

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)

アミロイドーシスの画期的診断・治療法に関する研究班 分担研究報告書

AL アミロイドーシスモデルマウス作成と、BJP 吸着療法の試み

分担研究者 満屋裕明 熊本大学医学部附属病院血液内科

共同研究者 畑裕之、奥野豊、*西和彦、*伊藤徳治、*原田俊和
熊本大学医学部附属病院血液内科、*同血液浄化部

研究要旨 AL アミロイドーシス患者骨髄より純化した形質細胞を用い、BJP をコードする遺伝子をクローニングし、マウス非分泌型形質細胞に導入、患者 BJP の産生系を確立した。この細胞をマウスに移植し、*in vivo* での BJP の産生を認めたが、アミロイドの沈着には至っていない。一方、症例においては、BJP を吸着可能と思われる透析膜 (東レメディカル社製 BK-F, BG-U) を用い、BJP 吸着療法を試みた。透析膜には約 50mg の BJP の吸着を認め、血清中の BJP 濃度は低下したが、効果は一過性であった。腎機能が保たれ、自尿を認める例では、尿中に大量の BJP の排泄を認め、吸着の意義は低い、腎機能廃絶例では吸着によりアミロイドーシスの進行抑制効果があったと推定された。

A. 研究目的

BJP のアミロイド変性機序および治療法開発のためのモデルマウスを作成する。一方、AL アミロイドーシス症例において、BJP を体外吸着させ、血中 BJP 濃度を減少させることで病状の進展を遅らせることの可能性を検討する。

B. 研究方法

(1)AL アミロイドーシス患者 2 名の骨髄より形質細胞を純化し、免疫グロブリン軽鎖 cDNA をクローニングし、発現ベクターに組み込んだ。これをマウス非分泌型形質細胞株に導入、Balb/c マウスに移植し、アミロイドの沈着を検討した。マウス血清中のヒト BJP 産生を FREELITE (Binding-Site 社製造、(株) 医学生物学研究所販売) により測定した。末梢血幹細胞移植後透析となっている症例 1 名、メルファラン大量療法拒否症例 1 名において、本大学倫理委員会の承認を得、東レ製 PMMA 膜 (BK-F, BG-U) を用い、BJP 吸着を行った。吸着後、膜を 40% 酢酸で処理し、溶出液中の BJP 量、血清中の BJP 量を FreeLite 法にて測定した。

(2)倫理面への配慮

骨髄穿刺については患者より同意を得て行った。また BJP 吸着療法は、当院倫理委員会の許可

を得て行い、問題はないと考える。

C. 研究結果

アミロイドーシス症例より得られた cDNA は、*in vitro*, *in vivo* 両条件で目的とする BJP を産生することが確認された (図 1) しかし、現在までのところアミロイドの沈着は証明されていない (図 2)。現在 C3H/e マウスにカゼインとともに Recombinant BJP を注射し、アミロイド沈着の誘導を検討中である。症例においては、2 名ともに東レ製 PMMA 膜を用いると、約 50mg の BJP が吸着することが確認された。吸着前後で、血清 BJP 量の低下が認められたが (透析例では 100mg/L、吸着例では 10-20 mg/L)、数日で、再上昇した (図 3)。吸着例では、神経症状の著明な改善が見られ、透析例では安定した透析が維持でき、QOL の改善が見られている。非透析患者尿中 BJP は 600mg/L 以上であり、吸着量に比して大量であった。

D. 考察

AL アミロイドーシス患者由来 BJP をマウスに投与しアミロイドーシスが惹起したとの報告が、1 報のみ報告されている。われわれは患者由来 BJP をマウス体内で産生させることには成功し

たが、アミロイドの誘発には至っていない。炎症や加齢、高脂血症などの副次的要因などが原因と思われる。今後、BJP をコードした遺伝子のトランスジェニックマウスを作成しさらに検討を重ねる予定である。また、in vitro で BJP をアミロイド変性を試みる予定である。

次に、症例を用いて吸着療法を試みた。継続的な BJP 濃度の低下を期待したが、BJP の減少は一過性であった。非透析例では、尿中 BJP 濃度は 600mg/L 以上であり、おそらく 6-10g/日の BJP が尿中に排出されていると考えられる。一方、吸着量は 60mg 程度にすぎず、吸着療法の意義は低いと思われた。しかし、透析例では自尿がなく、しかも透析液中の BJP は検出されないため、吸着の意義はあると考えられる。透析例でも、血清 BJP 濃度は透析後数日で前値に復したが、増加は認めていない。このことから、吸着療法により血清中の BJP 濃度が低下し、その結果組織に存在する BJP の一部が血液中に溶出した可能性も考えられる。これまで本疾患において BJP の kinetics が論じられた機会はなく、本研究はその意味で貴重である。

E. 結論

患者 cDNA より recombinant BJP を得たが、in vivo でのアミロイド変性は確認できなかった。PMMA 膜での BJP 吸着を確認し、透析例では、吸着療法が AL アミロイドーシス進行を遅らせ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

1) Nakamura M, Gotoh T, Okuno Y, Tatetsu H,

Sonoki, T Uneda S, Mori M, Mitsuya H, Hata H. Activation of the endoplasmic reticulum stress pathway is associated with survival of myeloma cells. *Leukemia and Lymphoma* 47: 531-539, 2006

2) Hata H. Bone lesions and macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1a) in human multiple myeloma. *Leukemia & Lymphoma*. 46: 967-972, 2005

3) Tatetsu H., Okuno Y., Nakamura M., Matsuno F., Sonoki T., Taniguchi I., Uneda S., Umezawa K., Mitsuya H., Hata H.

Dehydroxymethylepoxyquinomicin, a novel nuclear factor-KB inhibitor, induces apoptosis in multiple myeloma cells in an IKBA-independent manner. *Mol Cancer Ther* 4:1114-1120, 2005

2. 学会発表

1)中村美紀、呂杰、江角浩安、満屋裕明、畑裕之
キガマイシンによる骨髄腫細胞へのネクローシス誘導。第68回日本血液学会・第48回日本臨床血液学会合同総会、2006年10月、福岡

2) 畑裕之、麻生範雄、中村美紀、上野志貴子、立津央、奥野豊、満屋裕明
多剤抵抗性骨髄腫に対する BLTD 療法と MPT 療法。第68回日本血液学会・第48回日本臨床血液学会合同総会、2006年10月、福岡

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

本研究は、株式会社医学生物学研究所、新井次郎氏、東レ・メディカル株式会社、押原渉氏のご協力を得て行った。

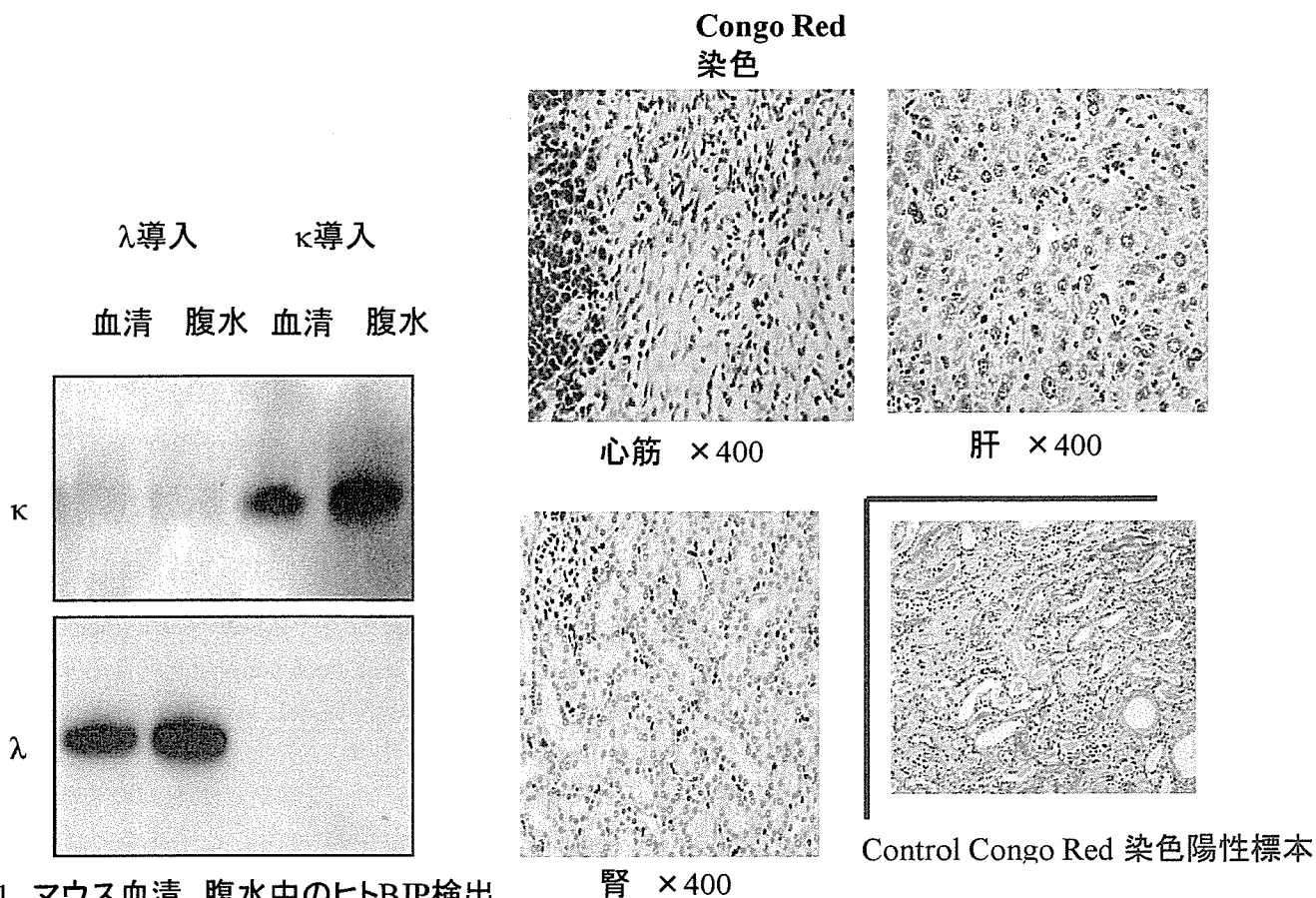


図1 マウス血清、腹水中のヒトBJP検出
Western blot

図2 Igλ産生形質細胞を移植、
約1ヶ月後に死亡したマウスの病理組織

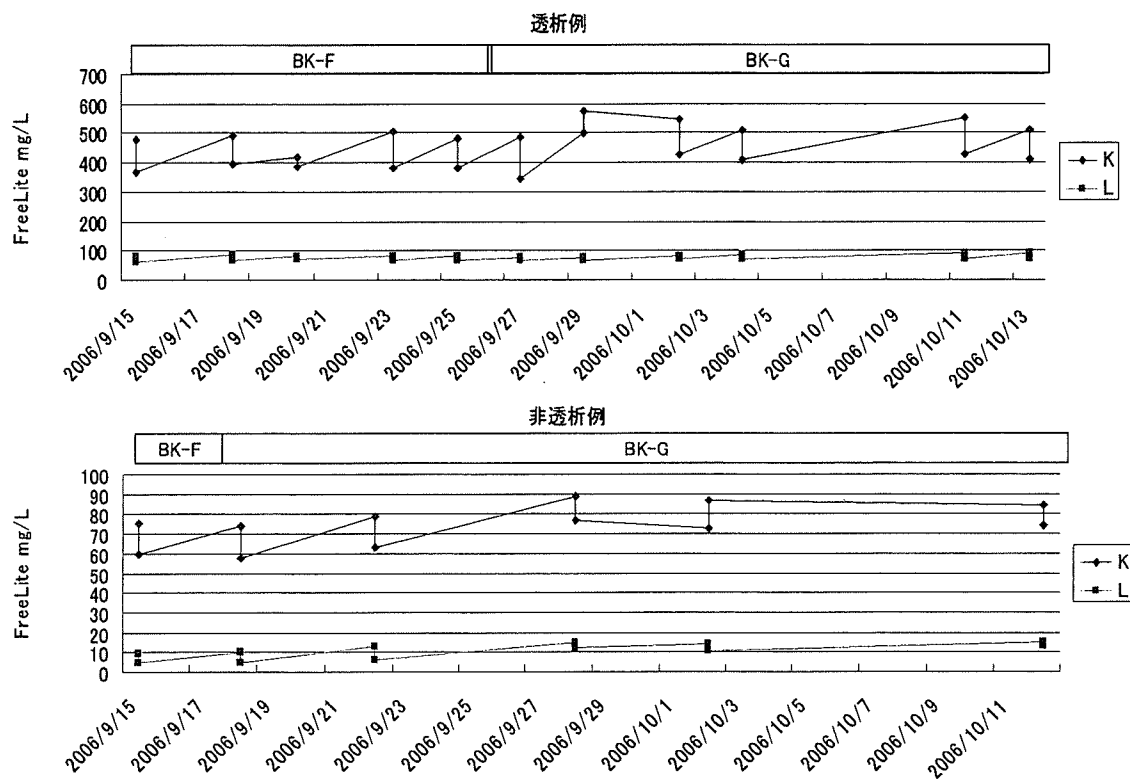


図3 血清BJP濃度の推移

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドーシスの画期的診断・治療法に関する研究 分担研究報告書

原発性全身性 AL アミロイドーシスにおける 化学療法の血液学的治療効果予測

分担研究者 松田正之 信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科
 共同研究者 五野貴久*、下島恭弘*、吉田拓弘*、加藤修明*、小池健一**、中沢洋三**、
 下平滋隆***、山田俊幸****、池田修一*
 *信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科、**同小児科
 同輸血部、*自治医科大学臨床検査

研究要旨 原発性 AL アミロイドーシスにおける化学療法の血液学的治療効果に影響を及ぼす因子について検討した。対象は VAD 療法 (vincristine, doxorubicin, dexamethasone) 21 名、M-dex 療法 (melphalan, dexamethasone) 6 名。VAD 療法を 2 クール行った者のうち、13 名では high-dose melphalan + 自己末梢血幹細胞移植 (auto-PBSCT) を併せて行った。治療前後 3 か月以内に血清を採取し、free light chain (FLC) の κ/λ 比を血液学的治療効果の指標とした。FLC κ/λ 比が正常化する割合は、VAD+high-dose melphalan+auto-PBSCT、VAD (2 クール)、M-dex (2 クール) の順に高く、正常化したものの予後は良好であった。治療前の骨髄内形質細胞に未分化型 (immature type) が少ないこととアミロイド原性 FLC/creatinine 比が小さいこととが化学療法後の FLC κ/λ 比の正常化に関係している可能性があると考えられた。

A. 研究目的

原発性 AL アミロイドーシスでは M 蛋白の産生を抑える目的で化学療法が広く行われている。中でも最も有効性が高いのが high-dose melphalan + 自己末梢血幹細胞移植 (auto-PBSCT) であるが、臓器障害の進行した患者では治療関連死が多く危険性が高い。我々は患者の状態に応じて治療プロトコルを決定する当科独自のフローチャートに従い 2001 年から化学療法を行っており、血液学的治療効果に影響を及ぼす因子について検討した。

B. 研究方法

対象は VAD 療法 (vincristine, doxorubicin, dexamethasone) 21 名、M-dex 療法 (melphalan, dexamethasone) 6 名。VAD 療法を行った者のうち、13 名では high-dose melphalan + auto-PBSCT を併せて行った。治療前後で血清中 free light chain (FLC) κ/λ 比を測定し、血液学的治療効果の指標とした (図 1、矢印)。VAD 単独療法と M-dex 療

法は、深刻な有害事象がない限りは原則的に血中・尿中 M 蛋白が陰性化するまで繰り返し施行したが、血液学的治療効果の判定は 2 クール終了時に行った (図 1)。治療前の骨髄中における形質細胞の数と分化度、アミロイド原性 FLC/creatinine 比、免疫固定法での血中と尿中における M 蛋白の有無と、FLC κ/λ 比の正常化との関連について統計学的に検討した。

(倫理面への配慮)

書面を用いて治療方法・予想される有害事象等について患者に説明し、了解を得た。

C. 研究結果

VAD (2 クール) + high-dose melphalan + auto-PBSCT、VAD 療法 (2 クール後)、M-dex 療法 (2 クール後) のいずれの治療でもアミロイド原性 FLC/creatinine 比は有意に低下していた (図 2)。VAD (2 クール) + high-dose melphalan + auto-PBSCT を行った 13 名中、治療後に FLC κ/λ 比が正常化した者は 11 名 (84.6%) で、その全員

が長期間生存中である (図 3)。FLC κ/λ 比正常化群では非正常化群と比較して骨髄中の未成熟型形質細胞 (MPC-1-CD45+) と治療前のアミロイド原性 FLC/creatinine 比が有意に低値であった ($P<0.05$)。VAD 療法 (2クール後) を行った 21 名中では 13 名で FLC κ/λ 比が正常化した (61.9%)。FLC κ/λ 比正常化群と非正常化群との比較では有意差のある指標はなかった。M-dex 療法 (2クール後) を行った 6 名中では 3 名で FLC κ/λ 比が正常化した (50.0%)。FLC κ/λ 比正常化群では非正常化群と比較して治療前のアミロイド原性 FLC/creatinine 比が有意に低値であった ($P<0.05$)。治療前の骨髄中形質細胞の量と血中・尿中の M 蛋白の有無 (免疫固定法による) については、いずれの治療群においても FLC κ/λ 比正常化群と非正常化群との間に有意差は見られなかった。なお、Logistic regression test を用いた多因子解析では、いずれの治療群でも FLC κ/λ 比の正常化と有意な関連を有する因子はなかった。

D. 考察

従来から M 蛋白の検出に用いられている免疫電気泳動法や免疫固定法と比較して、血清 FLC は、感度が鋭敏で、かつ容易に定量化できる点で優れている。FLC の半減期は 2~6 時間と短く、多発性骨髄腫や原発性全身性 AL アミロイドーシスの診断や化学療法の迅速な効果判定に有用性が高いことが近年報告されている。血清 FLC は腎臓から排出されるため、腎機能の影響を除外する目的で κ/λ 比やアミロイド原性 FLC/creatinine (あるいは cistatin C) 比が用いられることが多い。今回、我々は化学療法の治療効果判定に FLC κ/λ 比を用いた。治療後に FLC κ/λ 比が正常化する割合は VAD (2クール) + high-dose melphalan + auto-PBSCT、VAD 療法 (2クール後)、M-dex 療法 (2クール後) の順に高く、正常化群では予後は良好であった。

治療後の FLC κ/λ 比正常化を予測させる因子の検討では、骨髄内形質細胞における未成熟型の割合と治療前のアミロイド原性 FLC/creatinine 比がそれぞれ低いことが重要である可能性が考えられた。アミロイド原性 FLC/creatinine 比は中間型形質細胞 (MPC-1+CD45-CD49e-) の割合と相

関することを我々は以前に報告したが、今回の検討では同形質細胞に FLC κ/λ 比の正常化群と非正常化群との間で有意な差は見られなかった。多発性骨髄腫では未成熟型形質細胞優位が予後不良因子の一つであることが報告されており、原発性全身性 AL アミロイドーシスにおいても本細胞が化学療法に対する治療抵抗性に関与している可能性があると考えられた。

E. 結論

血清中 FLC κ/λ 比の正常化で原発性 AL アミロイドーシスに対する血液学的治療効果を評価すると、VAD (2クール) + high-dose melphalan + auto-PBSCT、VAD 療法 (2クール)、M-dex 療法 (2クール) の順に有効性が高かった。FLC κ/λ 比正常化群の予後は良好で、治療前の各種指標の中では骨髄中の未成熟型形質細胞の割合とアミロイド原性 FLC/creatinine 比の低値が良好な血液学的治療反応性を予測させる因子として有用である可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshida T, Yazaki M, Gono T, Tazawa K, Morita H, Matsuda M, Funakoshi K, Yuki N, Ikeda S. Severe cranial nerve involvement in a patient with monoclonal anti-MAG/SGPG IgM antibody and localized hard palate amyloidosis. *J Neurol Sci* 244: 167-171, 2006
- 2) Gono T, Yazaki M, Fushimi T, Suzuki T, Uehara T, Sano K, Kametani F, Ito N, Matsushita M, Nakamura S, Hoshii Y, Matsuda M, Ikeda S. AH amyloidosis associated with lymphoplasmacytic lymphoma secreting a monoclonal κ heavy chain carrying an unusual truncated D segment. *Am J Kid Dis* 47: 908-914, 2006.
- 3) Shimojima Y, Takei Y, Tazawa K, Gono T, Fushimi T, Matsuda M, Hoshii Y, Ikeda S. Histopathological regression of systemic AA amyloidosis after surgical treatment of a localized

Castleman's disease. *Amyloid* 13: 184-186, 2006

- 4) Matsuda M, Nakamura A, Tsuchiya S, Yoshida T, Horie S, Ikeda S. Coexistence of familial Mediterranean fever and Behçet's disease in a Japanese patient. *Intern Med* 45: 799-800, 2006

2. 学会発表

- 1) 五野貴久、吉田拓弘、田澤浩一、下島恭弘、石井亘、伏見智久、矢崎正英、松田正之、星井嘉信、池田修一：AH アミロイドーシスにおける臨床像およびAL アミロイドーシスとの相違についての検討。第103回日本内科学会総会（横浜）、2006. 4. 16
- 2) 五野貴久、下島恭弘、石井亘、吉田拓弘、田澤浩一、加藤修明、松田正之、池田修一：原発性全身性AL アミロイドーシスにおける末梢神経障害についての臨床生理学的検討。第47回日本神経学会総会（東京）、2006. 5. 13
- 3) 安出卓司、土屋彩子、高梨哲生、五野貴久、松田正之、池田修一：難治性皮膚潰瘍にメトトレキサート（MTX）が奏効した皮膚型結節性多発動脈炎の1例。第119回日本内科学会信越地方会（松本）、2006. 10. 21
- 4) 高梨哲生、田中秀典、土屋彩子、福島和広、松田正之、池田修一：ステロイド療法と抗

TNF 療法で慢性腎不全の進行を遅らせることができたAA アミロイドーシスの1例。第119回日本内科学会信越地方会（松本）、2006. 10. 21

- 5) Matsuda M, Yamada T, Gono T, Shimojima Y, Ishii W, Fushimi T, Sakashita K, Koike K, Ikeda S. Serum levels of free light chain before and after chemotherapy in primary systemic AL amyloidosis. 11th International Symposium on Amyloidosis (Woods Hole, USA), 2006. 11. 5
- 6) 吉田拓弘、松田正之、土屋彩子、下島恭弘、五野貴久、中村明則、池田修一、堀江史朗：家族性地中海熱と Behçet 病が並存する若年成人例。第18回中部リウマチ学会（津）、2006. 9. 2

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. 治療プロトコール

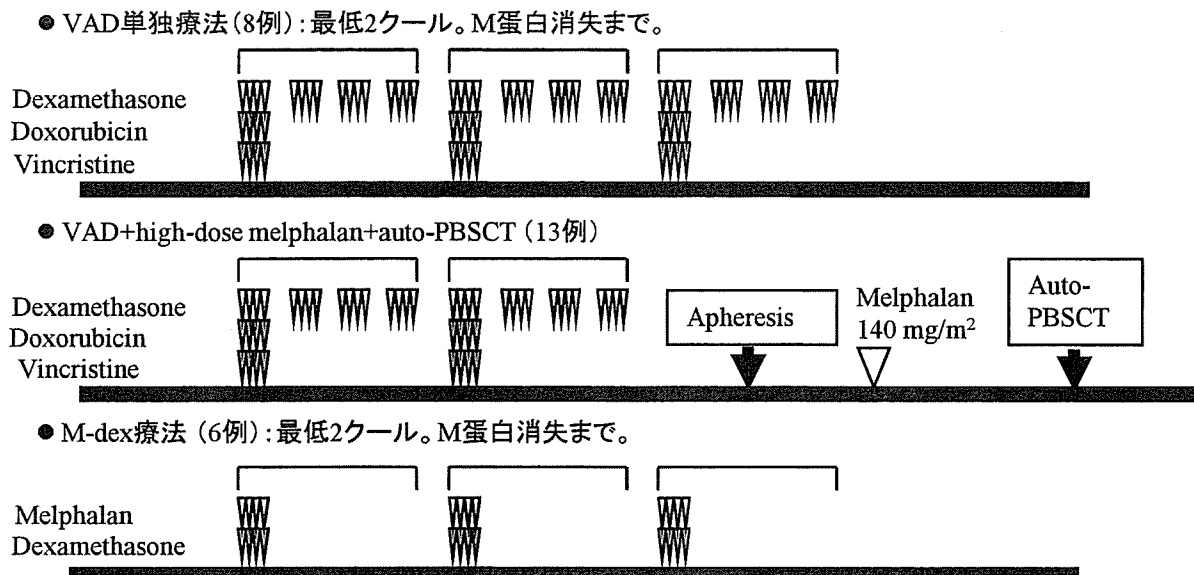


図2. 治療前後のamyloidogenic FLC/creatinine ratioとFLC κ/λ ratio

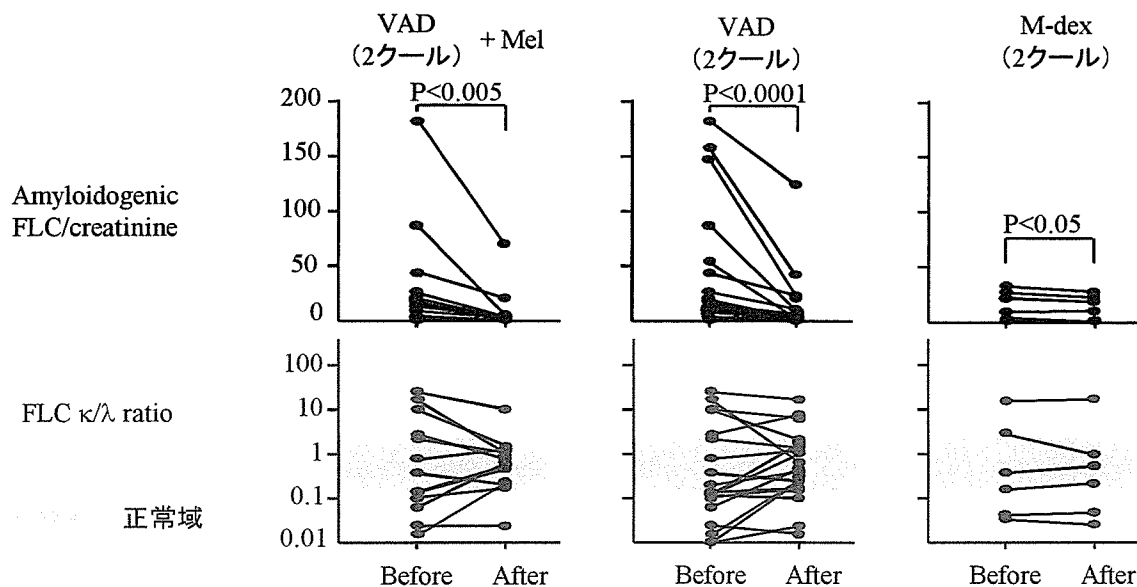
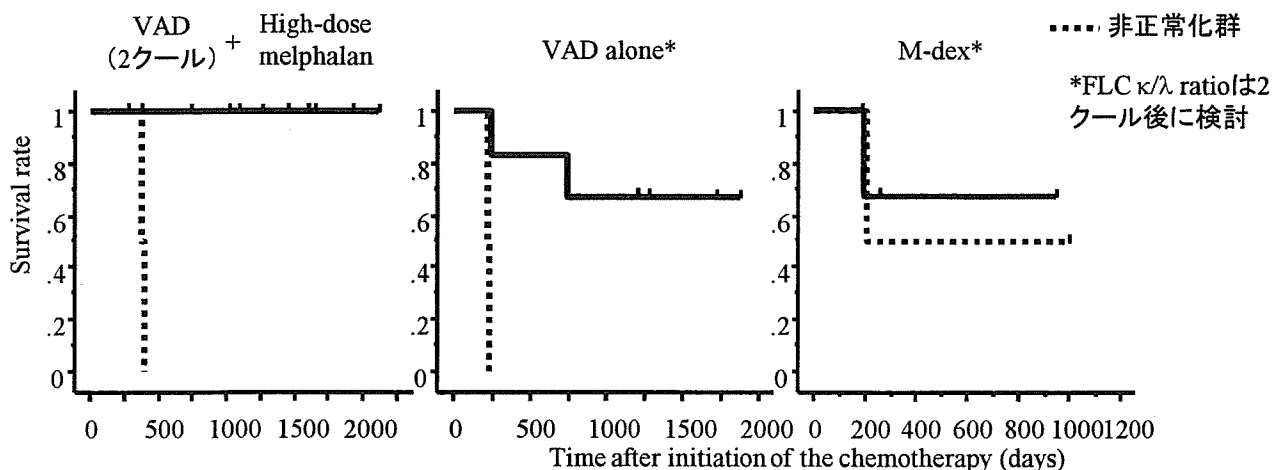


図3. 治療別の生存曲線 (Kaplan-Meier's method)



厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)

アミロイドーシスの画期的診断・治療法に関する研究班 分担研究報告書

網膜光凝固術による家族性アミロイドポリニューロパチーの 眼症状進行抑制の可能性

分担研究者 安東由喜雄 熊本大学大学院医学薬学研究部 病態情報解析学

共同研究者 川路隆博*、安東えい子*、谷原秀信*

*熊本大学大学院医学薬学研究部 視機能病態学

研究要旨 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) においては、原因蛋白であるトランスサイレチン (TTR) が肝臓だけでなく、眼においても独自に網膜色素上皮 (RPE) から産生されているため、肝移植後も眼症状の発症および進行は続く。今回、網膜光凝固術 (RPEも凝固される) を肝移植後のFAP患者2名の片眼に施行し、眼症状進行の抑制効果について検討した。1例では網膜光凝固術施行眼において、硝子体混濁進行の抑制を認め、もう1例では緑内障手術効果の延長の可能性を認めた。今回のパイロットスタディにおいて、肝移植後のFAP患者に対する網膜光凝固術は、眼症状の進行抑制に有用である可能性が示唆され、今後症例数を増やしていき、さらなる検討を重ねていく必要がある。

A. 研究目的

家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) においては、原因蛋白であるトランスサイレチン (TTR) が肝臓より産生されるため、肝移植が全身症状に対する有効な治療法となっている。しかし、眼においては独自に網膜色素上皮 (RPE) などから TTR が産生されるため、肝移植後も眼症状の発症および進行は続き、**quality of life** に対する大きな脅威となっている。これまでの治療法は対症療法、または硝子体混濁や緑内障に対する手術治療が主体であったが、難治な症例も少なくない。今回、予防治療の観点から、すでに眼科領域では糖尿病網膜症などに対し広く臨床利用されている網膜光凝固術 (RPE も凝固される) を FAP 患者に施行し、眼症状進行の抑制効果について検討した。

B. 研究方法

1. 対象

肝移植後で眼症状を呈している FAP 患者 2 例 (64 歳男性および 41 歳女性)

2. 方法

FAP 患者の片眼に対し、型通りの汎網膜光凝

固術を施行した。光凝固術により血液—眼関門が破綻し、修復されるまでの数ヶ月間、肝移植前であれば異型 TTR を含む血液中成分が大量に眼内へ流入することが予想されるため、対象は肝移植後の症例のみとした。網膜光凝固術の施行眼および非施行眼における眼症状の進行の違いについて検討した。

(倫理面への配慮)

熊本大学倫理委員会承認の上、患者には十分なインフォームドコンセントを行い、同意を得た上で今回の治療を施行した。

C. 研究結果

<症例1>54歳で末梢神経障害よりFAP発症し (Val30Met)、58歳に肝移植施行。60歳頃より左眼に硝子体混濁出現、61歳頃より右眼にも硝子体混濁出現し、緩やかに進行していた。平成17年4~6月 (63歳時) に右眼に汎網膜光凝固術を施行した。眼底写真を用いて、同程度の硝子体混濁の時期から24ヶ月後の写真を比較したところ(右眼: H.17.2.月~H.19.2.月、左眼: H.16.1.月~H.18.1.月)、光凝固術施行眼では明らかに硝子体混濁の進行が抑制されていた。

<症例2>32歳で硝子体混濁よりFAP発症し(Tyr114Cys)、34歳に左眼硝子体手術、同年に肝移植施行。35歳に右眼硝子体手術、39歳に左眼緑内障手術施行。平成17年4~6月(40歳時)に左眼に汎光凝固術を施行した。41歳に右眼緑内障手術施行。長期経過を追っているFAP患者の緑内障手術成績を見ると、高率に3年以内に再手術を要しており、特にTyr114Cysでは不良である。左眼は術後3年になるが、現在も眼圧はコントロールされている。しかし、網膜光凝固術を非施行の右眼は、術後1年で眼圧コントロール不良となり、再手術となった。

D. 考察

今回はわずか2例の検討ではあるが、網膜光凝固術の施行により、症例1では硝子体混濁の進行が著明に抑制され、症例2では緑内障手術効果の延長の可能性を認めた。

FAPにおいては、一旦眼症状を発症するとほとんどの症例において硝子体混濁、緑内障と進行していき、特に失明に至りうる緑内障は難治であるため、新たな治療法の開発が急務である。そこで、網膜光凝固術によりRPEを凝固することにより、RPEから産生される異型TTRの減少および症状進行の抑制を期待して、今回の検討を行った。少数例ではあるが、今回のパイロットスタディの抑制効果は予想以上であり、光凝固術による可能なRPEの凝固範囲は3割程度であることを考えると、RPE細胞の減少によるTTR産生量の低下だけでなく、光凝固による何らかの眼内環境の変化がアミロイド形成に影響を与えている可能性も考えられる。

今回の治療法は肝移植後の患者にしか行えない、という問題はあるが、眼症状の進行抑制に関して今後期待できる治療法になる大きな可能性を秘めていると思われる。

E. 結論

肝移植後のFAP患者に対する光凝固術は、眼症状の進行抑制に有用である可能性が示唆され、今後症例数を増やしていき、さらなる検討を重ねていく必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sun X, Ueda M, Yamashita T, Nakamura M, Bergström, ZEledon-Ramirez ME, Okajima M, Misumi S, Shoji S, Moyomiya Y, and Ando Y. Lipid droplets are present in amyloid deposits in familial amyloidotic polyneuropathy and dialysis related amyloidosis. *Amyloid* 13: 20-23, 2006
2. Rimessi P, Spitali P, Ando Y, Mazzaferro V, Pastorelli F, Tassinari CA, Calzolari E, Salvi F, and Ferlini A. Transthyretin RNA profiling in livers from transplanted patients affected with familial amyloidotic polyneuropathy and identification of a dual transcription start point. *Liver Int*, 26:211-220, 2006
3. Sato T, Ando Y, Susuki S, Mikami F, Ikemizu S, Nakamura M, Suhr O, Anraku M, Kai T, Suico MA, Shuto T, Yamagata Y, and Kai F. Chromium (III) ion and thyroxine cooperate to stabilize the transthyretin tetramer and suppress in vitro amyloid fibril formation. *FEBS lett*, 580:491-496.2006
4. Zeledon RME, Ando Y, Asonuma K, Nakamura M, Sun X, Ueda M, Fujii J, and Inomata Y. Effect of tacrolimus and partial hepatectomy on transthyretin (TTR) metabolism in rats: the double-edged sword effect of the liver. *Transplant Int*, 19:233-238, 2006.
5. Wakita M, Kawaji T, Ando E, Koga T, Inatani M, Tanihara H, Ando Y. Ocular decompression retinopathy following trabeculectomy with mitomycin C associated with familial amyloidotic polyneuropathy. *Br J Ophthalmol* 90; 515-516, 2006
6. Ueda M, Ando Y, Haraoka K, Katsuragi S, Terasaki Y, Sugimoto M, Sun X, and Uchino M. Aging and transthyretin-related amyloidosis: pathologic examinations in pulmonary Amyloidosis. *Amyloid* 13: 24-30, 2006
7. Sakashita N, Ando Y, Haraoka K, Terazaki H, Yamashita T, Nakamura M, and Takeya M. Severe congestive heart failure with cardiac liver cirrhosis 10 years after orthotopic liver transplantation for familial

- amyloidotic polyneuropathy. *Pathol Int* .56:408-412, 2006.
8. Bergström J, Ueda M, Une Y, Sun X, Misumi S, Shoji S, and Ando Y. Analysis of amyloid fibrils in the Cheetah (*Acinonyx jubatus*). *Amyloid* 13:93-98, 2006
8. Bergström J, Engström U, Yamashita T, Ando Y, Westermark P. Surface exposed epitopes and structural heterogeneity of in vivo formed transthyretin amyloid fibrils. *Biochem Biophys Res Commun* 348: 532-539, 2006
9. Goto T, Yamashita T, Ueda M, Ohshima S, Yoneyama K, Nakamura M, Nanjo H, Asonuma K, Inomata Y, Watanabe S, Uchino M, Tanaka K, Ando Y. Iatrogenic amyloid neuropathy in a Japanese patient after sequential liver transplantation. *Am J Transplant* 6: 2512-2515, 2006
10. Wada Y, Ando Y, Kai N, Takahashi W, Kikukawa H, Nakanishi J, Jinouchi Y, Ueda S. Lower Urinary tract dysfunction in type 1 familial amyloidotic polyneuropathy in Kumamoto, Japan. *Int J Urol* 13: 1475-1478, 2006
11. Ueda M, Ando Y, Nakamura M, Tamashita T, Himeno S, Kim J, Sun X, Saito S, Tateishi T, Bergstrom J, Uchino M. FK506 Inhibits Murine AA Amyloidosis: Possible Involvement of T Cells in Amyloidogenesis. *J Rheumatol*. 33: 2260-2270, 2006
12. Ando Y, and Nakamura M. Gene therapy by liver transplantation and single stranded oligonucleotides (SSOs) in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). *Curr Pharmaceutol*, 4 : 79-86, 2006
13. 1) Ueda M, Ando Y, Hakamata Y, Nakamura M, Yamashita T, Obayashi K, Himeno S, Inoue S, Sato Y, Kaneko T, Takamune N, Misumi S, Shoji S, Uchino M, Kobayashi E. A transgenic rat with the human ATTR V30M: A novel tool for analyses of ATTR metabolisms. *Biochem Biophys Res Commun* 352: 299-304, 2007.
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. 植田光晴、安東由喜雄. 血清蛋白とアミロイドーシス. *臨床検査血液学会誌*, 7: 92-99, 2006
3. 安東由喜雄. 家族性アミロイドポリニューロパチーと部分生体肝移植. *神経内科*, 64: 500-504, 2006
4. 安東由喜雄. アミロイド関連蛋白と検査医学. *臨床病理*, 54: 494-496, 2006
5. 安東由喜雄. トランスサイレチンの病原性と疾患. *臨床病理*, 54: 497-502, 2006
6. 安東由喜雄. プロテオミックストランスサイレチンの解析. *臨床病理*, 54: 601-608, 2006
7. 安東由喜雄. アミロイドーシス. 今日の治療指針 2007 年版, 2006 年 in press
8. 安東由喜雄. 家族性アミロイドポリニューロパチーの治療法. *難病と在宅ケア*, 12: 57-60, 2006
9. 植田光晴、安東由喜雄. アルツハイマー病の病態と診断の展望. *臨床化学*, 35: 322-331, 2006
10. 安東由喜雄、立石多貴子、姫野真悟 血清アミロイド A 蛋白質検査と技術増刊号, 34: 1172-1174, 2006
11. 安東由喜雄、三隅洋平. 家族性アミロイドポリニューロパチーの抗体治. *Annal Neview 神経疾患*, 2007 in press
12. 安東由喜雄. 家族性アミロイドポリニューロパチー. 高橋昭編集、最新自律神経、新興医学出版、東京、2007, in press
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

総説

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)

アミロイドーシスの画期的診断・治療法に関する研究班 分担研究報告書

高齢発症 transthyretin-related FAP (Ala97Gly, Val94Gly および Val30Met) の臨床病理学的検討

分担研究者 祖父江 元 名古屋大学神経内科

共同研究者 小池春樹*、川頭祐一*、沖祐美子*、飯島正博*、服部直樹*、山本正彦*、
安田武司**、向井栄一郎***、中里雅光****、安藤由喜雄*****

*名古屋大学神経内科、**トヨタ記念病院神経内科、

***国立病院機構名古屋医療センター神経内科、

****宮崎大学医学部第三内科、

*****熊本大学医学部病態情報解析分野

研究要旨 FAP TTR Val30Met は従来、集積地（長野県小川村および熊本県荒尾市）との関連で報告され、20-40 歳で発症し、浸透率が高く、著明な自律神経症状を認め、解離性感覚障害を呈し、房室伝導ブロックをきたしやすいなどの特徴があるといわれてきた。これに対して近年、50 歳以上の高齢で発症する FAP TTR Val30Met が全国で散在性に報告され、従来の集積地の若年例に比べ、病初期の自律神経症状が軽度で、著明な解離性感覚障害を呈さず、心伝導障害よりも心肥大をきたしやすいなどの特徴を有することが明らかになっている。同じトランスサイレチン遺伝子の Val30Met 変異を有するにもかかわらず異なる臨床像を呈する原因は明らかになっていない。FAP TTR Val30Met における若年発症例と高齢発症例の地理的分布、臨床症状の相違はポルトガルでも報告されており、現在、両者の遺伝的背景の違い等について調査が進行中である。今回、高齢で発症した TTR-related FAP (Ala97Gly、Val94Gly および Val30Met) の臨床病理像を剖検例で高齢発症という観点から検討したところ、高齢発症の TTR-related FAP は変異ごとにある程度の臨床病理像の多様性があるものの、加齢に伴い、ある程度の類似性が生ずることが明らかになり、FAP の表現型に与える加齢の重要性が示唆された。

A. 研究目的

FAP TTR Val30Met は本邦においては最も一般的な FAP であり、若年発症例と高齢発症例は同じ遺伝子異常を有するにもかかわらず、異なる臨床病理学的所見を呈する。臓器ごとの間質における基質の違いや、その加齢に伴う変化、さらにはハプロタイプの違いなどが関連していると考えられ、これらの検索をすることは、FAP の病態の解明、新規治療法の開発に役立つと考えられる。今回、高齢で発症した Val30Met 以外の変異を有する TTR-related FAP も検討することにより、FAP の病態を解明し、ひいては新規治療の開発に結びつける。

B. 研究方法

1. 対象

集積地と関連のない高齢 (50歳以上) 発症 Val30Met type 3例と集積地の若年 (50歳未満) 発症 Val30Met 変異例 3例 (発症から剖検までの期間はそれぞれ 12.7±5.1年と 6.3±3.5年)、および Ala97Gly type 1例 (56歳発症 74歳死亡) と Val94Gly type 1例 (54歳発症 65歳死亡)。

2. 方法

臨床像および剖検病理所見を比較検討した。また、熊本大学との共同研究で、心臓に沈着したアミロイド組成の解析も施行した。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断と剖検に関しては名古屋大学および当該施設倫理委員会の承認のもと、十分な説明を行い、同意を得て行った。

C. 研究結果

臨床的には高齢群は運動感覚性ニューロパチーを呈したが、自律神経症状が軽度であった点が共通していた。アミロイドは高齢群では心臓および下垂体前葉での沈着が共通しており、集積地の若年発症 Val30Met type では顕著であった甲状腺、副腎および腎臓の沈着はほとんど認められなかった。高齢群の末梢神経のアミロイド沈着は Ala97Gly type では神経周膜に、Val94Gly type では神経内鞘に高度に認めたのに対し、Val30Met type では比較的軽度であった。有髄線維の減少は全例で認めたが、アミロイドの沈着量に比して Val94Gly type では顕著ではなかった。心臓に沈着したアミロイドの wild type TTR と variant TTR の比率を Val30Met type の若年発症例 2 例と高齢発症例 2 例で解析したが、若年発症例では半分以上（平均 53.3%）が variant であったのに対し、高齢発症例では variant の比率は平均 33%であった。

D. 考察

高齢発症 TTR-related FAP は加齢に伴って生じた共通の臨床病理像を呈すると考えられた。また、その臨床病理像は従来若年発症 FAP TTR Val30Met とは大きく異なることが明らかになった。心臓に沈着したアミロイドの wild type TTR と variant TTR の比率からも、高齢発症 TTR-related FAP の特に心臓の所見は senile amyloidosis に類似していると考えられた。

E. 結論

高齢発症の TTR-related FAP は変異ごとにある程度の臨床病理像の多様性があるものの、加齢に伴い、ある程度の類似性が生ずることが明らかになり、FAP の表現型に与える加齢の重要性が示唆された。今後、この観点からアミロイド沈着のメカニズムを解明し、病態解明から治療への展望に

結びつけていく予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Atsuta N, Watanabe H, Ito M, Banno H, Suzuki K, Katsuno M, Tanaka F, Tamakoshi A, Sobue G. Natural history of spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA): a study of 223 Japanese patients. *Brain* 2006; 129: 1446-1455.
- 2) Sugiura M, Koike H, Iijima M, Mori K, Hattori N, Katsuno M, Tanaka F, Sobue G. Clinicopathologic features of nonsystemic vasculitic neuropathy and microscopic polyangiitis-associated neuropathy: a comparative study. *J Neurol Sci* 2006; 241: 31-37.
- 3) Kizawa M, Mori K, Iijima M, Koike H, Hattori N, Sobue G. Intravenous immunoglobulin treatment in painful sensory neuropathy without sensory ataxia associated with Sjogren's syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 967-969.
- 4) Koike H, Watanabe H, Inukai A, Iijima M, Mori K, Hattori N, Sobue G. Myopathy in thiamine deficiency: analysis of a case. *J Neurol Sci* 2006; 249: 175-179.
- 5) Koike H, Sobue G. Alcoholic neuropathy. *Curr Opin Neurol* 2006; 19: 481-486.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

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 (難治性疾患克服研究事業)

アミロイドーシスの画期的診断・治療法に関する研究班 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) 患者に対する ジフルニサルを用いた新たな薬物療法の開発

分担研究者 池田修一 信州大学医学部内科学(脳神経内科, リウマチ・膠原病内科)

共同研究者 関島良樹^{*,**}、東城加奈^{*}

^{*}信州大学医学部内科学(脳神経内科, リウマチ・膠原病内科)、^{**}同 遺伝子診療部

研究要旨 我々は, FAP 患者の血清中 TTR 四量体が対照者に比べ有意に不安定であることを証明し, TTR 遺伝子変異に起因する四量体構造の不安定化が FAP 発症の根本的な原因であることを示した. 以上から, 変異 TTR の四量体構造を安定化させることにより, FAP を治療できる可能性があり, 現在臨床応用可能な化合物をスクリーニングした結果, ジフルニサルの効果が最も強力であることを見いだした. 更に, FAP 患者に対するジフルニサルを用いた治療の臨床試験を開始し, 本剤を内服することにより患者の血中の TTR 四量体が安定化されることを確認した. ジフルニサルは FAP 患者においても安全に長期間投与できる薬剤であるが, 臨床症状に対する効果については, 更に多数例で長期間検討する必要がある.

A. 研究目的

トランスサイレチン (TTR) 蛋白はサイロキシン (T_4) とレチノール結合蛋白の担体蛋白で, 四量体として主に血清中に存在する. 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) は変異 TTR 四量体が解離し単量体となり, 更に変性することによって形成されたアミロイド線維が全身に沈着することにより発症する. 遺伝子組み換え TTR を用いた検討で, FAP に関連する変異 TTR は野生型 TTR に比べタンパク質としての構造が不安定であると報告されているが, FAP 患者体内での TTR の不安定性は証明されていない.

TTR 四量体は T_4 結合部位を 2ヶ所有し, T_4 が結合することで単量体への解離が抑制されることが知られている. しかし, 血清中で T_4 が結合している TTR は 1%未満であり, その効果は限定的である. 非ステロイド性消炎鎮痛薬 (NSAIDs)であるジフルニサル (dif), フルフェナム酸 (flu) も T_4 と同様の機序で四量体の安定性を高めることが *in vitro* で証明されている. また, 必須微量元素の三価クロム (Cr) は T_4 とは別の機序で TTR を安定化させると報告されている.

今回我々は FAP 患者の血清中 TTR の安定性を

検討し, 更に dif, flu, Cr の TTR 安定化作用を比較した. また FAP 患者に dif を経口投与し, 臨床的な効果と副作用を検討した.

B. 研究方法

対象は 37 名の FAP 患者 (V30M 26 名, T60A 3 名, 以下 A25T, A25S, V30L, K35N, S50I, Y69I, Y114C, Y114H 各 1 名) と対照者 26 名の血清.

TTR の安定性を評価するため, 各血清を酸性条件下で変性させ, グルタルアルデヒドを用いて cross-linking を行った. このサンプルを SDS-PAGE, 抗 TTR 抗体を用いた Western blotting で解析し, 得られたバンドを NIH image で定量化した. TTR の安定性は, 未変性の条件で得られたバンドと各変性条件下で得られたバンドの比から算出した %folded TTR (四量体+三量体+二量体) および %teramer (四量体) で比較した. また薬剤の TTR 安定化作用は, 患者血清に各薬剤を加えて 2 時間 incubation した後, 上記の方法で安定性を比較した. 薬剤濃度は, NSAIDs は常用量 (dif 500 mg/日, flu 400 mg/日) を内服した際の trough と peak の血中濃度 (dif: 100 μ M / 200 μ M, flu : 35 μ M / 70 μ M), Cr は推奨量の上限 (200 μ g/

日)を内服した際の血中濃度(0.02 μM)とその25倍の0.5 μM を用いた。

更に、FAP患者8名にdif 500mg/日(1日2回分服)を投与し、臨床的な効果と副作用を検討した。

(倫理面への配慮)

FAP患者へのジフルニサル投与に関しては、信州大学倫理委員会の承認を得た。更に、患者から、文書でのインフォームドコンセントを得た後、投与を開始した。

C. 研究結果

V30M FAP患者の血清中TTRはpH 4.0で72時間incubationした条件下で対照者に比べ有意に不安定であった(%tetramer: V30M FAP 26.33 ± 7.77 , 対照 38.47 ± 11.77 , $p < 0.0001$, %folded TTR: V30M FAP 25.98 ± 7.53 , 対照 34.91 ± 10.67 , $p < 0.0001$)。Non V30M FAP患者の血清中TTRも同様に対照者に比べ不安定であった。各薬剤の血清中TTR安定化作用に関しては、flu, difが有意にTTRを安定化させ、difの効果が最も強力であった。Crの有効性は明らかでなかった。200 μM のdifを添加したFAP患者の血清中TTRは対照者に比べ有意に安定であった(V30M FAP with dif: %tetramer 71.58 ± 12.93 , $p < 0.0001$, %folded TTR 71.51 ± 12.49 , $p < 0.0001$)。

FAP患者4名にdif 500 mg/日を投与した後の血清中TTRは、内服4時間後、12時間後ともに内服前に比べ有意に安定化していた。

D. 考察

我々は、10種類の変異を有する37名のFAP患者の血清を解析し、患者血清中のTTRは対照者に比べ有意に不安定であることを初めて示した。今回の結果と遺伝子組換えTTRを用いた既報告から、TTR遺伝子の変異に伴う、本蛋白四量体構造の不安定性がFAP発症の根本的原因であることが明らかになった。また、TTRの天然構造である四量体を安定化させることにより、FAPを治療できる可能性が示唆された。

FAPに対する根本的治療法として1990年代に肝移植療法の有効性が確立された。移植後は経過が良好な患者が多いが、ドナー不足、患者と生体ドナーに対する身体的・精神的・経済的負担、移

植後の一部の臓器におけるアミロイドーシスの進行、などの問題点が指摘されている。更に病状の進行などの理由で移植の適応とならない患者が多数存在し、肝移植に代わる新しい治療の開発が望まれている。

我々は、現在臨床応用可能な化合物の検討を行い、difがFAP治療上最も有望な薬剤であることを明らかにした。更にdifを内服することにより、FAP患者の血清中TTRが安定化されることを示した。肝移植療法の作用機序の一つが患者血清中の変異型TTRを野生型TTRに置換し血清中TTRを安定化させることであろうことを考慮すると、difを加えた患者血清中TTRが対照者の血清中TTRに比べて有意に安定であった点は重要である。

E. 結論

1. 遺伝子組換えおよび血清中TTRの検討から、変異TTR四量体構造の不安定化がFAP発症の根本的な原因と考えられた。
2. ジフルニサルを内服することにより、FAP患者の血清中のTTR四量体が安定化された。
3. ジフルニサルはFAP患者においても安全に長期間投与できる薬剤である。
4. 臨床症状に対する効果については、更に多数例で長期間検討する必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sekijima Y, Wiseman LR, Matteson J, Hammarström P, Miller SR, Sawkar AR, Balch WE, Kelly JW. The biological and chemical basis for tissue selective amyloid disease. *Cell* 121: 73-85, 2005
- 2) 関島良樹: Transthyretin アミロイドーシスの発症メカニズム. *実験医学* 23: 2162-2165, 2005
- 3) 関島良樹, 池田修一: 家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)の病態の多様性と薬物療法への展望, *Annual Review 神経* 2006, p75-82,

中外医学社, 東京, 2006

4) 関島良樹: トランスサイレチンアミロイドーシスの発症メカニズムと治療戦略. 細胞工学 26 : 162-167, 2007

5) Sekijima Y, Dendle MT, Wiseman RL, White JT, D’Haeze W, Kelly JW: R104H may suppress transthyretin amyloidogenesis by thermodynamic stabilization, but not by the kinetic mechanism characterizing T119M trans-suppression. Amyloid 13: 236-249, 2006

6) Sekijima Y, Dendle MT, Kelly JW. Orally administered diflunisal stabilizes transthyretin against dissociation required for amyloidogenesis. Amyloid 13: 236-249, 2006

7) Tojo K, Sekijima Y, Kelly JW, Ikeda S. Diflunisal stabilizes familial amyloid polyneuropathy-associated transthyretin variant tetramers in serum against dissociation required for amyloidogenesis. Neurosci Res 56: 441-449, 2006

2. 学会発表

1) 関島良樹, 東城加奈, JW Kelly, 池田修一.

TTR 四量体を安定化する低分子化合物を用いた FAP に対する薬物療法の開発. 第 47 回日本神経学会総会. 東京. 2006 年 5 月 11-13 日.

2) 東城加奈, 関島良樹, 池田修一. ジフルニサル, フルフェナム酸, ピコリン酸クロムの血清変異 TTR 安定化作用の検討. 第 47 回日本神経学会総会. 東京. 2006 年 5 月 11-13 日.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

Compositions and methods for stabilizing transthyretin and inhibiting transthyretin misfolding
Patent Agent: Jones Day - New York, NY, US
Patent Inventors: Jeffery W. Kelly, Yoshiki Sekijima
Applicaton #: 20060057644 Class: 435007100 (USPTO)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

[Ⅲ] 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Gono T, Yazaki M, Fushimi T, Suzuki T, Uehara T, Sano K, Kametani F, Ito N, Matsushita M, Nakamura S, Hoshii Y, <u>Matsuda M</u> , <u>Ikeda S</u>	AH amyloidosis associated with lymphoplasmacytic lymphoma secreting a monoclonal gamma heavy chain carrying an unusual truncated D segment	Am J kidney Dis	47	908-914	2006
Oguchi K, Takei Y, <u>Ikeda S</u>	Value of renal biopsy in the prognosis of liver transplantation in familial amyloid polyneuropathy ATTR Val30Met patients	Amyloid	13	99-107	2006
Tojo K, Sekijima Y, Kelly JW, <u>Ikeda S</u>	Diflunisal stabilizes familial amyloid polyneuropathy-associated transthyretin variant tetramers in serum against dissociation required for amyloidogenesis	Neurosci Res	56	441-449	2006
Yamazaki S, Kanda S, Yasuo M, Urushihata K, Koizumi T, Fujimoto K, Kubo K, <u>Ikeda S</u>	Laryngo-tracheo-bronchial amyloidosis presenting severe airway stenosis	Intern Med	45	1021-1022	2006
Yoshida T, Yazaki M, Gono T, Tazawa K, Morita H, <u>Matsuda M</u> , Funakoshi K, Yuki N, <u>Ikeda S</u>	Severe cranial nerve involvement in a patient with monoclonal anti-MAG/SGPG IgM antibody and localized hard palate amyloidosis	J Neurol Sci	244	167-171	2006
池田 修一	内分泌・代謝性疾患に伴う神経障害 アミロイドーシス	Clinical Neuroscience	24	59-61	2006
池田 修一	家族性アミロイドーシスの肝移植治療	日本内科学会雑誌	95	239-245	2006
Sun X, Ueda M, Yamashita T, Nakamura M, Bergström, ZEleidon-Raminez ME, Okajima M, Misumi S, Shoji S, Moyomiya Y, and <u>Ando Y</u>	Lipid droplets are present in amyloid deposits in familial amyloidotic polyneuropathy and dialysis related amyloidosis	Amyloid	13	20-23	2006
Rimessi P, Spitali P, <u>Ando Y</u> , Mazzaferro V, Pastorelli F, Tassinari CA, Calzolari E, Salvi F, and Ferlini A	Transthyretin RNA profiling in livers from transplanted patients affected with familial amyloidotic polyneuropathy and identification of a dual transcription start point	Liver Int	26	211-220	2006
Sato T, <u>Ando Y</u> , Susuki S, Mikami F, Ikemizu S, Nakamura M, Suhr O, Anraku M, Kai T, Suico MA, Shuto T, Yamagata Y, and Kai F	Chromium (III) ion and thyroxine cooperate to stabilize the transthyretin tetramer and suppress in vitro amyloid fibril formation	FEBS lett	580	491-496	2006
Zeledon RME, <u>Ando Y</u> , Asonuma K, Nakamura M, Sun X, Ueda M, Fujii J, and Inomata Y	Effect of tacrolimus and partial hepatectomy on transthyretin (TTR) metabolism in rats: the double-edged sword effect of the liver	Transplant Int	19	233-238	2006

Wakita M, Kawaji T, Ando E, Koga T, Inatani M, Tanihara H, <u>Ando Y</u>	Ocular decompression retinopathy following trabeculectomy with mitomycin C associated with familial amyloidotic polyneuropathy	Br J Ophthalmol	90	515-516	2006
Ueda M, <u>Ando Y</u> , Haraoka K, Katsuragi S, Terasaki Y, Sugimoto M, Sun X, and Uchino M	Aging and transthyretin-related amyloidosis: pathologic examinations in pulmonary Amyloidosis	Amyloid	13	24-30	2006
Sakashita N, <u>Ando Y</u> , Haraoka K, Terazaki H, Yamashita T, Nakamura M, and Takeya M	Severe congestive heart failure with cardiac liver cirrhosis 10 years after orthotopic liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy	Pathol Int.	56	408-412	2006
Bergström J, Ueda M, Uneyama Y, Sun X, Misumi S, Shoji S, and <u>Ando Y</u>	Analysis of amyloid fibrils in the Cheetah (<i>Acinonyx jubatus</i>)	Amyloid	13	93-98	2006
Bergström J, Engström U, Yamashita T, <u>Ando Y</u> , Westermark P	Surface exposed epitopes and structural heterogeneity of in vivo formed transthyretin amyloid fibrils	Biochem Biophys Res Commun	348	532-539	2006
Goto T, Yamashita T, Ueda M, Ohshima S, Yoneyama K, Nakamura M, Nanjo H, Asonuma K, Inomata Y, Watanabe S, Uchino M, Tanaka K, <u>Ando Y</u>	Iatrogenic amyloid neuropathy in a Japanese patient after sequential liver transplantation.	Am J Transplant	6	2512-2515	2006
Wada Y, <u>Ando Y</u> , Kai N, Takahashi W, Kikukawa H, Nakanishi J, Jinnouchi Y, Ueda S	Lower Urinary tract dysfunction in type 1 familial amyloidotic polyneuropathy in Kumamoto, Japan.	Int J Urol	13	1475-1478	2006
Ueda M, <u>Ando Y</u> , Nakamura M, Yamashita T, Himeno S, Kim J, Sun X, Saito S, Tateishi T, Bergstrom J, Uchino M	FK506 Inhibits Murine AA Amyloidosis: Possible Involvement of T Cells in Amyloidogenesis	J Rheumatol	33	2260-2270	2006
Ueda M, Ando Y, Hakamata Y, Nakamura M, Yamashita T, Obayashi K, Himeno S, Inoue S, Sato Y, Kaneko T, Tanakamune N, Misumi S, Shoji S, Uchino M, Kobayashi E	A transgenic rat with the human ATTR V30M: A novel tool for analyses of ATTR metabolisms	BBRC	352	299-304	2006
<u>Ando Y</u> , and Nakamura M	Gene therapy by liver transplantation and single stranded oligonucleotides (SSOs) in familial amyloidotic polyneuropathy (FAP)	Current Pharmacogen	4	79-86	2006
植田光晴、 <u>安東由喜雄</u>	血清蛋白とアミロイドーシス	臨床検査血液学会誌	7	92-99	2006
<u>安東由喜雄</u>	家族性アミロイドポリニューロパチー	神経内科	64	500-504	2006

安東由喜雄	アミロイド関連蛋白と検査医学	臨床病理	54	494-496	2006
安東由喜雄	トランスサイレチンその機能と病原性	臨床病理	54	497-502	2006
植田光晴、安東由喜雄	トランスサイレチン分析への応用	臨床病理	54	601-608	2006
安東由喜雄	アミロイドーシス	今日の治療指針 2007年版		527	2006
安東由喜雄、大林光念	家族性アミロイドポリニューロパチーに対する治療法の展望	難病と在宅ケア	12	56-60	2006
植田光晴、安東由喜雄	アルツハイマー病の病態と診断の展望	臨床化学	35	322-331	2006
安東由喜雄、立石多貴子、姫野真悟	血清アミロイドA蛋白質	検査と技術増刊号	34	1172-1174	2006
安東由喜雄	各種炎症マーカーの動向	検査と技術増刊号	34	1175-1178	2006
安東由喜雄、三隅洋平	家族性アミロイドポリニューロパチーの治療法抗体治療	Annal Neview 神経疾患			2007 in press
Hoshii Y, Kiyama M, Cui D, Kawano H, <u>Ishihara T</u>	Immunohistochemical study of immunoglobulin light chain amyloidosis with antibodies to the immunoglobulin light chain variable region	Pathol Int	56	324-330	2006
石原得博	アミロイドーシスの分類	腎と透析	62		2007 印刷中
Omoto M, Yokota T, Cui D, Hoshii Y, Kawano H, Gondo T, <u>Ishihara T</u> , Kanda T	Inactivation of amyloid-enhancing factor (AEF) study on experimental murine AA amyloidosis	Medical Molecular Morphology	40		2007 in press
星井嘉信、石原得博	アミロイドーシス	病理と臨床（臨時増刊号）	25		2007 印刷中
Ohkubo T, Sakasegawa Y, Toda H, Kishida H, Arima K, Yamada M, Takahashi H, Mizusawa H, Hachiya NS, <u>Kaneko K</u>	Three-repeat tau 69 is a major tau isoform in laser-microdissected Pick bodies	Amyloid	13	1-5	2006
Furuya K, Kawahara N, Yamakawa Y, Kishida H, Hachiya NS, Nishijima M, Kirino T, <u>Kaneko K</u>	Intracerebroventricular delivery of dominant negative prion protein in a mouse model of iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease after dura graft transplantation	Neurosci Lett	402	222-226	2006
Noma T, Ikebukuro K, Sode K, Ohkubo T, Sakasegawa Y, Hachiya NS, <u>Kaneko K</u>	Selection of DNA aptamers toward a specific protein in complex targets	Biotechnol Lett	28	1377-1381	2006

Hachiya NS, <u>Kaneko K</u>	The alternative role of 14-3-3 zeta as a sweeper of misfolded proteins in disease conditions	Med Hypotheses	67	169-171	2006
<u>樋口京一</u>	アミロイドーシスの伝播	細胞工学	26	177-180	2007
後藤裕児, 桑田一夫, 関島良樹, 田中元雅, 内木宏延, 永井義隆, 松崎勝巳, <u>樋口京一</u>	アミロイドーシス発症の分子的機構解明を目指して: 現状と展望、夢	細胞工学	26	181-185	2007
Korenaga T, Yan J, Sawashita J, Matsusita T, Naiki H, Hosokawa M, Mori M, <u>Higuchi K</u> , Fu X	Transmission of amyloidosis in offspring of mice with AApoAII amyloidosis	Am J Pathol	168	898-906	2007
Zhang H, Sawashita J, Fu X, Korenaga T, Yan J, Mori M, <u>Higuchi K</u>	Transmissibility of mouse AApoAII amyloid fibrils: inactivation by physical and chemical methods.	FASEB J	20	1012-1014	2006
Yan J, Fujii K, Yao J, Kishida H, Hosoe K, Sawashita J, Takeda T, Mori M, <u>Higuchi K</u>	Reduced coenzyme Q10 supplementation decelerates senescence in SAMP1 mice	Exp Gerontol.	41	130-140	2006
Atsuta N and <u>Sobue G</u>	Natural history of spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA): a study of 223 Japanese patients	Brain	129	1446-1455	2006
Sugiura M and <u>Sobue G</u>	Clinicopathologic features of nonsystemic vasculitic neuropathy and microscopic polyangiitis-associated neuropathy: a comparative study	J Neurol Sci	241	31-37	2006
Kizawa M and <u>Sobue G</u>	Intravenous immunoglobulin treatment in painful sensory neuropathy without sensory ataxia associated with Sjogren's syndrome	J Neurol Neurosurg Psychiatry	77	967-969	2006
Koike H and <u>Sobue G</u>	Myopathy in thiamine deficiency: analysis of a case	J Neurol Sci	249	175-179	2006
Koike H and <u>Sobue G</u>	Alcoholic neuropathy	Curr Opin Neurol	19	481-486	2006
Kuroda T, Tanabe N, Harada T, Murakami S, Hasegawa H, Sakatsume M, <u>Nakano M</u> , Gejyo F	Long-term mortality outcome in patients with reactive amyloidosis associated with rheumatoid arthritis	Clin Rheumatol	25	498-505	2006
Kuroda T, Tanabe N, Sato H, Ajiro J, Wada Y, Murakami S, Hasegawa H, Sakatsume M, <u>Nakano M</u> , Gejyo F	Outcome of patients with reactive amyloidosis associated with rheumatoid arthritis in dialysis treatment	Rheumatol Int	26	1147-1153	2006
Ajiro J, Narita I, Sato F, Saga D, Hasegawa H, Kuroda T, <u>Nakano M</u> , Gejyo F	SAA1 gene polymorphisms and the risk of AA amyloidosis in Japanese patients with rheumatoid arthritis.	Mod Rheumatol	16	294-299	2006