

中性粒细胞胞外诱捕网参与血管内皮损伤在自身免疫性疾病中的研究进展

张 威¹, 蒋丰智²

基金项目: 东莞市社会发展科技重点项目(编号:20211800904762)

作者单位: 1. 广东医科大学第一临床医学院, 湛江 524023; 2. 广东医科大学东莞市妇幼保健院急诊科, 东莞 523110

第一作者: 张 威, 在读硕士研究生, 研究方向: 川崎病的基础和临床研究。E-mail: zys18007623008@163.com

通信作者: 蒋丰智, 医学硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 川崎病的基础和临床研究。E-mail: gdy2021102291@163.com

[摘要] 血管内皮是维持血管内外环境平衡的关键屏障, 其损伤会导致血浆成分外渗并积聚于周围组织, 构成多种疾病的病理基础。近年来, 中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)在血管屏障损伤中的关键作用逐渐受到关注。该文对 NETs 参与血管内皮损伤在自身免疫性疾病中的研究进展作一综述。

[关键词] 中性粒细胞胞外诱捕网; 血管屏障损伤; 自身免疫性疾病; 血管炎

[中图分类号] R 543 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2024)06-0713-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2024.06.24

Research progress on the involvement of neutrophil extracellular traps in vascular endothelial injury in autoimmune diseases ZHANG Wei¹, JIANG Fengzhi². 1. Guangdong Medical University the First Clinical Medical College, Zhanjiang 524023, China; 2. Department of Emergency, Dongguan Maternal and Child Health Care Hospital, Guangdong Medical University, Dongguan 523110, China

[Abstract] Vascular endothelium is the key barrier to maintain the balance of internal and external vascular environment. The injury of vascular endothelium can lead to the extravasation of plasma components and accumulation in the surrounding tissues, forming the pathological basis of various diseases. In recent years, the critical role of neutrophil extracellular traps(NETs) in vascular barrier injury has gradually received attention. In this paper, the research progress on the involvement of NETs in vascular endothelial injury in autoimmune diseases is reviewed.

[Key words] Neutrophil extracellular traps(NETs); Vascular barrier injury; Autoimmune diseases; Vasculitis

血管内皮屏障在维持机体内部环境稳定以及防御外部病原体侵袭方面发挥着重要作用。当血管内皮屏障受到损伤时, 血管通透性增加, 从而引发一系列疾病, 如败血症、创伤、缺血再灌注损伤、糖尿病以及转移性肿瘤等。这一病理过程涉及复杂的细胞间相互作用和分子信号转导机制^[1]。中性粒细胞作为循环系统中的一种重要白细胞类型, 对血管通透性的影响尤为显著。它们可以通过直接接触内皮细胞(如黏附和迁移)和(或)通过分泌具有生物活性的产物来改变内皮屏障的特性, 从而改变血管通透性^[2]。近年来, 中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)在调节血管通透性中的作用逐渐受到关注。本文对 NETs 参与血管内皮损伤在自身免疫性疾病中的研究进展综述如下。

1 微血管的内皮屏障

微血管的内皮屏障有 3 个主要组成部分: 细胞-细胞连接、管腔表面糖萼和基底外侧局部黏附^[1]。这些组成部分共同作用以影响屏障渗透率。

1.1 细胞-细胞连接 在微血管中, 存在紧密连接(tight junction, TJ)和黏附性连接(adhesion junction, AJ)2 种主要连接类型。TJ 主要由闭塞素和紧密衔接蛋白组成, 这些分子通过细胞质衔接蛋白与肌动蛋白细胞骨架相连, 形成牢固的屏障^[3]。AJ 则被视为外周微血管的主要连接点, 主要由血管内皮-钙黏蛋白组成, 并通过连环蛋白锚定到肌动蛋白细胞骨架上^[4]。AJ 的稳定性和完整性对于维持低血管通透性十分重要^[5]。在炎症反应中, 连接分子的翻译后修饰可动态改变屏障的构象, 增加血管通透性^[6]。

1.2 管腔表面糖萼 多糖-蛋白质复合体是覆盖内皮屏障管腔表面的一层复杂基质网状物,称为糖萼。糖萼主要由糖胺聚糖(glycosaminoglycan, GAG)、蛋白聚糖和糖蛋白组成^[7]。GAG链包含硫酸乙酰肝素、硫酸软骨素和透明质酸等成分。这些成分通过与跨膜糖蛋白CD44结合形成保护层,保护内皮细胞使其免受循环细胞和试剂的损害。糖萼还参与中性粒细胞黏附和其他血管内过程,如凝血和纤溶。糖萼的完整性和厚度受到其生物合成和脱落之间动态平衡的影响。在中性粒细胞介导的先天免疫反应中,当动态平衡被打破时,糖萼成分可能脱落,破坏内皮屏障完整性和增加微血管通透性。糖萼成分的脱落机制主要涉及酶促和非酶促两种途径。其中酶促消化由金属蛋白酶和透明质酸酶等酶类介导,这些酶在特定的生理或病理条件下被激活,从而促使糖萼成分脱落。非酶促刺激(如氧化应激)也能导致糖萼成分脱落。这两种途径在中性粒细胞介导的先天免疫反应中均发挥着重要作用。

1.3 基底外侧局部黏附 内皮细胞通过局部黏附与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)相连^[8]。局部黏附是由整合素、局部黏附激酶(focal adhesion kinase, FAK)和衔接蛋白组成的复杂跨膜结构。这些结构在基础条件下对于维持内皮屏障特性至关重要。在炎症反应中,它们的激活或重新分布可能会导致细胞旁通透性升高。研究表明,FAK、 β FAK和 β 1/3整合素在血凝块纤溶产物引起的微血管泄漏中扮演着重要角色,特别是 β 1/3整合素,作为细胞膜上的重要受体,直接参与维持血管的结构完整性。FAK的激活可以触发Ras-ERK1/2信号通路和肌球蛋白轻链激酶介导的肌动球蛋白收缩,从而导致内皮屏障功能障碍。抑制FAK的活性可能是一种有效的治疗策略,可减轻中性粒细胞或血管内皮生长因子引起的小静脉通透性过高^[9-10]。

2 NETs

中性粒细胞是血液中最常见的白细胞类型,是先天免疫系统中重要的角色,是机体对抗微生物侵袭的第一道防线。在感染过程中,中性粒细胞通过释放炎症因子和活性氧等方式有效对抗病原体^[11]。在病原体的刺激下,中性粒细胞经历一种特定的细胞死亡形式,称为NETosis。在此过程中,中性粒细胞将其核内容物释放至细胞外环境中,形成由DNA和颗粒蛋白组成的网状结构,即NETs。这些NETs能够捕获并杀死病原体,从而在宿主防御机制中发挥重要作用^[12-14]。研究表明,NETs能增加白蛋白或10 kDa葡聚糖通过

内皮细胞单层的渗透率。通过使用脱氧核糖核酸酶I中和NETs的组分,或通过PAD2/4抑制剂或PAD4基因缺失来抑制NETs的形成,可以降低输血相关急性肺损伤和脂多糖诱导的内毒素血症模型小鼠的肺血管通透性^[15]。富含NETs的丝氨酸蛋白酶[如中性粒细胞弹性蛋白酶和基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs)]能够切割血管内皮钙黏蛋白损害连接的完整性。MMPs进一步激活与屏障破坏相关的细胞因子和趋化因子,这些因子的协同作用可能放大高通透性的信号,从而增加血管的通透性^[16]。

3 NETs与自身免疫性疾病

3.1 NETs与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD) IBD包括克罗恩病和溃疡性结肠炎,是一组以慢性肠道炎症为特征的疾病。近年来,NETs在IBD的发病机制中的作用逐渐受到关注。研究显示,机体内NETs的生成与降解处于一种平衡,而脱氧核糖核酸酶I在体内主要负责NETs的降解^[17]。在IBD患者中白介素-8、肿瘤坏死因子- α 、自身抗体抗-蛋白酶3(proteinase 3, PR3)和中性粒细胞胞质抗体(anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)的作用可能促使中性粒细胞生成过量的NETs。这些NETs不仅通过释放因子激活免疫系统,而且还直接损伤肠道的血管内皮和上皮细胞,导致血管通透性增加,使得更多炎症细胞和介质渗透到肠道组织中,加剧炎症和组织损伤^[18]。NETs还能刺激肠道黏膜的单核细胞产生更多的细胞因子,这些因子在IBD的发展中起着核心作用。因此,抑制NETs形成和促进其降解可能是一种有效治疗IBD的策略,可提高患者的生活质量。

3.2 NETs与系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE) SLE是一种复杂的自身免疫性疾病,特征为体内生成大量免疫复合物并沉积在多个组织中,引发肾脏、皮肤和关节的炎症。在SLE患者中,NETs及其组分作为自身抗原,激活B细胞分泌针对自身的抗体,持续加剧疾病的炎症过程^[19]。NETs中的核酸分子在被氧化后可通过内皮细胞的内化并利用Toll样受体及肌动蛋白细胞骨架诱导干扰素-I产生导致血管内皮细胞损伤^[20]。另外,由中性粒细胞产生的抗菌肽能够激活浆细胞样树突状细胞,促进干扰素的生成,增加SLE患者早期心血管疾病的风险^[21]。NETosis是一种伴随NETs形成的细胞死亡过程,可通过释放核酸和组蛋白进一步促进SLE的发展^[22]。SLE中干扰素- α 的产生形成了一个正反馈机制,共同促进疾病的发展,并与体内先天性和获得性免疫细胞

及其细胞因子相互作用。因此,通过抑制 NETs 的形成,促进其降解和调节相关免疫细胞的活性,可能为 SLE 提供新的治疗方案,改善患者的预后。

3.3 NETs 与类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)

RA 是一种慢性全身性自身免疫疾病,严重影响患者的生活质量。RA 的确切发病机制尚未完全明确。虽然通过糖皮质激素、甲氨蝶呤等药物可以控制 RA 进展并缓解关节肿痛,但是许多患者仍然会发展为关节畸形和产生持续的疼痛。研究显示,中性粒细胞在 RA 的早期阶段大量浸润关节腔,并与早期关节炎的症状相关,这些中性粒细胞在炎症因子的作用下释放 NETs,加剧炎症反应^[23]。NETosis 已被证实与 RA 的病理过程密切相关。在 RA 患者中,外周血和滑膜液中的中性粒细胞更倾向于经历 NETosis,从而在关节内积聚。这些 NETs 激活更多免疫反应,导致血管内皮细胞损伤及炎症的加剧,进一步破坏关节组织的结构和功能^[24]。已有证据表明,NETs 可以通过促进炎症和加速组织破坏来推动 RA 的进展,可能成为早期诊断标志物^[25]。针对 NETs 的治疗方法已成为 RA 研究的新热点,目前的治疗策略包括减少 NETs 的产生及增加其清除。例如,tocilizumab (TCZ) 针对 IL-6 受体的单克隆抗体可以减少氧化应激和炎症反应,从而降低 NETosis 的产生,减轻 RA 患者的炎症程度并降低动脉粥样硬化和血栓形成的风险^[26]。针对 PAD4 小分子抑制剂,已在动物模型中展示出良好的疗效,表明通过抑制 PAD4 也可以有效地管理 RA^[27]。这些发现为开发新的治疗方法提供了重要的方向,未来可能会显著改善 RA 患者的疗效。

3.4 NETs 与 ANCA 相关的血管炎(ANCA-associated vasculitis, AAV)

AAV 是一类以 ANCA 为标志的自身免疫性疾病,包括肉芽肿性多血管炎以及嗜酸性粒细胞肉芽肿性多血管炎等。AAV 具有多样的临床表现,并可影响全身多个器官,发病机制相当复杂,尚未完全阐明。研究证实,NETs 在 AAV 的发病过程中扮演着重要的角色。NETs 含有 ANCA 的靶抗原以免疫原性的方式呈现,促进自身免疫反应的发生。ANCA 与这些靶抗原的结合能够激活中性粒细胞,使其释放 NETs,触发 NETosis 过程。这一过程是 AAV 发病机制的核心部分^[28]。AAV 患者的血液和受累组织的 NETs 水平显著高于健康人,进一步证实了 ANCA 能够促进 NETs 的释放,进而参与血管内皮损伤中。血管内皮损伤是导致血管通透性增加、炎症反应加剧及多器官受累的关键病理特征^[29]。大多数处于活动期的 AAV 患者体内可检测到 PR3-ANCA 和 MPO-ANCA

的存在。这表明在中性粒细胞被激活后,ANCA 与暴露于细胞膜表面的靶抗原结合,不仅促进中性粒细胞的进一步活化,而且还增加了先天免疫与后天免疫系统之间的联系^[30]。这种免疫系统的相互作用可能进一步加剧 AAV 的炎症反应和血管内皮损伤,从而加剧疾病的严重性^[31]。总之,NETs 与 ANCA 的相互作用在 AAV 的发病过程中起了关键作用,这为针对 NETs 及其相互作用机制的治疗策略提供了可能的研究方向,可能有助于开发更有效的治疗方法,以控制 AAV 的疾病进展。

3.5 NETs 与川崎病(Kawasaki disease, KD)

KD 是一种主要影响儿童的多系统血管炎性疾病,成为儿童获得性心脏病的主要病因。虽然 KD 的具体发病机制尚未完全明确,但是已知免疫系统的异常活化,尤其对冠状动脉的免疫性损伤,是 KD 发病的关键。中性粒细胞及其释放的 NETs 在 KD 的发生、发展中起着重要作用。Jing 等^[32] 研究显示,KD 患者的中性粒细胞在特定刺激下,如肉豆蔻酸酯刺激下更容易形成 NETs。这些 NETs 不仅直接损伤血管内皮细胞,还通过促炎细胞因子的表达加剧炎症反应。NETs 通过激活 PI3K/AKT 和 NF- κ B 信号通路,上调缺氧诱导因子-1 α 和血管内皮生长因子的表达,进一步加重 KD 引发的血管内皮损伤^[33]。Yoshida 等^[34] 的研究发现,KD 急性期患者的循环中性粒细胞对 NETosis 更敏感,这可能与疾病活动度和严重程度相关。NETs 的关键成分,如中性粒细胞弹性蛋白酶和 MPO 在 KD 患者急性期的血浆水平显著升高,这表明了 NETs 形成在 KD 血管炎的发病机制中起重要作用。这些发现证明了 NETs 在 KD 病理过程中的核心作用,同时也为发现 KD 治疗靶点提供了新思路。

4 结语

NETs 在自身免疫性疾病中的作用逐渐受到人们重视,它们能触发自身免疫反应并促进炎症及组织损伤。尽管对 NETs 的具体作用机制和治疗潜力的了解尚不够深入,但是它们在疾病发展中的作用表明,深入研究 NETs 的形成、降解和功能调控对于开发新的治疗策略十分重要。未来的研究需集中于如何通过调控 NETs 活性来提高自身免疫性疾病的治疗效果,这可能包括开发针对特定分子路径的药物。这些努力有望为临床提供新的治疗选择,改善患者的生活质量。

参考文献

[1] Wetschureck N, Strlic B, Offermanns S. Passing the vascular barrier:

- endothelial signaling processes controlling extravasation[J]. *Physiol Rev*, 2019,99(3):1467-1525.
- [2] Chen J, Zhu Z, Li Q, et al. Neutrophils enhance cutaneous vascular dilation and permeability to aggravate psoriasis by releasing matrix metalloproteinase 9[J]. *J Invest Dermatol*, 2021,141(4):787-799.
- [3] Wibbe N, Ebnet K. Cell adhesion at the tight junctions: new aspects and new functions[J]. *Cells*, 2023,12(23):2701.
- [4] Young KA, Biggins L, Sharpe HJ. Protein tyrosine phosphatases in cell adhesion[J]. *Biochem J*, 2021,478(5):1061-1083.
- [5] Chrifi I, Louzao-Martinez L, Brandt MM, et al. CMTM4 regulates angiogenesis by promoting cell surface recycling of VE-cadherin to endothelial adherens junctions[J]. *Angiogenesis*, 2019,22(1):75-93.
- [6] Adil MS, Narayanan SP, Somanath PR. Cell-cell junctions: structure and regulation in physiology and pathology[J]. *Tissue Barriers*, 2021,9(1):1848212.
- [7] 董佳慧,李慧敏,李南熹,等.糖萼与疾病的相关性及其降解机制研究进展[J].*解放军医学杂志*,2023,48(3):345-354.
- [8] Sutherland TE, Dyer DP, Allen JE. The extracellular matrix and the immune system: a mutually dependent relationship[J]. *Science*, 2023,379(6633):eabp8964.
- [9] Zhou Q, Jiang J, Chen G, et al. Inflammatory immune cytokine TNF- α modulates Ezrin protein activation via FAK/RhoA signaling pathway in PMVECs hyperpermeability[J]. *Front Pharmacol*, 2021,12:676817.
- [10] 张文晨,刘元值,孙文静,等.血管内皮生长因子-A165b在心血管疾病中的研究进展[J].*中国心血管病研究*,2022,20(9):839-843.
- [11] Hidalgo A, Chilvers ER, Summers C, et al. The neutrophil life cycle[J]. *Trends Immunol*, 2019,40(7):584-597.
- [12] Tan C, Aziz M, Wang P. The vitals of NETs[J]. *J Leukoc Biol*, 2021,110(4):797-808.
- [13] 党春萍,岳红云,张百红.中性粒细胞胞外诱捕网与结直肠癌关系的研究进展[J].*中国临床新医学*,2023,16(3):295-299.
- [14] Mutua V, Gershwin LJ. A review of neutrophil extracellular traps(NETs) in disease: potential anti-NETs therapeutics[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2021,61(2):194-211.
- [15] Liang Y, Pan B, Alam HB, et al. Inhibition of peptidylargininedeiminase alleviates LPS-induced pulmonary dysfunction and improves survival in a mouse model of lethal endotoxemia[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018,833:432-440.
- [16] Jin J, Wang F, Tian J, et al. Neutrophil extracellular traps contribute to coagulopathy after traumatic brain injury[J]. *JCI Insight*, 2023,8(6):e141110.
- [17] 梁艺璇,吴洁.人DNase I的表达、纯化及降解 NETs 活性研究[J].*中国药科大学学报*,2019,50(1):93-99.
- [18] Drury B, Hardisty G, Gray RD, et al. Neutrophil extracellular traps in inflammatory bowel disease: pathogenic mechanisms and clinical translation[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*,2021,12(1):321-333.
- [19] Loh JT, Lam KP. Neutrophils in the pathogenesis of rheumatic diseases[J]. *Rheumatol Immunol Res*, 2022,3(3):120-127.
- [20] Casey KA, Smith MA, Sinibaldi D, et al. Modulation of cardiometabolic disease markers by type I interferon inhibition in systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheumatol*,2021,73(3):459-471.
- [21] Torres-Ruiz J, Mejía-Domínguez NR, Zentella-Dehesa A, et al. The systemic lupus erythematosus infection predictive index(LIPI): a clinical-immunological tool to predict infections in lupus patients[J]. *Front Immunol*,2019,9:3144.
- [22] Euler M, Hoffmann MH. The double-edged role of neutrophil extracellular traps in inflammation[J]. *Biochem Soc Trans*, 2019,47(6):1921-1930.
- [23] Cecchi I, Arias de la Rosa I, Menegatti E, et al. Neutrophils: novel key players in rheumatoid arthritis. Current and future therapeutic targets[J]. *Autoimmun Rev*,2018,17(11):1138-1149.
- [24] 王岚,袁佳仪,司玉莹,等.类风湿关节炎患者 SIRT-1 表达及其调控 NETs 形成的作用[J].*中国免疫学杂志*,2022,38(13):1621-1624.
- [25] Fresneda Alarcon M, McLaren Z, Wright HL. Neutrophils in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: same foe different M. O[J]. *Front Immunol*, 2021,12:649693.
- [26] Pérez-Sánchez C, Ruiz-Limón P, Aguirre MA, et al. Diagnostic potential of NETosis-derived products for disease activity, atherosclerosis and therapeutic effectiveness in rheumatoid arthritis patients[J]. *J Autoimmun*, 2017,82:31-40.
- [27] Willis VC, Banda NK, Cordova KN, et al. Protein arginine deiminase 4 inhibition is sufficient for the amelioration of collagen-induced arthritis [J]. *Clin Exp Immunol*, 2017,188(2):263-274.
- [28] Nakazawa D, Masuda S, Tomaru U, et al. Pathogenesis and therapeutic interventions for ANCA-associated vasculitis[J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2019,15(2):91-101.
- [29] Michailidou D, Kuley R, Wang T, et al. Neutrophil extracellular trap formation in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated and large-vessel vasculitis[J]. *Clin Immunol*, 2023,249:109274.
- [30] 郭轩彤,马丽红.中性粒细胞胞外陷阱在血栓形成中的作用及研究进展[J].*中国心血管病研究*,2020,18(11):1044-1051.
- [31] Lee KH, Kronbichler A, Park DD, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: a comprehensive review[J]. *Autoimmun Rev*, 2017,16(11):1160-1173.
- [32] Jing Y, Ding M, Fu J, et al. Neutrophil extracellular trap from Kawasaki disease alter the biologic responses of PBMC[J]. *Biosci Rep*, 2020,40(9):BSR20200928.
- [33] Lin C, Shao Y, Zeng C, et al. Blocking PI3K/AKT signaling inhibits bone sclerosis in subchondral bone and attenuates post-traumatic osteoarthritis[J]. *J Cell Physiol*, 2018,233(8):6135-6147.
- [34] Yoshida Y, Takeshita S, Kawamura Y, et al. Enhanced formation of neutrophil extracellular traps in Kawasaki disease[J]. *Pediatr Res*, 2020,87(6):998-1004.

[收稿日期 2023-12-25][本文编辑 韦颖]

本文引用格式

张威,蒋丰智.中性粒细胞胞外诱捕网参与血管内皮损伤在自身免疫性疾病中的研究进展[J].*中国临床新医学*,2024,17(6):713-716.