

# 嗜中性細胞胞外誘捕網 與其相關疾病簡介

許惇偉<sup>1</sup> 楊育韶<sup>2</sup> 劉復誠<sup>2</sup> 許素菁<sup>2</sup>

<sup>1</sup>國立高雄師範大學 生物科技系

<sup>2</sup>國家衛生研究院 感染症與疫苗研究所

## 嗜中性細胞與病菌感染簡介

嗜中性細胞在人體先天免疫系統 (innate immune system) 中，是負責細菌、真菌防禦，甚至是阻絕病毒感染與擴散的細胞。在臨床上已知倘若病人體內嗜中性細胞數目偏低，病菌感染不但不易根治，也極容易復發 [1]。因此探討嗜中性細胞在先天免疫病原菌清除、免疫活性的調控，以及在病理學的角色，成為基礎以及臨床研究的重要課題。

嗜中性細胞主要是由骨髓內的顆粒球-單核球前驅細胞 (granulocyte-monocyte progenitor cells) 分化而來，成熟後的嗜中性細胞具有富含顆粒體 (granules) 的細胞質以及多節室型態的細胞核 (multilobulated nucleus) 兩大特徵 [2]，透過趨化激素的作用離

開骨髓進入血液並隨著循環系統遍及全身。生物體內若內皮細胞、常駐免疫細胞、上皮細胞遭受病原菌侵擾，嗜中性細胞會因為化學趨性而趨移至受損細胞/組織部位發揮其免疫效用功能 (effector function) 保護宿主 [3,4]。

嗜中性細胞主要藉由下列三種效用功能來防止微生物感染與侵害：一為吞噬作用 (phagocytosis)，此方式為嗜中性細胞直接將病原吞噬入細胞質內，以限制病原菌活動或消滅病原菌；二為透過脫粒作用 (degranulation)，將其細胞質中飽含細胞毒性酵素的顆粒釋放出來，破壞病原菌的構造與活性而達到免疫目的；三是透過釋放嗜中性細胞胞外誘捕網 (neutrophil extracellular traps, NETs) 限制並清除病原，或是引導巨

噬細胞清除病原達到損害控制的免疫反應[5,6]。

在上述嗜中性細胞的三種免疫控制作用途徑中，以第三個 NETs 功能發現最晚[7]，然而此種因透過病原成分或微環境中的化學因子誘發嗜中性細胞活化進而釋出其細胞核 DNA 至胞外環境去捕捉、中和病原菌的作用方式，雖然不會立即裂解細胞，但是因為其有類似細胞程式性死亡 (programmed cell death, PCD) 的過程，但又不同於常見的細胞凋亡 (apoptosis) 或壞死 (necrosis)，後來就以釋網凋亡 (NETosis) [8] 進行命名。

隨著近年來誘發釋網凋亡反應的重要化學訊號陸續發現，該反應在免疫與感染疾病調控上的重要性也獲得更多的重視。以下將針對此一作用的機制，以及近年來 NETs 與疾病發生的關聯性，乃至於現今在臨床治療上的重要性做簡單的整理。

### 嗜中性細胞胞外誘捕網 (NETosis) 現象與調控機制

早在 1996 年科學家便發現嗜中性細胞受「佛波醇肉荳蔻醯乙酸酯」(phorbol 12-myristate 12-acetate, PMA) 刺激後，細胞外圍會產生某些由核酸與蛋白質組成的絲狀結構，該結構可以纏住某些病原菌，因此被稱為胞外誘捕網 (neutrophils extracellular traps, NETs)。Brinkmann 與其同僚自 2004 年針對這作用進行一系列相關

研究後，將嗜中性細胞這有別細胞凋亡與壞死的過程稱之為「釋網凋亡」(NETosis) [7]。

嗜中性細胞受刺激而產生的 NETs 可用以對抗諸如革蘭氏陽性的金黃葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、革蘭氏陰性的志賀氏菌 (*Shigella flexneri*)、沙門氏菌 (*Salmonella typhimurium*)、嚴重的腦膜炎雙球菌 (*Nisseria meningitidis*) 感染、白色念珠菌 (*Candida albicans*) 造成的真菌感染、原蟲的弓蟲 (*Toxoplasma gondii*) 感染，甚至人類免疫不全症病毒 HIV-1 [9,10]，以及自 2019 年來造成全球性人類大規模傳染的 SARS-CoV-2 病毒感染的細胞也會誘發嗜中性細胞的釋網凋亡 [11]。儘管相關研究顯示生物體適時地誘發嗜中性細胞的釋網凋亡對於體內感染控制有實質上的助益，但也有研究發現伴隨著 NETs 所釋出的細胞毒性蛋白亦會損害宿主的正常細胞，或者活化血小板凝結，同時也發現自體免疫病患的抗體也會受參與 NETs 作用的相關蛋白影響而誘發病症，甚至無菌性發炎反應也與 NETs 的形成有關[9]。這都顯示出釋網凋亡是同時具有保護身體、損害身體的兩面刃，更加瞭解此機制而提供疾病控制的新型可行方針乃是趨吉避凶之道。

### 一、嗜中性細胞釋網凋亡 (NETosis) 現象

釋網凋亡是一種伴隨著嗜中性細胞細胞死亡過程而誘發 DNA 釋放並與數種作用蛋白形成的胞外補網特殊結構之作用機制[8]。一系列的研究觀察到嗜中性細胞在釋網凋亡過程中，首先會停止其肌動蛋白動態與去極化 (dynamics and depolarize) 現象，亦即此時其細胞運動能力會終止[12]，接著其細胞核膜解離 (disassemble)，核內原本由 DNA 與組蛋白疊聚而成染色質也會崩解而釋出至細胞質，這些鬆散的染色質此時會與細胞質中、或是顆粒 (granule) 裡的某些蛋白質結合，等待釋出[8]。

在嗜中性細胞活化釋網凋亡機制的數小時內，上述染色質的混雜體會隨著細胞膜孔洞化 (permeabilize) 而流出細胞外，形成約 30 奈米的網狀物[13]，這種網狀的染色質除了原本與 DNA 結合的組蛋白外，亦富含顆粒體蛋白 [例如嗜中性細胞的彈性蛋白酶 (neutrophil elastase, NE)、骨髓過氧化酶 (myeloperoxidase, MPO)]、細胞質蛋白 [諸如 S100 鈣離子結合蛋白 A8、A9、A12 (S100 calcium-binding protein A8, A9, & A12)]、肌動蛋白或是輔肌動蛋白 (actin & actinin)]。此時的嗜中性細胞雜合著 DNA 以及諸多蛋白與酵素的網狀物，會依其化學特性，藉著與病原體近距離的接觸而去活病原的活動，達到感染控制目的，但此時的嗜中性細胞也隨著細胞裂解而邁向死亡[9]。

上述的嗜中性細胞也有另一種快

速反應而不需要花費時間啟動裂解死亡便能釋出 NETs 的機制，但並非該種反應的大宗現象。有研究發現，嗜中性球接觸金黃葡萄球菌後，有極少數率先接觸該菌的嗜中性細胞會在幾分鐘內裂解細胞核釋出染色質，緊接著伴隨著細胞質的顆粒體蛋白一起釋出而形成 NETs，這些短時間內未裂解但已形成 NETs 的無細胞核嗜中性細胞會移行並透過吞噬作用消滅病原菌[14]。有關嗜中性細胞釋網凋亡的過程，可參考圖一的整理。

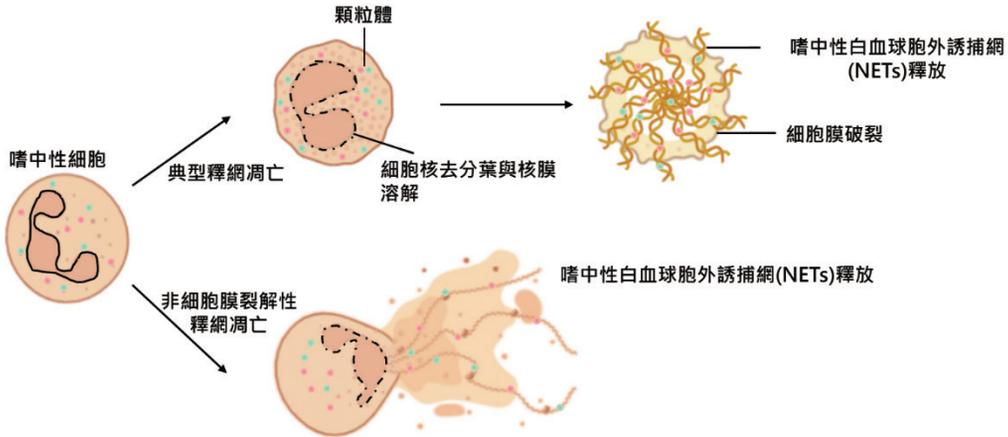
當嗜中性細胞因為病原感染或環境因子刺激而形成 NETs 後，通常可以持續數天的時間，最後由細胞釋出去氧核糖核酸酶 (DNase I) 卸除 NETs，或者由巨噬細胞負責清除，最後終止該程序，此時多數的嗜中性細胞也邁向死亡，但詳細的機制目前尚待釐清[12]。

有鑒於嗜中性細胞的釋網凋亡對於感染控制的重要性，釐清該機制如何被誘發與該作用如何被調節，是疾病控制相當重要的課題。

## 二、NETs 的誘發機制

雖然生物體內最初始誘發嗜中性細胞釋網凋亡啟動的因子至今仍不甚明瞭，但是近年來科學家對於釋網凋亡作用啟動後細胞機制完備的過程已有不少深入的了解。下文將針對釋網凋亡過程中目前已了解的相關作用進行簡單的整理與說明。

釋網凋亡過程主要可以分為幾



圖一 嗜中性白血球胞外誘捕網 (NETs) 形成途徑。第一種細胞死亡途徑稱為典型釋網凋亡 (Classical NETosis)，起始於細胞核去分葉和核膜分解，隨後染色體在細胞質解濃縮，並在細胞膜破裂後釋出胞外，形成嗜中性細胞胞外誘捕網 (NETs)。第二種則為非細胞膜裂解性的釋網凋亡 (Non-lytic NETosis) 模式，可在短時間內形成並釋出胞外誘捕網。嗜中性細胞在釋放含有顆粒體蛋白的染色質後，無細胞核的細胞仍能繼續進行胞飲作用清除纏繞其上的病原菌，亦有研究顯示巨噬細胞會趨近 NETs，協助清除病原菌。

個重要階段，分別是：一、嗜中性細胞表面受體活化；二、嗜中性細胞內鈣離子濃度改變；三、蛋白磷酸酶訊號途徑 (kinase signaling cascades) 傳導；四、活性氧化物產生 (reactive oxygen species, ROS)，以及五、嗜中性細胞型態改變與 NETs 釋出[9]。

研究顯示小鼠嗜中性細胞若缺乏表面受體 TLR2 (toll-like receptor 2) 或 IL-1 (interleukin-1) 時，金黃葡萄球菌的感染無法激發釋網凋亡 [15]，顯見嗜中性細胞表面的特殊受體表現狀態是釋網凋亡啟動的重要關鍵。目前已知諸如腫瘤壞死因子 (tumour necrosis factor, TNF)、整合素 CD18 ( $\beta$ 2-integrin)、脂多醣 LPS

(lipopolysaccharide)、PMA (phorbol 12-myristate 12-acetate)、鈣離子載體 (calcium ionophore)、血小板活化因子、金黃葡萄球菌、漢他病毒、外源氧化劑  $H_2O_2$  等等，都可活化嗜中性細胞驅使其起始釋網凋亡，但共通的詳細機理仍有待進一步釐清[9]。

嗜中性細胞的細胞質內鈣離子濃度的增加是釋網凋亡第二階段的必要條件。嗜中性細胞活化後會驅使細胞內鈣離子儲存釋放，或者增加胞外鈣離子流入，最終提升細胞質內鈣離子濃度。目前已知酵素 PAD4 (peptidyl arginine deiminase 4) 在高鈣離子濃度活化其活性後，可以促進釋網凋亡 [9]，但此過程中究竟還有哪些關鍵

因子需要高濃度鈣離子調節，目前所知仍有限。

釋網凋亡第三要素為蛋白磷酸酶訊號傳導途徑的活化。目前已知 PKC、Raf-MEK-ERK、SYK-PI3K-mTORc2、JAK2 等細胞訊號會調節釋網凋亡[16,17]，而這些細胞訊號途徑也常跟鈣離子濃度、細胞週期、基因表現等等調控機制息息相關，如果能適度釐清不同傳導途徑在釋網凋亡中扮演的角色，將可透過調控嗜中性細胞 NETs 特定活性標的訊息途徑設計出對 NETs 作用更為專一的藥物來達到控制疾病的目標。

細胞藉由產生活性氧化物 (ROS) 去攻擊病原菌，是極為常見的宿主先天性免疫反應，釋網凋亡也是採取此策略[18]。嗜中性細胞生成活性氧化物的主要來源為 NADPH 氧化酶 (NADPH oxidase) 作用以及粒線體的生成產物。研究顯示常用的 ROS 抑制劑會阻斷 PMA 或是白色念珠菌所誘導的釋網凋亡，而相關研究也發現不同病原菌對於 ROS 的來源有不同敏感性，惟 ROS 的多樣性以及參與釋網凋亡作用與病原免疫專一性的關聯性仍有待進一步探討[8,19]。

釋網凋亡最後階段結合了嗜中性細胞構型改變以及 NETs 釋出的過程。此階段的嗜中性細胞會受細胞外基質 (extracellular matrix, ECM) 影響，遷移 (spreading) 至病原菌附近，並接續先前反應，將富含彈性蛋白酶 (NE)、骨髓過氧化酶 (MPO) 的鬆

散染色質釋出胞外，產生胞外誘捕網 (NETs)。前述的 MPO、NE 等酵素在釋網凋亡過程中可受 NADPH 氧化酶活化，釋出的 NETs 含有多種伴隨酵素，具備更強大的抑菌能力，進而有效阻礙病原的侵害與擴散[9]。

### 三、NETs 調控病原菌感染的機制

眾所皆知，釋網凋亡過程末期所釋出的 NETs 會造成與其接觸的病原菌損傷，主要原因在於這些由核 DNA、粒線體 DNA 所組成的網狀多分子聚合物，其上所纏繞的組蛋白、NE、MOP 酵素可以利用物理性或化學特性限制病原菌活動達到去活病原菌的結果。近來研究也發現，組蛋白的轉譯後修飾 (post-translational modification, PTM) 會影響 NETs 的特性，其中除了常見的乙醯化 (acetylation)、甲基化 (methylation)，另一種較少見由 PAD4 介導的瓜胺酸化修飾 (citration)，會透過增加染色質的鬆弛化 (decondensation) 而提升 NETs 的活性，增加捕捉病原菌的機會[20,21]。此外，除了先前所知由顆粒體釋放出來的 NE 與 MPO 可提供 NETs 進行病原菌失活作用之外，研究也發現某些絲胺酸蛋白酶 (serine protease) 會透過 NETs 與病原菌接觸，進而削弱病原菌活力[22]。

雖然釋網凋亡看似對於嗜中性細胞控制微生物感染有極重要的角色，但近年來也陸續發現，在某些結核桿菌 (*Mycobacterium bovis*) 或是克雷伯

氏肺炎菌 (*Klebsiella pneumoniae*) 感染規模擴大，病菌大量聚集形成生物膜時，釋網凋亡便無法有效清除該感染[12,22]。亦有研究發現金黃葡萄球菌株能釋放核酸酶剪切核酸，幫助其擺脫 NETs，該菌甚至進一步釋放腺苷合成酶 (adenosine synthase)，將由 NETs 上剪切下的核酸修飾成誘發細胞凋亡的前驅化學分子去氧腺苷 (deoxyadenosine)，可以造成靠近 NETs 協助清除該菌的巨噬細胞啟動細胞凋亡機制而死亡[23]。

這些發現不但說明瞭解釋網凋亡詳細機制對於疾病感染控制的重要性，也能透過病原所衍生出逃脫 NETs 作用的方式了解後續病原控制的策略以及如何運用至釋網凋亡所造成的正常細胞受損等狀況。

## 與 NETosis 相關的疾病

雖然嗜中性細胞可以透過對釋網凋亡而有效執行先天免疫功能，控制病原菌感染，但因為由細胞釋放結合於 NETs 的許多酵素蛋白並無作用標的專一的嚴格控制性，使得發生釋網凋亡的部位容易引發對體內非病原菌的細胞或組織造成發炎的反應導致病變，是疾病發生與控制的雙面刃。以下將簡略整理幾篇回顧性文章整理的釋網凋亡常見的幾個病理現象 [10,24,25]。

### 一、組織傷口細菌性發炎與無菌性

### 發炎

組織受傷倘若伴隨著病原菌感染，當嗜中性細胞透過釋網凋亡清除病原菌感染時，上皮與內皮細胞也會被其所釋放出來的眾多化學造成連帶性損傷，輕則拖延傷口癒合時間，重則像菌血症造成的全身性影響，最後嚴重影響肝臟細胞而形成肝衰竭。

對於第一型糖尿病患者而言，糖尿病型足潰瘍引起的相關併發症組織內可測得較高量的 NETs，研究指出較高葡萄糖濃度會加速釋網凋亡過程，使糖尿病患者的傷口不易癒合。

即使沒有病原菌感染，細胞激素 (cytokines) 也會造成細胞組織的發炎反應。這一類型的無菌性發炎反應所誘導的釋網凋亡，會引來巨噬細胞，常見的動脈粥狀硬化 (atherosclerosis) 便是此例。也有研究指出諸如阿茲海默症的某些神經退化性疾病可能也會受釋網凋亡影響，但需要更進一步探討。

### 二、心血管疾病

倘若釋網凋亡發生在血管，嚴重的話會損害血管壁細胞而形成血管炎 (Vasculitis)，如果此現象牽涉及紅血球、血小板，極可能造成血栓 (thrombosis)，嚴重影響健康。

### 三、自體免疫疾病

釋網凋亡過程中產生的顆粒體蛋白、染色質上的 DNA 與組蛋白等等，極易刺激自身抗體生成，進而

惡化為自體免疫疾病。目前已知包括系統性紅斑性狼瘡 (systemic lupus erythematosus, SLE)、類風濕性關節炎 (rheumatoid arthritis, RA) 等等，都與釋網凋亡有關。

#### 四、癌症

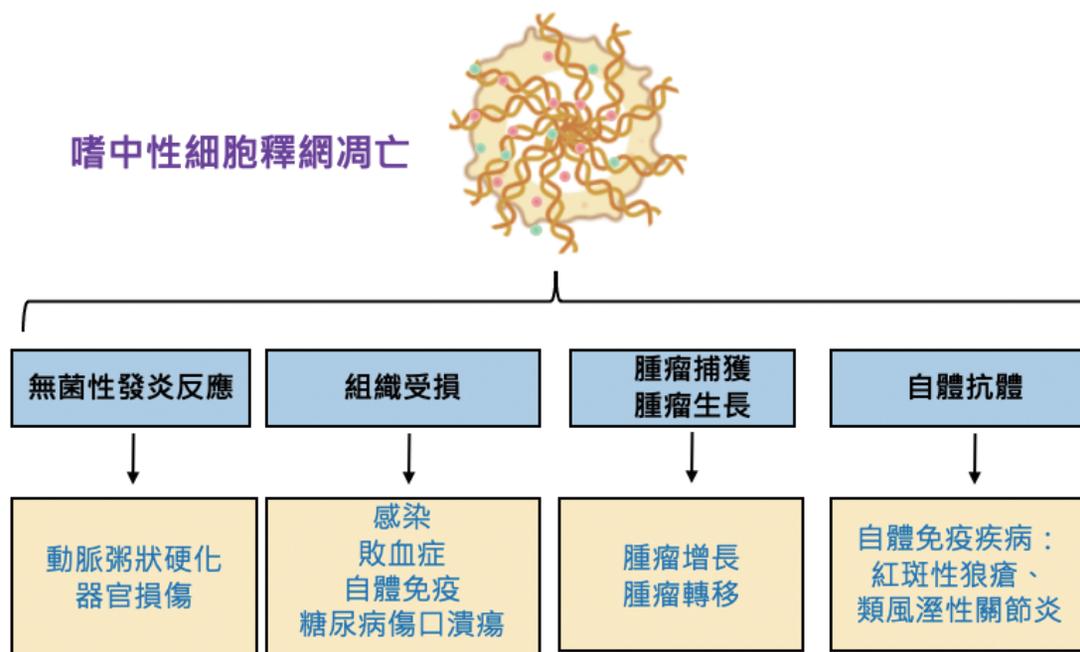
有研究觀察到路易斯氏肺癌 (Lewis lung carcinoma) 與伊文氏肉瘤 (Ewing sarcoma) 其病理組織中有釋網凋亡後死亡的嗜中性細胞存在，顯示 NETs 可能會促進腫瘤細胞增長，其它研究亦發現伴隨著循環系統游移的癌細胞會被嗜中性細胞的 NETs 攔

阻，而成功在特定區域增生進而完成遠端轉移。因此針對腫瘤附近 NETs 的控制也是癌症治療可行的方式之一。

關於常見因嗜中性細胞釋網凋亡而引起的疾病與病理原因，圖二有簡要的整理與說明。

#### NETs 概念在臨床上的應用

由前述介紹可了解，釋網凋亡機制啟動時機與啟動數量的過與不及，可能導致病原菌感染失控或引發如圖二所述的病理症狀。追根究底，掌握



圖二 嗜中性細胞釋網凋亡現象引起的相關病理症狀。嗜中性細胞胞外誘捕網 (NETs) 可透過組織細胞受損引發感染、敗血症、自體免疫和糖尿病。與巨噬細胞交互作用導致組織無菌性發炎反應，也會造成動脈粥狀硬化與器官損傷。癌症患者微血管中發生的胞外誘捕網也可以捕獲腫瘤細胞或通過其它機制，促進腫瘤轉移。自體免疫疾病患者體內生成過多胞外誘捕網或清除誘捕網能力低下，會使胞外誘捕網成為自體抗體的抗原，導致自體免疫疾病的發生。

控制釋網凋亡表現的方式，就具有臨床上的應用性。茲就目前以釋網凋亡機制為標的進行臨床應用的發展可能做個簡略的介紹。

第一種是仰賴 NETs 具有能夠限制病菌遷移在局部進行病原去活的特性，去進行嗜中性細胞的擴增與活化以激發釋網凋亡來對抗病原菌感染之應用。目前已發現諸如腫瘤壞死因子、整合素 CD18、脂多糖、PMA、鈣離子載體、血小板活化因子、外源氧化劑  $H_2O_2$ 、細胞外基質、微環境的酸鹼值等等，可以催動嗜中性細胞釋網凋亡，這些因子如何適當地應用於臨床以啟動適量的嗜中性細胞釋網凋亡而去控制感染疾病，依然是方興未艾的研究課題[25]。

第二種應用則建立在近期有越來越多的證據顯示，生物體或血清中可測得的 NETs 含量可能與疾病的發展階段、嚴重程度，以及預後狀況都有所關聯性，因此可針對 NETs 開發能特定辨識，並進行相關活性定量的檢測，作為疾病判讀與治療的參考指標[25]。在 NETs 的幾個作用分子中，目前以檢測組蛋白 H3 瓜胺酸修飾 (Histone H3 Citrullination, CitH3) 程度的方式，能較為專一的進行檢體收集與 NETs 定量的分析。近期也有研究指出，血漿內 CitH3 存在的含量與特定癌症病患短期存活率具相關性，後續需要更多針對不同刺激因子、與不同程度 NETs、疾病發展階段、相關診斷的聯結性做更多的探討與實際臨

床驗證。

第三種應用則多為在面對由釋網凋亡影響的疾病治療時，藉由能夠有效而專一地對 NETs 活性進行調控的適當藥劑或是方法，去抑制釋網凋亡啟動，或者減阻釋網凋亡的影響來達成疾病的管理目標。目前這些治療標的多著重在因為太高強度的 NETs 所誘發之自體免疫、高度免疫發炎、代謝異常…等疾病，也可用於因為病原感染引發高度免疫風暴與高量 NETs 釋放而產生重症乃至於死亡的治療評估。

針對釋網凋亡啟動的幾個過程，包含了嗜中性細胞表面受體活化、嗜中性細胞內鈣離子濃度改變、蛋白磷酸酶訊號途徑傳導、活性氧化物之生成，以及嗜中性細胞型態改變與 NETs 釋出等作用，每個步驟都有各自的分子機制，篩選並利用藥物抑制這些機制中的作用分子便有可能透過抑制釋網凋亡的進展而進行疾病的治療。利用阻斷細胞激素活化嗜中性細胞表面載體、鈣離子調節抑制劑、專一性的蛋白磷酸酶抑制劑、活性氧化物抑制劑、阻卻特殊細胞膜蛋白孔洞釋出 NETs 的抑制劑等的治療開發，目前都有被用來構思、測試其临床上抑制嗜中性細胞釋網凋亡的效用[25]。

此外，透過尋找抑制 NETs 上組蛋白瓜胺酸修飾作用、顆粒體蛋白 NE 或 MPO 酵素活性，或是添加去氧核糖核酸酶以消卻 NETs，讓釋

網凋亡即使發生也能降低其對生物體的影響，或可合併相關免疫抑制藥物但減低有副作用藥物之藥物劑量，以做為控制或治療 NETs 媒介疾病的可能，亦是臨床應用的開發方向。

## 結 語

直至今日的研究已知除了嗜中性細胞之外，嗜酸性細胞、肥大細胞、嗜鹼性細胞、單核球細胞、乃至於吞噬細胞等免疫細胞也都有能夠進行釋網凋亡作用相關的報導。而除了動物利用釋網凋亡作用進行病原清除與控制外，近年也看到鬆解染色質的過程在單細胞真核生物以及植物中也具有防護病原侵害的效用，這些資訊提供我們重新思考真核生物利用染色質對抗病原菌在演化上的意義與釋網凋亡作用在疾病控制上的重要性。然而，絕大多數與 NETs 相關的研究都是利用細胞進行活體外分析或在老鼠進行試驗而得的結果，釋網凋亡在生物體內的調控機轉以及該作用與疾病發生乃至於疾病治療運用的關聯性仍然所知有限。不論是釋網凋亡的啟動、釋網過程相關參與蛋白的結合與作用、DNA 的修飾與釋放、NETs 結構與病原體的交互作用、NETs 對組織細胞損害的防範、以及針對 NETs 開發的治療策略…等，皆是未來在感染控制與 NETs 調控疾病治療上的新契機，有待我們更多的努力才得已窺得究竟。

## 參考文獻

1. Dale DC, Hammond WP 4th: Cyclic neutropenia: a clinical review. *Blood Rev* 1988;2:178-85.
2. Gorgens A, Radtke S, Mollmann M, et al: Revision of the human hematopoietic tree: granulocyte subtypes derive from distinct hematopoietic lineages. *Cell Rep* 2013;3:1539-52.
3. Mayadas TN, Cullere X, Lowell CA: The multifaceted functions of neutrophils. *Annu Rev Pathol* 2014;9:181-218.
4. de Oliveira S, Rosowski EE, Huttenlocher A: Neutrophil migration in infection and wound repair: going forward in reverse. *Nat Rev Immunol* 2016;16:378-91.
5. Hidalgo A, Chilvers ER, Summers C, et al: The Neutrophil Life Cycle. *Trends Immunol* 2019;40:584-97.
6. Monteith AJ, Miller JM, Maxwell CN, et al: Neutrophil extracellular traps enhance macrophage killing of bacterial pathogens. *Sci Adv* 2021;7.
7. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, et al: Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004;303:1532-5.
8. Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, et al: Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2007;176:231-41.
9. Thiam HR, Wong SL, Wagner DD, et al: Cellular Mechanisms of NETosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2020;36:191-218.
10. Yang H, Biermann MH, Brauner JM, et al: New Insights into Neutrophil Extracellular Traps: Mechanisms of Formation and Role in Inflammation. *Front Immunol* 2016;7:302-10.
11. Veras FP, Pontelli MC, Silva CM, et al: SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *J Exp Med* 2020:217.
12. Branzk N, Lubojemska A, Hardison SE, et al: Neutrophils sense microbe size and selectively release neutrophil extracellular traps in response to large pathogens. *Nat Immunol* 2014;15:1017-25.
13. Pires RH, Felix SB, Delcea M: The architecture of neutrophil extracellular traps investigated by atomic force microscopy. *Nanoscale* 2016;8:14193-202.

14. Yipp BG, Kubes P: NETosis: how vital is it? *Blood* 2013;122:2784-94.
15. Yipp BG, Petri B, Salina D, et al: Infection-induced NETosis is a dynamic process involving neutrophil multitasking in vivo. *Nat Med* 2012;18:1386-93.
16. van der Linden M, Westerlaken GHA, van der Vlist M, et al: Differential Signalling and Kinetics of Neutrophil Extracellular Trap Release Revealed by Quantitative Live Imaging. *Sci Rep* 2017;7:6529-39.
17. Wolach O, Sellar RS, Martinod K, et al: Increased neutrophil extracellular trap formation promotes thrombosis in myeloproliferative neoplasms. *Sci Transl Med* 2018;10:eaan8292.
18. Nguyen GT, Green ER, Meccas J: Neutrophils to the ROScue: Mechanisms of NADPH Oxidase Activation and Bacterial Resistance. *Front Cell Infect Microbiol* 2017;7:373-96.
19. Kenny EF, Herzig A, Kruger R, et al: Diverse stimuli engage different neutrophil extracellular trap pathways. *Elife* 2017;6.
20. Wang Y, Li M, Stadler S, et al: Histone hypercitrullination mediates chromatin decondensation and neutrophil extracellular trap formation. *J Cell Biol* 2009;184:205-13.
21. Hamam HJ, Khan MA, Palaniyar N: Histone Acetylation Promotes Neutrophil Extracellular Trap Formation. *Biomolecules* 2019;9:32-48.
22. Papayannopoulos V, Metzler KD, Hakkim A, et al: Neutrophil elastase and myeloperoxidase regulate the formation of neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol* 2010;191:677-91.
23. Thammavongsa V, Missiakas DM, Schneewind O: Staphylococcus aureus degrades neutrophil extracellular traps to promote immune cell death. *Science* 2013;342:863-6.
24. Ravindran M, Khan MA, Palaniyar N: Neutrophil Extracellular Trap Formation: Physiology, Pathology, and Pharmacology. *Biomolecules* 2019;9:365-79.
25. Vorobjeva NV, Chernyak BV: NETosis: Molecular Mechanisms, Role in Physiology and Pathology. *Biochemistry* 2020;85:1178-90.