

· 综述 ·

DOI: 10.12449/JCH251132

中性粒细胞外陷阱在肝细胞癌中的作用

田雪如^{1a}, 陈玮钰^{1a}, 颜璐怡^{1a}, 洪杨^{1a}, 王涵^{2a}, 刘守琴^{1a}, 青磊^{1a}, 马国娟^{1a}, 毛德文^{2b}, 姚春^{1b}

1 广西中医药大学 a. 研究生院, b. 区域重大病种创新产品研发广西高校工程研究中心, 南宁 530020

2 广西中医药大学第一附属医院 a. 内科教研室, b. 肝病一区, 南宁 530023

通信作者: 姚春, yaoc@gxtcmu.edu.cn (ORCID: 0000-0003-2903-8814)

摘要: 肝细胞癌(HCC)是全球范围内发病率和死亡率均较高的恶性肿瘤。近年研究表明,中性粒细胞外陷阱(NET)在HCC的发生、发展及免疫逃逸中发挥重要作用。NET由中性粒细胞释放,主要由DNA、组蛋白及抗菌分子组成,除参与免疫防御外,还与HCC的起始、转移和血栓形成密切相关。本文阐述了NET的形成与调控机制,探讨其在HCC起始、转移、免疫逃逸及血栓形成中的潜在机制,同时讨论NET作为HCC诊断与治疗靶点的前景,旨在为未来HCC的精准治疗提供新思路,推动其早期诊断和有效治疗。

关键词: 癌, 肝细胞; 中性粒细胞外陷阱; 病理过程

基金项目: 国家自然科学基金(U23A20521); 姚春桂派中医大师传承工作室(GZY2024002); 广西中医药通阳散结法重点研究室项目; 广西中药壮瑶药多学科交叉创新团队(GZKJ2301); 广西疑难重症中医诊疗研究团队(2022A001); 国家中医药管理局高水平中医药重点学科建设项目—中医内科学(zyyzdxk-2023166); 广西研究生教育创新计划资助项目(YCSY2025050, YCBZ2024149, YCSY2025051, YCSY2025056)

Role of neutrophil extracellular traps in hepatocellular carcinoma

TIAN Xueru^{1a}, CHEN Weiyu^{1a}, YAN Luyi^{1a}, HONG Yang^{1a}, WANG Han^{2a}, LIU Shouqin^{1a}, QING Lei^{1a}, MA Guojuan^{1a}, MAO Dewen^{2b}, YAO Chun^{1b}

1. a. Graduate School, b. Guangxi University Engineering Research Center for Innovative Product Development of Regional Major Diseases, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530020, China; 2. a. Department of Internal Medicine, b. First Ward of Hepatology, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China

Corresponding author: YAO Chun, yaoc@gxtcmu.edu.cn (ORCID: 0000-0003-2903-8814)

Abstract: Hepatocellular carcinoma (HCC) is a malignant tumor with high incidence and mortality rates worldwide. Recent studies have shown that neutrophil extracellular traps (NETs) play an important role in the development, progression, and immune escape of HCC. NETs are released by neutrophils and mainly consist of DNA, histones, and antimicrobial molecules, and in addition to immune defense, they are also involved in the initiation, metastasis, and thrombosis of HCC. This article elaborates on the formation and regulatory mechanisms of NETs, explores their potential mechanisms in the initiation, metastasis, immune escape, and thrombosis of HCC, and discusses the prospect of NETs as a target for the diagnosis and treatment of HCC, in order to provide new ideas for the precise treatment of HCC in the future and promote the early diagnosis and effective treatment of HCC.

Key words: Carcinoma, Hepatocellular; Neutrophil Extratrapping; Pathologic Processes

Research funding: National Natural Science Foundation of China (U23A20521); Yao Chun Gui School of Traditional Chinese Medicine Masters Inheritance Workshop (GZY2024002); Guangxi Traditional Chinese Medicine Tongyang Dissipation Method Key Research Laboratory Project; Guangxi Multidisciplinary Interdisciplinary Cross-Innovation Team of Traditional Chinese

Medicine, Zhuang and Yao Medicines (GZKJ2301); Guangxi Traditional Chinese Medicine Diagnostics and Treatment of Difficult and Serious Diseases Research Team (2022A001); National Administration of Traditional Chinese Medicine High-level Traditional Chinese Medicine Key Discipline Construction Project-Traditional Chinese Medicine Internal Science (zyzdxk-2023166); Guangxi Postgraduate Education Innovation Programme Funding Project (YCSY2025050, YCBZ2024149, YCSY2025051, YCSY2025056)

原发性肝癌是全球癌症相关死亡的第3大原因,其中,肝细胞癌(HCC)是最常见的原发性肝癌类型,通常发生于慢性肝病和肝硬化背景下。HCC 5年生存率低于18%,且超过半数HCC患者在确诊时已失去根治性手术机会^[1-2]。尽管以索拉非尼为代表的靶向治疗和抗程序性死亡受体1(programmed cell death protein 1, PD-1)与细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic t-lymphocyte-associated antigen, CTLA-4)等免疫检查点抑制剂的应用显著改善了部分患者预后,但耐药性、复发性及肿瘤异质性仍是临床治疗中面临的重要挑战^[3]。因此,深入了解HCC的进展机制,发掘新的治疗靶点,是目前亟需解决的问题。

近年研究表明,NET(neutrophil extracellular trap, NET)作为中性粒细胞特异性释放的DNA-组蛋白-颗粒酶复合物,具有促进肿瘤血管生成、推动肿瘤增殖与转移及构建免疫抑制微环境以协助肿瘤免疫逃逸的作用^[4-5]。在肝脏病理领域,NET的作用谱系已拓展至酒精性肝病、门静脉血栓形成及HCC等疾病的发生和进展过程^[6]。随着对NET在HCC发生发展中作用机制研究的不断深入,干预NET的生成已成为潜在的治疗策略。目前,研究主要集中于两种干预方法:一是通过特异性药物抑制中性粒细胞的激活通路;二是通过降解NET的关键组分减少其促癌效应。本文从分子机制角度,系统探讨NET在HCC形成和转移过程中的作用网络,深入分析NET在肿瘤进展中的促癌机制,并评估NET作为治疗靶点的潜力,旨在为HCC的早期分子诊断和精准靶向治疗提供理论依据与创新方向。

1 NET的组成与形成机制

1.1 NET的组成 NET是一种不同于细胞坏死和细胞凋亡的死亡机制,以细胞核和线粒体来源的双链DNA为骨架,通过肽基精氨酸脱亚胺酶4(peptidylarginine deiminase 4, PAD4)介导的组蛋白瓜氨酸化修饰形成网状结构^[7]。NET表面富集多种功能蛋白:(1)颗粒蛋白如中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)、髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、蛋白酶3和组织蛋白酶G(gathepsin G, CG)发挥直接杀菌作用;(2)细胞质蛋白如钙卫蛋白和乳铁蛋白调控炎症反应;(3)抗菌肽(如防御

素、溶菌酶)、Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)和晚期糖基化终产物受体(receptor for advanced glycation end-product, RAGE)则协同增强先天免疫应答与病理损伤^[8]。

1.2 NET的形成机制 NET的形成主要通过烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶依赖和非依赖两条途径调控。在NADPH氧化酶依赖途径中,病原体或炎症因子激活中性粒细胞膜上的NADPH氧化酶复合体(NADPH oxidase complex, NOX),催化大量活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成^[9]。ROS通过氧化内质网诱导钙离子释放,激活PAD4,促使组蛋白H3瓜氨酸化,破坏染色质凝聚^[10]。同时,MPO和NE从颗粒中释放,协同降解细胞骨架并促进核膜破裂,最终导致修饰的染色质与抗菌蛋白共同释放形成NET^[11]。

非依赖NADPH氧化酶的途径则由钙离子载体或线粒体活性氧(mitochondrial ROS, mtROS)触发。该途径依赖消皮素D(Gasdermin D)的孔道形成功能:炎症小体激活的半胱天冬酶(Caspase)切割Gasdermin蛋白,其N端结构域在细胞膜上形成孔道,引起渗透性肿胀和离子失衡^[12]。同时,mtROS通过细胞外信号调节激酶/蛋白激酶B(xtracellular signal-regulated kinase/protein kinase B, ERK/Akt)通路激活PAD4,绕过NOX-ROS轴直接诱导组蛋白修饰^[13]。两条途径最终均可导致染色质解聚和NET释放,但前者以溶解性细胞死亡为特征,后者则与细胞焦亡存在交叉^[14]。

2 NET在HCC中的作用

2.1 NET驱动HCC起始的分子机制 肝疾病向HCC的进展通常遵循“脂肪变性—炎症—纤维化—癌变”的经典病理过程。但大量临床队列研究证实,20%~30%的非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steato hepatitis, NASH)患者可在未经明显肝硬化的情况下直接发展为HCC^[15]。这一现象表明,NASH相关HCC的发生可能存在特异致癌机制。深入研究发现,慢性炎症微环境在该转化过程中发挥核心作用^[16],其主要通过激活NF- κ B/STAT3信号通路,诱导基因组不稳定性,并促使IL-6、TNF- α 等促癌因子持续释放,从而使NASH患者发生HCC的风险显著升高^[17]。这一发现凸显了炎症驱动性癌变在NASH进展为HCC过

程中的重要地位。动物实验研究进一步佐证了上述机制, van der Windt 等^[18]利用新生儿期链脲佐菌素注射联合高脂饮食构建的 STAM 小鼠模型观察到, 肝脏早期即出现显著中性粒细胞浸润及 NET 形成, 进而诱导炎症细胞因子释放和单核源性巨噬细胞募集, 最终促进肿瘤恶化。此外, 鞘氨醇-1-磷酸受体 2 (sphingosine-1-phosphate receptor 2, S1PR2) 介导的信号通路在 NASH 早期可通过诱导 NET 形成加剧炎症反应, 并在 NASH 向 HCC 乃至转移的恶性转化中发挥关键调控作用^[19]。值得注意的是, 尽管肝细胞内的脂质沉积本身与 NET 形成无直接关联, 但 NET 可通过重塑局部炎症微环境及激活新型单核源性巨噬细胞亚群, 在 NASH 向 HCC 的演变中可能扮演“启动子”角色^[20], 进一步加深了对炎症-免疫机制在 NASH 相关 HCC 发生中的理解。

2.2 肝脏微环境对 NET 的调控 肝脏肿瘤微环境中的协同机制驱动了 NET 的异常活化, 进而导致免疫抑制微环境形成和肿瘤进展。肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophage, TAM) 与髓系来源抑制性细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC) 通过趋化因子与代谢的相互作用, 协同驱动免疫抑制过程。M2 型极化的 TAM 分泌 IL-8, 招募 MDSC 至肝脏, MDSC 通过分泌 IL-10 和 TGF- β , 抑制 CD8⁺T 细胞和自然杀伤细胞的毒性功能^[21]; 同时, MDSC 通过上调精氨酸酶 1 和吲哚胺 2, 3-双加氧酶的表达, 消耗肿瘤微环境中的精氨酸和色氨酸, 从而削弱 T 细胞的代谢活性^[22], 该免疫抑制过程与 NET 的异常激活密切相关。在酒精性肝病中, 肠道屏障损伤引发脂多糖通过 TLR4/ROS 信号通路, 诱导 NET 生成, 进而促进向 HCC 转化^[20]。而在非酒精性脂肪性肝炎 (nonalcoholic steatohepatitis, NASH) 中, 游离脂肪酸通过激活 P2X7 受体/NLRP3 炎症小体, 诱导 NET 释放, 进一步促进细胞因子释放, 加速肝细胞衰老和纤维化, 推动 HCC 的恶性转化^[23]。

NET 与 TAM/MDSC 之间形成正反馈调控轴: NET 中的高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1) 通过 TLR4/9 信号增强 TAM 的 M2 型极化, 而 TAM 分泌的纤维蛋白原样蛋白 2 (fibrinogen-like protein 2, FGL2) 通过激活 MCOLN3 依赖的自噬通路, 驱动 NET 过度生成^[24], 加剧免疫抑制微环境。NET 释放的 NE 与基质金属蛋白酶 9 (MMP-9) 可直接破坏肝窦内皮细胞, 促进 HCC 转移^[25]。需要注意的是, HBV 对 NET 的调控具有阶段性双向效应: 在急性感染期, HBV 通过抑制 ROS 和自噬减少 NET 释放, 帮助肿瘤逃避免疫清除^[26]; 而在慢性感染期, HBV 通过激

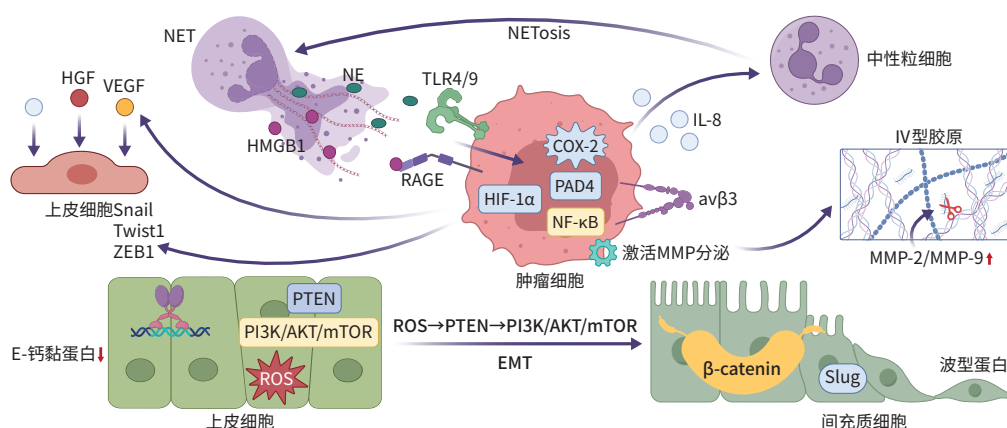
活 TAM 分泌的 TNF- α , 进而激活 ERK/p38 丝裂原活化蛋白激酶信号通路, 增强中性粒细胞对缺氧的敏感性, 推动 NET 介导的促炎微环境形成^[27], 促进 HCC 进展。这种炎症微环境的级联放大效应, 不仅通过血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF)/MMP-9 轴加速肿瘤血管新生, 还通过 MMP 介导的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 重塑, 为 HCC 的侵袭与转移提供结构性支持^[28]。

3 NET 驱动 HCC 免疫逃逸的机制

NET 通过多种机制驱动 HCC 免疫逃逸。首先, NET 通过激活促炎信号通路, 如 HBV 介导的 S100A9-TLR4/RAGE-ROS 级联反应, 增强肿瘤细胞的侵袭能力^[26]。HMGB1 通过 TLR4/9-环氧化酶 2 (cyclooxygenase 2, COX-2) 通路促进肿瘤细胞存活与转移, 并通过诱导上皮间充质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 激活 β -parvin-RAC1-CDC42 通路, 重塑肿瘤转移前微环境^[26, 29]。其次, NET 通过代谢重编程调控免疫细胞功能。NET 释放的氧化线粒体 DNA 通过 TLR4 诱导 CD4⁺T 细胞分化为调节 T 细胞, 抑制 CD8⁺T 细胞活性, 导致效应 T 细胞耗竭^[30]。此外, NET 通过 Notch2 信号上调肿瘤细胞表面 CD73, 促进腺苷生成抑制 T 细胞活性, 同时上调程序性死亡配体 1 (programmed death-ligand 1, PD-L1), 增强免疫检查点抑制效应^[31-32]。在肿瘤微环境重塑方面, NET 激活肝星状细胞 (hepatic stellate cell, HSC) 促进肝纤维化, 释放成纤维细胞生长因子 2 (fibroblast growth factor 2, FGF2) 驱动转移灶血管生成; 并通过 CCDC25 受体捕获循环肿瘤细胞, 形成 DNA-蛋白酶复合物屏障, 保护肿瘤细胞免受自然杀伤细胞攻击^[29]。值得注意的是, 肝硬化相关 ECM 可通过增强 NET 的形成, 削弱 PD-1 治疗应答。在治疗策略方面, 靶向 NET 关键酶如 PAD4 和 NE, 使用脱氧核糖核酸酶 I (deoxyribonuclease I, DNase I) 降解 NET 或联合免疫检查点抑制剂可恢复 T 细胞和自然杀伤细胞的活性。同时, 二甲双胍通过抑制 mtROS 的生成, 减少 NET 的释放, 为改善 HCC 的免疫治疗提供了新思路^[33-34]。这些研究系统揭示了 NET 作为 HCC 免疫逃逸核心驱动因素的复杂调控网络, 为开发靶向 NET 的联合免疫治疗方案奠定了理论基础。

4 NET 促进 HCC 转移的途径

NET 驱动 HCC 转移的分子机制复杂 (图 1)。首先, 在肿瘤侵袭转移方面, NET 可激活特定信号转导通路,



注: NETosis, 中性粒细胞胞外陷阱形成; HIF-1 α , 缺氧诱导因子 1 α ; α v β 3, 整合素 α v β 3; HGF, 肝细胞生长因子; Snail, Snail 家族转录因子; Twist1, 扭曲因子 1; ZEB1, 锌指 E 盒结合同源框蛋白 1; PTEN, 磷酸酶与张力蛋白同源物; PI3K, 磷脂酰肌醇 3-激酶; AKT, 蛋白激酶 B; mTOR, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; β -catenin, β -连环蛋白; Slug, Slug 转录因子。

图 1 NET 促进 HCC 转移机制图

Figure 1 Mechanism of neutrophil extracellular traps promoting metastasis in hepatocellular carcinoma

显著增强 HCC 细胞的侵袭能力。其次, NET 通过双重调控炎症因子网络和促血管生成因子微环境, 为肿瘤新生血管形成创造有利条件。最后, NET 通过诱导 EMT 进程, 不仅破坏细胞间黏附连接, 更系统性地提高肿瘤细胞的转移潜能; NET 还可通过分泌 MMP 加速 ECM 降解, 破坏正常组织结构屏障, 为肿瘤扩散构建分子通道。基于上述机制, 针对 NET 生成关键环节及其核心调控靶点的干预策略已成为抑制 HCC 转移的创新研究方向。

4.1 增强癌细胞的侵袭与迁移 最新研究表明, 原发性肿瘤通过分泌趋化因子如 CXC 亚族趋化因子配体 1 (C-X-C chemokine ligand 1, CXCL1) 和 CXCL8 等, 招募中性粒细胞到肝脏等器官, 诱导中性粒细胞释放 NET^[35]。在机制方面, 肿瘤相关中性粒细胞通过发生 NETosis 释放 NET, NET 组分中的 HMGB1 和 DNA 被肿瘤细胞内化后, 共同激活其胞内 TLR9 依赖性通路。TLR9 信号诱导肿瘤细胞自身 TLR4 受体表达上调, 随后, 由 NET 释放的 HMGB1 与上调的 TLR4 结合, 驱动 COX-2 的表达, 从而显著增强肿瘤细胞的存活和侵袭能力^[35-36]。此外, NET 组分 HMGB1 与肿瘤细胞的 RAGE 结合后, 触发 NF- κ B 信号通路的级联反应, 促进 IL-8 的分泌, 并形成“IL-8-中性粒细胞-NET”正反馈环路, 这一机制在结直肠癌肝转移模型中已得到证实^[36]。作为 NET 生成的关键调控分子, PAD4 在 HCC 及肝内胆管癌组织中表现出特异性高表达, PAD4 通过诱导自噬, 增强肿瘤细胞对化疗药物的耐药性, 而自噬抑制剂可有效逆转这一过程^[29,37]。这些发现不仅揭示了 NET 在肿瘤跨器官转移中的桥梁作用,

还为靶向 PAD4-NET 轴从而改善 HCC 治疗提供了新的研究思路。

4.2 促进 HCC 血管的生成 血管生成是肿瘤生长、侵袭和转移的关键因素。NET 作为新兴的免疫调节因子, 与多种类型肿瘤的血管生成密切相关; 在 HCC 中, 其通过多通路机制促进 HCC 的血管生成。COX-2 是肿瘤炎症性微环境的关键调控因子, 其表达受炎症因子及 NET 双重调节^[38]。研究发现, NET 通过 TLR2 信号激活 COX-2, 进而增强肿瘤转移潜能^[39]。COX-2 抑制剂可显著抑制 VEGF、HGF、FGF2、血管生成素 1/2 (angiopoietin 1/2, Ang-1/2) 等促血管生成因子分泌, 从而阻断血管新生^[40]。这一机制提示: 靶向 COX-2-NET 轴可成为抑制肿瘤血管生成的有效策略。HBV 感染可激活 S100A9-TLR4/RAGE-ROS 级联反应, 诱导 NET 释放并形成促血管生成微环境; NET 中的 HMGB1 通过与肿瘤细胞表面 RAGE 结合, 激活 NF- κ B 信号通路, 促进 VEGF 和 IL-8 表达, 进一步推动血管生成^[26,29]。在 NASH 向 HCC 转化过程中, NET 通过诱导 HSC 代谢重编程, 促进 MMP-9 和 TGF- β 的分泌, 加速肿瘤血管网络形成^[41]。此外, NET-DNA 通过 TLR9 激活 cGAS 通路, 促进 HIF-1 α 的核转位, 增强 VEGF 介导的血管生成^[42]。值得注意的是, PAD4 作为 NET 形成的关键调控酶, 在 HCC 中高表达, 通过诱导自噬增强肿瘤细胞对血管生成抑制剂的耐药性, 而靶向 PAD4 可有效逆转这一过程^[37,43]。

4.3 诱导 HCC 细胞 EMT EMT 是 HCC 侵袭和转移的核心机制, 其特征为上皮标志物 E-钙黏蛋白表达下调, 间充质标志物 N-钙黏蛋白、波形蛋白和纤维连接蛋白上调, 导致细胞极性丧失、细胞-细胞黏附性减弱, 显著增

强细胞的迁移与侵袭能力。近年来研究表明,NET通过多重分子机制驱动HCC细胞发生EMT,为肿瘤转移提供关键驱动力^[44]。

NET的核心成分HMGB1通过与HCC细胞表面TLR4结合,激活NF- κ B通路,诱导转录因子Snail、Twist1和ZEB1的表达,导致E-钙黏蛋白表达缺失和波形蛋白显著上升^[45]。Zhan等^[26]研究发现,NET的刺激可显著降低E-钙黏蛋白表达,增加波形蛋白表达,从而增强HCC细胞的侵袭性,同时上调MMP-2和MMP-9。此外,HCC细胞在NET包裹下表现出黏附性增强,DNase I处理可减少细胞黏附;30天的NET干预后,肺转移小鼠数量和转移集落明显增加,验证了NET在HCC转移中的作用。进一步研究表明,NET释放的NE和MMP-9通过降解IV型胶原等ECM组分,暴露整合素结合位点,激活黏着斑激酶/肉瘤病毒癌基因(focal adhesion kinase/sarcoma oncogene, FAK/SRC)复合体,从而诱导ZEB1依赖的EMT进程。在体外实验中,NET上清液处理显著促进HCC细胞迁移^[46]。值得特别关注的是,NET衍生的ROS通过氧化修饰肿瘤抑制蛋白PTEN,解除其对PI3K/AKT/mTOR通路的抑制作用,从而触发保护性自噬,降解E-钙黏蛋白/ β -catenin复合体,促进 β -catenin核转位并稳定Slug转录因子,最终增强EMT表型的可塑性。动物模型研究表明,NADPH氧化酶抑制剂Apocynin可显著减少转移灶^[47-48]。基于上述机制,靶向NET-EMT轴的联合治疗策略展现出潜在临床应用前景,为HCC的治疗提供新方向。

4.4 促进ECM降解 ECM由胶原蛋白、层粘连蛋白、纤连蛋白及蛋白聚糖等大分子构成,形成动态网络,在恶性肿瘤的发生发展中起着重要作用。EMT赋予癌细胞更强的肿瘤起始、转移能力,并使其对多种治疗方法产生耐药性。ECM降解是肿瘤侵袭和转移的关键步骤,主要经由MMP介导;MMP能特异性地切割IV型胶原,破坏基底膜结构,促进肿瘤细胞外渗^[49]。在HCC中,NET通过上调MMP-2和MMP-9表达,促进ECM降解并转移。一项HBV介导的研究显示,NET干预后,HepG2细胞迁移和侵袭能力增强,MMP-2、MMP-9上调,纤维蛋白下调,从而促进肿瘤微环境炎症及HCC转移^[26]。临床研究表明,MMP-9高表达与HCC患者术后复发风险显著增高密切相关^[50]。金属蛋白酶组织抑制剂通过拮抗MMP抑制ECM的过度降解,成为潜在的治疗靶点^[49]。此外,ECM降解产物通过整合素 α v β 3与肿瘤细胞相互作用,激活Rho相关卷曲螺旋激酶通路,诱导肌动蛋白骨架重组,进一步促进EMT。针对ECM降解的干预策略已获得初步临床成果,这些研

究为抑制HCC的浸润提供了多靶点治疗的新方向。

5 NET参与HCC相关性血栓形成

NET在血栓形成及肿瘤相关凝血异常中发挥关键作用,其机制涉及多维度分子网络调控。肝素作为肥大细胞释放的抗凝因子,其分子量差异性可显著调控纤维蛋白凝体的结构刚性与形变抗力。研究表明,低分子肝素(如P45和P100)可增强血凝块刚性,普通肝素和高分子肝素(如P700)则提高血凝块形变耐受性,伴随纤溶酶Kringle结构域介导的纤维蛋白溶解抑制^[51]。此外,低分子肝素可抑制NET形成和中性粒细胞自噬,显著降低细胞对HMGB1及佛波酯等炎症刺激的应答,提示其可能通过调控NET生成参与肿瘤微环境的重塑^[52]。肝素还可与多磷酸盐相互作用,通过电荷-体积效应调控纤维蛋白与组蛋白复合物的稳定性,其中分子量和电荷密度是关键调节参数^[34]。近年,针对NET促转移特性的干预研究取得进展。例如,负载抗肿瘤药物的纳米颗粒可通过抑制NET形成阻断肿瘤肝转移,并改善肿瘤内免疫抑制状态,具有潜在双重治疗价值^[53]。

在临床层面,中性粒细胞与血小板的相互作用在NET介导的弥散性血管内凝血中具有重要意义,尤其在HCC合并门静脉血栓或弥散性血管内凝血患者中^[29-30]。中性粒细胞通过丝氨酸蛋白酶激活凝血级联反应并诱导NET形成,而肝脏手术相关研究提示,NET与血小板微血栓共同导致术后微血管功能障碍,经DNase I降解NET可显著缓解^[31]。联合应用组织纤溶酶原激活剂与DNase I可协同增强溶栓效果,动物实验证实,该联合策略可预防心肌梗死及深静脉血栓的发生^[29,32]。在肝硬化患者中,CitH3及MPO-DNA复合物等NET标志物水平与抗凝血酶III活性呈显著负相关,提示NET通过消耗抗凝因子加重凝血失调^[31]。在HCC合并门静脉血栓患者血清中,NE-DNA水平较无血栓者显著升高;且病理分析显示,血栓内NET密度与血栓体积呈正相关^[51]。机制上,NET中的NE可特异性切割血栓调节蛋白,从而抑制蛋白C抗凝通路,导致凝血稳态失衡^[29]。尽管靶向NET的策略在抗凝及抗转移方面具有潜力,但其潜在副作用仍需关注。NET降解可能引发的继发性血栓或炎症风险,尤其在HCC背景下的治疗窗口与安全边界,有待进一步研究。需注意的是,重组人DNase I的二期临床试验在HCC相关血栓中展现初步疗效,为该方向的临床转化提供了支持依据^[53]。

6 NET作为HCC诊断与治疗靶点的潜力

6.1 NET及其相关成分在HCC诊断与预后评估中的潜力 研究表明,HCC患者外周血中游离DNA、MPO-DNA复合物以及CitH3水平显著升高,与肿瘤分期、血管浸润及不良预后密切相关^[26,29]。Zhan等^[26]研究证实,HBV感染通过激活S100A9-TLR4/RAGE-ROS信号轴诱导NET形成,促进HCC的生长与转移;该通路可作为预测HCC复发的独立标志物。此外,Yin等^[54]发现,HCC腹水中PD-L1阳性时,中性粒细胞释放的NET通过抑制CD8⁺T细胞的活性加速免疫逃逸,PD-L1和NET含量均与患者的总生存期呈显著负相关,提示其或可成为预后标志物。基于多组学分析,Xin等^[55]构建了基于NET相关基因的预后模型,可精准预测HCC患者的免疫治疗反应及生存结局,为个体化诊疗提供了新工具。这些研究表明,NET及其相关成分在HCC的临床诊断和预后评估中具有重要作用,具备成为新型生物标志物和免疫治疗靶点的潜力。

6.2 靶向NET策略在HCC治疗中的应用前景 NET的靶向治疗策略正从多维度推动HCC治疗革新。研究表明,PAD4抑制剂GSK484通过抑制CitH3的去精氨酸化作用,降低HCC微环境中NET的密度,同时阻断肿瘤细胞对NET的黏附,减少肿瘤转移。此外,NADPH氧化酶抑制剂Apocynin通过抑制ROS暴发减少NET的释放,与索拉非尼联合使用可显著延长荷瘤小鼠生存期。同时,靶向糖酵解关键酶通过代谢重编程抑制PAD4活性,可进一步降低ATP依赖性的NET生成效率^[37,48-49]。针对已形成的NET,DNase I通过切割DNA骨架破坏NET结构,显著抑制HCC细胞的侵袭能力。在小鼠模型中,肿瘤微环境响应性递送系统可减少65%的肺转移灶且无显著毒性。低分子肝素-AST/DOX纳米颗粒等肝素衍生物通过竞争性结合组蛋白H4,阻断NET的交联反应;联合化疗后可使原位肝癌体积缩小58%^[14]。在信号通路层面,抗HMGB1中和抗体BOX-A通过阻断HMGB1/RAGE互作,显著降低HCC术后复发风险。此外,MMP-9抑制剂Marimastat和NE抑制剂sivelestat分别通过抑制ECM降解与逆转整合素 β 1磷酸化,抑制EMT表型变化^[29,55]。靶向NET治疗与免疫疗法联合使用具有协同效应。例如,PD-1抑制剂联合DNase I治疗后,CD8⁺T细胞浸润密度和客观缓解率显著上升,血清IL-6水平下降。此外,CAR-T细胞疗法与NET降解治疗联合应用可解除TAN分泌的TGF- β 抑制作用,显著提高肿瘤清除

率^[10-12]。综上所述,上述策略通过抑制NET生成、破坏其结构、阻断促癌信号并重塑免疫微环境,为HCC的治疗构建了多层次干预体系;靶向NET为HCC的防治和联合用药策略提供了新思路。

7 小结与展望

NET不仅在杀灭病原微生物方面具有重要作用,还在HCC的发生、转移及血栓形成中扮演关键角色。NET通过促进肿瘤细胞转移、侵袭、诱导血管新生、驱动EMT及降解ECM等机制,为HCC进展构建有利微环境。尽管靶向NET相关通路(如PAD4、HMGB1或促炎信号轴)为抗癌治疗提供了新方向,但NET作为先天免疫防御的核心组分,其广泛抑制可能削弱机体抗感染能力,从而引发继发性血栓或炎症,增加机会性病原体侵袭风险。例如,靶向NET形成酶PAD4或清除NET的DNase I疗法,可能干扰中性粒细胞对细菌或真菌的捕获杀灭功能。因此,未来研究需聚焦选择性干预策略,例如,特异性靶向HCC相关NET的病理成分,或设计仅在肿瘤微环境中激活的NET抑制剂,从而在抑制促癌效应的同时,最大限度保留NET的免疫防御功能。此外,临床前研究需系统评估靶向NET疗法的感染风险与抗癌效能的平衡,为安全转化提供依据。时空特异性调控NET的双重功能,或将成为HCC治疗领域的重要突破点。

利益冲突声明: 本文不存在任何利益冲突。

作者贡献声明: 田雪如、陈玮钰负责撰写文章;颜璐怡、洪杨、王涵负责设计论文框架;刘守琴、青磊、马国娟参与论文修改;毛德文负责拟定写作思路;姚春指导文章撰写和修改。

参考文献:

- [1] LLOVET JM, PINYOL R, YARCHOAN M, et al. Adjuvant and neoadjuvant immunotherapies in hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(4): 294-311. DOI: 10.1038/s41571-024-00868-0.
- [2] VOGEL A, MEYER T, SAPISOCHIN G, et al. Hepatocellular carcinoma[J]. *Lancet*, 2022, 400(10360): 1345-1362. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)01200-4.
- [3] LUO XT, HE X, ZHANG XM, et al. Hepatocellular carcinoma: Signaling pathways, targeted therapy, and immunotherapy[J]. *MedComm*, 2024, 5(2): e474. DOI: 10.1002/mco2.474.
- [4] HERRE M, CEDERVALL J, MACKMAN N, et al. Neutrophil extracellular traps in the pathology of cancer and other inflammatory diseases[J]. *Physiol Rev*, 2023, 103(1): 277-312. DOI: 10.1152/physrev.00062.2021.
- [5] YANG SX, JIA JC, WANG FQ, et al. Targeting neutrophils: Mechanism and advances in cancer therapy[J]. *Clin Transl Med*, 2024, 14(3): e1599. DOI: 10.1002/ctm2.1599.
- [6] HILSCHER MB, SHAH VH. Neutrophil extracellular traps and liver disease[J]. *Semin Liver Dis*, 2020, 40(2): 171-179. DOI: 10.1055/s-0039-

- 3399562.
- [7] BRINKMANN V, REICHARD U, GOOSMANN C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria[J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1532-1535. DOI: 10.1126/science.1092385.
- [8] WANG YJ, DU CJ, ZHANG Y, et al. Composition and function of neutrophil extracellular traps[J]. *Biomolecules*, 2024, 14(4): 416. DOI: 10.3390/biom14040416.
- [9] PAPAYANNOPOULOS V, METZLER KD, HAKKIM A, et al. Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps[J]. *J Cell Biol*, 2010, 191(3): 677-691. DOI: 10.1083/jcb.201006052.
- [10] LI PX, LI M, LINDBERG MR, et al. PAD4 is essential for antibacterial innate immunity mediated by neutrophil extracellular traps[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(9): 1853-1862. DOI: 10.1084/jem.20100239.
- [11] METZLER KD, FUCHS TA, NAUSEEF WM, et al. Myeloperoxidase is required for neutrophil extracellular trap formation: Implications for innate immunity[J]. *Blood*, 2011, 117(3): 953-959. DOI: 10.1182/blood-2010-06-290171.
- [12] SOLLBERGER G, CHOIDAS A, BURN GL, et al. Gasdermin D plays a vital role in the generation of neutrophil extracellular traps[J]. *Sci Immunol*, 2018, 3(26): eaar6689. DOI: 10.1126/sciimmunol.aar6689.
- [13] KENNY EF, HERZIG A, KRÜGER R, et al. Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways[J]. *eLife*, 2017, 6: e24437. DOI: 10.7554/eLife.24437.
- [14] COOLS-LARTIGUE J, SPICER J, MCDONALD B, et al. Neutrophil extracellular traps sequester circulating tumor cells and promote metastasis[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(8): 3446-3458. DOI: 10.1172/JCI67484.
- [15] HUCKE F, EMMER H, EMMER R, et al. Changes in the epidemiology of hepatocellular carcinoma in Carinthia, Austria, 2012-2023[J]. *Cancers*, 2023, 15(21): 5215. DOI: 10.3390/cancers15215215.
- [16] YU SM, WANG JX, ZHENG HC, et al. Pathogenesis from inflammation to cancer in NASH-derived HCC[J]. *J Hepatocell Carcinoma*, 2022, 9: 855-867. DOI: 10.21147/JHC.S377768.
- [17] LLOVET JM, WILLOUGHBY CE, SINGAL AG, et al. Nonalcoholic steatohepatitis-related hepatocellular carcinoma: Pathogenesis and treatment[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2023, 20(8): 487-503. DOI: 10.1038/s41575-023-00754-7.
- [18] van der WINDT DJ, SUD V, ZHANG HJ, et al. Neutrophil extracellular traps promote inflammation and development of hepatocellular carcinoma in nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Hepatology*, 2018, 68(4): 1347-1360. DOI: 10.1002/hep.29914.
- [19] ZHAO XH, YANG L, CHANG N, et al. Neutrophils undergo switch of apoptosis to NETosis during murine fatty liver injury via S1P receptor 2 signaling[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(5): 379. DOI: 10.1038/s41419-020-2582-1.
- [20] LIU Y, ZHANG X, CHEN S, et al. Gut-derived lipopolysaccharide promotes alcoholic hepatosteatosis and subsequent hepatocellular carcinoma by stimulating neutrophil extracellular traps through toll-like receptor 4[J]. *Clin Mol Hepatol*, 2022, 28(3): 522-539. DOI: 10.3350/cmh.2022.0039.
- [21] CAO XT, LAN QS, XU HY, et al. Granulocyte-like myeloid-derived suppressor cells: The culprits of neutrophil extracellular traps formation in the pre-metastatic niche[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 143(Pt 3): 113500. DOI: 10.1016/j.intimp.2024.113500.
- [22] LASSER SA, OZBAY KURT FG, ARKHYPOV I, et al. Myeloid-derived suppressor cells in cancer and cancer therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2024, 21(2): 147-164. DOI: 10.1038/s41571-023-00846-y.
- [23] XU M, XU H, LING YW, et al. Neutrophil extracellular traps-triggered hepatocellular senescence exacerbates lipotoxicity in non-alcoholic steatohepatitis[J]. *J Adv Res*, 2025: S2090-S1232(25)00175-4. DOI: 10.1016/j.jare.2025.03.015.
- [24] LI XT, GAO Q, WU WH, et al. FGL2-MCOLN3-autophagy axis-triggered neutrophil extracellular traps exacerbate liver injury in fulminant viral hepatitis[J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2022, 14(5): 1077-1101. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2022.07.014.
- [25] HU SN, LIU XW, GAO Y, et al. Hepatitis B virus inhibits neutrophil extracellular trap release by modulating reactive oxygen species production and autophagy[J]. *J Immunol*, 2019, 202(3): 805-815. DOI: 10.4049/jimmunol.1800871.
- [26] ZHAN X, WU R, KONG XH, et al. Elevated neutrophil extracellular traps by HBV-mediated S100A9-TLR4/RAGE-ROS cascade facilitate the growth and metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Commun*, 2023, 43(2): 225-245. DOI: 10.1002/cac2.12388.
- [27] JIANG ZZ, PENG ZP, LIU XC, et al. Neutrophil extracellular traps induce tumor metastasis through dual effects on cancer and endothelial cells[J]. *Oncoimmunology*, 2022, 11(1): 2052418. DOI: 10.1080/2162402X.2022.2052418.
- [28] YANG C, WEI XQ, ZHENG J, et al. A correlative study between IVIM-DWI parameters and VEGF and MMPs expression in hepatocellular carcinoma[J]. *Quant Imaging Med Surg*, 2023, 13(3): 1887-1898. DOI: 10.21037/qims-22-271.
- [29] YANG LY, LUO Q, LU L, et al. Increased neutrophil extracellular traps promote metastasis potential of hepatocellular carcinoma via provoking tumorous inflammatory response[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 3. DOI: 10.1186/s13045-019-0836-0.
- [30] WANG H, ZHANG HJ, WANG Y, et al. Regulatory T-cell and neutrophil extracellular trap interaction contributes to carcinogenesis in non-alcoholic steatohepatitis[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(6): 1271-1283. DOI: 10.1016/j.jhep.2021.07.032.
- [31] YU Y, ZHANG CY, DONG BW, et al. Neutrophil extracellular traps promote immune escape in hepatocellular carcinoma by up-regulating CD73 through Notch2[J]. *Cancer Lett*, 2024, 598: 217098. DOI: 10.1016/j.canlet.2024.217098.
- [32] SHEN XT, XIE SZ, ZHENG X, et al. Cirrhotic-extracellular matrix attenuates aPD-1 treatment response by initiating immunosuppressive neutrophil extracellular traps formation in hepatocellular carcinoma[J]. *Exp Hematol Oncol*, 2024, 13(1): 20. DOI: 10.1186/s40164-024-00476-9.
- [33] CHENG YS, GONG YH, CHEN XX, et al. Injectable adhesive hemostatic gel with tumor acidity neutralizer and neutrophil extracellular traps lyase for enhancing adoptive NK cell therapy prevents post-resection recurrence of hepatocellular carcinoma[J]. *Biomaterials*, 2022, 284: 121506. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2022.121506.
- [34] YANG LY, SHEN XT, SUN HT, et al. Neutrophil extracellular traps in hepatocellular carcinoma are enriched in oxidized mitochondrial DNA which is highly pro-inflammatory and pro-metastatic[J]. *J Cancer*, 2022, 13(4): 1261-1271. DOI: 10.7150/jca.64170.
- [35] ZHONG WT, WANG QY, SHEN XF, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps in cancer: From lab to ward[J]. *Front Oncol*, 2023, 13: 1163802. DOI: 10.3389/fonc.2023.1163802.
- [36] ZHA CJ, MENG XQ, LI LL, 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. DOI: 10.20892/j.issn.2095-3941.2019.0353.
- [37] ZHU D, LU Y, WANG YM, et al. PAD4 and its inhibitors in cancer progression and prognosis[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(11): 2414. DOI: 10.3390/pharmaceutics14112414.
- [38] SCHNEIDER AH, MACHADO CC, VERAS FP, et al. Neutrophil extracellular traps mediate joint hyperalgesia induced by immune inflammation[J]. *Rheumatology*, 2021, 60(7): 3461-3473. DOI: 10.1093/rheumatology/keaa794.
- [39] ZHANG AG, ZOU XM, YANG SF, et al. Effect of NETs/COX-2 pathway on immune microenvironment and metastasis in gastric cancer[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1177604. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1177604.
- [40] ZHAO QT, YUE SQ, CUI Z, et al. Potential involvement of the cyclooxygenase-2 pathway in hepatocellular carcinoma-associated angiogenesis[J]. *Life Sci*, 2007, 80(5): 484-492. DOI: 10.1016/j.lfs.2006.09.038.
- [41] XIA YJ, WANG Y, XIONG Q, et al. Neutrophil extracellular traps promote MASH fibrosis by metabolic reprogramming of HSC[J]. *Hepatology*,

- 2025, 81(3): 947-961. DOI: 10.1097/HEP.0000000000000762.
- [42] LI N, ZHENG X, CHEN MR, et al. Deficient DNASE1L3 facilitates neutrophil extracellular traps-induced invasion via cyclic GMP-AMP synthase and the non-canonical NF- κ B pathway in diabetic hepatocellular carcinoma[J]. Clin Transl Immunology, 2022, 11(4): e1386. DOI: 10.1002/cti2.1386.
- [43] YANG Y, YU SY, LV C, et al. NETosis in tumour microenvironment of liver: From primary to metastatic hepatic carcinoma[J]. Ageing Res Rev, 2024, 97: 102297. DOI: 10.1016/j.arr.2024.102297.
- [44] MASUCCI MT, MINOPOLI M, del VECCHIO S, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps (NETs) in tumor progression and metastasis[J]. Front Immunol, 2020, 11: 1749. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01749.
- [45] WANG Y, LIU F, CHEN L, et al. Neutrophil extracellular traps (NETs) promote non-small cell lung cancer metastasis by suppressing lncRNA MIR503HG to activate the NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway[J]. Front Immunol, 2022, 13: 867516. DOI: 10.3389/fimmu.2022.867516.
- [46] ALBRENGUES J, SHIELDS MA, NG D, et al. Neutrophil extracellular traps produced during inflammation awaken dormant cancer cells in mice[J]. Science, 2018, 361(6409): eaao4227. DOI: 10.1126/science.aao4227.
- [47] LIU DH, YANG XY, WANG XY. Neutrophil extracellular traps promote gastric cancer cell metastasis via the NAT10-mediated N4-acetylcytidine modification of SMYD2[J]. Cell Signal, 2024, 116: 111014. DOI: 10.1016/j.cellsig.2023.111014.
- [48] HUANG H, TOHME S, AL-KHAFI AB, et al. Damage-associated molecular pattern-activated neutrophil extracellular trap exacerbates sterile inflammatory liver injury[J]. Hepatology, 2015, 62(2): 600-614. DOI: 10.1002/hep.27841.
- [49] SEN B, AGGARWAL S, NATH R, et al. Secretome of senescent hepatoma cells modulate immune cell fate by macrophage polarization and neutrophil extracellular traps formation[J]. Med Oncol, 2022, 39(9): 134. DOI: 10.1007/s12032-022-01732-w.
- [50] CHEN RX, CUI JF, XU CD, et al. The significance of MMP-9 over MMP-2 in HCC invasiveness and recurrence of hepatocellular carcinoma after curative resection[J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(Suppl 3): S375-S384. DOI: 10.1245/s10434-011-1836-7.
- [51] KOMOROWICZ E, BALÁZS N, TANKA-SALAMON A, et al. Biorelevant polyanions stabilize fibrin against mechanical and proteolytic decomposition: Effects of polymer size and electric charge[J]. J Mech Behav Biomed Mater, 2020, 102: 103459. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2019.103459.
- [52] LIU YY, PU XY, QIN XY, et al. Neutrophil extracellular traps regulate HMGB1 translocation and kupffer cell M1 polarization during acute liver transplantation rejection[J]. Front Immunol, 2022, 13: 823511. DOI: 10.3389/fimmu.2022.823511.
- [53] VÁRADY CBS, OLIVEIRA AC, MONTEIRO RQ, et al. Recombinant human DNase I for the treatment of cancer-associated thrombosis: A pre-clinical study[J]. Thromb Res, 2021, 203: 131-137. DOI: 10.1016/j.thromres.2021.04.028.
- [54] YIN YZ, DAI HJ, SUN XC, et al. HRG inhibits liver cancer lung metastasis by suppressing neutrophil extracellular trap formation[J]. Clin Transl Med, 2023, 13(6): e1283. DOI: 10.1002/ctm2.1283.
- [55] XIN HJ, LAI QW, ZHOU YC, et al. Noninvasive evaluation of neutrophil extracellular traps signature predicts clinical outcomes and immunotherapy response in hepatocellular carcinoma[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1134521. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1134521.

收稿日期: 2025-04-01; 录用日期: 2025-04-25

本文编辑: 刘晓红

引证本文: TIAN XR, CHEN WY, YAN LY, et al. Role of neutrophil extracellular traps in hepatocellular carcinoma[J]. J Clin Hepatol, 2025, 41(11): 2410-2417.

田雪如, 陈玮钰, 颜璐怡, 等. 中性粒细胞外陷阱在肝细胞癌中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2025, 41(11): 2410-2417.

·消息·

《临床肝胆病杂志》15 篇论文入选中国科协“2025 年度结构化论文双语传播工程”

近日, 中国科协发布“2025 年度科技期刊双语传播工程”入选名单, 《临床肝胆病杂志》15 篇论文入选“结构化论文双语传播工程”, 入选论文名单详见: <https://castsych.cbpt.cnki.net/#/periodical-detail?id=LCCGD>。

“科技期刊双语传播工程”是中国科协为贯彻落实国家关于提升中国科技期刊国际影响力的战略部署而实施的重要项目。本次双语传播工程旨在遴选国内顶尖科技期刊的优秀论文, 通过高质量的中英双语对照形式, 打破语言壁垒, 将中国学者的前沿科研成果更直接、更精准地推向国际学术舞台。

《临床肝胆病杂志》编辑部

2025 年 11 月 25 日