

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

規制薬物の依存及び神経毒性の発現にかかわる仕組みの
分子生物学的解明に関する研究

平成 13 年度 総括研究報告

**Neuroscientific Research on Mechanism of Dependence and Chronic
Psychotoxicity of Regulated Drug**

Annual Report

Supported by Grant from the Ministry of Health

And Welfare, Japan in 2000

(Chief ; Mitsumoto Sato)

平成 14 年 3 月

主任研究者 佐藤光源

1. 平成13年度総括研究報告 佐藤光源 1

2. 平成13年度分担研究報告

覚せい剤精神病に関わる臨床遺伝学的研究 - ドパミン・トランスポーター 5
およびD2ドパミン受容体遺伝子における関連研究

分担研究者 氏家 寛¹

研究協力者 中田謙二¹、坂井 歩²、今村貴樹³、黒田重利¹、
稲田俊也⁴、原野陸正⁵、小宮山徳太郎⁶、山田光彦⁷、
関根吉統⁸、曾良一郎⁹、伊豫雅臣¹⁰、尾崎紀夫¹¹、

JGIDA (Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse)

¹岡山大学大学院医歯学総合研究科精神神経病態学分野、²笠岡病院、
³高岡病院、⁴国立精神・神経センター精神保健研究所、⁵久留米大学、
⁶国立精神・神経センター武蔵病院、⁷昭和大学附属烏山病院、
⁸浜松医科大学、⁹東京都精神研、¹⁰千葉大学、¹¹藤田保健衛生大学

眼球運動を用いた覚醒剤精神病の分類に関する研究 14

主任研究者：小島卓也¹⁾

研究協力者：三上 智子²⁾、成瀬 暢也²⁾、守屋 裕文²⁾、
福良 洋一¹⁾、大久保 博美¹⁾、大久保 起延¹⁾、
松浦 雅人¹⁾、西川 徹³⁾、

日本大学医学部精神神経科学教室¹⁾、埼玉県立精神保健総合センター²⁾、
東京医科歯科大学³⁾

覚せい剤精神病患者の画像所見と遺伝的多型性の研究 22

分担研究者：内村直尚¹⁾

研究協力者：原野睦生¹⁾、安陪等思²⁾、石橋正敏²⁾、石橋正彦³⁾、
前田久雄¹⁾、氏家寛⁴⁾、小宮山徳太郎⁵⁾、関根吉統⁶⁾、
稲田俊也⁷⁾、伊豫雅臣⁸⁾、尾崎紀夫⁹⁾、曾良一郎¹⁰⁾、
山田光彦¹¹⁾、薬物依存ゲノム解析研究グループ (JGIDA、
Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse)

¹⁾久留米大学医学部 精神神経科、²⁾同 放射線医学、³⁾十全会十全病院、
⁴⁾岡山大学大学院医歯学総合研究科 精神神経病態学、
⁵⁾国立精神・神経センター武蔵病院精神科、⁶⁾浜松医科大学精神科、

- 7)国立精神・神経センター精神保健研究所、8)千葉大学精神科、
 9)藤田保健衛生大学・医学部・精神医学教室、
 10)東京都精神医学総合研究所 分子精神医学研究部門、
 11)昭和大学附属烏山病院精神神経科

逆耐性モデルを用いた覚醒剤精神病における脳障害の分子病態の解明 26

分担研究者 西川 徹

研究協力者 梶井 靖、村岡新一郎、海野麻未、黒田安計、柏淳

国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第三部、

メタンフェタミン投与による前シナプス側関連蛋白 mRNA と転写因子 Nurr 1 mRNA 32
 の変化

分担研究者 秋山一文¹

研究協力者 恵武人¹

¹獨協医科大学精神神経医学教室

覚せい剤の神経毒性に対するグルタチオンの役割に関する研究 41

分担研究者：伊豫雅臣

研究協力者：橋本謙二、清水栄司

¹千葉大学大学院医学研究院精神医学

覚醒剤精神病におけるヒスタミン神経の役割：画像医学的研究と小動物モデルの 50
 薬理学的研究

分担研究者 谷内一彦¹⁾

研究協力者 遠藤雅俊¹⁾、田代学¹⁾、加藤元久¹⁾、岩淵健太郎^{1) 2)}、

櫻井映子³⁾、鹿野理子¹⁾⁴⁾、本郷道夫⁴⁾、岩田錬⁵⁾、

井戸達雄⁵⁾、伊藤正敏⁵⁾、渡邊建彦³⁾

東北大学大学院医学系研究科病態薬理学分野¹⁾、

東北大学医学部精神神経学分野²⁾、東北大学医学部細胞薬理学分野³⁾、

東北大学医学部心療内科学分野⁴⁾、

東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター⁵⁾

覚醒剤精神病の臨床経過に関する画像解析：ノックアウトマウスとPETを用いた 薬物精神病および精神分裂病における中枢ヒスタミン神経系の役割に関する研究	56
<p>分担研究者 佐藤光源²⁾</p> <p>研究協力者 岩淵健太郎¹⁾³⁾、伊藤千裕¹⁾、窪田恭彦¹⁾、小島照正¹⁾、 大内雄太¹⁾、松岡洋夫¹⁾、田代学³⁾、加藤元久³⁾、 鹿野理子³⁾⁴⁾、本郷道夫⁴⁾、岩田錬⁵⁾、井戸達雄⁵⁾、 伊藤正敏⁵⁾、渡邊武⁵⁾、渡邊建彦⁶⁾、谷内一彦³⁾</p> <p>東北大学医学部精神神経学分野¹⁾、東北福祉大学大学院精神医学²⁾、 東北大学医学部病態薬理学分野³⁾、東北大学医学部心療内科学分野⁴⁾、 東北大学サイクロトロン・ラジオアイソトープセンター⁵⁾、 九州大学生体防御医学研究所⁵⁾、東北大学医学部細胞薬理学分野⁴⁶⁾</p>	
覚せい剤精神依存形成に関わる遺伝子発現の研究	65
<p>分担研究者 船田正彦</p> <p>研究協力者 佐藤美緒、尾崎茂、和田清</p> <p>国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部</p>	
遺伝子改変マウスモデルを用いた依存性薬物の分子作用機序	73
<p>分担研究者 曾良一郎</p> <p>研究協力者 沈昊偉¹⁾、萩野洋子¹⁾、小林 秀昭¹⁾、田中（篠原）慶子¹⁾、 井手 聡一郎¹⁾、George R Uhl²⁾、池田和隆¹⁾、山本敏文^{1,3)}、 山本秀子¹⁾</p> <p>¹⁾ 東京都医学研究機構・精神研・分子精神医学、 ²⁾ Mol. Neurobiol., Natl. Inst. Drug Abuse, USA、 ³⁾ 横浜市立大大学院・総合理学</p>	
覚せい剤反復投与による側坐核および腹側被蓋野ドーパミンニューロンへの毒性に 関するパッチクランプ法による解析	82
<p>分担研究者 笹 征史</p> <p>研究協力者 天野 託、松林弘明</p> <p>広島大学医学部薬理学</p>	

Nicotine 連続投与による電位依存性カルシウムチャネルの機能変化と diazepam binding inhibitor の機能的相関性	87
分担研究者 大熊 誠太郎	
研究協力者 桂 昌司	
川崎医科大学薬理学	
メタンフェタミン神経毒性における核内 p53 関連分子の関与と細胞内小器官での標的分子の検索	97
分担研究者 浅沼幹人	
岡山大学大学院医歯学総合研究科脳神経制御学講座神経情報学	
メタンフェタミンの精神毒性に関する神経精神薬理学的研究：メタンフェタミンの精神神経毒性における TNF- α の役割	104
分担研究者 鍋島 俊隆 ^{1, 2)}	
研究協力者 山田清文 ¹⁾ 、中島 晶 ¹⁾ 、永井 拓 ¹⁾ 、内山武久 ¹⁾ 、宮本嘉明 ¹⁾ 、野田幸裕 ¹⁾ 、北市清幸 ²⁾ 、長谷川高明 ²⁾ 、齋藤邦明 ³⁾	
名古屋大学大学院医学研究科医療薬学 ¹⁾ 、名古屋大・医・保健・検査技術科学 ²⁾ 、岐阜大・医・臨床検査医学 ³⁾	
覚醒剤による神経毒性と精神病の発現下における覚醒剤体内動態の変化に関する基礎的検討	113
分担研究者 長谷川 高明	
研究協力者 高木 健三、柴田 英治、高木 健次、北市 清幸	
名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻	
3. 分担研究者氏名一覧	121

平成13年度 総括研究報告

主任研究者 佐藤光源

平成13年度厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

総括研究報告書

主任研究者 佐藤光源 東北福祉大学大学院精神医学講座教授

研究成果の要旨

日本で長期にわたって乱用され、社会問題になっている代表的な規制薬は覚せい剤（メタンフェタミン）である。その強い精神依存性によって乱用者は容易に依存症に陥り、強迫的な長期乱用を生じる。それは二次性に脳障害を招き、それが覚せい剤精神病や再発しやすさなどの後遺状態を招いて乱用者と家族の社会生活機能を侵すだけでなく、ときには社会を震撼させる凶悪事件に発展することもある。本研究には、この問題に含まれる2つの問題、すなわち依存成立の脳内神経メカニズムと長期乱用に伴う二次的な脳障害の実態と発生メカニズムの解明が必要である。今回は初年度であるが、注目すべき成果が得られている。

覚せい剤による精神依存の形成に関与する脳内遺伝子が存在することが示され、それが inositol 1,4,5-triphosphate receptor 1 に関連していることが示唆された（船田）。また、遺伝子改変マウスモデルを用いた研究で、コカイン依存にはドーパミン神経系が、モルヒネやエタノール依存には μ 受容体がそれぞれ関与することが示された（曾良）。また、覚せい剤を連続投与しりと脳報酬系の一部である側坐核ニューロンにおけるドーパミンや覚せい剤への過感受性が惹起され、それが受容体密度の増加か細胞内伝達系の変化によることが電気生理学的に示された（笹）。また、ニコチン暴露による DBI 発現のメカニズムが示唆されている（大熊）。以上から、覚せい剤がドーパミン神経系を中心とする脳の報酬系の機能障害を起し、それが精神依存の成立に関与することが示唆された。

覚せい剤の長期乱用による神経毒性に関しては、覚せい剤により P53 と PAG608 が活性化され、その下流にあるアポトーシス関連因子が活性化されて神経細胞死に至る可能性が明らかになった（浅沼）。また、この神経毒性に対して、TNF- α が抑制的に関与すること（鍋島）も示唆された。

覚せい剤精神病の発生メカニズムについては、基礎的な研究に加えて、本格的な臨床研究が開始されたのが注目される。氏家らは多施設の覚せい剤依存症と同精神病の多数例を対象にした脳ドーパミントランスポーターとドーパミン D2 受容体の遺伝子を解析した。覚せい剤が脳ドーパミントランスポーターを介して神経終末内に入って中のドーパミンをシナプス間隙内に遊離させ、それがドーパミン D2 受容体に結合して脳ドーパミン神経系を興奮させることが覚せい剤の主たる中枢作用とされているからである。その結果、ドーパミントランスポーター遺伝子で non-common を遺伝子にもつものや、ドーパミン D2 遺伝子では common アレルをもつ者が重症の覚せい剤精神病になりやすいことが示唆された。また、小

島らは、多数の覚せい剤精神病患者を対象に追跡眼球運動を調べ、その反応的探索スコアが遷延持続型が早期消退型や健常者よりも低スコアを示し、その重症度に相関することが示された。遷延持続型の覚せい剤精神病患者は、精神分裂病と同様の発症脆弱性をもつことが示唆されたのである。また、内村らは、覚せい剤精神病患者7名のドーパミン D2 遺伝子解析を行い、Taq 1A 多型と海馬の低血流を示す SPECT 所見との関連を明らかにした。また、MRI で3例に多発脳梗塞を認めている。以上の成績は、いずれも世界的にも新しい臨床知見であり、覚せい剤精神病の診断と脳障害の重症度評価に役立つ可能性があり、次年度以降の展開が期待される。

覚せい剤精神病の基礎的研究では、逆耐性現象の発生機序をめぐる研究が進められた。周知のように、覚せい剤精神病が発病するまでの特徴ある臨床経過は逆耐性現象とよばれ（佐藤）、急性中枢興奮作用としての精神症状（不眠、覚醒、精神運動興奮、注意障害など）から猜疑心や錯覚など疑心暗鬼の体験時期を経て、やがて精神病エピソード（幻覚、妄想、激しい興奮など）が現れ、回復後もフラッシュバックのような再発しやすさが永続するのが特徴である。この逆耐性現象を動物で再現できることから、逆耐性現象のメカニズム解明が覚せい剤精神病の発病メカニズムの発見につながると考えられている。西川らは、この現象の成立に特異的な役割を演じる新規遺伝子 *mrt-1* をすでに発見しており、さらにその分子構造や機能の解明に着手している。今回は *MRT1* のゲノム構造を明らかにするとともに、他の精神疾患との関連を検討するため変異の検索を始めた。また、新たに逆耐性現象の成立にかかわるもう一つの新規遺伝子 *mrt 3* の塩基配列を明らかにし、この遺伝子が同現象に特異的に関わることを示した。伊豫は、覚せい剤長期乱用に伴う脳障害の発生を予防する薬物を開発する目的で、外因性および内因性グルタミン酸が 6-OHDA 誘発神経細胞死を防ぐのに重要な役割を果たすことを指摘した。矢内と佐藤らは、覚せい剤精神病の逆耐性現象の発生に脳ヒスタミン神経系が抑制的に関与するという前年度までの研究成果をもとに、PET による覚せい剤精神病の成因研究に必要な H1 受容体の放射性リガンドを用いた脳内 H1 受容体の変化を検討した。次年度以降の PET による脳ヒスタミン神経系の研究の基礎となる成績が得られている。このように、逆耐性現象の成立メカニズムの分子機構に関する新たな知見がえられ、覚せい剤精神病の発生機序を知る重要な基礎的所見が得られつつある。

(I) 薬物精神病の発症と再発の原因

1. 覚せい剤精神病に関わる臨床遺伝学的研究 -ドパミン・トランスポーターおよびD2ドパミン受容体遺伝子における関連研究
(岡山大学大学院医歯学総合研究科精神神経病態学分野 氏家 寛)
2. 眼球運動を用いた覚醒剤精神病の分類に関する研究
(日本大学医学部精神神経科学教室 小島 卓也)
3. 覚せい剤精神病患者の画像所見と遺伝的多型性の研究
(久留米大学医学部 精神神経科 内村 直尚)
4. 逆耐性モデルを用いた覚醒剤精神病における脳障害の分子病態の解明
(東京医科歯科大学、国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第三部 西川 徹)
5. メタンフェタミン投与による前シナプス側関連蛋白 mRNA と転写因子 Nurr 1 mRNA の変化
(獨協医科大学精神神経医学教室 秋山一文)
6. 覚せい剤の神経毒性に対するグルタチオンの役割に関する研究
(千葉大学大学院医学研究院精神医学 伊豫雅臣)
7. 覚醒剤精神病におけるヒスタミン神経の役割:画像医学的研究と小動物モデルの薬理学的研究
(東北大学大学院医学系研究科病態薬理学分野 谷内一彦)
8. 覚醒剤精神病の臨床経過に関する画像解析:ノックアウトマウスとPETを用いた薬物精神病および精神分裂病における中枢ヒスタミン神経系の役割に関する研究
(東北福祉大学大学院精神医学 佐藤光源)

(II) 依存メカニズムの研究

1. 覚せい剤精神依存形成に関わる遺伝子発現の研究
(国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部 船田正彦)
2. 遺伝子改変マウスモデルを用いた依存性薬物の分子作用機序
(東京都医学研究機構・精神研・分子精神医学 曾良一郎)
3. 覚せい剤反復投与による側坐核および腹側被蓋野ドーパミンニューロンへの毒性に関するパッチクランプ法による解析
(広島大学医学部薬理学 笹 征史)
4. Nicotine 連続投与による電位依存性カルシウムチャネルの機能変化と diazepam binding inhibitor の機能的相関性
(川崎医科大学薬理学 大熊 誠太郎)

5. メタンフェタミン神経毒性における核内 p53 関連分子の関与と細胞内小器官での標的分子の検索
(岡山大学大学院医歯学総合研究科脳神経制御学講座神経情報学 浅沼幹人)
6. メタンフェタミンの精神毒性に関する神経精神薬理学的研究:メタンフェタミンの精神神経毒性における TNF- α の役割
(名古屋大学大学院医学研究科医療薬学 鍋島 俊隆)
7. 覚醒剤による神経毒性と精神病の発現下における覚醒剤体内動態の変化に関する基礎的検討
(名古屋大学医学部保健学科検査技術科学専攻 長谷川 高明)

平成13年度 分担研究報告

平成 13 年度厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）研究
「規制薬物の依存及び神経毒性の発現に関わる仕組みの
分子生物学的解明に関する研究」分担研究報告書

分担研究課題：覚せい剤精神病に関わる臨床遺伝学的研究 - ドパミン・トラン
スポーターおよび D2 ドパミン受容体遺伝子における関連研究

分担研究者 氏家 寛¹

共同研究者 中田謙二¹、坂井 歩²、今村貴樹³、黒田重利¹、稲田俊也⁴、原野陸正⁵、小宮山
徳太郎⁶、山田光彦⁷、関根吉統⁸、曾良一郎⁹、伊豫雅臣¹⁰、尾崎紀夫¹¹、JGIDA (Japanese Genetics
Initiative for Drug Abuse)

所属 ¹岡山大学大学院医歯学総合研究科精神神経病態学分野、²笠岡病院、³高岡病院、⁴国立
精神・神経センター精神保健研究所、⁵久留米大学、⁶国立精神・神経センター武蔵病院、⁷昭和
大学附属烏山病院、⁸浜松医科大学、⁹東京都精神研、¹⁰千葉大学、¹¹藤田保健衛生大学

（研究要旨）薬物依存や薬物誘発性精神病の発症メカニズムにおける個々人の脆弱性に関与する遺伝要因を明らかにするため、覚せい剤依存・精神病患者のゲノム解析を行った。初年度では覚せい剤の primary site であるドパミントランスポーター(以下 hDAT1) と D2 受容体(以下 hDRD2) 遺伝子について調べた。hDAT1 遺伝子では 4ヶ所(エクソン 2 の 242C/T、エクソン 9 の 1342A/G、3'非翻訳部位の 2319G/A と VNTR)、hDRD2 遺伝子では 3' flanking region の TaqI A とプロモーター上の -141 Ins/Del を調べた。対象は 132 人の覚せい剤依存または精神病患者と、性および年齢の一致した 161 人の健常者である。その結果、いずれの多型も、覚せい剤依存全体または覚せい剤精神病全体とは有意な相関は示さなかった。しかし、症状の層別解析では、覚せい剤精神病の遷延型(治療後 1ヶ月以上精神病が持続するもの)では 3'非翻訳部位 VNTR で 10 回リピート以外の non-common allele が有意に多かった。また、同様に DRD2 の TaqI A 多型では A1/A1 遺伝子型が有意に少なかった。また、DRD2 の TaqI A1 およびプロモーター部位の -141 del アレル保有者はいわゆるフラッシュバックが少ない傾向が示された。A1 および -141 del アレルは non-common アレルであり、D2 受容体の発現が少なくなることが報告されている。従って、本研究の結果から、ドパミントランスポーター遺伝子では non-common をアレル持っているものが、D2 受容体では逆に common アレルを保っているものが一旦覚せい剤精神病を発症すると重症になりやすいことが示唆され、覚せい剤精神病の予後に遺伝要因が影響することが明らかになった。

A. 目的

薬物依存や薬物誘発性精神病の形成は、その薬物自体の薬理特性が重要であることは言うまでもないが、この他にも環境因子、心理社会因子、遺伝以外の家族因子、そして遺伝要因も影響していることが指摘されている²¹⁾。近年の家族、双子、養子研究から遺伝要因がかなり大きな影響を与えていることが示されている。例えば、Kendler ら⁹⁾の男子双子研究でみると一卵性双生児と二卵性双生児の一致率は単純な使用レベルではほとんど差がないが、重度使用、乱用、依存とその重症度が強くなるに従って、一致率に差が出てくる。つまり、遺伝要因がより明瞭であることを示

している。また、これを best-fit model 解析で遺伝率を算出すると、使用レベルでは 0.27 であるが、乱用や依存レベルでは 0.71-0.83 と驚くほど高い遺伝率がはじきだされている^{20, 22)}。この傾向はカンナビスや催幻覚剤などより興奮剤、オピオイドの方がより際だっていることも示されている。本邦では、特に成人以降では興奮剤に属するヒロポン(methamphetamine)の乱用が最も多く、また深刻な社会問題となっている。特に、その強烈的な精神依存形成と高率な薬物誘発性精神病の発症が問題となっている。しかし、一方では数回の使用に留まり依存が形成されない者や乱用しても精神病を合併しない症例も

よく経験する。従って、本研究では、これら覚せい剤使用による薬物反応性の違い、特に依存形成、精神病形成における遺伝子要因を明らかにすることを目的とした。本年度では覚せい剤の一次作用部位であるドパミントランスポーター遺伝子 (hDAT1) と効果伝達部位と考えられているドパミン D2 受容体遺伝子 (DRD2) の解析を行った。

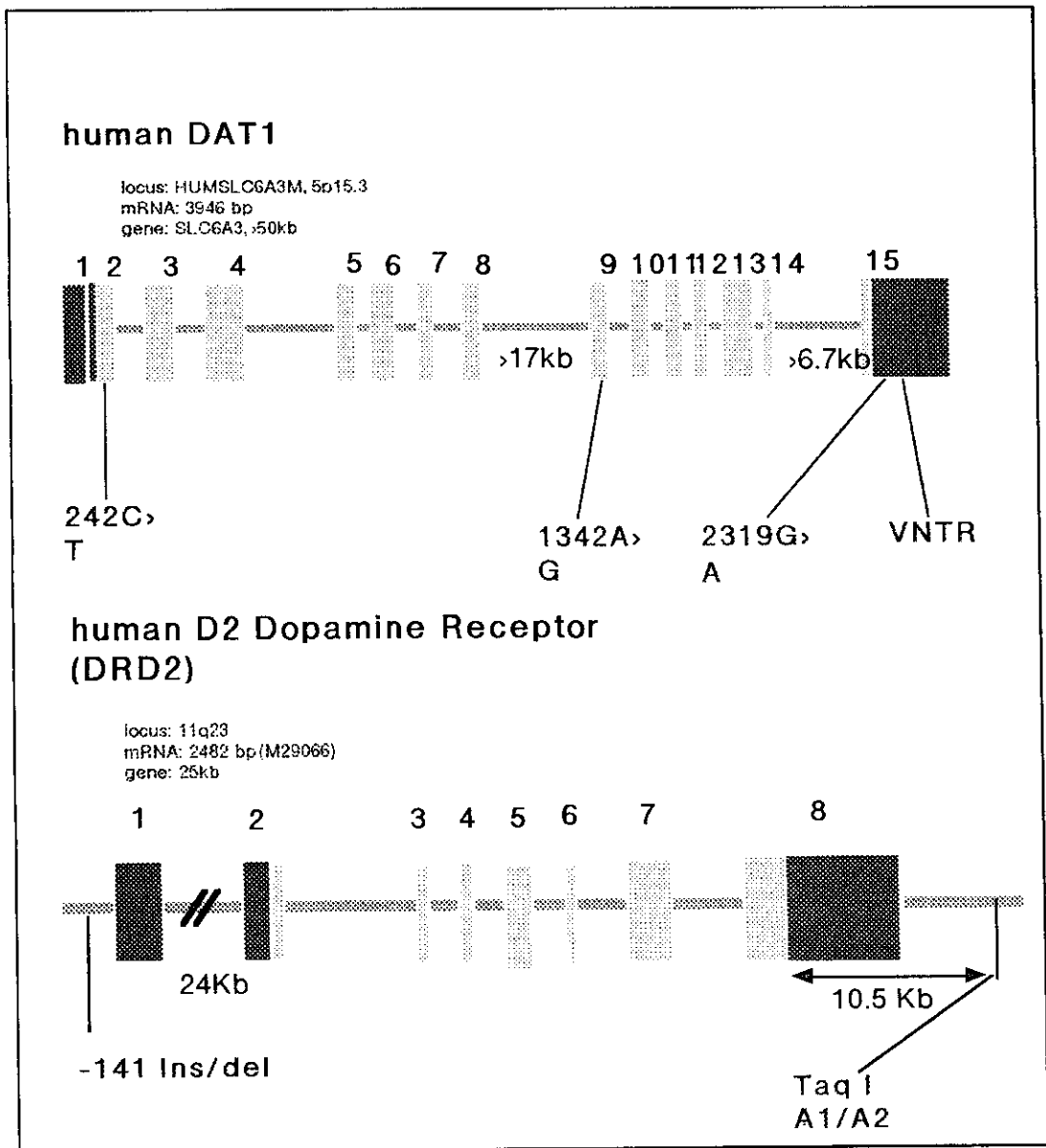
B. 方法

1. 対象

対象は覚せい剤使用者は 132 名で、男性

102 名、女性 30 名、平均年齢 35.8 +/- 11.3 歳である。すべて日本人である。遺伝子バックグラウンドの拡散をできるだけ軽減するため、九州北部、瀬戸内地方、中京東海地方、関東の病院の受診者とし、関東以北や南九州、北陸地方は本研究には組み入れなかった。非使用対照者は性、年齢を一致させた健常者で、薬物依存以外にその他の精神神経疾患の既往歴が無く、また、家族歴にもアルコールを含め薬物依存歴の無いものとした。また、できるだけ居住地域も一致させた 161 名で、男性

図 1 hDAT1 と DRD2 遺伝子構造と多型の位置



125名、女性36名で、平均年齢は36.0 +/- 10.2歳である。研究に先立ち、岡山大学及び各参加病院、施設で倫理委員会の審査、承認を受け、すべての対象者からは文章によるインフォームドコンセントを得た。

患者の診断はICD-10に拠った、その内訳は覚せい剤精神病および依存症（以降は覚せい剤精神病とのみ記載する。F15.5およびF15.2）が115名、覚せい剤依存症のみ（F15.2）が124名、使用のみで依存症のない者が8名である。

2. ゲノム解析による相関研究

対象者から末梢血6mIを採血し、スタンダードな方法でゲノムDNAを抽出し、以降の解析に使用した。

hDAT1ではエクソン上の多型4ヶ所を解析した（図1上）。エクソン2の242C>T、エクソン9の1342A>G、エクソン15の2319G>AとVNTRである。エクソン2と9は翻訳部位であるが、この多型はどちらもsilentで、エクソン15は非翻訳部位である。それぞれのプライマー、PCRの条件、RFLP解析は以下の通りである。242C>T（エクソン2）プライマー：5'-AAGAGGG AAGAAGCACAGAA-3'、5'-GGAGCTGTGAGCTGCGGTCC-3'、アニーリング温度は60℃。PCR産物を制限酵素のCpo Iで切断後4.5% agarose gelで解析した。1342A>G（エクソン9）のプライマーは5'-CACAGCGTGGGCTCTGTG-3'、5'-GGTGGAAGGAACCCAACCTG-3'でアニーリング温度は60℃。PCR産物を制限酵素のDde Iで切断後3% agarose gelで解析した。2319G>A（エクソン15）のプライマーは5'-CCGTGCTTGTGTTGCTGTA-3'、5'-ACGGGGATTCTCAGGAGGTG-3'、アニーリング温度は60℃。PCR産物を制限酵素のMsp Iで切断後3% agarose gelで解析した。エクソン15のVNTRのプライマーは5'-TGTGGTGTAGGGAACGGCCTGAG-3'、5'-CTTCCTGGAGGTCACGGCTCAAGG-3'で、一方のプライマーをTexas redでエンドラベルし、PCR（アニーリング温度60℃）で増幅し、6% polyacrylamide gelにsize standardと一緒にSQ5500 DNA sequencerで（Hitachi Co., Japan）電気泳動し、Fragyls 2（Hitachi Co., Japan）を用いてコンピュータ

ーでフラグメントの長さを決定し、リピート数を算出した。

DRD2遺伝子では機能性多型であることが知られている3'下流のTaq I A多型とプロモーター領域にある-141Ins/Del多型を解析した（図1下）。Taq I A多型部位のプライマーは5'-GGCTTAGAACCACCCAGAGT-3'、5'-AGAGCAGTCAGGCTGGACAC-3'で、アニーリング温度は53℃、制限酵素はTaq Iで切断し3% agarose gelで解析した。-141Ins/Del多型のプライマーは5'-ACTGGCGAGCAGACGGTGAGGACCC-3'、5'TGCGCGCGTGAGGCTGCCGTTTCGG-3'でアニーリング温度は65℃でMva Iで切断後3.5% agarose gelで解析した。

統計には解二乗検定もしくはMann-Whitney検定を用いた。

C. 結果

1. 臨床症状

患者の内訳は上述したが、男女比は10:3と男性に多かった。覚せい剤の初回使用年齢は20.9 +/- 5.2歳であった。初回使用から精神病像の出現までは平均5.7年であった。精神病の治療後の経過では、治療後1ヶ月以内に消退する早期消退型が58%で、治療後1ヶ月以上持続する遷延型が42%であった。6ヶ月以上持続する持続遷延型は25%にみられた。また、いわゆるフラッシュバック（ICD-10で定義するフラッシュバックF1X.70ではなく、薬物使用無しに精神病状態が出現する自然再燃をここでは指す）の合併は37%に見られ、63%にはなかった。覚せい剤以外の多剤乱用は71%にみられた。また、アルコールやシンナーのように比較的入手が容易なもの以外、例えば大麻、コカインなども使用した事があるものを重度多剤乱用と定義したが、これは38%にみられた。

2. 遺伝子相関研究

今回調べたhDAT1遺伝子の4つの多型分布はHardy-Weinberg分布から逸脱していなかった。いずれの多型も覚せい剤精神病全体、または覚せい剤依存全体との相関は示さなかった。覚せい剤精神病の臨床特性においても242C>T、1342A>G多型は相関を示さなかった。2319G>Aではフラッシュバックを合併し

表1 覚せい剤依存、精神病におけるhDAT1遺伝子多型分布

242C>T	N	Genotype			p	Allele		p
		CC	CT	TT		C	T	
Control	106	98.1%	1.9%	0.0%		99.1%	0.9%	
METH Dependence	103	98.1%	1.9%	0.0%	0.97	99.0%	1.0%	0.98
METH Psychosis	96	97.9%	2.1%	0.0%	0.92	99.0%	1.0%	0.93
Prognosis of Psychosis								
Transient	54	96.3%	3.7%	0.0%		98.1%	1.9%	
Prolonged	38	100.0%	0.0%	0.0%	0.51	100.0%	0.0%	0.51
Spontaneous Relapse								
+	35	100.0%	0.0%	0.0%		100.0%	0.0%	
-	60	96.7%	3.3%	0.0%	0.53	98.0%	1.7%	0.53
poly-drug abuse								
-	33	100.0%	0.0%	0.0%		100.0%	0.0%	
+	69	97.1%	2.9%	0.0%	0.56	98.6%	1.4%	0.56
heavy	30	100.0%	0.0%	0.0%	-	100.0%	0.0%	-

1342A>G	N	Genotype			p	Allele		p
		AA	AG	GG		A	G	
Control	159	81.1%	16.4%	2.5%		89.3%	10.7%	
METH Dependence	124	81.5%	17.7%	0.8%	0.72	90.3%	9.7%	0.54
METH Psychosis	115	80.9%	18.3%	0.9%	0.60	90.0%	10.0%	0.68
Prognosis of Psychosis								
Transient	66	83.3%	16.7%	0.0%		91.7%	8.3%	
Prolonged	47	76.6%	21.3%	2.1%	0.32	87.2%	12.8%	0.12
Spontaneous Relapse								
+	41	80.5%	19.5%	0.0%		90.2%	9.8%	
-	71	81.7%	16.9%	1.4%	0.66	90.1%	9.9%	0.97
poly-drug abuse								
-	36	77.0%	19.4%	2.8%		87.5%	12.5%	
+	89	80.9%	19.1%	0.0%	0.89	90.4%	9.6%	0.39
heavy	47	80.9%	19.1%	0.0%	0.89	90.4%	9.6%	0.39

2319G>A	N	Genotype			p	Allele		p
		GG	GA	AA		G	A	
Control	157	58.6%	36.3%	5.1%		76.8%	23.2%	
METH Dependence	124	55.6%	36.7%	5.6%	0.75	75.0%	25.0%	0.47
METH Psychosis	115	54.8%	40.0%	5.2%	0.62	74.8%	25.2%	0.42
Prognosis of Psychosis								
Transient	63	57.1%	39.1%	4.8%		76.2%	23.8%	
Prolonged	47	51.1%	42.6%	6.4%	0.39	72.3%	27.7%	0.33
Spontaneous Relapse								
+	41	48.8%	41.5%	9.8%		69.5%	30.5%	
-	71	57.7%	39.4%	2.9%	0.09	77.5%	22.5%	0.06
poly-drug abuse								
-	35	58.3%	35.1%	5.6%		76.4%	23.6%	
+	88	53.4%	42.0%	4.5%	0.76	74.4%	25.6%	0.70
heavy	44	52.3%	43.2%	4.5%	0.69	73.9%	26.1%	0.63

表1 続き

VNTR in 3'UTR	Allele (Numbers of Repeat)								z	p
	6	7	8	9	10	11	13	14		
Control	0.0%	1%	0.0%	6.3%	90.6%	1.9%	0.0%	0.0%		
METH Dependence	0.8%	2.0%	0.4%	4.8%	89.9%	0.8%	0.4%	0.8%	0.112	0.91
METH Psychosis	0.9%	2.2%	0.4%	4.8%	89.6%	0.9%	0.4%	0.9%	0.112	0.90
Prognosis of Psychosis										
Transient	0.0%	1.5%	0.0%	2.3%	93.9%	0.0%	0.8%	1.5%		
Prolonged	1.1%	3.2%	1.1%	8.5%	84.0%	2.1%	0.0%	0.0%	1.26	0.016
Spontaneous Relapse										
+	1.2%	1.2%	1.2%	6.1%	89.0%	0.0%	1.2%	0.0%		
-	0.7%	2.8%	0.0%	4.2%	89.4%	1.4%	0.0%	1.4%	0.4	0.68
poly-drug abuse										
-	0.0%	4.7%	0.0%	0.0%	92.2%	1.6%	1.6%	0.0%		
+	1.1%	1.7%	0.6%	5.1%	89.9%	0.6%	0.0%	1.1%	0.08	0.93
heavy	1.1%	3.3%	1.1%	5.6%	88.9%	0.0%	0.0%	0.0%	0.52	0.60

VNTR in 3'UTR	N	Genotype			p	Allele		p
		R10/R10	R10/non R10	non/non		R10	non R10	
Control	160	82.5%	16.3%	1.3%		90.6%	9.4%	
METH Dependence	124	80.6%	18.5%	0.8%	0.46	89.9%	10.1%	0.88
METH Psychosis	115	80.0%	19.1%	0.9%	0.36	89.6%	10.4%	0.90
Prognosis of Psychosis								
Transient	66	87.9%	12.1%	0.0%		93.9%	6.1%	
Prolonged	47	70.2%	27.7%	2.1%	0.004	84.0%	16.0%	0.002
Spontaneous Relapse								
+	41	78.0%	22.0%	0.0%		89.0%	11.0%	
-	71	80.3%	18.3%	1.4%	0.57	89.4%	10.6%	0.90
poly-drug abuse								
-	32	87.5%	9.4%	3.1%		92.2%	7.8%	
+	89	79.8%	20.2%	0.0%	0.14	89.9%	10.1%	0.54
heavy	45	77.8%	22.2%	0.0%	0.09	88.9%	11.1%	0.40

た患者に rare allele である A allele が、また遺伝子型では AA 型が多い傾向がみられた (表1)。更に3'非翻訳部位の VNTR 多型では覚せい剤精神病の遷延型では有意なアレル分布に差がみられた (p=0.016)。Common allele が 10-repeat allele であったので、10-repeat と non-10 repeat に分けてみると、覚せい剤性精神病遷延型では有意に non-10 repeat allele 頻度が多く (p=0.002)、non-10 repeat を持つ遺伝型が有意に多かった (p=0.004)。その他の臨床特性、フラッシュバックの有無、多剤乱用の有無には関連しなかった。

DRD2 遺伝子では3'下流にある TaqIA 多

型、プロモーター部位の-141Ins/Del 多型は、hDAT1 と同じように覚せい剤依存者全体、覚せい剤精神病全体では相関は示さなかった (表2)。しかし、覚せい剤精神病の臨床特性毎での検討では、精神病遷延型を示すものは有意に A1/A1 遺伝子型が有意に少なかった (p=0.018)。フラッシュバックを示す群では TaqIA 多型の A1 アレル頻度および A1/A1 遺伝子型が有意に少なかった (それぞれ p=0.015, p=0.042)。-141Ins/Del 多型ではフラッシュバックを示す群でアレル頻度で Del アレルが少ない傾向がみられた。その他のプロフィールには相関を示さなかった。

表2 DRD2遺伝子多型と覚せい剤依存症および精神病

Taq IA	N	Genotype			p	Allele		p
		A1/A1	A1/A2	A2/A2		A1	A2	
Control	112	14.3%	46.3%	39.3%	-	37.5%	62.5%	-
METH Dependence	110	15.5%	35.5%	49.1%	0.24	33.2%	66.8%	0.34
METH Psychosis	103	15.5%	36.9%	47.6%	0.36	34.0%	66.0%	0.45
Prognosis of Psychosis								
Transient	65	23.1%	29.2%	47.7%	0.018	37.5%	66.1%	0.093
Prolonged	40	5.0%	47.5%	47.5%		28.7%	71.3%	
Spontaneous Relapse								
+	34	2.9%	47.1%	50.0%	0.015	26.5%	72.1%	0.042
-	71	22.5%	32.4%	45.1%		39.7%	54.9%	
poly-drug abuse								
-	28	10.7%	32.1%	57.1%	0.40	26.8%	60.7%	0.37
+	73	17.8%	39.7%	42.5%		37.7%	62.3%	
heavy	35	11.4%	34.3%	54.3%		26.6%	71.4%	

-141 Ins/Del	N	Genotype			p	Allele		p
		Ins/Ins	Ins/Del	Del/Del		Ins	Del	
Control	160	73.1%	25.6%	1.3%	-	85.9%	14.1%	-
METH Dependence	123	71.5%	25.2%	3.3%	0.52	84.1%	15.9%	0.55
METH Psychosis	115	71.3%	25.2%	3.5%	0.47	83.9%	16.1%	0.51
Prognosis of Psychosis								
Transient	64	70.3%	25.0%	4.7%	0.73	82.8%	17.2%	0.44
Prolonged	45	75.6%	22.2%	2.2%		86.7%	13.3%	
Spontaneous Relapse								
+	40	77.5%	20.0%	2.5%	0.17	87.5%	12.5%	0.08
-	83	65.1%	31.3%	3.6%		80.7%	19.3%	
poly-drug abuse								
-	38	68.4%	26.3%	5.3%	0.71	81.6%	18.4%	0.83
+	89	70.8%	27.0%	2.2%		84.3%	15.7%	
heavy	51	64.7%	31.4%	3.9%		80.4%	19.6%	

D. 考察

以上の結果を表3にまとめた。今回、解析した hDAT1、DRD2 遺伝子多型との相関研究では、覚せい剤依存者、もしくは覚せい剤精神病全体とは相関しなかった。しかし、覚せい剤精神病的臨床特性でみると興味深い結果が得られた。覚せい剤精神病患者の断薬・治療後の精神病的消退の早さから、一ヶ月以内に消退する早期消退型と、一ヶ月以上持続する遷延型に分けられるが、hDAT1 のエクソン15の非翻訳領域にある VNTR 多型のリピートが common allele である 10 回リピート以外を持つ患者では有意に遷延型が多かった (p=0.002)。また、DRD2 遺伝子 TaqIA 多型では A1/A1 遺伝子型が有意に少なかった (p=0.018)。断薬・治療開始後6ヶ月以上精神病状態が続くものを、更に遷延持続型

と呼ぶ場合があるが、それで分類すると症例数 (N=35) が十分ではないが、更にこの遺伝子傾向は強くなるようであった。また、フラッシュバックの有無では DRD2 遺伝子 TaqIA 多型の A1/A1 遺伝子型および A1 アレル頻度がフラッシュバックを生じた患者で有意に少なく (p=0.015, および p=0.042)、プロモーター領域の -141Ins/Del 多型では Del アレルが少ない傾向がみられた。多剤乱用傾向では両遺伝子多型は影響していなかった。

Heinz ら⁷⁾は hDAT1 の 3' VNTR は機能性多型であり、非 10 回リピートを有する者は線条体でのドパミントランスポーター密度が少ないことを報告した。もし、Heinz らの報告が正しいとすると、線条体ドパミントランスポーター密度が少ない患者では、一旦、覚せい剤精神病に陥ると治りが悪い可能性があ

表3 まとめ

	hDAT1	DRD2
覚せい剤依存	---	---
覚せい剤精神病	---	---
精神病の遷延化	3' VNTRの非10リピート が有意に多い	TaqI A1/A1型が有意に少ない
フラッシュバックへの脆弱性	---	TaqI A1アレルが有意に少ない TaqI A1/A1型が有意に少ない -141 Delアレルが少ない傾向
多剤乱用	---	---

るといえる。このことは、Sekine ら¹⁰⁾の覚せい剤依存者の PET 研究で、神経症状を示す患者より精神病症状を示す患者では有意にドパミントランスポーター密度が少ないという報告と一致することになり、意義深い。すなわち、遺伝的にドパミントランスポーターが少ない個人では覚せい剤精神病や依存症へのリスクは変わらないが、一旦精神病に罹患すると難治性経過をとりやすいと推定出来るかもしれない。しかし、VNTR 多型と線条体ドパミントランスポーター密度との関係では、その後、増加する⁸⁾、不変¹⁰⁾と一致しない報告があり、まだ、検討の余地がある。

今回検討した DRD2 遺伝子の二つの多型はどちらも機能性多型であることが確かめられている。TaqIA 多型では A1 アレルを有する者ではドパミン D2 受容体機能が低下しているという報告が複数ある。例えば、死後脳研究では A1 アレルを有する者は基底核の D2 受容体密度が 30-40% 少ないという報告^{13, 19)}があり、PET でも一致した結果が得られている¹⁷⁾。また、ドパミン機能を一部反映すると考えられている P300 事象関連電位でもその潜時が延長するという報告³⁾や、視空間タスクの不良という報告²⁾が見られる。また、-141Ins/Del 多型では Del アレルはドパミン D2 受容体の転写率が半分以下に低下すると報告されている¹⁾。今回の結果を合わせて考えると、TaqIA1 アレル、もしくは-141Del アレルを有する個人はドパミン D2 受容体が生来的に少ないと考えられるが、そういう個人は覚せい剤精神病に罹患しても遷延型には

なりにくく、さらにフラッシュバックも生じにくいということになり、逆に common allele を有している者、すなわち通常の人が覚せい剤を使用すると慢性化になりやすいということが推定できる。

これまでの報告と比較すると、hDAT1 では Percico ら¹⁰⁾がオピエート依存者との相関を見ているが相関はなかったとしている。一方、Gelernter ら⁶⁾はコカイン依存者で調べた結果、精神病合併者に 9 回リピートが多いとしている。コカインも精神刺激薬に属しており覚せい剤と薬理効果は共通する点が多く、今回の結果とも類似しており、この結果から methylphenidate などでも同様の反応性が予想されることを示唆するかもしれない。

TaqIA 多型の研究は多くあり、Blum ら⁴⁾が最初にアルコール症と A1 アレルとの相関を報告したが、その後のメタ解析でも確認され、A1 アレルはアルコール症のリスクを約 3 倍にするという¹¹⁾。また、薬物依存全体⁵⁾やコカイン¹²⁾、精神刺激薬全体¹⁵⁾、ニコチン依存¹⁴⁾でも A1 アレルと相関があるとされ、依存形成自体に関与していると考えられていた。しかし、これらを否定する報告も複数あり、単純な結論はだせない。今回の研究では依存形成や精神病誘発そのものには影響せず、臨床経過の慢性化に関与するという結果であり、A1 アレル保有者はむしろ予後が良いという結果であり、オピオイド依存者での治療失敗が A1 アレル保有者は 4 倍になるという報告とは逆の結果とも言える。DRD2 については、今回検討したもの以外に TaqIB 多型、

Ser311Cys といった重要な多型もあるので、これらを検討した上で総合的に検討していく予定である。

E. 結論

覚せい剤依存症および精神病において hDAT1 と DRD2 遺伝子多型との相関研究を行った。その結果、依存者全体、精神病全体とは相関しなかったが、精神病遷延型やフラッシュバックの合併へのリスクファクターであることが明らかになり、難治化のマーカーとなり得ると考えられた。

[参考文献]

- 1) Arinami, T., Itokawa, M., Enguchi, H., et al.: Association of dopamine D2 receptor molecular variant with schizophrenia. *Lancet*, 343: 703-4., 1994.
- 2) Berman, S.M. and Noble, E.P.: Reduced visuospatial performance in children with the D2 dopamine receptor A1 allele. *Behav Genet*, 25: 45-58., 1995.
- 3) Blum, K., Braverman, E.R., Dinardo, M.J., et al.: Prolonged P300 latency in a neuropsychiatric population with the D2 dopamine receptor A1 allele. *Pharmacogenetics*, 4: 313-22., 1994.
- 4) Blum, K., Noble, E.P., Sheridan, P.J., et al.: Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *Jama*, 263: 2055-60., 1990.
- 5) Comings, D.E., Muhleman, D., Ahn, C., et al.: The dopamine D2 receptor gene: a genetic risk factor in substance abuse. *Drug Alcohol Depend*, 34: 175-80., 1994.
- 6) Gelernter, J., Kranzler, H.R., Satel, S.L., et al.: Genetic association between dopamine transporter protein alleles and cocaine-induced paranoia. *Neuropsychopharmacology*, 11: 195-200., 1994.
- 7) Heinz, A., Goldman, D., Jones, D.W., et al.: Genotype influences in vivo dopamine transporter availability in human striatum. *Neuropsychopharmacology*, 22: 133-9., 2000.
- 8) Jacobsen, L.K., Staley, J.K., Zoghbi, S.S., et al.: Prediction of dopamine transporter binding availability by genotype: a preliminary report. *Am J Psychiatry*, 157: 1700-3., 2000.
- 9) Kendler, K.S., Karkowski, L.M., Neale, M.C., et al.: Illicit psychoactive substance use, heavy use, abuse, and dependence in a US population-based sample of male twins. *Arch Gen Psychiatry*, 57: 261-9., 2000.
- 10) Martinez, D., Gelernter, J., Abi-Dargham, A., et al.: The variable number of tandem repeats polymorphism of the dopamine transporter gene is not associated with significant change in dopamine transporter phenotype in humans. *Neuropsychopharmacology*, 24: 553-60., 2001.
- 11) Noble, E.P.: Addiction and its reward process through polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene: a review. *Eur Psychiatry*, 15: 79-89., 2000.
- 12) Noble, E.P., Blum, K., Khalsa, M.E., et al.: Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with cocaine dependence. *Drug Alcohol Depend*, 33: 271-85., 1993.
- 13) Noble, E.P., Blum, K., Ritchie, T., et al.: Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor-binding characteristics in alcoholism. *Arch Gen Psychiatry*, 48: 648-54., 1991.
- 14) Noble, E.P., St Jeor, S.T., Ritchie, T., et al.: D2 dopamine receptor gene and cigarette smoking: a reward gene? *Med Hypotheses*, 42: 257-60., 1994.
- 15) Persico, A.M., Bird, G., Gabbay, F.H., et al.: D2 dopamine receptor gene TaqI A1 and B1 restriction fragment length polymorphisms: enhanced frequencies in psychostimulant-preferring polysubstance abusers. *Biol Psychiatry*, 40: 776-84., 1996.
- 16) Persico, A.M., Vandenbergh, D.J., Smith, S.S., et al.: Dopamine transporter gene polymorphisms are not associated with polysubstance abuse. *Biol Psychiatry*, 34: 265-7., 1993.
- 17) Pohjalainen, T., Rinne, J.O., Nagren, K., et al.: The A1 allele of the human D2 dopamine receptor gene predicts low D2 receptor availability in healthy volunteers. *Mol Psychiatry*, 3: 256-60., 1998.
- 18) Sekine, Y., Iyo, M., Ouchi, Y., et al.: Methamphetamine-related psychiatric symptoms and reduced brain dopamine transporters studied with PET. *Am J Psychiatry*, 158: 1206-14., 2001.
- 19) Thompson, J., Thomas, N., Singleton, A., et al.: D2 dopamine receptor gene (DRD2) TaqI A polymorphism: reduced dopamine D2 receptor binding in the human striatum associated with the A1 allele. *Pharmacogenetics*, 7: 479-84., 1997.

- 20) Tsuang, M.T., Lyons, M.J., Eisen, S.A., et al.: Genetic influences on DSM-III-R drug abuse and dependence: a study of 3,372 twin pairs. *Am J Med Genet*, 67: 473-7., 1996.
- 21) 氏家 寛: 薬物依存におけるゲノム解析. *分子精神医学*, 2: 38-45, 2001.
- 22) van den Bree, M.B., Johnson, E.O., Neale, M.C., et al.: Genetic and environmental influences on drug use and abuse/dependence in male and female twins. *Drug Alcohol Depend*, 52: 231-41., 1998.