

症である当患者においては、腎機能が比較的保たれていた。

前回の胃生検後7年目の消化管標本においては、全ての検索された標本において治療前と比較し、明らかなアミロイドの除去及び減弱が認められた。

しかし、腎標本では7年前の標本と比較し有意なアミロイド沈着の減弱が認められなかった。アミロイドの沈着を単クローン抗体で検索しても同じ結果が得られた。

#### D. 考察

今日まで消化管においてアミロイドの沈着が検討されたが、しかるに腎臓での検索がされなかったのは、ア症患者では腎機能が悪化するケースが多く、腎臓の再検索は殆どの場合されないのが、一般的である。ただ、我々が報告した、ア症血管型では腎機能が比較的保持され、再検の機会が得られた。消化管と腎臓ではアミロイドの沈着危序に何らかの違いが有ることが示唆された。

#### E. 結論

生物学的製剤の一つである、エタネルセプトにより、消化管ではアミロイドの沈着が除去されるが、腎組織でほとんど除去されなかった。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

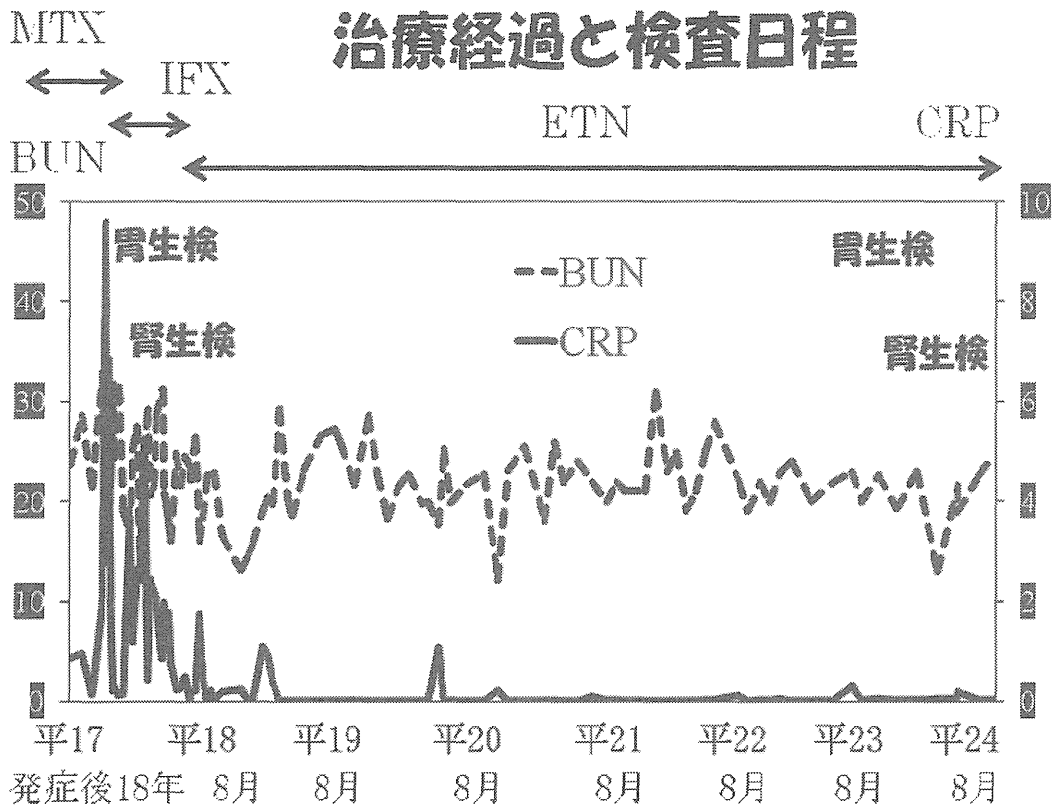
1) Saiki O, Kuhara M, Kikuchi N, Shiraishi S, and Uda H: Evaluation of lasting high levels of CRP among the patients with metabolic syndrome. *Inflammation* 35: 730-735, 2012

2) Uda H and Saiki O: Appearance of non-rheumatoid arthralgia after tocilizumab treatment in patients with rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* (In press)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

図-1



厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患等克服研究事業 (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

## 低分子化合物による血清アミロイド A (SAA) 発現の制御 (RA 滑膜細胞での検討)

研究分担者 右田清志 独立行政法人国立病院機構長崎医療センター臨床研究センター

共同研究者 中村正、くまもと森都総合病院リウマチ膠原病内科

**研究要旨** 関節リウマチの治療薬として臨床応用が考えられている JAK 阻害剤トファシチニブの血清アミロイド (SAA) 発現誘導に対する影響を、RA 滑膜細胞で検討した。トファシチニブは、炎症性サイトカインであるオンコスタチン M (OSM) で誘導される JAK1、2、3 の活性化を阻害した。さらにトファシチニブは、IL-6 刺激で誘導される RA 滑膜細胞の JAK2、STAT3 のリン酸化を阻害し、*SAA1,2* (acute-phase SAA) の mRNA の発現をブロックした。トファシチニブは、すべての JAK キナーゼを阻害することにより、JAK2/STAT3 の活性化経路で誘導される急性期蛋白 SAA の発現誘導を阻害する作用を有することにより、RA に合併する AA アミロイドーシスに予防的に作用することが示唆された。

### A. 研究目的

トファシチニブは、サイトカインシグナル伝達を阻止する低分子化合物で、自己免疫疾患の新たな免疫抑制剤として開発された、すでに、米国では関節リウマチの治療薬として承認されている。本薬剤は、主に免疫担当細胞であるリンパ球作用し、サイトカイン共通サブユニットコモンガンマー鎖 (common  $\gamma$ ) に会合している JAK3 を阻害することで、common  $\gamma$  がそのレセプター分子に会合している多くのサイトカイン (IL-2、IL-4、IL-7、IL-15、IL-21) のシグナル伝達を阻害する新たな免疫抑制剤と位置づけられている。トファシチニブの RA に対する治療効果が、リンパ球のシグナル伝達阻害に加え、RA の炎症の主座である滑膜炎に対する作用がないか、RA 滑膜細胞を用いて検討した。また、RA 滑膜細胞の血清アミロイド A (SAA) 誘導に対するトファシチニブの作用も併せて検討した。

### B. 研究方法

インフォームドコンセントの得られた RA 患者より人工関節置換術の際、採取された関節滑膜より樹立した滑膜細胞を用いて検討を行った。これら RA 滑膜細胞を炎症性サイトカインであるオンコスタチン M (OSM)、IL-6 (可溶性 IL-6R 存在下)

で刺激した。シグナル伝達は、サイトカイン刺激後、滑膜細胞を溶解し、その溶解物を、抗リン酸化 JAK1,2,3, および STAT1,3,5 抗体を用いたイムノブロットで解析した。*SAA1,2* の mRNA の発現は、RT-PCR で検討した。

### C. 研究結果

RA滑膜細胞をOSMで刺激すると、JAK1、2、3 のリン酸化、およびその下流のSTAT1、3、5のリン酸化が確認された。トファシチニブを生理的濃度 ( $\sim 0.5 \mu\text{M}$ ) で前処置すると、OSMによる JAK1,2,3 およびSTAT1,3,5のリン酸化は阻害された。以上の結果によりトファシチニブは当初考えられていたJAK3選択的阻害剤ではなくJAK1,2も阻害することが判った。IL-6はRAの炎症病態に関与している活性化およびサイトカインで、そのレセプター (IL-6R) と結合するとIL-6Rに会合しているJAK1、2を活性化させ、その下流に位置するSTAT3を介してSAA、CRPなどの急性期蛋白が誘導される。トファシチニブがこのIL-6による炎症シグナルに影響するか、RA滑膜細胞を用い検討した。RA滑膜細胞を可溶性IL-6レセプター (sIL-6R) 存在下で、IL-6で刺激を行うと、JAK2、STAT3のリン酸化が誘導され、*SAA1,2*のmRNA発現が誘導された。このIL-6刺激によるJAK2/STAT3の*SAA1,2*

のmRNA発現をトファシチニブは抑制した。JAK2 選択的阻害剤であるAG490も同様にIL-6刺激によるJAK2/STAT3のリン酸化、*SAA1,2* mRNA発現誘導を阻害した。

#### D. 考察

すでに臨床応用されている JAK 阻害剤トファシチニブは、JAK3 選択的阻害剤として、免疫担当細胞であるリンパ球のサイトカインによる分化、活性化を阻害する新たな免疫抑制剤として開発された。しかし、clinical trial の過程で、関節リウマチなど炎症が主体の自己免疫疾患にも優れた治療効果を有することが示された。今回、トファシチニブが JAK3 を介したサイトカインシグナル伝達だけではなく、炎症シグナルにも影響するか、RA 滑膜細胞を用いて検討した。その結果、トファシチニブは、JAK3 に加え、JAK1、JAK2 も阻害することが明らかになった。JAK1, 2 は、IL-6 で代表される炎症性サイトカインのシグナル伝達に必須の分子であることから、IL-6 で誘導される細胞内シグナルを RA 滑膜細胞で検討した。その結果、トファシチニブは、IL-6 刺激で誘導される JAK2/STAT3 の活性化を阻害することで、IL-6 で誘導される *SAA1,2* の mRNA 発現を阻害することを明らかにした。トファシチニブは、JAK3 を阻害することで免疫抑制に作用する一方で、JAK2 を阻害することで炎症シグナルをブロックし抗炎症に作用し、RA などの炎症性疾患に対しても治療効果が認められることが示唆された。さらにトファシチニブは、*SAA1,2* の遺伝子発現に重要な JAK2/STAT3 の経路をブロックすることより、IL-6 などの炎症性サイトカインによる SAA など急性期蛋白の誘導を制御する可能性が示唆された。

#### E. 結論

低分子化合物であるトファシチニブは、JAK3 のみならず JAK2 を阻害することで、その下流の STAT3 を介した炎症シグナルをブロックし、抗炎症に働くことが示唆された。また STAT3 を介した炎症シグナルをトファシチニブは阻害することで、炎症で誘導される SAA の誘導を阻止する作用を有していることより、AA アミロイドーシスに対して抑制的に働くことが示唆された。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Migita K, Koga T, Satomura K, Izumi M, Torigoshi T, Maeda Y, Izumi Y, Jiuchi Y, Miyashita T, Yamasaki S, Aiba Y, Komori A, Nakamura M, Motokawa S, Kawakami A, Nakamura T, Ishibashi H: Serum amyloid A triggers the MSU-mediated mature interleukin-1beta production from human synovial fibroblasts. *Arthritis Res Ther* 14(3):R119, 2012.
- 2) Kato T, Komori A, Bae SK, Migita K, Ito M, Motoyoshi Y, Abiru S, Ishibashi H: Concurrent systemic AA amyloidosis can discriminate primary sclerosing cholangitis from IgG4-associated cholangitis. *World J Gastroenterol* 18(2):192-6, 2012.
- 3) Nakamura T, Migita K, Ando Y, Takaoka H, Suzushima H, Shiraishi N: Amyloid A amyloidosis in a Japanese patient with familial Mediterranean fever associated with homozygosity for the pyrin variant M694I/M694I. *Mod Rheumatol* 2012. [Epub ahead of print]
- 4) Satomura K, Torigoshi T, Koga T, Maeda Y, Izumi Y, Jiuchi Y, Miyashita T, Yamasaki S, Kawakami A, Aiba Y, Nakamura M, Komori A, Sato J, Ishibashi H, Motokawa S, Migita K: Serum amyloid A (SAA) induces pentraxin 3 (PTX3) production in rheumatoid synoviocytes. *Mod Rheumatol* 23(1):28-35, 2013.
- 5) Migita K, Koga T, Komori A, Torigoshi T, Maeda Y, Izumi Y, Sato J, Jiuchi Y, Miyashita T, Yamasaki S, Kawakami A, Nakamura M, Motokawa S, Ishibashi H: Influence of Janus kinase inhibition on interleukin 6-mediated induction of acute-phase serum amyloid A in rheumatoid synovium. *J Rheumatol* 38(11):2309-17, 2011.

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 (難治性疾患等克服研究事業 (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

## T細胞活性化調整剤による関節リウマチ(RA)合併AAアミロイドーシス 治療：抗 fPRL1 抗体を用いた検討

研究協力者 中村 正 くまもと森都総合病院リウマチ膠原病内科  
 共同研究者 公文義雄<sup>1</sup>、平田真哉<sup>2</sup>、高岡宏和<sup>3</sup>、下村泰三<sup>4</sup>、鈴木 仁<sup>4</sup>、飯干 明<sup>5</sup>、  
 伊勢紘平<sup>5</sup>

<sup>1</sup>高知大学医学部病態情報診断学、<sup>2</sup>熊本大学附属病院血液・膠原病・感染免疫  
 診療部、<sup>3</sup>くまもと森都総合病院リウマチ膠原病内科、<sup>4</sup>血液内科、<sup>5</sup>整形外科

**研究要旨** 実験的アミロイドA (AA) アミロイドーシスモデルマウスで、T細胞機能阻害剤は脾へのアミロイド沈着を抑制し、組織学的に一部ではアミロイド沈着とCD4+T細胞との局在が一致し、AAアミロイド特異抗体を介して貪食細胞がアミロイド退縮に関与した。T細胞活性化調整剤のアバタセプトは関節リウマチ(RA)合併AAアミロイドーシス症例において、リウマトイド炎症やアミロイドーシスの制御に一定の臨床的効果を示し、炎症性サイトカインや制御性T細胞の動態に影響を与え、さらに、貪食細胞はアミロイド障害臓器の病理組織学的検索により、沈着AAアミロイドの退縮に深く関与していた。このことは、T細胞機能調整によるRA合併AAアミロイドーシスへの治療の可能性やT細胞機能を介した免疫系の沈着アミロイド退縮機序への解明にひとつの手がかりを与えた。

### A. 研究目的

AAアミロイドーシスの病態生理にT細胞機能を介した機構やAAアミロイド特異抗体が関与する系が予想されている。関節リウマチ(RA)に合併したAAアミロイドーシス症例に、T細胞活性化調整剤のアバタセプト(ABT)を投与し、リウマトイド炎症の推移、各種炎症性サイトカインの動態、T細胞亜分画の変化、などを調べ、また、アミロイド退縮という観点から貪食細胞の関わりを病理組織学的に検討した。

### B. 研究方法

病理組織学的にAAアミロイド沈着を認め症状を有するRA2症例にABTを投与し、リウマトイド炎症、アミロイドーシス、免疫染色法も含めた病理組織像、などを経時的に観察した。

ABT投与後のDAS28-CRP、HAQ、血中CRPおよびSAA値、推算糸球体濾過量、尿中蛋白定性を継続的に測定した。また、血中サイトカインのIL-6、TNF $\alpha$ 、IL-2の測定を行った。制御性T細胞(CD4+CD25++FoxP3+T細胞)の割合をフロー

サイトメトリーにより継続的に測定した。なお、各サイトカインと制御性T細胞の基準値については、当該2症例と同性・同年齢域で疾患活動性が安定している同域RA罹病期間であるRA14例を対照として設定した。

上部消化管生検で得られた病理組織のコンゴ一赤染色および抗fPRL1(貪食細胞の遊走・脱顆粒・活性酸素種産生に関わる受容体)抗体と抗CD68(マクロファージを認識)抗体を用いた免疫組織染色法で、病理組織学的に検討を加えた。

(倫理面への配慮)

2症例の研究遂行については倫理審査委員会の承認を受け、また、患者や家族にインフォームドコンセントを行い、同意を文書で得たのちに実施した。

### C. 研究結果

症例1：70歳・女性・主婦。Stage IV、Class 2、SAA1アリル1.3/1.5、アミロイドーシス歴2年。昭和61年右手関節痛にてRA発症。抗リウマチ療法を

受けていたが、平成2年頃から関節症が増悪、免疫抑制剤のメトトレキサートやミゾリビンなどを受けた。平成12年右人工膝関節置換術。頸椎症や耐糖能不全を合併。平成17年からエンブレル導入、平成22年下痢が持続し、消化管生検からAAアミロイド沈着を証明。平成23年1月からABTを導入し、継続加療中。

症例2：65歳・女性・主婦。Stage IV、Class 2、SAA1アリル1.3/1.3、アミロイドーシス歴17年。昭和63年RA発症。リウマトイド炎症はコントロール不良で経過。平成7年腎機能低下を認め、腎生検にて腎アミロイドーシスの診断。エンブレルに続きトシリズマブを導入したが、炎症指標は概ね良好ではあるものの、完全には陰性化せずに経過した。蛋白尿は改善傾向が認められるものの、断続的に陽性であった。平成22年11月からABTを導入し、継続加療中。

#### (1) リウマトイド炎症の推移(図1)

症例1および2ともに、ABT導入後の2年間の観察期間において、リウマトイド炎症の疾患活動性は良好に低減し、特に症例1では寛解状態を維持した状態で経過している。HAQで示される生活機能の程度は症例間での差が大きく、症例2では導入2年後にDAS28-CRPは低疾患活動性にも達していないがHAQ値は低く、主観的評価の差に由来していると推測された。CRPとSAA値はABTにより良好にコントロールされている。症例2はABT導入時に、既に中等度以上の腎機能障害を認めており、ABT2年の使用によってもアミロイド腎症の軽快は認められていない。

#### (2) サイトカインの動態(図2)

ABT導入により、IL-6とTNF $\alpha$ は次第に低下してゆき、症例2では12か月後に基準対照値に達した。これら炎症性サイトカインはABT反応性に低減していった。これに対して、IL-2は当初から基準対照域にあり、ABTによる影響は受けなかった。

#### (3) 制御性T細胞の動態(図3)

CD4+CD25++FoxP3+制御性T細胞のT細胞領域およびCD4+T細胞領域における割合は、症例1および2ともにABT導入により継続的に低下し、3か月後という比較的早期に基準対照域に達した。この動態はリウマトイド炎症や炎症性サイトカインのそれらと同様であった。

#### (4) 上部消化管の病理組織学的検討

症例1ではABT導入時点でコンゴ赤染色陽性の無構造沈着物が腺組織あるいは粘膜下層に認められたが、導入1年後および2年後にはこれらは消失しており、リウマトイド炎症の指標を反映していた(図4)。これに対し症例2では、ABT導入の2年後の観察でも病理組織学的にはコンゴ赤染色で陽性のAAアミロイド沈着を認め(図5)、リウマトイド炎症の改善やHAQ値の良好な推移とは大きな矛盾を呈した。

症例2のABT導入2年後の上部消化管生検組織を用いて、抗pPRL1抗体および抗CD68抗体による免疫組織学的検索を施行したところ、粘膜下層領域に陽性に染色される細胞を認め(図6)、これらは抗体の性格から好中球やマクロファージと推定され、AAアミロイド沈着部位に一致しており、貪食細胞が沈着アミロイドの退縮に関与していることを示唆させた。強拡大ではアミロイド沈着を取り囲むようにマクロファージが陽性染色され(図7)、貪食細胞のアミロイド退縮における重要な役割が類推された。

## D. 考察

2症例とも20年以上のRA罹病歴を有し、日本人RAにおけるAAアミロイドーシス合併の遺伝的素因であるSAA1.3アリルを有していた。ABTは数か月の経過の後に、疾患活動性や蛋白尿・消化器症状の緩徐な改善をもたらし、これらRA症例のリウマトイド炎症およびアミロイドーシスに対し、一定の臨床的効果を示した。

T細胞活性化調整剤のABTは、時間経過で炎症性サイトカインの動態に影響を与え、対照基準域に低減したが、IL-2の動態には全く関与しなかった。また、制御性T細胞の割合は炎症指標の改善に従い、むしろ低減してゆき、炎症病態における複雑なT細胞とサイトカインのクロストークを示唆している。

ABT治療下で上部消化管の組織学的検索により、好中球やマクロファージなどの貪食細胞が沈着アミロイドの退縮に重要な役割を果たしていることが予想され、このことはT細胞機能がAAアミロイド形成あるいは代謝などの過程に影響を及ぼしていることを類推させた。免疫学的な

機序の観点からのAAアミロイドーシスの解明が期待される。

## E. 結論

RA合併AAアミロイドーシスの治療法として抗サイトカイン療法以外の選択肢が挙げられ、T細胞機能を調整・阻害することでAAアミロイドーシスの病態へ影響を与え、今後、治療を見据えた免疫学的観点からの病態解明が望まれる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Migita K, Nakamura T: TBK1: a potential therapeutic target in RA. New data on a key inflammatory pathway. *Rheumatology (Oxford)* 51: 588-589, 2012.
- 2) Nakamura T, Higashi S, Tomoda K, Tsukano M, Shono M: Effectiveness of etanercept vs cyclophosphamide as treatment of patients with amyloid A amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 51: 2064-2069, 2012.
- 3) Furukawa H, Oka S, Shimada K, Sugii S, Ohashi J, Matsui T, Ikenaka T, Nakayama H, Hashimoto A, Takaoka H, Arimura Y, Okazaki Y, Futami H, Komiyama A, Fukui N, Nakamura T, Migita K, Suda A, Nagaoka S, Tsuchiya N, Tohma S: Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: a protective role for shared epitope. *PLoS ONE* 7: e33133, 2012.
- 4) 中村 正, 東 修一, 友田邦彦, 東野通志: 最近の関節リウマチ治療の課題. *九州リウマチ* 32: 10-16, 2012.
- 5) 中村 正: Window of opportunityにおけるMTXの重要性. *リウマチ科* 49: 1-7, 2013.
- 6) 右田清志, 野中文陽, 和泉泰衛, 江口勝美, 中村 正, 井田弘明, 上松一永: 家族性地中海熱の臨床. *炎症と免疫* 21: 40-46, 2013.

### 2. 学会発表

- 1) 高岡宏和, 中村 正, 東野通志, 稲葉 恵, 森

北辰馬, 猪山賢一: RAにおける結節性病変とMTX治療. 第56回日本リウマチ学会総会, 東京, 4月27日, 2012年.

2) 中村 正, 高岡宏和, 東野通志, 平田真哉: T細胞活性化調整剤によるRA合併AAアミロイドーシス治療. 第56回日本リウマチ学会総会, 東京, 4月28日, 2012年.

3) 吉崎和幸, 奥田恭章, 河野裕夫, 工藤幸司, 黒田 毅, 山田俊幸, 寺井千尋, 中村 正, 蓑田清次, 小関由美, 田村裕昭: ここまで来た難病AAアミロイドーシスの発症予防と治療. 第56回日本リウマチ学会総会, 東京, 4月27日, 2012年.

4) 右田清志, 上松一永, 増本純也, 宮下賜一郎, 和泉泰衛, 川上 純, 中村 正, 井田裕明: 家族性地中海熱(FMF)の臨床像の解析. 第33回日本炎症・再生医学会, 福岡, 7月5日, 2012年.

5) 中村 正, 右田清志, 高岡宏和, 鈴島 仁, 安東由喜雄: 家族性地中海熱(FMF)に合併したアミロイドA(AA)アミロイドーシス: コルヒチン治療の考察. 第33回日本炎症・再生医学会, 福岡, 7月6日, 2012年.

6) 高岡宏和, 下村泰三, 鈴島 仁, 飯干 明, 伊勢紘平, 中村 正: RAでのMTX治療に伴う有害事象. 第44回九州リウマチ学会, 北九州, 9月15日, 2012年.

7) 高岡宏和, 飯干 明, 伊勢紘平, 中村 正: 関節リウマチ(RA)、強皮症(SSc)、およびシェーグレン症候群の重複病態例に合併した腫瘍形成性石灰化. 第27回日本臨床リウマチ学会, 神戸, 11月23日, 2012年.

## 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: ABT投与後の各バイオマーカーの推移

Case 1	Case 1											
	DAS28-CRP	6.4	6.0	4.8	3.8	3.4	3.2	2.6	2.8	3.1	2.3	2.8
	HAQ	12.3	8.3	6.6	4.2	7.6	6.4	4.2	3.2	5.3	4.6	7.2
	CRP(mg/dl)	7.8	6.2	4.2	1.6	1.3	0.9	0.4	0.3	0.2	0.1	0.2
	SAA(μg/ml)	364	286	158	126	54	26	18	15	12	11	13
	eGFR(ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	76.4	72.2	72.4	80.2	84.6	78.2	92.6	78.2	82.6		
	U-Protein	(±)	1(+)	(-)	(-)	(-)			(-)		(-)	

Case 2	Case 2									
	DAS28-CRP	5.2	4.6	5.2	6.2	4.6	3.9	4.2	3.6	3.3
	HAQ	1.6	0.8	1.0	0.6	2.3	0.2	0.3	0.2	0.6
	CRP(mg/dl)	5.4	4.8	1.6	1.0	0.7	0.1	0.1	0.1	0.1
	SAA(μg/ml)	289	250	148	58	10.2	17.2	14.1	18.6	8.5
	eGFR(ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	26.4	32.8	28.2	36.4	20.6	19.6	28.3	26.3	30.6
	U-Protein	3(+)	3(+)	3(+)	3(+)	2(+)	2(+)	2(+)	3(+)	3(+)

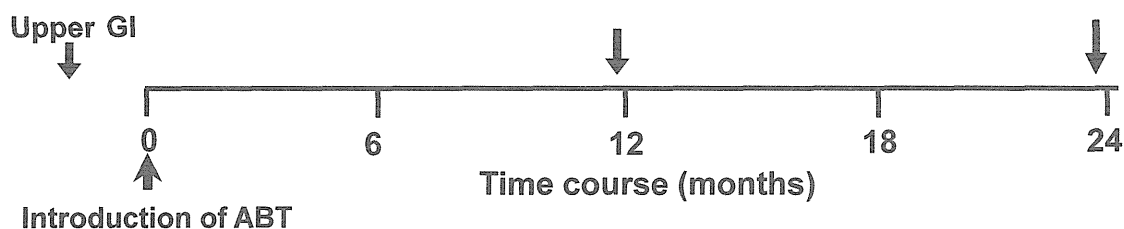


図2: ABT投与後のサイトカインの動き

Case 1	Case 1					
	IL-6 (11.2±1.29 pg/ml)	116.2	64.8	60.3	58.2	54.6
	TNFα (1.04±0.36 pg/ml)	2.59	1.62	1.38	1.19	1.34
	IL-2 (<0.8 U/ml)	<0.8	<0.8	0.8	0.8	0.8

Case 2	Case 2					
	IL-6 (11.2±1.29 pg/ml)	108.6	18.6	42.6	10.8	8.2
	TNFα (1.04±0.36 pg/ml)	15.8	16.3	1.26	1.32	1.19
	IL-2 (<0.8 U/ml)	<0.8	<0.8	<0.8	<0.8	<0.8

Timeline diagram for Case 2. The x-axis is 'Time course (months)' from 0 to 12. An upward arrow at 0 months is labeled 'Introduction of ABT'. Tick marks are present at 3, 6, 9, and 12 months.

図3：ABT投与後の制御性T細胞の動き

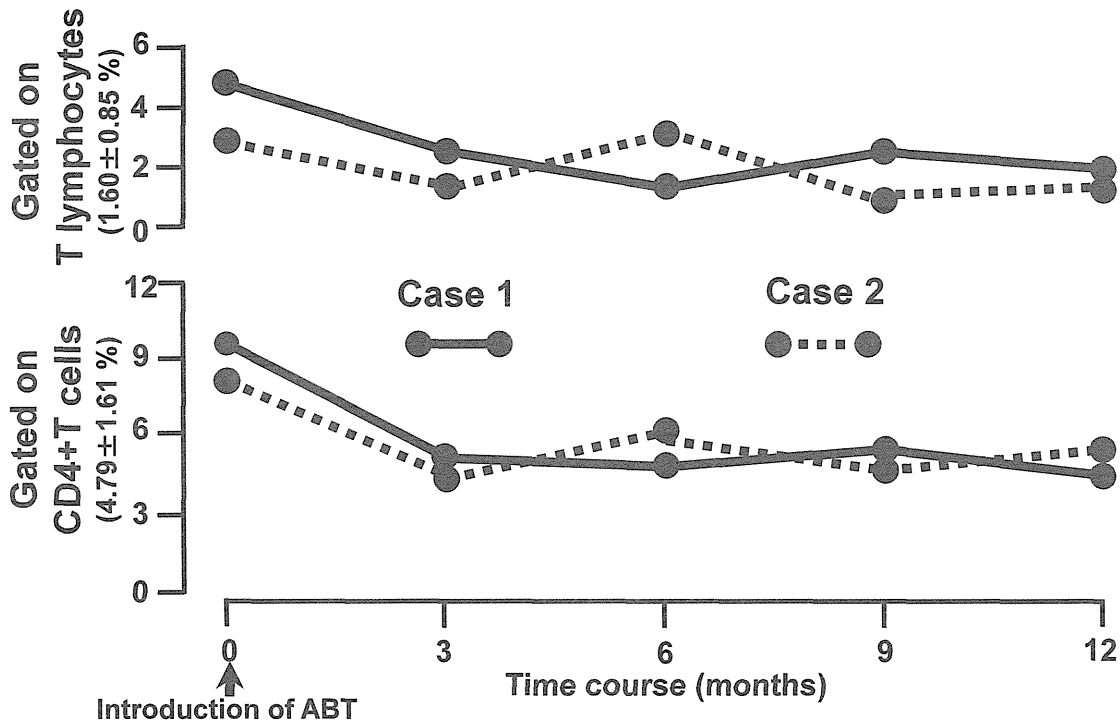
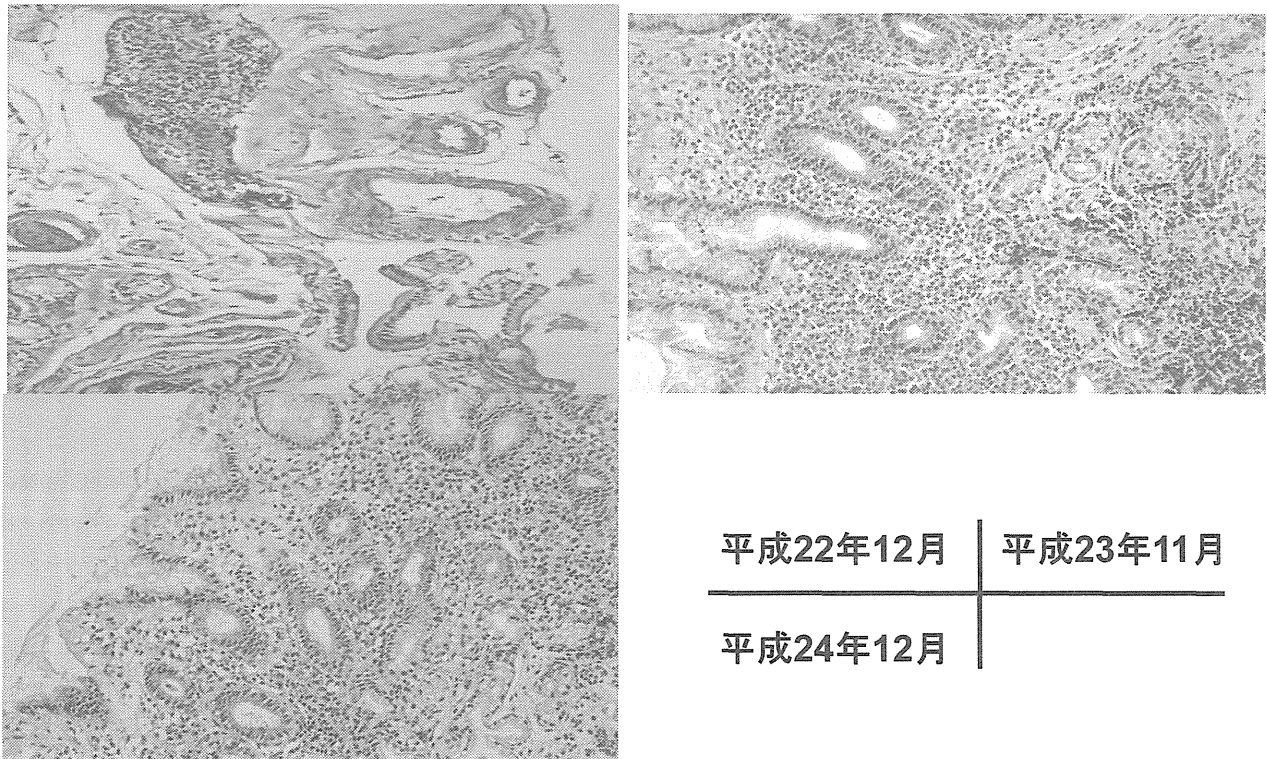


図4：症例1における上部消化管生検組織像の変化(コンゴー赤染色)



平成22年12月	平成23年11月
平成24年12月	

図5：症例2における上部消化管生検組織像の変化 (コンゴー赤染色)

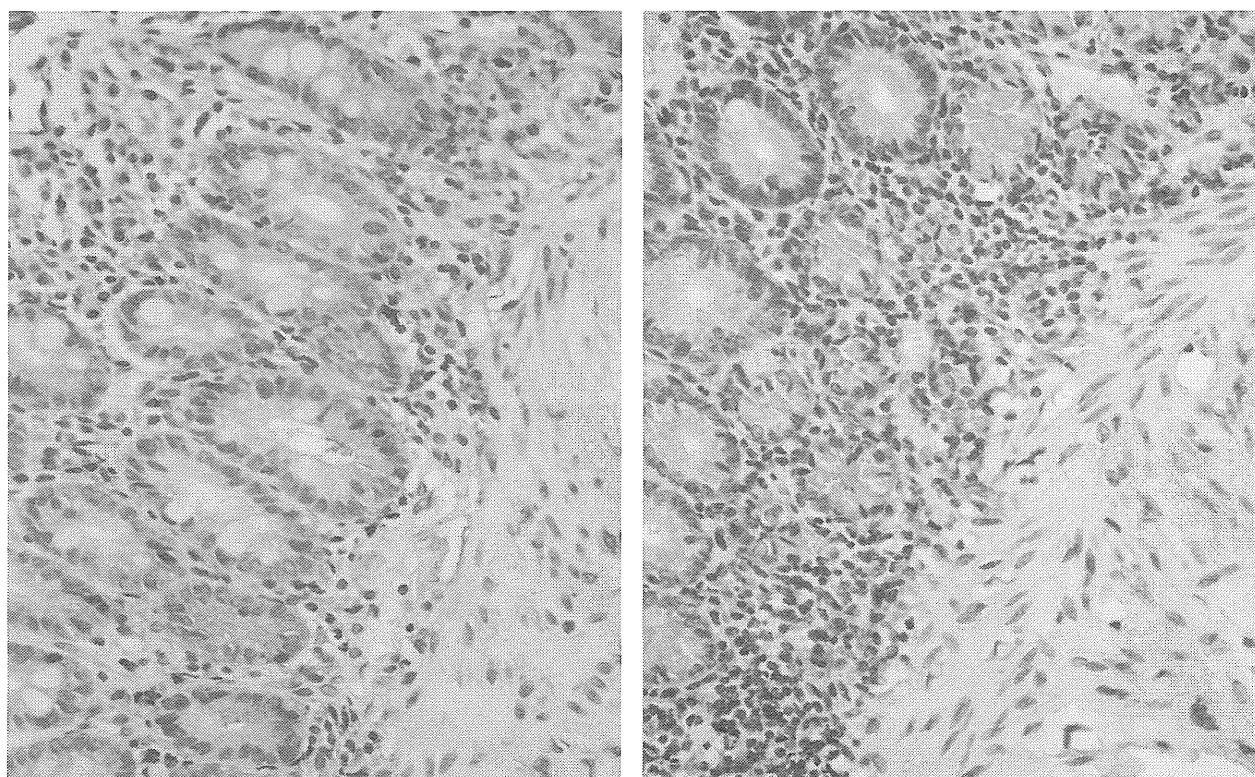
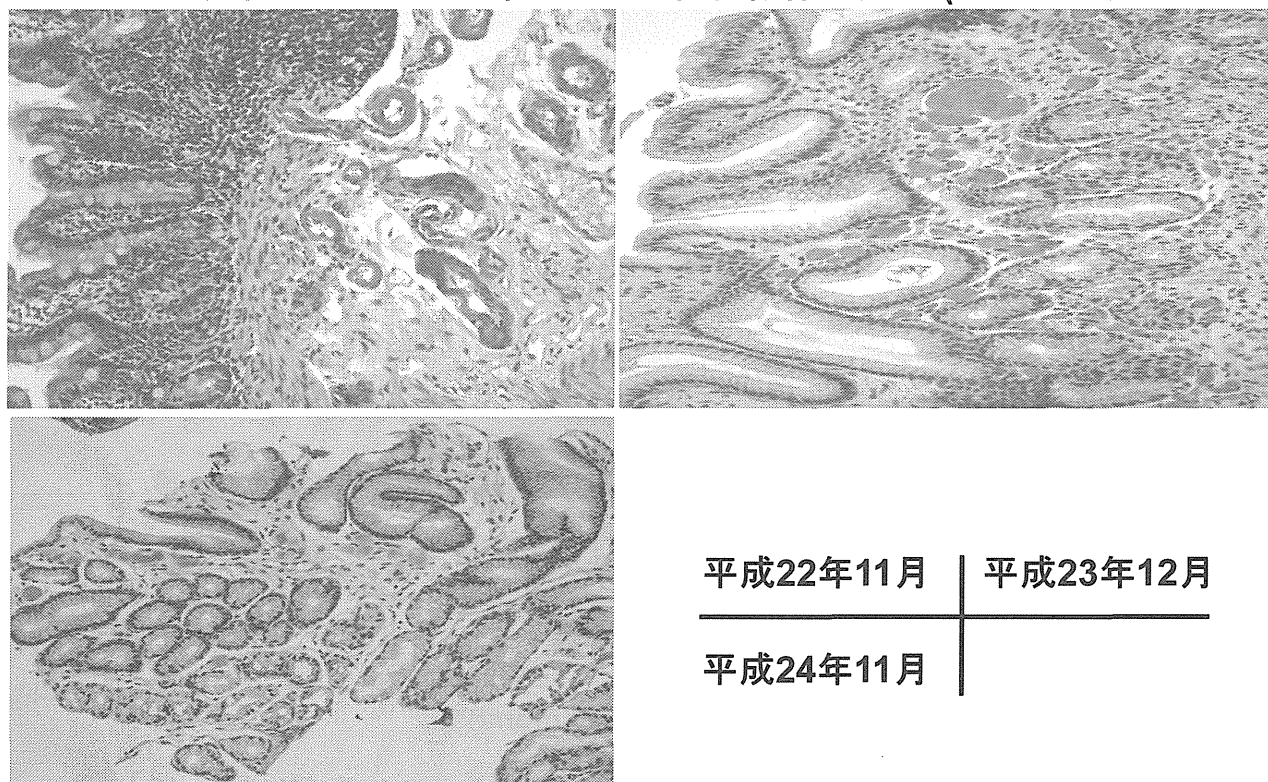


図6：症例2における抗 f PRL1抗体染色と抗CD68抗体染色

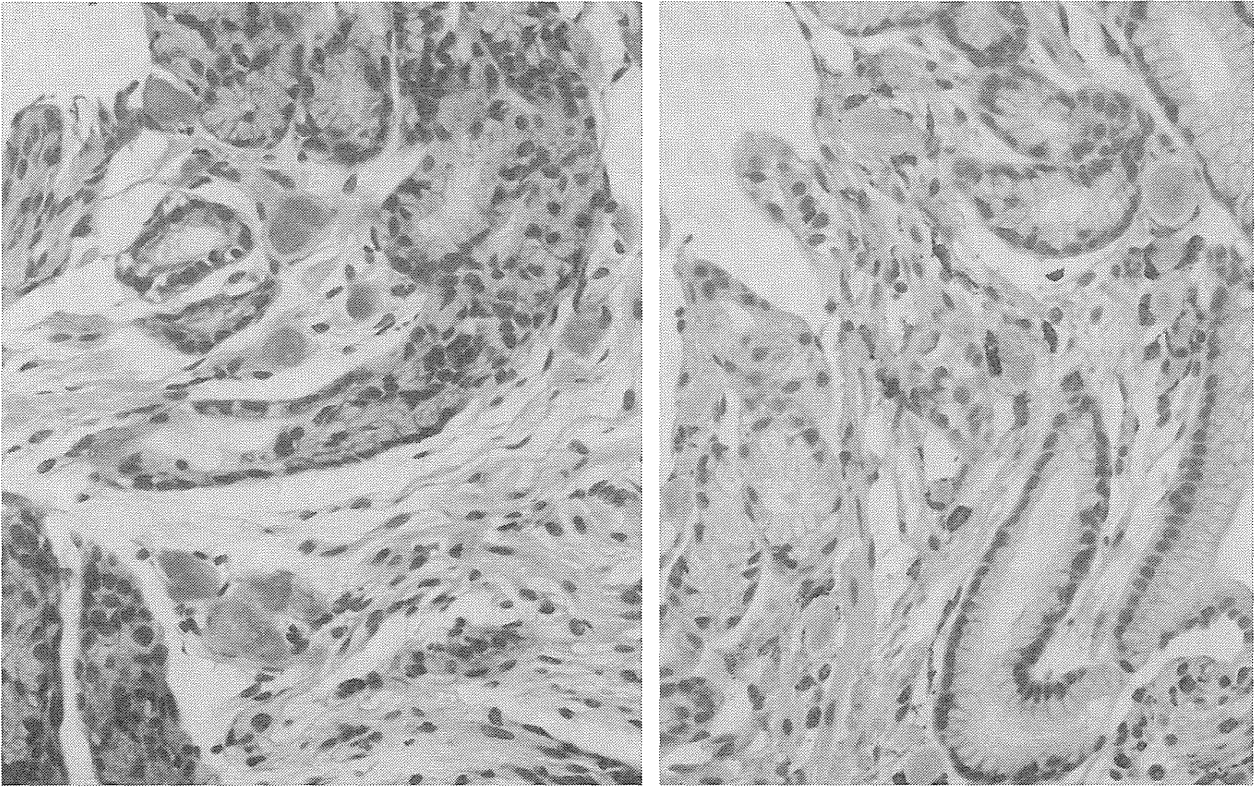


図7：症例2におけるコンゴ赤染色と抗CD68抗体染色

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患等克服研究事業 (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 アミロイドーシスのトシリズマブによる治療研究 7. AA アミロイドーシス臨床研究会による治療終了

研究分担者 吉崎和幸 大阪大学大学院工学研究科 応用化学専攻 免疫医科学

共同研究者 山田正仁<sup>1</sup>、池田修一<sup>2</sup>、安東由喜雄<sup>3</sup>、今井裕一<sup>4</sup>、奥田恭章<sup>5</sup>、河野裕夫<sup>6</sup>、工藤幸司<sup>7</sup>、黒田毅<sup>8</sup>、高市憲明<sup>9</sup>、中里雅光<sup>10</sup>、山田俊幸<sup>11</sup>、川上純<sup>12</sup>、寺井千尋<sup>13</sup>、中村正<sup>14</sup>、葦田清次<sup>15</sup>、田中敏郎<sup>16</sup>、稲田進一<sup>17</sup>、公文義雄<sup>18</sup>、小関由美<sup>19</sup>、佐伯修<sup>20</sup>、田村裕昭<sup>21</sup>、土橋浩章<sup>22</sup>、中野正明<sup>23</sup>、松原司<sup>24</sup>、山名征三<sup>25</sup>、佐伯行彦<sup>26</sup>

<sup>1</sup>金沢大学、<sup>2</sup>信州大学、<sup>3</sup>熊本大学、<sup>4</sup>愛知医科大学、<sup>5</sup>道後温泉病院、<sup>6</sup>山口大学、<sup>7</sup>東北大学、<sup>8</sup>新潟大学、<sup>9</sup>虎ノ門病院、<sup>10</sup>宮崎大学、<sup>11</sup>自治医科大学、<sup>12</sup>長崎大学、<sup>13</sup>自治医科大学、<sup>14</sup>熊本整形外科病院、<sup>15</sup>自治医科大学、<sup>16</sup>大阪大学、<sup>17</sup>都立多摩総合医療センター、<sup>18</sup>高知大学、<sup>19</sup>東京女子医科大学、<sup>20</sup>東大阪市立総合病院、<sup>21</sup>勤医協中央病院、<sup>22</sup>香川大学、<sup>23</sup>新潟大学、<sup>24</sup>松原メイフラワー病院、<sup>25</sup>東広島記念病院、<sup>26</sup>国立病院機構大阪南医療センター

**研究要旨** 医師主導の自主臨床研究として AA アミロイドーシス臨床研究会を發足、2008 年から登録を開始し、登録者数は 36 名である。2010 年 9 月末を持って登録者を締め切り、2012 年 9 月末で観察を終了して解析にはいる。現在集計しており、1 年目までについては解析をほぼ終了している。

### A. 研究目的

AA アミロイドーシス臨床研究会により、関節リウマチに伴う AA アミロイドーシスに対するヒト化抗 IL-6 レセプター抗体 (トシリズマブ、アクテムラ) を用いた、SAA 産生抑制を機序とした臨床研究を推進する。アミロイド線維沈着の増加抑制、ひいては沈着減少を目指し、腎機能の低下抑制を期待する。

### 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別個で、班研究と切り離して活動を行う医師主導型の研究である。このため班員ばかりでなく 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。UMIN 試験 ID は UMIN000002421、受付番号 R000002954、登録日は 2009 年 9 月 4 日である。2010 年 9 月末にて 38 名にとどまった。第一主目的を組織から

のアミロイド沈着減少、第二目的を腎機能改善とした。群割り付けを Open label とし、トシリズマブ群と非トシリズマブ群の二群とした。前者は 8mg/kg を 4 週毎に投与、後者は TNF- $\alpha$  阻害薬も含め関節リウマチ治療に準じて行った。効果判定モニターとして、一般臨床検査に加えて腎機能 (クレアチニン、クレアチニン・クリアランス、シスタチン C)、蛋白尿などを測定した。特殊検査は、胃幽門部 4 ケ所を生検。3 カ所をコンゴレッド、抗 AA 抗体、BF-227 染色による病理解析、残り 1 ケ所を組織中の AA 蛋白の定量とした。治療開始時、1 年後、2 年後に検査を行った。

(倫理面への配慮)

患者の了解を得るため、予め各施設の倫理委員会で承認を受けている。ヘルシンキ宣言にのっとり、患者への説明、研究参加同意を得ている。

### C. 研究結果

データ解析は、大阪大学医学部付属病院未来医療センターにて行われている。登録者数38名のうち解析者数は37名である。1年目までの結果については、調査報告会にて発表する予定である。現時点では、印象を述べるにとどめる。

登録施設	解析者数
A	9
C	1
G	6
J	4
L	1
M	1
Q	9
R	1
S	2
U	1
V	1
W	1
合計	37

#### <組織AAアミロイド沈着の病理解析>

胃幽門部の3ヵ所の組織を解析に用いることで、個々の変位差をある程度修正し得たと考えられる。特に粘膜下層までの組織片においては、評価により客観性が得られるようである。粘膜上皮には沈着は乏しい。病理観察医の主観評価と、組織面積に対する沈着部位の比による評価では、どちらかといえば後者の方が変化は大きい。これは主観評価が1から4段階によることに起因するのではない。

いずれも治療1年間の観察では、トシリズマブ群の方が非トシリズマブ群に比べて減少傾向を示すものが多い。非トシリズマブ群では不変、もしくは増加傾向を示す症例が多くみられる。有意差がありそうである。

#### <AAアミロイド蛋白解析>

沈着変化はより客観性が高いが、logにより変化の意義を認める方が良さそうである。結果的に、病理学的解析以上に変化が著名で両者の差は大きい。本法にても有意差がありそうである。

#### <腎解析>

治療1年間における腎臓機能は、思ったより変化に乏しい。しかし、トシリズマブ群ではクレアチ

ニン、クレアチニン・クリアランス、シスタシンCのいずれも不変または、軽度改善が見られる。不変というのは、有効とも考えられる。蛋白尿の減少は、機能変化より著名である。

### D. 考察

結果的に予定登録者を下回った。原因は、関節リウマチに対する近年の著しい治療向上のため、関節リウマチ患者でAAアミロイドーシス合併者が減少したことによると思われる。むしろ今後、多数の患者を要する臨床研究は困難になるため、今回の研究結果は貴重である。

### E. 結論

自主研究途上なので、現時点で結果は未定である。印象として、最近の治療により、組織におけるAAアミロイドの沈着は、減少傾向を示す症例が認められている。腎機能の憎悪も程度の差はあるが、抑制傾向を示している。特に、アクテムラ群において有効性が高そうである。2年目については最終集計後行う。

### 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) Ebara S, J.Song S.-N., Mizuta H, Ito Y, Hasegawa K, Kamata T, Matsumura-Nishikawa T, Ogawa T, Soneda J, Yoshizaki K : Interleukin-6-producing dermoid cyst associated with multicentric Castleman's disease. *Springer, J.Int.Hematol.* 95 : 198-203, 2012

2) Nakazawa-Soken J.Song, Kazuyuki Yoshizaki : Up-regulation of hepcidin by interleukin-6 contributes to anemia of inflammation in multicentric Castleman's disease (MCD). *Inflammation and Regeneration* 32(3) : 99-106, 2012

#### 2. 学会発表

1) Yoshizaki K: Basic and Clinical Significance of

Interleukin 6 (IL-6) in AA amyloidosis. ISA2012, Groningen, Netherland, 5.6, 2012.

2) Yoshizaki K: Role of IL-6 and IL-6 Blocking Therapy in Autoimmune and Chronic Inflammatory Disease. FOCIS2012, Vancouver, Canada, 6.21, 2012.

3) Yoshizaki K: Pathogenic Role of IL-6 on the Induction of Acute Phase Proteins, CRP and SAA in Rheumatoid Arthritis, a Chronic Inflammatory Disease. Cytokines2012, Geneva, Switzerland, 9.11, 2012.

4) Yoshizaki K: Basic and Clinical Significance of Interleukin 6 (IL-6) in AA amyloidosis with RA. ACR2012, Washington D.C., USA, 11.12, 2012.

5) Yoshizaki K: Expansion of Therapy with an anti-IL-6R Antibody, Tocilizumab, in Chronic Inflammatory Disease Based on the Pathogenic Analysis of IL-6. ICDDT2013, Dubai, UAE, 2.19, 2012.

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

〔Ⅲ〕 研究報告会及び  
国際シンポジウムプログラム



厚生労働省 難治性疾患等克服研究事業（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 24 年度 研究報告会 プログラム・抄録集

日 時：平成 25 年 1 月 24 日(木) 9：30－17：50  
25 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、FAX 03-3287-2913  
ホームページ <http://www.kkr-hotel-tokyo.gr.jp/>

アミロイドーシスに関する調査研究班

研究代表者 安東由喜雄

事務局：熊本大学大学院生命科学研究部神経内科学分野

〒860-8556 熊本県熊本市中央区本荘 1-1-1

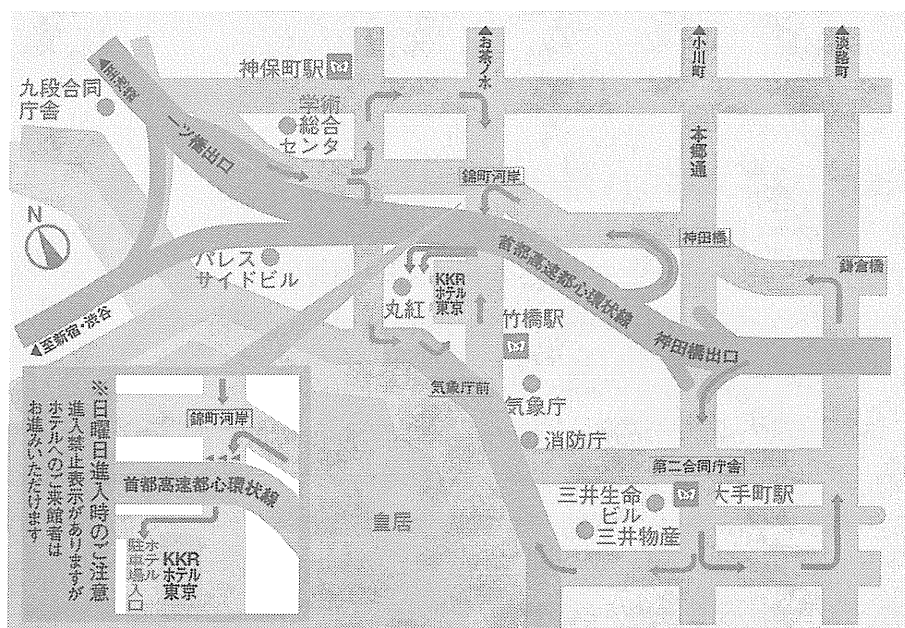
TEL 096-373-5893

FAX 096-373-5895

E-mail [amyloid@kumamoto-u.ac.jp](mailto:amyloid@kumamoto-u.ac.jp)

## 連絡事項

- ・ 発表時間は1演題につき発表9分、討論4分です（時間厳守）。
- ・ ○印は演者です（演者は研究分担者、研究協力者の先生でなくても結構です）。
- ・ 太字は、発表演題を中心となって推進した、研究分担者および研究協力者です。
- ・ 発表は全て、PowerPoint ファイルを Windows PC プロジェクターで投影して行います。
- ・ 研究分担者会議：1月24日（木）昼食時  
研究分担者の先生方は「11階 松の間」にお集まり下さい。
- ・ 意見交換会  
日時：1月24日（木）18:00～  
場所：KKR ホテル東京 11階 朱鷺の間
- ・ 会場までのアクセス



## 電車でお越しの場合

- ・ 東京メトロ 東西線、「竹橋駅」3b 出口直結
- ・ 東京メトロ 千代田線、「大手町駅」C2 出口より徒歩5分
- ・ 都営地下鉄 三田線・新宿線、「神保町駅」A9 出口より徒歩5分
- ・ JR「東京駅」（丸ノ内北口より徒歩14分）

1月24日(木)

9:30 挨拶 研究代表者 安東由喜雄

9:35 挨拶 厚生労働省健康局疾病対策課

I. 脳アミロイドーシス Part 1 (9:45~10:37) 座長 岩坪 威

1. アルツハイマー病脳における毒性 A $\beta$  コンフォーマーの検討 9:45  
玉岡晃<sup>1)</sup>、○富所康志<sup>1)</sup>、篠塚由美<sup>1)</sup>、荒木亘<sup>2)</sup>、石井一弘<sup>1)</sup>  
筑波大学医学医療系神経内科学<sup>1)</sup>、国立精神・神経医療研究センター神経研究所<sup>2)</sup>
2. アポリポ蛋白Eがアミロイド $\beta$ 蛋白質のオリゴマー化及び蓄積に与える影響の検討 9:58  
○橋本唯史<sup>1),2)</sup>、堀由起子<sup>1),2)</sup>、Alberto Serrano-Pozo<sup>2)</sup>、Matthew P Frosch<sup>2)</sup>、  
Bradley T Hyman<sup>2)</sup>、岩坪威<sup>1)</sup>  
東京大学大学院医学系研究科神経病理学分野<sup>1)</sup>、  
マサチューセッツ州総合病院アルツハイマー病研究ユニット<sup>2)</sup>
3. アルツハイマー病における脳微小出血と脳糖代謝・灰白質容量との関連 10:11  
山田正仁<sup>1)</sup>、○佐村木美晴<sup>1)</sup>、松成一朗<sup>2)</sup>、吉田光宏<sup>1)</sup>、島 啓介<sup>1)</sup>、  
篠原もえ子<sup>1)</sup>、小野 賢二郎<sup>1)</sup>  
金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科学)<sup>1)</sup>、先端医学薬学研究センター<sup>2)</sup>
4. p62/SQSTM1-dependent autophagy of Lewy body-like  $\alpha$ -synuclein inclusions 10:24  
○徳田隆彦<sup>1,2)</sup>、渡邊義久<sup>3)</sup>、建部陽嗣<sup>2)</sup>、水野敏樹<sup>2)</sup>、田中雅樹<sup>2)</sup>、中川正法<sup>2)</sup>  
京都府立医科大学分子脳病態解析学(神経内科併任)<sup>1)</sup>、京都府立医科大学神経内科学<sup>2)</sup>、  
京都府立医科大学基礎老化学<sup>3)</sup>

*Coffee Break (10:37~10:52)*

II. 脳アミロイドーシス Part 2 (10:52~11:44) 座長 水澤英洋

5. A $\beta$  重合体の神経毒性発現機序解明 10:52  
東海林幹夫、○松原悦朗<sup>まつばらえつろう</sup>、瓦林毅  
弘前大学大学院医学研究科脳神経内科学
6. ネコ科動物の脳にみられる  $\beta$  アミロイド沈着と神経原線維変化に関する 11:05  
比較病理学的研究  
○チェンバーズ ジェームズ<sup>1)</sup>、宇根有美<sup>2)</sup>  
東京大学農学生命科学研究科獣医病理学研究室<sup>1)</sup>、麻布大学獣医学部獣医病理学  
研究室<sup>2)</sup>
7. 老齢ネコの海馬神経細胞内にみられる A $\beta$  42 沈着 11:18  
○高橋映里佳<sup>たかはしえりか</sup><sup>1)</sup>、チェンバーズジェームズ<sup>2)</sup>、宇根有美<sup>1)</sup>  
麻布大学獣医病理学研究室<sup>1)</sup>、東京大学獣医病理学教室<sup>2)</sup>
8. 家族性アルツハイマー病原因遺伝子(*PSEN*変異)におけるアミロイド $\beta$ 種 11:31  
発現パターン変化の解析  
水澤英洋、○三條伸夫<sup>さんじょうのぶお</sup>、テムチナ、堀匠、日熊麻耶、伊藤陽子  
東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科)

11:45~12:45

昼食

研究分担者会議 (11階 松の間)

III. 脳アミロイドーシス Part 3 (12:45~13:37) 座長 山田正仁

9. CAA に対する副腎皮質ステロイドホルモンの作用機序：脳血管壁構成蛋白の 12:45  
プロテオミックス分析による検討  
○亀谷富由樹<sup>かめたにふゆき</sup><sup>1)</sup>、池田修一<sup>2)</sup>  
公益財団法人東京都医学総合研究所 認知症高次脳機能分析部門<sup>1)</sup>、  
信州大学医学部脳神経内科 リウマチ・膠原病内科<sup>2)</sup>