

本文引用: 杨茜洋, 肖纯, 杨向东. 中性粒细胞 HDC/histamine 信号: 抗血栓治疗的新靶点[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(7): 568-574. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2022.07.003.

· 专家论坛 ·

[文章编号] 1007-3949(2022)30-07-0568-07

## 中性粒细胞 HDC/histamine 信号: 抗血栓治疗的新靶点

杨茜洋<sup>1</sup>, 肖纯<sup>2</sup>, 杨向东<sup>1,2</sup>

(1. 复旦大学附属中山医院心血管研究所, 上海市 200032; 2. 惠州市第三人民医院心血管医学中心, 广东省惠州市 516003)

[专家简介] 杨向东, 复旦大学附属中山医院心血管病研究所研究员, 博士研究生导师, 复旦大学生物医学研究院双聘导师。美国哥伦比亚大学博士后, 2012 年入选上海“浦江人才计划”。现为中国生物化学与分子生物学会脂质与脂蛋白专业委员会委员, 中国解剖学会血管分会委员, 中国生物物理学会生物微量元素分会委员, 中华医学会心血管病分会第十届委员会精准医学学组委员, 《中国动脉硬化杂志》编委会常委。获得了国家重点研发计划子课题、自然科学基金面上项目和血管稳态重大研究计划培育项目以及上海市科委基础研究重点项目、教育部留学人员回国启动基金等资助。主要从事炎症与免疫细胞分化研究及动脉粥样硬化性心血管疾病的发病和防治研究。在 *Nature Medicine*, *Cell Death Disease*, *Atherosclerosis* 等 SCI 或核心刊物发表研究论著 60 余篇, SCI 收录 40 余篇。

[关键词] 中性粒细胞; 中性粒细胞胞外诱捕网; 血栓; 动脉粥样硬化; 缺血性心脏病

[摘要] 血栓及其并发症是一种危害健康的临床病症。中性粒细胞胞外诱捕网(NET)是由中性粒细胞释放、解聚的染色质形成的细胞外的纤维网络,通过激活血小板、加速凝血从而促进血栓形成影响疾病转归。组氨酸脱羧酶(HDC)是催化组胺(histamine)生成的关键酶,在中性粒细胞,尤其是骨髓内不成熟 CD11b<sup>+</sup>髓系细胞内有高水平表达。组胺信号参与过敏反应、胃酸分泌、炎症、免疫反应和肿瘤发生等多种生理和病理生理事件。组胺及其下游相关信号对中性粒细胞极化、NET 形成和血栓发生发展的调控,可能成为血栓性疾病靶向药物研发的重要参考。文章主要对表达 HDC 的中性粒细胞在血栓形成和发生发展的作用进行综述。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A



### Targeting histamine/HR signal in HDC-expressing neutrophils to prevent thrombosis

YANG Xiyang<sup>1</sup>, XIAO Chun<sup>2</sup>, YANG Xiangdong<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Cardiovascular Disease, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Center of Cardiovascular Medicine, the Third People's Hospital of Huizhou, Huizhou, Guangdong 516003, China)

[KEY WORDS] neutrophil; neutrophils extracellular traps; thrombus; atherosclerosis; ischemic heart disease

[ABSTRACT] Thrombosis and its complications are a clinical condition that endangers health. Neutrophil extracellular trap networks (NET) are extracellular fibrous networks formed by neutrophil-released, depolymerized chromatin that influence disease regression by activating platelets, accelerating clotting and thus promoting thrombosis.

Histidine decarboxylase (HDC), a key enzyme catalyzing histamine production, is highly expressed in neutrophils, particularly in the bone marrow-derived immature myeloid cells. Histamine signaling is involved in allergic reactions, gastric acid secretion, inflammation, immune responses, and tumorigenesis in relation to a variety of physiological and pathophysiological events. Targeting HDC-expressing neutrophils and the regulation of histamine related downstream signal on neutrophil differentiation, NET formation and thrombogenesis development might become a new antithrombotic strategy. This article mainly reviews the role of HDC-expression neutrophils in thrombosis.

[收稿日期] 2021-12-24

[修回日期] 2022-02-09

[基金项目] 国家自然科学基金项目(82170258); 上海市科委基础研究项目(19JC1411400)和实验动物项目(19140902000、201409005000)

[作者简介] 杨茜洋, 博士研究生, 研究方向为心血管疾病发病机制与防治研究, E-mail: yxy210049@163.com. 通信作者杨向东, 研究员, 博士研究生导师, 研究方向为心血管疾病发病机制与防治研究, E-mail: xdy700318@163.com.

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种慢性血管病变伴有脂质代谢紊乱、炎症免疫反应失调,斑块侵蚀或破裂引起血栓形成,阻塞血管并导致缺血组织损伤<sup>[1]</sup>。纤维蛋白、血小板、红细胞及白细胞是血栓的主要组成部分。中性粒细胞在机体内含量很高,在宿主防御中发挥重要作用,循环中的中性粒细胞在感染早期即可被大量招募,对抗各种病原体和炎症介质。中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophils extracellular traps, NET)是由 Brinkmann 等<sup>[2]</sup>在 2004 年首次报道,在体外主要由佛波酯(phorbol-12-myristate-13-acetate, PMA)、脂多糖或白细胞介素 8(interleukin, IL-8)刺激分离的中性粒细胞产生。目前,NET 被确认为是血栓形成基于 DNA 的新参与者,在血栓中的作用越来越受到重视。组氨酸脱羧酶(histidine decarboxylase, HDC)是催化组胺生成的关键酶,在髓系免疫细胞,尤其是骨髓内不成熟的中性粒细胞中高表达<sup>[3]</sup>。HDC 敲除导致的内源性组胺缺乏不仅显著影响中性粒细胞和单核细胞的分化、成熟与功能,而且调控淋巴细胞 Th1/Th2 反应,对 As、缺血性心脏病的发生发展产生重要影响<sup>[4]</sup>。本文总结了近期关于中性粒细胞功能异常与血栓形成的研究进展,包括血栓的形成机制、组氨酸代谢异常对中性粒细胞功能的调控及其对微小动脉血栓形成的影响,旨在为血栓治疗提供新思路。

## 1 中性粒细胞与血栓形成

### 1.1 血栓的形成

血栓的形成是把双刃剑,一方面可以防止血容量丢失和系统感染,另一方面如果继发于心肌梗死(myocardial infarction, MI)、中风等疾病下的血栓事件是致命的。1856 年 Virchow<sup>[5]</sup>提出血液瘀滞、血管壁受损、高凝状态为血栓形成三要素。1881 年, Bizzozero<sup>[6]</sup>首次明确了血小板在血栓形成中的作用。1964 年, Davie 等<sup>[7]</sup>和 Macfarlane<sup>[8]</sup>提出凝血因子相互作用对血栓形成的影响。传统观点认为,血栓形成是由于先天性或者获得性的危险因素相互作用,促凝、抗凝因子和纤溶系统调节失衡的过程。近来研究发现<sup>[9]</sup>,在新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)患者肺组织的微血栓中也发现大量中性粒细胞浸润。COVID-19 感染者血液常呈现高凝状态,属于静脉血栓栓塞高危人群,与 NET、D-二聚体水平增加以及凝血异常均相关<sup>[10]</sup>。

近期 Hisada 等<sup>[11]</sup>研究发现,在胰腺癌荷瘤小鼠的静脉血栓中含有高水平的中性粒细胞标志物 Ly6G 和 NET 生成,而且抑制中性粒细胞可以减小荷瘤小鼠的血栓大小。Jackson-Jones 等<sup>[12]</sup>通过单细胞 RNA 测序(single-cell RNA sequencing, scRNA-seq)和大网膜间质细胞空间分析发现在大网膜富含脂肪相关淋巴簇,其表面覆盖着的 CXCL1<sup>+</sup>间皮细胞可以产生免疫介质,包括中性粒细胞募集趋化因子 CXCL1,通过招募中性粒细胞促进微血栓的形成。Kotzin 等<sup>[13]</sup>通过 RNA 测序的数据集发现长链非编码 RNA(long noncoding RNA, lncRNA) Morbid, 特异地在髓系细胞中表达,尤其是在中性粒细胞和嗜酸性粒细胞中高表达,可调节促凋亡基因 BCL2L11(Bim)的转录。使用 Morbid 敲除的小鼠发现血液和脾脏中短寿命的髓系细胞数量降低,但是如果其过表达可能使得炎症迁延不愈,持续发展。以上研究结果提示,靶向中性粒细胞也将可能成为抗血栓的一个新策略。

### 1.2 调控血栓形成的关键因素

传统观点认为,血小板是止血和血栓形成的主要参与者。正常情况下,当血管受损时,血小板被激活,发生剧烈的形状变化并在损伤处聚集,最终形成止血栓子从而止血,但是在 As 等病理条件下,血小板过度激活,血栓形成引起血管闭塞,最终造成 MI<sup>[14]</sup>。血小板激活受到复杂分子事件的调控,例如可以通过调节低分子量单体鸟嘌呤核苷酸结合蛋白家族的小 GTP 酶亚家族,影响血小板的聚集、分泌、扩散,调节血栓形成<sup>[15]</sup>。平均血小板体积(mean platelet volume, MPV)作为血小板活化的指标,大量研究支持急性冠状动脉综合征患者 MPV 与不良心脏结局之间存在关系。MPV 增加与深静脉血栓(deep venous thrombosis, DVT)风险升高有关。大血小板被认为是未成熟的,含有更多的血栓前物质(血栓素 A2、血小板源生长因子、 $\alpha$  颗粒、P 选择素等),具有更强的血栓形成潜力,对阿司匹林和氯吡格雷的作用更具抵抗力。因此当机体存在影响血小板成熟的因素时,体积大的血小板的数量会增加,进而增加血栓形成的风险<sup>[16]</sup>。但是近年来研究发现,中性粒细胞等免疫成分可能作为引发血栓形成的启动因子,对血栓的形成非常重要<sup>[17]</sup>。Laridan 等<sup>[18]</sup>研究发现在缺血性中风患者血栓中含有大量中性粒细胞,并且所有栓子中均存在 NET。中性粒细胞也是引起 MI 早期炎症反应的重要免疫细胞,NET 在 MI 患者的冠状动脉血栓中聚集<sup>[19]</sup>。研究发现 COVID-19 患者中性粒细胞增多与急性呼吸窘迫

综合征的危险性和死亡风险呈正相关,死亡患者的肺尸检显示肺毛细血管内有大量中性粒细胞浸润,并渗入肺泡间隙,中性粒细胞的增多预示着 COVID-19 患者预后不良,血栓形成风险增加,微循环小血管阻塞,最终造成靶器官受损<sup>[20]</sup>。催化组胺生成的关键酶 HDC 在血细胞内的表达存在一些争议, Li 等<sup>[21]</sup>应用 HDC-EGFP 转基因和 HDC<sup>-/-</sup>小鼠建立急性 MI 模型,发现 HDC 主要在 Ly6G<sup>+</sup>中性粒细胞表达,而不在血小板内;HDC 敲除引起内源性组胺缺乏,不仅导致中性粒细胞分化成熟异常,而且使得血小板数量增多,但是对 MPV 影响不显著。内源性组胺缺失显著增强小鼠 MI 后小动脉内血栓形成可能与中性粒细胞形态、功能异常和 NET 生成增多有关。

## 2 中性粒细胞分化与功能异常促进血栓形成

### 2.1 NET 的形成与结构

中性粒细胞通过释放由颗粒蛋白修饰的解聚的染色质,形成细胞外的纤维网络 NET。NET 由蛋白质和 DNA 片段组成,免疫荧光分析显示,NET 包含来自嗜天青颗粒的蛋白,如髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO)、乳铁蛋白和中性粒细胞弹性蛋白酶 (neutrophil elastase, NE) 等<sup>[22]</sup>。NET 作为一种新发现的中性粒细胞防御机制,可以形成物理屏障,防止病原体传播,并通过高浓度的抗菌蛋白和吞噬细胞的共同作用杀死微生物<sup>[2]</sup>。DNA 对于 NET 的结构十分重要,用脱氧核糖核酸酶 (deoxyribonuclease, DNase) 处理会导致 NET 的解体,随后被巨噬细胞清除。但是,如果用蛋白酶处理则 NET 的 DNA 结构完好无损<sup>[2]</sup>。近年来研究发现,正五聚蛋白 3 (pentraxin 3, PTX3) 作为一种炎症标志物,在发生创伤性脑损伤后表达上调并且定位于中性粒细胞附近,可能位于 NET 上<sup>[23]</sup>。杀菌性/通透性增加蛋白 (bactericidal/permeability-increasing protein, BPI) 是一种分泌型蛋白,主要由外周血中性粒细胞和单核细胞产生,在 MI 患者中表达增加, BPI 可以与抗中性粒细胞胞浆抗体 (antineutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA) 结合形成 BPI-ANCA,从而导致 NET 形成并促进系统性血管炎的发展<sup>[24]</sup>。中性粒细胞、巨噬细胞表达的肠道杀菌素相关抗菌肽 (cathelicidin-related antimicrobial peptide, CRAMP) 释放后可以作为 NET 的成分,通过增加骨髓细胞的滞留,保护心肌缺血再灌注损伤<sup>[25]</sup>。有研究发现<sup>[26]</sup>,中性粒细胞中组蛋白的翻译后修饰在调节中性粒

细胞功能方面发挥关键作用,组蛋白乙酰化对 NET 有双相调节作用,组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (histone deacetylase inhibitors, HDACI) 促进 NOX 依赖和非依赖途径的 NET 产生,组蛋白乙酰化水平升高会抑制中性粒细胞的死亡,将其转化为凋亡,反之则可以促进中性粒细胞的存活。中性粒细胞 NET 的异常生成在急性肺损伤、血栓形成、脓毒症、系统性红斑狼疮和癌症等多种疾病中发挥了关键作用。

### 2.2 NET 与血栓形成

中性粒细胞作为最先被招募到损伤部位的免疫细胞,与血小板协同,通过促进血液凝固来限制感染,然而,一旦反应过度或者中性粒细胞功能失调,可能会导致病理性血栓形成。中性粒细胞产生的 NET 是血栓的重要组成部分,NET 促进血栓形成的主要途径之一是形成血小板、红细胞和血小板黏附分子的支架。作为支架,NET 可能有助于血栓的生长和长期稳定, Pertiwi 等<sup>[27]</sup>观察到,NET 主要存在于新鲜血栓和斑块内出血的血栓中而不是陈旧的血栓。在 MI 患者的动脉血栓中存在 NET 并且 NET 的负荷量与 MI 面积呈正相关,但总量低于急性缺血性中风患者,原因可能与 MI 患者早期应用肝素有关,肝素可直接与 NET 相互作用,导致其降解<sup>[28]</sup>。在人和小鼠动脉粥样斑块中,已经证实有 NET 的存在,其生成机制与氧化型低密度脂蛋白 (oxidized-low density lipoprotein, ox-LDL) 和胆固醇晶体有关, ox-LDL 通过与中性粒细胞 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLR) 2 和 6 结合,通过产生活性氧 (reactive oxygen species, ROS), 以浓度和时间依赖性增加的方式诱导 NET 产生<sup>[29]</sup>。Warnatsch 等<sup>[30]</sup>报道,在载脂蛋白 E (ApoE) 基因缺陷小鼠 As 病变严重区域发现胆固醇结晶,在 ApoE/NE/PR3 缺陷小鼠中发现中性粒细胞功能障碍,NET 生成能力降低,与血管粥样斑块减少密切相关。Cai 等<sup>[31]</sup>研究发现,全反式维甲酸处理使中性粒细胞极化向 N2 表型转变,促进其被巨噬细胞清除,中性粒细胞数量减少,抑制 NET 形成,有利于卒中后炎症消退,反之 N1 表型的中性粒细胞则加重炎症,造成损伤。根据上述研究成果,中性粒细胞分化异常和功能障碍,可能引起 NET 的产生、组成和作用异常,在 As 和 MI 血栓的发生发展中发挥重要作用。

## 3 组氨酸代谢异常引起中性粒细胞功能障碍

### 3.1 组氨酸代谢异常与中性粒细胞分化和功能异常

组胺自 1907 年首次合成并于 1910 年作为麦角



提取物被分离出来<sup>[32]</sup>。内源性组胺的合成依赖于 HDC 将组氨酸转化为组胺。该酶在胃体嗜铬细胞、免疫细胞、组胺能神经元或肥大细胞等表达,组胺可以通过两种方式代谢:通过二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)的氧化脱氨作用或通过组胺-N-甲基转移酶(histamine-N-methyltransferase, HNMT)的环甲基化转变为无活性的小分子排出<sup>[33]</sup>。组胺是一种重要的化学介质,可引起血管舒张和血管通透性增加,对免疫细胞的分化、成熟及功能均有重要的调控作用<sup>[34-35]</sup>。Yang 等<sup>[3]</sup>应用 HDC<sup>-/-</sup>和 HDC-EGFP 转基因小鼠,观察到内源性组胺的缺乏会导致 HDC<sup>-/-</sup>小鼠造血系统髓系前体细胞增殖,发生髓系偏向分化(myeloid-bias),导致循环中 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>不成熟髓系细胞显著增加,成熟的中性粒细胞明显减少。Takahashi 等<sup>[36]</sup>观察到将分离的人中性粒细胞悬浮在不含有富含组氨酸的糖蛋白(histidine-rich glycoprotein, HRG)的培养基中,会自发产生更高水平的 ROS,补充 HRG 可以保持中性粒细胞的正常形态。研究发现<sup>[37]</sup>,MI 早期,大量 HDC<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>髓系细胞自循环中被招募到缺血心肌及边缘区,其生成释放的组胺对于维系缺血心肌微环境的组胺浓度、调控炎症免疫反应和抑制心肌凋亡发挥了重要作用。Ding 等<sup>[38]</sup>研究发现,HDC<sup>-/-</sup>小鼠 MI 后表现出心肌损伤明显加重,自噬高度激活,补充外源性组胺通过 H1 受体(H1R)增加 miR-206 和 miR-216B 的表达,两者协同作用下调自噬相关基因 13(auto-phagy-related gene 13, Atg13)抑制缺血心肌自噬相关凋亡。进一步运用多组学分析和网络数据库挖掘,Zhang 等<sup>[39]</sup>发现与 WT 小鼠相比,HDC<sup>-/-</sup>小鼠在 MI 后第 1 天,髓系免疫细胞尤其是中性粒细胞浸润均增加,二者差异不是很大,但是在 MI 后第 7 天,WT 小鼠缺血心肌的中性粒细胞已经减少,而 HDC<sup>-/-</sup>小鼠仍然有较多的中性粒细胞和巨噬细胞驻留,提示 HDC<sup>-/-</sup>小鼠损伤心肌炎症反应的慢性迁延和非可控性(unresolving)。研究还发现,HDC<sup>-/-</sup>小鼠组氨酸代谢异常可引起中性粒细胞黏附能力减弱,但是迁移能力、ROS 产生和 NET 生成均显著增强,机制研究发现组胺缺乏可以通过 H1R-SWI/SNF-PRMT1 途径调节 MI 后的中性粒细胞染色质重构,促进 ROS 和 NET 的生成<sup>[39-40]</sup>。

### 3.2 组胺与动脉粥样硬化血栓形成

As 易损斑块发展破裂后继发血栓形成使得动脉狭窄或阻塞,诱发缺血性心脏病<sup>[41]</sup>。组胺在 As 及缺血性心脏病中的作用一直颇受争议。一方面

认为组胺促进动脉粥样硬化性血栓病变。Higuchi 等<sup>[42]</sup>研究发现,单核巨噬细胞合成分泌的组胺可以聚集 ox-LDL,这是 As 病变的重要条件,并且动脉内膜 HDC 基因的转录和翻译水平与 As 病情严重程度成正比。组胺可刺激动脉壁产生促炎细胞因子,如 IL-6、IL-8、IL-10 和肿瘤坏死因子 $\alpha$ ,促进内膜增殖及动脉粥样硬化性血栓形成<sup>[43]</sup>。Wang 等<sup>[44]</sup>应用 ApoE/HDC 双基因敲除小鼠发现,组胺缺失可以减缓 As 的发展但是此效应并不伴随血清胆固醇水平的降低,推测主要与降低斑块和血清炎症细胞因子水平有关,内在的机制尚未完全阐明。另一方面也有研究显示组胺对动脉粥样硬化性血栓的发生发展有保护作用。Yamada 等<sup>[45]</sup>研究发现 H1R 和 ApoE 双基因敲除后,小鼠的主动脉斑块增多,炎症因子的转录水平增加,组胺可以通过 H1R,抑制 As 发生发展。对于组胺在 As 及急性 MI 的作用不尽一致,我们认为有以下几个原因:首先可能是由于实验研究条件不完全一致,比如动物种类、模型构建、刺激因素或者是其他干预条件的参差造成;其次是因为组胺一共有四种组胺受体(HR),阻断某一类 HR 的效用不等同于组胺的作用;第三是组胺受体分布的广泛性,使得组胺信号在不同的组织微环境或应激条件下的作用有显著差异。最近 Zhu 等<sup>[46]</sup>应用可谱系示踪的 HDC-CreERTM/Rosa26-TomatoGFP 小鼠,在他莫昔芬诱导后,发现绿色荧光蛋白(GFP)标记的 HDC<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>Ly6C<sup>+</sup>骨髓来源的单核巨噬细胞可以在心肌间质中转化为肌成纤维细胞样细胞(myofibroblast-like cells),参与 MI 后心肌纤维化的发展。机制研究揭示组胺与胞膜 H1R 或 H2R 结合后调控转录因子 Krüppel 样因子 5(Krüppel-like factor5, KLF5)的表达和 Ly6C<sup>+</sup>巨噬细胞向肌成纤维细胞转化。As 的纤维斑块期形成的纤维帽较厚则斑块稳定,不易破裂,粥样斑块期因纤维组织变性、坏死,纤维帽较薄且核心区含有较多的巨噬细胞或泡沫细胞导致斑块不稳定。在粥样斑块局部是否可靶向组胺相关信号通路来调控巨噬细胞向成纤维细胞样转化,减少巨噬细胞吞噬 ox-LDL 形成泡沫细胞,可能是阐明易损斑块发展机制和防治的关键之一(图 1)。

### 3.3 组胺受体拮抗剂与血栓形成的研究

组胺可以与受体(H1R、H2R、H3R、H4R)结合发挥作用。据文献报道<sup>[21]</sup>H1R 和 H2R 在血小板上高表达,应用相应受体阻滞剂后,P 选择素、血小板上  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 表达和 Akt 磷酸化增加,促进血栓形成。

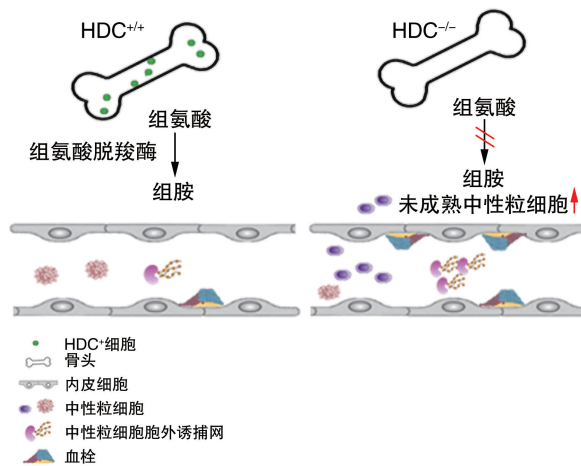


图 1. 中性粒细胞功能障碍与血栓形成

Figure 1. Neutrophil dysfunction and thrombosis

但是也有研究发现<sup>[47]</sup>组胺以浓度依赖的方式诱导人主动脉内皮细胞和血管平滑肌细胞上组织因子(tissue factor, TF)的表达,而TF途径抑制剂的表达无明显变化,TF介导血栓形成,此作用可被H1R拮抗剂翻转。Masini等<sup>[48]</sup>发现在没有激动剂的情况下补充外源性组胺并不会直接导致血小板的聚集或分泌,但是,组胺可以增强多种激动剂(凝血酶、ADP等)诱导血小板聚集,血小板聚集后,组胺和5-羟色胺释放,对血小板聚集起协同作用,增强血栓形成,此效应可以被H1R拮抗剂阻断,但是不受H2R拮抗剂的影响。组胺受体拮抗剂对血栓发生发展的作用不一致,考虑与组胺受体的多样性、实验条件差异或不同HR拮抗剂的作用特异性等有关,此外在细胞水平,有无HDC表达和内源性组胺的生成,可能也是影响最终试验结果的因素之一。现研究关于组胺受体拮抗剂在动脉粥样硬化性血栓中的明确作用还比较少,有待于进一步的认识和探索。

#### 4 NET与血栓治疗

血栓既是As的始动环节又是As斑块破裂后引起血管腔闭塞的主要参与者,因此抗血栓治疗十分重要。阿司匹林和氯吡格雷等抗血小板药物对血栓的治疗作用已经明确,不仅可以降低心血管事件的发生率也可以降低死亡率,但是仍有小概率的动脉粥样硬化性血栓事件的残留和出血风险<sup>[49]</sup>。血脂作为血栓形成的危险因素,使用他汀类药物降低血脂,可以稳定血栓并且延缓As的发展进程。近年来,NET在血栓形成中的作用越来越被熟知,为治疗提供了新思路。使用DNase I可以促进NET的

降解,联合使用组织型纤溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator, tPA)则血栓降解完全,改善了单用tPA血栓降解不彻底的缺陷<sup>[50]</sup>。但是DNase I降解NET后是否会增加组蛋白等相关促凝成分而再次加剧血栓形成仍需要进一步研究。肽酰基精氨酸脱亚氨酶4(peptidylarginine deiminase 4, PAD4)作为NET形成所必需的酶,在As血栓中表达上调,应用PAD4敲除小鼠诱导下腔静脉狭窄后产生的血栓比野生型小鼠少且小鼠的免疫功能未见明显损害<sup>[51]</sup>。PAD4定向抑制剂为预防或对抗血栓形成提供了一种非常有潜力的策略。Zhang等<sup>[40]</sup>研究发现,HDC缺失引起PRMT1上调促进ROS产生,导致MI后NET形成增多,补充外源性组胺或者PRMT1抑制剂MS023可以通过浓度和时间依赖性下调PRMT1,此效应可以被H1R拮抗剂阻断,提示H1R-SWI/SNF-PRMT1信号轴在NET生成和血栓形成中发挥了关键作用。基于此,针对血栓的治疗,可以从致病危险因素、血栓形成机制及成分等方面进行考虑,但是现在的大部分研究仍然停留于基础研究阶段,需在临床上进一步验证。

#### 5 问题与展望

血栓及其引起的血管栓塞症仍然是危害生命健康的主要危险因素之一,对血栓形成进行预防、诊断和治疗,深入了解其潜在的机制是至关重要的。近年来中性粒细胞及其形成的NET,让我们对血栓形成的病理生理学有了更进一步的认识。NET参与了不同的血栓形成环境,包括中风、MI和DVT形成等。中性粒细胞功能的正常发挥对血栓形成十分必要。组胺作为一种小分子调节剂,可以调节中性粒细胞及单核巨噬细胞等免疫细胞的分化和成熟,影响细胞功能。然而组胺相关信号对动脉粥样硬化性斑块发展和血栓形成的调控是复杂的,不同剂量的组胺作用于不同受体发挥的作用可能不完全相同,对于组胺在血栓性疾病中的作用尚不明确,需进行进一步的研究探索。抗血栓的治疗对延缓疾病的进程作用重大,传统的降脂、抗血小板以及针对NET的治疗都取得了不错的成果,但是对于治疗的用量和药物使用时间仍需要进一步的研究探索。这些都将为As及缺血性心脏病血栓形成的靶向新药物研发提供新的思路和方法。

#### [参考文献]

[1] GISTERA A, HANSSON G K. The immunology of atherosclerosis

- [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(6): 368-380.
- [2] BRINKMANN V, REICHARD U, GOOSMANN C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria[J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1532-1535.
- [3] YANG X D, AI W, ASFAHA S, et al. Histamine deficiency promotes inflammation-associated carcinogenesis through reduced myeloid maturation and accumulation of CD11b<sup>+</sup>Ly6G<sup>+</sup> immature myeloid cells[J]. *Nat Med*, 2011, 17(1): 87-95.
- [4] ZHOU Y, GAO C, WANG H, et al. Histamine H1 type receptor antagonist loratadine ameliorates oxidized LDL induced endothelial dysfunction[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1448-1453.
- [5] VIRCHOW R. *Gesammelte abhandlungen zur wissenschaftlichen [M]*. Frankfurt A. M.: Meidinger Sohn& Comp, 1856: 219-732.
- [6] BIZZOZERO G. Su di un nuovo elemento morfologico del sangue dei mammiferi e della sua importanza nella trombosi e nella coagulazione[J]. *L'Osservatore*, 1881, 17: 785-787.
- [7] DAVIE E W, RATNOFF O D. Waterfall sequence for intrinsic blood clotting[J]. *Science*, 1964, 145(3638): 1310-1312.
- [8] MACFARLANE R G. An enzyme cascade in the blood clotting mechanism, and its function as a biochemical amplifier[J]. *Nature*, 1964, 202: 498-499.
- [9] MIDDLETON E A, HE X Y, DENORME F, et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome [J]. *Blood*, 2020, 136(10): 1169-1179.
- [10] TERPOS E, NTANANIS-STATHOPOULOS I, ELALAMY I, et al. Hematological findings and complications of COVID-19[J]. *Am J Hematol*, 2020, 95(7): 834-847.
- [11] HISADA Y, GROVER S P, MAQSOOD A, et al. Neutrophils and neutrophil extracellular traps enhance venous thrombosis in mice bearing human pancreatic tumors[J]. *Haematologica*, 2020, 105(1): 218-225.
- [12] JACKSON-JONES L H, SMITH P, PORTMAN J R, et al. Stromal cells covering omental fat-associated lymphoid clusters trigger formation of neutrophil aggregates to capture peritoneal contaminants[J]. *Immunity*, 2020, 52(4): 700-715.
- [13] KOTZIN J J, SPENCER S P, MCCRIGHT S J, et al. The long non-coding RNA *Morbid* regulates Bim and short-lived myeloid cell lifespan[J]. *Nature*, 2016, 537(7619): 239-243.
- [14] LORDAN R, TSOUPRAS A, ZABETAKIS I. Platelet activation and prothrombotic mediators at the nexus of inflammation and atherosclerosis: potential role of antiplatelet agents [J]. *Blood Rev*, 2021, 45: 100694.
- [15] QASIM H, KARIM Z A, HERNANDEZ K R, et al. *Arhgef1* plays a vital role in platelet function and thrombogenesis[J]. *J Am Heart Assoc*, 2019, 8(9): e011712.
- [16] BUDZIANOWSKI J, PIESZKO K, BURCHARDT P, et al. The role of hematological indices in patients with acute coronary syndrome[J]. *Dis Markers*, 2017. DOI: 10.1155/2017/3041565.
- [17] SREERAMKUMAR V, ADROVER J M, BALLESTEROS I, et al. Neutrophils scan for activated platelets to initiate inflammation[J]. *Science*, 2014, 346(6214): 1234-1238.
- [18] LARIDAN E, MARTINOD K, DE MEYER S F. Neutrophil extracellular traps in arterial and venous thrombosis[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2019, 45(1): 86-93.
- [19] BONAVENTURA A, VECCHIÉ A, ABBATE A, et al. Neutrophil extracellular traps and cardiovascular diseases: an update [J]. *Cells*, 2020, 9(1): 231.
- [20] FEI Z, YU T, DU R H, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study[J]. *Lancet*, 2020, 395(1229): 1054-1062.
- [21] LI H, TANG C, ZHU X, et al. Histamine deficiency facilitates coronary microthrombosis after myocardial infarction by increasing neutrophil-platelet interactions [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(6): 3504-3520.
- [22] BAINTON D F. Distinct granule populations in human neutrophils and lysosomal organelles identified by immuno-electron microscopy [J]. *J Immunol Methods*, 1999, 232(1/2): 153-168.
- [23] OGGIONI M, MERCURIO D, MINUTA D, et al. Long pentraxin PTX3 is upregulated systemically and centrally after experimental neurotrauma, but its depletion leaves unaltered sensorimotor deficits or histopathology[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 9616.
- [24] YU S, LI M, LI Z, et al. Positive correlations between plasma BPI level and MPO-DNA and S100A8/A9 in myocardial infarction[J]. *Platelets*, 2022, 33(4): 603-611.
- [25] ZHOU Q, PAN LL, XUE R, et al. The anti-microbial peptide LL-37/CRAMP levels are associated with acute heart failure and can attenuate cardiac dysfunction in multiple preclinical models of heart failure[J]. *Theranostics*, 2020, 10(14): 6167-6181.
- [26] HAMAM H J, PALANIYAR N. Post-translational modifications in NETosis and NETs-mediated diseases[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(8): 369.
- [27] PERTIWI K R, VAN DER WAL A C, PABITTEI D R, et al. Neutrophil extracellular traps participate in all different types of thrombotic and haemorrhagic complications of coronary atherosclerosis[J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118(6): 1078-1087.
- [28] NOVOTNY J, OBERDIECK P, TITOVA A, et al. Thrombus NET content is associated with clinical outcome in stroke and myocardial infarction[J]. *Neurology*, 2020, 94(22): e2346-e2360.
- [29] AWASTHI D, NAGARKOTI S, KUMAR A, et al. Oxidized LDL induced extracellular trap formation in human neutrophils via TLR-PKC-IRAK-MAPK and NADPH-oxidase activation[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 93: 190-203.
- [30] WARNATSCH A, IOANNOU M, WANG Q, et al. Inflammation. Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis [J]. *Science*, 2015, 349(6245): 316-320.
- [31] CAI W, WANG J, HU M, et al. All-trans-retinoic acid protects against acute ischemic stroke by modulating neutrophil functions through STAT1 signaling [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 175.
- [32] DALE H H, LAIDLAW P P. The physiological action of beta-iminazolyethylamine[J]. *J Physiol*, 1910, 41(5): 318-344.
- [33] MAINTZ L, NOVAK N. Histamine and histamine intolerance[J]. *Am J Clin Nutr*, 2007, 85(5): 1185-1196.
- [34] BRANCO A, YOSHIKAWA F, PIETROBON A J, et al. Role of

- histamine in modulating the immune response and inflammation [J]. *Mediators Inflamm*, 2018. DOI: 10.1155/2018/9524075.
- [35] 许莉莉, 朱宝玲, 杨向东. 组胺与固有免疫细胞分化在冠心病研究中的新认识[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(5): 369-373.
- XU L L, ZHU B L, YANG X D. New insights into histamine and innate immune cell differentiation in coronary heart disease [J]. *Chin J Arterioscler*, 2019, 27(5): 369-373.
- [36] TAKAHASHI Y, WAKE H, SAKAGUCHI M, et al. Histidine-rich glycoprotein stimulates human neutrophil phagocytosis and prolongs survival through CLEC1A [J]. *J Immunol*, 2021, 206(4): 737-750.
- [37] CHEN J, HONG T, DING S, et al. Aggravated myocardial infarction-induced cardiac remodeling and heart failure in histamine-deficient mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 44007.
- [38] DING S, ABUDUPATAER M, ZHOU Z, et al. Histamine deficiency aggravates cardiac injury through miR-206/216b-Atg13 axis-mediated autophagic-dependant apoptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6): 694.
- [39] ZHANG Z, DING S, YANG X, et al. Analysis of immune associated Co-expression networks reveals immune-related long non-coding RNAs during MI in the presence and absence of HDC [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7401.
- [40] ZHANG Z, DING S, WANG Z, et al. Prmt1 upregulated by HDC deficiency aggravates acute myocardial infarction via NETosis [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2021.10.016>.
- [41] 田进伟, 符亚红. 动脉粥样硬化易损斑块快速进展机制与临床治疗进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(4): 277-280.
- TIAN J W, FU Y H. The mechanism of progression and clinical intervention of atherosclerotic vulnerable plaque [J]. *Chin J Arterioscler*, 2019, 27(4): 277-280.
- [42] HIGUCHI S, TANIMOTO A, ARIMA N, et al. Effects of histamine and interleukin-4 synthesized in arterial intima on phagocytosis by monocytes/macrophages in relation to atherosclerosis [J]. *FEBS Lett*, 2001, 505(2): 217-222.
- [43] WANG K Y, ARIMA N, HIGUCHI S, et al. Switch of histamine receptor expression from H2 to H1 during differentiation of monocytes into macrophages [J]. *FEBS Lett*, 2000, 473(3): 345-348.
- [44] WANG K Y, TANIMOTO A, GUO X, et al. Histamine deficiency decreases atherosclerosis and inflammatory response in apolipoprotein E knockout mice independently of serum cholesterol level [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(4): 800-807.
- [45] YAMADA S, WANG KY, TANIMOTO A, et al. Novel function of histamine signaling in hyperlipidemia-induced atherosclerosis; histamine H1 receptors protect and H2 receptors accelerate atherosclerosis [J]. *Pathol Int*, 2015, 65(2): 67-80.
- [46] ZHU B, ZHU X, WANG X, et al. Histamine deficiency promotes myofibroblasts transformation from HDC-expressing CD11b<sup>+</sup> myeloid cells in injured hearts post myocardial infarction [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2021. DOI: 10.1007/s12265-021-10172-2.
- [47] STEFFEL J, AKHMEDOV A, GREUTERT H, et al. Histamine induces tissue factor expression; implications for acute coronary syndromes [J]. *Circulation*, 2005, 112(3): 341-349.
- [48] MASINI E, DI BELLO M G, RASPANTI S, et al. The role of histamine in platelet aggregation by physiological and immunological stimuli [J]. *Inflamm Res*, 1998, 47(5): 211-220.
- [49] EIKELBOOM J W, CONNOLLY S J, BOSCH J, et al. Rivaroxaban with or without aspirin in stable cardiovascular disease [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(14): 1319-1330.
- [50] KIM S W, LEE J K. Role of HMGB1 in the interplay between NETosis and thrombosis in ischemic stroke; a review [J]. *Cells*, 2020, 9(8): 1794.
- [51] MARTINOD K, DEMERS M, FUCHS T A, et al. Neutrophil histone modification by peptidylarginine deiminase 4 is critical for deep vein thrombosis in mice [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(21): 8674-8679.
- (此文编辑 许雪梅)