

頭を対象に、心電図、心エコー、血中 ANP 値を解析した。また、血中 TTR 濃度、血中 TTR 四量体構造の安定性を解析した。これらの霊長類の TTR 遺伝子配列を解析し、ヒトとの相同性を検証した。また、ヒトにおける病原性変異と霊長類内のアミノ酸配列の多様性との比較を行った。

(倫理面への配慮)

サル類を用いた実験は、医薬基盤研究所霊長類センターおよび麻布大学の倫理委員会で承認を受けている。

C. 研究結果

高齢アフリカミドリザル6頭中3頭でTTRアミロイドーシスを確認した。しかし、他の霊長類ではTTRアミロイド沈着は確認できなかった。しかし、高齢のアフリカミドリザルとカニクイザルは両種ともにAβとIAPPアミロイドの沈着を高頻度に認めた。

アフリカミドリザル14頭中7頭で、不整脈や心拡大などの異常所見を認め、4頭は心エコーで心室壁運動の明らかな低下(EF 55%未満)を認めた。また、血中 ANP 値の低下所見も認めた。これらの異常な心症候は高齢のカニクイザルでは観察されなかった。

アフリカミドリザルとカニクイザルの血中 TTR の四量体安定性を解析したところ、カニクイザルと比べアフリカミドリザルの TTR 四量体は、単量体へと解離しやすい傾向が認められた。また、アフリカミドリザルの血中 TTR 濃度は、カニクイザルの血中 TTR 濃度の約半分に低下していた。

各種霊長類の TTR 遺伝子配列を解析したところ、アフリカミドリザルの TTR のみ、122 番目のアミノ酸がイソロイシン (Ile122) であった (他の霊長類ではバリン (Val122))。TTR 遺伝子配列の情報を基に、TTR 分子の系統樹を作成したところ、一般的な霊長類の系統樹と同様であった。

D. 考察

剖検組織を用いた解析では、6 匹中 3 匹でアミロイド沈着を認め、心電図、心エコーでも約半数に異常な心症候が確認された。他の霊長類では TTR アミロイドーシスは、観察した範囲内で全く

認めなかった。これらの結果から、アフリカミドリザルは生物種として、TTR アミロイドーシスを発症しやすい要因を持っていると考えられた。

ヒトにおいて Val122Ile 変異はアフリカ系アメリカ人の 3%程度が保因する病原性変異であるが、浸透率は低いと想定されている。122 番目のアミノ酸以外は、アフリカミドリザルとカニクイザルで同様の配列であったため、種として 122 番目のアミノ酸がイソロイシンであることが、アフリカミドリザルが TTR アミロイドーシスを発症する重要な因子になっていると考えられた。

また、アフリカミドリザルはカニクイザルと比較して、血中 TTR の四量体は単量体へと解離しやすく、血中 TTR 濃度が低下していたことも、ヒトにおける Val112Ile 変異保因者と同様の所見であった。122 番目のアミノ酸がバリンからイソロイシンに変わること、TTR の安定性が低下し、蛋白質の品質管理機構を受け、細胞外への分泌効率が低下していると想定される。

本研究で得られたアフリカミドリザルの所見は、ヒト TTR アミロイドーシスの所見と類似しており、本サル種はヒト TTR アミロイドーシスの貴重な疾患モデル動物であると考えられた。

E. 結論

アフリカミドリザルは、FAP の霊長類モデルとして、治療法の開発や病態解析に有用であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ando Y: FAP is a candidate disease in patients with undetermined polyneuropathy. *Intern Med* 49:1841-1842, 2010.

2) Asahina A, Yokoyama T, Ueda M, Ando Y, Ohshima N, Saito I, Tadokoro E, Hasegawa K: Hereditary gelsolin amyloidosis: a new Japanese case with cutis laxa as a diagnostic clue. *Acta Derm Venereol*, in press.

3) Obayashi K, Hörnsten R, Wiklund U, Karlsson M,

- Okamoto S, Ando Y, Suhr OB. Blood pressure overshoot after tilt reversal in patients with familial amyloidotic polyneuropathy. *Hypertension Res* 34:133-138, 2011.
- 4) Asahina M, Akaogi Y, Misawa S, Kanai K, Ando Y, Sakakibara R, Arai K, Hattori T, Kuwabara S: Sensorimotor manifestations without autonomic symptoms in two siblings with TTR Val107 familial amyloid polyneuropathy. *Clin Neurol Neurosurg*, in press.
- 5) Araki S, Ando Y: Transthyretin-related familial amyloidotic polyneuropathy. *Proc Jpn Acad Ser B* 86:694-706, 2010.
- 6) Anan I, Kiuru-Enari S, Obayashi K, Ranløv PJ, Ando Y: Investigation of AGE, their receptor and NF- κ B activation and apoptosis in patients with ATTR and Gelsolin amyloidosis. *Histol Histopathol* 25:691-699, 2010.
- 7) Arima H, Yamashita S, Mori Y, Hayashi Y, Motoyama K, Hattori K, Takeuchi T, Jono H, Ando Y, Hirayama F, Uekama K: In vitro and in vivo gene delivery mediated by lactosylated dendrimer/ α -Cyclodextrin conjugates (G2) into hepatocytes. *J Control Release* 146:106-117, 2010.
- 8) Hirohata M, Yoshita M, Ishida C, Ikeda SI, Tamaoka A, Kuzuhara S, Shoji M, Ando Y, Tokuda T, Yamada M: Clinical features of non-hypertensive lobar intracerebral hemorrhage related to cerebral amyloid angiopathy. *Eur J Neurol* 17:823-829, 2010.
- 9) Hara R, Kawaji T, Ando E, Ohya Y, Ando Y, Tanihara H: Impact of liver transplantation on transthyretin-related ocular amyloidosis in Japanese patients. *Arch Ophthalmol* 128:206-210, 2010.
- 10) Kawaji T, Ando Y, Hara R, Tanihara H: Novel therapy for transthyretin-related ocular amyloidosis a pilot study of retinal laser photocoagulation. *Ophthalmology* 17:552-555, 2010.
- 11) Kawaji T, Ando Y, Ando E, Sandgren O, Suhr OB: Transthyretin-related vitreous amyloidosis in different endemic areas. *Amyloid* 17:105-108, 2010.
- 12) Kono S, Manabe Y, Tanaka T, Fujii D, Sakai Y, Narai H, Omori N, Ueda M, Ando Y, Abe K: A case of familial amyloid polyneuropathy due to Phe33Val TTR with vitreous involvement as the initial manifestation. *Intern Med* 49:1213-1216, 2010.
- 13) Sueyoshi T, Ueda M, Jono H, Irie H, Sei A, Ide J, Ando Y, Mizuta H: Wild-type transthyretin-derived amyloidosis in various ligaments and tendons. *Hum Pathol*, in press.
- 14) Tasaki M, Ueda M, Ochiai S, Tanabe Y, Murata S, Misumi Y, Su Y, Sun X, Shinriki S, Jono H, Shono M, Obayashi K, Ando Y: Transmission of circulating cell-free AA amyloid oligomers in exosomes vectors via a prion-like mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 400:559-562, 2010.
- 15) Zhang P, Fu X, Sawashita J, Yao J, Zhang B, Qian J, Tomozawa H, Mori M, Ando Y, Naiki H, Higuchi K: Mouse model to study human A β 2M amyloidosis: generation of a transgenic mouse with excessive expression of human β 2-microglobulin. *Amyloid* 17:50-62, 2010.
- 16) 安東由喜雄：知って得する最新情報「家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)」。 *Clinical Neuroscience* 28:224-225, 2010.
- 17) 安東由喜雄：老化とアミロイドーシス。 *熊本医学会ニューズレター* 8:22-28, 2010.
- 18) 安東由喜雄、大林光念：血漿蛋白質の遺伝子変異体に関する意味論。 *臨床化学* 39:52-57, 2010.
- 19) 安東由喜雄、大林光念：血清アルブミンとトランスサイレチン。 *臨床と研究* 87: 39-43, 2010.
- 20) 大林光念、安東由喜雄：アミロイド蛋白への治療アプローチ—家族性アミロイドポリニューロパチーをモデルとして—。 *生物物理化学* 54:23-25, 2010.
- 21) 植田光晴、安東由喜雄：遺伝性アミロイドーシスの診断と病態解析における質量分析法の有用性。 *JSBMS Letters* 35:48-54, 2010.
- 22) 内場光浩、畑 裕之、今村隆寿、安東由喜雄：AL-アミロイドーシスと線溶異常。 *日本血栓止血学会誌* 21:9-15, 2010.

2. 学会発表

- 1) Ueda M, Ageyama N, Nakamura S, Chambers J, Misumi Y, Nakaguma R, Shinriki S, Shono M, Jono H, Obayashi K, Une Y, Ando Y: Analyses of vervet monkeys suffering from ATTR amyloidosis: A

candidate model animal for human TTR-related amyloidosis. XII International Symposium on Amyloidosis, Rome, Italy, 4.18-21, 2010.

2) 植田光晴、揚山直英、中村紳一朗、三隅洋平、大嶋俊範、山下太郎、大林光念、安東由喜雄：TTR アミロイドーシスを発症したミドリザルの解析—疾患モデル開発に向けて— . 第 51 回日本神経学会総会、東京、5.20-22、2010.

3) 植田光晴、中村未那弥、揚山直英、中村紳一朗、James Kenn Chambers、庄野 信、城野博史、大林光念、宇根由美、安東由喜雄：霊長類におけるトランスサイレチンの解析—ヒト TTR 型アミロイドーシスとの関連性— . 第 50 回 日本臨床化学会、甲府、9.23-25、2010.

4) 植田光晴、安東由喜雄：家族性アミロイドポリニューロパチー、老人性全身性アミロイドーシスと疾患モデル動物. 第 107 回関西実験動物研究会、滋賀、9.10、2010.

H. 知的所有権の取得状況（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

家族歴を認めない FAP ATTR Val30Met の臨床病理の検討

研究分担者 小池春樹 名古屋大学神経内科
 共同研究者 橋本里奈*、富田 稔*、両角佐織*、川頭祐一*、飯島正博*、
 山本正彦**、田中章景*、祖父江元*
 *名古屋大学神経内科 **愛知学院大学健康科学科

研究要旨 非集積地の FAP ATTR Val30Met は家族歴を認めない例が多く、従来からの集積地例とは異なる臨床病理像を呈するため、診断に難渋する場合も多い。今回、家族歴を認めない症例の特徴を検討した。2004 年から 2009 年にかけて神経生検を通じて診断した症例のうち、家族歴を認めなかった 15 例 (67.3±7.6 歳, 男性 13 例, 女性 2 例) の臨床病理所見を検討。生検前の診断は 8 例が CIDP であった。生検時に明らかな自律神経症状を呈した例は 7 例であり、解離性感覚障害は 2 例のみに認めた。6 例で髄液蛋白が高値であった。末梢神経伝導検査は全例で伝導速度の遅延または遠位潜時の延長を少なくとも 1 つの神経で認めた。生検腓腹神経は軸索変性主体の所見を呈したが、大径有髄線維, 小径有髄線維, および無髄線維密度はそれぞれ 349±296, 773±688, 7991±6361/mm² であり, アミロイドーシスに特徴的といわれる小径線維優位の減少は多くの例で認めなかった。胸部レントゲンと心エコーにて, 心肥大またはアミロイド沈着を示唆する所見を 14 例中 11 例に認めた。家族歴を認めない症例は初期には CIDP と診断されている例も多く, 早期診断には神経生検が有用であった。原因不明の高齢者の軸索変性主体のニューロパチーでは, FAP ATTR Val30Met の可能性を考慮する必要がある, 心アミロイドーシスの検索が診断の一助となると考えられた。

A. 研究目的

近年, 遺伝子診断の技術の進歩とともに, 高齢で発症し, 集積地との関連を認めない FAP ATTR Val30Met 症例が全国に散在性に分布していることが明らかになり, FAP, 特に FAP ATTR Val30Met は従来考えられていたほど稀な疾患ではないと考えられるようになってきている。非集積地の高齢発症の FAP ATTR Val30Met は, 家族歴を認めない例が多く, 従来からの集積地の症例とは異なる臨床病理像を呈するため, 積極的に生検によりアミロイドの証明や遺伝子診断を施行しないと診断に難渋する場合も多い。今回, 神経生検を通じて診断した, 家族歴を認めない FAP ATTR Val30Met の臨床病理所見を検討し, 早期診断のために留意すべき点を考察した。

B. 研究方法

2004 年から 2009 年にかけて名古屋大学神経内

科に依頼のあった神経生検を通じて診断した FAP ATTR Val30Met 症例のうち, 家族歴を認めなかった 15 例 (54-76 歳, 男性 13 例, 女性 2 例) の臨床症状, 髄液所見, 末梢神経伝導検査所見, 腓腹神経病理所見等を検討した。末梢神経伝導検査所見は同年齢の健常者 66 名の mean±2SD 値を正常範囲とした。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

初発症状は下肢のしびれ 11 例, 上肢のしびれ 3 例, 下肢の脱力 1 例であった。感覚障害は 2 例が表在感覚優位であったが, 他の 13 例は全知覚低下を呈した。6 例で髄液の蛋白が高値であった。末梢神

経伝導検査は全例で伝導速度の遅延または遠位潜時の延長を少なくとも1つの神経で認めた。生検時に明らかな自律神経症状を呈した例は7例であり、生検前の診断はCIDP 8例、アルコール性ニューロパチー1例、傍腫瘍性ニューロパチー1例、原因不明の多発神経炎5例であった。1例は生検前にステロイド治療を施行されていた。生検にてアミロイド沈着を証明できた例は14例あったが、うち2例は当初コンゴレッド染色でアミロイドを検出できず、遺伝診断確定後に全検体を薄切した後、再検して明らかになった。神経ときほぐしでは全例が軸索変性主体の所見を呈した。大径有髄線維、小径有髄線維、および無髄線維密度はそれぞれ 349 ± 296 , 773 ± 688 , $7991\pm 6361/\text{mm}^2$ であり、アミロイドーシスに特徴的といわれている小径線維優位の減少を認めた例は4例であった。無髄線維は有髄線維に比べて保たれていた。胸部レントゲンと心エコーにて心肥大を示唆する所見を14例中11例に認めたが、心不全症状はみられなかった。

D. 考察

非集積地の高齢発症のFAP ATTR Val30Metは、従来からの集積地の症例とは異なる臨床病理像を呈するため、高齢者の原因不明のニューロパチーではFAP ATTR Val30Metの可能性を積極的に疑う必要があると考えられた。また、腓腹神経生検ではアミロイド沈着を認めない場合もあり、病理所見が軸索変性主体で原因が明らかでない場合や、当初の臨床診断では説明がつかない病理所見を認めた場合は遺伝子診断を積極的に施行する価値があると考えられた。

E. 結論

家族歴を認めないFAP ATTR Val30Met症例は初期にはCIDPと診断されている例も多く、早期診断には神経生検が有用であった。また、生検標本上でアミロイド沈着が認められない場合でも、原因不明の高齢者の軸索変性主体のニューロパチーでは、FAP ATTR Val30Metの可能性を考慮する必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Koike H, Kiuchi T, Iijima M, Ueda M, Ando Y, Morozumi S, Tomita M, Kawagashira Y, Watanabe H, Katsuno M, Shimoyama Y, Okazaki Y, Kamei H, Sobue G: Systemic but asymptomatic transthyretin amyloidosis 8 years after domino liver transplantation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, in press.
- 2) Koike H, Atsuta N, Adachi H, Iijima M, Katsuno M, Yasuda T, Fukada Y, Yasui K, Nakashima K, Horiuchi M, Shiomi K, Fukui K, Takashima S, Morita Y, Kuniyoshi K, Hasegawa Y, Toribe Y, Kajiura M, Takeshita S, Mukai E, Sobue G: Clinicopathological features of acute autonomic and sensory neuropathy. *Brain* 133:2881-2896, 2010.
- 3) Koike H, Sobue G: Expanding the concept of inflammatory neuropathies. *Brain* 133:2848-2851, 2010.
- 4) Koike H, Koyano S, Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Katsuno M, Hattori N, Vernino S, Sobue G: Slowly progressive autonomic neuropathy with antiganglionic acetylcholine receptor antibody. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81:586-587, 2010.
- 5) Koike H, Sobue G: Diagnosis of familial amyloid polyneuropathy: wide-ranged clinicopathological features. *Expert Opin Med Diagn* 4:323-331, 2010.
- 6) Kawagashira Y, Koike H, Tomita M, Morozumi S, Iijima M, Nakamura T, Katsuno M, Tanaka F, Sobue G: Morphological progression of myelin abnormalities in IgM-monoclonal gammopathy of undetermined significance anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 69:1143-1157, 2010.
- 7) Kawagashira Y, Kondo N, Atsuta N, Iijima M, Koike H, Katsuno M, Tanaka F, Kusunoki S, Sobue G: IgM MGUS anti-MAG neuropathy with predominant muscle weakness and extensive muscle atrophy. *Muscle Nerve* 42:433-435, 2010.
- 8) Kawagashira Y, Watanabe H, Morozumi S, Iijima I, Koike H, Hattori N, Sobue G: Differential response to intravenous immunoglobulin (IVIg) therapy among multifocal and polyneuropathy types of painful diabetic neuropathy. *J Clin Neurosci* 17:1003-1008,

2010.

9) Tomita M, Watanabe H, Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Nakamura T, Katsuno M, Koike H, Hattori N, Hirayama M, Kusunoki S, Sobue G: Pyramidal tract involvement in Guillain-Barré syndrome associated with anti-GM1 antibody. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81:583-585, 2010.

10) Koike H, Sobue G: Late-onset transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy unrelated to endemic foci. In: Dyck PJ, Engelstad JK, Low PA, Amrami KK, Spinner RJ, Klein CJ, editors. *Companion to peripheral neuropathy: Illustrated cases and new developments*, Elsevier Saunders, Philadelphia, pp139-143, 2010.

11) Miyazaki Y, Koike H, Ito M, Atsuta N, Watanabe H, Katsuno M, Kusunoki S, Sobue G: Acute superficial sensory neuropathy with generalized anhidrosis, anosmia, and ageusia. *Muscle Nerve* 43:286-288, 2011.

12) Koike H, Sobue G: Paraneoplastic neuropathy. *Handb Clin Neurol*, in press.

13) Iijima M, Koike H, Katsuno M, Sobue G: Polymorphism of transient axonal glycoprotein 1 in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst*, in press.

14) Hashizume A, Kawagashira Y, Banno H, Suzuki K,

Ito M, Koike H, Katsuno M, Watanabe H, Tanaka F, Naganawa S, Kaneko R, Ishii A, Sobue G: Central nervous system involvement in n-hexane polyneuropathy demonstrated by MRI and proton MR spectroscopy. *Clin Neurol Neurosurg*, in press.

15) Sone J, Tanaka F, Koike H, Inukai A, Katsuno M, Yoshida M, Watanabe H, Sobue G: Skin biopsy is useful for the antemortem diagnosis of neuronal intranuclear inclusion disease. *Neurology*, in press.

16) 小池春樹、祖父江元：膠原病における神経病理末梢神経. *日本内科学会雑誌* 99: 1853-1857, 2010.

17) 小池春樹、祖父江元：末梢神経障害 抗アセチルコリン受容体抗体陽性の自律神経傷害性ニューロパチー. 鈴木則宏、祖父江元、荒木信夫、宇川義一、川原信隆（編）*Annual review 神経2010*, 中外医学社, 東京, pp223-228, 2010.

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

肝移植後 FAP 患者における組織沈着アミロイドの turn-over について

研究分担者 池田修一 信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科

共同研究者 矢崎正英*、鈴木彩子*、関島良樹*、亀谷富由樹**

*信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科、

**東京都精神医学総合研究所分子生物学研究部門

研究要旨 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) 患者における、肝移植前後のアミロイドの沈着動態の変化を明らかにする目的で、FAP 患者 6 名の腹壁沈着アミロイドと 4 名の胃粘膜アミロイドの肝移植前後でのアミロイド沈着量の変化、野生型トランスサイレチン (W-TTR) と変異型 (V-TTR) のアミロイド構成比を検索した。腹壁脂肪沈着アミロイドでは、6 名全例で、肝移植施行約 10 年後の生検組織で、アミロイドが著しく減少しており、アミロイド線維構成比も術前は V-TTR 優位であったが、術後は顕著に W-TTR 優位となっていた。胃粘膜アミロイドの検索では、移植後 5 年以内の生検のためか、沈着量は 1 名で増加、2 名で不変、1 名で減少と一定しなかったが、全例、W-TTR の比率は上昇していた。以上の結果より、肝移植後も沈着アミロイドは、W-TTR の沈着と、V-TTR と W-TTR の両者の融解が常に繰り返され (amyloid turn-over)、臓器によってはアミロイドが減少していく、いわゆる amyloid regression が FAP でも起こりうることを示している。

A. 研究目的

治療後に、組織沈着アミロイドが減少・消失していく現象は (amyloid regression)、これまで原発性 AL アミロイドーシスや反応性 AA アミロイドーシスで報告されている。しかしながら、肝移植施行家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) 患者で、実際に amyloid regression が起こるのか、またはどのような機序で生じるのかは、依然として不明のままである。今回 FAP 患者における、肝移植後の組織アミロイドの沈着動態を明らかにする目的で、肝移植施行 FAP 患者の腹壁脂肪沈着アミロイドと胃沈着アミロイドについて、肝移植前後での沈着量の推移や、野生型 TTR (W-TTR) と変異型 TTR (V-TTR) の構成比について検索した。

B. 研究方法

肝移植施行 FAP 患者 (ATTR V30M 陽性) に対し移植前後に腹壁脂肪吸引生検 (6 名)、胃生検 (4 名) を施行し、組織アミロイド沈着量の推移を比較した。アミロイド沈着量の程度は、腹壁では -(none), +(mild), ++(moderate), +++(severe) の 4 段階で

評価した。胃沈着アミロイド沈着量の解析では、3 人の検者にアミロイド沈着量を、0 (none); 1 (mild); 2 (moderate); 3 (severe) の 4 段階で評価してもらい、その平均を沈着量とした。また、アミロイドの生化学的解析として、組織沈着アミロイドを抽出し、liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) にて、野生型 (W-TTR) と変異型 TTR (V-TTR) の構成比について検索した。アミロイド抽出、解析の詳細は過去の報告に基づいて行った (Tsuchiya A et al. Liver Transpl 14:563-70, 2008)。

(倫理面への配慮)

被験者には全例、研究の趣旨と検査内容について説明を行い同意を得た。

C. 研究結果

腹壁脂肪吸引生検では、全例移植後にアミロイド沈着量が減少し、沈着アミロイドの W-TTR と V-TTR の構成比も、移植後約 10 年後の生検では、V-TTR が検出されずに、ほぼ W-TTR のみとなって

いた(図1、表1)。胃生検組織では、移植後5年以内の生検のためか、組織沈着アミロイド量は増加—不変—減少と様々であった(図2、表2)。沈着アミロイドのW-TTRとV-TTRの構成比は、移植前は全例V-TTRが優位であったが、術後はW-TTR優位になっていた(表1、2)。

D. 考察

脂肪組織のアミロイド解析からは、FAP でも amyloid regression が実際に起こることが示された。沈着量の減少とともに、アミロイド線維内の W-TTR の比率が上昇していたが、W-TTR と V-TTR のアミロイド原性の差からも、V-TTR 優位にアミロイド線維が融解していくことは考えにくい。肝移植後も W-TTR の沈着が常に起こり、同時に V-TTR と W-TTR アミロイドの融解が繰り返されながら (amyloid turn-over)、アミロイド沈着量が減少していくことが示唆された。また、今回検索した胃アミロイドの解析から、どの組織でも amyloid turn-over は常に起こりうることを示されたが、その程度は臓器ごとに異なる可能性がある。我々は過去に、肝移植後心筋アミロイドが、W-TTR の沈着により進行しうることを報告したが (Yazaki et al. *Am J Transplant* 7:235-247, 2007)、恐らく、心筋においてもアミロイド線維の沈着だけでなく、融解も同時に起こっており、肝移植後のアミロイド沈着量の増減の差は、臓器ごとの肝移植後のアミロイドの沈着と、融解のバランスの差で規定されている可能性が示唆された(図 3)。これには臓器ごとの W-TTR への親和性の差や、組織沈着アミロイド保持力などの差、加齢に伴う W-TTR のアミロイド原性の差などに関連しているものと考えられる。また常にアミロイドが turn-over を繰り返していることから、肝移植後に、W-TTR の沈着を抑制できれば、組織沈着アミロイドの減少が促進されうる可能性が示唆された。

E. 結論

肝移植後も沈着アミロイドは、W-TTR の沈着と、V-TTR と W-TTR の両者の融解が常に繰り返される (amyloid turn-over)、臓器によってはアミロイドが減少していく現象 (amyloid regression) が FAP でも起こりうる。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 矢崎正英、鈴木彩子、池田修一、亀谷富由樹：アミロイド沈着の生化学的分析—微小生検組織を用いたアミロイド蛋白の解析—。 *生物物理化学* 54:19-22, 2010.
- 2) Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Kametani F, Sekijima Y, Ikeda S: Wild-type transthyretin significantly contributes to the formation of amyloid fibrils in familial amyloid polyneuropathy patients with amyloidogenic transthyretin Val30Met. *Hum Pathol* 42:236-243, 2011.

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

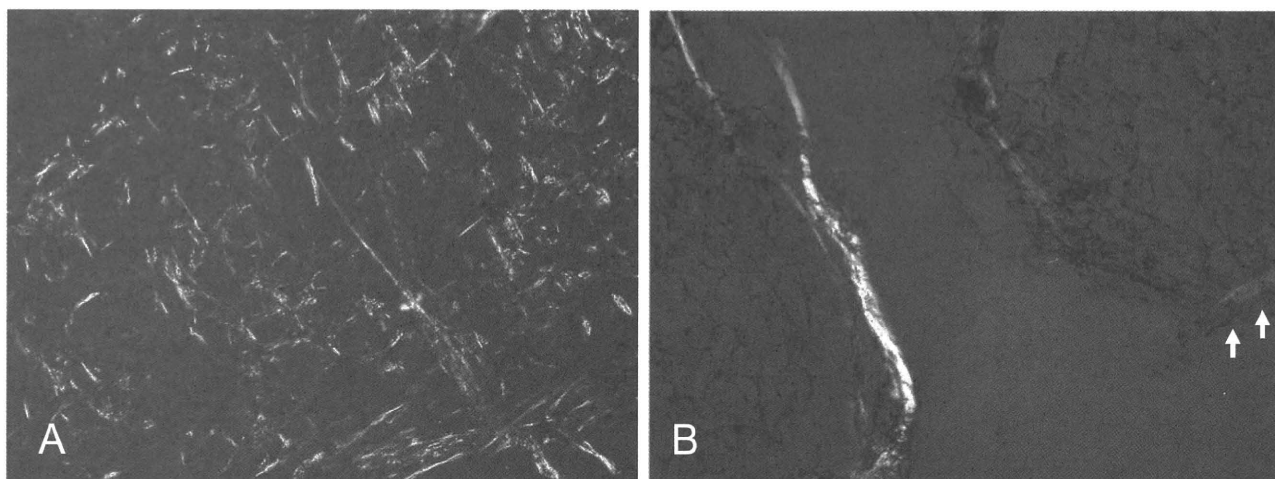


図1. 肝移植前後における腹壁脂肪生検所見 (患者5)

肝移植前(A)に比べて移植後10年経過後の脂肪組織では(B)、沈着アミロイド量は著明に減少していた(矢印)。偏光下Congo red 染色。沈着アミロイドのW-TTRの比率は、移植前が43%で、移植後がほぼ100%であった。

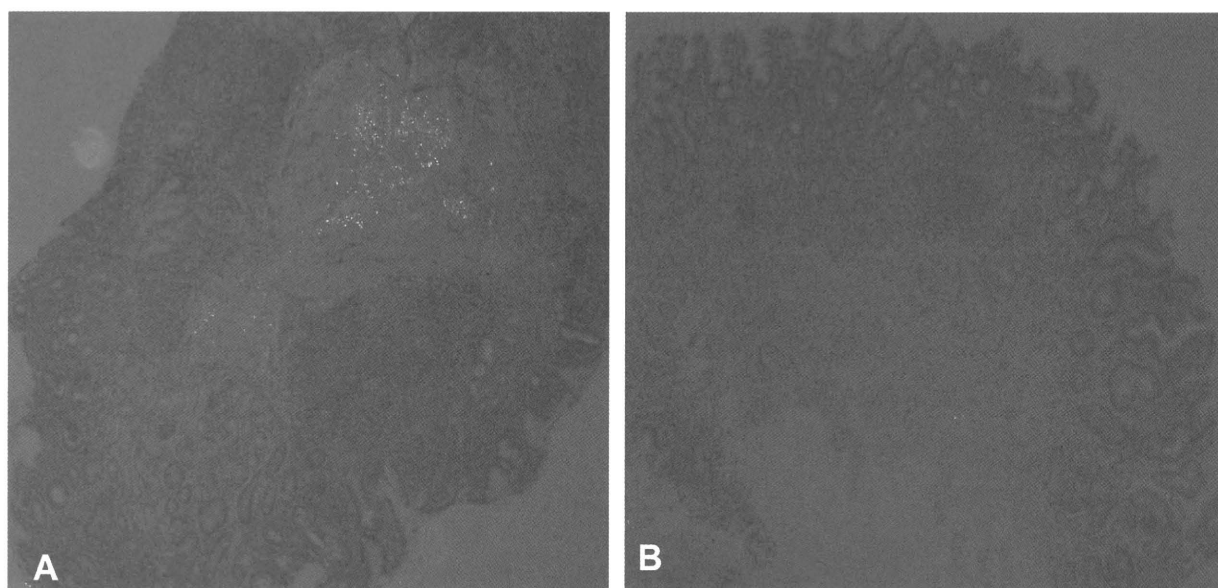


図2. 肝移植前後における腹壁脂肪生検所見 (患者4)

肝移植前(A)に比べて移植後3年経過後の脂肪組織では(B)、沈着アミロイド量は減少していた。偏光下Congo red 染色。沈着アミロイドのW-TTRの比率は、移植前が29%で、移植後が32%と若干W-TTRの比率が上昇していた。

表1. 腹壁脂肪組織沈着アミロイド解析

患者	発症 年齢	肝移植-移植後 生検期間(年)	組織アミロイド沈着量		W-TTR比率 (%)	
			前	後	前	後
1(F)	28	12	(+)	(±)	ND	100
2(M)	40	11	(+++)	(-)	48	ND
3(M)	35	10	(+)	(±)	ND	ND
4(M)	33	10	(++)	(-)	0	ND
5(F)	39	10	(++)	(-)	43.3	100
6(F)	27	10	(++)	(-)	30.2	ND

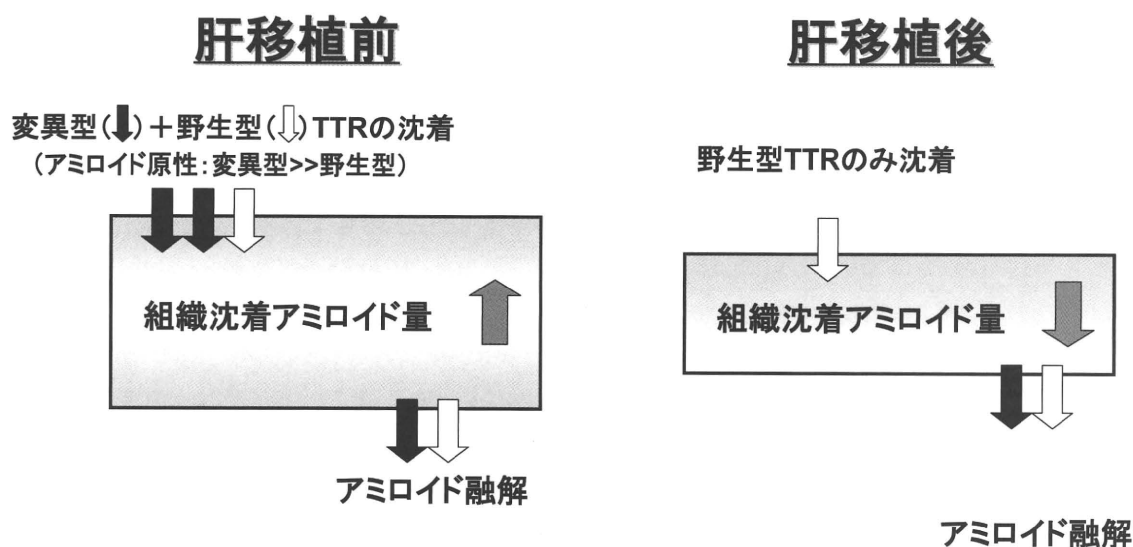
組織アミロイド沈着量: - (none); +(mild); ++(moderate); +++(severe),
ND: not detectable

表2. 胃粘膜組織沈着アミロイド解析

患者	発症 年齢	発症-移植前 生検期間(年)	肝移植-移植後 生検期間(年)	組織アミロイド沈着量		W-TTR比率 (%)	
				前	後	前	後
1(F)	25	1	5	0.42±0.50	1.0±0.61	33.0	61.0
2(M)	28	7	4.5	2.83±0.24	2.17±0.71	0	33.0
3(M)	32	3	2.5	1.67±0.47	1.33±0.30	20.0	41.0
4(F)	58	1	3	2.13±0.75	0.33±0.47	29.0	32.0

組織アミロイド沈着量: 0 (none); 1 (mild); 2 (moderate); 3 (severe)

図3. 肝移植前後のアミロイド沈着動態



組織沈着アミロイドは、常に沈着と融解を繰り返しているものと推測される (amyloid turn-over)。肝移植後のアミロイド沈着量の増減は、W-TTRのアミロイド化と沈着アミロイド融解の程度の差で規定されている可能性がある。

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

AL アミロイドーシスにおける apoE4 の関与に関する免疫組織化学的検討

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 南原秀美*、高橋睦夫*

*山口大学医学部保健学科

研究要旨 Alzheimer 病で apoE4 が危険因子であることは有名であるが、全身性 AL アミロイドーシスではこれまで十分な検索が行われていない。今回の研究では全身性 AL アミロイドーシスについて組織化学的および免疫組織化学的に apoE4 陽性率および陽性範囲の検討を行った。材料は AL アミロイドーシス剖検例 51 例のホルマリン固定パラフィン切片を使用した。組織化学的検討として DFS 染色を行い、免疫組織化学的検討としては一次抗体として apoE4 特異抗体である Anti-Human ApoE4 (5B5)(IBL)を用いて染色を行った。51 例中 40 例でアミロイドが apoE4 陽性 (A λ 25 例, A κ 15 例)、apoE4 陽性率 78.4% (A λ 78.1%, A κ 78.9%)、apoE4 陽性例のうち陽性部位 50%以上 32.5%, 50%未満 67.5%であった。日本人の apoE4 保有率は 13.5%という報告があるが、今回の全身性 AL アミロイドーシス例の抗 apoE4 抗体陽性率(78.4%)はこれよりも明らかに高い数値となった。PCR による検討を行っていないため確定的とはいえないが、apoE4 は全身性 AL アミロイドーシスの危険因子である可能性がある。apoE の C 末端側約 100 アミノ酸残基がアミロイドと共存するという報告があるが、今回使用した抗 apoE4 抗体は apoE4 の 112 番目のアミノ酸残基を含むアミノ酸配列を認識するため、実際には apoE4 の切断される位置が症例によって、また症例内で様々であり今回のような染色性の分布結果が得られた可能性がある。

A. 研究目的

apoE4 が Alzheimer 病の危険因子であることは有名であるが、全身性アミロイドーシスにおける apoE4 の関与についてはわずかな報告しかなく、全身性 AL アミロイドーシスに関してはこれまで報告がない。今回新規に apoE4 特異抗体が発売されたことから、これまで山口大学医学部病理形態学分野で収集した全身性 AL アミロイドーシス剖検例の一部について免疫組織化学的に apoE4 陽性率及び陽性範囲の検討を行った。

B. 研究方法

組織化学的検討及び免疫組織化学的検討に先立ち、まず Anti-Human ApoE4 (5B5, マウスモノクローナル抗体, IBL)の抗原決定基の検索を行った。この抗体は apoE4 特異的で apoE2, E3 と交叉しないことが IBL 社により Western Blotting にて証明されている。

(http://www.ibl-japan.co.jp/jp/products/product_d

[etail.php?cd=10025](http://www.ibl-japan.co.jp/jp/products/product_detail.php?cd=10025))

リコンビナント apoE4 蛋白、apoE4 のアミノ酸配列の 107-117 に相当する合成ペプチド (DMEDVRGRLVQ: 112 がアルギニン)、apoE2,E3 のアミノ酸配列の 107-117 に相当する合成ペプチド(DMEDVCGRLVQ: 112 がシステイン)各 1mg/ml を 2 μ l ずつニトロセルロース膜に滴下し、5B5(1 μ g/ml)を一次抗体として Dot Blot を行った。

組織化学的検討及び免疫組織化学的検討には AL アミロイドーシス剖検例のホルマリン固定パラフィン切片を使用した。まず 25 例の消化管 (A λ 型 15 例, A κ 型 10 例) について検討を行い、次に臓器不定 (心、腎、消化管など) 26 例 (A λ 型 17 例, A κ 型 9 例) について追加検討した。これらの症例は、いずれもこれまでにコンゴレッド染色でアミロイド沈着を確認し、anti- λ (118-134), anti- κ (116-133), anti-AA, anti-TTR で免疫組織化学的にタイプ決定を行った症例であり、一部の症例は anti-V λ VI(1-19), anti-V κ I (1-19)も使用してタ

イプ決定を行い、AL アミロイドーシスと診断した症例である。組織学的検討として今回新規に DFS 染色を行い、apoE4 の免疫組織化学的検討には一次抗体として Anti-Human ApoE4 (5B5)を用いて染色を行った。消化管の検索のみ Anti-Human ApoE (A299)(IBL)を併用した。この抗体は apoE の C 末端部分合成ペプチドを抗原として作成されたウサギポリクローナル抗体で apoE2, E3, E4 いずれとも反応することが IBL 社により Western Blotting にて証明されている。

(http://www.ibl-japan.co.jp/jp/products/product_detail.php?cd=18171)

免疫組織化学的検討は DAKO Autostainer を用いて行った。一次抗体 Anti-Human ApoE4 (5B5)、Anti-Human ApoE (A299)ともに、抗原賦活処理として、脱パラフィン後水洗中に 98%ギ酸処理を 1 分間行った。二次抗体として EnVision+(1:2, DAKO)を用い、DAB+(DAKO)にて発色した。

apoE4 の陽性率 (1 カ所でも染まっていれば陽性) および apoE4 陽性部位が目算でアミロイドの 50%を占めるかどうかどうかについて検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は山口大学医学部附属病院医薬品等治験・臨床研究等審査委員会の審査を受け科学的・倫理的に妥当であると証明された。また山口大学医学部及び医学部附属病院遺伝子解析研究審査委員会の審査を受け承認された。材料については病理解剖例を用い連結不可能匿名化を行った。

C. 研究結果

Dot Blotの結果、Anti-Human ApoE4 (5B5)はリコンビナント apoE4 蛋白、apoE4 のアミノ酸配列の 107-117 に相当する合成ペプチド(112がArg)と強く反応し、apoE2,E3 のアミノ酸配列の 107-117 に相当する合成ペプチド(112がCys)とは反応しなかった。

組織学的および免疫組織化学的検討では、消化管 25 例中 21 例でアミロイドが apoE4 陽性 (A λ 13 例, A κ 8 例) となった。apoE4 陽性率は 84% (A λ 86.7%, A κ 80%) であった。apoE は全例陽性であった。apoE4 は陽性例全例でアミロイド全体が陽性となるわけではなく、apoE4 陽性例のうち陽性部位 50% 以上 33.3%, 50% 未満 66.7% であった。追加検討し

た症例では 26 例中 19 例でアミロイドが apoE4 陽性 (A λ 12 例, A κ 7 例) となった。apoE4 陽性率は 73.1% (A λ 70.6%, A κ 77.8%)、apoE4 陽性例のうち陽性部位 50% 以上 31.6%, 50% 未満 68.4% であった。合計 51 例中 40 例でアミロイドが apoE4 陽性 (A λ 25 例, A κ 15 例)、陽性率 78.4% (A λ 78.1%, A κ 78.9%)、apoE4 陽性例のうち陽性部位 50% 以上 32.5%, 50% 未満 67.5% であった。

D. 考察

apoE4 が Alzheimer 病の危険因子であることは有名であるが、全身性アミロイドーシスにおける apoE4 の関与についてはわずかな報告しかなく、全身性 AL アミロイドーシスに関してはこれまで報告がない。今回新規に apoE4 特異抗体が発売されたことから、これまで山口大学医学部病理形態学分野で収集した全身性 AL アミロイドーシス剖検例の一部について免疫組織化学的に apoE4 陽性率および陽性範囲について検討を行った。

Dot Blot の結果 Anti-Human ApoE4 (5B5) は apoE4 のアミノ酸配列の 112Arg を含む部分を認識することが判明し、112Cys を有する合成ペプチドとは反応せず、Western Blotting の情報も含め、apoE2 および apoE3 とは反応しないと考えられた。

免疫組織化学的検討では最初に行った消化管 25 例でアミロイドの apoE4 陽性率 84%、追加検討した 26 例で apoE4 陽性率 73.1%、合計 51 例で apoE4 陽性率 78.4% であった。

日本人の apoE4 蛋白保有率は 13.5% という報告があるが、今回の全身性 AL アミロイドーシス例の抗 apoE4 抗体陽性率(78.4%)はこれよりも明らかに高い数値となった。パラフィン切片から DNA を抽出し PCR を行うには材料が足りず、PCR による検討を行っていないため確定的とはいえないが、apoE4 は全身性 AL アミロイドーシスの危険因子である可能性がある。

apoE は 299 個のアミノ酸からなるが、これまでにアミロイドと共存するのは apoE の C 末端側約 100 アミノ酸残基であるという報告がなされている。しかしながら今回使用した抗 apoE4 抗体は apoE4 の 112 番目のアミノ酸残基を含むアミノ酸配列を認識するため、実際には apoE4 の切断される位置が症例によって、また症例内で様々であり、

今回のようにアミロイドが Anti-Human ApoE4 (5B5)陽性となり、かつアミロイド中の apoE4 陽性部位が目算で 50%未満の症例が約 2/3 を占めるといふ染色性が得られた可能性がある。あるいは Anti-Human ApoE4 (5B5)陽性部位には 112Arg を含む、断裂した apoE4 の短いペプチドがアミロイドと共存しているのかもしれない。またアポ E 遺伝子の組合せが $\epsilon 4$ と $\epsilon 2$ あるいは $\epsilon 3$ との heterozygote の場合は、apoE4 が均一に陽性となるとは限らない。

なお今回の結果については、陽性率が高すぎることから Anti-Human ApoE4 (5B5)が、apoE 以外の何らかのアミロイド共存物質と交差している可能性は完全には否定できない。

E. 結論

apoE4 は全身性 AL アミロイドーシスの危険因子である可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 伏見聡一郎、木村安曇、北浦剛、清水辰宣、星井嘉信、中本 周：偽性腸閉塞を示し、剖検で多発骨髄腫による AL 型全身性アミロイドーシスと判明した 1 例. *鳥取医誌* 38:89-94, 2010.

2) 星井嘉信：アミロイドーシスの病理. *医学のあゆみ*, in press.

3) 星井嘉信、村上嘉信：C アミロイド染色 13 コンゴ赤染色. *最新染色法のすべて*, in press.

4) 星井嘉信、村上嘉信：C アミロイド染色 14 ダイレクト・ファースト・スカーレット染色. *最新染色法のすべて*, in press.

5) 星井嘉信、村上嘉信：C アミロイド染色 15 免疫染色. *最新染色法のすべて*, in press.

2. 学会発表

1) 星井嘉信、池田栄二：A κ アミロイドーシスの免疫組織化学的診断の標準化について. 第 99 回日本病理学会、東京、4.27-29、2010.

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

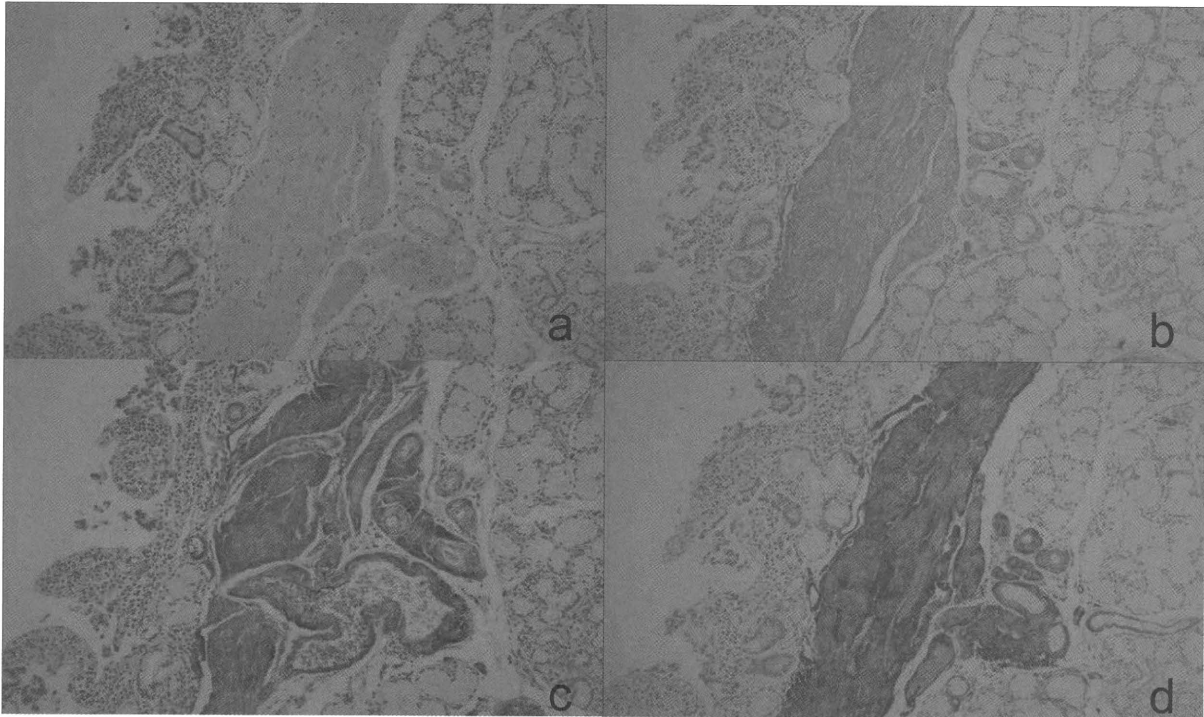


図1:A λ 型アミロイドーシス例(消化管).a:CR, b:anti- λ (118-134), c:anti-human apoE, d:anti-human apoE4 (5B5)

いずれも陽性部位の分布は同様である。

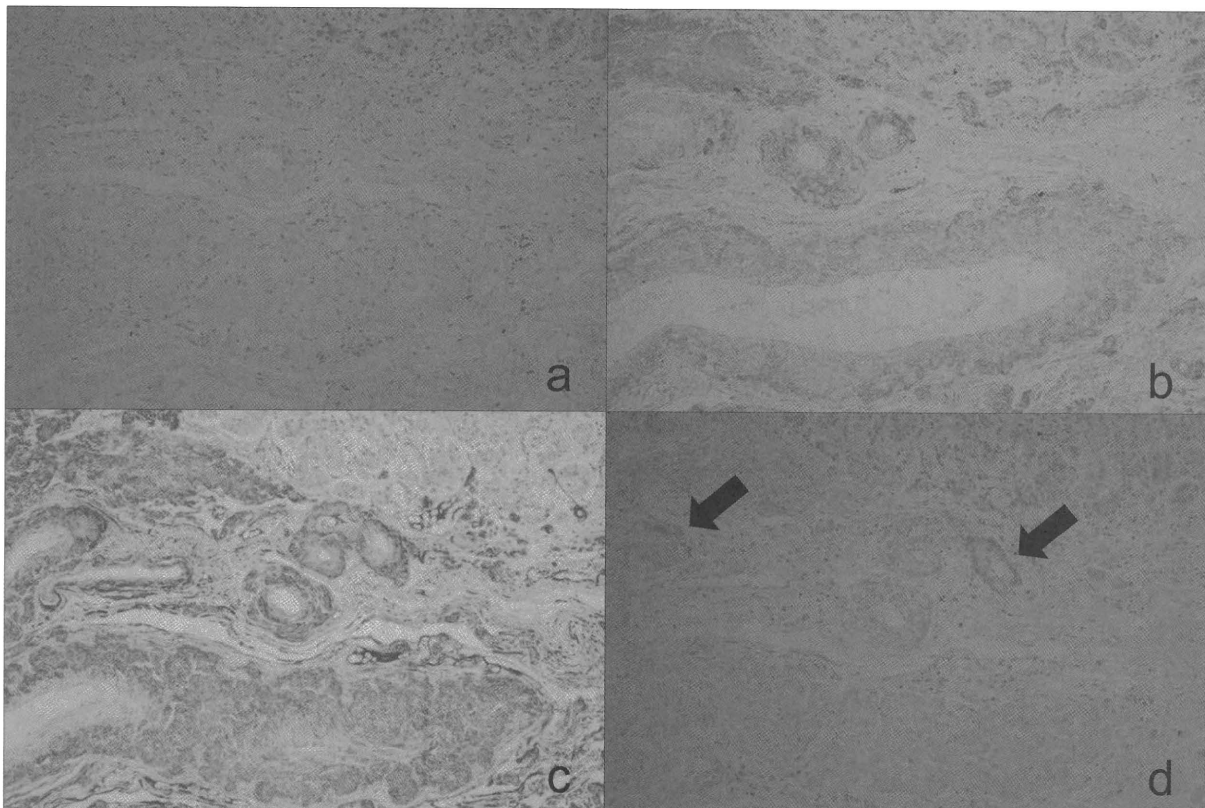


図2:A λ 型アミロイドーシス例(消化管).a:CR, b:anti- λ (118-134), c:anti-human apoE, d:anti-human apoE4 (5B5)

anti-human apoE4 (5B5)はアミロイドのごく一部の領域しか染まっていない(矢印)。

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過剰線溶

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**、植田光昭***、安東由喜雄***、満屋裕明*

*熊本大学医学部附属病院血液内科、**輸血細胞治療部科、

***熊本大学大学院医学薬学研究部病態情報解析学分野

研究要旨 多数例の解析で、ALアミロイドーシスにおいて過剰線溶が例外なく存在する。過剰線溶はウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター (uPA) の過剰発現によると考えられる。過剰線溶の指標としてPIC(plasmin/plasmin inhibitor complex)測定が有用であり、PICは本疾患の診断にも有用である。過剰線溶は、大量化学療法により改善することから、病態に深くかかわっている。

A. 研究目的

我々は、AL アミロイドーシスにおいて過剰線溶が存在することを昨年報告した。今回はさらに症例を増やし、その診断における有用性と機序を解明することを目的とした。

B. 研究方法

AL アミロイドーシスと診断された症例 46 例を用いて、過剰線溶を Plasmin/Plasmin inhibitor complex (PIC) で定量化した。対象として、アミロイドの証明されない骨髄腫または MGUS の 61 例を用いた。純化形質細胞およびアミロイド沈着組織より RNA を抽出し、過剰線溶をもたらすと考えられる urokinase 型 plasminogen activator (uPA) の発現を real time PCR にて定量化した。AL アミロイドーシス症例の剖検標本を用いて uPA を免疫染色で検討した。

(倫理面への配慮)

本研究で得られるデータは、日常診療上得られるものであり、倫理面の問題はない。

C. 研究結果

ALアミロイドーシスの検査としてPICをカットオフ1.5 μ g/mlで検討したところ、感度92.7%、特異度89.7%の良好な結果を得た。これに基づき、来年発売が込まれるFree Lite検査結果を統合した具

体的な診断アルゴリズムを作成中である。また、PIC値は化学療法後の臓器障害改善状態とも相関し、病勢を反映すると考えられた。PIC上昇の原因となるuPAの発現を検討したところ、骨髄腫患者、ALアミロイドーシス患者形質細胞では差は認められなかったが、アミロイド沈着臓器では約10倍のuPA発現亢進が認められ、これは免疫染色でも確認された。

D. 考察

多数の症例を用いた解析でも本疾患におけるPICの重要性が認められ、過剰線溶は疾患の進展に重要な意義を有すると考えられる。また、PICは特異性、感度ともに本疾患の診断に優れた検査であり、今後、PICの診断への応用を提唱したい。

今回、アミロイド沈着部位からのuPA産生が観察されたが、今後、アミロイド繊維が臓器からのuPA産生を誘導するかどうかin vitroで検討を進める予定である。

さらに、過剰線溶を含むALアミロイドーシスに特異的な現象を解明するために、ALアミロイドーシスおよびMGUS症例から純化した形質細胞を用いたマイクロアレイ解析を検討予定である。

E. 結論

ALアミロイドーシスにおいて、過剰線溶はほぼ例外なく存在しており、過剰線溶の検出は診断

に有用であり、新規治療法の開発にも寄与する。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimazaki C, Murakami H, Sawamura M, Matsuda M, Kinoshita T, Hata H, Sugiura I, Tsushita K, Nagura E, Kosugi H, Itoh J, Shimizu K: Clinical usefulness of serum free light chain measurement in monoclonal gammopathy. *Rinsho Ketsueki* 51:245-252, 2010.
- 2) 畑 裕之: 意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症 Monoclonal gammopathy of undetermined significance : MGUS. 中村栄男ほか (編) *WHO血液腫瘍分類*, 医薬ジャーナル社, 東京, pp306-322, 2010.
- 3) 畑 裕之: 多発性骨髄腫 臨床病期の判定と予後. 日本血液学会, 日本リンパ網内系学会 (編) *造血器腫瘍取扱規約 2010年3月第1版*, pp179-183, 2010.

2. 学会発表

- 1) 内場光浩、畑 裕之、石田禎夫、松田正之、島崎千尋、山田正仁、満屋裕明、安東由喜雄: AL-アミロイドーシスの診断における線溶系マーカーの有用性: 他施設共同研究の結果. 第72回日本血液学会総会、横浜、9.24-26、2010.

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

全身性アミロイドーシスと限局性アミロイドーシスの鑑別における プラスミン- $\alpha 2$ プラスミンインヒビター複合体(PIC)の有用性

研究分担者 今井裕一 愛知医科大学腎臓・リウマチ膠原病内科
共同研究者 菅 憲広、三浦直人、森田博之
愛知医科大学腎臓・リウマチ膠原病内科

研究要旨 限局性アミロイドーシスは、1臓器へのアミロイドの沈着であり生命予後が良いとされる。限局性アミロイドーシスと全身性アミロイドーシスの鑑別が簡単にできれば、临床上無用な検査を重ねる必要がなくなり、患者にとっても医療経済的にも非常に有用である。AL型アミロイドーシスと多発性骨髄腫の鑑別にプラスミン- $\alpha 2$ プラスミンインヒビター複合体(以下PIC)が有用であることや治療により寛解に達したAL型アミロイドーシスではPICが基準値内に入ることが報告されている。今回、アミロイドーシスにおける全身性と限局性の鑑別において、PICの有用性を検討した。その結果、全身性AL型で、治療前・中のPIC値は $2.9 \pm 1.5 \mu\text{g/ml}$ 、寛解例は $1.0 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$ 、死亡例は $6.9 \pm 2.5 \mu\text{g/ml}$ であった。限局性AL型のPIC値は $0.6 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$ であり、 $0.9 \mu\text{g/ml}$ の1例以外、全て基準値内($0.8 \mu\text{g/ml}$ 未満)であった。PIC値 $0.9 \mu\text{g/ml}$ 未満の時に、限局性アミロイドーシスに対する感度83%、特異度94.1%、陽性尤度比は13.8、陰性尤度比 0.07であった。1臓器でアミロイド沈着が証明されたときに、PIC値を測定して $0.9 \mu\text{g/ml}$ 未満なら限局性アミロイドーシスの可能性が極めて高く、全身性との鑑別に非常に有用であることがわかった。

A. 研究目的

限局性アミロイドーシスは、1臓器へのアミロイドの沈着とされている。臨床現場では全身性アミロイドーシスと鑑別するために、諸検査を重ね各臓器への沈着の有無を検討することになる。その作業は、患者・医療者とも負担を増加させ、また医療経済の面でも無駄となることが多い。Michelle らの 290 例の限局性アミロイドーシスの分析によれば、AL 型は 120 例(91%)、AA 型は 8 例(6%)、TTR 型は 3 例(2%)、 $\beta 2\text{MG}$ 型は 1 例であった。そのうち追跡可能だった 190 例のうち全身型に移行したのはわずか 4 例(2%)のみであり、限局性アミロイドーシスは基本的に生命予後が良いとされている。治療は限局病変の切除、あるいは経過観察とされている(Amyloid;13(3)135-142,2006)。限局性アミロイドーシスと全身性アミロイドーシスの鑑別が簡単にできれば、临床上無用な検査を重ねる必要がなくなり、非常に有用である。

熊本大学の畑らは、AL 型アミロイドーシスと多発性骨髄腫の鑑別にプラスミン- $\alpha 2$ プラスミンイ

ンヒビター複合体(以下 PIC)が有用であることを報告している(Amyloid;16(2):89-93,2009)。さらに、治療により寛解に達した AL 型アミロイドーシスでは PIC が基準値内になることを示している。今回われわれは、アミロイドーシスにおける全身性と限局性の鑑別において、PIC が有用であるかどうかを明らかにする。

B. 研究方法

当院で経験したアミロイドーシス 33 例(AL 型 23 例、AA 型 4 例、TTR 型 2 例、 $\beta 2\text{MG}$ 型 4 例)を対象とし、凝固線溶系検査と各種臨床項目を比較検討した。複数部位による生検を施行してもアミロイドの沈着が 1 臓器の場合を限局性アミロイドーシスと定義した。

(倫理面への配慮)

この研究は参加していただく方の人権と安全性、さらに倫理性、科学性に配慮して計画されており、インフォームドコンセントにて同意の得られた方

で施行している。

C. 研究結果

AL型では、全身性33例、限局性6例、AA型、TTR型、 β 2MG型は全て全身性であった。全身性AL型で、治療前・中のPIC値の平均値 \pm 標準偏差(最小値-最大値)は $2.9\pm 1.5\mu\text{g/ml}$ (0.9-9.1)、寛解例は $1.0\pm 0.4\mu\text{g/ml}$ (0.4-1.3)、死亡例は $6.9\pm 2.5\mu\text{g/ml}$ (4.7-6.4)であった。限局性AL型のPIC値は $0.6\pm 0.2\mu\text{g/ml}$ (0.4-0.9)であり、 $0.9\mu\text{g/ml}$ の1例以外、全て基準値内($0.8\mu\text{g/ml}$ 未満)であった。また全身性AA型のPIC値は $2.3\pm 0.9\mu\text{g/ml}$ (1.8-3.6)、TTR型 $1.55\mu\text{g/ml}$ (1.5-1.6)、 β 2MG型は $1.5\pm 0.5\mu\text{g/ml}$ (1.0-2.1)といずれもPIC値は $0.9\mu\text{g/ml}$ 以上であった。

D. 考察

PIC値 $0.9\mu\text{g/ml}$ 未満であると、限局性アミロイドーシスに対する感度83%、特異度94.1%、陽性尤度比は13.8、陰性尤度比0.07であった。1臓器でアミロイド沈着が証明されたときに、PIC値が $0.9\mu\text{g/ml}$ 未満なら限局性アミロイドーシスの可能性が極めて高いと判断できることがわかった。

E. 結論

PIC値の測定($0.9\mu\text{g/ml}$ 未満)は、限局性アミロイドーシスと全身性アミロイドーシスとの鑑別に非常に有用である

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Miura N, Uemura Y, Suzuki N, Suga N, Maeda K, Yamaguchi S, Kitagawa W, Yamada H, Nishikawa K, Imai H: An IgA-lambda-type monoclonal immunoglobulin deposition disease associated with membranous features in patient with chronic hepatitis C viral infection and rectal cancer. *Clin Exp Nephrol* 14:90-93, 2010.

2) 三浦直人、今井裕一：血液疾患で生じる急性腎不全. *日内会誌* 99:957-963, 2010.

3) 今井裕一、菅 憲広：AL アミロイド線維形成およびアミロイド線維分解の機序. *別冊 医学のあゆみ アミロイドーシス UPDATE*, 山田正仁(編), 医師薬出版, 東京, pp11-16, 2010.

4) 今井裕一：血液疾患に伴う腎障害. 金澤一郎、永井良三 総編集, *今日の診断指針 第6版*, 医学書院, 東京, pp1061-1063, 2010.

2. 学会発表

1) Suga N, Yamada H, Miura N, Nishikawa K, Imai H: Examination about plasma free light chains removal by a dialysis membrane for the amyloidosis patient of the renal insufficiency. 12th Asian Pacific Congress of Nephrology, Seoul, June 5-8, 2010.

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

AL 型全身性アミロイドーシス患者における遊離軽鎖 (FLC) の産生量の測定と血液濾過透析 (HDF) による除去の検討

研究分担者 今井裕一 愛知医科大学腎臓・リウマチ膠原病内科
 共同研究者 菅 憲広*、三浦直人*、森田博之*、山田晴生**
 *愛知医科大学 腎臓・リウマチ膠原病内科
 **かわな病院内科

研究要旨 AL型全身性アミロイドーシスの治療法として大量化学療法や自家造血幹細胞移植療法の有用性が報告されている。しかし腎臓、肝臓、心臓の臓器障害の程度によっては、それらの治療法が実施できない場合がある。一方、腎不全治療として行なわれている血液透析療法(Hemodialysis: HD)や血液濾過透析療法(Hemodiafiltration: HDF)によって遊離軽鎖(FLC)が除去され、臨床症状が改善したという報告が散見される。腎不全を呈したAL型全身性アミロイドーシス患者において様々な血液透析膜を用いて、FLC除去率を測定した。また、AL型アミロイドーシス患者の血中FLCの産生速度を腎不全患者と比較して、除去率との関係を明らかにした。その結果、PS膜(ABH 18F)を用いたHDFの除去率は、 κ 鎖約70%、 λ 鎖約50%で最も除去効率がよかった。次にAL型全身性アミロイドーシス患者における κ のFLC産生速度は 0.38 ± 0.13 mg/kg/hour、 λ は 0.51 ± 1.03 mg/kg/hourであり、腎不全患者における κ のFLC産生速度 0.12 ± 0.04 mg/kg/hour、 λ は 0.07 ± 0.05 mg/kg/hourと比べ、数倍大きかった。AL型全身性アミロイドーシス患者において、FLCの産生量より除去量が大きくなる透析条件でHDF療法を施行したところ、血中FLC濃度を低下させ、臓器障害を進行させることなく、安定した長期経過を確認した。FLCの産生量と除去量を考慮にいれたHDF療法は、大量化学療法の適応がないAL型アミロイドーシス患者において新しい治療選択の一つになる可能性がある。

A. 研究目的

AL 型全身性アミロイドーシスの治療法として大量化学療法や自家造血幹細胞移植療法が施行されてきているが、治療対象は臓器障害の進行のない症例に限られてきた。そのため、臓器障害が進行した症例では有効な治療法はなかった。一方で、腎不全治療として行なわれている血液透析療法 (Hemodialysis:HD) や 血 液 濾 過 透 析 療 法 (hemodiafiltration : HDF)によって血清 FLC が除去され、臨床症状が改善したという報告がなされている(Nephrol Dial Transplant 2002;17:1689-691)。そこで今回われわれは腎不全を呈した AL 型全身性アミロイドーシス患者において様々な血液透析膜を用いて、遊離軽鎖除去率を測定した。そして、FLC 除去効率の最もよかった血液透析膜による臨床効果も長期観察した。また、AL 型アミロイ

ドーシス患者の血中 FLC の産生速度を腎不全患者と比較し FLC の除去療法の有用性を検討する。

B. 研究方法

AL 型全身性アミロイドーシス患者に対して血液透析膜 (PMMA 膜、PEPA 膜、PS 膜)や透析条件(HD、HDF)を一定期間毎に変更し、透析前後の血清 FLC 濃度を測定した。透析後の FLC 濃度は除水による濃縮の影響を受けるので、血清総蛋白値補正を行なった。

除去率は下記の式で求めた

$$\text{除去率(\%)} = (\text{透析前 FLC 濃度} - \text{透析後 FLC 濃度}) / \text{透析前 FLC 濃度} \times 100$$

FLC の産生速度は透析日間の FLC 増加速度と尿中への FLC 排泄速度から求めた。

$$\text{FLC 産生速度(mg/hr)} = \text{透析日間 FLC 増加速度} +$$

透析日間尿中 FLC 排泄速度

(倫理面への配慮)

この治療的研究は、当大学倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

κ 鎖が λ 鎖より除去されやすく、またHDよりHDFの除去率が高いことがわかった。PS膜(ABH 18F)を用いたHDFの除去率は、 κ 鎖約70%、 λ 鎖約50%で最も除去効率がよかった。次にAL型全身性アミロイドーシス患者における κ のFLC産生速度は 0.38 ± 0.13 mg/kg/hour、 λ は 0.51 ± 1.03 mg/kg/hourであり、腎不全患者における κ のFLC産生速度 0.12 ± 0.04 mg/kg/hour、 λ 0.07 ± 0.05 mg/kg/hourと比べ、数倍大きかった。AL型全身性アミロイドーシス患者において、FLCの産生量より除去量が大きくなる透析条件でHDF療法を施行したところ、血中FLC濃度を低下させ、臓器障害を進行させることなく、安定した長期経過を確認した。

D. 考察

残腎機能が十分にあり、尿からのFLC排泄や異常蛋白の処理が期待できる早期の腎不全であれば、血液透析膜を使ったHDF療法で血中のFLC濃度を低下させ、臓器障害の進行させないことが確認された。従来腎不全患者に行われているHDF療法が、大量化学療法の適応がないAL型アミロイドーシス患者の新しい治療選択の一つになる可能性がある。

E. 結論

今後さらに検討を進めて、FLC除去に関して最も適した透析条件の確立とFLC産生量を考慮した治療戦略を確立する。新しい治療戦略が確立されると腎不全に至ったアミロイドーシス患者の治療改善に大きな貢献が期待できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miura N, Uemura Y, Suzuki N, Suga N, Maeda K, Yamaguchi S, Kitagawa W, Yamada H, Nishikawa K, Imai H: An IgA-lambda-type monoclonal immunoglobulin deposition disease associated with membranous features in patient with chronic hepatitis C viral infection and rectal cancer. *Clin Exp Nephrol* 14:90-93, 2010.
- 2) 三浦直人、今井裕一：血液疾患で生じる急性腎不全. *日内会誌* 99:957-963, 2010.
- 3) 今井裕一、菅 憲広：AL アミロイド線維形成およびアミロイド線維分解の機序. *別冊 医学のあゆみ アミロイドーシス UPDATE*, 山田正仁(編), 医師薬出版, 東京, pp11-16, 2010.
- 4) 今井裕一：血液疾患に伴う腎障害. 金澤一郎、永井良三 総編集, *今日の診断指針 第6版*, 医学書院, 東京, pp1061-1063, 2010.

2. 学会発表

- 1) Suga N, Yamada H, Miura N, Nishikawa K, Imai H: Examination about plasma free light chains removal by a dialysis membrane for the amyloidosis patient of the renal insufficiency. 12th Asian Pacific Congress of Nephrology, Seoul, June 5-8, 2010.

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