

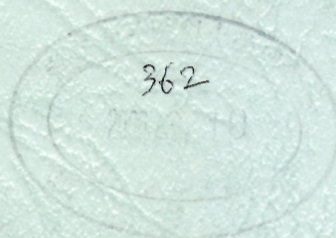
---

続発性アミロイドーシス発症における  
SAA1 遺伝子多型と SAP の意義に関する検討

---

課題番号 15591066

平成 15 年度～平成 16 年度科学研究費補助金（基盤研究 (C)(2)）研究成果報告書



平成 18 年 3 月

研究代表者 寺井千尋

(東京女子医科大学・医学部・助教授)





## は し が き

日本では関節リウマチ患者の長期経過追跡が不十分である。例えば関節リウマチ患者の死因統計でも一病院単位での集計がほとんどであり、病院毎に得意とする分野が違うためか集まる患者に偏りがあるのか、報告施設によって結果が大いに異なる。外来診療が中心の関節リウマチでは、病状が進行し通院が不自由になるとそれまで遠方から無理をして通っていた患者もいよいよ通うことが困難となってくる。当施設のように遠方からの患者が多い施設では、長年治療にあたっていた患者から、「もう通えません。近所の病院に紹介を」という場面がときどきある。患者がいよいよ体力の限界を自覚したり、動けなくなってきた場合や、送り迎えしてくれていた家族の都合がつかなくなったりと理由はさまざまである。このようにして進行した長期のリウマチ患者が抜けていくので、長期予後を正確に把握することはなかなか難しい。ひとりよがりの予後調査にならないため、なるべく客観性を保つべく、剖検輯報による死因調査を現在行いつつある。以前に九大の豊島らが 1990 年前後の関節リウマチ患者の死因調査を行った方法に準じたのである。2000 年から 2004 年までの期間を調べたところ、驚いたことに続発性アミロイドーシスはいまだに関節リウマチ死亡原因の第 3 位であった。

この数年、関節リウマチの治療はかつてない大きな転換を迎えている。メソトレキセートがより早期からより幅広く使用されるようになり、TNF をターゲットにした生物製剤が登場してきた。日本のリウマチ治療は長らく欧米に遅れをとっていた。少し前は欧米から 10 年は遅れていたが、最近では差が縮まりつつある。慢性炎症性疾患に続発するアミロイドーシスは原因疾患の治療がみつければ、消滅する運命にある。かつては結核や慢性感染症が主要な原因であったが、今日の日本では関節リウマチが最大の原因である。しかし治療の進歩はリウマチ患者を確実に救いつつある。我々が続発性アミロイドーシスの原因に迫るのが先かアミロイドーシスが無くなるのが先か、臨床に携わる研究者としては複雑な心境である。治療の進歩に負けないように、いっそうスピードを上げてアミロイドーシスの解明に邁進したい。

## I 研究組織、経費

### 1. 研究組織

研究代表者 : 寺井千尋 (東京女子医科大学医学部助教授)  
研究分担者 : 小関由美 (東京女子医科大学医学部助手)  
研究分担者 : 梶山 浩 (東京女子医科大学医学部助手)  
研究分担者 : 中川美紀 (東京女子医科大学医学部助手)

### 2. 交付決定額 (配分額)

	直接経費	間接経費	合計
平成 15 年度	2,300 千円	0 円	2,300 千円
平成 16 年度	500 千円	0 円	500 千円
総 計	2,800 千円	0 円	2,800 千円

## II 研究発表

### (1) 学会誌等

1. Chihiro Terai, Hirotaka Kaneko, Masato Moriguchi, Yumi Koseki, Hiroshi Kajiyama, Miki Itou, Naoyuki Kamatani, Tiitinen S, Kaarela K, Hurme M and Maury CPJ. **SAA1** gene analysis in Finnish patients with AA amyloidosis. *Amyloid and Amyloidosis*, CRC press, 2005, p176-178.
2. Yumi Koseki, Chihiro Terai, Hiroshi Kajiyama, Miki Itou, Hisashi Yamanaka, Masako Hara, Taisuke Tomatsu, and Naoyuki Kamatani. Influence of inflammation on lipid metabolism in the patients with rheumatoid arthritis. *Amyloid and Amyloidosis*, CRC press, 2005, p292-294.
3. Masato Moriguchi, Hirotaka Kaneko, Chihiro Terai, Yumi Koseki, Hiroshi Kajiyama, Shinnichi Inada, Y Kitamura, and Naoyuki Kamatani. Relative transcriptional activities of SAA1 promoters polymorphic at position -13(C/T): Potential association between increased transcription and amyloidosis. *Amyloid* 12, 2005, P26-32.
4. Hiroshi Kajiyama, Chihiro Terai, Annamaria De Bells, Antonio Bizzarro, Antonio Bellastella, Shuji Ohta, Hiroshi Okamoto, Masashi Uesato, Masako Hara, and Naoyuki Kamatani. Vasopressin Cell Antibodies and Central Diabetes Insipidus in a Patient with Systemic Lupus Erythematosus Overlapped with Dermatomyositis. *J Rheumatology*, 31, 2004, 1218-1221.
5. Atsuo Taniguchi, Tsuchida S, Kuno S, Mita M, Machida T, Ioritani N, Terai C, Yamanaka H, and Kamatani N. Identification of two novel mutations in adenine phosphoribosyltransferase gene in patients with 2,8-dihydroxyadenine urolithiasis. *Nucleosides, Nucleotides &*

Nucleic Acids 23, 2004, 1141-1145.

6. 寺井千尋、遺伝子多型と疾患感受性、炎症と免疫、11(2)、2003、P211-215
7. 寺井千尋、アミロイドーシス、診断と治療、91 (5)、2003、p851-855
8. 寺井千尋、シェーグレン症候群の腎病変、31 (3)、2004、p 259-263
9. 小関由美、寺井千尋. 抗リウマチ薬による腎障害. 腎と透析 55、2003、P378-380.
10. 中川美紀、寺井千尋. 下腿浮腫の診断と治療. 総合臨床 52, 2003, P1569-1570.
11. 寺井千尋、抗リウマチ薬の副作用の早期発見と治療 腎および尿路障害、リウマチ科、32 (2)、2004、p 149-156.
12. 寺井千尋、桜井正. Sjogren 症候群の腎病変、日本内科学会雑誌、94 (5)、2005、p871-875.
13. 桜井正、寺井千尋. 生物学的製剤時代の抗リウマチ薬：その考え方と使い方、Modern Physician、25 (6)、2005、p667-669.
14. 寺井千尋. 続発性アミロイドーシス、Modern Physician、25 (10)、2005、p1312-1313.

## (2) 口頭発表

1. Yumi Koseki, Chihiro Terai, Hiroshi Kajiyama, Miki Ito, Ayako Nakajima, Hisashi Yamanaka, Masako Hara, Tomatsu Taisuke, and Naoyuki Kamatani. Study of effect of inflammation on lipid metabolism in patients with rheumatoid arthritis using a large cohort. 67th Annual meeting of American College of Rheumatology, October, 2003.
2. Miki Ito, Chihiro Terai, Hiroshi Kajiyama, Yumi Koseki,

Masashi Uesato, Eiichi Tanaka, Hisashi Yamanaka, Masako Hara, Tomatsu Taisuke, and Naoyuki Kamatani. Increased frequency of renal tubulo-interstitial (TI) damage in patients with rheumatoid arthritis. 67th Annual meeting of American College of Rheumatology, October, 2003.

3. Yumi Koseki, Chihiro Terai, Hiroshi Kajiyama, Miki Itou, Hisashi Yamanaka, Masako Hara, Taisuke Tomatsu, and Naoyuki Kamatani. Influence of inflammation on lipid metabolism in the patients with rheumatoid arthritis. Xth International Symposium on Amyliod and Amyloidosis, April, 2004.

4. Chihiro Terai, Hirotaka Kaneko, Masato Moriguchi, Yumi Koseki, Hiroshi Kajiyama, Miki Itou, Naoyuki Kamatani, Tiitinen S, Kaarela K,

Hurme M and Maury CPJ. **SAA1** gene analysis in Finnish patients with AA amyloidosis. Xth International Symposium on Amyliod and Amyloidosis, April, 2004.

5. 梶山浩、寺井千尋、金子裕隆、中川美紀、小関由美、鎌谷直之。関節リウマチ(RA)続発AA-amyloidosis(ア症)における *RAGE* gene の SNPs 解析。第 47 回日本リウマチ学会総会、2003 年 4 月 24 日。

6. 中川美紀、寺井千尋、梶山浩、小関由美、田中栄一、山中寿、原まさ子、齋藤輝信、戸松泰介、鎌谷直之。関節リウマチ(RA)患者における間質性腎障害の検討。第 47 回日本リウマチ学会総会、2003 年 4 月 24 日。

7. 小関由美、寺井千尋、梶山浩、中川美紀、中島亜矢子、山中寿、原まさ子、齋藤輝信、戸松泰介、鎌谷直之。大規模患者調査 (J-ARAMIS) を用いた RA 患者における炎症と脂質代謝に関する検討。第 47 回日本リウマチ学会総会、2003 年 4 月 24 日。

8. 中川美紀、寺井千尋、梶山浩、小関由美、上里雅史、森口正人、

田中栄一、山中寿、原まさ子、齋藤輝信、戸松泰介、鎌谷直之. 大規模患者調査を用いた関節リウマチ(RA)患者腎障害の検討. 第 46 回日本腎臓学会総会、2003 年 5 月 24 日.

9. 伊藤美紀、寺井千尋、梶山浩、小関由美、田中栄一、山中寿、原まさ子、戸松泰介、鎌谷直之. 関節リウマチ患者の高血圧に関する検討 (JARAMIS 調査). 第 48 回日本リウマチ学会総会、2004 年 4 月 15 日.

10. 小関由美、市川奈緒美、菅野朗子、山田 隆、稲田進一、森口正人、寺井千尋、鎌谷直之. RA 続発 AA アミロイドーシス (ア症) 長期生存例の特徴. 第 48 回日本リウマチ学会総会、2004 年 4 月 15 日.

11. 寺井千尋、小関由美、森口正人、梶山浩、伊藤美紀、稲田進一、鎌谷直之. RA 続発性アミロイドーシス (ア症) における血清アミロイド A と血清アミロイド P 蛋白(SAP)遺伝子多型の検討. 第 48 回日本リウマチ学会総会、2004 年 4 月 15 日.

12. 小関由美、市川奈緒美、設楽久美、山田 隆、稲田進一、森口正人、寺井千尋、鎌谷直之. RA 続発性 AA アミロイドーシス (ア症) の臨床的特徴と予後—年代別検討、第 49 回日本リウマチ学会総会、2005 年 4 月 18 日

13. 志関真理子、寺井千尋、桜井正、小関由美、徳田均、鎌谷直之. RA 薬剤性間質性肺障害における尿中  $\beta 2$  ミクログロブリン(BMG)・N アセチル  $\beta$  D グルコサミニダーゼ(NAG)測定の有用性. 第 49 回日本リウマチ学会総会、2005 年 4 月 18 日

14. 桜井正、寺井千尋、志関真理子、小関由美、伊藤美紀、鎌谷直之. MTX 投与 RA 患者における AFP に関する検討. 第 49 回日本リウマチ学会総会、2005 年 4 月 18 日

15. 寺井千尋、桜井正、志関真理子、伊藤美紀、梶山浩、小関由美、鎌谷直之. SLE およびループス腎炎感受性における CR1 3650A/G 遺伝子多型の役割. 第 49 回日本リウマチ学会総会、2005 年 4 月 18

日

16. 寺井千尋. 続発性アミロイドーシス. 第 33 回日本臨床免疫学会総会シンポジウム、2005 年 10 月 29 日

### (3) 出版物

1. 寺井千尋. アミロイドーシス対策. 関節リウマチ診療-生物学的製剤の導入による新展開. メジカルビュー社、2003 年、p157-159.
2. 寺井千尋. 腎障害対策. 関節リウマチ診療-生物学的製剤の導入による新展開. メジカルビュー社、2003 年、p151-153.
3. 寺井千尋. 再発性多発軟骨炎. 今日の治療指針. 医学書院. 2004 年、p587-588.
4. 寺井千尋. 腎機能検査. 日本臨床増刊号 関節リウマチ -成因研究から治療の新時代-, 63 (1)、2005、p375-378.
5. 寺井千尋. グッドパスチャー症候群. 今日の治療指針. 医学書院. 2005 年、p568-568.
6. 寺井千尋. 尿細管性アシドーシス. 薬剤師・薬学生のための臨床医学、文光堂、2005 年、P885-888.
7. 寺井千尋. 薬剤(物)性腎障害. 薬剤師・薬学生のための臨床医学、文光堂、2005 年、P888-890.
8. 寺井千尋. 関節リウマチに伴うアミロイドーシス. 今日の治療指針. 医学書院. 2006 年、p616-616.

### III 研究成果による工業所有権の出願・取得状況

特記事項なし



## IV 研究の背景

### 1) 関節リウマチおよび続発性 AA アミロイドーシス

関節リウマチ (Rheumatoid Arthritis: RA) は有病率 0.5-1.0% と患者数が多いこと、進行すると多くの患者が身体障害となり患者の被る QOL 上の不利益の大きいこと、家族や社会的な負担が大きいことなどにより、リウマチ性疾患のなかで最も重要な疾患である。身体障害のみでなく、生命予後も不良である点については一般の認識が不十分である。RA 患者の平均余命は一般日本人より約 10 年短く、米国では非ホジキン悪性リンパ腫や 3 枝病変をもつ冠動脈疾患と同程度の予後とされる。剖検輯報によると日本人関節リウマチ (RA) 患者死因中で第一位は感染症、第 2 位は呼吸器疾患であるが、続発性アミロイドーシスは第 3 位で約 10-13% を占める。この順位は 1985 年でも 2000 年の時点でも変化がない。続発性アミロイドーシスは長期間にわたり活動性関節炎が持続した RA 患者の一部に発症する難治性、致命的な合併症である。日本における RA 患者数 (50-70 万人) を考慮すると、続発性アミロイドーシスの発症危険因子の追及、病態解明、有効な治療法の開発は重要な課題である。

本症で腎や消化管などの臓器に沈着するアミロイド A 蛋白 (AA) は、血清アミロイド A (SAA) に由来する。SAA には SAA1 と SAA2 の 2 種類の急性炎症 SAA (A-SAA) と構成的に発現している SAA4 がある。A-SAA は CRP と同様に IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$  などの炎症性サイトカイン刺激により肝で産生される。RA、炎症性リウマチ性疾患、炎症性腸疾患、結核、慢性骨髓炎などの慢性炎症性疾患では長期にわたり A-SAA の産生が持続し、このような患者の一部に続発性アミロイドーシスが発症する。

### 2) AA アミロイド蛋白と SAA1 遺伝子

AA-アミロイドーシスで組織に沈着するアミロイド蛋白の組成を分析すると SAA 蛋白の N 末端を含む蛋白断片と種々の共沈着物質が認められる。沈着 SAA 断片のアミノ酸分析より、沈着アミロイド蛋白の大部分は SAA1 蛋白に由来し、SAA2 由来の SAA 断片の

比率は低いので、発症に関連するのは主には SAA1 蛋白と考えられている。また共沈着物質としてはすべてのアミロイドーシスに共通して沈着しているアミロイド P 蛋白 (SAP) がもっとも多く、他にグリコサミノグリカン、アポ E、ヒストン蛋白などが沈着している。

日本では RA 死因の上位をしめ、RA 剖検例の約 20%もの多数にアミロイド沈着がみられるが、米国では RA 剖検例の 1-2%以下にしか認められず、フィンランドでは 5.8%と報告されている。このように本症の発症頻度には人種差、地域差があり、遺伝的要因が関与すると考えられる。

これまで SAA1 gene の蛋白コード領域の多型 (SAA1.1 (SAA1  $\alpha$ ), 1.3 (SAA1  $\gamma$ ), 1.5 (SAA1  $\beta$ )) とアミロイドーシス発症の関連が検討され、SAA1.3 遺伝子が危険因子であることが日本を中心に示された (Moriguchi M, Terai C, Koseki Y, et al. Influence of genotypes at SAA1 and SAA2 loci on the development and the length of latent period of secondary AA-amyloidosis in patients with rheumatoid arthritis. Hum Genet, 105, 360-6, 1999)。すなわち SAA1 の主要な 3 多型 (SAA1.1, 1.3, 1.5) の頻度は日本ではほぼ 1:1:1 であるが、日本人アミロイドーシス患者では SAA1.3 の allele 頻度は 60%と増加し、次に SAA1.5 が多い。SAA1.3 allele を有する RA 患者ではアミロイドーシス発症の relative risk は 1.72 で、SAA1.3 の homozygote では 4.48 となり、SAA1.1 allele の存在は risk を低下させる。一方、Caucasoid 一般人口では SAA1.1 が主要な allele であり、ついて SAA1.5 が多く、SAA1.3 の頻度はごく低い。さらに、Caucasoid の検討では、日本での観察とは逆に SAA1.1 が AA-アミロイドーシス発症の危険因子であることが報告されている。

さらに SAA1 gene の 5' 上流プロモーター領域の解析を行い、SAA1.3 よりも密接にアミロイドーシス発症に関連する SNP -13T が発症の危険因子であることを報告した (Moriguchi M, Terai C, Kaneko H, et al. A novel single-nucleotide polymorphism at the 5'-flanking region of SAA1 associated with risk of type AA Amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. Arthritis

Rheum, 44(6), 1266-1272, 2001)。SAA1.3と-13Tには100%の linkage があり、さらに SAA1.5 の一部が-13T と link していた。またルシフェラーゼ・アッセイにより SAA1 遺伝子プロモーター活性を解析し、-13T を有するプロモーターhaplotype では、-13C をもつ haplotype に比べて、SAA1 mRNA の産生が亢進していることを見いだした。一方、Caucasoid control において SAA1 -13T の頻度は低く、日本人でみられた SAA1.5 と-13T の link も見られなかったため、-13Tにより日本人と Caucasoid のアミロイドーシス発症頻度の違いが説明できるかと考えられた。

次にアミロイドーシスの頻度が比較的高いトルコとフィンランドのグループと共同研究を行い、日本を含めた3地域のアミロイドーシス患者と対照群の遺伝子を解析した。その結果は、SAA1 遺伝子の-13T および SAA1.3 は日本人ではアミロイドーシス発症の危険因子であったが、フィンランド人、トルコ人では危険因子ではなかった。これらの人種では SAA1.1 がアミロイドーシス発症の危険因子であり、調べた範囲では共通の疾患感受性遺伝子座は存在しなかった。

SAA1 遺伝子あるいは蛋白のみでは AA-アミロイドーシス発症頻度の人種差を説明できなかつたので、次に SAA 沈着に影響を及ぼす共沈着物質の関連を考えた。アミロイド沈着部位には数種の蛋白が同時に沈着することが知られ、これまで SAA1 遺伝子以外にも複数の遺伝子が本症の危険因子として報告されていたが、どれも十分な証拠に欠けていた。共沈着物質の中でもっとも沈着量が多いのはアミロイド P 蛋白 (SAP) で沈着物の 10-20% を占める。さらに 2002 年に Nature 誌に報告された化合物 R-1-[6-[R-2-carboxy-pyrrolidin-1-yl]-6-oxohezanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid (CPHPC) による血中 SAP の低下と、CPHPC 投与によるヒト続発性アミロイドーシスの改善は、SAP がアミロイド沈着において重要な役割を演じることを示すと考えられた。

そこで本研究では続発性アミロイドーシス発症における SAP の関与につき検討した。SAP 遺伝子の AA-アミロイドーシス発症への関与を、SAP 遺伝子多型解析により行った。また SAP と SAA1 蛋白

との反応性が SAA1 蛋白の isoform により異なる可能性を考え、SAP 遺伝子多型と SAA1 遺伝子多型の相互関係による関与も解析した。

## V. 研究成果

### A. SAP 遺伝子多型の検索

#### 1) 対象

対象は日本人アミロイドース 74 例、日本人コントロール 74 例、Caucasoid 正常 DNA panel 50 例、フィンランド人 AA-アミロイドーシス 55 例、フィンランド人コントロール 80 例、トルコ人アミロイドーシス 45 例、トルコ人コントロール 50 例を用いた。

#### 2) SAP 遺伝子 SNPs の検索

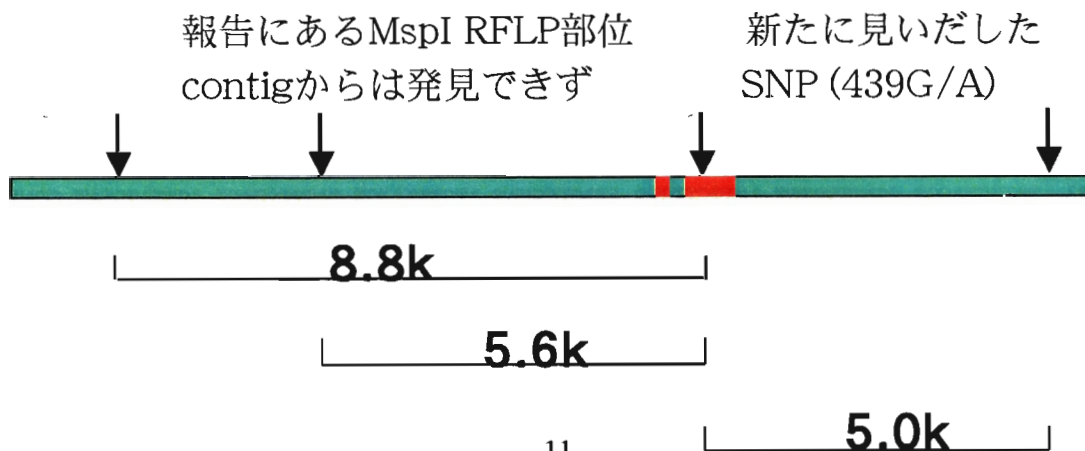
1987年に英国の若年性関節リウマチを対象とした検討でSAP geneのMspI RFLPとAA-アミロイドーシス発症との関連が報告された (Woo et al, Lancet 1987) が、追試では否定された。そこで、インターネットを用いデータベースに登録されたSNPsを検索した。SAP遺伝子は第1染色体にあり2つのexonよりなる。

JSNPには5'-flanking regionに5カ所 (TAGを開始点とし-343G/A、-443C/T、-874T/G、-1246T/A、-2024A/G) が登録されていたが、exon領域には登録はなかった。このなかより制限酵素切断部位をもつ-443C/Tを検討部位として選択した。

dbSNPではエクソン2に1カ所、+547A/Gが登録されていた。

先の報告のRFLPを示すMspI siteは5'上流5.6kbに相当するが、MspIの認識配列ccggは上流部分のcontig配列よりは発見できなかった (図1)。一方、エクソン2に存在するMspIの切断部位に多型があることを発見した。

図1 SAP遺伝子上のMspI切断部位 (Woo P et al. Lancet 1987)



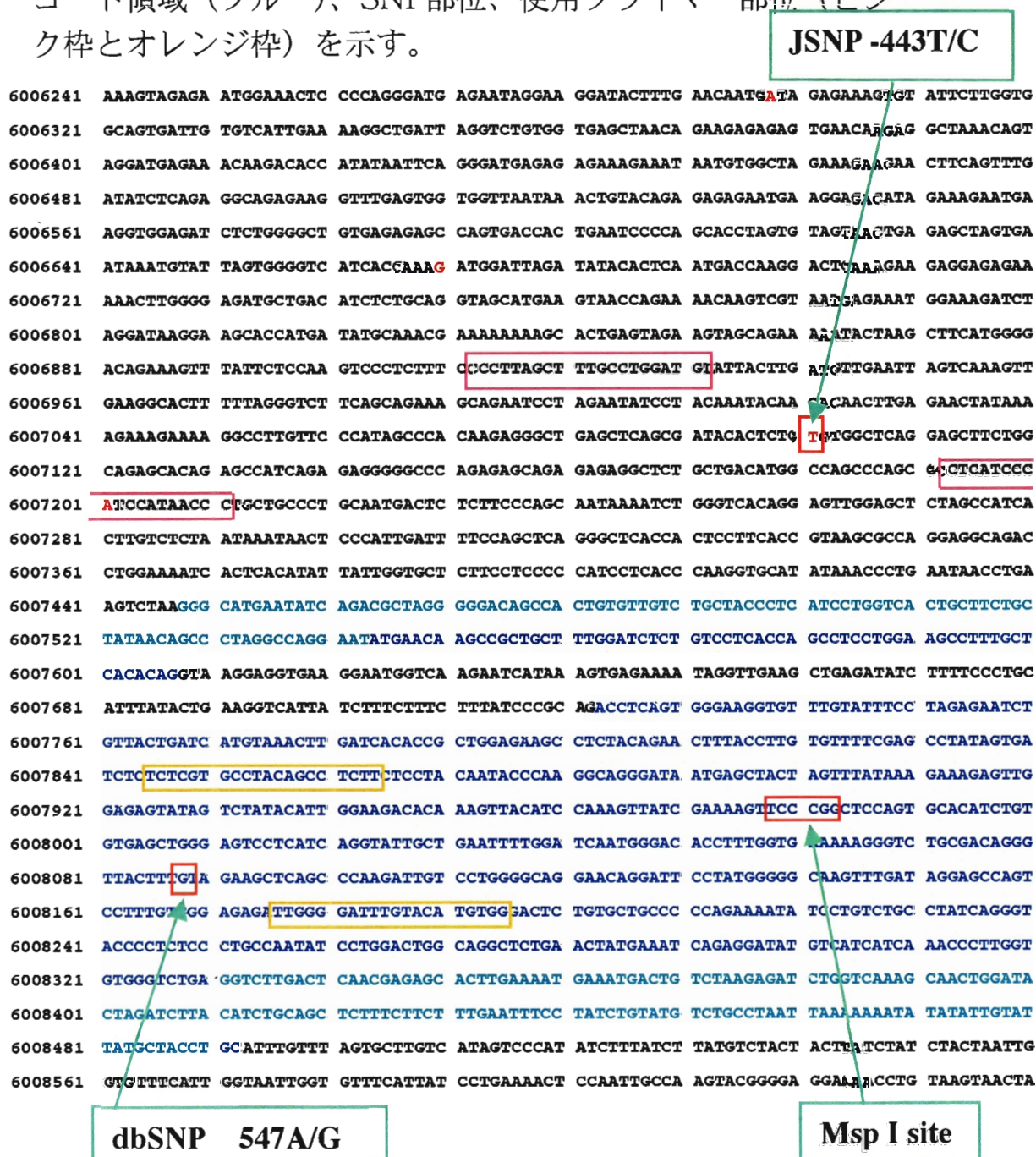


同部のdirect sequencingにより、+439の位置にGからAの変異をもつものがあり、新たなSNPであることを確認した。

### 3) SAP遺伝子SNPsの解析

図2にSAP遺伝子を含むDNA配列とSNPs siteおよびprimerの部位を示す。

図2 SAP遺伝子のエクソン（グリーンとブルー）領域、蛋白コード領域（ブルー）、SNP部位、使用プライマー部位（ピンク枠とオレンジ枠）を示す。



この3カ所のSNPsにつき、-443C/TはDraIIIによるPCR-RFLP、+439G/AはMsp Iを使用するPCR-RFLPにて解析した。また適当な制限酵素がない+547 A/Gはdirect sequencingにて決定した。

さらにSAA1多型は従来の方法により、-13C/Tと2995T/Cおよび3010C/Tを決定した。SAA1 exon3の2995T/Cと3010C/TによりSAA1 のallotype、SAA1.1 (SAA1 $\alpha$ )、SAA1.3 (SAA1 $\gamma$ )、SAA1.5 (SAA1 $\beta$ ) が決定される。

### C.解析結果

1) Exon 2 の MspI site+439G/A は、GからAの変異が少数存在し新たなSNPと考えられた。この変異は synonymous mutationでアミノ酸はProlineである。Aをもつものは少数で、日本人のアミロイドーシス群とコントロール群で頻度には差はなく、また、Caucasian、フィンランド人、トルコ人とも遺伝子頻度に差はみられなかった(表1)。

表1 Genotype frequencies of the 439G/A at the SAP gene in different populations

#### Allele frequency of 439G/A at the SAP gene

	439G/A	No.	G/G	G/A	A/A
<b>Japanese</b>					
control		65	0.96	0.04	0.00
Amyloidosis		74	0.95	0.05	0.00
<b>Caucasian</b>					
		50	0.98	0.02	0.00
<b>Finnish</b>					
control		80	0.94	0.06	0.00
amyloidosis		55	0.95	0.05	0.00
<b>Turkish</b>					
control		50	0.94	0.06	0.00
amyloidosis		45	0.96	0.04	0.00

2) dbSNP に登録されたエクソン 2 の+547A/G は direct sequence でアミロイドーシス群 10 例とコントロール 10 例で決定したが、日本人は全例 GG の homozygote であり、コントロール群とアミロイドーシス群で差はなかった。この変異も synonymous mutation でアミノ酸は Valin である。

3) 5' 上流の-443T/C では、日本人では T allele が約 20%、C が 80% で、アミロイドーシス群で T が多い傾向が見られるが、コントロール群とアミロイドーシス群で有意差はなかった。しかし、Caucasian では T allele が 75% で、T と C の allele 頻度が日本人と逆転していた (表 2)。

**表 2 Genotype and Allele frequencies of -443T/C at the SAP gene**

	No.	Genotype Freq.			Allele Freq.		
		T/T	T/C	C/C	T	C	
正常群	74	4 0.05	14 0.19	56 0.76	22 0.15	126 0.85	P=0.19
amyloidosi 70		4 0.05	21 0.28	45 0.61	29 0.21	111 0.79	
Caucasian 50		27 0.57	21 0.45	2 0.04	75 0.75	25 0.25	P<0.000001

-443C/C の homozygote は日本人には 60-70% もの頻度で見られたが、Caucasian では 4% にしか存在しない。-443T allele はどの人種においてもアミロイドーシス群で多い傾向にあったが、フィン

ランド人では特にアミロイドーシス群で増加していた（表3）。

表3 Genotype and allele frequencies of the -443T/C at the SAP gene

Genotype and Allele frequencies of -443T/C						
	No.	T/T	T/C	C/C	T	C
<b>Japanese</b>						
Control	74	4 0.05	14 0.19	56 0.76	22 0.15	126 0.85
Amyloidosis	70	4 0.05	21 0.28	45 0.61	29 0.21	111 0.79
<b>Finnish</b>						
Control	74	34 0.45	35 0.46	7 0.09	103 0.68	49 0.32
amyloidosis	55	34 0.62	17 0.31	4 0.07	85 0.77	25 0.23
<b>Turkish</b>						
Control	47	32 0.54	13 0.42	2 0.04	77 0.75	17 0.25
amyloidosis	43	32 0.74	10 0.23	1 0.02	74 0.86	12 0.14

4) 次に、SAPの-443T/C SNPとSAA1 遺伝子多型の組み合わせとアミロイドーシス発症との関連を解析した。

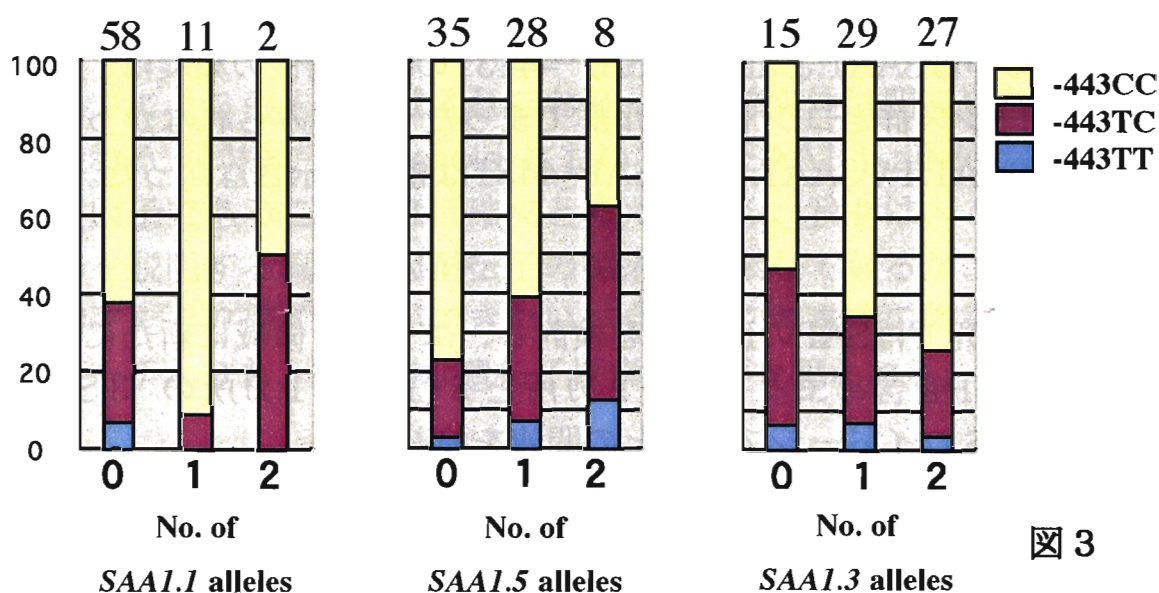


図3

日本人アミロイドーシス患者を、SAA1.1、1.3、1.5のalleleをいくつもつかで、それぞれ3群に分け、その患者群の中での、SAP-443C/Tのgenotype別の割合を図3に示す。SAA1  $\alpha$  allele数では一定の傾向はなく、SAA1  $\beta$  では $\beta$  alleleが多いほど、SAP -443T/Tホモや-443Tをもつ者が増加した。一方、SAA1  $\gamma$  では、 $\gamma$  alleleが多い程-443CCのホモの割合が増加したが、統計的にはいずれも有意ではなかった。

有意な差はなかったものの、どの人種でもSAP-443Tがコントロール群に比べて、アミロイドーシス群に多くみられた。次にアミロイドーシスで多く見られるSAP-443TとSAA1-13TあるいはSAA1.3の陽性率をコントロールとアミロイドーシスで比較した(表4)。

表4 日本人アミロイドーシス群とコントロール群におけるSAA1遺伝子とSAP遺伝子の組み合わせによる比較

	SAA1.3(+) & SAP-443T(+)	その他
コントロール	14	51
アミロイドーシス	17	54

	SAA-13T(+)&SAP-443T(+)	その他
コントロール	10	39
アミロイドーシス	19	44

日本人においてアミロイドーシスの発症危険因子であるSAA1-13TあるいはSAA1.3 alleleとSAP -443Tの両者陽性の頻度は、アミロイドーシス群とコントロール群でまったく差がみられなかった。同様にSAA1.1やSAA1.5ともSAP-443Tは相関を示さなかった。

#### D.考察

この研究ではSAPの遺伝子を検討し、エクソン領域に新たに見出した1 SNPを含めエクソンの2カ所と5'上流の1カ所の3 SNPsにつきアミロイドーシス発症との関連を検討した。

SAPのSNPsのうちExon 2の2ヶ所のSNPs +439G/Aと



+547A/G は synonymous mutation であり、アミノ酸置換は生じなかった。またこれらの多型に関しては日本人のアミロイドーシス群と対照群で頻度には差はなく、また、Caucasian、フィンランド人、トルコ人とも遺伝子頻度に差はみられなかった。

一方、5'末端上流の-443T/C SNPでは、日本人ではT alleleが約20%、Cが80%であるのに対し、他の3人種ではT alleleが75-80%を占め、TとCのallele頻度が日本人と逆転していた。一方、アミロイドーシス群と対照群を比べると各人種でアミロイドーシス群でT alleleが多い傾向にあり、フィンランド人ではその傾向が強かった。

日本人ではSAP-443Tの頻度は少ないが、これが特定の SAA1 alleleと関連してアミロイドーシス患者において増加していないかを次に検討した。日本人アミロイドーシス患者を、SAA1.1、1.3、1.5の各alleleの有無、あるいはSAA1 -13Tの有無で区分し、SAP-443Tのgenotype別の割合を解析した。その結果SAP-443TはSAA1の特定のalleleと関連してアミロイドーシスの危険を増加させるとは考えられなかった。

以上より、SAPには蛋白レベルの多型はなく、SAP多型が直接に続発性アミロイドーシス発症に関連したり、特定のSAA1 alleleと関連して続発性アミロイドーシスの発症に関与する可能性は低いと考えられた。

## E. 今後の研究の展開

SAA1 遺伝子の SAA1.3 allele あるいは SAA1 -13T allele が日本人におけるアミロイドーシス発症のリスクであることは、複数のグループにより報告、追試されており、その確実性は間違いないとおもわれる。同様に Caucasoid においては、SAA1.1 allele が発症の危険因子であることもほぼ確実と考えられる。我々は、この両者の違いを説明する真の原因遺伝子の探求を模索しているが、いまだに目的にたどり着くことができない。今後はこれまでの候補遺伝子アプローチよりも、網羅的な遺伝子探索が必要と思われる。