

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

スタチンのアミロイドβ 蛋白産生抑制機序の検討

研究分担者 玉岡晃 筑波大学医学医療系神経内科学

共同研究者 保坂愛^{*}、^{**}、織田彰子^{*}、富所康志^{*}、荒木亘^{**}

^{*}筑波大学医学医療系神経内科学、^{**}国立精神神経センター神経研究所

研究要旨 スタチン(HMG-CoA 還元酵素阻害剤)はアルツハイマー病の有病率を減少させることや、アミロイドβ 蛋白(Aβ)産生の修飾作用を有することが報告されている。本研究では、スタチンの Aβ 産生に対する効果について、ラット初代培養大脳皮質神経細胞を用いて検討した。神経細胞を pitavastatin (PV) または atorvastatin(AV)で4日間処理した場合、細胞内コレステロール量が著明に減少するとともに、Aβ 分泌量が有意に減少した。PV、AV 処理した細胞では、成熟型アミロイド前駆体蛋白(APP)の発現レベルの有意な低下を認めた。PV、AV による Aβ 分泌、成熟型 APP レベルの低下はメバロン酸との共処理により抑制されたが、コレステロールとの共処理では抑制されなかった。神経細胞に APP を過剰発現させた場合も、PV または AV 処理した細胞では対照に比べて、同様に Aβ 分泌量が減少し、成熟型 APP レベルの低下も認められた。以上より、スタチンは神経細胞の Aβ 産生を抑制する作用を持つことを明らかにした。その一因として、成熟型 APP の発現低下の関与が示唆され、その変化にはコレステロールの低下以外の機序が関与している可能性が考えられた。

A. 研究目的

アルツハイマー病(AD)の病態にコレステロールが関与することが指摘されており、コレステロールの合成を阻害する薬剤であるスタチン(HMG-CoA 還元酵素阻害剤)による AD 有病率の減少や、アミロイドβ 蛋白(Aβ)生成の修飾作用が報告されている。スタチンはメバロン酸(MVA)経路において、MVA 生成を阻害する薬剤であり、MVA 経路はコレステロール合成の他、イソプレノイドの産生に関わる。スタチンの Aβ 産生に対する効果には、コレステロールの減少やイソプレノイドの減少が関与していると考えられているが、その詳細な機序はまだ不明である。今回我々は、初代培養神経細胞を用いて、スタチンの Aβ 産生低下作用およびその作用機序について検討した。

B. 研究方法

1. PV、AV の Aβ 分泌および細胞内アミロイド前駆体蛋白(APP)、β-site APP-cleaving enzyme 1 (BACE1)、γ セクレターゼ複合体に対する影響

ラット初代培養大脳皮質神経細胞を7日間培養した後、PVまたはAV (0.1~5 μM)で4日間処理し、培養上清中の Aβ₄₀、Aβ₄₂ の量をサンドイッチ ELISA 法で測定した。また、細胞溶解液中の APP などの蛋白発現をウエスタンブロッティングで解析した。

2. 細胞内総コレステロールの定量

PV または AV 処理した細胞の細胞内コレステロールの量を Cholesterol/Cholesteryl Ester Quantitation Kit (BioVision 社)を用いた酵素法により測定した。

3. PV、AV と MVA またはコレステロールとの共処理

神経細胞を、PV、AV (1~2 μM)と、MVA (2 mM) またはコレステロール (20 μM)で4日間共処理し、培養上清中の分泌型 Aβ₄₀、Aβ₄₂ の量、細胞内 APP の変化を上記と同様に解析した。

4. PV、AV の APP 過剰発現細胞に対する影響

PV または AV (1~2 μM)で処理した細胞に組換えアデノウイルスを用いて、ヒト APP を過剰発現し、同様な解析を行った。

(倫理面への配慮)
特に問題なし

C. 研究結果

1. PV、AVによるA β 分泌の変化および細胞内APP、BACE1、 γ セクレターゼ複合体の変化

ラット初代培養大脳皮質神経細胞をPVまたはAVで処理した場合、培養液中のA β 40、A β 42ともにPV、AVの濃度依存的に減少した(図1)。同時に細胞内の成熟型APPレベルが有意に減少した。5 μ Mでは成熟型APPの分子サイズの減少も認めた(図2)。一方、BACE1や γ セクレターゼ複合体因子のレベルには変化が認められなかった。

2. PV、AVによる細胞内総コレステロール量の変化

PV、AV処理によりPV、AVの濃度依存的に細胞内コレステロール量が著明に減少した(図3)。

3. PV、AVによるA β 分泌および細胞内APPの変化に対するMVAまたはコレステロールの効果

PV、AVとMVAまたはコレステロールとの共処理により、いずれもPV、AVによる細胞内コレステロール量の低下は抑制された。さらにMVA共処理では、PV、AVによるA β 分泌量の低下が抑制され、同時に細胞内APPの変化も抑制された。一方、コレステロール共処理では抑制されなかった(図4)。

4. PV、AVのAPP過剰発現細胞における影響

組換えアデノウイルスを用いてAPPを過剰発現した場合も、PVまたはAV処理した細胞では対照に比べて、同様にA β 分泌量が減少し、成熟型APPレベルの低下も認められた。

D. 考察

我々は本研究において、ラット初代培養大脳皮質神経細胞をPVまたはAVで4日間処理した時、PV、AVのコレステロール低下作用を確認した。さらに、PV、AV処理によりA β 40、A β 42分泌量が著明に低下した。また、PV、AV処理した細胞では、成熟型APPの発現レベルの有意な低下を認めた。また、PV、AVによるA β 分泌低下と成熟型APPの発現レベルの低下はMVAとの共処理により抑制されたが、コレステロールとの共処理では抑制されなかった。APP過剰発現細胞においても、PVまたはAV処理により、A β 分泌量が減少し、成熟型APPレベルの低下も認められた。以上

より、成熟型APPレベルの低下がスタチンのA β 産生抑制作用の一因として考えられた。さらに、スタチンはコレステロール低下作用以外の作用機序によってA β 産生を抑制することが示唆され、その原因として、スタチンがイソプレノイドの減少を介して成熟型APPの発現やAPPの細胞内輸送に影響している可能性が考えられた。今後、スタチンによるA β 産生抑制の詳細なメカニズムの解析を継続する予定である。

E. 結論

スタチン(PV、AV)は神経細胞のA β 産生を抑制する作用を持つ。その一因として、成熟型APPの発現低下の関与が示唆された。その変化には、コレステロール低下作用よりもイソプレノイド低下作用が関与している可能性が考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka N, Saitou H, Takao T, Iizuka N, Okuno J, Yano H, Tamaoka A, Yanagi H: Effects of gait rehabilitation with a footpad-type locomotion interface in patients with chronic post-stroke hemiparesis: a pilot study. *Clin Rehabil* 2012. [Epub ahead of print]
- 2) Tsuji H, Nonaka T, Yamashita M, Masuda-Suzukake M, Kametani F, Akiyama H, Mann DM, Tamaoka A, Hasegawa M: Epitope mapping of antibodies against TDP-43 and detection of protease-resistant fragments of pathological TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 417:116-121, 2012.
- 3) Nakamagoe K, Shioya A, Yamaguchi T, Takahashi H, Koide R, Monzen T, Satoh J, Tamaoka A: A Japanese case with Nasu-Hakola disease of DAP12 gene mutation exhibiting precuneus hypoperfusion. *Intern Med* 50:2839-44, 2011.
- 4) Ishii K, Tsuji H, Tamaoka A: Mumps virusencephalitis with symmetric claustrum lesions.

- Am J Neuroradiol* 32: E139. Epub 2011.
- 5) Nakano-Yokomizo Y, Tahara-Hanaoka S, Nakahashi-Oda C, Nabekura T, Tchao NK, Kadosaki M, Totsuka N, Kurita N, Nakamagoe K, Tamaoka A, Takai T, Yasui T, Kikutani H, Hosoda S, Shibuya K, Lanier LL, Shibuya A: The immunoreceptor adaptor protein DAP12 suppression B lymphocyte-driven adaptive immune responses. *J Exp Med* 208:1661-71, 2011.
- 6) Hasegawa M, Nonaka T, Tsuji H, Tamaoka A, Yamashita M, Kametani F, Yoshida M, Arai T, Akiyama H: Molecular Dissection of TDP-43 Proteinopathies. *J Mol Neurosci* 45:480-5, 2011.
- 7) 玉岡 晃: A β オリゴマーの病因性と検査. *臨床検査* 56:57-64, 2012.
- 8) 玉岡 晃: Alzheimer 病 治療. *神経治療学* 28:621-623, 2011.
- 9) 玉岡 晃: MCI の管理. *最新医学* 66 (9月増刊号) :114-123, 2011.
- 10) 玉岡 晃: アミロイド β 蛋白. *日本内科学会雑誌* 100:2469-2475, 2011.
- 11) 辻 浩史、長谷川成人、玉岡 晃: TDP-43(TAR DNA-binding protein 43kDA). *病理と臨床* 29 (臨時増刊号) :407-409, 2011.
- 12) 辻 浩史、山下万貴子、野中 隆、長谷川成人、玉岡 晃: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) 治療法の解明. *神経内科* 74:383-387, 2011.
- 13) 玉岡 晃: 神経疾患に対する抗体療法—アルツハイマー病における免疫療法—. *医学のあゆみ* 238:738-743, 2011.
- 14) 玉岡 晃: 認知症治療ガイドライン—最新の現状—. *Geriatric Medicine* 49: 749-754, 2011.
- 15) 玉岡 晃: アルツハイマー病. *検査と技術* 39:506-512, 2011.
- 16) 玉岡 晃: Message from editorial advisors. *Cognition and Denetia* 10(Suppl.1): 69, 2011.
- 17) 玉岡 晃: 認知症と脂質異常症. *日本老年医学会雑誌* 48:114-117, 2011.
- 18) 玉岡 晃: 認知症の診断と治療の実際. *日本内科学会雑誌* 100:723-7239, 2011.
- 19) 玉岡 晃: アルツハイマー病の薬物療法 (新規治療薬を含めて). *Mebio* 28:104-112, 2011.
- 20) 玉岡 晃: 代表的な認知症 (1) —Alzheimer 型認知症. *診断と治療* 99:445-452, 2011.
- 21) 辻 浩史、玉岡 晃: 海馬-嗅内皮質系の神経機能. 認知症学上—その解明と治療の最新知見—. *日本臨床* 69 (増刊号 8) :297-300, 2011.
- 22) 玉岡 晃: 概念とアルツハイマー病診断基準 (NINCDS-ADRDA). 認知症学下—その解明と治療の最新知見—. *日本臨床* 69 (増刊 10) :240-245, 2011.

2. 学会発表

- 1) 玉岡 晃: 認知症: 病態と治療の最前線. 第12回日本医療マネジメント学会茨城支部学術集会、つくば、11.26、2011.
- 2) 玉岡 晃: 認知症の診断. 第30回日本認知症学会学術集市民講座、東京、11.13、2011.
- 3) 富所康志、保坂愛、石井一弘、佐々木一樹、南野直人、玉岡晃: 野生型 Bri ペプチドの N-末端の一部は循環血液中中で切断を受けている. 第30回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-12、2011.
- 4) 荒木亘、本木和美、織田彰子、亀谷富由樹、玉岡晃: β セクレターゼの脂質ラフト局在と β アミロイド産生. 第30回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-12、2011.
- 5) 辻浩史、野中隆、新井哲明、山下万貴子、亀谷富由樹、細川雅人、初田裕幸、高尾昌樹、村山繁雄、斎藤祐子、長谷川成人、秋山治彦、マンデービット、詫間浩、玉岡晃: FTLD - TDP および ALS に蓄積する TDP-43 蛋白の凝集体構造に関する解析. 第30回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-12、2011.
- 6) Ishii K, Shibata Y, Hosoya T, Iwasaki N, Tanaka R, Hirano S, Ishii K, Tamaoka A: Central Nervous Effect of Phenyl-arsenic Compound. The first Bonn-Tsukuba Symposium in Medicine, Tsukuba, 11.3, 2011.
- 7) Takuma H, Tamaoka A: Pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis and the future therapeutic aspect. The first Bonn-Tsukuba Symposium in Medicine, Tsukuba, 11.3, 2011.
- 8) 玉岡 晃: アルツハイマー病の病態と治療の最前線. 第27回Brain Function Imaging Conference、神戸、9.10、2011.
- 9) 玉岡 晃: アミロイドカスケード仮説から見た認知症治療戦略. 第2回日本血管性認知障害研究会、東京、8.20、2011.

- 10) 儘田直美、石井一弘、田口高也、玉岡 晃、中居康展、椎貝真成、増本智彦：認知症で発症した硬膜動静脈瘻の76歳男性例. 第40回茨城県南脳血管障害研究会、つくば、7.22、2011.
- 11) 玉岡 晃：初期アルツハイマー病の病態と治療の進歩. 第14回日本薬物脳波学会学術集会、奈良、6.18、2011.
- 12) 玉岡 晃：アルツハイマー病の病態と危険因子. 第27回北九州高次脳機能研究会、北九州、6.10、2011.
- 13) 織田彰子、荒木 亙、本木和美、玉岡晃：スタチンのアミロイドβ蛋白産生抑制効果とそのメカニズム. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.
- 14) 渡邊雅彦、玉岡 晃：パーキンソン病の非運動症状が QOL に及ぼす影響. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.
- 15) 富所康志、保坂 愛、石井一弘、玉岡 晃：Aβ(1-34)特異的 ELISA 系の開発. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.
- 16) 長谷川成人、野中 隆、辻 浩史、山下万貴子、増田雅美、玉岡 晃、村山繁雄、新井哲明、秋山治彦：神経変性疾患における蛋白癌仮説. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、2011.
- 17) 辻 浩史、長谷川成人、野中 隆、亀谷富由樹、山下万貴子、増田雅美、細川雅人、秋山治彦、Daivid Mann、初田裕幸、高尾昌樹、村山繁雄、齊藤祐子、詫間 浩、富所康志、中馬越清隆、石井亜紀子、石井一弘、渡邊雅彦、新井哲明、玉岡 晃：ALS および FTLD-TDP に蓄積するリン酸化 TDP-43 蛋白コンフォメーションに関する解析. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.
- 18) 石井亜紀子、大越教夫、星野幸子、玉岡 晃：ラット骨格筋再生過程での amphiphysin2 および caveolin-3 蛋白発現の経時的検討. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.
- 19) 中馬越清隆、石井一弘、玉岡 晃：有機ヒ素化合物中毒者の慢性期における水平眼球運動異常. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.19、2011.
- 20) 北岡志保、井上治久、月田香代子、高橋和利、近藤孝之、吉川勝宇、山脇聖子、内藤素子、鈴木茂彦、伊東秀文、和泉唯信、梶 龍兒、詫間 浩、玉岡 晃、森田光哉、中野今治、川田明広、中畑龍俊、高橋良輔、山中伸弥：変異 SOD1 を有する ALS 患者由来 iPS 細胞の樹立とアストロサイトへの分化. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.19、2011.
- 21) 石井一弘、岩崎信明、田中竜太、中馬越清隆、瀬戸康雄、平野靖史郎、柴田康行、細谷朋子、玉岡 晃：ジフェニルアルシン酸(DPAA)の神経内半減期について. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.19、2011.
- 22) 詫間 浩、石井亜紀子、石井一弘、渡邊雅彦、中馬越清隆、富所康志、塩谷彩子、玉岡 晃：封入体筋炎におけるフィラミン染色性の検討. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.19、2011.
- 23) 荒木 亙、本木和美、織田彰子、玉岡 晃：βセクレターゼのアルミチル化と脂質ラフト移行・βアミロイド産生の関連. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、2011.
- 24) 保坂 愛、富所康志、石井一弘、佐々木一樹、南野直人、玉岡 晃：血漿並びに脳脊髄液の野性型 Bri ペプチドの N-末端. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、2011.
- 25) 望月昭英、小松崎八寿子、織田彰子、玉岡 晃：Hereditary diffuse leukoencephalopathy with neuroaxonal spheroids(HDLS)の臨床画像学的検討. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、2011.
- 26) 塩谷彩子、織田彰子、山口哲人、池辺 大、野口雅之、高橋祐二、後藤 順、辻 省次、玉岡 晃：頭部 MRI にて著明な白質変化を認めた歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症(DRPLA)の一家系の検討. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、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

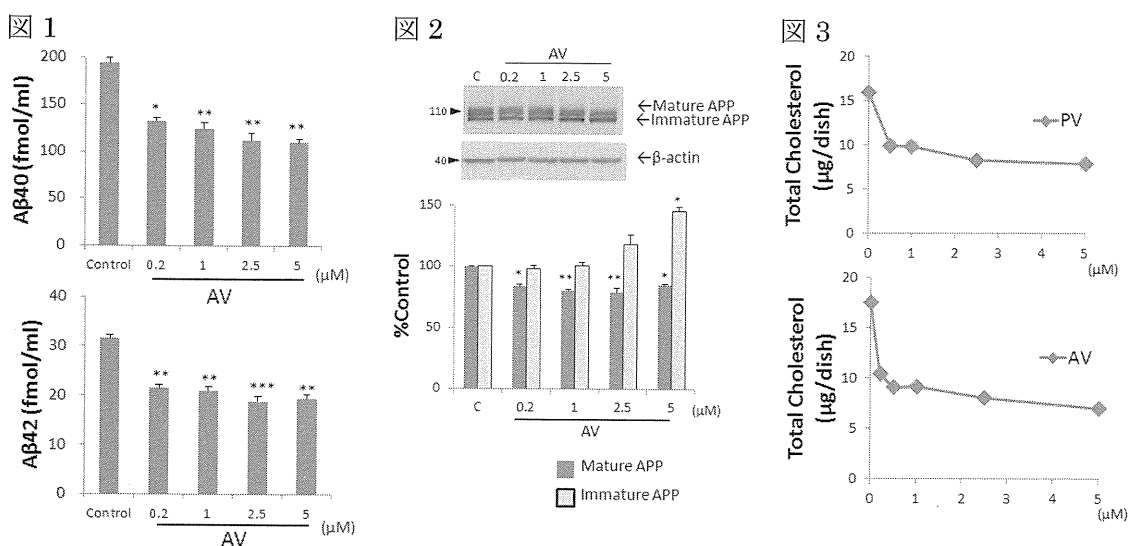


図 4

Treatment	Aβ40・Aβ42	成熟型APP 発現レベル	細胞内 コレステロール量
Control	100%	100%	100%
PV or AV	60~70% ↓	~70% ↓	40~50% ↓
Chol	~100%	~100%	140~150%
PV or AV +Chol	~70% ↓	~70% ↓	120% ↑
MVA	~100%	~100%	~70%
PV or AV +MVA	~90% ↑	~85% ↗	~70% ↗

PV: pitavastatin
 AV: atorvastatin
 Chol: コレステロール
 MVA: メバロン酸

図 1. AV 処理による Aβ 分泌量の変化： AV の濃度依存性に Aβ40、Aβ42 レベルが減少し、AV 5 μM では Aβ40、Aβ42 は対照と比べそれぞれ 50%、70%程度まで減少した。

図 2. AV 処理による細胞内 APP の変化： AV 処理により、成熟型 APP の発現レベルは有意に減少し、AV 5μM では成熟型 APP の分子サイズの減少も認めた。

図 3. PV、AV 処理による細胞内コレステロール量の変化： PV、AV 処理により濃度依存的に細胞内総コレステロール量の著明な減少を認めた。

図 4. PV、AV とメバロン酸(MVA)またはコレステロール共処理による解析結果： PV、AV と MVA またはコレステロールとの共処理により、いずれも PV、AV による細胞内コレステロール量の低下は抑制された。さらに MVA 共処理では、PV、AV による Aβ 分泌量の低下が抑制され、同時に細胞内 APP の変化も抑制された。一方、コレステロール共処理では抑制されなかった。

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

早期アルツハイマー病における後部帯状回萎縮と代謝低下、 脳脊髄液マーカー異常との関連

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 島 啓介*、佐村木美晴*、柳瀬大亮*、篠原もえ子*、
小野賢二郎*、吉田光宏*、松成一朗**、松田博史***、山田正仁*
*金沢大学大学院脳老化・神経病態学（神経内科学）
**先端医学薬学研究センター
***埼玉医科大学国際医療センター核医学科

研究要旨 アルツハイマー病（AD）では側頭葉内側部の萎縮が特徴的所見であるが、後部帯状回に萎縮を認めるADの存在が報告されている。早期に後部帯状回に萎縮を呈するADは、側頭葉内側部萎縮を主とするADとは異なる病型であるとの仮説に基づき、臨床像、FDG PET、脳脊髄液マーカーを検討した。頭部MRIにおいて、関心領域（ROI）を海馬領域（Hipp）、後部帯状回・楔前部（PCP）に設定し、AD患者の萎縮の程度をZ値として算出、各ROIの萎縮の有無を判断した。AD患者を、萎縮なし群（no-Hipp-PCP群）、海馬領域優位萎縮群（Hipp群）、後部帯状回・楔前部優位萎縮群（PCP群）の3群に分類し、臨床的特徴、脳ブドウ糖代謝、脳脊髄液を比較した。AD患者81名中、16名（20%）がno-Hipp-PCP群、55名（68%）がHipp群、10名（12%）がPCP群であった。PCP群は比較的若年発症であり、認知機能は他の群と同程度であったが、後部帯状回・楔前部、頭頂葉のブドウ糖代謝低下は他の群と比較し顕著であった。脳脊髄液p-tauはPCP群でより高値であり、脳脊髄液Aβ42は各群間で差を認めなかった。PCP群は代謝低下や神経変性のパターンが異なる特徴的な一群である可能性が示唆された。

A. 研究目的

アルツハイマー病（AD）では海馬を含む側頭葉内側部の萎縮が特徴的所見である。後部帯状回はADの早期段階から¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography（FDG PET）にてブドウ糖代謝が低下する部位であるが、海馬だけではなく、後部帯状回に萎縮を認めるADの存在が示唆されている。しかし、脳萎縮パターンと脳ブドウ糖代謝、アミロイドβ蛋白42（Aβ42）、リン酸化タウ蛋白（p-tau）などの脳脊髄液所見、認知機能などの臨床像との関連は明らかではない。本研究では、後部帯状回に萎縮を呈するAD患者は、側頭葉内側部萎縮を主とする典型的ADとは異なる病型ではないかとする仮説を立て、脳ブドウ糖代謝や臨床像の特徴を検討した。

B. 研究方法

AD患者81名（男性41名、女性40名、平均69.0歳）、健常者267名（男性130名、女性137名、平均62.0歳）に対し神経学的診察、MMSE、頭部MRI、FDG PET検査を施行した。AD患者はWAIS-R、WMS-Rにて認知機能を評価し、52名の患者で脳脊髄液アミロイドβ蛋白1-42（Aβ42）、リン酸化タウ（p-tau）を測定した。患者はClinical Dementia Rating（CDR）0.5または1の早期AD患者で、MMSEの平均は22.7点であった。AD患者1人1人に対して、正常データベースを構成する健常者（n=20）の平均年齢が各AD患者の年齢に一致するように正常データベースを作成した。AD患者のMRI画像は、関心領域（ROI）を海馬領域（Hipp）、後部帯状回・楔前部（PCP）に設定し、同部位の萎縮の程度を正常データベースと比較し、Z値として算出し、Z値の

カットオフを1に設定して各ROIの萎縮の有無を判断した。AD患者は各ROIの萎縮の有無をZ値で判断、萎縮なし群 (no-Hipp-PCP群)、海馬領域萎縮群 (Hipp群)、後部帯状回、楔前部萎縮群 (PCP群)の3群に分類し、臨床的特徴、脳ブドウ糖代謝、脳脊髄液所見を比較した。FDG PET画像は海馬、後部帯状回・楔前部、前頭葉、頭頂葉、側頭葉、後頭葉にROIを設定し、上記正常データベースを用いて、Z値を算出した。FDG PET画像は、部分容積効果補正を行い脳萎縮による影響を除外した。

(倫理面への配慮)

本研究は、金沢大学及び先端医学薬学研究センターの倫理委員会承認されている。

C. 研究結果

AD患者81名中、16名 (20%) がno-Hipp-PCP群、55名 (68%) がHipp群、10名 (13%) がPCP群に分類された。PCP群は平均年齢が60±8歳で、no-Hipp-PCP群 (68±9歳)、Hipp群 (71±7歳) と比較し有意に若年であった ($p=0.0002$)。MMSEは各群で差はなく、WMS-Rでも各項目の点数が全ての群で同程度に低下していた。WAIS-Rでは、no-Hipp-PCP群で全知能指数 (IQ)、言語性IQが保たれていた。FDG PETでは、PCP群にて後部帯状回・楔前部、頭頂葉のFDG集積が他の2群と比較して低下していた。脳脊髄液では、PCP群のp-tauが129±37 pg/mlで、Hipp群 (80±59 pg/ml) と比較して有意に高値であった ($p=0.006$)。脳脊髄液Aβ42は各群で差は認めなかった。

D. 考察

AD患者の68%が海馬萎縮を呈する典型的な群に属する一方、13%の患者は後部帯状回・楔前部が海馬と比較し優位に萎縮を呈していた。この患者群は比較的若年発症であり、認知機能は他の群と同程度であったが、後部帯状回・楔前部、頭頂葉のブドウ糖代謝低下は他の群と比較し顕著であった。脳脊髄液p-tauは脳の神経原線維変化の程度と相関し、認知機能低下と関連があるとされているが、p-tauも後部帯状回・楔前部萎縮群において著明に高値であった。これらの結果から、後部帯状回・楔前部の萎縮が優位であるAD患者は、単に

形態的な違いのみでなく、臨床像、代謝低下、脳病変のパターンが特徴的な一群である可能性が示唆された。臨床的に同程度のAD患者であっても、20%がno-Hipp-PCP群であり、臨床的な重症度は必ずしも脳萎縮に反映するとは限らないことが判明した。

E. 結論

早期からPCP優位に萎縮を来す患者群は、発症年齢が若く、高度な脳ブドウ糖代謝低下や脳脊髄液p-tau高値を伴っている。

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 ^{18}F -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. *日本臨牀* 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，レビー小体型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. *総合臨牀* 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新发展. *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, Condrón 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関与する因子：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 一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

脳脊髄液中に見出される A β -(1-34) の定量的検討

研究分担者 玉岡 晃 筑波大学医学医療系 (神経内科)

共同研究者 富所康志、保坂 愛、石井一弘

筑波大学医学医療系 (神経内科)

研究要旨 A β -(1-34)は、以前からヒト脳脊髄液における存在が知られおり、[Vigo-Pelfrey, C.他 *J. Neurochem.*, 1993]、先行研究から A β 蛋白前駆体(APP)からの直接の切り出しよりは、A β 分子がその産生後に BACE などの酵素により更に切断をうけて生じる可能性が示されている[Fluhrer, R.他 *J Biol Chem.* 2003 ; Shi XP 他 *J Biol Chem.* 2003]。AD の病態との関連など、その意義は不明であるため、脳脊髄液中の A β -(1-34)を定量的に検討した。A β -(1-34)の C-末端特異抗体を作成の上、A β -(1-34)特異的 sandwich ELISA 系を開発し、AD や非 AD 患者脳脊髄液の A β -(1-34)量を測定した。A β -(1-34)量は平均 30 pmol/l 程度であったが、性別や、AD 群と非 AD 群間で有意差を認めず、年齢による相関も認めなかった。A β -(1-40)や A β -(1-42)量と比較検討したところ、非 AD 群で A β -(1-42)と軽度の正の相関($p < 0.0001$, $r^2 = 0.28$)が、AD 群で A β -(1-42)/A β -(1-40)比と負の相関($p < 0.05$, $r^2 = 0.49$)が認められた。対照的に、A β -(1-40)との相関は、AD、非 AD 群ともに認めなかった。脳脊髄液中の A β -(1-34)量は、A β -(1-42)に関連し、採取後のアーチファクトよりは、むしろ、ヒト生体内における A β の動態を反映する可能性がある。

A. 研究目的

Alzheimer 病(AD)脳に蓄積する主要なアミロイド β ペプチド (amyloid β peptide; A β) は A β -(1-40) および A β -(1-42)などであるが、その翻訳後修飾・切断が、A β の凝集性や細胞毒性等を修飾することが知られている。したがって、A β の翻訳後修飾や切断の制御が、A β 産生抑制や分解・クリアランスの促進などとならんで、A β 沈着の初期段階における主要な抗 A β 療法となる可能性があるほか、修飾を受けた A β が AD の診断や予後判定のためのより良いバイオマーカーとなる可能性がある。先行研究により、A β -(1-34)はヒト脳脊髄液中に存在することや、セクレターゼによる A β 前駆体蛋白(APP)からの直接の切り出しではなく、A β -(1-40)や A β -(1-42)等の分解によって生じる可能性が示されているが、AD の病態との関連については不明である。ヒト脳脊髄液中の A β -(1-34)を定量的に検討するために新規の ELISA 系を開発し、その臨床的意義を検討した。

B. 研究方法

家兔を用いて抗ヒト A β (1-34) C-末端特異的ポリクローナル抗体を作成し、アフィニティー精製した。捕捉用抗体に A β -(1-34) C-末端特異抗体、検出用抗体に抗ヒト A β N-末端特異的モノクローナル抗体(82E1)を用いた A β -(1-34)特異的 sandwich ELISA を開発し、AD により認知症を呈した患者 (AD dementia; AD) (n=13)並びに AD による認知症以外の患者(n=65)の脳脊髄液中 A β -(1-34)を測定した。

(倫理面への配慮)

筑波大学附属病院倫理委員会の審査と承認のもと、患者や家族のインフォームドコンセントを得た上で研究を行った。

C. 研究結果

Age-match 症例 (55-89 歳、AD13 例、AD によらない認知症を呈した症例(非 AD 認知症)15 例、非認知症神経疾患 18 例)において検討したところ、AD 群 31.2 ± 12.4 pmol/l、非 AD 認知症群 30.5 ± 22.9 pmol/l、非認知症神経疾患群 29.5 ± 14.5 pmol/l であ

り、各群間に有意差を認めなかった。更に、若年非認知症神経疾患群 16 例（55 歳未満）についても検討したが、 35.1 ± 11.5 pmol/l であり、有意差は認めなかった。更に例数を加え、AD 群 13 例、非 AD 群（認知症の有無を問わず）65 例で年齢との相関の有無を検討したが、有意な相関はみられなかった。 $A\beta$ -(1-42)や $A\beta$ -(1-40)量との関連の有無を検討したところ、非 AD 群で $A\beta$ -(1-42)と軽度の正の相関 ($p < 0.0001$, $r^2 = 0.28$) が、AD 群で $A\beta$ -(1-42)/ $A\beta$ -(1-40)比と負の相関 ($p < 0.05$, $r^2 = 0.49$) が認められた。対照的に、 $A\beta$ -(1-40)との相関は、AD、非 AD 群ともに認めなかった。

D. 考察

$A\beta$ -(1-34)は、以前から脳脊髄液中での存在が知られているが、その意義は不明である [Vigo-Pelfrey, C.他 *J. Neurochem*, 1993]。その産生機所として、他の $A\beta$ -(1-40)や $A\beta$ -(1-42)などの $A\beta$ 分子のように APP から γ -セクレターゼによって直接切り出しされるのではなく、 $A\beta$ -(1-40)や $A\beta$ -(1-42)分子などの産生後に、 $A\beta$ 分子内の Leu34-Met35 ペプチド結合が更に切断されることによって生じることや、BACE-1/-2 がその反応過程を触媒する酵素であることが複数の研究機関による検討で示されている [Fluhrer, R.他 *J Biol Chem*. 2003; Shi XP 他 *J Biol Chem*. 2003]。その他、matrix metalloproteinase (MMP)-9 や MMP-2 などの MMP やカテプシン D にも、 $A\beta$ -(1-34)の生成に関与する可能性があることが合成ペプチドを用いた *in vitro* の検討で示されている。したがって、脳脊髄液 $A\beta$ -(1-34)の意義としては、①これら酵素による $A\beta$ の分解過程の一つとして AD 脳における $A\beta$ のクリアランスを反映する、② $A\beta$ の分解過程において生じる産物の一つであるが、脳脊髄液採取後のアーチファクトである可能性も含め、AD の病態に対してなんら関連がない、などのさまざまな可能性が考えられた。

今回の検討では、脳脊髄液 $A\beta$ -(1-34)量は AD 患者における $A\beta$ -(1-42)の低下、特に、よりよい $A\beta$ アミロイドシスのマーカーとされる $A\beta$ -(1-42)/ $A\beta$ -(1-40)比の低下と負の相関を示した。一方で、 $A\beta$ -(1-40)量とは相関を示さず、脳脊髄液採取後のアーチファクトである可能性は低いと考えられ

た。以上から、脳脊髄液中 $A\beta$ -(1-34)は AD の診断マーカーとはならなかったものの、今回の検討は脳脊髄液 $A\beta$ -(1-34)量がヒトにおける $A\beta$ の動態を反映する可能性を示したものと考えられた。今後、軽度認知機能障害を呈した AD の症例を含めた、更に多くの症例について測定し、脳脊髄液 $A\beta$ -(1-34)の意義、特に AD の病変や病態との関連性を明らかにする必要があると考えられた。

E. 結論

脳脊髄液中の $A\beta$ -(1-34)量は $A\beta$ -(1-42)に関連し、採取後のアーチファクトではなく、ヒト生体内における $A\beta$ の動態を反映する可能性がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka N, Saitou H, Takao T, Iizuka N, Okuno J, Yano H, Tamaoka A, Yanagi H: Effects of gait rehabilitation with a footpad-type locomotion interface in patients with chronic post-stroke hemiparesis: a pilot study. *Clin Rehabil* 2012. [Epub ahead of print]
- 2) Tsuji H, Nonaka T, Yamashita M, Masuda-Suzukake M, Kametani F, Akiyama H, Mann DM, Tamaoka A, Hasegawa M: Epitope mapping of antibodies against TDP-43 and detection of protease-resistant fragments of pathological TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 417:116-121, 2012.
- 3) Nakamagoe K, Shioya A, Yamaguchi T, Takahashi H, Koide R, Monzen T, Satoh J, Tamaoka A: A Japanese case with Nasu-Hakola disease of DAP12 gene mutation exhibiting precuneus hypoperfusion. *Intern Med* 50:2839-44, 2011.
- 4) Ishii K, Tsuji H, Tamaoka A: Mumps virusencephalitis with symmetric claustrum lesions. *Am J Neuroradiol* 32: E139. Epub, 2011.
- 5) Nakano-Yokomizo Y, Tahara-Hanaoka S, Nakahashi-Oda C, Nabekura T, Tchao NK, Kadosaki M Totsuka

- N, Kurita N, Nakamagoe K, Tamaoka A, Takai T, Yasui T, Kikutani H, Hosoda S, Shibuya K, Lanier LL, Shibuya A: The immunoreceptor adaptor protein DAP12 suppression B lymphocyte-driven adaptive immune responses. *J Exp Med* 208:1661-71, 2011.
- 6) Hasegawa M, Nonaka T, Tsuji H, Tamaoka A, Yamashita M, Kametani F, Yoshida M, Arai T, Akiyama H: Molecular Dissection of TDP-43 Proteinopathies. *J Mol Neurosci* 45:480-5, 2011.
- 7) 玉岡 晃 : A β オリゴマーの病因性と検査. *臨床検査* 56:57-64, 2012.
- 8) 玉岡 晃 : Alzheimer 病 治療. *神経治療学* 28:621-623, 2011.
- 9) 玉岡 晃 : MCI の管理. *最新医学* 66 (9 月増刊号) :114-123, 2011.
- 10) 玉岡 晃 : アミロイド β 蛋白. *日本内科学会雑誌* 100:2469-2475, 2011.
- 11) 辻 浩史, 長谷川成人, 玉岡 晃 : TDP-43 (TAR DNA-binding protein 43kDA). *病理と臨床* 29 (臨時増刊号) :407-409, 2011.
- 12) 辻 浩史, 山下万貴子, 野中 隆, 長谷川成人, 玉岡 晃 : Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)治療法の解明. *神経内科* 74:383-387, 2011.
- 13) 玉岡 晃 : 神経疾患に対する抗体療法—アルツハイマー病における免疫療法—. *医学のあゆみ* 238:738-743, 2011.
- 14) 玉岡 晃 : 認知症治療ガイドライン—最新の現状—. *Geriatric Medicine* 49: 749-754, 2011.
- 15) 玉岡 晃 : アルツハイマー病. *検査と技術* 39:506-512, 2011.
- 16) 玉岡 晃 : Message from editorial advisors. *Cognition and Denetia* 10(Suppl.1): 69, 2011.
- 17) 玉岡 晃 : 認知症と脂質異常症. *日本老年医学会雑誌* 48:114-117, 2011.
- 18) 玉岡 晃 : 認知症の診断と治療の実際. *日本内科学会雑誌* 100:723-7239, 2011.
- 19) 玉岡 晃 : アルツハイマー病の薬物療法 (新規治療薬を含めて) . *Mebio* 28:104-112, 2011.
- 20) 玉岡 晃 : 代表的な認知症 (1) —Alzheimer 型認知症. *診断と治療* 99:445-452, 2011.
- 21) 辻 浩史, 玉岡 晃 : 海馬-嗅内皮質系の神経機能. 認知症学上-その解明と治療の最新知見-. *日本臨床* 69 (増刊号 8) :297-300, 2011.
- 22) 玉岡 晃 : 概念とアルツハイマー病診断基準 (NINCDS-ADRDA). 認知症学下-その解明と治療の最新知見-. *日本臨床* 69 (増刊 10) :240-245, 2011.

2. 学会発表

- 1) 玉岡 晃 : 認知症 : 病態と治療の最前線. 第 12 回日本医療マネジメント学会茨城支部学術集会、つくば、11.26、2011.
- 2) 玉岡 晃 : 認知症の診断. 第 30 回日本認知症学会学術集市民講座、東京、11.13、2011.
- 3) 富所康志、保坂愛、石井一弘、佐々木一樹、南野直人、玉岡晃 : 野生型 Bri ペプチドの N-末端の一部は循環血液中中で切断を受けている. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-12、2011.
- 4) 荒木亘、本木和美、織田彰子、亀谷富由樹、玉岡晃 : β セクレターゼの脂質ラフト局在と β アミロイド産生. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-12、2011.
- 5) 辻浩史、野中隆、新井哲明、山下万貴子、亀谷富由樹、細川雅人、初田裕幸、高尾昌樹、村山繁雄、斎藤祐子、長谷川成人、秋山治彦、マンデービット、詫間浩、玉岡晃 : FTLD - TDP および ALS に蓄積する TDP-43 蛋白の凝集体構造に関する解析. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-12、2011.
- 6) Ishii K, Shibata Y, Hosoya T, Iwasaki N, Tanaka R, Hirano S, Ishii K, Tamaoka A: Central Nervous Effect of Phenyl-arsenic Compound. The first Bonn-Tsukuba Symposium in Medicine, Tsukuba, 11.3, 2011.
- 7) Takuma H, Tamaoka A: Pathogenesis of Amyotrophic Lateral Sclerosis and the future therapeutic aspect. The first Bonn-Tsukuba Symposium in Medicine, Tsukuba, 11.3, 2011.
- 8) 玉岡 晃 : アルツハイマー病の病態と治療の最前線. 第27回Brain Function Imaging Conference、神戸、9.10、2011.
- 9) 玉岡 晃 : アミロイドカスケード仮説から見た認知症治療戦略. 第2回日本血管性認知障害研究会、東京、8.20、2011.
- 10) 儘田直美、石井一弘、田口高也、玉岡 晃、中居康展、椎貝真成、増本智彦 : 認知症で発症した硬膜動静脈瘻の76歳男性例. 第40回茨城県南脳

血管障害研究会、つくば、7.22、2011.

11) 玉岡 晃：初期アルツハイマー病の病態と治療の進歩. 第14回日本薬物脳波学会学術集会、奈良、6.18、2011.

12) 玉岡 晃：アルツハイマー病の病態と危険因子. 第27回北九州高次脳機能研究会、北九州、6.10、2011.

13) 織田彰子、荒木 亘、本木和美、玉岡晃：スタチンのアミロイドβ蛋白産生抑制効果とそのメカニズム. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.

14) 渡邊雅彦、玉岡 晃：パーキンソン病の非運動症状がQOLに及ぼす影響. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.

15) 富所康志、保坂 愛、石井一弘、玉岡 晃：Aβ(1-34)特異的ELISA系の開発. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.

16) 長谷川成人、野中 隆、辻 浩史、山下万貴子、増田雅美、玉岡 晃、村山繁雄、新井哲明、秋山治彦：神経変性疾患における蛋白糖仮説. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、2011.

17) 辻 浩史、長谷川成人、野中 隆、亀谷富由樹、山下万貴子、増田雅美、細川雅人、秋山治彦、Daivid Mann、初田裕幸、高尾昌樹、村山繁雄、齊藤祐子、詫間 浩、富所康志、中馬越清隆、石井亜紀子、石井一弘、渡邊雅彦、新井哲明、玉岡 晃：ALSおよびFTLD-TDPに蓄積するリン酸化TDP-43蛋白コンフォメーションに関する解析. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.

18) 石井亜紀子、大越教夫、星野幸子、玉岡 晃：ラット骨格筋再生過程でのamphiphysin2およびcaveolin-3蛋白発現の経時的検討. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18、2011.

19) 中馬越清隆、石井一弘、玉岡 晃：有機ヒ素化合物中毒者の慢性期における水平眼球運動異常. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.19、2011.

20) 北岡志保、井上治久、月田香代子、高橋和利、近藤孝之、吉川勝宇、山脇聖子、内藤素子、鈴木茂彦、伊東秀文、和泉唯信、梶 龍兒、詫間 浩、玉岡 晃、森田光哉、中野今治、川田明広、中畑龍俊、高橋良輔、山中伸弥：変異SOD1を有する

ALS患者由来iPS細胞の樹立とアストロサイトへの分化. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.19、2011.

21) 石井一弘、岩崎信明、田中竜太、中馬越清隆、瀬戸康雄、平野靖史郎、柴田康行、細谷朋子、玉岡 晃：ジフェニルアルシン酸(DPAA)の神経内半減期について. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.19、2011.

22) 詫間 浩、石井亜紀子、石井一弘、渡邊雅彦、中馬越清隆、富所康志、塩谷彩子、玉岡 晃：封入体筋炎におけるフィラミン染色性の検討. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.19、2011.

23) 荒木 亘、本木和美、織田彰子、玉岡 晃：βセクレターゼのアルミチル化と脂質ラフト移行・βアミロイド産生の関連. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、2011.

24) 保坂 愛、富所康志、石井一弘、佐々木一樹、南野直人、玉岡 晃：血漿並びに脳脊髄液の野性型BriペプチドのN-末端. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、2011.

25) 望月昭英、小松崎八寿子、織田彰子、玉岡 晃：Hereditary diffuse leukoencephalopathy with neuroaxonal spheroids(HDLS)の臨床画像学的検討. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、2011.

26) 塩谷彩子、織田彰子、山口哲人、池辺 大、野口雅之、高橋祐二、後藤 順、辻 省次、玉岡 晃：頭部MRIにて著明な白質変化を認めた歯状核赤核淡蒼球レイ体萎縮症(DRPLA)の一家系の検討. 第52回日本神経学会学術大会、名古屋、5.20、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

AB アミロイドーシスによる tauopathy 誘発機序の検討

研究分担者 東海林幹夫 弘前大学医学部脳神経内科

共同研究者 瓦林 毅*、松原悦朗*、若佐谷保仁*、仲田崇*、大野英人*

*弘前大学医学部脳神経内科

研究要旨 変異 APP 産生マウス Tg2576 と変異 tau 産生マウス TgTauP301L との double transgenic mouse(double Tg)を作製し、Aβ oligomer 蓄積による Tauopathy と神経毒性の誘発機序の解明を行った。Double Tg では樹状突起のリン酸化 tau 蓄積が増加しており、lipid rafts に Aβ oligomer とリン酸化 tau が共に蓄積していた。Lipid rafts には Fyn の著増と NMDA receptor、AMPA receptor の増加が認められた。postsynaptic lipid rafts の Aβ amyloidosis によって誘発された Tauopathy はグルタミン酸神経毒性を介したシナプス障害と神経細胞死を引き起こす可能性があると考えられた。

A. 研究目的

Alzheimer 病(AD)ではアミロイド β 蛋白(Aβ)の蓄積が tauopathy を誘発し神経毒性を起こすと考えられているが、その機序は明らかになっていない。細胞膜の membrane microdomain である lipid rafts は Aβ の産生部位であり、Aβ oligomer が早期から蓄積し、記憶障害とリン酸化 tau の蓄積が誘発されることを我々は示してきた(Kawarabayashi T, et al, J Neurosci 2004)。Tau 発現 transgenic mouse において tau 蓄積はシナプスと神経細胞を減少させることを示した(Murakami T, et al, Am J Pathol 2006)。最近 tau は樹状突起で Fyn と結合して N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor を介した Aβ oligomer の神経毒性を調節することが示された(Ittner LM, et al, Cell 2010)。lipid rafts はこれらの受容体や信号伝達の場合であり、glycogen synthase kinase 3β (GSK3β)などの tau リン酸化酵素も局在する。また、Fyn は tau のリン酸化酵素でもある。これらの所見から Aβ oligomer が lipid rafts で tau のリン酸化を行い、Fyn を lipid rafts に局在させ、NMDA receptor をリン酸化することで NMDA receptor が安定化して Aβ の神経毒性を増幅し、細胞死を起こすという Aβ amyloidosis/Tauopathy cascade hypothesis を考えた。これを検証するため、変異 APP 産生マウス Tg2576 と変異 tau 産生マウス TgTauP301L との double transgenic mouse

(double Tg)を用いて Aβ 蓄積による tauopathy 誘発機序の検討を行った。

B. 研究方法

Tg2576 と TgTauP301L を掛け合わせて以下の genotype の F1 マウスを得た double Tg (APP+/-Tau+/-; n=11)、TgTauP301L のみ (APP-/-Tau+/-; n=15)、Tg2576 のみ (APP+/-Tau-/-; n=4) および NonTg (APP-/-Tau-/-; n=5)。3-23 月齢で解剖し、半脳を 1% Triton-X MBS buffer pH 6.5 で homogenize し、2700 回転で 10 分間遠心した上清を用いて不連続蔗糖勾配を作成し、100,000g で 4°C 19 時間遠心して lipid rafts 分画を含む各分画を採取した。各分画を western blotting で解析した。半脳は 4% paraformaldehyde 固定しパラフィン切片を作製して免疫染色を行った。

(倫理面への配慮)

研究に当たっては、当該施設の倫理委員会の承認を得た。弘前大学動物実験倫理規定に従い、動物愛護や遺伝子組み換えに関する法律や取り決めを遵守した。

C. 研究結果

APP+/-Tau+/-マウス脳の二重蛍光染色による検討で神経細胞およびその突起でlipid rafts markerで

ある flotillin と A β oligomer、リン酸化 tau との共在を認めた。Tau+/-APP +/-マウスでは neuropil thread や A β アミロイド周囲の dystrophic neurite にリン酸化 tau が蓄積しており、flotillin や postsynaptic protein である postsynaptic density protein (PSD95) の蓄積も伴っていた。この蓄積は APP-/-Tau +/-マウス脳には認められなかった。この結果より A β 蓄積はリン酸化 tau の樹状突起 lipid rafts への蓄積を誘発すると考えられた。

APP +/-Tau +/-マウス脳の蔗糖分画の western blot では、flotillin の局在で示される第2分画の lipid rafts 分画に PSD95、Fyn、GSK3 β 、NMDA receptor の subunit NR1、NR2A、NR2B、さらに AMPA receptor の subunit である GluR1、GluR2 が認められ、これらの postsynaptic protein、tau リン酸化酵素、グルタミン酸受容体が lipid rafts に局在することが示された。APP +/-Tau +/-マウスと APP-/-Tau +/-マウスの lipid rafts 分画を比較すると APP +/-Tau +/-マウスにおいてリン酸化 tau 蓄積と GSK3 β の増加を認めた。さらに APP +/-Tau +/-マウスの lipid rafts では Fyn の著明な増加を認め、NMDA 受容体の NR1 は減少し、NR2A、NR2B は増加、AMPA receptor の GluR1 は不変、GluR2 は増加していた。これは AD 脳における NR1 低下、NR2A、NR2B 増加、GluR2 増加とも一致する所見であった。これらの結果から A β oligomer は postsynaptic lipid rafts で Fyn、NMDA receptor や AMPA receptor を増加させる可能性が考えられた。

D. 考察

Lipid rafts に局在する Src family tyrosine kinase である Fyn は NMDA 受容体の調節機能、tau のリン酸化、integrin の信号伝達系において ras の活性化などの機能をもつ。Ittner らによって tau の新たな機能が示されている。tau は樹状突起の後シナプス膜で Fyn と結合することによって Fyn を樹状突起に局在させる。Fyn は NMDA 受容体をリン酸化し、リン酸化された NMDA 受容体は、樹状突起のシナプスの足場蛋白である PSD95 との結合を安定化させ、グルタミン酸によるシグナルを増強させる。つまりタウは樹状突起では足場蛋白として働き神経伝達に関与している。AD では樹状突起の tau 蓄積が増加することにより、グルタミ

ン酸を介した A β の神経毒性を増幅すると考えられる。また、培養細胞では A β により lipid rafts で Fyn を介して tau リン酸化が誘発されることも示されている。

われわれの double Tg では樹状突起のリン酸化 tau 蓄積が増加しており、lipid rafts に A β oligomer とリン酸化 tau が共に蓄積していた。Lipid rafts には Fyn の著増と NMDA receptor、AMPA receptor の増加が認められた。これらの結果から Postsynaptic lipid rafts の A β amyloidosis によって誘発された Tauopathy は Fyn の lipid rafts への蓄積を介して NMDA receptor や AMPA receptor を増加させると考えられる。Postsynaptic lipid rafts のグルタミン酸神経毒性の増強がシナプス障害と神経細胞死を引き起こし、認知機能の低下に至ると考えられる。Postsynaptic lipid rafts の信号伝達系は A β oligomer の神経毒性を阻止するための新たな標的になりうると考えられる。

E. 結論

postsynaptic lipid rafts の A β amyloidosis によって誘発された Tauopathy はグルタミン酸神経毒性を介したシナプス障害と神経細胞減少を引き起こす可能性があると考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Takamura A, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Murayama S, Ihara Y, Abe K, Shoji M, Michikawa M, Matsubara E: Dissociation of A β from lipoprotein in cerebrospinal fluid from Alzheimer's disease accelerates A β 42 assembly. *J Neurosci Res* 89: 815-821, 2011.
- 2) Takamura A, Okamoto Y, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Mouri A, Nabeshima T, Sun H, Abe K, Urisu T, Yamamoto N, Shoji M, Yanagisawa K, Michikawa M, Matsubara E: Extracellular and intraneuronal HMW-ABOs represent a molecular basis of memory loss in

Alzheimer's disease model mouse. *Mol Neurodegener* 6: 20, 2011.

3) Wakasaya Y, Kawarabayashi T, Watanabe M, Yamamoto-Watanabe Y, Takamura A, Kurata T, Murakami T, Abe K, Yamada K, Wakabayashi K, Sasaki A, Westaway D, St.George-Hyslop P, Matsubara E, Shoji M: Factors responsible for neurofibrillary tangles and neuronal cell losses in tauopathy. *J Neurosci Res* 89: 576-584, 2011.

4) Shoji M: Biomarkers of the dementia. *Int J Alzheimers Dis*. Epub 2011.

2. 学会発表

1) 瓦林毅、若佐谷保仁、仲田崇、高村歩美、中畑直子、松原悦朗、東海林幹夫: Lipid rafts における A β oligomer による tau 蓄積の促進. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、11.11-13、2011.

2) 瓦林毅、松原悦朗、東海林幹夫:ものわすれ外来における脳脊髄液バイオマーカー測定の有用性について. 第 53 回老年医学会学術集会、新宿、6.15-17、2011.

3) 瓦林毅、若佐谷保仁、松原悦朗、東海林幹夫: A β oligomer は lipid rafts で tau 蓄積を促進する. 第 52 回日本神経学会学術大会、名古屋、5.18-20、2011.

4) 松原悦朗、高村歩美、若佐谷保仁、瓦林毅、東海林幹夫: アルツハイマー病と軽度認知障害の発症予測スクリーニングマーカーの検証. 第 52 回日本神経学会学術大会、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

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

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

生体成分によるβアミロイド線維の核形成誘起を検出する新規反応系の構築 -気液界面の強い誘起能を排除-

研究分担者 内木宏延 福井大学医学部病因病態医学講座・分子病理学領域
 共同研究者 長谷川一浩、大越忠和、小澤大作
 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 アルツハイマー病βアミロイド線維の試験管内形成反応系において、従来の反応系では Aβペプチド濃度が高い点や気液界面の存在が、生体成分の核形成誘起能を評価する際の妨げになっていた可能性がある。われわれは、Aβ(1-40)の濃度を 5 μM 以下にし、気液界面を排除し、核形成を誘起しにくいビーズ状担体に生体因子を固定し攪拌することで反応系を改良し、生体成分の比較的弱い核形成誘起能を評価することを可能にした。改良した反応系を用いて基底膜モデル(Matrigel)等が核形成を促進することを示した。この反応系は脳アミロイド血管症のモデルとなる可能性がある。

A. 研究目的

Alzheimer 病 Aβアミロイドは、脳の血管壁に蓄積して出血を引き起こす、脳アミロイドアンギオパチー(CAA)の原因にもなる。血管平滑筋細胞の基底膜に Aβ(1-40)アミロイドが主に蓄積する。βアミロイド線維はアミロイドβ-ペプチド(Aβ)が重合核依存性重合機構により重合して形成される。この反応機構は核形成過程と線維伸長過程から構成されるが、核形成の速度により全体の重合速度が決まる。脳内では何らかの生体因子がこの重合核形成を誘起していると考えられる。これらの因子を探索することのできる試験管内反応系の構築を目標とした。ところが、現行の試験管内反応系では生理条件と離れている点がある。例えば、脳内での Aβ濃度は 100 pM-nM のレベルであるのに対し、試験管内実験では一般に 10-100 μM で重合反応が行われていること、試験管内重合の反応容器には核形成を強力に促進する気液界面が存在する等である。この問題の改善を目指して、以前 Aβ(1-40)ペプチドの試験管内重合挙動を再検討し報告した。その結果は以下の通りである。Aβ濃度を 10 μM 以上にすると気液界面などが無い状態でも Aβ単独で自発的に重合し、他の促進因子を必要としない。これに対し、Aβ濃度 5 μM 以下では気液界面等の核形成誘起因子がないと重

合しない為、生体因子の評価のためには適当である。また、気液界面がある状態で攪拌を行うと極めて速やかに線維が形成されるため、生体因子による弱い核形成誘起効果を観測できない可能性がある。そこで、気液界面を排除して重合を試みたところ、攪拌子を用いた攪拌が必要であることが判明した。ところが、ポリプロピレン等のプラスチックを攪拌子として用いると、これ自体が疎水性界面として核形成を誘起してしまう。従って、核形成を誘起しにくい攪拌子を探索する必要がある。上記の知見に基づき、生体成分による比較的弱い核形成誘起能の評価ができる試験管内重合反応系の開発を試みた。

B. 研究方法

ビーズ状担体(攪拌子)に各種生体成分蛋白質を固定した。0-5 μM の Aβ(1-40)溶液を攪拌子と共に 96 ウェルマイクロプレート中に気液界面を排除し封入した。マイクロプレートを上下方向に回転させることで担体を沈降させて攪拌した。アミロイド線維形成をチオフラビンT蛍光によりモニターした。また、蛍光実体顕微鏡を用いてアミロイドの凝集状態を観察した。

(倫理面への配慮)

化学合成ペプチドならびに購入した精製蛋白質を用いた試験管内実験であり、倫理上の問題は生じないと考える。

C. 研究結果

重合核形成を誘起しにくい攪拌子の探索とその応用。5 μ M A β 溶液の気液界面を無くした状態で、各種の攪拌子(プラスチックなど)を添加し、攪拌して重合反応を行った。その結果、特定のビーズ状担体では線維形成が長時間起きないことを見いだした。この担体に、基底膜のモデル物質であり collagen, laminin などを含んでいる Matrigel を結合させ、反応液に添加し攪拌反応したところ、未固定の担体を添加した場合に比較して有意に重合が促進された。また、核形成促進を定量的に統計解析する為に、サンプルごとのタイムコースから、それぞれの線維形成開始時間を求め、これを使って Kaplan-Meier 生存時間解析を行うことが妥当であることを見出した。

この重合反応系における条件を更に検討した。A β (1-40) 濃度をどこまで下げられるのかを検討した。A β 濃度を 1, 2.5, 5 μ M とし、未固定担体とマトリゲル固定担体をそれぞれ加え、重合のタイムコースを測定し、線維形成開始時間を指標として解析した。その結果、1, 2.5 μ M では、担体だけを添加した際に重合が遅くなりネガティブコントロールとしてはよいが、アミロイド線維が重合した際のチオフラビン T 蛍光シグナルが低く検出が難しくなる。このため 5 μ M を採用した。また、脳脊髄液には血清アルブミン(HSA)が、0.2 mg/ml (3 μ M) 程度含まれている。試験管内反応系についても、この程度を添加することで非特異的重合反応を抑制できることが判明した。

以上のように設定した条件を用いて、各種生体分子について線維形成開始時間を測定した。様々な生体分子による線維形成開始時間を求めて生存時間解析を行った。未固定担体のみを添加した場合の線維形成開始時間に比べると、Matrigel, laminin, fibronectin, collagen type IV, fibrinogen 等を固定した担体が有意に重合反応を促進することが示された。一方、IgG, HSA 等を固定した担体は有意な促進効果を示さなかった。また、気液界面はいずれの生体因子より速い線維形成が認められた。

気液界面があると、生体因子による核形成促進効果は検出できないことが改めて示された。

D. 考察

本反応系は A β が自発的に核形成を行わない濃度にまで低下させたこと、また、生体因子を固定化し A β 溶液をそこに“流れ”をつくり反応させる点で、脳内における反応を模倣していると考えられる。従来、laminin や collagen type IV などの基底膜蛋白質は、試験管内重合実験により、A β の重合を阻害するとの報告がなされている。今回、試験管内重合反応条件を再検討して、laminin 等は A β の重合を促進することを示した。この結果は、脳アミロイドアンギオパチーにおいて、血管平滑筋細胞の基底膜に A β アミロイドが蓄積する病理学的観察と一致するものである。

E. 結論

生体因子による β アミロイド線維の核形成誘起能を評価するための試験管内反応系の構築を試みた。A β 濃度を 5 μ M 以下にし、気液界面を排除した上で、核形成を引きおこしにくい担体に生体因子を固定化して攪拌することでこれを達成した。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) So M, Yagi H, Sakurai K, Ogi H, Naiki H, Goto Y: Ultrasonication-dependent acceleration of amyloid fibril formation. *J Mol Biol* 412:568-577, 2011.
- 2) Kardos J, Micsonai A, Pál-Gábor H, Petrik É, Gráf L, Kovács J, Lee YH, Naiki H, Goto Y: Reversible heat-induced dissociation of β_2 -microglobulin amyloid fibrils. *Biochemistry* 50:3211-3220, 2011.
- 3) 高橋直生、木村秀樹、吉田治義、内木宏延: アミロイドーシス. *日内会誌* 100:1282-1288, 2011.

2. 学会発表

- 1) 茶谷絵理、小沼 剛、大西玲奈、八木正典、櫻井一正、池上貴久、内木宏延、後藤祐児: 伸長反

応中間体の観察によるアミロイド構造伝播機構の解明. 第 11 回日本蛋白質科学会年会 (蛋白質のフォールディングと異常凝集の統一原理)、吹田、6.7-9、2011.

2) 宗 正智、八木寿梓、櫻井一正、荻 博次、内木宏延、後藤祐児: 超音波によるアミロイド線維形成促進. 第 11 回日本蛋白質科学会年会、吹田、6.7-9、2011.

3) 吉村優一、櫻井一正、八木寿梓、宗 正智、李映昊、荻 博次、内木宏延、後藤祐児: 超音波処理下で作製した微細アミロイド線維の構造および物性のキャラクタリゼーション. 第 11 回日本蛋白質科学会年会、吹田、6.7-9、2011.

4) 櫻井一正、柳 浩太郎、吉村優一、小沼 剛、菅瀬謙治、池上貴久、内木宏延、後藤祐児: 溶液 NMR による β 2 ミクログロブリンアミロイド線維形成のモノマー-線維核相互作用機構の解明. 第 11 回日本蛋白質科学会年会、吹田、6.7-9、2011.

5) 小澤大作、加治優一、八木寿梓、櫻井一正、川上 徹、内木宏延、後藤祐児: チオフラビン T とレーザー光を利用したアミロイド線維の分解. 第 11 回日本蛋白質科学会年会、吹田、6.7-9、2011.

6) 内木宏延: β 2-ミクログロブリンアミロイド線維形成・沈着の分子機構. 第 56 回日本透析医学会 学術集会・総会 (透析アミロイドーシス UpDate)、

横浜、6.17-19、2011.

7) 長谷川一浩、内木宏延: 気液界面の影響を排除したアルツハイマー病 β アミロイド線維の核形成検出系の開発. 第 84 回日本生化学会大会、京都、9.21-24、2011.

8) 長谷川恭平、八木寿梓、志鷹裕司、内木宏延、後藤祐児: 超音波による amyloid β (1-40)の線維形成機構. 第 84 回日本生化学会大会、京都、9.21-24、2011.

9) 小澤大作、加治優一、八木寿梓、櫻井一正、川上 徹、内木宏延、後藤祐児: 蛍光色素チオフラビン T とレーザー光によるアミロイド線維の分解. 第 84 回日本生化学会大会、京都、9.21-24、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

特記なし