

中性粒细胞表型及功能异质性与疾病的关系

张兰秋 王西墨

天津市南开医院急腹症器官损伤与中西医修复重点实验室, 天津 300100

通信作者: 王西墨, Email: wangximongky@126.com

【摘要】 中性粒细胞是抵御外来微生物入侵的第一道防线,也是炎症诱导损伤的主要介导者。中性粒细胞一度被认为是终末分化的同一种类白细胞,并且功能特点单一,寿命短暂,转录活性低,迁移至组织后不能回归血液循环。但是近年来研究表明,在生理或病理情况下,循环或组织中的确存在表型及功能各异的中性粒细胞亚型。现对中性粒细胞在脓毒症和肿瘤发生时表型及功能异质性进行综述。

【关键词】 中性粒细胞; 炎症; 脓毒症; 肿瘤

基金项目: 国家自然科学基金(81971858); 天津市自然科学基金(19JCZDJC36200)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200519-00702

Relationship between neutrophil phenotypic and functional heterogeneity and diseases

Zhang Lanqiu, Wang Ximo

Tianjin Key Laboratory of Acute Abdomen Disease Associated Organ Injury and ITCWM Repair, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Corresponding author: Wang Ximo, Email: wangximongky@126.com

【Abstract】 Neutrophils are the most abundant circulating leukocyte type in humans and comprise the host's first line of cellular defense against foreign pathogens invasion. On the other hand, neutrophils are the main mediators of tissue damage induced by acute and chronic inflammation. They were once considered to be short-lived, low transcriptional activity, and terminally differentiated homogeneous leucocytes that failed to return to circulation from tissue. However, more evidence has demonstrated that neutrophils can develop into different sub-populations with phenotypic heterogeneity and functional versatility under physiology and pathological conditions. This review summarizes the phenotypic and functional heterogeneity of neutrophils in sepsis and tumor genesis.

【Key words】 Neutrophil; Inflammation; Sepsis; Tumor

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81971858); Tianjin Municipal Natural Science Foundation of China (19JCZDJC36200)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200519-00702

中性粒细胞是血液中白细胞的主要组成群体,占人类循环白细胞总量的 50%~70%。传统认为中性粒细胞的功能仅限于抗菌杀菌,但过去 20 年研究表明,中性粒细胞通过释放促炎介质、细胞因子及协调固有免疫反应和适应免疫反应,不仅参与机体稳态的调节,而且在免疫介导的病理情况如感染、自身免疫疾病和肿瘤发生发展中也发挥主要作用^[1-3]。还有研究表明,在不同的生理和病理情况下,不同表型及功能的中性粒细胞组成多种不同的中性粒细胞亚群^[4-5]。近年来中性粒细胞异质性概念逐渐被重视,现对中性粒细胞在脓毒症和肿瘤发生时表型及功能的异质性进行综述,以期更好地理解中性粒细胞不同亚群的表型和功能特点。

1 中性粒细胞的异质性与细胞密度

根据梯度密度不同,在脓毒症^[6]、肿瘤^[7]、人类免疫缺陷病毒感染^[8]、系统性红斑狼疮及牛皮癣等疾病^[4],中性粒细胞被分为低密度中性粒细胞(low-density neutrophil, LDN)、正常密度中性粒细胞(normal-density neutrophil, NDN)和高密度中性粒细胞(high-density neutrophil, HDN)3 个亚群。LDN 名称的由来是因为在梯度离心后,中性粒细胞存在于外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中。在健康小鼠和人体内,LDN 所占比例可忽略不计。LDN 和 HDN

是由不同表型及功能的细胞亚群组成。在炎症背景下,LDN 由成熟的 CD11b⁺CD16⁺ 和不成熟的 CD11b^{low/-}CD16^{low/-} 中性粒细胞亚群组成,其中不成熟细胞主要是棒状细胞和晚幼粒细胞。成熟细胞和不成熟细胞的比例与疾病的种类及病情均有关^[9]。除表型不同外,这些细胞的功能也不相同,LDN 中具有免疫抑制功能的被称为粒细胞样骨髓来源抑制性细胞(granulocytic myeloid-derived suppressor cell, G-MDSC)^[10-11];而在系统性红斑狼疮和牛皮癣疾病中发现的 LDN 则具有促炎功能^[4]。仅根据表面标记来区分成熟与不成熟 LDN,目前还存有争议。体内激活的成熟中性粒细胞低表达 CD16,其表达水平与不成熟的中性粒细胞(尤其是棒状细胞)相似,因此很难区分这两种亚群^[12-13];与此类似的是,成熟的中性粒细胞表达 CD66 的水平与中性粒前体细胞至晚幼粒时期也相似^[14]。鉴于 CD66 和 CD16 不能区分成熟与不成熟中性粒细胞,有研究者发现 CD10 表达可以将 LDN 明确分为成熟和不成熟细胞,成熟的 CD10⁺ 亚群表现为抑制 T 细胞增殖,而不成熟的 CD10⁻ 亚群则表现为促进 T 细胞增殖^[15]。与 LDN 相似,在炎症或其他病理情况下,HDN 也含有不成熟(主要是棒状细胞)和激活的成熟细胞,后者往往执行免疫抑制功能。经过裂解红细胞后直接从外周血中分离的白细胞,同样

被发现可以执行免疫抑制功能^[9]。不成熟的棒状 HDN 的免疫功能目前尚不清楚。

病理情况下 LDN 和 HDN 来自哪里? 病理情况下出现成熟和不成熟 LDN 的原因并不清楚, 出现在 PBMC 中的中性粒细胞可能是因为成熟程度不同或激活和脱颗粒状态不同。中性粒细胞在成熟的最终过程中获得胞质颗粒, 细胞密度随之增加^[16-17]。因此, 处于不同成熟水平的中性粒细胞可通过密度梯度离心而被分离出来^[13]。LDN 中的不成熟细胞可能来源于骨髓或脾脏中不能完成最终分化的中性粒细胞。另外, 在动物肿瘤模型中发现, 成熟的 HDN 在转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 作用下转变成 LDN, 随即丢失抗肿瘤功能, 获得免疫抑制功能, 类似于 G-MDSC 的特点; BrdU 脉冲追踪实验显示, LDN 要早于 HDN 出现在循环血液中, 即新生成的中性粒细胞在 LDN 中出现的时间要早于 HDN, 说明不成熟的中性粒细胞更早离开骨髓^[18]。

2 中性粒细胞的异质性与脓毒症

2.1 中性粒细胞与脓毒症的关系: 脓毒症是由感染引起的一种渐进发生的损伤性炎症反应, 往往伴随着组织的低灌注和多器官损伤, 全球每年至少有 500 万人死于脓毒症^[19]。脓毒症的显著病理特点就是炎症反应过强与炎症反应不足之间平衡的破坏。中性粒细胞是固有免疫反应的重要组成部分, 通过释放细胞因子、趋化因子、白细胞介素和表达抗微生物的肽、蛋白酶及氧化物直接杀伤微生物, 在脓毒症期间发挥重要的作用^[1, 20]。在脓毒症时期, 中性粒细胞的功能明显失调, 导致炎症部位中性粒细胞迁移不足而抵抗微生物反应不足^[21]; 与此同时, 中性粒细胞在远端重要器官聚集, 导致组织损伤而最终引起多器官功能衰竭^[22]。因此, 中性粒细胞至感染部位的趋化反应下降及在重要器官的异常聚集与脓毒症的发病率和病死率直接相关。

2.2 与脓毒症有关的中性粒细胞亚群: 炎症发生时, 循环或组织中出现不同种类中性粒细胞, 即机体存在表型及功能各异的中性粒细胞亚群。Pillay 等^[23]发现, 机体被注入脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 后出现 3 种中性粒细胞亚群, 即成熟经典的 CD16^{bright}CD62L^{bright}、多分叶 CD16^{bright}CD62L^{dim} 以及不成熟呈棒状的 CD16^{dim}CD62L^{bright}, 并发现 CD16^{bright}CD62L^{dim} 亚群具有抑制 T 细胞的功能, 不成熟的中性粒细胞则无此功能。该团队进一步研究发现, 多分叶和经典的中性粒细胞分别来自骨髓不同的前提细胞, 从骨髓进入循环所需的时间相同, 而不成熟的棒状细胞则比其他两个亚群早 2 d 进入循环; 然而从蛋白功能分析, 经典的成熟中性粒细胞与不成熟的棒状粒细胞功能相似, 多分叶的中性粒细胞则具有免疫调节功能^[24]。另一项研究表明, 脓毒症时白细胞最明显的变化是粒细胞中的 CD10 和 CD16 表达均明显降低, CD10^{dim} 和 CD16^{dim} 粒细胞亚群所占比例与病情的严重程度及预后显著相关, 而且 PBMC 分离的不成熟棒状粒细胞 CD16^{dim} 亚群中, CD14⁺/CD24⁺ 亚群有杀死 T 细胞的功能^[25]。

3 中性粒细胞的异质性与肿瘤

尽管越来越多的证据表明肿瘤患者机体内存在多种中

性粒细胞亚群, 但在肿瘤的生长及转移中, 中性粒细胞的作用并未被阐明。有研究者认为, 中性粒细胞可促进肿瘤血管生成、肿瘤细胞散播及远隔器官转移^[18, 26-27]; 而其他研究者则认为, 中性粒细胞具有抗肿瘤生长及转移的功能^[28-31]。研究结论不同很可能是因为多种中性粒细胞亚群存在的缘故。在研究与肿瘤有关的中性粒细胞时, 许多研究集中于循环中的中性粒细胞或者存在于肿瘤微环境中的中性粒细胞。

3.1 循环中性粒细胞在肿瘤中的表型及功能: 目前主要根据细胞密度及表面标记不同, 将肿瘤患者体内循环中性粒细胞分为成熟 LDN、不成熟 LDN 及 HDN 3 个亚群。研究表明, 代表中性粒细胞成熟的标记如 CD15、CD16、CD10、CD66b、CD11b 在 HDN 中高表达, 而在 LDN 中呈不同水平表达^[9]。小鼠中性粒细胞被定义为 CD11b⁺GR1⁺Ly6G⁺ 细胞, 在小鼠和人类中 LDN、HDN 均表达不同水平的激活标记的 CD11b。在研究头颈部癌、肺癌和膀胱癌患者 LDN 的特点时发现, 骨髓来源抑制性细胞 (myeloid-derived suppressor cell, MDSC) 中含有高表达 CD66b 的不同发育程度的不成熟中性粒细胞, 依据 CD16 和 CD11b 可以将 LDN 进一步分为 CD16⁺CD11b⁺、CD16⁻CD11b⁺、CD16⁻CD11b⁻ 3 个亚群^[32]。

鉴于中性粒细胞被分为成熟 LDN、不成熟 LDN 及 HDN 3 种类型, 推测不同亚群功能也不相同。研究表明, LDN 和 HDN 发挥相反的肿瘤相关功能, 来自荷瘤小鼠的 HDN 具有细胞毒性作用, 通过产生活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 促进肿瘤细胞死亡, 进而抑制肿瘤转移; 而 LDN 则显示出较低的细胞毒性作用, 并抑制 CD8⁺ T 细胞增殖, 从而促进肿瘤微环境发展^[33]。另一项研究表明, 胰腺、结肠和乳腺转移性腺癌患者 LDN 数量增加与 T 细胞产生 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 及肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 减少相关, 而且中性粒细胞通过释放的过氧化氢抑制 T 细胞的功能^[34]。实际上, 不仅 LDN 发挥抑制 T 细胞的功能, 健康捐献者和肾细胞癌患者的 HDN 表现为高精氨酸酶 I 活性, 也具有抑制 T 细胞的功能。因此, 不成熟和成熟的中性粒细胞均可能具有免疫抑制功能。有研究者发现, LDN 凋亡较 HDN 下降可能与肿瘤微环境中释放的粒细胞集落刺激因子 (granulocyte colony stimulating factor, G-CSF) 关系更为密切^[35-37]。Rodriguez 等^[12]发现, 循环中性粒细胞与肾癌细胞株共培养后, 中性粒细胞自发凋亡降低, 但并未发现 HDN 与 LDN 之间有何差异。中性粒细胞分泌的 G-CSF 也被发现可以延长循环和肿瘤中的中性粒细胞寿命^[38]。

有研究者根据密度不同将循环中性粒细胞分为 LDN 和 HDN; 除此之外, 也有研究者根据细胞表面标记确定与肿瘤发生发展相关的中性粒细胞。研究表明, 循环中的唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素 F^{high} (SiglecF^{high}) 中性粒细胞与肺部肿瘤的发展有关^[39]。Evrard 等^[40]应用质谱流式技术发现, Lin⁻Gr1⁺CD11b⁺CD101⁻ 不成熟中性粒细胞与肿瘤的发生发展相关。Zhu 等^[41]则结合质谱流式技术和单细胞 RNA 测序技术发现, Lin⁻CD117⁺Ly6A/E⁺SiglecF⁺Fc ϵ RIa⁺CD16/32⁺Ly6B⁺CD11a⁺CD162^{lo}CD48^{lo}Ly6C^{lo}CD115⁻Ly6G⁻ 中性粒细胞前体细

胞与肿瘤的发展相关。

3.2 肿瘤微环境中性粒细胞表型及功能：有研究者根据小鼠肿瘤模型实验结果提出了具有抗癌功能的 N1 型和促瘤功能的 N2 型肿瘤相关中性粒细胞 (tumor-associated neutrophil, TAN)^[42]。由于缺乏鉴别促瘤和抑瘤的中性粒细胞的特异性标记,在没有 IFN- β 和 TGF- β 的处理下,无法对这两种细胞进行分型及分离。因此,找出特异性标记,在未来就可以不需要这些特殊处理而直接从肿瘤发生过程中分离出不同亚群的 TAN。与循环中的中性粒细胞比较,揭示人类肿瘤中 TAN 的特点更具有挑战性。2014 年 Eruslanov 等^[43]探讨了人类肿瘤发生过程中 TAN 的特点,其表型为 CD15^{hi}CD66b⁺CD11b⁺MPO⁺Arg1⁺CD16^{int},与血液中的中性粒细胞比较,呈激活表型 (CD62L^{hi}CD54^{hi});此外, TAN 亚群表达趋化因子受体 CCR7、CXCR3 及 CXCR4,并且高表达 CCR5,而这些趋化因子受体均不在外周血中性粒细胞表达,并且 TAN 具有刺激 T 细胞增殖及激活的能力,随着肿瘤的发展, TAN 刺激 T 细胞反应的能力下降,提示来自晚期肿瘤的 TAN 具有明显的促瘤功能。与此推测一致的是,在小鼠肿瘤模型中发现,与晚期肿瘤相比,早期肿瘤的 TAN 可产生高水平的 TNF- α 、一氧化氮和过氧化氢,从而抑制肿瘤细胞^[44]。

许多研究者通过体内外实验证明了 TAN 可通过产生 ROS 而促进基因毒性,导致肿瘤发生^[45]。TAN 也可通过促进肿瘤细胞增殖、迁移及渗出血管而促进肿瘤发展。Tazzyman 等^[46]报道,中性粒细胞可通过 CXCR2 募集至肿瘤组织并促进肺腺癌细胞增殖。另外, TAN 可通过向肿瘤微环境释放各种蛋白酶而促进肿瘤发展^[47-48]。中性粒细胞弹性蛋白酶和蛋白酶-3 可促进肿瘤细胞侵袭、增殖及转移;基质金属蛋白酶-8、白明胶酶 B 和去整合素金属蛋白酶 9 则介导中性粒细胞的浸润及血管生成^[49-51]。TAN 通过多种途径促进肿瘤转移,如中性粒细胞可以激活血管内皮细胞和增强循环肿瘤细胞的黏附^[52],也可以通过破坏自然杀伤细胞的杀伤作用而利于肿瘤细胞溢出血管,进而促进迁移^[53-54]。研究表明,中性粒细胞胞外诱捕网可诱导中性粒细胞分泌高迁移率族蛋白 B1,进而激活肿瘤细胞 Toll 样受体 9 信号通路以促进肿瘤细胞迁移、黏附和浸润,参与肿瘤细胞的转移^[55]。

肿瘤微环境中的中性粒细胞来源、极化位置均不清楚。在关于人类早期肺部腺癌的研究中发现,肿瘤组织中类似小鼠抑瘤型的 N1 型中性粒细胞并不存在于循环系统^[31];而 2017 年发表在 *Science* 杂志的一项研究表明,骨髓成骨细胞通过远程供给 SiglecF^{high} 中性粒细胞而促进肺部肿瘤的生长,这种促瘤中性粒细胞在循环中已部分具有促瘤的表型及功能^[39]。一项发表在 *Immunity* 杂志的研究也表明,浸润至胰腺肿瘤中的不成熟中性粒细胞来自于循环血液^[40]。因此, N2 型和 N1 型 TAN 可能来自骨髓或循环中的不同中性粒细胞亚群,分别具有促进和抑制肿瘤的特性。另一种可能是中性粒细胞浸润肿瘤微环境后,在肿瘤的各种因素(如 TGF- β)刺激下,功能发生极化。因此,目前除了寻找区分不同亚型 TAN 的特异性标记外,还需解决的问题包括 TAN 的最初来

源(如骨髓、循环血液或脾脏 G-MDSC)、什么因素调控极化、什么时候及在什么位置发生极化(循环系统或肿瘤内)。

4 总结

面对中性粒细胞如此复杂的分群及功能不确定性,许多问题需要解答。例如:在同一种疾病中出现的各种不成熟和成熟的中性粒细胞群体(如 LDN、HDN 或总白细胞群),各自的表型和功能是否相关?它们是否来自不同或者特异性前体细胞?在疾病发生时,动员至循环系统的不成熟中性粒细胞,与静息状态下正常储存于骨髓的不成熟中性粒细胞相比,其表型及功能是相似还是不同?根据梯度密度离心将中性粒细胞分为 LDN 和 HDN 是否正确?直接从整体白细胞单一群体中分析不成熟和成熟中性粒细胞是否更合适?另一个未解决的问题是,这些在病理情况下出现的异质性中性粒细胞群体只是由于某些刺激因子造成的暂时性表型改变,还是完全分化的具有新的特异性功能的群体?若想解答这些问题,必须寻找新的实验方法,同时通过表型、转录特点和功能以明确区分及鉴定不成熟与成熟中性粒细胞群体。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA. The multifaceted functions of neutrophils [J]. *Annu Rev Pathol*, 2014, 9: 181-218. DOI: 10.1146/annurev-pathol-020712-164023.
- [2] Scapini P, Cassatella MA. Social networking of human neutrophils within the immune system [J]. *Blood*, 2014, 124 (5): 710-719. DOI: 10.1182/blood-2014-03-453217.
- [3] 邵卢品,王春霞,张育才.固有免疫细胞代谢重编程调控脓毒症免疫稳态的研究进展 [J]. *中华危重病急救医学*, 2019, 31 (7): 910-912. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.07.023. Shao LJ, Wang CX, Zhang YC. Research progress on metabolic reprogramming of innate immune cells involved in immune-regulation of sepsis [J]. *Chin Crit Care Med*, 2019, 31 (7): 910-912. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.07.023.
- [4] Carmona-Rivera C, Kaplan MJ. Low-density granulocytes: a distinct class of neutrophils in systemic autoimmunity [J]. *Semin Immunopathol*, 2013, 35 (4): 455-463. DOI: 10.1007/s00281-013-0375-7.
- [5] Beyrau M, Bodkin JV, Nourshargh S. Neutrophil heterogeneity in health and disease: a revitalized avenue in inflammation and immunity [J]. *Open Biol*, 2012, 2 (11): 120134. DOI: 10.1098/rsob.120134.
- [6] Darcy CJ, Minigo G, Piera KA, et al. Neutrophils with myeloid derived suppressor function deplete arginine and constrain T cell function in septic shock patients [J]. *Crit Care*, 2014, 18 (4): R163. DOI: 10.1186/cc14003.
- [7] Moses K, Brandau S. Human neutrophils: their role in cancer and relation to myeloid-derived suppressor cells [J]. *Semin Immunol*, 2016, 28 (2): 187-196. DOI: 10.1016/j.smim.2016.03.018.
- [8] Cloke T, Munder M, Bergin P, et al. Phenotypic alteration of neutrophils in the blood of HIV seropositive patients [J]. *PLoS One*, 2013, 8 (9): e72034. DOI: 10.1371/journal.pone.0072034.
- [9] Scapini P, Marini O, Tecchio C, et al. Human neutrophils in the saga of cellular heterogeneity: insights and open questions [J]. *Immunol Rev*, 2016, 273 (1): 48-60. DOI: 10.1111/imr.12448.
- [10] Tsuda Y, Fukui H, Asai A, et al. An immunosuppressive subtype of neutrophils identified in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2012, 51 (3): 204-212. DOI: 10.3164/jcbn.12-32.
- [11] Bowers NL, Helton ES, Huijbregts RP, et al. Immune suppression by neutrophils in HIV-1 infection: role of PD-1/PD-1 pathway [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10 (3): e1003993. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003993.
- [12] Rodriguez PC, Ernstoff MS, Hernandez C, et al. Arginase I-producing myeloid-derived suppressor cells in renal cell carcinoma are a subpopulation of activated granulocytes [J]. *Cancer Res*, 2009, 69 (4): 1553-1560. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1921.
- [13] Cloke T, Munder M, Taylor G, et al. Characterization of a novel population of low-density granulocytes associated with disease severity in HIV-1 infection [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (11): e48939. DOI: 10.1371/journal.pone.0048939.

- [14] Elghetany MT. Surface antigen changes during normal neutrophilic development: a critical review [J]. Blood Cells Mol Dis, 2002, 28 (2): 260–274. DOI: 10.1006/bcmd.2002.0513.
- [15] Marini O, Costa S, Bevilacqua D, et al. Mature CD10⁺ and immature CD10⁻ neutrophils present in G-CSF-treated donors display opposite effects on T cells [J]. Blood, 2017, 129 (10): 1343–1356. DOI: 10.1182/blood-2016-04-713206.
- [16] Borregaard N, Sørensen OE, Theilgaard-Mönch K. Neutrophil granules: a library of innate immunity proteins [J]. Trends Immunol, 2007, 28 (8): 340–345. DOI: 10.1016/j.it.2007.06.002.
- [17] Faurschou M, Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation [J]. Microbes Infect, 2003, 5 (14): 1317–1327. DOI: 10.1016/j.micinf.2003.09.008.
- [18] Sagiv JY, Michaeli J, Assi S, et al. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer [J]. Cell Rep, 2015, 10 (4): 562–573. DOI: 10.1016/j.celrep.2014.12.039.
- [19] Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, et al. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis. Current estimates and limitations [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2016, 193 (3): 259–272. DOI: 10.1164/rccm.201504-0781OC.
- [20] 高飞, 惠姣洁, 杨岚, 等. 中性粒细胞功能在脓毒症肝损伤中的变化及其对预后的影响: 一项前瞻性观察性研究 [J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31 (11): 1324–1329. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.11.003.
- [21] Gao F, Hui JJ, Yang L, et al. Changes in neutrophil function in septic liver injury and its effect on prognosis: a prospective observational study [J]. Chin Crit Care Med, 2019, 31 (11): 1324–1329. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.11.003.
- [22] Alves-Filho JC, Spiller F, Cunha FQ. Neutrophil paralysis in sepsis [J]. Shock, 2010, 34 Suppl 1: 15–21. DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181e7e61b.
- [23] Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis [J]. Nature, 2002, 420 (6917): 885–891. DOI: 10.1038/nature01326.
- [24] Pillay J, Kamp VM, van Hoffen E, et al. A subset of neutrophils in human systemic inflammation inhibits T cell responses through Mac-1 [J]. J Clin Invest, 2012, 122 (1): 327–336. DOI: 10.1172/JCI57990.
- [25] Tak T, Wijten P, Heeres M, et al. Human CD62L^{dim} neutrophils identified as a separate subset by proteome profiling and *in vivo* pulse-chase labeling [J]. Blood, 2017, 129 (26): 3476–3485. DOI: 10.1182/blood-2016-07-727669.
- [26] Guérin E, Orabona M, Raquil MA, et al. Circulating immature granulocytes with T-cell killing functions predict sepsis deterioration [J]. Crit Care Med, 2014, 42 (9): 2007–2018. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000344.
- [27] Coffelt SB, Kersten K, Doornebal CW, et al. IL-17-producing $\gamma \delta$ T cells and neutrophils conspire to promote breast cancer metastasis [J]. Nature, 2015, 522 (7556): 345–348. DOI: 10.1038/nature14282.
- [28] Granot Z, Fridlender ZG. Plasticity beyond cancer cells and the "immunosuppressive switch" [J]. Cancer Res, 2015, 75 (21): 4441–4445. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1502.
- [29] Chee DO, Townsend CM Jr, Galbraith MA, et al. Selective reduction of human tumor cell populations by human granulocytes *in vitro* [J]. Cancer Res, 1978, 38 (12): 4534–4539.
- [30] Colombo MP, Lombardi L, Stoppacciaro A, et al. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) gene transduction in murine adenocarcinoma drives neutrophil-mediated tumor inhibition *in vivo*. Neutrophils discriminate between G-CSF-producing and G-CSF-nonproducing tumor cells [J]. J Immunol, 1992, 149 (1): 113–119.
- [31] Kousis PC, Henderson BW, Maier PG, et al. Photodynamic therapy enhancement of antitumor immunity is regulated by neutrophils [J]. Cancer Res, 2007, 67 (21): 10501–10510. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1778.
- [32] Singhal S, Bhojnarwal PS, O'Brien S, et al. Origin and role of a subset of tumor-associated neutrophils with antigen-presenting cell features in early-stage human lung cancer [J]. Cancer Cell, 2016, 30 (1): 120–135. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.06.001.
- [33] Brandau S, Trellakis S, Bruderek K, et al. Myeloid-derived suppressor cells in the peripheral blood of cancer patients contain a subset of immature neutrophils with impaired migratory properties [J]. J Leukoc Biol, 2011, 89 (2): 311–317. DOI: 10.1189/jlb.0310162.
- [34] Granot Z, Henke E, Comen EA, et al. Tumor entrained neutrophils inhibit seeding in the premetastatic lung [J]. Cancer Cell, 2011, 20 (3): 300–314. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.08.012.
- [35] Schmielau J, Finn OJ. Activated granulocytes and granulocyte-derived hydrogen peroxide are the underlying mechanism of suppression of t-cell function in advanced cancer patients [J]. Cancer Res, 2001, 61 (12): 4756–4760.
- [36] and accelerated myelopoiesis limit the efficacy of antibody-mediated depletion of Ly-6G⁺ cells in tumor-bearing mice [J]. J Leukoc Biol, 2016, 99 (6): 811–823. DOI: 10.1189/jlb.1H0715-289R.
- [37] Kobayashi SD, Voyich JM, Whitney AR, et al. Spontaneous neutrophil apoptosis and regulation of cell survival by granulocyte macrophage-colony stimulating factor [J]. J Leukoc Biol, 2005, 78 (6): 1408–1418. DOI: 10.1189/jlb.0605289.
- [38] Cox G, Gauldie J, Jordana M. Bronchial epithelial cell-derived cytokines (G-CSF and GM-CSF) promote the survival of peripheral blood neutrophils *in vitro* [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 1992, 7 (5): 507–513. DOI: 10.1165/ajrcmb/7.5.507.
- [39] Andzinski L, Wu CF, Lienenklaus S, et al. Delayed apoptosis of tumor associated neutrophils in the absence of endogenous IFN- β [J]. Int J Cancer, 2015, 136 (3): 572–583. DOI: 10.1002/ijc.28957.
- [40] Engblom C, Pfirschke C, Zilionis R, et al. Osteoblasts remotely supply lung tumors with cancer-promoting Siglec^{high} neutrophils [J]. Science, 2017, 358 (6367): eaal5081. DOI: 10.1126/science.aal5081.
- [41] Eyrard M, Kwok I, Chong SZ, et al. Developmental analysis of bone marrow neutrophils reveals populations specialized in expansion, trafficking, and effector functions [J]. Immunity, 2018, 48 (2): 364–379. e8. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.02.002.
- [42] Zhu YP, Padgett L, Dinh HQ, et al. Identification of an early unipotent neutrophil progenitor with pro-tumoral activity in mouse and human bone marrow [J]. Cell Rep, 2018, 24 (9): 2329–2341. e8. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.07.097.
- [43] Fridlender ZG, Sun J, Kim S, et al. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF- β : "N1" versus "N2" TAN [J]. Cancer Cell, 2009, 16 (3): 183–194. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.06.017.
- [44] Eruslanov EB, Bhojnarwal PS, Quatromoni JG, et al. Tumor-associated neutrophils stimulate T cell responses in early-stage human lung cancer [J]. J Clin Invest, 2014, 124 (12): 5466–5480. DOI: 10.1172/JCI77053.
- [45] Mishalian I, Bayuh R, Levy L, et al. Tumor-associated neutrophils (TAN) develop pro-tumorigenic properties during tumor progression [J]. Cancer Immunol Immunother, 2013, 62 (11): 1745–1756. DOI: 10.1007/s00262-013-1476-9.
- [46] Knaapen AM, Gungör N, Schins RP, et al. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review [J]. Mutagenesis, 2006, 21 (4): 225–236. DOI: 10.1093/mutage/gei032.
- [47] Tazzyman S, Barry ST, Ashton S, et al. Inhibition of neutrophil infiltration into A549 lung tumors *in vitro* and *in vivo* using a CXCR2-specific antagonist is associated with reduced tumor growth [J]. Int J Cancer, 2011, 129 (4): 847–858. DOI: 10.1002/ijc.25987.
- [48] Vols S, Sionov RV, Granot Z. Always look on the bright side: anti-tumor functions of neutrophils [J]. Curr Pharm Des, 2017, 23 (32): 4862–4892. DOI: 10.2174/1381612823666170704125420.
- [49] Felix K, Gaida MM. Neutrophil-derived proteases in the microenvironment of pancreatic cancer: active players in tumor progression [J]. Int J Biol Sci, 2016, 12 (3): 302–313. DOI: 10.7150/ijbs.14996.
- [50] Nozawa F, Hirota M, Okabe A, et al. Elastase activity enhances the adhesion of neutrophil and cancer cells to vascular endothelial cells [J]. J Surg Res, 2000, 94 (2): 153–158. DOI: 10.1006/jsre.2000.6002.
- [51] Häger M, Cowland JB, Borregaard N. Neutrophil granules in health and disease [J]. J Intern Med, 2010, 268 (1): 25–34. DOI: 10.1111/j.1365-2796.2010.02237.x.
- [52] 周金花, 蒋树龙, 王伟, 等. 肿瘤相关中性粒细胞与肺癌的相关研究进展 [J]. 中国肺癌杂志, 2019, 22 (11): 727–731. DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2019.11.07.
- [53] Zhou JH, Jiang SL, Wang W, et al. Research progress of tumor-associated neutrophils and lung cancer [J]. Chin J Lung Cancer, 2019, 22 (11): 727–731. DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2019.11.07.
- [54] McDonald B, Spicer J, Giannais B, et al. Systemic inflammation increases cancer cell adhesion to hepatic sinusoids by neutrophil mediated mechanisms [J]. Int J Cancer, 2009, 125 (6): 1298–1305. DOI: 10.1002/ijc.24409.
- [55] Alcalay RN, Gu Y, Mejia-Santana H, et al. The association between Mediterranean diet adherence and Parkinson's disease [J]. Mov Disord, 2012, 27 (6): 771–774. DOI: 10.1002/mds.24918.
- [56] Spiegel A, Brooks MW, Houshyar S, et al. Neutrophils suppress intraluminal NK cell-mediated tumor cell clearance and enhance extravasation of disseminated carcinoma cells [J]. Cancer Discov, 2016, 6 (6): 630–649. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-1157.
- [57] 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.