

# 血栓形成的主要推手 嗜中性白血球的黑暗面

臺大醫學院 免疫所 鍾筱菁博士 賈景山教授

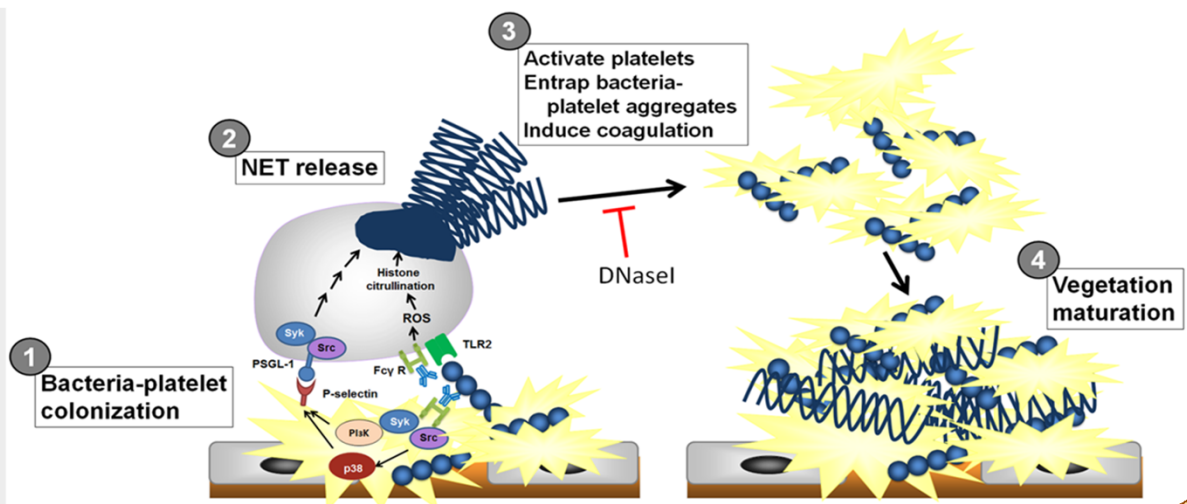
**Circulation**  
JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION



## Endocarditis Pathogen Promotes Vegetation Formation by Inducing Intravascular Neutrophil Extracellular Traps Through Activated Platelets

Chiau-Jing Jung, Chiou-Yueh Yeh, Ron-Bin Hsu, Chii-Ming Lee, Chia-Tung Shun and Jean-San Chia

*Circulation*. published online December 19, 2014;  
*Circulation* is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231  
Copyright © 2014 American Heart Association, Inc. All rights reserved.  
Print ISSN: 0009-7322. Online ISSN: 1524-4539





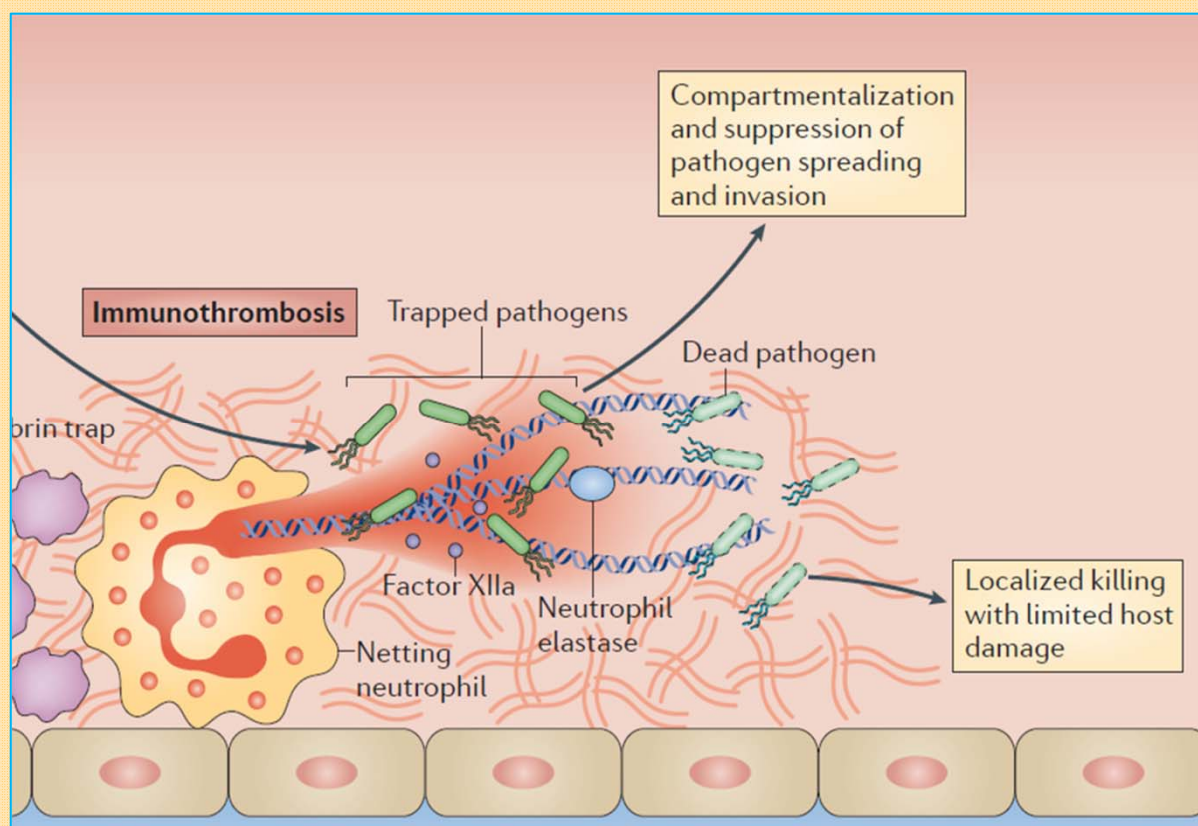
## 一、前言

血液中的嗜中性白血球(**neutrophil**)，一向被認為是抵禦外在感染的第一條防線，它在外來病原菌入侵體內時，快速的移動至感染處進行吞噬作用，並利用細胞內的溶酶體 (**lysosome**) 及顆粒中的酵素達到殺菌的效果；而在近年來學術界更是發現了嗜中性白血球的新功能，它在特殊的環境下，會將細胞核的染色體結構解旋後釋放出去，稱為嗜中性胞外網狀結構 (**Neutrophil Extracellular Traps**，簡稱**NETs**)<sup>1</sup>，這種網狀結構會纏繞病原菌，使其無法擴散，然後促進其清除和分解，雖然看起來**NETs**的形成可以幫助病原菌的清除，但在有時候卻反而會幫助病原菌的感染或造成疾病的發生，而本篇將由另一個角度，漫談嗜中型白血球的黑暗面。

## 二、NETs在凝血系統的角色

**NETs**在釋放時因有顆粒酵素的參與，故其結構主要是由染色質絲、組織蛋白 (**histone**) 以及鑲嵌在染色質絲上的顆粒酵素包含 **myeloperoxidase (MPO)**，**elastase**...等所組成<sup>1</sup>，除了幫助清除外來病原菌的功能外，這些 **NETs** 上的組成物質會引起血小板凝集及凝血系統 (**coagulation system**) 的活化，而造成局部凝血物質 (**thrombus**) 的產生(圖一)<sup>2</sup>，其中包含染色質絲會直接活化內源性途徑凝血系統的第12號凝血因子<sup>3</sup>，且可藉由連接**vWF factors**來凝集血小板；另外在其上的組織蛋白也被證明可以直接活化血小板及凝血反應<sup>4</sup>，而黏附在染色質絲的顆粒酵素包含**MPO**，**elastase**，則會藉由切除及氧化一些抗凝血因子，包含**tissue factor pathway inhibitor (TFPI)** 及 **thrombomodulin** 來達到活化及增進凝血系統的功能<sup>5</sup>；此外也有文獻報導，**NETs**可藉由與組織因子 (**tissue factor**) 的結合，來達到活化凝血系統的外源性途徑，藉由以上機制，**NETs**可藉由與血小板的合作促進局部凝血物質 (**thrombus**) 的產生，而產生的目的原是想藉由產生促進局部凝血物質的生成來侷限住病原菌，使其無法擴散，且幫助免疫系統來清除外來病原菌的感染，這種藉由凝血系統達到幫助免疫反應的機制，稱為“**immunothrombosis**”<sup>2</sup>，雖然產生的凝血物質可幫助清除病原菌，但是也常常與一些與病原菌引發凝血現象的疾病有關，例如感染性心內膜炎 (**infective endocarditis**)。





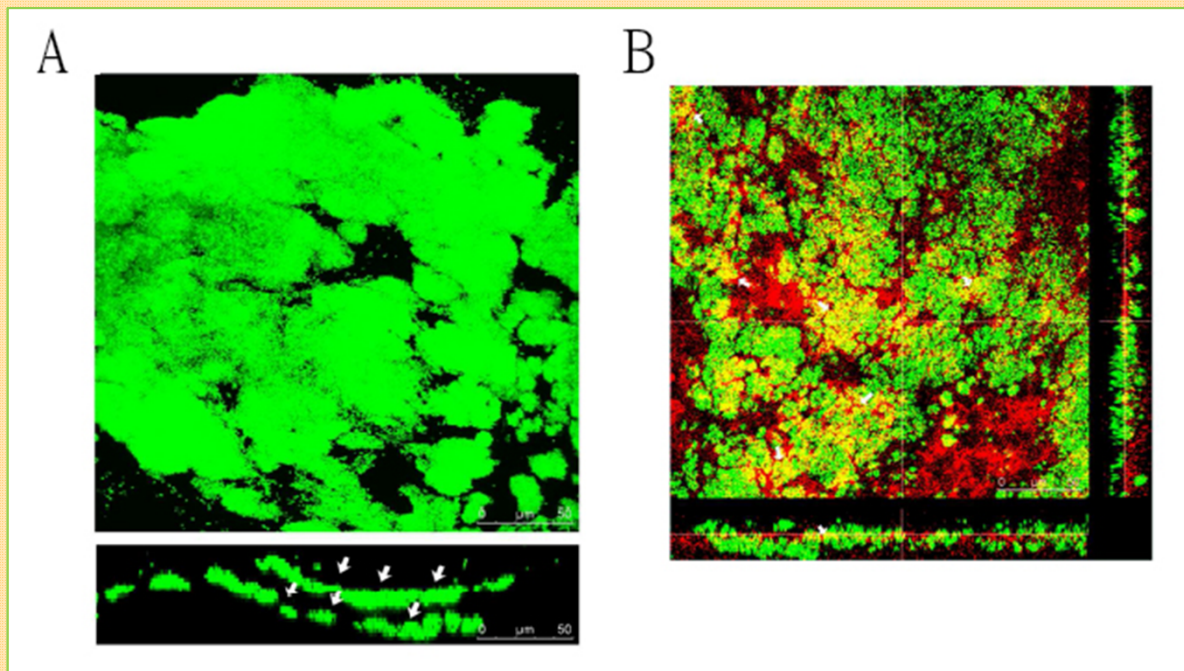
圖一、嗜中性白血球包外網狀結構可促進血小板凝集及凝血機制的活化  
(摘錄自Engelmann B, et. Al., *Nature reviews. Immunology*. 2013;13:34-45)



### 三、NETs 與感染性心內膜炎

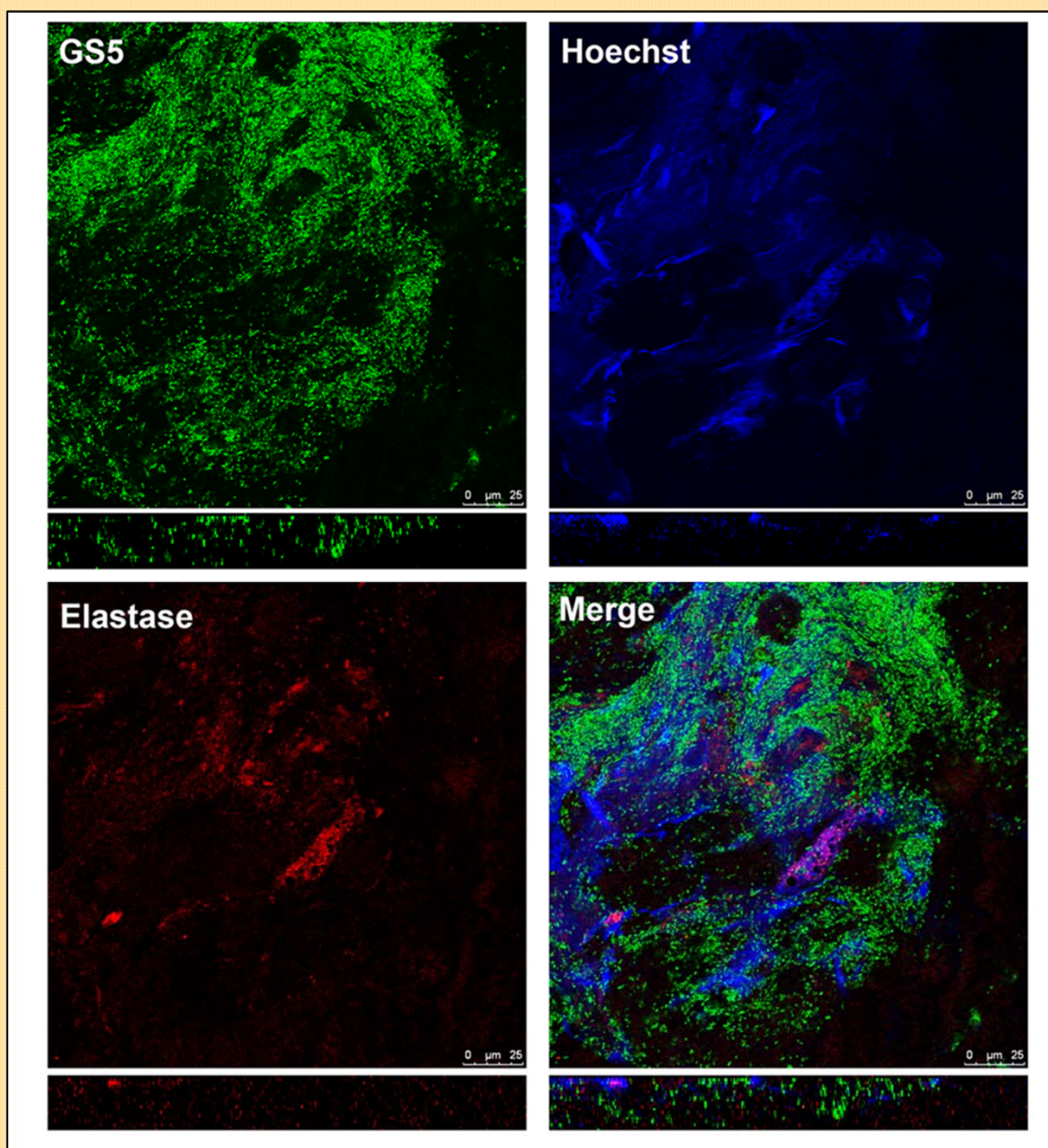
感染性心內膜炎為由細菌所引起的一種心臟瓣膜上的感染性疾病，常由於引起心臟瓣膜及附近心臟組織的發炎及其引起之嚴重併發症而致命，其發生率大約為每一年每100,000人會有2至6人發生<sup>6</sup>，其致死率大約為10%至30%<sup>7</sup>，可依其臨床病徵及疾病發展的速度及嚴重性，可分為急性及亞急性，其中急性常由黃金葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 所引起<sup>8</sup>，而亞急性主要由草綠色鏈球菌 (*viridans streptococci*) 所引起<sup>9</sup>，由於感染性心內膜炎的病徵主要為心臟瓣膜上有一種贅生物的形成，而這種贅生物為細菌與血小板、凝血纖維蛋白及一些發炎細胞所組成的一種特殊的細菌生物膜構造<sup>6</sup>，由於這種病癥在臨床上難以診斷，且由於細菌生物膜的特徵使得感染性心內膜炎較難治療及預防，即使治療後也常再發作。感染性心內膜炎是屬於一種伺機性感染，引起的菌株包含常附著在人體皮膚的葡萄球菌及生存在口腔中的綠色鏈球菌，當有傷口產生，有可能是一般的刷牙動作或口腔的手術，例如拔牙，常造成這些平常與人類共生的細菌有機會進入血液循環系統中，造成臨時型的菌血症<sup>10</sup>；而感染性心內膜炎常發生在心臟瓣膜先天異常或受損的病人，心臟瓣膜受損可能是由於裝置人工心臟瓣膜或毒品及顆粒材質靜脈注射的使用，心臟瓣膜受損造成的基底細胞外基質蛋白的外露，常引發發炎及凝血反應，局部將聚集活化的血小板及纖維蛋白的沉積，而這些具有黏附細胞外基質蛋白及血小板或纖維蛋白能力的細菌，就能夠黏附在心臟瓣膜上生存繁殖而形成細菌生物膜，而這些細菌通常具有活化凝集血小板的能力，可進一步引發血小板凝集及纖維蛋白的沉積，而後至的細菌可進一步黏附在血小板上形成層狀堆疊的細菌生物膜 (圖二)<sup>11</sup>，這樣的細菌與血小板的交互作用可進一步吸引嗜中性白血球的聚集，並且促進嗜中性胞外網狀結構 (NETs) 的釋放 (圖三)<sup>12</sup>，局部的NETs一方面當作支架黏集細菌與血小板形成的凝集組織，一方面進一步促進更多的血小板凝集及凝血系統的活化，由此來促進贅生物的擴展及成熟<sup>12</sup>。





圖二、在心內膜炎大鼠模式中使用帶有綠色螢光的轉糖鏈球菌，利用共軛焦顯微鏡可以觀察到細菌在受損的心臟瓣膜上形成層層堆疊的細菌生物膜(A)，若利用血小板專一性抗體來做染色(標記紅色螢光)，可觀察到細菌是與血小板結合一起而形成生物膜(B)。(摘錄自 Jung CJ, et. al., *J Infect Dis*, 2012; 205: 1066-1075)





圖三、在心內膜炎大鼠模式中使用帶有綠色螢光的轉糖鏈球菌及利用 **Hoechst** 及 **anti-elastase antibody**，利用共軛焦顯微鏡可以觀察到細菌在瓣膜上形成的贅生物中，有 **NETs** 形成。

(摘錄自 **Jung CJ, et. al., *Circulation*. 2015;131:571-581**)



#### 四、感染性心內膜炎的治療與預防

臨床上會針對具有較危險性的病人，例如具有心血管疾病者，在要進行可能引發菌血症的治療前，會評估其風險性，而予以事先預防抗生素的給予；在過去幾年前，美國心臟協<sup>13</sup>及歐洲心臟協會也針對為預防感染性心內膜炎的發生，制定出預防性抗生素給予的建議準則指引，雖然美國心臟協會及歐洲心臟協會所制定的預防性抗生素給予的建議準則指引簡化了預防性抗生素給予程序，也提高了醫生遵守執行的比例，但是其預防感染性心內膜炎的發生的效果，迄今還是具有爭議性。此外，由於在以前研究也得知細菌引起血小板及凝血系統的活化在心內膜炎的致病機轉扮演重要角色，於是有人提出利用利用 **aspirin** 來預防或治療心內膜炎，可是 **aspirin** 無法在手術前做為預防用，在治療方面的成果上，也具爭議性，且會造成大出血的危險性<sup>14</sup>。所以，由於抗生素及抗凝劑在預防及治療心內膜炎的效果及使用上具爭議性，或許針對 **NETs** 是個不錯的治療標的，利用心內膜炎的大鼠模式，發現了利用 **DNase I** 將 **NETs** 移除，可明顯降低贅生物的形成，若是配合抗生物的使用，更可降低心臟瓣膜及血液循環系統中的細菌量<sup>12</sup>，這個動物實驗的結果，提供了治療或預防心內膜炎的更有效率及有效的新方法（結果本實驗室已發表於今年初 **Circulation**. 2015;131(6):571-81）。

#### 五、與 **NETs** 有關的其他疾病

除了心內膜炎，與感染及凝血有關的疾病，還包含了由細菌脂多糖( **lipopolysaccharide, LPS**; 又稱內毒素, **endotoxin**) 所引起的敗血症 (**sepsis**)，其被證明在血管內可引發嗜中性白血球釋放出 **NETs**<sup>15</sup>，而 **NETs** 也被認為與 **LPS** 所引發的彌散性血管內凝血 ( **disseminated intravascular coagulation, DIC**) 有關。另外，在粥狀動脈硬化的病灶中也發現了 **NETs** 的存在，在試管中的實驗也證實了 **cholesterol crystal** 具有直接引發嗜中性白血球釋放 **NETs** 的能力，而 **NETs** 的產生，可能會造成局部凝血機制的活化及組織的傷害<sup>16</sup>；此外，**NETs** 在紅斑性狼瘡也以被證實了為自體抗體的自體抗原，所引發的自體抗體，也與組織的破壞與疾病的嚴重程度有關<sup>17</sup>；因此，在這些與 **NETs** 的疾病中，利用 **DNase I** 將 **NETs** 清除，或許可以成為新的治療方法。



## Reference

1. Brinkmann V. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*. 2004;303:1532-1535
2. Engelmann B, Massberg S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. *Nature reviews. Immunology*. 2013;13:34-45
3. von Bruhl ML, Stark K, Steinhart A, Chandraratne S, Konrad I, Lorenz M, Khandoga A, Tirniceriu A, Coletti R, Kollnberger M, Byrne RA, Laitinen I, Walch A, Brill A, Pfeiler S, Manukyan D, Braun S, Lange P, Riegger J, Ware J, Eckart A, Haidari S, Rudelius M, Schulz C, Echtler K, Brinkmann V, Schwaiger M, Preissner KT, Wagner DD, Mackman N, Engelmann B, Massberg S. Monocytes, neutrophils, and platelets cooperate to initiate and propagate venous thrombosis in mice in vivo. *The Journal of experimental medicine*. 2012;209:819-835
4. Semeraro F, Ammollo CT, Morrissey JH, Dale GL, Friese P, Esmon NL, Esmon CT. Extracellular histones promote thrombin generation through platelet-dependent mechanisms: Involvement of platelet tlr2 and tlr4. *Blood*. 2011;118:1952-1961
5. Massberg S, Grahl L, von Bruehl ML, Manukyan D, Pfeiler S, Goosmann C, Brinkmann V, Lorenz M, Bidzhekov K, Khandagale AB, Konrad I, Kennerknecht E, Reges K, Holdenrieder S, Braun S, Reinhardt C, Spannagl M, Preissner KT, Engelmann B. Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases. *Nat Med*. 2010;16:887-896
6. Moreillon P, Que YA. Infective endocarditis. *Lancet*. 2004;363:139-149
7. Hasbun R, Vikram HR, Barakat LA, Buenconsejo J, Quagliarello VJ. Complicated left-sided native valve endocarditis in adults: Risk classification for mortality. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2003;289:1933-1940
8. Moreillon P, Que YA, Bayer AS. Pathogenesis of streptococcal and staphylococcal endocarditis. *Infect Dis Clin North Am*. 2002;16:297-318



9. Roberts RB. Streptococcal endocarditis. *Infective endocarditis*, D. Kaye, ed. (New York: Raven). 1995:p. 191-208
10. Moreillon P, Overholser CD, Malinverni R, Bille J, Glauser MP. Predictors of endocarditis in isolates from cultures of blood following dental extractions in rats with periodontal disease. *J Infect Dis*. 1988;157:990-995
11. Jung CJ, Yeh CY, Shun CT, Hsu RB, Cheng HW, Lin CS, Chia JS. Platelets enhance biofilm formation and resistance of endocarditis-inducing streptococci on the injured heart valve. *J Infect Dis*. 2012;205:1066-1075
12. Jung CJ, Yeh CY, Hsu RB, Lee CM, Shun CT, Chia JS. Endocarditis pathogen promotes vegetation formation by inducing intravascular neutrophil extracellular traps through activated platelets. *Circulation*. 2015;131:571-581
13. Wilson W, Taubert KA, Gewitz M, Lockhart PB, Baddour LM, Levison M, Bolger A, Cabell CH, Takahashi M, Baltimore RS, Newburger JW, Strom BL, Tani LY, Gerber M, Bonow RO, Pallasch T, Shulman ST, Rowley AH, Burns JC, Ferrieri P, Gardner T, Goff D, Durack DT. Prevention of infective endocarditis: Guidelines from the american heart association: A guideline from the american heart association rheumatic fever, endocarditis, and kawasaki disease committee, council on cardiovascular disease in the young, and the council on clinical cardiology, council on cardiovascular surgery and anesthesia, and the quality of care and outcomes research interdisciplinary working group. *Circulation*. 2007;116:1736-1754
14. Eisen DP, Bayer AS. Aspirin use in infective endocarditis. *Clin Infect Dis*. 2008;46:1481-1482
15. Ma AC, Kubes P. Platelets, neutrophils, and neutrophil extracellular traps (nets) in sepsis. *J Thromb Haemost*. 2008;6:415-420
16. Warnatsch A, Ioannou M, Wang Q, Papayannopoulos V. Inflammation. Neutrophil extracellular traps license macrophages for cytokine production in atherosclerosis. *Science*. 2015;349:316-320
17. Bosch X. Systemic lupus erythematosus and the neutrophil. *The New England journal of medicine*. 2011;365:758-760





賈景山教授 和學生們