

免疫血栓形成机制及相关研究进展

蒋佳维^{1,2} 杨蕊^{1,2} 包佳婷^{1,2} 张会红^{1,2} 高红梅^{1,2}

¹天津市第一中心医院重症医学科,天津 300192; ²国家卫生健康委危重病急救医学重点研究室,天津 300192
通信作者:高红梅, Email: ghm182@163.com

【摘要】 免疫血栓形成是指由血管内(特别是微血管内)血栓形成引起的先天免疫反应。免疫血栓形成与免疫细胞和特定的血栓形成相关分子有关,产生血管内支架,促进病原体的识别、抑制和破坏,从而保护宿主的完整性。但免疫血栓形成的异常或不受控制的激活可能对宿主有害,是多种感染性和炎症相关血栓性疾病的基础。因此,了解免疫血栓形成的潜在机制对于开发更有效的方法来治疗和预防血栓形成具有决定性作用。本文概述了有关免疫血栓形成的机制,以便了解降低免疫血栓形成风险的新治疗策略。

【关键词】 免疫血栓形成; 中性粒细胞胞外诱捕网; 血小板

基金项目: 天津市医学重点学科(专科)建设项目资助(TJYXZDXK-013A); 天津市科技计划项目(21JCYBJC0090); 天津市卫生健康科技项目(ZC20012)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.06.023

The mechanism of immune thrombosis and related research progress

Jiang Jiawei^{1,2}, Yang Rui^{1,2}, Bao Jiating^{1,2}, Zhang Huihong^{1,2}, Gao Hongmei^{1,2}

¹Department of Critical Care Medicine, Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China; ²Key Laboratory for Critical Care Medicine of the Ministry of Health, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Gao Hongmei, Email: ghm182@163.com

【Abstract】 Immunothrombosis refers to the innate immune response caused by thrombosis in blood vessels (especially microvessels). Immunothrombosis is related to immune cells and specific thrombosis related molecules, producing intravascular scaffolds that promote pathogen recognition, inhibition, and destruction, thereby protecting the integrity of the host. However, abnormal or uncontrolled activation of immunothrombosis may be harmful to the host and serve as the foundation for various infectious and inflammatory related thrombotic diseases. Therefore, understanding the potential mechanisms of immunothrombosis plays a decisive role in developing more effective therapies for thrombosis treatment and prevention. This review provides an overview of the mechanisms of immunothrombosis in order to understand new treatment strategies for reducing the risk of immunothrombosis.

【Key words】 Immunothrombosis; Neutrophil extracellular trapping network; Platelet

Fund program: Tianjin Medical Construction of Key Discipline (Specialty) Funded Project (TJYXZDXK-013A); Tianjin Science and Technology Plan Project (21JCYBJC0090); Tianjin Health Technology Project (ZC20012)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2023.06.023

免疫血栓一词最初由 Engelmann 和 Massberg 提出,指由先天免疫反应引起的血管内(特别是微血管内)血栓形成,反映了凝血异常激活和先天免疫之间的联系。免疫血栓可以抑制病原体在机体存活,并防止其进一步传播^[1]。免疫血栓由纤维蛋白、单核细胞、中性粒细胞和血小板共同作用形成,可以介导对病原体和受损细胞的识别。免疫血栓形成是血管内免疫的一个关键要素,是免疫系统的一部分,可以防御脉管系统中的病原体^[2]。尽管这一过程的目的是通过抑制病原体的传播和存活来保护宿主,但内皮功能障碍和微血栓形成等并发症可迅速导致多器官功能障碍。因此,了解免疫血栓形成的根本机制对于开发更有效的治疗和预防血栓形成的方法至关重要。

1 免疫血栓形成

1.1 中性粒细胞与免疫血栓: 中性粒细胞是宿主先天免疫反应的重要组成部分,它们积极参与生物体对病原体的先天防御。在脓毒症中,病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)和损伤相关分子模式

(damage associated molecular pattern, DAMP)可以通过与富血小板血浆结合来激活中性粒细胞^[3],并通过吞噬作用、抗菌蛋白脱粒、活性氧的合成以及其他免疫细胞的招募和激活来清除入侵者。中性粒细胞会对越来越多的刺激产生一系列特定反应,导致染色质解凝,随后形成中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular trap, NET)^[4]。NET的形成称为NETosis,可以由DAMP和免疫复合物等微生物及内源性刺激触发。微生物、促炎细胞因子、免疫复合物、活化的血小板、内皮细胞等通过各种下游效应蛋白激活NETosis。受到这些刺激后,细胞膜溶解,核内容物解凝结到细胞质中,质膜破裂,解凝结的染色质与颗粒蛋白一起释放到细胞外,在这种形式下,中性粒细胞可以捕获微生物并将其细胞内遗传物质、组蛋白和抗菌肽等内容物释放到抗原表面,导致病原体死亡^[5]。NET是由中性粒细胞颗粒蛋白、DNA和染色质组成的网状结构,不同的酶参与NET的形成,如中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)可降解核蛋白并释放组蛋白;肽基精氨酸脱亚胺酶4型(peptidyl

arginine deiminase type 4, PADA4) 可以释放染色体 DNA; 焦亡蛋白 Gasdermin D 可对中性粒细胞细胞膜造成损伤, 促进细胞内内容物的排出^[6]。尽管最初的研究表明, NET 起源是对抗病原体的重要工具, 但有证据表明, 这些结构也是各种病理状态的中心, 如血栓形成、动脉粥样硬化和自身免疫过程^[3]。NET 被释放到血管内循环中, 与血管壁结合, 捕获血小板和微泡, 随后阻碍血流。NET 是整个血栓形成过程的重要因素, 可加剧血小板和内皮细胞的活化并促进纤维蛋白形成^[7]。形成 NET 的组蛋白对磷脂具有高度亲和力, 可以与膜连接导致孔的形成和离子流入, 从而增加细胞内钙水平, 使内皮细胞过度活跃, 进一步促进血栓形成^[8]; 此外, Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 与血小板表面结合, 与组蛋白相互作用, 导致血小板过度活化^[9]。NET 和血小板磷脂之间的相互作用可激活血浆激肽释放酶-激肽系统, 导致血小板聚集和血栓形成。NET 对外源性和内源性凝血途径均有刺激作用, 可促进纤维蛋白形成和沉积。NE 酶裂解组织因子 (tissue factor, TF) 途径的因子抑制剂, 从而增加凝血因子 Xa 活性; 且 NE 与凝血因子 XII 结合并通过内在凝血途径刺激纤维蛋白形成, 从而增强凝血酶在诱导血管内血栓形成中的促凝血活性。最后, 通过血栓调节蛋白抑制血浆抗凝剂蛋白 C 的活化, 组蛋白进一步刺激纤维蛋白生成^[10]。

研究表明, NET 除了在清除入侵微生物方面发挥有益作用外, 还与许多存在内皮功能障碍疾病的发病机制有关^[11]。NET 不仅会导致内皮功能障碍, 还可以通过各种机制发挥促凝血和促血栓形成活性; NET 的成分是血小板黏附、激活和聚集的支架和诱导剂^[12]。NET 不仅充当血小板黏附的支架, 而且还充当红细胞的支架, 促进红色 (富含红细胞) 血栓的生成^[13]。NET 与激活的中性粒细胞释放的膜衍生微粒的相互作用增强了 NET 介导的内源性凝血途径激活和随后凝血酶的形成^[14]。NE 酶切割组织因子途径抑制剂 (tissue factor pathway inhibitor, TFPI), 增加了凝血因子 Xa 的活性, 从而促进了 TFPI 介导的外源性凝血途径^[15-16]。与 DNA 复合物结合的 NE 也被证明可以将纤溶酶原裂解成片段, 导致纤溶酶产生减少和纤维蛋白溶解受损^[17]。细胞外游离 DNA (cell-free DNA, cfDNA) 可减少纤溶酶生成, 同时可以与纤溶酶和纤维蛋白结合, 减少纤溶酶介导的纤维蛋白凝块溶解^[18]。

在与受损内皮细胞相互作用时中性粒细胞产生功能性 TF, 启动外源性凝血途径^[19]。中性粒细胞促进免疫血栓形成的另一个潜在机制是分泌抗菌肽, 作为宿主先天免疫反应的一部分, 研究表明, 在脓毒症患者血浆中由中性粒细胞分泌的 α -防御素明显升高^[20]。最近, 一项体内研究表明, α -防御素可加速并稳定纤维蛋白凝块的形成, 同时也可破坏纤维蛋白溶解^[21]。

1.2 单核细胞与免疫血栓: 研究表明, 单核-巨噬细胞在脓毒症诱导的免疫血栓形成中发挥着至关重要的作用^[22]。脓毒症中导致凝血级联激活的最有效方法是单核细胞的 TF 表达^[23]。关于 NET 中 TF 的存在, 发现脓毒症患者的中性

粒细胞可以释放大量带有功能性 TF 的 NET, 并且参与了吞噬过程。在内毒素血症小鼠模型中造血细胞和非造血细胞均产生 TF 并增强凝血, 单核细胞是循环系统中 TF 的主要来源^[24]。此外, 有研究者发现, 其他血细胞可以通过微粒获取单核细胞释放的 TF^[25]。病原体诱导单核细胞来源的 TF 在循环中表达和释放, 进而激活外源性凝血途径。TF 是一种以蛋白水解方式激活因子 IX、IXa、X 和 Xa 的膜糖蛋白受体, 与凝血因子 VII 和 VIIa 形成高亲和力复合物, 产生凝血酶, 导致纤维蛋白形成并激活血小板。该机制涉及 TF 的翻译后激活 (称为解密) 以及通过天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 11 (caspase-11) 介导的细胞焦亡释放解密的 TF^[26]。TF 解密的过程中被修饰, 该过程部分通过细胞膜外层脂质成分的变化发生, 从而增加了促凝血活性^[27]。在异常免疫血栓形成过程中, TF 的解密会导致血栓炎症、脓毒症和弥散性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC)。

脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 与单核细胞中的 TLR4 等跨膜受体结合, 通过核转录因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 激活诱导 TF mRNA 表达。病原体成分与 TLR 或直接与单核细胞内的细胞内通路相互作用, 可导致炎症小体激活并随后通过细胞焦亡释放 TF^[28]。细胞焦亡是由 caspase-1 (典型炎症小体) 或 caspase-11 (非典型炎症小体) 引起的促炎性细胞死亡, 表现为细胞膜中 Gasdermin D 依赖性孔形成, 细胞裂解, 最后释放出细胞质的内容物。由 caspase-11 诱导的 Gasdermin D 介导的孔形成也被认为可以使巨噬细胞上的 TF 激活。具体来说, 细胞膜上孔的形成可以诱导钙内流, 从而触发膜上的磷脂酰丝氨酸暴露, 然后激活 TF^[26, 28]。此外, 另一种膜脂鞘磷脂参与 TF 活化促进凝血。该过程发生在巨噬细胞膜上, 并且依赖于酸性鞘磷脂酶的水解^[29]。通过焦亡孔释放后, 解密的 TF 在外膜囊泡的循环中表达, 并与凝血因子形成高亲和力的细胞表面复合物, 激活凝血因子导致凝血酶生成, 从而激活蛋白酶激活受体 (protease-activated receptor, PAR), 这对于炎症与凝血之间相互作用, 促进促炎细胞因子分泌和激活血小板至关重要^[30]。

在免疫血栓形成过程中, 先天免疫细胞利用活性 TF 的局部递送、内源性抗凝血剂降解以及由细胞外核小体组成的促凝血基质发挥促凝血功能。TF 表达严重受损小鼠对病原体产生凝血反应的能力降低, 这与病原体负荷增加和宿主存活率降低有关。有研究表明, 由单核细胞及单核细胞衍生的微粒和由中性粒细胞表达及递送的 TF 是与免疫血栓形成相关凝血的关键诱导剂^[31]。TF 的凝血触发作用通过其内源性拮抗剂 TFPI 的裂解转化而具有更持久的凝血激活作用^[15]。在止血过程中, 血管损伤会触发血管外 TF 暴露并释放到血流中, 与凝血因子 VII 形成复合物, 并在被 TFPI 快速抑制之前, 通过低水平激活凝血级联的外在途径来促进血液凝固^[32]。然而, 通过 TLR4 等模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR) 检测 PAMP (如 LPS), 可通过在 mRNA 水平快速诱导 TF 来触发免疫血栓形成。通过 PAMP 在体外和体内诱导 NF- κ B 激活, 内皮细胞对炎症和 NF- κ B 激活反应

的特点是诱导黏附分子促进白细胞的结合和迁移,同时增加其血栓形成潜力^[33],这是与免疫血栓形成和血栓炎症相关凝血病启动的关键步骤。

1.3 血小板与免疫血栓:血小板是一种起源于巨核细胞的微小无核细胞。单个巨核细胞通过前血小板伪足伸长的碎片,将数千个新血小板分泌到血流中。血小板在其表面表达大量免疫受体,使它们能探测周围环境以寻找病原体入侵和炎症的迹象^[34]。血小板功能的关键是 TLR 的表达和激活。TLR 参与血小板聚集、P-选择素表达增加、脱颗粒以及与单核细胞和中性粒细胞等其他免疫细胞形成聚集体^[35]。维持止血、启动凝血“级联反应”是血小板的主要功能。血小板的激活启动细胞内信号“级联反应”,导致血小板表面整合素激活、颗粒内容物释放,并使血小板和免疫细胞进一步募集到形成的凝块中。

有证据表明,血小板在炎症和免疫反应中发挥着关键作用,与中性粒细胞的作用相同^[36]。在止血过程中,内皮层损伤使内皮下间隙的胶原蛋白暴露,胶原蛋白通过糖蛋白和血管性血友病因子(von willebrand factor, vWF)与血小板相互作用使血小板形状改变,并黏附在受伤部位,这种胶原暴露导致血小板黏附和血小板单层形成^[9]。活化的血小板通过分泌如血清素、二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)和血栓素等聚集介质,产生凝血酶来吸引循环中其他血小板。因此,由于血小板膜糖蛋白 II b-III a(glycoprotein II b-III a, GP II b-III a)被激活,凝血酶释放,使血小板聚集并形成三维结构,即血凝块形成。血小板同时具有分泌颗粒功能,在 α -颗粒、致密颗粒和溶酶体 3 种血小板分泌的颗粒类型中, α -颗粒是最丰富的,它在血小板刺激时增加至 2~4 倍^[37]。有研究者发现,脓毒症期间巨核细胞成熟加速,由 PAMP、DAMP、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)或其他细胞因子触发,与血小板生成素诱导的正常成熟巨核细胞相比,该巨核细胞亚群表现出更强的免疫特征并产生更少的血小板^[38]。血小板上的多种受体与 PAMP 或抗体包被的病原体相互作用。许多病原体已被证明可以激活血小板并增加其聚集。免疫球蛋白包被的病原体与血小板上的免疫球蛋白 G(immunoglobulin G, IgG)恒定片的低亲和力受体结合,导致致密的 α -颗粒分泌,触发细胞内血小板激活途径。 α -颗粒含有的趋化因子也可以有效刺激中性粒细胞活性。活化血小板表面表达的 GP II b-III a 和 GP I b 与病原体成分结合促进血小板脱颗粒、聚集构成了另一类受体,这对于血小板的止血功能以及血小板-免疫细胞的相互作用至关重要^[39-40]。此外,活化的血小板的特点是 P-选择素暴露,血小板 P-选择素是未激活的中性粒细胞 P-选择素糖蛋白配体 1(P-selectin glycoprotein ligand, PSGL1)的配体,通过与白细胞上的 PSGL1 结合,在介导血小板与白细胞的相互作用中发挥重要作用,这对于炎症和免疫反应均至关重要^[9]。

血小板还可以分泌高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1, HMGB1)。HMGB1 能激活中性粒细胞上的晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation endproducts,

RAGE)和 TLR4,从而启动 NET 形成。最后,血小板 δ -颗粒分泌时,ADP 和三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)被释放,进而激活中性粒细胞嘌呤能受体。血小板颗粒分泌时可介导中性粒细胞活化的分子还包括转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、分化簇 40 配体(cluster of differentiation 40 ligand, CD40L)和白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)^[41-42]。高水平的促炎细胞因子(IL-1、IL-6 和 TNF- α)、铁蛋白以及炎症均可导致内皮功能障碍。除了直接激活血小板外,激活的中性粒细胞还可以通过其表面 TF 的表达以及 TF 阳性微泡的分泌来触发血浆凝血级联的激活^[43]。这导致凝血酶和纤维蛋白的产生并明显增加血小板-中性粒细胞串扰^[9]。

因此,免疫血栓条件下血小板-中性粒细胞相互作用的另一个显著特征是中性粒细胞形成 NET 的能力增强,从而促进凝血并形成正反馈循环,使得血小板和免疫细胞形成物理屏障,防止病原体传播并激活免疫系统。由于血小板携带所有致病性 TRL 的转录本,因此,在某些细菌感染期间,血小板能诱导血栓形成,分泌细胞因子、趋化因子和抗菌肽,导致细菌被隔离和破坏^[38]。血小板还能包膜某些病毒,如人类免疫缺陷病毒、丙型肝炎病毒,并与细菌相互作用,如金黄色葡萄球菌和肺炎葡萄球菌^[42]。因此,血小板和中性粒细胞之间的相互作用对于炎症和免疫至关重要。

1.4 其他细胞与免疫血栓:凝血酶负责将纤维蛋白原转化为纤维蛋白,从而形成稳定的凝块,纤维蛋白还在抑制细菌中发挥作用,因为细菌可能被困在形成的凝块内。纤维蛋白促进白细胞如巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞的趋化性和黏附,凝血因子 XIIIa 除了作用于单核细胞、改变其结构从而改善吞噬功能外,还可防止纤维蛋白降解并改善白细胞与血管的黏附条件^[44-45]。血液抗凝的内源性途径,除了纤溶系统外,还包括 TFPI、活化蛋白 C 和抗凝血酶,可防止全身凝血过程的扩散。纤维蛋白溶解主要通过组织纤溶酶原激活剂和抑制剂调节,它们可以降解纤维蛋白凝块使血管内血流恢复^[9]。除了充当天然抗凝剂或纤溶剂外,这些蛋白质还在免疫反应中发挥作用。研究表明,TFPI 对不同的细菌和真菌均具有破坏性,如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌^[44]。纤溶酶除了有纤溶作用外,还能促进白细胞的激活和迁移。组织纤溶酶原激活剂能激活中性粒细胞并促进单核细胞释放促炎细胞因子;在白细胞黏附和迁移中尿激酶纤溶酶原激活剂受体发挥着重要作用^[44]。

与其他血细胞不同,红细胞膜不能识别炎症的活性受体。然而,红细胞也参与脓毒症期间的血栓形成^[46]。红细胞凋亡可能是吞噬细胞清除有缺陷红细胞以防止不利的溶血机制^[47]。有研究表明,脓毒症时磷脂酰丝氨酸阳性红细胞增多,这些红细胞可能在促进凝血和血栓形成方面发挥积极作用^[48]。尽管红细胞活化的重要性尚未得到很好的表征,但由于红细胞是血栓的组成部分,因此不能排除它在宿主防御中发挥的积极作用^[46]。红细胞本身也被认为与血栓形成密切相关,特别是在静脉血栓形成的情况下,血液剪切率比

动脉低,它们可依赖于凝血因子 XIIIa 进入血栓中,调节凝块结构排列^[49];同时红细胞反过来促进凝血酶的生成并抑制纤溶酶,从而进一步增强血栓稳定性。哺乳动物去核红细胞表达各种表面糖蛋白,如血型糖蛋白 A,不仅可以运输氧气也可作为病毒、细菌和寄生虫的结合受体^[50]。循环红细胞可能充当入侵病原体的诱饵,被招募到血凝块中不仅参与血栓结构形成,还可以在免疫血栓形成过程中促进先天免疫反应。调整血凝块的机械特性不仅可以增强对剪切力的抵抗力,还可以调节肿瘤发生和伤口愈合过程中其他细胞类型的募集功能,并促进免疫血栓形成中病原体的捕获^[51]。

2 免疫血栓与机体免疫防御及损害

免疫血栓形成可能存在以下生理功能:第一,免疫血栓形成有助于诱捕血液中循环的病原体,通过将微生物保留在纤维蛋白网络内来限制病原体传播;第二,通过微血管内微血栓形成,防止病原体侵入组织;第三,血管内血栓可产生一个独特的隔室,集中抗菌策略及其病原体靶标,更有利于杀死病原体,此过程与先天免疫细胞提供的抗菌策略、凝血激活过程中产生的抗菌肽和由病原体固定位点处活化血小板释放的抗菌肽有关;第四,纤维蛋白原或纤维蛋白的微血管积聚和沉积能促进额外免疫细胞募集到组织感染或损伤部位,进一步支持病原体的识别并协调免疫反应^[1]。免疫血栓的形成过程被认为是机体先天免疫系统的主要组成部分,与相关病原体有关的纤维蛋白形成对宿主也有保护作用。NET 似乎是免疫血栓形成的一个重要特征,并且 NET 的许多抗菌特性取决于这种 DNA 支架的促凝血功能。相应地,NET 驱动的细菌捕获会被抗凝剂影响或使 NET 的促凝血机制受到干扰^[7]。

值得注意的是,由血管内纤维蛋白形成和血细胞沉积支持的抗菌机制本身并不严重损害器官功能。细菌感染期间免疫血栓形成不会对器官细胞(如肝细胞)造成任何严重损害^[15]。这可能是因为免疫血栓形成仅阻塞有限比例的微血管,因此维持了营养性血液灌注。免疫血栓形成及其促凝血机制支持先天免疫系统所需的基本机制:病原体识别,抑制病原体传播,以及对宿主细胞的有限损害为代价来限制病原体的存活^[52]。表明免疫血栓形成构成了先天免疫途径。

尽管免疫血栓形成被认为能支持病原体识别和宿主防御,但免疫血栓形成的异常或不受控制地激活可能对宿主有害。止血和免疫血栓形成都是维持宿主生物过程完整性的组成部分。当血管渗漏时,止血对于防止失血至关重要,而免疫血栓形成,在纤维蛋白生成以及免疫细胞和血小板募集的支持下,在微血管中局部形成血栓(凝块),代表了血管内抗菌防御的机制^[26]。止血和免疫血栓形成的失调是疾病状态下不同形式病理性血栓形成的主要生物学机制,包括 DIC、深静脉血栓形成、心肌梗死和脑卒中等。当免疫血栓形成不再能限制病原体或受损细胞的传播时,可能会导致 DIC。止血以及类似于免疫血栓形成过程的异常激活,会引发动脉血栓形成(即大动脉内形成凝块)。同样,大静脉内免疫血栓形成不受控制地激活,辅异常的凝血激活,可能是

深静脉血栓形成的主要触发因素。

血管内微生物的存在是对宿主生物体的主要威胁,因为循环病原体可以同时感染对生存至关重要的多个器官。免疫血栓形成,由纤维蛋白生成、免疫细胞和血小板募集支持的微血管中血栓局部形成,代表了血管内抗菌防御的机制^[27]。该过程专门用于抑制病原体的传播和组织侵袭以及受损宿主细胞的循环。免疫血栓形成相关的细胞介质(如中性粒细胞)和分子介质(如血管内组织因子)参与病理性血栓形成,表明免疫血栓形成的失调是血栓性疾病的决定性生物学基础,包括静脉血栓栓塞、动脉粥样硬化血栓形成和脓毒症相关凝血功能障碍。

3 免疫血栓靶向治疗

目前临床批准的抗凝疗法虽然非常有效,但会增加出血风险,因为凝血、血小板聚集和纤维蛋白交联在正常止血过程中至关重要^[53]。抗凝治疗通过降低凝血级联共同途径中凝血因子的活性来发挥其功能,广泛使用抗凝剂肝素通过激活抗凝血酶发挥其抗凝功能,从而使凝血酶 FXa 和 FIXa 失活。采用抗凝剂和抗血小板制剂的治疗可能表现出不同的调节免疫血栓形成的作用。肝素是最常见的抗凝剂之一,高浓度时能降解 NET,并中和血液中的组蛋白。此外,阿司匹林或替格瑞洛抗血小板药物对 NET 的释放有抑制作用^[54]。近期有研究显示,在小鼠中肝素或无抗凝功能的化学修饰形式的肝素,能阻断 HMGB1 介导的 LPS 胞质传递,从而抑制 caspase-11 驱动的细胞焦亡,从而阻止免疫血栓形成和后续脓毒症引起的死亡^[55]。表明可以针对免疫细胞内 PRR 介导的 T 诱导炎症小体激活,开发新抗凝疗法,以预防抗凝药物相关的出血风险及凝血障碍。

抑制导致炎症小体激活和细胞焦亡的转录过程可能成为下一步研究的目标。临床批准的 Janus 激酶(Janus kinase, JAK)抑制剂巴瑞替尼和托法替尼,主要用于治疗类风湿性关节炎和骨髓增生性肿瘤,有潜力成为免疫血栓形成的抑制剂。直接靶向炎性体激活是另一种策略,已在多种模型中证明可以减少免疫血栓形成。MCC950 是一种具有高度选择性的 NLRP3 抑制剂,可减轻盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)诱导的脓毒症大鼠模型血小板活化和多器官损伤^[56]。这需要进一步测试 NLRP3 和 caspase-11 炎症小体的临床前抑制剂作为炎症小体驱动的免疫血栓形成的潜在治疗方法。富马酸二甲酯(dimethyl fumarate, DMF)是一种临床批准的用于治疗多发性硬化症和银屑病的药物,其免疫调节作用部分是通过阻断 I 型干扰素(interferon, IFN)的诱导并在小鼠实验性结肠炎模型中通过激活调节转录来抑制 NLRP3 的激活。用 DMF 治疗后抑制 Gasdermin D 激活和细胞焦亡^[57]。抗炎治疗对血栓形成的影响也在最近的临床试验中进行了研究^[58]。秋水仙碱通过抑制 NET 形成来阻止免疫血栓形成,还可以减弱 NLRP3 的激活^[59]。

补体系统是针对细菌和病毒感染的先天免疫反应的一部分,可以通过经典途径(抗体-抗原复合物)、替代途径(特定表面抗原)和凝集素途径(病原体表面的甘露糖残基)

激活。所有这些都汇聚在一个共同的途径中,包括产生补体 (complements, C3a、C5a) 以及启动 C3b 的病原体调理作用,最终形成 C5b-9 膜攻击复合物,从而引起靶细胞的裂解。在体外试验中,用鼠抗体阻断 C5a 会降低中东呼吸综合征冠状病毒 (Middle East respiratory syndrome coronavirus, MERS-CoV) 感染中的细胞因子反应和病毒复制。在体内试验中,依库单抗 (一种针对 C5 的抗体,可防止 C5a 和 C5b 分解) 补体抑制剂已被用于治疗以异常补体激活为特征表现的血栓性微血管病^[60]。

4 展望

未来的工作需要进一步确定免疫血栓形成的病理生理机制,识别潜在的预后生物标志物,并测试针对免疫血栓形成的新疗法。明确免疫血栓形成对宿主保护的重要性,并进一步表征参与该过程的宿主分子。病理性血栓形成背后的特定生物学特征的识别,扩展了人们对其发病机制的理解,有助于新的诊断和治疗工具的开发。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13 (1): 34–45. DOI: 10.1038/nri3345.
- 张卉, 吴瑶, 姚咏明. 提高对脓毒症免疫血栓发生机制和干预策略的认识 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2023, 32 (2): 137–141. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2023.02.001.
- Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18 (2): 134–147. DOI: 10.1038/nri.2017.105.
- 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.
- 宋明明, 王旭, 孙炳伟. 脓毒症时中性粒细胞胞外诱捕网的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (2): 152–154. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.02.016.
- Thälén C, Hisada Y, Lundström S, et al. Neutrophil extracellular traps: villains and targets in arterial, venous, and cancer-associated thrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39 (9): 1724–1738. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312463.
- Fuchs TA, Brill A, Wagner DD. Neutrophil extracellular trap (NET) impact on deep vein thrombosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32 (8): 1777–1783. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.242859.
- 李珍. 中性粒细胞外捕网在重症肺炎抗凝治疗中的研究进展 [J]. *中国小儿急救医学*, 2018, 25 (11): 854–858, 862. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2018.11.011.
- De Nardi AC, Coy-Canguçu A, Saito A, et al. Immunothrombosis and its underlying biological mechanisms [J]. *Hematol Transfus Cell Ther*, 2023 (1): S2531–1379(23)00105–0. DOI: 10.1016/j.htet.2023.05.008.
- Savchenko AS, Martinod K, Seidman MA, et al. Neutrophil extracellular traps form predominantly during the organizing stage of human venous thromboembolism development [J]. *J Thromb Haemost*, 2014, 12 (6): 860–870. DOI: 10.1111/jth.12571.
- Yu SY, Liu JY, Yan NL. Endothelial dysfunction induced by extracellular neutrophil traps plays important role in the occurrence and treatment of extracellular neutrophil traps-related disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (10): 5626. DOI: 10.3390/ijms23105626.
- Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (36): 15880–15885. DOI: 10.1073/pnas.1005743107.
- Semeraro F, Ammolto CT, Morrissey JH, et al. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4 [J]. *Blood*, 2011, 118 (7): 1952–1961. DOI: 10.1182/blood-2011-03-343061.
- Wang YZ, Luo LT, Braun OÖ, et al. Neutrophil extracellular trap-microparticle complexes enhance thrombin generation via the intrinsic pathway of coagulation in mice [J]. *Sci Rep*, 2018, 8 (1): 4020. DOI: 10.1038/s41598-018-22156-5.
- Massberg S, Grahl L, von Bruehl ML, et al. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases [J]. *Nat Med*, 2010, 16 (8): 887–896. DOI: 10.1038/nm.2184.
- 李晋, 王燕, 曾亚薇, 等. 脓毒症相关凝血功能紊乱与免疫反应相关机制的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2021, 33 (12): 1519–1523. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20201120-00723.
- Cruz DBD, Helms J, Aquino LR, et al. DNA-bound elastase of neutrophil extracellular traps degrades plasminogen, reduces plasmin formation, and decreases fibrinolysis: proof of concept in septic shock plasma [J]. *FASEB J*, 2019, 33 (12): 14270–14280. DOI: 10.1096/fj.201901363RRR.
- Gould TJ, Vu TT, Stafford AR, et al. Cell-free DNA modulates clot structure and impairs fibrinolysis in sepsis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35 (12): 2544–2553. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.306035.
- Darbousset R, Thomas GM, Mezouar S, et al. Tissue factor-positive neutrophils bind to injured endothelial wall and initiate thrombus formation [J]. *Blood*, 2012, 120 (10): 2133–2143. DOI: 10.1182/blood-2012-06-437772.
- Ho J, Zhang L, Liu XD, et al. Pathological role and diagnostic value of endogenous host defense peptides in adult and neonatal sepsis: a systematic review [J]. *Shock*, 2017, 47 (6): 673–679. DOI: 10.1097/SHK.0000000000000815.
- Abu-Fanne R, Stepanova V, Litvinov RI, et al. Neutrophil α -defensins promote thrombosis in vivo by altering fibrin formation, structure, and stability [J]. *Blood*, 2019, 133 (5): 481–493. DOI: 10.1182/blood-2018-07-861237.
- Maneta E, Aivalioti E, Tual-Chalot S, et al. Endothelial dysfunction and immunothrombosis in sepsis [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1144229. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1144229.
- Chen FW, Zhao ZZ, Zhou JS, et al. Protein disulfide isomerase enhances tissue factor-dependent thrombin generation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 501 (1): 172–177. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.04.207.
- 郑贵军, 李银平. 组织因子和组织因子途径抑制物与脓毒症 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15 (2): 126–128. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2008.02.024.
- Pawlinski R, Wang JG, Owens AP 3rd, et al. Hematopoietic and nonhematopoietic cell tissue factor activates the coagulation cascade in endotoxemic mice [J]. *Blood*, 2010, 116 (5): 806–814. DOI: 10.1182/blood-2009-12-259267.
- Ryan TAJ, Preston RJS, O'Neill LAJ. Immunothrombosis and the molecular control of tissue factor by pyroptosis: prospects for new anticoagulants [J]. *Biochem J*, 2022, 479 (6): 731–750. DOI: 10.1042/BCJ20210522.
- Ryan TAJ, O'Neill LAJ. Innate immune signaling and immunothrombosis: new insights and therapeutic opportunities [J]. *Eur J Immunol*, 2022, 52 (7): 1024–1034. DOI: 10.1002/eji.202149410.
- Wu CQ, Lu W, Zhang Y, et al. Inflammasome activation triggers blood clotting and host death through pyroptosis [J]. *Immunity*, 2019, 50 (6): 1401–1411.e4. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.04.003.
- Wang J, Pendurthi UR, Rao LVM. Acid sphingomyelinase plays a critical role in LPS- and cytokine-induced tissue factor procoagulant activity [J]. *Blood*, 2019, 134 (7): 645–655. DOI: 10.1182/blood.2019001400.
- Heuberger DM, Schuepbach RA. Protease-activated receptors (PARs): mechanisms of action and potential therapeutic modulators in PAR-driven inflammatory diseases [J]. *Thromb J*, 2019, 17: 4. DOI: 10.1186/s12959-019-0194-8.
- Luo DY, Szaba FM, Kummer LW, et al. Protective roles for fibrin, tissue factor, plasminogen activator inhibitor-1, and thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, but not factor XI, during defense against the gram-negative bacterium *Yersinia enterocolitica* [J]. *J Immunol*, 2011, 187 (4): 1866–1876. DOI: 10.4049/jimmunol.1101094.
- Mackman N. The role of tissue factor and factor VIIa in hemostasis [J]. *Anesth Analg*, 2009, 108 (5): 1447–1452. DOI: 10.1213/ane.

- 0b013e31819bceb1.
- [33] Mussbacher M, Salzmann M, Brostjan C, et al. Cell type-specific roles of NF- κ B linking inflammation and thrombosis [J]. Front Immunol, 2019, 10: 85. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00085.
- [34] Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions [J]. Platelets, 2001, 12 (5): 261–273. DOI: 10.1080/09537100120068170.
- [35] Hally K, Fauteux-Daniel S, Hamzeh-Cognasse H, et al. Revisiting platelets and Toll-like receptors (TLRs): at the interface of vascular immunity and thrombosis [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (17): 6150. DOI: 10.3390/ijms21176150.
- [36] Rawish E, Nording H, Münte T, et al. Platelets as mediators of neuroinflammation and thrombosis [J]. Front Immunol, 2020, 11: 548631. DOI: 10.3389/fimmu.2020.548631.
- [37] Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration [J]. Thromb Haemost, 2011, 105 (Suppl 1): S13–S33. DOI: 10.1160/THS10-11-0720.
- [38] Garcia C, Compagnon B, Poëtte M, et al. Platelet versus megakaryocyte: who is the real bandleader of thromboinflammation in sepsis? [J] Cells, 2022, 11 (9): 1507. DOI: 10.3390/cells11091507.
- [39] Stellos K, Sauter R, Fahrleitner M, et al. Binding of oxidized low-density lipoprotein on circulating platelets is increased in patients with acute coronary syndromes and induces platelet adhesion to vascular wall *in vivo*—brief report [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32 (8): 2017–2020. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.244707.
- [40] Gardiner EE, Andrews RK. Structure and function of platelet receptors initiating blood clotting [J]. Adv Exp Med Biol, 2014, 844: 263–275. DOI: 10.1007/978-1-4939-2095-2_13.
- [41] Mandel J, Casari M, Stepanyan M, et al. Beyond hemostasis: platelet innate immune interactions and thromboinflammation [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23 (7): 3868. DOI: 10.3390/ijms23073868.
- [42] Colling ME, Tourdot BE, Kanthi Y. Inflammation, infection and venous thromboembolism [J]. Circ Res, 2021, 128 (12): 2017–2036. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.318225.
- [43] 陈红光, 林华颖, 于泳浩. 微粒与脓毒症相关凝血功能障碍的研究进展 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2022, 29 (3): 382–384. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2022.03.030.
- [44] Casella IB. Physiopathology of SARS-CoV-2-infection-associated thrombosis [J]. J Vasc Bras, 2020, 19: e20200128. DOI: 10.1590/1677-5449.200128.
- [45] van der Poll T, Herwald H. The coagulation system and its function in early immune defense [J]. Thromb Haemost, 2014, 112 (4): 640–648. DOI: 10.1160/TH14-01-0053.
- [46] Iba T, Levi M, Levy JH. Intracellular communication and immunothrombosis in sepsis [J]. J Thromb Haemost, 2022, 20 (11): 2475–2484. DOI: 10.1111/jth.15852.
- [47] Lang KS, Lang PA, Bauer C, et al. Mechanisms of suicidal erythrocyte death [J]. Cell Physiol Biochem, 2005, 15 (5): 195–202. DOI: 10.1159/000086406.
- [48] Kempe DS, Akel A, Lang PA, et al. Suicidal erythrocyte death in sepsis [J]. J Mol Med (Berl), 2007, 85 (3): 273–281. DOI: 10.1007/s00109-006-0123-8.
- [49] Aleman MM, Walton BL, Byrnes JR, et al. Fibrinogen and red blood cells in venous thrombosis [J]. Thromb Res, 2014, 133 Suppl 1 (1): S38–S40. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.03.017.
- [50] Baum J, Ward RH, Conway DJ. Natural selection on the erythrocyte surface [J]. Mol Biol Evol, 2002, 19 (3): 223–229. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a004075.
- [51] Gaertner F, Massberg S. Blood coagulation in immunothrombosis—at the frontline of intravascular immunity [J]. Semin Immunol, 2016, 28 (6): 561–569. DOI: 10.1016/j.smim.2016.10.010.
- [52] Beutler B. Innate immunity: an overview [J]. Mol Immunol, 2004, 40 (12): 845–859. DOI: 10.1016/j.molimm.2003.10.005.
- [53] Holbrook A, Schulman S, Witt DM, et al. Evidence-based management of anticoagulant therapy: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed: American college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines [J]. Chest, 2012, 141 (2 Suppl): e152S–e184S. DOI: 10.1378/chest.11-2295.
- [54] Van Bruggen S, Martinod K. The coming of age of neutrophil extracellular traps in thrombosis: where are we now and where are we headed? [J] Immunol Rev, 2023, 314 (1): 376–398. DOI: 10.1111/imr.13179.
- [55] Tang YT, Wang XY, Li ZZ, et al. Heparin prevents caspase-11-dependent septic lethality independent of anticoagulant properties [J]. Immunity, 2021, 54 (3): 454–467.e6. DOI: 10.1016/j.immuni.2021.01.007.
- [56] Borges-Rodriguez M, Shields CA, Travis OK, et al. Platelet inhibition prevents NLRP3 inflammasome activation and sepsis-induced kidney injury [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22 (19): 10330. DOI: 10.3390/ijms221910330.
- [57] Humphries F, Shmuel-Galia L, Ketelut-Carneiro N, et al. Succination inactivates gasdermin D and blocks pyroptosis [J]. Science, 2020, 369 (6511): 1633–1637. DOI: 10.1126/science.abb9818.
- [58] Mackman N, Bergmeier W, Stouffer GA, et al. Therapeutic strategies for thrombosis: new targets and approaches [J]. Nat Rev Drug Discov, 2020, 19 (5): 333–352. DOI: 10.1038/s41573-020-0061-0.
- [59] Toldo S, Mezzaroma E, Buckley LF, et al. Targeting the NLRP3 inflammasome in cardiovascular diseases [J]. Pharmacol Ther, 2022, 236: 108053. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2021.108053.
- [60] Campbell CM, Kahwash R. Will complement inhibition be the new target in treating COVID-19-related systemic thrombosis? [J] Circulation, 2020, 141 (22): 1739–1741. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047419.

(收稿日期: 2023-09-26)

(责任编辑: 邸美仙)

• 读者 • 作者 • 编者 •

《中国中西医结合急救杂志》关于规范医学名词的写作要求

医学名词应使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。尚未通过审定的学科名词,可选用最新版《医学主题词表(MeSH)》《医学主题词注释字顺表》《中医药主题词表》中的主题词。对没有通用译名的名词术语,于文内第一次出现时应注明原词。中西药名以最新版本《中华人民共和国药典》和《中国药品通用名称》(均由中国药典委员会编写)为准。英文药物名称则采用国际非专利药名。在题名及正文中,药名一般不得使用商品名,确需使用商品名时应先注明其通用名称。中医名词术语按 GB/T 16751.1/3-1997《中医临床诊疗术语疾病部分/治法部分》、GB/T 16751.2-2021《中医临床诊疗术语 第2部分:证候》和 GB/T 20348-2006《中医基础理论术语》执行;腧穴名称与部位名词术语按 GB/T 12346-2021《经穴名称与定位》和 GB/T 13734-2008《耳穴名称与定位》执行。中药应采用正名,药典未收录者应附注拉丁文名称。冠以外国人名名的体征、病名、试验、综合征等,人名可以用中译名,但人名后不加“氏”(单字名除外,例如福氏杆菌);也可以用外文,但人名后不加“s”。例如: Babinski 征,可以写成巴宾斯基征,不得写成 Babinski's 征,也不写成巴宾斯基氏征。