

200821051A

厚生労働科学研究費補助金

長寿科学総合研究事業

サルを用いたアルツハイマー病及び血管性認知症に
対するワクチン療法の有効性、安全性の評価

平成 20 年度 研究報告書

主任研究者 田平 武

平成 21 (2009) 年 4 月

目 次

I.	総括研究報告書	
	サルを用いたアルツハイマー病及び血管性認知症に対するワクチン療法の有効性、安全性の評価	1
II.	分担研究報告書	
	1. 老齢サルの A β イメージングによる A β ワクチン治療効果の検討 田平 武、篠野健太郎、関山敦生、井上 誠	9
	2. 老齢サル類に見られた神経原線維変化と tau の免疫反応 中村紳一郎	14
	3. 血管性認知症のワクチン開発 脇田英明	17
	4. 霊長類血管性認知症モデル動物の確立と MRI 画像解析 富本秀和	20
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	21
IV.	研究成果の刊行物・別刷り	23

サルを用いたアルツハイマー病及び血管性認知症に対するワクチン療法の
有効性、安全性の評価

主任研究者 田平 武

順天堂大学大学院 認知症診断・予防・治療学講座 教授

研究要旨

アルツハイマー病のワクチン開発

老齢カニクイザル 10 頭に PIB/PET を施行し若齢サルと比較した。老齢サルでは若齢サルに比べ PIB の脳内集積が有意に高かった。PIB/PET 施行後 SeV/Aβ ワクチンを 4 頭の老齢サルに経口投与し 3 ヶ月後に PIB/PET を施行したところ、PIB の脳内集積は減少傾向を示し、前頭葉では有意な減少が見られた。6 ヶ月後に SeV/Aβ ワクチンを再投与しその 4 ヶ月後に PIB/PET を繰り返したが、有意な変化を認めなかった。ワクチン非投与サルに 11 ヶ月後 PIB/PET を繰り返して施行したが、有意な変化は認めなかった。以上より SeV/Aβ ワクチンの経口投与により脳のアミロイド除去効果がみられ、投与 3 ヶ月後に PIB/PET で評価できることが分かった。

超高齢カニクイザル、ニホンザルの脳を病理学的にしらべたところ、老人斑に加えガリアス染色陽性、PHF タウ陽性の神経原線維変化を認めた。老齢サルはヒトのアルツハイマー病のモデルとして有用であることが分かった。

血管性認知症のワクチン開発

カニクイザルを用い、マイクロビーズを両側内頸動脈から 1 ヶ月間隔で 2 度注入する血管性認知症モデル動物を作製し、MRI 画像と記憶機能を経時的に評価した。1 回に注入するマイクロビーズの量は 1 回当たり 2,200 個以上が必要であることが分かった。MRI では微小梗塞、微小出血に対応する所見が境界領域中心に急性期からみられ、4 ヶ月後には脳萎縮を示した。この方法により持続性記憶機能低下モデルを作成することができた。また、細胞接着分子 E-selectin を標的としたワクチン作製のための E-selectin 遺伝子の単離、増幅を行うとともに発現タンパクの精製を行った。

分担研究者 田平 武
順天堂大学大学院 認知症診断・予防・治療学講座 教授

分担研究者 関山 敦生
国立長寿医療センター研究所 血管性認知症研究部生体防御研究室長

分担研究者 旗野 健太郎
国立長寿医療センター研究所 長寿脳科学研究部加齢性変化研究室長

分担研究者 中村 紳一郎
滋賀医科大学動物生命科学センター准教授

分担研究者 井上 誠
ディナベック（株）戦略基盤技術開発部部長

分担研究者 脇田 英明
国立長寿医療センター研究所 血管性認知症研究部病態制御研究室長

分担研究者 富本 秀和
三重大学大学院医学系研究科 神経病態内科学教授

A. 研究目的

アルツハイマー病のワクチン開発

我々はウイルスベクターを用いたアミロイドワクチンを開発し、マウス、老齢サルで安全性、有効性を示した。これまで抗認知症薬剤の開発は認知機能の変化を対照薬と比較して行われてきたが、それでは 6 ヶ月以上の長期間を必要とする。特に MCI のような軽症例ではさらに長期間が必要と考えられる。近年 Pittsburgh Compound B (PIB) をリガンドとする Positron Emission Tomography (PIB/PET) によるアミロイドイ

メージングが行われるようになり、アルツハイマー病の補助診断に用いられるようになった。そこで、老齢サルを用いてAβワクチンの効果判定にPIB/PETが有用かどうかを調べることを、併せて安全性の更なる検討を加えること、Aβワクチンの効果発現に必要な期間を明らかにすることを目的とする。

老齢サルがヒトのアルツハイマー病のモデルになるためには、老人斑に加え神経原線維変化が出現するかどうかを確認する必要がある。今回超高齢のカニクイザルとニホンザルが手に入ったので、ガリヤス染色とPHF-tau染色を行う。

血管性認知症のワクチン開発

血管性認知症の原因病変は梗塞、出血、白質病変等多様であるが、皮質下型は、血管性認知症の半数以上を占め、人口の高齢化とともに増加傾向にある。また、皮質下型の主要な責任病変である大脳白質病変は高齢者や軽度認知障害の多数に認められ、軽度認知障害から認知症へと進行する危険因子とされている。これらの白質病変や脳梗塞のペナンブラは、免疫細胞による炎症・免疫反応により重症化し、免疫細胞は病巣血管内皮細胞に発現する接着分子E-selectinを介して脳に侵入する。これまで本研究ではラット、マウスの脳梗塞モデルを用いてE-selectinを標的とする免疫療法の有用性を示してきた。本研究では、サルを用いた脳虚血、微小脳梗塞のモデルを作製し、接着分子E-selectinを標的とするワクチン療法を開発することを目的とする。

B. 研究方法

アルツハイマー病のワクチン開発

医薬基盤研究所つくば霊長類医学研究センターより20歳以上のカニクイザル10頭の分与を受けた。この10頭につき、平成19年10-11月、全身麻酔下にPIB/PETを施行した。検査後核物質の減衰と体力の回復を待って滋賀医科大学動物生命科学研究センターに搬送し飼育を行った。

平成20年1月その4頭にSeV/Aβ-IL-10ワクチン 5×10^8 個を経口投与し、平成20年4月PIB/PET検査を行った。これらのサルに平成20年7月SeV/Aβ-IL-10ワクチンを再投与し、平成20年11月PIB/PET検査を行った。またワクチン非投与サル4頭について2回目のPIB/PETを平成20年11月に施行した。PIB/PET検査はすべて浜松ホトニクスにおいて施行された。SeV/Aβワクチンはディナベック（株）井上誠より提供を受けた。

血管性認知症のワクチン開発

カニクイザルを用いた実験は独立行政法人医薬基盤研究所霊長類医学研究センターにて、名古屋市立大学の間瀬光人の協力により実施した。また、社団法人予防衛生協会の研究支援を受けた。カニクイザルの血管性認知症モデル動物は5頭作製した。対照としてマイクリビーズの代わりに生理食塩水を注入した偽手術群を2頭作成した。

具体的方法は、X線透視下セルジンガー法によりガイディングカテーテルを挿入して脳血管撮影を行った後、このガイディングカテーテルをガイドワイヤーを用いて総頸動脈に留置し、その中にマイクロカテーテルを通して先端を内頸動脈のサイフォン部手前に置き、その状態で滅菌された50 micronのマイクロビーズを1頭当たり330個、660個、1,400個、2,250個、2,800個注入した。この手技を両側頸動脈に対して行い、さらに1ヶ月をあけて反対側（右側）の大腿動脈から両側の内頸動脈にそれぞれ1回目と同量のマイクロビーズの注入を行った。

記憶機能の評価として、報酬（餌）の入った穴と入っていない穴を覚えさせ、穴にフタをし、間違わずに報酬の入っている穴から報酬を取り出す過程を解析し、認知機能を評価する食物回収試験を行った。

MRI撮影はT1, T2, Proton, DWI, PWI, Tensor, T2*, MRAの項目を撮影した。各動物につき処置前、1回目のマイクロビーズ注入当日、3日後、1ヶ月後、2回目マイクロビーズ注入当日、3日後、1ヶ月後、3-4ヶ月後（2項目は3日後まで実施）に撮影した。MRI画像解析では京都大学眞木崇州の協力を受けた。

E-selectinを標的とするワクチン開発では、国立長寿医療センター研究所武田和也の協力を受けた。E-selectinのcDNAを単離した後、E-selectinの部分cDNA配列をPCR法にて増幅し、そのN末端部にHisタグを付加可能なベクターに挿入した。作製したベクターは全て、DNAシーケンサーにて、その配列を確認した。これらを用いて大腸菌をトランスフォーメーションし、IPTG添加で目的蛋白質を発現させた。菌体を回収し、PBS不溶成分より目的蛋白質を抽出し、各種クロマトグラフィにより精製した。

（倫理面への配慮）

本研究で用いる遺伝子操作や疾患モデル動物については、所属研究機関の各専門委員会の承認を受けて行った。また、疾患モデル動物の処置については霊長類

医科学研究センターの規定に従い、動物愛護精神に則り慎重に行った。組換えDNA実験は各施設の組換えDNA実験安全委員会の承認を得て行った。また、カルタヘナ条約を遵守し、必要に応じて遺伝子情報を提供した。

C. 研究結果

アルツハイマー病のワクチン開発

老齢カニクイザル 10 頭に PIB/PET を施行し、若齢サルのと比較した。老齢サルでは若齢サルに比し PIB の脳内集積が有意に高いことが分かった。

老齢サル 4 頭に SeV/Aβ ワクチンの経口投与を行い、3 ヶ月後に PIB/PET を施行し投与前の PIB/PET と比較した。ワクチン投与サルでは PIB の脳内集積が減少傾向を示し、前頭葉では有意であった。さらに最初のワクチン投与から 6 ヶ月後に再度ワクチンを投与し、その 4 ヶ月後に PIB/PET を施行した。しかし PIB の脳内集積に有意な変化を見出さなかった。

ワクチン非投与老齢サル 4 頭について 11 ヶ月後に PIB/PET を繰り返した。ワクチン非投与サルでは PIB の脳内集積に有意な変化を認めなかった。

36 歳と推定 30 歳以上のカニクイザルおよび推定 26 歳以上のニホンザルでは、老人斑に加えガリヤス染色陽性、PHF-tau 陽性の神経原線維変化が認められた。

血管性認知症のワクチン開発

マイクロビーズ 330, 660, 1,400 個注入群では MRI 画像での脳梗塞の多発と持続する記憶機能障害の両方を発症することではなく、いずれかのみを認めた。2,800, 2,250 個注入群では大脳半球に多発脳梗塞を認めるとともに、注入直後数日から 1 週間の一過性の記憶機能障害とともに、2 回目のマイクロビーズ注入後、1 か月以上にわたる長期間に及ぶ持続性記憶機能の低下を認めた。しかし、2,800 個を注入すると急性期に意識レベルの低下、摂食障害を伴い、脳浮腫の治療薬の投与が必要であった。以上の結果より 2,250 個が血管性認知症モデルとして至適注入量と確定した。コントロール群では、多発脳梗塞、記憶機能の低下は認めなかった。

MRI の撮像条件で最も恒常的な変化は T2 強調画像、T2* で認められた。DWI, MRA では変化を認めなかった。

病理標本の検討では、MRI 画像で検出された虚血病変は、梗塞巣である事が確認され、病巣への白血球細胞の浸潤を認めた。

血管性認知症に対するワクチン開発

は、E-selectin 遺伝子の単離、増幅を行い、大腸菌での蛋白発現を確認した。また、ワクチンの抗原候補となる E-selectin 部分蛋白質を得た。

D. 考察

アルツハイマー病のワクチン開発

本研究によりカニクイザルでも PIB/PET が可能であり、老齢サルでは若齢サルに比べ PIB の脳内集積が有意に高いことが分かった。この PIB の脳内集積は SeV ワクチンの経口投与 3 ヶ月後に低下傾向を示し、前頭葉では有意な減少を示した。n を増やすことにより他の部位でも有意差が得られると考えられる。またワクチン非投与サルでは 2 回目の PIB/PET に変化がなかったことから、これはワクチンの効果であると考えられる。2 回目のワクチンを投与しその 4 ヶ月後に PIB/PET を施行したが、さらに有意な低下を認めることはなかった。これは 1 回目のワクチン投与で十分なアミロイドの除去が行われた結果であると思われるが、病理学的に確認する必要がある。

SeV は呼吸器系によく感染するのでマウスではワクチンの点鼻により好結果が得られた。しかし、サルでは点鼻では十分な効果が得られなかった。これは点鼻した後サルがすぐ立位をとるので、ワクチンが漏れてしまっている可能性が考えられた。今回経口投与により PIB の脳内集積の減少を認めたことから、SeV は経口投与によっても効果が得られることが示唆された。

今回超高齢カニクイザル、ニホンザルの脳をしらべる機会が得られ、超高齢サルでは神経原線維変化に対応する変化が認められたことから、老齢サルはアルツハイマー病のモデルになると思われた。

血管性認知症のワクチン開発

カニクイザルに血管性認知症のモデル動物として必要な長期間持続する記憶機能の低下を発症させるためには、一側内頸動脈に一回あたりマイクロビーズを 2,250 個以上注入することが必要であることが分かった。並行して検討中の MRI 画像、病理組織像を比較検討し、MRI 画像でとらえられた虚血性変化は、脳梗塞巣であることが確認され、多発脳梗塞による長期間持続する記憶機能障害を発症する血管性認知症の霊長類モデルが開発された。今後、再現性についての検討を行い、ワクチン治療の有効性・安全性の評価に適した血管性認知症モデルである事を確認し、血管性認知症のワクチン投与

実験にモデル動物として使用する。

E-selectin ワクチンの開発は、単離、増幅した E-selectin 遺伝子をセンダイウィルスベクターに組み込み作製する予定である。

E. 結論

アルツハイマー病のワクチン開発

老齢カニクイザルに PIB/PET を施行し、老齢サルでは若齢サルに比し PIB の脳内集積が高いこと、SeV/A β ワクチンの経口投与により PIB の脳内集積が減少することが分かった。

血管性認知症のワクチン開発

カニクイザルを用い、マイクロビーズを両側内頸動脈から注入する血管性認知症モデルを作製し、記憶機能を評価した。結果、多発脳梗塞による持続する記憶機能障害を発症するモデル動物が作製された。また、血管性認知症に対するワクチン作製のための E-selectin 遺伝子の単離、増幅を行い、大腸菌での蛋白発現を確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 原著論文

Wang, J., Hara, H., Makifuchi, T., Tabira, T.
Development and characterization of a TAPIR-like mouse monoclonal antibody to A β . **J Alzheim Dis** 14: 161-73, 2008.

Liu, H., Wang, J., Sekiyama, A., Tabira T.
Juzen-taiho-to, an Herbal Medicine, Activates and Enhances Phagocytosis in Microglia/ Macrophages. **Tohoku J Exp Med** 215: 43-54, 2008.

Yoshizaki K, Adachi K, Kataoka S, Watanabe A, Tabira T, Takahashi K, Wakita H. Chronic cerebral hypoperfusion induced by right

unilateral common carotid artery occlusion causes delayed white matter lesions and cognitive impairment in adult mice. **Exp Neurol** 210: 585-91, 2008.

Ma L, Ohyagi Y, Miyoshi K, Sakae N, Motomura K, Taniwaki T, Furuya H, Takeda K, Tabira T, Kira J. Increase in p53 Protein Levels by Presenilin 1 Gene Mutations and its Inhibition by Secretase Inhibitors. **J Alzheimers Dis** 16(3):565- 75, 2009.

Miyoshi K, Ohyagi Y, Sakae N, Motomura K, Ma L, Taniwaki T, Furuya H, Tabira T, Kira J. Enhancement of activation of caspases by presenilin 1 gene mutations and its inhibition by secretase inhibitors. **J Alzheimers Dis** 16(3):551-64, 2009.

Sakurai F, Nakamura S, Akitomo K, Shibata H, Terao K, Kawabata K, Hayakawa T, Mizuguchi H. Transduction properties of adenovirus serotype 35 vectors after intravenous administration into nonhuman primates. **Mol Ther** 16(4):726-733, 2008.

Suzuki T, Sakurai F, Nakamura S, Kouyama E, Kawabata K, Kondoh M, Yagi K, Mizuguchi H. miR-122a-regulated expression of a suicide gene prevents hepatotoxicity without altering antitumor effects in suicide gene therapy. **Mol Ther** 16(10):1719-1726, 2008.

2) 総説

Tabira T. Decorated plaques in Alzheimer's disease (Editorial). **Ann Neurology** 65(1):4-6,

2009.

田平 武 アルツハイマー病—基礎研究から予防・治療の新しいパラダイム—III. 臨床編 Cotton wool plaqueを伴うアルツハイマー病 日本臨床 66: 324-327, 2008

田平 武 アルツハイマー病—基礎研究から予防・治療の新しいパラダイム—III. 臨床編 経口アミロイドワクチン 日本臨床 66: 507-511, 2008

田平 武 Alzheimer 病のワクチン療法 Current Insights in Neurological Science Vol. 16 No.1 p. 8-9, 2008. マッキン・ヘルスケア 東京

田平 武 アルツハイマー病治療の現段階と新しい治療の展望 医薬ジャーナル Vol. No.2: 85-89, 2008. 医薬ジャーナル社

田平 武 巻頭言 アルツハイマー病の核心に迫る 臨床検査 Vol. 52 No.3: 251-252, 2008. 医学書院

田平 武 ここまできた老年期痴呆研究 老年期痴呆研究会誌 vol. 14: 112-115, 2007

田平 武 アルツハイマー病の治療戦略 老年期痴呆研究会誌 vol. 14: 147-150, 2007

田平 武 認知症の臨床 日本老年医学会雑誌 第45巻2号 p. 132-134, 2008

田平 武 アルツハイマー病の免疫療法 治療学 42: 93-95, 2008. ライフサイエンス出版

田平 武 アルツハイマー病の免疫療法 BIO Clinica 299: 24-28, 2008 北隆館

田平 武 アルツハイマー病ワクチン. 日本臨床 66:2006-2010, 2008

田平 武 アルツハイマー病、今後期待される免疫療法. 診断と治療 96:2357-2360, 2008

田平 武 AN-1792 ワクチン接種患者6年後の結果 Dementia Japan 22(3):309-316, 2008.

田平 武 A β ワクチン療法開発の現状と展望 Geriatric Medicine 47(1):87-90, 2009.

田平 武 近未来の認知症治療の可能性を探る A β ワクチン療法の現状と課題 老年精神医学雑誌 20:68-74, 2009

3) 著書

武田和也、吉崎嘉一、田平 武 認知症モデルマウス. 日本基礎老化学会編 老化・老年病研究のための動物実験ガイドブック アドスリー pp. 218-223, 2008 東京

田平 武 記憶の加齢変化とアンチエイジング. 日本抗加齢医学会専門医・指導士認定委員会編集 アンチエイジング医学の基礎と臨床 Medical View 社 pp.124-125,

2008, 東京

田平 武 加齢性脳神経疾患とアンチエイジング. 日本坑加齢医学会専門医・指導士認定委員会編集 アンチエイジング医学の基礎と臨床 Medical View 社 pp.131-132, 2008, 東京

田平 武 老化とストレス、うつ. 日本坑加齢医学会専門医・指導士認定委員会編集 アンチエイジング医学の基礎と臨床 Medical View 社 pp.308-309, 2008, 東京

田平 武 脳機能とアンチエイジング. 日本坑加齢医学会専門医・指導士認定委員会編集 アンチエイジング医学の基礎と臨床 Medical View 社 pp.356-357, 2008, 東京

2. 学会発表

1) 国内学会等：特別講演、シンポジウム

田平 武 近未来の認知症治療の可能性を探る - Aβワクチン治療の現状と課題 - . アルツハイマー病研究会第9回学術シンポジウム. 2008年4月5日 東京

田平 武 アルツハイマーワクチン. 第54回三多摩神経疾患懇話会. 2008年4月5日 東京

田平 武 アルツハイマー病のワクチン療法. 豊中医師会 在宅医療協力医・ターミナルケア推進事業部 在宅医療講演会. 平成20年4月19日 豊中

田平 武 免疫系によるアミロイドの除去 日本基礎老化学会第31回大会 シンポジ

ウム 蛋白質の今フォーメーション病の基礎と臨床 平成20年6月13日 松本

田平 武 アルツハイマー病のワクチン療法 第22回難病治療研究会 平成20年6月19日 東京

田平 武 アルツハイマー型認知症の予防・治療法の開発現況：特にワクチン療法について 第11回日本薬物脳波学会学術集会 ランチョンセミナー 平成20年6月21日 東京

田平 武 アルツハイマー病のワクチン療法 滋賀医科大学動物生命科学センター学術講演会 平成20年7月3日 大津

田平 武 特別講演 アルツハイマー病のワクチン療法 大6回岐阜自己免疫疾患研究会 平成20年7月9日 岐阜

田平 武 アルツハイマー病のワクチン療法 第44回姫路市医師会夏季大学 平成20年7月20日 姫路

田平 武 認知症を防ぐ・脳いきいき特効法・生活改善で認知症を予防 かもしかライフカレッジ 平成20年9月27日 三重郡菰野町

田平 武 アルツハイマー病の免疫療法 第13回認知症カンファAMU 平成20年9月29日 愛知医科大学、愛知

田平 武 (特別講演) ワクチン療法を含めたアルツハイマー型認知症の治療最前

線 第38回南大阪精神科懇話会 平成20年10月8日 スイスホテル南海大阪、大阪

田平 武 グローバルCOEと国立長寿医療センター 第1回名古屋大学グローバルCOE国内シンポジウム 平成20年11月14日 名古屋大学、名古屋

田平 武 (特別講演) アルツハイマー病の最新の治療戦略について 第13回静岡県認知症研究会 平成20年11月27日 ホテルセンチュリー静岡、静岡

田平 武 日本医科大学国際シンポジウム 免疫によるアミロイドの除去 平成20年12月21日

田平 武 アルツハイマー型認知症治療の展望 出雲市医師会講演会 平成21年1月9日、出雲

田平 武 アルツハイマー病の免疫療法の展望 講演会「認知症 up to date」 つくば国際会議場 平成21年1月22日、つくば

田平 武 脳を健康に保つ生き方 愛知シルバークレッジ講演会 平成21年1月30日、名古屋市東文化小劇場、名古屋

田平 武 特別講演 アルツハイマー型認知症治療の展望 第15回広島臨床認知症研究会、平成21年2月5日、オリエンタルホテル広島、広島

田平 武 アルツハイマー型認知症ワクチンの開発状況 第12回認知症を語る会、平成21年2月14日、エーザイ本社、東京

田平 武 特別講演 アルツハイマー・ワクチンについて 第3回老化とアンチエイジング研究会、平成21年2月28日、日航プリンセス京都、京都

2) 国内学会：一般発表

脇田英明、足立香代、吉崎嘉一、高橋慶吉、田平 武 糖鎖修飾リポソームの脳虚血障害保護効果の検討。第49回日本神経学会総会。平成20年5月15日 横浜

渡邊 淳、國本正子、田平 武、R.N.Kalaria、高橋慶吉 家族性脳血管性認知症CADASILにおける血管変性メカニズムの解析 第27回日本認知症学会 平成20年10月10日 前橋

3) 国際学会等：特別講演、シンポジウム

Tabira T (Invited Speaker) Symposium Therapeutics: New Approaches and New Targets. Oral Abeta vaccine. 11th ICAD, July 30, 2008, Chicago

Tabira T Immunotherapy for Alzheimer's disease. The Japan-Korea Joint Seminar (AACL2008) Toward the Establishment of Asian Aging Research and Education Center, Sept 4, 2008, Huis Ten Bosch in Nagasaki, Japan

Tabira T University structure in Japan and opportunities for international

cooperation, 100 Years Memorial
Symposium for Japanese Immigration to
Brazil, Sept 23, 2008, Japan

Tabira T Immunotherapy for Alzheimer's
disease. University of Sao Paulo, Sept 23,
2008, Sao Paulo, Brazil

Tabira T, Wang J Establishment and
characterization of a TAPIR-like
monoclonal antibody to A β . 9th Internat-
ional Congress of Neuroimmunology, Oct
29, 2008, Fort Worth, Texas

Tabira T. (Invited Speaker) Abeta vaccine for
prevention and treatment of Alzheimer's
disease: monkey studies. 9th International

Conference ADPD, March 14, 2009, Prague,
Czech.

Nakamura S, Kimura N, Nishimura M, Torii R,
Terao K. Neurofibrillary tangles and senile
plaques in aged cynomolgus monkeys. 3rd
meeting of Asian Federation of Laboratory
Animal Science. Beijing, China. Sep, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

老齡サルでの A β イメージングによる A β ワクチン治療効果の検討

分担研究者 田平 武

順天堂大学大学院 認知症診断・予防・治療学教授

分担研究者 旗野 健太郎

国立長寿医療センター研究所長寿脳科学研究部加齢性変化研究室長

分担研究者 関山 敦生

国立長寿医療センター研究所血管性認知症研究部生体防御研究室長

分担研究者 井上 誠

ディナベック（株）戦略基盤技術開発部部长

研究要旨

老齡カニクイザルに SeV/A β ワクチンを経口投与し、PIB/PET による A β イメージングを行った。老齡サルは若齡サルに比べより高い PIB 取り込みを示し、この取り込みは SeV/A β ワクチンの投与により低下した。この結果は SeV/A β ワクチン投与による β アミロイドの除去効果を示しているものと考えられる。

A. 研究目的

アルツハイマー病はベータアミロイド沈着による老人斑を特徴とする。近年アミロイドワクチンにより蓄積していたアミロイドが除去され、新たな蓄積も防止されることが分かりワクチン療法として注目されている。本研究ではアデノ随伴ウイルスベクター (AAV) やセンダイウイルスベクター (SeV) にアミロイドベータ蛋白 (A β) 遺伝子を組換えた粘膜免疫ワクチンを開発し、アミロイド前駆体蛋白遺伝子 (APP) トランスジェニックマウスで有効性、安全性を示してきた (1, 2)。また AAV ワクチンについては老齡サルでも有効性、安全性を示した。最近アミロイドに結合するリガンドが開発され positron emission

tomography (PET) によるイメージングが可能になり、アルツハイマー病の補助診断に用いられるようになった。本研究は老齡カニクイザルを用いて Pittsburgh Compound B (PIB) をリガンドとした PET によるアミロイドイメージングをワクチン投与前後に行い、ワクチンによるアミロイド除去効果を検証するとともに、効果発現に必要な期間を推定することを目的とする。

B. 研究方法

20 歳以上の老齡サル 10 頭を医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターより提供を受けた。まず、10 頭について PIB-PET を行なったところ 1 頭は PET 検査後死亡したため、残りの 9 頭から PIB 取り込みの高い

もの8頭を選択した。その8頭のうち4頭に組換えアデノ随伴ウイルスベクター (AAV/Aβ) を、4頭に組換えセンダイウイルスベクター (SeV/Aβ) ワクチンを投与することとした。当初の計画では AAV/ Aβ ワクチンも平成 20 年度に投与する予定であったが、生産が間に合わなかったため、昨年度 SeV/ Aβ ワクチンを投与したサルに 6 ヶ月後再投与し、再投与による影響を見ることにした。SeV/Aβ ワクチンは 5×10^8 個を腸溶カプセルに詰めて投与した。術者の一人がサルを固定、開口させたサルの舌の奥にピンセットでカプセルを置くとサルは容易に飲み込んだ。そのあと少量の水を飲ませケージに戻した。ワクチンは 0 ヶ月、6 ヶ月と 2 回投与し、3 ヶ月後、10 ヶ月後 (2 回目投与から 4 ヶ月後) に PIB-PET を行い、投与前に撮影した画像と比較した。

PIB-PET は浜松ホトニクス中央研究所に委託して行なった。炭素-11 標識ヨウ化メチルにより $[^{11}\text{C}]\text{PIB}$ を合成し、サルに静脈内投与して PET スキャナー (SHR-7700、浜松ホトニクス) にてダイナミック撮像した。画像に関心領域 (ROI) を設定して放射能濃度をもとめ、小脳の取り込みによって標準化した。

SeV ワクチンは DNAVEC 社の井上誠より提供を受けた。ワクチン投与は国立長寿医療センター研究所関山教生、足立香代と滋賀医科大学動物生命科学研究センターの中村紳一郎とそのスタッフにより行われた。サルの飼育は滋賀医科大学動物生命科学研究センターに委託して行い、中村紳一郎が常時サルの観察を行った。PET 画像の解析は国立長寿医療センター研究所の旗野健太郎が行った。関山教生は平成 20 年 9 月末

をもって国立長寿医療センター研究所を退職したので、それ以後は研究組織から除外した。主任研究者の田平 武は平成 21 年 1 月順天堂大学に移動したので、順天堂大学で研究を継続した。

(倫理面への配慮)

本研究は国立長寿医療センター研究所、滋賀医科大学、浜松ホトニクスの動物実験倫理委員会の承認を得て行った。組換えウイルスベクターの情報提供が DNAVEC 社より国立長寿医療センターに対し行われ、国立長寿医療センターは滋賀医科大学に対して行った。

C. 研究結果

ワクチン投与後嘔吐や下痢をしたサルは 1 頭もいなかった。また、1 年余におよぶ観察期間中活動度その他外観に有意な変化を示すものはいなかった。PET 検査も 2 回目以降は安全に行われた。

1) 若齢サルと老齢サルにおける PIB 取り込みの変化

この結果の一部は昨年度報告しているが、本年度はさらに解析を深めて報告する。図 1 に若齢カニクイザルと老齢個体の PIB 取り込み画像を示す。この画像に関心領域を設置して得られた SUV 値を小脳の取り込みによって標準化し、その相違の統計解析を行った。結果を図 2 に示す。視床、帯状回、側頭葉において、老齢サルは若齢サルより有意に高い PIB 取り込みを示した ($p < 0.05$)。後頭葉を除くその他の脳領域でも PIB 取り込み亢進の傾向が認められた。野田らは老齢アカゲザルにおいて、線条体、視床、橋、帯状回における PIB 取り込みの

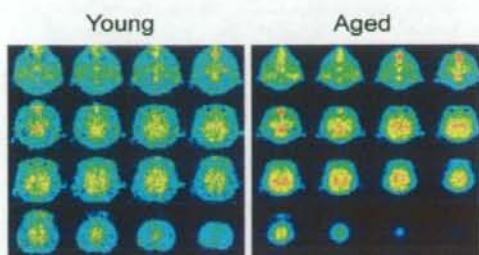


図1. 若齢サルと老齢サルの PIB/PET

老齢サルでは PIB の脳内集積が高い。

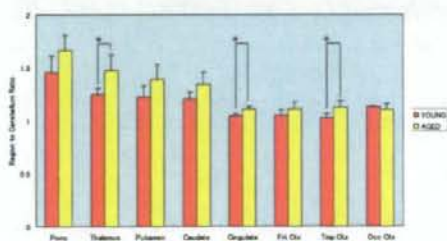


図2. 若齢サル (赤) と老齢サル (黄) の PIB/PET

老齢サルでは PIB の脳内集積が有意に高かった。図は左から橋、視床、被殻、尾状核、帯状回、前頭葉、側頭葉、後頭葉の PIB 集積を示す。

増加を認めた (3)。今回の結果はこの報告と良く一致していた。

2) ワクチン投与による PIB 取り込みの変化

図3にワクチン投与前後の PIB 画像を示す。投与前(Baseline)画像とワクチン初回投与から3ヵ月後、10ヵ月後の取り込み値を図4に示す。ワクチン投与後3ヵ月後の PIB 取り込みは Baseline に比べ低下する傾向が見られた。統計解析の結果この変化は前頭葉においてのみ有意であった ($p < 0.05$)。これはワクチン投与によるアミロイドの除去

を示していると考えられる。ワクチン初回投与後10ヵ月(2回目投与より4ヵ月)後

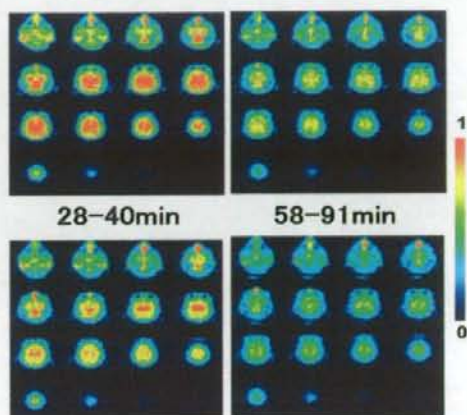


図3. ワクチン投与前後の比較

上段: ワクチン投与前, 下段: ワクチン投与3ヵ月後。

ワクチン投与により PIB の集積が減少している。

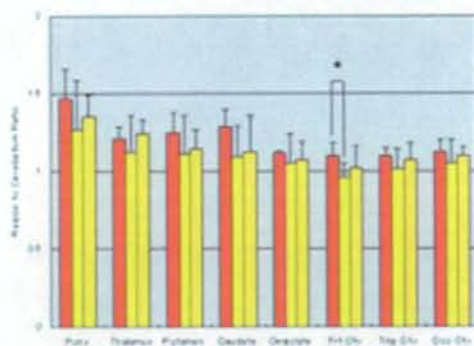


図4. ワクチン投与前 (赤)、投与3ヵ月後 (黄)、投与10ヵ月後の脳内各部位における PIB の集積。ワクチン投与3ヵ月後に脳内各部位で PIB 集積は減少傾向を示し、前頭葉では有意差も見られた ($p < 0.05$)。しかし投与10ヵ月後(2回目の投与4ヵ月後)では有意な変化を認めなかった。

の画像は、初回投与3ヵ月後の画像から有

意な変化は確認されなかった。

3) ワクチン投与しないサルにおける PIB 取り込みの変化

上記変化がワクチンの効果であるか PET 検査のばらつきによるものかを調べるために、ワクチン投与をしていないサルでおよそ 11 ヶ月後に繰り返し PET 検査を行った。その結果 Baseline と有意な変化は認められなかった (図 5)。

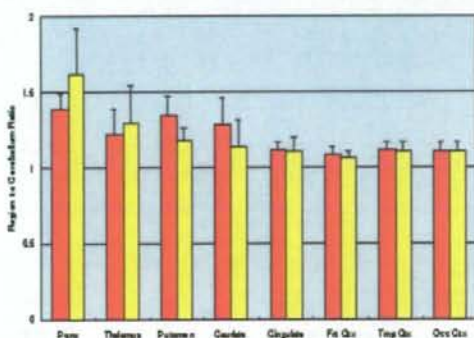


図 5. ワクチン非投与サルの繰り返し PIB/PET。ワクチン非投与サルについて 1 回目 (赤) と、11 ヶ月後の 2 回目 (黄) で PIB 集積は有意な変化を認めなかった。

D. 考察

老齢カニクイザルは若齢個体に比べ高い PIB 取り込みを示した。この傾向は全ての脳領域において認められたが、視床、帯状回、側頭葉において統計的に有意であった。本研究者は 20 歳以上のカニクイザル脳の病理学的検査を以前に行い、サルでも加齢により老人斑が形成されることを確認している。今回老齢サルで見られた PIB 取り込みの亢進は老人斑を反映していると考えられる。この PIB の取り込みは A β ワクチン投与によって抑えられた。この傾向は全ての脳領域で認められたが、前頭葉におい

て統計的に有意であった。

ワクチン非投与サルで PIB/PET を繰り返し行ったところ有意な変化を認めなかったもので、この変化はワクチン投与によるものであると考えられた。今回の検討は 1 群 4 匹という限られた個体数によるものであり、個体数を増やすことにより、より多くの脳領域において有意差が検出されるものと思われる。

今回の検討は正常加齢によって形成された A β 蛋白に対する効果を見ており、さらにヒトとカニクイザルの種差もあり、PIB 取り込みはアルツハイマー病患者とは異なる。アルツハイマー病患者の PIB 取り込みは前頭葉、側頭葉、楔前部が先行する(4)。今回の検討から前頭葉の PIB 取り込み低下がより顕著であったことは、A β ワクチンがやや未成熟とされる前頭葉のアミロイドに対しより高い除去効果を持っていることを示しているのかもしれない。

E. 結論

老齢サルのアミロイドイメージングを行った。老齢サルの [^{11}C]PIB 取り込みは若齢に比べ高く、20 歳以上のサルの脳ではアミロイドが蓄積していることが示唆された。SeV/ A β ワクチンの経口投与 3 ヶ月後の [^{11}C]PIB 取り込みは低下傾向を示した。ワクチン非投与サルでの繰り返し検査では変化を認めなかったもので、その PIB 取り込み低下はワクチンの効果であると考えられた。

参考文献

1. Hara H, Monsonogo A, Yuasa K, Adachi K, Xiao X, Takeda S, Takahashi K, Weiner HL,

- Tabira T: Development of a safe oral Abeta vaccine using recombinant adeno-associated virus vector for Alzheimer's disease. *J Alzheim Dis.* 6: 483-8, 2004.
2. Mouri A, Noda Y, Hara H, Mizoguchi H, Tabira T, Nabeshima T. Oral vaccination with a recombinant adeno-associated viral vector attenuates age-related Abeta accumulation and memory deficits without lymphocytic infiltration in Tg2576 mice. *FASEB J* 21: 2135-48, 2007.
 3. Noda A, Murakami Y, Nishiyama S, Fukumoto D, Miyoshi S, Tsukada H, Nishimura S. Amyloid imaging in aged and young macaques with [11C]PIB and [18F]FDDNP. *Synapse* 62:472-475, 2008.
 4. Klunk WE, Engler H, Nordberg A, Wang Y, Blomqvist G, Holt DP, Bergstrom M, Savitcheva I, Huang GF, Estrada S, Ausen B, Debnath ML, Barletta J, Price JC, Sandell J, Lopresti BJ, Wall A, Koivisto P, Antoni G, Mathis CA, Langstrom B. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with Pittsburgh Compound-B. *Ann Neurol* 55:306-319, 2004.

サルを用いたアルツハイマー病及び血管性認知症に対するワクチン療法の
有効性、安全性の評価：
老齢サル類に見られた神経原線維変化と tau の免疫反応

分担研究者 中村 紳一郎 滋賀医科大学・動物生命科学研究センター・准教授

研究要旨：サル類をアルツハイマー病のモデル動物として用いるためには、同疾患に類する加齢性変化が見られるべきである。30歳を超える超老齢カニクイザル2例と25歳以上のニホンザル2例を病理組織学的に検索した。カニクイザルの前頭葉と側頭葉新皮質にはガリアス染色と tau の免疫染色に陽性の神経原線維が少数認められた。また前頭葉から側頭葉皮質の老人斑には PHF-tau 陽性の神経突起が認められた。一方、ニホンザルの側頭葉皮質には PHF-tau 陽性の神経突起が見られたが老人斑との直接的な関係はなかった。また神経細胞にも陽性像が見られたがガリアス染色では陰性だった。超老齢のカニクイザルでは、老人斑の増数とともに神経細胞内の神経原線維形成、老人斑に巻き込まれた神経突起の tau のリン酸化が明らかになった。ADに関連する病変の出現は、ヒトと同様の転帰をたどる変化と考えられた。

A. 研究目的

サル類をアルツハイマー病 (AD) のモデル動物として外挿して利用するためには、ヒトと同様の病変を標榜することを確認する必要がある。カニクイザルは様々な動物実験で使われており、サル類の中では背景病変などの情報が多く、老人斑形成やその構成成分であるアミロイドβタンパク (Aβ) の沈着様式においても、比較的性状が明らかにされている (Nakamura S 1995)。しかしヒトとサル類の大きな違いは、神経原線維の出現、老人斑に巻き込まれている腫大神経突起には神経原線維の主構成成分で

もあるリン酸化の蓄積、がサル類では見られない点とされていた (Nakamura S. 1996)。最近、30歳を超える超高齢のカニクイザル脳を手に入れたので、過去の結果が正しいかどうか再度、病理組織学的に検証した。また同じマカク属で25歳を超える老齢ニホンザルの脳についても検討してみた。

B. 研究方法

動物：医薬基盤研究所霊長類センターで飼育されていた36歳・メスのカニクイザル、滋賀医科大学動物生命科学研究センター (滋賀医大・動物センター) の推

定 30 歳以上・メスカニクイザル、滋賀医大・動物センターの推定 26 歳以上ニホンザル、大阪大学人間科学部で飼育されていた推定 26 歳以上のニホンザル、それぞれの脳を材料とした。これらはいずれも死亡例である。

病理組織学的検索：上記 4 個体の脳は 10% 中性緩衝ホルマリンで固定、パラフィンブロックを作製した。4 μ m 薄切切片で HE 染色、ならびに神経原線維を検出するためのガリアス染色を行った。

免疫組織化学的検索：切片の一部を免疫組織化学的検索に供した。一次抗体として、PHF-tau、A β 40 と A β 42 に対するモノクローナル抗体を用い、酵素抗体法にて染色した。

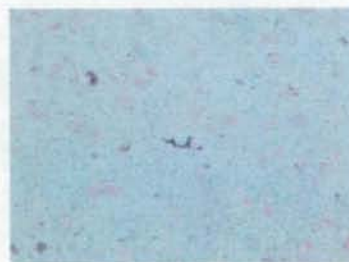
(倫理面への配慮)

いずれも死亡動物の材料を使用した実験で、倫理的に問題はない。

C. 研究結果

超高齢カニクイザルは 2 例とも HE 染色で、大脳新皮質、特に前頭葉から側頭葉新皮質に斑状の硝子様構造が多数見られた。A β 40 と A β 42 の免疫染色では、この硝子様構造の陽性像に加え、さらに多くの斑状構造が陽性となった。いずれも老人斑の陽性像で、2 例ともに A β 40 陽性の老人斑の方が多く観察された。前頭葉から側頭葉新皮質の少数の神経細胞にはガリアス染色陽性の糸くずないしは釣り針状の神経原線維が認められた(図)。この構造物は PHF-tau の免疫染色にも陽性だった。PHF-tau の免疫染色では、前頭葉および側頭葉新

皮質の老人斑に巻き込まれた腫大神経突起が陽性だったが、他の領域の老人斑では陽性像が見られなかった。



(図：カニクイザルの神経原線維変化・ガリアス染色)

高齢ニホンザル 2 例では HE 染色で前頭葉新皮質に少数の斑状の硝子様構造が見られた。A β 40 と A β 42 の免疫染色では、硝子様斑状構造の陽性像に加え、これよりやや多くの斑状構造が陽性だった。これらは老人斑の陽性像であり、A β 40 と A β 42 とでは A β 40 陽性老人斑の方が多く観察された。ガリアス染色の陽性像は見られなかったが、PHF-tau の免疫染色では前頭葉と側頭葉皮質の少数の神経細胞と、腫大神経突起が塊状に陽性となる像を少数認めた。

D. 考察

AD のモデル動物として、変異型の A β 前駆体タンパク遺伝子改変マウスがよく知られている (Eriksen JL 2007)。これは病態解析に非常に広く利用される一方、ワクチン開発でこの動物の結果を元にヒトの臨床応用を図ったところ、副作用による問題が起こった (Orgogozo JM 2003)。このことから、遺伝子改変マウスによる評価のみならず、老人斑を自然発症しかつヒトに近縁

なサル類を用いた前臨床の必要性が考えられるようになってきた。

しかしサル類では AD の責任病変と考えられる多量の A β 沈着(すなわち老人斑形成)に伴う神経原線維変化の形成、老人斑の腫大神経突起の PHF \cdot tau の蓄積は知られていなかった。また免疫染色による神経細胞の PHF \cdot tau の陽性像は見られるが、その嗜銀性については報告されておらず、サル類の PHF \cdot tau 陽性像がヒトの神経原線維と同等のものかどうか、議論の余地があった (Hartig W 2000)。

今回の研究で、多量の A β 沈着の見られる領域に、少数ではあるが嗜銀性と PHF \cdot tau が陽性の神経原線維変化、老人斑の腫大神経突起の PHF \cdot tau を認め、ヒトと同様な性状の tau のリン酸化が生じることが推測された。病変の出現に 30 年以上必要であることは強いデメリットではあるが、加齢とともに病変が出現する過程がヒトと相同であることは、モデルとしての一つの優位性である。

ニホンザルの PHF \cdot tau 陽性像はいずれも老人斑ないしは A β 沈着とは一致しておらず、これまでのサル類の報告に相当する病変と考えられた (Hartig W 2000)。

E. 結論

30 歳以上の超高齢カニクイザルでは、老人斑の出現に引き続く変化と考えられる神経原線維変化を認め、加齢に伴う変化が非常にヒトと類似することが明らかとなった。このことはモデル動物としての有用性を強く示唆するものであ

る。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Sakurai F, Nakamura S, Akitomo K, Shibata H, Terao K, Kawabata K, Hayakawa T, Mizuguchi H. Transduction properties of adenovirus serotype 35 vectors after intravenous administration into nonhuman primates. *Mol Ther.* 2008. 16(4):726-733

2. Suzuki T, Sakurai F, Nakamura S, Kouyama E, Kawabata K, Kondoh M, Yagi K, Mizuguchi H. miR-122a-regulated expression of a suicide gene prevents hepatotoxicity without altering antitumor effects in suicide gene therapy. *Mol Ther.* 2008. 16(10):1719-1726

2. 学会発表

1. Nakamura S, Kimura N, Nishimura M, Torii R, Terao K. Neurofibrillary tangles and senile plaques in aged cynomolgus monkeys. 3rd meeting of Asian Federation of Laboratory Animal Science. Beijing, China. Sep, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし。

血管性認知症のワクチン開発

研究分担者 脇田英明 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

カニクイザルを用い、マイクロビーズを両側内頸動脈から注入する血管性認知症モデルを作製し、記憶機能と病理像を評価した。多発脳梗塞による持続的な記憶機能障害を認めるモデルが開発された。また、血管性認知症に対するワクチン作製のためのE-selectin遺伝子の単離、増幅を行った。

A. 研究目的

現在の認知症の患者数は200万人、有病率は65歳以上の8%程度といわれている。急速な高齢化で2030年頃の患者数は300万人を超えると予測されている。血管性認知症患者はアルツハイマー病に次いで患者数が多く、血管性認知症の原因疾患である脳血管障害は高齢者の寝たきりの原因として最も多い。認知症の中では、血管性認知症が病状の進行に伴い寝たきりになるケースが最も多い。血管性認知症の原因病変は梗塞、出血、白質病変等多様であるが、皮質下型は、血管性認知症の半数以上を占め、人口の高齢化とともに増加傾向にある。また、皮質下型の主要な責任病変である大脳白質病変は高齢者や軽度認知障害の多数に認められ、軽度認知障害から認知症へと進行する危険因子とされている。これらの白質病変は、免疫細胞による炎症・免疫反応により重症化し、免疫細胞は病巣血管内皮細胞に発現する接着分子を介して脳に侵入する。本研究では、サルを用いた血管性認知症のモデルを作製し、認知機能の評価を行い、画像解析と比較検討し、脳虚血病変と認知機能障害の関係を明らかにするとともに、接着分子E-selectinを標的とするワクチン療法を開発することを目的とする。

B. 研究方法

カニクイザルを用いた実験は独立行政法人医薬基盤研究所長類医学科学研究センターにて、名古屋市立大学の間瀬光人の協力により実施した。また、社団法人予防衛生協会の研究支援を受けた。モデル動物は富本秀和のMRI研究で作製したものを本

研究でも用い、カニクイザルの血管性認知症モデル動物を5頭作製した。対照群としてマイクロビーズの代わりに生理食塩水を注入した偽手術群を2頭作製した。具体的方法は、X線透視下セルジンガー法によりガイディングカテーテルを挿入して脳血管撮影を行った後、このガイディングカテーテルをガイドワイヤーを用いて総頸動脈に留置し、その中にマイクロカテーテルを通して先端を内頸動脈のサイフォン部手前に置き、その状態で滅菌された50 micronのマイクロビーズを1頭あたり330、660、1400、2250、2800個注入した。この手技を両側頸動脈に対して行い、さらに1ヶ月をあけて反対側（右側）の大腸動脈から両側の内頸動脈に再度、一回目と同量のマイクロビーズの注入を行った。記憶機能の評価として、報酬（餌）の入った穴と入っていない穴を覚えさせ、穴にフタをし、間違わずに報酬の入っている穴から報酬を取り出す過程を解析し、認知機能の評価する食物回収試験を行った。さらに、MRI画像で検出された虚血病変を病理学的に評価した。

E-selectinを標的とするワクチン開発では、国立長寿医療センター研究所武田和也の協力を受けた。E-selectinのcDNAを単離し、E-selectinの部分cDNA配列をPCR法にて増幅し、そのN末端部にHisタグを付加可能なベクターに挿入した。作製したベクターは全て、DNA シークエンサーにて、その配列を確認した。これらを用いて大腸菌をトランスフォーメーションし、IPTG添加で目的蛋白質を発現させた。菌体を回収し、PBS不溶画分より目的蛋白質を抽出し、各種クロマトグラフィー法によりこれを精製した。

(倫理面への配慮)

本研究で用いる遺伝子操作や疾患モデル動物については、所属研究機関の各専門委員会の承認を受けて行った。また、疾患モデル動物の処置については霊長類医学科学研究センターの規定に従い、動物愛護精神にのっとり慎重に行った。

C. 研究結果

マイクロビーズ 330、660、1400 個注入群ではMRI画像での脳梗塞の多発と持続する記憶機能障害の両者を発症することはなく、いずれかのみを認めた。2800、2250 個注入群では大脳半球に多発脳梗塞を認めるとともに、注入直後数日から1週間の一過性の記憶機能障害とともに、2 回目のマイクロビーズ注入後、1 か月以上にわたる長期間に及ぶ記憶機能の低下を認めた(図1)。しかし、2800 個を注入すると急性期に意識レベルの低下、摂食障害を伴い、脳浮腫の治療薬の投与が必要であった。以上の結果より2250 個が血管性認知症モデルとして至適注入量と確定した。病理標本の検討からは、MRI画像で検出された虚血病変は、梗塞巣である事が確認され、病巣への白血球細胞の浸潤を認めた(図2)。また、眼動脈へのマイクロビーズ流入による眼底病変が起こる場合を認めたが、摂食等の日常生活動作は正常に行うことが可能であり、また、病変も可逆性で一過性であると考えられた。コントロール群では、多発脳梗塞、記憶機能の低下は認めなかった。血管性認知症に対するワクチン開発は、E-selectin遺伝子の単離、増幅を行い、大腸菌での蛋白発現を確認した。また、ワクチンの抗原候補となるE-selectin部分蛋白質を得た。

D. 考察

カニクイザルの両側内頸動脈に、マイクロビーズを1 か月間隔で2 回注入する方法で、血管性認知症のモデル動物として必要な長期間持続する記憶機能の低下を発症するためには一側内頸動脈、一回あたりマイクロビーズを2250 個以上投与することが必要と考えられた。並行して検討中のMRI画像、病理組織像を比較検討し、MRI画像でとらえられた虚血性変化は、脳梗塞巣であると確認され、多発脳梗塞による長期間持続する記憶機能障害を発症する血管性認知症の霊長類モデルが開発された。今後、再現性についての検討を行い、ワクチン治療の有効性・安全性の評価に適した血管性認知症モデルである事を確認し、血管性認知症のワクチン投与実験にモデル動物として使用す

る。血管性認知症のワクチン開発は、単離、増幅したE-selectin遺伝子をDNAVEC株式会社井上誠によりセンダイウイルスベクターに組み込みワクチンを作製する。

E. 結論

カニクイザルを用い、マイクロビーズを両側内頸動脈から注入する血管性認知症モデルを作製し、記憶機能を評価した。結果、多発脳梗塞による持続する記憶機能障害を発症するモデル動物が作製された。また、血管性認知症に対するワクチン作製のためのE-selectin遺伝子の単離、増幅を行い、大腸菌での蛋白発現を確認した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究協力者

間瀬光人

名古屋市立大学大学院医学研究科

社会復帰医学講座

神経機能回復学

准教授

武田和也

国立長寿医療センター研究所

特任研究員

足立香代

国立長寿医療センター研究所

流動研究員