

# 炎症反应在静脉血栓栓塞症过程的相关研究

闫丹丹 史家欣 李家树

**摘要** 静脉血栓中凝血、炎症、免疫和纤维蛋白溶解之间存在复杂的相互作用,国内外相关的临床研究和动物实验模型结果证实炎症反应参与静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE)的形成、扩散和溶解。VTE的病理生理机制涉及白细胞及其各种亚型、细胞因子和趋化因子等之间的密切联系。本文将着重探讨炎症细胞及其因子在VTE中扮演的角色,为后续探讨VTE的抗炎靶向治疗提供参考。

**关键词** 静脉血栓栓塞症 炎症细胞 炎症因子

**中图分类号** R563.5

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.05.035

静脉血栓栓塞症(venous thromboembolism, VTE)由深静脉血栓(deep venous thrombosis, DVT)和肺栓塞(pulmonary embolism, PE)组成,是一个多因素的过程。静脉血流异常后激活内皮细胞,并与血小板、中性粒细胞和单核细胞协同作用,在完整的静脉内传播血栓<sup>[1]</sup>。对血栓的快速处理是改善VTE治疗和预后的关键。虽然在临床上应用抗凝疗法能够预防静脉血栓的传播,但是迄今为止尚无针对炎症而设计的相关治疗。许多VTE的临床和基础研究提供关于VTE发生、发展中涉及的分子和细胞机制。本文将着重回顾白细胞及其各种亚型、血小板、细胞因子和趋化因子等在VTE形成和溶解过程中的作用机制,以期探寻更多VTE的治疗方法做出一定的参考。

## 一、炎症反应在VTE形成中的作用

1. 血流停滞与缺氧:血液是静脉氧气唯一来源,血流停滞和缺氧被认为是导致血栓形成的主要机制<sup>[2]</sup>。缺氧一方面引发静脉壁内皮细胞激活,促进黏附受体的表达和杆棒状小体成分释放,促进血友病因子(von willebrand factor, vWF)分泌及P-选择素表达,从而介导炎症细胞募集<sup>[3,4]</sup>。另一方面引起活性氧合成,间接通过补体系统激活内皮细胞,促使内皮细胞凋亡被核因子NF- $\kappa$ B通路激活,加快局部炎症的发生<sup>[5]</sup>。增加的活性氧能够活化巨噬细胞,加速老化有关DVT的形成<sup>[6]</sup>。

2. 白细胞:白细胞与活化静脉内皮细胞间的作用构成血栓形成的主要部分。静脉血流受限会引起白细胞的快速募集。下腔静脉狭窄1h后,白细胞开始滚动并黏附于内皮细胞,5~6h后覆盖整个细胞表面。检查已形成48h后的静脉血栓时,发现白细胞是主要细胞成分<sup>[7]</sup>。静脉血栓内表达Ly6<sup>hi</sup>髓过氧化物酶的中性粒细胞占累积白细胞的70%,而Ly6G<sup>-</sup>F4/80<sup>+</sup>单核细胞占剩下的30%,淋巴细胞几乎不存在,表明髓系白细胞在DVT中活跃聚集。

P-选择素对VTE有预测作用。白细胞募集依赖于静脉内皮细胞管腔一侧的P-选择素的暴露,当P-选择素缺乏时,募集的白细胞降低了几个数量级。尽管活化的血小板表达P-选择素,助力白细胞浸润到血栓,但血小板本身衍生的P-选择素在白细胞募集中的作用并不突出<sup>[7]</sup>。

3. 中性粒细胞:中性粒细胞为最早被吸引到血栓中的白细胞亚型之一。在PE实验模型,浸润肺动脉壁的中性粒细胞水平在2天达到峰值,8天后恢复至基线水平<sup>[8]</sup>。中性粒细胞募集到静脉壁后会被激活形成一种由DNA、组蛋白和分泌颗粒成分等组成的网状细胞外结构,叫作中性粒细胞胞外陷阱(neutropuil extracellular traps, NETs)<sup>[9]</sup>。中性粒细胞-血小板间的相互作用促进NETs的产生,进一步支持异常血栓形成。

NETs与静脉血栓的形成密切相关<sup>[10]</sup>。NETs可以通过Toll样受体激活炎症,触发静脉血栓形成。Toll样受体-9是一种信号模式,这种模式识别受体的缺乏与大面积静脉血栓的增加有关,与狭窄无关<sup>[11]</sup>。NETs是独立于纤维蛋白网络中黏附血小板和红细胞的支架,它促进血栓形成的另一机制是增强

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81300052);江苏省青年医学重点人才培养项目(QNRC2016504)

作者单位:222002 徐州医科大学附属连云港医院呼吸与危重症医学科

通讯作者:李家树,主任医师,电子信箱:ljssm1118@sina.com

凝血级联反应并降低抗凝活性。中性粒细胞通过结合 FX II 因子和释放 NETs 来支持凝血级联的激活,同时中性粒细胞弹性蛋白酶和其他同 NETs 相关的蛋白酶会降解抗凝剂,证明血栓中的中性粒细胞对 DVT 随后的增殖必不可少<sup>[12]</sup>。

4. 单核细胞-吞噬细胞:被募集到静脉壁的单核细胞和中性粒细胞是组织因子(tissue factor, TF)的主要来源。在一项基础研究中,中性粒细胞表达 TF 信号很弱,而单核细胞显示出强烈的 TF 信号<sup>[13]</sup>。与中性粒细胞比较,单核细胞更可能是 TF 的来源。

巨噬细胞是吞噬细胞的一种,它有两种表型,M1 型与促炎性细胞因子和组织损伤有关,M2 型与抗炎性细胞因子和组织修复有关,两者分别参与静脉血栓形成的早期和晚期<sup>[14]</sup>。巨噬细胞在 PE 后大鼠的右心室损伤和重构中起核心作用<sup>[15]</sup>。病程早期,髓过氧化物酶和基质金属蛋白酶-9 活性升高,肌钙蛋白释放,组织学显示巨噬细胞的存在。随后几周内,右心室流出道收缩功能下降,并随着心肌细胞的坏死、胶原沉积和新生血管的出现而变得透明。PE 后,肺动脉壁内巨噬细胞的数量增加,并在 1 天内达到峰值,4 天内恢复到基础水平。

5. 血小板:血小板是静脉血栓的主要参与者,在限流后早期被招募,参与天然免疫细胞的稳定积累<sup>[7]</sup>。没有血小板的存在,血栓形成不会产生。炎症反应中血小板的参与同细胞因子和趋化因子的释放有关,上述因子吸引白细胞并促进损伤部位的内皮黏附。血小板可能通过形成血小板-白细胞聚集体和白细胞相互作用,这些结合是通过激活血栓形成中细胞表面表达的黏附蛋白实现的。

在 DVT 形成中,血小板直接黏附在活化的内皮细胞或白细胞上,形成小型异性聚集<sup>[7]</sup>。血小板通过 vWF 与暴露的胶原结合,之后是 A3 结构与胶原的粘连,导致其 A1 结构域的结构改变。随后改变的 vWF 的 A1 结构域与血小板表面糖蛋白受体 Ib-IX-V 的 GPIb 较大的亚基结合,在该位点形成稳定的血小板单层。表面受体 GPVI 和血小板整合素  $\alpha 2\beta 1$  的激活通过释放腺苷二磷酸和血栓素  $A_2$  等活性分子来增强血小板的活化。激动剂和血小板受体与纤维蛋白网结合的双重巩固效应导致血小板堵塞或血栓的产生。较大体积的血小板有更多的表面受体,加速血小板间的相互作用和血凝块的增殖,促进栓塞的传播<sup>[16]</sup>。

血小板在自发性静脉血栓形成中起关键作用。

在 Heestermans 等<sup>[17]</sup>的实验中,无法检测到任何与影响中性粒细胞耗竭相关的表型。此外,在血小板耗尽的小鼠中未检测到血栓,所以该研究推测血小板对于纤维蛋白的大量生成和血栓的形成特别重要。

除促凝血活性,招募的血小板还提供重要的促炎刺激,这是各种损伤相关分子模式的重要来源<sup>[18]</sup>。高迁移率族蛋白 B1 是一种促炎核蛋白,被招募到血管壁后,血小板暴露出高迁移率族蛋白 B1,释放到细胞外空间时起到损伤相关分子模式的作用<sup>[19]</sup>。血小板释放损伤相关分子模式,可促使 TF 解密,促进血栓形成<sup>[20]</sup>。

6. 组织因子、细胞因子、趋化因子及补体系统等:TF 在静脉血栓形成中或许起关键性作用。TF 的凝血触发效应通过内源性 TF 途径抑制物的裂解转化为更持久的凝血激活。TF 途径抑制物通过与 Xa 因子结合并抑制其活性,从而发挥抗凝功能<sup>[21]</sup>。

细胞因子可将内皮细胞的正常抗凝和纤维蛋白溶解(以下简称纤溶)特性改变为促进血栓形成和阻止纤溶的激活状态。细胞因子一般分为抗炎和(或)促炎性细胞因子。促炎性细胞因子有 IL-6、IL-1、IL-8、TNF- $\alpha$  和可溶性 CD40 配体等<sup>[22]</sup>。促炎性细胞因子通过 IL-6 诱导肝脏的急性期反应。IL-1 $\beta$  主要分布在巨噬细胞和单核细胞内,是早期炎症反应的标志物。作为肿瘤坏死因子跨膜超家族成员之一的可溶性 CD40 配体,可诱导血管细胞和单核细胞产生 TF,激活天然免疫系统<sup>[23]</sup>。

趋化因子如 CXCL4,被验证与 NETs 形成有关<sup>[13]</sup>。在大鼠 PE 模型中,趋化因子 mRNA 表达水平升高也证明这一点<sup>[24]</sup>。补体系统是凝血和血小板活化的强烈触发因素,血小板的产物是补体级联反应的有效引发剂<sup>[25]</sup>。推测补体和血栓形成途径相互激活,从而导致血栓形成。

## 二、炎症反应在 VTE 溶解中的作用

当前关于炎症在静脉血栓溶解的报道较少。炎症是 VTE 形成和溶解的中心,并直接关系到组织完整性和功能的恢复。中性粒细胞在静脉血栓溶解的早期起关键作用,它存在于静脉壁和血栓中,是通过纤维蛋白溶解和胶原溶解开启溶栓的必要条件,而且它能与单核细胞协同调节纤溶所需纤溶酶的产生及活性<sup>[1]</sup>。在啮齿动物模型中,中性粒细胞的耗竭导致静脉血栓溶解受限,溶栓过程中伴随着血栓面积和纤维化数量的增加<sup>[26]</sup>。中性粒细胞积极参与溶栓过程:大鼠嗜中性粒细胞减少会损害 PE 后血栓溶解,

且血栓溶解与中性粒细胞浸润同时发生<sup>[10]</sup>。中性粒细胞数量在VTE的急性期反应性增加,进而通过VTE溶解而减少。VTE中的中性粒细胞引起双相免疫反应:早期大量中性粒细胞的激活导致PE后肺或心脏损伤,而晚期其激活对血栓溶解有很大的帮助<sup>[27]</sup>。中性粒细胞也促进单核细胞在血栓中的募集,随着血栓的成熟,巨噬细胞最终成为血栓中主要的炎性细胞<sup>[24]</sup>。

血栓溶解的后期,分化的巨噬细胞浸润到血栓中,产生各式趋化因子、细胞因子和基质降解蛋白酶,促进纤维蛋白溶解和组织重塑,最终恢复血流。将巨噬细胞趋化蛋白1直接注入实验性静脉血栓中,可以刺激血栓溶解,从而导致血栓的再通,但这一过程与单核细胞募集无关<sup>[7]</sup>。源自单核-吞噬细胞释放的纤溶酶和DNase,促使NETs和纤维蛋白降解,推动恢复血流<sup>[11]</sup>。抗炎性M2型巨噬细胞在DVT溶解模型中起主要作用,因为CD20阳性M2型巨噬细胞对胶原分子的内吞作用已经被证明是体内胶原转化的主要途径<sup>[14]</sup>。巨噬细胞作为强大的吞噬细胞,也有助于清除凋亡的中性粒细胞和血栓内的其他蛋白质。

血小板生成素是一种造血细胞因子,巨核细胞的激活和血小板释放的增强主要是由其刺激引起的<sup>[25]</sup>。IL-6的作用与肝脏中的血小板生成素生成的增强相关,并通过膜受体IL-6受体直接作用于巨核细胞。静脉血栓炎症时,促炎性细胞因子浓度增加,主要是IL-6浓度增加,导致巨核细胞倍体增加和胞质体积增大,从而导致大量血小板的产生<sup>[28]</sup>。国外一项研究发现,通过在全身注射抗体来中和IL-6能够加速静脉血栓的溶解,同时减少单核细胞募集和减少静脉壁纤维化<sup>[1]</sup>。

TNF- $\alpha$ /TNF-Rp55信号轴也可以调节静脉血栓的溶解。TNF-Rp55基因的缺失能够抑制其溶解<sup>[29]</sup>。Luther等<sup>[14]</sup>研究证实,静脉血栓形成导致大量趋化因子表达增加,导致效应记忆型T细胞重新聚集到血管壁,这些效应记忆型T细胞以非抗原依赖的方式激活,导致干扰素- $\gamma$ 的局部释放,干扰素- $\gamma$ 表达的增加导致单核细胞和中性粒细胞重新聚集到凝块中。此外,单核细胞和中性粒细胞的募集显著降低基质金属蛋白酶-9的表达,导致血栓的新生血管和再通,最终导致血栓溶解延迟<sup>[1]</sup>。

### 三、展望

本研究总结了炎性细胞及其因子在VTE形成与溶解中的作用机制,但是它们在VTE形成与溶解过

程中的动态演变过程尚未阐明清楚。当前的静脉血栓预防和治疗还局限于抗凝、抗血小板聚集等方式,容易发生出血等不良事件,且大多数患者需定期至医院复查凝血等指标,带来巨大的经济压力。炎症对静脉血栓具有双向作用,探索其复杂联系机制可以确定新的干预靶点,也能为今后的抗炎靶向治疗提供依据。未来需要系统性、大规模的基础和临床试验,探索抗炎能否作为静脉血栓治疗的新方案,并进一步明确抗炎的适宜时机和最佳剂量,以期VTE患者的治疗带来裨益。

### 参考文献

- Mukhopadhyay S, Johnson TA, Duru N, *et al.* Fibrinolysis and inflammation in venous thrombus resolution[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 1348
- Budnik I, Brill A. Immune factors in deep vein thrombosis initiation [J]. *Trends Immunol*, 2018, 39(8): 610-623
- Riedl Khursigara M, Schlam D, Noone DG, *et al.* Vascular endothelial cells evade complement-mediated membrane injury via Weibel-Palade body mobilization [J]. *J Thromb Haemost*, 2020, 18(6): 1484-1494
- Holthenrich A, Drexler HCA, Chehab T, *et al.* Proximity proteomics of endothelial Weibel-Palade bodies identifies novel regulator of von Willebrand factor secretion [J]. *Blood*, 2019, 134(12): 979-982
- Tavakol S, Hoveizi E, Kharrazi S, *et al.* Organelles and chromatin fragmentation of human umbilical vein endothelial cell influence by the effects of zeta potential and size of silver nanoparticles in different manners [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2017, 45(4): 817-823
- Yang J, Zhou X, Fan X, *et al.* mTORC1 promotes aging-related venous thrombosis in mice via elevation of platelet volume and activation [J]. *Blood*, 2016, 128(5): 615-624
- Von Brühl ML, Stark K, Steinhart A, *et al.* Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo [J]. *The Exp Med*, 2012, 209(4): 819-835
- Eagleton MJ, Henke PK, Luke CE, *et al.* Southern association for vascular surgery william J von leibig award. Inflammation and intimal hyperplasia associated with experimental pulmonary embolism [J]. *J Vasc Surg*, 2002, 36(3): 581-588
- Bonaventura A, Liberale L, Carbone F, *et al.* The pathophysiological role of neutrophil extracellular traps in inflammatory diseases [J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118(1): 6-27
- 解梓琛, 孙克玉, 郭雪君. 中性粒细胞胞外诱捕网在小鼠静脉血栓栓塞形成中的作用及机制 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(20): 5-8
- El-Sayed OM, Dewyer NA, Luke CE, *et al.* Intact Toll-like receptor 9 signaling in neutrophils modulates normal thrombogenesis in mice [J]. *J Vasc Surg*, 2016, 64(5): 1450-1458. e1451
- Cerletti C, Tamburrelli C, Izzi B, *et al.* Platelet-leukocyte interactions in thrombosis [J]. *Thromb Res*, 2012, 129(3): 263-266

(下转第153页)

中西医结合杂志, 2019, 28(4): 447-452

- 21 Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, *et al.* Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control[J]. *Nature*, 2013, 498(7452): 99-103
  - 22 Bartley A, Yang T, Arocha R, *et al.* Increased abundance of lactobacillales in the colon of beta - adrenergic receptor knock out mouse is associated with increased gut bacterial production of short chain fatty acids and reduced IL17 expression in circulating CD4<sup>+</sup> immune cells [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1593
  - 23 Vallianou NG, Geladari E, Kounatidis D. Microbiome and hypertension: where are we now? [J]. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2020, 21(2): 83-88
  - 24 Zhang S, Zhang Y, Ahsan MZ, *et al.* Atorvastatin attenuates cold - induced hypertension by preventing gut barrier injury[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2019, 74(2): 143-151
  - 25 Smiljanec K, Lennon SL. Sodium, hypertension, and the gut: does the gut microbiota go salty? [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 317(6): H1173-H1182
  - 26 Kim S, Goel R, Kumar A, *et al.* Imbalance of gut microbiome and intestinal epithelial barrier dysfunction in patients with high blood pressure[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2018, 132(6): 701-718
  - 27 Robles - Vera I, Toral M, de la Visitación N, *et al.* Changes to the gut microbiota induced by losartan contributes to its antihypertensive effects[J]. *Br J Pharmacol*, 2020, 177(9): 2006-2023
  - 28 Han C, Jiang YH, Li W, *et al.* Study on the antihypertensive mechanism of *Astragalus membranaceus* and *salvia miltiorrhiza* based on intestinal flora - host metabolism[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2019, 2019: 5418796
  - 29 徐兴华, 俞晓英, 金华, 等. 贝那普利和氨氯地平对自发性高血压大鼠血压和肠道微生物的影响[J]. *中国微生态学杂志*, 2020, 4: 379-383
  - 30 Hsu CN, Hou CY, Chan JYH, *et al.* Hypertension programmed by perinatal high - fat diet: effect of maternal gut microbiota - targeted therapy[J]. *Nutrients*, 2019, 11(12): 2908  
(收稿日期: 2020-11-30)  
(修回日期: 2020-12-16)
- 
- (上接第149页)
- 13 Carestia A, Kaufman T, Rivadeneyra L, *et al.* Mediators and molecular pathways involved in the regulation of neutrophil extracellular trap formation mediated by activated platelets[J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 99(1): 153-162
  - 14 Luther N, Shahneh F, Braehler M, *et al.* Innate effector - memory t - cell activation regulates post - thrombotic vein wall inflammation and thrombus resolution[J]. *Circ Res*, 2016, 119(12): 1286-1295
  - 15 Watts JA, Gellar MA, Obraztsova M, *et al.* Role of inflammation in right ventricular damage and repair following experimental pulmonary embolism in rats[J]. *Int J Exp Pathol*, 2008, 89(5): 389-399
  - 16 Lippi G. Genetic and nongenetic determinants of mean platelet volume [J]. *Blood*, 2016, 127(2): 179-180
  - 17 Heestermans M, Salloum - Asfar S, Salvatori D, *et al.* Role of platelets, neutrophils, and factor XIII in spontaneous venous thrombosis in mice[J]. *Blood*, 2016, 127(21): 2630-2637
  - 18 Yasui K, Matsuyama N, Kuroishi A, *et al.* Mitochondrial damage - associated molecular patterns as potential proinflammatory mediators in post - platelet transfusion adverse effects[J]. *Transfusion*, 2016, 56(5): 1201-1212
  - 19 Dyer MR, Chen Q, Haldeman S, *et al.* Deep vein thrombosis in mice is regulated by platelet HMGB1 through release of neutrophil - extracellular traps and DNA[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 2068
  - 20 Stark K, Philippi V, Stockhausen S, *et al.* Disulfide HMGB1 derived from platelets coordinates venous thrombosis in mice [J]. *Blood*, 2016, 128(20): 2435-2449
  - 21 Claussen C, Rausch AV, Lezius S, *et al.* Microvesicle - associated tissue factor procoagulant activity for the preoperative diagnosis of ovarian cancer[J]. *Thromb Res*, 2016, 141: 39-48
  - 22 Vazquez - Garza E, Jerjes - Sanchez C, Navarrete A, *et al.* Venous thromboembolism; thrombosis, inflammation, and immunothrombosis for clinicians[J]. *J Thromb Thrombolys*, 2017, 44(3): 377-385
  - 23 Libby P, Crea F. Clinical implications of inflammation for cardiovascular primary prevention[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(7): 777-783
  - 24 Henke PK, Pearce CG, Moaveni DM, *et al.* Targeted deletion of CCR2 impairs deep vein thrombosis resolution in a mouse model[J]. *J Immunol*, 2006, 177(5): 3388-3397
  - 25 Korniluk A, Koper - Lenkiewicz OM, Kaminska J, *et al.* Mean platelet volume (MPV): new perspectives for an old marker in the course and prognosis of inflammatory conditions [J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 9213074
  - 26 Obi AT, Andraska E, Kanthi Y, *et al.* Endotoxaemia - augmented murine venous thrombosis is dependent on TLR - 4 and ICAM - 1, and potentiated by neutropenia [J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(2): 339-348
  - 27 Saghadzadeh A, Hafizi S, Rezaei N. Inflammation in venous thromboembolism; cause or consequence? [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 655-665
  - 28 Senchenkova EY, Komoto S, Russell J, *et al.* Interleukin - 6 mediates the platelet abnormalities and thrombogenesis associated with experimental colitis[J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(1): 173-181
  - 29 Nosaka M, Ishida Y, Kimura A, *et al.* Contribution of the TNF - alpha (tumor necrosis factor - alpha) - TNF - Rp55 (tumor necrosis factor receptor p55) axis in the resolution of venous thrombus[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(11): 2638-2650  
(收稿日期: 2020-12-24)  
(修回日期: 2021-01-10)