

中性粒细胞胞外诱捕网在冠心病进展中的作用及机制研究

覃思润 盛喆 陈晨阳 詹耀坤 曹宇

(中南大学湘雅三医院心内科, 湖南 长沙 410013)

【摘要】 中性粒细胞是人体免疫系统的主要成分之一,在抵御感染和炎症过程中扮演着重要角色。近年来,研究表明中性粒细胞除了其传统的作用外,还能通过释放胞外诱捕网的形式参与到冠心病等多种疾病的发生和发展中,越来越多的证据表明中性粒细胞胞外诱捕网在冠状动脉粥样硬化的进程中也起到关键性作用。因此,干预中性粒细胞胞外诱捕网的形成和释放可能是治疗冠状动脉粥样硬化及其并发症的新策略。目前,针对中性粒细胞胞外诱捕网的干预已成为研究的热点,未来,针对中性粒细胞胞外诱捕网的干预可能成为冠心病治疗的新方向之一。现就中性粒细胞胞外诱捕网在冠心病发生发展中的作用机制及其应用前景进行综述。

【关键词】 中性粒细胞胞外诱捕网;冠心病;动脉粥样硬化;血栓形成

【DOI】 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2023.12.008

The Role and Mechanism of Neutrophil Extracellular Traps in the Progression of Coronary Heart Disease

QIN Sirun, SHENG Zhe, CHEN Chenyang, ZHAN Yaokun, CAO Yu

(Department of Cardiovascular Medicine, The Third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, Hunan, China)

【Abstract】 Neutrophils are one of the main components of the body's immune system and play an important role in defending against infection and inflammation. In recent years, studies have shown that in addition to its traditional role, neutrophils can also participate in the occurrence and development of a variety of diseases, including coronary heart disease, through the release of extracellular traps, that is, more and more evidences show that neutrophil extracellular traps also play a key role in the process of coronary atherosclerosis. Therefore, intervening in the formation and release of neutrophil extracellular traps may be a new strategy for the treatment of coronary atherosclerosis and its complications. At present, the intervention of neutrophil extracellular traps has become a research hotspot, and in the future, the intervention of neutrophil extracellular traps may become one of the new directions of coronary heart disease treatment. This article reviews the mechanism and application prospect of neutrophil extracellular traps in the occurrence and development of coronary heart disease.

【Key words】 Neutrophil extracellular traps; Coronary heart disease; Atherosclerosis; Thrombosis

激活的多形核嗜中性粒细胞 (polymorphonuclear neutrophil, PMN) 除经典的吞噬作用外,还可在细胞外释放染色质、核蛋白和丝氨酸蛋白酶,形成一种名为中性粒细胞胞外诱捕网 (neutrophil extracellular traps, NETs) 的网状结构,并以此捕获和杀死致病菌,最初被认为是人体抗感染的重要防御机制。随后研究表明,NETs 在人类自身免疫性疾病、癌症、慢性阻塞性肺疾病、高血压等病症的发病机制中,同样具有重要意义。NETs 可促进内皮细胞功能障碍及凝血系统激活,成为炎症、氧化应激、先天免疫、血栓形成的重要调节剂。冠状动脉粥样硬化是一种脂质驱动的动脉管壁长期

渐进性炎性疾病,其持续进展可导致管腔狭窄,进而发生冠心病及急性冠脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS)。现冠心病发生率逐渐上升,并呈年轻化趋势,成为当今世界危害人体健康的第一大杀手。Borisoff 等^[1]研究发现,循环 NETs 生物标志物与冠状动脉粥样硬化斑块大小呈正相关,且与冠心病的临床严重程度和主要不良心血管事件的发生率密切相关。NETs 可作为预测冠心病的严重程度、ACS 发生风险、心肌梗死面积及血运重建后慢血流事件的生物标志物。既往大量研究将 NETs 与 ACS 事件联系在一起,但目前研究证明 NETs 或许存在于冠状动脉粥样

基金项目:国家自然科学基金 (82000300)

通信作者:曹宇, E-mail: caoyu0811@csu.edu.cn

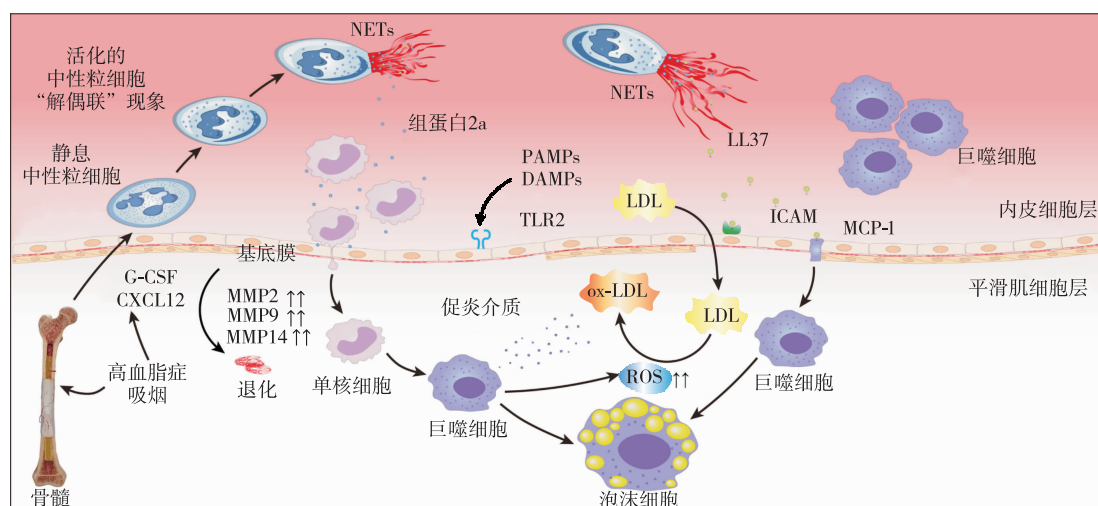
硬化进展的各个时期,在动脉粥样硬化进展早期以 NETs 为靶点予以干预可发挥抗炎及抗凝作用,从而有效缓解疾病进展。

1 NETs 在动脉粥样硬化进展中的作用

多项研究证明 NETs 存在于人类和动物模型的动脉粥样硬化病变的各个阶段中,并与导致动脉粥样硬化形成的各种机制有关。

内皮细胞功能障碍是动脉粥样硬化早期的表现^[2],单核细胞向受损内皮细胞黏附并转移至内皮下且进一步分化成巨噬细胞吞噬脂质,演变成为泡沫细胞形成脂质条纹^[3]。除单核细胞外,近年来,PMN 在

致动脉粥样硬化进展中的作用受到学界关注。在早期阶段,PMN 主要是通过释放危险信号分子如抗菌肽 37,诱导内皮细胞表达细胞间黏附分子 1 和单核细胞趋化蛋白 1 募集大量巨噬细胞^[4];其次,PMN 诱导巨噬细胞向 M1 型和泡沫细胞转化,泡沫细胞可产生活性氧并诱导炎症反应,促进动脉粥样硬化进展;最近有研究^[5]表明,在系统性红斑狼疮患者血管中,NETs 包含的基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMP) 9 将内皮细胞包含的前 MMP2 活化为 MMP2 并与之结合,而后引起血管内皮细胞损伤(图 1)。



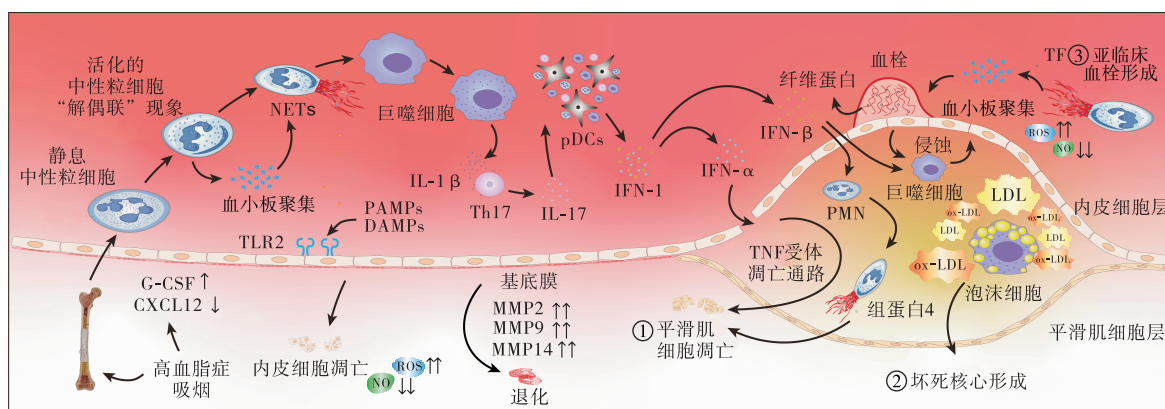
注: CXCL12,趋化因子(C-C 基序)配体 12; G-CSF,粒细胞集落刺激因子; ROS,活性氧; PAMPs,病原体相关分子模式; DAMPs,损伤相关分子模式; TLR2, Toll 样受体 2; LDL,低密度脂蛋白; ox-LDL,氧化型低密度脂蛋白; ICAM,细胞间黏附分子; MCP-1,单核细胞趋化蛋白-1; LL37,抗菌肽 37。

图 1 NETs 在动脉粥样硬化进展早期中的作用机制

待病变进展至晚期,斑块常显示出强大的不稳定性及继发的血栓形成倾向,其中不稳定斑块又以薄的纤维帽、大的坏死核心及血管微钙化、斑块内微血管形成为特征^[6-9]。Ionita 等^[10]等观察到不稳定斑块中存在大量的 PMN 浸润。凋亡的 PMN 聚集并通过释放 MMP 裂解促胞葬刺激性信号分子,从而抑制巨噬细胞偶联的胞葬过程^[11],无法被及时清除的凋亡细胞堆积及继发性坏死,加剧坏死核心的形成和生长;平滑肌细胞与 PMN 的相互作用诱导 NETs 形成,NETs 中的髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 产生的活性氧可提高胶原酶 (MMP2、MMP9、MMP14) 活性,增强炎症细胞的募集和细胞外基质的降解^[12];组蛋白 H4 则会降解平滑肌细胞从而导致纤维帽变薄,斑块失稳。使用抗组蛋白 H4 抗体治疗小鼠可有效抑制小鼠平滑肌细胞凋亡^[13]。另外,研究表明,NETs 可激活动脉粥样硬化病变中的浆细胞样树突状细胞的自身免疫,从而引起 I 型干扰素 (interferon-I, IFN- I) 大量合成释放^[14],而 IFN- I 的

信号通路在破裂斑块中上调,进而加剧病损部位平滑肌细胞凋亡及坏死核心的形成^[15]。对小鼠模型使用氯脒药物治疗后可观察到斑块体积的减小和颈动脉血栓形成的延迟,然而在缺乏 IFN- I 受体的小鼠模型中治疗无效^[16],由此证明 IFN- I 在介导动脉粥样硬化的 NETs 反应中的重要作用(图 2)。

综上所述,NETs 主要通过加强机体动脉粥样硬化的免疫及炎症反应促进其进展。尽管学者们进行大量的临床和实验研究,证实 NETs 介导动脉粥样硬化不同时期的发展机制,但现阶段的研究仍存在一些尚待阐明的疑问,例如与凋亡细胞不同,不表现“食我信号”的 NETs 的被清除机制目前仍未可知^[17];中性粒细胞弹性蛋白酶 (neutrophil elastase, NE) 可降解胶原及纤维蛋白,使纤维帽变薄,并与不稳定斑块具有相关性^[6]。NE 能否作为预测 ACS 事件的生物标志物仍需进一步研究;PMN 导致冠状动脉钙化病变的潜在上游机制以及调控钙化斑块类型间相互转化的分子机制尚待研究,仍需进一步探索加以明晰。



注: CXCL12, 趋化因子 (C-C 基序) 配体 12; G-CSF, 粒细胞集落刺激因子; IL, 白细胞介素; Th17, 辅助性 T 细胞 17; pDCs, 浆细胞样树突状细胞; IFN, 干扰素; TNF, 肿瘤坏死因子; PAMPs, 病原体相关分子模式; DAMPs, 损伤相关分子模式; TLR2, Toll 样受体 2; ROS, 活性氧; NO, 一氧化氮; LDL, 低密度脂蛋白; ox-LDL, 氧化型低密度脂蛋白; TF, 组织因子。

图 2 NETs 在动脉粥样硬化进展晚期中的作用机制

2 NETs 与 ACS

冠状动脉粥样硬化进展到一定程度, 易损斑块发生破裂或侵蚀继发血栓形成是大多数 ACS 发病的主要病理学基础。其中导致血栓形成最常见的三大机制分别为斑块破裂、斑块侵蚀和钙化结节^[18]。

ACS 患者血清中增高的 PMN 数量和紊乱免疫调节为 NETs 的发生发展提供良好的生理条件。多项临床研究证实, 在 ACS 患者血管中提取的血栓及循环中均显示较正常人群更高水平的 NETs 生物标志物^[19], 提示 NETs 的形成与 ACS 事件的发生显著关联。一项针对 ST 段抬高型心肌梗死 (ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI) 患者的研究表明, 血栓内较重负荷的 NETs 和脱氧核糖核酸酶 I (deoxyribonuclease I, DNase I) 的活性与更大的梗死面积和抬高的 ST 段延迟回落有关^[20], 用于评估微血管阻塞的心脏磁共振实时成像显示, 随着血清双链脱氧核糖核酸的增加, STEMI 患者可能发生微血管阻塞, DNase I 联合重组组织型纤溶酶原激活物可通过阻断 NETs 诱导的微血栓形成, 在心肌缺血再灌注损伤诱导的心肌“无复流”中具有治疗潜力^[21]。Riegger 等^[22]则表明 NETs 存在于 1/4 的经皮冠状动脉介入治疗后支架内血栓形成样本中, 是支架内血栓形成的标志。现在越来越多文献都表达一个观点: PMN、血小板、NETs 三者之间存在着与凝血相关的作用。研究表明, 来自心肌梗死患者的 NETs 携带组织因子, 一旦暴露在血液中便会触发凝血级联反应, 导致凝血酶的产生, 进一步激活血小板^[23]; NETs 的成分本身也可促进凝血因子的基因表达, 如血管性假血友病因子和纤维蛋白原, 后者可转化为纤维蛋白, 促进血栓前分子的积累; 另外, NETs 还可捕获循环中的血小板、纤维蛋白

链和血管性假血友病因子, 构成血栓形成的支架, 具有稳定血栓的作用^[24]。目前冠心病的主要治疗措施包括抗血小板和抗凝, 但随之而来的药物不良反应包括各种出血事件的发生。当前新型抗血栓疗法, 如 DNase I 通过降解 NETs 加速血栓的溶解而不以增加患者的出血风险为代价, 从而在抗血栓和出血事件间达到平衡, 为冠心病二级预防及心肌梗死后治疗提供新思路。

斑块破裂是 ACS 发生的首要机制^[18]。斑块破裂后释放大量的胆固醇结晶, 上调促炎细胞因子及趋化因子的表达, 这一无菌性炎症反应通过募集 PMN 诱导 NETs 形成, 同时 NETs 携带的活性组织因子进一步表达, 促进破裂斑块处血栓的形成, 并通过 PAR 信号通路激活血小板导致血栓扩大, 进而影响病变进展^[25]。区别于斑块破裂, 约 31% 的 ACS 患者是由斑块侵蚀导致的, 其病理特征为斑块表面内皮细胞的剥脱, 纤维帽呈完整状态, 管腔狭窄程度较轻。2018 年研究急性心肌梗死患者罪犯和非罪犯斑块中 NETs 的浸润及分布情况, 结果发现 PMN 和 NETs 大量存在于所有罪犯斑块中, 但在斑块破裂、斑块侵蚀和斑块内出血三者之间无显著差异性^[26]。然而随着研究的深入发现, NETs 其实与斑块侵蚀更为相关, 其机制被认为是 PMN 和 NETs 可通过 Toll 样受体 2 机制诱导氧化应激和内皮细胞剥脱, 并分泌白细胞介素-8 来募集 PMN, 形成正反馈效应放大内皮损伤, 导致随后的血栓形成^[22]。这提示 NETs 在斑块侵蚀中可能发挥更重要的作用。目前临床上不论病理机制, STEMI 患者一律采用经皮冠状动脉介入治疗, 然而 2018 年的 EROSION 研究^[27]提出对于斑块侵蚀所致的 ACS 患者, 在狭窄程度较轻、血流较好的情况下, 可采用规律强化的双联抗血小板治疗稳定病情, 从而避

免支架植入后的一系列并发症。将 NETs 及其相关成分作为靶点开发相应的治疗用于斑块侵蚀的患者,或许可为其提供一种新颖的治疗手段。

3 NETs 与稳定性冠心病

研究^[28]表明,NETs 的相关组成成分可作为冠心病的生物标志物,在稳定性冠心病中可作为预测动脉粥样硬化疾病严重程度和未来心血管事件风险的诊断工具。双链脱氧核糖核酸、MPO-DNA 复合物、瓜氨酸化组蛋白 H3、核小体或 NE 以及其他 NETs 成分在血浆中存在并以其独特的方式在冠心病中扮演着不同的角色。核小体的血浆水平被发现是严重冠状动脉狭窄的独立替代指标,MPO-DNA 复合物的浓度与病变血管的数量正相关,并可预测主要不良心血管事件的发生。既往大多数研究着眼于动脉粥样硬化晚期或 ACS 患者中 NETs 的表达,对于早期及稳定性冠心病患者中 NETs 的临床研究尚缺乏。稳定性冠心病患者比 ACS 患者更容易检测到分层斑块,其代表频繁发生的亚临床血栓形成。Langseth 等^[29]在检测稳定性冠心病患者循环中 NETs 生物标志物时发现,慢性 NETs 活动的存在可能与亚临床血栓形成事件及稳定性冠心病的不良结局相关,笔者推测慢性 NETs 活动与斑块反复的亚临床破裂和修复相关,分层斑块可能观测到更强的 NETs 活动,导致斑块的快速进展^[29]。

4 冠心病中针对 NETs 的治疗靶点

NETs 的发现填补了 PMN 在免疫浸润与心血管疾病上的空白,NETs 也应被视为有吸引力的治疗靶点。PMN 特异性酶如 MPO、肽酰基精氨酸脱亚氨酶

(peptidylarginine deiminase, PAD)4 和 NE 在 NETs 的形成中起着关键作用。经证实缺失 PMN 特异性酶的小鼠将不能产生或仅产生不完全的 NETs。目前,已开发出 BMS-P5、GSK484、GSK199、CL-肽等 PAD4 抑制剂和 PF-1355、PF-06282999、INV-315、AZD5904 等 MPO 抑制剂,它们可能通过阻断 NETs 形成,在 NETs 病理损伤性疾病的治疗中具有潜在作用。但是,NETs 抑制剂在冠状动脉粥样硬化进程中是否发挥治疗作用,其相关副作用如何,仍有待于进一步大样本研究证实(表 1)。

冠心病的二级预防策略包括抗血小板、调脂、稳定斑块,血小板活化对于血小板介导的 NETs 是必不可缺少的,如临床上广泛使用的阿司匹林可间接抑制 NETs 的形成,延缓动脉粥样硬化进展。另外,抗凝剂肝素能像 DNase I 一样有效地拆除 NETs 支架,表明抗凝药物或许能够通过抑制 NETs 在冠心病的治疗中发挥作用。既往研究^[30]证明口服凝血因子 X (coagulation factor X, FX) 抑制剂利伐沙班在稳定性冠心病的获益,在稳定性冠心病患者中,与单抗相比,阿司匹林中加入利伐沙班 2.5 mg 每日两次,显著降低动脉粥样硬化主要结局、心血管死亡和全因死亡的风险。另一研究^[31]发现,FX 的 Gla 结构域在 NETs 形成期间介导 FX 与活化的 PMN 的结合中起重要作用,二者结合后形成 NETs-FX 复合物,较 FX 具有更强的促凝血功能。以上两项研究表明,利伐沙班或许可通过阻断 FX 与 NETs 形成的正反馈机制,且阻断 NETs-FX 的强化凝血功能从而达到冠心病获益(图 3),为其在稳定性冠心病中的运用提供依据。

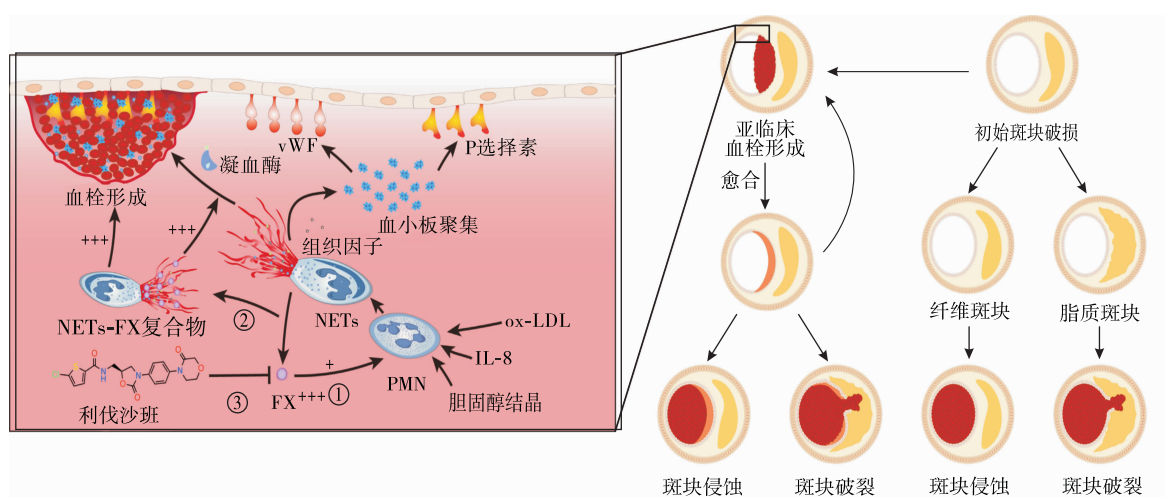


图 3 利伐沙班通过阻断 NETs 与 FX 因子的正反馈机制在冠心病中发挥保护作用

表 1 NETs 作为冠心病治疗靶点的研究进展

分类	药物名称	实验方法	作用机制及疗效	临床实用性
PAD4 抑制剂	GSK484 ^[16]	永久性结扎雄性 C57BL/6 小鼠冠状动脉左前降支,诱导心肌梗死模型,心肌梗死前 3 d 和心肌梗死后 2 d 腹腔注药	在 NETs 形成中抑制 PAD4 表达和瓜氨酸化组蛋白 H3 水平,并促进核染色质解聚,抑制 NETs 所致的炎性介质的分泌,减少心肌细胞凋亡,缩小梗死面积,降低血清中的心肌酶及肌钙蛋白水平	CL-脉可同时抑制 PAD 家族的不同亚型,缺乏特异性,可预见的副作用大
	CL-脉 ^[32]	在心肌缺血再灌注模型中,在缺血开始、再灌注即刻、再灌注 12 h 时腹腔内给药	消灭 NETs 并促进核染色质解聚,减少小鼠模型动脉粥样硬化病变面积,减少中性粒细胞和巨噬细胞的募集,防止 NETs 的形成,下调动脉中干扰素- α 的表达	
MPO 抑制剂	INV-315 ^[32]	高脂饮食小鼠分为两组予以 INV-315 2 mg/(kg·d) (低剂量组)或 10 mg/(kg·d) (高剂量组)喂食,持续 16 周	通过减少 NETs 的形成从而减少炎症细胞的转运和募集,降低动脉粥样硬化的斑块负荷,增强胆固醇逆向转运,改善管腔内皮功能	研究价值高
	PF-1355 ^[33]	将雌性小鼠左冠状动脉瞬时结扎 30 min,然后拆除结扎缝线,诱导缺血再灌注小鼠模型,每天两次口服灌胃给药	给药后 7 d 能抑制小鼠心肌梗死区 MPO 活性,进而降低炎症反应。给药 21 d 后,小鼠心脏功能和重塑得到改善,表明其在改善心肌梗死后心肌重构的潜力	
NE 抑制剂	西维来司他 ^[34]	予以脂多糖腹腔注药诱导内毒素源性心肌损伤的小鼠模型	注射西维来司他的小鼠存活率明显高于对照组,而血清肌钙蛋白 I 和白细胞介素-6 水平明显低于对照组。西维来司他治疗有效地维持小鼠血管内皮的正常结构,改善内毒素源性心肌损伤	旧药新用研究价值高
	SSR69071 ^[33]	冠状动脉结扎 30 min 后拆除结扎缝线,建立缺血再灌注小鼠模型,结扎前 15 min 及再灌注前 5 min 静脉注射 SSR69071	心脏中的 NE 活性在缺血再灌注模型中显著增加。再灌注前用 SSR69071 处理后,NE 活性显著降低。表明 SSR69071 治疗显著减少心肌梗死面积	
抗组蛋白抗体	抗组蛋白 H2a 抗体 ^[36]	用脂多糖处理诱导高胆固醇血症小鼠模型后,予以组蛋白 H2a 中和抗体	抗组蛋白 H2a 抗体可减少内毒素血症期间动脉单核细胞募集及黏附,减轻动脉粥样硬化进展	降低冠心病患者急性感染期间 ACS 事件发生风险,但价格昂贵贮存难,应用受限
	抗组蛋白 H4 抗体 ^[13]	高脂饮食诱导高胆固醇血症小鼠模型,予以抗组蛋白 H4 抗体腹腔注射	抑制高胆固醇血症小鼠病变斑块平滑肌细胞凋亡,维持斑块的稳定性	
DNA 酶	DNase I ^[25]	予以 ApoE/PR3/NE 缺陷的动脉粥样硬化小鼠模型静脉注射 DNase I	减少 ApoE/PR3/NE 缺陷小鼠动脉粥样硬化斑块中的病变大小及病变处 NETs 的数量	组织型纤溶酶原激活物和 DNase I 联合用药显示在患者经皮冠状动脉介入治疗后无复流的治疗潜力

5 总结

综上所述,NETs 是 PMN 释放的一种网状杀菌结构,它在冠心病进展中扮演着重要的角色,能引发内皮细胞功能障碍及促进凝血系统激活,在炎症和氧化应激之间均能进行有效调节,而冠心病的发生与动脉管壁长期渐进性炎症疾病息息相关。NETs 存在于冠状动脉粥样硬化进展各个时期,与动脉粥样硬化的形成有重要关联。冠状动脉粥样硬化进展到一定程度,易损斑块发生破裂或侵蚀继发血栓形成,是 ACS 发病的主要病理学基础,在 ACS 患者血管中提取的血栓以及循环中均显示较正常人群更高水平的 NETs 生物标

志物。NETs 相关组成成分可作为冠心病的生物标志物,在稳定性冠心病中可作为预测动脉粥样硬化疾病严重程度和未来心血管事件风险的辅助诊断工具,慢性 NETs 活动与斑块反复亚临床破裂和修复相关,且分层斑块能观测到更强的 NETs 活动,导致斑块快速进展。然而,NETs 或是一把双刃剑。它不仅可促进内皮细胞功能障碍和凝血系统激活,导致严重的心血管事件,还能诱导梗死区巨噬细胞向 M2 极化并促进心肌细胞的愈合。同时,PMN 也是人体抵御病原体侵袭的第一道防线。对于正常人群,NETs 被释放出以发挥其捕捉和杀死病原体的免疫效能。因此,直接影响

PMN 功能的治疗方法有可能会削弱机体的防御系统,谨慎使用 NETs 抑制剂,以避免削弱机体的防御系统。因此,NETs 与冠心病进展密切相关,对其进行深入研究将有助于全面理解冠状动脉粥样硬化的发生机制和冠心病的防治。未来需要找到最佳治疗策略,既不会削弱机体的免疫防御系统,又能有效地降低冠心病的风险,以造福于冠心病患者。

参 考 文 献

- [1] Borisoff JJ, Joosen IA, Versteilen MO, et al. Elevated levels of circulating DNA and chromatin are independently associated with severe coronary atherosclerosis and a prothrombotic state [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33 (8) : 2032-2040.
- [2] Gimbrone MA Jr, García-Cardena G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2016, 118 (4) : 620-636.
- [3] Ramji DP, Davies TS. Cytokines in atherosclerosis: key players in all stages of disease and promising therapeutic targets [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2015, 26 (6) : 673-685.
- [4] Edfeldt K, Agerberth B, Rottenberg ME, et al. Involvement of the antimicrobial peptide LL-37 in human atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26 (7) : 1551-1557.
- [5] Döring Y, Drechsler M, Wantha S, et al. Lack of neutrophil-derived CRAMP reduces atherosclerosis in mice [J]. *Circ Res*, 2012, 110 (8) : 1052-1056.
- [6] Carbone F, Mach F, Montecucco F. Update on the role of neutrophils in atherosclerotic plaque vulnerability [J]. *Curr Drug Targets*, 2015, 16 (4) : 321-333.
- [7] Pende A, Artom N, Bertolotto M, et al. Role of neutrophils in atherogenesis: an update [J]. *Eur J Clin Invest*, 2016, 46 (3) : 252-263.
- [8] Pugliese G, Iacobini C, Blasetti Fantauzzi C, et al. The dark and bright side of atherosclerotic calcification [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 238 (2) : 220-230.
- [9] Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Contribution of neovascularization and intraplaque haemorrhage to atherosclerotic plaque progression and instability [J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2015, 213 (3) : 539-553.
- [10] Ionita MG, van den Borne P, Catanzariti LM, et al. High neutrophil numbers in human carotid atherosclerotic plaques are associated with characteristics of rupture-prone lesions [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30 (9) : 1842-1848.
- [11] Driscoll WS, Vaisar T, Tang JJ, et al. Macrophage ADAM17 deficiency augments CD36-dependent apoptotic cell uptake and the linked anti-inflammatory phenotype [J]. *Circ Res*, 2013, 113 (1) : 52-61.
- [12] Hartwig H, Silvestre Roig C, Daemen M, et al. Neutrophils in atherosclerosis. A brief overview [J]. *Hamostaseologie*, 2015, 35 (2) : 121-127.
- [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.
- [14] Döring Y, Manthey HD, Drechsler M, et al. Auto-antigenic protein-DNA complexes stimulate plasmacytoid dendritic cells to promote atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2012, 125 (13) : 1673-1683.
- [15] Goossens P, Gijbels MJJ, Zernecke A, et al. Myeloid type I interferon signaling promotes atherosclerosis by stimulating macrophage recruitment to lesions [J]. *Cell Metab*, 2010, 12 (2) : 142-153.
- [16] Knight JS, Luo W, O'Dell AA, et al. Peptidylarginine deiminase inhibition reduces vascular damage and modulates innate immune responses in murine models of atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 2014, 114 (6) : 947-956.
- [17] Kojima Y, Weissman IL, Leeper NJ. The role of efferocytosis in atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2017, 135 (5) : 476-489.
- [18] Jia HB, Abtahian F, Aguirre AD, et al. In vivo diagnosis of plaque erosion and calcified nodule in patients with acute coronary syndrome by intravascular optical coherence tomography [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 62 (19) : 1748-1758.
- [19] Quillard T, Araújo HA, Franck G, et al. Editor's choice: TLR2 and neutrophils potentiate endothelial stress, apoptosis and detachment: implications for superficial erosion [J]. *Eur Heart J*, 2015, 36 (22) : 1394-1404.
- [20] Mangold A, Alias S, Scherz T, et al. Coronary neutrophil extracellular trap burden and dnase activity in ST-elevation acute coronary syndrome are predictors of ST-segment resolution and infarct size [J]. *Circ Res*, 2015, 116 (7) : 1182-1192.
- [21] Ge L, Zhou X, Ji WJ, et al. Neutrophil extracellular traps in ischemia-reperfusion injury-induced myocardial no-reflow: therapeutic potential of DNase-based reperfusion strategy [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2015, 308 (5) : H500-H509.
- [22] Riegger J, Byrne RA, Joner M, et al. Histopathological evaluation of thrombus in patients presenting with stent thrombosis. A multicenter European study: a report of the prevention of late stent thrombosis by an interdisciplinary global European effort consortium [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37 (19) : 1538-1549.
- [23] Fuchs TA, Brill A, Duerschmied D, et al. Extracellular DNA traps promote thrombosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107 (36) : 15880-15885.
- [24] Wang YB, Liu XY, Xia PP, et al. The regulatory role of microRNAs on phagocytes: a potential therapeutic target for chronic diseases [J]. *Front Immunol*, 2022, 13 : 901166-901185.
- [25] Warnatsch A, Ioannou M, Wang Q, et al. Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis [J]. *Science*, 2015, 349 (6245) : 316-320.
- [26] Pertiwi KR, van der Wal AC, Pabittei DR, et al. Neutrophil extracellular traps participate in all different types of thrombotic and haemorrhagic complications of coronary atherosclerosis [J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118 (6) : 1078-1087.
- [27] Dai JN, Xing L, Jia HB, et al. In vivo predictors of plaque erosion in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: a clinical, angiographical, and intravascular optical coherence tomography study [J]. *Eur Heart J*, 2018, 39 (22) : 2077-2085.
- [28] Wang Q, Zhao H, Qi N, et al. Generation and stability of size-adjustable bulk nanobubbles based on periodic pressure change [J]. *Sci Rep*, 2019, 9 (1) : 1118.
- [29] Langseth MS, Opstad TB, Bratseth V, et al. Markers of neutrophil extracellular traps are associated with adverse clinical outcome in stable coronary artery disease [J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2018, 25 (7) : 762-769.
- [30] Connolly SJ, Eikelboom JW, Bosch J, et al. Rivaroxaban with or without aspirin in patients with stable coronary artery disease: an international, randomised, double-blind, placebo-controlled trial [J]. *Lancet*, 2018, 391 (10117) : 205-218.
- [31] Healy LD, Puy C, Itakura A, et al. Colocalization of neutrophils, extracellular DNA and coagulation factors during NETosis: development and utility of an immunofluorescence-based microscopy platform [J]. *J Immunol Methods*, 2016, 435 : 77-84.
- [32] Liu C, Desikan R, Ying Z, et al. Effects of a novel pharmacologic inhibitor of myeloperoxidase in a mouse atherosclerosis model [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (12) : e50767.
- [33] Ali M, Pulli B, Courties G, et al. Myeloperoxidase inhibition improves ventricular function and remodeling after experimental myocardial infarction [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2016, 1 (7) : 633-643.
- [34] Fukuta T, Okada H, Takemura G, et al. Neutrophil elastase inhibition ameliorates endotoxin-induced myocardial injury accompanying degradation of cardiac capillary glycocalyx [J]. *Shock*, 2020, 54 (3) : 386-393.
- [35] Bidouard JP, Duval N, Kapui Z, et al. SSR69071, an elastase inhibitor, reduces myocardial infarct size following ischemia-reperfusion injury [J]. *Eur J Pharmacol*, 2003, 461 (1) : 49-52.
- [36] Schumski A, Ortega-Gómez A, Wichapong K, et al. Endotoxemia accelerates atherosclerosis through electrostatic charge-mediated monocyte adhesion [J]. *Circulation*, 2021, 143 (3) : 254-266.