

## 宿題報告

### 3. 透析アミロイドーシス—発症機序解明と治療戦略—

新潟大学第二内科

下条 文武

**Key words** : 透析治療, 手根管症候群,  $\beta_2$ -m, アミロイド線維伸長

はじめに

今から 150 年前, ドイツの病理学者 Virchow は諸臓器に沈着する均一な物質がヨード反応に陽性のアミラーゼに似た反応があることを見出し, アミロイドと命名した. しかし, このアミロイドの構成成分が蛋白の重合からなる細線維であることが解明されたのは, Virchow の発見から 100 年後のことである. 透析アミロイドーシスは透析治療が普及しはじめた 1980 年代に初めて発見された新しいタイプのアミロイドーシスである. すなわち, 長期透析患者に高頻度に合併する手根管症候群 (carpal tunnel syndrome: CTS) の滑膜組織にアミロイド沈着があることが明らかにされ, その後, 私共が手根部滑膜に沈着したアミロイド組織を生化学的に分析することにより,  $\beta_2$ -ミクログロブリン ( $\beta_2$ -m) がアミロイド構成蛋白であると同定したり.

最近の我が国の慢性維持透析患者は 23 万人を超え, 透析 20 年以上の長期透析患者も全透析患者の 6.3% を占めるようになった. これらの長期透析患者には  $\beta_2$ -m タイプのアミロイド骨・関節障害が高頻度に発症し, 特に患者の QOL の低下をもたらす点から依然として深刻な合併症である. 本講演では, 私共のこれまでの研究成果を中心に, 透析アミロイドーシスの病態解明と最近の治療戦略について述べる.

略歴は 105 頁に記載

#### 1. 臨床症状

CTS は本症の典型的症状であるが, 透析患者の CTS は, 夜間に激しい疼痛を訴えることや比較的早期より拇指球筋の萎縮, 弾発指, 肩痛などを合併するのが特徴である. CTS に加えて,  $\beta_2$ -m 由来のアミロイド沈着は, 骨・関節滑膜を侵し, 骨嚢胞, 腸恥滑液包炎などをはじめ多彩な骨・関節症状を引き起こす. 破壊性脊椎関節症 (destructive spondyloarthropathy: DSA) も, 透析アミロイドーシスの深刻な合併症である. DSA の診断は, 脊椎間腔の狭小化, 椎体の骨侵食や骨嚢胞, 骨疎形成が弱いなどの脊椎 X 線所見に基づく. 我々の検討では, DSA を認める群と認めない群で有意差を認めた項目は, 手根管症候群と骨嚢胞であった.

#### 2. 発症機序 (図 1)

$\beta_2$ -m は 1968 年 Berggård と Bearn<sup>2)</sup> によりヒト尿中より分離同定された小分子量蛋白である.  $\beta_2$ -m は, リンパ球を中心とするすべての有核細胞で産生され, 細胞表面に HLA クラス I 抗原軽鎖として存在する. 腎機能が正常であれば, 血中  $\beta_2$ -m の殆どが糸球体で濾過され, その 99.9% は尿管で再吸収を受け分解代謝されている. しかし, 透析患者ではこの過程が障害され,  $\beta_2$ -m が体内に蓄積する. 本症の発症に最も大きな要因は, 長期にわたる  $\beta_2$ -m の体内蓄積と考えられる. しかし,

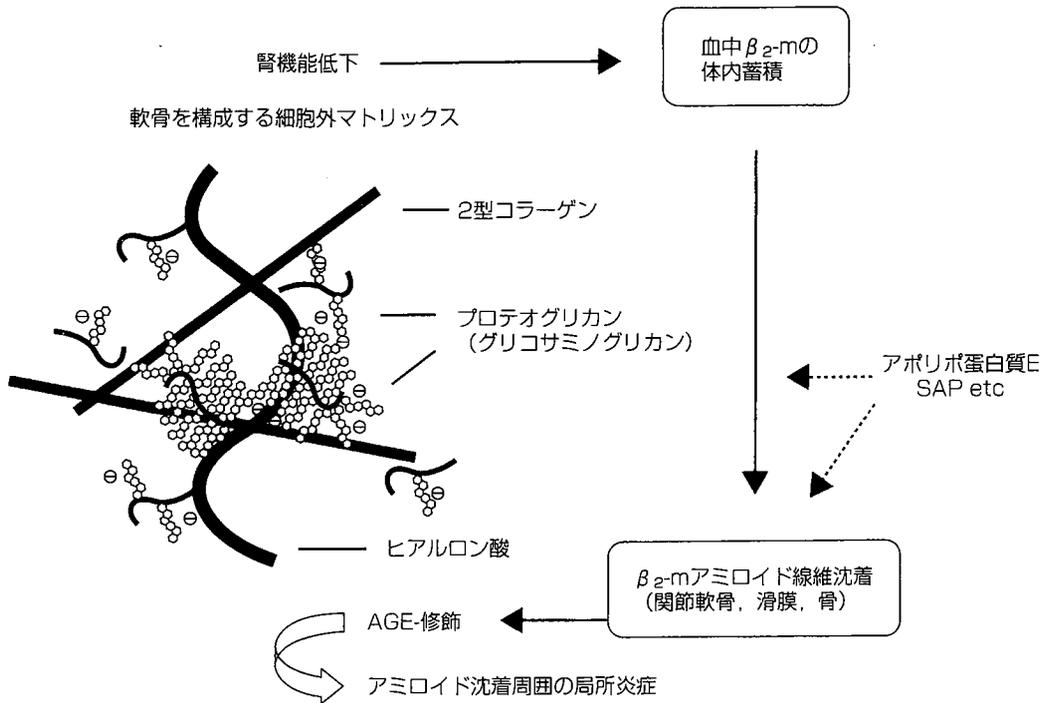


図 1. 透析アミロイドーシスの発症機序

血中 $\beta_2$ -m濃度と本症の発症とに直接的相関がないことから、 $\beta_2$ -mの体内蓄積のみで本症の発症を説明することはできない<sup>3)</sup>。これまでの研究により、発症のリスクファクターとして、透析期間が長いこと（例えばCTSの手術頻度は透析歴 20～25 年未満で 50%）、年齢が高いこと（透析導入年齢 40 歳以下では発症が遅延：図 2）、透析に使用する膜のうち生体適合性の不良のもの、透析液の純度が低いこと、遺伝的にアポリポプロテイン E4 遺伝子<sup>4)</sup>ならびにMCP-1 GG genotypeを有するもの<sup>5)</sup>、などを明らかにした。

#### 1) アミロイド線維形成の分子メカニズム

発症の分子機構を解明するためには、前駆蛋白質 $\beta_2$ -mからアミロイド線維が形成される過程を試験管内で反応速度論的に解析するモデル開発が不可欠である。共同研究者の内木ら<sup>6)</sup>は蛍光色素チオフラビンTを用いて、アミロイド線維を分光蛍光定量法により定量できることを明らかにした。そして試験管内におけるアミロイド線維

形成反応を説明するモデルとして重合核依存性重合モデルを提唱した<sup>6,7)</sup>。このモデルは、前駆蛋白質からの重合核形成過程、および線維伸長過程の二つの過程から構成される（図 3）。すなわち、前駆蛋白質が立体構造を変化させながら次々に結合することにより、線維伸長反応が起こり、一次反応速度論モデルに従うことを明らかにした。

#### 2) $\beta_2$ -mアミロイド線維伸長反応および脱重合反応

$\beta_2$ -mアミロイド線維形成反応の場合、 $\beta_2$ -mのみをインキュベートしてもアミロイド線維はほとんど形成しない。これに対し、 $\beta_2$ -mにあらかじめ形成した $\beta_2$ -mアミロイド線維を添加すると線維伸長反応が起こり、その反応はラグタイムなく進行し、双曲線型のタイムコースを描いて平衡に達する<sup>6)</sup>。 $\beta_2$ -mアミロイド線維伸長反応の至適pHは 2.5～3.5 と著しい酸性域にあり、生理的条件である中性pHでは伸長せず、むしろ脱重合反応が

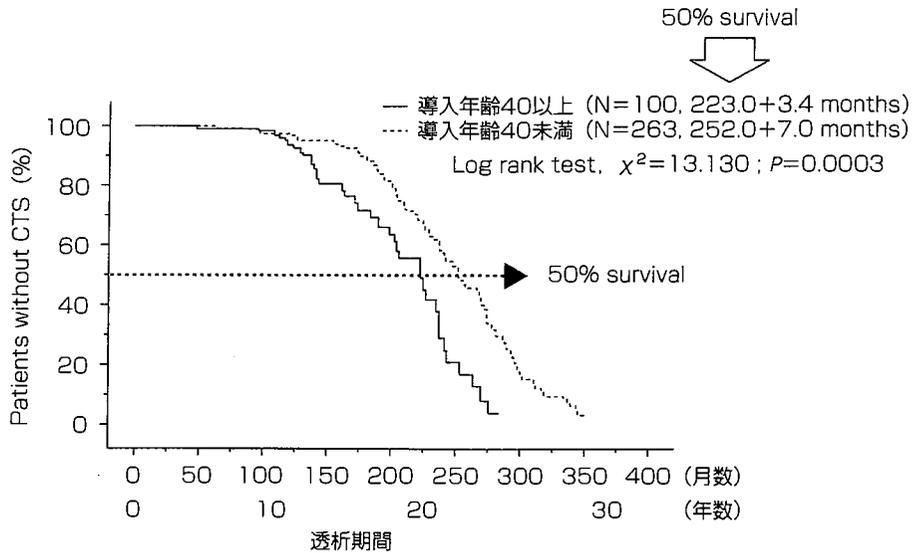


図2. 導入年齢：CTS手術をエンドポイントとした生存曲線

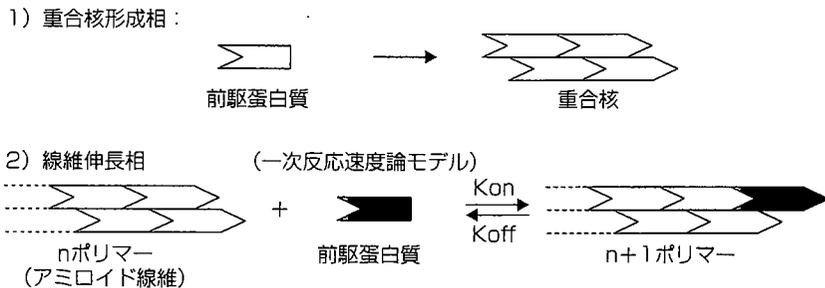


図3. アミロイド線維形成の重合核依存性重合モデル

重合核形成過程は熱力学的に起こりにくく、反応全体の律速段階となっている。一方、線維伸長過程は熱力学的に起こりやすく、重合核あるいはすでに存在する線維断端に、前駆蛋白質が立体構造を変化させながら次々に結合することにより速やかに起こる。そして、その線維伸長反応は、一次反応速度論モデルに従う<sup>6)</sup>。

起こる<sup>7)</sup>。すなわち、酸性pHによる立体構造変化を受けた $\beta_2$ -mがアミロイド線維の断端に水素結合により強固に結合し、 $\beta$ シート構造をとることにより、アミロイド線維伸長反応が起こると理解される。一方、中性pHでは、 $\beta_2$ -mにあらかじめ形成した $\beta_2$ -mアミロイド線維を添加するのみでは、アミロイド線維伸長反応は起きず、むしろ脱重合反応が促進される<sup>7)</sup>。しかし、中性pHでの反応溶液に低濃度のトリフルオロエタノールあるいはドデシル硫酸ナトリウムを添加すると、

アミロイド線維伸長反応が促進されることを見出した<sup>8,9)</sup>。これらの結果から、体内では $\beta_2$ -mが立体構造を変化させ、アミロイド線維伸長反応を促進させる何らかの生体分子の存在が示唆される。ドデシル硫酸ナトリウムは脂質のアナログである。したがって、 $\beta_2$ -mアミロイド線維形成・沈着における脂質の関与が推測される<sup>9)</sup>。

### 3) アミロイド共存物質の役割

$\beta_2$ -mアミロイド沈着物質として、血清アミロイドP成分(SAP)、アポリポ蛋白質E(ApoE)、お

よびプロテオグリカン (PG) とそれを構成するグリコサミノグリカン (GAG) やカルシウムなど様々な血清分子、および細胞外マトリックス分子が含まれている。最近の研究により、これらの分子が、前駆蛋白質からアミロイド線維が形成される過程に作用して線維形成・沈着を促進、あるいは抑制することが判明した<sup>10)</sup>。また沈着したアミロイド蛋白質がadvanced glycation end products (AGE) 化の修飾を受け、局所の炎症が惹起される。

試験管内 $\beta_2$ -mアミロイド線維形成モデルにおいて、ApoE, PG, およびGAGは中性pHにおけるアミロイド線維脱重合反応を抑制した<sup>7,11)</sup>。すなわち、GAGは静電的相互作用により $\beta_2$ -mアミロイド線維の周囲に結合し、アミロイド線維の安定化に作用していると考えられる<sup>8)</sup>。

現在のところ共通のアミロイド形成配列やモチーフは明らかでないが、重合核依存性重合モデルなど、何らかの共通した構成原理・機構・因子が存在していると考えられる。今後、さらに $\beta_2$ -mアミロイド線維の形成・分解機構を分子レベルで分析することにより、ヒトアミロイドーシス全般に共通する分子機構の解明につながるものとする。

### 3. 予防対策と治療戦略

#### 1) 透析膜のタイプ

透析アミロイドーシスに対する根本的治療法は現在確立していないが、血中の $\beta_2$ -mを積極的に除去する対策が有効と考えられ、いわゆる高性能透析膜ダイアライザーが開発され、臨床で広く使用されるようになった。骨内アミロイド沈着のよい指標である骨X線像の嚢胞を示す透亮像の出現頻度は、透析期間に一致して増加し、透亮像の程度は透析期間が長期になるほど強くなる。使用した透析膜の種類とアミロイド関連症状の出現について、回顧的臨床成績では、高性能膜として知られているPAN膜で治療したグループは、クプロファン膜群より、アミロイドー

シスの発症が著しく低いことが報告された<sup>12)</sup>。PMMA膜の多施設での臨床検討を行った新潟グループ<sup>13)</sup>の成績でも、5年間の集計で血清 $\beta_2$ -m値は、PMMA膜に変更後明らかに低下することを示している。そして、5年以上のキュプロファン膜で治療し、関節痛を有する者をPMMA膜に変更したグループでみると、それぞれにおいて関節痛のscoreは、いずれも改善し続け、透析アミロイドーシスに対するPMMA膜の有用性が示された<sup>13)</sup>。現在では、PAN, PMMAさらにPS膜などの高性能透析膜治療は、透析アミロイドーシスの発症遅延効果があると理解されるようになった<sup>12~14)</sup>。

#### 2) $\beta_2$ -m吸着器 (リクセル®)

リクセル®は、血液から強力に $\beta_2$ -mを除去する目的で開発され、臨床に導入された吸着カラムである。リクセル®は直接血液灌流型の $\beta_2$ -m吸着器であり、透析治療と同時に実施できる利点がある。表面細孔による分子ふるい効果と疎水性アフィニティによる $\beta_2$ -m選択性を持った吸着カラムである。7年前より臨床使用が可能となり、最近その有用性についてのコントロールスタディ( $\beta$ MACS)の結果が報告された<sup>15)</sup>。リクセル®を使用した試験群では有意に症状が改善し、骨嚢胞についても悪化を認めなかった。さらに、 $\beta_2$ -mの除去クリアランスと症状の改善には相関が見られ、 $\beta_2$ -mの除去の程度に応じた症状の改善が得られることがわかった。すなわち $\beta_2$ -mの除去能が高ければ高いほど症状の改善度が大きいという結果は注目すべきである。

#### 3) 血液濾過透析

$\beta_2$ -mをより強力に除去するためには、透析より濾過法 (HF) が威力を持つため、on-line HDFやpush/pull HDFなどの治療法は、より高い $\beta_2$ -mの除去能が期待される。実際これらの $\beta_2$ -m除去を続けた透析治療が、アミロイドーシス発症予防と治療につながる結果が明らかにされている。日本透析医学会統計調査によると、low-flux膜血液透析による透析アミロイド症の悪化リスクを

1.000 とすると, high-flux膜血液透析の相対リスクは0.424であり, off-line HDFで0.104, on-line HDFで0.039, push/pull HDFで0.009,  $\beta_2$ -m吸着カラム併用血液透析で0.039であった. しかしながら, 血中 $\beta_2$ -m値をどの程度の低さに維持すれば臨床効果があるのかについては未だ結論が得られていない.

#### 4) 手術的治療

透析アミロイドーシスの対症療法(保存的治療, 外科的治療)のなかで, 関節痛に対する対策としては, まず, 保存的に非ステロイド系消炎鎮痛薬を用いるが, 一時的軽快は得られても, 長期的効果は期待できない. 少量の副腎皮質ステロイド薬は, 著しい関節痛の軽減に有効であるが, 長期的な使用は骨障害を促進するため避けるべきである. CTSでは, 手根管開放術・滑膜切除術・神経剝離術が有効である. DSAの進行した四肢麻痺などが起った場合には, 緊急に手術が必要である. 最近, 私共は30年以上の長期透析歴の7症例に対して手術治療(DSA, 大腿骨頸部骨折, 脊椎間狭窄症等)を経験したが, 全例に著明な $\beta_2$ -mアミロイド沈着を認めた.

#### 5) 腎移植

私共は, 明らかな透析アミロイドーシスを発症した6症例の腎移植を経験した. 腎移植後全例で関節症状の改善をみている. そして, 腎移植が成功すれば, 少なくとも新たな骨嚢胞発生はないことを観察している. 現在のところ, 移植後に臨床症状は改善するが, アミロイド沈着が完全に消失するか否かは明確でない. 一方, 腎移植後, 再透析になった症例ではDSAの進行が急速であった一症例を経験している. 腎移植は, 本症の根本的治療と考えられるが幾つかの課題も残っている.

おわりに

透析アミロイドーシスは, 発症機序に関しての研究成果に基づいて, 治療法も大きな変遷を

みたが, 現在なお解決すべき課題が残っている. 本症の病態は極めて複雑でその対策も容易でないことも明らかにされた. 今後さらにこの分野の研究が進展することを期待したい.

#### 文 献

- 1) Gejyo F, et al: A new form of amyloid protein associated with chronic hemodialysis was identified as  $\beta_2$ -microglobulin. *Biochem Biophys Res Commun* 136: 701-706, 1985.
- 2) Berggård I, Bearn AG: Isolation and properties of low-molecular weight  $\beta_2$ -globulin occurring in human biological fluid. *J Biol Chem* 243: 4095-4103, 1968.
- 3) Gejyo F, et al: Serum levels of  $\beta_2$ -microglobulin as a new form of amyloid protein in patients undergoing long-term hemodialysis. *N Eng J Med* 314: 585-586, 1986.
- 4) Gejyo F, Narita I: Current clinical and pathogenetic understanding of  $\beta_2$ -m amyloidosis in long-term haemodialysis patients. *Nephrology* 8: 38-42, 2003.
- 5) Omori K, et al: Association of the MCP-1 gene polymorphism A-2518G with carpal-tunnel syndrome in hemodialysis patients. *Amyloid* 9: 175-182, 2002.
- 6) Naiki H, Gejyo F: Kinetic analysis of amyloid fibril formation. *Methods Enzymol* 309: 305-318, 1999.
- 7) Yamaguchi I, et al: Apolipoprotein E inhibits the depolymerization of  $\beta_2$ -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *Biochemistry* 40: 8499-8507, 2001.
- 8) Yamamoto S, et al: Glycosaminoglycans enhance the trifluoroethanol-induced extension of  $\beta_2$ -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *J Am Soc Nephrol* 15: 126-133, 2004.
- 9) Yamamoto S, et al: Low concentrations of sodium dodecyl sulfate induce the extension of  $\beta_2$ -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *Biochemistry* 43: 11075-11082, 2004.
- 10) Yamaguchi I, et al: Glycosaminoglycan and proteoglycan inhibit the depolymerization of  $\beta_2$ -microglobulin amyloid fibrils in vitro. *Kidney Int* 64: 1080-1088, 2003.
- 11) Yamaguchi I, et al: Apolipoprotein E inhibits the depolymerization of  $\beta_2$ -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *Biochemistry* 40: 8499-8507, 2001.
- 12) van Ypersele de Strihou, et al: Effect of dialysis membrane and patient's age on signs of dialysis-related amyloidosis. *Kidney Int* 39: 1012-1019, 1991.
- 13) Aoike I, et al: Learning from the Japanese Registry: how will we prevent long-term complications? *Nephrol Dial Transplant* 10[Suppl. 7]: 7-15, 1995.
- 14) Koda Y, et al: Switch from conventional to high-flux membrane reduces the risk of carpal tunnel syndrome and mortality of hemodialysis patients. *Kidney Int* 52: 1096-1101, 1997.
- 15) Gejyo F, et al: Arresting dialysis-related amyloidosis: A prospective multicenter controlled trial of direct hemoperfusion with a  $\beta_2$ -microglobulin adsorption column. *Artif Organs* 28: 371-380, 2004.