

## 質量解析によるトランスサイレチン型心アミロイドーシスの病態解明と革新的診断法開発

相澤健一

自治医科大学附属病院臨床研究センター TR 研究推進部

### 【研究の背景】

トランスサイレチン型心アミロイドーシス(ATTR-CM)は近年、高齢者の心不全における重要な背景疾患として認識されつつある。特にトランスサイレチン四量体の安定化薬タファミジスが臨床応用され、予後改善効果が示されたことを契機として、確定診断の重要性は急速に高まっている。しかし、現行の確定診断として広く用いられている LDMS(レーザーマイクロダイセクションと質量分析の組合せ)は、高い特異性を有する一方で、イオントラップ型質量分析装置の感度限界や高い技術要求、測定スルーブットの低さが大きな課題であった。また、診断に求められる心筋生検は侵襲性が高く、高齢患者や合併症を有する症例では適応が制限される。加えて本邦においては、ATTR-CM の疾病概念自体が広く浸透しておらず、潜在患者の診断遅延が臨床的問題となっている。低侵襲かつ高精度な診断技術の確立は、医療的・社会的に喫緊の課題であり、本研究はその解決を目的として計画した。

### 【目 的】

三連四重極型質量分析計(LC-TQ-MS/MS)を用いて、心アミロイドーシスの主要病因蛋白であるトランスサイレチン(TTR)および免疫グロブリン軽鎖( $\kappa \cdot \lambda$ )を高感度かつ高スルーブットで定量可能な分析系を構築し、心筋生検に依存しない確定診断を可能とすることを目的とした。腹壁皮下脂肪、胃・十二指腸生検などの低侵襲検体を用いて診断精度向上を図り、さらに蛋白質の質的・量的情報を統合することで、凝集メカニズム解明および早期診断マーカー探索、予後予測モデル構築への発展を目指した。

### 【方 法】

心筋および皮下脂肪組織、生検検体からアミロイド沈着部位をレーザーマイクロダイセクションで抽出し、酵素消化後に LC-TQ-MS/MS で解析した。トランスサイレチン(TTR)および免疫グロブリン軽鎖( $\kappa \cdot \lambda$ )に由来する標的ペプチドを選定し、多検体処理に適するMRM測定条件を最適化した。内部標準ペプチドの導入および前処理条件の調整により定量精度を確保し、臨床検体における再現性検証を実施した。また、鑑別を要する他疾患検体も用いた比較解析を行い、アミロイドーシス特異的パターンの抽出を試みた。

### 【結 果】

三連四重極型質量分析計を用いた分析系の開発により、トランスサイレチン(TTR)および免疫グロブリン軽鎖( $\kappa \cdot \lambda$ )に対応する標的ペプチドを同定し、定量解析に必要なMRMトランジションを確立した。また、内部標準として乳由来 $\beta$ -カゼインペプチドを導入することで測定再現性を確保し、分析条件(クロマトグラフィー分離条件および質量分析装置設定)の最適化に成功した。さらに、検出下限は数 ng/mL~数十 ng/mL の範囲と推定され、特に低濃度領域における吸着の影響が課題として抽出された。今後は、生体マトリクスを考慮した検出下限の精密評価および標準品添加検体を用いた検証を進める予定である。

## 【考 察】

本研究により確立した LC-TQ-MS/MS 解析手法は、従来の LDMS 法が有する感度・スループットの制約を克服し、臨床診断技術としての実装可能性を示すものである。特に、腹壁皮下脂肪等の低侵襲検体における診断適用性の確認は、心筋生検が困難な高齢患者における診断遅延を改善する点で臨床的意義が大きい。また、アミロイド沈着量の定量化と臨床予後の関連性は、病態ステージ分類や治療介入適正化に寄与する可能性を示し、さらに質量分析による蛋白構造・凝集動態解析は治療標的探索にも発展可能である。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究で構築した診断法は、LDMS 法の課題を解決し、診断精度の向上と診断遅延の解消を通じて臨床成果向上に寄与する。低侵襲検査により心筋生検の回避が可能となれば、患者負担軽減と診断普及の両面で大きな利点を有する。また、症例ごとのデータ統合解析により治療戦略の個別化・最適化が可能となり、タファミジスの適正投与に貢献する点で医療経済的効果も大きい。今後、多施設共同研究による標準化および国際展開を踏まえ、心アミロイドーシス診断体系の変革に資する基盤技術となることが期待される。

## 【参考・引用文献】

- ・ 日本循環器学会, 他: 2020 年版 心アミロイドーシス診療ガイドライン. 2020. [https://www.j-circ.or.jp/cms/wp-content/uploads/2020/04/JCS2020\\_Kitaoka.pdf](https://www.j-circ.or.jp/cms/wp-content/uploads/2020/04/JCS2020_Kitaoka.pdf)
- ・ Musetti V, Greco F, Castiglione V, et al. Tissue Characterization in Cardiac Amyloidosis. *Biomedicines*. 2022;10(12):3054. doi:10.3390/biomedicines10123054
- ・ Conti M, Poppi I, Cavedagna TM, et al. A targeted proteomics approach to amyloidosis typing. *Clin Mass Spectrom*. 2018;7(September 2017):18-28. doi:10.1016/j.clinms.2018.02.001