

· 综 述 ·

中性粒细胞胞外陷阱在脑梗死发病机制中的研究进展

张 婷^{1,2}, 高伟伟³, 陈 晴^{1,2}, 徐 颖^{1,2}, 李艳凤¹, 李维娅¹, 张 静^{1,2*}

1. 天津医科大学三中心临床学院, 天津 300170

2. 天津市第三中心医院, 天津 300170

3. 天津市环湖医院 神经内科, 天津 300350

摘 要: 中性粒细胞胞外陷阱是由中性粒细胞释放到外周而发挥作用的一种复合物。人们在脑梗死患者的血栓中发现了中性粒细胞胞外陷阱, 并发现中性粒细胞胞外陷阱与动脉粥样硬化、血栓形成密切相关。中性粒细胞胞外陷阱可以降低动脉粥样硬化斑块的稳定性, 促进血栓的形成, 影响梗死后新生血管的生成, 中性粒细胞胞外陷阱还与溶栓后的出血相关, 不同类型脑梗死中性粒细胞胞外陷阱的分布也存在差异, 并且在中性粒细胞胞外陷阱中发现了炎性小体相关成分, 这些都表明中性粒细胞胞外陷阱在脑梗死发病机制中发挥着重要作用。因此就中性粒细胞胞外陷阱在脑梗死发病机制中的作用进行综述, 主要总结了中性粒细胞胞外陷阱在动脉粥样硬化、血栓形成、脑梗死后溶栓中的作用以及对脑梗死后新生血管、不同类型脑梗死以及通过炎性小体对脑梗死的影响。

关键词: 中性粒细胞; 中性粒细胞胞外陷阱; 脑梗死; 动脉粥样硬化; 血栓

中图分类号: R971 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2021)12-2695-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.12.043

Advances on neutrophil extracellular traps in the pathogenesis of cerebral infarction

ZHANG Ting^{1,2}, GAO Wei-wei³, CHENG Qing^{1,2}, XU Ying^{1,2}, LI Yan-feng¹, LI Wei-ya¹, ZHANG Jing^{1,2}

1. The Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China

2. Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

3. Department of Neurology, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin 300350, China

Abstract: Neutrophil extracellular traps (NETs) are complexes that are released by neutrophils into the periphery to function. NETs have been identified in thrombi from patients with cerebral infarction and have been found to be closely associated with atherosclerosis, thrombosis. NETs can reduce the stability of atherosclerotic plaques, promote thrombus formation, and affect post-infarction neovascularization. NETs have also been associated with bleeding after thrombolysis. The distribution of NETs varies in different types of cerebral infarction, and inflammatory vesicle-associated components were found. All these suggest that NETs play an important role in the pathogenesis of cerebral infarction. This article reviews the role of NETs in the pathogenesis of cerebral infarction. This paper mainly summarizes the role of neutrophil extracellular traps in atherosclerosis, thrombosis, and thrombolysis after cerebral infarction, as well as the effect on neovascularization after cerebral infarction, the effect on different types of cerebral infarction, different types of cerebral infarction, and the effect on cerebral infarction through inflammasome.

Key words: neutrophil; neutrophil extracellular traps; cerebral infarction; atherosclerosis; thrombus

收稿日期: 2021-07-27

基金项目: 天津市科技计划项目 (19ZXDBSY00100); 天津市第三中心医院、天津市重症疾病体外生命支持重点实验室国家自然科学基金基金孵育项目 (2019YNR5)

作者简介: 张 婷, 女, 神经病学专业硕士在读。E-mail: 1315979849@qq.com

*通信作者: 张 静, 女, 主任医师, 博士, 从事脑血管病、神经电生理诊断技术及神经免疫疾病的诊断和治疗。E-mail: yadibaby1019@163.com

我国脑梗死的发生率和引发的疾病负担高居榜首,在城市居民中脑梗死死亡居于首位,农村居于第 2 位,现状非常严峻^[1]。近年来,随着静脉溶栓、介入取栓的发展,对于脑梗死的诊治已有了长足的进步,但受限于狭窄时间窗的影响,脑梗死患者受益比例不高,且溶栓患者血管再通率不高。研究表明脑梗死可能与血栓中中性粒细胞胞外陷阱(neutrophil extracellular traps)的存在相关。中性粒细胞属于抵御病原体入侵的第一道防线,当病原微生物侵入机体时,中性粒细胞通过吞噬和脱颗粒的方式杀灭病原体,从而起到抗感染作用^[2]。此外,中性粒细胞还可以通过释放去核染色质和颗粒状物质构成的细胞外网状结构诱捕和杀死病原体,2004 年 Brinkmann 等^[3]首次报道了这一机制,并称之为中性粒细胞胞外陷阱。中性粒细胞胞外陷阱是由 DNA、组蛋白和颗粒蛋白构成的大型网状结构。DNA 是中性粒细胞胞外陷阱的骨架结构,使用 DNA 酶(DNase)可裂解中性粒细胞胞外陷阱,并抑制中性粒细胞胞外陷阱的功能。组蛋白是中性粒细胞胞外陷阱的重要组成部分,通过 Toll 样受体 4(TLR4)信号介导的方式造成细胞和组织的损伤^[4]。颗粒蛋白如中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)、肽基精氨酸脱亚胺酶 4(PAD4)、髓过氧化物酶(MPO)、组织蛋白酶 G、蛋白酶 3、金属蛋白酶 9 和人中性粒细胞多肽 1 等均被证实存在于中性粒细胞胞外陷阱中^[5-7]。各种刺激物,如细菌、真菌、病毒、寄生虫、活化的血小板和一些化学物质均能诱导中性粒细胞胞外陷阱的形成,这一过程称为 NETosis^[6]。目前将 NETosis 分为溶解性 NETosis、细胞核 DNA 释放式 NETosis 和线粒体 DNA 释放式 NETosis 3 类。溶解性 NETosis 是一种缓慢活跃的细胞死亡形式,此过程至少需要 2 h 以上,依赖于还原型辅酶 II 氧化酶产生的活性氧,活性氧激活嗜天青颗粒,MPO 协助 NE 从嗜天青颗粒上易位到细胞核,并驱动组蛋白的降解,导致染色质解聚^[8-9]。细胞核 DNA 释放式 NETosis 是一个快速的过程,一般在 5~60 min 即可完成,此时细胞活力和功能被保留^[10],此过程不依赖于还原型辅酶 II 氧化酶产生的活性氧^[11],而是通过 Toll 样受体 2(TLR2)和补体 C3 蛋白受体识别刺激而触发的^[12]。线粒体 DNA 释放式 NETosis 依赖于活性氧的产生,DNA 来自线粒体,而非细胞核,这种类型的 NETosis 可在 15 min 内导致 80%的中性粒细胞通过识别补

体 C5a 或脂多糖(LPS)形成中性粒细胞胞外陷阱^[6]。中性粒细胞胞外陷阱在动脉粥样硬化、血栓形成、炎性小体等方面都发挥着重要的作用,因此本文拟对中性粒细胞胞外陷阱及其在脑梗死中的作用进行综述,主要总结了中性粒细胞胞外陷阱在动脉粥样硬化、血栓形成、脑梗死后溶栓中的作用以及对脑梗死后新生血管、不同类型脑梗死以及通过炎性小体对脑梗死的影响。

1 中性粒细胞胞外陷阱在动脉粥样硬化中的作用

动脉粥样硬化是一种以脂质代谢障碍为基础的动脉血管壁炎症性疾病。在小鼠和人类动脉粥样硬化损伤的管腔部位均发现了中性粒细胞胞外陷阱^[13-15]。借助于载脂蛋白 E 基因敲除(Apoe^{-/-})小鼠,Döring 等^[16]阐明了一种中性粒细胞胞外陷阱驱动的动脉粥样硬化发生机制,即血管壁中的浆细胞样树突状细胞(pDCs)在自体 DNA(推测是中性粒细胞胞外陷阱携带的 DNA,但也可能是来自濒死细胞的自体 DNA)和中性粒细胞颗粒蛋白(如抗菌肽)复合物的刺激下发生强烈的 I 型干扰素反应,从而促进动脉粥样硬化的发生。而 PLX3397 抗体(删除动物体内中性粒细胞)处理或在缺乏 I 型干扰素受体的小鼠中无法产生相同的促动脉粥样硬化作用^[17]。此外,中性粒细胞胞外陷阱还可直接激活和损伤内皮细胞,导致其功能障碍,以此作为动脉粥样硬化的起点^[18-20],而氯脒(PAD4 的抑制剂)预处理可通过减少动脉粥样硬化模型小鼠中中性粒细胞胞外陷阱的形成,从而减少动脉粥样硬化病变的大小^[21-22]。

1.1 中性粒细胞胞外陷阱对动脉粥样硬化斑块稳定性的影响

中性粒细胞胞外陷阱的存在对动脉粥样硬化斑块的大小和稳定性均有影响,而中性粒细胞胞外陷阱对斑块稳定性的影响与巨噬细胞密切相关。Warnatsch 等^[13]证实,胆固醇结晶可触发中性粒细胞释放中性粒细胞胞外陷阱,而中性粒细胞胞外陷阱可诱导巨噬细胞释放细胞因子,并激活 Th-17 细胞,增强动脉粥样硬化斑块中免疫细胞的聚集,因此,胆固醇结晶作为动脉粥样硬化的高危因素通过与中性粒细胞的相互作用驱动无菌性炎症,从而促进动脉粥样硬化斑块进展。此外,巨噬细胞吞噬病变部位的脂质等物质后发生凋亡,斑块中心坏死物质增加,巨噬细胞凋亡造成中性粒细胞胞外陷阱降解不足,使得斑块的稳定性降低,甚至引

发斑块破裂^[23]。

1.2 中性粒细胞细胞外陷阱相关动脉粥样硬化中 miRNAs 的作用

研究发现, miRNAs 在中性粒细胞细胞外陷阱导致动脉粥样硬化形成过程中发挥着重要作用。miR-146a 可通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路减少炎症细胞因子(如 IL-6、IL-8、IL-1 β 或 TNF- α)的水平^[24-25]。与野生型的中性粒细胞相比, miR-146a^{-/-}中性粒细胞在同等浓度佛波醇肉豆蔻乙酸酯刺激下其游离 DNA/CitH3 双阳性细胞在总细胞中占比明显增多,这些结果证实了 miR-146a 以一种未知的机制参与了中性粒细胞细胞外陷阱的形成^[26]。miR-155 作为另一个与炎症相关的 miRNA 可与 PAD4 基因 3'UTR 结合,促进 PAD4 mRNA 表达^[27],通过靶向 SOCS1 增加 STAT3 和 NF- κ B 信号通路促进动脉粥样硬化病变的形成^[28],从而促进中性粒细胞细胞外陷阱的生成。Yang 等^[28]已经证明注射 miR-155 抑制剂可减少小鼠动脉粥样硬化病变的形成。对于 miRNA 的深入研究为人们了解中性粒细胞细胞外陷阱在脑梗死中的作用提供了新的方向。

2 中性粒细胞细胞外陷阱在血栓形成中的作用

中性粒细胞细胞外陷阱因其特殊的结构为红细胞、白细胞和血小板的黏附提供了支架,有利于血小板的聚集和血栓的形成;中性粒细胞细胞外陷阱还与血管性血友病因子、纤维连接蛋白等血浆蛋白结合,从而维持血栓的稳定性^[29]。

中性粒细胞细胞外陷阱的促血栓形成作用还表现在触发凝血途径和血小板聚集 2 个方面。在触发凝血方面,来自中性粒细胞细胞外陷阱的游离 DNA 在脓毒症患者中介导凝血因子 FXII 或 FXI 而非组织因子依赖的凝血酶生成^[30],减少中性粒细胞细胞外陷阱中游离 DNA 的数量,降低了它们的促凝作用。来自中性粒细胞细胞外陷阱的纯化 DNA 骨架能够诱导血小板不足的血浆产生凝血酶^[31],DNase 处理后增加了凝血酶的产生,这可能是因为中性粒细胞细胞外陷阱的降解导致中性粒细胞细胞外陷阱组分的释放增多,使它们更容易作为血小板激动剂^[30]。作为中性粒细胞细胞外陷阱的另一大主要成分组蛋白可通过 TLR2 和 TLR4 激活血小板来诱导富血小板血浆(PRP)中凝血酶的生成,而 TLR2、TLR4 是由激活的血小板分泌的凝血级联中的激活剂 poloP 以非依赖于 FXII 的方式驱动的^[32]。在促血小板聚集方面,组蛋白与血小板结合,诱导

钙内流,并招募血浆黏附蛋白(如纤维蛋白原)诱导血小板聚集,此途径可触发微聚集;此外,组蛋白也可直接激活血小板表面的整合素 α IIb β 3,使得组蛋白诱导的血小板聚集更高效,此过程在形成大的血小板聚集物时是必需的^[33]。故中性粒细胞细胞外陷阱有利于血小板黏附分子沉积和凝血酶依赖的纤维蛋白形成,具有促进血栓形成的作用。

3 中性粒细胞细胞外陷阱在脑梗死后溶栓中的作用

Laridan 等^[34]将 68 例介入取栓术所获的血栓分为两组进行处理,一组单独使用组织型纤溶酶原激活剂(rt-PA),另一组使用 rt-PA 和脱氧核糖核酸酶 1(DNase1)共同处理,结果发现加入 DNase1 显著增加了血栓溶解速度和程度。Ducroux 等^[35]也报道了类似的结果,此外,他们还证明了单独使用 DNase1 对血栓溶解并无作用。这些发现表明 DNase1 可以协同 rt-PA 促进体外血栓的溶解,这为靶向中性粒细胞细胞外陷阱作为一种新的脑梗死溶栓治疗策略提供了依据。

对于脑梗死患者,时间窗内 rt-PA 溶栓治疗仍然是唯一可用的药物治疗方法,部分患者可以实现血管再通^[36]。然而,脑出血风险的增加也在一定程度上限制了 rt-PA 溶栓的应用^[37]。有研究发现,脑梗死小鼠在进行 rt-PA 治疗后,中性粒细胞细胞外陷阱的形成增加,且与卒中 rt-PA 处理后血脑屏障破坏和脑出血增加有关,这些反应也可以通过 DNase1 清除中性粒细胞细胞外陷阱或通过 PAD4 基因缺陷抑制中性粒细胞细胞外陷阱的产生而减弱^[38]。rt-PA 可促进脑梗死后中性粒细胞的积累,而删除中性粒细胞可防止 rt-PA 引起的脑出血^[39-40]。rt-PA 通过上调 LRP-1 和 PAD4 直接刺激脑梗死小鼠的中性粒细胞释放中性粒细胞细胞外陷阱,用 DNase1 消化中性粒细胞细胞外陷阱或用 PAD4 基因缺陷抑制中性粒细胞细胞外陷阱的形成可以减少脑血管损伤和血脑屏障的破坏^[41-42]。rt-PA 促进了小胶质细胞 GMP-AMP (cGAMP) 合成酶(cGAS)的表达和 STING 的激活,并增加了卒中后缺血皮质中下游信号 pTBK1、pIRF3 和 IFN- β 的表达,用 DNase1 进行处理后抑制了 cGAS-STING 通路的激活和 IFN- β 的产生,但使用 cGAMP 处理后会减轻 DNase1 介导的抑制小胶质细胞的活化作用^[38],同时,使用 cGAMP 治疗后阻断了 DNase1 对 rt-PA 致出血的抗出血作用,提示 rt-PA 致出血需要 cGAMP 参与^[38]。故靶向中性粒细胞细胞外陷阱或 cGAS 为

提高 rt-PA 溶栓治疗后的安全性提供一种新的途径。

4 中性粒细胞细胞外陷阱对脑梗死后新生血管的影响

卒中后中性粒细胞细胞外陷阱的产生会影响血管新生,从而影响卒中预后。通过脑组织免疫荧光染色可以发现在缺血性脑卒中的急性阶段、恢复阶段,中性粒细胞都会聚集在梗死灶周围的皮质中,中性粒细胞的持续存在会破坏血脑屏障并影响血管新生。在体外用 LPS 分别对假手术组、脑梗死组小鼠来源的中性粒细胞进行刺激,可见脑梗死组中性粒细胞会产生更多的中性粒细胞细胞外陷阱,表明卒中激活了中性粒细胞,并在血管和实质内释放了过量的中性粒细胞细胞外陷阱。用 DNase1 处理中性粒细胞细胞外陷阱后,可显著减少血脑屏障的损伤,伴随着新的功能性血管的形成,故表明中性粒细胞细胞外陷阱的形成会影响血管新生^[43]。PAD4 是引起中性粒细胞细胞外陷阱产生的关键酶,通过基因敲除或使用 PAD4 的抑制剂氯胍处理会减少 PAD4 的表达,并抑制中性粒细胞细胞外陷阱的形成,增加血管新生和毛细血管灌注,促进功能恢复^[44]。

5 中性粒细胞细胞外陷阱对不同类型脑梗死的影响

脑梗死根据其病因不同,可以分为大动脉粥样硬化型、心源性栓塞型、小动脉闭塞型、其他明确病因型、不明原因型。不同类型卒中血栓中性粒细胞数量相近,但中性粒细胞细胞外陷阱含量差别较大,且二者之间未发现相关性。与大动脉粥样硬化型相比,心源性栓塞型中的中性粒细胞细胞外陷阱含量较高,但其他明确病因型、不明原因型患者血栓中中性粒细胞细胞外陷阱含量无显著差异^[34-35]。可能是由于中性粒细胞处于不同的激活状态,中性粒细胞细胞外陷阱形成能力也会发生变化^[45-46]。与大动脉粥样硬化型、其他明确病因型的卒中患者相比,心源性栓塞型患者的循环血中中性粒细胞细胞外陷阱含量显著升高^[48]。虽然有研究证实了中性粒细胞和中性粒细胞细胞外陷阱在斑块进展和破裂中的作用^[17],但大动脉粥样硬化型、心源性栓塞型两种类型血栓中性粒细胞和中性粒细胞细胞外陷阱的数量存在差异可能是由于血栓形成时间、部位等的不同^[47]。

虽然 Laridan 等^[34]没有在缺血性卒中血栓中发现中性粒细胞数量和中性粒细胞细胞外陷阱数量之间的相关性,但证明了心源性栓塞型血栓中中性

粒细胞细胞外陷阱的数量比非心源性栓塞型血栓高这一现象。Ducroux 等^[35]通过测量 NE 活性来评估血栓中中性粒细胞细胞外陷阱的存在,但他们并没有发现中性粒细胞细胞外陷阱含量与卒中病因之间的关系,这可能是因为中性粒细胞细胞外陷阱检测方法的多样性造成的差异。有研究提出了一种新的观点,根据已确定卒中来源的血栓成分的差异可能有助于未来对病因不明的卒中的病因研究^[45]。

6 中性粒细胞细胞外陷阱通过炎性小体对脑梗死的影响

有研究通过对脑卒中血栓进行免疫荧光染色发现,炎性小体相关蛋白半胱天冬酶-1 (caspase-1) 和半胱天冬酶募集结构域 (ASC) 均存在于中性粒细胞细胞外陷阱结构中,故炎性小体在中性粒细胞细胞外陷阱形成中也起重要的作用^[49]。用 LPS 或革兰阴性菌处理中性粒细胞,会激活非经典 (caspase-4/11) 炎性小体信号传导途径,并触发依赖消皮素 D (GSDMD) 的中性粒细胞死亡,而 GSDMD 可以诱导中性粒细胞产生中性粒细胞细胞外陷阱,并且这一过程可以被 caspase-1/4 抑制剂 VX765 所阻断,故炎性小体可以促进中性粒细胞细胞外陷阱的形成^[50]。将急性脑梗死患者的血栓和血浆与健康人的血浆进行对比,血栓中 caspase-1、ASC 和 IL-1 β 水平明显升高,而 IL-18 水平降低^[49]。中性粒细胞细胞外陷阱的形成发生在中性粒细胞炎性小体激活的下游^[50],故对于脑梗死患者体内 IL-1 β 和 IL-18 含量的测定可能有助于判断中性粒细胞细胞外陷阱的生成,但炎性小体在中性粒细胞细胞外陷阱导致脑梗死发生中发挥着怎样的作用,目前仍缺乏直接证据,需进一步进行探索。在动物和人类的研究中发现,秋水仙碱可以有效地阻断 NLRP3 炎症小体的功能,增加动脉粥样斑块的稳定性^[51],那么秋水仙碱是否也可以影响中性粒细胞细胞外陷阱的生成并在脑梗死中发挥作用,这是个值得深入探讨的问题。

7 结语

中性粒细胞细胞外陷阱在动脉粥样硬化、血栓形成、炎性小体等方面都发挥着重要的作用。中性粒细胞细胞外陷阱可以降低动脉粥样硬化斑块的稳定性,促进血栓的形成,影响梗死后新生血管的生成。中性粒细胞细胞外陷阱还参与了溶栓后的出血过程。有人发现不同类型脑梗死中中性粒细胞细胞外陷阱的分布也存在差异,使人们在研究原因不

明型脑梗死的病因时有了新的思路。人们在中性粒细胞细胞外陷阱中发现了炎性小体相关成分,这为进一步阐明中性粒细胞细胞外陷阱在脑卒中发病机制中的作用提供了新方向。就目前情况来看,脑梗死患者静脉溶栓的再通率并不高,但有研究发现DNase1可以通过降解中性粒细胞细胞外陷阱提高体外血栓溶解的速度和程度,故此为患者的溶栓和以后的支持治疗提供更多的可能性。中性粒细胞细胞外陷阱从被发现以来,其在脑血管病领域的研究已经得到迅速发展,大量的实验和文献将中性粒细胞细胞外陷阱与脑卒中联系起来,为脑卒中发病机制的探索开辟了新的方向。一些化合物或药物可能通过中性粒细胞细胞外陷阱作用于脑卒中,未来可能会发现更多的药物。虽然中性粒细胞细胞外陷阱在脑梗死发病机制中的作用还未完全阐明,但已经引起了越来越多人的关注,这对日后人们提高对疾病的认识并完善治疗方法都有积极影响。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Feigin V L, Nguyen G, Cercy K, *et al.* Global, regional, and country-specific lifetime risks of stroke, 1990 and 2016 [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(25): 2429-2437.
- [2] Klopff J, Brostjan C, Eilenberg W, *et al.* Neutrophil extracellular traps and their implications in cardiovascular and inflammatory disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(2): 559.
- [3] Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, *et al.* Neutrophil extracellular traps kill bacteria [J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1532-1535.
- [4] Ekaney M L, Otto G P, Sossdorf M, *et al.* Impact of plasma histones in human sepsis and their contribution to cellular injury and inflammation [J]. *Crit Care*, 2014, 18(5): 543.
- [5] Albregues J, Shields M A, Ng D, *et al.* Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice [J]. *Science*, 2018, 361(6409): eaao4227.
- [6] Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán M A, Iñiguez-Gutierrez L, *et al.* Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: An overview [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 81.
- [7] Cao W, Pham H P, Williams L A, *et al.* Human neutrophil peptides and complement factor Bb in pathogenesis of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura [J]. *Haematologica* (Roma), 2016, 101(11): 1319-1326.
- [8] Papayannopoulos V, Metzler K D, Hakkim A, *et al.* Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps [J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(3): 677-691.
- [9] Metzler K D, Goosmann C, Lubojemska A, *et al.* A myeloperoxidase-containing complex regulates neutrophil elastase release and actin dynamics during NETosis [J]. *Cell Rep*, 2014, 8(3): 883-896.
- [10] Fuchs T A, Abed U, Goosmann C, *et al.* Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps [J]. *J Cell Biol*, 2007, 176(2): 231-241.
- [11] Florian H Pilschek D S K K. A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus* [J]. *J Immunol*, 2010: 7413-7425.
- [12] Yipp B G, Petri B, Salina D, *et al.* Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking *in vivo* [J]. *Nat Med*, 2012, 18(9): 1386-1393.
- [13] Warnatsch A, Ioannou M, Wang Q, *et al.* Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis [J]. *Science*, 2015, 349(6245): 316-320.
- [14] Megens R T A, Vijayan S, Lievens D, *et al.* Presence of luminal neutrophil extracellular traps in atherosclerosis [J]. *Thromb Haemost*, 2017, 107(3): 597-598.
- [15] Quillard T, Araújo H A, Franck G, *et al.* TLR2 and neutrophils potentiate endothelial stress, apoptosis and detachment: implications for superficial erosion [J]. *Eur Heart J*, 2015, 36(22): 1394-1404.
- [16] Döring Y, Mantey H D, Drechsler M, *et al.* Auto-antigenic protein-DNA complexes stimulate plasmacytoid dendritic cells to promote atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2012, 125(13): 1673-1683.
- [17] Döring Y, Soehnlein O, Weber C. Neutrophil extracellular traps in atherosclerosis and atherothrombosis [J]. *Circulation Res*, 2017, 120(4): 736-743.
- [18] Carmona-Rivera C, Zhao W, Yalavarthi S, *et al.* Neutrophil extracellular traps induce endothelial dysfunction in systemic lupus erythematosus through the activation of matrix metalloproteinase-2 [J]. *Ann Rheum Dis*, 2015, 74(7): 1417-1424.
- [19] Villanueva E, Yalavarthi S, Berthier C C, *et al.* Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus [J]. *J Immunol*, 2011, 187(1): 538-552.
- [20] Gupta A K, Joshi M B, Philippova M, *et al.* Activated endothelial cells induce neutrophil extracellular traps and are susceptible to NETosis-mediated cell death [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(14): 3193-3197.
- [21] Liu Y, Carmona-Rivera C, Moore E, *et al.* Myeloid-specific deletion of peptidylarginine deiminase 4 mitigates

- atherosclerosis [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1680.
- [22] Knight J S, Luo W, O Dell A A, *et al.* Peptidylarginine deiminase inhibition reduces vascular damage and modulates innate immune responses in murine models of atherosclerosis [J]. *Circulation Res*, 2014, 114(6): 947-956.
- [23] Mozzini C, Garbin U, Fratta Pasini A M, *et al.* An exploratory look at NETosis in atherosclerosis [J]. *Intern Emerg Med*, 2017, 12(1): 13-22.
- [24] Saba R, Sorensen D L, Booth S A. MicroRNA-146a: A dominant, negative regulator of the innate immune response [J]. *Front Immunol*, 2014, 5: 578.
- [25] Yang K, He Y S, Wang X Q, *et al.* MiR-146a inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced lipid accumulation and inflammatory response via targeting toll-like receptor 4 [J]. *FEBS Lett*, 2011, 585(6): 854-860.
- [26] Águila S, de Los Reyes-García A M, Fernández-Pérez M P, *et al.* MicroRNAs as new regulators of neutrophil extracellular trap formation [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 2116.
- [27] Hawez A, Al-Haidari A, Madhi R, *et al.* MiR-155 regulates PAD4-dependent formation of neutrophil extracellular traps [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2462.
- [28] Yang Y, Yang L, Liang X, *et al.* MicroRNA-155 promotes atherosclerosis inflammation via targeting SOCS1 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(4): 1371-1381.
- [29] Fuchs T A, Brill A, Duerschmied D, *et al.* Extracellular DNA traps promote thrombosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(36): 15880-15885.
- [30] Gould T J, Vu T T, Swystun L L, *et al.* Neutrophil extracellular traps promote thrombin generation through platelet-dependent and platelet-independent mechanisms [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(9): 1977-1984.
- [31] Noubouossie D F, Whelihan M F, Yu Y, *et al.* *In vitro* activation of coagulation by human neutrophil DNA and histone proteins but not neutrophil extracellular traps [J]. *Blood*, 2017, 129(8): 1021-1029.
- [32] Semeraro F, Ammollo C T, Morrissey J H, *et al.* Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4 [J]. *Blood*, 2011, 118(7): 1952-1961.
- [33] Fuchs T A, Bhandari A A, Wagner D D. Histones induce rapid and profound thrombocytopenia in mice [J]. *Blood*, 2011, 118(13): 3708-3714.
- [34] Laridan E, Denorme F, Desender L, *et al.* Neutrophil extracellular traps in ischemic stroke thrombi [J]. *Ann Neurol*, 2017, 82(2): 223-232.
- [35] Ducroux C, Di Meglio L, Loyau S, *et al.* Thrombus neutrophil extracellular traps content impair tPA-induced thrombolysis in acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2018, 49(3): 754-757.
- [36] Prabhakaran S, Ruff I, Bernstein R A. Acute stroke intervention a systematic review [J]. *JAMA*, 2015, 313(14): 1451-1462.
- [37] Whiteley W N, Slot K B, Fernandes P, *et al.* Risk factors for intracranial hemorrhage in acute ischemic stroke patients treated with recombinant tissue plasminogen activator: a systematic review and meta-analysis of 55 studies [J]. *Stroke*, 2012, 43(11): 2904-2909.
- [38] Wang R, Zhu Y, Liu Z, *et al.* Neutrophil extracellular traps promote tPA-induced brain hemorrhage via cGAS in mice with stroke [J]. *Blood*, 2021, 138(1): 91-103..
- [39] Guo Z, Yu S, Chen X, *et al.* Suppression of NLRP3 attenuates hemorrhagic transformation after delayed rtPA treatment in thromboembolic stroke rats: Involvement of neutrophil recruitment [J]. *Brain Res Bull*, 2018, 137: 229-240.
- [40] Gautier S, Ouk T, Tagzirt M, *et al.* Impact of the neutrophil response to granulocyte colony-stimulating factor on the risk of hemorrhage when used in combination with tissue plasminogen activator during the acute phase of experimental stroke [J]. *J Neuroinflammation*, 2014, 11: 96.
- [41] Su E J, Cao C, Fredriksson L, *et al.* Microglial-mediated PDGF-CC activation increases cerebrovascular permeability during ischemic stroke [J]. *Acta Neuropathol*, 2017, 134(4): 585-604.
- [42] Kastrup A, Gröschel K, Ringer T M, *et al.* Early disruption of the blood-brain barrier after thrombolytic therapy predicts hemorrhage in patients with acute stroke [J]. *Stroke*, 2008, 39(8): 2385-2387.
- [43] Meegan J E, Yang X, Coleman D C, *et al.* Neutrophil-mediated vascular barrier injury: Role of neutrophil extracellular traps [J]. *Microcirculation*, 2017, 24(3): e12352.
- [44] Kang L, Yu H, Yang X, *et al.* Neutrophil extracellular traps released by neutrophils impair revascularization and vascular remodeling after stroke [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 2488.
- [45] Zhang D, Chen G, Manwani D, *et al.* Neutrophil ageing is regulated by the microbiome [J]. *Nature*, 2015, 525(7570): 528-532.
- [46] Adrover J M, Aroca-Crevillén A, Crainiciuc G, *et al.* Programmed ‘disarming’ of the neutrophil proteome reduces the magnitude of inflammation [J]. *Nat Immunol*,

- 2020, 21(2): 135-144.
- [47] Genchi A, Semerano A, Gullotta G S, *et al.* Cerebral thrombi of cardioembolic etiology have an increased content of neutrophil extracellular traps [J]. *J Neurol Sci*, 2021, 423: 117355.
- [48] Vallés J, Lago A, Santos M T, *et al.* Neutrophil extracellular traps are increased in patients with acute ischemic stroke: prognostic significance [J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(10): 1919.
- [49] Chen S H, Scott X O, Marcelo Y F, *et al.* Netosis and inflammasomes in large vessel occlusion thrombi [J]. *Front Pharmacol*, 2021, 11: 607287.
- [50] 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.
- [51] Martínez G J, Celermajer D S, Patel S. The NLRP3 inflammasome and the emerging role of colchicine to inhibit atherosclerosis-associated inflammation [J]. *Atherosclerosis*, 2018, 269: 262-271.

[责任编辑 解学星]