

细胞外组蛋白在异种移植中的作用研究进展

王崑 张宇 陈羽翔 马晓杰 李涛 蒋鸿涛

【摘要】 器官移植面临供体短缺难题，异种移植虽具潜力却受排斥反应制约。细胞外组蛋白作为损伤相关分子模式的核心成员，近年被证实通过激活天然免疫、调控凝血-炎症网络及适应性免疫应答，在移植排斥反应中发挥关键作用，但具体作用和关键机制还有待明确。因此，本文从组蛋白的结构特征、释放途径、细胞外组蛋白的生物学功能、以及其在异种移植潜在作用进行综述，总结细胞外组蛋白在异种移植中的最新研究进展，分析现有研究的不足和未来研究的方向，以期后续细胞外组蛋白在异种肾移植中的应用提供参考。

【关键词】 细胞外组蛋白；异种移植；器官移植；排斥反应；免疫细胞；损伤相关分子模式；中性粒细胞胞外诱捕网；NOD样受体蛋白3

【中图分类号】 R617, R392.11 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445(2025)06-0017-08

Research progress on the role of extracellular histones in xenotransplantation Wang Kun*, Zhang Yu, Chen Yuxiang, Ma Xiaojie, Li Tao, Jiang Hongtao. *Department of Renal Transplantation, the Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou 570100, China

Corresponding author: Jiang Hongtao, Email: jht20032003@163.com

【Abstract】 Organ transplantation faces the challenge of a shortage of donors. Although xenotransplantation holds great potential, it is limited by rejection. Extracellular histones, as key members of damage-associated molecular patterns, have been proven in recent years to play a crucial role in transplant rejection by activating innate immunity, regulating the coagulation-inflammation network, and modulating adaptive immune responses. However, the specific functions and key mechanisms remain to be clarified. Therefore, this article reviews the structural characteristics of histones, their release pathways, the biological functions of extracellular histones, and their potential roles in xenotransplantation. It summarizes the latest research progress of extracellular histones in xenotransplantation, analyzes the shortcomings of existing research and the direction for future research, with the expectation of providing references for the application of extracellular histones in xenogeneic kidney transplantation.

【Key words】 Extracellular histone; Xenotransplantation; Organ transplantation; Rejection; Immune cell; Damage-associated molecular pattern; Neutrophil extracellular trap; NOD-like receptor protein 3

器官移植作为终末期器官衰竭的核心治疗手段，始终面临着供者器官严重短缺的全球性难题^[1]。为突破这一瓶颈，异种移植因其潜在的器官来源优势，成为极具前景的解决方案^[2]。然而其临床应用面临双重挑战：既要克服急性体液性排斥反应和慢性移植物失

功等免疫障碍，还需应对因持续炎症引发的级联损伤问题^[3-5]。细胞外组蛋白是指原本存在于细胞核内与DNA结合形成染色质的组蛋白，通过细胞凋亡、坏死或主动分泌等方式释放到细胞外的形式。越来越多的研究发现，异种移植过程中大量释放的细胞外组蛋

DOI: 10.12464/j.issn.1674-7445.2025199

基金项目：国家重点研发计划（2024YFC3406800）；国家自然科学基金（82460153、82400891）；海南省卫生健康科技创新联合项目（WSJK2025MS163）；海南省优秀人才团队建设任务；海南省临床医学中心建设项目；海南省级博士研究生创新课题（Qhyb2023-179）
作者单位：570100 海口，海南医学院第二附属医院肾移植科（王崑、张宇、陈羽翔、李涛、蒋鸿涛），康复治疗科（马晓杰）
作者简介：王崑（ORCID 0009-0002-4347-1235），硕士研究生，研究方向为器官移植和移植免疫，Email: hnpwk2023@163.com
通信作者：蒋鸿涛（ORCID 0000-0001-9716-3233），主任医师，硕士研究生导师，研究方向为器官移植和移植免疫，Email: jht20032003@163.com

白可能成为关键突破口——这类原本维持细胞生理功能的重要调控因子^[6], 在移植创伤下转变为“炎症放大器”, 通过多重机制加剧组织损伤、凝血紊乱和免疫失调(图1)。更关键的一点是, 异种移植特有的持续炎症微环境会形成自我强化的恶性循环: 组织损伤释放组蛋白→组蛋白加重炎症反应→炎症进一步诱导组蛋白释放^[7]。这种双向作用机制使细胞外组蛋白成为改善异种移植预后的重要治疗靶点。本文将系统解析组蛋白分子结构、释放机制及在异种移植中潜在的作用通路, 希望为未来的研究提供思路。

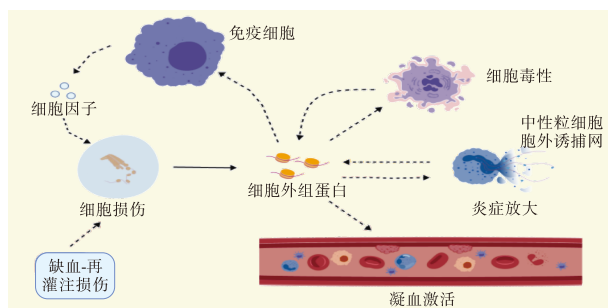


图1 细胞外组蛋白损伤机制

Figure 1 Mechanism of extracellular histone damage

1 细胞外组蛋白

1.1 组蛋白的结构特征

组蛋白作为真核生物染色质的关键结构组分, 以其高度保守的碱性阳离子特性维持着遗传信息的稳定包装。根据组蛋白结构特征与功能差异, 可分为两大类: (1) 核心组蛋白(H2A、H2B、H3、H4)构成核小体八聚体骨架; (2) 链接组蛋白(H1、H5)负责稳定高阶染色质结构^[8]。这些蛋白共享特征性的三维构象——其C端结构域包含三个 α -螺旋形成的中心折叠, 这一进化保守的结构基础确保了DNA-组蛋白相互作用的精确性。

在染色质组装过程中, 核心组蛋白通过形成八聚体核心颗粒, 与约147 bp的DNA片段共同构建核小体这一基本功能单元。除结构功能外, 组蛋白的翻译后修饰系统(涵盖乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化等化学修饰)构成了表观遗传调控的核心机制。其中, 有研究证明组蛋白乙酰化水平的动态平衡受到组蛋白脱乙酰酶与乙酰转移酶的共同调控: 组蛋白脱乙酰酶介导的脱乙酰化通过增强组蛋白-DNA静电吸引力, 导致染色质紧缩和基因沉默; 而组蛋白脱乙酰酶抑制剂可通过恢复乙酰化水平改善染色质可及性, 已被证实能有效缓解休克相关缺氧损伤及脓毒症肺损伤。

1.2 组蛋白的细胞外释放

核心组蛋白作为染色质稳态的核心调控因子, 主要定位于细胞核内行使表观遗传调控功能。尽管在细胞质膜区室或细胞外基质中可检测到其存在, 但非核定位组蛋白的生物学意义及调控网络仍有待系统解析。1.2.1 主动分泌途径的分子机制与功能关联 在主动分泌模式中, 存活细胞通过外泌体介导的途径实现组蛋白的定向释放。以脂多糖刺激的巨噬细胞为例, 巨噬细胞中激活的信号通路可诱导外泌体分泌, 其所释放的外泌体表面特异性附着有组蛋白分子^[9]。这一释放机制可能参与细胞间的信息传递, 但我们对于组蛋白在外泌体生物发生过程中的包装机制、靶向运输的分子基础及其信号传导功能的具体调控通路, 目前仍缺乏系统性阐释, 亟待深入的机制研究。

1.2.2 被动释放途径的细胞死亡依赖性特征 被动释放途径的发生则高度依赖于细胞死亡进程。在坏死性细胞死亡事件中(如心肌梗死病理状态下的组织损伤), 组蛋白作为损伤相关分子模式(damage-associated molecular pattern, DAMP)的重要组成部分, 与其他内源性危险信号分子协同从死亡细胞中被动释放^[10]。值得一提的是, 与坏死过程中组蛋白的非特异性释放不同, 细胞凋亡程序启动后, 核心组蛋白会经历翻译后修饰, 该修饰事件通过改变组蛋白-DNA相互作用的热力学稳定性, 促使组蛋白从染色质结构中解离并转位至细胞质基质。然而, 我们对于凋亡细胞中细胞质内组蛋白向细胞外空间的最终释放路径——无论是通过特定的膜转运系统、细胞凋亡小体的包裹分泌, 还是伴随细胞膜通透性改变的被动扩散——目前尚未形成一致性结论, 仍需开展深入探究。

1.2.3 细胞外陷阱介导的组蛋白释放途径 第三种组蛋白细胞外释放机制与中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular trap, NET)的生物发生过程存在紧密的功能关联。在先天免疫应答中, 中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞及肥大细胞等吞噬细胞谱系在感知微生物病原体(如白假丝酵母菌、金黄色葡萄球菌)或内源性损伤信号(如血小板黏附、促炎细胞因子刺激)时, 会启动保守的NET生成程序。

NET分子机制呈现多步骤协同特征: (1) 细胞内信号转导网络的激活触发活性氧簇的爆发性生成, 这一氧化应激事件为后续染色质解聚奠定基础; (2) 中性粒细胞弹性蛋白酶与髓过氧化物酶通过核膜孔道向细胞核区域易位, 二者通过酶解作用切割组蛋白核心结构域, 破坏核小体的稳定性; (3) 肽酰

基精氨酸脱亚胺酶 4 (peptidyl arginine deiminase 4, PAD4) 介导的组蛋白瓜氨酸化修饰, 通过去除精氨酸残基的正电荷, 削弱组蛋白与 DNA 之间的静电相互作用, 协同促进染色质纤维的解聚松弛。

在上述分子事件的共同作用下, 解聚的染色质与组蛋白复合物通过细胞膜透化效应排出细胞外, 形成包含 DNA-组蛋白-抗菌肽的网状陷阱结构。还有研究证实炎症小体激活后诱导的 gasdermin D 孔道形成, 可通过增强细胞膜通透性显著加速这一释放进程^[11]。

除经典的中性粒细胞外, 近年研究证明了嗜酸性粒细胞、巨噬细胞、肥大细胞等先天免疫细胞也可通过类似的细胞外陷阱形成机制释放组蛋白^[8]。最新研究进一步拓展了该途径的细胞生物学范畴, 发现巨核细胞内的核外组蛋白可通过细胞间接触依赖的方式转移至血小板, 使其成为脓毒症等过度炎症状态下循环系统中细胞外组蛋白的潜在来源^[12]。这一发现为 NET 途径在系统性炎症疾病中的病理作用提供了新的细胞生物学视角。

2 细胞外组蛋白的生物学作用

在细胞死亡的病理生理学框架中, 核组蛋白的细胞外释放不仅发生于非程序性细胞死亡 (如继发性坏死) 过程中——此时任何有核细胞均可通过细胞膜完整性破坏导致组蛋白被动外化——尤其在炎症微环境中, 中性粒细胞 (作为人类循环系统中丰度最高的白细胞群体) 会启动一种独特的调节性细胞死亡程序: 中性粒细胞胞外陷阱形成 (NETosis)。

在 NETosis 过程中生成的 NET 内, 组蛋白构成其蛋白质组分的主要成分, 占比高达 70%。作为 DAMP 的典型代表, 组蛋白通过上述任一释放机制 (被动性坏死释放或主动性 NETosis 释放) 进入细胞外空间后, 均可触发复杂的病理生理学级联反应。但其核心致病效应可概括为具有协同作用的致病性三联征: 即通过直接损伤细胞膜诱导细胞毒性、激活模式识别受体介导免疫刺激效应, 以及调控凝血因子活性促进血栓形成倾向。

2.1 直接损伤细胞膜诱导细胞毒性

组蛋白作为细胞穿透肽家族的重要成员, 其抗菌活性主要通过原核生物细胞膜上形成孔道实现。然而, 由于细胞外组蛋白的靶标特异性有限, 其在发挥抗菌效应的同时, 亦可对宿主细胞产生攻击作用。在一项研究中, 碘化丙啶摄取实验证实组蛋白混合物可快速诱导细胞死亡, 并且具有显著的亚型特异性——组

蛋白 H3 和 H4 表现出细胞毒性, 而 H1、H2A 和 H2B 则无此作用。

从机制上讲, 细胞外组蛋白的强阳离子特性源于其 N 末端富集的赖氨酸和精氨酸残基。这种电荷分布使其能够通过静电相互作用特异性结合阴离子磷脂 (如心磷脂、磷脂酰丝氨酸), 但对两性离子磷脂 (如磷脂酰胆碱) 无亲和力。研究证实, 组蛋白 H4 可直接诱导脂质双层发生弯曲; 当脂质混合物中加入胆固醇时, H4 对脂质双层的弯曲能力显著增强, 且可在含胆固醇的悬浮脂质双层中诱导孔道形成^[13]。根据 Nunes 等^[14] 的研究, 在心血管疾病危险因素如高血糖、血脂异常存在的病理生理学背景下, 血管内皮细胞质膜的胆固醇水平会发生动态变化, 这提示我们细胞外组蛋白驱动细胞死亡可能通过增强膜损伤效应, 加速心血管风险人群的疾病进展。事实上, 组蛋白 H4 诱导的快速细胞死亡已在内皮细胞、平滑肌细胞、巨噬细胞、血小板和肝细胞等多种宿主细胞中证实^[15], 这些数据表明细胞外组蛋白在组织损伤中的核心致病作用。

在天然环境中, 组蛋白亚型易通过复杂相互作用形成高阶低聚物, 并与阴离子化合物结合。Medeiros 等^[16] 证明 DNA 作为组蛋白的内源性伴侣分子, 通过形成 DNA-组蛋白复合物, 可有效抑制组蛋白的抗菌活性和细胞毒性。但有研究证实, DNase 介导的 DNA 降解可使组蛋白毒性得以恢复, 这是由于 DNase 在血浆和器官中广泛存在。因此, 我们需要深入研究细胞外环境中 DNA-组蛋白复合物的动态平衡机制, 这对于阐明膜通透诱导细胞毒性病理过程中组蛋白的生物学效应具有重要科学意义。

2.2 激活模式识别受体介导免疫刺激效应

尽管高浓度细胞外组蛋白具有广泛的细胞毒性效应, 但其在亚毒性浓度下可通过模式识别受体介导的信号通路, 诱导趋化因子和细胞因子的生成与释放。具体来说, 人体血液暴露于细胞外组蛋白后, 可触发白细胞介素 (interleukin, IL) (如 IL-1 β 、IL-6)、趋化因子 (如 CC 趋化因子 2、CC 趋化因子 4、CXC 趋化因子配体 8) 及生长因子 (粒细胞集落刺激因子、碱性成纤维细胞生长因子) 的级联反应, 并诱导脓症患者单核细胞的形态学改变^[17]。动物实验也显示小牛胸腺组蛋白皮下注射可通过 Toll 样受体 (Toll-like receptor, TLR) 4 依赖性机制诱导小鼠气囊模型中的白细胞浸润和趋化因子表达, 这揭示了 TLR4 在细胞外组蛋白介导炎症反应中的核心作用。

在不同的器官损伤模型中, 细胞外组蛋白的促炎效应呈现不同的特异性。比如, 一项急性肺损伤模型中, 细胞外组蛋白 H3 和 H4 通过 TLR4 依赖性通路介导内皮细胞活化, 而 H1、H2A 或 H2B 无此效应^[18]; 另一项急性肾损伤模型中, 死亡细胞释放的组蛋白则通过 TLR2/TLR4 双重受体激活局部炎症反应。最新研究突破了“组蛋白单独作用”的传统假设, 发现组蛋白 H3 与 DNA 形成的复合物具有协同促炎效应——组蛋白直接结合 TLR4, 而 DNA 则促进 TLR4 向内体的募集, 从而增强单核细胞的炎症信号传导^[19]。这一发现提示, 细胞外环境中组蛋白与核酸的相互作用可能构成新的炎症调控节点。

翻译后修饰如瓜氨酸化、泛素化等, 通过改变组蛋白的分子构象, 显著影响其与配体的结合特性^[20-21]。这些修饰在调节组蛋白反应性及潜在治疗靶点开发中具有重要意义, 需纳入炎症调控机制的系统性研究。在适应性免疫领域, 最新证据表明, NET 释放的组蛋白可特异性激活辅助性 T 细胞 17 型 (T helper 17 cell, Th17) 表面的 TLR2, 促进其分化、募集及功能活化^[22-23], 这揭示了细胞外组蛋白在连接天然免疫与适应性免疫中的桥梁作用。

NOD 样受体蛋白 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 炎症小体作为胞内重要的炎症信号枢纽, 在细胞外组蛋白介导的损伤反应中扮演关键角色。早期研究证实, 肝脏和肾脏受损时, 细胞外组蛋白可触发 NLRP3 复合物的组装与寡聚化, 启动 IL-1 β 和 IL-18 的生成与释放。在内皮细胞中, 细胞外组蛋白通过 NLRP3 依赖性通路诱导焦亡, 进一步加剧血管内皮损伤。临床相关性研究显示, 重症脓毒症患者血浆组蛋白水平与内皮活化标志物呈显著正相关^[24], 为组蛋白作为炎症损伤生物标志物的临床应用提供了实证依据。

2.3 调控凝血因子活性促进血栓形成倾向

有研究证实静脉内使用组蛋白可诱发小鼠弥散性血管内凝血 (disseminated intravascular coagulation, DIC), 高剂量时可导致死亡。这种由 DAMP 驱动的凝血过程, 将炎症反应与凝血功能障碍动态耦联。其核心致病机制呈现多通路的协同特征:

2.3.1 替代凝血酶原酶复合物的组蛋白依赖性组装

近期研究揭示, 细胞外组蛋白介导的急性凝血反应主要依赖一种新型凝血激活机制: 组蛋白 H3 和 H4 通过直接结合凝血因子 Xa, 驱动替代凝血酶原酶复合物的非经典组装, 从而显著提升凝血酶生成效率^[25]。

这种酶复合物的异常活化打破了凝血-抗凝系统的动态平衡, 成为免疫血栓形成的初始触发事件。

2.3.2 组织因子表达的转录激活效应 先前研究证明组蛋白 H3 和 H4 可通过转录调控机制, 强烈诱导内皮细胞和循环单核细胞中组织因子的表达。组织因子作为凝血级联的关键启动因子, 其异常高表达可通过外源性凝血途径加速纤维蛋白生成, 构成凝血反应的细胞传播核心环节。上述两种机制虽然足以启动凝血功能, 但其向全身性血栓的形成进程仍需凝血反应的扩增机制参与。

2.3.3 血小板活化介导的凝血瀑布式扩增 组蛋白通过多重机制诱导血小板功能亢进, 首先, 直接诱导血小板表面受体激活与钙内流, 触发脱颗粒和聚集反应; 进而为凝血酶生成提供磷脂酰丝氨酸暴露的活化表面, 促进凝血信号的级联放大^[26]。Giglio 等^[27] 研究证明小鼠体内亚致死剂量组蛋白输注可导致血小板快速消耗, 这一现象与血小板过度活化后的聚集性清除密切相关, 可能为临床危重症患者血小板减少症的发生机制提供解释。体外研究进一步证实, 组蛋白 H4 可特异性结合人血小板膜表面结构, 诱导膜气球状体形成并触发即时活化反应^[28], 而血小板聚集体作为组蛋白诱导血栓的主要成分, 直接证明了细胞外组蛋白在凝血过程中的重要性。

总的看来, 细胞外组蛋白通过“酶复合物活化-组织因子诱导-血小板功能亢进”的三重机制轴, 构建了从局部凝血异常到全身性血栓形成的完整病理链条。这种多维度的凝血调控网络不仅揭示了细胞外组蛋白在感染性休克、创伤等疾病中诱发 DIC 的分子基础, 也为开发靶向细胞外组蛋白-血小板相互作用或凝血酶原酶复合物的新型抗凝策略提供了理论依据。

3 细胞外组蛋白在异种移植中的潜在作用

3.1 细胞外组蛋白与排斥反应

细胞外组蛋白通过多重机制参与排斥反应并在异种移植中发挥潜在致病作用。第一, 细胞外组蛋白可激活 TLR2 和 TLR4, 通过 MyD88 依赖性途径释放 IL-6、肿瘤坏死因子- α 等促炎细胞因子, 同时激活血小板, 驱动急性器官损伤中的免疫反应^[29]。第二, 促炎细胞因子进而刺激中性粒细胞凋亡, 形成 NET, 增加组蛋白释放并加剧炎症, 形成“炎症-组蛋白释放”正反馈循环^[30]。此外, 组蛋白可直接诱导内皮细胞表达组织因子, 促进凝血系统激活, 与先天性免疫

反应形成交互作用^[31]。在异种移植场景中,受体的全身炎症反应先于凝血功能障碍并持续数周,细胞外组蛋白通过促进炎症反应加速移植物失败。有临床研究显示,全身炎症反应综合征、急性呼吸窘迫综合征、慢加急性肝衰竭等患者的细胞外组蛋白水平显著升高,且与病情严重程度及不良预后相关,我们先前的研究基础证明使用托珠单抗可抑制由 IL-6 介导的炎症级联反应,并观察到循环组蛋白水平的显著下降,提示靶向关键炎症因子可有效阻断“炎症-组蛋白”的恶性循环^[32]。综上所述,细胞外组蛋白通过驱动炎症级联反应、激活凝血系统及促进 NET 形成,在异种移植的排斥反应、组织损伤及移植物长期生存中可能发挥关键致病作用。

3.2 细胞外组蛋白调控免疫细胞

近年来,众多研究聚焦于细胞外组蛋白对免疫细胞功能的调控作用,及其在异种移植排斥反应中的潜在影响。相关研究从多维度揭示了其复杂机制,在巨噬细胞调控方面,不同研究呈现出双向作用。Cheng 等^[33]发现,细胞外组蛋白能激活钾离子通道蛋白 TWIK2,促使 K⁺大量外流,进而激活 NLRP3 炎症小体,最终导致巨噬细胞释放炎症因子;而倪淑媛等^[34]研究则表明,细胞外组蛋白会以剂量和时间依赖的方式,诱导 M2 型巨噬细胞死亡,抑制抗炎型巨噬细胞功能,加剧免疫失衡,这看似矛盾的现象,可能与巨噬细胞所处的微环境,细胞外组蛋白的亚型、作用剂量和时间以及激活的分子通路不同相关。从 T 细胞角度来看, H3K27me3 和 H3K9ac 等组蛋白修饰扮演着关键角色。例如, EZH2 和 JMJD3 分别通过上调或下调 H3K27me3,实现对 T 细胞效应功能和记忆功能的调节^[35-36]。在中性粒细胞层面,细胞外组蛋白(尤其是 H3 和 H4)可直接激活中性粒细胞,诱导其释放 NET,并通过非依赖还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶的途径促进 NETosis 过程^[37]。而 NET 中的组蛋白又能通过 TLR2 依赖性途径,激活 STAT3 和转录因子 ROR γ t,推动原始 CD4⁺ T 细胞向 Th17 分化^[38]。此外,细胞外组蛋白作为 DAMP,还可通过 TLR2/TLR4 等受体激活 NLRP3 炎症小体,促进 Caspase-1 依赖的 IL-1 β 和 IL-18 释放,招募更多中性粒细胞,进一步加剧炎症反应^[39]。同时,中性粒细胞释放 NET 过程中产生的 B 细胞活化因子和增殖诱导配体(部分受组蛋白调控),能够促进 B 细胞存活及抗体产生,从而建立起先天免疫与适应性免疫之间的联系^[38]。这些发现为深入理解细胞外组蛋白在免疫

调控及异种移植排斥反应中的作用,提供了丰富且立体的视角。

3.3 细胞外组蛋白与凝血功能障碍

异种移植物内皮细胞活化后,补体沉积及先天免疫细胞激活可诱导组织因子表达上调,而细胞外组蛋白通过以下途径协同促进血栓性微血管病和 DIC。细胞外组蛋白介导血小板依赖性凝血激活:组蛋白通过结合血小板表面 TLR2/4 受体,诱导血小板聚集和脱颗粒^[40],进而释放血管性血友病因子并启动 NET,由此形成“组蛋白-NET-血小板”正反馈环路。例如,体外研究显示组蛋白可剂量依赖性诱导人血小板聚集^[41],并且在猪-狒狒异种移植模型中,组蛋白水平升高与消耗性凝血病显著相关^[42]。细胞外组蛋白介导内皮细胞促凝表型转换:组蛋白通过核因子- κ B 和 AP-1 信号通路,诱导猪内皮细胞表面组织因子和 E-选择素表达,同时抑制血栓调节蛋白等抗凝分子功能,从而破坏凝血-抗凝平衡^[43-44]。此外,人血与猪内皮细胞共孵育实验证实,组蛋白-DNA 复合物可直接促进组织因子表达和血栓生成。最后,细胞外组蛋白介导凝血酶生成的多重放大:组蛋白通过增强组织因子依赖性外源性凝血途径、激活 FX II 内源性途径,以及降低抗凝血酶 III 活性,显著提升凝血酶生成潜力^[45-46]。尽管在 α 1,3-半乳糖基转移酶敲除猪中,额外表达人凝血调节蛋白(如血栓调节蛋白、内皮蛋白 C 受体)可部分逆转凝血功能障碍,但细胞外组蛋白介导的凝血激活仍是异种移植物失败的关键因素^[47]。

3.4 细胞外组蛋白与缺血-再灌注损伤

缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, IRI)可导致移植器官血管损伤、慢性缺氧及纤维化,而细胞外组蛋白又通过模式识别受体通路加剧了 IRI 进程。以肝脏 IRI 为例,组蛋白通过 TLR9 激活肝脏内免疫反应,进而诱导肝脏内枯否细胞释放促炎因子,同时通过 NLRP3 炎症小体介导肝细胞焦亡,而有研究证明中和组蛋白或抑制 PAD4 可显著减轻肝损伤^[48-50]。另外,在肾、肺、脑等器官 IRI 模型中,细胞外组蛋白水平均显著升高,它们通过促进 NET 释放,导致肾小管坏死、肺微血管血栓及神经炎症。而且有研究表明围手术期使用抗 DAMP 抗体可改善肾脏 IRI 预后,提示组蛋白作为 DAMP 的核心成员参与 IRI 病理^[48]。器官移植后围手术期功能障碍与组蛋白介导的 IRI 密切相关^[41],同种异体移植受者的移植物灌洗液中组蛋白水平显著升高,这进一步证实细胞外组蛋白是移植物功能延迟及排斥

反应的危险因素。综上, 细胞外组蛋白通过激活 TLR/NLRP3 通路、促进 NET 形成及放大炎症-凝血级联反应, 可能成为异种移植中 IRI 相关移植物损伤的关键驱动因素。

综上所述, 在异种移植中 IRI 导致组蛋白大量释放到细胞外, 通过调控免疫细胞功能、参与排斥反应并促进凝血功能障碍等机制引起移植物的损伤。

4 小 结

当前, 细胞外组蛋白在异种移植领域的病理机制研究已成为热点方向。这类 DAMP 通过主动分泌(外泌体介导)、被动释放(细胞坏死或凋亡)及 NET 形成等多重途径进入移植物微环境, 通过“内皮细胞损伤-凝血级联激活-炎症网络放大-适应性免疫应答”的多维病理轴驱动异种移植排斥反应, 显著影响移植物存活。

在机制研究中, 猪-猴异种肾移植模型显示, 围手术期应用 IL-6 受体阻断剂托珠单抗可显著降低循环组蛋白水平, 提示靶向组蛋白-细胞因子轴的治疗策略对改善移植物损伤具有潜在价值。

然而当前研究仍面临关键挑战, 异种移植中靶向组蛋白的中和策略: 如抗组蛋白抗体、肝素、活化蛋白 C 可通过中和或分解 NET 有毒成分发挥作用, 可能有出血等不良反应; 抑制释放策略: 如 PAD4 抑制剂能从源头阻断 NET 生成, 但临床转化尚早且需关注安全性; 阻断受体策略: 如 TLR 拮抗剂可精准干预炎症通路, 却存在药物受体多样性等局限。三种策略各有侧重, 未来可能需联合应用。细胞外组蛋白作为动态监测生物标志物有一定的临床价值, 但面临着组蛋白半衰期短、易于形成复合物、检测标准化困难等问题, 未来需要开发组蛋白-DNA 复合物或特定的组蛋白修饰检测手段。此外, 组蛋白亚型(如 H3/H4)的跨物种免疫原性差异及与宿主模式识别受体(如 TLR2/4)的相互作用机制仍亟待解析。未来需通过多中心临床队列研究证明细胞外组蛋白水平的预后评估价值, 并结合基因修饰猪模型阐明其跨物种排斥反应的分子基础。但无论如何, 我们相信随着对机制研究的深入和技术的创新, 细胞外组蛋白有望成为突破异种移植免疫屏障的核心靶点, 加速其临床转化进程。

参考文献:

- [1] 中华医学会器官移植学分会, 中国医师协会器官移植医师分会. 中国活体肝移植供者微创手术技术指南

(2024 版)[J]. 中华消化外科杂志, 2024(4): 479-491. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20240227-00132.

Branch of Organ Transplant of China Medical Association, Branch of Organ Transplant Physicians of Chinese Medical Doctor Association. Chinese guidelines for minimally invasive surgical technique in living donor liver transplantation(2024 edition)[J]. Chin J Dig Surg, 2024(4): 479-491. DOI: 10.3760/cma.j.cn115610-20240227-00132.

- [2] HORTON R. Offline: xenotransplantation-a new era beckons[J]. Lancet, 2024, 404(10459): 1181. DOI: 10.1016/S0140-6736(24)02130-5.
- [3] MORIMOTO K, YAMANAKA S, YOKOO T. Recent progress in xenotransplantation and its application to pediatric kidney disease[J]. Pediatr Nephrol, 2025. DOI: 10.1007/s00467-025-06664-x.
- [4] 谢炎, 王迪, 蒋文涛. 异种肝脏移植的研究及其应用进展[J]. 中华肝脏病杂志, 2025, 33(4): 388-394. DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20240528-00270.
- XIE Y, WANG D, JIANG W T. Research and application progress for liver xenotransplantation[J]. Chin J Hepatol, 2025, 33(4): 388-394. DOI: 10.3760/cma.j.cn501113-20240528-00270.
- [5] 江行配, 田海, 孙露, 等. 异种心脏移植的研究进展[J]. 器官移植, 2019, 10(5): 599-602. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.05.022.
- JIANG X P, TIAN H, SUN L, et al. Research progress on cardiac xenotransplantation[J]. Organ Transplant, 2019, 10(5): 599-602. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.05.022.
- [6] 闫昊一, 张宏权. 组蛋白酰基化修饰作用及其相关技术进展[J]. 中国科学(生命科学), 2023, 53(11): 1613-1625. DOI: 10.1360/SSV-2023-0226.
- YAN H Y, ZHANG H Q. Role of histone acylation and related technical developments[J]. Sci Sin Vitae, 2023, 53(11): 1613-1625. DOI: 10.1360/SSV-2023-0226.
- [7] 孙梦, 江雪梅, 金杨, 等. 肺移植术后患者细胞外组蛋白水平变化及意义[J]. 同济大学学报(医学版), 2019, 40(3): 361-364. DOI: 10.16118/j.1008-0392.2019.03.018.
- SUN M, JIANG X M, JIN Y, et al. Changes of plasma extracellular histone level following lung transplantation and its clinical significance[J]. J Tongji Univ (Med Sci), 2019, 40(3): 361-364. DOI: 10.16118/j.1008-0392.2019.03.018.
- [8] DANIEL C, LEPPKES M, MUÑOZ L E, et al. Extracellular DNA traps in inflammation, injury and healing[J]. Nat Rev Nephrol, 2019, 15(9): 559-575. DOI: 10.1038/s41581-019-0163-2.
- [9] NAIR R R, MAZZA D, BRAMBILLA F, et al. LPS-challenged macrophages release microvesicles coated with histones[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1463. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01463.
- [10] MURAO A, AZIZ M, WANG H, et al. Release mechanisms of major DAMPs[J]. Apoptosis, 2021, 26(3/4): 152-162. DOI: 10.1007/s10495-021-01663-3.
- [11] DU G, HEALY L B, DAVID L, et al. ROS-dependent S-palmitoylation activates cleaved and intact gasdermin D[J]. Nature, 2024, 630(8016): 437-446. DOI: 10.1038/s41586-024-07373-5.

- [12] FRYDMAN G H, TESSIER S N, WONG K H K, et al. Megakaryocytes contain extranuclear histones and may be a source of platelet-associated histones during sepsis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 4621. DOI: 10.1038/s41598-020-61309-3.
- [13] SILVESTRE-ROIG C, BRASTER Q, WICHAPONG K, et al. Externalized histone H4 orchestrates chronic inflammation by inducing lytic cell death[J]. *Nature*, 2019, 569(7755): 236-240. DOI: 10.1038/s41586-019-1167-6.
- [14] NUNES J M, PRETORIUS E. Red blood cell membrane cholesterol in type 2 diabetes mellitus[J]. *Thromb Res*, 2019, 178: 91-98. DOI: 10.1016/j.thromres.2019.04.005.
- [15] ZHU Y P, SPEIR M, TAN Z, et al. NET formation is a default epigenetic program controlled by PAD4 in apoptotic neutrophils[J]. *Sci Adv*, 2023, 9(51): eadj1397. DOI: 10.1126/sciadv.adj1397.
- [16] MEDEIROS S K, SHARMA N, DWIVEDI D, et al. Investigation of the pathological effects of histones, dna, and nucleosomes in a murine model of sepsis[J]. *Shock*, 2023, 60(2): 291-297. DOI: 10.1097/SHK.0000000000002165.
- [17] LIGI D, SASSO B L, DELLA FRANCA C, et al. Monocyte distribution width alterations and cytokine storm are modulated by circulating histones[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2023, 61(8): 1525-1535. DOI: 10.1515/cclm-2023-0093.
- [18] RAMASUBRAMANIAN B, KIM J, KE Y, et al. Mechanisms of pulmonary endothelial permeability and inflammation caused by extracellular histone subunits H3 and H4[J]. *FASEB J*, 2022, 36(9): e22470. DOI: 10.1096/fj.202200303RR.
- [19] TSOUROUKTSOGLOU T D, WARNATSCH A, IOANNOU M, et al. Histones, DNA, and citrullination promote neutrophil extracellular trap inflammation by regulating the localization and activation of TLR4[J]. *Cell Rep*, 2020, 31(5): 107602. DOI: 10.1016/j.celrep.2020.107602.
- [20] YAO W, HU X, WANG X. Crossing epigenetic frontiers: the intersection of novel histone modifications and diseases[J]. *Sig Transduct Target Ther*, 2024, 9: 232. DOI: 10.1038/s41392-024-01918-w.
- [21] ZHANG H, WANG Y, QU M, et al. Neutrophil, neutrophil extracellular traps and endothelial cell dysfunction in sepsis[J]. *Clin Transl Med*, 2023, 13(1): e1170. DOI: 10.1002/ctm2.1170.
- [22] WILSON A S, RANDALL K L, PETTITT J A, et al. Neutrophil extracellular traps and their histones promote Th17 cell differentiation directly via TLR2[J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 528. DOI: 10.1038/s41467-022-28172-4.
- [23] HARTSEMA E A, HALLBERG L A E, BARLOUS K, et al. Modification of histones by the myeloperoxidase-derived oxidant hypochlorous acid (HOCl) alters their reactivity with vascular smooth muscle cells[J]. *Redox Biochem Chem*, 2023, 5: 100010. DOI: 10.1016/j.rbc.2023.100010.
- [24] BELTRÁN-GARCÍA J, OSCA-VERDEGAL R, PÉREZ-CREMADES D, et al. Extracellular histones activate endothelial NLRP3 inflammasome and are associated with a severe sepsis phenotype[J]. *J Inflamm Res*, 2022, 15: 4217-4238. DOI: 10.2147/JIR.S363693.
- [25] ABRAMS S T, SU D, SAHRAOUI Y, et al. Assembly of alternative prothrombinase by extracellular histones initiates and disseminates intravascular coagulation[J]. *Blood*, 2021, 137(1): 103-114. DOI: 10.1182/blood.2019002973.
- [26] YONG J, ABRAMS S T, WANG G, et al. Cell-free histones and the cell-based model of coagulation[J]. *J Thromb Haemost*, 2023, 21(7): 1724-1736. DOI: 10.1016/j.jtha.2023.04.018.
- [27] GIGLIO R V, LIGI D, DELLA FRANCA C, et al. Thrombocytopenia and hyperinflammation are induced by extracellular histones circulating in blood[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2023, 61(12): e239-e243. DOI: 10.1515/cclm-2023-0590.
- [28] VULLIAMY P, GILLESPIE S, ARMSTRONG P C, et al. Histone H4 induces platelet ballooning and microparticle release during trauma hemorrhage[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(35): 17444-17449. DOI: 10.1073/pnas.1904978116.
- [29] 孙磊, 杨晶. 细胞外组蛋白在多种疾病发生发展中的作用研究进展[J]. *山东医药*, 2019, 59(5): 108-110. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.05.032.
- SUN L, YANG J. Research progress on the role of extracellular histone in the occurrence and development of many diseases[J]. *Shandong Med J*, 2019, 59(5): 108-110. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.05.032.
- [30] SKJØLBERG C, DEGANI L, SILEIKAITE-MORVAKÓZI I, et al. Oxidative modification of extracellular histones by hypochlorous acid modulates their ability to induce β -cell dysfunction[J]. *Free Radic Biol Med*, 2025, 230: 209-221. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2025.02.018.
- [31] 王飞, 沈晓霞. 中性粒细胞胞外诱捕网对急性呼吸窘迫综合征病情进展及死亡预测的应用价值[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2025, 35(1): 62-66. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4561.2025.01.016.
- WANG F, SHEN X X. Application value of neutrophil extracellular trap net in predicting the progress and death of acute respiratory distress syndrome[J]. *Zhejiang J Integr Tradit Chin West Med*, 2025, 35(1): 62-66. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4561.2025.01.016.
- [32] 陈羽翔, 李卓骋, 李涛, 等. 异种肾移植的亚临床研究进展[J]. *器官移植*, 2024, 15(1): 10-18. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2023256.
- CHEN Y X, LI Z C, LI T, et al. Progress in subclinical research of kidney xenotransplantation[J]. *Organ Transplant*, 2024, 15(1): 10-18. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2023256.
- [33] CHENG Z, ABRAMS S T, ALHAMDI Y, et al. Circulating histones are major mediators of multiple organ dysfunction syndrome in acute critical illnesses[J]. *Crit Care Med*, 2019, 47(8): e677-e684. DOI: 10.1097/CCM.0000000000003839.
- [34] 倪淑媛, 黄东健. 细胞外组蛋白诱导 M2 型巨噬细胞死亡的研究[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(8): 1170-1173. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2018.08.005.
- NI S Y, HUANG D J. Study on the death of M2 macrophage induced by extracellular histone[J]. *J Mod*

- Oncol, 2018, 26(8): 1170-1173. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2018.08.005.
- [35] JI Y, XIAO C, FAN T, et al. The epigenetic hallmarks of immune cells in cancer[J]. *Mol Cancer*, 2025, 24(1): 66. DOI: 10.1186/s12943-025-02255-4.
- [36] DUTTA A, VENKATAGANESH H, LOVE P E. New insights into epigenetic regulation of T cell differentiation[J]. *Cells*, 2021, 10(12): 3459. DOI: 10.3390/cells10123459.
- [37] WATANABE-KUSUNOKI K, NAKAZAWA D, ISHIZU A, et al. Thrombomodulin as a physiological modulator of intravascular injury[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 575890. DOI: 10.3389/fimmu.2020.575890.
- [38] SHAFQAT A, KHAN J A, ALKACHEM A Y, et al. How neutrophils shape the immune response: reassessing their multifaceted role in health and disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(24): 17583. DOI: 10.3390/ijms242417583.
- [39] LI Y, LI H, TANG Y, et al. Extracellular histones exacerbate heat stroke-induced liver injury by triggering hepatocyte pyroptosis and liver injury via the TLR9-NLRP3 pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 126: 111305. DOI: 10.1016/j.intimp.2023.111305.
- [40] SHI C X, WANG Y, CHEN Q, et al. Extracellular histone H3 induces pyroptosis during sepsis and may act through NOD2 and VSIG4/NLRP3 pathways[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 196. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00196.
- [41] LI W, WANG Z, SU C G, et al. The effect of neutrophil extracellular traps in venous thrombosis[J]. *Thromb J*, 2023, 21(1): 67. DOI: 10.1186/s12959-023-00512-4.
- [42] LI T, JIANG H, LIU H, et al. Extracellular histones and xenotransplantation[J]. *Xenotransplantation*, 2020, 27(5): e12618. DOI: 10.1111/xen.12618.
- [43] WILLIAMS B, ZOU L, PITTET J F, et al. Sepsis-induced coagulopathy: a comprehensive narrative review of pathophysiology, clinical presentation, diagnosis, and management strategies[J]. *Anesth Analg*, 2024, 138(4): 696-711. DOI: 10.1213/ANE.0000000000006888.
- [44] 王丽君, 余卫平, 程振兴. 胞外组蛋白/循环组蛋白病理生理效应及相关机制[J]. *生命科学*, 2022, 34(4): 357-364. DOI: 10.13376/j.cbbs/2022042.
- WANG L J, YU W P, CHENG Z X. Extracellular histone/circulating histone and its pathophysiological effects and mechanisms[J]. *Chin Bull Life Sci*, 2022, 34(4): 357-364. DOI: 10.13376/j.cbbs/2022042.
- [45] 李媛媛, 郝健. 抗中性粒细胞胞浆抗体相关性血管炎研究进展[J]. *实用临床医药杂志*, 2024, 28(7): 143-148. DOI: 10.7619/jcmp.20233407.
- LI Y Y, HAO J. Research progress of anti-neutrophil cytoplasmic antibody associated vasculitis[J]. *J Clin Med Pract*, 2024, 28(7): 143-148. DOI: 10.7619/jcmp.20233407.
- [46] RESHETNYAK T, NURBAEVA K. The role of neutrophil extracellular traps (NETs) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus and antiphospholipid syndrome[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(17): 13581. DOI: 10.3390/ijms241713581.
- [47] SCHMOECKEL M, LÄNGIN M, REICHART B, et al. Current status of cardiac xenotransplantation: report of a workshop of the German heart transplant centers, martinsried, March 3, 2023[J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2024, 72(4): 273-284. DOI: 10.1055/a-2235-8854.
- [48] 邹志锐, 满江位, 杨立. DAMP与NET在器官缺血-再灌注损伤中作用新进展[J]. *器官移植*, 2021, 12(6): 761-766. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2021.06.018.
- ZOU Z R, MAN J W, YANG L. Recent progress on the roles of DAMP and NET in organ ischemia-reperfusion injury[J]. *Organ Transplant*, 2021, 12(6): 761-766. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2021.06.018.
- [49] ZHANG T, WANG X. Modafinil lightens apoptosis and inflammatory response in hepatic ischemia-reperfusion injury through inactivation of TLR9/Myd88/p38 signaling[J]. *Drug Dev Res*, 2024, 85(4): e22210. DOI: 10.1002/ddr.22210.
- [50] WANG H, MIAO F, NING D, et al. Ellagic acid alleviates hepatic ischemia-reperfusion injury in C57 mice via the Caspase-1-GSDMD pathway[J]. *BMC Vet Res*, 2022, 18(1): 229. DOI: 10.1186/s12917-022-03326-0.

(收稿日期: 2025-07-05)

(本文编辑: 谢诗韵 邬加佳)