〈原 著〉

トランスサイレチン遺伝子変異による高齢発症のアミロイドーシス

中里 雅光 松倉 茂

〈要 約〉 われわれは血清蛋白であるトランスサイレチンの分子異常が中年発症の遺伝性全身性アミロイドーシスの原因物質であることを明らかにしてきた。今回、家族歴のない高齢発症の心アミロイドーシスとアミロイドポリニューロパチー患者におけるトランスサイレチンの分子異常を解析した。トランスサイレチンの免疫染色により病理診断の確定した5例の心アミロイドーシスと15例のアミロイドポリニューロパチーの生検または剖検組織より、DNAとアミロイド線維蛋白を抽出した。トランスサイレチン遺伝子の塩基配列解析とアミロイド線維蛋白のアミノ酸配列解析により、心アミロイドーシス症例のうち、3例がトランスサイレチン Met 30, 2例がトランスサイレチン Ile 50であった。またアミロイドポリニューロパチーの12例がトランスサイレチン Met 30, 2例がトランスサイレチン Ile 50, 1例がトランスサイレチン Ser 109であった。代表的な6例の臨床像とDNA診断を含む塩基配列解析ならびにアミロイド蛋白の構造解析の成績も提示した。高齢発症で家族歴のない原因不明のアミロイドーシスにはトランスサイレチンの分子異常が原因となる例がある。剖検により初めてトランスサイレチン型アミロイドが証明された例でも、極めて少量の組織からトランスサイレチンの遺伝子変異を同定することが可能である。

Key words: アミロイドーシス, 老化, トランスサイレチン, ミスセンス変異, 塩基配列解析

(日老医誌 2001; 38: 501—506)

緒 言

アミロイドーシスは、アミロイド線維が全身組織の主に血管壁や細胞間質に沈着して、臓器障害をもたらす病態であり、アミロイド沈着は老化に伴う病理現象の1つとしてもよく知られている。アミロイドは二次構造上、 β -構造を有するペプチドや蛋白質が重合して、幅8~15 nmの分枝のない細線維となり形成される。現在までにアミロイドを形成する物質として、12種類が同定されている¹⁾。本来可溶性であるアミロイド前駆体蛋白がアミロイド線維化する生化学的機序として、1) 異化や分泌の低下により、局所でのアミロイド前駆体蛋白濃度が増加し、不溶化する、2) 遺伝子変異によりアミロイド前駆体蛋白の二次構造が変化し β -構造形成が増し、アミロイド原性が亢進する、3) 腫瘍などによりアミロイド前駆体蛋白の産生が亢進する、の3つがある¹⁾。老化に伴うアミロイド沈着には上記1)の機序が関連している。筆者らは肝臓で合成され、サイロキシンとレチノール結合蛋白質の輸送に機能しているトランスサイレチン(transthyretin, 旧名ブレアルブミン) 遺伝子のミスセンス変異が、中年発症の遺伝性アミロイドーシスの成因

であることを明らかにしてきた²⁾およびその参考文献³⁾。本症は1アミノ酸置換を有する変異型トランスサイレチンがアミロイド線維となり、末梢神経障害を主症状とし、心臓、肝臓、消化器、甲状腺の機能障害をきたし、発症後平均15年で死亡する常染色体優性遺伝性疾患である。さらに本症には家族歴がなく、高齢になって発症する例があることも報告している³⁾。今回、高齢発症の心臓または末梢神経アミロイドーシスの20例を解析し、トランスサイレチンの分子異常が原因となることを明らかにした。

対象と方法

1. 対象

心疾患のため死亡した過去20年間の剖検総数2,700例と筆者の施設へ遺伝子解析の依頼があった65歳以上のアミロイドポリニューロパチー20例(生検17例, 剖検3例)を検索した。

2. アミロイド染色と免疫組織化学研究

心臓、胃、直腸または腓腹神経組織のコンゴ赤染色を行い、偏光顕微鏡によりアミロイドを同定した。アミロイド蛋白の免疫染色は、IgG κ (ダコ社, 最終使用濃度: 1倍), IgG λ (ダコ社, 1倍), アミロイドA蛋白(ダコ社, 100倍), トランスサイレチン(MBL社, 1,000倍), フィブリノーゲン α 鎖(ダコ社, 1倍), リゾチーム(ダコ社, 1倍), アポリポ蛋白A-I(The Binding Site

M. Nakazato, S. Matsukura: 宮崎医科大学第三内科

受付日: 1999. 12. 15, 採用日: 2000. 12. 21

第9回日本老年医学会九州地方会推薦論文

社, 80倍)に対する抗体を用い, avidin-biotin peroxidase complex 法で発色した。

3. トランスサイレチン遺伝子の配列解析

抗トランスサイレチン抗体陽性のアミロイド沈着が確認された心アミロイド5例とアミロイドポリニューロパチー15例の剖検または生検のパラフィン包埋組織を, 厚さ3 μ mに薄切した。これらの症例間に血族関係はなかった。切片一枚分を脱パラフィンし, 1% SDS とプロテアーゼ K (500 μ g/ml) を含む溶液で溶解後, 除蛋白した。フェノール/クロロホルムを用い, DNA 100~500ng を抽出した。表1に示すプライマーセットを用いて polymerase chain reaction (PCR) を行い, トランスサイレチン遺伝子のエキソン・イントロン境界部を含む3個のすべてのエキソンを増幅した。DNA シークエンサー (PE Applied Biosystems 社, Model 373A) を用い, dye terminator 法により全塩基配列を決定した⁴⁾。一部の症例では, 家族から文書による同意を得て末梢白血球より DNA を抽出し, トランスサイレチン遺伝子の変異の有無について, 制限酵素多型解析を行った。

4. アミロイド線維蛋白の一次構造解析

剖検8例の冷凍保存された組織5~10g から, 70%ギ酸を用いアミロイドを抽出した⁵⁾。トランスサイレチン抗体結合アフィニティークロマトグラフィーでトランスサイレチン型アミロイド蛋白を分離し, 最終的にはフェニルカラムを用いた逆相高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で精製した。既法に準じ⁶⁾, リジルエンドペプチダーゼを用いてトランスサイレチンをペプチド断片に分解後, C-18カラムによる HPLC を行い, 気相式プロテインシーケンサー (PE Applied Biosystems 社, Model 476A) を用いて, 各ペプチドのアミノ酸配列を決定した。

結 果

1. トランスサイレチン型心アミロイドーシス

心疾患で死亡した剖検総数2,700例のうち, 25例 (0.93%) が心アミロイドーシスであった。アミロイドの免疫染色の結果, 14例が IgG λ , 4例が IgG κ , 2例がアミロイド A 蛋白, 5例がトランスサイレチンであり, フィブリノーゲン α 鎖, リゾチームおよびアポリポ蛋白 A-I は0であった。トランスサイレチン型の5例は, いずれも65歳以上の高齢発症で末梢神経障害や自律神経障害を伴わず, また遺伝性アミロイドーシスの家族歴がなかった。うち3例は, 生前にアミロイドーシスが診断されていなかった症例である。トランスサイレチン遺伝子の塩基配列解析とアミロイド蛋白の構造決定により, 3例は

Fig. 1 Foreign-body giant cells (arrowheads) adjacent to amyloid fibrils in the left ventricular wall of heart of patient 1 (Congo red staining, original magnification $\times 200$).

コドン30のバリンがメチオニンへ変異した transthyretin Met 30で, 2例はコドン50のセリンがイソロイシンへ変異した transthyretin Ile 50であった。以下にその中の3例を示す。

症例1: 高齢者で急速に進行したアミロイド心筋症

患者は73歳, 女性で家族歴なし。65歳時 検診で不整脈と狭心症を指摘された。70歳時 労作時胸痛を自覚し, 72歳時 呼吸困難, 胸痛, 浮腫を訴え, うっ血性心不全のため入院した。心不全が急速に進行し, 半年後に重篤な心室性不整脈を合併して死亡した。全身浮腫, 皮膚の発疹と出血斑と低蛋白血症(総蛋白4.6g/dl), 蛋白尿(0.5g/日)ならびに心電図での低電位, 心房細動, ショートランを伴う心室細動および経胸壁心エコーで中等度の左室求心性肥大があり, アミロイドを疑って入院当初に心筋と胃の生検を行なったが, 陰性であった。剖検所見では全身諸臓器の血管壁や間質に, 抗トランスサイレチン抗体のみに特異的に染色される著明なアミロイド沈着を認めた。心筋アミロイド沈着は Smith の grade 3 であった⁶⁾。心筋内血管壁や心筋細胞周囲へのアミロイド沈着に加え, アミロイドに対し, 組織球由来の巨細胞を主体とした細胞反応がみられた (Fig. 1)。

ホルマリン固定した心臓から DNA を抽出し, トランスサイレチン遺伝子の全エキソンの塩基配列を決定した。nested PCR で増幅したエキソン2に1塩基変異を認めた。Fig. 2に塩基配列と制限酵素多型解析のデータを示す。コドン30のバリンをコードする GTG が ATG に変換し, メチオニンへ置換している。この変異トランスサイレチン遺伝子は制限酵素 Nsi I に対し, 新たな切断部位を生じる。制限酵素多型解析による遺伝子解析を行ったが, 67歳と70歳の同胞2名と子供に変異遺伝子を

Fig. 2 (A) DNA sequencing data for the transthyretin Met 30 gene of patient 1. A single base change (G→A) was present at codon 30 base 1 in the mutated transthyretin gene. ---:G, ---:T, ----:A, and —:C. (B) Diagram of PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) for the transthyretin Met 30 mutation. The first step PCR of exon 2 produced a 362 bp fragment, and the second step PCR with primers located inside the first PCR product produced a 136 bp fragment. The mutant transthyretin gene with the G→A transition (*) creates a new restriction site for *Nsi* I, yielding two DNA fragments of 72 and 61 bp on *Nsi* I digestion. (C) Analysis patterns of transthyretin exon 2 digested with *Nsi* I. Patient 1 gave two abnormal bands of 72 and 61 bp in addition to the normal 133 bp band, whereas the control subject gave only the normal band. Base pair sizes of the PCR products are indicated at left.

認めなかった。両親はすでに死亡しており、検索不可能であった。

アミロイド蛋白を精製し、リジルエンドペプチダーゼで消化後、逆相 HPLC によるペプチドマップを正常トランスサイレチン由来のペプチドマップと比較した (Fig. 3A, B)。正常トランスサイレチンには存在しないペプチドピークを認め、ペプチドシーケンサーによるアミノ酸配列解析の結果、Met 30を含むペプチドであることを同定した。

症例 2：房室弁肥厚と左房機能低下を呈した高齢発症

Fig. 3 HPLC profiles of peptides from amyloid fibril transthyretin digested with lysyl endopeptidase. Sample: (A) normal transthyretin, (B) transthyretin Met 30 of patient 1, and (C) transthyretin Ile 50 of patient 2. Peptides were applied to reverse-phase HPLC on a TSK ODS SIL 120 Å column (4.6×150 mm) and eluted with a linear gradient of acetonitrile (0–60%) in 0.1 % trifluoroacetic acid for 60 min at rate of 1.0 ml/min. Peptide T4* (position 16–35 with Met 30) in B was eluted later than normal peptide T4 and peptide T6* (position 49–70 with Ile 50) in C was eluted later than normal peptide T6.

の心アミロイドーシス

患者は72歳、男性で家族歴なし。70歳時に労作時狭心痛で発症。心電図で虚血性変化を認めた。経胸壁心エコー図上、左室壁肥厚や壁内の顆粒状輝度増強は認めなかったが、僧帽弁と三尖弁の肥厚ならびに左房機能低下を伴う中等度の左房拡大を認めた。経食道心エコー図にて心房中隔の肥厚と運動低下および左心耳血流速度の低下を認めた。心臓カテーテル検査では拘束型血行動態を示した。直腸生検でアミロイド沈着を認めた。腎不全のため患者は72歳で死亡した。剖検心臓に高度のアミロイド沈着 (Smith grade 3) を認め、トランスサイレチン遺伝子の塩基配列により、transthyretin Met 30を同定した。

症例 3：transthyretin Ile 50によるアミロイド心筋症

患者は70歳、男性で家族歴なし。67歳時に拡張型心筋症で発症。心臓生検にてアミロイドを認めた。末梢神経症状はなく、70歳時に突然死した。剖検は行われなかつ

Fig. 4 (A): DNA sequencing data for the transthyretin Ile 50 of patient 3. A single base change (G→T) was present at codon 50 base 2 in the mutated transthyretin gene. ---: G, ---: T, ----: A, and —: C. (B) Diagram of the PCR-RFLP for transthyretin Ile 50. The sense primer has two base substitutions; A→T at position 3,826 and C→G at position 3,827 (small arrows). The mutant transthyretin gene with the G→T transversion at position 3,830 (*) creates a new restriction site for *Nsi* I, yielding two fragments of 155 and 25 bp on *Nsi* I digestion. (C) Analysis patterns of transthyretin exon 3 digested with *Nsi* I. The patient and his son gave two abnormal bands of 155 and 25 bp in addition to the normal 180 bp band, whereas the control subject gave only the normal band. No 25 bp band is visible in this photograph.

た。心臓生検試料のパラフィン包埋組織から DNA を抽出し、PCR を行った。トランスサイレチン遺伝子の各エキソンの塩基配列を決定し、transthyretin Ile 50 を同定した (Fig. 4A)。ミスマッチプライマーと制限酵素 *Nsi* I を用いて家系内検索を行った結果、健常な 38 歳の子供に同じ遺伝子変異を認めた (Fig. 4B, C)。生検組織からアミロイド蛋白を精製し、ペプチドマッピングを基に一次構造解析を行い、蛋白レベルでも Ile 50 を同定した (Fig. 3C)。

2. アミロイドポリニューロパチー

今回検索した 65 歳以上のアミロイドポリニューロパチーのうち、免疫染色の結果 15 例がトランスサイレチン型で、5 例が免疫グロブリン型の原発性アミロイドーシスであった。生検または剖検のパラフィン組織からトランスサイレチン型遺伝性アミロイドポリニューロパチーの prototype である 12 例の Val³⁰→Met に加え、2 例の Ser⁵⁰→Ile と 1 例の Ala¹⁰⁹→Ser のアミノ酸置換を持つ変異トランスサイレチンを同定した。以下に代表的な症例を示す。

症例 4: 高齢発症で球麻痺を呈した FAP transthyretin Met 30

患者は 72 歳、男性で家族歴はなし。62 歳時に両足の感覚・運動障害で発症し、70 歳時には両手の感覚障害と脱力が出現した。71 歳時に構音障害、嚥下障害、舌萎縮、四肢の筋線維束攣縮および 2 年間で 8kg の体重減少を認めたが、自律神経症状はなかった。腓腹神経生検で有髄神経線維は著減していたが、アミロイドは認めず、筋萎縮性側索硬化症と原因不明の末梢神経障害と診断された。腎不全のため 72 歳で死亡した。剖検時に末梢神経と舌下神経を初め、全身臓器にアミロイド沈着を認めた。正中神経のパラフィン包埋組織から DNA 200ng を抽出した。トランスサイレチン遺伝子の塩基配列解析により transthyretin Met 30 を同定した。

症例 5: 末梢神経障害と心症状を呈した FAP transthyretin Ile 50

患者は 67 歳、男性で家族歴なし。57 歳時に頻回の嘔吐と体重減少で発症。61 歳時には排尿困難 (無緊張性膀胱) と四肢の脱力としびれ感が出現した。67 歳時心不全にて死亡。検査上、心電図での非特異的心室内伝導異常と心エコーでの心室中隔肥厚 (2.2cm) ならびに顆粒状輝度増強を認めた。上下肢の感覚神経活動電位と下肢の運動神経活動電位は低下していた。剖検所見で鎖骨下神経、前脛骨神経、心筋にアミロイド沈着を認めた。前脛骨神経のパラフィン包埋組織から DNA を抽出した。トランスサイレチン遺伝子の各エキソンの塩基配列を決定し、transthyretin Ile 50 を同定した。

症例 6: 巧緻運動障害で発症した transthyretin Ser 109 型

75 歳女性で家族歴なし。69 歳時に書字や手先の巧緻運動障害で発症し、70 歳時より両下肢遠位部の感覚障害が出現し、除々に膝まで上行した。75 歳時には、両上下肢の筋力低下が出現し、5 年間で 10kg の体重減少を認めた。末梢神経の伝導速度検査では、上下肢の感覚神経は誘発されず、運動神経活動電位の著明な低下を認めた。腓腹神経生検で有髄線維の減少とアミロイド沈着を認め

Ala 108 Ser 109 Leu 110
G C C T C C C T G

Fig. 5 DNA sequencing data for the transthyretin Ser 109 of patient 6. A single base change (G→T) was present at codon 109 base 1 in the mutated transthyretin gene. --- : G, --- : T, ---- : A, and — : C.

た。腓腹神経のパラフィン包埋組織から抽出した DNA の塩基配列解析の結果、トランスサイレチンのコドン 109 のアラニンがセリンに置換していた (Fig. 5)。

考 察

心アミロイドーシスは、アミロイドーシス患者の生命予後を決定する重要な病態であり、またしばしば突然死の原因となり得る。例えば原発性アミロイドーシスの初発症状が末梢神経障害の例では、平均生存期間が50カ月であるのに対して、心アミロイドーシスが初発症状となった例では、平均4カ月である⁷⁾。心アミロイドーシスは原因蛋白により、原発性 (免疫グロブリン)、反応性 (アミロイド A 蛋白)、家族性アミロイド心筋症 (変異トランスサイレチン)、老人性全身性 (正常トランスサイレチン) と心房限局性 (心房性ナトリウム利尿ペプチド) に分類される。このうち老化と密接に関連しているのは老人性全身性アミロイドーシスであり、生前にアミロイドーシスの症状がなかった高齢者の剖検時に、心臓を含め全身の大血管にアミロイド沈着がみられる病態である⁸⁾。80歳以上の剖検例の報告では、25%の患者に正常トランスサイレチンよりなる心アミロイドを認めている⁹⁾。

本研究では、高齢発症の心アミロイドーシス患者の中に、トランスサイレチン遺伝子変異に起因する例があることを見出した。さらに剖検心組織から抽出した DNA を用い、生前にアミロイドーシスの診断がついていなかった3例からも、ミスセンス変異の同定に成功した。長期間ホルマリン固定された組織試料では、DNA の断片化がおこるためにエキソン全体を1セットのプライマーだけで増幅することが困難なことにしばしば遭遇する。このような場合、1回目の PCR 産物の内側にプ

ライマーを設計して再度 PCR (nested PCR) を行う必要がある。トランスサイレチン遺伝子のエキソン 2 の PCR 産物は362 bp と大きいため、nested PCR を行った。本研究ではさらに、凍結保存されていた組織からアミロイド線維蛋白を精製し、異常トランスサイレチンがアミロイドとして沈着していることを蛋白レベルでも証明した。

本論文で提示した3例を含め、高齢発症の変異トランスサイレチン型心アミロイドーシスの臨床的特徴は心不全、不整脈、起立性低血圧、心筋虚血発作で、末梢神経障害は軽微か全くなかった。本疾患は常染色体優性遺伝であるにも拘わらず、今回のいずれの症例でも遺伝歴が明らかでなかった事実は、遺伝的浸透率が100%でないことや、遺伝性アミロイドーシスでは家族内でしばしば世代を経るごとに発症年齢が若くなる表現促進現象 (genetic anticipation) がみられる¹⁰⁾ことから、本論文で報告した患者でも上の世代では、さらに高齢で発症していた可能性、あるいは両親やその同胞がすでに死亡しているために検索できなかったことに関連している可能性がある。

心アミロイドーシスは、心エコーや心筋シンチにより臨床診断が容易になってきたが、病理検査によるアミロイド沈着の証明が確定診断となる。今回の症例1では、心臓と腎臓の検査所見からアミロイドを疑い、心筋と胃の生検を行ったがアミロイドが検出されず、半年後の剖検時に全身臓器への著明なアミロイド沈着を認めた。アミロイドに対して巨細胞を主体とする細胞反応を認めたことから、死亡までの半年間に急速にアミロイド沈着がおこった可能性も考えられる。心エコー図上、左室壁厚や肥厚心筋内の顆粒状輝度増強は、心アミロイドーシスに特徴的な所見である¹¹⁾。症例2では、この特徴的な所見を認めなかったが、弁膜や心房筋へのアミロイド沈着もまれに報告されており¹²⁾、房室弁の肥厚と左房機能の低下を認めたことが、診断の契機となった。この症例における狭心症の原因として、心筋内血管へのアミロイド沈着による冠微小循環障害が考えられた。

transthyretin Ile 50に起因する遺伝性アミロイドーシスは、本邦では Met 30に次いで患者数が多く、西日本を主に数十名の報告がある。このタイプはアミロイド心筋症だけを示す例と末梢神経障害を合併する例が報告されている¹³⁾¹⁴⁾。本論文でも症例3のように心筋症だけを呈した例と、症例5のように末梢神経障害と心不全の両者を呈する例がある。トランスサイレチンの他のアミノ酸置換でも異なる臨床像、例えば角膜混濁や脳血管障害を示すことがあり、遺伝子異常と表現型の関係は複雑で

ある。

自律, 感覚, 運動の末梢神経障害は遺伝性アミロイドーシスの中核症状であるが, 症例4のように1回の末梢神経の生検だけではアミロイドが検出されず, さらに脳神経障害を呈するとアミロイドポリニューロパチーの臨床診断が困難となる。症例6はSer 109型として世界で初めて見いだされた例で, 家族歴がなく, 両手の巧緻運動障害で発症した。末梢神経障害は, 高齢発症でよくみられる所見の1つであり, しばしばその成因を特定することが困難なことがある。しかし本症例では, 末梢神経のパラフィン包埋切片1枚からDNAを抽出し, トランスサイレチンの遺伝子変異を同定できた。

高齢発症で家族歴のない原因不明の心臓や末梢神経のアミロイド沈着には, トランスサイレチンの分子異常が原因となる例があることを報告した。剖検により初めて, トランスサイレチン型アミロイドが証明された例でも, DNAの抽出とPCRを工夫することにより, 遺伝子変異を同定することが可能である。

文 献

- 1) Benson MD: Amyloidosis, In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, and Valle D (eds), McGraw-Hill, New York, 1995, p4159—4191.
- 2) 中里雅光: 家族性アミロイドポリニューロパチーの臨床像と分子異常。神経内科 1998; 48: 528—534.
- 3) Nakazato M, Shiomi K, Miyazato M, Matsukura S: Type I familial amyloidotic polyneuropathy in Japan. Int Med 1992; 31: 1335—1338.
- 4) Shiomi K, Nakazato M, Matsukura S, Ohnishi A, Hatanaka H, Tsuji S, et al.: A basic transthyretin variant (Glu61→Lys) causes familial amyloidotic polyneuropathy: protein and DNA sequencing and PCR-induced mutation restriction analysis. Biochem Biophys Res Commun 1993; 194: 1090—1096.
- 5) Nakazato M, Tanaka M, Matsukura S, Kangawa K, Matsuo H: Quantitative analysis of amyloid fibril protein in systemic organs of patients with familial amyloidotic polyneuropathy. J Neurol Sci 1989; 89: 235—242.
- 6) Smith TJ, Kyle RA, Lie JT: Clinical significance of histopathologic patterns of cardiac amyloidosis. Mayo Clin Proc 1984; 59: 547—555.
- 7) 磯部 敬: 心アミロイドーシス。アミロイドーシス, 1997, 医学書院, 東京, p121—125.
- 8) Benson MD: Aging, amyloid, and cardiomyopathy. N Engl J Med 1997; 336: 502—504.
- 9) Cornwell GG III, Murdoch WL, Kyle RA, Westermark P, Pitkanen P: Frequency and distribution of senile cardiovascular amyloid. A clinicopathologic correlation. Am J Med 1983; 75: 618—623.
- 10) Yamamoto K, Ikeda S, Hanyu N, Takeda S, Yanagisawa N: A pedigree analysis with minimised ascertainment bias shows anticipation in Met30-transthyretin related familial amyloid polyneuropathy. J Med Genet 1998; 35: 23—30.
- 11) Falk RH, Plehn JF, Deering T, Schick EC Jr, Boinay P, Rubinow A, et al.: Sensitivity and specificity of the echocardiographic features of cardiac amyloidosis. Am J Cardiol 1987; 59: 418—422.
- 12) Roberts WC, Waller BF: Cardiac amyloidosis causing cardiac dysfunction: analysis of 54 necropsy patients. Am J Cardiol 1983; 52: 137—146.
- 13) Saeki Y, Ueno S, Takahashi N, Soga F, Yanagihara T: A novel mutant (transthyretin Ile-50) related to amyloid polyneuropathy. Single-strand conformation polymorphism as a new genetic marker. FEBS Lett 1992; 308: 35—37.
- 14) Nishi H, Kimura A, Harada H, Hayashi Y, Nakamura M, Sasazuki T: Novel variant transthyretin gene (Ser50 to Ile) in familial cardiac amyloidosis. Biochem Biophys Res Commun 1992; 187: 460—466.

Abstract

Aged Onset of Amyloidosis Caused by Transthyretin Gene Mutations

Masamitsu Nakazato and Shigeru Matsukura

We have identified that familial amyloid polyneuropathy with middle age onset results from missense mutations of the transthyretin gene. In the present study, we investigated molecular abnormalities of transthyretin in elderly patients with cardiac amyloidosis or amyloid polyneuropathy, using DNA sequencing and protein sequencing. We detected 5 cases of transthyretin-related cardiac amyloidosis using immunohistochemical techniques. All of them had late-onset, mild or no peripheral neuropathy or autonomic dysfunctions, and no family history. Three had transthyretin Met30 and two transthyretin Ile50. We also found 15 patients with transthyretin-related amyloid polyneuropathy. All of them had late-onset and no contributory family history. Twelve had transthyretin Met30, two transthyretin Ile50, and one transthyretin Ser109. Clinical manifestations and sequencing procedures of six representative patients were also presented. Molecular investigation of transthyretin is needed for elderly patients with etiology-unknown cardiac amyloidosis or amyloid polyneuropathy even if there is no family history of amyloidosis.

Key words: Amyloidosis, Aging, Transthyretin, Missense mutation, DNA sequencing (Jpn J Geriatr 2001; 38: 501—506)