

中性粒细胞胞外诱捕网诱导病毒性心肌炎的研究进展

Research progress on neutrophil extracellular trap induced viral myocarditis

王 丹¹, 蒲瑞雪¹, 刘一岚², 范予劼¹

WANG Dan, PU Rui-xue, LIU Yi-lan, FAN Yu-jie

1. 西部战区总医院第三派驻门诊部, 四川 成都 610000; 2. 西部战区总医院血液科, 四川 成都 610000

【摘要】 病毒性心肌炎威胁着人类健康, 其慢性过程可发展为扩张型心肌病, 影响患者生存及预后。先天免疫应答在其侵入阶段发挥着不可或缺的作用, 中性粒细胞胞外诱捕网的形成具有双重病理效应, 既可以通过捕获并降解病毒颗粒发挥抗病毒作用, 又可以通过释放蛋白酶颗粒及促炎介质引发心肌组织氧化应激损伤、微血管栓塞及自身免疫应答, 成为病毒性心肌炎进展为慢性心力衰竭的重要驱动因素。本文探讨中性粒细胞胞外诱捕网诱导心肌炎的发生机制, 旨在为病毒性心肌炎治疗提供新思路。

【关键词】 柯萨奇病毒 B3; 中性粒细胞胞外诱捕网; 巨噬细胞-1 抗原; 中期因子

【中图分类号】 R542.2 **【文献标志码】** B **【文章编号】** 1672-6170(2025)04-0221-04

先天免疫反应在感染过程中对宿主防御起着至关重要的作用, 白细胞过度活化可导致心肌功能障碍, 病毒性心肌炎(viral myocarditis, VMC)患者经过规范治疗后, 仅 50% 的患者实现心肌功能完全恢复, 而 20% 的患者进展为更严重的扩张型心肌病并最终导致心力衰竭^[1]。中性粒细胞是人类最丰富的白细胞, 对于防御各种感染至关重要, 作为抵御病原体的第一道防线, 它是人类先天免疫反应的重要成员^[2]。在病毒性心肌炎病程中, 受损的心肌细胞、活化的巨噬细胞和内皮细胞释放趋化因子和损伤相关的分子模式, 促使中性粒细胞募集至心脏组织^[3], 激活后的中性粒细胞释放髓过氧化物酶(MPO)和其他抗微生物蛋白(防御素), 分泌活性氧(ROS)并合成促炎细胞因子进一步加剧炎症反应^[4]。

中性粒细胞通过独特的 NETOSIS 过程, 在特定的刺激下激活肽酰基精氨酸脱亚胺酶 4(PAD4), 诱导染色体解聚并释放 MPO 和中性粒细胞弹性蛋白酶(NE), 最终形成中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETS)^[5]。NETOSIS 在很大程度上参与了心肌炎的发病机制, 并推动了心脏炎症的发生。PAOLO 团队研究证实, 急性期阻断 NETS 可以减轻 VMC 诱导的心肌组织损伤, 降低心脏免疫反应并显著减少早期单核细胞的募集和晚期巨噬细胞的浸润^[6]。

1 NETS 的概述

NETS 是一种区别于凋亡和坏死独特的细胞程序性死亡形式, 2004 年 TAKEI 团队首次使用 PMA 诱导中性粒细胞通过胞吐作用释放 NETS, 其三维网状结构由解聚染色体 DNA 骨架和多种功能蛋白

- [11] Shady W, Petre EN, Gonen M, et al. Percutaneous radiofrequency ablation of colorectal cancer liver metastases: Factors affecting outcomes-A 10-year experience at a single center[J]. Radiology, 2016, 278(2): 601-611.
- [12] Mimmo A, Pegoraro F, Rhaïem R, et al. Microwave ablation for colorectal liver metastases: A systematic review and pooled oncological analyses[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(5): 1305.
- [13] Tinguely P, Dal G, Bottai M, et al. Microwave ablation versus resection for colorectal cancer liver metastases-A propensity score analysis from a population-based nationwide registry[J]. Eur J Surg Oncol, 2020, 46(3): 476-485.
- [14] Li J, Liu G, Xie X, et al. Outcomes following different thermal ablation strategies in patients with unresectable colorectal liver metastases[J]. Radiology, 2023, 308(2): e223135.
- [15] Tinguely P, Ruiter SJS, Engstrand J, et al. A prospective multicentre trial on survival after microwave ablation versus resection for resectable colorectal liver metastases (MAVERRIC)[J]. Eur J Cancer, 2023, 187: 65-76.

- [16] Ierardi AM, Floridi C, Fontana F, et al. Microwave ablation of liver metastases to overcome the limitations of radiofrequency ablation[J]. Radiol Med, 2013, 118(6): 949-961.
- [17] Huang Q, Pang M, Zeng Q, et al. The frequency and risk factors of major complications after thermal ablation of liver tumours in 2,084 ablation sessions[J]. Front Surg, 2022, 9: 1010043.
- [18] 赵小颖. 高强度聚焦超声联合化疗治疗结直肠癌肝转移的临床观察[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2021.
- [19] Yang T, Ng DM, Du N, et al. HIFU for the treatment of difficult colorectal liver metastases with unsuitable indications for resection and radiofrequency ablation: a phase I clinical trial[J]. Surg Endosc, 2020, 8(5): 654.
- [20] 王海霞, 刘景萍, 徐娟. 超声引导下激光与射频消融治疗小肝癌对血清肿瘤标志物的影响及超声造影评价[J]. 河北医科大学学报, 2022, 43(6): 711-715.

(收稿日期: 2024-11-09; 修回日期: 2025-04-30)

(本文编辑: 侯晓林)

组成,其中包括基质金属蛋白酶 9 (MMP-9)、NE、组织蛋白酶 G (CG) 和 MPO 等^[7]。NETS 的形成是一个复杂的过程,涉及 PAD4 的激活、组蛋白 H3 和 H4 的瓜氨酸化,以及中性粒细胞核小体与丝氨酸蛋白酶等颗粒蛋白共同向细胞外空间的释放^[8]。这一过程的调控主要依赖于线粒体 ROS 与 PAD4 的相互作用。在病理条件下,NETS 及其组分不仅通过增强中性粒细胞促炎活性促进 IL-8 的过量分泌,还能通过炎症小体信号通路激活单核/巨噬细胞系统,显著提升其分化成熟度与吞噬功能。炎症小体信号级联反应通过建立促炎细胞因子(包括 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 和 IL-18 等)分泌的正反馈循环,驱动持续性中性粒细胞活化与脱颗粒、NETS 释放以及炎症单核/巨噬细胞浸润等病理过程,最终导致心肌组织损伤^[9]。研究表明,靶向抑制 NETS 形成可有效减轻心肌病理损伤,显著改善 VMC 的临床预后。

2 NETS 的作用

NETOSIS 由 PAD4 驱动,通过释放细胞内颗粒成分形成 NETS,其功能是通过物理捕获和酶解作用破坏微生物,包括病毒、真菌、细菌和原虫等病原体。具体作用机制体现以下三方面:其一,在细菌感染控制中,NETS 展现出显著的抗菌活性。如 VIDAL-DELGADO 等研究表明,NETS 能有效限制或杀灭福氏志贺菌、铜绿假单胞菌、大肠杆菌、宋内志贺菌、肠炎沙门菌、鼠伤寒沙门菌、肺炎克雷伯菌、表皮葡萄球菌、金黄色葡萄球菌和痤疮丙酸杆菌等多种病原菌^[10]。其二,针对真菌感染,NETOSIS 通过识别菌丝表面 β -葡聚糖或激活 NADPH 氧化酶 (NOX) 系统发挥关键防御作用,该机制对抵抗白色念珠菌、烟曲霉、新型隐球菌等真菌感染具有重要价值,宿主细胞通过识别真菌细胞外基质成分触发这一过程^[11]。其三,在寄生虫感染领域,NETS 参与调控弓形虫、恶性疟原虫及利什曼原虫等原虫感染过程^[12],其形成对控制这些病原体引发的疾病具有病理生理学意义。

宿主免疫防御机制在发挥抗感染作用的同时,可能因过度激活的炎症应答导致组织损伤,因此研究 NETS 形成过程中产生的致病性效应至关重要。由于 DNA 和颗粒蛋白的固有特性,NETS 可诱导与炎症及血栓形成相关的促凝反应,通过阻碍血液供应加剧细胞坏死^[13]。糖尿病患者中,高血糖刺激可

触发中性粒细胞释放 NETS^[14],此过程中产生的细胞因子不仅促进中性粒细胞向炎症部位募集,形成负反馈调节环路,还参与自身免疫性糖尿病的发病机制,尤其与糖尿病视网膜病变和糖尿病足的发生发展密切相关^[15]。痛风作为自身炎症性疾病,其特征是关节内尿酸钠晶体沉积。这些晶体诱导产生的 NETS 可被关节滑液中的巨噬细胞吞噬,继而激活免疫反应并推动炎症进程^[16]。类风湿性关节炎则以滑膜持续性炎症为特征,导致进行性关节软骨和骨损伤。该疾病滑膜腔内的中性粒细胞浸润显著,极易形成 NETS。值得注意的是,这些 NETS 作为细胞外自身抗原来源,可引发过度的先天性和适应性免疫反应,最终导致关节组织破坏^[17]。在脓毒症患者中,循环系统中大量 NETS 的存在与不良预后及多器官衰竭密切相关^[18]。此外,NETS 还能激活巨噬细胞和 TH-17 细胞,促使 IL-1 β 、IL-17 等促炎因子释放,从而加速动脉粥样硬化病变进展^[19]。最新研究表明,新冠病毒感染细胞进行病毒复制时可直接诱导 NETS 释放,进而加剧炎症反应并加重机体损伤^[20]。值得关注的是,肥胖症在全球范围内的流行趋势与 NETS 形成存在关联,研究发现,相较于低脂饮食小鼠,高脂饮食小鼠的中性粒细胞更易自发形成 NETS^[21]。NETS 在肿瘤的发生、增殖和转移中也发挥重要作用^[22]。

3 NETS 参与心肌炎的机制

3.1 细胞因子 MK 和 LRP1

中期因子 (midkine, MK) 是一种肝素结合生长因子,具有促进多种靶细胞生长、存活、迁移和分化的功能,在神经发育、血管生成、肿瘤发生及组织修复等生理病理过程中发挥重要作用。目前已知其作用受体包括蛋白酪氨酸磷酸酶 Z (PTPRZ)、低密度脂蛋白受体相关蛋白 (LRP) 和间变性淋巴瘤激酶 (ALK)。

在急性炎症反应中,MK 对中性粒细胞的黏附与趋化具有关键调控作用。其中,低密度脂蛋白受体相关蛋白 1 (LRP1) 作为广泛表达的跨膜受体,主要通过介导细胞外蛋白或膜表面受体的内吞过程参与生理调控。值得注意的是,LRP1 不仅能通过跨膜受体相互作用调控配体结合后的细胞内信号传导,其与巨噬细胞表面 β 2 整合素的结合更是炎症过程中中性粒细胞募集与活化的重要分子基础。在心肌炎发病机制中,LRP1 被证实是 MK 诱导中性粒细胞募集及 NETS 形成的关键功能受体,通过介导中性粒细胞迁移和 NETOSIS 过程,持续驱动心脏炎症反应。具体而言,MK 与 LRP1 的结合通过调控

中性粒细胞黏附、迁移及 NETs 形成,导致心脏炎症微环境稳态失衡,从而维持心肌炎症的持续进展^[23]。心肌炎发病进程中 MK-LRP1 信号轴通过调控中性粒细胞黏附迁移及 NETs 形成,驱动心脏炎症微环境稳态失衡。靶向干预 MK 介导的免疫级联反应,为重构心肌抗炎防御机制提供了潜在治疗新策略。

3.2 MAC-1 受体 MAC-1 受体是整合素家族的关键成员,作为白细胞募集的必要条件,其在中性粒细胞表面呈高表达状态。该受体不仅是病毒模式识别受体,还在 NETs 活化过程中发挥重要作用。作为髓系白细胞表面最丰富的多功能异二聚体受体,MAC-1 广泛分布于粒细胞表面,通过介导中性粒细胞和单核/巨噬细胞的粘附参与炎症反应^[24]。其结构由 α M 亚基(CD11B)和 β 2 亚基(CD18)组成,其中 α M 亚基特有的 I 结构域(由 200 个氨基酸残基构成)是 β 2 整合素的标志性特征结构,负责与多种配体结合^[25]。在 VMC 的炎症进程中,中性粒细胞表面组成型表达的 Mac-1 受体通过特异性识别其配体细胞间粘附分子-1(ICAM-1),调控白细胞跨内皮迁移及组织浸润的多阶段过程。值得注意的是,ICAM-1/Mac-1 信号轴存在双向调控机制:一方面,Mac-1 受体依赖的白细胞募集是启动炎症反应的关键环节;另一方面,ICAM-1 的持续高表达可通过正反馈环路加剧 VMC 慢性炎症进程,导致心肌组织进行性损伤^[26]。因此,在 VMC 慢性炎症阶段,Mac-1 受体不仅参与损伤部位白细胞的募集、牢固粘附和跨内皮迁移,还直接促进心肌组织炎症的发展。

此外,Mac-1 受体可调控炎症部位中性粒细胞的多种免疫效应功能。例如,中性粒细胞和 Mac-1 受体协同作用诱导 NETs 释放,进而介导免疫复合物(IC)相关的自身免疫性疾病激活^[27]。尽管属于 β 2 整合素家族,Mac-1 的功能特性具有独特性,其能以独特亲和力结合单个结合位点的典型配体,并引发特征性胞内应答。该受体通常以非活性弯曲构象存在,当转化为延伸构象时呈现高配体亲和力,从而介导“由内而外”的细胞信号传导^[28]。Mac-1 作为中性粒细胞表面重要的 β -葡聚糖受体,可通过 ROS 依赖性方式介导 PAD4 和 NETs 的活化^[29]。该整合素分子(α M β 2, CD11b/CD18)不仅通过模式识别受体(PRR)功能识别病原体相关分子模式(PAMP)来启动抗病毒免疫应答,还能通过整合素信号通路调控 AMPK 等炎症相关信号节

点^[30]。值得注意的是,某些整合素特异性配体可通过受体串扰机制改变细胞迁移和侵袭特性,进而导致病理性组织损伤。基于上述机制推断,在 VMC 病程中,Mac-1 可能作为模式识别受体参与调控 NETs 的形成过程。

尽管目前尚未明确 Mac-1 是细胞因子 MK 的经典受体,但值得注意的是整合素家族另一成员 α 4 β 1 已被证实参与 MK 介导的细胞迁移和炎症反应^[31]。这一发现提示需进一步探究 MK 与 Mac-1 之间可能存在的相互作用机制。已有研究表明,MK 可通过 LKB1-AMPK 信号轴调控炎症反应^[32],而 Mac-1 受体下游信号同样与 AMPK 通路存在关联^[33]。结合现有证据,MK 可能通过其 C 端结构域直接结合中性粒细胞和巨噬细胞表面的 Mac-1 受体,形成配体-受体复合物后激活 MAPK/NF- κ B 等下游信号通路,从而调控中性粒细胞的活化与定向迁移。

4 展望

NETs 在感染初期通过捕获病原体发挥免疫防御作用,但其过度形成会显著加剧 VMC 的病理进展。研究表明,NETs 通过释放 MPO 和组蛋白等物质,不仅会加剧心肌局部炎症反应,还可促进心肌纤维化进程,最终导致心室重构和心功能恶化,值得注意的是,通过药物干预或基因调控手段抑制 NETs 的形成,能显著降低 VMC 急性期炎症水平^[34]。靶向阻断细胞因子 MK-MAC-1 受体信号通路可有效抑制体内 NETs 的生成及多形核中性粒细胞的浸润。在心肌炎症期既能减少心肌纤维化,又可维持心脏收缩功能,最终提高患者生存率。通过抑制 NETs 相关信号通路的异常激活及其介导的局部病理聚集效应,这种基于分子机制精准干预的治疗思路,有望为 VMC 的防治开辟新途径,推动临床治疗从传统对症处理向靶向病理机制转变。

【参考文献】

- [1] Tschpe C, Ammirati E, Bozkurt B, et al. Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions[J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2020, 18(3):1-25.
- [2] 吴晨曦,陆培华. 中性粒细胞的训练免疫在多种疾病中的作用及进展[J]. *中国医学前沿杂志(电子版)*, 2024, 16(3):62-66.
- [3] Denning NL, Aziz M, Gurien SD, et al. Damps and nets in sepsis[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10:02536.
- [4] Peng Y, Wu X, Zhang S, et al. The potential roles of type I interferon activated neutrophils and neutrophil extracellular traps (NETs) in the pathogenesis of primary Sjögren's syndrome[J]. *Arthritis research & therapy*, 2022, 24(1):170.
- [5] Vorobjeva NV, Chernyak BV. NETosis: molecular mechanisms,

- role in physiology and pathology[J]. *Biochemistry (Moscow)*, 2020, 85(10):1178-1190.
- [6] Paolo C, González, Stijn VB, et al. Neutrophil inhibition improves acute inflammation in a murine model of viral myocarditis[J]. *Cardiovascular Research*, 2023(17):3331-3345.
- [7] Hye, Soo, Jung, et al. Cancer cell-induced neutrophil extracellular traps promote both hypercoagulability and cancer progression[J]. *Plos One*, 2019. 0216055.
- [8] Tatiy O, Oliveira VDC, Mosha HT, et al. Early and late processes driving NET formation, and the autocrine/paracrine role of endogenous RAGE ligands[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12:675315.
- [9] Chen W, Wang Q, Ke Y, et al. Neutrophil function in an inflammatory milieu of rheumatoid arthritis[J]. *Journal of Immunology Research*, 2018, 2018:8549329.
- [10] Delgado-Rizo V, Martínez-Guzmán MA, Iñiguez-Gutierrez L, et al. Neutrophil Extracellular Traps and Its Implications in Inflammation: An Overview[J]. *Front Immunol*, 2017;81.
- [11] Carroll GM, Burns GL, Petit JA, et al. Does postoperative inflammation or sepsis generate neutrophil extracellular traps that influence colorectal cancer progression? A systematic review[J]. *Surgery Open Science*, 2020, 2(2): 57-69.
- [12] de Medeiros Brito RM, Meurer YDSR, Batista JAL, et al. Chronic toxoplasma gondii infection contributes to perineuronal nets impairment in the primary somatosensory cortex[J]. *Parasites & vectors*, 2022, 15(1):487.
- [13] Águila S, de Los Reyes-García AM, Fernández-Pérez MP, et al. MicroRNAs as new regulators of neutrophil extracellular trap formation[J]. *Int J mol Sci*, 2021, 22(4): 2116.
- [14] Ibrahim I, Nuermaiti Y, Maimaituxun G, et al. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) are associated with type 2 diabetes and diabetic foot ulcer related amputation: a prospective cohort study[J]. *Diabetes Therapy*, 2024, 15(6): 1333-1348.
- [15] Dömer D, Walther T, Möller S, et al. Neutrophil extracellular traps activate proinflammatory functions of human neutrophils[J]. *Frontiers in immunology*, 2021, 12: 636954.
- [16] Jeong JH, Choi SJ, Ahn SM, et al. Neutrophil extracellular trap clearance by synovial macrophages in gout[J]. *Arthritis research & therapy*, 2021, 23: 1-11.
- [17] O'Neil LJ, Oliveira CB, Wang X, et al. Neutrophil extracellular trap-associated carbamylation and histones trigger osteoclast formation in rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2023, 82(5):630-638.
- [18] Li RHL, Tablin F. A comparative review of neutrophil extracellular traps in sepsis[J]. *Front Vet Sci*, 2018, 5: 291.
- [19] Natarska J, Ząbczyk M, Undas A. Neutrophil extracellular traps (NETs) in cardiovascular diseases: From molecular mechanisms to therapeutic interventions[J]. *Kardiologia Pol*, 2023, 81(12):1205-1216.
- [20] Vitkov L, Knopf J, Krüni J, et al. Periodontitis-derived dark-nets in severe Covid-19[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:872695.
- [21] Josefs T, Barrett TJ, Brown EJ, et al. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) promote macrophage inflammation and impair atherosclerosis resolution in mice with diabetes[J]. *JCI Insight*, 2020, 5(7):e134796.
- [22] Zha C, Meng X, Li L, et al. Neutrophil extracellular traps mediate the crosstalk between glioma progression and the tumor microenvironment via the HMGB1/RAGE/IL-8 axis[J]. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(1):154-168.
- [23] Weckbach LT, Grabmaier U, Uhl A, et al. Midkine drives cardiac inflammation by promoting neutrophil trafficking and NETosis in myocarditis[J]. *J Exp Med*, 2019, 216(2): 350-368.
- [24] Sule G, Kelley W J, Gockman K, et al. Increased adhesive potential of antiphospholipid syndrome neutrophils mediated by $\beta 2$ integrin Mac-1. [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2020, 72(1):114-124.
- [25] Bojti I, Wang Q, Bojti T, et al. An activation-specific anti-mac-1 designed-ankyrin-repeat-protein attenuates colitis in mice[J]. *Life (Basel)*, 2023, 13(7):1464.
- [26] Siegel PM, István Bojti, Bassler N, et al. A DARPIn targeting activated Mac-1 is a novel diagnostic tool and potential anti-inflammatory agent in myocarditis, sepsis and myocardial infarction[J]. *Basic Research in Cardiology*, 2021, 116(1):1-24.
- [27] Fang J, Ding H, Huang J, et al. Mac-1 blockade impedes adhesion-dependent neutrophil extracellular trap formation and ameliorates lung injury in LPS-induced sepsis[J]. *Front Immunol*, 2025. 16:1548913.
- [28] Mittal A, Guin S, Mochida A, et al. Inhibition of Mac-1 allows human macrophages to migrate against the direction of shear flow on ICAM-1[J]. *Molecular Biology of the Cell*, 2024, 35(10):8.
- [29] Clark HL, Abbondante S, Minns MS, et al. Protein deiminase 4 and CR3 regulate *Aspergillus fumigatus* and β -glucan-induced neutrophil extracellular trap formation, but hyphal killing is dependent only on CR3[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 1182.
- [30] Sen M, Koksak AC, Yuki K, et al. Ligand-and cation-induced structural alterations of the leukocyte integrin LFA-1[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(17): 6565-6577.
- [31] Muramatsu H, Zou P, Suzuki H, et al. $\alpha 4 \beta 1$ - and $\alpha 6 \beta 1$ -integrins are functional receptors for midkine, a heparin-binding growth factor[J]. *J cell sci*, 2004, 17(Pt 22): 5405-5415.
- [32] Xia T, Chen D, Liu X, et al. Midkine noncanonically suppresses AMPK activation through disrupting the LKB1-STRAD-Mo25 complex. [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(4):414.
- [33] Giacompo S, Iori R, Rollin P, et al. Moringa isothiocyanate complexed with α -cyclodextrin: a new perspective in neuroblastoma treatment[J]. *Bmc Complementary & Alternative Medicine*, 2017, 17(1):362.
- [34] Tang Y, Jiao Y, An X, et al. Neutrophil extracellular traps and cardiovascular disease: associations and potential therapeutic approaches[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2024, 180:117476.

(收稿日期:2024-12-04;修回日期:2025-04-21)

(本文编辑:侯晓林)