

好 中 球 の 機 能

笹 田 昌 孝

Neutrophil Function

Masataka SASADA

Abstract: Neutrophils play a central role in host defence. They are produced in the bone marrow and egress into the vascular space at the rate of 1×10^9 /kg of body weight per day and may be enhanced in the presence of an inflammatory stimulus. They stay in the vascular space for about 10 hours, then emigrate to tissue where they work as a guard against invading pathogenic microorganisms for a few days. The most important function of neutrophils is their phagocytic and killing activity against pathogenic microorganisms. The cellular response to microbial invasion can be divided into a number of stages, chemotaxis, phagocytosis (ingestion), intracellular killing and degranulation. Neutrophils must perform all of these steps to exhibit normal microbicidal activity.

The major subjects of the recent research on neutrophil function are as follows: the adhesion between neutrophils and endothelium, intracellular signal transduction and the generation of oxygen radicals that play a key role in microbial killing. Researches on cytokines also offered important informations for analysing the regulatory mechanism of neutrophil function. It will be necessary to analyse the regulatory mechanism of neutrophil function in vivo and the role of neutrophils in the pathogenesis of some diseases in the future.

Key words: Neutrophil, Chemotaxis, Phagocytosis, Killing, Oxygen radicals, Infection

は じ め に

ヒトは常に病原微生物に曝されており、これらから生体を守るためにさまざまな感染防御機構を備えている。この機構は大きく2つに分けられる。病原微生物の種類に比較的無関係に働く非特異的感染防御機構と、特定の病原微生物に限定して働く特異的感染防御機構である(表1)。一般に微生物が侵入してくるとまず非特異的機構が働き、それで不十分な場合には特異的機構が働く(図1)。非特異的感染防御機構

には、微生物の侵入を防ぐ皮膚粘膜、殺菌作用を持つ酵素、補体、そして微生物を貪食し殺菌する食細胞などが含まれる。

食細胞には好中球と単球・マクロファージがあり、いずれも貪食・殺菌作用を有する。単球・マクロファージは微生物処理のかたわら抗

表1 生体防御機構の構成

防 御 機 構	防 御 因 子
非特異的防御機構 バリアー	皮膚, 粘膜, 腸管細菌叢
一 次 防 御	リゾチーム, 補体, 食細胞, NK 細胞, 液性因子
特異的防御機構 (二 次 防 御)	Tリンパ球, Bリンパ球, 免疫グロブリン

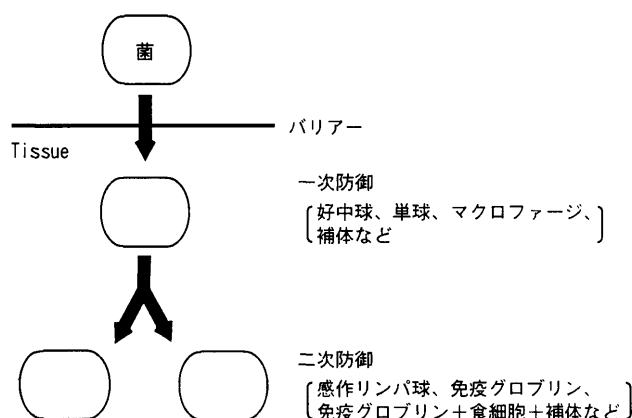


図1 病原微生物の侵入に対する生体防御

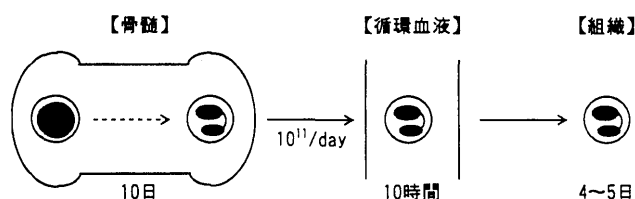


図2 好中球の産生と回転

原情報をリンパ球に伝え、特異的感染防御機構への橋渡しも行っている。好中球は貪食・殺菌作用により感染初期防御に中心的な役割を果たし^{1,2)}、また特異的感染防御機構由来のサイトカインや特異抗体を利用してより強力な能力を発揮する。本文は好中球の機能を概説し、その感染防御における役割についてまとめたものである。

1. 好中球の一生（図2）

好中球は骨髓で幹細胞より分化・成熟し、約10日を要して産生される。成熟好中球はやがて血中へと流出するが、この機序はまだ不明ながら液性因子等によってコントロールされていると考えられる。血中に出た好中球は約半数が循環し、残り半数は血管内壁に付着している。このため、血液検査で算定される好中球数の2倍量が実際に存在することとなる。好中球が血中に滞在する時間はわずか10時間であり、すみやかに血管外へ移動し組織にたどり着く。ここで4～5日の寿命の間、必要があれば好中球としての機能を発揮することになる。即ち好中球は

組織において外敵の侵入を見張っており、ひとたび侵入を確認すると直ちに自ら死滅しながらこれを攻撃する。そしてその部位へおびたしい数の好中球が血中より集積し、病原微生物を排除すべく機能する。好中球のこのような働き方が好中球を特攻隊にたとえる由縁である。

2. 好中球の機能

好中球が生体を守るために最も重要な機能は貪食殺菌能である。これは一連の過程であり、以下のように段階的に分けることができる（図3）。

1) 遊 走

好中球が感染巣で機能を発揮するためには、局所に動員されることが必要である。血液中を流れる好中球は血管内皮細胞に接着し、そして血管内皮細胞を通過する（transmigration）。さらに炎症局所で感染微生物が産生した、あるいは食細胞や他の免疫細胞から放出された走化性因子やサイトカイン等に反応して感染巣へと遊走する。

好中球表面には図4に示すような種々の接着

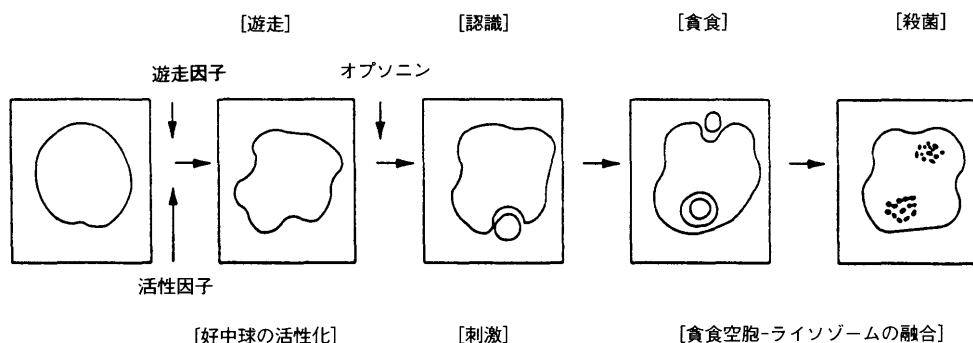


図3 好中球の貪食殺菌過程

分子が存在しており、内皮細胞への接着、通過は内皮細胞との相互作用を介して行われる。好中球は接着分子によって内皮細胞に接着を開始し、微小血管に沿って血管内皮細胞の表面上をローリングする。IL-1 (interleukin 1) や TNF- α (tumor necrosis factor α) などのサイトカインや PAF (platelet activating factor) などの脂質性メディエーターなどがこれを助ける。この段階で好中球と内皮細胞は活性化される³⁾。そしてそれぞれの表面の活性化された接着分子によって強い結合が起こる (図4)。好中球が内皮細胞を通過する機序は十分には明らかではないが、好中球の活性化と内皮細胞の活性化が必

要とされ、このような機序に基づいて好中球は主に走化性因子の濃度勾配によって血管内皮細胞を通過し、感染巣へ移動する。なお走化性因子は上記のような作用のほか、方向性を持たない運動 (random migration) を誘導する。さらに低濃度で細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加や細胞内 pH 上昇など好中球を活性化準備状態に誘導し (priming 作用)、高濃度では活性酸素産生を誘導する⁴⁾。感染局所ではこのような複雑な作用によって好中球が病原微生物を捕捉し、処理できると考えられる。

2) 貪 食

食細胞が細菌などを細胞内に取り込む過程を

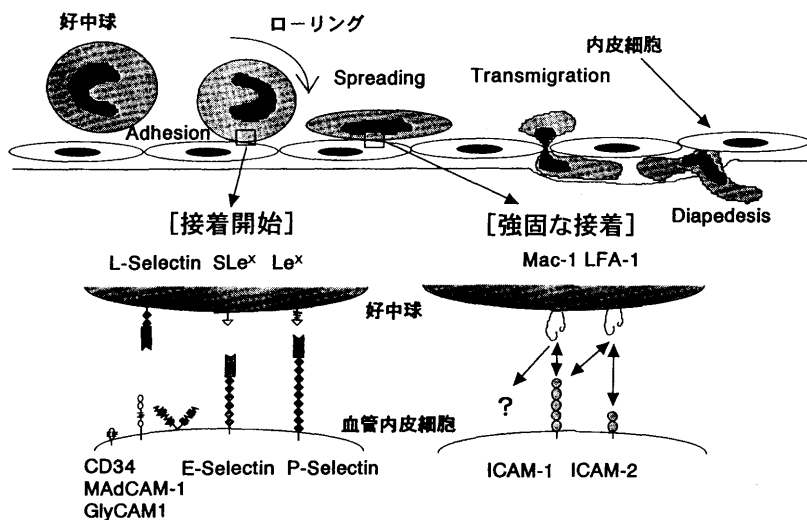


図4 好中球、血管内皮細胞の接着分子と好中球の遊走 (直川原図)

好中球は接着分子を介して内皮細胞上をローリングし、続いて強く粘着した後、血管外へ遊走する。

貪食という。これが効率よく行われるためには微生物表面が血清成分等で被われていることが必要である。この貪食を促進する物質をオプソニンと呼び、免疫グロブリンや補体由来因子などがある。好中球表面にはオプソニンレセプターがあり、このレセプターを介してオプソニンで被われた微生物を細胞膜に結合することができる。この結合によって、オプソニンレセプターから入ったシグナルは細胞骨格の再構築を惹起して変形と運動につながり、表面に結合した微生物を食細胞内に貪食する。このようにして貪食空胞（ファゴソーム）が形成される。貪食空胞は次にライソゾームと融合し、ファゴ・ライソゾームとなり殺菌に有利な環境を提供する。なおオプソニンレセプターから入ったシグナルの伝達系は精力的に検討されており⁵⁾、蛋白質チロシンリン酸化の重要性が指摘されている。

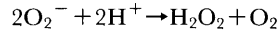
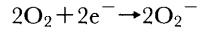
3) 殺 菌

好中球の殺微生物機構には酸素依存性機構と酸素非依存性機構とがあり、そしてそれらの相互作用によりさらに効率的な殺菌が行われる¹⁾。

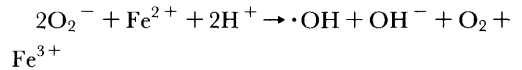
①酸素依存性機構

好中球は貪食に伴って、あるいは試験管内で適当な刺激を受けると、急激に酸素消費が増加する。消費された酸素の大半はスーパーオキシ

ド産生酵素系によりスーパーオキシド（以下 O_2^- ）になる。 O_2^- は自然にあるいはスーパーオキシドジスムターゼにより不均化され過酸化水素を生成する（下式）。



このようにして産生された H_2O_2 （過酸化水素）はミエロペルオキシダーゼとハロゲンイオンの存在下に $HOCl$ に変換される。 O_2^- はさらに次式の反応によってヒドロキシルラジカル（ $\cdot OH$ ）を生成する。



この反応にラクトフェリンが関わっている可能性が指摘されている。このようにして産生された活性酸素が好中球の殺菌機構において重要な役割を果たしていることは、活性酸素を産生できない慢性肉芽腫症患者の好中球の殺菌能が著明に低下していることにより確認された。ただし、どの種類の活性酸素が殺作用に必須かについては議論がある。

O_2^- 産生酵素系（NADPH 酸化酵素系）は細胞膜および細胞質に局在する複数の構成成分から形成される一種の電子伝達系である（図5）。細胞膜にはシトクロム b558 が、細胞質には少なくとも $p47^{phox}$ 、 $p67^{phox}$ と低分子量

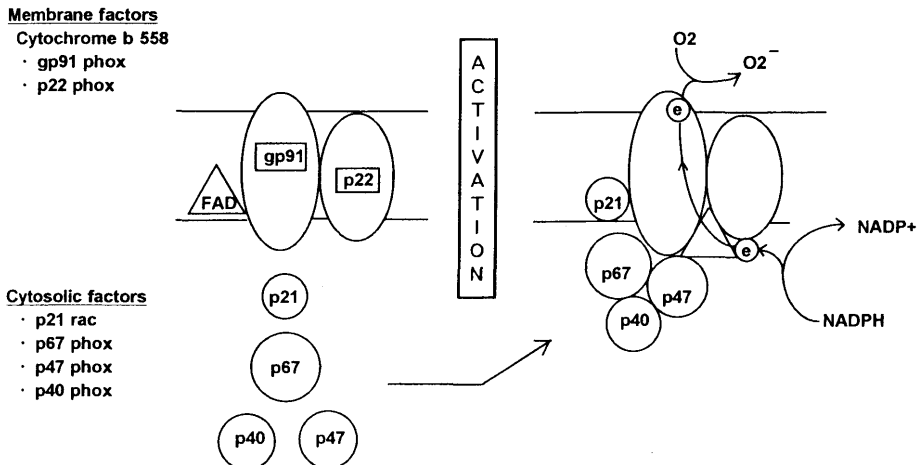


図5 NADPH オキシダーゼ系の活性化機序

GTP 結合蛋白 (rac) および $p40^{phox}$ が局在しており、活性化に伴って細胞質に局在する成分が細胞膜に移動し、活性型酵素を構成する。シトクロム b558 はヘムを含む 22kD のペプチド ($p22^{phox}$) と NADPH および FAD 結合部位を有する 91 kD の糖蛋白 ($gp91^{phox}$) とからなるヘテロ二量体であり、ともに細胞膜を貫通している。 $p47^{phox}$ および $p67^{phox}$ には src ファミリーチロシンキナーゼの SH3 と相同性の高い部位が存在する。静止時好中球では $p47^{phox}$ は細胞質に、 $p67^{phox}$ は細胞骨格蛋白に結合して存在している。好中球が刺激を受けると、 $p47^{phox}$ が細胞骨格に結合し、続いて両者がともに細胞膜に移行して SH3 依存性にシトクロム b558 と複合体を形成する⁶⁾。最近、 $p67^{phox}$ は NADPH から FAD への電子の流れを促進し、 $p47^{phox}$ はフラビンからヘム、さらに分子状酸素への電子伝達に必要であるとの報告がなされた⁷⁾。rac は低分子量 GTP 結合蛋白であり、GTP/GDP 交換反応により O_2^- 産生酵素活性を調節しているものと考えられる。

酸化窒素 (NO)

近年、活性酸素に加えて酸化窒素 (NO) が食細胞で産生され、これが食細胞の機能に重要な作用を持つことが報告された。マクロファージが主な産生細胞であるが、好中球も NO を産生することが明らかにされている。L-アルギニンに由来する NO 産生は NO 合成酵素で触媒される酸化反応であり、酸素消費を伴う。ヒト好中球から構成型の NO 合成酵素が単離されていること、無刺激の好中球を 37°C で培

養すると連続的に NO を産生するが活性化すると活性酸素産生に傾き NO 産生が低下することなど、NO が炎症の抑制因子である可能性が示唆されている。一方で、NO は活性酸素と反応して peroxynitrite (OON_2^-) などを形成し、好中球の殺微生物作用に貢献するとの考えや、好中球由来 NO の主な役割は血管拡張作用により血管から周囲組織への好中球の移動を促進することとの考えもある。

②酸素非依存性機構

好中球の顆粒には殺菌的に作用する種々の物質が含まれている。最近、顆粒内の蛋白成分やそれらの放出、さらに機能などについて詳細が明らかにされつつある⁸⁾。表 2 は顆粒の種類とその成分の一覧である。アズール顆粒はミエロペルオキシダーゼを始めとして、多くの殺菌性蛋白や水解酵素を含んでいる。BPI 蛋白はグラム陰性菌に強い毒性を持ち、グラム陰性菌の内毒素を中和しうる。アズロシジンもグラム陰性菌に毒性を有し、グラム陽性菌や真菌にも弱いながら有効とされる。デフェンシンは広範囲の細菌、真菌のみならず、ヘルペスウイルスを不活化する。酵素群は活性酸素によって開始された微生物を対する傷害を増強し、死んだ微生物や傷害された宿主細胞を消化する。エラスターゼ、カテプシン G などのセリンプロテアーゼは微生物の細胞壁中の構造蛋白を加水分解し、多糖類分解酵素はムコ多糖を分解する。特殊顆粒中のラクトフェリンは微生物の増殖に必須の鉄イオンを奪い、リゾチーム、コラゲナーゼなどは細胞外殻成分を破壊する。

表 2 好中球の顆粒

アズール顆粒	特殊顆粒	三次顆粒	分泌小胞
ミエロペルオキシダーゼ	シトクロム b558	ゲラチナーゼ	アルカリフォスファターゼ
アズロシジン	FMLP レセプター	FMLP レセプター	FMLP レセプター
BPI 蛋白	CD11b	CD11b	CD11b
β グルクロニダーゼ	リゾチーム		
カテプシン	ラクトフェリン		
デフェンシン	コラゲナーゼ		
エラスターゼ			
リゾチーム			

③酸素依存性機構と酸素非依存性機構の相互作用

2つの機構はそれぞれに微生物を殺しうるが、それらの相互作用は好中球の殺微生物作用を著明に増大させる。強力な殺菌作用を持つHOClが酸素非依存系に属するミエロペルオキシダーゼ存在下に、塩素イオンと酸素依存系の過酸化水素(H_2O_2)との反応によって生成されるほか、活性酸素とデフェンシンは共存することにより腫瘍細胞溶解に相乗的な効果を及ぼすと報告されている。またセリンプロテアーゼは膜の外側面にある蛋白を修飾し、膜脂質の細胞表面上での動きを増加させて、fMLPやPMA(phorbol myristate acetate)に対する O_2^- 産生酵素の反応を増強する。

3. 好中球機能の調節

好中球の貪食殺菌作用は多くの因子によって精妙にコントロールされている。好中球と相互作用をする血管内皮細胞や血小板、サイトカイン、脂質性のメディエーターや抗体、補体などがその主なものであり、新たな因子がそのリストに次々に追加されている。

好中球は静止状態、primeされた状態(活性化準備状態)、活性以状態などと呼ばれる種々の状態で存在することが知られ⁹⁾、さらに筆者らは末梢血好中球に機能的に異なる集団が混在することを認めている。これは好中球が生体内で複雑に調節されていることを示す所見と思われる。

4. 好中球と感染防御

好中球は感染防御に必須の因子であり、微生物を貪食・破壊することによって非特異的防御機構の中心をなしている。感染防御における好中球の重要性は、好中球の減少する疾患や好中球機能に異常を認める疾患に重篤な感染症を発症することから明らかである¹⁰⁾。癌化学療法後で好中球が著明に減少した時、あるいは慢性肉芽腫症や接着分子異常症など好中球機能異常症では、しばしば致死的な細菌・真菌感染がみ

られる。好中球の数や機能を調節するしくみについて、最近多くの研究が進められている。いろいろな病気の病態を明らかにすると同時に、治療についても新しい視点に立った治療に向けて有用な成績が得られつつある。

おわりに

好中球の感染防御機構における役割について、好中球機能とその制御機構を中心に概説した。好中球の遊走、殺微生物作用の機序、活性酸素産生機構など、それぞれについてより詳細に検討され、またそれらを調節する多数の因子が明らかにされてきた。しかし、好中球が生体内においてどのように機能しどのように調節されているのか、また種々の病気において好中球がどのような関わりを持っているのか、まだまだ不明な点が多い。これらを明らかにすることが今後の重要な研究課題と思われる。また好中球は生体防御に働くばかりでなく組織障害にも作用するとの指摘があり、この面からの検討もこれからの重要な研究課題であろう。

文 献

- 1) Sasada M, Yamamoto K, Kubo A: Microbicidal mechanism of neutrophils. *Acta Haematol Jpn* 1983; 46, 114-120
- 2) 笹田昌孝, 高野邦子: 好中球の貪食殺菌能. *臨床検査* 1994; 38, 429-434
- 3) Simon SI, Burns AR, Taylor AD, et al: L-selectin (CD62L) cross-linking signals neutrophil adhesive functions via the Mac-1 (CD11b/CD18) β 2-integrin. *J Immunol* 1995; 155, 1502-1514
- 4) Bokoch GM: Chemoattractant signaling and leukocyte activation. *Blood* 1995; 86, 1649-1660
- 5) Walzog B, Offermanns S, Zakrzewicz A, Gaechtgens P, Ley K: β -2 integrins mediate protein tyrosine phosphorylation in human neutrophils. *J leuk Biol* 1996; 59, 747-753
- 6) McPhail LC: SH3-dependent assembly of the phagocyte NADPH oxidase *J Exp Med* 1994; 180, 2011-2015
- 7) Cross AR, Curnutte JT: The cytosolic acti-

- vating factors p47phox and p67phox have distinct roles in the regulation of electron flow in NADPH oxidase J Biol Chem 1995: 270, 6543-6548
- 8) Borregaard N, Lollike K, Kjeldsen L: Human neutrophil granules and secretory vesicles. Eur J Haematol 1993: 51, 187-198
- 9) Bass DA, Olbrantz P, Szejda P, Seeds MC, McCall CE: Subpopulations of neutrophils with increased oxidative product formation in blood of patients with infection. J Immunol 1986: 136, 860-866
- 10) 笹田昌孝: フリーラジカルと感染症. J Act Oxyg Free Rad 1995: 6, 46-53