

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  $\beta_2$ -microglobulin (92-99  $\beta_2m$ ) 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 $\beta$ 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。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 $\beta$  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 [ $^{11}C$ ]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、治療につい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、 $\beta_2$ -ミクログロブリン ( $\beta_2$ -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シ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 ( $^{11}\text{C}$ ]BF227、 $^{18}\text{F}$ ]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  $\beta_2$ -microglobulin (92-99  $\beta_2\text{m}$ ) を定量し、透析アミロイドーシス患者における血中 92-99  $\beta_2\text{m}$  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  $\beta$ -carotene、 $\alpha$ -lipoic acid、coenzyme Q10 及びビタミン B2、B6、C、E、さらには気液界面の A $\beta$ 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、 $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ 43 の病態への関与、A $\beta$ -(1-34)の AD の病態に対する意義、A $\beta$  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摘出した脳への A $\beta$ 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シングの開発**:プローブ化合物 $^{11}\text{C}$ ]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 $\lambda$  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、 $[^{11}\text{C}]\text{BF227}$ 、 $[^{18}\text{F}]\text{FDG-PET}$  とともに顔面に限局したアミロイドーシス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、 $\alpha 2\text{-PI}$  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 の発症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、特発性手根幹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

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  $\mu$ g/mL) 以上の 92-99 $\beta_2$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ -carotene が A $\beta$ オリゴマー形成を抑制し、Retinoic acid が A $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ -(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 $\beta$  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.Apo1-/-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 $\beta$ 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 (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 [<sup>11</sup>C]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 [<sup>11</sup>C]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。

AL<sub>A</sub> 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、今回の結果は純粋に 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) 老年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 $\beta$  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 $\beta$  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 $\beta$  (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.[<sup>11</sup>C]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  $\beta_2$ -microglobulin (92-99  $\beta_2m$ ) 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。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[<sup>11</sup>C]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- $\beta$  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  $\beta_2$ -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:  $^{18}\text{F}$ -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 [ $^{11}\text{C}$ ]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  $\gamma$ -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