

D. 考察

慢性モルヒネ脳において、Pur α の DNA 結合活性が低下する。この原因として、カルモジュリン (CaM) がモルヒネにより影響を受ける可能性が考えられる。1) CaM の細胞内分布、特に慢性モルヒネ投与における核内で CaM の増減、2) CaM 遺伝子のモルヒネによる発現変化の2つの可能性が考えられる。現在、CaM 抗体による組織化学法、PCR 法により、CaM の増減と細胞内局在変化を調べている。ただ、モルヒネ投与により、脳内 CaM 量が増加するので、これが次に細胞内にどのように分布するかを調べる必要がある。

本実験において、Ca を介する新しい遺伝子発現系が存在することが明らかとなった。従来、Ca による遺伝子発現系は、Ca/CaM \rightarrow CREB を介する系が知られていたが、我々が見出した系はこれとは異なる新しい系である。Pur α は、脳に特異的に高濃度存在し、何らかの脳における特異的な機能と関係している可能性が推察されるので、今後この系がどのような脳の生理作用に関係しているかを明らかにする必要がある。Pur α が結合するコンセンサス配列は、多くの遺伝子のプロモータ領域に存在しているので、モルヒネにより、どの遺伝子が最も影響を受けるかを、Pur α が影響を与える遺伝子群を調べることにより、モルヒネの依存・耐性のメカニズムを追求できると考えられる。一方、慢性モルヒネ投与により、腹側被蓋野におけるニューロフィラメント量が減少すること、細胞の大きさが変化することが知られている。本実験で、ニューロフィラメントプロモータを神経由来の培養細胞に

トランスフェクトして、モルヒネおよびナロキソンのプロモータ活性への影響を調べたところ、予想に反して、モルヒネでは影響されず、ナロキソンで阻害されることを見出した。ナロキソンは、モルヒネの特異的な拮抗薬として知られており、それ自体に薬理活性はほとんどないと考えられ、特異的なモルヒネ拮抗薬としてよく用いられている。しかしながら、ナロキソンにも、固有の薬理作用があるとの報告もある (9)。本実験では、ナロキソンによる遺伝子発現の阻害が認められたのは、SK-N-SH 細胞のみで、PC12 や N18TG2 細胞では見られなかったことより、どの神経細胞でもナロキソンが作用する訳ではないことが分かる。また、細胞内 Ca を測定したところ、SK-N-SH 細胞においてナロキソンにより細胞内 Ca の上昇がみられたが、PC12 や N18TG2 細胞では見られなかった。このことは、SK-N-SH 細胞には、ナロキソンに反応する特異的な受容体あるいは結合蛋白質が存在し、細胞内 Ca の上昇や遺伝子発現の抑制を引き起こしている可能性が強く示唆される。

【参考文献】

- 1) Ding Y., Osugi T., Kuo C-H. et al.: Characterization of a nuclear factor that enhances DNA binding activity of ssCREB/Pur α , a single-stranded DNA binding protein. *Neurochem. Int.*, 31: 45-54, 1997.
- 2) Garcia-Sevilla J.A., Ventayol P., Busquets X. et al.: Marked decrease of immunolabelled 68 kDa neurofilament (NF-L) protein in brains of opiate addicts.

Neuroreport 8: 1561-1565, 1997.

3) Koob G.F., Sanna P.P. and Bloom F.E.: Neuroscience of addiction. *Neuron*, 21: 467-476, 1998.

4) Kuo C-H., Nishikawa E., Ichikawa H. et al.: Calmodulin functions as an activator of Pur α binding to single-stranded purine rich DNA elements (PUR elements). *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 255: 406-411, 1999.

5) Niu S-Y., Kuo C-H., Taira E. et al.: Inhibition by naloxone of promoter activity of neurofilament gene in SK-N-SH cells. submitted.

6) Osugi T., Ding Y., Tanaka H. et al.: Involvement of a single-stranded DNA binding protein, ssCRE-BP/Pur α , in morphine dependence. *FEBS Lett.*, 391:

11-16, 1996.

7) Osugi T., Ikemoto M., Tanaka H. et al.: Modulation by chronic morphine administration of single stranded cAMP response element (ssCRE) binding proteins in the mouse cerebellum. *Molec. Brain Res.*, 21: 256-262, 1994.

8) Osugi T., Taniura T., Ikemoto M. et al.: Effects of chronic exposure of morphine or ethanol on binding of nuclear factors to cAMP-response element (CRE) in NG108-15 cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 174: 25-31, 1991.

9) Sawynok J., Pinsky C. and LaBella F.S. et al.: Minireview on the specificity of naloxone as an opiate antagonist. *Life Sci.*, 24: 1621-1632, 1979.

Table 1. Amino acid compositions of Pur α Activator and CaM

	Activator (mol / 17,000)	CaM
Lys	7.4	7
TML	0.7	1
His	1.0	1
Arg	6.1	6
Asp	23.7	23
Thr	11.7	12
Ser	3.8	4
Glu	26.0	27
Pro	2.2	2
Gly	11.1	11
Ala	11.3	11
Cys	N.D.	0
Val	7.1	7
Met	7.7	9
Ile	8.2	8
Leu	9.3	9
Tyr	1.6	2
Phe	8.1	8
Trp	N.D.	0

TML; Trimethyl lysine

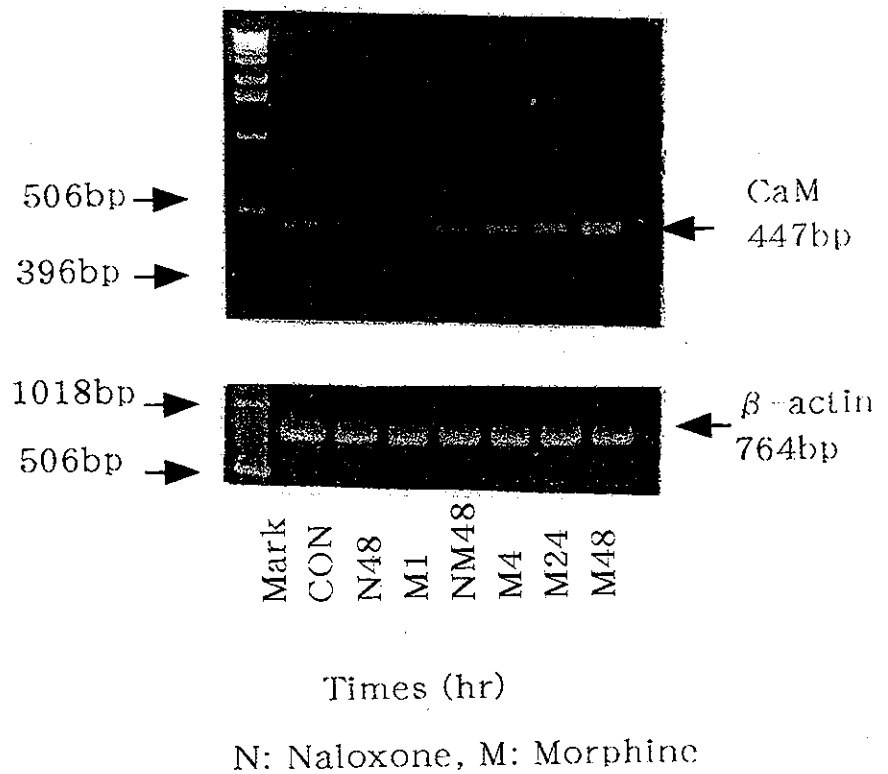


Fig. 1. PCR analysis of calmodulin mRNA induction by morphine in PC12 cells. PC12 cells were incubated with morphine with or without naloxone.

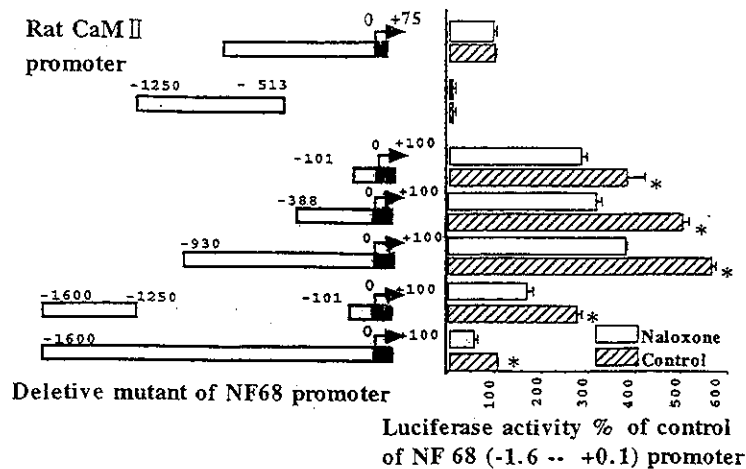


Fig. 2. Identification of suppression element for naloxone in neurofilament promoter region. Luciferase activity was measured for the promoter activity. A promoter region of CaMII gene was used for control. naloxone was added at 10^{-4} M.

分担研究課題：メタンフェタミン急性投与における中枢ヒスタミン神経系の作用：
ヒスチジン脱炭酸酵素遺伝子ノックアウトマウスを用いた研究

主任研究者：佐藤光源²⁾

研究協力者：窪田恭彦^{1),2)}、大津浩¹⁾、桜井映子¹⁾、伊藤千裕²⁾、渡邊建彦¹⁾

東北大学医学部細胞薬理学分野¹⁾、精神神経学分野²⁾

研究要旨

メタンフェタミン (MAP) 急性投与における中枢ヒスタミン (HA) 神経系の作用を検討する目的で、①HA の合成酵素である L-ヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) 遺伝子ノックアウト (KO) マウスを作成し、②脳における HDC 活性と HA 含量を測定し、③薬物非投与時の自発運動量と、④MAP 急性投与時の移所運動量を解析した。その結果、KO マウスでの HA 合成能はほとんど無かったが、HA 含量は 0 ではなく、餌に含まれる HA の吸収が考えられた。また、薬物非投与時の自発運動量の解析から、KO マウスにおいて暗期の自発運動量の減少をみとめた。さらに KO マウスにおいて MAP 急性投与による移所運動量の増加が野生型に比べて大きく、その持続時間が延長していた。中枢 HA は覚醒アミンとして働く一方で、MAP の急性運動効果に対して抑制的に作用していることが明らかになった。

A. 研究目的

覚醒剤であるメタンフェタミン (MAP) は、ドパミントランスポーターに作用して、ドパミンを遊離し、マウスやラットに急性投与すると、移所運動活性の増加や常同行動の出現が見られる^{1),4)}。

一方生理活性アミンのひとつであるヒスタミン (HA) は L-ヒスチジンからヒスチジン脱炭酸酵素 (HDC) により合成され、そのニューロンは後部視床下部の結節乳頭核に限局し、そこから中枢神経系に幅広く分布している。中枢 HA は神経伝達物質あるいは神経修飾物質とみなされており、さまざまな脳機能（とりわけ視床下部の機能である睡眠/覚醒リズム、食欲、性行動や

精神神経機能）に関与している⁵⁾。

これまで HA の生物学的な作用は、おもに受容体拮抗薬や作動薬、酵素阻害薬などを用いた薬理的な手法で明らかにされてきた。最近では分子生物学的手法を用いた研究も行われており、すでにヒスタミン H1 受容体遺伝子ノックアウトマウスが作成されている²⁾。ヒスタミン合成酵素に関しては、1994 年に八並、大津らによりヒト HDC ゲノム遺伝子がクローン化された⁶⁾。これまでの研究でわれわれは、MAP 急性投与時の急性運動効果に対し中枢ヒスタミン神経系が抑制的に働いていることを薬理的に明らかにしてきた³⁾。

今回、MAP 急性投与における中枢 HA

神経系の作用をさらに明確にする目的で、HAの合成酵素であるHDC遺伝子ノックアウト(KO)マウスを作成し、生化学的検討としてHDC遺伝子KOマウスと野生型マウスのHDC活性、HA含量を測定し、次いで薬物非投与時の自発運動量の解析、MAP急性投与時の移所運動量の解析を行った。

B. 方法

HDC遺伝子KOマウスの作成

マウスHDC遺伝子のエクソン7、8をネオマイシン耐性遺伝子で置換したターゲティング・ベクターを作製した。ポジティブ・ネガティブ選別した後の600個の陽性コロニーから6コロニーを選んで培養した。6コロニーのうち3コロニーが相同組換え体と同定され、受精卵と凝集してキメラマウスを作成した。これらのキメラマウスから交配を繰り返し、KOマウスを得た。

HA含量とHDC活性の測定

野生型マウスとKOマウスから各種臓器を取り出し、10倍量の3%過塩素酸(5mM EDTA-2Na)を加え、ポリトロンホモジナイザー(ダイヤル8)で10秒間ホモジナイズした。さらに10000×gで20分間遠心分離し、上清液を採取した。HA含量は大和谷らの方法によるHPLC蛍光法により測定した⁷⁾。

またHDC活性の測定は、前述と同様に取り出した臓器を10倍量のHDC溶液(100mMリン酸カリウム緩衝液:pH 6.8、0.2mMジチオスライトール、0.01mMピリドキサル5'-リン液、1%ポリエチレングリコール:平均分子量300、100μg/mlフェ

ニルメタンスルホニルフルオリド)を加えて前述のようにホモジナイズし、遠心分離した上清液をHDC溶液で24時間透析した。HDC活性はその透析内液に0.5mMのヒスチジンを加え、2時間インキュベートして生じたHAを上記の方法で測定した。タンパク量はウシ血清アルブミンを標準としてLowryらの方法で測定した⁸⁾。

自発運動量の測定

野生型及びKOマウスは1匹ずつ通常のケージに入れ、飼料および水を自由に摂取させ、温度、湿度を一定にし、12時間の明暗周期下で飼育した。飼料中のHAの消化管からの吸収が考えられたため、HAをほとんど含まない飼料を特別に用意した。自発運動量測定には赤外線センサーによる運動量測定装置(室町器械、東京)を用い、薬物非投与で5分間隔で連続5日間の移所運動量を測定した。

MAP急性投与時の移所運動量の測定

飼育条件は上記のとおりで、野生型及びKOマウスにMAP(1mg/kg)を明期に1回腹腔内投与し、上記の装置を用い5分間隔で4時間の移所運動量を測定した。

C. 結果

HDC遺伝子KOマウスの作成

マウスHDCゲノムDNAは、ヒトHDCゲノムDNAと同様に12Exonから成り、遺伝子長は約24kbに渡る。HDC遺伝子のターゲティング・ベクター(pPNT-HDC)はFig. 1に示したとおりに、pPNTを骨格とし、long armとしてExon 9からExon 12まで、short armとしてIntron 4から

Intron 5 の途中までを含む構造になるように構築した。Exon 8 には補酵素ビタミン pyridoxal 5'phosphate の結合共通配列が存在することが知られ、この部位を欠失するように工夫した。ターゲティング・ベクターを胎児幹細胞 (ES, R1) に遺伝子導入後、pPNT に含まれているネオマイシン耐性遺伝子と HSV-TK 遺伝子の性質を利用して、G418 とガンシクロビルで選択した。得られたコロニーのうち約 600 コロニーを植え替えて、そのうち約 100 コロニー分の DNA を PCR 法でスクリーニングすると、約 20 の PCR 陽性株がピックアップされた。さらにそのうち 6 ラインを凝集法で 129 マウスの受精卵と凝集させ、キメラマウスを発生させた。サザン法によるマウスのゲノム DNA の解析では、この中で 3 ラインのみ相同組替え体であった。この組替え体由来のマウスより、F1、F2 を用意した。ヘテロ同志の交配によって生まれたマウスの遺伝子型はほぼメンデルの法則に従っており、雌雄比も 1:1 で、胎児死は無く、KO マウスの生育状況も正常であった。

野生型及び KO マウスにおける HA 含量、HDC 活性の測定

KO マウス各種臓器での HDC 活性はほとんど無かったが、HA 含量は 0 ではなかった。餌に含まれる HA の吸収が考えられたため、低 HA 餌を与えた後に HA 含量を測定したところ、HA 含量はかなり低値になった (Fig. 2, 3)。

薬物非投与時の自発運動量

自発運動量測定の結果、KO マウスにおいて明期に対する暗期の自発運動量の比が

野生型に比べて有意に減少していた。(Fig. 4)。

MAP 急性投与時の移所運動量の変化

野生型と KO マウスに MAP (1 mg/kg) 腹腔内投与し、移所運動量の変化測定した結果、KO マウスでは MAP による移所運動量の増加が野生型に比べて大きく、さらにその持続時間が延長していた (Fig. 5)。

D. 考察

中枢 HA の機能は、これまでおもに拮抗薬や作動薬、合成阻害薬を腹腔内注射あるいは脳室内投与することにより研究されてきた。しかし、このような薬理学的研究の問題点として、薬物の投与方法や中枢神経系への移行性などがあげられる。また、生体の中枢神経系における HA の生理的な役割の中には、まだ正確には明らかにされていないものが多くある。相同組換えによる HDC 遺伝子 KO マウスを用いた研究は、新しい研究手段として優れていると考えられる。

HDC 活性の測定から、KO マウスにおいて活性を持った HDC が存在しないことが確認された。しかし、臓器において HA 含量は 0 にはならなかった。最初に使用したマウスの飼料の中には HA が多く含まれており、飼料中の HA 量を減少させることにより、体内の HA 含量も減少させることができた。このことからヒスタミンが腸管から吸収されて、体内の各種臓器に分配されることが明らかとなった。

薬理学的研究及びヒスタミン H1 受容体遺伝子 KO マウスの解析から、中枢ヒスタミン神経系が概日リズムの形成に関与し、

HA が覚醒アミンとして作用していることが示唆されてきている³⁾。今回 HDC 遺伝子 KO マウスの行動解析から、暗期での自発運動量の減少を認めたことは、ヒスタミン H1 受容体遺伝子 KO マウスの報告と一致しており、HA が覚醒アミンとして生体内で働いていることを支持している。

一方、覚醒剤である MAP を野生型及び KO マウスに腹腔内投与すると、野生型に比べ KO マウスで、移所運動量の増加が大きく、その持続時間も延長していた。われわれはラットにおいて HA の前駆体である L-ヒスチジンを投与した後の MAP 急性投与で、MAP による急性運動効果が抑制されることを報告してきた³⁾。また、ラットに MAP を急性投与すると線条体においてヒスタミンの遊離が促進され、このヒスタミンの遊離はドパミン D2 受容体を介していることも明らかになっている³⁾。これらの報告は、ヒスタミン神経系が MAP による急性運動効果に対し抑制的に作用していることを示唆しているが、今回の HDC 遺伝子 KO マウスにおける結果から、HA が MAP 急性運動効果に対し抑制的に働いていることがさらに明確になった。

E. 結論

今回 HDC 遺伝子 KO マウスを作成し、(1) HDC 遺伝子の欠損により、生体内の HA を欠如するマウスを得ることができた。また (2) 食餌中の HA は腸管から吸収されて各臓器に分配されることが明らかになり、餌の調節により体内の HA 量をコントロールできることが示唆された。また行動解析の結果から、(3) 生体内において HA が覚醒アミンとして働き、概日リズムの形成に

関与すること、(4) MAP の急性運動効果に対し、HA 神経系が抑制的に作用していることが明らかになった。今後、さらに覚醒剤精神病のモデルとされる MAP 慢性投与による逆耐性現象に対する中枢ヒスタミン神経系の関与を明らかにする上でも、HDC 遺伝子 KO マウスは有用な手段であると考えられる。

F. 文献

- 1) Cho, A.K., Segal, D.S.: Amphetamine and its analogs. Academic Press, California, 1994.
- 2) Inoue, I., Yanai, K., Kitamura, D., Taniuchi, I., Kobayashi, T., Niimura, K., Watanabe, T. and Watanabe, T.: Impaired locomotor activity and exploratory behavior in mice lacking histamine H1 receptors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93: 13316-13320, 1996.
- 3) Ito, C., Onodera, K., Sakurai, E: Effects of dopamine antagonists on neuronal histamine release in the striatum of rats subjected to acute and chronic treatments with methamphetamine. J. Pharmacol. Exp. Ther., 279(1): 271-276, 1996.
- 4) Kalivas, P.W., Stewart, J.: Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. Brain Res. Rev., 16: 223~244, 1991.
- 5) Lowry, O. H., Rosebrough, H. J., Farr, A. L.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem.,

- 193: 265-275, 1951.
- 6) Watanabe, T., Wada, H.: Histaminergic neurons; Morphology and Function. CRC Press, Boca Raton, 1991.
 - 7) Yamatodani, A., Fukuda, H., Wada, H.: High-performance liquid chromatographic determination of plasma and brain histamine without previous purification of biological samples: Cation-exchange chromatography coupled with postcolumn derivatization fluorometry. *J. Chromatog.*, 344: 115-123, 1985.
 - 8) #Yatsunami, K., #Ohtsu, H., Tsuchikawa, M., Higuchi, T., Ishibashi, K., Shida, A., Shima, Y., Nakagawa, S., Yamauchi, K., Yamamoto, M., Hayashi, N., Watanabe, T. and Ichikawa, A.: Structure of the L-histidine decarboxylase gene. *J. Biol. Chem.*, 269, 1554-1559, 1994 (# double first authors).

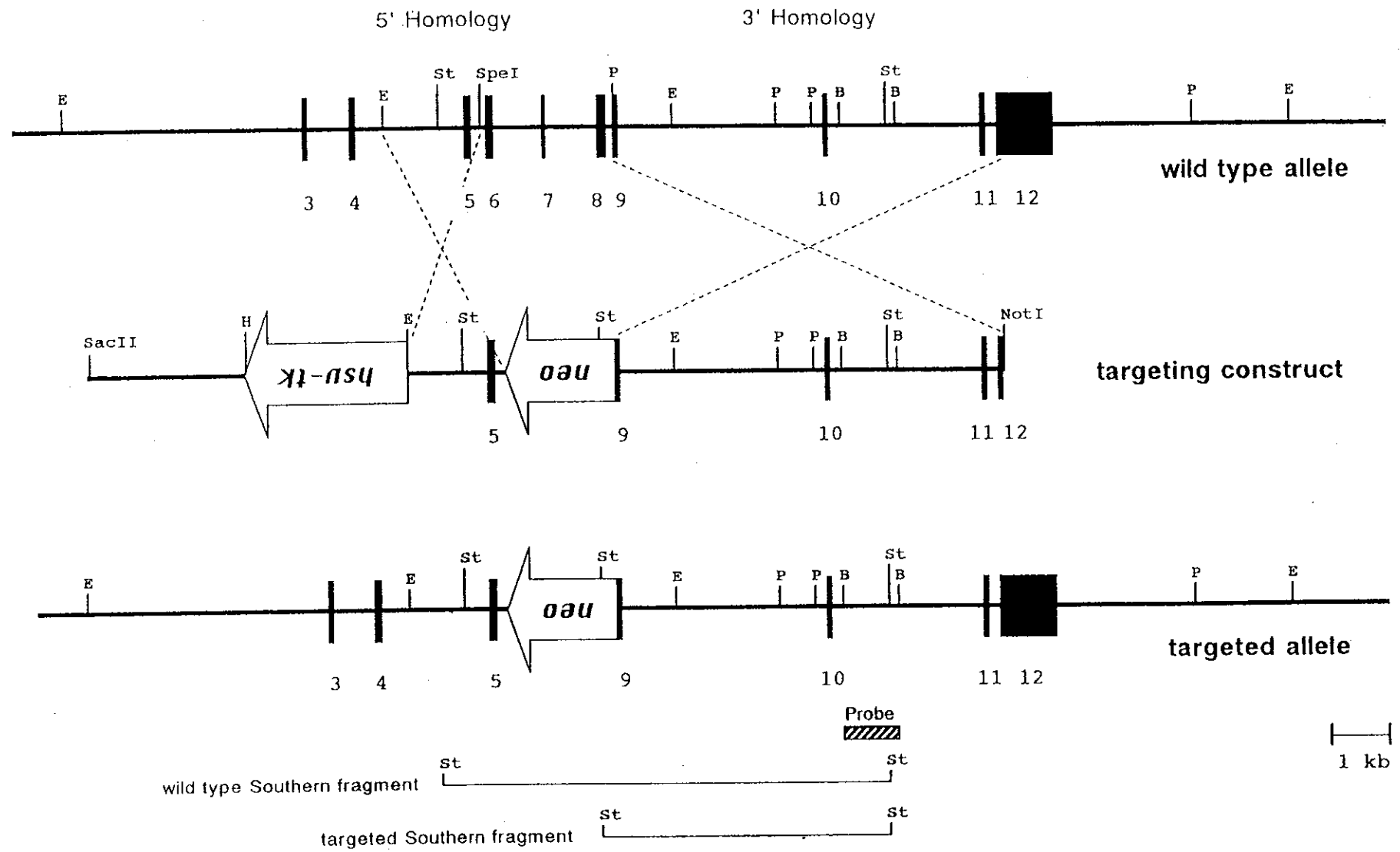


Fig. 1. Schematic diagram of the strategy used to target the HDC gene.

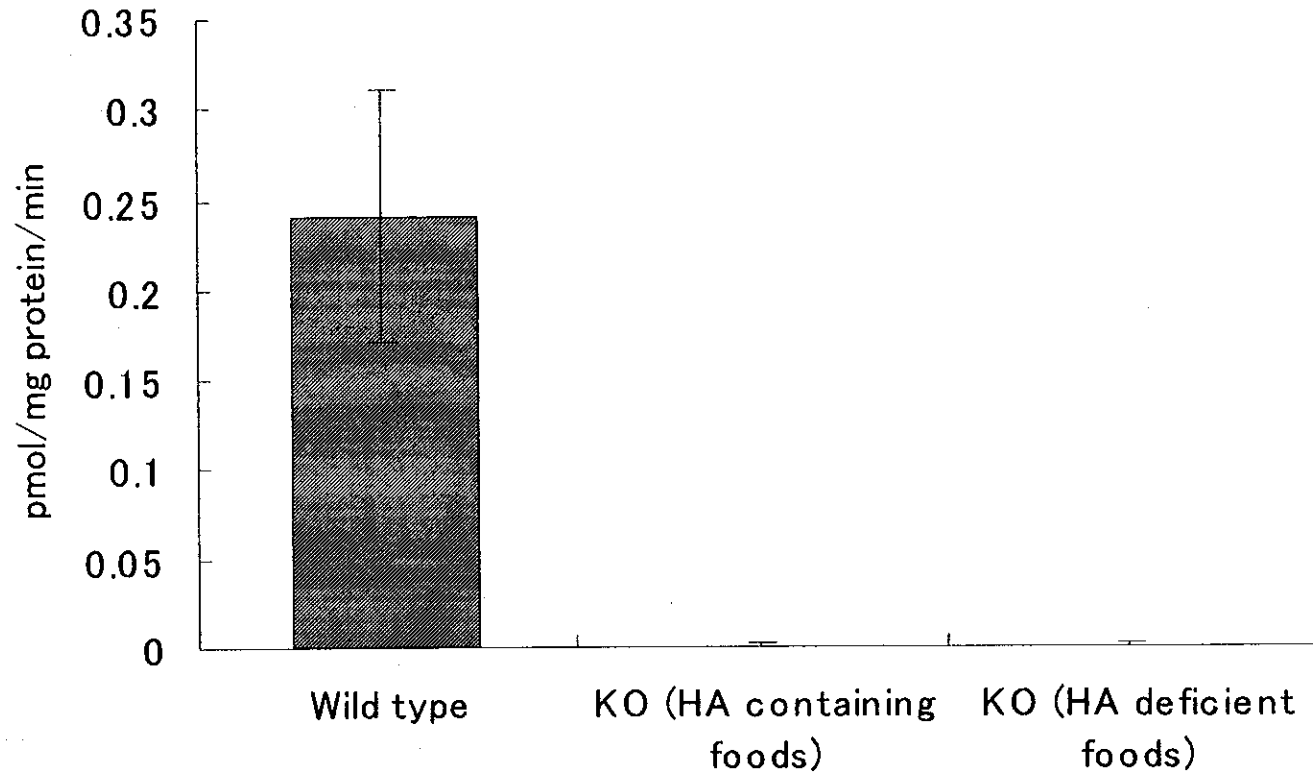


Fig. 2. HDC activity in brain of wild type and HDC-KO mice.

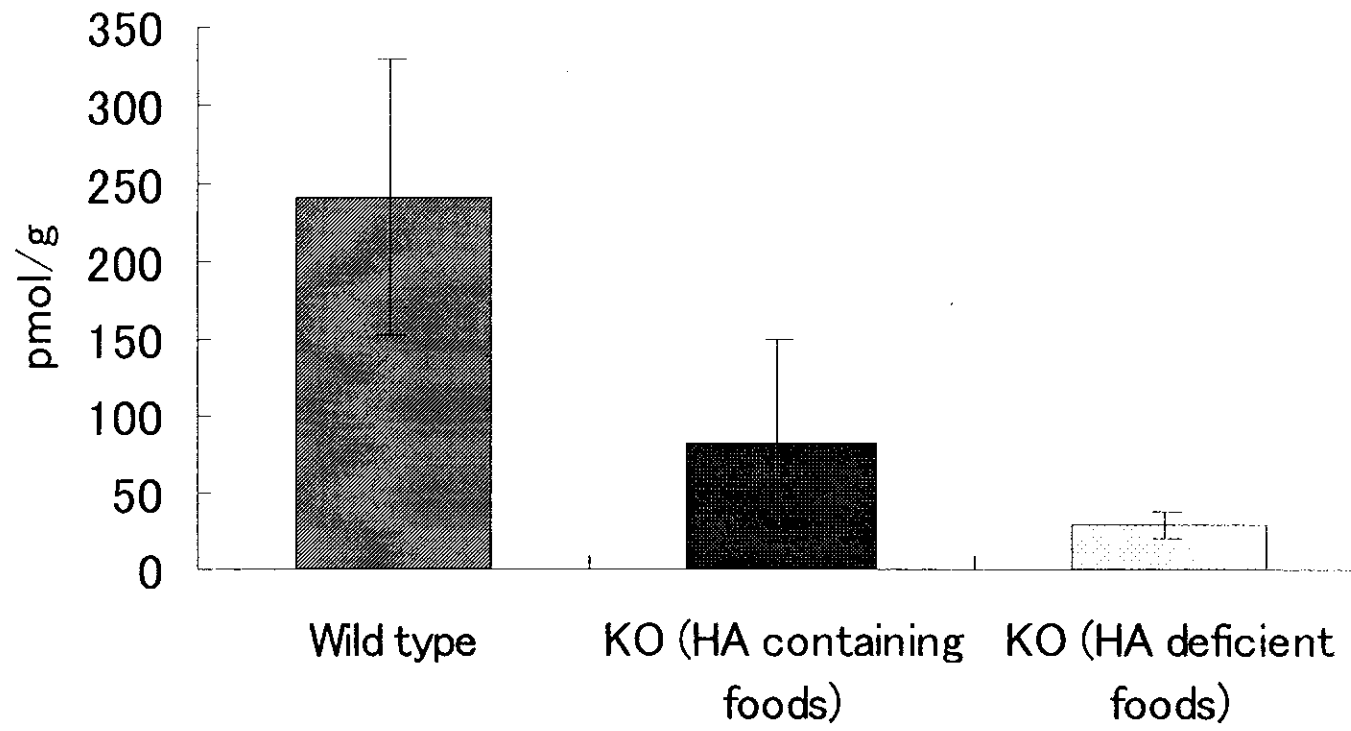


Fig. 3. HA content in brain of Wild type and HDC-KO mice.

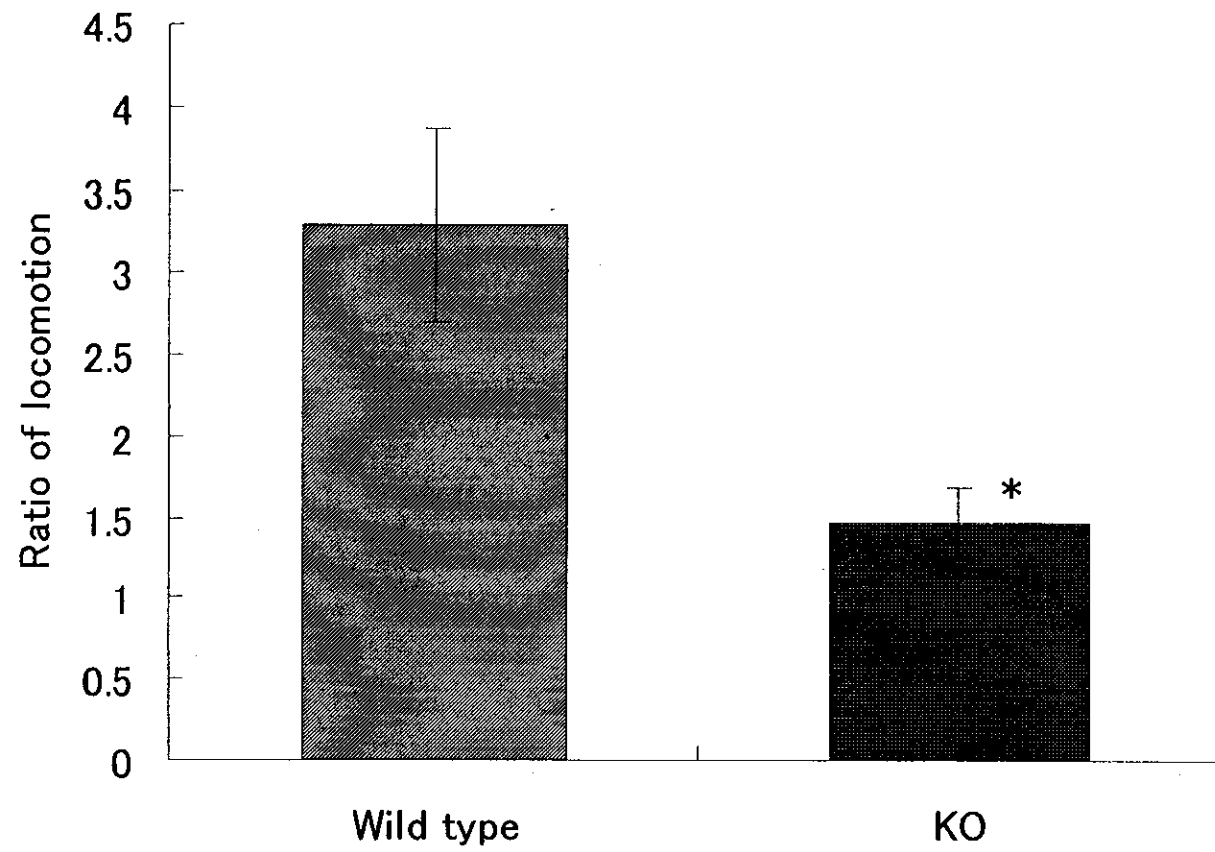
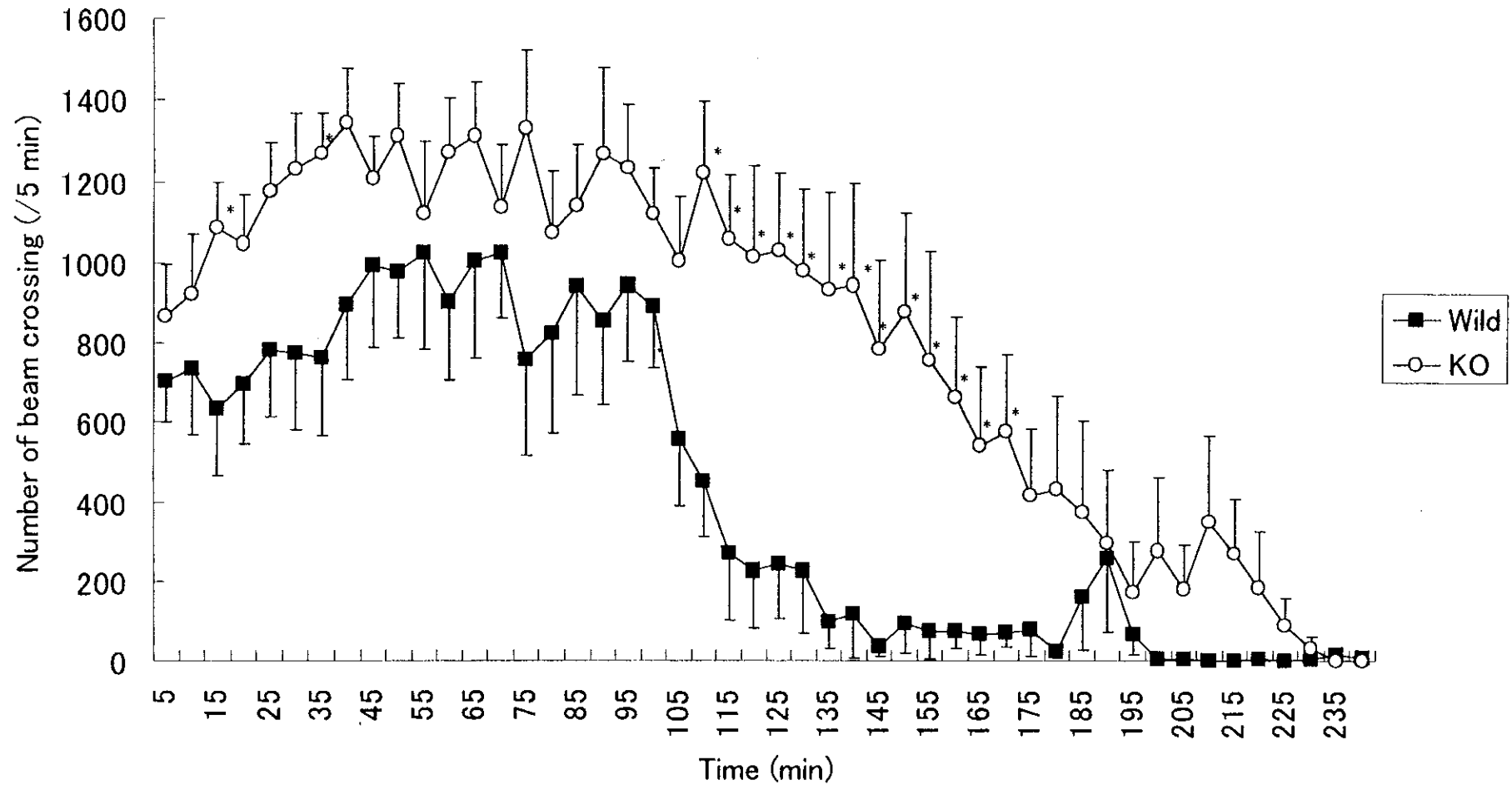


Fig. 4. Locomotor activity of HDC-KO mice. The ratio of locomotion during the dark period to the light period are shown. (* $p < 0.05$ vs. wild type mice)



*p < 0.05

Fig. 5, Effect of acute administration of MAP on locomotor activity

PETを用いた覚醒剤使用者の線条体ドーパミン・トランスポーターに関する研究

分担研究者 伊豫雅臣(浜松医科大学精神神経医学講座)
共同研究者 関根吉統、松永勉、森則夫(浜松医科大学精神神経医学講座)
尾内康臣(県西部浜松医療センター)
塚田秀夫(浜松ホトニクス中央研究所)

【研究要旨】

覚せい剤の中樞神経作用は主に脳内ドーパミントランスポーター(DAT)を介して発現している。今回我々は覚せい剤使用者7名と健常者9名を対象にポジロンCT検査により線条体DAT密度を測定し、また、覚せい剤使用者におけるDATの変化と精神症状や使用期間などの関係を調べた。その結果、覚せい剤使用者では健常者に比較して有意にDAT密度は低下しており、その低下は使用期間および精神病症状の重症度とそれぞれ有意な負の相関が認められた。また、その低下と覚せい剤中断期間との間には相関は認められなかった。これらのことから、覚せい剤長期使用によりDAT密度は低下し、その低下は不可逆的であり、また、精神病症状発現に深く関与していること示唆された。

A. 目的

覚せい剤は長期使用により、幻覚妄想を主体とした精神病状態を惹起する。さらにその覚せい剤精神病は一度体験すると、少量の覚せい剤使用や飲酒などにより容易に再燃することが知られている。また、近年長期にこの精神病状態が持続することが問題となっている。この精神病状態は精神分裂病の陽性症状に類似しており、覚せい剤精神病は精神分裂病のモデルと考えられている一方で、長期に精神病状態が持続する症例は精神分裂病が惹起されたとの考え方もなされている。このような精神病が覚せい剤の後遺症として生じているか否かを明らかとするには、覚せい剤により生じる脳内神経伝達系の変化と精神病症状との関連を明きかとする必要がある。しかし現在までそのような関連は不明である。

覚せい剤は脳内ドーパミントランスポーター(DAT)を介してその主な作用を発現していると考えられている。最近、死後脳研究やPET研究によ

り、覚せい剤長期使用者では脳内DATが低下していることが明らかとされてきた。しかし、その低下と精神症状との関連は不明である。そこで今回我々は、覚せい剤使用者と健常者を対象にポジロンCT(PET)検査による線条体DAT密度の測定を行い、覚せい剤使用者におけるDAT変化と精神症状との関連を調べた。

B. 対象と方法

対象

対象は、DSM-IV診断基準に基づきmethamphetamine use disorderと診断された7名と、性別、年齢を合わせた健常者9名である。(Table 1)

PET測定

トレーサには、cocaineの類似体であり、DAT阻害剤である $[^{11}\text{C}]2\text{-}\beta\text{-carbomethoxy-3}\beta\text{-(4-fluorophenyl)tropane}$ ($\beta\text{-CFT}$)を用いた。PET計測前に各症例からinformed consentを取得した。対象者をPET scannerに仰臥させ、 $[^{11}\text{C}]\beta\text{-CFT}$ を

右腕の静脈からが静注した。静注直後より、動脈採血(左正中動脈)および PET 計測を 90 分間施行した。動脈採血は最初は 10 秒から 15 分毎に採取した。一方、PET 計測では 1 フレーム 30 秒から 15 分間隔とした。動脈血サンプルから血漿中のリガンド濃度を測定した。また、同時に TLC-BAS 法により、代謝産物と非代謝産物を分離し、血漿中 [^{11}C]β-CFT 濃度を測定した。

関心領域 (Regions of interest; ROIs) は小脳と線条体に設定した。各 ROI の動態曲線と血中放射能動態を用いた 3-compartment、4-parameter model により DAT の結合能 (BP: binding potential) を算出した。BP は k_3/k_4 であり、 B_{max}/K_d であり、最大結合数 B_{max} を反映する指標として用いることができる。

C. 結果

Fig. 1 に PET 画像を示す。左の画像が健常者で右の画像が覚せい剤使用者である。いずれも線条体が描出される断面であり、線条体に高い放射能の集積を認めるが、覚せい剤使用者では健常者に比較してやや放射能集積が低かった。

Fig. 2 に健常者と覚せい剤使用者の DAT 密度を示す。覚せい剤使用者ではばらつきを認めるが、健常者に比較して有意に DAT 密度が低下していた。

Fig. 3 に覚せい剤使用期間と DAT 密度の関係を示す。覚せい剤使用期間と DAT 密度の間には有意な負の相関が認められた。

図 4 に BPRS 得点と DAT 密度の関係を示す。両者には有意な負の相関を認めた。また、図 5 に BPRS の陽性症状下位尺度の得点と DAT 密度の関係を示す。やはり両者には有意な負の相関を認めた。

D. 考察

今回の結果より、覚せい剤使用者では線条体 DAT 密度が有意に低下しており、その低下は使

用の長期化に伴い、重度となることが明らかとなった。また、結果は示していないが、この低下と薬物中断期間との間に相関は認められず、覚せい剤使用中断後もこの低下は長期に持続することが示唆された。最近の報告で、長期覚せい剤使用者では脳内 DAT 密度が低下しており、その低下は長期に持続する可能性が示唆されている。今回の結果はそれを支持するものである。一方、この低下と臨床症状との関係は明らかとされていない。今回の結果では、DAT 密度の低下と精神病症状は有意な相関を示していた。このことは、覚せい剤精神病の症状発現に DAT 密度の低下が深く関与していることを示唆している。すなわち、覚せい剤を長期に使用すると DAT 密度は低下し、その低下とともに精神病症状も重症となることが示唆された。

E. 結論

[^{11}C]β-CFT をトレーサとした PET により、7名の MAP 使用者と 9名の健常者について線条体 DAT の測定を行った。MAP 使用者では、健常者と比較して、線条体 DAT 結合能が有意な低下 (20%程度) を示しており、その低下と精神病症状は有意な負の相関を示していた。

Table 1 Demographic characteristics, pattern of MAP use and clinical features in the MAP users

Subject number	Sex	Age (y.o.)	Neuroleptics treatment	Period of use	Abstinence period	Aggravation of psychosis	Present symptoms
1	M	28	naive	1 m	7 d	—	a.h., anxiety thought disturbance
2	M	20	naive	6 m	2 m	—	non
3	M	22	naive	1 y	2 m	—	irritability depressive mood
4	M	28	free for 1 y	3 y	1 y	+	a.h., tension anxiety, insomnia
5	M	24	free for 1 w	4 y	1.5 y	+	thought disturbance anxiety
6	M	31	free for 1 y	12 y	4 m	+	thought disturbance a.h., suspiciousness
7	M	39	naive	15 y	19 d	+	thought disturbance a.h., suspiciousness

Note. M: male, y.o.: years old, d: day, m: month, y: years, a.h.: auditory hallucination

Fig. 1

PET images from a healthy subjects and the MAP user with lowest binding potential



Healthy subject



MAP user

Fig. 2

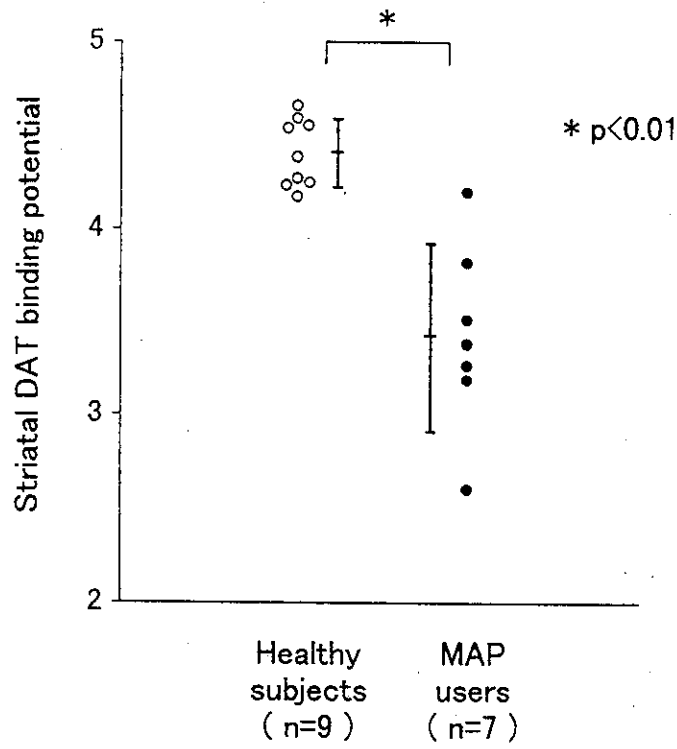


Fig. 3

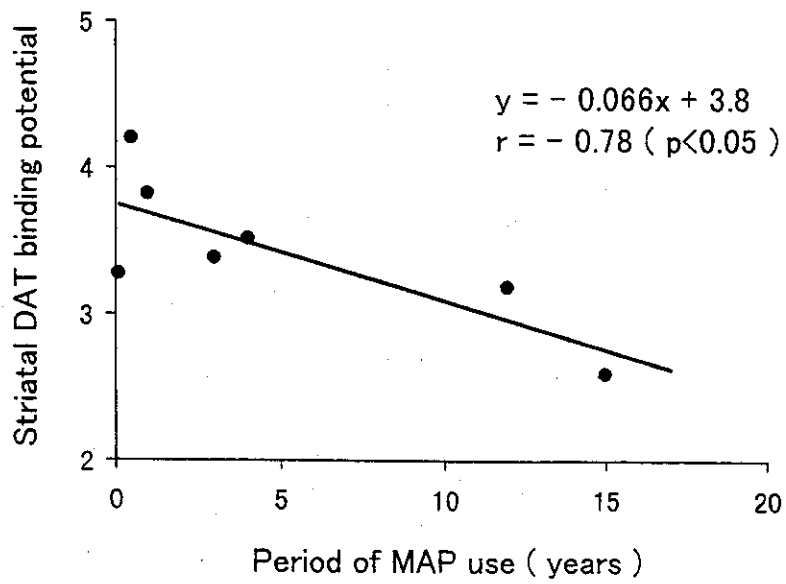


Fig. 4

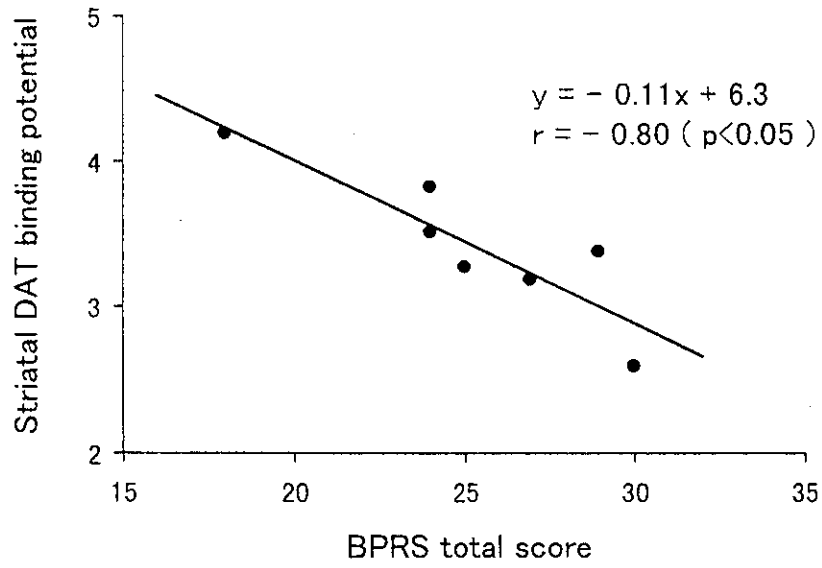


Fig. 5

