

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20180141

慢性痛风石发生机制研究进展

李 青, 易 婷, 青玉凤*

川北医学院附属医院风湿免疫科, 南充 637000

〔摘要〕 痛风石可导致关节活动受限、关节畸形。尿酸盐溶解度、离子浓度、结缔组织中因子和蛋白、中性粒细胞胞外网状陷阱等因素与尿酸钠(MSU)结晶的形成、增大密切相关。其中,尿酸盐浓度升高是唯一确定的 MSU 结晶形成的关键因素。

〔关键词〕 痛风石;发生机制;中性粒细胞胞外网状陷阱

〔中图分类号〕 R 589.7 〔文献标志码〕 A

Research progress on pathogenesis of chronic gouty tophus

LI Qing, YI Ting, QING Yu-feng*

Department of Rheumatology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China

〔Abstract〕 Gouty tophus contributed to joint activity limitation and deformation in patients. The urate solubility, concentration of ions, connective tissue proteins, and neutrophil extracellular traps factors all have relationship with the nucleation and growth of monosodium urate (MSU) crystal, among which, the increase of urate concentration is the only identified factor for the MSU crystallization.

〔Key Words〕 gouty tophus; pathogenesis; neutrophil extracellular traps

痛风石是痛风慢性期的特征性改变,是一种由尿酸钠(monosodium urate, MSU)晶体沉积引起的慢性异物肉芽肿反应,通常在痛风首次发作后的3~8年发生^[1-2]。痛风石不仅可以造成局部骨质缺损、关节畸形,还可能使患者产生自卑、尴尬等不良情绪,影响患者的日常生活和工作效率^[3-4]。痛风石的形成机制目前尚不明确。本文对痛风石发生机制的研究进展作一综述。

1 痛风石的组成

痛风石在显微镜下表现为一种慢性肉芽肿性病变。其中心是 MSU 晶体,周围围绕着单核和多核巨噬细胞,外层由致密的结缔组织包裹。组成痛风石的蛋白质成分包括与适应性免疫相关的蛋白质,如免疫球蛋白和补体因子、炎症蛋白、结缔组织和基质蛋白、载脂蛋白和组蛋白等^[1]。痛风石还可表达多种炎性因子,如白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 、转化生长因子- β 、髓系相关蛋白-

8 和髓系相关蛋白-14 等^[2-4]。痛风石形成的核心是体内 MSU 晶体沉积。MSU 晶体形成须 3 个关键步骤:(1)尿酸盐溶解度降低,即尿酸盐溶液过饱和导致晶体析出;(2)晶体成核,即在溶液过饱和之前形成稳定的尿酸盐分子簇作为结晶中心;(3)晶体生长,即尿酸盐分子簇稳定后晶体持续增大^[5]。

2 痛风石的发生机制

2.1 尿酸盐溶液中各离子浓度的影响 MSU 晶体的形成受到尿酸盐溶解度的影响,其基础是溶液中存在过量的尿酸盐离子。尿酸盐的溶解度除受溶液中尿酸盐离子的影响外,还受溶液中 Na⁺、K⁺、Mg²⁺、NH⁴⁺、Ca²⁺、Cu²⁺ 等阳离子的影响。这些离子均可使尿酸盐的溶解度出现不同程度的降低,但其具体机制尚不清楚,推测这些离子可能通过改变溶液的 pH 值来影响尿酸盐的溶解度^[6-7]。但是,目前有关离子浓度对尿酸盐溶解度影响的针对性报道甚少。

〔收稿日期〕 2018-02-06 〔接受日期〕 2018-03-11

〔基金项目〕 四川省科技厅青年基金(2016JQ0053),国家重点研发计划“精准医学研究专项”(2016YFC0903503),中华医学会燎原计划项目(LYJH-284). Supported by Sichuan Science and Technology Department Youth Fund (2016JQ0053), National Key Research and Development Program “Precision Medicine Research Project” (2016YFC0903503), and Chinese Medical Association “Praire Fire” Project (LYJH-284).

〔作者简介〕 李 青,硕士生. E-mail: 425812283@qq.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0817-2262075; E-mail: qingyufengqq@163.com

溶液中离子的浓度除影响尿酸盐溶解度外,对 MSU 晶体成核的作用也不容忽视。在体外实验中,随着尿酸盐浓度的升高,MSU 晶体成核越多;同时,提高溶液中 Na^+ 的浓度也可促进 MSU 晶体成核^[7-8]。在生理条件下, K^+ 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} 对 MSU 晶体成核有较小的抑制作用,而 Ca^{2+} 对 MSU 晶体成核没有影响;当 Ca^{2+} 浓度过高时,形成的往往是尿酸钙晶体而非 MSU 晶体^[7]。

MSU 晶体的生长速率取决于尿酸盐离子的浓度^[9]。研究^[8]发现,在温度和尿酸盐浓度保持恒定时,晶体长度与时间呈线性关系;当尿酸盐浓度升高时,晶体生长速率随之加快。该研究进一步在生理 pH 值、温度、 Na^+ 浓度下发现,尿酸盐离子浓度小于 4 mmol/L 时,MSU 晶体出现溶解现象;尿酸盐离子浓度为 4 mmol/L 时,晶体保持稳定;尿酸盐离子浓度为 4~8 mmol/L 时,晶体持续生长^[8]。

2.2 环境温度 在生理温度和 Na^{2+} 浓度条件下,MSU 晶体的溶解度为 0.68 mg/L;当温度从 37℃ 降为 35℃ 时,尿酸盐的溶解度即从 0.68 mg/L 降低到 0.6 mg/L;温度低于 25℃ 时,MSU 在血浆中的溶解度迅速降至原来的 1/4^[10]。而人体许多外周组织和关节温度低于 37℃,即使在正常尿酸浓度下,这些部位血浆中的 MSU 也可能长期处于过饱和状态。痛风石常发生在四肢、耳廓等部位可能与此有关。尽管血浆局部过饱和与尿酸盐沉积有关,但在健康人中很少发生,因此痛风患者尿酸盐沉积的机制还有待进一步研究。对于升高局部温度能否促进尿酸盐结晶的吸收,从而达到消除痛风石的目的,还有待进一步研究。

2.3 尿酸盐溶液的酸碱度 在生理 pH 值状态下,MSU 结晶的主要组成成分是尿酸盐离子。尿酸盐溶解度在 pH 值 ≤ 6 或 ≥ 10 时最大,在 pH 值为 7~8 时最小^[10]。这可能与不同 pH 值条件下尿酸存在的形式不同有关:在 37℃ 溶液中,当 pH 值较低时是以尿酸为主;在较高 pH 值时,以尿酸盐离子为主。另一项研究^[11]发现,在 37℃ 过饱和溶液中,pH 值 < 5.62 时,尿酸的浓度最高;pH 值为 5.62 时,尿酸盐离子的浓度最高;pH 值接近 9 时,尿酸盐离子开始转变为重尿酸盐离子。因此,通过改变尿酸盐溶液的酸碱度,可以对 MSU 结晶产生影响,微碱性环境促进痛风石的形成。

2.4 结缔组织因子与蛋白质 在体外实验中,改变软骨、滑液和血清中尿酸盐的溶解度可以影响

MSU 晶体的形成。Katz 等^[12]通过比较牛心、肝、脑、肾、鼻软骨组织匀浆发现,鼻软骨丙酮匀浆能显著提高尿酸盐的溶解度。软骨中蛋白质多糖结构的完整性对尿酸盐溶解度的影响至关重要,经酶处理后的非聚集蛋白聚糖则不能改变其溶解度^[13]。健康人群尿液中尿酸盐的溶解度比滑液和血液高;而对血浆进行透析后,尿酸盐溶解度降低,表明血浆中可能存在可以提高尿酸盐溶解度的大分子^[14]。这种分子可能是人血清白蛋白,但 Perl-Treves 等^[15]发现这仅出现在白蛋白浓度较低的情况下,且其引起尿酸盐溶解度的改变还与 pH 值有关。因此,白蛋白在尿酸盐结晶过程中的作用仍有待进一步研究。在骨关节炎、类风湿性关节炎、痛风患者中,尿酸盐在血浆中的溶解度均大于滑液,其中痛风患者的该差值最小^[16]。此外,还有研究^[10]发现,与类风湿关节炎患者的滑液相比,痛风患者的滑液能使尿酸盐的溶解度出现更大程度地降低。

在体内,MSU 晶体主要沉积在软骨表面。在高尿酸状态下,痛风患者的关节滑液可以作为启动因素启动 MSU 晶体成核。分别将健康对照者、痛风性关节炎、类风湿关节炎患者的滑液加入过饱和的 MSU 溶液中,发现痛风性关节炎患者的滑液可以增加 MSU 晶体的质量,并缩短其形成时间^[17]。特异性的尿酸结合抗体也可促进 MSU 晶体的成核。从注射 MSU 晶体的家兔血清中分离 IgG 抗体,加入过饱和的 MSU 溶液中,可显著增加 MSU 的成核,而注射其他类型晶体没有得出相似结果,表明抗体结合位点和 MSU 晶体表面结合的特异性很高,尿酸结合抗体可以作为 MSU 结晶成核的模板^[10,18]。同样,从痛风患者的关节液中分离出的 IgG 抗体能促进 MSU 晶体的形成^[19]。由此可见,MSU 晶体的形成与体液免疫有关。此外,低浓度的血清、人和牛血清白蛋白及球蛋白(特别是 γ 球蛋白)、I 型胶原都可不同程度促进 MSU 成核^[5,20]。

2.5 中性粒细胞胞外网状陷阱 (neutrophil extracellular traps, NETs) NETs 是 2004 年由 Brinkmann 等^[21]提出的不同于以往中性粒细胞杀灭病原菌的防御机制。中性粒细胞被病原菌激活后,细胞核与胞质中的染色质伸展、解凝聚,胞质中的颗粒溶解,继而质膜结构破坏、核膜崩解,颗粒蛋白与核酸混合后被释放到细胞外,形成以自身 DNA 和组蛋白为骨架,并有中性粒细胞各级颗粒中杀菌物质附着的网状结构,即为 NETs。杀菌物质包括

一级颗粒髓过氧化物酶、弹性蛋白酶等,二级颗粒乳铁蛋白酶、抗菌肽等,以及成熟后期形成的三级颗粒基质金属蛋白酶-9、肽聚糖识别蛋白等^[22]。中性粒细胞在杀灭病原菌的过程中同时伴有自身的凋亡,这个过程称为 NETosis。NETosis 的形成继发于细胞自噬和过氧化物的产生,弹力蛋白酶移位到细胞核降解特定的组蛋白,与髓过氧化物酶、自噬装置、超氧化物等促进染色质的解聚及 DNA 的释放过程^[23]。

痛风石的形成与 NETs 存在相关性。痛风石的组成成分与 NETs 的部分成分相同,包括中性粒细胞弹性蛋白酶、髓过氧化物酶、抗菌肽等^[24-25]。高尿酸血症患者的关节滑液中中性粒细胞受到 MSU 晶体的刺激而促进 NETs 的形成;这个过程是由白细胞介素-1 β 信号驱动的,同时还需要磷酸肌醇 3-激酶信号传导^[26]。痛风石的形成可以看作是机体抑制炎症反应的自我调节机制,表现为痛风急性发作前的一段时间内无症状。痛风患者急性炎症发作时,NETs 可通过丝氨酸蛋白酶降解白细胞介素-1 β 、白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 和单核细胞趋化蛋白-1 等细胞因子和趋化因子,抑制 MSU 晶体诱导的炎症反应^[27]。在炎症发生部位,MSU 晶体沉积在滑膜并触发滑膜细胞释放活性氧和活性氮,从而导致细胞死亡^[28]。滑膜内的坏死细胞进一步激活免疫反应,大量固有免疫细胞如中性粒细胞和巨噬细胞进入滑膜,吞噬沉积的 MSU 晶体,导致 NETs 的形成;而随着募集到 MSU 沉积位点的中性粒细胞数目增加,NETs 不断增加,与 MSU 晶体直接接触形成聚集网,即 aggNETs^[29-30]。aggNETs 的形成是活跃的炎症反应下降的临界点。而 NETosis 受损的患者如慢性肉芽肿病或 NETosis 缺陷的动物模型中,MSU 晶体会导致炎症加剧^[27]。NETs 能减轻甚至控制炎症反应,这也可以为痛风炎症及部分以痛风石为首发症状的患者自行缓解提供理论支持。健康人体内的 NETs 能被脱氧核糖核酸酶-1(DNase-1)充分降解;而痛风患者可能 NETs 清除能力不足,MSU 结晶反复沉积持续诱导 NETosis 形成,加之巨噬细胞参与吞噬结晶体,从而导致炎症反应慢性化,促进痛风石的形成^[31]。综上所述,痛风石可以看做是含有大量胞外 DNA 和 MSU 晶体的 aggNETs,其中胞外 DNA 通过包裹 MSU 晶体来抑制 MSU 沉积带来的有害影响。此外,脊柱退行性疾病、组织坏死等因素也

可以触发 MSU 晶体的聚集,导致痛风石形成,且主要以中轴关节多见^[32]。

3 小 结

较低温度和微碱性环境是 MSU 结晶发生的适宜环境。尿酸结合抗体、球蛋白、胶原蛋白、人血清、滑膜液都能够促进 MSU 晶体成核。尿酸盐浓度升高是唯一确定的促 MSU 晶体生长因素。NETs 也与痛风石的形成密切相关。痛风石形成的机制复杂,NETs 以及结缔组织和蛋白质在 MSU 结晶过程中的具体作用可能是未来主要的研究方向。

参考文献

- [1] KANEKO K, IWAMOTO H, YASUDA M, et al. Proteomic analysis to examine the role of matrix proteins in a gouty tophus from a patient with recurrent gout [J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2014, 33 (4-6): 199-207.
- [2] DALBETH N, POOL B, GAMBLE G D, et al. Cellular characterization of the gouty tophus: a quantitative analysis [J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(5): 1549-1556.
- [3] LEE S J, NAM K I, JIN H M, et al. Bone destruction by receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-expressing T cells in chronic gouty arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*, 2011, 13(5): R164.
- [4] HOLZINGER D, NIPPE N, VOGL T, et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 contribute to monosodium urate monohydrate crystal-induced inflammation in gout [J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(5): 1327-1339.
- [5] PASCUAL E, ADDADI L, ANDRÉS M, et al. Mechanisms of crystal formation in gout—a structural approach [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2015, 11(12): 725-730.
- [6] PASCUAL E, MARTÍNEZ A, ORDÓÑEZ S. Gout: the mechanism of urate crystal nucleation and growth. A hypothesis based in facts [J]. *Joint Bone Spine*, 2013, 80(1): 1-4.
- [7] CHHANA A, LEE G, DALBETH N. Factors influencing the crystallization of monosodium urate: a systematic literature review [J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16: 296.
- [8] PERRIN C M, DOBISH M A, VAN KEUREN E, et al. Monosodium urate monohydrate crystallization [J]. *Cryst Eng Comm*, 2011, 13(4): 1111-1117.
- [9] OLIVIERO F, SCANU A, PUNZI L. Metabolism of crystals within the joint [J]. *Reumatismo*, 2012, 63(4): 221-229.
- [10] MARTILLO M A, NAZZAL L, CRITTENDEN D B. The crystallization of monosodium urate [J]. *Curr Rheumatol*

- Rep, 2014, 16(2): 400.
- [11] ERWIN C Y L, NANCOLLAS G H. The crystallization and dissolution of sodium urate[J]. J Cryst Growth, 1981, 53(1): 215-223.
- [12] KATZ W A, SCHUBERT M. The interaction of monosodium urate with connective tissue components[J]. J Clin Invest, 1970, 49(10): 1783-1789.
- [13] PERRICONE E, BRANDT K D. Enhancement of urate solubility by connective tissue. I. Effect of proteoglycan aggregates and buffer cation[J]. Arthritis Rheum, 1978, 21(4): 453-460.
- [14] KIPPEN I, KLINENBERG J R, WEINBERGER A, et al. Factors affecting urate solubility in vitro[J]. Ann Rheum Dis, 1974, 33(4): 313-317.
- [15] PERL-TREVES D, ADDADI L. A structural approach to pathological crystallizations. Gout: the possible role of albumin in sodium urate crystallization[J]. Proc R Soc Lond B Biol Sci, 1988, 235(1279): 145-159.
- [16] DORNER R W, WEISS T D, BALDASSARE A R, et al. Plasma and synovial fluid as solvents for monosodium urate[J]. Ann Rheum Dis, 1981, 40(1): 70-74.
- [17] SWAN A, AMER H, DIEPPE P. The value of synovial fluid assays in the diagnosis of joint disease: a literature survey[J]. Ann Rheum Dis, 2002, 61(6): 493-498.
- [18] KANEVETS U, SHARMA K, DRESSER K, et al. A role of IgM antibodies in monosodium urate crystal formation and associated adjuvanticity[J]. J Immunol, 2009, 182(4): 1912-1918.
- [19] YOKOSE C, CHEN M, BERHANU A, et al. Gout and osteoarthritis: associations, pathophysiology, and therapeutic implications[J]. Curr Rheumatol Rep, 2016, 18(10): 65.
- [20] KANEKO K, MARU M. Determination of urate crystal formation using flow cytometry and microarea X-ray diffractometry[J]. Anal Biochem, 2000, 281(1): 9-14.
- [21] BRINKMANN V, REICHARD U, GOOSMANN C, et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria[J]. Science, 2004, 303(5663): 1532-1535.
- [22] BRINKMANN V, ZYCHLINSKY A. Beneficial suicide: why neutrophils die to make NETs[J]. Nat Rev Microbiol, 2007, 5(8): 577-582.
- [23] REMIJSEN Q, VANDEN BERGHE T, WIRAWAN E, et al. Neutrophil extracellular trap cell death requires both autophagy and superoxide generation[J]. Cell Res, 2011, 21(2): 290-304.
- [24] MANGER B, LELL M, WACKER J, et al. Detection of periarticular urate deposits with dual energy CT in patients with acute gouty arthritis[J]. Ann. Rheum Dis, 2012, 71(3): 470-472.
- [25] SCHORN C, JANKO C, KRENN V, et al. Bonding the foe- NETting neutrophils immobilize the pro-inflammatory monosodium urate crystals[J]. Front Immunol, 2012, 3: 376.
- [26] MITROULIS I, KAMBAS K, CHRYSANTHOPOULOU A, et al. Neutrophil extracellular trap formation is associated with IL-1 β and autophagy-related signaling in gout[J]. Plos One, 2011, 6(12): e29318.
- [27] SCHAUER C, JANKO C, MUNOZ L E, et al. Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines[J]. Nat Med, 2014, 20(5): 511-517.
- [28] ZAMUDIO-CUEVAS Y, MARTÍNEZ-FLORES K, FERNÁNDEZ-TORRES J, et al. Monosodium urate crystals induce oxidative stress in human synoviocytes[J]. Arthritis Res Ther, 2016, 18(1): 117.
- [29] VANDEN BERGHE T, LINKERMANN A, JOUAN-LANHOUE S. Regulated necrosis: the expanding network of non-apoptotic cell death pathways[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(2): 135-147.
- [30] SCHETT G, SCHAUER C, HOFFMANN M, et al. Why does the gout attack stop? A roadmap for the immune pathogenesis of gout[J]. RMD Open, 2015, 1(Suppl 1): e000046.
- [31] 熊洋洋, 李源杰, 曾学军. 痛风石的基础研究与临床诊治进展[J]. 基础医学与临床, 2016, 36(12): 1743-1746.
- [32] HASTURK A E, BASMACI M, CANBAY S, et al. Spinal gout tophus: a very rare cause of radiculopathy[J]. Eur Spine J, 2012, 21(Suppl 4): S400-S403.