

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

アルツハイマー病に対する経口ワクチン療法の開発に

関する研究

(H15-長寿-009)

平成17年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 原 英夫

平成18(2006)年4月

目次

I. 総括研究報告	
アルツハイマー病に対する経口ワクチン療法の開発に関する研究-----	1
原 英夫	
II. 分担研究報告	
1. アルツハイマー病動物モデルマウスの高次脳機能解析— 経口ワクチンによる改善の検索 -----	24
鍋島俊隆	
2. 経口ワクチン (A β 発現アデノ随伴ウイルス) の老齢サルに対する治療効 果の検討 -----	49
原 英夫、高橋慶吉、田平 武	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	66
IV. 研究成果の刊行物・別刷-----	76

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
総括研究報告書

アルツハイマー病に対する経口ワクチン療法の開発に関する研究

主任研究者 原 英夫

国立長寿医療センター研究所血管性認知症研究部室長

研究要旨

我々は、アルツハイマー病に対する経口ワクチン療法の開発を行っている。アルツハイマー病の病因として amyloid cascade 仮説に基づき、分泌型 A β cDNA を組み込んだアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの経口ワクチン療法により抗 A β 抗体を腸管粘膜免疫において産生させ、脳に沈着した A β 蛋白を除去し、さらに A β の凝集を抑制することが目的である。アルツハイマー病の動物モデルである APP トランスジェニック (Tg2576) マウスに経口投与し、13 ヶ月齢の APP トランスジェニックマウス脳組織を免疫染色で詳細に検索した結果、治療したマウス脳においてアミロイド沈着・老人斑形成がコントロールに比べ明らかに減少していた。さらに経口ワクチンによる高次脳機能改善を検索するため、10 ヶ月齢の Tg2576 マウスに投与し、13 ヶ月齢で高次脳機能の改善が見られるか検討した。その結果、自発的交替行動試験、新規物質認識試験、モリス水迷路試験、恐怖条件付け学習試験の各試験で経口ワクチンによる改善が認められた。次に経口ワクチンの霊長類への効果を見るために、高齢のサルに経口投与を行った。20歳以上のアフリカミドリザル・カニクイサルに A β 1-43/rAAV 腸溶剤カプセルまたはコントロールの GFP/rAAV 腸溶剤カプセルを経口投与し、3、6、12 ヶ月後に解剖した。経口ワクチン投与により、高齢のアフリカミドリザル・カニクイサルの脳老人斑は減少傾向を示した。著明な変化は、前頭葉・頭頂葉・海馬に認められた。

研究組織

分担研究者

高橋慶吉（国立長寿医療センター研究所血管性認知症研究部部長）

田平 武（国立長寿医療センター研究所所長）

鍋島俊隆（名古屋大学大学院医学研

究科医療薬学教授）

A. 研究目的

急速な高齢化社会を迎えつつある日本では、65歳以上の老人の約10%が老年期痴呆であると報告されている。アルツハイマー病は、痴呆性疾患の二大原因の1つであり約50%

を占め、現在有効な治療法はなく、介護問題も含め社会的にも問題となっている。

我々は、アルツハイマー病に対する新しい安全なタイプのワクチン療法を開発するためにアデノ随伴ウイルスベクターを用いる系を発案した。人体での抗原性が低いアデノ随伴ウイルスベクターに分泌型 A β cDNA を組み込みこんだリコンビナントアデノ随伴ウイルス (recombinant AAV, rAAV) を作製した。アルツハイマー病のモデルマウスの APP transgenic mouse (Tg2576, Taconic 社、Mayo Clinic) に経口投与し、腸管上皮細胞に感染させた。そして A β 抗原を腸管細胞に発現させ、腸管粘膜免疫系に抗原提示し、A β に対する抗体産生を誘導し、中枢神経系での老人斑の形成とアミロイド沈着を抑制するかどうか、その治療としての有効性及び副作用を検証した。

13ヶ月齢の APP トランスジェニックマウス脳組織を免疫染色で詳細に検索した結果、経口ワクチンを投与したマウス脳においてアミロイド沈着・老人斑形成がコントロールに比べ明らかに減少していた。

今回、経口ワクチン療法により高次脳機能改善を検索するため、10ヶ月齢の Tg2576 マウスに投与し、13ヶ月齢で高次脳機能の改善が見られるか検討した。また経口ワクチンの霊長類への効果を見るために、老人斑形成が見られる高齢のサルに A β 1-43/rAAV 腸溶剤カプセルまたはコ

ントロールの GFP/rAAV 腸溶剤カプセルを経口投与し、効果を解析した。

B. 研究方法

1. アデノ随伴ウイルスベクターの構築

amyloid- β 1-43 (A β 1-43) cDNA は、ヒト amyloid- β precursor protein (APP) 遺伝子を鋳型として PCR にて増幅した。APP の分泌シグナルである N 末の最初の signal sequence (18 アミノ酸) を A β 1-43 cDNA の 5' 側に結合させた fusion gene ; APP signal sequence+ A β 1-43 cDNA を作成し、アデノ随伴ウイルスベクター (pXXUF1) に組み込んだ。次に、このベクターを HEK293 cell に transfection し、大量培養により recombinant adeno-associated virus (rAAV) を産生し、セシウムクロライド超遠心にて精製した。

コントロールとして、GFP (Green fluorescence protein) を発現するアデノ随伴ウイルス (GFP rAAV) を作成した。

2. アデノ随伴ウイルスの経口投与

アルツハイマー病の動物モデルである APP transgenic mouse (Tg2576) は、Taconic 社 (Mayo Clinic) から購入した。10ヶ月齢の APP transgenic mouse にそれぞれ A β 1-43rAAV 5×10^{11} genome を1回のみ経口投与した。

分泌型 A β 発現アデノ随伴ウイルスベクター (A β 1-43/rAAV) または GFP 発現アデノ随伴ウイルスベクター

(GFP/rAAV) 1×10^{13} genome (1ml) 水溶液をゼラチン化し、腸溶剤カプセルに詰めた薬剤を1回のみサルに経口投与し、3、6、12ヶ月後に解剖した。

3. マウス高次脳機能解析

APP transgenic mouse (Tg2576, Taconic 社, Mayo Clinic) に経口ワクチン投与し、各種試験を行った。

6ヶ月齢 (未投与) : 解析

1. 自発的交替行動試験 (1日目)
2. 新規物質認識試験 (1-5日目)
3. モリス水迷路試験

(陳述記憶試験 6-15日目 プローブ試験;15日目)

10ヶ月齢 (経口ワクチン投与) :

1. 新規物質認識試験

13ヶ月齢: 解析

1. 自発的交替行動試験 (1日目)
2. 新規物質認識試験 (1-5日目)
3. モリス水迷路試験

(陳述記憶試験 6-15日目 プローブ試験;15日目)

4. 恐怖条件付け学習試験 (16-17日目)

- a. 自発的交替行動試験 (1日目)

自発的交替行動試験は作業記憶の指標として用いられている。

実験には、1本のアームの長さが40cm、壁の高さ12cm、床幅3cm、上部幅10cmの3本のアームがそれぞれ120度の角度で接続されたY字迷路を用い、常時一定の明るさになるように間接照明のみを当てた。マウ

スをアームの交差する位置に置き、その後8分間にわたって装置内を自由に散策させ、移動したアームの位置を移動した順に記録した。マウスが測定時間内にアームに移動した回数をtotal arm entriesとした。つぎに、連続して異なる三つのアームを選択した組み合わせを調べ、この数をno. of alternationとした。No. of alternationをtotal arm entriesから2を引いた数で割り、それに100を掛けて求めた値をpercent alternationとし、これを自発的交替行動の指標とした。本学習記憶試験は6および13ヶ月齢時に行い、13ヶ月時において前回の実験の影響が無いように、異なる部屋で異なる装置を用いた(実験装置のサイズや色、部屋の明るさ等は同じ)。

- b. 新規物質認識試験 (1-5日目)

新規物質認識試験は、海馬や前頭前皮質に関連した探索嗜好学習・記憶の指標として用いられている。

実験装置・手順：中央に2種類の異なるobjectを離して設置した装置(縦30cm、横30cm、高さ35cm)

内にマウスを入れ、各objectに対する探索嗜好行動を5分間隔で10分間測定した(訓練試行)。訓練24時間後に、2種類のobjectのうち片方のobjectを全く異なった新規objectと置換し、各objectに対する探索嗜好行動を5分間隔で10分間測定した(テスト試行)。

- c. モリス水迷路試験

(陳述記憶試験 6-15日目 プローブ

テスト;15 日目)

モリス水迷路試験は、陳述記憶の指標であり、海馬依存的な学習課題である。

実験装置・手順：直径 120cmのプールに直径 7cmのプラットホームを水面より 1cm下に設置し、プールに入れられたマウスが周りの空間を手がかりにしてプラットホームに到達する時間 (escape latency) を測定した。最大観察時間は 60 秒とし、1 日 2 試行で 10 日間行った。プラットホームの位置は一定で、マウスを入れる位置は施行ごとに変えた。また、水迷路試験 10 日目終了後にプールからプラットホームを除去し、プローブテストを行った。プールを 4 区画 (Trained、Right、Opposite、Left) に分け、プールに入れられたマウスのプラットホームが設置してあった区間 (Trained) を探索する時間の割合 (percent search time) を求めた。観察時間は 60 秒とした。また、各マウス群の遊泳速度 (swimming speed) および距離 (swimming distance) を測定した。マウスを入れる位置はランダムに変えた。本学習記憶試験は 6 および 13 ヶ月齢時に行い、13 ヶ月齢時において、前回の実験の影響が無いように、異なる部屋でプラットホームの位置を変えた (実験装置のサイズや水温、部屋の明るさ等は同じ)。

d. 恐怖条件付け学習試験

恐怖条件付け学習試験は恐怖 (電気ショック) に条件づけられた刺激 (音および環境) に対してのフリー

ジング (無動) を指標とした音刺激学習および文脈学習を評価するものである。文脈学習は扁桃体と海馬機能に依存し、音刺激学習では扁桃体機能にのみ依存する。

床がグリッドからなる装置 (訓練ケージ) に入れ、2 分間無動時間を測定し、その後マウスを訓練時に用いる測定ケージとは異なるケージ (ニュートラルケージ) に入れ、1 分間無動時間を測定した。その後、訓練ケージに入れ、80 dBの音刺激を 15 秒間呈示し、その最後の 5 秒間に 0.6 mA の電気刺激を与える作業を、連続して 4 回行った。24 時間後、再び訓練ケージに入れ、2 分間の無動時間 (freezing time) を測定した (電気および音刺激なし; 文脈学習)。その後、ニュートラルケージに入れ、1 分間の音刺激 (80 dB) を与えている間のfreezing timeを測定した (音刺激学習)。恐怖条件付け学習試験は 13 ヶ月齢時に行った。

検定

自発的交替行動試験、新規物質認識試験、プローブ試験および恐怖条件付け学習試験におけるデータの統計解析は、一元配置分散分析 (one-way ANOVA) を行った後、Student-Newman-Keuls test を用いて行った。6 ヶ月齢における自発的交替行動試験のデータの統計解析は、Student's t-test を用いて行い、モリス水迷路試験の陳述記憶試験におけるデータの統計解析は、繰り返しのある二元配置分散分析 (repeated two-way

ANOVA) を用いて行った。いずれの検定においても、危険率5%以下で差が認められる場合を有意差ありと判定した。

4. 老齢サルへの経口ワクチン投与

推定年齢20歳以上のアフリカミドリザルの雌サル12頭を3群に分けて経口ワクチンを投与した。各群、分泌型Aβ発現アデノ随伴ウイルスベクター投与群2頭とコントロールのGFP発現アデノ随伴ウイルスベクター(GFP/rAAV)投与群2頭に分類した。そして3, 6, 12ヶ月後に解剖した。さらにカニクイザル10頭(治療群5頭、コントロール群5頭)にも経口ワクチン投与し、6ヶ月後の脳アミロイド沈着を検索した。アフリカミドリザル・カニクイザルは、国立感染症研究所霊長類センターより入手した。

5. 経口ワクチン投与サルの血清中の抗Aβ抗体の検出

Aβ42 ペプチド(5 μg/ml)を96 well plate (Nunc, MaxiSorp)の各wellに付着させ、5% non-fat milk/TBS-T buffer でブロック後、アデノ随伴ウイルスを投与したアフリカミドリザ

ルより採取した血清(前、4週、8週)を加え(1000倍希釈)、peroxidase 標識抗サル IgG 抗体(2000倍希釈)で検出した。測定は、ELISAリーダーで吸光度(O. D. 450)を測定した。

6. 免疫組織染色

組織中のAβ蛋白や老人斑を検出するために、70% formic acid で処理し、5% H₂O₂ で内因性の peroxidase 活性を失活させた。抗Aβ抗体(4G8:1000倍希釈)と反応させた後、peroxidase 標識2次抗体を加え、DAB 染色を行った。

倫理面への配慮

動物、特にマウスに対する実験は、当国立長寿医療センター研究所動物実験施設の倫理規定に基づき、動物に対して苦痛を軽減する投与方法、および安楽死後の処置を行った。遺伝子の構築および遺伝子導入した培養細胞の樹立に関する実験は、当国立長寿医療センター研究所の組み換えDNA 安全委員会の承認(P2 規制レベル)を得た。

C. 研究結果

(a) マウス高次脳機能解析

(1) 自発的交替行動試験

6および13ヶ月齢のAPPトランスジェニックマウスのY迷路試験における作業記憶能を調べたところ、各月齢のAPPトランスジェニックマウスのpercent alternationは、ノントランスジェニックマウスのそれと比べて有意に低下しており、作業記憶の障害が認められた。10ヶ月齢時にワクチンを投与したAPPトランスジェニックマウスではpercent alternationの低下は認められず、作業記憶の障害が改善された。各月齢のAPPトランスジェニックマウスのtotal arm entriesは、ノントランスジェニックマウスのそれと有意な差は認められなかった（データ示さず）。したがって、各月齢のAPPトランスジェニックマウスに認められた作業記憶の障害は、運動機能の障害によるものではないと示唆される。

(2) 新規物質認識試験

新規物質認識試験の訓練試行時には、各月齢におけるマウスは、各objectに対して約50%の割合で探索嗜好行動(exploratory preference)を示した。テスト試行において各月齢のノントランスジェニックマウスでは、新規objectに対するexploratory preferenceが有意に増加した。6ヶ

月齢のAPPトランスジェニックマウスでは、新規objectに対するexploratory preferenceは有意に増加していた。10ヶ月齢時には新規objectに対するexploratory preferenceは有意に増加していたが、ノントランスジェニックマウスのそれに比べ有意に低下しており、新規物質認識学習の障害が認められた(Fig. 2B)。13ヶ月齢のAPPトランスジェニックマウスでは、新規objectに対するexploratory preferenceに有意な増加が認められず、顕著な認知障害が認められた。10ヶ月齢のAPPトランスジェニックマウスにワクチンを投与し、13ヶ月齢時に新規物質認識試験を行ったところ、非ワクチン投与APPトランスジェニックマウスのそれよりも有意に増加しており、認知障害が改善された。各月齢時の各マウスの全探索行動時間(total approach time)に有意な差は認められなかったため（データ示さず）、10および13ヶ月齢のAPPトランスジェニックマウスに認められた新規物質認識学習障害は、運動もしくは情動機能の障害によるものではないと示唆される。

(3) モリス水迷路試験（陳述記憶実験）

モリス水迷路試験において6ヶ月齢

の APP トランスジェニックマウスのプラットホームへの escape latency は、ノントランスジェニックマウスと同様に短縮し、空間認知障害は認められなかった。13 ヶ月齢の APP トランスジェニックマウスでは、プラットホームへの escape latency はノントランスジェニックマウスに比べ有意に延長し、陳述記憶障害が認められた。10 ヶ月齢時にワクチンを投与した APP トランスジェニックマウスでは、APP トランスジェニックマウスの非ワクチン投与群のそれと比べ有意な短縮が認められ、陳述記憶障害が改善された。プローブ試験において、6 ヶ月齢の APP トランスジェニックマウスではノントランスジェニックマウスと同様にプラットホームが設置してあった区間 (trained quadrant) における percent search time が他の quadrant のそれに比べ有意な増加が認められた。13 ヶ月齢時においてもノントランスジェニックマウスでは trained quadrant における percent search time は他の quadrant に比べ有意に増加していたが、APP トランスジェニックマウスではそのような有意な増加が認められなかった。10 ヶ月齢時にワクチンを投与した APP トランスジェニックマウスでは 13 ヶ月齢時において、trained quadrant における percent

search time が他の quadrant に比べて有意に増加が認められた (Fig. 6)。各月齢時における swimming speed にはいずれの群においても有意な差は認められなかった (データ示さず)、13 ヶ月齢の APP トランスジェニックマウスに認められた escape latency の延長やプローブ試験における trained quadrant に対する percent search time の増加は海馬機能の異常に伴う、陳述記憶が障害されたことによるものと示唆される。

(4) 恐怖条件付け学習試験

恐怖条件付け学習試験を 13 ヶ月齢の APP トランスジェニックマウスにおいて行ったところ、訓練ケージ内の freezing time は、ノントランスジェニックマウスのそれに比べ有意に短縮され、文脈学習の障害が認められた。10 ヶ月齢時にワクチンを投与した APP トランスジェニックマウスでは 13 ヶ月齢において非ワクチン投与群と比べ有意な延長が認められ (Fig. 7A)、文脈学習障害が改善された。ニュートラルケージにおける freezing time はすべての群において有意な差が認められなかった。これらマウスにおいて電気刺激に対する応答性には有意な違いは認められなかった (データ示さず)、13 ヶ月齢の APP トランスジェニックマウスに認められた訓練ケージ内での freezing time

の減少は文脈学習が障害されたことによるものと示唆される。しかし、ニュートラルケージにおけるfreezing timeは13ヶ月齢のAPPトランスジェニックマウスは他群のマウスと比べ有意な差が認められないため、音刺激学習は正常であると示唆され、APPトランスジェニックマウスで認められた文脈学習における障害は、海馬機能の低下によるものと示唆された。

(b) 老齢のアフリカミドリザルに対する経口ワクチンの効果

1. アフリカミドリザルの剖検所見を記す。

1) 動物番号 G-4 (体重: 2.60kg・脳重量: 48.581g)

・左腎: 白色結節 (5mm程度、2箇所) 及びのう胞 (1mm程度)

・右腎: のう胞 (1-2mm程度、表面に散在)

・左肺: 癒着 (左肺上部が胸膜と癒着)

・左右肺: 気腫

・右下顎リンパ節 (右下顎部に10mm程度の白色のう胞あり、内容液: 粘度なし)

・大脳: 黒色変 (左右月状溝に1mm程度の黒色変あり)

2) 動物番号 G-5 (体重: 2.36kg・脳重量: 49.518g)

・肝臓: 表面粗 (肝全体)

3) 動物番号 G-6 (体重: 2.42kg・脳重量: 55.491g)

・左右腎: 退色

・左腎: 桑実状変化

4) 動物番号 G-7 (体重: 2.44kg・脳重量: 53.934g)

・十二指腸: 水疱 (胃~十二指腸結合部 (十二指腸より) に存在、5mm程度の透明水胞あり、内容液: 粘度あり)

2. アフリカミドリザル血清中の抗A β 抗体価

経口ワクチン投与により、アフリカミドリザル血清中の抗A β 抗体価は2つのパターンを示した。

1つは、投与前に比べ著しい増加はないが、4週後には上昇しており、8週後には投与前の値に下降した。

2番目のパターンは、投与群・コントロール群とも、開始前より既に高値を示し、観察期間中持続する傾向を示した。高抗体価を示す血清は、A β ペプチド以外の未同定の蛋白に交差反応している可能性も考えられる。

3. 老人斑免疫組織染色

成熟型老人斑 (mature senile plaques) とびまん型老人斑 (diffuse senile plaques) を認める。小血管に沈着したアミロイド β 蛋白も認められる。

アフリカミドリザルの前頭葉では、コントロール群および治療群とも老人斑の数は比較的少数であるが、コントロール群では神経細胞内 A β 蛋白沈着が有意に増加していた。

アフリカミドリザルの頭頂葉では、治療群 G-4 サルに老人斑がやや目立つが、コントロール群においても老人斑の形成や、神経細胞内 A β 蛋白沈着が多く認められた。

治療群 G-5 サルでは、殆どアミロイド β 蛋白の沈着は認められない。

アフリカミドリザル側頭葉のアミロイド β 染色を示す。治療群 G-4 サルにアミロイド β 蛋白の沈着は軽微である。治療群 G-5 サルでは、殆どアミロイド β 蛋白の沈着は認められない。一方、コントロール群では、老人斑の形成や、神経細胞内 A β 蛋白沈着が目立つ。

アフリカミドリザル後頭葉では、コントロール群において老人斑の形成や、著明な神経細胞内 A β 蛋白沈着が認められる。治療群では、小さな

老人斑の形成を認めるのみで、神経細胞内 A β 蛋白沈着の所見は認められない。

アフリカミドリザル小脳においては、ヒトと同様に小脳プルキンエ細胞層にアミロイド β 蛋白が1列に沈着し、プルキンエ細胞層・顆粒層においては老人斑の形成が認められる。コントロール群に比べ、治療群では小脳プルキンエ細胞層のアミロイド β 蛋白沈着は少なく、顆粒層の老人斑も著明に減少していた。

アフリカミドリザルの半脳前額断を5つのブロックに分けて、各ブロックの老人斑の数を計測した(図8)。前頭葉、頭頂葉、海馬の老人斑数は経口ワクチン投与により明らかな減少が認められた。

さらにカニクイザルに経口ワクチン投与6ヶ月後の治療効果を解析した。

治療群においては、アミロイド沈着がコントロール群に比べ有意に減少していた。

D. 考察

アルツハイマー病の A β ワクチン療法は、免疫学的手法（抗体）を用いて自己蛋白である蓄積したアミロイドベータ蛋白を除去しようとする治療法であり、新しい治療ストラテジーの1つとして大変注目されている。

アルツハイマー病の病理学的所見として、神経細胞の萎縮・脱落、アミロイド β (amyloid- β , A β) 蛋白の凝集・沈着による老人斑の形成、異常タウ蛋白からなる神経原繊維変化 (neurofibrillary tangles: NFT) の3つが大きな特徴である。アミロイド β 蛋白は、21番染色体上にあるアミロイド前駆蛋白 (APP) から、 β および γ セクレターゼにより切断されてできた40~42 (43) 個のアミノ酸からなる蛋白である。老人斑は、細胞外に蓄積された集合体で、アミロイド β 蛋白 (A β 40, 42) を核として、その周囲を取り囲むようにミクログリア、繊維型アストログリア、異栄養神経突起で構成されている。アルツハイマー病の病態仮説として、現在ではアミロイドカスケード仮説が有力である。すなわち細胞外に分泌された A β ペプチドが不溶化し凝集・蓄積することが、アルツハイマー病の病態の本質であるという仮説である。

Selkoe 等のグループの Walsh は、A β oligomer が海馬の long term

potentiation (LTP) を抑制しているという報告をしており、さらに最近では、シナプス A β 仮説が新しく提唱された。シナプス(前)で APP から A β 42 が産生され、シナプス後膜の α -7nicotinic receptor に結合し、calcineurin や STEP46 などの蛋白を介して NMDA receptor の endocytosis を促進し、シナプスでの NMDA receptor 数が減少するため、グルタミン酸を介する神経伝達が障害されるという説も報告されている⁴⁾。

アルツハイマー病に対するワクチン療法は、Elan 社の Schenk らが、pre-aggregated A β 42 をアジュバントと共に PDAPP-Transgenic (Tg) マウスに筋肉投与し、脳アミロイド沈着が減少したという報告より始まる。Bard らは、A β に対するモノクローナル抗体 (10D5, 3D6) を PDAPP マウスの腹腔に週2回、6ヶ月間投与した (Passive transfer)。脳アミロイド斑は80%以上減少したと報告している。また彼らは PDAPP マウス脳の未固定凍結切片上にミクログリア細胞と抗 A β モノクローナル抗体を同時に加えたところ (ex vivo assay)、アミロイド斑が消失した。その機序としてミクログリア細胞の Fc-receptor mediated phagocytosis によるアミロイド除去が考えられた。

これらのアルツハイマー病のモデ

ルマウスの高次脳機能を water maze test (T型水迷路試験) を用いて解析したところ、 $A\beta$ ペプチドの免疫投与により短期記憶や空間認知機能の改善が認められたという報告もされている。

我々は、副作用の少ないワクチン療法として、アデノ随伴ウイルスベクターを用いたアルツハイマー病に対する経口内服治療法の開発を行った。腸管粘膜免疫系は、Th2 type T細胞が誘導されやすい点に着目した。アデノ随伴ウイルスベクターに $A\beta$ cDNA を組み込み、このリコンビナントアデノ随伴ウイルスを経口投与し、腸管上皮細胞に感染させる。そして $A\beta$ 抗原を腸管細胞に発現させ、腸管粘膜免疫系に抗原提示し、 $A\beta$ に対する抗体産生を誘導するのが目的である。アルツハイマー病の動物モデルである APP-Tg マウス (Tg2576) にウイルス粒子を1回のみ経口投与した。アルツハイマー病の動物モデルマウス (Tg2576) は、prion promotor 下にヒト変異型 APP を発現するトランスジェニックマウスで、加齢と共にアミロイド沈着が進み、6ヶ月齢では脳に軽度の沈着を認めるのみであるが、10ヶ月齢になると、アミロイド沈着は著明になり、老人斑の形成も認められるようになる。

12~13ヶ月齢の APP-Tg マウス脳組

織を免疫染色で詳細に検索した結果、治療したマウス脳において明らかにアミロイド沈着・老人斑形成がコントロールに比べ減少していた。他の臓器に炎症反応が起こっていないか、各臓器の組織を検索したが、最も炎症が起こりやすいと考えられる脳および腎臓を含め、諸臓器に T細胞の浸潤や炎症所見は認められなかった。

この Tg2576 マウスは、6ヶ月齢で新規物質認識試験およびモリス水迷路試験における学習・記憶機の障害が認められ、この月齢で既に $A\beta$ オリゴマーによるシナプス障害が起こっている可能性が示唆された。APP トランスジェニックマウスにおいて脳内におけるベータアミロイド ($A\beta$) が 11 から 13ヶ月齢において顕著に沈着することが報告 (*Science* 274: 99-103) されていることから、これら学習・記憶障害は加齢に伴う $A\beta$ の沈着によるものと示唆される。今回経口ワクチンを10ヶ月齢の Tg2576 マウスに投与し、13ヶ月齢で高次脳機能の改善が見られるか検討した。その結果、Y字迷路試験、新規物質認識試験、モリス水迷路試験および恐怖条件付け学習試験における学習・記憶障害は緩解された。これは、本経口ワクチンを10ヶ月齢の APP トランスジェニックマウスに投与することにより 13ヶ月齢時における $A\beta$ の沈着が認め

られなくなることが報告 (*J Alzheimers Dis* 6: 483-488) されていることから、本経口ワクチンは APP トランスジェニックマウスの加齢に伴う $A\beta$ の沈着を抑制した結果、学習・記憶障害が改善されたものと示唆された。今後、本経口ワクチンのアルツハイマー病の新しい治療薬としての可能性が期待される。

今回、さらにヒトに近い、老人斑形成が見られる老齢のアフリカミドリザル・カニクイザルに経口ワクチンを投与し、3, 6, 12ヶ月後の治療効果を解析した。

類人猿およびサルにおいても老人斑やアミロイドアンギオパチー (cerebral amyloid angiopathy; CAA) の出現については報告があるが、神経原線維変化については報告がない。サル類ではタウ蛋白の存在なしに多数の老人斑が認められる。これによりサル類での老人斑形成にはタウ蛋白の存在は必須でなく、むしろ apoE などの関与が推測されている。

カニクイザルの老人斑は、ヒトと同様に2つの型の老人斑、すなわち成熟型老人斑 (mature senile plaques) とびまん型老人斑 (diffuse senile plaques) に分類されている。カニクイザルでは、20歳以上の動物に成熟型老人斑が認められている。出現初期の20歳から30歳以上の

動物に至るまで老人斑の殆どが成熟型老人斑であり、びまん型老人斑から出現するヒトの傾向とは異なるとの報告がある。総成熟型老人斑数は、加齢とともに増加する傾向があるが、個体差も存在する。成熟型老人斑の出現分布は、初期に外側溝に沿った上及び下側頭回皮質または扁桃核を中心に出現し、加齢に伴い前頭葉、頭頂葉、後頭葉など広範な大脳皮質に観察されると報告されている。

我々は、推定年齢20歳以上のアフリカミドリザルの雌サル12頭3群に経口ワクチンを投与した。治療群2頭、コントロール群2頭に分け、3, 6, 12ヶ月後に解剖した。さらに20歳以上の雌カニクイザル10頭 (治療群5頭、コントロール群5頭) にも経口ワクチン投与し、6ヶ月後の脳アミロイド沈着を検索した。

アデノ随伴ウイルスベクターは耐酸性があるが、我々が考案した方法は、腸管粘膜免疫を用いるため、胃組織より腸管粘膜免疫の発達した小腸を中心とする部位でのウイルスベクター感染を想定している。そのため単に経口投与した場合、胃組織への感染導入が多くなるため、分泌型 $A\beta$ 発現アデノ随伴ウイルスベクター水溶液をゼラチン化し腸溶剤カプセルに詰めた薬剤の経口投与を行った。

分泌型 A β 発現アデノ随伴ウイルスベクターの経口ワクチン投与により、アフリカミドリザル・カニクイザルの脳老人斑は前頭葉、頭頂葉、海馬において有意に減少傾向を示した。さらに著明な変化は、神経細胞内 A β 蛋白に見られ、コントロール群では、神経細胞内 A β 蛋白沈着の所見が多く認められたが、治療群では激減していた。小脳プルキンエ細胞層のアミロイド β 蛋白沈着や、プルキンエ細胞層・顆粒層の老人斑の形成は、経口ワクチン投与により改善を示した。

E. 結論

アルツハイマー病の動物モデルマウスである APP トランスジェニックマウス(Tg2576)は、6ヶ月齢で自発交替行動の障害が認められ、この月齢で既に A β オリゴマーによるシナプス障害が起こっている可能性が示唆された。

経口ワクチンを10ヶ月齢の Tg2576 マウスに投与し、13ヶ月齢で高次脳機能の改善が見られるか検討した。その結果、Y字迷路試験、新規物質認識試験、モリス水迷路試験および恐怖条件付け学習試験における学習・記憶障害は緩解された。

老齢サルに経口ワクチン投与により、神経細胞内 A β 蛋白沈着が激減し、前頭葉・頭頂葉・海馬のアミロイド β

蛋白沈着や老人斑の減少などの改善を示した。アデノ随伴ウイルスベクターを用いた経口ワクチン療法は、脳炎などの副作用もなく、アルツハイマー病に対して有効な治療法と考えられる。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

欧文原著

1. Yamada, K., Takayanagi, M., Kamei, H., Nagai, T., Dohniwa, M., Kobayashi, K., Yoshida, S., Ohhara, T., Takauma, K. and Nabeshima, T.: Effects of memantine and donepezil on amyloid β -induced memory impairment in a delayed-matching to position task in rats. *Behav. Brain Res.*, 162, 191-199 (2005)
2. Mizuno, T., Kuno, R., Nitta, A., Nabeshima, T., Zhang, G., Kawanokuchi, J., Wang, J., Jin, S., Takeuchi, H. and Suzumura, A.: Protective effects of nicergoline against neuronal cell death induced by activated microglia and astrocytes. *Brain Res.*, 1066, 78-85 (2005)
3. Nagai, T., Kamei, H., Ito, M., Hashimoto, K., Takuma, K., Nabeshima, T. and Yamada, K.: Modification by the tissue plasminogen activator-plasmin system of morphine-induced dopamine release and hyperlocomotion, but not antinociceptive effect in mice. *J. Neurochem.*, 93, 1272-1279 (2005)
4. Kato, S., Tsuzuki, Y., Hokari, R., Okada, Y., Miyazaki, J., Matsuzaki, K., Iwai, A., Kawaguchi, A., Nagao, S., Itoh, K., Suzuki, H., Nabeshima, T. and Miura, S.: Role of nociceptin/orphanin FQ (Noc/oFQ) in murine experimental colitis. *J. Neuroimmunol.*, 161, 21-28 (2005)
5. Ishikawa, K., Kajita, Y., Hasegawa, Y., Noda, Y., Yoshida, J. and Nabeshima, T.: Irinotecan therapy in a 12-year-old girl with recurrent brain stem glioma and without functional polymorphisms in UGT1A1 activity: case report. *J. Neurooncol.*, 74, 283-286 (2005)
6. Enomoto, T., Osugi, T., Satoh, H., McIntosh, T.K. and Nabeshima, T.: Pre-injury magnesium treatment prevents traumatic brain injury-induced hippocampal ERK activation, neuronal loss, and cognitive dysfunction in the radial-arm maze test. *J. Neurotrauma*, 22, 783-792 (2005)
7. Ito, Y., Ando, T. and Nabeshima, T.: Latent copper deficiency in patients receiving low-copper enteral nutrition for a prolonged period. *J. Parenter. Enteral Nutr.*, 29, 360-366 (2005)
8. Shin, E.J., Jhoo, J.H., Nabeshima, T., Jhoo, W.K., Kwon, M.S., Lim, Y.K., Chae, J.S., Jung, M.E., Park, S.J., Jang, K.J. and Kim, H.C.: Growth hormone releaser attenuates β -amyloid (1-42)-induced memory impairment in mice. *J. Pharmacol. Sci.*, 99, 117-120 (2005)
9. Enomoto, T., Noda, Y., Mouri, A., Shin, E.J., Wang, D., Murai, R., Hotta, K., Furukawa, H., Nitta, A., Kim, H.C. and Nabeshima, T.: Long-lasting impairment of associative learning is correlated with a dysfunction of *N*-Methyl-D-aspartate-extracellular signaling-regulated kinase signaling in mice after withdrawal from repeated administration of phencyclidine. *Mol. Pharmacol.*, 68, 1765-1774 (2005)
10. Matsuoka, Y., Furuyashiki, T., Yamada, K., Nagai, T., Bito, H., Tanaka, Y., Kitaoka, S., Ushikubi, F., Nabeshima, T. and Narumiya, S.: Prostaglandin E receptor EP1 controls impulsive behavior under stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102, 16066-16071 (2005)
11. Mouri, A., Zou, L.B., Iwata, N., Saido, T.C., Wang, D., Wang, M.W., Noda, Y. and Nabeshima, T.: Inhibition of neprilysin by thiorphan (i.c.v.) causes an accumulation of amyloid beta and impairment of learning and memory. *Behav. Brain Res.*, 168, 83-91 (2006)
12. Yan, Y., Nitta, A., Mizoguchi, H., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Relapse of methamphetamine-seeking behavior in C57BL/6J mice demonstrated by a reinstatement procedure involving intravenous self-administration. *Behav. Brain Res.*, 168, 137-143 (2006)
13. Chen, L., Yamada, K., Nabeshima, T. and Sokabe, M.: $\alpha 7$ Nicotinic acetylcholine receptor as a target to

- rescue deficit in hippocampal LTP induction in β -amyloid infused rats. *Neuropharmacology*, 50, 254-268 (2006)
14. Kamei, H., Nagai, T., Nakao, H., Togan, Y., Takayanagi, M., Takahashi, K., Kobayashi, K., Yoshida, S., Maeda, K., Takuma, K., Nabeshima, T., and Yamada, K.: Repeated methamphetamine treatment impairs recognition memory through a failure of novelty-induced ERK1/2 activation in the prefrontal cortex of mice. *Biol. Psychiatry*, in press.
 15. Ishikawa, K., Nitta, A., Mizoguchi, H., Mohri, A., Murai, R., Miyamoto, Y., Noda, Y., Kitaichi, K., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Effects of single and repeated administration of methamphetamine or morphine on neuroglycan C gene expression in the rat brain. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, in press.
 16. Chen, X., Nitta, A., Ohya, S., Zhao, Y., Ozawa, N., Mouri, A., Ibi, D., Wang, L., Suzuki, M., Saito, K., Ito, Y., Kawagoe, T., Noda, Y., Ito, Y., Furukawa, S. and Nabeshima, T.: An analogue of dipeptide-like structure of FK506 increases GDNF expression through CREB activated by Hsp90/Akt signaling pathway. *J. Neurosci.*, in press.
 17. Zou, L.-B., Mouri, A., Iwata, N., Saido, T.C., Wang, D., Wang, M.-W., Mizoguchi, H., Noda, Y. and Nabeshima, T.: Inhibition of neprilysin by infusion of thiorphan into the hippocampus causes an accumulation of amyloid β and impairment of learning and memory. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, in press. [online 2005.12]
 18. Yamaguchi, Y., Miyashita, H., Tsunekawa, H., Mouri, A., Kim, H.C., Saito, K., Matsuno, T., Kawashima, S. and Nabeshima, T.: Effects of a novel cognitive enhancer ZSET1446, spiro[imidazo[1,2-a]pyridine-3,2-indon]-2(3H)-one, on learning impairments induced by amyloid- β 1-40 in the rat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, in press.
- 欧文総説
1. Ishikawa, K., Yamamoto, M., Kishi, D.T. and Nabeshima, T.: New prospective payment system in Japan. *Am. J. Health-Syst. Pharm.*, 62, 1617-1619 (2005)
 2. Hamed, S.A. and Nabeshima, T.: The high atherosclerotic risk among epileptics: the atheroprotective role of multivitamins. *J. Pharmacol. Sci.*, 98, 340-353 (2005)
 3. Enomoto, T., Noda, Y. and Nabeshima, T.: Phencyclidine animal model and genetic animal model for positive symptoms, negative symptoms and cognitive dysfunction in schizophrenia. *Methods Find Exp. Clin. Pharmacol.*, in press.
- 欧文図書
1. Yamada, K., Kim, H.C., and Nabeshima, T.: Molecular mechanism of amyloid β -peptide-induced impairment of neurotransmission and memory in relation to oxidative stress. In "Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease", Ed. by Hanin, I., Cacabelos, R. and Fisher, A., The Parthenon Publishing Group, Lanlaster, in press.
 2. Itoh, A. and Nabeshima, T.: La terapéutica psicofarmacológica de los trastornos cognitivos: un reto para la psicofarmacología. (Spanish). In "Historia de la Psicofarmacología", Ed. by López-Muñoz, F., et. al., Editorial Médica Panamericana, Madrid, 967-981 (2006)
- 邦文原著
1. 石川和宏, 鍋島俊隆: (特集・包括医療制度 (DPC) における薬剤部門の役割 - 5.) 米国と比較して. *医薬ジャーナル*, 41, 1631-1636 (2005)
 2. 石川和宏, 鍋島俊隆: 西洋薬と漢方薬を安全に使うために - 洋漢統合医療に向けての薬剤師の役割 -. *科学*, 75, 799-801 (2005)
 3. 亀井浩行, 野田幸裕, 山田清文,

- 鍋島俊隆：薬物依存と前頭前野。Clinical Neuroscience (臨床神経科学), 23, 682-684 (2005)
4. 祖父江聡, 関口金雄, 鍋島俊隆：薬物動態/薬理学パラメータ解析による水虫治療薬の薬効評価 - 経口抗真菌薬の薬物動態と皮膚真菌症に対する治療効果 - . 日本薬理学雑誌, 125, 291-295 (2005)
 5. 溝口博之, 野田幸裕, 鍋島俊隆：薬物弁別試験 - 依存性薬物の自覚効果と依存形成機構の解明 - . 日本薬理学雑誌, 126, 17-23 (2005)
 6. 山田清文, 永井拓, 中島晶, 鍋島俊隆：覚せい剤および麻薬に共通する依存関連分子の検索. 日本薬理学雑誌, 126, 49-53 (2005)
 7. 毛利彰宏, 野田幸裕, 鍋島俊隆：フェンシクリジン連続投与マウスに認められる認知障害の分子機構 (研究会 Reports) . 分子精神医学, 5, 209-211, (2005)
 8. 加藤勝義, 山村恵子, 鍋島俊隆：がん化学療法. 薬局, 56, 2113-2122 (2005)
 9. 加藤勝義, 杉浦伸一, 鍋島俊隆：(特集・薬剤別処方せんチェックのポイント) カリウム製剤 - 名古屋大学医学部附属病院の取り組み事例 - . 薬局, 56, 2968-2971 (2005)
 10. 鍋島俊隆：アルツハイマー病の病態とその治療戦略. 臨床精神薬理, 8, 819-831 (2005)
 11. 溝口博之, 野田幸裕, 鍋島俊隆：生化学からみたニコチン性アセチルコリン受容体とその機能. Cognition and Dementia, 5, 19-25 (2006)
 12. 鍋島俊隆：薬剤師外来への挑戦. 第6回21世紀病院薬剤師フォーラム講演記録集, 4-23 (2006)
 13. 毛利彰宏, 野田幸裕, 溝口博之, 鍋島俊隆：グルタミン酸作動性神経系と統合失調症モデル動物. 日本薬理学雑誌, 127, 4-8 (2006)
 14. 原 英夫, 田平 武：アルツハイマー病のAβワクチン療法 中外医学社「Annual Review 神経2005」, pp96-102.
 15. 原 英夫, 田平 武：アルツハイマー病のAβワクチン療法. 脳神経疾患病態の分子生物学. 南山堂 pp165-174.
 16. 原 英夫：アルツハイマー病のAβワクチン療法. 臨床と研究 Vol. 82, No3, pp47-52, 2005.
 17. 田平 武, 原 英夫：アルツハイマー病のワクチン療法 update. 日本老年医学会雑誌編集委員会編集. 老年医学 update 2004-6. pp149-153, 2005.
 18. 原 英夫, 田平 武：アルツハイマー病の治療 - Aβワクチン療法. 基礎老化研究 29;5-9, 2005.
 19. 原 英夫：アルツハイマー病のAβワクチン療法. 臨床神経 45 ; 867-869, 2005.
 20. 原 英夫, 田平 武：Alzheimer病のAβワクチン療法. 神経治療学 22 : 769-772, 2005.
- 邦文図書**
1. 鍋島俊隆 (分担訳)：第1編総論 (第1章 - 第8章), 第9編呼吸器疾患 (第36章 - 第38章) . クリニカル・ファーマシーのための疾病解析第7版, 福地坦監訳, 医薬ジャーナル社, 大阪, 26-186, 840-916 (2005)
 2. 鍋島俊隆 (分担訳)：第1編序論, 第9編呼吸器疾患. クリニカル・ファーマシーのための疾病解析第7版付録ワークブック, 福地坦監訳, 医薬ジャーナル社, 大阪, 13-22, 114-122, 374-378 (2005)
 3. 鍋島俊隆 (分担訳)：第9編呼吸器疾患. クリニカル・ファーマシーのための疾病解析第7版付録教師用指導書, 福地坦監訳, 医薬ジャーナル社, 大阪, 48-51 (2005)
 4. 山田清文, 鍋島俊隆 (分担執筆)：基礎編第3章6節, ストレスと行動. ストレスの事典, 河野友信, 石川俊男編, 浅倉書店, 東京, 44L-46L (2005)
 5. 鍋島俊隆 (監修)：症例から学ぶ輸液療法 - 基礎と臨床応用 - 杉浦伸一編, じほう, 東京 (2005)
 6. 鍋島俊隆, 榛葉哲男 (監修)：薬学生・実習指導者のための実務実習ガイドブック. 財団法人日本薬剤師研修センター総監修, 南山堂, 東京 (2005)

国際学会発表

1. Nabeshima, T., Nakajima, A., Mizoguchi, H., Nitta, A., Noda, Y. and Yamada, K.: The brain areas related to methamphetamine dependence in rats. (symposium047 “Molecular Mechanism of Neurotoxicity and Psychosis Induced by Methamphetamine”) 8th World Congress of Biological Psychiatry (Vienna, Austria, June 28-July 3, 2005)
2. Shin, E.J., Kim, H.C., Jhoo, W.K., Lim, Y.K., Chae, J.S., Jung, M.E., Chu, D.X., Yu, D.Y., Bing, G., Kobayashi, K. and Nabeshima T.: Roles of oxidative stress in methamphetamine-induced neurotoxicity. (symposium047 “Molecular Mechanism of Neurotoxicity and Psychosis Induced by Methamphetamine”) 8th World Congress of Biological Psychiatry (Vienna, Austria, June 28-July 3, 2005)
3. Yamada, K., Nagai, T. and Nabeshima, T.: Role of tPA in methamphetamine dependence and psychosis. (symposium047 “Molecular Mechanism of Neurotoxicity and Psychosis Induced by Methamphetamine”) 8th World Congress of Biological Psychiatry (Vienna, Austria, June 28-July 3, 2005)
4. Nabeshima, T., Ishikawa, K., Nitta, A., Mizoguchi, H., Mohri, A., Murai, R., Miyamoto, Y., Noda, Y., Kitaichi, K. and Yamada, K.: Effects of single and repeated administration of methamphetamine or morphine on neuroglycan C gene expression in the rat brain. 8th World Congress of Biological Psychiatry (Vienna, Austria, June 28-July 3, 2005)
5. Nabeshima, T.(Organizer) Taiwan-Japan Joint Seminar (Nagoya, Japan, August 8, 2005)
6. Mizoguchi, H., Yamada, K., Mizuno, M., Mizuno, T., Nitta, A., Noda, Y. and Nabeshima, T.: Regulation of methamphetamine reward by ERK1/2Elk-1 signaling pathway via the activation of dopamine receptors. Taiwan-Japan Joint Seminar (Nagoya, Japan, August 8, 2005)
7. Murai, R., Noda, Y., Mouri, A., Nitta, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Involvement of glutamatergic system in emotional deficits in repeated phencyclidine-treated mice. Taiwan-Japan Joint Seminar (Nagoya, Japan, August 8, 2005)
8. Cen, X., Nitta, A., Ohya, S., Zhao, Y., Ozawa, N., Mouri, A., Ibi, D., Wang, L., Suzuki, M., Saito, K., Kawagoe, T., Noda, Y., Furukawa, S. and Nabeshima, T.: A dipeptide, Leu- I le, increases glial cell line-derived neurotrophic factor expression through CREB activated by Hsp90/Akt signaling pathway. Taiwan-Japan Joint Seminar (Nagoya, Japan, August 8, 2005)
9. Niwa, M., Nitta, A., Yamada, Y., Nakajima, A., Saito, K., Seishima, M., Shen, L., Noda, Y. and Nabeshima, T.: Involvement of GDNF and TNF- α in inhibitory effects of Leu- I le on methamphetamine-induced dependence. Taiwan-Japan Joint Seminar (Nagoya, Japan, August 8, 2005)
10. Wang, D., Noda, Y., Tsunekawa, H., Miyazaki, M., Senzaki, K., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Behavioral and neurobiochemical changes in olfactory bulbectomized rats: Antidepressive effects of sigmal receptor agonist, SA-4503. Taiwan-Japan Joint Seminar (Nagoya, Japan, August 8, 2005)
11. Mouri, A., Noda, Y., Noda, A., Nitta, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Impairment of latent learning is correlated with a dysfunction of Ca²⁺/calmodulin kinase II signaling in mice following withdrawal from repeated administration of phencyclidine. Taiwan-Japan Joint Seminar (Nagoya, Japan, August 8, 2005)
12. McInnis, M. and Nabeshima, T. (Chairperson) : Session 4 “Schizophrenia” The 21st Century Center of Excellence (COE)

- Program 3rd International Symposium on Elucidation of Pathogenesis and Therapy Development for Neurological and Psychiatric Disorders (Nagoya, Japan, December 1-2, 2005)
13. Nabeshima, T. (symposiast) and Noda, Y.: Animal model of Schizophrenia: Dysfunction of NMDA receptor-signaling in mice following withdrawal from repeated administration of phencyclidine. (symposium, Session 4 "Schizophrenia") The 21st Century Center of Excellence (COE) Program 3rd International Symposium on Elucidation of Pathogenesis and Therapy Development for Neurological and Psychiatric Disorders (Nagoya, Japan, December 1-2, 2005)
 14. Nabeshima, T. (symposiast) : Role for Tissue Plasminogen Activator-Plasmin System in the Rewarding Effects of Drugs of Abuse. (symposium, Session 4 "Therapeutic Intervention to Neurodegenerative and Psychiatric Diseases") The 3rd Takeda Science Foundation Symposium on PharmaScience (Tokyo, Japan, December 5-7, 2005)
 15. Noda, Y. and Nabeshima, T. : An animal model of Schizophrenia: Involvement of dysfunction of NMDA receptor-signaling in mice following withdrawal from repeated administration of phencyclidine. The 3rd Takeda Science Foundation Symposium on PharmaScience (Tokyo, Japan, December 5-7, 2005)
 16. Nabeshima, T. (Invited): Role of tissue plasminogen activator in drug dependence. Japan-Canada: Joint Workshop on Brain Science (Tokyo, Japan, January 18, 2006)
 17. Cen, X., Nitta, A., Ohya, S., Zhao, Y., Ozawa, N., Mouri, A., Ibi, D., Wang, L., Suzuki, M., Saito, K., Ito, Y., Kawagoe, T., Noda, Y., Ito, Y., Furukawa, S. and Nabeshima, T. (Poster presentation) : An analogue of dipeptide-like structure of FK506 increases GDNF expression through CREB activated by Hsp90/Akt signaling pathway. Japan-Canada: Joint Workshop on Brain Science (Tokyo, Japan, January 18, 2006)
 18. Niwa, M., Nitta, A., Yamada, Y., Nakajima, A., Saito, K., Seishima, M., Shen, L., Noda, Y., Furukawa, S. and Nabeshima, T. (Poster presentation) : An inducer for GDNF and TNF- α protects methamphetamine-induced reward and sensitization. Japan-Canada: Joint Workshop on Brain Science (Tokyo, Japan, January 18, 2006)
 19. Noda, Y., Zhou, Y., Wang, D., Mouri, A., Mizoguchi, H. and Nabeshima, T. : The Allosteric Potentiation of Nicotinic Acetylcholine Receptors by Galantamine Ameliorates the Cognitive Dysfunction in the Amyloid β - Treated Mice: Involvement of Dopaminergic Systems. ACNP 44th Annual Meeting (Hawaii, USA, December 11-15, 2005)
 20. Yamada, K., Nagai, T., Ito, M., Takuma, K. and Nabeshima, T. : The Role of Tissue Plasminogen Activator in Methamphetamine - Related Reward and Sensitization. ACNP 44th Annual Meeting (Hawaii, USA, December 11-15, 2005)
- 国内学会発表**
1. 鍋島俊隆 (主催) 第 20 回東海薬物治療研究会 (名古屋, 2005. 5. 28)
 2. 鍋島俊隆 (座長) : 特別講演「生活習慣病の新たな標的因子」第 20 回東海薬物治療研究会 (名古屋, 2005. 5. 28)
 3. 丹羽美苗, 新田淳美, 山田裕一郎, 斉藤邦明, 清島満, Liya S., 野田幸裕, 鍋島俊隆 : GDNF の産生誘導剤 Leu-Ile のメタンフェタミン依存抑制効果. 第 107 回日本薬理学会近畿部会 (金沢, 2005. 6. 24)
 4. 伊藤由紀, 鍋島俊隆, 小林一信 : 長期経腸栄養患者における銅欠乏症の発現と予防. 第 51 回日本薬学会東海支部総会・大会 (岐阜, 2005. 7. 2)