

# 白细胞介素-36在真菌性角膜炎中的免疫作用及机制

戴晨阳,郭慧

(山东大学齐鲁医院眼科,山东 济南 250012)

**摘要:**真菌性角膜炎是较为常见、致残致盲率极高的感染性眼病,因其介导错综复杂的免疫应答系统而影响疾病的诊治和预后,因此,探讨其发病规律和机体免疫系统的调控机制,是当今眼科领域研究的前沿和关键。最新研究表明,在人角膜上皮细胞和小鼠白色念珠菌(candida albicans, CA)角膜炎过程中,白细胞介素-36(interleukin-36, IL-36) $\gamma$ /R通过介导天然免疫和辅助性T细胞17(T helper cell 17, Th17)型获得性免疫发挥保护作用。本文针对近年来真菌感染角膜后机体免疫保护性作用的调控机制研究进展进行综述。

**关键词:**真菌性角膜炎;角膜感染;白细胞介素-36;免疫调控

中图分类号:R772.2

文献标志码:A

## Progress in the immune effect and mechanism of interleukin-36 in fungal keratitis

DAI Chenyang, GUO Hui

(Department of Ophthalmology, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, Shandong, China)

**Abstract:** Fungal keratitis is the most common infectious eye disease with a very high rate of disability and blindness. Its complex immune response system affects the diagnosis, treatment, and prognosis of the disease. Therefore, exploring its pathogenesis and the regulatory mechanisms of the body's immune system has become a frontier and key in the field of ophthalmology research today. The latest research indicates that during the process of human corneal epithelial cells and mouse candida albicans (CA) keratitis, interleukin-36 $\gamma$ /IL-36R plays a protective role by mediating innate immunity and Th17 type acquired immunity. This article reviews the recent research progress on the regulatory mechanisms of the body's immune protective role after fungal infection of the cornea.

**Key words:** Fungal keratitis; Corneal infections; Interleukin-36; Immunoregulation

真菌性角膜炎是一种由致病性真菌引起的较为常见、致盲率及致残率极高的眼病,其发病率占我国感染性角膜炎首位且全球发病呈上升趋势,严重威胁人类健康和影响生活质量<sup>[1]</sup>。真菌感染后机体免疫体系的应答机制错综复杂,已成为当今国内外研究难题和热点。因此,探讨其发生发展的机制和有效防治措施,具有重要的临床价值和社会意义。

## 1 机体免疫在真菌感染性角膜炎中的作用

白色念珠菌(candida albicans, CA)是一种常见

的条件致病菌,通常在宿主的免疫系统功能减弱或眼部遭受外伤时引发感染<sup>[2]</sup>。眼表的天然免疫防御机制由泪膜的脂质层、水液层以及角膜上皮细胞构成。角膜上皮层作为抵御真菌侵袭的第一道防线,其细胞的完整性和功能对于保护角膜至关重要<sup>[3]</sup>。在外来病原体侵袭时,机体表现出两种反应:一方面积极地启动免疫系统以维持机体的稳定状态;另一方面在遭受损害后,机体进行自我修复和重建。有研究指出,角膜细胞通过其表面的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别病原体表面的病原相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMPs),从而发挥其抗真菌的功

能<sup>[4-5]</sup>。以往研究表明,角膜上皮细胞膜上的 Toll 样受体(toll like receptor, TLRs)和细胞内的 NOD 样受体(NOD like receptors, NLRs)是识别真菌的两类关键 PRRs<sup>[6]</sup>。它们协同作用,激活下游的炎症和抗炎途径,进而调控机体的免疫系统。此外,有研究发现,人类胸腺基质淋巴生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)在真菌性角膜炎中能够激活天然免疫反应,并调节 Th17 型的获得性免疫反应<sup>[7-9]</sup>。

研究表明,巨噬细胞作为宿主免疫系统的前线防御细胞,在各类角膜炎中扮演着至关重要的角色。在健康的角膜组织中,巨噬细胞的存在几乎无法被检测到,只有在角膜遭受损伤之后,才能在角膜边缘或中央区域观察到巨噬细胞参与到局部的炎症反应中。已有研究证实,巨噬细胞具备在体内外抑制真菌孢子萌发并杀灭真菌孢子或菌丝的能力<sup>[10]</sup>。Hu 等<sup>[11]</sup>对活化巨噬细胞在镰刀菌诱导的真菌性角膜炎小鼠模型中的潜在作用进行了深入研究。通过向角膜浅层基质注入乳胶微粒以激活巨噬细胞,并设置 PBS 处理组作为对照,结果显示,经乳胶微粒处理的角膜在真菌清除速度及中性粒细胞浸润速度上均高于 PBS 处理组,同时诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)和迁移抑制因子(migration inhibitory factor, MIF)的表达水平也显著提高。然而,乳胶微粒处理组的角膜出现了过度炎症反应和穿孔现象。据此分析,活化的巨噬细胞虽然对真菌具有显著的杀灭效果,但中性粒细胞的大量浸润以及促炎细胞因子表达的增强可能会导致过度的免疫反应,进而引发角膜穿孔。

此外,中性粒细胞与巨噬细胞相似,均为宿主免疫系统的首要防御细胞。它们通过吞噬作用、脱颗粒、释放活性氧(reactive oxygen species, ROS)、产生抗菌肽以及形成中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)等机制,发挥保护宿主免受病原体侵害的功能<sup>[12]</sup>。在真菌性角膜炎的发展过程中,由 ROS 引起的氧化性损伤可通过 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 Mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)信号通路对组织造成损伤。Hua 等<sup>[13]</sup>研究显示,抑制 p38 MAPK 信号通路可能减少中性粒细胞产生的 ROS,从而减轻由氧化应激引起的组织损伤。在另一项研究中,Alasmar 等<sup>[14]</sup>观察到在白色念珠菌感染后,角膜病变区域出现了 NETs 的形成。研究团队对真菌性角膜炎小鼠进行了 0.1%地塞米松滴剂治疗。结果显示,治疗组的临床评分较高,真菌感染程度更深,但 NETs 和中性粒细胞数量减少。表明糖皮质激素可能通过增加真菌

的侵袭性、降低中性粒细胞的浸润,并抑制 NETs 的形成,从而加剧了真菌性角膜炎。这些结果为理解糖皮质激素对真菌性角膜炎的影响提供了新的视角。

国内外研究表明,角膜具备一个复杂的免疫调节网络,用以保持角膜结构的完整性,并提供天然及获得性免疫防御功能。然而,这一机制的具体细节仍在不断的探索与研究之中。

## 2 白细胞介素-36 (interleukin-36, IL-36) 亚家族的基本生物学特征

IL-36 亚家族属于 IL-1 超家族的一员,其位于人类染色体 2q14.1,其包括三种具有激动活性的因子,即为由 IL36A 基因编码的 IL-36 $\alpha$ ,由 IL36B 基因编码的 IL-16 $\beta$  和由 IL36G 基因编码的 IL-6 $\gamma$ ;还包括两种具有拮抗作用的因子,其一是具有明确拮抗活性的 IL-36Ra,其二是具有潜在的受体拮抗活性的 IL-38<sup>[15-18]</sup>。他们与 IL-1 超家族的大多数成员相似,在合成时以前体蛋白的形式出现,需要通过 N-末端处理才能获得完整的受体激动或拮抗功能<sup>[16-19]</sup>。目前明确已知,中性粒细胞衍生的组织蛋白酶 G、弹性蛋白酶、蛋白酶-3 和组织蛋白酶 S 及微生物蛋白酶可将 IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$  和 IL-36 $\gamma$  切割成其活性形式<sup>[20-21]</sup>,IL-36Ra 的活化则是通过内源性甲硫氨基肽酶与中性粒细胞弹性蛋白酶的互补作用发生的,而 IL-38 的激活形式尚不明确。IL-36 的受体结构构成与 IL-1 家族的受体相同,都是由细胞外免疫球蛋白样结构域、跨膜结构域和细胞内 Toll/IL-1R(toll and Interleukin-1 receptor-like, TIR)结构域组成<sup>[22-26]</sup>。IL-36R 又被称为 IL-1R6 或 IL-1Rrp2,当 IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$  与之结合时会募集 IL-1RAcP(即 IL-1R3)形成三元复合物,IL-36R 和 IL-1RAcP 的胞内段 TIR 结构域相互作用,使髓性分化原发应答基因 88(myeloid differentiation primary response gene 88, MyD88)、白细胞介素 1 受体关联激酶 1(interleukin-1 receptor-associated kinase 1, IRAK1)和 Toll 相互作用蛋白(toll-interacting protein, TOLLIP)募集,最终激活核因子  $\kappa$ B(nuclear factor-kappa B, NF- $\kappa$ B)和有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)途径<sup>[27-29]</sup>。除了经典的 NF- $\kappa$ B 和 MAPK/AP-1 信号传导外,IL-36 家族细胞因子还触发其他信号传导途径如 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun kinase enzyme, JNK)及细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated kinase 1/2, ERK1/2)等通路。

### 3 IL-36 亚家族的表达及其受体分布

IL-36 细胞因子在全身许多组织中表达,包括皮肤、大脑、眼部、肺、肠道、口腔黏膜、关节和滑膜组织等<sup>[30]</sup>。可表达 IL-36 细胞因子的细胞类型也丰富多样,不仅有组织结构类细胞,还有免疫细胞。有研究发现,IL-36 $\alpha$  在各类上皮细胞、单核细胞、B 细胞和 T 细胞中表达,还在表皮组织中表达<sup>[31-33]</sup>,IL-36 $\alpha$  存在并且受到表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 的调节,在皮肤屏障功能和稳态中发挥了重要作用。IL-36 $\beta$  也在上皮细胞、骨髓免疫细胞和 T 细胞中表达,同时在中枢神经系统的神经元和神经胶质细胞中也有发现,但在脑组织中 IL-36 $\beta$  的表达并不受脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 和 IL-1 $\beta$  刺激的调控<sup>[31]</sup>。IL-36 $\gamma$  主要在各种上皮细胞如角质细胞、角膜上皮细胞、小肠黏膜细胞和树突状细胞中表达<sup>[34]</sup>,LPS、病毒感染等能有效刺激 IL-36 $\gamma$  表达增多。IL-36Ra 在皮肤、大脑、淋巴组织、B 细胞和髓系免疫细胞包括单核细胞、巨噬细胞及树突状细胞等中高度表达<sup>[35]</sup>,IL-36Ra 表现为 IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$  和 IL-36 $\gamma$  的选择性抑制剂而影响炎症反应的程度,IL-36Ra 还可以通过以非经典的剂量依赖性方式减少辅助性 T 细胞的反应来调节辅助性 T 淋巴细胞。IL-38 在角质形成细胞中高表达,在脾脏、扁桃体、心脏和胎盘中低水平表达。与其他 IL-1 超家族成员一样,IL-36 家族成员的表达定位在细胞质以及细胞核中。在小鼠结肠炎模型的研究中,IL-36 $\gamma$  主要表达在肠上皮细胞核,而在活动性 IBD 的患者中 IL-36 $\alpha$  主要表达在 CD14+ 炎症巨噬细胞的细胞质里<sup>[33]</sup>。IL-36R 在角质形成细胞、朗格汉斯细胞、巨噬细胞、单核细胞、真皮和髓系树突状细胞上表达。在小鼠中,初始 CD4+T 细胞上的 IL-36R 表达高于体外分化的辅助性 T 细胞 1 (T helper cell 1, Th1)、辅助性 T 细胞 2 (T helper cell 2, Th2) 和 Th17 细胞,而在中性粒细胞中检测不到 IL-36R 的表达<sup>[36-38]</sup>。

基于上述的受体分布特点,IL-36 家族成员因大量的存在于天然免疫屏障之中并且对下游大部分免疫细胞产生效应进而在介导天然免疫及获得性免疫反应中起到了不可忽视的作用<sup>[39-40]</sup>。

### 4 IL-36 家族与真菌性角膜炎的免疫调控

在真菌性角膜炎中,IL-36 家族细胞因子在免疫

调节中扮演着重要的角色<sup>[14]</sup>,其中 IL-36Ra、IL-38 是受体拮抗剂;而 IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$ 、IL-36 $\gamma$  是受体激动剂,与 IL-36R、IL-1RAcP 形成的异二聚体结合后,可激活 NF- $\kappa$ B、MAPK、Erk1/2 和 JNK 等,同时募集大量巨噬细胞、自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞等产生致炎或抑炎作用<sup>[35-41]</sup>;由此可见,NF- $\kappa$ B 通路是 IL-36 发挥作用和 CA 角膜感染免疫调控的关键核因子,抑制其激活便可阻断炎症通路,抑制炎症。

多项不同种类的真菌性感染性疾病研究显示,IL-36 家族发挥保护作用<sup>[42-43]</sup>。口腔黏膜白色念珠菌感染诱导上皮细胞产生 IL-36,特别是 IL-36 $\alpha$  和 IL-36 $\gamma$ <sup>[44]</sup>。口腔念珠菌感染过程中 IL-36R 的敲除增加了真菌负担,显示出白色念珠菌感染中 IL-36 激动剂的保护作用。白色念珠菌也被证明可诱导人类角质形成细胞中 IL-36 $\gamma$  的表达,IL-36 信号传导不足导致死亡率和真菌负担增加,表明其在预防皮肤感染方面发挥作用<sup>[45]</sup>。在马拉色菌诱导的 IL-17 依赖性皮肤炎症中,IL-36 $\alpha$ 、IL-36 $\beta$  和 IL-36 $\gamma$  均有升高,并且其炎症的程度及真菌感染的清除率是通过角质形成细胞 IL-36 受体/MyD88 信号传导介导的<sup>[46]</sup>。在白色念珠菌感染的小鼠角膜中,IL-36 $\gamma$  大量表达在角膜上皮细胞,并且 IL-36R 敲除小鼠角膜溃疡的程度加重,真菌清除率下降,并伴随趋化因子和抗菌肽分泌的减少<sup>[47-48]</sup>。有研究发现,角膜中 IL-36 $\gamma$  主要来源于上皮细胞,且 IL-36R 分布在角膜上皮细胞、树突状细胞 (dendritic cells, DCs)、巨噬细胞和 NK 细胞的细胞膜上,但在中性粒细胞中不表达,且可趋化免疫细胞由角膜缘迁移至角膜中央<sup>[49]</sup>。在肺部细菌感染的研究中,IL-36 $\gamma$  以微颗粒和外泌体的方式经由巨噬细胞分泌,参与杀灭细菌<sup>[31]</sup>。此外,在口腔白念菌感染、白念菌诱发的银屑病等均证实,IL-36 与 Th17 型获得性免疫有关并相互调控<sup>[44]</sup>。最新研究发现,IL-36R<sup>-/-</sup>的小鼠角膜感染 CA 后,IL-17A、IL-17F、IL-22 以及促进 Th17 活化的关键细胞因子 IL-23 均明显增多同时感染加剧,而使用外源性重组的 IL-36 $\gamma$  蛋白预处理角膜后感染程度及免疫因子的改变与之相反<sup>[50]</sup>,表明 CA 角膜炎中 IL-36 $\gamma$  介导天然免疫的同时也调控 Th17 型获得性免疫。

### 5 IL-36 在治疗真菌性角膜炎中的临床应用前景

目前,临床中通常使用局部抗真菌药、全身抗真菌药、激素治疗以及角膜移植手术等方式治疗真菌

性角膜炎。使用抗真菌药物被认为是真菌性角膜炎的主要治疗方法。以往的全身抗真菌治疗用药由于存在血眼屏障很难有效的控制感染,想要缩短病程需要提高用药频率及延长治疗时间,增加了肝肾的代谢负担,而眼表局部用药渗透性的限制往往成为有效抗击真菌感染加重的瓶颈<sup>[51-52]</sup>。

使用抗真菌药物进行靶向给药是一种新型而高效的战略方法,以纳米材料包裹抗炎因子类成分于眼表滴用、基质内和前房内注射抗真菌药物的形式进行靶向给药,或可成为真菌性角膜炎的未来治疗新思路,通过基质内和前房内注射将药物精确递送至角膜,优化治疗效果,同时最大限度地减少全身暴露<sup>[53]</sup>。靶向药物输送的优点包括增强感染部位的疗效、降低全身毒性和提高患者依从性。然而,开发有效的药物载体、确保缓释等问题必须克服药物输送的潜在障碍<sup>[54]</sup>。

纳米技术在眼科治疗中的应用正迅速发展,为解决药物递送难题提供了新策略。有研究表明,再生氧化铈纳米酶能有效清除眼部过量的活性氧,加速角膜上皮修复,促进泪液分泌和眼表稳态恢复,在治疗干眼症方面具有重要的临床意义与转化前景<sup>[55]</sup>。此外,新型纳米滴眼液的研发在真菌性角膜炎的纳米治疗研究中也取得了新成果。乙二醇壳聚糖作为纳米载体,包载伏立康唑,可穿透角膜的双重屏障,有效解决药物在感染组织渗透性差和浓度低的问题。该纳米滴眼液还能通过 ROS 响应实现抗真菌药物的微缓释,提高药物利用率,降低角膜组织坏死和瘢痕风险,具有显著的治疗效果和临床应用潜力<sup>[56]</sup>。

IL-36 $\gamma$  作为 IL-36 家族中的一员,在调节免疫反应和炎症过程中起着重要作用。在治疗真菌性角膜炎方面,IL-36 $\gamma$  展现出了潜在的临床应用前景。通过纳米材料的包裹,可以提高 IL-36 $\gamma$  的稳定性、靶向性和生物利用度,从而为真菌性角膜炎的治疗提供了新的可能性<sup>[57]</sup>。

通过纳米封装,增强了 IL-36 等蛋白质类药物的稳定性,防止其快速降解和失活,从而延长了药物在体内的半衰期并提升了疗效;同时,纳米载体能够高效穿透眼部组织,如角膜和角膜内皮细胞,增加药物在目标区域的浓度,这不仅提升了药物的生物利用度,还减少了所需的剂量和给药频率;此外,纳米材料的靶向性也有助于药物更精准地作用于病变部位<sup>[58]</sup>。通过改变纳米载体的表面性质和大小,可以实现对药物的靶向释放,减少对健康组织的损伤,提高治疗的精准性。由此可见,纳

米材料包裹 IL-36 $\gamma$  治疗真菌性角膜炎具有广阔的应用前景。通过纳米技术的应用,可以提高药物的稳定性、生物利用度和靶向性,减少药物的剂量和给药频率,降低治疗的不良反应,从而提高治疗效果<sup>[59]</sup>。然而,纳米材料的应用也面临一些挑战。纳米材料的制备和表征需要高度的技术水平,成本较高。其次,纳米材料的生物相容性和安全性需要得到充分的验证。因此,虽然纳米材料包裹 IL-36 $\gamma$  治疗真菌性角膜炎具有巨大的潜力,但仍需要进一步的研究和临床实验来验证其疗效和安全性。相信随着纳米技术的不断发展和完善,纳米材料在真菌性角膜炎治疗中的应用前景将会更加广阔,为患者带来更有效的治疗方案。

## 6 总结

IL-36 家族细胞因子已被证实具有保护屏障组织免受微生物入侵能力,同时 IL-36 在癌症疾病模型中也被大量发现,在多项研究中也证明可以用于预防癌症。IL-36 在健康机体的上皮细胞、单核细胞、B 细胞和 T 细胞、中枢神经系统的神经元和神经胶质细胞中均有表达,维持着组织的稳态。当机体的天然屏障受损、遭受真菌等病原微生物侵袭时,IL-36 家族细胞因子的功能失调,稳态打破将产生不利影响,多种复杂的免疫反应陆续启动,造成 IL-36 家族细胞因子表达的改变,进而影响下游的信号通路。首先其表达在皮肤、黏膜的表面,在上皮细胞感染细菌、真菌、病毒、炎症刺激及组织损伤的早期便会被表达及释放,表明 IL-36 家族充分参与天然免疫,IL-36 的受体在将信号转导至细胞内时,与多种天然免疫的信号分子如 Toll 样受体的结构域相互结合,进而激活细胞内的 MyD88、NF- $\kappa$ B 和 MAPK/AP-1 等通路,同样证实了 IL-36 家族在天然免疫反应中具有一席之地。IL-36 受体的分布特点,决定了其可以与多种重要的天然免疫及获得性免疫细胞发生直接或间接的调控作用。探讨 IL-36 在感染中的作用机制时,也需要关注其在炎症反应中的表现,尤其是在自身免疫类疾病中,由于 IL-36 细胞因子的失衡或者过量表达,造成炎症反应的加重、组织的松懈破坏等,其疾病发生的原理虽与本研究不同,但不能忽视的是角膜真菌感染疾病中,也存在感染免疫与炎症反应的平衡问题,在感染的初期,天然免疫率先应答让上皮组织产生可以直接对抗病原体的细胞因子、抗菌肽及溶酶等,抑制病原体的生长繁殖,同时激活巨噬细胞、NK 细胞、中性粒细胞等向感染病

灶趋化释放细胞毒素杀伤或直接吞噬病原微生物。然而免疫反应带来的炎症也会造成组织的松解、坏死,对于真菌性角膜感染而言,免疫细胞及炎症反应造成的典型病灶即表现为感染部位明显的角膜上皮脱落、角膜基质溶解、免疫环的形成,造成角膜水肿的加重、透明度的下降以及角膜穿孔的风险,不仅损害视力还将破坏眼表结构的完整性,严重的甚至造成眼球内部深层的感染等。另一方面角膜真菌感染的后期,过度的炎症将带来角膜新生血管的增长、角膜的瘢痕化以及上皮化,使角膜透明度进一步下降造成视力丧失等并发症,如果能找到调控感染免疫与炎症反应的平衡机制,既可以诱导适度的免疫反应清除病原体,又避免引发过度亢进的炎症反应,将为感染类疾病的预后带来全新的治疗及研究方法。IL-36家族由于在多种感染类疾病及自身免疫类疾病中大量的表达,其在人类抗微生物和抗病毒免疫中是否有特定的、不可替代的贡献尚需要进一步的研究和探索。

目前细胞释放 IL-36 家族因子的作用机制尚不明确,其分子结构既不含有通过高尔基体分泌的信号肽,也不含有可以使炎症小体加工的典型胱天蛋白酶-1 切割位点。探讨其分泌机制可能有助于预防感染类疾病及自身免疫性疾病期间 IL-36 家族前体的释放,从而调控免疫反应的程度。同时,将 IL-36 家族细胞因子加工成其生物活性形式的靶向蛋白酶也存在研究及探索的空间,这将有利于开发特定的检测方法来区分组织样本中成熟细胞因子和前体细胞因子,进而有助于 IL-36 家族细胞因子作为炎症性疾病潜在生物标志物的科学研究。

在角膜感染类疾病的治疗过程中,新型药物递送模式将带来治疗过程及疗效的革新。传统的抗菌药治疗过程漫长,全身静脉、局部滴用眼水的给药途径也将造成药物吸收的障碍,这将被更有效、更靶向及更特异的治疗方式所取代,纳米药物的制备将改善真菌感染类疾病药物作用不利的局面,同样可能会在加速病原体清除、促进组织愈合等方面出现新的研究突破。

综上所述,本研究深入探讨了 IL-36 家族调控天然免疫和获得免疫抗真菌性角膜炎感染的新机制,阐明机体对抗外来真菌感染后免疫系统调动和应答过程中,IL-36 家族在各类感染性疾病病程发展中的作用规律,把握机体内源性抗炎能力和及时调控免疫优势,为开启 IL-36 真菌性角膜炎治疗、研发生物标志物、早期诊断和重组蛋白制品临床转化与治疗提供新思路。

## 参考文献:

- [1] Ghenciu LA, Faur AC, Bolintineanu SL, et al. Recent advances in diagnosis and treatment approaches in fungal keratitis: a narrative review [J]. *Microorganisms*, 2024, 12(1): 161.
- [2] 王晓燕,齐眉,李玉瑄,等.大蒜素与两性霉素 B 体外联合应用抑制白色念珠菌菌丝形成的研究[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2010, 48(5): 23-27.  
WANG Xiaoyan, QI Mei, LI Yutang, et al. Study of the combination of allicin and amphotericin B inhibiting hyphae formation of *Candida albicans* in vitro [J]. *Journal of Shandong University(Health Sciences)*, 2010, 48(5): 23-27.
- [3] Das S, D'souza S, Gorimanipalli B, et al. ocular surface infection mediated molecular stress responses: a review [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(6): 3111.
- [4] Fang X, Lian H, Bi S, et al. Roles of pattern recognition receptors in response to fungal keratitis [J]. *Life Sci*, 2022, 307: 120881. doi:10.1016/j.lfs.2022.120881.
- [5] Pearlman E, Sun Y, Roy S, et al. Host defense at the ocular surface [J]. *Int Rev Immunol*, 2013, 32(1): 4-18.
- [6] 李妍,李丽红,戴敏,等.真菌性角膜炎角膜组织 NOD1、NF- $\kappa$ Bp65 表达的变化以及炎症细胞浸润情况[J]. *眼科新进展*, 2023, 43(2): 89-93.  
LI Yan, LI Lihong, DAI Min, et al. Changes in expression of nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 1 and nuclear factor kappa-Bp65 and infiltration of inflammatory cells in the cornea with fungal keratitis [J]. *Recent Advances in Ophthalmology*, 2023, 43(2): 89-93.
- [7] Dai C, Wu J, Chen C, et al. Interactions of thymic stromal lymphopoietin with TLR2 and TLR4 regulate anti-fungal innate immunity in *Aspergillus fumigatus*-induced corneal infection [J]. *Exp Eye Res*, 2019, 182: 19-29. doi:10.1016/j.exer.2019.02.020.
- [8] Han F, Guo H, Wang L, et al. TSLP produced by *aspergillus fumigatus*-stimulated DCs promotes a Th17 response through the JAK/STAT signaling pathway in fungal keratitis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2020, 61(14): 24.
- [9] Ren X, Wang L, Wu X. A potential link between TSLP/TSLPR/STAT5 and TLR2/MyD88/NF $\kappa$ B-p65 in human corneal epithelial cells for *Aspergillus fumigatus* tolerance [J]. *Mol Immunol*, 2016, 71: 98-106. doi:10.1016/j.molimm.2015.12.014.
- [10] Xu X, Wei Y, Pang J, et al. time-course transcriptomic analysis reveals the crucial roles of PANoptosis in fungal keratitis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2023, 64(3): 6.

- [11] Hu J, Hu Y, Chen S, et al. Role of activated macrophages in experimental *Fusarium solani* keratitis [J]. *Exp Eye Res*, 2014, 129: 57-65. doi:10.1016/j.exer.2014.10.014.
- [12] 朱彬彬. NETs 的形成对铜绿假单胞菌性角膜炎进展和预后影响的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [13] Hua X, Chi W, Su L, et al. ROS-induced Oxidative Injury involved in Pathogenesis of Fungal Keratitis via p38 MAPK Activation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10421.
- [14] Bassoy EY, Towne JE, Gabay C. Regulation and function of interleukin-36 cytokines [J]. *Immunol Rev*, 2018, 281(1): 169-178.
- [15] Bensen JT, Dawson PA, Mychaleckyj JC, et al. Identification of a novel human cytokine gene in the interleukin gene cluster on chromosome 2q12-14 [J]. *J Interf Cytokine Res*, 2001, 21(11): 899-904.
- [16] Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity [J]. *Immunol Rev*, 2018, 281(1): 8-27.
- [17] Nicklin MJH, Barton JL, Nguyen M, et al. A sequence-based map of the nine genes of the human interleukin-1 cluster [J]. *Genomics*, 2002, 79(5): 718-725.
- [18] Zhou L, Todorovic V. Interleukin-36: structure, signaling and function [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 21: 191-210. doi:10.1007/5584\_2020\_488.
- [19] Afonina IS, Müller C, Martin SJ, et al. Proteolytic processing of interleukin-1 family cytokines: variations on a common theme [J]. *Immunity*, 2015, 42(6): 991-1004.
- [20] Clancy DM, Henry CM, Sullivan GP, et al. Neutrophil extracellular traps can serve as platforms for processing and activation of IL-1 family cytokines [J]. *FEBS J*, 2017, 284(11): 1712-1725.
- [21] Henry CM, Sullivan GP, Clancy DM, et al. Neutrophil-derived proteases escalate inflammation through activation of IL-36 family cytokines [J]. *Cell Rep*, 2016, 14(4): 708-722.
- [22] O'Neill LA. Towards an understanding of the signal transduction pathways for interleukin 1 [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1266(1): 31-44.
- [23] O'Neill LA, Greene C. Signal transduction pathways activated by the IL-1 receptor family: ancient signaling machinery in mammals, insects, and plants [J]. *J Leukoc Biol*, 1998, 63(6): 650-657.
- [24] Xu Y, Tao X, Shen B, et al. Structural basis for signal transduction by the Toll/interleukin-1 receptor domains [J]. *Nature*, 2000, 408: 111-115. doi: 10.1038/35040600.
- [25] Sims JE, March CJ, Cosman D, et al. cDNA expression cloning of the IL-1 receptor, a member of the immunoglobulin superfamily [J]. *Science*, 1988, 241(4865): 585-589.
- [26] Wang DL, Zhang SY, Li L, et al. Structural insights into the assembly and activation of IL-1 $\beta$  with its receptors [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11: 905-911. doi:10.1038/ni.1925.
- [27] Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Kopp E, et al. MyD88 is an adaptor protein in the hToll/IL-1 receptor family signaling pathways [J]. *Mol Cell*, 1998, 2(2): 253-258.
- [28] Dunne A, O'Neill LA. The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: signal transduction during inflammation and host defense [J]. *Sci STKE*, 2003, 2003(171): re3. doi:10.1126/stke.2003.171.re3.
- [29] Tiwari RL, Singh V, Singh A, et al. IL-1R-associated kinase-1 mediates protein kinase C $\delta$ -induced IL-1 $\beta$  production in monocytes [J]. *J Immunol*, 2011, 187(5): 2632-2645.
- [30] 杨薇, 钟波. IL-36 细胞因子在炎症疾病与肿瘤中的作用机制[J]. *中国细胞生物学学报*, 2022, 44(4): 737-746.
- YANG Wei, ZHONG Bo. The roles of IL-36 cytokines in inflammatory diseases and cancers [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2022, 44(4): 737-746.
- [31] Yuan ZC, Xu WD, Liu XY, et al. Biology of IL-36 signaling and its role in systemic inflammatory diseases [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2532. doi:10.3389/fimmu.2019.02532.
- [32] Macleod T, Berekmeri A, Bridgewood C, et al. The immunological impact of IL-1 family cytokines on the epidermal barrier [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 808012. doi:10.3389/fimmu.2021.808012.
- [33] Russell SE, Horan RM, Stefanska AM, et al. IL-36 $\alpha$  expression is elevated in ulcerative colitis and promotes colonic inflammation [J]. *Mucosal Immunol*, 2016, 9(5): 1193-204.
- [34] Scheibe K, Backert I, Wirtz S, et al. IL-36R signalling activates intestinal epithelial cells and fibroblasts and promotes mucosal healing in vivo [J]. *Gut*, 2017, 66(5): 823-838.
- [35] Queen D, Ediriweera C, Liu L. Function and regulation of IL-36 signaling in inflammatory diseases and cancer development [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2019, 7: 317. doi:10.3389/fcell.2019.00317.
- [36] Vigne S, Palmer G, Martin P, et al. IL-36 signaling amplifies Th1 responses by enhancing proliferation and Th1 polarization of naive CD4 $^{+}$  T cells [J]. *Blood*, 2012, 120(17): 3478-3487.
- [37] Vigne S, Palmer G, Lamacchia C, et al. IL-36R ligands are potent regulators of dendritic and T cells [J]. *Blood*, 2011, 118(22): 5813-5823.
- [38] Foster AM, Baliwag J, Chen C S, et al. IL-36 promotes

- myeloid cell infiltration, activation, and inflammatory activity in skin [J]. *J Immunol*, 2014, 192(12): 6053-6061.
- [39] Keller J, O' Siorain JR, Kündig TM, et al. Molecular aspects of Interleukin-36 cytokine activation and regulation [J]. *Biochem Soc Trans*, 2024, 52(4): 1591-1604.
- [40] Macleod T, Ainscough JS, Hesse C, et al. The pro-inflammatory cytokine il-36 $\gamma$  is a global discriminator of harmless microbes and invasive pathogens within epithelial tissues [J]. *Cell Rep*, 2020, 33(11): 108515.
- [41] Heath JE, Scholz GM, Veith PD, et al. IL-36 $\gamma$  regulates mediators of tissue homeostasis in epithelial cells [J]. *Cytokine*, 2019, 119: 24-31. doi:10.1016/j.cyto.2019.02.012.
- [42] Nanjo Y, Newstead MW, Aoyagi T, et al. Overlapping roles for interleukin-36 cytokines in protective host defense against murine *Legionella pneumophila pneumonia* [J]. *Infect Immun*, 2019, 87(1): e00583-e00518.
- [43] Kovach MA, Singer B, Martinez-Colon G, et al. IL-36 $\gamma$  is a crucial proximal component of protective type-1-mediated lung mucosal immunity in Gram-positive and-negative bacterial pneumonia [J]. *Mucosal Immunol*, 2017, 10(5): 1320-1334.
- [44] Verma AH, Zafar H, Ponde NO, et al. IL-36 and IL-1/IL-17 drive immunity to oral candidiasis via parallel mechanisms[J]. *J Immunol*, 2018, 201(2): 627-634.
- [45] Braegelmann J, Braegelmann C, Bieber T, et al. Candida induces the expression of IL-36 $\gamma$  in human keratinocytes; implications for a pathogen-driven exacerbation of psoriasis? [J]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2018, 32(11): 403-406.
- [46] Miyachi H, Wakabayashi S, Sugihira T, et al. Keratinocyte IL-36 receptor/MyD88 signaling mediates *Malassezia*-induced IL-17 - dependent skin inflammation [J]. *J Infect Dis*, 2021, 223(10): 1753-1765.
- [47] Gao N, Me R, Dai C, et al. Opposing effects of IL-1Ra and IL-36Ra on innate immune response to *Pseudomonas aeruginosa* infection in C57BL/6 mouse corneas [J]. *J Immunol*, 2018, 201(2): 688-699.
- [48] Dai C, Me R, Gao N, et al. Role of IL-36 $\gamma$ /IL-36R signaling in corneal innate defense against *Candida albicans* keratitis[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2021, 62(6): 10.
- [49] Cho WJ, Elbasiony E, Singh A, et al. IL-36 $\gamma$  augments ocular angiogenesis by promoting the vascular endothelial growth factor-vascular endothelial growth factor receptor axis[J]. *Am J Pathol*, 2023, 193(11): 1740-1749.
- [50] Chen Q, Gao N, Yu FS. Interleukin-36 receptor signaling attenuates epithelial wound healing in C57BL/6 mouse corneas[J]. *Cells*, 2023, 12(12): 1587.
- [51] Kuo MT, Chen JL, Hsu SL, et al. An omics approach to diagnosing or investigating fungal keratitis [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): E3631.
- [52] Sharma N, Bagga B, Singhal D, et al. Fungal keratitis: a review of clinical presentations, treatment strategies and outcomes[J]. *Ocul Surf*, 2022, 24: 22-30. doi:10.1016/j.jtos.2021.12.001.
- [53] Zemba M, Radu M, Istrate S, et al. Intrastromal injections in the management of infectious keratitis[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(4): 1091.
- [54] Sha XY, Shi Q, Liu L, et al. Update on the management of fungal keratitis [J]. *Int Ophthalmol*, 2021, 41(9): 3249-3256.
- [55] Zou HY, Wang HT, Xu BQ, et al. Regenerative cerium oxide nanozymes alleviate oxidative stress for efficient dry eye disease treatment [J]. *Regen Biomater*, 2022, 9: rbac070. doi:10.1093/rb/rbac070.
- [56] Niu PH, Wu YL, Zeng FX, et al. Development of nano-drug-based eye drops with good penetration properties and ROS responsiveness for controllable release to treat fungal keratitis [J]. *NPG Asia Mater*, 2023, 15: 31. doi:10.1038/s41427-023-00478-9.
- [57] Chen HY, Geng XW, Ning QY, et al. Biophilic positive carbon dot exerts antifungal activity and augments corneal permeation for fungal keratitis [J]. *Nano Lett*, 2024, 24(13): 4044-4053.
- [58] 徐霁,周文君,蔡春华,等.聚乙二醇化壳聚糖纳米粒的制备及局部滴眼给药性能评价[J]. *第三军医大学学报*, 2017, 39(13): 1376-1380.  
XU Ji, ZHOU Wenjun, CAI Chunhua, et al. Preparation and performance of PEGylated chitosan nanoparticles for ocular drug delivery by eye drops [J]. *Journal of Third Military Medical University*, 2017, 39(13): 1376-1380.
- [59] Wong KY, Wong MS, Liu J. Nanozymes for treating ocular diseases [J]. *Adv Healthc Mater*, 2024: e2401309. doi:10.1002/adhm.202401309.

(编辑:徐苗蓁)