

disease that inhibit the formation of beta-amyloid fibrils (fA β), as well as destabilize preformed fA β . *Curr Pharm Des* 12:4357-4375, 2006.

20) Hamaguchi T, Ono K, Yamada M: Anti-amyloidogenic therapies: strategies for prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci* 63:1538-1552, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許出願・取得

工藤幸司

1)コンフォメーション病診断および治療用の長

波長蛍光物質を含む組成。PCT/JP2006/323962。

2)コンフォメーション病の診断用プローブ。

PCT/JP2006/325804。

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)
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 山田正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科) 教授

研究要旨 アミロイドーシス各病型[①AL、②AA、③家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)、④透析、⑤脳(アルツハイマー病 (AD)、脳アミロイドアンギオパチー (CAA))]ごとの戦略および全病型に共通する基盤的研究により、疫学調査、治療プロトコル確立、新規診断・予防・治療法開発等を行った。臨床個人調査票に基づき、わが国の家族性アミロイドーシスの疫学を明らかにした。ALでは中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法からなる新規治療プロトコルによる全国多施設臨床試験を実施し有用性を評価し、他の治療オプション(同種ミニ移植など)の有用性を報告した。AAでは抗サイトカイン療法の有用性を示し、特にIL-6受容体抗体トシリズマブが優れていたことから、本剤によるAAアミロイドーシスに対する世界初の全国多施設臨床試験体制を確立した。FAPでは新規集積地であることが判明した石川県のTTR Val30Met型FAPの特徴を明らかにし、Val30Met型FAPでは加齢に伴い野生型TTR沈着が増加することを示し、更に治療薬開発に有用な*in vitro*のTTRアミロイド形成系を報告した。透析アミロイドーシスでは腎移植が症状の改善や進行の抑制に有用であることを明らかにし、遊離脂肪酸によるアミロイド形成促進を発見した。脳アミロイドーシスではAph-1を介したγセクレターゼ活性の調節機構、エストロゲンの抗アミロイド作用、抗Aβ40抗体の治療的有用性、皮質微小出欠のCAA診断上の意義等を明らかにし、有用なAβオリゴマー特異抗体およびモデル動物を作成した。老化アミロイドーシスマウスのApoA-IIアミロイド線維形成機構解明が進展した。アミロイドイメージング開発では、micro PETによるアミロイドーシスモデル動物におけるアミロイド画像化に成功し、臨床応用の段階に至った。

分担研究者

下条文武 新潟大学大学院医歯学総合研究科
内部環境医学講座 教授
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 教授
樋口京一 信州大学医学部大学院医学研究科
加齢生物学分野 教授
玉岡 晃 筑波大学人間総合科学研究科病態制
医学専攻 教授
高市憲明 虎の門病院腎センター内科 部長
山田俊幸 自治医科大学臨床検査医学 准教授
前田秀一朗 山梨大学大学院医学工学総合研究部
生化学講座第一教室 教授
内木宏延 福井大学医学部医学科病因病態学講
座分子病理学領域病理学 教授
今井裕一 愛知医科大学医学部内科学講座腎臓
・膠原病内科 教授
葛原茂樹 国立精神・神経センター武蔵病院

病院長

島崎千尋 京都府立医科大学大学院医学研究科
血液・腫瘍内科 講師
吉崎和幸 大阪大学保健センター 教授
東海林幹夫 弘前大学大学院医学研究科附属脳神
経血管病態研究施設 脳神経内科学
講座 教授
麻奥英毅 広島赤十字・原爆病院検査部 部長
石原得博 山口大学大学院医学系研究科情報解
析医学系学域病理形態分野 教授
河野道生 山口大学大学院医学系研究科細胞シ
グナル解析学分野 教授
奥田恭章 道後温泉病院リウマチセンター内科
部長
安東由喜雄 熊本大学医学部大学院医学薬学研究
部病態情報解析学 教授
中里雅光 宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸
内分泌代謝学分野 教授

工藤幸司 東北大学先進医工学研究機構高度情報通信分野 教授
水澤英洋 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学分野 教授

A. 研究目的

アミロイドーシスの分子病態に基づく早期診断・治療法の確立を目的とする。そのために、アミロイドーシス病型ごとの戦略並びに全病型共通の発症機構の基盤的研究により、本症の発症動向の把握と共に、早期診断、治療成績の向上、新規診断、予防・治療法の開発を行う。研究成果は、本症患者、さらには多数の発症リスク保有者に対する医療、保健に貢献する。

1) AL アミロイドーシス：従来報告されてきた本症診断後の 50 %生存は約 1年である。本症に対する治療法として自家末梢血幹細胞移植併用療法が注目されている。本研究では、自己末梢血幹細胞移植併用療法の有用性を高める新規プロトコルを確立するために、新規プロトコルによる全国多施設臨床試験を実施する。さらに、その他の治療オプションの、AL の分子病態解明に基づく新規診断・治療法開発研究を行う。

2) AA アミロイドーシス：関節リウマチ (RA) 患者の 5-10%は本症を発症し、本症合併した場合の予後は不良である。リウマチ性疾患における本症発症の危険因子、予後規定因子の解明、早期診断・治療指針の作成、分子病態解明に基づく抗サイトカイン療法の確立をめざす。

3) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)：本症の根本治療には肝移植があるが、その有効性や問題点を明らかにすること、肝移植が適用できない患者にも応用可能な治療法の開発が必要である。本症の病態解明、トランスサイレチン (TTR) 沈着機構の解明とその制御により、新規予防・治療法開発をめざす。

4) 透析アミロイドーシス：長期透析患者数と共に本症は増加している。本症合併の危険因子同定、早期発見法確立、治療成績の向上、 β_2 -ミクログロブリン (β_2 -m) 線維形成過程の解明による新規治療法開発をめざす。

5) 脳アミロイドーシス：アルツハイマー病 (AD) は認知症の過半数を占め、脳アミロイドアングイ

パチー (CAA) は高齢者の脳葉型出血の主要な原因である。本研究では AD、CAA 脳に蓄積するアミロイド β 蛋白 ($A\beta$) の沈着過程の分子病態解明を通じ、アミロイドを標的とした新しい早期診断マーカー、新規予防・治療法の開発を行う。

6) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス：各種アミロイドーシスに共通するアミロイド沈着機構を統合的に研究し、診断、予防・治療法への応用を行う。特に、特異的プローブを用いたアミロイドイメージングを開発し臨床診断への応用を行う。

B. 研究方法

1) アミロイドーシスの疫学：特定疾患治療研究事業の臨床調査個人票 (2003-2005 年度) を用い、本症の疫学、特に FAP 患者の全国分布を検討した (山田正仁)。

2) AL アミロイドーシス：

①自家末梢血幹細胞移植併用新規プロトコルによる臨床試験及び他の治療法の検討：中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法による新しいプロトコルによる全国多施設臨床試験を実施した。さらに各施設における本療法による AL 治療経験例を検討した (島崎、高市、池田、石田ほか)。さらに、メルファラン大量療法後のサルベージ療法としてサリドマイドを投与した例、同種ミニ移植 (RIST) 実施例を検討した (麻奥)。

②BJP 蛋白の解析：AL を含む monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) 患者について尿中 Bence Jones 蛋白 (BJP) と腎障害の関連を検討した (今井)。

③抗 NF- κ B 療法の開発：アミロイド原性の免疫グロブリン L 鎖を産生する単クローン性形質細胞の抗 NF- κ B 活性について検討した (河野)。

3) AA アミロイドーシス：

①臨床的研究：RA に合併する AA アミロイドーシスについて、腎臓のアミロイド沈着パターンと腎機能の予後との関係 (佐伯)、メトトレキサート治療導入の有無と治療予後との関係を検討した (寺井)。AA アミロイドーシスに対する抗サイトカイン療法 (インフリキシマブ、エタネルセブ

ト、トシリズマブ)の有用性を検討した(奥田)。抗IL-6受容体抗体(トシリズマブ)による全国多施設共同臨床試験を遂行するために、AAアミロイドーシス臨床研究会を発足させ、臨床試験プロトコールを作成した(吉崎ほか)。

② 基礎的研究：本症の診断および発生病理の解明に有用な新規抗SAA抗体の開発を目的として、合成ペプチド(SAA1.83-95)を抗原とする抗SAA抗体の作製を試みた(石原)。本症の生検消化管粘膜からAAを定量する方法を確立し、病理所見との相関を検討した(山田俊幸)。AAアミロイドーシスマウスにおけるSAA生合成及び脂質代謝関連酵素発現の雌雄差を検討した(中里)。

4) FAP：

① FAPの病態及び肝移植治療に関する研究：疫学研究により石川県がFAPの新規集積地として同定されたため、石川県のFAPを調査した(山田正仁)。Val30Met型FAP患者44名の腹壁脂肪吸引生検と13名の胃生検の沈着アミロイドについて、Congo red染色後のスライド標本よりアミロイド線維蛋白を抽出し、質量分析計(LC-MS/MS)により野生型TTR(V30)と変異型TTR(M30)の構成比を検索、さらに野生型と変異型の比について、発症年齢、生検時の年齢、罹病期間などの患者背景と比較検討した(池田)。

② FAPの発症機構解明および新規治療法開発に関する研究：生体内に豊富に存在するヒト血清アルブミン(HSA)がTTRのアミロイド形成に与える影響を検討した(安東)。生理的pH下でultrasonicationを用いることによりTTRのアミロイド形成促進を試みた(安東)。

5) 透析アミロイドーシス：

① 臨床的研究：献腎移植を行った維持透析患者32名について臨床経過を調査し移植の効果を検討した(下条)。骨盤内に形成された透析アミロイド腫瘍の画像的特徴を検討した(高市)。

② 基礎的研究：*In vitro* β 2-mアミロイド線維形成系を用い、遊離脂肪酸の β 2-mアミロイド線維伸長促進効果、機序を解析した(内木)。

6) 脳アミロイドーシス：

① A β アミロイド沈着分子病態解明とAD診断治療法開発： γ セクレターゼ構成因子の1つであるAph-1の量的変化がもたらす γ セクレターゼ活性

の変化を検討するために、HEK293細胞にAPP遺伝子導入したstable細胞にAph-1aLを遺伝子導入した場合、siRNAでノックダウンした場合等に、培養液中に産生されるA β 40及びA β 42の量的変化をELISA法にて測定した(水澤)。慢性脳虚血がA β 産生に与える影響を明らかにするために両側総頸動脈結紮モデルラット脳を検討した(玉岡)。疫学研究でホルモン補充療法を受けている女性ではAD発症率が低いことから、エストロゲンがA β 凝集過程および既成凝集体の不安定化過程に及ぼす効果を、生体条件試験管内モデルを用いて解析した(山田正仁)。AD病態惹起分子と考えられているA β オリゴマーに対する抗体を作成し、本抗体が認識するオリゴマーがAD脳に存在するかどうか、A β オリゴマーの神経毒性や線維形成能を中和するかどうかを検討した(東海林)。Tg2576マウスとpresenilin-1 L286Vマウスとのdouble transgenic (Tg) mouse、TgTau^{P301L}マウス、TgTau^{P301L}とTg2576のdouble Tgマウス、変異 α シヌクレイン発現モデルマウス(Tg α SYN)を用いてA β 、リン酸化タウ、リン酸化 α シヌクレインの蓄積を検討し、更に抗A β 40抗体投与による治療法開発を行った(東海林)。

② CAAに関する研究：MRI gradient-echo法(T2*)を用いて高齢者(60歳以上の連続548例)のcerebral microbleeds(CMBs)を検討した(葛原)。高度のCAAを呈し典型的老人斑を欠くアイオワ型APP変異(Asp23Asn)を有する家系の患者脳に沈着するA β 分子を解析した(玉岡)。

③ BRI2関連蛋白に関する研究：家族性英国型あるいはデンマーク型認知症はBRI2遺伝子変異による常染色体優性早期発症認知症であるが、BRI関連蛋白のADへの関与を明らかにするために、BRI関連蛋白(BRI2および3の分泌部位)に対する抗体を作製しAD脳を免疫染色した(中里)。

7) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発および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におけるApoA-IIアミロイド線維形成に関与するアミノ酸組成について検討した(樋口)。アミロイドイメーシング開発の目的で、アミロイドーシス動物モデルにアミロイド標識プローブとして[¹¹C]BF-227を投与し、in vivo micro PET画像及び

ex vivo オートラジオグラフィを観察した(工藤)。老化アミロイドーシスモデル及びADモデルマウスにブドウ種子由来ポリフェノール (GSE) を投与し発症抑制効果を検討した(前田)。大腿の陳旧性血腫性病変に伴うアミロイドーシス7例について検討した(石原)。

(倫理面への配慮)

患者を対象とする臨床研究(診断、治療、遺伝子解析等)、疫学研究等については各施設の倫理審査委員会の承認、それに基づく説明と同意を得て研究を実施した。遺伝子組み換え動物を含む動物実験に関しては、各施設の指針に基づき動物実験委員会等の承認を得た上で研究を実施した。

C. 研究結果

1) アミロイドーシスの疫学: 2003-2005年度には受給者数は約1000名/年であった。家族性アミロイドーシスの都道府県別有病率(人口100万対)の推計では、3年とも長野(11.0-15.5)、熊本(10.1-10.3)、石川(3.5-4.2)の順であり、その他の都道府県は2.0以下であった。

2) AL アミロイドーシス:

①自家末梢血幹細胞移植併用新規プロトコールによる臨床試験及び他の治療法の検討: 本研究班AL分科会は中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法からなる原発性ALアミロイドーシス治療プロトコールを作成、全国11施設からなる臨床試験体制(班員5名及び研究協力者9名が参加)を構築し、6名の患者を登録した。臓器病変は腎(5例)、消化管(3例)、神経(2例)、心臓(1例)であった。寛解導入療法においてgrade3以上の重篤な非血液毒性はみられなかった。採取CD34+細胞数は2-5回のアフレーシスで計 $0.08-2.27 \times 10^6/\text{kg}$ であり、6例中2例でのみ目標CD34+細胞数($2 \times 10^6/\text{kg}$)を採取し得た。採取不良例では他の幹細胞動員療法が行われ、6例全例で自家末梢血幹細胞移植が行われた。移植後の血球回復は速やかで、全例が生存中である。移植後の血液学的効果はPR5例、SD1例で、臓器効果は2例にみられ、血清free light chainの判定は効果判定に有用であった。

ALアミロイドーシス患者4例に対し自家末梢

血幹細胞移植療法併用メルファラン大量療法、経時的な腎組織評価を行い、3例で臨床的改善、うち1例では組織学改善も認めた。末梢神経障害を主徴とするALアミロイドーシス患者2例に対し自家末梢血幹細胞移植療法併用メルファラン大量療法を行い、血液学的寛解と共に末梢神経障害の改善を認めた。

メルファラン大量療法の非寛解例4例にサルベージ療法として、RISTを実施し寛解(1例)、サリドマイド投与にて寛解あるいは臨床効果(3例)を認めた。

②BJP蛋白の解析: MGUSあるいはALアミロイドーシス12例において腎障害と尿中軽鎖との関連を検討したところ、 λ 型軽鎖2量体BJP検出例はアミロイド沈着の有無に関わらず腎障害を認めた。

③抗NF- κ B治療法の開発: NF- κ B活性、SDF-1 α 活性は細胞表面のCD54蛋白発現と正の相関を示した。CD54発現はALを含むMGUSでは極めて高く、一方、骨髄腫細胞株において有意に低かった。SDF-1 α 添加で単クローン性形質細胞を培養するとCD54発現が上昇した。

3) AAアミロイドーシス:

①臨床的研究: AA合併RAについて、アミロイド沈着が血管に限局する場合に較べて糸球体にある例では腎機能の予後が悪かった。AA合併RAに対するメソトレキセート導入後、AAアミロイドーシスの予後は改善しており、RAが抑えられた結果と考えられた。AA合併RAに対する抗サイトカイン療法の有用性の検討では、すべての抗サイトカイン療法はSAAを抑制し、臓器障害の進行もほぼ認められず、基本的に有用と考えられたが、特にトシリズマブはSAA低下能、臨床症状改善能、組織学的改善能が優れていた。トシリズマブによる全国多施設臨床試験を円滑に遂行するための体制(AAアミロイドーシス臨床研究会)を発足させ、第一段階の治療前観察期間のプロトコールを確立した。

②基礎的研究: 作製した抗SAA1.83-95抗体は本症51例中37例(73%)のアミロイドを免疫染色した。本症の生検消化管粘膜から4Mグアニジン塩酸でアミロイドを可溶化し高感度ELISAでAAを定量化する方法を確立した。本定量結果は病理

学的評価とよく相関し、本診断法はアミロイドの陽性、陰性の判定に有用であることが示された。本症モデルマウスの SAA1 血中濃度、エストロゲン受容体発現、肝リパーゼ遺伝子発現等は、雄に較べて雌に有意に高かった。

3) FAP :

①FAP の病態及び肝移植治療に関する研究 : 石川県の FAP11 家系 28 例は全て TTR 型であり、うち 10 家系 26 例は Val30Met 変異、他の 1 家系 2 例は Leu58Arg 変異であった。石川県の Val30Met 型 FAP は高齢発症で家族歴を高率に認めることが特徴であった。Val30Met 型 FAP のアミロイドの野生型 TTR(V30)と変異型 TTR(M30)の構成比をみると、腹壁脂肪では生検時年齢が高くなると野生型の比率が高くなったが、胃では一定の傾向は得られなかった。

②FAP の発症機構解明および新規治療法開発に関する研究 : HSA の共存により、TTR のアミロイド形成が有意に抑制され、TTR 四量体の安定性が上昇した。また、HSA は変性 TTR に対し高い結合性を示した。Ultrasonication により生理的 pH 下における TTR アミロイド形成が促進され、CD スペクトル分析で ultrasonication は TTR の四量体の減少及び二次構造の変化をもたらすことが示唆された。

4) 透析アミロイドーシス :

①臨床的研究 : 献腎移植を受けた維持透析患者 32 例中 9 例はアミロイド関節症を合併しており、非合併例と較べ透析期間が長かった。移植は症状の改善、進行の抑制に有効であったが、1 例は移植後、腎機能が保たれている中で頸椎の破壊性関節症の手術を受けていた。透析アミロイドーシスのアミロイド腫瘍の MRI は T1 強調画像で筋肉と同程度の低信号、T2 強調画像で筋肉やよりも低信号を示した。

②基礎的研究 : *In vitro* β 2-m アミロイド線維形成系を用い、遊離脂肪酸 (ラウリル酸、ミリスチン酸、御レイン酸、リノール酸) が強い線維伸長効果を有することを明らかにした。血清アルブミン共存下でも線維伸長効果が認められた。

5) 脳アミロイドーシス :

①A β アミロイド沈着分子病態解明と AD 診断治療法開発 : Aph-1aL の発現により Aph-1 の増加と

共に A β 40 および 42 産生量を増加がみられたが、プレセニン、ニカストリン、Pen-2 などの因子に量的変化はなかった。一方、siRNA による Aph-1aL ノックダウンでは A β 40 および 42 産生量は減少した。慢性低灌流モデルラットでは A β 40/42、APP、BACE1 の沈着、高発現を認めた。エストロゲンは濃度依存性に A β 40 および 42 の重合・伸長反応を抑制し、既成凝集体を不安定化させたが、アンドロゲンには抗アミロイド効果はなかった。A β オリゴマー特異抗体は AD 脳内のオリゴマーと結合し、*in vitro* の系で A β 凝集を抑制し A β オリゴマーの神経細胞毒性を中和した。複数の transgenic AD モデルを駆使することにより、A β アミロイドーシスに伴いタウオパチを二次的に誘発し、A β 沈着のみならず、神経原線維変化、神経細胞死を再現することに成功した。また、Tg α SYN モデルで α シヌクレインの脳内蓄積を再現し得た。A β 40C 末特異抗体による免疫療法で脳アミロイド斑及び CAA の減少を認めた。

②CAA に関する研究 : MRI gradient-echo 法(T2*)上、皮質・皮質直下のみに CMBs が認められる表在型 CMB パターンは皮質下出血例と AD 症例で有意に多かった。表在型 CMB の分布は後頭葉に多く、特に皮質分水嶺領域に多かった。高度な CAA を有するアイオワ型 APP 変異患者脳では、A β 23-Asp と A β 23-Asn の双方が沈着し、N、C-両末端で切断され全ての Asp 残基が部分的な翻訳後修飾を受けていた。

③BRI 関連蛋白に関する研究 : BRI 関連蛋白 (BRI2 および 3 の分泌部位) に対する抗体は AD 脳の高齢斑などの A β 沈着部位に染色性を示した。

6) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発および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における ApoA-II アミロイド線維形成に関与するアミノ酸組成の検討では、線維形成には 16 番目の Gln が最重要であり、次いで 5 番目の Gln が重要であることが示唆されたが、アミロイド好発性と抵抗性の違いをまだ十分説明できなかった。アミロイドーシス動物モデルにアミロイド標識プローブとして [¹¹C]BF-227 を投与し、*in vivo* micro PET 画像及び *ex vivo* オートラジオグラフィを観察し、両試験に

において脾臓への高い集積を確認し得た。老化アミロイドーシスモデル及びADモデルマウスにブドウ種子由来ポリフェノール(GSE)を投与した所、小胞体ストレス抑制効果を認めたが、アミロイド沈着に変化を認めなかった。大腿の陳旧性血腫性病変に伴う限局性アミロイドーシスのアミロイド蛋白は既知のアミロイド蛋白に対する抗体とは反応しなかった。

D. 考察

1) **アミロイドーシスの疫学**: 近年の本症による特定疾患受給者数は約1000名/年であり、過去20年以上に渡り増加を続けている。都道府県によるデータの電子入力が遅れており、調査票の利用上制約があることが大きな問題になっている。本年度は昨年よりも入力が増加した2003-2005年度のデータ解析を行ったが、興味深いことには、家族性アミロイドーシスの都道府県別有病率(人口100万対)は、常に長野、熊本、石川の順で一定しており、石川は長野、熊本に次ぐFAPの集積地であることが明らかになった。

2) **AL アミロイドーシス**: 中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法からなる原発性ALアミロイドーシスの新規治療プロトコルを作成し、全国11施設が参加する臨床試験を行った。中等量メルファランによる寛解導入療法は、安全性には問題ないこと、幹細胞採取効率や寛解導入効果の面では不十分であること、また血液学治療効果と臨床的効果(臓器反応性)がみられることが明らかになった。今後、より効率のよい幹細胞採取方法の確立、移植前処理の効果が期待される。また、最近、プロテアソーム阻害薬ボルテゾミブの有用性が報告されており、次期プロトコルとしてボルテゾミブを組み込んだ寛解導入と自家末梢血幹細胞移植の併用を検討している。

また、自家造血幹細胞移植併用メルファラン大量療法により臨床的寛解ばかりでなく組織学的改善(アミロイド沈着の減少)がみられることが示され、積極的治療の有用性が明確にされた。末梢神経障害を主徴とするALアミロイドーシスにおいても、本療法は末梢神経障害の進行を停止させ、症状を改善させることが期待されることが示

された。

さらに、メルファラン大量療法の非寛解例に対するサルベージ療法として、サリドマイド療法、RIST(ミニ移植)が有力な治療選択肢になりうることを示したことは意義が大きい。

また、ALアミロイド沈着の有無に関わらず尿中軽鎖2量体(特に λ 鎖)が存在していることが腎障害に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

ALアミロイドーシスの新規治療戦略として、抗NF- κ B療法の開発をめざして研究が進行しているが、今後、形質細胞の生存能とNF- κ B活性、p53遺伝子変異の有無等の関係を解明していく必要がある。

2) **AAアミロイドーシス**: メソトレキセート導入後本症の予後が改善したこと、3種の抗サイトカイン療法はいずれも本症の進行阻止に有用であること、その中で特にトシリズマブによるIL-6阻害療法が他と較べてより有効性が高いことが示唆された。そこで、トシリズマブによるAA合併RAに対する全国多施設共同臨床試験を円滑に実施するためにAAアミロイドーシス臨床研究会を設立した。治療開始前の観察期間のプロトコルに加え、今後、第2段階の投与期間におけるプロトコルを確立する。これは世界初の臨床試験であり、本治療により難治性の本症が完全に制御されるようになることが期待される。

また、本症の基礎的研究として、新しい抗SAA1.83-95抗体を作製したが、この抗体は昨年報告した抗SAA1.81-93抗体よりも免疫組織化学的診断能が優れていた。また、生検消化管粘膜から微量のAAを抽出し定量する方法を確立した。病理学的評価法を補足する有用なAAアミロイドの評価法と考えられる。また、AAアミロイドーシスのモデルで雌雄差の影響が明らかになり、エストロゲン及びエストロゲン受容体を介した抗炎症機構が本症の発症に寄与していることが考えられた。

3) **FAP**: わが国第3の集積地であることが判明した石川県のFAPはVal30Met型が大多数であるが、その臨床的特徴(高齢発症で家族性発症)は二大集積地である長野、熊本(若年発症で家族性発症)あるいは全国に散在する非集積地のVal30Met型

FAP例の特徴（高齢発症で孤発性で男性が多い）とは異なっていた。わが国の TTR Val30Met 型 FAP には(i)early-onset and endemic type（長野、熊本）、(ii)late-onset and endemic type（石川）、(iii)late-onset and non-endemic type（全国に散在）の3臨床病型が存在することが明らかになった。沈着アミロイドの解析により、Val30Met 型 FAP では加齢に伴い野生型 TTR の沈着が増加するが、それは臓器によって異なる可能性があることが示された。老人性 TTR アミロイドーシスでは野生型 TTR が沈着する。今後、FAP で野生型 TTR の沈着に関わる因子や臨床症状との関連などを明らかにしていく必要がある。

血中アルブミンが TTR のアミロイド形成に抑制的に働くことが示された。腎障害や疾患の進行に伴うアルブミンレベルの低下が病態をさらに進行させている可能性が示ある。また、ultrasonication を用いれば、生理的 pH 条件下で TTR アミロイド形成が促進されることを示した。この *in vitro* の系は TTR 凝集抑制による治療薬開発に有用と考えられる。

4) 透析アミロイドーシス：献腎移植を受ける透析患者は長期透析例で透析アミロイドーシスを合併し、腎移植が症状の改善や進行の抑制に有効であることが示された。腎移植後に投与される免疫抑制薬の抗炎症作用によって透析アミロイドーシスの症状が改善している可能性もある。移植時進行例もあると考えられ、更なる治療法の確立が望まれる。また、透析アミロイドーシスではアミロイド腫瘍を形成しやすく、MRI がアミロイド腫瘍検出に有用であることが示された。

In vitro β 2-m アミロイド線維形成系を用いた実験で、昨年度リゾリン脂質が β 2-m 線維形成を促進する作用を有することを示したが、本年度、リゾリン脂質に加えて、遊離脂肪酸も透析患者の生体環境下で β 2-m 線維形成を誘起する可能性があることが明らかになった。これらはアミロイド沈着の危険因子として作用しており、それらの制御は本症の治療、予防につながる可能性がある。

5) 脳アミロイドーシス：A β 産生酵素である γ セクレターゼ活性を修飾する presenilin 複合体の構成因子 Aph-1 と結合し γ セクレターゼ活性を調節する因子の候補となる蛋白を発見したが（平

成17年度報告）、その結合の際の γ セクレターゼ活性を測定するシステムを構築することができた。Aph-1 が独自の A β 産生調整能を有している可能性が示唆され、今後、そのメカニズムを明らかにすることは AD の治療法開発の手がかりとなる可能性がある。

慢性低灌流ラットモデルで A β 産生が促進される結果が得られた。これは、脳血管障害が AD 発症に促進的に作用する修飾因子として作用する可能性を示唆する結果と考えられる。

女性ホルモンが A β 凝集抑制作用および不安定化作用を有することが明らかになり、女性ホルモンが生体内で AD 発症に抑制的に働いており、更年期以後の、そのバランス変化が AD 発症に促進的に作用する可能性が考えられた。

AD の病態に大きな役割を果たすと考えられている A β オリゴマーに対する特異抗体を作成し、本抗体がオリゴマーの神経細胞毒性中和作用を有すること、AD 患者脳に本抗体に結合する A β オリゴマーが存在することを示した。今後、本オリゴマー抗体は AD 治療抗体として有望と考えられた。

AD モデルマウスでの研究でリン酸化タウの沈着を伴う AD モデル、 α シヌクレイン蓄積モデルマウスの作成に成功した。これらは A β アミロイドーシス、タウオパチー、 α シヌクレイノパチーの治療法開発上有用なモデルとなる可能性がある。また、抗 A β 40 特異抗体の投与により脳内 A β 40 を選択的に可溶化しアミロイド斑コアと CAA を減少させることが示された。抗 A β 40 抗体は CAA に対する有力な治療法になる可能性がある。

MRI T2*画像の表在型の CMBs は CAA の診断に有用であることが確認され、感度は低いものの、比較的感度の高い診断マーカーと考えられた。後頭葉、特に皮質分水嶺領域に CMBs が多いことから CMBs の出現には虚血性機序が関与している可能性が考えられた。

アイオワ型 APP 変異例の脳にみられた A β 分子の生化学的多様性は、重合・沈着過程に関与し高度な CAA を示す病理像を形成するものと推測された。AD 脳のアミロイドが抗 BRI 抗体に反応したことから、AD の A β アミロイド沈着に BRI

が関与している可能性を今後検討する必要がある。

6) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発および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における ApoA-II アミロイド線維形成機構のキーとなるアミノ酸組成が判明されたが、まだ未解明の部分も残った。本モデルはアミロイド蛋白の1次構造、アミロイド線維形成、アミロイドーシス発症・伝播の関連を解明するにあたり優れたシステムである。

アミロイドーシス動物モデルにおいて、アミロイド標識プローブ^[11C]BF-227によるアミロイドイメージングに成功した。現在、探索的臨床研究の倫理審査で承認を得た段階であり、来年度以降、患者への臨床応用を開始することが可能となった。

アミロイドーシスモデル動物においてブドウ種子由来ポリフェノール (GSE) のアミロイド沈着抑制効果は明らかではなく、さらに長期間に渡る詳細な検討が必要と考えられた。

大腿の陳旧性血腫性病変に伴うアミロイド沈着は dysphoric な限局性アミロイドーシスであり、未知のアミロイド蛋白による新しいアミロイドーシスの病型である可能性が考えられた。

E. 結論

アミロイドーシス病型ごとの戦略および全病型に共通する基盤的研究により、疫学調査、治療プロトコル確立、新規診断・予防・治療法開発等を行った。臨床個人調査票に基づき家族性アミロイドーシスの疫学を明らかにした。AL では中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法からなる新規治療プロトコルによる全国多施設臨床試験を実施し有用性を評価し、他の治療選択肢 (同種ミニ移植など) を検討し、さらに有用性の高い次期臨床試験プロトコルを提案した。AA では抗サイトカイン療法の有用性を示し、特に IL-6 受容体抗体トシリズマブが優れていたことから、本剤による AA アミロイドーシスに対する世界初の全国多施設臨床試験のための体制を確立した。FAP では新規集

積地であることが判明した石川県の TTR Val30Met 型 FAP の特徴を解明、Val30Met 型 FAP では加齢に伴い野生型 TTR 沈着が増加することを示し、さらに治療薬開発に有用な *in vitro* の TTR アミロイド形成系を報告した。透析アミロイドーシスでは腎移植が症状の改善や進行の抑制に有用であることを明らかにし、遊離脂肪酸によるアミロイド形成促進を発見した。脳アミロイドーシスでは Aph-1 を介した γ セクレターゼ活性の調節機構、エストロゲンの抗アミロイド作用、抗 A β 40 抗体の治療的意義、皮質 CMBs の CAA 診断上の意義等を明らかにし、有用な A β オリゴマー特異抗体およびモデル動物を作成した。老化アミロイドーシスマウスの ApoA-II アミロイド線維形成機構解明が進展した。アミロイドイメージング開発では、micro PET によるアミロイドーシスモデル動物におけるアミロイドの画像化に成功し、臨床応用の段階に至った。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

(主要原著論文のみを下に示す。発表の詳細は分担研究報告を参照のこと)

- 1) Nagai Y, Inui T, Popiel HA, Fujikake N, Hasegawa K, Urade Y, Goto Y, Naiki H, Toda T: A toxic monomeric conformer of the polyglutamine protein. *Nat Struct Mol Biol* 14:332-340, 2007.
- 2) Sato T, Susuki S, Suico MA, Miyata M, Ando Y, Mizuguchi M, Takeuchi M, Dobashi M, Shuto T, Kai H: Endoplasmic reticulum quality control regulates the fate of transthyretin variants in the cell. *EMBO J* 26:2501-2512, 2007.
- 3) Miyashita A, Arai H, Asada T, Imagawa M, Matsubara E, Shoji M, Higuchi S, Urakami K, Kakita A, Takahashi H, Toyabe S, Akazawa K, Kanazawa I, Ihara Y, Kuwano R: The Japanese Genetic Study Consortium for Alzheimer's Disease, Consortium Information: Genetic association of CTNNA3 with late-onset Alzheimer's disease in females. *Hum Mol Genet* 16: 2854-2869, 2007.
- 4) Yazaki M, Mitsuhashi S, Tokuda T, Kametani F,

- Takei Y, Koyama J, Kawamorita A, Kanno H, Ikeda S: Progressive wild-type transthyretin deposition after liver transplantation preferentially occurs onto myocardium in FAP patients. *Am J Transplant* 7:235-242, 2007.
- 5) Inomata Y, Zeledon ME, Asonuma K, Okajima H, Takeichi T, Ishiko T, Ando Y: Whole-liver graft without the retrohepatic inferior vena cava for sequential (domino) living donor liver transplantation. *Am J Transplant* 7:1629-1632, 2007.
- 6) Yamamoto S, Wilczek H. E, Nowak G, Larsson M, Oksanen A, Iwata T, Gjertsen H, Söderdahl G, Wikström L, Ando Y, Suhr OB, and Ericzon B-G: Liver Transplantation for Familial Amyloidotic Polyneuropathy (FAP): A single center experience during 16 years. *Am J Transplant* 7:2597-604, 2007.
- 7) Nishikawa T, Hagihara K, Isobe T, Matsumura A, Song J, Tanaka T, Kawase I, Naka T, Yoshizaki K: Transcriptional complex formation of c-Fos, STAT3, and HNF-1 α is essential for cytokine-driven CRP gene expression. *J Immunol* 2008, in press.
- 8) Otsuyama K, Ma Z, Abroun S, Amin J, Shamsasenjan K, Asaoku H, Kawano MM: PPAR β -mediated growth suppression of baicalein and dexamethasone in human myeloma cells. *Leukemia* 21:187-190, 2007.
- 9) Yan J, Fu X, Ge F, Zhang B, Yao J, Zhang H, Qian J, Tomozawa H, Naiki H, Sawashita J, Mori M, Higuchi K: Cross-seeding and cross-competition in mouse apolipoprotein A-II amyloid fibrils (AApoAII) and protein A amyloid fibrils (AA). *Am J Pathol* 171:172-180, 2007.
- 10) Aoyagi H, Hasegawa M, Tamaoka A: Fibrillogenic nuclei composed of P301L mutant tau induce elongation of P301L tau, but not wild-type tau. *J Biol Chem* 282:20309-20318, 2007.
- 11) Okamoto H, Kaneko, H, Terai C, Kamatani N: Protective effect of A at position -168 in the type III promoter of the MHCIIA gene in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 66:1263-1264, 2007.
- 12) Yamashita T, Ando Y, Ueda M, Nakamura M, Okamoto S, Zeledon ME, Hirahara T, Hirai T, Ueda A, Misumi Y, Obayashi K, Inomata H, Uchino M: Effect of liver transplantation on transthyretin Tyr114Cys-related cerebral amyloid angiopathy. *Neurology* 70:123-128, 2008.
- 13) Wati H, Kawarabayashi T, Matsubara E, Kasai A, Hirasawa T, Kubota T, Harigaya Y, Shoji M, Maeda S: Transthyretin accelerates vascular A β deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Pathology* 2008, in press.
- 14) Matsunari I, Samuraki M, Chen W-P, Yanase D, Takeda N, Ono K, Yoshita M, Matsuda H, Yamada M, Kinuya S: Comparison of ¹⁸F-FDG PET and optimized voxel-based morphometry for detection of Alzheimer's disease: aging effect on diagnostic performance. *J Nucl Med* 48:1961-1970, 2007.
- 15) Kudo Y, Okamura N, Furumoto S, Tashiro M, Furukawa K, Maruyama M, Itoh M, Iwata R, Yanai K, Arai H: 2-(2-[2-Dimethylamino-thiazol-5-yl] ethenyl)-6-(2-[fluoro]ethoxy) benzoxazole: A novel PET agent for in vivo detection of dense amyloid plaques in Alzheimer's disease patients. *J Nucl Med* 48:553-561, 2007.
- 16) Sasahara K, Yagi H, Naiki H, Goto Y: Heat-induced conversion of β_2 -microglobulin and hen egg-white lysozyme into amyloid fibrils. *J Mol Biol* 372:981-991, 2007.
- 17) Yamamoto K, Yagi H, Ozawa D, Sasahara K, Naiki H, Goto Y: Thiol compounds inhibit the formation of amyloid fibrils by β_2 -microglobulin at neutral pH. *J Mol Biol* 376:258-268, 2008.
- 18) Takei Y, Gono T, Yazaki M, Ikeda S, Ikegami T, Hashikura Y, Miyagawa S, Hoshii Y: Transthyretin-derived amyloid deposition on the gastric mucosa in domino recipients of familial amyloid polyneuropathy liver. *Liver Transpl* 13:185-187, 2007.
- 19) Tsuchiya A, Yazaki M, Kametani F, Takei Y, Ikeda S: Marked regression of abdominal fat amyloid in patients with familial amyloid polyneuropathy during long-term follow-up after liver transplantation. *Liver Transpl*, in press.
- 20) Ge F, Yao J, Fu X, Guo Z, Yan J, Zhang B, Zhang H, Tomozawa H, Miyazaki J, Sawashita J, Mori M, Higuchi K: Amyloidosis in transgenic mice

expressing murine amyloidogenic apolipoprotein A-II (Apoa2C). *Lab Invest* 87: 633-643, 2007.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許出願・取得

工藤幸司

1)ベンゾキサゾール誘導体 (PCT/JP2007/063350、平成19年7月4日出願)

2)フッ素およびヒドロキシ基で置換されたアルコキシ基を有する PET プローブ (特願2007-176366、平成19年7月4日出願)

安東由喜雄

1)HMGB1のアミロイドーシスへの保護作用 (特願2007-034325、平成19年4月1日出願)

2)HMGB1のアミロイドーシスへの保護作用 (C1-A0620、平成19年6月1日出願)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

〔Ⅱ〕 分担研究者ごとの平成 17～19 年度研究のまとめ

タイトル	アミロイドーシスの疫学及び脳アミロイドーシスの診断・治療法開発に関する研究
氏名	山田正仁
所属機関名	金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科）
<p>(1) アミロイドーシスの疫学：①アミロイドーシス臨床調査個人票による調査：受給者数は約 1000 人／年であった。石川県が長野、熊本に次ぐ家族性アミロイドポリニューロパチーの集積地であることを発見した。②脳アミロイドアンギオパチー（CAA）の調査：世界初の CAA 全国調査を行った。CAA 関連脳出血 794 例（5 年間）を見出し、その全国患者数は 2882 人と推定された。CAA 関連脳出血 303 例の解析により臨床像を確立した。</p> <p>(2) 脳アミロイドーシスの診断・治療法開発：アルツハイマー病（AD）患者は Aβ 凝集に適した脳脊髄液環境を有しており、その検出や制御が診断や治療の主要な標的であること示した。非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）および女性ホルモンが抗アミロイド作用を有することを発見し、ポリフェノール類の抗アミロイド作用の分子メカニズムを解明した。これらは AD 治療法開発の有力な基本分子と考えられた。</p>	

タイトル	透析アミロイドーシスの研究
氏名	下条文武
所属機関名	新潟大学大学院医歯学総合研究科内部環境医学講座(第二内科)
<p>基礎的研究では、β₂ ミクログロブリンアミロイド滑膜病変における免疫組織化学的検討を行い、MIF は滑膜表層細胞、滑膜表層下細胞、アミロイド周囲浸潤 Mφ、異物型多核巨細胞、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞に陽性であった。一方、透析患者 84 名、健常者 34 名の血清中 MIF、β₂M、SAA、CRP 濃度の測定では、透析患者は健常者に比し有意に高値であった。</p> <p>臨床的研究では慢性透析症例 366 名について透析アミロイドーシスの病態を検討した。手根管症候群（CTS）、破壊性脊椎関節症（DSA）、アミロイド関節症の手術歴のある患者は 15-19、20-24 年、25 年以上の透析期間別でそれぞれ 13.1、25.0、67.5%であり、透析期間の長期化に伴い増加し多彩な病態を呈した。また献腎移植を施行された 32 名についての透析アミロイドーシス発症の既往は 9 例（28.1%）であり、非発症例と比較して透析期間の長期化が特徴的であった。移植後多くは関節症状の改善を認めたが、腎機能が保たれているなか DSA の手術を施行された症例もあった。</p>	

タイトル	原発性全身性 AL アミロイドーシス患者に対する化学療法の治療評価
氏名	池田修一
所属機関名	信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科
<p>原発性全身性 AL アミロイドーシス患者に対する化学療法の治療効果を評価する目的で以下の検討を行った。本症患者に対して VAD+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療法を 20 名、VAD 単独療法 10 名、Auto-PBSCT を併用したメルファラン大量療法単独を 3 名に施行した。これらの化学療法を受けた後血液学的に寛解を得たのは 33 名中 19 名であった。寛解率はメルファラン大量療法を受けた患者が 86%、VAD 単独療法が 50%であり、前者の治療法が優位に有効であった。本邦では未だ原発性全身性 AL アミロイドーシス患者への大量化学療法を多数例で比較検討した報告はないが、今回 3 年間の検討により本疾患患者に対する Auto-PBSCT を併用したメルファラン大量療法は根治が期待できる治療法と考えられた。</p>	

タイトル	モデルマウスを用いた伝播を中心としたアミロイドーシス発症機構の解析
氏名	樋口京一
所属機関名	信州大学医学系研究科加齢適応医科学系加齢生物学分野
<p>2 つの課題を中心として研究を行った。</p> <p>1)動物モデルを用いたアミロイドーシス発症機構の解析:アミロイドーシスの発症機構の解明と治療・予防法の開発には適切なモデル動物が必須である。既存の AApoAll (SAMR1C), AA (C57BL/6+AgNO3), FAP (TTRMet30 Tg)のモデルマウスに加えて、新規に作製した透析アミロイドーシスモデルマウス (ヒト β2M Tg) を用いて、解析を行った。AApoAll と AA にはアミロイド線維による seeding (伝播) が、TTR、β2M の生体での線維形成には伝播以外の要因の関与が必要である事を明らかにした。</p> <p>2)合成ペプチドを用いたアミロイド線維形成機構の解析: AApoAll アミロイド線維形成には C 末端の疎水性に富む領域と N 末端の比較的無構造な領域の相互作用が必要である事を明らかにし、アミロイド線維形成抑制を目指した分子的解析の新規システムを構築した。</p>	

タイトル	アミロイドβ蛋白(Aβ)の脳内蓄積機構の解析
氏名	玉岡 晃
所属機関名	筑波大学大学院人間総合科学研究科病態制御医学専攻神経病態医学分野
<p>培養細胞系に対する酸化ストレス負荷により BACE1 の増加傾向が生じ、慢性低灌流ラット脳で Aβ と BACE1 の増加が認められたことより、酸化ストレスや低灌流が BACE1 の増加を介してアルツハイマー病(AD)を促進する可能性が示唆された。家族性デンマーク型認知症(Familial Danish Dementia; FDD)脳の解析により、非 Aβ 脳アミロイドーシスである FDD においても神経原線維変化と認知症が引き起こされるが典型的老人斑は必須要素ではないこと、アミロイド分子の翻訳後修飾と切断がその可溶性や重合性等に重要であることを明らかにした。典型的老人斑を欠く家族性 AD のアイオワ家系脳の解析も行い、プレアミロイドの認知症発症における重要な意義を明らかにした。AD の治療との関連ではスタチン服用群における髄液 Aβ 分子種の検討し、スタチン服用により髄液中 Aβ に有意な変化が認められないことを示した。</p>	

タイトル	透析アミロイドーシス
氏名	高市憲明
所属機関名	虎の門病院
<p>平成 19 年度までの当院の AL アミロイドーシスの治療経験からは、十分なアミロイド生成の抑制ができれば、臨床的にも組織学的にも改善が見込めることが判明した。透析におけるアミロイド除去能は時代とともに改善しているが、手根管症候群の手術実施患者の平成 16 年度調査では、年齢および糖尿病の存在が発症要因であったが、時代の関連は見出せず近年の透析のアミロイド除去能でも発症抑制には不十分であることが示唆された。平成 15 年度の透析 15・25 年の患者を対象とした透析アミロイドーシスの発症要因の検討でも、加齢が最も重要な要因であり加齢に伴う何らかの変化が発症に重要であることが判明した。一方高カリウム血症も発症要因の一つである可能性が示唆され、良好な透析の必要性が示唆された。蓄積したアミロイドの量的診断は困難であるが、平成 19 年度調査で透析アミロイドーシスの診断には MRI 画像診断が有用であることが判明した。</p>	

タイトル	AA アミロイド前駆体 SAA と HDL の親和性検討ならびにアミロイド沈着内の AA 蛋白定量
氏名	山田俊幸
所属機関名	自治医科大学臨床検査医学講座
<p>AA アミロイド前駆体である SAA と血中で SAA が会合している HDL との親和性を表面プラズモン共鳴を原理としたピアコアで解析するための基礎検討を行った。チップへのリコンビナント SAA の固定化条件、HDL との結合実験とその解析法について検討した。アミロイドーシス易惹起性のアイソタイプ SAA1.3 が親和性が低いとする preliminary data を得ている。病理診断目的の消化管生検粘膜中の AA 蛋白を免疫化学的に定量する系を確立し 25 名のアミロイドーシス合併を含む関節リウマチ患者に応用したところ、定量値により陽性例は陰性例から明確に区別され、一診断法としての有用性が示唆された。</p>	

タイトル	遺伝性アミロイドーシスの発症を抑制する因子の探索
氏名	前田秀一郎
所属機関名	山梨大学大学院医学工学総合研究部生化学
<p>アルツハイマー病 (AD) のモデルマウス (Tg2576) と無トランスサイレチン (Ttr) マウス株、あるいは無血清アミロイド P 成分 (Sap) マウス株とを用いて、$A\beta$ アミロイドの沈着に Ttr や Sap がどう関与するかを解析した。この結果、これ迄の予想に反し、Ttr は、脳血管アミロイド沈着を促進し、Sap は、脳内 $A\beta$ アミロイドの沈着に影響しないことを見出した。さらに、ブドウ種子ポリフェノール (GSE) の AD や老化アミロイドーシスの発症抑制効果を、これらの疾患モデルマウス (Tg2576、R1.P1-Apoa2^c) を用いて検証した。この結果、GSE を 6 ヶ月間投与した 14 カ月齢の Tg2576 の脳内アミロイド沈着程度は未だ低く、対照非投与群と有意な差異を認めなかった。R1.P1-Apoa2^c では、GSE 5 ヶ月間投与により、酸化、小胞体ストレス抑制効果を認めたが、アミロイド沈着を抑制しなかった。</p>	

タイトル	ヒトアミロイドーシス発症の分子機構解明-透析アミロイドーシスを中心に-
氏名	内木宏延
所属機関名	福井大学医学部医学科 病因病態医学講座・分子病理学領域
<p>透析アミロイドーシスの患者組織に沈着する$\beta 2$-ミクログロブリン($\beta 2$-m)アミロイド線維の試験管内形成反応において、前駆体蛋白質$\beta 2$-mの立体構造は天然型からアミロイド原性の構造に変化する必要がある。中性pH域でこの構造変化を誘起し、線維を伸長させる生体内分子を探索した。その結果(1)親水基に陰性荷電を有するリゾリン質であるリゾフォスファチジン酸、リゾフォスファチジルグリセロール、および、(2)遊離脂肪酸のうちラウリル酸、ミリスチン酸、オレイン酸、リノール酸ならびに血中の組成に類似した脂肪酸混合物に効果が認められた。また、リゾフォスファチジン酸は、$\beta 2$-mモノマーからの核形成反応も誘起し、さらに血液透析患者の血漿中濃度が有意に増加していた。以上2群の生体物質は陰性荷電を有する界面活性物質であるが、それぞれ透析患者に特有の生体環境下で、$\beta 2$-mアミロイド線維形成を誘起する可能性がある。</p>	

タイトル	アミロイド形成と組織障害について
氏名	今井裕一
所属機関名	愛知医科大学腎臓・膠原病内科
<p>平成17年度は、透析アミロイド症の発症について、$\beta 2$ミクログロブリンが糖と非酵素的に結合したAGE-$\beta 2$ミクログロブリンが培養破骨細胞を活性化し、骨病変を加速することを明らかにした。平成18年度は、AL型アミロイドーシスにおいてWestern blot法が感度特異度ともに優れており、臨床経過を反映することを明らかにした。平成19年度は、尿異常があるmonoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS)患者に尿中Bence Jones 蛋白(λ型)が存在し、λ鎖それ自体が細胞障害性を有する可能性があること、さらに血中、尿中に存在するdimeric λ鎖が細胞障害を有する可能性が高いことを明らかにした。このことは今後の治療法開発に際し、示唆に富む成績である。</p>	

タイトル	孤発性アミロイド血管症の臨床診断に関する検討
氏名	葛原茂樹
所属機関名	国立病院機構精神神経センター武蔵病院
<p>孤発性アミロイド血管症(CAA)は、脳血管障害と認知症の予防、治療に重要だが生前診断は困難であるため、新しい補助検査法を用いた CAA の臨床的診断について検討した。手術時摘出標本で CAA が確認された皮質下出血 6 例を含む皮質下出血 14 例、CAA を高頻度に合併する疾患であるアルツハイマー病 (AD) 67 例を含む 548 例の高齢者の MRI T2*画像で脳内微小ヘモジデリン沈着 (陳旧性微小脳出血) を評価した。皮質・皮質直下に微小ヘモジデリン沈着が認められる MRI 所見 (とくに多発性) が、感度は低い、特異度の高い CAA の診断マーカーであることを確認した。また、上記の皮質下出血症例と剖検脳での CAA 確認例の脳脊髄液の総 tau、リン酸化 tau、Aβ42 濃度を検討したところ、AD 同様に tau 上昇、Aβ42 低下がみられ、病期進行と Aβ42 が逆相関していた。特に、非侵襲的な MRI 診断が臨床上有用と考えられた。</p>	

タイトル	原発性 AL アミロイドーシスに対する中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法
氏名	島崎千尋
所属機関名	京都府立医科大学血液・腫瘍内科
<p>原発性 AL アミロイドーシスに対し、中等量メルファラン (MEL) による寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法の有用性を検討した。対象は 6 例、年齢は 44 歳から 61 歳。臓器病変は腎 (5 例)、消化管 (3 例)、神経 (2 例) などであった。中等量 MEL による寛解導入療法は安全に実施されたが、6 例中 2 例でのみ目標 CD34+細胞数 ($2 \times 10^6/\text{kg}$) を採取し得た。採取不良例では他の幹細胞動員療法が行われ、全例で自家末梢血幹細胞移植が行われた。移植前処置は MEL $140\text{mg}/\text{m}^2$ で行われた。移植後の血球回復は速やかで、重篤な有害事象は発疹と発熱のみで安全に実施された。移植後の血液学的効果は PR 5 例、SD 1 例、臓器効果は 2 例 (腎) でみられ、観察期間 422 日で全例が生存中である。自家末梢血幹細胞移植は有望な治療法であり、血清 free light chain の測定は効果判定に有用であった。</p>	

タイトル	AA アミロイドーシスのトシリズマブによる治療研究
氏名	吉崎和幸
所属機関名	大阪大学
<p>IL-6 は AA アミロイドの前駆蛋白である SAA を最も有効に誘導するサイトカインであり、すでに IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) を用いて関節リウマチ患者の SAA 値の正常値化を確認している。このためトシリズマブを用いた IL-6 阻害による SAA の産生抑制に基づく AA アミロイドーシスの有効な治療が期待できる。</p> <p>このため、IL-6 刺激肝細胞での SAA 発現機序を検討した。続いて班員を中心として臨床研究会を発足し、自主臨床研究として実薬投与前観察期と投与後に分けて臨床研究を行うための研究計画案を検討した。その結果、IL-6 が SAA 発現に必須であり発現機序を転写レベルで明らかにし、トシリズマブを用いた治療の理論的裏付けができた。続いて全国 24 施設を含む AA アミロイドーシス臨床研究会を発足し、プロトコールを作成した。さらに患者への説明文、同意書、調査票、登録票等を作成した。</p>	

タイトル	Transgenic mouse model を用いた脳アミロイド蓄積機序の検討と治療法の開発
氏名	東海林幹夫
所属機関名	弘前大学大学院医学研究科 脳研神経内科学講座
<p>Transgenic mouse model を用いて脳アミロイド蓄積機序の検討と治療法の開発を行った。</p> <p>①AB アミロイド蓄積がリン酸化 tau とリン酸化 α-synuclein の二次的病理変化を誘発することを示した。②神経原線維変化と広範な細胞死を再現する TgTau^{P301L} マウスを確立した。③TgTauP301L と AB 蓄積マウス Tg2576 との double Tg を作成し AB アミロイドが神経原線維変化を誘発する機序を解明した。④Lewy 小体型認知症(DLB)モデルマウス TgαSYN を確立した。⑤Tg2576 マウスで胆汁への AB クリアランス経路を解明した。⑥抗 AB42 抗体および抗 AB40 特異抗体の投与による脳アミロイドの選択的治療法の開発を行った。⑦アルツハイマー病(AD)に特異的な病態惹起分子である AB oligomer の選択的制御による AD の治療構築を目的として、その特異的抗体作製を試みた。</p>	

タイトル	自家造血幹細胞移植併用メルファラン大量療法では緩解とならない原発性 AL アミロイドーシスの治療法
氏名	麻奥英毅
所属機関名	広島赤十字・原爆病院 検査部
<p>原発性 AL アミロイドーシスは、自家造血幹細胞移植併用メルファラン大量療法 (HDM/SCT) が現在最も有効な治療法であるが、その適応は若年者で臓器障害の軽い患者に限られる。平成 17 年度には、HDM/SCT の適応とならない 4 例にメルファラン中等量療法 (20-60mg/m²) を行い、2 例に効果を認め、その有用性を報告した。平成 18 年度には、心アミロイドーシスを有する 3 例に対し、double transplantation を行う risk adapted HDM/SCT を行い、全例で著明な QOL の改善を認め、重篤な臓器障害を有する患者での risk adapted HDM/SCT の有用性を報告した。平成 19 年度には、HDM/SCT 後にも緩解とならなかった患者にサリドマイド 100mg/日を投与し、1 年半緩解が維持していることを報告し、低用量サリドマイド投与が補助療法として有用であることを報告した。</p>	

タイトル	アミロイドに関する新規抗体の作製およびアミロイドの症例報告
氏名	石原得博
所属機関名	山口大学大学院医学系研究科情報解析医学系学域病理形態分野
<p>アミロイドの免疫組織化学的診断、発生病理解明への応用を目的として、免疫グロブリン λ 鎖 C 末端近傍に対する抗 λ 194-211、SAA に対する 5 種類の新規抗体を作製した。抗 λ 194-211 では定常領域主体のフラグメントを含む A λ アミロイドーシス例の存在の可能性を示した。また抗ヒト SAA1.27-36、抗ヒト SAA1.83-95 はヒト AA、抗マウス SAA1.18-35、抗マウス SAA1.81-93 はマウス AA アミロイドと良好に反応し、抗ヒト SAA1.33-38 (各種共通部分) は酵素処理により各種の AA アミロイドと反応することを示した。ヒト AA 剖検例の免疫組織化学的検討では、抗マウス SAA1.81-93 は 46%、抗ヒト SAA1.83-95 は 72.5% の症例で陽性となり、アミロイド辺縁部が陽性となる傾向にあることを示した。またこれまでほとんど報告のない大腿の血腫様病変に伴うアミロイドについて報告した。</p>	