

## TREM-1 在细菌性化脓性角膜炎中的作用及其分子机制

聂鑫鑫<sup>1,2,3</sup>, 朱敏<sup>1,2,3</sup>, 李美玉<sup>1,3</sup>, 苏家豪<sup>1</sup>, 李海波<sup>1</sup>, 刘畅<sup>1</sup>, 吴敏昊<sup>1,2,3</sup>, 黄曦<sup>1,2,3,4\*</sup>  
(中山大学 1.中山医学院免疫学教研室//免疫学研究所;2.人类病毒学研究所;3.热带病防治研究教育部重点实验室;  
4.中山眼科中心,广东广州 510080)

**摘要:**【目的】探讨髓样细胞诱发受体 1(TREM-1)在铜绿假单胞菌(PA)感染角膜炎中的作用及其分子机制。【方法】为了揭示 TREM-1 在细菌性角膜炎中的作用,我们建立了 PA 角膜炎小鼠模型和 PA 感染的腹腔巨噬细胞模型,real-time PCR 和免疫荧光法检测感染前后 TREM-1 的表达水平;用丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs)的抑制剂或磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)抑制剂预处理巨噬细胞,再用脂多糖(LPS)和 TREM-1 活化抗体刺激,real-time PCR 检测 IL-1 $\beta$ 、MIP-2、TNF- $\alpha$  和 IL-6 等促炎因子的表达水平,进一步探讨 TREM-1 调控 PA 角膜炎的分子机制;用 Th1 细胞因子 IFN- $\gamma$  或者 Th2 细胞因子 IL-4、IL-10 刺激巨噬细胞,real-time PCR 检测 Th1/Th2 细胞因子对 TREM-1 表达的调控。【结果】PA 感染的 C57BL/6 小鼠角膜中 TREM-1 表达高于 BALB/c 小鼠;体外研究显示 PA 感染和 LPS 刺激均诱导 TREM-1 高表达;TREM-1 通过 MAPK 和 PI3K-Akt 通路调节促炎因子生成;Th1 细胞因子促进 TREM-1 表达,而 Th2 细胞因子不影响 TREM-1 的表达。【结论】PA 感染上调 TREM-1 的表达,TREM-1 通过调控 Th1/Th2 细胞因子的表达进一步放大炎症,导致角膜溃疡穿孔,这一发现可能为化脓性角膜炎的防治提供了新的理论依据。

**关键词:**铜绿假单胞菌;角膜炎;TREM-1;Th1/Th2;细胞因子;巨噬细胞

**中图分类号:**R392 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2012)03-0305-06

### Role of TREM-1 in *Pseudomonas aeruginosa* Keratitis

NIE Xin-xin<sup>1,2,3</sup>, ZHU Min<sup>1,2,3</sup>, LI Mei-yu<sup>1,3</sup>, SU Jia-hao<sup>1</sup>, LI Hai-bo<sup>1</sup>, LIU Chang<sup>1</sup>, WU Min-hao<sup>1,2,3</sup>,  
HUANG Xi<sup>1,2,3,4\*</sup>

(1.Department of Immunology, Institute of Immunology, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 2. Institute of Human Virology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 3. Key Laboratory of Tropical Diseases Control, Sun Yat-sen University, Ministry of Education, Guangzhou 510080, China; 4. Zhongshan Ophthalmic Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:**【Objective】To investigate the role of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1) in *Pseudomonas aeruginosa* (PA) keratitis and the possible molecular mechanism involved. 【Methods】To determine the relationship between TREM-1 and PA keratitis, we established the resistant (BALB/c) and susceptible (C57BL/6) PA keratitis murine model, and then examined TREM-1 mRNA and protein levels in the normal and infected corneas of BALB/c and C57BL/6 mice by real-time PCR and immunostaining, respectively. To further explore the mechanism of TREM-1 in PA keratitis, peritoneal M $\phi$  were challenged with lipopolysaccharide (LPS) or live PA, and then TREM-1 expression was tested by real-time PCR. Peritoneal macrophages (M $\phi$ ) were pretreated with inhibitors for mitogen activated protein kinases (MAPKs) or phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), and after challenge with LPS and agonistic mTREM-1 Ab, mRNA levels of pro-inflammatory cytokines including IL-1, MIP-2, TNF, and IL-6 was determined using real-time PCR. TREM-1 mRNA levels were also tested by real-time PCR in peritoneal M $\phi$  pretreated with IFN or IL-4, IL-10. 【Results】TREM-1 expression levels were significantly increased in C57BL/6 vs BALB/c corneas after PA infection. In peritoneal M $\phi$ , TREM-1 expression was also increased after LPS stimulation or PA infection. TREM-1 modulated pro-inflammatory

收稿日期:2011-10-01

基金项目:国家自然科学基金(U0832006, 30972763);广东省引进创新科研团队专项基金;教育部博士启动基金(20100171110047);广东省自然科学基金重点项目(10251008901000013)

作者简介:聂鑫鑫,硕士研究生;\*通信作者:黄曦,教授,博士生导师,课题负责人,E-mail: huangxi6@mail.sysu.edu.cn

cytokine production through MAPK and PI3K-Akt signaling pathway. TREM-1 expression levels were significantly increased after stimulation with LPS and Th1 cytokine, but not Th2 cytokine. 【Conclusion】 The PA-induced up-regulation of TREM-1 amplified corneal inflammation by modulating production of Th1 and Th2 cytokines, thereby accelerating the disease progression of PA keratitis. These findings may provide a promising target for treatment of PA keratitis.

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa*; keratitis; triggering receptor expressed on myeloid cells-1 (TREM-1); Th1/Th2; cytokine; macrophage

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2012, 33(3):305-310]

铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*, PA) 角膜炎是常见的致盲性眼病,其病程进展迅速,常常在短时间内导致严重的角膜溃疡、穿孔,甚至失明<sup>[1]</sup>。PA 角膜炎的病理变化是细菌和机体免疫反应共同作用的结果<sup>[2]</sup>,细菌感染所触发的机体免疫反应一旦启动,即使使用抗生素或抗真菌药物杀死病原菌也不能阻止其免疫病理损害<sup>[3]</sup>。研究发现,PA 角膜炎的病程进展主要取决于机体的炎症反应和Th1/Th2 平衡<sup>[1]</sup>。常见的 PA 角膜炎动物模型有 C57BL/6 和 BALB/c 小鼠模型:C57BL/6 小鼠属于 PA 敏感型小鼠,PA 感染时 Th1 型免疫反应占主导,炎症反应严重,角膜迅速溃疡穿孔;而 BALB/c 小鼠属于 PA 耐受型小鼠,Th2 型免疫反应占主导,炎症相对较轻,病情呈自限性<sup>[1]</sup>。天然免疫是机体抗感染免疫的第一道防线。巨噬细胞作为天然免疫的重要成分,可以通过其细胞表面的模式识别受体识别病原相关分子模式<sup>[3]</sup>。Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR)是最近发现的模式识别受体,通过识别细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)等,激活其信号转导通路,产生一系列细胞因子及抗菌肽等,达到清除病原体和保护机体之目的<sup>[4]</sup>。激活的巨噬细胞既可以直接吞噬杀伤病原体,又能分泌各种细胞因子,促进炎症反应<sup>[5]</sup>。髓样诱发受体(triggering receptor expressed on myeloid cells, TREM)为新近发现的一类模式识别受体家族,其中TREM-1 是调控炎症反应的重要分子<sup>[6-7]</sup>。TREM-1在巨噬细胞和中性粒细胞上高表达,其表达水平在细菌感染后显著升高<sup>[6]</sup>。虽然它的配体还不清楚,但是 TREM-1 可以放大 TLR 通路的,使炎症因子大量产生,进而放大炎症,引起内毒素休克<sup>[8]</sup>。本实验主要通过建立 PA 角膜炎的小鼠模型和体外巨噬细胞感染模型,探讨 TREM-1 在 PA 角膜炎中的分子调控机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 小鼠和试剂

6~8 周的 C57BL/6 和 BALB/c 雌性小鼠购于中山大学动物中心。PA 菌株为 ATCC 标准株 19660。SB203580 (p38 抑制剂)、SP600125 (JNK 抑制剂)、U0126 (MEK1/2 抑制剂)购于 Merck 公司(Darmstadt, Germany),对照 DMSO 购于 Sigma-Aldrich 公司(STL, USA)。β-巯基乙酸盐购于 Difco 公司(NJ, USA)。TREM-1 的活化抗体以及 IL-10、IL-4 和 IFN-γ 细胞因子购于 R&D 公司(MN, USA)。青霉素、链霉素、DMEM 培养基和胎牛血清购于 GIBCO 公司(CA, USA)。RT-PCR 试剂中逆转录试剂盒购于 Fermentas 公司(Ontario, Canada), real-time PCR 试剂盒购于 Takara 公司(Otsu, Japan)。Trizol、转染试剂 Lipofectamine™2000、Alexa Fluor 546 驴抗羊 IgG 抗体购于 invitrogen 公司(CA, USA), SYTOX Green nuclear acid label 购于 Lonza 公司(Basel, Switzerland)。

### 1.2 腹腔巨噬细胞的分离培养

将 C57BL/6 小鼠用 3%β-巯基乙酸盐 1 mL 腹腔注射诱导巨噬细胞,5 d 后分离腹腔巨噬细胞。用 PBS 或 DMEM 灌洗腹腔,得到腹腔浸出液,离心后重悬,台盼蓝染色计数,活细胞数>95%。计数后,1×10<sup>6</sup> 细胞铺 24 孔板,培养于 37℃、5%体积分数 CO<sub>2</sub> 和 95%空气的培养箱中。2 h 之后换液,洗去非贴壁细胞,得到腹腔巨噬细胞。

### 1.3 TREM-1 的激活

以终浓度为 20 μg/mL 抗 TREM-1 活化抗体,加入体外培养中的腹腔巨噬细胞刺激 4 h, real-time PCR 检测到细胞 TNF-α 表达水平升高,表明 TREM-1 信号通路被激活。

### 1.4 Real-time RT-PCR

用 Trizol 试剂提取细胞的总 RNA, NanoDrop2000C 定量检测 RNA (1.8<260/280<2.0)。取 1 μg 总 RNA 逆转录为 cDNA,取 2 μL cDNA (1:10 稀释)加入 20 μL SYBR Green Master

Mix real-time PCR 反应体系中,扩增程序为 95 °C 30 s 预变性,之后用 95 °C 5 s,60 °C 34 s 扩增 40 个循环。使所用 PCR 引物序列参见本实验室先前发表的文献[7]。

### 1.5 小鼠角膜感染

将 6~8 周的 C57BL/6 和 BALB/c 雌性小鼠放置于体视镜下,用 25G 的注射针头在小鼠左眼角膜中央区划出 3 道平行 1 mm 的划痕,滴入 5  $\mu$ L 包含  $1 \times 10^6$  Colony-Forming Units(CFU) PA 的菌液。分别在感染后 1、3、5 d 取小鼠左眼角膜,以对侧正常角膜做对照,用于 real-time PCR 检测。

### 1.6 免疫荧光检测

建立 PA 角膜炎小鼠模型,感染后 5 d 取双侧角膜做冰冻切片,将切好的样本在丙酮中固定 2 min 后,用含 2.5%BSA 的 PBS 溶液室温封闭 30 min,接下来按顺序先用一抗 goat anti-mouse TREM-1 Ab (10  $\mu$ g/mL)室温孵育 1 h,再用二抗 Alexa Fluor 546 conjugated donkey anti-goat IgG Ab 孵育(1:1 500)室温孵育 1 h,之后用 SYTOX Green nuclear acid stain (1:20 000)孵育 2 min。阴性对照处理一样,用 goat IgG 替换一抗。荧光封片剂封片,ZEISS IMAGER A1 荧光显微镜下观察结果。

### 1.7 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。实验结果资料均以均数  $\pm$  标准差表示,两组间均数比较采用双侧 student's-t 检验, $P < 0.05$  为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 TREM-1 在 PA 角膜炎中的表达

我们先前的研究显示,PA 感染角膜后,TREM-1 在敏感型 C57BL/6 小鼠中表达上升<sup>[7]</sup>,为了进一步确定 TREM-1 在 PA 敏感型和 PA 耐受型小鼠角膜中的表达差别,我们分别建立了 C57BL/6 小鼠和 BALB/c 小鼠的 PA 角膜炎模型,检测感染角膜中的 TREM-1 水平。结果显示,角膜感染后 1、3、5 d,两种小鼠中 TREM-1 的表达随着感染时间增加而增加,且 C57BL/6 小鼠的 TREM-1 表达水平显著高于 BALB/c 小鼠(图 1)。

### 2.2 TREM-1 在 PA 角膜炎中的蛋白表达

为了进一步确定 TREM-1 在 PA 感染角膜中的表达和分布,我们进一步用免疫荧光法检测了 PA 感染的 C57BL/6 和 BALB/c 小鼠角膜中的

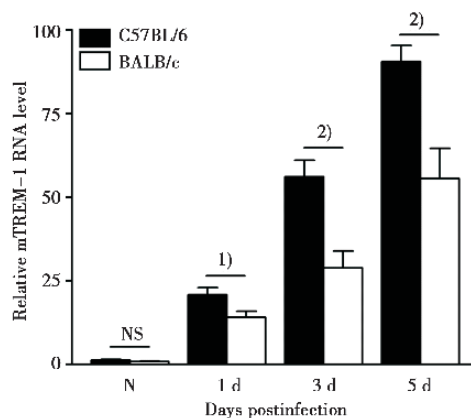


图 1 PA 感染 C57BL/6 和 BALB/c 小鼠角膜前后 TREM-1 的表达水平

Fig.1 TREM-1 expression in C57BL/6 and BALB/c corneas before and after PA infection

TREM-1 mRNA levels were significantly increased in C57BL/6 vs BALB/c corneas at 1, 3 and 5 days post-infection (p.i). Data are the mean  $\pm$  SEM ( $n=5$ ) and represent three individual experiments. NS, not significant; 1)  $P < 0.05$ ; 2)  $P < 0.01$ ; 3)  $P < 0.001$ .

TREM-1 表达,结果显示(图 2),角膜感染后 C57BL/6 小鼠的 TREM-1 阳性细胞(红色荧光标记)显著高于 BALB/c 小鼠,表明 C57BL/6 小鼠角膜中 TREM-1 的蛋白表达高于 BALB/c 小鼠,与上述 PCR 结果一致。此外,TREM-1 阳性细胞主要存在于角膜上皮和感染后的角膜基质,说明 TREM-1 在上皮细胞和炎性细胞中均有表达。

### 2.3 小鼠腹腔巨噬细胞 TREM-1 的表达

巨噬细胞是 PA 角膜炎中的主要炎性细胞,因此我们建立了小鼠腹腔巨噬细胞的体外感染模型,进一步探讨 PA 对 TREM-1 表达的影响。我们分别用 PA 感染或 TLR4 的配体 LPS(1  $\mu$ g/mL)刺激小鼠腹腔巨噬细胞,在 0、1、2、4、8 h 检测 TREM-1 的表达。结果显示,TREM-1 的表达随着 PA 感染或 LPS 刺激的时间延长逐渐升高,呈时间-效应关系(图 3)。

### 2.4 TREM-1 通过 MAPK 通路和 PI3K-Akt 通路调节炎症因子的水平

为了揭示 TREM-1 调控 PA 角膜炎的分子机制,我们在小鼠腹腔巨噬细胞中检测了 TREM-1 对炎症因子的影响。结果显示,用 TREM-1 活化抗体和 LPS 共同刺激小鼠腹腔巨噬细胞,促炎因子 IL-1 $\beta$ (图 4A),MIP-2(图 4B),TNF- $\alpha$ (图 4C),IL-6(图 4D)的表达显著上升。为了进一步揭示 TREM-1

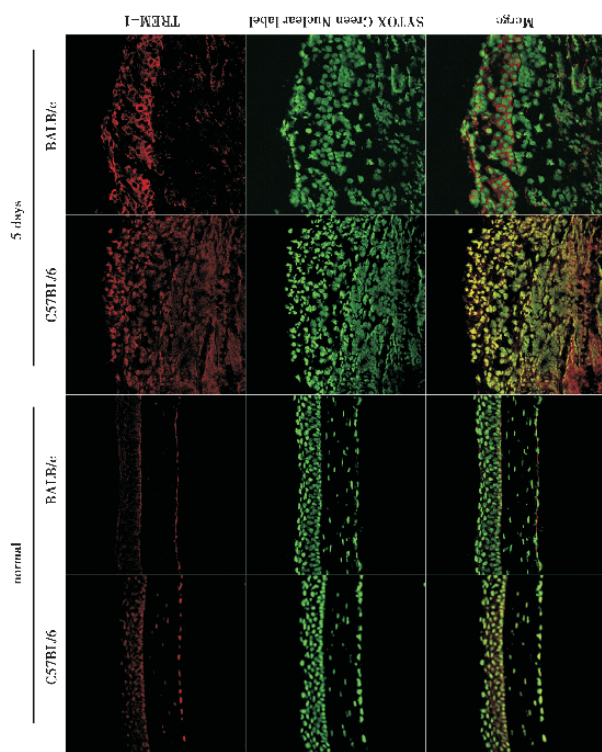


图 2 PA 感染 C57BL/6 和 BALB/c 小鼠角膜前后 TREM-1 的蛋白水平

Fig.2 Immunostaining of TREM-1 in C57BL/6 and BALB/c corneas before and after PA infection

More positive staining of TREM-1 (red) was detected in infected C57BL/6 vs BALB/c corneas at 5 days p.i., while no difference was detected in normal corneas between the two groups. Controls, in which the primary Ab was replaced by goat IgG, were negative for TREM-1 staining and appeared similar to SYTOX Green Nuclear staining (green).  $\times 400$ . Images shown are representative of three individual experiments each with 3 mice per group.

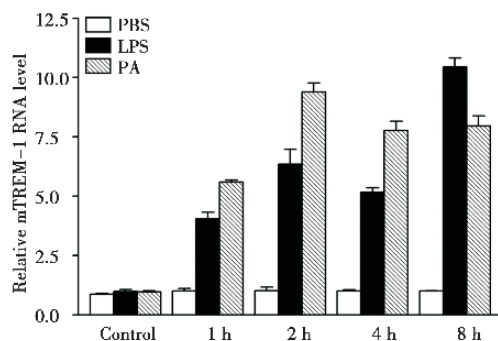


图 3 LPS 刺激或 PA 感染小鼠腹腔巨噬细胞后 TREM-1 的表达水平

Fig.3 TREM-1 expression in the peritoneal M after LPS stimulation or PA infection

TREM-1 expression levels were significantly increased after LPS (1 g/mL) or PA (MOI 1) challenge. Data are the mean  $\pm$  SEM ( $n = 5$ ) and represent three individual experiments.

调控的信号通路,我们分别用 JNK 抑制剂 (SP600125, 10  $\mu\text{mol/L}$ ), p38 抑制剂 (SB203580, 10  $\mu\text{mol/L}$ ), ERK 抑制剂 (U0126, 2.5  $\mu\text{mol/L}$ ) 以及 PI3K 抑制剂 (LY294002, 20  $\mu\text{mol/L}$ ) 预处理巨噬细胞 1 h, 然后用 LPS 和 TREM-1 活化抗体共刺激 4 h, 最后用 real-time PCR 检测炎症因子 IL-1 $\beta$  (图 4A), MIP-2 (图 4B), TNF- $\alpha$  (图 4C), IL-6 (图 4D) 的表达水平。结果显示, MAPK 和 PI3K 抑制剂显著抑制 TREM-1 诱导的炎症因子表达; 表明在巨噬细胞中, TREM-1 通过 MAPK 和 PI3K 通路上调促炎因子的表达。

### 2.5 Th1/Th2 细胞因子对 TREM-1 表达的影响

由于 Th1 和 Th2 细胞因子在 PA 感染角膜炎病程中具有重要作用, 所以我们进一步探讨 TREM-1 和 Th1/Th2 细胞因子之间的相互关系。我们分别用终浓度为 10 ng/mL 的 IFN- $\gamma$ , IL-10 和 IL-4 处理巨噬细胞, 以 LPS 作为阳性对照。结果显示, IFN- $\gamma$  刺激巨噬细胞后可以诱导 TREM-1 表达; 而 IL-10 和 IL-4 刺激巨噬细胞对 TREM-1 表达无影响 (图 5), 表明 TREM-1 的表达受到 Th1 型细胞因子, 而非 Th2 型细胞因子的调控。

## 3 讨论

TREM-1 是一种新发现的细胞膜受体, 主要表达于髓系来源的中性粒细胞、树突状细胞以及巨噬细胞<sup>[8]</sup>。我们的结果显示 TREM-1 在未感染的小鼠角膜(上皮)和 PA 感染的小鼠角膜(上皮、基质)中均有表达, 说明 TREM-1 在角膜中可能主要表达于上皮细胞和浸润的炎症细胞如中性粒细胞、巨噬细胞等。

文献报道, 小鼠内毒素休克模型中, 用 TREM-1 阻断抗体抑制 TREM-1 的活性可以明显增加小鼠的生存率, 并且减少血清中 TNF- $\alpha$  的水平<sup>[8]</sup>。我们的结果显示, 在 PA 感染的腹腔巨噬细胞中, TREM-1 的表达水平随着时间的延长不断升高, 并且与 LPS 刺激的趋势相仿, 所以我们接下来用 LPS 体外刺激腹腔巨噬细胞对 TREM-1 的分子调控机制进行研究。结果显示, 巨噬细胞 TREM-1 的活化会增加 LPS 刺激所引起的炎症因子 IL-1 $\beta$ , MIP-2, TNF- $\alpha$  和 IL-6 的表达, 这与我们先前在小鼠 PA 角膜炎模型中阻断 TREM-1 的结果相符<sup>[7]</sup>。研究表明, TREM-1 可能通过与 TLR4 形成复合物

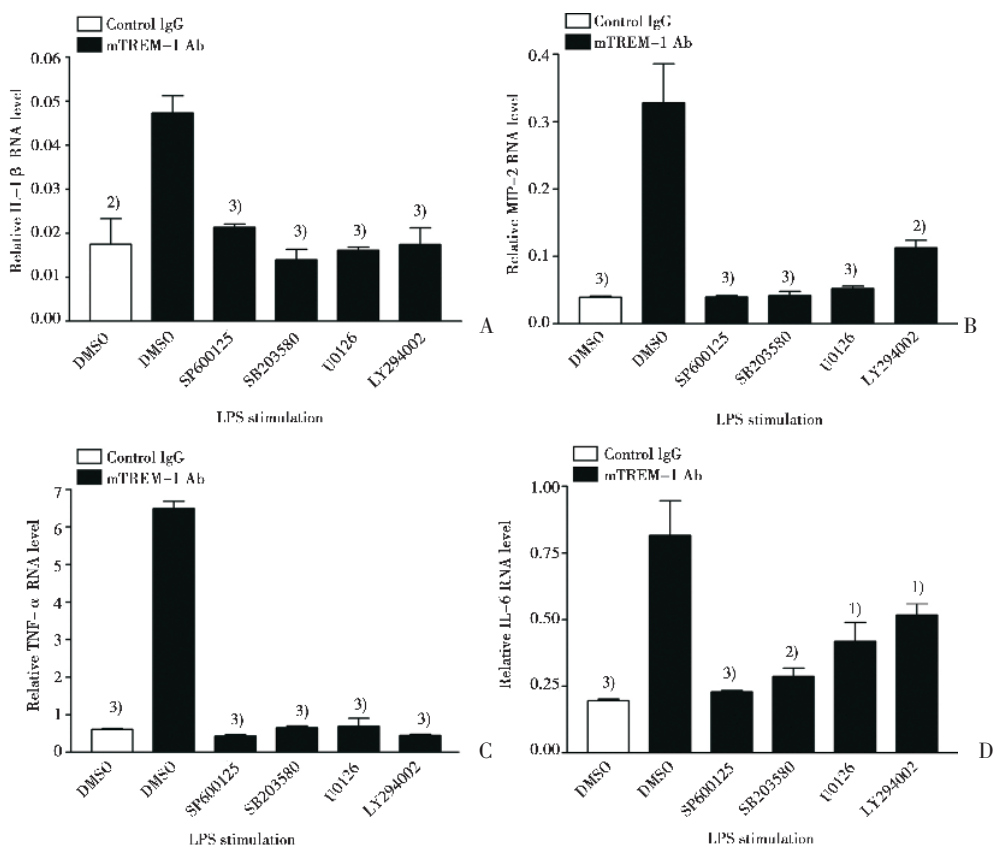


图 4 TREM-1 通过 MAPK 和 PI3K-Akt 通路调节促炎因子生成

Fig.4 TREM-1 modulated pro-inflammatory cytokine production through MAPK and PI3K-Akt signaling pathway

Peritoneal M $\phi$  were pretreated with DMSO or inhibitors for JNK (SP600125, 10 mol/L), p38 (SB203580, 10  $\mu$ mol/L), ERK (U0126, 2.5  $\mu$ mol/L), or PI3K (LY294002, 20 mol/L) for 1h, and then simulated with LPS and agonistic mTREM-1 Ab for 4 hours. Expression levels of pro-inflammatory cytokines including IL-1 $\beta$ (A) MIP-2(B), TNF- $\alpha$  C and IL-6 (D) were measured by real-time PCR and normalized to  $\beta$ -actin in each sample. Data are the mean  $\pm$  SEM ( $n = 5$ ) and represent three individual experiments. NS, not significant; 1)  $P < 0.05$ ; 2)  $P < 0.01$ ; 3)  $P < 0.001$ .

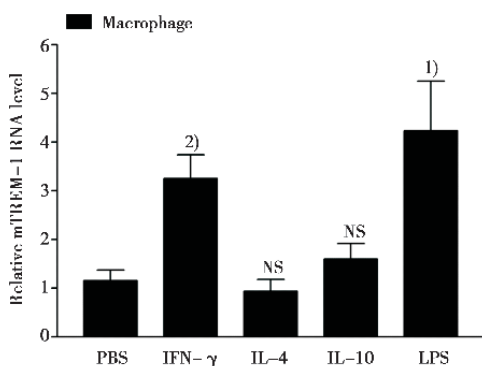


图 5 Th1/Th2 型细胞因子对 TREM-1 表达的影响  
Fig.5 The effect of Th1/Th2 cytokines on TREM-1 expression

TREM-1 expression levels were significantly increased in peritoneal M $\phi$  after IFN- $\gamma$  stimulation. No difference in TREM-1 expression was detected between Th2 cytokine (IL-4 and IL-10) and PBS control treatment. LPS was used as a positive control. Data are the mean  $\pm$  SEM ( $n = 5$ ) and represent three individual experiments. NS, not significant; 1)  $P < 0.05$ ; 2)  $P < 0.01$ .

从而促进炎症反应<sup>[9]</sup>。我们的结果显示,在 TLR4 配体 LPS 刺激的巨噬细胞中,TREM-1 对炎症因子表达的上调作用依赖 PI3K-Akt 以及 MAPK 通路。由于 PI3K-Akt 和 MAPK 通路是 TLR 下游重要通路<sup>[10]</sup>,提示 TREM-1 与 TLR 通路存在共同通路,进而协同放大炎症反应。PA 角膜炎进程受到各种免疫调控因素的共同影响,如激活和抑制 TLR 通路相关分子间的平衡,包括 SIGIRR、ST2、SOCS1 等分子<sup>[11]</sup>。而 Th1 和 Th2 型免疫应答的平衡同样影响病程的进展,Th1 型细胞因子如 IFN- $\gamma$ 、IL-12、IL-18 等促进炎症反应、清除病原体<sup>[1]</sup>; Th2 型细胞因子 IL-4、IL-5、IL-10 等拮抗 Th1 型反应对组织的破坏作用<sup>[1]</sup>。我们先前的研究发现,在 PA 敏感型的 C57BL/6 小鼠角膜中,阻断 TREM-1 可以抑制 IFN- $\gamma$  的表达,促进 Th2 相关因子的表达,并且增加抗菌肽的生成,表明 TREM-1 激活可

以促进 Th1 细胞因子,抑制 Th2 型因子<sup>[7]</sup>。为了进一步探讨 TREM-1 对于 Th1/Th2 型反应的调控机制,我们首先分别用 Th1 型的 C57BL/6 小鼠和 Th2 型的 BALB/c 小鼠建立了 PA 角膜炎模型。结果发现,PA 感染后,C57BL/6 小鼠角膜的 TREM-1 表达水平明显高于 BALB/c 小鼠,提示 TREM-1 可能通过调节 Th1/Th2 平衡进而影响角膜炎反应。体外结果显示,Th1 型细胞因子 IFN- $\gamma$  刺激小鼠腹腔巨噬细胞后会引起 TREM-1 的表达升高;而 Th2 型细胞因子 IL-4 或 IL-10 对 TREM-1 表达无影响。有文献报道,IFN- $\gamma$  刺激可以提高上皮细胞中 TLR 受体的表达水平<sup>[12]</sup>,表明 IFN- $\gamma$  可能具有活化 TLR 通路的功能,而 TREM-1 的激活又能放大 TLR 通路,促进 Th1 细胞因子 IFN- $\gamma$  和促炎因子如 IL-1 $\beta$ ,MIP-2,TNF- $\alpha$  和 IL-6 的产生<sup>[7]</sup>,提示在 TREM-1 和 Th1 细胞因子之间可能存在一个正反馈的关系,可以不断地刺激细胞产生相关促炎因子和介质,从而放大炎症反应,最终导致机体的免疫病理损伤。在 PA 角膜炎小鼠模型中,由于 B6 小鼠是 Th1 型反应主导,在 PA 感染角膜后,形成 TREM-1 与 Th1 型细胞因子的正反馈,从而加重病情,导致角膜溃疡穿孔;而 BALB/c 小鼠是 Th2 型反应为主,在 PA 感染后,TREM-1 表达较低,进而影响了与 Th1 因子之间的相互作用,形成一种自限性的病情,表现为对 PA 耐受。

综上所述,本研究揭示了 TREM-1 通过放大 TLR 通路来上调促炎性因子和 Th1 型细胞因子的表达,而 Th1 型细胞因子会进一步放大 TREM-1 的促炎效应,从而导致过度炎症引起的角膜免疫病理损伤。这些发现可能为 PA 角膜炎等感染性眼病的防治提供了新的理论依据。

#### 参考文献:

- [1] Hazlett LD. Corneal response to *Pseudomonas aeruginosa* infection[J]. *Prog Retin Eye Res*, 2004, 23(1): 1-30.
- [2] Engel LS, Callegan MC, Hobden JA, et al. Effectiveness of specific antibiotic/steroid combinations for therapy of experimental *Pseudomonas aeruginosa* keratitis[J]. *Curr Eye Res*, 1995, 14(3): 229-234.
- [3] Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response[J]. *Cell*, 2002, 111(7): 927-930.
- [4] Rock FL, Hardiman G, Timans JC, et al. A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(2): 588-593.
- [5] Geissmann F, Manz MG, Jung S, et al. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells [J]. *Science*, 2010, 327(5966): 656-661.
- [6] Bouchon A, Dietrich J, Colonna M. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes [J]. *J Immunol*, 2000, 164(10): 4991-4995.
- [7] Wu M, Peng A, Sun M, et al. TREM-1 amplifies corneal inflammation after *Pseudomonas aeruginosa* infection by modulating Toll-like receptor signaling and Th1/Th2-type immune responses [J]. *Infect Immun*, 2011, 79(7): 2709-2716.
- [8] Nathan C, Ding A. TREM-1: a new regulator of innate immunity in sepsis syndrome [J]. *Nat Med*, 2001, 7(5): 530-532.
- [9] Arts RJ, Joosten LA, Dinarello CA, et al. TREM-1 interaction with the LPS/TLR4 receptor complex [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2011, 22(1): 11-14.
- [10] Froy O. Regulation of mammalian defensin expression by Toll-like receptor-dependent and independent signalling pathways [J]. *Cell Microbiol*, 2005, 7(10): 1387-1397.
- [11] Wang J, Hu Y, Deng WW, et al. Negative regulation of Toll-like receptor signaling pathway [J]. *Microbes Infect*, 2009, 11(3): 321-327.
- [12] Harada K, Isse K, Nakanuma Y. Interferon gamma accelerates NF-kappaB activation of biliary epithelial cells induced by Toll-like receptor and ligand interaction [J]. *J Clin Pathol*, 2006, 59(2): 184-190.

(编辑 孙慧兰)