

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

ヒト母乳中に存在する血清アミロイド A に関する研究

研究協力者 公文義雄 高知大学医学部病態情報診断学

共同研究者 安岡由夏*、山中茂雄*、竹内啓晃*、和田厚文**、杉浦哲朗*

*高知大学医学部病態情報診断学、

**栄研化学株式会社営業統括部マーケティング推進室

研究要旨 急性期 SAA(A-SAA)はほぼ全身の臓器で発現していることが報告されているが、肝外産生型の SAA3 はヒトでは発現が確認されておらず、母乳中の A-SAA の存在は確認されていない。今回、我々は、17 人の産褥婦から得られた初乳及び母乳を用いて、母乳中の A-SAA の存在及びその様式、A-SAA 濃度について検討した。母乳中には抗ヒト SAA1 抗体に反応する A-SAA とその分解産物が存在した。A-SAA は HDL 粒子を形成していると考えられたが、母乳 HDL には血中 HDL の主要構成蛋白であるアポ AI は含まれておらず、A-SAA は乳腺局所で産生され分泌されていると考えられた。初乳及び母乳中 A-SAA 濃度は約 1 μ g/ml と血中濃度よりも若干低値であり、乳腺炎などの炎症性の変化を受けなかった。A-SAA は自然免疫に関与することが報告されており、ヒト A-SAA は消化管や乳腺で生体防衛的に作用している可能性があると考えられる。

A. 研究目的

ヒト血清アミロイド A(SAA)は急性期に増加する acute-phase SAA (A-SAA)と変動が少なく恒常的に存在する constitutive SAA (C-SAA, SAA4)に大別され、ともに血中では high-density lipoprotein (HDL)上に存在する。A-SAA は主に肝で産生される SAA1, SAA2 と、肝外産生である SAA3 から成るが、ヒト SAA3 遺伝子は他の哺乳類と異なり pseudogene となっており、ヒト SAA3 は臨床的にはその存在が確認されていない。一方、SAA1, SAA2 も少量ながら多くの全身組織で発現され、免疫組織学的に乳腺細胞などにも存在していることが近年明らかにされている。今回我々は、ヒト母乳中に A-SAA が存在するか否か、存在するのであればその存在様式や濃度について検討した。

B. 研究方法

17 人の産褥婦を対象に、初乳及び母乳を得て試料とした。得られた試料に EDTA を加えて、実験に使用するまで 4 $^{\circ}$ C 及び -30 $^{\circ}$ C に保存した。これを用いて、1.母乳中のリポ蛋白、2.ウェスタンブ

ロティングを用いた A-SAA の確認、3.ELISA による母乳 A-SAA 濃度の測定を行った。

(倫理面への配慮)

倫理委員会にて研究内容の承認を受け、試料供与者からは文書による同意を得て研究を行った。

C. 研究結果

1. 母乳中に存在するリポ蛋白

出産後 5 日目の母乳を HPLC 法 (スカイライトバイオテック社、秋田) を用いて分析した。母乳中に多くのリポ蛋白の存在を確認したが、血中 HDL の出現位置に一致して中性脂肪に富んだコレステロールやリン脂質を含む小ピークを確認した。

2. ウェスタンブロットングを用いた母乳 A-SAA の存在確認

我々が作成したヒト SAA1 に特異的なマウスモノクローナル抗体(SAA1 の 64-78 を特異的に認識する)を用い、1:100 の割合で母乳に加えて免疫沈降を行った。得られた試料を 15%SDS-PAGE にて展開し、PVDF 膜上に転写して抗 SAA1 抗体を用

いて発色した。母乳には抗 SAA1 抗体に反応する約 8~12kDa の 3 つのバンドを認め、抗体の反応特異性より少なくともそれらは SAA1 とその分解産物と考えられた。

次に、健常人及び急性期炎症血清 1 μ l と母乳 5 μ l を non-denatured 10% PAGE にて展開し、PVDF 膜上に転写して 1:1000 希釈した抗アポ AI 抗体と抗 SAA1 抗体を用いて発色した。母乳中に抗 SAA1 抗体に反応するバンドを HDL と一致する部位に認めた。一方、HDL サイズに一致して血清中にアポ AI のスポットを認めたが、母乳の同じ部位には抗アポ AI 抗体に反応するスポットを認めなかった。

3. ELISA による母乳中の A-SAA 濃度の測定

母乳及び初乳中の A-SAA 濃度を ELISA (臨床病理 46: 1252, 1998)を用いて測定した。試料は遠心機にて不純物を取り除き(3000rpm, 10分)、可溶性部分である乳清を用いて測定した。測定感度は 40 pg/ml であった。

初乳中にも A-SAA は含まれており、産後増加した。A-SAA は出産後 3 日目にほぼピークに達し、その後は概して一定であった。その濃度は平均約 1 μ g/ml であり、個人的に異なっていた。また、1~8 ヶ月にわたる A-SAA 濃度の経過観察では、その濃度にほぼ変動を認めず、急性上気道炎や乳腺炎など全身性炎症を発症時でも変動を認めなかった。

D. 考察

今回、ヒト母乳には 8~12kDa の少なくとも SAA1 を含んだ A-SAA 及びその分解産物が低濃度ながら存在することを確認した。母乳中の A-SAA は血中と同様に HDL サイズのリポ蛋白を形成して存在した。しかし、A-SAA を含む母乳中の HDL サイズのリポ蛋白粒子には、血中では通常存在するアポ AI は含まれておらず、母乳中の A-SAA は血中とはその存在の様式が明らかに異なっていた。母乳は血清由来ではなく乳腺で作られ分泌されていることより、母乳中の A-SAA も乳腺局所で合成され、分泌されていると考えられた。

母乳中の A-SAA は出産後第一日目の初乳から認められ、その濃度は血清レベルと同等或いは若

干低値であり、全身性の炎症とは無関係であったことは興味深い。母乳中 A-SAA 濃度にどのような因子が影響するのか明らかにしえなかった。

現在、ヒト母乳中に存在する A-SAA の生理的意義は不明である。A-SAA はグラム陰性桿菌に結合して貪食細胞に対しオプソニン作用を示したり、大腸菌の腸上皮細胞への接着を A-SAA が直接抑制する作用などが報告されており、A-SAA は腸上皮の炎症を抑えることが明らかとなっている。また、ヒト SAA3 は存在が確認されていないが、理論上存在しうる 42-mer の合成ペプチドは、培養小腸細胞に対してムチン産生を促し、病原大腸菌の付着を抑制させる作用があることが実験上報告されているなど生理活性を示す責任アミノ酸を考える上で興味深い。何れにしてもヒト母乳中の A-SAA 濃度は、このような生理活性を示す A-SAA 濃度を超えていることより、A-SAA はヒトでも消化管や乳腺の自然免疫に関与し、防御的に作用している可能性があると考えられる。

E. 結論

ヒト初乳及び母乳中には A-SAA 及び分解産物が存在した。母乳中 A-SAA は HDL 上に存在するものの、その構成は血中のものとは異なり、乳腺局所で産生されている可能性がある。A-SAA は初乳のみならず 8 ヶ月の母乳でも認められ、母乳 A-SAA 濃度は約 1 μ g/ml と血中のそれよりやや低値であり、全身性炎症の影響はあまり受けなかった。

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

1) Kumon Y, Yasuoka Y, Yamanaka S, Takeuchi A, Sugiura T: Acute-phase serum amyloid A is present in human colostrum and milk. XII International symposium on a myloidosis "From molecular mechanisms toward the cure of systemic amyloidoses",

Rome, Italia, 4.18-21, 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

AA アミロイドーシス合併関節リウマチの診断時臨床像の変遷と 長期予後の改善

研究分担者 奥田恭章 道後温泉病院リウマチセンター内科
共同研究者 山田俊幸 自治医科大学臨床検査医学

研究要旨 AAアミロイドーシス合併関節リウマチ(RA)の診断時臨床像の変遷と長期予後の改善を明らかにするために、2009年末までに当院で診断されたAAアミロイドーシス合併RA 405例を1980年代診断例(n=52)、1990年代診断例(n=211)、2000年代診断例(n=142)に分け、AAアミロイドーシスの診断時年齢、診断前炎症値、新規アミロイドーシス合併頻度の変化を調査し、各診断年代別の長期予後 Kaplan-Meier法で比較・検討した。診断時年齢は、年代とともにそれぞれ有意に高齢化した(p=0.008)。診断前CRP値は、1980年代、1990年代前半、1990年代後半、2000年代前半、2000年代後半のアミロイド発症前1年の中央値は、それぞれ年代とともに有意に低下した(p<0.001)。新規アミロイドーシス合併頻度は消化管生検スクリーニングを開始した1990年代前半以降5年毎の調査でそれぞれ年代とともに有意に低下した(p=0.03)。1980年代、1990年代、2000年代の症例群の5年生存率及び10年生存率は、それぞれ有意に改善を認めた(p<0.001)。RAに対する薬物療法の進歩、AAアミロイドーシスに対する早期診断及び管理の実践がこれらの変化に関与していると考えられた。

A. 研究目的

関節リウマチ(RA)合併AAアミロイドーシスの診断時臨床像の変遷と長期予後の改善を明らかにする。

B. 研究方法

1.2009年末までに当院で診断されたAAアミロイドーシス合併RA 405例を1980年代診断例(n=52)、1990年代診断例(n=211)、2000年代診断例(n=142)に分け、AAアミロイドーシスの診断時年齢、診断前の炎症値、新規アミロイドーシス合併頻度の変化を調査した。

2.各診断年代別の長期予後をKaplan-Meier法で比較・検討した。

(倫理面への配慮)

SAAlexon3多型の解析は、当院倫理委員会で承認された同意書を用い、インフォームドコンセントを得た後に採血、解析を行った。

C. 研究結果

1. AAアミロイドーシス合併RAの診断時年齢は、

1980年代、1990年代前半、1990年代後半、2000年代前半、2000年代後半にそれぞれ平均61.0歳、63.5歳、63.8歳、65.7歳、68.2歳と年代を経るにしたがって有意に高齢化を認めた(p=0.008)(図1)。診断前CRP値は、のアミロイド発症前1年の中央値は、それぞれ5.5mg/dl、5.4mg/dl、4.2mg/dl、4.0mg/dl、2.7mg/dlと年代とともに有意に低下した(p<0.001)(図2)。新規アミロイドーシス合併頻度は消化管生検スクリーニングを開始した1990年代前半以降5年毎の調査でそれぞれ7.8%、5.9%、5.4%、5.3%と年代とともに有意に低下した(p=0.03)(図3)。

2. 1980年代、1990年代、2000年代の症例群の5年生存率は、それぞれ46.2%、61.6%、78.7%、10年生存率は、それぞれ28.2%、46.9%、56.8%と有意に改善を認めた(p<0.001)(図4)。

D. 考察

臓器障害進行期に診断されたAAアミロイドーシスの治療及び管理は困難をきわめることが多く、その長期予後は不良であった。そのような臨床経

験から、我々は AA アミロイドーシスに対する早期診断の試みとして感度の優れた上部消化管（胃・十二指腸）の生検スクリーニングを 1989 年末より RA 症例に対して症状の有無にかかわらず、積極的に行ってきた。無症候あるいは症状が軽度の段階で AA アミロイドーシスの診断を行い、原疾患である RA の治療及び補助療法を強化することにより、進行期に見られる低タンパク、低アルブミン血症、低ガンマグロブリン血症などが引き起こす易感染状態から日和見感染を発症する比率を下げ、原疾患の積極的治療を可能にするとともに、その長期予後を改善させるためである。一方、RA に対する薬物療法は少ない抗リウマチ剤の単剤による治療の時代から、メトトレキサート（MTX）の早期からの治療と高用量使用、MTX と他の抗リウマチ剤との併用療法やタクロリムス等の新しい免疫抑制剤の使用により治療成績の改善が認められた。さらにもっとも画期的な治療法として生物学製剤（抗サイトカイン療法）が 2003 年から臨床の場で使用可能になり、より強力な炎症の抑制が可能になった。早期診断への試みと共に治療法の変遷は、AA アミロイドーシス発症の有意な高齢化、発症頻度の減少、炎症抑制が、我々の上部消化管生検スクリーニングによる疫学調査より、明らかとなった。また、治療の進歩は発症した AA アミロイドーシスに対する治療に有効に働き、その長期予後は年代の変遷とともに着実に改善を示し、今後さらなる発症頻度の減少と予後の改善が期待される。問題点としては、慢性感染症を有する例への治療における有害事象への対応や生物学的製剤使用による治療費が高額であることから、有用性が望まれながら治療が行えない症例が一部に存在し、これらの症例への行政的、社会的な対応が重要であると考えられる。

E. 結論

AA アミロイドーシス合併 RA の診断時臨床像の変化（高齢化、炎症の低下、頻度減少）が明らかになるとともに、早期診断及び治療法の進歩によると思われる有意な予後の改善が認められた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kishida D, Okuda Y, Onishi M, Takebayashi M, Matoba K, Jouyama K, Yamada A, Sawada N, Mokuda S, Takasugi K: Successful tocilizumab treatment in a patient with adult-onset Still's disease complicated by chronic hepatitis B and amyloid A amyloidosis. *Mod Rheumatol*, in press.
- 2) 奥田恭章：免疫抑制剤の臨床応用実践論：反応性 AA アミロイドーシス. *炎症と免疫* 18:397-401, 2010.
- 3) 奥田恭章：関節リウマチセミナー/実地医家が知っておくべき最新の知識とその活用法：注意すべき合併症—AA アミロイドーシス. *Medical Practice* 27:2049-2053, 2010.
- 4) 奥田恭章：生物学的製剤の有効性：RA に伴う症状に対する効果は？（貧血・AA アミロイドーシスなど）. 竹内勤（編）*ファーマナビゲーター リウマチ—生物学的製剤編一*, メディカルレビュー社, 東京, pp116-118, 2010.
- 5) 奥田恭章：2 次性アミロイドーシス. 西本憲弘（編）*トシリズマブケーススタディー*, メディカルレビュー社, 東京, pp48-53, 2010.

2. 学会発表

- 1) 奥田恭章：リウマチとアミロイドーシス. リウマチ臨床セミナー、愛媛、3.6、2010.
- 2) 奥田恭章：AA アミロイドーシスの臨床—病態及び診断と治療の進歩. 日本リウマチ学会総会・学術集会、東京、4.22-25、2010.
- 3) 山田俊幸、奥田恭章：SAA1 と HDL の親和性. 日本リウマチ学会総会・学術集会、東京、4.22-25、2010.
- 4) 奥田恭章：関節リウマチと反応性 AA アミロイドーシス-当院症例の検討を中心に. AA アミロイドーシス臨床研究会、東京、5.1、2010.
- 5) 奥田恭章：関節リウマチにおける関節外症状と合併症—当院における AA アミロイドーシスの検討を中心に—. 新潟 Biologics Meeting、新潟、10.29、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

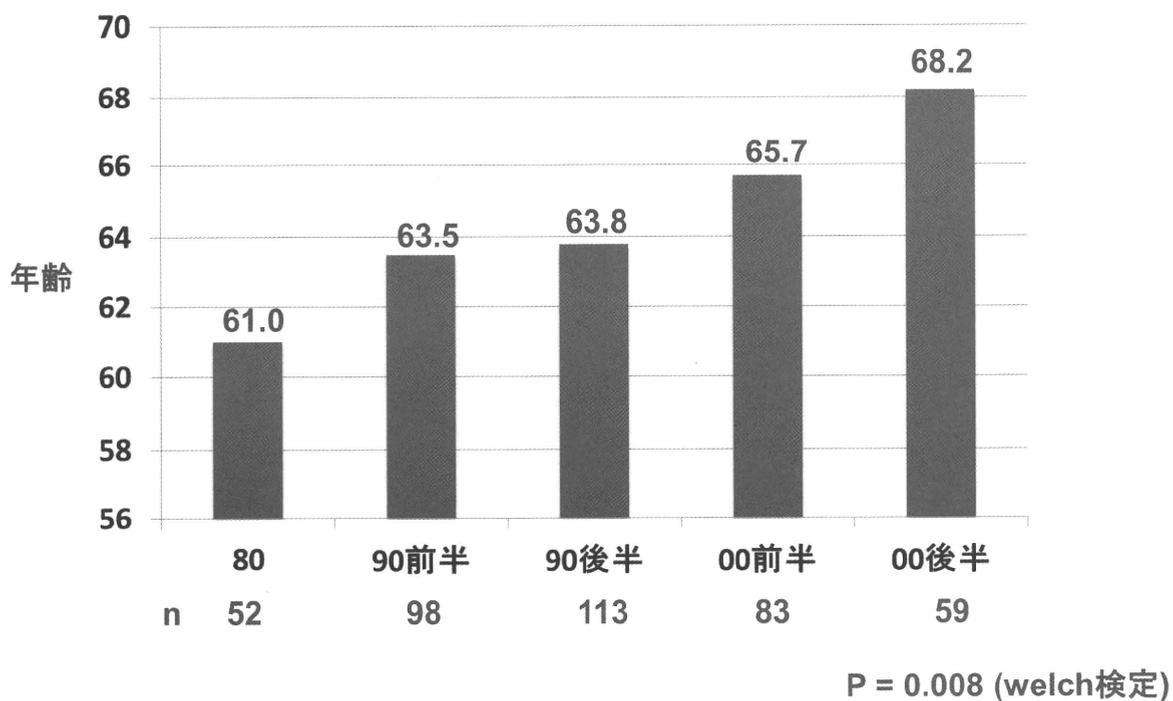
2. 実用新案登録

なし

3. その他

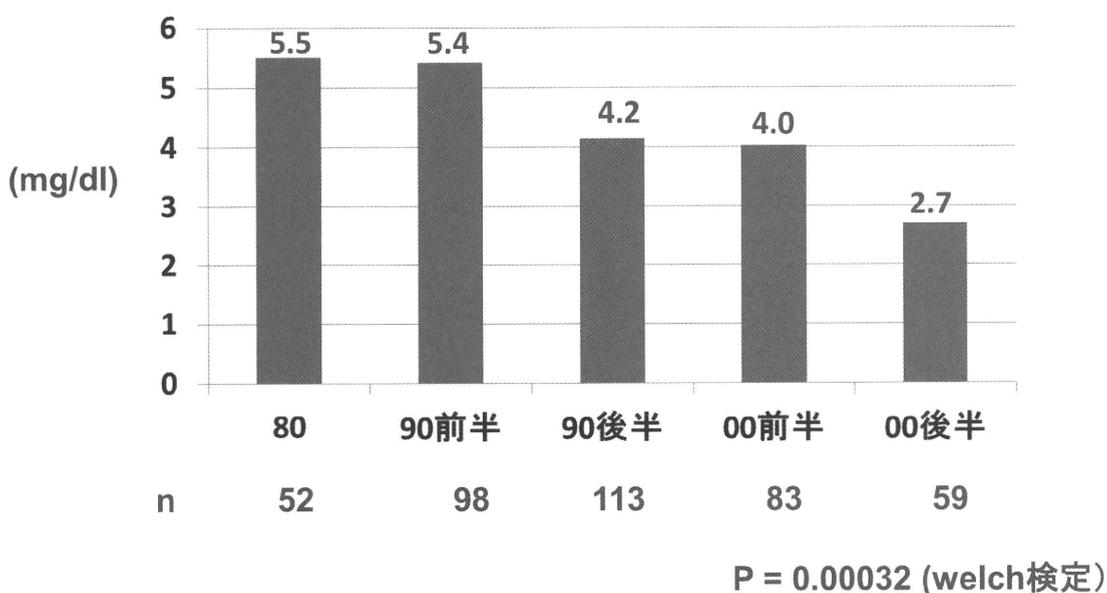
なし

図1. アミロイド診断時年齢 (n = 405)



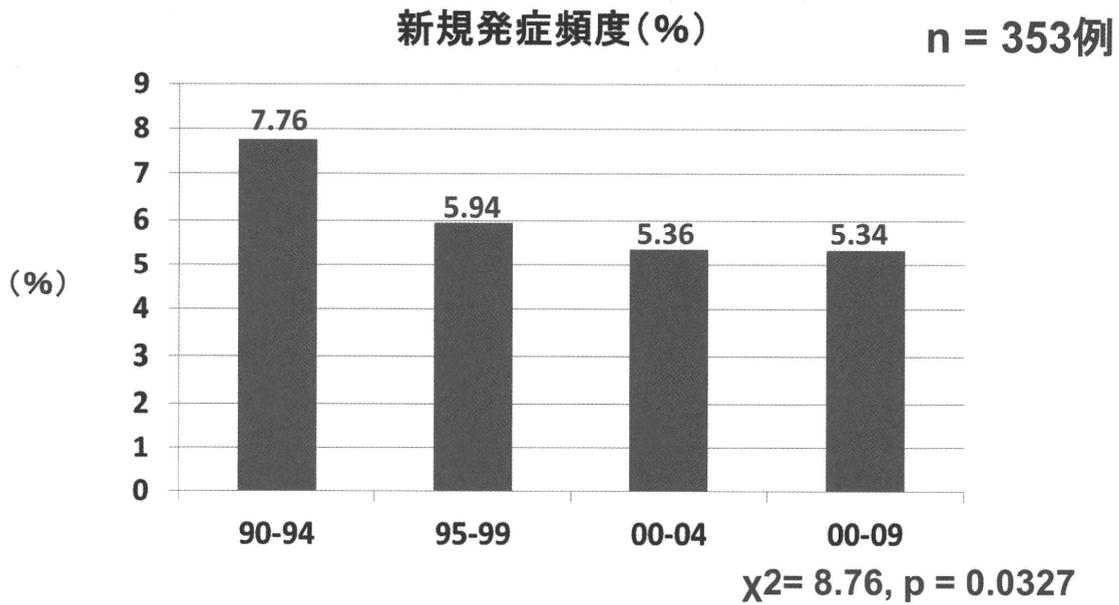
年代とともにAAアミロイドーシス診断時年齢は有意に高齢化していった。

図2. AAアミロイドーシス診断前
1年間のCRP中央値



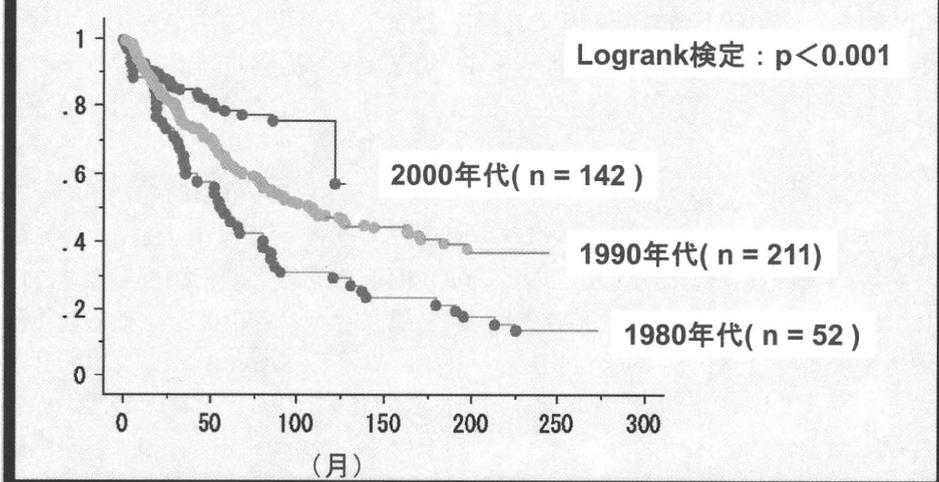
関節リウマチ治療の進歩に伴い、年代とともに炎症値は低下を示した。

図3. 5年毎のAAアミロイドーシス合併頻度の変遷
(上部消化管生検スクリーニング:5463例)



関節リウマチ治療の進歩に伴い、AAアミロイドーシス新規発症頻度は低下を示した。

図4. AAアミロイドーシスの長期予後 (n = 405)



年代	5年生存率(%)	10年生存率(%)
1980年代	46.2	28.8
1990年代	61.6	46.9
2000年代	78.7	56.8

80 vs. 90: $p = 0.0013$
90 vs. 00: $p = 0.006$

年代とともに関節リウマチ合併AAアミロイドーシスの予後は有意に改善を認めた。

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

関節リウマチ (RA) 合併 AA アミロイドーシスの治療- SAA1.3 アリルの治療感受性因子としての意義

研究協力者 中村 正 熊本リウマチセンター

共同研究者 東 修一*、友田邦彦*、東野通志*、植田光晴**、安東由喜雄**

*熊本リウマチセンター、**熊本大学大学院病態情報解析学

研究要旨 日本人 RA において遺伝素因 SAA1.3 アリルは、AA アミロイドーシスの合併及び臨床的重篤性に影響を与え生命予後の不良因子であるが、治療感受性因子としての検討はなされていない。アルキル化剤(シクロホスファミド:CYC)と生物学的製剤(エタネルセプト:ETN)による治療効果を比較し、SAA1.3 アリルの RA 合併 AA アミロイドーシスの治療に与える影響を検討した。SAA1.3 アリルの有無を検討し組織学的に確定した RA 合併 AA アミロイドーシス 62 例[36 生存(男 8、女 28:平均 65.7 歳)、26 死亡(男 3、女 23:71.9 歳)]に CYC 治療を、14 例[11 生存(男 2、女 9:64.2 歳)、3 死亡(女 3:66.0 歳)]に ETN 治療を行うと、(1)SAA1.3 ホモ群ではそれ以外のアリル群に比し、RA 発症からの時間や AA アミロイドーシス診断からの時間が有意に短かった($p=0.016$ 及び $p=0.04$)。 (2) ETN は CYC に比べ血清 C-反応性蛋白値(CRP)と血清アルブミン値(Alb)を有意に改善した(いずれも $p<0.01$)。 (3) ETN は統計学的に CRP、Alb、推算糸球体濾過量(eGFR)を改善し(順に $p<0.01$ ・ $p<0.01$ ・ $p=0.032$)、これらは治療効果の指標として有用であった。 (4) SAA1.3 アリルは CYC 及び ETN 治療の経過と効果には影響を与えなかった(交互作用はすべての指標で $p>0.05$)。 RA 合併 AA アミロイドーシスへの治療はアルキル化剤よりも生物学的製剤がより有効であると予想され、また、RA 合併 AA アミロイドーシスへの治療目標は、AA アミロイドーシス合併以前のリウマトイド炎症のコントロールに集約される。今回の解析から、遺伝素因 SAA1.3 アリルは治療効果や経過に影響を与える因子とはなりえず、また、AA アミロイドーシス合併下のリウマトイド炎症と AA アミロイドーシスへの ETN と CYC 治療の効果判定の指標として CRP・Alb・eGFR が推奨された。

A. 研究目的

日本人 RA において遺伝素因 SAA1.3 アリルは AA アミロイドーシスの合併及び臨床的重篤性の危険因子で、生命予後不良因子でもある。SAA1.3 アリルと RA 合併 AA アミロイドーシスの治療法との相関を検討する。

B. 研究方法

(1)SAA1.3 アリルの有無を検討し組織学的に確定した RA 合併 AA アミロイドーシス 62 例[36 生存(男 8、女 28:平均 65.7 歳)、26 死亡(男 3、女 23:71.9 歳)]にシクロホスファミド(CYC)、14 例[11 生存(男 2、女 9:64.2 歳)、3 死亡(女 3:66.0 歳)]にエタネルセプト(ETN)治療を行った。(2)血

清 C-反応性蛋白値(CRP)、血清アルブミン値(Alb)、血清クレアチニン値(Crea)、推算糸球体濾過量(eGFR)を治療効果の指標とした。(3)2 薬剤の開始前と観察時点の各指標を比較し、統計学的に治療効果に与える SAA1.3 アリルホモ群とそれ以外の遺伝多型群での影響を検討した。(4)各指標に対しパラメトリック検定二元配置反復測定分散分析を行なった。(5)48 歳、男性、長期罹病治療抵抗性 RA 合併 AA アミロイドーシスの一例を呈示した。

(倫理面への配慮)

研究計画は当施設倫理委員会で検討され許可を得た。全ての症例に対し、研究への参加、生検実施でのインフォームドコンセントを書面で取

得した。

C. 研究結果

(1)SAA1.3ホモ群ではそれ以外の遺伝多型群に比し、RA発症からの時間やAAアミロイドーシス診断からの時間が有意に短かった($p=0.016$ 及び $p=0.04$)(表1)。(2)ETNはCYCに比べCRPとAlbを有意に改善した(いずれも $p<0.01$)(表2)。(3)ETNは統計学的にCRP・Alb・eGFRを改善し(順に $p<0.01$ ・ $p<0.01$ ・ $p=0.032$)(表2)、これらは治療効果の指標として有用であった。(4)SAA1.3アリルはCYC及びETN治療の経過と効果には影響を与えなかった(交互作用はすべての指標で $p>0.05$)(表2)(図1)。(5)SAA1.5アリルホモを有する48歳、RA罹病歴20年以上の治療抵抗性男性例が、消化器症状・るいそう・胸水貯留で入院したが、AAアミロイドーシスの合併を認め、複数の生物学的製剤を含む種々の治療に全く反応せず6ヵ月後に鬼籍に入った。

D. 考察

RA 合併 AA アミロイドーシスへの治療はアルキル化剤よりも生物学的製剤がより有効であると類推されたが、RA 合併 AA アミロイドーシスの治療目標はAAアミロイドーシス合併前のリウマトイド炎症のコントロールに集約される。即ち、**the earlier intervention with biologics, the better outcome with functional remissions**を念頭にRAへの加療を積極的に行うことが求められ、その際、遺伝素因 SAA1.3 アリルは治療効果や経過に影響を与える因子とはなりえず、また、いったん AA アミロイドーシスが合併したときのリウマトイド炎症とAAアミロイドーシスへのアルキル化剤あるいは生物学的製剤による治療の効果判定の指標としてCRP・Alb・eGFRが推奨された。このことは、基礎疾患としてのRAに対し早期に治療介入し、リウマトイド炎症を制御することがAAアミロイドーシス合併の予防となることを示唆している。

E. 結論

RA 合併 AA アミロイドーシスの治療は生物学的製剤がアルキル化剤よりも有益であり、遺伝素因 SAA1.3 アリルは治療感受性因子とはなりえな

かった。基礎疾患 RA への早期からの強力な治療介入がAAアミロイドーシス合併の予防となり得る。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakamura T, Higashi S, Tomoda K, Tsukano M, Arizono K, Nakamura T: Etanercept treatment in patients with rheumatoid arthritis on dialysis. *Rheumatol Int* 30:527-1528, 2010.
- 2) Migita K, Nakamura T, Koga T, Eguchi K: HLA-DRB1 alleles and rheumatoid arthritis-related pulmonary fibrosis. *J Rheumatol* 37:205-207, 2010.
- 3) Nakamura T, Higashi S, Tomoda K, Tsukano M, Shono M: Etanercept can induce resolution of renal deterioration in patients with amyloid A amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 29:1395-1401, 2010.
- 4) Nakamura T, Higashi S, Tomoda K, Tsukano M, Iyama K: Cutaneous nodules in patients with rheumatoid arthritis: a case report and review of literatures. *Clin Rheumatol*, in press.

2. 学会発表

- 1) 中村 正、東 修一、友田邦彦、東野通志、馬場 聡、庄野昌博：関節リウマチに合併するAAアミロイドーシスの治療戦略。第39回九州リウマチ学会、福岡、3.6-7、2010.
- 2) 中村 正、東 修一、友田邦彦、東野通志、馬場 聡、庄野昌博、安東由喜雄、右田清志：アミロイドーシス、特に関節リウマチ合併アミロイドAアミロイドーシスについて。第54回日本リウマチ学会総会、東京、4.22-25、2010.
- 3) 右田清志、中村 正、宮下賜一郎、和泉泰衛、古賀智裕、江口勝美：アミロイドーシス合併 RA患者におけるSAA1遺伝子多型とSAAの蛋白分解。第54回日本リウマチ学会総会、東京、4.22-25、2010.
- 4) 中村 正、東 修一、友田邦彦、東野通志、馬場 聡：関節リウマチ合併AAアミロイドーシス

における治療と遺伝素因 SAA1.3 アリルとの相関.
第 54 回日本リウマチ学会総会、東京、4.22-25、
2010.

5) 中村 正、東 修一、友田邦彦、東野通志、有
菌健二、中村享道：透析療法下の関節リウマチ症
例におけるエタネルセプト治療. 第 54 回日本リ
ウマチ学会総会、東京、4.22-25、2010.

6) 中村 正、東 修一、友田邦彦、東野通志:非
典型関節リウマチ症例での生物学的製剤導入の
検討. 第 54 回日本リウマチ学会総会、東京、
4.22-25、2010.

7) 右田清志、中村 正、宮下賜一郎、和泉泰衛、
江口勝美：間質性肺炎合併 RA 患者における遺伝
子多型の解析. 第 54 回日本リウマチ学会総会、東
京、4.22-25、2010.

8) 中村 正、東 修一、友田邦彦、工藤博徳、久
賀 太、坂口 満、東野通志：関節リウマチ (RA)
における生物学的製剤選択順序の予備的考察. 第
40 回九州リウマチ学会、鹿児島、9.4-5、2010.

9) 中村 正、東 修一、工藤博徳、友田邦彦、東
野通志：RA 治療下肺間質性陰影出現時の対応：
ニューモシスチス肺炎(PCP)を想定して. 第 25 回
日本臨床リウマチ学会、東京、11.27-28、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

表 1. 対象症例のまとめ

SAA1.3 アレル	治療	症例数		治療期間 (週)	RA発症 (歳)	RA罹病期間 (年)	AAアミロイドーシス 診断から(年)
		生/死	男/女				
ホモ	CYC	16/6	3/19	136.0±99.1	50.0±12.5	15.7±8.7	6.5±5.9
	ETN	3/2	1/4	120.8±78.1	50.0±8.3	18.0±7.1	9.0±7.0
ホモ 以外	CYC	20/20	8/32	156.7±114.0	47.5±14.0	23.5±11.1	9.3±4.5
	ETN	8/1	1/8	152.9±61.9	42.6±11.0	19.6±8.1	9.1±6.6

a)P=0.289、 b)P=0.016、 c)P=0.128、 d)P=0.51、 e)P=0.006、 f)P=0.04

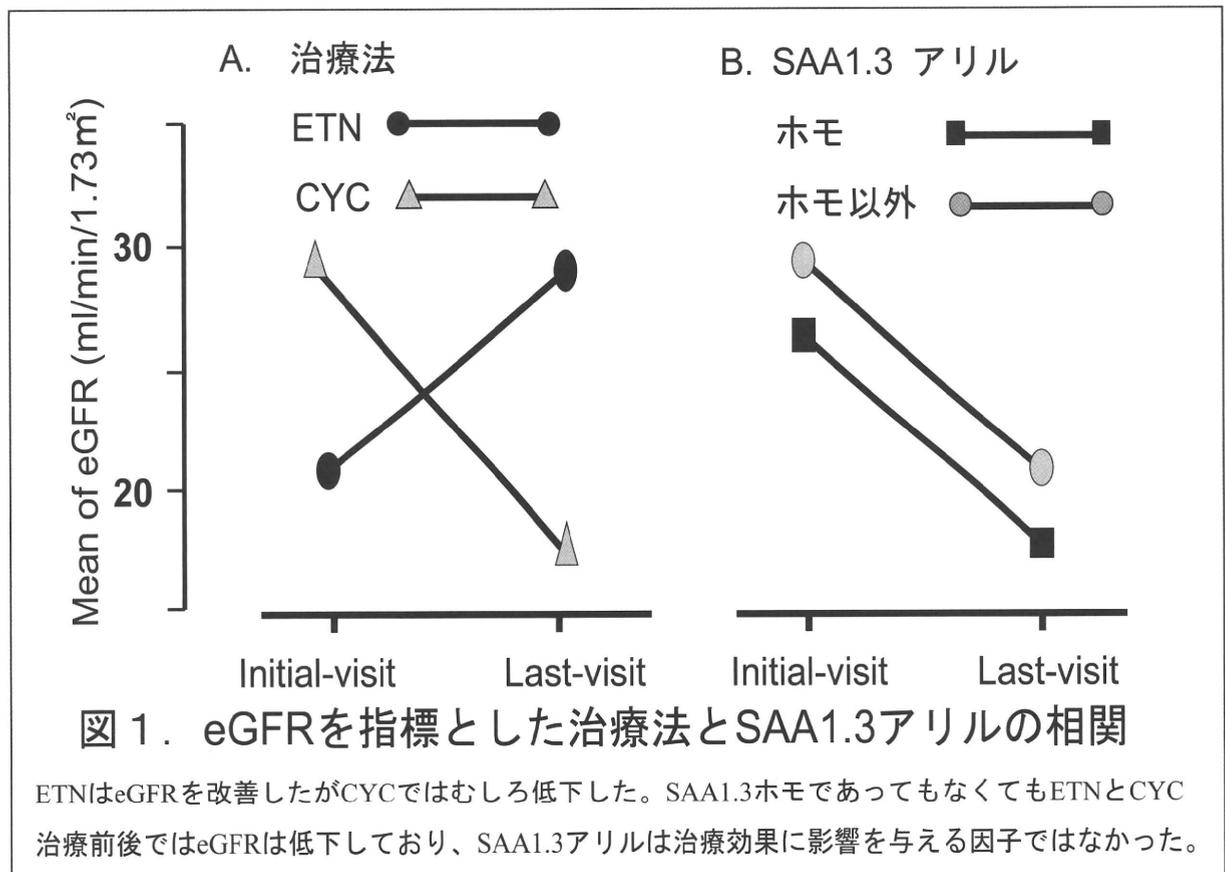
RA発症年齢は有意差はない[a]ものの、SAA1.3ホモを有するとRA罹病期間は統計学的に有意に短期間でAAアミロイドーシスを合併する[b]。また、CYC治療では明らかにSAA1.3ホモの群がRA罹病期間やAAアミロイドーシス診断からの時間が短かった[e]、f]。このことはSAA1.3アレルは日本人RAIにおいてAAアミロイドーシス合併の危険因子であることを示唆している。

表 2. パラメトリック検定二元配置反復測定分散分析

項目	CRP		Alb		eGFR		Crea	
	F-値	P-値	F-値	P-値	F-値	P-値	F-値	P-値
症例間の 要因	132.06	<u>0.000</u>	54.71	<u>0.000</u>	1.46	<u>0.035</u>	3.05	0.085

交互作用								
SAA1.3アレル 多型	0.08	0.777	0.13	0.715	0.54	0.465	1.48	0.228
治療 (ETN/CYC)	38.52	<u>0.000</u>	50.20	<u>0.000</u>	4.78	<u>0.032</u>	2.14	0.148

各パラメータはCreaを除き統計学的に有意性を示し、症例間での治療指標たり得、これら3指標はETNとCYC治療に関わらず治療反応性を示す指標でもあった。これらにSAA1.3アレルの要素を加味しても有意差はなく、SAA1.3アレルはETNとCYC治療には影響を与えなかった。



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

生物学的製剤使用による関節リウマチ合併アミロイドーシスの 生命予後の検討

研究分担者 西 慎一 神戸大学大学院医学研究科腎臓内科 腎・血液浄化センター
 共同研究者 黒田 毅*、和田庸子*、中野正明**

*新潟大学大学院医歯学総合研究科腎・膠原病内科学分野、

**新潟大学医学部保健学科

研究要旨 関節リウマチに合併した反応性 AA アミロイドーシス 133 例を検討した。53 例に対して生物学的製剤を使用し、使用されなかった 80 症例と患者背景、生命予後、透析導入率に関して、レトロスペクティブに検討した。生物学的製剤で治療することにより、生命予後は有意に改善し、透析導入は減少する傾向を認めた。

A. 研究目的

関節リウマチ (RA)は、関節のみならず多彩な関節外症状を来す疾患である。反応性 AA アミロイドーシスは進行期の RA の重要な合併症の一つで、予後は不良である。アミロイドの生成機序は、関節炎の局所で産生される Interleukin-6 (IL-6)、Tumor necrosis factor- α (TNF- α)等の炎症性サイトカインが血液を介して肝臓に運ばれ Serum amyloid A 蛋白(SAA)が生成される。SAAが長期間、高濃度で存在するため重合が起こり組織に沈着し、機能障害を起こすと考えられている。我々は、これらの炎症性サイトカインを阻害する生物学的製剤を使用し、RA の関節症状の改善のみならず肝臓での SAA の産生の低下、組織に沈着したアミロイドの除去を報告した(Kuroda T, *et al.* J Rheumatol 2009;36:2409)。一方、アミロイドーシス症例では様々な基礎疾患を持ち、これらのサイトカインを阻害する生物学的製剤は免疫を抑制するため、感染症を初めとする種々の合併症のリスクも高く、これらを使用した長期予後に関しては明らかではない。以上のような問題点を明らかにするため、アミロイドーシス診断後、生物学的製剤で治療された症例(以下、生物学的製剤使用者)とされなかった症例(以下、生物学的製剤非使用者)の患者背景、生命予後、透析導入率を検討し本症に対する薬剤の有効性を検討した。

B. 研究方法

アミロイドーシスを合併した RA 症例 133 例(男性 9 例、女性 124 例)。生物学的製剤使用者 53 例と非使用者 80 例をレトロスペクティブに検討した。生物学的製剤が使用可能になった時期がアミロイドーシス診断から期間を経た症例もあるため、生物学的製剤使用者の解析は生物学的製剤使用時からとし、統計学的には生物学的製剤使用者が不利な条件で検討した。2 群の、患者背景、生命予後、透析導入率を検討し SPSS で解析した。
 (倫理面への配慮)
 問題なし。

C. 研究結果

対象は 1982 年からのアミロイドーシスを合併した RA 症例 133 例 (男性 9 例、女性 124 例)。生物学的製剤使用者 53 例と生物学的製剤非使用者 80 例。生物学的製剤使用者は男性 7 例、女性 46 例、対象者の年齢は 63.2 \pm 9.6 歳、RA 発症年齢は 43.1 \pm 11.0 歳、RA 発症から 16.8 \pm 9.8 年でアミロイドーシスを発症していた。生物学的製剤非使用者は男性 2 例、女性 78 例、対象者の年齢は 60.9 \pm 9.7 歳、RA 発症年齢は 45.4 \pm 11.1 歳、RA 発症から 15.5 \pm 9.0 年でアミロイドーシスを発症していた。メトトレキサート(MTX)の治療歴では生物学的製剤使用者は 27 例、生物学的製剤非使用者は 21 例

に使用されていた。生物学的製剤は有意に男性に多く使用されていた($p=0.03$)が、その他の項目には有意差は認めなかった。血液生化学データは、総蛋白、アルブミン(Alb)、 γ -globulin、ヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット(Ht)、BUN、Cr、CRP、赤沈、RF、1日蛋白尿を両群で検討した。生物学的製剤はCr、CRPが良い症例に使用されていたが、(Cr: $p=0.01$, CRP: $p=0.000$)、その他の項目には有意差は認めなかった。死亡は生物学的製剤使用者では7例を認め、死因は鬱血性心不全2例、肺胞出血、アミロイド腸炎、腹膜炎、感染性大動脈瘤、筋炎がそれぞれ1例であった。一方、生物学的製剤非使用者では42例が死亡し、鬱血性心不全20例、肺炎6例、アミロイド腸炎7例、腹膜炎4例、胃潰瘍、大腸がん、イレウス、閉塞性動脈硬化症、高カリウム血症がそれぞれ1例であった。

生物学的製剤の内訳はInfliximabが13例、Etanerceptが28例、Tocilizumabが12例に使われておりInfliximabは7例、Etanerceptは4例が経過中に他剤に変更された。

生物学的製剤使用者は生物学的製剤使用時からの生存曲線を、生物学的製剤非使用者はアミロイドーシス診断時からの生存曲線を解析した。生物学的製剤使用者は有意に高い生存率を認め($p=0.0001$)、Cox比例ハザードモデルによる性・年齢調整($p=0.002$)と多変量調整(性、年齢、Alb、Ht、Cr、CRP) ($p=0.005$)を行っても有意に高い生存率を示した。さらに、生物学的製剤使用者は生物学的製剤使用時からの透析導入曲線を、生物学的製剤非使用者はアミロイド発見時からの透析導入曲線を解析した。生物学的製剤使用者は有意に透析導入が減少していた ($p<0.001$)。Cox比例ハザードモデルによる性・年齢調整と多変量調整(性、年齢、Alb、Ht、Cr、CRP)では性・年齢調整では有意に透析導入が減少し($p=0.001$)、多変量調整ではその傾向を認めた($p=0.056$)。

D. 考察

RAに対する生物学的製剤の生命予後に関する報告は、まだ十分に検討されたとはいえないが、抗リウマチ薬においてはMTXがRAの生命予後を改善するという報告がある(Choi HK, *et al.* Lancet 2002;359:1173)。また、RA症例で使用することに

より心筋梗塞を初めとする心血管イベントを有意に減少させるという報告もある(Dixon WG, *et al.* Arthritis Rheum 2007;56:2905)。一方、これらの製剤での生命予後の検討は、一定の見解を見ない。生命予後を改善するという報告(Jacobsson LT, *et al.* Ann Rheum Dis 2007;66:670)と、しないという報告(Lunt M, *et al.* Arthritis Rheum 2010;62:3145)が存在する。これらの相違点は、症例選択と患者背景をどこまで揃えられるかという点で差があり、結論が変わったと考えられる。RAによる生命予後はアミロイドーシス症例に比べて良いため、期間が十分でないという差が出にくいと考えられた。

E. 結論

生物学的製剤の使用により鬱血性心不全による死亡が減少していた。生存曲線の解析では生物学的製剤使用者は有意に予後が改善しており、年間死亡率は使用者が4.6%、非使用者が13.2%であった。透析導入率の解析では生物学的製剤使用者は透析導入が減少する傾向を認めた。年間透析導入率は使用者が6.7%、非使用者が14.3%であった。以上より、アミロイドーシスの治療には生物学的製剤の使用が有効であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

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

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 分担研究報告書

AA アミロイドーシスのトシリズマブによる治療研究 5. AA アミロイドーシス臨床研究会による治療継続

研究分担者 吉崎和幸 大阪大学先端科学イノベーションセンター
 共同研究者 山田正仁¹⁾、池田修一²⁾、安東由喜雄³⁾、今井裕一⁴⁾、奥田恭章⁵⁾、河野裕夫⁶⁾、
 工藤幸司⁷⁾、黒田 毅⁸⁾、高市憲明⁹⁾、中里雅光¹⁰⁾、山田俊幸¹¹⁾、江口勝美¹²⁾、
 寺井千尋¹³⁾、中村 正¹⁴⁾、蓑田清次¹⁵⁾、田中敏郎¹⁶⁾、稲田進一¹⁷⁾、公文義雄¹⁸⁾、
 小関由美¹⁹⁾、佐伯 修²⁰⁾、田村裕昭²¹⁾、土橋浩章²²⁾、中野正明²³⁾、松原 司²⁴⁾、
 山名征三²⁵⁾、佐伯行彦²⁶⁾
 所 属 金沢大学¹⁾、信州大学²⁾、熊本大学³⁾、愛知医科大学⁴⁾、道後温泉病院⁵⁾、
 山口大学⁶⁾、東北大学⁷⁾、新潟大学⁸⁾、虎ノ門病院⁹⁾、宮崎大学¹⁰⁾、
 自治医科大学¹¹⁾、長崎大学¹²⁾、自治医科大学¹³⁾、熊本整形外科病院¹⁴⁾、
 自治医科大学¹⁵⁾、大阪大学¹⁶⁾、都立多摩総合医療センター¹⁷⁾、高知大学¹⁸⁾、
 東京女子医科大学¹⁹⁾、堺温心会病院²⁰⁾、勤医協中央病院²¹⁾、香川大学²²⁾、
 新潟大学²³⁾、松原メイフラワー病院²⁴⁾、東広島記念病院²⁵⁾、
 国立病院機構大阪南医療センター²⁶⁾

研究要旨 一昨年度に AA アミロイドーシス臨床研究会が発足し、トシリズマブ投与群、非投与群による AA アミロイドーシスの改善の有無を検討することを目的とし、研究プロトコルを作成し、会の運営を整備した後、一昨年からは、各施設の倫理委員会の認可後、実質的研究活動を行っている。参加施設は 24 施設、登録患者数 38 名である。

A. 研究目的

AA アミロイドーシス臨床研究会により、AA アミロイドーシスに対するヒト化抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) を用いた SAA 産生抑制による臨床研究を推進する。

実施要項等の書類を整備した。H20 年 5 月 24 日、研究会総会を開催し、この日を持って実施研究開始とした。臨床治療施設は 24 施設、検査施設は 3 施設である。当初、予定登録者 100 名としたが、50 名に変更した。登録終了を 2010 年 9 月とした。

B. 研究方法

AA アミロイドーシス臨床研究会はアミロイドーシス班とは個別で、班研究と切り離して研究活動を行う医師主導型の研究である。このためアミロイドーシス班員ばかりでなく AA アミロイドーシス治療に専門的に取り組んでいる臨床医の参加を募った。研究会の構成は会長、理事、監査、幹事に加えて、研究のスムーズな展開のため顧問も加えた。臨床研究を開始するに当たって、各施設で倫理委員会の承認を得るための申請書の作成、

(倫理面への配慮)

臨床研究開始にあたり、患者の了解を得るため、予め各施設の倫理委員会の許可を得、患者への説明を行い、ヘルシンキ宣言にのっとり患者の研究への参加同意を得て行っている (インフォームドコンセントの書類による取得)。

C. 研究結果

1. AA アミロイドーシス臨床研究班、活動報告及び AA アミロイドーシス分科

会での臨床研究会討議（2010年1月29日、東京）

○進捗状況報告

2. 2010年 AA アミロイドーシス臨床研究会（2010年5月15日、東京）

吉崎による口演

「AA アミロイドーシス臨床研究会の進捗報告」

3. 第1回 炎症・免疫イノベーションセミナー（2010年7月8日、東京）

吉崎による口演

「リウマチ診療の最前線とアミロイドーシス臨床研究会」

4. アミロイドーシス班研究報告会（2011年1月28日、東京）

「AA アミロイドーシスのトシリズマブによる治療研究」

5. 中間報告

2008年6月に研究を開始し、2年間の観察にて終了とした。登録締切りを当初より延長し、2010年9月末日となった。登録患者数は合計40例であったが、途中離脱もあり38名にとどまった。

現在は継続中の患者が多数占めているので、中間報告としては一部である。

登録施設	登録患者数
A	9 (1例脱落)
C	2
G	3
J	4
L	1
M	2
N	1
Q	9
R	1
S	4
V	2
W	1
合計	39 (38)

<群比>

アクテムラ投与群：非投与群 ≒ 3：1

<1年以上経過>

21例（全員女性）

<主な検査値（治療前）>

クレアチニン 0.56 ~ 1.67（平均 0.99）

タン白尿 6/21例

D. 考察

登録者数の増加が少ないため再度登録を促したが、結局38名にとどまった。今後更なる研究を行うには困難であることから、本研究の成果が貴重であると思われる。

E. 結論

AA アミロイドーシス臨床研究会による医師主導型研究が継続されている。登録を9月末で締め切った。登録者数は38名にとどまった。

F. 健康危険情報

患者のインフォームドコンセントを得て研究活動が実施されている。現時点で危険情報はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 吉崎和幸:IL-6阻害によるAAアミロイドーシスの新規治療. 七川歡次(編)リウマチ病セミナーXXI, 永井書店, 東京, pp190-196, 2010.

2) 吉崎和幸:インターロイキン6阻害薬による治療と病態解析～岸本グループによる我国初、世界に発信した抗体製薬の開発～. 日本インターフェロン・サイトカイン学会(編)サイトカインハンティング～先頭を駆け抜けた日本人研究者たち～, 京都大学学術出版会, 京都, pp166-181, 2010.

3) Song SN, Tomosugi N, Kawabata H, Ishikawa T, Nishikawa T, Yoshizaki K: Down-regulation of hepcidin resulting from long-term treatment with an anti-IL-6 receptor antibody (Tocilizumab) improves anemia of inflammation in multicentric Castleman's disease. *Blood* 116: 3627-3634, 2010.

2. 学会発表

1) Yoshizaki K, Nishikawa T, Song J: Anti-IL-6 receptor Mab (Tocilizumab) in RA: Role of IL-6 blocking therapy on the improvement of RA. BIT's

2nd International Congress of Antibodies -2010-,
Beijn, China, 3.24, 2010.

2) 吉崎和幸：～最新治療セミナー～「トシリズ
マブ (アクテムラ)」。第 54 回 日本リウマチ学会
-2010-、神戸、4.23、2010.

3) 吉崎和幸：～教育講演～「関節リウマチにおけ
る IL-6」。第 54 回 日本リウマチ学会-2010-、神
戸、4.24、2010.

4) Yoshizaki K : Different role of IL-6 and TNF- α in
the immune-pathogenesis of RA, an autoimmune
disease. Federation of Clinical Immunology Society
(FOCIS 2010), Boston, USA, 6.26, 2010.

5) Yoshizaki K, Naka T: Immune-pathogenic
difference of Cytokines in autoimmune disease. The
14th International Congress of Immunology ~Work
shop Cytokine regulation in disease~, Kobe, Japan,
8.27, 2010.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得（申請中を含む）

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

[Ⅲ] 研究報告会、国際シンポジウム等プログラム

厚生労働省 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

平成 22 年度 研究報告会
プログラム

日 時：平成 23 年 1 月 27 日（木） 8：45－17：55
1 月 28 日（金） 9：00－16：00

場 所：KKR ホテル東京 11 階 孔雀の間
東京都千代田区大手町 1-4-1
TEL 03-3287-2921（代表）

アミロイドーシスに関する調査研究班

研究代表者 山田正仁

事務局：金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）

〒920-8640 石川県金沢市宝町 13-1

TEL：076-265-2293、FAX：076-234-4253

E-mail：amyloid@med.kanazawa-u.ac.jp