

〈特集：ゲノム解析で見つかったProtein Markerの意義
—PTX3は新たな炎症マーカーとして認知されるか—〉

好中球とPTX3

内藤 眞、Alexander S. Savchenko、井上 聡

Neutrophils and pentraxin 3

Makoto Naito, Alexander S. Savchenko and Akira Inoue

Summary Pentraxin 3 (PTX3) is the first identified long pentraxin, and is rapidly produced and released by several cell types in response to proinflammatory signals. PTX3 protein was found to be present together with lactoferrin⁺-specific granules localized in neutrophils.

Upon IL-8 stimulation, PTX3 is released from neutrophils and localized in neutrophil extracellular traps (NETs) formed by extruded DNA. Neutrophils in the colonic mucosal tissue of patients with ulcerative colitis were the main cellular source of PTX3 protein, the expression of which is correlated well with the histological grades of inflammation. The formation of NETs was confirmed within crypt abscess lesions. Neutrophils depleted of PTX3 protein were also observed, suggesting the release of PTX3 from neutrophils in crypt abscesses. PTX3 protein may contribute to the cell-mediated immune defense in inflamed colon tissue of patients with ulcerative colitis.

Key words: Pentraxin 3, Neutrophils, Neutrophil extracellular traps, Ulcerative colitis, Immunohistochemistry

I. はじめに

Pentraxin 3 (以下PTX3) は共通するC末端ドメイン (pentraxin domain) を有するsuperfamilyの一員であり、C-reactive protein (CRP) はshort PTXと称され、PTX3はlong PTXに属する。両者は炎症や免疫において重要な役割を担うが、CRPが肝臓で産生されるのに対し、PTX3は炎症局所においてinterleukin (IL)-1 β , tumor necrosis

factor- α (TNF- α)、Toll-like receptor (TLR)などの炎症性シグナルに応じてマクロファージ、樹状細胞、好中球、血管内皮細胞など種々の細胞から産生されることが知られている^{1,3)}。また、PTX3は増殖因子、細胞外基質や特定の病原体など種々のリガンドと相互作用し、補体の活性化、病原体の認識と貪食およびアポトーシス細胞の除去に関わる^{6,7)}。本稿では好中球におけるPTX3の局在と動態について筆者らの実験結果と潰瘍

新潟大学大学院医歯学総合研究科 細胞機能講座
分子細胞病理学分野
〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757

Division of Cellular and Molecular Pathology, Niigata
University Graduate School of Medical and Dental
Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku, Niigata 951-8510,
Japan

性大腸炎（ulcerative colitis）におけるPTX3発現に関する検討成績を中心に解説し、好中球におけるPTX3の意義について考察を加えたい。

Ⅱ. 好中球の形態と動態

好中球は骨髄の造血幹細胞に由来し、造血幹細胞は骨髄系幹細胞、骨髄芽球、前骨髄球、骨髄球、後骨髄球を経て桿状核球に分化し、末梢血へ放出される。血中で成熟すると核は分葉状で多核になる。成人の末梢血中には1マイクロリットル当たり2,000から7,500個程度の好中球が含まれ、成人の末梢血内には概ね10の10乗個の

オーダーの好中球が存在する。

ヒトの好中球は直径7-9 μ mで、核はクロマチンに富み、不規則に分葉する。分葉核は2-5個にわたるが、通常分葉核の間には細い糸状のつながりがある。成熟度が高くなると分葉数が増加する。電子顕微鏡で見ると好中球には3種類の顆粒が存在する（図1）。600-700nmでアズール色素に紫に染まる少数のアズール顆粒（1次顆粒）にはミエロペルオキシダーゼ、カテプシンG、エラスターゼ、プロテイナーゼ3、デフェンシンなどが含まれる。暗調球状で300-400nmの特殊顆粒は顆粒の大半を占め、2次顆粒とも呼ばれて、ラクトフェリン、リゾチーム、

表1 好中球顆粒内因子

分 類	アズール顆粒（一次顆粒）	特集顆粒（二次顆粒）	ゼラチナーゼ顆粒（三次顆粒）
CD	CD63, CD68	CD11b/CD18 CD11c/CD18 CD15, CD66, CD67	CD11b/CD18 CD11c/CD18 CD67
プロテアーゼ	エラスターゼ カテプシンG プロテアーゼ3	コラゲナーゼ ウロキナーゼ	アルギナーゼ1 ゼラチナーゼ
殺菌性タンパク	殺菌性・透過性亢進タンパク デフェンシン ミエロペルオキシダーゼ リゾチーム	ハプトグロビン ペントラキシン3 プロディフェンシン ラクトフェリン ラミニン リゾチーム	リゾチーム
その他	グルクロニダーゼ ホスホリパーゼA2 マンノシダーゼ	ホスホリパーゼA2 補体活性化因子	グルクロニダーゼ プラスミノーゲン活性化因子 マンノシダーゼ

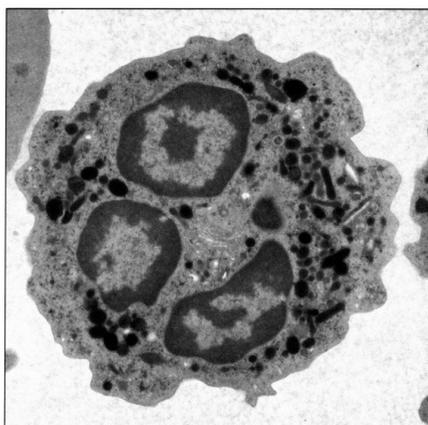


図1 好中球の透過電顕像。核は分葉状で多核であり、多数の顆粒を有している。大型顆粒はアズール顆粒（1次顆粒）、小型顆粒は特殊顆粒（2次顆粒）が主体である（X6,000）。

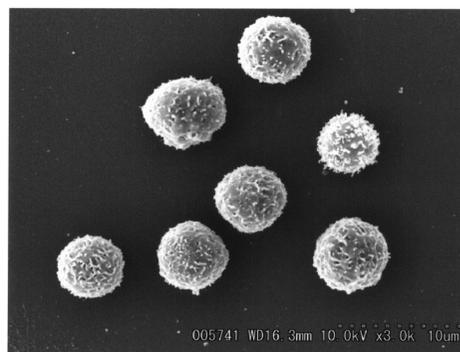


図2 好中球の走査電顕像。球形で、細胞表面から多数の突起が出ている（X2,000）。

コラゲナーゼ、チトクロームb558、カテリジンなどが含まれる。その他、3次顆粒（ゼラチナーゼ顆粒）にはゼラチナーゼ、リゾチーム、ロイコリジンが含まれている（表1）。走査電顕による観察では、正常好中球は表面に多数の突起を有する球体として観察される（図2）。

成人では血管壁や肝、脾などの組織にも末梢血内に匹敵する量の好中球が辺縁プールとして存在し、さらに骨髄には末梢血内の10倍から30倍もの貯留プールが存在し、生体内では数千億個の好中球が存在する。大きな貯留プールがある為、細菌感染時などには貯留プール内の好中球が動員され、末梢血内の好中球数は速やかに増加する。食事や運動、ストレスなどのわずか

な体の変化でも、その血流量の変化によって血管壁に滞留しているなどの辺縁プールに存在していた好中球が末梢血内に移動するため、好中球数は変化しやすい。好中球の生存期間は1-2日、概ね10~12時間程とされる⁸⁾。組織に侵入しない好中球のうち、1日あたり約10⁶個の好中球は尿中に排泄される。残りは、口腔、消化管粘膜、肝臓や脾臓で破壊されると推測されている。

Ⅲ. 好中球のレセプターとサイトカインの産生

好中球は自然免疫の中で重要な一員であり、エフェクター細胞として、また免疫調節細胞として機能する。好中球は炎症性サイトカインや

表2 好中球の発現するレセプター

レセプター分類	具体例
Toll-like レセプターと関連分子	TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, TLR8, TLR9, TLR10, CD14, MyD88, MD-2, TREM1
サイトカインレセプター	IFN α R1, IFN α R2, IFN γ R1, IFN γ R2, TNFR1, TNFR2, IL-1R, IL-4R, IL-6R, IL-10R, IL-12R, IL-17R, IL-18R, IL-21R, TGF β R2, GM-CSFR, G-CSFR, TRAIL
ケモカインレセプター*	CXCR1, CXCR2, CXCR4, CX3CR1, CCR1, CCR2, CCR3,
その他	C1qR, C3bR, FcR, fMLPR, LIR, scavenger receptor

CD: cluster of differentiation, fMLP: formyl-methionyl-leucyl-phenylalanin, G-GSF: granulocyte colony-stimulating factor, GM-CSF: granulocyte macrophage colony-stimulating factor, IFN: interferon, IL: interleukin, LI: immunoglobulin-like, MyD: myeloid differentiation primary response gene, TGF: transforming growth factor, TL: Toll-like, TNF: tumor necrosis factor, TRAIL: TNF-related apoptosis inducing ligand, TREM: triggering receptor expressed on myeloid cells.

*CXCR1/2/4は骨髄内および末梢血好中球で発現し、炎症局所に滲出すると減少する。

CCR1/2/3は末梢血好中球では発現しないが、浸潤好中球で発現する。

表3 好中球の生産するサイトカイン群

分類	具体例
炎症性サイトカイン	IFN α , IFN β , IFN γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, LT β , TNF α
抗炎症性サイトカイン	IL-1 receptor antagonist, LIF, TGF β
CXCケモカイン	CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11
CCケモカイン	CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL18, CCL20
成長因子	G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-3, SCF
増殖因子	CEMF, LDGF, HGF, TGF α , VEGF
その他	BAFF, FasL, GDF, Oncostatin M

BAFF: B cell activating factor, CEMF: corneal endothelium modulation factor, G-CSF: granulocyte colony-stimulating factor, GDF: granulocyte-derived factor, GM-CSF: granulocyte macrophage colony-stimulating factor, HGF: hepatocyte growth factor, IFN: interferon, LDGF: leukocyte-derived growth factor, LIF: leukocyte inhibitory factor, LT: lymphotoxin, M-CSF: macrophage colony-stimulating factor, SCF: stem cell factor, TGF: transforming growth factor, TNF: tumor necrosis factor, VEGF: vascular endothelial growth factor.

細菌・真菌類の成分に対し遊走性を示し、血中から血管外に遊走して組織内に移動し、炎症部に集積し、細菌・真菌等の異物の貪食・殺菌・分解を行い、生体を防御する。そのために、好中球は各種のToll-likeレセプター、サイトカインレセプター、ケモカインレセプターを発現し、炎症開始シグナルに直ちに反応する（表2）。また、活性化好中球はさまざまなサイトカインやケモカインを産生し、炎症反応の増幅や抑制に深く関与する（表3）。

IV. 好中球とアポトーシス

好中球は異物を貪食空胞（食胞: phagosome）内に貪食し、食胞はリソソーム顆粒と融合してphagolysosomeになり、リソソーム酵素は食胞内に放出され、酸素依存性、酸素非依存性の殺菌機構により、異物は消化される。食胞内では2つの出来事が起きる。まず、NADPH oxidaseが食胞の膜上で構成され、活性酸素を産生する。次に、顆粒と食胞が融合して抗菌性ペプチドや酵素を産生する。食胞内で病原体は高濃度の活性酸素や抗菌性ペプチドにさらされて殺菌され、その一方で殺菌した好中球はアポトーシスに陥り、細胞内の起炎性物質や免疫原性のある物質

を周囲へ漏出する前にマクロファージに貪食されて消滅するため炎症の収束に作用する。また、アポトーシスに陥った好中球は、時に新たに侵入した好中球によっても貪食、消化される。

好中球のアポトーシスを亢進する物質としてTNF- α やFas-抗体、抑制する物質としてGM-CSF, G-CSF, IL1- β 、IFN- γ などが知られている。好中球におけるアポトーシス関連分子としては、Bcl-2ファミリーやcaspaseがある。

その他、好中球の細胞死として壊死（ネクローシス: necrosis）もあり、この場合は死んだ細胞の内容が流出して炎症の増強に働く。

V. 好中球とneutrophil extracellular traps (NETs)

最近、新しい好中球の抗菌機構が報告された^{9,10)}。活性化好中球は分葉核の形態やクロマチンの分布が不明になり、次第に核膜が消失してクロマチン構造に細胞質、顆粒の成分が混在し、ついには細胞膜が破れて、網状の構造物（neutrophil extracellular traps [NETs]）を細胞外に放出する（図3）。この細胞質や顆粒の蛋白によって修飾された網状構造物はGram陽性、陰性細菌および真菌と結合する¹¹⁾。結果的にNETs形

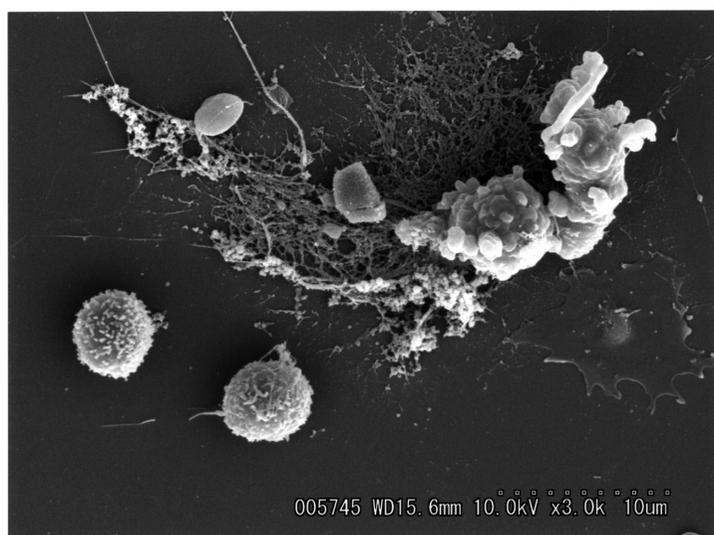


図3 IL-8で刺激した好中球からのNETs形成の走査電顕像。細胞は崩壊し、網状の構造（NETs）が形成されている。その網状構造に他の細胞が附着している。左下には2個の好中球がある（X3,000）。

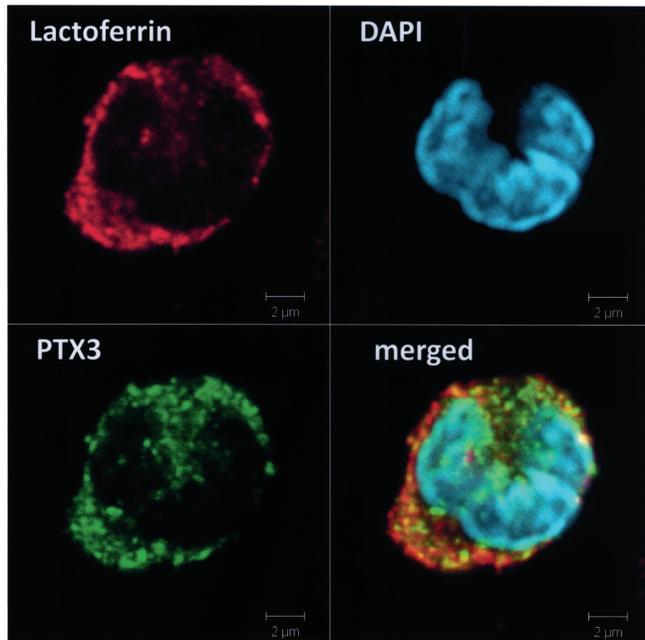


図 4 a 好中球の免疫多重染色。左上：lactoferrin (赤)、右上：Hoechstによる核 (DNA) 染色 (青)、左下：PTX3 (緑)、右下：merged (すべてを重ねた像)。PTX3とlactoferrinの局在が一致して黄色に見えることから、特殊顆粒に存在することがわかる (X3,000)。

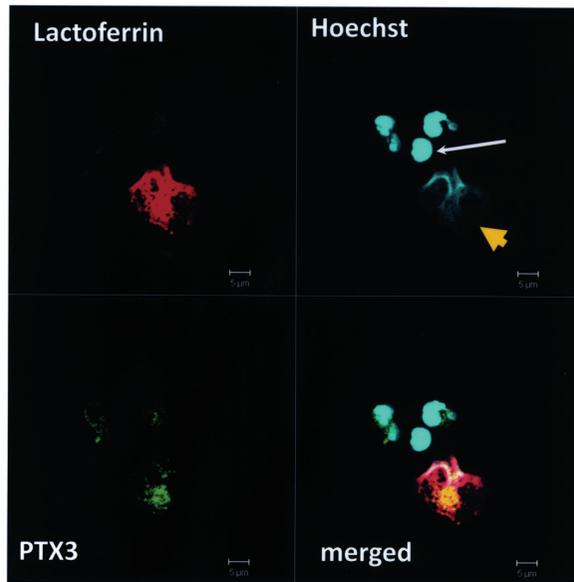


図 4 b IL-8で刺激した好中球の免疫多重染色。左上：lactoferrin (赤)、右上：Hoechstによる核染色 (青)、左下：PTX3 (緑)、右下：merged (すべてを重ねた像)。PTX3は不規則な形の網状構造を示すDNA染色部分 (矢頭) に局在することから、NETsに存在することがわかる。矢印は核が円形に変化した好中球 (X1,000)。

成によって微生物を効率的に殺す抗菌分子を局所に集めることになる。

NETs形成過程はNADPH oxidaseによって産生される活性酸素に依存することが慢性肉芽腫症(chronic granulomatous disease)¹²⁾の検討で明らかになった。慢性肉芽腫症はNADPH oxidaseの遺伝子異常によって惹起され、反復感染と日和見感染を特徴とするが、慢性肉芽腫症患者ではNETsが形成されない。つまり、感染において活性酸素は生きている好中球による食胞内殺菌と、死んだ好中球のNETs形成による殺菌の2段階に参与する。

VI. 好中球におけるPTX3の局在

PTX3は好中球に豊富に存在する。しかし、PTX3のmRNAは前骨髄球や骨髄球、後骨髄球など好中球の前駆細胞に発現するが、分葉した成熟好中球には発現しない⁴⁾。PTX3蛋白は前駆細胞にも成熟好中球にも発現していることから、PTX3は好中球前駆細胞の段階で産生されるが成熟すると産生能力は失われ、産生された蛋白が貯留していると言える。成熟好中球は静止状態でも刺激状態でもPTX3蛋白を発現する¹³⁾。免疫染色をして共焦点レーザー顕微鏡で観察すると、

PTX3は好中球の細胞質内に顆粒状に存在し、二重染色ではPTX3とlactoferrinの局在が一致する(図4a)ことから特殊顆粒(2次顆粒)に存在することが判明した。

PTX3は特殊顆粒とともに刺激により好中球から放出され、あるいはアポトーシスに伴って放出される。マクロファージはスカベンジャー受容体を介したコレステロールの取り込みと泡沫細胞への変態やLPSなどによる活性化によってPTX3を産生し、細胞質内に蓄積する¹⁴⁾が、好中球はマクロファージとは異なり、細胞内顆粒に含まれるPTX3を放出する。つまり、好中球はPTX3を顆粒内に貯蔵しているが、種々の刺激でそれを放出し、また、アポトーシスに陥った場合は崩壊した細胞片にPTX3が集簇すると考えられる(図5)。

VI. 潰瘍性大腸炎とPTX3

炎症性腸疾患は正常腸管内細菌叢の存在下で粘膜内免疫システムの不適切な活性化によって引き起こされる¹⁵⁻¹⁷⁾。潰瘍性大腸炎は好中球の浸潤を特徴とする原因不明の炎症性腸疾患の一つである。粘膜上皮の腺管内に好中球が集合する陰窩膿瘍は潰瘍性大腸炎で多発する所見であり、

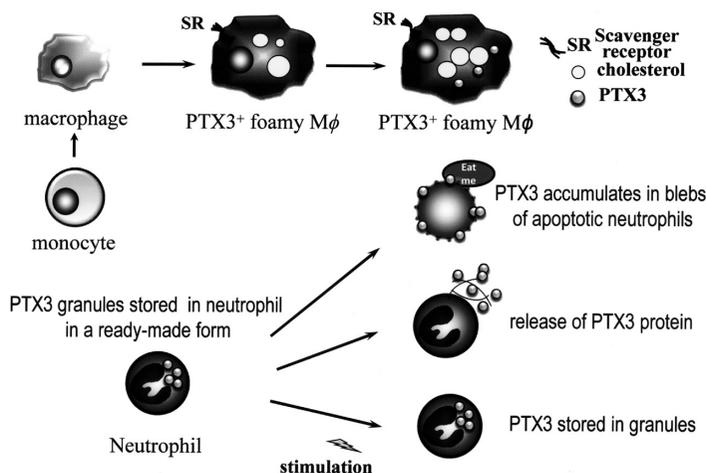


図5 好中球とマクロファージにおけるPTX3の局在。マクロファージはスカベンジャー受容体によってコレステロールを取り込むと泡沫細胞になると同時にPTX3を産生して細胞内に貯留する。好中球は刺激によって特殊顆粒内のPTX3を一部放出し、またアポトーシスに陥って細胞片に集積、附着する。

病理診断の鍵となる。KatoらのELISAによる潰瘍性大腸炎患者の血中濃度測定では活動性潰瘍性大腸炎患者では正常人や非活動性潰瘍性大腸炎患者に比べてPTX3レベルが高く、陰窩膿瘍の好中球にPTX3が発現することを示唆した¹⁸⁾。

われわれは潰瘍性大腸炎の炎症の重症度を組織学的に3段階に分類し、抗PTX3抗体や好中球やマクロファージに対する抗体を用いて免疫組織学的に検討した結果、潰瘍性大腸炎においては炎症の組織学的な重症度が高いほど好中球を主とするPTX3陽性細胞が増加し、PTX3の発現は炎症の程度を反映することが示された。腺上皮細胞間に侵入している好中球や、陰窩膿瘍内に存在する好中球にもPTX3の発現が観察された。病変粘膜内にマクロファージも増加するが、二重染色ではPTX3陽性細胞のほとんどが好中球で、一部がマクロファージであった(図6)。同時にDNA染色で潰瘍性大腸炎病変の陰窩膿瘍内の不整形の塊と円形の核を有する好中球も染めだされ、陰窩膿瘍内で好中球からNETsが形成されることが示唆された。

VIII. NETsとPTX3

好中球によるNETs形成の分子機構はよく分かっていない。好中球は分化を遂げた細胞であり、生存期間は短く、遺伝子発現レベルは低い¹⁰⁾。成熟好中球はIL-8、LPS、PMAなどの刺激をTLRやCXCRなどの受容体を介して受けとり、細胞死とNET形成のプログラムのスイッチが入る^{10,18,19)}。

IL-8を添加して好中球を培養し、蛍光染色や電子顕微鏡を用いて観察すると、特殊顆粒内に局在するPTX3は炎症刺激によって細胞外に放出

された。また、IL-8で刺激されると分葉核が類円形に変形し、PTX3陰性になる好中球が増加した。核のDNAを染めるとアポトーシスに陥った好中球も見られたが、NETsとみなされる網状構造も見られ、PTX3の局在も網状構造と一致していることから、PTX3はNETsに付着するものと考えられた(図4b)。このように、好中球の特殊顆粒内蛋白として局在するPTX3は、微生物の認識や炎症性シグナルに反応して分泌され、NADPH oxidaseによって産生される活性酸素に依存して形成されたNETsに結合する⁹⁾。つまり、NETsは形態学的に核膜の破壊、クロマチンの膨化とDNAの網状構造の放出を特徴とし、壊死やアポトーシスといった古典的細胞死とは異なる形態を示す¹⁹⁾(図7)。

IX. 好中球におけるPTX3の意義

好中球はすぐ使えるPTX3蛋白を保有する細胞であり、分単位でPTX3を放出する。PTX3は好中球顆粒内に主にmonomerとして存在し、刺激によって細胞内に貯留しているPTX3が細胞外に放出されると重合して多量体のPTX3となる⁹⁾。一方マクロファージや樹状細胞などの細胞は炎症性シグナルに対応して細胞内でこの分子を産生する²⁰⁾。様々なサイトカインの中で、IL-8は好中球の遊走と活性化を引き起こし、炎症性腸疾患において重要な役割を演ずる。好中球の浸潤の程度と粘膜のIL-8、IL-1 β やTNF- α の濃度はそれぞれに相関し²¹⁻²³⁾、IL-1 β とTNF- α はPTX3の発現とも相関する^{1-3,6)}。IL-8の生物学的作用は好中球の細胞表面の受容体であるIL-8 receptor A (CXCR1)とIL-8 receptor B (CXCR2)との結合

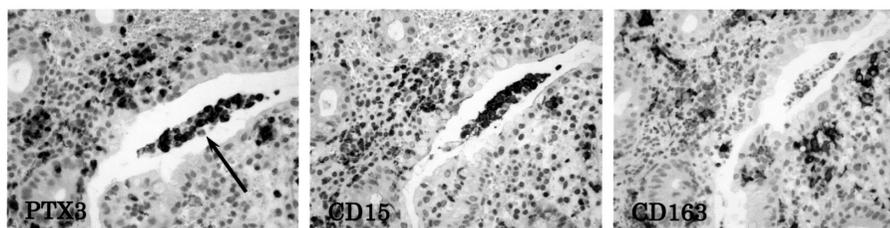


図6 潰瘍性大腸炎の免疫染色。陰窩(矢印)内にはPTX3陽性細胞が集簇し、その多くはCD15陽性の好中球である(X200)。CD163陽性マクロファージも増加しているが、PTX3発現細胞は少ない。

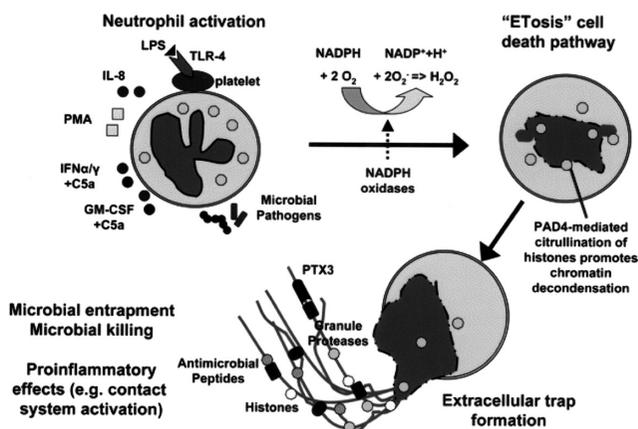


図7 好中球のNETs形成とPTX3の局在（文献19）より）。種々の病原体の抗原や炎症性シグナルを種々の受容体で受けて活性化された好中球は特殊顆粒内に局在するPTX3をNADPH oxidaseに依存して分泌する。死んだ好中球には核膜の破壊、クロマチンの膨化とDNAの網状構造の放出が起き、NETsが形成されるが、その網にPTX3、抗菌性ペプチド、顆粒内の蛋白、核内蛋白が付着結合する。

表4 NETsに局在する蛋白^{27, 28)}

Cellular localization	Protein name	Gene name	Accession No.
Granules	Leukocyte elastase	<i>ELA2</i>	P08246
	Lactotransferrin	<i>LTF</i>	P02788
	Azurocidin	<i>AZU1</i>	P20160
	Cathepsin	<i>G CTSG P08311</i>	
	Myeloperoxidase	<i>MPO</i>	P05164
	Leukocyte proteinase 3	<i>PR3</i>	P24158
	Lysozyme C	<i>LYZ</i>	P61626
	Neutrophil defensin 1 and 3	<i>DEFA-1 and -3</i>	P59665, P59666
Nucleus	Histone H2A	<i>H2A</i>	Q9NV63+
	Histone H2B: a) Histone H2B	<i>H2B</i>	Q16778+
	b) Histone H2B-like	<i>H2B</i>	Q3KP43, Q6GMR5
	Histone H3	<i>H3</i>	Q71DI3+
	Histone H4	<i>H4</i>	P62805+
	Myeloid cell nuclear differentiation antigen	<i>MNDA</i>	P41218
Cytoplasm	S100 calcium-binding protein A8	<i>S100A8</i>	P05109
	S100 calcium binding protein A9	<i>S100A9</i>	P06702
	S100 calcium-binding protein A12	<i>S100A12</i>	P80511
Cytoskeleton	Actin (P and/or R)	<i>ACTB, ACTG1</i>	P60709, P63261
	Myosin-9	<i>MYH-9</i>	P35579
	Alpha-actinin (1 and/or -4)	<i>ACTN1, ACTN4</i>	P12814, O43707
	Plastin-2	<i>LCP1</i>	P13796
	Cytokeratin-10	<i>KRT-10</i>	P13645
Peroxisomal	Catalase	<i>CAT</i>	P04040
Glycolytic enzymes	Alpha-enolase	<i>ENO1</i>	P06733+
	Transketolase	<i>TKT</i>	P29401

アクセス番号はNET Database (<http://web.mpiib-berlin.mpg.de/cgi-bin/pdbs/lc/index.cgi>)を参照

によって発現する。CXCR2は種々のサイトカインに結合するが、IL-8はその中でも強力なリガンドである²³⁻²⁴。潰瘍性大腸炎の陰窩膿瘍内好中球にはIL-8 receptor Bが発現しており、潰瘍性大腸炎でもIL-8を介した経路によって好中球の活性化が起きている。陰窩膿瘍内には上記のようにNETsとみなされる構造や好中球の核の円形化が観察されることから、潰瘍性大腸炎ではIL-8を介した経路によって陰窩膿瘍内の好中球からPTX3がNETsに放出されることが考慮される。

NETsは潰瘍性大腸炎に限らず、虫垂炎、子癩や連鎖球菌感染、壊死性筋膜炎、肺炎双球菌感染症においても多数観察される^{25, 26}。PTX3は好中球内に“ready-to-release”の形で貯蔵され、特殊顆粒の放出に伴ってNETs形成に参画し、炎症性疾患における細胞免疫に貢献すると考えられる。

最近、NETsを構成する蛋白が明らかになってきた²⁷。leukocyte elastase, lactoferrinなど顆粒に含まれる蛋白、histone H2A, H2Bなど核の成分、S100のような細胞質内蛋白、アクチンやミオシンなどの細胞骨格成分などである(表4)。NETsは、炎症刺激を受けた好中球が細胞死を伴いつつ細胞内容物によって形成される網状構造物であり、自らのDNA鎖が網状の骨格となり、そこにヒストン蛋白の他、アズール顆粒や特殊顆粒、第三次顆粒の構成蛋白や細胞質の蛋白が結合する。S100蛋白やazurocidinなどは炎症を増強することが知られている^{27, 28}。PTX3もNETs構成蛋白であり、これら分子が単独に、あるいは結合して強力な殺菌作用を発揮することが考えられる。

X. おわりに

好中球におけるPTX3の局在と動態、さらにNETsとの関わりについて解説した。PTX3は炎症や心筋梗塞の早期マーカーとしての有用性が示されているが、その機能の解明はこれからの課題である。好中球ではPTX3は特殊顆粒やNETs内に存在し、種々の蛋白と共存している。PTX3と顆粒内蛋白やNETs構成蛋白との結合や相互関係の検討は好中球におけるPTX3の意義の解明に連なるものと考えられる。

文献

- 1) Mantovani A, Garlanda C, Bottazzi B: Pentraxin 3, a non-redundant soluble pattern recognition receptor involved in innate immunity. *Vaccine*, 21(Suppl 2): S43-47, 2003.
- 2) Garlanda C, Bottazzi B, Bastone A, Mantovani A: Pentraxins at the crossroads between innate immunity, inflammation, matrix deposition, and female fertility. *Annu Rev Immunol*, 23: 337-366, 2005.
- 3) Bottazzi B, Garlanda C, Salvatori G, Jeannin P, Manfredi A, Mantovani A: Pentraxins as a key component of innate immunity. *Curr Opin Immunol*, 18(1): 10-15, 2006.
- 4) Jaillon S, Peri G, Delneste Y, Frémaux I, Doni A, Moalli F, Garlanda C, Romani L, Gascan H, Bellocchio S, Bozza S, Cassatella MA, Jeannin P, Mantovani A: The humoral pattern recognition receptor PTX3 is stored in neutrophil granules and localizes in extracellular traps. *J Exp Med*, 204(4): 793-804, 2007.
- 5) Mantovani A, Garlanda C, Doni A, Bottazzi B: Pentraxins in innate immunity: from C-reactive protein to the long pentraxin PTX3. *J Clin Immunol*, 28(1): 1-13, 2008.
- 6) Agrawal A, Singh PP, Bottazzi B, Garlanda C, Mantovani A: Pattern recognition by pentraxins. *Adv Exp Med Biol*, 653: 98-116, 2009.
- 7) Deban L, Bottazzi B, Garlanda C, Martinez de la Torre Y, Mantovani A: Pentraxins: multifunctional proteins at the interface of innate immunity and inflammation. *Biofactors*, 35(2): 138-145, 2009.
- 8) Mishra PK, Khan S, Bhargava A, Panwar H, Banerjee S, Jain SK, Maudar KK: Regulation of isocyanate-induced apoptosis, oxidative stress, and inflammation in cultured human neutrophils. *Cell Biol Toxicol*, 26(3): 279-91, 2009.
- 9) Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A: Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science*, 303(5663): 1532-5, 2004.
- 10) Fuchs TA, Abed U, Goosmann C, Hurwitz R, Schulze I, Wahn V, Weinrauch Y, Brinkmann V, Zychlinsky A: Novel cell death program leads to neutrophil extracellular traps. *J Cell Biol*, 176(2): 231-241, 2007.
- 11) Urban CF, Reichard U, Brinkmann V, Zychlinsky A: Neutrophil extracellular traps capture and kill *Candida albicans* yeast and hyphal forms. *Cell Microbiol*, 8(4): 668-76, 2006.
- 12) Heyworth PG, Cross AR, Curmutte JT: Chronic granulomatous disease. *Curr Opin Immunol*, 15(5): 578-84, 2003.

- 13) Imamura M, Kawasaki T, Savchenko AS, Ohashi R, Jiang S, Miyamoto K, Ito Y, Iwanari H, Sagara M, Tanaka T, Hamakubo T, Kodama T, Uchiyama M, Naito M: Lipopolysaccharide induced expression of pentraxin 3 in human neutrophils and monocyte-derived macrophages. *Cell Immunol*, 248(2): 86-94, 2007.
- 14) Savchenko AS, Imamura M, Ohashi R, Jiang S, Kawasaki T, Hasegawa G, Emura I, Iwanari H, Sagara M, Tanaka T, Hamakubo T, Kodama T, M Naito M: Expression of pentraxin 3 (PTX3) in human atherosclerotic lesions. *J Pathol*, 214 (4): 48-55, 2008.
- 15) Fiocchi C: Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*, 115: 182-205, 1998.
- 16) Podolsky DK: Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*, 347: 417-429, 2002.
- 17) Geier MS, Butler RN, Howarth GS: Inflammatory bowel disease: Current insights into pathogenesis and new therapeutic options; probiotics, prebiotics and synbiotics. *Int J Food Microbiol*, 115(1): 1-11, 2007.
- 18) Kato S, Ochiai M, Sakurada T, Ohno S, Miyamoto K, Sagara M, Ito M, Takeuchi K, Imaki J, Itoh K, Yakabi K: Increased expression of long pentraxin PTX3 in inflammatory bowel diseases. *Dig Dis Sci*, 53(7): 1910-1916, 2008.
- 19) von Köckritz-Blickwede M, Nizet V: Innate immunity turned inside-out: antimicrobial defense by phagocyte extracellular traps. *J Mol Med*, 87(8): 775-783, 2009.
- 20) Bottazzi B, Garlanda C, Cotena A, Moalli F, Jaillon S, Deban L, Mantovani A: The long pentraxin PTX3 as a prototypic humoral pattern recognition receptor: interplay with cellular innate immunity. *Immunol Rev*, 227(1): 9-18, 2009.
- 21) Mitsuyama K, Toyonaga A, Sasaki E, Watanabe K, Tateishi H, Nishiyama T, Saiki T, Ikeda H, Tsuruta O, Tanikawa K: IL-8 as an important chemoattractant for neutrophils in ulcerative colitis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol*, 96: 432-436, 1994.
- 22) Sangfelt P, Carlson M, Thörn M, Xu S, Lööf L, Raab Y: Local release of human neutrophil lipocalin (HNL), IL-8, and TNF-alpha is decreased as response to topical prednisolone treatment in distal ulcerative colitis and proctitis. *Dig Dis Sci*, 47(9): 2064-2069, 2002.
- 23) Waugh DJJ, Wilson C: The Interleukin-8 pathway in cancer. *Clin Cancer Res*, 14(21): 6735-6741, 2008.
- 24) Acosta JC, O'Loughlen A, Banito A, Guijarro MV, Augert A, Raguz S, Fumagalli M, Da Costa M, Brown C, Popov N, Takatsu Y, Melamed J, d'Adda di Fagagna F, Bernard D, Hernando E, Gil J: Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell*, 133(6): 1006-1018, 2008.
- 25) Gupta AK, Hasler P, Holzgreve W, Gebhardt S, Hahn S: Induction of neutrophil extracellular DNA lattices by placental microparticles and IL-8 and their presence in preeclampsia. *Hum Immunol*, 66(11): 1146-54, 2005.
- 26) Buchanan JT, Simpson AJ, Aziz RK, Liu GY, Kristian SA, Kotb M, Feramisco J, Nizet V: DNase expression allows the pathogen group A Streptococcus to escape killing in neutrophil extracellular traps. *Curr Biol*, 16(4): 396-400, 2006.
- 27) Papayannopoulos V, Zychlinsky A: NETs: a new strategy for using old weapons. *Trends Immunol*, 30(11): 513-521, 2009.
- 28) Urban CF, Ermert D, Schmid M, Abu-Abed U, Goosmann C, Nacken W, Brinkmann V, Jungblut PR, Zychlinsky A: Neutrophil Extracellular Traps Contain Calprotectin, a Cytosolic Protein Complex Involved in Host Defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog*, 5(10): e1000639