

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19184

研究課題名(和文)小径線維ニューロパチーにおける革新的な評価法の確立と新たな診断マーカーの探索

研究課題名(英文)Development of new diagnostic and surrogate markers for small fiber neuropathy

研究代表者

増田 曜章(Masuda, Teruaki)

熊本大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50464459

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：小径線維ニューロパチー(SFN)は、糖尿病、トランスサイレチン型家族性アミロイドポリニューロパチー(ATTR-FAP)など様々な末梢神経障害に関与しており、早期治療のためにも小径線維障害を早期から正確に検出することが重要である。本研究では、SFNの早期診断および病態評価に有用なバイオマーカーの探索を行った。ATTR-FAPでは早期より皮神経脱落が認められ、無症候の時期においても認められた。皮神経脱落は罹病期間や末梢神経障害のパラメーターと相関した。以上より、皮膚生検は、SFNの早期診断および病態評価法として有用であり、臨床試験のバイオマーカーとして応用できる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Small fiber neuropathy (SFN) is associated with various diseases, including diabetes and transthyretin-related familial amyloid polyneuropathy (ATTR-FAP). Therefore, early and accurate diagnosis of SFN is becoming increasingly important for the early treatment of ATTR-FAP and diabetic neuropathy. In this study, I investigated which biomarker accurately predicts pathological changes in SFN. The results showed early skin denervation in ATTR-FAP, even in the presymptomatic stage of this disease. Skin denervation was correlated with disease duration and various peripheral neuropathy parameters. Our findings reveal that skin biopsy may be useful for early diagnosis and may serve as a biomarker in clinical trials for SFN.

研究分野：病態検査学、アミロイドーシス

キーワード：小径線維ニューロパチー アミロイドーシス 早期診断 皮膚生検

1. 研究開始当初の背景

小径線維ニューロパチー (small fiber neuropathy: SFN) は、末梢神経の有髄神経 A 線維と無髄神経 C 線維が障害されることにより、感覚障害および自律神経障害が出現する疾患群である。SFN は、糖尿病性ニューロパチーやトランスサイレチン (transthyretin: TTR) 型家族性アミロイドポリニューロパチー (familial amyloid polyneuropathy: FAP) など様々な末梢神経障害に関与し、これらの疾患において小径線維の異常が最も早期から出現するため、小径線維障害をより早期に同定することが重要である。しかし、これまで小径線維障害を客観的および定量的に評価することは困難であり、診断・治療が遅れることが日常診療において最大の問題であった。SFN の代表的疾患である ATTR-FAP では、近年、様々な疾患修飾療法が開発されている。これまで治療の第一選択であった肝移植療法に加え、TTR 四量体安定化剤であるタファミジスが実用化され、さらに遺伝子サイレンシング療法も認可間近となっている。これらの治療はいずれも発症早期からの治療介入が最も進行抑制効果を示すことから、早期診断の重要性が増している。また、治療反応性を評価できるバイオマーカーの開発も必要不可欠となっている。

近年、SFN が病態の主体となる末梢神経障害において、病理組織学的検査法、神経生理検査法、画像検査法など新たな末梢神経障害の評価法が報告されてきているが、これらを網羅的に検討した報告はなく、日常診療に応用できる客観的評価法も十分に確立されていない。

2. 研究の目的

本研究では、発症早期から小径線維障害を評価可能な信頼性かつ定量性に優れた検査法を開発し、日常診療に応用できる SFN の評価アルゴリズムの構築を行うとともに、開発した評価法を用いて各種末梢神経障害における小径線維障害の同定をすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) SFN の早期診断および病態評価に有用な最適な検査法の確立

ATTR-FAP 患者、未発症 TTR 遺伝子保因者、および健康人ボランティアを対象とし、臨床評価 (年齢、性別、罹病期間、TTR 遺伝子変異型、ATTR-FAP 臨床スコア)、病理組織学的検査 (表皮内神経線維密度 [Intraepidermal nerve fiber density: IENFD] 等による皮神経脱落の解析、コンゴレッド染色、TTR 免疫染色)、神経生理学検査 (神経伝導検査、Case IV による定量的感覚検査 [温痛覚閾値評価])、画像検査 (MR-neurography: MRN)、自律神経機能検査、を評価項目として比較検討を行った。尚、

病理組織学的検査のための皮膚生検は、外踝 10cm 上方から 3mm パンチ生検を行った。

(2) その他の末梢神経障害患者における皮神経障害の解析

医原性 TTR アミロイドーシス、老人性全身性アミロイドーシス、その他末梢神経障害疾患患者を対象とし、皮神経脱落の解析を行った。

4. 研究成果

(1) SFN の早期診断および病態評価に有用な最適な検査法の確立

IENFD は、健康人ボランティアと比較して、ATTR-FAP 患者において、有意に減少していた (図 1)。また、TTR 変異型において IENFD の減少の程度に差を認め、心臓型や眼・髄膜型の変異型に比べて、SFN が主体となる V30M 変異の患者では皮神経脱落がより顕著であった。また、発症早期の ATTR-FAP 患者のみならず、症状のない未発症 TTR 遺伝子保因者においてさえも、IENFD は減少していることから、presymptomatic stage から皮神経脱落が出現することが確認でき、IENFD は本症の早期診断のバイオマーカーになりうる可能性が考えられた。更に、IENFD は、罹病期間、臨床的重症度、温痛覚閾値異常、神経伝導検査異常など様々な末梢神経障害のパラメーターと相関し、本症の病態評価法としても有用であると考えられた。その他、ATTR-FAP 患者においては生検皮膚組織内のアミロイド沈着と皮神経脱落の程度が相関することが明らかとなった。

以上より、IENFD は ATTR-FAP において、日常診療に応用でき、早期診断および病態評価に有用なバイオマーカーになりうると思われた。

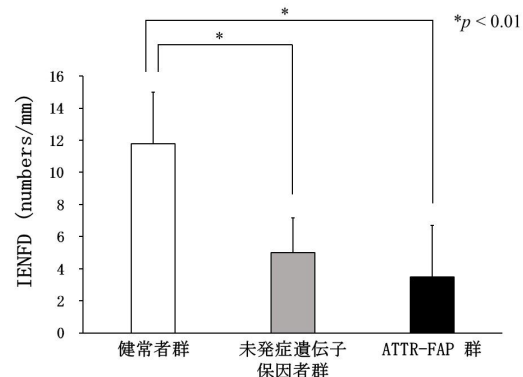


図1. 生検皮膚組織を用いた IENFD の解析

その他、末梢神経障害の新規画像評価法の確立のため行った MR-neurography を用いた末梢神経近位部の病態解析では、ATTR-FAP 患者では、坐骨神経の肥厚、後根神経節および神経叢の肥厚、後根神経節の信号強度上昇、を認め、これまで報告のあった坐骨神経のみならず、さらに近位部においても形態学的異常を同定することで、アミロイド沈着や神経障害を反映している可能性が考えられた。また、自律神経機能検査として携

帯型瞳孔計を用いた瞳孔機能解析では、ATTR-FAP 患者では、極早期より様々な瞳孔機能異常を認めており、特に縮瞳率は罹病期間、自律神経障害重症度、心筋 MIBG シンチグラフィによる評価した心筋交感神経障害の重症度と相関を示し、本症のバイオマーカーになりうる可能性が考えられた。今回の研究には、最も早期診断に有用かつ定量性に優れた評価法は、生検皮膚組織を用いた IENFD による皮神経障害の解析であった。

(2) その他の末梢神経障害患者における皮神経障害の解析

ATTR-FAP 患者から摘出された肝臓をグラフトとするドミノ肝移植を施行されたレシピエントの内、アミロイド沈着を認めた7名で検討を行ったところ、6名が症候性であった。いずれも感覚障害が初発症候であり、健康人ボランティアに比較して IENFD の減少を認めた。医原性 TTR アミロイドーシスの末梢神経障害においても小径線維障害が関与していることが明らかとなり、本症の早期診断にも IENFD は有用であると考えられた。その他、老人性全身性アミロイドーシスは、これまで心不全および手根管症候群が主体の疾患と考えられていたが、一部の症例では、下肢末梢の異常感覚および疼痛を認め、下肢末梢の皮神経脱落が認められた。今回の知見により、老人性全身性アミロイドーシスにおける末梢神経障害の病態の一部に SFN の関与が考えられ、高齢者の末梢神経障害の原因の一つに本症を考慮する必要が考えられた。

以上、本研究により、ATTR-FAP のみならず、これまで報告のない他疾患の末梢神経障害にも SFN が関与していることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 19 件)

1. Watari M, Nakane S, Mukaino A, Nakajima M, Mori Y, Maeda Y, Masuda T, Takamatsu K, Kouzaki Y, Higuchi O, Matsuo H, Ando Y. Autoimmune postural orthostatic tachycardia syndrome. *Ann Clin Transl Neurol*, 2018; 5: 486-492. doi: 10.1002/acn3.524. (査読有)
2. Ikeda T, Masuda T, Ueda M, Yamashita T, Misumi Y, Shinriki S, Ando Y. Unwanted road to anaemia in transthyretin familial amyloid polyneuropathy may continue irrespective of tafamidis treatment. *Ann Clin Biochem*. 2018. doi: 10.1177/0004563218754587. (査読有)
3. Yamashita T, Ueda M, Misumi Y, Masuda T, Nomura T, Tasaki M, Takamatsu K, Sasada K, Obayashi K, Matsui H, Ando Y. Genetic and clinical

characteristics of hereditary transthyretin amyloidosis in endemic and non-endemic areas: experience from a single-referral center in Japan. *J Neuro*, 2018; 265: 134-140. doi: 10.1007/s00415-017-8640-7. (査読有)

4. Okada M, Misumi Y, Ueda M, Yamashita T, Masuda T, Tasaki M, Ando Y. A novel transthyretin variant V28S (p.V48S) with a double-nucleotide substitution in the same codon. *Amyloid*, 2017; 24: 231-232. doi:10.1080/13506129.2017.1381082. (査読有)
5. Nagatoshi A, Ueda M, Ueda A, Tasaki M, Inoue Y, Ma Y, Masuda T, Mizukami M, Matsumoto S, Kosaka T, Kawano T, Ito T, Ando Y. Serum amyloid P component: A novel potential player in vessel degeneration in CADASIL. *J Neurol Sci*, 2017; 379: 69-76. doi: 10.1016/j.jns.2017.05.033. (査読有)
6. Masuda T, Ueda M, Suenaga G, Misumi Y, Tasaki M, Izaki A, Yanagisawa Y, Inoue Y, Motokawa H, Matsumoto S, Mizukami M, Arimura A, Deguchi T, Nishio Y, Yamashita T, Inomata Y, Obayashi K, Ando Y. Early skin denervation in hereditary and iatrogenic transthyretin amyloid neuropathy. *Neurology*, 2017; 88: 2192-2197. doi: 10.1212/WNL.0000000000004016. (査読有)
7. Suenaga G, Ikeda T, Masuda T, Motokawa H, Yamashita T, Takamatsu K, Misumi Y, Ueda M, Matsui H, Senju S, Ando Y. Inflammatory state exists in familial amyloid polyneuropathy that may be triggered by mutated transthyretin. *Sci Rep*, 2017; 7: 1579. doi: 10.1038/s41598-017-01775-4. (査読有)
8. Inoue Y, Ueda M, Tasaki M, Takeshima A, Nagatoshi A, Masuda T, Misumi Y, Kosaka T, Nomura T, Mizukami M, Matsumoto S, Yamashita T, Takahashi H, Kakita A, Ando Y. Sushi repeat-containing protein 1: a novel disease-associated molecule in cerebral amyloid angiopathy. *Acta Neuropathol*. 2017; 134: 605-617. doi: 10.1007/s00401-017-1720-z. (査読有)
9. Misumi Y, Ueda M, Yamashita T, Masuda T, Kinoshita Y, Tasaki M, Nagase T, Ando Y. Novel screening for transthyretin amyloidosis by using fat ultrasonography. *Ann Neurol*, 2017; 81: 604-608. doi: 10.1002/ana.24914. (査読有)
10. Huang G, Ueda M, Tasaki M, Yamashita T, Misumi Y, Masuda T, Suenaga G, Inoue

- Y, Kinoshita Y, Matsumoto S, Mizukami M, Tsuda Y, Nomura T, Obayashi K, Ando Y. Clinicopathological and biochemical findings of thyroid amyloid in hereditary transthyretin amyloidosis with and without liver transplantation. *Amyloid*, 2017; 24: 24-29. doi: 10.1080/13506129.2016.1276440. (査読有)
11. Mori Y, Yamashita S, Kato M, Masuda T, Takamatsu K, Kumamoto T, Sasaki R, Ando Y. Thomsen disease with ptosis and abnormal MR findings. *Neuromuscul Disord*, 2016; 26: 805-808. doi: 10.1016/j.nmd.2016.08.016. (査読有)
 12. Yamashita T, Ueda M, Saga N, Nanto K, Tasaki M, Masuda T, Misumi Y, Oda S, Fujimoto A, Amano T, Takamatsu K, Yamashita S, Obayashi K, Matsui H, Ando Y. Hereditary amyloidosis with cardiomyopathy caused by the novel variant transthyretin A36D. *Amyloid*, 2016; 23: 207-208. DOI: 10.1080/13506129.2016.1202228. (査読有)
 13. Okumura K, Yamashita T, Masuda T, Misumi Y, Ueda A, Ueda M, Obayashi K, Jono H, Yamashita S, Inomata Y, Ando Y. Long-term outcome of patients with hereditary transthyretin V30M amyloidosis with polyneuropathy after liver transplantation. *Amyloid*, 2016; 23: 39-45. doi: 10.3109/13506129.2015.1123149. (査読有)
 14. Masuda T, Obayashi K, Ueda M, Fujimoto A, Tasaki M, Misumi Y, Ueda A, Nakane T, Yamashita T, Ando Y. Therapeutic effects and prevention of recurrence of acquired idiopathic generalized anhidrosis via i.v. immunoglobulin treatment. *J Dermatol*, 2016; 43: 336-7. doi: 10.1111/1346-8138.13182.
 15. Tasaki M, Ueda M, Obayashi K, Motokawa H, Kinoshita Y, Suenaga G, Yanagisawa A, Toyoshima R, Misumi Y, Masuda T, Yamashita T, Ando Y. Rapid detection of wild-type and mutated transthyretins. *Ann Clin Biochem*, 2016; 53: 508-10. doi: 10.1177/0004563215605541. (査読有)
 16. Masuda T, Ueda M, Ueyama H, Shimada S, Ishizaki M, Imamura S, Yamamoto T, Ando Y. Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts caused by compound heterozygous mutations in MLC1, in patients with and without subcortical cysts in the brain. *J Neurol Sci*, 2015; 351: 211-213. doi: 10.1016/j.jns.2015.03.010. (査読有)
 17. 増田曜章, 安東由喜雄: 家族性アミロイドポリニューロパチーと自律神経障害. *自律神経* 2018, in press. (査読有)
 18. 増田曜章, 大林光念, 安東由喜雄: 皮神経に着目して行う小径線維ニューロパチーの早期診断および病態解析. *自律神経* 54, 230-233, 2017 (査読有)
 19. 増田曜章, 植田光晴, 安東由喜雄: 末梢神経障害の診断と治療. *神経治療学* 33, 158-161, 2016 (査読無)
- [学会発表](計 14 件)
1. Masuda T, Ueda M, Misumi Y, Matsumoto S, Nomura T, Tasaki M, Yamashita T, Sonoda Y, Obayashi K, Ando Y: Quantification of skin denervation in patients with transthyretin amyloid neuropathy. The XVIth International Symposium on Amyloidosis, Mar 26-29, 2018, Kumamoto, Japan
 2. Masuda T, Ueda M, Nagatoshi C, Misumi Y, Nomura T, Tasaki M, Yamashita T, Obayashi K, Ando Y: Pupillary autonomic dysfunction as an early biomarker in patients with hereditary transthyretin amyloidosis. The XVIth International Symposium on Amyloidosis, Mar 26-29, 2018, Kumamoto, Japan
 3. Masuda T, Ueda M, Misumi Y, Suenaga G, Matsumoto S, Nomura T, Tasaki M, Yamashita T, Obayashi K, Ando Y: Impact of skin denervation in patients with wild-type transthyretin amyloidosis. XXIII World Congress of Neurology, Sep 16-21, 2017, Kyoto, Japan
 4. Masuda T, Ueda M, Misumi Y, Nomura T, Tasaki M, Yamashita T, Obayashi K, Ando Y: Skin denervation in patients with hereditary and wild-type transthyretin amyloidosis. International Society for Autonomic Neuroscience. Aug 30-Sep 2, 2017, Aichi, Japan
 5. 増田曜章, 植田光晴, 三隅洋平, 野村隼也, 松本紗也加, 田崎雅義, 小阪崇幸, 山下太郎, 大林光念, 安東由喜雄: 野生型トランスサイレチンアミロイドーシスにおける小径線維障害の検討. 第 28 回日本末梢神経学会学術集会, Aug 25-26, 2017, 愛知
 6. 増田曜章, 植田光晴, 安東由喜雄: 生検皮膚組織を用いた ATTR アミロイドーシスの病態評価. 第 5 回日本アミロイドーシス研究会学術集会, Aug 19, 2017, 京都
 7. 増田曜章, 大林光念, 三隅洋平, 中島

- 昌利, 小林起秋, 徳永竜馬, 吉田直矢, 植田光晴, 樋口理, 中根俊成, 佐々木裕, 馬場秀夫, 安東由喜雄: 潰瘍性大腸炎患者の自律神経障害および末梢神経障害の病態解析. 第 69 回日本自律神経学会, Nov 10-11, 2016, 熊本
8. 増田曜章, 大林光念, 安東由喜雄: 皮神経に着目して行う小径線維ニューロパチーの早期診断および病態解析. 第 69 回日本自律神経学会, Nov 10-11, 2016, 熊本
 9. 増田曜章, 植田光晴, 三隅洋平, 田崎雅義, 山下太郎, 大林光念, 北島美香, 安東由喜雄: MR neurography を用いたトランスサイレチンアミロイドポリニューロパチーの末梢神経障害の解析. 第 4 回日本アミロイドーシス研究会学術集会, Aug 19, 2016, 東京
 10. Masuda T, Ueda M, Suenaga G, Tasaki M, Misumi Y, Yamashita T, Obayashi K, Ando Y: Intraepidermal nerve fiber density as an early diagnostic marker of transthyretin-related familial amyloid polyneuropathy. The XVth International Symposium on Amyloidosis, July 3-7, 2016, Uppsala, Sweden
 11. 増田曜章, 植田光晴, 岡田匡充, 田崎雅義, 三隅洋平, 山下太郎, 大林光念, 安東由喜雄: トランスサイレチンアミロイドーシスの表皮内神経線維密度と臨床像の関連. 第 57 回日本神経学会学術大会, May 18-21, 2016, 兵庫
 12. 増田曜章, 大林光念, 三隅洋平, 植田明彦, 植田光晴, 山下太郎, 中根俊成, 安東由喜雄: 特発性後天性全身性無汗症に対する免疫グロブリン大量静注療法の効果. 第 68 回日本自律神経学会, Oct 29-30, 2015, 愛知
 13. 増田曜章, 植田光晴, 田崎雅義, 三隅洋平, 山下太郎, 大林光念, 安東由喜雄: 家族性アミロイドポリニューロパチーの表皮内神経線維密度と臨床像の関連. 第 3 回日本アミロイドーシス研究会学術集会, Aug 21, 2015, 東京
 14. 増田曜章, 植田光晴, 野村隼也, 田崎雅義, 三隅洋平, 山下太郎, 大林光念, 安東由喜雄: 家族性アミロイドポリニューロパチーの早期診断における皮膚生検の有用性の検討. 第 56 回日本神経学会学術大会, May 20-23, 2015, 新潟

〔図書〕(計 4 件)

1. 増田曜章, 安東由喜雄: 遺伝性末梢神経障害; FAP はどんな患者で疑わないといけませんか? 末梢神経障害 (Clinical Questions & Pearls), 中外医学社, 東京, pp173-179, 2018
2. 増田曜章, 大林光念, 安東由喜雄: 多角的自律神経機能検査 (小径線維障害).

新時代の臨床糖尿病学 (下) より良い血糖管理をめざして, 日本臨床, 東京, pp240-243, 2016

3. 増田曜章, 安東由喜雄: アミロイドーシス. 臨床に役立つ神経障害性疼痛の理解, 文光堂, 東京, pp 246-251, 2015
4. 増田曜章, 安東由喜雄: 全身性アミロイドーシス. 難治性内分泌代謝疾患 Update, 診断と治療社, 東京, pp 58-61, 2015

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://kumadai-neurology.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

増田 曜章 (MASUDA, Teruaki)
熊本大学・医学部附属病院・助教
研究者番号: 50464459