

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

長期経過を観察した脳アミロイドアンギオパチーの臨床病理像： ¹¹C]BF-227PET 所見を含めて

研究分担者 池田修一 信州大学医学部脳神経内科

共同研究者 安出卓司*、町田香津子*、矢彦沢裕之**、立花直子***、鷺野谷利幸****、
 工藤幸司*****

*信州大学医学部脳神経内科、**長野赤十字病院神経内科、

市立岡谷病院神経内科、*総合南東北病院 PET センター放射線科、

*****東北大学未来医工学治療開発センター

研究要旨 本研究では CAA 関連脳出血患者における副腎皮質ステロイド治療前後の経時的画像的变化の検討を行った。方法は、年齢 60 から 80 歳台の脳血管障害で発症し、ボストン診断基準で G2~3 と診断された 4 例を対象とした。脳出血に対して副腎皮質ステロイドホルモン療法開始後、約 1 年間の臨床像および頭部 CT・MRI の経時的変化を検討した。また 4 例中 2 例については、PSL 投与時と約 1 年半後にアミロイドイメージング (BF-227PET) を施行した。結果は、4 例中 1 例では、PSL 治療開始 6 カ月前から頻回な皮質下出血を繰り返し PSL 内服開始 7 日目に症候性脳出血の再発が出現し、6 か月後に左小脳半球の小出血を認めたが、神経学的変化は認めなかった。その他の 4 例中 3 症例に症候性出血は認めなかったが、1 例は PSL 投与開始 9 か月後に肺炎にて死亡した。症候性出血を認めなかった 3 例ともに CT では出血所見を認めなかったが、2 例では MRI:T2* 画像で微小出血の増加を認めた。また、この 2 例で¹¹C]BF-227PET を施行し、後頭葉の SUVmax は 1 例では 2.0 から 2.2 と軽度上昇し、他の 1 例では 1.5 から 1.4 と軽度低下していた。以上より、CAA におけるアミロイド沈着の評価として¹¹C]BF-227PET を用いたアミロイドイメージングが有用であると考えられる。また、副腎皮質ステロイド療法が CAA 関連脳出血の再発予防に有効な印象が得られた。

A. 研究目的

脳アミロイドアンギオパチー (CAA) は高齢者の皮質下出血の原因として知られているが、従来積極的な治療はなされていない。しかし近年、CAA 関連脳出血が 50 歳代後半または 60 歳代前半から発生することが判明し、何らかの治療の必要性が求められている。われわれは CAA 関連脳出血の再発予防に副腎皮質ステロイドの有用性を提唱して来た。本研究では CAA 関連脳出血患者における副腎皮質ステロイド治療前後の経時的画像的变化の検討を行った。

ボストン診断基準で G2~3 と診断された 4 例を対象とした。脳出血に対して副腎皮質ステロイドホルモン療法開始後 (DEXorPSL を投与開始後に漸減、PSL5~10 mg/day で内服継続)、約 1 年間の臨床像および頭部 CT・MRI の経時的変化を検討した。また 4 例中 2 例については、PSL 投与時と約 1 年半後にアミロイドイメージング (BF-227PET) を施行した。

(倫理面への配慮)

この研究は信州大学医学部医倫理委員会の審査を経て医学部長の承認を得ている。

B. 研究方法

年齢 60 から 80 歳台の脳血管障害で発症し、ボ

C. 研究結果

4例中1例では、PSL治療開始6カ月前から頻回な皮質下出血を繰り返しPSL内服開始7日目に症候性脳出血の再発が出現し、6か月後に左小脳半球の小出血を認めたが、神経学的変化は認めなかった。その他の4例中3症例に症候性出血は認めなかったが、1例はPSL投与開始9か月後に肺炎にて死亡した。本例は剖検にて大脳皮質の広範な領域でCAAの存在を確認した。症候性出血を認めなかった3例ともにCTでは出血所見を認めなかったが、2例ではMRI:T2*画像で微小出血の増加を認めた。また、この2例で ^{11}C BF-227PETを施行し、後頭葉のSUVmaxは1例では2.0から2.2と軽度上昇し、他の1例では1.5から1.4と軽度低下していた。

D. 考察

CAA 関連脳出血は多源性かつ再発性に生じることが特徴的である。我々は従来 CAA 関連脳出血の治療として副腎皮質ステロイドの有用性を提唱してきた。さらに最近、本治療を受けたCAA患者の生検・剖検所見を比較することで、副腎皮質ステロイド治療後のCAA患者におけるCAA病変のA β アミロイドが退縮したことを報告している。

副腎皮質ステロイドの作用機序として、①血腫関連浮腫の軽減により、アミロイド沈着による血管脆弱性を有する血管に機械的応力の減少と、②A β 関連血管炎の抑制、③アミロイド沈着自体の軽減が考えられる。

今後、さらに症例を積み重ねる予定である。

E. 結論

CAA における微小出血の評価としてMRI:T2*およびアミロイド沈着の評価として ^{11}C BF-227PETを用いたアミロイドイメージングが有用であると考えられる。また、副腎皮質ステロイド療法がCAA 関連脳出血の再発予防に有効な印象が得られた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kodaira M, Morita H, Shimojima Y, Ikeda SI: Electrophysiological features of familial amyloid polyneuropathy in endemic area. *Amyloid* 18:10-18, 2011.
- 2) Tsuchiya-Suzuki A, Yazaki M, Kametani F, Sekijima Y, Ikeda S: Wild-type transthyretin significantly contributes to the formation of amyloid fibrils in familial amyloid polyneuropathy patients with amyloidogenic transthyretin Val30Met. *Hum Pathol* 42:236-243, 2011.
- 3) Katoh N, Matsuda M, Tsuchiya-Suzuki A, Ikeda S: Regression of gastroduodenal amyloid deposition in systemic AL amyloidosis after intensive chemotherapies. *Brit J Haematol* 153:535-538, 2011.
- 4) Ikeda S, Sekijima Y, Tojo K, Koyama J: Diagnostic value of abdominal wall fat pad biopsy in senile systemic amyloidosis. *Amyloid* 18:211-215.
- 5) Miyazaki D, Yazaki M, Ishii W, Matsuda M, Hoshii Y, Nara K, Nakayama J, Ikeda S: A rare lung nodule consisting of adenocarcinoma and amyloid deposition in a patient with primary systemic AL amyloidosis. *Intern Med* 50:243-246, 2011.
- 6) Matsuda M, Katoh N, Tazawa k, Shimojima Y, Mishima Y, Sato K, Ikeda S: Surgical removal of amyloid-laden lymph nodes: a possible therapeutic approach in a primary systemic AL amyloidosis patient with focal lymphadenopathy. *Amyloid* 18:79-82, 2011.
- 7) 池田修一: 脳アミロイドアンギオパチーの概念の変遷と分類. *神経内科* 74:467-471, 2011.
- 8) 池田修一: 脳アミロイドアンギオパチーの画像診断と治療. *神経内科* 74:493-499, 2011.
- 9) 日根野晃代、池田修一: 脳アミロイドアンギオパチー. *日本臨牀* 69:140-147, 2011.
- 10) 池田修一: 老人性全身性アミロイドーシス. 山田正仁 編, *アミロイドーシス診療のすべて*, 医歯薬出版, 東京, pp102-107, 2011.

2. 学会発表

- 1) Sekijima Y, Uchiyama S, Tojo K, Sano K, Shimizu Y, Imaeda T, Kato H, Ikeda S: High Prevalence of Wild-Type TTR Deposition in Patients with Idiopathic Carpal Tunnel Syndrome: A Common Cause of Carpal

Tunnel Syndrome in the Elderly. The 63rd Annual Meeting of the American Academy of Neurology, Hawaii, 4.9-16, 2011.

2) 池田修一: シンポジウム アミロイド蛋白の代謝回転と治療による退縮. 第 52 回日本神経学会総会、名古屋、5.18-20、2011.

3) 町田香津子、安出卓司、東城加奈、古川勝敏、工藤幸司、鷲野谷利幸、池田修一: 脳アミロイドアンギオパチーおよび全身性アミロイドーシスに対する^{[11C]BF227PET} の診断的有用性. 第 52 回日本神経学会総会、名古屋、5.18-20、2011.

4) 江澤直樹、東城加奈、関島良樹、池田修一: 老人性全身性アミロイドーシスの早期診断における両側手根管症候群の有用性. 第 52 回日本神経学会総会、名古屋、5.18-20、2011.

5) 鈴木彩子、矢崎正英、関島良樹、亀谷富由樹、池田修一: 肝移植後 FAP 患者における組織沈着アミロイドの turn-over について. 第 52 回日本神経学会総会、名古屋、5.18-20、2011.

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

透析アミロイドーシスと血漿 PIC 濃度の関連の検討

研究分担者 高市憲明 虎の門病院 腎センター

研究要旨 透析アミロイドーシスのマーカーとして血漿中 PIC 濃度が使用できる可能性があるかどうかを全身性 AL アミロイドーシス患者の PIC 濃度の有用性と比較し検討することを目的とした。全身性 AL アミロイドーシス患者の血漿 PIC 濃度は有意に限局性アミロイドーシス患者より高値であった。1.2 $\mu\text{g/ml}$ をカットオフ値とすると、全身性か否かの判別の感度は 90 %、特異度は 100 %であった。透析アミロイドーシス患者の血漿 PIC 濃度は非アミロイドーシス透析患者より有意に高値であった。1.05 $\mu\text{g/ml}$ をカットオフ値とすると透析アミロイドーシスの診断の感度は 63 %、特異度は 78 %であった。血漿中 PIC 濃度は、全身性 AL アミロイドーシスを鑑別する場合に比べて感度特異度ともに低下するが、透析アミロイドーシスの鑑別にもある程度の有用であると思われる。

A. 研究目的

畑らは AL アミロイドーシスで血漿中プラスミン・ α_2 プラスミンインヒビター複合体 (PIC) 濃度が高値となることを報告した。今井らは血漿 PIC 濃度が全身性のアミロイドーシスでは限局性のアミロイドーシスより高値であることを報告し、また透析アミロイドーシス患者においても上昇している可能性を示した。透析アミロイドーシスのマーカーとして血漿中 PIC 濃度が使用できる可能性があるかどうかを全身性 AL アミロイドーシス患者の PIC 濃度の有用性と比較し検討することを目的とした。

B. 研究方法

全身性 AL アミロイドーシス患者、限局性アミロイドーシス患者の PIC 濃度を検討した。単一臓器のみにしかアミロイドが証明されずまた血清・尿いずれにも M 蛋白が証明されなかった症例を限局性と判断した。透析患者においては、PIC 濃度を上昇させる可能性のある患者 (ワーファリン服用患者、血栓性疾患患者、治療中の悪性腫瘍患者、肝硬変患者) を除外したうえで血漿 PIC 濃度を検討した。手根管症候群などの手術歴や MRI 等で関節領域にアミロイドと思われる病変が証明されている場合に透析アミロイドーシスが合併していると判断した。

(倫理面への配慮)

非介入観察研究であり倫理的に特に問題ないと考える。

C. 研究結果

全身性 AL アミロイドーシス患者 20 名、限局性アミロイドーシス患者 8 名の血漿 PIC 濃度はそれぞれ $3.8 \pm 4.5 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.7 \pm 0.2 \mu\text{g/ml}$ ($M \pm SD$) であり有意に全身性アミロイドーシスで高値であった (図 1)。ROC 曲線の解析から、1.2 $\mu\text{g/ml}$ をカットオフ値とすると、全身性 AL アミロイドーシスの診断の感度は 90 %、特異度は 100 %と良好に鑑別することができた (図 2)。

透析患者の PIC 濃度は、透析年数や患者年齢に従って増加傾向を示した (図 3,4)。透析アミロイドーシス患者 27 名、非アミロイドーシス透析患者 139 名の血漿 PIC 濃度はそれぞれ $1.2 \pm 0.4 \mu\text{g/ml}$ 、 $0.8 \pm 0.3 \mu\text{g/ml}$ であり透析アミロイドーシスを合併している患者で有意に高値であった (図 5)。透析アミロイドーシス患者における血漿 PIC 濃度の上昇は、全身性 AL アミロイドーシスの患者の場合に比べると軽度であった。透析患者において ROC 曲線の解析から、1.05 $\mu\text{g/ml}$ をカットオフ値とすると透析アミロイドーシスの診断の感度は 63 %、特異度は 78 %であった (図 6)。

D. 考察

透析アミロイドーシスにおいても全身性アミロイドーシスに比べると軽度ではあるが血漿 PIC 濃度は上昇する。

E. 結論

血漿中 PIC 濃度は、全身性 AL アミロイドーシスを鑑別する場合に比べて感度特異度ともに低下するが、透析アミロイドーシスの鑑別にもある程度の有用であると思われる。透析患者で原因の明らかでない PIC 濃度の上昇がある場合はアミロイドーシスの合併を考えたほうがよいと思われる。

F. 健康危険情報

該当せず

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hattori Y, Ubara Y, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Yamanouchi M, Hayami N, Suwabe T, Hoshino J, Sawa N, Oohashi K, Takaichi K: Tocilizumab improves cardiac disease in a hemodialysis patient with AA amyloidosis secondary to rheumatoid arthritis. *Amyloid* 2012. [Epub ahead of print]
- 2) Hoshino J, Ubara Y, Sawa N, Sumida K, Hiramatsu R, Hasegawa E, Suwabe T, Hayami N, Yamanouchi M, Takemoto F, Taniguchi S, Takaichi K: How to treat patients with systemic amyloid light chain amyloidosis? Comparison of high-dose melphalan, low-dose chemotherapy and no chemotherapy in patients with or without cardiac amyloidosis. *Clin Exp Nephrol* 15:486-92, 2011.
- 3) 木脇圭一、乳原善文、諏訪部達也、中西昌平、住田圭一、平松里佳子、長谷川詠子、山内真之、山内淳司、富永直人、星野純一、澤直樹、竹本文美、原茂子、高市憲明、大橋健一、本田一穂、吉田雅治:日本人にもみられた AA amyloid 合併家族性地中海熱の 1 例. *腎と透析* 71:133-143, 2011.

2. 学会発表

- 1) 服部吉成、乳原善文、諏訪部達也、早見典子、塚本真貴、永澤元規、住田圭一、平松里佳子、山内真之、長谷川詠子、星野純一、澤直樹、高市憲明、大橋健一:心臓病変を認めた AA-アミロイドーシス合併関節リウマチの透析困難症に対しトシリズマブが著効した 2 症例. 第 54 回日本腎臓学会学術総会、横浜、6.15-17、2011.
- 2) 乳原善文、諏訪部達也、高市憲明:透析アミロイドーシス UpDate 内科医の目からみた透析アミロイドーシスの変遷. 第 56 回日本透析医学会学術集会、横浜、6.17-19、2011.
- 3) 諏訪部達也、乳原善文、住田圭一、早見典子、平松里佳子、山内真之、長谷川詠子、澤直樹、高市憲明:AA アミロイドーシスを合併した関節リウマチ症例の検討. 第 55 回日本リウマチ学会、神戸、7.17-20、2011.
- 4) 飯島崇、長谷川詠子、乳原善文、平松里佳子、山内真之、澤直樹、高市憲明、黒田陽子、大橋健一:VAD+大量メルファラン+SCT 療法により腎症のみならず腎外病変まで改善が得られた AL-アミロイドーシスの一例. 第 41 回日本腎臓学会東部学術大会、東京、10.14-15、2011.
- 5) 早見典子、乳原善文、諏訪部達也、住田圭一、三瀬広記、遠藤彰子、伊藤幸輝、川田真宏、平松里佳子、長谷川詠子、山内真之、澤直樹、高市憲明:メルファラン-デキサメサゾン併用療法の効果がみられた原発性アミロイドーシスの 1 例. 第 41 回日本腎臓学会東部学術大会、東京、10.14-15、2011.
- 6) 諏訪部達也、乳原善文、三瀬広記、遠藤彰子、伊藤幸輝、住田圭一、早見典子、平松里佳子、山内真之、長谷川詠子、澤直樹、高市憲明:重症の透析アミロイドーシスを合併した透析歴 42 年の透析患者の検討. 第 41 回日本腎臓学会東部学術大会、東京、10.14-15、2011.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他
特になし

図1 全身性ALアミロイドーシスと限局性アミロイドーシスのPIC濃度

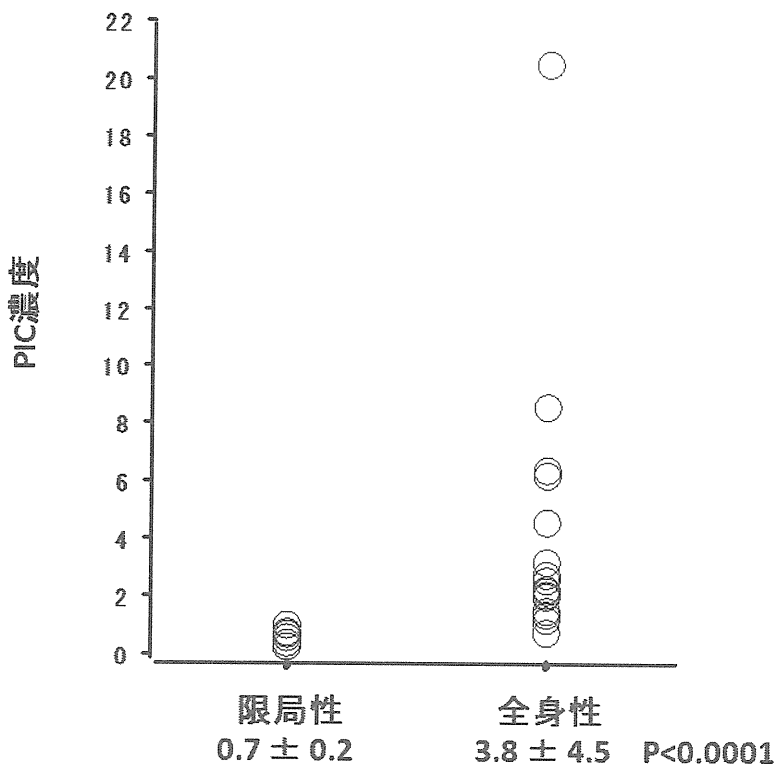


図2 全身性ALアミロイドーシス、限局性アミロイドーシス判別ROC曲線

1.2 µg/mlをカットオフ値とすると
感度90%, 特異度100%

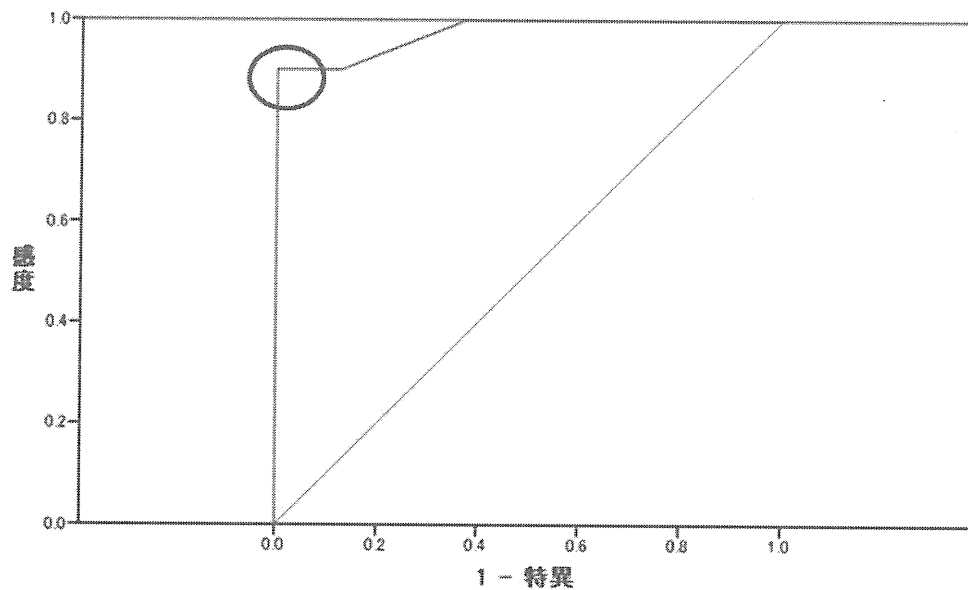


図3 透析患者の PIC 濃度と透析期間

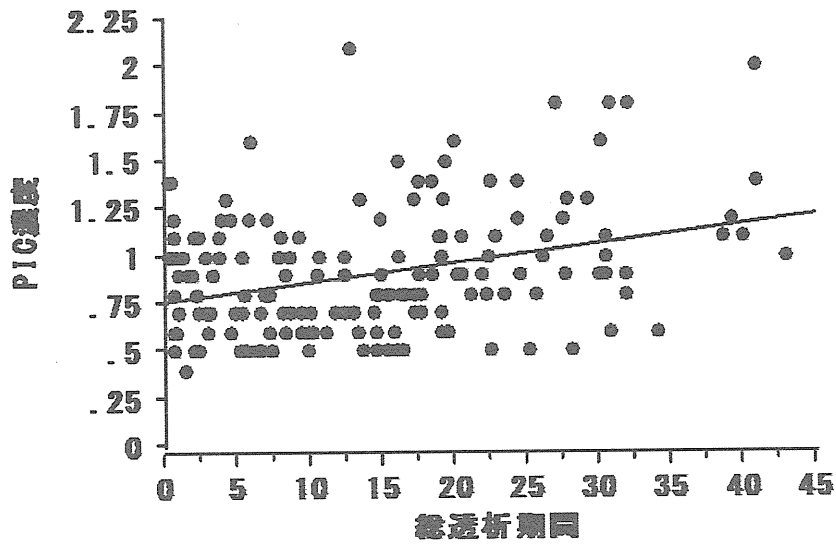


図4 透析患者の PIC 濃度と年齢

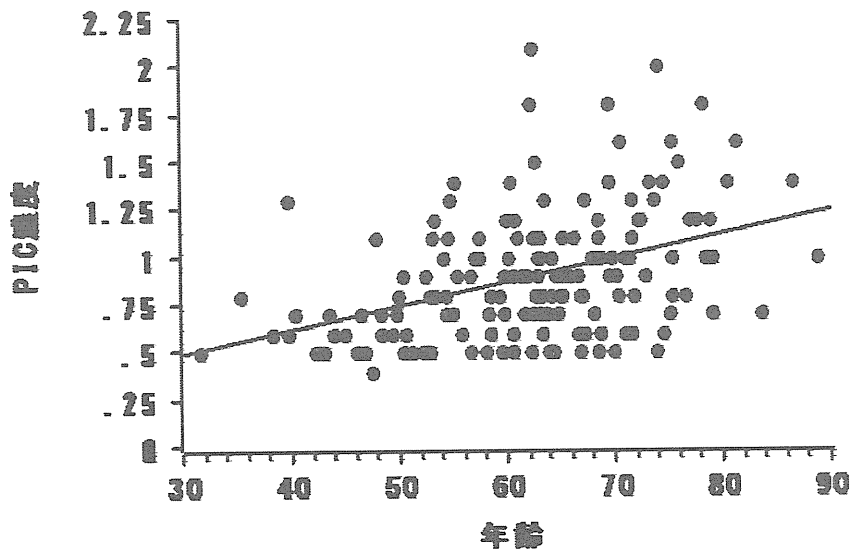


図5 透析アミロイドーシスの有無と PIC 濃度

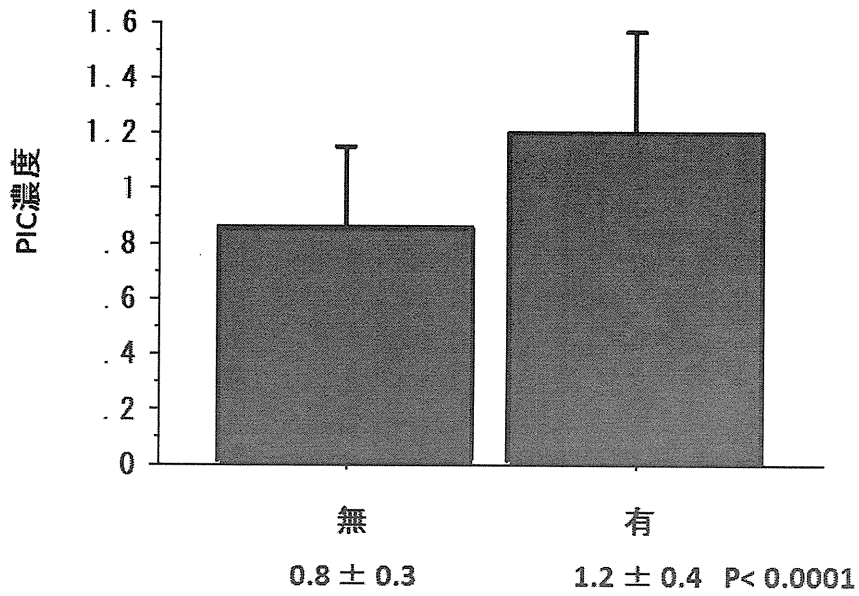
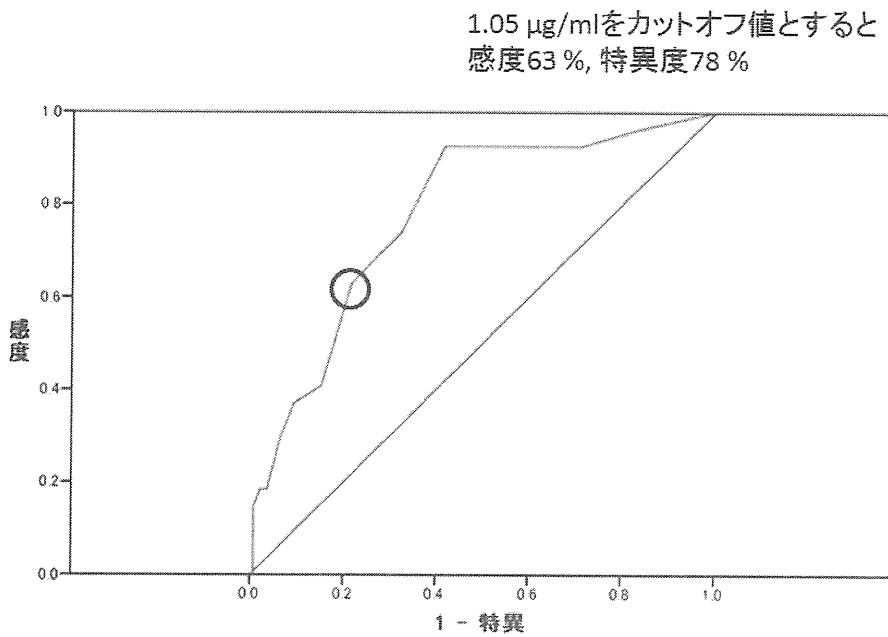


図6 透析患者における透析アミロイドーシス有無の判別 ROC 曲線



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

血中 C 末端 unfolded β_2 -microglobulin (92-99 β_2 m) 濃度の測定結果

研究分担者 本宮善恢 医療法人翠悠会診療所

共同研究者 城野博史*、森田弘之**、安東由喜雄*

*熊本大学大学院 生命科学研究部病態情報解析学分野

**森田シャントアミロイド治療クリニック

研究要旨 β_2 -ミクログロブリン (β_2 m) の C 末端アミノ酸残基 92-99 位が unfold した 92-99 β_2 m に対するモノクローナル抗体を用いて血中 92-99 β_2 m 濃度を測定し、臨床背景との解析を行った。その結果、臨床背景との相関はなかったが、透析患者血中では明らかに一定量以上(0.5 μ g/mL)の 92-99 β_2 m が存在する事が確認できた。

A. 研究目的

β_2 -ミクログロブリン (β_2 m) のアミロイド化過程での key molecule は β_2 m の C 末端アミノ酸残基 92-99 位が unfold した 92-99 β_2 m と考えられている。透析アミロイドーシス (DRA) 発症における 92-99 β_2 m の臨床的意義を明らかにするため循環血中での存在および血中濃度を確認する。

B. 研究方法

対象：維持透析患者 30 例、平均年齢 56 歳、平均導入年齢 49 歳。平均透析期間 81 カ月。手根管症候群 (CTS) の手術歴 3 例。

検体：透析患者の採血は週初めの透析開始時に動脈側より採血し得られた血清を用いた。健常対照者は対象透析患者と年齢をマッチしたボランティアの血清を用いた。

ELISA 法：まず、92-99 β_2 m に対するモノクローナル抗体 (92-99 β_2 m mAb, 自家製、Kidney Int, 2005) をビオチン化し、マイクロプレートに抗ビオチン抗体を固相化し図の如く測定系をたちあげて変性 β_2 m (自家製、Kidney Int, 2005) を容量依存的に測定できることを確認した。

次にこの系での測定が合成ペプチド (自家製 Kidney Int 2005) により容量依存的に阻害されることを確認したうえで上記の測定系を用いて合成ペプチドをコンペティターとし、競合 ELISA 法にて血中 92-99 β_2 m 濃度を測定した。

(倫理面への配慮)

対象者の採血には対象者本人より書面による同意を得、発表時には名前が特定できないように注意をはらった。

C. 研究結果

維持透析患者の 92-99 β_2 m 血中濃度は 0.78 ± 0.13 μ g/mL、健常者では測定感度(0.1 μ g/mL) 以下であった。92-99 β_2 m 濃度と総 β_2 m 濃度との相関はなかった。また年齢、導入年齢、透析期間との相関もなかった。

CTS の手術歴の有無による比較は例数が少なく統計的解析はしていない。

血中 92-99 β_2 m 濃度はキャピラリー電気泳動による血中 β_2 m 中間体濃度 (Nephron Clin Pract. Uji et al. 2009) 2.7 μ g/mL の 1/3 から 1/4 であった。

D. 考察

1. 透析患者血中には C 末端が unfold した構造ヴァリエント 92-99 β_2 m が存在する。
2. 92-99 β_2 m 血中濃度はキャピラリー電気泳動で確認される中間体 β_2 m の 1/3 から 1/4 であった。
3. キャピラリー電気泳動で確認される中間体 β_2 m の約 7 割は C 末端がまだ完全に unfold していない不完全型ヴァリエントと考えられる。

E. 結論

維持透析患者血中には、健常者では検出されない β_2 mC 末端が unfold した構造ヴァリエント 92-99 β_2 m が一定量以上(0.5 μ g/mL)存在する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Uji Y, Motomiya Y, Ando Y: Effect of heparin on conformation of the β_2 -microglobulin molecule. *Ther Apher Dial*, in press.

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

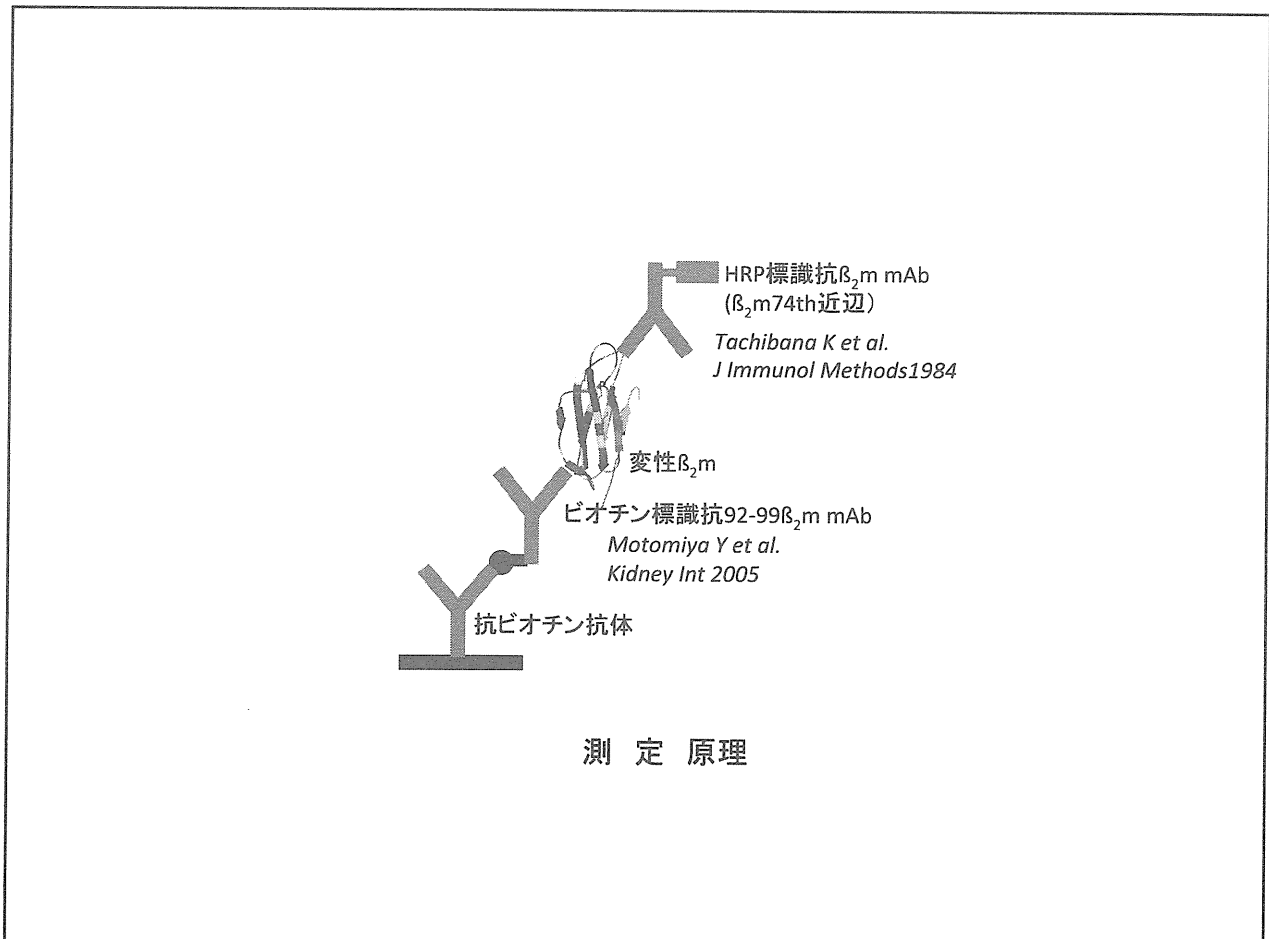
なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし



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

免疫電顕による透析アミロイドーシス分子シャペロン に関する超微形態研究

研究分担者 西 慎一 神戸大学大学院医学研究科腎臓内科 腎・血液浄化センター
共同研究者 黒田 毅*、和田庸子*、中野正明**

*新潟大学大学院医歯学総合研究科腎・膠原病内科学分野、

**新潟大学医学部保健学科

研究要旨 アミロイド形成には、様々な仮説があるが、分子シャペロン説もその一つである。シャペロン分子としてアミロイド P 蛋白、ApoE 蛋白、ヘパラン硫酸プロテオグリカン、コンドロイチン硫酸プロテオグリカンなどが知られている。しかし、これらの分子とアミロイド細線維の超微形態的な構造関係は不明である。免疫電顕により検討したところ、アミロイド沈着体に存在する分子シャペロン物質は、アミロイド細線維にまつわりつくように立体的高次元構造を形成していること示唆された。アミロイド沈着体の組織親和性、あるいは安定性に寄与しているのではないかと推測される。しかし、アミロイド P 蛋白のみは、アミロイド細線維間に主に存在し、特異な役目を果たしている可能性が考えられた。

A. 研究目的

アミロイド細線維形成には分子シャペロン説があり、アミロイド前蛋白以外の分子の共存が必要であると言われている。しかし、それら分子間の立体的配置は不明である。アミロイド沈着物内にあるアミロイド細線維以外のシャペロン蛋白の超微形態的局在を免疫電顕にて検討した。

B. 研究方法

透析患者の手根管症候群手術時に得た病変滑膜を材料とした。4%パラフォルムアルデヒドにて固定し、免疫電顕用樹脂に紫外線重合にて包埋した。超薄切片上にて、一次抗体として、各種シャペロン分子候補に対する抗体を反応させ、次にプロテイン A 金コロイドを反応させ電子顕微鏡下で局在を観察した。超薄切片を鉛染色を施して透過型電顕 H-7000 にて観察した。

実験に使用した抗体は、アミロイド前駆蛋白 B2-MG に対して、抗 B2-MG 抗体 DAKO 社、アミロイド P 蛋白に対して、抗アミロイド P 蛋白抗体 DAKO 社、Lipo 蛋白 アポプロテイン E(ApoE) に対して、抗アポプロテイン E(ApoE) 抗体 DAKO 社、プロテオグリカン HS(ヘパラン硫

酸)PG に対して、抗 HSPG 糖鎖抗体 生化学工業社、CS(コンドロイチン硫酸)PG に対して、抗 CSPG 糖鎖抗体 生化学工業社の製品を用いた。

(倫理面への配慮)

問題なし。組織材料を得る際に患者より承諾を得た。また、個人情報漏えいしないように組織標本を管理した。

C. 研究結果

各抗体により確認した金コロイド粒子の局在は、概ねアミロイド細線維上に存在することが証明された。しかし、一部の金コロイド粒子は、アミロイド細線維間にもその局在が確認された(図2)。

そこで、金コロイドの密度分布を10ヶ所の単位面積あたりでカウントし、非細線維領域(細線維間)/細線維領域比を求めた。 β 2MG、ApoE、HSPG、CSPGに関する非細線維領域(細線維間)/細線維領域比はほぼ同じで、0.25から0.45の間を占め、各群で有意差はなかった。しかし、アミロイドP蛋白のみは、非細線維領域(細線維間)/細線維領域比が他のシャペロン分子より有意に高く($p < 0.05$)、1.73を呈していた。(図1参照)

D. 考察

アミロイド形成説には、分子異常説、AGE 化説、分子シャペロン説、蛋白 Seed 説、蛋白異常コンフォーメンショナル説などが唱えられている。近年では、蛋白異常コンフォーメンショナル説が注目されているが、これらの仮説は、単独でアミロイド形成機序の全てを説明することは現在不可能である。従って、全ての仮説に関して生体組織を利用してその正しさの証明をしていく必要がある。

吾々は、透析アミロイドーシスの手根管症候群患者の手術組織材料を用い、分子シャペロン説の超微形態的側面からの検討を試みた。シャペロン分子の局在は、金コロイド粒子がアミロイド細線維上に証明されることから、非常に密接に存在することが判明した。シャペロン分子は、本来生体内組織あるいは血漿中に存在する物質で、アミロイド沈着体の組織親和性、あるいは安定性を形成しているのではないかと推測される。ただし、アミロイド P 蛋白のみは、アミロイド細線維間にそのおもな局在があり、他のシャペロン分子と役割を異にしている可能性が示唆された (図 3)。

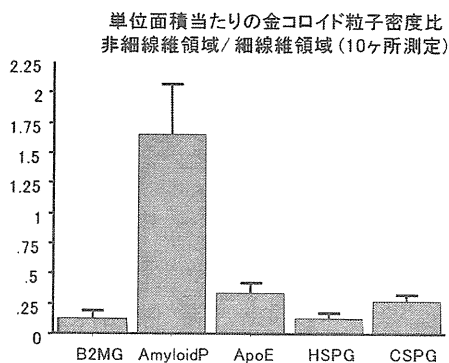


図 1. 単位面積あたりの金コロイド粒子密度比

アミロイド P 蛋白は、全てのタイプのアミロイド沈着物に証明されることが分かっている。従って、透析アミロイド細線維が形成されるためのみに必要なシャペロン分子ではない。今後の課題として、他のタイプのアミロイド沈着物においても、アミロイド P 蛋白が同様にアミロイド細線維間に主に存在し、特異な役割を果たしている分子であるか検討する必要があると考えられる。

E. 結論

アミロイド沈着体内に存在する分子シャペロン物質は、アミロイド細線維にまつわりつくように立体的高次元構造を形成していること示唆された。アミロイド沈着体の組織親和性、あるいは安定性を形成しているのではないかと推測される。しかし、アミロイド P 蛋白のみは、アミロイド細線維間に主に存在し、特異な役目を果たしている可能性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

- 1) 門口啓、西慎一: 【透析医療に必要な薬の使い方】透析アミロイドーシス. *腎と透析* 70:668-670, 2011.
- 2) 西慎一: 透析患者さんの下部消化管疾患 虚血性腸炎. *透析フロンティア* 21:19-23, 2011.
- 3) Fujii H, Kim JI, Yoshiya K, Nishi S, Fukagawa M: Clinical Characteristics and Cardiovascular Outcomes of Hemodialysis Patients with Atrial Fibrillation. *Am J Nephrol* 34:126-134, 2011.
- Nakai K, Fujii H, Kono K, Goto S, Fukagawa M, Nishi S: Effect of AST-120 on Left Ventricular Mass in pre-dialysis patients. *Am J Nephrol* 33:218-223, 2011.

2. 学会発表

- 1) 西慎一: 透析アミロイドーシス診断基準に基づく診断と対策、第 56 回日本透析医学会、横浜、6.18、2011.

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

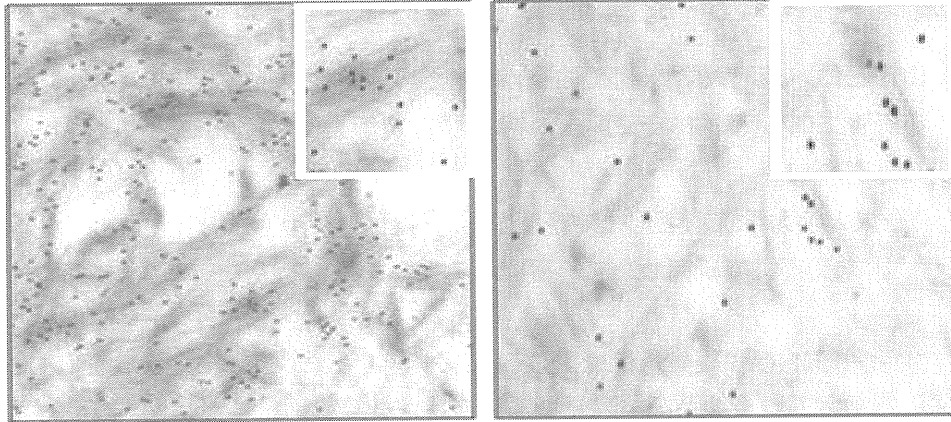
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

β 2-MG amyloidosis 免疫電顕 B2-MG Amyloid P



× 15,000
(× 30,000)

× 25,000
(× 50,000)

図2. アミロイドP 蛋白はアミロイド細線維間に主に存在する。

アミロイド細線維とシャペロン分子の超微形態的關係の想像図

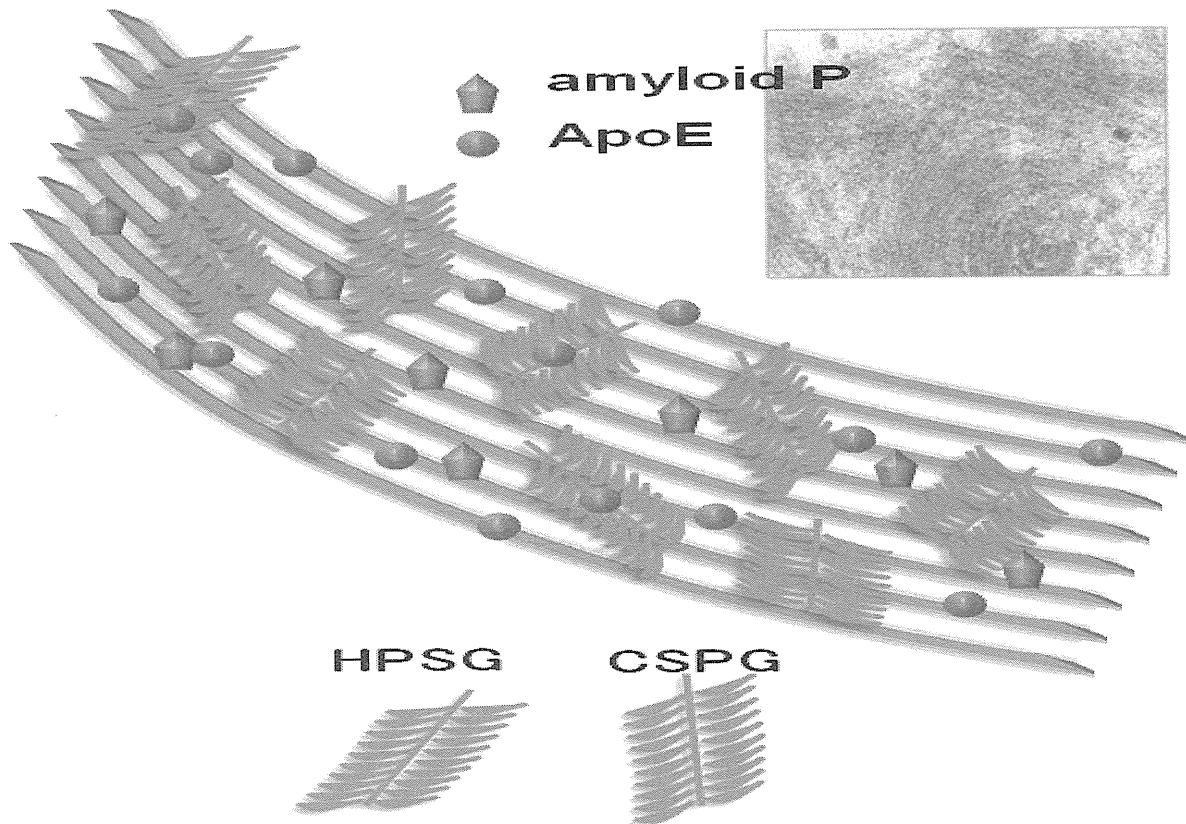


図3. アミロイドP 蛋白以外は、アミロイド細線維にまつわりつくように存在する。

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

ビタミン A による A β オリゴマー形成抑制効果

研究分担者 山田正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科学)

共同研究者 小野賢二郎*、高崎純一*、吉池裕二**、廣畑美枝*、池田篤平*、森永章義*、
 高島明彦**

*金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科学)

**国立長寿医療研究センター 研究所

研究要旨 近年、 β アミロイド蛋白(A β)凝集過程で生じる A β オリゴマーが強い細胞毒性を有し、アルツハイマー病(AD)の発症に関与していることが示唆されている。我々は、以前にビタミン A 類、 β -carotene、 α -lipoic acid 及び coenzyme Q10 に A β の線維形成を抑制する効果があると報告した。我々は今回、ビタミン A (retinol、retinal、retinoic acid)、 β -carotene、 α -lipoic acid、coenzyme Q10 及びビタミン B2、B6、C、E の A β オリゴマー形成に対する効果を photo-induced cross-linking of unmodified proteins (PICUP)、電子顕微鏡及び原子間力顕微鏡を用いて検討した。また、human embryonic kidney (HEK) 293 細胞を用いた MTT assay にてオリゴマー毒性の軽減効果を検討した。今回検討したビタミン類のなかでビタミン A (retinol、retinal、retinoic acid)及び β -carotene が A β オリゴマー形成を抑制した。Retinoic acid は A β オリゴマーの細胞毒性を軽減した。ビタミン A 類には A β の線維形成抑制とオリゴマー形成抑制ともに効果があり、AD の新たな予防・治療薬の開発につながると考えられる。

A. 研究目的

アルツハイマー病 (AD) の病態において、 β -アミロイド蛋白 (A β) の凝集・蓄積が AD の発症機構に重要な役割を果たしていると考えられている (アミロイドカスケード仮説)。従来、脳アミロイドとして蓄積する A β 線維 (fA β) が神経毒性を発揮すると考えられていたが、最近、可溶性オリゴマーの毒性に注目が集まっている。以前、我々はビタミン A 類、 β -carotene、 α -lipoic acid、coenzyme Q10 に A β 線維 (fA β) 形成を抑制する効果があると報告したが、A β オリゴマー形成に対する作用は報告されていない。そこで、我々は今回、各種ビタミンの A β オリゴマー形成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

ビタミン A (retinol、retinal、retinoic acid)、 β -carotene、 α -lipoic acid、coenzyme Q10 および Vitamin B2、B6、C、E の A β 40 及び A β 42 のオリゴマー形成過程における影響を photo-induced

cross-linking of unmodified proteins (PICUP)にて重合反応を行った後、SDS-PAGEを用いて分析した。そのうえで、電子顕微鏡および原子間力顕微鏡を用いて形態学的評価を行った。また、Human embryonic kidney (HEK) 293 細胞を用いて retinoic acid による A β オリゴマーの毒性軽減効果も検討した。

(倫理面への配慮)

問題なし

C. 研究結果

ビタミン A (retinol、retinal、retinoic acid) 及び β -carotene は、A β 40、A β 42 のオリゴマー形成を抑制する一方で、 α -lipoic acid、coenzyme Q10 および Vitamin B2、B6、C、E はオリゴマー形成を抑制しない事を発見した。ビタミン A 類の A β オリゴマー形成抑制効果を比較したところ、retinoic acid > retinol \geq retinal > β -carotene だった。また、Retinoic acid は A β 42 オリゴマー形成抑制により細胞毒性

を軽減した。

D. 考察

本研究で retinoic acid をはじめとするビタミン A 類が A β 凝集過程における早期の段階であるオリゴマー形成を抑制し、細胞毒性を軽減することを明らかにした。オリゴマー形成抑制効果は、retinoic acid > retinol \geq retinal > β -carotene の順であった。一方で、我々は、以前にビタミン A 類の fA β 抑制効果の強度は、retinol = retinal > β -carotene > retinoic acid の順であることを報告した。Retinol、retinal、および β carotene は水溶液中では極性を有しない一方で、retinoic acid はカルボキシル基による陰性荷電を有していること、水溶性の強度は、retinoic acid > retinal > retinol の順である事より、陰性荷電や水溶性の強度が low-order oligomers への結合性に影響していると考えられた。一方で、アルデヒド基 (retinal) やヒドロキシ基 (retinol) はより high-order な凝集体に結合しやすく、fA β 形成抑制につながる事が考えられた。

E. 結論

ビタミン A 類には A β の線維形成抑制とオリゴマー形成抑制ともに効果があり、AD の新たな予防・治療薬の開発につながると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chen WP, Samuraki M, Shima K, Yanase D, Takeda N, Miyazaki Y, Ono K, Yoshita M, Nishimura S, Yamada M, Matsunari I: Effect of age and sex mismatched normal database on diagnostic performance of ¹⁸F-FDG PET for Alzheimer's disease: The Ishikawa Brain Imaging Study. *Nucl Med Commun* 32: 1128-1133, 2011.
- 2) Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Ikeda T, Yamada M: Cerebrospinal fluid from patients with multiple system atrophy promotes in vitro α -synuclein fibril formation. *Neurosci Lett* 491: 48-52, 2011.
- 3) Komatsu J, Ono K, Yanase D, Samuraki M, Shima

- K, Kuwano R, Matsunari I, Yamada M: Imaging findings of familial dementia with a tau R406W Mutation. *Acta Neurol Belg* 111: 374-375, 2011.
- 4) Morinaga A, Ono K, Takasaki J, Ikeda T, Hirohata M, Yamada M: Effects of sex hormones on Alzheimer Disease-associated β -amyloid oligomer formation in vitro. *Exp Neurol* 228: 298-302, 2011.
- 5) Ono K, Takasaki J, Ikeda T, Yamada M: Familial Parkinson disease mutations influence α -synuclein assembly. *Neurobiol Dis* 43: 715-724, 2011.
- 6) Ono K, Yamada M: Low-n oligomers as therapeutic targets of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 117: 19-28, 2011.
- 7) Ono K, Mochizuki H, Ikeda T, Nihira T, Takasaki J, Teplow DB, Yamada M: Effect of melatonin on α -synuclein self-assembly and cytotoxicity. *Neurobiol Aging*, in press.
- 8) Ono K, Yamada M. Vitamin A and Alzheimer's disease. *Geriatr Gerontol Int*, in press.
- 9) Sakai K, Hayashi S, Sanpei K, Yamada M, Takahashi H: Multiple cerebral infarcts with a few vasculitic lesions in the chronic stage of cerebral amyloid angiopathy related inflammation. *Neuropathology*, in press.
- 10) Sakai K, Ono K, Harada H, Shima K, Notoya M, Yamada M: Parkinson's disease showing progressive conduction aphasia. *Neurol Sci*, in press.
- 11) Samuraki M, Matsunari I, Chen WP, Shima K, Yanase D, Takeda N, Matsuda H, Yamada M: Glucose metabolism and gray-matter concentration in apolipoprotein E ϵ 4 positive normal subjects. *Neurobiol Aging*, in press.
- 12) Shima K, Matsunari I, Samuraki M, Chen WP, Yanase D, Noguchi-Shinohara M, Takeda N, Ono K, Yoshita M, Miyazaki Y, Matsuda H, Yamada M: Posterior cingulate atrophy and metabolic decline in early stage Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, in press.
- 13) Takasaki J*, Ono K*, Yoshiike Y, Hirohata M, Ikeda T, Morinaga A, Takashima A, Yamada M: Vitamin A has antioligomerization effects on amyloid- β in vitro. *J Alzheimers Dis* 27:271-280, 2011. *Equally contributed.

- 14) 池田篤平、山田正仁：アルツハイマー病新薬の使い分け方. *医学のあゆみ* 230: 407-412, 2011.
- 15) 池田篤平、山田正仁：神経疾患治療ノート：アルツハイマー病, Lewy 小体型認知症. *Clin Neurosci* 29: 956-957, 2011.
- 16) 小野賢二郎、山田正仁：アルツハイマー病の予防. *認知症の最新医療* 1: 24-27, 2011.
- 17) 坂井健二、山田正仁：認知症の神経病理学：概論. *日本臨床* 69: 129-135, 2011.
- 18) 篠原もえ子、佐村木美晴、松成一朗、吉田光宏、山田正仁：アルツハイマー病, レビー小体病の生化学マーカーおよび画像検査. *精神科* 18: 513-521, 2011.
- 19) 篠原もえ子、山田正仁：Pre-MCI, early MCI に対する primary prevention therapy. *Cognition and Dementia* 10: 47-53, 2011.
- 20) 篠原もえ子、山田正仁：認知症の診断学. *総合臨床* 60: 1797-1803, 2011.
- 21) 廣畑美枝、山田正仁：脳アミロイドアンギオパチーの疫学と臨床像. *神経内科* 74: 472-478, 2011.
- 22) 山田正仁：脳アミロイドアンギオパチーの病態. *老年精神医学* 22: 72-77, 2011.
- 23) 山田正仁：認知症が拓く新時代. 診断：画像診断の観点から. *Clinician* 58: 22-28, 2011.
- 24) 山田正仁：認知症の病態解明の進歩—認知症の蛋白異常による分類と病態. α シヌクレイン. *日本内科学会雑誌* 100: 2476-2481, 2011.
- 25) 山田正仁：＜巻頭言＞アルツハイマー病の新しい診断基準と神経病理. *老年精神医学雑誌* 22: 998-999, 2011.
- 26) 山田正仁：アルツハイマー病の診断と治療の展開. *石川医報* 1501: 21-24, 2011.
- 27) 吉田光宏、山田正仁：Lewy 小体型認知症：症候と検査所見の特徴. *Clin Neurosci* 29: 320-322, 2011.
- 28) 吉田光宏、山田正仁：レビー小体型認知症の画像検査—MIBG 心筋シンチグラフィーも含めて—. *老年精神医学* 22: 168-175, 2011.
- 29) 吉田光宏、山田正仁：代表的な認知症 (3) — Lewy 小体型認知症. *診断と治療* 99: 459-466, 2011.
- 30) 石田千穂、山田正仁：脳アミロイド・アンギオパチー. 田中耕太郎、高嶋修太郎 編, *必携脳卒中ハンドブック改訂第 2 版*. 診断と治療社, 東京, pp130-133, 2011.
- 31) 山田正仁：アミロイドーシス. 山口 徹、北原光夫、福井次矢 編, *今日の治療指針 2011 年版*. 医学書院, 東京, pp656-657, 2011.
- 32) 山田正仁：新薬登場！アルツハイマー病の治療. *NHK きょうの健康*, NHK 出版, 東京, pp94-97, 2011.

2. 学会発表

- 1) Ikeda T, Ono K, Condron M, Noguchi-Shinohara M, Yoshita M, Teplow D, Yamada M: Effect of Cerebrospinal Fluid in Alzheimer Patients on Amyloid β -protein Oligomerization. Alzheimer's Association International Conference on Alzheimer's Disease 2011, Paris, 7.16-21, 2011.
- 2) Hirohata M, Ono K, Morinaga A, Ikeda T, Yamada M: Cerebrospinal Fluid from Patients with α -Synucleinopathies Promotes in vitro α -Synuclein Fibril Formation. Alzheimer's Association International Conference on Alzheimer's Disease 2011, Paris, 7.16-21, 2011.
- 3) Morinaga A, Ono K, Ikeda T, Ikeda Y, Shima K, Noguchi-Shinohara M, Samuraki M, Yanase D, Yoshita M, Iwasa K, Matsunari I, Yamada M: A comparison of the diagnostic sensitivity for Alzheimer's disease among MRI, ECD-SPECT, FDG-PET, and cerebrospinal fluid biomarkers in a memory clinic. Alzheimer's Association International Conference on Alzheimer's Disease 2011, Paris, 7.16-21, 2011.
- 4) Ono K, Mochizuki H, Ikeda T, Nihira T, Takasaki J, Teplow DB, Yamada M: Effect of melatonin on α -synuclein self-assembly and cytotoxicity. Alzheimer's Association International Conference on Alzheimer's Disease 2011, Paris, 7.16-21, 2011.
- 5) 池田篤平、小野賢二郎、David Elashoff、Margaret M. Condron、篠原もえ子、吉田光宏、David B. Teplow、山田正仁：ヒト脳脊髄液におけるアミロイド β 蛋白オリゴマー化抑制物質の検討. 第 52 回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18-20, 2011.
- 6) 池田芳久、吉田光宏、初坂奈津子、樋口正法、町谷知彦、小野賢二郎、菊知 充、賀戸 久、山田正仁：アルツハイマー病における安静時 MEG

脳表記録の検討. 第 52 回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18-20、2011.

7) 小野賢二郎、David B. Teplow、山田正仁：English (H6R) 及び Tottori (D7N) 変異アミロイドβ蛋白の凝集および細胞毒性. 第 52 回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18-20、2011.

8) 篠原もえ子、柚木颯偲、堂本千晶、池田芳久、岩佐和夫、駒井清暢、山田正仁：地域高齢者の認知機能低下に關与する因子：地域脳健診・認知症予防プロジェクトにおける検討. 第 52 回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18-20、2011.

9) 廣畑美枝、小野賢二郎、高崎純一、池田篤平、森永章義、山田正仁：イソフラボンによるβアミロイド蛋白モノマー・オリゴマー形成・線維形成への作用の検討. 第 52 回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18-20、2011.

10) 山田正仁：脳アミロイドアンギオパチーの臨床病理. 第 52 回日本神経学会学術大会 シンポジウム4、名古屋、5.18-20、2011.

11) 坂井健二、林森太郎、三瓶一弘、山田正仁、高橋 均：長期経過を観察し得たCAA 関連脳血管炎の1 剖検例. 第 52 回日本神経病理学会総会学術研究会、京都、6.2-4、2011.

12) 小野賢二郎、David B. Teplow、山田正仁：English (H6R) 及び Tottori (D7N) 型変異がアミロイドβ蛋白の凝集および細胞毒性に与える影響. 第 34 回日本神経科学大会、横浜、9.14-17、2011.

13) 山田正仁：レビー小体型認知症：αシヌクレインの分子病態と診断・治療法の開発. 第 39 回臨床神経病理懇話会、第 2 回日本神経病理学会中国・四国地方会、岡山、10.30、2011.

14) 阿部貞浩、Qinying Zhao、三好 出、山田正仁、Carol Cronenberger、東郷香苗、石橋太郎、Brendon Binneman、Martin M. Bednar、James W. Kupice、藤本陽子：抗アミロイドβモノクローナル抗体 PF-04360365：軽度から中等度の日本人アルツハ

イマー患者に単回投与後の薬物動態. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-13、2011.

15) 小野賢二郎、David B. Teplow、山田正仁：English (H6R) 及び Tottori 型(D7N)変異アミロイドβ蛋白の凝集および細胞毒性. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-13、2011.

16) 濱口 毅、山田正仁：脳βアミロイドーシスの propagation. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-13、2011.

17) 三好 出、Brendon Binneman、山田正仁、石橋太郎、東郷香苗、阿部貞浩、Qinying Zhao、Martin M. Bednar、James W. Kupice、藤本陽子：抗アミロイドβモノクローナル抗体 PF-04360365：軽度から中等度に日本人アルツハイマー病患者患者の安全性 - 単回投与後の最終結果及び反復投与後の中間結果報告. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-13、2011.

18) 山田正仁：認知症診療に活かす画像検査. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-13、2011.

19) 山田正仁：脳アミロイドアンギオパチーと認知症・認知障害. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-13、2011.

20) 山田正仁：「認知症とは」. 第 30 回日本認知症学会学術集会 市民公開講座、東京、11.13、2011.

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

βアミロイドの凝集・蓄積に関する実験病理学的検討：CLAC タンパク質の効果

研究分担者 岩坪威 東京大学大学院医学系研究科神経病理学分野

共同研究者 若林朋子、橋本唯史、柏木真結

東京大学大学院医学系研究科神経病理学分野

研究要旨 CLAC はアルツハイマー病脳老人斑に蓄積する、脳特異的なコラーゲン分子である。本研究においては、βアミロイドの凝集・蓄積に対して CLAC が果たす役割を、マウスモデルを用いて *in vivo* で検討した。加齢依存的にアミロイド蓄積を生じる AD モデルマウスと神経系に CLAC-P を発現するトランスジェニック (TG) マウスを交配し、ダブル TG マウスを作出した。ダブル TG マウスでは、アミロイド蓄積が開始される時期である 9 ヶ月齢において、不溶性画分に見られるアミロイド線維化した Aβ が顕著に増加した。また、アミロイド蓄積が進んだ 18 ヶ月齢においては、Aβ オリゴマーを含む可溶性 Aβ の量が減少し、また、アミロイド蓄積形態面積の減少と、コアのある成熟したアミロイド斑数の増加が観察された。以上から、CLAC はアミロイド蓄積に対して促進的に働き、アミロイド斑の成熟を促すとともに、可溶性の高い Aβ 分子種の量を減らす働きがあることが明らかとなった。

A. 研究目的

我々はアルツハイマー病 (AD) の老人斑アミロイドの構成タンパク質として、脳特異的なコラーゲンタンパク質である CLAC を同定した。CLAC は II 型貫通型タンパク質である前駆体の CLAC-P/collagen type XXV より、furin convertase による切断を受けて分泌され、アミロイドに蓄積する。これまでに CLAC が *in vitro* において線維化したアミロイド β ペプチド (Aβ) に結合することを示してきたが、βアミロイドの凝集・蓄積に対し、*in vivo* で CLAC がどのような効果を発揮するかについては明らかとなっていなかった。そこで本研究では、家族性 AD 変異型 APP を脳に発現し、加齢依存的に脳にアミロイド蓄積を生じる AD モデルマウスと、CLAC-P を脳に発現するトランスジェニック (TG) マウスを用い、CLAC がアミロイド蓄積に与える影響について、*in vivo* における検討を行った。

発現し、月齢依存的にアミロイド斑の蓄積を生じる AD モデルマウス (A7 マウス) および、CLAC の前駆体である CLAC-P を thy1.2 プロモーター下で過剰発現する CALC-P トランスジェニック (TG) マウスを交配し、A7、CLAC-P ダブル TG マウスを作出した。アミロイド斑の蓄積が生じる直前 (9 ヶ月齢) および蓄積後 (18 ヶ月齢) のメスマウスについて、脳の半球をトリス緩衝液 (TS)、Triton X-100、SDS およびギ酸を用いて段階的に抽出し、ウェスタンブロットおよび ELISA による解析を行った。もう一方の半球はパラフィン包埋後に薄切し、抗 Aβ 抗体による免疫組織化学的検討およびアミロイド結合色素であるチオフラビン S 染色を行った。CLAC 発現による βアミロイドの凝集・蓄積の変化について解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究で行った動物実験は、東京大学動物実験実施規則を遵守し、承認のもとに行った。

B. 研究方法

Thy1.2 プロモーターにより神経系特異的に家族性 AD (Swedish、Austrian) 変異型ヒト APP を

C. 研究結果

アミロイド蓄積が生じる前の 9 ヶ月齢において

は、A7マウスとA7、CLAC-PダブルTGマウスの間でTS画分に含まれる可溶性A β 量に差は認められなかった。また、TS画分中に含まれるオリゴマーA β をグアニジン塩酸処理により解離し、ウェスタンブロットによる解析を行った結果でも、ダブルTGで変化は認められなかった。一方、不溶性の高いアミロイドを含むギ酸画分の解析の結果では、A7に比してダブルTGでA β が増加していることが分かった。

アミロイド蓄積が認められる18ヶ月齢では、ダブルTGマウスにおいてTS画分画分中の可溶性A β 量が減少していた。また、オリゴマーを含むグアニジン処理画分についても、同様の結果となった。この傾向はこの時、アミロイド線維由来の不溶性A β の量に変化は見られなかった。

A β の免疫組織化学的検討においては、A7マウスで見られる比較的びまん性のアミロイド蓄積に比して、ダブルTGマウスではアミロイド蓄積の形態がよりコンパクトに変化することが明らかとなった。この傾向は大脳皮質、海馬、嗅球などを含む脳の複数の部位で認められた。定量的解析の結果では、A β 陽性アミロイド斑の面積率が有意に減少していた。またこのアミロイド蓄積形態の変化は、中心に線維性の高いアミロイドコアを持つ斑への変化であり、 β シートに富むアミロイド構造を認識するチオフラビンSの染色を行った結果、チオフラビンS陽性のアミロイド斑の数がダブルTGマウスで有意に増加していた。

D. 考察

これらの結果から、CLACは線維化したA β に結合することで、A β の不溶化、成熟した形態の斑の形成を促進する効果があると推測された。9ヶ月齢のダブルTGマウスで不溶性のA β 量が增大していたのは、この効果を反映していると考えられる。また、CLACはアミロイド斑に対する安定化効果を有することも示唆された。アミロイド斑は、その一部をA β オリゴマーとして可溶性画分に再放出するプールとなっている可能性が考えられている。CLACはA β 斑の形態を変化させることで、アミロイドからの可溶性A β の放出を抑制している可能性が考えられた。18ヶ月齢ダブルTGマウスで可溶性A β 量が減少していたのは、このような

効果によるものではないかと推測される。

以上から、CLACはアミロイド蓄積に対して促進的に働き、可溶性の高いA β 分子種の量を減らす働きがあることが明らかとなった。A β がその蓄積過程にとる凝集形態の中で、可溶性のオリゴマーが高い神経細胞毒性を有すると広く考えられている。この観点に基づくと、CLACはA β のアミロイド蓄積を促進し、脳への毒性を低減させる効果を有していると考えられる。

E. 結論

本研究はCLACがアミロイド斑の成熟を促進し、可溶性A β の量を減少させる効果を有することを示しており、CLACが脳に保護的に働いている可能性を示唆する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ohki Y, Higo T, Uemura K, Shimada N, Osawa S, Berezovska O, Yokoshima S, Fukuyama T, Tomita T, Iwatsubo T: Phenylpiperidine-type γ -secretase modulators target the trans- membrane domain 1 of presenilin 1. *EMBO J* 30:4815-4824, 2011

2. 学会発表

1) Iwatsubo T: Molecular pathology and disease-modifying therapy for Alzheimer's disease. AAN-JSN joint symposium at the 52nd Japanese Society for Neurology meeting, Nagoya, 5.18, 2011.

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