

めた。

単純骨レントゲンによる手根骨骨嚢胞数と血漿 LPC 濃度との間には正相関の傾向を認めたが、血漿 LPA・LPC 濃度のいずれも DRA スコアとは有意な相関を認めず、さらに、DRA を強く疑う群 (DRA スコア>3) とそうでない群 (DRA スコア<3) との間でも、血漿 LPA・LPC 濃度に有意な関連を認めなかった。

D. 考察

血漿 LPA・LPC 濃度と透析アミロイドーシスの重症度には有意な関連を認めなかったが、血漿 LPC 濃度が高いほど手根骨骨嚢胞が多い傾向にあり、早期の骨嚢胞形成に LPC が関与している可能性が推測された。今後は症例数を増やすと共に、血漿 NEFA 濃度との相関も取り入れた臨床解析を予定している。

E. 結論

血漿 LPC 濃度が高いほど骨嚢胞が多い傾向にあり、早期の骨嚢胞形成に LPC が関与している可能性が推測された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ookoshi T, Hasegawa K, Ohhashi Y, Kimura H, Takahashi N, Yoshida H, Miyazaki R, Goto Y, Naiki H: Lysophospholipids induce the nucleation and extension of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils at a neutral pH. *Nephrol Dial Transplant* 23:3247-3255, 2008.
- 2) Sakata M, Chatani E, Kameda A, Sakurai K, Naiki H, Goto Y: Kinetic coupling of folding and prolyl isomerization of β_2 -microglobulin studied by mutational analysis. *J Mol Biol* 382: 1242-1255, 2008.
- 3) Hasegawa K, Tsutsumi-Yasuhara S, Ookoshi T, Ohhashi Y, Kimura H, Takahashi N, Yoshida H, Miyazaki R, Goto Y, Naiki H: Growth of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils by non-esterified fatty acids at a neutral pH. *Biochem J* 416:307-315, 2008.

416:307-315, 2008.

- 4) Ozawa D, Yagi H, Ban T, Kameda A, Kawakami T, Naiki H, Goto Y: Destruction of amyloid fibrils of a β_2 -microglobulin fragment by laser beam irradiation. *J Biol Chem* 284:1009-1017, 2009.
- 5) Lee YH, Chatani E, Sasahara K, Naiki H, Goto Y: A comprehensive model for packing and hydration for amyloid fibrils of β_2 -microglobulin. *J Biol Chem* 284:2169-2175, 2009.
- 6) 内木宏延: アミロイド. *蛋白質核酸酵素* 53:906, 2008.
- 7) 内木宏延: チオフラビン T. *蛋白質核酸酵素* 53:968, 2008.
- 8) 大越忠和, 長谷川一浩, 内木宏延: β_2 -ミクログロブリンのアミロイド線維化. *腎と骨代謝* 22:7-12, 2009.

2. 学会発表

- 1) 大越忠和, 長谷川一浩, 木村秀樹, 高橋直生, 吉田治義, 宮崎良一, 内木宏延: リゾリン脂質の β_2 -ミクログロブリンアミロイド線維伸長促進効果(II)—透析患者血漿を用いた検討. 第 97 回日本病理学会総会, 金沢, 5.15-17, 2008.
- 2) 内木宏延: (アミロイド構造生物学の新たな地平) ヒトアミロイドーシスの分子病態解明に向けて: 現状と展望. 第 8 回日本蛋白質科学会年会, 東京, 6.10-12, 2008.
- 3) 内木宏延: (パラプロテイン腎症—基礎と臨床—) アミロイド線維形成・沈着の分子機構—AL アミロイドーシスを中心に—. 第 9 回東京腎炎・ネフローゼ研究会, 東京, 7.26, 2008.
- 4) 内木宏延: (蛋白質のフォールディング病) ヒトアミロイドーシスの分子病態解明に向けて. 日本ヒトプロテオーム機構第 6 回大会, 大阪, 7.29-30, 2008.
- 5) Takahashi N, Kimura H, Ookoshi T, Hasegawa K, Yamamoto C, Mikami D, Nara M, Miyazaki R, Naiki H, Yoshida H: The relationship between plasma concentrations of lysophospholipids (LPLs) and dialysis related amyloidosis in hemodialysis patients. 41th American Society of Nephrology Annual Meeting, Philadelphia, Nov 4-9, 2008.
- 6) 高橋直生, 木村秀樹, 大越忠和, 長谷川一浩,

山本智恵, 奈良雅文, 宮崎良一, 井村敏雄, 三上大輔, 内木宏延, 吉田治義: 血漿リゾリン脂質の透析アミロイド形成における意義. 第 55 回日本臨床検査医学会学術集会, 名古屋, 11.27-30, 2008.

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)
アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

ヒト β_2 -microglobulin トランスジェニックマウスのアミロイドーシス： 自然発症及びアミロイド線維投与による発症促進

研究分担者 樋口京一 信州大学医学研究科加齢適応医科学系加齢生物学分野

共同研究者 張 鵬堯*、付 笑影*、澤下仁子*、銭 金澤*、森 政之*、
安東由喜雄**、内木宏延***

*信州大学医学研究科加齢適応医科学系加齢生物学分野、

**熊本大学大学院医学薬学研究部病態情報解析学分野、

***福井大学医学部病因病態医学講座・分子病理学領域

研究要旨 透析アミロイドーシスのモデルマウス開発を目指してヒト β_2 microglobulin ($h\beta_2m$) のみを高発現するトランスジェニックマウスを作製した ($hB2MTg^{+/+}m\beta_2m^{-/-}$)。このマウスでは、血中 $h\beta_2m$ 濃度は長期透析患者の約 4 倍であった (193 mg/L)。自然発症マウス (~25M)、及びアミロイド線維 ($A\beta_2M$ 及び AApoAII) 投与による誘発マウス (~25M) では、 $A\beta_2M$ アミロイドの沈着は観察されず、AApoAII の沈着のみが観察された。透析アミロイドーシスの主要な沈着部位である関節にも AApoAII の沈着のみが観察された。これらの結果は血中 $h\beta_2m$ 濃度の上昇と seeding 効果だけではアミロイド沈着を誘発できないことを示唆している。今後このモデルマウスを用いて、透析アミロイドーシス発症に必須な新たな因子の解析を行う必要がある。

A. 研究目的

透析アミロイドーシスは長期透析患者にとって最も重要な合併症の 1 つである。透析アミロイドーシスの発症機構の解明と予防・治療法の開発の為に、モデル動物の開発が必須である。透析アミロイドーシスのモデルマウス開発を目指してヒト β_2 -microglobulin (β_2m) を高発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作製し、自然発症のアミロイド沈着を観察した。また、アミロイド線維投与による発症促進効果を検討した。

B. 研究方法

1、ヒト β_2m Tg マウスの作製：CAG (cytomegalovirus immediate early gene enhancer / chicken β -actin promoter and rabbit β -globin poly(A) signal) プロモーターの下流にヒト β_2m cDNA を持つベクターを C57BL/6 マウス受精卵に投与し Tg マウスを作製した。さらに β_2m ノックアウトマウスと交配し、ヒト β_2m のみを発現する交雑マウスを作製した ($hB2MTg^{+/+}m\beta_2m^{-/-}$) (図 1)。

2、アミロイド沈着の観察：Tg マウスのアミロイド沈着を調べた。また①試験管内でリコンビナントヒト β_2m から作成した $A\beta_2M$ アミロイド線維、②透析アミロイドーシス患者組織から抽出した $A\beta_2M$ アミロイド線維、③マウス肝臓から抽出した AApoAII アミロイド線維、を Tg マウスに投与しアミロイド沈着を調べた。

(倫理面への配慮)

動物を用いた実験に関しては信州大学動物実験等実施規定により信州大学動物実験委員会の審査を経て学長の承認を得た (実験計画 No.190007, 190008, 200038 動物実験室 No.192011)。また信州大学遺伝子組換え実験等安全委員会での審査をへて学長の承認を受けている (実験計画 No. 06-016, 07-018, 07-026, 07-027, 08-024)。

C. 研究結果

1、モデルマウスの作製：Tg/KO マウス

(hB2MTg^{+/+} mβ2m^{-/-}) は全身臓器でヒト β₂m を発現し(図2)、血漿中 β₂m 濃度 (193 mg/L) は健常人の約百倍、透析患者の4倍以上であった(図3)。

2、アミロイド沈着:アミロイド線維を投与しなかったTgマウスでは、24ヶ月齢のTgマウスでアミロイド沈着を認め、Aβ₂Mアミロイド沈着は観察されず、AApoAIIアミロイドの沈着であった(表1)。患者組織から抽出したAβ₂M線維を投与したマウスでは、アミロイド線維を投与しなかったマウスや試験管内で合成したAβ₂M線維を投与したマウスより、アミロイド沈着程度は重篤であったが、やはりAβ₂Mアミロイド沈着は観察されず、AApoAIIアミロイド沈着のみが認められた。特に、椎間板及び膝関節にもアミロイド沈着を観察したが、AApoAIIアミロイドの沈着であった。

D. 考察

マウスでは正常マウスでも血中 β₂m の濃度は非常に高いが、マウス β₂m はアミロイド線維形成をおこし難いため、アミロイド沈着が起らないと報告されていた¹⁾。そこでマウス β₂m 遺伝子のノックアウトマウスとヒト β₂mTg マウスを交雑してヒト β₂m のみを高発現するマウスを作製した。作製された Tg マウスのヒト β₂m 血漿濃度は長期透析患者の約 4 倍に達したが、マウスの寿命である 2 年齢以上でも Aβ₂M アミロイド沈着は観察できなかった。また試験管内での Aβ₂M アミロイド線維形成では核形成依存性線維伸張反応が基本的反応モデルとして実証されているが²⁾、Tg マウスにアミロイド線維を投与しても Aβ₂M アミロイド沈着を誘発できず、Cross-seeding によって AApoAII アミロイドの沈着が引き起こされた。透析アミロイドーシスの主要な沈着部位である椎間板や関節でも AApoAII の沈着のみが認められた。今回作製した Tg マウスの apoA-II は wild type の A 型 apoA-II (Apoa2^q) であるが、それでも AApoAII アミロイド沈着が自然発症し、またアミロイド線維投与によって誘発/促進された。これらの結果は血中 hβ₂m 濃度の上昇と seeding 効果だけではアミロイド沈着を誘発できないことを示唆している。またアミロイドーシスのモデルマウスでは AApoAII 沈着の影響が避けられないことも示唆する。より高い血中及び局所的 hβ₂m

濃度、apoA-II の影響の排除、マウスでのアミロイドーシス発症を促進する因子の解析などの更なる工夫や解析が必要である

参考文献

- 1) Ivanova MI, Sawaya MR, Gingery M, Attinger A, Eisenberg D. An amyloid-forming segment of β₂-microglobulin suggests a molecular model for the fibril. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:10584-10589, 2004.
- 2) Naiki H, Yamamoto S, Hasegawa K, Yamaguchi I, Goto Y, Gejyo F. Molecular interactions in the formation and deposition of β₂-microglobulin-related amyloid fibrils. *Amyloid* 12: 15-25, 2005.

E. 結論

透析アミロイドーシスの発症機構の解明と治療法の開発には、モデルマウスが必須である。ヒト β₂m を高発現する Tg マウス系を作成し、アミロイド線維形成の解析に使用したが、Aβ₂M アミロイドの沈着はまだ確認できていない。今後はこの Tg マウスを用いて、解析の障害となる apoA-II 遺伝子の除去や、Aβ₂M アミロイド線維形成を促進する因子の解析を行う必要がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Zhang B, Une Y, Ge F, Fu X, Qian J, Zhang P, Sawashita J, Higuchi K, Mori M: Characterization of the cheetah serum amyloid A1 (SAA1) gene: critical role and functional polymorphism of a cis-acting element. *J Heredity* 99:355-363, 2008.
- 2) Zhang B, Une Y, Fu X, Yan J, Ge F, Yao J, Sawashita J, Tomozawa H, Kametani F, Higuchi K: Fecal translation of AA amyloidosis in the cheetah contributes to high incidence of disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:7263-7268, 2008.
- 3) Yoshida T, Zhang P, Fu X, Higuchi K, Ikeda S: Slaughtered aged cattle might become one dietary source exhibiting amyloid enhancing factor activity.

Amyloid, in press.

4) Higuchi K, Fu X, B Zhang, Sawashita J, Mori M: Genetics and transmission of mouse systemic amyloidosis. in *Biophysical Inquiry into Protein Aggregation and Amyloid Diseases*. P.L. San Biagio and D. Bulone eds. pp253 - 267. Research Sign Post, India, 2008.

5) 樋口京一：アミロイドモデル動物。『老化・老年病研究のための動物実験ガイド』（日本基礎老化学会 編）p.95-100、アドスリー(丸善) 2008。

6) 樋口京一：分子シャペロンとアミロイドーシス。分子細胞治療 7: 318-323, 2008.

7) 樋口京一：アミロイドーシス。蛋白質 核酸 酵素 53: 907, 2008.

8) 樋口京一, 張 倍茹, 宇根有美, 亀谷富由樹, 澤下仁子, 森 政之: チーターのアミロイドーシスはプリオンのように伝播するか? *Dementia Japan* 22: 207-214, 2008.

9) 樋口京一: チーターのアミロイドーシス: アミロイドーシスはプリオンのように伝播するか? 信州医誌 印刷中。

2. 学会発表

1) 銭金澤, 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. 松本, 6.13, 2008.

2) 長谷川寛, 竹内正義, 付笑影, 葛鳳霞, 張倍茹,

友澤寛, 森政之, 澤下仁子, 樋口京一: AApoAII と AA アミロイドタンパク質の糖化最終産物 AGEs による修飾. SAM 研究協議会第 23 回研究発表会, 京, 7.17, 2008.

3) 樋口京一: アミロイドーシスの発症要因としての“伝播” 日本プロテオーム機構第 6 回大会, 大阪, 7.26, 2008.

4) 張鵬亮, 張倍茹, 付笑影, 吉田拓弘, 池田修一, 樋口京一: 屠殺された高齢牛はアミロイド促進因子活性を持つ食品となる可能性がある. 第 3 回臨床ストレス応答学会, 秋田, 11.14, 2008.

5) Keiichi Higuchi: Molecular mechanism or transmission of amyloidosis. “Life science against intractable diseases”. The Joint Symposium of the 4th International Symposium of Institutes Network and Osaka University Global COE Symposium. Osaka, 2.1, 2008.

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

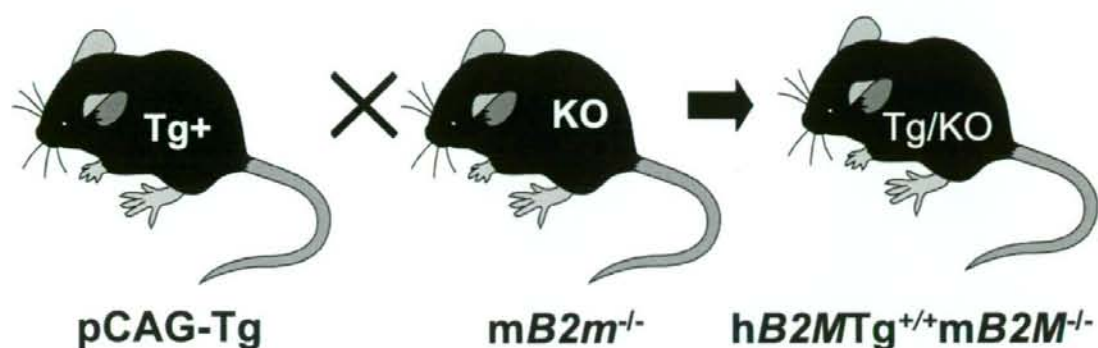


図1 hB2MTg^{+/+}mB2m^{-/-}マウスの作製。CAGプロモーターの下流にヒトβ₂m cDNAを持つベクターをC57BL/6マウス受精卵に投与しトランスジェニック(Tg)マウスを作製した。さらに、β₂mノックアウトマウスと交配し、ヒトβ₂mのみを発現する交雑マウスを作製した (hB2MTg^{+/+}mB2m^{-/-})。

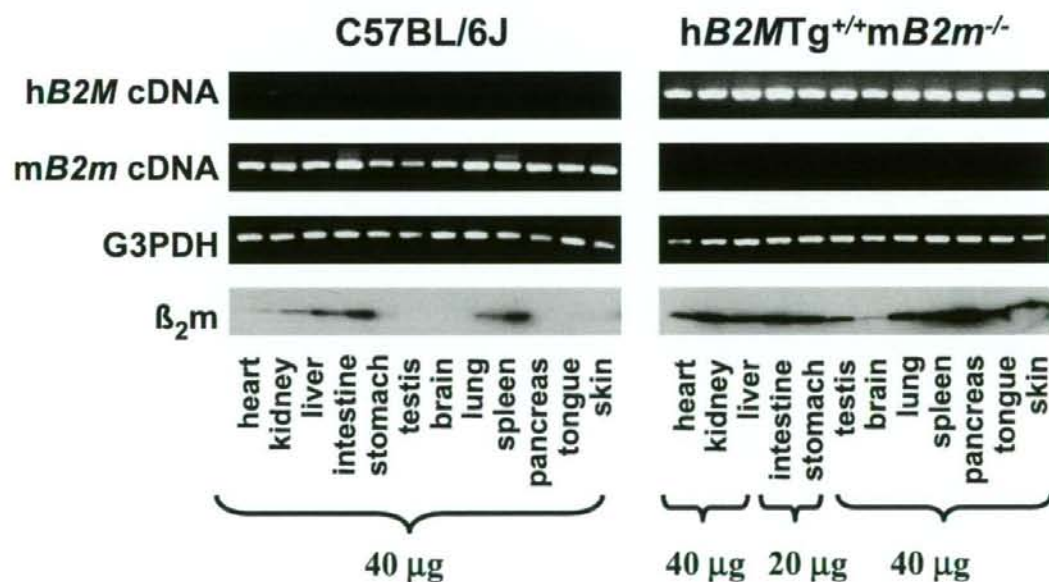


図2 hB2MTg^{+/+}mB2m^{-/-}マウスにおけるヒトβ₂mの発現。hB2MTg^{+/+}mB2m^{-/-}マウスではヒトβ₂m cDNAとβ₂m蛋白質の全身臓器での発現が確認された。

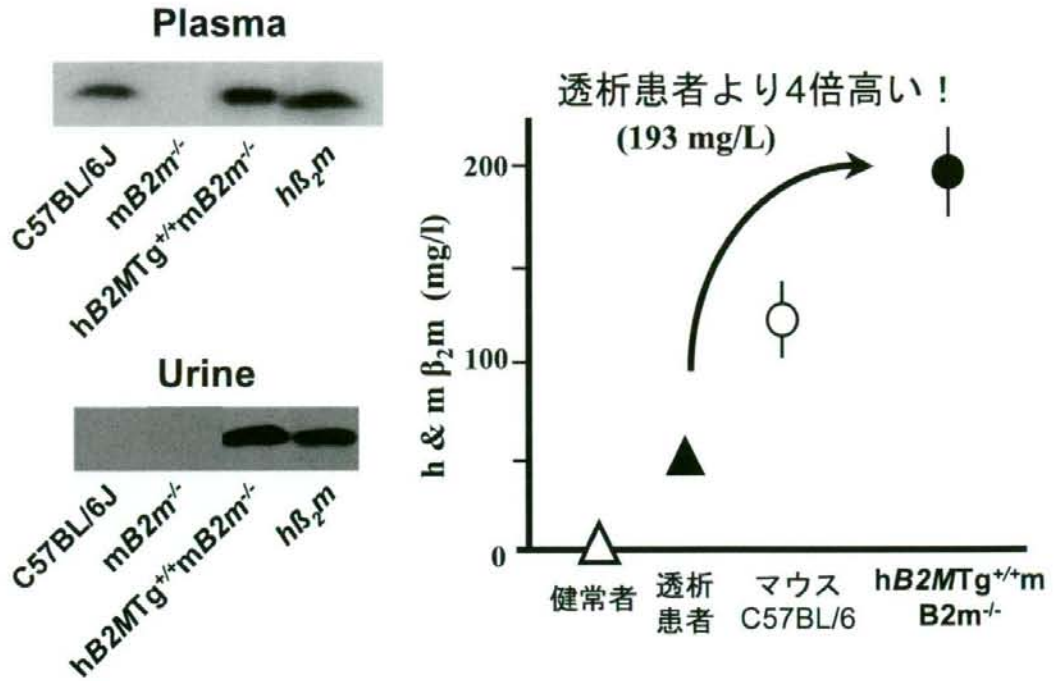


図3 hB2MTg^{+/+}mB2m^{-/-}マウスの血漿中ヒトβ₂m濃度。hB2MTg^{+/+}mB2m^{-/-}マウスでは血清と尿中に高濃度のβ₂mが検出された (Western blot解析: 左図) hB2MTg^{+/+}mB2m^{-/-}マウス血漿中ヒトβ₂m濃度は健康人の100倍以上、長期透析患者の約4倍であった (193mg/L) (右図)

表1 hB2MTg^{+/+}mB2m^{-/-}マウスのアミロイド沈着。Group I: アミロイド線維投与無し群。Group II: 試験管内で形成したAβ₂Mアミロイド線維投与群。Group III: 患者組織より分取したAβ₂Mアミロイド線維投与群。Group IV: マウス肝臓AApoAIIアミロイド線維投与群。(Aβ₂Mの沈着はなく、AApoAIIの沈着が観察された)

Group	5~8 month*			11~18 month			20~29 month		
	Aβ ₂ M	AApoAII	AI**	Aβ ₂ M	AApoAII	AI	Aβ ₂ M	AApoAII	AI
I	-	-	-	-	-	-	0/5***	3/5	0.1
II	0/8	0/8	0	-	-	-	0/5	3/5	0.3
III	0/2	2/2	0.9	0/5	5/5	1.3	-	-	-
IV	0/2	2/2	1.9	0/5	5/5	2.3	-	-	-

* マウス月齢、**Amyloid Index, ***アミロイド沈着マウス/検査マウス

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

透析アミロイドによる脊椎関節症からみた CAPD 症例の検討

研究分担者 高市憲明 虎の門病院 腎センター
 共同研究者 早見典子、乳原善文、鮎沢信宏、村岡和彦
 虎の門病院 腎センター

研究要旨 長期透析に合併する透析アミロイドーシスは、患者のADLを低下させる重要な問題である。透析アミロイドーシスによる破壊性脊椎関節症(DSA)に関する腹膜透析(CAPD)と血液透析(HD)の違いについては明らかでない点も多い。今回われわれは、当院で経過観察していた透析歴10年以上の長期透析患者(CAPD27名、HD82名)における、DSAの疫学病態について検討した。CAPD患者27名は男15名、女12名、平均透析年数 12.1 ± 1.8 年(10-17)、HD患者82名は男53名、女29名、平均透析年数 19.7 ± 8.4 年(10-46)であった。明らかにDSAと診断された症例は、CAPD患者では頸椎DSAが6名(23%)、腰椎DSAが6名(23%)にみられ、DSA患者の平均透析年数は 12.3 ± 2.7 年(10-17)、HD患者では頸椎DSAが9名(11%)、腰椎DSAが4名(5%)で、DSA患者の平均透析年数は 33.1 ± 7.6 年(21-46)であった。CAPDとHDの比較では、DSAの発症はCAPD患者に多く、透析歴も短かった($p < 0.01$)。また、HD患者では頸椎DSAは腰椎DSAの約2倍であったが、CAPD患者においては頸椎DSAと腰椎DSAは同数であった。CAPDの方がDSAを発症しやすく特に腰椎DSAを発症しやすと思われる。

A. 研究目的

透析アミロイドーシスのうち破壊性脊椎関節症(DSA)は、長期血液透析患者にみられる合併症として知られているが、透析方法の異なる腹膜透析での報告は少ない。

今回、10年以上の長期透析患者において、腹膜透析(CAPD)と血液透析(HD)という透析方法の違いにより、DSAの発生頻度や発生部位に差がみられるかを比較検討した。

B. 研究方法

当院にて経過観察された透析歴が10年以上の患者を対象に選び、CAPD27名[男15名、女12名、平均透析年数 12.1 ± 1.8 年(10-17)]、HD82名[男53名、女29名、平均透析年数 19.7 ± 8.4 年(10-46)]を比較検討した(表1)。

MRIにてT1WI、T2WIで低信号(アミロイドに相当)を示し椎間腔に狭小化や不整像を認め、近傍の椎体の破壊像を認めた場合にDSAと診断した。

(倫理面への配慮)

本調査は、疫学研究に関する倫理指針に基づき行われ、虎の門病院の該当する審査委員会において審査、承認を得た。

C. 研究結果

明らかにDSAと診断された症例は、HD患者では頸椎DSAが9名(11%)、腰椎DSAが4名(5%)であり、頸椎DSAが腰椎DSAの約2倍であった。DSA患者の平均透析年数は 33.1 ± 7.6 年(21-46)であった。HD患者におけるDSA群と非DSA群の比較では透析年数に有意差($p < 0.01$)があり、年齢、 Kt/V 、 β_2 -mに有意差はみられなかった(表2, 4)。

CAPD患者では頸椎DSAが6名(23%)、腰椎DSAが6名(23%)にみられ、頸椎DSAと腰椎DSAは同数であった。DSA患者の平均透析年数は 12.3 ± 2.6 年(10-17)であり、HD患者に比し短かった。CAPD患者におけるDSA群と非DSA群の比較では年齢に有意差($p < 0.01$)を認め、透析年数に有意差はみられなかった(表3, 4)。

DSA患者のCAPDとHDの比較では、DSA発症頻度はCAPD患者に多かった。また、年齢に有意差

はみとめなかったが透析年数はCAPD群が有意に低かった(表4)。

D. E. 考察、結論

透析アミロイドーシス合併の頻度は CAPD と HD で差がないのではないかとの報告も散見される。今回の検討では、臨床的に問題となった DSA は CAPD 患者の方が HD 患者より早期に発症していた。

さらに、CAPD 患者では HD 患者に比し、特に腰椎 DSA の発症頻度が高いことが判明した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・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

表1 対象

	CAPD	HD
人数	27名	82名
性別	男15名、女12名	男53名、女29名
平均年齢	61.7±13.3年(24-90)	62.3±11.4年(41-86)
平均透析歴	12.1±1.8年(10-17)	19.7±8.4年(10-46)
原疾患	慢性糸球体腎炎 18名 糖尿病性腎症 3名 多発性嚢胞腎 1名 その他 5名	慢性糸球体腎炎 41名 糖尿病性腎症 2名 多発性嚢胞腎 8名 その他 31名

表2 HD患者におけるDSA群と非DSA群の比較

	DSA群	非DSA群	
患者数	9名 (11%)	73名 (89%)	
平均年齢	65.2±8.0歳 (51-72)	61.9±11.8歳 (41-86)	NS
平均透析歴	33.1±7.6年 (21-46)	18.0±6.8年 (10-46)	p< 0.01
Kt/V	1.6±0.5	2.23±0.9	NS
β ₂ -m	25.2	28.7	NS

表 3 CAPD 患者における DSA 群と非 DSA 群の比較

	DSA群	非DSA群	
患者数	8名 (30%)	19名 (70%)	
平均年齢	70.6±10.8歳 (60-95)	57±12.6歳 (24-81)	p<0.01
平均透析歴	12.3±2.7年 (10-17)	11.9±1.5年 (10-14)	NS

表 4 DSA 患者における CAPD と HD の比較

	CAPD (n=26)	HD (n=82)	
DSA患者	8名 (30.8%)	9名 (11%)	p<0.05
頸椎DSA	6名 (23%)	7名 (8.8%)	p<0.05
腰椎DSA	6名 (23%)	4名 (5%)	p<0.01
平均年齢	70.6±10.8歳 (63-95)	65.2±8.0歳 (51-72)	NS
平均透析歴	12.3±2.6年(10-17)	32.2±9.7年 (21-46)	p<0.01
手根管症候群	6名(23%)	17名(21%)	NS

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

手根管症候群患者における老人性全身性アミロイドーシスの疫学研究

研究分担者 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*, 内山繁晴**, 東城加奈***, 佐野健司****, 星井嘉信*****, 加藤博之**

*信州大学遺伝子診療部, **同整形外科, ***同脳神経内科, リウマチ・膠原病内科,

****同臨床検査部, *****山口大学大学院医学系研究科情報解析医学系病理形態学分野

研究要旨 老人性全身性アミロイドーシス(SSA)は、野生型トランスサイレチン (TTR) 由来のアミロイドが全身臓器に進行性に沈着する予後不良の疾患である。著しい高齢化が進行中である我が国において、SSA 患者は多数存在しており今後も増加すると考えられるが、根本的な治療法が存在しないため積極的に診断されることは少なく、本症の正確な有病率は不明である。今回我々は、信州大学病院および関連病院2施設で手根管開放術を受けた27名の手根管症候群患者におけるSSAの有病率を検討した。その結果、予想以上に高率(37%)に滑膜組織へのアミロイド沈着を認め、その全てがTTR由来のアミロイドであった。年齢別に検討すると、アミロイドの陽性率は50歳未満で14%、50歳代で25%、60歳代で25%、70歳代で43%、80歳代で80%であり、加齢に伴って陽性率は上昇した。男女別陽性率は、男性が57%、女性が30%であり、男性で陽性率が高い傾向にあった。今回の検討から、TTRアミロイドの沈着は加齢に伴って高頻度に発生する生理的現象であることが示唆されたが、手根管症候群の発症にどの程度関与しているのかを明らかにするには、対照群を含めた多数例での検討が必要である。

A. 研究目的

老人性全身性アミロイドーシス(SSA)は、野生型トランスサイレチン (TTR) 由来のアミロイドが全身臓器に進行性に沈着する予後不良の疾患である。SSAでは、心臓や手根管組織にアミロイドが沈着し易いことが知られており、海外からは80歳以上の剖検例の25%に心臓へのTTRアミロイドの沈着が認められたとの報告もある。著しい高齢化が進行中である我が国において、SSA患者は多数存在しており今後も患者数は増加すると考えられるが、根本的な治療法が存在しないため積極的に診断されることは少なく、本症の正確な有病率や臨床像は不明である。

以上のような状況下において、SSAの臨床像の解明および根本的な治療法の開発は急務である。今回我々は、SSA研究の第一歩として、手根管症候群患者におけるSSAの有病率を検討した。

B. 研究方法

対象：2008年2月から10月までに信州大学医

学部附属病院および長野県内の関連病院2施設で手根管開放術を受けた27名の患者(平均年齢63.8±15.9歳、男性7名、女性20名)。

方法：手根管開放術の際に滑膜組織を採取し、コンゴレッド染色を行った。コンゴレッド染色で陽性であった場合には、抗TTR抗体、抗λ鎖抗体、抗κ鎖抗体、抗AA抗体を用いた生検組織の免疫組織染色を行い、アミロイド蛋白を同定した。更に抗TTR抗体で陽性であった場合は、TTR遺伝子の検索を行い、SSAであるのか家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) であるのかを確定した。

(倫理面への配慮)

本研究の施行に際しては、信州大学倫理委員会の承認を得た。更に、被験者から、文書でのインフォームドコンセントを得て研究を行った。また、被験者が特定できないように連結可能匿名化として研究を行った。

C. 研究結果

手根管症候群患者27名中10名(37%)に滑膜組織へのアミロイド沈着を認め、その全てがTTR由来のアミロイドであった。年齢別に検討すると、アミロイドの陽性率は50歳未満で7名中1名(14%)、50歳代で4名中1名(25%)、60歳代で4名中1名(25%)、70歳代で7名中3名(43%)、80歳代で5名中4名(80%)であり、加齢とともに陽性率は上昇した。男女別のアミロイドの陽性率は、男性が7名中4名(57%)、女性が20名中6名(30%)であり、男性で陽性率が高い傾向にあった。

TTR遺伝子の解析は、これまでに3名で終了し、2名(70歳男性, 79歳女性)は野生型TTRによるSSA, 1名(47歳女性)はGlu54Lys TTRによるFAPと診断した。

D. 考察

今回の検討から、TTRアミロイド沈着は加齢に伴って高頻度に発生する生理的現象で、手根管症候群の発症にある程度関与しているのではないかと考えられた。このような観点から、全身へのTTRアミロイドの沈着は、脳へのAβアミロイドの沈着と類似していると考えられる。脳へのAβの沈着は加齢により発生する生理的な現象で、ある一定量以上沈着すると認知機能障害、即ちアルツハイマー病を発症する。同様に、全身組織へのTTRの沈着も加齢により発生する生理的な現象で、ある一定量以上沈着すると心不全や手根管症候群などのSSA症状が出現すると考えられた。

E. 結論

1. 手根管症候群患者では、高率にTTRアミロイドの滑膜組織への沈着を認めた。
2. TTRアミロイドの陽性率は、加齢に伴って上昇し、女性に比べ、男性で高率であった。
3. TTRアミロイド沈着が手根管症候群の発症にどの程度関与しているのかを明らかにするには、対照群を含めた多数例での検討が必要である。

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) Sekijima Y, Dendle MT, Kelly JW: Orally administered diflunisal stabilizes transthyretin against dissociation required for amyloidogenesis. *Amyloid* 13:236-249, 2006.
- 3) 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.
- 4) Tojo K, Sekijima Y, Machida K, Tsuchiya A, Yazaki M, Ikeda SI: Amyloidogenic transthyretin Val30Met homozygote showing unusually early-onset familial amyloid polyneuropathy. *Muscle Nerve* 37: 796-803, 2008.
- 5) Kodaira M, Sekijima Y, Tojo K, Tsuchiya A, Yazaki M, Ikeda S, Sekijima Y, Hoshii Y, Tachibana S: Non-senile wild-type transthyretin systemic amyloidosis presenting as bilateral carpal tunnel syndrome. *J Peripher Nerv Syst* 13:148-150, 2008.
- 6) Sekijima Y, Kelly JW, Ikeda S: Pathogenesis of and therapeutic strategies to ameliorate the transthyretin amyloidoses. *Curr Pharm Des* 14:3219-3230, 2008.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 小平農, 関島良樹, 武井洋一, 土屋彩子, 東城加奈, 矢崎正英, 森田洋, 吉田邦広, 星井嘉信, 池田修一: 手根管症候群を呈した野生型トランスサイレチンアミロイドーシス4例の臨床像の検討. *末梢神経* 19:54-63, 2008.

2. 学会発表

- 1) 小平農, 下島吉雄, 東城加奈, 兼子一真, 矢崎正英, 関島良樹, 森田洋, 池田修一: 野生型トラン

スサイレチン由来アミロイド(老人性アミロイドーシス)により手根管症候群を呈した4名の臨床像の検討. 第18回日本末梢神経学会学術集会, 弘前, 8.24-25, 2007.

2) 小平農、東城加奈、関島良樹、吉田邦広、池田修一: 野生型トランスサイレチン由来アミロイドにより両側手根管症候群を呈した48歳男性例. 第182回日本神経学会関東地方会, 東京, 9.1, 2007.

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)
 アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

アミロイドーシス特有の病理像を認識するプローブの探索

研究分担者 工藤幸司 東北大学未来医工学治療開発センター 前臨床応用部門
 共同研究者 森雅憲^{1,2)}、岡村信行²⁾、谷内一彦²⁾、古本祥三³⁾、星井嘉信⁴⁾、石原得博⁴⁾
 宇田裕史⁵⁾、佐伯修⁵⁾、奥田恭章⁶⁾、中村正⁷⁾、坂井勇仁⁸⁾、和田庸子⁸⁾
 中野正明⁸⁾、吉崎和幸⁹⁾、山田正仁¹⁰⁾

所属:東北大学未来医工学治療開発センター¹⁾、東北大学医学系研究科機能薬理学分野²⁾、
 東北大学加齢医学研究所³⁾、山口大学医学系研究科情報解析医学系学域病理形態分
 野(病理学第一講座)⁴⁾、堺温心会病院内科⁵⁾、道後温泉病院リウマチセンター内
 科⁶⁾、熊本リウマチセンターリウマチ膠原病内科⁷⁾、新潟大学大学院医歯学総合研
 究科内部環境医学講座(第2内科)⁸⁾、大阪大学先端科学イノベーションセンター
⁹⁾、金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科学)¹⁰⁾

研究要旨アミロイドーシスという難病に苦しむ患者様に、より優れた診断法(プローブを用いたインビ
 ボ画像診断)を提供することを最終目的として、分担研究者らによって開発されたプローブ BF-227
 につき、ヒト標本および動物モデルにおける作用を検討してきた。昨年度までに基礎検討を終了し、本
 年度はいよいよヒトにおける^{[11C]BF-227} 探索的臨床研究として、まず最初に正常健常人の PET 画像を
 撮影した。その結果、検討した2名とも^{[11C]BF-227} 静脈内投与それぞれ55分および70分後までの観
 察では、投与直後から主要代謝部位である肝において放射能集積が見られた後、肝代謝の結果と思われ
 る胆嚢に放射能集積が見られた。しかし、腎、消化管には特記すべき放射能集積が見られなかったこと
 から、^{[11C]BF-227} はヒトアミロイドーシス(特にAAアミロイドーシス)において有用な診断ツールと
 なる可能性が高いことが示唆された。また併せて「AAアミロイドーシス臨床研究会」会員よりお送り
 いただいたアミロイドーシス患者様の消化管生検標本のBF-227染色を実施した。その結果、1症例では
 全くBF-227染色陰性であったが、残りの11症例では少なくとも胃幽門輪3部位の内1部位以上でBF-227
 染色陽性であった。

A. 研究目的

アミロイドーシスという難病に苦しむ患者様
 により優れた診断法(プローブを用いたインビ
 ボ画像診断)を提供することを最終目的として、
 これまでにヒトアミロイドーシス標本および動
 物モデルにおけるアミロイド蛋白と、分担研究
 者らによって開発されたアミロイドリガンド BF-
 227 との結合性を検討し、いずれの標本および動
 物モデルにおいても高い結合性を示すことを確
 認してきた。本年度は東北大学倫理委員会および
 利益相反委員会等の承認を経て、いよいよヒトに
 おける^{[11C]BF-227} 探索的臨床研究としてまず最

初に正常健常人の PET 画像を撮影した。

また併せて「AAアミロイドーシス臨床研究会」
 会員よりお送りいただいたアミロイドーシス患
 者様の消化管生検標本のBF-227染色を実施した。

B. 研究方法

- 1) ヒトにおける^{[11C]BF-227} 探索的臨床研究
 23歳および26歳の2名の正常健常人(男性)
 に^{[11C]BF-227} を静脈内投与し、以後PET装置(島
 津SET-2400W)を用いてダイナミックスキャンを
 施行した。
- 2) アミロイドーシス患者様の消化管生検標本の

BF-227 染色

「AA アミロイドーシス臨床研究会」会員よりお送りいただいたアミロイドーシス患者様の消化管生検（胃幽門輪の0時、3時、9時）標本のBF-227染色を実施した。

（倫理面への配慮）

アミロイドーシス患者様標本を使用する場合、ヘルシンキ宣言を基準として倫理面に配慮し、標本提供許である各施設倫理委員会の承認を得た上で使用する。動物実験においては、東北大学における動物実験に関する指針（S63.3.24）に従い、十分なる愛護精神をもってできるだけ動物に苦痛を与えぬように配慮する。

標識プローブを用いた探索的PET臨床研究では「東北大学における新規PET薬剤の臨床開発の指針」に従って、東北大学放射性薬剤品質管理委員会、同放射性核種を用いる臨床研究委員会、同医学部倫理委員会の承認を得るとともに東北大学利益相反マネジメント委員会の承認を得た上で実施する。

また臨床研究においてはヘルシンキ宣言を基準として倫理面に十分配慮し、研究の目的、ご協力いただきたい内容、PET検査の概要、予想される危険性・副作用、健康被害が生じた場合の補償、プライバシー（秘密）の保護、検査内容・結果の説明、研究結果の公表、利害関係（利益相反）、問い合わせ・苦情の窓口等について患者様および家族に十分なる説明を行うとともに「患者様とご家族へのご協力の同意文書」、または「被験者の方への協力の同意文書」に同意・署名（インフォームド・コンセント）をいただいた上で実施する。

C. 研究結果

1) ヒトにおける ^{11}C BF-227探索的臨床研究

図1および2に23歳および26歳正常健常人の ^{11}C BF-227 PET画像を示した。

23歳正常健常人（男性）においては、投与4-14分の画像では ^{11}C BF-227の主たる代謝臓器と考えられる肝において ^{11}C BF-227の集積が見られ、60-70分後には胆嚢に集積が見られた。

26歳正常健常人（男性）においては、投与4-14分の画像では ^{11}C BF-227の主たる代謝臓器と考え

られる肝において ^{11}C BF-227の集積画が見られ、以後時間経過とともに徐々に同部位における集積は低下していった。

2名とも肝以外の諸臓器、特に腎、消化管には特記すべき放射能集積が見られなかったことから、 ^{11}C BF-227はヒトアミロイドーシス（特にAAアミロイドーシス）において有用な診断ツールとなる可能性の高いことが示唆された。

2) アミロイドーシス患者様の消化管生検標本のBF-227染色

計12症例のAAアミロイドーシス患者様の消化管生検標本のBF-227染色を実施した。その内、1症例では全くBF-227染色陰性であったが、残りの11症例では少なくとも胃幽門輪の1部位以上がBF-227染色陽性であった。

なお、これらの隣接切片を用いたコンゴレッド染色が他の機関で実施中であり、今後データを照らし合わせる予定である。

D. 考察

2名の正常健常人における ^{11}C BF-227探索的臨床研究では、腎、消化管には特記すべき放射能集積が見られなかったことから、 ^{11}C BF-227はヒトアミロイドーシス（特にAAアミロイドーシス）において有用な診断ツールとなる可能性が高いことが示唆された。

またAAアミロイドーシス消化管標本における染色では、12症例中11症例でBF-227染色陽性であった。

E. 結論

^{11}C BF-227探索的臨床研究としてまず最初に2名の正常健常人のPET画像を撮影した結果、 ^{11}C BF-227はアミロイドーシスの有用な診断ツールになる可能性が高いことが示唆された。

アミロイドーシス患者様の消化管生検標本のBF-227染色では、1症例では全くBF-227染色陰性であったが、残りの11症例では少なくとも胃幽門輪の1部位以上がBF-227染色陽性であった。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 古本祥三, 工藤幸司: アミロイド斑の可視化によるアルツハイマー病の早期診断. ISOTOPE NEWS.No.2008.655:2-6.
- 2) 荒井啓行, 工藤幸司: アルツハイマー病治療の現状と近未来像. *細胞* 40:17-20, 2008.
- 3) 荒井啓行, 古川勝敏, 工藤幸司: アルツハイマー病バイオマーカー開発の現状と Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. *Human science* 19:12-17, 2008.
- 4) 工藤幸司, 古本祥三, 岡村信行: アミロイド画像化用プローブ. *日本臨床* 66:300-306, 2008.
- 5) 岡村信行, 谷内一彦, 古川勝敏, 荒井啓行, 工藤幸司: アミロイドイメージング PET. *日本臨床* 66:288-292, 2008.
- 6) 岡村信行, 古本祥三, 工藤幸司: アミロイドイメージング. *分子精神薬理* 2:188-190, 2008.
- 7) 岡村信行, 古本祥三, 工藤幸司, 谷内一彦: 脳の分子イメージング「アルツハイマー病」. *日本臨床* 65:320-326, 2007.

2. 学会発表

- 1) 工藤幸司: アルツハイマー病診断法のTR. 東北大学未来医学治療開発センターシンポジウム, 仙台, 11.17, 2008.
- 2) 杉健太郎, 岡村信行, 加藤元久, 森雅憲, 古川勝敏, 藁谷正明, 田代学, 岩田鍊, 工藤幸司, 谷内一彦, 荒井啓行: アルツハイマー病早期診断における[11C]BF-227 PET 有用性の検討. CYRIC 共同実験第 29 回報告会, 仙台, 11.8, 2008.
- 3) 岡村信行, 古本祥三, 田代学, 岩田鍊, 工藤幸司, 谷内一彦, 堂浦克美: プリオン病におけるBF-227-PET 所見. CYRIC 共同実験第 29 回報告会, 仙台, 11.8, 2008.
- 4) 岡村信行, 古本祥三, 田代学, 古川勝敏, 藁谷正明, 岩田鍊, 工藤幸司, 谷内一彦, 荒井啓行: [18F]FACT を用いた脳内アミロイドの画増化. CYRIC 共同実験第 29 回報告会, 仙台, 11.8, 2008.
- 5) 岡村信行, 古川勝敏, 藁谷正明, 古本祥三, 田代学, 森雅憲, 岩田鍊, 谷内一彦, 荒井啓行, 工藤幸司: BF-227PET による脳内沈着アミロイド斑の検出. 第 27 回日本認知症学会学術集会, 前橋,

10.10-12, 2008.

- 6) 森雅憲, 岡村信行, 古本祥三, 藁谷正明, 工藤幸司, 荒井啓行, 谷内一彦: 光イメージングを用いた生体における脳内蓄積アミロイドの検出. 第 27 回日本認知症学会学術集会, 前橋, 10.10-12, 2008.
- 7) 岡村信行, 古本祥三, 田代学, 古川勝敏, 船木善仁, 岩田鍊, 荒井啓行, 工藤幸司, 谷内一彦: 軽度認知症害によるBF-227-PET 画像所見. 第 48 回日本核医学会学術総会, 幕張メッセ, 10.24-26, 2008.
- 8) 岡村信行, 志賀裕正, 古本祥三, 田代学, 岩田鍊, 工藤幸司, 谷内一彦: プリオン病患者におけるBF-227-PET 画像所見. 第 48 回日本核医学会学術総会, 幕張メッセ, 10.24-26, 2008.
- 9) 古本祥三, 岡村信行, 加藤元久, 石川洋一, 丸山将浩, 岩田鍊, 谷内一彦, 樋口真人, 須原哲也, 工藤幸司: フッ素 18 標識アミロイドイメージング剤の開発. 第 48 回日本核医学会学術総会, 幕張メッセ, 10.24-26, 2008.
- 10) 工藤幸司: アルツハイマー病の分子イメージング: β アミロイドイメージング. 第 5 回 Molecular Imaging 研究会 In “第 48 回日本核医学会学術総会”, 幕張メッセ, 10.24, 2008.
- 11) 杉健太郎, 岡村信行, 加藤元久, 森雅憲, 田代学, 岩田鍊, 工藤幸司, 谷内一彦: [11C]BF-227 を用いたアルツハイマー病早期診断法の確立. 第 59 回日本薬理学会北部会, 仙台, 9.27, 2008.
- 12) Shao he, Okamura N, Furumoto S, Kato M, Mori M, Kudo Y, Yanai K: THK-778-Optimized candidate for amyloid plaques imaging in Alzheimer's disease. 第 59 回日本薬理学会北部会, 仙台, 9.27, 2008.
- 13) 森雅憲, 岡村信行, 古本祥三, 工藤幸司, 谷内一彦: 光イメージング用プローブ X50 による脳内アミロイドの検出. 第 59 回日本薬理学会北部会, 仙台, 9.27, 2008.
- 14) 工藤幸司, 古本祥三, 森雅憲, 岡村信行: アルツハイマー病の光技術を用いた診断. 第 3 回日本分子イメージング学会総会・学術集会 (2008 年定期総会), 大宮, 5.23, 2008.
- 15) 谷内一彦, 岡村信行, 工藤幸司, 荒井啓行: アルツハイマー病の分子イメージング研究. 第 81 回日本薬理学会年会, バシフィコ横浜, 3.17-19, 2008.
- 16) 森雅憲, 岡村信行, 古本祥三, 工藤幸司, 谷内

一彦：インピボにおける脳内アミロイドの近赤外線蛍光イメージング. 第 81 回日本薬理学会年会, パシフィコ横浜, 3.17-19, 2008.

17) 岡村信行, 工藤幸司, 古本祥三, 田代学, 加藤元久, 船木善仁, 森雅憲, 堂浦克美, 荒井啓行, 谷内一彦: BF-227 を用いた神経変性疾患の脳内アミロイドのPET計測. 第81回日本薬理学会年会, パシフィコ横浜, 3.17-19, 2008.

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

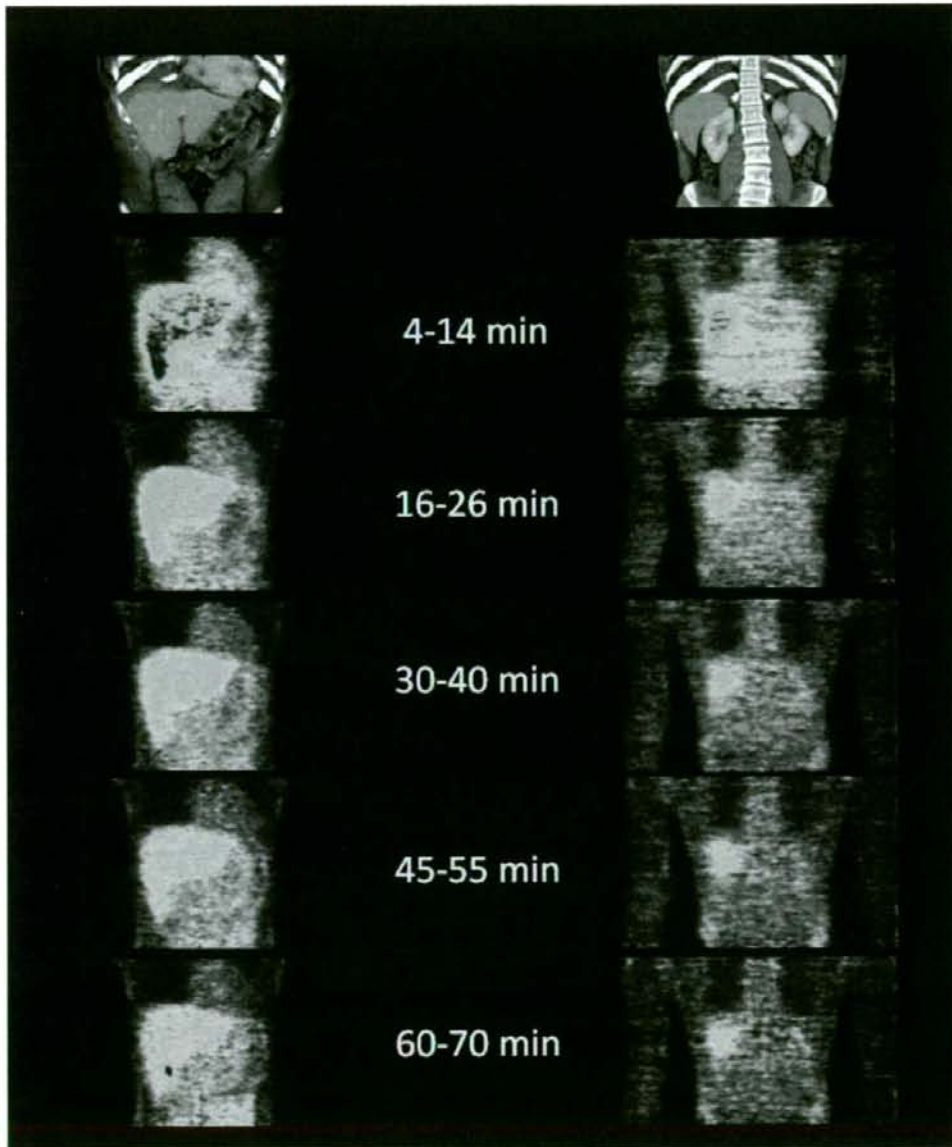


図 1. 23 歳男性（正常健常人）における $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ PET 画像

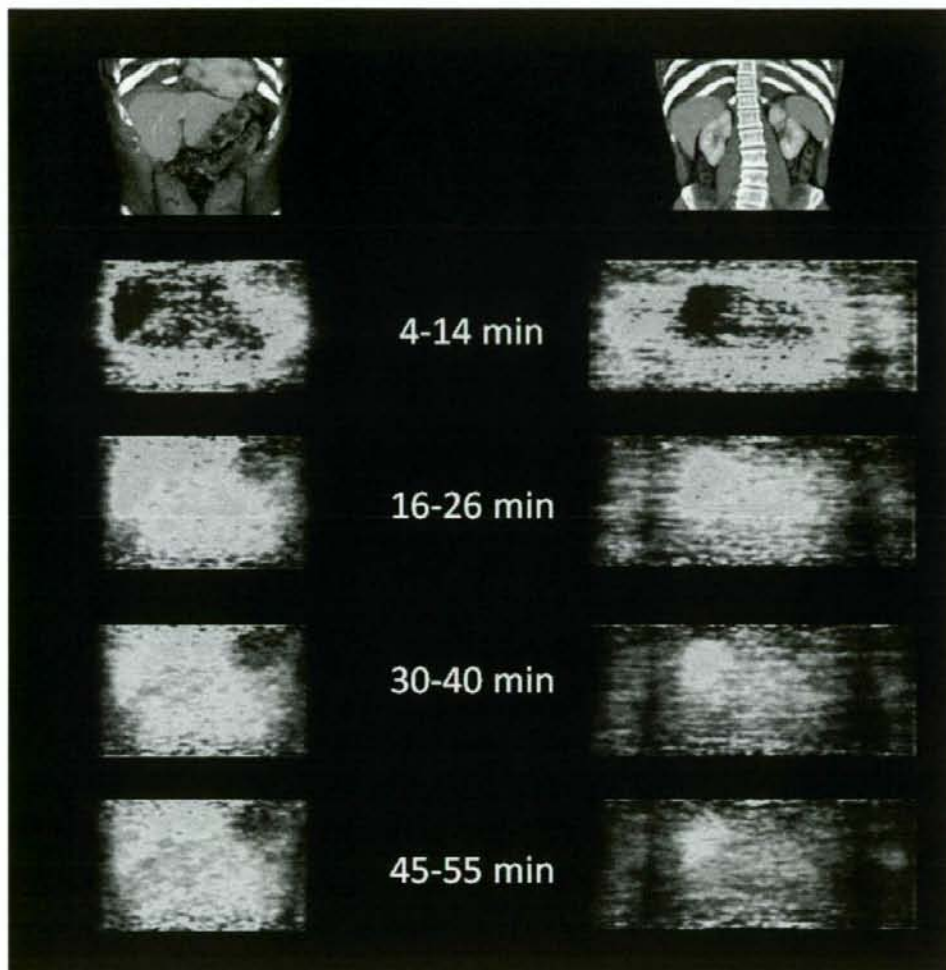


図 2. 26 歳男性（正常健常人）における $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ PET 画像