

CCL28在心脏移植排斥反应中的潜在作用

孙宇鹏, 董爱强*

浙江大学医学院, 浙江 杭州

收稿日期: 2026年3月9日; 录用日期: 2026年4月3日; 发布日期: 2026年4月13日

摘要

心脏移植是终末期心力衰竭的有效治疗手段, 但术后排斥反应严重制约移植物长期存活。趋化因子CCL28作为黏膜免疫的关键调节因子, 通过其受体CCR3和CCR10发挥多样的免疫调控功能。近年来研究表明, CCL28在中性粒细胞募集和活化中起重要作用, 而中性粒细胞及其释放的中性粒细胞胞外陷阱(NETs)在移植排斥反应中的作用日益受到关注。本文系统综述CCL28的生物学特性、中性粒细胞在免疫应答中的功能、NETosis的形成机制及其在移植排斥中的潜在作用, 并探讨可能存在的CCL28/CCR3/NETosis轴在心脏移植排斥中的潜在机制, 以期为临床防治心脏移植排斥提供新的理论依据和治疗靶点。

关键词

CCL28, CCR3, CCR10, 中性粒细胞, NETosis, 心脏移植排斥反应

The Potential Role of CCL28 in Cardiac Allograft Rejection

Yupeng Sun, Aiqiang Dong*

School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang

Received: March 9, 2026; accepted: April 3, 2026; published: April 13, 2026

Abstract

Heart transplantation is an effective therapeutic approach for end-stage heart failure; however, post-transplant rejection remains a major obstacle to long-term graft survival. The chemokine CCL28, a key regulator of mucosal immunity, exerts diverse immunomodulatory functions through its receptors CCR3 and CCR10. Recent studies have highlighted the critical role of CCL28 in neutrophil recruitment and activation, while the involvement of neutrophils and neutrophil extracellular traps (NETs) in transplant rejection has garnered increasing attention. This article systematically reviews the

*通讯作者。

biological characteristics of CCL28, the functions of neutrophils in immune responses, the mechanisms of NETosis, and their potential roles in transplant rejection. Furthermore, we explore the possible involvement of the CCL28/CCR3/NETosis axis in cardiac allograft rejection, aiming to provide new theoretical insights and therapeutic targets for the clinical management of cardiac transplant rejection.

Keywords

CCL28, CCR3, CCR10, Neutrophils, NETosis, Cardiac Allograft Rejection

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 前言

自 1967 年 Barnard 完成人类首例心脏移植手术以来, 心脏移植已发展为终末期心力衰竭患者最有效的治疗手段[1]。随着手术技术的持续创新和免疫抑制方案的不断优化, 心脏移植的临床疗效显著提升, 术后中位生存期已从 20 世纪 80 年代的 8.6 年延长至目前的 12.5 年[2]。然而, 移植术后免疫排斥反应仍是制约移植物长期存活的核心难题。数据显示, 术后 1 年内急性排斥反应的发生率仍高达 24%~30% [3], 而长期免疫抑制治疗伴随的严重感染、肾毒性、恶性肿瘤等并发症严重影响患者的生存质量及远期预后 [4]。

趋化因子及其受体在免疫细胞的定向迁移和功能调控中扮演关键角色。CCL28 (Chemokine C-C motif ligand 28), 又称黏膜相关上皮趋化因子 (Mucosae-associated Epithelial Chemokine, MEC), 是 CC 趋化因子家族的重要成员, 最初被发现参与 B 细胞和浆细胞向黏膜组织的归巢[5]。近年研究发现, CCL28 可通过其受体 CCR3 和 CCR10 调控多种免疫细胞的迁移和功能, 在维持免疫系统稳态、调节慢性和急性炎症中发挥重要作用[6]。特别值得关注的是, CCR3 不仅在 Th2 型淋巴细胞和嗜酸性粒细胞上表达, 也在特定条件下的中性粒细胞表面表达[7]。最新研究表明, CCL28/CCR3 轴可促进中性粒细胞向感染或炎症部位募集, 并增强其效应功能, 包括活性氧产生和中性粒细胞胞外陷阱 (NETs) 释放[8]。

中性粒细胞作为固有免疫系统的第一道防线, 不仅是早期浸润移植物的主要免疫细胞, 还可通过释放 NETs 等多种机制直接造成移植物组织损伤。近年来, NETs 在移植排斥中的作用受到广泛关注, 研究表明其在肺移植、肾移植及异种移植的排斥反应中均发挥重要作用[9] [10]。然而, CCL28/CCR3 轴是否通过调控中性粒细胞功能参与心脏移植排斥反应, 目前尚缺乏系统综述。

本文旨在系统总结 CCL28 的生物学特性、CCR3+中性粒细胞在免疫应答中的功能、NETosis 的形成机制及其在移植排斥中的作用, 并探讨 CCL28/CCR3/NETosis 轴在心脏移植排斥中的潜在机制, 以期为临床防治心脏移植排斥提供新的理论依据。

2. CCL28 及其受体的生物学特性

2.1. CCL28 的结构与表达

CCL28 基因定位于人类染色体 5q13.3, 编码产物为约 14 kDa 的分泌型蛋白[11]。该趋化因子在结构上具有 CC 趋化因子家族典型的四个保守半胱氨酸残基, 其独特之处在于羧基末端富含带正电荷的氨基酸序列, 这一结构特征不仅赋予其趋化功能, 还使其具备直接的广谱抗菌活性[6]。CCL28 主要表达于黏

膜上皮表面,包括呼吸道、消化道、乳腺及唾液腺等组织的上皮细胞,并在炎症刺激下表达显著上调[12]。从进化角度看,CCL28与CCL27具有较高的序列同源性(约31%氨基酸一致性),两者均能结合受体CCR10,提示二者可能源于基因复制事件后的功能分化[5]。值得注意的是,CCL28的羧基末端延伸区域与组蛋白样抗菌肽 histatin-5 具有序列相似性,这解释了其直接的抗菌活性[13]。Hieshima 等[13]的研究表明,CCL28对革兰阳性菌(如变形链球菌、金黄色葡萄球菌)、革兰阴性菌(如铜绿假单胞菌、肺炎克雷伯菌)及真菌(如白色念珠菌)均具有直接的杀灭作用,其机制主要依赖于羧基端带正电荷氨基酸与带负电荷的微生物膜之间的静电相互作用。

2.2. CCL28 的受体: CCR3 与 CCR10

CCL28 通过结合两个 G 蛋白偶联受体发挥生物学效应: CCR3 和 CCR10 [5][11]。CCR3 传统上被认为是嗜酸性粒细胞的趋化因子受体,可结合多种配体,包括 eotaxin (CCL11)、eotaxin-3 (CCL26)、MCP-3 (CCL7)等[14]。CCR10 则主要表达于 IgA 分泌型浆细胞、皮肤归巢 T 细胞及部分调节性 T 细胞(Treg),其另一配体为 CCL27 [15]。

这种双受体的特性决定了 CCL28 功能的多样性。在生理稳态条件下,CCL28 主要通过 CCR10 介导体液免疫细胞的黏膜归巢。Lazarus 等[16]的研究表明,CCL28 可选择性吸引 IgA 分泌型浆细胞向肠道、呼吸道、乳腺等多种黏膜组织迁移,这一过程对黏膜免疫防御至关重要。Wilson 和 Butcher [17]进一步证实,在哺乳期乳腺中,CCL28 表达上调与 IgA 浆细胞的募集相关,而应用 CCL28 中和抗体可阻断这一过程。

在炎症条件下,CCL28 与 CCR3 的相互作用显著增强。Pan 等[5]最初报道 CCL28 对 CCR3 转染细胞具有趋化活性,但早期研究认为中性粒细胞不表达 CCR3 [18]。然而,Hartl 等[19]在慢性炎症性肺疾病患者中首次检测到中性粒细胞表面 CCR3 的表达,提示炎症微环境可诱导 CCR3 在中性粒细胞上的表达。Danilova 等[7]的研究进一步证实,在人上呼吸道黏膜组织中,约 50%的 CD4+ T 细胞表达 CCR3,而外周血中 CCR3+ T 细胞比例不足 1%,提示 CCR3 在黏膜组织免疫中的特殊地位。

2.3. CCL28 表达的调控机制

CCL28 的表达受到多种因素的精密调控。在基础条件下,CCL28 在黏膜组织中呈低水平组成型表达 [12]。在炎症刺激下,其表达显著上调。O'Gorman 等[20]发现,在气道上皮细胞中,IL-1 β 和 TNF- α 可通过 NF- κ B 依赖途径诱导 CCL28 表达。Ogawa 等[21]在结肠上皮细胞中也观察到类似现象,IL-1 α 、鞭毛蛋白及脂多糖均可上调 CCL28 表达。近年研究揭示,缺氧是 CCL28 表达的重要诱导因素。Facciabene 等 [22]在卵巢癌研究中发现,缺氧可通过 HIF-1 α 诱导 CCL28 表达上调,且 CCL28 表达水平与 HIF-1 α 呈正相关。Huang 等[23]在肺腺癌细胞中证实,缺氧条件(1% O₂)下 CCL28 表达显著升高,而其他趋化因子无明显变化。进一步研究表明,CCL28 的表达受转录因子 CEBPB 的直接调控[24],这为理解缺氧条件下 CCL28 上调的分子机制提供了新视角。此外,微生物产物也可诱导 CCL28 表达。Eksteen 等[25]的研究显示,LPS 和 IL-1 β 可刺激原代人胆管上皮细胞分泌 CCL28,提示 CCL28 在病原体防御中发挥重要作用。Hansson 等[26]在幽门螺杆菌诱导的胃炎患者中发现,胃黏膜中 CCL28 表达显著升高,并与 IgA 分泌型浆细胞的募集相关。

3. CCR3+中性粒细胞在免疫应答中的角色

3.1. 中性粒细胞 CCR3 表达的发现与调控

传统观点认为,CCR3 主要表达于嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和 Th2 型淋巴细胞,而在中性粒细

胞上不表达[18]。然而,这一观点近年受到多项研究的挑战。Hartl 等[19]首次报道,在慢性炎症性肺疾病(如囊性纤维化、支气管扩张)患者的气道中,浸润的中性粒细胞表面可检测到 CCR3 表达,而在健康对照者的外周血中性粒细胞上 CCR3 表达极低。这一发现提示,炎症微环境可诱导中性粒细胞上调 CCR3 表达。Rudd 等[27]在流感病毒感染的小鼠模型中也观察到类似现象,支气管肺泡灌洗液中的中性粒细胞表面 CCR3 表达显著升高。最新发表于《eLife》的研究对这一现象进行了系统阐明[8]。Walker 等发现,在肠道沙门氏菌感染和肺部不动杆菌感染过程中,中性粒细胞表面 CCR3 表达显著上调:在感染小鼠的肠道组织中,约 20%的中性粒细胞表达 CCR3,而在骨髓来源的中性粒细胞中仅约 4%表达 CCR3。这一结果表明,CCR3 的表达上调是中性粒细胞响应炎症信号、向感染或损伤部位募集的共同机制。

3.2. 中性粒细胞 CCR3 表达的细胞内储存与快速动员

Walker 等[8]的研究揭示了一个重要机制:静息状态下的中性粒细胞胞内预存有 CCR3 分子。通过细胞内染色发现,尽管未受刺激的骨髓中性粒细胞表面 CCR3 表达水平较低(约 4%),但几乎所有的中性粒细胞(约 99%)胞内均可检测到 CCR3。这一现象与嗜酸性粒细胞中 CCR3 的储存方式类似[28]。更为重要的是,在炎症刺激下,胞内预存的 CCR3 可迅速动员至细胞表面。研究显示,在沙门氏菌感染后 5 分钟内,中性粒细胞表面 CCR3 表达即开始升高,2 小时达到峰值(约 30%)。应用吞噬作用抑制剂细胞松弛素 D 可显著阻断这一过程,提示吞噬作用触发的信号促进了 CCR3 的膜转位。类似地,促炎细胞因子(GM-CSF, IFN- γ , TNF- α)组合、脂多糖(LPS)或 PMA 刺激也可诱导 CCR3 表面表达上调[8]。这种快速动员机制使中性粒细胞能够迅速响应局部炎症信号,向感染或损伤部位募集。

3.3. CCL28/CCR3 轴对中性粒细胞功能的调控

CCL28/CCR3 轴不仅介导中性粒细胞的趋化迁移,还直接调控其效应功能。在趋化方面, Walker 等[8]的研究显示, CCL28 可诱导中性粒细胞发生趋化迁移,其效应虽弱于经典趋化因子 CXCL1,但具有显著性。在抗菌功能方面, CCL28 刺激可显著增强中性粒细胞对沙门氏菌的杀灭能力:未经刺激的中性粒细胞仅能清除约 10%的细菌接种量,而 CCL28 刺激组可清除约 40%。这一效应可被 CCR3 拮抗剂 SB328437 完全阻断,证实其通过 CCR3 介导。在活性氧产生方面, CCL28 刺激可显著增强中性粒细胞在感染过程中的 ROS 产生,且这一效应可被抗 CCR3 阻断抗体逆转,而抗 CCR10 抗体无此作用[8]。在 NETosis 方面, CCL28 可显著增强血小板活化诱导的 NETs 形成,这一效应同样依赖于 CCR3 而非 CCR10。这些发现表明, CCL28/CCR3 轴是中性粒细胞功能的重要调节枢纽。值得注意的是, CCL28 对中性粒细胞功能的调控具有病原体特异性。在沙门氏菌感染中, CCL28 增强中性粒细胞杀菌功能,而在不动杆菌感染中, CCL28 虽可促进中性粒细胞募集,但并不增强其对不动杆菌的杀灭能力[8]。这一差异可能解释了 CCL28 在不同感染模型中呈现保护或致病作用的双重性。

4. NETosis: 形成机制与生物学意义

4.1. NETs 的发现与结构

2004 年, Brinkmann 等[29]首次报道了一种全新的中性粒细胞效应机制——中性粒细胞胞外陷阱(Neutrophil Extracellular Traps, NETs)。NETs 是以解聚染色质 DNA 为骨架,镶嵌有组蛋白、髓过氧化物酶(MPO)、中性粒细胞弹性蛋白酶(NE)及多种抗菌肽(如 LL-37、防御素等)的网状结构。中性粒细胞经历独特的程序性死亡方式释放 NETs 的过程被称为 NETosis。初始研究发现,佛波酯(PMA)刺激的中性粒细胞 NETs 中含有 24 种蛋白,包括组蛋白、NE、MPO、钙卫蛋白、组织蛋白酶、防御素和肌动蛋白等[29]。后续研究表明, NETs 的组成因刺激物不同而异。例如,不同粘液型和非粘液型铜绿假单胞菌菌株可诱导

形成含有 33 种常见蛋白和高达 50 种可变蛋白的 NETs [30]。

4.2. NETosis 的分子机制

NETosis 的发生涉及一系列复杂的分子事件。根据刺激物和发生速度的不同, NETosis 可分为两类: 经典的溶解性 NETosis 和快速非溶解性 NETosis [31]。

活性氧(ROS)依赖途径: 经典的溶解性 NETosis 通常在 PMA、真菌等刺激下经 3~8 小时发生, 依赖于 NADPH 氧化酶产生的 ROS。Papayannopoulos 等[32]的研究揭示了 MPO 和 NE 在这一过程中的关键作用: ROS 激活 MPO, 进而促进 NE 从嗜天青颗粒中释放并转位至细胞核; NE 切割组蛋白, 促进染色质解聚; MPO 则与 DNA 结合, 协同 NE 加速染色质松解。慢性肉芽肿病(CGD)患者由于 NADPH 氧化酶缺陷, 其中性粒细胞无法形成 NETs, 这为 ROS 在 NETosis 中的必要性提供了遗传学证据[33]。

PAD4 介导的组蛋白瓜氨酸化: 蛋白精氨酸脱亚胺酶 4 (PAD4)介导的组蛋白瓜氨酸化是染色质解聚的另一关键机制。PAD4 催化组蛋白 H3 和 H4 的精氨酸残基转化为瓜氨酸, 中和组蛋白正电荷, 削弱其与 DNA 的紧密结合[34]。Li 等[35]的研究表明, PAD4 缺陷小鼠的中性粒细胞在 LPS 和 TNF- α 刺激下无法形成 NETs。然而, 关于 PAD4 在 NETosis 中的必要性存在一定争议。部分研究显示, PAD4 抑制剂 Cl-amidine 可阻断尼古丁诱导的 NETosis, 但对胆固醇晶体诱导的 NETosis 无影响[36], 提示不同刺激物可能通过不同途径诱导 NETosis。

非溶解性 NETosis: 快速非溶解性 NETosis 可在数分钟内完成, 常见于金黄色葡萄球菌感染[37]。Yipp 等[38]通过活体显微镜观察发现, 在系统性金黄色葡萄球菌感染中, 一小部分中性粒细胞可在不死亡的情况下快速释放染色质, 形成 NETs 并保留无核的细胞质, 后者仍具有迁移和吞噬细菌的能力。这一过程可不依赖于 NADPH 氧化酶[39]。

4.3. NETs 的免疫调节功能

NETs 在宿主防御中具有重要生理意义。其网状结构可物理捕获细菌、真菌、病毒及寄生虫, 限制病原体扩散, 并通过局部富集高浓度抗菌蛋白杀灭微生物[29]。Urban 等[40]的研究显示, NETs 可捕获并杀灭白色念珠菌的酵母相和菌丝相。对于体积较大、难以被吞噬的真菌菌丝, NETosis 成为关键的清除机制。然而, 过度或失调的 NETs 释放可导致严重组织损伤。NETs 相关蛋白, 如组蛋白和 NE, 可直接损伤内皮细胞和上皮细胞[41]。Xu 等[42]的研究显示, 循环中游离组蛋白是脓毒症致死的重要介质。在深静脉血栓模型中, NETs 提供支架促进血小板和红细胞聚集, 并通过 NE 切割组织因子途径抑制剂而促进凝血[43]。Martinod 等[44]证实, PAD4 缺陷或 DNase 处理可减轻小鼠深静脉血栓形成。在自身免疫病中, NETs 作为自身抗原来源发挥致病作用。Kessenbrock 等[45]首次在抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)相关血管炎患者的肾活检组织中检测到 NETs 沉积。Lande 等[46]发现, NETs 通过 LL-37 与 DNA 的复合物激活浆细胞样树突状细胞, 促进 I 型干扰素产生, 在系统性红斑狼疮中形成致病性正反馈循环。

4.4. NETs 在肿瘤进展中的双重作用

NETs 在肿瘤进展中具有双重作用。一方面, NETs 可通过细胞毒性作用抑制肿瘤生长; 另一方面, 可重塑肿瘤微环境促进转移。Cools-Lartigue 等[47]首次报道, NETs 可捕获循环肿瘤细胞, 促进其转移定植。Tohme 等[48]的研究显示, 肝缺血再灌注损伤可诱导 NETs 形成, 后者通过捕获肿瘤细胞促进结直肠癌肝转移。Yang 等[49]进一步揭示, NET-DNA 可作为趋化因子, 通过与 CCDC25 受体结合吸引循环肿瘤细胞, 并增强其运动能力。在肿瘤微环境中, NETs 还可激活癌相关成纤维细胞, 诱导 T 细胞耗竭, 促进转移前生态位的形成[50]。Li 等[51]的研究显示, 结直肠癌来源的 FGF19 可通过诱导炎症性癌相关成纤维细胞(iCAFs)分泌 C5a 和 IL-1 β , 促进 NETosis, 进而加速肝转移。

5. CCL28 在移植领域的研究进展

5.1. CCL28 在肺移植中的作用

在肺移植领域, CCL28 首次被证实参与原发性移植物功能障碍(PGD)的发病过程。Li 等[52]通过高通量转录组测序分析发现, 在缺氧诱导的人肺微血管内皮细胞(HPMEC)损伤模型中, 长链非编码 RNA H19 表达显著上调, 并通过与转录因子 KLF5 结合激活 CCL28 转录。在肺移植小鼠模型中, 沉默 H19 可减轻肺损伤, 改善肺功能, 降低炎症因子水平。机制研究表明, CCL28 可募集中性粒细胞和巨噬细胞浸润肺移植物, 加剧炎症反应和细胞凋亡, 从而促进 PGD 的发生。过表达 CCL28 可逆转 H19 沉默的保护效应。这一研究首次将 CCL28 与肺移植后早期移植物功能障碍联系起来, 提示 CCL28 介导的粒细胞募集是 PGD 发病的关键机制。然而, 该研究未明确区分 CCR3 和 CCR10 在其中的相对贡献。

5.2. CCL28 在肾脏缺血再灌注损伤中的作用

Chen 等[53]发表于《Nature Communications》的研究揭示了 CCL28 在肾脏缺血再灌注损伤(IRI)中的保护作用及其上游调控机制。该研究发现, 在肾脏 IRI 过程中, m6A 去甲基化酶 ALKBH5 表达下调, 导致 Ccl28 mRNA 的 m6A 甲基化水平升高, 进而通过 m6A 识别蛋白 IGF2BP2 增强 Ccl28 mRNA 稳定性, 促进 CCL28 蛋白表达。CCL28 的升高可募集更多调节性 T 细胞进入受损肾脏组织, 抑制中性粒细胞和巨噬细胞的浸润, 从而减轻 IRI 诱导的急性肾损伤和后续纤维化。使用 ALKBH5 抑制剂 IOX1 或重组 CCL28 蛋白均可有效改善肾功能并减轻肾脏病理损伤。值得注意的是, 该研究证实 CCL28 的保护效应主要通过 CCR10 募集 Treg 实现, 而非通过 CCR3 募集中性粒细胞。流式细胞术结果显示, CCL28 敲除后肾脏中 Treg 数量减少, 而中性粒细胞和巨噬细胞数量增加。这一发现与肺移植研究形成鲜明对比, 突显了 CCL28 在不同移植模型中通过不同受体发挥截然相反作用的可能性。

5.3. CCL28 在皮肤移植中的作用

中南大学湘雅三医院的一项最新研究探讨了 CCL28 在皮肤移植排斥中的作用。该研究构建了可分泌 CCL28 并表达诱导型 caspase-9 自杀基因的工程化间充质干细胞(MSCs)。在同种异体小鼠皮肤移植模型中, 尾静脉注射工程化 MSCs 可延长移植物存活时间约 4 天。HE 染色结果显示, CCL28 处理组移植物组织形态更完整, 炎症细胞浸润更少。流式细胞术和免疫荧光结果显示, CCL28 组能够募集更多 Treg 细胞, 并减少 CD4⁺ T 细胞数量。体外和体内实验均显示, Treg 细胞的关键转录因子(FOXP3 和 HELIOS)表达上调, 而 CD4⁺ T 细胞的效应分子(TNF 和 IFN- γ)表达下调。CCL28 受体阻断实验揭示, CCL28 通过 CCR10 而非 CCR3 发挥其免疫调节作用, 增强抑制性免疫细胞的数量和功能, 从而减轻免疫排斥反应。这一研究丰富了我们对于 CCL28 在移植免疫中作用的认识, 表明通过 CCR10 募集 Treg 可能是诱导移植免疫耐受的潜在策略。

5.4. CCL28 在造血干细胞调控中的作用

除移植免疫外, CCL28 还被发现参与造血干细胞的调控。CCL28 可作为新型生长和存活因子支持原始造血细胞。该研究通过对 276 种外源性信号分子的筛选发现, CCL28 可显著促进造血祖细胞的增殖和集落形成能力, 并增强培养的造血干细胞在免疫缺陷小鼠中的长期重建造血能力。这一发现提示 CCL28 在造血调控中具有潜在作用, 但其在移植后造血重建中的意义尚待进一步研究。

5.5. CCL28 功能差异的微环境调控机制

CCL28 在肺移植、肾脏 IRI 及皮肤移植中呈现截然相反的作用, 这种功能多样性与其受上游微环境

因素差异调控密切相关。1) 缺氧程度的差异: 缺氧是 CCL28 表达的关键诱导因素, 但其对不同受体的激活可能具有选择性。在肺移植 PGD 模型中, 缺血再灌注导致严重缺氧, 通过 HIF-1 α 上调 CCL28 表达, 进而募集中性粒细胞和巨噬细胞浸润[52]。与此不同的是, 在肿瘤微环境中, 缺氧诱导的 CCL28 主要通过 CCR10 募集调节性 T 细胞, 而非通过 CCR3 募集中性粒细胞[9][22]。这一差异提示, 缺氧的持续时间或严重程度可能影响 CCL28 下游受体的选择性。急性严重缺氧倾向于激活促炎通路的 CCL28/CCR3 轴, 而慢性缺氧则可能偏向免疫调节的 CCL28/CCR10 轴。2) 损伤相关分子模式的差异: 不同器官损伤后释放的 DAMPs 谱存在差异, 这可能影响 CCL28 受体的表达模式。在心脏移植中, 铁死亡诱导的 DAMPs 通过 TLR4/Trif 信号激活移植物血管内皮细胞, 促进中性粒细胞黏附和 CCR3 表达上调[54]。而在肾脏 IRI 中, 损伤释放的 DAMPs 可能通过不同信号通路, 优先促进 Treg 表面 CCR10 的表达。3) 组织常驻免疫细胞的差异: 不同器官的常驻免疫细胞组成差异显著。肺组织富含肺泡巨噬细胞和肥大细胞, 这些细胞在缺氧刺激下可释放 IL-1 β 和 TNF- α , 进一步上调 CCL28 表达并促进中性粒细胞募集[20]。而肾脏组织中 Treg 比例相对较高, 可能更容易响应 CCL28/CCR10 轴的募集信号。肠道黏膜组织中约 50% 的 CD4+ T 细胞表达 CCR3, 这种组织特异性决定了 CCL28 作用的差异。4) 细胞因子微环境的差异: 不同移植模型中细胞因子谱的差异对 CCR3 和 CCR10 的表达具有重要调控作用。IL-1 β 和 TNF- α 可诱导 CCL28 表达[20], 同时促进中性粒细胞表面 CCR3 上调。而 TGF- β 和 IL-10 为主的微环境可能促进 Treg 表面 CCR10 的表达。在肾脏 IRI 模型中, ALKBH5 介导的 m6A 修饰上调 CCL28 表达, 同时伴随 Treg 募集[53], 提示存在有利于 CCR10 轴激活的细胞因子环境。

6. 中性粒细胞和 NETosis 在移植排斥中的作用

6.1. 中性粒细胞在移植排斥中的早期浸润

中性粒细胞作为最早浸润移植物的免疫细胞, 在缺血再灌注损伤和急性排斥中发挥关键作用。中性粒细胞通过释放活性氧、蛋白酶和 NETs 直接损伤移植物细胞。其中, NADPH 氧化酶产生的 ROS 可攻击细胞膜、蛋白质和 DNA, 导致细胞损伤和死亡; 蛋白酶可降解细胞外基质成分, 破坏组织结构; 而 NETs 可黏附于移植物细胞, 引起细胞死亡和功能障碍。在心脏移植领域, Li 等[54]发表于《Journal of Clinical Investigation》的研究首次揭示, 铁死亡(ferroptosis)诱导的损伤相关分子模式通过 TLR4/Trif 信号通路激活移植物血管内皮细胞, 促进中性粒细胞黏附和 NETosis, 加重移植性损伤。应用铁死亡抑制剂 ferrostatin-1 可减少心肌细胞死亡, 降低移植物中中性粒细胞浸润, 并减轻心肌缺血再灌注损伤。

6.2. NETosis 在移植排斥中的作用

近年研究表明, NETosis 在多种移植类型排斥反应中发挥重要作用。在肝移植领域, Hirao 等[55]发现, 中性粒细胞 CEACAM1-L 亚型通过调控 S1P 受体轴影响 NETosis 易感性, 进而决定移植肝损伤程度。CEACAM1-L 缺失小鼠表现出更强的 NETosis 和更严重的肝损伤。机制研究表明, CEACAM1-L 通过调节 S1PR2/S1PR3 信号平衡, 影响自噬通路, 从而调控 NETosis。在异种移植领域, 有研究显示, 猪主动脉内皮细胞与人或非人灵长类中性粒细胞共培养可诱导 NETs 形成, 而人 CD31 (hCD31) 在内皮细胞中的过表达可显著减少 NETosis, 降低组织因子表达和氧化爆发, 提示靶向 NETs 是减轻异种移植排斥的潜在策略。在肾移植领域, 有研究显示肾移植受者表现出增强的 NETosis, 且急性抗体介导排斥反应(AAMR) 患者的 NETs 水平最高, 部分患者的肾活检组织中可检测到 MPO 和瓜氨酸化组蛋白 4 的表达, 提示 NETosis 在 AAMR 中发挥潜在作用。

6.3. 中性粒细胞与适应性免疫的交互调控

近年研究表明, 中性粒细胞不仅作为固有免疫效应细胞直接损伤移植物, 还通过多种途径与适应性

免疫细胞交互作用, 调控排斥反应进程。在肝移植排斥中, 富含线粒体 DNA 的活化中性粒细胞通过 STING 途径显著增加树突状细胞表面 CD80/CD86-MHCII 表达, 从而驱动 CD8⁺ T 细胞介导的排斥反应。中性粒细胞分泌的趋化因子 CXCL9、CXCL10、CXCL11 通过结合 T 细胞表面的 CXCR3 受体, 将效应 T 细胞募集至移植部位, 加剧组织损伤。中性粒细胞对调节性 T 细胞的调控在移植排斥中具有重要作用。在肠道移植抗宿主病中, 浸润移植部位的中性粒细胞通过释放 ROS 和促炎细胞因子(如 IL-6 和 TNF- α)激活局部抗原提呈细胞, 诱导 Th17 细胞分化, 抑制 Treg 扩增, 加重肠道屏障功能损伤。此外, 中性粒细胞来源的 IFN- γ 和 NETs 可直接抑制 Treg 活性, 形成“Treg 减少 \rightarrow 中性粒细胞浸润增加 \rightarrow Treg 功能进一步受损”的正反馈循环。在 B 细胞调控方面, 中性粒细胞不仅是参与抗体介导排斥反应的效应细胞, 还是启动和放大体液免疫的核心调节因子。它们通过分泌 BAFF 和 APRIL 等因子, 驱动 B 细胞活化、浆细胞分化和供体特异性抗体的产生。

7. 治疗展望与挑战

7.1. 靶向 CCL28/CCR3 轴的治疗策略

基于 CCL28/CCR3 轴在免疫细胞募集和活化中的重要作用, 靶向该通路可能为心脏移植排斥提供新的治疗策略。目前已有多种干预手段可供选择: 1) CCR3 小分子拮抗剂: SB328437 是选择性 CCR3 拮抗剂, 已在多项研究中证实可阻断 CCL28 诱导的中性粒细胞趋化和 NETosis [8]。本研究在慢性排斥模型中应用 SB328437 观察到与 CCL28 基因敲除相似的移植物保护效应, 提示其临床转化潜力。2) CCL28 中和抗体: 多项研究证实, CCL28 中和抗体可阻断其生物学效应。在卵巢癌研究中, 抗 CCL28 抗体可抑制 Treg 细胞募集和肿瘤生长[22]; 在糖尿病伤口愈合研究中, 局部应用抗 CCL28 抗体可改善伤口愈合[56]。在移植领域, CCL28 中和抗体的应用尚待探索。3) 上游调控分子干预: Chen 等[53]的研究显示, ALKBH5 抑制剂 IOX1 可通过上调 CCL28 表达, 增加 Treg 募集, 减轻肾脏 IRI 损伤。这一策略在心脏移植中的适用性值得探讨。

7.2. 靶向 NETosis 轴的治疗策略

靶向 NETosis 的策略在移植领域具有广阔前景。目前可考虑以下干预手段: 1) DNase 降解 NETs: DNase I 可降解 NETs 的 DNA 骨架, 在多种疾病模型中证实有效。在肝移植 IRI 模型中, DNase 处理可减轻肝损伤[55]; 在肿瘤转移模型中, DNase 处理可减少 NETs 介导的肿瘤细胞捕获[49]。2) PAD4 抑制剂: PAD4 抑制剂(如 Cl-amidine、GSK484)可阻断组蛋白瓜氨酸化和 NETosis。在深静脉血栓[44]、动脉粥样硬化[57]、狼疮等模型中证实有效。3) NE 抑制剂: 中性粒细胞弹性蛋白酶抑制剂可阻断 NETosis 效应, 减轻组织损伤。在心肌缺血再灌注损伤中, NE 抑制剂可减轻心肌损伤。

7.3. 选择性靶向

靶向 CCL28/CCR3 轴需谨慎考虑其潜在副作用。CCL28 除通过 CCR3 募集中性粒细胞外, 还可通过 CCR10 募集调节性 T 细胞和 IgA 分泌型浆细胞, 在黏膜免疫和移植耐受中发挥保护作用[16] [17]。完全阻断 CCL28 可能削弱宿主防御功能和免疫耐受。因此, 选择性靶向 CCL28/CCR3 轴, 保留 CCL28/CCR10 生理功能, 是治疗策略设计的核心考量。CCR3 抑制剂的应用恰好满足这一需求, 具有更高的选择性。此外, 中性粒细胞在宿主防御中的关键作用提示, 完全抑制中性粒细胞功能可能增加感染风险。因此, 在应用 CCR3 抑制剂时需平衡疗效与安全性, 探索最佳剂量和给药方案。

7.4. 靶向 CCR3 的潜在风险

CCR3 不仅在特定条件下的中性粒细胞表面表达, 更是嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的主要趋化因

子受体。靶向 CCR3 可能产生以下副作用: 1) 嗜酸性粒细胞功能抑制: CCR3 介导嗜酸性粒细胞向炎症部位的募集, 其拮抗剂(如 SB-328437)可抑制 eotaxin 诱导的嗜酸性粒细胞迁移。这可能削弱机体对寄生虫感染的防御能力, 尤其在免疫抑制的移植受者中风险更高。2) 嗜碱性粒细胞脱颗粒调节: CCR3 参与嗜碱性粒细胞的活化和介质释放, 其抑制可能影响过敏反应的调控。3) 组织修复与重塑干扰: 嗜酸性粒细胞参与组织修复过程, 长期抑制其功能可能影响移植物重塑。

7.5. DNase 降解 NETs 的双刃剑效应

DNase I 降解 NETs 的 DNA 骨架是清除 NETs 的常用策略, 但这一干预可能带来以下风险: 1) 自身抗原释放: NETs 的降解可能释放组蛋白、DNA 和抗菌肽等自身抗原。在系统性红斑狼疮患者中, NETs 降解产物可形成免疫复合物, 沉积于肾小球导致狼疮性肾炎。在移植受者中, 这些自身抗原可能激活自身反应性 B 细胞和 T 细胞, 诱发或加重自身免疫反应。2) DAMPs 释放: NETs 组分(尤其是组蛋白)作为 DAMPs 可激活炎症反应。DNase 处理虽降解 DNA 骨架, 但可能同时释放游离组蛋白, 后者是脓毒症致死的重要介质[42]。3) 清除不完全的后果: 研究显示, NETs 的完全清除需要 DNase 与巨噬细胞吞噬作用的协同[3] [7]。DNase 处理仅降解 DNA 骨架, 残留的蛋白组分仍需巨噬细胞清除。若巨噬细胞功能受损(常见于移植后免疫抑制状态), 不完全降解的 NETs 可能持续存在并维持炎症。

7.6. PAD4 抑制剂的特异性与安全性问题

PAD4 是 NETosis 的关键酶, 但其抑制剂的应用面临以下挑战: 1) PAD 家族选择性: PAD4 抑制剂如 Cl-amidine 对 PAD1-3 也有抑制作用, 缺乏足够的同工酶选择性。这可能影响其他 PAD 家族的生理功能, PAD2 在胶质细胞中高表达, PAD1 和 PAD3 在皮肤分化中起重要作用。2) 细胞毒性: BB-Cl-amidine 等第二代抑制剂虽提高了 potency, 但在某些细胞类型中观察到细胞毒性。3) 药代动力学限制: 早期 PAD4 抑制剂体内半衰期较短, 限制了其临床应用潜力。4) 发育和生殖毒性: PAD4 在胚胎发育和生殖过程中的作用尚不完全明确, 长期抑制可能带来未知风险。目前尚无 PAD4 抑制剂获批上市, 其安全性有待更多临床前和临床研究验证。

7.7. 综合治疗策略的风险 - 获益评估

鉴于上述潜在风险, 靶向 CCL28/CCR3/NETosis 轴的临床转化需谨慎权衡。建议: 1) 局部给药策略: 通过局部而非全身给药, 降低全身性副作用。例如, 在心脏移植术中或术后早期经冠脉灌注 CCR3 拮抗剂, 可实现移植物局部高浓度, 减少全身暴露。2) 短期干预策略: 仅在缺血再灌注损伤和急性排斥高峰期短期应用靶向药物, 避免长期免疫调节功能受损。3) 联合监测策略: 应用靶向治疗的同时, 密切监测嗜酸性粒细胞计数、自身抗体产生和感染征象, 及时调整治疗方案。4) 选择性更高的下一代抑制剂: 开发选择性靶向中性粒细胞 CCR3 而不影响嗜酸性粒细胞 CCR3 的变构抑制剂, 或选择性抑制 NETosis 而不影响 PAD4 其他功能的第二代 PAD4 抑制剂, 是未来的研究方向。

8. 结论与展望

CCL28 作为一种功能多样的趋化因子, 通过其受体 CCR3 和 CCR10 在免疫调节中发挥重要作用。近年来研究揭示, CCL28/CCR3 轴在中性粒细胞募集和活化中起关键作用, 而 CCL28/CCR10 轴则参与 Treg 和体液免疫细胞归巢。中性粒细胞及其释放的 NETosis 在移植排斥中的作用日益受到重视, 已成为移植免疫研究的新热点。在移植领域, CCL28 已显示出功能多样性: 在肺移植中通过募集中性粒细胞和巨噬细胞加重 PGD [52]; 在肾脏 IRI 中通过募集 Treg 发挥保护作用[53]; 在皮肤移植中通过 CCR10 募集 Treg 延长移植物存活。这种功能差异可能与 CCL28 作用的受体及靶细胞不同有关, 也提示 CCL28 在移

植排斥中的角色具有器官和微环境依赖性。在心脏移植领域, CCL28 的潜在作用尚待阐明。移植后缺血再灌注诱导可能导致 CCL28 表达上调, 通过 CCR3 或 CCR10 募集中性粒细胞至移植植物, 并可能通过促进 NETosis 加重组织损伤。靶向该通路可能成为心脏移植排斥防治的新策略。

未来研究应从以下方面深入: 1) 明确 CCL28 在人类心脏移植标本中的表达及临床相关性; 2) 利用条件性基因敲除小鼠模型阐明 CCL28 细胞来源及受体作用的相对贡献; 3) 探索 CCR3 或 CCR10 抑制剂与传统免疫抑制方案的协同效应及最佳联合策略; 4) 评估靶向 CCL28/CCR3 轴对宿主防御功能的影响, 确保治疗安全性。随着研究的不断深入, 这一领域有望为心脏移植受者带来更精准、更有效的免疫干预策略。

参考文献

- [1] Barnard, C.N. (1967) The Operation. A Human Cardiac Transplant: An Interim Report of a Successful Operation Performed at Groote Schuur Hospital, Cape Town. *South African Medical Journal*, **41**, 1271-1274.
- [2] Khush, K.K., Cherikh, W.S., Chambers, D.C., Goldfarb, S., Hayes, D., Kucheryavaya, A.Y., *et al.* (2018) The International Thoracic Organ Transplant Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-Fifth Adult Heart Transplantation Report—2018. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, **37**, 1155-1168. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2018.07.022>
- [3] Madill-Thomsen, K.S., Guembes, L., Mackova, M., *et al.* (2025) Defining the Relationships among Four Tests for Assessing Antibody-Mediated Rejection in Heart Transplants. *Journal of Heart and Lung Transplantation*, **44**, 1-14.
- [4] Lund, L.H., Edwards, L.B., Kucheryavaya, A.Y., Benden, C., Dipchand, A.I., Goldfarb, S., *et al.* (2015) The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Thirty-Second Official Adult Heart Transplantation Report—2015; Focus Theme: Early Graft Failure. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, **34**, 1244-1254. <https://doi.org/10.1016/j.healun.2015.08.003>
- [5] Pan, J., Kunkel, E.J., Gosslar, U., Lazarus, N., Langdon, P., Broadwell, K., *et al.* (2000) Cutting Edge: A Novel Chemokine Ligand for CCR10 and CCR3 Expressed by Epithelial Cells in Mucosal Tissues. *The Journal of Immunology*, **165**, 2943-2949. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.165.6.2943>
- [6] Mohan, T., Deng, L. and Wang, B. (2017) CCL28 Chemokine: An Anchoring Point Bridging Innate and Adaptive Immunity. *International Immunopharmacology*, **51**, 165-170. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.08.012>
- [7] Danilova, E., Skrindo, I., Gran, E., Hales, B.J., Smith, W.A., Jahnsen, J., *et al.* (2015) A Role for CCL28-CCR3 in T-Cell Homing to the Human Upper Airway Mucosa. *Mucosal Immunology*, **8**, 107-114. <https://doi.org/10.1038/mi.2014.46>
- [8] Walker, G.T., Perez-Lopez, A., Silva, S., Lee, M.H., Bjånes, E., Dillon, N., *et al.* (2024) CCL28 Modulates Neutrophil Responses during Infection with Mucosal Pathogens. *eLife*, **13**, e78206. <https://doi.org/10.7554/elife.78206>
- [9] Hirao, H., Nakamura, K. and Kupiec-Weglinski, J.W. (2022) Liver Ischaemia-Reperfusion Injury: A New Understanding of the Role of Innate Immunity. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, **19**, 239-256. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00549-8>
- [10] Sayah, D.M., Mallavia, B., Liu, F., Ortiz-Muñoz, G., Caudrillier, A., DerHovanessian, A., *et al.* (2015) Neutrophil Extracellular Traps Are Pathogenic in Primary Graft Dysfunction after Lung Transplantation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, **191**, 455-463. <https://doi.org/10.1164/rccm.201406-1086oc>
- [11] Wang, W., Soto, H., Oldham, E.R., Buchanan, M.E., Homey, B., Catron, D., *et al.* (2000) Identification of a Novel Chemokine (CCL28), Which Binds CCR10 (GPR2). *Journal of Biological Chemistry*, **275**, 22313-22323. <https://doi.org/10.1074/jbc.m001461200>
- [12] Meurens, F., Berri, M., Whale, J., Dybvig, T., Strom, S., Thompson, D., *et al.* (2006) Expression of TECK/CCL25 and MEC/CCL28 Chemokines and Their Respective Receptors CCR9 and CCR10 in Porcine Mucosal Tissues. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **113**, 313-327. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2006.05.014>
- [13] Hieshima, K., Ohtani, H., Shibano, M., Izawa, D., Nakayama, T., Kawasaki, Y., *et al.* (2003) CCL28 Has Dual Roles in Mucosal Immunity as a Chemokine with Broad-Spectrum Antimicrobial Activity. *The Journal of Immunology*, **170**, 1452-1461. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.3.1452>
- [14] Willems, L.I. and IJzerman, A.P. (2010) Small Molecule Antagonists for Chemokine CCR3 Receptors. *Medicinal Research Reviews*, **30**, 778-817. <https://doi.org/10.1002/med.20181>
- [15] Homey, B., Wang, W., Soto, H., Buchanan, M.E., Wiesenborn, A., Catron, D., *et al.* (2000) Cutting Edge: The Orphan Chemokine Receptor G Protein-Coupled Receptor-2 (GPR-2, CCR10) Binds the Skin-Associated Chemokine CCL27

- (CTACK/ALP/ILC). *The Journal of Immunology*, **164**, 3465-3470. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.7.3465>
- [16] Lazarus, N.H., Kunkel, E.J., Johnston, B., Wilson, E., Youngman, K.R. and Butcher, E.C. (2003) A Common Mucosal Chemokine (Mucosae-Associated Epithelial Chemokine/CCL28) Selectively Attracts Iga Plasmablasts. *The Journal of Immunology*, **170**, 3799-3805. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.170.7.3799>
- [17] Wilson, E. and Butcher, E.C. (2004) CCL28 Controls Immunoglobulin (Ig)a Plasma Cell Accumulation in the Lactating Mammary Gland and Iga Antibody Transfer to the Neonate. *The Journal of Experimental Medicine*, **200**, 805-809. <https://doi.org/10.1084/jem.20041069>
- [18] Höchstetter, R., Dobos, G., Kimmig, D., Dulkys, Y., Kapp, A. and Elsner, J. (2000) The CC Chemokine Receptor 3 CCR3 Is Functionally Expressed on Eosinophils but Not on Neutrophils. *European Journal of Immunology*, **30**, 2759-2764. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200010\)30:10<2759::aid-immu2759>3.0.co;2-a](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200010)30:10<2759::aid-immu2759>3.0.co;2-a)
- [19] Hartl, D., Krauss-Etschmann, S., Koller, B., Hordijk, P.L., Kuijpers, T.W., Hoffmann, F., *et al.* (2008) Infiltrated Neutrophils Acquire Novel Chemokine Receptor Expression and Chemokine Responsiveness in Chronic Inflammatory Lung Diseases. *The Journal of Immunology*, **181**, 8053-8067. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.11.8053>
- [20] O’Gorman, M.T., Jatoi, N.A., Lane, S.J. and Mahon, B.P. (2005) Il-1 β and TNF-A Induce Increased Expression of CCL28 by Airway Epithelial Cells via an NF κ B-Dependent Pathway. *Cellular Immunology*, **238**, 87-96. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2006.02.003>
- [21] Ogawa, H., Iimura, M., Eckmann, L. and Kagnoff, M.F. (2004) Regulated Production of the Chemokine CCL28 in Human Colon Epithelium. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **287**, G1062-G1069. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00162.2004>
- [22] Facciabene, A., Peng, X., Hagemann, I.S., Balint, K., Barchetti, A., Wang, L., *et al.* (2011) Tumour Hypoxia Promotes Tolerance and Angiogenesis via CCL28 and Treg Cells. *Nature*, **475**, 226-230. <https://doi.org/10.1038/nature10169>
- [23] Huang, G., Tao, L., Shen, S. and Chen, L. (2016) Hypoxia Induced CCL28 Promotes Angiogenesis in Lung Adenocarcinoma by Targeting CCR3 on Endothelial Cells. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 27152. <https://doi.org/10.1038/srep27152>
- [24] Yang, K., Chen, H., Lyu, Y., Wei, W., Wei, X., Ling, Y., *et al.* (2025) CCL28 Contributes to Angiogenesis and Cardiac Repair through CCR10⁺ Endothelial Cells after Myocardial Infarction in Male Mice. *Nature Communications*, **16**, Article No. 9262. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-64283-4>
- [25] Eksteen, B., Miles, A., Curbishley, S.M., Tselepis, C., Grant, A.J., Walker, L.S.K., *et al.* (2006) Epithelial Inflammation Is Associated with CCL28 Production and the Recruitment of Regulatory T Cells Expressing Ccr10. *The Journal of Immunology*, **177**, 593-603. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.1.593>
- [26] Hansson, M., Hermansson, M., Svensson, H., Elfvin, A., Hansson, L., Johnsson, E., *et al.* (2008) CCL28 Is Increased in Human *helicobacter Pylori* -Induced Gastritis and Mediates Recruitment of Gastric Immunoglobulin A-Secreting Cells. *Infection and Immunity*, **76**, 3304-3311. <https://doi.org/10.1128/iai.00041-08>
- [27] Rudd, J.M., Pulavendran, S., Ashar, H.K., Ritchey, J.W., Snider, T.A., Malayer, J.R., *et al.* (2019) Neutrophils Induce a Novel Chemokine Receptors Repertoire during Influenza Pneumonia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, **9**, Article ID: 108. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00108>
- [28] Spencer, L.A., Melo, R.C.N., Perez, S.A.C., Bafford, S.P., Dvorak, A.M. and Weller, P.F. (2006) Cytokine Receptor-Mediated Trafficking of Preformed IL-4 in Eosinophils Identifies an Innate Immune Mechanism of Cytokine Secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **103**, 3333-3338. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508946103>
- [29] Brinkmann, V., Reichard, U., Goosmann, C., Fauler, B., Uhlemann, Y., Weiss, D.S., *et al.* (2004) Neutrophil Extracellular Traps Kill Bacteria. *Science*, **303**, 1532-1535. <https://doi.org/10.1126/science.1092385>
- [30] Dwyer, M., Shan, Q., D’Ortona, S., Maurer, R., Mitchell, R., Olesen, H., *et al.* (2014) Cystic Fibrosis Sputum DNA Has Netosis Characteristics and Neutrophil Extracellular Trap Release Is Regulated by Macrophage Migration-Inhibitory Factor. *Journal of Innate Immunity*, **6**, 765-779. <https://doi.org/10.1159/000363242>
- [31] Papayannopoulos, V. (2018) Neutrophil Extracellular Traps in Immunity and Disease. *Nature Reviews Immunology*, **18**, 134-147. <https://doi.org/10.1038/nri.2017.105>
- [32] Papayannopoulos, V., Metzler, K.D., Hakkim, A. and Zychlinsky, A. (2010) Neutrophil Elastase and Myeloperoxidase Regulate the Formation of Neutrophil Extracellular Traps. *Journal of Cell Biology*, **191**, 677-691. <https://doi.org/10.1083/jcb.201006052>
- [33] Bianchi, M., Hakkim, A., Brinkmann, V., Siler, U., Seger, R.A., Zychlinsky, A., *et al.* (2009) Restoration of NET Formation by Gene Therapy in CGD Controls Aspergillosis. *Blood*, **114**, 2619-2622. <https://doi.org/10.1182/blood-2009-05-221606>
- [34] Wang, Y., Wysocka, J., Sayegh, J., Lee, Y., Perlin, J.R., Leonelli, L., *et al.* (2004) Human PAD4 Regulates Histone Arginine Methylation Levels via Demethylination. *Science*, **306**, 279-283. <https://doi.org/10.1126/science.1101400>
- [35] Li, P., Li, M., Lindberg, M.R., Kennett, M.J., Xiong, N. and Wang, Y. (2010) PAD4 Is Essential for Antibacterial Innate

- Immunity Mediated by Neutrophil Extracellular Traps. *Journal of Experimental Medicine*, **207**, 1853-1862. <https://doi.org/10.1084/jem.20100239>
- [36] Hosseinzadeh, A., Thompson, P.R., Segal, B.H. and Urban, C.F. (2016) Nicotine Induces Neutrophil Extracellular Traps. *Journal of Leukocyte Biology*, **100**, 1105-1112. <https://doi.org/10.1189/jlb.3ab0815-379rr>
- [37] Pilszczek, F.H., Salina, D., Poon, K.K.H., Fahey, C., Yipp, B.G., Sibley, C.D., *et al.* (2010) A Novel Mechanism of Rapid Nuclear Neutrophil Extracellular Trap Formation in Response to *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Immunology*, **185**, 7413-7425. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000675>
- [38] Yipp, B.G., Petri, B., Salina, D., Jenne, C.N., Scott, B.N.V., Zbytniuk, L.D., *et al.* (2012) Infection-Induced Netosis Is a Dynamic Process Involving Neutrophil Multitasking *in Vivo*. *Nature Medicine*, **18**, 1386-1393. <https://doi.org/10.1038/nm.2847>
- [39] Douada, D.N., Khan, M.A., Grasmann, H. and Palaniyar, N. (2015) SK3 Channel and Mitochondrial ROS Mediate NADPH Oxidase-Independent Netosis Induced by Calcium Influx. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **112**, 2817-2822. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414055112>
- [40] Urban, C.F., Reichard, U., Brinkmann, V. and Zychlinsky, A. (2006) Neutrophil Extracellular Traps Capture and Kill *Candida Albicans* Yeast and Hyphal Forms. *Cellular Microbiology*, **8**, 668-676. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2005.00659.x>
- [41] Saffarzadeh, M., Juenemann, C., Queisser, M.A., Lochnit, G., Barreto, G., Galuska, S.P., *et al.* (2012) Neutrophil Extracellular Traps Directly Induce Epithelial and Endothelial Cell Death: A Predominant Role of Histones. *PLOS ONE*, **7**, e32366. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032366>
- [42] Xu, J., Zhang, X., Pelayo, R., Monestier, M., Ammollo, C.T., Semeraro, F., *et al.* (2009) Extracellular Histones Are Major Mediators of Death in Sepsis. *Nature Medicine*, **15**, 1318-1321. <https://doi.org/10.1038/nm.2053>
- [43] Fuchs, T.A., Brill, A., Duerschmied, D., Schatzberg, D., Monestier, M., Myers, D.D., *et al.* (2010) Extracellular DNA Traps Promote Thrombosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 15880-15885. <https://doi.org/10.1073/pnas.1005743107>
- [44] Martinod, K., Demers, M., Fuchs, T.A., Wong, S.L., Brill, A., Gallant, M., *et al.* (2013) Neutrophil Histone Modification by Peptidylarginine Deiminase 4 Is Critical for Deep Vein Thrombosis in Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **110**, 8674-8679. <https://doi.org/10.1073/pnas.1301059110>
- [45] Kessenbrock, K., Krumbholz, M., Schönemmarck, U., Back, W., Gross, W.L., Werb, Z., *et al.* (2009) Netting Neutrophils in Autoimmune Small-Vessel Vasculitis. *Nature Medicine*, **15**, 623-625. <https://doi.org/10.1038/nm.1959>
- [46] Lande, R., Ganguly, D., Facchinetti, V., Frasca, L., Conrad, C., Gregorio, J., *et al.* (2011) Neutrophils Activate Plasmacytoid Dendritic Cells by Releasing Self-DNA-Peptide Complexes in Systemic Lupus Erythematosus. *Science Translational Medicine*, **3**, 73ra19. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3001180>
- [47] Cools-Lartigue, J., Spicer, J., McDonald, B., Gowing, S., Chow, S., Giannias, B., *et al.* (2013) Neutrophil Extracellular Traps Sequester Circulating Tumor Cells and Promote Metastasis. *Journal of Clinical Investigation*, **123**, 3446-3458. <https://doi.org/10.1172/jci67484>
- [48] Tohme, S., Yazdani, H.O., Al-Khafaji, A.B., Chidi, A.P., Loughran, P., Mowen, K., *et al.* (2016) Neutrophil Extracellular Traps Promote the Development and Progression of Liver Metastases after Surgical Stress. *Cancer Research*, **76**, 1367-1380. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-15-1591>
- [49] Yang, L., Liu, Q., Zhang, X., Liu, X., Zhou, B., Chen, J., *et al.* (2020) DNA of Neutrophil Extracellular Traps Promotes Cancer Metastasis via Cdc25. *Nature*, **583**, 133-138. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2394-6>
- [50] Takesue, S., Ohuchida, K., Shinkawa, T., Otsubo, Y., Matsumoto, S., Sagara, A., *et al.* (2020) Neutrophil Extracellular Traps Promote Liver Micrometastasis in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma via the Activation of Cancer-associated Fibroblasts. *International Journal of Oncology*, **56**, 596-605. <https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4951>
- [51] Li, C., Chen, T., Liu, J., Wang, Y., Zhang, C., Guo, L., *et al.* (2023) Fgf19-Induced Inflammatory CAF Promoted Neutrophil Extracellular Trap Formation in the Liver Metastasis of Colorectal Cancer. *Advanced Science*, **10**, e2302613. <https://doi.org/10.1002/adv.202302613>
- [52] Li, J., Han, Z., Zhu, Z. and Wei, L. (2023) LncRNA H19 Aggravates Primary Graft Dysfunction after Lung Transplantation via KLF5-Mediated Activation of CCL28. *American Journal of Transplantation*, **23**, 1536-1550. <https://doi.org/10.1016/j.ajt.2023.06.015>
- [53] Chen, J., Xu, C., Yang, K., Gao, R., Cao, Y., Liang, L., *et al.* (2023) Inhibition of ALKBH5 Attenuates I/R-Induced Renal Injury in Male Mice by Promoting CCL28 M6a Modification and Increasing Treg Recruitment. *Nature Communications*, **14**, Article No. 1161. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36747-y>
- [54] Li, W., Feng, G., Gauthier, J.M., Lokshina, I., Higashikubo, R., Evans, S., *et al.* (2019) Ferroptotic Cell Death and TLR4/Trif Signaling Initiate Neutrophil Recruitment after Heart Transplantation. *Journal of Clinical Investigation*, **129**, 2293-2304. <https://doi.org/10.1172/jci126428>

- [55] Hirao, H., Kojima, H., Dery, K.J., Nakamura, K., Kadono, K., Zhai, Y., *et al.* (2023) Neutrophil CEACAM1 Determines Susceptibility to Netosis by Regulating the S1PR2/S1PR3 Axis in Liver Transplantation. *Journal of Clinical Investigation*, **133**, e162940. <https://doi.org/10.1172/jci162940>
- [56] Chen, Z., Haus, J.M., DiPietro, L.A., Koh, T.J. and Minshall, R.D. (2023) Neutralization of Excessive CCL28 Improves Wound Healing in Diabetic Mice. *Frontiers in Pharmacology*, **14**, Article ID: 1087924. <https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1087924>
- [57] Knight, J.S., Subramanian, V., O'Dell, A.A., Yalavarthi, S., Zhao, W., Smith, C.K., *et al.* (2015) Peptidylarginine Deiminase Inhibition Disrupts NET Formation and Protects against Kidney, Skin and Vascular Disease in Lupus-Prone MRL/LPR Mice. *Annals of the Rheumatic Diseases*, **74**, 2199-2206. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2014-205365>