

ミロイド線維の形成過程における作用機序について検討してみたい。

文 献

- 1) Uchino F. Pathological study on amyloidosis. Role of reticuloendothelial cells in inducing amyloidosis. *Acta Pathol Jpn* 1967;17:49-82.
- 2) Shirahama T, Cohen AS. Intralysosomal formation of amyloid fibrils. *Am J Pathol* 1975;81:101-116.
- 3) Uchino F, Takahashi M, Yokota T, Ishihara T. Experimental amyloidosis: Role of the hepatocytes and Kupffer cells in amyloid formation. *Appl Pathol* 1985;3:78-87.
- 4) Benditt EP, Eriksen N, Hermodson MA, Ericsson LH. The major proteases of human and monkey amyloid substance: Common properties including unusual N-Terminal amino sequences. *FEBS Lett* 1971;19:169-173.
- 5) Takahashi M, Yokota T, Yamashita Y, Ishihara T, Uchino F. Ultrastructural evidence for the synthesis of serum amyloid A protein by murine hepatocytes. *Lab Invest* 1985;52:220-223.
- 6) Takahashi M, Yokota T, Kawano H, Gondo T, Ishihara T, Uchino F. Ultrastructural evidence for intracellular formation of amyloid fibrils in macrophages. *Virchows Arch A* 1989;415:411-419.
- 7) Ishihara T, Uchino F. Pathological study on amyloidosis. Amyloid formation and resorption in Kupffer cell. *Recent Adv in RES* 1975;15:145-171
- 8) Lavie G, Zucker-Franklin D, Franklin EC. Elastase-type protease on the surface of human blood monocytes: Possible role in amyloid formation. *J Immunol* 1980;125:175-180.
- 9) Chronopoulos S, Laird DW, Ali-Khan Z. Immunolocalization of serum amyloid A and AA amyloid in lysosomes in murine monocytoid cells: Confocal and Immunogold electron microscopic studies. *J Pathol* 1994;173:361-369.
- 10) van der Westhuyzen DR, Coetzee GA, de Beer FC. Serum amyloid A protein in plasma: characteristics of acute phase HDL. In: *Amyloidosis*, Marrink J, van Rijswijk MH (eds) Dordrecht, Martinus Nijhoff, 1986;115-125.
- 11) Gallo G, Wisniewski T, Choi-Miura N-H, Ghiso J, Fragione B. Potential role of apolipoprotein-E in fibrillogenesis. *Am J Pathol* 1994;145:526-530.

Amyloidogenesis in experimental AA amyloidosis

by

Mutsuo Takahashi

from

Department of Surgical Pathology, Yamaguchi University Hospital

The mechanism of amyloid fibril formation from serum amyloid protein A (SAA) is not fully resolved in spite of recent advance in amyloid research. I investigated the site of SAA production and the mechanism of fibrillogenesis in experimental murine amyloidosis using the method of immunoelectron microscopy with an anti-mouse AA antibody. Twenty-four hours after amyloid induction SAA was detected in the cytoplasmic organelles, such as Golgi apparatus, rER, and secretory granules in hepatocytes. SAA was also seen on the invagination of cytoplasmic membrane and heterophagosomes in Kupffer cells but not in organelles concerning with protein synthesis. In the spleen two days after amyloid induction a small amount of amyloid fibrils labeled with gold particles was detected in the extracellular space not only in the marginal zone but also within the white pulp. Some macrophages contained amyloid fibrils in lysosomal dense bodies where extracellular amyloid fibrils were not detected. These dense bodies were regular in shape comparing to those in the stage of amyloid resorption. Moreover, in the organelles at the resorption stage, other phagocytosed material such as lipid vacuoles and flocculent or membranous structures were intermingled with amyloid fibrils.

These findings support the concept that some amyloid fibrils are polymerized in the cytoplasm of the macrophages probably by the proteolytic cleavage of pinocytosed SAA. Further studies are necessary in order to clarify the factor(s) contributing to the cleavage of SAA into amyloid fibrils.

ALアミロイド蛋白の分子生物学的解析

研究者 瀬戸口 美保子* 河野 裕 夫** 石原 得 博**

研究要旨

ALアミロイドーシスでの、前駆体蛋白質を産生する形質細胞を、免疫組織化学的手法と分子遺伝学的手法により検討した。また、免疫グロブリン軽鎖のアミノ酸配列の同定を試みた。

全身性ALアミロイドーシスでは、検討した12例中8例で、抗 κ あるいは抗 λ 抗体の一方で優位性が見られた。分子遺伝学的には、用いた骨髓標本が不相当であった。限局性ALアミロイドーシスでは、リンパ球や形質細胞は、アミロイドや血管の周囲に集簇して浸潤し、抗 κ 、抗 λ 抗体で優位な染色性の差は16例中6例で見られた。分子遺伝学的には、IgH遺伝子を増幅するPCR法で、モノクローナリティーが検出されたものは9例であった。少なくともどちらか一方の方法により、16例中13例で局所の形質細胞のモノクローナリティーを証明できた。

喉頭限局性のAL λ アミロイドーシスで、 λ I遺伝子を増幅するPCRを行い、その塩基配列からアミノ酸配列が決定できた。

目 的

ALアミロイドーシスでは、前駆体蛋白質である免疫グロブリンを産生するモノクローナルな形質細胞が存在することが、前提として考えられる。この形質細胞を検出し、その産生している免疫グロブリン遺伝子を取り出すことで、アミロイドの

前駆体蛋白の一次構造を検討することが可能である。また、この遺伝子を用いて、大腸菌や哺乳細胞を用いた系で組み換え蛋白質を合成し、*in vitro*ないし*in vivo*でアミロイド線維の形成実験を行うことは、ALアミロイドーシスの発生病理を検討するよいモデルとなると考えられる。

今回、この方針に基づき、まずALアミロイドーシスの組織におけるモノクローナルな形質細胞の存在を、抗 κ 、抗 λ 抗体を用いた免疫組織化学的手段と、再構成した免疫グロブリン重鎖遺伝子を増幅するPCR法を用い分子遺伝学的手段により検討した。また、組織上に、アミロイド原性免疫グロブリン軽鎖を産生する形質細胞の存在が確認された検体を用い、軽鎖遺伝子のV領域を増幅するPCRを行い、この蛋白のアミノ酸配列を同定した。

方法と結果

1. ALアミロイドーシスにおけるクローナルな形質細胞の検出

全身性ALアミロイドーシスとしては、原発性アミロイドーシスの剖検症例12例の骨髓を用いた。限局性ALアミロイドーシスでは、生検で局所に形質細胞の浸潤が見られた16例（皮膚7例、呼吸器5例、膀胱1例、眼瞼1例、舌1例、唾液腺1例）を用いた。いずれも、ホルマリン固定後パラフィンに包埋されたものであった。免疫組織学的には、抗アミロイド λ 、抗アミロイド κ 抗体を用いて、沈着しているアミロイドが免疫グロブリン軽鎖のどちらによるものかを確認した。また抗 λ 鎖、抗 κ 鎖抗体を用いて、標本中に存在する形質細胞の

* 山口大学医学部附属病院病理部

** 山口大学医学部病理学第一講座

Table 1 Summary of the localized AL amyloidosis cases in this study

Patient	Age	Gender	Tissue	IHC results of amyloid	IHC results of plasma cells	IgH gene rearrangement
1	62	F	skin	A λ	λ	monoclonal
2	47	F	skin	A λ	λ	no product
3	44	F	skin	A λ	λ	monoclonal
4	39	M	skin	A κ	WNR	polyclonal
5	79	F	skin	A κ	WNR	no product
6	59	M	skin	A κ	WNR	monoclonal
7	52	F	lung	A λ	λ	no product
8	43	M	lung	A λ	inconclusive	monoclonal
9	52	F	lung	A λ	inconclusive	monoclonal
10	63	M	lung	A λ	λ	monoclonal
11	65	F	larynx	A λ	λ	no product
12	63	M	larynx	A λ	inconclusive	monoclonal
13	56	F	urinary bladder	A λ	inconclusive	monoclonal
14	72	F	tongue	A λ	inconclusive	monoclonal
15	73	F	salivary gland	A λ	inconclusive	polyclonal
16	59	M	conjunctiva	A κ	inconclusive	monoclonal

IHC: immunohistochemistry; WNR: within normal range

クローナリティーを検討した。通常の形質細胞では κ : λ の産生比率は約2:1で κ 鎖を産生するものが多く見られることから、 κ : λ が1:1~4:1の範囲を逸脱している場合、どちらかに優位と見て、クローナルな形質細胞が存在すると判定した。分子生物学的には、パラフィン包埋後、薄切された標本からDNAを抽出し、免疫グロブリン重鎖の再構成が起こった後のCDR領域を増幅するため、5' primerとしてFR3A, 3' primerとしてLJH, VLJHを用いたsemi-nested PCR法を行った。電気泳動を行い、期待される範囲に明瞭なバンドが認められるものに、モノクローナルな形質細胞が存在すると考えた。

全身性のALアミロイドーシスでは、骨髄は過形成の傾向にあり、形質細胞の占める割合は5~15%と正常に比べて増加していた。抗 κ あるいは抗 λ 抗体の一方で明らかに優位な染色態度を呈するのは8例あった。分子遺伝子学的には、用いた骨髄標本が脱灰等の操作のためDNAに強い変性断片化が加わっているものと考えられ、PCRには不適當であった。

限局性ALアミロイドーシスでは、リンパ球や形質細胞は、アミロイドや血管の周囲に集簇して浸潤する傾向が見られた。抗 κ 、抗 λ で優位な染色性の差が見られたものは16例中6例あり、差がなかったものが3例、判定の困難なものが7例であった。分子遺伝子学的には、16例中12例でPCR産物が検出され、モノクローナリティーが検出されたものは9例、ポリクローナルなものは3例であった。16例中13例で少なくともどちらかの方法によって局所の形質細胞のモノクローナリティーを証明できた(表1)。

2. アミロイド原性免疫グロブリン軽鎖の同定

λ 鎖はサブグループごとに変異が大きいため、遺伝子をPCRにより増幅するには、各サブグループごとのprimerが必要となる。このため、これまでに報告されている様々な λ 鎖のアミノ酸配列をまず比較し、各サブグループに特徴的なアミノ酸配列を見出し、その部分に対応する遺伝子の塩基配列から、サブグループ内でよく保存されている20塩基のoligonucleotideを合成しprimerとした。

5'primerとしては λ I, λ II, λ III, λ IV, λ Vの各々のV領域から1種類ずつ, 3'primerとしてはJ領域から各グループ共に共通するものを2種類, C領域から1種類作成し, 正常リンパ節をコントロールとしてPCR反応条件を決めた。

免疫組織学的に λ タイプの限局性ALアミロイドーシスで, モノクローナルな形質細胞の存在が確認されている喉頭の新鮮材料からDNAを抽出し, 免疫グロブリン λ 鎖のV領域を増幅するprimerによりPCRを行った。この症例では λ Iを増幅するPCRによりモノクローナルバンドが検出された。このDNA断片をプラスミドpCR2.1にサブクローニングし, その中の5つのクローンについて塩基配列を決定した。このうち3つが同じ塩基配列を示し, この症例でのモノクローナルな免疫グロブリンのものと考えられた。これをアミノ酸配列に翻訳し蛋白の一次構造を決定し, λ Iサブグループに属する蛋白であることを確認した。

今後の予定

限局性, 全身性を問わず, 新鮮材料が得られれば, 今回と同様にしてアミロイド前駆体蛋白のアミノ酸配列の決定ができると期待できる。症例を多くすることにより, アミロイド原性の免疫グロブリン軽鎖の一次構造の特徴を検討することが期待できる。またgenomic DNAだけでなくmRNAを抽出し, RT-PCRにより目的のcDNAを得, プラスミドやフェージベクターに組み込み, 大腸菌や哺乳動物の系で組み換え蛋白を作成し, *in vitro*での線維形成の実験を行いたい。さらに, この組み換え蛋白質をマウス等に投与する事で, *in vivo*でのアミロイド形成の実験にも応用が可能と考える。

Molecular biological analysis of AL amyloid proteins

by

Mihoko SETOYUCHI*

Hiroo KAWANO**, Tokuhiko ISHIHARA**

from

*Department of Surgical Pathology, Yamaguchi University Hospital

**First Department of Pathology, Yamaguchi University School of Medicine

In AL amyloidosis, immunoglobulin light chains (IgLs) are the precursors of amyloid fibrils. AL amyloidosis is considered part of the pathophysiologic spectrum of plasma cell dyscrasia, and monoclonal plasma cells are thought to produce amyloidogenic IgL in patients with this condition.

Both immunohistochemistry and molecular genetics are useful for examining plasma cell clonality from paraffin-embedded tissue sections, which are easy to obtain. We evaluated plasma cell clonality in 12 autopsy cases of primary systemic AL amyloidosis and 16 biopsy cases of localized AL amyloidosis using these two methods. In systemic AL amyloidosis clonal excesses of bone marrow plasma cells were detected in 8 (66.6%) cases by immunohistochemically. In localized AL amyloidosis clonal excess of plasma cells was detected in 6 (37.5%) cases immunohistochemically, in 10 (62.5%) cases molecularly, and in 13 (81.3%) cases by at least one of the two methods.

To investigate primary structure of amyloidogenic immunoglobulin light chain protein, we extracted DNA from fresh tissue of laryngeal localized AL amyloidosis and amplified the lambda light chain gene. The PCR products were subcloned in the plasmid and then sequenced. The deduced amino acid sequence was identical to λ I subgroup.

限局性ALアミロイドーシス症例の形質細胞初代培養の試み

研究者 星 井 嘉 信* 上 田 順 子** 瀬戸口 美保子***
河 野 裕 夫* 崔 丹* 岩 田 隆 子**
増 満 洋 一**** 石 原 得 博*

研究要旨

アミロイドーシスの発生病理については未だ不明な点が多く、特にALアミロイドーシスについては汎用性のある実験モデルが確立されていない状況である。本研究では、細胞培養系を用いたALアミロイドーシス実験モデルの確立の第一歩として、限局性ALアミロイドーシス症例の形質細胞の初代培養を試みた。形質細胞と思われる浮遊系細胞は81日間培養可能であった。カルチャープレート底部では線維芽細胞も増殖していた。培養でえられた細胞のcell blockを作製したところ、線維芽細胞様の細胞集塊の中に小結節状にアミロイドが散見された。培養環境中でのアミロイド沈着を伴う細胞集塊の形成は、アミロイドが組織に沈着する機構を解明するにあたり有用な所見であると考えられる。

目 的

厚生省特定疾患に指定されているアミロイドーシスの発生病理については未だ不明な点が多い。特に免疫グロブリンL鎖由来のALアミロイドーシスについては汎用性のある実験モデルが確立されておらず、発生病理や治療法の解明が進んでいない状況である。本研究では、細胞培養系を用いたALアミロイドーシス実験モデルの確立の第一歩として、限局性ALアミロイドーシス症例の形質細胞

の初代培養を試みた。amyloidogenicな形質細胞が継続的に増殖し、免疫グロブリンを産生する培養系が確立されれば、今後SCIDマウスへの移植によりALアミロイドーシス動物モデルの確立も可能となるかもしれない。

材料および方法

22歳男性、咽頭、喉頭限局性A λ アミロイドーシス症例。摘出組織のホルマリン固定パラフィン切片を用いた免疫組織化学的検討では、アミロイド周囲に抗 λ 鎖抗体陽性の形質細胞の集簇がみられ、また摘出組織より抽出したDNAのPCR法による検討では免疫グロブリン重鎖遺伝子再構成にmonoclonalityが証明されている。

摘出組織の一部を数mm角に細切し、RPMI1640を基礎とした培地にて培養した。増殖した細胞についてPCR法により生検時の形質細胞と同じ位置に免疫グロブリン重鎖遺伝子再構成のバンドがみられるかどうかを確認した。またcell blockを作製しコンゴレッド染色および免疫組織化学的検討を行った。

結 果

経過中、浮遊系細胞の単細胞性あるいはsmall clusterでの増殖がみられた(図1)が、培養81日目で細胞の維持が困難となり培養を中止した。カルチャープレート底部では線維芽細胞も増殖していた。培養15日目の細胞より抽出したDNAのPCRでは免疫グロブリン重鎖遺伝子再構成のmonoclonalityを示すバンドが、弱いながら生検組

* 山口大学医学部病理学第一講座

** 山口大学医療技術短期大学部

*** 山口大学部附属病院病理部

**** 小郡第一総合病院耳鼻科

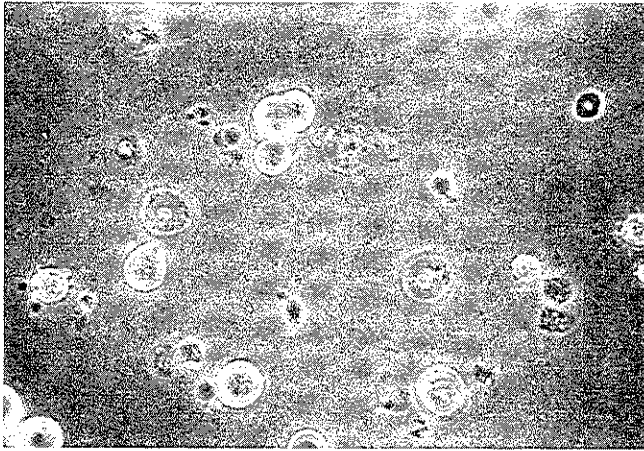


図1 培養4日目の細胞の倒立位相差顕微鏡像
浮遊系の細胞が単細胞性あるいはsmall clusterを形成して増殖している。

織から抽出したDNAとほぼ同じ位置に認められた。培養32日目の細胞よりcell blockを作製したところ、線維芽細胞様の細胞集塊（ビメンチン陽性、平滑筋アクチン一部陽性、Kp-1陰性、サイトケラチン陰性、 λ 鎖陰性）の中に小結節状にコンゴレッド陽性および λ 鎖陽性のアミロイド沈着が散見された（図2）。

考 察

限局性ALアミロイドーシスの際にアミロイド沈着物周囲に存在する形質細胞はmonoclonalityが証明されることが多く、アミロイドの前駆体となる免疫グロブリンを産生し、アミロイドの発生病理に深く関わっている可能性が示唆されている²⁾。そこで本研究では、細胞培養系を用いたALアミロイドーシス実験モデルの確立の第一歩として、限局性ALアミロイドーシス症例の形質細胞の初代培養を試みた。

今回の検討では形質細胞を長期間にわたって十分量増殖させることはできず、他の*in vitro*実験系^{3,4)}への移行までには至らなかったが、ある期間の初代培養は可能であることがわかった。今後は細胞間基質がコートされたカルチャープレートの使用や、初代培養早期にヘテロハイブリドーマを作製するなど、形質細胞が継続的に増殖するような条件を考える必要がある。

また今回の研究では、同時に増殖していた線維

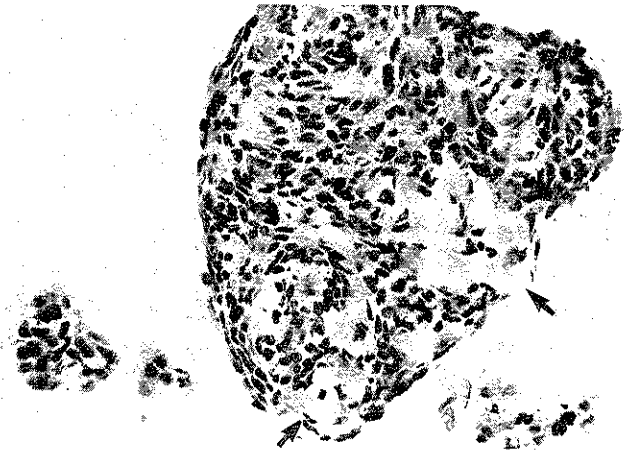


図2 培養32日目の細胞のcell block
線維芽細胞様の細胞の集塊中にコンゴレッド染色にて陽性のアミロイド沈着物（矢印）が小結節状に存在する。

芽細胞様の細胞集塊のなかに小結節状にアミロイド沈着がみられるという興味深い所見がえられた。培養開始時にはこのような細胞集塊は存在していなかった。アミロイドが培養中に新しく形成された可能性や、もともと組織に沈着していたアミロイドの一部が培養液中に溶けだし、小結節状に再度沈着した可能性などが考えられる。DurieらはIgG λ 型多発性骨髄腫に伴う全身性ALアミロイドーシス症例の骨髄細胞の培養により、骨髄腫細胞とマクロファージよりなる細胞集塊中にアミロイド形成がみられたことを報告している⁵⁾。このような培養環境中でのアミロイド沈着を伴う細胞集塊の形成は、アミロイドが組織に沈着する機構を解明する上で有用なモデルとなりうる所見であると考ええる。

文 献

- 1) 河野道生, 石川秀明, 藤井龍一ほか. ALアミロイドーシス発症に関する骨髄腫細胞の細胞生物学的研究2. SCID-hIL6 transgenic mouseへの骨髄腫細胞株の移植系の確立. 厚生省特定疾患代謝系疾患調査研究班アミロイドーシス分科会1998年度研究報告書 1999:77-79.
- 2) Setoguchi M, Hoshii Y, Kawano H, et al. Analysis of plasma cell clonality in localized AL amyloidosis. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 2000;7:(in press).

- 3) Tagouri YM, Sanders PW, Picken MM, et al. In vitro AL-amyloid formation by rat and human mesangial cells. *Lab Invest* 1996;74:290-302.
- 4) Isaac J, Kerby JD, Russell WJ, et al. In vitro modulation of AL-amyloid formation by human mesangial cells exposed to amyloidogenic light chains. *Amyloid: Int J Exp Clin Invest* 1998;5:238-246.
- 5) Durie BGM, Persky B, Soehnlen BJ, et al. Amyloid production in human myeloma stem-cell culture, with morphologic evidence of amyloid secretion by associated macrophages. *N Engl Med J* 1982;307:1689-1692.

An experiment of primary culture of the plasma cells obtained from
amyloid deposited tissues in a localized AL amyloidosis case

by

Yoshinobu HOSHII*

Junko UEDA**, Mihoko SETOGUCHI***, Hiroo KAWANO*, Dan CUI*,
Takako IWATA**, Yoichi MASUMITSU****, Tokuhiko ISHIHARA*

from

*First Department of Pathology, Yamaguchi University School of Medicine

**The School of Allied Health Science, Yamaguchi University

***Department of Surgical Pathology, Yamaguchi University Hospital

****Ogori Daiichi hospital

The pathogenesis of AL amyloidosis has been unclear in details and there are no conventional experimental model of AL amyloidosis. In this study, we tried primary culture of the plasma cells obtained from amyloid deposited tissues in a localized A λ amyloidosis case for establishment of the experimental model of AL amyloidosis. Floating cells suggested to be plasma cells were able to culture for 81 days and fibroblasts also proliferated on the floor of culture plates. In the sections from cell block, small nodular amyloid deposits reacted with anti- λ light chain antibody were scattered in the cluster of fibroblast-like cells. The formation of cell clusters accompanied with small nodular amyloid deposits in culture plates may be an useful model to elucidate the mechanism of amyloid deposition *in vivo*.

平成11年度

研究事業報告

厚生省特定疾患対策研究事業
アミロイドーシスモデル動物における発症機序の解明に関する研究

平成11年度厚生科学研究

アミロイドーシス・ミニシンポジウム

日 時：平成12年2月11日、13時～

場 所：山口大学医学部霜仁会館

参加者：主任研究者、分担研究者他、計35名

内 容：1. 挨拶

厚生省保健医療局エイズ疾病対策課 麦谷真里課長

2. 研究発表（内容は前掲）—主任研究者、分担研究者

3. その他

平成11年度

アミロイドーシスモデル動物における
発症機序の解明に関する研究

会員名簿

区分	氏名	所属	職名
主任研究者	石原得博	山口大学医学部病理学第一講座	教授
分担研究者	前田秀一郎	山梨医科大学医学部生化学第一講座	教授
	樋口京一	信州大学医学部附属加齢適応研究センター脈管病態分野	教授
	東海林幹夫	群馬大学医学部神経内科	講師
	横田忠明	小倉記念病院病理	部長
	高橋睦夫	山口大学医学部附属病院病理部	助教授
	瀬戸口美保子	山口大学医学部附属病院病理部	助手
	星井嘉信	山口大学医学部病理学第一講座	助手
(事務局) 経理事務連絡担当者	河野裕夫	山口大学医学部病理学第一講座 〒755-8505 宇部市南小串1丁目1-1 Tel (0836)22-2220 Fax (0836)22-2219 E-mail: patholl@po.cc.yamaguchi-u.ac.jp	講師

平成11年度

研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

【雑 誌】

著者名	論文題目	雑誌名	西暦年号;巻:頁.
Izumihara A, Ishihara T, Owamoto N, Yamashita K, Ito H.	Postoperative outcome of 37 patients with lobar intracerebral hemorrhage related to cerebral amyloidosis.	Stroke	1999;30(1):29-30.
Chiba T, Kogishi K, Higuchi K, et al.	Mouse senile amyloid deposition is suppressed by adenovirus-mediated overexpression of amyloid-resistant apolipoprotein A-II.	Am J Pathol	1999;155(4):1319-26.
Higuchi K, Hosokawa M, Takeda T.	The Senescence-Accelerated Mouse.	Methods Enzymol	1999;309:674-86.
Wang J, Matsushita T, Higuchi K, et al.	Wild Type ApoA-II Gene Does Not Rescue Senescence-Accelerated Mouse (SAMP1) from Short Life Span and Accelerated Mortality.	J Gerontol B Biol Sci	2000; (in press).
Xia C, Higuchi K, Shimizu M, et al.	Genetic typing of the senescence-accelerated mouse (SAM) strains with microsatellite markers.	Mamm Genome	1999;10(3):235-8.
Togashi S, Watanabe H, Maeda S, et al.	An aggressive familial amyloidotic polyneuropathy caused by a new variant transthyretin Lys 54.	Neurology	1999;53:637-639.
Kato G, Maeda S.	Neuron-specific Cdk5 kinase is responsible for mitosis-independent phosphorylation of c-Src at Ser75 in human Y79 retinoblastoma cells.	J Biochem	1999;126:957-961.
前田秀一郎、玉置寿男	家族性アミロイドポリニューロパチー発症の分子機構の解析	脳神経	2000;52(1):14-24.
Shoji M, Kawarabayashi T, Sato M, et al.	Age-related amyloid β protein accumulation induces cellular death and macrophage activation in transgenic mice.	J Pathol	(in Press).
Shoji M, Harigaya Y, Sasaki A, et al.	Accumulation of NACP/ α -synuclein in Lewy body disease and multiple system atrophy.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	(in Press).
Shoji M, Kawarabayashi T, Matsubara E, Ikeda M, Ishiguro K, Harigaya Y, Okamoto K.	The distribution of the amyloid β protein precursor in the Alzheimer's disease brain.	Psychiat Clin Neurosci	2000;54:45-54 .
Ikeda Y, Shizuka M, Watanabe M, Okamoto K, Shoji M.	Molecular and clinical analysis of spinocerebellar ataxia type 8 in Japan.	Neurology	2000;54:950-55.
Matsubara E, Ghiso J, Shoji M, et al.	Lipoprotein-free amyloidogenic peptides in plasma are elevated in patients with sporadic Alzheimer's disease and Down's syndrome.	Ann Neurol	1999;45:537-41.
Tomidokoro Y, Ishiguro K, Shoji M, et al.	Carboxyl-terminal fragments of presenilin-1 are closely related to cytoskeletal abnormalities in Alzheimer's brains.	Biochem Biophys Res Commun	1999;256:512-8.
Hu J, Miyatake F, Shoji M, et al.	Angiotensin-converting enzyme genotype is associated with Alzheimer disease in the Japanese population.	Neurosci Lett	1999;277:65-7

Lin C, Numakura C, Ikegami T, Shizuka M, Shoji M, Nicholson G, Hayasaka K.	Deletion and nonsense mutations of the connexin 32 gene associated with Charcot-Marie-Tooth disease.	Tohoku J Exp Med	1999;188:239-44.
Shizuka M, Ikeda Y, Watanabe M, Okamoto K, Shoji M, Ikegami T, Hayasaka K.	A novel mutation of the myelin P(o) gene segregating Charcot-Marie-Toothdisease type 1B manifesting as trigeminal nerve thickening.	J Neurol Neurosurg Psychiatry	1999;67:250-1.
Kanai M, Shizuka M, Urakami K, Matsubara E, Harigaya Y, Okamoto K, Shoji M.	Apolipoprotein E4 accelerates dementia and increases cerebrospinal fluid tau levels in Alzheimer's disease.	Neurosci Lett	1999;267:65-8.
Mizushima K, Watanabe M, Shoji M, et al.	Analysis of spinocerebellar ataxia type 2 gene and haplotype analysis: (CCG)1-2 polymorphism and contribution to founder effect.	J Med Genet	1999;36:112-4.
Urakami K, Mori M, Shoji M, et al.	A comparison of tau protein in cerebrospinal fluid between corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy.	Neurosci Lett	1999;259:127-9.
Shizuka M, Watanabe M, Ikeda Y, Mizushima K, Okamoto K, Shoji M.	Molecular analysis of a de novo mutation for spinocerebellar ataxia type 6 and (CAG)n repeat units in normal elder controls.	J Neurol Sci	1998;161:85-7.
Watanabe M, Sugai Y, Shoji M, et al.	Familial spinocerebellar ataxia with cerebellar atrophy, peripheral neuropathy, and elevated level of serum creatine kinase, gamma-globulin, and alpha-fetoprotein.	Ann Neurol	1998;44:265-9.
東海林幹夫	物忘れ	老年医学	1999;37:280-282.
金井光康、東海林幹夫	Alzheimer病を脳脊髄液で診断する	医学のあゆみ	1999;189:73-78.
東海林幹夫	アミロイドアンギオパチー	ドクターサロン	1999;43:353-356.
東海林幹夫	アルツハイマー病における脳脊髄液 Tau, A β 1-40, A β 1-42(43)の経時的変化：日本における大規模多施設追跡調査結果	Medical briefs in brain & nerve	1999;9(4):5.
Setoguchi M, Hoshii Y, Takahashi M, Tanaka T, Nishida T, Ishihara T.	Conjunctival AL amyloidosis associated with a low-grade B-cell lymphoma.	Amyloid Int J Exp Clin Invest	1999;6(3):210-4.
Setoguchi M, Hoshii Y, Kawano H, Ishihara T.	Analysis of plasma cell clonality in localized AL amyloidosis.	Amyloid Int J Exp Clin Invest	2000;7 (in press).
星井嘉信、村上喜信	I. 病理検査, C アミロイド染色, 10 コンゴウ赤染色	Medical Technology別冊、新染色法のすべて	1999;30-31.
星井嘉信、村上喜信	I. 病理検査, C アミロイド染色, 11 過マンガン酸カリ酸化法	Medical Technology別冊、新染色法のすべて	1999;31-32.
星井嘉信、山下勝	I. 病理検査, C アミロイド染色, 12 ダイレクト・ファースト・スカーレット染色	Medical Technology別冊、新染色法のすべて	1999;33.

星井嘉信	I. 病理検査, C アミロイド染色, 13 免疫染色	Medical Technology別 冊、新染色法の すべて	1999;34-36.
Higuchi K, Kogishi K, Hoshii Y, et al.	Fibrillization in mouse senile amyloidosis is fibril conformation dependent.	Amyloid and Amyloidosis 1998 (Parthenon Publishing)	1999;47-49.
Yokota T, Ishihara T, Hoshii Y, et al.	Is amyloid enhancing factor (AEF) activity present in granulocyte colony stimulating factor (G-CSF)?	Amyloid and Amyloidosis 1998 (Parthenon Publishing)	1999;438-440.
Gondo T, Hoshii Y, Setoguchi M, Takahashi M, Ishihara T, et al.	Confocal observation and 3-D reconstruction of senile plaques in Alzheimer's disease -senile plaque morphology and relationship between a senile plaque and astrocytes-.	Amyloid and Amyloidosis 1998 (Parthenon Publishing)	1999;473-475.
Takahashi M, Hoshii Y, Ishihara T, et al.	Multihormone-producing islet cell tumor of the pancreas associated with somatostatin-immunoreactive amyloid: immunohistochemical and immunoelectron microscopic studies.	Amyloid and Amyloidosis 1998 (Parthenon Publishing)	1999;536-539.
服部尚子、長谷川毅、須 釜明美、日野治子、福田 覚、星井嘉信	Amyloidosis Cutis Nodularis Atrophicansの1例	皮膚科の臨床	1999;41:1753- 1756.
Kodama K, Hoshii Y, Ishihara T, et al.	Rest-redistribution thallium-201 myocardial scintigraphic study in cardiac amyloidosis.	Int J Card Imaging	1999;15:371- 378.
Ikeda S, Takabayashi Y, Maejima Y, Tachibana N, Ehara T, Nezu A, Hoshii Y.	Nodular lung disease with five year survival and unilateral pleural effusion in AL amyloidosis.	Amyloid: Int J Exp Clin Invest	1999;6:292-296.
Matsumoto T, Tani E, Fukami M, Kaba K, Yokota M, Hoshii Y.	Amyloidoma in the gasserian ganglion: case report.	Surg Neurol	1999;52:600- 603.

【単行本】

著者名	題名	書名	編集者名	発行者名	発行西暦号、頁
樋口京一、細川昌則	SAMマウス	遺伝子治療開発研究ハンドブック	日本遺伝子治療学会	エヌ・ティー・エス	1999；99 7-999.
Chiba T. Kogishi T, Higuchi K, et al.	AApoa II amyloid deposition is suppressed by adenovirus-mediated overexpression A- II gene in the mice.	Amyloid and Amyloidosis 1998	Kyle RA, Gertz MA	parthenon Publishing	1999;56 -58.
Higuchi K, Kogishi, Wang J, et al.	Fibrilization in mouse senile amyloidosis is fibril conformation dependent	Amyloid and Amyloidosis 1998	Kyle RA, Gertz MA	Parthenon Publishing	1999;47 -49.
東海林幹夫	Alzheimer病の原因と治療	別冊・医学のあゆみ神経疾患 state of arts (Ver.1)	中村重信	医歯薬出版 (東京)	1990；504- 506.
東海林幹夫	アルツハイマー病の客観的マーカー	老年期痴呆診療マニュアル (第2版)	長谷川和夫	日本医師会 (東京)	1999；23 7-242.
東海林幹夫、 瓦林毅、針谷康夫	アルツハイマー病の動物モデル—解明点と問題点	アルツハイマー病の新しい展開。分子メカニズムから今日の臨床研究まで	井原康夫	羊土者 (東京)	1999；12 8-137