

家族性アミロイドポリニューロパチーの
発病に対するアポリポ蛋白Eの影響：
組織アミロイドの免疫組織化学的検討ならびに
アポリポ蛋白Eの表現型と臨床像の対比

佐藤 俊一

信州大学医学部第3内科学教室

(主任：柳澤 信夫教授)

Pathological Role of Apolipoprotein E in the Development of
Familial Amyloid Polyneuropathy : Immunohistochemical Study of
Tissue Amyloid and Analysis of the Relationship between the
Phenotypes of Apolipoprotein E and the Ages of Onset in Patients

Shun-ichi SATOH

Department of Medicine (Neurology), Shinshu University School of Medicine

(Director : Prof. Nobuo YANAGISAWA)

Recent studies have shown that the apolipoprotein E (Apo E) $\epsilon 4$ allele increases the risk of the development of Alzheimer's disease with cerebral amyloid deposits and lowers the age of onset. Apo E has also been suggested to be a common facilitating factor in the development of different types of local or systemic amyloidoses. The present study was performed to clarify the role of Apo E in the pathogenesis of transthyretin-related familial amyloid polyneuropathy (FAP). Histological and immunohistochemical studies showed that amyloid deposits in all tissue samples obtained from three autopsied patients with type I FAP were consistently immunoreactive to both anti-transthyretin (TTR) and anti-Apo E antisera. The question of whether or not the Apo E phenotype has an effect on the age of onset and the clinical picture of type I FAP was then examined. Apo E phenotyping of 62 patients with this disease was carried out. It was found that there was no significant difference in the age of onset and the initial symptom among the type I FAP patients with diverse phenotypes of Apo E. Although immunohistochemical colocalization of Apo E and TTR amyloid suggested that Apo E plays a certain role in the pathogenesis of type I FAP, it was concluded that the Apo E phenotype does not have a significant effect on the age of onset and the clinical picture of this disease. *Shinshu Med J* 45 : 207-216, 1997

(Received for publication February 3, 1997)

Key words : familial amyloid polyneuropathy, age of onset, apolipoprotein E, immunohistochemistry

家族性アミロイドポリニューロパチー, 発症年齢, アポリポ蛋白E, 免疫組織化学

別刷請求先：佐藤 俊一

〒390 松本市旭3-1-1 信州大学医学部第3内科

1 はじめに

I 型家族性アミロイドポリニューロパチー (type I familial amyloid polynuropathy, 以下 type I FAP と略す) は常染色体優性を示す遺伝性全身性アミロイドーシスの一型であり、臨床的には末梢神経障害と自律神経障害を主症状とする¹⁾。本疾患のアミロイドは血清中のトランスサイレチン (transthyretin, 以下 TTR と略す) に由来し²⁾、患者の TTR には遺伝子異常に基づいて一アミノ酸置換が存在する³⁾。最も多い変異は N 末端から 30 番目のバリン (valine) がメチオニン (methionine) に置換した (30Val → Met と略す) ものである³⁾。一方、アポリポ蛋白 E (apolipoprotein E, 以下 Apo E と略す) は、VLDL やカイロミクロンレムナントなどのリポ蛋白の受容体のリガンドとしてリポ蛋白代謝に機能する分子量約 34,000 の糖蛋白である。神経系ではグリア細胞で産生され⁴⁾、出生直後や損傷時にその発現が増加する⁵⁾。また神経組織の発達や修復過程で脂質の再分布に関与し、髄鞘、軸索を維持する作用を有することから、様々な神経疾患の発生機序と Apo E の役割との関連が注目されてきた^{6)~7)}。

1991 年 Namba ら⁸⁾ によりアルツハイマー病患者の脳においてアミロイド沈着部位に Apo E が共存していることが明らかにされた。これに続いてアルツハイマー病患者では 3 型ある Apo E の表現型の中で、E4 を持つ比率が一般人口に較べ有意に高いこと⁹⁾¹⁰⁾、また E4 の発現遺伝子である $\epsilon 4$ allele の数が 0, 1, 2 と増加するに従い発症年齢が大きく低下する gene dose effect が報告された¹⁰⁾¹²⁾。これらの結果からアルツハイマー病の発病に際し、Apo E 表現型が重要な影響を与えることが注目されるようになった。さらにクルー斑を伴うクロイツフェルト・ヤコブ病⁹⁾、特発性脳アミロイドアンギオパチー、続発性アミロイドーシス、家族性地中海熱¹³⁾ などアルツハイマー病以外のアミロイドーシスにおいても免疫組織化学的にアミロイドと Apo E が共存していることが報告されており、Apo E は種々のアミロイドーシスの発症に共通して関与する可能性が示唆されている¹³⁾。

本研究では家族性アミロイドーシスの代表的病型である type I FAP の発症に対する Apo E の影響を明らかにする目的で、本症患者の TTR アミロイド沈着部位に Apo E が共存するかどうかを免疫組織化学的に探索し、また患者の発症年齢ならびに初発症状と Apo E 表現型との関連を多数例で検討した。

II 対象および方法

対象は長野県、富山県、広島県出身の 43 家系 62 名の type I FAP 患者で、このうち男性は 37 名、女性は 25 名であった。いずれの患者も臨床的には下肢から始まる末梢神経障害ならびに多彩な自律神経障害を呈し、生検組織でアミロイド沈着がみられたことより、type I FAP と診断されている。またこれらの患者は全て DNA 解析¹⁴⁾で TTR 遺伝子のコドン 30 の第一塩基が G から A に置換されていること (アミノ酸レベルでは 30Val → Met に対応する変異) が確認されている。

A 組織アミロイドの病理学的ならびに免疫組織化学的検索

長野県出身で明瞭な遺伝歴と典型的な type I FAP の臨床像を示し、信州大学医学部附属病院で剖検された 3 名 (症例 1: 死亡時年齢 43 歳の女性、症例 2: 死亡時年齢 46 歳の女性、症例 3: 死亡時年齢 49 歳の女性) を対象とした。方法は剖検時に採取した脳、脊髄、腰髄後根神経節、正中神経、坐骨神経、腰部交感神経節、食道、胃、結腸、心臓、腎臓、肝臓、甲状腺のパラフィン包埋ブロックから連続切片を作成した。これらの組織切片をアルカリコンゴレッド染色と、抗ヒト TTR 抗体および抗ヒト Apo E 抗体を用いて通常の avidin-biotin peroxidase complex 法により免疫組織化学的染色を行った。抗ヒト TTR 抗体による染色に際しては、アミロイドの免疫組織化学的反応性を高める目的で脱パラフィンした組織切片を 98% 蟻酸液で 15 分間前処理した。一次抗体はウサギ抗ヒト TTR 血清 (DAKO, Glostrup, Denmark) を 200 倍希釈で、ウサギ抗ヒト Apo E 血清 (DAKO) を 500 倍希釈で使用した。また個々の組織標本において、コンゴレッド染色陽性のアミロイド沈着部位と TTR ならびに Apo E の免疫組織化学的反応陽性部位を以下のような方法で半定量的に評価した。すなわち、接眼鏡 10 倍、対物鏡 10 倍での観察視野で、沈着なし (評価点数 0): 全視野に沈着を認めない、軽度 (評価点数 1): 沈着が全視野に数個ある、中等度 (評価点数 2): 沈着が全視野に相当数あるが、病変のない領域も認める、高度 (評価点数 3): 全視野に無数の沈着を認めるものとした。

なお今回使用した抗ヒト TTR 抗体と抗ヒト Apo E 抗体に免疫交叉反応性がないことは次のようにして検討した。すなわち type I FAP 患者の髄膜から精製したアミロイド線維蛋白画分¹⁵⁾を immunoblotting 法に

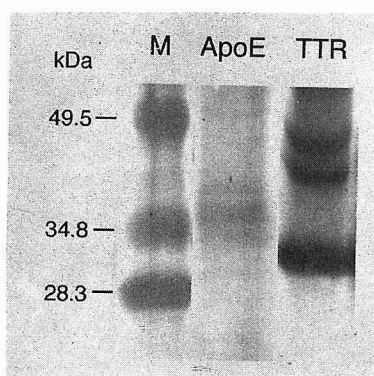


図1 Type I FAP 患者の髄膜血管から精製したアミロイド線維画分を用いた immunoblotting
Type I FAP 患者の髄膜からアミロイド線維画分を精製し 1M urea に溶解して immunoblotting を行った。ウサギ抗ヒト ApoE 血清により ApoE が 35kDa に、ウサギ抗ヒト TTR 血清により TTR dimer が 30kDa に検出された。2 つの抗血清の免疫反応に交叉反応性はみられなかった。

より上記の抗体と反応させた結果、ウサギ抗ヒト Apo E 血清とヒト TTR、ウサギ抗ヒト TTR 血清とヒト Apo E の間には交叉免疫反応性のないことが確認された(図1)。

B 発症年齢の決定

詳細な病歴聴取により、足底を中心とする四肢末梢のしびれ・疼痛などの異常感覚あるいは難治性の便秘または下痢、陰萎、高度の立ち眩みを自覚した年齢を発症年齢とした。本疾患は家族性に発症するため、対象者が発症前から上記の症状に十分な注意を払っており、従って本人からの病歴聴取により正確な発症年齢を判定することが可能であった。

C Apo E 表現型の決定

Apo E 遺伝子 $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ は共に優性に発現するため、その遺伝子型と血清中の Apo E 表現型は 1 対 1 に対応する。Apo E 表現型は血清を用いることができた 25 名では isoelectric focusing 法を用いて Apo E 表現型を決定した。残りの 37 名は DNA を用いて Apo E 遺伝子型を決定した。

1 Isoelectric focusing 法による血清を用いた Apo E 表現型判定

Menzel と Utermann¹⁶⁾ が記載した等電点電気泳動と Western blotting を組み合わせた方法に若干の改変を加えて、患者血清中の Apo E 表現型を決定した。方法は患者血清 5 μ l を neuraminidase で 30 分間、続

いて 75mM dithiothreitol (以下 DTT と略す) で 15 分間室温で処理した。Polyacrylamide gel は 4.8% acrylamide, 0.9% N, N'-methylenebisacrylamide, 2% ampholytes, 8M urea で調整し、5 cm 幅に切断した。Ampholyte は pH5-8 と pH3.5-10 のものを 4:1 の比率で混和し使用した。この polyacrylamide gel を 15°C に冷却した泳動板に密着させ、10mA で 40 分間プレランニングした後、DTT 処理後の検体を 1.5 μ l 注入し、500V で 40 分間等電点電気泳動を行った。泳動後の gel は methanol を含む Tris glycine 溶液に浸した後、同じ溶液で緩衝化した nitrocellulose 膜を重ねし、濾紙を 5 枚重ねた上から 1 kg の重石をのせて室温で 10 分間放置し転写を行った。転写した nitrocellulose 膜は 2% スキムミルク加 PBS buffer で室温 30 分間ブロッキングした。一次抗体はヤギ由来の抗 Apo E 血清(第一化学薬品、東京)を 500 倍希釈し、二次抗体は抗ヤギ IgG に結合させた horseradish peroxidase (HRP) を 500 倍希釈して各々 15 分間反応後 PBS で洗浄した。発色液は 4-chloro-1-naphthol 50 mg, methanol 10ml, PBS 50ml, H₂O₂ 30 μ l で調整し、二次抗体と反応させた後の nitrocellulose 膜を発色させた。患者血清中の Apo E polypeptide は電荷の違いにより等電点電気泳動を行うことで E2, E3, E4 の主要な型に分離され、これにより各患者の Apo E 表現型の判定を行った。

2 遺伝子レベルでの検討

患者白血球から抽出した genomic DNA を polymerase chain reaction (PCR) 法で増幅した。使用した primer は F4 (5'-TAAGCTTGGCACGGCTGTCCAAGGA-3') と F6 (5'-ACAGAATTCGCC-CCGGCCTGGTACAC-3') である¹⁷⁾。PCR の条件は変性 94°C 1 分、アニーリング 65°C 2 分、伸長反応 72°C 1 分の周期で 30 回増幅した。PCR 産物は精製後制限酵素 *Hha*I で処理し、5-20% gradient polyacrylamide gel 上に電気泳動した。これを ethidium bromide 溶液で染色し、紫外線下で写真撮影した。Apo E 対立遺伝子は個々の DNA 画分が $\epsilon 2$ は 91, 83 bp の 2 成分に、 $\epsilon 3$ は 91, 48, 35 bp の 3 成分に、 $\epsilon 4$ は 72, 48, 35, 19 bp の 4 成分に分離されることにより判定した。

D 統計学的処理

Apo E 各表現型における発症年齢の統計学的有意差の検定には、Mann-Whitney の U 検定を用いて $p < 0.05$ で有意差があると判定した。また、初発症状と

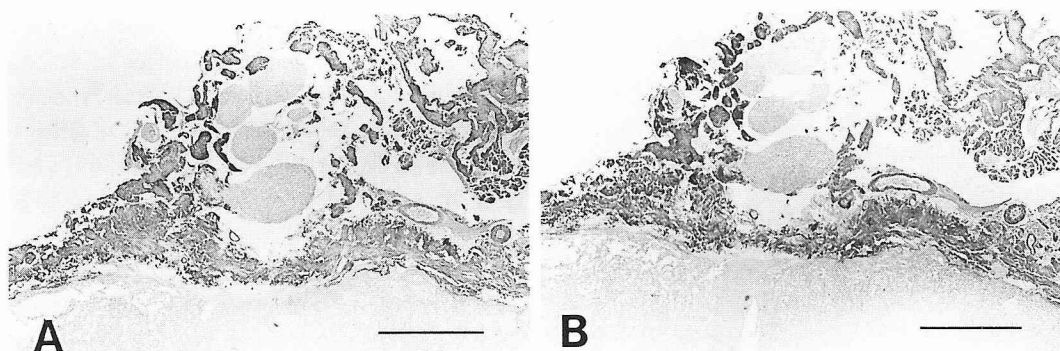


図2 症例3の胸髄(Th3)背側面の免疫組織化学的染色所見

A: 抗 TTR 抗体 B: 抗 ApoE 抗体

クモ膜、髄膜血管に高度のアミロイド沈着を認め、クモ膜は著しく肥厚している。これらのアミロイド沈着は抗 TTR 抗体で特異的に染色され、また同部位に ApoE の沈着を認める。(Bars=50μm)

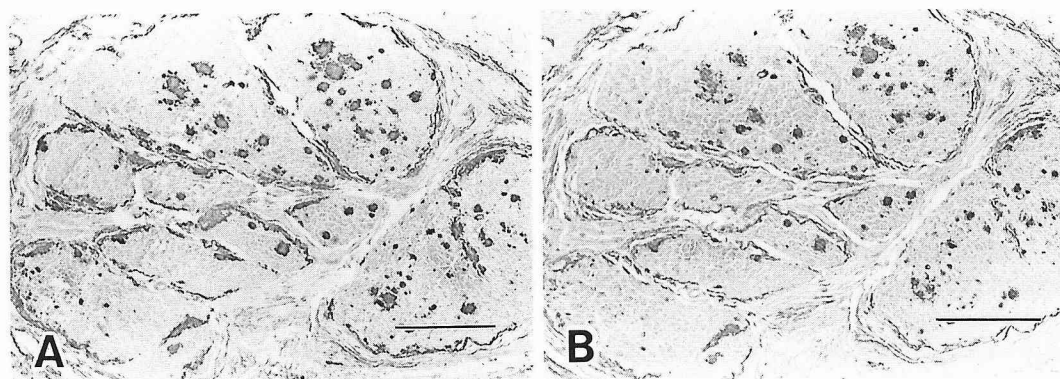


図3 症例2の腰髄後根神経節の免疫組織化学的染色所見

A: 抗 TTR 抗体 B: 抗 ApoE 抗体

神経内膜に斑状のアミロイド沈着が多数みられ、これらのアミロイド沈着は全て抗 TTR 抗体と抗 ApoE 抗体の両方で特異的に染色された。(Bars=50μm)

Apo E 各表現型の独立性の検討は χ^2 独立性検定により $p < 0.05$ で有意差があると判定した。

III 結 果

A 病理組織学的ならびに免疫組織化学的検討

アルカリコンゴレッド染色では検索した患者の全ての臓器においてアミロイドの沈着がみられた。この中でアミロイドの沈着が目立った部位は神経系では脊髄のクモ膜(図2)、腰髄後根神経節(図3)、腰部交感神経節、正中神経、坐骨神経であり、また神経系以外の実質臓器では心臓、腎臓であった。組織学的には、中枢神経では脊髄のクモ膜が高度なアミロイド沈着で肥厚し(図2)、また髄膜血管壁には全周性のアミロイド沈着がみられた。神経節、末梢神経では神経内膜へ

の斑状のアミロイド沈着が目立ち(図3)、腎臓では糸球体係蹄と遠位尿細管周囲へのアミロイド沈着が顕著であった。また心臓では心内膜下心筋、甲状腺では濾胞周囲、肝臓では肝動脈周囲、消化管では粘膜筋板、粘膜下層の血管壁、固有筋層、漿膜にアミロイド沈着を認めた。免疫組織化学的にはこれらのアミロイドは抗 TTR 抗体で特異的に免疫染色された(図2 A, 3 A)。また連続切片上での抗 Apo E 抗体を用いた免疫組織化学的染色では、抗 TTR 抗体に免疫反応を示すアミロイド沈着部位の全てが抗 Apo E 抗体で陽性に標識された(図2 B, 3 B)。アミロイド沈着の程度との比較では、TTR アミロイドの高度な沈着がみられた脊髄、末梢神経、腎臓には高度の Apo E 沈着を認めた。一方、TTR アミロイドの沈着が軽度であっ

FAP 発症における Apo E 表現型の影響

表1 Type I FAP 剖検例における免疫組織化学的染色結果

臓 器	患者 沈着物質	免疫組織化学的反応性の程度					
		症 例 1		症 例 2		症 例 3	
		TTR アミロイド	ApoE	TTR アミロイド	ApoE	TTR アミロイド	ApoE
大 脳							
実 質		0	0	0	0	0	0
クモ膜, 髄膜血管		/	/	2	2	2	1
脊 髄							
実 質		0	0	0	0	0	0
クモ膜, 髄膜血管		3	3	3	3	3	3
末梢神経							
正中神経		3	3	/	/	/	/
坐骨神経		3	3	3	3	3	3
腰部交感神経節		3	3	3	3	/	/
腰髄後根神経節		3	3	2	2	2	2
消化管							
食 道		1	1	1	0	2	2
胃		1	1	1	1	/	/
結 腸		1	1	1	0	2	1
心 筋		2	2	2	2	3	2
腎 臓							
皮 質		3	3	3	3	3	3
髄 質		3	3	2	3	3	2
肝 臓		1	1	1	1	2	1
甲状腺		1	1	2	2	0	0

* /は未検索, 免疫組織化学的反応性の数値化の基準は本文中を参照

た消化管, 甲状腺でも Apo E は共存していた。以上に述べた type I FAP 3 例における抗 TTR 抗体陽性のアミロイド沈着と Apo E 沈着の程度についての検索結果を要約して表 1 に示した。

B Apo E 表現型と発症年齢

検討した患者62名の Apo E 表現型と発症年齢との関係を図 4 と表 2 に示す。最も頻度が高かったのは E3/E3 の33名 (男性19名, 女性14名) で, これらの患者の発症年齢は20~72歳で, 平均発症年齢は38.8±14.4歳であった。次いで E3/E2 は18名 (男性12名, 女性 6 名) で, 平均発症年齢は40.9±13.7歳であった。E4/E3 は 8 名 (男性 5 名, 女性 3 名) で, 発症年齢は28~64歳, 平均発症年齢は37.3±12.4歳であった。E4/E2 は53歳男性, 38歳と70歳の女性 2 名の計 3 名であった。各表現型間での発症年齢についての比較では E3/E2 群と E3/E3 群間で p=0.61, E3/E3 群と E3/E4

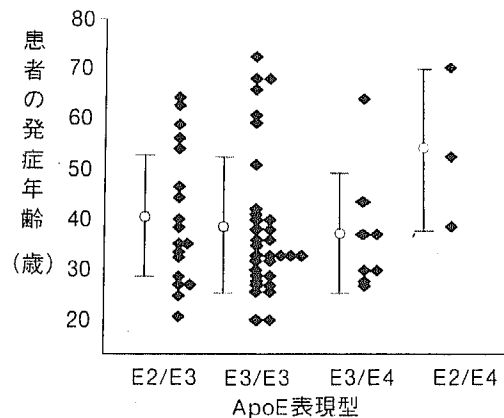


図 4 ApoE 表現型と type I FAP 患者の発症年齢の分布図
図の説明は本文を参照されたい。

表2 Type I FAP 患者の発症年齢と ApoE 表現型

	E2/E3	E3/E3	E3/E4	E2/E4	計
20歳代	5	9	2	0	16
30歳代	5	13	4	1	23
40歳代	3	4	1	0	8
50歳代	3	2	0	1	6
60歳代	2	4	1	0	7
70歳代	0	1	0	1	2
計	18	33	8	3	62

表3 Type I FAP 患者の初発症状と ApoE 表現型の対比

	末梢神経症状	自律神経症状
E2/E3	12	4
E3/E3	20	13
E3/E4	7	1
E2/E4	2	0

群間で $p=0.83$ であり、各患者群間で統計学的に有意差を認めなかった (Mann-Whitney の U 検定)。

C 初発症状と Apo E 表現型

Type I FAP 患者の初発症状を末梢神経症状と自律神経症状に大別し、両群間の Apo E 表現型を検討した (表3)。末梢神経症状での発症者は39名で、その初発症状の内容は下肢のしびれ感、突き刺すような痛み、脱力感であった。この群における Apo E 表現型は E2/E3が12名、E3/E3が20名、E3/E4が7名であった。自律神経症状での発症者は18名で、その症状は難治性の便秘、下痢、高度な立ち眩み、陰萎、排尿障害であった。またこの群における Apo E 表現型は E2/E3が4名、E3/E3が13名、E3/E4が1名であり、末梢神経障害での発症群と自律神経障害での発症群の間で各 Apo E 表現型の頻度には有意差を認めなかった ($p=0.31$, χ^2 独立性検定)。

IV 考 察

Type I FAP の発症機序は、TTR 遺伝子の一塩基変異に基づいて血清中に変異 TTR が出現し、このアミロイド前駆蛋白が何らかの機序で不溶性のアミロイドとして組織に沈着することによると考えられている³⁾。このように type I FAP は TTR 遺伝子の分子

病と考えられているにも関わらず、臨床的には本症患者の発症年齢は20歳代から80歳代と広範囲にわたる¹⁾。この発症年齢の不均一さの原因を明らかにすることを目的とした血清中の変異 TTR 濃度と発症年齢を対比した検討では、30歳前後の発症で進行の早い患者と50歳以後の発症で進行が緩徐な患者との間には血清中の変異 TTR 濃度に有意な差が見られない¹⁸⁾。さらに通常のヘテロ接合体患者と比べ、血清中の変異 TTR が2倍量存在する type I FAP のホモ接合体患者においても、ヘテロ接合体よりむしろ緩徐な臨床経過を示すことがある¹⁴⁾¹⁹⁾。これらの事実は、type I FAP の発症機序が単に TTR 遺伝子の異常と変異 TTR の発現のみによるものではなく、他の因子が関与していることを強く示唆している。

今回筆者が検討した Apo E は、現在のところ中枢神経系のアミロイドーシスであるアルツハイマー病とそれに関連した特発性脳アミロイドアンギオパチーにおいて、その発症に関与する重要な因子であると位置付けられている。すなわち家族性アルツハイマー病では E4 を持たない患者、ヘテロ接合体患者、E4 のホモ接合体患者の順に発症年齢が低下していくことが報告されている¹¹⁾。また特発性脳アミロイドアンギオパチーでは上記の順で出血の危険性が増加していく²⁰⁾ ことより、Apo E4 の存在は脳アミロイド沈着を促進することが推測されている。しかし脳以外の全身性アミロイドーシスの発病に対する Apo E 表現型の影響については詳細な検討がなされていない。

今回筆者は遺伝性全身性アミロイドーシスである type I FAP を対象にアミロイドと Apo E の共存を確認するため、免疫組織化学的手法を用いて全身臓器における TTR アミロイドの沈着と Apo E 沈着につき系統的に検索した。その結果、type I FAP 患者では中枢神経のみならず、末梢神経、自律神経、および腎臓をはじめとする内臓諸臓器の TTR アミロイドの沈着部位に Apo E が共存していることが明らかになった。この TTR アミロイドと Apo E の共存には臓器による特異性が無く、さらに TTR アミロイドの沈着が軽度な部位にも Apo E の沈着が認められたことより、Apo E は本症患者の全身のアミロイド沈着に病初期から何らかの影響を与えている可能性が推測された。そこでこの結果を基に、type I FAP においてもアルツハイマー病と同様に Apo E 表現型が発症年齢に影響を与えるのではないかと仮定し、本症患者多数例で上記二者の関連を検討した。

今回検討した type I FAP 患者における Apo E 表現型の出現頻度は E2 が 16.4%, E3 が 74.6%, E4 が 9.0% であり, 日本人対照群の頻度 (E2 が 8.1%, E3 が 84.9%, E4 が 6.7%)²¹⁾ に比べて E2 の出現頻度がやや高かった。この結果はおそらく対象者の多くが同一地区の出身で, 一部の家系には濃厚な血縁関係が存在することにより, こうした Apo E 表現型の偏りが生じたと考えられる。一方, type I FAP 患者の異なる Apo E 表現型間での比較では, 発症年齢は統計学的に明らかな違いを認めなかった。また同一の Apo E 表現型, 特に E3/E3 の患者群では, 発症年齢に著しい個体差を認めたことから, type I FAP では Apo E 表現型の違いが患者の発症年齢に有意な影響を与えないと考えられた。この Apo E 表現型と type I FAP 患者の発症年齢との関係については既に発表した²²⁾, 同様な結果はスウェーデン出身の type I FAP 患者の検索からも得られている²³⁾。

また, 特発性脳アミロイドアンギオパチーにおいては Apo E4 の存在が脳出血の頻度を高めるとする報告²⁰⁾ に基づき, type I FAP でも Apo E 表現型の違いが臨床症状に影響を与えている可能性を考え, 異なる 2 つの初発症状を呈した本症患者群で Apo E 表現型の比較検討を行った。しかし末梢神経症状で発症した患者と自律神経症状で発症した患者との間で, 各々の Apo E 表現型の頻度には有意差がなく, Apo E 表現型は type I FAP の初発症状にも影響を与えないと結論された。

今回の研究により type I FAP 患者では免疫組織化学的に Apo E が各臓器の TTR アミロイド沈着部位に共存していることが判明した。しかし Apo E 表現型の違いは本疾患の発症年齢に大きな影響を及ぼしていないことが明らかになった。このような結果が得られた理由としては, 次の 3 つの可能性が考えられる。

第一に, アミロイドとして沈着する蛋白が疾患により異なり, これらの個々の前駆蛋白と Apo E との蛋白化学的反応性が違うことが原因と考えられる。アルツハイマー病, 特発性脳アミロイドアンギオパチーで脳に沈着するアミロイドは β 蛋白である²⁴⁾。In vitro では β 蛋白は Apo E と強力に結合する性状を有しており²⁵⁾, 特に E4 は E3 と比較して β 蛋白との結合性が強く, その結果 β 蛋白がより速やかに不溶化してアミロイド線維を形成しやすくなることが報告されている²⁶⁾。またアルツハイマー病患者の剖検脳の検索において, Apo E4 をもつ患者群では持たない群と比べて

大脳皮質への β 蛋白アミロイドの沈着がより高度であるとする報告がある^{27,28)}。これに対し, type I FAP で全身に沈着する TTR に関しては Apo E の表現型による結合性の相違は確認されていない。また本研究からは Apo E は TTR と共に組織へ沈着するものの, type I FAP の発症促進因子にはならない可能性が示された。本来アミロイド線維はその構成蛋白の化学的性状の如何に拘わらずさまざまな糖蛋白と結合する性質を持つことが知られている²⁹⁾。従って Apo E も type I FAP の TTR アミロイドには二次的に結合し, アミロイド形成機序に積極的に関与していない可能性が考えられる。

第二に, アルツハイマー病を代表とする脳アミロイドーシスと type I FAP では, 両者の発症年齢が大きく異なることが挙げられる。すなわちアルツハイマー病の大部分の患者は 65 歳以上で発病するが, type I FAP では半数以上が 40 歳以下で発症し, 65 歳以上の高齢発症者は全体の 1 割に満たない。仮に Apo E のアミロイド沈着促進作用が加齢現象と関連していると考えれば, 大部分の type I FAP 患者はアルツハイマー病患者に比べてかなり若い年齢で発症するために, Apo E 表現型の違いによる発症年齢への影響を受けないとも考えられる。

第三に Apo E はアルツハイマー病をはじめとする中枢神経系のアミロイドーシスにおいてのみ発症に関与している可能性である。最近, 中枢神経系のアミロイドーシスにおいて Apo E はアミロイド細線維の形成に直接作用する以外の機序が推測されている。すなわち Apo E は Apo E 受容体と結合して脳内から β 蛋白関連蛋白を運び去る作用が推測されており, この機序が Apo E 表現型により異なるとする仮説である²⁷⁾。これに関連して脳内で特異的に発現する Apo E 受容体 (apo ER2) の存在も報告されている³⁰⁾。この様に Apo E が中枢神経系のアミロイドーシスに特異的な作用を有するならば, アミロイド沈着の主座が中枢神経系外に存在する type I FAP では, Apo E が発症に影響を及ぼさなくても当然である。以上本研究では type I FAP 患者における広範な発症年齢ならびに臨床像の多様性と Apo E 表現型との関連を検索したが, 両者間に病因論的意味付けは見い出せなかった。今後 type I FAP の TTR アミロイド沈着部位における Apo E 存在の意義付けについてさらに解明されることが望まれる。

V 結 語

Type I FAP 患者の発病に対する Apo E の関与を調べ、以下の結論を得た。

- 1 Type I FAP 剖検例の全身各臓器の TTR アミロイド沈着部位に Apo E の共存が免疫組織化学的に確認された。
- 2 Type I FAP 患者62名を Apo E 表現型により分類し発症年齢を比較検討したが、異なる Apo E 表現型患者群間で発症年齢に統計学的有意差を認めなかった。また初発症状を末梢神経症状と自律神経症状に大別した臨床症状についても、Apo E 表現型との間に有意な関係は認めず、本疾患においては Apo E 表現型の違いが発症年齢および臨床像に大きく影響しないことが確認された。
- 3 Apo E4 はアルツハイマー病、特発性脳アミロイドアンギオパチーなどの脳に局限したアミロイドーシスにおいてはその発症に関与することが注目され

ている。しかし、type I FAP のような中枢神経以外の臓器に病変の主座を置くアミロイドーシスでは Apo E4 は明らかな発症促進因子にはならない可能性が考えられた。

本稿の要旨は平成 7 年 5 月第 36 回日本神経学会総会（名古屋）、平成 7 年 10 月 3rd International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy (Lisboa, Portugal) および平成 8 年 5 月第 37 回日本神経学会総会（大宮）で発表した。

稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました恩師柳澤信夫教授に深甚なる謝意を表します。また本研究に際し直接御指導御助力下さいました第 3 内科学教室池田修一博士、徳田隆彦博士ならびに本学附属病院中央検査部日高宏哉博士に深く感謝申し上げます。

文 献

- 1 Ikeda S, Hanyu N, Hongo M, Yoshioka J, Oguchi H, Yanagisawa N, Kobayashi T, Tsukagoshi H, Ito N, Yokota T: Hereditary generalized amyloidosis with polyneuropathy. Clinicopathological study of 65 Japanese patients. *Brain* 110: 315-337, 1987
- 2 Tawara S, Nakazato M, Kangawa K, Matsuo H, Araki S: Identification of amyloid prealbumin variant in familial amyloidotic polyneuropathy (Japanese type). *Biochem Biophys Res Commun* 116: 880-888, 1983
- 3 Benson MD, Uemichi T: Transthyretin amyloidosis. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 3:44-56, 1996
- 4 Pitas RE, Boyles JK, Lee SH, Foss D, Mahley RW: Astrocytes synthesize apolipoprotein E and metabolize apolipoprotein E-containing lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 917: 148-161, 1987
- 5 Ignatius MJ, Gebicke-Harter PJ, Skene JHP, Schilling JW, Weisgraber KH, Mahley RW, Shooter EM: Expression of apolipoprotein E during nerve degeneration and regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83: 1125-1129, 1986
- 6 Poirier J, Hess M, May PC, Finch CE: Astrocytic apolipoprotein E mRNA and GFAP mRNA in hippocampus after entorhinal cortex lesioning. *Brain Res Mol Brain Res* 11: 97-106, 1991
- 7 Snipes GJ, McGuire CB, Norden JJ, Freeman JA: Nerve injury stimulates the secretion of apolipoprotein E by nonneuronal cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83: 1130-1134, 1986
- 8 Namba Y, Tomonaga M, Kawasaki H, Ohtomo E, Ikeda K: Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res* 541: 163-166, 1991
- 9 Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance MA, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD: Apolipoprotein E: high-avidity binding to β -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 1977-1981, 1993
- 10 Saunders AM, Schmechel K, Breitner JC, Benson MD, Brown WT, Goldfarb L, Goldgaber D, Manwaring MG, Szymanski MH, McCown N, Dole KC, Schmechel DE, Strittmatter WJ, Pericak-Vance MA, Roses

- AD: Apolipoprotein E ϵ 4 allele distributions in late-onset Alzheimer's disease and in other amyloid-forming diseases. *Lancet* 342: 710-711, 1993
- 11) Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA: Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261: 921-923, 1993
 - 12) Okuizumi K, Onodera O, Tanaka H, Kobayashi H, Tsuji S, Takahashi H, Oyanagi K, Seki K, Tanaka M, Naruse S, Miyatake T, Mizusawa H, Kanazawa I: Apo E- ϵ 4 and early-onset Alzheimer's. *Nature Genet* 7: 10-11, 1994
 - 13) Wisniewski T, Frangione B: Apolipoprotein E: a pathological chaperone protein in patients with cerebral and systemic amyloid. *Neurosci Lett* 135: 235-238, 1992
 - 14) Ikeda S, Nakano T, Yanagisawa N, Nakazato M, Tsukagoshi H: Asymptomatic homozygous gene carrier in a family with type I familial amyloid polyneuropathy. *Eur Neurol* 32: 308-313, 1992
 - 15) Kametani F, Ikeda S, Yanagisawa N, Ishii T, Hanyu N: Characterization of a transthyretin-related amyloid fibril protein from cerebral amyloid angiopathy in type I familial amyloid polyneuropathy. *J Neurol Sci* 108: 178-183, 1992
 - 16) Menzel HJ, Utermann G: Apolipoprotein E phenotyping from serum by Western blotting. *Electrophoresis* 7: 492-495, 1986
 - 17) Hixson JE, Vernier DT: Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with *Hha* I. *J Lipid Res* 31: 545-548, 1990
 - 18) Saraiva MJM, Costa PP, Goodman DS: Genetic expression of transthyretin mutation in typical and late-onset Portuguese families with familial amyloidotic polyneuropathy. *Neurology* 36: 1413-1417, 1986
 - 19) 吉長知史, 中里雅光, 池田修一, 大西晃生: 家族性アミロイドポリニューロパチーにおける Met³⁰異型トランスサイレチン遺伝子のホモ接合体. 3 同胞例の報告と文献例10例を含めた臨床像の検討. *臨床神経* 34: 99-105, 1994
 - 20) Greenberg SM, Rebeck GM, Vonsattel JPG, Gomez-Isla T, Hyman BT: Apolipoprotein E ϵ 4 and cerebral hemorrhage associated with amyloid angiopathy. *Ann Neurol* 38: 254-259, 1995
 - 21) Utermann G: Apolipoprotein E polymorphism in health and disease. *Am Heart J* 113: 433-440, 1987
 - 22) Satoh S, Tokuda T, Ikeda S, Sekijima Y, Yanagisawa N, Hidaka H, Kametani F: No association between apolipoprotein E ϵ 4 allele and the age of onset in type I familial amyloid polyneuropathy. *Neurosci Lett* 204: 209-211, 1996
 - 23) Lovat LB, Booth SE, Booth DR, Madhoo S, Holmgren G, Hawkins PN, Soutar AK, Pepys MB: Apolipoprotein E4 genotype is not a risk factor for systemic AA amyloidosis or familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 2: 163-166, 1995
 - 24) Glenner GG, Wong CW: Alzheimer's disease: Initial report of purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 120: 885-890, 1984
 - 25) Wisniewski T, Golabek A, Matsubara E, Ghiso J, Frangione B: Apolipoprotein E: binding to soluble Alzheimer's β -amyloid. *Biochem Biophys Res Commun* 192: 359-365, 1993
 - 26) Strittmatter WJ, Weisgraber KH, Huang DY, Dong LM, Salvesen GS, Pericak-Vance M, Schmechel D, Saunders AM, Goldgaber D, Roses AD: Binding of human apolipoprotein E to synthetic amyloid β peptide: isoform-specific effects and implications for late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 8098-8102, 1993
 - 27) Rebeck GW, Reiter JS, Strickland DK, Hyman BT: Apolipoprotein E in sporadic Alzheimer's disease: allelic variation and receptor interactions. *Neuron* 11: 575-580, 1993
 - 28) Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ, Crain BJ, Hulette CM, Joo SH, Pericak-Vance MA,

- Goldgaber D, Roses AD: Increased amyloid β peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 9649-9653, 1993
- 29) Szumanska G, Vorbrodt AW, Mandybur TI, Wisniewski HM: Lectin histochemistry of plaques and tangles in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 73: 1-11, 1987
- 30) Kim DH, Iijima H, Goto K, Sakai J, Ishii H, Kim HJ, Suzuki H, Kondo H, Saeki S, Yamamoto T: Human apolipoprotein E receptor 2. A novel lipoprotein receptor of the low density lipoprotein receptor family predominantly expressed in brain. *J Biol Chem* 271: 8373-8380, 1996

(9. 2. 3 受稿)