[58] Wang LM, Yan HJ, Chen XM, et al. Thymol ameliorates *Aspergillus fumigatus* keratitis by downregulating the TLR4/MyD88/NF- κ B/IL-1 β signal expression and reducing necroptosis and pyroptosis. *J Microbiol Biotechnol*, 2023,33(1):43-50.

[59] Lionakis MS, Levitz SM. Host control of fungal infections: lessons from basic studies and human cohorts. *Annu Rev Immunol*, 2018,36:157-191.

[60] Tauzin S, Starnes TW, Becker FB, et al. Redox and Src family kinase signaling control leukocyte wound attraction and neutrophil reverse migration. *J Cell Biol*, 2014,207(5):589-598.

[61] Loynes CA, Lee JA, Robertson AL, et al. PGE₂ production at sites of tissue injury promotes an anti-inflammatory neutrophil phenotype and determines the outcome of inflammation resolution *in vivo*. *Sci Adv*, 2018,4(9):eaar8320.

[62] Rhys HI, Dell'Accio F, Pitzalis C, et al. Neutrophil microvesicles from healthy control and rheumatoid arthritis patients prevent the inflammatory activation of macrophages. *EBioMedicine*, 2018,29:60-69.

[63] Wilson S. Corneal wound healing. *Exp Eye Res*. 2020,197:108089.

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

[65] Sabbatini M, Magnelli V, Renò F. NETosis in wound healing: when enough is enough. *Cells*, 2021,10(3):494.

[66] Tonello S, Rizzi M, Migliario M, et al. Low concentrations of neutrophil extracellular traps induce proliferation in human keratinocytes *via* NF- κ B activation. *J Dermatol Sci*, 2017,88(1):110-116.

[67] He JC, Pham TL, Kakazu AH, et al. Lipoxin A4 (LXA4) reduces alkali-induced corneal inflammation and neovascularization and upregulates a repair transcriptome. *Biomolecules*, 2023,13(5):831.

[68] Sumioka T, Iwanishi H, Okada Y, et al. Impairment of corneal epithelial wound healing is associated with increased neutrophil infiltration and reactive oxygen species activation in tenascin X-deficient mice. *Lab Invest*, 2021,101(6):690-700.

[69] 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.