

中性粒细胞胞外诱捕网在重症监护病房患者急性肝损伤中的应用研究进展

张雨夜 王小燕 韩旭东 田李均

作者单位: 226001 江苏南通, 南通大学医学院 (张雨夜、王小燕)

226000 江苏南通, 南通大学附属南通第三医院重症医学科 (韩旭东、田李均)

通信作者: 田李均, Email: adam-120@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2025.01.019

【摘要】 中性粒细胞胞外诱捕网 (NETs) 是中性粒细胞在受到刺激后活化产生的一种由 DNA 骨架、组蛋白和颗粒蛋白酶修饰形成的网状结构。适量的 NETs 是机体清除病原微生物的重要防御形式, 而过量形成的 NETs 反而会损伤正常的组织并进一步促进疾病的发展。急性肝损伤 (ALI) 是重症监护病房 (ICU) 患者的常见器官损伤, NETs 的形成在 ALI 的发生发展中发挥了重要作用。该文探讨并总结 NETs 的形成机制和作用、NETs 在 ICU 患者 ALI 中的作用以及 NETs 介导几种肝损伤的发生机制, 重点关注一些在 ALI 中针对 NETs 的潜在治疗方法。

【关键词】 中性粒细胞胞外诱捕网; 重症监护病房; 急性肝损伤

基金项目: 北京肝胆相照公益基金会人工肝专项基金 (iGandanF-1082022-RGG009)

Research advances on application of neutrophil extracellular traps in patients with acute liver injury in intensive care unit

Zhang Yuye, Wang Xiaoyan, Han Xudong, Tian Lijun. Medical School, Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu, China (Zhang YY, Wang XY); Intensive Care Unit, Affiliated Nantong Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu, China (Han XD, Tian LJ)

Corresponding author: Tian Lijun, Email: adam-120@163.com

【Abstract】 Neutrophil extracellular traps (NETs) are a kind of network structure formed by the modification of DNA cytoskeleton, histones and granule proteases, which are activated by neutrophils upon stimulation. The proper amount of NETs is a vital way for the body to remove pathogenic microorganisms, but excessive formation of NETs could damage normal tissues and further promote the development of disease. Acute liver injury (ALI) is a common organ injury in patients in intensive care unit (ICU), and the formation of NETs plays an important role in the development of ALI. This review explores and summarizes the formation mechanism and role of NETs, their role in ALI in ICU patients, and the mechanisms mediating several liver injuries, with a focus on potential treatment methods for NETs in ALI.

【Key words】 Neutrophil extracellular trap; Intensive care unit; Acute liver injury

Fund Program: Beijing Hepatobiliary Care Public Welfare Foundation Artificial Liver Special Fund (iGandanF-1082022-RGG009)

急性肝损伤 (acute liver injury, ALI) 是指原无肝病或虽有肝病但处于稳定状态下, 直接或间接暴露于各种肝损伤危险因素后, 在 2 周内造成肝功能急剧恶化的一类疾病^[1]。在重症监护病房 (intensive care unit, ICU) 内的危重患者相较于普通病房患者更易受到缺血缺氧、药物毒物或炎症的打击, 进而影响肝脏的合成、分泌及转化功能, 导致肝损伤的发生, 严重者可出现肝性脑病或急性肝衰竭, 甚至多器官功能衰竭。目前, ICU 常见的 ALI 包括以下几种类型: 感染性肝损伤 (infection associated liver injury, IALI)、

药物性肝损伤 (drug-induced liver injury, DILI)、缺血/再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, IRI) 以及其他危险因素 (如酒精、胆汁淤积等) 引起的 ALI。中性粒细胞是宿主抵抗入侵病原体的第一道防线, 在受到佛波酯 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)、白细胞介素 -8 (interleukin-8, IL-8) 或脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激后活化, 随即释放抗菌颗粒以中和入侵病原体, 通过吞噬作用内化和降解病原体以及释放中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs)。NETs 主要由解聚的 DNA 链以

及中性粒细胞颗粒蛋白组成,包括组蛋白、中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、组织蛋白酶(cathepsin G, CTSG)、白细胞蛋白酶 3(leukocyte proteinase 3, PR3)、高迁移速率族蛋白 1(high mobility group box 1, HMGB1)以及钙卫蛋白等 30 多种蛋白和酶^[2-3]。NETs 可以在细胞外结合并杀死微生物,在多种疾病的病理过程中都具有重要作用。近年来,NETs 在 ALI 的病理过程中发挥的作用愈加受到关注。本文旨在对 NETs 的形成机制和作用以及 NETs 在 ICU 患者 ALI 中的作用进行探讨。

1 NETs 的形成机制和作用

1.1 NETs 的形成方式 中性粒细胞形成 NETs 的方式被命名为“NETosis”,是一种不同于细胞凋亡和坏死的独特的炎症细胞死亡方式。目前已发现并提出了两种不同的 NETosis:自杀/溶解型 NETosis 和活力型/非溶解型 NETosis^[4]。自杀型 NETosis 是最先被提出的经典细胞死亡方式,可在数小时内发生,且中性粒细胞在释放 NETs 后直接溶解死亡。中性粒细胞在受到 PMA 刺激后首先激活各种表面受体[如 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)、损伤相关分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs)受体、补体受体、腺苷受体等],导致细胞内 Ca^{2+} 浓度增加,高浓度的 Ca^{2+} 引起蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)的激活,诱导还原型辅酶 II 氧化酶(NADPH oxidase, NOX)的磷酸化,并释放大量活性氧(reactive oxygen species, ROS),随后激活肽基精氨酸脱亚胺酶-4(protein arginine deiminase-4, PAD4),催化组蛋白中的精氨酸转化为瓜氨酸,染色质去凝,导致核膜破裂,染色质解聚并被释放到细胞质中,解聚后的染色质与细胞质内颗粒酶、弹性蛋白酶等酶类充分结合后形成网状结构,即 NETs^[4-5]。此外,该途径还依赖 LPS 激活的半胱氨酸蛋白酶-11(caspase-11)和孔隙形成蛋白(gasdermin D, GSDMD)发挥作用,并最终导致中性粒细胞死亡^[6]。Stojkov 等^[7]研究表明,在敲除 GSDMD 后,中性粒细胞仍可在受到刺激后形成 NETs 并释放。因此, GSDMD 是否为自杀型 NETosis 所必需目前尚有争议。

活力型 NETosis 则与上述途径相反,在激活 PAD4 后,染色质及颗粒蛋白等被包裹在细胞核分泌的微囊泡中,含有核染色质的囊泡从核膜中出芽,穿过细胞质并与细胞质膜结合后出胞,释放 NETs^[8]。这一途径可在短时间内发生且中性粒细胞自身无

需溶解死亡。有研究显示,活力型 NETosis 形成的 NETs 含有的细胞外 DNA 除了来源于细胞核,还可由线粒体形成,部分文献又将其称为线粒体 NETosis (mitochondrial NETosis)^[9-10]。如在间变性甲状腺癌(anaplastic thyroid cancer, ATC)中, ATC 细胞通过释放线粒体 ROS 来诱导 NETs 产生^[11]。在系统性红斑狼疮患者中,核糖核蛋白免疫复合物可作为 NETosis 诱导剂诱导中性粒细胞释放含线粒体 DNA 的 NETs,加重机体的炎症反应^[12]。目前关于线粒体释放 NETs 的研究报道数量仍有限,因此,对该类 NETs 的具体形成机制还需要未来继续探索研究。

随着对 NETs 的深入研究,有学者发现中性粒细胞在不同刺激下发生 NETosis 的过程可分为 NOX 依赖性和非 NOX 依赖性两种。如 PMA、LPS、铜绿假单胞菌等诱导 NETosis 发生的过程需要 NOX 参与^[13],而 Ca^{2+} 载体(如离子霉素)^[14]、尿酸单钠晶体^[15]、核糖核蛋白免疫复合物^[12]等激动剂则可通过其他方式直接形成 ROS(如线粒体 ROS)来诱导 NETosis 发生。自杀型 NETosis 大多为 NOX 依赖性,而活力型 NETosis 则可通过其他机制释放 NETs 而无需依赖 NOX。Pieterse 等^[16]研究显示,NE 在 NOX 依赖性 NETosis 的形成中切割核心组蛋白的 N-末端,由此提出可通过标记 N-末端组蛋白的尾状部分来区分 NOX 依赖性和非 NOX 依赖性两种形成途径产生的 NETs。

1.2 NETs 的作用 NETs 已被证明可以通过结合并消灭细菌、真菌、病毒和寄生虫等病原微生物来保护宿主免受感染。但 NETs 似乎并非直接介导抗菌作用,而只是通过包裹病原微生物从而限制其在宿主体内的繁殖和播散^[17]。NETs 具有炎症调节能力,中性粒细胞通过释放 NETs 达到抗炎作用,NETs 的组分蛋白(染色质、组蛋白、MPO 等)均表现出了内在的抗菌活性^[18]。但同时中性粒细胞的过度激活和释放的 NETs 会将内皮细胞从抗炎、抗凝血表型转化为促炎、促凝血表型,从而引起炎症和组织损伤^[19]。如 NETs 能够诱导肺组织中巨噬细胞向促炎的 M1 型极化,从而加重肺损伤^[20]。NETs 释放的 HMGB1 可诱导巨噬细胞焦亡,从而增强炎症反应,但 NETs 又会被巨噬细胞中的三素修复核酸外切酶 1(three prime repair exonuclease, TREX1)降解^[21]。DNA 和组蛋白能够作为 DAMPs 的分子直接启动或放大炎症反应^[17]。无论在急性炎症还是慢性炎症期间,NETs 的释放都会导致组织和器官损伤^[22]。

NETs 对细胞具有毒性作用, NETs 中的大多数蛋白都参与了 NETs 介导的细胞毒性, 包括组蛋白、MPO、NE 等, 其中组蛋白的细胞毒性作用尤其突出^[23]。有研究显示, 通过干扰组蛋白可降低 NETs 介导的细胞毒性, 使用不同的组蛋白抗体预处理 NETs 可不同程度降低 NETs 介导的细胞毒性^[24]。最近研究表明, NETs 降解后释放的成分会促进血栓形成, 并且直接损伤内皮, 而血小板因子 4 (platelet factor 4, PF4) 可以对抗 NETs 降解^[25]。

NETs 还可引起血管损伤, 促进血栓和动脉粥样硬化的形成, 因为其独特的网状结构可以为红细胞和血小板等黏附分子的聚集提供机械支架^[26]。NETs 中含有的中性粒细胞丝氨酸蛋白酶可促进内源性和外源性凝血通路的激活, 多种支架成分也可以刺激血小板活化和血液凝固^[27]。NETs 与血小板的相互作用以及激活的血小板与中性粒细胞的相互作用会形成恶性循环, 导致病理性血栓形成^[28]。此外, NETs 还会损伤抗凝系统, 其中的蛋白成分可以降解抗凝血酶, 抑制活化蛋白 C 生成, 裂解组织因子途径抑制物, 从而破坏机体止凝血平衡, 加速血栓的形成^[29]。NETs 通过启动巨噬细胞开始产生 IL-1 β , 参与动脉粥样硬化的病理过程^[30]。此外, Parackova 等^[31]研究表明, NETs 还可刺激树突状细胞释放干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ), 从而加重动脉粥样硬化。

2 NETs 在 ICU 患者 ALI 中的作用

2.1 NETs 与 IALI 机体受到的感染来源主要是细菌和病毒, 脓毒症肝损伤 (sepsis-induced liver injury, SILI) 是 ICU 患者最常见的由细菌感染引起的肝损伤类型。在脓毒症期间, 中性粒细胞会迁移到肝窦并释放 NETs 捕获细菌, 同时 NETs 诱发内皮细胞的促炎和促血管生成反应, 通过激活凝血通路和肝窦内血栓形成而导致肝损伤和血管功能障碍^[28]。已有研究证实, NETs 参与了脓毒症期间的肝组织损伤过程, 表现为肝窦窦状增大, 库普弗细胞肥大和增生, 中央静脉充血和肝细胞肿胀^[32]。基于此, 已有多项研究表明, 通过抑制 NETs 形成可减轻 SILI, 如重组人血栓调节蛋白 (recombinant human thrombomodulin, rTM)^[19]、沉默补体 C5a 受体 1 (silenced-complement C5a receptor 1, Silenced-C5ar1)^[33] 以及纤溶酶和纤溶酶原^[34] 等均能抑制 NETs 形成, 并不同程度地缓解脓毒症小鼠或大鼠的肝组织损伤。脓毒症引起的肝功能损伤会伴随血清中胆红素和丙氨

酸转氨酶 (alanine transaminase, ALT) 水平的升高。一项临床研究通过测定脓毒症患者血清胆红素的含量, 结果显示在脓毒症早期 NETs 的形成与总胆红素呈正相关, 这也提示肝功能损伤与 NETs 的释放有关^[35]。此外, NETs 或可作为预测脓毒症患者发生肝损伤的早期预警指标。脓毒症会引起广泛的全身炎症及免疫反应, 进一步导致各器官功能障碍, 表现为中性粒细胞增多和淋巴细胞减少。因此, 中性粒细胞与淋巴细胞比值 (neutrophil/lymphocyte ratio, NLR) 可作为脓毒症患者器官功能障碍的预测指标, 但预测的特异度有限^[36]。高飞等^[37] 研究表明, NETs 联合 NLR 可将预测脓毒症患者发生肝损伤的特异度从 77.92% 提高至 98.70%, 并且预测的受试者工作特征曲线下面积 (area under receiver operator characteristic curve, AUC) 达到了 0.930。

机体在受病毒感染后激活先天免疫系统, 引发过度的全身炎症反应, 可导致严重的肝组织损伤, NETs 在机体对抗病毒的免疫过程中也发挥了重要作用。Li 等^[38] 研究表明, 在暴发性病毒性肝炎 (fulminant viral hepatitis, FVH) 患者体内 NETs 的生成明显增加, 并通过促进纤维蛋白沉积和炎症进一步加重肝损伤。Hilscher^[39] 根据这项研究分析并阐述了中性粒细胞在病毒性肝炎中发挥的作用, 提出中性粒细胞及其释放的 NETs 可作为病毒性肝炎潜在治疗靶点的观点。而另一研究显示, 乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 可通过调节 ROS 的产生和自噬来抑制 NETs 的释放, 从而逃避免疫系统, 促使肝脏受到持续的慢性感染^[40]。HBV 可诱导钙卫蛋白 S100A9-TLR4 以及晚期糖基化终产物受体-活性氧 (receptor of advanced glycation endproducts-reactive oxygen species, RAGE-ROS) 信号通路激活, 从而导致大量 NETs 形成, 促进肝癌细胞的生长和转移^[41]。目前针对 NETs 在病毒感染导致肝损伤中的作用研究较少, 但可以肯定, NETs 在上述病理生理过程中发挥的作用绝不仅限于此。因此, 可见 NETs 是一把双刃剑, 在帮助宿主抗菌防御的同时, 也以损伤宿主器官为代价, 未来有待进一步开展针对 NETs 与脓毒症的临床研究, 从而为临床诊疗提供新方法和思路。

2.2 NETs 与 DILI 由于肝脏是药物代谢的主要器官, 肝脏在代谢药物的同时也容易受到药物损伤。ICU 中的大部分危重患者所用药物种类较多且剂量较大, 存在潜在的相互作用, 会增加产生肝毒性的风

险。对乙酰氨基酚(acetaminophen, APAP)是一种常见且广泛使用的镇痛解热药,过量使用会导致急性肝衰竭^[42]。APAP 与 NETs 形成的关系尚有争议,有研究表明,通过 APAP 处理后的小鼠肝脏中 NETs 形成并未明显增加,血清中的 MPO-DNA 复合物水平也无明显变化,这表明 APAP 引起的肝损伤可能与 NETs 的形成无关。而 Liu 等^[43]研究显示,APAP 可直接促进中性粒细胞释放 NETs,在 APAP 处理后 8 h 内小鼠的原代中性粒细胞中标志 NETs 激活的指标 NE 和 MPO 表达增加,并且进一步研究表明,从竹节参中提取的竹节参皂苷 V 甲酯(chikusetsu-saponin V, CKV)可通过干扰 APAP 诱导的肝细胞半胱氨酸蛋白酶-1(caspase-1)激活和 HMGB1 释放,阻止 NETs 的形成。

2.3 NETs 与 IRI IRI 是肝移植、肝切除、休克、动脉血栓形成等疾病的常见并发症^[44]。NETs 是肝脏发生 IRI 的重要因素,大量形成的 NETs 会加剧器官损伤,并在肝脏缺血/再灌注期间引发炎症反应。近年来,研究者在 NETs 与肝脏 IRI 相关性方面取得了不少突破性研究成果。首先被证实的是针对 NETs 的 DNA 酶(deoxyribonuclease- I, DNase-1)抑制剂可通过抑制 NETs 预防肝脏 IRI。除此之外,Liu 等^[45-46]研究表明,四甲基吡嗪(tetramethylpyrazine, TMP)可抑制 NOX 活性,从而抑制肝移植后大鼠 NETs 的形成,并且 TMP 还可协同二苯碘铵(diphenyleneiodonium, DPI)抑制 NETs 形成。rTM 除了在 SILI 中发挥抑制 NETs 形成的作用,还可在 IRI 中通过阻断 TLR4 及其下游信号通路显著抑制 NETs 形成,从而减少肝细胞凋亡,减轻肝功能损伤^[47]。最近的研究显示,姜黄素(curcumin, Cur)可以通过抑制细胞外信号调节激酶激酶-细胞信号外调节激酶(mitogen-activated protein kinase kinase-extracellular signal regulated kinase, MEK-ERK)途径来抑制 NET 的产生并缓解 IRI,同时 Cur 与 DNase-1 联合给药对抑制 NETs 产生来缓解肝脏 IRI 比单独给药更有效^[48]。羟氯喹(hydroxy-chloroquine, HCQ)作为一种临床常用免疫抑制剂,对抑制 NETs 缓解肝脏 IRI 也达到了不错的效果^[49]。通过靶向 NETs 及 NETs 形成的上游/下游通路可有效缓解肝脏 IRI,相关药物有待进行临床试验。

除上述常见的几种 ALI 之外,在胆汁淤积性肝病(cholestatic liver disease, CLD)的发病过程中, GW311616A 作为一种口服的生物可利用的人类 NE 抑制剂,可通过阻断 NETs 改善敲除小鼠多药耐药蛋

白 2(multidrug resistance protein 2, Mdr2)基因导致的 CLD,以减轻肝胆损伤并抑制胆管上皮细胞的过度增殖^[50]。在酒精性肝病(alcoholic hepatitis, AH)中酒精可诱导肝细胞氧化还原代谢缺陷,同时伴有中性粒细胞浸润肝实质并形成 NETs,过度活化的中性粒细胞和 NETs 是 AH 患者走向肝衰竭的关键机制之一。有研究显示,该类患者往往缺乏 ATP 结合盒转运蛋白 B10(ATP-binding cassette sub-family B member 10, ABCB10),通过恢复 ABCB10 的功能可减轻 AH 小鼠的炎症和 NETs 形成^[51]。

目前针对 NETs 靶向治疗的基础研究已取得突破性进展,但相关临床研究仍待推进。正在进行临床试验的药物主要集中在呼吸系统相关疾病中,而针对 ALI 的药物仍处于临床前研究阶段。如重组人 DNA 酶(recombinant human deoxyribonuclease- I, rhDNase)是目前最常见的 NETs 靶向治疗药物,已开发出多种剂型及给药方式,并在新型冠状病毒感染患者中进行了非随机试验,结果显示,治疗后患者的肺部炎症较前有改善^[52]。此外,ONO-5046(sivelestat)是一种化学合成的 NE 特异性抑制剂,可减轻恶性炎症循环,并已在急性呼吸窘迫综合征、急性肺损伤、脓毒症心肌病患者中进行临床试验^[53-54]。

3 总结与展望

ALI 是 ICU 危重患者多器官功能损伤的核心部分,早期诊断肝损伤并及时对症治疗对 ICU 危重患者来说至关重要。尽管 NETs 是有益的,但 NETs 的大量累积会导致组织和病理损伤。在上述几种肝损伤的发生发展中 NETs 都起到了不可或缺的作用,同时,也为未来对肝损伤的预测和治疗提供了新的药物研究靶点。大量研究已经表明,通过减少 NETs 产生和增加 NETs 清除的治疗策略可降低多种疾病的严重程度,提高患者的生存率^[55-58]。本文介绍的几种 ICU 患者常见 ALI 中的 NETs 大多以最常见的自杀型 NETosis 方式形成并发挥作用,目前大部分研究中靶向 NETs 的治疗策略也是通过介入这一途径而达到预期的治疗效果。不过值得注意的是,目前靶向 NETs 的一些治疗策略仍不够具体,主要集中在针对其组成成分进行调控,未来可能需要更多的研究来明确 NETs 在 ALI 中形成的分子机制和涉及的具体信号通路,从而为治疗 ALI 提供更详细的理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 中国医师协会急诊医师分会, 中国急诊专科医联体, 中国人民解放军急救医学专业委员会, 等. 成人急性肝损伤诊疗急诊专家共识 [J]. 中国急救医学, 2024, 44 (1): 5–12. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2024.01.002.
- 2 BRINKMANN V, REICHARD U, GOOSMANN C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria [J]. *Science*, 2004, 303 (5663): 1532–1535. DOI: 10.1126/science.1092385.
- 3 BOELTZ S, AMINI P, ANDERS H J, et al. To NET or not to NET: current opinions and state of the science regarding the formation of neutrophil extracellular traps [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26 (3): 395–408. DOI: 10.1038/s41418-018-0261-x.
- 4 ZHU C L, WANG Y, LIU Q, et al. Dysregulation of neutrophil death in sepsis [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 963955. DOI: 10.3389/fimmu.2022.963955.
- 5 Van AVONDT K, HARTL D. Mechanisms and disease relevance of neutrophil extracellular trap formation [J]. *Eur J Clin Invest*, 2018, 48 (Suppl 2): e12919. DOI: 10.1111/eci.12919.
- 6 CHEN K W, MONTELEONE M, BOUCHER D, et al. Noncanonical inflammasome signaling elicits gasdermin D-dependent neutrophil extracellular traps [J]. *Sci Immunol*, 2018, 3 (26): eaar6676. DOI: 10.1126/sciimmunol.aar6676.
- 7 STOJKOV D, CLAUS M J, KOZLOWSKI E, et al. NET formation is independent of gasdermin D and pyroptotic cell death [J]. *Sci Signal*, 2023, 16 (769): eabm0517. DOI: 10.1126/scisignal.abm0517.
- 8 MOHANTY T, SJÖGREN J, KAHN F, et al. A novel mechanism for NETosis provides antimicrobial defense at the oral mucosa [J]. *Blood*, 2015, 126 (18): 2128–2137. DOI: 10.1182/blood-2015-04-641142.
- 9 VOROBEVA N V, CHERNYAK B V. NETosis: molecular mechanisms, role in physiology and pathology [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2020, 85 (10): 1178–1190. DOI: 10.1134/S0006297920100065.
- 10 YOUSEFI S, MIHALACHE C, KOZLOWSKI E, et al. Viable neutrophils release mitochondrial DNA to form neutrophil extracellular traps [J]. *Cell Death Differ*, 2009, 16 (11): 1438–1444. DOI: 10.1038/cdd.2009.96.
- 11 LORENCIO CÁRDENAS C, YÉBENES J C, VELA E, et al. Trends in mortality in septic patients according to the different organ failure during 15 years [J]. *Crit Care*, 2022, 26 (1): 302. DOI: 10.1186/s13054-022-04176-w.
- 12 LOOD C, BLANCO L P, PURMALEK M M, et al. Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease [J]. *Nat Med*, 2016, 22 (2): 146–153. DOI: 10.1038/nm.4027.
- 13 RAVINDRAN M, KHAN M A, PALANIYAR N. Neutrophil extracellular trap formation: physiology, pathology, and pharmacology [J]. *Biomolecules*, 2019, 9 (8): 365. DOI: 10.3390/biom9080365.
- 14 PARKER H, DRAGUNOW M, HAMPTON M B, et al. Requirements for NADPH oxidase and myeloperoxidase in neutrophil extracellular trap formation differ depending on the stimulus [J]. *J Leukoc Biol*, 2012, 92 (4): 841–849. DOI: 10.1189/jlb.1211601.
- 15 AZZOUZ D, KHAN M A, SWEEZEY N, et al. Two-in-one: UV radiation simultaneously induces apoptosis and NETosis [J]. *Cell Death Discov*, 2018, 4: 51. DOI: 10.1038/s41420-018-0048-3.
- 16 PIETERSE E, ROTHER N, YANGINLAR C, et al. Cleaved N-terminal histone tails distinguish between NADPH oxidase (NOX)-dependent and NOX-independent pathways of neutrophil extracellular trap formation [J]. *Ann Rheum Dis*, 2018, 77 (12): 1790–1798. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-213223.
- 17 DENNING N L, AZIZ M, GURIEN S D, et al. DAMPs and NETs in sepsis [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2536. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02536.
- 18 WANG Y, DU C, ZHANG Y, et al. Composition and function of neutrophil extracellular traps [J]. *Biomolecules*, 2024, 14 (4): 416. DOI: 10.3390/biom14040416.
- 19 KATO Y, NISHIDA O, KURIYAMA N, et al. Effects of thrombomodulin in reducing lethality and suppressing neutrophil extracellular trap formation in the lungs and liver in a lipopolysaccharide-induced murine septic shock model [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22 (9): 4933. DOI: 10.3390/ijms22094933.
- 20 SONG C, LI H, LI Y, et al. NETs promote ALI/ARDS inflammation by regulating alveolar macrophage polarization [J]. *Exp Cell Res*, 2019, 382 (2): 111486. DOI: 10.1016/j.yexcr.2019.06.031.
- 21 谢晶, 李其兰, 高成钢, 等. TREX1 介导的免疫调控机制及其在脓毒症中的作用研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2024, 36 (8): 877–881. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20231121-01001.
- 22 CASTANHEIRA F V S, KUBES P. Neutrophils and NETs in modulating acute and chronic inflammation [J]. *Blood*, 2019, 133 (20): 2178–2185. DOI: 10.1182/blood-2018-11-844530.
- 23 SILVESTRE-ROIG C, BRASTER Q, WICHAPONG K, et al. Externalized histone H4 orchestrates chronic inflammation by inducing lytic cell death [J]. *Nature*, 2019, 569 (7755): 236–240. DOI: 10.1038/s41586-019-1167-6.
- 24 SAFFARZADEH M, JUENEMANN C, QUEISSER M A, et al. Neutrophil extracellular traps directly induce epithelial and endothelial cell death: a predominant role of histones [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (2): e32366.
- 25 JIN J, QIAO S, LIU J, et al. Neutrophil extracellular traps promote thrombogenicity in cerebral venous sinus thrombosis [J]. *Cell Biosci*, 2022, 12 (1): 114. DOI: 10.1186/s13578-022-00845-z.
- 26 ZHOU Y, XU Z, LIU Z. Impact of neutrophil extracellular traps on thrombosis formation: new findings and future perspective [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 910908. DOI: 10.3389/fcimb.2022.910908.
- 27 ZHOU Y, TAO W, SHEN F, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps in arterial, venous and cancer-associated thrombosis [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 786387. DOI: 10.3389/fcvm.2021.786387.
- 28 ISLAM M M, TAKEYAMA N. Role of neutrophil extracellular traps in health and disease pathophysiology: recent insights and advances [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24 (21): 15805. DOI: 10.3390/ijms242115805.
- 29 陈雨薇, 陈薇薇, 陈影, 等. 中性粒细胞胞外诱捕网在脓毒症相关性凝血功能障碍中的作用研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2022, 34 (2): 198–201. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20210221-00264.
- 30 MOSCHONAS I C, TSELEPIS A D. The pathway of neutrophil extracellular traps towards atherosclerosis and thrombosis [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 288: 9–16. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.06.919.
- 31 PARACKOVA Z, ZENTSOVA I, VRABCOVA P, et al. Neutrophil Extracellular trap induced dendritic cell activation leads to Th1 polarization in type 1 diabetes [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 661. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00661.
- 32 CZAİKOSKI P G, MOTA J M, NASCIMENTO D C, et al. Neutrophil extracellular traps induce organ damage during experimental

- and clinical sepsis [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (2): e0148142. DOI: 10.1371/journal.pone.0148142.
- 33 SHEN B, SHEN Q, ZENG Q, et al. Silenced-C5ar1 improved multiple organ injury in sepsis rats via inhibiting neutrophil extracellular trap [J]. *J Mol Histol*, 2024, 55 (1): 69–81. DOI: 10.1007/s10735-023-10172-3
 - 34 VAGO J P, ZAIDAN I, PERUCCI L O, et al. Plasmin and plasminogen prevent sepsis severity by reducing neutrophil extracellular traps and systemic inflammation [J]. *JCI Insight*, 2023, 8 (8): e166044. DOI: 10.1172/jci.insight.166044.
 - 35 KUMAR S, GUPTA E, KAUSHIK S, et al. Quantification of NETs formation in neutrophil and its correlation with the severity of sepsis and organ dysfunction [J]. *Clin Chim Acta*, 2019, 495: 606–610. DOI: 10.1016/j.cca.2019.06.008.
 - 36 张炎, 韩小彤, 晏锡泉, 等. 脓毒症相关急性肾损伤的发生机制及早期诊断研究进展 [J]. *实用检验医师杂志*, 2024, 16 (2): 187–192. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2024.02.024.
 - 37 高飞, 高嵩, 惠姣洁, 等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值和中性粒细胞胞外诱捕网与脓毒症肝损伤的临床研究 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2021, 30 (12): 1484–1488. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2021.12.013.
 - 38 LI X, GAO Q, WU W, et al. FGL2–MCOLN3–autophagy axis–triggered neutrophil extracellular traps exacerbate liver injury in fulminant viral hepatitis [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2022, 14 (5): 1077–1101. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2022.07.014.
 - 39 HILSCHER M B. Neutrophil extracellular traps enhance liver inflammation and fibrin deposition in fulminant viral hepatitis [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2022, 14 (5): 1172–1173. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2022.08.010.
 - 40 HU S, LIU X, GAO Y, et al. Hepatitis B virus inhibits neutrophil extracellular trap release by modulating reactive oxygen species production and autophagy [J]. *J Immunol*, 2019, 202 (3): 805–815. DOI: 10.4049/jimmunol.1800871.
 - 41 ZHAN X, WU R, KONG X H, et al. Elevated neutrophil extracellular traps by HBV-mediated S100A9–TLR4/RAGE–ROS cascade facilitate the growth and metastasis of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2023, 43 (2): 225–245. DOI: 10.1002/cac2.12388.
 - 42 LI Q, CHEN F, WANG F. The immunological mechanisms and therapeutic potential in drug-induced liver injury: lessons learned from acetaminophen hepatotoxicity [J]. *Cell Biosci*, 2022, 12 (1): 187. DOI: 10.1186/s13578-022-00921-4.
 - 43 LIU J, JIANG M, JIN Q, et al. Modulation of HMGB1 release in APAP-induced liver injury: a possible strategy of chiketsusaponin V targeting NETs formation [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 723881. DOI: 10.3389/fphar.2021.723881.
 - 44 HASHEMI P, NOURI-VASKEH M, ALIZADEH L, et al. NETosis in ischemic/reperfusion injuries: an organ-based review [J]. *Life Sci*, 2022, 290: 120158. DOI: 10.1016/j.lfs.2021.120158.
 - 45 LIU Y, QIN X, LEI Z, et al. Tetramethylpyrazine inhibits neutrophil extracellular traps formation and alleviates hepatic ischemia/reperfusion injury in rat liver transplantation [J]. *Exp Cell Res*, 2021, 406 (1): 112719. DOI: 10.1016/j.yexcr.2021.112719.
 - 46 LIU Y, YAN P, BIN Y, et al. Neutrophil extracellular traps and complications of liver transplantation [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1054753. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1054753.
 - 47 LIU Y, LEI Z, CHAI H, et al. Thrombomodulin-mediated inhibition of neutrophil extracellular trap formation alleviates hepatic ischemia-reperfusion injury by blocking TLR4 in rats subjected to liver transplantation [J]. *Transplantation*, 2022, 106 (2): e126–e140. DOI: 10.1097/TP.0000000000003954.
 - 48 ZHU C, SHI S, JIANG P, et al. Curcumin alleviates hepatic ischemia-reperfusion injury by inhibiting neutrophil extracellular traps formation [J]. *J Invest Surg*, 2023, 36 (1): 2164813. DOI: 10.1080/08941939.2022.2164813.
 - 49 ZHANG S, ZHANG Q, WANG F, et al. Hydroxychloroquine inhibiting neutrophil extracellular trap formation alleviates hepatic ischemia/reperfusion injury by blocking TLR9 in mice [J]. *Clin Immunol*, 2020, 216: 108461. DOI: 10.1016/j.clim.2020.108461.
 - 50 HINTERMANN E, TONDELLO C, FUCHS S, et al. Blockade of neutrophil extracellular trap components ameliorates cholestatic liver disease in Mdr2 (Abcb4) knockout mice [J]. *J Autoimmun*, 2024, 146: 103229. DOI: 10.1016/j.jaut.2024.103229.
 - 51 GUTIERREZ V, KIM-VASQUEZ D, SHUM M, et al. The mitochondrial biliverdin exporter ABCB10 in hepatocytes mitigates neutrophilic inflammation in alcoholic hepatitis [J]. *Redox Biol*, 2024, 70: 103052. DOI: 10.1016/j.redox.2024.103052.
 - 52 HOLLIDAY Z M, EARHART A P, ALNJOUMI M M, et al. Non-randomized trial of dornase alfa for acute respiratory distress syndrome secondary to Covid-19 [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 714833. DOI: 10.3389/fimmu.2021.714833.
 - 53 LI K, DONG L, GAO S, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics and neutrophil elastase inhibitory effects of Sivelestat: a randomized, double-blind, placebo-controlled single- and multiple-dose escalation study in Chinese healthy subjects [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2024, 195: 106723. DOI: 10.1016/j.ejps.2024.106723.
 - 54 LV H, HUANG L, YANG X, et al. The clinical effectiveness of sivelestat in treating sepsis patients with both acute respiratory distress syndrome and septic cardiomyopathy [J]. *J Cardiothorac Surg*, 2024, 19 (1): 399. DOI: 10.1186/s13019-024-02835-3.
 - 55 MUN C S, SURENKHUU B, CHEN Y F, et al. Recombinant deoxyribonuclease I eye drops for ocular graft versus host disease: results of a randomized clinical trial [J]. *Eye Contact Lens*, 2024, 50 (5): 233–240. DOI: 10.1097/ICL.0000000000001078.
 - 56 MENEGAZZO L, SCATTOLINI V, CAPPELLARI R, et al. The antidiabetic drug metformin blunts NETosis *in vitro* and reduces circulating NETosis biomarkers *in vivo* [J]. *Acta Diabetol*, 2018, 55 (6): 593–601. DOI: 10.1007/s00592-018-1129-8.
 - 57 QIAO X, KASHIOURIS M G, L'HEUREUX M, et al. Biological effects of intravenous vitamin C on neutrophil extracellular traps and the endothelial glycocalyx in patients with sepsis-induced ARDS [J]. *Nutrients*, 2022, 14 (20): 4415. DOI: 10.3390/nu14204415.
 - 58 JARRAHI A, KHODADADI H, MOORE N S, et al. Recombinant human DNase-I improves acute respiratory distress syndrome via neutrophil extracellular trap degradation [J]. *J Thromb Haemost*, 2023, 21 (9): 2473–2484. DOI: 10.1016/j.jtha.2023.04.044.

(收稿日期: 2024-07-22)

(本文编辑: 邵文)