

諸種のアミロイドに対する抗体を用いて1990年から2000年に行った免疫組織化学的検討で、これまでにA $\lambda$ 型と診断された全身性アミロイドーシス剖検例19例、限局性アミロイドーシス生検例5例（肺2例、結膜、咽頭、頬粘膜各1例）、A $\kappa$ 型と診断された全身性アミロイドーシス剖検例10例、 $\kappa$ 型マクログロブリン血症を伴う全身性アミロイドーシスでアミロイド蛋白のタイプが不明であった1例のホルマリン固定パラフィン切片を材料とした。切片を脱パラフィン後、内因性ペルオキシダーゼおよび非特異反応のブロックを行い、一次抗体として抗 $\lambda$ 鎖定常領域抗血清400倍、または抗 $\kappa$ 鎖定常領域抗血清600倍を室温で30分間反応させた。二次抗体としてDAKO Envision+ポリマー試薬（ウサギ一次抗体用）を室温30分間反応させた後、DABにて5分間発色を行った。なお限局性アミロイドーシス生検例については、市販の抗 $\lambda$ 鎖および $\kappa$ 鎖抗体(DAKO)についても検討した。

### C. 研究結果

A $\lambda$ 型アミロイドーシス例は24例中23例が抗 $\lambda$ 鎖定常領域抗血清で陽性であり、抗 $\kappa$ 鎖定常領域抗血清は全く染まらないか、数例に血清のしみこみと思われる、部分的に弱く染まる像がみられたが、陽性と判定できる例はなかった。また限局性A $\lambda$ アミロイドーシス例において、アミロイド周囲に存在する形質細胞および血管内の血清成分が、市販の抗 $\lambda$ 鎖抗体では強く染まったが、抗 $\lambda$ 鎖定常領域抗血清では5例とも非常に弱い染色性であった。

A $\kappa$ 型アミロイドーシス例は10例中9例が抗 $\kappa$ 鎖定常領域抗血清陽性であり、抗 $\lambda$ 鎖定常領域抗血清は全く染まらないか、数例に血清のしみこみと思われる、部分的に弱く染まる像がみられたが、陽性と判定できる例はなかった。本年度作製した抗 $\kappa$

鎖定常領域抗血清は賦活処理なしで明瞭な染色性がえられ、アミロイド以外の線維性結合織は染まらなかった。なお好中球と交差反応がみられたが、アミロイドの診断には影響しなかった。

A $\lambda$ 型、A $\kappa$ 型およびアミロイド蛋白不明例各1例は抗 $\lambda$ 鎖および抗 $\kappa$ 鎖定常領域抗血清ともに明らかな陽性像がえられなかった。

### D. 考察

今回検討した症例の大部分は、抗 $\lambda$ 鎖、抗 $\kappa$ 鎖定常領域抗血清のどちらか一方と明瞭に反応したので、これらの抗血清はALアミロイドーシスの免疫組織化学的診断において十分実用に耐えるものと思われる。

限局性A $\lambda$ アミロイドーシスは5例検討を行ったが、いずれの症例も前駆蛋白を産生していると思われる形質細胞や血清成分の染まりが悪いという所見がえられたので、やはり抗 $\lambda$ 鎖定常領域抗血清はホルマリン固定パラフィン切片上ではアミロイドとして沈着している $\lambda$ 鎖を特に認識しやすい抗体であることが示唆される。

昨年報告した抗 $\kappa$ 鎖定常領域抗血清は70%蟻酸処理後にproteinase K処理を行わないと十分な染色性がえられず、またこの処理を行うとアミロイド以外の線維性結合織も陽性となったが、本年度作製した抗血清は未処理で十分な反応性を有しており、また線維性結合織は染まらず、より実用的な抗血清を作製しえた。

今回の検討でいずれの抗血清でも染まらない症例が3例みられたが、ALアミロイドーシスの10~15%程度の症例は定常領域をほとんどあるいは全く含んでいないという報告があり、この3例は定常領域をほとんどあるいは全く含んでいないALアミロイドーシスである可能性が高いと考える。

#### E. 結論

免疫組織化学的に AL アミロイドーシスと十分な反応性を有する抗免疫グロブリン $\lambda$  鎖定常領域抗血清および抗免疫グロブリン $\kappa$  鎖定常領域抗血清を作製しえた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yoshinobu Hoshii, Mihoko Setoguchi, Takako Iwata, Junko Ueda, Dan Cui, Hiroo Kawano, Toshikazu Gondo, Mutsuo Takahashi, Tokuhiko Ishihara:

Useful polyclonal antibodies against synthetic peptides corresponding to immunoglobulin light chain constant region for immunohistochemical detection of immunoglobulin light chain amyloidosis. *Pathol Int* 51, 2001. (in press)

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし



写真 1: A $\lambda$ 型アミロイドーシス例の腎、抗 $\lambda$ 鎖定常領域抗血清による免疫染色。血管壁や一部糸球体に沈着したアミロイドが明瞭に染色されている。



写真 2: A $\kappa$ 型アミロイドーシス例の腎、抗 $\kappa$ 鎖定常領域抗血清による免疫染色。血管壁に沈着したアミロイドが明瞭に染色されている。

厚生科学研究費補助金 (特定疾患対策研究事業)  
 アミロイドーシスに関する研究 分担研究報告書

## SCID-hIL6 Tg mice への患者骨髄腫細胞の移植系の確立

分担研究者 河野道生 山口大学医学部寄生体学  
 共同研究者 石川秀明 山口大学医学部寄生体学

**研究要旨** AL アミロイドーシス合併骨髄腫患者からの骨髄腫細胞を効率よく SCID-hIL6Tg mice の腹腔内へ移植生存させる系を確立する目的で、骨髄腫患者 25 例の骨髄単核球分画を SCID-hIL6 Tg mice の腹腔内へアガロースゲルとともに注射した。この内 9 例において、移植後 8~12 週に移植生存が確認された。移植生存が確認できた症例では、移植時の骨髄単核球分画中の骨髄腫細胞の比率が高いことと、未熟骨髄腫細胞が多い症例であった。移植可能であったマウスでは、移植後 20 週でも生存可能であった。以上より、AL アミロイドーシス合併骨髄腫患者からの骨髄腫細胞を SCID-hIL6 Tg mice の腹腔内へ移植生存させることが可能となった。

### A. 研究目的

AL アミロイドーシスを惹起する骨髄腫細胞はいかなる性状の骨髄腫細胞であるかを明らかにする。そのために、患者骨髄腫細胞を *in vivo* マウス系で生存増殖させ得る系を確立して、マウス生体内で骨髄腫細胞からの M 蛋白負荷をかけた時に、AL アミロイドーシスがいかに誘発されてくるかその機構を明らかにしてゆく。

### B. 研究方法

1) AL アミロイドーシス合併の骨髄腫患者からの骨髄腫細胞の SCID-hIL6 Tg mice への移植: AL アミロイドーシス合併した骨髄腫患者の骨髄穿刺液から既報のごとく骨髄単核球分画を分離した。骨髄単核球分画 ( $1 \times 10^7$  細胞 / 0.4 ml) を SCID-hIL6 Tg mice (中外製薬 (株)、創薬研究所より供与) の腹腔内へ 0.6% アガロースゲル (0.3% H14(TAKARA<sup>®</sup>))+0.3% Sea-Plaque(TAKARA<sup>®</sup>)(0.4 ml/マウス)とともに注射した。

2) マウス腹腔内の骨髄腫細胞の生存増殖の確認: マウス腹腔内へ注射後、6 週、8 週、12 週及び 20 週にマウスの腹腔内から細胞を回収した。また、腫瘤を形成している場合は腫瘤を摘出した。回収した細胞を、FITC 標識 CD38 抗体、PE 標識 CD54, MPC-1 あるいは CD49e 抗体および PC5 標識 CD45 抗体で三重染色し、フローサイトメーター (EPICS ELITE ESP, Coulter 社) で解析した。

3) *in vitro* 培養での細胞株の樹立: マウス腹腔内より回収した細胞を RPMI-1640 培地+10% 牛胎仔血清にインターロイキン 6 (IL-6) 添加あるいは非添加の条件で *in vitro* 培養した。増殖してきた細胞については、クローン化した。

4) 組織学的検討: 患者骨髄腫細胞を移植したマウスの腹腔内の腫瘤あるいは腹膜組織を採取して、組織学的検討を行なった (山口大学医学部第一病理学 石原得博 教授、権藤俊一 助教授、河野裕夫 講師の協力による)。

### C. 研究結果

AL アミロイド-シス合併骨髄腫症例 25 例からの骨髄穿刺液より骨髄単核球分画を分離して、既報のごとく SCID-hIL6 Tg mice の腹腔内へ移植した。その内 9 例の骨髄腫細胞が注射後 12 週の段階でマウス腹腔内に生存増殖が確認された。腹腔内に腫瘤形成が認められた例は 4 例であり、ゲル化したアガロースゲルの中に骨髄腫細胞が細胞塊を形成していた。

移植生存可能であった症例の骨髄単核球分画は、骨髄単核球分画に占める骨髄腫細胞の比率の高いもの、さらに骨髄腫細胞中の未熟骨髄腫細胞 (MPC-1-CD45+(CD45-) CD49e-) の多いものであった。移植生存可能であった骨髄腫細胞を移植されたマウスは、移植後 20 週でも生存していた。マウス腹腔内の腹水あるいは腫瘤から回収された骨髄腫細胞から、*in vitro* 培養にて自律増殖する細胞株が 3 株樹立できた。その中で一つの細胞株 Y01 は、IL-6 非依存性増殖を示し、SCID-hIL6 Tg mice への再度の移植実験にて移植生存増殖が確認された。

患者骨髄腫細胞が移植可能であったマウスからの腹腔内腫瘤および腹膜組織の組織学的検討の結果は、まだ充分になされていない。検討し得た 2 例において、骨髄腫細胞の著しい増殖は認められたもののアミロイド沈着は観察されなかった。

### D. 考察

前年度の本研究で確立した骨髄腫細胞株 U-266 等の SCID-hIL6 Tg mice 腹腔内への移植方法に従って、AL アミロイド-シス合併骨髄腫患者からの骨髄腫細胞をマウス腹腔内へ移植生存させ得ることが可能となった。移植生存可能であった症例の骨髄腫細胞は、未熟骨髄腫細胞の比率が高いものであり、腹腔内で生存増殖している

細胞も未熟骨髄腫細胞であることが明らかとなった。この系は、未熟骨髄腫細胞の動態を *in vivo* 系で明らかにするには非常に有益なものであることがわかった。AL アミロイド-シス発症には、当然未熟骨髄腫細胞が関与しており、未熟骨髄腫細胞から産生される M 蛋白の負荷がマウス生体内にアミロイド-シス誘発を起こすものと思われる。今後、マウス腹腔内に移植生存さらに増殖する未熟骨髄腫細胞、それからの M 蛋白の負荷で、いかにマウス腹腔内、腫瘤組織あるいは腹膜にアミロイド-シスを惹起し得るかを検討して予定である。特に、マウスのマクロファージ機能に着目して、それを活性化するためのサイトカインの注射投与を検討している。

### E. 結論

1. 昨年度の本研究で確立した骨髄腫細胞株を SCID-hIL6 Tg mice へ移植生存・増殖させ得る方法に従って、AL アミロイド-シス合併骨髄腫患者からの骨髄腫細胞をマウス腹腔内へ移植生存させ得る系を樹立した。
2. 未熟骨髄腫細胞が選択的にこの SCID-hIL6 Tg mice の腹腔内で移植生存・増殖し得ることが明らかとなった。
3. 今後、この SCID-hIL6 Tg mice 移植系において、AL アミロイド-シス発症をマウスのマクロファージ活性化の面から検討可能である。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Ishikawa H, Mahmoud MS, Fujii R, Abroun S, Kawano MM: Proliferation of immature myeloma cells by interleukin-6 is

associated with CD45 expression in human multiple myeloma. *Leuk Lymphoma* 39: 51-55, 2000.

2) Ishikawa H, Abroun S, Liu S, Li F, pathway from MPC-1- to MPC-1+ myeloma cells by IL-6. The 42nd annual meeting of the American Society of Hematology, San Francisco, U.S.A., December 1-5, 2000.

3) Tsuyama N, Kawano MM: Requirement of src family kinase activity associated with CD45 for myeloma cell proliferation by interleukin-6. *Blood* (in press)

## 2. 学会発表

1) Ishikawa H, Abroun S, Liu S, Kawano M M: Requirement of src family kinase activity

associated with CD45 phosphatase for myeloma cell proliferation by interleukin-6 . The 42<sup>nd</sup> annual meeting of the American Society of Hematology, San Francisco, U.S.A., December 1-5, 2000.

2) Abroun S, Ishikawa H, Liu S, Kawano M M: Direct evidence of differentiation

## H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## SCID-hIL6 Tg mice腹腔内における 患者骨髓腫細胞の移植・生存

	骨髓腫症例	骨髓単核球 分画中の形 質細胞比率 (%)	骨髓単核球 分画中の未 熟骨髓腫細 胞の比率 (%)	腹腔内から回収され た骨髓腫細胞数	移植後腹腔内細 胞回収までの期 間 (W (週))
1.	IgG-K, treated	0.9%	0.2	0	12 W
2.	IgG-K, treated	3.0	1.4	5,000	13 W
3.	IgG-L, nontreat	76.3	54.8	1,000, 12,850, 6,7980	12 W
4.	IgA-L, treated	13.2	3.0	2,900	12 W
5.	IgG-K, treated	6.3	2.3	3,000	12 W
6.	IgG-K, treated	52.1	34.6	2,250, 1,000, 1,000	11 W
7.	IgA-K, nontreat	80.6	40.8	2,200,000, 3,400,000	11 W
8.	IgG-K, nontreat	22.1	7.3	0, 0, 0	11 W
9.	IgA-K, treated	15.4	2.5	0, 0, 0	12 W
10.	IgG-L, nontreat	50.0	29.6	0, 0, 0	8 W
11.	IgG-K, treated	1.3	0.0	0, 0	13 W
12.	IgG-K, nontreat	67.2	6.8	0, 0	12 W
13.	IgG-L, nontreat	22.0	17.4	0, 0, 0	8 W
14.	IgG-L, treated	2.0	0.2	0, 0, 0	8 W
15.	IgG-K, nontreat	60.0	12.2	2,000, 1,550, 1,250	8 W
16.	IgG-K, treated	62.7	39.3	5,000	8 W
17.	IgA-L, nontreat	10.1	1.1	0	8 W
18.	IgG-K, treated	66.6	1.6	0, 0	8 W
19.	IgG-K, treated	1.0	0.1	0	8 W
20.	IgG-L, nontreat	19.2	3.8	2,200	8 W
21.	IgA-K, treated	2.0	1.3	0, 0, 0, 0	8 W
22.	BJ-K, treated	10.0	0.4	0	8 W
23.	IgA-L, treated	6.3	2.3	0	12 W
24.	IgG-K, treated	4.3	2.4	0	8 W
25.	BJ-L, treated	21.0	18.0	0	8 W

厚生科学研究費補助金 (特定疾患対策研究事業)  
 アミロイドーシスに関する研究 分担研究報告書

多発性骨髄腫に対する多剤併用大量化学療法による末梢血幹細胞移植

分担研究者 麻奥英毅 広島赤十字・原爆病院第4内科  
 共同研究者 新美寛正\*、高田四郎\*、岩戸康治\*、許泰一\*、田利晶\*\*、  
 藤原恵\*\*\*、栗原寛治\*\*\*  
 広島赤十字・原爆病院、\*第4内科、\*\*同第6内科、  
 \*\*\*同病理部

研究要旨 多発性骨髄腫 (MM) 患者の 33.5% にアミロイド沈着を認め、MM 罹病期間が長くなるほどアミロイド沈着率は高くなる。長期生存例のほとんどは従来の治療における good response 群であることからアミロイド原性蛋白である M 蛋白を減少させるだけでは不十分で、消失させない限りアミロイド沈着を阻止できないことがわかった。そこで MM に伴うアミロイドーシスの発症阻止及び治療を目的に末梢血幹細胞移植 (PBSCT) を併用した大量化学療法を試みた。進行期 MM 患者で前治療 good response 9 例に対し MCNU 静注, VCR96 時間持続静注, L-PAM 大量内服, CPM 大量投与の後 PBSCT を行った。造血回復は速やかで、重篤な有害事象は認めなかった。9 例中有効例は 8 例であり、内 3 例は M 蛋白が消失した。再燃を 2 例に認めたが、6 例は無治療で再発再燃を認めていない。アミロイド沈着を認めた 1 例は PBSCT 後アミロイドが消失した。MM 及び MM に伴うアミロイドーシスに対し PBSCT 併用大量化学療法は有効な手段と考える。

A. 研究目的

MM 患者には従来考えられていた以上にアミロイド沈着が認められ MM 罹病期間が長くなるにつれその割合が高くなる (表 1)。MM 治療で極めて良好に M 蛋白が減少した good response 例でも罹病期間が長いとアミロイド沈着が増加する。つまりアミロイド沈着を防ぐためにはより低いレベルまで M 蛋白を減少させるか消失させることが必要である。MM 治療において従来の治療では M 蛋白が消失する事はまれであった。最近 PBSCT 併用大量化学療法により MM においても多くの完全緩

解例が報告されてきている。しかし高齢者及び臓器障害を有する患者は大量化学療法の毒性を考慮し対象となることは少ない。そこで高齢者及びアミロイド沈着による臓器障害を有する患者に対しても安全に施行しうる PBSCT 併用大量化学療法を確立することを目的とした。

B. 研究方法

1. 対象

明らかな臓器障害を持たない病期 2 以上の MM 患者で前治療で good response (M 蛋白 IgG < 2000mg/dl 又は M 蛋白



IgA<500mg/dl 又は骨髄中 MM 細胞<5%) 例 9 例を対象とした。年齢は 53 才から 77 才、男性 4 例女性 5 例である。IgG- $\kappa$  5 例、IgG- $\lambda$  1 例、IgA- $\kappa$  1 例、IgA- $\lambda$  2 例。前治療期間は 9 ヶ月から 108 ヶ月である。全ての患者において十分なインフォームドコンセントを行った上同意を得た。

## 2. 方法

幹細胞採取は VP-16 350mg/dl/day  $\times$  3days+G-CSF10  $\mu$ g/kg にて行った。PBSCT 前大量化学療法は MCNU200mg/m<sup>2</sup>day1、VCR0.5mg/body 96 時間持続点滴 day4-7、CPM40mg/kg day9,10、PSL60mg/m<sup>2</sup> day1-10 とし、melphalan 内服を day4-7 に行ったが melphalan は最初 18mg/day で開始し、5 例目より 25mg/day に増量した(図 1)。Grade3 以上の非血液毒性を DLT とし増量の判断基準とした。PBSCT は day12 に行い全例無菌室管理を行った。

(倫理面への配慮)

本治療研究の目的の 1 つに毒性の軽減があり、治療プロトコール作成に当たって多くの報告を参考に根拠を確認し対象患者に対する危険性の排除に十分な配慮を行った。

インフォームドコンセント

1. 病名と病状 2. 治療研究であること 3. 治療研究の意義、必要性、目的 4. 治療内容、期待できる治療効果、予期される毒性 5. 代替治療法 6. 同意拒否、撤回は自由でありそれにより不利益を受けないこと 7. 個人情報の守秘。以上につき繰り返し説明を行い十分に理解したことを確認した上で同意を得た。

## C. 研究結果

移植細胞数は CD34 細胞で 1.1-10.3  $\times$  10<sup>6</sup>/kg (平均 4.0  $\times$  10<sup>6</sup>/kg) であった。造血回復は白血球数 1000/ $\mu$ l 以上に回復するまでの期間が 8-15 日(平均 12 日)で血小板数 2.5  $\times$  10<sup>4</sup>/ $\mu$ l 以上に回復するまでの

期間が 11-54 日(平均 23 日)であった。非血液毒性については悪心嘔吐下痢を 5 例に、発熱を全例に認めたがいずれも grade2 までであり、また Grade1 の肝障害を 1 例に grade2 の血尿を 1 例に認めたが速やかに改善した。その他問題となる毒性は認めず極めて安全に施行し得た。77 才の患者においても 37 度台の発熱以外全く問題なく経過した。治療効果に関しては 9 例中 3 例に M 蛋白の消失を認め (CR)、5 例は M 蛋白が残存したものの十分な減少を認めた (PR)。1 例は無効であった (NC)。観察期間は短いが CR 例はそれぞれ 13、11、1 ヶ月緩解を持続している。PR 例の内 2 例は 10、8 ヶ月めに再燃を来した(表 2)。YS 例は蛋白分画で M ピークが消失したものの免疫固定法で M 蛋白を認めたため PR と判定したが、本症例は PBSCT 前腹壁脂肪及び胃粘膜に認めていたアミロイドの沈着が PBSCT 後 4 ヶ月めの検査では消失していた。

## D. 考察

MM に伴うアミロイド沈着は従来考えられていたよりも多く認められ、MM の罹病期間が長くなるにつれ増加する。5 年以上の長期生存例のほとんどはアルキル化剤を中心とした前治療において good response 例であることからアミロイド沈着を阻止するためにはより強力に M 蛋白を減少させるか消失させることが必要であると思われる。最近 MM の治療においてメルファラン大量投与を中心とした造血幹細胞移植が盛んに行われるようになった。Desikan らによる MM1000 例の解析では CR 率は 44%治療関連死は 2.7%であり極めてよい成績である。一方 AL アミロイドーシスに対する大量化学療法の報告は少ない。Moreu らは 45 才の心アミロイドーシスを伴う全身性 AL アミロイドーシス患者に自家骨髄移植を併用したメル

ファラン大量療法を行い、M 蛋白の消失、左室のアミロイド沈着及び肥大の改善を報告している。我々の検討でも PBSCT 後沈着していたアミロイドが消失した症例を 1 例認めた。アミロイド原性 M 蛋白を消失させる意味でこのような大量化学療法は有効な手段と考える。しかしアミロイドーシス患者に対する大量化学療法の報告が少ないことから推察できるようにアミロイド沈着により生じる臓器障害が intensive な化学療法を行う上で大きな問題である。アミロイドによる臓器障害が進行する前に PBSCT を施行することが必要であり、より臓器毒性の少ない大量化学療法を確立する事及び臓器障害を有する患者への適応基準を明らかにする事が必要である。今回我々は PBSCT 前大量化学療法として melhalan 大量療法でなく多剤併用化学療法を試みた。多剤併用にすることで治療効果において相加相乗効果が得られまた各薬剤の投与量を減少することで毒性の軽減が期待できる。前治療 good response 例を対象とし臓器障害を有する患者は除外したが、高齢者にも極めて安全に施行し得たこと、明らかな臓器毒性を認めなかったこと、さらに治療効果において 9 例中 8 例に有効であり 3 例に CR を得た

ことから本治療は有用であると考えられ、今後さらに症例を増やして検討し適応の拡大を考えたい。

#### E. 結論

前治療で Good response 群においても MM 罹病期間が長くなるとアミロイド沈着率が高くなるため早期に根治が望める治療が必要であり、末梢血幹細胞移植は有効な手段と考える。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

表1 MM罹病期間とamyloid

MM罹病期間	初診時	3年未満	3年以上5年未満	5年以上
症例数	46	90	41	24
amyloid-	36	66	24	13
amyloid+	10	24	17	11
amyloid%	21.7	26.7	41.5	45.8

図1 Multiple myeloma PBSCT regimen

	day	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
MCNU	200 mg/m <sup>2</sup>	↓											
VCR	0.5 mg/body				↓	↓	↓	↓					
Melphalan	18or25 mg/m <sup>2</sup>				○	○	○	○					
CPM	40 mg/kg									↓	↓		
PSL	60 mg/kg	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓		
PBSCT													↓

表2 Multiple myeloma PBSCT 症例

Case	年齢	性	病期	Ig type	前治療期間 (M)	移植CD34細胞数 (×10 <sup>6</sup> /kgCD34cell)	melphalan (mg/m <sup>2</sup> )	効果	効果持続期間 (M)
H.T	60	F	III A	A λ	17	10.3	18	PR	10R
O.H	63	M	III A	G κ	23	7.0	18	PR	8R
S.S	61	M	II B	G κ	9	1.1	18	CR	13
I.M	54	F	III A	A λ	97	5.6	18	NR	
K.K	55	F	II A	G κ	11	1.6	25	CR	11
T.Y	58	M	II A	A κ	34	2.1	25	PR	6
Y.S	57	M	III A	G κ	108	1.5	25	PR	5
B.T	77	F	II A	G λ	12	4.6	25	PR	2
K.T	53	F	III A	G κ	25	2.2	25	CR	1

厚生科学研究費補助金 (特定疾患対策研究事業)

アミロイドーシスに関する研究 分担研究報告書

## 血液透析導入後に生体肝移植を行った原発性アミロイドーシスの一例

分担研究者 下条文武 新潟大学医学部第二内科

共同研究者 伊藤 聡\*、大嶋智子\*、菅原和子\*、井口清太郎\*、大林弘明\*、上野光博\*、西 慎一\*\*、福原康夫\*\*\*、市田隆文\*\*\*、小林 隆\*\*\*\*、高野可赴\*\*\*\*、小海秀央\*\*\*\*、大矢 洋\*\*\*\*、山本 智\*\*\*\*、佐藤好信\*\*\*\*、畑耕治郎\*\*\*\*\*、菊地 博\*\*\*\*\*、菊池正俊\*\*\*\*\*、吉田和清\*\*\*\*\* 新潟大学医学部、\*第二内科、\*\*同血液浄化部、\*\*\*同第三内科、\*\*\*\*同第一外科、新潟市民病院、\*\*\*\*\*消化器科、\*\*\*\*\*同腎膠原病科

研究要旨 [症例] 55才男性。'99年1月から腹部膨満感を自覚し、6月14日新潟市民病院を受診。著しい肝腫大が認められ、尿免疫電気泳動で Bence Jones κ型の M peak を認め、肝生検で原発性アミロイドーシス (AL、κ型) と診断された。その後肝腫大はさらに増強し、腹部膨満感がきわめて強いため、妻をドナーとした生体肝移植を希望し2000年6月6日当院に入院した。同日の検査で血清 K 7.0 mEq/l、BUN 57 mg/dl、Cr 3.2 mg/dl、と高 K 血症、腎機能障害を認めた。胃粘膜生検、大腸粘膜生検ともにアミロイドの沈着を認め、心エコーでも輝度亢進など、アミロイド沈着を示唆する所見を認めた。6月13日血液透析に導入し、27日、生体肝移植を行った。同時に行った腎生検で、アミロイド沈着を認めたが、その後の2回の肝生検では移植肝にアミロイド沈着は認めていない。腹部膨満は著しく改善し、週3回の維持透析を行っていたが、2001年3月14日突然死した。[考察] 本症例は、我が国では初の原発性アミロイドーシスでの肝移植症例である。原発性アミロイドーシスでの平均生存期間は、12-18ヶ月であり、心不全合併例では4ヶ月と特に不良である。現在までに欧米を中心に5例の脳死肝移植例が報告されているが、術後2年以上生存している症例、移植後グラフト肝にアミロイドの再沈着をきたし、18ヶ月で死亡した例などがあり、予後については一定の見解を得ていない。今後我が国でも、症例を蓄積し、肝移植の適応について議論がなされるべきと考えられた。

### A. 研究目的

原発性アミロイドーシスは全身の諸臓器にアミロイドの沈着をきたす疾患であり、肝障害に対しての肝移植は根治療法

ではない。今回私達は著しい腹部膨満、食思不振に対し、透析導入後に生体肝移植を行った原発性アミロイドーシス患者を経験した。肝移植が患者の activity of

daily life (ADL)と予後にどの程度貢献するのかを明らかにし、またこのような症例を蓄積することにより、肝移植の適応についての一定の見解が得られることを目的とした。

## B. 研究方法

進行する腎不全に対しては血液透析療法に導入し、患者、家族に十分なインフォームドコンセントを行った上で、生体肝移植を行った。拒絶の有無、移植肝でのアミロイド再沈着を確認するために移植後肝生検を行った。

(倫理面への配慮)

患者、家族には、パンフレットを使用し、移植の方法、術後経過、予想される合併症、当院での肝移植の成績を説明した。原発性アミロイドーシスは、domino肝移植が行われているFAP (家族性アミロイドポリニューロパチー)とは全く異なる疾患であること、肝移植では原疾患は治癒せず、予後不良であること、ただし肝移植をしなければ腹部膨満、食思不振などで、ADLはさらに悪化するであろうということも説明した。精神科医によるカウンセリングを行い、移植の適応について、担当各科による合同カンファレンス、新潟大学倫理委員会での検討を行った。

## C. 研究結果

[症例] 55才男性。[主訴] 腹部膨満、全身倦怠感、食思不振。[家族歴] 父方の祖父がいとこ婚。[既往歴] 47才時に狭心症で percutaneous transluminal coronary angioplastyを行われた。[現病歴] '98年検診で蛋白尿を指摘された。'99年1月から腹部膨満感が出現し、5月には肝機能異常を指摘され、2ヶ月で9kgの体重減少を認めた。6月14日新潟市民病院内科を受診、著しい肝腫大が認められ、7月11日に入院した。尿免疫電気泳動でBence Jones Protein  $\kappa$  型

が認められ、肝生検で、原発性アミロイドーシス (AL、 $\kappa$ 型) と診断された。骨髄中形質細胞は6.2%であり、胃生検では、アミロイド沈着は認められなかった。化学療法について説明したが、希望せず7月27日退院した。2000年2月、妻をドナーとした生体肝移植を希望したが、3月28日の検査では、蛋白尿 (3+)とBUN 21.1 mg/dl、Cr 1.3 mg/dlと腎機能障害を認めた。4月12日肝移植の適応決定のため当院第三内科を紹介受診、6月6日入院した。同日の検査で血清K 7.0 mEq/lと高K血症を認め、同日第二内科と兼科した。

[入院時現症] 身長163cm、体重53kg、血圧 110/68 mmHg、黄疸は認めない。腹部は膨隆し、肝臓を正中で18cm、左右鎖骨中線上14cm触知した。手掌紅斑、内外痔核を認め、Schellong testが陽性で起立性低血圧を認めた。

[検査成績] Cr は3.2 mg/dlと上昇し、K 7.0mEq/lと著しい高カリウム血症を認めた。中等度の肝障害を認めた。尿蛋白は一日0.7g程度、尿中 $\beta$  2MGやNAGなど尿細管間質障害のマーカーも上昇していた。クレアチンクリアランスは13.7ml/minであった (表1)。ツベルクリン反応は陽性であったが、結核感染の所見はなく、各種培養、ウイルス検査にも異常はなかった。代謝性アシドーシスを認め、心電図ではV<sub>1,2</sub>にQSパターンがあり、V<sub>1-6</sub>でST低下を認めた。心エコーでは壁肥厚、輝度の亢進、拡張障害を認め、アミロイドの沈着が疑われ、胃内視鏡、大腸内視鏡での生検でいずれもアミロイドの沈着を認めた。血液型は、ドナーの妻、レシピエント共にA(+)で、HLA検査は、class IのABCはゼロマッチング、class IIのDRはワンマッチングであった。歯科を受診したところ、免疫抑制後に感染巣となりうる所見が多数あり、12本の抜歯を行った (表2)。

6月13日透析導入後、6月27日に妻の左葉

グラフトを用いた生体肝移植を行なった(図1)。移植時の肝生検では、肝類洞に沿って著しいアミロイドの沈着を認めた。

7月6日の肝生検では、小葉中心域の肝細胞に腫大、変性が目立ち、bile canaliculiに胆汁うっ滞が認められ、ischemic changeのみと考えられた。8月1日の肝生検では、肝細胞の再生が進む一方で、apoptosisやfocal necrosis、類洞内への炎症細胞浸潤を伴い、central veinの障害も認め、軽度の拒絶反応と考えられたため、タクロリムスを一日2mgに増量した。この2回の生検では、移植肝にアミロイドの再沈着は認めなかった。

一方、腎不全に関しては、術中に行われた腎生検で、アミロイドの著しい沈着を認め、不可逆性と考えられた。術後3日目より持続血液濾過透析を行ったが、血圧の低下が激しく、ヒトアルブミン製剤、昇圧薬を大量に使用した。血圧の低下が著しいため、集中治療室を出ても血液濾過を行ったが、血管壁へのアミロイド沈着が関与していると推測される、体動による血圧低下に苦慮した。これに対しては透析時の低血圧に適応が通ったばかりのドロキシドパを使用したところ有効で、全身状態の改善とともに、通常の血液透析に戻すことが可能であった。移植によりtransaminaseは正常化し、肝合成能を表す、凝固能、ChEの改善、ついで血清総蛋白の改善が見られた(図1)。術後しばらくは腹水の貯留に苦慮したが、その後消失し、新潟市民病院で週3回の維持透析を行った。腹部膨満、食思不振は消失し、術前に比べADLは格段に改善し、職場復帰も希望していた。しかし2001年3月13日、下痢、腹痛が出現した後に突然死した。剖検所見では、年齢に比して高度の動脈硬化を認めた。心臓は550gと肥大し、心筋は光沢のある鮎色様で、高度のアミロイド沈着が疑われた。また、心室を穿通するようなはん痕組織が認めら

れ、心室は非常に狭くなっていた。グラフト肝は、1100gで肉眼的には問題なし。腎、甲状腺にアミロイドの沈着が疑われた。小腸、結腸の一部に粘膜の虚血性変化が認められた。病理学的には、アミロイド沈着による心肥大に、高度の動脈硬化が加わり急性心不全をひきおこしたか、あるいは刺激伝導系の障害による突然死が考えられた。

#### D. 考察

本症例は、新潟市民病院で診断された時点ではアミロイドの沈着は臨床的には肝臓のみであったが、急速に腎不全が進行しており、移植後も全身への沈着が予想された。移植前の検討会で、その点について以下の如く多くの議論がなされた。すなわち、Kyleらの報告によれば、原発性アミロイドーシスの診断後の平均生存期間は12ヶ月で、心不全合併例では4ヶ月と特に不良で、死因の約半数を占めること<sup>1)</sup>。我が国での透析導入後の予後は、1年生存率61.0%、2生率47.6%、5生率24.2%であること<sup>2)</sup>。肝移植例としては、Sandberg-Gertzenらが報告した18ヶ月生存中の症例があり<sup>3)</sup>、またGillmoreらの報告では、4症例のうち1例は術後無治療で2年以上生存しているが、移植前化学療法を3コース行った1例では、graft liverにアミロイドの再沈着をきたし18ヶ月後死亡していること<sup>4)</sup>。透析導入後の肝移植の報告はこれまでにないこと。生体肝移植例も報告がないこと。アミロイドーシス心移植例での10症例の検討において、他の心臓疾患に比べ、アミロイドの沈着のため生存期間は短いため、移植を必要とする多くの患者とドナー不足を考慮し、アミロイドーシスに心移植の適応はないとする意見があること<sup>5)</sup>。一方で移植後118ヶ月の長期生存例も報告されていること<sup>6)</sup>などが紹介された。検討の結果、脳死での肝移植とは異なり、生体肝移植は、悪性疾患でな

く、移植により患者の ADL が改善し、患者とドナーが望んでいるのであれば、移植後の予後が不良でも適応があるとの意見が大半をしめ、移植を行うことに決定した。移植後患者の ADL は著しく改善し、安定した維持透析を行っていたが、9 ヶ月を経過した時点で突然死した。

#### E. 結論

55 才の原発性アミロイドーシスの男性に、透析導入後に妻をドナーとした生体肝移植を行った。ADL は著しく改善したが、移植後 9 ヶ月で突然死した。今後我が国でも、症例を蓄積し、肝移植の適応について議論がなされるべきと考えられた。

(参考文献)

- 1) Kyle RA, Greipp PR, O'Fallon WM. Primary amyloidosis: multivariate analysis for prognostic factors in 168 cases. *Blood* 68:220-224, 1986.
- 2) 1983 年以降導入患者生存率(原疾患別) わが国の慢性透析療法の現況 日本透析医学会 P148, 2000.
- 3) Sandberg-Gertzen H, Ericzon BG, Blomberg BB. Primary amyloidosis with spontaneous splenic rupture, cholestasis, and liver failure treated with emergency liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 93:2254-2256, 1998
- 4) Gillmore JD, Lovat LB, Hawkins PN. Amyloidosis and the liver. *J Hepatology* 30:17-33, 1999
- 5) Hosenpud JD, DeMarco T, Frazier OH, Griffith BP, Uretsky BF, Menkis AH, et al. Progression of systemic disease and reduced long-term survival in patients with cardiac amyloidosis undergoing heart transplantation; follow up results of a multicenter survey. *Circulation* 84 (Suppl III) : 338-343, 1991

- 6) Pelosi F Jr., Capenhart J, Roberts WC. Effectiveness of cardiac transplantation for primary (AL) cardiac amyloidosis. *Am J Cardiolgy* 79:532-535, 1997

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Lancet 誌に投稿準備中。
- 2) 畑 耕治郎. "原発性アミロイドーシス" 市田隆文編集 "新臨床肝臓病学" 日本メデイカルセンターより 2001 年出版予定

##### 2. 学会発表

- 1) 新沼亜希子、畑 耕治郎、黒田 兼、五十嵐健太郎、塚田芳久、何 汝朝、月岡 恵. 特異な CT 像を呈した原発性アミロイドーシスの 1 例。第 106 回 日本内科学会信越地方会 2000 年 5 月 13 日 長岡市
- 2) 畑 耕治郎、市田隆文. 超微形態的観察を行えた原発性肝アミロイドーシスの 1 例. 第 31 回日本臨床電子顕微鏡学会 2000 年 9 月 29 日
- 3) 新沼亜希子、畑 耕治郎、小林良太、黒田 兼、古川浩一、五十嵐健太郎、何 汝朝、月岡 恵、市田隆文、佐藤好信、伊藤 聡. 生体肝移植を施行した原発性肝アミロイドーシス. 第 25 回リバーカンファランス総会 2001 年 3 月 17 日 新潟市
- 4) 大林弘明、大嶋智子、菅原和子、井口清太郎、伊藤 聡、上野光博、西 慎一、下条文武、福原康夫、市田隆文、小林 隆、高野可赴、小海秀央、大矢 洋、山本 智、佐藤好信、畑耕治郎、菊地 博、菊池正俊、吉田和清. 血液透析導入後に生体肝移植を行った原発性アミロイドーシスの一例. 第 43 回新潟透析懇話会 2001 年 4 月 15 日発表予定 長岡市

#### H. 知的所有権の取得状況

- |           |        |
|-----------|--------|
| 1. 特許取得   | なし。    |
| なし。       | 3. その他 |
| 2. 実用新案登録 | なし。    |



図1. 臨床経過

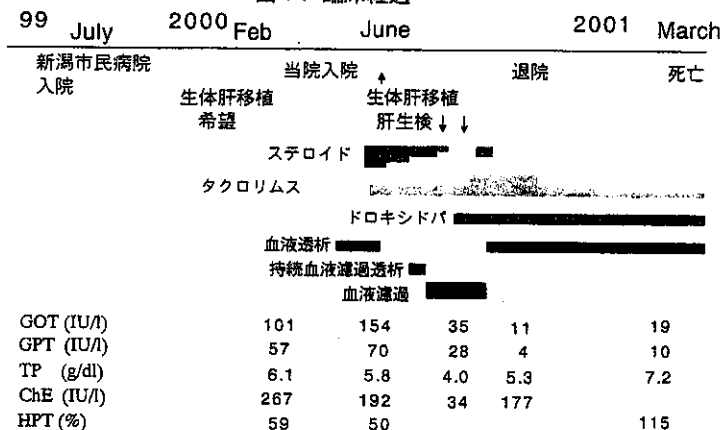


表1. 検査成績1

WBC	13,470 / μl	GOT	101 IU/l	IgG	1179 mg/dl
RBC	459x10 <sup>4</sup> / μl	GPT	57 IU/l	IgA	143 mg/dl
Hb	14.2 g/dl	LDH	574 IU/l	IgM	32 mg/dl
Ht	41.4 %	T.Bil	1.7 mg/dl	ICG test	
Plt	45.7x10 <sup>4</sup> / μl	D.Bil	0.9 mg/dl	R15'	46.4 %
TP	6.1 g/dl	ALP	1,499 IU/l	K=0.043	
alb	50.4 %	γ-GTP	1,016 IU/l	Urinalysis	
α <sub>1</sub>	5.7 %	ChE	267 IU/l	protein (1+)	0.7g/day
α <sub>2</sub>	11.4 %	Amy	312 IU/l	sugar	(-)
β	16.1 %	TC	431 mg/dl	Occult blood	(±)
γ	16.4 %	HDL-C	28 mg/dl	β2MG	4,400 ng/ml
BUN	57 mg/dl	LDL-C	278 mg/dl	NAG	7.6 U/l
Cr	3.2 mg/dl	TG	377 mg/dl	Ccr	13.7 ml/min
UA	10.3 mg/dl	NH <sub>3</sub>	90 μg/dl	Feces analysis	
Na	136 mEq/l	CRP	2.3 mg/dl	Occult	(-)
K	7.0 mEq/l	SAA	120.0 mg/ml	Gua	(±)
Cl	109 mEq/l	aPTT	35.6 sec	Hb	(-)
Ca	9.0 mg/dl	PT	62 %		
IP	4.3 mg/dl	TT	22 %		
		HPT	59 %		

表2. 検査成績2

<u>Tuberculin test</u> 19x15mm	BGA	
喀痰、胃液 TBc-PCR	pH	7.35
各種培養	PCO <sub>2</sub>	27.6 torr
各種ウイルス抗体価	PO <sub>2</sub>	109.5 torr
ECG:	HCO <sub>3</sub>	14.8 mm/l
QS in V <sub>1-2</sub> , ST depression in V <sub>2-6</sub>	BE	-9.3 mm/l
UCG:	Donor:	A(+)
壁厚厚く(IVS1.4cm)、輝度亢進、 拡張障害あり EF 68%	HLA-A:24.36	B:7.62 C:W7
胸部XP : CTR 49.2%	DR:1.15	DQ:1.4
腹部CT、エコー : hepatomegaly & ascites	Recipient: A(+)	
GIF&OF:	HLA-A:2.31	B:51.52 C:
生検でアミロイド沈着あり	DR:4.15	DQ:1.4
	歯科:	
	歯周病変(+)、根尖病巣(+)	

厚生科学研究費補助金 (特定疾患対策研究事業)  
 アミロイドーシスに関する研究 分担研究報告書

## $\beta_2$ M アミロイド骨関節病変における matrix metalloproteinase(MMP) と vascular endothelial growth factor(VEGF)の発現に関する検討

分担研究者 下条文武 新潟大学医学部第二内科

共同研究者 齋藤徳子\*、宮崎 滋\*\*、鈴木正司\*\*、森田 俊\*\*、平沢由平\*\*

\*新潟大学第二内科、\*\*信楽園病院腎センター

**研究要旨** 組織の破壊、修復には、炎症性サイトカイン、増殖因子などによって産生が調節され、細胞外基質の代謝に関与する matrix metalloproteinase(MMP)と、血管新生 angiogenesis の役割が重要である。私たちは透析アミロイドーシス骨関節病変における MMP-1 と、その誘導因子の一つである vascular endothelial growth factor(VEGF)の発現、血管の増生について検討した。

MMP-1, VEGF は血管内皮細胞、変性軟骨板細胞、線維芽細胞、マクロファージ、異物型多核巨細胞、破骨細胞に陽性だった。正常軟骨板細胞では MMP-1, VEGF は陰性だった。アミロイド沈着を認める変性軟骨板、肉芽、椎体隅角部における MMP-1, VEGF 陽性細胞の割合は 40~60%であった。CD68 陽性細胞は肉芽でも椎体隅角部でも 20~30%程度であった。MMP-1 と VEGF の二重染色では、単独陽性細胞よりも両者が陽性の細胞が多かった。肉芽部、椎体隅角部のアミロイド沈着部位に血管の増生を認めた。透析アミロイドーシスでは従来から注目されていた M $\phi$ だけではなく、線維芽細胞、変性軟骨板細胞、血管内皮細胞、破骨細胞など多くの細胞が MMP-1 や VEGF の発現を介して、炎症の進展、血管増生、組織の破壊、修復に重要な役割をはたしており、MMP-1 の誘導の一部に VEGF が関与していることが示唆された。

### A. 研究目的

透析アミロイドーシスでは、アミロイド沈着局所に浸潤したマクロファージ(M $\phi$ )が IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$ などの炎症性サイトカインを産生していることが知られている。また一般に組織の破壊、修復には、炎症性サイトカイン、増殖因子などによって産生が調節され、細胞外基質の代謝に関与する MMP とその阻害物質(TIMPs)のバランス、局所における血管新生 angiogenesis の役割が重要である。今回私たちは、透析アミロイドーシス骨関節病変における MMP-1 と、その誘導因子の一つである血

管内皮増殖因子(VEGF)の発現、血管の増生について検討した。

### B. 研究方法

透析アミロイドーシスによる破壊性脊椎関節症を呈した透析患者 6 例の剖検によって得られた頸椎病変を対象とした。連続切片を作成し、MMP-1, VEGF, M $\phi$  と破骨細胞のマーカーである CD68 陽性細胞について免疫組織化学的に検討した。

御家族の同意を得て病理解剖に至った症例であり、氏名は公表しておらず、倫理面での問題はない。

### C. 研究結果

1. MMP-1, VEGF は血管内皮細胞、変性軟骨板細胞、線維芽細胞、Mφ, 異物型多核巨細胞、破骨細胞に陽性だった。正常軟骨板細胞は MMP-1, VEGF は陰性であった。
2. アミロイド沈着を認める変性軟骨板、肉芽、椎体隅角部における MMP-1, VEGF 陽性細胞の割合は 40~60%であった。CD68 陽性細胞は肉芽で 30%、椎体隅角部では 20%であった。変性軟骨板細胞は CD68 は陰性であった
3. MMP-1 と VEGF の二重染色では、どの部位においても単独陽性細胞より両者が陽性の細胞が多かった。
4. 肉芽部、椎体隅角部のアミロイド沈着部位に血管の増生を認めた。
5. 肉芽形成など炎症反応の強い症例ではアミロイド沈着部位とは無関係に破骨細胞が増加していた。

### D. 考察

椎間板はゲル状の髄核、層板構造のコラーゲン線維層からなる線維輪、上下椎体の軟骨板から構成され、正常の成人では血管のない組織である。栄養物の供給や老廃物の排出は濃度差に基づく拡散と椎間板の容積変化を伴う液流によりおこなわれ、椎体内の動脈から軟骨板を介する経路と外側の血管から線維輪を介する2つの経路がある。

今回の検討により、周囲にアミロイドの沈着した軟骨板細胞自身が VEGF、MMP-1 を発現して基質を融解し、軟骨下の骨髄腔より炎症細胞を遊走させている可能性があると考えられた。また骨髄腔が直接軟骨板内に拡大し、破軟骨細胞がさかんにアミロイド沈着変性軟骨板を貪食している所見を認めた。一方、アミロイド沈着部位から離れたところで破骨細胞が増

加している像も見られ、この場合何らかのメカニズムで情報が伝達され破骨細胞の増加、非特異的な機能亢進がおり骨吸収が進行していると考えられた。変性軟骨板が荷重や運動負荷に耐えられず軟骨下骨に落ち込むと、骨髄より炎症細胞が供給され、容易に肉芽組織が形成される。肉芽構成細胞の多くは MMP-1, VEGF 陽性で、周囲に新生血管が認められた。MMP-1, VEGF が共に陽性の細胞が多いが単独陽性細胞もあり VEGF は paracrine に作用して MMP-1 を誘導しているのではないかと推測される。変性軟骨板に向かってその直下の骨髄腔より CD68 陰性で MMP-1, VEGF が両方あるいは単独陽性の突起を持った細胞が多数浸潤している部位があり、アミロイドに反応する細胞は Mφ だけではないことを示している。椎体外側に沈着したアミロイドの中に分け入るように侵入していく血管を認めたがこのすぐ近くには CD68 陰性で VEGF, MMP-1 陽性の細胞が集まっており、この細胞が椎体外側の結合組織の血管より新生血管を誘導した可能性がある。

透析数年目でもすでに外層線維輪にアミロイドの沈着を認める症例があることから、まず外層線維輪にアミロイドの沈着が始まり、内層線維輪、髄核に沈着が及ぶと推測される。椎間板細胞の増殖因子発現、TIMP を上回る MMP 産生による椎間板の変性、炎症細胞浸潤、破骨細胞の活性化、肉芽形成、線維化などの過程を経て椎間板の消失、骨性癒合へと破壊が進行すると考えられる。この炎症の修復結果としての線維化は可動性を失う代償に椎体の安定性を獲得し脊髄や神経の障害の進行を防ぐことにつながる。

椎体外側のアミロイド沈着部位には同一人物でも多数の Mφ の浸潤が認められるところとアミロイドの量はそより多いのに Mφ が全く認められないところが

あり、Mφの浸潤がAGE化の有無だけで説明できるとはとても考えられない。

#### E. 結論

透析アミロイドーシスではこれまで注目されてきたMφだけではなく、線維芽細胞、変性軟骨板細胞、血管内皮細胞、破骨細胞など多くの細胞がMMP-1やVEGFの発現を介して炎症の進展、血管の増生、組織の破壊、修復に重要な役割を果たしており、MMP-1の誘導の一部にVEGFが関与していることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

1) 齋藤徳子ほか:  $\beta$ 2Mアミロイド骨関節病変における matrix metalloproteinase (MMP) と vascular endothelial growth factor (VEGF) の発現に関する検討.  
第45回日本透析医学会学術集会  
福岡市、平成12年6月16～18日。

#### H. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし