

免疫细胞和细胞因子在深静脉血栓形成中的研究进展

杨文娟¹, 夏仲尼¹, 王晓栋², 应茵¹

1. 浙江省立同德医院药理学部, 浙江 杭州 310012; 2. 浙江省立同德医院血管外科

摘要:深静脉血栓(DVT)是指血液在深静脉内不正常的凝结,导致管腔内的血液回流受阻。DVT不仅具有较高的致残率和致死率,血栓形成后综合征的治疗还会给患者带来较高的经济负担。由于缺乏合适的啮齿类动物模型,目前DVT的发病机制仍不清楚。长期以来,DVT被认为是血液凝固障碍,DVT的预防主要涉及凝血系统,包括针对凝血酶(达比加群)、活化FXa(利伐沙班)或依赖维生素K的凝血因子(华法林)。然而,正常止血和病理性血栓形成机制重叠性较大,针对凝血系统的抗凝剂治疗窗窄,易引起出血并发症。近年来,研究表明免疫细胞和细胞因子参与了DVT的启动,并在DVT的形成过程可能起着关键性的作用。这些研究认为DVT为免疫和炎症相关过程,而不仅仅只是凝血因子依赖性的血栓形成过程。其中,与DVT形成密切相关的免疫细胞主要包括肥大细胞、中性粒细胞、单核细胞、血小板等;细胞因子主要包括P-选择素、补体激活因子、细胞粘附分子、白介素等。此外,活性氧、髓样相关蛋白-14等也参与了DVT的形成。局部静脉血流停滞引起缺氧、血管内皮细胞激活、多种免疫细胞在内皮表面发生聚集,最终引起静脉内血栓形成。炎症细胞因子则涉及到上述各个过程中,它与免疫细胞在DVT的形成过程中都起着至关重要的作用。现分别综述各免疫细胞及细胞因子在DVT形成中的研究进展。

关键词:深静脉血栓;免疫细胞;细胞因子

中图分类号: R543.6 R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-4152(2019)11-1898-04

DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.001085

Advance of research on immune cells and cytokines in deep vein thrombosis

YANG Wen-juan, XIA Zhong-ni, WANG Xiao-dong, et al.

Department of Pharmacy, TongDe Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou, Zhejiang 310012, China

Abstract: Deep vein thrombosis (DVT) is an abnormal formation of a blood clot within a deep vein, which causes blood flow back in the lumen to be blocked. DVT not only has high morbidity and mortality, but also has a high economic burden to patients. The pathogenesis is still unclear due to the absence of suitable DVT model. DVT has long been considered as a blood coagulation disorder. DVT prophylaxis focuses predominantly on the coagulation system, including thrombin (Dabigatran), active FXa (Rivaroxaban) or vitamin K-dependent clotting factors (Warfarin). Nevertheless, due to the mechanisms of normal hemostasis and pathological thrombosis are greatly overlapped, the therapeutic window of anti-coagulants may be narrow because of increased risks for bleeding complications. Recently studies demonstrate that immune cells and cytokines are involved in DVT initiation, and may play a vital role in DVT. These studies consider DVT as an immunity- and inflammation-related process rather than merely coagulation-dependent thrombosis. Immune cells related to the formation of DVT include mast cells, neutrophils, monocytes, platelets, etc. The cytokines mainly include P-selectin, complement activator, cell adhesion molecule, interleukin, etc. Additionally, ROS and MRP-14 are all play an important role in DVT. Blood flow stagnation in the vein results in hypoxia, following with endothelial activation and recruitment of various immune cells, which leading to intravenous thrombosis. Inflammatory cytokines are involved in the processes, and they play a crucial role in DVT with immune cells. Now, we review the advance of research on various immune cells and cytokines in DVT, respectively.

Key words: Deep vein thrombosis; Immune cells; Cytokines

深静脉血栓(deep venous thrombosis, DVT)是指血液在深静脉内不正常的凝结导致管腔内的血液回流受阻,以下肢深静脉血栓最为常见。DVT是骨科手术中常见的创伤性和术后并发症^[1]。DVT及其主要并发症肺栓塞(pulmonary embolism, PE)被统称为静脉血栓栓塞(venous thromboembolism, VTE)。VTE是一种常见的血栓性疾病,是西方国家常见的严重疾病。在美国,每年约有90万例患者发生VTE,并有30万例患者死于VTE,是继心肌梗死和中风后的第三大心血管疾

病^[2]。VTE具有较高的致残率和死亡率^[2-3],即使治疗成功后也可能导致血栓后综合征和慢性血栓栓塞性肺动脉高压,导致患者生活质量下降^[4-5]。此外,患者还需要支付额外的医疗护理费用,包括长时间的抗凝治疗,从而增加了患者的经济负担^[6]。近年来,我国DVT的发病率呈现上升的趋势。所以,了解DVT形成过程中关键因子对正确认识DVT的发生发展,指导合理的预防措施与治疗均有重要的意义。

静脉血栓形成的起始涉及复杂的级联事件,其主要分为以下3个连续且相互重叠的阶段:①血流停滞和缺氧;②血管内皮的激活;③血细胞募集导致血液凝固和血栓发展的激活。目前,临床上控制血栓形成主

基金项目:浙江省自然科学基金项目(LQ14H280003);浙江省医药卫生科技计划项目(2013KYB062)

通信作者:应茵, E-mail: kingadams@163.com

要是针对凝血系统,通过靶向凝血酶(达比加群)、激活 FXa(如利伐沙班)或维生素 K 依赖性凝血因子来预防 DVT。然而,由于正常止血和病理性血栓形成的机制相互重叠,治疗中出血并发症的机会相应增加,使得抗凝剂的治疗窗可能变窄。所以,找到能够有效地预防 DVT 且又不至发生出血并发症的方法非常重要。近年来,随着免疫反应和炎症在动脉粥样硬化、血栓性疾病发生中的作用越来越受到重视,免疫及细胞因子与 DVT 之间的关联也备受人们瞩目^[7]。因此,本文主要综述免疫细胞和细胞因子在 DVT 形成过程中的作用,为 DVT 预防和治疗提供相关可能性的作用靶点。

1 免疫细胞在 DVT 形成中的作用

1.1 肥大细胞

肥大细胞作为先天免疫的一部分,它起源于骨髓造血系统,并作为早期谱系祖细胞进入循环,成熟后的肥大细胞会表达一组特定抗原,从而引发过敏性炎症^[8,9]。过敏性炎症是 DVT 和 PE 发生的危险因素之一,而肥大细胞在这一危险因素的形中起着重要的作用。肥大细胞颗粒含有有效的炎症介质如组胺和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、抗血栓因子如肝素和组织纤维蛋白溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator, tPA)以及酶如类胰蛋白酶、食糜酶等^[10]。因此,肥大细胞对血栓形成可能发挥相反的作用:肥大细胞通过释放凝血酶抑制剂或通过局部炎症反应刺激来减少血栓形成。动物实验^[10]表明,与正常小鼠相比,肥大细胞缺失的基因突变型小鼠体内未见血栓的形成,而肥大细胞重建后缺陷小鼠在下腔静脉狭窄情况下有血栓形成。研究还指出,肥大细胞通过激活内皮细胞和以及 Weibel-Palade 小体的释放加剧 DVT 的形成。这些研究表明预防肥大细胞脱颗粒能够有效地防止 DVT。

1.2 白细胞的募集

静脉血流停滞后诱导白细胞的募集:下腔静脉(inferior vena cava, IVC)发生狭窄 1 h 后,白细胞开始滚动并粘附于静脉内皮,5~6 h 后,白细胞覆盖整个内皮表面。在粘附的白细胞中 80% 为中性粒细胞,其他为单核细胞。白细胞被诱导表达组织因子、释放促炎分子和促凝血分子如颗粒酶、细胞因子及损伤相关分子。与对照组相比, DVT 患者循环 NETs 和中性粒细胞活化的标志物水平升高、单核细胞组织因子水平增加^[11]。这些都证明先天免疫细胞的募集是 DVT 发展过程中必不可少的因素。

1.2.1 中性粒细胞

近年来,越来越多的研究表明中性粒细胞在 DVT 发展过程中起着重要的作用^[12]。当募集到静脉壁时,中性粒细胞激活并释放它们的核材料形成中性粒细胞胞外陷阱的网状细胞外结构(NETs),中性粒细胞对血栓形成的加剧作用主要是通过 NETs 发挥作用。中性粒细胞丝氨酸蛋白酶对胞外 NET(NETosis)的形成起着重要作用。在此过程中,中性粒细胞弹性蛋白酶(neutrophil elastase, NE)易位

到细胞核当中并清除组蛋白,从而可以协助染色质解聚。NE 缺失可以减少 NET 的释放。实验表明,下腔静脉结扎 48 h 后,NE^{-/-}小鼠的血栓形成频率与野生鼠相似。这一结果表明靶向 NETs 对治疗 DVT 具有很大的意义^[13]。

1.2.2 单核细胞

骨髓单核细胞在 VTE 形成中起着关键性的作用。下腔静脉部分结扎后的早期阶段,单核细胞被募集、单核细胞相关的组织因子水平升高,随后发生 VTE^[14-15]。研究表明,当溶菌酶 M(LysM)阳性单核细胞组织因子缺乏时小鼠很大程度上就不会形成 DVT。研究指出转录因子 Tbet⁺ 的缺失能够减少单核细胞中白介素-12 的形成,从而能够加速 DVT 中血栓的溶解^[16]。

1.3 血小板

除了上述的白细胞,血小板也参与到 VTE 的形成中。动物模型研究表明,血小板在静脉血栓形成中起关键作用,并突出了抑制血小板在治疗疾病中的重要性。血小板基因多态性与 VTE 的发生有关且可能为内在的风险因子^[17]。此外,有研究表明血小板释放的高迁移率组框 1(HMGB1)在血管损伤后能够增加微血管并发症的发生。HMGB1 是一种在先天性免疫激活后释放的特征性蛋白质,在凝血异常状态下表达增加,在急性、亚急性/慢性动物模型实验中发现,血小板激活以及血小板释放的 HMGB1 在 DVT 形成中起着重要的作用^[3,18]。此外,最近有研究指出趋化因子 CX3CL1 及其同源受体 CX3CR1 组成的 CX3CR1/CX3CL1 轴能够介导血小板-白细胞粘附到动脉血管内皮细胞,从而在预防 DVT 相关的内皮损伤有着重要的作用^[19]。

2 细胞因子在 DVT 形成中的作用

2.1 P-选择素

P-选择素是一分子量为 140 kD 的跨膜糖蛋白,止血和血栓形成的关键分子,能够介导血小板滚动,产生促凝血微粒并增强纤维蛋白沉积。分析表明, DVT 患者血液中可溶性 P 选择素水平升高^[20]。白细胞的聚集依赖于 P-选择素,血流限制后的 IVC 可被 P-选择素和血管性血友病因子(von willebrand factor, vWF)修饰,这 2 种粘附蛋白在白细胞活化后动员至内皮表面。DIAZ J A 等^[21]认为抑制 P-选择素可能是治疗和预防深静脉血栓的重要靶点。实验发现, P-选择素抑制剂显著改善实验动物静脉血管再通(21 d 时达 73%),且效果强于 vWF 抑制剂。活化内皮细胞表达 P-选择素,并与其在白细胞表面表达的生理学配体 P 选择素糖蛋白配体-1(PSGL-1)相互作用,从而介导白细胞的滚动^[22]。PSGL-1 存在于单核细胞、淋巴细胞、内皮细胞,少部分存在于血小板中^[23-26]。突触小泡中的 P-选择素和 PSGL-1 之间的相互作用在静脉血栓的病理过程中起着重要的作用^[27]。研究^[26]发现, VTE 患者 PSGL-1 阳性水平显著升高。此外,PSGL-1⁺

的细胞微泡(MVs)在VTE的发病机理中起着重要的作用,这可能是通过在活化的内皮细胞和血小板表面上提供促凝血MVs靶向的积累有关。

2.2 NLRP3 炎性小体 GUPTA N等^[28]在动物实验中证实,SD大鼠暴露于低氧环境中6h,导致IL-4以及核苷酸结合寡聚化结构域、富含亮氨酸重复序列和含pyrin结构域蛋白(nucleotide binding domain, leucine-rich-containing family, pyrin domain containing 3, NLRP3)表达上调。值得注意的是,研究中还发现缺氧诱导因子1 α (HIF1 α)在调节NLRP3的表达中起着重要的作用。此外,该研究的临床实验部分表明在VTE患者中也检测到NLRP3的表达上调。

2.3 活性氧 活性氧(reactive oxygen species, ROS)是分子氧的活性中间体,是细胞内重要的第二信使。正常情况下,由于抗氧化物质的存在使得机体保持氧化还原平衡状态。但是,在某些特殊条件的刺激下机体产生大量的ROS,以至于抗氧化物质减少导致氧化还原失衡,随后产生氧化应激。研究表明,静脉血液流动受阻后,静脉血管发生缺氧使细胞产生大量的ROS,ROS可以直接激活血管内皮^[29]。白细胞中主要的粘附分子 β 2-整合素能够与内皮细胞表面Ig超家族成员ICAM-1相结合,从而介导白细胞的粘附和跨膜迁移及外渗。临床研究证实,与对照组相比,DVT患者存在明显的氧化应激^[30]。

2.4 补体激活因子 ROS还可以间接地通过补体系统激活内皮细胞使细胞发生氧化应激,并且其在血管壁上的沉积导致炎症。很多研究表明白细胞趋化在血管栓塞发生中起着重要的作用,而这过程中部分是由补体激活因子C3a和C5a所介导的。动物实验^[31]表明,缺乏C3或C5的小鼠实验性静脉血栓形成减少,缺少C5时小鼠不伴有血小板活化或正常止血的任何缺陷。在体外,纤溶酶介导的C5a产生的催化效率大大超过了凝血酶或因子Xa的催化效率,但是与公认的补体C5转化酶相似。纤溶酶活化的C5产生功能性膜攻击复合物(membrane attack complex, MAC),在动脉血栓形成模型中,纤溶酶原激活物增加C5a水平。这就提示了:纤溶酶通过释放C5a并诱导MAC组装来将血栓形成和免疫应答联系起来^[32]。但是,有研究表明,体外抗磷脂抗体(antiphospholipid antibodies, aPLs)能够特异性的诱导PS而不依赖于对单核细胞的补体作用,体内血栓的形成不依赖于C5。因此,直接靶向C5可能对所有抗磷脂综合征患者不一定都产生效果,而靶向组织因子或蛋白质二硫键异构酶(包括其分子伴侣活性)在预防抗磷脂综合征患者血栓形成方面具有潜在治疗益处^[33]。

2.5 细胞间粘附分子-1 白细胞从血液循环到血管外损伤部位的迁移是通过白细胞-内皮细胞之间的级

联事件介导,这个过程涉及白细胞和内皮细胞上存在的一系列细胞粘附分子。最近有研究发现内毒血症状态下细胞间粘附分子-1(intercellular cell adhesion molecule 1, ICAM-1)的上调能够增加深静脉血栓的形成^[34],内毒素血症能够增强野生型小鼠血栓的形成,而在ICAM-1^{-/-}小鼠中并未发现这种作用,LPS处理后ICAM-1^{-/-}小鼠血栓大小没有变化。

2.6 白介素 目前已知的参与DVT过程的白介素主要有IL-1、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10。白细胞介素-17A(IL-17A)是一种多效促炎因子,可调节各种细胞类型(包括上皮细胞,内皮细胞和成纤维细胞)中各种细胞因子和炎性分子的释放。动物实验发现大鼠血清IL-17水平升高与DVT形成呈正相关^[35]。此外,最近的一项实验发现DVT患者血浆中IL-17A高表达,IL-17A通过促进血小板聚集、中性粒细胞浸润以及内皮细胞的激活促进DVT形成^[36]。

2.7 髓样相关蛋白-14 骨髓相关蛋白-14(myeloid-related protein-14, MRP-14)是S100钙调节蛋白家族成员之一,在血小板和中性粒细胞中大量表达。研究^[37]证实中性粒细胞和血小板来源MRP-14可以调节血栓的形成,而MRP-14^{-/-}小鼠DVT形成显著减少。

2.8 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin9型 前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin9型(proprotein convertase subtilisin/kexin type 9, PCSK9)是一种可以靶向LDL受体的酶类。研究^[38]表明PCSK9在动脉粥样硬化等心血管疾病的发生中起着重要的作用,抑制PCSK9后能够促使LDL受体表达上调,LDL清除增加,从而改善动脉粥样硬化。最近,研究发现小鼠下腔静脉缺血48h后,视觉上观察到PCSK9^{-/-}小鼠IVC中血栓明显少于野生型小鼠(25% vs. 60%),PCSK9^{-/-}小鼠IVC中血栓的重量和长度也明显小于野生型小鼠。

3 展望

综上所述,免疫细胞和细胞因子在DVT形成中起着重要的作用。DVT是免疫血栓形成的一种形式,局部炎症在血栓形成的初始阶段起着重要的作用。目前,预防和治疗DVT的方法主要是针对凝血系统,然而这种治疗途径存在出血并发症的风险,所以靶向炎症途径被认为是一种预防和治疗DVT更安全的方法。然而,由于人体免疫机制的复杂性,单核细胞、中性粒细胞、血小板等免疫细胞之间存在交互作用。因此,要找到关键性的靶点还需要进一步的深入研究。

参考文献

- [1] LI G, ZHOU R, ZHAO X, et al. Correlation between the expression of IL18 and deep venous thrombosis[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(2): 883-896.
- [2] ISTH STEERING COMMITTEE FOR WORLD THROMBOSIS DAY, RASKOB G E, ANGCHAIKUSIRI P, et al. Thrombosis: a major contributor to global disease burden[J]. Thromb Res, 2014, 134(5): 931-938.

- [3] 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]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):2068.
- [4] GALANAUD J P, MONREAL M, KAHN S R. Epidemiology of the post-thrombotic syndrome[J]. *Thromb Res*, 2018, 164:100-109.
- [5] HOEPER M M. Chronic thromboembolic pulmonary hypertension after acute pulmonary embolism; to screen or not to screen? [J]. *Eur Respir J*, 2018, 51(4). doi:10.1183/13993003.00440-2018.
- [6] SHAHI A, CHEN A F, TAN T L, et al. The incidence and economic burden of in-hospital venous thromboembolism in the United States [J]. *J Arthroplasty*, 2017, 32(4):1063-1066.
- [7] BADIMON L, VILAHUR G. Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture [J]. *J Intern Med*, 2014, 276(6):618-632.
- [8] MODENA B D, DAZY K, WHITE A A. White. Emerging concepts: mast cell involvement in allergic diseases[J]. *Transl Res*, 2016, 174:98-121.
- [9] KUBO M. Mast cells and basophils in allergic inflammation[J]. *Curr Opin Immunol*, 2018, 54:74-79.
- [10] PONOMARYOV T, PAYNE H, FABRITZ L, et al. Mast cells granular contents are crucial for deep vein thrombosis in mice[J]. *Circ Res*, 2017, 121(8):941-950.
- [11] SWYSTUN L L, LIAW P C. The role of leukocytes in thrombosis[J]. 2016, 128(6):753-762.
- [12] YAGO T, LIU Z, AHAMED J, et al. Cooperative PSGL-1 and CXCR2 signaling in neutrophils promotes deep vein thrombosis in mice[J]. *Blood*, 2018, 132(13):1426-1437.
- [13] MARTINOD K, WITSCH T, FARLEY K, et al. Neutrophil elastase-deficient mice form neutrophil extracellular traps in an experimental model of deep vein thrombosis[J]. *J Thromb Haemost*, 2016, 14(3):551-558.
- [14] WYPASEK E, PADJAS A, SZYMAŃSKA M, et al. Non-classical and intermediate monocytes in patients following venous thromboembolism; Links with inflammation[J]. *Adv Clin Exp Med*, 2019, 28(1):51-58.
- [15] LAURANCE S, BERTIN F R, EBRAHIMIAN T, et al. Gas6 promotes inflammatory [CCR2 (hi) CX3CR1 (lo)] monocyte recruitment in venous thrombosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(7):1315-1322.
- [16] SCHÖNFELDER T, BRANDT M, KOSSMANN S, et al. Lack of T-bet reduces monocytic interleukin-12 formation and accelerates thrombus resolution in deep vein thrombosis[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):3013.
- [17] MONTORO-GARCÍA S, SCHINDEWOLF M, STANFORD S, et al. The role of platelets in venous thromboembolism[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2016, 42(3):242-251.
- [18] VOGEL S, BODENSTEIN R, CHEN Q, et al. Platelet-derived HMGB1 is a critical mediator of thrombosis[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(12):4638-4654.
- [19] FURIO E, GARCÍA-FUSTER M J, REDON J, et al. CX3CR1/CX3CL1 axis mediates platelet-leukocyte adhesion to arterial endothelium in younger patients with a history of idiopathic deep vein thrombosis[J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118(3):562-571.
- [20] ANTONOPOULOS C N, SFYROERAS G S, KAKISIS J D, et al. The role of soluble P selectin in the diagnosis of venous thromboembolism [J]. *Thromb Res*, 2014, 133(1):17-24.
- [21] DIAZ J A, WROBLESKI S K, ALVARADO C M, et al. P-selectin inhibition therapeutically promotes thrombus resolution and prevents vein wall fibrosis better than enoxaparin and an inhibitor to von Willibrand factor[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(4):829-837.
- [22] MCEVER R P. Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signaling at the vascular wall [J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 107(3):331-339.
- [23] ABADIER M, LEY K. P-selectin glycoprotein ligand-1 in T cells[J]. *Curr Opin Hematol*, 2017, 24(3):265-273.
- [24] CONNOR R, JONES L D, QIU X, et al. Frontline Science: c-Myc regulates P-selectin glycoprotein ligand-1 expression in monocytes during HIV-1 infection[J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 102(4):953-964.
- [25] LOU Z, DU K, WANG T, et al. Resveratrol suppresses P-selectin, PSGL-1, and VWF through SIRT1 signaling pathway[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2017, 49(9):848-850.
- [26] JAMALY S, BASAVARAJ M G, STARIKOVA I, et al. Elevated plasma levels of P-selectin glycoprotein ligand-1-positive microvesicles in patients with unprovoked venous thromboembolism [J]. *J Thromb Haemost*, 2018. doi:10.1111/jth.14162.
- [27] SHI D, XU X, XU Z, et al. P-selectin: an unpredicted factor for deep vein thrombosis after total hip arthroplasty [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014:783967.
- [28] GUPTA N, SAHU A, PRABHAKAR A, et al. Activation of NLRP3 inflammasome complex potentiates venous thrombosis in response to hypoxia[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017, 114(18):4763-4768.
- [29] INCALZA M A, DORIA R, NATALICCHIO A, et al. Oxidative stress and reactive oxygen species in endothelial dysfunction associated with cardiovascular and metabolic diseases[J]. *Vascul Pharmacol*, 2018, 100:1-19.
- [30] EKIM M, SEKEROGU M R, BALAHOROGLU R, et al. Roles of the oxidative stress and ADMA in the development of deep venous thrombosis[J]. *Biochem Res Int*, 2014, 2014:703128.
- [31] SUBRAMANIAM S, JURK K, HOBHOM L. Distinct contributions of complement factors to platelet activation and fibrin formation in venous thrombus development[J]. *Blood*, 2017, 129(16):2291-2302.
- [32] FOLEY J H, WALTON B L, ALEMAN M M, et al. Complement activation in arterial and venous thrombosis is mediated by plasmin[J]. *E Bio Medicine*, 2016, 5:175-182.
- [33] MÜLLER-CALLEJA N, RITTER S, HOLLERBACH A, et al. Complement C5 but not C3 is expendable for tissue factor activation by co-factor-independent antiphospholipid antibodies [J]. *Blood Adv*, 2018, 2(9):979-986.
- [34] OBI A T, ANDRASKA E, KANTHI Y, et al. Endotoxaemia-augmented murine venous thrombosis is dependent on TLR-4 and ICAM-1, and potentiated by neutropenia[J]. *Thromb Haemost*, 2017, 117(2):339-348.
- [35] MO J W, ZHANG D F, JI G L, et al. Detection of targets and their mechanisms for early diagnosis of traumatic deep vein thrombosis [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(1):2413-2421.
- [36] DING P, ZHANG S, YU M, et al. IL-17A promotes the formation of deep vein thrombosis in a mouse model [J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 57:132-138.
- [37] WANG Y, GAO H, KESSINGER C W, et al. Myeloid-related protein-14 regulates deep vein thrombosis [J]. *JCI Insight*, 2017, 2(11). doi:10.1172/jci.insight.91356.
- [38] WANG H, WANG Q, WANG J, et al. Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) deficiency is protective against venous thrombosis in mice [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):14360.