
総 説

アルツハイマー病の診断へ向けての新規ベータアミロイド結合化合物の開発

野間 馨未¹⁾, 東前 未樹¹⁾, 古田真貴子¹⁾, 増田 千明¹⁾, 三谷 幸子¹⁾,
山形 苑子¹⁾, 山田 友紀¹⁾, 土器小百合¹⁾, 遠山 育夫²⁾, 田口 弘康³⁾

1. はじめに

高齢化社会の到来とともに、わが国の痴呆患者数は急速に増大しており、解決すべき緊急の社会的課題となっている。老年期痴呆の患者数は、2000年度の時点で65歳以上の高齢者の約7%、約161万人と推定されている¹⁾²⁾。痴呆患者数は今後も増加を続け、2030年には65歳以上の11%に達し、患者数は384万人に倍増すると推測されている¹⁾。老年期痴呆の内訳は、久山町における追跡調査の結果によれば、アルツハイマー病が約40%、脳血管性痴呆が約40%、両者の混合型痴呆が9%、その他の痴呆が11%と報告されている³⁾。すなわち、アルツハイマー病と脳血管性痴呆が老年期痴呆の多くを占めている。最近のデータでは、脳血管性痴呆が減少ないし横ばい傾向にある¹⁾³⁾。これは、脳血管性痴呆の原因となる高血圧症や動脈硬化症に対する治療法・予防法が進展してきたことが背景にあると考えられる。脳血管性痴呆に対しアルツハイマー病は、近年増加傾向にあり、その結果、老年期痴呆に占めるアルツハイマー病の割合が増加している¹⁾³⁾。このような現状から、アルツハイマー病の克服が、老年期痴呆解決への最も重要な課題と考えられる。

アルツハイマー病の発症は潜行性であり、極めて緩慢に進行する。記憶障害、高次脳機能障害(失語、失行、失認、構成失行)、実行機能(計画を立てる、組織化する、順序立てる、抽象化する)の障害や人格変化、感情や意欲の変化も見られ、その経過は数年から10年以上にわたる⁴⁾。こうした臨床症状は、アルツハイマー病患者を臨床診断する上で重要ではあるが、他の痴呆疾患でも共通して見られることも多く、臨床症状だけでアルツハイマー病と確定診断することは容易ではない。

アルツハイマー病を特徴づける所見は、臨床症状よりも脳病理所見において観察される。アルツハイマー

病の病理所見としては、肉眼的に脳回の萎縮、脳溝の拡大、側脳室の拡大、海馬の萎縮など、大脳皮質の広範な萎縮が見られる。顕微鏡的観察では、老人斑(Fig. 1a)、神経原線維変化(Fig. 1b)、神経細胞死が考えられるが、なかでも老人斑と神経原線維は、アルツハイマー病を診断する上で、最も重要な所見と考えられている。

老人斑は、細胞外に蓄積されたベータアミロイド(以下A β)、それを取り囲むミクログリア、反応型アストロサイト、変性神経突起などで構成されている。老人斑は正常高齢者の脳にも認められるが、アルツハイマー病ではその数が著しく増加していることが特徴である。神経原線維変化は、神経細胞内の線維の集合体として認められ、この線維はタウが異常にリン酸化され凝集したものである。神経原線維変化は、正常高齢者脳にはほとんど認められないが、一部の脳疾患で観察されることがある。神経細胞死は、様々な脳疾患で観察されるが、アルツハイマー病では、大脳皮質の広範な神経細胞死と前頭基底部に細胞体を有し大脳皮質に広く神経投射しているアセチルコリン作動性神経が強く障害される⁵⁾。

アルツハイマー病の多くは孤発性であるが、約5%は家族性のアルツハイマー病である。家族性アルツハイマー病の原因遺伝子検索の結果、A β の前駆タンパクであるアミロイド前駆体タンパク(APP)の遺伝子異常によって、アルツハイマー病を発症する家系が存在することが明らかになった⁶⁾。さらに、家族性アルツハイマー病の大部分を占めるプレセニリン遺伝子の異常でも、A β の産生異常が誘導されることが報告された⁷⁾⁸⁾。最近の研究において、プレセニリンが、APPからA β を産生するガンマセクレターゼであることが報告され⁹⁾、「A β の異常な蓄積がアルツハイマー病成立の原因である」というアミロイド仮説が提唱されている¹⁰⁾。アミロイド仮説に立てば、脳内におけるA β の沈着を防止または低下させること、あるいは沈着したA β を除去することが、根本的な治療につながると考えられる。こうした考えに基づき、A β 産生阻害薬¹⁰⁾やワクチン療法など新しい治療法が開発されつつある¹¹⁾¹²⁾。

1) 京都女子大学家政学部食物栄養学科

2) 滋賀医科大学分子神経科学研究センター

3) 京都女子大学家政学部生活福祉学科

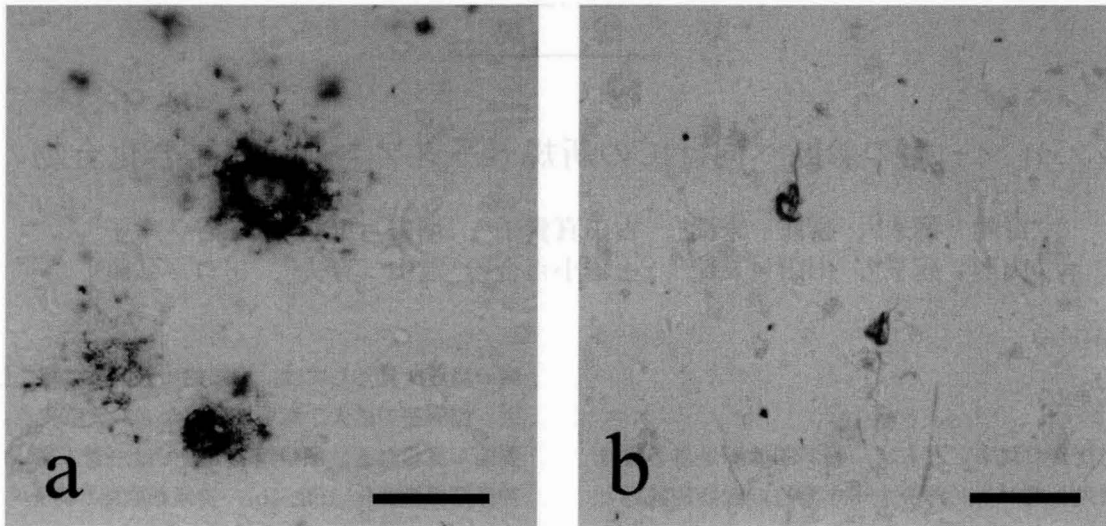


Figure 1. Immunohistochemistry for beta-amyloid peptides (a) and phosphorylated tau (b). Beta-amyloid peptides are deposited in senile plaques. Phosphorylated tau is detected in neurofibrillary tangles and neuropil threads. Scale bars=50 μ m.

新しい治療法が開発されるに従い、アルツハイマー病の早期診断法や治療効果の判定法の確立が強く望まれるようになってきた。しかしながら、アルツハイマー病の早期診断、確定診断は容易ではない。臨床症状は、アルツハイマー病の臨床診断の根拠のひとつにされるが、他の痴呆疾患を必ずしも否定することにはならず、確定診断にはつながらない。現状では、脳の一部を取り出すなどして、老人斑や神経原線維変化を確認することが、最も信頼できる方法であるが、生前に脳の生検を行うことは、倫理的問題もあって困難である。そこで最近、放射性物質でラベルしたアミロイドに結合試薬を患者に投与して、陽電子断層画像 (Positron Emission Tomography; PET) 装置を用いて、老人斑を検出する方法が開発された^{13) 14)}。この方法を用いれば、生前にほとんど苦痛を与えることなく老人斑の検出が可能となる。この方法においては、血中投与により脳内に移行して老人斑に結合する試薬の開発が、重要なポイントのひとつである。そこで、本研究では、老人斑に結合する新しい化合物の開発を試みた。

II. アルツハイマー病の画像診断

アミロイド仮説に立てば、アルツハイマー病を診断するためには、脳内に沈着する $A\beta$ すなわち老人斑を検出することが、最も有用であると考えられる。今のところ、老人斑を検出する手段としては、核磁気共鳴画像 (MRI) 装置を用いて老人斑を直接検出しようとする方法と、 $A\beta$ に結合する化合物に放射性物質を結合させ Positron Emission Tomography (PET) を用いて画像化

する方法がある。MRI 画像法による検出は、剖検脳では成功しているものの、生体での検出には未だいたっていない^{15) 16)}。

一方、そこで $A\beta$ に結合する化合物に放射性フッ素を結合させた試薬が開発された¹⁷⁾。これらの試薬は、血中に投与すると脳血液関門を通過して脳内に入り、 $A\beta$ に結合する。試薬に結合させた放射性フッ素から出る放射線を検出することで、老人斑を画像化しようとするものである。多くはアルツハイマー病のモデルマウスを用いた動物実験での成果であるが、すでに一部はヒトにも応用されている。

III. 新規アミロイドイメージング化合物の開発

これまで使われてきているアミロイドイメージング化合物の代表的なものに、Chrysamine-G, BSB, X-34, FDDNP, BTA-1, IMPY, BF-108 などがある¹⁷⁾。これらはいずれも、芳香族を含み、共役系が長く伸びて分子全体が平面で、 π 電子が自由に動ける構造を持っている。そして、多くの場合、分子の両端にアミノ基、水酸基、あるいはカルボキシル基などの官能基が結合しているが、このこともプローブとしての要件にあげることができよう。

そこで、我々は基本構造として、最近、老人斑と結合することが報告された¹⁴⁾ 2-スチリルベンゾキサゾールを選び、化合物の両端に官能基が結合したものと結合していないものを合成し、これらの化合物が老人斑に特異的に結合するかどうかについて確認することにした。2-スチリルベンゾキサゾールは2-メチルベンゾキサゾール

とベンズアルデヒドとの脱水縮合反応により合成した (Scheme 1)。

原料となる 2-メチルベンゾキサゾール (1a), ベンズアルデヒド (2a), 4-ジメチルアミノベンズアルデヒド (2b) は市販のものを用いた。また, 6-ヒドロキシ-2-メチルベンゾキサゾールは, 2',4'-ジヒドロキシアセトフェノンオキシムのベックマン転移によって調製し¹⁸⁾, 6-位の水酸基をメトキシメチル基で保護した上で, ベンズアルデヒド類との反応に供した。この保護基の導入は, 6-ヒドロキシ-2-メチルベンゾキサゾールの DMF 溶液にカリウム *t*-ブトキシドを加えてカリウム塩を形成させ, ここにクロロメチルメチルエーテルを加えることによって行った。

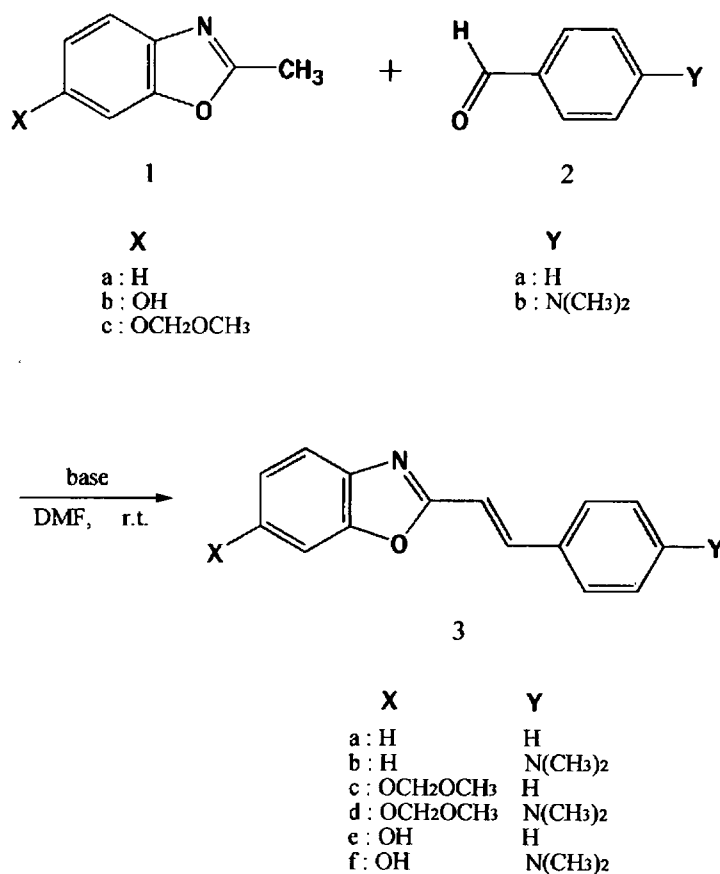
2-スチリルベンゾキサゾールおよび 2-(4-ジメチルアミノスチリル) ベンゾキサゾールについては, 既に Sun らによって合成されている¹⁹⁾。彼らはこれらの化合物を 2-メチルベンゾキサゾールと, それぞれ対応するベンズアルデヒドの反応で得ているが, この縮合には触媒としてフッ化カリウムを用いている。活性メチル基あるいは活性メチレン基とカルボニル基の脱水縮合には, 一般的に金属フッ化物 (KF, CsF など) が使われるようにな

ってきている²⁰⁾ ので, 本研究においても, まずこれらの触媒を用いて縮合を試みた。しかし, KF, CsF のどちらを用いても, 満足できる結果は得られなかった。

また, 水酸化ナトリウムを触媒にして 2-メチルベンゾキサゾールとベンズアルデヒドを縮合させ, 2-スチリルベンゾキサゾールを合成する方法が報告されている²¹⁾ ので, この方法も試みたが, 収率よく目的物を得ることはできなかった。

そこで, 我々はこの縮合反応の触媒として, アルコキシドを用いることにした。すなわち, 2-メチルベンゾキサゾールとベンズアルデヒドを DMF に溶かし, この溶液にナトリウムエトキシドあるいはカリウム *t*-ブトキシドを加えて室温で攪拌した。

その結果, 2-スチリルベンゾキサゾール (3a~3d) を収率よく合成することができた。この反応の反応条件および結果については, Table 1 にまとめてある。ナトリウムエトキシドを用いた場合には, カリウム *t*-ブトキシドを使った場合に比べ, やや収率が低下しているが, これは触媒に用いたナトリウムエトキシドの DMF に対する溶解度がカリウム *t*-ブトキシドより低いことによるものと考えられる。



Scheme 1

続いて、6-メトキシメトキシ-2-スチリルベンゾキサゾール (3c) を 1 M-塩酸中 60 ~ 70°C で加熱すると、容易に保護基が脱離し、6-ヒドロキシ-2-スチリルベンゾキサゾール (3e) が非常に良い収率 (92%) で得られた。しかし、スチリル基の 4'-位にジメチルアミノ基を有するスチリルベンゾキサゾール (3d) を同様な条件で加水分解を行ったときは、目的とする 6-ヒドロキシ-2-(4'-ジメチルアミノスチリル) ベンゾキサゾール (3f) は得られず、分解がさらに進んでしまったので、1 M-塩酸中、室温で 16 時間攪拌するという、より穏やかな条件で加水分解を行った。この場合にも、目的物 (3f) がさらに分解することは、避けられなかったが、化合物 (3f) を塩酸塩として単離することができた (収率 84%)。

ここに得られた 2-スチリルベンゾキサゾール誘導体 (3a ~ 3f) の $^1\text{H Nmr}$ スペクトルを測定したところ、二重結合を構成する炭素原子に結合している 2 つの水素原子間のカップリング定数はほとんどの化合物で 16.2 Hz であった (Table 2 参照)。このように、カップリング定数が大きいことから、得られた生成物のベンゾキサゾール環とベンゼン環はトランスに配置されていることが明らかになった。

このようにして、4 種類の 2-スチリルベンゾキサゾール (3a, 3b, 3e, 3f) が用意できたので、これらの化合物の老人斑に対する結合能について調べた。

IV. 分光蛍光光度

2-スチリルベンゾキサゾール (3f) 0.5 mg を 2 ml の Dimethyl sulfoxide (DMSO) に溶解し、蛍光光度分析装置 (日立 F-4000) を用いて測定した。その結果、Excitation の最大値は、352 nm で、Emission の最大値は、492 nm であった。

V. 老人斑への結合能の検討

老人斑への結合能を検討するに当たり、研究使用について、ご家族から承諾を得ているヒト脳病理標本を用いた。既報の方法²²⁾に従い、ヒト脳病理標本を作製した。すなわち、剖検時に側頭葉皮質を小塊として切り出し、4°C の 4% パラホルムアルデヒド (0.1 M-リン酸緩衝液で pH 7.4 に調整) 固定液で 2 日間固定した。その後、15% ショ糖液と 0.1% アジ化ナトリウム入りの 0.1 M-リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中に 4°C で 2 日間以上浸し、クリオプロテクションした。その後、クリオスタットで 20 μm

Table 1. Reaction of 2-methylbenzoxazoles(1) and benzaldehydes(2) (DMF, r.t.)

1	2	Catalyst	Time (h)	Product	Yield (%)
1a	2a	EtONa	16	3a	74
1a	2b	EtONa	16	3b	86
1c	2a	EtONa	16	3c	81
1c	2b	EtONa	16	3d	62
1a	2a	t-BuOK	5	3a	82
1a	2b	t-BuOK	5	3b	91
1c	2a	t-BuOK	5	3c	90
1c	2b	t-BuOK	5	3d	83

Table 2. $^1\text{H Nmr}$ spectra for the double bond part of 2-styrylbenzoxazoles(3)

3	Solvent	Chemical shift (δ)	pattern	Coupling const.(Hz)
3a	CDCl_3	7.00	d	16.2
		7.72	d	16.2
3b	CDCl_3	6.78	d	16.2
		7.66	d	16.2
3c	CDCl_3	7.02	d	16.2
		7.69	d	16.2
3d	CDCl_3	6.81	d	16.2
		7.65	d	16.2
3e	$d_6\text{DMSO}$	7.23	d	16.2
		7.67	d	16.2
3f	$d_6\text{DMSO}$	6.87	d	16.1
		7.54	d	16.1

の厚さの連続切片を作製し、15% ショ糖液と 0.1% アジ化ナトリウム入りの 0.1 M-リン酸緩衝液 (pH 7.4) 中で、4°C で保存した。

各化合物 2 mg を 1 ml の DMSO に溶解した。そして 0.3% Triton-X100 と 150 mM-NaCl 入りの 0.1 M-リン酸緩衝液 (pH 7.4 ; PBST) 中に、組織標本を浮遊させた。そこに、1-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度となるように化合物を加え、室温で 30-60 分反応させた。反応後、組織標本を PBST で 5 分ごとに 3 回、50 mM-TrisHCl (pH 7.6) で 1 回洗浄した。組織標本をゼラチンコートしたスライドグラスにのせ、乾燥後にグリセオール液で封入した。倒立型蛍光顕微鏡 (IX70, オリンパス) を用いて 358 nm の紫外光をあてて蛍光観察した。

2-スチリルベンゾキサゾール (3f) は、アルツハイマー病標本の老人斑に結合し、結合する陽性老人斑の数は、濃度依存的に増加した (Fig. 2)。30 分および 60 分の反応時間では、ほとんど差が認められず、30 分の反応で十分結合すると考えられた (data not shown)。

2-スチリルベンゾキサゾールの側鎖を変えることで、

陽性老人斑の数に変化が認められた (Fig. 3)。陽性老人斑の数は、2-スチリルベンゾキサゾール (3f) で最も多く、2-スチリルベンゾキサゾール (3b) および 2-スチリルベンゾキサゾール (3e) ではやや減少し、2-スチリルベンゾキサゾール (3a) では、ほとんど認められなかった。2-スチリルベンゾキサゾール (3b) および (3e) は、老人斑に特異的に結合していたが、2-スチリルベンゾキサゾール (3f) は、老人斑に加え、神経原線維変化にも結合していた (arrows in Fig. 3c)。

VI. 考察

本研究の結果、2-スチリルベンゾキサゾールがアミロイド結合化合物であることが明らかになった。2-スチリルベンゾキサゾールのアミロイド結合能は、側鎖の種類によって異なり、検討した範囲では 2-スチリルベンゾキサゾール (3f) が最も結合能に優れていた。2-スチリルベンゾキサゾール (3f) は Excitation の最大値は、352 nm で、Emission の最大値は、492 nm の蛍光特性をもつことから、thioflavin S 染色剤と同様に、固定病理脳標

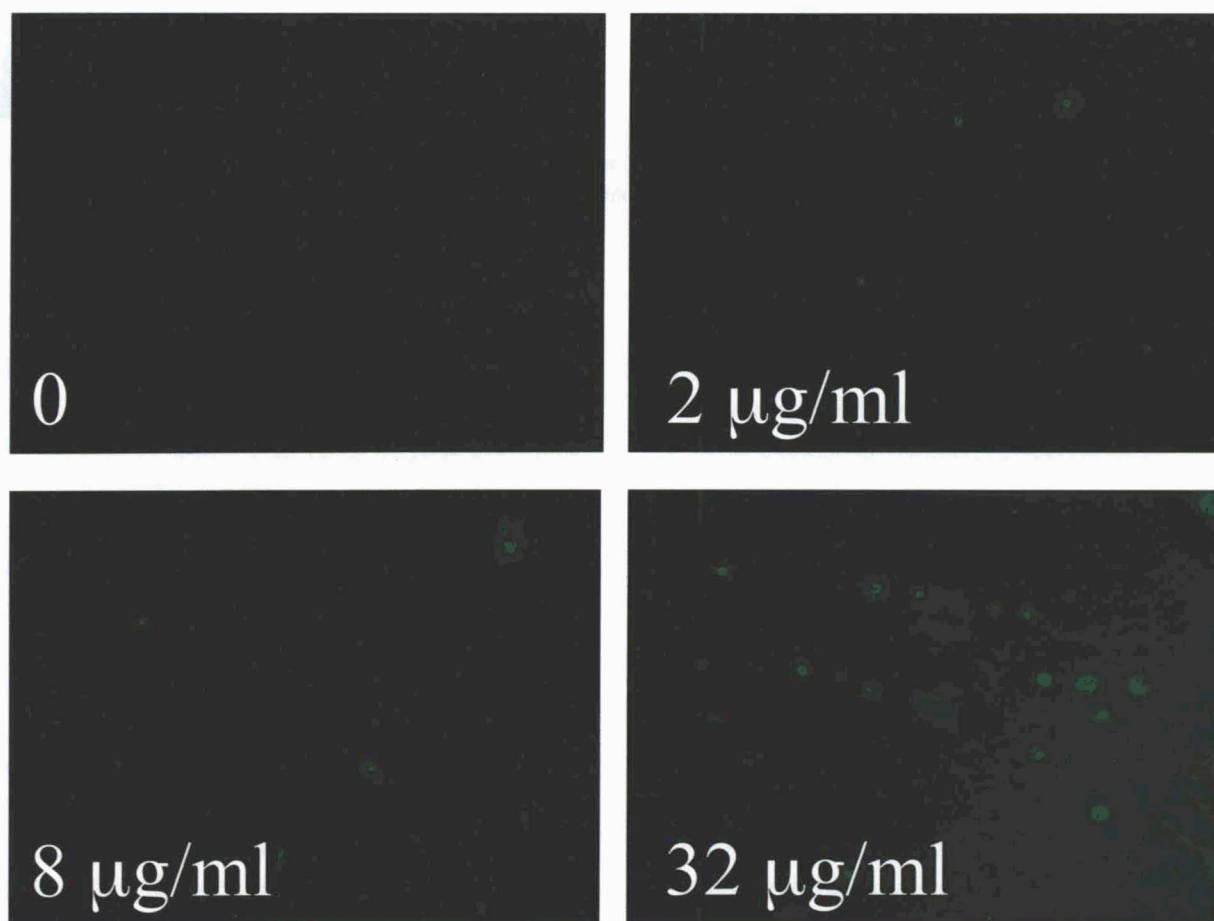


Figure 2. Binding of 2-syrylbenzoxazole derivative (3f in schema 1) to senile plaques at the concentration of 0, 8, 16, 64 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

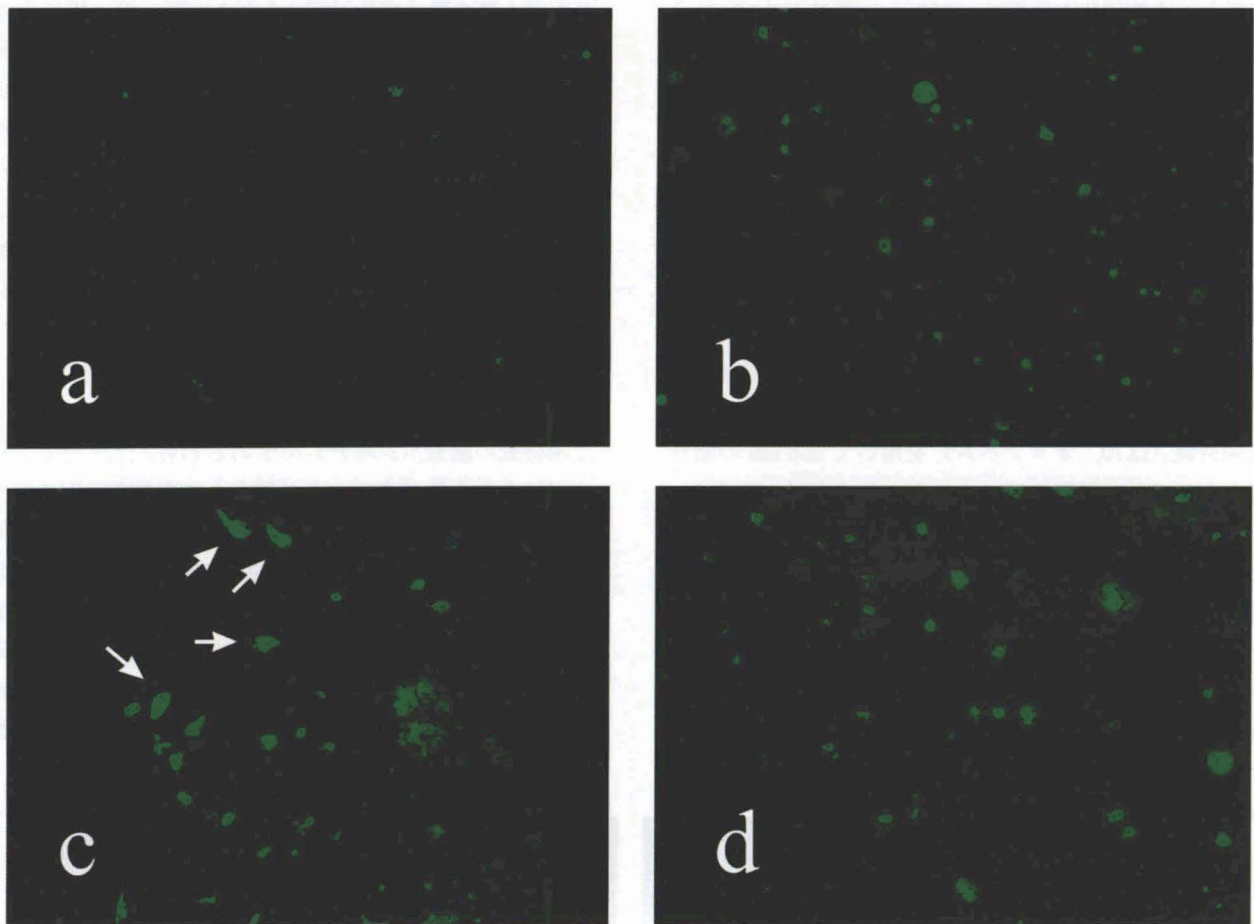


Figure 3. Binding of 2-syrylbenzoxazole derivatives 3a (a), 3b (b), 3f (c) and 3e (d) at the concentration of 10 $\mu\text{g/ml}$. Note that 2-syrylbenzoxazole derivative 3f binds to not only senile plaques but also neurofibrillary tangles (arrows in c).

本における老人斑検出用の診断薬として使用が可能である。2-スチリルベンゾキサゾール (3f) を溶解したリン酸緩衝液に組織を約 30 分浸漬させるだけで老人斑を検出できることから、迅速かつ簡便な老人斑検出法として有用性が考えられる。また特徴的な蛍光性質をもつことから、種々の蛍光物質を用いた蛍光免疫組織化学法と組み合わせた二重染色法にも応用できる。

次に、2-スチリルベンゾキサゾール (3f) に ^{18}F を結合させることにより、アルツハイマー病の PET 診断薬となる可能性が考えられる。アルツハイマー病の診断薬が開発されるに従い、早期診断法の重要性が高まっており、画像診断薬への応用は、2-スチリルベンゾキサゾールに対して最も期待される点である。検討した化合物の中では、2-スチリルベンゾキサゾール (3b), (3e), (3f) が老人斑に結合した。興味あることに、2-スチリルベンゾキサゾール (3f) は、老人斑に加え神経原線維変化にも結合した。この結果は、アルツハイマー病の診断薬としては 2-スチリルベンゾキサゾール (3f) が優れている

ことを示している。その一方で、側鎖を変化させることで、老人斑のみを検出する試薬、老人斑と神経原線維変化の両者を検出する試薬など、異なる性質をもつ診断薬が得られる可能性を示している。これら試薬のヒトへの応用を考えた場合、血管内投与で使用できることが望ましい。今後、アルツハイマー病モデル動物を用いて、2-スチリルベンゾキサゾール (3f) を血管内に投与した場合、血液から脳に移行して老人斑に結合するか、どのくらいの時間で代謝・排泄されるのか、副作用や毒性はどうか、など、詳細な検討が必要である。

アミロイド結合試薬のもうひとつの可能性は、アルツハイマー病の治療薬への展開である。最近の研究によれば、血液内にも少量 $\text{A}\beta$ が存在し、脳内 $\text{A}\beta$ と一定のバランスをとって存在していることが明らかになった²³⁾。興味あることに、血液中の遊離 $\text{A}\beta$ 量が減少すると、それを補うように脳から $\text{A}\beta$ が血液中に出てくると報告されている^{23) 24)}。この現象を利用すれば、アミロイド結合物質を用いて脳内の $\text{A}\beta$ 量を減少させることが可能であ

る。実際、アルツハイマー病のモデルマウスに A β 結合物質を投与すると、血液内の遊離 A β 量が減少し、それに伴って脳から A β が排泄されることが示された²⁵⁾。この場合は、診断薬とは逆で、脳内に入らない方が効果は高いと推測される。

以上のようにアミロイド結合試薬は、診断薬候補、治療薬候補として今後、ますます重要になってくると思われる。

参考文献

- 1) 下方浩史：わが国の疫学統計，痴呆症学 3 日本臨床 62：121-126 (2004)。
- 2) 浦上克哉，涌谷洋介，楠見公儀，足立芳樹，中島健二：わが国と諸外国の疫学統計の比較，痴呆症学 3 日本臨床 62：127-132 (2004)。
- 3) 清原 裕：久山町疫学調査，痴呆症学 3 日本臨床 62，133-137 (2004)。
- 4) 三好功峰：孤発性 Alzheimer 病 概念と診断基準，痴呆症学 2 日本臨床 62：41-42 (2004)。
- 5) 遠山育夫：Alzheimer 病 神経伝達物質 Update (中村重信編) p 194-201 中外医学社 (1998)。
- 6) A. Goate, M.-C. Chartier-Harlin, M. Mullan, J. Brown, F. Crawford, L. Fidani, L. Giuffra, A. Haynes, N. Irving, L. James, R. Mant, P. Newton, K. Rooke, P. Roques, C. Talbot, M. Pericak-Vance, A. Roses, R. Williamson, M. Rossor, M. Owen, J. Hardy: Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349: 704-706 (1991)。
- 7) M. Citron, T. Oltersdort, C. Haass, L. McConlogue, A.V. Hung, P. Seubert, C. Vigo-Pelfrey, I. Lieberburg, D.J. Selkoe: Mutation of the β -amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases β -protein production. *Nature* 360: 672-674 (1992)。
- 8) N. Suzuki, T.T. Cheung, X.D. Cai, A. Okada, L. Otvos Jr., C. Eckman, T.E. Golde, S.G. Younkin: An increased percentage of long amyloid β protein secreted by familial amyloid β protein precursor (β APP717) mutants. *Science* 264: 1336-1340 (1994)。
- 9) D. Selkoe, M.S. Wolfe: In search of γ -secretase: Presenilin at the cutting edge. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97: 5690-5692 (2000)。
- 10) D.J. Selkoe; American College of Physicians; American Physiological Society.: Alzheimer disease: mechanistic understanding predicts novel therapies. *Ann. Intern. Med.* 140: 627-638 (2004)。
- 11) H.L. Weiner, D.J. Selkoe: Inflammation and therapeutic vaccination in CNS diseases. *Nature* 420: 879-884 (2002)。
- 12) 遠山育夫，松岡康治：ワクチン療法。老年医学 40：1311-1313 (2002)。
- 13) E.D. Agdeppa, V. Kepe, J. Liu, G.W. Small, S.C. Huang, A. Petric, N. Satyamurthy, J.R. Barrio: 2-dialkylamino-6-acylmalononitrile substituted naphthalenes (DDNP analogs): novel diagnostic and therapeutic tools in Alzheimer's disease. *Molec. Imag. Biol.* 5: 404-417 (2003)。
- 14) N. Okamura, T. Suemoto, H. Shimadzu, M. Suzuki, T. Shiomitsu, H. Akatsu, T. Yamamoto, M. Staufenbiel, K. Yanai, H. Arai, H. Sasaki, Y. Kudo, and T. Sawada: Styrylbenzoxazole Derivatives for *In Vivo* Imaging of Amyloid Plaques in the Brain. *J. Neurosci.* 24: 2535-2541 (2004)。
- 15) H. Benveniste, G. Einstein, K.R. Kim, C. Hulette, G.A. Johnson: Detection of neuritic plaques in Alzheimer's disease by magnetic resonance microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96: 14079-14084 (1999)。
- 16) S. ^ P. Lee, M.F. Falangola, R.A. Nixon, K. Duff, J.A. Helpert: Visualization of β -amyloid plaques in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease using MR microscopy without contrast reagents. *Magnetic Res. Medicine* 52: 538-544 (2004)。
- 17) 岡村信行：生体における脳アミロイドの画像化。日本老年医学会雑誌 41：175-178 (2004)。
- 18) S. Fujita, K. Koyama and Y. Inagaki: The Beckmann Rearrangement by Means of Phosphoryl Chloride /N,N-Dimethylacetamide; A Novel and Convenient Method for Preparing Benzoxazoles. *Synthesis*, 68-69 (1982)。
- 19) J. Sun, C-G. Yan and Y. Han: KF-Al₂O₃ Catalyzed the Condensation of 2-Methylbenzoxazole and Pyrazol-5-one with Aromatic Aldehydes. *Synthetic Communications*, 31: 151-154 (2001)。
- 20) J.H. Clark: Fluoride Ion as a Base in Organic Synthesis. *Chemical Reviews*, 80: 429-452 (1980)。
- 21) V. Dryanska and C. Ivanov: α -Hydroxybenzylation and Benzylation of the Methyl Group in 2-Methyl-1,3-benzoxazole and 2-Methyl-1,3-benzothiazole. *Synthesis*, 37-38 (1976)。
- 22) I. Tooyama, T. Kawamata, D. Walker, T. Yamada, K.

- Hanai, H. Kimura, M. Iwane, K. Igarashi, E.G. McGeer, P.L. McGeer: Loss of basic fibroblast growth factor in substantia nigra neurons in Parkinson's disease. *Neurology* 43: 372-376 (1993).
- 23) R.B. DeMattos, K.R. Bales, D.J. Cummins, J.C. Dodart, S.M. Paul, D.M. Holtzman: Peripheral anti-A beta antibody alters CNS and plasma A beta clearance and decreases brain A beta burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98: 8850-8855 (2001).
- 24) R.B. DeMattos, K.R. Bales, D.J. Cummins, S.M. Paul, D.M. Holtzman: Brain to plasma amyloid-beta efflux: a measure of brain amyloid burden in a mouse model of Alzheimer's disease. *Science* 295: 2264-7 (2002).
- 25) Y. Matsuoka, M. Saito, J. LaFrancois, M. Saito, K. Gaynor, V. Olm, L. Wang, E. Casey, Y. Lu, C. Shiratori, C. Lemere, K. Duff: Novel therapeutic approach for the treatment of Alzheimer's disease by peripheral administration of agents with an affinity to beta-amyloid. *J Neurosci.* 23: 29-33 (2003).