

# PAR-2在烟曲霉菌感染的人角膜上皮细胞中的作用

牛雅文,李凤娇

(山东第一医科大学附属省立医院,山东 济南 250021)

**摘要:**目的 研究蛋白酶激活受体-2(protease activated receptor-2, PAR-2)在烟曲霉菌感染的人永生化角膜上皮细胞(human corneal epithelial cells, HCECs)中的表达,探讨PAR-2对炎症因子水平的影响及其作用机制。方法 烟曲霉菌灭活菌丝刺激HCECs,制备体外烟曲霉菌感染模型,观察烟曲霉菌灭活菌丝对PAR-2表达水平的影响,并观察PAR-2拮抗剂(FSLLRN-NH<sub>2</sub>)预处理HCECs后,炎症因子IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ ,以及信号通路分子p-p38的水平变化。结果 烟曲霉菌刺激HCECs后PAR-2表达水平升高。烟曲霉菌刺激引起IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 以及p-p38的表达升高,这一升高被PAR-2拮抗剂明显抑制。结论 烟曲霉菌刺激增加PAR-2的表达,并通过PAR-2/p38 MAPK信号通路诱导炎症因子的产生。

**关键词:**蛋白酶激活受体-2;角膜上皮细胞;烟曲霉菌;炎症因子;信号通路

中图分类号:R772.2

文献标志码:A

## Role of PAR-2 during *Aspergillus fumigatus* infection in human corneal epithelial cells

NIU Yawen, LI Fengjiao

(Department of Ophthalmology, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Jinan 250021, Shandong China)

**Abstract: Objective** To investigate the expression and function of protease activated receptor-2 (PAR-2) in human corneal epithelial cells (HCECs) stimulated with *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*). **Methods** 75% ethanol-killed *A. fumigatus* stimulated HCECs, and PAR-2 mRNA and protein expressions were tested by RT-qPCR and Western blotting. HCECs were stimulated with 75% ethanol-killed *A. fumigatus* with or without pretreatment of FSLLRN-NH<sub>2</sub>, PCR, Western blotting, and ELISA tested the expressions of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and p-p38. **Results** In HCECs, PAR-2 mRNA and protein expressions were significantly increased by *A. fumigatus*. *A. fumigatus* upregulated IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and p-p38 expressions levels. FSLLRN-NH<sub>2</sub> significantly inhibited IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and p-p38 expressions compared with infected control. **Conclusion** *A. fumigatus* stimulation increases PAR-2 expression and upregulates cytokine expression levels though the PAR-2/p-p38 pathway.

**Key words:** Protease activated receptor-2; Corneal epithelial cells; *Aspergillus fumigatus*; Cytokines; Signal pathway

真菌性角膜炎是一种由致病真菌引起的感染性角膜疾病,致盲率极高,这是感染性角膜病研究的重点和难点<sup>[1-3]</sup>。曲霉菌属是主要致病真菌之一<sup>[3-5]</sup>,烟曲霉菌感染角膜时,宿主通过角膜上皮细胞表达的模式识别受体(pattern recognition recep-

tors, PRRs),迅速识别病原体相关模式分子(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)的结构,启动免疫应答,抵御真菌入侵<sup>[6-7]</sup>。PAR-2是其中一种PRR,可以特异性识别由宿主或病原体释放的蛋白酶<sup>[8-9]</sup>,已有研究表明PAR-2在细菌<sup>[10-11]</sup>、真

菌<sup>[12-13]</sup>、寄生虫<sup>[14]</sup>导致的感染性炎症反应中发挥重要作用,提示 PAR-2 可能参与抗烟曲霉菌的免疫反应。角膜上皮是人体抵御病原体入侵的重要屏障,不仅可以作为物理屏障防止病原体入侵,同时角膜上皮细胞表面表达丰富的模式识别受体,可以识别结合病原微生物的抗原分子,启动免疫应答反应。这是抵御病原体入侵的第一道防线,因此本研究选择角膜上皮细胞为研究对象,通过建立体外烟曲霉菌感染模型,观察烟曲霉菌对 PAR-2 表达水平的影响,并探讨 PAR-2 对炎症因子水平的影响及其作用机制。2024 年 1 月-2024 年 8 月,我们在山东第一医科大学附属省立医院眼科实验室进行如下相关研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 实验对象

人永生角膜上皮细胞株,由厦门大学实验室提供。烟曲霉菌菌种(编号 3.0772),购自中国普通微生物培养物保藏中心。

#### 1.1.2 主要试剂

磷酸盐缓冲液、沙氏培养基、10% 过硫酸铵、RIPA 组织细胞裂解液(普通型)、10% SDS、一抗稀释液购自北京 Solarbio 公司。RNAiso Plus、Prime Script RT reagent kit with g DNA Eraser、SYBR PremixExTaq (Til RNaseH Plus) 购自大连 TaKaRa 公司。BCA 蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5×buffer)、Western 封闭液、ECL 化学发光试剂盒购自北京 Byotime 公司。兔抗人 GAPDH 单克隆抗体(1:10:000)、兔抗人  $\beta$ -actin 单克隆抗体(1:2 000)、山羊抗兔二抗(1:8 000) 购自上海艾博抗公司。兔抗人 Phospho-p38 多克隆抗体(1:1 000) 购自武汉 Elabscience 公司。兔抗人 PAR-2 单克隆抗体(1:500) 购自美国 Santa cruz 公司。人 IL-1 $\beta$ ELISA 试剂盒、人 TNF- $\alpha$  ELISA 试剂盒购自美国 Biologend 公司。PAR-2 拮抗剂(FSLLRY-NH<sub>2</sub>) 购自英国 Tocris Bioscience 公司。

#### 1.1.3 主要仪器设备

DUS00 核酸蛋白分析仪(Beckman 公司,美国);低温高速离心机、实时荧光定量 PCR 仪(Eppendorf 公司,德国);UVP 凝胶成像系统(Vilber Lourm 公司,美国);CO<sub>2</sub> 细胞培养(Thermo Scientific 公司,美国);超微量分光光度计(Thermo Scientific 公司,美国)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 菌丝刺激

将人角膜上皮细胞接种于 12 孔板或 6 孔板,细胞密度约 50%。待细胞生长至密度为 80%,处理细胞,其中空白对照组不处理,真菌刺激组分别给予烟曲霉菌灭活菌丝(菌丝悬液浓度为  $1 \times 10^8$ /mL)刺激 4、8、12、16、24 h,采用 RT-qPCR 测定 HCECs 中 PAR-2 mRNA 的表达情况。真菌刺激组分别给予烟曲霉菌菌丝刺激 12、18、24 h,采用 Western Blot 测定 HCECs 中 PAR-2 蛋白的表达情况。

#### 1.2.2 HCECs 中 PAR-2 下调实验

烟曲霉菌菌丝刺激前,实验组给予 PAR-2 拮抗剂(FSLLRY-NH<sub>2</sub>, 100  $\mu$ M) 预处理 HCECs 1 h。感染对照组给予同等体积的 PBS 预处理 HCECs 1 h。1 h 后烟曲霉菌灭活菌丝刺激实验组和感染对照组 8 h 或 18 h。8 h 后收集细胞,采用 RT-qPCR 测定 HCECs 中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$ mRNA 的表达情况。18 h 后收集细胞上清液,采用 ELISA 测定 HCECs 中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  蛋白的表达情况;采用 Western Blot 测定 HCECs 中 p-p38 的蛋白表达情况。

#### 1.2.3 RT-PCR 实验步骤

①选择目的基因(PAR-2、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$ ),设计引物;②提取 HCECs 的 RNA,测定 RNA 的含量及纯度;③建立 2  $\mu$ g 逆转录反应体系,获取 cDNA;④进行 PCR 实验,根据内参,计算目的分子(PAR-2、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$ )mRNA 相对表达量。

#### 1.2.4 Western blot 实验步骤

①提取 HCECs 蛋白;②采用蛋白浓度测定试剂盒,测定各组样本蛋白浓度,计算每组上样量,制备最终蛋白样本;③制备胶板,加蛋白样本及 Marker,电泳跑胶,转膜,封闭液封闭背景,分别孵育一抗(PAR-2 1:500、GAPDH 1:10 000、 $\beta$ -actin 1:2 000、Phospho-p38 1:1 000)、二抗(山羊抗兔 1:8 000),显影拍照;④测定并分析各组条带灰度值,根据内参,计算目的分子蛋白(PAR-2 和 p-p38)的相对表达量。

#### 1.2.5 ELISA 实验步骤

①收集 HCECs 各组细胞上清液;②参照已购买的 ELISA 试剂盒步骤:在 96 孔板中加入不同浓度标准品和每组样本,依次加入生物素化抗体工作液、酶结合物工作液、底物工作液,最后加入终止液终止反应,立即用酶标仪测量各孔的光密度(OD)值;③根据检测结果,计算样本浓度。

### 1.3 统计学处理

采用 Graphpad Prism 8.0 软件。数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS-单因素方差分析(ANOVA)方

法分析多组间的差异,应用 LSD-*t* 检验方法分析两组间的差异,以  $P < 0.05$  表示为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 烟曲霉菌菌丝对人角膜上皮细胞 PAR-2 表达的影响

首先检测了烟曲霉菌刺激 HCECs 后, PAR-2 mRNA 和蛋白的表达变化,探索 PAR-2 是否参与人

角膜上皮细胞的抗真菌免疫反应过程。结果显示,与正常对照组相比,烟曲霉菌刺激 HCECs 4 小时后, PAR-2 mRNA 表达开始升高 ( $P < 0.01$ ), 刺激 8 小时后表达水平达到峰值 ( $P < 0.001$ ), 随后表达水平逐渐下降, 但仍有统计意义 ( $P < 0.01$ ) (图 1A)。Western blotting 实验结果显示, 与正常对照组相比, 烟曲霉菌刺激 HCECs 12 小时后, PAR-2 蛋白表达开始升高 ( $P < 0.001$ ), 刺激 18 小时后表达水平达到峰值 ( $P < 0.001$ ), 随后表达水平逐渐下降, 但仍有统计意义 ( $P < 0.01$ ) (图 1B、1C)。

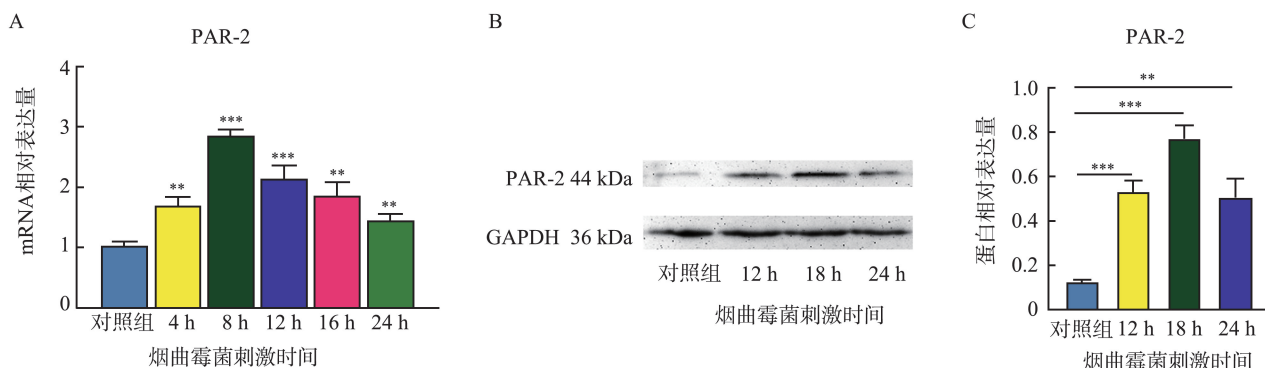


图 1 烟曲霉菌刺激 HCECs 不同时间后, PAR-2 mRNA (A) 和蛋白 (B、C) 的表达水平 (\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ )。

Fig. 1 PAR-2 mRNA (A) and protein (B and C) expressions in HCECs stimulated with *A. fumigatus* (\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ).

### 2.2 PAR-2 对炎症因子的影响

首先用烟曲霉菌菌丝刺激 HCECs, 采用 PCR 和 ELISA 检测 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  mRNA 和蛋白表达水平, 结果显示烟曲霉菌刺激后 HCECs 中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  mRNA (图 2A、2B) 和蛋白 (图 2C、2D) 表达水平均显著升高 ( $P < 0.001$ )。接下来用 FSLRY-

NH<sub>2</sub> 或 PBS 预处理 HCECs, 然后给予烟曲霉菌菌丝刺激, 采用 PCR 和 ELISA 检测 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  mRNA 和蛋白表达水平。结果显示, 与 PBS 感染对照组相比, FSLRY-NH<sub>2</sub> 处理组中 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  mRNA (图 2A、2B) ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.01$ ) 和蛋白 (图 2C、2D) ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.001$ ) 表达水平均明显下降。

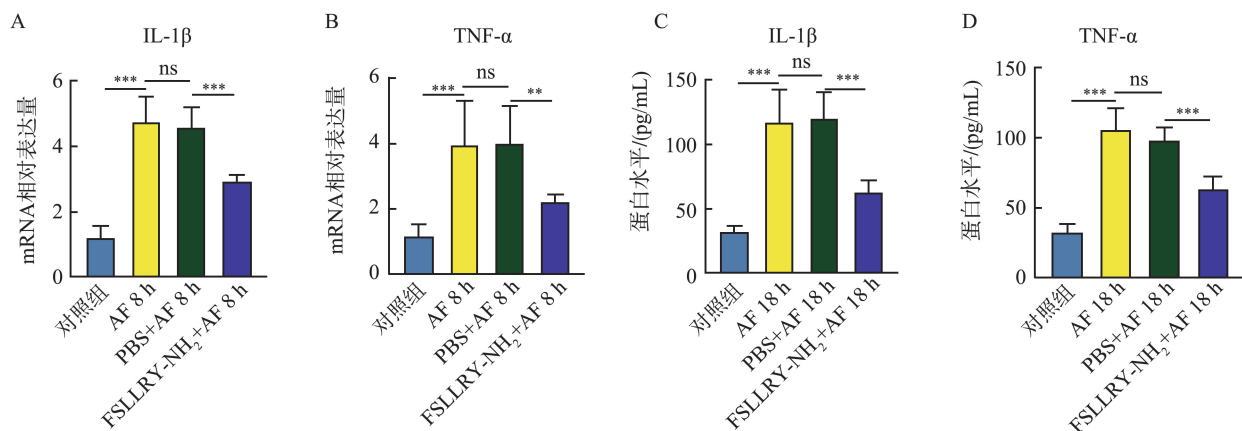


图 2 HCECs 中, FSLRY-NH<sub>2</sub> 对 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  mRNA (A、B) 和蛋白 (C、D) 表达水平的影响 (\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , AF: *Aspergillus fumigatus*)。

Fig. 2 IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  mRNA (A and B) and protein (C and D) expression after pretreatment with FSLRY-NH<sub>2</sub> in HCECs stimulated with *A. fumigatus* (\*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ , AF: *Aspergillus fumigatus*).

### 2.3 PAR-2 对 p-p38 的影响

Western blotting 结果显示, 烟曲霉菌菌丝刺激 HCECs 后, p-p38 蛋白表达水平明显升高 ( $P <$

0.001) (图 3A、3B)。FSLRY-NH<sub>2</sub> 预处理 HCECs, 然后给予烟曲霉菌菌丝刺激, 结果显示, 与感染对照组相比, FSLRY-NH<sub>2</sub> 处理组中 p-p38 蛋白水平明

显下降( $P<0.01$ )(图 3A、3B)。

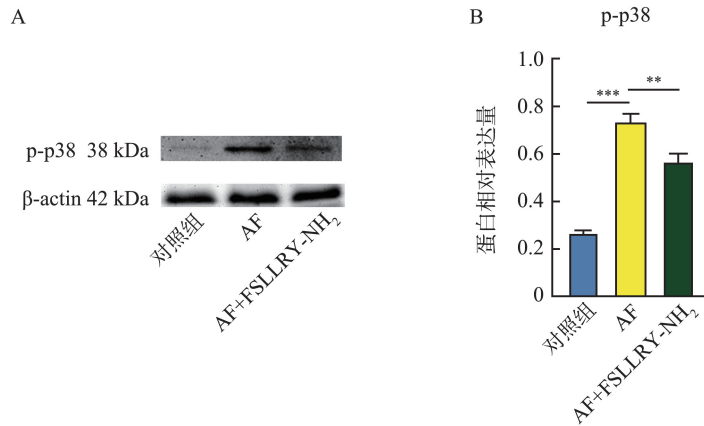


图 3 HCECs 中, FSLRY-NH<sub>2</sub> 对 p-p38 蛋白表达水平的影响(A-B) (\*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , AF: *Aspergillus fumigatus*)。Fig. 3 p-p38 protein (A and B) expression after pretreatment with FSLRY-NH<sub>2</sub> in HCECs stimulated with *A. fumigatus* (\*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ , AF: *Aspergillus fumigatus*)。)

### 3 讨论

病原微生物侵入宿主后,及时识别病原体并启动机体的免疫应答反应是控制感染的关键。角膜上皮是人体抵御病原体入侵的重要屏障,不仅可以作为物理屏障防止病原体入侵,同时角膜上皮细胞表面表达丰富的模式识别受体,可以识别结合病原微生物的抗原分子,激活下游信号通路,启动免疫应答反应。这是抵御病原体入侵的第一道防线,也是固有免疫反应的主要战场<sup>[15]</sup>。但是角膜的炎症反应是一把双刃剑,适当的炎症反应可以帮助宿主有效防御病原体入侵,清除病原微生物;而过度的炎症反应,会导致角膜组织的破坏,角膜溃疡,严重影响视功能<sup>[12,16]</sup>。

PAR-2 是一种模式识别受体,属于 G 蛋白偶联受体,主要表达于上皮细胞、中性粒细胞、巨噬细胞等免疫细胞<sup>[8-10]</sup>。角膜上皮受损后,烟曲霉菌黏附于暴露的角膜基质中,自身释放各种毒素和酶类物质,同时诱导宿主细胞释放蛋白酶,比如胰蛋白酶、类胰蛋白酶、弹性蛋白酶等,其中部分蛋白酶可以被 PAR-2 识别结合<sup>[8-9,12]</sup>,这一特点提示 PAR-2 可能通过识别结合病原体及宿主释放的蛋白酶等抗原,介导跨膜信号转导,激活下游信号通路,直接或间接地调节抗真菌免疫应答反应。已有研究发现 PAR-2 在感染性疾病中发挥重要作用,Rayeys 等<sup>[10]</sup>研究发现 PAR-2 可以通过诱导肺泡巨噬细胞中的 cAMP-Rac1 信号传导,促进对铜绿假单胞菌的清除。Lee 等<sup>[11]</sup>研究发现痤疮杆菌释放的蛋白酶可以诱导 PAR-2 的表达,PAR-2 通过促进炎症因子、抗菌肽、基质蛋白酶的表达,在痤疮的发病机制中发挥重要

作用。但 PAR-2 在烟曲霉菌感染的角膜上皮细胞中的作用及其机制尚未见报道。因此研究 PAR-2 在烟曲霉菌感染的角膜上皮细胞中的表达,探讨 PAR-2 对炎症因子水平的影响及其作用机制,具有重要的临床意义。

本研究检测了烟曲霉菌对人角膜上皮细胞中 PAR-2 表达的影响,结果显示烟曲霉菌刺激可以增加人角膜上皮细胞中 PAR-2 的表达,表明 PAR-2 参与抗烟曲霉菌免疫反应。Tripathi 等<sup>[14]</sup>研究发现,在人角膜上皮细胞中,棘阿米巴纤维蛋白溶酶原激活剂通过诱导 PAR-2 表达增加,启动免疫应答,介导下游促炎因子 IL-8 的表达。Wang 等<sup>[11]</sup>研究发现过敏性鼻炎疾病模型中,人原代鼻腔上皮细胞 PAR-2 表达增加,且 PAR-2 通过下调紧密链接相关蛋白 ZO-1 和 claudin-1 的表达,调控鼻腔上皮的屏障功能。这些研究均与我们实验结果一致。本实验中角膜上皮是抵御病原体入侵的第一道防线,是启动固有免疫应答的关键细胞,研究发现烟曲霉菌刺激可以增加人角膜上皮细胞中 PAR-2 的表达,这些结果提示 PAR-2 可能是角膜上皮等上皮组织的一种警报蛋白,作为烟曲霉菌感染的早期传感器,启动宿主固有免疫应答。

之前的研究已证实 FSLRY-NH<sub>2</sub> 对 PAR-2 的抑制效果<sup>[12]</sup>。为了进一步研究 PAR-2 在角膜上皮细胞中的作用,我们用 PAR-2 拮抗剂 FSLRY-NH<sub>2</sub> 预处理人角膜上皮细胞,再给予烟曲霉菌刺激,检测人角膜上皮细胞中炎症因子的表达,结果显示拮抗 PAR-2 可以减少烟曲霉菌诱导的促炎因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的表达。同时 Rivas 等<sup>[13]</sup>研究发现链格孢属真菌可以增加 PAR-2 的表达,阻断 PAR-2 会导致

IL-6、IL-8的表达减少。MATOS等<sup>[18]</sup>研究发现在过敏性气道炎症疾病中,阻断 PAR-2可以减少嗜酸性粒细胞和中性粒细胞的浸润数量,降低 CXCL1、CCL5、IL-6的表达水平。此外还有研究发现肺炎疾病模型中,PAR-2通过 NF- $\kappa$ B 促进中性粒细胞的募集和肺部炎症反应<sup>[19-20]</sup>。细菌内毒素可以诱导 PAR-2的表达,PAR-2通过介导促炎因子单核细胞趋化蛋白-1的分泌,发挥血管炎症作用,并在细菌感染引起的病理反应中发挥重要作用<sup>[21]</sup>。这些研究与我们结果基本一致,提示 PAR-2可以通过调控炎症因子的表达,在烟曲霉菌感染的人角膜上皮细胞中发挥促炎作用。

接下来进一步研究烟曲霉菌刺激下,PAR-2在人角膜上皮细胞中的具体作用机制。p38是 MAPK 家族的重要成员,而 MAPK 在炎症反应中发挥重要作用,是调控下游细胞因子表达的关键通路<sup>[22-25]</sup>。本研究结果显示,烟曲霉菌刺激可以增加磷酸化 p38 的表达,拮抗 PAR-2 明显可以减少抗原刺激引起的 p38 磷酸化。已有研究证明 p38 信号通路是角膜调节细胞因子和免疫细胞参与炎症过程的一个重要通路<sup>[26-29]</sup>,这些数据提示 PAR-2 可以通过调控 p38 MAPK 通路,调节细胞因子的表达。

综上所述,本实验发现烟曲霉菌刺激可以增加人角膜上皮细胞中 PAR-2 的表达,并发现 PAR-2 可以通过 p38 MAPK 信号通路,调节炎症因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的表达,参与角膜上皮抗真菌的免疫调节。随着对 PAR-2 抗真菌作用研究的深入,PAR-2 可能成为治疗真菌性角膜炎的新型治疗靶点。

## 参考文献:

- [1] 庞金鼎, 韦振宇, 曹凯, 等. 不同抗真菌药物治疗真菌性角膜炎有效性和安全性的网状 Meta 分析[J]. 中华实验眼科杂志, 2024, 42(7): 629-637.  
PANG Jinding, WEI Zhenyu, CAO Kai, et al. A network meta-analysis of the efficacy and safety of different antifungal drugs for fungal keratitis[J]. Chinese Journal of Experimental Ophthalmology, 2024, 42(7): 629-637.
- [2] 戴晨阳, 郭慧. 白细胞介素-36 在真菌性角膜炎中的免疫作用及机制[J]. 山东大学学报(医学版), 2024, 62(8): 67-73.  
DAI Chenyang, GUO Hui. Progress in the immune effect and mechanism of IL-36 in fungal keratitis[J]. Journal of Shandong University (Health Sciences), 2024, 62(8): 67-73.
- [3] Brown L, Leck AK, Gichangi M, et al. The global incidence and diagnosis of fungal keratitis[J]. Lancet Infect Dis, 2021, 21(3): 49-57.
- [4] 周晓丹, 杨玉倩, 徐强崧. 真菌性角膜炎的致病菌菌属和转归及其影响因素分析[J]. 国际眼科杂志, 2022, 22(11): 1892-1895.  
ZHOU Xiaodan, YANG Yuqian, XU Qiangsong. Analysis of pathogenic bacterial Genera and outcome of fungal keratitis and their influencing factors[J]. International Eye Science, 2022, 22(11): 1892-1895.
- [5] Mahmoudi S, Masoomi A, Ahmadikia K, et al. Fungal keratitis: an overview of clinical and laboratory aspects [J]. Mycoses, 2018, 61(12): 916-930.
- [6] Mills B, Radhakrishnan N, Karthikeyan Rajapandian SG, et al. The role of fungi in fungal keratitis [J]. Exp Eye Res, 2021, 202: 108372. doi: 10.1016/j.exer.2020.108372.
- [7] Heinekamp T, Schmidt H, Lapp K, et al. Interference of Aspergillus fumigatus with the immune response [J]. Semin Immunopathol, 2015, 37(2): 141-152.
- [8] Shpacovitch V, Feld M, Bunnett NW, et al. Protease-activated receptors: novel PARTners in innate immunity [J]. Trends Immunol, 2007, 28(12): 541-550.
- [9] Moretti S, Bellocchio S, Bonifazi P, et al. The contribution of PARs to inflammation and immunity to fungi [J]. Mucosal Immunol, 2008, 1(2): 156-168.
- [10] Rayees S, Joshi JC, Joshi B, et al. Protease-activated receptor 2 promotes clearance of Pseudomonas aeruginosa infection by inducing cAMP-Rac1 signaling in alveolar macrophages [J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 874197. doi:10.3389/fphar.2022.874197.
- [11] Lee SE, Kim JM, Jeong SK, et al. Protease-activated receptor-2 mediates the expression of inflammatory cytokines, antimicrobial peptides, and matrix metalloproteinases in keratinocytes in response to Propionibacterium acnes [J]. Arch Dermatol Res, 2010, 302(10): 745-756.
- [12] Niu YW, Zhao GQ, Li C, et al. Aspergillus fumigatus increased PAR-2 expression and elevated proinflammatory cytokines expression through the pathway of PAR-2/ERK1/2 in Cornea [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(1): 166-175.
- [13] Rivas CM, Schiff HV, Moutal A, et al. Alternaria alternata-induced airway epithelial signaling and inflammatory responses via protease-activated receptor-2 expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 591: 13-19. doi:10.1016/j.bbrc.2021.12.090.
- [14] Tripathi T, Abdi M, Alizadeh H. Protease-activated receptor 2 (PAR2) is upregulated by Acanthamoeba plasminogen activator (aPA) and induces proinflammatory cytokine in human corneal epithelial cells [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014, 55(6): 3912-3921.

- [15] Wilson SE, Torricelli AAM, Marino GK. Corneal epithelial basement membrane: structure, function and regeneration[J]. *Exp Eye Res*, 2020, 194: 108002. doi:10.1016/j.exer.2020.108002 .
- [16] Chi MH, Gu LW, Zhang LN, et al. Pentoxifylline treats *Aspergillus fumigatus* keratitis by reducing fungal burden and suppressing corneal inflammation[J]. *Eur J Pharmacol*, 2023, 945: 175607. doi: 10.1016/j.ejphar.2023.175607.
- [17] Wang Ms J, Kang Ms X, Huang Ms ZQ, et al. Protease-activated receptor-2 decreased zonula occludens-1 and claudin-1 expression and induced epithelial barrier dysfunction in allergic rhinitis[J]. *Am J Rhinol Allergy*, 2021, 35(1): 26-35.
- [18] Matos NLA, Oliveira Lima OSC, DA Silva JF, et al. Blockade of protease-activated receptor 2 attenuates allergen-mediated acute lung inflammation and leukocyte recruitment in mice[J]. *J Biosci*, 2022, 47: 2.
- [19] Silva IS, Almeida AD, Lima Filho ACM, et al. Platelet-activating factor and protease-activated receptor 2 cooperate to promote neutrophil recruitment and lung inflammation through nuclear factor-kappa B transactivation[J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 21637. doi:10.1038/s41598-023-48365-1 .
- [20] de Almeida AD, Silva IS, Fernandes-Braga W, et al. A role for mast cells and mast cell tryptase in driving neutrophil recruitment in LPS-induced lung inflammation via protease-activated receptor 2 in mice[J]. *Inflamm Res*, 2020, 69(10): 1059-1070.
- [21] Chao HH, Chen PY, Hao WR, et al. Lipopolysaccharide pretreatment increases protease-activated receptor-2 expression and monocyte chemoattractant protein-1 secretion in vascular endothelial cells[J]. *J Biomed Sci*, 2017, 24(1): 85. doi:10.1186/s12929-017-0393-1 .
- [22] Cuadrado A, Nebreda AR. Mechanisms and functions of p38 MAPK signalling[J]. *Biochem J*, 2010, 429(3): 403-417.
- [23] Wang JH, Liu YJ, Guo YS, et al. Function and inhibition of P38 MAP kinase signaling: targeting multiple inflammation diseases[J]. *Biochem Pharmacol*, 2024, 220: 115973. doi:10.1016/j.bcp.2023.115973.
- [24] Sarg NH, Zaher DM, Abu Jayab NN, et al. The interplay of p38 MAPK signaling and mitochondrial metabolism, a dynamic target in cancer and pathological contexts[J]. *Biochem Pharmacol*, 2024, 225: 116307. doi: 10.1016/j.bcp.2024.116307.
- [25] Saleem S. Targeting MAPK signaling: a promising approach for treating inflammatory lung disease [J]. *Pathol Res Pract*, 2024, 254: 155122. doi:10.1016/j.prp.2024.155122.
- [26] Niu YW, Lin J, Li C, et al. Galectin-3 plays an important pro-inflammatory role in *A. fumigatus* keratitis by recruiting neutrophils and activating p38 in neutrophils [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 97: 107706. doi:10.1016/j.intimp.2021.107706.
- [27] Wang Q, Zhao GQ, Lin J, et al. Role of the mannose receptor during *Aspergillus fumigatus* infection and interaction with dectin-1 in corneal epithelial cells [J]. *Cornea*, 2016, 35(2): 267-273.
- [28] Diao WL, Yin M, Qi YH, et al. Resveratrol has neuroprotective effects and plays an anti-inflammatory role through Dectin-1/p38 pathway in *Aspergillus fumigatus* keratitis [J]. *Cytokine*, 2024, 179: 156626. doi:10.1016/j.cyto.2024.156626.
- [29] Jia YY, Li C, Yin M, et al. Kaempferol ameliorate the prognosis of *Aspergillus fumigatus* keratitis by reducing fungal load and inhibiting the Dectin-1 and p38 MAPK pathway[J]. *Exp Eye Res*, 2022, 216: 108960. doi:10.1016/j.exer.2022.108960.

(编辑:李伟)

(上接第 95 页)

- [30] Carothers JT, Nichols MC, Thompson DL. Failure of total hip arthroplasty secondary to infection caused by *Brucella abortus* and the risk of transmission to operative staff[J]. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*, 2015, 44(2): E42-E45.
- [31] Klassov Y, Klassov T, Peretz O, et al. Review of

periprosthetic infection of brucellosis with presentation of a case report[J]. *Am J Infect Dis*, 2016, 12(3): 65-72.

- [32] Tena D, Romanillos O, Rodríguez-Zapata M, et al. Prosthetic hip infection due to *Brucella melitensis*: case report and literature review[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2007, 58(4): 481-485.

(编辑:徐苗蓁)