

Review Article

ゲノム医学に役立つ個体モデル

山村研一

熊本大学発生医学研究センター 臓器形成分野

Animal Model as a tool for Medical Genomics

With advances in human genome projects we entered the era of functional genomics, medical genomics, and pharmacogenomics. However, it is a difficult task to carry out studies in all these areas in a short period of time. To accomplish this goal, we definitely need resources for research. These resources include cDNAs, peptides, antibodies, and genetically engineered mice. For medical genomics, we think it particularly important to have a large number of animal models for human diseases. Because we have to analyze pathogenesis and pathologic processes of disease development. To do these, we need a whole animal body. As one example, I described a transgenic mouse model for human dominantly inherited disease, Familial amyloidotic polyneuropathy (FAP). Using this model, we demonstrated that; (1) amyloid deposition itself starts after 6 months of age, although the serum level of mutant protein reached at adult level at 4 weeks of age, (2) intrinsic and extrinsic environmental factors affect the development of amyloid deposition, and (3) the effect of newly developed drug can be evaluated using an animal model for FAP. Thus, transgenic mouse models for human diseases may play important roles in medical genomics.

Rec.9/8/2003, pp269-274

Ken-ichi Yamamura

Institute of Molecular Embryology and Genetics, Kumamoto University

Key words medical genomics, whole animal body model, animal models for human diseases, transgenic mouse, Familial amyloidotic polyneuropathy (FAP)

はじめに

20世紀が物理学や科学の時代であったとすれば、21世紀は生命科学の時代といわれている。時を同じくして、ヒトも含む種々の生物のゲノムの塩基配列がほぼ明らかにされつつある。よって、生命科学といってもゲノムを抜きには語れない時代となっている。この新しい学問が、ゲノム学 (Genomics) と称されるようになった。しかし、ゲノム学の実体は、従来の遺伝学とさほどかけ離れたものではなく、古典遺伝学と内容的には変わるところがない。しかし、わが国では、遺伝学の教育の乏しさもあり、そのことが一般的にはあまり認識されていない。例えば、ヒト疾患への応用がゲノム医学ということになるが、その具体例が、テイラーメイド医療あるいはオーダーメイド医療の実施であるといわれている。この内容は、個人の遺伝的背景に応じて薬を選択することであるが、これは古典遺伝学の時代からすでに遺伝要因という言葉で予測していたことである。その具体例が、筋弛緩剤である

サクサメトニウムを投与したときに、死亡してしまうサクサメトニウム過敏症という病気である。これは、遺伝的にはコリンエステラーゼ欠損症である。この病気の場合は、筋弛緩剤を投与されたときにのみ病気となるので、そうならない限り一生正常な生活を送る。このような場合、環境要因としてのサクサメトニウムのみによって病気が発症したかのようにみえる。しかし、その根底には酵素欠損が存在することが明らかにされている。このように、遺伝的背景をつかんだ上で、治療法を選択するのは、当然のことであることを古典遺伝学は教えている。

これとは逆に、分子生物学と遺伝学を同じと捉える傾向にあるが、この2つは異なる学問体系である。例えば、分子生物学は遺伝子の異常で病気をすべて説明できると考えるが、遺伝学では遺伝子だけではなく、環境も含む様々な要因が発症には関与すると考えるので、遺伝子だけで説明できるとはしていない。本稿では、ゲノム医学の実践に当たって、ヒトに代わるモデル系の重要性につ

いて記述したい。

ゲノム医学の概要

1) ゲノムサイズと遺伝子数

ヒトのゲノムサイズ(ヌクレオチドの数)は約30億である。種々の生物のゲノムシーケンスから、遺伝子の数がより確実に推定されるようになった。非常に興味あることに、形態的に極めて単純な線虫の遺伝子の数が18,400と、形態的に複雑なショウジョウバエの14,200よりも、遺伝子が多いことである。また、ヒトは32,000から40,000の間といわれ、線虫の2倍にすぎないことも明らかとなった。したがって、遺伝子の数だけでは、必ずしも生物個体の持つすべての機能を説明できず、遺伝子は予想よりももっと複雑な機能を持つことが予想された。

2) ヒトは異常な遺伝子をいくつ持っているのか

ヒトの遺伝子の数をここでは一応約4万としておく。遺伝的背景という観点からいえば、ヒトはいくつの異常遺伝子を持つのが気になるところである。多くの人は遺伝病を持つ人だけが異常な遺伝子を持っていると思いがちであるが、決してそうではない。その概略を古典遺伝学の範疇に入るHardy-Weinbergの法則から、次のように計算できる。例えば、36万人に1人の割合で発症する常染色体劣性遺伝病を考えてみる。正常遺伝子をA、異常遺伝子をaとし、その遺伝子頻度をそれぞれpおよびqとする。そうすると異常遺伝子aが2つ持つ確率は $q^2=1/360,000$ となり、 $q=1/600$ となる。ここではAとAという2つの対立遺伝子しか想定していないので、 $p+q=1$ となる。つまり、 $p=1-q$ となる。よって、a遺伝子をヘテロの状態を持つヒト(A/a)の頻度は $2pq=2 \cdot 599/600 \cdot 1/600=1/300$ となる。つまり約300人に1人は異常遺伝子aを持っていることになる。

現在、単一遺伝子病、何らかの遺伝子の異常に基づく疾患は、少なくとも3000種類以上あると考えられている。遺伝病の頻度はそれぞれ異なり、頻度が高いものも低いものもある。例えば、フェニルケトン尿症は1~2万人に1人である。それらを考慮に入れると平均36万人に1人としても妥当と考えられる。そうすると一つの病気につき300人に1人であるから、3000種類あれば $1/300 \times 3000=10$ となる。すなわち、1人につき10個は異常遺伝子を持っていることになる。個体間の違いは、それぞれ持っている異常遺伝子の組み合わせが異なるだけである。この組み合わせの違いにより、種々の病気に対する感受性は個人により異なり、ある人は糖尿病になりやすいし、別の人は高血圧になりやすいと考えられている。

このことが、最近ようやくヒトゲノム解析の進歩もあ

り、一般に受け入れられつつある。個性に応じたテーラーメイド医療もしくはオーダーメイド医療という言葉が、新聞紙上でも見受けられつつあり、これがゲノム医学の根幹をなすが、昔からの遺伝学の教えを言葉を代えて表現したにすぎないことがよく理解できる。

3) 遺伝要因と環境要因

上記のことを総合すると、種々の形質や病気は、基本的に2つの要因によって生じると考えられる。第1は遺伝要因であり、第2が環境要因である。すべての形質や病気が大なり小なり、2つの要因の影響を受けるが、ほぼ遺伝要因だけ、または環境要因により決まるものもある。いかに典型的なメンデル遺伝様式を示す、つまり単一遺伝子性の遺伝子病といえども例外ではない。典型的なメンデル遺伝を示す病気であっても、遺伝子以外の要因がその発症に関与していることが多い。例えば、先天代謝異常症であるフェニルケトン尿症は、典型的な常染色体性劣性遺伝病であり、フェニルアラニン水酸化酵素の低下によって起こる。この病気の場合、2つの環境要因がその発症には必要である。第1は、フェニルアラニンを含む食餌を摂取することであり、第2は、生後脳も含めて成長段階にあるときにフェニルアラニンを摂取することである。したがって、生後の食餌中のフェニルアラニン摂取という環境要因を、必要最低限にコントロールすることで、発症を軽くすることが可能である。食事そのものが環境要因である場合、それがあまりにも日常的であるがゆえに、環境要因であるとは気づかないことが多い。したがって、このような場合遺伝子の異常のみによって発症するようにみえることになる。

このように単一遺伝子性の遺伝病ですら環境要因の影響を受けるので、ましてや多因子性といわれる生活習慣病の場合は、遺伝要因だけでなく、環境要因も深く関与すると考える方が妥当であろう。

4) 遺伝子研究の限界

遺伝学の伝統的な研究の進め方は、表現型から出発してそれを支配する遺伝子の解析へと向かうものであり、順遺伝学といわれる。これによる典型的な研究の進め方は、遺伝病の家系の集積、連鎖解析による原因遺伝子座のマッピング、ポジショナルクローニングまたは候補遺伝子探索による原因遺伝子の単離解析、そして患者における突然変異の同定と原因遺伝子の確定である。このような典型例の一つが、頭顔面症候群の研究であろう。

Jackson-Weiss症候群、achondroplasia、Apert症候群、Pfeiffer症候群、Crouzon症候群等は頭部と顔面に頭蓋骨癒合、両眼間離開といった共通の症状はあるものの、それぞれに特徴的な症状、例えば、Pfeiffer症候群では合指



図1 頭・顔面症候群の代表例

各疾患とも頭蓋骨癒合、両眼間離開という共通の症状はあるが、上記に示したように、それぞれ異なった特徴を持つため、臨床的には異なった疾患である。

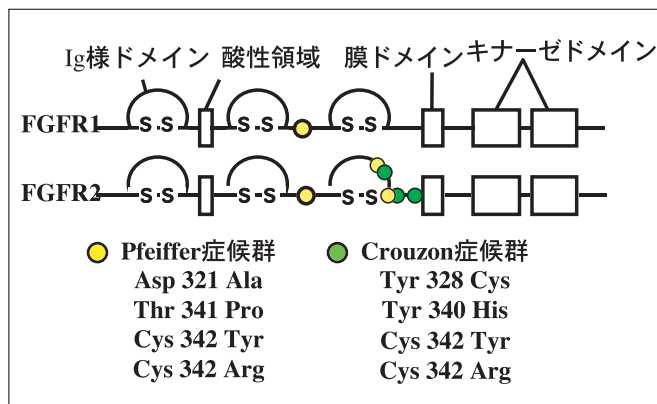


図2 頭・顔面症候群の原因遺伝子

Pfeiffer症候群およびCrouzon症候群で見いだされた変異を示した。FGFR: fibroblast growth factor receptor

症、Apert症候群では口蓋裂、Crouzon症候群では眼球突出といったそれぞれに特徴的な形態的異常を呈し、臨床的には異なった疾患として認識されてきた(図1)。これらの疾患の原因遺伝子座が連鎖解析によって、Crouzon症候群が10q25-26、Pfeiffer症候群が8cenと10q25-26に同定された。一方、線維芽細胞増殖因子リセプター(FGFR)ファミリーの遺伝子座が、FGFR1型が8cen、FGFR2型が10q25-26にあることがわかった。すなわち、これらの症候群の遺伝子座とFGFRファミリーの遺伝子が一致していたのである。そこで、それぞれの症候群の患者のFGFR遺伝子が解析された結果、突然変異が発見されたが、驚いたことに、例えばPfeiffer症候群とCrouzon症候群の両方で、FGFR2型の342番目のシステインのアルギニンへの変異が発見されたのである^{1,2)}(図2)。臨床的には異なると思われた疾患の原因遺伝子が同じで、しかもまったく同じアミノ酸変異が発見されたのである。このことは、遺伝子の異常が病気とは直結しないこと、遺伝子の異常だけでは病気は説明できないことを如実に示している。

5) ゲノム医学として行うべきこと

上記のような現状をみれば、ゲノム医学として次のようなことを推進すべきと考えられる。第1は、まず遺伝要因としての遺伝子が、単一であるのか複数であるのか、それらを同定しその変異を見い出すことである。第2は、環境要因についても単一であるのか複数であるのか、それらの実体を見い出すことである。第3は、2つの要因がどの程度疾患の発症に関与するのかを決定することである。第4は、遺伝要因あるいは環境要因をコントロールすることにより疾患の発症を抑制できるのかを明らかにすることである。第5は、上記の総合的な結果に基づき、病気を予知でき、予防できる方策を見い出すことである。

6) ゲノム医学に必要なこと

上記のような理由から、ゲノム医学で行うべきことを短期間で網羅的に達成することは不可能である。そこで、今何をやるべきであるのか考えるべきであり、その答えの一つはそれらに必須のリソースを大規模に網羅的に作製することとなる。リソースとしては、cDNA、タンパク、抗体、変異マウスが挙げられるが、上記で記した問題点克服のために、前3者は必要ではあるが、十分な情報が得られない。そこで、やはり動物個体モデルが必要となる。

個体モデルの分類とこれまでの位置付け

1) 個体モデルの分類

個体モデルは、便宜的に6種類に分類できる。第1は、薬剤や外科的処置等によって病的状態を誘導したモデルである。この中には、ヒト疾患の発症原因や発症過程をほとんど無視したものも多いが、外傷性の疾患のモデルにはなりうる。第2は、特定の形質に着目し、それを有するマウスを選択交配することによって系統の樹立に到ったものである。歴史的には1900年代の初頭からマウスについて始められ、そもそもマウスは癌研究に適した系統の樹立の歴史でもある。その他有名な例として自然発症の高血圧を呈するSHRである。これらは単一の遺伝子によるものではなく、多因子遺伝を示すので、ヒト疾患との類似性を証明するのは比較的困難である。第3は、飼育中に偶然発見された自然突然変異モデルである。マウスについては、1900年代以降約1000系統が樹立され、原因遺伝子は不明だが、その染色体上の位置は明らかとなっている。最近、単離された遺伝子の染色体上の位置が既存の突然変異マウスの遺伝子座と一致したことにより、原因遺伝子として同定される機会が増えた。最も良い例はアポトーシスと関連する

Fas抗原であり、これがlprマウスの遺伝子座と一致し、まさにその変異によることが証明されている。第4は、1950年代から始まった方法であるが、放射線や変異原物質の投与により作製したものである。この方法の長所は雄マウスに変異原物質を注射し、その子孫を得るだけで極めて簡単に変異マウスを樹立できることであるが、欠点はその原因遺伝子の同定はポジショナルクローニングに頼らざるを得ず困難なことである。第5は、マーカー遺伝子を持つベクター(トラップベクター)を変異原として用いる遺伝子トラップ法と呼ばれる方法で作製するものである。これはES細胞を用いなければならないので、変異マウスの樹立には技術を要するが、トラップした遺伝子は容易に単離できる長所がある。第4も第5もランダムに変異を導入する所に特徴がある。第6は、遺伝子導入や遺伝子破壊を行ったマウスで、特定の遺伝子について改変するもので、遺伝子改変マウスと呼ばれるものである。

以上のような方法があるが、いずれにせよ大事な視点は疾患モデルマウスがヒトと同じ遺伝子の異常に基づいて起こっているのかどうかであり、治療法の検定や開発への応用にあたってまず注目すべき点となる。これが異なるときは、直接治療に役立つ情報は得られないと考えるべきであろう。

2) 個体モデルの評価における注意点

上記のような方法で作製されたモデルを、単純にヒトのモデルとして用いることができない場合がある。逆にどのような観点でモデルを評価すべきかということになるので、その注意点を述べておきたい。

(1) ヒト疾患モデルとしてのマウス

表現型は似ているので、ヒト疾患のモデルとして取り上げられたことがある。しかし、ヒト疾患においても原因遺伝子が明らかになっていない場合もあり、そのときは、そのモデルマウスといっても同一かどうか判定できない。

(2) ヒト疾患で病態が解明されているかどうか

疾患と関連する遺伝子が発見されたからといって、直ちに病態(発症の分子過程)が明らかになるわけではない。例えば、筋ジストロフィーの原因遺伝子としてジストロフィン遺伝子が単離されて久しいが、その発症過程は必ずしも明らかではない。ヒトでの病態が不明であるときは、逆に疾患モデルマウスを作製し、病態解析を行い、その後ヒトにおいて検証する必要がある。この場合、症状が類似していても、原因遺伝子や病態が同じであるとは限らないので注意すべきである。例えば、筋ジストロフィーのモデルマウスは症状の類似性から長らくdyマウスと考えられていたが、遺伝子からみればmdxマウスであることがわかった。mdxマウスでは、症状が極めて軽い。また、ヒ

トでヒポキサンチングアニンフォスホリボシルトランスフェラーゼの(HGPRT)の欠損は、高尿酸血症や自虐症を特徴とするLesch-Nyhan症候群を引き起こすが、マウスでは病気にならない。その理由は、尿酸を分解するウレアーゼがマウスでは存在し、尿酸を分解し、尿酸が溜まらないからである。また、マウスではプリン代謝系において、HGPRT系よりもAPRT系の方が代謝的に活発で、HGPRT欠損の影響が出にくいからである。したがって、APRTを阻害すると同様の神経症状が出現することが報告されている。このように同じ遺伝子異常でも、必ずしも同じ病態を引き起こすとは限らず、この場合も注意が必要である。

個体モデルを用いた解析の具体例

1) 家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)

FAP(Familial amyloidotic polyneuropathy)は、全身の細胞外へのアミロイド沈着を特徴とする典型的な常染色体優性遺伝病である。すなわちヘテロ接合体、一つの正常遺伝子と一つの異常遺伝子を持つ状態で症状が出現し、通常思春期以降に発症する。臨床的には末梢神経および自律神経の異常を主徴とするが、末期には腎不全、感染症等で死亡する。1983年にFAPの原因遺伝子であるトランスサイレチン遺伝子が単離され、日本では大部分30番目のバリンがメチオニン(hMet30)に置換していること、遺伝子診断も可能でFAP患者のほとんどはヘテロ接合体で一部はホモ接合体であり、全員が少なくとも一つの変異遺伝子を持つこと。したがって、変異遺伝子の存在が発症の主たる要因であることなどが明らかとなった。しかし、日本での平均発症年齢は30歳代であるのに対し、スウェーデンでは50歳代と、30歳以上もずれること、また同一家系にもかかわらず、発症年齢が40歳以上ずれたりするところから、遺伝子以外の要因も発症に関与すると考えられ、その要因の解析が重要となっている。これらは無論ヒト患者さんを用いては行えないことから、モデル動物の必要性がうたわれていた。

2) FAP トランスジェニックモデル作製

FAPの場合は、変異蛋白がアミロイドとして沈着する機能獲得型の変異であるので、ヒト患者から単離した遺伝子を導入すれば、そのモデルマウス作製が可能であると考えられた。

そこでまず、メタロチオネイン遺伝子のプロモーターやトランスサイレチン自身プロモーターを0.6kbおよび6.0kb含む全長のhMet30ゲノム遺伝子を接続したコンストラクトを作製した(図3)。これらをマウス受精卵前核に注入し、トランスジェニックマウスを樹立した。これらの

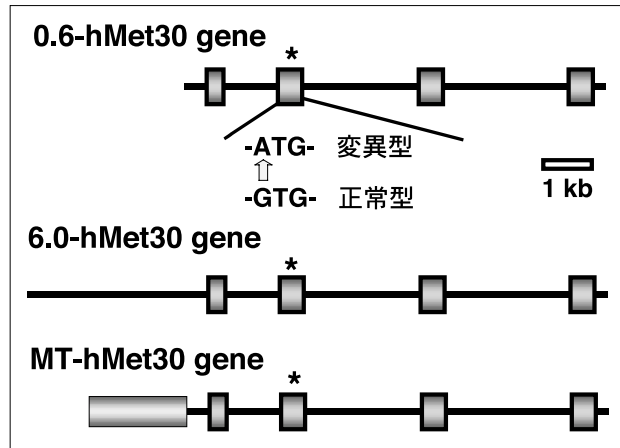


図3 導入遺伝子の構造

マウスの血中のhMet30量は,0.6-hMet30,6.0-hMet30,MT-hMet30それぞれの最も多い系統で,FAP患者の約1/10,1/1,1/2であり,かつマウストランスサイレチン分子とヘテロ4量体を形成していることが分かった.発現量の良いマウスを選択して,生後3ヵ月ごとに種々の組織におけるアミロイド沈着を解析したところ,早ければ生後6ヵ月以降に腸管,腎臓,心臓,皮膚,甲状腺等で沈着が観察され,年齢の上昇とともに沈着量が増大することが分かった(表).しかし,ヒトでの特徴である末梢神経や自律神経系にはまったく沈着していなかった.また,遺伝子が発現している組織と沈着組織とは関連しないことから,変異分子は一旦血中に分泌された後,各組織に沈着することがわかった³⁻⁷⁾.いずれにせよ,アミロイド沈着を観察できたので,それに影響を及ぼす要因の解析が可能となり,解析を進めることにした.

3) 遺伝子発現,アミロイド沈着,発症の相関関係

ほとんどの優性遺伝病は思春期以降に発症するが,そのメカニズムは不明である.FAPについても不明であるが,順序としてはまず遺伝子発現があり,アミロイド沈着があり,そして発症すると考えられる.この問題を解決するため,トランスジェニックマウスを用いて,遺伝子発現の時期,アミロイド沈着の時期を詳細に解析した.その結果,遺伝子発現はすでに胎生13日目に始まること⁸⁾,アミロイド成分のほとんどは血中に存在する変異タンパクであるが,その血中レベルは,生後4週で成体レベルに達すること⁹⁾が明らかになった.したがって,血中レベルとアミロイド沈着とは大きな時間的な差があり,アミロイド沈着には何らかの他の要因が関与することが明らかとなった.

4) アミロイド沈着に関与する要因

1歳齢のトランスジェニックマウスにおいて血中の変異蛋白の量とアミロイド沈着を比較すると,血中量は変わら

表 各マウスにおけるアミロイド沈着

	Tissue	6M	12M	18M	24M
0.6-hMet30	heart	-	-	~+	-
	small intestine	-	-	+++	~+
	kidney	-	-	-	-
	skin	-	-	~+	-
	sciatic nerve	-	-	-	-
6.0-hMet30	heart	-	~+	-	++++
	small intestine	-	+++	~+	++
	kidney	-	±	-	+++
	skin	-	~+	-	~+
	sciatic nerve	-	-	-	-
MT-hMet30	heart	-	~+	+++	+++
	small intestine	~+	++++	++	+++
	kidney	-	~+	++++	+++
	skin	-	+	+	++
	sciatic nerve	-	-	-	-

ないのにアミロイド沈着が多量にみられるマウスとまったくみられないマウスとが存在する.これらの実験においては,近交系マウスであるC57BL/6を用いており,遺伝的背景は同一と考えられるので,このアミロイド沈着の差は明らかに環境要因によると考えられた.

そこで2つの異なる飼育環境下,すなわちコンベンショナルな条件下とSPF(specific-pathogen free)条件下でマウスを飼育しアミロイド沈着への影響を解析した.その結果,SPF下ではまったくアミロイドが沈着しないことが明らかとなった.このことは,典型的な優性遺伝病であっても環境要因がその発症に大きく影響すること,その環境要因をコントロールすることにより発症を完全に防止できることを示唆している.

SPFとコンベンショナルな環境での違いの一つに,腸内細菌叢が挙げられる.そこで,SPFおよびコンベンショナルでの腸内細菌叢をSPFマウスに移入し,アミロイド沈着の有無を解析した.コンベンショナルな場所として,アミロイド沈着が良く観察されている場所(CV2)とそうでない場所(CV1)の2カ所を選んだ.その結果,アミロイド沈着が良く観察されている場所の腸内細菌叢を移入した場合にのみ腸管にアミロイド沈着が認められた. SPFやCV1における腸内細菌叢の変化は飼育中原則として見い出されず, CV2では共生菌といわれる嫌気性菌の減少,それに反比例して弱毒の好気性菌の増加が観察された.腸管組織を病理組織学的に解析したところ, CV2における場合好中球の浸潤が,他の場合に比較し多数であることが分かり,これは弱毒性の好気性菌を攻撃するため浸潤していると思われた¹⁰⁾.

5) SAPの役割

すべてのアミロイドーシスに共通してSAP(serum amyloid P component)というタンパクが沈着している.この役割

を解析するため、ヒトSAP遺伝子を導入したトランスジェニックマウスを作製した¹¹⁾。このマウスとヒト変異トランスサイレチン遺伝子を持つマウスを交配し、両方の遺伝子を持つマウスを樹立した。このマウスを解析したところ、ヒトSAPがアミロイドとして沈着していることが分かった⁹⁾。このSAPが、もともとのアミロイドに結合することによって、アミロイド沈着を促進または分解の防止に役立っているという考えがある。だとすれば、このSAPがアミロイドに結合することを防止すれば、アミロイドの治療が可能となる。SAPの除去剤がPepysらによって開発された。これを投与すると、血中のSAPが激減することが確認されている¹²⁾。治療薬として使用できるかは今後の課題である。

おわりに

ヒト疾患の病態の解析は遺伝子の単離と塩基配列決定の様にクリアーカットな結果が得られるとは限らない。しかし、ゲノム医学の進展は、これらの解析にかかっているといても過言ではない。事実、モデルマウスを用いて、飼育環境という環境要因の関与が大きな影響を及ぼすことを明らかにすることができた。これらの環境要因が何であるのかを突き止め、それをコントロールできれば発症を防げなくても遅らせる可能性が出てきた。上記から、遺伝子改変マウスモデルの系は、ゲノム医学における極めて有力な手段となりうることを示唆している。

文 献

- Mulvihill JJ: Craniofacial syndromes: no such thing as a single gene disease. *Nat Genet*, 9: 101-103, 1995.
- Muenke M, Schell U: Fibroblast-growth-factor receptor mutations in human skeletal disorders. *Trends Genet*, 11: 308-313, 1995.
- Wakasugi S, Inomoto T, Yi S, Naito M, Uehira M, Iwanaga T, Maeda S, Araki K, Miyazaki J, Takahashi K, Shimada K, Yamamura K: A transgenic mouse model of familial amyloidotic polyneuropathy. *Proc Jpn Acad*, 63(B): 344-347, 1987.
- Yi S, Takahashi K, Naito M, Tashiro F, Wakasugi S, Maeda S, Shimada K, Yamamura K, Araki S: Systemic amyloidosis in transgenic mice carrying the human mutant transthyretin (Met30) gene: Pathological similarity to human familial amyloidotic polyneuropathy, type I. *Am J Pathol*, 138: 403-412, 1991.
- Shimada K, Maeda S, Murakami T, Nishiguchi S, Tashiro F, Yi S, Wakasugi S, Takahashi K, Yamamura K: Transgenic mouse model of familial amyloidotic polyneuropathy. *Mol Biol Med*, 6: 333-343, 1989.
- Yamamura K, Tashiro F, Wakasugi S, Yi S, Maeda S, Shimada K: Transgenic mouse model of an autosomal dominant disease: Familial amyloidotic polyneuropathy. in *Molecular Mechanisms of Aging*. K. Beyreuther and G. Schettler (eds). Springer-Verlag, Heidelberg, 1990, pp146-154.
- Takaoka Y, Tashiro F, Yi S, Maeda S, Shimada K, Takahashi K, Sakaki Y, Yamamura K: Comparison of amyloid deposition in two lines of transgenic mouse that model familial amyloidotic polyneuropathy, type 1. *Transgenic Res*, 6: 261-269, 1997.
- Yamamura K, Wakasugi S, Maeda S, Inomoto T, Iwanaga T, Uehira M, Araki K, Miyazaki J, Shimada K: Tissue-specific and developmental expression of human transthyretin gene in transgenic mice. *Dev Genet*, 8: 195-205, 1987.
- Nagata Y, Tashiro F, Yi S, Murakami T, Maeda S, Takahashi K, Shimada K, Okamura H, Yamamura K: A 6-kb upstream region of the human transthyretin gene acn direct developmental, tissue-specific, and quantitatively normal expression in transgenic mouse. *J Biochem*, 117: 169-175, 1995.
- Iwanaga T, Wakasugi S, Inomoto T, Uehira M, Ohnishi S, Nishiguchi S, Araki K, Uno M, Miyazaki J, Maeda S, Shimada K, Yamamura K: Liver-specific and high-level expression of human serum amyloid P component gene in transgenic mice. *Dev Genet*, 10: 365-371, 1989.
- Tashiro F, Yi S, Wakasugi S, Maeda S, Shimada K, Yamamura K: Role of serum amyloid P component for systemic amyloidosis in transgenic mice carrying human mutant transthyretin gene. *Gerontology*, 37(suppl 1): 56-62, 1991.
- Noguchi H, Ohta M, Wakasugi S, Noguchi K, Nakamura N, Nakamura O, Miyakawa K, Takeya M, Suzuki M, Nakagata N, Urano T, Ono T, Yamamura K: Effect of the intestinal flora on amyloid deposition in a transgenic mouse model of familial amyloidotic polyneuropathy. *Exp Anim*, 51: 309-316, 2002.