

- 5) Ishii W, Kishida D, Suzuki A, Shimojima Y, Matsuda M, Hoshii Y, Ikeda S: A case with rheumatoid arthritis and systemic reactive AA amyloidosis showing rapid regression of amyloid deposition on gastroduodenal mucosa after a combined therapy of corticosteroid and etanercept. *Rheumatol Int*, in press.
- 6) 五野貴久、松田正之：AL アミロイドーシスと神経障害. *神経内科* 70:136-142, 2009.

2. 学会発表

- 1) 松田正之、加藤修明、吉田拓、田澤浩一、五野貴久、下島恭弘、石井亘、小山潤、星井嘉伸、池田修一：本邦における全身性 AL アミロイドーシスの臨床像. 当科における 160 例の臨床的解析. 第 106 回日本内科学会総会、東京、4.12、2009.
- 2) 松田正之、五野貴久、森田洋、加藤修明、小平農、吉田拓弘、田澤浩一、下島恭弘、下島吉雄、石井亘、池田修一：免疫グロブリン関連アミロイドーシスにおける末梢神経障害の臨床生理学的検討. 第 50 回日本神経学会総会、仙台、5.19、2009.
- 3) 松田正之：Free light chain 測定の臨床的意義.

第 56 回日本臨床検査医学会総会、シンポジウム「免疫グロブリン検査を見直す」、札幌、8.29、2009.

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

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

無症候性アミロイド沈着 MGUS 例の臨床的検討

研究分担者 麻奥英毅 広島赤十字・原爆病院 検査部

共同研究者 片山雄太*、藤原 恵**

*広島赤十字・原爆病院第四内科、**同病理部

研究要旨 多発性骨髄腫では約 30%にアミロイドの沈着があり、23.3%は無症候性アミロイド沈着であった。MGUS では 8.8%に無症候性の沈着(無症候性アミロイドーシス)を認めた。骨髄腫、MGUS と M 蛋白の型は症候性例ではほとんどが BJP- λ 型であり原発性アミロイドーシスと類似であったが、無症候性例はアミロイド沈着のない例と同様に完全型 M 蛋白例が多かった。骨髄腫では無症候性例でも M 蛋白遊離軽鎖の高い例は遅発性に症候性アミロイドーシスをきたす可能性がある。MGUS では無症候性から症候性への進展はないかごく希と思われた。

A. 研究目的

我々は以前骨髄腫においてアミロイド沈着を認めるもののアミロイドーシス症状のない患者(無症候性アミロイドーシス)が存在することを報告した。今回は Monoclonal gammopathy of undetermined significance(MGUS)における無症候性アミロイドーシスの臨床的特徴を明らかにする。

B. 研究方法

対象は 1998 年から 2009 年までに当院で診断した MGUS102 例、多発性骨髄腫患者(MM) 210 例と原発性 AL アミロイドーシス患者 27 例である。MGUS および MM 患者のアミロイド沈着の有無は全例に初診時腹壁脂肪吸引生検を行い、一部に胃粘膜生検を行って確認した。またアミロイド沈着を認めた症例は継時的に生検を行った。臓器障害の有無は適宜心電図、心エコー、肝腎機能検査を行って確認した。

(倫理面への配慮)

検査に当たっては繰り返し書面で説明し患者、家族の納得のうえ患者の自由意志による同意を得た。

C. 研究結果

多発性骨髄腫の 23.3%に無症候性アミロイド沈着を認めたのに比べ、MGUSでは 8.8% (102例中9例)であった。

原発性 AL アミロイドーシスの平均年齢は 56.8 歳であったが、無症候性アミロイド沈着 MGUS (無症候性アミロイドーシス)は 65.4 歳で MGUS の 68.2 歳と同様であった。M 蛋白のタイプでは無症候性アミロイドーシス例は MGUS と同様に完全型 M 蛋白が多く、 κ 型 $>$ λ 型であり BJP を有する例は少なかった。一方原発性 AL アミロイドーシス患者では BJP - λ 型が多くを占めていた。遊離軽鎖 κ/λ 比の変位はばらつきが多いものの、中央値の比較で原発性 AL アミロイドーシスは MGUS と差を認めた。無症候性アミロイドーシスは症例が少ないため十分な解析ができなかったが κ 型については κ/λ 比の変位は MGUS と同程度と思われた。無症候性アミロイドーシス 9 例中 4 例は長期 (6~13 年) 経過を追えた。4 例ともアミロイド沈着の増加や臓器障害の出現を認めていない。

D. 考察

以前我々は多発性骨髄腫における二次性アミロイドーシスの検討で次の点を報告した。骨髄腫ではアミロイド沈着を約 30%に認めるが 23%は無症候性でありアミロイドーシス症状を呈するのは 7%である。無症候性アミロイド沈着例の M

蛋白のタイプは非沈着例と同じであったが症候性アミロイドーシス合併患者は原発性 AL アミロイドーシスと類似していた。症候性アミロイドーシスの多くは早期に合併するが遅発性の例もある。早期発症例は BJP- λ 型に多いが遅発性発症例は完全型 M 蛋白であり κ 型が多い。遅発性発症例では遊離軽鎖が長期間高い傾向がある。アミロイドの沈着率は骨髄腫の罹病期間が長いほど増加した。

今回 MGUS においても 8.8%に無症候性アミロイドーシスを認めた。頻度は骨髄腫と比較すると少なかった。M 蛋白のタイプは原発性 AL アミロイドーシスと異なり MGUS と類似であった。症例は少ないが長期観察の結果では無症候性アミロイドーシス患者の症候性への進展はみられない。

以上から次のようなことが推測される。アミロイド原性 M 蛋白には質的差がある。つまりアミロイド原性の強いものと弱いものである。強いものは原発性 AL アミロイドーシスや骨髄腫におけるアミロイドーシス早期合併をきたす。弱いものは無症候性アミロイドーシスや骨髄腫の無症候性沈着例となる。しかしアミロイド原性の弱いものでも長期に量的負荷があると症候性アミロイドーシスをきたす。それが骨髄腫のアミロイドーシス遅発例と考えられる。無症候性アミロイドーシスにおいては現時点では症候性への進展はみられていない。M 蛋白量が骨髄腫に比べ微量であるため生体内でのアミロイド代謝のバランスが保たれていると考えられる。しかし今後 MGUS から骨髄腫への進展などを契機にバランスが崩れる可能性もありさらに長期の経過観察が必要である。

E. 結論

MGUS の 8.8%に無症候性アミロイドーシスをみとめた。無症候性アミロイドーシスの M 蛋白は完全型でありアミロイド原性は弱いと考えられる。そのため 6~13 年の経過では症候性への進展は見られない。

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

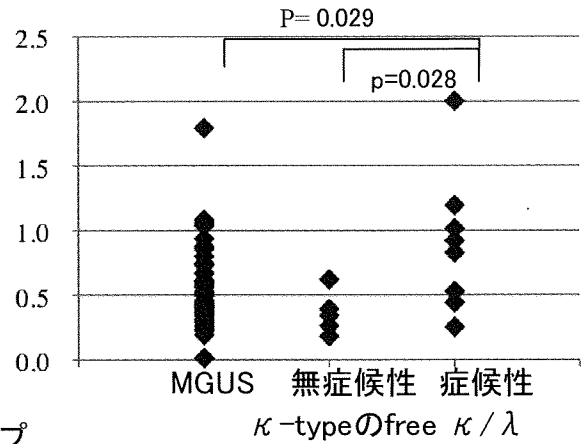
3. その他

なし

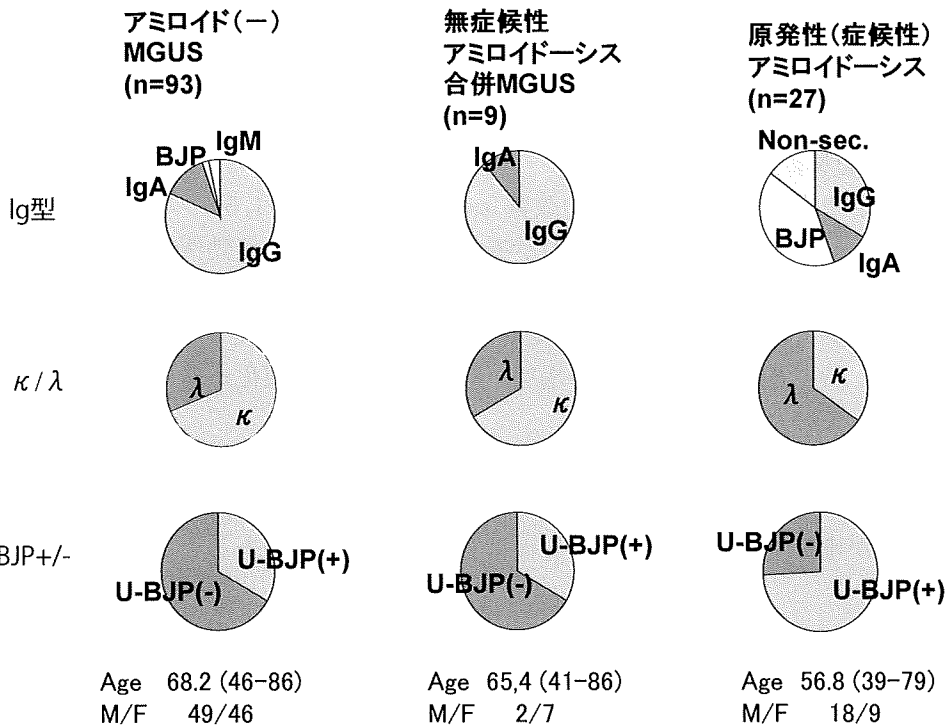
無症候性アミロイドーシスの頻度

MM N=210	amyloid(-)	161	
	無症候性amyloidosis	49	23.30%
MGUS N=102	amyloid(-)	93	
	無症候性amyloidosis	9	8.80%

FLC κ/λ 比の比較



M蛋白タイプ



無症候性アミロイド沈着MGUS例の継時的生検結果

		0	1	2	3	4	5	6	8	7	9	10	11	12	13	yr
H.C.	胃粘膜	+	-	+												
	腹壁脂肪	-	-	-	-	-										
Y.K.	胃粘膜	+	-													
	腹壁脂肪	+				+										
M.A.	胃粘膜	-			-			-								
	腹壁脂肪	-			+			-					+		-	
K.S.	胃粘膜	+			-									+		
	腹壁脂肪	+			+									-		

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

全身性 AL アミロイドーシスに対する自家末梢血幹細胞移植後の 臨床経過と腎組織学的変化の検討

研究分担者 高市憲明 虎の門病院腎センター

共同研究者 星野純一*、澤直樹*、広浜大五郎*、大橋健一**、谷口修一***

*虎の門病院腎センター、**虎の門病院病理部、***虎の門病院血液科

研究要旨 全身性 AL アミロイドーシスに対し、大量メルファラン+自家末梢血幹細胞移植を施行した症例の臨床経過と経時的腎組織変化を比較検討した。対象は患者希望にて経時的腎生検を施行した4例と、剖検例1例の計5例。各組織標本のメサンギウム・係蹄壁・血管壁・尿細管周囲におけるアミロイド沈着の程度を、0=なし、1=軽度、2=中等度、3=高度の4段階半定量法で評価した。併せて硬化糸球体率(硬化/総糸球体数)の推移を検討した。

結果: 完全寛解例では、2年後の血管壁沈着の改善(mean score 2.5→1.5)、4年後の非硬化糸球体における沈着の改善(mean score 1.5→1.5→0.75)が示唆された。反対に、無効例では2年後のメサンギウム・係蹄壁・血管壁の沈着増加を認め、尿細管周囲のアミロイド沈着が2例中1例で新規出現した。一方硬化糸球体率はほぼ全例で経時的に増加した(寛解例:治療前7%→2年後27%→4年後79%、無効例:治療前16%→2年後57%)。特に寛解例は4年後の増加が顕著であった。硬化糸球体部は寛解例においてもアミロイド沈着が残存していた。

結語: 全身性 AL アミロイドーシスに対する大量メルファラン+自家末梢血幹細胞移植は、臨床的寛解が得られた場合、長期的には腎臓におけるアミロイド沈着を改善する可能性が示唆された。但し寛解例においても硬化糸球体が増加する傾向を認め、今後留意していく必要があると思われた。

A. 研究目的

全身性 AL アミロイドーシスに対する大量メルファラン+自家末梢血幹細胞移植(以下HDM+SCT)による積極的治療の臨床的有用性が明らかになりつつある。しかし同治療後の組織学的な検討は少ない。今回同治療後の臨床経過と経時的腎組織変化の比較検討を目的とした。

B. 研究方法

HDM+SCTを施行し、患者希望による経時的腎生検を施行しえた症例(4例)、及び剖検例1例の腎組織標本(Congo Red染色・Direct Fast Scarlet染色)を用いた。Case 1,2はHDM+SCT後2,4年後、Case 3は4ヶ月後、Case 4は2年後の経時的腎生検標本で、Case 5は約2年後(22ヶ月後)の剖検標本で評価した。各標本のアミロイド沈着は、複数の専門医により、メサンギウム・係蹄壁・血

管壁・尿細管周囲について、それぞれ0=沈着なし、1=軽度、2=中等度、3=高度の4段階半定量法で評価した。次に硬化糸球体の割合を硬化糸球体数/総糸球体数を検討した。

それぞれのパラメーターの推移を、臨床的寛解群(Case 1~3)と無効群(Case 4,5)の2群について比較検討した。臨床的効果判定は、Consensus opinion from the 10th international symposium on Amyloid and Amyloidosis に準じて評価した。

(倫理面への配慮)

本研究実施前より当該治療(HDM+SCT)は院内審査委員会の承認のもと患者の書面による承諾を得て実施されている。本研究はその臨床資料を用いた調査研究である。

C. 研究結果

検討例 5 例の臨床的背景・治療条件を示す(表 1)。全例、腎機能は正常範囲でネフローゼ症候群を呈し、腎臓を含む複数臓器で組織学的に AL アミロイドが証明された全身性 AL アミロイドーシス症例である。

非硬化糸球体におけるアミロイドのメサンギウム領域への沈着は、寛解群では 0, 2, 4 年後にそれぞれ Case 1: 2→2→1, Case 2: 1→1→0.5 と推移し、4 年後のアミロイド沈着改善が示唆された。一方無効群では、2 年後に Case 4: 1→2, Case 5: 1→3 と沈着増加を認めた。糸球体沈着は寛解群では著変を認めなかったが、無効群では 2 年後に Case 4: 0→1, Case 5: 0→3 と沈着増加を認めた(図 1)。

血管壁沈着は、寛解群では 0, 2, 4 年後にそれぞれ Case 1: 3→2→1, Case 2: 2→1→0.5 を示し、2 年後からのアミロイド沈着改善が示唆された。一方無効群では、2 年後にそれぞれ Case 4: 1→2, Case 5: 1→3 と沈着増加を認めた。尿細管周囲沈着は Case 1~4 では経過を通じて陰性だったが、無効群の Case 5 のみ治療 2 年後に中等度の新規出現を認めた(図 2)。

一方硬化糸球体率は 0, 2, 4 年後に Case 1: 14%→11%→85%、Case 2: 0%→42%→72%、0, 2 年後に Case 4: 2%→48%、Case 5: 30%→65% と両群とも増悪を認めた。特に寛解群では、血液学的・臨床的寛解が継続しているにも関わらず、4 年後の硬化糸球体率の著明な増加と、硬化糸球体部でのアミロイド沈着の残存を認めた。Case 3 は 4 ヶ月目の評価となったため、いずれの検討項目でも組織学的変化を示さなかった。

D. 考察

以前我々は同治療後の組織学的改善の可能性を報告してきた。今回の検討は、より長期かつ多数例の検討においても、完全寛解群では、腎組織での非硬化糸球体および血管壁のアミロイド沈着が改善する可能性が示唆された。また血管壁沈着は 2 年後に改善傾向を認めたのに対し、糸球体沈着は 2 年後には不変だが 4 年後に改善する傾向を認めた。一方無効群においては、各部位ともに経時的なアミロイド沈着の増加を認め、従来の報告同様、血清学的・臨床的寛解がアミロイドーシスの

病態進行阻止に重要であると考えられた。

また、今回新たに認めた知見として、寛解群における治療 4 年後の硬化糸球体率の著明な増加が挙げられる。無効群の 4 年後の検討ができないため、両群を比較することはできなかったが、少なくとも、完全寛解例で血清クレアチニン値が不変の場合においても、糸球体硬化・尿細管線維化が増加する可能性が考えられた。硬化・線維化の原因は明らかではないが、完全寛解後数年後に生じており、アミロイド沈着自体の影響よりも、HDM+SCT に伴う合併症である可能性も考えられた。今後は組織硬化進行の可能性も加味した治療法の開発が必要であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamazaki O, Ubara Y, Suwabe T, Nakanishi S, Hoshino J, Sawa N, Hayami N, Yamanouchi M, Takemoto F, Takaichi K, Masuoka K, Oohashi K: Successful treatment of primary AL amyloidosis by VAD therapy, high-dose melphalan, and autologous stem cell transplantation. *Clin Exp Nephrol*, 13: 522-525, 2009.
- 2) 高市憲明: アミロイド腎症. 専門医のための腎臓病学 第 2 版(監修 下条文武、編集 内山聖、富野康日己、今井裕一) 医学書院、P446-453, 2009.

2. 学会発表

- 1) 星野純一、乳原善文、長谷川詠子、山内真之、早見典子、諏訪部達也、澤直樹、竹本文美、谷口修一、高市憲明: 全身性 AL アミロイドーシスに対する治療法. 第 5 2 回日本腎臓学会学術総会、横浜、6.3、2009.
- 2) Hoshino J, Ubara Y, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hayami N, Suwabe T, Sawa N, Takemoto F, Taniguchi S, Takaichi K. Treatment of AL amyloidosis; comparison of high-dose melphalan, low-dose chemotherapy, and no therapy. ASN Renal Week 2009, San Diego, 10.31, 2009.

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

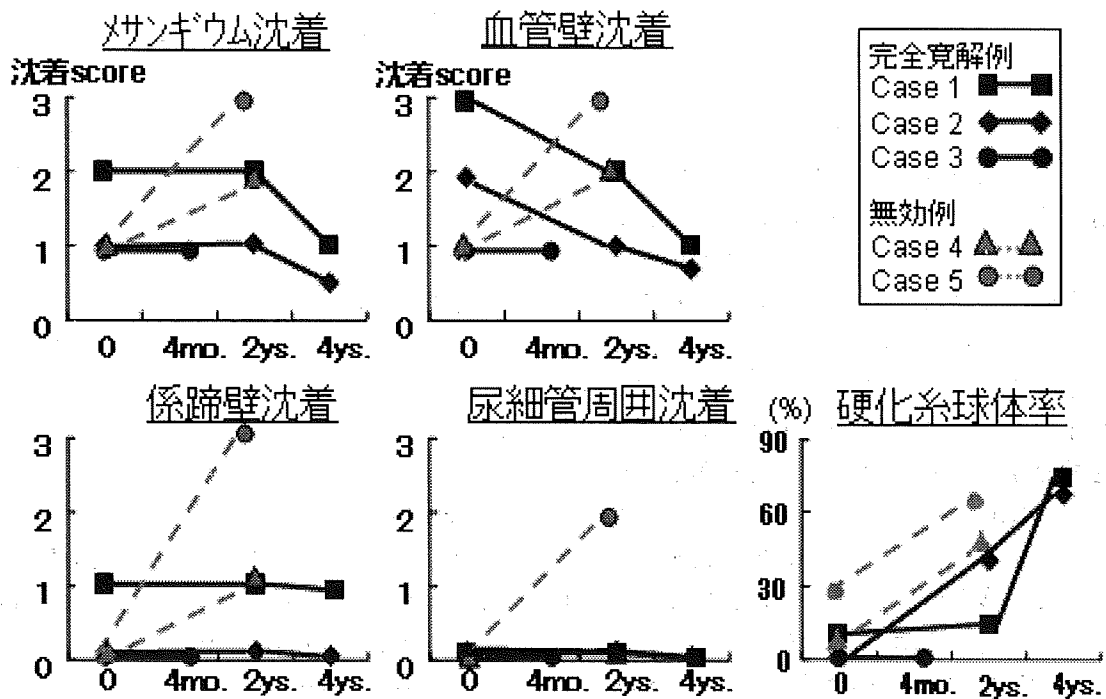
3. その他

なし

表1: 腎組織変化と患者背景・予後

	障害 臓器	心臓 障害	ムファアノ (mg/m ²)	CD34(+) 細胞 (×10 ⁶ 個/kg)	Cr Upro	予後	腎組織 評価
Case1 56M	5	+	140	3.35	0.6mg/dl 5.3g/日	生存 (CR)	0,2,4 years
Case2 63M	4	+	140	2.50	0.6mg/dl 12.7g/日	生存 (CR)	0,2,4 years
Case3 58M	2	-	200	2.82	0.9mg/dl 8.0g/日	生存 (CR)	0,4 months
Case4 62F	2	-	140	1.45	0.5mg/dl 7.8g/日	生存 (NC)	0,2 years
Case5 51M	4	++	108	0.88	1.0mg/dl 6.9g/日	死亡	0,2 years

図1: 腎アミロイド沈着・硬化糸球体の推移



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

AL アミロイドーシスに対するボルテゾミブ・デキサメタゾン療法 —臨床試験の実施にあたって—

研究分担者 島崎千尋 社会保険京都病院血液内科

共同研究者 岡野晃*、初瀬真弓*、村頭智*

*社会保険京都病院血液内科

研究要旨 AL アミロイドーシス分科会では、原発性 AL アミロイドーシスに対するボルテゾミブ (BOR)、メルファラン、デキサメタゾン (DEX) の 3 剤併用 (BMD 療法) による安全性と有用性を検証する臨床試験を計画している。しかし、BOR の AL アミロイドーシスに対する使用経験は未だ少ない。骨髄腫に合併した心アミロイドーシスにおいて、BOR/DEX (BD 療法) により速やかな心機能の改善をみた症例を提示し、本試験の実施における安全性について考察した。

A. 研究目的

原発性 AL アミロイドーシスに対する治療法の一つとして自家末梢血幹細胞移植が注目されており、本研究班でもその安全性と有用性につき検討してきた (平成 17-19 年度)。しかし、自家末梢血幹細胞移植の適応患者は心病変や起立性低血圧などのない全身状態の良い患者に限られる。そこで、新たな治療法の開発が望まれる。プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブ (bortezomib: BOR) は骨髄腫細胞に対し直接的にアポトーシスを誘導するほか、骨髄微小環境に作用しさまざまな機序で抗腫瘍効果を発揮し、化学療法抵抗例においても優れた効果を示す。本剤は骨髄腫と同様のクローン性形質細胞性疾患である原発性 AL アミロイドーシスについても有効と考えられ、AL アミロイドーシス分科会では、BOR の安全性と有用性を検証するための臨床試験を計画している。

しかし、BOR の AL アミロイドーシスに対する使用経験はいまだ少なく、本邦では保険適応もない。そこで、多発性骨髄腫に合併した AL アミロイドーシスに対するボルテゾミブ・デキサメタゾン (B/D) 療法の実施例を報告し、本試験の実施における安全性について考察した。

B. 研究方法

対象症例は 76 歳、女性。平成 3 年に多発性骨髄腫

(IgG-λ 型、D/S II, ISS 1) と診断され VAD 療法後に IFN-MP 療法が行われ、PR を維持、平成 7 年 8 月以降無治療であった。平成 19 年 7 月 30 日、労作時呼吸困難にて救急受診。急性心不全と診断され、心筋生検では Congo Red 染色陽性、抗 λ 抗体陽性で AL アミロイドーシスと診断された。胃・十二指腸生検は陰性であった。入院時の検査所見は下記の通りであった。Hb 9.3, Cr 0.67, Alb 3.2, IgG 3215, BM 形質細胞 15.6%, BNP 850, UCG (EF 36%, IVSTd 12mm), 血清遊離軽鎖 (FLC) (λ 127, κ/λ 0.07)。

(倫理面への配慮)

BOR は多発性骨髄腫に対する標準薬であり、治療に当たっては十分な説明と同意のもと実施した。

C. 研究結果

AL アミロイドーシスに対する治療として DEX 12mg x 4d を実施したところ、IgG は 2433 と低下したが BNP は 1048 と上昇した。そこで、BOR (1.0 mg/m², d1, 4, 8) + DEX (12mg, d1, 2, 4, 5, 8, 9) 療法を開始した。FLC は速やかに低下し、κ/λ 比の正常化に引き続き IgG 1390, BM 形質細胞 5.6% と低下した。心機能は投与後 20 日には EF 68%, IVSTd 11mm と改善、39 日には EF 58%、2 ヶ月後において

でも 57%を維持してした。副作用として末梢神経障害 (G 2) を認めた。以上より、AL アミロイドーシスに対する BOR/DEX の有用性が示唆された。

D. 考察

BOR による血液学的効果発現は 0.9 ヶ月と極めて速やかであることは、AL アミロイドーシスの治療において臓器障害の進行を抑制する上で極めて有用と考えられる。自験例では速やかな FLC の低下、 κ/λ 比の正常化とともに心機能の改善が得られた。心機能の速やかな改善は沈着したアミロイドの減少では説明できず、他のメカニズムの存在が推定される。この点について、FLC そのものが酸化ストレスを介して心筋細胞に直接的な毒性を有することが指摘されており、BOR/DEX によるアミロイド原性軽鎖の急速な低下が関与した可能性が考えられる。また、心不全患者ではユビキチン-プロテアソーム系の活性化を介したミオシン量の低下による横隔膜横紋筋の疲労が指摘され、BOR による筋疲労の回復が示唆された。一方では、BOR による心毒性も報告され、海外では AL アミロイドーシスに対する BOR の臨床試験で心不全が 2 例、本邦でも 2 例報告されている。BOR の作用機序を考慮した場合、細胞内の軽鎖の凝集体形成を促進する可能性があり、心アミロイドーシス症例に対する使用は慎重に行うべきと考えられた。BMD 療法による臨床試験においては、BNP 50 pg/ml 以上の心不全は除外するなど厳格な基準を設定し慎重に実施することが重要である。

E. 結論

AL アミロイドーシスに対する BMD 療法の有用性は期待できるが、特に心アミロイドーシスを有する症例には慎重な投与が必要であり、厳格な適格基準のもとで慎重に実施することが望ましいと考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 島崎千尋：AL アミロイドーシスの治療—最近の進歩. *医学のあゆみ* 229:319-324, 2009.
- 2) 初瀬真弓, 島崎千尋：AL アミロイドーシスの治療. *血液フロンティア* 19:1381-1388, 2009.
- 3) 島崎千尋：原発性アミロイドーシスにおける自家移植は有効か？ 金倉譲, 木崎昌弘, 鈴木律朗, 神田善伸編. *E B M血液疾患の治療 2010-2011*, 中外医学社, 東京, pp428-432, 2009.

2. 学会発表

- 1) 島崎千尋、麻奥英毅、安倍正博、松田正之、鈴木憲史、畑裕之、山田正仁：原発性 AL アミロイドーシスに対する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. 第 71 回日本血液学会総会、京都、10.23、2009.

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

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

マウス老化アミロイドーシスにおける熱ストレス反応の役割 ; HSF1 ノックアウト及びトランスジェニックマウスを用いた解析

研究分担者 樋口京一 信州大学大学院医学系研究科加齢生物学分野

共同研究者 銭 金澤*、弘瀬雅教**、張 蓓茹*、王 耀勇*、付 笑影*、澤下仁子*、
 張 鵬堯*、友澤 寛***、森 政之*、中井 彰****

*信州大学大学院 医学系研究科 加齢生物学分野、

**信州大学大学院 医学系研究科 分子薬理学講座、

***信州大学 ヒト環境科学研究支援センター 動物実験部門、

****山口大学大学院 医学系研究科 医化学分野 生化学第二講座

研究要旨 マウス老化アミロイドーシスでは、HDL のアポタンパク質である apoA-II がアミロイド線維 (AApoAII) を形成し、全身に沈着する。現在までに、ポリグルタミン病やプリオン病等の様々なタンパク質のミスフォールディングが原因である疾患の発症や治療には Hsps タンパク質 (Heat shock proteins) が重要な役割を持つことが示唆されてきた。本研究では、HSF1 (Heat shock factor 1) ノックアウトマウスを用いて、マウス老化アミロイドーシスに対する HSF1 の抑制機構について検討した。*Hsf1*^{-/-}マウスでは全身臓器で HSF1 の発現がなく、特に心臓では、Hsps の発現がほとんど観察されなかった。*Hsf1*^{-/-}マウスでは、*Hsf1*^{+/+}マウスに比較して有意に重度なアミロイド沈着が観察され、特に心臓ではその差が顕著であった。アミロイド沈着により *Hsf1*^{+/+}マウス心臓では Hsps の発現量が有意に増加したが、*Hsf1*^{-/-}マウスではほとんど増加しなかった。重度なアミロイド沈着により、*Hsf1*^{-/-}マウス心臓では α -actin の有意な減少や、心収縮機能の低下が認められた。*Hsf1*^{-/-}マウスでは AApoAII アミロイド沈着が促進され、沈着促進は Hsps の発現不足によると考えられた。HSF1 や Hsps の発現促進によるアミロイドーシス治療の有効性が示唆される。

A. 研究目的

マウス老化アミロイドーシス (AApoAII) は、apolipoprotein A-II (apoA-II) 由来アミロイド線維 AApoAII が全身性に沈着する。C 型 apoA-II (*Apoa2*^c) を持つ SAMP1 や R1.P1-*Apoa2*^c 系統は、AApoAII アミロイドーシスのモデルマウスである。タンパク質のミスフォールディングが原因である疾患の発症や治療にはシャペロン分子が関与すると考えられ、ポリグルタミン病やプリオン病では熱ショックタンパク質 (Hsps) が重要な役割を果たすことが報告されてきた。本研究では、熱ショック転写因子 (Heat shock factor 1: HSF1) ノックアウトマウスとトランスジェニックマウスを用いて、AApoAII アミロイドーシスに対する

HSF1 の抑制機構について検討した。

B. 研究方法

1. マウス: *Hsf1* ノックアウトマウス (*Hsf1*^{-/-}) とヒト活性型 HSF1 トランスジェニックマウス (*HSF1*Tg^{+/+}) のそれぞれを R1.P1-*Apoa2*^c マウスと戻し交配し、*Apoa2*^c アリルを持つ *Hsf1*^{-/-} と *HSF1*Tg^{+/+} マウスを作成した。マウスは信州大学ヒト環境科学研究支援センター動物実験施設の SPF 環境で飼育した。

2. アミロイドーシスの誘発及び検出: R1.P1-*Apoa2*^c マウスの肝臓より分取した 1 μ g の AApoAII アミロイド線維を、*Hsf1*^{-/-} 及び *Hsf1*^{+/+} (Wild type) 雌マウスの尾静脈に投与し、アミロイ

ドーシスを誘発した。投与後 2、4 ヶ月で屠殺し、アミロイドーシスの発症を解析した。さらに *HSF1Tg*^{+/-}マウスにも同様な処置を行った。

3. 心臓での *Hsf1*、*Hsps* と α -actin の発現量の解析：心臓組織からタンパク質を抽出し、western blotting 法によりそれぞれタンパク質の発現量を解析した。
4. 心機能の解析：1 μ g AApoAII アミロイド線維投与 4 ヶ月後に、*Hsf1*^{-/-}及び *Hsf1*^{+/+}マウスの心機能を心エコーで解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は遺伝子改変マウスを用いた研究である。動物実験に関しては実験計画書を信州大学動物実験委員会に提出し、学長の承認を得て、「信州大学動物実験等に関する規定」に沿って行った。また遺伝子組換え実験に相当するため、実験計画書を信州大学遺伝子組換え実験等安全委員会に提出し学長の承認を得て実施した。実験に供したマウスは P1A 飼育室で飼育状態が良好な環境になるように、また屠殺に際しては苦痛が最小限になるように配慮した。

アミロイド線維によるアミロイドーシス誘導に関しては、ヒトや正常マウスへの伝播/発症の危険は無いと考えられるが、アミロイド線維を扱う際は、手袋とマスクを着用し、使用した器具やアミロイド線維は焼却するか、1 N NaOH 中でオートクレーブ処理した。

C. 研究結果

Hsf1^{-/-}マウスでは、各臓器で *Hsf1* タンパク質が発現していなかった。その結果、特に心臓での *Hsps* 発現も少ないことが明らかになった (図1)。*Hsf1*^{+/+}マウスでは、AApoAII線維投与2ヶ月後に、アミロイド沈着に伴い心臓での *hsp27*、*hsp40*、*hsp70* の発現が増加したが、*Hsf1*^{-/-}マウスでは増加しなかった (図2)。線維投与2ヶ月後に、*Hsf1*^{+/+}マウスも *Hsf1*^{-/-}マウスも全身にアミロイド線維が沈着したが、沈着程度は *Hsf1*^{-/-}マウスの方が有意に高いことを示した。特に、*Hsf1*^{-/-}マウスでは、全てのマウスの心臓にアミロイド線維の沈着が観察され、沈着程度も高いことが明らかになった。同様に線維投与4ヶ月の *Hsf1*^{-/-}マウスの心臓でも、AApoAIIアミロイド線維沈着が多いことが示唆さ

れた (図3)。

線維投与4ヶ月後の *Hsf1*^{+/+}マウスでは、アミロイド沈着に伴い心臓での α -actin の発現量が減少したが、*Hsf1*^{-/-}マウスでは、アミロイド沈着の重篤化により、さらに α -actin の発現量が減少していた (図4)。心エコーで心機能を観察した結果、*Hsf1*^{-/-}マウスでは、重篤なアミロイド沈着により、心室中隔が *Hsf1*^{+/+}マウスと比較して、有意に厚くなっていた。左室の FS% の有意な低下も認められ、左室の拡張不全が起こっていた (図5)。

一方、*HSF1Tg*^{+/-}マウスでは AApoAII アミロイド沈着が有意に軽度で、*HSF1* 及び *Hsps* のアミロイド沈着抑制効果が確認された。

D. 考察

これまでに、プリオン病、ポリグルタミン病などのタンパク質のミスフォールディングが原因である疾患において、*Hsps* が重要な役割を持つことが指摘されてきた。本研究では、心臓での *Hsps* の発現が抑制されている *Hsf1*^{-/-}マウスを用いて、1) 細胞外への AApoAII アミロイド沈着で、心臓での *HSF1* の活性化が起こり、*Hsps* の発現が誘導されるが、*Hsf1*^{-/-}マウスではこのような熱ストレス反応はほとんど起こらない。2) その結果として *Hsf1*^{-/-}マウスでは、心臓でのアミロイド線維の沈着程度が有意に高い。3) 重度なアミロイド沈着により *Hsf1*^{-/-}マウスでは心臓の α -actin の減少や心収縮機能の低下が認められる。4) 心臓で活性型ヒト *HSF1* を過剰発現するトランスジェニックマウスでは、心臓での *hsp*s の発現が上昇し、AApoAII アミロイド沈着が抑制される。

細胞外に沈着すると考えられている AApoAII アミロイド沈着が、*HSF1* の発現と活性化を促進し、*Hsps* の増加を誘導する機構や、細胞内に存在すると考えられる *Hsps* が細胞外のアミロイド沈着を抑制する機構は、まだ不明である。しかし同様な知見はトランスサイレチン (TTR) でも観察されている。アミロイド線維が従来考えられていた以上に能動的、流動的で、細胞内外での、ダイナミックな代謝の結果としてアミロイド沈着やその消失が起こっていることを示す結果であり、今後のアミロイドーシスの研究や治療法の開発におおきな示唆を与えると考えている。

E. 結論

AApoAII などの細胞外へ沈着するアミロイドーシスでも HSF1 が重要な役割を果たし、Hsps の発現促進によるアミロイドーシス治療の有効性を示唆した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshida T, Zhang P, Fu X, Higuchi K, Ikeda S: Slaughtered aged cattle might become one dietary source exhibiting amyloid enhancing factor activity. *Amyloid* 16:25-31, 2009.
- 2) Umezawa M, Higuchi K, Mori M, Matsushita T, Hosokawa M: Effect of dietary unsaturated fatty acids on senile amyloidosis in senescence-accelerated mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64:646-652. 2009.
- 3) Sawashita J, Kametani F, Hasegawa K, Tsutsumi-Y S, Zhang B, Yan J, Mori M, Naiki H, Higuchi K: Amyloid fibrils formed by selective N-, C-terminal sequences of mouse apolipoprotein A-II. *Biochim Biophys Acta -Proteins & Proteomics* 794:1517-1529, 2009.
- 4) Chambers JK, Kanda T, Shirai A, Higuchi K, Ikeda SI, Une Y: Senile systemic amyloidosis in an aged savannah monkey (*Cercopithecus aethiops*) with tenosynovial degeneration. *J Vet Med Sci*, in press.
- 5) 樋口京一、前田秀一郎：アミロイドーシスのモデル動物. *医学のあゆみ* 225:423-428, 2009.
- 6) 樋口京一：アミロイドーシスの伝播 -プリオン病以外のアミロイドーシスは伝播するのか？ *医学のあゆみ* 225:436-440, 2009.
- 7) 樋口京一：アミロイドーシスの伝播 ～チータのアミロイドーシスを例に～. *血液フロンティア* 19:1397-1402, 2009.

2. 学会発表

- 1) Higuchi K: Pathogenesis of amyloidosis, findings from animal models of systemic amyloidosis. 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine, Sapporo, Japan, 10.6-9, 2009.

2) Qian J, Zhang B, Wang Y, Fu X, Ge F, Yan J, Sawashita J, Zhang P, Tomozawa H, Mori M, Nakai A, Higuchi K: Accelerated senile amyloidosis in heat shock transcription factor-1 (Hsf1) deficient mice. 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine, Sapporo, Japan, 10.6-9, 2009.

3) 樋口京一、森 政之、竹田俊男：老化促進モデルマウス (SAMP) の現状と遺伝的特性. 第 56 回日本実験動物学会総会 (シンポジウム；マウスを用いた老化への分子遺伝学的アプローチ)、大宮、5.14-16、2009.

4) 樋口京一：全身性アミロイドーシスの伝播機構. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「蛋白質立体構造を基盤とするプリオン原種の解明と制御」、大阪、7.13-14、2009.

5) 樋口京一：全身性アミロイドーシスの伝播機構. 第 82 回日本生化学大会 (シンポジウム；プリオンの感染と進化)、神戸、10.21-24、2009.

6) 銭 金澤、巖 景民、張 倍茹、葛 鳳霞、澤下仁子、友澤 寛、森 政之、付 笑影、樋口京一：マウス老化アミロイドーシスでの骨格筋へのアミロイド沈着. 第 98 回日本病理学会総会、京都、5.1-3、2009.

7) 澤下仁子、張 倍茹、森 政之、樋口京一：F 型 apoA-II マウスは老化アミロイドーシスを発症しない：新規アミロイドーシス抵抗性マウスとその抵抗メカニズム. 日本基礎老化学会第 32 回大会、横浜、6.18-20、2009.

8) 銭 金澤、王 耀勇、張 倍茹、付 笑影、葛 鳳霞、巖 景民、澤下仁子、張 鵬堯、友澤 寛、森 政之、中井 彰、樋口京一：HSF1 ノックアウトマウスにおける老化アミロイドーシスの促進. 第 24 回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会、松本、7.9-10、2009.

9) 王 耀勇、銭 金澤、張 鵬堯、田 耕、友澤 寛、澤下仁子、森 政之、樋口京一：Apoa2 ノックアウトマウスを用いた老化 (AApoAII) 及び反応性 (AA) アミロイドーシスの解析. 第 24 回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会、松本、7.9-10、2009.

10) 澤下仁子、張 倍茹、王 耀勇、森 政之、樋口京一：F 型 apoA-II マウスのアミロイドーシス発症抵抗メカニズム. 第 24 回老化促進モデルマウス

ス (SAM) 研究協議会、松本、7.9-10、2009.

11) 梅澤真樹子、樋口京一、森 政之、松下隆寿、細川昌則: SAM における食事脂肪と促進老化について. 第24回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会、松本、7.9-10、2009.

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

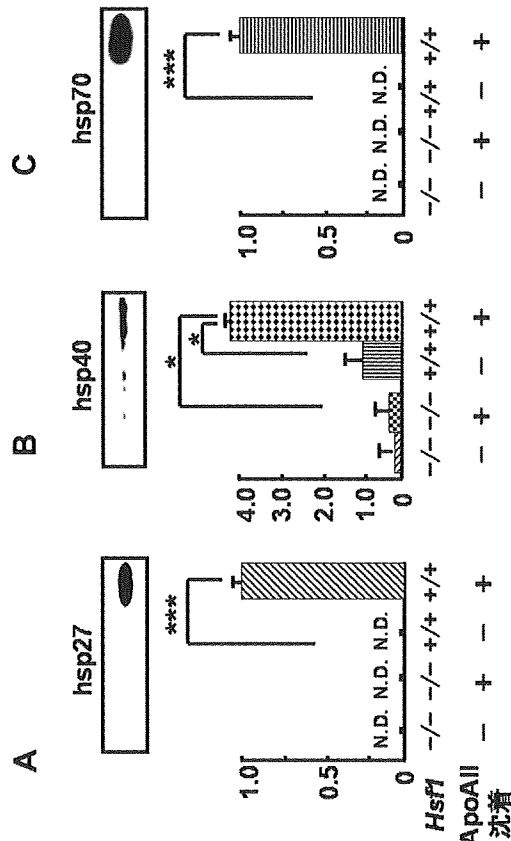


図2 AApoAII線維投与2ヶ月後に、*Hsf1*^{+/+}マウスでは心臓でのHsp27, Hsp40, Hsp70の発現量が増加したが、*Hsf1*^{-/-}マウスでは増加しなかった。(Western blot)

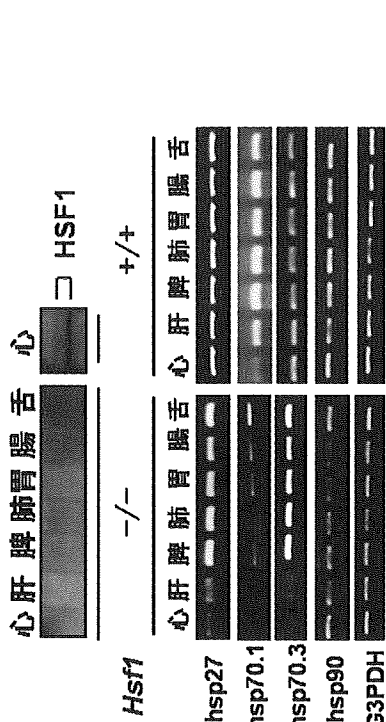


図1 *Hsf1*^{+/+}マウスでは、どの臓器でもHsf1タンパク質の発現は高く、特に心臓ではHsps (Hsp90を除く) の発現がほとんどないことを示した。(上図: Western blot, 下図: RT-PCR)

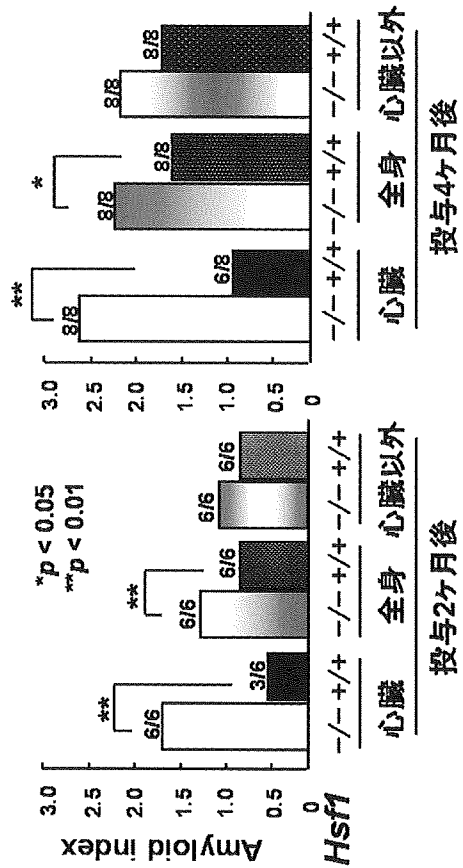
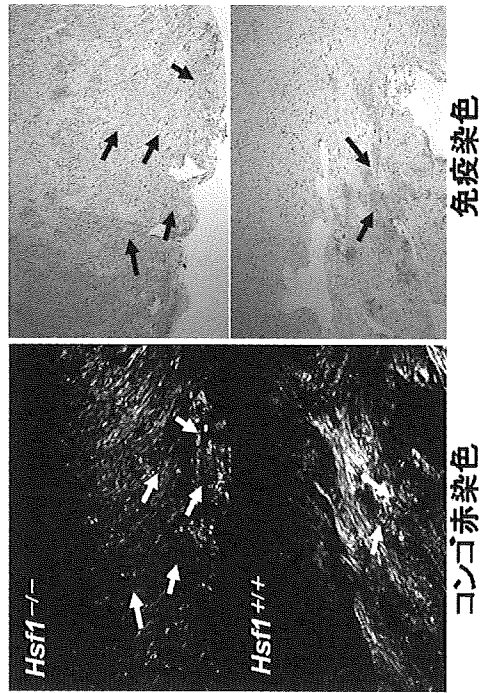
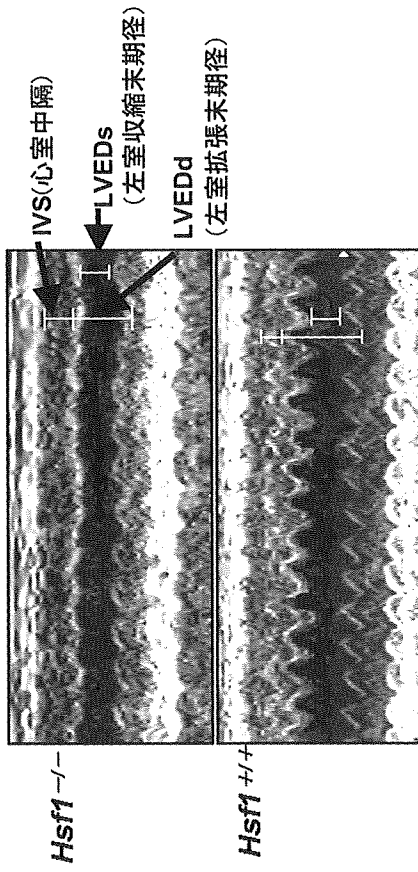


図3 左図: AApoAIIアミロイド線維投与2ヶ月及び4ヶ月後、*Hsf1*^{-/-}、*Hsf1*^{+/+}マウスでは全身にアミロイドが沈着した。しかし、特に*Hsf1*^{+/+}マウスの心臓で沈着程度が高かった ($p < 0.01$)。右図: AApoAII投与後2カ月の心臓へのアミロイド沈着。矢印はアミロイド沈着部位 ($\times 100$)



Parameters	<i>Hsf1</i> ^{-/-} (n=8)	WT (n=6)	p-value
IVS (mm)	0.99 ± 0.03	0.75 ± 0.04	0.0370
LVEDD (mm)	2.60 ± 0.19	3.30 ± 0.08	0.003
LVFS (%)	34.9 ± 0.9	47.5 ± 1.0	0.0008

図5 AApoAII線維投与4ヶ月後に心エコーで心機能を解析した。*Hsf1*^{-/-}マウスでは、*Hsf1*^{+/+}マウスと比べ、心室中隔 (IVS) が有意に厚くなり、左室の拡張不全 (LVEDD) を示唆した。左室のFS%も低下していたことが認められた。

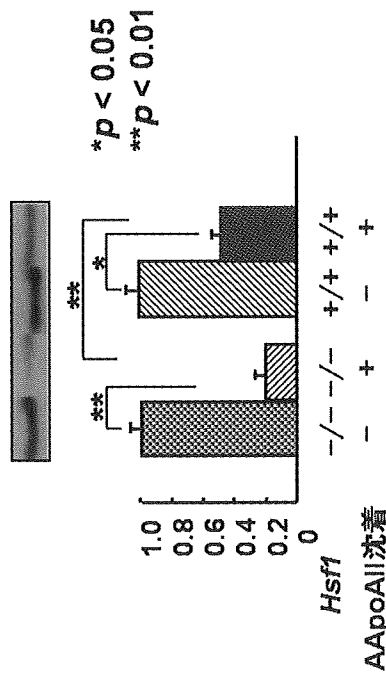


図4 AApoAII線維投与4ヶ月後、*Hsf1*^{+/+}、*Hsf1*^{-/-}マウスでは心臓のα-actinの発現量が減少した。特に、*Hsf1*^{-/-}マウスでは重篤なアミロイド沈着により、α-actinの発現量は*Hsf1*^{+/+}マウスにより有意に減少していた (p < 0.01)。

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

マウス apoA-II 部分ペプチドによる アミロイド線維形成機構と伝播の解析 (第 2 報)

研究分担者 樋口京一 信州大学大学院 医学系研究科 加齢生物学分野

共同研究者 澤下仁子*、長谷川一浩**、亀谷富由樹***、張 蓓茹*、王 耀勇*、内木宏延**

*信州大学大学院 医学系研究科 加齢生物学分野、

**福井大学 医学部 病因病態医学講座・分子病理学領域、

***東京都精神医学総合研究所 分子神経生物学研究チーム

研究要旨 我々が開発した、老化アミロイドーシス関連タンパク質 Apolipoprotein A-II (apoA-II) の合成部分ペプチドを用いた *in vitro* 線維形成解析システムと老化アミロイドーシス高発症モデルマウス (*Apoa2^c* トランスジェニックマウス: *Apoa2^c* Tg) を用いた *in vivo* 伝播解析システムにより、アミロイド線維の形成機構と伝播の解明を試みた。まず、老化アミロイドーシス発症抵抗性マウスが持つ F 型 apoA-II の線維を全く形成しない性質を利用して、高発症マウスが持つ C 型 apoA-II の線維形成抑制効果について解析した結果、F 型 apoA-II の 48-65 番アミノ酸配列領域に強力な線維形成阻止能があることを見いだした。その作用機序としては、重合反応初期におけるペプチドの 2 次構造変化を抑制することが示唆された。次に、別の発症抵抗性マウスが持つ B 型 apoA-II について、その合成ペプチドから作製した線維の線維沈着促進効果を *in vivo* 解析した結果、C 型 apoA-II ペプチド由来線維と全く同等の沈着促進能を持つことを明らかにした。以上のように、マウス老化アミロイドーシスを疾患モデルとした *in vitro* / *in vivo* 解析は、線維形成・伝播機構の本質を捉え、生体内物質との相互作用や各種薬剤による線維形成促進・抑制効果の解析に非常に有用であり、アミロイドーシスの予防・治療策の提案への貢献が期待される。

A. 研究目的

マウス老化アミロイドーシスをモデル疾患として、アミロイド線維の形成と伝播機構の解明をめざし、アミロイドーシス高発症マウスの C 型 apoA-II と発症抵抗性マウスの B 型および F 型 apoA-II のアミノ酸組成に着目した *in vitro* 解析ならびに *in vivo* 解析を行った。

B. 研究方法

F 型 apoA-II ペプチドによる重合阻害効果: マウス apoA-II の線維形成最小単位 6-16 番配列 (N 末) と 48-65 番配列 (C 末) の合成ペプチド (C 型; N 末 (9Ser, 16Gln), C 末 (54Arg, 62Asn)・F 型; N 末 (9Asn, 16His), C 末 (54Lys, 62Lys) (図 1A)) を用い、C 型同士の反応を基準に、N 末を C 型+F 型 (①)、C 末を C 型+F 型 (②)、あるいは N、C

末いずれも C 型+F 型 (③) とした組み合わせの重合反応 (300 rpm, pH2.5, 37°C) を行い、チオフラビン T (ThT) アッセイを行った。また、重合反応初期のペプチドの 2 次構造変化を CD スペクトルから解析し、さらに、反応 21 時間後の生成物の構成成分を LC/MS で解析した。**B 型 apoA-II 合成ペプチド由来線維の沈着促進効果:** B 型 apoA-II (5Pro) と C 型 apoA-II (5Gln) の合成部分ペプチド (1-16 番配列 + 48-65 番配列) を用い、300 rpm, pH2.5, 4°C にて 16 時間重合反応後、線維を作製した。信州大にて開発、維持している老化アミロイドーシス高発症モデルマウス (*Apoa2^c* トランスジェニックマウス: *Apoa2^c* Tg) 2 ヶ月齢の雌ヘテロ型 (Tg+/-) に、生成線維を 5 あるいは 10 µg 尾静脈内投与し、3 ヶ月後の組織切片をコンゴレッド染色して線維の沈着程度を判定した。

(倫理面への配慮)

動物を用いた実験は、信州大学動物実験等実施規定により、信州大学動物実験委員会の審査を経て学長の承認を得、上記規定に沿って実施した。

ペプチド由来線維は、ヒトや正常マウスへの伝播・発症の危険は無いと考えられるが、取り扱う際には手袋・マスクを着用し、残渣や器具等は焼却または 2 N NaOH に 2 時間以上浸透処理した。

C. 研究結果

F型apoA-IIペプチドによる重合阻害効果： N末をC型+F型、C末はC型 (①) の重合反応では、C型同士の反応と同時期の開始3時間後からThT蛍光強度が増加した(図1B)。21時間後の反応生成物をLC/MS解析した結果、この生成物はC型apoA-IIのペプチドのみで構成され、F型は含まれていなかった。C末がC型+F型 (②)、N末もC末もC型+F型 (③) では、いずれも反応7日後までThT蛍光強度が全く増加しなかった。次に、重合反応初期のペプチドの2次構造をCDスペクトル測定にて解析した結果、線維を形成したC型同士とN末のみC型+F型 (①) の場合には、理論上のプロットと実測値に乖離がみられ、線維を形成しなかった組み合わせ (②と③) やF型同士の場合には、理論上のプロットと実測値がほぼ一致していた (図2)。B型apoA-II合成ペプチド由来線維の沈着促進効果： 発症抵抗性マウスのB型apoA-IIの部分ペプチド由来線維を5あるいは10 µg投与3ヶ月後には、投与したマウス全てにアミロイド線維が高頻度に沈着し、高発症マウスのC型apoA-IIペプチド由来線維投与後の沈着程度と同程度だった(図3)。B型、C型由来線維のいずれもが、舌、肺、小腸等に沈着し、その沈着組織・沈着程度に差はなかった。

D. 考察

これまで、マウス apoA-II の合成部分ペプチドを用いた *in vitro* 解析により、アミロイド線維形成最小単位は apoA-II の N 末 6-16 番配列と C 末近傍 48-65 番配列であり、これらが共存する時のみ、線維が形成することを明らかにしてきた¹⁾。また、老化アミロイドーシス高発症マウスの C 型 apoA-II と比較して、F 型 apoA-II は線維形成コア領域にアミノ酸置換が 4 カ所存在し (9, 16, 54 と

62 番)、54 番を除いた他の 1 カ所でも F 型 apoA-II のアミノ酸組成であると、線維形成が劇的に抑制されることを明らかにしてきた²⁾。本研究では、この線維不形成 F 型 apoA-II ペプチドが C 型 apoA-II ペプチドの線維形成反応を阻害する能力を持つか、検討した。その結果、F 型 N 末配列は C 型 apoA-II ペプチドの線維形成に対して促進的にも抑制的にも全く影響しなかったが、F 型 C 末ペプチドは強力に線維形成を抑制することが明らかになった。さらに、CD スペクトル解析により、本来、線維形成初期に起こり得るペプチドの 2 次構造変化を F 型 C 末ペプチドは阻止し、その結果として線維形成を抑制する作用機序が示唆された。F 型 apoA-II の 9、16、62 番目のアミノ酸組成が線維難形成性を示すこと²⁾と本研究結果を総括すると、62 番目の Asn と Lys の違いが apoA-II の線維形成能を決定づける最重要因子であると推察される。また、線維不形成性ペプチドによる易形成性ペプチドの 2 次構造変化阻止メカニズムは、発症予防・治療策の構築に重要な知見と考えられる。

これまで、アミロイド線維投与に対して高い感受性を示す *Apoa2^c Tg³⁾* を用いることにより、合成ペプチド由来線維のアミロイド線維沈着促進効果の解析に成功してきた²⁾。本研究では、この *in vivo* 解析システムを用い、B 型 apoA-II ペプチド由来線維の伝播力を C 型の場合と比較解析した。その結果、B 型線維は C 型線維と同等の伝播力を有することが明らかとなり、これまでの線維形成・伸長反応にも B 型と C 型では全く差がなかった *in vitro* 実験結果¹⁾と総括すると、B 型 apoA-II マウスのアミロイドーシス発症抵抗性は apoA-II 分子と生体内の未知分子との相互作用が示唆され、この生体内分子の同定がアミロイドーシス発症機構の解明に重要な知見を与えると思われる。

今後は、マウス老化アミロイドーシス以外のアミロイドーシスについてもアミロイドーシス関連タンパク質の線維形成機構、伝播機構や他因子との相互作用、さらに、F 型 apoA-II の C 末ペプチドのような線維形成阻害物質の探索を行うことが必要であり、本研究手法は *in vitro*、*in vivo* の両面から解析可能な、非常に有用な試験系と考えられる。

[参考文献]

- 1) Sawashita J, Kametani F, Hasegawa K, Tsutsumi-Y S, Zhang B, Yan J, Mori M, Naiki H, Higuchi K: Amyloid fibrils formed by selective N-, C-terminal sequences of mouse apolipoprotein A-II. *Biochim Biophys Acta -Proteins & Proteomics* 794:1517-1529, 2009.
- 2) 樋口京一：マウス apoA-II の部分ペプチドを用いたアミロイド線維形成機構と伝播の解析. アミロイドーシスに関する調査研究班 平成20年度分担研究報告書 37-42, 2009.
- 3) Ge F, Yao J, Fu X, Guo Z, Yan J, Zhang B, Zhang H, Tomozawa H, Miyazaki J, Sawashita J, Mori M, Higuchi K: Amyloidosis in transgenic mice expressing murine amyloidogenic apolipoprotein A-II (*Apoa2^c*). *Lab Invest* 87:633-643, 2007

E. 結論

我々が開発した *in vitro* ならびに *in vivo* 解析システムを用い、マウス老化アミロイドーシスの線維形成機構と伝播の解析を行った。その結果、1) マウス apoA-II のアミロイド線維形成初期には C 末 48-65 番配列、特に 62 番目のアミノ酸組成が最重要であること、2) アミロイドーシス発症抵抗性マウスが持つ B 型 apoA-II のペプチド由来線維は高発症マウスの C 型 apoA-II のペプチド由来線維と同等のアミロイドーシス誘発能を有することを明らかにした。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshida T, Zhang P, Fu X, Higuchi K, Ikeda S: Slaughtered aged cattle might become one dietary source exhibiting amyloid enhancing factor activity. *Amyloid* 16:25-31, 2009.
- 2) Umezawa M, Higuchi K, Mori M, Matsushita T, Hosokawa M: Effect of dietary unsaturated fatty acids on senile amyloidosis in senescence-accelerated mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 64:646-652, 2009.
- 3) Sawashita J, Kametani F, Hasegawa K, Tsutsumi-Y S, Zhang B, Yan J, Mori M, Naiki H, Higuchi K: Amyloid fibrils formed by selective N-, C-terminal sequences of mouse apolipoprotein A-II. *Biochim Biophys Acta -Proteins & Proteomics* 794:1517-1529, 2009.
- 4) Chambers JK, Kanda T, Shirai A, Higuchi K, Ikeda SI, Une Y: Senile systemic amyloidosis in an aged savannah monkey (*Cercopithecus aethiops*) with tenosynovial degeneration. *J Vet Med Sci*, in press.
- 5) 樋口京一、前田秀一郎：アミロイドーシスのモデル動物. *医学のあゆみ* 225:423-428, 2009.
- 6) 樋口京一：アミロイドーシスの伝播 -プリオン病以外のアミロイドーシスは伝播するのか？ *医学のあゆみ* 225:436-440, 2009.
- 7) 樋口京一：アミロイドーシスの伝播 ～チータのアミロイドーシスを例に～. *血液フロンティア* 19:1397-1402, 2009.

2. 学会発表

- 1) Higuchi K: Pathogenesis of amyloidosis, findings from animal models of systemic amyloidosis. 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine, Sapporo, Japan, 10.6-9, 2009.
- 2) Qian J, Zhang B, Wang Y, Fu X, Ge F, Yan J, Sawashita J, Zhang P, Tomozawa H, Mori M, Nakai A, Higuchi K: Accelerated senile amyloidosis in heat shock transcription factor-1 (Hsf1) deficient mice. 4th International Congress on Stress Responses in Biology and Medicine, Sapporo, Japan, 10.6-9, 2009.
- 3) 樋口京一、森 政之、竹田俊男：老化促進モデルマウス (SAMP) の現状と遺伝的特性. 第 56 回日本実験動物学会総会 (シンポジウム；マウスを用いた老化への分子遺伝学的アプローチ)、大宮、5.14-16、2009.
- 4) 樋口京一：全身性アミロイドーシスの伝播機構. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「蛋白質立体構造を基盤とするプリオン原種の解明と制御」、大阪、7.13-14、2009.
- 5) 樋口京一：全身性アミロイドーシスの伝播機構. 第 82 回日本生化学大会 (シンポジウム；プリオンの感染と進化)、神戸、10.21-24、2009.
- 6) 銭 金澤、巖 景民、張 倍茹、葛 鳳霞、澤下仁子、友澤 寛、森 政之、付 笑影、樋口京一：マ

ウス老化アミロイドーシスでの骨格筋へのアミロイド沈着. 第 98 回日本病理学会総会、京都、5.1-3、2009.

7) 澤下仁子、張 蓓茹、森 政之、樋口京一：F型 apoA-II マウスは老化アミロイドーシスを発症しない：新規アミロイドーシス抵抗性マウスとその抵抗メカニズム. 日本基礎老化学会第 32 回大会、横浜、6.18-20、2009.

8) 銭 金澤、王 耀勇、張 倍茹、付 笑影、葛 鳳霞、巖 景民、澤下仁子、張 鵬堯、友澤 寛、森 政之、中井 彰、樋口京一：HSF1 ノックアウトマウスにおける老化アミロイドーシスの促進. 第 24 回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会、松本、7.9-10、2009.

9) 王 耀勇、銭 金澤、張 鵬堯、田 耕、友澤 寛、澤下仁子、森 政之、樋口京一：Apoa2 ノックアウトマウスを用いた老化 (AApoAII) 及び反応性 (AA) アミロイドーシスの解析. 第 24 回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会、松本、7.9-10、2009.

10) 澤下仁子、張 蓓茹、王 耀勇、森 政之、樋口京一：F 型 apoA-II マウスのアミロイドーシス発症抵抗メカニズム. 第 24 回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会、松本、7.9-10、2009.

11) 梅澤真樹子、樋口京一、森 政之、松下隆寿、細川昌則：SAM における食事脂肪と促進老化について. 第 24 回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会、松本、7.9-10、2009.

H. 知的所有権の取得状況（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