

5. 石川和宏, 新田淳美, 溝口博之, 毛利彰宏, 村井里菜, 宮本嘉明, 野田幸裕, 北市清幸, 山田清文, 鍋島俊隆: メタンフェタミン連続投与による脳内ニューログリカンCの発現変化. 第51回日本薬学会東海支部総会・大会(岐阜, 2005.7.2)
6. 鍋島俊隆(教育講演): 精神疾患のモデル動物行動評価. 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会(大阪, 2005.7.6-8)
7. 山田清文, 永井拓, 鍋島俊隆(シンポジウム): 薬物依存における組織プラスミノゲン活性化因子の役割. (シンポジウム5「薬物依存の分子病態」) 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会(大阪, 2005.7.6-8)
8. 笠原和起, 窪田美恵, 宮内妙子, 野田幸裕, 毛利彰宏, 鍋島俊隆, 加藤忠史: 双極性障害の動物モデル: ミトコンドリアDNA異常が神経特異的に蓄積するマウス. 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会(大阪, 2005.7.6-8)
9. 洞庭生悟, 永井拓, 高柳匡徳, 小林香奈, 田熊一敏, 鍋島俊隆, 山田清文: 空間作業記憶に関連する海馬における extracellular signal-regulated kinase のリン酸化.
10. 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会(大阪, 2005.7.6-8)
11. Yan, Y., Nitta, A., Mizoguchi, H., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Relapse of METH dependence in C57BL/6J mice demonstrated by reinstatement of self-administration. 第27回日本生物学的精神医学会・第35回日本神経精神薬理学会合同年会(大阪, 2005.7.6-8)
12. 鍋島俊隆(座長): ランチョンセミナー「ARBの薬理学-キマーゼ由来のAng IIと病態-」 医療薬学フォーラム2005/第13回クリニカルファーマシーシンポジウム(鹿児島, 2005.7.16-17)
13. 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆(シンポジウム): 愛知県病院薬剤師会の取り組み-がん治療における薬剤師の役割-. (シンポジウム2「再び, 医療安全を担保する薬剤師の役割について考える」) 医療薬学フォーラム2005/第13回クリニカルファーマシーシンポジウム(鹿児島, 2005.7.16-17)
14. 宮崎雅之, 山本雅人, 大鹿みさき, 野田幸裕, 鍋島俊隆: 眼科病棟におけるアンケートを用いた薬剤師による点眼指導の有用性. 医療薬学フォーラム2005/第13回クリニカルファーマシーシンポジウム(鹿児島, 2005.7.16-17)
15. 野田幸裕, 大鹿みさき, 千崎康司, 伊藤達雄, 亀井浩行, 鍋島俊隆: 名古屋大学病院における薬学部1年生早期体験学習. 医療薬学フォーラム2005/第13回クリニカルファーマシーシンポジウム(鹿児島, 2005.7.16-17)
16. 加藤善章, 中尾誠, 奥田真広, 鍋島俊隆: 2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic Acid (TNBS) 誘発腸炎ラットを用いた消化管の形態及び吸収機能の評価法に関する検討. 医療薬学フォーラム2005/第13回クリニカルファーマシーシンポジウム(鹿児島, 2005.7.16-17)
17. 鍋島俊隆(座長): ワークショップ・パネルディスカッション1「病院薬剤師によるくすりの適正使用とリスクマネージメントにおける役割」第55回日本病院学会(名古屋, 2005.7.18-19)
18. 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆: がん薬物療法専門薬剤師育成にむけて-愛知県病院薬剤師会の取り組み-. (ワークショップ・パネルディスカッション1「病院薬剤師によるくすりの適正使用とリスクマネージメントにおける役割」) 第55回日本病院学会(名古屋, 2005.7.18-19)
19. 杉浦伸一, 加藤勝義, 徳井健志, 三浦崇則, 小池孝治, 鈴木善貴, 吉川秀夫, 中野一子, 鍋島俊隆: 輸液・無菌製剤研究会の活動. (ワークショップ・パネルディスカッション1「病院薬剤師によるく

- すりの適正使用とリスクマネージメントにおける役割」第55回日本病院学会（名古屋，2005.7.18-19）
20. 新田淳美，丹羽美苗，曾南，伊東亜紀雄，野田幸裕，鍋島俊隆，平松正行，三輪将也：可塑的脳機能障害におけるニコチン性コリン作動性神経系の役割（Ⅲ）- ストレス誘発うつ病および学習記憶モデル動物の神経機能障害に対するニコチンの作用 - . 財団法人喫煙科学研究財団第20回平成16年度助成研究発表会（東京，2005.7.21）
 21. 山田清文，亀井浩行，永井拓，田熊一徹，鍋島俊隆：ニコチンの神経精神作用における組織プラスミンノーゲン活性化因子／プラスミンシグナルの役割. 財団法人喫煙科学研究財団第20回平成16年度助成研究発表会（東京，2005.7.21）
 22. 鍋島俊隆（主催）：第21回東海医療薬学シンポジウム（名古屋，2005.7.30）
 23. 鍋島俊隆（座長）：特別講演「長期実務実習 - 新しい薬剤師教育 -」第19回東海医療薬学シンポジウム（名古屋，2005.7.30）
 24. 鍋島俊隆（座長）：ランチョンセミナー「アルツハイマー病とニコチン性受容体」第48回日本神経化学学会大会（福岡，2005.9.28-30）
 25. 鍋島俊隆，岡野栄之（座長）：理事会企画オープンシンポジウム「オルガネラ機能異常と神経疾患」第48回日本神経化学学会大会（福岡，2005.9.28-30）
 26. 丹羽美苗，新田淳美，山田裕一郎，柴田葉子，斎藤邦明，清島満，Liya Shen，野田幸裕，鍋島俊隆：A possibility of Leu-11e as a novel therapeutic agent for morphine-induced dependence. 第48回日本神経化学学会大会（福岡，2005.9.28-30）
 27. 伊藤美奈，永井拓，亀井浩行，橋本和樹，田熊一徹，鍋島俊隆，山田清文：A role for tissue plasminogen activator/plasmin system in nicotine dependence. 第48回日本神経化学学会大会（福岡，2005.9.28-30）
 28. 鍋島俊隆：学術第3小委員会報告「高カロリー輸液の調整に関するガイドラインの策定」- 無菌調整ガイドラインおよび抗癌剤調整ガイドラインの適正化調査 - . 平成17年度日本病院薬剤師会病院薬局協議会（岡山，2005.9.30）
 29. 鍋島俊隆（座長）：特別講演Ⅱ「Advancing the role of hospital pharmacists in United States hospitals and health-systems」第15回日本医療薬学会年会（岡山，2005.10.1-2）
 30. 斎藤寛子，中野一子，鍋島俊隆（シンポジウム）：がん専門薬剤師養成への取り組みと今後の課題 - 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - .（シンポジウム14「がん専門薬剤師養成への取り組みと今後の課題」）第15回日本医療薬学会年会（岡山，2005.10.1-2）
 31. 長坂沙織，久田達也，荒川裕貴，板垣千華，神谷昌行，川出義浩，佐々木英雄，竹内麻由美，能登英子，花井里美，林雅彦，森章哉，伴晶子，中山忍，鈴木直，斎藤寛子，中野一子，鍋島俊隆：愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - 抗がん剤誘発遅延性悪心・嘔吐に対する低用量ステロイドの有用性の評価 - . 第15回日本医療薬学会年会（岡山，2005.10.1-2）
 32. 柴垣有里，遠山幸男，滝本典夫，池上信昭，手塚智子，山関智恵，古川俊子，鈴木美由紀，森健司，出口裕子，平野茂樹，森田晃代，後藤健志，小林陽子，渡辺貴志，加藤勝義，斎藤寛子，中野一子，鍋島俊隆：愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - オピオイドの嘔気に対するプロクロルペラジン先行投与の有用性 - . 第15回日本医療薬学会年会（岡山，2005.10.1-2）
 33. 新美雅規，田中希久代，丸山昌広，久野久美，滝本典夫，遠山幸男，稲垣聡美，加藤勝義，斎藤寛子，鈴木照美，中野一子，鍋島俊隆：愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み -

- 癌患者が訴える痛みの表現とオピオイドの効果 - . 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
34. 大須賀みつ子, 藤井友和, 青山明弘, 平賀八重子, 富田敦和, 小島昌代, 大野愛, 桐浴静江, 小島基嗣, 中島瑞紀, 加藤かな子, 鈴木善貴, 宮澤憲治, 花村美帆, 宮崎加奈子, 河合一志, 森定子, 河村真由美, 菅原志穂, 古谷暢介, 深津昌弘, 伊藤誠一, 山本倫久, 斎藤寛子, 足立守, 中野一子, 鍋島俊隆: 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - (1) 外来化学療法の薬学的管理を支援するツールの作成 - . 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
35. 前田美恵子, 岩田治子, 岡戸洋, 加藤さおり, 榎原秀之, 小嶋智子, 柳原隆志, 島田博之, 鈴木厚志, 鈴木生世, 塚原未央菜, 寺西二三代, 松岡加恵, 三島江津子, 山中友紀子, 横田学, 板倉由縁, 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆: 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - 多施設で使用できる癌化学療法支援ツールの作成第 3 報 - . 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
36. 山本倫久, 藤井友和, 富田敦和, 青山明弘, 平賀八重子, 小島昌代, 大野愛, 小島基嗣, 中島瑞紀, 桐浴静江, 宮澤憲治, 花村美帆, 岡本かな子, 鈴木善貴, 河村真由美, 菅原志穂, 宮崎加奈子, 河合一志, 森定子, 古谷暢介, 大須賀みつ子, 深津昌弘, 伊藤誠一, 斎藤寛子, 内田富久, 中野一子, 鍋島俊隆: 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - (2) 外来患者用化学療法パンフレットの作成とアンケートによるその評価 - . 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
37. 吉田真紀子, 杉浦伸一, 鍋島俊隆: 米国シーダーズサイナイメディカルセンター感染症薬剤師が抗菌剤適正使用に果たす役割. 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
38. 池田義明, 羽田勝彦, 前田徹, 平石弥生, 加藤知次, 森奈緒子, 南谷浄, 向原里佳, 岩井友香里, 藤吉清, 宮田完志, 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆: 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - がん化学療法支援システムの改善 - . 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
39. 羽田勝彦, 池田義明, 前田徹, 平石弥生, 加藤知次, 森奈緒子, 南谷浄, 向原里佳, 岩井友香里, 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆: オンコロジー研究会の取り組み - がん化学療法支援システム試験運用に関するアンケート調査 - . 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
40. 野田幸裕, 水谷佳代, 前田美希代, 千崎康司, 小倉庸蔵, 鍋島俊隆: 名古屋大学医学部附属病院薬剤部における新人薬剤師教育. 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
41. 千崎康司, Donald T. Kishi, Steven R. Kayser, 鍋島俊隆, 全田浩: 米国における薬学教育の取り組み. 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
42. 山根純子, 岩田智樹, 鈴木春奈, 小栗康代, 古謝悦子, 小栗さやか, 伊東亜紀雄, 梅村雅之, 木村佳且, 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆: 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み抗癌剤作用機序マップの作成 - ホルモン系薬剤編 - . 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
43. 石塚雅子, 岩田智樹, 大池真由美, 長瀬智哉, 中島文男, 伊東亜紀雄, 梅村雅之, 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆: 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み抗癌剤作用機序マップの作成 - 分子標的型抗癌剤編 - . 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005. 10. 1-2)
44. 洞庭生悟, 永井拓, 高柳匡徳, 小林香奈, 田熊一敏, 鍋島俊隆, 山田清文: 放射状迷路を用いた methamphetamine における記憶障害モデルの作製と抗精神病薬

- clozapine の効果. 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005.10.1-2)
45. 石川和宏, 前田美希代, 後藤裕美子, 高見真代, 吉田純, 鍋島俊隆: 再発性脳腫瘍の個別化薬物療法における薬剤師の役割. 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005.10.1-2)
 46. 川村郁人, 佐野吉嗣, 川合甲祐, 土井直美, 山本佳子, 金山祐子, 森田晃代, 後藤健志, 滝本典夫, 出口裕子, 平野茂樹, 山関智恵, 丸山昌広, 渡辺貴志, 田中希久代, 新美雅規, 小林陽子, 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆: 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - モルヒネの疼痛治療に関する医師の説明状況とパンフレットの評価 -. 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005.10.1-2)
 47. 佐野吉嗣, 川村郁人, 川合甲祐, 土井直美, 山本佳子, 金山祐子, 森健司, 稲垣聡美, 手塚智子, 久野久美, 遠山幸男, 池上信昭, 柴垣有里, 古川俊子, 鈴木美由紀, 加藤勝義, 板倉由縁, 斎藤寛子, 中野一子, 鍋島俊隆: 愛知県病院薬剤師会オンコロジー研究会の取り組み - モルヒネ疼痛治療パンフレットの患者アンケートによる評価 -. 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005.10.1-2)
 48. 手塚智子, 桐山典子, 石川和宏, 鍋島俊隆: 婦人科化学療法 of 副作用対策における薬剤師の役割. 第 15 回日本医療薬学会年会 (岡山, 2005.10.1-2)
 49. 鍋島俊隆 (座長): 特別講演「米国の病院及び健康システムにおける病院薬剤師の進歩」日本病院薬剤師会主催特別講演会 (東京, 2005.10.4)
 50. Dayong Wang, Yukihiro Noda, Toshitaka Nabeshima (一般講演): Behavioral and neurobiochemical changes in an olfactory bulbectomized rat model of depression: antidepressive effect of a sigmal receptor agonist, SA-4503. 第 7 回 ABC (感情・行動・認知) 研究会 (大阪, 2005.10.22)
 51. 村井里菜, 野田幸裕, 毛利彰宏, 新田淳美, 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情動障害の発現における前頭前皮質グルタミン酸伝達系の関与. 第 108 回日本薬理学会近畿部会 (西宮, 2005.11.11)
 52. 洞庭生悟, 永井拓, 高柳匡徳, 小林香奈, 田熊一敏, 鍋島俊隆, 山田清文: 放射状迷路を用いた methamphetamine 誘発性作業記憶障害モデルに対する抗精神病薬の治療効果. 第 108 回日本薬理学会近畿部会 (西宮, 2005.11.11)
 53. 鍋島俊隆 (主催) 第 5 回無菌調剤・輸液業務研究会 (名古屋, 2005.11.26)
 54. 鍋島俊隆, 野田幸裕, 村井里菜, 毛利彰宏: 情動・認知障害モデル動物における神経細胞内情報伝達系とグリア細胞の機能変化. 特定領域研究「グリア-ニューロン回路網による情報処理機構の解明」平成 17 年度成果報告会 (東京, 2006.1.10-11)
 55. 木平健治, 鍋島俊隆, 林昌洋, 松原和夫, 山本育由 (世話人) 第 6 回 21 世紀病院薬剤師フォーラム (京都, 2006.1.21)
 56. 鍋島俊隆 (講演): 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 (京都, 2006.1.21)
 57. 鍋島俊隆 (座長): パネルディスカッション 第 6 回 21 世紀病院薬剤師フォーラム (京都, 2006.1.21)
 58. 原 英夫, 田平 武; 日本神経学会総会シンポジウム SY-2; アルツハイマー病の A β ワクチン療法. (鹿児島, 2005 年 5 月 25-27 日)
 59. 原 英夫, 田平 武; 日本神経治療学会シンポジウム; アルツハイマー病の A β ワクチン療法. (三重鳥羽, 2005 年 6 月 9 日)
 60. 原 英夫; 日本神経科学大会シンポジウム; アルツハイマー病に対するウイルスベクターを用いたワクチン療法. (横浜パシフィコ, 2005 年 7 月 27 日)
 61. 田平 武, 原 英夫; 第 24 回日本痴呆学会シンポジウム; 新しいワクチン療法. (大阪 WTC コスモタワー, 2005 年 9 月 30 日)
 62. 原 英夫, 田平 武; 第 1 回長寿

医療センター国際シンポジウム、
アルツハイマー病治療薬の開発。
Mucosal immunotherapy for
Alzheimer's disease by viral
vectors. (愛知健康プラザ 11
月 3 日)

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

アルツハイマー病の治療のための組
換えアデノ随伴ウイルスベクター；
出願番号 2003-169714、平成 15 年 6
月 13 日、PTC 出願（発明者；原英夫、
田平武）。

厚生労働科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）
分担研究報告書

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

鍋島俊隆

名古屋大学大学院医学研究科医療薬学教授

研究要旨 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。この Tg2576 マウスは、6ヶ月齢で自発的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。今回 A β を発現するアデノ随伴ウイルスベクター経口ワクチンを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、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。

共同研究者

毛利彰宏

野田幸裕

(名古屋大学大学院医学研究科医療薬学)

A. 研究目的

6、10 および 13 ヶ月齢における APP トランスジェニックマウス（ヒト Amyloid precursor protein 変異遺伝子トランスジェニックマウス； Tg2576）の学習・記憶能および 13 ヶ月齢における APP トランスジェニックマウスの学習・記憶能に対する経口ワクチン（アデノ随伴ウイルスベクタ

一）の効果を評価するため、以下の行動実験を行った。

B. 研究項目

6ヶ月齢：

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：

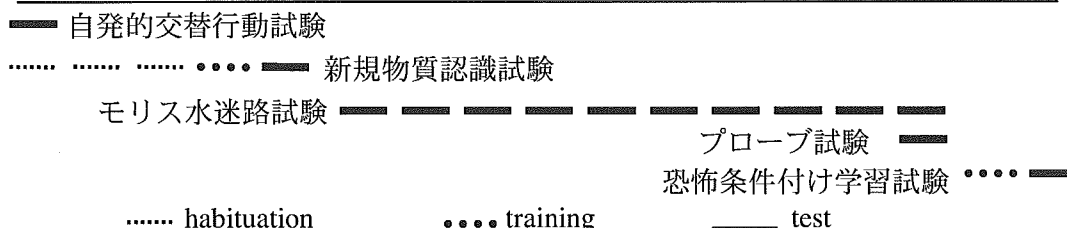
1. 自発的交替行動試験（1日目）
2. 新規物質認識試験（1-5日目）
3. モリス水迷路試験

(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)

研究スケジュール

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17



検定

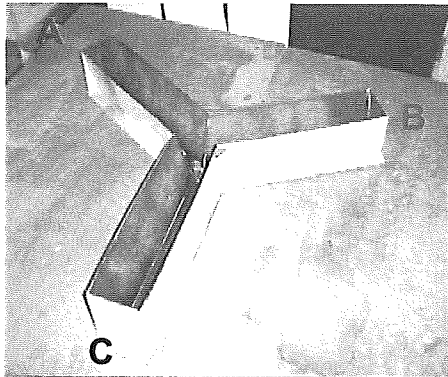
自発的交替行動試験、新規物質認識試験、プローブ試験および恐怖条件付け学習試験におけるデータの統計解析は、一元配置分散分析(one-way ANOVA)を行った後、Student-Newman-Keuls testを用いて行った。6ヶ月齢における自発的交替行動試験のデータの統計解析は、Student's t-testを用いて行い、モリス水迷路試験の陳述記憶試験におけるデータの統計解析は、繰り返しのある二元配置分散分析(repeated two-way ANOVA)を用いて行った。いずれの検定においても、危険率5%以下で差が認められる場合を有意差ありと判定した。

1. 自発的交替行動試験

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40 cm、壁の高さ12 cm、床幅3 cm、上部幅10 cm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)。

Y-maze test



Trial duration :8min

ex)

A B C A C B A B C B

Alternation Behavior (%)

$$= \frac{[\text{No. of alternation}]}{[\text{total arm entries}] - 2} \times 100$$
$$= \frac{5}{10-2} \times 100 = 62.5$$

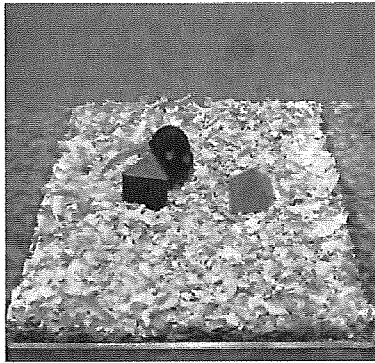
2. 新規物質認識試験

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。

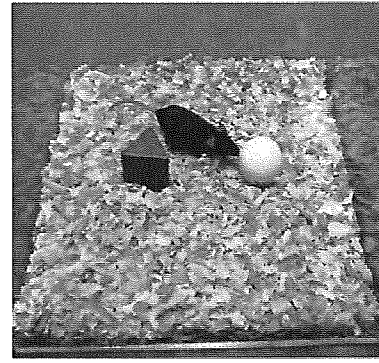
中央に2種類の異なったobjectを離して設置した装置（縦30 cm、横30 cm、高さ35 cm）内にマウスを入れ、各objectに対する探索嗜好行動を10分間測定した（訓練試行）。訓練24時間後に、2種類のobjectのうち片方のobjectを全く異なった新規objectと置換し、各objectに対する探索嗜好行動を10分間測定した（テスト試行）。本学習記憶試験は6、10および13ヶ月齢時に行い、前回の試験の影響が無いように、objectは毎回異なるものを使用した。

Novel object recognition test





Training



Retention



Trial duration (training · retention): 10min

<p>ex)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  30sec </div> <div style="text-align: center;">  28sec </div> </div> <p>Exploratory preference (%) $= \frac{[\text{approach time of } \blacktriangle]}{[\text{total approach time}]} \times 100$ $= \frac{28}{30+28} \times 100 = 48.3\%$</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  17sec </div> <div style="text-align: center;">  38sec </div> </div> <p>Exploratory preference (%) $= \frac{[\text{approach time of } \bigcirc]}{[\text{total approach time}]} \times 100$ $= \frac{38}{17+38} \times 100 = 69.1\%$</p>
---	---

3. モリス水迷路試験（陳述記憶実験）

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。

直径 120cm のプールに直径 7cm のプラットフォームを水面より 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フォームに到達する時間 (escape latency)

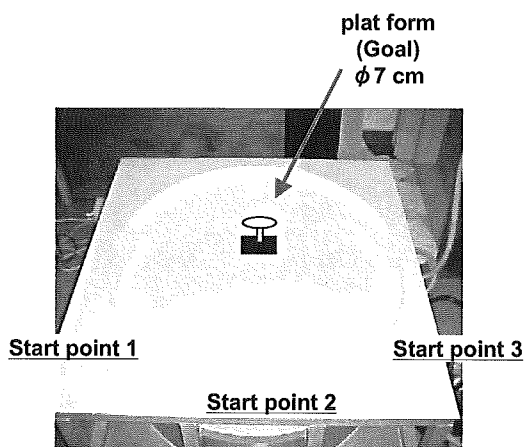
を測定した。最大観察時間は 60 秒とし、1 日 2 試行で 10 日間行った。プラットフォームの位置は一定で、マウスを入れる位置は施行ごとに変えた。また、水迷路試験 10 日目終了後にプールからプラットフォームを除去し、プローブテストを行った。プールを 4 区画 (Trained、Right、Opposite、Left) に分け、プールに入れられたマウスのプラットフォームが設置してあった区

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)。

Morris water maze test

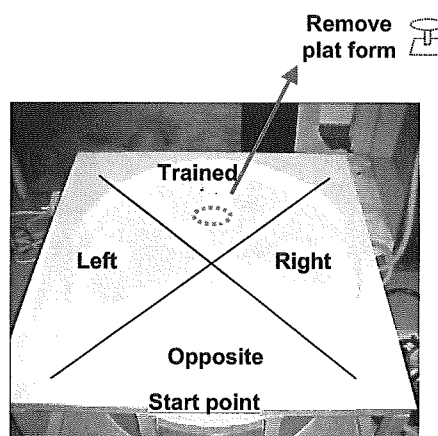
Reference memory test



Training trials

- 1 training: 60 sec
- 1 session: 2 trainings/ day
- training duration: 10 day

Probe trial



• Trial duration :60sec

• Percent search time (%)

$$= \frac{[\text{search time of area}]}{[\text{trial time}]} \times 100$$

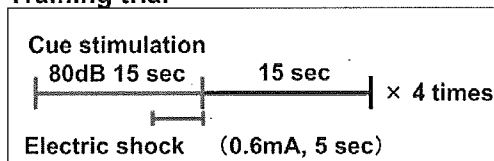
4. 恐怖条件付け学習試験

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）に対するフリージング（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

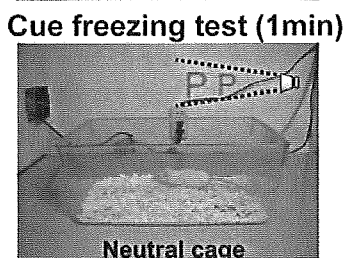
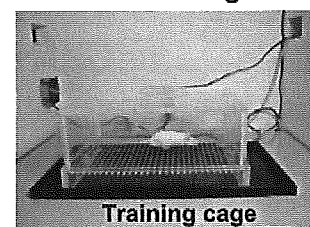
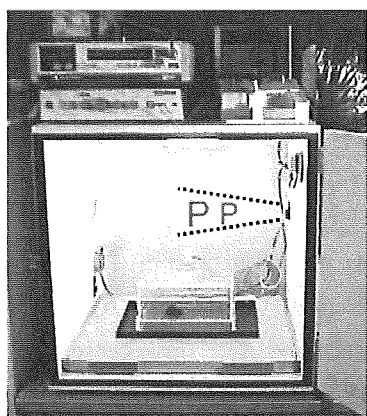
Conditioned fear learning

Training trial



Test trial

Freezing time (%)
= $\frac{[\text{freezing time}]}{[\text{trial time}]} \times 100$



Context freezing test (2min)

Cue freezing test (1min)

C. 結果

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 (Fig. 1AとB)。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 (Fig. 1B)。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。

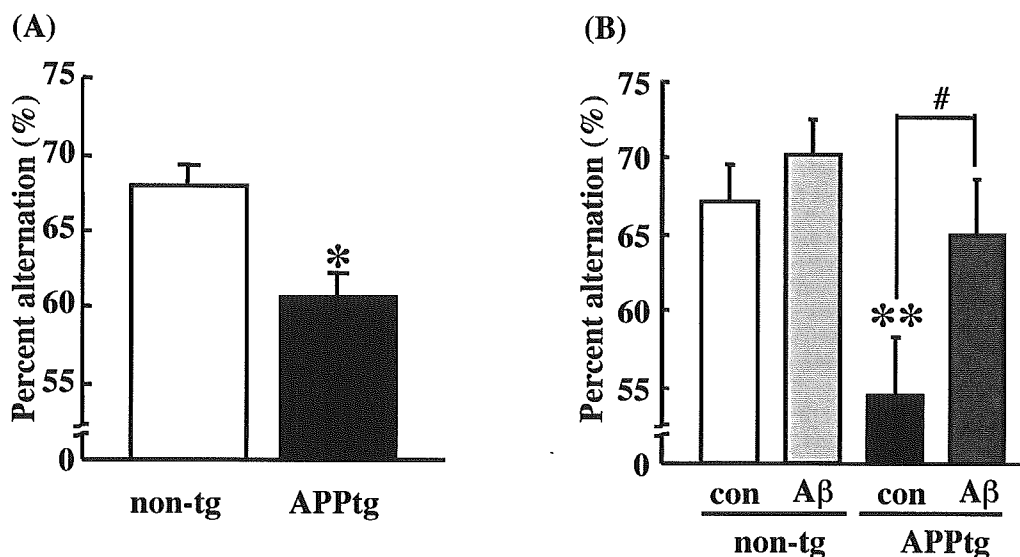
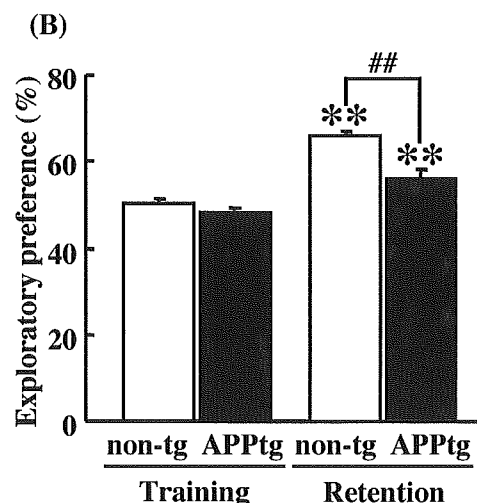
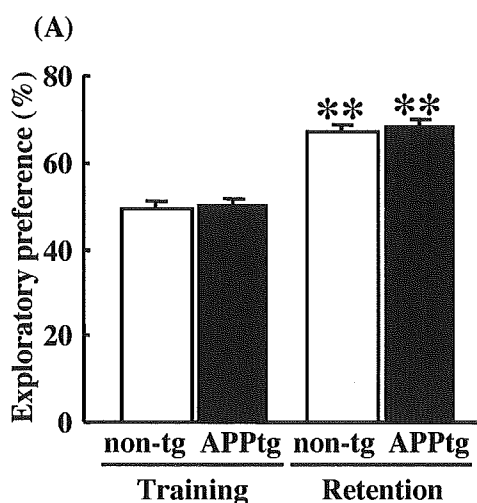


Fig. 1 Spontaneous alternation behavior in the Y-maze test. Cognitive function in APP-transgenic mice (6 months old) (A). Percent alternation during an 8-min session in the Y-maze test were measured on 6 months after birth. Values indicate means \pm s.e.mean (n= 30). *P<0.05 vs non-transgenic mice. Effect of oral vaccination with AAV/A β on cognitive function of APP transgenic mice (13 months old) (B). Spontaneous alternation behavior during an 8-min session in the Y-maze test was measured on 13 months after birth. Values indicate means \pm s.e.mean (n= 14). **P<0.01 vs control AAV vaccinated, non-transgenic mice. #P<0.05 vs control AAV vaccinated APP transgenic mice. con: control AAV vaccination, A β : AAV/A β vaccination, APPtg: APP transgenic mice, non-tg: non-transgenic mice.

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 (Fig. 2A-C)。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 (Fig. 2A-C)。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 (Fig. 2A)。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 (Fig. 2C)。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 (Fig. 2C)。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。



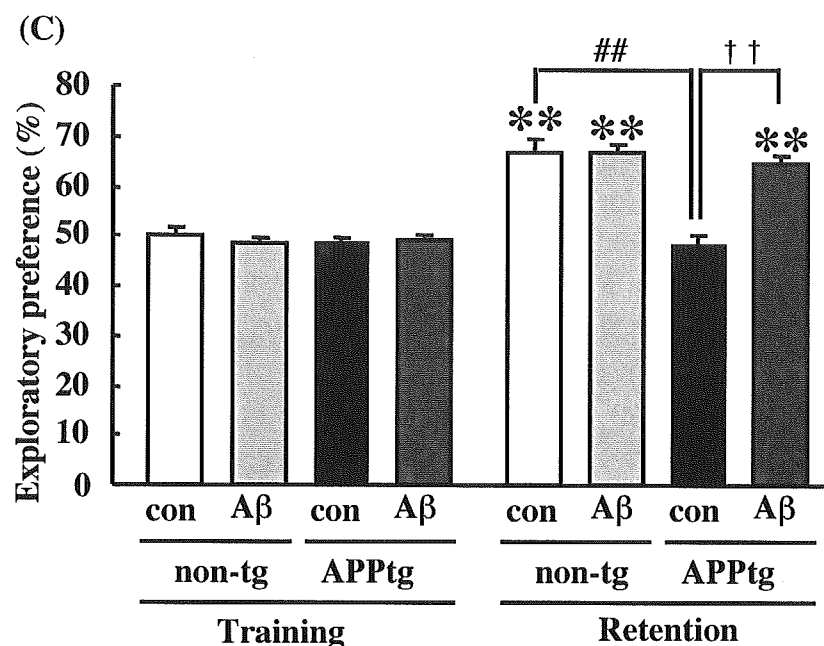


Fig. 2 Novel object recognition test. Cognitive function in APP-transgenic mice (6 and 10 months old) (A and B). Retention session was carried out 24hr after the training. Exploratory preference during a 10-min session in the novel object recognition task were measured on 6 months (A) and 10 months (B) after birth. Values indicate means±s.e.mean (n= 30). **P<0.01 vs training mice, respectively. ##P<0.01 vs trained, non-tg mice. Effect of oral vaccination with AAV/Ab on cognitive function of APP transgenic mice (13 months old) (C). Retention session was carried out 24hr after the training. Exploratory preference during a 10-min session in the novel object recognition task were measured on 13months after birth. Values indicate means±s.e.mean (n= 14). **P<0.01 vs training mice, respectively. ##P<0.01 vs trained, control AAV vaccinated non-transgenic mice. ††P<0.01 vs trained, control AAV vaccinated APP transgenic mice. con: control AAV vaccination, Aβ: AAV/Aβ vaccination, APPTg: APP transgenic mice, non-tg: non-transgenic mice.

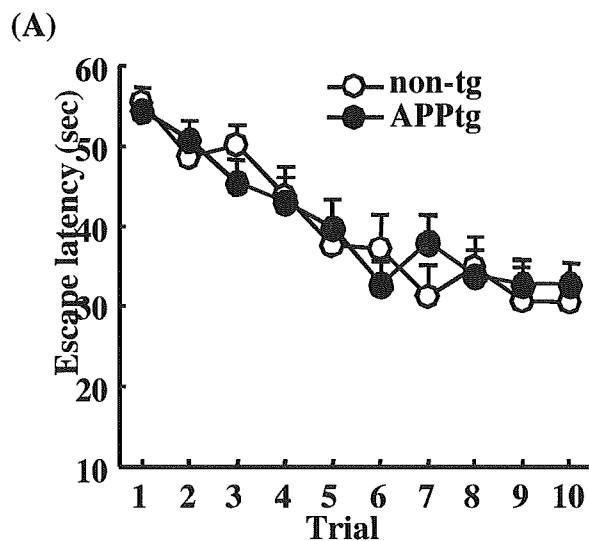
3. モリス水迷路試験 (陳述記憶実験)

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 (Fig. 3A, B)、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 (Fig. 5A, B)、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 (Fig. 5A, B)、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 (Fig. 4)。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 (Fig. 6)。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。



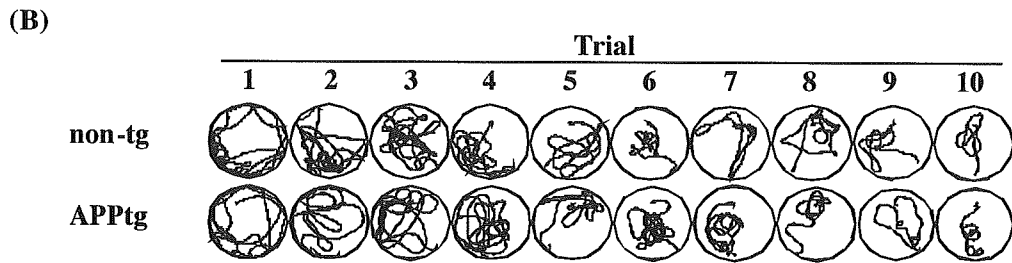


Fig.3 Cognitive function in APP-transgenic mice. Reference memory in Morris water maze test (A) Escape latency during a 60-sec session in the Water maze task were measured on 6months after birth. (B) Representative swimming paths during 10 trials. Values indicate means \pm s.e.mean (n=30). **P<0.01 vs non-tg mice. APPtg: APP transgenic mice, non-tg: non-transgenic mice.

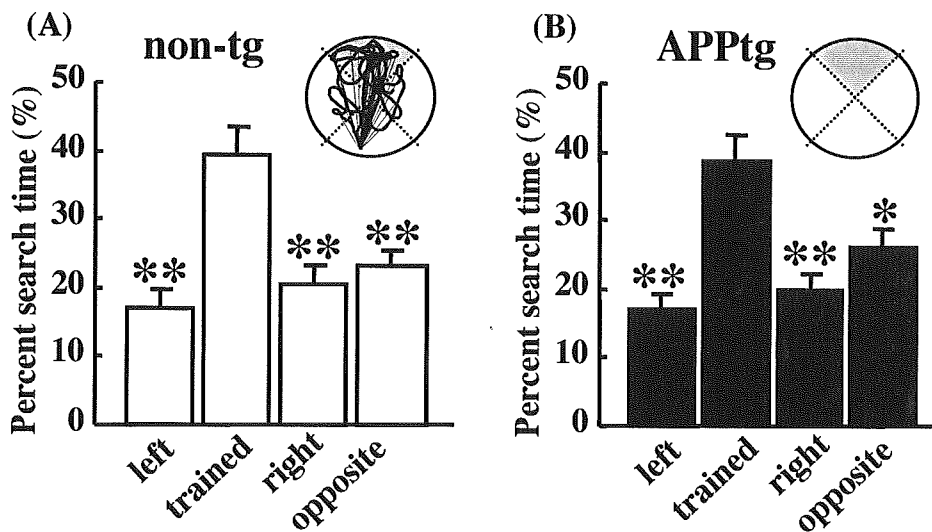


Fig.4 Cognitive function in APP-transgenic mice. Spatial memory for a platform location during the probe trial after training in reference memory of morris water maze task Percent search time during a 60-sec session in the Water maze task were measured on 6months after birth. The inset shows representative swimming path in probe trial and filled area is a target quadrant. Values indicate means \pm s.e.mean (wild; n=30, APPtg; n=30). *P<0.05, **P<0.01 vs trained quadrant, respectively. APPtg: APP transgenic mice, non-tg: non-transgenic mice.

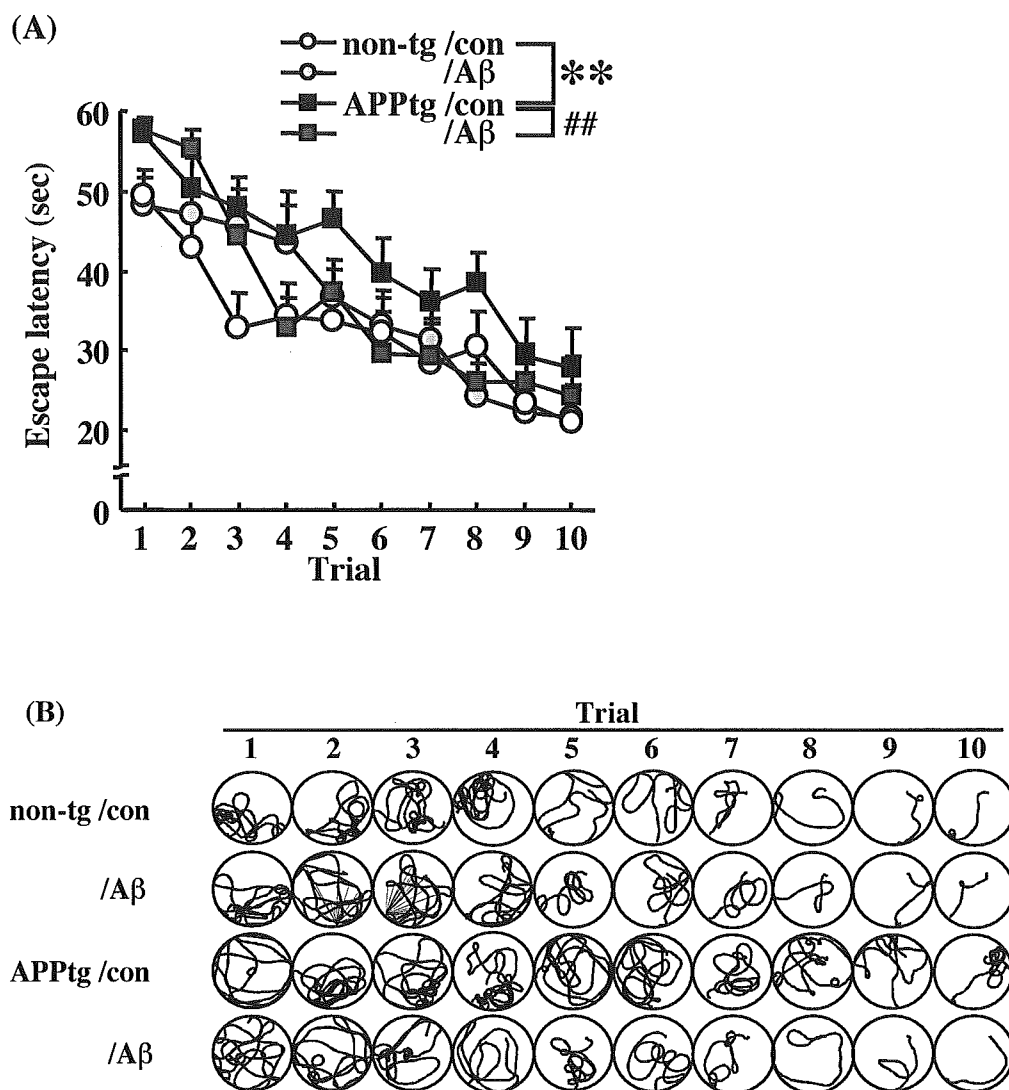


Fig.5 Effect of oral vaccination with AAV/A β on cognitive function of APP transgenic mice. Reference memory in morris water maze task (A) Escape latency during a 60-sec session in the Water maze task were measured on 13 months after birth. (B) Representative swimming paths during 10 trials. Values indicate means \pm s.e. mean (n=14). **P<0.01 vs control AAV vaccinated non-transgenic mice. ##P<0.01 vs control AAV vaccinated APP transgenic mice. con: control AAV vaccination, A β : AAV/A β vaccination, APPtg: APP transgenic mice, non-tg: non-transgenic mice.

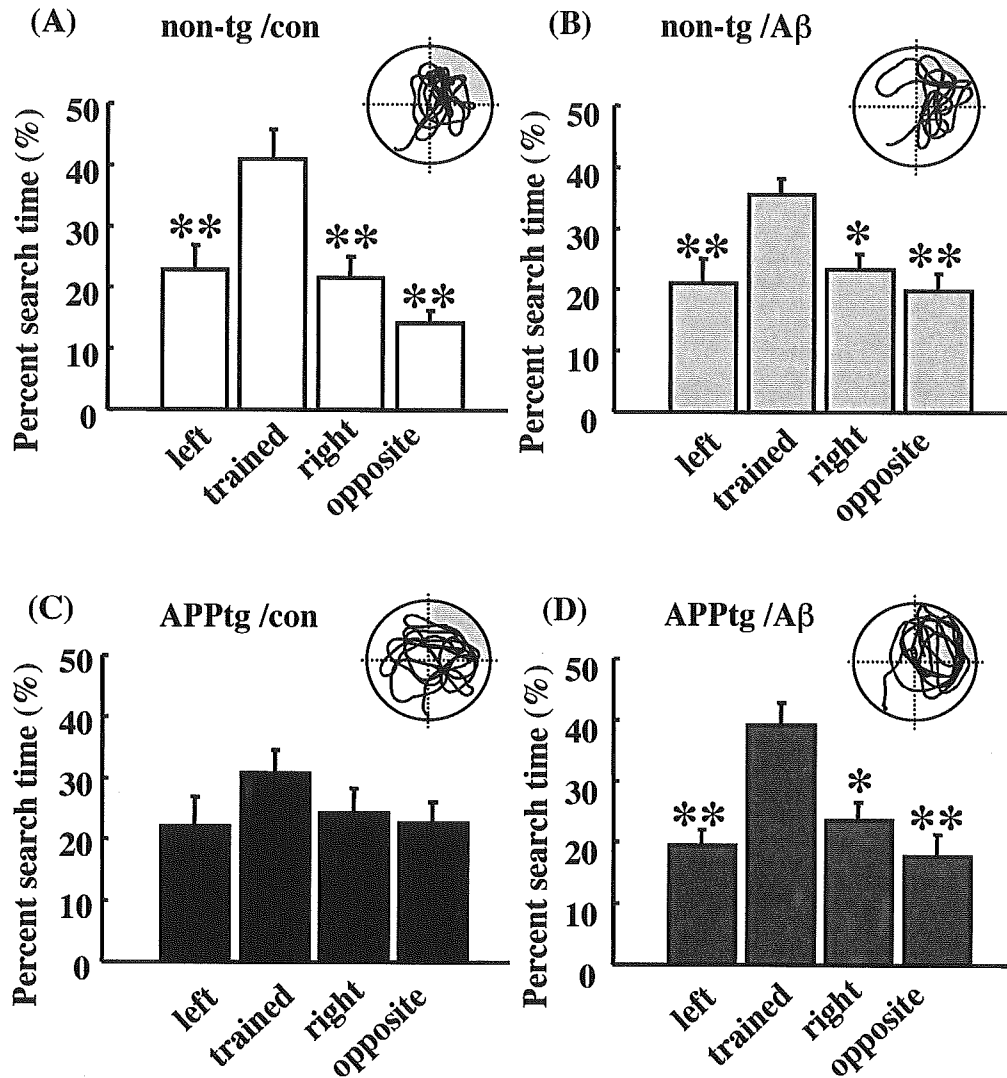


Fig.6 Effect of oral vaccination with AAV/A β on cognitive function of APP transgenic mice. Spatial memory for a platform location during the probe trial after training in reference memory of moris water maze task. Percent search time during a 60-sec session in the Water maze task were measured on 13months after birth. The inset shows representative swimming path in probe trial and filled area is a target quadrant. Values indicate means \pm s.e.mean (n= 14). **P<0.01, *P<0.05 vs search time of trained area respectively. con: control AAV vaccination, A β : AAV/A β vaccination, APPtg: APP transgenic mice, non-tg: non-transgenic mice

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 (Fig. 7A)、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 (Fig. 7B)。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。

D. 考察

結論として、加齢に伴い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。10ヶ月齢のAPPトランスジェニックマウスに経口ワクチンを処置すると、13ヶ月齢のAPPトランスジェニックマウスに認められた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。

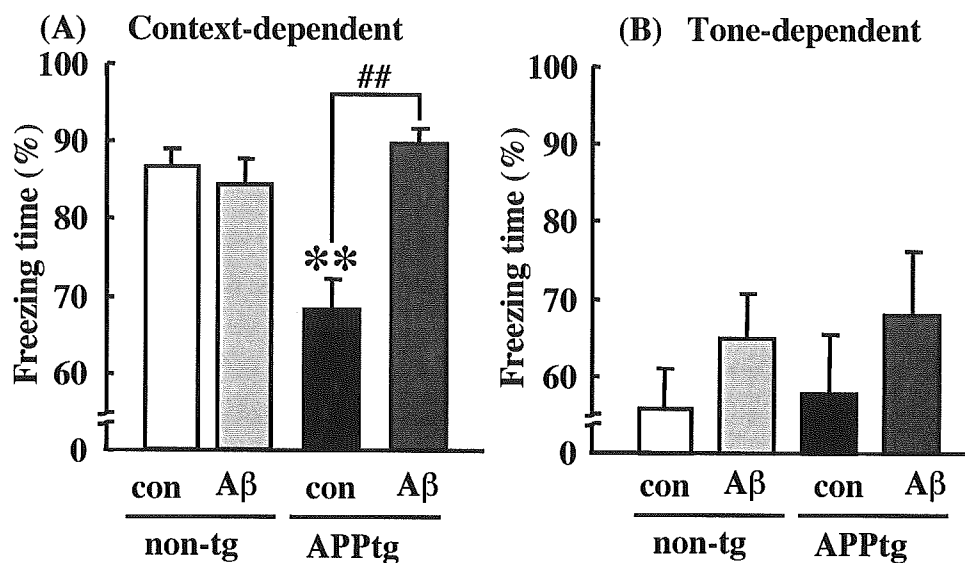


Fig.7 Effect of oral vaccination with AAV/A β on cognitive function of APP transgenic mice. Conditioned-fear learning task. Retention session was carried out 24hr after the training. Context-dependent test (A) and Cue-dependent test (B) were measured on 13 months after birth. Values indicate means \pm s.e.mean (n= 15-17) **P<0.01 vs vehicle treated, wild type mice. **P<0.01 vs control AAV vaccinated non-transgenic mice. ##P<0.01 vs control AAV vaccinated APP transgenic mice. con: control AAV vaccination, A β : AAV/A β vaccination, APPtg: APP transgenic mice, non-tg: non-transgenic