

20073/012 B

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

# アミロイドーシスに関する調査研究

平成17～19年度 総合研究報告書

主任研究者 山 田 正 仁

平成20(2008)年3月

# 目 次

[I]総合研究報告 .....	1
アミロイドーシスに関する調査研究 .....	1
主任研究者    山 田 正 仁	
金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科)	
資料 平成17年度 総括研究報告 .....	20
平成18年度 総括研究報告 .....	29
平成19年度 総括研究報告 .....	39
[II]分担研究者ごとの平成17～19年度研究のまとめ .....	49
[III]研究成果の刊行に関する一覧表 .....	61
[IV]班構成員名簿 .....	127

## 〔Ⅰ〕 総合研究報告

## 厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)

## 総合研究報告書

## アミロイドーシスに関する調査研究

主任研究者 山田正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学(神経内科) 教授

**研究要旨** アミロイドーシス各病型[①AL、②AA、③家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)、④透析、⑤脳(アルツハイマー病(AD)、脳アミロイドアンギオパチー(CAA))]ごとの戦略および全病型に共通する基盤的研究により、疫学調査、治療プロトコル確立、新規診断・予防・治療法開発等を行った。臨床個人調査票に基づき、わが国のアミロイドーシスの疫学を明らかにし、石川県が長野、熊本に次ぐFAPの集積地であることを発見した。ALでは中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法からなる新規治療プロトコルによる全国多施設臨床試験を実施し有用性を評価し、さらに他の治療オプションを報告した。AAでは早期診断の臨床的意義、抗サイトカイン療法の有用性を示し、特にIL-6受容体抗体トシリズマブが優れていたことから、本剤によるAAアミロイドーシスに対する世界初の全国多施設臨床試験体制を確立した。FAPでは肝移植治療が有用であるが、その問題点(移植後の進行/ドミノ移植レシピエントにおけるアミロイド沈着および医原性アミロイドニューロパチーの発症)を明らかにした。Val30Met型FAPにおける加齢に伴う野生型TTR沈着増加を見出し、さらに変異トランスサイレチン分子の不安定性等による沈着機構の解明、遺伝子治療の開発を行った。透析アミロイドーシスでは透析患者における本症発症・進展の危険因子、腎移植が症状の改善や進行の抑制に有用であることを明らかにし、さらに、リゾリン脂質、遊離脂肪酸によるアミロイド形成促進を発見し、 $\beta 2$ ミクログロブリン高発現モデルマウスを作製した。脳アミロイドーシスでは $\gamma$ セクレターゼ活性に関与する新たな因子TMP21を同定し、AD患者における $A\beta$ 凝集に適した脳脊髄液環境、NSAIDs及びエストロゲンの抗アミロイド作用を報告した。さらに、動物モデルにおいて $A\beta$ 免疫療法(抗 $A\beta 42$ 抗体/抗 $A\beta 40$ 抗体)の治療的有用性を示し、有用な $A\beta$ オリゴマー特異抗体を作成した。CAAの全国規模の疫学調査を世界で初めて実施し、皮質微小出血のCAA診断上の意義等を明らかにした。老化アミロイドーシスマウスのApoA-IIアミロイド線維形成機構解明を解明した。アミロイドイメージング開発では、プローブ化合物BF-227によるmicro PETによるアミロイドーシスモデル動物におけるアミロイド画像化に成功し、臨床応用の段階に至った。

## 分担研究者

下条文武 新潟大学大学院医歯学総合研究科  
内部環境医学講座 教授  
池田修一 信州大学医学部内科学脳神経内科、  
リウマチ・膠原病内科 教授  
樋口京一 信州大学医学部大学院医学研究科  
加齢生物学分野 教授  
玉岡 晃 筑波大学人間総合科学研究科病態制  
医学専攻 教授  
高市憲明 虎の門病院腎センター内科 部長  
山田俊幸 自治医科大学臨床検査医学 准教授  
前田秀一朗 山梨大学大学院医学工学総合研究部  
生化学講座第一教室 教授

内木宏延 福井大学医学部医学科病因病態学講  
座分子病理学領域病理学 教授  
今井裕一 愛知医科大学医学部内科学講座腎臓  
・膠原病内科 教授  
葛原茂樹 国立精神・神経センター武蔵病院  
病院長  
島崎千尋 京都府立医科大学大学院医学研究科  
血液・腫瘍内科 講師  
吉崎和幸 大阪大学保健センター 教授  
東海林幹夫 弘前大学大学院医学研究科附属脳神  
経血管病態研究施設 脳神経内科学  
講座 教授  
麻奥英毅 広島赤十字・原爆病院検査部 部長

石原得博 山口大学大学院医学系研究科情報解析医学系学域病理形態分野 教授  
 河野道生 山口大学大学院医学系研究科細胞シグナル解析学分野 教授  
 奥田恭章 道後温泉病院リウマチセンター内科部長  
 安東由喜雄 熊本大学医学部大学院医学薬学研究部病態情報解析学 教授  
 中里雅光 宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野 教授  
 工藤幸司 東北大学先進医工学研究機構高度情報通信分野 教授  
 水澤英洋 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学分野 教授

## A. 研究目的

アミロイドーシスの分子病態に基づく早期診断・治療法の確立を目的とする。そのために、アミロイドーシス病型ごとの戦略並びに全病型共通の発症機構の基盤的研究により、本症の発症動向の把握と共に、早期診断、治療成績の向上、新規診断、予防・治療法の開発を行う。研究成果は、本症患者、さらには多数の発症リスク保有者に対する医療、保健に貢献する。各病型ごとの研究課題を以下に示す。

- 1) AL アミロイドーシス：従来報告されてきた本症診断後の 50 %生存は約 1 年である。本症に対する治療法として自家末梢血幹細胞移植併用療法が注目されている。本研究では、自己末梢血幹細胞移植併用療法の有用性を高める新規プロトコルを確立するために、新規プロトコルによる全国多施設臨床試験を実施する。さらに、その他の治療オプションの検討、AL の分子病態解明に基づく新規診断・治療法開発研究を行う。
- 2) AA アミロイドーシス：関節リウマチ (RA) 患者の 5-10%は本症を発症し、本症合併した場合の予後は不良である。リウマチ性疾患における本症発症の危険因子、予後規定因子の解明、早期診断・治療指針の作成、分子病態解明に基づく抗サイトカイン療法の確立をめざす。
- 3) 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)：本症の根本治療には肝移植があるが、その有効性や問題点を明らかにし、肝移植が適用

できない患者にも応用可能な治療法の開発が必要である。本症の病態解明、トランスサイレチン (TTR) 沈着機構の解明とその制御により、新規予防・治療法開発をめざす。

4) 透析アミロイドーシス：長期透析患者数と共に本症は増加している。本症合併の危険因子同定、早期発見法確立、治療成績の向上、 $\beta_2$ -ミクログロブリン ( $\beta_2$ -m) 線維形成過程の解明による新規治療法開発をめざす。

5) 脳アミロイドーシス：アルツハイマー病 (AD) は認知症の過半数を占め、脳アミロイドアンギオパチー (CAA) は高齢者の脳葉型出血の主要な原因である。本研究では AD、CAA 脳に蓄積するアミロイド $\beta$ 蛋白 ( $A\beta$ ) の沈着過程の分子病態解明を通じ、アミロイドを標的とした新しい早期診断マーカー、新規予防・治療法の開発を行う。

6) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス：各種アミロイドーシスに共通するアミロイド沈着機構を統合的に研究し、診断、予防・治療法への応用を行う。特に、老化アミロイドーシスモデル動物を用い、アミロイドーシス発症の分子機構、アミロイドによるアミロイドーシス発症促進 (“伝播”) 現象を解明する。特異的プローブを用いたアミロイドイメージングを開発し臨床診断への応用を行う。

## B. 研究方法

1) アミロイドーシスの疫学：特定疾患治療研究事業の臨床調査個人票 (2003-2005 年度) を用い、本症の疫学、特に FAP 患者の全国分布を検討した (山田正仁)。

2) AL アミロイドーシス：

① 自家末梢血幹細胞移植併用新規プロトコルによる臨床試験及び他の治療法の検討：中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法による新しいプロトコルによる全国多施設臨床試験を実施した (島崎ほか)。さらに各施設において心不全を有する高リスク例、ニューロパチー例等について本療法による AL 治療経験例において治療法を検討した (島崎、麻奥、高市、池田ほか)。さらに、メルファラン大量療法後のサルベージ療法としてサリドマイドを投

与した例、同種ミニ移植 (RIST) 実施例を検討した (麻奥)。

②BJP 蛋白の解析: アミロイド原性を解明するため、AL 患者の尿中 BJP を解析した (今井)。AL を含む monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) 患者について尿中 Bence Jones 蛋白 (BJP) と腎障害の関連を検討した (今井)。

③抗 NF- $\kappa$ B 療法の開発: アミロイド原性の免疫グロブリン L 鎖を産生する単クローン性形質細胞の抗 NF- $\kappa$ B 活性を有する化合物、抗 NF- $\kappa$ B 活性化機構について検討した (河野)。

④AL 特異抗体作製: 診断、治療への応用、発生病理解明の目的で免疫グロブリン $\lambda$ 鎖 C 末端近傍に対する抗体 (抗 $\lambda$ 194-211) を作製した (石原)。

⑤限局性 AL アミロイドーシス: 呼吸器系を侵すアミロイドーシス症例を検討した (池田)。

### 3) AA アミロイドーシス:

①臨床的研究: AA アミロイドーシスの経過、予後を明らかにするために、診断時無症候の AA アミロイドーシス合併 RA87 例の臨床経過と予後を調査した (奥田)。RA に合併する AA アミロイドーシスについて、メトトレキサート治療導入の有無と治療予後との関連 (寺井)、腎アミロイド沈着パターンと腎機能の予後との関係 (佐伯) を検討した。AA アミロイドーシスに対する抗サイトカイン療法 (インフリキシマブ、エタネルセプト、トシリズマブ) の有用性を検討した (奥田)。AA アミロイドーシスを高頻度に合併するキャッスルマン病、RA でヒト化抗 IL-6 レセプター抗体 (アクテムラ) を用いた IL-6 機能阻害療法を行い、さらに肝細胞を用い SAA の産生機序を解析した (吉崎)。抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) による全国多施設共同臨床試験を遂行するために、AA アミロイドーシス臨床研究会を発足させ、臨床試験プロトコールを作成した (吉崎ほか)。

②基礎的研究: 本症の診断および発生病理の解明に有用な新規抗 SAA 抗体の開発を目的として、合成ペプチドを抗原とする抗 SAA 抗体の作製を試みた (石原)。SAA の 2 つのアイソタイプである SAA1 と SAA2 を分別定量する測定法の開発を試み、さらに SAA の安定性を研究するために、

SPR 法 (Biacore 社機器) を用いた SAA と HDL の結合親和性の解析を行った (山田俊幸)。本症の生検消化管粘膜から AA を定量する方法を確立し、病理所見との相関を検討した (山田俊幸)。AA モデルマウスを作製し、肝臓における脂質代謝関連遺伝子の発現について、DNA マイクロアレイを用いて解析し、その雌雄差やフェノフィブラートの効果を検討した (中里)。

### 4) FAP:

①FAP の病態及び肝移植治療に関する研究: 疫学研究により石川県が FAP の新規集積地として同定されたため、石川県の FAP を調査した (山田正仁)。Val30Met 以外の TTR 変異を有し、臨床的にも古典的な末梢神経障害や自律神経以外に、多彩な症状を呈する 2 症例を解析した (中里)。肝移植後 10 年目に死亡した FAP 患者の剖検組織について臨床病理学的、生化学的検討を行い、肝移植の効果、肝移植後の FAP の病態変化を解析した (安東)。TTR Y114C 変異を有する FAP 患者は遺伝性 CAA を呈するが、本変異を有する患者に対する肝臓移植の効果について検討した (安東)。ドミノ移植で FAP 肝を移植されたレシピエントをフォローした (安東)。FAP 肝を利用したドミノ肝移植を施行したドミノレシピエント 4 名について、胃粘膜生検を施行し、アミロイド沈着の有無を検索した (池田)。Val30Met 型 FAP 患者 44 名の腹壁脂肪吸引生検と 13 名の胃生検の沈着アミロイドについて、Congo red 染色後のスライド標本よりアミロイド線維蛋白を抽出し、質量分析計 (LC-MS/MS) により野生型 TTR (V30) と変異型 TTR (M30) の構成比を検索、さらに野生型と変異型の比について、発症年齢、生検時の年齢、罹病期間などの患者背景と比較検討した (池田)。

②FAP の発症機構解明および新規治療法開発に関する研究: 変異 TTR がアミロイドーシスを発症させるタンパク質・細胞レベルでの機序を解明するため、変異 TTR のエネルギー学的な安定性とアミロイド原性/分泌効率との関係を検討した (池田)。FAP において、活性酸素傷害がアミロイド形成を促進させることが知られているため、ニトロソ化を受けた TTR のアミロイド形成能を検討した (安東)。アミロイド原性トランスサイレチン (ATTR) の代謝動態を生体で解析す

るため ATTR V30M 遺伝子を導入したトランスジェニック (TG) ラットを開発・解析した (安東)。生体内に豊富に存在するヒト血清アルブミン (HSA) が TTR のアミロイド形成に与える影響を検討した (安東)。生理的 pH 下で ultrasonication を用いることにより TTR のアミロイド形成促進を試みた (安東)。FAP のモデルマウス (Met30TTR) に FAP 患者の心臓より抽出したアミロイド線維を経口投与してアミロイド沈着の促進を検討した (樋口)。siRNA による FAP の遺伝子治療開発の目的で変異 TTR 遺伝子に対し特異的な siRNA を作製し、更に siRNA 治療に伴うインターフェロン *in vivo* 誘導を回避する方法を検討した (水澤)。

#### 5) 透析アミロイドーシス：

①臨床的研究：透析アミロイドーシスの発症に関係する因子を明確にするために、透析患者で手根管開放術を受けた患者要因を解析し (高市)、長期透析患者の臨床病態を調査した (下条)。透析アミロイドーシス滑膜病変における macrophage migration inhibitory factor (MIF) の発現とその役割について検討した (下条)。献腎移植を行った維持透析患者 32 名について臨床経過を調査し移植の効果を検討した (下条)。骨盤内に形成された透析アミロイド腫瘍の画像的特徴を検討した (高市)。

②基礎的研究：*In vitro*  $\beta$ 2-m アミロイド線維形成系を用い、種々のリゾリン脂質、遊離脂肪酸の  $\beta$ 2-m アミロイド線維伸長促進効果、機序を解析した (内木)。ヒト  $\beta$ 2M を高発現する 2 系統の transgenic (Tg) マウスを作製し、さらにこれらの Tg マウスと  $\beta$ 2M knockout マウスとの交配によって、ヒト  $\beta$ 2M のみを高発現するモデルマウスを作製した (樋口)。透析アミロイドーシス骨病変における破骨細胞の関与を明らかにするために、U937 細胞を破骨様細胞に分化させ、 $\beta$ 2-m の影響を検討した (今井)。

#### 6) 脳アミロイドーシス：

①A $\beta$ アミロイド沈着分子病態解明と AD 診断治療法開発： $\beta$ および  $\gamma$ セクレターゼは APP からの A $\beta$ 産生に関与する。 $\gamma$ セクレターゼの新たな調節因子を  $\gamma$ セクレターゼの構成因子 Aph-1 に対する抗体を用い解析した (水澤)。複数の培養細

胞に対し複数の ER ストレスを付加し、 $\gamma$ セクレターゼ構成因子 (presenilin、Aph-1) の量的変化を測定した (水澤)。Aph-1 の量的変化がもたらす  $\gamma$ セクレターゼ活性の変化を検討するために、HEK293 細胞に APP 遺伝子導入した stable 細胞に Aph-1aL を遺伝子導入した場合、siRNA でノックダウンした場合等に、培養液中に産生される A $\beta$ 40 及び A $\beta$ 42 の量的変化を ELISA 法にて測定した (水澤)。主要なベータ・セクレターゼである BACE1 の産生量が培養細胞系に酸化ストレスを負荷することで変化するかどうかを解析した (玉岡)。動物実験や疫学調査の結果より、スタチンにアルツハイマー病 (AD) の発症抑制作用が示唆されており、スタチンの脳内 A $\beta$ に対する影響を検討するために、スタチン服用群における髄液 A $\beta$ 分子種を解析した (玉岡)。慢性脳虚血が A $\beta$ 産生に与える影響を明らかにするために両側総頸動脈結紮モデルラット脳を検討した (玉岡)。疫学研究で抗 AD 効果が注目されている非ステロイド性抗炎症剤 (NSAIDs) の抗アミロイド効果の有無を明らかにするため、生体条件試験管内モデルを用いて、NSAIDs (ibuprofen、aspirin、flurbiprofen、diclofenac sodium salt、ketoprofen、indomethacin、sulindac sulfide、naproxen、meclofenamic acid sodium salt) が、A $\beta$ 線維 (fA $\beta$ ) 形成過程および既成 fA $\beta$ 不安定化過程に及ぼす作用を解析した (山田正仁)。さらに、抗アミロイド効果の分子機構を明らかにするため、蛍光光度計、分光光度計、原子間力顕微鏡、SDS-PAGE、表面プラスモン共鳴 (surface plasmon resonance (SPR)) 解析を用いて、ポリフェノールが A $\beta$ や fA $\beta$ 形成・不安定化過程に及ぼす分子間相互作用を *in vitro* で検討した (山田正仁)。AD 脳では A $\beta$ 線維 (fA $\beta$ ) 形成が促進された状態にあるが、*in vitro* fA $\beta$ 実験系を用い、AD 患者と non-AD 患者の脳脊髄液が fA $\beta$ 形成に及ぼす影響を解析した (山田正仁)。疫学研究でホルモン補充療法を受けている女性では AD 発症率が低いことから、エストロゲンが A $\beta$ 凝集過程および既成凝集体の不安定化過程に及ぼす効果を、生体条件試験管内モデルを用いて解析した (山田正仁)。A $\beta$ 40 および A $\beta$ 42 分子種特異的モノクローナル抗体を用い、AD モデルマウスに受動免疫療法を行った (東海林)。血

液中の A $\beta$ 42 はリポ蛋白結合型・非結合型が約 9:1 の割合で存在しているが、両分子種とも肝臓を主要代謝臓器としている。血液中の A $\beta$ クリアランス（末梢性）は、受動免疫療法の治療効果発現を左右しうる重要な因子と考えられるため、血液から肝臓を介し胆汁へと排泄された A $\beta$ を指標に、末梢性 A $\beta$ クリアランスを AD モデルマウス (Tg2576) で検討した（東海林）。AD 病態惹起分子と考えられている A $\beta$ オリゴマーに対する抗体を作成し、本抗体が認識するオリゴマーが AD 脳に存在するかどうか、A $\beta$ オリゴマーの神経毒性や線維形成能を中和するかどうかを検討した（東海林）。Tg2576 マウスと presenilin-1 L286V マウスとの double transgenic (Tg) mouse、TgTau<sup>P301L</sup> マウス、TgTau<sup>P301L</sup> と Tg2576 の double Tg マウス、変異  $\alpha$  シヌクレイン発現モデルマウス (Tg  $\alpha$  SYN) 用いて A $\beta$ 、リン酸化タウ、リン酸化  $\alpha$  シヌクレインの蓄積を検討した（東海林）。Tg2576 と無 TTR マウスまたは無血清アミロイド P 成分 (APCS; SAP) マウスを交配させて得た TTR または SAP 欠損 Tg2576 (Tg2576/TTR<sup>-/-</sup>または Tg2576/SAP<sup>-/-</sup>) と対照ヘテロ接合体 Tg2576 (Tg2576/TTR<sup>+/+</sup>または Tg2576/SAP<sup>+/+</sup>) を用いて、AD の脳 A $\beta$ 沈着に TTR や SAP がどう関与するかを解析した（前田）。

②CAA に関する研究：CAA および CAA に関連する中枢神経系限局性血管炎 (IACNS) の全国疫学調査を行った（山田正仁）。孤発性 CAA 脳脊髄液中の tau および A $\beta$ 関連マーカーを検索し、MRI gradient-echo 法 (T2\*) を用いて高齢者の cerebral microbleeds (CMBs) を検討した（葛原）。高度の CAA を呈し典型的老人斑を欠くアイオワ型 APP 変異 (Asp23Asn) を有する家系の患者脳に沈着する A $\beta$ 分子を解析した（玉岡）。

③BRI2 関連蛋白に関する研究：家族性デンマーク型認知症 (FDD) は BRI2 遺伝子変異による常染色体優性早期発症認知症であり、ADan と A $\beta$ から成るプレアミロイドと血管アミロイドの沈着、神経原線維変化並びに典型的老人斑の欠如を特色とする。本症における ADan と A $\beta$ の沈着機序を明らかにするため、凍結剖検脳から ADan と A $\beta$ を抽出し生化学的に解析した（玉岡）。BRI 関連蛋白の AD への関与を明らかにするために、BRI

関連蛋白 (BRI2 および 3 の分泌部位) に対する抗体を作製し AD 脳を免疫染色した（中里）。

7) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス：マウス老化アミロイドーシスにおけるアミロイド線維形成機構解明のため、原因蛋白であるアポリポ蛋白 A-II (apoA-II) の *in vitro* における線維重合反応、グリコサミノグリカン (GAG) 等の生体内高分子の影響を解析した（樋口）。さらに、ApoA-II アミロイド線維形成に関与するアミノ酸組成について検討した（樋口）。アミロイドイメーシング開発の目的で、ヒトのアミロイドーシス各病型とアミロイドーシス動物モデルのアミロイドとプローブ候補化合物との結合性を検討し、次に、アミロイドーシス動物モデルにアミロイド標識プローブとして [<sup>11</sup>C]BF-227 を投与し、*in vivo* micro PET 画像及び *ex vivo* オートラジオグラフィを観察した（工藤）。老化アミロイドーシスモデル及び AD モデルマウスにブドウ種子由来ポリフェノール (GSE) を投与し発症抑制効果を検討した（前田）。大腿の陳旧性血腫性病変に伴うアミロイドーシス 7 例について検討した（石原）。

（倫理面への配慮）

患者を対象とする臨床研究（診断、治療、遺伝子解析等）、疫学研究等については各施設の倫理審査委員会の承認、それに基づく説明と同意を得て研究を実施した。遺伝子組み換え動物を含む動物実験に関しては、各施設の指針に基づき動物実験委員会等の承認を得た上で研究を実施した。

## C. 研究結果

1) アミロイドーシスの疫学：2003-2005 年度には受給者数は約 1000 名／年であった。2004 年度で個人票データが利用可能であった 657 例をみると、免疫グロブリン性および老人性 TTR 性が 76.9%、家族性 11.3%、分類不能 11.8%であった。家族性は 72%が TTR 型と記載され、その中では Val30Met 変異が最も多かった。家族性アミロイドーシスの都道府県別有病率（人口 100 万対）の推計では、3 年とも長野 (11.0-15.5)、熊本 (10.1-10.3)、石川 (3.5-4.2) の順であり、その他



の都道府県は2.0以下であった（山田正仁）。

## 2) AL アミロイドーシス：

①自家末梢血幹細胞移植併用新規プロトコールによる臨床試験及び他の治療法の検討：本研究班 AL 分科会は中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法からなる原発性 AL アミロイドーシス治療プロトコールを作成、全国 11 施設からなる臨床試験体制（班員 5 名及び研究協力者 9 名が参加）を構築し、6 名の患者を登録した。臓器病変は腎（5 例）、消化管（3 例）、神経（2 例）、心臓（1 例）であった。寛解導入療法において grade3 以上の重篤な非血液毒性はみられなかった。採取 CD34+細胞数は 2～5 回のアフレーシスで計  $0.08\sim 2.27 \times 10^6/\text{kg}$  であり、6 例中 2 例でのみ目標 CD34+細胞数 ( $2 \times 10^6/\text{kg}$ ) を採取し得た。採取不良例では他の幹細胞動員療法が行われ、6 例全例で自家末梢血幹細胞移植が行われた。移植後の血球回復は速やかで、全例が生存中である。移植後の血液学的効果は PR5 例、SD1 例で、臓器効果は 2 例にみられ、血清 free light chain の判定は効果判定に有用であった（島崎ほか）。

心不全を有する AL アミロイドーシス患者 3 例に対し risk adapted approach による自家末梢血幹細胞移植療法併用メルファラン大量療法（HDM/SCT）を試みた。全例緩解を維持し、3 例とも臓器障害の改善、著明な QOL の改善をみとめた。また沈着アミロイドの消失の可能性も確認した（麻奥）。AL アミロイドーシス患者 4 例に対し自家末梢血幹細胞移植療法併用メルファラン大量療法、経時的な腎組織評価を行い、3 例で臨床的改善、うち 1 例では組織学改善も認めた（高市）。末梢神経障害を主徴とする AL アミロイドーシス患者 2 例に対し自家末梢血幹細胞移植療法併用メルファラン大量療法を行い、血液学的寛解と共に末梢神経障害の改善を認めた（池田）。

メルファラン大量療法の非寛解例 4 例にサルベージ療法として、RIST を実施し寛解（1 例）、サリドマイド投与にて寛解あるいは臨床効果（3 例）を認めた（麻奥）。

②BJP 蛋白の解析：AL アミロイドーシスの患者 BJP の FIVMTQSP の配列を確認した。MGUS あ

るいは AL アミロイドーシス 12 例において腎障害と尿中軽鎖との関連を検討したところ、 $\lambda$  型軽鎖 2 量体 BJP 検出例はアミロイド沈着の有無に関わらず腎障害を認めた（今井）。

③抗 NF- $\kappa$ B 治療法の開発：デキサメサゾンとバイカレインに強い PPAR $\beta$  活性化能が認められた。骨髄腫細胞株をデキサメサゾンやバイカレインで刺激すると、核内にて PPAR $\beta$  と NF- $\kappa$ B p65 との結合が認められ NF- $\kappa$ B 活性が抑制され、増殖・生存が強く抑制された。骨髄腫細胞株における恒常的 NF- $\kappa$ B 活性は主に RelB/p50 によると考えられた。NF- $\kappa$ B 活性の定量的マーカー CD54 発現の強度は、AL アミロイドーシスを含む MGUS では CD54 正常骨髄形質細胞と同程度あるいはそれ以上であり、骨髄腫細胞では CD54 発現は減弱していた。NF- $\kappa$ B 活性、SDF-1 $\alpha$  活性は細胞表面の CD54 蛋白発現と正の相関を示した。CD54 発現は AL を含む MGUS では極めて高く、一方、骨髄腫細胞株において有意に低かった。SDF-1 $\alpha$  添加で単クローン性形質細胞を培養すると CD54 発現が上昇した（河野）。

④AL 特異抗体作製：作製した抗  $\lambda$  194-211 抗体は免疫組織化学に 11 例全例で A $\lambda$  アミロイドと反応した。Western ブロットでは、いずれも L 鎖全長に相当するバンドとともに、20kDa 以下のバンドが複数みられた（石原）。

⑤限局性 AL アミロイドーシス：呼吸器系を侵すアミロイドーシス 12 例は FAP1 例を除き全例 AL であった。AL は全身性 1 例を除き限局性であった。限局性 AL の 2 例では肺外にもアミロイド結節がみられた（池田）。

## 3) AA アミロイドーシス：

①臨床的研究：RA 合併 AA アミロイドーシス診断時、有症候群の 5 年生存率、10 年生存率はそれぞれ 53%、38.4%であるのに対して、無症候群はそれぞれ 91.9%、74.3%であり（ $p < 0.0001$ ）、早期診断例は積極的な関節リウマチのコントロールにより予後及び経過は良好であった（奥田）。AA 合併 RA に対するメソトレキセート導入後、AA アミロイドーシスの予後は改善しており、RA が抑えられた結果と考えられた（寺井）。AA 合併 RA について、アミロイド沈着が血管に限局する場合に較べて糸球体にある例では腎機能の予後

が悪かった（佐伯）。

キャッスルマン病、RA に対する IL-6 機能阻害療法により、80%の患者で CRP、SAA の正常値化が認められた。肝細胞における SAA の産生増強には IL-6 が必須で、3 者刺激下では IL-6 阻害が SAA 産生をほぼ完全に抑制した（吉崎）。AA 合併 RA に対する抗サイトカイン療法の有用性の検討では、すべての抗サイトカイン療法は SAA を抑制し、臓器障害の進行もほぼ認められず、基本的に有用と考えられたが、特にトシリズマブは SAA 低下能、臨床症状改善能、組織学的改善能が優れていた（奥田）。そのため、トシリズマブによる全国多施設臨床試験を円滑に遂行するための体制（AA アミロイドーシス臨床研究会）を発足させ、第一段階の治療前観察期間のプロトコルを確立した（吉崎ほか）。

②基礎的研究：本症の診断および発生病理の解明に有用な 4 種の抗 SAA 抗体を作製した。抗 SAA1.83-95 抗体は本症 51 例中 37 例（73%）のアミロイドを免疫染色した（石原）。

酵素免疫測定法による SAA1 特異測定系の構築し、血清中では健常者、RA 患者ともに SAA1 濃度が総 SAA の 70～80%を占めることを見出した。SAA と HDL の結合親和性の解析を行い、ヒト SAA1 各アイソタイプ間でヒト HDL との親和性に差を認めた。本症の生検消化管粘膜から 4M グアニジン塩酸でアミロイドを可溶化し高感度 ELISA で AA を定量化する方法を確立した。本定量結果は病理学的評価とよく相関し、本診断法はアミロイドの陽性、陰性の判定に有用であることが示された（山田敏幸）。

SAA 血症マウスの肝では SAA1 および 2 の遺伝子発現が増加、一方、脂質代謝関連遺伝子の発現は低下していた。本症モデルマウスにフェノフィブラートを投与すると、SAA1, 2, 4 の遺伝子発現が有意に低下し、脾臓でのアミロイド沈着も認められなかった。また、飽和脂肪酸のβ酸化関連酵素の遺伝子発現が正常化した。本症モデルマウスの SAA1 血中濃度、エストロゲン受容体発現、肝リパーゼ遺伝子発現等は、雄に較べて雌に有意に高かった（中里）。

### 3) FAP：

①FAP の病態及び肝移植治療に関する研究：石川

県の FAP11 家系 28 例は全て TTR 型であり、うち 10 家系 26 例は Val30Met 変異、他の 1 家系 2 例は Leu58Arg 変異であった。石川県の Val30Met 型 FAP は高齢発症で家族歴を高率に認めることが特徴であった（山田正仁）。Val30Met 以外の変異として、Val71Ala（国内初）、Val94Gly（世界初）を同定した（中里）。Val30Met 型 FAP のアミロイドの野生型 TTR(V30)と変異型 TTR(M30)の構成比をみると、腹壁脂肪では生検時年齢が高くなると野生型の比率が高くなったが、胃では一定の傾向は得られなかった（池田）。

TTR Y114C 変異を有する遺伝性 CAA で、肝移植群は非移植群より生存率が高く、脳出血の発症が抑制されていた（安東）。肝移植 10 年後の剖検例の検討では、肝移植後に、緑内障の出現、神経伝導検査所見の軽度の悪化、心エコー上悪化と心アミロイドーシス進行がみられた。心抽出アミロイドの TTR を解析すると約 75%が正常型 TTR であり、肝移植後に正常 TTR がアミロイドとして沈着したと考えられた（池田）。FAP 肝のドミノ移植を受けた 4 名のレシピエントの検討で、肝移植後 4 年で胃粘膜生検を施行した 2 名で同部位にアミロイド沈着を認めた（池田）。ドミノ移植で FAP 肝を移植されたレシピエントが移植 7 年後にニューロパチーを発症した（*Am J Transplant* 6:2512, 2006）（安東）。

②FAP の発症機構解明および新規治療法開発に関する研究：

変異 TTR のエネルギー学的な安定性が *in vitro* でのアミロイド原性と quality control system を介した細胞からの分泌効率を規定し、生体でのアミロイドーシスの重症度と臓器特異性に深く関与していた(*Cell* 121:73, 2005)（池田）。

TTR のニトロソ化の影響を検討すると、ニトロソ化を受けた TTR は wild type, V30M 変異とも非ニトロソ化 TTR より有意にアミロイド形成能が高く、更に V30M のほうが wild type より更にアミロイド形成能が高かった。HSA の共存により、TTR のアミロイド形成が有意に抑制され、TTR 四量体の安定性が上昇した。また、HSA は変性 TTR に対し高い結合性を示した。Ultrasonication により生理的 pH 下における TTR アミロイド形成が促進され、CD スペクトル分析で ultrasonication

は TTR の四量体の減少及び二次構造の変化をもたらすことが示唆された（安東）。

アルブミンをプロモーターとしてヒト ATTR V30M をラットに遺伝子導入し、肝臓、脳、眼を含めた諸臓器でヒト ATTR の発現が確認された。質量分析装置を用いた解析から、TG ラットの血中ヒト ATTR はラット TTR と四量体を形成していると考えられた。高齢 TG ラットの消化管にヒト ATTR の沈着が確認されたが、現在までのところアミロイド沈着は認められていない。正常肝を TG ラットに移植すると、血清ヒト ATTR 濃度が検出感度以下に低下した（安東）。

FAP モデルマウスへの FAP アミロイド線維投与実験では、投与 18 ヶ月以降に AApoAII の沈着が認められ、同時に ATTR の沈着も観察されたが、2 種類のアミロイド線維の沈着場所は異なっていた（樋口）。

FAP の遺伝子治療では、FAP 変異遺伝子に対し特異的な siRNA を作製することに成功した。しかし、化学合成 siRNA をカチオニックリポソーム法で *in vivo* に投与した場合、血中にインターフェロンが誘導された。そこで、siRNA に 2'-O メチル化などの化学修飾を施すことによりインターフェロン誘導を軽減できることを確認した（水澤）。

#### 4) 透析アミロイドーシス：

①臨床的研究：透析アミロイドーシス発症に関与する透析患者の要因の検討では、加齢や高カリウム血症が危険因子である可能性が示唆された（高市）。透析歴が長期化するにしたがって破壊性脊椎関節症（DSA）の手術目的に入院する割合が増加した。更に透析期間が長期化すると、手根管症候群（CTS）、DSA、アミロイド関節症のいずれかの手術の既往のある患者の割合が増加した。透析患者で手根管開放術症例の患者背景を検討すると、透析導入時の年齢が高齢（ $p<0.001$ ）、および原疾患が糖尿病性腎症（ $p<0.01$ ）であることが初回手根管開放術までの透析期間と有意に相関した（下条）。

献腎移植を受けた維持透析患者 32 例中 9 例はアミロイド関節症を合併しており、非合併例と比べ透析期間が長かった。移植は症状の改善、進行の抑制に有効であったが、1 例は移植後、腎機能

が保たれている中で頸椎の破壊性関節症の手術を受けていた。透析アミロイドーシスのアミロイド腫瘍の MRI は T1 強調画像で筋肉と同程度の低信号、T2 強調画像で筋肉やよりも低信号を示した（高市）。

MIF の関与を検討すると、MIF は滑膜病変に発現しており、透析アミロイドーシスを通常合併する透析歴 20 年以上の患者は、20 年未満の患者に比して、血清 MIF 値は有意に高値であった（下条）。

②基礎的研究：*In vitro*  $\beta 2$ -m アミロイド線維形成系で、中性 pH 域で親水基に陰性荷電を持つリゾリン脂質（リゾフォスファチジン酸、リゾフォスファチジルグリセロール、及びリゾフォスファチジルセリン）、遊離脂肪酸（ラウリル酸、ミリスチン酸、御レイン酸、リノール酸）が強い線維伸長効果を有することを明らかにした。伸長効果はリゾフォスファチジン酸が  $\beta 2$ -m モノマーに結合し、その立体構造を部分的に崩すこと、及び線維表面に結合し脱重合を抑制することによると考えられた。さらに、血液透析患者の血漿リゾフォスファチジン酸濃度は、正常対照群と比べて有意に増加していた（内木）。

AGE 化した  $\beta 2$ -m は破骨様細胞に対し、最も強い酸素ラジカル・酒石酸耐性酸フォスファターゼの産生増強作用を示した（今井）。

ヒト  $\beta 2$ -m を高発現する Tg マウス、ヒト  $\beta 2$ -m のみを高発現するモデルマウスを作製に成功した。これらのマウスは透析患者の数倍の血清  $\beta 2$ -m 濃度を示した。試験管内で作製した A $\beta 2$ -m アミロイド線維及びマウス AApoAII アミロイド線維を静脈に投与すると、AApoAII アミロイドの沈着および non-fibrillar な  $\beta 2$ -m 沈着が皮膚に認められた（樋口）。

#### 5) 脳アミロイドーシス：

①A $\beta$  アミロイド沈着分子病態解明と AD 診断治療法開発： $\gamma$  セクレターゼ活性を調節するプレセニリン複合体の構成因子として TMP21 を同定した（*Nature* 440:1208, 2006）。複数の培養細胞に対し複数の ER ストレスを付加し、 $\gamma$  セクレターゼ構成因子の量的変化を測定したところ、全長型プレセニリンの有意な増加と全長型 Aph-1 の有意な減少を認めた。Aph-1aL の発現により Aph-1 の増加と共に A $\beta 40$  および 42 産生量を増加がみら

れたが、プレセニリン、ニカストリン、Pen-2 などの因子に量的変化はなかった。一方、siRNA による Aph-1aL ノックダウンでは Aβ40 および 42 産生量は減少した（水澤）。

培養細胞に対する酸化処理の影響を検討すると、BACE1 濃度は増加する傾向があった。スタチン服用群における髄液 Aβ 分子種を解析したところ、スタチン服用群と非服用群との間で有意差は認められず、また、ステロイド服用の有無による効果も求められなかった。慢性低灌流モデルラットでは Aβ40/42、APP、BACE1 の沈着、高発現を認めた（玉岡）。

ヒト脳脊髄液は fAβ 形成を抑制したが、non-AD 患者群の方が AD 患者群に比し、強い抑制効果を示した。NSAIDs が fAβ 形成過程および既成 fAβ 不安定化過程に及ぼす作用を解析したところ、NSAIDs は濃度依存性に fAβ 形成反応を抑制し、かつ既成 fAβ を不安定化した。ポリフェノールが Aβ や fAβ 形成・不安定化過程に及ぼす分子間相互作用を *in vitro* で検討したところ、ポリフェノールは(1)酸化型は非酸化型よりも強力に fAβ 形成を阻害し、(2) 三次元蛍光光度解析では fAβ 存在下で新しい蛍光ピークを示し、(3) SPR 解析では fAβ に対して強力な結合・解離反応を示した。エストロゲンは濃度依存性に Aβ40 および 42 の重合・伸長反応を抑制し、既成凝集体を不安定化させたが、アンドロゲンには抗アミロイド効果はなかった（山田正仁）。

AD モデルマウスに対する Aβ42 抗体による治療実験では、脳内老人斑の除去、その際に可溶化された Aβ42 分子種の脳外への選択的クリアランス増加を認めた。末梢性 Aβ クリアランスを AD モデルマウス(Tg2576)で検討したところ、高齢群 Tg2576 において、コントロールマウス(non-Tg)に比し、Aβ 胆汁排泄低下を認めた。一方、著しい高 Aβ 血症を呈す脾臓アミロイド沈着マウス(Tg0304)においては、non-Tg を凌ぐ Aβ 胆汁排泄が高齢群でも保たれていた。Aβ オリゴマー特異抗体は AD 脳内のオリゴマーと結合し、*in vitro* の系で Aβ 凝集を抑制し Aβ オリゴマーの神経細胞毒性を中和した。複数の transgenic AD モデルを駆使することにより、Aβ アミロイドーシスに伴いタウオパチーを二次的に誘発し、Aβ 沈着の

みならず、神経原線維変化、神経細胞死を再現することに成功した。また、TgaSYN モデルで α シヌクレインの脳内蓄積を再現し得た。Aβ40C 末特異抗体による免疫療法で脳アミロイド斑及び CAA の減少を認めた（東海林）。

Tg2576/TTR<sup>+/+</sup>または Tg2576/SAP<sup>+/+</sup>を用いて、AD の脳 Aβ 沈着に TTR や SAP がどう関与するかを解析したところ、TTR は Tg2576 の脳内 Aβ アミロイドの沈着を抑制せず、SAP は Tg2576 の脳内 Aβ アミロイドの沈着を促進しなかった（前田）。  
②CAA に関する研究：CAA 関連脳出血、IACNS の診断基準を作成後、全国 884 施設 1378 部門に郵送によるアンケート方式で第 1 次全国調査（過去 5 年間）を実施、CAA 関連脳出血のべ 794 例、CAA 関連他病態 21 例、IACNS 64 例を見出した。その結果をもとに第 2 次全国調査を実施し、CAA 関連脳出血 総数 303 例（平均 74.9±8.4 歳）の詳細なデータが集計された。CAA 関連脳出血の全国患者数（5 年間）は 2882 人と推定された（山田正仁）。

脳葉型脳出血例の髄液では AD と同様のマーカーの変化が認められた。また、病理学的に診断された CAA 症例において、CAA の病期進行と Aβ42 値が逆相関していた。MRI gradient-echo 法(T2\*)上、皮質・皮質直下のみに CMBs が認められる表在型 CMB パターンは皮質下出血例と AD 症例で有意に多かった。表在型 CMB の分布は後頭葉に多く、特に皮質分水嶺領域に多かった。表在型 CMBs は CAA による可能性が考えられた（葛原）。

高度な CAA を有するアイオワ型 APP 変異患者脳では、Aβ23-Asp と Aβ23-Asn の双方が沈着し、N-、C-両末端で切断され全ての Asp 残基が部分的な翻訳後修飾を受けていた（玉岡）。

③BRI 関連蛋白に関する研究：FDD 脳の非線維性沈着物は全長 ADan 分子から成り、その N 末端は約 60%がピログルタミン酸化(ピロ化)され、主要 Aβ 分子種は Aβ1-42/4-42 であった。アミロイドの分画では、ADan は高度に重合し、N/C 両末端側で切断され、切断を免れた N 末端の殆どがピロ化されていた。皮質・血管共に主要 Aβ は Aβ4-42 で Aβx-40 はわずかであった。ADan-Aβ 結合の特異性が合成ペプチドによるリガンドプロットにより示された（玉岡）。

BRI 関連蛋白 (BRI2 および 3 の分泌部位) に対する抗体は AD 脳の老人斑などの A $\beta$ 沈着部位に染色性を示した (中里)。

6) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス：マウスapoA-IIのアミロイド線維の形成はB型apoA-IIとC型apoA-IIのアミノ酸組成の相違とは無関係で、N末とC末配列の相互作用によって2次構造が変化し、アミロイド線維が形成することが示唆された。また、線維形成が困難な中性条件下であっても、グリコサミノグリカン (GAG) 等の生体内高分子が線維形成を促進すること、GAGは線維の安定化には寄与しないことも明らかにした。マウス老化アミロイドーシスにおけるApoA-IIアミロイド線維形成に関与するアミノ酸組成の検討では、線維形成には16番目のGlnが最重要であり、次いで5番目のGlnが重要であることが示唆されたが、アミロイド好発性と抵抗性の違いをまだ十分説明できなかった (樋口)。

アミロイドイメージング用プローブを探索研究では、BF-227がヒトのアミロイドーシス各病型とアミロイドーシス動物モデルのアミロイドのいずれとも高い結合性を示した。アミロイドーシス動物モデルにアミロイド標識プローブとして [ $^{11}$ C]BF-227を投与し、in vivo micro PET画像及びex vivoオートラジオグラフィを観察し、両試験において脾臓への高い集積を確認し得た (工藤)。

老化アミロイドーシスモデル及びADモデルマウスにブドウ種子由来ポリフェノール (GSE) を投与した所、小胞体ストレス抑制効果を認めたが、アミロイド沈着に変化を認めなかった (前田)。

大腿の陳旧性血腫性病変に伴う限局性アミロイドーシスのアミロイド蛋白は既知のアミロイド蛋白に対する抗体とは反応しなかった (石原)。

#### D. 考察

1) アミロイドーシスの疫学：近年の本症による特定疾患受給者数は約 1000 名／年であり、過去 20 年以上に渡り増加を続けており、本症に対する認識が高まり診断が増加していることが示唆される。臨床調査個人票によるデータは、受給対象が免疫グロブリン性および老人性 TTR アミロイドーシス、家族性アミロイドーシスに限られている

ことからこれらの病型に限定されていること、特定疾患を申請しない患者は含まれないこと、都道府県によるデータの電子入力率が 6 割程度に留まっていることなどの制約を受けている。2003-2005 年度のデータ解析を行ったが、興味深いことには、家族性アミロイドーシスの都道府県別有病率 (人口 100 万対) は、常に長野、熊本、石川の順で一定しており、石川は長野、熊本に次ぐ FAP の集積地であることが明らかになった。

2) AL アミロイドーシス：中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法からなる原発性 AL アミロイドーシスの新規治療プロトコルを作成し、全国 11 施設が参加する臨床試験を行った。中等量メルファランによる寛解導入療法は、安全性には問題ないこと、幹細胞採取効率や寛解導入効果の面では不十分であること、また血液学治療効果と臨床的効果 (臓器反応性) がみられることが明らかになった。今後、より効率のよい幹細胞採取方法の確立、移植前処理の効果が期待される。また、最近、プロテアソーム阻害薬ボルテゾミブの有用性が報告されており、次期プロトコルとしてボルテゾミブを組み込んだ寛解導入と自家末梢血幹細胞移植の併用を検討している。

また、自家造血幹細胞移植併用メルファラン大量療法により臨床的寛解ばかりでなく組織学的改善 (アミロイド沈着の減少) がみられることが示され、積極的治療の有用性が明確にされた。さらに、心不全を有する高リスク例に対する risk adapted approach による自家造血幹細胞移植併用メルファラン大量療法の有用性を示唆する結果を得た。末梢神経障害を主徴とする AL アミロイドーシスにおいても、本療法は末梢神経障害の進行を停止させ、症状を改善させることが期待されることが示された。

さらに、メルファラン大量療法の非寛解例に対するサルベージ療法として、サリドマイド療法、RIST (ミニ移植) が有力な治療選択肢になりうることを示した。

また、AL アミロイド沈着の有無に関わらず尿中軽鎖 2 量体 (特に  $\lambda$  鎖) が存在していることが腎障害に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

AL アミロイドーシスの新規治療戦略として、抗 NF- $\kappa$ B 療法の開発をめざして研究を行い、抗 NF- $\kappa$ B 活性のあるデキサメサゾンとバイカレインを併用した治療法の可能性が示唆された。今後、形質細胞の生存能と NF- $\kappa$ B 活性、p53 遺伝子変異の有無等の関係を解明していく必要がある。

AL 特異抗体作製では、A $\lambda$  アミロイドーシスのアミロイド中に $\lambda$ 鎖 C 末端部分が含まれていること、アミロイド沈着物中に定常領域主体のフラグメントを含んでいる A $\lambda$  アミロイドーシス例が存在することが明らかになった。今後、この抗体の診断や治療への応用が期待される。

呼吸器系に生じる限局性 AL アミロイドーシスの中には、多臓器に多発する結節性アミロイド沈着を来す例がある。こうした、多発性限局性 AL アミロイドーシスは全身性 AL アミロイドーシスとは区別されなければならない注意すべき病態と考えられる。

2) AA アミロイドーシス：AA アミロイドーシス診断時無症候群の解析により、RA 経過中に AA を無症候時に早期診断できた例は積極的な RA のコントロールにより予後及び経過は良好であり、リスク保有者の早期診断の重要性が明確になった。メソトレキセート導入後本症の予後は改善した。

抗 IL-6 療法、抗 TNF $\alpha$  療法等の抗サイトカイン療法はいずれも本症の進行阻止に有用であるが、その中で特にトシリズマブによる IL-6 阻害療法が他と較べてより有効性が高いことが示唆された。AA 関連疾患において、抗 IL-6 療法の有効性が実証され、IL-6 阻害が SAA 抑制に最も有効であった。そこで、トシリズマブによる AA 合併 RA に対する全国多施設共同臨床試験を円滑に実施するために AA アミロイドーシス臨床研究会を設立した。治療開始前の観察期間のプロトコルに加え、今後、第 2 段階の投与期間におけるプロトコルを確立する。これは世界初の臨床試験であり、本治療により難治性の本症が完全に制御されるようになることが期待される。

SAA1 の測定系の構築に成功した。現行の SAA 総濃度測定値は、ほぼ SAA1 の値を代表しているとみなしてよいと考えられた。また、生検消化管粘膜から微量の AA を抽出し定量する方法を確立

した。病理学的評価法を補足する有用な AA アミロイドの評価法と考えられる。また、新しい抗 SAA1.83-95 抗体を作製したが、この抗体は昨年報告した抗 SAA1.81-93 抗体よりも免疫組織化学的診断能に優れた抗 SAA1 抗体を作成し得た。

高 SAA 血症マウスにおける肝遺伝子発現解析により、AA アミロイドーシスにおける脂質代謝異常の関与、フェノフィブラートの AA 予防効果などを示した。また、AA アミロイドーシスのモデルで雌雄差の影響が明らかになり、エストロゲン及びエストロゲン受容体を介した抗炎症機構が本症の発症に寄与していることが考えられた。

これらの基礎研究の結果は、本症の診断や評価に有用であり、発生病理解明、予防治療法開発の足がかりとなる成果である。

3) FAP：わが国第 3 の FAP 集積地であることが判明した石川県の FAP は Val30Met 型が大多数であるが、その臨床的特徴（高齢発症で家族性発症）は二大集積地である長野、熊本（若年発症で家族性発症）あるいは全国に散在する非集積地の Val30Met 型 FAP 例の特徴（高齢発症で孤発性で男性が多い）とは異なっていた。わが国の TTR Val30Met 型 FAP には (i)early-onset and endemic type（長野、熊本）、(ii)late-onset and endemic type（石川）、(iii)late-onset and non-endemic type（全国に散在）の 3 臨床病型が存在することが明らかになった。

Val30Met 型 FAP では加齢に伴い野生型 TTR の沈着が増加することが明らかになった。それは臓器によって異なる可能性がある。このことは老人性 TTR アミロイドーシスでは正常型 TTR が沈着することを考えると非常に興味深い。今後、FAP で野生型 TTR の沈着に関わる因子や臨床症状との関連などを明らかにしていく必要がある。国内初の Val71Ala 変異、世界初の Val94Gly 変異の FAP 患者を報告し、FAP の多様性や FAP 非典型例が見逃されている可能性があらためて示された。

FAP に対する肝移植の有用性はほぼ確立しているが、その問題点が本研究で明らかになった。TTR Y114C 変異を有する遺伝性 CAA における肝移植の有効性が示されたことは重要である。TTR は脳脈絡叢からも産生されるため、中枢神経系へ

のアミロイド沈着には肝移植が有効ではない可能性も考えられていたが、肝移植の有効性を示す本研究成果は、この変異に伴う CAA では肝由来の血中の TTR が血液脳関門を越えて脳内に入り沈着している可能性を示している。肝移植 10 年後の FAP 剖検例の解析により、肝移植では心臓、眼の新たなアミロイド沈着を抑制できないことが示唆され、FAP 患者への肝移植の適応では移植前の心アミロイドーシスの評価が特に重要であることが明らかになった。FAP 肝のドミノ移植を受けたドミノレシピエントの検討では、組織へのアミロイド沈着が肝移植後数年で病理組織学的に明らかになり、予想以上に早期に FAP を発症する危険性が示された。実際にドミノ移植で FAP 肝を移植されたレシピエントが移植 7 年後にニューロパチーを発症したことにより、FAP 肝のレシピエントは、従来考えられていたより早くアミロイド沈着をおこすばかりでなく、医原性というべきアミロイドニューロパチーを発症することが明らかになった。これは FAP の関与するドミノ肝移植において、十分留意されなければならない。今後、すべてのドミノレシピエントについて同様の調査が必要である。

TTR アミロイドの沈着機構とその制御に関する研究では、変異 TTR のエネルギー学的な安定性がアミロイド原性や細胞からの分泌効率を規定することにより FAP の病態を形成していることから、その修飾が治療法開発のキーであることが明らかになった。FAP モデルマウスへの FAP アミロイド線維投与実験の結果から、TTR 線維形成は他のアミロイドとは異なり、seeding に依存しない可能性が示唆された。siRNA を用いた FAP の遺伝子治療法を開発した。インターフェロン誘導など解決すべき問題点も多いが、siRNA の高い抑制効果から、今後臨床応用へ向けた進展が期待される。FAP の TTR Val30Met 変異を導入した TG ラットの作製に成功した。本モデルでは肝移植実験が容易であり、本 TG ラットは肝移植前後などの異型 TTR 代謝動態の解析に有用と考えられる。その他では、TTR のニトロソ化反応が TTR アミロイド沈着に重要な役割を果たすこと、血中アルブミンが TTR のアミロイド形成に抑制的に働くことなどが示され、TTR アミロイド形成の修飾因

子が明らかになった。

4) 透析アミロイドーシス：透析の長期化、高齢であることが、本症合併の危険要因であることが確認された。わが国では腎移植数が少ないことから、透析の長期化、患者の高齢化の傾向は今後もますます強まるものと予想され、本症の予防、治療法の進歩、確立のニーズが高まるものと考えられる。一方、献腎移植を受ける透析患者では長期透析例で透析アミロイドーシスを合併しやすく、腎移植が症状の改善や進行の抑制に有効であることが示された。腎移植後に投与される免疫抑制薬の抗炎症作用によって透析アミロイドーシスの症状が改善している可能性もある。移植時進行例もあると考えられ、更なる治療法の確立が望まれる。さらに、透析患者における MIF の検討より、MIF は透析アミロイドーシス滑膜病変の進展に関与している可能性が考えられた。また、破骨様細胞の解析により、透析アミロイドーシスの進展に AGE 化  $\beta 2$ -m による破骨細胞の活性化が寄与している可能性が示唆された。

*In vitro*  $\beta 2$ -m アミロイド線維形成系を用いた実験で、リゾリン脂質、遊離脂肪酸が透析患者の生体環境下で  $\beta 2$ -m 線維形成を誘起する可能性があることが明らかになった。透析患者では血漿リゾフォスファチジン酸濃度が増加していることから、これらはアミロイド沈着の危険因子として作用しており、それらの制御は本症の治療、予防につながる可能性がある。

本症のモデルとなるヒト  $\beta 2$ M 高発現 Tg マウス作製に成功した。本マウスモデルは本症の病態解明、治療法開発上の有用なツールになることが期待される。

5) 脳アミロイドーシス： $A\beta$  産生酵素である  $\gamma$  セクレターゼ活性を修飾するプレセニリン複合体の構成因子として新たに TMP21 を同定した。Aph-1 と結合し  $\gamma$  セクレターゼ活性を調節する際の  $\gamma$  セクレターゼ活性を測定するシステムを構築することができた。Aph-1 が独自の  $A\beta$  産生調整能を有している可能性が示唆され、今後、そのメカニズムを明らかにすることは AD の治療法開発の手がかりとなる可能性がある。

酸化ストレスが BACE1 の発現増加を介して AD の病態に関与している可能性があることが示

唆された。慢性低灌流ラットモデルで A $\beta$ 産生が促進される結果が得られた。これは、脳血管障害がAD発症に促進的に作用する修飾因子として作用する可能性を示唆する結果と考えられる。

AD 患者脳脊髄液の解析により、AD では fA $\beta$  形成に適した髄液環境を有しており、その検出や制御が診断や治療の重要な標的であることが明らかになった。NSAIDs が濃度依存性に fA $\beta$  形成反応を抑制し既成 fA $\beta$  を不安定化することを示し、NSAIDs の抗 AD 作用には、従来報告されていた抗炎症作用、抗 $\gamma$ セクレターゼ作用の外に、抗アミロイド凝集作用があることが明らかになった。また、これまでに報告したポリフェノールの抗 A $\beta$ 凝集や fA $\beta$ 不安定化作用の機序を解析し、ポリフェノールは、A $\beta$  monomer よりも fA $\beta$ 線維構造に優先的かつ可逆的に結合することにより、抗アミロイド効果を及ぼすことが推定された。さらに、女性ホルモンが A $\beta$ 凝集抑制作用および不安定化作用を有することが明らかになり、女性ホルモンが生体内でAD発症に抑制的に働いており、更年期以後の、そのバランス変化がAD発症に促進的に作用する可能性が考えられた。

脳アミロイドーシスモデル動物を用いた研究で、A $\beta$ 42 特異抗体による受動免疫療法により脳に沈着する A $\beta$ 42 の選択的除去が可能であり、アルツハイマー病の病態特異的な治療法として有望と考えられた。また、抗 A $\beta$ 40 特異抗体の投与により脳内 A $\beta$ 40 を選択的に可溶化しアミロイド斑コアと CAA を減少させることが示された。抗 A $\beta$ 40 抗体は CAA に対する有力な治療法になる可能性がある。AD モデルマウス(Tg2576)において末梢性 A $\beta$ クリアランスは低下しており、それが脳からの中枢性 A $\beta$ クリアランスを悪化させ、その病態を増悪する可能性が考えられた。AD の病態に大きな役割を果たすと考えられている A $\beta$ オリゴマーに対する特異抗体を作成し、本抗体がオリゴマーの神経細胞毒性中和作用を有すること、AD 患者脳に本抗体に結合する A $\beta$ オリゴマーが存在することを示した。今後、本オリゴマー抗体はAD治療抗体として有望と考えられた。AD モデルマウスでの研究でリン酸化タウの沈着を伴うADモデル、 $\alpha$ シヌクレイン蓄積モデルマウスの作成に成功した。これらは A $\beta$ アミロイド

ーシス、タウオパチー、 $\alpha$ シヌクレイノパチーの治療法開発上有用なモデルとなる可能性がある。

また、AD 脳への A $\beta$ 沈着に関する Sap あるいは TTR の関与を動物モデルで検討すると、TTR は Tg2576 の脳内 A $\beta$ 沈着を抑制せず、SAP は脳内 A $\beta$ 沈着を促進しなかった。この結果はこれまで TTR 及び SAP のアミロイド沈着に対する作用として報告されてきたことに基づく予想とは異なる結果であり、これらの因子の in vivo における役割についてはさらなる検討を要する。

CAA に関する研究では、世界初の CAA 全国疫学調査を実施し、全国患者数が推計され、本疾患が少なからぬ頻度 (2882 人/5 年) で全国に存在することが明らかになった。また、本研究における多数例の解析により、CAA 関連脳出血の臨床病態が初めて明らかにされた。CAA の脳脊髄液の解析ではADと同様の変化がみられたことから、CAA と AD の密接な関連が示され、AD と同様に脳脊髄液マーカーの解析が CAA 診断に有用である可能性が示唆された。MRI T2\*画像の表在型の CMBs は CAA の診断に有用であることが確認され、感度は低いものの、比較的感度の高い診断マーカーと考えられた。後頭葉、特に皮質分水嶺領域に CMBs が多いことから CMBs の出現には虚血性機序が関与している可能性が考えられた。

アイオワ型 APP 変異例の脳にみられた A $\beta$ 分子の生化学的多様性は、重合・沈着過程に関与し高度な CAA を示す病理像を形成するものと推測された。

ADan・A $\beta$ の両者が沈着している FDD 脳の解析により、ADan・A $\beta$ 両分子の翻訳後修飾・切断が不溶性と重合性に関与し、それら分子の特異的相互作用が共沈着の機序の 1 つとして考えられた。AD 脳のアミロイドが抗 BRI 抗体に反応したことから、AD の A $\beta$ アミロイド沈着に BRI が関与している可能性を今後検討する必要がある。

6) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス：マウス老化アミロイドーシスにおける ApoA-II アミロイド線維形成機構のキーとなる構造が解明された。GAG 等の生体高分子の寄与が明らかになった。本モデルはアミロイド蛋白の 1 次構造、アミロイド線維形成、アミロイド



ーシス発症・伝播の関連を解明するにあたり優れたシステムである。また、GAG 等の生体高分子の修飾はアミロイドーシス全病型に共通する治療戦略となりうる。

アミロイドイメージング開発研究では、BF-227 は、いずれのアミロイド蛋白とも高い結合性を示す優れたプローブ化合物であることが示された。さらに、アミロイドーシス動物モデルにおいて、アミロイド標識プローブ $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ によるアミロイドイメージングに成功した。現在、探索的臨床研究の倫理審査で承認を得た段階であり、来年度以降、患者への臨床応用を開始することが可能となった。

アミロイドーシスモデル動物においてブドウ種子由来ポリフェノール (GSE) のアミロイド沈着抑制効果は明らかではなく、さらに長期間に渡る詳細な検討が必要と考えられた。

大腿の陳旧性血腫性病変に伴うアミロイド沈着は dysphoric な限局性アミロイドーシスであり、未知のアミロイド蛋白による新しいアミロイドーシスの病型である可能性が考えられた。

## E. 結論

アミロイドーシス病型ごとの戦略および全病型に共通する基盤的研究により、疫学調査、治療プロトコル確立、新規診断・予防・治療法開発等を行った。臨床個人調査票に基づき家族性アミロイドーシスの疫学を明らかにした。AL では中等量メルファランによる寛解導入療法と自家末梢血幹細胞移植療法からなる新規治療プロトコルによる全国多施設臨床試験を実施し有用性を評価し、他の治療選択肢 (同種ミニ移植など) を検討し、さらに有用性の高い次期臨床試験プロトコルを提案した。AA では抗サイトカイン療法の有用性を示し、特に IL-6 受容体抗体トシリズマブが優れていたことから、本剤による AA アミロイドーシスに対する世界初の全国多施設臨床試験のための体制を確立した。FAP では新規集積地であることを発見した石川県の FAP の特徴、肝移植後の長期経過に伴う問題点 (移植後の進行、ドミノ肝移植で FAP 肝を移植された患者が医原性アミロイドニューロパチーを発症など) を明らかにし、肝移植によらない新規治療法

(TTR 安定化、siRNA 治療等) を示した。透析アミロイドーシスでは長期透析と加齢がリスクであること、腎移植が症状の改善や進行の抑制に有用であることを報告し、さらにリゾリン脂質、遊離脂肪酸によるアミロイド形成促進を発見し、それらの制御による本症予防・治療の可能性を示した。脳アミロイドーシスでは  $\gamma$  セクレターゼ活性に関与するプレセニリン複合体の新たな構成因子 TMP21 を同定、Aph-1 を介した  $\gamma$  セクレターゼ活性の調節機構、AD 患者脳脊髄液の  $\text{A}\beta$  凝集促進、ポリフェノール、NSAIDs、エストロゲンの抗アミロイド作用と機序、抗  $\text{A}\beta 40$  および  $\text{A}\beta 42$  抗体の治療的有効性を示し、有用な  $\text{A}\beta$  オリゴマー特異抗体およびモデル動物を作成した。また、世界初の CAA 全国調査を実施し、CAA の疫学、臨床像を明らかにした。老化アミロイドーシスマウスの ApoA-II アミロイド線維形成機構解明が進展した。アミロイドイメージング開発では、優れたアミロイド結合性を有するプローブ化合物 BF-227 を用い micro PET によるアミロイドーシスモデル動物におけるアミロイドの画像化に成功し、臨床応用の段階に至った。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

原著	海外	166 件
	国内	17 件
総説	海外	27 件
	国内	154 件

(各年度の主要原著論文を下に示す。)

平成 17 年度

1) Tamaoki T, Tezuka H, Okada Y, Ito S, Shimura H, Sakamoto M, Endo T, Ozaki Y, Kanba S, Maeda S: Avoiding the effect of linked genes is crucial to elucidate the role of *Apcs* in autoimmunity. *Nat Med* 11:11-12, 2005.

2) Sekijima Y, Wiseman LR, Matteson J, Hammarström P, Miller SR, Sawkar AR, Balch WE, Kelly JW: The biological and chemical basis for tissue selective amyloid disease. *Cell* 121:73-85, 2005.

3) Suzuki T, Kiyoi H, Ozeki K, Tomita A, Yamaji S,

- Suzuki R, Kodera Y, Miyawaki S, Asou N, Kuriyama K, Yagasaki F, Shimazaki C, Akiyama H, Nishimura M, Motoji T, Shinagawa K, Takeshita A, Ueda R, Kinoshita T, Emi N, Naoe T: Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Blood* 106:2854-2861, 2005.
- 4) Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, Johkoh T, Nakamura M, Nakano S, Nakano N, Ikeda Y, Sasaki T, Nishioka K, Hara M, Taguchi H, Kimura Y, Kato Y, Asaoku H, Kumagai S, Kodama F, Nakahara H, Hagihara K, Yoshizaki K, Kishimoto T: Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman's disease. *Blood* 106:2627-2632, 2005.
- 5) Li F, Tsuyama N, Ishikawa H, Obata M, Abroun S, Liu S, Otsuyama K, Zheng X, Ma Z, Maki Y, Kawano MM: A rapid translocation of CD45RO but not CD45RA to lipid rafts in IL-6-induced proliferation in Myeloma. *Blood* 105:3295-3302, 2005.
- 6) Ma Z, Otsuyama K, Liu S, Abroun S, Ishikawa H, Tsuyama N, Obata M, Li F, Zheng X, Maki Y, Miyamoto K, Kawano MM: Baicalein, a component of *Scutellaria Radix*, identified from Huang-Ling-Jie-Du-Tang (HLJDT), leads to suppression of proliferation and induction of apoptosis in human Myeloma cells. *Blood* 105:3312-3318, 2005.
- 7) Okamura N, Suemoto T, Furumoto S, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Fujiwara H, Nemoto M, Maruyama M, Arai H, Yanai K, Sawada T, Kudo Y: Quinoline and benzimidazole derivatives. Candidate probes for in vivo imaging of tau pathology in Alzheimer's disease. *J Neurosci* 25:10857-10862, 2005.
- 8) Liu S, Ishikawa H, Li F, Ma Z, Otsuyama K, Asaoku H, Abroun S, Zheng X, Tsuyama N, Obata M, Kawano MM: Dehydroepiandrosterone can inhibit the proliferation of myeloma cells and the interleukin-6 production of bone marrow mononuclear cells from patients with Myeloma. *Cancer Res* 65:2269-2276, 2005.
- 9) Zhang H, Sawashita J, Fu X, Korenaga T, Yan J, Mori M, Higuchi K: Transmissibility of mouse AApoAII amyloid fibrils: inactivation by physical and chemical methods. *FASEB J* 20:1012-1014, 2006.
- 10) Ohnogi Y, Asahara H, Chui DH, Tsuruta Y, Sakae N, Miyoshi K, Yamada T, Kikuchi H, Taniwaki T, Murai H, Ikezoe K, Furuya H, Kawarabayashi T, Shoji M, Checler F, Iwaki T, Makifuchi T, Takeda K, Kira J, Tabira T: Intracellular A $\beta$ 42 activates p53 promoter: a pathway to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *FASEB J* 19:255-257, 2005.
- 11) Korenaga T, Yan J, Sawashita J, Matsusita T, Naiki H, Hosokawa M, Mori M, Higuchi K, Fu X: Transmission of amyloidosis in offspring of mice with AApoAII amyloidosis. *Am J Pathol* 168:898-906, 2006.
- 12) Ikeda M, Shoji M, Kawarai T, Kawarabayashi T, Matsubara E, Murakami T, Sasaki A, Tomidokoro Y, Ikarashi Y, Kuribara H, Ishiguro K, Hasegawa M, Yen SH, Davies P, Chishti M A, Harigaya Y, Okamoto K, Abe K, Carlson GA, St. George-Hyslop P, Westaway D: Accumulation of filamentous tau in the cerebral cortex of human tau R406W transgenic mice. *Am J Pathol* 166:521-531, 2005.
- 13) Kanno T, Yamaguchi K, Naiki H, Goto Y, Kawai T: Association of thin filaments into thick filaments revealing the structural hierarchy of amyloid fibrils. *J Biol Chem* 280:213-218, 2005.
- 14) Kihara M, Chatani E, Sakai M, Hasegawa K, Naiki H, Goto Y: Seeding-dependent maturation of  $\beta_2$ -microglobulin amyloid fibrils at neutral pH. *J Biol Chem* 280:12012-12018, 2005.
- 15) Raman B, Ban T, Yamaguchi KI, Sakai M, Kawai T, Naiki H, Goto Y: Metal ion-dependent effects of clioquinol on the fibril growth of an amyloid  $\beta$  peptide. *J Biol Chem* 280:16157-16162, 2005.
- 16) Ohhashi Y, Kihara M, Naiki H, Goto Y: Ultrasonication-induced amyloid fibril formation of  $\beta_2$ -microglobulin. *J Biol Chem* 280:32843-32848, 2005.

17) Nakaya Y, Yamane T, Shiraishi H, Wang HQ, Matsubara E, Sato T, Dolios G, Wang R, De Strooper B, Shoji M, Komano H, Yanagisawa K, Ihara Y, Fraser P, St. George-Hyslop P, Nishimura M: Random mutagenesis of presenilin 1 identifies novel mutation exclusively generating long amyloid  $\beta$  peptides. *J Biol Chem* 280:19070-19077, 2005.

18) Petit A, Kawai T, Paitel E, Sanjo N, Maj M, Scheid M, et al: Wild-type PINK1 Prevents Basal and Induced Neuronal Apoptosis, a Protective Effect Abrogated by Parkinson Disease-related Mutations. *J Biol Chem* 280:34025-34032, 2005.

19) Saito Y, Yokota T, Mitani T, Anzai M, Miyagishi M, Taira K, Mizusawa H: Transgenic siRNA halted amyotrophic lateral sclerosis in a mouse model. *J Biol Chem* 280:42826-42830, 2005.

20) Nakamura M, Yamashita T, Ueda M, Obayashi K, Sato T, Ikeda T, Washimi Y, Hirai T, Kuwahara Y, Yamamoto MT, Uchino M, Ando Y: Neuroradiologic and clinicopathologic features of oculoleptomeningeal type amyloidosis. *Neurology* 65:1051-1056, 2005.

21) Nakamura M, Yamashita T, Ueda M, Obayashi K, Sato T, Ikeda T, Washimi Y, Hirai T, Kuwahara Y, Yamamoto MT, Uchino M, Ando Y: Neuroradiologic and clinicopathologic features of oculoleptomeningeal type amyloidosis. *Neurology* 65:1051-1056, 2005.

22) Nagotani S, Hayashi T, Deguchi K, Nagano I, Shoji M, Abe K: Reduction of Cerebral Infarction in SHR-SP by Statins Associated with Amelioration of Oxidative Stress. *Stroke* 36:670-672, 2005.

#### H18 年度

1) Yamada M, Variant CJD Working Group, Creutzfeldt-Jakob Disease Surveillance Committee, Japan: The first Japanese case of variant Creutzfeldt-Jakob disease showing periodic electroencephalogram. *Lancet* 367:874, 2006.

2) Iwata K, Fujiwara T, Matsuki Y, Akutsu H, Takahashi S, Naiki H, Goto Y: 3D structure of amyloid protofilaments of  $\beta$ 2-microglobulin fragment probed by solid-state NMR. *Proc Natl Acad Sci USA*

103:18119-18124, 2006.

3) Okuda Y, Takasugi K: Successful use of a humanized anti-interleukin-6 receptor antibody, Tocilizumab, to treat amyloid A amyloidosis. *Arthritis Rheum* 54:2997-3000, 2006.

4) Zhang H, Sawashita J, Fu X, Korenaga T, Yan J, Mori M, Higuchi K: Transmissibility of mouse AApoAII amyloid fibrils: inactivation by physical and chemical methods. *FASEB J* 20:1012-1014, 2006.

5) Kuwano R, Miyashita A, Arai H, Asada T, Imagawa M, Shoji M, Higuchi S, Urakami K, Kakita A, Takahashi H, Tsukie T, Toyabe S, Akazawa K, Kanazawa I, Ihara Y: Japanese Genetic Study Consortium for Alzheimer's Disease: Dynamin-binding protein gene on chromosome 10q is associated with late-onset Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 15:2170-2182, 2006.

6) Korenaga T, Yan J, Sawashita J, Matsushita T, Naiki H, Hosokawa M, Mori M, Higuchi K, Fu X: Transmission of amyloidosis in offspring of mice with AApoAII amyloidosis. *Am J Pathol* 168:898-906, 2006.

7) Murakami T, Paitel E, Kawarabayashi T, Ikeda M, Chishti MA, Janus C, Matsubara E, Sasaki A, Kawai T, Phinney AL, Harigaya Y, Horne P, Egashira N, Mishima K, Hanna A, Yang J, Iwasaki K, Takahashi M, Fujiwara M, Ishiguro K, Bergeron C, Carlson GA, Abe K, Westaway D, St George-Hyslop P, Shoji M: Cortical neuronal and glial pathology in TgTauP301L transgenic mice: neuronal degeneration, memory disturbance, and phenotypic variation. *Am J Pathol* 169:1365-1375, 2006.

8) Kihara M, Chatani E, Iwata K, Yamamoto K, Matsuura T, Nakagawa A, Naiki H, Goto Y: Conformation of amyloid fibrils of beta2-microglobulin probed by tryptophan mutagenesis. *J Biol Chem* 281:31061-31069, 2006.

9) Ban T, Morigaki K, Yagi H, Kawasaki T, Kobayashi A, Yuba S, Naiki H, Goto Y: Real-time and single fibril observation of the formation of amyloid beta spherulitic structures. *J Biol Chem* 281:33677-33683, 2006.

10) Adachi R, Yamaguchi KI, Yagi H, Sakurai K,

Naiki H, Goto Y: Flow-induced alignment of amyloid protofilaments revealed by linear dichroism. *J Biol Chem* 282:8978-8983, 2007.

11) Liu S, Ishikawa H, Tsuyama N, Li FJ, Abroun S, Otsuyama KI, Zheng X, Ma Z, Maki Y, Iqbal MS, Obata M, Kawano MM: Increased susceptibility to apoptosis in CD45(+) myeloma cells accompanied by the increased expression of VDAC1. *Oncogene* 25:419-429, 2006.

12) Nozaki I, Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Ono K, Shirasaki H, Komai K, Kitamoto T, Yamada M: The MM2-cortical form of sporadic Creutzfeldt-Jakob disease presenting with visual disturbance. *Neurology* 67:531-533, 2006.

13) Okamoto M, Okano A, Akamatsu S, Ashihara E, Inaba T, Takenaka H, Katoh N, Kishimoto S, Shimazaki C: Rituximab is effective for steroid-refractory sclerodermatous chronic graft-versus-host disease. *Leukemia* 20:172-173, 2006.

14) Otsuyama KI, Ma Z, Abroun S, Amin J, Shamsasenjan K, Asaoku H, Kawano MM: PPARbeta-mediated growth suppression of baicalein and dexamethasone in human myeloma cells. *Leukemia* 21:187-190, 2007.

15) Deguchi K, Tsuru K, Hayashi T, Takaishi M, Nagahara M, Nagotani S, Sehara Y, Jin G, Zhang H, Hayakawa S, Shoji M, Miyazaki M, Osaka A, Huh NH, Abe K: Implantation of a new porous gelatin-siloxane hybrid into a brain lesion as a potential scaffold for tissue regeneration. *J Cereb Blood Flow Metab* 26: 1263-1273, 2006.

16) Uchihara T, Sanjo N, Nakamura A, Han K, Song SY, St George-Hyslop P, Fraser PE: Transient abundance of presenilin 1 fragments/nicastrin complex associated with synaptogenesis during development in rat cerebellum. *Neurobiol Aging* 27:88-97, 2006.

17) Chatani E, Naiki H, Goto Y: Seeding-dependent propagation and maturation of  $\beta$ 2-microglobulin amyloid fibrils under high pressure. *J Mol Biol* 359:1086-1096, 2006.

18) Yamaguchi K, Naiki H, Goto Y: Mechanism by

which the amyloid-like fibrils of a beta 2-microglobulin fragment are induced by fluorine-substituted alcohols. *J Mol Biol* 363:279-288, 2006.

19) Goto T, Yamashita T, Ueda M, Ohshima S, Yoneyama K, Nakamura M, Nanjo H, Asonuma K, Inomata Y, Watanabe S, Uchino M, Tanaka K, Ando Y: Iatrogenic amyloid neuropathy in a Japanese patient after sequential liver transplantation. *Am J Transplant* 6:2512-2515, 2006.

20) Ono K, Naiki H, Yamada M: The development of preventives and therapeutics for Alzheimer's disease that inhibit the formation of  $\beta$ -amyloid fibrils (fA $\beta$ ), as well as destabilize preformed fA $\beta$ . *Curr Pharm Des* 12:4357-4375, 2006.

21) Hamaguchi T, Ono K, Yamada M: Anti-amyloidogenic therapies: strategies for prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Cell Mol Life Sci* 63:1538-1552, 2006.

22) Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M: Ophthalmic surgery in prion diseases. *Emerg Infect Dis* 443:162-164, 2007.

#### H19 年度

1) Nagai Y, Inui T, Popiel HA, Fujikake N, Hasegawa K, Urade Y, Goto Y, Naiki H, Toda T: A toxic monomeric conformer of the polyglutamine protein. *Nat Struct Mol Biol* 14:332-340, 2007.

2) Sato T, Susuki S, Suico MA, Miyata M, Ando Y, Mizuguchi M, Takeuchi M, Dobashi M, Shuto T, Kai H: Endoplasmic reticulum quality control regulates the fate of transthyretin variants in the cell. *EMBO J* 26:2501-2512, 2007.

3) Miyashita A, Arai H, Asada T, Imagawa M, Matsubara E, Shoji M, Higuchi S, Urakami K, Kakita A, Takahashi H, Toyabe S, Akazawa K, Kanazawa I, Ihara Y, Kuwano R: The Japanese Genetic Study Consortium for Alzheimer's Disease, Consortium Information: Genetic association of CTNNA3 with late-onset Alzheimer's disease in females. *Hum Mol Genet* 16: 2854-2869, 2007.

4) Yazaki M, Mitsuhashi S, Tokuda T, Kametani F,