

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。

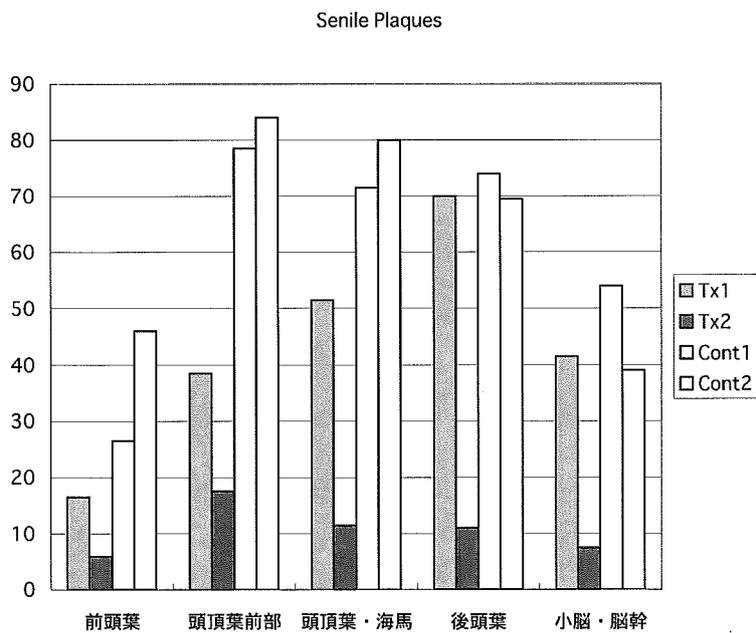
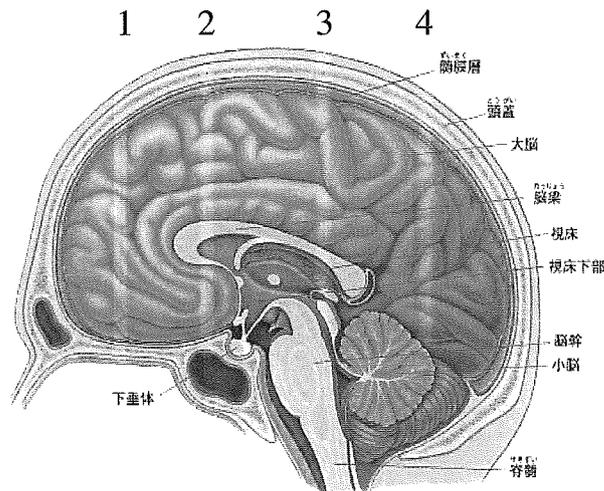


図8 経口ワクチン投与6ヶ月後、脳各断面の老人斑数。

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（図9）。

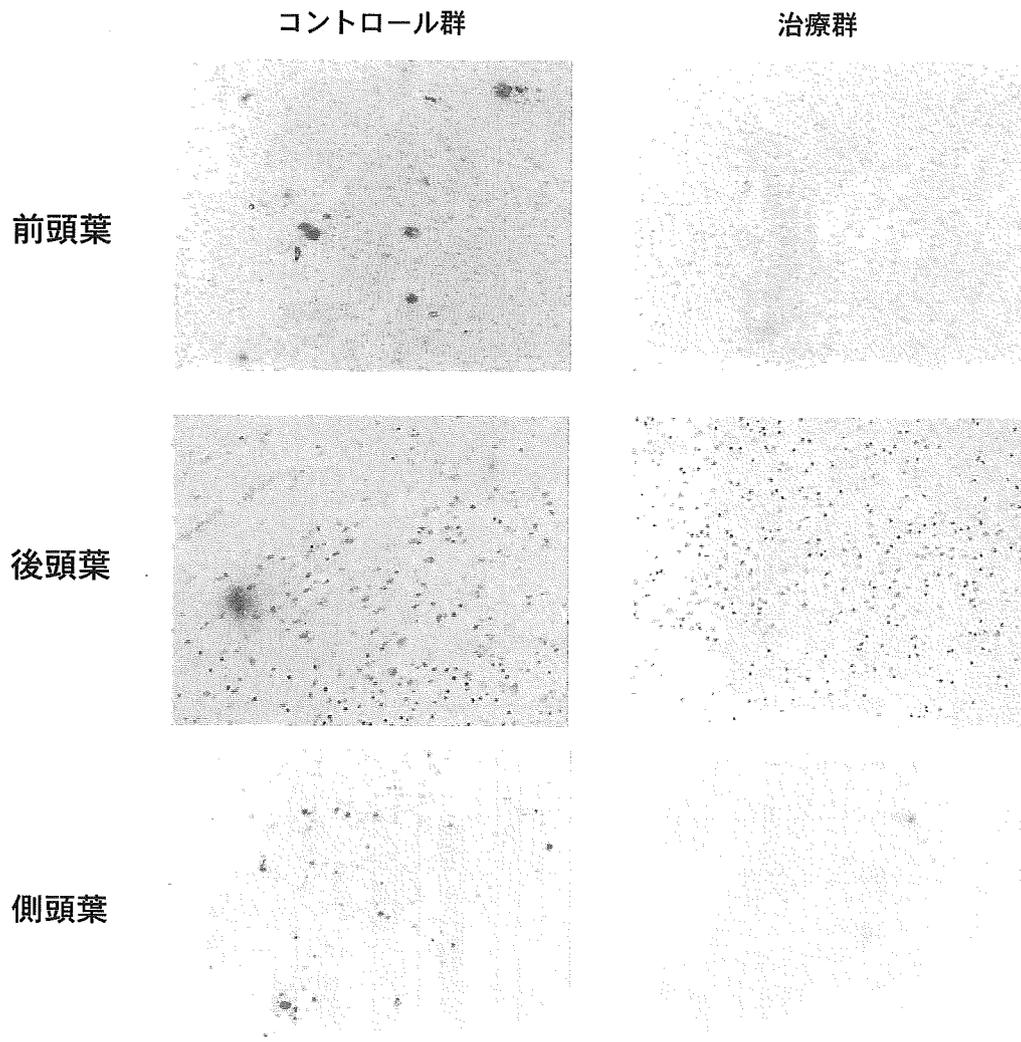
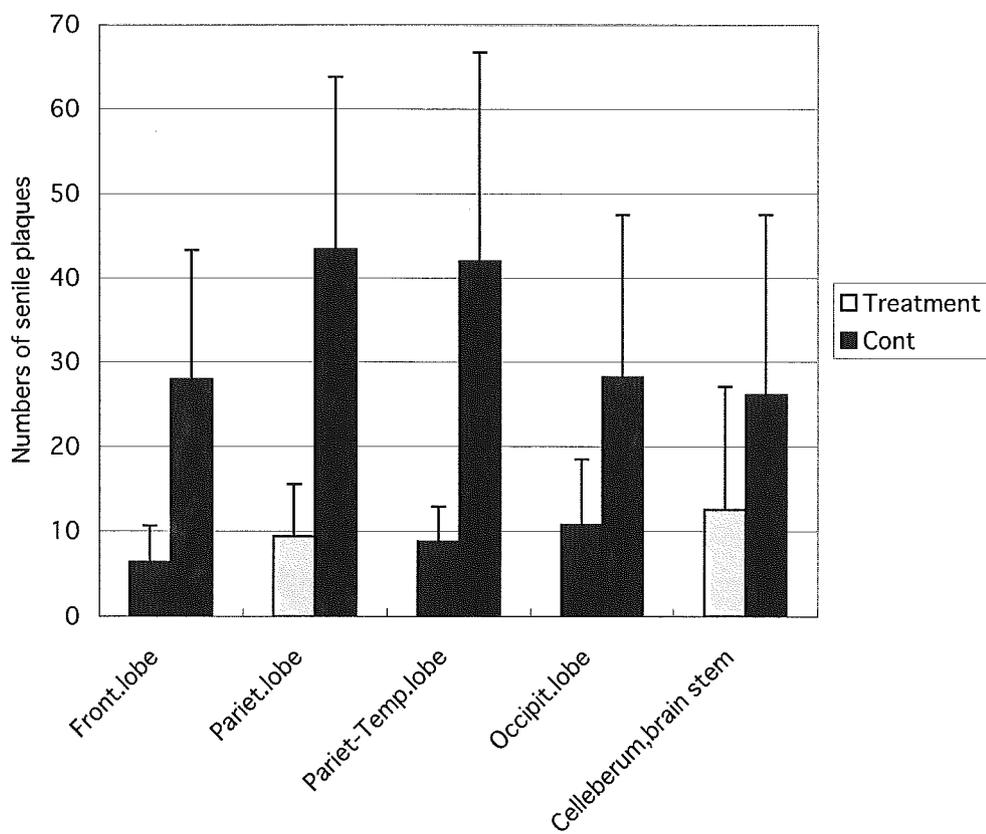


図9 老齢カニクイザルに経口ワクチン投与6ヶ月後のアミロイドβ染色。

カニクイ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10)。各グループ5頭のサルの前頭葉、頭頂葉、海馬の平均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。

図10 経口ワクチン投与6ヶ月後、カニクイザル脳各断面の平均老人斑数。



D. 考察

神経性変性疾患（アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄小脳変性症、筋萎縮性側索硬化症等）の原因は、近年かなり明らかになってきたが、詳細な発症機序は未だに不明である。これらの疾患の治療法としては、明確な発症機序の解明後に開発される根治治療が理想であるが、例え発症機序が解明されたとしても、現段階の医学・分子生物学的技術では新たな治療法を開発出来ない可能性もある。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。

我々は昨年度、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 A β を発現するアデノ随伴ウイルスベクターを経口投与し、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ることを報告した。

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 β 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。

アフリカミドリザル血清中の抗A β 抗体価は、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週には投与前の値と同等に下降した。またサルの個体差もあるが、ELISAに

て原因不明の抗A β 抗体価高値を示すサルも認められた。交差反応による可能性も考えられる。

カニクイザルでは、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るとの報告と異なり、アフリカミドリザルでは、成熟型老人斑とびまん型老人斑の両方の型が認められた。今回使用したアフリカミドリザルは、年齢不詳のサルが大部分ではあるが、脳組織では老人斑の形成が全般的に比較的少量であった。

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

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

学会発表

1. 日本神経学会総会（鹿児島、2005年5月25-27日）
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
2. 日本神経治療学会（三重鳥羽、2005年6月9日）
シンポジウム；アルツハイマー病のA β ワクチン療法、原 英夫、田平 武
3. 日本神経科学大会（横浜パシフィコ、2005年7月27日）
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。原 英夫
4. 第24回日本痴呆学会シンポジウム；新しいワクチン療法。田平 武、原 英夫（大阪 WTC コスモタワー、2005年9月30日）
5. 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。（愛知健康プラザ11月3日）

Mucosal immunotherapy for Alzheimer's disease by viral vectors

原 英夫、田平 武

論文発表

- 1 原 英夫、田平 武：アルツハイマー病のA β ワクチン療法
中外医学社「Annual Review 神経2005」、pp96-102。
- 2 原 英夫、田平 武：アルツハイマー病のA β ワクチン療法。
脳神経疾患病態の分子生物学。南山堂 pp165-174。
- 3 原 英夫：アルツハイマー病のA β ワクチン療法
臨床と研究 Vol.82, No3, pp47-52, 2005。
4. 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.
- 5 原 英夫、田平 武：アルツハイマー病の治療—A β ワクチン療法
基礎老化研究 29;5-9, 2005.

6. 原 英夫：アルツハイマー病の A β ワクチン療法
臨床神経 45 ; 867-869, 2005.
7. 原 英夫、田平 武：Alzheimer 病の A β ワクチン療法。
神経治療学 22 : 769-772, 2005.
8. Lakshmana MK, Araki W, Tabira T. A novel death-inducing protein, AB-DIP interacts with amyloid beta protein and mediates its neurotoxicity. FASEB J 19: 1362-64, 2005.
9. Stadelmann C, Ludwin S, Tabira T, Guseo A, Lucchinetti CF, Leel-Össy L, Ordinario AT, Brück W, Lassmann H. Tissue preconditioning may explain concentric lesions in Baló's type of multiple sclerosis. Brain 128: 979-987, 2005.
10. Xu W, Fazekas G, Hara H, Tabira T. Mechanism of natural killer (NK) cell regulatory role in experimental autoimmune encephalomyelitis. J Neuroimmunol. 163: 24-30, 2005.
11. Kitamoto T, Takahashi K, Takimoto H, Tomizuka K, Hayasaka M, Tabira T, Hanaoka K: Functional redundancy of the Notch gene family during mouse embryogenesis: Analysis of Notch gene expression in Notch3-deficient mice. Biochem. Biophys. Res. Commun 331: 1154-1162, 2005.
12. Hamano T, Mutoh T, Tabira T, Araki W, Kuriyama M, Mihara T, Yano S, Yamamoto H. Abnormal intracellular trafficking of high affinity nerve growth factor receptor, Trk, in stable transfectants expressing presenilin 1 protein. Brain Res Mol Brain Res. 137: 70-6, 2005.

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）

研究成果の刊行に関する一覧表
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 anti-nociceptive 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.
 19. Lakshmana MK, Araki W, Tabira T. A novel death-inducing protein, AB-DIP interacts with amyloid beta protein and mediates its neurotoxicity. *FASEB J* 19: 1362-64, 2005.
 20. Stadelmann C, Ludwin S, Tabira T, Guseo A, Lucchinetti CF, Leel-Össy L, Ordinario AT, Brück W, Lassmann H. Tissue preconditioning may explain concentric lesions in Baló's type of multiple sclerosis. *Brain* 128: 979-987, 2005.
 21. Xu W, Fazekas G, Hara H, Tabira T. Mechanism of natural killer (NK) cell regulatory role in experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol.* 163: 24-30, 2005.
 22. Kitamoto T, Takahashi K, Takimoto H, Tomizuka K, Hayasaka M, Tabira T, Hanaoka K: Functional redundancy of the Notch gene family during mouse embryogenesis: Analysis of Notch gene expression in Notch3-deficient mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 331: 1154-1162, 2005.
 23. Hamano T, Mutoh T, Tabira T, Araki W, Kuriyama M, Mihara T, Yano S, Yamamoto H. Abnormal intracellular trafficking of high affinity nerve growth factor receptor, Trk, in stable transfectants expressing presenilin 1 protein. *Brain Res Mol Brain Res.* 137: 70-6, 2005.

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A β 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A β 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A β 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 - A β 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A β ワクチン療法. 臨床神経 45 ; 867-869, 2005.
20. 原 英夫, 田平 武: Alzheimer 病のA β 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 ERK1/2/Elk-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- Ile, 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- Ile 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 sigma1 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-I le 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)
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, 田熊一徹, 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

- 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ノゲン活性化因子/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，斉藤邦明，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) 外来化学療法薬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, 櫛原秀之, 小嶋智子, 榊原隆志, 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 - 多施設で利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. 吉田眞紀子, 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, 田熊一徹, 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: 婦人科化学療法の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, Yukihiko Noda, Toshitaka Nabeshima (一般講演): Behavioral and neurobiochemical changes in an olfactory bulbectomized rat model of depression: antidepressive effect of a signal 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, 田熊一徹, 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 Aβ 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 Aβ 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 1 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（發明者；原英夫、田平武）。

Mechanism of natural killer (NK) cell regulatory role in experimental autoimmune encephalomyelitis

Wen Xu^{a,b}, Gyorgy Fazekas^a, Hideo Hara^{a,c}, Takeshi Tabira^{a,c,*}

^aDepartment of Demyelinating Disease and Aging, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry, Kodaira, Ogawahigashi 4-1-1, Tokyo 187-8502, Japan

^bDepartment of Immunology, Harbin Medical University, 157 BaoJian Road, Nan Gang District, Harbin 150086, People's Republic of China

^cNational Institute for Longevity Sciences, 36-3 Gengo, Morioka, Obu 474-8522, Japan

Received 13 September 2004; received in revised form 2 February 2005; accepted 3 February 2005

Abstract

The mechanism of natural killer (NK) cell regulatory role in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) was studied in SJL/J mice. *In vivo* experiments showed that NK cell depletion by anti-NK1.1 monoclonal antibody treatment enhanced EAE in mice. To investigate the mechanism, we cultured proteolipid protein (PLP)_{136–150} peptide-specific, encephalitogenic T cell lines, which were used as the NK cell target. Our results show that NK cells exert a direct cytotoxic effect on autoantigen-specific, encephalitogenic T cells. Furthermore, cytotoxicity to PLP-specific, encephalitogenic T line cells was enhanced by using enriched NK cells as effector cells. However, the cytotoxic effect of NK cells to ovalbumin-specific T line cells and ConA-stimulated T cells could also be detected with a lesser efficiency. Our studies indicate that NK cells play a regulatory role in EAE through killing of syngeneic T cells which include myelin antigen-specific, encephalitogenic T cells, and thus ameliorate EAE.

© 2005 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: Natural killer cells; Experimental autoimmune encephalomyelitis; Proteolipid protein; Encephalitogenicity; Cytotoxicity

1. Introduction

Since the 1980s, a great deal of evidence has been accumulated, suggesting an association between decreased numbers and activities of NK cells and autoimmune diseases, such as multiple sclerosis (MS) (Benczur et al., 1980; Munschauer et al., 1995), type I diabetes (Nair et al., 1986; Negishi et al., 1986; Atallah et al., 1987), systemic lupus erythematosus (SLE) (Hoffman, 1980; Erkeller-Yuksel et al., 1993, 1997; Shai et al., 1999; Moser et al., 1998).

In multiple sclerosis (MS), it has been reported that MS patients tend to have lower numbers and activities of NK cells than healthy individuals and other neurological

diseases patients (Vranes et al., 1989; Munschauer et al., 1995), and new and enlarging or recurring lesions tend to occur following periods of low NK cell activities (Kastrukoff et al., 1998). Although MS patients with stable symptoms had relatively normal lytic activities (Merrill et al., 1982; Neighbour et al., 1982), depressions in NK lytic activities immediately preceded lesion extension (Kastrukoff et al., 1998). It is interesting to know that the NK cell lytic activity of healthy monozygotic twin siblings of an affected patient was not changed (Kaudewitz et al., 1983; Heltberg et al., 1985).

In experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), a well-established model of MS, we have found that depletion of NK cells by *in vivo* treatment with a monoclonal antibody (mAb) against NK 1.1 resulted in an increased severity and relapsing pattern of disease in C57BL/6 mice (Zhang et al., 1997). It has also been reported that mAb (3.2.3 or anti-asialo GM1) depletion of NK cells exacerbates EAE in Lewis rats (Matsumoto et al., 1998).

* Corresponding author. National Institute for Longevity Sciences, 36-3 Gengo, Morioka, Obu 474-8522, Japan. Tel.: +81 562 45 0183; fax: +81 562 45 0184.

E-mail address: tabira@nils.go.jp (T. Tabira).

Although all of the evidence suggested that NK cells might play a role in the regulation of MS and EAE, the mechanism by which NK cells could mediate immune regulation remains unclear. The present study was conducted to investigate the mechanism of NK cell regulatory roles in EAE, and suggests direct killing of autoreactive T cells.

2. Materials and methods

2.1. Mice

SJL/J mice were purchased from Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME). All mice were kept under specific pathogen-free conditions and only female mice (6–10 weeks old) were used. Experiments were conducted in accordance with our institutional guidelines after obtaining the permission of the Laboratory Animal Ethics Committee.

2.2. Reagents

PLP_{136–150} (RVSHSLGKWLGHDPK) was purchased from Kurabo (Tokyo, Japan). Incomplete Freund's adjuvant (IFA) and heat-killed *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra were purchased from Difco Laboratory (Detroit, MI). Pertussis toxin (PT), RPMI-1640, PKH 2, chicken OVA grade VII, and ConA were purchased from Sigma (St. Louis, MO). Hybridomas producing anti-NK1.1 mAb (PK136) and isotype-matched control mAb M-11, specific for human melanoma cell surface antigen, were obtained from American Type Culture Collection (Rockville, MD). The mAbs were purified from the supernatants using Protein A column chromatography. Anti-mouse CD₃-FITC, CD₁₉-PE, NK1.1-PE, DX₅-FITC and Fc Block (anti-mouse FcR γ II/III mAb) were purchased from PharMingen (San Diego, CA). Anti-mouse CD₁₉ Microbeads and anti-mouse CD₅ Microbeads were purchased from Miltenyi Biotec (Bergisch Gladbach, Germany).

2.3. Immunization

For induction of active EAE, mice were injected in hind footpads with 200 μ l of an emulsion containing 100 μ g of PLP_{136–150} in IFA supplemented with 400 μ g of *M. tuberculosis*. Mice were injected intraperitoneally (i.p.) with 400 ng of pertussis toxin (PT) in 250 μ l of phosphate-buffered saline (PBS) shortly after and 48 h after the immunization. For the study of T cell responses, mice were immunized only with the same emulsion without subsequent injection of PT.

2.4. EAE score

After immunization, mice were observed daily for clinical signs of EAE. The clinical grade was scored as

follow: 0—no clinical signs; 1—loss of tail tonicity; 2—one hind leg paralysis; 3—two hind leg paralysis; 4—hind and fore leg paralysis; 5—death.

2.5. In vivo NK cell deletion

To deplete NK cells in vivo, mice were i.p. injected with 500 μ g of anti-NK1.1 mAb (PK136) 1 day before and 14 days after the immunization. Control mice were treated either with 500 μ g of an isotype-matched control mAb or PBS.

2.6. Quantitation of NK cells

Spleen cells were treated in ACK lysing buffer to lyse erythrocytes, washed three times in PBS, and then suspended in PBS containing 0.1% bovine serum albumin (BSA) and 0.01% NaN₃. The cells were first incubated with Fc Block (PharMingen, San Diego, CA) for 15 min to block nonspecific bindings of Ig to Fc receptors, washed in PBS, and then incubated with anti-CD₃-FITC, and/or anti-CD₁₉-PE, and/or anti-NK1.1 PE, and/or anti-DX₅-FITC for 30 min on ice. After washing, they were suspended in PBS containing 0.5 μ g/ml of propidium iodide (PI; Wako Pure Chemical Industries, Ltd, Osaka, Japan), and 10,000 cells were analyzed by FACSort (Becton Dickinson, Mountain View, CA) with CellQuest software. Dead cells were excluded by gating out PI-positive cells.

2.7. Culture medium

RPMI-1640 containing 5×10^{-5} M 2-mercaptoethanol (2-ME), 2 mM L-glutamine, and 100 U/ μ g/ml penicillin/streptomycin (referred to as the basic medium) were used after supplemented with 10% or 5% fetal calf serum (FCS) alone or with 10% or 5% FCS and ConA supernatant as a source of IL-2 (supernatant of ConA-stimulated rat spleen cells).

2.8. T cell line culture

Long-term T cell lines specific for PLP_{136–150} were established according to the method described (Inobe et al., 1993). Briefly, the draining lymph nodes were removed 10 days after immunization with PLP_{136–150} and single cell suspensions were prepared at 5×10^6 /ml in the basic medium supplemented with 10% FCS. They were plated on to 6-well plates at 5 ml/well and stimulated with 20 μ g/ml PLP_{136–150}. The cells were fed with the basic medium supplemented with 10% ConA supernatant and 10% FCS every 3 days. On day 12, 5×10^5 /ml T line cells were restimulated with 20 μ g/ml PLP_{136–150} in the presence of 5×10^6 /ml X-irradiated (3300 rad), syngeneic spleen cells as APCs. After several cycles of alternate stimulation with PLP_{136–150} and propagation (every 10–14 days), the antigen specificity and encephalitogenicity of the T cell lines were confirmed.

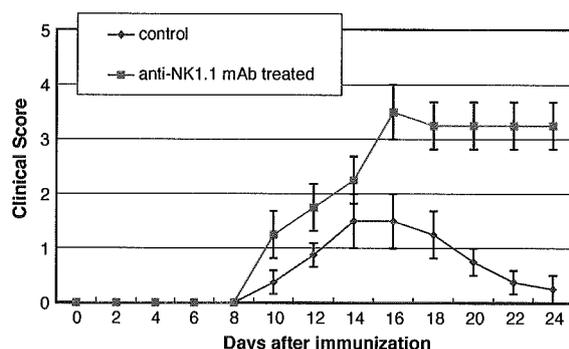


Fig. 1. NK cell depletion enhances EAE in SJL/J mice. Mice were immunized with 100 μ g of PLP_{136–150} in complete Freund adjuvant. Mice were also injected intraperitoneally with 400 ng of PT shortly after and 48 h after immunization. Anti-NK1.1 mAb-treated group mice were injected with 500 μ g of anti-NK1.1 mAb (PK136) 1 day before and 14 days after immunization. Control mice were treated with PBS. Four mice in each group were used. This is a representative of three experiments with similar results.

OVA-specific T cell lines were established by using the same method.

2.9. ConA-stimulated T cell culture

Spleen cells from SJL/J mice were incubated on a plastic culture dish for 2–3 h at 37 °C, nonadherent cells were collected and incubated with CD₁₉ Microbeads for 15 min at 6–12 °C, then T cells enriched population were negatively selected by passing through a MACS column.

1.25×10^6 /ml T cells enriched population were cultured with 2.5 μ g/ml ConA in RPMI-1640 supplemented with 5% FCS. The cultures were incubated for 72 h at 37°C in humidified air containing 5% CO₂, then cells were collected and used as target cells.

2.10. Cytotoxicity assay

Spleen cell suspensions were prepared from naïve SJL/J mice, and were treated with ACK buffer to lyse eryth-

rocytes, then macrophages were depleted by adherence on a plastic culture dish for 2–3 h at 37 °C. Nonadherent cells were collected, washed with complete medium, and used as effector cells.

Cytotoxicity assays were performed using flow cytometric method of Slezak and Horan (Slezak and Horan, 1989). Briefly, 3 days after stimulation, cultured T line cells or ConA-stimulated T cells were labeled with a lipophilic green fluorescent cell linker PKH 2, which can incorporate into the cell membrane. Uniform labeling of cells was confirmed by visualization using a fluorescent microscope. Labeled target cells (*T*) were then incubated in triplicate with nonlabeled syngeneic effector cells (*E*) at ratio of 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 (*T:E*) respectively for 4 h at 37 °C in humidified air containing 5% CO₂. Then cells were collected, stained with PI, and analyzed by flow cytometry. Controls consisted of cultured T line cells or ConA-stimulated T cells without effector cells. Cytotoxicity was determined by calculating the percentage of cells positive for both PI (red) and PKH 2 (green). NK cells cytotoxicity was expressed by subtracting the background from the average of three samples at each *E:T* ratio.

2.11. NK cells enrichment

Nonadherent spleen cells were prepared from naïve SJL/J mice as described above, then incubated with anti-mouse CD₁₉ Microbeads and anti-mouse CD₅ Microbeads for 15 min at 6–12 °C. Then NK cells were negatively selected by passing through a MACS column according to the manufacturer's instructions. The purity of NK cells was examined by flow cytometry. Cytotoxicity assay was also performed by using enriched NK cells as effector cells.

2.12. Statistical analysis

Differences between groups were evaluated by student's *t* test. Statistical analysis was performed on the Excel program for Macintosh (Microsoft).

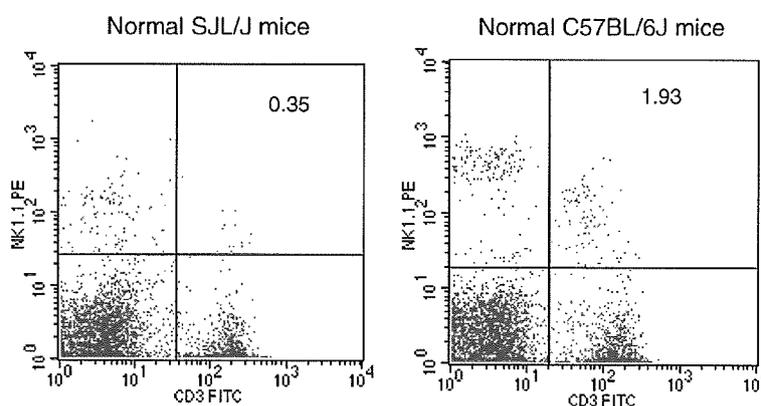


Fig. 2. Low NKT cell levels in SJL/J mice. Normal naïve SJL/J mice and C57BL/6J mice spleen were removed, and stained with anti-NK1.1 PE and anti-CD3 FITC mAbs. One representative experiment out of three is shown.