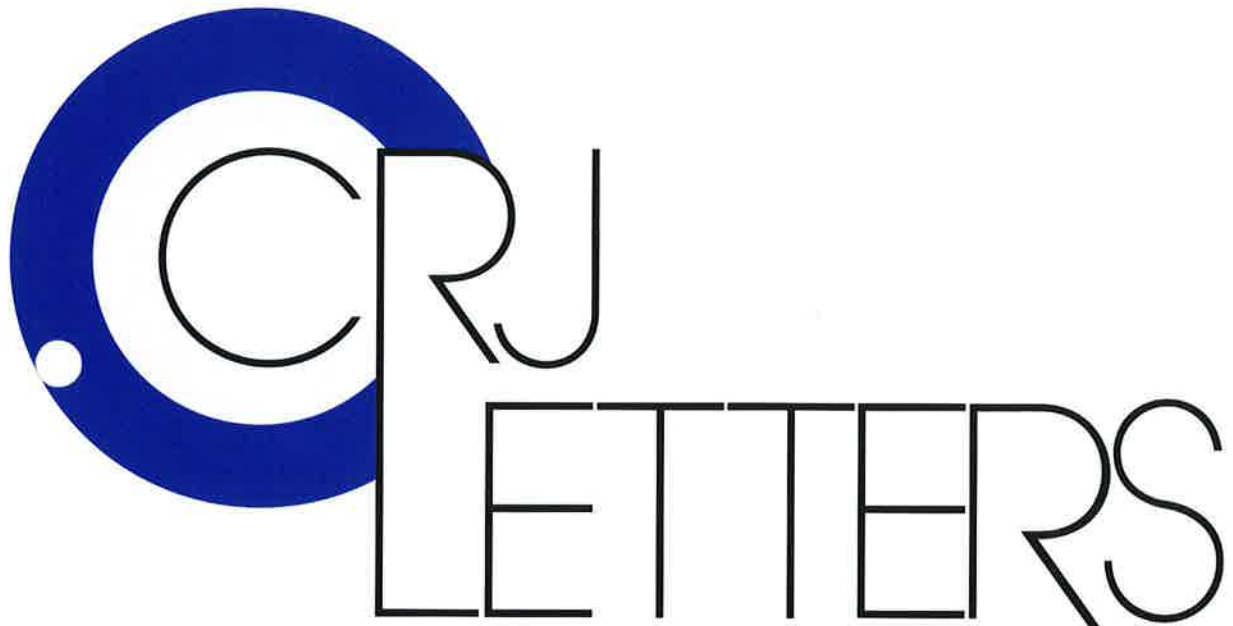


Vol.13 No.1

March 2000



CRJ LETTERS

— 卷頭論文 —

**β -アミロイド蛋白の脳室内持続注入による
アルツハイマー型痴呆動物モデルの作製と今後の展望**

— Crj: Wistarラットを用いた検討を中心として —



CHARLES RIVER
JAPAN, INC.

β-アミロイド蛋白の脳室内持続注入によるアルツハイマー型痴呆動物モデルの作製と今後の展望

—Crlj: Wistarラットを用いた検討を中心として—

名古屋大学大学院 医学研究科医療薬学・附属病院薬剤部 伊東 亜紀雄、山田 清文、鍋島 俊隆

はじめに

アルツハイマー病 (AD) は1907年ドイツの精神科医であるAlzheimerが報告した痴呆症状を呈する神経変性疾患である。ADの特徴的な病理学的変化として老人斑、神経原線維変化および神経細胞の変性脱落がある。ADは本来、40~50歳の若年齢者に起こるものを指し、50あるいは60歳を超えて発症するものは、アルツハイマー型老年期痴呆と呼ばれるが、それらの区別をしないで単にアルツハイマー病と呼ばれることが少なくない。

人口の高齢化に伴いADは大きな社会問題となってきた。多くの研究者の努力によって次第にADの病態生理が解明されてきたが、未だにその発症機序などに不明な点が残されている。ADの発症機序の有力な仮説として“アミロイド仮説”がある。すなわち老人斑の主要構成成分であるβ-アミロイド蛋白 (Aβ) が、神経細胞に障害を与えるということが報告され¹⁾、また家族性ADの家系においてAβ前駆蛋白 (APP) をコードする遺伝子に変異が発見された^{2,3)}ことなどから、Aβの蓄積がADの発症に深く関わっていると考えられている。Aβの神経細胞障害メカニズムには、細胞内のイオン平衡を破綻させ細胞死を導くとするもの⁴⁻⁶⁾やフリーラジカルを生成することにより細胞死を導く⁷⁾あるいはある種のサイトカインを過剰に生成させることによる炎症誘発^{8,9)}などが報告されている。

ADの発症機序が不明であることから、その病態を的確に表現するモデル動物がなく、治療薬の開発が遅れている。従来、痴呆動物モデルとしては、前脳基底部、大脳皮質あるいは海馬などの脳実質の電氣的、化学的、物理的損傷動物モデルや薬物投与による学習・記憶障害動物が繁用されてきた。しかし、これらの動物モデルではADに見られる老人斑や神経原線維変化などの病理学的変化が認められない。一方、家族性ADに見られる変異APPやAPPのC末端を過剰発現させたトランスジェニ

ックマウスでは、老人斑様の病理変化が認められ、さらに学習・記憶障害が誘発されることが報告され¹⁰⁾、AD動物モデルの可能性が示唆されている。これらのトランスジェニックマウスは、学習・記憶障害を呈するようになるにはかなりの時間が必要であり、治療薬開発のためのスクリーニングのように多数の動物が必要となる場合には問題がある。そこで我々は、Aβを直接ラット脳室内に持続的に注入し学習・記憶や神経活動に対しどのような影響が現れるかを検討した。また、これらの動物に色々な薬物を投与し、Aβの作用に対してどのような効果を及ぼすかも検討した。

著者プロフィール



伊東 亜紀雄 先生

略歴:

平成4年 岐阜薬科大学製造薬学科 卒業
平成6年 岐阜薬科大学大学院薬学研究所博士前期課程 修了
平成9年 名古屋大学大学院医学研究科博士課程 修了

職歴:

平成9年 名古屋大学医学部附属病院薬剤部 (文部技官)

専門分野: 神経薬理、神経科学

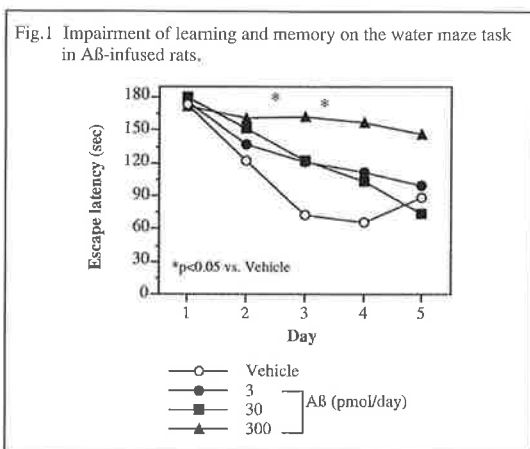
1、AB持続注入による学習・記憶障害

実験には、日本チャールス・リバー株式会社より購入したCrlj:Wistarラット（7週齢、雄）を用いた。AB（1-40）またはAB（1-42）を35%アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸に溶解し、1日あたりの注入量が3、30および300pmolになるようにミニ浸透圧ポンプを用いてラット脳室内（bregmaから後位0.3、側位1.1、腹位4mm）に持続的に注入した¹¹⁻²⁰。ポンプ埋め込み手術は、ペントバルビタール麻酔下で行なった。なお、対照群には溶媒¹¹⁻¹⁷またはABのアミノ酸配列を逆にしたAB(40-1)を投与した¹⁸⁻²⁰。

1.1水迷路試験

AB注入9日目から13日目までMorrisの方法²²に従い水迷路学習を行った。各試行ごとに入水からプラットフォームにたどり着くまでの遊泳時間（Escape latency）を測定した^{11,12,14}。1試行あたりの最大観察時間は90秒とし、1日2試行、連続5日間行った。

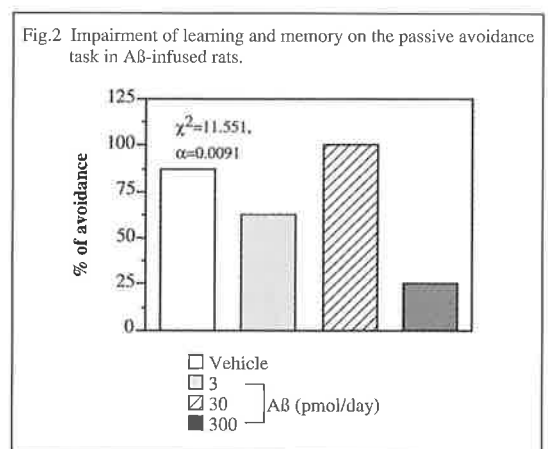
Fig. 1に示すように対照群では試行を重ねるに従い、プラットフォームまでに辿り着く時間すなわちEscape latencyが短縮していき、学習・記憶が成立していく。一方、ABを注入した群、特に1日当たり300pmolを注入した群ではEscape latencyがあまり短縮せず、有意な学習障害が観察された。なお、各群間で遊泳スピードに差は認められず、運動能力の変化によるものではないと思われる^{11,12,14}。



1.2受動的回避反応試験

AB注入14、15日後に受動的回避反応試験を行った。実験にはstep-through型受動的回避反応試験装置を用いた。まず、ラットを訓練試行の前に可動式ドアを開けたまま明室に入れ、1分間探索行動を行なわせた後、装置から取り出した。10分後に訓練試行を行った。訓練試行では、明室にラットを入れ30秒後に可動式ドアを開け、ラットの四肢が暗室に入った後に可動式ドアを閉め、ただちに電気刺激（0.3mA, 5sec）をラットに負荷した。負荷後、ラットを素早く暗室より取りだし、24時間後に保持試行を行った。保持試行では、同様の手順でラットを明室に入れ、可動式ドアを開けた後からラットの四肢が暗室に入るまでの時間（step-through latency: STL）を測定した。最大観察時間は300秒とした^{11,12,14}。

1日目の獲得試行時にはすべての動物が速やかに暗室に移動した。このことから、AB注入は明暗識別能力あるいは運動機能に対し影響していないことが示唆された。2日目の保持試行時において対照群では前日の電気刺激を記憶しているため明室にとどまるものがほとんどであったが、AB注入群では明室にとどまる動物の割合が低下し、特に1日当たり300pmol注入群では有意な低下が認められた（Fig. 2）^{11,12,14}。



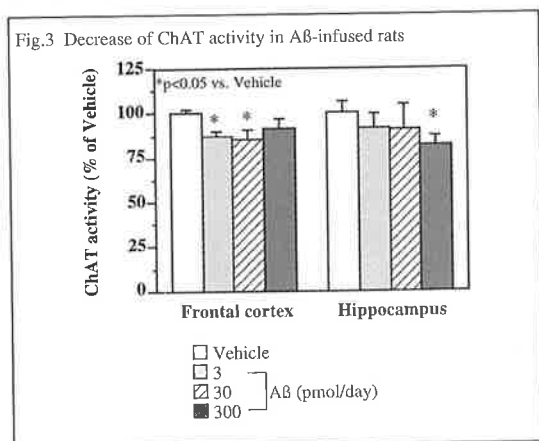
2.Aβ持続注入による神経化学的および電気生理学的変化

上述したようにAβ持続注入により学習・記憶が障害されることが行動薬理的に明らかとなったため、神経機能の変化を神経化学的および電気生理学的手法により検討した。

2.1 アセチルコリン合成酵素活性

Aβ注入16日後に、脳を前頭皮質、頭頂皮質、海馬および線条体に分割後、Nitta et al.の方法²³⁾に従い、HPLC-ECD法にて測定した。

Fig. 3に示すように学習・記憶に重要な役割を果たしているとされる前頭皮質（3および30 pmol/day注入群）および海馬（300 pmol/day注入群）においてアセチルコリン合成酵素（choline acetyltransferase : ChAT）活性の低下が認められた^{11,12,14)}。



2.2 in vivo brain microdialysis

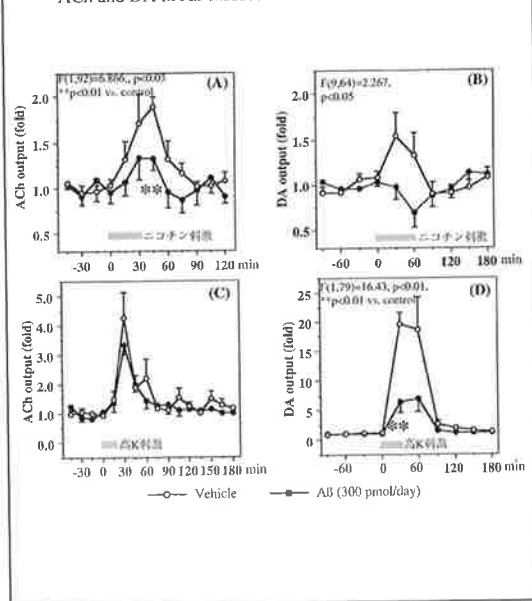
Aβ注入（300pmol/day）10-14日後に dialysis用プローブを挿入した。プローブ挿入部位は、アセチルコリン（ACh）分析には前頭皮質と海馬の両部位を含んだ位置（bregmaから後位3.5mm、側位2mm、腹位1-4mm）、ドパミン（DA）分析には線条体（bregmaから後位0.5mm、側位3mm、腹位4-7mm）¹³⁾とした。プローブ挿入の翌日にリングル液による灌流を開始した。灌流液をAChの測定には15分毎、DAの測定には30分毎に回収し、HPLC-ECD法によって測定した¹³⁾。AChおよびDAの遊離量がほぼ一定になった時点で灌

流液を3mMのニコチンを含むリングル液に交換し、AChおよびDA測定用のサンプリングのためにそれぞれ30分間および1時間灌流した。その後、元のリングル液で灌流を続け、約3時間後に100mMのKClを含むリングル液をACh測定用には15分、DA測定用には30分間灌流した¹³⁾。

非刺激時における基礎遊離量はACh、DAともに有意な差は認められなかった。灌流液中にニコチン（3mM）を添加することにより対照群ではAChおよびDAの遊離量が増加した。一方、Aβ注入群では、ニコチン刺激によるACh遊離量の増加は対照群に比較して有意に小さく（Fig. 4A）、DAについてはニコチン刺激による遊離量の増加は見られなかった（Fig. 4B）¹³⁾。

高カリウム刺激を行った場合、対照群においてAChの遊離量増加が増加したが、Aβ注入群においても同様に遊離量が増加し、両群間に有意な差は認められなかった（Fig. 4C）。一方、DAについても高カリウム刺激により両群ともに遊離量は増加したが、対照群に比較してAβ注入群ではその増加の程度は著しく低下していた（Fig. 4D）¹³⁾。

Fig. 4 Decrease of nicotine- and high potassium-evoked release of ACh and DA in Aβ-infused rats



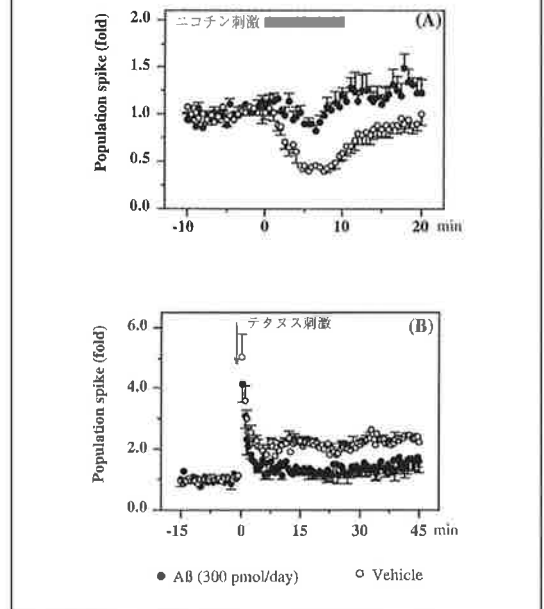
2.3海馬CA1領域における電気生理学的検討

AB注入10あるいは11日後に、脳を素早く摘出した。摘出した脳から厚さ約400 μ mの切片を作成した。切片を直ちに標準液(128 mM NaCl, 5mM KCl, 1.3mM MgSO₄, 1.24mM KH₂PO₄, 26mM NaHCO₃, 10.4 mM glucose, 2.4mM CaCl₂, 95%O₂と5% CO₂を常にバブリングさせて飽和)中に戻し、1時間以上の回復期間の後実験に供した。切片を電位記録槽に移し、流速約2.0ml/minで標準液を灌流しながら、顕微鏡下で刺激電極をシェーファー副側枝に、記録電極をCA1錐体細胞層に設置し100 μ secのパルス刺激を30秒に1回の頻度で与えた。刺激強度は最大反応の約1/2の反応が得られる強度とした。高頻度刺激は同じ強度で100Hzの刺激を1秒間与えた。導出した電位はX-Yレコーダーに描出し、集合電位(PS)の大きさを測定した¹⁷⁾。

上述したとおり、AB注入ラットではニコチンに対する反応が小さかったことから、灌流液中にニコチン(50 μ M)を添加し、ニコチンの灌流前10分間のPSの大きさの平均値を1としてニコチン刺激によるPSの変化の割合を比較した。対照群においてはニコチンを添加することによりPSの著しい減弱が認められた。このPSの減弱は標準灌流液に戻すことにより元の大きさにまで回復した。一方、AB注入群においてはPSの若干の減弱が観察されたもののその程度は対照群に比較して有意に小さいものであった(Fig. 5A)¹⁷⁾。

学習・記憶のメカニズムは明らかにされていないが、その分子モデルとして長期増強(long-term potentiation: LTP)があげられる²⁴⁾。したがって、AB注入ラットにおいてLTP形成能はどのような影響を受けているかを検討した。Fig. 5Bに示すように対照群では100 Hz、1秒間のテタヌス刺激直後にはPSの顕著な増強が観察されたが、徐々にその増強の程度は小さくなっていった。しかし、45分後でも約2倍程度の増強を維持しておりLTPの形成が認められた。一方、AB注入群においてもテタヌス刺激直後にはPSの増強が観察されたが、5分後にはテタヌス刺激前のPSとほと

Fig.5 Decrease of nicotinic response and LTP formation in CA1 pyramidal cells of AB-infused rats



んど変わらない大きさまで小さくなった¹⁷⁾。

3.AB脳室内持続注入ラットにおける学習・記憶障害に対する各種脳機能改善薬の効果

このAD動物モデルにおける各種薬物の学習・記憶障害改善あるいは予防効果の検討を行った。

実験には、学習・記憶を促進させることが報告されているアルギニンバソプレッシン誘導体(NC-1900)¹⁵⁾、また神経栄養因子(nerve growth factor: NGF)の合成分泌を促進することが報告されているpropentofylline¹⁶⁾、idebenone¹⁸⁾、あるいは抗酸化作用を有しABの細胞毒性を軽減させることが報告されている α -tocopherol¹⁸⁾を用いた。これら薬物はABの注入を開始する3日前から1日1回皮下(NC-1900)および経口(propentofylline、idebenone)投与した。Table 1に示したようにABにより誘発される学習・記憶障害、特に水迷路試験法で示される空間学習障害はこれら薬物により著明に改善された。また、学習・記憶障害改善作用を有するnifiracetamを学習試験の1時間前に投与しても著明な学習・記憶改善作用が認められた¹⁹⁾。

Table 1 Summary for the effects of NC-1900 (an arginine-vasopressin analog), propentofylline, idebenone, α -tocopherol and nefiracetam on β -amyloid-induced learning and memory deficits in rats

Test	Treatment	$A\beta$ (1-40) or (1-42) with										
		$A\beta$ (1-40) or (1-42) alone	NC-1900 (ng/kg, s.c.)		propentofylline (mg/kg, p.o.)		idebenone (mg/kg, p.o.)		α -tocopherol (mg/kg, p.o.)	nefiracetam (mg/kg, p.o.)		
			0.1	1	10	25	10	20	150	1	3	10
Locomotor activity		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Y-maze												
Total arm entries		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Alternation behavior		↓↓	±	±	↑↑	↑↑	±	↑↑	±	±	±	↑↑
Water maze												
Reference memory		↓↓	±	↑↑	±	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
Working memory		↓↓	±	±	n.d.	n.d.	±	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
Passive avoidance												
Acquisition		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
Retention		↓↓	±	↑↑	↑↑	±	±	±	±	↑↑	↑↑	↑↑

↓↓: Impairment
 ↑↑: Improvement
 ±: no change
 n.d.: not determined

一方、65歳以上の高齢者においては男性に比較して女性の方がAD発症の頻度が高くなるとことや、閉経後の女性にエストロジェンを与えることによってAD発症のリスクが低下することが報告されている²¹⁾。そこで、ABによる学習・記憶障害に対するエストロジェンの役割を明らかにするために、ラットの卵巣を摘出することにより、ABによる学習・記憶障害がどのような影響を受けるか検討した。卵巣摘出による学習・記憶障害は観察されなかったが、卵巣を摘出したラットにABを注入すると学習・記憶障害が増強された²⁰⁾。したがって、エストロジェンはABの神経毒性に対して保護的に作用していることが示唆された。

まとめと今後の展望

以上の結果から、ABの注入により学習・記憶が障害されることが明らかとなった。溶媒である35%アセトニトリル/0.1%トリフルオロ酢酸による組織障害も報告されている²⁵⁾が、我々が行った実験条件において溶媒を注入した動物では明らかな組織障害は認められなかった。また、AB (40-1) を注入した群でも学習・記憶に変化は認められなかった。従って、AB注入による学習・記憶障害はABによるものであると考えられる¹⁴⁾。

ABによる細胞毒性発現のメカニズムは現在のところ一致した見解が得られておらず、細胞内Ca濃度を上昇させる、活性酸素あるいはフリーラジカルを生成させる、炎症性サイトカインを増加させ炎症反応を促進させるなど様々な作用が報告されている。これら多様なABの作用のうち何が神経細胞死に直接関係があるのか、あるいはこれらの作用が複雑に影響しあって神経細胞死を引き起こすのかは明らかではない。我々の実験では、ABによる学習・記憶障害は強い抗酸化作用を有するidebenoneや α -tocopherolにより改善された。従って、ABによる学習・記憶障害には酸化ストレスが重要な役割を果たしていると考えられる^{18,26)}。

今までに報告されてきたABの作用および我々が作製した動物モデルに対する薬物の効果から、このAs脳室内持続的注入ラットにおける神経機能の障害カスケードを考察すると、

1. ABを脳室内に持続的注入することによりABが蓄積する^{11,12,14,26)}。
2. 細胞内Caなどのイオン平衡の崩壊⁴⁾、あるいは、グリオシス (GFAP陽性反応の増加)²⁶⁾、活性酸素の生成^{7,18)}といった結果から炎症反応が誘発される。
3. 神経細胞が何らかのダメージを受ける¹⁴⁾。

- 4.ニコチン性ACh受容体を介するシグナル伝達過程が障害される^{13,17)}。
 - 5.学習・記憶時において活性化されるべき神経系からの神経伝達物質遊離が低下する¹³⁾。
 - 6.LTPなどの学習・記憶の分子メカニズム的な反応の誘導が起こらず¹⁷⁾、学習・記憶障害が誘発される^{11,12,14-20)}。
- などのカスケードが考えられる。

AD治療薬開発の方向性としては、ADの発症原因が完全に解明されていない現在、変性・脱落から免れた神経細胞を活性化させる対症療法がメインとなっている。実際、日本で現在認可されているのはcholinesterase阻害薬（ChEI）のみである。しかし、ChEI自身には神経保護作用はなく、病状の進行を抑えることは不可能であるためChEI単独での使用には限界がある。そこで、次に考えられるのがpropentofylline¹⁶⁾、idebenone¹⁸⁾といった神経保護作用を有する薬物群である。これらは、神経細胞の生存維持に必要なNGFの合成分泌を促進することにより残された神経細胞を活性化するとともに、障害を受けつつあるあるいはすでに障害を受けてしまった神経細胞を復活させることも可能であると考えられる。従って、病状の進行を抑えることができるのではないだろうか。また、失われた神経間のネットワークを再構築させることも可能であると考えられる。実際に、NGFをAD患者に適用した報告がなされている²⁷⁾。NGFは末梢から投与された場合、脳-血液関門を通過することができないためこの報告例では、患者の脳室内に直接投与を行っている。それにより、ニコチン結合部位の増加、脳血流量の増加が認められたことを報告しているが、人の脳内に直接注入という方法は患者のQuality of Life（QOL）を考慮した場合、問題となる。しかし、propentofylline¹⁶⁾やidebenone¹⁸⁾は末梢から投与してもそれ自身は脳内に到達することが可能であり、そこでNGFの合成分泌を促進することから、患者のQOLをクリアした治療薬として期待される。

一方、冒頭でも述べたようにADの発症機序

が“アミロイド仮説”すなわちAβにより神経細胞死がおこるのであれば、抗Aβ作用（例えばAβの生成を抑制する、Aβの凝集を抑制する、Aβの分解を促進するなど）を有する物質も治療薬として利用可能である。特に、最近になりAβの生成に関与するβ-セクレターゼがクローニングされたことにより²⁸⁻³¹⁾、Aβの生成抑制薬の開発が進展されるのではと期待されている。一方、実際臨床の場で用いられている解熱鎮痛消炎剤やエストロゲンなどはAβによる炎症反応を抑えることによってADの発症に対して抑制的に作用することが経験的に知られており、抗痴呆薬としての効果が期待されている。これらの物質はADにおける神経細胞死を抑制するという根本的な作用によって少なくとも病状の進行を抑えることが可能になるのではないだろうか。さらに、これに前述したような神経細胞を活性化させるような薬物と併用することにより、より優れた治療効果が得られるかもしれない。

最近では、Aβを過剰発現させたトランスジェニックマウスがいくつかのグループから報告されている。Aβトランスジェニック動物モデルでは、Aβの増加と老人斑および学習障害が認められる。従って、このトランスジェニックADモデル動物はAD発症の過程やそのメカニズムなどを検討する場合、非常に有用なものとなる。しかしこのモデル動物は現在のところ一般に普及しておらず、また、学習・記憶障害あるいは病理学的変化を呈するのに1年近い時間を要するため治療薬のスクリーニング等、多数の動物が必要とされるときに問題が残る。一方、我々の開発したADモデル動物では、老人斑や神経原線維変化のようなADの病理学的特徴は認められないが、Aβの神経毒性により学習・記憶障害を示すことから今まで利用されてきた薬物や脳破壊による学習・記憶障害モデルに代わり、ADモデル動物として有用であり、今後治療薬の開発に役立つものと思われる²⁶⁾。

参考文献

- 1) Yankner, B.A., Dawes, L.R., Fisher, S., Villa-Komaroff, L., Oster-Granite, M.L. and Neve, R.L.: Neurotoxicity of a fragment of the amyloid precursor associated with Alzheimer's disease. *Science* 245, 417-420 (1989).
- 2) Goate, A., Chartier-Harlin, M.C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., James, L., Mant, R., Newton, P., Rooke, K., Roques, P., Talbot, C., Pericak-Vance, M., Roses, A., Williamson, R., Rossor, M., Owen, M. and Hardy, J.: Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349, 704-349 (1991).
- 3) Murrell, J., Farlow, M., Ghetti, B. and Benson, M.D.: A mutation in the amyloid precursor protein associated with hereditary Alzheimer's disease. *Science* 254, 97-99 (1991).
- 4) Mattson, M.P., Barger, S.W., Cheng, B., Lieberburg, I., Smith-Swintosky, V.L. and Rydel, R.E.: β -amyloid precursor protein metabolites and loss of neuronal Ca^{2+} homeostasis in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci.* 16, 409-414 (1993).
- 5) Etcheberrigaray, R., Ito, E., Oka, K., Tofel-Grehl, B., Gibson, G.E. and Alkon, D.L.: Potassium channel dysfunction in fibroblasts identifies patients with Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 8209-8213 (1993).
- 6) Etcheberrigaray, R., Ito, E., Kim, C.S. and Alkon, D.L.: Soluble β -amyloid induction of Alzheimer's phenotype for human fibroblast K^+ channels. *Science* 264, 276-279 (1994).
- 7) Behl, C., Davis, J.B., Lesley, R. and Schubert, D.: Hydrogen peroxide mediates amyloid β protein toxicity. *Cell* 77, 817-827 (1994).
- 8) Meda, L., Cassatella, M.A., Szendrei, G.I., Otvos, L.Jr., Baron, P., Villalba, M., Ferrari, D. and Rossi, F.: Activation of microglial cells by β -amyloid protein and interferon- γ . *Nature* 374, 647-650 (1995).
- 9) Meda, L., Bernasconi, S., Bonaiuto, C., Sozzani, S., Zhou, D., Otvos, L.Jr., Mantovani, A., Rossi, F. and Cassatella, M.A.: β -amyloid (25-35) peptide and IFN- γ synergistically induce the production of chemotactic cytokine MCP-1/JE in monocytes and microglial cells. *J. Immunol.* 157, 1213-1218 (1996).
- 10) Seabrook, G.R. and Rosahl, T.W.: Transgenic animals relevant to Alzheimer's disease. *Neuropharmacology* 38, 1-17 (1999).
- 11) Nabeshima, T. and Nitta, A.: β -amyloid protein-induced memory impairment and neuronal dysfunction animal model. *Tohoku J. Med.* 174, 241-249 (1994).
- 12) Nitta, A., Itoh, A., Hasegawa, T. and Nabeshima, T.: β -amyloid protein-induced Alzheimer's disease animal model. *Neurosci. Lett.* 170, 63-66 (1994).
- 13) Itoh, A., Nitta, A., Nadai, M., Nishimura, K., Hirose, M., Hasegawa, T. and Nabeshima, T.: Dysfunction of cholinergic and dopaminergic neuronal systems in β -amyloid protein-infused rats. *J. Neurochem.* 66, 1113-1117 (1996).
- 14) Nitta, A., Fukuta, T., Hasegawa, T. and Nabeshima, T.: Continuous infusion of β -amyloid protein into the rat cerebral ventricle induces learning impairment and neuronal and morphological degeneration. *Jpn. J. Pharmacol.* 73, 51-57 (1997).
- 15) Tanaka, T., Yamada, K., Senzaki, K., Narimatsu, H., Nishimura, K., Kameyama, T. and Nabeshima, T.: NC-1900, an active fragment analog of arginine vasopressin, improves learning and memory deficits induced by β -amyloid protein in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 352, 135-142 (1998).
- 16) Yamada, K., Tanaka, T., Senzaki, K., Kameyama, T. and Nabeshima, T.: Propentofylline improves learning and memory deficits induced in rats by β -amyloid protein-(1-40). *Eur. J. Pharmacol.* 349, 15-22 (1998).
- 17) Itoh, A., Akaike, T., Sokabe, M., Nitta, A., Iida, R., Olariu, A., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Impairments of long-term potentiation in hippocampal slices of

- β -amyloid-infused rats. *Eur. J. Pharmacol.* 382, 167-175 (1999).
- 18) Yamada, K., Tanaka, T., Han, D., Senzaki, K., Kameyama, T. and Nabeshima, T.: Protective effects of idebenone and α -tocopherol on s-amyloid-(1-42) induced learning and memory deficits in rats: implication of oxidative stress in β -amyloid-induced neurotoxicity in vivo. *Eur. J. Neurosci.* 11, 83-90 (1999).
- 19) Yamada, K., Tanaka, T., Mamiya, T., Shiotani, T., Kameyama, T. and Nabeshima, T.: Improvement by nefiracetam of β -amyloid-(1-42)-induced learning and memory impairments in rats. *Br. J. Pharmacol.* 126, 235-244 (1999).
- 20) Yamada, K., Tanaka, T., Zou, L.B., Senzaki, K., Yano, K., Osada, T., Olariu, A., Ren, X., Kameyama, T. and Nabeshima, T.: Long-term deprivation of oestrogens by ovariectomy potentiates β -amyloid-induced working memory deficits in rats. *Br. J. Pharmacol.* 128, 419-427 (1999).
- 21) Henderson, V.W., Paganini-Hill, A., Emanuel, C.K., Dunn, M.E. and Buckwalter J.G.: Estrogen replacement therapy in older women: comparisons between Alzheimer's disease case and nondemented control subjects. *Arch. Neurol.* 51, 896-900 (1994).
- 22) Morris, R.: Development of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci. Meth.* 11, 47-60 (1984).
- 23) Nitta, A., Hayashi, K., Hasegawa, T. and Nabeshima, T.: Development of plasticity of brain function with repeated trainings and passage of time after basal forebrain lesions in rats. *J. Neural Transm. [GenSect]* 93, 37-46 (1993).
- 24) Bliss, T.V.P. and Collingridge, G.L.: A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 361, 31-39 (1993).
- 25) Waite, J., Cole, G.M., Frautschy, S.A., Connor, D.J. and Thal, L.J.: Solvent effects on beta protein toxicity in vivo. *Neurobiol. Aging* 13, 595-599 (1992).
- 26) Yamada, K., Ren, X. and Nabeshima, T.: Perspectives of pharmacotherapy in Alzheimer's disease. *Jpn. J. Pharmacol.* 80, 9-14 (1999).
- 27) Eriksdotter-Jonhagen, M., Nordberg, A., Amberla, K., Backman, L., Ebedal, T., Meyerson, B., Olson, L., Seiger, A., Shigeta, M., Theodorsson, E., Viitanen, M., Winblad, B. and Wahlund, L.O.: Intracerebroventricular infusion of nerve growth factor in three patients with Alzheimer's disease. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.* 9, 246-257 (1998).
- 28) Hussain, I., Powell, D., Howlett, D.R., Tew, D.G., Meek, T.D., Chapman, C., Gloger, I.S., Murphy, K.E., Southan, C.D., Ryan, D.M., Smith, T.S., Simmons, D.I., Walsh, F.S., Dingwall, C. and Christie, G.: Identification of a novel aspartic protease (Asp 2) as β -secretase. *Mol. Cell. Neurosci.* 14, 419-427 (1999).
- 29) Sinha, S., Anderson, J.P., Barbour, R., Basi, G.S., Caccavello, R., Davis, D., Doan, M., Dovey, H.F., Frigon, N., Hong, J., Jacobson-Croak, K., Jewett, N., Keim, P., Knops, J., Lieberburg, I., Power, M., Tan, H., Tatsuno, G., Tung, J., Schenk, D., Seubert, P., Suomensari, S.M., Wang, S., Walker, D., Zhao, J., McConlongue, L. and John, V.: Purification and cloning of amyloid precursor protein β -secretase from human brain. *Nature* 402, 537-540 (1999).
- 30) Vassar, R., Bennett, B.D., Babu-Kahn, S., Kahn, S., Mendiaz, E.A., Denis, P., Teplow, D.B., Ross, S., Amarante, P., Loeloff, R., Luo, Y., Fisher, S., Fuller, J., Edenson, S., Lile, J., Jarosinski, M.A., Biere, A.L., Curran, E., Burgess, T., Louis, J.C., Collins, F., Treanor, J., Rogers, G. and Citron, M.: β -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286, 735-741 (1999).
- 31) Yan, R., Bienkowski, M.J., Shuck, M.E., Miao, H., Tory, M.C., Pauley, A.M., Brashler, J.R., Stratman, N.C., Mathews, W.R., Buhl, A.E., Carter, D.B., Tomasselli, A.G., Parodi, L.A., Heinrikson, R.L. and Gurney, M.E.: Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease β -secretase activity. *Nature* 402, 533-537 (1999).

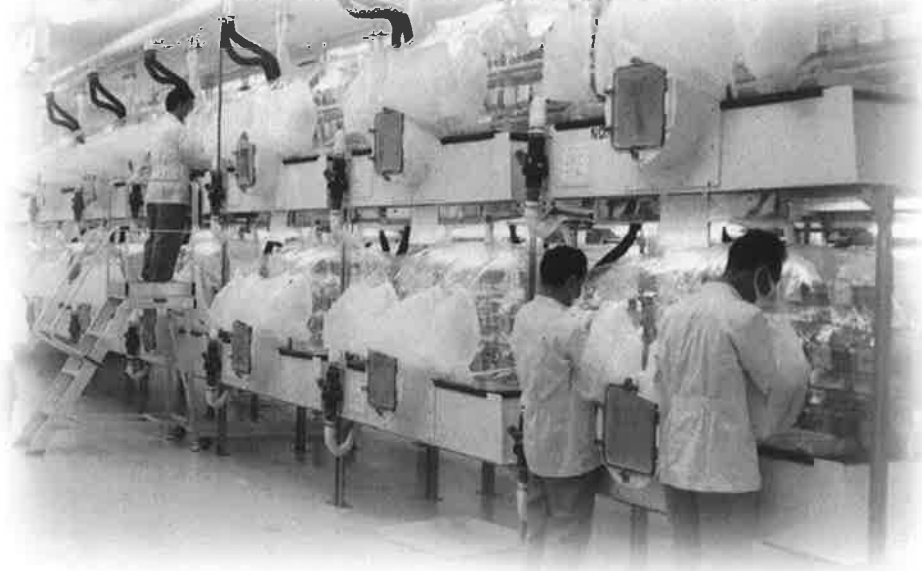
日本チャールス・リバーからのお知らせ

サービス業務を、さらに拡大！

日本チャールス・リバー（株）では、専用施設を充実させ高品質な動物の提供に努めています。

また、長年の経験と実績を誇るチャールス・リバー・グループと連携し、

さまざまなご要望にお応えできる態勢を整えています。



提供サービス例

使用予定マウス、ラットの受託飼育

チャールス・リバー・グループが経験と実績を誇る「アイソレータ・システム」で、微生物にも遺伝的にもコンタミネーションを防止します。

海外作出マウス、ラットの輸入と受託飼育

チャールス・リバー・グループのWorld-Wide Networkを活用して輸入し、「アイソレータ・システム」で飼育。大切な動物を安全確実にお届けできます。

使用予定マウス、ラットのクリーン化と受託飼育

クリーン化は、チャールス・リバー・グループが誇る帝王切開法のほか、体外授精法も可能です。「アイソレータ・システム」で飼育します。

使用予定マウスの凍結受精卵の作成

トランスジェニック・マウスの作成などにご利用ください。

手術動物／投薬動物の作成

チャールス・リバーの生産動物が対象ですが、他の動物のご使用を希望の場合も、ご相談ください。手術の内容については、別途お問い合わせください。

微生物検査協力（有償）

検査項目、検査技術はご相談に応じます。

血清、血漿の生産能力拡大

当社の飼育動物を使用し、ご注文ごとに新鮮な血清、血漿をお届けします。

国産化／新発売

SJL Mouse

SJL/JOrllcoCrj

弊社では2000年1月にSJLマウスを発売致しました。
動物の由来、特徴、主な研究用途を以下にお示し致します。

1.系統名： SJL/JOrllcoCrj

2.品 質： SPF/VAF（弊社管理基準に基づく）

3.由 来： 1938年から1943年の間にJackson研究所へ導入されたSwiss-Websterに起源を持つ。
1955年にJames LAMBERTによって確立され、1978年にOrleans FranceのCNRS-CSEALへ導入。
さらに、1990年にIFFA CREDOへ116代で導入され、1998年、日本チャールス・リバー（株）へ130代
で導入された。

4.遺伝子プロファイル：

- (1) 標識遺伝子：cc pp (c：アルビノ、p：ピンクの眼)
- (2) 主要組織適合遺伝子複合体 (MHC)：H-2s

5.特 徴：

- (1) 約8週齢頃より高頻度にファイティング（闘争）が見られる。個別飼育が推奨される。
- (2) 寿命は雌で395日、雄で472日。
- (3) 約13か月齢で90%の動物にホジキン病に類似した細網細胞肉腫を生じる。
- (4) 心拍数が比較的多く、血圧は中程度である。
- (5) 雄で血漿コリンエステラーゼ活性値が低い。

6.主な研究用途：

- (1) 免疫学
 - ①実験的アレルギー性脳脊髄炎誘発に感受性がある。
 - ②実験的自己免疫甲状腺炎誘発に感受性がある。
- (2) 感染実験
 - ①麻疹ウイルス感染およびMHV感染に抵抗性である。
 - ②センダイウイルスにも反応性が低い。
- (3) 遺伝子導入動物作成

お問い合わせは

東京営業所	TEL:045-474-9340	FAX:045-474-9341
大阪営業所	TEL:06-6543-3901	FAX:06-6543-3908
筑波営業所	TEL:0298-54-9925	FAX:0298-54-9935
受注センター	TEL:045-474-9350	FAX:045-474-9351

HOME PAGE <http://www.crj.co.jp>

CRJ LETTER Vol.13 No.1

この小冊子に関するご意見、ご要望を下記までお寄せください。

発行日：平成12年3月

発行所：日本チャールス・リバー株式会社

〒222-0033 横浜市港北区新横浜2-3-8 東伸24新横浜ビルB-4階

電話045(474)9340

企画・編集：日本チャールス・リバー株式会社

制作：株式会社 オービックO.A



日本チャールス・リバー株式会社

動物についてのお問合せ、ご注文先

国内飼育動物 ☎045(474)9350 ファックス045(474)9351

輸入動物 ☎045(474)9340 ファックス045(474)9341