

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総合研究報告書

アミロイドーシスに関する調査研究

研究代表者 山田 正仁 金沢大学医薬保健研究域医学系脳老化・神経病態学（神経内科学）教授

研究要旨 アミロイドーシス各病型[①AL、②AA、③家族性アミロイドポリニューロパチー（FAP）、④透析、⑤脳（アルツハイマー病（AD）、脳アミロイドアンギオパチー）、⑥老人性全身性アミロイドーシス（SAA）]ごとの戦略および全病型に共通する基盤的研究により、臨床病態解明、治療プロトコール開発・確立、新規診断・予防・治療法開発、診療ガイドライン作成等を行った。AL では線溶異常の病態と診断的有用性、自家造血幹細胞移植併用高用量化学療法の有効性を示し、さらにボルテゾミブを用いた新規治療法臨床試験、血液濾過透析療法を報告した。AA では動物モデルを用い SAA 及び AA 蛋白の組織内動態を解明し、優れた治療効果を見出した IL-6 受容体抗体トシリズマブによる AA アミロイドーシスに対する世界初の全国多施設臨床試験を推進した。FAP では集積地及び非集積地の FAP 解析による発症機序解明を行い、肝移植治療は有用であるが問題点もあることから、肝移植によらない治療としてトランスサイレチン（TTR）の misfolding を抑制する低分子化合物、遺伝子治療等の開発を行い、TTR 四量体安定化薬ジフルニサルスの臨床試験で神経症状進展の抑制を認めた。透析アミロイドーシスでは本症患者組織における $\beta 2$ -ミクログロブリン（ $\beta 2$ -m）沈着には $\beta 2$ -m と多数の生体分子の相互作用が重要な影響を及ぼすことを明らかにし、本症の診断基準を世界で初めて作成し有用性を検証した。脳アミロイドーシスでは apoE の A β 不溶化促進作用、A β オリゴマーの構造-毒性相関、AD 患者が有する A β 凝集促進環境等を解明し、ポリフェノール類による *in vitro* 及び *in vivo* の A β 凝集抑制効果、アンギオテンシン受容体拮抗薬による A β 産生抑制効果等を報告した。SAA では加齢と共に高頻度に手根管に TTR 沈着がみられ手根管症候群を呈することなどを示した。各種アミロイドーシスモデル動物を用いアミロイド線維による伝播現象がアミロイドーシス発症に果たす役割を明らかにした。アミロイドイメーシング開発では、プローブ化合物 BF-227 を用いアミロイドーシス患者及び健常者を対象に探索的臨床研究を行った。2 つの国際シンポジウムを開催した。一般医師向けの本症診療指針として『アミロイドーシス診療ガイドライン 2010』を作成し配布及びホームページ上に公開した。

研究分担者

			マチ膠原病内科 教授
池田修一	信州大学医学部内科学脳神経内科、 リウマチ・膠原病内科 教授	島崎千尋 吉崎和幸	社会保険京都病院 副院長 大阪大学先端科学イノベーションセン ター 特任教授
樋口京一	信州大学大学院医学研究科加齢生物 学 分野 教授	東海林幹夫	弘前大学大学院医学研究科附属脳神 経血管病態研究施設脳神経内科学講 座 教授
玉岡 晃	筑波大学大学院人間総合科学研究 科疾患制御医学専攻 教授	麻奥英毅	広島赤十字・原爆病院検査部 部長
高市憲明	虎の門病院腎センター内科 部長	河野道生	山口大学大学院医学系研究科細胞シ グナル解析学分野 教授
前田秀一郎	山梨大学大学院医学工学総合研究部 生化学講座第一教室 教授	奥田恭章	道後温泉病院リウマチセンター 副院長
山田俊幸	自治医科大学臨床検査医学 教授	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 教授
内木宏延	福井大学医学部医学科病因病態学講 座分子病理学領域 教授	中里雅光	宮崎大学医学部内科学講座神経呼吸
今井裕一	愛知医科大学内科学講座腎臓・リウ		

工藤幸司	内分泌代謝学分野 教授 東北大学未来医工学治療開発センター前臨床応用部門 教授
水澤英洋	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学 教授
星井嘉信	山口大学大学院医学系研究科情報解析医学系病理形態学分野 講師
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 特命教授
畑 裕之	熊本大学医学部附属病院血液内科 講師
松井高峯	帯広畜産大学畜産学部基礎獣医学 教授
岩坪 威	東京大学大学院医学系研究科神経病理学分野 教授
小池春樹	名古屋大学医学部附属病院神経内科 助教
小野賢二郎	金沢大学附属病院神経内科 助教

A. 研究目的

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

- 1) **AL アミロイドーシス**：従来報告されてきた本症診断後の 50 %生存は約 1 年である。本症に対する治療法として自家末梢血幹細胞移植併用療法が注目されている。本研究では、自己末梢血幹細胞移植併用療法の適応・有用性を解明し、ボルテゾミブを用いる新規治療プロトコルを開発するなど、AL の分子病態解明に基づく診断・治療法開発・確立をめざす。
- 2) **AA アミロイドーシス**：関節リウマチ (RA) 患者の 5-10%は本症を発症し、本症合併した場合の予後は不良である。本症発症の危険因子、予後規定因子の解明、早期診断法の確立、分子病態解明に基づく抗サイトカイン療法の臨床試験による確立をめざす。
- 3) **家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP)**：本症の根本治療には肝移植があるが、その有効性や問題点を明らかにし、肝移植が適用

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

- 4) **透析アミロイドーシス**：わが国は長期透析患者が多く、本症合併患者は増加している。本症合併の危険因子同定・予防、早期診断指針の確立、治療成績の向上、 β_2 -ミクログロブリン (β_2 -m) 線維形成過程の解明による新規治療法開発をめざす。
- 5) **脳アミロイドーシス**：アルツハイマー病 (AD) は認知症の過半数を占め、脳アミロイドアンギオパチー (CAA) は高齢者の脳葉型出血の主要な原因である。本研究では AD、CAA 脳に蓄積するアミロイド β 蛋白 ($A\beta$) の沈着過程の分子病態解明を通じ、アミロイドを標的とした新しい早期診断マーカー、新規予防・治療法の開発を行う。
- 6) **老人性全身性アミロイドーシス (SSA)**：超高齢化の進む今日、高齢者にみられる本症は重要な位置を占めるが、その実態は明らかではない。実態調査と共に、本症における野生型 TTR 沈着の分子病態解明研究を行う。
- 7) **アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス**：各種アミロイドーシスに共通するアミロイド沈着機構を統合的に研究し、診断、予防・治療法への応用を行う。特に、モデル動物を用い、アミロイドーシス発症の分子機構、アミロイドによるアミロイドーシス発症促進 (“伝播”) 現象を解明する。特異的プローブを用いたアミロイドイメージング開発応用を行う。
- 8) **アミロイドーシス研究推進、診療水準向上のための活動**：わが国における本症研究を一段と活性化するための公開シンポジウム開催、一般医師による本症診療水準向上のための診療ガイドライン作成を行う。

B. 研究方法

- 1) **AL アミロイドーシス**：
 - ① **ボルテゾミブを用いた新規治療プロトコルの開発、自家末梢血幹細胞移植併用療法等の検討**：自家末梢血幹細胞移植併用高用量化学療法の効果の検証と最適化、血液透析による治療法開発等を検討する (島崎、麻奥、高市、池田ほか)。ボルテゾミブ、メルファラン、デキサメサゾン併用療法 (BMD 療法) を考案し臨床試験を行う (島

崎ほか)。

②AL アミロイドーシスの病態解明研究：本症発症の前段階と考えられる無症候性ALアミロイドーシスの病態および予後の解明（麻奥）、本症による凝固異常の解明（畑）、ALに対する特異抗体作製、それを用いた病態解明、診断の標準化を行った（星井）。

2) AA アミロイドーシス：

①臨床的研究：RA患者における本症発症機序を明らかにするために、RA発症と本症発症との時間的関連を解析し、さらに本症の治療と経過・予後を調査した（奥田）。本症による腎障害の病態検討した（西）。抗IL-6受容体抗体（トシリズマブ）による全国多施設共同臨床試験のプロトコルを作成、実施した（吉崎ほか）。

②基礎的研究：本症動物モデルを用いSAA及びAAの組織内動態を検討した（山田俊幸）。本症の生検消化管粘膜からAAを定量する方法を確立し、診断的有用性を検討した（山田俊幸、奥田）。

3) FAP：

①FAPの病態及び肝移植治療に関する研究：集積地と非集積地FAPについて臨床的、病理学的解析を行った（小池）。FAP患者に対する肝移植後のアミロイド沈着の変化について検討した（安東、池田）。

②FAPの発症機構解明および新規治療法開発に関する研究：TTRのmisfoldingを抑制する様々な化合物、siRNA投与の効果を実験モデル（*in vitro*, *in vivo*）で検討した（安東）。FAP患者にTTR四量体安定化作用を有するジフルニサルを投与して効果を検討した（池田）。アフリカミドリザルのアミロイド沈着、TTR遺伝子を解析した（安東）。

4) 透析アミロイドーシス：

①臨床的研究：透析アミロイドーシスの発症に関係する因子を検討した（高市）。透析アミロイドーシスでは透析期間が長くなると骨関節症状が出現する。どのような骨関節症状が透析後の時系列の中でどのように出現してくるかを解析し、考案した本症の診断基準の有用性を検討した（西）。

②基礎的研究：*In vitro* β 2-mアミロイド線維形成系を用い、種々の生体分子（リゾリン脂質、遊離脂肪酸、 α 2-マクログロブリン、ハプトグロビン）の β 2-mアミロイド線維伸長促進・抑制効果、機序をチオフラビンT法、ピアコア、電顕、原子間力顕微鏡で解析した（内木）。透析患者及び健常

者血漿中のリゾリン脂質濃度を測定し、本症発症への関与を検討した（内木）。 β 2-mを過剰発現し、血清濃度が長期透析患者の約3倍のトランスジェニックマウスを作成し、アミロイドーシスの発症やアミロイド線維による発症促進効果を解析した（樋口）。

5) 脳アミロイドーシス：

①A β アミロイド沈着分子病態解明とAD診断治療法開発：培養細胞の脂質ラフトに対する酸化刺激、スタチン等によるA β 及び関連分子の変化を検討した（玉岡）。白内障手術によって得られた水晶体のA β 量を測定した（玉岡）。APPを発現するHEK293細胞にアンジオテンシン受容体拮抗薬（ARB）を添加した場合の培養液中のA β の量を測定した（水澤）。A β オリゴマーをPICUP法で作成し、dimer, trimer, tetramer,を単離し、それぞれの構造と毒性の相関を検討した（小野）。A β の*in vitro*形成系でprotofibrilとfibrilの形成を評価し、APPトランスジェニックマウスにA β を注入しseeding効果を評価する系を用いapoEアイソフォームの影響を解析した（岩坪）。AD患者および非認知症対照例の脳脊髄液（CSF）がA β オリゴマー形成に与える影響をPICUP法を用いて比較検討した（山田正仁）。天然フェノール化合物やエストロゲンがA β オリゴマー形成に与える影響を*in vitro*及び*in vivo*モデル（Tg2576）で検討した（山田正仁）。脳アミロイド蓄積マウスTg2576、神経原線維変化(NFT)蓄積マウスTgTauP301Lを用いて(1) double transgenic mouseを作製しA β がtau蓄積を誘発する機序を、(2) コレステロール負荷やコレステロール代謝障害マウスとの掛け合わせによってA β , tau蓄積への影響を、(3) TgTauP301Lにおけるoligonucleotide microarray解析により関連遺伝子を、(4) TgTauP301LでCSFと血漿のtau及び脳tau蓄積との相関を検討した（東海林）。

②BRI2関連蛋白に関する研究：BRI2遺伝子変異による家族性英国型認知症（FBD）で沈着するBRI関連蛋白（ITM2B）に対する特異抗体を作製し、AD脳における免疫組織学的検索、ラジオイムノアッセイ系によるAD他の神経変性疾患における髄液及び血中ITM2Bの検索を行った（中里）。

6) 老人性全身性アミロイドーシス（SSA）：SSAでみられる手根管症候群に注目し、手術標本におけるTTRアミロイド沈着を検討した（池田）。連

続剖検例及び SSA 臨床例を用い、SSA の頻度や特徴を検討した (安東)。

7) **アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス**: 動物園などの飼育下チーターの AA アミロイドーシスの生化学、構造学的解析を行い、また、伝播の可能性をマウスモデルで解析した (樋口)。マウス AApoAII アミロイドーシスで、骨格筋や、発症各時期に排出された糞中のアミロイド線維の生化学的、病理学的解析と伝播性の確認を行った (樋口)。ウシに沈着したアミロイドをヒトに入った場合に伝播する可能性を検討する目的で、ウシのアミロイドの分布を検討し、精製し加熱処理したアミロイドをマウスに投与しマウスにアミロイド沈着が起こるかどうかを検討した (松井)。アミロイドイメージング開発の目的で、(1) アミロイドに親和性を有する PET プローブ [¹¹C]BF-227 を用い、ヒトにおける探索的臨床研究、(2) アミロイドーシス消化管生検標本における BF-227 染色を行った (工藤)。

8) **アミロイドーシス研究推進、診療水準向上のための活動**: 国際シンポジウムを企画、診療ガイドライン作成手順を策定した (山田正仁ほか)。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

1) AL アミロイドーシス :

① **ボルテゾミブを用いた新規治療プロトコールの開発、自家末梢血幹細胞移植併用療法等の検討**: 自家末梢血幹細胞移植併用高用量化学療法成功例では血清中の free light chain 濃度と κ/λ が正常化し、胃生検上のアミロイド沈着の有意な減少がみられ、腎のアミロイド沈着が減少することが判明した。自家末梢血幹細胞移植併用高用量化学療法の 3 年生存率 76% であり、臓器障害の強い本療法不応例には double の自家造血幹細胞移植が有用である可能性を示した。本症患者に FLC の除去量が産生量より大きくなる透析条件

で HDF 療法を施行したところ、臓器障害を進行させることなく、安定した長期経過を示した。BMD 療法による臨床試験を高度先進医療として実施する承認を得、実施医療施設での倫理委員会による承認等が終了した。

② **AL アミロイドーシスの病態解明研究**: 無症候性 AL アミロイドーシス患者が MGUS の中に存在し、臨床的特徴は症候性とは異なり進行は極めて緩徐であることを示した。本症による凝固異常の解析では、PIC 1.5 μ g/ml をカットオフとすると感度 92.7%、特異度 89.7% と診断に有用であることが判明した。AL 診断用抗体では、クローン H16-E が A κ 診断に極めて有用であること、AL アミロイド 51 例中 40 例 (78.4%) で apoE E4 が陽性であることを見出した。

2) AA アミロイドーシス :

① **臨床的研究**: 年齢の上昇とともに RA 発症から本症発症までの期間は短くなり (相関: -0.675, $p < 0.0001$)、加齢は、20 歳以降発症の RA において本症発症の独立した重要な risk factor と考えられた。RA による本症のアミロイド沈着量は、血清クレアチニン (Cr) (相関係数: 0.65, $r = 0.0001$)、クレアチニンクリアランス (Ccr) (相関係数: -0.44, $r = 0.018$)、血清アルブミン (相関係数: -0.38, $r = 0.03$)、血清 IgG (相関係数: 0.38, $r = 0.04$) と相関した。抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) による全国多施設共同臨床試験を推進し、登録者数は 38 名となった。

② **基礎的研究**: 本症動物モデルを用いた SAA 及び AA の組織内動態の解析では、脾臓の SAA 沈着は 2 日目で陽性となり、5 日目をピークに 21 日目にやや減少、55 日目に著減、イムノブロットでは SAA は 2 日目から既に複数の分解産物 (AA) とともに検出され、経過によって SAA が減少し、AA が残存した。本症の生検消化管粘膜から AA を定量する方法を確立し、本法を用いて十二指腸生検が最も感度が高く、アミロイド進行の評価に適していることを証明した。

3) FAP :

① **FAP の病態及び肝移植治療に関する研究**: 非集積地の高齢発症の FAP、特に FAP ATTR Val30Met は、集積地症例とは異なり、家族歴、解離性感覚障害、自律神経障害を認めず、病理学的にも小径線維優位の神経線維脱落を呈さない例が多く、腓腹神経生検ではアミロイド沈着を認めない場合

もあった。肝移植前後での腹壁脂肪沈着アミロイドを比較するとアミロイドが著しく減少しており、構成成分も変異型 TTR 優位から野生型 TTR 優位へと変化していた。FAP 患者の肝移植後も眼のアミロイド沈着は進行し、それに対し網膜の光凝固療法が著効した。

②FAP の発症機構解明および新規治療法開発に関する研究:TTR のアミロイド沈着の rate limiting step となる misfolding を抑制するシクロデキストリン、および misfolding の部位を認識する特異抗体でアミロイド形成阻止実験を行ったところ、それぞれ、*in vitro* および *in vivo* でアミロイド形成が著明に抑制された。siRNA は眼アミロイド沈着に有用であった。FAP 患者に TTR 四量体安定化作用を有するジフルニサルを投与する臨床試験を行い、FAP 患者 (n=23) に対するジフルニサル投与は最長で 78 ヶ月に達した。2 名で軽度の腎機能障害が出現して中止した。他の 21 名では FAP 臨床スコア、心機能と末梢神経伝導速度の悪化が従来のデータに比較して軽度であった(図 1)。

アフリカミドリザルは全身の諸臓器に TTR を前駆蛋白とするアミロイド沈着が認められ、不整脈や心拡大、心エコー異常などのアミロイド沈着を示唆する臨床所見もみられた。TTR 遺伝子配列では 122 番目のアミノ酸がイソロイシンであった。

4) 透析アミロイドーシス :

①臨床的研究 : 本症の主病態である破壊性脊椎症の発症頻度は腹膜透析患者のほうが血液透析患者より多かった。血清中 β 2-m 濃度が腹膜透析患者の方が高いことがその原因である可能性が考えられた。30 年前後の長期血液透析患者では女性の方が手根管症候群を発症しにくい傾向が見られた。本症の骨関節症状として 8 つの臨床項目(主項目 5、準項目 3)を抽出し、診断基準とした。いずれも臨床症状と画像所見で診断しやすい項目である。臨床主項目 2 項目以上陽性率、臨床主項目 1 項目陽性+臨床準項目 1 項目以上陽性率は、透析期間とともに増加した。

②基礎的研究 : *In vitro* β 2-m アミロイド線維形成系を用い、遊離脂肪酸やリゾリン脂質など、陰性荷電を有する生体界面活性分子が、生理条件下で β 2-m アミロイド線維伸長を引き起こすこと、透析患者血漿中のリゾリン酸濃度が、健常者に比し有意に高いこと、 α 2-マクログロブリンやハプト

グロビンなどの細胞外分子シャペロンが、生理条件下で β 2-m アミロイド線維形成を抑制することを明らかにした。

5) 脳アミロイドーシス :

①A β アミロイド沈着分子病態解明と AD 診断治療法開発:酸化ストレスによりヒト神経芽細胞腫細胞の脂質ラフト画分の PS1 蛋白及び A β 産生が増加し、抗酸化物質、スタチンにより PS1 の増加は抑制された。白内障の水晶体からタンパク重量当たり平均 7.13 pg/mg の A β x-42 が抽出された。APP を発現する HEK293 細胞に ARB を、臨床用量を超過しているが細胞毒性を示さない濃度内で添加した場合、活性体への変換をおこさない ARB は A β を増加させ、活性体への変換をおこす ARB は活性体で A β 産生への影響はなく不活体(未変換体)で A β の産生を減少させる傾向が認められた。A β オリゴマー (dimer, trimer, tetramer) は n が増加すると β -sheet や seed 活性が増加し、毒性は tetramer \approx trimer $>$ dimer \approx fibril $>$ monomer の順であった。apoE の A β 線維形成過程への関与を線維形成中間体である protofibril に着目して検討し、*in vitro* で ϵ 4 アレルの protofibril 安定化能が低く線維形成が促進されること、あらかじめ apoE とインキュベートした protofibril を APP トランスジェニックマウス脳に注入する *in vivo* 実験において apoE4 存在下で形成させた protofibril の注入により不溶性 A β 量が増加することを認めた。AD 患者および非認知症対照例の CSF が A β オリゴマー形成に与える影響を検討したところ、CSF はオリゴマー形成を抑制するが、AD では抑制作用が弱く、AD はオリゴマー形成を促進する CSF 環境を有していることが明らかになった。天然フェノール化合物は *in vitro* 及び *in vivo* の AD モデルで A β オリゴマー形成、線維形成、アミロイド沈着を抑制すること、エストロゲンも A β オリゴマー及び線維形成抑制作用をもつことを示した。Tg2576 と TgTauP301L の double transgenic mouse では 22 月齢でリン酸化 tau と NFT の増加を認め、高コレステロール食は Tg2576 の脳 lipid rafts 画分に A β oligomer 蓄積を起こし、変異 Niemann-Pick type C1 は TgTauP301L にリン酸化 tau 蓄積と pretangle 増加を起こした。NFT と神経細胞死を起こす TgTauP301L 脳では 17 遺伝子発現が増加し、7 遺伝子が減少し、このうち 4 分子では蛋白レベルの変化を認め、TgTauP301L では CSF と血漿に

ヒト tau が full length の形で認められ、CSF タウは脳不溶性 tau と関連した。

② **BRI2 関連蛋白に関する研究**：ITM2B 特異抗体を作製し免疫組織学的検索を行い、AD のアミロイドに ITM2B 免疫活性を認めた。ラジオイムノアッセイによる ITM2B 測定では、CSF では他の神経疾患よりも AD で高い傾向、AD で年齢と正の相関を示した。一方、血中では髄液よりも濃度が低く、AD と他疾患との間に差異を認めなかった。

6) **老人性全身性アミロイドーシス (SSA)**：手根管症候群で手根管開放手術標本における SSA 有病率を検討すると、37%に滑膜組織に TTR 由来のアミロイドを認め、頻度は加齢と共に上昇し 80 歳では 80%であり、男性に陽性率が高い傾向があった。連続剖検例における 80 歳以上での SSA の頻度は 11.5%であった。SSA 患者の生検の陽性率は、心筋生検が 100%、消化管生検が 38%、腹壁皮膚生検が 33%であり、SSA の多くの例では、胸部 CT 上、小結節やすりガラス状陰影といった異常所見を認めた。

7) **アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス**：アミロイドーシスの伝播に関する研究では、動物園等での飼育下チーターでの糞を介した AA アミロイドーシスの伝播の可能性があること (Zhang et al, Proc Nat Acad Sci USA 2008)、マウス AApoAII アミロイドーシスでは骨格筋に伝播性を持つアミロイド線維を観察し (Qian et al PLoS Pathogen 2010)、アミロイドーシス発症の中期に糞中に伝播性の強いアミロイド線維が排出されることを示した (図 2)。一方、 $\beta 2$ -m のモデルマウスでは、アミロイド線維による伝播以外の発症促進因子が重要であることを示した。ウシに沈着した AA アミロイドは組織切片および精製アミロイドは 121°C 30 分の加熱でコンゴレッド等に対する染色性を殆ど失ったが、免疫染色および超微形態像は殆ど変化が認められなかった。マウスへの投与試験では、105°C、121°C 30 分加熱処理牛アミロイド投与群の 2/9、1/9 匹にアミロイドの沈着を認めたが、132°C 加熱処理群のマウスにはアミロイドの沈着は認められなかった (0/10 匹)。

アミロイドイメージング開発研究では、健常者 2 名と極めて微量のアミロイド沈着を認めた AA

患者 1 名の [^{11}C]BF-227 PET 画像に明確な違いはなかった。一方、FAP 患者の心臓、CAA 患者の大脳皮質に [^{11}C]BF-227 の取り込みを認めた。AA アミロイドーシスの消化管生検標本の BF-227 染色では、薬物介入 1 年後の 22 症例中 6 例に治療効果を認めた。

8) **アミロイドーシス研究推進、診療水準向上のための活動**：International Symposium on Amyloidogenesis and Anti-amyloid Therapies (2010 年 1 月 28 日、東京) (サザンプトン大学 James Nicoll 教授ほか)、International Symposium on Transmission of Amyloidosis (2011 年 1 月 27 日、東京) (ウプサラ大学 Per Westermark 教授ほか) を実施した。『アミロイドーシス診療ガイドライン 2010』を作成し小冊子を全国主要施設に配布、研究班ホームページ (<http://amyloid.umin.jp/>) 上に公開した (2010 年 12 月 20 日)。

D. 考察

1) AL アミロイドーシス：

AA アミロイドーシス、FAP では根治療法後、患者体内へ沈着したアミロイドが退縮していくことが示されている。自家末梢血幹細胞移植併用高用量化学療法による AL 治療成功例では胃や腎のアミロイド沈着が減少していた。すなわち、全身性アミロイドーシス一般で、アミロイド前駆蛋白の産生を抑えれば既に沈着しているアミロイドが退縮すると考えられる。アミロイド沈着病変においてアミロイド構成蛋白が常に代謝回転しているものと推定される。

本症治療では自家造血幹細胞移植併用療法が有用であるが、自家末梢血幹細胞移植の恩恵を受ける患者は全体の 15%に過ぎない。適応拡大のためには臓器障害の程度、前治療、幹細胞採取法、大量化学療法の至適投与量等のより詳細な検討が必要である。

一方、新規治療法の開発は急務である。最近、プロテアソーム阻害剤であるボルテゾミブの有効性が報告されつつあるが、BMD 療法については海外でもまだ進行中の段階である。BMD 療法では、アミロイドーシスの前駆蛋白である血清遊離軽鎖を早期に減少させる効果が期待でき、実際、心アミロイドーシスでのボルテゾミブの有効例を報告した。早急に臨床試験を高度医療として実施することが期待される。

また、最も有効な透析膜を使った HDF 療法により FLC を除去し、臓器障害の進行させないことが確認された。

MGUS 患者にみられる無症候性 AL アミロイドーシスの進行は極めて緩徐であると推定されることから、無症候性 AL アミロイドーシス患者に対しては積極的な治療は必要ないものと考えられる。本症による凝固異常の解析では、PIC の測定が本症診断に有用であることが示唆された。今後、他の病型を含めた詳細な検討を要する。

AK アミロイド同定に有用な抗体（クローン H16-E）を見出した。AK アミロイドーシスでは、多くの症例でアミロイド沈着にκ鎖 C 末端部分が含まれていると推測される。また本症のアミロイドでは抗 apoE E4 陽性率が高く、apoE E4 は AL アミロイド沈着のリスクである可能性が示唆された。

2) AA アミロイドーシス：

加齢は独立した AA アミロイドーシス合併 RA の独立した risk factor であることから、高齢による合併症に注意を払いながら RA の良好なコントロールが重要である。腎アミロイド沈着量が腎機能検査を含めた血液・生化学的パラメーターがよく関連したことから、そうした検査により腎組織のアミロイドの沈着量が類推可能であると考えられた。これらは治療効果の評価にも有用である可能性がある。本症の生検消化管粘膜から AA を定量する方法を確立し、本法を用いて十二指腸生検が最も感度が高いことを証明した。AA 定量生検にて経時的に沈着量を評価することは臨床評価において強力な補助評価ツールになると思われる。

世界初の抗 IL-6 受容体抗体（トシリズマブ）による本症に対する臨床試験を全国多施設共同研究として推進し、登録者数が 38 名となった。2012 年の試験終了後、結果は公表される。

本症動物モデルを用いた SAA 及び AA の組織内動態の解析結果から、SAA として沈着した後に AA サイズに分解されるという従来の説ではなく、初めから SAA と分解産物 AA として沈着するが、SAA サイズのものはターンオーバー（消去）が速く AA が遅いという可能性が考えられた。血清中の SAA 分解産物とアミロイド沈着中の AA の分子サイズが異なることは AA の蛋白分解にはアミロイド特異的な様式があることを示唆

している。

3) FAP：

非集積地の高齢発症の FAP ATTR Val30Met は、従来からの集積地の症例とは異なる臨床病理像を呈するため、高齢者の原因不明のニューロパチーでは FAP ATTR Val30Met の可能性を積極的に疑う必要がある。また、腓腹神経生検ではアミロイド沈着を認めない場合もあり、病理所見が軸索変性主体で原因が明らかでない場合や、当初の臨床診断では説明がつかない病理所見を認めた場合は遺伝子診断を積極的に施行する価値がある。

肝移植前後での脂肪組織のアミロイドの解析から、肝移植によりアミロイドの退縮が実際に起こっていることが示された。肝移植後は野生型 TTR の沈着が優位になってくることから、TTR アミロイドは融解と新たな沈着を繰り返しているものと考えられ、そのバランスにより沈着量は規定されているものと推定される。変異型 TTR は野生型 TTR よりもアミロイド原性が高いため、多くの臓器では肝移植による変異型 TTR の除去によりアミロイド沈着量はダイナミックに減少していくものと思われる。一方、肝移植後も、眼では変異型 TTR の産生が続いている。肝移植後も進行する眼のアミロイド沈着は、網膜の光凝固療法である程度制御できるものと考えられる。

Misfolding の制御は TTR アミロイド抑制のカギを握る重要なステップで、シクロデキストリン、および misfolding の部位を認識する特異抗体は有力な治療になると考えられた。眼アミロイドーシスに対する局所 siRNA 療法は眼のアミロイド形成を抑制する有力なツールとなる可能性がある。

現在、本症に対する唯一の根本療法は肝移植である。TTR 四量体安定化作用を有するジフルニサルによる臨床試験において神経症状及び検査所見の進展抑制を認めた（図 1）。これは、移植の適応がない、あるいはドナー不足等の問題で移植が不可能な患者にとって大きな朗報である。また、蛋白 misfolding 病全体をみても、疾患の本体である misfolding そのものに対する治療戦略が実際に有効であることを示した重要な成果である。

アフリカミドリザルがヒト TTR アミロイドーシスを示すを見出した。興味深いことには、アフリカミドリザルの TTR の 122 番目のアミノ酸はイソロイシンであり、ヒトにおいては TTR Val122Ile は FAP に関連する変異である。ヒト

TTR アミロイドーシスを研究する上で、本サル種は貴重なモデル動物になるものと思われる。

4) 透析アミロイドーシス：

本症の発症要因として血清中の前駆蛋白である $\beta 2\text{-m}$ 濃度があるが、長期血液透析例では女性の方が手根管症候群を発症しにくかったことから、現時点ではまだ明確になっていない要因が手根管症候群発症の発症予防因子として存在する可能性が示唆される。

8 項目の骨関節症状の組み合わせ診断を基本とした、世界初の診断基準案を作成した（『アミロイドーシス診療ガイドライン 2010』参照）。本研究による検証により、この診断基準を用いて鑑別診断と早期診断が可能であると考えられた。

血液透析時に投与されるヘパリンによりリポ蛋白質リパーゼが活性化され、血中遊離脂肪酸濃度が急上昇することが報告されている。*In vitro* $\beta 2\text{-m}$ アミロイド線維形成系を用いた研究により、透析患者血漿中のリゾリン酸濃度が、健常者に比し有意に高いことが明らかになり、これらの脂質分子が透析アミロイドーシス発症に促進的に関与することが示唆された。一方、透析患者血清中には $\alpha 2\text{M}$ - $\beta 2\text{-m}$ 複合体が存在することが報告されているが、この病態生理学的意義として、 $\alpha 2\text{M}$ が $\beta 2\text{-m}$ に結合することにより $\beta 2\text{-m}$ アミロイド線維形成を抑制していることが示唆された。

5) 脳アミロイドーシス：

ヒト神経芽細胞腫細胞を用いた検討により、酸化ストレスはPS1発現の増加を介して $A\beta$ 産生に促進的に作用する可能性が考えられた。認知症を伴わない白内障患者で、水晶体中に $A\beta_{x-42}$ が少量ながら蓄積していることが判明した。水晶体 $A\beta$ の定量によるADの早期診断の可能性については、今後、 $A\beta$ の翻訳後修飾やオリゴマーなどを含め、より詳細な検討が必要である。

近年、ARBのAD治療薬としての可能性が報告されているが、本研究でこれまでに報告されている動物実験の論文で用いられているような実験系や臨床で用いられている薬剤量では、経口摂取したARBが血液脳関門を通過して神経細胞へ有効に作用し、 $A\beta$ 産生やクリアランスに影響を与える可能性はほとんど無いことが明らかとなった。脳移行性の改善や不活体を維持するなどの薬理的課題を解決する必要がある。

$A\beta$ オリゴマーについては最小単位である

dimerにも毒性があることが報告されている。今回の構造-毒性相関研究により、low orderのオリゴマーについてはorder依存性に毒性やseed活性が増加することが判明した。Monomerからdimerへのステップにおいて毒性が出現するため、このステップが重要な治療標的と考えられる。

apoEの $A\beta$ 線維形成過程への関与を検討したところ、apoE E3はprotofibrilを安定化することにより、そのseed効果を抑制し、fibril形成を抑制する作用を有すると考えられる。一方、E4はそのseed効果の抑制効果が低いため、fibril形成を早期に生じやすいものと考えられる。そのためE4の存在下ではアミロイド形成が促進され、このプロセスの相違がADの遺伝的危険因子として働く可能性がある。

ADはオリゴマー形成を促進するCSF環境を有していることから、このCSF環境の検出や修飾は早期診断や治療につながる可能性がある。今後、CSF中に存在するオリゴマー形成に関与する分子の本体を解明する必要がある。

天然フェノール化合物は*in vitro*ばかりでなく、ADモデル動物においてもオリゴマー形成抑制、アミロイド沈着抑制作用を示したことから、ADの予防・治療薬として有用であることが示唆される。今後、それを実証するための臨床試験が必要である。

$A\beta$ アミロイドーシスとtau蓄積の関連を検討すると、 $A\beta$ アミロイドーシスはリン酸化tau蓄積を促進し、コレステロール代謝障害は $A\beta$ およびtauの蓄積を促進し、ADの危険因子になると考えられた。Tau蓄積が神経細胞死とNFTを誘発するカスケードには多くの遺伝子が関与していること、CSF tauの上昇は脳不溶性tau増加およびNFT蓄積を反映すること、さらに血漿tauは新たなADのバイオマーカーになる可能性があることが示唆された。

FBD及びFDDで蓄積するアミロイドITM2B蛋白をADで検討したところ、 $A\beta$ 陽性老人斑のアミロイドにITM2Bが陽性であり、 $A\beta$ 凝集に関与する可能性が示唆された。さらに、ITM2B分泌型および前駆体がCSFに存在しADで増加しており、AD発症への関与が示唆される。

6) 老人性全身性アミロイドーシス (SSA)：手根管におけるTTRアミロイド沈着の検討から、TTRの沈着は、脳における $A\beta$ 沈着と同様に、加齢と

共に非常に高率に認められる現象であり、一部の例が SSA として発症する可能性が示唆される。一方、剖検例による SSA の頻度は 80 歳以上で 11.5%であった。また、SSA で肺病変がみられることを初めて見出した。

7) アミロイドーシスに共通する発症機構解明に基づく診断・予防・治療法開発およびその他のアミロイドーシス:アミロイドーシスの伝播に関する研究では、動物園等での飼育下チーターでの糞を介した AA アミロイドーシスの伝播や、アミロイドーシスの動物モデルを用いた実験室の研究で AApoAII や AA アミロイドーシス等の全身性アミロイドーシスの発症や進行に伝播現象が重要な役割をはたすことが明らかになった。しかし、TTR アミロイドーシスや透析アミロイドーシスでは伝播現象は観察できていない。今後は伝播現象が、患者の発症や予防にどのような影響を及ぼしているのかという臨床的な観点でのより詳細な研究が必要である

ウシに沈着した AA アミロイドのマウスへの伝播性に関する検討では、通常の調理温度である 100℃および 121℃ (圧力釜) においてアミロイドを処理しても伝播性は失活していないことが明らかとなった。また加熱処理により未処理のものに比して伝播能が上昇する可能性も示唆された。食品安全の観点から重要なデータであり、今後更に詳細に検討する必要がある。

アミロイドイメーシング開発研究については、FAP 患者の心アミロイドの画像化に成功した。アミロイドイメーシングは脳アミロイドーシスにおいて多数の報告があるが、全身性アミロイドーシスの診断や治療効果判定にも有用と考えられる。

8) アミロイドーシス研究推進、診療水準向上のための活動:本領域における世界の第一人者を招いた国際シンポジウムの開催は研究の推進に寄与した。

一般に、本症は診断が遅れ、専門家に紹介されて来る頃には病状が進行し最適な治療を受けることができない場合が多い。本研究事業により作成された『アミロイドーシス診療ガイドライン 2010』 (<http://amyloid.umin.jp/>) は、わが国における一般医師による本症診療の水準を向上させ、本症の早期診断や適切な治療を受ける機会を増やすことに寄与することが期待される。

E. 結論

アミロイドーシス病型ごとの戦略および全病型に共通する基盤的研究により、治療プロトコル確立、新規診断・予防・治療法開発、診療ガイドライン作成等を行った。AL では自家末梢血幹細胞移植併用高用量化学療法の有用性(治療成功例ではアミロイドが除去される)と非適応例への対応を報告し、新規治療プロトコルとして BMD 療法の臨床試験計画を推進した。AA では加齢などの危険因子やアミロイド沈着機序の解明研究が進展し、IL-6 受容体抗体トシリズマブによる本症に対する世界初の全国多施設臨床試験が進行した (2012 年終了予定)。FAP では根本療法である肝移植療法以外の治療法の開発で成果をあげ、TTR 四量体安定化 (misfolding 抑制) 作用を有するジフルニサルスの臨床試験において症状進行の抑制を認め、本治療戦略の有効性を臨床的に実証できた。透析アミロイドーシスでは $\beta 2\text{-m}$ アミロイドの形成・沈着に影響を及ぼす生体分子間相互作用の解明が進み、さらに世界初の本症診断基準を提案、多数例でその有用性を検証した。脳アミロイドーシスでは *in vitro* 及び *in vivo* モデルを駆使し、 $A\beta$ 産生・凝集における酸化ストレスや apoE の関与、tau 蓄積との関係、 $A\beta$ オリゴマーの構造-毒性相関、フェノール化合物等の抗アミロイド効果、AD 患者が有する $A\beta$ オリゴマー形成を促進する CSF 環境の解明等が進展した。SSA では、手根管における TTR アミロイド沈着の解析により野生型 TTR の沈着は高齢者で極めて高率に認められる現象であることなどが示された。マウス、チーター等の動物の研究で、プリオン以外の全身性アミロイドーシスにおいても、発症促進やアミロイド沈着の促進に「伝播」が重要な役割を果たしていることが明らかになった。アミロイドイメーシング開発ではヒトにおける $[^{11}\text{C}]\text{BF-227}$ の探索的臨床研究が進行した。2 つの国際シンポジウムを開催し、『アミロイドーシス診療ガイドライン 2010』を発刊した。

F. 研究発表

(各年度の主要原著論文を下に示す。)

平成 20 年度

1) Zhang B, Une Y, Fu X, Yan J, Ge F, Yao J, Sawashita J, Tomozawa H, Kametani F, Higuchi K: Fecal translation of AA amyloidosis in the cheetah

- contributions to high incidence of disease. *Proc Nat Acad Sci USA* 105:7263-7268, 2008.
- 2) Nishida S, Hagihara K, Shima Y, Kawai M, Kuwahara Y, Arimitsu J, Hirano T, Ogata A, Yoshizaki K, Kawase I, Kishimoto T, Tanaka T: Rapid improvement of AA amyloidosis by humanized anti-IL-6 receptor antibody treatment. *Ann Rheum Dis* 68:1235-1236, 2009.
- 3) Nishikawa T, Hagihara K, Isobe T, Matsumura A, Song J, Tanaka T, Kawase I, Naka T, Yoshizaki K: Transcriptional complex formation of c-Fos, STAT3, and hepatocyteNF-1 α is essential for cytokine-driven c-reactive protein gene expression. *J Immunol* 180:3402-3501, 2008.
- 4) Yamashita T, Ando Y, Ueda M, Nakamura M, Okamoto S, Zeledon ME, Hirahara T, Hirai T, Ueda A, Misumi Y, Obayashi K, Inomata H, Uchino M: Effect of liver transplantation on transthyretin Tyr114Cys-related cerebral amyloid angiopathy. *Neurology* 70:123-128, 2008.
- 5) Nishina K, Unno T, Uno Y, Kubodera T, Kanouchi T, Mizusawa H, Yokota T: Efficient in vivo delivery of siRNA to the liver by Conjugation of α -Tocopherol. *Mol Ther* 16:734-740, 2008.
- 6) Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M: Medical procedures and risk for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, Japan, 1999-2008. *Emerg Infect Dis* 15: 265-271, 2009.
- 7) Ozawa D, Yagi H, Ban T, Kameda A, Kawakami T, Naiki H, Goto Y: Destruction of amyloid fibrils of a β_2 -microglobulin fragment by laser beam irradiation. *J Biol Chem* 284:1009-1017, 2009.
- 8) Lee YH, Chatani E, Sasahara K, Naiki H, Goto Y: A comprehensive model for packing and hydration for amyloid fibrils of β_2 -microglobulin. *J Biol Chem* 284:2169-2175, 2009.
- 9) Sekijima Y, Kelly JW, Ikeda S: Pathogenesis of and therapeutic strategies to ameliorate the transthyretin amyloidosis. *Curr Pharm Des* 14:3219-30, 2008.
- 10) Ono K, Hirohata M, Yamada M: α -synuclein assembly as a therapeutic target of Parkinson's disease and related disorders. *Curr Pharm Des* 14:3247-3266, 2008.
- 11) Hirohata M, Ono K, Yamada M: Non-steroidal anti-inflammatory drugs as anti-amyloidogenic compounds. *Curr Pharm Des* 14:3280-3294, 2008.
- 12) Takemoto F, Ubara Y, Kaname S, Katori H, Sawa N, Hoshino J, Suwabe T, Higa Y, Nakanishi S, Nagata M, Ohashi K, Takaichi K: Hyporeninemic hypoaldosteronism from secondary amyloidosis. *Kidney International* 74:542, 2008.
- 13) Abroun S, Otsuyama K, Shamsasenjan K, Islam A, Amin J, Iqbal MS, Gondo T, Asaoku H, Kawano MM: Galectin-1 supports the survival of CD45RA(-) primary myeloma cells in vitro. *Br J Haematol* 142:754-765, 2008.
- 14) Sakata M, Chatani E, Kameda A, Sakurai K, Naiki H, Goto Y: Kinetic coupling of folding and prolyl isomerization of β_2 -microglobulin studied by mutational analysis. *J Mol Biol* 382:1242-1255, 2008.
- 15) van der Hilst JC, Yamada T, Op den Camp HJ, van der Meer JW, Drenth JP, Simon A: Increased susceptibility of serum amyloid 1.1 to degradation by MMP-1: potential explanation for higher risk of type AA amyloidosis. *Rheumatology* 47:1651-1654, 2008.
- 16) Hasegawa K, Tsutsumi-Yasuhara S, Ookoshi T, Ohhashi Y, Kimura H, Takahashi N, Yoshida H, Miyazaki R, Goto Y, Naiki H: Growth of β_2 -microglobulin-related amyloid fibrils by non-esterified fatty acids at a neutral pH. *Biochem J* 416:307-315, 2008.
- 17) Tsuchiya A, Yazaki M, Kametani F, Takei Y, Ikeda S: Marked regression of abdominal fat amyloid in patients with familial amyloid polyneuropathy during long-term follow-up after liver transplantation. *Liver Transpl* 14:563-570, 2008.
- 18) Wati H, Kawarabayashi T, Matsubara E, Kasai A, Hirasawa T, Kubota T, Harigaya Y, Shoji M, Maeda S: Transthyretin Accelerates Vascular A β Deposition in a Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Brain Pathol* 19:48-57, 2009.
- 19) Kanazawa T, Uchihara T, Takahashi A, Nakamura A, Orimo S, Mizusawa H: Three-Layered Structure Shared Between Lewy Bodies and Lewy Neurites- Three- Dimensional Reconstruction of Triple-Labeled Sections. *Brain Pathol* 18:415-422, 2008.

20) Takei N, Miyashita A, Tsukie T, Arai H, Asada T, Imagawa M, Shoji M, Higuchi S, Urakami K, Kimura H, Kakita A, Takahashi H, Tsuji S, Kanazawa I, Ihara Y, Odani S, Kuwano R: Genetic association study on and around the APOE in late-onset Alzheimer disease in Japanese. *Genomics* 93:441-448, 2009.

平成 21 年度

1) Ono K, Condron MM, Teplow DB: Structure-neurotoxicity relationships of amyloid β -protein oligomers. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:14745-14750, 2009.

2) Chatani E, Lee YH, Yagi H, Yoshimura Y, Naiki H, Goto Y: Ultrasonication-dependent production and breakdown lead to minimum-sized amyloid fibrils. *Proc Natl Acad Sci USA* 106:11119-11124, 2009.

3) Yamada K, Yabuki C, Seubert P, Schenk D, Hori Y, Ohtsuki S, Terasaki T, Hashimoto T, Iwatsubo T: A β immunotherapy: intracerebral sequestration of A β by an anti-A β monoclonal antibody 266 with high affinity to soluble A β . *J Neurosci* 29:11393-11398, 2009.

4) Ashihara E, Kawata E, Nakagawa Y, Shimazaki C, Kuroda J, Taniguchi K, Uchiyama H, Tanaka R, Yokota A, Takeuchi M, Kamitsuji Y, Inaba T, Taniwaki M, Kimura S, Maekawa T: β -catenin small interfering RNA successfully suppressed progression of multiple myeloma in a mouse model. *Clin Cancer Res* 15:2731-2738, 2009.

5) Hamaguchi T, Ono K, Murase A, Yamada M: Phenolic compounds prevent Alzheimer's pathology through different effects on the amyloid β aggregation pathway. *Am J Pathol* 175:2557-2565, 2009.

6) Ueda M, Misumi Y, Mizuguchi M, Nakamura M, Yamashita T, Sekijima Y, Ota K, Shinriki S, Jono H, Ikeda SI, Suhr OB, Ando Y: SELDI-TOF Mass Spectrometry Evaluation of Variant Transthyretins for Diagnosis and Pathogenesis of Familial Amyloidotic Polyneuropathy. *Clin Chem* 55:1223-1227, 2009.

7) Wati H, Kawarabayashi T, Matsubara E, Kasai A, Hirasawa T, Kubota T, Harigaya Y, Shoji M, Maeda

S: Transthyretin accelerates vascular A β deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 19:48-57, 2009.

8) Susuki S, Sato T, Miyata M, Momohara M, Suico MA, Shuto T, Ando Y, Kai H: The endoplasmic reticulum-associated degradation of transthyretin variants is negatively regulated by BiP in mammalian cells. *J Biol Chem* 284:8312-8321, 2009.

9) Kawaji T, Ando Y, Hara R, Tanihara H: Novel Therapy for Transthyretin-related Ocular Amyloidosis A Pilot Study of Retinal Laser Photocoagulation. *Ophthalmology* 17:552-555, 2010.

10) Misumi Y, Ando Y, Ueda M, Obayashi K, Jono H, Su Y, Yamashita T, Uchino M: Chain reaction of amyloid fibril formation with induction of basement membrane in familial amyloidotic polyneuropathy. *J Pathol* 219:481-490, 2009.

11) Zhao W, Wang J, Ho L, Ono K, Teplow DB, Pasinetti GM: Identification of antihypertensive drugs which inhibit amyloid- β protein oligomerization. *J Alzheimers Dis* 16:49-57, 2009.

12) Ho L, Chen LH, Wang J, Zhao W, Talcott ST, Ono K, Teplow D, Humala N, Cheng A, Percival SS, Ferruzzi M, Janle E, Dickstein DL, Pasinetti GM: Heterogeneity in red wine polyphenolic contents differentially influences Alzheimer's disease-type neuropathology and cognitive deterioration. *J Alzheimers Dis* 16:59-72, 2009.

13) Jin H, Sanjo N, Uchihara T, Watabe K, St. George-Hyslop P, Fraser PE, Mizusawa H: Presenilin-1 holoprotein is an interacting partner of sarco endoplasmic reticulum calcium-ATPase and confers resistance to endoplasmic reticulum stress. *J Alzheimers Dis* 20:261-273, 2010.

14) Okamura N, Shiga Y, Furumoto S, Tashiro M, Tsuboi Y, Furukawa K, Yanai K, Iwata R, Arai H, Kudo Y, Itoyama Y, Doh-ura K: In vivo detection of prion amyloid plaques using [^{11}C]BF-227 PET. *Eur J Nuc Med* 37:934-941, 2010.

15) Fujiwara H, Tabuchi M, Yamaguchi T, Iwasaki K, Furukawa K, Sekiguchi K, Ikarashi Y, Kudo Y, Higuchi M, Saido TC, Maeda S, Takashima A, Hara M, Yaegashi N, Kase Y, Arai H: A traditional medicinal herb *Paeonia suffruticosa* and its active constituent 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-

glucopyranose have potent anti-aggregation effects on Alzheimer's amyloid β proteins in vitro and in vivo. *J Neurochem* 1009:1648-1657, 2009.

16) Okamoto S, Wixner J, Obayashi K, Ando Y, Ericzon BG, Friman S, Uchino M, Suhr OB: Liver transplantation for familial amyloidotic polyneuropathy: impact on Swedish patients' survival. *Liver Transp* 15:1229-1235, 2009.

17) Hamaguchi T, Ono K, Yamada M: Curcumin and Alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther* 16:285-297, 2010.

18) Sasahara K, Yagi H, Naiki H, Goto Y: Thermal response with exothermic effects of β_2 -microglobulin amyloid fibrils and fibrillation. *J Mol Biol* 389:584-594, 2009.

19) Hirohata M, Yoshita M, Ishida C, Ikeda S, Tamaoka A, Kuzuhara S, Shoji M, Ando Y, Tokuda T, Yamada M: Clinical features of non-hypertensive lobar intracerebral hemorrhage related to cerebral amyloid angiopathy. *Eur J Neurol* 17:823-829, 2010.

20) Arif M, Chikuma T, Ahmed MM, Nakazato M, Smith MA, Kato T: Effects of memantine on soluble $A\beta_{25-35}$ -induced changes in peptidergic and glial cells in Alzheimer's disease model rat brain regions. *Neuroscience* 164:1199-1209, 2009.

平成 22 年度

1) Song SN, Tomosugi N, Kawabata H, Ishikawa T, Nishikawa T, Yoshizaki K: Down-regulation of hepcidin resulting from long-term treatment with an anti-IL-6 receptor antibody (Tocilizumab) improves anemia of inflammation in multicentric Castleman's disease. *Blood* 116: 3627-3634, 2010.

2) Kikuchi A, Takeda A, Okamura N, Tashiro M, Hasegawa T, Furumoto S, Kobayashi M, Sugeno N, Baba T, Miki Y, Mori F, Wakabayashi K, Funaki Y, Fukuda H, Arai H, Kudo Y, Yanai K, Itoyama Y: In vivo visualization of α -synuclein deposition by [11C]-BF-227 PET in multiple system atrophy. *Brain* 133:1772-1778, 2010.

3) Qian J, Yan J, Ge F, Zhang B, Fu X, Tomozawa H, Sawashita J, Mori M, Higuchi K: Mouse senile amyloid fibrils deposited in skeletal muscle exhibit amyloidosis-enhancing activity. *PLoS Pathogens* 6:e1000914, 2010.

4) Tokuda T, Qureshi MM, Ardah MT, Varghese S, Shehab SA, Kasai T, Ishigami N, Tamaoka A, Nakagawa M, El-Agnaf OM: Detection of elevated levels of α -synuclein oligomers in CSF from patients with Parkinson disease. *Neurology* 75:1766-1772, 2010.

5) Takagi S, Tominaga A, Sato C, Tomita T, Iwatsubo T: Participation of transmembrane domain 1 of presenilin 1 in the catalytic pore structure of the γ -secretase. *J Neurosci* 30:15943-15950, 2010.

6) Fukumoto H, Takahashi H, Tarui N, Matsui J, Tomita T, Hirode M, Sagayama M, Maeda R, Kawamoto M, Hirai K, Terauchi J, Sakura Y, Kakihana M, Kato K, Iwatsubo T, Miyamoto M: A non-competitive BACE1 inhibitor TAK-070 ameliorates $A\beta$ pathology and behavioral deficits in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci* 30:11157-11166, 2010.

7) Arima H, Yamashita S, Mori Y, Hayashi Y, Motoyama K, Hattori K, Takeuchi T, Jono H, Ando Y, Hirayama F, Uekama K: In vitro and in vivo gene delivery mediated by lactosylated dendrimer/ α -Cyclodextrin conjugates (G2) into hepatocytes. *J Control Release* 146:106-117, 2010.

8) Wang J, Ono K, Dickstein D, Arrieta-Cruz I, Zhao W, Qian X, Lamparello A, Ferruzzi MG, Pavlides C, Ho L, Hof P, Teplow DB, Pasinetti GM: Carvedilol as a potential novel agent for the treatment of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, in press.

9) Kawaji T, Ando Y, Hara R, Tanihara H: Novel Therapy for Transthyretin-related Ocular Amyloidosis A Pilot Study of Retinal Laser Photocoagulation. *Ophthalmology* 17:552-555, 2010.

10) Ono K, Condron MM, Teplow DB: Effects of the English (H6R) and Tottori (D7N) familial Alzheimer disease mutations on amyloid β -protein assembly and toxicity. *J Biol Chem* 285:23186-23197, 2010.

11) Watanabe N, Takagi S, Tomita T, Iwatsubo T: Functional analysis of the transmembrane domains of presenilin 1: participation of transmembrane domains 2 and 6 in the formation of initial substrate binding site of γ -secretase. *J Biol Chem* 285:19738-19746, 2010.

12) Yagi H, Ozawa D, Sakurai K, Kawakami T, Kuyama H, Nishimura O, Shimanouchi T, Kuboi R, Naiki H, Goto Y: Laser-induced propagation and destruction of amyloid β fibrils. *J Biol Chem* 285:19660-19667, 2010.

13) Ozawa D, Hasegawa K, Lee YH, Sakurai K, Yanagi K, Ookoshi T, Goto Y, Naiki H: Inhibition of β_2 -microglobulin amyloid fibril formation by α_2 -macroglobulin. *J Biol Chem*, in press.

14) Koike H, Kiuchi T, Iijima M, Ueda M, Ando Y, Morozumi S, Tomita M, Kawagashira Y, Watanabe H, Katsuno M, Shimoyama Y, Okazaki Y, Kamei H, Sobue G: Systemic but asymptomatic transthyretin amyloidosis 8 years after domino liver transplantation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, in press.

15) Katoh N, Matsuda M, Tsuchiya-Suzuki A, Ikeda S: Regression of gastroduodenal amyloid deposition in systemic AL amyloidosis after intensive chemotherapies. *Brit J Haematol*, in press.

16) Okamura N, Shiga Y, Furumoto S, Tashiro M, Tsuboi Y, Furukawa K, Yanai K, Iwata R, Arai H, Kudo Y, Itoyama Y, Doh-ura K: In vivo detection of prion amyloid plaques using [11C]BF-227 PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 37:934-941, 2010.

17) Matsumoto L, Takuma H, Tamaoka A, Kurisaki H, Date H, Tsuji S, Iwata A: CpG demethylation enhances alpha-synuclein expression and affects the pathogenesis of Parkinson's disease. *PLoS One* 5:e15522, 2010.

18) Ono K, Yamada M: Low-n oligomers as therapeutic targets of Alzheimer's disease. *J Neurochem*, in press.

19) Chatani E, Ohnishi R, Konuma T, Sakurai K, Naiki H, Goto Y: Pre-steady-state kinetic analysis of the elongation of amyloid fibrils of β_2 -microglobulin with tryptophan mutagenesis. *J Mol Biol* 400:1057-1066, 2010.

20) Konuma T, Chatani E, Yagi M, Sakurai K, Ikegami T, Naiki H, Goto Y: Kinetic intermediates of β_2 -microglobulin fibril elongation probed by pulse-labeling H/D exchange combined with NMR analysis. *J Mol Biol* 405:851-862, 2011.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許出願・取得

山田正仁、小野賢二郎

1) 発明の名称：アルツハイマー病の検査方法

特許番号：特許第 4568840 号

取得日：平成 22 年 8 月 20 日

東海林幹夫

1) 発明の名称：パーキンソン病モデルトランスジェニックマウス

特許番号：特許第 4174212 号

取得日：平成 20 年 8 月 22 日

2) 発明の名称：アルツハイマー病の検査法、アルツハイマー病に対して治療効果を有する物質のスクリーニング方法およびアルツハイマー病の検査キット

出願番号：特願 2010-48003

出願日：平成 22 年 3 月 4 日

安東由喜雄

1) 発明の名称：アミロイド線維形成抑制剤

出願番号：特願 2008-260965

出願日：平成 20 年 10 月 7 日

2) 発明の名称：アミロイド線維形成抑制剤およびその作用

出願番号：特願 2009-042102

出願日：平成 21 年 2 月 25 日

2. 実用新案登録

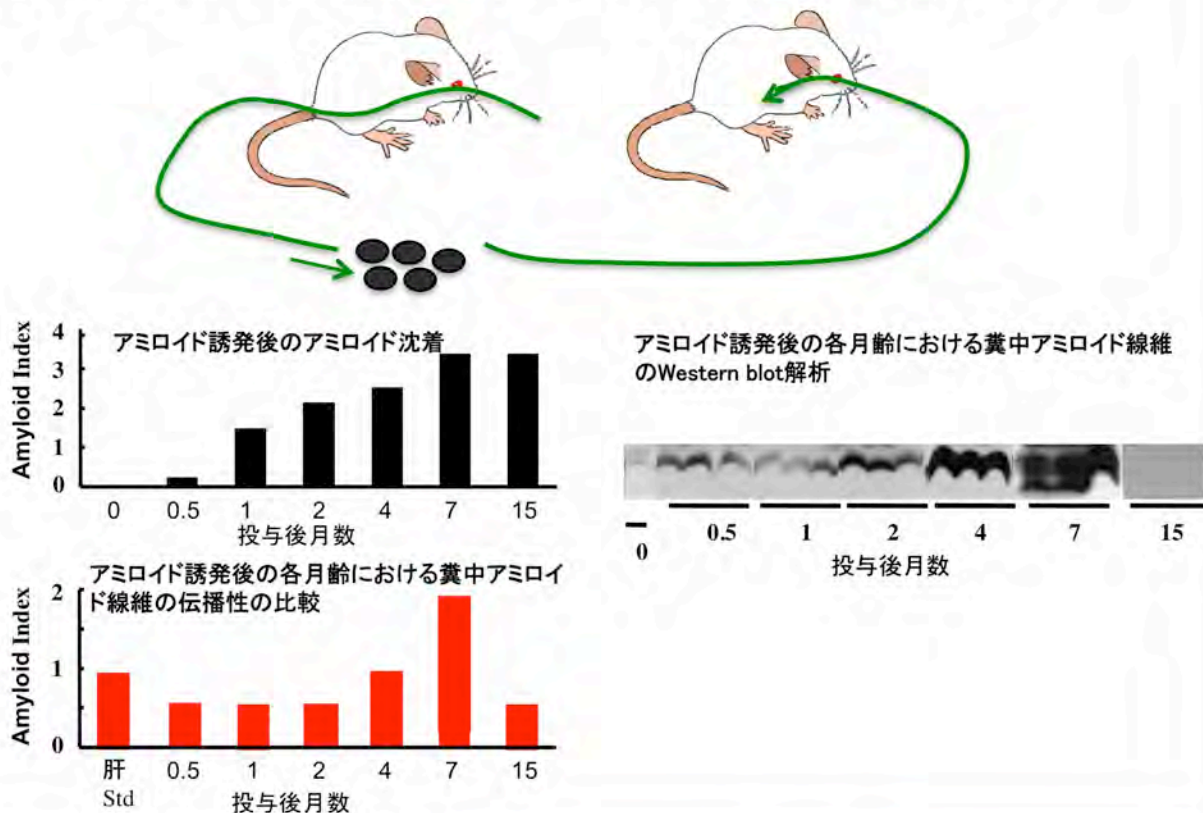
なし

3. その他

なし

図2. 実験室(A)や動物園(B)でアミロイドーシスは動物の糞に含まれるアミロイドによって伝播している

A. 糞を介したマウスAApoAllアミロイドーシスの伝播 (樋口ら)



B. 動物園のチーターにみられる糞を介したAAアミロイドーシスの伝播

(樋口らのPNAS2008論文は Science NOW に取り上げられた)

