

綜 説

蛋白質ミスフォールディング病の発症機序と治療戦略

関 島 良 樹

信州大学医学部附属病院
遺伝子診療部, 脳神経内科, リウマチ・膠原病内科

Pathogenesis and Therapeutic Strategy for Protein Misfolding Disease

Yoshiki SEKIJIMA

*Division of Clinical and Molecular Genetics, Department of Neurology and Rheumatology,
Shinshu University Hospital*

Key words: protein misfolding disease, amyloidosis, ER associated degradation (ERAD),
familial amyloid polyneuropathy, transthyretin

蛋白質ミスフォールディング病, アミロイドーシス, 小胞体関連分解,
家族性アミロイドポリニューロパチー, トランスサイレチン

I 蛋白質ミスフォールディング病とは

蛋白質はリボゾームで産生された段階では、アミノ酸が直線的につながったヒモ状の構造をとっているが、小胞体に輸送され折りたたまれることによって特有の立体構造（ネイティブ構造）を形成して蛋白質本来の機能を獲得する。蛋白質の折りたたみは、折り紙にたとえられる。折り紙が英語でペーパー・フォールディング（paper folding）であるのに対して、蛋白質の折りたたみ反応は、プロテイン・フォールディング（protein folding）と呼ばれている。蛋白質ミスフォールディング病（protein misfolding disease）とは、蛋白質が正しくフォールディングできない、あるいは一旦正しくフォールディングした蛋白質のネイティブ構造が変性（ミスフォールディング）することにより引き起こされる疾患群である（図1）¹⁾。近年、アルツハイマー病やパーキンソン病など、従来神経変性疾患と呼ばれていたほとんどの疾患が蛋白質ミスフォールディング病であることが明らかになってきた。蛋白質ミスフォールディング病は決して稀な疾患ではなく、日々の診療で高頻度に遭遇する common disease である。「コンフォメーション病」, 「フォールディング病」という言葉が用いられることもあるが「蛋白質ミスフォールディング病」と同義である。最近では、

「アミロイドーシス」も「蛋白質ミスフォールディング病」と同義で用いられることもあるが、後述するように、細胞外にミスフォールディング蛋白質が沈着する疾患を指すことが一般的である。

II 蛋白質品質管理システムの破綻が蛋白質ミスフォールディング病を惹起する

細胞はその正常な活動のためには絶えず必要な蛋白質を新規に産生し続け、そして不要な蛋白質を処理し続ける必要がある。すなわち、細胞を工場にたとえるならば蛋白質はその製品と言える。工場（細胞）は設計図（DNA 情報）に基づいて製品（蛋白質）を産生し、そして市場（細胞内外）に送り出す必要があるが、絶えず完璧な製品が製造されるわけではない。そもそも設計図が正しくなければ完璧な製品が製造されることは不可能であるし、仮に設計図が正しくてもある一定の割合で不良品が生産される。よって、不良品が市場に出まわらうように工場内で製品の品質管理をする必要があり、細胞内でこの役割を果たしているのが小胞体である。小胞体の品質管理試験で不良品と判定された蛋白質は目印の札をつけられ（ユビキチン化）、プロテアゾームで分解される（小胞体関連分解）。品質管理試験に合格した製品は市場に出まわるわけだが、当初は完璧な製品であっても時間とともに品質は悪化し、最終的にはゴミとなってしまふ。ゴミ蛋白質は、生体内ではオートファジー、エンドサイトーシスなどを介したライソゾームによる分解やプロテアーゼなど

別刷請求先：関島 良樹 〒390-8621
松本市旭3-1-1 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部
脳神経内科, リウマチ・膠原病内科

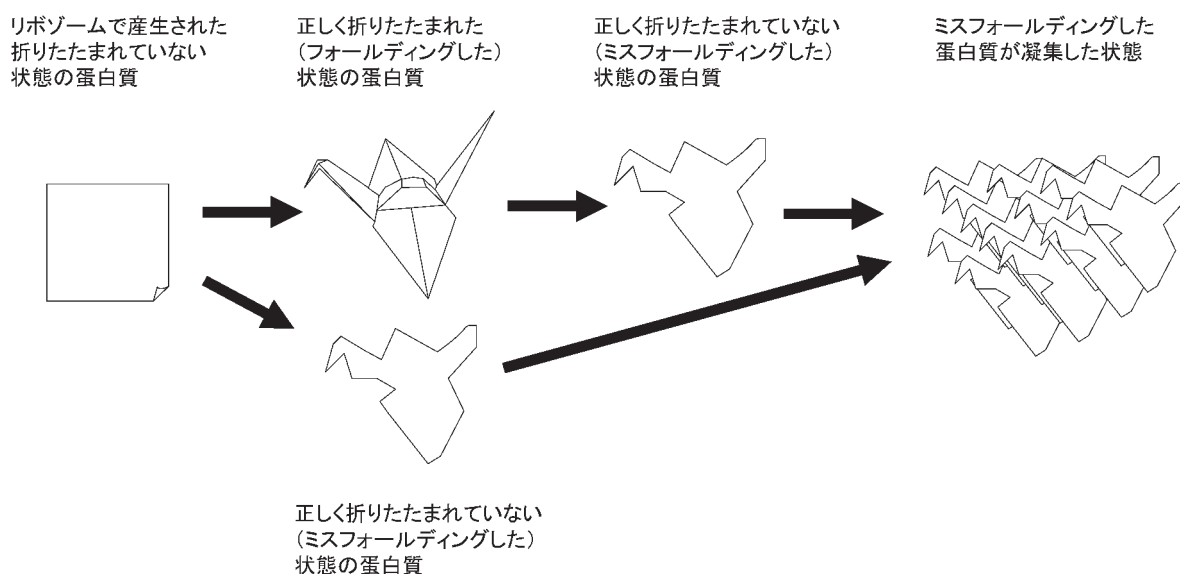


図1 蛋白質のフォールディングとミスフォールディング

蛋白質のフォールディングは折り紙と類似しており、小胞体で正しく折りたたまれることによって特有の立体構造（ネイティブ構造）を形成して、本来の機能を獲得する。蛋白質が正しくフォールディングできない、あるいは一旦正しくフォールディングした蛋白質のネイティブ構造が変性（ミスフォールディング）することにより、蛋白質の凝集を来し蛋白質ミスフォールディング病が発症する。

の酵素による分解を受け、細胞内外に蓄積しないように厳重に管理されている（図2）。この蛋白質品質管理システムが破綻すると、不良品蛋白質／ゴミ蛋白質（ミスフォールディングした蛋白質）が細胞内外に凝集・蓄積し細胞死／臓器障害を引き起こす。これが蛋白質ミスフォールディング病の本態である。

III 蛋白質ミスフォールディング病としての神経変性疾患

神経細胞内外の様々な封入体や沈着物の存在は神経変性疾患に共通する病理学的特徴として古くから知られていた。近年の分子生物学および生化学の進歩により、これらの封入体や沈着物が異常に凝集した蛋白質（ミスフォールドした蛋白質）から構成されていることが解明され、封入体や沈着物を構成している具体的な蛋白質も次々に明らかになった。さらに、これらの凝集した蛋白質には細胞毒性があることも見いだされ²⁾、長らく曖昧であった神経変性疾患の概念が、蛋白質ミスフォールディング病として整理されることにより、非常に明確なものとなった。これまでに明らかになっている代表的な蛋白質ミスフォールディング病を表1にまとめた。蛋白質ミスフォールディング病は、変性した蛋白質が細胞外に沈着する疾患と細胞内に蓄

積する疾患の二つに大別される。細胞外に変性した蛋白質が沈着する疾患は従来からアミロイドーシスと総称されていた疾患である。つまり、蛋白質ミスフォールディング病はアミロイドーシスを含んだより幅広い疾患概念と言える。

近年、社会的にも大きな問題になっている認知症の60%以上を占めるアルツハイマー病は、アミロイドβ蛋白質(Aβ)が脳の神経細胞外に沈着する蛋白質ミスフォールディング病（アミロイドーシス）である³⁾。沈着したAβは病理学的には老人斑として古くから知られていた構造物である。APP遺伝子やプレセニリン遺伝子の変異は、非常に凝集性の強いAβ42の産生増加を引き起こし若年性の家族性アルツハイマー病を発症させる⁴⁾⁵⁾。また、ダウン症候群（21番染色体トリソミー）ではAβの前駆蛋白質であるAPPをコードする遺伝子が21番染色体上に存在するため、Aβが過剰産生され若年性のアルツハイマー病が発症する^{6)~8)}。これらの例では、ミスフォールドしたAβの過剰な負荷がアルツハイマー病発症の原因と考えられる。一方、アルツハイマー病のほとんどを占める高齢発症の孤発例では、加齢によるミスフォールドしたAβの除去能力の低下が本質的な原因であると考えられる。70歳以上の剖検脳の半数以上にAβの沈着が認められること

蛋白質ミスフォールディング病の発症機序と治療戦略

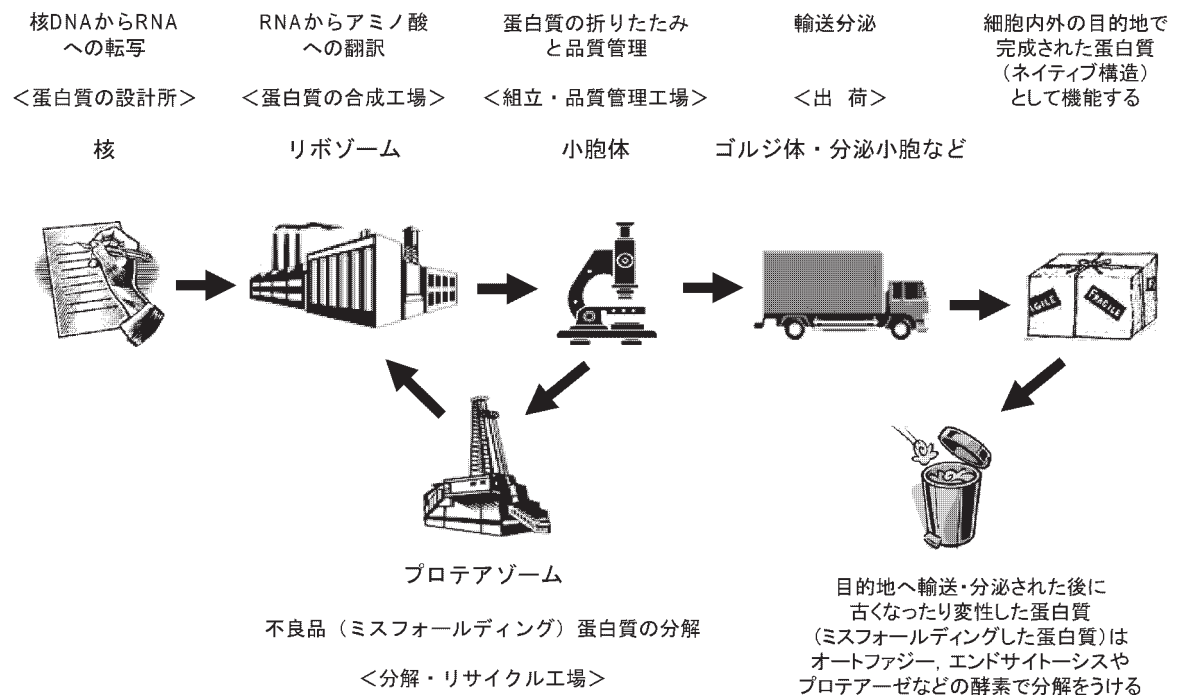


図2 生体における蛋白質の品質管理

細胞は絶えず新たな蛋白質を産生し続けているが、生存のためには不良品や不要になった蛋白質(ミスフォールディングした蛋白質)を処理し続ける必要がある。この機構のどこかに破綻が生じると蛋白質ミスフォールディング病を発症する。

表1 代表的な蛋白質ミスフォールディング病

	蛋白質ミスフォールディング病	ミスフォールディング蛋白質	病理学的名称
細胞内蛋白質ミスフォールディング病	パーキンソン病	α -シヌクレイン	レビー小体
	レビー小体型認知症	α -シヌクレイン	レビー小体
	多系統萎縮症	α -シヌクレイン	グリア細胞質内封入体(GCI)
	ハンチントン病	ポリグルタミン	神経細胞核内封入体
	脊髄小脳変性症(SCA1, 2, 3, 6, 7, 12, 17, DRPLA)	ポリグルタミン	神経細胞核内封入体
	球脊髄性筋萎縮症	ポリグルタミン	神経細胞核内封入体
	筋萎縮性側索硬化症	TDP-43	skein 様封入体
	前頭側頭型認知症(ピック病, 皮質基底核変性症などを除く)	TDP-43	神経細胞質内封入体(NCI)
	ピック病	タウ	ピック小体 神経原線維変化
	進行性核上性麻痺	タウ	神経原線維変化
皮質基底核変性症	タウ	神経原線維変化	
細胞外蛋白質ミスフォールディング病(アミロイドーシス)	アルツハイマー病*	$A\beta$	老人斑(アミロイド)
	脳血管アミロイドーシス	$A\beta$	アミロイド
	クロイツフェルト・ヤコブ病	プリオン	アミロイド
	透析アミロイドーシス	β 2-ミクログロブリン	アミロイド
	ALアミロイドーシス	免疫グロブリンL鎖	アミロイド
	AAアミロイドーシス	アポSAA	アミロイド
	家族性アミロイドポリニューロパチー	トランスサイレチン	アミロイド

*アルツハイマー病では細胞外への $A\beta$ の沈着(老人斑)と細胞内へのタウの蓄積(神経原線維変化)の両方の病変が認められる。

を考えると、ほとんどの高齢者において、程度の差こそあれ蛋白質品質管理システムの機能不全が起こっていると推測される。

パーキンソン病はミスフォールドした α -シヌクレインが細胞内に蓄積する疾患である⁹⁾¹⁰⁾。パーキンソン病の病理学的特徴として、中脳黒質の神経細胞内に出現するレビー小体の存在が古くから知られていたが、このレビー小体の主要構成成分がミスフォールディングし凝集した α -シヌクレインであることが明らかになった。興味深いことに、 α -シヌクレインが大脳皮質を含むより広範囲の脳神経細胞内に蓄積するとレビー小体型認知症を来し、脳のグリア細胞に蓄積すると多系統萎縮症を来す。この様な観点から、最近ではこれらの疾患を α -シヌクレイノパチーと総称している¹¹⁾。同様に、ピック病や皮質基底核変性症などのタウが神経細胞内に蓄積する疾患はタウオパチー¹²⁾、ハンチントン病や脊髄小脳変性症などのポリグルタミンが神経細胞内に蓄積する疾患はポリグルタミン病と総称されている¹³⁾。さらに、筋萎縮性側索硬化症や前頭側頭型認知症患者の神経細胞内に TAR DNA-binding protein of 43kDa (TDP-43) がミスフォールディングした封入体が存在することがごく最近明らかになった¹⁴⁾。

以上のように、蛋白質ミスフォールディング病は日本国内に数百万人の患者が存在すると考えられ、要介護や死亡の主要な原因となっている。高齢化が進行した現代社会において、蛋白質ミスフォールディング病は、悪性腫瘍、血管障害、感染症と並んで、我々が早急に克服しなければいけない主要な疾患のカテゴリーなのである。最近我々は、蛋白質ミスフォールディング病の一つである家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) の発症機序を、蛋白質の安定性 (ミスフォールディングのし易さ) という観点から明らかに

した。また、蛋白質のネイティブ構造を安定化させる低分子化合物を用いて蛋白質ミスフォールディング病を治療するという全く新しい薬物治療を開発中であるので以下に紹介する。

IV 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) の発症機序

FAPの原因は、トランスサイレチン (TTR) 遺伝子の変異であり、これまでに約100種類の変異が報告されている¹⁵⁾。FAPの臨床像はTTR遺伝子の変異の種類により大きく影響される。例えば、Leu55Pro変異¹⁶⁾は10歳代に発症する非常に重症な全身性アミロイドーシスを来すが、Val122Ile変異¹⁷⁾を有する患者は60歳以降に発病する。一方、The119Met変異はアミロイドーシスの発症に対して抑制的に作用する¹⁸⁾。しかし、変異TTRがこのように多彩なアミロイドーシスを発症させる蛋白質・細胞レベルでの機序はごく最近まで不明であった。

TTRは127個のアミノ酸からなる単量体が四量体を形成した分子量55kDaの蛋白質として血清および髄液中に存在し、サイロキシンやレチノール結合蛋白質の輸送を行っている。近年、TTRのアミロイド形成には四量体から単量体への解離と単量体の変性が必要であり、四量体から単量体への解離が一連のアミロイド形成反応の律速段階であることが明らかになった (図3)¹⁹⁾。実際に、血清中にはごく少量のTTR単量体が存在することが明らかにされており²⁰⁾、これらがアミロイド前駆体になっていると考えられる。以上の知見から、我々はTTRの四量体としてのエネルギー学的安定性が、アミロイドーシスの発症に関与していると考え検討した。その結果、アミロイドーシスの重症度は四量体の安定性と密接に関連しており、全てのアミロイド原性を有する変異TTRは野性型に比べ

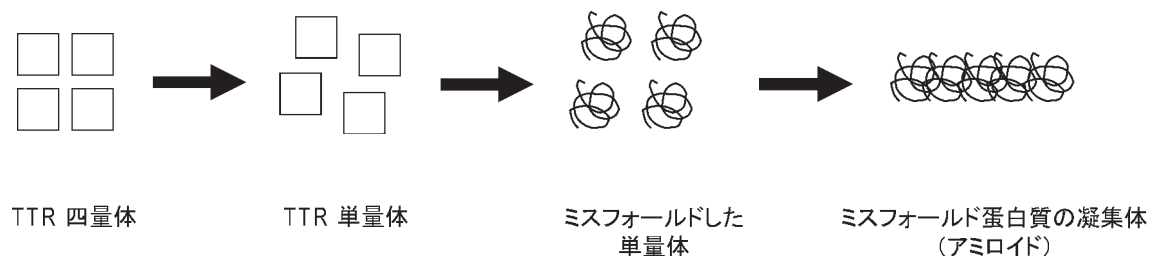


図3 TTRアミロイドの形成機序

TTRアミロイドの形成には四量体から単量体への解離と単量体の変性 (ミスフォールド) が必要であり、四量体から単量体への解離が律速段階である。

て四量体としての構造が不安定であった^{21)–23)}。一方、アミロイドーシスに対して抑制的に働く変異 (アミロイド抑制変異) は野生型に比べて安定であった (図 4 A)¹⁸⁾²¹⁾²⁴⁾。

しかし、ここで意外な点が明らかになった。それは、最も重症なアミロイドーシスを来す Leu55Pro 変異がエネルギー学的に最も不安定ではなく、逆にエネルギー学的に最も不安定な Asp18Gly や Ala25Thr 変異の臨床像は比較的軽症であったのである (図 4 A)^{21)–23)}。Asp18Gly や Ala25Thr 変異を有する患者では、血清中の変異 TTR 濃度が非常に低いことが報告されていることから²²⁾²³⁾、この原因として細胞の品質管理システムの関与を考え、培養細胞 (BHK 細胞) を用いて検討した。その結果、最も重症なアミロイドーシスを来す Leu55Pro 変異を含めた多くの変異 TTR は野生型と同等の細胞外液中への分泌効率を示したが、Asp18Gly や Ala25Thr 変異などの非常に不安定な変異 TTR の分泌効率は著しく低下していた²¹⁾。免疫蛍光顕微鏡を用いて TTR の細胞内局在を解析すると、不安定な変異 TTR は小胞体 (ER) には局在するもののゴルジ体にはほとんど存在しておらず、小胞体残留 (ER retention) を受けていた²¹⁾。さらに、これらの不安定な変異 TTR はプロテアゾームによる小胞体

関連分解 (ERAD: ER associated degradation) を受けていることが明らかになった (図 5)²¹⁾。以上から、Asp18Gly や Ala25Thr 変異はエネルギー学的に最も不安定であるが、細胞の品質管理システムにより細胞外への分泌が抑制され、血清中の変異 TTR 濃度が有意に低くなる。この結果、血清中のアミロイド前駆蛋白濃度が著しく低い状態となり、重症なアミロイドーシスが起らないことが明らかになった (図 4, 5)。

さらに我々は TTR のシステムを用いて蛋白質の様々な生理学的な特性と細胞からの分泌効率との関連を検討した。その結果、Combined Stability (蛋白質の総合的なエネルギー学的安定性) が細胞からの分泌効率に非常に強く相関することを見いだした (図 4 B)²¹⁾。In vitro のアミロイド原性についても同様に検討したが、やはり Combined Stability と非常に強く相関していた²¹⁾。つまり、Combined Stability が生体でのアミロイドーシス発症に大きく影響を及ぼす TTR の細胞外濃度とアミロイド原性の両方を規定していたのである。TTR の安定性が低下するに従って、in vitro のアミロイド原性は増加し、臨床的なアミロイドーシスの重症度も増加する。しかし、さらに構造が不安定になると細胞の品質管理システムが作動して

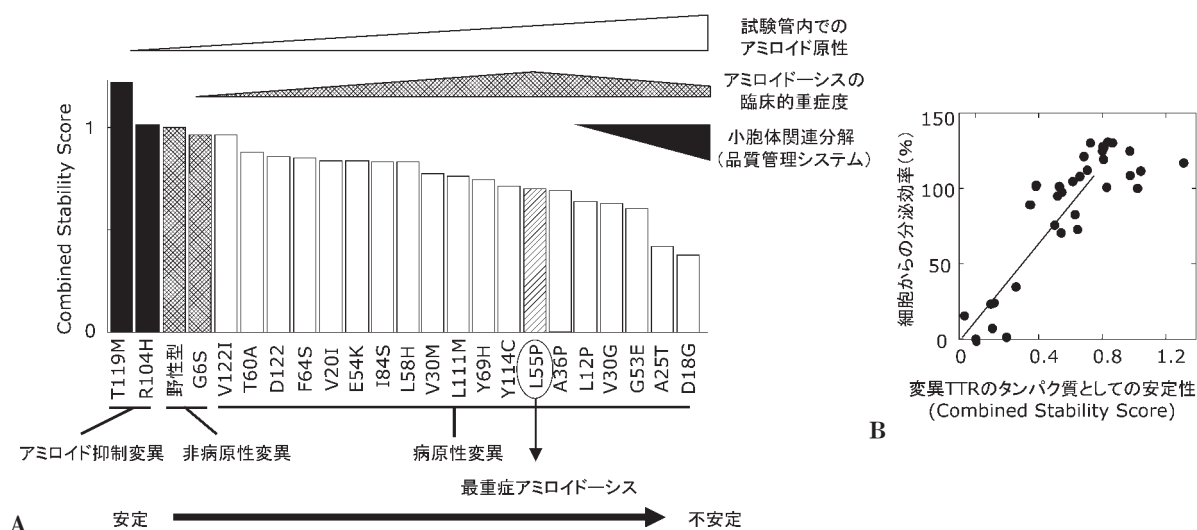


図 4 変異 TTR の安定性、細胞からの分泌効率、臨床的重症度の関連

- A: TTR のエネルギー学的な安定性が低下すると、in vitro のアミロイド原性は増加し臨床像も重症化する。しかし、さらに構造が不安定になると細胞の品質管理システムが作動することにより、細胞からの分泌が低下し臨床的な重症度は減少に転じる。
- B: 蛋白質の安定性と細胞からの分泌効率との関連。野生型 TTR の Combined Stability Score を 1 と定義。変異 TTR の細胞からの分泌は蛋白質としての安定性によって規定されており、安定性が野生型 TTR の 80 % (combined stability score 0.8) 以下になると安定性に依じて分泌効率が低下する。

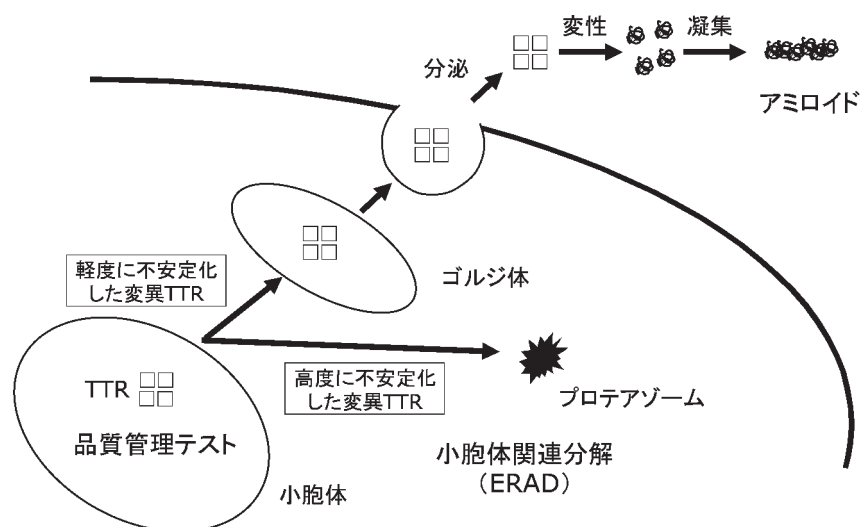


図5 細胞の品質管理システムがFAP発症に及ぼす影響

軽度不安定化した変異 TTR は小胞体での品質管理テストをパスすることができるので、野生型 TTR と同様にゴルジ体を経て細胞外へ分泌される。その結果、細胞外で変性・凝集し、アミロイドを形成する。一方、高度不安定化した変異 TTR の多くは小胞体での品質管理テストをパスすることができず、不良品蛋白質としてプロテアゾームに運ばれ細胞内分解される。このため重症なアミロイドーシスを来さない。

分泌効率が低下し、臨床的な重症度は減少に転じる。TTR の場合、Leu55Pro 変異がアミロイドーシス発症に至適な不安定性であると考えられた (図 4 A)。

V 家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) の治療戦略

血中の TTR はその 90 % 以上が肝臓で産生されることから、1990年にスウェーデンで初めて FAP に対する肝移植療法が試みられた²⁵⁾。以来、世界の多くの施設で FAP に対する肝移植が行われ、その有効性は実証されている。Familial Amyloidotic Polyneuropathy World Transplant Registry and Domino Liver Transplant Register in Sweden (FAPWTR: <http://www.fapwtr.org/>) によれば、2006年11月30日現在17カ国、1,200例以上の FAP 患者に肝移植が施行されており、移植後の 5 年生存率は平均 85 % である。しかしながら、肝移植は①ドナー不足が深刻である、②患者および生体ドナーの精神的・身体的・経済的な負担が大きい、③移植後終生免疫抑制剤を内服しなければならず、感染や発癌などの問題が生じる、④移植後も眼・中枢神経・心臓のアミロイドーシスが進行する場合がある、⑤病気の進行などの理由により多くの患者が移植手術の適応とならない、など多くの

問題を孕んでいる。さらに FAP 患者の肝臓を再利用したドミノ移植は既に 300 名以上 (本邦では 20 余名) に実施されているが、最近 FAP 患者肝の移植を受けたセカンド・レシピエントでの FAP 発症の報告が相次いでいる²⁶⁾²⁷⁾。ドミノ・レシピエントが FAP を発症するまでの潜伏期間は予想より短く、これらの FAP 患者予備群に対しては何らかの方法により FAP の発症を阻止または遅らせることが求められている。以上のような状況下において FAP 患者に対する新たな治療法の開発に関する研究が精力的に行われている。

前述したように、TTR アミロイド形成の機序としては、TTR の四量体が単量体に解離し、解離した単量体に変性することにより線維が形成されると考えられている (図 3)¹⁹⁾。TTR のアミロイド形成の律速段階は四量体の解離であるが、TTR のリガンドであるサイロキシンが TTR の四量体に結合すると、四量体構造が安定化されアミロイド線維形成が抑制される²⁸⁾ことが知られている。しかし、生体内では TTR 四量体のサイロキシン結合部位の 99 % 以上がサイロキシンと結合しない状態で存在している。そこで、このサイロキシン結合部位に結合する薬剤を使って四量体構造を安定化させ、アミロイド線維形成を阻害しようというのが我々の FAP に対する薬物治療のストラ

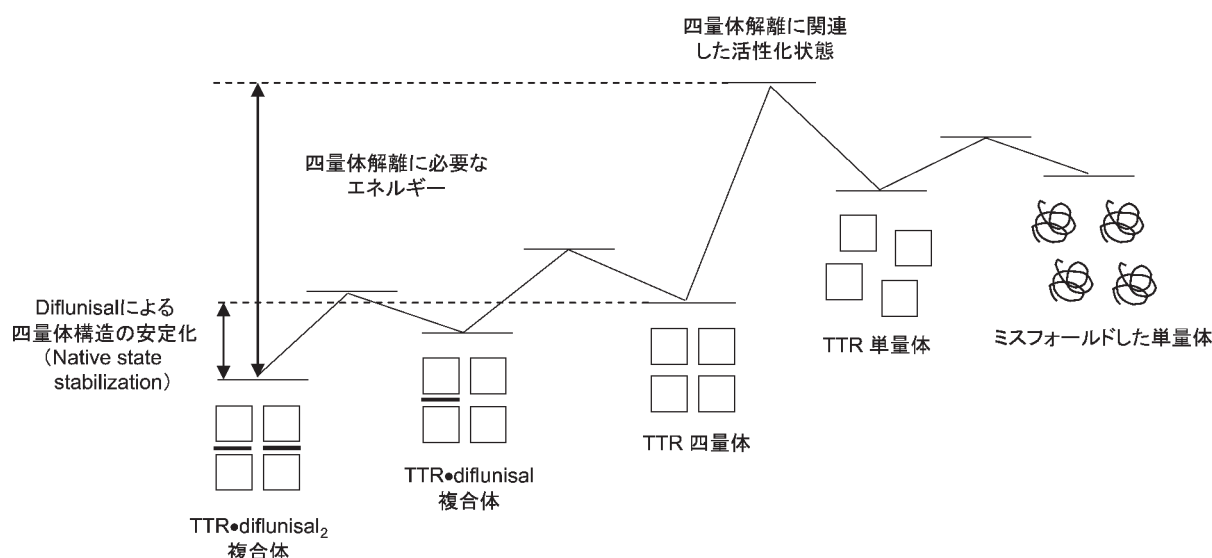


図6 TTR アミロイド形成のメカニズムと diflunisal の作用機序
Diflunisal が TTR の四量体のサイロキシン結合部位に結合すると、四量体構造がエネルギー学的に安定化されアミロイド線維形成が抑制される。

テジーである (図6)^{29)–33)}。これまでに、TTR のサイロキシン結合部位に結合し四量体構造を安定化させる多くの低分子化合物が見いだされ³¹⁾、その中のいくつかの化合物はTTRアミロイド形成を強力に抑制するが、これらの化合物の毒性・体内動態などの薬理学的特性は不明である。そこで我々は、既に認可されている薬剤をスクリーニングし、最も有望であった diflunisal を用いたFAP患者の治療の実用性を検討した³²⁾。

Diflunisal は1960年代に開発された消炎鎮痛剤で、40カ国以上で、関節リウマチ、骨関節症、腰痛症などに対する処方薬として使用されている。本邦でも1984年に認可を受け、2002年まで製造・販売されていた実績がある。筆者らは、30名の健常者を対象に第一相臨床試験を行った。その結果、経口投与された diflunisal は関節リウマチなどの患者に長期投与されている常用量 (500 mg/日) で、ほぼ全ての TTR のサイロキシン結合部位に結合して、TTR の四量体構造を安定化させることを確認した³²⁾。さらに、diflunisal はFAP患者血清中の変異 TTR を野生型 TTR 以上のレベルまで安定化することも示された³³⁾。これらの結果を受けて、2006年に diflunisal の FAP に対する大規模な国際的な治験が開始された。

この他にも上述したTTRアミロイド形成機序を基に様々な治療法開発の研究が進行中である。変異

TTR の発現を遺伝子レベルで抑制する試みとしては、アンチセンス核酸³⁴⁾、リボザイム³⁵⁾、RNA干渉³⁶⁾ を利用した変異 TTR 遺伝子の選択的な発現抑制、RNA/DNA キメラオリゴヌクレオチドを用いた遺伝子修復³⁷⁾などが検討されている。現在臨床的に有効性が確認されている肝移植療法は、肝臓の変異 TTR 遺伝子を野生型に組み換えるある種の遺伝子治療であり、これらの治療法も実用化されれば有効である可能性は高いと考えられる。しかし、現段階では、効率面、安全面、倫理面などでのハードルが高く、実用化には時間を要すると思われる。産生された TTR を蛋白質レベルで除去する試みとしては、血漿交換療法や TTR 吸着カラムを用いた血液浄化療法³⁸⁾が検討された。しかし、TTR の半減期が短いため有意な効果は認められず、医療費や患者の負担が大きいことから臨床的な応用は不可能と結論された。最後に、形成されたアミロイドの進展阻害・分解・除去を目的とした治療法として、BSB、IDOX、Doxyclinene などの化合物を用いる方法³⁹⁾や、抗体療法⁴⁰⁾が研究されている。このうち抗体療法は、アルツハイマー病においても実用化が精力的に検討されており注目される⁴¹⁾。アミロイドワクチンの接種によるアミロイドの除去効果は、動物実験で確認されているが⁴⁰⁾⁴¹⁾、臨床応用には抗原抗体反応による炎症反応や免疫複合体沈着のコントロールといった難しい問題が残されている⁴⁰⁾⁴²⁾。

VI おわりに

FAP を中心に蛋白質ミスフォールディング病の概念、発症機序、治療戦略について解説した。蛋白質のネイティブ構造の安定性は細胞の品質管理システムとも関連し、蛋白質ミスフォールディング病の発症に密接に関連している。TTR の場合、軽度不安定化した変異蛋白質は細胞の品質管理システムが完成品とみなして分泌を許可している。これらの軽度不安定化した変異 TTR は、本来の働きであるサイロキシンやレチノール結合蛋白の輸送という機能を十分に有しており、せっかく産生した蛋白質を無駄にしないという

観点からは、細胞にとっては合理的な選択であると考えられる。人類の寿命が短かった時代にはそれで全く問題がなかったのかも知れないが、皮肉にも医学が飛躍的に発展し平均寿命が70歳を越えるようになったために、蛋白質ミスフォールディング病（アミロイドーシス）という新たな弊害をもたらしはじめたのであろう。蛋白質のネイティブ構造の安定化（Native state stabilization）という新しい治療のストラテジーが、高齢化社会において大きな問題となっている蛋白質ミスフォールディング病に対して有効であることを期待している。

文 献

- 1) Dobson CM : Protein folding and misfolding. *Nature* 426 : 884-890, 2003
- 2) Bucciantini M, Giannoni E, Chiti F, Baroni F, Formigli L, Zurdo J, Taddei N, Ramponi G, Dobson CM, Stefani M : Inherent toxicity of aggregates implies a common mechanism for protein misfolding diseases. *Nature* 416 : 507-511, 2002
- 3) Glenner GG, Wong CW : Alzheimer's disease : initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun* 120 : 885-890, 1984
- 4) Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, Brown J, Crawford F, Fidani L, Giuffra L, Haynes A, Irving N, James L, Mant R, Newton P, Rooke K, Roques P, Talbot C, Pericak-Vance M, Roses A, Williamson R, Rossor M, Owen M, Hardy J : Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349 : 704-706, 1991
- 5) Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Lin C, Li G, Holman K, Tsuda T, Mar L, Foncin JF, Bruni AC, Montesi MP, Sorbi S, Rainero I, Pinessi L, Nee L, Chumakov I, Pollen D, Brookes A, Sanseau P, Polinsky RJ, Wasco, Da Silva HAR, Haines JL, Pericak-Vance MA, Tanzi RE, Roses AD, Fraser PE, Rommens JM, St George-Hyslop PH : Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 375 : 754-760, 1995
- 6) Ikeda S, Yanagisawa N, Allsop D, Glenner GG : Evidence of amyloid beta-protein immunoreactive early plaque lesions in Down's syndrome brains. *Lab Invest* 61 : 133-137, 1989
- 7) Tokuda T, Fukushima T, Ikeda S, Sekijima Y, Shoji S, Yanagisawa N, Tamaoka A : Plasma levels of amyloid beta proteins Abeta1-40 and Abeta1-42(43) are elevated in Down's syndrome. *Ann Neurol* 41 : 271-273, 1997
- 8) Sekijima Y, Ikeda S, Tokuda T, Satoh S, Hidaka H, Hidaka E, Ishikawa M, Yanagisawa N : Prevalence of dementia of Alzheimer type and apolipoprotein E phenotypes in aged patients with Down's syndrome. *Eur Neurol* 39 : 234-237, 1998
- 9) Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M : Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388 : 839-840, 1997
- 10) Dickson DW : Apha-synuclein and the Lewy body disorders. *Curr Opin Neurol* 14 : 423-432, 2001
- 11) Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, Hasegawa M, Goedert M : alpha-Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with lewy bodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 : 6469-6473, 1998
- 12) Spillantini MG, Goedert M : Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 21 : 428-433, 1998
- 13) Shao J, Diamond MI : Polyglutamine diseases : emerging concepts in pathogenesis and therapy. *Hum Mol Genet* 16 : R115-123, 2007
- 14) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, Truax AC, Micsenyi MC, Chou TT, Bruce J, Schuck T, Grossman M, Clark CM, McCluskey LF, Miller BL, Masliah E, Mackenzie IR, Feldman H, Feiden W, Kretschmar HA,

- Trojanowski JQ, Lee VM: Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314: 130-133, 2006
- 15) Connors LH, Lim A, Prokhaeva T, Roskens VA, Costello CE: Tabulation of human transthyretin (TTR) variants. *Amyloid* 10: 160-184, 2003
 - 16) Jacobson DR, McFarlin DE, Kane I, Buxbaum JN: Transthyretin Pro55, a variant associated with early-onset, aggressive, diffuse amyloidosis with cardiac and neurologic involvement. *Hum Genet* 89: 353-356, 1992
 - 17) Jacobson DR, Pastore RD, Yaghoubian R, Kane I, Gallo G, Buck FS, Buxbaum JN: Variant-sequence transthyretin (isoleucine 122) in late-onset cardiac amyloidosis in black Americans. *N Engl J Med* 336: 466-473, 1997
 - 18) Hammarström P, Schneider F, Kelly JW: Trans-suppression of misfolding in an amyloid disease. *Science* 293: 2459-2462, 2001
 - 19) Kelly JW, Colon W, Lai Z, Lashuel HA, McCulloch J, McCutchen SL, Miroy GJ, Peterson SA: Transthyretin quaternary and tertiary structural changes facilitate misassembly into amyloid. *Adv Protein Chem* 50: 161-181, 1997
 - 20) Sekijima Y, Tokuda T, Kametani F, Tanaka K, Maruyama K, Ikeda S: Serum transthyretin monomer in patients with familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid* 8: 257-262, 2001
 - 21) Sekijima Y, Wiseman LR, Matteson J, Hammarström P, Miller SR, Sawkar AR, Balch WE, Kelly JW: The biological and chemical basis for tissue selective amyloid disease. *Cell* 121: 73-85, 2005
 - 22) Sekijima Y, Hammarström P, Matsumura M, Shimizu Y, Iwata M, Tokuda T, Ikeda S, Kelly JW: Energetic characteristics of the new transthyretin variant A25T may explain its atypical central nervous system pathology. *Lab Invest* 83: 409-417, 2003
 - 23) Hammarström P, Sekijima Y, White JT, Wiseman RL, Lim A, Costello CE, Altland K, Garzuly F, Budka H, Kelly JW: D18G transthyretin is monomeric, aggregation prone, and not detectable in plasma and cerebrospinal fluid: a prescription for central nervous system amyloidosis? *Biochemistry* 42: 6656-6663, 2003
 - 24) Sekijima Y, Dendle MT, Wiseman LR, White JT, D'Haese W, Kelly JW: R104H may suppress transthyretin amyloidogenesis by thermodynamic stabilization, but not by the kinetic mechanism characterizing T119M trans-suppression. *Amyloid* 13: 57-66, 2006
 - 25) Holmgren G, Ericzon BG, Groth CG, Steen L, Suhr O, Andersen O, Wallin BG, Seymour A, Richardson S, Hawkins PN, Pepys MB: Clinical improvement and amyloid regression after liver transplantation in hereditary transthyretin amyloidosis. *Lancet* 341: 1113-1116, 1993
 - 26) Stangou AJ, Heaton ND, Hawkins PN: Transmission of systemic transthyretin amyloidosis by means of domino liver transplantation. *N Engl J Med* 352: 2356, 2005
 - 27) Takei Y, Gono T, Yazaki M, Ikeda S, Ikegami T, Hashikura Y, Miyagawa S, Hoshii Y: Transthyretin-derived amyloid deposition on the gastric mucosa in domino recipients of familial amyloid polyneuropathy liver. *Liver Transpl* 13: 215-218, 2007
 - 28) Miroy GJ, Lai Z, Lashuel HA, Peterson SA, Strang C, Kelly JW: Inhibiting transthyretin amyloid fibril formation via protein stabilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 15051-15056, 1996
 - 29) Hammarström P, Wiseman RL, Powers ET, Kelly JW: Prevention of transthyretin amyloid disease by changing protein misfolding energetics. *Science* 299: 713-716, 2003
 - 30) Miller SR, Sekijima Y, Kelly JW: Native state stabilization by NSAIDs inhibits transthyretin amyloidogenesis from the most common familial disease variants. *Lab Invest* 84: 545-552, 2004
 - 31) Johnson SM, Wiseman RL, Sekijima Y, Green NS, Adamski-Werner SL, Kelly JW: Native state kinetic stabilization as a strategy to ameliorate protein misfolding diseases: A focus on the transthyretin amyloidoses. *Acc Chem Res* 38: 911-921, 2005
 - 32) Sekijima Y, Dendle MA, Kelly JW: Orally administered diflunisal stabilizes transthyretin against dissociation required for amyloidogenesis. *Amyloid* 13: 236-249, 2006
 - 33) Tojo K, Sekijima Y, Kelly JW, Ikeda S: Diflunisal stabilizes familial amyloid polyneuropathy-associated transthyretin variant tetramers in serum against dissociation required for amyloidogenesis. *Neurosci Res* 56: 441-449, 2006
 - 34) Benson MD, Kluge-Beckerman B, Zeldenrust SR, Siesky AM, Bodenmiller DM, Showalter AD, Sloop KW:

- Targeted suppression of an amyloidogenic transthyretin with antisense oligonucleotides. *Muscle Nerve* 33 : 609-618, 2006
- 35) Tanaka K, Yamada T, Ohyagi Y, Asahara H, Horiuchi I, Kira J : Suppression of transthyretin expression by ribozymes : a possible therapy for familial amyloidotic polyneuropathy. *J Neurol Sci* 183 : 79-84, 2001
 - 36) Kurosawa T, Igarashi S, Nishizawa M, Onodera O : Selective silencing of a mutant transthyretin allele by small interfering RNAs. *Biochem Biophys Res Commun* 337 : 1012-1018, 2005
 - 37) Nakamura M, Ando Y, Nagahara S, Sano A, Ochiya T, Maeda S, Kawaji T, Ogawa M, Hirata A, Terazaki H, Haraoka K, Tanihara H, Ueda M, Uchino M, Yamamura K : Targeted conversion of the transthyretin gene in vitro and in vivo. *Gene Ther* 11 : 838-846, 2004
 - 38) Tokuda T, Kondo T, Hanaoka N, Takei Y, Kametani F, Yamada Y, Tamura Y, Yoshida M, Yamawaki N, Ikeda S : A selective transthyretin-adsorption column for the treatment of patients with familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid* 5 : 111-116, 1998
 - 39) Palha JA, Ballinari D, Amboldi N, Cardoso I, Fernandes R, Bellotti V, Merlini G, Saraiva MJ : 4'-Iodo-4'-deoxydoxorubicin disrupts the fibrillar structure of transthyretin amyloid. *Am J Pathol* 156 : 1919-1925, 2000
 - 40) Terazaki H, Ando Y, Fernandes R, Yamamura K, Maeda S, Saraiva MJ : Immunization in familial amyloidotic polyneuropathy : counteracting deposition by immunization with a Y78F TTR mutant. *Lab Invest* 86 : 23-31, 2006
 - 41) Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, Hu K, Huang J, Johnson-Wood K, Khan K, Kholodenko D, Lee M, Liao Z, Lieberburg I, Motter R, Mutter L, Soriano F, Shopp G, Vasquez N, Vandeventer C, Walker S, Wogulis M, Yednock T, Games D, Seubert P : Immunization with amyloid-beta attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 400 : 173-177, 1999
 - 42) Nicoll JA, Wilkinson D, Holmes C, Steart P, Markham H, Weller RO : Neuropathology of human Alzheimer disease after immunization with amyloid-beta peptide : a case report. *Nat Med* 9 : 448-452, 2003

(H 20. 1. 29 受稿)