

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	吉長 恒明
論文審査担当者	主 査 宮川 眞一 副 査 中山 淳 ・ 村田 敏規
論文題目	Marked biochemical difference in amyloid proportion between intra- and extraocular tissues in a liver-transplanted patient with hereditary ATTR amyloidosis (肝移植後 FAP 患者の眼内・眼外沈着アミロイドにおけるアミロイド蛋白組成の顕著な生化学的相違)
(論文の内容の要旨)	<p>(背景)</p> <p>生体内における 95%以上のトランスサイレチン (TTR) は肝臓で産生されるため、家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) では、肝移植療法が極めて有効な治療法であり、多くの臓器でアミロイドーシスの進行が抑制されることが報告されている。しかしながら、生命予後が改善された反面、多くの患者で移植後に難治性のアミロイド眼症を併発することが報告されるようになり、患者 QOL を著しく低下させ、臨床的に大きな問題となっている。この術後アミロイド眼症の病態機序については、硝子体切除術時に得られた数例における硝子体検体で解析されているが、詳細な分子病態機序は現在も明らかにできていない。この理由としては、硝子体以外の眼内組織のデータがなく、同一患者での眼内・眼外組織でのアミロイド蛋白の生化学的解析がなされていないこと、また従来のアミロイド抽出法では、眼組織内部の各部位で、選択的にアミロイド蛋白を解析することが不可能であったことが考えられる。</p> <p>最近我々は、参考論文で示すように、ドミノ肝移植レシピエントにおける超早期伝播性アミロイド病変の生化学的特徴について、Laser microdissection (LMD) と Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) によるプロテオーム解析法を用いて明らかにし、微量沈着アミロイド蛋白の解析法を確立した。本研究では、この解析法を応用し、肝移植後 10 年経過後に角膜穿孔から片眼摘出となった FAP 患者の眼内・眼外組織アミロイド蛋白を、LMD を用いて部位選択的に抽出し、LC-MS/MS にて生化学的解析を行い、肝移植後アミロイド眼症の発症機序を詳細に検討した。</p> <p>(対象・方法)</p> <p>患者は 49 歳女性で、TTR 遺伝子変異 (Val30Met) 陽性である。37 歳時に硝子体混濁と末梢神経障害で発症し、39 歳で生体肝移植を施行。その後徐々に硝子体混濁が悪化し、41 歳で左眼の硝子体切除術が施行された。緑内障も併発し、高度に視機能が低下したため、46 歳に線維柱帯切除術も施行されている。49 歳時に左眼の角膜潰瘍から角膜穿孔を生じ、左眼球摘出術が施行された。</p> <p>摘出眼は 10%ホルマリンで固定後、パラフィン包埋切片を作製した。組織アミロイドの沈着量に関しては、Congo red 染色標本と抗 TTR 抗体による免疫染色標本を用いて観察を行った。アミロイド線維蛋白の抽出は、LMD を用いて、眼内組織は虹彩、毛様体、網膜、脈絡膜、強膜から、眼外組織は視神経、眼球周囲に付着する外眼筋の血管と、以前上部消化管内視鏡検査で採取した十二指腸粘膜から行った。</p> <p>LMD を用いて回収したアミロイド陽性組織片は、Zwittergent 緩衝液内で、加熱・超音波振盪にて可溶化した。その後トリプシン消化を 37°C で 24 時間行った後、TTR 分子の 30 番目のアミノ酸残基を含むトリプシンペプチドを LC-MS/MS で解析し、アミロイド線維蛋白における野生型 TTR (Val30) と変異型 TTR (Met30) の構成比について解析した。</p>

(結果)

肉眼的病理所見では、眼球は虚脱し、角膜穿孔、ブドウ膜剥離が認められた。顕微鏡的所見では、抗 TTR 抗体陽性のアミロイド沈着が、眼内および眼球外組織に広く認められ、眼内組織では、特に虹彩、毛様体、網膜血管壁、網膜の内境界膜に、眼外組織では視神経鞘に高度なアミロイド沈着が認められた。生化学的解析においては、眼内組織のアミロイド線維は一様に変異型 TTR から構成され、その比率は 80% を超えていた (84-98%)。一方、眼外組織におけるアミロイド構成蛋白は、逆に野生型 TTR が優位となり、外眼筋における野生型 TTR の比率は約 71% で、十二指腸粘膜のアミロイドとほぼ同じ比率 (69%) であった。強膜におけるアミロイド蛋白の変異 TTR 比率は 61% であり、眼内と眼外組織のほぼ中間の値であった。

(考察・結論)

肝移植後 FAP 患者における眼組織のアミロイド蛋白組成の解析結果から、眼内と眼外組織では、異なった分子病態でアミロイド線維が構成されていることが明らかになった。肝移植後アミロイド眼症における眼内アミロイド線維形成は、網膜色素上皮細胞などの眼内局所で産生された変異型 TTR に極めて強く依存しており、循環血液中の肝臓由来の野生型 TTR の、眼内アミロイド形成に対する影響は少ないものと考えられた。これらの結果は、肝移植では移植後のアミロイド眼症の予防、進行抑制が期待できないことを明確に示している。このため今後は、眼内における変異型 TTR の局所産生を抑制、あるいは眼内アミロイド蛋白を効率よく turnover させるような新たな治療法の開発が必要と考えられた。また眼内では、網膜色素上皮で変異型だけでなく野生型 TTR も同時に産生されているにも関わらず、なぜ眼内では、野生型 TTR のアミロイド構成における関与が少ないのかという新たな問題点も、今回の研究で明らかになった。可能性として眼内組織では、眼外組織に比べて野生型 TTR がアミロイド線維になりにくい分子機序の存在も示唆され、術後アミロイド眼症に対する新規治療法開発のためにも、今後明らかにすべき課題と考えられた。