

表-3 骨嚢胞の Score のない群 (Score0) に比し 1-3 点群および 4-6 点群では高値を示し、0 群に比し 1-3 群では有意に MMP-3 は高値を示している。吸着併用例では MMP-3 は最も低値である。

Relation between the score of bone cyst and the value of serum MMP-3

Score	cases	MMP-3(ng/ml)
0	n:39	215.0 ± 96.7*
1 ~ 3	n:15	395.6 ± 334.0**
4 ~ 6	n: 6	286.8 ± 198.9
adsorption therapy	n:8	161.0 ± 51.8

Bone cyst is evaluated on wrist, shoulder and hip joint by X-Ray. Maximum bone cyst is observed in 6 joints. 0 shows no bone cyst. In 8 cases of adsorption therapy, 2 cases is score 2, 1 case is score 3 and score 4, and 4 cases is score 6.

*Vs** p=0.0033

表-4 吸着カラム併用透析例では非併用例に比し MMP-3 は低値である。

Removal of MMP-3 after one time dialysis therapy with and without B2microglobulin adsorption column

	with adsorption (n: 8)	without adsorption (n: 66)
MMP-3 level(ng/ml) before dialysis	161 ± 51	271 ± 205
after dialysis	132 ± 52	245 ± 187
rate of decrease (%)	15.9 ± 10.1	7.3 ± 13.6 p=0.092

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

全身性アミロイドーシスにおける apolipoprotein A1 の共存

分担研究者 石原得博 山口大学医学部構造制御病態学講座
 共同研究者 坂田尚広*, 星井嘉信**, 中邑友美**, 尾本雅俊*
 河野裕夫**, 横田忠明***
 山口大学医学部, *脳神経病態学講座, **同構造制御病態学講座
 ***小倉記念病院病理部

研究要旨 全身性アミロイドーシスにおける apolipoprotein A1 (apoA1) の共存の可能性について免疫組織化学的, 生化学的に検討した. すでにタイプの判明している AA 型 25 例, AL 型 17 例, A β 2M 型 3 例, ATTR 型 3 例, 合計 48 例のヒト全身性アミロイドーシス剖検例の心臓のホルマリン固定パラフィン切片を蟻酸処理後, 抗 apoA1 抗体にて免疫染色を行った. また免疫組織化学的に AA 陽性のアミロイド沈着のある甲状腺より水抽出したアミロイドを SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動後, PVDF 膜に転写し, 抗 apoA1 抗体にて免疫染色を行った. 結果は, AA 型 22 例, AL 型 15 例, A β 2M 型 3 例, ATTR 型 2 例, 合計 42 例でアミロイドが抗 apoA1 抗体により染色されたが, 染色性は症例により様々であり, アミロイドの一部が部分的に染色される例が多かった. AA アミロイドの抗 apoA1 抗体による Immunoblotting では, 複数の apoA1 陽性バンドが検出された. apoA1 はそれ自体がアミロイド線維となるのみでなく, 種々の全身性アミロイドーシスに共存することが判明したが, 全身性アミロイドーシスにおける apoA1 の共存の意義については今後更に検討が必要である.

A. 研究目的

apoA1 は高比重リポ蛋白 (HDL) の重要な構成成分であり, 主に肝と小腸で産生され, 血漿中に 110 から 170 mg/dl の濃度で存在する分子量約 28kDa の物質である.

apoA1 とアミロイドーシスに関してのこれまでの報告例には, apoA1 が主なアミロイド前駆蛋白となるものとして, III 型 FAP などの変異型 apoA1 によるアミロイドーシス, 大動脈の内膜に沈着するアミロイド, さらに犬の肺動脈に沈着するアミロイドなどがある. またアルツハイマー病では apoA1 がアミロイド蛋白と共存することが報告されている.

今回の研究は種々の全身性アミロイドーシスにおける apoA1 の共存の可能性について免疫組織化学的, 生化学的に検討することを目的とした.

B. 研究方法

1. 免疫組織化学的検討

これまでに免疫組織学的にタイプの決定を行った AA 型 25 例, AL 型 17 例, A β 2M 型 3 例, ATTR 型 3 例, 合計 48 例のヒト全身性アミロイドーシス剖検例の心臓のホルマリン固定パラフィン切片について Congo red 染色によりアミロイドの沈着部位を確認した後, 抗 apoA1 抗体を用いて免疫染色を行った. パラフィン切片を脱パラフィン後, 水洗. 水洗中に 1 分間の 100% 蟻酸処理を行った. 内因性 peroxidase のブロックキング, 非特異反応のブロックキングを行った後, 一次抗体として, 抗 apoA1 抗体 (Harlan SERA-LAB 1:200) を室温 30 分間反応させた. 二次抗体として Peroxidase-Conjugated Rabbit Anti-Goat Immunoglobulins (1:50) を室温 30 分間反応させたのち DAB で 5 分間発色を行った.

2. Immunoblotting.

AA アミロイドの沈着した甲状腺組織から, Prasらの方法により水抽出した AA アミロイドを凍結

乾燥し、サンプルバッファーと混和し、99℃ 6分加熱後、遠心し、上清をサンプルとした。このAA アミロイドおよび市販の apoA1(Biogenesis)を15～25%グラジエントゲルにより、定電圧200VでSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行い、PVDF膜へセミドライ方式で転写した。PVDF膜の免疫染色は5%スキムミルクで1時間ブロッキングを行った後、一次抗体として抗 apoA1 抗体(Harlan SERA-LAB 1:4000)を1時間反応、二次抗体として Peroxidase-Conjugated Rabbit AntiGoat Immunoglobulins (1:1000)を1時間反応させ、DABで10分間発色した。

C. 研究結果

1. 免疫組織化学的検討

AA 22例/25例, A λ 11例/12例, A κ 4例/5例, A β 2M 3例/3例, ATTR 2例/3例, 合計42例/48例において、アミロイド沈着部位に、apoA1陽性像が認められた(図1)。アミロイドほぼ全体が apoA1陽性の症例もあれば、アミロイドの一部が apoA1で部分的に陽性の例もあり、染色される範囲は症例によって様々であったが、アミロイドほぼ全体が apoA1陽性となる症例よりも、部分的に apoA1陽性となる症例のほうが多かった。

2. Immunoblotting

報告されている28kDaよりやや低分子量(約23kDa)ではあるが、市販の apoA1の主要なバンドとほぼ同じ分子量の部位に、AAアミロイドでも数本の薄いバンドが認められた(図2)。

D. 考察

今回、種々の全身性アミロイドーシスにおいて、免疫組織化学的に apoA1の共存が確認できた。またAAアミロイドの沈着した甲状腺組織より抽出したアミロイド中に、生化学的に apoA1の存在を

証明し得た。免疫組織学的に、apoA1の染色性は様々であり、アミロイド中に均一に存在しているわけではなかった。majorなアミロイド線維蛋白が沈着する際にまきこまれて、あるいは majorなアミロイド線維蛋白が沈着した後で、apoA1が minor componentとして沈着した可能性がある。また一方で、正常型、変異型 apoA1は、in vitroでは fibrillogenicな性質が認められており、種々の全身性アミロイドーシスにおいても apoA1がアミロイド沈着を促進する可能性も否定できない。また今回の検討で、免疫組織学的に apoA1が陽性であっても、apoA1由来のアミロイドーシスとは限らないことが判明した。アミロイド沈着における apoA1の意義については今後さらに検討が必要である。

E. 結論

種々の全身性アミロイドーシスにおいて apolipoproteinA1の共存が確認された。

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
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。

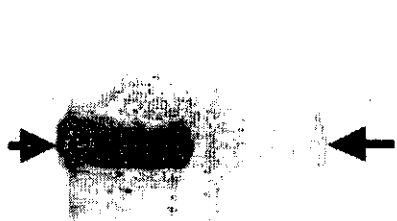
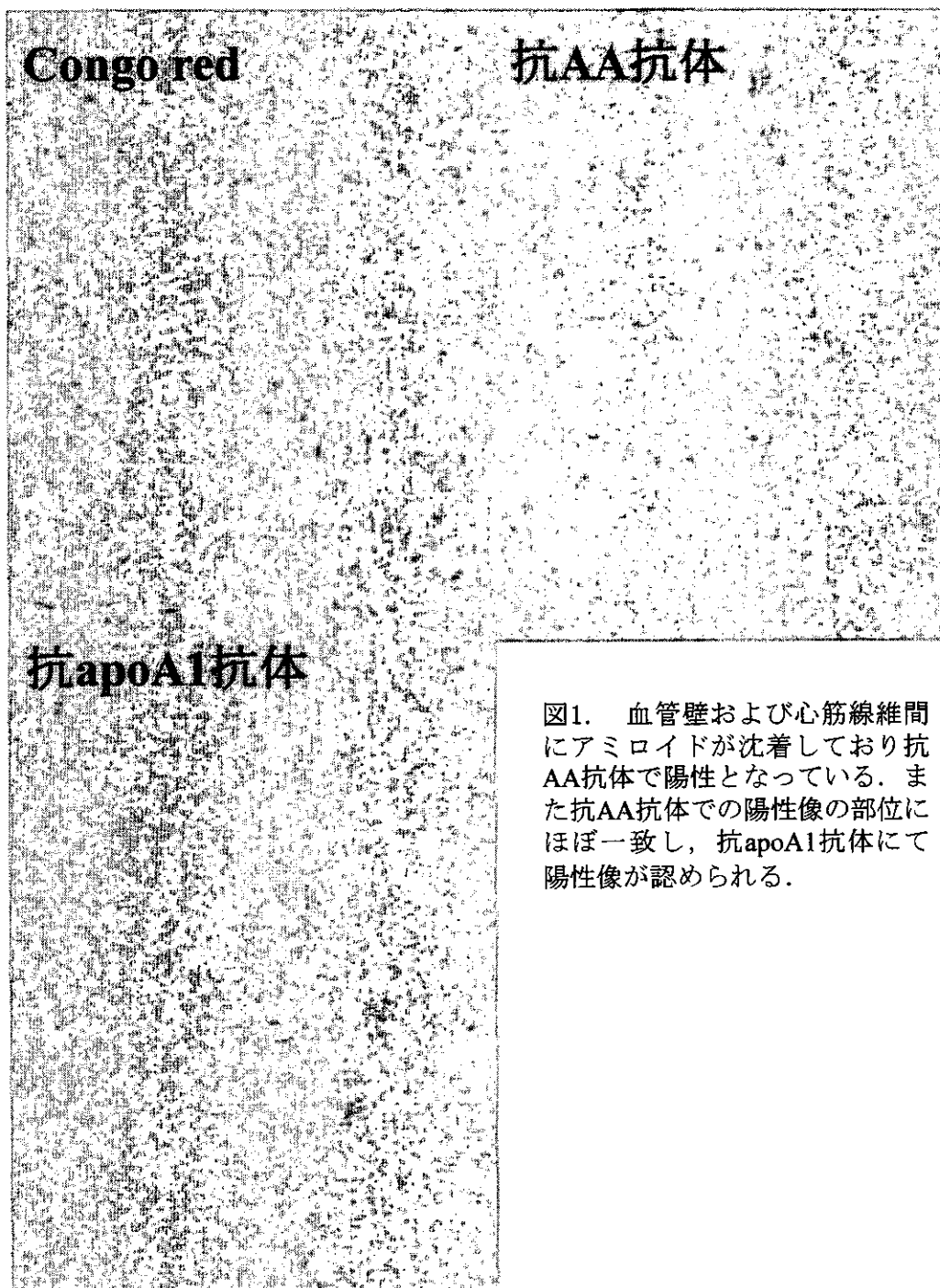


図2. PVDF膜をapoA1抗体を用いて免疫染色したもの。左がapoA1, 右がAAアミロイド。apoA1の主要なバンド(→)とほぼ同じ位置に、薄くではあるが、AAアミロイドでもバンド(←)が認められる。

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

**遺伝子改変マウスを用いた遺伝性アミロイドーシスの発症予防法の開発：
 無血清アミロイド P 成分(SAP)マウスを用いた SAP 機能の解析**

分担研究者 前田秀一郎 山梨大学・医・生化 1
 共同研究者 伊藤禎洋*、手塚英夫*、玉置寿男**、神庭重信**、
 坂本美穂子***、尾崎由基男***、河野裕夫****、
 石原得博****、山村研一*****
 山梨大学、*総合分析実験センター、**同医学部精神神経科、
 同医学部臨床検査医学、*山口大学医学部構造制御病態学、*****
 熊本大学・発生医学研究センター

研究要旨 種々のアミロイドーシスで沈着する異なるアミロイドに共通の微量成分、SAP の欠損が、全身性紅斑性狼瘡様の重度の自己免疫疾患を惹起するかどうかを明確にすることを目的に、先に作製した無 SAP マウスとヒト *sap* 遺伝子を高発現するトランスジェニックマウスを交配させて得た 9~12 カ月齢の内在性 SAP 欠損ヒト *sap* 高発現トランスジェニックマウスと対照無 SAP マウスの血清抗核抗体価を、比較解析した。また、血清抗核抗体価の高い無 SAP マウスが、129/Sv//Ev マウスから確立された ES 細胞由来の変異 *sap* 遺伝子領域をどの程度持っているかを、SSLP (simple sequence length polymorphisms) を用いた連鎖解析で明らかにした。この結果、SAP は抗核抗体の産生抑制に何ら関与せず、自己免疫疾患は、129/Sv//Ev マウスの *sap* 遺伝子の近傍に存在する遺伝子によって惹起されることが見出された。

A. 研究目的

先に我々は、種々のアミロイドーシスで沈着する異なるアミロイドに共通の微量成分、SAP が、アミロイドーシスの発症にどう関与するかを明らかにするために、標的遺伝子組換え法を用いて、無 SAP マウス株を作製した。一方その後、英国のグループが作製した無 SAP マウスでは、高い頻度で抗核抗体と全身性紅斑性狼瘡様の重度の糸球体腎炎を認めると報告された。我々が作製した無 SAP マウスも対照野生型マウスに比べ、血清中の抗核抗体価が顕著に上昇していた。しかし、糸球体腎炎の所見は認められず、平均寿命の短縮等の異常を認めなかった。そこで本研究は、SAP 欠損が、全身性紅斑性狼瘡様の重度の自己免疫疾患を惹起するかどうかを明確にすることを目的に遂行する。

B. 研究方法

1. 抗核抗体価

先に作製した無 SAP マウスとヒト *sap* 遺伝子を高発現するトランスジェニックマウスを交配させて得た 9~12 カ月齢の内在性 SAP 欠損ヒト *sap* 高発現トランスジェニックマウスと対照無 SAP マウスの血清抗核抗体価を、Hep-2 細胞によるキットを用いて蛍光抗体法で、比較解析した。

2. 連鎖解析

C57BL/6 マウスに 10 世代戻し交配した、血清抗核抗体価の高い無 SAP マウスが、129/Sv//Ev マウスから確立された ES 細胞由来の *sap* 遺伝子領域をどの程度持っているかを、マイクロサテライトデータベース (MMDBJ, MGD) に登録された SSLP (simple sequence length polymorphisms) を用いた PCR 法による連鎖解析で明らかにした。

C. 研究結果

1. 血清抗核抗体価の比較解析

9~12 カ月齢の内在性 SAP 欠損ヒト *sap* 高発現トランスジェニックマウスと対照無 SAP マウス

各々8匹づつについて、血清抗核抗体価を測定した。この結果、無 SAP マウスにヒト *sap* 遺伝子を高発現させても、血清抗核抗体価は、低下しないことが明らかとなった (図1)。

2. 連鎖解析

先に我々は、C57BL/6 マウスと交配させて得た無 SAP マウス血清中の抗核抗体価は異常に高いが、C3H/He マウスと交配させて得た無 SAP マウス血清中の抗核抗体価は、対照野生型マウスと同程度であることを見出した。そこで、C57BL/6 マウスに 10 世代戻し交配した、血清抗核抗体価の高い無 SAP マウスが、ES 細胞の由来した 129/Sv//Ev マウス由来の *sap* 遺伝子領域をどの程度共通に持っているかを、SSLP (simple sequence length polymorphisms) を用いた連鎖解析で調べた。この結果、129/Sv//Ev マウス由来の第 1 番染色体上の *sap* 遺伝子を含む約 6.2-cM の領域を、共通に持つことを見出した。

D. 考察

今回我々は、9~12 カ月齢の内在性 SAP 欠損ヒト *sap* 高発現トランスジェニックマウスと対照無 SAP マウスについて、血清抗核抗体価を測定し、SAP は抗核抗体産生の抑制に何ら関与しないことを、見出した。

また、SSLP を用いた連鎖解析により、C57BL/6 マウスに 10 世代戻し交配した、血清抗核抗体価の高い無 SAP マウスが、ES 細胞の由来した 129/Sv//Ev マウス由来の *sap* 遺伝子を含む約 6.2-cM の領域を共通に持つことを見出した。この結果は、上記 129/Sv//Ev マウス由来の約 6.2-cM の *sap* 遺伝子を含む領域に、マウス系統特異的に血中抗核抗体価を上昇させる原因遺伝子が存在することを、示唆する。なお、既に他のマウスの系統では、この領域に、系統特異的に重度の自己免疫疾患を惹起すると考えられる種々の遺伝子の存在が報告されている。従って、SAP は、抗核抗体の産生や自己免疫疾患の発症を抑制しないと考えられる。

E. 結論

SAP は抗核抗体の産生抑制に何ら関与せず、

SAP の欠損は、自己免疫疾患を惹起しない。従って無 SAP マウスを用いて、ヒトのアミロイドーシスの発症に SAP がどう関与するかを解析できると結論できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 前田 秀一郎：家族性アミロイドポリニューロパチー. 医学のあゆみ 204: 468-472, 2003.
- 2) Kato G, Maeda S: Production of mouse ES cells homozygous for Cdk5-phosphorylated site mutation in *c-src* alleles. J Biochem, *in press*.

2. 学会発表

- 1) Maeda S, Kanba S, Arita J, Ando Y, Gottesman ME, Tohyama C: What lessons to learn from the rodent models carrying targeted mutations at the TTR locus? First International Symposium on Transthyretin in Health and Disease, Strasbourg, France, April 22-25, 2002.
- 2) Maeda S, Kanba S, Ishihara T, Shoji M, Sakashita N, Ando Y, Yamamura K: Study on the Molecular Bases of Familial Amyloidotic Polyneuropathy by the Use of Genetically Altered Mice. The 5th International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy and Other Transthyretin Related Disorders & The 4th International Workshop on Liver Transplantation in Familial Amyloid Polyneuropathy, Matsumoto, Japan, September 24-27, 2002.

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

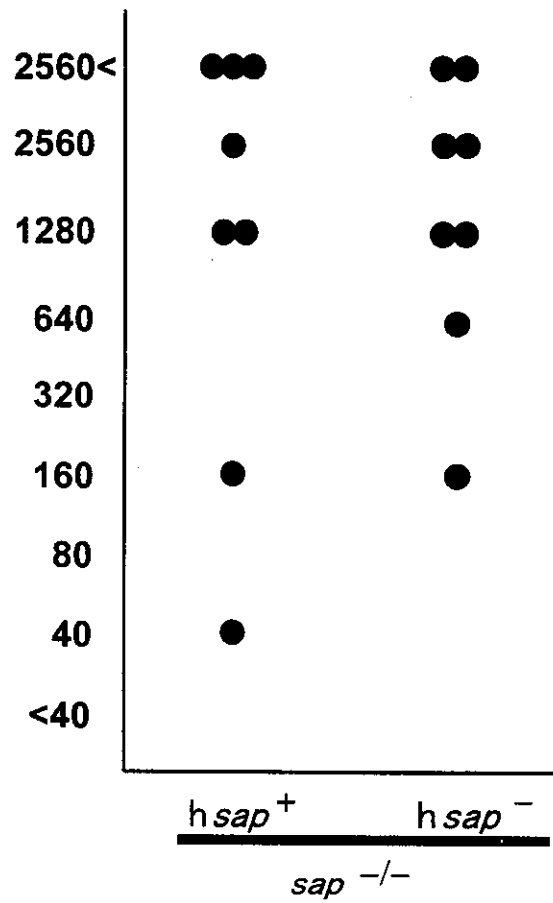


図1. ヒト *sap* 遺伝子を高発現する無SAPマウス (*hsap*⁺) と対照無SAPマウス (*hsap*⁻) の血中抗核抗体価

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

非典型的な染色パターンを呈した皮膚アミロイドーシスの一例

分担研究者 安東由喜雄 熊本大学医学部臨床検査医学
 共同研究者 原岡克樹¹、中村政明、影下登志郎²、小野友道²
 熊本大学医学部、¹第一内科、²同皮膚科

研究要旨 42歳女性の、アトピー性皮膚炎に続発した皮膚アミロイドーシス患者の皮膚生検標本を解析した。真皮乳頭層のアミロイドは過マンガン酸処理に感受性を示し、免疫組織学的検討では、アミロイド内部に抗血清アミロイド A 蛋白 (SAA) 抗体および抗サイトケラチン (CK) 抗体と部分的に反応した。皮膚周辺部の表皮基底層のケラチノサイトの細胞質が抗 SAA 抗体に強い反応性を示したのに対し、皮疹 (アミロイド存在) 部では、表皮細胞内の抗 SAA 抗体に対する反応性は見られず、アミロイド内への表皮基底層細胞で産生された SAA が移行した可能性が考えられた。また、一部にアミロイドの前駆状態と考えられるコンゴウ・レッド (CR) 陰性の無構造物が認められた。本症例は、アミロイド線維形成機構を考える上で、大変興味深い症例と考えられた。

A. 研究目的

皮膚アミロイドーシスは、主にケラチンとの関連で詳細に解析されており、そのアミロイド線維形成機構にケラチンが深く関与することは間違いないと考えられるが、本症の、前駆蛋白を含めた発症機構には、不明な点が多い。今回我々は、アトピー性皮膚炎に続発した同症患者の皮膚生検標本を解析し、血清アミロイド A 蛋白 (SAA) が、ケラチンと異なる機序で、本症例のアミロイド線維形成機構に関与している可能性を見出した。また、標本の一部に見られたコンゴウレッド (CR) 陰性の無構造物が、アミロイド前駆物質である可能性についても検討した。

B. 対象および研究方法

(1) 患者

(A) プロフィール

42歳女性。31歳頃より苔癬化局面に茶色の色素沈着を伴う米粒大の皮疹が出現し、35歳時に皮膚アミロイドーシスの診断を受けた。これまでステロイド外用療法、dimethyl sulfoxide 外用療法を含む様々な治療を受けたが、皮疹は色、範囲ともに悪化した。

(B) 検査データ

白血球数：5100 (Neut 67.0%, Lymp 21.1%, Eosi 9.7% ↑, Baso 1.1%), 赤血球数 423 万, 血小板数：32.6 万。

総蛋白：7.9 (g/dl), アルブミン：4.8 (g/dl), 総ビリルビン：0.5 (mg/dl), AST:21 (U/L), ALT:11(U/L), BUN：12.3 (mg/dl), Cr：0.5 (mg/dl), CRP：0.05(mg/dl), 血清アミロイド A：2.9 (μg/ml) →, 抗核抗体：陰性。

(C) 皮疹のマクロ所見

四肢末端を除くほぼ全身 (顔面・陰部を含む) に茶褐色の皮疹が散在していた。四肢の皮疹は米粒大、濃茶褐色で癒合傾向は無かった。体幹部の皮疹は四肢に比してやや淡く、癒合傾向が認められた。

(2) 組織学的検討

(A) 対象

上記患者に加え、アミロイドの存在しないアトピー性皮膚炎患者 2 名 (6 歳男性、16 歳男性) を疾患対照とした。上記患者は大腿部の皮疹より皮膚生検を行った。

(B) 方法

皮膚生検組織のホルマリン固定パラフィン切片に対して、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、アルカリ CR 染色 (過マンガン酸処理含む)、

免疫染色を行なった。免疫染色は、一次抗体として、抗 SAA 抗体（以上モノクローナル抗体）、抗サイトケラチン（CK）抗体、抗免疫グロブリン軽鎖（λ型、κ型）抗体、抗血清アミロイド P 抗体（以上ポリクローナル抗体）を用いて行った。

C. 研究結果

（1）H-E および CR 染色所見

表皮は全体的に肥厚し、表皮突起の著明な延長（acanthosis）がみられた。皮疹部に一致して角質の異常増殖所見がみられ、同部位の真皮乳頭層に腫瘤状のアミロイドが認められた。アミロイドは過マンガン酸処理に感受性を示した。また、標本内の数ヶ所に、一部 CR 陽性部分を含む CR 陰性の無構造物が、アミロイドに隣接した真皮乳頭層に存在した。

（2）免疫染色

（A）アミロイドの検討

抗 SAP 抗体はアミロイドにほぼ完全に一致して陽性であった。また、アミロイド内に、抗 SAA 抗体および抗 CK 抗体に対して点状ないし斑状に陽性の部分が存在した。なお、前者は後者に比して明らかに強い反応性を示した。また、表皮直下の真皮層に抗 CK 抗体陽性の顆粒の配列を認めた。抗免疫グロブリン軽鎖抗体はアミロイドに対して明らかな反応性を示さなかった。

（B）表皮細胞の検討

皮疹周辺部の表皮基底層を構成するケラチノサイトの細胞質内が、抗 SAA 抗体に強い反応性を示した。一方、皮疹（アミロイド存在）部の表皮ケラチノサイトには、同様の反応性はみられなかった。アトピー性皮膚炎患者 2 名では、このような表皮基底層の陽性像はみられなかった。

（A）と同様に抗 CK 抗体陽性の顆粒を表皮直下の真皮層に認めた。アトピー性皮膚炎患者 2 名では、このような陽性顆粒はみられなかった。

（C）CR 陰性無構造物の検討

抗 SAP 抗体は一部 CR 陽性部分に反応性を示した。抗 SAA 抗体および抗 CK 抗体は、アミロイドと同様の反応性を示した。

D. 考察

上記免疫染色の結果を図 1 に示す。皮疹部と皮

疹周辺部での SAA の局在から、本症例ではアミロイド内の SAA 陽性像は、アミロイド線維形成過程において、表皮基底層のケラチノサイト内の SAA、あるいはケラチノサイト自体がアミロイドへ移行した結果である可能性が示唆された。今回の免疫染色では、基底層以外の表皮での SAA 陽性所見は認められなかったが、表皮のケラチノサイトが SAA の mRNA を発現するとの報告もあり、今後 mRNA および蛋白レベルでの SAA 発現の検討が必要である。CK の検討では、SAA に比して明らかにアミロイドに対する反応性が弱かったが、使用する抗体により全く染色性が異なるとの報告もあるため、今回の検討での両者の反応性の比較は困難である。しかし、顆粒状の陽性像が皮疹（アミロイド存在）部と皮疹周辺部両方の表皮直下にみられたことは、本症例においては、ケラチンがアミロイド形成前から関与することを示唆するものであり大変興味深い。CR 陰性の無構造物は、アミロイドと局在部位に類似していること、一部に CR 陽性部分を含んでいることより、アミロイドの前駆物質である可能性が高いと考えられた。免疫組織学的検討では、抗 SAA 抗体および抗 CK 抗体がアミロイドと同様の反応性を示しており、SAA および CK が、アミロイドの形成以前に、この無構造物の形成に関与している可能性が示唆された。本症例は、皮膚アミロイドーシスにおけるアミロイド線維形成機構を考えていく上で、大変興味深く、貴重な症例であると考えられた。

E. 結論

本症例では、ケラチンとは異なる機序で SAA がアミロイド線維形成機構に関与している可能性が示唆された。

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

なし

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

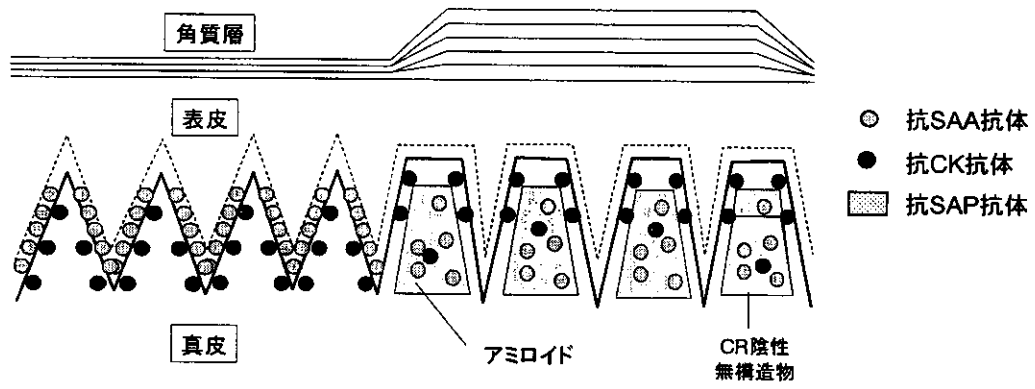
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



免疫染色の結果

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

家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) の遺伝子治療 -single-stranded oligonucleotides (SSOs) による検討-

分担研究者 安東由喜雄 熊本大学医学部臨床検査医学
 共同研究者 中村政明、山下太郎*、大林光念*、植田光晴*、原岡克樹**、山村研一#、
 前田 秀一郎&、永原俊一+、佐野明彦+
 熊本大学医学部、*神経内科、**同第一内科
 #熊本大学発生医学センター器官形成部門臓器形成分野
 &山梨医科大学第一生化
 +住友製薬製剤技術研究所

研究要旨 FAP の遺伝子治療の実用化に向けて、*in vitro* 及び *in vivo* における相同組み換えによるトランスサイレチン(TTR)遺伝子の変換を検討した。正常ヒト TTR 遺伝子を発現する HepG2 細胞に RNA/DNA キメラオリゴヌクレオチド (ONs) 及び single-stranded oligonucleotides (SSOs) をトランスフェクションしたところ、SSOs を投与した場合のみ TTR 遺伝子の変換を認めた。HepG2 細胞における SSOs による遺伝子変換の最適条件を検討したところ、0.5%アテロコラーゲンで包埋した 74mer の SSOs を用いた系で、約 10%と最も高い変換率を示した。さらに家兎の網膜においては約 1%の TTR 遺伝子の変換率、トランスジェニックマウスの肝臓においては約 9%の遺伝子変換を認めた。今回の我々の検討で、SSOs を用いた変異 TTR 遺伝子の変換が *in vitro* 及び *in vivo* で確認できたことから、SSOs が現在のところ FAP に対して最も実現可能な遺伝子治療と考えられる。今後、遺伝子治療の実用化に向けて、*in vivo* における最適な遺伝子治療の条件について、drug delivery system などを含め検討する予定である。

A. 研究目的

我々は FAP の異型トランスサイレチン(TTR) 遺伝子を正常化する治療を確立する目的で、安定に ATTR Val30Met の遺伝子を発現させた CHO 細胞を用い、RNA/DNA キメラオリゴヌクレオチド (ONs) による遺伝子修復を試みてきたが、様々な条件設定にもかかわらず高い修復率は得られなかった。そこで、本研究では、より高い遺伝子変換を目指して、single-stranded oligonucleotides (SSOs) 及びそれを包埋するアテロコラーゲンをを用い、最適な遺伝子修復法について *in vitro*, *in vivo* の両面から検討した。

B. 研究方法

1) ONs および SSOs の設計：正常 TTR 遺伝子を有する HepG2 細胞の正常 TTR 遺伝子を FAP で最も頻度の高い変異である ATTR Val30Met に変換

するように、68-mer の ONs および 25-mer、45-mer、74-mer の SSOs を設計した。

2) トランスフェクションの検討：HepG2 細胞への遺伝子導入効率を検討するために、導入するオリゴの 5'末端を FCTC で標識した。Fugene6、ExGen 500、アテロコラーゲンをを用いて、どのトランスフェクション法が最適かを検討した。

3) ONs および SSOs による HepG2 細胞における遺伝子変換率の検討：前日に 2×10^5 の HepG2 細胞を 12 well plate にまき、0.1%アテロコラーゲン包埋 ONs (0.1mg/ml)、74-mer SSOs (0.1mg/ml) を 300 μ l ずつトランスフェクションし、5日後に細胞を回収した。回収した細胞から DNA を抽出し、変異配列に相当する塩基が 3'末端になるように設計した変異 DNA 特異的オリゴヌクレオチドを用いて異常アレル (ATTR Val30Met) のみ効率よく増幅するように設定した MASA 法 (mutant allele

specific amplification) を利用したリアルタイム PCR を用いて遺伝子変換率を算定した。

4) SSOs による HepG2 細胞における遺伝子変換の最適条件の検討：前日に 2×10^5 の HepG2 細胞を 12 well plate にまき、0.1%アテロコラーゲン包埋 SSOs ($10 \mu\text{M}$ 25-mer, $10 \mu\text{M}$ 45-mer, $10 \mu\text{M}$ 74-mer)、0.5%アテロコラーゲン包埋 SSOs ($50 \mu\text{M}$ 25-mer, $25 \mu\text{M}$ 45-mer, $10 \mu\text{M}$ 74-mer) を $600 \mu\text{l}$ ずつトランスフェクションし、5日後に細胞を回収した。回収した細胞から DNA を抽出し、前述の方法で遺伝子変換率を算定した。

5) SSOs による家兎の眼およびマウスの内因性の TTR 遺伝子を Val30Met に変換したトランスジェニックマウスの肝臓における遺伝子変換の検討：家兎の硝子体ならびにトランスジェニックマウスの肝臓に SSOs を注入し、2-3 週後に遺伝子変換率を算定した。

C. 研究結果

1) トランスフェクションの検討：HepG2 細胞への ONs および SSOs のトランスフェクション効率は、アテロコラーゲンによる方法が最も効率がよかった。

2) ONs および SSOs による HepG2 細胞における遺伝子変換率の検討：包埋 ONs による遺伝子変換がみられなかったが、SSOs を使用した場合に 1%弱の遺伝子変換がみられた。

3) SSOs による HepG2 細胞における遺伝子変換の最適条件の検討：0.5%アテロコラーゲンで包埋した 74-mer の SSOs を用いた系が、約 10%と最も高い変換率を示した。

4) SSOs による家兎の眼およびマウスの内因性の TTR 遺伝子を Val30Met に変換したトランスジェニックマウスの肝臓における遺伝子変換の検討：家兎の眼において約 1%、トランスジェニックマウスの肝臓において約 8.7%の遺伝子変換を認めた。

D. 考察

Kmiec らによりオリゴヌクレオチドによる遺伝子修復の方法として、ONs の他に SSOs による方法が示された。SSOs は、ONs と比較して、1) 遺伝子修復率は同等か、それ以上、2) 合成およ

び精製が容易で、廉価である、3) ハンドリングが容易である、などの長所がある。今回の我々の検討でも、SSOs が *in vitro* の系で ONs よりも高い遺伝子変換率を示したことから、今後の FAP の遺伝子治療には SSOs による遺伝子修復が最良の方法と考えられる。

E. 結論

1. SSOs による ATTR Val30Met への遺伝子変換が *in vitro* の系で ONs よりも高い変換率を示した。

2. トランスジェニックマウスの肝臓および家兎の眼において、SSOs による TTR 遺伝子の変換が確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Masaaki Nakamura^{1*}, Yukio Ando^{1*}, Shunji Nagahara², Akihiko Sano², Shuichiro Maeda³, Eiko Ando⁴, Takahiro Kawaji⁵, Shinichiro Uchino⁶, Michio Ogawa⁶, Hisayasu Terazaki⁷, Katsuki Haraoka⁷, Hidenobu Tanihara⁵, Makoto Uchino⁸, and Kenichi Yamamura⁹. Targeted conversion of the transthyretin gene *in vitro* and *in vivo*. (submit)

2) Ando Y: New therapeutic approaches for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid in press*. (2003).

3) Haraoka K, Ando Y, Ando E, Sandgren O, Nakamura M, Tajiri T, Tanoue Y, Sun X, Okabe H, and Tanihara H: Amyloid deposition in ocular tissues of patients with familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Amyloid* 9: 183-189 (2002)

2. 学会発表

1) Masaaki Nakamura, Yukio Ando. Gene Therapy by RNA/DNA chimera oligonucleotides in FAP. 第 5 回 FAP 国際シンポジウム、松本、9 月 25-27 日、平成 14 年。

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

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

Transthyretin amyloid 形成に対する三価クロムイオンの作用

分担研究者 安東由喜雄 熊本大学医学部臨床検査医学

共同研究者 甲斐 広文

熊本大学大学院薬学研究科遺伝子機能応用学

研究要旨 FAP に有効な治療法の確立に向けて、*in vitro* 及び *in vivo* における、トランスサイレチン (TTR) のアミロイド線維生成過に影響を与える因子を探索した。FAP 患者の血清から精製した TTR を種々の金属イオン存在下でインキュベーションしたところ、 Cr^{3+} が存在するときのみ TTR 四量体構造の安定化が認められ、アミロイド線維生成が抑制された。 Cr^{3+} 共存下で TTR の構造解析を行った結果、 Cr^{3+} は TTR Glu54 残基と相互作用しており、甲状腺ホルモン (T4) と協同して TTR 四量体構造の安定化に寄与していることが示唆された。さらに、トランスジェニックマウスへの Cr^{3+} の投与により血液中の TTR 四量体量の増加を認めた。今回の我々の検討で、 Cr^{3+} が FAP 発症抑制候補因子であることが明らかとされたことから、 Cr^{3+} の摂取は FAP の予防、治療に有用と考えられる。今後、 Cr^{3+} の臨床応用に向けて、TTR Glu54 を変異させた TTR やアミロイドを沈着するトランスジェニックマウスを用いて Cr^{3+} の作用をより詳細に検討する予定である。

A. 研究目的

同一の変異 TTR が認められても、国や地域、家系等における FAP 発症の表現型は、早期発症・遅期発症あるいは全く無症といった相違点を示す。我々はこの点に注目し、FAP の発症は、TTR の変異以外の共通する因子によって制御されていると考えた。そこで本研究では、FAP 発症制御因子の同定を目的とし、アルツハイマー病の発症・進行に環境因子である金属イオンが関与するという知見に基づいて、FAP 発症に対する金属イオンの影響を、ヒト血清から精製した TTR の構造安定性を指標とすることで検討した。

B. 研究方法

1) アミロイド線維の生成：正常 TTR および変異 TTR (ATTR Val30Met) を酸性条件下で種々の金属イオンを含有させたバッファーに、終濃度 0.2 mg/ml となるよう調製し、数日間、aging (37°C でインキュベートすること) してアミロイド線維を生成させた。

2) TTR の四量体から単量体への構造変換の検討：aging した TTR 溶液を、還元剤を除いたサン

プルバッファーを含んだ溶液に、TTR 量 2 μg となるよう添加し、14 % non-boiled SDS-PAGE を行った。電気泳動終了後、Coomassie blue を用いてゲルを染色し、四量体、単量体のバンドを検出した。

3) アミロイド線維生成の検討：aging した TTR 溶液を 10 μM チオフラビン T と 50 mM グリシンを含む溶液 (pH 9.0) に、終濃度 2.5 mg/ml となるように調製した。その後、1 分以内に日立蛍光分光光度計を用い、25°C、励起波長 450 nm、蛍光波長 482 nm で測定した。

4) 二次構造の検討：aging した TTR 溶液の二次構造の変化を、円二色性分散計を用いて、室温、240-220 nm の波長範囲で検討した。

5) 熱安定性の検討：500 μM CrCl_3 を含む 150 mM NaCl、20 mM リン酸バッファーを用いて、TTR 溶液が 25 μM となるよう調製した。室温で 5 分間、脱気を行った後、示差走査熱量計を用いて、走査速度 1°C/min、15-115°C の条件で TTR の熱安定性について検討した。

6) 構造解析による TTR と Cr^{3+} の相互作用部位の検討：TTR の結晶化は、タンパク質溶液には

TTR 溶液と 200 mM クエン酸バッファー (40 % 硫酸アンモニウム) を 1 : 1 で希釈したものを用い、平衡化溶液には 200 mM クエン酸バッファー (40 % 硫酸アンモニウム) を用い、蒸気拡散法 (sitting drop) にて行った。作成した結晶に 400 mM CrCl₃ を添加し、浸透させた後、結晶のデータ測定を行った。

7) in vivo における Cr³⁺ の作用の検討: トランスジェニックマウスの腹腔内に、3.5 mg/g の濃度の Cr³⁺ を一日毎に注入し、血清成分中の TTR を Western blotting により検出した。

C. 研究結果

1) TTR の四量体から単量体への構造変換の検討: Cr³⁺ が存在すると、正常 TTR、ATTR Val30Met 共に四量体から単量体への構造変換が抑制された。

2) アミロイド線維生成の検討: Cr³⁺ が存在すると、正常 TTR、ATTR Val30Met 共にアミロイド線維生成が抑制された。

3) 二次構造の検討: Cr³⁺ の存在は正常 TTR の二次構造には影響を与えなかった。

4) 熱安定性の検討: pH の低下により正常 TTR、ATTR Val30Met の熱安定性は減少したが、Cr³⁺ が存在すると、pH の低下による熱安定性の減少は観察されず、正常 TTR、ATTR Val30Met 共に、構造の不安定化が抑制された。

5) 構造解析による TTR と Cr³⁺ の相互作用部位の検討: Cr³⁺ は TTR Glu54 と相互作用しており、T4 の酸素原子と TTR Glu54 の反発を抑制することで、TTR の四量体構造を安定化していた。

6) in vivo における Cr³⁺ の作用の検討: Cr³⁺ を投与したマウスでは、TTR 四量体量の増加が見られた。

D. 考察

Cr³⁺ は必須微量元素であり、FAP の早期発症の時期と一致する 20 歳以降から体内濃度が減少するという特徴を有している。このことは Cr³⁺ の減

少により FAP が発症する可能性があることを示している。Cr³⁺ は毒性が低く、サプリメントとして販売されているため安全に摂取することが可能であるため、今後の FAP の予防・治療法の 1 つとして Cr³⁺ は非常に有用であると考えられる。

E. 結論

1. in vitro, in vivo において Cr³⁺ が FAP 発症抑制候補因子であることが示された。2. Cr³⁺ は TTR Glu54 と相互作用することで、T4 と協同して TTR を安定化していた。3. 今後、臨床応用に向けて、TTR Glu54 を変異させた TTR における Cr³⁺ の作用や in vivo におけるより詳細な Cr³⁺ の作用について検討する予定である。

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

1) Hirofumi Kai, Yukio Ando. TTR Amyloidogenesis Altered by Cr³⁺ and Al³⁺. 第 5 回 FAP 国際シンポジウム、松本、9 月 25-27 日、平成 14 年。

2) Hirofumi Kai, Yukio Ando. Chromium Ion Suppresses TTR Amyloidogenesis. 第 42 回 The American Society for Cell Biology、サンフランシスコ、12 月 14-18 日、平成 14 年

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

厚生労働科学研究費補助金 (特定疾患対策研究事業)

アミロイドーシスに関する調査研究 分担研究報告書

FAP TTR Asp18Glu と FAP TTR Asp18Gly の臨床像の特徴

分担研究者 中里 雅光 宮崎医科大学医学部第三内科 講師

研究要旨 2つの変異トランスサイレチン(TTR)型アミロイドーシス Asp18Gluと Asp 18 Glyの臨床像および臨床経過について報告した。いずれの症例も末梢神経症状が非常に軽微であることは共通していたが、臨床像は大きく異なっていた。Glu18型は心症状を主体とし、初発症状から約5年の経過で死亡の転帰をとり、Gly18型は中枢神経症状を主体とする *leptomeningeal amyloidosis* の病態を呈していた。とくに今回呈示した Gly18のMRI所見は、臨床像のみでは鑑別に苦慮することが予想される中枢型 TTRアミロイドーシスを診断する上で重要であると考えられる。

A. 研究目的

トランスサイレチン(*transthyretin*: TTR)変異による家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)は末梢神経障害を主徴とするが、その成因であるTTRの分子異常の種類により、さまざまな臨床像を呈することが明らかになってきた。われわれはすでに本邦および諸外国のFAP患者から計18種類のTTRの分子異常を同定し、遺伝歴が明確ではない高齢者のアミロイドーシスの中にも、TTR変異に基づくものがあることを報告している。トランスサイレチン(TTR)蛋白の18番目のAspは、TTRのDAGH β -sheetに位置し、その一塩基置換により末梢神経症状を初発とするAsp18Gluおよび中枢神経症状を初発とするAsp18Gly TTRアミロイドーシスの報告がある。今回私たちはAsp18GluおよびAsp18Glyと診断したTTRアミロイドーシスの臨床像を明らかにし、それらの特徴的な臨床経過を報告する。

B. 研究方法

(症例1) 労作時呼吸困難および起立時のめまい感を初発症状とした40歳、男性。心エコーにて心筋肥大、心室中隔輝度亢進の所見あり、心筋組織のコング赤染色とTTR免疫組織染色を行った。文書で同意を得た後、既報に基づき、TTRの全エクソンの塩基配列を決定した。心機能および神経学的評価を含めた臨床像を経時的に観察した。

(症例2) 歩行時のふらつきおよび意識消失を初発症状とした41歳、男性。MRIで造影効果を認めた脊髄表面、くも膜組織のコング赤染色とTTR免疫組織染色を行った。文書で同意を得た患者とその家族の血清5 μ lを飛行時間型質量分析法(TOF-MS)で分析し、血清変異型TTRの検索を行った。さらに白血球からDNAを抽出し、既報に基づきTTRの全エクソンの塩基配列を決定した。臨床症状およびMRI所見を経時的に観察した。

いずれの患者に対しても患者とその家族に十分な説明を行い、同意を得た後、文書にて同意を確認し、TTR解析ならびにTTR遺伝子解析を行った。患者とその家族の情報が外部に漏洩しないように、十分な情報の管理を行った。

C. 研究結果

症例1、2ともに生検組織においてTTR陽性のアミロイド沈着を認めた。遺伝子解析の結果、症例1はAsp18Glu、症例2はAsp18Glyのヘテロ例であることを同定した。症例1は末梢神経症状はほとんど示さず、心不全症状および自律神経症状が急激に進行し、約5年の経過で死亡した。症例2も末梢神経症状は示さず、躯幹失調や錐体路症状などの中枢神経症状を主体とした病像を呈していた。症例2で認められた脊髄表面、脳幹周囲、小脳脳表、シルビウス裂のMRIでの増強効果は、症状の出現とは無関係に寛解を増悪に繰り返す。

返した。

D. 考察

TTR の Asp18 変異による TTR アミロイドーシスの 2 例、Asp18Glu と Asp18Gly を報告した。今回報告した Asp18Glu は既報の例と異なり末梢神経症状を欠く心アミロイドーシスの臨床像を呈し、病状の進行が急激であった。また Asp18Gly は、中枢神経症状を主体とする leptomeningeal amyloidosis であり、特徴的な MRI 所見は中枢型アミロイドーシスを診断する上で重要であると考えられた。

E. 結論

Asp18 から Glu と Gly への変異は、臨床像が大きく異なるアミロイドーシスを呈した。TTR 変異に基づく全身性アミロイドーシスには、末梢神経症状を伴わない病型があり、とくに中枢型 TTR アミロイドーシスの鑑別は重要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakazato M, Matsukura S.: Aged onset amyloidosis caused by transthyretin gene mutations. *Geriatrics Gerontol Int* 38: 501-506 (2002)
- 2) Imamura T, Nakazato M, Date Y, Komatsu H, Ashizuka S, Aoyama F, Sumi M, Tsuruda T, Ishikawa T, Hirayama N, Matsuo H, and Eto T.: Cardiac

amyloidosis associated with a novel transthyretin aspartic acid-18 glutamic acid de novo mutation.

Circ J, in press

- 3) Ikeda Si S, Nakazato M, Ando Y, Sobue G.: Familial transthyretin-type amyloid polyneuropathy in Japan: Clinical and genetic heterogeneity.

Neurology 2002; 58:1001-1007

- 4) Koike H, Misu K, Ikeda S, Ando Y, Nakazato M, Yamamoto M, Hattori N, Sobue G.: Type I (transthyretin Met30) familial amyloidotic polyneuropathy in Japan: early-versus late-onset form.

Arch Neurol 2002;59:1771-1776

- 5) 原田俊英、石崎文子、十河正典、山下拓史、新田耕作、伊達 紫、中里雅光、山崎安弘、中村重信:愛媛県出身の I 型家族性アミロイドポリニューロパチーの 1 家系 脳と神経 54: 615-619 (2002)

2. 学会発表

Date Y, Nakazato M: Aged onset of amyloidosis caused by transthyretin gene mutations. FAP 2002 国際シンポジウム

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

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

FAP (Met30) 患者の腎組織所見からみた肝移植適応

分担研究者 池田修一 信州大学医学部第三内科

共同研究者 小口賢哉、武井洋一 信州大学医学部第三内科

研究要旨 腎生検組織及び、剖検例の腎組織のアミロイド沈着の程度に着目し、腓腹神経生検組織所見と比較し、肝移植適応について検討した。肝移植の適応を考慮した FAP 患者 11 名について腓腹神経生検及び腎生検を実施した。術後死亡した 3 名で腎病理組織を確認。腓腹神経生検では有髄神経線維密度 (DMF) を定量した。腎組織についてはアミロイドの沈着面積を算出し、糸球体及び尿細管について各々定量的に評価した。上下肢に末梢神経障害を認める進行期の患者では有髄神経の脱落ならびに腎臓へのアミロイド沈着はいずれも高度であった。下肢にのみ末梢神経障害を認めた FAP 患者では、腎組織と神経組織へのアミロイド沈着の程度は様々で、組織へのアミロイド沈着程度の多様性を認めた。その中で、腎糸球体へのアミロイド沈着の軽い患者では、肝移植後の経過は良好であった。特に、腓腹神経有髄神経線維が高度に脱落している患者でも、腎臓へのアミロイド沈着が軽微な場合には肝移植後の経過は良好であった。これらの結果は、肝移植の適応を決定する上で、下肢にのみ末梢神経障害を有する FAP 患者では腎生検が有用であり、肝移植後の予後は、腎糸球体へのアミロイド沈着の程度と相関を示している。

A. 研究目的

FAP の患者に対し、肝移植が行われ、その諸症状は、自覚的・他覚的にも改善している。しかし、本治療法は多くのリスクを伴い、特に生体部分肝移植はドナーとなる健常人に大きな負担を強いることで成り立っている。従って、本治療法を行う際の適応基準は厳格に行われてきた。一般には、年齢が 50 歳以下であること、罹病期間が 5 年以内で、日常生活動作が自立している事などが言われてきたが、FAP 患者に対して肝移植の適応を決定する上で、有用な指標はなかった。

そこで我々は、腎生検が行われた 11 名の患者の腎組織と腓腹神経生検組織を形態学的に比較し、肝移植の適応と予後についての検討を試みた。

B. 研究方法

1. 患者

a) 末梢神経障害が下肢に限局している患者 7 名。(表 1) 症例 1 から 7 までの患者で、罹病期間は 2 年から 6 年。低アルブミン血症が症例 5、症例 6 の 2 名、蛋白尿が症例 5 の 1 名の患者で認

められたがクレアチンクリアランスの低下は認めなかった。神経伝導速度検査は何れの症例に於いても明らかな異常は認めなかった。

b) 末梢神経障害が上下肢に及ぶ患者 4 名。(表 2) 症例 8 から 11 までの患者で、罹病期間は 2 年から 6 年。低アルブミン血症を 2 名、蛋白尿を 3 名で認めた。クレアチンクリアランスの低下は 3 名、血清クレアチニンの上昇を 1 名で認めた。神経伝導速度検査では、上下肢共に殆どの症例で低下しており、特に下肢については、4 名中 2 名で測定不可能であった。

2. アミロイド沈着面積の測定

コンゴレッド染色を行った腎生検組織を用い、光学顕微鏡で糸球体は 10 倍、間質及び尿細管については 4 倍として観察した。画像をデジタル化した後、アミロイドの沈着面積を、画像解析ソフトウェアを用いて測定した。

糸球体および間質について各々、組織全体に対してアミロイド沈着が占める割合を算出し、有髄神経線維密度および肝移植後の経過と比較検討を行った。

C. 研究結果

1. 下肢にのみ末梢神経障害を認める 7 名の FAP 患者の検討。

腎へのアミロイドアミロイド沈着を殆ど認めない患者から、高度のアミロイド沈着を認める患者まで様々であった。

腎へのアミロイド沈着が高度の患者 5 では、糸球体、間質・尿細管への何れも高度のアミロイド沈着を認め、術後早期に死亡した。

糸球体への高度のアミロイド沈着を認めた症例 6 は、現在自宅療養中である。

症例 5 は、罹病期間が 4 年の 40 歳女性で、嘔吐発作が強く、栄養状態も不良。臨床検査では、蛋白尿 2+、低アルブミン血症を認めたが、神経伝導速度検査では、明らかな低下を認めなかった。腓腹神経組織では、有髄神経密度の中等度の低下、アミロイドの中等度の沈着を認めた。腎組織では、糸球体に於けるアミロイド沈着の割合は 39%で、間質・尿細管では 21%と著明であった。この患者は、術後経過が不良で、肝移植後 10 日で死亡した。

症例 7 は、発症後 6 年を経過した 50 歳女性で、下肢に強い疼痛と感覚障害及び、硝子体へのアミロイド沈着を認めた。腓腹神経有髄神経密度は $493/\text{mm}^2$ と著明に低下しており、有髄神経の脱落が高度であった。腎組織では、糸球体に於けるアミロイド沈着の割合は 12%、間質・尿細管でも 12%であった。50 歳と、肝移植を施行した FAP 患者の中では最も高齢であったが、腎組織へのアミロイド沈着は比較軽度で、肝移植後の経過は良好であった。術後合併症を認めず、順調に社会復帰した。

2. 末梢神経障害が上下肢に及ぶ患者 4 名の検討。

腎糸球体へのアミロイド沈着は症例 8、10、11 で著明であった。同様に、蛋白尿の出現が症例 8、10、11 に於いても認められ、蛋白尿の出現と、腎糸球体へのアミロイド沈着程度は相関していると考えられた。この腎生検所見及び腎機能を重視して、症例 8、9、10 では肝移植を実施しなかった。生体肝移植を始めて間もない頃の症例 11 は、腎生検で相当量のアミロイド沈着が認められたが、本移植手術を実施した。結果は、種々の合

併症を併発し、臥床状態が続いている。

症例 11 の 36 歳女性の腓腹神経生検組織の有髄神経密度は $2162/\text{mm}^2$ と中等度の脱落を認め、斑状のアミロイド沈着を認めた。腎組織では、糸球体に於けるアミロイド沈着の割合は 20%と著明で、間質・尿細管では 2%と軽度であった。

D. 考察

今回我々は、末梢神経障害が下肢に限局する FAP 患者では、腎臓へのアミロイド沈着の程度は一定せず様々であること。及び、下肢に末梢神経障害に限局する FAP 患者での肝移植後の予後は、腓腹神経へのアミロイド沈着量と比較し、糸球体への沈着量が相関していたことを明らかにした。

肝移植後の神経症状の経過を検討した報告では、肝移植を行うことにより生命予後にとって重要である自律神経障害を含む神経症状の進行は阻止できることが示されている。これらの報告と今回の結果は、腎アミロイドーシスが FAP 患者の生命予後にとって極めて重要であること、さらに、従来 FAP 患者の肝移植では患者の罹病期間および末梢神経障害と自律神経障害の重症度などから手術適応が判定されてきたが、FAP の根治療法としての肝移植術の適応を考慮する際には、腎生検が有用であることが示唆された。

E. 結論

1. 末梢神経障害が下肢に限局する FAP 患者では、腎組織へのアミロイド沈着の程度は一定せず、様々であった。
2. 下肢に末梢神経障害に限局する FAP 患者での肝移植の予後は腓腹神経へのアミロイド沈着量と比較し、糸球体への沈着量が相関していた。
3. Met30 型 FAP 患者の肝移植の適応を決定する上で、腎生検は有用である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Takei Y, Hattori T, Gono T, Tokuda T, Saitoh S, Hoshii Y, and Ikeda S. Seniel systemic amyloidosis