

Symposium
In en om de neutrofiel*

Neutrofielen en ontstekingen

D. ROOS

Neutrofiële granulocyten (neutrofielen) zijn witte bloedcellen die in de weefsels micro-organismen opnemen (fagocyteren) en intracellulair doden. Hiertoe zijn de neutrofiële granulocyten uitgerust met het vermogen zich te verplaatsen in ons lichaam naar de plaats van een infectie, het binden van micro-organismen aan receptoreiwitten op hun buitenmembraan, opname van gebonden micro-organismen in een afgesloten pakketje (fagosoom) binnen de neutrofiel, en het uitstorten van toxische eiwitten en zuurstofproducten in dit fagosoom. Het belang van deze "aspecifieke" tak van de immunologische afweer blijkt duidelijk uit de levensbedreigende infecties die optreden bij patiënten met ernstig tekort aan neutrofielen of met stoornissen in de functie van deze cellen. Tijdens chronische ontstekingen kan deze afweer zich echter tegen de eigen weefsels gaan richten. Onder deze omstandigheden kunnen namelijk de toxische componenten van deze cellen vrij komen buiten de neutrofielen en dan tot irreversibele weefselschade leiden. Beteugeling van dit proces door middel van ontstekingsremmers is dan geboden. In de afgelopen vijftien-twintig jaar is onze kennis over functie en falen van neutrofiële granulocyten enorm toegenomen. In dit artikel wordt hiervan een kort overzicht gegeven.

Trefwoorden: neutrofielen; chemotaxis; fagocytose; ontstekingsmediatoren; metalloproteasen

De immunologische afweer bestaat uit een specifieke tak en een aspecifieke tak. De specifieke afweer wordt verzorgd door de lymfocyten, witte bloedcellen die in staat zijn tot vorming van antistoffen tegen lichaamsvreemde structuren en tot doden van virusgeïnfecteerde cellen. Lymfocyten maken onderscheid tussen lichaamseigen en lichaamsvreemde structuren, en beschikken bovendien over een immunologisch geheugen: na een eerste kennismaking met lichaamsvreemd materiaal wordt dit bij daaropvolgende ontmoetingen sneller herkend en onschadelijk gemaakt.

Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst van het Nederlandse Rode Kruis, en Laboratorium voor Experimentele en Klinische Immunologie, Universiteit van Amsterdam, Amsterdam

* Samenvattingen van enkele voordrachten gehouden tijdens het symposium "In en om de neutrofiel" op 14 september 1994 te Zwolle.

Correspondentie: Prof. D. Roos, CLB, Postbus 9190, 1006 AD Amsterdam.

Dit onschadelijk maken is grotendeels het werk van de aspecifieke immunologische afweer. Deze tak bestaat uit het complementsysteem en de fagocyten. Het complementsysteem wordt gevormd door een serie eiwitplitsende enzymen die in staat zijn micro-organismen, al dan niet met antistoffen bedekt, te lyseren. De activiteit van dit systeem wordt strict gereguleerd, en de cellen van de gastheer zijn beschermd tegen deze aanval. Fagocyten zijn witte bloedcellen die in staat zijn tot opname (fagocytose) en intracellulair doden van lichaamsvreemd materiaal, vooral nadat dit bedekt is met antistoffen en complementfactoren. Zowel granulocyten als macrofagen behoren tot dit celtype.

Het menselijk lichaam bevat drie soorten granulocyten: neutrofiële, eosinofiele en basofiele granulocyten. Neutrofiële en eosinofiele granulocyten worden ook wel polymorfkernige leucocyten (PMN) genoemd. Naast fagocytose zijn macrofagen en eosinofiele granulocyten ook in staat tot (extracellulair) doden van parasieten. Basofiele granulocyten hebben een ronde kern, fagocyteren niet en zijn betrokken bij vaatverwijding in lokale ontstekingsprocessen. Het gemeenschappelijke kenmerk van deze drie soorten granulocyten is het voorkomen van veel korrels (granula) in het cytoplasma. Bij neutrofiële en eosinofiele granulocyten wordt de inhoud van deze korrels (tezamen met nieuwgevormde reactieve zuurstofproducten) gebruikt voor het doden van infecterende organismen, bij basofiele granulocyten bevatten de korrels o.a. histamine, dat de lokale vaatverwijding veroorzaakt. Dit overzicht zal vooral de rol van neutrofiële granulocyten in de immunologische afweer beschrijven. Het belang van dit celtype in de totale afweer blijkt uit de levensbedreigende infecties bij patiënten met ernstige neutropenie of stoornissen in de neutrofielenfunctie.

Rijping en morfologie

Neutrofiële granulocyten (neutrofielen) rijpen in het beenmerg in ongeveer twee weken. In het pro-myelocyt stadium worden de azurofiële granula gevormd. Door celdeling worden deze granula verdeeld over de dochtercellen. In het myelocyt stadium worden vervolgens de specifieke granula gevormd (1). De uiteindelijke ratio azurofiële tot specifieke granula in uitgerijpte neutrofielen is ongeveer 1:2. Latere stadia van neutrofiëldifferentiatie omvatten metamyelocyten, staafvormen en cellen met gesegmenteerde kern. In deze stadia komt geen celdeling meer voor.

Ongeveer 60% van alle kernhoudende cellen in het beenmerg bestaat uit myeloïde cellen. Zo bevat het beenmerg alleen al een reservevoorraad rijpe neutrofielen die twintig keer zo groot is als alle neutrofielen in de circulatie. Onder normale omstandigheden worden deze cellen twee dagen na hun ogenschijnlijk volledige uitrijping losgelaten in het bloed. Gedurende infecties gebeurt dat eerder, en worden ook cellen met staafvormige kern losgelaten, tot 10^{12} per dag in volwassenen, tegen 10^{11} per dag normaliter (1). Het verschijnen van onrijpe neutrofielen in het bloed wordt weerspiegeld in een verlaagd chemotactisch vermogen van deze cellen. In de circulatie verkeert ongeveer de helft van de neutrofielen in de "marginale pool" van cellen die vastzitten aan de vaatwand van post-capillaire venulen. Deze pool wordt gemobiliseerd onder invloed van adrenaline, waardoor binnen zeer korte tijd (minuten) in de circulatie een stijging optreedt van het aantal neutrofielen. Neutrofielen blijven slechts 6-10 uur in de circulatie; daarna gaan ze naar de weefsels, waar ze nog enkele dagen actief hun werk kunnen doen. De grootte van de weefselvoorraad neutrofielen is naar schatting de helft van de beenmergvoorraad (1). Een eenvoudig rekensommetje leert dan dat minder dan 2% van alle in het lichaam aanwezige neutrofielen in het bloed aantoonbaar is. Het is duidelijk dat dit "bloedgetal" een slechte maat is voor het totaal aantal neutrofielen. Uiteindelijk worden de neutrofiele granulocyten opgeruimd door macrofagen, hetzij via necrose als gevolg van fagocytose en afweer, hetzij na apoptose als gevolg van veroudering. De plaats van neutrofielenopruiming is niet bekend.

Beweging

Verplaatsing van neutrofielen van het beenmerg naar het bloed, en diapedesis van de circulatie naar de weefsels, vereist dat deze cellen zich door de bloedvatwand, tussen de endotheelcellen door wringen. Voor dit proces maken de neutrofielen openingen tussen de endotheelcellen van ongeveer $1 \mu\text{m}$, zonder de endotheelcellaag te verstoren. Dankzij de gelobde kern is de neutrofiel zeer flexibel, hetgeen de passage door deze kleine openingen sterk vereenvoudigt (een afgeronde neutrofiel heeft een diameter van $12-15 \mu\text{m}$). Welke humorale factoren bij gezonde mensen het loslaten van neutrofielen uit het beenmerg bepalen is onbekend.

Verplaatsing van neutrofielen uit bloed naar de weefsels vereist allereerst aanhechting van deze cellen aan de vaatwand. Adherentie van neutrofielen aan endotheelcellen in post-capillaire venulen wordt bevorderd door passieve beweging van de neutrofielen naar de vaatwand. Dit veroorzaakt een reversibele interactie tussen deze celtypen, gemedieerd door zwakke binding van L-selectine op de neutrofielen aan suikerstructuren op de endotheelcellen. Onder normale omstandigheden leidt dit op den duur tot stabiele interactie, spreiding van de neutrofielen op de endotheelcellen, diapedese (transmigratie) en beweging van de neutrofielen de weefsels in (2). Welke factoren hiervoor verantwoordelijk zijn is onbekend. Tijdens een infectie of ontsteking worden deze processen



Figuur 1. Schematisch overzicht van neutrofieleninflux in de weefsels tijdens ontstekingen. Interactie van L-selectine op de neutrofielen met suikerstructuren op de endotheelcellen veroorzaakt "rollen" van de neutrofielen over de vaatwand (1). E-selectine en ICAM-1 komen bij ontstekingen in verhoogde mate tot expressie op de endotheelcellen. E-selectine bindt aan suikerstructuren op de neutrofiel en ICAM-1 aan het β_2 integrine CR3 op de neutrofiel. Dit laatste veroorzaakt een sterke binding en spreiding van de neutrofielen op de vaatwand (2). Plaatje-activerende factor (PAF) en IL-8, geproduceerd door de endotheelcellen, induceren daarna de diapedese van de neutrofielen tussen de endotheelcellen door de weefsels in. Neutrofielen die zich in het midden van de bloedstroom bevinden vervolgen hun weg in het vaatstelsel (3).

aanzienlijk versterkt ten gevolge van de vorming van chemotactische factoren in de infectiehaard of de plaats van ontsteking, zoals de complementfragmenten C5a en C5a-desarg, het bacteriële tripeptide formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (fMLP), leukotriëen B_4 (LTB_4), plaatje-activerende factor (PAF) en interleukine-8 (IL-8). Deze agentia veroorzaken een toename in de membraanexpressie van bepaalde adhesiemoleculen op de neutrofielen, zoals de β_2 -integrinen (vooral CR3), en bovendien worden deze moleculen "geactiveerd" door een configuratieverandering tot sterkere binding aan endotheliale structuren (2). De chemotactische factoren induceren ook een gerichte beweging van de neutrofielen naar de infectiehaard/ontstekingsplaats (het proces van chemotaxie) omdat daar de hoogste concentratie van deze factoren aanwezig is. Anderzijds induceert endotoxine, losgelaten door micro-organismen, de plaatselijk aanwezige macrofagen tot produktie van IL-1 en tumor-necrosis factor (TNF). Deze stoffen, en ook endotoxine zelf, stimuleren de endotheelcellen tot opregulatie van de adhesie-eiwitten ICAM-1 en E-selectine (en VCAM-1), hetgeen de neutrofielenadherentie sterk bevordert (2). Endotheelcellen produceren ook PAF en IL-8 onder deze condities, die aan de endotheelcellen en de extracellulaire matrix gebonden blijven en de neutrofielenmigratie bevorderen (2). Veranderingen in de samenstelling van de extracellulaire matrix tijdens ontstekingen (geïnduceerd door TGF- β) dragen eveneens bij aan de neutrofieleninflux in de weefsels. Figuur 1 toont een schematisch overzicht van dit proces.

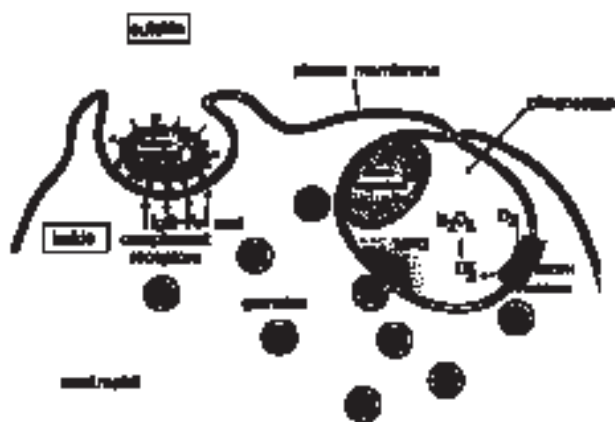
In tegenstelling tot bacteriën hebben leucocyten een vaste drager nodig voor hun voortbeweging: met eiwitten op de vaste drager (endotheelcellen, fibroblasten, epitheelcellen, extracellulaire matrix) worden via

adhesie-eiwitten bindingen aangegaan die de leukocyt plaatselijk vastzetten aan de ondergrond en in de cel veranderingen in het actinenetwerk induceren die de rest van de cel over dit vastgeklonken punt doen heenrollen. Vervolgens laten de bindingen met de ondergrond los en worden op een volgend punt nieuwe bindingen aangegaan. Op deze manier rolt de leukocyt over de ondergrond verder.

Het biologisch belang van adherentie en migratie wordt duidelijk gedemonstreerd door klinische symptomen van patiënten met leucocytenadhesie deficiëntie (LAD), n.l. ernstige, recidiverende bacteriële infecties, gestoorde wondgenezing, persisterende leucocytose en een ernstig gebrek in de ontwikkeling van ontstekingsreacties. De neutrofielen van LAD patiënten missen alle drie β_2 -integrinen, adhereren slecht aan endotheelcellen en zijn chemotactisch inactief (3).

Fagocytose en bacteriedoding

Neutrofielen zijn gespecialiseerd in opname en intracellulair doden van een grote variëteit aan bacteriën, gisten, schimmels, mycoplasmata en wellicht ook virussen. De meeste micro-organismen kunnen pas gefagocyteerd worden na oponisatie (bedekken) met specifieke antistoffen en/of complementfragmenten. Antistoffen binden met hun Fab regio's aan microbiële antigenen, waardoor de Fc regio's van meerdere antistoffen dicht naast elkaar komen te liggen. Deze ruimtelijke opstelling bevordert complementactivatie, hetgeen o.a. resulteert in binding van C3b en C3bi aan de micro-organismen, en daarmee aanhechting van deze microben aan respectievelijk complement receptor 1 (CR1) en CR3 op de neutrofielen mogelijk maakt. Anderzijds bevordert deze dichte Fc pakking ook de rechtstreekse binding van de geöpsoniseerde micro-organismen aan Fc receptoren op de neutrofielen. Op de neutrofielen zijn twee soorten Fc γ receptoren aanwezig: Fc γ RIIIa en Fc γ RIIIb. Beide typen Fc γ R hebben een lage affiniteit voor monomeer IgG, maar binden immunocomplexen met meerdere IgG moleculen wel heel goed (4).



Figuur 2. Schematische voorstelling van fagocytose, degranulatie en generatie van reactieve zuurstofproducten. MPO: myeloperoxydase; *: complementfragment C3b of C3bi.

Gebleken is dat de eigenschappen van de antistoffen van doorslaggevende betekenis kunnen zijn voor effectieve verwijdering van de micro-organismen waartegen ze gericht zijn. Zo kunnen bij gelijke IgG gehalten grote verschillen bestaan in antistoftiters, complementactiveringscapaciteit en binding aan Fc γ receptoren. Soms is dit terug te voeren op IgG subklasseverschillen: IgG2 antistoffen, vaak gevormd tegen microbiële suikerstructuren, reageren alleen met het zogenaamde LR type van Fc γ RIIIa. Mensen met dit allotype zijn daardoor beter beschermd tegen infecties met bepaalde micro-organismen dan mensen met het z.g. HR type Fc γ RIIIa. In geval van bijkomende complementdeficiënties, waardoor bacteriële lysis door complement ontbreekt, kan dit tot klinische complicaties leiden (5).

Aanhechting van geöpsoniseerde micro-organismen aan Fc- of complementreceptoren veroorzaakt een drietal reacties in de neutrofiële granulocyt: fagocytose van het geöpsoniseerde materiaal, versmelting van de intracellulaire granula met het fagosomale membraan (degranulatie) en activatie van NADPH oxydase, het enzym dat superoxyde genereert. Fagocytose wordt geïnduceerd door plaatselijke veranderingen in het actinenetwerk direct onder het plasmamembraan: opheffen van dit netwerk in de directe omgeving van de bezette receptoren en versterking van dit netwerk op enige afstand ervan. Hierdoor gaat de cel uitstulpingen rond het gebonden deeltje vormen die zich vervolgens om dit deeltje heenvouwen (figuur 2). Als gevolg daarvan zullen meer receptoren op de neutrofiel een binding aangaan met de antistoffen en complementfragmenten op het micro-organisme, en vindt volledige omsluiting van het deeltje plaats. Uiteindelijk versmelten de uitlopers met elkaar en heeft zich een gesloten pakketje (fagosoom) om het gefagocyteerde micro-organisme gevormd waarvan de wand bestaat uit een stukje van het oorspronkelijke plasmamembraan (6).

Bij het proces van degranulatie versmelten de membranen van de granula met dit fagosomale membraan. Hierdoor komt de inhoud van deze granula vrij in het fagosoom en bewerkstelligt daar de afbraak van microbiële componenten. Neutrofielen bevatten, zoals eerder vermeld, tenminste twee soorten granula: azurofiële en specifieke (tabel 1). Azurofiële granula lijken op lysosomen in andere celtypen, want ze bevatten zure hydrolasen, met een laag pH optimum. Ook bevatten deze granula myeloperoxydase, een enzym dat de omzetting van waterstofperoxyde (H₂O₂) en chloride-ionen in hypochloorzuur (HOCl) katalyseert. HOCl is zeer toxisch voor veel micro-organismen, maar is erg instabiel. Het kan echter met primaire en secundaire aminen reageren tot N-chloraminen, waarvan sommige stabiel en sterk microbicide zijn. Verder bevatten azurofiële granula een aantal serine proteasen, een grote hoeveelheid defensinen (kleine peptiden met een breed spectrum aan bactericide activiteit) en het eiwit "bactericidal permeability increasing protein" (BPI), een potent antibioticum tegen gram-negatieve bacteriën (7).

Tabel 1. Inhoud van neutrofiele granula

Azurofiele granula	Specifieke granula	Secretoire blaasjes
<i>Serine proteasen</i> elastase cathepsine G proteïnase 3 p29b (=AGP7)		
<i>Zure hydrolasen</i> β-glucuronidase β-glycerofosfatase N-acetyl-β-glucosaminidase α-mannosidase cathepsine-B cathepsine-D		
<i>Metalloproteasen</i>	collagenase gelatinase	
<i>Andere eiwitten</i> myeloperoxydase lysozym azurocidine defensinen bactericidal permeability-increasing protein	neutraal α-glucosidase lysozym histaminase lactoferrine vitamine B12-bindend eiwit γ-glutamyltransferase adenosine-difosfatase	albumine tetraneactine
<i>Membraaneiwwitten</i> glycoproteïne 53 (CD63)	aminopeptidase N (CD13) LFA-1 (CD11a/CD18) CR3 (CD11b/CD18) p150,95 (CD11c/CD18) tyrosine fosfatase (CD45) CEA-6 (CD66b) cytochroom <i>b558</i>	aminopeptidase N (CD13) LFA-1 (CD11a/CD18) CR3 (CD11b/CD18) p150,95 (CD11c/CD18) tyrosine fosfatase (CD45) CEA-6 (CD66b) cytochroom <i>b558</i> FcγRIIIb neutraal endopeptidase (CD10) alkalische fosfatase

In de specifieke granula bevinden zich lactoferrine, een ijzerbindend en daarom bacteriostatisch eiwit, vitamine-B12-bindend eiwit en de metalloproteasen collagenase en gelatinase (7). Deze enzymen hebben een belangrijke functie tijdens ontstekingsreacties doordat zij extracellulaire matrixcomponenten kunnen afbreken. Tijdens passage van neutrofielen door de vaatwand vindt fusie van deze granula met de neutrofielenmembraan plaats. Vaak is gesuggereerd dat dit meehelpt bij het creëren van openingen tussen de endotheelcellen, maar dit idee is waarschijnlijk onjuist: wanneer deze fusie verhinderd wordt treedt (in vitro) ongestoorde transmigratie door een endotheelcellaag op (8). Het enzym lysozym, dat bepaalde peptidoglycanen van gram-positieve bacteriën hydrolyseert, is aanwezig in zowel azurofiele als specifieke granula van neutrofielen.

Neutrofielen bevatten nog een derde type "korrels", eigenlijk meer blaasjes (secretory vesicles), waarin zich een nog niet goed onderzochte verzameling eiwitten bevindt, waaronder FcγRIIIb, CD10 (neutraal endopeptidase), CD13 (aminopeptidase N), de β₂ integrinen LFA-1, CR3 en p150,95, CD45 (tyrosine fosfatase), CD66b (carcinoembryogeen antigeen

nummer 6) en cytochroom *b558* (de superoxyde-genererende component van het NADPH oxydase) (tabel 1). Dit zijn allemaal membraan-gebonden eiwitten die - behalve CD10 en FcγRIIIb - ook in de membraan van de specifieke granula voorkomen. Secretory vesicles fuseren zeer gemakkelijk met het plasmamembraan: zelfs celzuivering induceert deze fusie al (9). Mogelijk dient dit proces voor een snelle opregulatie van de genoemde eiwitten op het buitenmembraan. Gezien het feit dat deze blaasjes ook (oplosbaar) albumine bevatten, dat alleen via pinocytose van buitenaf daarin terecht gekomen kan zijn, moet aangenomen worden dat er "routing" van de secretory vesicles bestaat tussen Golgi-apparaat en buitenmembraan.

Het NADPH oxydase enzym bestaat uit het membraangebonden cytochroom *b₅₅₈* en uit een aantal cytosolische "regeleiwwitten". Cytochroom *b₅₅₈* is een flavocytochroom dat electronen van NADPH accepteert aan de cytosolische kant van het plasmamembraan of fagosomale membraan en deze doorgeeft aan zuurstof aan de andere zijde van deze membranen (10). Op deze wijze wordt superoxide gegeneerd, een univalent gereduceerd zuurstofradicaal.

Deze reactie vindt echter alleen plaats als het NADPH oxydase geactiveerd is, d.w.z. als de cytosolische regeleiwitten verhuisd zijn naar het membraan en een complex hebben gevormd met het cytochroom. Deze complexvorming induceert een conformatieverandering in het cytochroom die NADPH binding mogelijk maakt. Ook deze activatie wordt op gang gezet door binding van liganden aan membraanreceptoren op de neutrofiel, maar wordt na enige tijd ook weer ongedaan gemaakt zodat excessieve vorming van superoxyde wordt voorkomen. Superoxyde zelf is niet erg reactief, maar hieruit kunnen gemakkelijk waterstofperoxyde en andere agressieve zuurstofcomponenten ontstaan. In het fagosoom bevorderen deze reagentia de dood van de gefagocyteerde micro-organismen, maar buiten de neutrofiel kunnen zij aanleiding geven tot weefsel schade.

De intracellulaire processen die resulteren in "aanzetten" van het NADPH oxydase enzym en in het starten van de degranulatie zijn zeer gecompliceerd en slechts ten dele ontrafeld. Na binding van IgG antistoffen in een complex aan Fc γ receptoren, C3b aan CR1, C3bi aan CR3 of chemotaxinen (in hoge concentraties) aan hun specifieke receptoren, treedt een serie intracellulaire reacties op die leiden tot verhoging van de concentratie vrije calciumionen, activatie van GTP-bindende eiwitten, activatie van fosfolipasen en eiwitkinasen, fosforylering van eiwitten en veranderingen in het cytoskelet. Per receptor-ligand paar verschillen deze reacties en worden specifieke celfuncties in verschillende mate geactiveerd. Bovendien kunnen deze reacties nog gepotentieerd worden door voorafgaand contact van de neutrofiel met zogenaamde "priming agents", die op zich deze functies niet aanzetten, maar wel de reactie op een daaropvolgende stimulus sterk kunnen verhogen. Fysiologische priming agents zijn TNF, PAF en endotoxine, die ook de expressie en de activiteit van membraanreceptoren kunnen verhogen en chemotaxie kunnen induceren.

De biologische betekenis van het microbicide apparaat van neutrofielen kan weer goed geïllustreerd worden aan de gevolgen van het falen van deze systemen. Patiënten met chronische granulomateuze ziekte (CGD), die geen superoxyde kunnen genereren, lijden vanaf hun vroege jeugd aan zeer ernstige infecties van de longen, huid, onderhuids weefsel, lymfklieren, lever en botten met katalase-positieve bacteriën (katalase-negatieve bacteriën scheiden zelf enig waterstofperoxyde uit dat gebruikt wordt voor het doden van deze bacteriën in de fagosomen van CGD neutrofielen) (11). Patiënten met een deficiëntie van de specifieke granula (een zeer zeldzame afwijking) lijden aan recidiverende infecties met allerlei bacteriën. Patiënten met het syndroom van Chediak-Higashi worden gekenmerkt door partieel albinisme, neutropenie en recidiverende infecties met pusvormende micro-organismen. De neutrofielen (en vele andere cellen) van deze patiënten bevatten reuze-granula, bestaande uit geaggregeerde azurofiele granula. Als gevolg hiervan zijn deze neutrofielen minder beweeglijk en laten de inhoud van hun azurofiele granula niet los bij fagocytose (12).

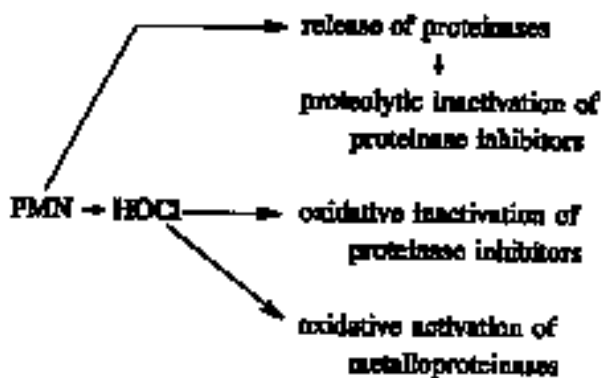
Ontstekingsreacties

Neutrofielen spelen een belangrijke rol in ontstekingsreacties, zowel bij het verwijderen van micro-organismen, oude en beschadigde cellen als bij de productie van ontstekingsmediatoren (chemotactische peptiden, cytokinen, leukotriënen en andere lipidemediatoren). Bovendien veroorzaken neutrofielen ook weefsel schade. Dit laatste is een noodzakelijk kwaad, bedoeld om vreemd materiaal uit de weefsels te verwijderen. Onder normale omstandigheden zal de invasie van neutrofielen (en andere fagocyten) stoppen zodra de ontstekingsverwekker is verwijderd, waarna weefselherstel zal volgen. Echter, als de neutrofielen-influx niet stopt, zoals in chronisch ontstoken gebieden, kunnen de weefsels permanent beschadigd worden.

Plasma en weefselvloeistoffen bevatten grote hoeveelheden proteaseremmers, zoals serineproteaseremmers (serpins) en α_2 -macroglobuline. De bekendste serpins zijn α_1 -antitrypsine, α_1 -antichymotrypsine en plasminogeenactivator-remmer. Deze remmers blokkeren zeer efficiënt de activiteit van serineproteasen uit neutrofielen, maar ook van het complementsysteem, het kallikreïnesysteem, de bloedstolling en de fibrinolyse, zodat onder normale omstandigheden deze systemen goed gereguleerd worden. Tijdens neutrofielenactivatie worden echter grote hoeveelheden reactieve zuurstofproducten gegenereerd die deze remmers kunnen inactiveren. Ook elastase, uit de azurofiele granula van de neutrofielen, kan veel van deze weefselbeschermende serpins inactiveren. Bovendien worden de metalloproteasen collagenase en gelatinase door de neutrofielen uitgescheiden als inactieve precursors, maar geactiveerd door deze reactieve zuurstofproducten (13).

We hebben dus de volgende situatie: oxydatieve producten van neutrofielen zijn ofwel kortlevend (HOCl) of - nog belangrijker - ze werken zeer specifiek door methionineresiduen in alle eiwitten te oxyderen. Zulke oxydantia zullen snel onschadelijk gemaakt worden door albumine of andere eiwitten die de neutrofiel omringen. Anderzijds zijn de proteasen uit de neutrofiel ook betrekkelijk ongevaarlijk omdat ze ofwel uitgescheiden worden als inactieve precursors (metalloproteasen) ofwel snel geïnactiveerd worden door de serpins in de extracellulaire vloeistof. Zuurstofproducten en proteasen tezamen treden echter synergistisch op en worden dan hoogst toxisch voor de omringende weefsels (13). Dit is schematisch weergegeven in figuur 3.

Bekende niet-infectieuze condities waarbij neutrofieleninfiltraties optreden zijn jicht, reumatoïde arthritis, autoimmuun vasculitis en sommige vormen van glomerulonefritis (14). Bij deze ziektebeelden genereren de neutrofielen waarschijnlijk zelf neutrofiel-specifieke chemotactische factoren. Weefselbeschadiging bij deze ontstekingsreacties wordt tenminste deels veroorzaakt door producten van neutrofielen. Ook bij sommige ontstekingsreacties in de long zijn neutrofielen betrokken. Adult respiratory distress syndrome (ARDS) kan zich ontwikkelen in combinatie met - of als gevolg van - pulmonaire afzuiging, diffuse intra-



Figuur 3. Schematische voorstelling van de synergistische werking van reactieve zuurstofproducten en neutrofiële proteasen. Proteaseremmers worden geïnactiveerd en metalloproteasen worden geactiveerd door reactieve zuurstofproducten gegenereerd door geactiveerde neutrofielen. Hierdoor krijgen de neutrofiële proteasen de kans zich tegen de weefselbestanddelen van de gastheer te richten.

vasale stolling, ernstige longontsteking, hypertransfusie of sepsis (14). Ontstekingsmediatoren die onder deze condities gegenereerd worden kunnen intravasculaire aggregatie van neutrofielen veroorzaken, hetgeen kan leiden tot obstructie van longcapillairen en lokaal vrijkomen van toxische mediators uit deze cellen. Effecten van TNF op longcellen kunnen ook een rol spelen bij ARDS en endotoxine shock. Longemfyseem wordt waarschijnlijk mede veroorzaakt door elastase uit neutrofielen. Ook in de late fase van acuut allergisch astma zijn infiltrerende neutrofielen (en vooral eosinofielen) betrokken bij het veroorzaken van weefsel schade.

Dus, hoewel neutrofielen een onmisbaar element vormen in onze immunologische afweer, zijn er ook condities waarbij de krachtige mediators van deze cellen zich tegen ons eigen lichaam kunnen keren. Therapeutisch afremmen van deze reacties is dan noodzakelijk, maar er moet voor gewaakt worden dat de anti-microbiële verdediging van de neutrofielen verstoord wordt.

Veel van mijn inzicht in neutrofielenfuncties is verworven uit waarnemingen verricht in samenwerking met mijn medewerkers op het Centraal Laboratorium van de Bloedtransfusiedienst. Ik bedank hen allen voor hun vakmanschap en enthousiaste inzet. Ik bedank ook de Universiteit van Amsterdam, NWO en de collectebusfondsen voor hun financiële ondersteuning van ons onderzoek.

Literatuur

1. Bainton DF. The cells of inflammation: A general view. In: *The Cell Biology of Inflammation*, Vol.2, ed. G. Weissmann. Amsterdam: Elsevier/North Holland 1980; 1-25.
2. Kuijpers TW, Roos D. Extravasation of leukocytes. *Behring Inst Mitt* 1993; 92: 107-137.
3. Springer TA, Thompson WS, Miller LJ, Schmalstieg FC, Anderson DC. Inherited deficiency of the Mac-1, LFA-1, p150,95 glycoprotein family and its molecular basis. *J Exp Med* 1984; 160: 1901-1908.

4. Huizinga TWJ, Roos D, Borne AEG Kr von dem. Neutrophil Fc γ -receptors: A two-way bridge in the immune system. *Blood* 1990; 75: 1211-1214.
5. Fijen CAP, Bredius RGM, Kuijper EJ, Out TA, Winkel JGJ van de, Dankert J. Polymorphisms of IgG receptors in meningococcal disease: risk marker in complement deficient patients. *Ann Intern Med* 1993; 119: 636.
6. Wright SD. Receptors for complement and the biology of phagocytosis. In: *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. Second edition. JI Gallin, IM Goldstein, R. Snyderman ed. Raven Press, New York, 1992; 477-495.
7. Henson PM, Henson JE, Fittschen C, Bratton DL, Riches DWH. Degranulation and secretion by phagocytic cells. In: *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. Second edition. JI Gallin, IM Goldstein, R. Snyderman ed. Raven Press, New York, 1992; 511-539.
8. Kuijpers TW, Hoogerwerf M, Roos D. Neutrophil migration across monolayers of resting or cytokine-activated endothelial cells. Role of intracellular calcium changes and fusion of specific granules with the plasma membrane. *J Immunol* 1992; 148: 72-77.
9. Kuijpers TW, Tool ATJ, Schoot CE van der, Ginsel LA, Onderwater JJM, Roos D, Verhoeven AJ. Membrane surface antigen expression on neutrophils: A reappraisal of the use of surface markers for neutrophil activation. *Blood* 1991; 78: 1105-1111.
10. Segal AW, West I, Wientjes F, Nugent JHA, Chavan AJ, Haley B et al. Cytochrome *b-245* is a flavocytochrome containing FAD and the NADPH binding site of the microbicidal oxidase of phagocytes. *Biochem J* 1992; 284: 781-788.
11. Roos D. The genetic basis of chronic granulomatous disease. *Immunol Rev* 1994; 138: 121-157.
12. Gallin JI. Disorders of phagocytic cells. In: *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. Second edition. Gallin JI, IM Goldstein, R. Snyderman ed. Raven Press, New York, 1992; 859-874.
13. Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med* 1989; 320: 365-376.
14. Malech HL, Gallin JI. Neutrophils in human diseases. *N Engl J Med* 1987; 317: 687-694.

Summary

Neutrophils and inflammation. Roos D. Ned Tijdschr Klin Chem 1995; 20: 76-81.

Neutrophilic granulocytes (neutrophils) are white blood cells that ingest (phagocytose) and kill microorganisms in the tissues. For this purpose, neutrophils are able to move in the body to the site of an infection, bind microorganisms to receptor proteins on their surface, ingest these bound microorganisms into a separate compartment (phagosome) within the neutrophil, and release toxic proteins and oxygen products into this phagosome. The importance of this "non-specific" line of the immunological defense is clearly demonstrated by the life-threatening infections taking place in patients with a serious shortage of neutrophils or with dysfunctional neutrophils. During chronic inflammations, this defense may harm our own tissues. Under these conditions, the toxic components of the neutrophil may be released outside these cells and then lead to irreversible tissue damage. Therapeutic intervention with anti-inflammatory drugs is then indicated. In the past twenty-five years, our knowledge about function and failure of neutrophils has expanded enormously. This article presents a short overview of these insights.

Key-words: neutrophil; chemotaxis; phagocytosis; bacterial killing; neutrophil granules; inflammatory mediators; reactive oxygen species; proteases; metalloproteases.