

血小板在骨髓增殖性肿瘤血栓形成中的作用机制

冯一鸣, 史家岚

哈尔滨医科大学附属第一医院血液科, 黑龙江 哈尔滨 150000

摘要: 骨髓增殖性肿瘤(MPN)是一种恶性肿瘤与慢性炎症并存的疾病。血栓形成是 MPN 死亡率增加的主要原因,但其复杂的机制目前尚不完全清楚。血小板在血管事件并发症和炎症性血栓中具有特殊且重要地位,但血小板在 MPN 血栓形成中的作用机制似乎是被忽略的。本文以血小板为中心,阐述了血小板自身活化,血小板与白细胞、内皮细胞和微粒的相互作用以及血小板所致的炎症性血栓在 MPN 血栓形成中的作用机制。

关键词: 骨髓增殖性肿瘤; 血栓形成; 血小板; 炎症性血栓; 血小板活化; 抗血小板治疗

中图分类号: R733.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2021)12-1700-06

骨髓增殖性肿瘤(myeloproliferative neoplasm, MPN)是一种造血干细胞恶性克隆与慢性炎症并存的特殊疾病。原发性血小板增多症(essential thrombocythemia, ET)、真性红细胞增多症(polycythemia vera, PV)和原发性骨髓纤维化(primary myelofibrosis, PMF)是 MPN 的主要亚型^[1]。血栓形成是导致 MPN 患者死亡的主要原因,血小板一方面在 MPN 血栓形成和出血倾向等血管事件中发挥主要作用,另一方面也是炎症性血栓形成中的重要细胞,因此研究其在血栓形成中的作用机制是至关重要的。为进一步研究血小板在 MPN 血栓形成中的作用,本文从血小板的角度出发,对血小板在此过程中的自身活化,与血细胞、内皮细胞、微粒的相互作用,介导炎症性血栓形成以及靶向血小板治疗等方面进行综述。

1 血栓形成是 MPN 死亡的主要原因

血栓形成是 MPN 患者发病和死亡的主要原因,其中 PV 中约占 20%~35%,ET 中约占 15%~30%,PMF 中约占 10%~15%^[2-3]。动脉血栓形成占有血管并发症的 60%~70%,包括心血管事件和中风,而静脉血栓形成包括深部静脉血栓形成和肺栓塞,但也可能发生在异常部位,例如内脏静脉循环。事实上,MPN 是导致 Budd-Chiari 综合征和非肝硬化门静脉血栓形成的最常见的潜在疾病^[2,4]。除大血管血栓形成外,短暂的血小板聚集可能会阻塞脑、眼部和外周小血管,并导致微循环障碍,例如血管性头晕、视觉异常和红斑狼疮,这在 ET 中更加常见^[5]。与血栓形成相矛盾的是,出血倾向也是 MPN 的常见并发症,但容易被临床医生忽视。最近的研究显示,在新诊断的 MPN 患者中,伴有出血倾向的占 6.2%^[6]。引起 MPN 患者出血的原因是多方面的,但血小板增加可能与出血风险增加的关系更加密切。

2 MPN 血栓形成的危险因素

MPN 中血栓形成的主要危险因素包括年龄 ≥ 60 岁、既往血栓形成史、心血管疾病危险因素和携带 JAK2 V617F 突变,根据这些因素的存在与否,建立了血栓形成的风险模型,包括低风险、中风险和高风险组,以指导细胞减少疗法和临床治疗管理。在 IPSET 血栓形成模型中,JAK2 V617F 突变和心血管危险因素被认为是两种独立的因素,用来评估 ET 和 PMF 中血栓形成的结果^[7-8]。最近,一项对 1 537 名 JAK2V617F 突变的 MPN 患者的回顾性分析中也表明,年龄 ≥ 60 岁,至少一种心血管危险因素,血栓形成史和 JAK2 V617F 等位基因负担(V617F%) $\geq 50\%$ 是 MPN 血栓形成的危险因素^[9]。此外,携带 JAK2 V617F 突变的 ET 患者体内的血小板在血小板活化和黏附试验中的反应性明显高于 CALR 突变的携带者^[10],这提示 JAK2 V617F 突变比 CALR 突变出现血栓形成并发症的风险更高。

3 MPN 血栓形成的病理生理机制

MPN 中血栓形成的病理生理机制是复杂和多因素的,其中血细胞的定量增加和定性异常、各种细胞源性微粒以及肿瘤细胞释放的炎症因子和介质刺激内皮细胞所形成的血栓前表型是主要原因。红细胞数量的增加引起的高黏度和 JAK2 V617F 突变介导的红细胞黏附性增加在 MPN 的血栓形成中发挥作用^[11]。并且,红细胞通过增强血管损伤部位血小板聚集来促进动脉血栓形成和生长速率^[12]。白细胞增多是 MPN 血栓形成的一种独立危险因素,中性粒细胞和单核细胞是主要效应细胞。除了数量的增加,活化的血小板有助于中性粒细胞和单核细胞的招募和刺激,促进二者血栓前表型的形成。此外,活化的中性粒细胞可以释放细胞内蛋白酶和嗜中性粒

细胞外陷阱(neutrophil extracellular traps, NETs)^[13]。循环中的细胞内蛋白酶可以刺激并损伤血细胞和内皮细胞,介导血栓前表型的形成。而NETs不仅是重要的直接促凝剂,也是介导炎症性血栓的重要中介物质^[14-15]。最后一个因素是内皮细胞损伤,功能障碍的内皮细胞是血栓形成的重要基础机制,提供高黏附性和促炎表面,有利于血细胞的黏附和聚集。

MPN是一种血液学恶性肿瘤与慢性炎症密切相关的特殊疾病。MPN中的肿瘤微环境可以诱导全身性炎症反应,肿瘤克隆是炎症反应的主要驱动力,表现为大量炎症因子和介质的释放,并且形成自我维持的炎症环^[16]。炎症和止血是紧密联系的过程,先天免疫系统与凝血之间的联系是机体对病原体侵犯宿主的一种防御策略,由此形成了“炎症性血栓”的概念^[17]。炎症因子和介质有利于循环中血细胞的激活,诱导其微粒的产生和引起血管内皮细胞的损伤,促进血栓形成。血小板为了应对血源性病原体和随之而来的组织损伤,也参与了炎症协调凝血反应的这一过程,然而这种机制的失调可能导致不良血管事件的发生。

4 血小板在MPN血栓形成中的作用机制

4.1 血小板自身活化 血小板数量增加和自身激活都可能参与到MPN血栓形成中。然而,关于血小板增多在血栓形成风险中的作用存在很大的争议,因为目前尚未发现MPN中血小板增多程度与血栓形成存在显著相关性^[18]。事实上,伴有严重血小板增多的ET患者往往会表现出出血倾向而不是血栓并发症^[19]。尽管存在争议,但临床中应用细胞减少疗法减少血小板数量对于预防血栓形成和出血并发症仍是有用的^[20],目前细胞减少疗法的目标是使血小板计数小于 $400 \times 10^9/L$ 。同时,有证据支持血小板活化可以增加促凝作用。在ET中通过检测血小板活化标记物,如可溶性P-选择素、可溶性CD40配体(sCD40L)、循环中血小板-白细胞聚集体百分数,与没有血栓形成的患者相比,有血栓形成的ET患者循环中这些标志物水平明显更高^[21]。此外,有研究通过测定mRNA和蛋白质水平来评估血小板活性,与对照组相比,PMF中的循环血小板表达出更高的mRNA和蛋白质水平,并且其水平的升高与血栓形成风险密切相关^[22]。

MPN中导致血小板活化的机制,主要与MPN的炎症环境、JAK2 V617F信号通路过度激活、造血干细胞功能紊乱所致的血小板自身功能异常以及血小板与活化的血细胞、内皮细胞相互作用有关。此外,MPN患者体内血小板过度自发激活和储备不足可能导致的体内未成熟的小血小板增多。未成熟的小血小板具有比成熟血小板更高的小血小板反应性和止血活性,进而增加了MPN血栓形成的风险^[23]。值得注意的是,巨核细胞转录组的变化可能在炎症环境条件下与血小板活性和表型的改变相关,因为血小板中的大多数转录来自它们的亲代细胞-巨核细胞,且血小板缺乏细胞核^[24],所以在应对MPN这类恶性肿瘤疾病时,巨核细胞转录基因组和蛋白质组的改变可能导致血小板转录组和蛋白质表达发生动态变化,影响血小板活性与调节功能。

MPN中出现的出血倾向问题也值得关注,前文提到的血小板活化和功能障碍的共存可能是导致血栓形成和出血倾向矛盾发生的原因。此外,当患者出现严重的出血和血小板增多时,应考虑伴发获得性血管性血友病的可能^[25]。获得性血管性血友病是一种出血性疾病,其机制尚不完全清楚,可能是过度激活的血小板对血管性血友病因子(von Willebrand Factor, vWF)高分子量多聚物的大量吸附,导致vWF的过度消耗,最后引发出血事件。目前认为携带JAK2 V617F突变的MPN患者可能较未携带者更易患有获得性血管性血友病而发生出血事件,但其机制尚不明确,需要进一步研究。

4.2 血小板与白细胞 血小板与白细胞的相互作用是MPN血栓形成的关键。目前,白细胞增多被认为是PV和ET患者血栓形成的危险因素^[26]。除数量增加外,PV和ET患者循环中血小板-中性粒细胞和血小板-单核细胞聚集体水平也明显增加^[27]。这些研究提示MPN的肿瘤微环境和炎症环境可能触发了血小板与白细胞的相互激活,介导血栓前表型的形成。作为白细胞的主要分类,中性粒细胞在MPN血栓形成中发挥主要作用。血小板与中性粒细胞通过P-选择素/PSGL-1和GPIIb α /Mac-1两种通路相互作用,并且血小板通过释放CC类趋化因子配体(C-C motif ligand, CCL)5和血小板第四因子(PF4)激活中性粒细胞,而中性粒细胞则通过释放弹性蛋白酶和组织蛋白酶G活化血小板^[28]。曾有研究指出,在此过程中中性粒细胞可能会吞噬活化的血小板,将血小板内化^[29],但其对血小板的血栓形成特性并没有明显影响。此外,MPN中激活的中性粒细胞表现出功能性反应增强,释放大量的细胞内蛋白酶和活性氧等中介物质,这些物质可以激活血小板、破坏内皮细胞并使凝血抑制剂失活,激活凝血级联。更为重要的是,血小板与中性粒细胞的相互作用可以增强释放NETs的能力^[15],并且JAK2 V617F突变和恶性克隆驱动的炎症微环境可以维持NETs的持续释放^[30]。NETs是一种重要的促凝剂,除了对血小板活化具有重要作用,其不可控释放是MPN血栓形成的重要因素,NETs通过替代血栓支架、激活凝血级联、破坏内皮细胞并介导血细胞活化聚集等途径促进血栓的形成^[31]。

MPN中血小板与单核细胞之间的相互作用也不容忽视。在慢性炎症过程中,血小板和中性粒细胞相互作用后可以导致RANTES和HNP1等产物的分泌,这些蛋白形成的异二聚体也可以在心肌梗死模型中介导单核细胞与巨噬细胞的黏附和募集^[32]。在急性心肌梗死的老年患者中,循环血小板-单核细胞聚集体水平明显升高,并且与血管血栓栓塞有关^[33],这也提示血小板-单核细胞聚集体可能也是一种敏感的评估血小板活化和预测血栓风险的指标。此外,MPN中活化的单核细胞表面组织因子(tissue factor, TF)表达增强^[34],而TF是凝血酶生成和纤维蛋白沉积凝块形成的主要启动因子。近期的研究表明,PMF中活化的血小板可以与单核细胞相互作用,上调单核细胞促炎基因表达的信号,从而刺激细胞因子分泌增加^[35],形成持续的炎症环并介导炎症性血栓。

4.3 血小板与内皮细胞 活化血小板与内皮细胞之间的相互

作用在血栓前状态中起着重要作用。两项 ET 患者的研究为 MPN 中内皮细胞的激活提供了证据,这体现在 ET 患者组中血管性血友病因子抗原(vWF:Ag)、可溶性凝血调节蛋白(sTM)、sCD40L 和 P-选择素等标志物水平显著升高^[21]。其中,升高的 sCD40L 是内皮细胞与血小板相互作用的结果。内皮细胞释放的 vWF 可以结合并激活血小板,导致血小板表面 CD40L 的表面移位,并与内皮细胞 CD40 结合,而膜 CD40L 的裂解产生 sCD40L^[21]。另一个研究也表明,ET 患者中内皮细胞标志物循环内皮细胞和可溶性 E-选择素水平较对照组明显升高^[36]。反过来,活化血小板还可以通过增加 CD154/CD40 表面表达或分泌 IL-1 β 等细胞因子来触发内皮细胞多种促炎和促凝反应^[37-38]。其中,IL-1 β 可以激活内皮细胞并增加血小板与胶原和纤维蛋白原的结合潜力,导致更多的白细胞黏附和聚集到内皮细胞表面^[38],促进血栓形成。

值得注意的是,JAK2 V617F 突变作为 MPN 最常见遗传改变,通常在造血祖细胞和干细胞中发现,这种突变在 MPN 并发门静脉血栓患者的内皮细胞中也存在^[4, 39]。这是因为这两种细胞群有一个共同的前体-中胚层多能干细胞,它可以分化为造血和血管内皮细胞谱系^[40]。因此,两种细胞来源的内皮细胞都可能携带 JAK2 V617F 驱动突变。在小鼠模型的体内实验中,携带 JAK2 V617F 突变的内皮细胞更易形成血栓前表型,并且促进 P-选择素的暴露和 Weibel-Palade 体的脱颗粒^[41],促进血小板聚集和黏附。

4.4 血小板源性微粒 MPN 患者中血细胞和内皮细胞起源的循环微粒数量很多,但血小板源性所占比例更大,为血小板源性微粒(microparticles,MPs)中最丰富的亚型。最新的研究表明,MPN 患者血小板源性 MPs 的绝对和相对计数与促凝标志物水平显著高于对照组,并且 JAK2 V617F 突变的存在与较高的血小板源性 MPs 的绝对和相对计数相关^[42],这提示血小板源性 MPs 与 MPN 中的高凝状态存在一定的相关性。血小板源性 MPs 通过两个方面介导血栓形成:一种是血小板源性 MPs 中包含介导免疫凝血相关蛋白质和各种形式的 RNA,其中蛋白质包括黏附分子和细胞因子(如 P-选择素,IL-1 β)^[43-44],二者都是促进血栓形成的重要介质。另一种是通过血小板源性 MPs 表面的磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine,PS)暴露和组织因子表达实现。MPs 从血小板中释放,导致膜表面阴离子 PS 外化,外化的 PS 有利于凝血因子和凝血酶原复合物的组装和活化,促进凝血^[45]。这在 ET 中得到证明,结果显示 ET 患者血细胞和内皮细胞 MPs 表面的 PS 暴露有助于 ET 患者高凝状态的形成^[46]。此外,TF 是凝血级联反应的关键活化剂,它的细胞外结构域结合并激活 FVII,触发血管损伤后止血,其异常激活会放大止血过程^[47]。有趣的是,血小板对自身的 MPs 具有内化能力,该过程也可以增强其血栓的形成能力^[48]。

5 血小板在炎症性血栓形成中的作用

除了众所周知的止血功能,越来越多的证据强调了血小板也是免疫炎症反应的重要参与者之一。在感染性或炎症性

疾病中,血小板作为调节炎症反应的前哨细胞和效应细胞,连接炎症和凝血,增强宿主对入侵病原体 and 肿瘤细胞的防御功能。这主要是由于 Toll 样受体(TLR)的表达所致,该受体识别炎症信号,触发血小板功能反应^[49]。MPN 肿瘤微环境对 TLR 的过度刺激可能会促进血小板活化,增强血小板与白细胞、内皮相互作用以及微粒和炎性介质的分泌,加剧炎症性血栓的形成。

在 MPN 中,活化的血小板可以作为一种免疫细胞,释放储存在 α -颗粒中的促炎趋化因子,如 CCL5 和 PF4/CXCL4,并可能通过激动剂触发的 RNA 剪接调节细胞因子的合成,这在 IL-1 β 的形成中被证明,IL-1 β 可以增强血小板止血功能,从而在疾病中促进血栓形成^[38]。最近,CXCL4 表达的增加被认为与 MPN 中炎症和骨髓纤维化的恶化有关^[50],但血小板作为免疫细胞在 MPN 疾病发展中的作用仍需要进一步研究。不仅如此,MPN 患者存在继发恶性肿瘤的风险,包括血液系统肿瘤与实体瘤^[51],血小板可以通过释放生长因子、细胞因子和血管生成调节因子等促进 MPN 中肿瘤的生长、侵袭和转移。另一方面,血小板可以通过与淋巴细胞、树突状细胞和 NK 细胞等免疫细胞的相互作用以及促炎性介质的释放,在适应性免疫中发挥作用并诱导炎症性血栓的发生。在炎症或感染部位的受伤动脉血管处,血小板可以募集循环中的淋巴细胞,参与并加剧动脉粥样硬化的形成^[52]。血小板可以通过 CD40/CD154 和 P-选择素/P-选择素糖蛋白配体-1(PSGL-1)轴与树突状细胞相互作用,参与免疫调节^[53]。对于 NK 细胞,血小板可以通过释放转化生长因子- β 介导 NK G2D 配体下调,使 NK 细胞失去其细胞毒性和产生干扰素 IFN- γ 的能力,这可能会促进肿瘤细胞的转移^[54-55]。但目前,血小板与免疫细胞的相互作用在 MPN 炎症性血栓形成中的研究仍然较少。

6 血小板活化的临床意义

有研究指出,JAK2 阳性较 CALR 阳性 ET 患者中观察到更高的血栓形成频率,同时 JAK2 阳性患者显示出更高水平的血小板活化标志物和循环微粒^[56],这提示在这一亚群中,血小板和其微粒水平的升高可能是促血栓形成的重要因素。目前也有证据表明可溶性 P-选择素和可溶性 CD40L 与既往血栓病史相关^[57-58],但血小板活化标志物和循环微粒评估和预测 MPN 中血栓形成风险的价值仍不确定。前文提到,MPN 患者出现继发性第二次恶性肿瘤的风险很高,而且血小板可以通过释放炎症介质促进肿瘤的生长、侵袭和转移^[51],因此,血小板水平的升高可能促进 MPN 中第二次恶性肿瘤的发生和疾病的恶化。另外在适应性免疫中,血小板通过与淋巴细胞、树突状细胞和 NK 细胞的相互作用进行调节^[59]。NK 细胞由于其具有调节免疫反应中细胞因子的能力,因此可以阻止肿瘤的进展和转移。血小板凝集能力的增强促进了肿瘤细胞的逃逸和转移,并且可以支持免疫抑制性肿瘤微环境或者直接保护肿瘤细胞免于细胞毒性淋巴细胞-NK 细胞的破坏^[54],因此血小板增多可能会促进肿瘤细胞的转移。综上,血小板计数的升高也可能对肿瘤免疫监测调节和肿瘤转移恶化提供一

定的参考价值。

7 靶向血小板治疗

目前,细胞减少疗法在MPN预防和治疗血栓形成中取得一定进展,但其对血小板活化的影响仍存在争议。因为曾有研究表明,在接受和不接受细胞减少疗法的患者之间,血小板的活化状态没有显示出明显差异^[60]。此外,JAK2依赖的信号通路激活作为MPN血栓形成的重要风险因素,JAK1/2抑制剂鲁索替尼的使用降低了血栓形成风险,但在使用该药物患者的循环中未发现血小板活化标志物降低^[61]。因此,细胞减少疗法和鲁索替尼的使用在抑制血小板活化的作用中仍需要进一步探索和研究。值得注意的是,低剂量阿司匹林在MPN血栓并发症中的疗效似乎突出了靶向血小板活化的有效性。2019年的指南推荐阿司匹林用于无抗血小板治疗禁忌证的PV、高危ET和低风险JAK2突变ET患者的一级预防^[62]。阿司匹林也被证明可以减少首次动脉或静脉事件后的血栓复发^[63]。然而,在联合使用抗凝或抗血小板治疗后,仍达不到期望的效果。因此,寻找新的有效抑制血小板活化的药物是必要的。目前,前列腺素进入人们的视野,最新的研究发现在肺动脉高压的患者中接受前列腺素类似物治疗的患者较未接受者的血小板反应性降低、MPs释放减少以及血栓形成受损程度更严重^[64]。但前列腺素在MPN血栓形成的治疗应用中还未见报道。因此,应该朝着寻找新的靶向血小板活化药物、降低抗血小板药物耐药性以及改善联合用药的副作用等方向努力,减少MPN血小板相关血管事件的发生。

8 结 语

血栓形成仍然是MPN患者的主要并发症,尽管进行了充分的细胞减少疗法和抗血栓治疗,但复发的风险仍较高。尽管本文论述了血小板在MPN血栓形成中的重要作用机制,但血小板相关参数指标在MPN血栓形成的风险预测中仍需要更多的前瞻性临床相关研究。希望在MPN中应用靶向血小板的相关治疗,未来为临床医生合理有效的应用细胞减少疗法、抗凝治疗以及血栓预防提供新的方向和策略,以期改善患者预后,降低死亡率。

参考文献

- [1] Rumi E, Cazzola M. Diagnosis, risk stratification, and response evaluation in classical myeloproliferative neoplasms [J]. *Blood*, 2017, 129(6):680-692.
- [2] Barbui T, Finazzi G, Falanga A. Myeloproliferative neoplasms and thrombosis [J]. *Blood*, 2013, 122(13):2176-2184.
- [3] Alshemmari SH, Rajan R, Ameen R, et al. Analysis of common driver mutations in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2021, 21(7):483-488.
- [4] Fan J, Wang Q, Luo B, et al. Prevalence of prothrombotic factors in patients with Budd-Chiari syndrome or non-cirrhotic nonmalignant portal vein thrombosis: a hospital-based observational study [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2020, 35(7):1215-1222.
- [5] Michiels JJ, Berneman Z, Van Bockstaele D, et al. Clinical and laboratory features, pathobiology of platelet-mediated thrombosis and bleeding complications, and the molecular etiology of essential thrombocythemia and polycythemia vera: therapeutic implications [J]. *Semin Thromb Hemost*, 2006, 32(3):174-207.
- [6] Rungjirajitranon T, Owattanapanich W, Ungprasert P, et al. A systematic review and meta-analysis of the prevalence of thrombosis and bleeding at diagnosis of Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):184.
- [7] Barbui T, Finazzi G, Carobbio A, et al. Development and validation of an International Prognostic Score of thrombosis in World Health Organization-essential thrombocythemia (IPSET-thrombosis) [J]. *Blood*, 2012, 120(26):5128-5133.
- [8] Guglielmelli P, Carobbio A, Rumi E, et al. Validation of the IPSET score for thrombosis in patients with prefibrotic myelofibrosis [J]. *Blood Cancer J*, 2020, 10(2):21.
- [9] Zhang YH, Zhou Y, Wang YS, et al. Thrombosis among 1537 patients with JAK2 V617F-mutated myeloproliferative neoplasms: Risk factors and development of a predictive model [J]. *Cancer Med*, 2020, 9(6):2096-2105.
- [10] Hauschner H, Bokstad Horev M, Misgav M, et al. Platelets from Calreticulin mutated essential thrombocythemia patients are less reactive than JAK2 V617F mutated platelets [J]. *Am J Hematol*, 2020, 95(4):379-386.
- [11] Wautier MP, El Nemer W, Gane P, et al. Increased adhesion to endothelial cells of erythrocytes from patients with polycythemia vera is mediated by laminin alpha5 chain and Lu/BCAM [J]. *Blood*, 2007, 110(3):894-901.
- [12] Walton BL, Lehmann M, Skorczewski T, et al. Elevated hematocrit enhances platelet accumulation following vascular injury [J]. *Blood*, 2017, 129(18):2537-2546.
- [13] Reeves BN, Beckman JD. Novel pathophysiological mechanisms of thrombosis in myeloproliferative neoplasms [J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2021, 16(3):304-313.
- [14] Emmi G, Becatti M, Bettioli A, et al. Behçet's syndrome as a model of thrombo-inflammation: the role of neutrophils [J]. *Front Immunol*, 2019, 10:1085.
- [15] Noubouossie DF, Reeves BN, Strahl BD, et al. Neutrophils: back in the thrombosis spotlight [J]. *Blood*, 2019, 133(20):2186-2197.
- [16] Ramanathan G, Fleischman AG. The microenvironment in myeloproliferative neoplasms [J]. *Hematol Oncol Clin North Am*, 2021, 35(2):205-216.
- [17] Nicolai L, Massberg S. Platelets as key players in inflammation and infection [J]. *Curr Opin Hematol*, 2020, 27(1):34-40.
- [18] Warny M, Helby J, Birgens HS, et al. Arterial and venous thrombosis by high platelet count and high hematocrit: 108 521 individuals from the Copenhagen General Population Study [J]. *J Thromb Haemost*, 2019, 17(11):1898-1911.
- [19] Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, et al. Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia [J]. *Blood*, 2008, 112(8):3135-3137.
- [20] Mela Osorio MJ, Ferrari L, Goette NP, et al. Long-term follow-up of

- essential thrombocythemia patients treated with anagrelide: subgroup analysis according to JAK2/CALR/MPL mutational status [J]. *Eur J Haematol*, 2016, 96(4): 435–442.
- [21] Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A, Reverter JC, et al. Platelet turnover, coagulation factors, and soluble markers of platelet and endothelial activation in essential thrombocythemia; relationship with thrombosis occurrence and JAK2 V617F allele burden [J]. *Am J Hematol*, 2009, 84(2): 102–108.
- [22] Masselli E, Carubbi C, Pozzi G, et al. Platelet expression of PKCepsilon oncoprotein in myelofibrosis is associated with disease severity and thrombotic risk [J]. *Ann Transl Med*, 2017, 5(13): 273.
- [23] Strati P, Bose P, Lyle L, et al. Novel hematological parameters for the evaluation of patients with myeloproliferative neoplasms: the immature platelet and reticulocyte fractions [J]. *Ann Hematol*, 2017, 96(5): 733–738.
- [24] Davison-Castillo P, Rowley JW, Rondina MT. Megakaryocyte and platelet transcriptomics for discoveries in human health and disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2020, 40(6): 1432–1440.
- [25] Lancellotti S, Dragani A, Ranalli P, et al. Qualitative and quantitative modifications of von Willebrand factor in patients with essential thrombocythemia and controlled platelet count [J]. *J Thromb Haemost*, 2015, 13(7): 1226–1237.
- [26] Carobbio A, Ferrari A, Masciulli A, et al. Leukocytosis and thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: a systematic review and meta-analysis [J]. *Blood Adv*, 2019, 3(11): 1729–1737.
- [27] Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, et al. Leukocyte-platelet interaction in patients with essential thrombocythemia and polycythemia vera [J]. *Exp Hematol*, 2005, 33(5): 523–530.
- [28] Ferrer-Marín F, Cuenca-Zamora EJ, Guijarro-Carrillo PJ, et al. Emerging role of neutrophils in the thrombosis of chronic myeloproliferative neoplasms [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(3): 1143.
- [29] Koupenova M, Vitseva O, MacKay CR, et al. Platelet-TLR7 mediates host survival and platelet count during viral infection in the absence of platelet-dependent thrombosis [J]. *Blood*, 2014, 124(5): 791–802.
- [30] Marin Oyarzún CP, Carestia A, Lev PR, et al. Neutrophil extracellular trap formation and circulating nucleosomes in patients with chronic myeloproliferative neoplasms [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38738.
- [31] Pfeiler S, Stark K, Massberg S, et al. Propagation of thrombosis by neutrophils and extracellular nucleosome networks [J]. *Haematologica*, 2017, 102(2): 206–213.
- [32] Alard JE, Ortega-Gomez A, Wichapong K, et al. Recruitment of classical monocytes can be inhibited by disturbing heteromers of neutrophil HNP1 and platelet CCL5 [J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(317): 317ra196.
- [33] Shih L, Kaplan D, Kraiss LW, et al. Platelet-monocyte aggregates and C-reactive protein are associated with VTE in older surgical patients [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 27478.
- [34] Ball S, Thein KZ, Maiti A, et al. Thrombosis in Philadelphia negative classical myeloproliferative neoplasms: a narrative review on epidemiology, risk assessment, and pathophysiologic mechanisms [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2018, 45(4): 516–528.
- [35] Fisher DAC, Miner CA, Engle EK, et al. Cytokine production in myelofibrosis exhibits differential responsiveness to JAK-STAT, MAP kinase, and NFκB signaling [J]. *Leukemia*, 2019, 33(8): 1978–1995.
- [36] Belotti A, Elli E, Speranza T, et al. Circulating endothelial cells and endothelial activation in essential thrombocythemia; results from CD146+ immunomagnetic enrichment—flow cytometry and soluble E-selectin detection [J]. *Am J Hematol*, 2012, 87(3): 319–320.
- [37] Delmas Y, Viallard JF, Villeneuve J, et al. Platelet-associated CD154: a new interface in haemostasis and in the inflammatory reaction [J]. *Med Sci (Paris)*, 2005, 21(10): 825–831.
- [38] Beaulieu LM, Lin E, Mick E, et al. Interleukin 1 receptor 1 and interleukin 1β regulate megakaryocyte maturation, platelet activation, and transcript profile during inflammation in mice and humans [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(3): 552–564.
- [39] Guadall A, Lesteven E, Letort G, et al. Endothelial cells harbouring the JAK2 V617F mutation display pro-adherent and pro-thrombotic features [J]. *Thromb Haemost*, 2018, 118(9): 1586–1599.
- [40] Kobayashi I, Kobayashi-Sun J, Hirakawa Y, et al. Dual role of Jam3b in early hematopoietic and vascular development [J]. *bioRxiv*, 2019, DOI: 10.1101/656108.
- [41] Guy A, Gourdou-Latyszenok V, Le Lay N, et al. Vascular endothelial cell expression of JAK2^{V617F} is sufficient to promote a pro-thrombotic state due to increased P-selectin expression [J]. *Haematologica*, 2019, 104(1): 70–81.
- [42] Aswad MH, Kisoová J, Říhová L, et al. High level of circulating microparticles in patients with BCR/ABL negative myeloproliferative neoplasm—a pilot study [J]. *Klin Onkol*, 2019, 32(2): 109–116.
- [43] Hottz ED, Lopes JF, Freitas C, et al. Platelets mediate increased endothelium permeability in dengue through NLRP3-inflammasome activation [J]. *Blood*, 2013, 122(20): 3405–3414.
- [44] Laffont B, Corduan A, Rousseau M, et al. Platelet microparticles reprogram macrophage gene expression and function [J]. *Thromb Haemost*, 2016, 115(2): 311–323.
- [45] Puhm F, Boilard E, Machlus KR. Platelet extracellular vesicles: beyond the blood [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(1): 87–96.
- [46] Tong D, Yu M, Guo L, et al. Phosphatidylserine-exposing blood and endothelial cells contribute to the hypercoagulable state in essential thrombocythemia patients [J]. *Ann Hematol*, 2018, 97(4): 605–616.
- [47] Gasa N, Meiring M. Microparticles: a link to increased thrombin generation [J]. *Blood Coagulation Fibrinolysis*, 2021, 32(3): 204–208.
- [48] Jerez-Dolz D, Torramade-Moix S, Palomo M, et al. Internalization of microparticles by platelets is partially mediated by toll-like receptor 4 and enhances platelet thrombogenicity [J]. *Atherosclerosis*, 2020, 294: 17–24.
- [49] Marín Oyarzún CP, Glembotsky AC, Goette NP, et al. Platelet toll-like receptors mediate thromboinflammatory responses in patients with essential thrombocythemia [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 705.
- [50] Gleitz HFE, Dugourd AJF, Leimkühler NB, et al. Increased CXCL4 expression in hematopoietic cells links inflammation and progression of bone marrow fibrosis in MPN [J]. *Blood*, 2020, 136(18): 2051–2064.

- toxicity via p-ERK induction [J]. *J Neurosci Res*, 2007, 85 (2): 386-394.
- [49] Koseki N, Kitaoka Y, Munemasa Y, et al. 17 β -estradiol prevents reduction of retinal phosphorylated 14-3-3 Zeta protein levels following a neurotoxic insult [J]. *Brain Res*, 2012, 1433: 145-152.
- [50] Jiang MN, Ma XY, Zhao QQ, et al. The neuroprotective effects of novel estrogen receptor GPER1 in mouse retinal ganglion cell degeneration [J]. *Exp Eye Res*, 2019, 189: 107826.
- [51] Wang XS, Yue J, Hu LN, et al. Activation of G protein-coupled receptor 30 protects neurons by regulating autophagy in astrocytes [J]. *Glia*, 2020, 68(1): 27-43.
- [52] Hvozda Arana AG, Lasagni Vitar RM, Reides CG, et al. *Glaucoma* causes redox imbalance in the primary visual cortex by modulating NADPH oxidase-4, iNOS, and Nrf2 pathway in a rat experimental model [J]. *Exp Eye Res*, 2020, 200: 108225.
- [53] Behl C, Skutella T, Lezoualc'H F, et al. Neuroprotection against oxidative stress by estrogens; structure-activity relationship [J]. *Mol Pharmacol*, 1997, 51(4): 535-541.
- [54] Zhu C, Wang S, Wang B, et al. 17 β -Estradiol up-regulates Nrf2 via PI3K/AKT and estrogen receptor signaling pathways to suppress light-induced degeneration in rat *Retina* [J]. *Neuroscience*, 2015, 304: 328-339.
- [55] Li HB, Zhu CH, Wang BY, et al. 17 β -estradiol protects the retinal nerve cells suppressing TLR2 mediated immune-inflammation and apoptosis from oxidative stress insult independent of PI3K [J]. *J Mol Neurosci*, 2016, 60(2): 195-204.
- [56] Means JC, Lopez AA, Koulen P. Estrogen protects optic nerve head astrocytes against oxidative stress by preventing caspase-3 activation, tau dephosphorylation at Ser⁴²² and the formation of tau protein aggregates [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2021, 41(3): 449-458.
- [57] Ruebsam A, Dulle JE, Myers AM, et al. A specific phosphorylation regulates the protective role of α A-crystallin in diabetes [J]. *JCI Insight*, 2018, 3(4): e97919.
- [58] Prokai L, Zaman K, Nguyen V, et al. 17 β -estradiol delivered in eye drops: evidence of impact on protein networks and associated biological processes in the rat *Retina* through quantitative proteomics [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(2): 101.
- [59] Anders F, Teister J, Liu AW, et al. Intravitreal injection of β -crystallin B2 improves retinal ganglion cell survival in an experimental animal model of *Glaucoma* [J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175451.
- [60] Thanos S, Böhm MRR, Meyer zu Hörste M, et al. Role of crystallins in ocular neuroprotection and axonal regeneration [J]. *Prog Retin Eye Res*, 2014, 42: 145-161.
- [61] Prokai-Tatrai K, Nguyen V, De La Cruz DL, et al. Retina-targeted delivery of 17 β -estradiol by the topically applied DHED prodrug [J]. *Pharmaceutics*, 2020, 12(5): 456.

收稿日期: 2021-05-18 编辑: 王娜娜

(上接第 1704 页)

- [51] Landtblom AR, Bower H, Andersson TM, et al. Second malignancies in patients with myeloproliferative neoplasms: a population-based cohort study of 9379 patients [J]. *Leukemia*, 2018, 32 (10): 2203-2210.
- [52] Hu H, Zhu LJ, Huang ZS, et al. Platelets enhance lymphocyte adhesion and infiltration into arterial *Thrombus* [J]. *Thromb Haemost*, 2010, 104(12): 1184-1192.
- [53] Gomez-Casado C, Villaseñor A, Rodriguez-Nogales A, et al. Understanding platelets in infectious and allergic lung diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7): 1730.
- [54] Schmied L, Höglund P, Meinke S. Platelet-mediated protection of cancer cells from immune surveillance-possible implications for cancer immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 640578.
- [55] Kopp HG, Placke T, Salih HR. Platelet-derived transforming growth factor-beta down-regulates NKG2D thereby inhibiting natural killer cell antitumor reactivity [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(19): 7775-7783.
- [56] Falanga A, Marchetti M, Vignoli A, et al. V617F JAK-2 mutation in patients with essential thrombocythemia: relation to platelet, granulocyte, and plasma hemostatic and inflammatory molecules [J]. *Exp Hematol*, 2007, 35(5): 702-711.
- [57] Eyraud D, Suner L, Dupont A, et al. Evolution of platelet functions in cirrhotic patients undergoing liver transplantation: a prospective exploration over a month [J]. *PLoS One*, 2018, 13(8): e0200364.
- [58] Tarnowski D, Poitz DM, Plichta L, et al. Comparison of diverse platelet activation markers as indicators for left atrial *Thrombus* in atrial fibrillation [J]. *Platelets*, 2018, 29(1): 41-47.
- [59] Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, et al. Circulating platelets as mediators of immunity, inflammation, and thrombosis [J]. *Circ Res*, 2018, 122(2): 337-351.
- [60] Arellano-Rodrigo E, Alvarez-Larrán A, Reverter JC, et al. Increased platelet and leukocyte activation as contributing mechanisms for thrombosis in essential thrombocythemia and correlation with the JAK2 mutational status [J]. *Haematologica*, 2006, 91(2): 169-175.
- [61] Verstovsek S, Vannucchi AM, Griesshammer M, et al. Ruxolitinib versus best available therapy in patients with polycythemia vera: 80-week follow-up from the RESPONSE trial [J]. *Haematologica*, 2016, 101(7): 821-829.
- [62] Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2019 update on diagnosis, risk-stratification and management [J]. *Am J Hematol*, 2019, 94(1): 133-143.
- [63] de Stefano V, Za T, Rossi E, et al. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments [J]. *Haematologica*, 2008, 93(3): 372-380.
- [64] Gaścecka A, Banaszkievicz M, Nieuwland R, et al. Prostacyclin analogues inhibit platelet reactivity, extracellular vesicle release and *Thrombus* formation in patients with pulmonary arterial hypertension [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(5): 1024.

收稿日期: 2021-05-10 修回日期: 2021-06-01 编辑: 石嘉莹