

C. 研究結果

カゼイン6週間皮下投与マウスのSAA濃度は、生食投与群に比べ約30倍の上昇に止まっていた。血中の中性脂肪、コレステロール、HDL-コレステロールは、カゼインおよび生食投与群間で有意な差は認めなかった。

コンゴ赤染色により、脾臓の脈管周囲にごくわずかのアミロイド沈着を認めたが、消化管など他の臓器では、アミロイド沈着は見られなかった。SAAはその大半が肝臓で産生されていることが知られており、抗マウスSAA抗体を用いた免疫染色でも、肝細胞に陽性細胞を認めた。肝臓におけるSAA産生細胞は、カゼイン投与群において増加していた。また、内臓脂肪のSAA免疫染色では、大小多数の脂肪細胞にSAAの免疫活性を認めた。

DNAマイクロアレイによる遺伝子解析の結果、SAA合成系ではSAA1が約3倍に、SAA2が約20倍にまで増加し、SAA1合成カスケードと考えられているSTAT3の発現が約2倍に増加していた。また、TNF α 誘導膜蛋白；ATP-binding cassetteが11倍、メタロチオネインやLPS結合蛋白の発現も約4~8倍に増加していた。脂質代謝関連遺伝子では、中性脂肪を脂肪酸とグリセロールに水解するhepatic lipaseの発現が約1/4に減少し、脂肪酸のCoAとの縮合に機能するfatty acid CoA ligaseが1/5に減少していた。脂肪酸 β 酸化過程において、CoAとの縮合により活性化されたfatty acyl CoAをミトコンドリア内でtrans- Δ^2 -enoyl CoAにするacyl CoA dehydrogenaseが約1/2に、S-3 hydroxyacyl CoAから3-keto fatty acyl-CoAへの過程を触媒するS-3 hydroxyacyl CoA dehydrogenaseの発現が約1/5に、3-keto fatty acyl-CoAからacyl-CoAへの反応を触媒するthiolase発現が約1/2に減少していた。

D. 考察

カゼイン 6 週間投与により SAA 濃度が約 30 倍に上昇した高 SAA 血症マウスを作製し、肝臓における SAA 合成関連遺伝子および脂質代謝関連遺伝子発現の変動を検討した。通常に比べ SAA 濃度の上昇が不十分であったことに関連し、全身のアミロイド沈着はきわめて軽度であった。SAA は、AA アミロイドーシスの原因蛋白であり、その family は、SAA1~4 からなることが

知られている。急性炎症蛋白である SAA1 と SAA2 が AA アミロイドを構成しており、ヒト AA アミロイドでは SAA1 が主要構成蛋白である。今回実験に用いたマウス； C3H/He (雄) では、肝臓において SAA2 の遺伝子発現が 20 倍以上に増加しており、この strain での AA アミロイドの主要蛋白は、SAA2 である可能性が示唆された。また、肝臓での STAT3 発現も有意に増加しており、炎症時のサイトカインの上昇が、JAK/STAT 系を介してマウス SAA2 合成に関与した可能性もある。脂質代謝関連遺伝子のうち、発現増加を示すものは同定できなかったが、中性脂肪の脂肪酸への水解や脂肪酸 β 酸化に機能する各酵素の遺伝子発現は、1/2~1/5 に減少していた。これらの結果より、同モデルマウスは、SAA2 の発現増加に加え、脂質のクリアランス低下を来していることが明らかになった。2002 年に、脂質クリアランス改善作用のある高脂血症治療薬；fenofibrate が、AA アミロイド沈着を抑制するとの報告があり、今回の研究結果は、その機序を分子機構の面から支持するものとなった。血中を循環する中性脂肪は、肝臓だけでなく、脂肪組織、筋肉、心臓、肺などさまざまな組織に運ばれ、それぞれの組織の細胞膜にあるリパーゼにより水解され、脂肪酸とグリセロールとなり、組織に吸収される。今回使用したモデルマウスの血中中性脂肪は正常であったが、各組織での中性脂肪含量は、増加していることも考えられ、アミロイド線維形成に何らかの影響を与えているかもしれない。以上の結果を踏まえ、炎症により上昇したサイトカインや SAA が、脂質のクリアランス低下にどのような機序でリンクするのかを今後の研究課題としたい。また、今回明らかになった脂肪細胞で産生される SAA の病態生理学的意義も検討していく必要があると考えられた。

E. 結論

高 SAA 血症マウスの脂質代謝関連遺伝子の解析から、AA アミロイドーシスにおいては、何らかの機序により脂質のクリアランス低下が起り、脂肪をエネルギーに変換する機構が障害されている可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 米川忠人、中里雅光：内分泌臓器とアミロイドーシス，アミロイドーシスの基礎と臨床、金原出版、247-252、2005.

2. 学会発表

1) 喜多也寸志、伊達 紫、中里雅光、上原敏志、山崎 浩、田淵正康：Val1107TTR 遺伝子異常を

認めた2型FAPの1例—本邦2報目の報告—，第46回日本神経学会総会、鹿児島市、5月25日～5月27日、2005年

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

AA アミロイドーシスの IL-6 阻害療法－(1) －ヒト化抗 IL-6 受容体抗体による SAA の減少とその理論的裏付け－

分担研究者 吉崎和幸 大阪大学保健センター

共同研究者 萩原圭祐*、西川哲平**、宋健**、

*大阪大学医学部附属病院免疫アレルギー感染内科、**大阪大学保健センター

研究要旨 慢性炎症性疾患のキャッスルマン病、関節リウマチ(RA)等では急性期蛋白の CRP、血清アミロイド A (SAA)の産生亢進が見られる。SAA は AA アミロイドの前駆蛋白で、前記疾患で AA アミロイドーシスが高頻度に合併する。ヒト化抗 IL-6 レセプター抗体 (アクテムラ) を用いた IL-6 機能阻害療法を上記疾患で行ったところ、80%の患者で CRP、SAA の減少のみならず正常値化が認められた。このため IL-6、IL-1、TNF- α 等のサイトカインによる SAA の産生機序を肝細胞を用いて解析したところ、SAA の産生増強には IL-6 が必須で、3 者刺激下では IL-6 阻害が SAA 産生をほぼ完全に抑制した。本現象での SAA 遺伝子発現を転写レベルで解析したところ、IL-6 シグナルによる STAT3 の活性化が必須であることが明らかとなり、その活性化は IL-1 又は TNF- α 等の刺激下にある NF- κ B p65 と結合し、co-factor である P300 と結合し、更に SAA プロモーターに存在する NF- κ B 結合領域の 3'下流領域に結合して生じることを示した。しかも本結合様式は STAT3 の新たな転写活性機序であり、炎症生体でも同様機序の存在を示唆した。この結果に基づいて RA 患者における TNF- α 阻害療法と IL-6 阻害療法における SAA の抑制を考察したところ、理論的にも IL-6 阻害が SAA 抑制に最も有効であることが示唆された。即ち SAA 産生抑制による AA アミロイドーシスの治療への展開が期待された。

A. 研究目的

ヒト化抗 IL-6 受容体抗体 (アクテムラ) を用いたキャッスルマン病、関節リウマチに対する治療において血中 SAA の正常値化が観察された。最近明らかにされたサイトカインによる SAA 発現機序に基づいて本現象を理論的に裏付けする。このことよって AA アミロイドーシスの治療に IL-6 阻害療法が有効であることを示唆し、AA アミロイドーシス患者に対するアクテムラの治療研究へのアプローチとする。

B. 研究方法

アクテムラ投与による CRP の変動とともに血中の IL-6、IL-6R、アクテムラ量を測定した。その後関節リウマチ、キャッスルマン病を対象としたアクテムラ治療の有効例および無効例における SAA、CRP の推移を検討した。一方、肝細胞を用いたサイトカイン (IL-6、IL-1、TNF- α)

誘導 SAA 発現解析にて、SAA 遺伝子発現様式が明らかとなったので、この様式を基にして各種サイトカイン特異阻害剤による SAA の発現と治療による血中 SAA レベルを比較検討した。

(倫理面への配慮)

アクテムラ投与治療研究は独立行政法人医薬品医療機器総合機構の治療研究に関するガイドラインに基づいて行われた。このため対象患者には倫理面においてインフォームドコンセント等を得ながら、十分に配慮して行われた。

肝細胞を用いた in vitro での実験研究には倫理面で特記すべき配慮は不要と考えられた。

遺伝子組換え実験については大阪大学先端科学イノベーションセンター・インキュベーション棟内の遺伝子組換え実験許可施設内で遺伝子組換え実験安全委員会許可の下で行われた。

C. 研究結果

キャスルマン病、RA患者いずれもアクテムラ2 mg/kgでは2週後のトラフレベルは検出感度以下になり、一過性に低下したCRPは2週においては元の高いレベルに戻った。すなわち、投与時において、アクテムラはsIL-6R、mIL-6Rにいずれにも結合しIL-6の結合を阻害しているが、2週後においては結合がなくなり、IL-6シグナルが細胞に入ってCRPの産生が再び生じていると考えられる。しかし、8 mg/kg投与においては2週後のトラフレベルでも阻害有効濃度と考えられる10 μ g/mlを保ち、IL-6シグナルが遮断されCRPの産生による再上昇が認められなかった。このことより、8 mg/kgの投与が有効であることが示された。実際の治療研究ではキャスルマン病の場合は2週毎に、RAの場合は4週毎に投与することとなった。キャスルマン28例について図1のごとく、18例のCRP正常化症例におけるSAA値は4週後において正常域に入り、以後上昇は認められなかった。CRPが低下するものの正常化しない症例はSAA値も50-100 μ g/mlで推移した。また、RA患者でACR20をクリアした有効例でもCRP、SAAいずれも正常値化を認めた。すなわち、多くの有効例ではSAAの正常値化が得られ、IL-6阻害が炎症患者においてもほぼ完全にSAA産生増強を抑制することを示唆している。一方、表1のようにレミケード（CA2）によるTNF- α 阻害の場合、4週においてもSAAの正常値化（10 μ g/ml以下）が得られず、完全阻害は困難であることを示唆している。

以上の臨床結果に基づいて、サイトカインによるSAAの発現機序を解析した。一昨年、昨年に報告したように、IL-6は肝細胞におけるSAA発現増強に必須で、IL-6単独阻害のみSAA産生増強は阻止された。また、図2のシグナルモデル図をもとにSAA遺伝子発現における転写機序を解析したところ、図3のモデルを提唱した。すなわち、SAA遺伝子発現増強にはIL-6シグナルによるC/EBP β とSTAT3の活性化を要し、とくにSTAT3のNF- κ B領域に結合するNF- κ Bp65との結合を要し、co-factorであるp300との結合、さらにはNF- κ B領域の従来いわれていない3'下流に位置する領域への結合を要することを示した。このようにSAA発現

増強にはSTAT3の転写活性が最も重要で、NF- κ Bp65の活性化はSTAT3の結合における足がかりと考えられる。NF- κ Bがいかに活性化されたとしてもSTAT3の活性化がなければSAA産生増強は生じないことを示している。

STAT3の新しい転写機序に基づいて、肝細胞によるIL-6または/およびIL-6刺激によるSAAの発現機序を推測し図4に示す。図4によりNF- κ Bの活性化のみSAAの発現増加はなく、一方IL-6によるSTAT3の活性化によりSAAの発現増強が理解される。図5は実際にRA等における抗サイトカイン療法のSAA抑制と抑制機序の想定を示すが、TNF- α またはIL-1阻害ではNF- κ B活性は減少するがIL-6刺激によるSTAT3の活性化が阻害されないため血中のSAAは低下するが正常化はしない。一方、IL-6を阻害することによってC/EBP β 、STAT3の活性阻害が生じるため、NF- κ Bの活性が残存してもSAAの発現は阻害され正常化すると考えられる。以上のように臨床における抗サイトカイン療法による実際のSAAの血中レベル低下とSAA発現転写機序に基づく結果より、理論的にIL-6阻害がSAAレベルを低下させる最も有効な阻害療法であることが示された。事実、2001年Gillmore、Hawkinsらは図6に示すように、SAAレベルを10 μ g/ml以下にすることによってアミロイド沈着を軽減させることができ、かつ5年生存率50%を改善させ、長期生存化が得られることを示唆した。

D. 考察

IL-6阻害療法によってAAアミロイドーシスの改善が可能であることを、実際の治療におけるSAA産生抑制とSAA発現機序の提示により理論的に裏付けた。TNF- α 阻害によるAAアミロイドーシスの改善が見られた症例が中等度であることから、SAAの正常値化が得られなければ著効が困難であることを示している。現時点で少数例ではあるがキャスルマン病、RAいずれも著効例が認められていることから、アクテムラによるIL-6阻害療法はAAアミロイドーシス改善に期待が持てる。したがって、今後本研究班が中心となってAAアミロイドーシスに対してアクテムラによる臨床研究を行うことは有意義であると思われる。

E. 結論

SAA の発現増強には IL-6 刺激による STAT3、C/EBP β の活性化が必須で、IL-1 または TNF- α による NF- κ B の活性化は補助的作用と考えられる。したがって SAA の発現抑制には IL-6 阻害が最も有効で、実際の治療研究においてもアクテムラにより SAA の正常値化が得られた。以上のことより、AA アミロイドーシスの SAA 産生抑制による治療にはアクテムラ療法が有効であることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Nakano S, Nakano N, Ikeda Y, Sasaki T, Nishioka K, Hara M, Taguchi H, Kimura Y, Kato Y, Asaoku H, Kumagai S, Kodama F, Nakahara H, Hagihara K, Yoshizaki K, Kishimoto T. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman's disease. *Blood*;106:2627-2632. 2005.
- 2) Hagihara K, Nishikawa T, Sugamata Y, Song J, Isobe T, Taga T, Yoshizaki K. Essential role of STAT3 in cytokine-driven NF- κ B-mediated serum amyloid A gene expression. *Genes to Cells*;10:1051-1063. 2005.
- 3) 吉崎和幸, 萩原圭祐. Castleman 病の抗体療

法. *臨床医*;31:1970-1977. 2005.

2. 学会発表

- 1) 吉崎和幸. 抗サイトカイン療法：とくに IL-6 阻害療法に関して. 第 56 回日本皮膚科学会中部支部学術大会モーニングセミナー. 大阪・大阪国際会議場. 09.24. 2005.
- 2) 萩原圭祐, 吉崎和幸. IL-6 阻害治療の臨床結果をもとにした SAA 転写制御機構の再検討. 第 2 回 SAA フォーラム. 東京. 07.13. 2005.
- 3) 萩原圭祐, 吉崎和幸. 血清アミロイド A(SAA) 発現には STAT3 と NF- κ B p65 のクロストークが必須である. IL-6 阻害治療からの検討. 第 49 回日本リウマチ学会. 横浜. 04.17-20. 2005.
- 4) 萩原圭祐, 西川哲平, 宋健, 吉崎和幸. IL-6 阻害治療による血清アミロイド A(SAA) の正常化機構は、STAT3 と NF κ B p65 のクロストーク阻害の結果である. 第 33 回日本臨床免疫学会. 京都. 10.28-29. 2005.
- 5) 萩原圭祐, 西川哲平, 宋健, 田賀哲也, 吉崎和幸. STAT3 は NF- κ B が制御する血清アミロイド A (SAA) の発現に必須である. 第 35 回日本免疫学会. 横浜. 12.13-15. 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. キャッスルマン病のアクテムラ治療における
血中SAAの低下及び正常値化

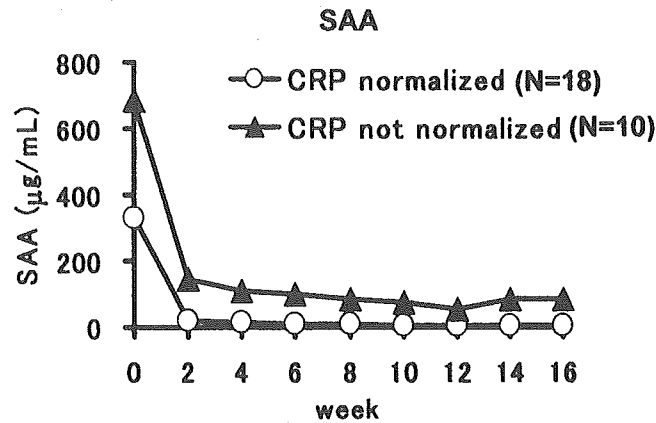


表1 Serum SAA on Anti-TNF- α (cA2) Ab Therapy in RA

Day	Placebo	cA2	p Value
	(n=24)	10mg/kg (n=24)	
	mg/l	mg/l	
0	335 (62-750)	378 (180-935)	
1	420 (127-755)	380 (121-908)	NS
3	441 (115-890)	50 (19-163)	0.01
7	378 (136-810)	62 (26-206)	0.01
14	493 (228-853)	56 (26-272)	0.01
28	720 (176-887)	69 (22-345)	0.01

Charles et al. J Immunol 163,1999

図2. サイトカイン (IL-6, IL-1, TNF- α) による
SAA遺伝子発現のシグナル伝達 (仮説)

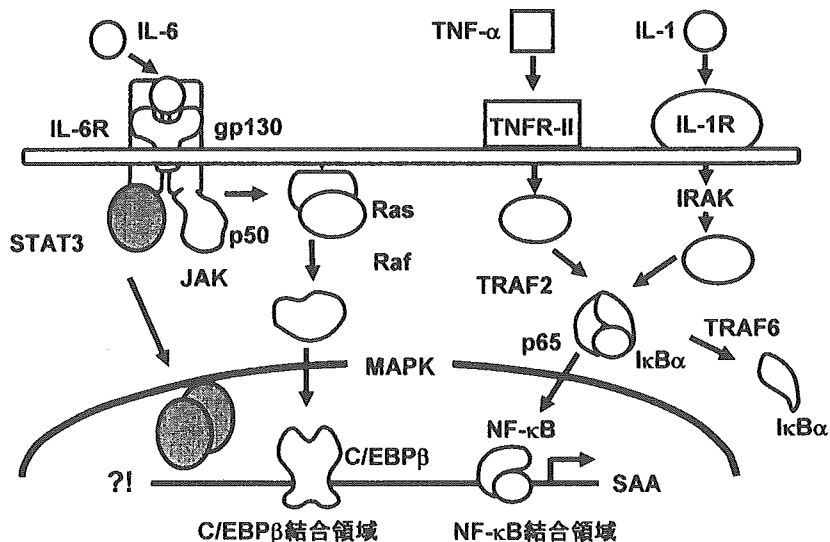


図3. サイトカイン (IL-6,IL-1) によるSAA遺伝子発現の転写活性機序 (推定)

Cytokine-driven Transcriptional Activity of human SAA gene
(Working Model)

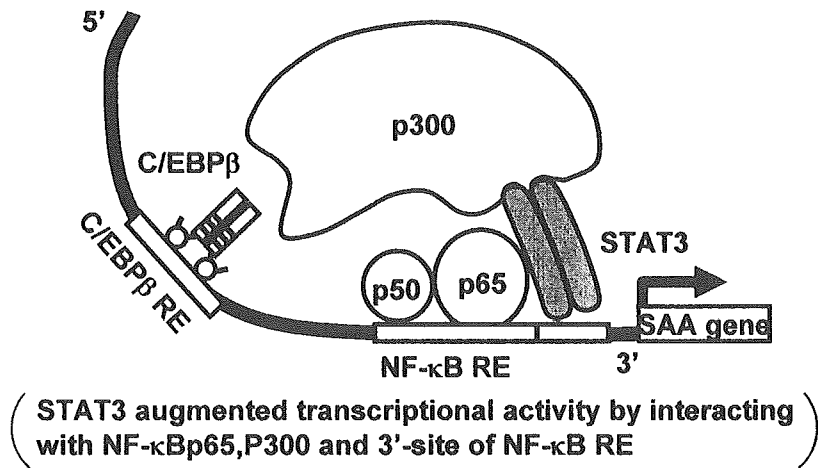


図4 Augmentation of SAA Induction by IL-6 and IL-1 in Hepatocyte
- Assembly of Transcriptional Factors on SAA Promoter Region -

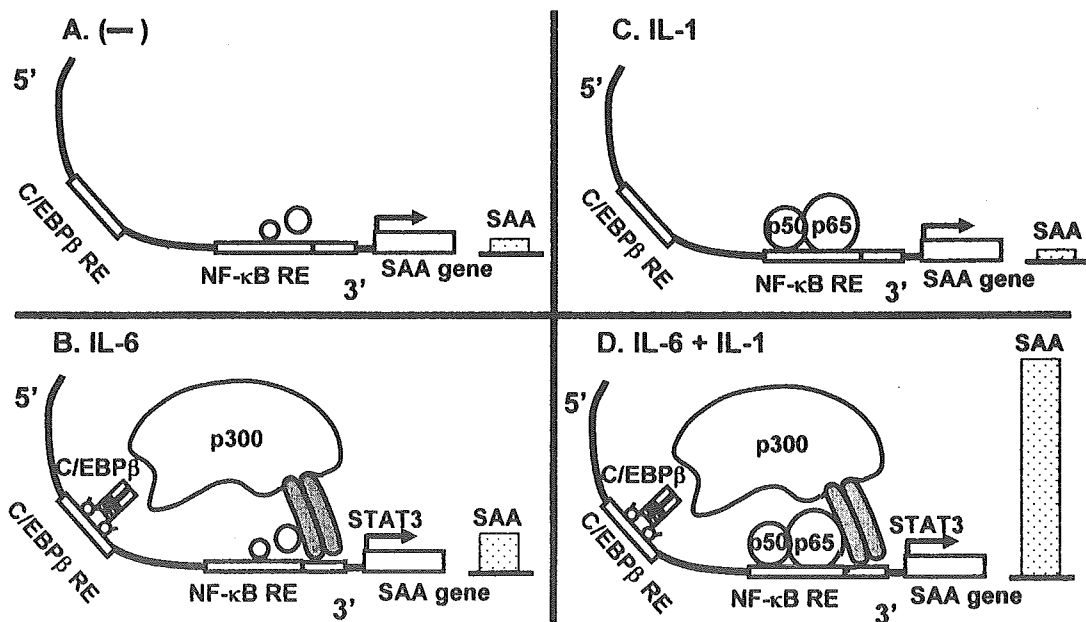


図5 関節リウマチ患者における抗サイトカイン療法のSAA産生抑制効果の模式図 (推定)

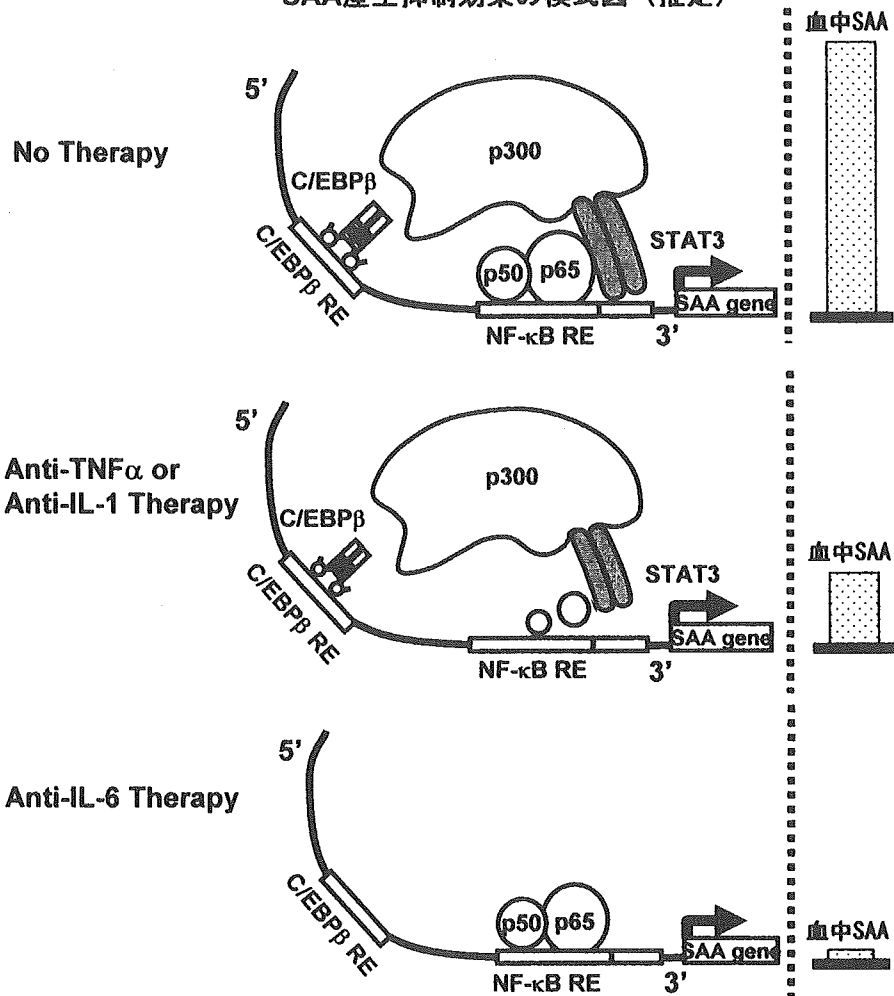
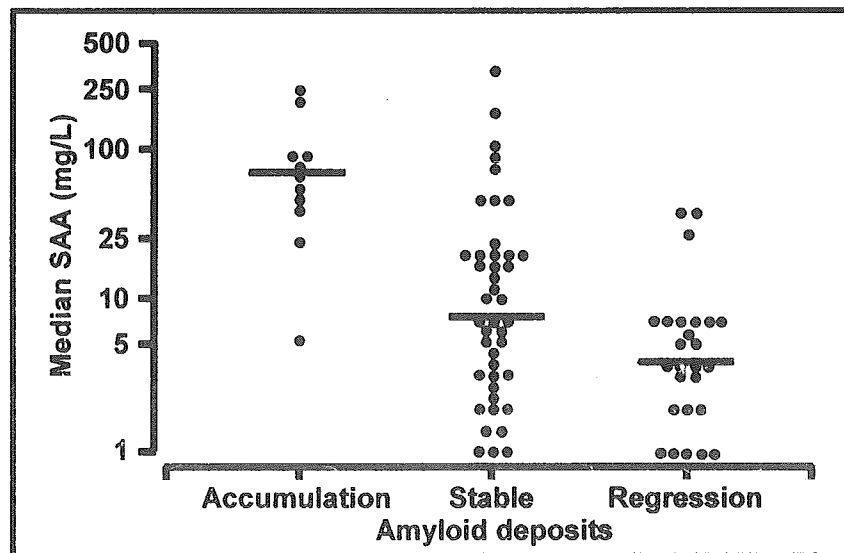


図6 Relation between change in amyloid load and median SAA concentration during first year of follow-up among all 80 patients



Gillmore et al. The Lancet 358, 2001

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

アミロイド原性 SAA アイソタイプ、SAA1 の特異測定

分担研究者 山田俊幸 自治医科大学臨床検査医学

共同研究者 奥田恭章 道後温泉病院リウマチセンター

研究要旨 AA アミロイド線維の血中前駆体、血清アミロイド A (SAA) は複雑な多型を示し、急性期 SAA には遺伝子座の異なる SAA1 と SAA2 があり、前者がよりアミロイド原性が強いとされている。本研究ではモノクロナル抗体を用い、この 2 つのアイソタイプを分別定量する測定法の開発を試みた。検索の結果、SAA1 に特異的に反応するクローンが見出され、これを利用して酵素免疫測定法による SAA1 特異測定系が構築された。血清中では健常者、関節リウマチ患者とも SAA1 濃度が総急性期 SAA の 70~80% を占め、総 SAA 濃度を決定するアイソタイプであると判明した。今後より詳細な検討が必要であるが、現行の SAA 総濃度測定値がほぼ SAA1 の値を代表しているとみなしていいと考えられる。

A. 研究目的

AA アミロイド線維の血中前駆体、血清アミロイド A (SAA) は複雑な多型を示すファミリー蛋白である。急性相反応物質であるアイソタイプには遺伝子座の異なる SAA1 と SAA2 (アミノ酸残基 7~8 の違い) があり、前者がよりアミロイド原性が強いとされている。マウス実験では、アミロイドーシス進展に伴いアミロイド原性アイソタイプの血中濃度が減少することが示されており、ヒトにおいてもその検証が待たれる。しかし、現行の SAA 測定は両アイソタイプを総合して測定するものであり、両アイソタイプを特異抗体によって定量した報告はない。本研究は特異抗体の作製とその応用による SAA アイソタイプ分別定量を目指した。

B. 研究方法

リコンビナントヒト SAA 各アイソタイプは既報のごとく自家調整した。最初に SAA2.1 をマウス、またはラットに免疫し、マウスミエローム細胞と細胞融合させ、SAA2 特異抗体産生クローンを検索した。結果的にこのアプローチはうまくいかなか

たため、既に作製済みの複数のモノクロナル抗 SAA 抗体産生クローンの特異性を rSAA1 と rSAA2 を使用して確認した。なお、それらのクローンは、ヒト血清から精製した SAA をラットに免疫し、マウスミエローム細胞と細胞融合して得られたものである。検索の結果、一つのクローン、SAA90 が酵素免疫測定法 (ELISA) の系で、rSAA1 にのみ反応することを確認した。両 SAA に反応する抗体を固相に、クローン SAA90 を液相に用いることで SAA1 特異サンドイッチ ELISA 法を構築した。

測定に供した血清は、この SAA1 測定の基準値検討研究に使用することに同意した健常者 (医学部学生) から得られた。サンプルは匿名化し、性、年齢以外の情報を破棄した。また、関節リウマチ患者のサンプルは、以前に SAA1 遺伝子型と SAA 濃度の研究で収集し (その際にインフォームドコンセントを得ている)、保存してあったものを用いた。

C. 研究結果

総 SAA に占める、SAA1 濃度比率は健常者 (84 例) で平均 74%、RA 患者 (85 例)

で平均 77% となった。RA 患者において SAA1 は総 SAA ($r=0.99$)、CRP ($r=0.74$) と高く相関した。RA 患者の SAA1/総 SAA は SAA1 遺伝子型に影響されなかった。総 SAA と SAA1 の差を、SAA2 と仮定して、その挙動などを調べた結果、SAA1 と SAA2 は強く相関した。

D. 考察

沈着している AA の 90% は SAA1 に由来するとの報告があり、その理由として、SAA1 が構造的によりアミロイド原性である、あるいは単に SAA1 の量的優位による、と議論されてきた。前者はリコンビナント SAA を用いた検討から示唆されたが、後者については、これまで SAA アイソタイプを正確に定量する方法がなかったため推定の域を出なかった。本研究により、この量的なものの寄与も示唆されたことになる。

また、これまでの報告で SAA1 の濃度または発現は、SAA1 対立遺伝子や、グルココルチコイドによる影響を受けることが示されてきた。この点で、そのようなバイアスのない SAA2 の定量が違う側面をみせてくれるものと期待したが、その特異抗体は残念ながら得られなかった。回避的な工夫であるが、総 SAA と SAA1 の差を SAA2 と想定して統計学的検討をした結果、SAA1 と SAA2 は強く相関し、現時点では SAA2 を特別に分別定量する意義は見出せなかった。

SAA1 対立遺伝子の影響は表現型 SAA の血中クリアランスの差と想定しているが、今回 SAA1 遺伝子型で SAA1 比は影響を受けないことが確認された。SAA1 遺伝子型が SAA 全体の代謝に影響している可能性が示唆された。

今度、アミロイドーシス患者における SAA 血中濃度の動的な観察、沈着組織中での動態などにこの特異測定を応用していきたい。

E. 結論

SAA1 特異測定法を確立した。SAA1 は急性期 SAA の値を左右する主アイソタイプと

判明した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Matsuda M, Yamada T, Gono T, Shimojima Y, Ishii W, Fushimi T, Sakashita K, Koike K, Ikeda S. Serum Levels of Free Light Chain before and after Chemotherapy in Primary Systemic AL Amyloidosis. *Intern Med* 44: 428-433, 2005

2) Shimojima Y, Matsuda M, Gono T, Ishii W, Fushimi T, Hoshii Y, Yamada T, Ikeda S. Correlation between serum levels of free light chain and phenotype of plasma cells in bone marrow in AL amyloidosis. *Amyloid: J Prot Fold Dis* 12: 33-40, 2005

3) Kokubun M, Imafuku Y, Okada M, Ohguchi Y, Ashikawa T, Yamada T, Yoshida H. Serum amyloid A (SAA) concentration varies among rheumatoid arthritis patients estimated by SAA/CRP ratio. *Clin Chim Acta* 360:97-102, 2005

4) Someya T, Kaneko K, Yamada T, Yamashiro Y. Effect of a novel free radical scavenger, edaravone, on puromycin aminonucleoside induced nephrosis in rats. *Pediatr Nephrol* 20:1430-1434, 2005

2. 学会発表

1) 山田俊幸：血清アミロイド A、病原性と検査値の背景。第 52 回日本臨床検査医学会総会、福岡、11 月 18 日、2005 年。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

AA アミロイドーシス合併関節リウマチにおける診断時無症候例の経過と予後に関する検討

分担研究者 奥田恭章 道後温泉病院リウマチセンター内科

共同研究者 山田俊幸 自治医科大学臨床検査医学

研究要旨 AA アミロイドーシスに対する消化管生検(GI)スクリーニングによる早期診断と管理は重要であるが、症状を認めない段階で診断された症例がどのような経過、予後を迎えるかはこれまで明らかにされていない。無症候例の経過、予後の検討を行った。〔方法〕GI スクリーニングにて診断時無症候の AA アミロイドーシス合併関節リウマチ 87 例の臨床経過と予後を調査した。〔結果および考察〕診断時症候ありの 254 例の 5 年生存率、10 年生存率はそれぞれ 53%、38.4%に対して無症候群はそれぞれ 91.9%、74.3%と予後は良好であった ($p < 0.0001$)。死亡例は 13 例でアミロイドーシスの進行が死亡に関与したと考えられたのは 4 例(4.6%)であった。生存例(平均観察期間 86 カ月)の診断時及び最新の CRP,CRN はそれぞれ 3.73mg/dl, 0.49mg/dl (診断時)、1.07mg/dl, 0.60mg/dl(最新)であった。腎機能悪化を 4 例に、麻痺性イレウスを 1 例に認めた。死亡症例、生存症例を合わせた無症候から有症候アミロイドーシスへの移行は 9/87(10.3%)であった。また、組織への沈着陰性化が確認できたのは 5 例(5.7%)であった。〔結論〕早期診断例は積極的な関節リウマチのコントロールにより予後及び経過は良好であった。

A. 研究目的

胃十二指腸生検スクリーニングにて AA アミロイドーシスの早期診断を行うことは、その後の管理・治療において重要である。しかし、スクリーニングにおいて無症候の段階で診断された症例がどのような長期経過を迎えるかは明らかにされていない。今回、無症候例における経過と予後の検討を行った。

B. 研究方法

当院にて 2004 年末までに診断された AA アミロイドーシス合併関節リウマチ (RA) の 336 例のうち、診断時アミロイドーシスに関する臨床症候を認めない 87 例(平均観察期間; 85 カ月)について臨床経過と予後を調査した。

調査例のうち SAA1 genotype を調べた症例は、道後温泉病院倫理委員会での審査、承認を受けた同意書を用い、インフォームドコンセントを得た後に調査を行った。

C. 研究結果

1.有症候群と無症候群との予後の比較
診断時アミロイドーシスの臨床症候を認めた249例の5年生存率、10年生存率はそれぞれ53%、38.4%であったのに対して診断時無症候の82例はそれぞれ91.9%、74.3%と予後は有意に良好であった ($p < 0.0001$, 図1)。

2.死亡症例の検討

死亡症例は、無症候群87例中13例であった。このうちアミロイドーシスが死亡に関与したと考えられるのは4例であった(4.9%、表1)。4例のうち2例は1997年と1998年に死亡しSAA1 genotypeは未調査であったが、後に死亡した2症例は生前に調査を行い、SAA1 genotypeはそれぞれ1.3/1.3、1.1/1.3であった。

3.無症候生存例の検査成績の推移

生存例(平均観察期間86カ月)の診断時及び最新のCRP,CRNはそれぞれ3.73mg/dl, 0.49mg/dl (診断時)、1.07mg/dl, 0.60mg/dl(最新)であった。4例にAA アミロイドーシスによると思われるCRNの上昇、

1例に麻痺性イレウスを認めた。これら5例のSAA1 genotypeはそれぞれ1.1/1.5、1.5/1.5、1.3/1.3、2例は未施行であった。

4.無症候から有症候アミロイドーシスへの移行(表2)

無症候アミロイドーシスから有症候アミロイドーシスへの移行は9/87(10.3%)に認められた。内訳は、アミロイドーシス進行後死亡:4例、アミロイドーシス進行後生存例:4例、アミロイドーシス進行後改善:1例であった。有症候への移行の臨床背景として、RAコントロール不良5例(定期加療:4例、不定期加療:1例)、慢性感染症など合併症の併発が4例であった(表3)。

5.沈着陰性化例

複数回の生検で沈着陰性化が認められたのは5例であった(5.7%)。このうち、4例はほぼ全経過でRAコントロールは良好であった。4例のSAA1 genotypeは、1.1/1.1,1.5/1.3,2例は未施行であった。1例はコントロール不良で診断時CRN0.6mg/dlから、3年半後に1.3mg/dlに上昇し、GI生検でのアミロイド蛋白の沈着増加も認めた。しかし、この症例は抗IL-6レセプター抗体のフェーズⅡ及び長期試験に参加し、CRP,SAAはほぼ正常で経過し、投与4年後にはGI生検でアミロイド沈着は陰性化し、CRN値は0.71mg/dlに低下した。この症例のSAA1 genotypeは、1.3/1.3であった。

D. 考察

われわれはRAに合併したAAアミロイドーシスの早期診断、管理を行うために積極的にGIアミロイドーシスに対する生検スクリーニングを行ってきた。無症候群の長期予後は有症候群に較べ非常に良好で早期診断とその管理の有用性が示唆された。無症候から有症候のアミロイドーシスへの移行例でSAA1 genotypeが調査されたのは5例であった。10アレルのうち5アレルは、日本人における疾患感受性及び予後の悪化に関連する1.3アレルであり、このアレルを有する症例は厳重な管理が必要と考えられた。RAの積極的なコントロール下で平均約7年の経過でアミロイドーシス診断時無症候例の10.3%が有症候例に移行した。このうち約半数がRAコントロールが不十分のために、残りは

慢性感染症など合併症のために有症候化したと考えられた。今後生物学的製剤の投与によりコントロール不良による移行例は減少する可能性が高いが、アミロイドーシスを合併したRAは慢性感染症などの合併症を有する長期罹患、高齢RAも多く、強力な免疫抑制療法は、日和見感染症、慢性感染症の急性増悪によるアミロイドーシスの進行も危惧される。今後、強力な免疫抑制療法とともに、感染症予防など十分な合併症対策も重要であると思われる。

E. 結論

AAアミロイドーシス早期診断例は積極的なRAのコントロールにより予後及び経過は良好であった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 奥田恭章、高杉潔: 反応性AAアミロイドーシス: 関節リウマチとAAアミロイドーシスアミロイドーシスの基礎と臨床 金原出版: 90-97、2005.
- 2) 奥田恭章: 症例の実際—病理診断クルーAAアミロイドーシス合併関節リウマチの消化管生検、腎生検例 膠原病の病理診断マニユアル 病理と臨床 23 臨時増刊号: 275-278、2005
- 3) 奥田恭章、高杉潔: 他の筋・関節症状を伴う疾患:アミロイドーシス リウマチ基本テキスト第2版 財団法人日本リウマチ財団教育研修委員会 507-511、2005.
- 4) Y Xu,T Yamada, T Satoh, Y Okuda: Measurement of serum amyloid A1(SAA1), a major isotype of acute phase SAA Clin Chem Lab Med 44: 59-63, 2006

2. 学会発表

- 1) 奥田恭章: RAとAAアミロイドーシス 第18回神戸免疫・膠原病懇話会、神戸、2/5、2005
- 2) 奥田恭章: AAアミロイドーシスに対する抗IL-6レセプター抗体の有用性; 第49回日本リ

ウマチ学会総会・学術集会；横浜、4/18、2005

3) 奥田恭章：シンポジウム 関節リウマチと臓器障害—アミロイドーシス；第 17 回日本アレルギー学会春季臨床大会；岡山、6/3、2005

4) 奥田恭章：シンポジウム RA 治療に対する合併症対策—AA アミロイドーシスの診断と治療；第 15 回日本リウマチ学会近畿支部学術集会；大阪、9/3、2005

5) RA アミロイドーシスの新しい治療法；第 17 回中之島リウマチセミナー；大阪、11/26、2005

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. AAアミロイドーシス合併関節リウマチの生存曲線

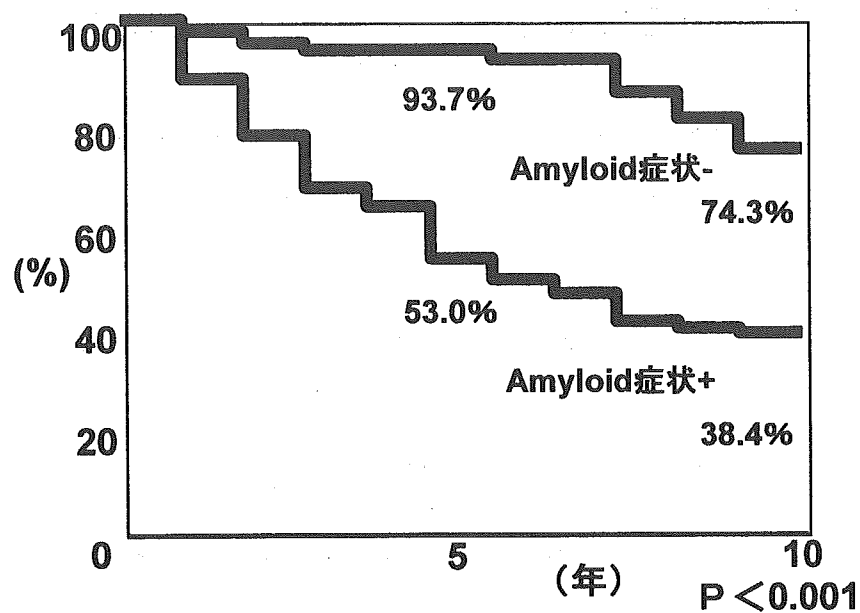


表1. アミロイドーシスが死亡に関与した4例
(4/87 ; 4.6%)

死亡時年齢	AA診断から死亡	死因	SAA1 genotype
72	6年6カ月	消化管穿孔 後脳出血	未施行
64	1年7カ月	麻痺性イレウス 後敗血症	未施行
41	6年6カ月	腎不全	1.3/1.3
71	9年4カ月	腎不全	1.1/1.3

表2. 無症候から有症候アミロイドーシスへの移行
9/87 (10.3%)

アミロイド進行後死亡：4例

アミロイド進行：4例

アミロイド進行後改善：1例

表3. 有症候移行例の臨床背景

RAコントロール不良 [定期加療：4人
不定期加療：1人

慢性感染症など合併症の併発：4人

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

リゾリン脂質によるβ2-ミクログロブリン アミロイド線維の伸長反応促進効果

分担研究者 内木宏延 福井大学医学部医学科 病因病態医学講座・分子病理学領域
 共同研究者 大越忠和*、長谷川一浩*、大橋祐美子*、廣畑美枝**
 *福井大学医学部医学科病因病態医学講座・分子病理学領域
 **金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科学)

研究要旨 透析アミロイドーシスの患者組織に沈着するβ2 ミクログロブリン (β2-m) アミロイド線維を中性 pH 域で伸長させる生体内分子を探索する目的で、種々のリゾリン脂質のβ2-m アミロイド線維伸長促進効果を、チオフラビン T による分光蛍光定量法及び電子顕微鏡観察により解析した。中性 pH 域で親水基に陰性荷電を持つ、リゾフォスファチジン酸、リゾフォスファチジルグリセロール、及びリゾフォスファチジルセリンがβ2-m アミロイド線維の伸長促進効果を示し、これらのリゾリン脂質が、生体内におけるβ2-m アミロイド線維の形成、沈着の過程に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

透析アミロイドーシスは長期血液透析患者に見られる合併症で、前駆蛋白質であるβ2-ミクログロブリン (β2-m) が、天然の立体構造を変化させながら徐々に重合してアミロイド線維を形成し、骨・関節組織に沈着する。一般に、アミロイド線維形成は、重合核形成過程と線維伸長過程の二段階からなる。種々の生体分子がこの過程に影響を及ぼし、線維形成を促進、あるいは抑制すると考えられているが、その詳細については未だ明らかにされていない。β2-m アミロイド線維の伸長反応は、酸性 pH 域では速やかに起こるが、中性 pH 域では線維伸長は全く起こらず、むしろ線維は脱重合してしまう。しかし、最近われわれは、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) が、中性 pH 域でβ2-m アミロイド線維伸長を引き起こすことを明らかにした。今回、SDS に類似した構造を持つ生体分子であるリゾリン脂質について、β2-m アミロイド線維伸長効果を解析した。

B. 研究方法

親水基の異なる 5 種類のリゾリン脂質について、それぞれ疎水基である脂肪酸の炭素数が異

なるものを数種類ずつスクリーニングした (リゾフォスファチジルコリン: 3 種類、リゾフォスファチジルグリセロール: 4 種類、リゾフォスファチジルセリン: 2 種類、リゾフォスファチジン酸: 4 種類、リゾフォスファチジエタノールアミン: 4 種類)。リゾリン脂質を種々の濃度 (0~1.0 mM) で添加した中性緩衝液中で、シードとなる断片化線維をβ2-m モノマーとともにインキュベートし、線維伸長反応を行い、チオフラビン T を用いた分光蛍光定量法、並びに電顕観察にてアミロイド線維伸長の有無を確認した。また、リゾリン脂質分子の構造 (親水基の種類、電荷、疎水基である脂肪酸鎖の長さや二重結合の有無など) と線維伸長効果の有無及び線維伸長効果の強さとの相関を解析した。

(倫理面への配慮)

試験管内実験に必要なβ2-m 線維を精製するためのアミロイド沈着組織は、患者より実験に使用する旨のインフォームドコンセントを得た後、手術時に採取した。

C. 研究結果

疎水基である脂肪酸の炭素数が14~18で、中性

pHで親水基に陰性荷電を持つ、リゾフォスファチジン酸、およびリゾフォスファチジルグリセロールが、200 μ M以上の濃度で β 2-mアミロイド線維の伸長促進効果を示した。伸長反応は1日で平衡に達したが、線維伸長効果の強さはSDSと比較するとやや弱く、ThT蛍光値上、0.5mM SDSを加え線維伸長を行った陽性コントロールの40~70%であった。親水基の荷電の総和がマイナス1であるリゾフォスファチジルセリンは線維伸長促進効果が認められたが、リゾフォスファチジン酸やリゾフォスファチジルグリセロールと比べてその効果は弱かった。一方、親水基の荷電の総和が ± 0 であるリゾフォスファチジルコリン、リゾフォスファチジリエタノールアミンには線維伸長促進効果は認められなかった。

D. 考察

今回の研究により、リゾリン脂質が β 2-mアミロイド線維の形成、沈着の過程に関与している可能性があり、今後上記リゾリン脂質が、 β 2-mモノマーの立体構造、及び β 2-mアミロイド線維の安定性に与える影響について調べる予定である。

また、透析患者では血漿リゾリン脂質濃度が正常対照に比べ有意に高いという報告があり、透析患者における脂質代謝異常が、透析アミロイドーシスの発症に関与している可能性が示唆される。

E. 結論

中性pH域で陰性荷電を持つリゾリン脂質が、 β 2-mアミロイド線維を伸長させる効果を持つことを明らかにした。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Wadai H, Yamaguchi KI, Takahashi S, Kanno T, Kawai T, Naiki H, Goto Y: Stereospecific amyloid-like fibril formation by a peptide fragment of β 2-microglobulin. *Biochemistry* 44(1):157-164, 2005.

2) Raman B, Chatani E, Kihara M, Ban T, Sakai M, Hasegawa K, Naiki H, Rao Ch M, Goto Y: Critical balance of electrostatic and hydrophobic interactions is required for β 2-microglobulin amyloid fibril growth and stability. *Biochemistry* 44(4):1288-1299, 2005.

3) Kanno T, Yamaguchi K, Naiki H, Goto Y, Kawai T: Association of thin filaments into thick filaments revealing the structural hierarchy of amyloid fibrils. *J Biol Chem* 149(2):213-218, 2005.

4) Kihara M, Chatani E, Sakai M, Hasegawa K, Naiki H, Goto Y: Seeding-dependent maturation of β 2-microglobulin amyloid fibrils at neutral pH. *J Biol Chem* 280(12):12012-12018, 2005.

5) Raman B, Ban T, Yamaguchi KI, Sakai M, Kawai T, Naiki H, Goto Y: Metal ion-dependent effects of clioquinol on the fibril growth of an amyloid β peptide. *J Biol Chem* 280(16):16157-16162, 2005.

6) Naiki H, Yamamoto S, Hasegawa K, Yamaguchi I, Goto Y, Gejyo F: Molecular interactions in the formation and deposition of β 2-microglobulin-related amyloid fibrils. *Amyloid* 12(1):15-25, 2005.

7) Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M: Preformed β -amyloid fibrils are destabilized by coenzyme Q₁₀ in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 330(1):111-116, 2005.

8) Kameda A, Hoshino M, Higurashi T, Takahashi S, Naiki H, Goto Y: Nuclear magnetic resonance characterization of the refolding intermediate of β 2-microglobulin trapped by non-native prolyl peptide bond. *J Mol Biol* 348(2):383-397, 2005.

9) Hiramatsu H, Goto Y, Naiki H, Kitagawa T: Structural model of the amyloid fibril formed by β 2-microglobulin #21-31 fragment based on vibrational spectroscopy. *J Am Chem Soc* 127(22):7988-7989, 2005.

10) Ohhashi Y, Kihara M, Naiki H, Goto Y: Ultrasonication-induced amyloid fibril formation of β 2-microglobulin. *J Biol Chem* 280(38):32843-32848, 2005.

11) Sasahara K, Naiki H, Goto Y: Kinetically controlled thermal response of β 2-microglobulin amyloid fibrils. *J Mol Biol* 352(3):700-711, 2005.

- 12) Chatani E, Kato M, Kawai T, Naiki H, Goto Y: Main-chain dominated amyloid structures demonstrated by the effect of high pressure. *J Mol Biol* 352(4):941-951, 2005.
- 13) Yamaguchi KI, Takahashi S, Kawai T, Naiki H, Goto Y: Seeding-dependent propagation and maturation of amyloid fibril conformation. *J Mol Biol* 352(4):952-960, 2005.
- 14) Ono K, Noguchi M, Matsumoto Y, Yanase D, Iwasa K, Naiki H, Yamada M: Cerebrospinal fluid of Alzheimer patients promotes β -amyloid fibril formation in vitro. *Neurobiol Dis* 20(2):233-240, 2005.
- 15) Yamamoto S, Hasegawa K, Yamaguchi I, Goto Y, Gejyo F, Naiki H: Kinetic analysis of the polymerization and depolymerization of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils in vitro. *Biochim Biophys Acta* 1753(1):34-43, 2005.
- 16) Kardos J, Okuno D, Kawai T, Hagihara Y, Yumoto N, Kitagawa T, Zavodszky P, Naiki H, Goto Y: Structural studies reveal that the diverse morphology of β_2 -microglobulin aggregates is a reflection of different molecular architectures. *Biochim Biophys Acta* 1753(1):108-120, 2005.
- 17) Hirohata M, Ono K, Naiki H, Yamada M: Non-steroidal anti-inflammatory drugs have anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's β -amyloid fibrils in vitro. *Neuropharmacology* 49(7):1088-1099, 2005.
- 18) Raman B, Ban T, Sakai M, Pasta S Y, Ramakrishna T, Naiki H, Goto Y, Rao Ch M: α B-crystallin, a small heat-shock protein, prevents the amyloid fibril growth of an amyloid β -peptide and β_2 -microglobulin. *Biochem J* 392(3):573- 581, 2005.
- 19) Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M: Anti-Parkinsonian agents have anti-amyloidogenic activity for Alzheimer's β -amyloid fibrils in vitro. *Neurochem Int* *in press*.

2. 学会発表

- 1) 山本 卓, 長谷川一浩, 下條文武, 内木宏延, 風間順一郎, 丸山弘樹, 成田一衛, 山口 格, 後藤祐児: β_2 -ミクログロブリンアミロイド線維・沈着の分子機構. 透析アミロイドーシス—基礎研究から治療戦略 Update —. 第50回(社)日本透析医学会学術集会・総会, 横浜, 6月24-26日, 2005.
- 2) Hasegawa K, Yamamoto S, Yamaguchi I, Ookoshi T, Goto Y, Gejyo F, Naiki H: Molecular interactions in the formation and deposition of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils. The 3rd Open Workshop "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules", Okazaki, January 6-7, 2006.
- 3) Ohhashi Y, Kihara M, Naiki H, Goto Y: β_2 -Microglobulin amyloid fibril formation is induced by ultrasonication. The 3rd Open Workshop "Chemistry of Biological Processes Created by Water and Biomolecules", Okazaki, January 6-7, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

advanced-glycation-endproducts (AGE) 化 β 2 microglobulin による 培養破骨様細胞の活性化

分担研究者 今井裕一 愛知医科大学 腎臓・膠原病内科
 共同研究者 山田晴生、北川 渡、三浦直人、西川和裕
 愛知医科大学 腎臓・膠原病内科

研究要旨 長期血液透析患者で問題となる透析アミロイドーシス；アミロイド骨症の病態に破骨細胞が深く関わっていると考え基礎的検討を行った。U937 細胞を破骨様細胞に分化させ、透析アミロイドの原因物質である β 2 microglobulin (BMG)、コントロールとして牛血清アルブミン(BSA)、advanced-glycation-endproducts (AGE) 化 BMG および AGE 化 BSA を添加して比較した。酸素ラジカル・酒石酸耐性酸フォスファターゼの産生増強作用は AGE 化 β 2 microglobulin が最も強く、ついで AGE 化 BSA、BMG、BSA の順であった。透析アミロイド症の発症、進展には BMG の経年的な蓄積に加えて、AGE 化 BMG によって破骨細胞が活性化されることが重要である。

A. 研究目的

透析アミロイド症は、血清 β 2 microglobulin (BMG) がアミロイド線維化することによって生じるが、①骨に沈着し骨破壊を来すアミロイド骨症、②手根管に沈着し手指の神経障害を来す手根管症候群に大別される。アミロイド骨症は頸椎・上腕骨頭・大腿骨頭に好発し、骨破壊性病変が生じる。

血液透析患者では BMG 濃度が正常の 2 - 10 倍程度にまで増加しているが、血中 BMG 濃度の経年的な蓄積のみで透析アミロイド症の発症を説明することは困難である。また、肩、首、股関節、手根管など、日常生活で使用頻度の高い部位にアミロイド蛋白沈着し、骨融解性にゆっくりと腫瘍様に増大していく特徴がある。

病変部位では重合したアミロイドに糖と蛋白の非酵素的な反応物である advanced-glycation-endproducts (AGE) の存在が証明されている。また、In vitro では、微量元素・フリーラジカルによって AGE の形成が促進されることから、日常の関節使用に伴う局所での微細な炎症に伴うフリーラジカルが BMG の AGE 化と重合体形成に促進的に働いてい

ることが推定される。

本研究では生体材料を用いた解析が困難な透析アミロイド症に対して、その病態の一部を in vivo で再現し、AGE 化 BMG の破骨細胞に対する効果を検討した。

B. 研究方法

骨は骨芽細胞と破骨細胞のバランスで規定されており、常に代謝している臓器である。骨芽細胞が局所での骨形成に働くのに対し、破骨細胞は単球から分化した細胞であり、骨芽細胞の存在下で様々な誘導因子によって制御されている。

① in vitro で破骨細胞の培養系を確立
 ヒト単球由来性白血病細胞株である U937 細胞をフォルボールエステルとビタミン D 存在下で破骨様細胞に分化させた。分化を酸素ラジカル産生能、酒石酸耐性酸フォスファターゼ、culture dish への付着能、カルシトニンレセプター、RANK、インテグリンの発現を検討した。

②培養系細胞を用いた検討
 得られた細胞に牛血清アルブミン(BSA)、BMG、AGE 化 BSA、AGE 化 BMG を添加して、酸

素ラジカル、酒石酸耐性酸フォスファターゼの活性の変動を検討した。

当研究では培養細胞を対象とするものであり、臨床倫理上・実験動物愛護上の対象とはならない。

C. 研究結果

①破骨細胞の培養系（図1参照）

U937細胞を通常の状態では培養した場合とフォルボールエステル、ビタミンDの存在下で分化した状態とで比較した。後者の条件下で細胞はフリーラジカル産生の増加、酒石酸耐性酸フォスファターゼ活性、culture dishへの付着能、カルシトニンレセプター、RANKを発現していることを確認できた。インテグリンの発現は確認できなかったものの、破骨細胞にかなり近似した性格を持つ細胞であることを確認した。

②破骨様細胞の刺激（図2・3参照）

フリーラジカル産生量は無刺激時をコントロール(1 ± 0.2)としてAGE化BMG(2.0 ± 0.28) > AGE化BSA(1.7 ± 0.19) >> BMG(1.2 ± 0.13) > BSA(0.8 ± 0.25)の順で、酒石酸耐性酸フォスファターゼの活性はコントロール(1 ± 0.15)で、AGE化BMG(1.6 ± 0.19) > AGE化BSA(1.4 ± 0.23) > BMG(1.2 ± 0.16) > BSA(1.15 ± 0.14)の順であった。

D. 考察

本研究より、破骨細胞の活性化マーカーであるフリーラジカル産生、酒石酸耐性酸フォスファターゼ活性増強はBSAと比べBMGで、またAGE化BSAよりAGE化BMGでより強く増強された。このことは長期血液透析に伴うBMG濃度の上昇のみならず、AGE化という修飾がアミロイドーシス骨症の発症に重要な役割を果たしていることを示している。

透析に伴うアミロイド沈着は関節に面した骨組織、関節、腱など血流に乏しい組織で優位に生じる。本研究でAGE化BMGの破骨細胞を活性化作用は臨床的なアミロイド骨症の骨融解性の骨破壊像を間接的に説明しうる。

作業仮説としては以下のようなになる。

- ① 血液透析患者では体内は酸化ストレス状態にある。また、BMGが蓄積している。

- ② BMGのAGE化が促進される
 ③ AGE化BMGによる破骨細胞の活性化が生じる。
 ④ 破骨細胞からの酸素ラジカル産生が更に局所でのBMGのAGE化を促進する。
 ⑤ BMGのアミロイド化が促進する。
 ⑥ 局所での蛋白のAGE化が更に強く破骨細胞を活性化して骨破壊を誘導する。

以上のような悪循環を生じる。

これまでアミロイド骨症の治療薬として認可されたものはないが、経験上、少量の副腎皮質ステロイド、非ステロイド性消炎鎮痛剤(NSAID)が有効であるとされている。副腎皮質ステロイドおよびNSAIDの投与によってBMGの血中濃度が減少するわけではなく、関節における微細な炎症を抑制し、酸素ラジカル生成とAGE形成促進を抑制して悪循環を断ち切っている可能性がある。

本研究では透析アミロイド症の発症機序にAGE化BMGが破骨細胞の酸素ラジカル増大、酒石酸耐性酸フォスファターゼ活性増大が関与することを示唆する所見が得られた。またU937細胞の破骨様細胞への分化誘導はアミロイド骨症のin vitroでの解析に重要なツールを提供することになるかもしれない。

E. 結論

U937細胞をビタミンD、フォルボールエステルの存在下で破骨様細胞に分化させた。それを利用してAGE化BMGが培養破骨様細胞の酸素ラジカル、酸フォスファターゼ活性を増強した。

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表

1. 論文発表
 腎とフリーラジカル第7集 pp112-115
 2. 学会発表
 培養骨芽細胞・破骨細胞と活性酸素・Superoxide Dismutase; 日本透析医学会, 2004

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得：なし