

図 3. olmesartan の培養液中 $A\beta$ への影響 (黒塗りは毒性が認められた濃度)

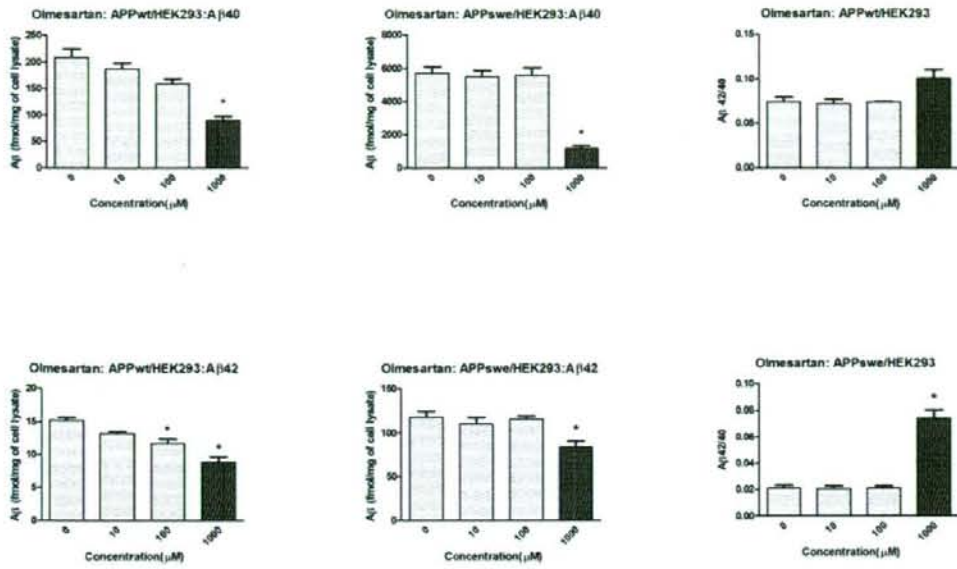
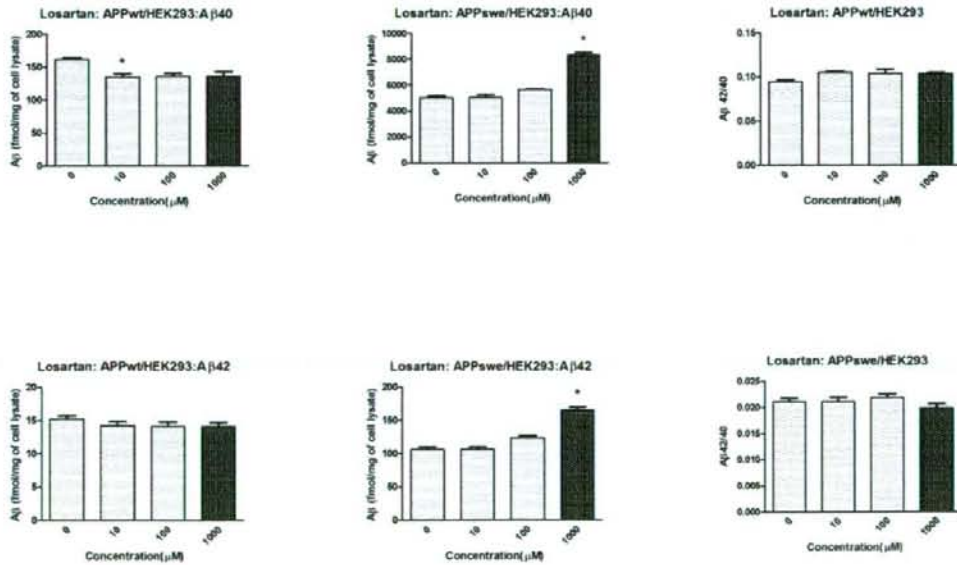


図 4. losartan の培養液中 $A\beta$ への影響 (黒塗りは毒性が認められた濃度)



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 分担研究報告書

抗パーキンソン病薬の β アミロイド蛋白及び α シヌクレイン蛋白 凝集抑制作用

研究分担者 山田正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科)

共同研究者 廣畑美枝*、小野賢二郎*、長谷川一浩**、内木宏延**

*金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科)、

**福井大学医学部病因病態医学講座・分子病理学領域

研究要旨 認知症の主要な原因となる神経変性疾患であるアルツハイマー病 (AD)、レビー小体型認知症 (DLB)の発症には、脳内の β アミロイド蛋白 ($A\beta$)や α シヌクレイン蛋白 (αS)の凝集・蓄積が重要な役割を果たしていると考えられている。近年の疫学研究では、抗パーキンソン病 (PD)薬が抗 PD 効果のみならず、抗 AD 効果も示すことが報告され注目される。 $A\beta(1-42)$ 、 $A\beta(1-40)$ 、及び αS の試験管内凝集反応系を生体条件下で確立し、これらに 6 種類の抗 PD 薬関連化合物 (dopamine, selegiline, levodopa, pergolide, bromocriptine, trihexyphenidyl)を添加し、 $A\beta$ 線維、及び αS 線維形成・不安定化過程に及ぼす化合物の影響を、分光蛍光定量法、電子顕微鏡/原子間力顕微鏡を用いて解析した。その結果、trihexyphenidyl 以外の抗 PD 薬関連化合物は、濃度依存性に $A\beta$ 凝集及び αS 凝集を抑制し、既存の $A\beta$ 凝集体、及び αS 凝集体を不安定化した。特に強い作用を示したのは dopamine であり、有効濃度 (EC_{50}) は生理的濃度であった。 $A\beta$ と αS に対する凝集抑制作用の強弱関係には良い相関がみとめられ、同様の作用機序による可能性がある。これらの抗 PD 薬は、AD や、LBD、PD といった α -synucleinopathies の予防および治療薬開発に向けて有力な基本分子になる可能性がある。

A. 研究目的

アルツハイマー病 (AD)、レビー小体型認知症 (DLB)は、認知症の主要な原因となる神経変性疾患である。これらの疾患の発症には、脳の神経細胞外 β アミロイド蛋白 ($A\beta$)凝集・蓄積 (老人斑)や神経細胞内 α シヌクレイン蛋白 (αS)凝集・蓄積 (Lewy bodies, Lewy neurites) が重要な役割を果たしていると考えられている。また、DLB、パーキンソン病 (PD) 以外に αS 蓄積がみられる疾患には、多系統萎縮症 (MSA)があり、これらはいずれも神経難病である。近年の疫学研究では、抗 PD 薬が抗 PD 効果のみならず、抗 AD 効果も示すことが報告されて注目されている。本研究では、これらの抗 PD 薬が $A\beta$ 、及び αS 凝集に対する作用の有無を検討することを目的とした。

B. 研究方法

$A\beta(1-42)$ 、 $A\beta(1-40)$ 、及び αS をそれぞれ生体

条件下で凝集 (線維形成) 及び不安定化させる試験管内反応系を確立しており、これらに 6 種類の抗 PD 薬関連化合物 (dopamine, selegiline, levodopa, pergolide, bromocriptine, trihexyphenidyl)を添加して検討を行った。凝集抑制作用の検討では、凝集反応系において形成された $A\beta$ 凝集体、及び αS 凝集体を分光蛍光定量法 (チオフラビン S/チオフラビン T) を用いて経時的に定量・比較し、電子顕微鏡・原子間力顕微鏡による形態観察にて半定量的に解析した。さらに、不安定化作用の検討では、不安定化反応系において、同様に抗 PD 薬の既成凝集体の不安定化作用について解析した。(倫理面への配慮)
 問題なし。

C. 研究結果

解析した抗 PD 薬関連化合物のうち trihexyphenidyl 以外の dopamine, selegiline,

levodopa, pergolide, bromocriptine は、濃度依存性に A β (1-42)線維、A β (1-40)線維の重合・伸長反応、及び α S 線維重合反応を抑制した。さらに、これらの trihexyphenidyl 以外の dopamine, selegiline, levodopa, pergolide, bromocriptine は濃度依存性に既存の A β 線維、及び α S 線維を断片化し、線維構造を不安定化した。特に強い作用を示したのは dopamine であった。その凝集抑制反応 EC₅₀ は A β (1-42) 0.04 mM、A β (1-40) 0.01 mM、 α S 0.53 mM、凝集体不安定化反応 EC₅₀ は A β (1-42) 0.23 mM、A β (1-40) 0.21 mM、 α S 0.91 mM であり、いずれも生理的濃度であった。A β と α S に対する凝集抑制作用の強弱関係には良い相関がみとめられた。

D. 考察

本研究で trihexyphenidyl 以外の dopamine, selegiline, levodopa, pergolide, bromocriptine が濃度依存性に A β (1-42)線維、A β (1-40)線維、及び α S 線維形成抑制作用を有することを見出した。さらに、既に形成された凝集体を不安定化することが確認された。これにより、抗 PD 薬関連化合物は A β 及び α S に対し直接的な凝集抑制作用を及ぼすことが明らかになった。これらの作用の強弱関係は A β (1-42)、A β (1-40)、 α S で良い相関がみとめられており、A β 凝集抑制と α S 凝集抑制は同様の作用機序による可能性がある。

E. 結論

抗 PD 薬関連化合物は、AD や、LBD、PD、MSA といった α -synucleinopathies の予防および治療薬開発に向けて有力な基本分子になる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yamada M. Editorial:

Anti-amyloidogenic/protein-misfolding therapies in amyloidosis and other protein-misfolding disorders. *Curr Pharm Des* 14: 3203-3204, 2008.

2) Ono K, Hirohata M, Yamada M: α -synuclein assembly as a therapeutic target of Parkinson's disease and related disorders. *Curr Pharm Des* 14: 3247-3266, 2008.

3) Hirohata M, Ono K, Yamada M: Non-steroidal anti-inflammatory drugs as anti-amyloidogenic compounds. *Curr Pharm Des* 14: 3280-3294, 2008.

4) Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Yamada M: Non-steroidal anti-inflammatory drugs have potent anti-fibrillogenic and fibril-destabilizing effects for α -synuclein fibrils in vitro. *Neuropharmacology* 54: 620-627, 2008.

5) 石田千穂, 山田正仁: 脳アミロイド・アンギオパチー. 高嶋修太郎 (編) 必携 脳卒中ハンドブック 128-131, 2008.

6) 浜口毅, 山田正仁: 脳アミロイドアンギオパチーとアルツハイマー病. *臨床検査* 52: 266-272, 2008.

2. 学会発表

1) Yamada M: Cerebral Amyloid Angiopathy: Epidemiology, Clinical Features and Genetic Risk Factors. Alzheimer's Association, the 11th International conference on Alzheimer's disease, Chicago, USA, 7. 26-31, 2008.

2) Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Yamada M: Non steroidal anti inflammatory drugs have potent anti α -synuclein fibril effects in vitro. Alzheimer's Association, the 11th International conference on Alzheimer's disease. Chicago, USA, 7.26-31, 2008.

3) Morinaga A, Hirohata M, Ono K, Yamada M: Estrogen exhibits anti-amyloidogenicity for β -amyloid fibrils in vitro. Alzheimer's Association, the 11th International conference on Alzheimer's disease, Chicago, USA, 7.26-31, 2008.

4) Morinaga A, Hirohata M, Ono K, Yamada M: Estrogen has anti-amyloidogenic effects on Alzheimer's β -amyloid fibrils in vitro, International Symposium on Innovative Brain Science for Development, Learning, Memory and Autism, Kanazawa, 7. 17, 2008.

5) Yamada M: Cerebral amyloid angiopathy at the crossroads of stroke and dementia. UCLA Medical

Center Seminar, Los Angeles, 7. 25, 2008.

6) 廣畑美枝, 小野賢二郎, 森永章義, 山田正仁: NSAIDs は α -シヌクレイン蛋白凝集抑制作用および不安定化作用を有する. 第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5. 5-17, 2008.

7) 森永章義, 廣畑美枝, 小野賢二郎, 山田正仁: 女性ホルモンによる β アミロイド線維形成・伸長抑制および不安定化作用. 第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5. 5-17, 2008.

8) 廣畑美枝, 小野賢二郎, 森永章義, 山田正仁: NSAIDs は α -シヌクレイン蛋白凝集抑制作用および不安定化作用を有する, 第 27 回日本認知症学会学術集会, 前橋, 10. 10-12, 2008.

9) 森永章義, 廣畑美枝, 小野賢二郎, 山田正仁: エ

ストロゲンの β アミロイド線維形成・伸長抑制および不安定化作用, 第 27 回日本認知症学会学術集会, 前橋, 10. 10-12, 2008.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 (申請中を含む)

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

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班 分担研究報告書

lipid rafts における蛋白凝集体の蓄積について

研究分担者 東海林幹夫 弘前大学医学部医学科

共同研究者 瓦林毅*、若佐谷保仁*、清野祐輔*、高村歩美*、中畑直子*、渡辺有希子*、
渡辺光法* 松原悦朗*

*弘前大学医学部医学科

研究要旨 中年期の高コレステロール血症がアルツハイマー病(AD)の危険因子であること、その治療薬である statin の投与が AD の危険率を減少させることなどから、AD はコレステロール代謝性疾患であると考えられつつある。我々は脳アミロイドモデル Tg2576、神経原線維変化を再現する TgTauP301L、Lewy 小体様封入体を再現する Tg α SYN を用いて lipid rafts における A β , tau, α -synuclein 蓄積との関係を検討した。Tg2576 では A β 蓄積の超早期から A β oligomer が脳 lipid rafts に蓄積を開始したが、TgTauP301L および Tg α SYN においてもそれぞれ tau および α -synuclein が脳 lipid rafts に蓄積した。Tg2576 に高コレステロール食を投与すると脳 lipid rafts に A β oligomer が増加した。NPC1 KO によるコレステロール代謝障害は lipid rafts に tau, APP, GSK3 β , α -synuclein の蓄積を促進し、リン酸化 tau 陽性の pretangle 蓄積を引き起こした。以上の検討から Lipid rafts は蛋白凝集体蓄積の共通開始部位であり、コレステロール代謝障害は lipid rafts における蛋白蓄積を促進し、AD pathology を促進する可能性が示唆された。lipid rafts におけるコレステロール制御は AD など神経変性疾患の根本的治療法になりうると考えられた。

A. 研究目的

中年期の高コレステロール血症はアルツハイマー病(AD)の危険因子で (Anstey KJ, 2008), 治療薬である statin の投与によって AD の発症率を減少させること (Jick H et al. Lancet 2000) から、AD ではコレステロール代謝障害があるものと考えられる。細胞膜上の microdomain である lipid rafts は A β の産生部位 (Wahrle S, Kawarabayashi T, 2002) で、超早期蓄積部位であること (Kawarabayashi T, 2004) をこれまで示してきた。今回我々は脳アミロイドモデル Tg2576、神経原線維変化を再現する TgTauP301L、Lewy 小体様封入体を再現する Tg α SYN を用いて lipid rafts における A β , tau, α -synuclein 蓄積との関係を検討した。

B. 研究方法

1) Tg2576 脳を 1% Triton-X 入り MBS buffer で 1 時間かけ氷の上で dounce homogenizer で homogenize した。27000 回転 10 分の低速遠心で沈殿を除いた後に不均等蔗糖分画を用いて 4℃, 10 万 g で 19

時間遠心し、lipid rafts を含む各分画を得た。各分画を用いて western blotting を行い、A β の分布を解析した。さらに 8.5 月齢の Tg2576 マウスに高コレステロール食 (5% コレステロール, 10% fat, 2% sodium cholate) (n=5) またはコントロール食 (n=5) を 6 週間投与した。投与後に血漿および脳を採取し、脳蔗糖分画を A β の ELISA および western blotting で解析した。

2) TgTauP301L および Tg α SYN とそれぞれの nontransgenic littermate の脳を上記の方法にて不連続蔗糖分画で分画し、western blotting で tau および α -synuclein の分布を解析した。

3) TgTauP301L マウス に細胞内コレステロール輸送障害を起こす Niemann-Pick type C1 (NPC1) 遺伝子 knock out mouse を掛け合わせ、Tau+NPC-/- (n=4), Tau-NPC-/- (n=3), Tau+NPC+/- (n=20) および Tau+NPC+/+ (n=20) Tau-NPC+/- (n=3), Tau-NPC+/+ (n=3) を得た。半脳から脳蔗糖分画を作成し、western blotting で解析した。半脳から paraformaldehyde 固定パラフィン包埋切片を作成

し、免疫染色を行った。

(倫理面への配慮)

本研究ではヒト検体は用いないので、弘前大学動物実験倫理規定に従った。動物実験では愛護と苦痛の防止に留意した。

C. 研究結果

- 1) Tg2576ではAβ蓄積の超早期の6月齢からAβ oligomerが脳lipid raftsに蓄積を開始した。高コレステロール食Tg2576ではコントロール食投与Tg2576に比べて脳Aβ40, Aβ42の増加と脳lipid rafts分画中へのAβ oligomerの増加を認めた。
- 2) TgTauP301Lでは3ヶ月からlipid raftsにtauの蓄積を認め、加齢と共にlipid rafts分画のtauは増加した。TgαSYNではNonTgに比べてlipid raftsへのα-synuclein蓄積の増加を認めた。
- 3) Tau+NPC^{-/-}の組織学的検討では神経細胞と腫大神経突起にtauが蓄積し、神経細胞内にはlipid raftsのマーカーであるflotillinの蓄積と共にtau, APP, α-synucleinの蓄積を認めた。生化学的にはlipid rafts分画にtau, APP, α-synuclein, そしてtauのリン酸化酵素であるGSK3βの増加を認めた。
- 4) NPC^{-/-}は3月齢以上生きられないため、NPC^{+/-}でそれ以降の加齢による検討を行った。20ヶ月高齢 Tau+NPC^{+/-}ではリン酸化tau陽性pretangleが神経細胞およびグリア細胞に認められた。生化学的にはlipid rafts分画への総tauおよびリン酸化tau蓄積の増加を認めた。

D. 考察

Lipid raftsへはそれぞれの transgenic mouse モデルともその発現蛋白 (Aβ, tau, α-synuclein) の蓄積が認められた。Tg2576 では Aβ は早期から oligomer を形成して蓄積した。よって lipid rafts は蛋白凝集体蓄積の共通開始部位である可能性が示唆された。高コレステロール食投与 Tg2576 では、脳 Aβ 量の増加と共に lipid rafts 分画への oligomer が増加したことより、高コレステロール

血症が脳 lipid rafts の組成を変えて Aβ oligomer を増加させるものと考えられた。

TgTauP301L マウスと NPC1 knock out mouse との掛け合わせでは lipid rafts への tau, APP, α-synuclein, そして GSK3β の増加を認めると共に pretangle 形成の促進を認めた。このことから NPC1 遺伝子の loss of function によるコレステロール輸送障害は lipid rafts における蛋白蓄積を促進し、AD pathology を促進する可能性がある。

E. 結論

Lipid rafts は蛋白凝集体蓄積の共通開始部位であり、コレステロール代謝障害は lipid rafts における蛋白蓄積を促進し、AD pathology を促進する可能性がある。lipid rafts におけるコレステロール制御は AD など神経変性疾患の根本的治療法になりうると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikeda M, Kawarabayashi T, Harigaya Y, Sasaki A, Yamada S, Matsubara E, Murakami T, Tanaka Y, Kurata T, Wuhua X, Ueda K, Kuribara H, Ikarashi Y, Nakazato Y, Okamoto K, Abe K, Shoji M: Motor impairment and aberrant production of neurochemicals in human α-synuclein A30P+A53T transgenic mice with α-synuclein pathology. *Brain Res* 1250:232-241, 2009.
- 2) Wati H, Kawarabayashi T, Matsubara E, Kasai A, Hirasawa T, Kubota T, Harigaya Y, Shoji M, Maeda S: Transthyretin accelerates vascular Aβ deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 19:48-57, 2009.
- 3) Xu W, Kawarabayashi T, Matsubara E, Deguchi K, Murakami T, Harigaya Y, Ikeda M, Amari M, Kuwano R, Abe K, Shoji M: Plasma antibodies to Aβ40 and Aβ42 in patients with Alzheimer's disease and normal controls. *Brain Res*. 1219:169-179. 2008.
- 4) Sasaki A, Kawarabayashi T, Murakami T, Matsubara E, Ikeda M, Hagiwara H, Westaway D,

St.George-Hyslop P, Shoji M, Nakazato Y: Microglial activation in brain lesions with tau deposits: comparison of human tauopathies and tau transgenic mice TgTauP301L. *Brain Res* 1214:159-168, 2008.

5) Miyashita A, Arai H, Asada T, Imagawa M, Shoji M, Higuchi S, Urakami K, Toyabe S, Akazawa K, Kanazawa I, Ihara Y, Kuwano R. GAB2 is not associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese. *Eur J Hum Genet*, in press.

6) Kawarabayashi T, Shoji M, Plasma biomarkers of Alzheimer's disease. *Curr Opin Psychiatry* 21:260-267, 2008.

2. 学会発表

1) Kawarabayashi T, Seino Y, Wakasaya Y, Watanabe M, Kimura T, Suzuki C, Tomiyama M, Matsubara E, Ishiguro K, Westaway D, St.George-Hyslop P, Shoji M: CSF tau correlates with brain tau in tau transgenic mice. ICAD2008, Chicago, Jul 26-31, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

パーキンソン病モデルトランスジェニックマウス（特許第 4174212 号・2008 年 8 月 22 日）

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

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班 分担研究報告書

酸化ストレスによる脂質ラフトのプレセニン1発現増加

研究分担者 玉岡晃 筑波大学臨床医学系神経内科

共同研究者 織田彰子*、**、荒木亘**

*筑波大学臨床医学系神経内科、**国立精神・神経センター神経研究所

研究要旨 酸化ストレスは、アルツハイマー病に蓄積するアミロイドβ蛋白(Aβ)との密接な関連が指摘されている。また、Aβ産生に関わるプロテアーゼであるβセクレターゼ(BACE1)とγセクレターゼ(プレセニン1(PS1)複合体)が、脂質ラフトと呼ばれる膜ドメインに局在し、そこでAβが優先的に産生されることが示唆されている。本研究では、ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞を用いて、酸化ストレス物質である Ethacrynic acid (EA)の負荷が脂質ラフトにおけるこれらのセクレターゼに及ぼす影響を検討した。EA 負荷により、PS1 mRNA、脂質ラフトの PS1 蛋白が増加し、抗酸化物質である NAC によりこの増加は抑制された。酸化ストレスは、PS1 蛋白の発現増加を介して Aβ産生に促進的に作用する可能性が考えられた。

A. 研究目的

アルツハイマー病(Alzheimer's disease;AD)は高齢者の認知症の多くを占める神経変性疾患である。その病態にはまだ不明な点が多いが、AD 脳には病初期から酸化ストレスマーカーや活性酸素種の増加が認められ、AD 病態への酸化ストレスの関与が示唆されている。特に、AD 脳に蓄積するアミロイドβ蛋白(Aβ)と酸化ストレスは密接に関連しており、相互に増加させあうことが指摘されている。Aβはアミロイド前駆体蛋白のβセクレターゼ(BACE1)とγセクレターゼ(プレセニン1(PS1)複合体)による段階的な切断により生成される。最近、酸化ストレスによるこれらのセクレターゼの発現変化が報告されたが、その詳細はまだ不明である。また、脂質ラフトと呼ばれるコレステロールとスフィンゴ脂質に富む膜ドメインにこれらのセクレターゼや Aβが局在しており、Aβが脂質ラフトで優先的に産生されることが示唆されている。

本研究は、酸化ストレスによる脂質ラフトの BACE1 および PS1 複合体の変化を検討し、AD 病態における酸化ストレスの役割の解明に寄与することを目的とした。

B. 研究方法

1. 酸化ストレスによる細胞内 BACE1 およびγセクレターゼ複合体の変化

ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞に、酸化ストレス物質である Ethacrynic acid (EA) を 30μM、20 時間負荷し、細胞内蛋白質の変化をウエスタンブロット解析で検討した。

2. 酸化ストレスによる脂質ラフト内の BACE1 およびγセクレターゼ複合体の変化

細胞を EA で処理した後、1%CHAPS を含むバッファーで処理し、蔗糖密度勾配遠心法により分画し、各画分をウエスタンブロット解析した。

3. 酸化ストレスによる PS1 蛋白増加に対する抗酸化物質の効果

細胞を抗酸化物質である N-acetylcystein (NAC) 2mM で 8 時間前処理した後、EA (30μM)を NAC (2mM)と共に負荷した。細胞内蛋白質および蔗糖密度勾配遠心法により得られた脂質ラフト画分をウエスタンブロット解析した。

4. 酸化ストレスによる PS1 mRNA の変化と、抗酸化物質の効果

細胞を EA (30μM)で 16 時間処理し、細胞中の PS1 mRNA レベルを RT-PCR 法で測定した。次に、細胞を NAC (2mM)で前処理後、EA を NAC と共

に負荷し、PS1 mRNA レベルを測定した。

(倫理面への配慮)
問題なし

C. 研究結果

1. 酸化ストレスによる細胞内BACE1および γ セクレターゼ複合体の変化

EA負荷により、酸化ストレスマーカーの heme-oxygenase-1 (HO-1)の蛋白発現が誘導された。同時に、PS1蛋白レベルの有意な増加が観察された。しかし、他の γ セクレターゼ複合体因子(ニカストリン, APH-1, PEN-2)やBACE1蛋白レベルには変化が認められなかった。

2. 酸化ストレスによる脂質ラフト内のBACE1および γ セクレターゼ複合体の変化

γ セクレターゼ複合体因子および成熟型BACE1蛋白は、主に脂質ラフト画分に局在していた。また、EA負荷により、脂質ラフト画分のPS1蛋白レベルの有意な増加が認められた。しかし、他の γ セクレターゼ複合体因子やBACE1蛋白レベルは変化しなかった。

3. 酸化ストレスによるPS1蛋白増加に対する抗酸化物質の効果

NACにより、EA負荷による細胞内および脂質ラフト画分のHO-1蛋白の増加が抑制された。同時に、PS1蛋白の増加も抑制された。

4. 酸化ストレスによるPS1 mRNAの変化と、抗酸化物質の効果

EA負荷により、PS1 mRNAレベルが有意に増加した。また、NACにより、EA負荷によるPS1 mRNAレベルの増加が抑制された。

D. 考察

我々は本研究において、酸化ストレス刺激が神経系細胞の BACE1 および PS1 複合体に及ぼす影響について検討した。そして SH-SY5Y 細胞を酸化ストレス物質である EA で処理した場合に PS1 mRNA、蛋白が増加すること、この増加は抗酸化物質である NAC により抑制されることを見出した。さらに重要なことに、脂質ラフト画分における PS1 蛋白が EA 負荷により増加し、その増加が NAC により抑制されることも観察された。以上の

結果は、酸化ストレスにより脂質ラフトの PS1 蛋白の発現増加がおこることを示唆している。この脂質ラフトにおける PS1 蛋白の増加は、 γ セクレターゼの活性化を介して A β 産生を増加させる可能性があり、酸化ストレスによる A β 増加のメカニズムに関与している可能性が考えられた。

E. 結論

酸化ストレス物質である EA 負荷により、脂質ラフトの PS1 蛋白の発現が増加し、抗酸化物質である NAC によりその増加は抑制された。酸化ストレスは、PS1 蛋白の発現増加を介して A β 産生に促進的に作用する可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kume H, Oda A, Tamaoka A, Kametani F, Araki W: IGF-1 promotes β -amyloid production by a secretase-independent mechanism. *Biophys Biochem Res Commun*, in press.
- 2) Yokota O, Tsuchiya K, Arai T, Yagishita S, Matsubara O, Mochizuki A, Tamaoka A, Yoshida H, Terada S, Ishizu H, Kuroda S, Akiyama H: Clinicopathological characterization of frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-positive inclusions and Pick's disease. *Acta Neuropathol*, in press.
- 3) 富所康志, 織田彰子, 玉岡 晃: アルツハイマー型認知症におけるオリゴマー形成を好む新規アミロイド β 変異体. *Cognition and Dementia* 7:62-63, 2008.
- 4) 詫間 浩, 辻 浩史, 玉岡 晃: TDP-43 変異と筋萎縮性側索硬化症. *Cognition and Dementia* 7:64-65, 2008.
- 5) 玉岡 晃: アルツハイマー病. *モダンフィジシャン* 28:699-702, 2008.
- 6) 玉岡 晃: アルツハイマー病の予防. *臨床検査* 52:307-313, 2008.
- 7) 玉岡 晃: インスリン分解酵素. *日本臨床* 66 Suppl 1:72-79, 2008.
- 8) 富所康志, 玉岡 晃: NSAIDs. *日本臨床* 66

Suppl 1:478-483, 2008.

2. 学会発表

1) 上野友之, 矢口雅江, 河野 豊, 富所康志, 永田博司, 玉岡 晃: 慢性脳低灌流暴露下におけるアミロイドβタンパクとBACE1の発現. 第27回日本認知症学会, 10.10, 2008.

2) 富所康志, 玉岡 晃, Blas Frangione, Jorge Ghiso: 典型的老人斑を欠く変異型アルツハイマー病アイオワ家系脳の生化学的解析. 第27回日本認知症学会, 群馬, 10.10, 2008.

3) 富所康志, 玉岡 晃, Frangione Blas, Jorge Ghiso: 家族性デンマーク型認知症脳におけるAdanアミロイド分子切断・分解の沈着部位による相違 (Regional brain difference in the degradation of deposited Adan species in familial Danish dementia). 第31回日本神経科学大会, 東京, 7.10, 2008.

4) 玉岡 晃: アルツハイマー病の分子病態と治療 - アミロイドβ蛋白を中心として -. 第39回日本脳科学会, 東京, 6.13, 2008.

5) 織田彰子, 荒木 亘, 玉岡 晃: 脂質ラフトのBACEに対する酸化ストレスの影響. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15, 2008.

6) 上野友之, 矢口雅江, 河野 豊, 角 正美, 富所康志, 一谷幸男, 永田博司, 玉岡 晃: 慢性脳虚血ラットモデルにおける認知学習機能とβアミロイドの産生. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15, 2008.

7) 富所康志, 玉岡 晃: 典型的老人斑を欠く変異型アルツハイマー病Iowa家系脳の生化学的解析. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15, 2008.

8) 玉岡 晃: アルツハイマー病の分子病態と治療戦略. アルツハイマー病治療薬の開発動向と今後の可能性に関するセミナー, 東京, 3.18, 2008.

9) 玉岡 晃: アルツハイマー病の病態と臨床一診断治療から予防に至るまで -. 第18回高齢者介護福祉研究会, 3.8, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

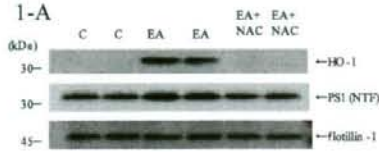
2. 実用新案登録

なし

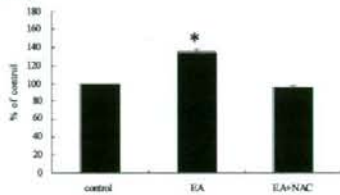
3. その他

なし

図1.EA負荷による脂質ラフト画分の
PS1 蛋白レベルの変化

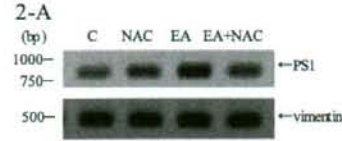


1-A

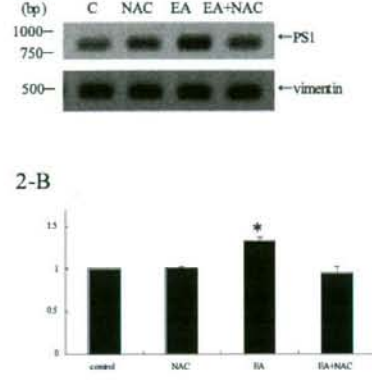


1-B

図2.EA負荷による
PS1 mRNA レベルの変化



2-A



2-B

図1. EA 負荷による脂質ラフト画分の PS1 蛋白レベルの変化

1-A. ウェスタンブロット解析: EA 負荷により, 酸化ストレスマーカーである HO-1 蛋白と共に PS1 蛋白レベルが増加した. この増加は NAC により抑制された.

flotillin-1: 脂質ラフトマーカー

1-B. A における PS1 の定量: EA 負荷により, PS1 蛋白レベルが対照と比べ約 140% に増加し, NAC によりこの増加は抑制された. * $p < 0.05$, compared with control (paired *t*-test).

図2. EA 負荷による PS1 mRNA レベルの変化

2-A. RT-PCR 解析: EA 負荷により, PS1 mRNA レベルが増加した. この増加は NAC により抑制された.

2-B. A における PS1/vimentin 比の定量: EA 負荷により, PS1/vimentin 比が対照と比べ約 1.4 倍に増加し, NAC によりこの増加は抑制された. * $p < 0.05$, compared with control (paired *t*-test).

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班 分担研究報告書

BRI 関連蛋白の機能解析に関する研究

研究分担者 中里雅光 宮崎大学内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野
 共同研究者 塩見一剛、京楽 格
 宮崎大学内科学講座神経呼吸内分泌代謝学分野

研究要旨 英国およびデンマークで発見された家族性認知症を呈する疾患はいずれも BRI 遺伝子の変異に起因していることが明らかとなった。これらの遺伝子異常はまだ国内では報告されていない。BRI 関連遺伝子は 3 種類が同定されており、これまで報告された認知症を来たすものは BRI2 遺伝子異常によるものである。BRI 関連蛋白は A β 蛋白生成や凝集形成との関連が報告されており、アルツハイマー病の発症に関連している可能性が示唆されている。家族性認知症の診断法の確立と BRI 関連蛋白の脳内の分布やアルツハイマー病との関連について検討するため、家族性認知症の原因蛋白である ABri と ADan と BRI の分泌部位に対する抗体を作成し測定系を確立した。ABri と ADan に対する測定系ではそれぞれ感度 20fmol/tube と 70fmol/tube の RIA を構築した。BRI の分泌部位に対する測定系も感度 30fmol/tube の RIA を構築した。BRI に対する抗体による免疫染色では神経細胞内に染色性を認めるとともに、老人斑の A β 染色陽性の周囲に染色性を認めた。今後この測定系を用いてアルツハイマー病における髄液中の BRI 動態を解明し疾患に対する関与について解明したい。

A. 研究目的

Familial British dementia (FBD)は英国で報告された脳血管および間質のアミロイド沈着による家族性認知症で、BRI 遺伝子の変異に起因している。また BRI 遺伝子の他の変異も Familial Danish dementia(FDD)を発症する。いずれも C 末端のアミノ酸残基が延長しアミロイド ABri と ADan を形成する。近年 FDD の原因ペプチド ADan と A β の共沈着が報告されており、また FBD や FDD の前駆蛋白である BRI 関連蛋白がアミロイド前駆蛋白 (APP) のプロセッシングに影響してアミロイド型 A β ペプチドの産生を抑制すると報告がある。今回 FBD や FDD の診断法の確立と BRI の機能解明のためアルツハイマー脳における BRI 関連蛋白について検討するためにその測定系を開発した。

B. 研究方法

FBD および FDD の原因ペプチドの ABri や ADan とこれらの前駆蛋白である BRI2 の分泌型の 23 アミノ酸残基に対する抗体を作成し免疫組織学的検討を行うとともに RIA による測定系を

構築した。

(倫理面への配慮)

研究に際しては、宮崎大学・医の倫理審査委員会の審査、承認を得た。

C. 研究結果

ABri と ADan に対する測定系ではそれぞれ感度 20fmol/tube と 70fmol/tube の RIA を構築した。

BRI2 に対する抗体は神経細胞に染色性を示した (図 1)。また、アルツハイマー病における老人斑において、抗 A β 抗体陽性のアミロイド沈着部位では中心のアミロイドを取り囲むように BRI2 の染色性を示した (図 2)。この抗体を用いた RIA により感度 30fmol/tube の測定系を確立した。

D. 考察

アルツハイマー病において老人斑において抗 A β 抗体陽性のアミロイドの部位に BRI 蛋白が共沈していることが示された。アミロイド前駆蛋白から A β の凝集に関して関与する可能性が示唆され、アミロイド形成に関わっている可能性が示され

た。これまでの報告では、*in vitro* の実験では BRI はアミロイド前駆蛋白のプロセッシングについては抑制的に働くとの報告ほか、BRI の存在下で A β 蛋白のアミロイド形成を促進するという報告がある。近年分泌型の BRI の C 末端は髄液に存在する可能性が示唆され、A β 蛋白のアミロイド形成を阻害したとの報告もある。今後もアミロイド形成への関与について検討が必要である。

E. 結論

BRI 関連蛋白はアルツハイマー病においてアミロイド形成に関与している可能性が示唆され、今後は生体内での動態や作用についてさらに検討する必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1. 神経細胞における BRI2 分泌型の存在

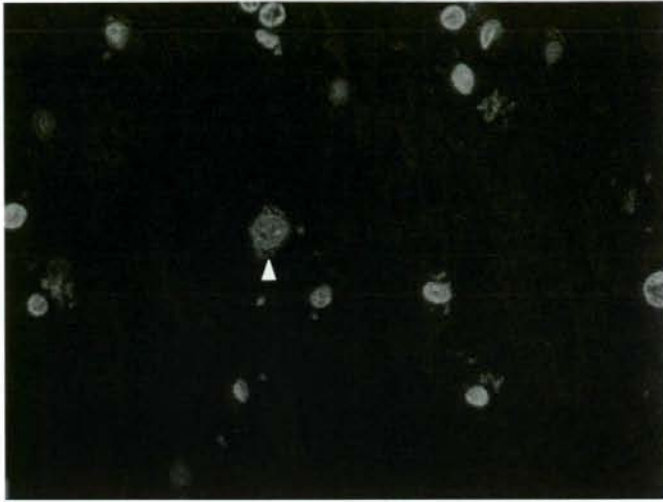
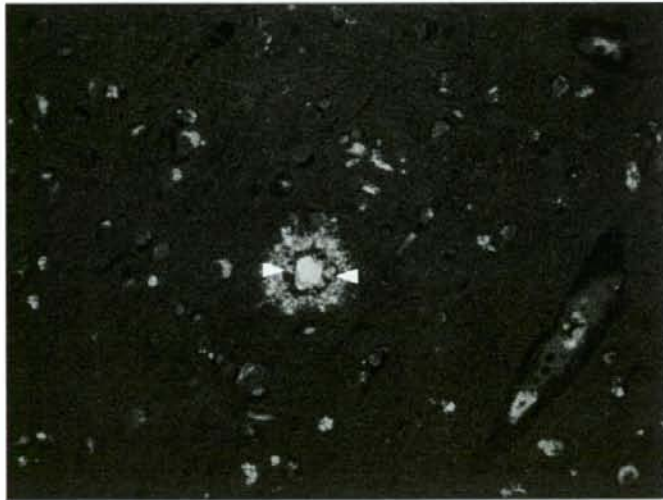


図 2. 老人斑における BRI2 分泌型の存在



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班 分担研究報告書

シクロデキストリン誘導体を用いた FAP のアミロイド線維形成抑制効果 — 新たな治療戦略の展開 —

研究分担者 安東由喜雄 熊本大学大学院医学薬学研究部 病態情報解析学分野

共同研究者 城野博史*、安野貴幸**、本山敬一**、三隅洋平***、大林光念*、植田光晴*、堀端洋子*、有馬英俊**

*熊本大学大学院医学薬学研究部 病態情報解析学分野、**同製剤設計学分野、***同神経内科学分野

研究要旨 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) は、トランスサイレチン (TTR) 遺伝子の変異によって起こる予後不良の遺伝性疾患である。TTR の 90%以上が肝臓で産生されることから肝移植治療が行われているが、病状が進行した患者には無効で、ドナーも不足しているなど多くの問題点がある。従って、肝移植によらない新たな治療法の開発が望まれているが、TTR のアミロイド線維形成を効果的に抑制する方法は未だ見出されていない。本研究では、最近アミロイド線維形成に対し抑制効果を示すことが報告されたシクロデキストリン(Cyclodextrin: CyD) 誘導体を用いて、TTR アミロイド線維形成に対する影響を検討することを目的とした。その結果、分岐 β -CyD は、TTR のアミロイド線維形成を有意に抑制し、TTR アミロイド線維形成過程における β シート構造の増加を抑制した。本抑制効果は、各種分岐 β -CyD 間の分岐糖鎖の差異により大きく変化し、GUG- β -CyD が最も著明なアミロイド線維形成の抑制効果を示した。CyD 誘導体は安全性に優れ医薬品製剤にも広く利用されており、FAP の新規薬物療法としての更なる検討が期待される。

A. 研究目的

トランスサイレチン (TTR) は、通常 4 量体として機能しているが、アミノ酸変異が存在すると、立体構造の変化により単量体へと解離した TTR の一部が更にミスフォールディングをおこし、難溶性のアミロイド線維を形成する。現在、4 量体 TTR 分子の解離の阻害などが試みられているが、臨床的な治療効果は得られておらず、アミロイド線維形成を効果的に抑制する方法は未だ見出されていない。本研究では、アミロイド線維形成メカニズムに基づいた新たな FAP の治療法の開発を最終目的とし、最近アミロイド線維形成に対し抑制効果を示すことが報告されたシクロデキストリン(Cyclodextrin: CyD) 誘導体を用いて、TTR のアミロイド線維形成に対する影響を検討することを目的とした。

B. 研究方法

1. ヒト血清由来の野生型および異型 TTR を、分岐 β -CyD との共存、非共存下でアミロイド線維化させ、重合した β シートと選択的に結合するチオフラビンTを用いて、TTR アミロイド線維形成の定量解析を行った。
2. 円偏光二色性 (CD) スペクトルの解析より、アミロイド線維化に伴う TTR の二次構造変化に対する分岐 β -CyD の影響を検討した。

(倫理面への配慮)

ヒト血清はインフォームドコンセントが得られた健常人ボランティアおよび FAP 患者より採取した。

C. 研究結果

チオフラビンT を用いたアミロイド線維の定量解析の結果、分岐 β -CyD 共存下で、TTR のア

ミロイド線維形成は有意に抑制されていた(図1)。本抑制効果は、各種分岐 β -CyD間の分岐糖鎖の差異により大きく変化し、GUG- β -CyDが最も強い抑制効果を示した。GUG- β -CyDは、野生型TTRおよび異型TTRのアミロイド線維形成を用量依存的に抑制し、その抑制効果には持続性が認められた。さらに、CDスペクトルによるTTRの二次構造解析の結果、GUG- β -CyDは、TTRのアミロイド線維形成による β シート構造の上昇を用量依存的に抑制していた。また、GUG- β -CyDによる本抑制効果は、化学修飾により著明に増強された。

D. 考察

GUG- β -CyDは、TTRのアミロイド線維形成に対して著明な抑制効果を示した。TTRの二次構造解析の結果より、GUG- β -CyDはTTR分子を安定化させ、TTRのミスフォールディング、アミロイド線維形成ならびに重合を抑制していることが示唆された。また、本抑制効果は、CyD誘導体に様々な化学修飾や置換基を導入することでさらに増強される可能性が示された。

E. 結論

CyD誘導体は、TTRのアミロイド線維形成に対して著明な抑制効果を示した。本研究の結果は、TTRのミスフォールディングおよびアミロイド線維形成を標的としたFAPの新たな治療戦略として有用な知見である。CyD誘導体は安全性に優れ医薬品製剤にも広く利用されており、FAPの新たな薬物療法としての更なる検討が期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ando Y, Ueda M: Novel methods for detecting amyloidogenic proteins in transthyretin related amyloidosis. *Front Biosci* 13:5548-5558, 2008.
- 2) Goto S, Seo T, Hagiwara T, Ueda K, Yamauchi T, Nagata S, Ando Y, Ishitsu T, Nakagawa K: Potential relationships between transaminase abnormality and

valproic acid clearance or serum carnitine concentrations in Japanese epileptic patients. *J Pharm Pharmacol* 60:267-272, 2008.

- 3) Kim J, Motomiya Y, Ueda M, Nakamura M, Misumi Y, Saito S, Ikemizu S, Misumi S, Ota K, Shinriki S, Kai H, Ando Y: Role of conformational change in the C-terminus of beta₂-microglobulin in dialysis-related amyloidosis. *Ann Clin Biochem* 45:489-495, 2008.
- 4) Koga T, Lim JH, Jono H, Ha UH, Xu H, Ishinaga H, Morino S, Xu X, Yan C, Kai H, Li JD: Tumor suppressor cylindromatosis acts as a negative regulator for Streptococcus pneumoniae-induced NFAT signaling. *J Biol Chem* 283:12546-12554, 2008.
- 5) Koike H, Kawagashira Y, Iijima M, Yamamoto M, Hattori N, Tanaka F, Hirayama M, Ando Y, Ikeda SI, Sobue G: Electrophysiological features of late-onset transthyretin Met30 familial amyloid polyneuropathy unrelated to endemic foci. *J Neurol* 255:1526-1533, 2008.
- 6) Misumi Y, Ueda M, Ueda A, Hujimori H, Shinriki S, Meng W, Kim J, Saito S, Obayashi K, Nakamura M, Ando Y, Uchino M: Transthyretin forms amyloid fibril at physiological pH with ultrasonication. *Amyloid* 15:234-239, 2008.
- 7) Obayashi K, Olsson M, Anan I, Ueda M, Nakamura M, Okamoto S, Yamashita T, Miida T, Ando Y, Suhr OB: Impact of serotonin transporter and catechol-O-methyl transferase genes polymorphism on gastrointestinal dysfunction in Swedish and Japanese familial amyloidotic polyneuropathy patients. *Clin Chim Acta* 398:10-14, 2008.
- 8) Obayashi K, Sato K, Shimazaki R, Ishikawa T, Goto K, Ueyama H, Mori T, Ando Y, Kumamoto T: Salivary chromogranin A: useful and quantitative biochemical marker of affective state in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Intern Med* 47: 1875-1879, 2008.
- 9) Okamoto S, Yamashita T, Ando Y, Ueda M, Misumi Y, Obayashi K, Horibata Y, Uchino M: Evaluation of myocardial changes in familial amyloidotic polyneuropathy after liver transplantation. *Intern Med* 47:2133-2137, 2008.

10) Ota K, Fujimori H, Ueda M, Shiniriki S, Kudo M, Jono H, Fukuyoshi Y, Yamamoto Y, Sugiuchi H, Iwase H, Shinohara M, Ando Y: Midkine as a prognostic biomarker in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 99:655-662, 2008.

11) Sugamura K, Sugiyama S, Matsuzawa Y, Nozaki T, Horibata Y, Ogawa H: Benefit of adding pioglitazone to successful statin therapy in nondiabetic patients with coronary artery disease. *Circulation Journal* 72: 1193-1197, 2008.

12) Susuki S, Ando Y, Sato T, Nishiyama M, Miyata M, Suico MA, Shuto T, Kai H: Multi-elemental analysis of serum and amyloid fibrils in familial amyloid polyneuropathy patients. *Amyloid* 15:108-116, 2008.

13) Uchiba M, Imamura T, Hata H, Tatetsu H, Yonemura Y, Ueda M, Wada Y, Mitsuya H, Ando Y: Excessive fibrinolysis in AL-amyloidosis is induced by urokinase-type plasminogen activator from bone marrow plasma cells. *Amyloid*, In press.

14) Yamashita T, Ando Y, Ueda M, Nakamura M, Okamoto S, Zeledon ME, Hirahara T, Hirai T, Ueda A, Misumi Y, Obayashi K, Inomata H, Uchino M: Effect of liver transplantation on transthyretin Tyr114Cys-related cerebral amyloid angiopathy. *Neurology* 70:123-128, 2008.

15) Zhao G, Li Z, Araki K, Haruna K, Yamaguchi K, Araki M, Takeya M, Ando Y, Yamamura KI. Inconsistency between hepatic expression and serum concentration of transthyretin in mice humanized at the transthyretin locus. *Genes Cells*, in press.

2. 学会発表

1) Ando Y: FAP disease in different location of the world. The VIIth International Symposium on Familial Amyloidotic Polyneuropathy and Ist International Workshop on Hereditary Amyloidosis. London, United Kingdom, Sep 2-5, 2008.

2) Ando Y: Effect of albumin on amyloid formation in transthyretin. The 23rd JSSX Annual Meeting, Kumamoto, Japan, Oct 30-Nov 1, 2008.

3) Ando Y: A novel diagnostic system in hereditary diagnosis. Symposium on pathology. The 25th World

Congress of Pathology and Pathology update, Sydney, Australia, Mar 13-15, 2008.

4) 安東由喜雄: トランスサイレチン—そのミラクルな機能と役割—. 第 55 回日本臨床検査医学会学術集会, 名古屋, 11.27-30, 2008.

5) 植田光晴, 安東由喜雄: AA アミロイドーシスに対する新たな治療標的の可能性—動物モデルを用いたタクロリムスのアミロイド抑制効果—。イブニングセッション「タクロリムスの可能性を探る」、第 23 回日本臨床リウマチ学会, 横浜, 11.29-30, 2008.

6) 城野博史, 安野貴幸, 本山敬一, 三隅洋平, 堀端洋子, 植田光晴, 有馬英俊, 安東由喜雄: 分岐 β -シクロデキストリンを用いたトランスサイレチンのアミロイド線維形成機構の解析. 第 55 回日本臨床検査医学会総会, 名古屋, 11.27-30, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

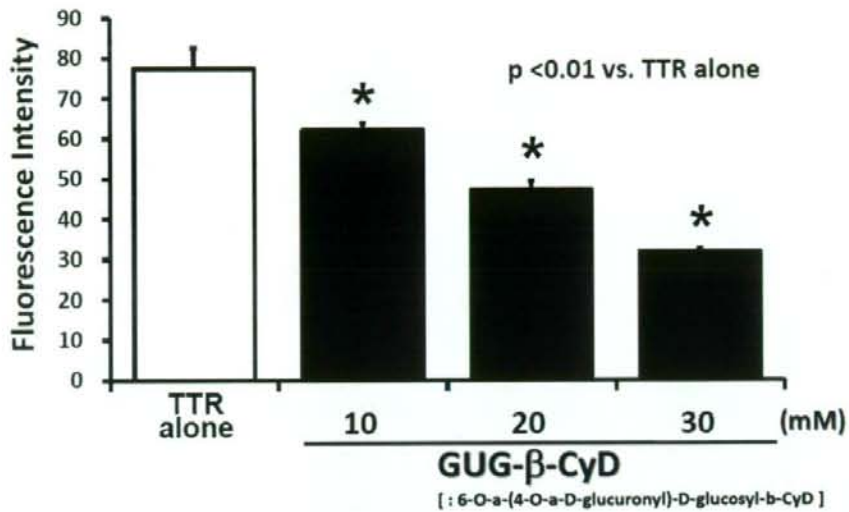
1) 発明の名称: アミロイド線維形成抑制剤
出願番号: 2008-260965
出願日: 平成 20 年 10 月 7 日
発明代表者: 安東由喜雄

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1. β -CyD 共存時の TTR のアミロイド線維形成能評価

分岐 β -CyD との共存、非共存下で TTR をアミロイド線維化させ、チオフラビン T を用いたアミロイド線維の定量解析の結果、分岐 β -CyD 共存下で、TTR のアミロイド線維形成は用量依存的に有意に抑制されていた。

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班 分担研究報告書

2 剖検例の病理組織学的所見からみた家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) 患者に対する肝移植の長期効果

研究分担者 安東由喜雄 熊本大学大学院医学薬学研究部 病態情報解析学
共同研究者 大林光念*、植田光晴*、城野博史*、堀端洋子*、三隅洋平**、山下太郎**
熊本大学大学院医学薬学研究部 *病態情報解析学、**神経内科学

研究要旨 肝移植後 10 年以上フォローした FAP ATTR V30M 患者 2 例の剖検組織を詳細に検討し、FAP に対する肝移植の長期的な効果について病理組織学的に解析した。検討の結果、FAP ATTR V30M 患者 2 例はいずれも肝移植未施行のまま発症後 10 年目に死亡した FAP ATTR V30M 患者 (典型的非移植患者) における剖検所見と比較し、末梢神経、甲状腺、消化管、腎臓をはじめとする多くの諸臓器でごく軽度の TTR アミロイド沈着しか認めず、特に十二指腸へのアミロイド沈着に関しては、剖検時移植前の生検組織像に比べ著しく減少していた。一方、心筋細胞周囲では中等度、さらに舌の小唾液腺周囲では重度のアミロイド沈着を認めた。肝移植後のアミロイド沈着の変化について、全身的に病理組織学的評価を行ったとする報告はこれまでなかったことから、発症早期の FAP 患者に対する肝移植が、臨床症状の進行を抑制するのみならず、移植前に沈着していたアミロイドも著しく減少させていることを実証した本研究結果がもつ意味は極めて大きい。しかしその一方で、肝移植は心臓や舌の小唾液腺へのアミロイド沈着の進行を阻止できない可能性が高い。これらの臓器・器官には、TTR アミロイドの沈着を増長させる何らかの要因が存在している可能性がある。

A. 研究目的

トランスサイレチン (TTR) 型家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) においては、アミロイド前駆蛋白質である異型 TTR のほとんどが肝臓で産生されることから、肝移植治療が広く行われている。本治療法が FAP の進行を抑制し、患者の生命予後を改善する有効な治療法であることは多施設の検討で確認されているが、アミロイドの消退を含む FAP に対する肝移植の長期的な効果については、これまで十分な病理組織学的検討が行われていない。本研究では、肝移植後 10 年以上フォローした FAP ATTR V30M 患者 2 例の剖検組織を詳細に検討し、FAP に対する肝移植の長期的な効果について組織学的に考察する。

B. 研究方法

対象は 28 歳時 (発症後 3 年目) に脳死肝移植を受け、移植後 13 年 10 ヶ月目に死亡した FAP ATTR V30M 患者 (症例 1)、および 47 歳時

(発症後 7 年目) に脳死肝移植を受け、移植後 10 年目に死亡した FAP ATTR V30M 患者 (症例 2) の 2 剖検例。これらの患者から剖検時に採取した諸臓器の組織について、Congo red 染色、および抗 TTR 抗体を用いた免疫染色を施行し、アミロイドや TTR の各臓器への沈着量やその分布について詳細な解析を行い、肝移植未施行のまま発症後 10 年目 (47 歳時) に死亡した FAP ATTR V30M 患者 (典型的非移植患者) における剖検所見と比較検討した。

(倫理面への配慮)

いずれの患者においても、剖検を行うにあたっては、その趣旨を十分説明したうえで、遺族より同意を得た。

C. 研究結果

(1) 症例 1

臨床経過および剖検所見から、死因は心臓への

アミロイド沈着に加え、慢性アルコール中毒に伴う電解質異常が生じたことによる心室細動と考えられた。末梢神経、甲状腺、消化管、腎臓をはじめとする多くの諸臓器で肝移植未施行の剖検例に比べごく軽度の TTR アミロイド沈着しか認めなかった。一方、心筋細胞周囲では中等度、さらに舌の小唾液腺周囲では重度のアミロイド沈着を認めた。

(2) 症例 2

臨床経過および剖検所見から、死因は心臓へのアミロイド沈着に伴う、うっ血性心不全と考えられた。本患者の心臓への TTR アミロイドの沈着量は、上記肝移植未施行の剖検例と比較し、ほぼ同等のレベルであった。一方、本患者の末梢神経における TTR アミロイドの沈着は、肝移植未施行の剖検例と比べ著しく軽度で、小径線維の減少も比較的少なかった。また、甲状腺、消化管、腎臓をはじめとする多くの諸臓器においても、TTR アミロイドの沈着量は肝移植未施行の剖検例に比べ極めて軽度であった。

D. 考察

これまで、肝移植前後の生検サンプルを用いた局所的な組織学的評価、あるいは SAP シンチグラフィを用いた検討などにより、一旦 FAP 患者の組織へ沈着したアミロイドが肝移植後減少、あるいは消失するという報告はあったが、肝移植後のアミロイド沈着の変化について、全身的に病理組織学的評価を行ったとする報告はなかった。したがって、肝移植後 10 年以上経過した FAP ATTR V30M 2 名の剖検組織に関する詳細な検討から、発症早期の FAP 患者に対する肝移植が、移植前に十二指腸に沈着していたアミロイドを著しく減少させていることを実証しえた今回の報告は、極めて貴重なものと考えられる。しかしその一方で、肝移植は心臓や舌の小唾液腺へのアミロイド沈着の進行を阻止できない可能性が高い。これらの臓器・器官には、TTR アミロイドの沈着を増長させる何らかの要因が存在している可能性がある。

E. 結論

発症早期の FAP 患者に対する肝移植は、FAP

の臨床症状の進行を抑制するのみならず、移植前に沈着していたアミロイドも著しく減少させていることが判明した。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ando Y, Ueda M: Novel methods for detecting amyloidogenic proteins in transthyretin related amyloidosis. *Front Biosci* 13:5548-5558, 2008.
- 2) Goto S, Seo T, Hagiwara T, Ueda K, Yamauchi T, Nagata S, Ando Y, Ishitsu T, Nakagawa K: Potential relationships between transaminase abnormality and valproic acid clearance or serum carnitine concentrations in Japanese epileptic patients. *J Pharm Pharmacol* 60:267-272, 2008.
- 3) Kim J, Motomiya Y, Ueda M, Nakamura M, Misumi Y, Saito S, Ikemizu S, Misumi S, Ota K, Shinriki S, Kai H, Ando Y: Role of conformational change in the C-terminus of beta₂-microglobulin in dialysis-related amyloidosis. *Ann Clin Biochem* 45:489-495, 2008.
- 4) Koga T, Lim JH, Jono H, Ha UH, Xu H, Ishinaga H, Morino S, Xu X, Yan C, Kai H, Li JD: Tumor suppressor cylindromatosis acts as a negative regulator for Streptococcus pneumoniae-induced NFAT signaling. *J Biol Chem* 283:12546-12554, 2008.
- 5) Koike H, Kawagashira Y, Iijima M, Yamamoto M, Hattori N, Tanaka F, Hirayama M, Ando Y, Ikeda SI, Sobue G: Electrophysiological features of late-onset transthyretin Met30 familial amyloid polyneuropathy unrelated to endemic foci. *J Neurol* 255:1526-1533, 2008.
- 6) Misumi Y, Ueda M, Ueda A, Hujimori H, Shinriki S, Meng W, Kim J, Saito S, Obayashi K, Nakamura M, Ando Y, Uchino M: Transthyretin forms amyloid fibril at physiological pH with ultrasonication. *Amyloid* 15:234-239, 2008.
- 7) Obayashi K, Olsson M, Anan I, Ueda M, Nakamura M, Okamoto S, Yamashita T, Miida T, Ando Y, Suhr OB: Impact of serotonin transporter and