

201324015A

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

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 安東由喜雄

平成 26 (2014) 年 3 月

目次

[I] 総括研究報告

研究代表者 安東 由喜雄	1
--------------------	---

[II] 分担研究報告

1. 脳への A β 沈着は、年齢ではなく A β seeds が脳に存在した期間に依存する	17
山田 正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科学)	
2. A β アミロイドーシスの神経毒性機序の解明と治療法開発	21
東海林 幹夫 弘前大学医学部神経内科	
3. ヒト脳ならびに脳脊髄液における毒性 A β コンフォマーの検討	24
玉岡 晃 筑波大学医学医療系神経内科学	
4. PiB-PET が発症早期診断に有用であった脳アミロイドーシス 2 例	29
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	
5. グリア系培養細胞上清中に含まれるセリンプロテアーゼ様 A β 分解活性の解析	32
岩坪 威 東京大学東京大学院医学系研究科 神経病理学分野	
6. 培養細胞を用いたミトコンドリア内 A β 産生系に関する検討	34
玉岡 晃 筑波大学医学医療系神経内科学	
7. Cross-sending effects of amyloid β -protein and α -synuclein	39
山田 正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科学)	
8. 新たなガンマ・セクレターゼ結合蛋白の解析	43
水澤 英洋 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学(神経内科学)	

9. 脳アミロイドーシスの細胞治療法の開発を目指した骨髄由来 ……………	46
ミクログリア様細胞の機能ならびに脳移行性の解析	
芦原 英司	
京都薬科大学病態生理学分野	
10. 透析アミロイドーシスに関する臨床重症度分類の作成 ……………	50
高市 憲明	
虎の門病院腎センター	
11. 手根管手術患者における β 2MG の長期負荷量の検討 ……………	54
高市 憲明	
虎の門病院腎センター	
12. 透析アミロイドーシスと慢性炎症指標(CI index)との関係 ……………	58
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	
13. 緑茶成分カテキンによる透析アミロイドーシス発症抑止効果の検討 ……………	60
本宮 善恢	
医療法人翠悠会	
14. β 2 ミクログロブリンのアミロイド線維形成の熱測定と過飽和の役割 ……………	62
内木 宏延	
福井大学医学部病因病態医学講座分子病理学領域	
15. β 2-ミクログロブリンアミロイド線維の滑膜線維芽細胞に対する毒性 ……………	64
—電顕的解析を中心に—	
内木 宏延	
福井大学医学部病因病態医学講座分子病理学領域	
16. アミロイド中間体 β 2m92-99 から見た血液透析生体適合性 ……………	66
本宮 善恢	
医療法人翠悠会	
17. アミロイドーシス特有の病理像を認識するプローブの探索 ……………	68
工藤 幸司	
東北大学病院 臨床研究推進センター	

18. 腎臓に2種類のアミロイド蛋白の沈着がみられたモルモットの1例	74
宇根 有美 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室	
19. R1.P1- <i>Apoa2c</i> マウスにおける老化アミロイド(AApoAII)の沈着は	76
小胞体ストレスを誘導する 樋口 京一 信州大学大学院医学系研究科加齢生物学講座	
20. 老齡カリフォルニアアシカの脳における β アミロイド沈着	81
宇根 有美 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室	
21. チーターの脳におけるタウの検討	83
宇根 有美 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室	
22. FAP 発症の鍵となる TTR 断片化機構の解析	85
植田 光晴 熊本大学神経内科	
23. 霊長類トランスサイレチンの X 線結晶構造解析	88
水口 峰之 富山大学大学院医学薬学研究部	
24. アミロイドーシスにおける早期診断システムと診療支援の重要性	90
安東 由喜雄 熊本大学大学院生命科学研究部 神経内科学分野	
25. アミロイド心筋症を有する肝移植後 non-Val30Met	94
FAP 患者に対するジフルニサルの治療効果の検討 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	
26. FAP <i>ATTR</i> Val30Met の末梢神経病変の超微形態学的検討	97
小池 春樹 名古屋大学神経内科	

27. 全身性免疫グロブリン軽鎖アミロイドーシス(AL)に対する自己末梢血管細胞 …………… 101
移植併用大量メルファラン療法(HDM/SCT)の12年の治療成果
加藤 修明
信州大学脳神経内科 リウマチ・膠原病内科
28. ALアミロイドーシスに対するメルファラン大量療法を用いた …………… 104
自家末梢血管細胞移植の最近の成績
麻奥 英毅
広島赤十字・原爆病院 検査部
29. 原発性ALアミロイドーシスに対するボルテゾミブ・メルファラン・デキサメタゾン療法の
安全性と有用性に関する研究：臨床第I/II相試験の進捗状況(Ⅲ)…………… 106
島崎 千尋
社会保険京都病院血液内科
30. 末期腎不全に至った全身性ALアミロイドーシスにおける …………… 109
Free light chainの除去と生命予後
今井 裕一
愛知医科大学 腎臓・リウマチ膠原病内科
31. ALアミロイドーシスにおける骨髄形質細胞のクローン表現型・細胞比率が …………… 111
及ぼす細胞比率が及ぼす臨床的多様性の検討
鈴木 憲史
日本赤十字社医療センター 血液内科
32. 特殊な免疫グロブリン軽鎖によるALアミロイドーシス …………… 114
畑 裕之
熊本大学大学院生命科学研究部生体情報解析学
33. SAAの脂質への結合によるアミロイド線維形成の阻害 …………… 117
山田 俊幸
自治医科大学臨床検査医学講座
34. CE/J系マウスにおけるAAアミロイドーシス抵抗性の …………… 119
分子遺伝学的基盤の解明
樋口 京一
信州大学大学院医学系研究科加齢生物学講座

35. JAK 阻害剤による関節リウマチ患者の血清アミロイド A 蛋白(SAA) 産生の抑制 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	124
36. イムノブロットでの AA76 サイズ検出による AA アミロイドーシスの診断	128
山田 俊幸 自治医科大学医学部臨床検査医学	
37. 尿検査による腎アミロイドーシスの診断法および腎臓内のアミロイドの動態について	130
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	
38. リウマチ性疾患に合併する AA アミロイドーシスに対する十二指腸 AA 蛋白定量生検による 薬剤別治療効果の検討	132
奥田 恭章 道後温泉病院リウマチセンター	
39. 腎機能低下の AA ア症リウマチ患者において、トシリズマブは MTX 等の経口薬剤よりも 透析導入を遅らせる。	138
佐伯 修 東大阪市立総合病院 内科	
40. 関節リウマチ合併 AA アミロイドーシスの診療実態：周知と後方支援	141
中村 正 くまもと森都総合病院 リウマチ膠原病内科	
41. 生物学的製剤(アバタセプト)使用中に AA アミロイドーシスを急速に発症した 関節リウマチ症例の経験—マウス AA アミロイドーシス発症抑制実験の結果とともに—	145
奥田 恭章 道後温泉病院リウマチセンター	
42. AA アミロイドーシスのトシリズマブによる治療研究	150
7. AA アミロイドーシス臨床研究会による研究終了報告 吉崎 和幸 大阪大学大学院工学研究科 応用科学専攻免疫医科学	
ミニ アミロイド硬結(AInS)の糖尿病コントロールに及ぼす影響	153
秋元 祐子 萬田記念病院	

[Ⅲ] 研究報告会及びミニシンポジウムプログラム	155
① 夏のワークショップ 2013 プログラム (平成 25 年 7 月 25 日-26 日)	
② 平成 25 年度研究報告会プログラム&ミニシンポジウムプログラム (平成 26 年 1 月 23 日-24 日)	
[Ⅳ] 研究成果の刊行に関する一覧表	177
[Ⅴ] FAP 国際ガイドライン	207
[Ⅵ] 班構成員名簿	225

[I] 総括研究報告

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

研究代表者 安東 由喜雄 熊本大学大学院生命科学研究部神経内科学分野 教授

研究要旨 アミロイドーシスは、組織の細胞外へアミロイド線維の沈着を生じ、各臓器の機能障害をきたす疾患群であり、共通した病理学的な特徴を有する。多様な基礎疾患や原因蛋白質を有することから、各診療科が連携して横断的な研究に取り組み、本疾患群に対する診療を改善する必要がある。本研究においては、各病型の分子病態に基づいた早期診断・治療法の開発・改善を行った。また、本疾患群に共通した臨床的な課題に取り組むと共に、本症の発症動向を調査・把握し、各医療機関と病診連携を構築・改善することを目的に実施した。具体的には、本年度の研究により以下の成果および知見を得た。1) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) : アミロイドーシスの早期診断および診療支援を行うために診断システムを構築し、全国の施設より 609 例の依頼があった。トランスサイレチン (TTR) 安定化剤であるジフルニサルが心筋症を合併した非 Val30Met 型 FAP に対して有効である可能性が示された。トリプシンによる TTR の断片化が FAP の病態に関わることが示唆された。2) AL アミロイドーシス : 自家造血幹細胞移植とメルファラン/ デキサメタゾン併用療法は適応症例を厳密に選択することで高い有効性が示されているが、新規治療法との適切な組み合わせによって近年さらに治療成績が向上していることが示された。現在、メルファラン/ デキサメタゾンにボルテゾミブを併用した BMD 療法の臨床試験を継続している。完全寛解が得られない症例も新規薬剤を含めた移植後維持療法により予後の改善が期待できる。3) AA アミロイドーシス : IL-6 を標的としたトシリズマブは AA アミロイドーシスに対して優れた治療効果を示すことが、多施設共同研究で明らかになった。JAK 阻害を介してサイトカインシグナル伝達を阻止する新規低分子化合物であるトファシチニブは、関節リウマチ (RA) 患者の血中 IL-6、SAA 濃度低下させることで、本症の発症に抑制的に働くことが示唆された。アミロイドに特異的に反応する抗 AA76 抗体を用いたイムノブロット法は、本症の診断および病態評価の優れたツールになりうる。実態調査により RA 合併 AA アミロイドーシスは早期に診断され、生物学的製剤などの最新医療で治療される傾向にある。4) 脳アミロイドーシス : A β 貪食機能を有する骨髄細胞由来 M-CSF 処置ミクログリア様細胞を用いた細胞治療の有用性、および AB4-10 組み換え大豆蛋白による経口免疫療法の有用性を示した。毒性 A β コンフォーマーが AD の新たな治療標的、診断マーカーとして有用であることを示した。さらに、新たに発見したガンマ・セクレターゼ結合蛋白は APP の安定性などのメカニズムを介し、ガンマ・セクレターゼ活性を調節している可能性がある。また、脳の A β 沈着量は年齢ではなく、A β seeds が脳内に存在した期間によって変動することを示した。5) 透析アミロイドーシス (DRA) : 身体機能をもとにした DRA の重症度を評価する指標を作成した。個々の患者の β_2 m 負荷量を検討することにより、CTS 発症予防する透析条件を検討できる可能性がある。DRA の発症に慢性炎症・酸化ストレスが関与している可能性がある。緑茶特有のカテキンは抗アミロイド効果が期待できる。アミロイド線維はエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれ毒性を発揮すると考えられる。等温滴定熱量計を用いて、 β_2 m のアミロイド線維形成の熱測定に成功し、熱力学的な構造安定性が検証できた。6) アミロイドーシスに共通する発症・伝搬機構の解析および診断・治療法の開発など : アミロイドに親和性を有する近赤外線蛍光プローブ THK-5XY を用いたアミロイドイメージング技術の基礎的な知見が得られた。医原性アミロイドーシスであるインスリンアミロイドーシスが疑われる症例は、従来考えられていたよりも発生頻度は高い。各種の動物に特徴的なアミロイドーシスが生じていることが確認された。ヒトの病態を考察する上でこれらの知見は大変貴重であると考えられる。

研究分担者

山田正仁 金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学（神経内科学）教授

池田修一 信州大学医学部内科学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科 教授

樋口京一 信州大学大学院医学系研究科疾患予防医科学系加齢生物学講座 教授

玉岡 晃 筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻神経病態医学分野教授

高市憲明 虎の門病院腎センター内科 部長

山田俊幸 自治医科大学臨床検査医学 教授

内木宏延 福井大学医学部医学科病因病態医学講座分子病理学領域 教授

本宮善恢 医療法人翠悠会 理事長

今井裕一 愛知医科大学医学部内科学講座腎臓・リウマチ膠原病内科 教授

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 特任教授

東海林幹夫 弘前大学大学院医学研究科附属脳神経血管病態研究施設脳神経内科学講座 教授

麻奥英毅 広島赤十字・原爆病院検査部 検査部長

奥田恭章 道後温泉病院リウマチセンター 院長

水口峰之 富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）構造生物学研究室 教授

工藤幸司 東北大学病院 臨床試験推進センターニューロ・イメージング研究寄附研究部門 教授

水澤英洋 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学 教授

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 特命教授

畑 裕之 熊本大学大学院生命科学研究部生体情報解析学分野医療技術科学講座 准教授

宇根有美 麻布大学獣医学部獣医学科病理学研究室 教授

岩坪 威 東京大学大学院医学系研究科神経病理学分野 教授

小池春樹 名古屋大学医学部附属病院神経内科学科 講師

島崎千尋 社会保険京都病院血液内科 副院長

植田光晴 熊本大学大学院生命科学研究部神経内科学分野 講師

A. 研究目的

アミロイドーシスとは、通常は可溶性である種々の蛋白質が、基礎疾患を原因とした蛋白質濃度の上昇や、遺伝子変異による蛋白質の質的变化などによって、不溶性の線維状構造物であるアミロイドへと変性し、諸臓器の細胞外に沈着することで様々な機能障害を生じる疾患群である。

本疾患群は、アミロイド線維の沈着という共通した病態や病理学的な特徴を有するが、多様な基礎疾患や病態を持つことから、各診療科が連携して横断的な研究に取り組み、本疾患群に対する診療をより良いものへと改善する必要がある。

本研究の目的は、各アミロイドーシスの分子病態に基づいた早期診断・治療法の開発・改善を行うと共に、本症の発症動向を調査・把握し、各医療機関と病診連携を行うことで、本症の病型を早期診断し、最善の治療を迅速に行えるシステムを構築・改善することである。

1) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)

アミロイドーシスには多くの臨床病型が含まれ、複雑な病態を呈することから診断に難渋する症例も多い。そこで本症に対する早期診断システムを構築し、全国の医療機関からの依頼に対して診療支援を行った。

移植前にアミロイド心筋症を有している非 Val30Met FAP 患者の肝移植後の予後は不良である。このような症例に対して肝臓移植後にトランスサイレチン (TTR) 安定化剤であるジフルニサルを投与し治療効果を検証した。

Val30Met 型 FAP が集積地例と非集積地例で異なるニューロパチーの病像を呈する原因を明らかにするために末梢神経病変の超微形態学的検討を行った。

さらに、FAP 発症の鍵となる TTR の立体構造および構造安定性、さらに断片化機構に関する詳細な解析を行った。

2) AL アミロイドーシス

AL アミロイドーシスに対する自己末梢血幹細胞移植併用大量メルファラン療法、ボルテゾミブやレナリドミドなどの各種新規治療薬の有効性を検証した。

また、各種透析膜の free light chain 除去能を検討した。

骨髄形質細胞の形質と臨床像の関連について解析した。

3) AA アミロイドーシス

ヒト化抗 IL-6 レセプター抗体であるトシリズマブ (TCZ) の AA アミロイドーシスに対する治療効果を全国の多施設が共同で検証した。

また、JAK 阻害を介してサイトカインシグナル伝達を阻止する新規低分子化合物のトファシチニブが本症に効果を示すか基礎検討を行った。

T 細胞選択的共刺激調整剤 (CTLA-4-Ig) であるアバタセプト (ABT) の本症に対する効果を検討した。

AA アミロイドーシスでは前駆物質である SAA の C 末端部分が蛋白分解により除去された N 末端部分 (AA) が沈着する。組織中での AA76 の検出は AA アミロイド沈着の間接的な証明となる可能性がある。胃十二指腸、腹壁脂肪、尿中で AA76 の検出を試み、本症の診断および病態評価に有用か検証した。

RA に合併した AA アミロイドーシスの診療実態および後方支援体制について調査した。

本症のアミロイド前駆蛋白質である SAA は HDL のアポリポ蛋白質として機能するため、SAA と HDL の結合がアミロイド形成に及ぼす影響を検討した。

モデル動物における実験的 AA アミロイドーシス発症機構の解析を SAA 遺伝子の多様性の面から検討した。

4) 脳アミロイドーシス

脳アミロイドーシスの究明と制圧に向け、治療法、診断法の開発、および病態解析に向けた研究を行った。

5) 透析アミロイドーシス (DRA)

DRA に対する重症度分類の作成を行った。また本症の発症に関連する因子として、原因蛋白質である $\beta 2$ ミクログロブリン ($\beta 2m$) の長期負荷量と慢性炎症指標の評価を行った。また、アミロイド中間体と考えられる $\beta 2m92-99$ の血中濃度の推移を検討した。

さらに、緑茶カテキンによる本症の発症抑制効果を検証した。

基礎検討として、 $\beta 2m$ アミロイド線維が滑膜線維芽細胞に及ぼす影響を検討した。また、 $\beta 2m$ のアミロイド線維における過飽和の役割を検討した。

6) アミロイドーシスに共通する発症・伝搬機構の解析および診断・治療法の開発など

各アミロイドーシスに対する効果的な治療法は病初期に効果的であるため、早期診断に有用な画像診断法の開発が必要である。本研究では、新規の画像診断法に応用可能なアミロイドトレーサーの開発を行った。

糖尿病に対する治療として実施されるインスリン皮下注射を行っている患者で、皮下にインスリンアミロイド腫瘍を形成する患者の報告が近年散見される。本医原性アミロイドーシスの実態及び病態を解析した。

また、動物に生じるアミロイドーシスを解析し、ヒトの病態との比較を通じて、本症の病態を考察した。

B. 研究方法

1) 家族性アミロイドポリニューロパチー

①アミロイドーシス診断システムに関する研究

全国の医療機関からのアミロイドーシスの診断依頼を受付け、臨床情報、生検組織、血清および遺伝子サンプルによりアミロイドーシスの病型診断および診療支援を行った。本システムの 21 月間の成果と課題を検証した (安東ら)。

②ジフルニサルの治療効果に関する研究

肝移植前に明らかなアミロイド心筋症を認め、非 Val30Met FAP 患者 2 名にジフルニサルを投与し、移植前後の心機能 (心胸郭比、心筋壁厚、心収縮能、血漿 BNP 濃度) を経時的に評価した (池田ら)。

③集積地/ 非集積地症例の神経病変に関する研究

39例のFAP Val30Met症例（集積地5例/非集積地34例）の腓腹神経病理所見を検討した（小池ら）。

④TTRの断片化に関する研究

断片化TTRに対する抗体を用いて、FAP患者（集積地21例/非集積地8例）組織中の断片化TTR有無を検証した。TTRの断片化機構をin vitroで解析した（植田ら）。

⑤新規の動物モデルに関する研究

全身性TTRアミロイドーシスを発症するベルベットモンキーと本症を発症しない4種類の霊長類TTRを作成し、その立体構造をX線結晶解析により解析し、構造安定性を尿素による変性実験により検討した（水口ら）。

2)ALアミロイドーシス

①治療法に関する検討

12年間に自己末梢血幹細胞移植併用大量メルファラン療法を受けた31名の血液学的および組織学的な有効性、長期予後、安全性を検討した（加藤ら）。

自家末梢血幹細胞移植術併用メルファラン投与症例を後方視的に解析し、治療効果および新規治療薬の使用状況について検討した（麻奥ら）。

メルファラン/デキサメタゾン併用療法に加え、骨髄腫細胞に対し直接的にアポトーシスを誘導することが報告されているプロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブ（BOR）を併用した臨床第I/II相試験を実施し、安全性、有効性を検証した（島崎ら）。

6例AL患者において、各種透析膜、透析条件によるfree light chainの除去率を検討し、4年後の生命予後を評価した（今井ら）。

②症候や併発疾患に関する検討

形質細胞、CD19、CD20、CD56の発現を解析し、それらの発現の有無による各種臨床症候、予後、検査値の比較を行った（鈴木ら）。

M蛋白あるいはfree light chain異常があるCongo Red陽性、AL免疫染色陰性例において、沈着アミロイドのLC-MS/MS解析および骨髄形質細胞のALの塩基配列解析を行った（畑ら）。

3)AAアミロイドーシス

①治療法に関する検討

RAに伴うAAアミロイドーシスに対するTCZ

を用いた本症の治療効果を検証した。37名を対象に、TCZ治療群とその他のRAに対する通常の治療群に分け、組織のアミロイド沈着量と腎機能の変化を1年後と2年後に解析した（吉崎ら）。腎機能悪化が認められ、かつ高い疾患活動性を有する患者を対象とし、従来の抗リウマチ薬投与群とTCZ群において臨床症状、炎症反応、腎機能悪化などに与える影響を比較した（佐伯ら）。

抗サイトカイン療法後の腎アミロイドーシスおよび腎機能の推移を解析した（西ら、佐伯ら）。

T細胞活性化調整剤であるアバタセプト（ABT）の本症に対する治療効果を解析した（中村ら）。

②JAK阻害剤の抗炎症効果およびSAA抑制効果の検討

トファシチニブの第三相臨床試験にエントリーした関節リウマチ患者16名のなかで、トファシチニブ（実薬）が投与された15名を対象として、血中のSAA、IL-6、可溶性IL-6レセプター濃度をELISA法で測定した（右田ら）。

③新規抗AA抗体による新規診断法の開発

AA76のペプチドを合成し、本症疑い14症例の胃十二指腸生検、および過去に本症と診断された47症例115試料を対象とし、AA76が検出されるか検証した（山田（俊）、奥田ら）。また本症を併発したRA患者13例と、本症を併発していない5症例の尿を解析した（西ら）。

④アバタセプト（ABT）の効果検討

ABTを投与し本症を併発したRA患者の経過を解析したと共に、マウスモデルを用いてABTの本症に対する効果を検証した（奥田、山田（俊）ら）。

⑤関節リウマチ合併AAアミロイドーシスの診療実態

RAに併発した本症に対する診療実態を調査した（中村ら）。

⑥SAAの脂質への結合によるアミロイド線維形成の阻害

SAAのN末端（SAA 1-27残基）、中間（SAA 43-63残基）及びC末端（SAA 77-104残基）の各領域からなるフラグメントペプチドと、全長SAAを作製し、アミロイド線維形成や脂質結合性を評価した（山田ら）。

⑦モデル動物における実験的AAアミロイドーシ

ス抵抗性の解析

本症の惹起に抵抗性を示す CE/J マウスの SAA 遺伝子の配列および発現量を解析した (樋口ら)。

4) 脳アミロイドーシス

① 脳アミロイドーシスの治療法の開発

本研究班では既に、脳内の免疫担当細胞の一つであるミクログリアがアミロイドβ 蛋白 (Aβ) の貪食機能を有することに注目し、ミクログリアの移植が脳内の Aβ 除去に有効であること、骨髄細胞を macrophage-colony stimulating factor (M-CSF) で刺激することにより、ミクログリア様の Aβ 貪食細胞へと分化・誘導することに成功した。今回、この研究結果より、Enhanced green fluorescent protein (EGFP) マウスの大腿骨と脛骨から採取した骨髄細胞、ならびに M-CSF 処置により誘導した骨髄細胞由来ミクログリア様細胞を野生型マウスに投与し、脳移行性を解析した。一方、骨髄由来 M-CSF 処置ミクログリア様細胞の培養上清を用いて、初代培養ミクログリアを培養し、Aβ 貪食機能を解析した (芦原ら)。さらに、変異 Amyloid precursor protein (APP) 産生マウス TgCRND8 に対して、Aβ4-10 組み換え大豆蛋白を用いた Aβ 経口免疫療法の開発を行った (東海林ら)。

② 脳アミロイドーシスの診断法の開発

脳アミロイドーシスの確定診断は剖検による病理診断にてなされ、生前に脳への Aβ の蓄積を直接評価することは困難である。早発型家族性アルツハイマー病 (AD) と診断した 48 歳男性、および脳アミロイドアンギオパチー (CAA) と診断した 48 歳男性に対し、臨床症状、各種検査結果、PiB-PET 検査の所見、確定診断に至った経緯を後方視的に解析し、PiB-PET 検査の有用性を検討した (池田ら)。

③ 脳アミロイドーシスの病態解析

毒性 Aβ コンフォマーは AD の新たな治療標的、診断マーカーとして期待されるが、ヒト脳や脳脊髄液における毒性 Aβ コンフォマーの存在様態は不明である。凍結剖検脳ホモジェネート中の毒性 Aβ コンフォマーを、11A1 を用いた免疫沈降法と Western blot 法の組み合わせ (IP-WB) により、生化学的同定を試みた。

また、AD の機序として、Aβ がミトコンドリア

内に蓄積し、ミトコンドリアの機能不全を引き起こす可能性が考えられ、ミトコンドリア内の APP 代謝、Aβ 産生について培養細胞を用いて検討した (玉岡ら)。

培養細胞を用いた、Time-controlled transcardiac perfusion cross-linking (tcTPC) 法による免疫共沈降法により新たなガンマ・セクレターゼ調節因子の候補となる蛋白質を見いだした。そのうちの 1 つは Aph-1 と特異的に結合する蛋白であった。Aph-1 はガンマ・セクレターゼ複合体において足場分子的な働きをすることが推測され、Aph-1 と特異的に結合する新規蛋白の生化学的性質を解析した (水澤ら)。

Aβ40、Aβ42 およびα-シヌクレイン (αS) 蛋白の凝集体の Aβ およびαS 凝集に対する seeding、あるいは cross-seeding 効果をチオフラビン色素蛍光法および電子顕微鏡を用いて検討した。

さらに異なる月齢 (3 ヶ月齢、9 ヶ月齢) の APP 遺伝子改変マウスである R1.40 マウスに、脳に著明な Aβ 沈着を認める高齢 APP23 マウス脳ホモジェネートを接種し、Aβ 沈着量に関連する要因について検討した。対象を、脳ホモジェネートを 3 ヶ月齢で接種し、6 ヶ月後の脳を評価する群 (グループ 1)、脳ホモジェネートを 9 ヶ月齢で接種し、6 ヶ月後の脳を評価する群 (グループ 2)、脳ホモジェネートを 3 ヶ月齢で接種し、12 ヶ月後の脳を評価する群 (グループ 3) の 3 群に分け、それぞれのグループの脳への Aβ 沈着量の程度を比較した (山田ら)。

5) 透析アミロイドーシス

① DRA に対する重症度分類の作成

外来維持透析例のうち 140 名のうち、DRA と診断された 43 例を解析対象とし、DRA 主要 5 症状 (多関節痛・バネ指・手根管症候群 (CTS)・透析脊椎症 (脊柱管狭窄症もしくは破壊性脊椎症)・骨嚢胞) を評価対象項目とし、DRA 臨床重症度分類 (Amyloid Clinical Stage: A-stage) を作成した (高市ら)。

② β2m 長期負荷量、慢性炎症指標、アミロイド中間体 β2m92-99 の推移

血清 β2m 濃度と CTS 発症までの透析期間を検討することにより、CTS 発症に必要な β2m 負荷量 (必要 β2m 負荷量) を算出した (高市ら)。また

本症の発症と慢性炎症の関連性を検討した（西ら）。さらにアミロイド中間体と考えられるβ2m92-99の血中濃度と本症の関連性も検討した（本宮ら）。

③緑茶カテキンによる発症抑制効果

臨床背景をマッチさせたカテキン服用群、非服用群で、一日あたり800mg、3年間のカテキン服用による透析アミロイドーシス発症抑止効果を比較検討した（本宮ら）。

④骨・関節破壊が生じる機構の解析

滑膜線維芽細胞由来の株細胞を用いて、アミロイド線維の及ぼす細胞毒性や形態変化を検討した（内木ら）。

⑤β2mのアミロイド線維形成の熱測定と過飽和

等温滴定型熱量計を用いて、酸性条件下におけるβ2mの自発的なアミロイド線維形成に伴う熱量を測定した（内木ら）。

6) アミロイドーシスに共通する発症・伝搬機構の解析および診断・治療法の開発など

①アミロイドイメージングに関する研究

本研究では、アミロイド線維に特異的に結合する新規の近赤外線蛍光アミロイドプローブであるTHK-5XYを用いたアミロイドイメージング法の有用性を検証した（工藤ら）。

②医原性インスリンアミロイドーシスの実態調査

インスリン使用者から385人を無作為に抽出し、インスリン穿刺部位の所見を超音波画像で分類した（秋元ら）。

③動物に生じるアミロイドーシスの解析

各種の動物に生じるアミロイドーシス（チーターの脳、アシカの脳、モルモットの腎臓）を解析した（宇根ら）。

マウスに生じるApoAIIアミロイドーシスの病態と小胞体ストレスの関与を検討した（樋口ら）。（倫理面への配慮）

患者を対象とする臨床研究（診断、治療、遺伝子解析など）、疫学研究等は各施設の倫理委員会の承認後に、インフォームドコンセントを得て実施した。動物実験、遺伝子組み換え実験に関しても、各施設の倫理委員会の承認を得て実施した。

C. 研究結果

1) 家族性アミロイドポリニューロパチー

①アミロイドーシス診断システムに関する研究
 依頼件数は21ヶ月間で609例であった。病型は、AL: 35.2%、SSA: 16.7%、TTR型FAP: 16.7%、AA: 8.1%、その他: 3.3%、非アミロイドーシス: 20.0%であった。TTR型FAPでは、世界初および本邦初の遺伝子変異型を含む10種類の変異型があった。

②ジフルニサルの治療効果に関する研究

肝移植前にアミロイド心筋症を認めた非Val30Met FAP患者にジフルニサル投与を行った。平均4.5年間のジフルニサル投与により、心胸郭比、心筋壁厚、心収縮能、血漿BNPの経過は、非投与群と比べて良好であった。

③集積地/非集積地症例の神経病変に関する研究

若年群では小径線維優位、高齢群では非選択的な神経線維脱落を認めた。若年群ではアミロイドに隣接したシュワン細胞の基底膜および細胞膜の不明瞭化、無髄線維の脱落を認めた。一方、高齢群では、血管内皮細胞の連続性の消失と有髄線維の脱髄が目立った。

④TTRの断片化に関する研究

非集積地FAP患者の組織からは断片化TTRが検出されたが、集積地FAP患者の組織からは検出されない傾向があった。神経由来の細胞株にTTRアミロイドを加えるとTTRの断片化が生じた。この断片化がトリプシンによることが示唆された。

⑤新規の動物モデルに関する研究

霊長類のTTR結晶構造を決定した。TTRアミロイドーシスを発症するベルベットモンキーのTTR四量体構造は、他の4種類の霊長類TTRと比べ不安定であることが明らかとなった。

2) ALアミロイドーシス

①治療法に関する検討

自己末梢血幹細胞移植併用大量メルファラン療法を施行した31名のうち、完全寛解導入率は41.9%、治療関連死亡率は9.7%であり、十分な有効性/安全性が確認された。

全身状態不良の症例でも造血幹細胞移植の支持療法および移植後の新規薬剤を用いた維持療法、再燃後療法により移植適応症例が増加した。

BMD療法の臨床第I/II相試験の適格症例は6例で用量レベル1の安全性が確認された。現在、

用量レベル2の登録が進行中である。

末期腎不全に至ったAL患者の透析におけるfree light chainの除去率は、PS膜HDFが $57.5 \pm 17.0\%$ と最も優れていた。6名の末期腎不全AL患者でPS膜HDFを継続し、4年生存率は50%であった。

AL患者のうち、CD20陰性クローン性形質細胞群ではアルブミン値が低値、骨髄形質細胞割合が10%以上の症例ではヘモグロビン値が低値であった。CD20陽性例やdouble clone症例では心臓や腎臓に比べて、消化管沈着に多い傾向であった。

AL免疫染色陰性例において、沈着アミロイドのLC-MS/MS解析で4例全例からimmunoglobulin lambda constant (IGLC) 2を検出された。骨髄形質細胞を検出された2例ではIGLC2のmRNA発現が検出された。

3) AA アミロイドーシス

①治療法に関する検討

TCZ治療群の方が、非TCZ群に比べてアミロイド沈着の減少が認められた。群間比較でも有意差が認められた。随時尿のレアチニン値比で腎機能の変化を検討したところ、TCZ群と非TCZ群間の比較では腎機能の改善度に有意差は認められなかった。また、従来の経口抗リウマチ薬投与群とTCZ投与群と比較すると、経口抗リウマチ薬投与群で3年以内に人工透析に移行した症例が多かったが、TCZ投与群では腎機能悪化のカーブの著大な改善が認められ、3年以上透析への移行を免れていた。

②JAK 阻害剤の抗炎症効果およびSAA抑制効果の検討

トファシチニブ投与により、SAA濃度は、 $110.5 \pm 118.5 \mu\text{g/ml}$ から $15.5 \pm 13.3 \mu\text{g/ml}$ へ有意に低下した。SAAが基準値 ($8 < \mu\text{g/ml}$) 以下に低下した症例 ($n=11$) とSAAが基準値まで低下しなかった症例 ($n=4$) でトファシチニブ投与後のDAS28 (CRP) を比較した所、SAAが正常化した群で有意にDAS28 (CRP) が低下していた。血清IL-6は、トファシチニブ投与前が $39.2 \pm 38.6 \text{pg/ml}$ から投与後4週で $7.9 \pm 8.9 \text{pg/ml}$ と有意に低下した。

③新規抗AA抗体による新規診断法の開発

免疫染色では陰性であった32例において、イムノブロットのAA76検出では、23例が陽性、9例が陰性であった。TCZ治療後には十二指腸の

AA76量が減少していることが確認された。腹壁脂肪でのAA76検出は、既診断6例全例で陽性であった。

④アバタセプト (ABT) の効果検討

RA患者にABTを投与するも二次無効となり病態が悪化し、AAアミロイドーシスの増悪を認めた。また、マウスモデルを用いた検討で血中のSAA濃度は低下せず、アミロイド沈着量も減少なかった。

⑤関節リウマチ合併AAアミロイドーシスの診療実態

新規治療開始群7例 (男1、女6) とそれ以前に始めた継続群8例 (男5、女3) に分けて、それぞれの群で臨床的事項を分析したところ、継続群では女性、新規群では男性の割合が高かった。新規群では、RA罹病期間やAAアミロイドーシス診断からの期間は有意に短かった。また、新規群では、より遠隔地から通院していた。

⑥SAAの脂質への結合によるアミロイド線維形成の阻害

SAAのN末端領域ペプチドのlysoPCミセルへの結合がアミロイド線維形成を阻害することが示唆された。一方、中間領域ペプチドはlysoPCミセルに結合性を示さず、その共存下においてもヘパリンによる線維形成は阻害されなかった。なお、C末端領域ペプチドは脂質非存在下における線維形成も脂質結合性も示さなかった。全長SAAタンパク質は、N末端領域ペプチドと同様にlysoPCミセルに対する結合を示し、ヘパリンによるアミロイド線維形成はlysoPCミセルを共存させると阻害された。

⑦モデル動物における実験的AAアミロイドーシス抵抗性の解析

CE/J系マウスのSaa1およびSaa2遺伝子とともにQ30Lアミノ酸置換を含むSAA2.2をコードする塩基配列を有していた。両遺伝子の発現の有無をRT-PCR法により解析した結果、両遺伝子がほぼ等しいレベルで転写発現されていることが判明した。レポーター解析の結果、CE/J系マウスのSaa1、およびSaa2遺伝子には、BALB/c系マウスのSaa1遺伝子のプロモーター/エンハンサーに認められるIL-1 β とIL-6による相乗効果は認められないものの、IL-6による中程度のエンハンサー効果が認

められた。

4) 脳アミロイドーシス

① 脳アミロイドーシスの治療法の開発

骨髄細胞、ならびに骨髄由来 M-CSF 処置マイクログリア様細胞を野生型マウスの脳室内に移植した結果、一部の細胞が脳実質へと移行した。M-CSF を処置し、マイクログリア様細胞へと分化させてから移植すると、脳実質に移行する細胞数が減少したが、実質へと移行する細胞が存在することが示された。同様に骨髄細胞ならびに骨髄由来 M-CSF 処置マイクログリア様細胞を野生型マウスの尾静脈から投与した結果、投与した細胞は脳血管に到達しており、一部は脳実質へと移行することがわかった。さらに、骨髄由来 M-CSF 処置マイクログリア様細胞の培養上清の処置により内在性マイクログリアの A β 貪食機能が有意に促進することがわかり、治療法の実用化における骨髄細胞由来 M-CSF 処置マイクログリア様細胞の有用性が示された（芦原ら）。また AB4-10 組み換え大豆蛋白による経口免疫によって海馬依存性の記憶障害の改善、脳 A β アミロイド蓄積の減少が認められた（東海林ら）。

② 脳アミロイドーシスの診断法の実用化

早発型家族性 AD の患者の PiB-PET 検査では、両側前頭葉および頭頂葉皮質に明瞭な集積増加を認め、家族歴から早発型家族性 AD と診断した。遺伝子検査では、新規の PSEN1 遺伝子変異 (p.Gly209Ala) を認めた。Boston 診断基準から probable CAA と診断した症例の PiB PET では、大脳皮質、前頭葉、後部帯状回、頭頂葉、側頭葉に集積増加を認め、特に MRI T2* で多発低信号を認めた後頭葉に強い集積を認め、CAA として矛盾しない所見であった（池田ら）。

③ 脳アミロイドーシスの病態解析

毒性 A β コンフォマーに関する検討では、免疫沈降と Western blot 法の組み合わせにより、AD 脳における可溶性の毒性コンフォマーが同定され、AD 脳ならびに、ヒト脳脊髄液では可溶性 A β の少なからぬ部分が毒性コンフォマーで占められていることがわかった。また、毒性 A β コンフォマーにおいても総 A β と同様に N-/C-末端が不均一であることが示されたミトコンドリア内 A β 産生系に関する検討では、APP, BACE1, γ -secretase

複合体因子が、ミトコンドリア画分内に豊富に存在しており、ミトコンドリア内においても APP の代謝、A β 産生が行われている可能性が示された（玉岡ら）。

Aph-1 と特異的に結合する新たなガンマ・セクレターゼ結合蛋白の解析では、新規蛋白を siRNA でノックダウンした細胞の野生型 APP の発現量を Western blot で確認したところ、APP の減少が認められた（水澤ら）。

凝集に関する検討では、超音波破砕された A β 40、A β 42、 α S 線維ならびに、A β 40、A β 42、 α S オリゴマーは全て、同種間だけでなく、異種間でも seeding 効果を示した。とくに α S 線維は、A β 凝集系において A β 線維以上に強力な seeding 効果を示した。

A β 沈着量に関連する要因についての検討では、脳ホモジェネートの接種 6 ヶ月後に脳への A β 沈着の程度を比較したが、若年、高齢間では有意な差を認めず、若年 (3 ヶ月齢) で接種し 12 ヶ月後に評価した群のみ脳への A β 沈着が前 2 群と比較し有意に増加していた（山田ら）。

5) 透析アミロイドーシス

① DRA に対する重症度分類の作成

DRA 診断は身体機能低下と強く相関しており、この関係は多変量解析にて患者背景因子 (年齢・性別・透析歴・糖尿病・脳心血管病の既往・血清 Alb・Hb・CRP) を補正した後も有意であった。

DRA 主要 5 症状の有無が身体機能 NBS に与える影響は、それぞれ多関節痛 -8.2 [-15.8~-0.6], バネ指 -4.9 [-13.5~3.6], CTS -6.3 [-15.3~2.6], 透析脊椎症 -8.6 [-14.7~-2.5], 骨嚢胞 2.0 [-6.6~10.6] であった。この結果から、“多関節痛 x3 + バネ指 x2 + CTS x2 + 透析脊椎症 x3” (最大値 10) のモデルを作成した。更に、身体機能 NBS をもとに、DRA の臨床重症度を Stage 1 (4 点以下)、Stage 2 (5~7 点)、Stage 3 (8 点以上) の 3 段階に分類した。

② β 2m 長期負荷量、慢性炎症指標、アミロイド中間体 β 2m92-99 の推移

透析導入年齢と必要 β 2MG 負荷量との間には強い負の相関を認め、以下の推定式を得た ($R = -0.7451$ $p < 0.05$)。“必要 β 2MG 負荷量 = 1600 - 20x 透析開始時年齢”。透析導入の年代を検討したところ、いずれの年代もほぼ同じ回帰直線上に分布

していた。

炎症・酸化ストレス指標であるCI-2は、DRA確定群で高値であったが、有意差は認められなかった。多変量解析にて、手根管症候群手術歴に対して、炎症・酸化ストレス指標以外に年齢、透析期間、性別などを入れてこれらが有意な寄与因子であるか検討した。結果として、透析期間のみが有意な寄与因子として検出された。

血清を酸処理することにより、 $\beta_2m92-99$ が誘発され、対象全例での濃度は透析前 1291.3 ± 157.0 ng/mL、透析後 483.4 ± 110.1 ng/mLと、血中 β_2m 濃度の約5%であり、かつ血中 β_2m 濃度に強く依存していた。血中 β_2m 濃度、 β_2m 92-99濃度いずれも β_2m 吸着カラム使用群で有意に低値であった。

③緑茶カテキンによる発症抑制効果

カテキン服用1年経過時点では自覚症状及びルーチン臨床検査項目に有意な変化は見られなかった。開始時の超音波検査による肩関節膨隆度（SCD）では導入期（negative control、 3.8 ± 0.5 mm）対象透析患者（ 4.4 ± 1.7 mm）、手根管解放術適応例（positive control、 10.6 ± 3.5 mm）、末梢血単核球シノヴィオリン発現は対象全例で健常者の約20倍に増強していた。

④骨・関節破壊が生じる機構の解析

β_2m アミロイド線維を添加すると細胞のviabilityが有意に低下していた。光学顕微鏡で観察すると、アミロイド線維を添加した群では、生細胞は少なく、核濃縮や細胞質の膨化、空胞化などの壊死性の変化がみられると共に、アポトーシス小体と考えられる核の断片化も認められた。また、電子顕微鏡観察では、アミロイド線維がエンドソーム、あるいはリソソーム内に取り込まれていた。

⑤ β_2m のアミロイド線維形成の熱測定と過飽和

アミロイド線維の熱測定をさまざまな温度で行ったところ、温度が高い程、発熱量は大きくなった。これよりエンタルピー変化の温度依存性である比熱の変化を求めることができた。

6) アミロイドーシスに共通する発症・伝搬機構の解析および診断・治療法の開発など

①アミロイドイメージングに関する研究

アミロイドーシス誘発処置を施したマウスに、近赤外線蛍光プローブ THK-5XY を静脈内投与して 30 分後に小動物用蛍光イメージング装置でモ

デルマウスの背部を撮影したところ、アミロイド沈着部位の蛍光強度は上昇していた。

②医原性インスリンアミロイドーシスの実態調査

インスリン穿刺部位に変化を認めた患者は、真皮の肥厚など軽微な所見も加えると52.2%であった。このうち、アミロイド沈着を生検で証明しえた症例は4例、同様の低エコーを呈した症例は13例あり、アミロイド硬結である可能性を強く示唆する症例は合計17例、4.4%であった。また、硬結部に穿刺した場合の血中IRIは著明に低下しており、インスリンの吸収が阻害されていることが確認された。

③動物に生じるアミロイドーシスの解析

チーター50頭中14頭、24%に $A\beta$ とリン酸化タウの沈着を認めた。両物質の沈着は7歳以上（平均12.3歳）の動物で観察され、5頭（平均14.6歳）にNFT形成がみられた。

アシカの大脳皮質、特に前頭葉で高頻度に老人斑が観察され、凝集性の強い小型のものと、顆粒状を示す大型のものである異なる2つのパターンが観察された。ともに $A\beta40$ と $A\beta42$ が同程度沈着していた。

高齢モルモットの腎臓に生じたアミロイドを質量分析法（LC-MS/MS）などで解析したところ、部位により、2つの異なるアミロイドーシス（AAアミロイドーシスとALアミロイドーシス）と同定された。

マウスモデルを用いた検討で、肝臓、および腎臓でのAApoAIIの細胞外への沈着が小胞体ストレスを誘発し、沈着が重篤化すると、オートファジーやアポトーシスを引き起こすことが明らかになった。

D. 考察

1) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)

①アミロイドーシス診断システムに関する研究

本診断システムに多くの依頼が寄せられ、さらに潜在的需要が多数あることが示唆された。今後、診断効率の向上と診断精度の維持を行う必要があると考えられた。

②ジフルニサル治療効果に関する研究

少数例での検討であるが、ジフルニサルが肝移

植後のアミロイド心筋症の進行を抑制した可能性が高いと考えられた。

③集積地/非集積地症例の神経病変に関する研究
若年群ではシュワン細胞の脆弱性が、高齢群で blood nerve barrier の破綻などが病態に関与している可能性が示唆された。

④TTR の断片化に関する研究

トリプシンによる TTR の断片化は TTR の変性後に生じていると考えられ、TTR 凝集物のクリアランスに関連している可能性がある。

⑤新規の動物モデルに関する研究

TTR の 122 番目と 39 番目のアミノ酸残基周辺の立体構造が四量体構造の安定性に影響を与えることが示唆された。

2) AL アミロイドーシス

①治療法に関する検討

自家造血幹細胞移植とメルファラン/デキサメサゾン併用 (MD) 療法やボルテゾミブ/デキサメサゾン併用 (BD) 療法などの治療法の進歩により予後の改善が得られている。

ボルテゾミブやレナリドミドなどの新規薬剤を用いた維持療法、再燃後療法を施行することにより長期の予後を期待出来る可能性がある。

メルファラン/デキサメタゾン/ボルテゾミブ併用 (BMD) 療法は海外でも同様の検討が開始されている。今後、ボルテゾミブの至適投与量の明らかにする必要がある。

透析導入に至った AL 患者の治療法の 1 つとして PS 膜を使用した HDF は予後改善に有効である可能性がある。

②症候や併発疾患に関する検討

AL アミロイドーシスの表現型の多様性は、異常形質細胞の表現型の違いに由来している可能性が示唆された。

AL 症例の一部に特定の λ 鎖定常領域の沈着が関連していることが示唆された。

3) AA アミロイドーシス

①治療法に関する検討

IL-6 の作用を阻害する TCZ は、本症に対する改善効果があることが確認でき、TNF α を標的とした薬剤や他の標準的な RA 治療群より良好な治療成績を示すことが確認できた。TCZ は本症に対する極めて効果的な治療法であることが確認でき

た。

T 細胞活性化調整剤である ABT が本症に対して有効である可能性があり、今後の症例の蓄積が必要である。

②JAK 阻害剤の抗炎症効果および SAA 抑制効果の検討

トファシチニブが、IL-6 刺激で誘導される RA 滑膜細胞 JAK2、STAT3 のリン酸化を阻害することで、SAA 誘導を強力に抑制することを報告してきた。この検証のため RA 患者で、トファシチニブ投与前後での SAA の変化を検討した所、トファシチニブは、SAA の濃度を強力に低下させることを確認した。さらにトファシチニブは血清 IL-6 濃度も低下させることも判り、IL-6 のシグナル阻害だけでなく、IL-6 自体の産生を阻害することで、RA 患者の SAA 産生を抑制していることが示唆された。

③新規抗 AA 抗体による病理診断法の開発

AA76 は本症の診断に有用であると考えられた。また、十二指腸、腹壁脂肪、尿から AA76 の検出が確認され、治療後の病態評価にも有用である可能性がある。

④アバタセプト (ABT) の効果検討

過去に ABT により本症の改善が確認された症例の報告があるが、本症例の様に ABT が RA に対して二次無効であると血中 SAA 濃度は抑制されない症例もある。また、モデル動物に対しても明確な効果は確認されなかった。本薬剤の効果に関しては今後の更なる検討が必要である。

⑤関節リウマチ合併 AA アミロイドーシスの診療実態

本症の基礎疾患としての RA 罹病期間が近年は短く、より遠隔地から長時間かけて通院している傾向にあった。本症についての周知や医療的な後方支援体制の構築が求められる。

⑥SAA の脂質への結合によるアミロイド線維形成の阻害

SAA は脂質への結合に伴い α ヘリックス構造が形成され、ヘパリンを添加によるアミロイド形成が抑制されたと考えられた。

⑦モデル動物における実験的 AA アミロイドーシス抵抗性の解析

CE/J マウスでは *Saa1*、*Saa2* 遺伝子の産物とは

もに Q30L アミノ酸置換を含む、SAA1.1 と類似した 1 次構造 (SAA2.2) を有するために、アミロイド線維への構造変換が生じず、このことが CE/J 系マウスの AA アミロイドーシスに対する強力な抵抗性の一因であると考えられる。

4) 脳アミロイドーシス

① 脳アミロイドーシスの治療法の開発

M-CSF を処置した骨髄由来ミクログリア様細胞が末梢投与によっても脳血管ならびに一部が脳実質へと移行することがわかった。さらに骨髄由来ミクログリア様細胞は内在性ミクログリアの A β 貪食機能を促進する液性因子を産生することがわかり、脳血管にとどまる移植細胞も脳内 A β 除去に機能する可能性がある (芦原ら)。また、A β 4-10 組み換え大豆蛋白による経口免疫は、今後、脳アミロイドーシスの治療法開発に有望な方法と考えられた (東海林ら)。

② 脳アミロイドーシスの診断法の開発

今回、検討した両症例は、従来の検査では脳アミロイドーシスの確定診断に至らず、PiB-PET 検査によって脳へのアミロイド沈着が証明された。PiB-PET 検査は脳へのアミロイド沈着を鋭敏に検出することが可能であり、他の検査で特異的な所見に乏しい症例における脳アミロイドーシスの確定診断に有用であると考えられる (池田ら)。

③ 脳アミロイドーシスの病態解析

毒性 A β コンフォーマーに関する検討では、脳への A β 沈着を反映した脳脊髄液中の A β 42 の低下が生じる以前から、毒性 A β コンフォーマーが出現している可能性が示された。AD による認知症の発症に至る経過中の、脳脊髄液中の毒性 A β コンフォーマーの出現時期、質的量的差の有無については、今後の検討が必要である。

ミトコンドリア内 A β 産生系に関する検討では、ミトコンドリア画分内には APP, γ -secretase 複合体因子が豊富に存在していた。ミトコンドリア画分ではマイクロゾーム画分に比して BACE1 の発現が少なく、 β -CTF/ α -CTF 比は低かった。以上の結果より、ミトコンドリア内においても APP の代謝、A β 産生が行われていると考える (玉岡ら)。

Aph-1 と特異的に結合する新規蛋白の解析では、新規蛋白をノックダウンさせた細胞では、APP の

量が減少しており、新規蛋白・Aph-1・APP の結合が APP の安定性に関与している可能性が示された (水澤ら)。

凝集に関する検討では A β 40、A β 42、 α S の疎水性中心はモノマーと線維 seeds との interaction に互いに影響を及ぼし合い、特に α S の疎水性中心の効果は A β 40 および A β 42 より強力であると考えられた。

A β 沈着に関連する要因についての検討では、A β 沈着量は A β を含む脳ホモジェネートが脳内に存在した期間に依存し、加齢は、脳への A β 沈着の要因ではなかった。A β 線維の seeds の脳内の出現時期により、将来の脳への A β 沈着程度が規定されることを示し、AD の発症予防・治療の標的として若年期に出現する A β seeds に対する治療を行うことが重要となる (山田ら)。

5) 透析アミロイドーシス

① DRA に対する重症度分類の作成

身体機能をもとにした DRA の重症度を評価する指標を作成した。透析患者の身体機能に影響する他因子を可能な限り補正し、患者身体機能への DRA 主要項目の影響を調べた。今回のモデルは患者評価と医師評価の双方を含んだものとなった。

② β 2m 長期負荷量、慢性炎症指標、アミロイド中間体 β 2m92-99 の推移

CTS 発症に必要な β 2MG 負荷量を求める推定式を得た。必要 β 2MG 負荷量以下になるような透析を継続ことにより CTS 発症の予防ができる可能性があると思われる。

慢性炎症あるいは酸化ストレスを示唆する指標は、DRA 群で高い値を示すことが分かったが、有意差は確認できなかった。今後、症例数を増やして同様の検討をする必要がある。

C 末端領域は amyloidogenic サブドメインであり、そのサブドメインが unfold している β 2m92-99 は amyloid β 2m に近い至近中間体と考えられる。酸性で誘発された潜在型 β 2m92-99 濃度は血中 β 2m 濃度に強く依存しており、 β 2m 濃度を低く抑えることの重要性が確認された。

③ 緑茶カテキンによる発症抑制効果

緑茶特有のポリフェノール、エピガロカテキンガレートを高濃度を含むカテキンは多面的効果が期待できる。

④骨・関節破壊が生じる機構の解析

$\beta 2m$ アミロイド線維はエンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれ、エンドソーム膜、リソソーム膜の破壊などを介して壊死及びアポトーシスの両者を引き起こすことで毒性を発揮すると考えられた。

⑤ $\beta 2m$ のアミロイド線維形成の熱測定と過飽和等温滴定熱量計を用いた熱測定をもとにして得られた $\beta 2m$ のアミロイド線維形成の熱力学量（自由エネルギー、エンタルピー、エントロピー）を天然状態の値と比較したところ、天然状態が一旦変性した後、規則的な分子間相互作用の形成が困難であるために、過飽和とその解消を経てアミロイド線維は形成すると考えられた。

⑥ アミロイドーシスに共通する発症・伝搬機構の解析および診断・治療法の開発など

①アミロイドイメージングに関する研究

アミロイドに親和性を有する近赤外線蛍光プローブ THK-5XY はアミロイド検出するツールとして有用と考えられる。

②医原性インスリンアミロイドーシスの実態調査

本アミロイドーシスは、想定されているより多く存在する可能性があり、インスリン吸収を妨げ、血糖コントロールを悪化させる要因となりうる。

③動物に生じるアミロイドーシスの解析

チーターの脳では、神経細胞と少数の乏突起抗細胞内でタウはリン酸化されており、ヒトのADと類似していた。

カリフォルニアアシカは、イヌ亜目に属する海棲哺乳類である。本例にみられた小型円形の老人斑は高齢のイヌにみられる老人斑と類似していた。

本モルモットに生じたアミロイドーシスは、全身性のAAアミロイドーシスに限局性のALアミロイドーシスが併発したと考えられた。

マウスモデルを用いた検討から、細胞外に沈着するアミロイドーシスでも小胞体ストレスが発症や病態の進行に関与することが示唆された。小胞体ストレス反応はタンパク質の恒常性の維持に重要な役割を果たすが、過剰な反応はアポトーシス等の細胞障害を引き起こすため、本症の病態にこの様な機構が関与している可能性がある。

E. 結論

1) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)

アミロイドーシス診断システムは、本症の早期診断と診療に貢献しうるシステムであり、更に充実させる必要があると考えられる。

心筋症を合併した非 Val30Met 型 FAP に対し TTR 四量体安定化薬は有効である可能性がある。

集積地の若年発症例と非集積地の高齢発症例では神経障害の機序が異なる可能性がある。断片化 TTR は FAP の病態において TTR 凝集物のクリアランス機構に関連性があると考えられる。ベルベットモンキーを含む霊長類の TTR 結晶解析によりアミロイドーシスの発症に関わる TTR 立体構造変化の解明に有用である。

2) AL アミロイドーシス

自家造血幹細胞移植とメルファラン/デキサメタゾン併用療法の有効性が示されているが、完全寛解が得られない症例も新規薬剤を加えた移植後維持療法により予後を改善する可能性がある。

自家移植後、寛解状態を維持するために、各症例にとって最適の移植前治療および移植後維持療法を選択する必要がある。

3) AA アミロイドーシス

IL-6を標的としたTCZはAAアミロイドーシスに対して優れた治療効果を示すことが、多施設共同研究で明らかになった。

トファシチニブは、RA患者の血中IL-6、SAA濃度低下させることで、RA滑膜炎、AAアミロイドーシスの発症に抑制的に働くことが示唆された。

抗AA76抗体を用いたイムノプロット法は、本症の診断および病態評価の優れたツールになりうる。

ABTの本症に対する効果は更なる検証が必要である。

RA合併AAアミロイドーシスは早期に診断され、生物学的製剤などの最新医療で治療される傾向にある。今後、最新の基礎的研究と共に、更なる周知活動や実臨床上の円滑な医療活動遂行のために後方支援体制の確立が必要である。

SAA分子が脂質に結合することでヘパリンによるアミロイド線維形成が阻害された。