

透析アミロイドーシスの 新知見

新潟大学大学院医歯学総合研究科内部環境医学講座腎・膠原病内科学分野*,
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**

山本 卓*, 内木 宏延**, 成田 一衛*

KEY WORDS

- 透析アミロイドーシス
- β_2 -ミクログロブリン
- アミロイド線維
- 長期透析

はじめに

透析アミロイドーシスは、長期透析患者に高頻度に発症する合併症の1つである。透析患者の骨関節組織を中心に β_2 -ミクログロブリン(β_2 -m)を前駆蛋白質とするアミロイドが沈着することにより、手根管症候群、アミロイド関節症、破壊性脊椎関節症、および嚢胞性骨病変などの骨関節障害を生じ、進行すると全身の諸臓器に沈着しうる。欧米において透析療法の改善により、透析アミロイドーシスの発症が減少したという報告があるが、わが国では、透析患者の長期化および高齢化が進んでいることから、本症は今なお長期透析患者の深刻な合併症の1つである。

本稿では透析アミロイドーシスの成因、臨床病態ならびに治療について最近の知見と合わせて概説する。

I. 透析アミロイドーシスの成因

1. 血中 β_2 -mの増加と中間体

透析アミロイドーシス発症のリスクファクターとして、①透析期間が長いこと、②導入時年齢が高いこと、③透析液の純度が低いこと、④low-flux膜あるいは生体適合性の悪いダイアライザーによる治療¹⁾、および⑤アポリポ蛋白質E4遺伝子²⁾、MCP-1 GG遺伝子型³⁾を有すること、があげられている。血中 β_2 -m値と透析アミロイドーシスの発症に相関は認められないが⁴⁾、透析患者における血中 β_2 -m高値は本症発症の必要条件であると考えられる。近年、透析液、ダイアライザーの改良が進み、血液透析患者の血中 β_2 -mは低下してきたが、健常人に比べればいまだ高値である。また、透析アミロイドーシス発症例に対して β_2 -m吸着カラムは、血中 β_2 -m値の低下と症状の

New insight into
dialysis-related amyloidosis.
Suguru Yamamoto
Hironobu Naiki (教授)
Ichiei Narita (教授)

改善に有効であるが⁵⁾、発症例のみの適応であり、現時点で予防にはつながらない。

長期透析に伴う β_2 -mの蓄積が本症発症の原因の1つと考えられるが、近年、透析患者において正常な立体構造をとる β_2 -mのほかに立体構造の一部変化した β_2 -mの存在が目目されている。Corlinらは透析患者血清で β_2 -m 99残基のなかで58残基(lysine)が欠損している β_2 -m (Δ K58- β_2 -m)が増加していることを報告した⁶⁾。さらに血清 Δ K58- β_2 -m値はポリスルホン膜ダイアライザーよりもキュプロファン膜使用患者で高値を示し、透析によって除去されにくかった。 Δ K58- β_2 -mが直接 β_2 -mアミロイド線維の主要構成蛋白質となりうる可能性も考えられたが、透析アミロイドーシス発症例でのアミロイド線維からは検出されなかった⁷⁾。一方、Ujiらはキャピラリー電気泳動で透析患者血清を検討し、正常 β_2 -mのほか中間体 β_2 -mの存在を同定した⁸⁾。正常 β_2 -mは血液透析療法の前後で、全例血中濃度が減少するのに対し、中間体 β_2 -mの減少は一定でなく、これらの組織との親和性の強さが示唆された。これら中間体 β_2 -mの本症発症・進展における意義の詳細についていまだ不明な点が多いが、大きく関与している可能性があり今後の検討が待たれる。

2. 組織でのアミロイド線維形成

1) 試験管内アミロイド線維形成・伸長反応

β_2 -mアミロイド線維が骨関節組織を中心に沈着し進展する機序を解明するため、試験管内におけるアミロイド線維形成・伸長反応の検討が進められ

ている。 β_2 -mアミロイド線維をはじめ、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が提唱されている⁹⁾。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2つの過程から構成される。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。

β_2 -mアミロイド線維伸長反応は、pH 2.5~3.5と著しい酸性域¹⁰⁾、あるいは中性pHに低濃度のトリフルオロエタノール(TFE)¹¹⁾あるいはドデシル硫酸ナトリウム(SDS)¹²⁾を添加すると促進される。酸性pH、低濃度のTFE、およびSDSは β_2 -mモノマーの立体構造を変化させ、また線維構造を安定化させることにより、線維伸長反応が促進されると考えられる。

2) β_2 -mアミロイド線維形成・伸長反応における生体分子との相互作用

アミロイドが最も早期に沈着する部位である軟骨、腱組織にはプロテオグリカンとそれを構成するグリコサミノグリカンが豊富に含まれていることが知られている。これらの細胞外マトリクス分子や血中のアポリポ蛋白質Eは、試験管内アミロイド線維脱重合反応を抑制し、線維を安定化する作用がある¹³⁾¹⁴⁾。さらにヘパリンを含めた数種のグリコサミノグリカンはTFEを加えた中性pHにおけるアミロイド線維伸長反応を増強する¹¹⁾。またヘパリンは

1型コラーゲンの存在下で β_2 -mのアミロイド線維形成反応(pH 6.4)を促進し、さらに正常な β_2 -mモノマーのC末端6残基を切り取られた Δ 6 β_2 -mがその反応を促進した¹⁵⁾。ヘパラン硫酸は銅イオンの存在下で Δ K58- β_2 -mのアミロイド線維形成反応(pH 5.3)を促進する¹⁶⁾。ヘパリン、ヘパラン硫酸をはじめとするグリコサミノグリカンは静電的相互作用により β_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ならびに線維伸長の促進に作用すると考えられる。

SDSと似た構造をもつ遊離脂肪酸は血液透析治療中に使用するヘパリンによりリパーゼが活性化され、血液中の遊離脂肪酸濃度が上昇することが知られている。そこで試験管内 β_2 -mアミロイド線維伸長反応における遊離脂肪酸の作用について検討したところ、ラウリン酸、ミリスチン酸などの遊離脂肪酸は β_2 -mモノマーの立体構造を変化させ、中性pHでのアミロイド線維伸長反応を促進した¹⁷⁾。また同様にSDSと似た構造をもち、炎症性メディエーターであるリゾリン脂質は中性pHでのアミロイド線維伸長反応(図1)および線維形成反応を促進した¹⁸⁾。数種のリゾリン脂質を検討した結果、これらの効果は陰性化電した疎水基と適度な長さの脂肪酸が重要であると考えられた。実際、透析患者における血中リゾホスファチジン酸は健常者と比較して高値を示すことから¹⁸⁾、これらのリゾリン脂質が本症の発症・進展に関与している可能性が示唆される。これらの遊離脂肪酸、リゾリン脂質はSDSと同様、 β_2 -mモノマーの立体構造を変化させ、また線維構造を安定化させることにより、線維伸長反応が促

進されると考えられる。

以上から試験管内 β_2 -mアミロイド線維形成伸長反応において、遊離脂肪酸、リゾリン脂質などによる β_2 -mモノマーの立体構造変化とそれに起因するアミロイド線維形成、さらに形成されたアミロイド線維にヘパリンをはじめとするグリコサミノグリカン、プロテオグリカンならびにアポリポ蛋白質Eなどが反応することにより線維構造が安定化され、組織への沈着をさらに促進すると考える(図2)。候補となる生体分子の種類ならびに特性が明らかになってきているが、今後は実際の病変部位に関連した分子の検索ならびにアミロイド線維形成・伸長を抑制する治療の解明が期待される。

II. 臨床病態

長期透析患者において β_2 -mアミロイドが形成・伸長そして沈着し、部位により手根管症候群、アミロイド関節症、破壊性脊椎関節症、および嚢胞性骨病変などそれぞれの症状を呈する。手根管症候群、関節症を呈する透析患者は多いが、本症は主に病理組織において β_2 -mからなるアミロイドを認め、確定診断とするため、発症初期の診断は困難である。さらに、関節痛を訴えてはいるが病理組織学的検査の機会がなく、本症と診断されていない透析患者が多く存在する可能性がある。

わが国では長期透析患者が年々増加する傾向にある。長期透析患者にとって骨関節障害によるQOLならびにADLの低下は深刻であり、特に透析アミロイドーシスを原因とする場合が多い¹⁹⁾²⁰⁾。透析歴20~24年、25~29年ならびに30年以上の超長期透析患者の特

徴、特に骨関節合併症の臨床病態について調査したところ、手根管症候群、破壊性脊椎関節症、あるいは関節症いづれかの骨関節障害に対する手術既往の割合は、透析歴20~24年、25~29年、および30年以上でそれぞれ25.0、66.0、

および77.8%と増加した(図3)。特に上下肢の感覚・運動障害をきたし、QOLならびにADLを著しく増悪させる破壊性脊椎関節症の割合は透析歴20~24年、25~29年、および30年以上でそれぞれ12.5、20.0、および50.0%であ

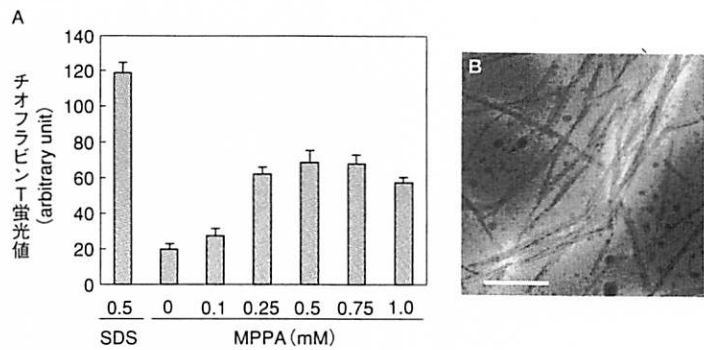


図1. リゾリン脂質による β_2 -mアミロイド線維伸長反応

- A: 超音波破砕した β_2 -mアミロイド線維に β_2 -mモノマー、およびリゾリン脂質の1種である0~1.0mM 1-palmitoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphate (MPPA)または0.5mMドデシル硫酸ナトリウム(SDS)を添加し、pH 7.5、37℃で72時間インキュベートし、チオフラビンT蛍光値でアミロイド線維量を測定した。添加したMPPAの濃度に依存してチオフラビンT蛍光値は増加し、アミロイド線維伸長反応は促進された。
- B: 上記反応で0.25mM MPPAを用いた反応溶液を電子顕微鏡で観察するとアミロイド線維の伸長を認めた。基準線は250nm。

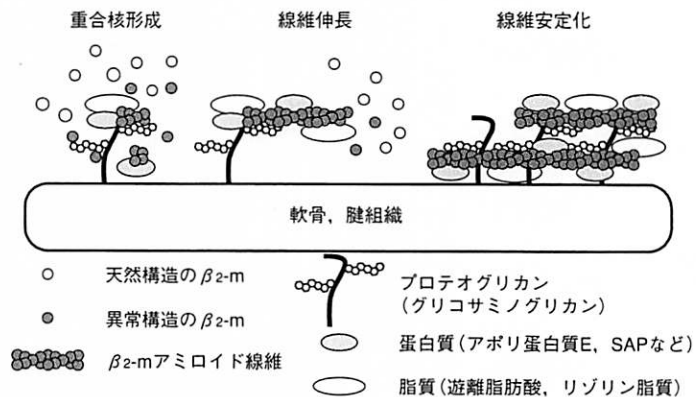


図2. 生体内 β_2 -mアミロイド線維形成・沈着における分子間相互作用モデル

血液透析患者で著しく増加する β_2 -mは血中、あるいは関節軟骨、腱組織などに存在するさまざまな生体分子と相互作用する。結果、 β_2 -mの立体構造が変化し、重合核依存性重合モデルに従ってアミロイド線維を形成、組織に沈着する。形成したアミロイド線維にさまざまな生体分子が結合することにより線維構造を安定化させ、組織への沈着を促進する。

り、透析歴30年以上で高頻度であった。透析歴30年以上の超長期透析患者の透析導入時年齢は 27.3 ± 8.0 歳と若年であり、長期透析患者の本症の合併は、透析導入時年齢よりもむしろ透析期間の長期化と過去のlow-flux膜透析器による治療が主な原因と考えられた。

Ⅲ. 治療方針

透析アミロイドーシスの治療と予防は、①アミロイドの沈着が進行しないようにする、②症状を軽減する、ことに大別される。①に対して、血液透析での β_2 -m除去効率の改善と透析によって生じる炎症反応の軽減があげられる。具体的には、生体適合性のよいハイパフォーマンス膜透析器の使用や純度の高い透析液の使用が勧められる。さらに、血液透析と比較して、血液濾過や血液透析濾過、あるいは β_2 -mを選択的に吸着するカラムであるリクセル[®]の使用は血中 β_2 -m濃度を低下させ症状を軽減する⁵⁾。②に対して、非ステロイド性消炎鎮痛薬を使用し、効果が不十分であれば、少量ステロイド薬の使用が有効であるが、長期使用による副作用の問題もあり、特に高齢者での使用は短期間に限定するべきである。重症の場合、部位と症状により整形外科的手術の適応を考慮する。またリハビリテーションを積極的に行うことにより、長期透析におけるADLおよびQOLの向上が期待できる。

以上の治療、予防法は現時点ではいずれも十分とはいえず、最も有効な治療は腎移植であり、移植後症状は速やかに改善し、また画像上病状の進行は抑止される。

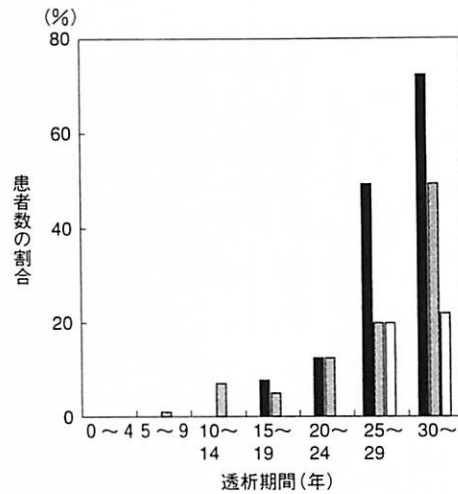


図3. 透析期間別にみた骨関節障害における手術の既往の頻度

■：手根管症候群，▨：破壊性脊椎関節症，□：関節症
手根管症候群，破壊性脊椎関節症，あるいは関節症いずれかの骨関節障害に対する手術既往の割合は透析期間20～24年，25～29年，および30年以上で25.0，66.0，および77.8%であった。いずれの疾患も透析期間の長期化に伴って頻度が増加した。

おわりに

試験管内アミロイド線維形成・伸長反応などからみる基礎実験の成果は、生体内における透析アミロイドーシスの発症の機序解明に確実に近づいている。しかし、アミロイドが沈着した後、破壊性脊椎関節症や嚢胞性骨病変など、それぞれの部位に特徴的な病変をきたす機序は不明な点が多い。また臨床病態をみると長期透析患者の透析アミロイドーシスの合併頻度は高く、発症の予防は不十分である。今後、透析アミロイドーシスの発症のみならず進行に関する機序が解明され、将来新たな治療ならびに予防法の開発につながることを期待する。

文 献

- 1) Davison AM : β_2 -microglobulin and amyloidosis : who is at risk? *Nephrol Dial Transplant* 10(Suppl. 10) : 48-51, 1995
- 2) Gejyo F, Suzuki S, Kimura H, et al : Increased risk of dialysis-related amyloidosis in patients with the apolipoprotein E4 allele. *Amyloid* 4 : 13-17, 1997
- 3) Omori K, Kazama JJ, Song J, et al : Association of the MCP-1 gene polymorphism A-2518G with carpal-tunnel syndrome in hemodialysis patients. *Amyloid* 9 : 175-182, 2002
- 4) Gejyo F, Homma N, Suzuki Y, et al : Serum levels of β_2 -microglobulin as a new form of amyloid protein in patients undergoing long-term hemodialysis. *N Engl J Med* 314 : 585-586, 1986
- 5) Gejyo F, Kawaguchi Y, Hara S, et al : Arresting dialysis-related amyloidosis :

- a prospective multicenter controlled trial of direct hemoperfusion with a β_2 -microglobulin adsorption column. *Artif Organs* 28 : 371–380, 2004
- 6) Corlin DB, Sen JW, Ladefoged S, et al : Quantification of cleaved β_2 -microglobulin in serum from patients undergoing chronic hemodialysis. *Clinical Chemistry* 51 : 1177–1184, 2005
- 7) Giorgetti S, Stoppini M, Tennent GA, et al : Lysine 58-cleaved β_2 -microglobulin is not detectable by 2D electrophoresis in *ex vivo* amyloid fibrils of two patients affected by dialysis-related amyloidosis. *Protein Science* 16 : 343–349, 2007
- 8) Uji Y, Motomiya Y, Ando Y : A circulating beta 2-microglobulin intermediate in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 111 : 173–181, 2009
- 9) Naiki H, Nagai Y : Molecular pathogenesis of protein misfolding diseases : pathological molecular environments versus quality control systems against misfold proteins. *J Biochem* 146 : 751–756, 2009
- 10) Naiki H, Hashimoto N, Suzuki S, et al : Establishment of a kinetic model of dialysis-related amyloid fibril extension *in vitro*. *Amyloid* 4 : 223–232, 1997
- 11) Yamamoto S, Yamaguchi I, Hasegawa K, et al : Glycosaminoglycans enhance the trifluoroethanol-induced extension of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *J Am Soc Nephrol* 15 : 126–133, 2004
- 12) Yamamoto S, Hasegawa K, Yamaguchi I, et al : Low concentrations of sodium dodecyl sulfate induce the extension of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *Biochemistry* 43 : 11075–11082, 2004
- 13) Yamaguchi I, Hasegawa K, Takahashi N, et al : Apolipoprotein E inhibits the depolymerization of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *Biochemistry* 40 : 8499–8507, 2001
- 14) Yamaguchi I, Suda H, Tsuzuki N, et al : Glycosaminoglycan and proteoglycan inhibit the depolymerization of beta2-microglobulin amyloid fibrils *in vitro*. *Kidney Int* 64 : 1080–1088, 2003
- 15) Relini A, Stefano SD, Torrassa S, et al : Heparin strongly enhances the formation of β_2 -microglobulin amyloid fibrils in the presence of type I collagen. *J Biol Chem* 283 : 4912–4920, 2008
- 16) Corlin DB, Johnsen CK, Nissen MH, et al : Glycosaminoglycans enhance the fibrillation propensity of the β_2 -microglobulin cleavage variant- Δ K58- β_2 m. *Biochem Biophys Res Commun* 402 : 247–251, 2010
- 17) Hasegawa K, Tsutsumi-Yasuhara S, Ookoshi T, et al : Growth of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils by non-esterified fatty acids at a neutral pH. *Biochem J* 416 : 307–315, 2008
- 18) Ookoshi T, Hasegawa K, Ohhashi Y, et al : Lysophospholipids induce the nucleation and extension of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *Nephrol Dial Transplant* 23 : 3247–3255, 2008
- 19) Yamamoto S, Kazama JJ, Maruyama H, et al : Patients undergoing dialysis therapy for 30 years or more survive with serious osteoarticular disorders. *Clin Nephrol* 70 : 496–502, 2008
- 20) Otsubo S, Kimata N, Okutsu I, et al : Characteristics of dialysis-related amyloidosis in patients on haemodialysis therapy for more than 30 years. *Nephrol Dial Transplant* 24 : 1593–1598, 2009