

平成 2 6 年 6 月 2 0 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591237

研究課題名（和文）トランスサイレチンアミロイドーシスの早期診断及び新規の非侵襲的治療の確立

研究課題名（英文）Establishment of early diagnosis method and new non-invasive therapy for transthyretin amyloidosis

研究代表者

関島 良樹（SEKIJIMA, Yoshiki）

信州大学・医学部・准教授

研究者番号：60322715

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,900,000 円、（間接経費） 1,170,000 円

研究成果の概要（和文）：トランスサイレチン（TTR）アミロイドーシス早期確定診断方法としては、家族性アミロイドポリニューロパチー（FAP）では腹壁脂肪生検，老人性全身性アミロイドーシス（SSA）では，心筋生検と胃十二指腸生検が最も診断感度が高かった．SSAで全身状態不良のため上記生検が施行困難な場合には皮膚生検も診断に有効であった．

DiffunisalのFAPに対する効果に関しては，ランダム化比較試験を実施し，diffunisalがFAP患者の末梢神経障害の進行を有意に抑制することを明らかにした．更に長期間のオープンラベル試験を実施しdiffunisalの効果は治療開始後2年以降も維持されることを明らかにした．

研究成果の概要（英文）： We showed that abdominal fat biopsy is the most sensitive early diagnosis method for familial amyloid polyneuropathy (FAP). We also showed that endomyocardial biopsy or gastroduodenal biopsy is the most sensitive early diagnosis method for senile systemic amyloidosis (SSA). Surgical skin biopsy including the deep subcutaneous fat pad is a useful alternative histopathological diagnosis tool for SSA when patient is in poor condition.

With regard to treatment, we demonstrated that diflunisal inhibit polyneuropathy progression and preserve quality of life in patients with FAP in its 2-year randomized controlled trial. We also analyzed the tolerance and efficacy of long-term diflunisal administration in FAP patients and showed that clinical effects of diflunisal are sustained after two years of treatment.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：アミロイド トランスサイレチン 老化 蛋白質 早期診断 新規治療

1. 研究開始当初の背景

トランスサイレチン (TTR) アミロイドーシスは代表的な全身性アミロイドーシスであり、野生型 TTR による老人性全身性アミロイドーシス (SSA) と家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) が存在する。

SSA は高齢者に高頻度に認められる予後不良な疾患で、海外からの報告では 80 歳以上の剖検例の 25% に心臓への野生型 TTR アミロイドの沈着が認められると報告されているが、根本的な治療法が存在しないため積極的に診断されることは少ない。

FAP は常染色体優性の遺伝性疾患で、比較的稀な疾患と考えられていたが、近年、成人発症の遺伝性ニューロパチーとしては最も頻度の高い疾患であり、多くの患者が正確に診断されていないことが明らかになった。FAP に対しては肝移植の有効性が確立しているが、移植の適応となる患者は 20% 以下であり、ほとんどの患者にとって根本的な治療法は存在しない。

以上から TTR アミロイドーシスに対する、正確な早期診断法および新規の非侵襲的な治療法の開発は急務である。

2. 研究の目的

TTR アミロイドーシスの早期診断法を確立し、これらの早期アミロイドーシス患者に対する非侵襲的な治療法の有効性を証明することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) FAP および SSA 患者の診断における各種組織生検の感度

これまでに当科で診療した、FAP および SSA 患者の臨床経過、患者の TTR 遺伝子変異、様々な病期の様々な部位 (腹壁脂肪、皮膚、神経、手根管、消化管、心筋、腎臓など) からの生検組織の比較検討を行う。生検組織は通常のコングレッド染色に加え、感度・特異度共に優れた抗 TTR 抗体 (TTR115-124 ペプチドに対するポリクローナル抗体) を用いた免疫組織染色を行う。これらに、心臓超音波、Tc-99m-pyrophosphate 心筋シンチグラフィなどの検査を組み合わせ、どの臓器に対するどの検査が早期診断に最も有効であるか検討する。

(2) 早期診断された FAP および SSA 患者に対する TTR 四量体安定化薬 (diflunisal, tafamidis) の有効性の検討

安全性については、一般診察に加え、血算、肝・腎機能検査を 2 ヶ月毎に行い、薬剤の副作用に十分な注意を払う。

臨床効果については以下の指標を 12 ヶ月毎に検討し、有効性を判定する。

臨床 FAP スコア, Neuropathy Impairment Score plus 7 nerve tests (NIS+7), 36-Item Short-Form Health Survey (SF-36) quality-of-life questionnaire, Modified Body Mass Index (mBMI), 神経生理検査 (運動神経伝導速度、

感覚神経伝導速度、複合運動電位の振幅)、心臓超音波 (心室中隔厚、左室後壁厚, Ejection Fraction), 血漿 BNP・hANP

4. 研究成果

まず、これまでに我々が診断した家族性 TTR アミロイドーシス症例を解析した。その結果 1980 年から 2013 年までに 305 名の FAP 患者を診断しており、内 258 名 (84.5%) が V30M 変異であることが明らかになった。発症年齢は 20 歳代後半と 60 歳代前半の二峰性のピークを呈し、男性で罹患率が高く発症年齢が若いことが明らかになった。生検部位では腹壁脂肪吸引生検が最も多く、発症者のほとんどで腹壁脂肪でアミロイド沈着が検出されていた。

次に、これまでに我々が診断した SSA 22 症例を解析した。診断時の平均年齢は 75.0 歳であったが発症年齢は 70.5 歳と比較的若く、70 歳未満での発症も半数の 10 例存在した。性別では男性 15 例に対して女性 7 例と男性の頻度が高かった。臨床症状としては、21 例で心臓関連の症状を認め最も頻度が高いが、手根管症候群の頻度も非常に高く、22 例中 14 例で認められ内 12 例では初発症状であった。アミロイド沈着の確認部位は、心筋生検と胃十二指腸生検が 12 例で最も多くかった。非侵襲的な診断法の試みとして、SSA 患者 11 例に皮膚生検を行ったところ、8 例でアミロイド沈着を認め、感度は 73% であった。

以上から、早期確定診断方法としては、FAP では腹壁脂肪生検、SSA では、心筋生検と胃十二指腸生検が最も診断感度が高く、SSA で全身状態不良のため上記生検が施行困難な場合には皮膚生検も診断に有効であることが明らかになった。

TTR 四量体安定化薬である Diflunisal の FAP に対する効果に関しては、研究期間内にボストン大学、メイヨークリニック、ウメオ大学などと共同で、国際的な医師主導型臨床試験 (ランダム化比較試験) を行った。その結果、diflunisal が FAP 患者の末梢神経障害の進行を有意に抑制すること (NIS+7 の悪化が diflunisal 群で 8.7、プラセボ群で 25.0, $p < 0.01$)、および FAP 患者の生活の質を改善させること (SF-36 mental がプラセボ群では 1.1 悪化、ジフルニサル群で 3.7 改善, $p = 0.02$) を明らかにした。

更にこれとは別に、信州大学独自に diflunisal のオープンラベル試験を実施し、diflunisal の長期効果を明らかにした。本試験では、diflunisal を肝移植の適応のない 40 名の FAP 患者に投与した。内訳は、男性 28 名、女性 12 名で平均年齢は 60.7 ± 14.4 歳であった。対象患者の遺伝子変異は V30M 変異 30 名、D38A 変異 3 名、F44S 変異 2 名、S50I 変異 2 名、E54K 変異 1 名、I84N 変異 1 名、V107 変異 1 名であった。投与期間は 2 ヶ月～116 ヶ月で平均観察期間は 38 ヶ月であった。その結果、Clinical FAP score、尺骨神経及び脛骨

神経の CMAP, 心筋壁厚, 血漿 BNP および hANP, Ejection fraction の増悪率は, FAP の自然経過に比べ緩徐であり, 更に diflunisal の効果は治療開始後 2 年以降も維持され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 16 件)

1. Tanaka K, Sekijima Y, Yoshida K, Tamai M, Kosho T, Sakurai A, Wakui K, Ikeda SI, Fukushima Y. Follow-up nationwide survey on predictive genetic testing for late-onset hereditary neurological diseases in Japan. *J Hum Genet* 58: 560-563, 2013. doi: 10.1038/jhg.2013.34. 査読有り
2. Nakagawa M, Sekijima Y, Tojo K, Ikeda SI. High prevalence of ATTR amyloidosis in endomyocardial biopsy-proven cardiac amyloidosis patients. *Amyloid* 20: 138-40, 2013. doi: 10.3109/13506129.2013.790809. 査読有り
3. Tsuchiya-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* 20: 156-163, 2013. doi: 10.3109/13506129.2013.807790. 査読有り
4. Kobayashi A, Uhara H, Kido K, Sekijima Y, Tojo K, Ikeda S, Okuyama R. Bullous formation in a patient with familial amyloid polyneuropathy type I. *Int J Dermatol* 52: 1398-400, 2013. doi: 10.1111/j.1365-4632.2011.05146.x. 査読有り
5. Berk JL, Suhr OB, Obici L, Sekijima Y, Zeldenrust SR, Yamashita T, Heneghan MA, Gorevic PD, Litchy WJ, Wiesman JF, Nordh E, Corato M, Lozza A, Cortese A, Robinson-Papp J, Colton T, Rybin DV, Bisbee AB, Ando Y, Ikeda S, Seldin DC, Merlini G, Skinner M, Kelly JW, Dyck PJ; Diflunisal Trial Consortium. Repurposing diflunisal for familial amyloid polyneuropathy: a randomized clinical trial. *JAMA* 310: 2658-2667, 2013. doi: 10.1001/jama.2013.283815. 査読有り
6. 関島良樹: 家族性アミロイドポリニューロパチーに対する新規治療法の開発と臨床応用. 日本遺伝カウンセリング学会誌 34: 31-37, 2013. 査読無し
7. 関島良樹, 池田修一: 家族性アミロイドポリニューロパチー. 医学のあゆみ 247: 515-520, 2013. 査読無し
8. 田中敬子, 関島良樹, 吉田邦広, 水内麻子, 山下浩美, 玉井真理子, 池田修一, 福嶋義光: 信州大学医学部附属病院遺伝

子診療部における遺伝性神経筋疾患の発症前診断の現状. 臨床神経学 53: 196-204, 2013. 査読有り

9. Miyamura M, Terasaki F, Ishibashi K, Shimazaki C, Kimura F, Kuwabara H, Tsuji M, Shibayama Y, Sekijima Y, Tojo K, Ishizaka N. Two Siblings Diagnosed to Have Transthyretin-related Familial Amyloid Cardiomyopathy Around the Same Time at Different Hospitals. *Intern Med* 51: 465-9, 2012. 査読有り
10. Nakagawa M, Tojo K, Sekijima Y, Yamazaki KH, Ikeda S. Arterial thromboembolism in senile systemic amyloidosis: report of two cases. *Amyloid* 19: 118-21, 2012. doi: 10.3109/13506129.2012.685131. 査読有り
11. Berk JL, Suhr OB, Sekijima Y, Yamashita T, Heneghan M, Zeldenrust SR, Ando Y, Ikeda S, Gorevic P, Merlini G, Kelly JW, Skinner M, Bisbee AB, Dyck PJ, Obici L; Familial Amyloidosis Consortium. The Diflunisal Trial: study accrual and drug tolerance. *Amyloid* 19 Suppl 1: 37-8, 2012. doi: 10.3109/13506129.2012.678509. 査読有り
12. 関島良樹: 心アミロイドーシスの診断と治療. 循環器内科 71: 526-533, 2012. 査読無し
13. Sekijima Y, Uchiyama S, Tojo K, Sano K, Shimizu Y, Imaeda T, Hoshii Y, Kato H, Ikeda SI. High prevalence of wild-type transthyretin deposition in patients with idiopathic carpal tunnel syndrome: a common cause of carpal tunnel syndrome in the elderly. *Hum Pathol* 42: 1785-91, 2011. doi: 10.1016/j.humpath.2011.03.004. 査読有り
14. Ikeda SI, Sekijima Y, Tojo K, Koyama J. Diagnostic value of abdominal wall fat pad biopsy in senile systemic amyloidosis. *Amyloid* 18: 211-5, 2011. doi: 10.3109/13506129.2011.623199. 査読有り
15. 関島良樹: 家族性アミロイドポリニューロパチーの新しい治療戦略. 神経内科 74: 360-366, 2011. 査読無し
16. 関島良樹: 非家族性全身性アミロイドーシスの疫学と臨床. 臨床神経 51: 1130-1133, 2011. 査読無し

〔学会発表〕(計 32 件)

1. 関島良樹 (招待講演). 家族性アミロイドポリニューロパチーの基礎から治療へ. 東京都医学研セミナー. 2014/2/21, 東京
2. 関島良樹 (招待講演). 家族性アミロイドーシスの病態に基づいた新規治療法の開発と遺伝カウンセリング. 第 100 回千葉大学遺伝子診療部セミナー.

- 2014/2/20, 千葉
3. 関島良樹 (招待講演). 小胞体関連分解によるトランスサイレチンアミロイドシスに対する自己防御機構と病態に基づいた新規治療法の開発. 第8回臨床ストレス応答学会. 2013/11/15~2013/11/16, 松本
 4. Sekijima Y, Tojo K, Morita H, Koyama J, Koike H, Sobue G, Ikeda S. Safety and efficacy of long-term diflunisal administration in late-onset ATTR Val30Met FAP. IXth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 2013/11/10~2013/11/13, Rio de Janeiro, Brazil
 5. 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. 2013/11/10~2013/11/13, Rio de Janeiro, Brazil
 6. 関島良樹, 中川道隆, 東城加奈, 池田修一. 心筋生検組織のアミロイド分析からみた心アミロイドーシスの基礎疾患の検討. 第1回日本アミロイドーシス研究会学術大会. 2013/8/30, 東京
 7. 関島良樹 (招待講演). 神経疾患の治療に関する最近の話題と今後の展望. 第48回 信越支部主催生涯教育講演会. 2013/6/9, 長野
 8. 関島良樹, 東城加奈, 森田洋, 小池春樹, 祖父江元, 池田修一. 高齢発症 ATTR Val30Met FAP 患者の末梢神経機能に対するジフルニサルの有効性の検討. 第54回日本神経学会学術集会. 2013/5/29-2013/6/1, 東京
 9. 関島良樹, 田中敬子, 吉田邦広, 福嶋義光. 本邦における遺伝性神経筋疾患に対する発症前診断の現状と課題. 日本人類遺伝学会第57回大会. 2012/10/24~2012/10/27, 東京
 10. 関島良樹 (招待講演). 家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP) に対する新規治療法の開発と臨床応用. 第36回日本遺伝カウンセリング学会学術集会. 2012/6/8~2012/6/10, 松本
 11. 関島良樹, 田中敬子, 吉田邦広, 水内麻子, 山下浩美, 玉井真理子, 福嶋義光, 池田修一. 当院における遺伝性神経疾患の発症前診断の現状. 第36回日本遺伝カウンセリング学会学術集会. 2012/6/8~2012/6/10, 松本
 12. 田中敬子, 関島良樹, 吉田邦広, 福嶋義光. 全国の医療機関における遺伝性神経筋疾患に対する発症前診断の現状. 第36回日本遺伝カウンセリング学会学術集会. 2012/6/8~2012/6/10, 松本
 13. 永松清志郎, 田澤浩一, 関島良樹, 池田修一. 手根管症候群で発症した ATTR Tyr114His 型家族性アミロイドポリニューロパチーの1例. 第130回日本内科学会信越地方会. 2012/6/2, 新潟
 14. 関島良樹, 田中敬子, 吉田邦広, 水内麻子, 山下浩美, 玉井真理子, 福嶋義光, 池田修一. 当院における遺伝性神経疾患の発症前診断の現状. 第53回日本神経学会学術大会. 2012/5/22~2012/5/25, 東京
 15. 池田修一, 関島良樹, 東城加奈, 鈴木彩子, 矢崎正英. 家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)患者の発症年齢の推移に関する検討. 第53回日本神経学会学術大会. 2012/5/22~2012/5/25, 東京
 16. Sekijima Y, Tojo K, Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Ikeda S. The distribution of age at onset of ATTRVal30Met FAP in Japan. XIIIth International Symposium on Amyloidosis. 2012/5/6~2012/5/10, Groningen, Netherland
 17. Ikeda S, Sekijima Y, Tojo K, Nakagawa M, Morita H, Koyama J. Neurological manifestations of senile systemic amyloidosis. XIIIth International Symposium on Amyloidosis. 2012/5/6~2012/5/10, Groningen, Netherland
 18. Berk JL, Obici L, Zeldenrust SR, Sekijima Y, Yamashita T, Heneghan M, Ikeda S, Ando Y, Gorevic P, Merlini G, Kelly JW, Skinner M, Bisbee AB, Dyck PJ, Suhr OR, Familial Amyloidosis Consortium. The Diflunisal Trial: Demographics, baseline neurologic sraging, and adverse events. XIIIth International Symposium on Amyloidosis. 2012/5/6~2012/5/10, Groningen, Netherland
 19. Sekijima Y, Tojo K, Morita H, Koyama J, Suzuki A, Yazaki M, Ikeda S (招待講演). Safety and efficacy of long-term administration of diflunisal to familial amyloid polyneuropathy patients. VIIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 2011/11/20~2011/11/22, Kumamoto
 20. Sekijima Y, Uchiyama S, Tojo K, Sano K, Shimizu Y, Imaeda T, Hoshii Y, Kato H, Ikeda S. High prevalence of wild-type TTR amyloid deposition in patients with idiopathic carpal tunnel syndrome. VIIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 2011/11/20~2011/11/22, Kumamoto
 21. Nakagawa M, Tojo K, Sekijima Y, Ikeda S, Yamazaki K. Systemic embolism in senile systemic amyloidosis: report of 2 cases. VIIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 2011/11/20~2011/11/22, Kumamoto
 22. Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Sekijima Y, Takei Y, Ikeda S, Kametani F. 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. 2011/11/20~2011/11/22, Kumamoto
23. Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Sekijima Y, Takei Y, Ikegami T, Miyagawa S, Matsunami H, Ikeda S. A follow-up study of 48 FAP patients who underwent liver transplantation. VIIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 2011/11/20~2011/11/22, Kumamoto
 24. Berk JL, Suhr OB, Sekijima Y, Yamashita T, Heneghan M, Zeldenrust SR, Ando Y, Ikeda S-I, Gorevic P, Merlini G, Kelly JW, Skinner M, Bisbee AB, Dyck PJ, Obici L, et al. The Diflunisal Trial: Study accrual and drug tolerance. VIIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 2011/11/20~2011/11/22, Kumamoto
 25. Ikeda S, Tojo K, Sekijima Y, Yazaki M. The range of onset in ATTRVal30Met FAP and the clinical picture of the patients with this disease who started after the age of 70. VIIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy. 2011/11/20~2011/11/22, Kumamoto
 26. 関島良樹, 内山茂晴, 東城加奈, 佐野健司, 清水雄策, 今枝敏彦, 加藤博之, 池田修一. 特発性手根管症候群患者における野生型トランスサイレチンアミロイド沈着の頻度に関する研究. 第22回日本末梢神経学会学術集会. 2011/9/2~2011/9/3, 那覇
 27. 関島良樹 (招待講演). 非家族性アミロイドーシスの臨床と疫学. 第52回日本神経学会学術大会. 2011/5/18~2011/5/20, 名古屋
 28. 関島良樹, 東城加奈, 森田洋, 鈴木彩子, 矢崎正英, 池田修一. Diflunisal を用いた家族性アミロイドポリニューロパチーに対する新規薬物療法の開発. 第52回日本神経学会学術大会. 2011/5/18~2011/5/20, 名古屋
 29. 池田修一, 東城加奈, 関島良樹, 鈴木彩子, 矢崎正英. 70歳以後に診断されたFAP-ATTRVal30Met患者の臨床像の検討. 第52回日本神経学会学術大会. 2011/5/18~2011/5/20, 名古屋
 30. 江澤直樹, 東城加奈, 関島良樹, 池田修一. 老人性全身性アミロイドーシスの早期診断における両側手根管症候群の有用性. 第52回日本神経学会学術大会. 2011/5/18~2011/5/20, 名古屋
 31. 鈴木彩子, 矢崎正英, 関島良樹, 亀谷富由樹, 池田修一. 肝移植後FAP患者における組織沈着アミロイドのturn-overについて. 第52回日本神経学会学術大会. 2011/5/18~2011/5/20, 名古屋
 32. Sekijima Y, Uchiyama S, Tojo K, Sano K, Shimizu Y, Imaeda T, Kato H, Ikeda S. High prevalence of wild-type TTR deposition in patients with idiopathic carpal tunnel syndrome: A common cause of carpal tunnel syndrome in the elderly. The 63rd Annual Meeting of the American Academy of Neurology 2011/4/9~2011/4/16, Honolulu
- 〔図書〕 (計5件)
1. Sekijima Y, Yoshida K, Tokuda T, Ikeda S: Familial Transthyretin Amyloidosis (January 2012) in: GeneReviews at GeneTests: Medical Genetics Information Resource [database online]. Copyright, University of Washington, Seattle, 1997-2012. Available at <http://www.genetests.org>.
 2. 関島良樹: 非家族性全身性アミロイドーシスの臨床, 鈴木則宏ら 編集: Annual Review 神経 2012, p274-281, 中外医学社, 2012.
 3. 関島良樹, 池田修一: 家族性アミロイドポリニューロパチー, 祖父江元 編集: 新しい診断と治療のABC 75 末梢神経障害, p186-195, 最新医学社, 2012.
 4. 関島良樹: アミロイドニューロパチー, 山口徹, 北原光夫, 福井次矢 編集: 今日の治療指針 2011 年版, p809-810, 医学書院, 2011.
 5. 関島良樹: トランスサイレチンアミロイドーシスに対する新規治療法の開発. 山田正仁 編集: アミロイドーシス診療のすべて, p163-172, 医歯薬出版株式会社, 2011.
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
関島 良樹 (SEKIJIMA, Yoshiki)
信州大学・医学部・准教授
研究者番号: 60322715
- (2) 研究分担者
東城 加奈 (TOJO, Kana)
信州大学・医学部附属病院・助教 (特定雇用)
研究者番号: 10467178
- (3) 連携研究者
森田 洋 (MORITA, Hiroshi)
信州大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号: 10262718
- 小山 潤 (KOYAMA, Jun)
信州大学・医学系研究科・准教授
研究者番号: 10303463