doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2023.10.019
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2023.10.019
China Journal of General Surgery, 2023, 32(10):1599-1607.

·文献综述·

结直肠癌中性粒细胞胞外诱捕网研究进展

贾栋[1,2]，陈顺[1]，解有成[1,2]，康殷楠[1,2]，赵宝银[1,2]，仵朝晖[1,2]，王俊科[1]，于晓辉[1]

（1. 中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院 消化内科，甘肃 兰州 730050；2. 甘肃中医药大学第一临床医学院，甘肃 兰州 730000）

摘　要　中性粒细胞胞外诱捕网（NETs）是中性粒细胞在病毒、细菌、免疫复合物、细胞因子等各种刺激作用下释放到胞外的由DNA染色质和多种颗粒蛋白构成的特殊网状物。作为先天性免疫胞外防御体系的重要组成部分，在正常情况下，NETs可介导抗菌活性并清除病原体，维持机体免受外界侵害，而过量或功能失调的NETs可进一步扩大炎症反应，并推动多类疾病的发生发展。NETs形成与自身免疫病、糖尿病、心血管疾病、癌症等发生发展密切相关。笔者就NETs形成在调控结直肠癌（CRC）发生发展中的作用进行综述，探讨NETs形成促进CRC的增殖、上皮-间质转化、血管生成、免疫逃避及肿瘤相关的血栓形成等恶性生物学行为的机制，并探讨NETs形成作为CRC生物标志物及潜在治疗靶点的临床应用前景。

关键词　结直肠肿瘤；胞外诱捕网；综述
中图分类号：R735.3

Research progress on neutrophil extracellular traps in colorectal cancer

JIA Dong[1,2], CHEN Shun[1], XIE Youcheng[1,2], KANG Yinnan[1,2], ZHAO Baoyin[1,2], WU Zhaohui[1,2], WANG Junke[1], YU Xiaohui[1]

(1. Department of Gastroenterology, 940th Hospital, PLA Joint Logistic Support Force, Lanzhou 730050, China; 2. the First Clinical Medical College of Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

Abstract　Neutrophil extracellular traps (NETs) are special networks composed of DNA chromatin and various granular proteins that neutrophils release extracellularly in response to stimuli such as viruses, bacteria, immune complexes, and cytokines. As an important component of the innate immune extracellular defense system, NETs play a crucial role. Under normal circumstances, NETs mediate antimicrobial activity and pathogen clearance, thereby maintaining the body's protection against external threats. However, excessive or dysfunctional NETs can further amplify inflammatory responses and contribute to the occurrence and development of various diseases. The formation of NETs is closely associated with autoimmune diseases, diabetes, cardiovascular diseases, cancer, and more. In this review, the authors

基金项目：甘肃省自然科学基金资助项目（22JR11RA009）；甘肃省科技厅科技计划基金资助项目（20JR10RA017）；甘肃省兰州市人才创新基金资助项目（2020-RC-111）。
收稿日期：2022-11-22；**修订日期**：2023-03-09。
作者简介：贾栋，甘肃中医药大学第一临床医学院硕士研究生，主要从事消化道肿瘤的基础和临床方面的研究。
通信作者：于晓辉，Email: yuxiaohui528@126.com

provide an overview of the role of NETs formation in regulating the occurrence and development of colorectal cancer (CRC). The review discusses the mechanisms by which NETs formation promotes malignant biological behaviors in CRC, including proliferation, epithelial-mesenchymal transition, angiogenesis, immune evasion, and tumor-related thrombosis. Furthermore, the review discusses the clinical prospects of NETs formation as a biomarker and potential therapeutic target for CRC.

Key words Colorectal Neoplasms; Extracellular Traps; Review

CLC number: R735.3

中性粒细胞作为固有免疫中最重要的免疫细胞之一，同时也是机体抵御外界微生物的第一道防线，可通过吞噬及脱颗粒作用介导抗菌活性，从而进行免疫防御，杀灭病原体。此外，活化的中性粒细胞还可向胞外释放一种由解聚的DNA染色质和多种颗粒蛋白构成的网状结构物，即中性粒细胞胞外诱捕网（neutrophil extracellular traps，NETs），可捕获病原微生物并分泌抗菌蛋白对其杀灭，是一种先天性免疫胞外防御机制，但过度激活的NETs可进一步级联炎症反应。近年来已证实NETs与自身免疫性疾病、糖尿病、心血管疾病、癌症等多种非感染性疾病的发生发展密切相关。大量动物模型和肿瘤患者研究表明，NETs形成参与结直肠癌（colorectal cancer，CRC）进展和转移。笔者就CRC的NETs相关研究进展进行综述，旨在为深入理解CRC发生发展过程提供新依据。

1 NETs的基本结构及形成机制

1996年，Takei等[1]首次发现中性粒细胞在佛波酯（phorbol myristate acetate，PMA）的刺激下，出现分叶核解聚，核膜及细胞膜破裂等特殊的死亡形态变化。随后Brinkmann等[2]通过进一步的验证，将这种不同于细胞凋亡和坏死的新型特异性细胞死亡方式定义为NETs，NETs由去聚化的染色质DNA为骨架，其中镶嵌多种活性蛋白，包括组蛋白、组织蛋白酶G（cathepsin G，CG）、中性粒细胞弹性蛋白酶（neutrophil elastase，NE）、基质金属蛋白酶9（matrix metalloproteinase 9，MMP-9）、髓过氧化物酶（myeloperoxidase，MPO）、防御素、抗菌肽LL-37等30多种蛋白和酶，可以固定病原体并将其暴露于局部高致死性浓度的效应蛋白。在高分辨率扫描电镜观察下，NETs表现为一种独特的超微机构，由直径约为15~17 nm的平滑的核染色质纤维和直径为25~50 nm的球形结构域组成。

中性粒细胞产生NETs的过程被称为NETosis，其过程受到多种通路和机制的调节，可由多种刺激物激活产生，如病毒、真菌、细菌及其细胞壁成分、免疫复合物、细胞因子和趋化因子等。如图1所示，NETosis主要有两种形成方式：细胞溶解性NETs和活性NETs，前者过程发生较慢，一般需要2~6 h，具体为中性粒细胞在受到PMA等炎症或化学刺激后，内质网中的钙离子释放进入胞浆，激活并通过PKC/Raf-MERK-ERK信号通路活化非烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（nicotinamide adenine dinucleotide phosphate，NADPH）氧化酶[3]，从而引起活性氧（reactive oxygen species，ROS）的释放[4]，随后胞浆内的NE和MPO转运入核，降解组蛋白并促进染色质去浓缩。另外，活化的肽酰基精氨酸脱亚氨酶4（peptidyl arginine deaminase 4，PAD4）对组蛋白起到翻译后修饰的作用，介导组蛋白H3瓜氨酸化，减少组蛋白与DNA之间的静电引力[5]，进一步导致染色质解聚，胞内容物释放到胞外形成NETs。后者又称为活体式NETs[6]，NETs可自发产生，一般只耗时5~60 min，不依赖NADPH氧化酶及诱导产生的ROS，但需要Toll样受体（Toll-like receptor，TLR）或补体受体对相关感染性刺激的识别，同样被激活的PAD4触发组蛋白瓜氨酸化，致使染色质解聚，被包裹的染色质DNA以囊泡出芽的方式排出胞外，过程中细胞核膜和细胞膜保持完整，中性粒细胞存活时间及吞噬、趋化等功能均未受影响。

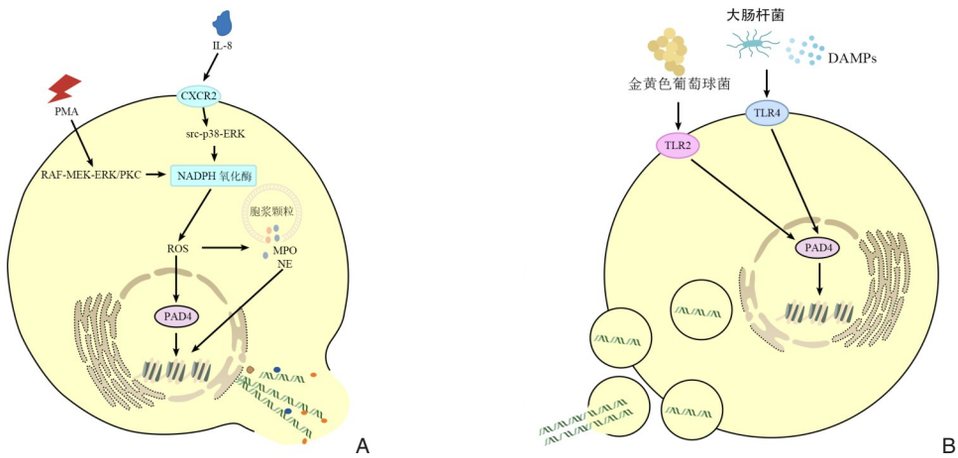

图 1　NETs 形成及作用机制模式图　　A：细胞溶解性 NETs（当中性粒细胞受到 PMA、IL-8 等因素刺激后，通过活化 NADPH 氧化酶引起 ROS 释放，激活 PAD4 诱导组蛋白瓜氨酸化，导致染色体解聚；ROS 的上调诱导胞浆内的 NE 和 MPO 从胞浆转运入核，切割组蛋白，导致染色质进一步解凝，最后核膜裂解，去解聚的染色质释放到细胞外）；B：活体式 NETs（中性粒细胞被病原体或 DAMP 激活后，与 TLR2/4 受体或补体受体相结合，不依赖于 NADPH 氧化酶复合物，直接激活 PAD4 致使染色质解聚，过程中没有核膜及细胞膜的破坏，被包裹的染色质 DNA 以囊泡出芽的方式排出胞外）

Figure 1　**NETs formation and mechanisms**　　A: Suicidal NETs (When neutrophils are stimulated by factors such as PMA, IL-8, they activate NADPH oxidase, leading to the release of ROS. This activation induces PAD4 to catalyze histone citrullination, resulting in chromatin decondensation. Elevated ROS levels facilitate the translocation of NE and MPO from the cytoplasm to the nucleus, where they cleave histones, leading to further decondensation of chromatin. Eventually, the nuclear membrane ruptures, releasing decondensed chromatin into the extracellular space); B: Vital NETs (Neutrophils, when activated by pathogens or DAMPs, bind to TLR2/4 receptors or complement receptors. This process does not rely on the NADPH oxidase complex and directly activates PAD4, leading to chromatin decondensation. No disruption of the nuclear or cell membrane occurs during this process. Encapsulated chromatin DNA is expelled from the cell through vesicle budding)

2　NETs 参与 CRC 的发生发展

CRC 是一类高危恶性肿瘤，每年约有 190 万新发病例和超过 93 万的死亡病例，是全球癌症相关死亡的第二大原因[7]，具有高复发、高转移等特性。尽管目前在 CRC 的诊治方面已有较大突破，尤其是新辅助放化疗及免疫治疗领域的快速发展，然而仍有近一半的 CRC 患者最终会出现复发或转移，晚期患者 5 年相对生存率仅为 14%[8-9]。故进一步了解 CRC 恶化机制，发掘更为有效的潜在治疗靶点是目前亟待解决的问题。近年来研究发现 NETs 在胃、肺、肝、乳腺、胰腺等多种恶性肿瘤中异常高表达[10-13]，且 NETs 异常程度与肿瘤进展、患者预后密切相关。大量研究结果提示，NETs 及其组分可通过系列途径促进 CRC 的发生和发展。

2013 年，Berger-Achituv 等[14]首次在尤文肉瘤中检测发现 NETs，并发现 NETs 在肿瘤组织中高表达并与患者的不良预后有关，Yang 等[15]通过与健康个体对比发现 CRC 患者体内 NETs 水平也呈显著性升高，且 NETs 水平与肿瘤复发及术后并发症的发生呈正相关。Yazdani 等[16]对 27 例 CRC 肝转移患者行组织病理学研究发现肿瘤组织中性粒细胞和 NETs 水平显著增加，且瓜氨酸化组蛋白 3（citrullinated histone 3，CitH3）和 MPO DNA 水平也呈一致性升高，而 NETs 与其组分的升高也被证实和患者预后不良相关。除此之外，中性粒细胞及其 NETs 在肿瘤组织上的密度和分布也存在显著差异，Arelaki 等[17]分析 10 例 CRC 患者的肿瘤组织和淋巴结转移组织发现 NETs 数量从肿瘤中心到边缘组织逐渐减少，这反映了肿瘤病变引发并逐渐扩散到周围组织的炎症梯度，可为外科医师对手术切缘的选择提供一定的帮助。NETs 可参与肿瘤诱导的全身效应，同时肿瘤细胞及肿瘤相关微环境（tumor microenvironment，TME）也可以通过多种方式促进 NETs 的形成。在 CRC 组织和腺瘤、增生性息肉等癌前病变组织中，检测到共表达多聚磷酸

盐（polyphosphate，polyP）和CD68⁺的肥大细胞和NETs的形成，polyP主要由血小板释放，可介导炎症反应促进血栓的形成，而在本研究中表达CD68⁺的肥大细胞可以通过polyP与中性粒细胞发生相互作用，进而诱导NETs的产生[18]。另外，肿瘤细胞还可产生大量的趋化因子IL-8诱发NETs的形成并促进癌症的进展[19]，其中CXC趋化因子受体（CXC chemokine receptor，CXCR）是其形成过程中的重要媒介[20]，在CRC的不同阶段中也观察到血清IL-8及CXCR2的表达水平均较正常组显著升高[15]。另有研究人员[21]在弥漫大B细胞淋巴瘤中证实，IL-8与中性粒细胞上的CXCR2相结合，通过激活Src、p38及ERK信号通路而加速NETs的产生。Shang等[22]发现CRC中突变的致癌基因*KRAS*可通过外泌体将其转移至中性粒细胞，进而触发IL-8的上调而引起NETs的形成。此外，Wang等[23]在经脂多糖（lipopolysaccharide，LPS）刺激后的CRC小鼠模型中发现，CRC细胞可通过Toll样受体9（Toll-like receptor 9，TLR9）和丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPK）信号通路介导NETs的形成。以上可见，NETs在CRC中高表达，且CRC细胞及其微环境可通过多种途径调节NETs的形成。

Yazdani等[16]证实活化的CRC细胞能够释放损伤相关分子模式（damage associated molecular pattern，DAMP）蛋白，可将中性粒细胞募集到TME中并诱导NETs形成，NETs则可通过增强线粒体的生物合成，加速CRC细胞的生长和增殖，其具体机制为NETs释放NE激活癌细胞上的Toll样受体4（Toll-like receptor 4，TLR4），通过p38通路引起与能量代谢相关的转录共激活因子PGC-1α的表达增加，进而调控线粒体的生物合成，增加能量产生而加速肿瘤的生长。在小鼠模型中阻止NETs的形成可观察到CRC的生长速度明显减缓。此外，有研究[24]发现NETs来源的DNA可与晚期糖基化终末产物受体RAGE相结合，通过激活胰腺星状细胞使纤维化基质形成增加，促进胰腺肿瘤的生长和增殖。Albrengues等[25]还发现机体炎症状态诱导产生的NETs可激活休眠期的乳腺癌细胞，使其进入G_1期并开始增殖。研究人员在小鼠乳腺癌[26]及胰腺癌[24]模型中通过敲除PAD4而抑制NETs形成后，发现其肿瘤生长速度明显降低。以上可见，NETs的产生与肿瘤的生长和增殖密切相关，除此之外，NETs亦可通过捕获循环肿瘤细胞（circulating tumor cell，CTC）、诱导侵袭、促进血管生成、逃避免疫等系列途径引起CRC的转移和扩散。

对CRC患者的组织样本的免疫染色显示，原发肿瘤组织及转移淋巴结中均存在NETs[17]。Yang等[15]还发现无论CRC是否发生转移，其原发灶的NETs水平并没有显著差异，而通过对CRC的肝转移灶和原发性肝细胞癌组织对比发现，转移性肝肿瘤中的NETs数量明显高于原发性肝肿瘤，表明NETs与CRC患者肝转移的发生密切相关，NETs可能在即将转移的靶器官中发挥更重要的作用以促进肿瘤转移的发生。在CRC中广泛形成的NETs可捕获CTC，并使其黏附于肺和肝脏等相应靶器官而促成转移，通过多种措施消耗或抑制NETs的形成，可发现其侵袭转移能力明显下降，证实靶向治疗NETs可有效限制肿瘤转移。肝脏是CRC发生转移最主要的靶器官，目前手术切除肝转移灶仍是CRC转移患者有效且可能获得长期生存的唯一治疗方法[27]，但患者极易在术后出现复发[28]。Tohme等[29]报道肝切除术可能会导致肿瘤细胞脱落，使CTC水平升高，另外，手术应激可诱导肝脏发生缺血再灌注损伤，使NETs在肝脏内大量沉积，NETs通过加强CTC的黏附能力来促进肿瘤细胞的播散，使用脱氧核糖核酸酶I（deoxyribonuclease I，DNase I）或PAD4抑制剂抑制NETs的形成可有效减缓这一进程，进一步在体外研究中发现NETs是通过释放高迁移率族蛋白B1（high mobility group protein B1，HMGB1），从而激活癌细胞中的TLR9信号通路发挥其促瘤作用。Carroll等[30]也证明CRC术后相关的全身性炎症反应或脓毒症可诱导释放NETs而增加肿瘤复发的风险。另外Rayes等[31]发现在非炎症和感染情况下，原发性的CRC细胞也可诱发NETs捕获CTC并促进其黏附和转移。最新研究[32]表明细胞外调节蛋白激酶（extracellular regulated protein kinases，ERK）是NETs诱导CRC细胞迁移的重要调节因子，NETosis过程中释放的NE通过激活ERK发挥促瘤作用，在小鼠模型中使用西维来司他抑制NE可有效减少CRC转移灶的形成。Rayes等[33]发现NETs上的癌胚抗原细胞黏附分子1（carcino-embryonic antigen related cellular adhesion molecule 1，CEACAM1）也是介导CRC细胞与NETs相互作用的重要黏附分子，并在小鼠CRC细胞与肝脏的黏附中起关键作用。

此外，NETs 并非随机捕获 CTC，而是可能与癌细胞表面的某种蛋白产生了特异性结合，且这种结合对于 NETs 促进 CRC 转移至关重要，Yang 等[34]通过研究证明癌细胞表面存在一种跨膜蛋白 CCDC25，可有效感知 NETs DNA 并通过 CCDC25 胞外的 AA21-25 区域与 NETs DNA 高特异性结合，进而触发 ILK-β-parvin-RAC1-CDC42 级联反应，以诱导 CRC 肿瘤细胞的骨架重排和定向迁移，因此，靶向 CCDC25 也为早期癌症转移提供治疗策略。

上皮－间质转化（epithelial to mesenchymal transition，EMT）是上皮细胞来源的恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的重要生物学过程，最新研究[35]发现用 NETs 处理 CRC 细胞可诱导形成丝状伪足和重组细胞骨架等 EMT 表型，并可观察到上皮细胞标志物 cytokeratins 和 E-cadherin 缺失，间充质细胞标志物波形蛋白、纤连蛋白、ZEB1 和 Slug 的表达上调，以上表明 NETs 激活了 CRC 细胞的 EMT 过程，进而促进 CRC 细胞的转移。血管生成也是恶性肿瘤完成生长和转移的关键步骤和必备条件，而 NETs 上的 CG、MMP-9 等多种成分可激活血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）或通过产生 IL-8、IL-6 等直接刺激来调节肿瘤组织的血管生成[36-37]，为肿瘤的转移过程提供丰富的血供。除此之外，肿瘤细胞在转移过程还会不断受到免疫系统的监视和攻击，促使肿瘤细胞发生免疫逃逸同样是肿瘤细胞转移和扩散的关键，研究[20]发现 NETs 在 TME 中具有免疫抑制作用，可排斥细胞毒性细胞并吸引调节 T 细胞及骨髓细胞等免疫抑制细胞。NETs 还可包裹肿瘤细胞，作为免疫细胞和周围靶细胞之间的物理屏障，使其免受 $CD8^+$T 细胞和自然杀伤（natural killer，NK）细胞介导的细胞毒性损害。

3　NETs 参与 CRC 相关性血栓形成

肿瘤相关性血栓形成是肿瘤患者的第二大直接死亡原因[38]，仅次于肿瘤本身，是肿瘤患者的预后不良的关键。肿瘤相关性血栓栓塞包括静脉血栓栓塞（venous thromboembolism，VTE）和动脉血栓栓塞（arterial thromboembolism，ATE），其中恶性肿瘤患者的 VTE 发生率是普通人群的 9 倍[39]，CRC 患者更是罹患静脉血栓的高危人群[40]，然而其确切机制仍不清晰。研究发现 NETs 可以通过多种途径诱导肿瘤患者血管内血栓前状态以及血栓形成[41-42]，一方面，NETs 作为大分子复合物，其网状支架结构可为血小板及纤维蛋白的黏附和沉积提供良好的附着点。另一方面，NETs 中的 NE 和 CG 等成分可激活内源性凝血途径进而促进凝血及血栓形成[43]。最重要的是，NETs 可通过捕捉和激活血小板，促使其发展为促凝血表型，加速血栓的形成[44]。Zhang 等[45]对 60 例 CRC 患者和 20 名健康人对照发现，CRC 患者更易产生 NETs，并与癌症进展相关，经 PMA 刺激后，NETs 还可显著增加其促凝血活性（procoagulant activity，PCA），表现为凝血时间缩短，凝血酶–抗凝血酶复合物和纤维蛋白原显著增加，NETs 可诱导血小板和人脐静脉内皮细胞（human umbilical vein endothelial cells，HUVECs）膜上的磷脂酰丝氨酸（phosphatidylserine，PS）位点暴露，这种具有促凝活性的负电磷脂为凝血因子提供了促凝表面，使得凝血因子易于互相接触和组装，有效提升 PCA。此外，活化的血小板也能诱导 NETs 的产生，从而与中性粒细胞形成正反馈的环路。上述研究揭示了中性粒细胞、血小板和内皮细胞之间的复杂关系，以及它们在 CRC 高凝状态中的潜在作用。相信随着对 NETs 临床研究的不断深入，NETs 可能成为防治 CRC 相关血栓形成的一个新靶点。

4　NETs 是 CRC 治疗潜在靶标

NETs 在 CRC 中高表达对其疾病的发生和发展有重要的推动作用，故能否将 NETs 作为 CRC 中潜在的生物标记物和治疗靶点也逐渐成为目前的研究热点。Zhang 等[46]对比不同患者的 NETs 水平发现 NETs 比癌胚抗原 CEA 和碳水化合物抗原 19-9 更具诊断价值，此外，多项临床预后评估证明 NETs 可作为一项独立的肿瘤相关预后指标[47-48]，NETs 高表达与总生存率（overall survival，OS）和无复发生存率（relapse-free survival，RFS）降低相关[49]。CitH3 作为 NETs 的核心分子，被认为是预测晚期癌症患者 VTE 风险和病死率的潜在诊断和预后生物标志物[50-52]。最近一项研究[53]采用多重免疫荧光法，将 CitH3 与中性粒细胞标记物 CD15 和 MPO 相联合，用于检测 CRC 等实体肿瘤中的 NETs。Li 等[54]还研发了一种结合 CitH3 与 DNA 的新型 NETs 定量检测方法。能够高效、准确的识别 NETs 对于

肿瘤的早期筛查和病情监测具有重要意义，但NETs的检测尚未标准化，且NETs可能缺乏用于诊断某一特定肿瘤类型的特异性，故其临床应用还有待进一步验证。

抑制NETs形成进而减缓CRC进展是目前CRC治疗领域极具潜力的研究方向。DNase I是一种可以消化单链或双链DNA的非特异性核酸内切酶，大量研究发现DNase I可通过降解NETs的DNA骨架破坏其结构完整性，进而发挥抗肿瘤活性，且不影响中性粒细胞的正常生理功能[55]，目前DNase I已被FDA批准用于囊性纤维化患者的治疗[56]，但DNase I蛋白的半衰期相对较短，往往需要长期重复给药，其临床应用也受到限制。Xia等[57]发现通过AAV介导的DNase I基因转导肝脏可有效抑制CRC肝转移小鼠模型中中性粒细胞的浸润和NETs的形成，还可招募$CD8^+$T细胞并调节固有和适应性免疫应答机制诱导抗肿瘤免疫，有效抑制CRC肝转移。Zhang等[58]报道DNase I还可与免疫检查点抑制剂PD-1联合应用，通过改善肿瘤微环境有效提升PD-1对CRC的治疗效果。因此，针对NETs形成的任一重要环节都可能成为其潜在的CRC治疗靶点，PAD4是NETosis的关键酶，也是阻断NETs病理作用的重要靶点[59]。目前较为典型的PAD抑制剂包括不可逆性抑制剂Cl-amidine和可逆性抑制剂GSK-484[60-61]，并在相关临床研究前研究中表现出和敲除PAD4基因相似的抗肿瘤效应。此外，通过抑制Ne[62]、ROS[63]、NO/NOS[64]等基因或蛋白表达都可抑制NETs形成。针对各类靶向NETs药物的研究正在如火如荼的开展，有研究[65]发现茶多酚中重要的活性成分表没食子儿茶素-3-没食子酸酯（epigallocatechin-3-gallate，EGCG）可通过调控STAT3/CXCL8信号通路抑制NETs的形成，进而抑制CRC的侵袭与迁移。Zhu等[66]证明姜黄素可通过下调MEK/ERK信号通路抑制NETs而缓解肝脏缺血再灌注损伤，将姜黄素与DNase 1联合使用可有效提升其药物疗效。Zeng等[67]研究表明山奈酚通过影响ROS-PAD4途径靶向抑制NETs减少肿瘤的转移。此外，NETs相关的CEACAM1和癌细胞表面的跨膜蛋白CCDC25作为CRC肿瘤转移潜在的治疗靶标，有希望带来一种全新的抗癌疗法。

5 展 望

在相关临床试验中应用DNase I或PAD4抑制剂等药物，能够有效阻止NETs的形成进而抑制癌细胞进展，提示靶向抑制NETs有望为CRC的防治和联合用药提供新的思路和选择。NETs作为免疫系统的一部分，抑制NETs的同时应避免损害其正常的生理功能。基于此，肿瘤NETs临床与基础研究还有待开展深入的研究。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

作者贡献声明：贾栋和陈顺负责收集文献资料和撰写论文；解有成、康殷楠、赵宝银负责文章写作思路；仵朝晖、王俊科、于晓辉指导写作和定稿。

参考文献

[1] Takei H, Araki A, Watanabe H, et al. Rapid killing of human neutrophils by the potent activator phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) accompanied by changes different from typical apoptosis or necrosis[J]. J Leukoc Biol, 1996, 59(2): 229-240. doi: 10.1002/jlb.59.2.229.

[2] 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.

[3] Vorobjeva NV, Chernyak BV. NETosis: molecular mechanisms, role in physiology and pathology[J]. Biochemistry Moscow, 2020, 85(10):1178-1190. doi: 10.1134/S0006297920100065.

[4] de Bont CM, Koopman WJH, Boelens WC, et al. Stimulus-dependent chromatin dynamics, citrullination, calcium signalling and ROS production during NET formation[J]. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2018, 1865(11 Pt A):1621-1629. doi: 10.1016/j.bbamcr.2018.08.014.

[5] Thiam HR, Wong SL, Qiu R, et al. NETosis proceeds by cytoskeleton and endomembrane disassembly and PAD4-mediated chromatin decondensation and nuclear envelope rupture[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2020, 117(13): 7326-7337. doi: 10.1073/pnas.1909546117.

[6] von Köckritz-Blickwede M, Winstel V. Molecular prerequisites for neutrophil extracellular trap formation and evasion mechanisms of Staphylococcus aureus[J]. Front Immunol, 2022, 13: 836278. doi: 10.3389/fimmu.2022.836278.

[7] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3):209-

249. doi: 10.3322/caac.21660.

[8] 国家癌症中心中国结直肠癌筛查与早诊早治指南制定专家组. 中国结直肠癌筛查与早诊早治指南(2020，北京)[J]. 中华肿瘤杂志, 2021, 43(1): 16−38. doi: 10.3760/cma. j. cn112152−20210105−00010.

Expert Panel for the Development of Guidelines for Colorectal Cancer Screening, DiagnosisEarly, and Early Treatment of China's National Cancer Center. China guideline for the screening, early detection and early treatment of colorectal cancer(2020, Beijing)[J]. Chinese Journal of Oncology, 2021, 43(1):16−38. doi:10.3760/cma. j.cn112152−20210105−00010.

[9] Biller LH, Schrag D. Diagnosis and treatment of metastatic colorectal cancer: a review[J]. JAMA, 2021, 325(7):669−685. doi: 10.1001/jama.2021.0106.

[10] Wolach O, Martinod K. Casting a NET on cancer: the multiple roles for neutrophil extracellular traps in cancer[J]. Curr Opin Hematol, 2022, 29(1): 53−62. doi: 10.1097/MOH.0000000000000690.

[11] Zhu T, Zou XM, Yang CF, et al. Neutrophil extracellular traps promote gastric cancer metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition[J]. Int J Mol Med, 2021, 48(1): 127. doi: 10.3892/ijmm.2021.4960.

[12] Zenlander R, Havervall S, Magnusson M, et al. Neutrophil extracellular traps in patients with liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 18025. doi: 10.1038/s41598−021−97233−3.

[13] 谢学文, 费书珂. 中性粒细胞胞外诱捕网与胰腺疾病的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2021, 30(3):343−348. doi: 10.7659/j. issn.1005−6947.2021.03.013.

Xie XW, Fei SK. Research progress of the role of neutrophil extracellular traps in pancreatic diseases[J]. China Journal of General Surgery, 2021, 30(3): 343−348. doi: 10.7659/j. issn. 1005−6947.2021.03.013.

[14] Berger-Achituv S, Brinkmann V, Abed UA, et al. A proposed role for neutrophil extracellular traps in cancer immunoediting[J]. Front Immunol, 2013, 4:48. doi: 10.3389/fimmu.2013.00048.

[15] Yang LY, Liu L, Zhang R, et al. IL-8 mediates a positive loop connecting increased neutrophil extracellular traps (NETs) and colorectal cancer liver metastasis[J]. J Cancer, 2020, 11(15):4384−4396. doi: 10.7150/jca.44215.

[16] Yazdani HO, Roy E, Comerci AJ, et al. Neutrophil extracellular traps drive mitochondrial homeostasis in tumors to augment growth[J]. Cancer Res, 2019, 79(21): 5626−5639. doi: 10.1158/0008−5472.CAN−19−0800.

[17] Arelaki S, Arampatzioglou A, Kambas K, et al. Gradient infiltration of neutrophil extracellular traps in colon cancer and evidence for their involvement in tumour growth[J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0154484. doi: 10.1371/journal.pone.0154484.

[18] Arelaki S, Arampatzioglou A, Kambas K, et al. Mast cells co-expressing CD68 and inorganic polyphosphate are linked with colorectal cancer[J]. PLoS One, 2018, 13(3): e0193089. doi: 10.1371/journal.pone.0193089.

[19] 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.

[20] Teijeira 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[J]. Immunity, 2020, 52(5): 856−871. doi: 10.1016/j. immuni.2020.03.001.

[21] Nie M, Yang LB, Bi XW, et al. Neutrophil extracellular traps induced by IL8 promote diffuse large B-cell lymphoma progression via the TLR9 signaling[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(6): 1867−1879. doi: 10.1158/1078−0432.CCR−18−1226.

[22] Shang AQ, Gu CZ, Zhou C, et al. Exosomal KRAS mutation promotes the formation of tumor-associated neutrophil extracellular traps and causes deterioration of colorectal cancer by inducing IL-8 expression[J]. Cell Commun Signal, 2020, 18(1):52. doi: 10.1186/s12964−020−0517−1.

[23] Wang WW, Wu LP, Lu WY, et al. Lipopolysaccharides increase the risk of colorectal cancer recurrence and metastasis due to the induction of neutrophil extracellular traps after curative resection[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2021, 147(9): 2609−2619. doi: 10.1007/s00432−021−03682−8.

[24] Miller-Ocuin JL, Liang XY, Boone BA, et al. DNA released from neutrophil extracellular traps (NETs) activates pancreatic stellate cells and enhances pancreatic tumor growth[J]. Oncoimmunology, 2019, 8(9):e1605822. doi: 10.1080/2162402X.2019.1605822.

[25] 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.

[26] Shi L, Yao HL, Liu Z, et al. Endogenous PAD4 in breast cancer cells mediates cancer extracellular chromatin network formation and promotes lung metastasis[J]. Mol Cancer Res, 2020, 18(5):735−747. doi: 10.1158/1541−7786.MCR−19−0018.

[27] 中国医师协会外科医师分会，中华医学会外科分会胃肠外科学组，中华医学会外科分会结直肠外科学组, 等. 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(2023 版)[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(1):1−29. doi：10.7659/j.issn.1005−6947.2023.01.001.

Chinese College of Surgeons, Chinese Medical Doctor Association, Chinese Society of Gastrointestinal Surgery, Chinese Society of

Surgery, Chinese Medical Association, Chinese Society of Colorectal Surgery, Chinese Society of Surgery, Chinese Medical Association, et al. Chinese guidelines for the diagnosis and comprehensive treatment of colorectal liver metastases (2023 edition)[J]. China Journal of General Surgery, 2023, 32(1): 1-29. doi:10.7659/j. issn. 1005- 6947.2023.01.001.

[28] Schellenberg AE, Moravan V, Christian F. A competing risk analysis of colorectal cancer recurrence after curative surgery[J]. BMC Gastroenterol, 2022, 22(1): 95. doi: 10.1186/s12876-022-02161-9.

[29] Tohme S, Yazdani HO, Al-Khafaji AB, et al. Neutrophil extracellular traps promote the development and progression of liver metastases after surgical stress[J]. Cancer Res, 2016, 76(6): 1367-1380. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1591.

[30] Carroll GM, Burns GL, Petit JA, et al. Does postoperative inflammation or sepsis generate neutrophil extracellular traps that influence colorectal cancer progression? A systematic review[J]. Surg Open Sci, 2020, 2(2): 57-69. doi: 10.1016/j.sopen.2019.12.005.

[31] Rayes RF, Mouhanna JG, Nicolau I, et al. Primary tumors induce neutrophil extracellular traps with targetable metastasis promoting effects[J]. JCI Insight, 2019, 5(16): e128008. doi: 10.1172/jci.insight.128008.

[32] Okamoto M, Mizuno R, Kawada K, et al. Neutrophil extracellular traps promote metastases of colorectal cancers through activation of ERK signaling by releasing neutrophil elastase[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(2):1118. doi: 10.3390/ijms24021118.

[33] Rayes RF, Vourtzoumis P, Bou Rjeily M, et al. Neutrophil extracellular trap-associated CEACAM1 as a putative therapeutic target to prevent metastatic progression of colon carcinoma[J]. J Immunol, 2020, 204(8): 2285-2294. doi: 10.4049/jimmunol.1900240.

[34] Yang LB, Liu Q, Zhang XQ, et al. DNA of neutrophil extracellular traps promotes cancer metastasis via CCDC25[J]. Nature, 2020, 583 (7814):133-138. doi: 10.1038/s41586-020-2394-6.

[35] Stehr AM, Wang GX, Demmler R, et al. Neutrophil extracellular traps drive epithelial-mesenchymal transition of human colon cancer[J]. J Pathol, 2022, 256(4):455-467. doi: 10.1002/path.5860.

[36] Poto R, Cristinziano L, Modestino L, et al. Neutrophil extracellular traps, angiogenesis and cancer[J]. Biomedicines, 2022, 10(2): 431. doi: 10.3390/biomedicines10020431.

[37] Mondal S, Adhikari N, Banerjee S, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: a minireview[J]. Eur J Med Chem, 2020, 194:112260. doi: 10.1016/j.ejmech.2020.112260.

[38] Streiff MB, Abutalib SA, Farge D, et al. Update on guidelines for the management of cancer-associated thrombosis[J]. Oncologist, 2021, 26(1):e24-40. doi: 10.1002/onco.13596.

[39] Mulder FI, Horváth-Puhó E, van Es N, et al. Venous thromboembolism in cancer patients: a population-based cohort study[J]. Blood, 2021, 137(14): 1959-1969. doi: 10.1182/blood.2020007338.

[40] Wei Q, Wang Y, An YB, et al. Rationale and design of a prospective, multicenter, cohort study on the evaluation of postoperative Venous ThromboEmbolism incidence in patients with ColoRectal Cancer (CRC-VTE trial)[J]. Transl Cancer Res, 2022, 11(5):1406-1412. doi: 10.21037/tcr-21-1860.

[41] Jung HS, Gu J, Kim JE, et al. Cancer cell-induced neutrophil extracellular traps promote both hypercoagulability and cancer progression[J]. PLoS One, 2019, 14(4): e0216055. doi: 10.1371/journal.pone.0216055.

[42] Zhou YL, Tao WM, Shen FY, et al. The emerging role of neutrophil extracellular traps in arterial, venous and cancer-associated thrombosis[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 786387. doi: 10.3389/fcvm.2021.786387.

[43] Zhou YL, Xu ZD, Liu ZQ. Impact of neutrophil extracellular traps on thrombosis formation: new findings and future perspective[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 910908. doi: 10.3389/fcimb.2022.910908.

[44] Li JC, Zou XM, Yang SF, et al. Neutrophil extracellular traps participate in the development of cancer-associated thrombosis in patients with gastric cancer[J]. World J Gastroenterol, 2022, 28(26): 3132-3149. doi: 10.3748/wjg.v28.i26.3132.

[45] Zhang Y, Wang CX, Yu MX, et al. Neutrophil extracellular traps induced by activated platelets contribute to procoagulant activity in patients with colorectal cancer[J]. Thromb Res, 2019, 180: 87-97. doi: 10.1016/j.thromres.2019.06.005.

[46] Zhang YY, Hu YY, Ma C, et al. Diagnostic, therapeutic predictive, and prognostic value of neutrophil extracellular traps in patients with gastric adenocarcinoma[J]. Front Oncol, 2020, 10: 1036. doi: 10.3389/fonc.2020.01036.

[47] Jin W, Xu HX, Zhang SR, et al. Tumor-infiltrating NETs predict postsurgical survival in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2019, 26(2): 635-643. doi: 10.1245/s10434-018-6941-4.

[48] Zhang H, Lv H, Weng ML, et al. Preoperative leukocytosis is associated with increased tumor-infiltrating neutrophil extracellular traps and worse outcomes in esophageal cancer[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(7):441. doi: 10.21037/atm.2020.03.190.

[49] Kaltenmeier CT, Yazdani H, van der Windt D, et al. Neutrophil extracellular traps as a novel biomarker to predict recurrence-free and overall survival in patients with primary hepatic malignancies[J]. HPB (Oxford), 2021, 23(2): 309-320. doi: 10.1016/j.hpb.2020.06.012.

[50] Grilz E, Mauracher LM, Posch F, et al. Citrullinated histone H3, a

biomarker for neutrophil extracellular trap formation, predicts the risk of mortality in patients with cancer[J]. Br J Haematol, 2019, 186(2):311−320. doi: 10.1111/bjh.15906.

[51] Smith P, Rosell A, Farm M, et al. Markers of neutrophil activation and neutrophil extracellular traps in diagnosing patients with acute venous thromboembolism: a feasibility study based on two VTE cohorts[J]. PLoS One, 2022, 17(7):e0270865. doi: 10.1371/journal.pone.0270865.

[52] Rosell A, Aguilera K, Hisada Y, et al. Prognostic value of circulating markers of neutrophil activation, neutrophil extracellular traps, coagulation and fibrinolysis in patients with terminal cancer[J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 5074. doi: 10.1038/s41598−021−84476−3.

[53] de Andrea CE, Ochoa MC, Villalba-Esparza M, et al. Heterogenous presence of neutrophil extracellular traps in human solid tumours is partially dependent on IL-8[J]. J Pathol, 2021, 255(2): 190−201. doi: 10.1002/path.5753.

[54] Li M, Lin C, Leso A, et al. Quantification of citrullinated histone H3 bound DNA for detection of neutrophil extracellular traps[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(11):3424. doi: 10.3390/cancers12113424.

[55] Ravindran M, Khan MA, Palaniyar N. Neutrophil extracellular trap formation: physiology, pathology, and pharmacology[J]. Biomolecules, 2019, 9(8):365. doi: 10.3390/biom9080365.

[56] Khan MA, Ali ZS, Sweezey N, et al. Progression of cystic fibrosis lung disease from childhood to adulthood: neutrophils, neutrophil extracellular trap (NET) formation, and NET degradation[J]. Genes (Basel), 2019, 10(3):183. doi: 10.3390/genes10030183.

[57] Xia YJ, He JY, Zhang HJ, 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[J]. Mol Oncol, 2020, 14(11): 2920−2935. doi: 10.1002/1878−0261.12787.

[58] Zhang HJ, Wang Y, Onuma A, et al. Neutrophils extracellular traps inhibition improves PD-1 blockade immunotherapy in colorectal cancer[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(21): 5333. doi: 10.3390/cancers13215333.

[59] Liu XS, Arfman T, Wichapong K, et al. PAD4 takes charge during neutrophil activation: impact of PAD4 mediated NET formation on immune-mediated disease[J]. J Thromb Haemost, 2021, 19(7): 1607−1617. doi: 10.1111/jth.15313.

[60] Aliko A, Kamińska M, Falkowski K, et al. Discovery of novel potential reversible peptidyl arginine deiminase inhibitor[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(9):2174. doi: 10.3390/ijms20092174.

[61] Mondal S, Thompson PR. Protein arginine deiminases (PADs): biochemistry and chemical biology of protein citrullination[J]. Acc Chem Res, 2019, 52(3): 818−832. doi: 10.1021/acs. accounts. 9b00024.

[62] Okeke EB, Louttit C, Fry C, et al. Inhibition of neutrophil elastase prevents neutrophil extracellular trap formation and rescues mice from endotoxic shock[J]. Biomaterials, 2020, 238: 119836. doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.119836.

[63] Wang XY, Sun SL, Duan ZH, et al. Protective effect of ethyl pyruvate on gut barrier function through regulations of ROS-related NETs formation during sepsis[J]. Mol Immunol, 2021, 132: 108−116. doi: 10.1016/j.molimm.2021.01.012.

[64] Li WX, Wang F, Zhu YQ, et al. Inhibitors of nitric oxide synthase can reduce extracellular traps from neutrophils in asthmatic children in vitro[J]. Pediatr Pulmonol, 2020, 55(1): 68−75. doi: 10.1002/ppul.24520.

[65] Zhang ZX, Zhu QL, Wang SY, et al. Epigallocatechin-3-gallate inhibits the formation of neutrophil extracellular traps and suppresses the migration and invasion of colon cancer cells by regulating STAT3/CXCL8 pathway[J]. Mol Cell Biochem, 2022. doi: 10.1007/s11010−022−04550−w. [Online ahead of print]

[66] Zhu CL, Shi SH, Jiang P, et al. Curcumin alleviates hepatic ischemia-reperfusion injury by inhibiting neutrophil extracellular traps formation[J]. J Invest Surg, 2023, 36(1): 2164813. doi: 10.1080/08941939.2022.2164813.

[67] Zeng J, Xu H, Fan PZ, et al. Kaempferol blocks neutrophil extracellular traps formation and reduces tumour metastasis by inhibiting ROS-PAD4 pathway[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(13): 7590−7599. doi: 10.1111/jcmm.15394.

（本文编辑　宋涛）

本文引用格式：贾栋, 陈顺, 解有成, 等. 结直肠癌中性粒细胞胞外诱捕网研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2023, 32(10):1599−1607. doi：10.7659/j.issn.1005−6947.2023.10.019

***Cite this article as*:** Jia D, Chen S, Xie YC, et al. Research progress on neutrophil extracellular traps in colorectal cancer[J]. Chin J Gen Surg, 2023, 32(10):1599−1607. doi：10.7659/j.issn.1005−6947.2023.10.019