

Amyloidotic Polyneuropathy (ISFAP) and the VIIIth International Symposium on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Rio de Janeiro, Brazil, Nov 11-13, 2013.

Tasaki M, Ueda M, Obayashi K, Koike H, Kitagawa K, Ogi Y, Suenaga G, Sobue G, Ando Y: Effect of age and sex differences on transthyretin amyloid formation in FAP. IXth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy (ISFAP) and the VIIIth International Symposium on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Rio de Janeiro, Brazil, Nov 11-13, 2013.

Tsukimoto S, Obayashi K, Nakazono M, Ueda M, Ando Y, Tomiyoshi K: Bio-distribution experiments of mice using a new amyloid imaging probe 125I-EISB for clinical use. IXth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy (ISFAP) and the VIIIth International Symposium on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy. Rio de Janeiro, Brazil, Nov 11-13, 2013.

Ueda M, Kluge-Beckerman B, Liepnieks J J, Mizuguchi M, Ando Y, Benson M D: Fragmentation of amyloid-forming transthyretin in cultured cells and a test tube. IXth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy (ISFAP) and the VIIIth International Symposium on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Rio de Janeiro, Brazil, Nov 11-13, 2013.

Ueda M, Kluge-Beckerman B, Liepnieks JJ, Mizuguchi M, Ando Y, Benson MD: Fragmentation of aggregated transthyretin in cultured cells and a test tube. IXth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Rio de Janeiro, Brazil, Nov 10-13, 2013.

Wada N, Kawano Y, Fujiwara S, Kikukawa Y, Okuno Y, Mitsuya H, Hata H: A Small Molecule, Shikonin, Dually Functions As a Proteasome Inhibitor and a Necroptosis Inducer In Multiple Myeloma Cells. The 55th annual meeting of American Society of Hematology, New Orleans, U.S.A., Dec 7-10, 2013.

Yamada M: Cerebral amyloid angiopathy (CAA) and development of anti-A β aggregation therapies. The Stroke Research Meeting, Massachusetts General Hospital, Boston, U.S.A., Jul 12, 2013.

Yamaguchi S, Yamada K, Kobayashi H, Takahashi T, Hasegawa Y, Purevsuren J, Ohkubo T, Watanabe M, Tsunemi T, Ishii A, Takuma H,

Tamaoka A, Shigematsu Y, Fukuda S: Two Japanese cases of adult onset myopathic form of glutaric acidemia type II. XIIth International Congress of Inborn errors of Metabolism, Barcelona, Spain, Sep 3-6, 2013.

Yamashita T, Okumura K, Oshima T, Misumi Y, Ueda M, Yamashita S, Maeda Y, Obayashi K, Ando Y: Transthyretin Y114C-related angitis in cerebral amyloid angiopathy after liver transplantation. IXth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy (ISFAP) and the VIIIth International Symposium on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Rio de Janeiro, Brazil, Nov 11-13, 2013.

Yamashita T, Onishi K, Okumura K, Oshima T, Inoue Y, Misumi Y, Suga T, Ueda A, Ueda M, Yamashita S, Maeda Y, Shinriki S, Obayashi K, Sakashita N, Takeya M, Ando Y: An Autopsy Case of Transthyretin Y114C-related Cerebral Amyloid Angiopathy after Liver Transplantation. American Academy of Neurology 65th Annual Meeting, San Diego, U.S.A., Mar 16-23, 2013.

Yanagisawa A, Ueda M, Tasaki M, Oshima T, Misumi Y, Obayashi K, Sakaguti M, Ando Y, Mizuta H: Amyloid deposits in the knee joint menisci. IXth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy (ISFAP) and the VIIIth International Symposium on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Rio de Janeiro, Brazil, Nov 11-13, 2013.

Yazaki M, Tsuchiya-Suzuki A, Sekijima Y, Kametani F, Ikeda S: Steady amyloid turn-over after liver transplantation in FAP patients. IXth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy, Rio de Janeiro, Brazil, Nov 10-13, 2013.

Yoshizaki K: Expansion of therapy with an anti-IL-6 antibody, Tocilizumab, in chronic inflammatory disease based on the pathogenic analysis of IL-6. ICDDT 2013, Dubai, U.A.E., Feb 20, 2013.

G. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

1. 特許取得

安東由喜雄、城野博史、Rene Alvarez、Dinah Sah

1) 発明の名称 : siRNA Therapy for Transthyretin (TTR) Related Ocular Amyloidosis

出願番号 : PCT/US2011/030392

出願日 : 平成23年3月29日

安東由喜雄、城野博史、蘇 宇、細井亜樹

彦、鳥飼正治、竹尾智予、上野真代、樋口
浩文、副島見事、中島敏博：抗トランスサ
イレチンヒト化抗体：特願 2014-014911，
平成26年1月29日

東海林幹夫，瓦林毅：アルツハイマー病の
予防および/または治験用ワクチン組成物。
発明開示11-12，PA11-07，平成23年12月9
日

東海林幹夫：神経変性疾患検査用バイオマ
ーカーとその利用法。発開示12-17，整理

番号PA12-10，出願番号 特願 2012 -2178，
平成24年11月14日

水口峰之：トランスサイレチン四量体を安
定化する γ -マンゴスチンおよび誘導体
(出願予定)

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)
総括研究報告書

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分野 教授

研究要旨 アミロイドーシスは、多岐にわたる疾患の集合体であるため、それぞれの疾患ごとの臨床病態解明、治療プロトコルの開発・確立、新規診断・予防・治療法の開発について戦略を立て、基礎的、臨床的研究を融合させる形で多様な研究を行い、成果を挙げてきた。本年度も同様のスタンスで中身の濃い臨床研究を中核とした研究が行われた。アミロイドーシス各病型については①AL、②AA、③家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)、④老人性全身性アミロイドーシス (SAA) ⑤透析、⑥脳 (A. アルツハイマー病 (AD)、B.脳アミロイドアンギオパチー) ⑦動物のアミロイドーシスである。また、アミロイドーシス全病型に共通する研究課題として⑧アミロイドイメージングの開発を進めるとともに、アミロイドーシスで苦しむ患者・家族に本疾患の理解を深め診療を円滑に進めるために「アミロイドーシスへの理解を深める用語集」を作成するための準備を行った。①AL では、過剰線溶関連分子、アミロイド PET、および免疫組織化学染色の診断的有用性、自家造血幹細胞移植時のリスクに関する調査、および併用高用量化学療法の有用性を示し、報告した。②AA では、優れた治療効果を見出した IL-6 受容体抗体トシリズマブによる世界初の全国多施設臨床試験の結果を報告し、その有用性を確認した。③FAP では、非集積地の高齢発症患者に関する検討から本症の病態に迫るとともに、本症に対する LC-MS/MS を用いた新規診断法の確立や診断マーカーの探索を行った。④老人性全身性アミロイドーシス (SAA) では、腱や靭帯、脊椎といった整形外科領域における野生型 TTR アミロイドの沈着頻度やそれに伴う臨床症状、および各種検査所見について検討し、高齢、男性で野生型 TTR アミロイド陽性の手根管症候群患者をフォローすることが本症の早期診断の鍵となることを確認した。⑤透析アミロイドーシスでは、診断マーカーとしての PIC の有用性、血中 C 末端 unfolded β_2 -microglobulin (92-99 β_2m) やアミロイド共存蛋白質の透析アミロイドーシス発症に及ぼす影響について確認した。⑥脳アミロイドーシスでは、A β 凝集に対してビタミン A や collagen-like Alzheimer amyloid plaque component (CLAC) 蛋白質、スタチン、気液界面が影響を及ぼすことを報告するとともに、発症や症状の進行に脳脊髄液中の A β -(1-34) 量、あるいは postsynaptic lipid rafts の A β amyloidosis が関与している可能性についても見出した。⑦動物のアミロイドーシスに関しては、マウス老化アミロイド (AApoAII) の沈着に加齢変化、および F 型 apoA-II 組成の合成ペプチドが影響を及ぼすことを報告するとともに、5 種類の霊長類由来のトランスサイレチン (TTR) について大量発現系を構築し、その立体構造の安定性について検討するための結晶を得ることに成功した。さらに、大型ネコ科動物から摘出した脳の 69% にびまん性の A β が沈着していることも確認した。これらにはリン酸化タウの蓄積、神経原線維変化の形成、高度の大脳皮質萎縮、ならびに認知障害を伴っていた。大型ネコ科動物は、ヒトのアルツハイマー病のモデルとなりうる可能性を持つ。⑧アミロイドーシス全病型に共通する研究課題であるアミロイドイメージングの開発に関しては、プローブ化合物¹¹C]BF227 が、AL、AA アミロイドーシス患者、および CAA 関連脳出血患者の画像診断や組織学的検討に有用であることを確認した。

また、本年度は本研究班の夏のワークショップを阿蘇で開催するとともに家族性アミロイドーシスに関する 2 つの国際シンポジウムを熊本で開催した。

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加齢生物学分野 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 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先端材料化学領域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 部長
奥田恭章	道後温泉病院リウマチセンター 副院長
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	東北大学未来医工学治療開発センター前臨床応用部門 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
星井嘉信	山口大学医学部附属病院病理部 准教授
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	熊本大学医学部附属病院血液内科 講師
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 病院助教
島崎千尋	社会保険京都病院 副院長
大林光念	熊本大学医学部附属病院中央検査部 講師

A. 研究目的

アミロイドーシスの分子病態メカニズムに基づく早期診断・治療法の開発・確立を目的とし、病型ごとの戦略並びに全病型共通の発症機構研究により、本症の発症動向の把握と共に、早期診断、治療成績の向上、新規診断、そして最終的には予防・治療法の開発を行う。

1) AL アミロイドーシス：本症の診断は難しく、診断の遅れが予後不良の一因子となっている（診断後の50%生存は約1年）。そこで、本症の診断方法を確立するとともに、早期診断マーカーの探索、同定を目指す。また本症に対する治療法としての自家造血幹細胞移植、および併用高用量化学療法の有用性を評価する。

2) AA アミロイドーシス：本症は関節リウマチ（RA）患者の5-10%に合併し、その場合の予後は不良である。そこで、IL-6 受容体抗体トシリズマブによる世界初の全国多施設臨床試験によりその有用性を評価し、治療法の確立を目指す。さらに、動物モデルを用いてSAA及びAA蛋白質の組織内動態を解明するとともに、リウマチ以外の本症を引き起こす原因疾患の病態、治療に関しても研究の眼を向ける。

3) 家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)：非集積地の高齢発症患者に関する検討から、本症の病態に迫るとともに、本症に対する新規診断法、治療法の確立を目指す。

4) 老人性全身性アミロイドーシス(SSA)：本症のわが国における実態を解明し、診断法を確立し、治療法を開発する。

5) 透析アミロイドーシス：腎移植が少ないわが国では長期透析患者が多く、20年以上の長期透析例では本症は必発である。本症合併の危険因子同定と早期発見法の確立、 β_2 -ミクログロブリン(β_2 -m)凝集過程の解明と新規治療法の開発を目指す。

6) 脳アミロイドーシス：アルツハイマー病(AD)、

脳アミロイドアンギオパチー (CAA) 等の病因・病態に迫るとともに、脳に蓄積するアミロイドを標的とした新しい早期診断マーカーの確立、ならびに予防法・治療法の開発を行う。

7) 動物のアミロイドーシス: マウスや大型ネコ科動物、霊長類のアミロイドーシス、ならびにアミロイド原因蛋白質を解析し、各種アミロイドーシスの新たなモデル動物の確立を目指す。

8) アミロイドーシス全病型に共通する研究課題: 全病型に共通するアミロイド沈着機構を統合的に研究し、診断、予防・治療法への応用を行う。特にアミロイドイメージングの臨床診断への応用を行う。

B. 研究方法

1) AL アミロイドーシス: 1.本疾患患者における過剰線溶関連分子を定量するとともに、形質細胞、アミロイド沈着臓器、幹細胞株におけるこれらの分子の発現を解析した。2.軽鎖に対する抗体数種類を比較検討し、免疫組織学的診断法を評価した。3.本疾患の診断に対するアミロイド PET ($[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ 、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG-PET}$) の有用性を検証した。4.幹細胞移植や MD 療法、幹細胞移植非適応患者に対するベルケイド/デキサメタゾン療法、メルファラン大量療法無効例に対する追加化学療法、ボルテゾミブ、デキサメタゾン、メルファランの3剤併用療法について、その効果を検証した。

2) AA アミロイドーシス: IL-6 受容体抗体トシリズマブによる世界初の全国多施設臨床試験を行い、その効果を検証した。

3) 家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP): 1.集積地との関連を認めない、50 歳以上の FAP ATTR V30M 患者の臨床所見を解析した。2.各種凝固・線溶マーカーを測定し、本疾患の診断マーカーを探索した。3.本疾患の診断に対する LC-MS/MS の有用性について検討した。

4) 老人性全身性アミロイドーシス (SSA): 1.各種整形外科領域患者における野生型 TTR アミロイドーシスの発生頻度および年齢との関連を調べた。2.SSA 患者の属性、臨床像、各種検査所見、および病理組織像を詳細に検討するとともに、特発性手根管症候群患者における野生型 TTR アミロイド沈着の頻度を検討した。

5) 透析アミロイドーシス: 1.本疾患患者における血漿 PIC を定量し、診断マーカーとしての有用性を検討した。2.本疾患におけるアミロイド形成過程での key molecule と考えられている血中 C 末端 unfolded β_2 -microglobulin ($92\text{-}99\beta_2\text{m}$) を定量し、透析アミロイドーシス患者における血中 $92\text{-}99\beta_2\text{m}$ の臨床的意義を明らかにする。3.透析アミロイドーシスにおけるアミロイド共存蛋白質について、免疫電顕により評価した。

6) 脳アミロイドーシス: 1.ビタミン A や β -carotene、 α -lipoic acid、coenzyme Q10 及びビタミン B2、B6、C、E、さらには気液界面の A β オリゴマー形成に対する効果や、アルツハイマー病脳老人斑に蓄積する脳特異的なコラーゲン分子である CLAC が、 β アミロイドの凝集・蓄積に対して果たす役割、スタチンの A β 産生に対する効果について検討した。2.早期に後部帯状回に萎縮を呈する AD の臨床像に関する検討、家族性アルツハイマー病 (FAD) における A β 43 の病態への関与、A β -(1-34)の AD の病態に対する意義、A β oligomer 蓄積による tauopathy と神経毒性の誘発機序についても検討した。

7) 動物のアミロイドーシス: 1.加齢変化、および F 型 apoA-II 組成の合成ペプチドがマウス AApoAII アミロイドの沈着に及ぼす影響について検討した。2.5 種類の霊長類由来のトランスサイレチン (TTR) について、大量発現系を構築し、その立体構造の安定性について検討した。3.大型ネコ科動物から抽出した脳への A β 沈着の頻度、ならびにそれに伴う病理学的変化や臨床像について検討した。

8) アミロイドーシス全病型に共通する研究課題としてのアミロイドイメージングの開発: プローブ化合物 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ の、AL、AA アミロイドーシス、および CAA 関連脳出血の画像診断、組織診断に対する有用性を検討した。

(倫理面への配慮)

患者を対象とする臨床研究 (診断、治療、遺伝子解析等)、疫学研究等については各施設の倫理審査委員会の承認、それに基づく説明と同意を得て研究を実施した。遺伝子組み換え動物を含む動物実験に関しては、各施設の指針に基づき動物実

験委員会等の承認を得た上で研究を実施した。

C. 研究結果

1) AL アミロイドーシス：1.石田らは、本疾患患者における過剰線溶関連分子を定量した結果、PIC が臓器障害を有する例、特に肝臓に異常が見られる例で高値を示すことを確認した。また、畑らは、過剰線溶の原因である uPA とそのレセプターである uPAR は形質細胞よりもむしろアミロイド沈着組織で過剰発現していることを確認した。2.星井らによる検討の結果、AL λ アミロイドーシスの免疫組織学的診断を施行する際には、ウサギポリクローナル抗体が最も高感度をもたらすことが確認された。3.今井らが施行したシンチグラフィでは、 ^{11}C]BF227、 ^{18}F]FDG-PET とともに顔面に限局したアミロイドーマに対して集積を認めた。4.鈴木らが 80 例の患者を解析した結果、BNP 1,000 pg/ml 以上、IVST 15 mm 以上、および DcT 150 msec 以下の例で MD 療法を施行すると、幹細胞移植関連死が多くなる可能性が示された。5.ボルテゾミブ、メルファラン、デキサメタゾン併用療法の臨床研究 (BMD 療法) が 2011 年 10 月より先進医療として承認を得、第 1 相試験進行中である。

2) AA アミロイドーシス：IL-6 受容体抗体トシリズマブに関する多施設臨床研究の結果、アミロイド前駆蛋白質の著明な減少、アミロイド形成阻止・抑制に対する有用性が確認されつつある (吉崎他)。特に奥田らは、SAA の血中濃度の推移と腎機能を中心にトシリズマブと TNF との有用性の比較を行ったが、いずれの評価においても、トシリズマブのアミロイドーシスに対する有用性が有意であった。また高市らは、心・腎アミロイドーシスを合併した透析困難例にトシリズマブを投与したところ、著効を示したことを報告した。山田らは、1 年にわたるトシリズマブ投与前後で十二指腸のアミロイド沈着量の変化を ELISA で比較検討したが、治療により優位に沈着量が減少することを示した。一方、RA に続発したアミロイドーシスの進行に伴う透析施行者において、生物製剤使用者と非使用者の間で生命予後の違いが検討された。解析の結果、両群に有意差はなく、生物製剤投与群で、有意に感染症による死亡例が多かった (西ら)。AA アミロイドーシスを誘起す

る原因疾患としては家族性地中海熱があり、MEFV 遺伝子解析により診断がつくようになっていくが、右田らは本症患者の SAA の遺伝子多型を解析し、-13 アリル頻度が優位に高いことを明らかにした。中村らは同症の興味深い一家系を解析し、早期診断、コルヒチン、MTX などによる早期治療の必要性を提示した。今井らは、転移性腎がんにより、本症を来した症例の詳細な検討を提示した。組織学的検討からがん組織が SSA の上昇を引き起こす IL6 を産生するのではなく、がん細胞周辺に浸潤した単球が産生している可能性を示した。

3) 家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)：

1.小池らが行った集積地との関連を認めない、50 歳以上の FAP ATTR V30M 患者 50 例の臨床所見の検討によると、これらの患者における上肢と下肢の感覚障害、運動障害の出現時期は短期間に集中する傾向があり、10%の症例で上肢の症状が下肢の症状に先行するなど、集積地の若年発症例とは異なる経過を呈した。また、死因としては心不全、突然死が多くを占めた。2.山田正仁らの検討の結果、FAP 患者群では年齢をマッチさせた他の末梢神経障害患者群と比べ有意に凝固因子 X、プラスミノゲン、 α 2-PI が低値を、PF1+2 が高値を示した。大林らが、臨床的に FAP が疑われた患者 3 名のホルマリン生検組織を用いた LC-MS/MS による病型診断を施行した結果、いずれも原因蛋白質候補の筆頭に TTR が検出され、同時に施行した免疫組織化学染色でも、アミロイド沈着部位に一致して抗 TTR 抗体陽性像を認めた。

4) 老人性全身性アミロイドーシス (SSA)：1.安東らが手根管症候群 54 例、肩腱板断裂 21 例、腰部脊柱管狭窄症 51 例の検体を用いて、SSA の発生頻度および年齢との関連を調べた結果、これらのうち 46 例で野生型 TTR 由来のアミロイドーシスの存在が確認された。しかし、これらの患者において、アミロイドの沈着量と血中 TTR 濃度との間に有意な相関は認められなかった。2.池田らの検討の結果、特発性手根幹症候群患者の 34% に野生型 TTR 由来のアミロイドーシスを認めた。ロジスティック回帰分析を用いた統計学的解析の結果、特発性手根管症候群の患者群では、生前に手根管症候群を認めなかった剖検患者群に比

べ有意に野生型 TTR アミロイドの陽性率が高く (オッズ比 15.8, 95%信頼区間 3.3-75.7)、「加齢」および「男性」が手根管への TTR アミロイド沈着の独立した危険因子であることが明らかになった。

5) 透析アミロイドーシス : 1.高市らの検討の結果、透析アミロイドーシス患者においては、非アミロイドーシス透析患者に比べ血漿 PIC 濃度の上昇を認めた。2.本宮らの検討の結果、臨床背景との相関はなかったものの、透析患者血中では明らかに一定量 (0.5 $\mu\text{g/mL}$) 以上の 92-99 $\beta_2\text{m}$ が存在することが確認された。3.西らの検討の結果、透析アミロイドの線維上にはプロテオグリカンが、アミロイド線維間には SAP や ApoE が観察されることが明らかとなった。

6) 脳アミロイドーシス : 1.各種ビタミンなどの A β オリゴマー形成に対する効果を検討した結果、ビタミン A (retinol, retinal, retinoic acid) 及び β -carotene が A β オリゴマー形成を抑制し、Retinoic acid が A β オリゴマーの細胞毒性を軽減することが明らかとなった (山田正仁ら)。2.AD モデルマウスと CLAC-P を発現するトランスジェニック (TG) マウスを交配し、ダブル TG マウスを作出したところ、不溶性画分に見られるアミロイド線維化した A β が顕著に増加し、アミロイド蓄積形態面積の減少と、コアのある成熟したアミロイド斑数の増加が観察された (岩坪ら)。3.ラット初代培養大脳皮質神経細胞に PV 及び AV 処理を行なったところ、細胞内コレステロール量が著明に減少するとともに、A β 分泌量が有意に減少した。さらに、神経細胞に APP を過剰発現させた場合も、PV または AV 処理した細胞では対照に比べて、同様に A β 分泌量が減少し、成熟型 APP レベルの低下も認められた (玉岡ら)。4.気液界面を排除し生体成分の比較的弱い核形成誘起能を評価したところ、基底膜モデル (Matrigel) が核形成を促進した (内木ら)。5.後部帯状回・楔前部優位萎縮群 (PCP 群) の AD 患者は比較的若年発症で、認同部や頭頂葉のブドウ糖代謝低下が他の AD 群と比較し顕著であった。6.A β -(1-34)量は AD 群と非 AD 群の間で有意な差を認めなかった。7.変異 APP 産生マウス Tg2576 と変異 tau 産生マウス TgTauP301L との double transgenic mouse double

transgenic mouse では、樹状突起のリン酸化 tau 蓄積が増加しており、lipid rafts に A β oligomer とリン酸化 tau がともに蓄積していた。また、Lipid rafts には Fyn の著増と NMDA receptor、AMPA receptor の増加が認められた (東海林)。

7) 動物のアミロイドーシス : 1.Apoa1^{-/-}マウスの HDL は 2 ヶ月齢で著しく減少したが、加齢に伴いは有意に増加し、ApoA-II とともに再増加した。老化した本マウスにコアとなるアミロイド線維を投与すると、全身、特に心臓への AApoAII の沈着が有意に増加した。しかし、F 型 apoA-II のアミノ酸組成を持つ C 末ペプチド c48/65(N62K) を投与したマウスでは、AApoAII の沈着が有意に少なかった (樋口)。2.霊長類 TTR の大量発現系を構築し、ベルベットモンキー、カニクイザル、ニホンザル、コモンマーモセット、クロヒゲサキザルの TTR 結晶を得ることに成功した (水口)。3.大型ネコ科動物から摘出した脳の 69% にびまん性の A β が沈着していることも確認した。また、これらにはリン酸化タウの蓄積、神経原線維変化の形成、高度の大脳皮質萎縮、ならびに認知障害を伴っていた (宇根)。

8) アミロイドーシス全病型に共通する研究課題としてのアミロイドイメージングの開発 : 工藤らが考案した [¹¹C]BF227 を用いたアミロイド PET により、AL 患者のアミロイド沈着部位を同定した。また、消化管生検組織を用いた AA アミロイドーシス患者に対するトシリズマブの治療効果判定にも、BF-227 染色が有効であった。さらに、MRI:T2* 画像で微小出血の増加を認めた CAA 関連脳出血患者 2 例について、ステロイド療法開始前後の [¹¹C]BF-227 脳 PET を撮影した結果、両者ともに治療前後で異なる所見を得た。

D. 考察

1) AL アミロイドーシス : 過剰線溶マーカーである PIC が病状を反映し、治療後の再燃も反映することが示された。PIC は世界的には凝固系検査として確立されていないことから、今後、AL アミロイドーシスの検査としての有用性を広く知らしめることが、本疾患の診断、経過観察の改善に重要である。また、過剰線溶がアミロイド沈着にどのように関係するのか、その機序についても今

後さらに検討を進めていく必要がある。

ALA アミロイドーシスの免疫組織化学的診断には、ウサギポリクローナル抗体が有用と考えられたが、より正確な診断には、LC-MS/MS 法との組み合わせが必要である。また、診断ツールとしてアミロイド PET の有用性も示されたが、これにはまだ検討の余地がある。

心不全が進行した AL アミロイドーシスでは、化学療法による移植関連死が問題となる。移植以外にベルケイドを用いた治療法も提示されたが、心機能を増悪させる例も存在し、新アミロイドーシスに対する安全かつ有効な治療法の開発が急務である。ボルテゾミブにメルファラン、デキサメタゾンを加えたプロトコール (BMD 療法) の開発がスタートし、現在代 1 相試験が施行中で、移植の適応にならない症例への有用性が期待されている。

2) AA アミロイドーシス：トシリズマブの有用性が確実にしかも定量的に証明されつつある。本剤は、以前より組織アミロイド沈着量を軽減することはある程度明らかとなっていたが、アミロイド前駆たんぱく質である SAA の着実な血中濃度の減少、組織沈着アミロイド量の著減、さらには腎機能などの明らかな改善が提示された。ただ、アミロイドーシスが進行し、腎不全や透析移行症例には有用性は証明できず、また本剤をはじめとする生物製剤の投与が感染症を誘起する可能性が示された。

AA アミロイドーシスは RA 以外にも慢性炎症性疾患により誘起される。今回、家族性地中海熱や腎がんにより続発性に本症を聞き起こす病態・病因論が提示された。

3) 家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)：

1.非集積地の高齢発症 FAP ATTR V30M 患者の臨床経過は、発症年齢に関係なく比較的均一であり、短期間のうちに症状が完成すると考えられた。

2. FAP 患者群では年齢をマッチさせた他の末梢神経障害患者群と比べ有意に凝固因子 X、プラスミノゲン、 $\alpha 2$ -PI が低値を、PF1+2 が高値を示したが、本検討の対象となった FAP 患者には、肝障害やアルブミン、コリンエステラーゼの低下は認めておらず、今回の結果は純粹に FAP 患者の凝固・線溶系が活性化していることを示すものと考え

られる。AL アミロイドーシスでは凝固因子 X はアミロイドに吸着して低下する可能性が示唆されており、FAP でも同様の機序が関与している可能性がある。3.LC-MS/MS 法では、ホルマリン固定組織から $200 \mu\text{m} \times 300 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ 程度のアミロイド量が採取できれば診断可能であり、免疫組織化学染色法が抱える抗体の反応性に関する問題点を克服しうる診断法であると考えられた。

4) 老人性全身性アミロイドーシス (SSA)：1.SSA の発症率に関する過去の報告を見ると、今回明らかとなった腱や靭帯に生じる野生型 TTR アミロイドーシスの出現頻度よりかなり低い。腱や靭帯における野生型 TTR アミロイドーシスの多くが限局性と考えられる一方で、腱や靭帯への野生型 TTR アミロイド沈着が SSA の先行症状であるケースも存在する可能性がある。2.手根管組織への野生型 TTR アミロイドの沈着は、従来限局性のものと考えられていたが、今回の検討から、少なくともその一部は SSA の初発症状と考えられた。したがって、SSA は、従来考えられていたよりも若年で発症する可能性がある。

5) 透析アミロイドーシス：1.血漿 PIC 濃度の測定は、透析アミロイドーシス発症の有無の鑑別にある程度有用と考えられた。2. $92-99 \beta_2\text{m}$ 血中濃度はキャピラリー電気泳動で確認される中間体 $\beta_2\text{m}$ の 1/3 から 1/4 であった。キャピラリー電気泳動で確認される中間体 $\beta_2\text{m}$ の約 7 割は C 末端がまだ完全に unfold していない不完全型ヴァリアントと考えられる。3.透析アミロイド内に存在する分子シャペロン物質が、アミロイド細線維と立体的高次元構造を形成し、アミロイドの組織親和性や安定性を規定している可能性が考えられる。

6) 脳アミロイドーシス：1.A β の線維形成抑制とオリゴマー形成抑制に効果があったビタミン A 類や神経細胞からの A β 産生を抑制する作用を持つスタチンは、AD の予防・治療の一助となる可能性がある。2.A β (1-40)の濃度を低くし、気液界面を排除し、核形成を誘起しにくいビーズ状担体に生体因子を固定し攪拌する反応系は、基底膜モデル(Matrigel) が核形成を促進することから、脳アミロイド血管症のモデルとなりうる。3.早期に後部帯状回に萎縮を呈する AD は、代謝低下や神経変性のパターンが一般的な AD とは異なる一群

である可能性がある。4.脳脊髄液中の $A\beta$ -(1-34) 量は、 $A\beta$ -(1-42) に関連し、ヒト生体内における $A\beta$ の動態を反映する可能性がある。

5.postsynaptic lipid rafts の $A\beta$ amyloidosis によって誘発された tauopathy は、4 グルタミン酸神経毒性を介したシナプス障害と神経細胞死を引き起こす可能性がある。

7) 動物のアミロイドーシス:1.AApoAII アミロイドーシス発症促進への HDL やマウス F 型 apoA-II の関与については、今後さらに詳細に解析していく必要がある。2.結晶化に至った霊長類の TTR については、今後安定性評価やアミロイド形成実験に用いる予定である。3.また、結晶化条件の最適化が必要であるが、次年度は X 線回折実験に進むことが可能と予想される。4.大型ネコ科動物は、ヒトのアルツハイマー病のモデルとなりうる可能性を持つ。

8) アミロイドーシス全病型に共通する研究課題としてのアミロイドイメージングの開発: 1. $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ を用いたアミロイド PET は、今後各種アミロイドーシスの診断、および治療効果判定に広く用いられる可能性を持つ。

E. 結論

病型ごとの戦略および全病型に共通する課題の研究により、疫学病態調査、診断法・予防法・治療法の開発・確立を行った。AL では過剰線溶関連分子、アミロイド PET、および免疫組織化学染色の診断的有用性、自家造血幹細胞移植時のリスクに関する調査、および併用高用量化学療法の有用性を示した。AA では、優れた治療効果を見出した IL-6 受容体抗体トシリズマブによる世界初の全国多施設臨床試験の結果を報告し、その有用性を確認した。FAP では、非集積地の高齢発症患者に関する検討から本症の病態に迫るとともに、本症に対する LC-MS/MS を用いた新規診断法の確立や診断マーカーの探索を行った。老人性全身性アミロイドーシス (SAA) では、腱や靭帯、脊椎といった整形外科領域における野生型 TTR アミロイドの沈着頻度やそれに伴う臨床症状、および各種検査所見について検討し、高齢、男性で野生型 TTR アミロイド陽性の手根管症候群患者をフォローすることが本症の早期診断の鍵とな

ることを確認した。透析アミロイドーシスでは、診断マーカーとしての PIC の有用性、血中 C 末端 unfolded β_2 -microglobulin (92-99 $\beta_2\text{m}$) やアミロイド共存蛋白質の透析アミロイドーシス発症に及ぼす影響について確認した。脳アミロイドーシスでは、 $A\beta$ 凝集に対してビタミン A や collagen-like Alzheimer amyloid plaque component (CLAC) 蛋白質、スタチン、気液界面が影響を及ぼすことを報告するとともに、発症や症状の進行に脳脊髄液中の $A\beta$ -(1-34) 量、あるいは postsynaptic lipid rafts の $A\beta$ amyloidosis が関与している可能性についても見出した。動物のアミロイドーシスに関しては、マウス老化アミロイド (AApoAII) の沈着に加齢変化、および F 型 apoA-II 組成の合成ペプチドが影響を及ぼすことを報告するとともに、5 種類の霊長類由来のトランスサイレチン (TTR) について、大量発現系を構築し、その立体構造の安定性について検討するための結晶を得ることに成功した。さらに、大型ネコ科動物から摘出した脳の 69% にびまん性の $A\beta$ が沈着していることも確認した。また、これらにはリン酸化タウの蓄積、神経原線維変化の形成、高度の大脳皮質萎縮、ならびに認知障害を伴っていた。大型ネコ科動物は、ヒトのアルツハイマー病のモデルとなりうる可能性を持つ。アミロイドーシス全病型に共通する研究課題であるアミロイドイメージングの開発に関しては、プローブ化合物 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ が、AL、AA アミロイドーシス患者、および CAA 関連脳出血患者の画像診断や組織学的検討に有用であることを確認した。

[追記]

本年度は本研究班の夏のワークショップを阿蘇で開催するとともに(平成 23 年 7 月 28-29 日)、家族性アミロイドーシスに関する 2 つの国際シンポジウム (VIIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy および VIIth International Symposium on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy) を熊本で開催した (平成 23 年 11 月 19-23 日)。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(主要原著論文のみを下に示す。発表の詳細は分担研究報告を参照のこと)

- 1) Jono H, Anno T, Motoyama K, Misumi Y, Tasaki T, Oshima T, Mori Y, Mizuguchi M, Ueda M, Shono M, Obayashi K, Arima H, Ando Y: Cyclodextrin, a novel therapeutic tool for suppressing amyloidogenic transthyretin misfolding in transthyretin-related amyloidosis. *Biochem J* 437:35-42, 2011.
- 2) Kugimiya T, Jono H, Saito S, Maruyama T, Kadowaki D, Misumi T, Hoshii Y, Tasaki M, Su Y, Ueda M, Obayashi K, Shono M, Otagiri M, Ando Y: Loss of functional albumin triggers acceleration of transthyretin amyloid fibril formation in familial amyloidotic polyneuropathy. *Lab Invest* 91:1219-1228, 2011.
- 3) Misumi Y, Ueda M, Obayashi K, Jono H, Su Y, Yamashita T, Ohshima T, Ando Y, Uchino M: Relationship between amyloid deposition and intracellular structural changes in familial amyloidotic polyneuropathy. *Hum Pathol* 43:96-104, 2012.
- 4) Ueda M, Horibata Y, Shono M, Misumi Y, Oshima T, Su Y, Tasaki M, Shinriki S, Kawahara S, Jono H, Obayashi K, Ogawa H, Ando Y: Clinicopathological features of senile systemic amyloidosis: an ante- and post-mortem study. *Mod Pathol* 24:1533-1544, 2011.
- 5) Takasaki J, Ono K, Yoshiike Y, Hirohata M, Ikeda T, Morinaga A, Takashima A, Yamada M: Vitamin A has antioligomerization effects on amyloid- β in vitro. *J Alzheimers Dis* 27:271-280, 2011.
- 6) 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.
- 7) Wall JS, Richey T, Stuckey A, Donnell R, Macy S, Martin EB, Williams A, Higuchi K, Kennel SJ: In vivo molecular imaging of peripheral amyloidosis using heparin-binding peptides. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 108:E586-594, 2011.
- 8) Nakano-Yokomizo Y, Tahara-Hanaoka-S, Nakahashi-Oda C, Nabekura T, Tchao NK, Kadosaki M Totsuka N, Kurita N, Nakamagoe K, Tamaoka A, Takai T, Yasui T, Kikutani H, Hosoda S, Shibuya K, Lanier LL, Shibuya A: The immunoreceptor adaptor protein DAP12 suppression B lymphocyte-driven adaptive immune responses. *J Exp Med* 208:1661-1671, 2011.
- 9) Hoshino J, Ubara Y, Sawa N, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Suwabe T, Hayami N, Yamanouchi M, Takemoto F, Taniguchi S, Takaichi K: How to treat patients with systemic amyloid light chain amyloidosis? Comparison of high-dose melphalan, low-dose chemotherapy and no chemotherapy in patients with or without cardiac amyloidosis. *Clin Exp Nephrol* 15:486-92, 2011.
- 10) So M, Yagi H, Sakurai K, Ogi H, Naiki H, Goto Y: Ultrasonication-dependent acceleration of amyloid fibril formation. *J Mol Biol* 412:568-577, 2011.
- 11) Kardos J, Micsonai A, Pál-Gábor H, Petrik É, Gráf L, Kovács J, Lee YH, Naiki H, Goto Y: Reversible heat-induced dissociation of β_2 -microglobulin amyloid fibrils. *Biochemistry* 50:3211-3220, 2011.
- 12) Furukawa K, Ikeda S, Okamura N, Tashiro M, Tomita N, Furumoto S, Iwata R, Yanai K, Kudo Y, Arai H: Cardiac positron-emission tomography images with an amyloid-specific tracer in familial transthyretin-related systemic amyloidosis. *Circulation* 125:556-557, 2011.
- 13) Fodero-Tavoletti MT, Okamura N, Furumoto S, Mulligan RS, Connor AR, McLean CA, Cao D, Rigopoulos A, Cartwright GA, O'Keefe G, Gong S, Adlard PA, Barnham KJ, Rowe CC, Masters CL, Kudo Y, Cappai R, Yanai K, Villemagne VL: ^{18}F -THK523: a novel in vivo tau imaging ligand for Alzheimer's disease. *Brain* 134:1089-1100, 2011.
- 14) Kaneta T, Okamura N, Minoshima S, Furukawa K, Tashiro M, Furumoto S, Iwata R, Fukuda H, Takahashi S, Yanai K, Kudo Y, Arai H: A modified method of 3D-SSP analysis for amyloid PET imaging using [^{11}C]BF-227. *Ann Nucl Med* 25:732-739, 2011.
- 15) Serizawa S, Chambers JK, Une Y: Beta amyloid deposition and neurofibrillary tangles spontaneously occur in the brains of captive cheetahs (*Acinonyx jubatus*). *Vet. Pathol*, in press.

- 16) Ohki Y, Higo T, Uemura K, Shimada N, Osawa S, Berezovska O, Yokoshima S, Fukuyama T, Tomita T, Iwatsubo T: Phenylpiperidine-type γ -secretase modulators target the transmembrane domain 1 of presenilin 1. *EMBO Journal* 30:4815-4824, 2011.
- 17) 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* 82:1287-1290, 2011.
- 18) Shimizu K, Murakami H, Sawamura M, Hattori Y, Okamoto S, Miwa A, Sugiura I, Shimazaki C, Taniwaki M, Ishida T, Hayashi T, Kosugi H, Yuge M, Iida S, Ishida T, Sunami K, Asaoku H, Sakai A, Abe M, Takagi T: Efficacy of long-term treatment with low-dose thalidomide for patients with relapse/refractory multiple myeloma. *Int J Clin Med* 2:570-575, 2011.
- 19) Katoh N, Matsuda M, Tsuchiya-Suzuki A, Ikeda S: Regression of gastroduodenal amyloid deposition in primary systemic AL amyloidosis after intensive

chemotherapies. *Br J Haematol* 153:535-538, 2011.

- 20) Migita K, Agematsu K, Yamazaki K, Suzuki A, Yazaki M, Jiuchi Y, Miyashita T, Izumi Y, Koga T, Kawakami A, Eguchi K: Expression of CD64 on polymorphonuclear neutrophils in patients with familial Mediterranean fever. *Clin Exp Immunol* 164:365-72, 2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許出願・取得

安東由喜雄、城野博史、Rene Alvarez、Dinah Sah
 1) 発明の名称：siRNA Therapy for Transthyretin (TTR) Related Ocular Amyloidosis
 出願番号：PCT/US2011/030392
 出願日：平成 23 年 3 月 29 日

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

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、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疾患群である。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。本研究は、家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)、AL アミロイドーシス、AA アミロイドーシス、脳アミロイドーシス、透析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・改善を行い、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、本研究により以下の成果および知見を得た。1) FAP: 肝移植後の病態変化は臓器によって異なることが判明した。高齢 FAP 患者では移植後も末梢神経障害が進行する傾向があり移植適応を慎重に判断する必要がある。FAP 肝を用いたドミノ肝移植後に無症候性にアミロイド沈着が生じており、定期的な組織学的精査が必要である。TTR 安定化剤であるジフルニサルは、肝移植の効果が乏しい高齢 FAP 患者の末梢神経障害の進行を抑制する可能性がある。2) AL アミロイドーシス: 各種の薬剤や自家末梢血幹細胞移植療法は、適格症例を厳密に選択し、慎重な全身管理を行うことで、有効性の高い治療法となる。また、完全寛解が得られなくとも追加の化学療法が効果を示す可能性がある。新規治療法としてメルファランとデキサメタゾン併用療法に、プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブを併用した BMD 療法を考案し臨床試験を継続している。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。ただし、腎アミロイドは治療後も除去されにくく、臓器により治療反応性が異なっていた。JAK 阻害剤であるトファシチニブはアミロイド前駆蛋白質である血清アミロイド A の産生を抑制し新規治療法の候補として考えられた。新規の抗 AA76 抗体は、AA アミロイドーシス診断の優れたツールになりうる。4) 脳アミロイドーシス: A β 凝集に対する、Sortilin、ApoE、フェノール化合物、スタチンの影響、及び可溶性 A β における毒性 A β コンフォマーの存在を報告した。また、家族性アルツハイマー病、老齢ネコ科動物における A β 沈着機構を明らかにし、さらに、アルツハイマー病における微小脳出血の影響、脳アミロイド血管症に対する副腎皮質ステロイドのアミロイド退縮作用のメカニズムを明らかにした。5) 透析アミロイドーシス: 日本透析医学医会の統計資料を用いて代表的症状である手根管症候群の発症頻度を精査した。透析アミロイド症診断基準の各臨床項目が患者 QOL に与える影響が明らかになった。本疾患のアミロイド線維は細胞表面に付着し、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。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: 新たなアミロイドイメーjing技術や質量分析による原因蛋白質の同定は、本症の早期診断に役立つと考えられた。マウス ApoAII アミロイドーシス伝搬機構の詳細な解析結果から、線維阻害作用を持つ合成ペプチドによるアミロイドーシスの新たな治療法の開発が期待できる。

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 副院長

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 病院助教

島崎千尋 社会保険京都病院血液内科 副院長

山下太郎 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)

肝移植後の末梢神経障害の推移に患者年齢が関与するか検証するとともに、肝移植療法の長期効果を詳細に検証した。また、FAP 肝のドミノ肝移植が及ぼす影響を病理学的に検証した。加えて、トランスサイレチン (TTR) の安定化剤であるジフルニサルが肝移植を受けることが困難である高齢発症 FAP 患者に対して有効であるか検証した。

また、本症の動物モデルとして有用と考えられるベルベットモンキーの持つ TTR 分子の立体構造を解析した。

2) AL アミロイドーシス

国内の多施設共同で、各種の薬剤や自家末梢血幹細胞移植療法 (ASCT) を併用した治療法の有効性に関する研究を行うと共に、AL アミロイドーシスの神経症候や併発疾患に関する検討を行った。

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。

さらに、新規の抗 AA 抗体による病理診断法の開発と、アミロイド抑制ペプチドの開発を目指して、アイソフォーム別 SAA 由来のペプチドのアミロイド形成性を検討した。

4) 脳アミロイドーシス

アルツハイマー病 (AD)、脳アミロイド血管症 (CAA) の病因、病態に迫るとともに、各種薬剤を用いた治療法開発に向けた研究を行った。また、本症のモデル動物としてネコ科動物の脳病理を解析した。

5) 透析アミロイドーシス (DRA)

これまで詳細が不明であった DRA に関する大規模な疫学調査を行うと共に、透析アミロイド症の沈着部位・程度が患者 QOL にどの程度影響しているかを検討した。また、 β 2ミクログロブリン (β 2m) の C 末端特異的抗体を用いた診断法の検証および本アミロイドーシスで骨・関節破壊が生じる機構の解析を行った。

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

近年、各アミロイドーシスに対する効果的な治療法が開発されてきたが、病初期に特に効果を示す。また、各病型により適切な治療法が異なっている。そのため、早期にアミロイド沈着を検出し、迅速にアミロイドの原因蛋白質を同定する必要がある。本研究では、新規の画像診断法と質量分析による病型診断法の開発を行った。

また、プリオンに類似したアミロイド原因蛋白質の伝搬機構を解析した。

B. 研究方法

1) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)

①肝移植後の病態に関する検討

肝移植を施行し、10 年以上経過後に死亡した FAP ATTR Val30Met 4 例と、肝移植を施行せずに自然経過で死亡した FAP Val30Met 7 例の剖検組織を用いて、アミロイド沈着様式の違いを検証し

た。また、各組織に沈着したアミロイドを構成している TTR を抽出し、変異型と野生型 TTR の比率を分析した (安東ら)。

②若年発症と高齢発症 FAP の症候に関する研究

高齢発症と若年発症 FAP で肝移植前後の末梢神経障害を経時的に検討した (小池ら)。

③ドミノ肝移植患者の病態に関する研究

FAP 患者からの摘出肝を用いて行なわれたドミノ肝移植患者の剖検 2 例における、アミロイドの沈着様式について検討した (山下ら)。

④TTR 安定化剤の効果に関する研究

肝移植の適応のない 18 名の高齢発症 FAP ATTR Val30Met 患者に対し、ジフルニサル 500mg / 日を投与し、尺骨神経および脛骨神経の複合筋活動電位 (CMAP) を経時的に評価した (池田ら)。

化学構造上、TTR 四量体の安定化作用が期待できるポリフェノール的一种であるマンゴスチンの TTR 四量体に対する安定化作用を明らかにした (水口ら)。

⑤新規の動物モデルに関する研究

ベルベットモンキーを含む 5 種類の霊長類 TTR を作成し、その立体構造と構造安定性を解析した (水口ら)。

2) AL アミロイドーシス

①治療法に関する検討

ASCT の安全性および有効性を高めるために、治療を行った 35 例の生存率に関連する予後因子を単変量解析および多変量解析により後方視的に解析した (鈴木ら)。

ASCT を受けた患者のうち完全寛解 (CR) に至らなかった症例および CR 後に再発した症例に対する治療法を検討した (松田ら)。

現在、原発性 AL アミロイドーシスに対する化学療法の中で最も優れているとされるメルファラン (MEL) / デキサメタゾン (DEX) 併用療法に、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 BMD 療法を考案し、全国 9 施設で、臨床第 I/II 相試験を実施した (島崎ら)。

前治療で CR とならなかった 11 症例中 7 症例に対して biweekly BOR + DEX 療法を維持療法として施行し、効果を検討した (麻奥ら)。

②症候や併発疾患に関する検討

神経症候を主体とした AL アミロイドーシスの症例を解析した（今井ら）。

結節性 AL アミロイド症を合併したシェーグレン症候群 (SjS) について、アミロイド病変の分布を中心に検討した（池田ら）。

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解析した（吉崎ら）。

25 例の TCZ 治療群と、34 例の TNF 治療群を対象に、基礎疾患の病態、SAA、eGFR、蛋白尿の推移を解析し両群間で比較した（奥田ら）。

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）。

Caplan 症候群に併発した症例の解析を行った（中村ら）。

②JAK 阻害剤の抗炎症効果および SAA 抑制効果の検討

RA 患者の関節滑膜細胞を、炎症性サイトカインで刺激し、JAK 阻害剤であるトファシチニブが炎症性シグナルを抑制するか検討した（右田ら）。

③新規抗 AA 抗体による病理診断法の開発

AA76 のペプチドを合成し、ラットに免疫してモノクローナル抗体の作製を行い、AA アミロイドーシス患者 30 例の胃十二指腸粘膜生検材料について免疫組織化学を施行した（山田ら）。

④アイソフォーム別 SAA 由来ペプチドのアミロイド形成性

SAA アイソフォームで共通配列を持つ領域のペプチド (1-27) およびアイソフォーム間で異なる配列を含有するペプチド (43-63) を作成し、アミロイド形成性等を検証した（山田ら）。

4) 脳アミロイドーシス

①治療法の開発に関する研究

フェノール化合物（山田ら）、スタチン（玉岡ら）の治療効果の検討および、造血幹細胞を用いた治療法に関する基礎検討（芦原ら）を行った。

②毒性を示す A β 分子種の解析

ApoE の A β オリゴマー形成に対する作用を明らかにするため、まず apoE ϵ 2/ ϵ x、 ϵ 3/ ϵ 3、 ϵ 4/ ϵ 4 各アレルを持つ AD 患者脳を用い、脳内の TBS 可溶性 A β オリゴマー量を検討した（岩坪ら）。

可溶性の毒性コンフォマーの同定を行うため、毒性コンフォマー特異抗体 (11A1) を用いて免疫組織学的に検討し、エピトープが第 18 位～第 22 位アミノ酸残基である抗体 (4G8) と比較検討した（玉岡ら）。

A β 重合体の神経毒性発現機序を、sortilin に対する siRNA 法や新規 A β 重合体特異的モノクローナル抗体 (72D9) を用いて培養細胞系で解析した（東海林ら）。

プレセニン (PSEN) 1 および PSEN2 のノックアウト (PSDKO) マウスの線維芽細胞 (PSDKO-MEF) を用いて A β 40、A β 42、A β 43 の発現量に関して、複数の PSEN1 遺伝子変異間で比較した（水澤ら）。

③CAA の病態解析

AD における脳微小出血 (BMB) と灰白質容量、脳糖代謝との関連を解析した（山田ら）。

副腎皮質ステロイドを投与し、脳血管アミロイドが退縮した CAA 患者の髄膜血管から A β アミロイド粗画分を分離し、その中に含まれる A β アミロイドおよび関連タンパク質を LC/MSMS を用いて網羅的に解析した。（池田ら）。

④ α -シヌクレイン (α -Syn) 分解機構の解析

オートファジーおよび neurosin による α -Syn 封入体の分解機構を解析した（徳田ら）。

⑤動物モデルとしてのネコ科動物の脳病理解析

ネコ科動物の脳における β アミロイドの沈着と神経原線維変化について病理学的に解析し、ヒトのアルツハイマー病における脳病変と比較検討した（宇根ら）。

5) 透析アミロイドーシス

①透析アミロイドーシスの実態調査

日本透析医学会と協力し、手根管症候群 (CTS) の手術既往歴の頻度の推移、血中 β 2m 濃度との関係など比較した（西ら）。外来維持透析患者を対象とし、QOL 評価のアンケート調査を施行し、X 線検査や MRI 所見との比較を行った（高市ら）。

② β_2m の C 末端特異的抗体を用いた診断法の開発

キャピラリー電気泳動法で mAb92-99 の特性を確認し、C 末端 unfolded β_2m に対する抗体 (anti- β_2m 92-99) を用いた ELISA で C 末端 unfolded β_2m の血中濃度を測定した (本宮ら)。

③ 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)。

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 アミロイドイメーシングに関する研究

本研究では、アミロイド線維に特異的に結合する化合物として作成された BF-227 と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シング法の有用性を検証した (工藤ら)。

② 質量分析法を用いたアミロイドーシスの病型診断

従来の方法では診断が困難であった症例に対して質量分析法による病型診断法の有用性を検証した (安東、畑ら)。

③ アミロイド原因蛋白質の伝搬機構の解析

伝搬機構が存在することが特に想定されるチーターの AA アミロイドーシスの原因である SAA 分子を解析した (樋口ら)。

アミロイドーシスが伝搬することが判明しているマウス AApoAII アミロイドーシスで、アミロイド線維形成阻害ペプチドの阻害機構を、*in vitro* 線維形成解析システムで解析した (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 (FAP)

① 肝移植後の病態に関する検討

肝移植後に長期経過した症例では、心臓など一

部の臓器に重度のアミロイド沈着を認めたが、消化管、腎臓などの大部分の臓器におけるアミロイド沈着は軽度であった。肝移植後に長期経過した症例では各臓器のアミロイドは野生型 TTR が主体となり構成されていた。また、アミロイドを構成している TTR の断片化は、肝移植の有無によって差が認められなかった。

② 若年発症と高齢発症 FAP の症候に関する研究

高齢 FAP 患者は、肝移植後に症状の改善を認めたものの、症例によっては数年後から末梢神経障害が徐々に増悪した。

③ ドミノ肝移植患者の病態に関する研究

ドミノ肝移植患者の剖検組織において、TTR によるアミロイドの沈着が、諸臓器で認められた。

④ TTR 安定化剤の効果に関する研究

ジフルニサルの内服により、血清中 TTR 四量体は安定化され、高齢発症 FAP 患者の CMAP 振幅の低下率を有意に抑制した。

α および γ マンゴスチンにジフルニサルと同等の TTR 四量体安定化作用があることが確認された。

⑤ 新規の動物モデルに関する研究

ベルベットモンキー TTR は 122 番目が Ile、カニクイザル TTR は Val であるが、両者の立体構造はほぼ同一であったが、原子の揺らぎを反映する温度因子がわずかに異なっていた。

2) AL アミロイドーシス

① 治療法に関する検討

ASCT を行った 35 症例の予後には、主病変が心臓、血漿 BNP 値 600pg/mL 以上、左室駆出率が有意な因子として抽出された。多変量解析では有意な因子は抽出されなかった。血清遊離軽鎖 (FLC) のフォローが可能であった例で ASCT 後に速やかな FLC の低下が認められた。

ASCT を受けた症例のうち 43% で CR が得られた。CR 後の再発は 33% で再発までの期間は平均 43.8 か月であった。Non-CR の患者は 16 名 (57%) で、5 名はいずれも治療後 12 ヶ月未満で死亡、評価可能な患者 9 名のうち 1 名は non-CR ながら very good partial response (VGPR) で OR を認めた。残り 8 名は OR を認めず追加治療を要した。その結果 2 名で CR と OR が得られた。

BMD 療法の臨床第 I/II 相試験には、これまで 3 例が登録され解析を継続している。

前治療で CR とならなかった 7 症例に対して biweekly BOR + DEX 療法を維持療法として施行したが、2 症例は増悪傾向を認め、1 例は患者事由により他の治療に変更した。

②症候や併発疾患に関する検討

神経症候を呈した AL アミロイドーシスの神経組織を質量分析法で解析したところ、L 鎖の λ が優位に検出され、加えて apolipoprotein E、Serum amyloid P-component も検出された。

AL アミロイドーシスを併発した SjS 3 例中 2 例で結節性 AL アミロイド病変が先行していた。アミロイド沈着病変の出現部位は頭皮、眼瞼、頬粘膜、乳房、肺、胃粘膜であり、同病変の周りにはリンパ・形質細胞の高度な浸潤がみられた。3 例全員で血清中の M 蛋白は陰性、骨髄の flow cytometry でも形質細胞異常症は見出せなかった。

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量が減少傾向を示す症例が多かった。TCZの1年継続率は92%、10年継続率は92%であった。SAA濃度の抑制、腎機能の改善、基礎疾患の活動性のすべての面で、TCZ群は、TNF群より良好な成績であった。

本症に対して治療を行った後に、消化管のアミロイド沈着は除去されていたが、腎臓に沈着したアミロイドには明らかな変化がなかった。また、尿中からAA76蛋白が検出された。

T細胞活性化調節剤であるABT投与を行ったところ、炎症性サイトカインや制御性T細胞の動態に影響が観察された。

Caplan症候群に合併した本症に対してTCZ治療を行い心機能の改善が得られた。

②JAK 阻害剤の抗炎症効果および SAA 抑制効果の検討

RA 患者の滑膜細胞にトファシチニブを投与すると、OSMによる JAK1,2,3 および STAT1,3,5 のリン酸化は阻害された。また、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。

③新規抗 AA 抗体による病理診断法の開発

AA76 に対して高親和性のクローンが得られた。患者消化管粘膜の免疫組織化学では、コンゴレッ

ド陽性を示したものは全例、新規抗体で陽性であった。

④アイソフォーム別 SAA 由来ペプチドのアミロイド形成性

SAA の N 末端領域および中間領域のペプチドは、試験管内で線維形成能を有することを明らかにした。また、異なる SAA アイソフォームの全長蛋白質では線維形成能に差異は認められなかったが、中間領域で線維形成能に違いが確認された。

4) 脳アミロイドーシス

①治療法の開発に関する研究

ミリセチン (Myr)、ロズマリン酸 (RA)、クルクミンなどの A β オリゴマー形成における影響を photo-induced cross-linking of unmodified proteins (PICUP)、原子間力顕微鏡を用いて検討し、15N でラベルした A β を用いて Nuclear Magnetic Resonance (NMR) で A β の結合部位を調べたところ、Myr 及び RA が強力に A β オリゴマー形成を抑制し、細胞およびシナプス毒性を軽減し、Myr は NMR にて有意なケミカルシフトを示すことが明らかとなった。

スタチンの A β 産生に対する効果について、ラット初代培養大脳皮質神経細胞を用いて検討したところ、pitavastatin (PV)、atorvastatin (AV) で A β 40、A β 42 の分泌量が用量依存性に低下し、PV、AV 処理した細胞では、成熟型アミロイド前駆体蛋白 (APP)、Thr668 位のリン酸化 APP (P-APP) の発現レベルの有意な低下を認め、細胞表面の P-APP レベルの低下を認めた。

A β に対する貪食機能について、マウス骨髄由来細胞およびヒト骨髄由来 CD34 陽性造血幹細胞を用いて解析した。その結果、付着細胞の一部が A β を貪食し、さらに M-CSF を処置することで貪食細胞数が有意に増加することが明らかとなった。

②毒性を示す A β 分子種の解析

ApoE4 は apoE2、apoE3 に比べ有意に A β オリゴマー量を増加させることが判明した。また、A β コンフォーマーの AD 脳における生化学的同定を試みたところ、毒性 A β コンフォーマーは SDS の存在下でその特異的構造が失われやすいこと、免疫沈降と Western blot 法の組み合わせにより可溶性の

毒性コンフォマーの同定が可能であった。

神経栄養因子受容体として知られる sortilin のノックダウンにより A β 重合体の神経毒性が抑制され、A β 重合体特異的モノクローナル抗体 (72D9) による細胞外 A β 重合体の特異的制御により、sortilin と p75NTR の death シグナリング複合体形成が阻害され、細胞外 A β 重合体の神経毒性も中和されることが明らかとなった。

若年発症を生じる病原性変異ほど A β 42/40 比が高値を示す傾向にあり、A β 43 の発現量や比率よりも A β 42 の影響がより強かった

③CAA の病態解析

AD において BMB は 23 例(16%)に認められた。BMB を認める群 (BMB+AD) において頭部 MRI では両側前頭葉、側頭葉、島皮質などで灰白質容積が低下し、FDG-PET では両側島皮質、基底核、帯状回などで代謝低下を認めた。また、CAA+AD 11 例と、BMB を認めない群 (BMB-AD) 117 例で群間比較した結果、頭部 MRI では両側側頭葉、右島皮質などの灰白質容積が低下し、FDG PET では、両側島皮質、帯状回、右基底核などで代謝低下を認めた。BMB+AD、CAA+AD では、BMB-AD と比較し灰白質容積、糖代謝共に低下していた。

脳アミロイド血管症 (CAA) における副腎皮質ステロイド投与によるアミロイドの退縮メカニズムについて LC/MS を用いて網羅的に検討したところ、副腎皮質ステロイド治療 CAA 髄膜血管からは全分子型 A β のみが抽出され、apoE、A-I、A-IV、clusterin 等のアミロイド線維結合タンパク質および炎症関連タンパク質 S100A9 等が減少していることが明らかとなった。

④ α -Syn 分解機構の解析

α -Syn 凝集体の分解について、オートファジー関連蛋白質の RNAi による阻害や、protease activity assay により解析したところ、 α -Syn はオートファジーアダプター蛋白質 p62 の関与により分解され、neurosin により細胞外で分解されることが明らかとなった。

⑤動物モデルとしてのネコ科動物の脳病理解析

ネコ科動物の脳における β アミロイドの沈着と神経原線維変化について病理学的に解析したところ、 β アミロイドの沈着と神経原線維変化が観察され、 β アミロイドは嗜銀性のプラークを形

成することなく、神経網に微細顆粒状に沈着するパターンをとり、同蛋白質の N 末端側エpiteope がヒトとは異なることが判明した。さらに、神経細胞内 A β 沈着は頭頂部から側頭部上部までほぼ同一で、側頭葉下部から海馬ではより高度であり、一部の例では瀰漫性～小顆粒状タイプの沈着に加えて、海馬錐体細胞を中心として大顆粒状タイプの沈着も観察された。

5) 透析アミロイドーシス

①透析アミロイドーシスの実態調査

CTS手術既往歴は、透析年数とともに増加していた。特に透析歴25年以上の長期透析患者では、手術既往歴がどちらの年度も約半数以上の症例に認められた。CTS手術既往歴は、患者全体においては4.9%から3.4%に減少していた。臨床項目ごとに患者のQOLを評価すると、身体機能に強く影響を与える因子は破壊性脊椎関節症 (DSA) と多関節痛であり、体の痛みにも強く影響を与える因子はDSAとばね指であった。透析アミロイド症の存在が、透析患者の身体機能・疼痛両者に他の要因より影響を及ぼしていた。

② β 2m の C 末端特異的抗体を用いた診断法の開発

キャピラリー電気泳動図で Δ N6 β 2m の C 末端 unfolding を確認し、アミロイド中間構造体 β 2m 92-99 の ELISA 法による測定系を確立した。

③骨・関節破壊が生じる機構の解析

アミロイド線維により滑膜細胞の viability が低下した。また、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。

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アミロイドイメーシングに関する研究

BF-227はAAアミロイドーシス患者の組織に沈着したアミロイドと結合することが確認された。THK-265を、AAアミロイドーシスモデルマウスおよびアルツハイマー病モデルマウスに投与すると、アミロイド沈着部位に集積することが確認できた。

②質量分析法を用いたアミロイドーシスの病型診断

免疫染色で判定できなかったALアミロイドーシス4例のアミロイドを質量分析で解析したとこ

ろ、何れもλ型軽鎖の定常領域2型が検出され、本結果よりALアミロイドーシスの診断に至った。

③アミロイド原因蛋白質の伝搬機構の解析

飼育下チーターの主要な死因となっているAAアミロイドーシスの原因分子であるチーターのSAA分子を詳細に解析したところ、4種類のSAA遺伝子（SAA1A、SAA1B、SAA3A、SAA3B）が存在することが判明した。また、SAA1A遺伝子上流のNF κ B反応領域での多型 (-97 ; GGG vs GG) とAAアミロイドーシスの重篤度との相関が示唆された。

マウスApoAIIアミロイドーシスを高頻度に発症し、個体間でアミロイドーシスが伝搬するマウスの持つApoAII分子（C型）と、アミロイドーシスを発症しないマウスの持つApoAII分子（F型）はアミノ酸配列が4か所で異なるが、このF型ApoA-IIのC末ペプチド、特に、C型48-65番ペプチド（c48/65）の62番をアスパラギン（N）からリジン（K）に置換した合成ペプチドN62Kが、C型ApoA-II合成ペプチドの線維形成・伸長反応に対する阻害効果を*in vitro*解析システムで検討したところ、特に重合反応初期の阻害効果を強く認めた。

D. 考察

1) 家族性アミロイドポリニューロパチー（FAP）

①肝移植後の病態に関する検討

肝移植後に、心臓、舌など一部の臓器では、野生型TTRによるアミロイド沈着が進行しやすいが、腎臓、甲状腺など大部分の臓器では、アミロイド沈着が進みにくいものと考えられた。

②若年発症と高齢発症FAPの症候に関する研究

加齢はFAPにおける肝移植後の末梢神経障害の増悪因子である可能性がある。

③ドミノ肝移植患者の病態に関する研究

FAP肝を用いたドミノ移植患者で、臨床症状が出現する以前に諸臓器でアミロイド沈着が生じている可能性がある。

④TTR安定化剤の効果に関する研究

ジフルニサルは高齢発症ATTR Val30Met FAP患者におけるCMAPの悪化を抑制することが明らかになった。

フルーツ由来のポリフェノール的一种であるαおよびγマンゴスチンに、強力なTTR四量体安

定化作用が確認でき、新規治療薬として期待できる。今後は、*in vivo*の検証が必要である。

⑤新規の動物モデルに関する研究

アミロイドーシスを生じるベルベットモンキーのTTRは、立体構造が揺らいでいると思われる。

2) ALアミロイドーシス

①治療法に関する検討

心臓を主病変とする症例は有意に生存率が低く、ASCT適応の詳細な検討およびMelphalanの投与量の調節を含む全身管理が重要と考えられた。また、血清FLCは治療効果の判定に有効であると考えられた。

ASCTを含めた初期治療で完全寛解が得られなくとも追加治療が有効である症例が多かった。

BMD療法は海外でも同様の検討が開始されているが、BORの至適投与量の明らかにする必要がある。

②症候や併発疾患に関する検討

M蛋白血症を有する患者の診断に、神経組織でのLC-MS/MSが有用である。

SjS患者の皮膚、肺、胃粘膜等の部位に同時期に多源性かつ同一組織内において多発性のアミロイド結節が観察されたことから、多源性に散布された異常形質細胞から局所でアミロイド惹起性の免疫グロブリン軽鎖が分泌されアミロイド細線維形成に至ったと考えられる。

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、現在使用頻度の高い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した。TCZは、本症に対する効果的な治療法であると考えられる。

消化管と腎臓のアミロイドは沈着様式や治療反応が異なっており、沈着機構が異なっている可能性がある。

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

JAK阻害剤であるトファシチニブは、IL-6で誘導されるJAK2/STAT3の活性化を阻害することで、

アミロイド前駆蛋白質である SAA の mRNA 発現を抑制することが明らかになった。

③新規抗 AA 抗体による病理診断法の開発

AA76 に特異性の高いモノクローナル抗体が得られた。新規抗体はコンゴレッドを上回る検出能を有し、アミロイド以外の SAA/AA に反応しない感度、特異性を備えていることから、本症の診断に有用である。

④アイソフォーム別 SAA 由来ペプチドのアミロイド形成性

全長蛋白質ではアイソフォーム間で線維形成能に差異は認められず、中間領域では差異が認められるという今回の結果より、C 末端領域の存在がアミロイド線維の形成に影響を及ぼす可能性があることが推察された。

4) 脳アミロイドーシス

①治療法の開発に関する研究

Myr や RA をはじめとするフェノール化合物が A β 凝集過程における早期の段階であるオリゴマー形成を濃度依存性に抑制し、細胞およびシナプス毒性を軽減することを明らかにした。RA は NMR で detect できない低分子オリゴマー、あるいは構造変換したモノマーに結合することによって A β オリゴマー形成を抑制すると考えられた。

スタチンはコレステロールの低下、プレニル化の変化とは別の機序を介して、APP の成熟化、リン酸化に影響し、A β 産生を低下させることが示唆された。

骨髄から採取した造血幹細胞由来の付着細胞は A β の貪食機能を有しており、その貪食細胞の増殖は M-CSF 刺激により有意に促進されることがわかった。

②毒性を示す A β 分子種の解析

ApoE4 が他のアイソフォームに比べ、A β のオリゴマー化を促進することにより AD 発症リスクを高めている可能性がある。

免疫組織学検討と WB の結果の比較検討や、合成ペプチドを用いた検討の結果などから、毒性 A β コンフォーマーは SDS の存在下でその特異的構造が失われやすいと考えられた。

Sortilin は細胞外 A β 重合体の神経毒性発現を直接制御するばかりでなく、細胞内 A β 重合体やタウの分解・クリアランスも制御する重要な分

子と考えられた。

A β 43 の沈着と遺伝子変異による A β 43 産生における関連性よりも、A β 42 の影響が強いと考えられた。

③CAA の病態解析

AD における CAA の合併は灰白質容積、脳糖代謝に影響を与えることが示唆される。

副腎皮質ステロイド治療による S100A9 の激減、炎症の抑制が A β アミロイド線維化抑制を導き、アミロイドはミクログリア、マクロファージによる貪食作用等の本来の除去システムによって除去されたと推定された。

④ α -Syn 分解機構の解析

Neurosin の α -Syn 分解活性は細胞外に分泌された場合に認められ、neurosin は主に細胞外プロテアーゼとして機能している可能性が考えられた。

⑤動物モデルとしてのネコ科動物の脳病理解析

ネコ科動物では、 β アミロイドが嗜銀性プラークを形成せずに、アルツハイマー病型の神経原線維変化を形成すると考えられた。また、細胞内 A β 、細胞外 A β と高リン酸化タウの蓄積との関連とその機構の解明にネコ科動物の解析は有用であると考えられる。

5) 透析アミロイドーシス

①透析アミロイドーシスの実態調査

HDA の代表的症状である CTS の手術既往歴は、日本透析医学会の統計調査資料から判断すると、長期透析患者においても低下していることが分かった。この抑制傾向の背景には、透析効率の改善、透析液の清浄化が関与していると推測された。

② β 2m の C 末端特異的抗体を用いた診断法の開発

多関節痛・DSA は患者の身体機能に、ばね指と DSA は患者疼痛に強く影響を与えていた。

③骨・関節破壊が生じる機構の解析

β 2m アミロイド線維は細胞表面に付着し、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。

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アミロイドイメーシングに関する研究

BF-227 および近赤外線蛍光プローブはアミロイドと良好に結合し、その局在を同定できること