



# ラットアジュバント関節炎に対する含硫アミノ酸とグルコサミンの協調作用

○山岸 淑恵<sup>1,2</sup>・五十嵐 庸<sup>1</sup>・勝呂 栞<sup>2</sup>・平野 伸一<sup>3</sup>・長岡 功<sup>1</sup>

<sup>1</sup>順天堂大学医学部生化学・生体防御学・<sup>2</sup>プロテインケミカル株式会社・<sup>3</sup>株式会社メルシャンクリンテック

## 要旨

【目的】 グルコサミン(GlcN)は弱い炎症を伴う関節疾患である変形性関節症に有効であることが知られている。一方、メチルсульフォニルメタンなどの硫黄化合物も変形性関節症の症状を緩和させることが知られている。今回我々は、より強い炎症症状を伴う関節疾患である関節リウマチのモデルのラットアジュバント関節炎を用いて含硫アミノ酸とGlcNの併用による有効性の評価を行った。

【方法】 8週齢雌性Lewis系ラットを7日間予備飼育し、右後肢腱皮内に結核菌の死菌を含むアジュバントを注射して関節炎を誘発した。ラットをアジュバント群(食品無投与)、メチオニン群、GlcN群、メチオニン+GlcN群に分け、アジュバント注射日をday0としてday21まで試験食品を強制経口投与した。関節炎の評価として投与期間中に足容積の測定と関節炎スコアの測定を経時的に行った。また、day21に採血し、血漿中の炎症メディエーターである一酸化窒素(NO)とプロスタグランジンE<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)および滑膜炎マーカーであるヒアルロン酸(HA)の定量を行った。

【結果】 足容積についてGlcN群とメチオニン+GlcN群はアジュバント群と比べて左後肢腫脹を有意に抑制した。関節炎スコアについて、アジュバント群に比べてメチオニン群、GlcN群は抑制傾向を示したが、メチオニン+GlcN群はさらに抑制した。血漿中のNO濃度はコントロール群(アジュバント非投与)に比べてアジュバント群で上昇傾向を示し、また、PGE<sub>2</sub>およびHA濃度もコントロール群に比べてアジュバント群で有意に上昇した。そして、NOおよびPGE<sub>2</sub>濃度はメチオニン群とGlcN群においてアジュバント群と比べて低下する傾向が見られ、また、HA濃度はアジュバント群と比べてわずかに抑制傾向を示した。さらに、メチオニン+GlcN群においてNO、PGE<sub>2</sub>、HA濃度はアジュバント群に比べて強く抑制される傾向を示した。

【結論】 ラットアジュバント関節炎においてメチオニンとGlcNの併用投与は、症状の改善、炎症メディエーターの産生抑制および滑膜炎の抑制についてそれぞれの単独投与よりもより強い効果を示すことがわかった。

## 1. 実験方法

【動物】 8週齢の雌性Lewis系ラットを7日間の予備飼育後に、アジュバント(*Mycobacterium tuberculosis* H37Ra(DIFCO, Lot No. 8308875)の加熱死菌)を0.5mg右後肢腱皮内に注射して関節炎を誘発した。

【試験食品】 ラットをアジュバント群(食品無投与)、メチオニン群(200mg/kg)、GlcN群(400mg/kg)、メチオニン+GlcN群(200mg/kg+400mg/kg)の4群に分け、day0からday21まで試験食品の強制経口投与を行った。一方、アジュバントを投与していないラットをコントロール群とした。(n=6)

群構成	アジュバント	試験食品(投与量)
コントロール	-	-
アジュバント	+	-
メチオニン	+	L-メチオニン(200mg/kg)
GlcN	+	グルコサミン(400mg/kg)
メチオニン+GlcN	+	L-メチオニン(200mg/kg)+グルコサミン(400mg/kg)

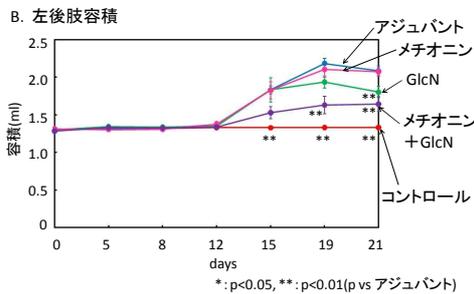
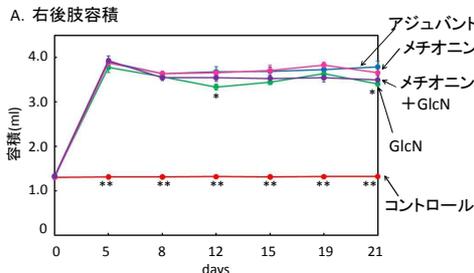
【評価方法】 ①関節炎の評価として、投与期間中は足容積測定装置(TK-105, 室町機械)にて右後肢および左後肢の容積を測定した。

②感作部位である右後肢を除く右前肢、左前肢、左後肢の発赤、腫脹および強直の程度を観察して0~4点で採点し、合計12点を最高点として関節炎スコアを評価した。

[0点: 症状無、1点: 指の小関節が1本のみ発赤・腫脹、2点: 小関節2本以上あるいは肢首の比較的大きな関節が発赤・腫脹、3点: 1本の肢全体が発赤・腫脹、4点: さらに1本の肢の全体的な腫脹が最大限に達しているとき(関節の強直を含む)]

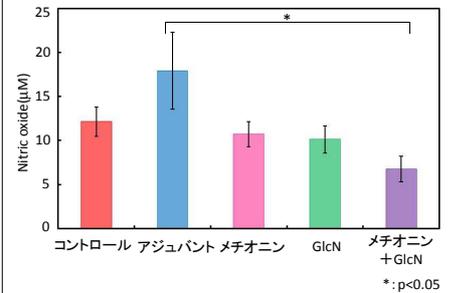
③day21に採血を行い、血漿中の炎症メディエーターである一酸化窒素(NO)(nitrate/nitrite colorimetric assay kit, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI)とプロスタグランジンE<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)(enzyme-linked immunosorbent assay, Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI)および滑膜炎マーカーであるヒアルロン酸(HA)(ヒアルロン酸測定キット、生化学バイオビジネス)の定量を行った。

## 2. 足容積に対する効果



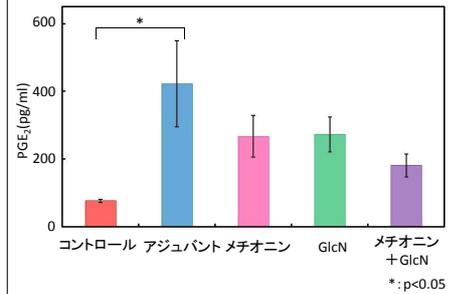
足容積については、アジュバントを注射した右後肢の腫脹はGlcN群のday12およびday21において、アジュバント群に比べて有意に抑制された。また、メチオニン+GlcN群は、アジュバント群と比べて有意差はないものの試験期間を通して右後肢の腫脹を抑制する傾向を示した。アジュバントを注射していない左後肢の腫脹はGlcN群のday21、メチオニン+GlcN群のday19とday21において、アジュバント群と比べて有意に抑制された。

## 4. NOに対する効果



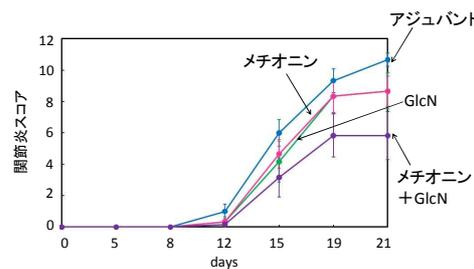
NO濃度については、メチオニン群およびGlcN群において、アジュバント群に比べて有意差はないものの抑制される傾向が見られた。さらに、メチオニン+GlcN群はアジュバント群に比べてNO濃度を有意に抑制した。

## 5. PGE<sub>2</sub>に対する効果



PGE<sub>2</sub>濃度については、メチオニン群およびGlcN群において、アジュバント群に比べて抑制される傾向が見られた。さらに、メチオニン+GlcN群は有意差はないもののアジュバント群と比べてPGE<sub>2</sub>濃度を強く抑制した。

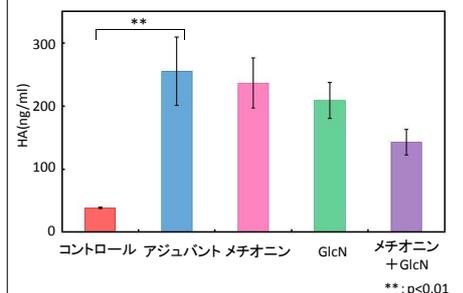
## 3. 関節炎スコアに対する効果



関節炎スコアについては、メチオニン群およびGlcN群において、day12からday21にかけてアジュバント群と比べて関節炎スコアを抑制される傾向が見られた。

さらに、メチオニン+GlcN群はアジュバント群と比べて有意差はないものの、day12からday21にかけて関節炎スコアを強く抑制した。

## 6. HAに対する効果



HA濃度については、メチオニン群およびGlcN群において、滑膜炎のマーカーであるHAをアジュバント群と比べてわずかに抑制される傾向が見られた。さらに、メチオニン+GlcN群はアジュバント群と比べて有意差はないもののHAを強く抑制した。

## 7. まとめ

【関節炎症状】 メチオニンとグルコサミンの併用はアジュバント関節炎による関節の発赤・腫脹・強直といった症状を抑制することがわかった。

【NOおよびPGE<sub>2</sub>産生】 メチオニンとグルコサミンの併用はアジュバント関節炎による一酸化窒素やプロスタグランジンE<sub>2</sub>といった炎症メディエーターの産生を抑制することがわかった。

【滑膜炎】 メチオニンとグルコサミンの併用はアジュバント関節炎による滑膜炎の炎症(HA濃度)を抑制することがわかった。

これらの結果から、メチオニンとグルコサミンの併用投与はラットアジュバント関節炎の症状を抑制し、その効果はそれぞれの単独投与よりもより強い効果を示すことがわかった。