

동물모델에서의 급성통풍발작 유발인자와 조직학적 변화

계명대학교 의과대학 내과학교실

박재호

— Abstract —

A Precipitating Factor of Acute Gouty Inflammation in an Animal Model and its Histologic Contribution

Jae-Ho Park, M.D.

Department of Internal Medicine, Keimyung University Dongsan Medical Center, Daegu, Korea

Objective : To see whether monosodium urate(MSU) crystals can complex ferric iron *in vivo*, and to compare the histologic inflammatory reaction to MSU with or without iron in the rat animal model.

Methods : MSU crystals were synthesized and tested to be able to complex iron *in vitro*. MSU crystals which were confirmed to be able to complex iron *in vitro* were encapsulated and put in diffusion chambers made with discs and filters. They were implanted in 6 rats. The chambers were retrieved 24 hours later, and the concentration of iron associated with the urate was measured by using inductively coupled plasma emission spectroscopy. In order to compare the histologic inflammatory reaction to MSU with or without iron in the rat animal model, one group with 25mg MSU crystals suspended in 5ml phosphate buffered saline(PBS) and the other with 25mg MSU crystals in 5ml of 5mM ferric chloride PBS were injected into 6-day-old air pouch model in rats. Pouch tissue specimen were collected from 5 rats at 6, 24 and 48 hours in two groups. Various histologic findings were graded and compared by two blinded observers using a 0-3 point scale(normal, minor, moderate and severe abnormalities).

<접수일 : 1998년 6월 2일, 심사통과일 : 1998년 9월 25일>

*통신저자 : 박재호
대구광역시 종구 동산동 194
계명대학교 의과대학 내과학교실

Results : The MSU crystals picked up ferric iron *in vivo*($8.7 \pm 1.8 \mu\text{moles/g}$). On histologic evaluation, there were more pouch wall inflammatory cells in MSU plus iron group than MSU group at 48 hours($p < 0.015$).

Conclusions : In MSU crystal-induced acute gouty inflammation, MSU crystals were confirmed to complex with iron *in vivo*. Histologically, the complexation of iron with MSU crystals showed increased inflammatory reaction *in vivo*. Iron may increase inflammatory response in acute gouty inflammation.

Key Words : Gout, Iron, Inflammation

서 론

통풍은 크리스탈(crystal)에 의해 유발되는 가장 잘 알려진 관절질환이다. 요산염 결정이 침착함에 따라 통풍 발작이 초래되며 주로 40대의 남자에게 흔하고, 여자에서도 폐경기 이후에 흔히 통풍발작을 경험하게 된다. 통풍환자에서는 거의 모든 환자가, 비록 통풍발작의 시기와 꼭 일치하지는 않더라도, 대개 고요산혈증을 보인다. 통풍이 고요산혈증과 흔히 동반되기는 하지만, 단순한 고요산혈증만으로는 진단상 오류를 범할 가능성이 많기 때문에 통풍의 진단에는 보상체가 장착된 광학 현미경을 이용한 요산염 결정의 발견이 필수적이다.

그러나, 요산염 결정이 단순히 존재한다고만 해서 또한 모두에게서 통풍발작이 일어나지는 않는다. 즉 비록 요산염의 침착이 급성 혹은 만성 관절염을 초래할 수 있으나, 요산염 결정이 침착되어도 증상을 전혀 초래하지 않을 수도 있음이 다수의 환자에서 관찰되고, 통풍환자에서 전혀 증상이 없는 관절을 천자했을 때에도 요산염 결정을 발견할 수 있었으며¹⁾, 이들 요산염 결정으로하여금 임상적인 염증반응을 초래케 하는 생화학적 혹은 생물학적 기전은 아직 완전히 규명되지 않았다.

최근 이들 통풍염증의 상당부분 특히 요산염 결정 침착후의 통풍발작에는, 철의 요산염 결정에의 결합이 그 염증 발현에 크게 관여하는 것으로 실험실에서 입증된 바 있다²⁾. 즉 요산염 결정은 실험실내에서 제이철과 결합하는 것으로 밝혀졌는데, 본 연구에서는 2단계의 실험을 시행하여, 먼저 요산염 결정

을 생체내에서 철에 노출시켜서 요산염 결정이 생체내에서도 이들 철을 결합할 수 있는지를 알아보고, 또한 통풍의 동물모델에서 철의 존재유무에 따른 요산염 결정의 염증반응을 조직학적으로 비교 분석하였다.

재료 및 방법

1. 요산염 합성

요산염 결정(monosodium urate(MSU) crystal, 이하 요산염)은 내분비 독소를 철저히 제거한 (0.03EU/ml 이하) 물로 제작되어졌다. 요산염은 덴코 등이 기술한 방법에 따라 제작되어졌는데³⁾, 요산으로 포화시킨 용액을 60°C 로 가열한 후 수산화나트륨과 반응시킨 다음 실온으로 냉각시켜 말림으로써 요산염을 생성하였다. 요산염 결정은 편광현미경 하에서 전형적인 광학적 성질과 그 형태로써 확인되어졌다. 이들은 바늘모양이었으며 길이가 $10\text{-}15\mu\text{m}$ 였다. 내분비독소를 제거한 물이 요산염 제작이나 이후의 모든 과정에 이용되어졌다.

2. 실험실내에서 요산염과 철의 반응

Ghio등이 이미 보고한 문헌상의 방법에 따라 요산염을 실험실내에서 염화철과 반응시켰다^{2,4)}. 실험실에서의 철의 원료로는 상용의 염화철(J. T. Baker Chemical Co., Phillipsburg, NJ.)을 사용하였다.

3. 생체내에서 요산염과 철의 반응

플라스틱 고리(Millipore Corporation, Bedford, MA)와 다공성 필터(Millipore Corporation)를 이용

하여 확산 chamber를 제작하였으며, 합성해 둔 요산 염 5.0mg을 chamber내에 담았다. 6마리의 Sprague-Dawley rat의 복강내로 1.0mg 다이아제팜(Elkins-Sinn, Inc., Cherry Hill, NJ)과 30mg 케타민(Parke-Davis, Morris Plains, NJ)을 주사하여 마취시켰다. 이 후에 요산염을 담은 chamber를 견갑골 사이의 피하조직에 이식하였다. 24시간이 지난 후 쥐들을 마취하여 안락사시켰다. 이 후 diffusion chamber를 꺼내어 요산염을 10ml의 5.25% NaOCl에 휘저은 다음 중류수로 세척하였다. 10.0ml 생리식 염수에 녹인 5.0mg 요산염을 대조군으로 사용하였다. 이들 요산염을 다시 5.0ml 1.0 N HCl에 휘저은 다음, 그 상층액에서 plasma emission spectroscopy를 이용하여 요산염에 결합한 철의 농도를 측정하였다.

4. 통풍염증의 동물모델 제작

활액막과 유사한 조직학적 특성을 가지는 피하 공기 맹낭(air pouch) 모델을 Edwards 등이 기술한 바에 따라 만들었다(Fig. 1)⁵⁾. 200-250 그램 무게를 가지는 6-8주된 수컷 Sprague-Dawley rat에게 40mg/kg 케타민과 5mg/kg의 xylazine(Miles Inc., Shawnee Mission, KS)을 근육주사하여 마취시킨 후에 털을 깎고 알코올 스폰지로 소독하였다. 피하 공기 맹낭을 형성하기 위하여 22G 주사 바늘앞에 0.22 μm Millipore filter를 장착하여 주사하는 방법으로 20ml의 무균성공기를 실험대상 쥐의 등쪽 피하 조직에 주사하였다. 피하 공기 맹낭의 조직학적 특성이나 그 모양을 유지시키기 위하여, 최초 공기 주사후 3일째에 동일 부위에 동일한 방법으로 10ml의 무균성 공기를 추가로 주사하였다.

Fig. 1. Air pouch model is shown.

5. 동물모델에서 통풍염증의 유발

총 30마리의 Sprague-Dawley rat을 각각 15마리씩 양 군으로 나누었다. 25mg 요산염을 용해시킨 phosphate buffered saline(PBS) 5ml와, 25mg 요산염을 용해시킨 5mM 염화철 PBS 5ml를 15마리분씩 각각 준비하였다. 이들 용액은 pH를 동등하게 조절하였다. 공기 맹낭 형성 6일 후에, 무균상태 하에서 각 용액을 피하 공기 맹낭에 주사하여 인위적으로 통풍 염증 반응을 유발시켰다.

6. 염증 반응의 조직학적 평가

염증 유발후 6, 24 그리고 48시간째에 양 군에서 각각 5마리씩의 쥐들을 안락사시키고, 이들로부터 공기 맹낭을 이루고 있는 내면의 막성 구조물을 즉시 추출하였다. 이들 검체는 발적이나 종창 유무에 상관 없이 무작위적으로 채취하였으며, 공기 맹낭 양 측면의 가장 깊은 곳과 최전방 부위에서 채취하였다. 이들 조직을 포르말린으로 고정하고 파라핀 처리후 H & E(hematoxylin과 eosin) 염색, Gomori 염색을 하여⁶⁾ 조사하였다. 염증 반응의 평가는 두 명의 숙련된 맹검자에 의해 행하여졌는데, 기존의 발표된 양식에 의하여⁷⁾ 정상인 경우는 0, 약간의 이상이 있는 경우 1, 중등도의 이상은 2, 심한 이상은 3으로 평가하였으며, 요산염 단독군과 요산염-철 군에서 활막세포의 총수와 활성도, 혈관의 숫자, 침윤된 염증 세포의 숫자와 다른 조직학적 특성을 비교평가하였다. 두 검사자가 측정한 2개의 값을 평균하였고, 통계처리를 위해 student t-test를 이용하였다.

결 과

1. 요산염과 철의 반응

원래 철을 전혀 결합하고 있지 않았던 요산염을 실험실내에서 염화철과 반응시킨 결과, 요산염은 그 표면에 상당량의 제이철(ferric iron)을 결합하였다. 즉 염화철과 반응시키기 전에는 요산염내의 철은 $0 \pm 0 \mu\text{moles/g}$ 이었으나, 염화철과 반응 후에는 $234 \pm 11 \mu\text{moles/g}$ 이었다.

또한 요산염은 생체에서도 $8.7 \pm 1.8 \mu\text{moles/g}$ 의

제이철을 결합하였다.

2. 통풍염증에서 철의 존재 유무에 따른 조직학적 특성 비교

H & E 염색한 6, 24시간 검체에서는 양 군 사이에 통계적으로 유의한 차이를 찾을 수 없었다(data not shown). 48시간 검체에서도, 활막세포의 총수와 활성도, 혈관의 숫자는 양 군 즉 요산염 단독군과 요산염-철 군 사이에 유의한 차이가 없었다. 그러나, 염증세포의 숫자에 있어서는, 48시간 검체중 요산염-철 군에서 요산염 단독군보다 통계적으로 유의하게 보다 많은 염증세포들의 침윤을 관찰할 수 있었다 (Table 1). 침윤된 염증세포들은 대부분 단핵구였다. 해모시테린 침착이나 혈관염의 증거는 없었다.

Table 1. Comparison of Main Histologic Characteristics in 48 hours

Characteristics	MSU	MSU plus Iron
SLC Hyperplasia	0.6±0.49	0.6±0.42
SLC Activity	0.8±1.04	1.0±0.71
Vessel Proliferation	1.3±0.75	1.2±0.27
Cell Infiltration*	1.6±0.58	2.4±0.42
Necrosis Amount	0.7±0.88	1.4±0.42

Data shown as mean±SD.

* : p < 0.015

MSU : monosodium urate

SLC : synovial lining cell

Gomori 염색한 검체의 조사에서, 요산염-철 군의 경우 6시간 검체에서는 공기 맹낭막 자체나 그 직하부에서 철이 침착되어 있었으며(Fig. 2), 24시간과 48시간 검체에서는 공기 맹낭막 하부 깊숙이 철이 침착되어 있었다(Fig. 3). 요산염 단독군의 경우, 6시간 검체에서는 철이 전혀 침착되어 있지 않았으나, 24시간과 48시간 검체에서는 각각 1개씩의 검체에서 철이 침착되어 있었다(Fig. 4).

고 찰

통풍발작은 요산염이 침착됨에 의해 초래되며, 통

Fig. 3. Intense iron deposition was noted deep inside pouch lining layer in MSU plus iron group at 48 hours(Gomori stain, ×400).

풍환자에서는 통풍발작의 시기와 꼭 일치하지는 않더라도 거의 모든 환자에서 대개 고요산혈증을 보인다. 이러한 고요산혈증은 여러가지 원인에서 초래될 수 있으며, 요산의 합성을 증가시키거나 배설을 감소시키는 어떤 과정에서도 나타날 수 있다. 비록 통풍이 고요산혈증의 결과이기는 하지만, 통풍발작없는 무증상의 고요산혈증은 질병상태가 아니다. 임상적으로 전형적인 통풍의 최초 발작은 주로 관절 한 곳에 생기고 염증 발가락이 가장 훈한 부위이다. 적절한 치료가 없을 시에 통풍은 통풍결절을 동반한 만성 통풍으로 수 년내 진행되어, 통풍의 약 75%에서 만성적인 관절염을 초래한다. 또한 요산염은 관절 및 다른 결체조직에도 침착될 수 있다.

통풍이 고요산혈증과 흔히 동반되기는 하지만, 단순한 고요산혈증만으로는 진단상 오류를 범할 가능성이 많기 때문에 통풍의 진단에는 보상체가 장착된 광학 현미경을 이용한 요산염의 발견이 필수적이다. 요산염은 관절강 내에서 단핵 탐식구와 반응하여, 이의 상호작용으로부터 염증반응을 초래한다. 즉 리소솜에서 효소를 분비케 하고, 라디칼과 화학주성인자를 분비케 한다. 이 후 호중구가 이들 요산염을 탐식하게 된다.

그러나, 요산염이 단순히 존재한다고만 해서 또한 모두에게서 통풍발작이 일어나지는 않는데, 이들 요산염으로 하여금 임상적인 염증반응을 초래케 하는 기전은 아직 완전히 규명되지 못한 채로 있다. Ortiz-Bravo 등은 최근의 연구에서, 급성통풍발작 시 활액 검사상의 요산염은 면역글로불린 G로 현저히 둘러싸인 반면, 급성염증이 감소함에 따라 면역글로불린 G는 사라지거나 약양성으로만 나타나고, 반면 아포지방단백 B가 현저히 나타남을 밝혀, 요산염을 각각 다른 종류의 단백이 둘러쌈으로써 이들의 염증성을 변화시킬 수 있는 것으로 보고하였다⁸⁾.

통풍염증의 상당부분 특히 요산염 침착후의 통풍발작에는, 철의 요산염에의 결합이 그 염증 발현에 크게 관여하는 것으로 최근 실험실에서 입증된 바 있다. 요산염은 호중구로부터 염증지향성 싸이토카인을 분비하게 하였고, 보체를 활성화시켰으며, 호중구의 화학적 유주를 촉진시켰다. 이러한 모든 현상들은 철의 농도가 증가될수록 촉진되었다. 또한

요산염은 실험실에서 무기재료로부터 제이철을 결합시킬 수 있었으며, 인체의 통풍결절에서 나온 요산염에서 상당량의 철을 발견할 수 있었다²⁾. 더욱이 제이철에 대단히 특이적인 결합을 하는 것으로 알려진 철 제거제인 deferoxamine은, 요산염에 의해 촉발된 쥐의 염증반응을 줄일 수 있었다⁹⁾. 즉 요산염 침착후의 통풍발작의 상당부분은 이들 요산염이 철과 불완전하게 결합하는 데서 기인하는 것으로 최근에 발표된 바 있다²⁾.

철은 염증반응의 여러 단계에 관계한다^{10~12)}. 특히 제이철은 염증반응을 촉진시킴에 있어 대단히 강력한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 초기 류마티스 관절염환자에서 활액막의 페리틴량은 조직생검 당시의 질병의 활성도와 유의한 관계를 보였으며 제이철이 많을수록 류마티스 관절염이 더욱 지속적이었던 것으로 이미 알려져있다¹³⁾. 철은 주로 다형핵백혈구를 통한 유독성 라디칼 생성을 통해 염증반응에 관여하고¹⁴⁾, 또한 염증성활액에서는 히드록실 라디칼을 생성할 수 있는 상태로 철을 함유하는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾. 즉 반응성 산소분자가 관절내의 여러 가지 유용한 생체물질에 손상을 주어서 지속적이고 또한 국소적인 파괴성 염증반응을 유발시킨다¹⁵⁾.

본 연구에서 요산염은 생체에서 많은 양의 제이철을 결합하였다. 본 실험에 사용된 요산염은 실험실에서 제작 당시 전혀 철을 함유하고 있지 않았으므로 이들 결과는 요산염이 공기 맹낭에 투입된 즉시로 생체내의 철 공급처로 부터 철을 급속히 결합한 것으로 여겨진다. 요산염에 결합한 철의 제공자는 명확하게 규명되지는 못하였으나, 류마티스 관절염에서의 여러 연구에 의하면, 간헐적인 관절내의 출혈이나 반복적인 외상성 소출혈, 혈관성 육아조직에서의 지속적인 출혈이 있고 난 이후의 대사과정에서 유리된 적혈구가 철의 공급자가 되었으리라고 여겨진다^{16~18)}.

더욱이 요산염에 의해 촉발된 염증성 환경에서는 superoxide 합성을 초래하여 이들이 또한 페리틴이나¹⁹⁾, 철분자로 포화된 트란스페린으로부터²⁰⁾ 철을 유리되게끔 한다. 즉 이온상태로서의 철은 인간 생체에 대단히 유해하므로 철단백과 결합한 상태로 존재하다가, 체내 산-염기 평형이 산성으로 될 때 트

란스페린같은 단백으로부터 유리되거나, 혹은 과산화물에 의하여 단백질이 손상될 때 페리틴이나 혈색소, 미오글로빈에서 유리될 수 있는데¹²⁾, 본 연구의 동물모델 실험에서 요산염 단독군에서는 6시간째에 전혀 철의 침착을 볼 수 없었으나, 염증 유발후 24시간과 48시간째에 각각 5개 중의 1개씩의 조직 검체에서 명백한 철의 침착을 볼 수 있었으며, 이러한 것이 상기 언급한 기존의 연구결과를 확인시켜 주는 것으로 여겨진다.

Giordano 등의 조직학적 연구에 의하면 비염증성이거나 퇴행성 관절염환자에서는 제이철이 활액막의 표층에만 국한되어 존재하였으나, 류마티스 관절염 환자에서는 제이철이 표층과 심층부에서 다량 발견되었고 특히 심층부에서 많이 발견되었다²¹⁾. 요산염에 의한 염증과 관련된 생체내에서의 철의 역할도 통풍환자에서 활액막 하부에서 철이 많이 침착되어 있음으로하여 진작부터 관계가 있을 것으로 생각되어져왔다²²⁾.

본 연구에서 철은 Muirden의 시사한 바와 같이²³⁾, 공기 맹낭 표면에 존재하다가 시간이 경과함에 따라 안쪽으로 흡수되어 가는 명백한 경향을 볼 수 있었다. 침윤된 염증세포의 평가수치에 상관없이 H & E 염색과 Gomori 염색에서, 철의 침착 주변에 현저한 염증성 세포의 침윤을 보였다. 소수의 조직 검체에서는 시간이 경과함에 따라 현저한 염증세포의 침윤에 이은 지속적 조직괴사를 보여주었다. 요산염은 그 표면에 생체내의 철분을 결합시키고 이것이 생체에게는 과도한 산화과정의 부담으로 작용하므로¹²⁾ 생체는 탐식성세포들을 이들에게 보내어 과도하게 존재하는 철을 제거하려고 한 것으로 추정된다. 활액막의 세포들 또한 철을 세포속으로 이동시켜 안전한 저장형 페리틴으로 변형시키고자 할 것이다²⁴⁾. Blake등에 의하면 이 과정중에 많은 수의 활액막내 대식세포에서 페리틴 합성이 성공적이지 못할 수 있으며¹³⁾, 이 때 유리된 철이 PGE₂와²⁵⁾ collagenase를²⁶⁾ 생성하여 관절손상을 촉발할 수 있다고 하였다. 본 연구에서의 현저한 간질내 염증성세포의 침윤도 활액막내의 심층부에 존재하는 소위 B 세포에 의한 PGE₂ 생성에 의한 것으로 추측되어지고^{14, 27)}, PGE₂ 정량등의 추가연구가 필요하리라고

생각되어진다.

공기 맹낭 조직검사상 침윤된 염증세포는 만성 통풍환자에서 주로 보이는²⁸⁾ 형질세포를 포함한 단핵세포였는데, 이는 통풍환자의 활액검사상 다형핵백혈구가 가장 흔히 보이는 것과는 대조를 이루어 흥미롭다. 유사하게도 류마티스 관절염 환자의 활막에서도 침윤된 염증세포는 주로 만성염증세포인 단핵백혈구였다²¹⁾. 아마도 이들 단핵백혈구들은 철결합 단백질의 수용체를 가지고 있어서 철분자 쪽으로 이동해 간 것이 아닌가 여겨진다²⁹⁾. 임파구의 증식에는 ribonucleotide reductase라는 효소의 생성이 필수적인 바, 이 효소가 철분자를 꼭 필요로한다는 점에서 이러한 이론은 더욱 설득력을 가진다^{24, 30)}.

조직검체의 숫자가 적고 실험대상의 관찰시간이 48시간으로 짧아, 통풍 염증에 있어서의 철의 역할을 충분하게 지속적으로 살펴보지 못한 것이 본 연구의 제한점으로 생각된다. 또한 철의 농도에 따른 통풍 염증 정도의 비교 관찰이나, 철제거제 사용 유무에 따른 통풍 염증 정도의 비교 관찰도 통풍에 있어서의 철의 역할을 생체내에서 증명하기 위한 유용한 다음 연구가 되리라고 생각되어진다.

결 론

요산염은 동물 생체내에서 철과 결합할 수 있으며, 요산염이 철과 결합하므로써 생체내에서 그 염증 반응을 더욱 더 증가시킬 수 있다. 이것이 통풍에서 염증을 악화시키는 한 요인이 될 수 있을 것으로 여겨지며, 향후 통풍 염증에 직접 관계된 싸이토카인의 정량 비교 등의 추가적 연구가 필요하리라고 생각된다.

REFERENCES

- 1) Bomalaski JS, Lluberas G, Schumacher HR Jr. Monosodium urate crystals in the knee joints of patients with asymptomatic nontophaceous gout. *Arthritis Rheum* 1986;29:1480-1484.
- 2) Ghio AJ, Kennedy TP, Rao G, Cooke CL, Miller MJ, Hoidal JR. Complexation of iron cation by sodium urate crystals and gouty in-

- flammation. *Arch Biochem Biophys* 1994;313: 215-221.
- 3) Denko CW, Whitehouse MW. Experimental inflammation induced by naturally occurring microcrystalline calcium salts. *J Rheumatol* 1976;3:54-62.
- 4) Ghio AJ, Jaskot RH, Hatch GE. Lung injury after silica instillation is associated with an accumulation of iron in rats. *Am J Physiol* 1994;267:L686-L692.
- 5) Edwards JCW, Sedgwick AD, Willoughby DA. The formation of a structure with the features of a synovial lining by subcutaneous injection of air. An in vivo tissue culture system. *J Pathol* 1981;134:147-156.
- 6) Mallory FB. Pathological technique. Philadelphia, WB Saunders Co., 1942;137.
- 7) Saaiibi DL, Park J, Schumacher HR Jr. Developing and testing of a grading system for study of synovial pathology. *Arthritis Rheum* 1995;38:S328.
- 8) Ortiz-Bravo E, Sieck MS, Schumacher HR. Changes in the proteins coating monosodium urate crystals during active and subsiding inflammation. *Arthritis Rheum* 1993;36:1274-1285.
- 9) Blake DR, Hall ND, Bacon PA, Dieppe PA, Halliwell B, Gutteridge JMC. Effect of a specific iron chelating agent on animal models of inflammation. *Ann Rheum Dis* 1983;42:89-93.
- 10) Gutteridge JMC, Rowley DA, Halliwell B. Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron salts. *Biochem J* 1981;199:263-265.
- 11) Halliwell B, Gutteridge JMC. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine. some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys* 1986;246:501-514.
- 12) Halliwell B, Gutteridge JMC. Iron and free radical reactions. two aspects of antioxidant protection. *Trends Biochem Sci* 1986;11:372-375.
- 13) Blake DR, Gallagher PJ, Potter AR, Bell MJ, Bacon PA. The effect of synovial iron on the progression of rheumatoid disease: A histologic assessment of patients with early rheumatoid synovitis. *Arthritis Rheum* 1984;27:495-501.
- 14) Morris CJ, Blake DR, Wainwright AC, Steven MM. Relationship between iron deposits and tissue damage in the synovium: an ultrastructural study. *Ann Rheum Dis* 1986;45:21-26.
- 15) Thomas CE, Morehouse LA, Aust SD. Ferritin and superoxide-dependent lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1985;260:3275-3280.
- 16) Bennett RM, Williams ED, Lewis SM, Holt PJL. Synovial iron deposition in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1973;16:298-304.
- 17) Muirden KD, Fraser JRE, Clarris B. Ferritin formation by synovial cells exposed to haemoglobin in vitro. *Ann Rheum Dis* 1967;26:251-259.
- 18) Muirden KD, Senator GB. Iron in the synovial membrane in rheumatoid arthritis and other joint diseases. *Ann Rheum Dis* 1968;27:38-48.
- 19) Biemond P, van Eijk HG, Swaak AJG, Koster JF. Iron mobilization from ferritin by superoxide derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes: Possible mechanism in inflammation diseases. *J Clin Invest* 1984;73: 1576-1579.
- 20) Wilkins M, Williams P, Cavill I. Transferrin iron uptake by human synovium. *Ann Rheum Dis* 1977;36:474-475.
- 21) Giordano N, Vaccari D, Cintorino M, Minacci C, Magaro L, Battisti E, Marcucci P, Cecconami L, Marcolongo R. Histopathological study of iron deposit distribution in the rheumatoid synovium. *Clin Exp Rheumatol* 1991;9:463-467.
- 22) Sokoloff L. Pathology of gout. *Arthritis Rheum* 1965;8:707-713.
- 23) Muirden KD. An electron microscope study of the uptake of ferritin by the synovial membrane (Abst). *Arthritis Rheum* 1963;6:289.
- 24) Mattia E, van Renswoude J. The pivotal role of ferritin in cellular iron homeostasis. *BioEssays* 1988;8:107-111.
- 25) Morris CJ, Blake DR, Hewitt SD, Lunec J. Macrophage ferritin and iron deposition in the rat air pouch model of inflammatory synovitis. *Ann Rheum Dis* 1987;46:334-338.
- 26) Okazaki I, Brinckerhoff CE, Sinclair JF, Sinclair PR, Bonkowsky HL, Harris ED Jr.

- Iron increases collagenase production by rabbit synovial fibroblasts. *J Lab Clin Med* 1981;97:396-402.
- 27) Dabbagh AJ, Trenam CW, Morris CJ, Blake DR. Iron in joint inflammation. *Ann Rheum Dis* 1993;52:67-73.
- 28) Schumacher HR. Pathology of the synovial membrane in gout. Light and electron microscopic studies. Interpretation of crystals in electron micrographs. *Arthritis Rheum* 1975; 18:771-782.
- 29) Blake DR, Hall ND, Bacon PA, Dieppe PA, Halliwell B, Gutteridge JMC. The importance of iron in rheumatoid disease. *Lancet* 1981;ii:1142-1144.
- 30) Kay JE, Benzie CR. The role of the transferrin receptor in lymphocyte activation. *Immunol Lett* 1986;12:55-8.