

200400811B

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

# アミロイドーシスに関する調査研究

平成14～16年度(2002～2004)  
総合研究報告書

主任研究者 池田修一

平成17(2005)年3月

## 目 次

[ I ] 総合研究報告書.....	1
アミロイドーシスに関する研究	
主任研究者 池 田 修 一	
資料 平成 14 (2002) 年度 総括研究報告	
平成 15 (2003) 年度 総括研究報告	
平成 16 (2004) 年度 総括研究報告	
[ II ] 研究成果の刊行に関する一覧表 .....	27

## [ I ] 総合研究報告

## アミロイドーシスに関する調査研究

主任研究者 池田修一 信州大学医学部教授

研究要旨：臨床病理学的に多様性を有するアミロイドーシスに対して、個々の病態に即した適切な診断法と治療法の確立を目指して3年間の研究を遂行した。また同時に全身性アミロイドーシスに対する治療実態をまとめた。原発性ALアミロイドーシスに対しては班員の施設を中心に自己末梢血幹細胞移植(Auto-PBSCT)を併用した大量化学療法が行われ、短期的には約80%でM蛋白消失を含む血液学的寛解が得られた。AAアミロイドーシスの治療の主体は副腎皮質ステロイドホルモンと免疫抑制剤であるが、ごく最近抗サイトカイン療法としてTNF $\alpha$ 受容体抗体、IL-6受容体抗体の投与が試みられ、良好な結果が報告されている。FAPについては過去11年間に国内で43名の患者に対して肝移植が行われた。男女比は21:22、手術時の年齢は40 $\pm$ 9歳であり、手術様式は生体移植が41名、脳死体からが2名、遺伝子変異はVal30MetTTR型が36名、non-Val30MetTTR型が6名であった。最長生存者は術後11年、10年生存率は78%である。またTTR分子を安定化させる薬物療法、組織へ沈着したアミロイドを標的とした免疫抗体療法も開発段階にある。透析アミロイドーシスでは骨嚢胞の治療にetidronate disodiumが有効であることが示され、またtransgenic miceを用いた実験ではメラトニンがA $\beta$ 脳アミロイドの産生を抑える可能性が示された。

### 分担研究者名

今井浩三 (札幌医科大学・学長)  
東海林幹夫 (岡山大学医学部・助教授)  
下条文武 (新潟大学医学部・教授)  
樋口京一 (信州大学大学院医学研究科・教授)  
前田秀一郎 (山梨大学医学部・教授)  
石原得博 (山口大学医学部・教授)  
中里雅光 (宮崎大学医学部・教授)  
安東由喜雄 (熊本大学医学部・講師)  
山田正仁 (金沢大学医学部・教授)  
葛原茂樹 (三重大学医学部・教授)  
満屋裕明(熊本大学医学部・教授)  
徳田隆彦 (信州大学大学院医学研究科・助教授)  
玉岡 晃 (筑波大学臨床医学系・助教授)  
原 茂子 (虎の門病院健康管理センター・部長)  
麻奥秀毅 (広島赤十字原爆病院・部長)  
河野道生 (山口大学医学部・教授)  
吉崎和幸 (大阪大学健康体育部・教授)  
内木宏延 (福井医科大学医学部・教授)  
高杉 潔 (道後温泉病院リサーチセンター・理事長)  
山田俊幸 (順天堂大学医学部・助教授)

### A. 研究目的

種々なアミロイドーシスの発生機序を分子レベルから解明し、有効な治療法を確立することを目的とする。具体的には、1) ALアミロイドーシス：早期診断法がなく、本症患者の確定診断後の余命は1,2年である。形質細胞異常症の細胞特性を明らかにし、有効な化学療法を早急に普及する必要がある。自己末梢血幹細胞移植(Auto-PBSCT)を併用したメルファラン大量静注療法は従来の化学療法に比してその有効性が際だっており、この化学療法を標準化して国内で定着させる必要がある。2) AAアミロイドーシス：RA患者の致命的合併症として重要である。近年、RA患者を定期的に検査することにより本病型のアミロイドーシスを比較的早い段階で見出すことが可能となった。そこで本アミロイドーシスを合併した患者に対して、副腎皮質ステロイドホルモン・免疫抑制剤による薬物療法を行い、このアミロイドーシスの病態を緩解に導く。3) FAP：本邦では熊本県と長野県に世界で三番目の規模の患者集積地があり、またこれらとは血縁のないFAP家系が60数家系国内に存在する。FAP

の根治療法として過去 10 年間に肝移植が定着して来ており、その長期的治療効果を明らかにする。一方、FAP 患者全員が肝移植を受けられる状況ではなく、また異常遺伝子キャリアーの発病を未然に防ぐためにも、有効な薬物療法の開発は不可欠である。4) 透析アミロイドーシス：本邦では腎移植の件数が少なく、本アミロイドーシスを併発する患者は年々増加している。この数年間、透析膜の改良、薬物療法等が導入されているが、こうした治療法の有効性は判定されていない。5) 脳アミロイドーシス：人口の急激な高齢化により Alzheimer 病に代表される脳アミロイドーシス患者は増加している。本アミロイドの沈着機序は分子レベルから相当開明され、疾患モデル動物 (transgenic mice) も作成されている。そこでこうした *in vitro* または *in vivo* の系を用いて本アミロイドの産生を抑える薬物療法の開発が急務である。同時に脳アミロイドアンギオパチー(CAA)および本病態に合併しうる中枢神経系限局血管炎 (isolated angiitis of the CNS: IACNS) の疫学調査を計画した。

6) マウス老化アミロイドーシス：アミロイドーシス発症に関与する後天的因子を検索するのに有用である。

## B. 研究方法

1) AL アミロイドーシス：アミロイド惹起性の免疫グロブリンを産生する骨髄腫細胞の細胞生物学特性を知るために、悪性度別に三群に分けた細胞の表面抗原にフローサイトメトリーを用いて検索した (河野、池田)。免疫グロブリン  $\kappa$  鎖可変領域に対する抗体およびアミロイド特異的抗トランスサイレチン抗体を作成し、これらの抗体が日常の臨床病理学的検索で有用かどうかを検討した。(石原)。欧米で行われている Auto-PBSCT を併用した強力な化学療法をわが国の患者に施行するに当り、分化会を組織して適応基準、実地要項、治療効果等を評価するプロトコールを作成した。また班員の所属する 5 施設を選択して、実際に患者を対象として本治療を施行した (池田、麻奥、下条、今井、満屋)。

2) AA アミロイドーシス：本アミロイドーシスを合併した RA 患者の予後調査を腎障害との関連で検討し (下条)、同様に本病態に対する SAA1、-13SNP の生命予後に対する影響も検討された (高杉)。ヒト肝細胞を用いて SAA1 発現に対する IL-6、TNF- $\alpha$  を含む複数のサイトカインの相乗効果を遺伝子発現のレベルから検討する (吉崎)。分科会を組織して、AA アミロイドーシスに対する薬物療法の国内の現状把握を行う (吉崎、池田、今井、下条、高杉)。

3) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)：本邦における FAP 患者に対する肝移植の実態をアンケート調査、日本肝移植研究会の登録記録等を基に把握する。また術後の長期予後についても検討する (安東、池田)。FAP 患者に対する薬物療法、免疫療法、遺伝子治療法の開発を行う (安東、池田)。非定型的な臨床像を呈する FAP 患者の臨床像と遺伝子異常の検討を行う (中里、徳田)。

4) 透析アミロイドーシス：*In vitro* で  $\beta 2$  microglobulin 由来のアミロイド線維の形成機序を解明し、同時に種々な薬物の影響も検討する (内木、下条)。30 年以上の長期透析患者における透析アミロイドーシスの臨床像の調査を行う (下条)。また本病態への etidronate disodium 等の薬物療法の長期効果を検討する (原)。

5) 脳アミロイドーシス：アミロイド前駆蛋白を指標とした Alzheimer 病診断のための血清マーカーならびに A $\beta$  アミロイドの分解に影響を与える物質の検索を行う (葛原、山田)。また A $\beta$  アミロイドに対する薬物療法、免疫療法の開発を行う。脳アミロイドアンギオパチー(CAA)および本病態に合併しうる中枢神経系限局血管炎 (isolated angiitis of the CNS: IACNS) のわが国で初めての疫学調査を企画した (山田、玉岡、東海林、徳田、葛原、安東、池田)。

6) その他のアミロイドーシス：マウス老化アミロイドーシスの伝播機序の解明とその防止効果

の検討を行う（樋口）。

（倫理面への配慮）

本研究の対象となる患者に対しては研究の主旨を十分説明し（インフォームドコンセントを行う）、その後同意が得られた患者のみに適応外の薬剤投与を行う。知的障害を伴う Alzheimer 病患者の人権に配慮して、患者とともに配偶者、家族にも十分説明し、種々な検査時には書面で確認をとる。さらに特殊な療法を行う際にはそれぞれの属する施設の倫理委員会の承認を前提とする。動物実験の場合は各施設の動物実験委員会の許可を得て行う。

### C. 研究結果

#### 1. AL アミロイドーシス：

河野らは AL アミロイドーシスを合併したヒト骨髄腫細胞の細胞表面抗原をフローサイトメトリーにより検索し、CD38+細胞が本病態の主役であり、同時に本細胞はミトコンドリア膜分子VDAC-1も強く発現していることを明らかにした。またこれらの細胞の生存にはNF- $\kappa$ Bの活性化が必須であることも判明し、上記三分子を標的とした治療への strategy が浮上した。池田らは同様に原発性 AL アミロイドーシス患者の骨髄中でもCD38+細胞が異常増加しており、後述する大量化学療法が奏効した患者では本細胞が骨髄液から消失することが示され、本細胞検索法はALアミロイドーシスの病勢を知る良い指標と考えられた。また今井らは遺伝子治療開発の一環として、L鎖V領域のCDR配列を標的に作成したsiRNAを培養骨髄腫細胞へ導入することで、L鎖産生抑制を示すことが出来た。石原はL鎖可変領域に対する抗体を作成して、ALアミロイドの免疫組織化学的反応性を検討し、従来のL鎖定常領域に対する抗体では陰性例が陽性反応を示すことを確認した。池田らは胃十二指腸生検組織、腎生検組織などの微量な組織からアミロイド線維を分離・精製して、そのアミノ酸配列を決定することで、既存の抗体による免疫組織化学では同定できないアミロイドーシスの診断法を確立した。本法により非常に稀な病態である免疫グロブリン $\gamma$ -heavy chain由来の全身性アミロイドーシス2例

を見出し報告した。

原発性ALアミロイドーシスの根治療法に関しては、平成13年に池田らが本邦で初めてVAD療法とそれに続くAuto-PBSCTを併用したメルファラン大量療法を2名に実施して成功した。そこで平成14年度に分科会で心機能を重視した独自の適応基準を作成した。また導入療法としてVAD療法を2クール行うこととし、メルファラン投与量は欧米より少ない140mg/m<sup>2</sup>とした。現在までに班員の施設で14名の患者に同療法を施行し、11名が血液学的完全寛解を示している。また本療法が適応外の10名に対してはVAD単独療法を行い、5名が血液学的完全寛解を得ている。この中には治療抵抗性でdouble transplantにより寛解が得られた1例が含まれている。尚、血液学的完全寛解例はネフローゼ症候群の改善など、臨床症状も明らかに軽快している（池田、麻奥、下条、満屋）。

#### 2. AA アミロイドーシス：

山田はアポE phenotypeを指標とする新たな本疾患の診断法の検討を開始した。吉崎は肝芽腫由来のHepG2細胞を用いて、IL-6、IL-1、TNF $\alpha$ 刺激とSAA1産生との関連を検索し、SAA1相乗効果の発現にNF- $\kappa$ B、C/EBP $\beta$ 系のみならず、JAK-STAT系も強く関与していることを証明した。高杉は1990～2003年の15年間に診療したRA患者を7年ごとの二期に分けて、AAアミロイドーシスの合併頻度とその予後解析を施行した。前半期の1990～1996年では1893例中144が本疾患を併発し、その頻度は7.83%で、罹病期間は16.8 $\pm$ 9.4年であった。後半期の1997～2003年では2283例中131が本疾患を併発し、その頻度は5.74%で、罹病期間は19.5 $\pm$ 11.7年であった。前期群と後期群ではRAに対する治療が後期において免疫抑制剤の導入などで変っており、その結果AAアミロイドーシスの合併頻度と罹病期間が有意に変化したと考えられる。一方、アミロイド診断時からの5年生存率は前期群が63.0%、後期群が67.7%であって両者間に有意差はなく、本疾患の治療が有効に行われていないことを反映していると推測される。吉崎は分科会報告として、AA-アミロイドーシス患者に対する薬物療法の国内調査で

は副腎皮質ステロイドホルモン使用が最も多く、次いで免疫抑制剤の追加であることを明らかにした。

### 3. 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) :

本疾患の原因は transthyretin (TTR) 遺伝子変異であり、また本遺伝子変異の違いにより Val30Met 型と non-Val30Met 型に大別できる。Val30MetTTR 型 FAP は熊本と長野の集積地の他に、これら集積地と血縁のない孤発家系が 60 前後国内に存在することが判明した。こうした孤発家系は初発年齢が平均  $62.5 \pm 6.2$  と高齢発症で、かつ男女比が 5:1 と圧倒的に男性患者が多いという特徴がある。Non-Val30MetTTR 型は国内で 22 変異が見出されており、臨床像から末梢神経障害型、心筋障害型、中枢神経障害型に分けられ、さらに末梢神経障害型は下肢初発型、上肢初発型、手根管症候群型に分類される。また FAP 患者の予後に影響する最も重要な因子は心アミロイドーシスの有無であり、集積地出身の FAP 患者に比して、孤発家系の Val30MetTTR 型 FAP ならびに non-Val30MetTTR 型 FAP 患者は有意に高度な心アミロイドーシスを合併しやすいことが明らかとなった (安東、池田、徳田、中里)。前田はヒト変異 TTR 遺伝子を有する transgenic mice を用いた実験から、以下の 2 点を明らかにした。アミロイド P 成分遺伝子を欠失させても、本マウスはアミロイドーシスを発症する。また外来性の TTR アミロイド線維を経静脈的に投与してもアミロイドーシスの発症促進は起こらない。

FAP の治療に関しては過去 11 年間に国内で 43 名の患者に対して肝移植が行われた。男女比は 21:22、手術時の年齢は  $40 \pm 9$  歳であり、手術様式は生体移植が 41 名、脳死体からが 2 名、遺伝子変異は Val30MetTTR 型が 36 名、non-Val30MetTTR 型が 6 名であった。最長生存者は術後 11 年、10 年生存率は 78% である。移植後神経症状の進行は確実に停止するが、緑内障、硝子体混濁等の眼病変の出現は阻止できない。また心アミロイドーシスの増悪が起こりうる事が判明した (安東、池田)。FAP に対する新たな治療戦略として TTR 四量体分子を安定化させる薬物療法、沈着アミロイドに対する免疫抗体療法の

2 法が考えられる。前者については米国 Scripps 研究所の Kelly 博士らとの共同研究で、海外で市販されている抗炎症薬 diflunisal が常用量で血清中の TTR 四量体分子を十分安定化させる作用があることが明らかとなった。既に 2 名の FAP 患者に対して個人輸入で薬を購入して、diflunisal の投与を開始している (池田)。免疫抗体療法に関しては、TTR 単量体における cryptic epitope が可溶性状態でも露出するように設計した TTR ペプチドを作成し、Val30Met 変異を有する transgenic mice に免疫してこの変異 TTR を特異的に認識する自己抗体産生の有無を検索する実験が行われており、現在、Y78P 変異を有する TTR が免疫抗原として有力視されている (安東)。

### 4. 透析アミロイドーシス :

内木・下条は *in vitro* での  $\beta 2$  microglobulin 由来のアミロイド線維形成機序を解析し、開始時には変性線維を含む核が必要であり、また ApoE、ヘパリン、種々な proteoglycan が形成された線維を安定化させていることを示した。下条は 30 年以上の長期透析患者に起った透析アミロイドーシス 105 名 (男 71 名、女 34 名) の臨床像を検討した。これらの患者は若年 ( $27.3 \pm 7.7$  歳) で透析を導入しており、アミロイドーシス発症までの期間は  $21.6 \pm 5.5$  年であった。80 名で手根管症候群、骨関節病変などに対して外科的手術が行われており、特にアミロイド沈着による大動脈弁狭窄が新たな合併症として問題となってきたことを報告した。原は本病態の骨嚢胞に対して etidronate disodium 治療が有用であることを示した。

### 5. 脳アミロイドーシス :

山田は赤ワイン関連ポリフェノールが  $A\beta$  アミロイド線維の形成抑制のみならず、既に沈着した本アミロイドの分解作用を有することを明らかにした。玉岡は頭部外傷後ラットモデルまたは慢性脳虚血ラットでは慢脳内  $A\beta$  濃度が増加すること、BACE1 はヒト脳では神経細胞に発現しており、Alzheimer 病では神経細胞当たりの BACE1 発現量が増加していることを示した。東海林はヒト血清中には  $A\beta 40$  の monomer と dimer、 $A\beta 42$  の monomer に対する抗体が一定の比率で

あることを明らかにした。またヒト APP 遺伝子を持つ transgenic mice を用いた Alzheimer 病の新治療開発研究において、メラトニン投与が脳内の A $\beta$ 40 と A $\beta$ 42 をともに減らし、記憶障害改善と寿命延長を認めることを示し、本薬剤は Alzheimer 病の治療薬となりうると推論している。山田は脳アミロイドアンギオパチー(CAA)および本病態に合併しうる中枢神経系限局血管炎 (isolated angiitis of the CNS: IACNS)の一次調査の段階で CAA 関連脳出血例 715 例、CAA に関連した他の病態 21 例、IACNS 63 例が見出されたことを報告した。

#### 6. その他のアミロイドーシス：

樋口は ApoAII 由来のマウス老化アミロイドーシスの一連の研究結果から、本アミロイドーシスはプリオン病類似の機序により個体間で伝播する可能性を提唱した。その後、この伝播力を消失させるためにはアミロイド線維をグアニジン塩酸、蟻酸、NAOH で処理するなどして、アミロイド本来の  $\beta$ -sheet 構造を消失させることが重要であることを示した。

#### D. 考察

過去 3 年の研究期間では全身性アミロイドーシスに対する治療指針を確立することを目標として来た。その中で原発性 AL アミロイドーシスに対する大量化学療法、FAP への肝移植を中心に計画したことの相当部分を達成できた。また FAP に関しては懸案である肝移植以外の薬物療法、沈着アミロイドを標的とした免疫療法への足固めできたことは成果と考えている。

一方、今後は AL アミロイドーシスに対する強力化学療法の長期的治療効果と臓器アミロイド変化の判定、AA アミロイドーシスへの抗サイトカイン療法の確立、FAP ならびに透析関連アミロイドーシスに対する有効な薬物療法の開発が急がれる。具体的には IL-6 受容体抗体、TNF $\alpha$  受容体抗体等の生物学的製剤の AA アミロイドーシス患者に対する適応基準と効果判定法の作成が必要である。また FAP 患者への diflunisal 投与とその効果判定は海外との共同臨床試験で行う予定である。さらに FAP アミロイドに対する免疫抗

体療法の開発を進める上では、より良好な疾患モデルを作成する必要がある。国内の脳アミロイドアンギオパチーの疫学調査は今後より詳細な二次調査へと進める段階にある。

尚、基礎研究分野では河野らの AL アミロイドーシスの基礎にある異常形質細胞に細胞表面抗原を用いて検出する方法、吉崎らの IL-6・TNF $\alpha$  などのサイトカイン刺激がいかなる機序で SAA を産生するのかの分子機構の解明、東海林らのメラトニンによる Alzheimer 病の脳アミロイド前駆体蛋白の発現抑制の研究は国際的に高い評価を受けている。また内木・下条による *in vitro* amyloidogenesis の研究、安東らの FAP アミロイドに対する免疫抗体療法は他に例をみない研究であり、今後の発展が期待される。

#### E. 結論

- 1) AL アミロイドーシスに対する Auto-PBSCT を併用した大量化学療法の施行プロトコールの作成を国内で始めて行い、班員が所属する複数の施設で実施に移すことができた。
- 2) RA の治療薬が年々新たに開発されており、新薬の導入により AA アミロイドーシス併発の減少傾向が示された。
- 3) FAP については肝移植の 10 年以上に渡る長期的治療効果が示され、同時に薬物療法、免疫療法への目安が出てきた。
- 4) また透析関連アミロイドーシスでは骨嚢胞の進展を阻止する薬物療法、長期経過を有する患者への外科的治療法の検討結果が明らかにされた。
- 5) Alzheimer 病に代表される脳アミロイドーシスでは A $\beta$  アミロイドの沈着とそれを阻止する機序の検索が行われ、同時に脳アミロイドアンギオパチー(CAA)の実態調査が開始された。一次調査の段階だが、わが国には予想以上の数の本症患者がいることが推測される。
- 6) アミロイドーシスの分子発生機序については種々な病型で *in vitro* における検索が開始されているが、結論を得るにはまだ時間が必要である。

#### F. 研究発表



## 1). 国内

口答発表 428 件  
原著論文による発表 48 件  
それ以外（レビュー等）の発表 242 件  
そのうち主なもの

### 1. 論文発表

原著

- 1) 中村政明、安東由喜雄:Single-stranded oligonucleotides (SSOs) による家族性アミロイドポリニューロパチーの遺伝子治療. 臨床病理 52: 804-812, 2004
  - 2) 吉本満、大野聡子、宮地佐栄、本田佐保、見田裕章、石田禎夫、伊東文生、今井浩三. アミロイドーシス遺伝子治療の可能性. 血液・腫瘍科 47: 39-45, 2003
- 総説
- 3) 池田修一:家族性アミロイドポリニューロパチー. BIO Clinica 18: 41-46, 2003
  - 4) 池田修一:アミロイドーシス. 今月の治療 10 臨時増刊号 S265-269, 2003
  - 5) 池田修一:脳アミロイド・アンギオパチー. 分子血管病 2: 61-67, 2003
  - 6) 石原得博、星井嘉信、崔丹:アミロイドーシスなどの沈着物質による組織構築障害. 病理と臨床, 21: 1241-1244, 2003
  - 7) 高橋直生、殷熙安、下条文武:特集 透析アミロイド症-今日の考え方 I.透析アミロイド症とは. 臨床透析 20: 11-16, 2004
  - 8) 山本卓、下条文武:合併症のケア まるわかり講座第1回透析アミロイドーシス. 透析ケア、10: 49-53, 2004
  - 9) 高橋直生、殷熙安、下条文武:推薦処方とその解説 透析アミロイドーシス. 今月の治療、12: 104-106, 2004
  - 10) 中村政明、安東由喜雄:アミロイドーシスと活性酸素傷害. 臨床病理、51: 140-145, 2003
  - 11) 安東由喜雄:家族性アミロイドポリニューロパチーの創薬ターゲット分子. 医学の歩み、207: 78-82, 2003
  - 12) 柳瀬大亮、中尾真二、山田正仁:ALアミロイドーシスと骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植（ミニ移植）。血液・腫瘍科、47:33-38, 2003.

## 2.学会発表

- 1) 原田祐嗣、石井一弘、宮 冬樹、亀高 諭、亀谷富由樹、庄司進一、玉岡 晃:ヒト脳における Beta-site APP-cleaving enzyme 1 (BACE1)抗体の解析—アルツハイマー病脳と対照脳の比較検討—. 第23回日本痴呆学会学術集会（東京）、9月30日、2004.
- 2) 東海林幹夫:Alzheimer 病の疾患マーカー及び画像診断, 第45回 日本神経学会総会シンポジウム, 2004
- 3) 武井洋一、池田修一、徳田隆彦、中里雅光、安東由喜雄:本邦の non-Val30MetTTR による家族性アミロイドポリニューロパチーの臨床病理学的所見. 第101回日本内科学会総会. 平成16年4月、東京
- 4) 池田修一:アミロイドーシス - 最新の診断と治療-. 第15回中部リウマチ学会シンポジウム. 平成15年9月、長野
- 5) 安東由喜雄、甲斐広文:FAP の組織沈着アミロイド阻止薬としてのクロムの可能性. 第43回日本神経学会総会、横浜、2003
- 6) 安東由喜雄、寺崎久泰、佐々木裕、内野誠:TTR の cryptic epitope を利用した FAP の抗体治療. 第44回日本神経学会総会、東京、2004
- 7) 吉崎和幸、三原昌彦、椎名雅史、赤松健一、萩原圭祐、西本憲弘. IL-6 阻害による AA アミロイドーシスマウスの発症抑制ならびに病態改善. 第46回日本リウマチ学会. 神戸. 2002.4.22-24.
- 8) 萩原圭祐、中原英子、西本憲弘、吉崎和幸. リアルタイム定量的PCRを用いたSAAアインフォーム mRNA 発現の解析とヒト型化抗IL-6 レセプター抗体による抑制効果の検討. 第46回日本リウマチ学会. 神戸. 2002.4.22-24.
- 9) 奥田恭章、山田俊幸、高杉潔、武田政寛、難波滋、大西誠:本邦、Caucasian に共通な AA アミロイドーシス危険因子としての SAA1,-13T アリル 第46回日本リウマチ学会総会、学術集会:2002
- 10) 奥田恭章、山田俊幸、高杉潔、武田政寛、難波滋、大西誠、山内勇人、平石宗之、高

梨哲生: AA アミロイドーシス合併関節リウマチにおける SAA1,-13SNP の生命予後及び臨床経過への影響 第47回日本リウマチ学会総会、学術集会: 2003

2)海外

口答発表 84件  
 原著による発表 246件  
 それ以外(レビュー等)の発表 32件

そのうち主なもの

1. 論文発表

- 1) Ikeda S. Cardiac amyloidosis: Heterogenous pathogenic background. *Intern Med* 43: 1107-1114, 2004.
- 2) Gono T, Matsuda M, Shimojima Y, Ishii W, Koyama J, Sakashita K, Koike K, Hoshii Y, Ikeda S. VAD with or without subsequent high-dose melphalan followed by autologous stem cell support in AL amyloidosis: Japanese experience and criteria for patient selection. *Amyloid: J Protein Folding Disord* in press.
- 3) Jin K, Takahashi T, Nakazaki H, Date Y, Nakazato M, Tominaga T, Itoyama Y, Ikeda S: Familial leptomenigeal amyloidosis with a transthyretin variant Asp18Gly representing repeated subarachnoid haemorrhages with superficial siderosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2004, 75: 1463-1466.
- 4) Yazaki M, Fushimi T, Tokuda T, Kametani F, Yamamoto K, Matsuda M, Shimojo H, Hoshii Y, Higuchi K, Ikeda S: A patient with severe renal amyloidosis associated with an immunoglobulin  $\gamma$ -heavy chain fragment. *Am J Kidney Dis*, 2004, 43: e23-e28.
- 5) Ikeda S, Takei Y, Hashikura Y: Liver transplantation as treatment for neurological disorders. *Expert Rev Neurotherapeutics*, 2003, 3: 547-555.
- 6) Hattori T, Takei Y, Koyama J, Nakazato M, Ikeda S: Clinical and pathological studies of cardiac amyloidosis in transthyretin type familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid: J Protein Folding Disord*, 2003, 10: 229-239.
- 7) Oide T, Takahashi H, Yutani C, Ishihara T, Ikeda S: Relationship between lobar intracerebral hemorrhage and leukoencephalopathy associated with cerebral amyloid angiopathy: clinicopathological study of 64 Japanese patients. *Amyloid: J Protein Folding Disord*, 2003, 10: 136-143.
- 8) Kobayashi S, Morita H, Asawa T, Takei Y, Hashimoto T, Ikegami T, Hashikura Y, Kawasaki S, Ikeda S: Peripheral nerve function in patients with familial amyloid polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid: J Protein Folding Disord*, 2003, 10: 17-24.
- 9) Sekijima Y, Hammarström P, Matsumura M, Shimizu Y, Iwata M, Tokuda T, Ikeda S, Kelly JW: Energetic characteristics of the new transthyretin variant A25T may explain its atypical central nervous system pathology. *Lab Invest*, 2003, 83: 409-417.
- 10) Gono T, Matsuda M, Dohi N, Hoshi K, Tada T, Sakashita K, Koike K, Aizawa M, Ikeda S: Nephrotic syndrome due to primary AL amyloidosis, successfully treated with VAD and subsequent high-dose melphalan followed by autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Intern Med*, 2003, 42: 72-77.
- 11) Ikegami T, Kawasaki S, Ohno Y, Chisuwa H, Urata K, Nakazawa Y, Hashikura Y, Terada M, Miyagawa S, Takei Y, Tokuda T, Ikeda S: Temporary auxiliary liver transplantation from a living donor to an adult recipient with familial amyloid polyneuropathy. *Transplantation*, 2002, 73: 628-630.
- 12) Tokuda T, Oide T, Tamaoka A, Ishii K, Matsuno S, Ikeda S: Prednisolone (30-60 mg/day) for diseases other than AD decreases amyloid  $\beta$ -peptide in CSF. *Neurology*, 2002, 58: 1415-1418.
- 13) Ikeda S, Nakazato M, Ando Y, Sobue G: Familial transthyretin-type amyloid polyneuropathy in Japan. Clinical and genetic heterogeneity. *Neurology*, 2002, 58: 1001-1007.
- 14) Ueno T, Hoshii Y, Cui D, Kawano H, Gondo T, Takahashi M, Ishihara T: Immunohistochemical

- study of cytokeratins in amyloid deposits associated with squamous cell carcinoma and dysplasia in the oral cavity, pharynx and larynx. *Pathol Int*, 2003, 53: 265-269
- 15) Cui D, Kawano H, Takahashi M, Hoshii Y, Setoguchi M, Gondo T, Ishihara T: Acceleration of murine AA amyloidosis by oral administration of amyloid fibrils extracted from different species. *Pathol Int*, 2002, 52: 40-45.
  - 16) Miyagawa S, Fukumoto T, Tsukaguchi N, Hoshii Y, Ishihara T: Myeloma-associated systemic amyloidosis presenting as digital nodules. *Br J Dermatol*, 2002, 147:602.
  - 17) Ohno S, Yoshimoto M, Honda S, Miyachi S, Ishida T, Itoh F, Endo T, Chiba S, Imai K. The antisense approach in amyloid light chain amyloidosis: identification of monoclonal Ig and inhibition of its production by antisense oligonucleotides in vitro and in vivo models. *J Immunol* 169:4039-45, 2002
  - 18) Satoh Y, Hayashi T, Takahashi T, Itoh F, Adachi M, Fukui M, Kuroki M, Kuroki M, Imai K, Hinoda Y. Expression of CD66a in multiple myeloma. *J Clin Lab Anal*. 16:79-85, 2002
  - 19) Yamamoto S, Yamaguchi I, Hasegawa K, Tsutsumi S, Goto Y, Gejyo F, Naiki H: Glycosaminoglycans enhance the trifluoroethanol-induced extension of  $\beta$ 2-microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *J Am Soc Nephrol* 15: 126-133, 2004
  - 20) Kawabe S, Abe T, Kawamura H, Gejyo F, Abo T: Generation of B220<sup>low</sup> B cells and production of autoantibodies in mice with experimental amyloidosis: association of primordial T cell with this phenomenon. *Clin Exp Immunol* 135: 200-208, 2004
  - 21) Yamaguchi I, Suda H, Tsuzuike N, Seto K, Seki M, Yamaguchi Y, Hasegawa K, Takahashi N, Yamamoto S, Gejyo F, Naiki H: Glycosaminoglycan and proteoglycan inhibit the depolymerization of  $\beta$ 2-microglobulin amyloid fibrils in vitro. *Kidney Int* 64: 1080-1088, 2003
  - 22) Hasegawa K, Ohhashi Y, Yamaguchi I, Takahashi N, Tsutsumi S, Goto Y, Gejyo F, Naiki H: Amyloidogenic synthetic peptides of beta2-microglobulin--a role of the disulfide bond. *Biochem Biophys Res Commun* 304:101-106, 2003
  - 23) Yamaguchi I, Suda H, Tsuzuike N, Seto K, Seki M, Yamaguchi Y, Hasegawa K, Takahashi N, Yamamoto S, Gejyo F, Naiki H: Glycosaminoglycan and proteoglycan inhibit the depolymerization of  $\beta$ 2-microglobulin amyloid fibrils in vitro. *Kidney Int* 64: 1080-1088, 2003
  - 24) Kotani N, Hattori T, Yamagata S, Tokuda T, Shirasawa A, Yamaguchi S, Kobayashi S, Ikeda S: Transthyretin Thr60Ala Appalachian-type mutation in a Japanese family with familial amyloidotic polyneuropathy. *Amyloid: J Protein Folding Disord* 9: 31-34, 2002
  - 25) Tokuda T, Oide T, Tamaoka A, Ishii K, Matsuno S, Ikeda S: Prednisolone (30–60 mg/day) for diseases other than AD decreases amyloid  $\beta$  peptides in CSF. *Neurology* 58: 1415-1418, 2002
  - 26) Takei Y, Hattori T, Gono T, Tokuda T, Saitoh S, Hoshii Y, Ikeda S: Senile systemic amyloidosis presenting as bilateral carpal tunnel syndrome. *Amyloid: J Protein Folding Disord* 9: 252-255, 2002.
  - 27) Kawarabayashi T, Shoji M, Younkin L, Wen-Lang L, Dickson DW, Murakami T, Matsubara E, Abe K, Ashe KH and Younkin SG, Dimeric A $\beta$  Rapidly Accumulates in Lipid Rafts Followed by ApoE and Phosphorylated Tau as Memory is Impaired in the Tg2576 Mouse Model of Alzheimer's Disease. *J Neurosci* 24: 3801-9, 2004
  - 28) Matsubara E, Bryant-Thomas T, Pacheco J, Henry TL, Poeggeler B, Manjon M, Herbert D, Cruz-Sanchez F, Chyan Y-J, Shoji M, Abe K, Leone A, Grundke-Ikbal I, Wilson G, Ghiso J, Williams C, Refolo LM, Pappolla MA, Melatonin increases survival and inhibits oxidative and amyloid pathology in a transgenic model of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 85: 1101~1108, 2003

- 29) Murakami T, Shoji-M, Imai Y, Inoue H, Kawarabayashi T, Matsubara E, Harigaya Y, Sasaki A, Takahashi R and Abe K, Pael-R is accumulated in Lewy bodies of Parkinson's disease. *Ann Neurol* 55: 439-42, 2004
- 30) Matsubara E, Sekijima Y, Tokuda T, Urakami K, Amari M, Shizuka-Ikeda M, Tomidokoro Y, Ikeda M, Kawarabayashi T, Harigaya Y, Ikeda S, Murakami T, Abe K, Otomo E, Hirai S, Frangione B, Ghiso J, Shoji M, Soluble A $\beta$  homeostasis in AD and DS: impairment of anti-amyloidogenic protection by lipoproteins. *Neurobiol Aging* 25: 833-41, 2004
- 31) Koike H, Misu K, Ikeda S, Ando Y, Nakazato M, Ando E, Yamamoto M, Hattori N, Sobue G: Type I (transthyretin Met 30) familial amyloid polyneuropathy in Japan. Early- vs late-onset form. *Arch Neurol*, 2002, 59: 1771-1776.
- 32) Misu K, Hattori N, Ando Y, Ikeda S, Sobue G: Anticipation in early-but not late-onset familial amyloid polyneuropathy (TTR Met 30) in Japan. *Neurology*, 2000, 55: 451-452.
- 33) Misu K, Hattori N, Nagamatsu M, Ikeda S, Ando Y, Nakazato M, Takei Y, Hanyu N, Usui Y, Tanaka F, Harada T, Inukai A, Hashizume Y, Sobue G: Late-onset familial amyloid polyneuropathy type I (transthyretin Met30 - associated familial amyloid polyneuropathy) unrelated to endemic focus in Japan. Clinicopathological and genetic features. *Brain*, 1999, 122: 1951-1962.
- 34) Maeda, S.: Use of genetically altered mice to study the role of serum amyloid P component in amyloid deposition. *Amyloid: J. Protein Folding Disord*, 10 (Suppl 1), 17-20, 2003.
- 35) Nakamura, M., Ando, Y., Nagahara, S., Sano, A., Ochiya, T., Maeda, S., Kawaji, T., Ogawa, M., Hirata, A., Terazaki, H., Haraoka, K., Tanihara, H., Ueda, M., Uchino, M., Yamamura, K.: Targeted conversion of the transthyretin gene in vitro and in vivo. *Gene Ther*, 11 (10), 838-846, 2004.
- 36) Wei, L., Kawano, H., Fu, X., Cui, D., Ito, S., Yamamura, K., Ishihara, T., Tokuda, T., Higuchi, K., Maeda, S.: Deposition of transthyretin amyloid is not accelerated by the same amyloid *in vivo*. *Amyloid: J. Protein Folding Disord*, 11 (2), 113-120, 2004.
- 37) Tamaoki, T., Tezuka, H., Okada, Y., Ito, S., Shimura, H., Sakamoto, M., Endo, T., Ozaki, Y., Kanba, S., Maeda, S.: Avoiding the effect of linked genes is crucial to elucidate the role of *Apcs* in autoimmunity. *Nat Med*, *in press*.
- 38) Ishikawa H, Tsuyama N, Abroun S, Liu S, Li F, Taniguchi O, Kawano MM. Requirements of src family kinase activity associated with CD45 for Myeloma cell proliferation by interleukin-6. *Blood* 99:2172-2178, 2002.
- 39) Abroun S, Ishikawa H, Tsuyama N, Liu S, Li F, Otsuyama K, Zheng X, Obata M, Kawano MM. Receptor synergy of interleukin-6(IL-6) and insulin-like growth factor-I in Myeloma cells that highly express IL-6 receptor  $\alpha$  . *Blood* 103:2291-2298, 2004.
- 40) Liu S, ishikawa H, Li F, Ma Z, Otsuyama K, Asaoku H, Abroun S, Zheng X, Tsuyama N, Obata M, Kawano MM. *Cancer Res* (in press)
- 41) Li F, Tsuyama N, Ishikawa H, Obata M, Abroun S, Liu S, Otsuyama K, Zheng X, Ma Z, Maki Y, Kawano MM. A rapid translocation of CD45RO but not CD45RA to lipid rafts in IL-6-induced proliferation in myeloma. *Blood* (in press)
- 42) Ma Z, Otsuyama K, Liu S, Abroun S, Ishikawa H, Tsuyama N, Obata M, Li F, Zheng X, Maki Y, Miyamoto K, Kawano MM. Baicalein, a component of *Scutellaria Radix*, identified from Huang-Liang-Jie-Du-Tang (HLJDT) leads to suppression of proliferation and induction of apoptosis in human Myeloma cells. *Blood* (in press)
- 43) Nakamura M, Ando Y : Application of gene therapy for FAP. *Expert Opin Ther Pat*, 2004, 10: 1621-1627.
- 44) Ohmori H, Ando Y, Makita Y, Onouchi Y, Nakajima T, Saraiva M J M, Terazaki H, Suhr O,

- Sobue G, Nakamura M, Yamaizumi M, Munar-Ques M, Inoue I, Uchino M, and Hata A: Common origin of the Val30Met mutation responsible for the amyloidogenic transthyretin type of familial amyloidotic polyneuropathy. *J Med Genet*, 2004, 41: e51-e55.
- 45) Nakamura M, Ando Y, Nagahara S, Sano A, Ochiya T, Maeda S, Kawaji T, Ogawa M, Hirata A, Terazaki H, Haraoka K, Tanihara H, Uchino M, and Yamamura K: Targeted conversion of the transthyretin gene in vitro and in vivo. *Gene Ther*, 2004, 11: 838-846.
- 46) Ishikawa K, Doh-ura K, Kudo Y, Nishida N, Murakami-Kubo I, Ando Y, Sawada T, and Iwaki T: Amyloid imaging probes are useful for detection of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies. *J Gen Virol*, 2004, 85: 1785-1790.
- 47) Ando Y, Terazaki H, Nakamura M, Ando E, Haraoka K, Yamashita T, Ueda M, Okabe H, Sasaki Y, Tanihara H, Uchino M, and Inomata Y: A different amyloid formation mechanism: De novo oculoleptomeningeal amyloid deposits after liver transplantation. *Transplantation*, 2004, 77: 345-349.
- 48) Ando Y, Haraoka K, Terazaki H, Tanoue Y, Ishikawa K, Katsuragi S, Nakamura M, Sun X, Nakagawa K, Ishizaki T, Takesako K, Sasaki Y, and Doh-ura K: A novel tool for detecting amyloid deposits in systemic amyloidosis in vitro and in vivo. *Lab Invest*, 2003, 83: 1751-1759.
- 49) Yokota S, Miyamae T, Imagawa T, Iwata N, Katakura S, Mori M, Woo P, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T: Therapeutic efficacy of humanized recombinant anti-IL 6-receptor antibody for children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*, 2004, in press.
- 50) Nishimoto N, Yoshizaki K, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Hashimoto J, Azuma J, Kishimoto T: Treatment of rheumatoid arthritis with humanized anti-interleukin-6 receptor antibody: a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial. *Arthritis Rheum*, 2004, 50: 1761-1769.
- 51) Ito A, Takazoe M, Fukuda Y, Hibi T, Kusugami K, Andoh A, Matsumoto T, Yamamura T, Azuma J, Nishimoto N, Yoshizaki K, Shimoyama T, Kishimoto T: A pilot randomized trial of a human anti-interleukin-6 receptor monoclonal antibody in active Crohn's disease. *Gastroenterology*, 2004, 126: 989-996.
- 52) Mihara M, Shiina M, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T, Akamatsu K: Anti-interleukin-6 receptor antibody inhibits murine AA-amyloidosis. *J Rheum*, 2004, 31: 1132-1138.
- 53) Nishimoto N, Yoshizaki K, Maeda, K, Kuritani T, Deguchi H, Sato B, Imai N, Kakehi T, Takagi N, Suemura M, Kishimoto T: Toxicity, pharmacokinetics, and dose finding study of repetitive treatment with humanized anti-interleukin 6 receptor antibody, MRA, in rheumatoid arthritis -a phase I/II clinical study of MRA for rheumatoid arthritis in Japan-. *J Rheum*, 2003, 30: 1426-1435.
- 54) Iwamoto M, Nara H, Hirata D, Minota S, Nishimoto N, Yoshizaki K: Humanized monoclonal anti-interleukin 6 receptor antibody for treatment of intractable adult-onset Still's disease. *Arthritis Rheum*, 2002, 46: 3388-3389
- 55) Fu X, Korenaga T, Fu Li, Xing Y, Guo Z, Matsushita T, Hosokawa M, Naiki H, Baba S, Kawata Y, Ikeda S, Ishihara T, Mori M, Higuchi K: Induction of AApoAII amyloidosis by various heterogeneous amyloid fibrils. *FEBS Lett*, 2004, 563: 179-184.
- 56) Umezawa M, Tatematsu K, Korenaga T, Fu X, Matsushita T, Okuyama H, Hosokawa M, Takeda T, Higuchi K: Dietary fat modulation of apoA-II metabolism and prevention of senile amyloidosis in the senescence- accelerated mouse. *J Lipid Res*, 2003, 44: 762-769
- 57) Guo Z, Mori M, Fu X, Yao J, Xing Y, Korenaga T, Li G, Matsushita T, Hosokawa M, Higuchi K: Amyloidosis modifier genes in less amyloidogenic A/J mouse strain. *Lab Invest*,

2003, 83: 1605-1613.

- 58) Xing Y, Nakamura A, Korenaga T, Guo Z, Yao J, Fu X, Matsushita T, Kogishi K, Hosokawa M, Kametani F, Mori M, Higuchi K: Induction of protein conformational change in mouse senile amyloidosis. *J Biol Chem*, 2002, 277:33164-33169.
- 59) Ishii K, Tokuda T, Matsushima T, Miya F, Shoji S, Ikeda S, Tamaoka A: Pravastatin at 10 mg/day does not decrease plasma levels of either amyloid-beta (Abeta) 40 or Abeta 42 in humans. *Neurosci Lett* 350:161-4, 2003.
- 60) Ishii K, Klunk WE, Arawaka S, Debnath ML, Furiya Y, Sahara N, Shoji S, Tamaoka A, Pettegrew JW, Mori H. Chrysamine G and its derivative reduce amyloid beta-induced neurotoxicity in mice. *Neurosci Lett*. 333:5-8, 2002
- 61) Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M. Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. *J Neurosci Res* 75:742-750, 2004.
- 62) Ono K, Yoshiike Y, Takashima A, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M. Potent anti-amyloidogenic and fibril-destabilizing effects of polyphenols in vitro: Implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 87:172-181, 2003.
- 63) Yamada M, Sodeyama N, Itoh Y, Takahashi A, Otomo E, Matsushita M, Mizusawa H. Association of neprilysin polymorphism with cerebral amyloid angiopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 74:749-751, 2003.
- 64) Yamada M, Sodeyama N, Itoh Y, Suematsu N, Otomo E, Matsushita M, Mizusawa H. No association of paraoxonase genotype or atherosclerosis with cerebral amyloid angiopathy. *Stroke* 33:896-900, 2002.
- 65) Yamada M: Cerebral amyloid angiopathy and gene polymorphism. *J Neurol Sci* 226:41-44, 2004. Itoh N, Ishiguro K, Arai H, Kokubo Y, Sasaki R, Narita Y, Kuzuhara S. Biochemical and Ultrastructural Study on Neurofibrillary Tangles

of Amyotrophic Lateral Sclerosis / Parkinsonism-Dementia Complex Cases in the Kii Peninsula of Japan. *J Neuropathol Exp Neurol* 62:791-798:2003

#### 学会発表

- 1) Gono T Shimojima Y, Ishii W Koyama J, Matsuda M, Sakashita K, Koike K, Ikeda S. Therapeutic strategy for AL amyloidosis: eligibility for VAD with or without subsequent high-dose melphalan followed by autologous stem cell support. Xth International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tour, France, May 11-14, 2004.
- 2) Takei Y, Ikeda S, Ikegami T, Hashikura Y, Miyagawa S, Ando Y, Nakazato M Sobue G Ten years experience of liver transplantation for familial amyloid polyneuropathy in Japan. Xth International Symposium on Amyloid and Amyloidosis, Tour, France, May 11-14, 2004.
- 3) Ando Y: Genotype-phenotype correlations and management in transthyretin related amyloidosis. Xth Symposium on amyloid and amyloidosis, Tours, France, May 11-14, 2004
- 4) Harada H, Tamaoka A, Ishii K, Shoji S, Kametaka S, Kametani F, Murayama S: Analyses on beta-site APP cleaving enzyme (BACE1) in brains of patients with Alzheimer's disease and normal controls. Society for Neuroscience 34th Annual Meeting(San Diego), October 27, 2004..
- 5) Tamaoka A, Matsuno S, Harada H, Ishii K, Shoji S, Hoshino S: Amyloid  $\beta$ protein in chronic stage of fluid percussion in rat brain. Society for Neuroscience 34th Annual Meeting(San Diego), October 23, 2004.
- 6) Shoji M: Soluble AB homeostasis in Alzheimer's disease and Down syndrome: impairment of anti-amyloidogenic protection by lipoproteins, IANA International Symposium Octorber 1, 2004, Tokyo
- 7) Yoshizaki K, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Kodama F, Kumagai S, Asaoku H,

Kishimoto T, Nishimoto N. A dose finding study of a humanized anti-interleukin-6 receptor (IL-6R) monoclonal antibody, MRA in multicentric Castleman's disease. 44th Annual Meeting of the American Society of Hematologists. Philadelphia, USA. 2002.12.6-10.

**G. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）**

1) 特許取得

今井浩三他：2002-240083 原発性アミロイドーシスの治療法（出願中）

東海林幹夫他：2002-001229 Lewy小体を再現

する変異 $\alpha$ -synucleinトランスジェニックマウス（出願中）

東海林幹夫他：2003-317443 抗A $\beta$ 特異抗体による脳アミロイドーシスの治療と診断（出願中）

山田正仁他：2003-336539 アルツハイマー病の予防・治療薬

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）

## 総括 研究報告書

## アミロイドーシスに関する調査研究

主任研究者 池田 修一 信州大学医学部 教授

研究要旨 臨床病理学的に多様性を有するアミロイドーシスに対して、個々の病態に即した適切な診断法と治療法の確立を目指して研究を遂行している。本年度はALアミロイドーシス患者に対して、その基礎にある形質細胞異常症を完全に抑える目的で末梢血幹細胞移植を併用したメルファランの大量静注療法の標準的プロトコールを作成した。また同時に班員の所属する5施設で本療法を開始することとした。同様な治療指針作成はAAアミロイドーシスの分野でも検討が開始された。脳アミロイドーシスでは、既に市販されている薬剤が本アミロイドの沈着抑制作用があることが動物実験で確認され、ヒトへの応用が考えられる段階となった。その他のアミロイドーシスの分野でも発生機序、新たな治療法の試みなどで進歩が見られた。

## 分担研究者名

今井浩三 (札幌医科大学・教授)  
 東海林幹夫 (群馬大学医学部・講師)  
 下条文武 (新潟大学医学部・教授)  
 樋口京一 (信州大学医学部加齢適応研究センター・教授)  
 前田秀一郎 (山梨医科大学医学部・教授)  
 石原得博 (山口大学医学部・教授)  
 中里雅光 (宮崎医科大学医学部・講師)  
 安東由喜雄 (熊本大学医学部・講師)  
 山田正仁 (金沢大学医学部・教授)  
 葛原茂樹 (三重大学医学部・教授)  
 満屋裕明(熊本大学医学部・教授)  
 徳田隆彦 (信州大学医学部・助教授)  
 馬場 聡 (浜松医科大学医学部・助教授)  
 玉岡 晃 (筑波大学臨床医学系・助教授)  
 原 茂子 (虎の門病院分院腎センター・部長)  
 麻奥秀毅 (広島赤十字原爆病院・副部長)  
 河野道生 (山口大学医学部・教授)  
 吉崎和幸 (大阪大学健康体育部・教授)  
 内木宏延 (福井医科大学医学部・教授)  
 高杉 潔 (道後温泉病院リハビリセンター・理事長)

## A. 研究目的

種々なアミロイドーシスの発生機序を分子レベルから解明し、有効な治療法を確立することを目

的とする。具体的には、1) ALアミロイドーシス：早期診断法がなく、本症患者の確定診断後の余命は1,2年である。形質細胞異常症の細胞特性を明らかにし、有効な化学療法を早急に普及する必要がある。自己末梢血幹細胞移植(Auto-PBSCT)を併用したメルファラン大量静注療法は従来の化学療法に比してその有効性が際だっており、この化学療法を標準化して広める必要がある。2) AAアミロイドーシス：RA患者の致命的合併症として重要である。近年、RA患者を定期的に検査することにより本病型のアミロイドーシスを比較的早い段階で見出すことが可能となった。そこで本アミロイドーシスを合併した患者に対して、副腎皮質ステロイドホルモン・免疫抑制剤による薬物療法を行い、このアミロイドーシスの病態を緩解に導く。3) FAP：本邦では熊本県と長野県に世界で三番目の規模の患者集積地があり、またこれらとは血縁のない40数FAP家系が国内に存在する。FAPの根治療法としての肝移植が定着して来たが、患者全員が移植を受けられるわけではなく、また異常遺伝子キャリアーの発病を未然に防ぐ方法も必要である。このため薬物療法の開発は不可欠である。4) 透析アミロイドーシス：本邦では腎移植の件数が少なく、本アミロイドーシスを併発する患者は年々増加している。この数年間、透析膜の改良、薬物療法等が導入されているが、こうした治療法の有効性は判定されていない。5) 脳ア



ミロイドーシス：人口の急激な高齢化により Alzheimer 病に代表される脳アミロイドーシス患者は増加している。本アミロイドの沈着機序は分子レベルから相当開明され、疾患モデル動物(transgenic mice)も作成されている。そこでこうした *in vitro* または *in vivo* の系を用いて本アミロイドの産生を抑える薬物療法の開発が急務である。6) マウス老化アミロイドーシス：アミロイドーシス発症に関与する後天的因子を検索するのに有用である。

平成 14 年度は班員の所属する 6 施設を対称として、AL-アミロイドーシスに対する Auto-PBSCT を併用したメルファラン大量静注療法の適応基準を作成する。同様に AA-アミロイドーシス患者を副腎皮質ステロイドホルモン・免疫抑制剤により治療する際の血清マーカーを選択し、これらを指標とする薬物療法を複数設定する

## B. 研究方法

- 1) AL アミロイドーシス：アミロイド惹起性の免疫グロブリンを産生する骨髄腫細胞の細胞生物学特性を知るために、悪性度別に三群に分けた細胞の表面抗原をフローサイトメトリーを用いて検索した（河野）。本疾患の確定診断には生検組織の免疫組織化学的検討が不可欠であるが、AL アミロイドを特異的に認識する抗体は入手困難である。免疫グロブリンの可変領域に対する抗体を作成し、AL アミロイドをどの程度認識するかを検討した（石原）。欧米で行われている末梢血幹細胞移植を併用した強力な化学療法をわが国の患者に施行するためのプロトコール作成を行った（池田、麻奥、下条、今井、満屋）。
- 2) AA アミロイドーシス：AA アミロイドーシスを発症しやすいマウス系列に種々な蛋白から成るアミロイド線維を静脈投与してアミロイドーシス発症の有無、重症度を検索した。そして amyloid enhancing factor との関連を検討した（樋口）。RA 患者を対象に SAA1 遺伝子の genotyping と腹壁脂肪の吸引生検を定期的に行い、早期の本症患者を見出す検討を行った（池田）。ヒト肝細胞を用いて SAA1 遺伝子多型が SAA1 産生に及ぼす影響を、RT-PCR にて検討した（馬場）。RA 患者の膝関節、脊椎手術などの major surgery に際して血清中の CRP、SAA 値を経時的に測定した（高杉）。肝芽腫由来の HepG2 細胞を用いて、種々なサイトカイン刺激と SAA1 産生との関連を検索した（吉崎）分科会を組織して、AA アミロイドーシスに対する薬物療法の標準化の検討を開始した（吉崎、池田、今井、下条、高杉）。
- 3) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)：変異 TTR 産生を抑える目的で RNA/DNA キメラオリゴヌクレオチド、single-stranded oligonucleotides を作成して HepG2 細胞における変異 TTR 遺伝子の発現様式を検討した（安東）。非定型的な臨床像を呈する家族性アミロイドーシス患者の TTR 遺伝子の解析を実施した（中里）。FAP 患者の腎病変を生検と剖検組織を用いて検索し、特にアミロイド沈着程度を画像解析にて定量化した。また生検例では本所見と生体肝移植後の経過を対比した（池田）。
- 4) 透析アミロイドーシス： *In vitro* で  $\beta 2$  microglobulin 由来のアミロイド線維にヘパリンなどのプロテオグリカンを投与して線維の伸長性をチオフラビン法、電子顕微鏡的観察の二法で検討した（内木）。メガリンは  $\beta 2$  microglobulin の受容体である。これを利用してメガリン発現細胞をマウスに移植して、腹腔内へ投与した  $\beta 2$  microglobulin の血中濃度の推移を検討した（下条）。多数の患者を対象に、透析アミロイドーシスの病勢の指標として血中のマトリックスメタプロテアーゼ値が有用であるかどうかを検討した（原）。
- 5) 脳アミロイドーシス：高齢者多数の剖検所見を基に、脳アミロイドの沈着程度と臨床症状との関連を retrospective analysis を行った。また *in vitro* でニコチンが  $A\beta$  分子種の線維形成に対する影響を検索した（山田）。慢性脳虚血を持つラット脳内の  $A\beta$  分子種を ELISA 法で測定した。Pravastatin を高脂血症の治療薬として服用しているヒトを対象にして血漿中の  $A\beta$  分子種濃度を測定した（玉岡）。脳アミロイドーシスを発生する複数の transgenic マウスモデルを作成して、メラトニン投与によるアミロイド沈着抑制効果を病理所見、臨床症状の両面で検討した。メラトニン自体は入眠導入剤として欧

米では通常のドラッグストアで購入することが可能である（東海林）。紀伊半島出身の ALS/PDC 患者の脳実質および髄液中の A $\beta$  分子種濃度を ELISA 法で測定した（葛原）。

- 6) その他のアミロイドーシス:アミロイドP成分欠損マウスの血中の抗核抗体の測定、腎糸球体病変を検索して自己免疫疾患の有無を検討した（前田）。非定型的な皮膚アミロイドーシス病変を有する患者の生検皮膚組織を免疫組織化学的に検索した（安東）。

#### （倫理面への配慮）

本研究の対象となる患者に対しては研究の主旨を十分説明し（インフォームドコンセントを行う）、その後同意が得られた患者のみに適応外の薬剤投与を行う。知的障害を伴う Alzheimer 病患者の人権に配慮して、患者とともに配偶者、家族にも十分説明し、種々な検査時には書面で確認をとる。さらに特殊な療法を行う際にはそれぞれの属する施設の倫理委員会の承認を前提とする。動物実験の場合は各施設の動物実験委員会の許可を得て行う。

### C. 研究結果

- 1) AL アミロイドーシス：河野はアミロイドーシスを合併したヒト骨髄腫細胞を悪性度により三群に分け、細胞表面抗原を検索して治療マーカーを検索した。この中で CD45+細胞は IL-6 の刺激に対して最も増殖反応を示したことより、治療へ strategy がありうると考察された。原は AL アミロイドーシス患者の腎病変が糸球体を主に障害する型とその他に分類でき、後者は比較的予後がよいことを明らかにした。徳田は微量生検組織からアミロイド線維を抽出し、そのアミノ酸配列を解析することで非常に稀な L 鎖可変領域が主成分の AL アミロイドーシス患者の存在を明らかにした。石原は L 鎖可変領域に対する抗体を作成して、AL アミロイドの免疫組織化学的反応性を検討し、約 40% の例が陽性反応を示すことを確認した。今井はアミロイド惹起性の L 鎖を産生する骨髄腫細胞を標的としたアンチセンス DNA 療法を引き続き検討している。満屋は本疾患の治療法として血

管新生抑制療法、小胞体ストレス誘導療法の可能性を検索した。麻奥は心障害が目立つ AL アミロイドーシス患者を Auto-PBSCT を併用した大量の化学療法で治療し、その問題点として治療前の心障害の重症度が critical point であることを示した。池田は分科会を組織して、本症患者に対する自己末梢血幹細胞移植を併用したメルファラン大量静注療法の適応基準、化学療法の実施要項を作成し、班員の所属する 5 施設で 3 年間に 50 名を目標として本化学療法を行うこととした。

- 2) AA アミロイドーシス：樋口はマウスモデルを用いて amyloid enhancing factors (AEF) の解析を行い、種々な蛋白から成るアミロイド線維自体に本活性作用があることを明らかにした。馬場は肝細胞を用いて SAA1 遺伝子多型が SAA1 産生に及ぼす影響を検討したが、本遺伝子多型は SAA1 産生には影響がなかった。高杉は RA 患者の major surgery において CRP、SAA が術直後に相当な高値を示し、この SAA の変動がアミロイド沈着の促進因子となる可能性を指摘した。吉崎は肝芽腫由来の HepG2 細胞を用いて、種々なサイトカイン刺激と SAA1 産生との関連を検索し、IL-6 の抑制が SAA1 産生抑制に最も有効であること、NF $\kappa$ B と NFIL-6 に共同活性作用があることを確認した。また吉崎は分科会を組織して、本アミロイドーシスに対する薬物療法の標準化の検討を開始した。池田は RA 患者に合併する本アミロイドーシスの早期診断法として、腹壁脂肪吸引生検と SAA genotyping を組み合わせることの有用性を報告した。
- 3) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)：安東は FAP に対する遺伝子治療の開発を目的として基礎的研究を続けており、従来の RNA/DNA キメラオリゴヌクレオチドを用いるより single-stranded oligonucleotides も使用する方がより効率的であることを報告した。また三価クロムイオンが本疾患のアミロイド形成を抑制する可能性を指摘した。中里は TTR 遺伝子 Asp18Gly 変異を持ち症状を主体とする宮城県の家系を報告した。池田は FAP 患者の腎病変を生検と剖検所見を基に定量的に解析

- し、生検所見で得られた腎病変の程度と生体肝移植後の予後がよく相関することを報告した。
- 4) 透析アミロイドーシス: 内木は透析治療にも用いられるヘパリンなどのプロテオグリカンが $\beta 2$  microglobulin由来のアミロイド線維の安定性と伸長に寄与していることを報告した。下条はメガリン発現細胞をマウスに移植することで $\beta 2$  microglobulinの代謝が促進されることを見出し、この細胞移植療法は長期透析患者において本アミロイドーシスの併発予防法に成りうることを提唱した。原は昨年度に引き続いて患者数を増やして、透析アミロイドーシスの重症度の指標として血中のマトリックスメタプロテアーゼ値が有用であることを報告した。
- 5) 脳アミロイドーシス: 山田は高齢者多数の剖検所見を基に、脳血管アミロイドが高度な例では軽度の頭部外傷が大出血を誘発する、微小出血・梗塞を高頻度に伴っていることを報告した。またニコチンは $A\beta$ アミロイドの沈着阻止作用がある可能性を示し、Alzheimer病発生と喫煙との因果関係を裏付ける可能性のある結果を提示した。玉岡はラットモデルを用いて、慢性脳虚血が脳内の $A\beta$ 分子種を有意に増加させること、高脂血症の治療薬であるpravastatinの通常量の服薬ではヒト血漿中の $A\beta$ 分子種濃度に影響を与えないことを明らかにした。東海林は脳アミロイド沈着を発生する複数のtransgenicマウスを作成して、メラトニン投与によるアミロイド沈着抑制効果を検討をした。その結果、脳の病理所見、臨床症状の両面で本剤の有効性を見出した。葛原は紀伊半島特有のALS/PDC患者の脳実質および髄液中の $A\beta$ 分子種濃度を測定して、これらは対照者と変わらないことを報告した。本疾患はtau陽性のneurofibrillary degenerationが脳内に広範囲に出現するが、 $A\beta$ 陽性のアミロイド沈着が起らないことが病理組織学的特徴とされており、上記の結果は従来病理学的概念に一致する。
- 6) その他のアミロイドーシス: 前田はアミロイドP成分欠損マウスでは自己免疫疾患を引き起さず、アミロイド研究に使えることを確認した。安東はSAAがアミロイド苔癬形成に関与したと考えられる一例を報告した。

## D. 考察

今年度はアミロイドーシスの治療の面で進歩が見られた。ALアミロイドーシスに対するAuto-PBSCTを併用した大量化学療法は本邦では昨年開始されたばかりで、その適応基準は明確にされていない。今年度研究班内で標準的プロトコールが作成され、これを基に本治療法が国内で広まることが期待される。同様に標準化した薬物療法がAAアミロイドーシスについても研究班内で検討が始まっており、来年度にはその具体的治療指針が公表されることが期待される。FAPについても肝移植以外の治療法が模索され出した。またAlzheimer病に代表される脳アミロイドーシスではメラトニンが本病変の発病抑制に有用性がある可能性が詳細な動物実験から指摘された。メラトニン自体は入眠導入剤であり、欧米のドラッグストアで市販されている。本薬剤は大きな副作用もないことから、今後ヒトを対象とした臨床試験へ進むことが十分期待される。アミロイドーシスの分子発生機序については種々な病型で*in vitro*における検索が開始されているが、結論を得るにはまだ時間が必要である。

## E. 結論

1) アミロイドーシスの発生機序についてはAL,AAアミロイドーシスを中心に進歩が見られた。2) AL-アミロイドーシスではPBSCTを併用した大量の化学療法が実施に移され、また本療法の標準的プロトコールが作成されたことで多施設でも施行可能となった。3) 脳アミロイドーシスの治療では既に市販されている薬物が利用可能であることが動物実験から裏付けられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

分担研究報告参照。

## 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