

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)  
総括研究報告書

## 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) 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、脳アミロイドアンギオパチー)]ごとの戦略、及び全病型に共通する課題の研究により、疫学病態調査、治療プロトコル確立、新規診断・予防・治療法開発等を行った。AL ではボルテゾミブ、メルファラン、デキサメタゾン併用療法の新規治療プロトコルによる全国多施設臨床試験体制を構築し、大量メルファラン+自家末梢血幹細胞移植療法及びその他の治療オプションの有用性を検討した。AA では抗サイトカイン療法、特に IL-6 受容体抗体トシリズマブが治療上優れていたことから、本剤による世界初の AA 全国多施設臨床試験を開始し患者登録が順調に進行した。FAP では肝移植後の長期経過例は一般的に全身のアミロイド沈着は減少を示すが、心臓と小唾液腺では沈着が増加するという重要な知見を得た。更に非移植治療の候補薬としてトランスサイレチンアミロイド線維形成抑制作用を有するシクロデキストリンを見出した。透析アミロイドーシスでは腹膜透析が血液透析よりも高リスクであること、 $\beta_2$ ミクログロブリン ( $\beta_2$ -m) 線維形成促進作用を有するリゾリン脂質の濃度が手根骨骨嚢胞病変と関連する可能性を示し、さらに  $\beta_2$ -m を高発現するモデルマウス作製研究が進行した。脳アミロイドーシスでは脂質ラフトにおける酸化ストレスや脂質代謝異常がアミロイド  $\beta$  蛋白 ( $A\beta$ ) 産生や凝集を促進すること、アンジオテンシン受容体拮抗薬が  $A\beta$  産生抑制作用を、抗パーキンソン病薬関連化合物が  $A\beta$  および  $\alpha$ シヌクレイン凝集抑制作用を有することなどを示した。アミロイドイメージング開発では、モデル動物におけるアミロイド画像化に成功後、ヒトにおける探索的臨床研究に進んだ。アミロイドによるアミロイドーシス発症促進(“伝播”)現象については実験的研究が進行し、今後、ヒトにおける“伝播”の可能性を検討するための疫学的研究を立案していく段階となった。

### 研究分担者

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	吉崎和幸	大阪大学先端科学イノベーションセ ンター 客員教授
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 疾病制御医学専攻 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
山田俊幸	自治医科大学臨床検査医学 教授	奥田恭章	道後温泉病院リウマチセンター内科 部長
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	安東由喜雄	熊本大学大学院医学薬学研究部病態 情報解析学分野 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 内分泌代謝学分野 教授
今井裕一	愛知医科大学内科学講座腎臓・膠原 病内科 教授	工藤幸司	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
島崎千尋	京都府立医科大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学 講師		

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	新潟大学医歯学総合病院血液浄化療法部 准教授
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獣医学科・病態獣医学講座 教授

## 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・治療法の開発・確立を目的とし、病型ごとの戦略並びに全病型共通の発症機構研究により、本症の発症動向の把握と共に、早期診断、治療成績の向上、新規診断、予防・治療法の開発を行う。

- 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。本研究では新規プロトコルによる全国多施設臨床試験を実施し、さらに、様々な治療オプションの検討、AL の分子病態解明に基づく新規診断・治療法開発研究を行う。
- 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。RA における本症発症の危険因子、予後規定因子の解明、早期診断・治療指針の作成、分子病態解明に基づく抗サイトカイン療法の開発、臨床試験による有用性確立をめざす。
- 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、移植非適応例にも可能な新規治療法の開発が必要である。肝移植療法の長期的な有効性や問題点を明らかにし、トランスサイレチン (TTR) 沈着機構解明により、TTR 分子標的治療開発をめざす。
- 4) **透析アミロイドーシス**：腎移植が少ないわが国では長期透析患者が増加し、それと共に本症も増加している。本症合併の危険因子同定と発症予防、早期発見法確立、 $\beta_2$ -ミクログロブリン ( $\beta_2$ -m) 凝集過程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) **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**：全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、アミロイドイメージングの臨床診断への応用を行う。また、アミロイドによるアミロイドーシス発症促進 (“伝播”) 現象について解明する。

## B. 研究方法

### 1) AL アミロイドーシス：

① **治療法の検討 (新規プロトコルによる臨床試験を含む)**：本症に対する治療法として、大量メルファラン (HDM) + 自家末梢血幹細胞移植療法 (ASCT) の有用性が示されているが、適応基準にあてはまる例は限られている。新規治療法としてボルテゾミブ、メルファラン、デキサメタゾンの 3 剤併用 (BMD 療法) による安全性と有用性を検証する臨床試験を立案した (島崎ほか AL 分科会メンバー)。また、HDM+ASCT 療法以外の治療を選択せざるを得ない場合も多いため、HDM+ASCT 療法 11 例・MP 療法 17 例・VAD 療法 12 例・無治療 10 例における生存率を比較検討した (高市)。また、重篤な臓器障害を有するために原則的には HDM-ASCT 療法の適応外となる例に対して本治療法を適用する方法を検討する目的で、適応外症例を含む 15 例の HDM+ASCT 治療経験を検討した (麻奥)。

② **遊離軽鎖測定法の検討**：本症治療前後における遊離軽鎖 (FLC) の推移について高速液体クロマトグラフィー法 (HPLC+ELISA 法) で軽鎖の分子量分布を検討した (今井)。

③ **凝固系の検討**：本症と過剰線溶の関係に注目し、本症において凝固系を測定し、本症骨髄形質細胞におけるウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベータ (uPA) 産生を検討した (畑)。

④ **新規治療法開発のための基礎的研究**：AL アミロイドーシスを含む MGUS における単クローン性形質細胞の NF- $\kappa$ B 活性につき検討を加えた (河野)。

## 2) AA アミロイドーシス :

① 臨床的研究 : RA に続発する本症が RA 患者の生命予後に与える影響を検討するために、2000年～2004年の5年間の日本病理剖検輯報より RA、アミロイドーシスと記載のある剖検例を抽出し解析した(寺井)。RA において加齢が本症発症に及ぼす影響を明らかにするため本症合併 RA 388例を解析した(奥田)。RA に本症を合併した 15例に対し生物学的製剤(インフリキシマブ、エタネルセプト、トシリズマブ)を使用し、臨床効果を検討した(西)。さらに、インフリキシマブ、エタネルセプトに対して治療抵抗性であったが、トシリズマブが有効であった RA 症例を報告した(田中)。AA アミロイドーシスに対するヒト化抗 IL-6 受容体抗体(トシリズマブ)を用いた SAA 産生抑制による治療法確立のために、AA アミロイドーシス臨床研究会を立ち上げ、臨床試験を推進した(吉崎ほか)。

② 基礎的研究 : 生検試料中の AA 蛋白を定量する方法を確立し、生検部位による量的差異について検討した(山田俊幸)。AA 前駆蛋白 SAA とその会合体である HDL との親和性を表面プラズモン解析を利用した装置 BIAcore を用い SAA1 アイソタイプ別に調べた(山田俊幸)。

## 3) FAP :

① FAP の肝移植治療の長期効果に関する研究 : 肝移植後 10 年以上フォローした FAP ATTR V30M 患者 2 例の剖検組織を、肝移植未施行のまま発症後 10 年目に死亡した FAP ATTR V30M 患者(典型的非移植患者)と詳細に比較検討し、FAP に対する肝移植の長期的な効果について病理組織学的に解析した(安東)。

② FAP の新規治療法開発に関する研究 : 最近アミロイド線維形成に対し抑制効果を示すことが報告されたシクロデキストリン(CyD) 誘導体を用いて、TTR アミロイド線維形成に対する影響を検討した(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による破壊性脊椎関節症(DSA)に関する腹膜透析(CAPD)と血液透析(HD)の違いについては明らかにするために、透析歴 10 年以上の長期透析患者(CAPD27 名、HD82 名)における、DSA の病態について検討

した(高市)。試験管内で  $\beta 2$ -m 線維形成促進効果を認めたリゾリン脂質について、HD 患者 71 名における透析アミロイドーシスの発症・進展との関連性を臨床的に検討した(内木)。血漿リゾリン酸(LPA)、血漿リゾフォスファチジルコリン(LPC)濃度は、それぞれ colorimetric assay、及び enzymatic assay で測定した。単純骨レントゲンによる骨嚢胞の評価、及び下条らによる透析アミロイドーシススコア(DRA スコア)を用いた。

② 基礎的研究 : 透析アミロイドーシスのモデルマウス開発を目指してヒト  $\beta 2$ -m (h $\beta 2$ m) のみを高発現するトランスジェニックマウス(hB2MTg<sup>+/+</sup>m $\beta 2$ m<sup>-/-</sup>)を作製し、 $\beta 2$ m アミロイドーシス誘発を試みた(樋口)。

## 5) 脳アミロイドーシス :

① アミロイド  $\beta$  蛋白 ( $A\beta$ ) 沈着分子病態解明と AD 診断治療法開発 : 酸化ストレスが  $A\beta$  蓄積と関連し、 $A\beta$  産生に関わる  $\beta$  セクレターゼと  $\gamma$  セクレターゼ(プレセニリン 1(PS1)複合体)が、脂質ラフトと呼ばれる膜ドメインに局在することから、ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞を用いて、酸化ストレス物質である ethacrynic acid (EA)の負荷が脂質ラフトにおけるこれらのセクレターゼに及ぼす影響を検討した(玉岡)。脂質ラフトにおける  $A\beta$ 、タウ蛋白、 $\alpha$ -シヌクレイン ( $\alpha S$ )蓄積との関係を脳アミロイドモデル Tg2576, 神経原線維変化を再現する TgTauP301L, Lewy 小体様封入体を再現する Tg $\alpha$ SYN を用いて検討した(東海林)。我が国で血圧降下剤として使用されている 3 種類のアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)に関して培養細胞を用いて  $A\beta$  産生への影響を調べた(水澤)。 $A\beta(1-42)$  ( $A\beta 42$ )、 $A\beta(1-40)$  ( $A\beta 40$ )及び  $\alpha S$  の試験管内凝集反応系に 6 種類の抗パーキンソン病(PD) 薬関連化合物(dopamine、selegiline、levodopa、pergolide、bromocriptine、trihexyphenidyl)を添加し、 $A\beta$  線維及び  $\alpha S$  線維形成・不安定化過程に及ぼす化合物の影響を、分光蛍光定量法、電子顕微鏡、原子間力顕微鏡を用いて解析した(山田正仁)。もの忘れ外来における AD 診断のための脳脊髄液(CSF) 検査の有用性を検討した(東海林)。レビー小体型認知症(DLB) と AD の鑑別における CSF 検査の有用性を検討する目的で、DLB、AD 患者 CSF 中の  $\alpha S$ 、 $A\beta 42$ 、総タウ蛋白

(tau)、リン酸化タウ蛋白 (ptau) 濃度を測定した (山田正仁)。

②CAA に関する研究: CAA 関連血管炎に起因する髄膜脳症を呈した症例にステロイド療法を施行し、その後の病態変化を剖検所見を含めて検討した (池田)。A $\beta$  蛋白前駆体の A $\beta$  分子領域内のアミノ酸置換 Asp23Asn 変異を伴い、早期発症認知症と高度 CAA を特色とするアイオワ家系脳を生化学的に解析した (玉岡)。

③BRI2 関連蛋白に関する研究: 家族性認知症の診断法の確立と BRI 関連蛋白の脳内の分布や AD との関連について検討するため、原因アミロイド蛋白である ABri と ADan と BRI の分泌部位に対する抗体を作成し BRI 測定系を構築し、AD 脳を BRI 抗体で免疫染色した (中里)。

6) 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:

①老人性全身性アミロイドーシス(SSA)に関する研究: 野生型 TTR 由来のアミロイドが全身臓器に沈着する予後不良の疾患である SAA の疫学病態を明らかにするために、手根管症候群患者 27 名の SSA を検討した (池田)。

②アミロイドイメージングに関する研究: プローブ BF-227 によるアミロイドイメージングの基礎的検討を昨年度までに終了し、本年度はヒトにおける [<sup>11</sup>C]BF-227 探索的臨床研究として、まず最初に正常健常人の PET 画像を撮影した (工藤)。

③血清アミロイド P 成分 (Sap) のアミロイドーシス発症への関与に関する研究: すべてのアミロイド沈着の共通成分である Sap の *in vivo* での関与を解明するために、無 Sap マウスを用いて、AD マウスモデル (Tg2576) の A $\beta$  アミロイド沈着、アポリポ蛋白 AII アミロイド (AApoAII) 沈着における Sap の関与を解析した (前田)。

④アミロイドによるアミロイドーシス伝播あるいは促進現象に関する研究: 独自に開発した apoA-II の合成部分ペプチドを用いた *in vitro* 線維形成システムとマウス apoA-II アミロイドーシス (AApoAII) 高発症モデルマウス (*Apoa2<sup>c</sup>* トランスジェニックマウス: *Apoa2<sup>c</sup>Tg*) を用い、アミロイド線維の形成及び伝播機構を解析した (樋口)。

異なった種類のアミロイド蛋白が同一個体に沈着する場合、お互いの沈着を促進するかどうかを人体例で検討する目的で、全身性 A $\lambda$  アミロイドーシスと老人性全身性アミロイドーシスが共存する 2 例において、それぞれのアミロイド蛋白の分布を検討した (星井)。

食品としてビーフを摂取する時にウシに沈着しているアミロイドが人体に入った場合、個体のアミロイドーシス発症を促進する可能性がある。そのため、ウシ由来の AA アミロイドをウサギに投与することによる伝播モデル作成を試みた (松井)。

(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治療法の検討 (新規プロトコールによる臨床試験を含む): 本研究班 AL 分科会はボルテゾミブ、メルファラン、デキサメタゾンの 3 剤併用 (BMD 療法) の治療プロトコールを作成、全国 11 施設からなる臨床試験体制 (班員 5 名及び研究協力者 9 名が参加) を構築した。対象は 20 歳以上 65 歳以下の既治療例とし、ボルテゾミブの安全性を確保するため適格基準を厳しく設定した。主要評価項目は BMD 療法の安全性であり、副次的評価項目は 6 ヶ月後の血液学的効果および臨床効果 (臓器効果) とした。予定症例数は 10 例とした。

AL アミロイドーシス 75 例を対象とした HDM+ASCT 療法、MP 療法、VAD 療法、無治療例の比較検討では、HDM+ASCT 施行 11 例のうち、高度心アミロイドーシスの 1 例を除き 10 例は全例生存中で経過良好で、腎病変合併例の 75% で 50% 以上の蛋白尿減少効果を認め優れた治療効果が示唆された。また他治療と比較すると HDM 群の平均生存曲線が他治療群より有意に優れており、これは心臓合併症の有無に無関係であった。

VAD 療法は心合併症を有する場合に MP 療法よりも予後不良になる傾向があった。

HDM+ASCT療法の適応外患者10例中9例にrisk adapted approach によるASCTを施行し3年生存率65%と良好な結果であった。前治療においてVAD療法は重篤な臓器障害例に対しては不利益が多かった。安全性と治療強度の両立を目的としたdouble ASCTを4例に行い3例でCRを得た。幹細胞採取においてはG-CSF単独動員で採取可能であり、ASCT時の体液管理においてsivelestat sodium hydrateが有用であった。

②遊離軽鎖測定法の検討：治療前後のFLCの検討では、治療後に血清FLCの $\kappa/\lambda$ 比は正常化し、HPLC+ELISA法で遊離軽鎖の消失を確認し、治療に伴う軽鎖産生抑制を $\kappa \cdot \lambda$ それぞれに数値的に定量することが可能であった。

③凝固系の検討：AL アミロイドーシス 9 例の凝固系を測定したところ、すべての症例で過剰線溶を認めたが、骨髄腫症例ではこの異常を認めなかった。また、AL アミロイドーシス症例骨髄中の形質細胞において uPA が産生されていることが判明した。

④新規治療法開発のための基礎的研究：恒常的 NF- $\kappa$ B 活性は細胞膜上の CD54 発現の強度測定で定量可能であり、MGUS 形質細胞は、正常骨髄形質細胞同様に CD54 発現が極めて高く、逆に、骨髄腫細胞では CD54 発現は有意に低いことを確認した。CD54 発現の極めて高い MGUS 形質細胞は生存安定性が高く、p53 遺伝子の DNA 結合領域に点変異を認めず p53 蛋白が正常に機能していた。

## 2) AA アミロイドーシス：

①臨床的研究：日本病理剖検輯報から抽出された RA1225 例の死因第 1 位は感染症 32.8%、2 位呼吸器疾患 20.2%、3 位アミロイドーシス 11.3%であった。一方、反応性アミロイドーシス剖検例の原因疾患の中で RA の比率は 78%であった。

RA 発症リスクの解析では、RA 発症年齢とアミロイド診断までの RA 罹病期間は逆相関した ( $p<0.0001$ )。性比(女/男)は RA 全体では 4.02、本症合併 RA 群では 8.05 であり、本症は女性で有意に高率であった ( $p<0.0001$ )。SAA1 exon3 多型の検討では、SAA1.3+群の本症発症までの罹病期

間は SAA1.3- 群と比べて有意に短かった ( $p=0.0011$ )。

RA による本症 15 例に対する生物学的製剤(インフリキシマブ、エタネルセプト、トシリズマブ)の治療効果の検討では、治療開始前に正常腎機能及び Stage1~3 CKD 例は腎機能改善または不変であったが、Stage4 CKD 例は全例血液透析治療に移行した。治療開始後に胃・十二指腸粘膜生検組織のアミロイド沈着領域の減少が全例でみられ、2 例ではアミロイドが消失していた。インフリキシマブ、エタネルセプトに対して治療抵抗性であったがトシリズマブが有効であった RA 症例では、トシリズマブ投与開始後、速やかに CRP は陰性化し、SAA も 10 mg/ml 以下に安定し、下痢が改善、回盲部・直腸生検でのアミロイド沈着が消失した。

トシリズマブによる全国多施設共同臨床試験では、昨年度までに作成した臨床試験プロトコルに基づき、平成 20 年度より研究を開始し、順調に患者登録が進んだ。

②基礎的研究：胃十二指腸生検組織の AA を定量すると、定量値は十二指腸球部>同第 2 部>胃前庭部となり、十二指腸球部が優位であり、また、組織診で陰性でも定量される、つまり陽性となる例が多くみられた。

SAA1 アイソタイプと HDL との親和性解析では、親和性の高い順に、SAA1.5>SAA1.1=SAA1.3 であった。

## 3) FAP：

①FAPの肝移植治療の長期効果に関する研究：肝移植後 10 年以上フォローした FAP ATTR V30M 患者 2 例では、肝移植未施行のまま発症後 10 年目に死亡した FAP ATTR V30M 患者(典型的非移植患者)と比較して、末梢神経、甲状腺、消化管、腎臓をはじめとする多くの諸臓器でごく軽度の TTR アミロイド沈着しか認めず、特に十二指腸へのアミロイド沈着に関しては、剖検時移植前の生検組織像に比べ著しく減少していた。一方、心筋細胞周囲では中等度、さらに舌の小唾液腺周囲では重度のアミロイド沈着を認めた。

②FAPの新規治療法開発に関する研究： $\beta$ -CyD は、TTR のアミロイド線維形成を有意に抑制し、

TTR アミロイド線維形成過程における  $\beta$  シート構造の増加を抑制した。本抑制効果は、各種分岐  $\beta$ -CyD 間の分岐糖鎖の差異により大きく変化し、GUG- $\beta$ -CyD が最も著明なアミロイド線維形成の抑制効果を示した。

#### 4) 透析アミロイドーシス：

①臨床的研究：CAPD 患者 27 名は男 15 名、女 12 名、平均透析年数  $12.1 \pm 1.8$  年(10-17)、HD 患者 82 名は男 53 名、女 29 名、平均透析年数  $19.7 \pm 8.4$  年(10-46)であった。明らかに DSA と診断された症例は、CAPD 患者では頸椎 DSA が 6/27 名(23%)、腰椎 DSA が 6/27 名(23%)にみられ、DSA 患者の平均透析年数は  $12.3 \pm 2.7$ (10-17)年、HD 患者では頸椎 DSA が 9/82 名(11%)、腰椎 DSA が 4/82 名(5%)で、DSA 患者の平均透析年数は  $33.1 \pm 7.6$ (21-46)年であった。DSA の発症は CAPD 患者に多く、透析歴も短かった( $p < 0.01$ )。また、HD 患者では頸椎 DSA は腰椎 DSA の約 2 倍であったが、CAPD 患者においては頸椎 DSA と腰椎 DSA は同数であった。

血液透析患者におけるリゾリン脂質濃度と透析アミロイドーシスとの関連については、LPA 濃度は、健常者に比べ血液透析患者で有意に高値を示した。一方、LPC 濃度は、健常者に比べ血液透析患者で有意に低値を示した。また、LPA・LPC 濃度のいずれも DRA スコアとは有意な相関を示さなかった。しかし単純骨レントゲンによる手根骨骨嚢胞数と LPC 濃度との間には正相関の傾向を認めた。

②基礎的研究：トランスジェニックマウス ( $h\beta 2M^{+/+}m\beta 2m^{-/-}$ )の血中  $h\beta 2m$  濃度は長期透析患者の約 4 倍であった ( $193 \text{ mg/L}$ )。自然発症マウス( $\sim 25M$ )、及びアミロイド線維 ( $A\beta 2M$  及び  $AApoAII$ ) 投与による誘発マウス( $\sim 25M$ )では、 $A\beta 2M$  アミロイドの沈着は観察されず、 $AApoAII$  の沈着のみが観察された。透析アミロイドーシスの主要な沈着部位である関節にも  $AApoAII$  の沈着のみが観察された。

#### 5) 脳アミロイドーシス：

①  $A\beta$  アミロイド沈着分子病態解明と AD 診断治療法開発：ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞に対する酸化ストレス物質 EA の負荷により、PS1 mRNA、脂質ラフトの PS1 蛋白が増加し、抗酸化

物質である NAC によりこの増加は抑制された。動物モデルを用いた脂質ラフトにおける蛋白凝集の検討では、Tg2576 では  $A\beta$  蓄積の超早期から  $A\beta$  oligomer が、TgTauP301L および Tg  $\alpha$  SYN においてもそれぞれ tau および  $\alpha$  S が蓄積し、Tg2576 に高コレステロール食を投与すると  $A\beta$  oligomer が増加した。NPC1 KO によるコレステロール代謝障害は脂質ラフトに tau、APP、GSK3 $\beta$ 、 $\alpha$  S の蓄積を促進し、p-tau 陽性の pretangle 蓄積を引き起こした。

ARB の  $A\beta$  産生への影響を検討したところ、olmesartan は APPwt 細胞における培養液中  $A\beta 40$  および  $A\beta 42$  を濃度依存的に減少させ、losartan は APPwt 細胞における培養液中  $A\beta 40$  を減少させ、valsartan は 2mM の高濃度で APPswe 細胞における培養液中の  $A\beta 42$  と  $A\beta 42/40$  の比を低下させたが、それを培養液に添加した細胞の  $\gamma$  セクレターゼ構成各因子の蛋白量には明らかな変化は認められなかった。抗 PD 薬の  $A\beta$  や  $\alpha$  S 凝集に対する影響をみると、trihexyphenidyl 以外の抗 PD 薬関連化合物は、濃度依存性に  $A\beta$  凝集及び  $\alpha$  S 凝集を抑制し、既存の  $A\beta$  凝集体、及び  $\alpha$  S 凝集体を不安定化した。特に強い作用を示したのは dopamine であり、有効濃度 ( $EC_{50}$ ) は生理的濃度であった。 $A\beta$  と  $\alpha$  S に対する凝集抑制作用の強弱関係には良い相関がみとめられた。

もの忘れ外来における CSF 検査では AD 群で  $A\beta 42$  の低下、総 tau 及び AD index の有意な上昇がみられ、AD の鑑別に有用であった。AD と DLB の鑑別では、CSF  $\alpha$  S 濃度は DLB 群と AD 群で差を認めなかったが、DLB 群の  $\alpha$  S 濃度は罹病期間と有意に相関し、罹病期間が長くなるにつれて CSF  $\alpha$  S 濃度は低下した。CSF  $A\beta 42$  濃度は DLB 群と AD 群間で差がなく、CSF tau、CSF p-tau 濃度は DLB 群に比べ AD 群で有意に上昇していた。 $^{123}I$ -MIBG シンチでは、DLB 群で AD 群と比較して有意に H/M 比の低下、washout rate の高値を認めた。

② CAA に関する研究：CAA 関連血管炎に伴い右半球白質にび漫性の高信号領域と腫脹が見られた症例にステロイドを投与して症状が改善し、剖検時の CAA は生検時より軽度であった。Asp23Asn 変異を伴うアイオワ家系脳では、大脳

皮質の可溶性 A $\beta$  オリゴマーが孤発例とは異った様態を示し、A $\beta$  の N 末端の切断が見出された。

③BRI 関連蛋白に関する研究: ABri と ADan に対する測定系ではそれぞれ感度 20fmol/tube と 70fmol/tube の RIA を構築した。BRI の分泌部位に対する測定系も感度 30fmol/tube の RIA を構築した。BRI に対する抗体による免疫染色では神経細胞内に染色性を認めるとともに、老人斑の A $\beta$  染色陽性の周囲に染色性を認めた。

6) 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:

①老人性全身性アミロイドーシス(SSA)に関する研究: 手根管症候群患者 27 名の SSA を検討した結果、37%に滑膜組織へのアミロイド沈着を認め、その全てが TTR 由来のアミロイドであった。年齢別に検討すると、アミロイドの陽性率は 50 歳未満で 14%、50 歳代で 25%、60 歳代で 25%、70 歳代で 43%、80 歳代で 80%であり、加齢に伴って陽性率は上昇し、男女別では男性で陽性率が高い傾向にあった。

②アミロイドイメージングに関する研究: 正常健康人 2 名に [ $^{11}\text{C}$ ]BF-227 を静脈内投与後 55 分および 70 分までの PET 画像の観察では、投与直後から主要代謝部位である肝において放射能集積が見られた後、肝代謝の結果と思われる胆嚢に放射能集積が見られた。しかし、腎、消化管には特記すべき放射能集積が見られなかった

③血清アミロイド P 成分 (Sap) のアミロイドーシス発症への関与に関する研究: AD マウスモデル (Tg2576) で、Tg2576/ *Sap*<sup>-/-</sup> と Tg2576/ *Sap*<sup>+/+</sup> における A $\beta$  アミロイド沈着を比較したところ、Sap の有無によって、A $\beta$  アミロイドの沈着時期や程度に差異を認めなかった。*Sap*<sup>-/-</sup> マウスと *Sap*<sup>+/+</sup> マウスに 50  $\mu\text{g}$  の AApoA II 線維を尾静脈に注入したところ、両群マウスの種々の臓器における AApoA II 沈着時期や程度には、差異を認めなかった。

④アミロイドによるアミロイドーシス伝播あるいは促進現象に関する研究: apoA-II アミロイド線維形成及び伝播機構の解析では、AApoAII アミロイドーシスを極めて発症し難い F 型 apoA-II (*Apoa2f*) の合成部分ペプチドを用いた *in vitro* 線維形成解析から、apoA-II の 9、16、62 番のアミノ酸配列が線

維形成に重要であることを見いだした。次に、合成ペプチドから 4°C で作製した線維を *Apoa2c* Tg に投与することにより、37°C 生成線維と比較して有意に高頻度のアミロイド線維沈着を誘発し、4°C 生成線維の高い沈着促進力 (伝播能力) を示唆した。4°C 生成線維は 37°C 生成線維とは超微形態が若干異なり、各種タンパク質変性操作に高い感受性 (脆弱性) を示した。

2 例の全身性 AL (A $\lambda$ ) アミロイドーシス・SSA 共存例において、それぞれのアミロイド蛋白の分布を検討したところ、2 例共に検索した全臓器にアミロイド沈着がみられ、抗  $\lambda$  鎖抗体の反応性は、ほぼコンゴレッド染色陽性部位に一致していた。一方 anti-TTR (115-124) 陽性像は、心臓、肺に限定しており、コンゴレッド陽性部の一部にのみ陽性像が見られた。

ウシ AA アミロイド伝播モデルの作製では、飛節潰瘍罹患ウサギにアジュバント等による炎症刺激と伴にウシアミロイドを投与すると AA アミロイドーシスを誘発できるが、ウサギの足底部の剃毛等により飛節潰瘍様病態を人為的に作成した場合には、AA アミロイドーシスの誘発には至らなかった

#### D. 考察

1) AL アミロイドーシス: ボルテゾミブ (BOR)、メルファラン (MEL)、デキサメタゾン (DEX) の 3 剤併用 (BMD 療法) による安全性と有用性を検証する臨床試験プロトコールを立案し、多施設共同研究体制を構築した。原発性 AL アミロイドーシスに対する BOR 使用の報告はいずれも単剤あるいは DEX との併用であり、奏効率が高く効果発現が早い。本治験のように、MEL/DEX との併用はいまだ報告されておらず新しい有用な治療法として期待される。しかし、BOR には有害事象も多いことから、本試験の安全性を確保するため用量設定試験 (臨床第 I/II 相試験) として立案した。現在、参加施設において倫理審査中である。本症に対する各種治療の成績の比較では、HDM+ASCT 療法は心臓疾患の有無に係らず、そのほかの VAD, MP 療法および無治療に比べて良好な生存率であった。HDM+ASCT 療法は、その他の治療法に比べ優れた治療効果が期待でき、適応があ

る場合には積極的に考慮すべきと考えられた。また、VAD療法は心合併症を有する場合にMP療法よりも予後不良になる傾向があり、心臓アミロイドーシス合併例に対するVAD療法には慎重であるべきと考えられた。

HDM+ASCT療法は重篤な臓器障害がある場合、適応外となってしまうことが問題となる。適応外患者の治療経験から、前治療をせずG-CSF単独動員で幹細胞を採取し、risk adapted approach によるASCTを実施すれば、適応外患者に対しても可能であることが示唆された。しかし、治療強度が下がると寛解率の低下を招く可能性があり、治療強度の確保のためdouble ASCTや前治療、後治療の工夫が必要と考えられる。

本症の治療評価においてはFLC測定が重要である。本研究により、治療経過中に $\kappa/\lambda$ 比が正常域にある場合でもHPLC+ELISA法では血清遊離軽鎖を高感度に検出し、遊離軽鎖の絶対量を指標とすることが可能であることが明らかとなった。

さらに、本症の凝固系の検討から、形質細胞から産生されたuPAが過剰線溶の原因となり、その結果、出血傾向をきたすことが示唆された。他のAAアミロイドーシス等では過剰線溶が見られないことなどから、形質細胞由来のuPAが過剰線溶をきたす一方で、免疫グロブリン軽鎖を修飾しアミロイド原性を高めるといった仮説を想定し今後の研究を進めて行く。この仮説が証明されれば、uPA阻害薬が本症の進展予防に有効である可能性もある。

本症を含むMGUSの単クローン性形質細胞はCD54発現/NF- $\kappa$ B活性、p53遺伝子発現が極めて高く、正常骨髄形質細胞に似て安定性が高い。本症の形質細胞は正常骨髄形質細胞とよく似て、senescence状態にあるものと考えられ、骨髄腫細胞とは異なる。現在、骨髄腫に対する治療法が本症治療に応用されているが、本症形質細胞の生物学は骨髄腫のそれとは異なっており、そうした視点による新規治療法開発の必要性を示している。

2) AAアミロイドーシス：日本病理剖検輯報(2000-2004年)を用いた解析では、本症はRAにおける死因の第3位を占めており、これは1985-89年の調査結果と同様であり、一方、本症の中でRAを原因疾患とする比率は78%であり、

1985-89年の61%と較べ増加していた。今後、RAにおける新しい免疫抑制療法の導入が進むにつれ本症合併頻度が低下することが期待される。

RAにおける本症合併リスクの解析では、加齢とSAA1 exon3多型がリスクとして抽出された。この結果からは、高齢発症のRAに対しては強力な免疫抑制、炎症コントロールが必要であるということになるが、臓器機能低下を来していることが多い高齢者には感染症などの合併症に対して細心の注意を払いながら治療を行う必要がある。

RAに合併する本症の治療では、生物製剤治療(インフリキシマブ、エタネルセプト、トシリズマブ)によって胃粘膜のアミロイド沈着領域は減少することが明らかになった。一方、腎機能の改善効果は高度の腎不全例ではみられず血液透析が必要になったことから、より早期での生物製剤による治療開始の必要性が示された。

抗TNF製剤抵抗性の本症患者にトシリズマブが奏功し消化器症状と共にアミロイド沈着が消失した例があり注目される。本研究班AAアミロイドーシス分科会のメンバーはトシリズマブの治療効果を他の生物製剤と比較しながら検証するため、より大規模な会員組織からなるAA臨床研究会を立ち上げ、そこで、トシリズマブのみならず、レミケード、エンブレル等他の生物製剤投与患者も登録し臨床研究を進めている。平成20年度は順調に患者登録が進行しており、平成22年度までに成果を出す予定である。

AAアミロイドーシス診断に胃十二指腸生検による組織診断の有用性が確立されている。本研究により、AA定量法が組織診によるアミロイド検出よりも感度が高いこと、十二指腸球部で最大であることが示された。アミロイドーシスの診断や経過観察においても本定量法の有用性が示唆された。

アミロイドゲネシスに前駆蛋白SAAの安定性が重要と考えられることから、SAAとその会合体であるHDLとの親和性をSAA1アイソタイプ別に調べたところ、親和性の高い順にSAA1.5>SAA1.1=SAA1.3であった。これはSAA1.5で血中濃度が高くなるという臨床的観察に合致したが、アミロイドーシス促進的であるSAA1.3と、防御的であるSAA1.1との間にHDL親和性に差異は



なく、アミロイドゲネシスにおける他因子の関与が考えられた。

3) **FAP** : 肝移植後のアミロイド沈着の変化について、全身的に病理組織学的評価を行ったとする報告はこれまでなかった。肝移植後 10 年以上フォローした FAP ATTR V30M 患者の剖検組織では、末梢神経、甲状腺、消化管、腎臓をはじめとする多くの諸臓器でごく軽度の TTR アミロイド沈着しか認めず、特に十二指腸へのアミロイド沈着に関しては、剖検時移植前の生検組織像に比べて著しく減少していたことから、発症早期の FAP 患者に対する肝移植は、臨床症状の進行を抑制するのみならず、移植前に沈着していたアミロイドも著しく減少させていることが明らかになった。全身組織のアミロイド沈着に対する肝移植の効果を実証した本研究結果がもつ意味は極めて大きい。しかし、一方で、肝移植は心臓や舌の小唾液腺へのアミロイド沈着の進行を阻止できない可能性が高いことが示された。これは肝移植後も患者の予後を決定する主要因子である心アミロイド沈着が進行みられることを示唆しており、臨床上極めて重要な指摘である。心臓や唾液腺には、TTR アミロイドの沈着を増長させる何らかの要因が存在している可能性があり、これは老年性全身性アミロイドーシスで野生型 TTR が心臓に沈着しやすいという事実と合致している。

FAP に対する肝移植治療については、病状が進行した患者には無効で、ドナーも不足しているなど多くの問題点がある。従って、肝移植によらない新たな治療法の開発が期待される。本研究では、最近アミロイド線維形成に対し抑制効果を示すことが報告されたシクロデキストリン(CyD) 誘導体を用いて、CyD、特に GUG- $\beta$ -CyD が著明なアミロイド線維形成の抑制効果を有することが明らかになった。CyD 誘導体は安全性に優れ医薬品製剤にも広く利用されており、FAP の新規薬物療法としての更なる検討が期待される。

3) **透析アミロイドーシス** : 透析アミロイドーシスに関する CAPD と HD の比較では、DSA の発症は CAPD 患者に多く、発症までの透析歴も短く、CAPD の方が HD よりも本症を発症しやすいと考えられた。これは両者における  $\beta$ 2-m 除去効率の差が関連している可能性がある。さらに、理

由は明らかでないものの、CAPD 患者では HD 患者に比し、特に腰椎 DSA の発症頻度が高いことが判明した。

HD 患者におけるリゾリン脂質濃度と透析アミロイドーシスとの関連については、血漿 LPA・LPC 濃度と透析アミロイドーシスの重症度には有意な関連を認めなかったが、血漿 LPC 濃度が高いほど手根骨骨嚢胞が多い傾向にあり、早期の骨嚢胞形成に LPC が関与している可能性が推測された。今後、同様に試験管内で  $\beta$ 2-m 線維形成促進効果を認めている遊離脂肪酸などを含めた詳細な検討を予定している。

本症モデル動物の作製をめざし、 $h\beta$ 2m 高発現トランスジェニックマウス( $h\beta$ 2MTg<sup>+/+</sup> $m\beta$ 2m<sup>-/-</sup>) を作製に成功した。しかし、自然発症マウス(~25M)、及びアミロイド線維 (A $\beta$ 2M 及び AApoAII) 投与 による誘発マウス(~25M)では、A $\beta$ 2M アミロイドの沈着は観察されなかった。これらの結果は血中  $h\beta$ 2m 濃度の上昇と seeding 効果だけではアミロイド沈着を誘発できないことを示唆している。今後このモデルマウスを用いて、透析アミロイドーシス発症に必須な新たな因子の解析を行う予定である。

5) **脳アミロイドーシス** : 酸化ストレス物質投与実験系において、酸化ストレスは、脂質ラフトにおける PS1 蛋白の発現増加を介して A $\beta$  産生に促進的に作用する可能性が示唆された。また、モデル動物脳を用いた脂質ラフトの検討から、脂質ラフトは蛋白凝集体蓄積の共通開始部位であり、コレステロール代謝障害は脂質ラフトにおける蛋白蓄積を促進し AD 病理を促進する可能性があり、脂質ラフトにおけるコレステロール制御は AD など神経変性疾患の根本的治療法になりうると考えられた。

近年、血圧降下剤 ARB の抗認知症作用が注目されているが、本研究により valsalan などの ARB が  $\gamma$ セクレターゼ・モジュレーターとして A $\beta$ 40 と A $\beta$ 42 の産生比率を変化させる可能性があることが示唆された。そのメカニズムの解明はアルツハイマー病の治療戦略において重要な役割を示す可能性がある。近年の疫学研究では、抗 PD 薬が抗 PD 効果のみならず、抗 AD 効果も示すことが注目されている。本研究では、trihexyphenidyl 以

外の抗 PD 薬関連化合物、特に dopamine が強い A $\beta$  及び  $\alpha$ S 凝集抑制および凝集体不安定効果を有することが明らかになった。A $\beta$  と  $\alpha$ S に対する凝集抑制作用の強弱には良い相関がみとめられ、同様の作用機序による可能性がある。これらの抗 PD 薬は、AD や、LBD、PD といった  $\alpha$ S 異常症の予防および治療薬開発に向けて有力な基本分子になる可能性がある。

AD 診断における CSF マーカー検査の有用性が再確認された。DLB では CSF- $\alpha$ S 濃度と罹病期間が相関したことから、脳内の  $\alpha$ S 沈着を反映して CSF- $\alpha$ S 濃度が低下する可能性が示唆された。しかし、CSF- $\alpha$ S 測定は DLB と AD との鑑別において有用とはいえ、より疾患特異的な  $\alpha$ S 分子種（リン酸化  $\alpha$ S、オリゴマーなどの凝集体など）を測定する必要がある。また、CSF tau、CSF ptau 濃度は DLB、AD 間で有意差を認めたがオーバーラップが大きく、DLB、AD の鑑別には <sup>123</sup>I-MIBG シンチがもっとも有用と考えられた。

CAA 関連血管炎症例の検討ではステロイド療法の有効性が示唆された。高度の CAA を病理学的特色とする A $\beta$  Asp23Asn 変異（アイオワ変異）に関連した A $\beta$  蓄積・分解機序を明らかにするため脳を生化学的に解析した結果、可溶性オリゴマーの多様性が示され、N 末端の切断がオリゴマーあるいは皮質の非線維性沈着物の除去にかかわることが示唆された。見出された N 末端の切断は A $\beta$  の沈着よりはむしろ除去に関連するものと思われた。

AD 脳の老人斑の抗 A $\beta$  抗体陽性のアミロイドの部位に BRI 蛋白が共沈していることが示され、BRI が AD のアミロイド沈着にも関わっている可能性が示され、その関与の詳細について今後の検討が必要である。BRI の分泌部位に対する測定系を確立したので、今後この測定系を用いて AD の CSF 中の BRI 動態を解明する予定である。

6) **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：**

① **老人性全身性アミロイドーシス(SSA)に関する研究：** 今回の検討で TTR アミロイドの沈着は加齢に伴って高頻度に発生する生理的現象であることが示唆された。加齢に伴う TTR アミロイド

の沈着がある閾値を越えると、手根管症候群や心不全の発症を含む臨床病態をひきおすものと考えられるが、それを明らかにするには、対照群を含めた多数例での検討が必要である。

② **アミロイドイメージングに関する研究：** プローブ BF-227 による正常健常人の PET 画像では、肝代謝の結果と思われる胆嚢に放射能集積が見られた。しかし、腎、消化管には特記すべき放射能集積が見られなかったことから、[<sup>11</sup>C]BF-227 はヒトアミロイドーシス（特に AA アミロイドーシス）において有用な診断ツールとなる可能性が高いことが示唆された。今後、アミロイドーシス患者において臨床応用を行う。

③ **血清アミロイド P 成分 (Sap) のアミロイドーシス発症への関与に関する研究：** Sap の有無によって、A $\beta$  アミロイド沈着に差異を認めなかったが、Tg2576 では血液脳関門により Sap の脳実質への移行が阻害されていることが示唆されており、ヒト AD とは病態が異なっていた。AApoA II アミロイド線維核を投与実験では、Sap の有無で差がなかったことから、AApoA II アミロイド線維形成過程における伸張反応を促進しないことが示された。線維核形成への Sap の関与を検討するため、今後、線維核を投与しない実験系での解析が必要である。

④ **アミロイドによるアミロイドーシス伝播あるいは促進現象に関する研究：** apoA-II アミロイド線維形成及び伝播機構の解析では、我々の AApoAII アミロイドーシスを基本モデルとした *in vitro* 線維形成システムと *Apoa2<sup>c</sup>Tg* による *in vivo* 解析システムの併用・活用は、1) 分子レベルからのアミロイドーシス発症・伝播機構の解明や、2) 生体内物質や各種薬剤の線維形成促進・抑制効果の解析に非常に有用であることが示された。

全身性 AL (A $\lambda$ ) アミロイドーシス・SSA 共存例のアミロイド蛋白の分布の検討では、それぞれのアミロイド蛋白の分布はこれまでに知られている AL アミロイドーシス、SSA の沈着様式として矛盾しないものであり、今回の共存例においては、一方のアミロイド蛋白は他方のアミロイド蛋白の沈着を促進していない可能性が高いと考えられた。アミロイドの cross-seeding 現象（あるアミロイド蛋白が重合核として異なった種類のアミロイド蛋白の凝集を促進する現象）はすべての

タイプのアミロイドに共通して起こる現象ではない可能性がある。

RA のような炎症状態を有する個体がウシのアミロイドに曝露された場合に本症の発症が促進される可能性があるため、ウシ由来食品の安全性という観点から、ウシ AA アミロイド接種によるアミロイドーシス動物モデルの作製は重要な課題である。今後、ウシ由来のアミロイドによるアミロイドーシス誘発のための条件をさらに詳細に検討する予定である。

アミロイドによるアミロイドーシス伝播あるいは促進現象が、ヒトで起こりうるかという点については、RA 患者がアミロイドの沈着のあるウシ由来食品に曝露されるケースなどが考えられる。今後、ヒトでの伝播の可能性を検討するための疫学的研究を立案していく予定である。

#### E. 結論

病型ごとの戦略及び全病型に共通する課題の研究により、疫学病態調査、治療プロトコル確立、新規診断・予防・治療法開発等を行った。AL では HDT+ASCT 療法の有用性の検討に加え、BMD 療法の新規治療プロトコルによる全国多施設臨床試験体制を構築した。AA では IL-6 受容体抗体トシリズマブによる世界初の AA 全国多施設臨床試験を開始し患者登録が順調に進行した。FAP では肝移植後にも心臓では沈着が増加するという重要な知見を得、非移植治療の新しい候補薬を開発した。透析アミロイドーシスでは  $\beta_2$ -m 線維形成促進作用を有するリゾリン脂質の血中濃度が手根骨骨嚢胞病変と関連する可能性を示した。脳アミロイドーシスでは脂質ラフトにおける酸化ストレスや脂質代謝異常が A $\beta$  産生や凝集を促進すること、ARB の A $\beta$  産生抑制作用や抗 PD 薬関連化合物の A $\beta$  凝集抑制作用を示した。アミロイドイメージング開発はヒトでの探索的臨床研究に進んだ。アミロイドーシスの“伝播”現象の実験的研究が進行し、ヒトにおける“伝播”に関する疫学的研究の立案段階となった。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

(主要原著論文のみを下に示す。発表の詳細は分担研究報告を参照のこと)

- 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*, in press.
- 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 $\alpha$  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  $\alpha$ -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  $\beta_2$ -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  $\beta_2$ -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:  $\alpha$ -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  $\beta_2$ -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  $\beta_2$ -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 $\beta$  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) Kuwano R, 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 S: Genetic association study on in and around the APOE in late-onset Alzheimer disease in Japanese. *Genomics*, in press.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

##### 1. 特許出願・取得

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：2008年10月7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：2008年8月22日

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし