

·综述·

DOI: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2020.06.011

# 中性粒细胞胞外诱捕网(NETs)在抗病毒免疫作用中的研究进展与展望

李文霖<sup>a</sup>, 李淑凝<sup>a</sup>, 王洋<sup>b\*</sup>, 沈海娥<sup>b</sup>, 李志敏<sup>c</sup>

(华北理工大学 a. 临床医学院; b. 生命科学学院; c. 护理与康复学院, 中国河北 唐山 063210)

**摘要:** 细菌、真菌以及寄生虫可以刺激中性粒细胞, 活化的炎症中性粒细胞在感染或炎症应答期主动释放一种串珠样纤维网状物质——中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs), 其产生的过程被称为NETosis。NETs可以杀死病原体, 或者阻止病原体在宿主组织内的局部传播, 但大量的NETs也可能造成局部或系统损伤。研究表明, 病毒也能诱发NETosis, 且产生的NETs也具有一定的抗病毒作用。中性粒细胞作为体内最多的免疫细胞, 在抵御细菌、真菌以及寄生虫的第一道防线发挥重要作用, 但其在控制病毒感染中的作用还不清楚。本文主要就病毒诱导NETs生成的机制、病毒如何逃避NETs以及NETs在抗病毒免疫中的作用予以综述。

**关键词:** 中性粒细胞; 中性粒细胞胞外诱捕网(NETs); 病毒; 免疫逃避; 病理效应

中图分类号: Q939.91

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2020)06-0511-06

## Research Progress and Prospect of the Role of Neutrophil Extracellular Traps (NETs) in Antiviral Immunity

LI Wen-lin<sup>a</sup>, LI Shu-ning<sup>a</sup>, WANG Yang<sup>b\*</sup>, SHEN Hai-e<sup>b</sup>, LI Zhi-min<sup>c</sup>

(a. College of Clinical Medicine; b. College of Life Sciences; c. College of Nursing and Rehabilitation, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, Hebei, China)

**Abstract:** The activated inflammatory neutrophils will actively release a kind of beads like fibrous network materials during the period of infection by bacteria, fungi or parasites or during inflammatory response. This phenomenon is called neutrophil extracellular traps (NETs) and the process of its formation is called NETosis. NETs can kill pathogens or prevent their local spread in host tissues, but a large number of NETs may also cause local or systemic damage. Recent studies have shown that viruses can also induce NETosis, and the resulting NETs also have some antiviral effects, but the role of NETs in controlling virus infection is not clear. Herein, the mechanism of virus-induced NET formation and the antiviral effects of NETs were reviewed.

**Key words:** neutrophils; neutrophil extracellular traps (NETs); virus; immune escape; pathogenic effect

(*Life Science Research*, 2020, 24(6): 511~516)

中性粒细胞作为抵御病原体入侵的第一道防线, 具有广泛的抗菌功能。活化的中性粒细胞

释放含有抗菌因子的颗粒, 并通过氧化裂解产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)<sup>[1]</sup>。中性粒细

收稿日期: 2020-02-26; 修回日期: 2020-04-11

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(H2017209143); 华北理工大学大学生创新创业项目(X2019181)

作者简介: 李文霖(1998—), 男, 江苏徐州人, 学生; \*通信作者: 王洋(1980—), 男, 河北唐山人, 博士, 华北理工大学副教授, 主要从事生物化学与分子生物学研究, E-mail: konig718@163.com。

胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs)是近些年发现的新的抗菌机制,该机制不同于凋亡和坏死,而是一种特殊类型程序性细胞死亡,这个过程被称为 NETosis<sup>[2-3]</sup>。在这个过程中,中性粒细胞的细胞核失去其特征性的形状,染色质发生去致密化<sup>[4]</sup>,随后,细胞核的膜和颗粒崩解,混合在一起,最终中性粒细胞释放 NETs。该网状结构主要由染色质组成,附着有大量的各种杀菌蛋白质,例如抗菌肽、蛋白酶、瓜氨酸化组蛋白等。NETs 可以包裹、捕捉并杀死病原体,特别是不易被吞噬的白色念珠菌和牛分枝杆菌聚集体这种结构较大的微生物<sup>[5]</sup>。NETosis 的经典途径需要由 NADPH 氧化酶产生 ROS,然而在缺乏 NADPH 氧化酶的情况下,线粒体 ROS 产生也可以触发 NETosis<sup>[6]</sup>。此外,金黄色葡萄球菌可引起一种非常迅速并无需 ROS 的 NETosis<sup>[7-8]</sup>,在金黄色葡萄球菌的直接作用下,中性粒细胞的细胞核迅速变圆和浓缩,通过囊泡出芽的方式,释放出 NETs 的成分。这个未有 ROS 参与的过程说明 NETs 的形成并不一定依赖于 ROS 的触发作用,可以认为这是一种 NETosis 的特殊途径。一直以来,研究者都认为 NETosis 需要中性粒细胞的破裂死亡,而相关研究观察到,在没有中性粒细胞死亡的情况下,机体也可以触发 NETosis,这种不同途径的 NETosis 打破了中性粒细胞的死亡是 NETosis 必要条件的观点<sup>[9-11]</sup>。当然,这种不同于经典途径的 NETosis 的具体机制和生理意义还有待阐明。

越来越多的证据表明中性粒细胞在抗病毒免疫反应中起重要作用<sup>[12-13]</sup>,而由病毒诱导的 NETs 既可以控制病毒又能损伤宿主<sup>[14]</sup>。NETs 的抗病毒免疫机制较抗其他微生物更为复杂,除了类似抗细菌的机制:依靠氧化物和非氧化物直接杀伤病毒体;通过网状结构包裹、限制病毒的扩散,NETs 还可以通过间接刺激其他的免疫细胞来发挥抗病毒免疫作用,比如:激活浆细胞样树突状细胞(plasmacytoid dendritic cells, pDCs)<sup>[12]</sup>;降低 T 淋巴细胞的激活阈值以提高机体的抗病毒适应性免疫<sup>[13]</sup>。在 NETs 发挥抗病毒作用的同时,它也会给机体带来许多严重的“副作用”,随着这些病理反应机制逐渐清楚,人们意识到 NETs 的大量形成会造成许多疾病,比如自身免疫性疾病、呼吸困难和血栓形成等<sup>[15-16]</sup>,因此有人通过减少和控制 NETosis 的发生来减轻这些严重的“副作用”。本文就病毒与 NETs 之间的相关性进行综述。

## 1 病毒诱导 NETs 产生的机制

许多病毒在体外实验中可以直接刺激中性粒细胞产生少量的 NETs,中性粒细胞表面和内含体上表达的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)在 NETosis 中起着重要作用<sup>[17-18]</sup>。例如:中性粒细胞通过内含体上的 PRRs,如 Toll 样受体 7/8 (Toll-like receptor 7/8, TLR7/8),识别 HIV-1 病毒核酸,发生 NETosis<sup>[19]</sup>;呼吸道合胞病毒(respiratory syncytial virus, RSV)的融合蛋白通过 TLR4 诱导小鼠发生 NETosis<sup>[20]</sup>;汉坦病毒(hantavirus)介导的 NETosis 是通过  $\beta 2$  整合素信号转导的<sup>[15]</sup>;流感病毒 A 也能刺激中性粒细胞直接释放 NETs,但相关机制尚未确定<sup>[21]</sup>。值得注意的是,甲型流感病毒诱导的 NETs 不能防止继发性细菌感染<sup>[22]</sup>,这说明病毒诱导的 NETs 在结构和功能上与细菌感染时产生的不同,也说明 NETs 的蛋白质成分取决于诱导刺激的类型<sup>[23]</sup>。在病毒感染的情况下,中性粒细胞可以启动除 NETosis 以外的其他抗病毒机制,例如释放抗病毒分子或吞噬作用,甚至启动凋亡程序<sup>[24]</sup>,但目前还不清楚中性粒细胞是怎样判断诱因并决定这些不同机制的产生,可能不是单个受体的作用,而是中性粒细胞多个受体的随机组合决定了中性粒细胞的抗病毒作用方式。此外,中性粒细胞中仅仅有一部分细胞发生了 NETosis,这表明仅有部分特殊亚型的中性粒细胞易受诱导发生 NETosis,而不是所有中性粒细胞都能发生<sup>[4]</sup>。有研究报道,病毒也可以通过不与 PRRs 结合的方式间接诱导 NETosis,病毒感染的内皮细胞和上皮细胞产生的炎症环境含有细胞因子和趋化因子,如白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8)、I 型干扰素(type I interferon, IFN- I),这些因子可促使 NETs 形成<sup>[3, 25-26]</sup>。

研究表明,血小板在抗病毒防御中起着重要作用,并且其作用与 NETs 有关<sup>[27]</sup>。在病毒感染过程中研究者经常观察到血小板的活化过程,例如:来自小 RNA 病毒科的单链正义 RNA 病毒通过 TLR7 激活血小板,活化的血小板与中性粒细胞形成聚集体,其分子机制为活化血小板上的 CD41 与中性粒细胞上的  $\beta 2$  整合素 CD11b 相互作用,最终诱导、产生 NETosis,这一作用可有效地降低病毒滴度并提高宿主的存活率<sup>[28-30]</sup>。血小板和中性粒细胞聚集体的大量生成以及 NETs 的出现可能代表着宿主应对大量繁殖病毒的一种紧急状

态,例如由汉坦病毒引起的病毒性出血热(viral hemorrhagic fever, VHF)<sup>[31-32]</sup>。

## 2 NETs 的抗病毒作用

虽然病毒诱导 NETs 形成的机制现在已经研究较多,但 NETs 对抗病毒的免疫作用尚未完全阐明。在感染痘病毒的小鼠模型中,感染前用脂多糖诱导的 NETs 大大减少了病毒感染的肝细胞的数量,而这种保护作用可被 DNase 处理减弱<sup>[30]</sup>。NETs 产生抗病毒作用的机制主要有以下 3 种: 1) NETs 的网状染色质骨架结合并固定病毒颗粒,从而机械地防止病毒传播,其中部分作用是通过静电引力来实现的,NETs 组蛋白富含带正电荷的氨基酸,在静电作用下可附着在带负电荷的病毒包膜上<sup>[19]</sup>。研究报道,核心组蛋白 H3 和 H4 既可以诱导季节性流感 A 颗粒聚集,也可以使 HIV-1 失活<sup>[19, 33]</sup>,胞外组蛋白能减少 HIV-1 的转录<sup>[34]</sup>,组蛋白 H1 与诺沃克病毒(Norwalk virus)结合,可防止它们附着在肠细胞上<sup>[35]</sup>; 2) 附着于 NETs 的染色质骨架存在抗菌分子,如髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、抗菌肽和  $\alpha$ -防御素,它们对包膜病毒和非包膜病毒都有抗病毒活性<sup>[36]</sup>; 3) NETs 组分通过刺激并激活其他免疫细胞的抗病毒机制,间接发挥抗病毒作用。例如: 组蛋白和高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1)作为损伤相关的分子模式(damage associated molecular patterns, DAMPs),触发其他免疫细胞释放促炎细胞因子和趋化因子<sup>[37]</sup>,但这一过程具有自我局限性,因为在中性粒细胞密度较高的情况下 NETs 会形成聚集体,进而降解细胞因子和趋化因子<sup>[38]</sup>; NETs 通过 TLRs 激活 pDCs, pDCs 通过释放大量的 IFN- $\gamma$ , 在抗病毒免疫中发挥关键作用<sup>[39-42]</sup>。事实上,NETs 富含被氧化的线粒体 DNA, 这些物质本身就能够有效地诱导 I 型 IFN 反应<sup>[43]</sup>。另外,NETs 也可以通过降低 T 淋巴细胞的激活阈值来提高机体的抗病毒适应性免疫<sup>[44]</sup>。

## 3 病毒对 NETs 的逃避机制

病毒逃避免疫的机制十分强大,目前已发现一些病毒具备对抗 NETs 形成的机制。IL-10 是一种免疫抑制细胞因子,能抑制 TLR 诱导的 ROS 产生,其经常在病毒感染的背景下产生,这说明病毒可能利用 IL-10 作为一种 NETs 逃避的手段<sup>[45-47]</sup>。研究显示, HIV-1 的包膜糖蛋白通过树突状细胞

特异性细胞间黏附分子-3, 结合非整合素因子(DC-SIGN), 刺激树突状细胞产生 IL-10<sup>[19]</sup>。已有研究发现,包括常见的人类巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)和 EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)在内的一些大型 DNA 病毒的基因组能够编码产生 IL-10 的类似物,这些 IL-10 类似物分子可抑制免疫细胞的功能甚至造成细胞死亡,可能对 NETosis 具有抑制效果<sup>[48-49]</sup>。另有研究报道, 2 型登革热病毒(dengue virus, DENV)可通过干扰葡萄糖摄取,在 ROS 非依赖的晚期阶段抑制 NETs 的形成<sup>[50-51]</sup>。细胞因子 IL-8 也是 NETs 产生的一个促进因子,而由 Kaposi 肉瘤相关疱疹病毒(kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)编码的潜伏相关核抗原 1 (latency-associated nuclear antigen-1, LANA-1)可以削弱免疫细胞 IL-8 的表达能力,从而抑制 NETs 的形成<sup>[52]</sup>。相关研究早就发现,一些细菌(如链球菌<sup>[53]</sup>)能够通过分泌 DNase 来降解 NETs, 疱疹病毒也可以编码具有相似 DNA 酶活性的蛋白质<sup>[54]</sup>, 这些蛋白质被包装到衣壳中,当病毒从宿主细胞中释放出来,它们可以降解 NETs,从而重新激活被 NETs 包裹的病毒粒子。

总体来说,病毒诱导的 NETs 通过直接或间接的机制减少病毒的扩散,而病毒逃避机制则以 NETs 的形成为目标,削弱 NETs 的抗病毒效应和免疫病理反应。

## 4 NETs 对抗病毒过程中的病理效应

NETosis 不仅对病原体具有有效免疫反应,也可能导致机体病理反应,如呼吸困难、自身免疫性疾病和血栓形成,NETs 的形成与病原体的感染情况不平衡是导致机体病理反应的主要原因<sup>[55]</sup>。NETs 对上皮细胞、内皮细胞以及肝细胞有直接的细胞毒性,它们含有的一些抗菌成分(如组蛋白)会导致组织损伤和其他病理异常<sup>[56-58]</sup>; NETs 的其他成分,如 HMGB1,也可能在病毒相关疾病中发挥有害作用<sup>[59]</sup>;此外,NETs 可以阻塞分泌管道或小气道,从而导致炎症<sup>[60]</sup>。有证据表明,病毒引起的局部 NETs 聚集会导致机体免疫病理反应的发生,目前研究者已在严重 RSV 感染患儿的支气管肺泡灌洗液中检测到 NETs<sup>[60]</sup>;在 RSV 感染的小牛中,NETs 在阻塞小气道的致密堵塞物中也被检出<sup>[61]</sup>;在小鼠流感肺炎模型中,研究者在肺泡毛细血管损伤区域观察到了 NETs 的生成<sup>[62]</sup>。另一方面,现

有实验表明, 缺乏肽基精氨酸脱氨酶 4 (peptidyl-larginine deiminase 4, PAD4) 的小鼠和野生型小鼠一样, 能够有效地控制流感病毒感染, 并显示出相似的存活率<sup>[63]</sup>, 这一结果表明, NETs 在个体抗病毒免疫和病毒诱导的病理过程中不起关键作用 (PAD4 是催化组蛋白 H3 和 H4 去亚胺基化的酶, 而 H3 和 H4 的去亚胺基化对于 NETs 的形成是必需的)。当然, 这些研究的不同结果也可能是由于不同的实验中使用了不同的病毒株和小鼠品系。有研究显示, 来自不同品系小鼠的中性粒细胞其 NETosis 的效率不同<sup>[64]</sup>。

如果病毒诱导的 NETs 聚集是一个重要的致病因素, 那么抑制 NETs 的形成, 例如通过 DNA 酶降解 NETs, 就可能消除病毒引起的疾病相关症状。一些临床试验显示, 用 DNA 酶治疗婴儿病毒性毛细支气管炎后, 患儿的临床症状得到改善, 但在另一些实验中没得到相同的结果<sup>[65-67]</sup>。因此, 需进一步的研究阐明病毒诱导的肺内 NETs 沉积的确切致病作用, 并探索抗 NETs 治疗的有效性。

如果宿主的 NETs 降解和清除机制不能有效清除大量出现的 NETs, 大量的 NETs 就会出现在血液循环中, 这将直接和间接地带来严重的不良影响。首先, NETs 可以直接损伤血管内表面的内皮细胞<sup>[55-56]</sup>; 其次, NETs 降解产生的一些成分会成为新的自身抗原并诱导自身抗体, 这样 NETs 超载会引发自身免疫性损伤。事实上, 许多被认为是自身免疫性疾病重要靶点的分子 (如 dsDNA、组蛋白、MPO、波形纤维蛋白和烯醇化酶) 都是 NETs 成分, 因此, NETs 与小血管血管炎、系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE)、弥散性血管内凝血、类风湿性关节炎和子痫前期等系统性自身免疫病的发生有关<sup>[68-69]</sup>。系统性 NETs 超载可能是由于清除不足或净产量增加, 来自 SLE 患者群体的血清研究显示, DNase I 活性降低, NETs 降解减少<sup>[70]</sup>。除了 DNase I, DNA 酶 I 样蛋白 3 (DNASE1L3) 是另一种可以防止系统性 NETs 超载的酶, 它由树突状细胞和巨噬细胞释放, 可清除微粒结构中的染色质 DNA, 从而抑制 SLE 的发生<sup>[71]</sup>。有意思的是, 在 NETs 降解酶缺陷的个体中, 即使是具有相对较弱的 NETs 刺激能力的病毒, 也可以诱导自身免疫反应的发生<sup>[71]</sup>。据此判断, NETs 形成很可能是病毒和系统性自身免疫疾病之间产生联系的桥梁。

汉坦病毒属于布尼亚病毒科, 通过粪口途径

感染人类, 可以导致 VHF, 患者主要临床表现为严重的肺、肾功能不全以及血管内凝血和失血性休克。汉坦病毒对 NETosis 有强烈的诱导效果。在 DNase 活性没有明显减弱的情况下, 汉坦病毒感染可以通过诱导 NETs 的过量形成引起暂时性、系统性 NETs 超载。汉坦病毒在内皮细胞 (其主要靶细胞) 中复制, 在体外实验中不会直接造成程序性细胞死亡, 这表明汉坦病毒造成的病理损伤可能并不是由汉坦病毒直接造成的, 而是由汉坦病毒诱导产生的免疫反应所致, 其中就包括 NETs 引起的免疫病理反应<sup>[72-73]</sup>。在汉坦病毒感染的患者中, 人们检测到高水平的 NETs, 在其血液循环中发现了大量的游离 DNA 和组蛋白<sup>[72]</sup>, 说明 NETs 的细胞毒活性可能在汉坦病毒所致病理损伤中起着重要的作用。已有研究证明, 组蛋白可以促进凝血酶的生成和血管内凝血, 并能增强内皮屏障的通透性<sup>[74-75]</sup>。此外, NETs 还可以诱导自身抗体的形成, 这也可能是汉坦病毒所致病理反应的机制之一。

登革热病毒 (DENV) 通过伊蚊在人与人之间传播, 是引起 VHF 的另一种致命病毒。目前, DENV 颗粒在体外实验中并没有显示出强烈的 NETs 诱导效果<sup>[50]</sup>。然而, 体内感染 DENV 的细胞可通过分泌病毒非结构蛋白 1 (nonstructural protein 1, NS1) 间接刺激 NETosis, NS1 通过 TLR4 途径激活未受感染的内皮细胞和血小板<sup>[76]</sup>。活化的内皮细胞通过释放 IL-8 促使中性粒细胞进入 NETosis, 研究显示, DENV 患者体内存在高水平的 IL-8 和弹性蛋白酶 (NETs 的一个关键组成部分), 并且其水平与疾病的严重程度密切相关<sup>[77]</sup>; 另外, 活化的血小板也能刺激中性粒细胞进行 NETosis。这些病理效应说明, 病毒引起的 NETs 对机体来说可能是一把双刃剑<sup>[12]</sup>。一方面, 精准聚集在感染区域的 NETs, 可以固定甚至中和病毒并杀死病毒感染的细胞; 另一方面, 如果 NETs 降解机制 (主要依赖 DNase 活性) 受损, 或者病毒刺激 NETs 的能力太强, NETs 导致的病理反应可能会扩散并引起健康组织损伤, 甚至导致全身系统性病理反应, 在这种 NETs 超载的情况下, 自身免疫现象将被触发, 可能导致全身疾病。

## 5 结束语与展望

现阶段的实验研究表明, 细菌、真菌、寄生虫以及病毒中的大部分病原微生物都能刺激中性粒

细胞发生 NETosis。相对于细菌、真菌、寄生虫,虽然病毒的体积相对微小,但它仍然会被 NETs 捕获,这些被捕获的病毒会被 NETs 包裹缠绕,减少扩散。不过,NETs 是否能完全将入侵的病毒杀死,依病毒种类的不同效果不尽一致,具体还需要进一步探讨。相对于 NETs 的益处,过多 NETs 产生也会造成局部甚至全身系统的病理反应,对机体造成重大的损伤,因此,深入探索病毒感染情况下 NETs 的形成机制将是未来 NETs 研究的重要方向,这对于我们控制 NETs 的生成,减轻其带来的“副作用”,将 NETs 的作用发挥到恰到好处具有重要的意义。

### 参考文献(References):

- BARDOEL B W, KENNY E F, SOLLBERGER G, *et al.* The balancing act of neutrophils[J]. *Cell Host & Microbe*, 2014, 15 (5): 526–536.
- 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]. *Journal of Leukocyte Biology*, 1996, 59(2): 229–240.
- BRINKMANN V, REICHARD U, GOOSMANN C, *et al.* Neutrophil extracellular traps kill bacteria[J]. *Science*, 2004, 303 (5663): 1532–1535.
- FUCHS T A, ABED U, GOOSMANN C, *et al.* Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps[J]. *Journal of Cell Biology*, 2007, 176(2): 231–241.
- BRANZK N, LUBOJEMSKA A, HARDISON S E, *et al.* Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens[J]. *Nature Immunology*, 2014, 15(11): 1017–1025.
- DOUDA D N, KHAN M A, GRASEMANN H, *et al.* SK3 channel and mitochondrial ROS mediate NADPH oxidase-independent NETosis induced by calcium influx[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2015, 112(9): 2817–2822.
- PILSCZEK F H, SALINA D, POON K K, *et al.* A novel mechanism of rapid nuclear neutrophil extracellular trap formation in response to *Staphylococcus aureus*[J]. *The Journal of Immunology*, 2010, 185(12): 7413–7425.
- PARKER H, DRAGUNOW M, HAMPTON M B, *et al.* Requirements for NADPH oxidase and myeloperoxidase in neutrophil extracellular trap formation differ depending on the stimulus[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2012, 92(4): 841–849.
- YIPP B G, KUBES P. NETosis: how vital is it?[J]. *Blood*, 2013, 122(16): 2784–2794.
- DESAI J, MULAY S R, NAKAZAWA D, *et al.* Matters of life and death. How neutrophils die or survive along NET release and is “NETosis” = necroptosis?[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2016, 73(11–12): 2211–2219.
- BYRD A S, O'BRIEN X M, JOHNSON C M, *et al.* An extracellular matrix-based mechanism of rapid neutrophil extracellular trap formation in response to *Candida albicans*[J]. *The Journal of Immunology*, 2013, 190(8): 4136–4148.
- JOANNA S M, KATARZYNA J Z, JOZEF P K B, *et al.* Eosinophils regulate interferon alpha production in plasmacytoid dendritic cells stimulated with components of neutrophil extracellular traps[J]. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 2017, 37(3): 119–128.
- TILLACK K, BREIDEN P, MARTIN R, *et al.* T lymphocyte priming by neutrophil extracellular traps links innate and adaptive immune responses[J]. *The Journal of Immunology*, 2012, 188(7): 3150–3159.
- LIANG X, LIU L, WANG Y, *et al.* Autophagy-driven NETosis is a double-edged sword—review[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 126: 110065.
- PAPAYANNOPOULOS V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2018, 18 (2): 134–147.
- FRANGOU E, VASSILOPOULOS D, BOLETIS J, *et al.* An emerging role of neutrophils and NETosis in chronic inflammation and fibrosis in systemic lupus erythematosus (SLE) and ANCA-associated vasculitides (AAV): implications for the pathogenesis and treatment[J]. *Autoimmunity Reviews*, 2019, 18 (8): 751–760.
- RABINOVITCH M. NETs activate pulmonary arterial endothelial cells[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2016, 36(10): 2035–2037.
- RAFTERY M J, LALWANI P, KRAUTKRÄMER E, *et al.*  $\beta 2$  integrin mediates hantavirus-induced release of neutrophil extracellular traps[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2014, 211(7): 1485–1497.
- SAITOH T, KOMANO J, SAITOH Y, *et al.* Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1[J]. *Cell Host & Microbe*, 2012, 12(1): 109–116.
- FUNCHAL G A, JAEGER N, CZEPIELEWSKI R S, *et al.* Respiratory syncytial virus fusion protein promotes TLR-4-dependent neutrophil extracellular trap formation by human neutrophils[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0124082.
- TRIPATHI S, VERMA A, KIM E J, *et al.* LL-37 modulates human neutrophil responses to influenza A virus[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2014, 96(5): 931–938.
- NARAYANA MOORTHY A, NARASARAJU T, RAI P, *et al.* *In vivo* and *in vitro* studies on the roles of neutrophil extracellular traps during secondary pneumococcal pneumonia after primary pulmonary influenza infection[J]. *Frontiers in Immunology*, 2013, 4: 56.
- KHANDPUR R, CARMONA-RIVERA C, VIVEKANANDAN-GIRI A, *et al.* NETs are a source of citrullinated autoantigens and stimulate inflammatory responses in rheumatoid arthritis[J]. *Science Translational Medicine*, 2013, 5(178): 178ra140.
- GALANI I E, ANDREAKOS E. Neutrophils in viral infections: current concepts and caveats[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2015, 98(4): 557–564.
- BAI Y, TONG Y, LIU Y, *et al.* Self-dsDNA in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2018, 191(1): 1–10.
- MEHER A K, SPINOSA M, DAVIS J P, *et al.* Novel role of IL (interleukin)- $1\beta$  in neutrophil extracellular trap formation and abdominal aortic aneurysms[J]. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 2018, 38(4): 843–853.
- ASSINGER A. Platelets and infection—an emerging role of platelets in viral infection[J]. *Frontiers in Immunology*, 2014, 5: 649.
- KOUPENOVA M, VITSEVA O, MACKAY C R, *et al.* Platelet-TLR7 mediates host survival and platelet count during viral infection in the absence of platelet-dependent thrombosis[J]. *Blood*, 2014, 124(5): 791–802.
- NEGROTTO S, JAQUENOD DE GIUSTI C, RIVADENEYRA L, *et al.* Platelets interact with Coxsackieviruses B and have a critical role in the pathogenesis of virus-induced myocarditis[J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2015, 13(2): 271–282.
- JENNE C N, WONG C H, ZEMP F J, *et al.* Neutrophils recruited to sites of infection protect from virus challenge by releasing neutrophil extracellular traps[J]. *Cell Host & Microbe*, 2013, 13 (2): 169–180.
- ZAPATA J C, COX D, SALVATO M S. The role of platelets in the pathogenesis of viral hemorrhagic fevers[J]. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2014, 8(6): e2858.
- CONNOLLY-ANDERSEN A M, SUNDBERG E, AHLM C, *et al.* Increased thrombopoiesis and platelet activation in hantavirus-infected patients[J]. *International Journal of Infectious Diseases*, 2015, 212(7): 1061–1069.
- HOEKSEMA M, TRIPATHI S, WHITE M, *et al.* Arginine-rich histones have strong antiviral activity for influenza A viruses[J]. *Innate Immunity*, 2015, 21(7): 736–745.
- KOZLOWSKI H N, LAI E T, HAVUGIMANA P C, *et al.* Extracellular histones identified in crocodile blood inhibit *in vitro* HIV-1 infection[J]. *AIDS*, 2016, 30(13): 2043–2052.

- [35] TAMURA M, NATORI K, KOBAYASHI M, *et al.* Inhibition of attachment of virions of Norwalk virus to mammalian cells by soluble histone molecules[J]. Archives of Virology, 2003, 148(9): 1659–1670.
- [36] GWYER FINDLAY E, CURRIE S M, DAVIDSON D J. Cationic host defence peptides: potential as antiviral therapeutics[J]. Bio-Drugs, 2013, 27(5): 479–493.
- [37] DYER M R, CHEN Q, HALDEMAN S, *et al.* Deep vein thrombosis in mice is regulated by platelet HMGB1 through release of neutrophil-extracellular traps and DNA[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 2068.
- [38] SCHAUER C, JANKO C, MUNOZ L E, *et al.* Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines[J]. Nature Medicine, 2014, 20(5): 511–517.
- [39] GARCIA-ROMO G S, CAIELLI S, VEGA B, *et al.* Netting neutrophils are major inducers of type I IFN production in pediatric systemic lupus erythematosus[J]. Science Translational Medicine, 2011, 3(73): 73ra20.
- [40] YOSHIKAWA F S, DE ALMEIDA S R. The role of phagocytes and NETs in dermatophytosis[J]. Mycopathologia, 2017, 182(1–2): 263–272.
- [41] HIRSCHFELD J, WHITE P C, MILWARD M R, *et al.* Modulation of neutrophil extracellular trap and reactive oxygen species release by periodontal bacteria[J]. Infection and Immunity, 2017, 85(12): e00297–17.
- [42] SWIECKI M, COLONNA M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells[J]. Nature Reviews Immunology, 2015, 15(8): 471–485.
- [43] LOOD C, BLANCO L P, PURMALEK M M, *et al.* Neutrophil extracellular traps enriched in oxidized mitochondrial DNA are interferogenic and contribute to lupus-like disease[J]. Nature Medicine, 2016, 22(2): 146–153.
- [44] LIU X, WANG Y, LU H, *et al.* Genome-wide analysis identifies NR4A1 as a key mediator of T cell dysfunction[J]. Nature, 2019, 567(7749): 525–529.
- [45] CHANG J, KUNKEL S L, CHANG C H. Negative regulation of MyD88-dependent signaling by IL-10 in dendritic cells[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2009, 106(43): 18327–18332.
- [46] NG C T, OLDSTONE M B. IL-10: achieving balance during persistent viral infection[J]. Current Topics in Microbiology and Immunology, 2014, 380: 129–144.
- [47] SHEN P, FILLATREAU S. Suppressive functions of B cells in infectious diseases[J]. International Immunology, 2015, 27(10): 513–519.
- [48] HSU D H, DE WAAL MALEFYT R, FIORENTINO D F, *et al.* Expression of interleukin-10 activity by Epstein-Barr virus protein BCRF1[J]. Science, 1990, 250(4982): 830–832.
- [49] KOTENKO S V, SACCANI S, IZOTOVA L S, *et al.* Human cytomegalovirus harbors its own unique IL-10 homolog (cmvIL-10)[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2000, 97(4): 1695–1700.
- [50] MORENO-ALTAMIRANO M M, RODRIGUEZ-ESPINOSA O, ROJAS-ESPINOSA O, *et al.* Dengue virus serotype-2 interferes with the formation of neutrophil extracellular traps[J]. Intervirology, 2015, 58(4): 250–259.
- [51] RODRIGUEZ-ESPINOSA O, ROJAS-ESPINOSA O, MORENO-ALTAMIRANO M M, *et al.* Metabolic requirements for neutrophil extracellular traps formation[J]. Immunology, 2015, 145(2): 213–224.
- [52] LI X, LIANG D, LIN X, *et al.* Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus-encoded latency-associated nuclear antigen reduces interleukin-8 expression in endothelial cells and impairs neutrophil chemotaxis by degrading nuclear p65[J]. Journal of Virology, 2011, 85(17): 8606–8615.
- [53] LEFRANÇAIS E, MALLAVIA B, ZHUO H, *et al.* Maladaptive role of neutrophil extracellular traps in pathogen-induced lung injury[J]. JCI Insight, 2018, 3(3): e98178.
- [54] MARTINEZ R, SARISKY R T, WEBER P C, *et al.* Herpes simplex virus type 1 alkaline nuclease is required for efficient processing of viral DNA replication intermediates[J]. Journal of Virology, 1996, 70(4): 2075–2085.
- [55] KUMAR S, GUPTA E, KAUSHIK S, *et al.* Neutrophil extracellular traps: formation and involvement in disease progression[J]. Iranian Journal of Allergy, Asthma, and Immunology, 2018, 17(3): 208–220.
- [56] BOELTZ S, HERRMANN M. Editorial—NETs in autoimmune diseases[J]. Autoimmunity, 2018, 51(6): 265–266.
- [57] GROVER S P, MACKMAN N. Neutrophils, NETs, and immunothrombosis[J]. Blood, 2018, 132(13): 1360–1361.
- [58] HOEKSEMA M, VAN EIJK M, HAAGSMAN H P, *et al.* Histones as mediators of host defense, inflammation and thrombosis[J]. Future Microbiology, 2016, 11(3): 441–453.
- [59] WANG H, WARD M F, FAN X G, *et al.* Potential role of high mobility group box 1 in viral infectious diseases[J]. Viral Immunology, 2006, 19(1): 3–9.
- [60] LEPPKES M, MAUERODER C, HIRTH S, *et al.* Externalized decondensed neutrophil chromatin occludes pancreatic ducts and drives pancreatitis[J]. Nature Communications, 2016, 7: 10973.
- [61] CORTJENS B, DE BOER O J, DE JONG R, *et al.* Neutrophil extracellular traps cause airway obstruction during respiratory syncytial virus disease[J]. The Journal of Pathology, 2016, 238(3): 401–411.
- [62] NARASARAJU T, YANG E, SAMY RP, *et al.* Excessive neutrophils and neutrophil extracellular traps contribute to acute lung injury of influenza pneumonitis[J]. The American Journal of Pathology, 2011, 179(1): 199–210.
- [63] HEMMERS S, TEJJARO J R, ARANDJELOVIC S, *et al.* PAD4-mediated neutrophil extracellular trap formation is not required for immunity against influenza infection[J]. PLoS One, 2011, 6(7): e22043.
- [64] ERMERT D, URBAN C F, LAUBE B, *et al.* Mouse neutrophil extracellular traps in microbial infections[J]. Journal of Innate Immunity, 2009, 1(3): 181–193.
- [65] BARNADO A, CROFFORD L J, OATES J C. At the bedside: neutrophil extracellular traps (NETs) as targets for biomarkers and therapies in autoimmune diseases[J]. Journal of Leukocyte Biology, 2016, 99(2): 265–278.
- [66] MURARO S P, DE SOUZA G F, GALLO S W, *et al.* Respiratory syncytial virus induces the classical ROS-dependent NETosis through PAD-4 and necroptosis pathways activation[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 14166.
- [67] ENRIQUEZ A, CHU I W, MELLIS C, *et al.* Nebulised deoxyribonuclease for viral bronchiolitis in children younger than 24 months[J]. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2012, 11(11): CD008395.
- [68] LEE K H, KRONBICHLER A, PARK D D, *et al.* Neutrophil extracellular traps (NETs) in autoimmune diseases: a comprehensive review[J]. Autoimmunity Reviews, 2017, 16(11): 1160–1173.
- [69] GRAYSON P C, KAPLAN M J. At the bench: neutrophil extracellular traps (NETs) highlight novel aspects of innate immune system involvement in autoimmune diseases[J]. Journal of Leukocyte Biology, 2016, 99(2): 253–264.
- [70] HAKKIM A, FURNROHR B G, AMANN K, *et al.* Impairment of neutrophil extracellular trap degradation is associated with lupus nephritis[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 2010, 107(21): 9813–9818.
- [71] SISIRAK V, SALLY B, D'AGATI V, *et al.* Digestion of chromatin in apoptotic cell microparticles prevents autoimmunity[J]. Cell, 2016, 166(1): 88–101.
- [72] SCHONRICH G, KRUGER D H, RAFTERY M J. Hantavirus-induced disruption of the endothelial barrier: neutrophils are on the payroll[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 222.
- [73] LALWANI P, RAFTERY M J, KOBAK L, *et al.* Hantaviral mechanisms driving HLA class I antigen presentation require both RIG-I and TRIF[J]. European Journal of Immunology, 2013, 43(10): 2566–2576.
- [74] MASSBERG S, GRAHL L, VON BRUEHL M L, *et al.* Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases[J]. Nature Medicine, 2010, 16(8): 887–896.
- [75] SEMERARO F, AMMOLLO C T, MORRISSEY J H, *et al.* Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: involvement of platelet TLR2 and TLR4[J]. Blood, 2011, 118(7): 1952–1961.
- [76] MODHIRAN N, WATTERSON D, MULLER D A, *et al.* Dengue virus NS1 protein activates cells via Toll-like receptor 4 and disrupts endothelial cell monolayer integrity[J]. Science Translational Medicine, 2015, 7(304): 304ra142.
- [77] OPASAWATCHAI A, AMORNSUPAWAT P, JIRAVEJCHAKUL N, *et al.* Neutrophil activation and early features of NET formation are associated with dengue virus infection in human[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 3007.