

综述

中性粒细胞外陷阱与癌症转移研究进展

吕星娴^{1,2}, 赵健^{1,2,3*}¹上海中医药大学, 上海 201203; ²上海健康医学院, 上海市分子影像学重点实验室, 上海 201318;³上海健康医学院附属嘉定中心医院, 上海 201899)

摘要: 中性粒细胞外陷阱是一种由中性粒细胞形成的网状结构。近年来, 多项研究表明, 中性粒细胞外陷阱在癌症的发生和转移中发挥重要作用, 与体内炎症反应、免疫微环境等密切相关。本文主要关注了中性粒细胞外陷阱形成的相关因子、在肿瘤转移中的机制以及靶向中性粒细胞外陷阱的治疗方式, 为进一步理解中性粒细胞外陷阱影响肿瘤转移的作用以及临床研发新的靶向药物提供新思路。

关键词: 中性粒细胞外陷阱; 中性粒细胞; 肿瘤转移

Research progress of neutrophil extracellular traps and cancer metastasis

LYU Xingxian^{1,2}, ZHAO Jian^{1,2,3*}¹Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; ²Shanghai Key Laboratory of Molecular Imaging, Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201318, China;³Jiading Central Hospital, Shanghai University of Medicine and Health Sciences, Shanghai 201899, China)

Abstract: Neutrophil extracellular traps are a network structure formed by neutrophils. In recent years, multiple studies have shown that neutrophil extracellular traps play an important role in the occurrence and metastasis of cancer, closely related to *in vivo* inflammatory response and immune microenvironment. This review mainly focuses on the factors related to the formation of neutrophil extracellular traps, their mechanisms in tumor metastasis, and the therapeutic methods targeting neutrophil extracellular traps. It provides new ideas for further understanding the role of neutrophil extracellular traps in tumor metastasis and the clinical development of new targeted drugs.

Key Words: neutrophil extracellular traps; neutrophil; tumor metastasis

中性粒细胞是一种存在于人类血液中的重要白细胞类型, 占白细胞总数的50%~70%, 同时也是免疫反应的第一道防线^[1]。中性粒细胞主要通过吞噬作用^[2]、激发活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成^[3]、控制蛋白酶或其他细胞毒性颗粒

成分的降解与释放^[4]、募集其他免疫细胞, 以及形成中性粒细胞外陷阱(neutrophil extracellular traps, NETs)等功能来对抗入侵的病原体^[5]。中性粒细胞形成NETs的途径名为NETosis, 分为自杀型NETosis和活力型NETosis。自杀型NETosis状态意

收稿日期: 2024-02-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(81972252); 国家重点研发计划项目(2020YFA0909000); 上海市分子影像学重点实验室建设项目(18DZ2260400); 上海市自然科学基金面上项目(22ZR1428000); 上海卫生健康委员会临床专项面上项目(202040382)

第一作者: E-mail: Pathosus@163.com

*通信作者: E-mail: zhaoj_24@sumhs.edu.cn

意味着NETs形成过程中中性粒细胞死亡，而活力型NETosis保留了活的中性粒细胞功能^[6]。有报道指出，中性粒细胞的异质性使得NETs对肿瘤进展有双向作用——具有抗肿瘤和促肿瘤的功能^[7-9]。尽管如此，根据对14种不同类型癌症的3 000多个实体瘤进行评估，发现NETs仍主要起促进肿瘤进展的作用^[10]。

本综述通过介绍NETs形成过程中的重要相关因子，并阐述癌症转移过程中NETs的作用机制来讨论NETs对癌症转移的双重作用。另外，还讨论了包括西药和中药在内的现有的靶向NETs的治疗方法。

1 NETs

中性粒细胞是一种免疫系统的主要效应细胞，主要通过吞噬作用^[2]、激发ROS的生成^[3]等方式在机体内起作用。在肿瘤进展过程中，中性粒细胞受到诱导后会释放染色质和颗粒蛋白，形成一种网丝状的细胞外结构——NETs，以应对大量、多样化的病原体^[6]。

NETs的生成既不类似凋亡的方式，又与坏死的免疫应答方式不同，同时伴有线粒体功能障碍、染色质解凝以及核膜质膜被破坏^[11]。自杀型NETosis的发生经过了多种胞外刺激诱导，激活胞质中的丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和蛋白激酶C对下游分子进行信号放大。MAPK的激活使ROS水平快速升高，从而启动细胞程序性死亡；此外，伴随着ROS的水平升高，激活中性粒细胞弹性酶(neutrophil elastase, NE)和髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)，促进了核膜的通透性，导致染色质解凝。同时，还有由核内的Ca²⁺依赖的肽基精氨酸脱氨酶4(peptidylarginine deiminase 4, PAD4)介导的组蛋白修饰的发生，导致染色体解聚；周期蛋白依赖性蛋白激酶(cyclin-dependent protein kinases, CDKs)、网膜母细胞瘤蛋白和核纤层也参与反应，促使核膜破裂，破裂后从核中释放的DNA片段会被加工修饰。质膜破裂可能是由于脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)激活天冬氨酸蛋白水解酶后，刺激成孔蛋白D(gasdermin D, GSDMD)引发质膜破裂^[11]。Zhu等^[12]提出，中性粒细胞凋亡后，

如果没有及时清除，这些中性粒细胞将会使成孔蛋白E(gasdermin E, GSDME)质膜破裂，导致PAD4的激活，从而引发NETosis，这时的NETosis就变成了中性粒细胞的第二次死亡过程。受到上述几种机制的共同作用，最终引发中性粒细胞死亡^[13,14]。

活力型NETosis的特点是中性粒细胞释放NETs后仍可存活，并且其细胞核膜质膜都完整，可以继续发挥抗炎症功能等，与自杀型NETosis不同，在中性粒细胞受到刺激后，会发生血小板与中性粒细胞的结合、补体受体结合、感染性刺激因素结合等，从而活化PAD4，导致组蛋白瓜氨酸化、染色质去凝集，DNA-蛋白质复合物被包裹在囊泡中，通过出芽形式被排出到细胞外，形成NETs^[15,16]。

2 NETs中影响癌症进展的因子

NETs中含有多种成分，如基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、NE、组织蛋白酶G(cathepsin G, CG)、趋化因子、抗微生物肽、组蛋白抗体等，这些成分与内皮细胞损伤、血管生成、血管黏连的调节、细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的水解作用等都有密切关系^[10]。与癌症细胞增殖、癌症进展相关的因子有NE、MMP-9、CG、组蛋白和DNA等，本小节将介绍一些关键的NETs成分及其对癌症进展的影响。

2.1 NE

NE是一种由中性粒细胞分泌的丝氨酸蛋白酶，具有促进吞噬和杀菌的作用，是一种急性时相反应蛋白，参与机体的炎症反应。Cui等^[8]发现，NE能够通过切割重组蛋白CD95，释放含有死亡结构域的蛋白水解片段，此片段与癌细胞中高丰度的组蛋白H1亚型作用后特异性杀伤癌细胞，表现出NE对癌细胞生长的抑制作用。

然而，也有研究表明NE能够促进肿瘤细胞的增殖。Houghton等^[17]在肺癌小鼠中发现，NE可以直接进入细胞的内涵体间隔，降低胰岛素受体底物的表达量，促进肺癌细胞的增殖。此外，NE可通过直接溶解ECM或间接激活蛋白酶级联，从而促进癌细胞的侵袭和转移^[8]。有研究发现，NE与

乳腺癌转移相关, 检测NE含量有助于观察乳腺癌患者的预后情况^[18]。

综上所述, NE对癌症的转移具有双向作用。NE能够通过重塑肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)来促进癌症转移, 具体机制有直接刺激癌细胞增殖^[19]、切割膜配体^[20]、促进血管生成^[20]、与中性粒细胞的其他内容物协同作用^[21]等。而Cui等^[8]认为, NE能够选择性杀伤癌细胞, TME中的丝氨酸蛋白酶抑制剂将影响其功能。由于TME的复杂性, NE在其中的功能也会受到影响, 需要更进一步的研究来确定其作为临床预后标志的可行性。

2.2 MMP-9

MMP在组织发育、伤口愈合、组织重塑、器官形态发生、血管生成等各种生理过程中起着重要作用, 在体内低水平表达且受到严格的调控。有研究表明, MMP-9在人类癌症中高度表达, 参与癌细胞的生长和转移^[22]。MMP-9促进非ECM分子如白细胞介素-1 β 和肿瘤坏死因子- α 的降解; 也能通过破坏ECM的物理屏障来促进转移, 导致肿瘤细胞附近基底膜的IV型胶原降解, 并侵入其他组织, 进一步诱导转移^[23]。诸多研究表明, MMP-9在胃癌^[24]、乳腺癌^[25,26]、结肠癌^[27]、肺癌^[28]等癌症的发生与转移过程中起促进作用。

2.3 CG

CG可在细胞内表达, 能够降解许多细胞内的基质前体蛋白, 如胶原蛋白、弹性蛋白、层黏连蛋白等, 参与调节基质前体蛋白在正常环境和癌症环境下的分泌和沉积^[29]。CG的水解活性受到中性粒细胞衍生的DNA影响, 中性粒细胞衍生的DNA可以阻断组织内内源性蛋白酶抑制剂的保护活性, 以此促进CG的水解。CG可以切割和激活MMP, 并可以水解大部分ECM组分, 从而实现细胞入侵, 在肝癌模型中可以观察到CG通过此机制促进癌细胞的转移^[30]。

当CG以非水解的方式发挥作用时, 能够活化血小板^[31], 由于血小板会覆盖肿瘤细胞并将其主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)转移到肿瘤细胞中, 肿瘤细胞中MHC水平升高, 激活自然杀伤细胞(natural killer cell, NK), 避免肿瘤细胞的免疫逃避^[32], 实现对

肿瘤细胞的抑制作用。其他研究表明, CG可能是乳腺癌^[33]、膀胱癌^[34]、结直肠癌^[35]等的抑癌基因。由于CG序列中的精氨酸残基导致CG以水解或非水解的方式发挥作用, 因此其对癌症转移的促进或抑制作用亦取决于其水解方式。综上, CG对癌症转移的作用值得进一步探究。

2.4 组蛋白与DNA

由于NETs中的组蛋白本身具有细胞毒性, 可以直接损伤内皮细胞, 在一定毒性浓度下, 组蛋白与DNA一起比单独的DNA更能诱导促炎信号^[36,37]。NET-DNA作为趋化因子可诱导癌细胞转移, Najmeh等^[38]在脓毒症小鼠模型中发现, NET-DNA可以通过整合素捕获癌细胞, 并引导癌细胞穿过血管屏障, 定植于肺、肝等次级组织中, 促进癌症转移; 前体蛋白CCDC25作为信号传导因子, 识别NET-DNA后激活ILK- β -parvin途径, 促进癌细胞的转移^[39]。CCDC25调控肿瘤细胞的具体机制尚不明确, Tang等^[40]证明了胆固醇能够促进CCDC25的表达, 并且发现CCDC25与小窝蛋白-1在ASPP2敲低的4T1细胞中增加且共定位, 胆固醇抑制剂同时减弱了CCDC25和小窝蛋白-1的表达。

目前, 重点叙述NETs相关的组蛋白和DNA的文献较少, 现有研究认为组蛋白和DNA的结合对癌症转移起促进作用, 未来仍需进一步研究其具体机制。

3 NETs在促进癌症转移中的机制

单细胞技术能够揭示中性粒细胞在细胞内的巨大异质性, 其独特的异质性可能与部分研究报道的中性粒细胞在中性粒细胞生命周期的不同时间点迁移以及形成NETs的能力差异有关^[41]。有研究表明, NETosis可以发挥促肿瘤或抗肿瘤的作用, 其效果取决于TME^[42]。由于NETs在多种癌症类型中主要起促进转移的作用, 本小节将介绍NETs在癌症转移进程中是如何发挥促进作用的。

3.1 NETs与炎症反应

在盲肠穿刺结扎后静脉注射小鼠LEWIS肺癌细胞, 从而引起全身炎症的体内模型中, 发现肝窦内捕获癌细胞的NETs沉积与转移相关, 引入DNases分解NETs消除了上述相关性, 支持了炎症反应可能与NETs导致的远处转移有关^[43]。先前也

有报道表明,全身炎症增加了外周血肿瘤标志物循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)与肝窦的黏附,从而有利于癌症的远处微转移^[44];中性粒细胞中的 β_2 整合素与CTCs表达的细胞间黏附分子-1相互作用,介导中性粒细胞诱导CTCs的黏附并阻滞肝血窦,成为癌细胞转移的关键因素^[45]。Yang等^[46]的研究表明,肝细胞癌的患者体内中性粒细胞形成NETs的量增加,进一步诱导了肿瘤细胞的转移,通过阻断Toll样受体4/9(Toll-like receptor 4/9, TLR4/9)TLRs-COX2信号来消除先前产生的炎症反应,发现能够削弱NETs引起转移的能力。综上,NETs促进肿瘤细胞转移的机制可能与炎症反应有关。

已知核因子kappa B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)是影响白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)表达的关键转录因子,而IL-8又是一种促炎性趋化因子,TME中会增加IL-8的分泌。Zha等^[47]进一步证明了IL-8在高级别胶质瘤患者中高表达,并且NETs的重要成分之一高迁移率族蛋白B1与糖基化终产物受体互作,激活NF- κ B,证明了NETs能够促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭;肿瘤细胞又刺激IL-8的分泌,刺激炎症发生,增加了中性粒细胞对肿瘤部位的浸润,并形成额外的NETs。

虽然手术切除是治疗肿瘤的常用措施,但往往存在术后感染的风险,手术也会导致手术应激,通过改变促凝和炎症状态等多种方式促进肿瘤转移,术后的炎症反应会促进类似的全身免疫抑制状态^[48],从而引起一系列促肿瘤因子的上调,导致肿瘤快速复发,这一机制同样被证明与手术应激后诱导产生的NETs有关。Ren等^[49]证明,血小板促进了NETs介导的CTCs捕获和随后的转移。

综上所述,NETs能通过调节炎症反应来促进癌症转移。

3.2 NETs与“预转移龕”

CTCs能够从肿瘤原发部位进入循环系统后定植于远端器官,促进癌症转移^[50]。在癌症发生转移前,原发肿瘤会在远处器官建立一个微环境来促进癌症转移,这一微环境被称为转移前生态位(premetastatic niche, PMN)^[51],也被称为“预转移龕”。

Castañó等^[52]指出,早期卵巢癌发生转移时,

卵巢癌来源的炎症因子首先促进NETs和预转移龕的形成,为转移创造合适的环境,之后,由NETs介导CTCs促使卵巢癌发生转移。Wculek等^[53]指出,预转移龕中的中性粒细胞通过释放白三烯来扩大癌症细胞亚群,促进乳腺癌转移。有研究发现,肿瘤转移过程中,先检测到中性粒细胞和NETs,再检测到肿瘤转移灶的形成,表明机体形成NETs后,其组成成分及分泌的物质如MMP-9、NE、炎症因子等可能参与预转移龕的形成^[30]。

由于预转移龕的存在,原发性肿瘤癌细胞扩散到其他组织后会维持休眠状态,NETs能够唤醒在预转移龕中休眠的癌细胞。Albregues等^[54]发现,LPS能够诱导休眠癌细胞的觉醒,但中性粒细胞的缺失能够逆转这一现象:当用PAD4抑制剂或DNases时,能减少LPS诱导的NETs形成以及癌细胞的觉醒。他们提出了一种NETs唤醒休眠细胞的机制:NETs衍生的NE和MMP-9会切割和重塑层黏连蛋白,激活整合素 $\alpha 3 \beta 1$ 信号通路,促进癌细胞增殖。

综上,转移是癌症病人生存率较低的原因之一,癌细胞可能在预转移龕中休眠、隐藏,直到找到合适的定植部位,且多发于乳腺癌、前列腺癌、黑色素瘤等。因此,探究NETs与预转移龕的关系意义重大,能够为抑制癌症转移提供思路。

3.3 NETs调节免疫微环境

肿瘤免疫微环境(tumor immune microenvironment, TIME)是在TME中细分出的一类免疫环境亚类,其免疫细胞组成多样,造成免疫环境的复杂性和多样性。TIME中抑癌细胞有细胞毒性T细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)如CD4⁺、CD8⁺等,以及NK细胞;促癌细胞包括肿瘤相关成纤维细胞、髓源性抑制细胞、肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)等,探究这些免疫细胞对癌症转移的作用是近年来靶向免疫疗法的重点。

Christof等^[55]在癌症转移模型中进行了肝脏缺血再灌注或向皮下肿瘤中直接注射NETs造成富含NETs的TME,发现肿瘤浸润淋巴细胞CD4⁺ T细胞和CD8⁺ T细胞表达多种抑制性受体,并表现出功能和代谢衰竭表型。通过脱氧核糖核酸酶1(deoxyribonuclease 1, DNase 1)靶向小鼠体内的NETs,发现肿瘤生长

缓慢、转移能力降低以及T细胞功能水平升高,证明靶向NETs可以维持微环境中的免疫能力,抑制肿瘤的转移。

其中, $CD4^+$ T细胞是癌症免疫监测过程中的重要调节因子,能够调节TME并根除肿瘤细胞,其高度异质性支持对各种病原体产生不同的免疫反应。 $CD4^+$ T细胞主要有三个亚群:辅助性T细胞(helper T cell, Th)、调节性T细胞(regulatory T cell, Tregs)和滤泡辅助性T细胞(follicular helper T cell, TFH)^[56]。在Zheng等^[57]建立的肺转移型乳腺癌模型中, Th2细胞通过STAT6信号通路维持肺间充质基质细胞的活性,刺激NETs的形成,促进乳腺癌肺转移, Th2-STAT6-C3-NET轴是乳腺癌肺转移的驱动因素,种种研究表明, Th2细胞是肿瘤免疫逃逸、癌症转移的促进因子。Tregs能够避免CTL反应后潜在的细胞外组织损伤,其中心分化因子是转录因子FOXP3^[58]。Wang等^[59]建立了一种非酒精性脂肪性肝炎肝细胞癌模型,发现癌症早期过程中, NETs与Tregs发生共定位,在癌症发展、转移过程中持续存在,并且NETs的标记物瓜氨酸化组蛋白H3(citrullinated histone H3, CitH3)和FOXP3蛋白表达量呈正相关,推测Tregs可以诱导NETs的形成。综上, $CD4^+$ T细胞介导的免疫应答是一把“双刃剑”,因此合理靶向 $CD4^+$ T细胞对癌症的转移具有至关重要的作用。

$CD8^+$ T细胞是体内抗癌免疫反应中最有效、直接的影响因素,是癌症免疫疗法的执行者,对不同肿瘤的作用不同^[60]。Christof等^[55]报道,在其创建的癌症转移模型以及小鼠皮下肿瘤模型中,富含NETs的TME能够诱导 $CD8^+$ T细胞的衰竭和功能障碍;小鼠T细胞在体外连续暴露于NETs环境下可诱导表型的改变,表明NETs对 $CD8^+$ T细胞的直接作用。Vesely等^[61]探究了NETs在TME中调节 $CD8^+$ T细胞的机制,他们认为NETs可能通过靶向T细胞表面的免疫抑制轴——PD-1/PD-L1轴直接引起 $CD8^+$ T细胞的耗竭;在富含NETs的TME中靶向PD-L1,可恢复功能性T细胞的活性,并减缓了肿瘤进展^[55]。

NETs还能通过物理屏蔽方式来损害T细胞的细胞毒性功能。TeiJeira等^[62]在共培养系统和小鼠模型中发现,单独的NETs对肿瘤细胞存活和增殖的

影响较小,当用NETs包裹肿瘤细胞时,会损害 $CD8^+$ T细胞的细胞毒性,使肿瘤细胞无法与CTL直接接触。Shinde-Jadhav等^[63]提出, NETs在肿瘤-基质界面形成物理屏障来保护肿瘤细胞,避免 $CD8^+$ T细胞向肿瘤细胞的浸润,导致肿瘤细胞的免疫逃避,促进肿瘤的转移。

总之,大多数研究表明,在TME中, NETs对 $CD8^+$ T细胞和 $CD4^+$ T细胞都有直接或间接的作用,调节其免疫抑制功能,促进肿瘤转移。

3.4 NETs对血管系统的影响

为了维持肿瘤生长,充足的血液供应是必不可少的,肿瘤细胞能够通过多种途径穿过血管内皮屏障,从而进入血液循环,然后外渗入远处组织,导致肿瘤向远处的转移^[9]。有研究表明,肿瘤转移一方面取决于癌细胞本身的流动性,另一方面取决于血管结构的完整性^[64]。Jiang等^[65]在研究了NETs对癌症流动性的影响后,建立了体外人脐静脉内皮细胞共培养系统,发现NETs会下调血管内皮钙黏蛋白的表达,破坏内皮细胞完整性,导致肝细胞癌肿瘤细胞发生血管外渗透,促进肿瘤转移。McDowell等^[23]发现, NETs形成促进了血管通透性,诱发乳腺癌的转移,当加入DNase 1和PAD4抑制剂时, NETs诱导的内皮细胞形态学发生的改变被逆转。在各种类型的癌症小鼠模型中, NETs的成分之一MMP-9能够促进血管生成,进一步支持了NETs可以帮助肿瘤建立所需的血液供应的观点^[10]。

3.5 NETs与转移性级联反应

在Park等^[66]构建的没有全身炎症的小鼠原位乳腺癌模型中,与非转移性细胞系诱导的肿瘤相比,转移性细胞系诱导的肿瘤在原发肿瘤募集了更高比例的NETs,静脉注射转移性细胞系会导致肺中NETs沉积,有利于转移微环境的形成。

NETs刺激癌细胞迁移的一种机制是通过NET-DNA对CCDC25等DNA传感器的趋化作用实现的。Yang等^[39]发现,中性粒细胞、NETs的标记物MPO、CitH3分别存在于乳腺癌患者的原发性肿瘤和肝转移性肿瘤中,并且证明肝脏中NETs的DNA成分与跨膜蛋白CCDC25相互作用, DNA-CCDC25触发细胞内信号传导的级联反应,促进了癌症细胞的定向迁移和癌症转移的形成;在小鼠体内给

予抗CCDC25的抗体可明显减少NETs介导的乳腺癌肝转移。Tang等^[40]针对上述结论继续进行研究,在4T1细胞中,ASPP2缺失诱导的胆固醇生物合成增强导致了NETs的形成,表明胆固醇从头合成过程对中性粒细胞募集和形成NETs过程的重要作用,证明胆固醇的高丰度促进了CCDC25的表达,而调控CCDC25的机制有待进一步研究。

NETs引起癌症转移也能通过不依赖蛋白质互作的机制,如促进内皮损伤、造成上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等。通过诱导EMT可以使上皮来源的癌细胞侵袭性增强,在乳腺癌模型中将NETs与癌症细胞共孵育,发现E-钙黏蛋白下调以及间充质标记物上调^[67],证明NETs通过诱导EMT促进胃癌细胞转移;Zhu等^[68]通过靶向NETs,发现胃癌癌细胞中E-钙黏蛋白的水平下降,而间充质标记物水平上升。Martins-Cardoso等^[67]在乳腺癌模型中评估了NETs在调节人类乳腺癌细胞对癌症表型的影响,发现NETs会将MCF-7细胞的上皮形态改变为间充质表型,伴随着EMT特征的改变:N-钙黏蛋白和纤连蛋白的表达增加,而E-钙黏蛋白的表达受到抑制,部分EMT改变可能与细胞形态的改变有关,还可能增强细胞迁移能力。以上研究表明,NETs能够通过蛋白质互作形式或调节肿瘤EMT等转移性级联反应来促进癌症的转移。

4 NETs的抗癌功能

上述研究表明,中性粒细胞形成NETs后,可以促进肿瘤的发生,但人类血液中的中性粒细胞具有一定的抗癌功能,这一特性可能是中性粒细胞的异质性所致^[7-9]。因此,有学者对中性粒细胞、NETs的抑制肿瘤功能进行了探索。

Cui等^[8]发现,NE可以选择性杀伤35种癌细胞,通过诱导DNA损伤、提高线粒体ROS的产生、激活凋亡通路等机制抑制癌细胞生存相关的通路。CD95在癌组织中表达,癌细胞可以通过作用于CD95逃避机体免疫监视,促进肿瘤增殖、迁移等,NE可以通过内吞作用进入癌细胞,通过水解切割作用于CD95,使CD95释放出一种“死亡结构域”,让癌细胞凋亡,起到抗癌作用。因此,NE的这种机制会表现出NETs的抗癌作用。

除了NE会发挥抗肿瘤作用以外,循环中NETs包含的MPO能够杀死黑色素瘤细胞并抑制其转移,MPO缺乏的患者更易发生癌症^[69]。NETs中的组蛋白能够破坏上皮细胞,从而破坏为肿瘤提供营养的血管^[70]。NETs的组分中含有防御素,能够介导肿瘤细胞的裂解,并且防御素能够在微环境中加强树突状细胞的功能,表现出抗血管生成的特性^[71]。

综上,很难确定NETs对肿瘤到底是促进还是抑制作用,尽管大量研究表明NETs会促进癌症转移,但仍有部分可靠的数据证明NETs能够抑制癌症进展。因此,继续研究NETs对肿瘤的作用及其具体机制有重大意义。

5 靶向NETs的治疗方式

5.1 DNase 1抑制剂

重组人DNase 1是一种用于治疗支气管扩张和肺脓肿的药物,具有多种功能,包括吸收核苷酸营养物质、调节生物膜的形成、促进病原体入侵、降解DNA基质、调节免疫功能等^[72]。由于核酸内切酶的半衰期较短,使得其临床应用具有很大的困难,虽然美国食品药品监督管理局曾批准上市了一种吸入性DNase 1抑制剂——Pulmozyme,可用于治疗囊性纤维化,但是吸入制剂难以进入体循环,导致治疗血管系统或肺部以外的NETs时疗效不佳;并且,这一治疗方式靶向性较差,在一定程度上对机体有害^[73]。Xia等^[74]开发了一种腺相关病毒(adeno-associated virus, AAV)基因治疗载体,能够专门在肝脏中表达DNase 1,证明了单次静脉注射后AAV介导的DNase 1抑制了小鼠的结直肠癌肝转移的发生,表明AAV介导的DNase 1是一种安全有效的治疗方式。因此, DNase 1抑制剂作为靶向NETs的药物具有很强的应用潜力,有待进一步研究。

5.2 PAD4抑制剂

PAD4是NETs形成过程中的重要分子,能够调节组蛋白瓜氨酸化,导致中性粒细胞核DNA的染色质去凝聚,之后形成NETs^[75]。抑制PAD4可以降低循环中NETs的水平,并消除癌症介导的NETs的形成;PAD4缺陷的小鼠中NETs的形成受到抑制,随后阻碍了肿瘤进展,并延长了小鼠的生存

期^[76]。研究表明,抑制PAD4是靶向NETs的极佳选择,一些小分子抑制剂如不可逆PAD4抑制剂氯脒和可逆抑制剂GSK484能够靶向PAD4^[77]。由于PAD4抑制剂具有代谢快速、口服活性差的缺点,现研究多关注PAD4抑制剂的纳米传递系统,包括使用金纳米粒子作为纳米材料^[78]、共价连接到壳聚糖以构建氧化应激反应性纳米系统^[79]、脂质体纳米载体系统^[80]等。鉴于现在还没有人类能用的PAD4抑制剂被批准用于临床,未来有必要进一步对PAD4抑制剂进行研究,以确定其在靶向NETs、抑制癌症转移中的作用。

5.3 抑制炎症因子

另一种抑制NETs的方式是靶向NETs的上游介质,该领域针对炎症相关因子的研究较为广泛。CXCR1/2受体是中性粒细胞表面的G蛋白偶联跨膜受体,是中性粒细胞趋化募集的重要介质,而IL-8是这一受体介导中性粒细胞趋化性的重要有效介质^[81]。瑞帕利辛是一种CXCR1/2抑制剂,能够阻断配体与受体结合,从而抑制NETs的形成^[62]。同时,有报道显示,将IL-8单克隆抗体与CXCR1/2抑制剂联用具有较好的疗效,有望成为靶向NETs的新治疗方式^[82]。

此外,有一些药物正在被开发出新的用处,如治疗银屑病的抗白细胞介素-17抗体可能有调节中性粒细胞募集的功能,并能抑制NETs的形成^[83];补体C5a受体1抑制剂也被批准用于抗中性粒细胞相关的小血管炎^[84]。

5.4 中药

Tang等^[40]发现,降脂药如辛伐他汀等能够调节胆固醇的合成,间接调控CCDC25的表达,从而抑制NETs的形成。天然产物小檗碱是一种降脂药,广泛存在于黄连素等中药中,同样对NETs有调控作用。丹参的主要成分二氢丹参酮I(dihydrotanshinone I, DHT)可抑制乳腺癌细胞的增殖,Zhao等^[85]认为,DHT能够减少NETs形成过程中产生的基质金属蛋白酶抑制因子1(matrix metalloproteinase inhibitor-1, TIMP1)的表达,从而抑制NETs的形成。Pan等^[86]发现,黄芩汤能够降低结直肠癌小鼠模型中白细胞介素-1、MMP-9的水平,同时PAD4的表达也受到抑制,从而抑制NETs的形成,导致结直肠癌肿瘤进展受到阻碍。Haute

等^[87]发现,没食子酸辛酯能够抑制ROS的释放,调节中性粒细胞凋亡中的LPS效应,抑制NETs的产生,但具体的机制还未有阐述。中药中的有效成分、单味中药、复方等都能够通过影响如ROS、PAD4、TIMP1等因子,对NETs进行调节;然而,对中药的研究目前还不完全,缺乏相关的临床研究,有必要进一步探明中药各成分具体的作用机制,以便更好地体现中医药在靶向NETs中的巨大价值^[88]。

5.5 抗生素

抗生素是一类由微生物或高等动植物产生的次级代谢产物,对病原体具有抗性。Bystrzycka等^[89]用氯霉素和阿奇霉素处理中性粒细胞后减少了NETs的形成,并且,阿奇霉素治疗能够降低呼吸系统疾病爆发的可能性;庆大霉素等也能抑制NETs的生成,但头孢噻肟则没有治疗效果。因此,合理应用抗生素靶向NETs需要更深入的研究。

6 小结

目前为止,中性粒细胞及NETs对癌症进展的影响已有很多研究,然而,NETs对肿瘤细胞和TME产生影响的机制仍存在许多未知。大部分研究表明,NETs通过影响TIME、血管系统、刺激预转移龛的形成等机制以促进癌症转移;然而,也有研究指出,NETs具有抑制癌症的作用。因此,探究如何正确靶向NETs对于治疗癌症、抑制癌症的转移意义匪浅。现阶段对NETs的探索大多未涉及具体机制,导致我们对NETs的认知并不完全,未来针对NETs的研究或许会有重大进展,能够对肿瘤组织和血液中的NETs有更加透彻的了解。

无论NETs对癌症的转移是抑制作用还是促进作用,在临床治疗和诊断中都具有重要价值,有望成为一种诊断标志物或预后指标。但现阶段,靶向NETs的治疗方式还有待进一步拓展。现报道的多种药物如氯脒、重组人DNase 1、抗生素、各类中药等都能够减少NETs的形成,癌症患者能够受益于抗NETs疗法,其有可能治疗一些与NETosis相关的疾病,如肿瘤、糖尿病、呼吸系统性疾病、免疫性疾病等;NETs抑制剂也可与免疫抑制

剂联用来治疗癌症等。综上所述,继续探索NETs与癌症转移的机制大有前景,值得在临床治疗癌症领域进行进一步的研究。

参考文献

- [1] Jaillon S, Ponzetta A, Di Mitri D, et al. Neutrophil diversity and plasticity in tumour progression and therapy. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(9): 485-503
- [2] Lee WL, Harrison RE, Grinstein S. Phagocytosis by neutrophils. *Microbes Infect*, 2003, 5(14): 1299-1306
- [3] Nguyen GT, Green ER, Meccas J. Neutrophils to the ROScues: mechanisms of NADPH oxidase activation and bacterial resistance. *Front Cell Infect Microbiol*, 2017, 7: 373
- [4] Borregaard N, Sørensen OE, Theilgaard-Mönch K. Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins. *Trends Immunol*, 2007, 28(8): 340-345
- [5] Leliefeld PHC, Koenderman L, Pillay J. How neutrophils shape adaptive immune responses. *Front Immunol*, 2015, 6: 471
- [6] Masuda S, Nakazawa D, Shida H, et al. NETosis markers: quest for specific, objective, and quantitative markers. *Clin Chim Acta*, 2016, 459: 89-93
- [7] Coffelt SB, Wellenstein MD, de Visser KE. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nat Rev Cancer*, 2016, 16(7): 431-446
- [8] Cui C, Chakraborty K, Tang XA, et al. Neutrophil elastase selectively kills cancer cells and attenuates tumorigenesis. *Cell*, 2021, 184(12): 3163-3177.e21
- [9] 杨悦, 王珏, 张春蕾, 等. 中性粒细胞胞外陷阱促进肿瘤转移的机制研究进展. *中国癌症防治杂志*, 2023, 15(2): 230-234
- [10] Adrover JM, McDowell SAC, He XY, et al. Networking with cancer: the bidirectional interplay between cancer and neutrophil extracellular traps. *Cancer Cell*, 2023, 41(3): 505-526
- [11] Vorobjeva NV, Chernyak BV. NETosis: molecular mechanisms, role in physiology and pathology. *Biochemistry (Mosc)*, 2020, 85(10): 1178-1190
- [12] Zhu YP, Speir M, Tan ZH, et al. NET formation is a default epigenetic program controlled by PAD4 in apoptotic neutrophils. *Sci Adv*, 2023, 9(51): eadj1397
- [13] Wong SL, Wagner DD. Peptidylarginine deiminase 4: a nuclear button triggering neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases and aging. *FASEB J*, 2018, 32(12): fj201800691R
- [14] Demers M, Wong SL, Martinod K, et al. Priming of neutrophils toward NETosis promotes tumor growth. *Oncoimmunology*, 2016, 5(5): e1134073
- [15] Clark SR, Ma AC, Tavener SA, et al. Platelet TLR4 activates neutrophil extracellular traps to ensnare bacteria in septic blood. *Nat Med*, 2007, 13(4): 463-469
- [16] McDonald B, Urrutia R, Yipp BG, et al. Intravascular neutrophil extracellular traps capture bacteria from the bloodstream during sepsis. *Cell Host Microbe*, 2012, 12(3): 324-333
- [17] Houghton AMG, Rzymkiewicz DM, Ji H, et al. Neutrophil elastase-mediated degradation of IRS-1 accelerates lung tumor growth. *Nat Med*, 2010, 16(2): 219-223
- [18] Huang H, Zhang H, Onuma AE, et al. Neutrophil elastase and neutrophil extracellular traps in the tumor microenvironment. *Adv Exp Med Biol*, 2020, 1263: 13-23
- [19] Lerman I, Garcia-Hernandez ML, Rangel-Moreno J, et al. Infiltrating myeloid cells exert protumorigenic actions via neutrophil elastase. *Mol Cancer Res*, 2017, 15(9): 1138-1152
- [20] Wada Y, Yoshida K, Tsutani Y, et al. Neutrophil elastase induces cell proliferation and migration by the release of TGF- α , PDGF and VEGF in esophageal cell lines. *Oncol Rep*, 2007, 17(1): 161-167
- [21] Bekes EM, Schweighofer B, Kupriyanova TA, et al. Tumor-recruited neutrophils and neutrophil TIMP-free MMP-9 regulate coordinately the levels of tumor angiogenesis and efficiency of malignant cell intravasation. *Am J Pathol*, 2011, 179(3): 1455-1470
- [22] Nguyen TT, Ding D, Wolter WR, et al. Validation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) as a novel target for treatment of diabetic foot ulcers in humans and discovery of a potent and selective small-Molecule MMP-9 inhibitor that accelerates healing. *J Med Chem*, 2018, 61(19): 8825-8837
- [23] McDowell SAC, Luo RBE, Arabzadeh A, et al. Neutrophil oxidative stress mediates obesity-associated vascular dysfunction and metastatic transmigration. *Nat Cancer*, 2021, 2(5): 545-562
- [24] Dragutinović VV, Radovanović NS, Izrael-Živković LT, et al. Detection of gelatinase B activity in serum of gastric cancer patients. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(1): 105-109
- [25] Chiranjeevi P, Spurthi KM, Rani NS, et al. Gelatinase B (-1562C/T) polymorphism in tumor progression and invasion of breast cancer. *Tumour Biol*, 2014, 35(2): 1351-1356
- [26] van't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature*, 2002, 415(6871): 530-536
- [27] Niu J, Gu X, Turton J, et al. Integrin-mediated signalling

- of gelatinase B secretion in colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1998, 249(1): 287-291
- [28] Hiratsuka S, Nakamura K, Iwai S, et al. MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung-specific metastasis. *Cancer Cell*, 2002, 2(4): 289-300
- [29] Cox TR. The matrix in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(4): 217-238
- [30] Guan X, Lu Y, Zhu H, et al. The crosstalk between cancer cells and neutrophils enhances hepatocellular carcinoma metastasis via neutrophil extracellular traps-associated cathepsin G component: a potential therapeutic target. *J Hepatocell Carcinoma*, 2021, Volume 8: 451-465
- [31] Fu Z, Akula S, Thorpe M, et al. Potent and broad but not unselective cleavage of cytokines and chemokines by human neutrophil elastase and proteinase 3. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 651
- [32] Burster T, Knippschild U, Molnár F, et al. Cathepsin G and its dichotomous role in modulating levels of MHC class I molecules. *Arch Immunol Ther Exp*, 2020, 68(4): 25
- [33] Kudo T, Kigoshi H, Hagiwara T, et al. Cathepsin G, a neutrophil protease, induces compact cell-cell adhesion in MCF-7 human breast cancer cells. *Mediators Inflamm*, 2009, 2009: 850940
- [34] Song Y, Jin D, Chen J, et al. Identification of an immune-related long non-coding RNA signature and nomogram as prognostic target for muscle-invasive bladder cancer. *Aging*, 2020, 12(12): 12051-12073
- [35] Chan S, Wang X, Wang Z, et al. CTSG suppresses colorectal cancer progression through negative regulation of Akt/mTOR/Bcl2 signaling pathway. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(7): 2220-2233
- [36] Tsourouktsoglou TD, Warnatsch A, Ioannou M, et al. Histones, DNA, and citrullination promote neutrophil extracellular trap inflammation by regulating the localization and activation of TLR4. *Cell Rep*, 2020, 31(5): 107602
- [37] Ioannou M, Hoving D, Aramburu IV, et al. Microbe capture by splenic macrophages triggers sepsis via T cell-death-dependent neutrophil lifespan shortening. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 4658
- [38] Najmeh S, Cools-Lartigue J, Rayes RF, et al. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells via β 1-integrin mediated interactions. *Int J Cancer*, 2017, 140(10): 2321-2330
- [39] Yang L, Liu Q, Zhang X, et al. DNA of neutrophil extracellular traps promotes cancer metastasis via CCDC25. *Nature*, 2020, 583(7814): 133-138
- [40] Tang Q, Liang B, Zhang L, et al. Enhanced CHOLESTEROL biosynthesis promotes breast cancer metastasis via modulating CCDC25 expression and neutrophil extracellular traps formation. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 17350
- [41] Hedrick CC, Malanchi I. Neutrophils in cancer: heterogeneous and multifaceted. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(3): 173-187
- [42] Homa-Mlak I, Majdan A, Mlak R, et al. Metastatic potential of NET in neoplastic disease. *Postepy Hig Med Dosw*, 2016, 70: 887-895
- [43] Cools-Lartigue J, Spicer J, McDonald B, et al. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis. *J Clin Invest*, 2013, 123(8): 3446-3458
- [44] McDonald B, Spicer J, Giannais B, et al. Systemic inflammation increases cancer cell adhesion to hepatic sinusoids by neutrophil mediated mechanisms. *Int J Cancer*, 2009, 125(6): 1298-1305
- [45] Spicer JD, McDonald B, Cools-Lartigue JJ, et al. Neutrophils promote liver metastasis via Mac-1-mediated interactions with circulating tumor cells. *Cancer Res*, 2012, 72(16): 3919-3927
- [46] Yang LY, Luo Q, Lu L, et al. Increased neutrophil extracellular traps promote metastasis potential of hepatocellular carcinoma via provoking tumorous inflammatory response. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 3
- [47] 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. *Cancer Biol Med*, 2020, 17(1): 154-168
- [48] Onuma AE, Zhang H, Gil L, et al. Surgical stress promotes tumor progression: a focus on the impact of the immune response. *J Clin Med*, 2020, 9(12): 4096
- [49] Ren J, He J, Zhang H, et al. Platelet TLR4-ERK5 axis facilitates NET-mediated capturing of circulating tumor cells and distant metastasis after surgical stress. *Cancer Res*, 2021, 81(9): 2373-2385
- [50] 杨欣桦, 赵健. 铁死亡在肿瘤转移中作用的研究进展. *肿瘤研究与临床*, 2023, 2023(5): 393-396
- [51] Wu J, Dong W, Pan Y, et al. Crosstalk between gut microbiota and metastasis in colorectal cancer: implication of neutrophil extracellular traps. *Front Immunol*, 2023, 14: 1296783
- [52] Castaño M, Tomás-Pérez S, González-Cantó E, et al. Neutrophil extracellular traps and cancer: trapping our attention with their involvement in ovarian cancer. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(6): 5995
- [53] Wculek SK, Malanchi I. Neutrophils support lung colonization of metastasis-initiating breast cancer cells. *Nature*, 2015, 528(7582): 413-417
- [54] Albregues J, Shields MA, Ng D, et al. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken

- dormant cancer cells in mice. *Science*, 2018, 361(6409): eaao4227
- [55] Christof K, Hamza O, Kristin M, et al. Neutrophil extracellular traps promote T cell exhaustion in the tumor microenvironment, *Front Immunol* 2021, 785222(12): 562-576
- [56] Tay RE, Richardson EK, Toh HC. Revisiting the role of CD4⁺ T cells in cancer immunotherapy—new insights into old paradigms. *Cancer Gene Ther*, 2021, 28(1-2): 5-17
- [57] Zheng Z, Li Y, Jia S, et al. Lung mesenchymal stromal cells influenced by Th2 cytokines mobilize neutrophils and facilitate metastasis by producing complement C3. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6202-6222
- [58] Sakaguchi S, Mikami N, Wing JB, et al. Regulatory T cells and human disease. *Annu Rev Immunol*, 2020, 38(1): 541-566
- [59] Wang H, Zhang H, Wang Y, et al. Regulatory T-cell and neutrophil extracellular trap interaction contributes to carcinogenesis in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*, 2021, 75(6): 1271-1283
- [60] Raskov H, Orhan A, Christensen JP, et al. Cytotoxic CD8⁺ T cells in cancer and cancer immunotherapy. *Br J Cancer*, 2021, 124(2): 359-367
- [61] Vesely MD, Zhang T, Chen L. Resistance mechanisms to anti-PD cancer immunotherapy. *Annu Rev Immunol*, 2022, 40(1): 45-74
- [62] Teixeira Á, Garasa S, Gato M, et al. CXCR1 and CXCR2 chemokine receptor agonists produced by tumors induce neutrophil extracellular traps that interfere with immune cytotoxicity. *Immunity*, 2020, 52(5): 856-871.e8
- [63] Shinde-Jadhav S, Mansure JJ, Rayes RF, et al. Role of neutrophil extracellular traps in radiation resistance of invasive bladder cancer. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 2776
- [64] Wieland E, Rodriguez-Vita J, Liebler SS, et al. Endothelial notch1 activity facilitates metastasis. *Cancer Cell*, 2017, 31(3): 355-367
- [65] Jiang ZZ, Peng ZP, Liu XC, et al. Neutrophil extracellular traps induce tumor metastasis through dual effects on cancer and endothelial cells. *Oncoimmunology*, 2022, 11(1): 2052418
- [66] Park J, Wysocki RW, Amoozgar Z, et al. Cancer cells induce metastasis-supporting neutrophil extracellular DNA traps. *Sci Transl Med*, 2016, 8(361): 361-381
- [67] Martins-Cardoso K, Almeida VH, Bagri KM, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) promote pro-metastatic phenotype in human breast cancer cells through epithelial-mesenchymal transition. *Cancers*, 2020, 12(6): 1542-1553
- [68] Zhu T, Zou X, Yang C, et al. Neutrophil extracellular traps promote gastric cancer metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition. *Int J Mol Med*, 2021, 48(1): 127-138
- [69] Metzler KD, Fuchs TA, Nauseef WM, et al. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: implications for innate immunity. *Blood*, 2011, 117(3): 953-959
- [70] Berger-Achituv S, Brinkmann V, Abed UA, et al. A proposed role for neutrophil extracellular traps in cancer immunoediting. *Front Immunol*, 2013, 4: 48
- [71] Al-Benna S, Shai Y, Jacobsen F, et al. Oncolytic activities of host defense peptides. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(11): 8027-8051
- [72] Sharma P, Garg N, Sharma A, et al. Nucleases of bacterial pathogens as virulence factors, therapeutic targets and diagnostic markers. *Int J Med Microbiol*, 2019, 309(8): 151354
- [73] Papayannopoulos V, Staab D, Zychlinsky A, et al. Neutrophil elastase enhances sputum solubilization in cystic fibrosis patients receiving DNase therapy. *PLoS One*, 2011, 6(12): e28526
- [74] Xia Y, He J, Zhang H, et al. AAV-mediated gene transfer of DNase I in the liver of mice with colorectal cancer reduces liver metastasis and restores local innate and adaptive immune response. *Mol Oncol*, 2020, 14(11): 2920-2935
- [75] Wang Y, Li M, Stadler S, et al. Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J Cell Biol*, 2009, 184(2): 205-213
- [76] Li M, Lin C, Deng H, et al. A novel peptidylarginine deiminase 4 (PAD4) inhibitor BMS-P5 blocks formation of neutrophil extracellular traps and Delays progression of multiple myeloma. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(7): 1530-1538
- [77] Mutua V, Gershwin LJ. A review of neutrophil extracellular traps (NETs) in disease: potential anti-NETs therapeutics. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2021, 61(2): 194-211
- [78] Song S, Gui L, Feng Q, et al. TAT-modified gold nanoparticles enhance the antitumor activity of PAD4 inhibitors. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 6659-6671
- [79] Jia Y, Taledaohan A, Jia R, et al. Chitosan nanomedicine containing RGD peptide and PAD4 inhibitor based on phenyl boronate coupling inhibition of primary tumor growth and lung metastasis. *Biomed Pharmacother*, 2023, 168: 115826
- [80] Sun S, Lv W, Li S, et al. Smart liposomal nanocarrier enhanced the treatment of ischemic stroke through neutrophil extracellular traps and cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase-stimulator of interferon genes (cGAS-STING) pathway inhibition of

- ischemic penumbra. *ACS Nano*, 2023, 17(18): 17845-17857
- [81] Najjar YG, Rayman P, Jia X, et al. Myeloid-derived suppressor cell subset accumulation in renal cell carcinoma parenchyma is associated with intratumoral expression of IL1 β , IL8, CXCL5, and Mip-1 α . *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9): 2346-2355
- [82] Teijeira A, Garasa S, Ochoa MC, et al. IL8, neutrophils, and NETs in a collusion against cancer immunity and immunotherapy. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(9): 2383-2393
- [83] Zhang Y, Chandra V, Riquelme Sanchez E, et al. Interleukin-17-induced neutrophil extracellular traps mediate resistance to checkpoint blockade in pancreatic cancer. *J Exp Med*, 2020, 217(12): e20190354
- [84] O'Sullivan KM, Holdsworth SR. Neutrophil extracellular traps: a potential therapeutic target in MPO-ANCA associated vasculitis? *Front Immunol*, 2021, 12: 635188
- [85] Zhao H, Liang Y, Sun C, et al. Dihydratanthone I inhibits the lung metastasis of breast cancer by suppressing neutrophil extracellular traps formation. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(23): 15180
- [86] Pan Z, Xie X, Chen Y, et al. Huang Qin Decoction inhibits the initiation of experimental colitis associated carcinogenesis by controlling the PAD4 dependent NETs. *Phytomedicine*, 2022, 107: 154454
- [87] Haute GV, Luft C, Pedrazza L, et al. Octyl gallate decrease lymphocyte activation and regulates neutrophil extracellular traps release. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(2): 1593-1599
- [88] 王昭, 张军平, 杨颖溪. 中医药靶向中性粒细胞胞外捕获网干预疾病的研究进展. *中国中药杂志*, 2023, 2: 1-11
- [89] Bystrzycka W, Manda-Handzik A, Sieczkowska S, et al. Azithromycin and chloramphenicol diminish neutrophil extracellular traps (NETs) release. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): 2666