

- catechol-O-methyl transferase genes polymorphism on gastrointestinal dysfunction in Swedish and Japanese familial amyloidotic polyneuropathy patients. *Clin Chim Acta* 398:10-14, 2008.
- 8) Obayashi K, Sato K, Shimazaki R, Ishikawa T, Goto K, Ueyama H, Mori T, Ando Y, Kumamoto T: Salivary chromogranin A: useful and quantitative biochemical marker of affective state in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Intern Med* 47: 1875-1879, 2008.
- 9) Okamoto S, Yamashita T, Ando Y, Ueda M, Misumi Y, Obayashi K, Horibata Y, Uchino M: Evaluation of myocardial changes in familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Intern Med* 47:2133-2137, 2008.
- 10) Ota K, Fujimori H, Ueda M, Shiniriki S, Kudo M, Jono H, Fukuyoshi Y, Yamamoto Y, Sugiuchi H, Iwase H, Shinohara M, Ando Y: Midkine as a prognostic biomarker in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 99:655-662, 2008.
- 11) Sugamura K, Sugiyama S, Matsuzawa Y, Nozaki T, Horibata Y, Ogawa H: Benefit of adding pioglitazone to successful statin therapy in nondiabetic patients with coronary artery disease. *Circulation Journal* 72: 1193-1197, 2008.
- 12) Susuki S, Ando Y, Sato T, Nishiyama M, Miyata M, Suico MA, Shuto T, Kai H: Multi-elemental analysis of serum and amyloid fibrils in familial amyloid polyneuropathy patients. *Amyloid* 15:108-116, 2008.
- 13) Uchiba M, Imamura T, Hata H, Tatetsu H, Yonemura Y, Ueda M, Wada Y, Mitsuya H, Ando Y: Excessive fibrinolysis in AL-amyloidosis is induced by urokinase-type plasminogen activator from bone marrow plasma cells. *Amyloid*, In press.
- 14) 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.
- 15) Zhao G, Li Z, Araki K, Haruna K, Yamaguchi K, Araki M, Takeya M, Ando Y, Yamamura KI: Inconsistency between hepatic expression and serum concentration of transthyretin in mice humanized at the transthyretin locus. *Genes Cells*, in press.
2. 学会発表
- 1) Ando Y: FAP disease in different location of the world. The VIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy and 1st International Workshop on Hereditary Amyloidosis. London, United Kingdom, Sep 2-5, 2008.
- 2) Ando Y: Effect of albumin on amyloid formation in transthyretin. The 23rd JSSX Annual Meeting, Kumamoto, Japan, Oct 30-Nov 1, 2008.
- 3) Ando Y: A novel diagnostic system in hereditary diagnosis. Symposium on pathology. The 25th World Congress of Pathology and Pathology update, Sydney, Australia, Mar 13-15, 2008.
- 4) 安東由喜雄: トランスサイレチン—そのミラクルな機能と役割—。第 55 回日本臨床検査医学会学術集会, 名古屋, 11.27-30, 2008.
- 5) 植田光晴, 安東由喜雄: AA アミロイドーシスに対する新たな治療標的の可能性—動物モデルを用いたタクロリムスのアミロイド抑制効果—, イブニングセッション「タクロリムスの可能性を探る」, 第 23 回日本臨床リウマチ学会, 横浜, 11.29-30, 2008.
- 6) 城野博史, 安野貴幸, 本山敬一, 三隅洋平, 堀端洋子, 植田光晴, 有馬英俊, 安東由喜雄: 分岐β-シクロデキストリンを用いたトランスサイレチンのアミロイド線維形成機構の解析. 第 55 回日本臨床検査医学会総会, 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
- 1) 発明の名称: アミロイド線維形成抑制剤  
出願番号: 2008-260965  
出願日: 平成 20 年 10 月 7 日  
発明代表者: 安東由喜雄
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

## AL アミロイドーシスに対する治療法の基礎的研究 -AL アミロイドーシスを含む MGUS での NF- $\kappa$ B 活性の強度と生存安定性について-

研究分担者 河野道生 山口大学・医学系研究科・細胞シグナル解析学  
 共同研究者 大津山賢一郎  
 山口大学・医学系研究科・細胞シグナル解析学

**研究要旨** AL アミロイドーシスを含む MGUS における単クローン性形質細胞の NF- $\kappa$ B 活性につき検討を加えた。恒常的 NF- $\kappa$ B 活性の定量に、細胞膜上の CD54 発現の強度を測定することで可能であることを確認した。MGUS 形質細胞は、CD54 発現が極めて高く、正常骨髄形質細胞と同等あるいはそれ以上であり、逆に、骨髄腫細胞では CD54 発現は有意に低いことを確認した。In vitro 培養系での生存安定性は、CD54 発現の高低とよく相関した。CD54 発現の極めて高い MGUS 形質細胞は、生存安定性が高かった。MGUS 形質細胞では、p53 遺伝子の DNA 結合領域(exon5~exon8)に点突然変異を検出することができず、p53 蛋白が正常に機能している。このことは、MGUS 形質細胞が正常骨髄形質細胞とよく似て、senescence 状態にあるものと考えられる。今後、AL アミロイドーシスの治療戦略につき、その形質細胞を減少させる薬剤を考える上では、骨髄腫細胞のそれとは異なる視点が必要と思われる。

### A. 研究目的

AL アミロイドーシスに対する有効な治療法を確立するための基礎的研究を行う。特に、AL アミロイドーシスを含む MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance)での単クローン性形質細胞の生存機構および薬剤感受性につき検討を加える。本年度は形質細胞の生存に深く関る恒常的 NF- $\kappa$ B 活性の強度と生存安定性 (senescence)に関係すると考えられる p53 遺伝子の変異の有無についても検討する。

### B. 研究方法

#### 1. 対象及び方法

- 1) AL アミロイドーシス症例を含む MGUS(前骨髄腫状態)および骨髄腫患者からの骨髄穿刺液を使用して、常法のごとく骨髄単核球を分離した。
- 2) 骨髄単核球を FITC-CD38, PE-CD19, PE-MPC-1, PE-CD49e, PE-CD54, PC5-CD56, PC5-CD45 等で多重染色し、フローサイトメーター(Epics Elite ESP, Coulter)で解析した。一部の症例では、形質細胞分画 (CD38(++))をソートした。3)骨髄単核球を FCS 添加培養液 (RPMI-1640)下で 1

週あるいは 2 週間 in vitro 培養し、形質細胞分画 (CD38(++))の生存細胞数をフローサイトメーターで解析した。4) ソートした形質細胞分画から DNA 抽出し、常法のごとく PCR 法による p53 遺伝子の exon5~8 領域につき直接シーケンシングを行った。

(倫理面への配慮)

### C. 研究結果

- 1) 恒常的 NF- $\kappa$ B 活性の定量に、細胞膜上の CD54 発現の強度を測定することで可能であることを確認した。AL アミロイドーシスを含む MGUS の単クローン性形質細胞では、正常骨髄形質細胞と同等の極めて高い CD54 発現が認められた。一方で、骨髄腫細胞の CD54 発現は明らかに MGUS 形質細胞および正常骨髄形質細胞のそれよりも低下していた (図-1)。CD54 発現が極めて高い MGUS 形質細胞は、in vitro 培養系での生存安定性が高かった。CD54 発現が相対的に低い骨髄腫細胞では、CD54 発現の高低と in vitro 培養系での生存安定性がよく相関した。2) NF- $\kappa$ B 活性が極めて高い、CD54 発現も極めて高い

骨髄腫細胞株 (U266 など) では、*p53* 遺伝子の DNA 結合領域 (exon5~8) の変異 (点突然変異) を検出した。骨髄腫細胞では、約 1/3 の症例で *p53* 遺伝子の DNA 結合領域の変異を検出したが、CD54 発現での高低による有無はなかった。MGUS10 例における形質細胞では、*p53* 遺伝子の DNA 結合領域の変異は検出できなかった (表-1)。

#### D. 考察

AL アミロイドーシスを含む MGUS の単クローン性形質細胞では、CD54 発現が正常骨髄形質細胞のそれと同等あるいはそれ以上に極めて高いことから、NF- $\kappa$ B 活性も極めて高いことが確認された。In vitro 培養系での生存安定性では、CD54 発現の極めて高い MGUS 形質細胞は正常骨髄形質細胞に似て、安定性が高い。このことは、MGUS 形質細胞が正常骨髄形質細胞とよく似て、senescence 状態にあるものと考えられる。このことは、NF- $\kappa$ B 標的遺伝子の一つである *p53* 遺伝子の発現および機能の解析からも示唆される。つまり、NF- $\kappa$ B 活性が極めて高いと、その標的遺伝子である *p53* 遺伝子発現も高まる。*p53* 蛋白が正常に機能すると、細胞周期は停止して senescence 状態に保たれると考えられる。MGUS 形質細胞では、*p53* 遺伝子の DNA 結合領域 (exon5~exon8) に点突然変異を検出することができず、*p53* 蛋白が正常に機能している。MGUS の単クローン性形質細胞の生存・増殖動態を考える上で極めて重要な点となるであろう。

今後、AL アミロイドーシスの治療戦略につき、その形質細胞を減少させる薬剤を考える上では、骨髄腫細胞のそれとは異なる視点 (異なる薬剤、異なる薬剤感受性) が必要と思われる。

#### E. 結論

1. 原発性 AL アミロイドーシスを含む MGUS からの単クローン性形質細胞は、正常骨髄形質細胞と同等あるいはそれ以上の強い CD54 発現を確認した。
2. In vitro 培養系での生存安定性は、CD54 発現の高低とよく相関した。CD54 発現の極めて高い MGUS 形質細胞は、生存安定性が高い。
3. NF- $\kappa$ B 活性の高い骨髄腫細胞株では、*p53* 遺伝子発現は高く誘導されていたが、*p53* 遺伝子

子の点突然変異 (DNA 結合領域) が検出され *p53* 蛋白機能は障害されていた。

4. MGUS 形質細胞では、*p53* 遺伝子の DNA 結合領域の変異は検出できなかった。
5. MGUS 形質細胞は、正常骨髄形質細胞に近い性状と考えられる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Abroun S, Otsuyama K, Shamsasenjan K, Islam A, Amin J, Iqbal MS, Gondo T, Asaoku H, Kawano MM: Galectin-1 supports the survival of CD45RA(-) primary myeloma cells in vitro. *Br J Haematol* 142:754-765, 2008.

##### 2. 学会発表

- 1) Otsuyama K, Kawano MM: Constitutive NF- $\kappa$ B activation in myeloma cells: Its underlying mechanism and functional significance. シンポジウム 5, 第 70 回日本血液学会総会, 京都, 10.10, 2008.
- 2) 河野道生, Islam A, Amin J, Abroun S, Shamsasenjan K, Iqbal MS, Otsuyama K: 単クローン性形質細胞における NF- $\kappa$ B 標的遺伝子 CD54 発現の多様性. 第 70 回日本血液学会総会, 京都, 10.12, 2008.
- 3) Islam A, Amin J, Shamsasenjan K, Iqbal MS, 大津山賢一郎, 河野道生: 骨髄腫細胞株における NF- $\kappa$ B 活性の高低とストレス刺激抵抗性について. 第 70 回日本血液学会総会, 京都, 10.12, 2008.
- 4) 河野道生: 骨髄腫の知見 2008 - Bortezomib 治療のヒトデータ (会長要望講演). 第 33 回日本骨髄腫研究会総会, 広島, 11.5, 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

**Markedly high expression levels of CD54(NF-kB)  
and intact function of p53  
in plasma cells from MGUS as well as normal plasma cells**

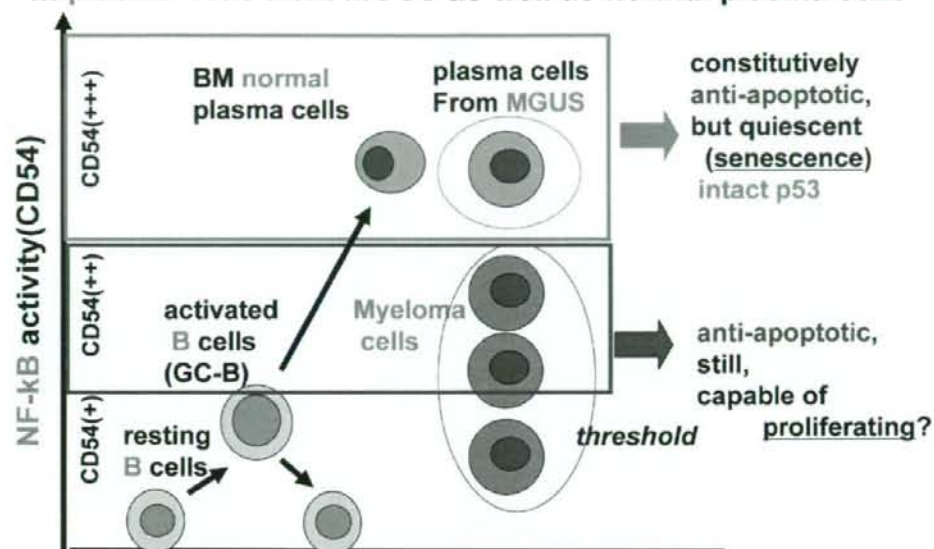


図-1 AL 734117-25を含む MGUS 形質細胞の極めて高い CD54 発現(NF-kB 活性)

MGUS 形質細胞(plasma cells from MGUS)は、正常骨髄形質細胞(BM normal plasma cells)と同様に極めて高い CD54 発現 (NF-kB 活性) を示し、いわば senescence 状態にあると考えられる。

表-1 p53 遺伝子の DNA 結合領域における点突然変異

**Plasma cells from MGUS apparently have no mutations  
in p53 gene (exon 5, 6, 7, 8).**

|             |          | CD54(++)                          | CD54(+++)                         |
|-------------|----------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| <b>MGUS</b> | Case 151 | no mutation                       | no mutation                       |
|             | Case 152 | no mutation                       | no mutation                       |
|             | Case 153 | no mutation                       | no mutation                       |
|             | Case 154 | no mutation                       | no mutation                       |
| <b>MM</b>   | Case 201 | mutated<br>(exon5, 13157:<br>A→G) | mutated<br>(exon5, 13157:<br>A→G) |
|             | Case 202 | no mutation                       | no mutation                       |
|             | Case 203 | mutated<br>(exon5, 13051:<br>A→G) | mutated<br>(exon5, 13051:<br>A→G) |

骨髄単核球分画を FITC-CD38, PE-CD54 で染色後フローサイトメーターを使用して、CD38(++)CD54(+++)および CD38(++)CD54(++)細胞分画をソートした。DNA を抽出し、PCR 法で直接シーケンシングを行った。MGUS 形質細胞では、p53 遺伝子の DNA 結合領域(exon5~8)に変異は検出できなかった。

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

## 全身性 AL アミロイドーシス・老人性全身性アミロイドーシス共存例における それぞれのアミロイドの分布について

研究分担者 星井嘉信 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

共同研究者 崔丹\*、河野裕夫\*、池田栄二\*、品川俊人\*\*、津嘉山朝達\*\*\*

\*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

\*\*川崎市立井田病院検査科病理、\*\*\*倉敷中央病院病理検査科

**研究要旨** 2例の全身性 AL アミロイドーシス・老人性全身性アミロイドーシス共存例において、それぞれのアミロイド蛋白の分布を検討した。病理解剖によりえられた心、肺、肝、脾、腎のホルマリン固定パラフィン切片について、コンゴレッド染色および anti- $\lambda$  (118-134)、anti-V $\lambda$  VI (1-19)、anti-TTR(115-124)を一次抗体とする免疫組織化学的検討を行った。2例共に検索した全臓器にアミロイド沈着がみられ、抗入鎖抗体の反応性は、ほぼコンゴレッド染色陽性部位に一致していた。一方 anti-TTR(115-124)陽性像は、心臓、肺に限定しており、コンゴレッド陽性部の一部に陽性像が見られるのみであった。それぞれのアミロイド蛋白の分布はこれまでに知られている AL アミロイドーシス、老人性全身性アミロイドーシスの沈着様式として矛盾しないものであり、今回検索した2例の全身性 AL アミロイドーシス・老人性全身性アミロイドーシス共存例において、一方のアミロイド蛋白は他方のアミロイド蛋白の沈着を促進していない可能性が高いと考えられた。

### A. 研究目的

全身性 AL アミロイドーシス・老人性全身性アミロイドーシス共存例において、それぞれのアミロイド蛋白の分布を免疫組織化学的に検索し、一方のアミロイド蛋白が他方のアミロイド蛋白の沈着を促進している可能性があるか否かを考察する。

### B. 研究方法

症例 1: 83 歳女性

臨床診断: ネフローゼ症候群、急性左心不全  
 M 蛋白陽性にて MGUS、腎アミロイドーシスを疑われていたが、生前に診断は確定していない。

症例 2: 86 歳男性

臨床診断: 心房細動、陳旧性心筋梗塞、慢性肺気腫 (在宅酸素療法中)、腹部大動脈瘤

病理解剖によりえられた上記2例の全身性 AL アミロイドーシス・老人性全身性アミロイドーシス共存例の心、肺、肝、脾、腎のホルマリン固定パラフィン切片を材料とした。

それぞれの切片についてコンゴレッド染色を行い、アミロイド沈着部位を確認した上で、DAKO Autostainer を用いて免疫組織化学的検討を行った。切片を脱パラフィン後水洗中に、抗原賦活処理としてギ酸処理を1分間施行し、一次抗体としてこれまでに作製、報告した anti- $\lambda$  (118-134) (1:1600)、anti-V $\lambda$  VI (1-19) (1:50)、anti-TTR(115-124) (1:4000)、二次抗体として EnVision+ (1:2 Dako, USA) による免疫染色を行った。DAB+ (Dako, USA) にて発色を行い、アミロイドの沈着部位およびそれぞれの抗体の陽性範囲について検討した。

(倫理面への配慮)

承諾を得て行われた病理解剖によりえられた材料を用い、個人が特定されることのないよう配慮した。

### C. 研究結果

2例共に検索した全臓器にアミロイド沈着がみられた。肝臓へのアミロイド沈着は血管型であり、

Disse腔へのアミロイド沈着はみられなかった。症例1ではanti- $\lambda$  (118-134)の染色性が諸臓器のコンゴレッド陽性部位にほぼ一致しており、動脈壁においてやや染色性が不均一な傾向が見られた。anti-V $\lambda$  VI(1-19)もanti- $\lambda$  (118-134)よりやや染色性が弱いながら、コンゴレッド陽性部位にほぼ一致して陽性であった。anti-TTR(115-124)は心臓の一部の血管壁が陽性であったが、心筋線維間に沈着したアミロイドには陽性像を示さなかった。肺の血管壁にも数カ所のみ斑状の陽性像がみられた。肝、脾、腎のアミロイドには陽性像はみられなかった。症例2ではanti-V $\lambda$  VI(1-19)の染色性が諸臓器のコンゴレッド陽性部位にほぼ一致しており、anti- $\lambda$  (118-134)もanti-V $\lambda$  VI(1-19)よりやや染色性が弱く、範囲が狭いながら、諸臓器のアミロイドが陽性となった。anti-TTR(115-124)は心臓の血管壁および心筋線維間に斑状の陽性像が散見された。肺では肺胞壁にわずかに、斑状の陽性像がみられ、肺動脈壁にも1カ所斑状の陽性像がみられた。症例1同様肝、脾、腎のアミロイドには陽性像はみられなかった。

#### D. 考察

これまでにマウス AA アミロイドーシス・AApoA II アミロイドーシスでは、二種類のアミロイドの共存や cross-seeding 現象が報告されているが、ヒトアミロイドーシス例において、異なる型の全身性アミロイドーシスの共存例の報告は少ない。剖検例 140 例に関する我々の報告(Pathol Int 1994;44:352-358.)では、140 例中 2 例に AA+A $\beta$ 2M、1 例に A $\kappa$ +ATTR がみられた。また 2001 年から 2008 年に行ったアミロイドーシス剖検例の免疫組織化学的検討では、109 例中今回報告した A $\lambda$ +ATTR 2 例以外に、ATTR+AA 1 例、A $\lambda$ +A $\beta$ 2M 1 例がみられた。AL+AA 例に関しては AA 陽性像が小範囲であった場合、AL アミロイドーシスとしていたので、正確な実数は不明である。

Isobe らは骨髄腫に伴う A $\kappa$ +A $\beta$ 2M1 例を報告しているが (Amyloid 1996;3:41-43.)、この症例の透析歴は 3 年であり、A $\beta$ 2M については cross-seeding により、発症が早まる可能性がある。

今回我々は 2 例の全身性 A $\lambda$  アミロイドーシス・老人性全身性アミロイドーシス共存例におい

て、それぞれのアミロイド蛋白の分布を免疫組織化学的に検討した。2 例共に検索した全臓器にアミロイド沈着がみられ、抗入鎖抗体の反応性は、ほぼコンゴレッド染色陽性部位に一致していた。一方 anti-TTR(115-124)陽性像は、心臓、肺に限定しており、コンゴレッド陽性部の一部に陽性像が見られるのみであった。

一般的に全身性 AL アミロイドーシスは様々な臓器に様々な様式の沈着をきたし、その沈着様式は沈着する L 鎖のサブグループによって、偏りがあることが知られている。一方 Westermark らの報告によれば、老人性全身性アミロイドーシスでアミロイド沈着が起りやすい臓器は、心、肺であり、心臓ではアミロイド沈着が軽度の場合、心筋周囲に斑状に分布し、動脈壁にも沈着する。肺では滴状に肺胞壁に沈着をきたす。また諸臓器の血管壁にも沈着をきたすが、動脈壁への沈着が、静脈より優位であり、patchy and segmental な傾向がある (Amyloid 2003;10 suppl:48-54.)。

今回検討した 2 例のそれぞれのアミロイド蛋白の分布は、これまでに知られている AL アミロイドーシス、老人性全身性アミロイドーシスの沈着様式として矛盾しないものであった。A $\lambda$  は ATTR 沈着のみられない部位、臓器にも沈着しており、ATTR の沈着様式も Westermark らの報告に合致していた。Yan らはマウス AA、AApoA II アミロイドーシスの cross-seeding に関する研究において、肝、脾における AA と ApoA II の局在はほぼ同じであることを報告しているが (Am J Pathol 2007;171:172-180.)、今回の症例での ATTR の沈着は、心、肺のアミロイド沈着のごく一部を占めるのみであった。このことから今回報告した 2 例に関しては、一方のアミロイド蛋白は他方のアミロイド蛋白の沈着を促進していない可能性が高いと考えられた。アミロイドの cross-seeding 現象はすべてのタイプのアミロイドに共通して起こる現象ではないかもしれない。

#### E. 結論

今回検索した 2 例の全身性 A $\lambda$  アミロイドーシス・老人性全身性アミロイドーシス共存例において、一方のアミロイド蛋白は他方のアミロイド蛋白の沈着を促進していない可能性が高いと考え

られた。

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

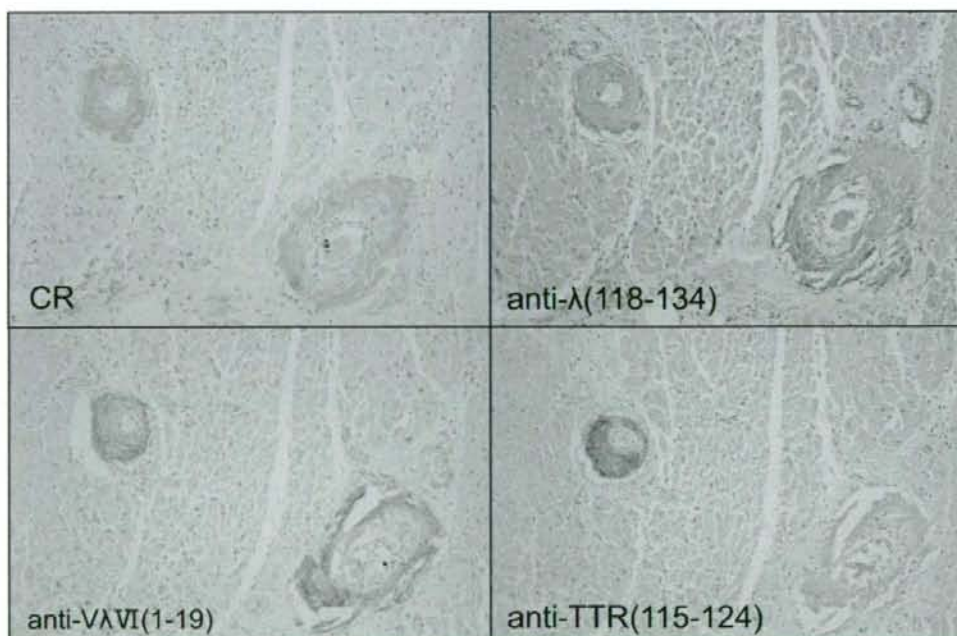
なし



症例1, 2におけるそれぞれのアミロイド蛋白の分布

|     |                  | 心                        | 肺                     | 肝         | 脾                         | 腎                |
|-----|------------------|--------------------------|-----------------------|-----------|---------------------------|------------------|
| 症例1 | A<br>λ           | 血管壁<br>心筋線維間             | 肺胞壁<br>血管壁<br>胸膜      | 血管壁<br>被膜 | 血管壁<br>被膜(わずか)<br>脾柱(わずか) | 血管壁<br>糸球体       |
|     | A<br>T<br>T<br>R | 血管壁のみ                    | 血管壁<br>(数カ所)          | —         | —                         | —                |
| 症例2 | A<br>λ           | 心内膜下<br>心筋線維間<br>血管壁     | 血管壁<br>肺胞壁<br>胸膜      | 血管壁<br>被膜 | 血管壁<br>被膜<br>脾柱           | 血管壁<br>糸球体<br>被膜 |
|     | A<br>T<br>T<br>R | 心筋線維間<br>血管壁(斑状<br>一部のみ) | 血管壁<br>肺胞壁<br>(斑状わずか) | —         | —                         | —                |

症例1の心臓の免疫染色像



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

## AL アミロイドーシスにおける凝固異常機序の解明

研究分担者 畑 裕之 熊本大学医学部附属病院血液内科

共同研究者 内場光浩 熊本大学医学部輸血・細胞治療部

**研究要旨** 過剰線溶を呈する症例を解析したところ、AL アミロイドーシスの存在が判明した。AL アミロイドーシス症例の凝固系を測定したところ、すべての症例で過剰線溶を認めた。また、AL アミロイドーシス症例骨髄中の形質細胞からのウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベータ(uPA)産生を免疫染色で確認した。以上より uPA が過剰線溶を惹起するとともに免疫グロブリン軽鎖のアミロイド変性に関与している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

異常な形質細胞から産生されるウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベータ(uPA)によって活性化される線溶系が免疫グロブリン軽鎖のアミロイド変性に関与しているかどうか解析する。

### B. 研究方法

線溶系の評価を、fibrinogen, plasminogen, plasmin- $\alpha$ 2-antiplasmin complex (PIC),  $\alpha$ 2-plasmin inhibitor ( $\alpha$ 2PI) 測定で行った。骨髄形質細胞の uPA 産生を骨髄クロット標本の免疫染色で行った。

#### (倫理面への配慮)

AL アミロイドーシスに出血傾向が認められることは周知であり、採血については問題がない。採血の目的、骨髄穿刺の目的については事前に同意を得た。

### C. 研究結果

AL アミロイドーシス症例9例とアミロイドーシスを伴わない骨髄腫20例を比較検討した。AL アミロイドーシス症例では著しい線溶系の活性化(PIC 高値、 $\alpha$ 2PI 低値)が認められたが、骨髄腫症例ではこの異常は認められなかった(図1)。

以上より、過剰線溶状態がAL アミロイドーシスに存在することが判明した。その原因として、何らかのプラスミノゲンアクチベーターが産生さ

れる事が推測された。実際に、我々は、転移性前立腺がんにおいては、がん細胞からのプラスミノゲンアクチベーター産生による過剰線溶を見出している。本疾患は、形質細胞のクローナルな増加によるものであるため、形質細胞での $\alpha$ 2PI産生を免疫染色で検討したところ、骨髄形質細胞においてウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーターが産生されていることが判明した(図2)。

### D. 考察

AL アミロイドーシスでは形質細胞からの uPA 産生が過剰線溶の原因となり、その結果、出血傾向をきたすことが示唆されるが、形質細胞からの uPA 産生の意義として、2つの仮説を提唱しうる(図3)。すなわち、沈着したアミロイドが形質細胞からの uPA 産生を誘導する説と、uPA が過剰線溶をきたす一方、免疫グロブリン軽鎖を修飾しアミロイド原性を高めるという説である。我々は、他の AA アミロイドーシスでは過剰線溶が見られないこと、アミロイドが形質細胞からの uPA 産生を促す具体的機序が想定しにくいことから、後者の仮説を想定している。今後、仮説の検証のために、精製した免疫グロブリン軽鎖に AL アミロイドーシス症例で増加が観察された uPA および線溶系の重要な酵素であるプラスミンを作用させ、免疫グロブリンがアミロイドに変性するかを検討する予定である。また in vivo において uPA ま

たはプラスミンを作用させた免疫グロブリンをマウスに投与し、アミロイドの臓器への沈着が惹起されるかを検討することで AL アミロイドーシスのモデル動物作成の基礎的検討を行う。これらの仮説が証明されれば、uPA 阻害剤が AL アミロイドーシスの進展予防剤として有効かどうかを検討する。

## E. 結論

AL アミロイドーシスでは、形質細胞から uPA が産生される結果、過剰線溶状態となることが強く示唆された。

## F. 健康危険情報

なし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Uchiba M, Imamura T, Hata H, Tatetsu H, Yonemura Y, Ueda M, Wada Y, Mitsuya H, Ando Y: Excessive fibrinolysis in AL-amyloidosis is induced by urokinase-type plasminogen activator from bone marrow plasma cells. *Amyloid*, in press.
- 2) Hata H, Nishi K, Oshihara W, Arai J, Shimizu K, Kawakita T, Nakamura M, Mitsuya H: Adsorption of Bence-Jones protein to PMMA membrane in primary amyloidosis. *Amyloid*, in press.

### 2. 学会発表

- 1) Uchiba M, Imamura T, Hata H, Wada Y, Tatetsu H, Yonemura Y, Mitsuya H, Ando Y: Role of uPA in excessive fibrinolysis observed in AL-amyloidosis. 19th International Congress on Fibrinolysis and Proteolysis, Vienna, Jul 6-10, 2008.
- 2) 内場光浩, 今村隆寿, 畑裕之, 立津央, 山田梨恵, 和田孝浩, 米村雄士, 満屋裕明, 安東由喜雄: AL アミロイドーシスの過剰線溶および病態形成には形質細胞からの uPA が関与している. 第 19 回九州血管血栓フォーラム, 鹿児島, 11.8-9, 2008.
- 3) 内場光浩, 今村隆寿, 畑裕之, 立津央, 和田孝浩, 満屋裕明, 安東由喜雄: AL アミロイドーシスにおける線溶系の活性化: その診断的有用性と病

態形成における役割. 第 33 回日本骨髄腫研究会総会, 広島, 11.5, 2008.

- 4) 内場光浩, 畑裕之, 立津央, 山田梨恵, 原田奈穂子, 榮達智, 今村隆寿, 和田孝浩, 米村雄士, 河野文夫, 満屋裕明, 安東由喜雄: AL-アミロイドーシスの病態形成における uPA の関与. 第 50 回日本血液学会総会, 京都, 10.12, 2008.
- 5) 立津央, 内場光浩, 畑裕之, 今村隆寿, 和田孝浩, 濱崎あゆ美, 満屋裕明: uPA 産生形質細胞により過剰線溶をきたした AL アミロイドーシス. 第 50 回日本血液学会総会, 京都, 10.10-12, 2008.
- 6) 内場光浩, 今村隆寿, 和田孝浩: AL-アミロイドーシスにおける過剰線溶と病態形成における uPA の関与. 第 31 回日本血栓止血学会学術集会, 大阪, 11.20-22, 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 : ALアミロイドーシスではPICが増加し $\alpha$  2PIが低下する

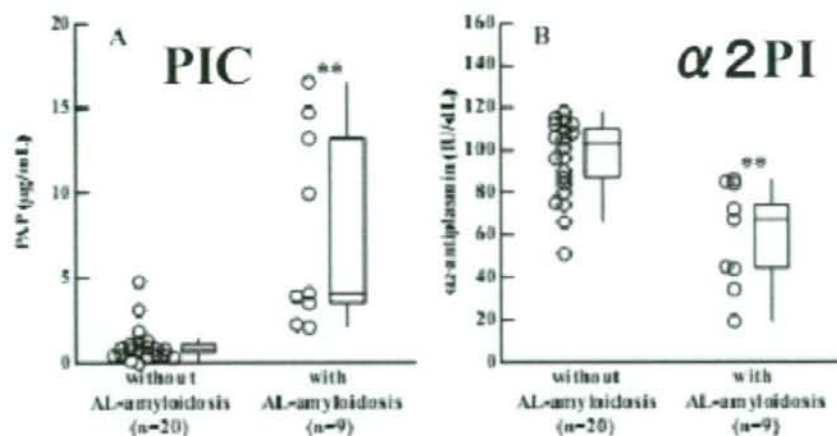


図2 : uPA が形質細胞内に存在する

抗uPA抗体による骨髓クロット免疫染色

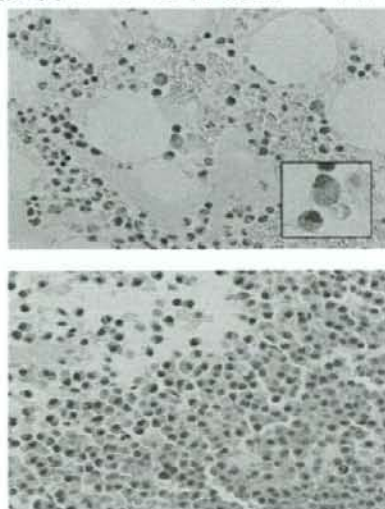
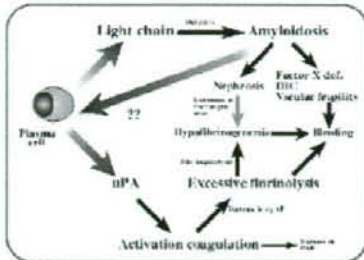
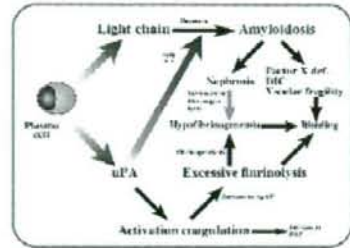


図3：AL アミロイドーシスにおける過剰線溶機序に関する2つの仮説



仮説1  
Plasma cellから生成するlight chainが何らかの機序により変性しamyloidになる。生成したamyloidがplasma cellを刺激しuPA産生を促進する。



仮説2  
Plasma cellはlight chainを産生するとともに、uPAも産生する。uPAは線溶系の活性化とともにlight chainのamyloidへの変性に関与している。



この場合はuPA阻害剤が  
ALアミロイドーシスの治療となりうる

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

## 原発性(AL)アミロイドーシスの治療前後における遊離軽鎖の解析

研究分担者 今井裕一 愛知医科大学 腎臓・膠原病内科  
 共同研究者 菅 憲広、北川 渡、三浦直人、山田晴生、西川和裕  
 愛知医科大学 腎臓・膠原病内科

**研究要旨** 微量の遊離軽鎖を検出するためには、血清中の Free light chain を検出する測定用キット (Binding Site 社)が有用であることが報告されている。しかし遊離軽鎖は腎排泄の蛋白質のため、腎機能の影響を受けやすいことから  $\kappa/\lambda$  比が指標として使われている。我々は従来の免疫電気泳動法、免疫固定法では M 蛋白が検出できなかった症例を含め、原発性(AL)アミロイドーシスの治療前後における遊離軽鎖の推移を FLC 測定とともに高速液体クロマトグラフィ法(HPLC+ELISA 法)で軽鎖の分子量分布を検討した。その結果、治療前後において  $\kappa/\lambda$  比の正常化を確認し、さらに HPLC+ELISA 法で治療に伴い遊離軽鎖が消失することを確認した。治療の有効性を評価するには、HPLC+ELISA 法が優れていた。

### A. 研究目的

AL アミロイドーシスは異常形質細胞から産生される異常軽鎖がアミロイドに変換され全身の諸臓器に沈着し機能不全を引き起こす疾患である。アミロイドの沈着は心臓、肝臓、腎臓、消化管、末梢神経におよび、その臨床症状は多彩である。本症の診断には AL アミロイド線維の沈着を組織学的に証明することで、腎臓、消化管、腹壁脂肪が生検部位として選択される。しかし、血液学的寛解後もアミロイド線維が沈着していることが多く、治療評価のマーカーとはなりにくい。

治療経過の指標としては血中または尿中の遊離軽鎖を検出することである。多発性骨髄腫と比べると AL アミロイドーシスは遊離軽鎖が少なく、免疫電気泳動法や免疫固定法でも M 蛋白を検出できないことが少なくない。微量の遊離軽鎖の検出のためには(血清中の Free light chain:以下 FLC と略す)を検出する測定用キット(Binding Site 社)の臨床的有用性が報告されている。しかし遊離軽鎖は腎排泄性蛋白のため、腎機能の影響を受けやすい。そのため、 $\kappa/\lambda$  比が指標として使われている。我々は従来の免疫電気泳動法、免疫固定法では M 蛋白が検出できなかった症例を含め、AL アミロイドーシスの治療前後における遊離軽鎖の推移を FLC 測定とともに高速液体クロマトグラフィ法

(HPLC+ELISA 法)で軽鎖の分子量分布を検討した。

### B. 研究方法

未治療の AL アミロイドーシス患者 3 名を検討した。治療前後、ならびに治療経過中の血清を FLC アッセイで遊離軽鎖の推移をモニタリングした。また、同時に血清を HPLC システム(TSKgel SuperSW3000 流速 0.5ml/min 0.5min/Fr.)にて分子量分画した。各分画中の遊離軽鎖濃度を抗  $\kappa$  or  $\lambda$  特異的 ELISA 法で測定し、軽鎖の分子量の分布を求めた。

血清の採取については患者の同意を得ている。

### C. 研究結果

治療前に比べ化学療法後では血清 FLC の  $\kappa/\lambda$  比は正常化していた。HPLC+ELISA 法で治療後に遊離軽鎖の消失を確認でき、治療に伴う軽鎖産生の抑制を  $\kappa \cdot \lambda$  それぞれに数値的に定量することが可能であった。特に  $\kappa$ 、 $\lambda$  鎖の絶対量が微量の場合、腎機能の推移に伴い  $\kappa/\lambda$  比は大きく変動し、治療評価が困難であることが示された。HPLC+ELISA 法では、治療に伴う遊離軽鎖の消失を確認でき、治療の評価に役立てることができた。

D. 考察

治療経過中に  $\kappa/\lambda$  比が正常域にある場合でも HPLC+ELISA 法では血清遊離軽鎖を高感度に検出することが可能であり、遊離軽鎖の絶対量を指標とした治療プロトコルの組み立てに有用である。

E. 結論

AL アミロイドーシスの診断・治療前後における遊離軽鎖の検出には Free Light chain の測定が有用であるが、HPLC+ELISA 法によって遊離軽鎖の高感度な検出が確認できた。

F. 健康危険情報

とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 今井裕一, 鹿島悠佳理: 多発性骨髄腫、その他の悪性腫瘍 矢崎義雄監修. 臨床内科学 第9版 1038-1039, 2009.
- 2) 今井裕一: 透析アミロイドーシス. 今日の治療指針 2009 年版 465-466, 2009.

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

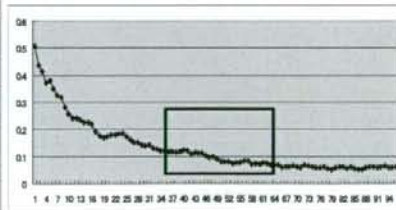
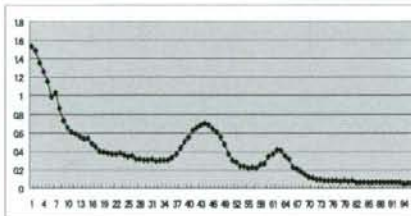
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

- ・59歳女性、ネフローゼ症候群
- ・血清、尿中免疫電気泳動 IgG- $\lambda$  型
- ・VAD2回、MP2回、M-dex2回



治療前

$\kappa$ -FLC 15.1  
 $\lambda$ -FLC 51.6  
 $\kappa/\lambda$  0.29

治療後

11.2  
 17.0  
 0.66

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

## 本邦における全身性 AL アミロイドーシスの臨床像： 当科における 160 例の検討

研究協力者 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 加藤修明\*、田澤浩一\*、吉田拓弘\*、五野貴久\*、下島恭弘\*、石井亘\*、  
 池田修一\*、小山潤\*\*、星井嘉信\*\*\*  
 \*信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科  
 \*\*信州大学医学部循環器内科\*、  
 \*\*\*山口大学医学部病理学教室

**研究要旨** 当科を受診した 160 名の全身性 AL アミロイドーシス患者の臨床像について検討した。診断時の臨床症状は蛋白尿/腎機能障害、心不全、末梢神経障害、消化管障害、肝腫大/肝機能障害の順に多く、身体所見では浮腫が最も高頻度で見られた。アミロイド沈着によると考えられる臓器障害の頻度は腎臓 73%、心臓 69%、肝臓 18%、神経 11%、消化管 6%、軟部組織 35%であった。22%の患者では 3 臓器以上にアミロイド沈着があると考えられた。治療方針の決定にあたっては、諸検査の結果を総合してアミロイド沈着による臓器障害を正確に評価することが重要である。

### A. 研究目的

本邦における全身性 AL アミロイドーシスの臨床像を明らかにし、欧米の報告と比較検討する。

### B. 研究方法

対象は当科を受診した全身性 AL アミロイドーシス患者 160 名 (男:女=93:67, 平均年齢 56.6±9.3 歳)。診療録を調べ、本疾患の臨床像について検討した。アミロイド沈着による臓器障害は、第 10 回 International Symposium on Amyloid and Amyloidosis で提唱された基準 (Am J Hematol 79: 319-328, 2005) に基づいて評価した。

(倫理面への配慮)

研究を開始するのにあたり、あらかじめ医倫理委員会の認可を得た。患者情報は連結可能匿名化後に院内コンピューターにて一元的に管理された。患者から得られた臨床情報を匿名化して研究に用いることについては、口頭で了解を得た。

### C. 研究結果

#### 1) 臨床症状・身体所見

診断時の臨床症状は蛋白尿/腎機能障害 54.7%、心不全 25.2%、末梢神経障害 (多発神経炎、手根管症候群) 10.7%、消化管障害 (出血、腸閉塞、消化管壁の肥厚) 7.6%、肝腫大/肝機能障害 7.5% の順に多く、稀なものとして全身リンパ節腫大、膀胱出血、前縦隔腫瘍、多発関節痛、皮下腫瘤、出血傾向が見られた (図 1)。身体所見では浮腫が 62.5% と圧倒的に多く、続いて巨舌 (33.8%)、肝腫大 (16.7%)、起立性低血圧 (15.1%)、多発神経炎 (11.0%) の順であった。

#### 2) 血液学的評価

骨髄中の形質細胞は 94.3% の患者で 10% 未満を示し、M 蛋白は 84.8% の患者で血清あるいは尿中に陽性であった ( $\kappa$ : 17.5%、 $\lambda$ : 67.3%)。約 15% の患者では血清・尿の両方で M 蛋白は陰性であった。明らかな骨病変を有する多発性骨髄腫患者はなかった。

#### 3) 臓器障害の評価

68.5% の患者が心室中隔壁厚 12mm 以上を示し、cardiac involvement があると考えられた。収縮機能の指標である fractional shortening は 9.1% で異常が



見られたのに対し、拡張機能の指標である TMF E/A と TMF-DT はそれぞれ 15.5% と 26.1% で異常が見られた。Renal involvement の基準である 0.5g/日以上の蛋白尿は 73.4% の患者で見られた。3.5g/日以上のネフローゼ症候群の範疇に入る患者は 35.9% であった。血清アルカリホスファターゼが異常値を示す患者は 31.5% あり、正常上限値の 3 倍以上を示して hepatic involvement があると考えられた例は 17.8% であった。T. Bil の上昇や 100 IU/l 以上の AST・ALT を示した者は 5% 以下と少数であった。検査所見と身体所見を総合して評価すると、organ involvement は腎臓、心臓、軟部組織の順に多く、3 臓器以上にアミロイド沈着があると考えられた患者は 22% であった (図 2)。

#### D. 考察

臨床症状については、米国の Kyle らの報告 (1995) と同様にネフローゼ症候群/腎不全、心不全の順に多かった。多発神経炎、手根管症候群、起立性低血圧は今回の検討では比較的少なかった。その一方で、全身リンパ節腫大、多発関節痛、出血傾向などの他疾患と紛らわしい症状を呈する患者が見られた。これらの症状の鑑別診断の際には全身性 AL アミロイドーシスの可能性について留意する必要があると考えられた。

本疾患の治療については、アミロイド原性軽鎖を産生している骨髄中の異常形質細胞を標的とした種々の化学療法が広く用いられている。その中でも大量メルファラン+自家末梢血幹細胞移植は最も高い効果が期待できる反面で、治療関連死の多いことが報告されている。特に障害臓器数が多いほど治療関連死が多い。今回の検討では 22% の患者で 3 臓器以上にアミロイドに起因する障害があると考えられた。Comenzo らの risk-adapted dose reduction (2002) では 3 臓器以上に障害があると大量メルファラン+自家末梢血幹細胞移植の適応外とされており、他の化学療法を考慮すべきであるとされている。第 10 回 International Symposium on Amyloid and Amyloidosis で提唱された基準を用いて全身性 AL アミロイドーシスによる臓器障害の広がりや程度とを正確に評価することは、本症の治療方針を決定する上で重要である。

#### E. 結論

全身性 AL アミロイドーシスは腎臓と心臓の機能障害を示すことが多いが、それ以外にも種々の臓器を侵して多彩な臨床症状を呈する。治療方針の決定にあたっては、諸検査の結果を総合してアミロイド沈着による臓器障害を正確に評価することが重要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Matsuda M, Gono T, Shimojima Y, Yoshida T, Katoh N, Nakazawa Y, Koike K, Hoshii Y, Ikeda S: AL amyloidosis manifesting as systemic lymphadenopathy. *Amyloid* 15:117-124, 2008.
- 2) Matsuda M, Gono T, Katoh N, Yoshida T, Tazawa K, Shimojima Y, Ishii W, Fushimi T, Ikeda S: Nephrotic syndrome due to primary systemic AL amyloidosis, successfully treated with VAD alone. *Intern Med* 47:543-549 2008.
- 3) Miyazaki D, Yazaki M, Gono T, Kametani F, Tsuchiya A, Matsuda M, Takenaka Y, Hoshii Y, Ikeda S: AH amyloidosis associated with an immunoglobulin heavy chain variable region (VH1) fragment: a case report. *Amyloid* 15:125-128, 2008.
- 4) Katoh N, Tazawa K, Ishii W, Matsuda M, Ikeda S: Systemic AL Amyloidosis mimicking rheumatoid arthritis. *Intern Med* 47: 1133-1138, 2008.
- 5) Naito K, Ichiyama T, Kawakami S, Kadoya M, Tabata T, Matsuda M, Ikeda S: AL amyloidosis with spontaneous hepatic rupture: successful treatment by transcatheter hepatic artery embolization. *Amyloid* 15: 137-139, 2008.
- 6) Tazawa K, Matsuda M, Gono T, Katoh N, Yoshida T, Shimojima Y, Ishii W, Fushimi T, Ikeda S. Therapeutic outcomes of cyclic VAD (vincristine, doxorubicin and dexamethasone) therapy in primary systemic AL amyloidosis. *Intern Med* 47:1517-1522, 2008.
- 7) Yoshida T, Matsuda M, Katoh N, Tazawa K, Shimojima Y, Gono T, Ishii W, Nakazawa Y, Sakashita

K, Koike K, Yamada T, Ikeda S: Long-term follow-up of plasma cells in bone marrow and serum free light chains in primary systemic AL amyloidosis. *Intern Med* 47:1783-1790, 2008.

8) 松田正之: AL アミロイドーシスにおけるメルファラン大量療法の意義. *血液・腫瘍科* 57: 103-108, 2008.

## 2. 学会発表

1) 土屋彩子, 矢崎正英, 松田正之, 池田修一: 本邦における家族性地中海熱患者の遺伝子異常と臨床像の検討. 第52回日本リウマチ学会, 札幌, 4, 23, 2008.

2) 松田正之, 田澤浩一, 吉田拓弘, 加藤修明, 矢崎正英, 池田修一: AL アミロイドニューロパチーに対する大量 melphalan 静注療法. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5, 15, 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

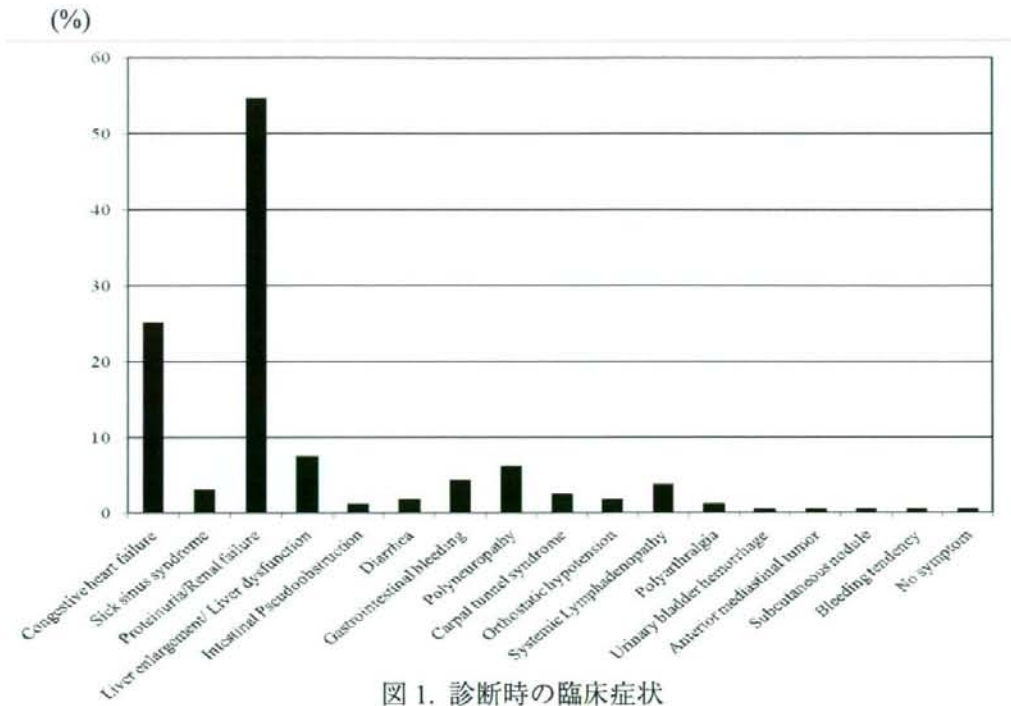


図 1. 診断時の臨床症状

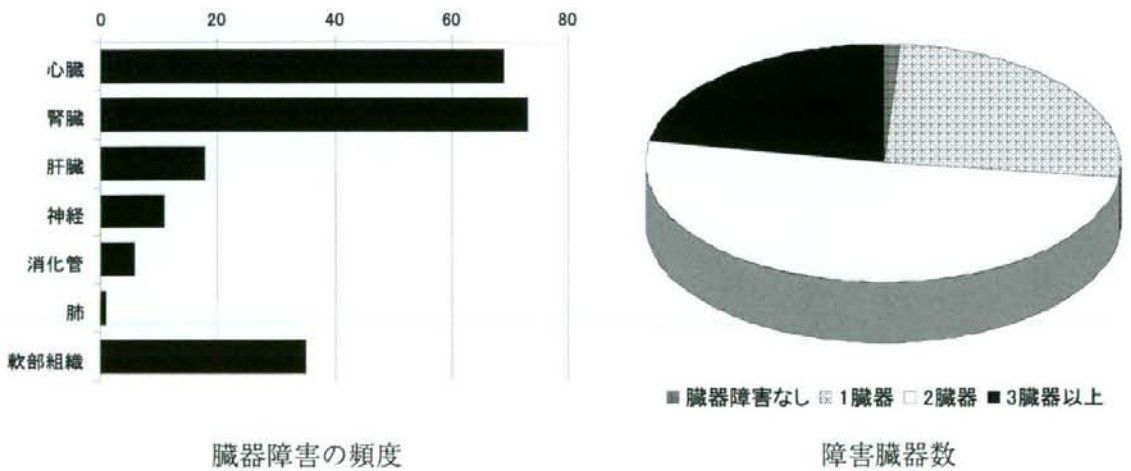


図 2. AL アミロイドによる臓器障害

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

## 全身性 AL アミロイドーシスに対する治療法の検討

研究分担者 高市憲明 虎の門病院腎センター

共同研究者 星野純一、竹本文美、乳原善文 虎の門病院腎センター

**研究要旨** 全身性 AL アミロイドーシスに対する治療法として、大量メルファラン+自家末梢血幹細胞移植療法(以下 HDM)の有用性が示されているが、適応症例は限られているため、その他の治療 (MP 療法・VAD 療法など) を選択せざるを得ない場合も多い。今回、現在の HDM 施行基準の有用性と、病態に応じた適切な治療法を明らかにするため、当院における全身性 AL アミロイドーシス 75 例を対象とし、多発性骨髄腫や悪性腫瘍合併例を除いた HDM 療法 11 例・MP 療法 17 例・VAD 療法 12 例・無治療 10 例の各治療法における生存率の比較検討を行った。

HDM 施行 11 例のうち、高度心アミロイドーシスの 1 例を除き 10 例は全例生存中で経過良好である。腎病変合併例の 75%(6/10 例)で 50%以上の蛋白尿減少効果を認め優れた治療効果が示唆された。適応がある場合には積極的に考慮すべきと考えられた。また他治療と比較すると HDM 群の平均生存曲線が他治療群より有意に優れ( $p=0.03, \log \text{ rank}$ )、この傾向は心臓合併症の有無に無関係であった。また VAD 療法は心合併症を有する場合に MP 療法よりも予後不良になる傾向があり、心合併例における VAD 療法は慎重に考慮すべきと考えられた。

### A. 研究目的

全身性 AL アミロイドーシスは未だ難治性疾患であるが、大量メルファラン+自家末梢血幹細胞移植(以下 HDM)による積極的治療の臨床的有用性が明らかになりつつある。また我々は以前同治療後の組織学的改善の可能性を報告してきた。一方で適応症例が限られているため、その他の治療法(VAD 療法,MP 療法など)を選択せざるを得ない場合も多い。今回病態に応じた適切な治療法を明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

当院における全身性 AL アミロイドーシス 75 例をレトロスペクティブに検討し、HDM 療法・VAD 療法・MP 療法・無治療の各群における背景・生存率を比較検討した。

#### (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

HDM 施行 11 例のうち、高度心アミロイドーシスの 1 例を除き 10 例は全例生存中で経過良好である。腎病変合併 10 例のうち 4 ヶ月以上経過した症例の 75%(6/10 例)で 50%以上の蛋白尿減少効果を認め、優れた治療効果が示唆された。

また他治療と比較すると、患者背景では、年齢・血清  $\text{Alb} \cdot \text{Cr} \cdot \text{蛋白尿量}$  値や、ネフローゼ・アミロイド沈着臓器の分布に明らかな有意差を認めなかったが、無治療群の年齢がやや高く ( $61 \pm 9$  歳)、他 3 群の  $\text{Cr}$  値が高い(無治療  $1.6 \pm 1.2$ , MP  $1.6 \pm 1.6$ , VAD  $1.7 \pm 1.2 \text{ mg/dl}$ ) 傾向を認めた(表 1)。

各群の平均生存曲線を比較すると、HDM・VAD・MP・無治療群の一年生存率はそれぞれ 100%・38%・71%・56%であり、HDM 群が他治療群より有意に優れていた(図 1,  $p=0.03, \log \text{ rank}$ )。

また心臓合併の有無で検討を行ったところ、心臓合併(あり/なし)で各一年生存率はそれぞれ HDM 群(100%/100%)・VAD 群(17%/80%)・MP 群(56%/80%)・無治療群(20%/100%)であった。VAD 療法は心合併症