

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合事業）

分担研究報告書

分担研究課題：眼球運動を用いた覚醒剤精神病の分類に関する研究

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⁾

研究要旨

覚醒剤精神病には、休業後早期に回復する症例と、薬物治療などを行っても幻覚妄想が長期にわたって持続し、分裂病と鑑別困難な遷延例があることが以前より指摘されており、この遷延例の中に分裂病の発症脆弱性素因をもつ症例が含まれている可能性が考えられてきた。一方、これまでの我々の探索眼球運動に関する一連の研究により、探索眼球運動、なかでも反応的探索スコアが精神分裂病の発症脆弱性素因を反映する指標である可能性が報告されている。そこで本研究では、覚醒剤精神病のうち、遷延例を中心に探索眼球運動検査を施行し、精神分裂病や健常対照と比較することによって、覚醒剤精神病と精神分裂病の関係を精神生理学的に検討した。その結果、まず覚醒剤精神病患者全体の反応的探索スコアは、精神分裂病患者と有意差がなく、健常対照者に比べ有意に低かった。つぎに、覚醒剤精神病患者を幻覚、妄想などの症状経過と社会適応レベルから3つの群、すなわち早期消退型、遷延持続型の重度障害群と軽中等度障害群に分けて比較したところ、遷延持続型の重度障害群の反応的探索スコアが早期消退型、健常対照者に比べ有意に低く、遷延持続型の軽中等度障害群はいずれの群とも有意差を認めなかった。

以上より、遷延持続型の重度障害群は、覚醒剤精神病の中でも精神分裂病の発症脆弱性素因をもつ可能性が示唆された。

A. 研究目的

覚醒剤の乱用により生じる幻覚妄想状態を主とする精神病状態は、1950年代に立津ら¹⁶⁾や Connel¹⁷⁾によって覚醒剤精神病として概念化され、その臨床症状が記述された。このうち Connel¹⁷⁾は、覚醒剤精神病は

薬物の急性中毒でみられる幻覚妄想状態であり、薬物が体外に排泄されれば速やかに回復するとしており、実際の臨床の場でも、多くの症例がこれに当てはまる。しかし、中には薬物が体外に排泄された後も長期間にわたって分裂病と鑑別困難な遷延例があ

ることも、症例の豊富な日本の研究⁸⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁶⁾において以前から指摘されている。そして、このような覚醒剤精神病遷延持続型の中には、精神分裂病の発症脆弱性素因をもつ症例が含まれているのではないかという論議もなされてきた¹²⁾。

これまでの我々の探索眼球運動に関する研究¹⁴⁾により、精神分裂病患者では、記銘課題時の注視点の運動数が少なく、その移動距離も短いこと、また比較・照合課題時の反応的な注視点の動き（反応的探索スコア；RSS）が少ないこと、などの特徴が明らかになった。とくに、RSSの低値については慢性、急性、寛解分裂病患者のいずれにおいても共通して認められ⁹⁾、また精神分裂病患者の親や同胞、親族に精神分裂病がいる気分障害患者でも同じくRSSが低値であること⁴⁾⁵⁾、第1度親族内に精神分裂病患者が3人以上いる群の分裂病患者のRSSが、同親族内に精神分裂病患者が1人いる群の分裂病患者のそれよりも有意に低値であること³⁾などが明らかとなった。

さらに、精神分裂病一卵性双生児一致群（両者とも精神分裂病）、不一致群（片方のみ精神分裂病）、健常者一卵性双生児群のRSSをペア毎に検討したところ¹⁰⁾、ペア同士は $r=0.832$ の強い相関が認められ、また不一致群内でも分裂病患者と非分裂病者のRSSに差はなかった。この3群を比較すると、分裂病一致群のRSが最も低く、不一致群、健常者群の順に有意に高くなった。これらの結果より、探索眼球運動のうち、反応的探索スコア（RSS）は精神分裂病の発症脆

弱性素因を反映する指標ではないかと考えられている。

そこで、本研究では覚醒剤精神病の遷延例を中心に探索眼球運動検査を施行し、精神分裂病や健常対照と比較することによって、覚醒剤精神病と精神分裂病との関係を精神生理学的に検討した。

B. 対象と方法

1. 対象

埼玉県立精神保健総合センターに入院または通院中の覚醒剤精神病患者46名（男性34名、女性13名、平均年齢±標準偏差； 32.7 ± 8.3 、平均罹病期間；5.9年、以下同）で、覚醒剤中毒者対策に関する専門家会議の経過類型⁷⁾により、幻覚妄想が休業後1か月以内に消退した早期消退型31名（男性20名、女性11名、 32.6 ± 9.2 歳、9.7年）、1か月を越えて持続した遷延持続型16名（男性14名、女性2名、 32.9 ± 6.4 歳、11.8年）に分けた。さらに遷延持続型の中でも、遷延するが徐々に症状の改善を認めるような社会生活能力が比較的高く障害の軽い症例と、幻覚妄想が持続して、あるいは消失しても覚醒剤精神病者に特徴的と言われる接触性の良さ¹⁶⁾が保たれておらず、社会生活能力が低く、重度の障害を残す症例とがあることが分かり、前者を軽中等度障害群、後者を重度障害群として比較検討を行った。なお、この覚醒剤精神病者に関しては、明らかに精神分裂病の既往がある症例は除外した。

また、精神分裂病患者24名（男性12名、

女性 12 名、28.3±9.6 歳、12.8 年) および健常対照者 30 名 (男性 15 名、女性 15 名、31.2±10.3 歳) を対照とした。分裂病患者は覚醒剤精神病患者と同じ埼玉県立精神保健総合センターに入院または通院中の患者で、DSM-¹⁾による病型分類で、精神分裂病の診断基準を満たす症例であった。覚醒剤精神病患者、精神分裂病患者はともに脳器質性疾患、神経学的疾患の既往または合併がなく、知能障害のある者も除外した。なお、被検者全員に検査目的と主旨を説明し、書面による同意を得て検査を施行した。

2. 方法

a) 検査条件

暗い静かな部屋で、被検者にナック 7 型アイマーク・レコーダーを装着し、150cm 眼前のスクリーン上に、幅 90cm、高さ 75cm の横 S 字型図形のスライドを映写した (水平視角 33°、垂直視角 27.5°)。この図を被検者が見ているときの注視点の動きをアイマーク・レコーダーを通してビデオテープに記録した。

b) 検査順序 (Fig.1 参照)

i) 記銘課題：標的図 (Fig.1A) を 15 秒間呈示する

ii) 比較照合課題：標的図と一部異なった図 2 枚 (Fig.1B) を 15 秒間ずつ呈示し、それぞれ呈示し終わった直後に標的図との異同を尋ねる。答えが出尽くしたところで、「他に違いはありませんか」と質問する。

iii) 再度、標的図を 15 秒間呈示する。

c) 測定した指標

i) 要素的指標

上記 b)-i) で標的図を 15 秒間呈示したときの注視点の動きを分析し、その運動数 (注視点の数)、総移動距離 (各注視点間の距離の総和) を測定する。

ii) 反応的指標

上記 a)-ii) で標的図と一部異なった図 2 枚をそれぞれ 7 つの領域に分け、「他に違いはありませんか」と念押しの質問をした直後の 5 秒間の注視点の動きを分析し、その注視点が及んだ領域数を合計して反応的探索スコアとした (14 点満点)。

d) 精神症状

精神症状を評価するために、覚醒剤精神病患者の検査時の Brief Psychiatric Rating Scale (BPRS)⁹⁾ を採点した。BPRS は 身体的愁訴、不安、感情的ひきこもり、概念解体、罪業感、緊張、衝動的な行動や姿勢、誇大性、抑うつ気分、敵意、疑惑、幻覚、運動減退、非協調性、思考内容の異常、感情鈍麻、興奮、見当識障害の 18 項目からなり、これを「なし」(0 点) から「非常に高度」(6 点) の 7 段階に分けて評価した。さらにこれらの項目の中から、Tandon らの研究¹⁵⁾により陽性症状に親和性の高い 4 項目 (概念解体、疑惑、幻覚、思考内容の異常) と、陰性症状に親和性の高い 3 項目 (感情的ひきこもり、運動減退、感情鈍麻) を抽出し、それらの得点を合計して、それぞれ陽性症状項目点、陰性症状項目点とした。

e) 社会適応レベル

覚醒剤精神病患者のうち、遷延持続型患者の社会適応レベルを、DSM-Ⅳの機能の全体的評価 Global Assessment of Functioning(GAF) Scale¹⁾により評価した。この際、幻覚妄想が消失し回復する症例から持続する症例まで症状経過が多様であるので、評価時期は退院時に統一した。GAF Scale は心理的、社会的職業的機能を 0 点から 100 点までの点数で表すもので、10 点毎に評価基準が設けられている。51-60 点は、「中等度の症状（例：感情が平板的で、会話がまわりくどい、時に恐慌発作がある）、または社会的、職業的、学校の機能における中等度の障害（例：友達が少ない、仲間や仕事の同僚との葛藤）」であるのに対し、41-50 点は「重大な症状（例：自殺の考え、強迫的儀式がひどい、しょっちゅう万引きする）、または社会的、職業的、学校の機能において何か重大な障害（友達がいない、仕事が続かない）」となっている。特に後者の項目に注目し、社会生活に適できる 51 点以上の軽中等度障害群と、適応が困難な 50 点以下の重度障害群の 2 群に分類した。

f) 統計処理

統計には二元配置の分散分析、ならびにその後の多重比較（Scheffe）を用いた。

C. 結果

1. GAF Scale

遷延群の GAF Scale を評価したところ、社会適応レベルが比較的高い（例 就労が可能あるいは独居ができるなど GAF51 点

以上の群 9 名（男性 8 名、女性 1 名、平均年齢 31.7 ± 7.7 歳、罹病期間 6.8 年）と、社会適応レベルが比較的低い GAFscale50 点以下の群 7 名（男性 6 名、女性 1 名、 33.7 ± 5.8 歳、7.0 年）に分類された。

2. BPRS

覚醒剤精神病患者、精神分裂病患者、健常対照の 3 群の反応的探索スコアを比較すると（Fig.2 参照）、覚醒剤精神病患者は精神分裂病患者と有意差がなく、健常対照者に比べ有意に低かった（ $p < 0.01$ ）。つぎに、覚醒剤精神病患者を 3 つの群に分けて比較したところ（Fig.3 参照）、覚醒剤精神病の遷延持続型の中でも重度障害群の反応的探索スコアが早期消退型（ $p < 0.05$ ）、健常対照者（ $p < 0.01$ ）に比べ有意に低く、軽中等度障害群はいずれの群とも有意差を認めなかった。

3.探索眼球運動検査

覚醒剤精神病患者の検査時における精神症状の評価について、各群の BPRS の平均値を Table 1 に示した。全体として覚醒剤精神病患者群は分裂病患者群に比べ陰性症状項目点が有意に低かった（ $p < 0.0001$ ）。総得点、陽性症状項目点に有意差は認められなかった。早期消退型群、遷延持続型軽中等度障害群、遷延持続型重度障害群、精神分裂病患者の 4 群を比較すると、総得点では各群に有意差は認められなかった。陽性症状項目点では、早期消退型群が分裂病患者群より有意に低かった（ $p < 0.01$ ）。陰

性症状項目点では、早期消退型群は分裂病患者群より有意に低く ($p < 0.0001$))、また遷延持続型重度障害群は、早期消退型群に比べ有意に高く ($p < 0.01$)、遷延持続型軽中等度障害群は分裂病患者群に比べ有意に低かった ($p < 0.05$)。

覚醒剤精神病患者、精神分裂病患者、健常対照の3群の反応的探索スコアを比較すると (Fig.2 参照)、覚醒剤精神病患者は精神分裂病患者と有意差がなく、健常対照者に比べ有意に低かった ($p < 0.01$)。つぎに、覚醒剤精神病患者を3つの群に分けて比較したところ (Fig.3 参照)、覚醒剤精神病の遷延持続型の中でも重度障害群の反応的探索スコアが早期消退型 ($p < 0.05$)、健常対照者 ($p < 0.01$) に比べ有意に低く、軽中等度障害群はいずれの群とも有意差を認めなかった。

D. 考察

1. GAF Scale および BPRS

社会適応レベルの低い覚醒剤遷延持続型重度障害群は BPRS の陰性症状項目点が高く、精神分裂病と比較しても有意差を認めるものであった。これは覚醒剤精神病の中でも回復のよい早期消退型と異なり、重度障害群は幻覚妄想が遷延しているだけでなく、症状の回復後あるいは症状の持続とともに、精神分裂病の陰性症状と類似した症状も呈しているといえる。精神分裂病患者群よりも項目点が高かったことは、対照となった精神分裂病患者が慢性分裂病だけでなく、エピソードが少なく陰性症状が比

較的少ない寛解状態の分裂病患者も含まれているためと考えられる。覚醒剤精神病を経過した後に続く特有の精神症状は残遺症候群と呼ばれ、小倉¹¹⁾はこれを、気分不安定で刺激性が亢進して易怒的、思慮判断は浅薄で鈍くなる 型と、無為、怠惰、自閉的傾向または無欲、無気力、疎通性喪失がみられ不規則乱調な生活態度が著しくなる 型に分類している。重度障害群はこの型に該当すると思われる。

2. 探索眼球運動検査

覚醒剤精神病については、米国では覚醒剤の直接薬理作用により起こる急性の精神病状態とされ、遷延するものは精神分裂病が誘発されたものと考えられているのに対し、我が国では覚醒剤の慢性的な反復使用により生じた脳障害を基盤にして発症するという考え方が定着しており、この議論には結論が得られていない¹²⁾。本研究で、全体としてみた覚醒剤精神病患者群の RSS は健常対照群より有意に低く、精神分裂病患者群と差がなかった。これは覚醒剤精神病患者群に精神分裂病の脆弱性素因をもつ者が少なからず含まれている可能性を意味している。さらに覚醒剤精神病を3群に分けてみると、重度障害群の RSS が最も低く、早期消退型群と比較して有意差が認められた。それに対し、早期消退型群は3群で最もよく、健常対照群と差が認められなかった。これらの結果は、早期消退型群は精神分裂病の脆弱性素因をもたず、薬理作用による影響が大きいと考えられ、これに対して遷延持続型重度障害群は、精神分裂

病の脆弱性素因をもつことが示唆される。覚醒剤精神病患者を一つの群とすると、精神分裂病の遺伝負因は、精神分裂病患者よりも低く一般健常者よりも高いという報告もあり¹³⁾¹⁶⁾、今後、各群の薬物使用期間、自然再燃の有無、家族歴などの臨床情報を加え、検討が必要と思われる。

E. 結論

覚醒剤精神病の中には、休業後も症状が持続する患者がおり、こうしが分かり応た患者の中に精神分裂病の発症脆弱性素因をもつものがあるかどうかを検討することを本研究の目的とした。対象は覚醒剤精神病患者で、経過によって早期消退型と遷延持続型に分け、さらに遷延持続型を退院時の社会適応レベルによって軽中等度障害群と重度障害群に分類した。これらの覚醒剤精神病患者に、精神分裂病の発症脆弱性素因を示す指標と考えられている探索眼球運動の検査を実施し、精神分裂病患者および健常対照者のそれと比較検討した。その結果、重度障害群は、早期消退型および健常対照者と比べ反応的探索スコアが有意に低く、精神分裂病の発症脆弱性素因をもつ可能性が示唆された。

[参考文献]

1) American Psychiatric Association : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed(DSM-). American Psychiatric Association, Washington DC, 1994(高橋三郎, 大

野裕, 染矢俊幸訳: DSM- 精神疾患の分類と診断の手引き. 医学書院, 東京 1995)

2) Connell PH : Amphetamine Psychosis. Chapman&Hall, London 1958

3) 萩原正道, 松島英介, 太田克也, 他 : 精神分裂病の探索眼球運動と遺伝負因との関係. 第 21 回日本生物学的精神医学会抄録幻覚妄想状態が持続し、精神 S, 仙台, 1999

4) 小島卓也, 高橋栄, 田辺英一, 他 : 精神分裂病患者とその家族における探索・閉眼時・追跡眼球運動に関する研究. 平成 6 年度省厚生省精神・神経疾患研究委託費による研究報告集; 国立精神・神経センター, 東京 1995

5) 小島卓也, 高橋栄, 田辺英一, 他 : 眼球運動を用いた精神分裂病の成因に関する研究. 厚生省精神・神経疾患研究委託費精神分裂病の本態に関する生化学的, 生理学的, 遺伝学的研究. 総括研究報告書(平成 8~10 年度); 710, 1999

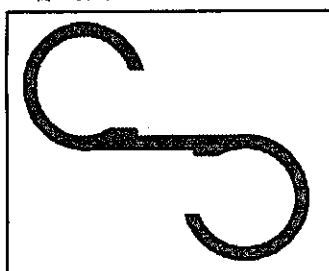
6) Kolakowska T : Brief Psychiatric Rating Scale Glossaries and Rating Instructions. Department Psychiatry, Oxford University, Oxford, 1976

7) 厚生省覚せい剤中毒者対策に関する専門家会議(座長: 加藤伸勝): 昭和 60 年度覚醒剤中毒者総合対策報告書, 1986

8) 黒木規臣, 岩波明, 戸田壮一, 他 : 覚醒剤精神病の臨床的研究. 臨床精神医学 23(4); 475-482, 1994

- 9) 松島英介：精神分裂病患者の開眼時眼球運動－急性分裂病患者，慢性分裂病患者と分裂病寛解患者の比較－．精神学誌 90(2)；89-110，1988
- 10) Matsushima E, Kubo H, Kojima T, et al : Explotory Eye Movements in Patients with Schizophrenia－Monozygotic Twin Study. Abstract of XI WPA ; 11, 1999
- 11) 小倉日出麿：慢性覚醒剤中毒の精神病理学的研究．精神神経学会誌58(6)：339-354，1956
- 12) 佐藤光源，松本和紀：覚せい剤依存と関連精神障害 症状・経過・診断．臨床精神医学講座8 薬物・アルコール関連障害；222-231，中山書房，東京 1999
- 13) 佐藤光源，中島豊爾，大月三郎：慢性覚醒剤中毒の臨床的研究．精神医学 24(5)；481-489，1982
- 14) 島蘭安雄監修：眼とこころ－眼球運動による精神疾患へのアプローチ（安藤克巳，安藤晴延，小島卓也編）．創造出版，東京
- 15) Tandon R, DeQuardo JR, Goodson J, et al : Effect of Anticholinergics on Positive and Negative Symptoms in Schizophrenia . Psychopharmacology Bulletin 28(3)；297-302，1992
- 16) 立津政順，後藤彰夫，藤原豪：覚醒剤中毒．医学書院，東京 1956
- 17) 屋良一夫，高橋栄，田辺英一，他：気分障害患者における精神分裂病素因の抽出－探索眼球運動を用いて－．日大医学雑誌 55(10)；499-508，1999

A.標的図



B.標的図と一部異なった図

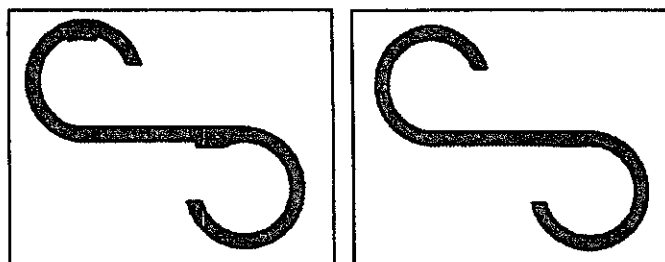
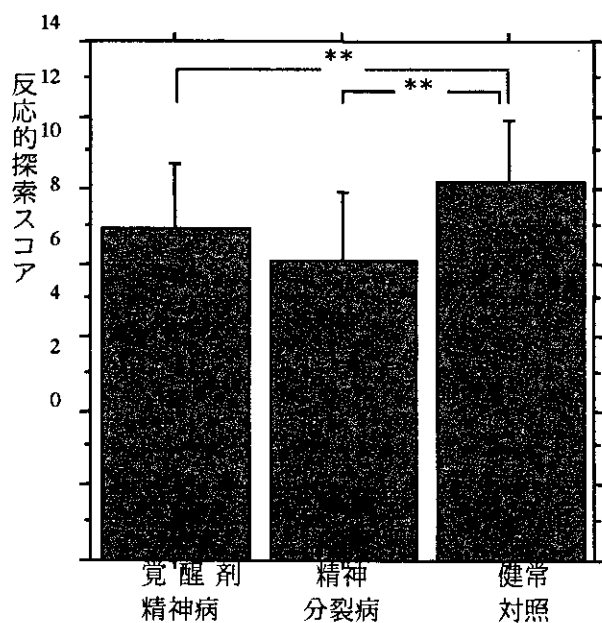


Fig. 1 探索眼球運動検査に用いた図（横S字型図形）

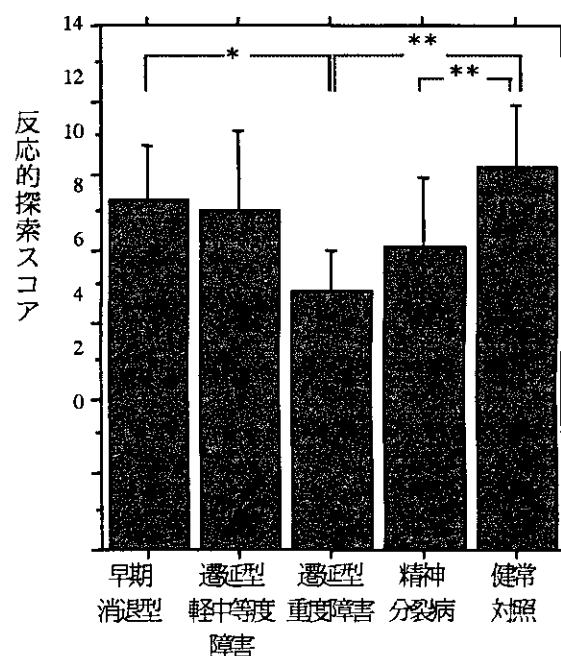
	BPRS		
	総得点	陽性症状	陰性症状
覚醒剤精神病患者	10.4	2.4	1.0
早期消退型	9.7	2.1	0.3
遷延持続型	11.8	3.0	2.4
軽中等度障害	10.4	2.8	1.2
重度障害	13.1	3.2	3.9
精神分裂病患者	12.8	3.2	3.7

Table 1. 覚醒剤精神病患者の臨床特性



ANOVA with Scheffé ** $\rho < 0.01$

Fig. 2 3群による反応的探索スコアの比



ANOVA with Scheffé * $\rho < 0.05$ ** $\rho < 0.01$

Fig. 3 5群による反応的探索スコアの比

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

分担研究課題：覚せい剤精神病患者の画像所見と遺伝的多型性の研究

分担研究者：内村直尚¹⁾

共同協力者：原野陸生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

〔研究要旨〕

覚せい剤精神病について明らかにされつつある脆弱性規定遺伝子の多型（ドーパミン D2 レセプター遺伝子の Taq I A 多型とドーパミントランスポーター遺伝子 3'UTR の VNTR 多型）と、頭部画像所見（SPECT および MRI）の関連を検討した。覚せい剤精神病患者 7 例のうち、ドーパミン D2 レセプター遺伝子の Taq I A 多型は、A1 の同種接合体が 3 例、A2 の同種接合体が 3 例、異種接合体が 1 例に認められ、ドーパミントランスポーター遺伝子 3'UTR の VNTR 多型は、1 例が 9-repeat と 10-repeat の異種接合体、残り 6 例が 10-repeat の同種接合体であった。特に Taq I A 多型の A1 の同種接合体をもつ 3 症例では、SPECT で、その 3 例すべてに海馬の血流低下を認め、また、従来、覚せい剤精神病について特異的な所見はないとされている MRI においても、7 例中 3 例で多発性脳硬塞様所見を認め、それぞれ注目された。しかし、現在までのところでは対象サイズが十分でないので、統計学的検定を行うまでには至っていない。

A、研究目的

コカインや有機溶剤、あるいはア

ルコールなどの物質乱用による、いわゆる中毒性精神病では、それぞれ

に特徴的な脳の形態的変化が報告されている。一方、同じ中毒性精神病でも、覚せい剤精神病については、特別な画像所見はないとする報告³⁾⁵⁾がほとんどである。しかしながら、臨床の場において覚せい剤精神病患者の頭部画像所見を診る時、脳の限局的な萎縮所見などの異常所見を認めることは少なくないという印象を受ける。また、覚せい剤乱用に伴う脳出血における病理所見では、壊死性血管炎の存在が示唆されており¹⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾¹²⁾、動物に対するメタアンフェタミンの投与実験では、アポトーシスの係わる神経細胞毒性の存在も示唆されている⁹⁾。これらのことより、覚せい剤精神病患者の脳の画像所見について、再検討を行う余地があると考えられる。

ところで、近年の覚せい剤関連障害についての分子生物学的研究は、脆弱性を規定するいくつかの遺伝子多型の存在を示唆している¹⁰⁾¹¹⁾。本研究は、覚せい剤精神病について明らかにされつつある脆弱性規定遺伝子の多型に基づいて覚せい剤精神病を亜分類し、亜分類されたそれぞれの群、つまり、より純化された疾患単位において、頭部画像所見を検討し、その特徴を明らかにしようというものである。

B、方法

覚せい剤精神病と診断された患者を対象に、本研究についてのインフォームドコンセントを十分に行い、書面にて同意の得られた者を被験者とした。

頭部 MRI 検査は、T1、T2 強調画像、FLAIR 法にて撮像し、SPECT 検査は、¹²³I-IMP にて局所脳血流量測定を行い、神経放射線科医の視察にて評価を行った。

遺伝子多型については、ドーパミン D2 レセプター遺伝子の Taq I A 多型とドーパミントランスポーター遺伝子 3'UTR の VNTR 多型に着目し、それぞれ RFLP 法と PCR-Electrophoresis によって判定した。

C、結果

現在までのところ、7 例の覚せい剤精神病患者について、ドーパミン D2 レセプター遺伝子の Taq I A 多型とドーパミントランスポーター遺伝子 3'UTR の VNTR 多型の同定、および、頭部 MRI、SPECT 検査を行った。

Table 1 は、各症例ごとの遺伝子型、SPECT 所見、MRI 所見を、示したものである。

Table 1 画像所見と遺伝的多型性の関係

No.	年齢 (歳)	性	SPECT 所見	MRI 所見	TaqIA/ DFD2	VNTR/ DAT
1	40	M	右海馬の血流低下	n.p.	A1/A1	9/10
2	53	M	右下前頭回の血流低下	n.p.	A2/A2	10/10
3	42	M	右海馬の血流低下	n.p.	A1/A1	10/10
4	60	M	上前頭回、帯状回、 前頭葉前部の血流低下	両側白質～基底核に多 発性脳梗塞巣様病変	A2/A2	10/10
5	65	M	前頭葉前部、 左海馬の血流低下	両側白質～基底核に多 発性脳梗塞巣様病変	A1/A1	10/10
6	53	M	帯状回、前頭葉前部、 両側基底側頭葉の血流低下	n.p.	A2/A2	10/10
7	63	M	帯状回、 両側側頭葉の血流低下	前頭葉側頭葉萎縮およ び両側白質に多発性脳 梗塞巣様病変	A1/A2	10/10

ドーパミン D2 レセプター遺伝子の TaqIA 多型は、A1 の同種接合体が 3 例、A2 の同種接合体が 3 例、異種接合体が 1 例に認められ、allele 頻度は、A1、A2 それぞれ 50%であった。

ドーパミントランスポーター遺伝子 3'UTR の VNTR 多型は、1 例が 9-repeat と 10-repeat の異種接合体、残り 9 例が 10-repeat の同種接合体であった。

SPECT では、全例において局所的な血流低下を認めた。特に TaqIA 多型の A1 の同種接合体をもつ 3 症例ではすべてに海馬の血流低下を認めた。

MRI では、7 例中 3 例で多発性脳梗塞巣様所見と萎縮所見を認めたが、まだ症例数が十分でなく、TaqIA 多型、VNTR 多型との相関を見出すに

は至っていない。

D、考察・結論

SPECT では、全例において局所的な血流低下を認め、これはこれまでの報告²⁾⁴⁾と一致する所見であったが、その部位についてはバラバラで一定の傾向を認めなかった。ただ、TaqIA 多型の A1 の同種接合体をもつ 3 症例では、いずれも海馬の血流低下を認めており、注目された。

MRI での脳梗塞巣様所見は、7 例中 3 例と高頻度で、従来の覚せい剤精神病では特別な画像所見はないとする報告³⁾⁵⁾とは一致しない結果となり、この点も注目された。ただ、この MRI での脳梗塞巣様所見は、比較的高年齢の症例に目立ったので、年齢をマッチさせた対照群を設定し、さらに詳しく検討を行う必要がある

と考えられる。

いずれにしても、現段階では対象サイズが十分でないので、今後、症例数を増やす必要がある。

[参考文献]

- 1) Buxton N, McConachie NS : Amphetamine abuse and intracranial haemorrhage. *J R Soc Med*;93(9):472-7,2000
- 2) Iyo M, Namba H, Yanagisawa M *et al* : Abnormal cerebral perfusion in chronic methamphetamine abusers: a study using 99mTc-HMPAO and SPECT. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*;21(5):789-96,1997
- 3) 伊豫雅臣、山崎統四郎 : 薬物依存と画像解析、*精神医学* 34 : 875-879,1992
- 4) Kao CH, Wang SJ, Yeh SH : Presentation of regional cerebral blood flow in amphetamine abusers by 99Tcm-HMPAO brain SPECT. *Nucl Med Commun* ;15(2):94-8,1994
- 5) 加藤伸勝、浜元純一、花輪昭太郎、他 : 覚醒剤中毒の CTscan に関する研究、*精神薬療基金研究年報* 16 : 317-324,1985
- 6) 小笠原邦昭、小川彰、北秀幸、他 : 特徴的血管写像を呈した覚醒剤静注による脳内出血の1例、*脳神経* 38 : 967-971,1986
- 7) Perez JA Jr, Arsura EL, Strategos S : Methamphetamine-related stroke: four cases. *J Emerg*;17(3):469-71,1999

8) 柴田尚武、森和夫、関根一郎、他 : 覚醒剤による脳血管壊死でくも膜下および脳内出血をきたした1剖検例、*脳神経* 40 : 1089-1094,1988

9) Stumm G, Schlegel J, Schafer T *et al* : Amphetamines induce apoptosis and regulation of bcl-x splice variants in neocortical neurons. *FASEB J*;13(9):1065-72,1999

10) Ujike H, Nakata K, Takaki M *et al* : D2 Dopamine receptor alleles influences prognosis of methamphetamine psychosis. *World Congress for Psychiatric Genetics*,2001

11) Ujike H, Nakata K, Takaki M *et al* : Association study between methamphetamine psychosis and the dopamine transporter gene polymorphisms. *Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum Regional Meeting Hiroshima*, 2001

12) Yen DJ, Wang SJ, Ju TH *et al* : Stroke associated with methamphetamine inhalation. *Eur Neurol* ;34(1):16-22,1994

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

規制薬物の依存及び神経毒性の発現に係わる仕組みの分子生物学的解明に関する研究
分担研究課題：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

分担研究者 西川 徹 国立精神・神経センター神経研究所疾病研究第3部
東京医科歯科大学大学院精神行動医科学分野

共同研究者 梶井 靖、村岡新一郎、海野 麻未、黒田安計、柏 淳

研究要旨

覚醒剤精神病の発症・再発のモデルである逆耐性現象に関連する候補分子として、ラット大脳新皮質において、逆耐性が形成され始める生後発達段階以降にmethamphetamine (MAP) への応答性を獲得する遺伝子群を探索した。検出された新規遺伝子のうち、*mrt3* (MAP responsive transcript 3) の全長mRNAに対応するcDNAの塩基配列を明らかにした。*mrt3*は、成熟ラットの大脳新皮質において、1)MAPと同様に逆耐性現象を引き起こすコカインやノミフェンシンの投与後にも発現誘導が生ずる、2)MAPによる発現誘導は逆耐性形成を阻害するD1ドーパミン受容体遮断薬SCH23390によって阻害される、3)逆耐性現象を引き起こさないpentobarbitalやSCH23390の投与では発現が変化しない等の性質をもつことから、これまで報告してきた*mrt1*とともに、逆耐性の形成の分子機構に関与することが示唆された。*mrt1*については、ヒト相同遺伝子*MRT1*のゲノム構造を明らかにし、覚醒剤依存や他の精神疾患との関連を検討するため変異の検索を進めた。

A. 研究目的

本研究は、覚醒剤 (amphetamine、methamphetamine (MAP) など)、コカイン等の、精神分裂病 (分裂病) 様症状を引き起こす規制薬物による長期持続性脳機能障害の分子機構を解明し、新しい治療法開発の標的となる神経機構や、臨床診断、経過、予後などのマーカー物質を見いだすことを目的としている。このため、1)覚醒剤の精神機能に及ぼす影響が思春期前後では異なり、小児期までは覚醒剤を連用しても依存形成や精神症状が生じ難いことが知られている^{1,12)}、2)齧歯

類では、覚醒剤精神病の発症や再燃のモデルと考えられている逆耐性現象が一定の生後発達期以降にしか成立せず、覚醒剤が引き起こす脳の活動異常のパターンも生後発達に伴って変化し、一定の時期から成熟期のパターンになる^{3,5,9,10)}、などの点に着目して分子生物学的研究を進めた。すなわち、以上の事実は、覚醒剤によって異常を来す脳内情報処理系は、特定の発達段階に成熟して薬物の影響を受けるようになることを示唆している。

そこで、このような情報処理系を構築する分子群を明らかにする目的で、覚醒

剤が誘発する逆耐性現象や脳の活動性の異常が成熟期型のパターンを示す時期以後に、MAPに対して応答性を獲得する遺伝子群を検索した。昨年度までに、候補として、*mrt1* (MAP-responsive transcript 1)、*mrt2*、*mrt3*等が検出され、このうち*mrt1*に関する検討が進んだ^{6,7,8)}。今年度は、*mrt1*だけでなく*mrt3*の解析を行った。

B. 研究方法

(1)対象および薬物

動物実験には、生後8~56日令のWistar系雄性ラットを用いた。ラットは 22.0±0.5℃、湿度55%、8時より20時を明期とする明暗条件下で飼育した。

試薬は、すべて市販のものを用いた。薬物は生理的食塩水に溶解し、皮下 (s.c.)あるいは腹腔内 (i.p.) に注射した。対照群の動物には注射溶媒を投与した。薬物の投与量は、常にfree baseで計算した。

(2)Differential cloning法によるMAPまたはPCP応答性遺伝子の検索

a)RNA arbitrarily primed PCR (RAP-PCR)によるRNA fingerprinting⁴⁾

生後8日齢および50日齢の動物にMAP、PCPまたは生理食塩水を投与後1時間で断頭し、大脳新皮質よりtotal RNAを抽出した。random hexamerによって合成したcDNAをテンプレートとし、12merからなるプライマーを用いてarbitrarily primed PCRを行った。増幅産物を変性ポリアクリルアミドゲルにて分離し、Syber Green Iで染色後、蛍光イメージアナライザー (FMBIO II、TAKARA) で解析してfingerprintを得た。Fingerprint上で50日齢特異的に発現誘導が変化するcDNAバン

ドをクローニングし塩基配列を決定した。さらに、RAP-PCRクローンに基づいてoligo dT-primed cDNAをクローニングし、対応する遺伝子の構造を解析した。

b)定量的RT-PCR⁴⁾

FingerprintやDNAアレイによる結果を確認するため、5~7個体のRNAサンプルのプールからrandom hexamerを用いて合成したcDNAの希釈系列を用いてRT-PCRを行い、exponentialな増幅条件下で対照群と薬物投与群の相対的な発現量を比較した。このため、種々の薬物処置によってほとんど変動がないと考えられる28S ribosomal RNAを同一チューブ内で同時に増幅し、目的とする遺伝子転写産物の発現量を28S ribosomal RNAの発現量で補正した。すなわち、3'末端をリン酸化処理した特殊なオリゴマーを一定の比率で加えることによって28sの増幅のカイネティクスを調整し、できるだけ広い範囲のサイクル数で目的とする転写産物と同じ条件で定量性が得られるように工夫した。また、各個体のサンプルにおける絶対的な発現量を検討する実験では、各個体の一定量のRNAからcDNAを合成し、既知濃度のポイントミューテーションを導入したcDNA断片をcompetitorとしてcompetitive RT-PCR⁹⁾を行った。増幅産物を制限酵素処理した後にアガロースゲル電気泳動し、Syber Green Iまたはethidium bromideで染色した。DNAの定量解析は染色したゲルをCCDカメラで撮影した後、densitographにて行った。

(2)ウェスタンブロット分析

ラット線条体から、0.125% SDS、0.625% sodium deoxycholate、1.25% NP-40、

50 mM Tris-HCl (pH 8.0)、150 mM NaCl、1 mM EDTA と Complete Mini (Roche)を含む緩衝液で蛋白を抽出した。シナプトゾーム画分はCarlinら²⁾の方法にしたがって調整した。蛋白は7.5% または10% SDS-PAGEによって分離した後、Immun-Blot polyvinylidene difluoride membranes (Bio-Rad)にトランスファーし、Arc蛋白に対する抗体と反応させた。免疫反応は化学発光法によって検出し、LumiImager chemiluminescence detector (Roche)を用いて定量的に解析した。

(3) アンチセンスオリゴヌクレオチドの脳室内注入

翻訳開始コドンを含む *mrt1* に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドは、生体内での代謝を抑制するためフォスフォロチオエートによって修飾したものを合成した (phosphorotation型: DNAのリン酸ジエステル結合の酸素分子を一つ硫黄残基に置換修飾)。アンチセンスS-オリゴマーは、浸透圧ミニポンプ (Alzet model 2001, Alza, 7日間注入用: 1 μ /thで溶液を放出) を用い、ラットの右側脳室内に7日間にわたって持続的に注入した。注入部位はPaxinosとWatsonの図譜¹¹⁾で、AP, -0.8 mm; V, +2.0; L, +1.5とした。対照群の動物には、同じ塩基組成、塩基数で配列をランダムに並べ替えたミスセンスS-オリゴマーを用いた。

逆耐性の形成に対する影響を観察する実験では、注入開始3日目から7日目まで一日一回MAP (4mg/kg) を腹腔内に投与した。また、Mrt1蛋白発現を検討する場合は、注入開始3日目にMAP (4mg/kg) を投与し3時間後に脳組織サンプルを取

り出した。

(4) ヒト *mrt1* 相同遺伝子の検討

昨年度までに得られた *mrt1* のヒト相同遺伝子 *MRT1* の cDNA 配列を public database 上のゲノム配列と比較することによって、*MRT1* のゲノム構造を決定した。また、翻訳領域を中心に、Cap-site hunting法によって主要な転写開始点の決定を行った。

C. 研究結果

(1) MAPによる発現誘導が発達依存的に変化する転写産物 *mrt3* の検討

MAP (4.8 mg/kg, s.c.) 急性投与1時間後のラットの大脳新皮質から、生後8日には生理的食塩水を投与した対照群と差がないが生後50日には有意な発現誘導が見られる新規転写産物群のうち、*mrt3* の構造解析と薬物反応性の定量的解析を進めた。

mrt3 の完全長mRNAに相当するcDNAをクローニングして塩基配列を決定した結果、3803bpから成り、234bpのコーディングフレーム (78aa) をもつことがわかった。無処置の動物の脳各部位および各末梢臓器において、RT-PCRで相対的発現量を比較したところ、大脳新皮質と線条体で最も高く、小脳、海馬、視床、脾臓、肺などがこれについて比較的高いレベルを示した。これに対して、精巣、腎臓、肝臓などにおける発現は低レベルであり、心臓ではほとんど検出されなかった。

ラット大脳新皮質のサンプルにおける定量的RT-PCRを用いた検討から、*mrt3* の mRNA は、生後8、15および23日齢ではMAP投与群と生理食塩水を投与した対照

群との間に発現量の差が認められなかったが、生後50日にはMAP投与群の方が有意に高くなることがわかった。生後50日において、*mrt3*はMAPばかりではなく、コカイン (30mg/kg, s.c.) およびノミフェンシン (40mg/kg, s.c.) によっても発現が誘導された。これに対して、pentobarbital (50mg/kg, i.p.) 投与後には発現変化は認められなかった。MAPによる発現量の上昇は投与後1時間で最大となり、3時間後には対照群と同レベルまで低下した。また、MAP投与後の発現誘導は、D1ドーパミン受容体アンタゴニストのSCH23390 (0.5mg/kg, s.c.) を前処置することにより抑制された。

(2)*mrt1*およびMrt1蛋白の薬物応答の特異性に関する検討

昨年度までに、*mrt1* mRNAのアンチセンスオリゴヌクレオチドの持続的脳室内注入を行ったラットでは、MAPを反復投与しても逆耐性が形成されないことを明らかにしてきた。この時、MAP投与によるMrt1蛋白の発現増加が抑制されることもわかった。さらに、アンチセンスオリゴヌクレオチドのMrt1蛋白翻訳阻害効果の特異性を検討するため、MAPによって発現誘導が認められるArc蛋白の変化を調べた。線条体のArc蛋白はアンチセンスオリゴヌクレオチド処置群、非処置群の双方において、MAP投与後に増加し、Mrt1蛋白とは異なる変化を示した。

一方、大脳新皮質の*mrt1b*の発現は、MAPやコカインにより上昇するのに対して、pentobarbital投与後では有意な変化は見られなかった。

(3)*mrt1*のヒト相同遺伝子の解析

*MRT1*遺伝子は少なくとも12個のエクソンで構成され、イントロンはいずれも5'側がGT、3'側がAGのいわゆるGT-AGイントロンであった。

D. 考察

(1)新規遺伝子*mrt3*の検討

今年度の研究より、MAPに対し発達依存的な応答を示す分子としてラット大脳新皮質から検出された新規遺伝子*mrt3*について、全長mRNAに対応するcDNAの塩基配列や薬理学的性質が明らかになった。大脳新皮質の*mrt3* mRNAは、MAPだけでなく、同様に逆耐性現象を引き起こすコカイン¹⁰やノミフェンシン^{4,10}によっても増加したが、逆耐性惹起作用のないpentobarbital投与後には有意な変化を示さなかった。また、逆耐性現象の成立を阻害するSCH23390^{8,10}は、*mrt3*のMAPによる発現誘導を抑制した。これらの現象は、*mrt3*が逆耐性現象に関与する分子カスケードに含まれる可能性を示唆している。ただし、*mrt3*が少なくとも生後23日齢までMAPへの応答性を獲得していない点は、生後23日にはMAPにより発現誘導が生ずる*mrt1*とは異なる。*mrt3*のMAP応答性の生後23日以降の発達に伴う変化をさらに詳細に検討する必要がある。

*mrt3*転写産物の発現量は、非翻訳領域に対する特異的プライマーを設計して測定すると、脳の各部位と脾臓・肺で多く、その他の末梢臓器では少なかった。*mrt3*のバリエーションが存在する可能性も否定的できず、さらに検討中である。コーディングフレームは比較的短く、推定されるアミノ酸配列に高い相同性を示す既知蛋

白質は知られていない。*mrt3*がコードする分子の機能や局在を明らかにするため、現在、このような配列をもとに抗体を作製中である。

(2)*mrt1*およびMrt1蛋白の薬物応答の特異性に関する検討

アンチ*mrt1*オリゴヌクレオチドの注入実験では、MAPによるMrt1蛋白の増加が抑制された⁸⁾のに対して、Arc蛋白の増加は影響を受けず、アンチ*mrt1*オリゴヌクレオチドの効果は、脳内物質についても非特異的でないことが支持された。

(3)*mrt1*のヒト相同遺伝子の検討

*mrt1*のヒト相同遺伝子のゲノム構造が明らかになり、今後、覚醒剤依存やその他の精神疾患との関連を調べるため、エクソンを中心に変異の検索を行っている。

E. 結論

(1) 覚醒剤による脳機能障害の分子機構にアプローチする目的で、覚醒剤による依存形成および精神症状が小児期には生じにくく、実験動物においても、覚醒剤精神病の発症や再発のモデルである逆耐性現象が特定の生後発達段階以降に成立するようになることに注目し、ラット大脳新皮質において、覚醒剤に一定の生後発達時期から成熟期における応答性を獲得する遺伝子を検索した。

(2) 覚醒剤に発達依存的応答を示す新規遺伝子群のうち、従来から報告してきた*mrt1*に加え、新たに*mrt3* mRNAの全長に対応するcDNA塩基配列を同定した。大脳新皮質*mrt3*は、覚醒剤だけでなく、コカイン・ノミフェンシンなどの逆耐性を誘導する他の薬物によっても発現が増

加し、逆耐性形成を阻害するD1ドーパミン受容体遮断薬によって覚醒剤への反応が消失することから、逆耐性現象の分子機構に関与することが示唆された。

(3) 覚醒剤による逆耐性形成を阻害するアンチ*mrt1*オリゴヌクレオチドを持続的に脳室内に注入したラットの線条体では、覚醒剤投与時において、Mrt1蛋白の増加が抑制されたが、中枢刺激薬に応答することが知られているArc蛋白の増加に影響しなかった。したがって、アンチ*mrt1*オリゴヌクレオチドの抗逆耐性効果が非特異的な作用にもとづくものではなく、覚醒剤によるMrt1蛋白の発現誘導抑制作用を介する可能性が支持された。

(3) 逆耐性関連候補遺伝子のひとつである*mrt1*のヒト相同遺伝子を同定しゲノム配列を明らかにした。

[参考文献]

- 1) Beck, L., Langford, W.S., Mackay, M. et al.: Childhood chemotherapy and later drug abuse and growth curve: a follow-up study of 30 adolescents, *Am. J. Psychiatry*, 132: 436-438, 1975.
- 2) Carlin, R. K., Grab, D. J., Cohen, R. S. et al.: Isolation and characterization of postsynaptic densities from various brain regions: enrichment of different types of postsynaptic densities. *J. Cell Biol.* 86, 831-843 (1980).
- 3) Fujiwara Y., Kazahaya M., Nakashima M., et al.: Behavioral sensitization to methamphetamine in the rat: an ontogenic study. *Psychopharmacol.* 91: 316-319, 1987.
- 4) Kajii Y, Toda S, Umino A and Nishikawa

- T: A molecular approach to identify essential factors for establishment of psychostimulant-induced behavioral sensitization. In K. Miyoshi, C.M. Shapiro, M. Gaviria, Y. Morita (Eds.) *Contemporary Neuropsychiatry* (Proceedings of the 3rd International Congress of Neuropsychiatry), pp. 341-346, Springer-Verlag, Tokyo, 2001.
- 5) Murata M., Kashiwa A., Oshima A., et al.: Nomifensine-induced c-fos mRNA expression in the discrete brain areas of the developing rat. *Neurosci Lett*, 303: 99-102, 2001.
- 6) 西川徹、梶井靖、藤山航、他：乱用薬物による脳機能障害の分子機構解明。厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）「規制薬物の依存メカニズムと慢性精神毒性に関する神経科学的研究」平成10年度研究報告書（佐藤光源 編）、pp. 104-110、1999.
- 7) 西川徹、梶井靖、平岡秀一、他：乱用薬物による脳機能障害の分子機構解明。厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）「規制薬物の依存メカニズムと慢性精神毒性に関する神経科学的研究」平成11年度研究報告書（佐藤光源 編）、pp. 108-113、2000.
- 8) 西川徹、梶井靖、村岡新一郎、他：乱用薬物による脳機能障害の分子機構解明。厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）「規制薬物の依存メカニズムと慢性精神毒性に関する神経科学的研究」平成12年度研究報告書（佐藤光源 編）、pp. 196-201、2001.
- 9) 西川徹、海野麻未、梶井 靖、他：分裂病の成因は薬理・生化学的アプローチから解明されるか 精神科治療学 12:617-623, 1997.
- 10) Nishikawa T., Umino A., Kashiwa A., et al.: Stimulant-induced behavioral sensitization and cerebral neurotransmission. In *Neurotransmitters in neuronal plasticity and psychiatric disorders*, pp. 53-62, Excerpta Medica, Ltd. Tokyo, 1993.
- 11) Paxinos, G. & Watson, C. (1986). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd edn. Sydney: Academic Press.
- 12) Rapoport, J.L., Buchsbaum, M.S., Weingartner, H. et al.: Dextroamphetamine. Its cognitive and behavioral effects in normal and hyperactive boys and normal men, *Arch. Gen. Psychiatry*, 37 (1980) 933-943.

厚生科学研究費補助金(医薬安全総合研究事業)

分担研究報告書

分担研究課題: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

分担研究者 秋山一文¹

共同研究者 恵武人¹

所属¹ 獨協医科大学精神神経医学教室

【研究要旨】

本研究ではシナプス小胞からの神経伝達物質の放出に関与する前シナプス側の様々な蛋白として synaphin1, synaphin2, SNAP25a, SNAP25b, synaptotagmin I, synaptotagmin IV を取り上げ、また中脳ドパミン作動性神経の生存分化とその神経終末の伸長に重要な役割をもつとされる転写因子 Nurr 1 とともに、メタンフェタミン(METH)急性投与、反復投与によるラット脳内のこれらの mRNA に与える影響を検討した。その結果、METH 急性投与から1—3時間後に於いて SNAP25a の mRNA は内側前頭皮質、線条体、海馬歯状回で、synaptotagmin IV の mRNA は線条体で、Nurr 1 の mRNA は大脳皮質、海馬錐体細胞層、腹側被蓋野でそれぞれ有意に増加した。METH 反復投与終了から3週間目に生食をチャレンジした MS 群では生食を反復投与して生食をチャレンジした SS 群に比べ SNAP25a の mRNA が線条体、側坐核で有意に増加していた。METH を反復投与して METH をチャレンジした MM 群では生食を反復投与して METH をチャレンジした SM 群に比べ線条体、側坐核、頭頂葉皮質、海馬歯状回に於ける synaptotagminIV の mRNA が有意な増加を示した。SS 群に比べ MS 群では内側前頭皮質、頭頂葉皮質、腹側被蓋野で Nurr 1 mRNA が有意な増加を示した。

A. 目的

メタンフェタミン(METH)による行動感作(逆耐性現象)の機序はシナプス結合のパターンなど持続的な構造変化を基礎とした神経可塑性と考えられている⁸⁾。しかしながらその分子的基础の実態については明らかにされていない。シナプス小胞からの神経伝達物質の放出に関与する前シナプス側の様々な蛋白をコードする遺伝子は精神刺激薬による逆耐性現象に関連する神

経可塑性遺伝子の候補として近年興味もたれている。先行研究に於いては、コカインの急性投与によって線条体で synaptotagmin IV mRNA が増加するという報告³⁾、METH の急性投与によって synaptophysin mRNA が増加するという報告¹⁰⁾、アンフェタミン(AMPH)の慢性投与によって側坐核の shell で syntaxin 1 蛋白が増加するという報告⁹⁾がある。本研究ではラットに METH を急性投与及び反復投与し、前シナ

プス側の蛋白として synaphin 1, synaphin 2, SNAP25a, SNAP25b, synaptotagmin I, synaptotagmin IV を取り上げこれらの mRNA を in situ hybridization によって解析した。また発達期の中脳ドパミン作動性神経の生存分化及び神経終末の伸長に重要な役割をもつとされる転写因子 Nurr 1 の mRNA にこれらの処置が与える影響も検討した。

B. 対象と方法

実験動物として7週齢のSD系雄性ラットを用い7日間のハンドリングを行った。急性実験では、METH 4 mg/kg i.p.投与後1, 3, 6, 24時間後に断頭した。対照群には生食を投与し3時間後に断頭した。慢性実験ではMETH 4

mg/kg/day または生食を2週間連日 i.p.投与した後、3週間の断薬期間をおき、METH 4 mg/kg または生食をチャレンジして(SS群、SM群、MS群、MM群として設定)3時間後に断頭した。摘出した脳を凍結し、10 μ mの厚さの冠状断に切りスライドグラスにマウントした。synaphin 1, synaphin 2 の mRNA は Ishizuka ら⁷⁾、SNAP25a, SNAP25b の mRNA は Boschert ら²⁾、synaptotagmin I, synaptotagmin IV の mRNA は Berton ら¹⁾、Nurr 1 の mRNA は Honkaniemi らの報告⁶⁾に従って解析した。すなわちそれぞれの相補的な oligonucleotide probe の 3' 端を [³⁵S]dATP で標識し、in situ hybridization を行った。画像解析から読み取った optical density を同一のフィルムに expose させたスタンダードから nCi/g tissue に変換した値を one way ANOVA と Fisher の PLSD によって統計解析した。

C. 結果

1. METH 急性投与から1—3時間後に於いて SNAP25a の mRNA は内側前頭皮質、線条体、海馬歯状回で、synaptotagmin IV の mRNA は線条体で、Nurr 1 の mRNA は大脳皮質、海馬錐体細胞層、腹側被蓋野でそれぞれ増加した。
2. METH 反復投与終了から3週間目に生食をチャレンジしたMS群では生食を反復投与して生食をチャレンジしたSS群に比べ SNAP25a の mRNA が線条体、側坐核で有意に増加していた(Fig 1)。
3. METH を反復投与して METH をチャレンジしたMM群では生食を反復投与して METH をチャレンジしたSM群に比べ線条体、側坐核、頭頂葉皮質、海馬歯状回に於ける synaptotagmin IV の mRNA が有意な増加を示した (Fig 2)。線条体・側坐核レベルに於ける代表的な画像を示す(Fig 3)。
4. SS群に比べMS群では内側前頭皮質、頭頂葉皮質、腹側被蓋野で Nurr 1 mRNA が有意な増加を示した (Fig 4)。
5. synaphin 1, synaphin 2, SNAP25b, synaptotagmin I は METH の急性または慢性投与によっていずれの脳部位でも有意な変化は認められなかった。

D. 考察

本研究で前シナプス側関連蛋白の mRNA を取り上げたのは逆耐性現象の基盤をなす神経可塑性関連遺伝子の候補として前シナプス側