

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

アミロイドーシスの画期的診断・治療法に関する研究

主任研究者 池田 修一 信州大学医学部 教授

研究要旨 本研究ではアミロイド沈着に特異的画像診断法を開発し、また全身性アミロイドーシスに有効な新規薬物治療法を確立することを目的とする。本年度は画像診断では心アミロイドーシスの鋭敏な超音波診断法が報告された。また、アミロイドーシスの病態に関しては飼育チーターで高率に発生している AA アミロイドーシスの成因、肝移植後長期経過した FAP 患者の組織へ沈着しているアミロイドの変化などで新知見が見出された。治療の領域では AL アミロイドーシスに対する VAD 単独療法の有効性、AA アミロイドーシスへの漢方薬成分の投与の試み、FAP に対する diflunisal、三価クロム (CrIII) を用いた薬物療法の提唱などが報告された。

分担研究者名

安東由喜雄 (熊本大学大学院医学薬学研究部・講師)
 石原得博 (山口大学医学部・教授)
 金子清俊 (東京医科大学医学部・教授)
 樋口京一 (信州大学大学院医学研究科・教授)
 祖父江 元 (名古屋大学院医学研究科・教授)
 中野正明 (新潟大学医学部・教授)
 宇根有美 (麻布大学獣医学部・助教授)
 松田博史 (埼玉医科大学病院・教授)
 満屋裕明 (熊本大学大学院医学薬学研究部・教授)

A. 研究目的

アミロイドーシスは全身の多臓器を障害し、また疾患特異的な症状に乏しい。このため多くの本症患者が進行期に至ってやっと診断されているのが現状である。最近、異なる病型のアミロイドーシスに対する根治療法が試みられているが、こうした治療の対象となる患者はいずれも発症早期の患者である。このためアミロイド沈着に特異的画像診断法を開発することで、発症早期のアミロイドーシス患者の診断が可能となり、また全身性アミロイドーシスに有効な新規薬物治療法を確立することで本症患者の治癒率が向上することが期待できる。

B. 研究方法

I. アミロイドーシスの画期的診断法

1) 組織ドプラ法、後方散乱信号法による心アミロイドーシスの鋭敏な検出法：

発症早期の原発性 AL-、反応性 AA-アミロイドーシスならびに FAP 患者を対象に心エコーを行い、上記の二検索法により心筋の二点間の組織ドプラの差と内因性心筋収縮力を定量化した。同時に血清中 BNP、N-terminal pro-BNP、cardiac troponin を測定し、これらの値を健常対照者と比較して、心アミロイドーシスの診断法を確立することを検討した (小山、池田)。

2) CT, MRI, RI-image によるアミロイド沈着臓器の鋭敏な検出法：

CT/MRI と Tc-99m (V) DMSA および Tc99m-Aprotinin 核種を用いた RI-image を対比させることでアミロイドーシスに特異的な画像を検討した。対象はアミロイド沈着が起る甲状腺、心臓、肝・脾であり、組織造影効果をコンピューター解析した (松田博史、池田)。

II. アミロイドーシスの画期的治療法

1) AL アミロイドーシス:対象患者を vincristine, doxorubicin, dexamethazone の三剤併用 (VAD 療法)を単独で行う群、VAD 導入療法後 Auto-PBSCT を併用したメルファラン大量静注療法を行う群とで治療効果の比較試験を行った。指標は血清・尿中の M 蛋白の消失、血清中の free light chain 濃度ならびに κ/λ の正常化とした。(池田、満屋)。

- 2) AA アミロイドーシス：有効な薬物療法の開発、進行期患者の腎機能管理の方法を検討した（石原、中野）。
- 3) FAP: TTR 四量体分子との結合性が高いことが Scripps 研究所の Kelly 博士らにより証明され、海外で市販されている diflunisal を個人輸入して FAP 患者に投与して、血清中の TTR 分子の安定性を検索した。Diflunisal は 500mg/day と 1000mg/day の二群投与とし、本薬剤の血中濃度は HPLC で半定量的に測定した。同様な作用機序を持つ三価クロム (CrIII) は transgenic mice に投与して検索した。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、TTRV30M 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した。（安東、祖父江、樋口、池田）

（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

I. アミロイドーシスの診断法

組織ドプラ法、後方散乱信号法を用いて心アミロイドーシス患者の心機能解析と予後の検索を行った。両二者の指標は従来の壁厚測定、僧帽弁血流速度測定に比較して、心アミロイドーシス患者の心機能低下度をより鋭敏に反映していた。

II. アミロイドーシスの病態に関する研究

絶滅危惧種であるチーターの重要な死因は炎症に伴う全身性 AA アミロイドーシスである。国内で飼育されているチーターの本疾患罹患率は

95%であり、その成因として遺伝的背景の均一化、環境要因などが考えられる。後者の環境要因に関してはチーターの糞便中に AA アミロイド線維が排泄され、同一ケージ内の他の個体が経口的に本アミロイド線維を摂取することが全身性 AA アミロイドーシス発症の trigger となることが考えられる。FAP の若年発症群と高齢発症群との病態の違いが示された。FAP では根治療法として肝移植が定着している。本治療を受け 10 年前後経過した FAP 患者の体内のアミロイド沈着動態の変化について、5 名を対象に検索された。腹壁脂肪の吸引組織の検索では、術後 2、3 年目からアミロイド沈着は減少し、10 年目頃にはほぼ完全に消失していることが明らかにされた。

III. アミロイドーシスの治療法

- 1) AL アミロイドーシス：形質細胞異常症に対する vincristine, doxorubicin, dexamethazone の三剤併用療法 (VAD 療法) の有用性が報告された。VAD 療法は本来、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を行う前の導入療法として行われている。60 歳以上の高齢者で、全身状態がよくなくメルファラン大量静注療法を施行することが困難な患者 8 名に対して、VAD 療法を 1～2 クール行った。4 名で M 蛋白が消失して症状も改善し、臨床的に寛解したと判断できた。
- 2) AA アミロイドーシス：漢方薬“雷公藤”の主成分である triptolide が濃度依存性にマウスにおける実験的 AA アミロイドーシスの発症を抑えることが示された。関節リウマチに併発した AA アミロイドーシスに起因する腎障害に対して、透析療法を予定導入することで、導入時の合併症を減らすことができることが報告された。
- 3) FAP：本疾患のアミロイド前駆蛋白は変異トランスサイレチン (TTR) である。Diflunisal の FAP 患者への投与は 500mg/day、1000mg/day の二群とした。TTR 四量体分子への安定化作用の検討は、本蛋白を尿素または酸にとり変性させた後に SDS-PAGE / Western blotting を施行して、TTR 分子の四量体、二量体、単量体分子の比率を観察することで行った。

Diflunisal は 500mg/day の投与で患者血清中の TTR に特異的に結合して本分子の安定化を計ることが示された。また diflunisal と類似な作用を発揮する物質として Cr^{3+} の有用性が示された。

D. 考察

組織ドプラ法、後方散乱信号法を用いた心アミロイドーシス患者の心機能解析法は従来の方法と比較して非常に鋭敏である。しかし現状では手技の面を含めて、一般医家に必ずしも容易に受け入れられる方法ではない。心アミロイドーシス患者の予後を予測する方法として、今後血清中の BNP 値等も加味したより簡便な指標を確立していく必要がある。

アミロイドーシス患者への有効な治療法導入の上で、AL 型患者に対して vincristine, doxorubicin, dexamethazone の三剤併用療法 (VAD 療法) の有用性が示されたことの意義は大きい。本療法は副作用が少なく、全身状態が万全でない高齢者にも適応がある。また一般の大部屋で実施が可能のため、専門医がいない市中病院へも本療法を広げることができる。AA アミロイドーシス患者の治療への漢方薬成分の応用、本疾患の重要な臓器障害である腎病変への透析導入療法の指標などは今後さらに多数患者での検討を要する。

肝移植を受け長期経過した FAP 患者の腹壁組織において、アミロイド沈着が有意に減少していることが証明されたことは、本治療が FAP 患者の根治療法であることを改めて印象付けた。今後、FAP の主な標的臓器である末梢神経、自律神経、内臓器官へ沈着しているアミロイドの

変化を明らかにしていく必要がある。また、FAP ではアミロイド前駆蛋白を安定させることで組織へのアミロイド沈着を防ぐという発想での薬物療法が臨床的に実施された。今後多数例での臨床データの集積と分析が期待される。

E. 結論

本研究ではアミロイド沈着の特異的画像診断法と、全身性アミロイドーシスに有効な薬物治療法を確立することで、発症早期のアミロイドーシス患者の診断が可能となり、患者の治癒率が向上することを目指している。今年度は初年度であり、個々の研究分野で計画の立案と具体的方向性を定めることに主眼が置かれた。今後2年間で実質的な研究を行い、成果を出すことが期待される。

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

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

アミロイドーシスの画期的診断・治療法に関する研究

主任研究者 池田 修一 信州大学医学部 教授

研究要旨 本研究ではアミロイド沈着に特異的な画像診断法の開発、アミロイドーシスの伝播の可能性に関する研究ならびに全身性アミロイドーシスに有効な新規薬物治療法を確立することを目的とする。本年度は画像診断では^{99m}Tc-Aprotininを用いた scintigram がアミロイドーシス診断に応用可能であることが報告された。病態に関してはAA アミロイドーシスを発症した牛から抽出したアミロイド線維を小ブタ、ウサギへ伝播させる実験が開始された。またヒトで本疾患を発生させる家族性地中海熱のわが国における一次調査結果が報告された。治療薬開発ではFAP患者に対するdiflunisalの安全性と短期治療効果が報告された。

分担研究者名

安東由喜雄（熊本大学大学院医学薬学研究部・教授）

石原得博（山口大学医学部・教授）

金子清俊（東京医科大学医学部・教授）

樋口京一（信州大学大学院医学研究科・教授）

松田正之（信州大学医学部・助教授）

祖父江 元（名古屋大学院医学研究科・教授）

中野正明（新潟大学医学部・教授）

山田正仁（金沢大学大学院医学研究科・教授）

宇根有美（麻布大学獣医学部・助教授）

松田博史（埼玉医科大学病院・教授）

満屋裕明（熊本大学大学院医学薬学研究部・教授）

亀谷富由樹（東京都精神医学総合研究所・主任研究員）

松井高峯（帯広畜産大学獣医学科・教授）

山田 学（動物衛生研究所・主任研究員）

薬物治療法を確立することで、本症患者の治癒率が向上することが期待できる。

B. 研究方法

I. アミロイドーシスの画期的診断法

1) RI-imageによるアミロイド沈着臓器の鋭敏な検出法：

^{99m}Tc-aprotinin核種を用いたRI-imageによりアミロイドーシスに特異的な画像の描出を検討した。（松田博史、池田）。

II. アミロイドーシスの画期的治療法

1) ALアミロイドーシス：対象患者にvincristine, doxorubicin, dexamethazoneの三剤併用（VAD療法）を単独で行う群、VAD導入療法後Auto-PBSCTを併用したメルファラン大量静注療法を行う群とで治療効果の比較試験を行った。指標は血清・尿中のM蛋白の消失、血清中のfree light chain濃度ならびにκ/λの正常化とした。（池田、満屋）。

2) AAアミロイドーシス：本疾患の伝播の可能性について、高齢牛・飼育チーターを対象として実験動物系の作成に取り組む（池田、宇根、樋口、松井、山田学）。有効な薬物療法の開発、進行期患者の腎機能管理の方法を検討した（石原、中野、松田正之）。

3) FAP：TTR四量体分子との結合性が高いことがScripps研究所のKelly博士らにより証明さ

A. 研究目的

アミロイドーシスは全身の多臓器を障害し、また疾患特異的な症状に乏しい。このため多くの本症患者が進行期に至ってやっと診断されているのが現状である。最近、異なる病型のアミロイドーシスに対する根治療法が試みられているが、こうした治療の対象となる患者はいずれも発症早期の患者である。このためアミロイド沈着に特異的な画像診断法を開発することで、発症早期のアミロイドーシス患者の診断が可能となる。また全身性アミロイドーシスの成因解明と有効な新規

れ、海外で市販されている diflunisal を個人輸入して FAP 患者に投与して、血清中の TTR 分子の安定性を検索した (池田)。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、TTRV30M 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した。(安東、祖父江、樋口、池田)

- 4) 脳内におけるアミロイド類似物質の産生代謝機序の解明を行う。(金子、亀谷、山田正仁)

(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。認知症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

I. アミロイドーシスの診断法

^{99m}Tc-aprotinin の合成、保存条件が検討され、安全性が確認された。このため健常ボランティアに注射して、生理的動態を観察した結果、本核種は非特異的集積が極めて軽度であることが判明した。

II. アミロイドーシスの病態に関する研究

絶滅危惧種であるチーターの重要な死因は全身性 AA アミロイドーシスであり、国内で飼育されているチーターの本疾患罹患率は 95% である。またその成因としてチーターの糞便中に AA アミロイド線維が排泄され、同一ケージ内の他の個体が経口的に本アミロイド線維を摂取することが全身性 AA アミロイドーシス発症の trigger となると考えられる。こうした疫学データを基に、ヒトを含む大型哺乳動物での AA アミロイドーシスの

伝播の可能性について、今年度は本症罹患牛の腎臓から抽出したアミロイド線維を飛節潰瘍を持つウサギに投与したところ、高率に本アミロイドーシスを発症させることが出来た。またヒトにおいて本疾患の原因となる家族性地中海熱 (FMF) について、本邦で初めて疫学アンケートをしたところ、59 名の患者の一次調査情報が得られた。

III. アミロイドーシスの治療法

- 1) AL アミロイドーシス : BJP の選択的吸着カラムの臨床応用が開始された。形質細胞異常症に対する化学療法として vincristine, doxorubicin, dexamethazone の三剤併用療法 (VAD 療法)、メルファラン大量静注 + 自己末梢血幹細胞移植 (Auto-PBSCT) が行われている。これら化学療法の治療評価として、血清中アミロイド原性 FLC 濃度と κ/λ 比が検討された。前者が 200mg/L 以下になることが治療効果と相関していた。
- 2) AA アミロイドーシス : 関節リウマチに併発した AA アミロイドーシス患者 9 名に Infliximab, Etanercept 等の生物学的製剤を導入し、その臨床経過が報告された。
- 3) FAP : 本疾患のアミロイド前駆蛋白は変異トランスサイレチン (TTR) である。またこの TTR 四量体分子を安定化させることで、FAP のアミロイド産生を抑えることができると推測される。Diflunisal は 500mg/day の投与で、患者血清中の TTR に特異的に結合して本分子の安定化を計ることが示された。また本薬剤を FAP 患者 4 名に最長 2 年に渡って投与されたが、有害事象がなかった。また網膜光凝固が FAP の眼病変の伸展抑制効果があることが報告された。
- 4) 脳アミロイドアンギオパチー (CAA) の治療 : CAA に起因する脳出血の再発予防にステロイド大量投与が有効であることが示された。

IV. 脳内におけるアミロイド類似物質の産生代謝機序

A β オリゴマーの不安定に関与する因子として荷電状態の変化が挙げられる。また抗酸化物質は α -synuclein の線維形成を抑制し、huntintin の

凝集体形成過程では 14-3-3 が重要な役割を果していることが明らかにされた。

D. 考察

アミロイド沈着臓器の特異的検出法として PET 検査が研究されているが、scintigramの方がより簡便である。^{99m}Tc-aprotinin 核種とアミロイド線維との結合性は既に欧米で証明されており、本邦での導入が急がれる。

AA アミロイドーシスが伝播可能なことはマウスでは実証済みであるが、大型動物では従来困難であった。今回、ウサギにおいて本実験が可能となったことは、ヒトでの病因的意義を解明する上で重要な進歩と考えられる。また FMF は地中海沿岸の民族で多発しており、本邦ではその疾患概念すらよく知られていない。近年、遺伝子診断が可能となり、コルヒチンで AA アミロイドーシスへの伸展も防げる。今後、本邦 FMF 患者の遺伝子異常と臨床像の対比の検索が必要である。

AL アミロイドーシス患者に対する強力な化学療法の有効性を実証するためには、治療効果の指標を見出す必要がある。血清中 FLC 濃度の定量化は本病型のアミロイド前駆蛋白を直接計っており、化学療法の有効性を鋭敏に反映すると考えられる。また VAD 療法単独、VAD とそれに続くメルファラン大量静注+自己末梢血幹細胞移植の両治療法の比較において後者の治療を受けた患者において有意に予後が改善されることが示された意義は大きい。

FAP ではアミロイド前駆蛋白を安定させることで組織へのアミロイド沈着を防ぐという発想で diflunisal による薬物療法が臨床実施に移された。今後多数例での臨床データの集積と分析が

期待される。

脳内におけるアミロイド関連物質の生成・代謝については不明な点が多いが、A β 、 α -synuclein、huntintin の線維形成過程とその阻止物質の研究が伸展しだしたことは、今後の脳アミロイドーシス研究発展につながる。

E. 結論

本研究ではアミロイド沈着の特異的画像診断法と、全身性アミロイドーシスに有効な薬物治療法を確立することで、発症早期のアミロイドーシス患者の診断が可能となり、患者の治療率が向上することを目指している。今年度は AL、AA、FAP 等の全身性アミロイドーシスの各分野で新知見が見出された。特にアミロイド前駆蛋白の凝集阻止を目指す薬物の開発は今後の応用範囲が広いと考えられる。

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

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

アミロイドーシスの画期的診断・治療法に関する研究

主任研究者 池田 修一 信州大学医学部 教授

研究要旨 全身性アミロイドーシスの診断と治療法を画期的に前進させるため、以下の研究を行った。アミロイドにより特異的に結合する核種として^{99m}Tc-aprotininを生成してアミロイドーシスのRI診断法を検討した。アミロイドーシスの伝播に関する研究の一環としてAAアミロイドーシスに罹患した高齢牛の腎臓からアミロイド細線維を分離・精製して、複数の炎症刺激を加えたマウスまたは飛節潰瘍を有するウサギに投与したところ、両動物にAAアミロイドーシスが誘発された。また飼育チーターが高率に本疾患により死亡する機序として、罹患動物の糞便中へ排泄されるAAアミロイド細線維を他の個体が摂取する結果、その個体にAAアミロイドーシスが発生していることが考えられた。アミロイドーシスの治療に関してはALにおいてはBJP吸着療法の有用性、慢性関節リウマチに併発したAAではTNF- α を標的とした生物学的製剤が有効な患者では胃粘膜生検組織上のアミロイドが消退していくことが示された。FAP患者の若年発症群と高齢発症群の病態の差違が示された。また眼病変の進行抑制に網膜の光凝固が有効なことが報告された。わが国で認知度の低いアミロイドーシス関連疾患として、家族性地中海熱と老人性全身性アミロイドーシスの検索を行った。アンケート調査で全国から得られた家族性地中海熱疑い例は60名であり、年齢分布では30歳以上の成人例が相対的に高いことが本邦の特徴であった。また老人性全身性アミロイドーシスが60歳代から発症していること、心不全症状に加えて手根管症候群、脳塞栓などの症状で発病する例があることがわかった。

分担研究者：

安東由喜雄 (熊本大学大学院医学薬学研究部・教授)
 石原得博 (山口大学医学系研究科・教授)
 金子清俊 (東京医科大学医学部・教授)
 樋口京一 (信州大学大学院医学系研究科・教授)
 松田正之 (信州大学医学部・准教授)
 祖父江 元 (名古屋大学院医学系研究科・教授)
 中野正明 (新潟大学医学部・教授)
 山田正仁 (金沢大学大学院医学系研究科・教授)
 宇根有美 (麻布大学獣医学部・准教授)
 松田博史 (埼玉医科大学国際医療センター・教授)
 満屋裕明 (熊本大学大学院医学薬学研究部・教授)
 亀谷富由樹 (東京都精神医学総合研究所・主任研究員)
 山田 学 (動物衛生研究所・主任研究員)
 松井高峯 (帯広畜産大学獣医学科・教授)

A. 研究目的

アミロイド沈着に特異的な画像診断法と、全身性アミロイドーシスに有効な薬物療法を確立することでアミロイドーシス患者の早期診断と治癒率が向上

する。

I. アミロイドーシスの画像診断法開発

アミロイド沈着に選択的に結合する核種を開発して、アミロイド沈着で障害された臓器を鮮明に描出する。

II. アミロイドーシスの伝播に関する研究

ヒトの健康に影響する可能性があるのは食肉に饗される動物のAAアミロイドーシスである。この病態を解明し、高等動物において本アミロイドーシスの伝播実験モデルを作成する。また飼育チーターに高率に発生しているAAアミロイドーシスについて、その伝播性を検索する。

III. アミロイドーシスの画期的治療法開発

- 1) ALアミロイドーシス:原因となる形質細胞異常症に対する有効な化学療法とその治療評価法を確立する。
- 2) AAアミロイドーシス:関節リウマチ患者の致死合併症である。TNF- α 、IL-6等を標的とする抗サイトカイン療法を行い、本アミロイドーシスに対する根治療法を確立する。
- 3) FAP:熊本県と長野県にFAP家系の大集積地があり、

また弧発の 60 数家系が国内に存在する。FAP の病態解明と肝移植以外の治療法の開発は急務である。

- 4) 脳アミロイドならびにその関連蛋白の凝集機序の解明とこうした蛋白の沈着疾患に対する有効な治療法開発を目指す。

IV. 国内で認知度の低いアミロイドーシス関連疾患の検索

家族性地中海熱は遺伝性周期熱に属する疾患であり、その合併症として AA アミロイドーシスが高率に発生する。本邦では FMF は稀と考えられており、その実態は不明である。また老人性全身性アミロイドーシスも高齢者人口が急増する中で心疾患の基礎疾患として重要である。しかし我が国での両疾患の認知度は非常に低いので、これら二疾患の国内での実態を明らかにする。

B. 研究方法

I. アミロイドーシスの画期的診断法

- 1) RI-image によるアミロイド沈着臓器の鋭敏な検出法：

新規核種である ^{99m}Tc -aprotinin を用いた RI-image によりアミロイドーシスに特異的な画像の描出を検討した。(松田博史)。

II. アミロイドーシスの伝播機序の解明

- 1) 高齢牛における AA アミロイドーシスの実態調査と本アミロイドーシスの伝播に関する研究：公営屠殺場で外見上は健常として処理される 4 歳以上の高齢牛から腎臓と大腿筋を採取して、両組織におけるアミロイド沈着の頻度を検索した。またアミロイド沈着陽性の組織からアミロイド細線維を分離・精製してマウスへ $100\ \mu\text{g}/100\ \mu\text{l}$ の量で注射して、アミロイドーシスの発症を検索した。(池田、樋口)
- 2) AA アミロイドーシス罹患牛の腎臓から抽出したアミロイド細線維を種々な条件で炎症刺激を加えたウサギへ $20\text{mg}/\text{ml}$ の量で投与して、アミロイドーシスの発症を検索した。(松井) また同アミロイド細線維を子ブタへ投与して宿主生体反応を検索した。(山田学)
- 3) 飼育チーターの糞便中のアミロイド関連物質を検索し、またその物質のアミロイドーシス誘発性を検索する。(宇根、樋口)

III. アミロイドーシスの画期的治療法

- 1) AL アミロイドーシス：形質細胞異常症に対する大量化学療法の治療評価法として血清中の free light chain 濃度の測定法を、また新たな治療法として BJP 吸着療法を検討した。(池田、松田正之、満屋、山田俊行)。
- 2) AA アミロイドーシス：関節リウマチ(RA)に併発した本症患者に生物学的製剤である Infliximab、Etanercept を投与して、その効果を血液化学所見、胃粘膜生検上のアミロイド沈着量の変化で検討した。(中野) また漢方薬“雷公藤”の主成分である triptolide が実験的マウス AA アミロイドーシスを抑制しうるかどうかを検討した。(石原)
- 3) FAP：本症患者の各臓器におけるアミロイド沈着病態を集積地出身の若年発症患者と弧発家系出身の高齢発症患者で比較検討した。(池田、祖父江) また抗体療法に関しては TTR 単量体における cryptic epitope が可溶な状態でも露出するように設計した TTR ペプチドを作成し、TTRV30M 変異を有する transgenic rat 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した。(安東)
- 4) 脳内におけるアミロイド類似物質の産生代謝機序の解明を行う。(池田、金子、亀谷、山田正仁)

IV. 国内で認知度の低いアミロイドーシス関連疾患の検索

- 1) 家族性地中海熱(FMF)：全国の小児科・内科を有する病院を対象に FMF に関するアンケート調査を行い、その内容をまとめた。(池田、松田正之)
- 2) 老人性全身性アミロイドーシス(SSA)：過去 3 年間に班員の所属する施設で SSA と確定診断された患者の臨床像をまとめた。(安東、池田)
(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。認知症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

I. アミロイドーシスの RI 診断法

^{99m}Tc-aprotinin の合成、保存条件が検討され、安全性が確認された。今年度は全身性アミロイドーシスが疑われる 6 名の患者に使用して、2 名で心臓に特異的集積が見られ、最終的に上記疾患の確定診断がなされた。

II. アミロイドーシスの伝播に関する研究

1) 高齢牛における AA アミロイドーシスの実態調査と本アミロイドーシスの伝播に関する研究：

長野県内で屠殺された 4 歳以上の高齢ホルスタイン牛 250 頭を検索して、8 頭の腎臓にアミロイド沈着が見られた。また 8 頭中 1 頭では筋肉にも微量のアミロイド沈着が検出された。2 頭の腎臓から抽出したアミロイド細線維を炎症刺激が加えられた 7 匹のマウスへ注射した結果、6 匹で AA アミロイドーシスの発症が確認された。同様な方法がとられた筋肉由来のアミロイド細線維では 7 匹中 1 匹のマウスで軽度のアミロイド沈着が観察された。

AA アミロイドーシス罹患牛の腎臓から抽出したアミロイド細線維を種々な炎症刺激が加えられたウサギ 341 羽に投与したところ、28 羽に本アミロイドーシスが誘発された。特に飛節潰瘍に罹患するウサギに 5 回の炎症刺激を加えた群では 20mg/ml のアミロイド細線維の静脈投与 (19 羽) と経口投与 (16 羽) のいずれの方法においても 100% の頻度でアミロイドーシスが発症した。またアミロイド沈着はアミロイド細線維投与後 1 日目から脾臓・腎臓で観察された。

本アミロイド細線維の投与を受けた子ブタ 20 頭では 1 日目と 3 日目のブタの腎臓と肝臓に少量のアミロイド沈着が見られた。特に後者の肝アミロイド沈着周囲には活性化したマクロファージ、Kupffer 細胞の動員が観察され、アミロイド除去採用と考えられた。

2) 飼育チーターの糞便中のアミロイド関連物質を検索：

糞 18 検体中 15 検体よりアミロイド細線維が検出され、これを炎症刺激が加えられたマウスへ投与したところ AA アミロイドーシスが誘発された。

III. アミロイドーシスの治療法

1) AL アミロイドーシス：血清中の free light chain 濃度をヤマサで新規に開発された ELISA キットを用

いて測定した結果は従来の Binding Site 社製キットでの値と一部解離を示した。新規法での測定結果の解釈には注意を要する。大量化学療法を施行することが困難な本症患者 5 名に BJP 吸着療法を行った。BJP は効率的に吸着され、一部の患者では臨床症状の改善が得られた。

2) AA アミロイドーシス：RA に併発した AA アミロイドーシス患者 13 名 (年齢 60±13 歳、RA 罹病歴 15±8 年) に対して、Infliximab 使用が 4 名、Etanercept 使用が 9 名で検討された。使用期間は 19±14 ヶ月、最長は 47 ヶ月であった。CRP は 12 例で陰性化し、腎機能を検索した 8 例では改善 4 例、不変 2 例、悪化 2 例であった。治療後 12 ヶ月以上の間隔で胃粘膜上のアミロイドを定量的に検索した 6 例では、消失が 1 例、有意な減少が 5 例であった。

実験的マウス AA アミロイドーシスに異種動物から抽出した AA アミロイド線維を投与したところ、同線維を中心にマウス由来の AA アミロイド線維が新たに沈着することが観察された。漢方の成分である triptolide はマウス AA アミロイドーシスの発症を抑制するのみでなく、既に同マウスに沈着しているアミロイドを退縮させる作用があることが示された。

3) FAP：本疾患の簡便な蛋白解析診断法としてプロテインチップを用いた SELDI-TOF MS が有用であることが報告された。若年発症群では末梢神経伝導速度の低下度と罹病期間は一定の関連があったが、高齢発症群では両者に有意な関連は見られなかった。また病理組織学的検索では高齢者群の甲状腺、腎臓にはほとんどアミロイド沈着を認めなかった。治療法では眼病変の抑制に網膜への光凝固が有効であることが示された。

4) 脳アミロイド：暗視野高解像度レーザーマイクロダイセクション法の開発により、 τ 、*huntintin* 等から成る神経細胞内封入体の分離・精製が容易に行えることが報告された。 $A\beta$ オリゴマーの安定化に参与する因子としてコラーゲンとの結合が挙げられた。また抗酸化物質、NSAIDs は α -synuclein の線維形成を抑制する作用があることが明らかにされた。

IV. 国内で認知度の低いアミロイドーシス関連疾患の検索

1) 家族性地中海熱 (FMF)：全国 1850 科にアンケート

を送付して、本症疑いの 59 例が得られた。発症年齢は幼時期から中年期まで幅広く、また主な臨床症状は繰り返す発熱、腹痛、胸痛、関節痛であった。また AA アミロイドーシスの合併は 4 例であった。こうした臨床像は地中海沿岸の民族の FMF 像と多少相違があった。

- 2) 老人性全身性アミロイドーシス(SSA):信州大学と熊本大学で確定診断がなされた 16 名の臨床像を要約した。発症年齢は 67~107 歳(中央値:76 歳)、男女比は 3 : 1 と男性優位であった。初発症状の 50%が心不全であったが、30%が脳塞栓、20%が手根管症候群で初発していた。SSA の 2 割は 60 歳代で発症しており、また 5 割は心症状以外で発病することが判明した。

D. 考察

AA アミロイドーシスが伝播可能なことはマウスでは実証済みであるが、大型動物では従来困難であった。今回、高齢牛で発症した AA アミロイドーシスのアミロイド細線維を用いてウサギに本疾患を伝播させる実験系が確立されたことは、ヒトでの病因的意義を解明する上で重要な進歩と考えられる。ウサギの実験系は国際的にも初めての報告であり、学問的価値が高い。また Infliximab、Etanercept 等の生物学的製剤の使用により反応性全身性 AA アミロイドーシス患者の病態改善が明瞭に示された。さらに漢方薬の主成分である triptolide が本疾患の治療薬になり得る可能性が提示されたことは興味深い。

近年、国内の FAP は弧発家系出身者の報告が増加している。これらの FAP 患者の大部分は高齢発症である。本疾患では若年発症群と高齢発症群において病態と臨床像が大きく違うことが示された。

本邦で認知度が低い家族性地中海熱、老人性全身性アミロイドーシスの実態が概略的に把握できたことは今後、両疾患の原因究明・治療法開発の上で有意義である。

E. 結論

- 1) 新しい核種である ^{99m}Tc -aprotinin を用いたアミロイドーシスの RI 診断法が検討された。
- 2) 高齢牛における AA アミロイドーシスの実態調査が行われ、本アミロイドーシスの伝播性が示された。またこの実験系としてウサギを用いたモデルが確立

された。

- 3) 治療に関しては AL、AA アミロイドーシス、FAP のそれぞれに有効な治療法が客観的データを基に示された。
- 4) 国内で認知度の低いアミロイドーシス関連疾患として家族性地中海熱、老人性全身性アミロイドーシスの検索がなされ、本邦における両疾患の概略を掌握することができた。

F. 健康危険情報

マウスを用いた実験的 AA アミロイドーシスでは本疾患を惹起しやすい状態のマウスに経静脈的または経口的に微量の AA アミロイド線維を投与すると短期間で高度な全身性 AA アミロイドーシスが発生することが確立されている。この際投与された AA アミロイド線維はアミロイド増強因子 (amyloid enhancing factor : AEF) として作用し、体内ではこの投与されたアミロイド線維を核としてその周辺に新たなアミロイド線維の多量沈着が起っていることが証明されている。こうした現象が自然界に起りうるかに関しては、日本国内で飼育されているチーターの死因の 8 割以上が全身性 AA アミロイドーシスであり、その発生機序は罹患したチーターの糞便中へ排泄された AA アミロイド線維を同一ケージ内の他の個体が舐めることにより、その個体へ本疾患が伝播されていると考えられている。現在、チーターは絶滅危惧種に指定されている。

本研究班では全身性 AA アミロイドーシスの伝播という概念がヒトの健康に与える影響について過去 6 年間研究して来た。主な研究は食品を介してヒトがアミロイド関連物質を摂取する可能性があるか、またその場合の人体への影響についてである。具体的には高齢牛が全身性 AA アミロイドーシスに罹患することがよく知られており、本疾患に侵された牛では舌、消化管、腎・肝臓等の内臓器官に加えて、骨格筋、乳腺組織へもアミロイド沈着が起ることが過去の文献に記載されている。そこでわれわれは公営屠殺場で外見上は健常として処理されている 4 歳以上の高齢牛の腎臓を連続的に 300 頭検索した結果、5%の頻度で AA アミロイドの沈着が見いだされた。また別の 300 頭において腎臓と大腿筋を同時に採取して検索した結果 9 頭の腎臓に AA アミロイドの沈着が見られ (3%の頻度)、この 9 頭のうち 1 頭の大

腿筋においては少量ながら AA アミロイドの沈着が見いだされた。これらアミロイド沈着陽性の腎臓と筋肉からアミロイド細線維を分離・精製して炎症惹起状態のマウスへ注射したところ、腎臓からのアミロイドでは6/7の割合で、筋肉からのアミロイドでは1/7の割合でマウスにAAアミロイドーシスが発生した。また別の実験系として足底に慢性潰瘍を有するウサギ15羽に炎症刺激を加えた後に牛腎から抽出したAAアミロイド線維を投与したところ、全例にAAアミロイドーシスの発症が確認された。

以上より我が国の公営屠殺場で食肉用に処理されている高齢牛は3—5%の頻度で全身性AAアミロイドーシスに侵されていること、こうした牛の臓物を摂取することでヒトの体内へAAアミロイド線維が入りうること、さらに関節リウマチなどの慢性炎症性疾患に罹患している患者の体内へこのAAアミロイド線維が入った場合にはAEF作用を発揮して同患者に全身性AAアミロイドーシスが誘発される可能性があるかと推察される。

情報源

信州大学医学部第三内科 教授	池田修一
信州大学医学研究科加齢生物学 教授	樋口京一
帯広畜産大学獣医科 教授	松井高峯
山口大学医学部病理 教授	石原得博

参考文献

- 1) Lundmark K, Westermark GT, Nystrom S, Murphy CL, Solomon A, Westermark P. Transmissibility of systemic amyloidosis by a prion-like mechanism. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 6979-6984, 2002.
- 2) 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* 52: 40-45, 2002.
- 3) Tojo K, Tokuda T, Hoshii Y, Fu X, Higuchi K, Matsui T, Kametani F, Ikeda S. Unexpectedly high incidence of visceral AA-amyloidosis in slaughtered cattle in Japan. *Amyloid* 12: 103-108, 2005.
- 4) Yamada M, Nakamura K, Kobayashi Y, Horiuchi N, Doi T, Suzuki S, Sato N, Kanno T, Matsui T. Immunohistochemical distribution of amyloid deposits in 25 cows diagnosed with systemic AA amyloidosis. *J Vet Med Sci* 68: 725-729, 2006.
- 5) Solomon A, Richey T, Murphy CL, Weiss DT, Wall JS, Westermark GT, Westermark P. Amyloidogenic potential of foie gras. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 10998-11001, 2007.
- 6) Horiuchi N, Kotani Y, Koga M, Yamada M, Kobayashi Y, Matsui T. Experimental induction of amyloidosis by bovine amyloid fibrils in sore hock rabbits. *Amyloid* in press.

G. 研究発表

論文発表

1. 大林光念、安東由喜雄:家族性アミロイドポリニューロパチーの病態と治療。腎と透析、62:226-230, 2007.
2. 安東由喜雄:家族性アミロイドポリニューロパチーと
3. 石原得博:アミロイドーシスの分類。腎と透析、62:149-153, 2007.
4. 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)、25:185-187, 2007.
5. 八谷如美、金子清俊:プリオン病。アルツハイマー病—基礎研究から予防・治療の新しいパラダイム— Vol. 4, 平井俊策 ed. 日本臨床社、(東京), 印刷中
6. 八谷如美、金子清俊:正常型プリオン蛋白質の機能。プリオン病と遅発性ウイルス感染症, Vol., 水澤英洋 ed. 金原出版(東京), 印刷中
7. 金子清俊:ウシ海綿状脳症。「蛋白質 核酸 酵素」増刊号「キーワード:蛋白質の一生」, Vol., 遠藤斗志也 ed. 共立出版(東京), 印刷中
8. 八谷如美、金子清俊:正常プリオン蛋白とその機能。プリオン病と遅発性ウイルス感染症。日本臨床、65:1385-1390, 2007.
9. 樋口京一:アミロイドーシスの伝播。細胞工学、26:177-180, 2007.
10. 松田正之:ALアミロイドーシスの治療と展望。腎と透析、62: 88-193, 2007.
11. 松田正之:ALアミロイドーシスの最新治療。血液・腫瘍科、55:484-488, 2007.
12. 松田正之:原発性ALアミロイドーシス—臨床像と診
13. 黒田 毅、佐藤弘恵、村上修一、中野正明、下条文武:ネフローゼ症候群を呈しインフリキシマブが奏効したRAアミロイドーシスの一例。中部リウマチ, 39 (in press).
14. 黒田 毅、中野正明、下条文武:予後を一変させた

- 新しい治療薬「生物学的製剤」。Medical Technology, (in Press).
15. 今林悦子, 松田博史: アミロイドーシスの画像診断. 腎と透析, 62: 177-184, 2007.
 16. Miyazaki D, Yazaki M, Gono T, Kametani F, Tsuchiya A, Matsuda M, Takenaka Y, Hosii Y, Ikeda S: AH amyloidosis associated with an immunoglobulin heavy chain variable region(VHI) fragment: A case report. Amyloid, 2007, in press.
 17. Machida K, Tojo K, Naito K, Gono T, Nakata Y, Ikeda S: Cortical petechial hemorrhage subarachnoid hemorrhage and corticosteroid-responsive leukoencephalopathy in a patient with cerebral amyloid angiopathy. Amyloid, 2007, in press.
 18. Yamano M, Azuma A, Yazaki M, Ikeda S, Sugihara H, Matsubara H: A case with senile systemic amyloidosis who developed cardiac amyloidosis in his sixties. Amyloid, 2007, in press.
 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, 2007, in press.
 20. Shimojima Y, Morita H, Kobayashi S, Takei Y, Ikeda S: Ten-year follow-up of peripheral nerve function in patients with familial amyloid polyneuropathy after liver transplantation. J Neurol, 2007, in press.
 21. Yazaki M, Mitsuhashi S, Tokuda T, Kametani F, Takei Y-I, Koyama J, Kawamorita A, Kanno H, Ikeda S-I: Progressive wild-type transthyretin deposition after liver transplantation preferentially occurs onto myocardium in FAP patients. Am J Transplant, 7:235-242, 2007.
 22. Takei Y, Gono T, Yazaki M, Ikeda S, Ikegami T, Hashikura Y, Miyagawa S, Hoshii Y: Transthyretin-derived amyloid deposition on gastric mucosa in domino recipients of familial amyloid polyneuropathy liver. Liver Transplant, 13:215-218, 2007.
 23. Tokuda T, Takei Y, Takayama B, Hoshii Y, Ikeda S: Severe amyloid deposition in mammary glands of familial amyloid polyneuropathy. Amyloid, 14:249-253, 2007.
 24. Ikeda S: Is familial amyloid polyneuropathy rare? DNA testing is changing the concept of this disease. Neurology, 69:627-628, 2007.
 25. 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 novel transgenic rat with human amyloidogenic transthyretin V30M. Biochem Biophys Res Commun, 352:299-304, 2007.
 26. Sato T, Susuki S, Suico MA, Miyata M, Ando Y, Mizuguchi M, Takeuchi M, Dobashi M, Shuto T, Kai H: ER quality control regulates the fate of transthyretin variants in the cell. EMBO J, 26:2501-2512, 2007.
 27. Koide-Yoshida S, Niki T, Ueda M, Himeno S, Taira T, Iguchi-Arigo SM, Ando Y, Ariga H: DJ-1 degrades transthyretin and an inactive form of DJ-1 is secreted in familial amyloidotic polyneuropathy. Int J Mol Med, 19:885-893, 2007.
 28. Bergström J, Patrosso MC, Colussi G, Salvatore M, Penco S, Lando G, Marocchi A, Ueda A, Nakamura M, Ando Y: A novel type of familial transthyretin amyloidosis, ATTR Asn124Ser, with co-localization of kappa light chains. Amyloid. 14:141-145, 2007.
 29. 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.
 30. 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.
 31. Cui D, Kawano H, Hoshii Y, and Ishihara T: Induction of accelerated murine AA amyloid by bovine amyloid fibrils and tissue homogenates. Amyloid, 2007, in press.
 32. Liu Y, Cui D, Hoshii Y, Kawano H, Une Y, Gondo T and Ishihara T: Induction of murine AA amyloidosis by various homogeneous amyloid fibrils and amyloid-like synthetic peptides. Scandinavian Journal of Immunology, 66:495-500,

- 2007.
33. Cui D, Hoshii Y, Kawano H, Sugiyama S, Gondo T, Liu Y and Ishihara T: Experimental AA amyloidosis in mice is inhibited by treatment with triptolide, a purified traditional Chinese medicine. *International Immunopharmacology*, 7:1232-1240, 2007.
 34. Omoto M, Yokota T, Cui D, Hoshii Y, Kawano H, Gondo T, Ishihara T and Kanda T: Inactivation of amyloid-enhancing factor (AEF): study on experimental murine AA amyloidosis. *Medical Molecular Morphology*, 40:88-94, 2007.
 35. Kiyama M, Hoshii Y, Cui D, Kawano H, Kanda T and Ishihara T: Immunohistochemical and Immunohistochemical study of amyloid in liver affected by systemic $\Lambda\lambda$ amyloidosis with antibodies against three different regions of immunoglobulin λ light chain. *Pathol Int*, 57:343-350, 2007.
 36. Hachiya NS, Kaneko K: Investigation of laser-microdissected inclusion bodies. *Methods Cell Biol*, Vol. 82, Berns M, Greulich KO ed. Academic Press (San Diego), 355-75, 2007.
 37. 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.
 38. 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.
 39. Koike H, Iijima M, Mori K, Yamamoto M, Hattori N, Katsuno M, Tanaka F, Watanabe H, Doyu M, Yoshikawa H, Sobue G: Nonmyelinating Schwann cell involvement with well-preserved unmyelinated axons in CMT1A. *J Neuropathol Exp Neurol*, 66:1027-1036, 2007.
 40. Oki Y, Koike H, Iijima M, Mori K, Hattori N, Katsuno M, Nakamura T, Hirayama M, Tanaka F, Shiraishi M, Yazaki S, Nokura K, Yamamoto H, Sobue G: Ataxic vs painful form of paraneoplastic neuropathy. *Neurology*, 69:564-572, 2007.
 41. Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Yamada M: Non-steroidal anti-inflammatory drugs have potent anti-fibrillogenic and fibril-destabilizing effects for alpha-synuclein fibrils in vitro. *Neuropharmacology*, 2008, in press.
 42. Ono K, Noguchi-Shinohara M, Yoshita M, Naiki H, Yamada M: Cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies patients enhances alpha-synuclein fibril formation in vitro. *Exp Neurol*, 203:579-583, 2007.
 43. Ono K, Yamada M: Vitamin A potentially destabilizes preformed alpha-synuclein fibrils in vitro: implications for Lewy body diseases. *Neurobiol Dis*, 25:446-454, 2007.
 44. Ono K, Hirohata M, Yamada M: Anti-fibrillogenic and fibril-destabilizing activities of anti-Parkinsonian agents for alpha-synuclein fibrils in vitro. *J Neurosci Res*, 85:1547-1557, 2007.
 45. Ono K, Hirohata M, Yamada M: Anti-fibrillogenic and fibril-destabilizing activity of nicotine in vitro: implications for the prevention and therapeutics of Lewy body diseases. *Exp Neurol*, 205:414-424, 2007.
 46. Y. Liu, D. Cui, Y. Hoshii, H. Kawano, Y. Une, T. Gondo and T. Ishihara: Induction of Murine AA Amyloidosis by Various Homogeneous Amyloid Fibrils and Amyloid-like Synthetic Peptides. *Scand J Immunol*, 66:495-500, 2007.
 47. Horiuchi N, Kotani Y, Koga M, Yamada M, Kobayashi Y and Matsui T: Experimental induction of amyloidosis by bovine amyloid fibrils in sore-hock rabbits. *Amyloid*, 2008, in press

学会発表

1. 池田修一, 矢崎正英, 橋倉泰彦, 宮川真一: 家族性アミロイドーシスの肝移植治療. 第27回日本医学会総会, 大阪, 2007.9.
2. 安東由喜雄: 細胞生物学会公開セミナー、怖いたんぱく質の凝集. 福岡, 2007.
3. 植田光晴, 安東由喜雄: 分析化学における進歩と臨床応用. 第26回日本臨床化学会, 夏季セミナー, 伊勢, 2007.
4. 安東由喜雄: トランスサイレチン型遺伝性アミロイドーシスの診断と治療、シンポジウム「アミロイドーシスを科学する」. 第47回日本臨床化学会年会, 大阪, 2007.
5. 崔丹, 河野裕夫, 星井嘉信, 石原得博: FITC標識アミロイド線維投与によるマウスAAアミ

- ロイドーシス発症促進効果の検討. 第96回日本病理学会総会, 大阪, 2007.3.
6. 瀬戸口美保子、星井嘉信、河野裕夫、崔 丹、権藤俊一、石原得博: 大動脈内膜肉腫に AA アミロイドーシスを合併した1例. 第96回日本病理学会総会, 大阪, 2007.3.
 7. 八谷如美、西島佳奈、田中真由美、小塚芳道、金子清俊: 新しいレーザーダイセクションシステムの開発および蛋白質解きほぐし分子Aip2多量体(アンフォルジン)を用いた神経変性疾患病態解析への応用. 第2回臨床ストレス応答学会, 福岡, 2007.11.
 8. 田中真由美、小塚芳道、八谷如美、金子清俊: 正常型プリオン蛋白質(PrP^C)の細胞内輸送機構の解析. 第30回日本分子生物学会第80回日本生化学会合同大会, 横浜, 2007.12.
 9. 西島佳奈、田中真由美、今川美登里、小塚芳道、八谷如美、金子清俊: 細胞内に発現した蛍光タンパク質を単離する新しいレーザーダイセクションシステムの開発. 第30回日本分子生物学会第80回日本生化学会合同大会, 横浜, 2007.12.
 10. 張 倍茹、付 笑影、張 鵬堯、錢 金澤、友澤 寛、森 政之、樋口京一: Apolipoprotein A-II の多型とマウス老化アミロイドーシス: *Apoa2^f* congenic マウスを用いた解析. 第22回老化促進モデルマウス(SAM)研究協議会, 酒田, 2007.7
 11. 錢 金澤、巖 景民、張 倍茹、葛 鳳霞、澤下仁子、友澤 寛、内木宏延、森 政之、付 笑影、樋口京一: マウス老化アミロイドーシスでの骨格筋へのアミロイド沈着. 第2回臨床ストレス応答学会, 福岡, 2007.11.
 12. 松田正之、五野貴久、下島恭弘、吉田拓弘、加藤修明、池田修一: リンパ節腫脹を主症状とするALアミロイドーシスの臨床的検討. 第104回日本内科学会総会, 大阪, 2007.4.
 13. 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、安東由喜雄、祖父江 元: 高齢発症TTR-related FAP(Ala97Gly, Val94Gly および Val30Met)の病理学的検討. 第48回日本神経学会総会, 名古屋, 2007.5年
 14. 黒田 毅、佐藤弘恵、村上修一、中野正明、下条文武: ネフローゼ症候群を呈しインフリキシマブが奏効したRAアミロイドーシスの一例. 第19回中部リウマチ学会, 2007.
 15. 小野賢二郎、廣畑美枝、山田正仁: アミロイドβ 蛋白およびα-シヌクレイン蛋白の異常凝集における分子間相互作用. iANS & mfSANS ワークショップ, つくば, 2007.3.
 16. 藤野みゆき、宇根有美、付笑影、樋口京一: 糞を用いたチーターのアミロイド症の生前診断法の検討. 第144回日本獣医学会学術集会, 酪農学園大学, 2007.9.
 17. 今林悦子、松田博史、久慈一英: ^{99m}Tc 標識アプロチニンキットの合成とイメージング. 第47回日本核医学会, 仙台, 2007.11.
 18. Kametani F, Kume H: Novel intracellular domain fragment of Alzheimer amyloid precursor protein (AICD) via gamma-secretase gamma-site cleavage. 神経化学 46:483, 2007.
 19. 堀内雅之、山田 学、古林与志安、松井高峯: 牛アミロイド投与によるウサギの実験的アミロイドーシス, 第144回日本獣医学会, 江別, 2007.9.
 20. Machida K, Ikeda S: Variable clinical manifestations of cerebral amyloid angiopathy (CAA) and the therapeutic approaches to this disorder. Cerebral Amyloid Angiopathy: emerging concepts, Reykjavik (Iceland), 2007.8/8-11.
 21. Berk JL, Bisbee AB, Kelly JW, Dyck PJ, Falk RH, Ando Y, Coelho T, Ikeda S, Merlini G, Suhr OB, Skinner M, the Diflunisal Investigators Consortium. Clinical trial for TTR amyloidosis using diflunisal. In "XIth International Symposium on Amyloidosis", Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p387-389, 2007.
 22. Himeno S, Ueda M, Nakamura M, Yamashita T, Obayashi K, Sun X, Misumi Y, Shinriki S, Ueda A, Uji Y, Saito S, Kim J, Meng W, Ando Y. Urinary transthyretin: a possible biochemical marker in the early stage of renal dysfunction. In "XIth International Symposium on Amyloidosis", Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p146-148, 2007.
 23. Kakizoe N, Ando Y, Kawaji T, Ando E, Sandgren O, Suhr OB, Tanihara H. Unique phenotype of vitreous amyloidosis in different endemic areas. In "XIth International Symposium on Amyloidosis", Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p149-151, 2007.
 24. Kim J, Motomiya Y, Nakamura M, Ueda M, Saito S, Misumi Y, Himeno S, Obayashi K, Shinriki S, Meng W, Semba U, Kai H, Ando Y. Role of the C-terminal

- amino acids in β 2-microglobulin amyloid formation. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p16-18, 2007.
25. Misumi Y, Ando Y, Nakamura M, Yamashita T, Himeno S, Ueda M, Obayashi K, Sun X, Saito S, Kim J, Shinriki S, Meng W, Ueda A, Uchino M. An autopsy case of familial amyloidotic polyneuropathy ATTR Val30Met 10 years after liver transplantation: changes in the amount of amyloid deposits in the pancreas. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p169-171, 2007.
 26. Obayashi K, Yamashita T, Ueda M, Nakamura M, Asonuma K, Inomata Y, Uchino M, Tanaka K, Ando Y. Amyloid neuropathy in a Japanese domino liver-transplanted recipient. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p172-174, 2007.
 27. Okamoto S, Yamashita T, Ando Y, Nakamura M, Ueda M, Uchino M. Comparison of cardiomyopathy in FAP after orthotopic liver transplantation with those of non-transplanted FAP patients. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p180-181, 2007.
 28. Saito S, Ando Y, Ueda M, Kim J, Nakamura M, Yamashita T, Obayashi K, Misumi Y, Shinriki S, Himeno S, Meng W, Ishima Y, Akaike T, Otagiri M. Effect of nitric oxide in transthyretin-related amyloidosis. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p185-187, 2007.
 29. Sato T, Susuki S, Miyata M, Ando Y, Shuto T, Suico MA, Kai H. Inhibition of intracellular tetramerization induces the proteasomal degradation of amyloidogenic transthyretin variants. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p188-190, 2007.
 30. Shinriki S, Ueda M, Yamashita T, Obayashi K, Sun X, Himeno S, Ueda A, Misumi Y, Saito S, Kim J, Meng W, Shinohara M, Ando Y. Amyloid deposition in the tongue of patients with familial amyloidotic polyneuropathy. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p196-198, 2007.
 31. Ueda A, Ueda M, Yamashita T, Hirano T, Nakamura M, Misumi Y, Meng W, Ito T, Uchino M, Ando Y. Proliferation of smooth muscle cells in the tunica intima of cerebral vessels in familial amyloidotic polyneuropathy ATTR Y114C. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p202-204, 2007.
 32. Ueda M, Ando Y, Nakamura M, Yamashita T, Obayashi K, Misumi Y, Shinriki S, Ueda A, Zeledon R ME, Himeno S, Saito S, Kim J, Meng W, Uchino M. FK506 inhibits murine AA amyloidosis without modulating serum SAA levels. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p99-101, 2007.
 33. Yamashita T, Ando Y, Ueda M, Nakamura M, Okamoto S, Hirahara T, Ueda A, Misumi Y, Obayashi K, Uchino M. Effects of liver transplantation on hereditary cerebral amyloid angiopathy associated with ATTR Y114C. In *"XIth International Symposium on Amyloidosis"*, Skinner M, Berk J, Connors L, Seldin D (Eds.), CRC Press, New York, p211-213, 2007.
 34. Ando Y. Liver transplantation and new therapeutic approaches for hereditary amyloidosis. In Proceedings of XXIV World Congress of Pathology and Laboratory Medicine Meng LL (ed) ISI, Philadelphia, USA, 2007.
 35. Hachiya NS, Nishijima K, Yoshimichi K, Kaneko K: Diagnostic and therapeutic use of a novel unfolding chaperone, oligomeric actin-interacting protein 2 (Aip2p), for neurodegenerative diseases. 3rd Annual Therapeutic Strategies against Neurodegenerative Conditions. San Francisco, Sept 20-21, 2007.
 36. Kaneko K: Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE) and variant CJD. National Assembly Compound. Seoul, Nov 23, 2006.
 37. Koike H, Oki Y, Kawagashira Y, Iijima M, Yamamoto M, Hattori N, Yoshikawa H and Sobue G: Nonmyelinating Schwann cell involvement with well preserved unmyelinated axons in CMT1A. Peripheral Nerve Society 2007 Biennial Meeting; Salt Lake City,

USA: 2007, July 14-18.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1) 特許取得

金子清俊：高効率抗体スクリーニング方法. 日本 patent 第 4022367 号. 10.5 2007.

安東由喜雄：HMGB1 のアミロイドーシスへの保護作用（特許出願中）

山田正仁：レビー小体病治療薬およびレビー小体病予防薬（特許出願）。

2) 実用新案登録

安東由喜雄：HMGB1 のアミロイドーシスへの保護作用（特許出願中）

3) その他

なし。

[Ⅱ] 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
1	Mitsuhashi S, Yazaki M, Tokuda T, Sekijima Y, Washimi Y, Shimizu Y, <u>Ando Y</u> , Benson MD, <u>Ikeda S</u>	Biochemical characteristics of variant transthyretins causing hereditary leptomeningeal amyloidosis.	Amyloid	12	216-25	2005
2	Nakamura A, Yazaki M, Tokuda T, Hattori T, <u>Ikeda S</u>	A Japanese patient with familial Mediterranean fever associated with compound heterozygosity for pyrin variant E148Q/M694I.	Intern Med	44	261-265	2005
3	Ryu JK, Baik HW, Bae JS, Hwang TJ, Paik SY, Yu HJ, Choi BO, Takei Y, <u>Ikeda S</u>	Familial amyloid polyneuropathy in Korea: the first case report with a proven ATTR Lys35Asn gene.	Amyloid	12	62-64	2005
4	Shimajima Y, Matsuda M, Gono T, Ishii W, <u>Ikeda S</u>	Serum amyloid a as a potent therapeutic marker in a refractory patient with polymyalgia rheumatica.	Intern Med	44	1009-1012	2005
5	Suzuki T, Nakakura A, Yazaki M, <u>Ikeda S</u>	A Japanese case of Familial Mediterranean Fever with homozygosity for the pyrin E148Q mutation.	Intern Med	44	765-766	2005
6	Takei Y, <u>Ikeda S</u> , Ikegami T, Hashikura Y, Miyagawa S, <u>Ando Y</u> ; Japanese Liver Transplantation Soc	Ten years of experience with liver transplantation for familial amyloid polyneuropathy in Japan: outcomes of living donor liver transplantations.	Intern Med	44	1151-1156	2005
7	Tojo K, Tokuda T, Hoshii Y, Fu X, <u>Higuchi K</u> , <u>Matsui T</u> , <u>Kametani E</u> , <u>Ikeda S</u>	Unexpectedly high incidence of visceral AA-amyloidosis in slaughtered cattle in Japan	Amyloid	12	103-108	2005
8	<u>池田修一</u>	アルツハイマー型痴呆と頭部外傷.	老年精神医学雑誌	16	405-410	2005
9	<u>池田修一</u>	アミロイドーシスの診断基準・病型分類・重症度.	内科	95	1479-1486	2005
10	<u>池田修一</u>	家族性アミロイドポリニューロパチー：臨床像の多様性と肝移植の治療効果（医学と医療の最前線）.	日本内科学会雑誌	94	2407-2415	2005
11	Motomiya Y, <u>Ando Y</u> , Haraoka K, Sun X, Morita H, Amano I, Uchimura T, Maruyama I	Studies on unfolded beta2-microglobulin at C-terminal in dialysis related amyloidosis.	Kidney Int	67	314-320	2005
12	Araki-Sasaki K, <u>Ando Y</u> , Nakamura M, Kitagawa K, Ikemizu S, Kawaji T, Yamashita T, Ueda M, Hirano K, Yamada M, Matsumoto K, Kinoshita S, Tanihara H	Lactoferrin Glu561Asp facilitates amyloid formation in the cornea.	Brit J Ophthal	89	684-648	2005

13	Hirai T, <u>Ando Y</u> , Yamura M, Kitajima M, Hayashida Y, Korogi Y, Yamashita T, Yamashita Y	Transthyretin-related familial amyloid polyneuropathy: Evaluation of CSF enhancement on Serial T1-weighted and FLAIR images following intravenous contrast administration.	Am J Neuroradiol	26	2043-2048	2005
14	Nakamura M, <u>Ando Y</u> , Sasada K, Haraoka K, Ueda M, Okabe H, Motomiya Y	Role of extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) in patients under maintenance hemodialysis.	Nephron Clin Pract	101	c109-c115	2005
15	Matsunaga N, Anan I, Rosenberg P, Nagai R, Lundstrom O, Horiuchi S, <u>Ando Y</u> , Suhr OB	Advanced glycation end product is implicated in amyloid-related kidney complications.	Scand J Clin Lab Invest	65	263-272	2005
16	Saito S, <u>Ando Y</u> , Nakamura M, Ueda M, Kim J, Ishima Y, Akaike T, Otagiri M	Effect of nitric oxide in amyloid fibril formation on transthyretin-related amyloidosis.	Biochemistry	44	11122-11129	2005
17	Kawaji T, <u>Ando Y</u> , Nakamura M, Yamamoto K, Ando E, Takano A, Inomata Y, Hirata A, Tanihara H	Transthyretin synthesis in rabbit ciliary pigment epithelium.	Exp Eye Res	81	306-312	2005
18	Nakamura M, Yamashita T, Ueda M, Obayashi K, Sato T, Ikeda T, Washimi Y, Hirai T, Kuwahara Y, Yamamoto MT, Uchino M, <u>Ando Y</u>	Neuroradiologic and clinicopathologic features of oculoleptomeningeal type amyloidosis.	Neurology	65	1051-1056	2005
19	Terazaki H, <u>Ando Y</u> , Fernandes R, Yamamura K, Maeda S, Saraiva MJ	Immunization in familial amyloidotic polyneuropathy: counteracting deposition by immunization with a Y78F TTR mutant.	Lab Invest	86	23-31	2005
20	本宮善飯、今井康樹、中村政明、安東由喜雄	酸化ストレス—貧血—そして“透析ライフ”	医療ジャーナル社	9	117-122	2005
21	<u>Ando Y</u> , Nakamura M, Araki S	Transthyretin related familial amyloidotic polyneuropathy.	Arch Neurol	62	1057-1062	2005
22	<u>Ando Y</u>	Liver transplantation and new therapeutic approaches for familial amyloidotic polyneuropathy (FAP).	Med Mor Morphol	38	142-154	2005
23	安東由喜雄	アミロイドーシスと活性酸素障害	検査技術	49	163-170	2005
24	安東由喜雄	家族性アミロイドポリニューロパチーの髄液	検査技術	49	415-418	2005
25	安東由喜雄	話題の医療「アミロイドーシス」	Medico	36	368-372	2005
26	安東由喜雄	トランスサイレチン	臨床病理	53	554-557	2005
27	安東由喜雄	アミロイド原因蛋白と検査医学	臨床病理	53	554-557	2005

28	立石多貴子、中村政明、植田光晴、姫野真悟、山下太郎、山内露子、西一彦、森邦子、阿阿曾沼克弘、猪股裕紀洋、安東由喜雄	栄養サポートチーム(NST)における栄養アセスメント蛋白と炎症マーカーの活用法の実際	臨床病理	53	825-831	2005
29	安東由喜雄	家族性アミロイドポリニューロパチーの新しい治療法の開発	臨床神経	45	969-971	2005
30	中村政明、安東由喜雄	診療現場における遺伝子検査の最前線	生物試料分析	28	385-391	2005
31	Ono S, Cui D, Kunitsugu I, Hoshii Y, Kawano H, Takahashi M, Gondo T, <u>Ishihara T</u>	Acceleration of murine amyloidosis by implantation of amyloid -containing grafts.	Amyloid	12	226-232	2005
32	Hachiya NS, Ohkubo T, Kozuka Y, Yamazaki M, Mori O, Mizusawa H, Sakasegawa Y, <u>Kaneko K</u>	More than a 100-fold increase in immunoblot signals of laser-microdissected inclusion bodies with an excessive aggregation property by oligomeric actin interacting protein 2/d-lactate dehydrogenase protein 2.	Anal Biochem	347	106-111	2005
33	Iijima M and <u>Sobue G</u>	Clinical and electrophysiologic correlates of IVIg responsiveness in CIDP.	Neurology	64	1471-1475	2005
34	Mori K and <u>Sobue G</u>	The wide spectrum of clinical manifestations in Sjogren's syndrome-associated neuropathy.	Brain	128	2518-2534	2005
35	Sone J and <u>Sobue G</u>	Neuronal intranuclear hyaline inclusion disease showing motor-sensory and autonomic neuropathy.	Neurology	65	1538-1543	2005
36	Koike H and <u>Sobue G</u>	Thiamine deficiency neuropathy in Japan.	Recent Advances in Neurology	2	45-55	2005
37	Shimajima Y, <u>Matsuda M</u> , Gono T, Ishii W, Fushimi T, Hoshii Y, Yamada T, <u>Ikeda S</u>	Correlation between phenotypes of plasma cells and serum levels of free light chain in AL amyloidosis.	Amyloid	12	33-40	2005
38	Fushimi T, Takahashi Y, Kashima Y, Fukushima K, Ishii W, Kaneko K, Yazaki M, Nakamura A, Tokuda T, <u>Matsuda M</u> , Furuya R, <u>Ikeda S</u>	Severe protein losing enteropathy with intractable diarrhea due to systemic AA amyloidosis, successfully treated with corticosteroid and octreotide.	Amyloid	12	48-53	2005
39	Shimajima Y, <u>Matsuda M</u> , Gono T, Ishii W, Koyama J, Yamamoto K, Shimodaira S, Sakashita K, Koike K, <u>Ikeda S</u>	High-dose melphalan followed by autologous stem cell support in systemic AL amyloidosis with multiple organ involvement.	Intern Med	44	484-489	2005
40	<u>Matsuda M</u> , Gono T, Shimajima Y, Ishii W, Fushimi T, Sakashita K, Koike K, Yamada T, <u>Ikeda S</u>	Serum levels of free light chain before and after chemotherapy in primary systemic AL amyloidosis.	Intern Med	44	428-433	2005