

透析アミロイドーシスの臨床・病理学的特徴

新潟大学医学部附属病院血液浄化療法部

西 慎 一

Clinical and Pathological Features of Hemodialysis
Associated Amyloidosis

Shinichi NISHI

*Blood Purification Center,
Niigata University Hospital*

Hemodialysis associated amyloidosis (HA) is a new type systemic amyloidosis. Gejyo elucidated precursor protein of HA was $\beta 2$ -microglobulin ($\beta 2$ -MG), which was a low molecular protein accumulating in the serum of long term hemodialysis patients, in 1985. The histological features of this amyloidosis, which are unique in fibrillar structures and histochemical characters, are clearly different from those of other types of systemic amyloidosis, AL and AA. HA shows specific aspects in clinical features, either. The incidence of various bone and articular complications, such as bone cysts, carpal tunnel syndrome and destructive spondylarthropathy, increases according to the duration of hemodialysis. These complications result from the deposition of amyloid fibrils derived from $\beta 2$ -MG and are suspected to be confirmed in all patients who continue the dialysis treatment more than 10 years. The affinity of amyloid deposition to bone and articular tissues supposed to be an interesting key character in the pathogenic consideration of amyloid fibril formation. We discussed clinical and histological features of HA and summarized the recent studies of pathogenesis about amyloidogenesis including in our research results.

Key words: hemodialysis, amyloidosis, $\beta 2$ -microglobulin, glycoprotein, advanced glycation endproduct, macrophage
血液透析, $\beta 2$ ミクログロブリン, 糖蛋白, 非酵素の糖化終末産物, マクロファージ

Reprint requests to: Shinichi Nishi, MD.
Blood Purification Center, Niigata
University Hospital
754, Asahimachi-dori 1, Niigata City,
951-8520, Japan.

別刷請求先: 〒951-8520 新潟市旭町通1番町754
新潟大学医学部附属病院血液浄化療法部

西 慎 一

はじめに

1985年、下条らは長期透析患者の手根管症候群手術材料より得たアミロイド組織を生化学的に分析し、このアミロイド前駆蛋白が既知の蛋白である $\beta 2$ -マイクログロブリン($\beta 2$ -MG)であることを証明した^{1,2)}。それ以後、透析アミロイドーシスは、 $\beta 2$ -MGが前駆蛋白である全身性アミロイドーシスであると認識されるようになり、研究は飛躍的に進展した。この報告の直前に、新潟県信楽園病院の病理医であるMoritaは、透析患者にみられるアミロイドーシスは、電顕で観察される細線維構造に特徴があり、同じく全身性アミロイドーシスであるALあるいはAAアミロイドーシスとは異なるタイプのものであることを報告していた³⁾。

ALあるいはAAアミロイドーシスは、心臓、肝臓、腎臓などの諸臓器にアミロイド細線維が沈着し、沈着臓器の機能不全を起こす。 $\beta 2$ -MGアミロイドーシスも全身性アミロイドーシスであり、内臓諸臓器に沈着する。だが、これまでのアミロイドーシスと異なり、運動性器官である骨関節部への沈着頻度が極めて高いことに臨床的特徴がある。つまり、手根管症候群をはじめ、破壊性脊椎関節症、骨嚢胞などのいわゆる透析骨関節症と称されるさまざまな合併症を引き起こす元凶となっている⁴⁻⁶⁾。透析患者にとっては、骨関節部の可動域障害、疼痛などの臨床症状が出現するため、日常生活のQOLを著しくそこねる結果となる。しかも、これらのアミロイド関連合併症は、透析導入後早期にはみられず、透析歴が10年以上の長期透析患者に好発してくる。

$\beta 2$ -MGアミロイドーシスの発症を阻止することは、長期透析患者のQOLを高めるために、最も必要な臨床的課題となっている。残念だが、透析アミロイドーシスの完全な予防法あるいは治療法は、現在のところみつかっていない。しかしながら、徐々に、発症メカニズムが徐々に解明されつつあり、今後の研究が期待される。近年の研究上のトピックスについて、私たちのデータも加えながら解説したい。

 $\beta 2$ -MGアミロイドーシスの病理学的特徴

$\beta 2$ -MGアミロイドーシスには、ALあるいはAAアミロイドーシスと異なるいくつかの病理学的特徴がある。光顕標本ではコンゴレッド染色陽性であり、偏光顕微鏡下で緑色偏光を呈することは、他のアミロイド沈着と共通である。しかし、電顕標本では、ALおよびAAアミロイドーシスは直線的な10nm前後径の

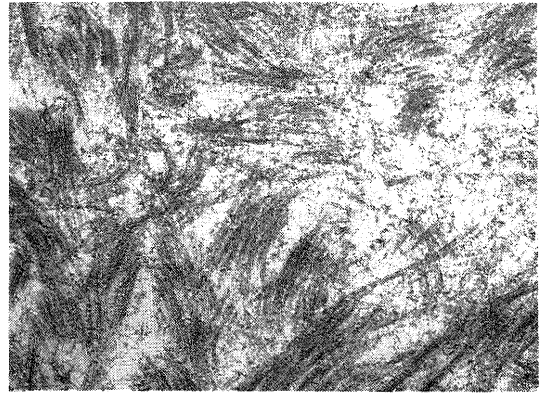


図1 $\beta 2$ -MGアミロイド細線維. 15~20nm程度のやや湾曲した細線維が束状に集合している。倍率20,000倍

細線維が個々分離・散在性配列を呈するのに対し、 $\beta 2$ -MGアミロイド細線維は、やや湾曲した細線維が集合性配列をみせる。アミロイド細線維径もやや太く、10~15nm径を示す(図1)。また、 $\beta 2$ -MGアミロイド沈着部位では、マクロファージに貪食される細線維像が容易に観察される点も他のアミロイド細線維と異なる特徴である。このように、細線維の超微細構造が異なるのは、アミロイド前駆蛋白の性質の違いによるものと推測される。また、アミロイド細線維周囲に共存する物質の違いも、この超微細構造の差に影響していると考えられる³⁾⁷⁾。

電顕PAM染色を施すと、 $\beta 2$ -MGアミロイド細線維はPAM強陽性であるが、他のAA、ALアミロイド細線維はPAM弱陽性であり、組織化学的にも違いがあることが分かる。PAM染色陽性であることは、糖成分を多量に含有している糖蛋白(glycoprotein)ことを示唆している⁷⁾(図2)。光顕標本の $\beta 2$ -MGアミロイドに対してレクチン染色を行うと、MPA、LFAに陽性反応を示す。一方、対照とするAAアミロイドーシスでは、いずれのレクチンにも陽性反応を示さない⁸⁾。このことは、 $\beta 2$ -MGアミロイド沈着は、ガラクトースとシアル酸を糖鎖として含有していることを示している。このような糖鎖は、マクロファージの貪食認識機構に重要であることが知られており、 $\beta 2$ -MGアミロイドの被貪食傾向の一因とも考えられる。

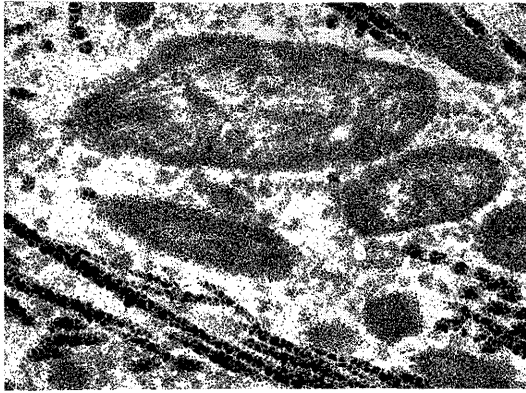


図2 電顕 PAM 染色を施した $\beta 2$ -MG アミロイド細線維。周囲の膠原線維と同様に陽性に反応を示す。

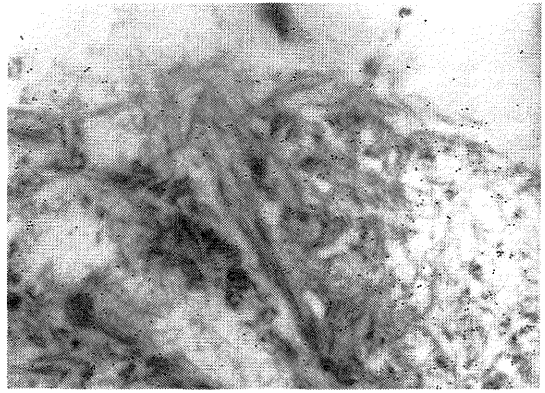


図3 $\beta 2$ -MG アミロイド細線維上の抗 AGE 抗体の反応。細線維に一致して金コロイドの反応が認められる。

$\beta 2$ -MG アミロイドーシスの発症背景因子と発症率

$\beta 2$ -MG は、分子量 11,800 の低分子蛋白であり、リンパ球を中心に多くの有核細胞で産生され、細胞表面に HLA クラス I 抗原 L 鎖として存在し機能している。腎機能が正常であれば、 $\beta 2$ -MG は糸球体基底膜より濾過され、尿細管で再吸収を受けつつ、一定の血中濃度が保持される。腎機能が廃絶すると糸球体より濾過されず、血中濃度増加が $20 \sim 80 \text{ mg/L}$ にまで達し、正常の $10 \sim 40$ 倍にまで上昇する⁹⁾。このような $\beta 2$ -MG の血中濃度増加が、 $\beta 2$ -MG アミロイドーシスの発症の背景にあることは間違いない。しかし、その発症状態をみると、保存期腎不全患者にはほとんど確認されず、透析導入後 10 年以降の患者に発症率が高くなることが追跡調査では判明している。透析歴 20 年になると、全ての患者にアミロイド沈着があるという報告もある¹⁰⁾。

AL あるいは AA アミロイドーシスの発症にも、アミロイド前駆蛋白である軽鎖蛋白あるいは血清アミロイド A 蛋白の血中濃度が増加することが必要である。しかし、必ずしも、血中濃度レベルに依存してアミロイドーシスの発症率が高くなるわけではない。 $\beta 2$ -MG アミロイドーシスの発症にも、 $\beta 2$ -MG の血中濃度増加以外の、長期透析患者が有する何らかの体内環境要因が関与していると考えられている。

$\beta 2$ -MG の分子修飾

$\beta 2$ -MG の血中濃度がアミロイドーシス発症率と

直接相関しないこと、発症までに長期の時間的要因を必要とすることなどから、 $\beta 2$ -MG が分子修飾を受けていることが発症に必要な要因ではないかという仮説が提唱されている。すなわち、リジン残基特異的 $\beta 2$ -MG 仮説¹¹⁾、ノーベル $\beta 2$ -MG 仮説¹²⁾、AGE (advanced glycosylation endproduct) 修飾仮説などである^{13,14)}。リジン残基特異的 $\beta 2$ -MG 仮説とノーベル $\beta 2$ -MG 仮説は、いずれも intact $\beta 2$ -MG と異なる $\beta 2$ -MG 分子がアミロイド組織から検出されることから、アミノ酸レベルでの切断あるいは変性がアミロイド化には必要であるという説である。リジン残基仮説は、アミロイド沈着臓器より 1~19 アミノ酸残基が欠けた $\beta 2$ -MG が同定され、そのペプチド切断部位にはリジン特異性が存在することから提唱されている。血中の蛋白分解酵素やアミロイド沈着物内にも検出される蛋白分解酵素が関与していることが推測されている。この仮説では、末端の親水性ペプチドを失った $\beta 2$ -MG フラグメントは、疎水性ペプチドが表面に露呈するため、アミロイド細線維形成が促進されると考えられている。ノーベル $\beta 2$ -MG 仮説は、アミロイド沈着組織あるいは透析患者血清より、intact $\beta 2$ -MG と比べ、等電点がやや酸性よりの酸性 $\beta 2$ -MG が検出されることが根拠となっている。ノーベル $\beta 2$ -MG は、透析期間の増加とともに血清中濃度が増加することが知られており、アミロイド形成に必要な変性ではないかと考えられている。しかし、この分子修飾は、分析過程で起こった可能性も指摘されており、結論はでない。AGE 修飾仮説は、アミロイド組織の $\beta 2$ -MG が、非酵素的糖化反応であるメイ

ラード反応を受けて AGE 化しており、しかも、透析患者の血中 $\beta 2$ -MG も AGE 化されている事実から、AGE 化 $\beta 2$ -MG がアミロイド化に必要であるとする仮説である。AGE 物質としては、ピラリン、クロスリン、ペントシジン、カルボキシメチルリジン (CML) などが知られている。図 3 に、抗 AGE 抗体の一つである抗 CML 抗体による AGE 局在を免疫電顕法で示した¹⁵⁾。CML アミロイド細線維上に存在し、まさにアミロイド細線維が AGE 化されていることが、病理学的にも証明される。また、抗ペントシジン抗体に対しても $\beta 2$ -MG アミロイドは陽性反応を示す¹⁶⁾。

しかし、AGE 化 $\beta 2$ -MG の血中での割合は極めて低く、アミロイド細線維の AGE 化は、アミロイド沈着後の変化であるという意見が大勢を占めている。また、どのような AGE 物質が、最も多く $\beta 2$ -MG アミロイド細線維から検出されるのかという点に関しても、最終的な結論は得られていない。

一般に、AGE 物質が形成されると、蛋白質間に強固な架橋構造が形成され、蛋白分解酵素に対して抵抗性の性質を有するようになる。アミロイド細線維が、一度沈着した組織内で分解を受けずに長期間存在する理由の一つとして、アミロイド細線維の AGE 化が関与していると考えられている¹⁷⁾。

AGE 化 $\beta 2$ -MG アミロイドと骨関節合併症

AGE 化された $\beta 2$ -MG、マクロファージに対して遊走促進的に働き、TNF α 、IL-1 β 、IL-6 などのサイトカインの産生亢進を惹起することが実験的に確認されている^{6, 17)}。これらのサイトカインの産生亢進は、骨芽細胞や破骨細胞の活性化、滑膜組織細胞の増殖、コラゲナーゼの分泌亢進などを誘導し、透析アミロイドーシスに随伴する関節破壊、骨嚢胞形成の原因となりうると考えられている¹⁸⁾。

また、膠原線維が豊富である骨関節部にアミロイド沈着が好発する機序に関しては、次のような報告がある。 $\beta 2$ -MG は、正常膠原線維よりも AGE 化された膠原線維に対して親和性が高く、しかも、AGE 化 $\beta 2$ -MG は、AGE 化膠原線維に結合しやすいというデータである。長期透析患者の骨関節領域の膠原線維は、AGE 化されていると言われており、血中に蓄積した AGE 化 $\beta 2$ -MG が、親和的にアミロイド沈着を起こす可能性を示唆する仮説として興味深い¹⁹⁾。

透析患者に AGE 物質が蓄積しやすい理由としては、腎からの AGE あるいは AGE-ペプチドの排泄低下

が挙げられる。AGE は、通常アルブミンなどの血中蛋白と結合しているが、一部は血中に遊離して存在する。特に、低分子の AGE ないし AGE-ペプチドは、腎機能が正常の場合は腎より排泄されるが、腎機能が低下し排泄率が低下した場合は血中に蓄積することになる。また、丹波らによれば、メイラード反応の後期代謝産物であり非常に活性の強い中間代謝産物 3-deoxyglucosone (3-DG) が透析患者の血中に蓄積しており、グルコースよりも 3-DG の方がより速や大量に $\beta 2$ -MG の AGE 化を促進することを証明している²⁰⁾。いわゆる、3-DG による糖化的酸化 (glycoxidation) が AGE 化 $\beta 2$ -MG アミロイド形成に重要であると報告している。

分子複合体であるアミロイド沈着

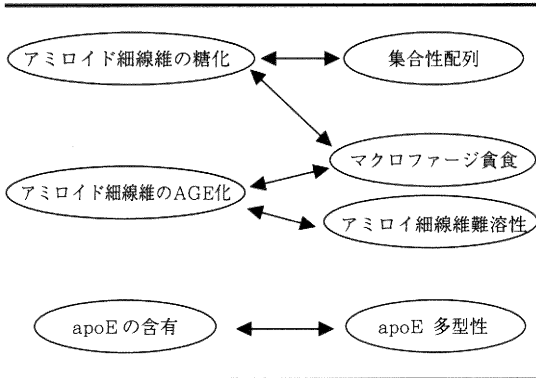
アミロイド沈着は、それぞれのアミロイド前駆蛋白を主成分としているが、他に、アミロイドーシスの種類に関係なく共通した成分が証明される。それらは、アミロイド P 蛋白、プロテオグリカン、アポプロテイン E (Apo-E)、カルシウムなどである²¹⁾。超微形態学的には、アミロイド細線維とこれらの物質の局在関係は、個々の物質で異なる。アミロイド P 蛋白はアミロイド細線維周囲に独立して存在し、プロテオグリカンはアミロイド細線維周囲を被うように存在する。Apo-E の局在はアミロイド細線維と完全に一致している。アミロイド沈着は、このように分子複合体であるが、アミロイド細線維が分離せずに沈着できるのは、これらの成分が細線維を集合体としてまとめているためとも考えられている。

Apo-E 多型とアミロイドゲネーシス

神経細胞内にアミロイド物質が沈着するアルツハイマー病の発症は、ワイルドタイプである Apo-E3 フェノタイプを有する症例と比較し、Apo-E4 フェノタイプを有する症例に、早期から発症例が多く、その発症率も有意に高いという疫学的結果が得られた²²⁾。その後、AA あるいは $\beta 2$ -MG アミロイドーシスにおいても、Apo-E フェノタイプとアミロイド発症との関連が追試された。その結果、Apo-E4 フェノタイプと、AA あるいは $\beta 2$ -MG アミロイドーシスの発症との間には、有意な関連性が認められた。だが、統計的には、その関連性の強さは、アルツハイマー病と Apo-E4 との間にみられるほどのものではなかった¹⁰⁾。

しかしながら、アミロイド細線維形成に対して、Apo-E の存在が必須ではないかという考えが生まれ、アミ

表1 透析アミロイドーシスの発症機序



ロイド形成機序に関する研究においては、一つの研究発展の布石となった。

アルツハイマー病の神経細胞内ブラーク形成蛋白である β 蛋白と apoE を試験管内で混合すると、アミロイド細線維類似物質が形成されるという報告があり²³⁾、同様に、軽鎖蛋白、血清アミロイド A 蛋白と Apo-E を試験管内で混合し、アミロイド細線維に近い細線維構造物が作成できたという報告が続いた。しかし、この細線維構造物がアミロイド細線維そのものであるか否かの判定は、X 線構造解析などがなされていないため、現在のところ結論はでていない。

アミロイドゲネーシスにおいて、他のアミロイド共存物質の必要性についての研究報告もある。Ono らは、 β 2-MG とアミロイド P 蛋白を試験管内で混合し、アミロイド物質の作成を試みている。この実験では、アミロイド P 蛋白が β 2-MG と生化学的に反応して、アミロイド類似物質を作成できるとしている²⁴⁾。しかし、このようにして作成された物質が、真のアミロイド細線維にどれほど近いものであるか、やはり今後の判定が必要である。

ま と め

β 2-MG アミロイドーシスは、特異な病理学的そして臨床的特徴をもつ全身性アミロイドーシスである。その発症機序は徐々に解明されつつある(表1)。長期透析患者のより快適な透析ライフを確立するためには、 β 2-MG アミロイドーシスの発症予防と、一度沈着したアミロイド沈着物の除去法を確立することが今後の課題である。そのためにも、真のアミロイド形成機序を解き

明かしていく必要がある。

参 考 文 献

- 1) Gejyo, F., Yamada, T., Odani, S., Nakagawa, Y., Arakawa, M., Kunitomo, T., Kataoka, H., Suzuki M., Hirasawa, Y. and Shirahama, T.: A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as beta 2-microglobulin. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **129**: 701~706, 1985.
- 2) Gejyo, F., Odani, S., Yamada, T., Honma, N., Saito, H., Suzuki, Y., Nakagawa, Y., Kobayashi, H., Maruyama, Y., Hirasawa, Y. and Arakawa M.: Beta 2-microglobulin: a new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis. *Kidney Int.*, **30**: 385~390, 1986.
- 3) Morita, T., Suzuki, M., Kamimura, A. and Hirasawa, Y.: Amyloidosis of a possible new type in patients receiving long-term hemodialysis. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **109**: 1029~1032, 1985.
- 4) 青柳竜治, 下条文武: アミロイド骨・関節症の画像診断. *腎と骨代謝*, **9**: 157~164, 1996.
- 5) 丸山弘樹, 荒川正昭: 破壊性脊椎関節症. **9**: 165~174, 1996.
- 6) Ohashi, K., Hara, M., Kawai, R., Ogura, Y., Honda, K., Nihei, H. and Mimura, N.: Cervical discs are most susceptible to beta 2-microglobulin amyloid deposition in the vertebral column. *Kidney Int.*, **41**: 1646~1652, 1992.
- 7) Nishi, S., Ogino, S., Maruyama, Y., Honma, N., Gejyo, F., Morita, T. and Arakawa, M.: Electron-microscopic and immunohistochemical study of beta-2-microglobulin-related amyloidosis. *Nephron.*, **56**: 357~363, 1990.
- 8) 西 慎一, 今井直史, 宮崎 滋, 柄澤 良, 川嶋紳史, 下条文武, 荒川正昭: β 2-MG アミロイド細線維の糖化性に関する検討. 第39回日本透析医学会総会 O ~ 194, 1994.
- 9) Canaud, B., Assounga A., Flavier, J. L., Slingeneyer, A., Aznar, R., Robinet-Levy, M. and Mion, C.: beta-2 microglobulin serum levels in maintenance dialysis. What does it mean? *ASAIO.*, **34**: 923~929, 1988.
- 10) 下条文武: 透析アミロイドーシス. *プログレス10腎・*

泌尿器科疾患. 荒川正昭, 出浦照国, 長澤俊彦, 菱田明編, 344~354, 中山書店, 東京, 1997.

- 11) Linke, R. P., Hampl, H., Lobeck, H., Ritz, E., Bommer, J., Waldherr, R., and Eulitz, M.: Lysine-specific cleavage of beta 2-microglobulin in amyloid deposits associated with hemodialysis. *Kidney Int.*, **36**: 675~681, 1989.
- 12) Argiles, A., Derancourt, J., Jauregui-Adell, J., Mion, C., and Demaille, J. G.: Biochemical characterization of serum and urinary beta 2 microglobulin in end-stage renal disease patients. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **7**: 1106~1110, 1992.
- 13) Miyata, T., Oda, O., Inagi, R., Iida, Y., Araki, N., Yamada, N., Horiuchi, S., Taniguchi, N., Maeda, K. and Kinoshita, T.: beta 2-Microglobulin modified with advanced glycation end products is a major component of hemodialysis-associated amyloidosis. *J. Clin. Invest.*, **92**: 1243~1252, 1993.
- 14) Miyata, T., Inagi, R., Wada, Y., Ueda, Y., Iida, Y., Takahashi, M., Taniguchi, N. and Maeda, K.: Glycation of human beta 2-microglobulin in patients with hemodialysis-associated amyloidosis: identification of the glycated sites. *Biochemistry.*, **33**: 12215~12221, 1994.
- 15) 西 慎一, 今井直史, 宮崎 滋, 柄澤 良, 下条文武, 荒川正昭: 透析 amyloidosis における apolipo 蛋白 (apoE) の免疫組織化学的研究. 第40回日本透析医学会総会 0~621, 1995.
- 16) Miyata, T., Taneda, S., Kawai, R., Ueda, Y., Horiuchi, S., Hara, M., Maeda, K. and Monnier, V. M.: Identification of pentosidine as a native structure for advanced glycation end products in beta-2-microglobulin-containing amyloid fibrils in patients with dialysis-related amyloidosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **93**: 2353~2358, 1996.
- 17) Miyata, T., Iida, Y., Horie, K., Cai, Z., Sugiyama, S. and Maeda, K.: Pathophysiology of advanced glycation end-products in renal failure. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **11**: 27~30, 1996.
- 18) Iida, Y., Miyata, T., Inagi, R., Sugiyama, S. and Maeda, K.: Beta 2-microglobulin modified with advanced glycation end products induces interleukin-6 from human macrophages: role in the pathogenesis of hemodialysis-associated amyloidosis. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **201**: 1235~1241, 1994.
- 19) Hou F. F., Chertwo G. W., Kay J., Boyce J., Lazarus J. M., and Owen W. R. Jr.: Interaction between beta 2-microglobulin and advanced glycation end products in the development of dialysis related-amyloidosis. *Kidney Int.*, **51**: 1514~1519, 1997.
- 20) Niwa, T., Katsuzaki, T., Momoi, T., Miyazaki, T., Ogawa, H., Saito, A., Miyazaki, S., Maeda, K., Tatemichi, N. and Takei, Y.: Modification of beta 2m with advanced glycation end products as observed in dialysis-related amyloidosis by 3-DG accumulating in uremic serum. *Kidney Int.*, **49**: 861~867, 1996.
- 21) Bellotti V, Merlini G.: Current concepts on the pathogenesis of systemic amyloidosis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, **11**: 53~62, 1996.
- 22) Strittmatter J. W., Saunders A. M., Schmechel D., Pericak-Vance M., Enghild J., Salvesen G. S. and Roses A. D.: Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **90**: 1977~1981, 1993.
- 23) Sanan D. A., Weisgraber K. H., Russell S. J., Mahley R. W., Huang D., Saunders A., Schmechel D., Wisniewski T., Frangione B. and Roses A. D.: Apolipoprotein E associates with beta amyloid peptide of Alzheimer's disease to form novel monofibrils. Isoform apoE4 associates more efficiently than apoE3. *J. Clin. Invest.*, **94**: 860~869, 1994.
- 24) Ono, K. and Uchino, F.: Formation of amyloid-like substance from beta-2-microglobulin in vitro. Role of serum amyloid P component: a preliminary study. *Nephron.*, **66**: 404~407, 1994.