

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：23803

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16049

研究課題名(和文) 関節リウマチ患者におけるN-アセチルグルコサミンの有用性の評価

研究課題名(英文) Evaluation of the usefulness of N-acetylglucosamine in patients with rheumatoid arthritis

研究代表者

大澤 隆志 (OSAWA, Takashi)

静岡県立大学・薬学部・講師

研究者番号：40835758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：JA静岡厚生連静岡厚生病院に通院する関節リウマチ(RA)患者60名の血漿中N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)濃度について、RAの疾患活動性を反映していることが示唆された。また、血漿中GlcNAc濃度は腎機能や年齢と有意な相関を示したことから、血漿中GlcNAc濃度をRAの指標とする際には、腎機能及び加齢の影響を考慮する必要性を明らかとした。さらに、RA非罹患の健康診断受診者(健診者)68名の血漿中グルコサミン(GlcN)濃度はRA患者60名より有意に高値を示し、血漿中GlcNAc濃度は有意に低値を示した。RAの罹患によってGlcNとGlcNAcで異なる挙動を示すことを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グルコサミン(GlcN)及びN-アセチルグルコサミン(GlcNAc)は、軟骨の成分である。関節リウマチ(RA)は関節破壊を主徴とするため、軟骨の破壊に伴いGlcN及びGlcNAcが関節腔から血中に漏出することでRAの病態変化を反映する可能性があるが、RA患者における血漿中のGlcN及びGlcNAcの動態は解明されていなかった。本研究では、血漿中GlcN及びGlcNAc濃度とRA罹患の有無、患者背景及びRA疾患活動性との関係を解明した。今後、さらなる研究によってGlcN及びGlcNAcがRAの病態を示す指標となれば、RA治療の向上に寄与できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Plasma concentration of N-acetylglucosamine (GlcNAc) in rheumatoid arthritis (RA) patients at JA Shizuoka Kosei Hospital reflected disease activity in RA. In addition, plasma concentration of GlcNAc was significantly correlated with renal function and age, indicating that the effects of renal function and aging should be taken into account when using plasma GlcNAc concentration as an indicator of RA disease activity. Furthermore, plasma concentration of glucosamine (GlcN) in 68 RA-naive subjects undergoing health checkups was significantly higher than those in 60 RA patients, while plasma GlcNAc concentrations were significantly lower. The behavior of GlcN and GlcNAc with RA was different.

研究分野：薬物動態

キーワード：N-アセチルグルコサミン グルコサミン 関節リウマチ 血漿中動態 疾患活動性 健康診断受診者

## 1. 研究開始当初の背景

近年、急速な高齢化に伴う国民医療費の増大により地域包括ケアシステムの構築が求められている。特に、健康な長寿社会を実現するうえで、セルフメディケーションは不可欠である。関節保護のためのセルフメディケーションとして、N-アセチルグルコサミン (GlcNAc) の栄養補助食品が注目されている。GlcN や GlcNAc は、アミノ酸と糖の結合物であるアミノ糖の一つで、軟骨を構成する必須成分である。また、GlcN や GlcNAc は *in vitro* 研究において、IL-1 の暴露により産生される NO, COX-2 及び IL-6 を抑制し抗炎症作用と、ヒアルロン酸合成の促進作用を示しており (Shikhman AR et al., 2001; Shikhman AR et al., 2009)、経口摂取することで膝関節の疼痛緩和と関節機能の改善が期待される。また、*in vivo* 研究では、RA モデルマウスにおいて、コントロール群と比較して、GlcNAc を経口摂取した群に有意な関節炎の進行抑制が認められている (Azuma K et al., 2012)。一方で、グルコサミン服用群とプラセボ群の短期 (3 ヶ月) 及び長期 (24 ヶ月) の追跡調査において痛みや機能に関して有意な差を示さなかったという報告もあり、研究報告の不一致が多ことから GlcN と GlcNAc の治療目的としての利用は議論の余地がある。そのため GlcN, GlcNAc の体内動態を把握することは極めて重要であるが、ヒト血漿中における内因性 GlcN 及び GlcNAc 濃度に関する研究はほとんどなく、GlcN 及び GlcNAc の動態については不明な点が多いのが現状である。

その原因の一つとして、血漿中の GlcN や GlcNAc の濃度に関して十分な感度の測定法がなかったことが挙げられる。これまでも LC-MS/MS 法による血漿中 GlcNAc 濃度測定法が報告されている (Liu Y et al., 2008)。しかし、検量線の範囲が 20-1280 ng/mL であり、GlcNAc を摂取していないヒトの血漿中濃度を測定するには感度が不十分である。そこで、筆者らは前処理として血漿検体にタンパク変性沈殿法に加え、陽イオン交換ポリマーが充填された固相カートリッジに通過させる方法を組み合わせることで、検量線の範囲を 2.5-2000 ng/mL とした。この高感度測定法により、GlcN や GlcNAc 経口摂取していない RA 患者における内因性の GlcN や GlcNAc の血漿中濃度について明らかにすることが可能となった。

## 2. 研究の目的

GlcNAc 経口摂取後の吸収の程度や体内動態については不明である。我々の先行研究として、マウスに GlcNAc を経口摂取させ、血漿中 GlcNAc 濃度が上昇することを確認した。しかし、ヒトである RA 患者において GlcNAc 含有の栄養補助食品の経口摂取が及ぼす GlcNAc の体内動態に及ぼす影響は明らかとされていない。

また、GlcN や GlcNAc 経口摂取していない RA 患者における内因性の GlcN や GlcNAc の血漿中濃度は、RA の主徴である関節破壊に伴い GlcN 及び GlcNAc が関節腔から血中に漏出することで RA の病態変化に応じて変化する可能性が考えられる。しかし、RA 患者における血漿中 GlcN 及び GlcNAc 濃度を測定した報告はなく、GlcN 及び GlcNAc の体内動態も解明されていない。

本研究の目的は、RA 患者の血漿中 GlcN 及び GlcNAc の動態や変動要因、血漿中 GlcN 及び GlcNAc 濃度と疾患活動性との関連を明らかにしたうえで、RA 患者における GlcN 及び GlcNAc を含有する栄養補助食品の有用性を評価することである。

## 3. 研究の方法

JA 静岡厚生連静岡厚生病院を受診した RA 患者 60 名及び健康診断受診者 (健診者) 68 名を対象とした。RA 患者については、同一患者に対し約 1 年の間隔 (371 日-546 日) をあけて 2019 年及び 2020 年の 2 度に渡って採血を行った。健診者は 2020 年に 1 度採血を行った。RA 患者 60 名のうち、2 度目の採血に至るまでに転院または死亡により 2 名の患者が脱落した。本研究は静岡県立大学及び JA 静岡厚生連静岡厚生病院の研究倫理審査委員会の承認を得た上で実施した。

健診者は性別、年齢、身長、体重、Body Mass Index (BMI)、基礎代謝量、血清クレアチニン (SCr)、Estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR)、血液尿素窒素 (BUN)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、血清乳酸脱水素酵素 (LDH)、アルカリホスファターゼ (ALP)、総タンパク (TP)、血清アルブミン (ALB)、ヘモグロビン (Hgb) のデータを収集した。RA 患者は上記に加え、リウマトイド因子 (RF)、MMP-3、mHAQ、DAS-28CRP、Larsen score、Stage 分類、ESR、抗 CCP 抗体、type collagen cross-linked N-telopeptide (NTx) の情報を収集した。

RA 患者は、同一患者に約 1 年の間隔を空けて 2019 年と 2020 年の 2 度採血を行い、健診者は 2020 年に 1 度採血を行った。血漿中 GlcN 及び GlcNAc 濃度は新規に LC-MS/MS 法を開発し測定した。

#### 4 . 研究成果

本研究を進めるにおいて、GlcNAc を服用している対象はほとんどいなかったため、内因性 GlcNAc における RA の罹患の有無および患者背景、RA の疾患活動性の影響について検討していくこととした。また、研究開始時点では GlcNAc のみを対象としていたが、GlcN との挙動の違いを検討するため、血漿中の GlcN を対象に追加した。

本研究では、RA 患者において内因性の血漿中 GlcN および GlcNAc に影響を与える因子が年齢・腎機能、RA の疾患活動性であることを明らかにした。加齢および腎機能の低下に伴い GlcN および GlcNAc 濃度が上昇する傾向があることから、GlcN および GlcNAc は腎排泄の影響を受けている可能性がある。しかしながら腎機能および年齢との関連は RA 患者のみに見られ、健診者では有意な相関は見られなかった。血漿中濃度に加え尿中 GlcN 及び GlcNAc 濃度の測定を行うなど、GlcN 及び GlcNAc の排泄機構について更なる調査が必要であると考えられる。

また、血漿中の GlcNAc 及び GlcN 濃度の影響因子が MMP-3 及び DAS28-CRP であることを明らかにしたことで、軟骨破壊の程度に関与することを示唆し、内因性の血漿中 GlcN 及び GlcNAc 濃度は RA における新たな疾患活動性のバイオマーカーとしての有用性であることが示された。

以上より、腎機能や加齢の影響を考慮する必要があるが、さらなる研究によって GlcN 及び GlcNAc が RA の病態を示す指標となれば、RA 治療の向上に寄与できるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 柴山 蓮, 坪井 声示, 大澤 隆志, 谷澤 康玄, 賀川 義之
2. 発表標題 ヒト血漿中グルコサミン及びN-アセチルグルコサミン濃度に影響を及ぼす因子の探索
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 今江陽, 坪井声示, 松本拓也, 南雲達, 谷澤康玄, 大澤隆志, 賀川 義之
2. 発表標題 関節リウマチ患者における血漿中N-アセチルグルコサミン濃度と疾患活動性
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部 合同学術大会2021（オンライン開催）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 今江陽, 坪井声示, 松本拓也, 南雲達, 谷澤康玄, 大澤隆志, 賀川 義之
2. 発表標題 関節リウマチ患者における血漿中GlcNAc濃度の変動要因の探索的評価
3. 学会等名 第30回医療薬学会年会（名古屋市、オンライン開催）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------