

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月28日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590332

研究課題名（和文） 肝移植後 FAP 患者のアミロイド線維融解機序の解明

研究課題名（英文） A study of the pathomechanism of amyloid fibril turnover in FAP patients after liver transplantation

研究代表者

矢崎 正英（YAZAKI MASAHIDE）

信州大学・医学部・准教授

研究者番号：70372513

研究成果の概要（和文）：肝移植後家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)患者のアミロイド線維融解機序を明らかにする目的で、FAP患者のアミロイド蛋白を解析した。肝移植後FAP患者の胃組織の検索では、肝移植前後でアミロイド沈着量に有意な変化はなかったが、野生型 TTR の構成比は、明らかに肝移植後に増加していた。以上の結果を考察すると、肝移植後では、どの臓器でも野生型 TTR の沈着と、アミロイド線維の融解が常に繰り返される現象(amyloid turnover)が起こりうる。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study is to elucidate the pathomechanism of clearance of deposited amyloid fibrils in patients with familial amyloid polyneuropathy (FAP) with having undergone liver transplantation. On investigation of deposited amyloid fibrils in the gastric mucosa in FAP patients who had undergone liver transplantation, the amount of deposited amyloid was not markedly different between before and after liver transplantation. However, the composition ratio of the wild-type transthyretin (TTR) in deposited amyloid significantly increased. Our results suggest that the deposition of wild-type TTR and clearance of amyloid fibrils composed with variant and wild-type TTR (amyloid turnover) always occur in every organ in post-transplant stage of FAP patients.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2012年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：分子病理

1. 研究開始当初の背景

家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)は、変異型トランスサイレチン(TTR)がアミロイド線維となり、末梢神経、心筋、消化管、腎臓などの重要臓器に沈着し、臓器不全を引き起こす予後不良な疾患である。本邦では Val30Met 変異が多い。TTR分子は、元来アミロイド原性があり、

老人性全身性アミロイドーシスで知られているように、高齢者では、野生型 TTR 由来のアミロイド沈着を起こしうる。現在、FAP に対する根治療法は肝移植療法のみであるが、これまで我々は、肝移植施行後1年で、心アミロイドーシスの進展により死亡した FAP 患者における、心筋と、末梢神経、腎臓沈着アミロイド蛋白の検索を行い、本

症患者における肝移植後の最大の問題点である心アミロイドーシス進行の機序として、野生型 TTR 由来アミロイドの肝移植後沈着が、心筋組織優位に生じていることを明らかにしてきた^{1,2)}。一般的にアミロイド線維は、構造的に安定かつ非常に不溶性であり、一旦沈着したアミロイドは不可逆性の病変と従来考えられていた。しかしながら、Sakashitaら³⁾は、肝移植後10年経過した後に死亡した FAP 患者の病理所見を検討し、心筋以外の消化管や腎臓、末梢神経では、アミロイド沈着量が非常に少量であったことを報告しており、移植後のアミロイド沈着の停止あるいは、沈着の減少が示唆された。その後、我々は肝移植施行患者6名の腹壁脂肪を経時的に検索し、全例とも移植後10年で、沈着アミロイドが著明に減少・消失することを見出した⁴⁾。また沈着アミロイドの野生型と変異型 TTR の構成比の検索では、全例術後では、顕著に野生型 TTR 優位となっていた。肝移植後に変異型 TTR のみが特異的に融解しているとは考え難いため、術後も野生型 TTR の沈着と、変異型・野生型 TTR アミロイドの融解が、常に繰り返されている可能性を考えた (amyloid turnover)⁴⁾。しかしながら、この amyloid turnover が腹壁組織単独のものなのかどうかは未だ不明である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、肝移植後 FAP 患者における組織沈着アミロイド融解機序 (amyloid turnover) を明らかにすることである。肝移植施行 FAP 患者と移植未施行患者の腹壁脂肪・胃十二指腸生検組織を用いて、アミロイド沈着量やアミロイド線維蛋白の経時的变化を解析し、amyloid turnover の機序とこの現象が腹壁脂肪組織以外の臓器でも起こりうるものなのかを検討した。

3. 研究の方法

(1) 腹壁脂肪アミロイド蛋白の解析

肝移植非施行44名のFAP患者(Val30Met変異)の腹壁脂肪吸引生検組織のアミロイド沈着量をコンゴ赤染色標本で検討。その後脂肪組織からアミロイド線維蛋白を抽出し、塩酸グアニジンで可溶化後、LC-MS/MS (liquid chromatography tandem mass spectrometry) で、アミロイド線維蛋白中の野生型 TTR (Val30) と変異型 TTR (Met30) の構成比について検討した⁵⁾。

(2) 胃粘膜組織アミロイド蛋白の解析

40名のFAP患者(Val30Met変異)の胃粘膜生検組織の解析を施行した。19名は肝移植が施行され、21名は移植未施行患者であった。肝移植後FAP患者の胃十二指腸生検組織の検索では、アミロイド沈着量の定量、野生型・変異型 TTR のアミロイド線維構成比を検索した⁶⁾。19名

の肝移植後患者のうち6名では、肝移植前後で検体を採取できたため(移植後経過年数は2年—約5年)、沈着量の推移とアミロイド構成比について比較検討した。アミロイド沈着量は、0(沈着なし)、1(軽度)、2(中等度)、3(高度)の4段階にスコアリングした(図1)。

4. 研究成果

(1) 腹壁脂肪アミロイド蛋白の解析

肝移植非施行FAP患者における腹壁脂肪沈着アミロイド線維蛋白の解析では、野生型 TTR の構成比が平均 $40.7 \pm 27.5\%$ と占めていた。発症年齢を50歳未満の若年発症群と50歳以降の高齢発症群と比較すると、若年発症群では野生型 TTR の比率は $30.7 \pm 24.8\%$ であったが、高齢者では $50.7 \pm 26.9\%$ と有意に上昇していた。しかしながら、発症早期の20歳代患者でも、すでに沈着アミロイド内に野生型 TTR の沈着は認められた。

(2) 胃粘膜組織アミロイド蛋白の解析

肝移植前後で観察し得た6名の胃粘膜アミロイドの沈着量の検索では、移植前の平均スコアが 1.9 ± 0.8 で、肝移植後が 1.5 ± 0.71 と有意な変化は認められなかった(図1)。

アミロイド線維中の野生型 TTR の構成比は、移植前が $20.0 \pm 11.4\%$ で、肝移植後では $43.2 \pm 13.8\%$ と有意に野生型 TTR の比率は上昇していた。肝移植前あるいは、肝移植未施行患者の沈着アミロイド解析では、野生型 TTR の構成比は $23.8 \pm 14.3\%$ で、肝移植後患者では $72.7 \pm 25.5\%$ と、肝移植後患者で有意に野生型 TTR の構成比が高かった(図2)。肝移植後のみ生検を施行した19名の患者では、移植後経年数にほぼ比例して、野生型 TTR の比率が上昇していた(図3)。

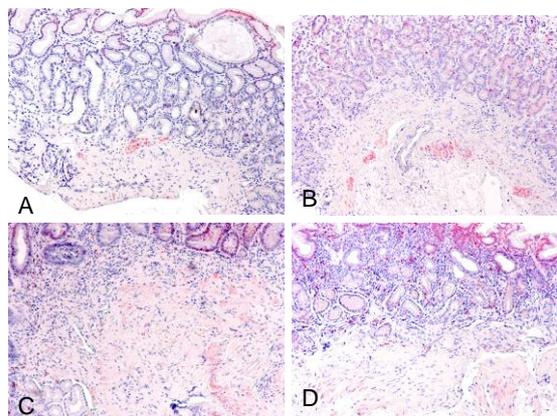


図1: 肝移植前後の胃粘膜アミロイド

A,B:26歳女性患者。(A:移植前 B:移植後約5年)、C,D:58歳女性患者。(C:移植前 D:移植後約3年。沈着量は3名の観察者が各々スコアを判定し、その平均値を沈着量のスコアとした。コンゴ

赤染色。倍率100倍。

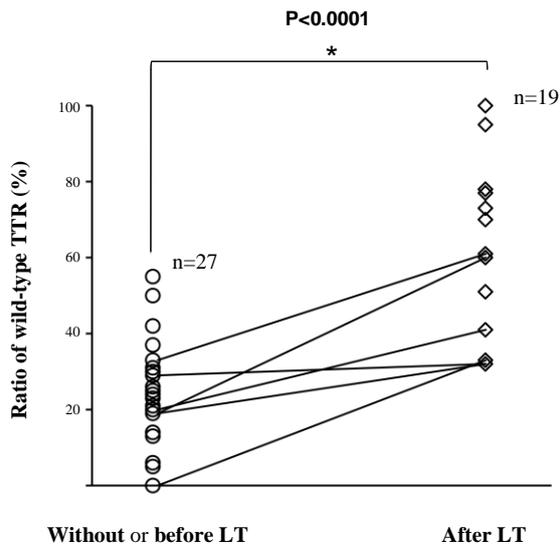


図2: 肝移植未施行患者と施行患者における野生型TTRの構成比⁶⁾

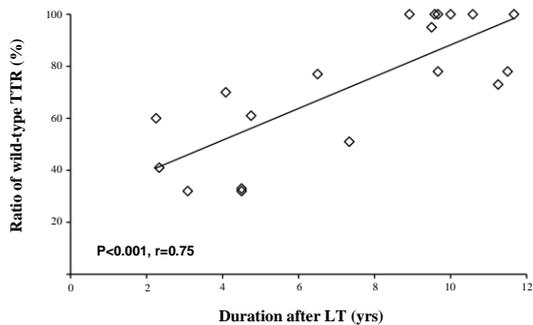


図3: 肝移植後年数と野生型TTR比⁶⁾

以上の結果を考察すると、発症早期からFAP患者のアミロイド形成に、野生型TTRは常に関与している(常に変異型TTRとともに沈着を起している)ことが示された。また肝移植後も沈着アミロイドは、野生型TTRの沈着と、変異型TTRと野生型TTRの両者の融解が常に繰り返される現象(amyloid turnover)が、脂肪組織以外でも起こることが明らかになった。

今回、我々が過去に報告した腹壁脂肪組織における沈着アミロイドの消失⁵⁾という現象は、胃粘膜組織では観察できなかったが、本研究で、肝移植前後に観察し得た6名の患者の肝移植後の経過年数が最長5年であるため、10年以上観

察した腹壁脂肪組織の結果と異なった可能性が考えられた。

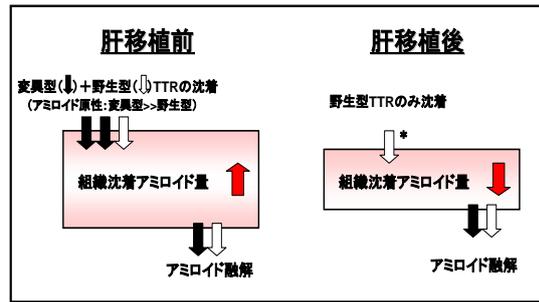


図4: 肝移植前後での組織アミロイドの沈着動態 (Amyloid turnover)

肝移植前後とも、アミロイドの沈着と融解は同時に起こっているものと考えられる(図4)。術前は、アミロイド原性の強い変異型TTRが存在するため、融解量より沈着量が多く、組織アミロイド量は増加していくが、移植後は、アミロイド源としては野生型TTRのみになるので、融解量>沈着量となる臓器では、アミロイド沈着量の減少が期待できる可能性がある(図4)。一方、野生型TTRが沈着して発症する老人性全身性アミロイドーシスが、心筋優位にアミロイド沈着が起こることからも、心筋では恐らく、他の臓器に比べて野生型TTRに親和性が高いものと考えられ、我々の過去の報告の様に、心筋組織では、アミロイド沈着量の増加が認められたもの^{1,2)}と考えられた。これまで、このようなamyloid turnoverに関する研究は、国内外でほとんどなされてはいない。

今後の展望

現在、FAPの治療として、消炎鎮痛剤の一つであるジフルニサル内服が有効とされている。ジフルニサルはTTR四量体に取り込まれ、TTRの安定性を増加させることでアミロイド線維形成を抑制しているものと考えられている⁷⁾。今回の結果から、移植後の野生型TTRの沈着を抑制できれば、心筋アミロイドの進展予防、各臓器におけるアミロイド沈着量の減少・消失が促進される可能性が期待できる。

文献

- 1) Yazaki M, Ikeda S, et al. Cardiac amyloid in patients with familial amyloid polyneuropathy consists of abundant wild-type transthyretin. *Biochem Biophys Res Commun* 274:702-706,2000
- 2) Yazaki M, Ikeda S, et al. Progressive wild-type transthyretin deposition after liver transplantation preferentially occurs onto myocardium in FAP

patients. Am J Transplant 7:235-242,2007

3) Sakashita N, et al. Pathol Int 56:408-412,2006

4) Tsuchiya A, Yazaki M, Ikeda S, et al. Marked regression of abdominal fat amyloid in patients with familial amyloid polyneuropathy during long-term follow-up after liver transplantation. Liver Transpl 14:563-570,2008

5) Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Ikeda S, et al. 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

6) Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Ikeda S, et al. Steady turnover of amyloid fibril proteins in gastric mucosa after liver transplantation in familial amyloid polyneuropathy. Amyloid 2013 (in press)

7) Sekijima Y, Kelly JW, Ikeda S. Pathogenesis of and therapeutic strategies to ameliorate the transthyretin amyloidosis. Curr Pharm Des 14:3219-3230,2008

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 7 件)

①Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Sekijima Y, Kametani F, Ikeda S. Steady turnover of amyloid fibril proteins in gastric mucosa after liver transplantation in familial amyloid polyneuropathy. Amyloid 2013 (in press), 査読有

②Takanashi T, Matsuda M, Yazaki M, Yamazaki H, Nawata M, Katagiri Y, Ikeda S. Synovial deposition of wild-type transthyretin-derived amyloid in knee joint osteoarthritis patients. Amyloid. 2013. [Epub ahead of print], 査読有

③Obayashi K, Ueda M, Oshima T, Kawahara S, Misumi Y, Yamashita T, Jono H, Yazaki M, Kametani F, Ikeda S, 他 4 名. Pathological changes long after liver transplantation in a familial amyloidotic polyneuropathy patient. BMJ Case Rep 2012; DOI:10.1136/BCR-20120006593, 査読有

④Migita K, Uehara R, Nakamura Y, Yasunami M, Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, 他 8 名. Familial Mediterranean fever in Japan. Medicine (Baltimore). 2012;91:337-343. DOI: 10.1097/MD.0b013e318277cf75, 査読有

⑤Yazaki M, Hineno A, Matsushima A, Ozawa K, Kishida D, Tazawa K, Fukushima K, Urata K, Ikegami T, Miyagawa S, Ikeda S. First two cases of adult-onset type II citrullinemia successfully treated by deceased-donor liver transplantation in Japan. Hepatol Res. 2012;42:934-939.

DOI: 10.1111/j.1872-034X.2012.00992.x, 査読有

⑥Tsuchiya-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. 2011; 42:236-243.

DOI: 10.1016/j.humpath.2010.06.014, 査読有

⑦Miyazaki D, Yazaki M, Ishii W, Matsuda M, Hoshii Y, Nara K, Nakayama J, Ikeda S. A rare lung nodule consisting of adenocarcinoma and amyloid deposition in a patient with primary systemic AL amyloidosis. Intern Med. 2011;50:243-246.

DOI:org/10.2169/internalmedicine.50.4094, 査読有

[学会発表] (計 2 件)

1. 鈴木彩子、矢崎正英、池田修一。レーザーマイクロダイゼクションを用いた筋肉内微量組織アミロイドの同定法の検討。第53回日本神経学会学術大会。2012年5月22日。東京

2. Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Ikeda S. The contribution of wild-type TTR to deposited amyloid onto gastroduodenum of FAP patients: The effect of liver transplantation. VIIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy, VIIth International Symposium on Liver Transplantation in Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 2011年11月21日。熊本

6. 研究組織

(1) 研究代表者

矢崎 正英 (YAZAKI MASAHIDE)

信州大学・医学部・准教授

研究者番号：70372513

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

池田 修一 (IKEDA SHU-ICHI)

信州大学・医学部・教授

研究者番号：60135134

(4) 研究協力者

関島 良樹 (SEKIJIMA YOSHIKI)

信州大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：60322715