

树突状细胞在角膜疾病中的研究现状

付 燕^{1,2}, 高晓唯²

作者单位:¹(832000)中国新疆维吾尔自治区石河子市,石河子大学医学院;²(830011)中国新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市,解放军474医院全军眼科中心

作者简介:付燕,女,在读硕士研究生,研究方向:眼表疾病与白内障。

通讯作者:高晓唯,男,教授,硕士研究生导师,研究方向:眼表疾病与白内障。gxwgaoxw@263.net

收稿日期:2012-01-17 修回日期:2012-02-12

Research status of dendritic cells in corneal diseases

Yan Fu^{1,2}, Xiao-Wei Gao²

¹Medical College of Shihezi University, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China; ²Ophthalmic Center, No. 474 Hospital of Chinese PLA, Urumchi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Xiao-Wei Gao. Ophthalmic Center, No. 474 Hospital of Chinese PLA, Urumchi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. gxwgaoxw@263.net

Received:2012-01-17 Accepted:2012-02-12

Abstract

• Dendritic cells (DC) are the most efficient antigen-presenting cells which initiate immune responses. The corneal DC play a critical role in corneal transplantation rejection. Its maturation and centripetal migration strongly associated with the cornea transplantation and all types of keratitis. This article reviews the research on corneal DC and its role in corneal diseases.

• KEYWORDS: dendritic cell; cornea transplantation; keratitis

Fu Y, Gao XW. Research status of dendritic cells in corneal diseases. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2012;12(3):447-450

摘要

树突状细胞(dendritic cells, DC)是目前所知的机体内功能最强的抗原提呈细胞,是机体免疫应答的始动者。其成熟和向心迁移与角膜移植免疫及各种类型角膜炎关系密切。我们就 DC 在眼部各组织的分布及其在相关疾病中作用的研究进展进行综述。

关键词:树突状细胞;角膜移植;角膜炎

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.03.21

付燕,高晓唯. 树突状细胞在角膜疾病中的研究现状. 国际眼科杂志 2012;12(3):447-450

0 引言

树突状细胞(dendritic cells, DC)代表了血液循环中抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APCs)的一个大家族,分布于机体几乎所有组织,但数量却极微,又无特异性标志,在一般染色中无法加以鉴别,分离更为困难,致使 DC 的研究一度陷入困境。自从 Inaba 等^[1]首先应用 GM-CSF 体外成功扩增小鼠骨髓来源 DC 后,DC 的研究有了飞速的发展,眼科领域 DC 的研究也得到了快速发展。DC 的存在与角膜免疫有重要关联,目前对于 DC 与角膜疾病的关系已进行了一些相关研究。

1 树突状细胞的生物学特性

体内 DC 可以主要归为两大类型,即髓系 DC 和淋巴系 DC。髓系 DC 的分化发育过程分成 4 个阶段,即髓系 DC 前体(progenitors)、未成熟期 DC (immature DC)、迁移期 DC(migratory DC)及成熟期 DC(mature DC)。髓系 DC 起源于骨髓,其前体细胞为 CD34⁺造血干细胞,由骨髓进入循环系统,分布于除脑以外的全身各组织器官。DC 是一类抗原呈递功能最强的专职 APCs。髓系 DC 高表达激活 T 细胞所需的一系列分子,其激活 T 细胞的能力是巨噬细胞和 B 细胞的 10~100 倍,更独特的功能是髓系 DC 能激活初始型 T 细胞,因此作为免疫应答的启动者是其它专职 APCs 所不可替代的。其分子机制是 DC 加工和呈递抗原,同时成熟 DC 高表达主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)-I 类/MHC-II 类分子、共刺激分子和黏附分子,可将加工处理后形成的多肽片段以多肽-MHC 复合物形式呈递给 T 细胞,并提供充分的共刺激信号,从而强烈激活 T 细胞。同时,DC 在外周中可通过呈递自身抗原给 T 细胞而诱导对自身抗原的免疫耐受^[2]。DC 在机体免疫中起着双向调节作用,而 DC 成熟与否,在形态、功能上表现出的巨大差异是决定 DC 在免疫反应中发挥何种作用的关键。

2 树突状细胞在角膜的分布

当 DC 位于上皮组织内时,则被特定称为朗格罕氏细胞(langerhans cells, LC)。DC 和 LC 在角膜和眼表组织中是具有代表性的专职 APCs。除 LC 外,正常人类角膜至少包含 3 种类型髓系的 DC:主要为 CD11c(+)CD16(-)的 DC,其次是少量 CD11c(+)CD16(+)和 CD11c(+)CD1c(+)的 DC^[3]。以往在人类和动物模型中研究角膜 APCs 的存在都是依赖于 MHC-II 的表达,以 MHC-II 为标记物对角膜进行研究,发现角膜中央区的上皮层以及基质层内均无树突状的 APCs,并认为正是因为角膜中央区 APCs 的缺失导致了角膜的免疫赦免状态^[4]。然而,随着对 DC 研究的不断深入,人们对 DC 的生物学特性有了更为深刻的认识,并逐渐发现除内皮层外,正常角膜的上皮层以及浅基质层内均存在 DC^[5]。上皮层内,角膜周边区及中央区均存在 DC。Zhivov 等^[6]利用活体共聚焦显微技术首次

观测到人角膜上皮层内 35~60 μm 处普遍存在 DC,且周边区的细胞密度为 $98 \pm 8\text{mm}^{-2}$,中央区的为 $34 \pm 3\text{mm}^{-2}$,DC 的密度从角膜缘到角膜中央逐渐降低。角膜缘和周边角膜的 DC 处于成熟状态, MHC-II (+),而在角膜中央和旁中心区域,DC 不但密度低,而且处于未成熟状态,也不表现激活的标志, MHC-II (-) [7]。DC 与角膜上皮在黏膜表面形成一个功能性的整体来维持角膜稳态和组织修复 [8]。角膜基质层内的 DC 近年来引起较多关注,对于人角膜基质层内 DC 的研究,目前仍停留于对细胞来源鉴定的水平上, Yamagami 等 [9] 证实人角膜基质层内的 DC 来源于骨髓单核细胞系。此外,人正常角膜基质层内只存在 CD14 (+) 的 DC 前体细胞以及 MHC-II (+) CD80 (-) 和 CD8 (-) 的 DC。在动物试验中, Hamrah 等 [10] 通过免疫荧光染色以及共聚焦显微镜技术发现,在正常角膜浅基质层内存在大量髓系 DC 以及 DC 前体细胞,且位于角膜中央区的 DC 均表现为 MHC-II (-) CD80 (-) 和 CD86 (-),而位于周边区的 DC 则大多表现为 MHC-II (+) CD80 (+) 和 CD86 (+)。小鼠角膜基质层中的 DC 表型分布以及变化与上皮层中的 DC 极其相似。新生儿 DC 与成人分布不同:胎儿在 10wk 时可见 DC 出现在角膜上皮及基质层,呈向心性分布, MHC-II (+)。细胞数目随胎龄增长而增加。新生儿期 DC 均匀分布于角膜上皮、基底层、前弹力层,细胞缺乏成人 DC 伸展的树突,造成这种分布不同的原因目前尚不清楚。

3 树突状细胞的成熟与迁移

3.1 角膜树突状细胞的成熟和向心性迁移 正常情况下,角膜内 DC 处于静止状态,当角膜受到侵害(如炎症、烧伤、缝线、移植)时,角膜细胞可释放 IL-1 和 GM-CSF 等细胞因子,使 DC 显著增多、激活,角膜上皮 LC 的细胞表型发生很大变化,角膜中央和周边区 DC 的细胞密度明显增加 [11,12]。角膜上皮未成熟状态的 LC 可以变为成熟状态,表现成熟和激活的表型,同时上调 MHC-II、协同共刺激分子 CD80 和 CD86 的表达。烧伤后角膜中央 LC 的密度增加, LC 转变为成熟状态,首先是在靠近烧伤的部位,随后遍布整个角膜 [13]。细胞迁移以及细胞成熟共同导致了上述角膜中央区上皮层内 DC 的变化,但主要的原因是角膜中央和旁中心区域固有 LC 的激活。实验表明,在刺激后的 6h 内,并没有 DC 的迁移,角膜中心的 DC 基本没有移动,角膜周边的 DC 也没有出现大量的迁移。但刺激后形态发生明显改变,细胞的定向和突起的方向都直接朝向刺激源处。但是 24h 时,角膜中央 DC 数量增加,可能由正常角膜中央固有 DC 的成熟和角膜缘 DC 的迁移而来,但是 6~24h 之间细胞如何迁移而来,迄今仍不明 [13-15]。

3.2 树突状细胞成熟与迁移的影响因素 DC 成熟受多种因素影响, IL-10 和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 等可抑制其成熟。微生物细胞成分如细菌脂多糖、集落刺激因子(如 GM-CSF)和细胞因子(如 IL-4, IL-12)等能促使 DC 成熟。健康人角膜中心 DC 呈未成熟状态, Shen 等 [16] 对健康人角膜的研究发现,眼前节的特殊微环境对 DC 的成熟有抑制作用。角膜和房水中存在免疫抑制因子,一方面,角膜可产生免疫抑制因子 TGF- β ;另一方面,房水中存在许多免疫抑制因子如 TGF- β 和 α -黑色素细胞刺激素 (α -melanocyte stimulating hormone, α -MSH)

及降钙基因相关肽 (calcitonin gene-related peptide, CGRP),这些细胞因子均影响 DC 的成熟,角膜和房水相关的免疫调节因子在角膜移植和大量角膜炎症中有重要作用。

几乎任何角膜中央的刺激都可以导致角膜周边、角膜缘或结膜的 DC 向心性迁移。Perez 等 [17] 发现在角膜移植后 24h 内,供者骨髓源的 DC 迁移至植床,24h 后,大量受体 DC 迁移至移植植物,究竟是何种因素促发了 DC 的迁移。研究表明,在角膜移植术后,移植片内的 IL-1 以及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α) 的浓度均明显升高,且当发生免疫排斥反应时其浓度会更高 [18]。选择素和血管细胞黏附分子-1 也介导 DC 的归巢,但不同的是,静止状态选择素 P 和血管细胞黏附分子-1 介导 DC 向角膜缘淋巴管迁移,而在炎症时,DC 向角膜的归巢由选择素 P 和选择素 E 介导 [19]。

4 树突状细胞与角膜疾病

4.1 树突状细胞与角膜移植 角膜移植是目前治疗某些致盲性角膜疾病的唯一方法,由于角膜的免疫赦免状态,大大降低了受体对角膜移植片的免疫排斥反应。然而,据统计每年仍约有 10% 的初次接受角膜移植的患者发生不可逆性免疫排斥反应,而最终导致手术失败。角膜移植后,DC 的密度明显增加 [20]。研究表明,DC 主要通过直接和间接两条途径引发受体对供体器官的排斥反应 [21]。所谓直接途径是指:供体脏器内原有的 DC 表面表达供体 MHC-II 类分子及抗原多肽,当移植脏器血液循环恢复后,DC 由移植脏器内迁移至受体的二级淋巴组织,例如淋巴结、脾、扁桃体等,并在那里与受体特异性 T 细胞相互作用,递呈供体抗原多肽,激活受体 T 细胞,诱导免疫应答,触发排斥反应。Huq 等 [22] 在已发生炎症反应的高危角膜移植中发现,移植术后免疫排斥反应严重,角膜植片的 DC 高表达 CD40, CD80 以及 CD86,且出现大量致敏的 T 细胞。但是,如果将供体小鼠的 MHC-II 基因敲除后再进行角膜移植,免疫排斥反应明显减弱,由此可推断出角膜移植片内成熟的 DC 可以促发高危角膜移植免疫排斥反应。Yamagami 等 [23,24] 证实受体淋巴结内存在供体来源的 DC,且如果在角膜移植前将受体的淋巴结切除,即使是高危角膜移植也不会发生移植排斥反应。所谓间接途径是指:受体 imDC 由于受到各种炎性因子和趋化因子的影响,迁移进入角膜移植片内同时由未成熟状态转化为成熟的 DC,其细胞表面表达大量的 MHC-II 分子、共刺激分子(主要为 B7-2)和细胞黏附分子 (ICAM-1)。完成活化的 DC 再次迁移至受体的二级淋巴组织,并激活 T 细胞,触发排斥反应。早期研究曾认为角膜移植免疫排斥反应中主要是间接途径发挥作用 [25],随着研究的进展,直接途径被越来越多的研究者所认识。

4.2 树突状细胞与角膜炎 DC 作为角膜重要的 APCs,在各种类型角膜炎的发生、发展过程中都起着关键作用。Hazlett 等 [26] 发现铜绿假单胞菌感染后角膜中心 LC 增加。Alsuhaibani 等 [27] 和 Dosso 等 [28] 研究者利用活体共聚焦显微技术证实了流行性角结膜炎的起始伴随着大量 DC 在角膜上皮的募集,主要分布于上皮层和浅基质层。利用小剂量紫外线-B (UV-B) 照射可以减弱 DC 向心性迁移的原理, Miller 等 [29] 设计了 I 型单纯疱疹病毒 (HSV-I) 感染

鼠角膜的实验, 未经过 UV-B 照射的病毒感染角膜发生了典型的 DTH 和较重的角膜基质炎, 经过 UV-B 照射的感染角膜基质炎的程度明显轻于前者未照射角膜, 且角膜基质的持续混浊程度、新生血管化与 DC 的迁移和数量呈正关联。Frank 等^[30]进一步证实了角膜固有 DC 和 HSV-I 感染后 24h 浸润的 DC 对诱导 NK 细胞的迁移有重要的作用。Cruzat 等^[31]在研究棘阿米巴导致的角膜炎时同样发现, 角膜中央 DC 密度明显增加, 形态发生变化。另外, Cruzat 等^[32,33]等还发现感染性角膜炎的患眼角膜中心 DC 密度增高, 形态发生变化, 角膜上皮基底层下神经丛分布减少; 对侧未感染眼临床症状虽不明显, 但角膜上皮基底层下神经丛数量和敏感性均减弱, DC 密度增高, 提示角膜的免疫和神经系统有着相互影响作用。

4.3 树突状细胞与其它角膜疾病 眼内其他部位及全身的病变也可影响角膜 DC。角膜缘干细胞缺乏的患者角膜中央和角膜缘 DC 的密度降低^[34]。临床上, 由自身免疫性疾病导致的非感染性角膜溃疡经常发生在角膜周边部, 推测可能与角膜缘 DC 分布密集有关。Ceresara 等^[35]在对克罗恩病患者角膜的研究发现, 克罗恩病患者的角膜 DC 密度较正常组低。Wang 等^[36]在对翼状胬肉患者的研究发现角膜 DC 密度明显降低。Eden 等^[37]对先天无虹膜的角膜炎家族的观察发现, 角膜的突出病变是角膜厚度增加, 基质混浊, 角膜缘干细胞缺乏, DC 密度明显增高。Sacchi 等^[38]在对视网膜脱离玻璃体切割术后患者角膜的观察发现, 角膜 DC 密度明显增加。结膜的炎症也可引起角膜 DC 增多, 说明结膜的状态也影响角膜的免疫微环境。配戴接触镜 1wk 后即可引起角膜 DC 增多^[39], 增加了角膜对病原微生物(如绿脓杆菌、单纯疱疹病毒)的易感性, 并使角膜溃疡发生的风险大为提高^[40]。

5 展望

综上所述, 角膜的上皮层以及基质层均普遍存在 DC, 且位于角膜中央区的 DC 处于未成熟状态。此外, 角膜内的 DC 参与了角膜移植术后的免疫排斥反应和各种类型的角膜炎。目前, 关于角膜内的 DC 仍有众多问题亟待解决: 角膜内 DC 在角膜免疫赦免状态中究竟担当着何种角色? 导致 LC 在角膜特殊分布形式的原因、调节它们成熟分化以及在生理状态下使它们保持为未成熟状态的详尽分子机制? 总之, 对角膜内 DC 的深入研究必然会进一步完善角膜免疫学, 也必将为那些临床上较为棘手的角膜病、角膜排斥反应提供针对性地选择治疗措施。虽然目前人们对 DC 的研究尚处于初步阶段, 但是相信通过大量的动物及临床实验研究, 随着对 imDC 及其诱导耐受机制研究的不断深入, 将为其在角膜移植免疫耐受的临床应用提供更坚实的基础, 也必然会为角膜移植免疫排斥反应的治疗提供新思路。

参考文献

- 1 Inaba K, Inaba M, Romani N, et al. Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemental with granulocyte/macrophage colony-stimulation factors. *J Exp Med* 1992;176(6):1693-1702
- 2 赵勇. 移植免疫耐受. 北京: 中国医药科技出版社 2002;85-104
- 3 Yamagami S, Yokoo S, Usui T, et al. Distinct populations of dendritic cells in the normal human donor corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2005;46(12):4489-4494

- 4 Niederkorn JY, Ross JR, He Y. Effect of donor Langerhans cells on corneal graft rejection. *J Invest Dermatol* 1992;99(5):104-106
- 5 Hattori T, Chauhan SK, Lee H, et al. Characterization of langerin-expressing dendritic cell subsets in the normal cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(7):4598-4604
- 6 Zhivov A, Stave J, Vollmar B, et al. *In vivo* confocal microscopic evaluation of Langerhans cell density and distribution in the normal human corneal epithelium. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243(10):1056-1061
- 7 Mayer WJ, Irschick UM, Moser P, et al. Characterization of antigen-presenting cells in fresh and cultured human corneas using novel dendritic cell markers. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(10):4459-4467
- 8 Gao N, Yin J, Yoon GS, et al. Dendritic cell-epithelium interplay is a determinant factor for corneal epithelial wound repair. *Am J Pathol* 2011;179(5):2243-2253
- 9 Yamagami S, Ebihara N, Usui T, et al. Bone marrow-derived cells in normal human corneal stroma. *Arch Ophthalmol* 2006;124(1):62-69
- 10 Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, et al. The corneal stroma is endowed with a significant number of resident dendritic cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(2):581-589
- 11 Resch MD, Imre L, Tapasztó B, et al. Confocal microscopic evidence of increased Langerhans cell activity after corneal metal foreign body removal. *Eur J Ophthalmol* 2008;18(5):703-707
- 12 Su PY, Hu FR, Chen YM, et al. Dendritiform cells found in central cornea by *in vivo* confocal microscopy in a patient with mixed bacterial keratitis. *Ocul Immunol Inflamm* 2006;14(4):241-244
- 13 Lee EJ, Rosenbaum JT, Planck SR. Epifluorescence intravital microscopy of murine Corneal dendritic cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(4):2101-2108
- 14 Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M, et al. Epithelial dendritic cell distribution in normal and inflamed human cornea; *in vivo* confocal microscopy study. *Am J Ophthalmol* 2006;142(5):736-744
- 15 Hamrah P, Liu Y, Zhang Q, et al. Alterations in corneal stromal dendritic cell phenotype and distribution in inflammation. *Arch Ophthalmol* 2003;121(8):1132-1140
- 16 Shen LL, Barabino S, Andrew W, et al. Effect of the ocular microenvironment in regulating corneal dendritic cell maturation. *Arch Ophthalmol* 2007;125(7):908-915
- 17 Perez VL, Rodriguez-Perez JP, Carlson EC, et al. *In vivo* visualization of early inflammatory cell recruitment in corneal transplantation using MAFIA and EGFP-chimeric mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(10):4523-4529
- 18 Dekaris I, Gabric N, Markotic A. TNF- α and IL-1 Production by diseased human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44(5):668-672
- 19 Turhan A, Schrems WA, Mantopoulos D, et al. Dendritic cell recruitment to the cornea is differentially regulated in steady state and inflammation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(2):1115-1121
- 20 Hong J, Zheng T, Xu J, et al. Assessment of limbus and central cornea in patients with keratolimbal allograft transplantation using *in vivo* laser scanning confocal microscopy: an observational study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2011;249(5):701-708
- 21 Raimondi G, Thomson AW. Dendritic Cells, tolerance and therapy of organ allograft rejection. *Contrib Nephrol* 2005;146(1):105-120
- 22 Huq S, Liu Y, Benichou G, et al. Relevance of the direct pathway of sensitization in corneal transplantation is dictated by the graft bed microenvironment. *J Immunol* 2004;173(7):4464-4469
- 23 Yamagami S, Dana MR, Tsuru T. Draining lymph nodes play an essential role in alloimmunity generated in response to high-risk corneal transplantation. *Cornea* 2002;21(4):405-409

- 24 Yamagami S, Amano S. Role of resident corneal leukocytes and draining cervical lymph nodes in corneal allograft rejection. *Cornea* 2003;22(7Suppl):61-65
- 25 Fu H, Larkin DF, George AJ. Immune modulation in corneal transplantation. *Transplant Rev(Orlando)* 2008;22(2):105-115
- 26 Hazlett LD, McClellan SA, Rudner XL. The role of langerhans cells in pseudomonas aeruginosa infection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(1):189-196
- 27 Alsuhaibani AH, Sutphin JE, Wagoner MD. Confocal microscopy of subepithelial infiltrates occurring after epidemic keratoconjunctivitis. *Cornea* 2006;25(7):778-780
- 28 Dosso AA, Rungger-Brandle E. Clinical course of epidemic keratoconjunctivitis evaluation by *in vivo* confocal microscopy. *Cornea* 2008;27(3):263-268
- 29 Miller JK, Laycock KA, Nash MM, *et al.* Corneal langerhans cell dynamics after herpes simplex virus reactivation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34(7):2282-2288
- 30 Frank GM, Buella KG, Maker DM, *et al.* Early responding dendritic cells direct the local NK response to control herpes simplex virus 1 infection within the cornea. *J Immunol* 2012;188(2):1350-1359
- 31 Cruzat A, Witkin D, Baniyadi N, *et al.* Inflammation and the nervous system: the connection in the cornea in patients with infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(8):5136-5143
- 32 Cruzat A, Schrems WA, Hoesl LM, *et al.* Contralateral clinically unaffected eyes of patients with unilateral infectious keratitis demonstrate subclinical diminishment of corneal nerves and increase in dendritic cell density. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(2):1206-1212
- 33 Cruzat A, Zheng L, Lee H, *et al.* Diminishment of the subbasal corneal nerve plexus is associated with increased density of epithelial dendritic cells: an *in vivo* confocal microscopy study in patients with infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(6):2878-2883
- 34 Kurbanyan K, Deng S. *In vivo* confocal microscopy study of dendritic cell counts in corneal limbal stem cell deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(8):5117-5123
- 35 Ceresara G, Fogagnolo P, Cilla SD, *et al.* Corneal involvement in Crohn's disease: an *in vivo* confocal microscopy study. *Cornea* 2011;30(2):136-142
- 36 Wang Y, Zhao F, Zhu W, *et al.* *In vivo* confocal microscopic evaluation of morphologic changes and dendritic cell distribution in pterygium. *J Ophthalmol* 2010;150(5):650-655
- 37 Eden U, Fagerholm P, Lagali NS. Pathologic epithelium and anterior corneal nerves in congenital Aniridic Keratopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(1):292-298
- 38 Sacchi M, Carini E, Mattioli S. Corneal involvement after 23-gauge vitrectomy with silicone oil endotamponade for retinal detachment: An *in vivo* confocal microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51(7):3790-3798
- 39 Qazi Y, Cruzat A, Baniyadi N. Early effects of contact lens wear on immune cell density of the ocular surface: preliminary results of a laser *in vivo* confocal microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52(10):6551-6558
- 40 Sankaridurg PR, Rao GN, Rao HN, *et al.* AT Pase-positive dendritic cells in the limbal and corneal epithelium of guinea pigs after extended wear of hydrogel lenses. *Cornea* 2000;19(3):374-377