

痛風発作の病態

——好中球の役割——

笹田 昌孝, 山下 浩平*

Pathophysiology of gouty attack

—— a role of neutrophils ——

Masataka SASADA, Kouhei YAMASHITA *

Gouty attack is a well-recognized sequela of the deposition of monosodium urate (MSU) crystals in joints. The deposition of MSU crystals in synovial cells and macrophages in an inflamed joint induces the secretion of several chemical mediators such as $\text{TNF}\alpha$, IL-8 and IL- 1β that trigger neutrophil chemotaxis. The contribution of neutrophils to the pathogenesis of acute gouty inflammation is believed to be caused by events that follow the physical interaction of MSU crystals and neutrophils. The stimulation of neutrophils by MSU crystals leads to the production and release of several inflammatory mediators such as lysosomal enzymes, oxygen-derived free radicals and inflammatory cytokines. We demonstrated that MSU crystals also induce the release of nitric oxide from neutrophils. This may indicate that nitric oxide interacts with oxygen-derived free radicals and induces more intense inflammatory reaction. Furthermore, monocytes, macrophages, lymphocytes, platelets and humoral factors including complement and cytokines take part in this reaction, and lead to consecutive reactions. The analysis of the pathophysiology of gouty attack will lead to the understanding of neutrophil physiology and potentially to more efficient strategies to control the inflammatory reactions.

Key words: gouty attack, urate crystal, cytokine, neutrophil, gout

はじめに

痛風の発作には尿酸結晶が原因物質として作用し、さらに好中球や炎症性サイトカイン、そ

の他液性因子などが相互に作用して一連の反応を惹起し、痛風発作の病態を形成すると考えられている¹⁾。この中で、炎症病態の形成に中心的な役割を果たす好中球に焦点を当てて考察する。

炎症病態における好中球

1. 好中球の局所動員

好中球は生体内に侵入した病原微生物を貪食、殺菌することにより、生体防御の第一次機構と

京都大学医療技術短期大学部衛生技術学科
京都市左京区聖護院川原町53
* 京都大学大学院血液病態学
京都市左京区聖護院川原町54
Division of Medical Technology, College of Medical
Technology, Kyoto University
2000年6月29日受付

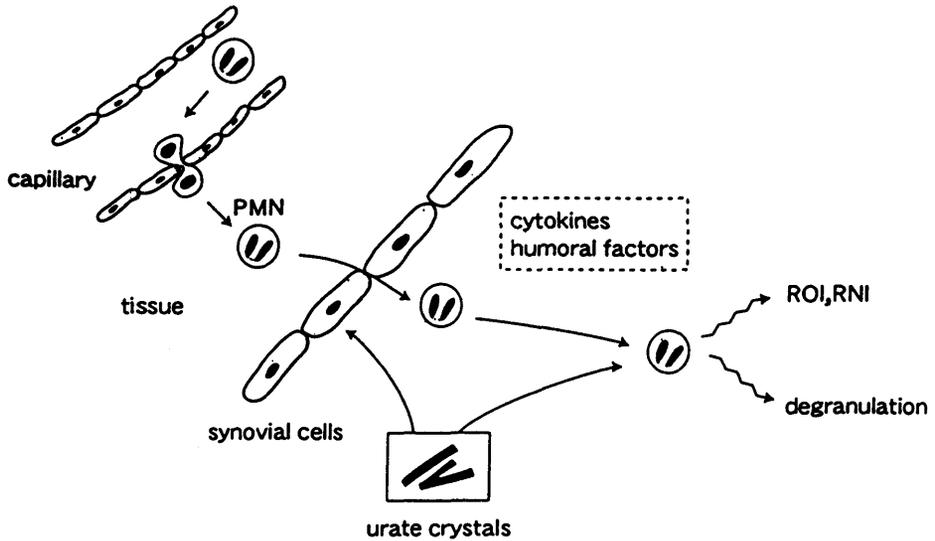


図1 尿酸結晶に誘発される関節炎における好中菌の動態と機能

間接腔内で尿酸結晶 (urate crystals) が析出すると、これが滑膜細胞 (synovial cells) 等に作用して種々液性因子を産出する。これに応じて血流中の好中球 (PMN) は組織へ遊出し、関節腔内に到達する。好中球は尿酸結晶と反応して活性酸素種 (ROI) や活性窒素種 (RNI) を産出し、また脱顆粒 (degranulation) を起こしてその場に炎症を起こす。

して中心的な役割を果たしている^{2,3)}。病原微生物が生体内に侵入すると、その部位に向かって好中球は集積する。この誘導は病原微生物が産生・放出する液性因子や病原微生物と生体因子 (マクロファージ、抗体、補体等) の相互反応により生じた因子によるもので、好中球は炎症局所に近い血管より組織へと遊出する。この過程は流血中の好中球が血管壁に接着することに始まり、そののち血管壁を通過する。なおこの詳細な機序については未だ十分に明らかでなく、現在興味ある研究対象の1つとなっている⁴⁾。

痛風発作においては、病原微生物の代わりに尿酸結晶がその役割を果たすと考えられる (図1)。すなわち尿酸結晶が滑膜細胞や組織マクロファージなどに作用することにより、好中球の遊走を誘導する因子の産生、放出を惹起する^{5,6)}。この点に関しては動物実験で関節腔内に尿酸結晶を注入することにより、滑膜細胞から TNF- α 、IL-8、IL-1 β などが産生、放出されることが確認されている¹⁾。さらに痛風患者から得た滑液中にこれらサイトカインの有意な

上昇が報告されている⁷⁾。これらの因子は好中球の遊走を一次的、二次的に誘導する代表的なものである。また、ヒトにおいては痛風発作時の関節滑液中に尿酸結晶とともに好中球の著増することが報告されている⁸⁾。一方、痛風発作を認めない痛風患者の関節液にはこれらを認めないことから、痛風発作においては尿酸結晶が好中球の動員を惹き起こす中心的因子であり、また痛風発作時の滑液中に多数の好中球が観察されることから、引き続いて好中球を中心とする炎症反応が病態形成に大きな役割を果たしていると考えられる⁹⁾。

2. 好中球の活性化

炎症局所に動員された好中球は、種々のサイトカインによって活性化される (図1)。最も代表的なサイトカインは TNF- α 、IL-1 β 、IL-8、G-CSF、GM-CSF などである。好中球はそれぞれのサイトカインによって異なる作用を受ける。活性酸素産生に関しては priming 効果であったり、triggering 作用であったり、また顆粒の誘導や運動の誘導であったりなど様々である²⁾。さらに好中球とそれぞれのサイトカイ

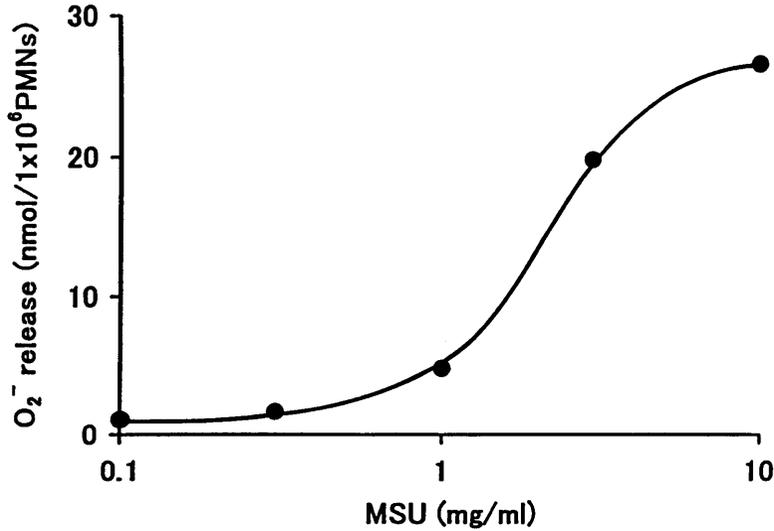


図2 尿酸結晶より誘導される好中球のO₂⁻産生
—尿酸結晶とO₂⁻産生量の関係

ヒト好中球を尿酸結晶 (MSU: monosodium urate) で刺激し, 好中球が30分間に放出するO₂⁻量を cytochrome C 法で定量した。MSU 10mg/ml でO₂⁻の最大放出を得た。

ンの独立した作用ばかりでなく, 単球・マクロファージ, リンパ球, 血小板, 補体などが関与して複数の連続的な反応となり, いわゆるサイトカインネットワークを形成し¹¹⁾, これらの総体的な結果が炎症病態を形成する。

痛風発作のとき, 滑膜腔内の好中球は直接的な検討ならびに滑液中の液性因子の解析などから, 強く活性化されていると言って良い¹⁰⁾。従って痛風発作時には活性化された好中球が滑液中に多数存在することとなる。この活性化に尿酸結晶が深く係わり合うと報告されている¹¹⁾。

好中球と尿酸結晶の反応

尿酸結晶が好中球に直接作用して, 活性酸素の産生・放出を誘導することが明らかにされている¹²⁾。この結果その周囲に強い炎症反応を惹き起こすことになる。in vitro でヒト好中球に尿酸結晶を添加し, 好中球が産生・放出する活性酸素の1つ, スーパーオキシド (O₂⁻) を測定したところ, 尿酸結晶の濃度に依存して産生されること (図2), さらに尿酸結晶による

O₂⁻産生は極めて短時間に誘導されることが確認された (図3)。

好中球は活性酸素と並んで窒素酸化物も産生, 放出するとの報告がある^{13,14)}。窒素酸化物は活性酸素と同様に病原微生物を対象とした殺作用に機能するほか, 種々の生物活性を有することが知られている。好中球から窒素酸化物の放出を誘導する物質として, PMA や FMLP などがあるが, 尿酸結晶にそのような作用があるかどうかを検討した。窒素酸化物の1つNOは尿酸結晶の量に応じて放出された (図4)。またその放出量は時間依存性を有することが確認された (図5)。尿酸結晶によって好中球がNOを産生するかどうか, 別の指示薬を用いて検討したところ, 図6に示すようにすべての好中球においてNOの産生されることが確認された (山下, 投稿中)。

このような窒素酸化物は, それ自体の働きのみならず活性酸素と作用することにより, さらに強力な反応性物質の産生につながるため, 好中球が尿酸結晶による刺激に対して活性酸素お

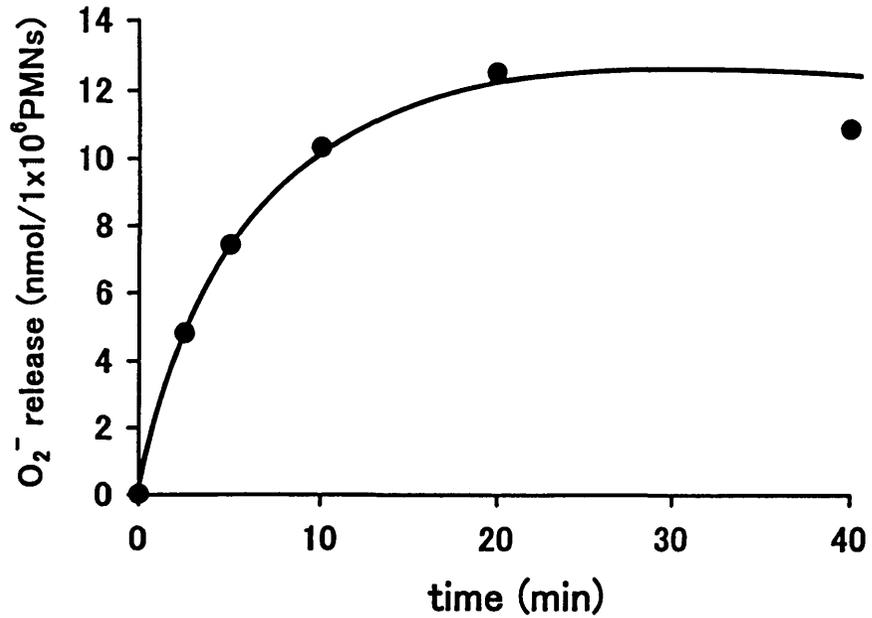


図3 尿酸結晶により誘導される好中菌のO₂⁻産生
—反応時間とO₂⁻産生量の関係

ヒト好中球を尿酸結晶 (MSU) 3mg/dl で刺激し、好中球が放出するO₂⁻量を cytochrome C 法で定量した。好中球は反応開始後速やかにO₂⁻を放出し、30分で plateau となった。

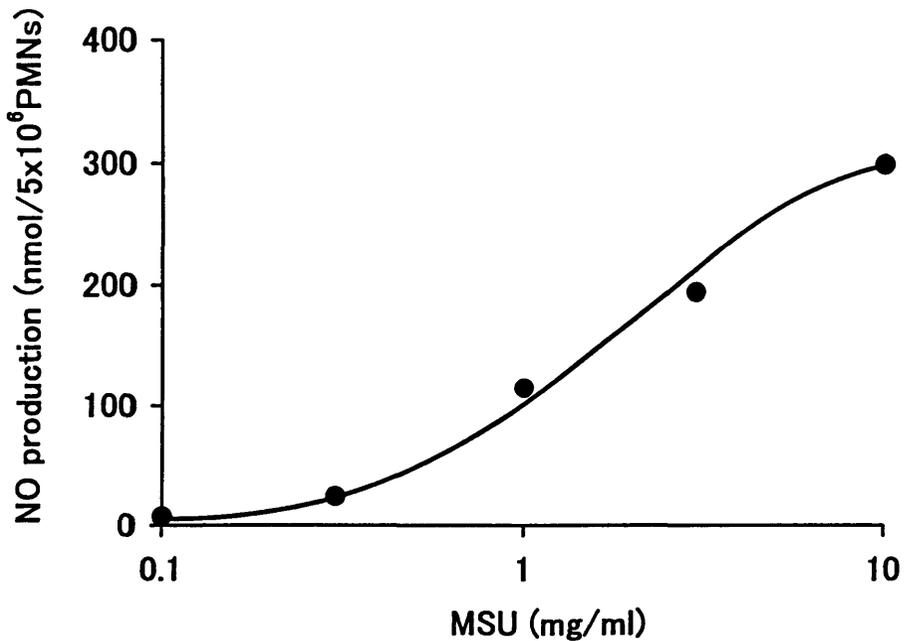


図4 尿酸結晶より誘導される好中球のNO放出
—尿酸結晶量とNO放出量の関係

ヒト好中球を尿酸結晶 (MSU) で刺激し、好中球が60分間に放出するNO量を蛍光物質 DAF-2 を用いて定量した。好中球はMSUの量に応じてNOを放出した。

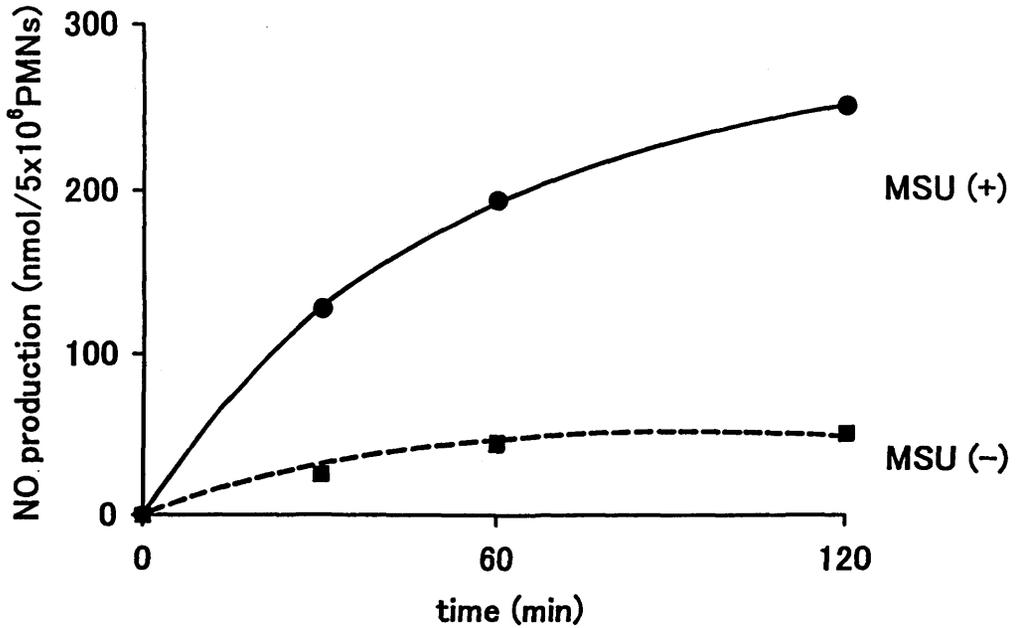


図5 尿酸結晶により誘導される好中球のNO放出
—反応時間とNO放出量の関係

ヒト好中球を尿酸結晶 (MSU 3mg/ml) で刺激し, 好中球が放出するNO量を蛍光物質 DAF-2 を用いて経時的に定量した。

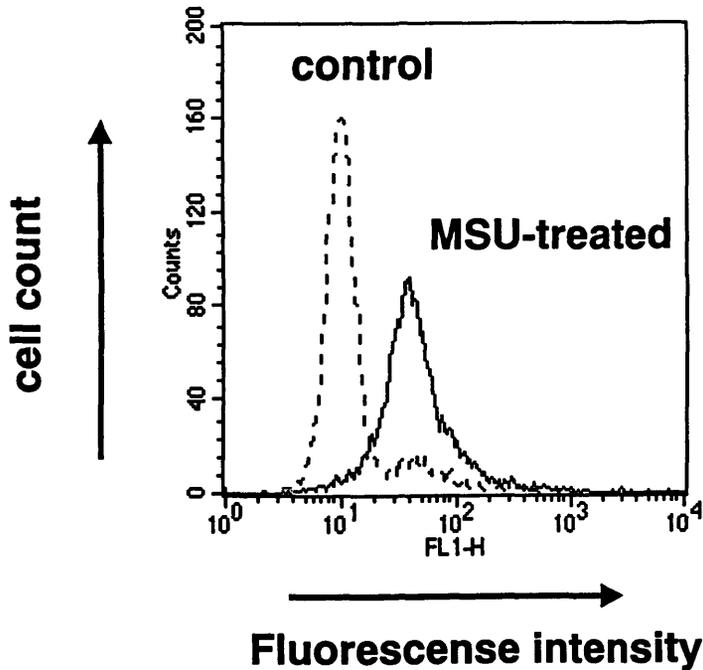


図6 尿酸結晶により誘導される好中球のNO産生
—好中球細胞内のNO産生

ヒト好中球を尿酸結晶 (MSU 1mg/ml) と2時間培養したのち, DAF2-DAを加えてさらに2時間培養した。その後好中球を回収し, flow cytometryで解析した。MSU処理により好中球の細胞内に有意なNOの産生を認めた。

よび窒素酸化物を産生、放出することは、その局所により強い炎症反応を惹き起こすものと推測される。

炎症の終息

好中球が活性酸素等の産生・放出によって殺菌作用を発揮することにより生体防御に重要な役割を果たす一方、組織障害性の高い活性酸素等の作用はその時間や範囲に一定の限界を持つことが生体にとって必要である。この点に関して、機能を終えた好中球は速やかにアポトーシスに陥って自らの死を選択することが明らかにされている¹⁵⁾。例えば好中球が細菌と反応したとき、好中球は活性酸素を放出するが、同時に好中球は速やかにアポトーシスに陥るため、好中球の活性酸素放出は終息に向かうことになる。それでは好中球が尿酸結晶と反応した場合、好中球がアポトーシスに陥るかどうか、この点に関する検討がなされている。赤星らの成績では、尿酸結晶はむしろ好中球のアポトーシスを抑制した¹⁶⁾。すなわち尿酸結晶によって好中球は活性化状態を長時間維持することになり、炎症の持続につながることで解釈される。これが痛風発作の病態の一面を表している可能性があると考えられる。

一方、炎症の終息にはマクロファージが重要な役割を果たすことが指摘されている¹⁷⁾。マクロファージは好中球と同様食作用並びに活性酸素産生能を有するが、好中球とは明らかに反応様態が異なっている。痛風発作時の関節腔内に多数のマクロファージが認められることから、マクロファージもまた炎症病態の形成に深く関わっているものと考えられる。この点に関しては、今後の検討課題である。

さいごに

痛風発作は発症部位や症状が極めて特徴的であり、その診断は容易であり、また治療法についても確立されている。しかし痛風発作の病態形成についてはまだ十分に明らかでない。また好中球の機能亢進が関与する一連の疾患群の病

態形成と深く関連することから、痛風発作の病態解析は有用な研究対象と位置づけられている。

文 献

- 1) Matsukawa A, Yoshimura T, Yoshinaga M, et al: Analysis of the cytokine network among tumor necrosis factor alpha, interleukin-1beta, interleukin-8, and interleukin-1 receptor antagonist in monosodium urate crystal-induced rabbit arthritis. *Lab Invest* 1998; 78: 559-569
- 2) 笹田昌孝: 好中球—機能低下と機能亢進—. 大阪: (株)医薬ジャーナル社, 1998; (1~終頁)
- 3) Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC: Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood* 1998; 92: 3007-3017
- 4) 笹田昌孝: 好中球機能の解明—遊出機序を中心に. *Immunohematology Update* 6, 東京: (株)ファーマ インターナショナル, 1998; (1~終頁)
- 5) Terkeltaub R, Zachariae C, Santoro D, Martin J, Peveri P, Matsushima K: Monocyte-derived neutrophil chemotactic factor/interleukin-8 is a potential mediator of crystal-induced inflammation. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 894-903
- 6) Liu R, O'Connell M, Johnson K, Pritzker K, Mackman N, Terkeltaub R: Extracellular signal-regulated kinase 1/extracellular signal-regulated kinase 2 mitogen-activated protein kinase signaling and activation of activator protein 1 and nuclear factor κ B transcription factors play central roles in interleukin-8 expression stimulated by monosodium urate monohydrate and calcium pyrophosphate crystals in monocytic cells. *Arthritis Rheum* 2000; 43, 1145-1155
- 7) Trontzas P, Kamper EF, Potamianou A, Kyriazis NC, Kritikos H, Stavridis J: Comparative study of serum and synovial fluid interleukin-11 levels in patients with various arthritides. *Clin Biochem* 1998; 31: 673-679
- 8) Pascual E: Persistence of monosodium urate crystals and low-grade inflammation in the synovial fluid of patients with untreated gout. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 141-145
- 9) Phelps P, McCarty DJ: Crystal induced in-

- flammation in canine joints. II. Importance of polymorphonuclear leukocytes. *J Exp Med* 1996; 124:115-126
- 10) Naccache PH, Grimard M, Poubelle PE, et al: Crystal-induced neutrophil activation I. *Arthritis Rheum* 1991; 34:333-342
 - 11) Gaudry M, Roberge CJ, de Medicis R, Lussier A, Poubelle PE, Naccache PH: Crystal-induced neutrophil activation. III. Inflammatory microcrystals induce a distinct pattern of tyrosine phosphorylation in human neutrophils. *J Clin Invest* 1993; 91:1649-1655
 - 12) Thomas MJ: Urate causes the human polymorphonuclear leukocyte to secrete superoxide. *Free Radic Biol Med* 1992; 12:89-91
 - 13) Carreras MC, Pargament GA, Catz SD, Poderoso JJ, Boveris A: Kinetics of nitric oxide and hydrogen peroxide production and formation of peroxynitrite during respiratory burst of human neutrophils. *FEBS Let* 1994; 341:65-68
 - 14) Wallerath T, Gath I, Aulitzky WE, Pollack JS, Kleinert H, Forstermann U: Identification of the NO synthase isoforms expressed in human granulocytes, megakaryocytes, and platelets. *Thromb Haemost* 1997; 77:163-167
 - 15) Yamashita K, Takahashi A, Sasada M, et al: Caspases mediate tumor necrosis factor- α -induced neutrophil apoptosis and downregulation of reactive oxygen production. *Blood* 1999; 93:674-685
 - 16) Akahoshi T, Nagaoka T, Kondo H, et al: Prevention of neutrophil apoptosis by monosodium urate crystals. *Rheumatol Int* 1997; 16:231-235
 - 17) Fadok VA, Bratton DL, Hensen PM, et al: Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF- β , PGE2, and PAF. *J Clin Invest* 1998; 101:890-898