<原 著>

福岡市における成人病健診(第2報)各種成人病に おける血清中酸性ムコ多糖(glycosaminoglycan)

長谷川治 木村耕太郎 広田達哉
高杉昌幸 井林 博

<要 約> 福岡市内の地域成人病健診受診者を対象に血清中酸性ムコ多糖 (acidic mucopolysaccharide, AMPS, glycosaminoglycan) を榎村らの少量検体による簡便測定法を用いて測定した。

健康者群においては有意の年齢差, 性差は認められなかった。疾患群では高血圧症群, 動脈硬化症群, 高脂血症群では健康者群に比して有意の増加を示し, 肝疾患群においては有意の低下を認めた。また動脈硬化症群において AMPS 濃度とコレステロール, 総脂質, β -リポ蛋白の各脂質値との間には相関性を認めなかった。

はじめに

酸性ムコ多糖は動物の結合組織の基質すなわち細胞間マトリックスを構成し, 細胞機能と密接に関係している。近年, 加齢に伴う結合組織中のムコ多糖の変化が指摘され¹⁾²⁾³⁾, また組織の線維化病変における酸性ムコ多糖の量的および質的な変化が注目されている⁴⁾⁵⁾。

血中の酸性ムコ多糖については Badin⁶⁾ ら (1955) により最初に報告されたが, 組織中に比して極めて微量のため引続き各種定量法の開発研究が発表されて来た。我々は再現性の高い榎村ら⁷⁾ (1973) のカルバゾール反応を応用した glycosaminoglycan 微量定量法により, 血清酸性ムコ多糖を定量し, 健康者および各種成人病における変動について比較検討したので以下報告する。

対象と方法

1) 対象者

福岡市内の昭和49年秋の地域成人病健診受診者のうち男子180名, 女子372名の計552名を対象とした。対象者の年齢分布は Fig. 1, Table 2に示した如く, 40~49歳が最も多く38%, 70歳以上は9%であった。

2) 検診項目: 以下の項目を全員に実施した。

1. 問診 (生活歴, 家族歴, 既往歴, 現病歴, 他)
2. 身長, 体重, Broka 指数 $\left(\frac{\text{体重}}{(\text{身長}-100) \times 0.9} \right)$

O. Hasegawa, K. Kmura, T. Hirota, M. Takasugi,
H. Iabiyashi: 九州大学医学部第三内科(井林博教授)
受付日1977. 10. 6.

Fig. 1. Age Distribution of Healthy and Over all Subjects

3. 検尿 (潜血, 蛋白, 糖, PH)
 4. 胸部間接撮影
 5. 心電図 (マスター負荷試験を含む)
 6. 血液生化学: 総ビリルビン, 直接ビリルビン, GOT, GOT, TTT, ZTT, 総蛋白, アルブミン, AIP, コレステロール, LAP, LDH, Amylase, 血糖, BUN, クレアチニン, 尿酸. Na, K, Cl, Ca, P, 総脂質, β -リポ蛋白, ヘモグロドン
 7. 血圧, 眼底その他の理学的所見
- 3) 対象者の分類: 対象症例は以下の診断基準で分類した。
1. 高血圧症: 高血圧症として治療中のものおよび収縮期血圧 160mmHg 以上, または, 拡張期血圧 95mmHg 以上。
 2. 動脈硬化症: 脳血栓症, 心筋硬塞症の既往のあるもの, 大動脈石灰化, 心電図虚血性変化, 眼底所見 KW-II a 以上。
 3. 肝疾患: 肝機能検査異常 (総蛋白, A/G 比, ビ

Table 1. 血清ムコ多糖の測定法(榎村ら⁴⁾の変法)

リルビン, GPT, GOT, TTT, ZTT, AIP, LDH) および肝, 脾腫, クモ状血管腫, 手掌, 紅斑などの理学的所見

4. 糖尿病: 糖尿病として治療中のもの, 空腹時血糖 120mg/dl 以上 または 尿糖陽性者を再検査 (50g GTT) で判定.

5. 高脂血症: コレステロール 230mg/dl 以上, 総脂質 760mg/dl 以上, β リポ蛋白 10.5mg/dl 以上.

6. 肥満: Broka 指数 120% 以上.

7. 健康者は上記に該当せず他にも疾患の認められないものとした.

4) 血清酸性ムコ多糖 (以下 AMPS と略) の測定: 早期空腹時に血液生化学検査と同時に採血し, 測定時まで -20°C に保存した.

測定方法は 榎村らの方法に準じ (Table 1) 標準曲線は純グルクロン酸 0.5ml を用い, Table 1, の★以下の操作にて行った. 本法で標準曲線 (0~2mg/dl) は直線を示す. 吸光度 (A-B) と標準曲線よりとめた $AMPS \times 5/4$ で血清 AMPS 濃度 (mg/dl) を示した. 本法によるプール血清 22 回の測定値は平均 ($M \pm SD$) 0.67 ± 0.1 mg/

Fig. 2. Result of Health Examination

dl で変動係数 (CV) は 14.9% であった.

成績

1. 健診結果

AMPS 測定対象者の健診成績による分類を Fig. 2 に示した. 各疾患の出現率は肝疾患と糖尿病は男子に多く, 高脂血症および肥満は女子に多く, その他にはとくに性差を認めない.

2. 血清 AMPS の年齢別変動と性差

血清 AMPS 測定対象者全員および健康者の年齢別, および性別血清 AMPS 濃度を Table 2, Fig. 3 に示した.

健康男子 35~39 歳では平均 ($M \pm SD$) 0.87 ± 0.22 mg/dl から加齢と共に漸減傾向を示し, 65~69 歳では 0.74 ± 0.10 mg/dl となる. また健康女子では 35~39 歳の 0.83 ± 0.21 mg/dl から一旦低下し 55~60 歳で 0.84 ± 0.13 mg/dl, 60~64 歳で 0.83 ± 0.16 mg/dl と増加し, 65~69 歳では 0.74 ± 0.10 mg/dl と再度低下傾向を示すが, 男女とも各

Fig. 3. Serum Glycosaminoglycan concentration in each sex and age groups (●—● male, ○---○ female)

Table 2. Serum Glycosaminoglycan concentration in healthy subjects and over all study population

			35—39	40—44	45—49	50—54	55—59	60—64	65—69	70—	Total
Healthy	Male	n	11	7	10	6	4	6	6	0	50
		Mean	0.87 mg/dl	0.80	0.81	0.79	0.79	0.78	0.74	—	0.80
		SD	0.22	0.16	0.17	0.07	0.15	0.18	0.10	—	0.16
		SE	0.07	0.06	0.05	0.03	0.07	0.07	0.04	—	0.02
	Female	n	31	20	20	18	8	5	6	0	108
		Mean	0.83	0.74	0.79	0.70	0.84	0.83	0.74	—	0.79
		SD	0.21	0.13	0.15	0.17	0.13	0.16	0.10	—	0.16
		SE	0.04	0.03	0.03	0.04	0.05	0.07	0.04	—	0.02
Over all	Male	n	26	41		38		46		29	180
		Mean	0.91	0.79		0.77		0.80		0.80	0.81
		SD	0.24	0.16		0.12		0.19		0.15	0.18
		SE	0.05	0.02		0.02		0.03		0.03	0.01
	Female	n	62	112		99		78		21	372
		Mean	0.83	0.82		0.83		0.87		0.80	0.82
		SD	0.19	0.21		0.19		0.20		0.21	0.19
		SE	0.02	0.02		0.02		0.02		0.05	0.01

Fig. 4. Serum Glycosaminoglycan cocentration in disease groups (Mean±SD)

*p<0.005 **p<0.001

年齢間で有意差を認めない。また各年齢群の男女間にも有意差を認めず、35歳以上では加齢による有意の変動および性差は認めえない。

3. 成人病疾患と血清 AMPS 濃度

各種成人病疾患における血清 AMPS 濃度を Fig. 4 に示す。前述の如く健康対象者で年齢、性差を認めない所見から各種疾患群でも年齢と性差を考慮せず各疾患群毎にその測定平均値を表示した。

血清 AMPS (M±SD) は健康者 (0.79±0.16mg/dl)

に対し、高血圧群0.86±0.21mg/dl、動脈硬化症群0.87±0.22mg/dl、糖尿病群0.85±0.22mg/dl、高コレステロール血症群0.88±0.20mg/dl、高総脂血症群0.91±0.22mg/dl、高β-リポ蛋白血症群0.89±0.21mg/dl、肥満群0.84±0.20mg/dl でいづれも増加を示し、とくに高血圧、動脈硬化症群および高脂血症群ではいずれも推計学的に有意の増加を認めた（それぞれ p<0.005, 0.005, 0.001）。しかし動脈硬化症群の血清 AMPS 濃度とコレステロール、総脂質、β-リポ蛋白との間にはいずれも有意の相関は認めえなかつた (r=0.171, 0.177, 0.176)。一方肝疾患群では平均0.69±0.13mg/dl と有意の低下を示した (p<0.001)。

考 察

酸性ムコ多糖 acidic Mucopolysaccharide (glycosaminoglycan) (以下 AMPS) は人体の約1/3を占める結合織の基質主成分 Proteoglycan の糖鎖であり、結合織疾患や加齢その他の生理的変化などにおける変動が臨床的に注目されている。

Mucopolysaccharide は Meyer (1938) によって2-amino-2-deoxyhexose containing polysaccharide の総称と

して初めて使用されたが、その後多数の carbohydrate containing macromolecule が同定されるにつれてその語義はむしろ不明確なものとなり、現在では一般的系統名ではアミノ糖を含む多糖の意味で glycosaminoglycan と呼ばれている。

Acidic glycosaminoglycan は特徴的な2糖くり返し構造を持った polysaccharide chain で、強い酸性を示し Proteoglycan の背骨である protein chain に covalent bound によって結合している。Proteoglycan の特異性はこの glycosaminoglycan によって決定されるが、現在 Chondroitin, Chondroitin 4-sulfate, chondroitin 6-sulfate, Dermatan sulfate, Heparin, Heparan sulfate, Hyaluronic acid, Keratan sulfate などの8種が同定されている。これらは全て AMPS の範疇に入るため従来 acidic Mucopolysaccharide と呼ばれて来たが、現在では一般に Glycosaminoglycan と呼ばれる^{2) 8) 9)}。

Proteoglycan は分泌性蛋白であるが、その生合成、代謝過程、代謝調節機構などの詳細は未だ不明の点が多く体内の各組織差、加齢や性差また炎症、線維化、腫瘍その他の病的状態における Proteoglycan, Glycosaminoglycan の量的および質的変動に関しては見解の一致をみるに到っていない。

動脈硬化と組織内 AMPS 含量の関係について、岡田¹⁰⁾は剖検材料におけるヒト大動脈中 AMPS は機械的刺激の強い部位に多く、年齢的には線維化の開始に先だって最高値をとり、脂肪領域よりも線維化領域において、より強い相関性がみられると報告している。しかし Srinivasan³⁾らはヒト大動脈内膜の Fatty streak 中には健常部分に比して3~14倍の uronic acid と6~8倍の cholesterol がみられると指摘している。

肝線維化について教室の田中⁵⁾は四塩化炭素障害ラットにおける線維化の重症度と平行して肝の AMPS は増加し、とくに chondroitin sulfate の増加によるとの所見を示している。

血中 AMPS の定量法に関して Badin ら⁶⁾の報告以来種々の方法が考案開発されているが、いずれも除蛋白法および AMPS 回収操作面で大量の検体と時間を要し、かつ再現性の点で問題を残して来た。最近、榎村ら (1973) は TCA 処理、透析の手技を除外して少量 (0.5ml) の検体で簡便で再現性と回収率の秀れた方法を考案開発⁷⁾し正常値平均 $0.55 \pm 0.18 \text{ mg/dl}$ と報告した。Niebes ら¹¹⁾は本法にさらに改変を加えた変法を報告しているが、本法では正常人の血清 AMPS 量はウロン酸

量として Badin らの平均 $0.206 \pm 0.054 \text{ mg/dl}$ ($n=7$) に比べ平均 $0.602 \pm 0.036 \text{ mg/dl}$ ($n=30$) と報告される。このような少量の検体による血清 AMPS の新定量法の開発によって今後結合織に関連した諸病態における血清 AMPS の定量の臨床的検討の成果が期待される。

現在著者らの知る限りでは各種疾患における血清 AMPS を上記の新定量法により多検体について検索した報告はみられない。我々は福岡市内の地域成人病健診で、空腹時血清中 AMPS を測定し各種成人病における動態を検討した。健診の性質上対象者が35歳以上に限られた点、重症患者のない点、診断基準上の若干の variation などいくつかの問題点はあるが、多検体測定によりグループ別に考察した場合、疾患病態別に一定の傾向がうかがわれた。我々の測定成績では健康者の血清 AMPS は平均 $0.79 \pm 0.16 \text{ mg/dl}$ で榎村、Niebes らの正常値よりやや高値であるが、原法に比べやや多量の血清を用いた点、また原法と同量の CPC で処理を行った点などによるものと考えられる。しかし性別および年齢別平均値には推計学的にいずれも有意差を認めなかった。Calatroni ら¹²⁾は Badin らの変法を用いて小児 (7~14歳) の血清 AMPS は成人に比べ高値であったが、成人においてはとくに年齢差と性差は認めえなかったと述べており、Bollet ら¹³⁾も成人34例で同様所見を報告している。

各種疾患における血中 AMPS 濃度の変動については、慢性肝疾患における低下¹⁴⁾、逆に増加¹⁵⁾、動脈硬化症で増加するが各脂質値との相関はないとするもの¹⁴⁾、下肢静脈瘤で増加とするもの¹¹⁾、膠原病で低下、RA その他の慢性炎症で増加¹⁶⁾、悪性腫瘍における増加¹⁷⁾、solid tumor および白血病で上昇し病勢、治療効果に平行して増減する¹⁸⁾などの諸報告をみる。

我々の成人病健診成績では高血圧症、動脈硬化症、高脂血症などにおいて有意の上昇と、逆に肝疾患において有意の低下を認めた。また動脈硬化症群においては血清 AMPS 濃度と各種脂質値との間に相関性を認めず、従来諸家の報告とはほぼ一致する所見を得た。

動脈硬化症と血清脂質との関連は周知のごとく古くから注目され、血清 LDL の動脈壁へのとり込みが動脈硬化症の病理発症機序の initial event とする報告が多い。この血中リポ蛋白と AMPS の相互作用については Nakashima¹⁹⁾、Iverius²⁰⁾ その他の報告をみる。Nakashima は大量の血漿から抽出した AMPS を用いて①血中 AMPS は主として Chondroitin 4-sulfate であること、②これらは全て LDL を沈殿させ、③ ECTEO

LA cellulose column で free glycan と bound glycan に分画すると free glycan のみが生理的濃度で LDL の構造的変化 (viscosity の増大, swelling など) を起こすことを示し, 正常の free < bound glycan のバランスが失われた状態では free glycan の動脈硬化促進作用が出現することを示唆している。

一方 Nakazawa²¹⁾, Morrison²²⁾ らは chondroitin sulfate に抗動脈硬化, 抗血栓形成作用を認め, 冠硬化疾患患者への経静脈, 経口投与により凝固時間, プロトロンビン時間の延長とともに心電図所見の改善, coronary incidence の減少などの臨床効果を指摘した。Morrison はこれらの効果は投与する chondroitin sulfate の標品ごとに生物学的活性に相違がみられ, chondroitin sulfate にみられる抗脂血症作用と抗動脈硬化, 抗血栓形成作用とが逆相関することを指摘して投与上留意すべきであるとしている。これらの抗動脈硬化作用は bound glycan の補給によるバランスの改善によるものと推定される。

我々の動脈硬化症, 高脂血症における血清 AMPS の高値の成績とこれらの知見との関連性すなわち防禦因子ないし促進因子の作用のいづれかについては不明である。動脈硬化症における AMPS の変動に関しても今後組織内 (動脈壁) と血中の両面からの量的および質的な相対的検索が必要と思われる。

ま と め

福岡市内の地域成人病健診受診者552名 (男子180名, 女子372名) を対象に, 榎村らのカルバゾール反応による微量定量法で血清酸性ムコ多糖 (AMPS, glycosaminoglycan) を定量し良好な再現性を認めた。次いで健康人, および各種成人病疾患群における変動を対比検討した。

1) 健康人における血清 AMPS 濃度は男子50名の平均 ($M \pm SD$) $0.80 \pm 0.16 \text{ mg/dl}$, 女子108名 $0.79 \pm 0.16 \text{ mg/dl}$ で年齢および性別による有意の変動は認めなかった。

2) 次に各種疾患群では高血圧症群 ($n=175$), 動脈硬化症群 ($n=133$), 高コレステロール血症群 ($n=123$), 高 β -リポ蛋白血症群 ($n=67$), 高総脂血症群 ($n=87$) で血清 AMPS 濃度は有意の高値 ($p < 0.005 \sim 0.001$) を示した。一方肝疾患群では有意の低値 ($p > 0.001$) を認めた。

3) 動脈硬化症群で血清 AMPS 濃度ととくに血清コレステロール, 総脂質, β -リポ蛋白濃度との相関性に

ついて検討したが, いずれも有意の相関を認めなかった。

文 献

- 1) Eisenstein, R. and Kuettner, K.: The ground substance of the arterial wall, part 2, electron microscopic studies. *Atherosclerosis*, **27**: 37, 1976.
- 2) 畑隆一郎: 酸性ムコ多糖の微量分析法, 蛋, 核, 酵, **18**: 11, 1973.
- 3) Srinivasan, S.R., Dolan, P., et al.: Isolation of lipoprotein-acid mucopolysaccharide complexes from fatty streaks of human aortas. *Atherosclerosis*, **16**: 95, 1972.
- 4) Galambos, J.T. and Shapira, R.: Natural history of alcoholic hepatitis, 4, glycosaminoglycans and collagen in the hepatic connective tissue. *J. Clin. Invest.*, **52**: 2952, 1973.
- 5) 田中耕一: 肝障害と酸性ムコ多糖体代謝, 肝臓, **9**: 342, 1968.
- 6) Badin, J., Schubert, M., et al.: Plasma polysaccharide fraction containing uronic acid, in normal subjects and in patients with rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.*, **34**: 1317, 1955.
- 7) 榎村陽太郎, 棕田知行: カルバゾール反応による血清中酸性ムコ多糖の微量定量法, 生化学, **45**: 30, 1973.
- 8) 小泉岳夫, 中村允人: 結合組織と病気, 1. 結合組織とその構成成分に関する基礎知識 (その3), 日本臨床, **33**: 605, 1975.
- 9) Kennedy, J.F.: Chemical and biological aspects of the glycosaminoglycans and proteoglycans in health and disease. *Adv. Clin. Chem.*, **18**: 1, 1976.
- 10) 岡田了三: 加齢, 機械的刺激が大動脈および心臓弁膜の結合組織に与える影響の形態学的研究—特に性差と酸性ムコ多糖類について, 日本臨床, **32**: 339, 1974.
- 11) Niebes, P. and Schiffers, M.H.: Micromethod for the determination of glycosaminoglycans in the serum of healthy and varicose subjects. *Clin. Chim. Acta.*, **62**: 195, 1975.

- 12) Calatroni, A., Donnelly, P.V., et al.: The glycosaminoglycans of human plasma. *J. Clin. Invest.*, **48**: 332, 1969.
- 13) Bollet, A.J., Seraydarian, M.W., et al.: Acid mucopolysaccharides in normal serum. *J. Clin. Invest.*, **36**: 1328, 1957.
- 14) 榎村陽太郎, 椋田知行ほか, : 血清酸性ムコ多糖の定量 (第6報) 動脈硬化症, 日内会誌, **61**: 236, 1972.
- 15) 小泉岳夫: 肝線維化時の結合組織成分の異常, 日消誌, **63**: 629, 1966.
- 16) Kerby, G.: The effect of inflammation on the hexuronate-containing polysaccharides of human plasma. *J. Clin. Invest.*, **37**: 678, 1958.
- 17) 榎村陽太郎, 椋田知行: 微量血清中酸性ムコ多糖の定量とその病態生化学的意義, 生化学, **43**: 558, 1971.
- 18) Bacchus, H.: Serum serumucoid and acid mucopolysaccharide in malignant meoplastic diseases. *Cancer*, **18**: 1284, 1965.
- 19) Nakashima, Y., DiFerrante, N., et al.: The interaction of human plasma glycosaminoglycans with plasma lipoproteins. *J. Biol. Chem.*, **250**: 5386, 1975.
- 20) Iverius, P.H.: The interaction between human plasma lipoproteins and connective tissue glycosaminoglycans. *J. Biol. Chem.*, **247**: 2607, 1972.
- 21) Nakazawa, K., Murata, K., et al.: The short-term effects of chondroitin sulfate A and C on coronary atherosclerotic subjects with reference to its anti-thrombogenic activities. *Jap. Heart J.*, **10**: 289, 1969.
- 22) Morrison, L.M.: Reduction of ischemic coronary heart disease by chondroitin sulfate A, *Angiology*, **22**: 165, 1971.

Abstract

Multitesting Health Screening in Fukuoka City 2) Serum Glycosaminoglycans in Health and Diseases

Osamu Hasegawa, Kotaro Kimura, Tatsuya Hirota, Masayuki Takasugi and
Hiroshi Ibayashi

Serum glycosaminoglycans (GAG) were measured by a modified method of Emura et al.^{4,16)} in 552 persons (male 180, female 372) at the annual health examination in Fukuoka City. Serum GAG concentration of various disease groups was compared with that of healthy group.

1) The mean concentration of GAG in the serum of healthy males (n=50) was 0.80 ± 0.16 and in females (n=108) 0.79 ± 0.16 mg per 100 ml of serum. There was no significant sex or age variations in serum GAG con-

centration (Table 2).

2) In the disease groups, significantly high concentration of serum GAG was observed in groups of hypertensive (n=175), atherosclerosis (n=133), hypercholesterolemia (n=87), hyper-beta-lipoproteinemia (n=67), and hyperlipidemia (n=87) ($p < 0.005 \sim 0.001$). Liver disease group showed significantly reduced serum GAG concentration ($p < 0.001$) (Fig. 4).

3) In atherosclerosis-group, serum GAG concentration was compared with serum cholesterol, beta-lipoprotein and total lipid concentrations. There were, however, no significant correlations between these values.

Third Department of Internal Medicine (Director: Prof. H. Ibayashi), Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka, Japan