

原波形をもとにした健常群での反復効果に関わる部位(300~420ms)

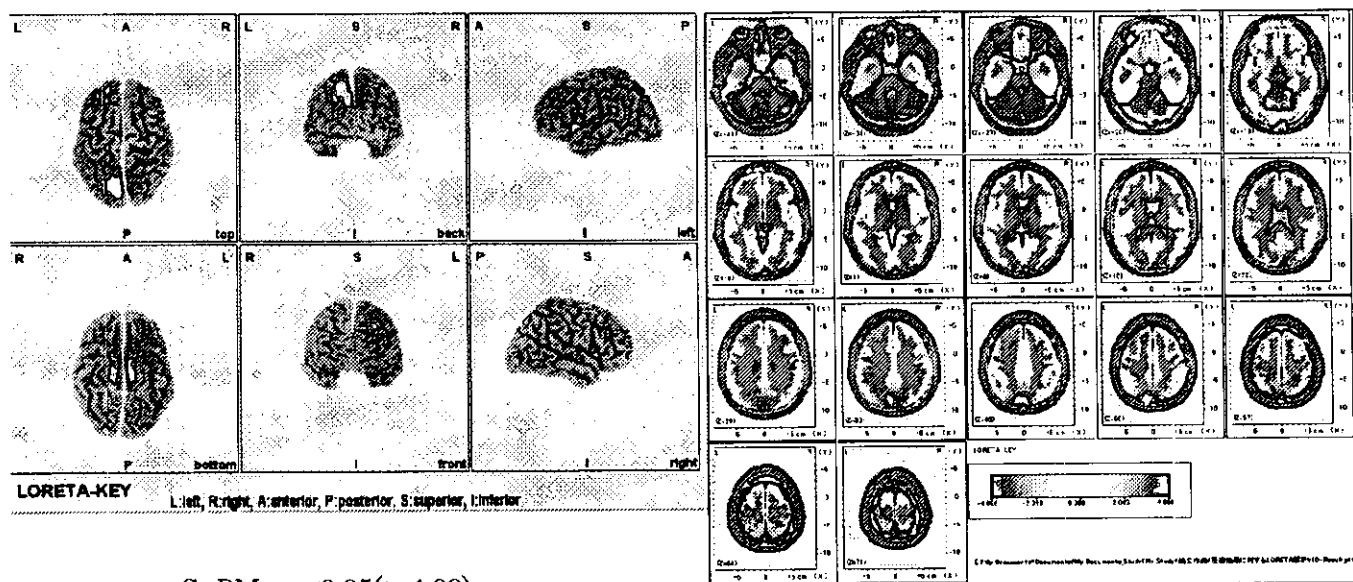


図 4

反復刺激に対して左後頭葉で有意な減弱が見られ、左前頭前野においてやや減弱傾向が認められる。

原波形をもとにした健常群での反復効果に関わる部位(420~540ms)

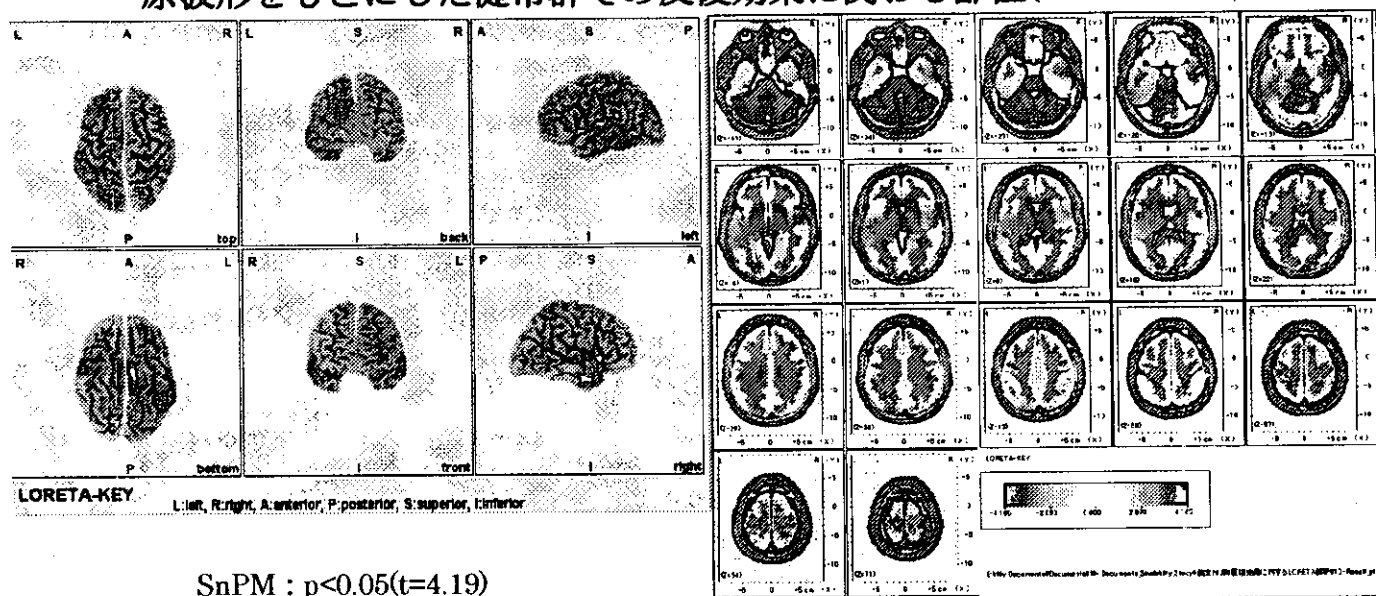
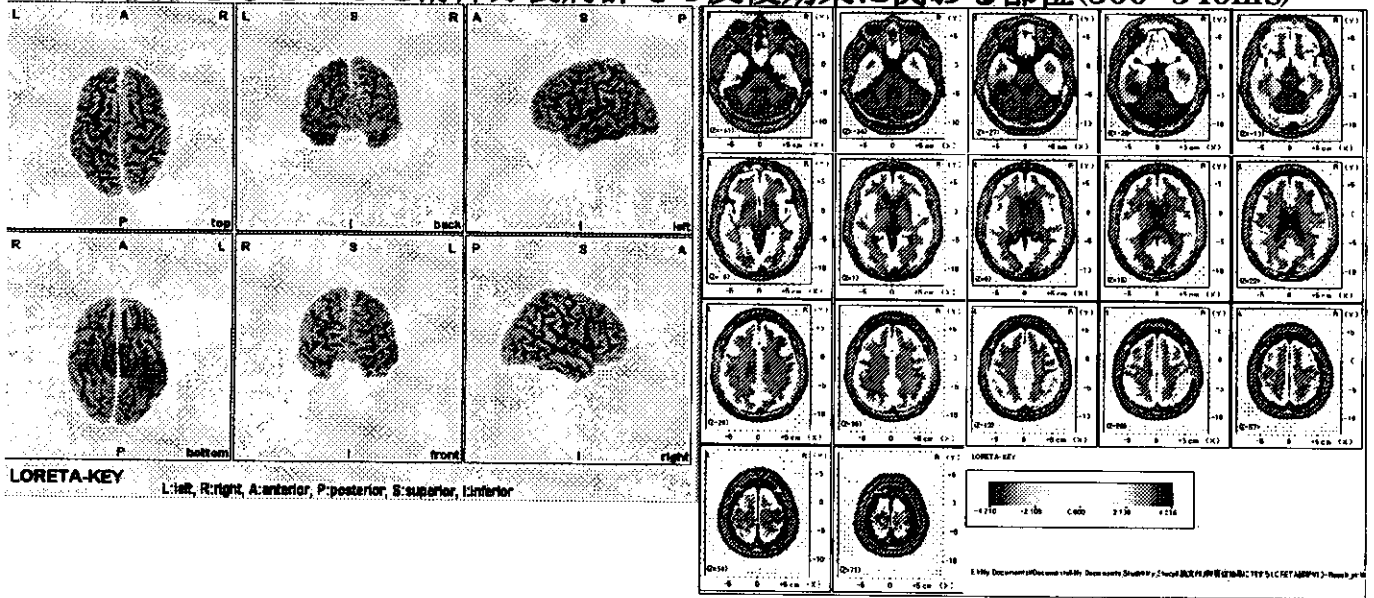


図 5

反復刺激に対して両側側頭葉で増強傾向が認められる。

原波形をもとにした精神分裂病群での反復効果に関わる部位(300~540ms)



SnPM : $p < 0.05 (t = 4.22)$

図 6

反復刺激に対して左側頭葉下面領域で有意な減弱を認める

健常群の ERP 引算波形

TANOVA

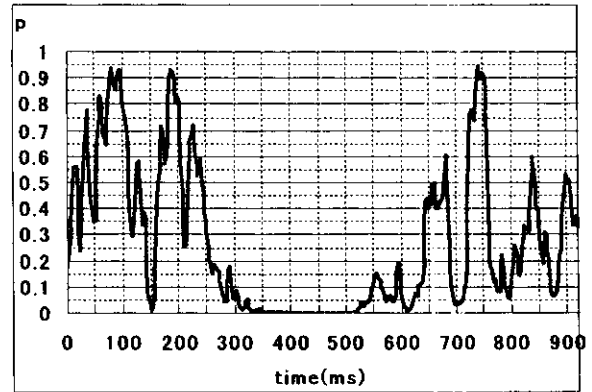
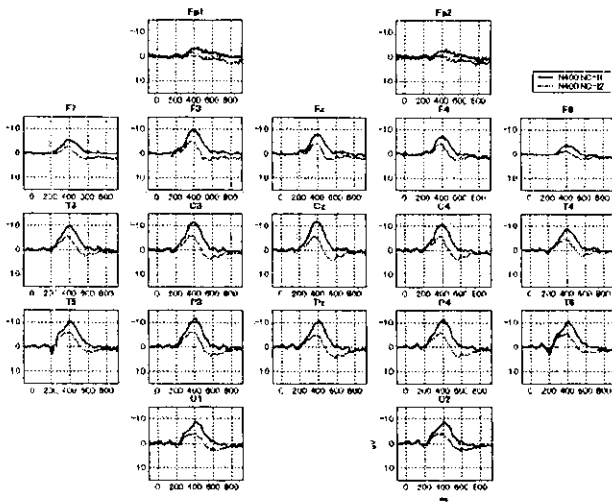


図 7

N400:NC-I1 (実線)：健常群における初回提示語に対する引算波形
 N400:NC-I2 (破線)：健常群における反復提示語に対する引算波形
 引算波形を比べたところ、反復刺激に対して潜時 200~600ms にかけて振幅が低下している。
 TANOVA の結果、306~540ms にかけて頭皮上電位マップに有意な差が認められる

精神分裂病群の ERP 引算波形

TANOVA

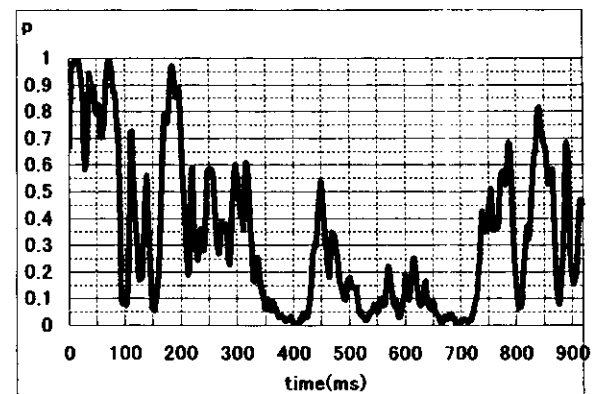
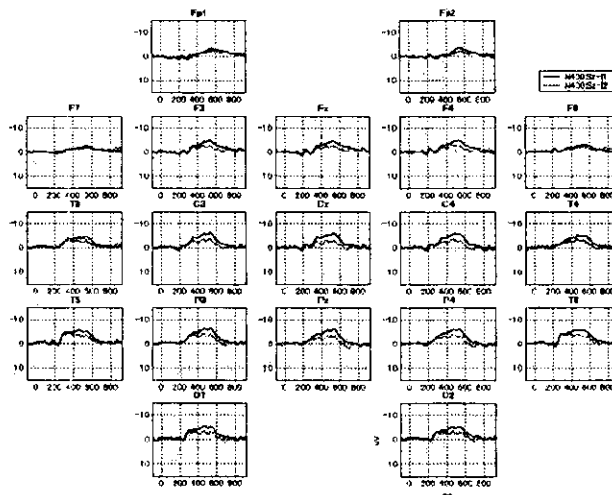


図 8

N400:Sz-I1 (実線)：精神分裂病群における初回提示語に対する引算波形
 N400:Sz-I2 (破線)：精神分裂病群における反復提示語に対する引算波形
 引算波形を比べたところ、初回提示と反復刺激に大きな違いが認められない。
 TANOVA の結果、370~426ms および 656~722ms にかけて頭皮上電位マップに有意な差が認められる

初回提示語に対する ERP 引算波形

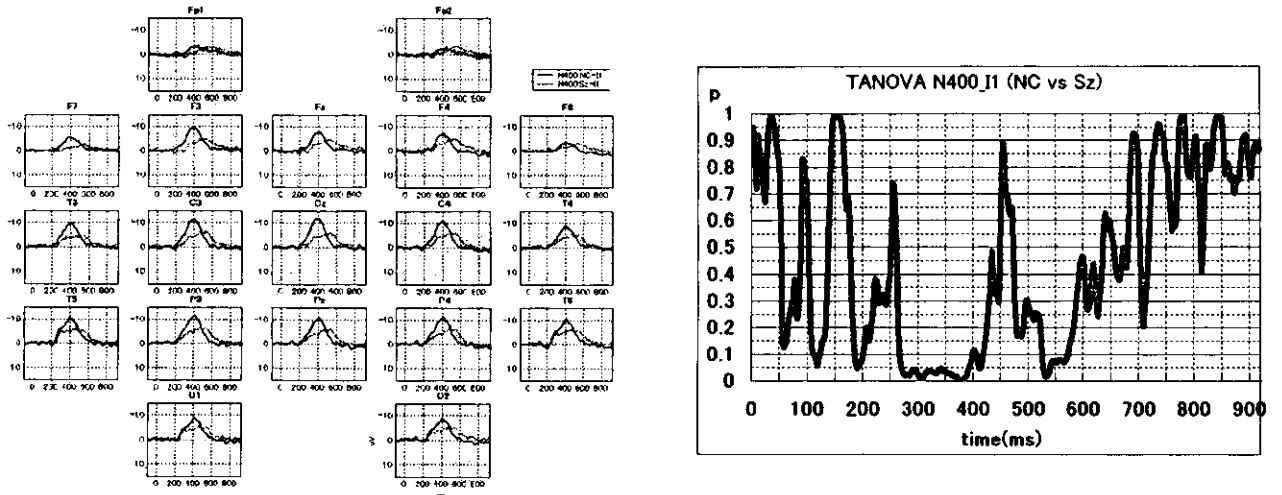


図 9

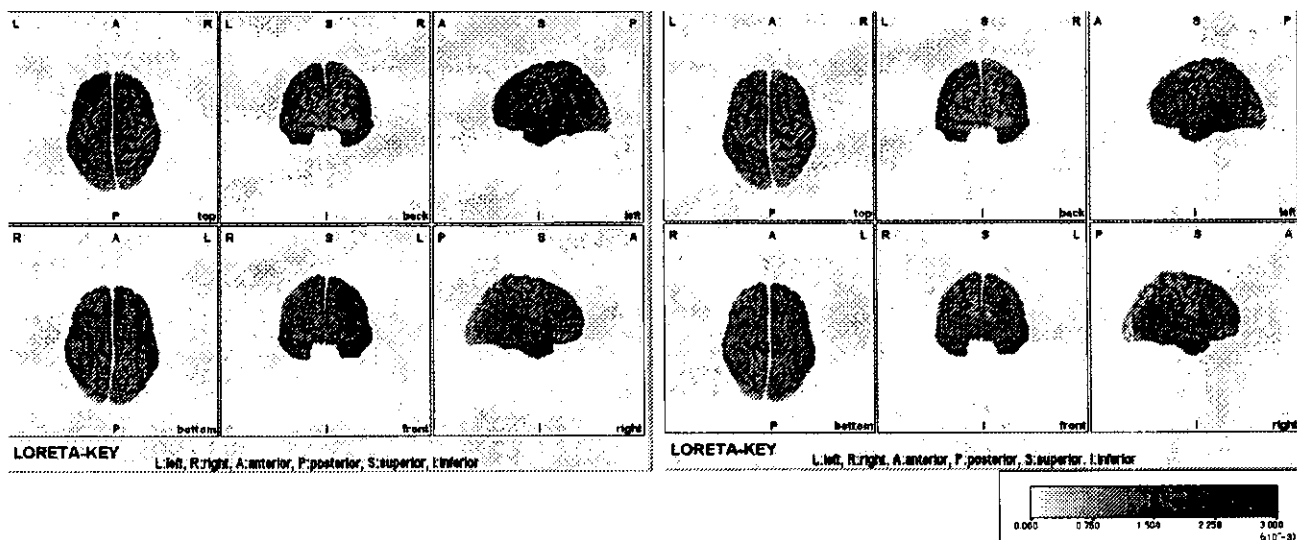
N400:NC-I1 (実線) : 健常群における初回提示語に対する引算波形

N400:Sz-I1 (破線) : 精神分裂病群における初回提示語に対する引算波形

引算波形を比べたところ、健常群に比べ精神分裂病群では陰性ピークの潜時が遅れ、かつ振幅が低い。

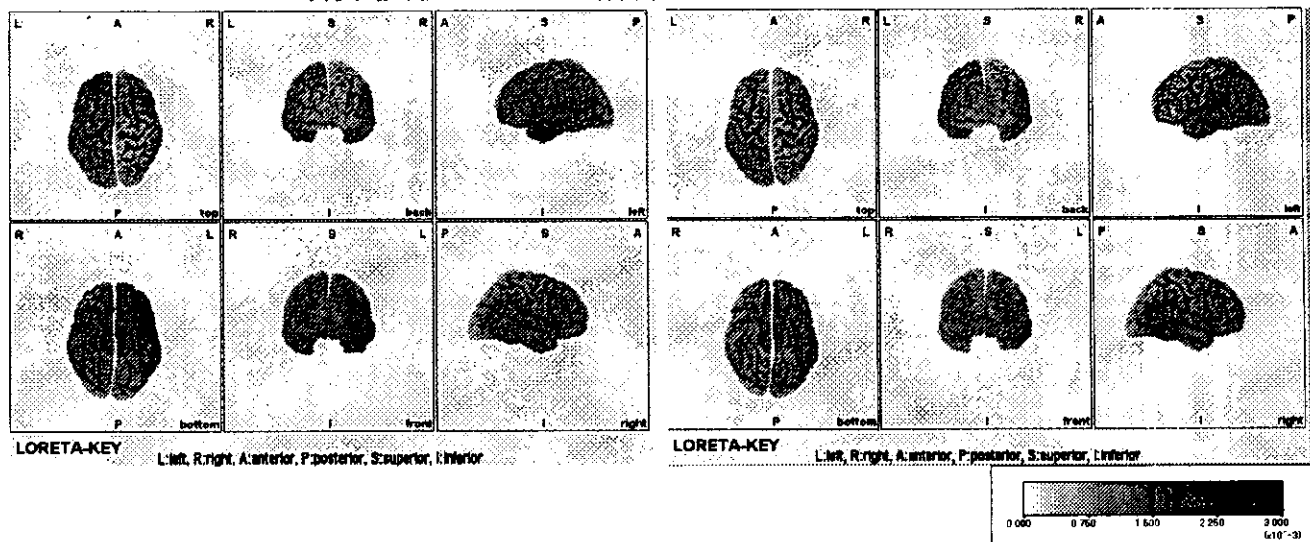
TANOVA の結果、270~392ms にかけて健常群と精神分裂病群の頭皮上電位マップに有意な差が認められる

引算波形における健常群の電位発生源



初回提示語に対する電位発生源(306~540ms) 反復提示語に対する電位発生源(306~540ms)

引算波形における精神分裂病群の電位発生源



初回提示語に対する電位発生源(306~540ms) 反復提示語に対する電位発生源(306~540ms)

図 10

図上段：初回提示に対して両側側頭葉と左前頭前野に電位発生源が認められる。反復刺激に対しては初回提示語同様の領域が活動したが、全体的に減弱している。特に左前頭前野における減弱が強い。

図下段：初回提示に対して健常群同様に両側側頭葉と左前頭前野に電位発生源が認められるが全体的に減弱している。反復刺激に対して初回提示に比べ両側前頭前野と側頭前方部で減弱している。

引算波形における健常群での反復効果に関わる部位(306~540ms)

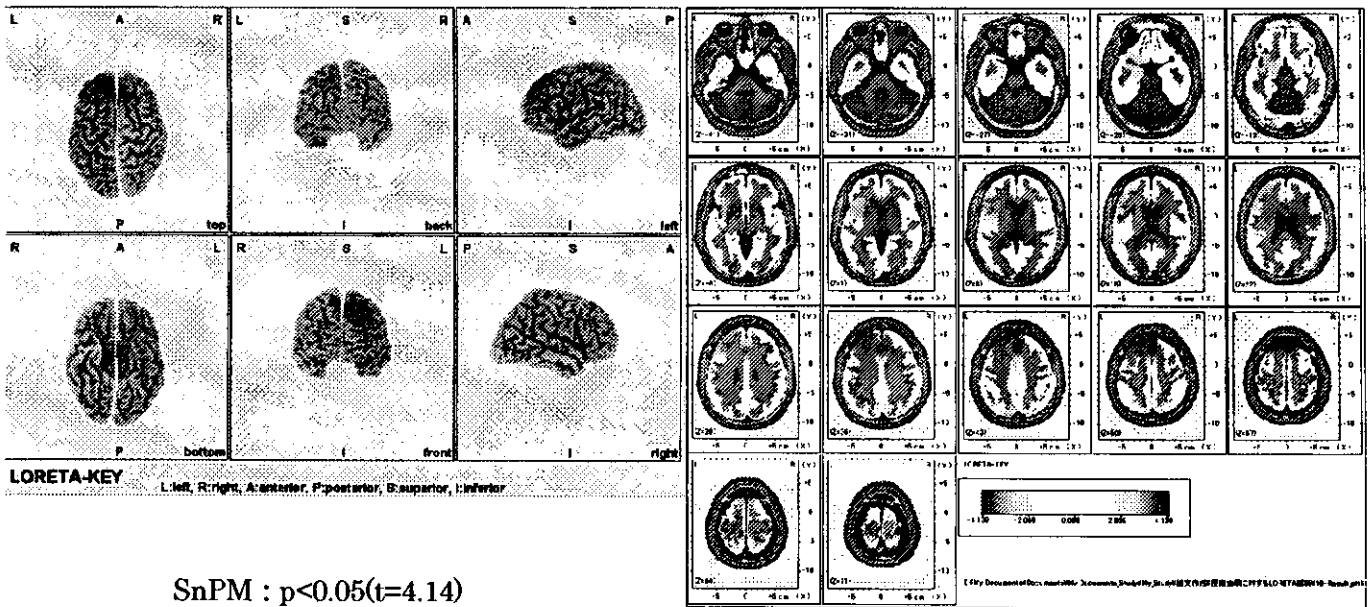


図 11

反復刺激に対して、左前頭前野で有意な減弱を認める。

引算波形における精神分裂病群での反復効果に関わる部位(306~540ms)

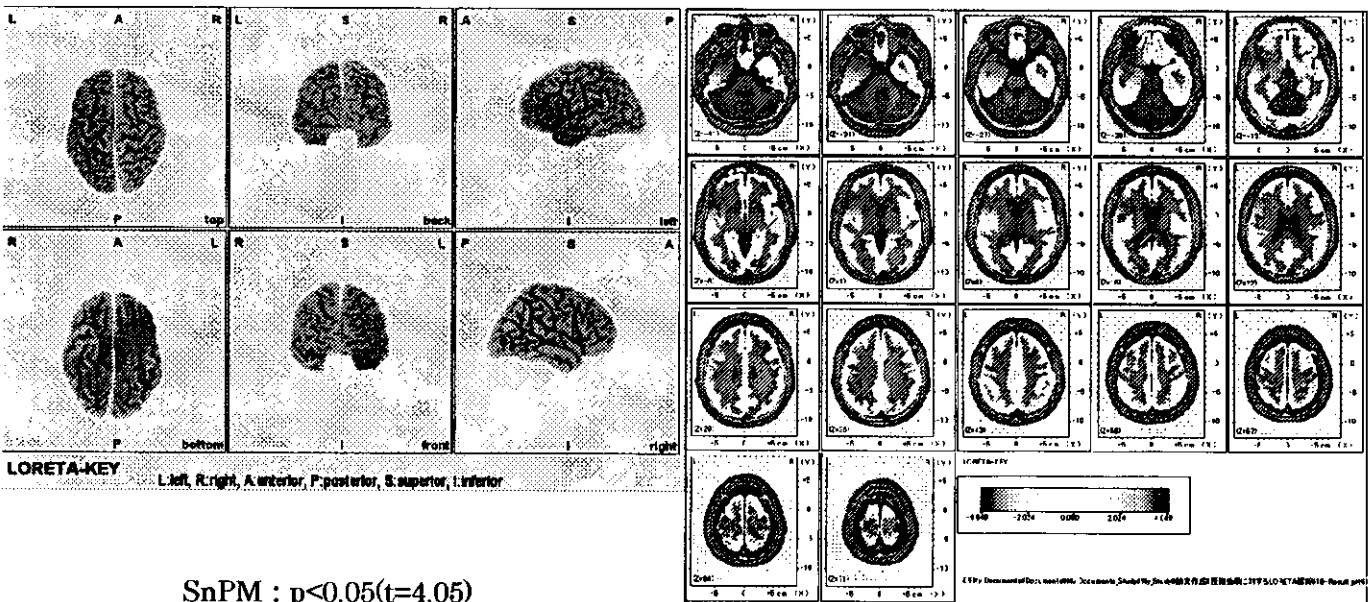


図 12

反復刺激に対して左下前頭葉および左側頭葉前方部で減弱が認められる。

引算波形における初回提示語に対する健常群と精神分裂病群の比較(270~392ms)

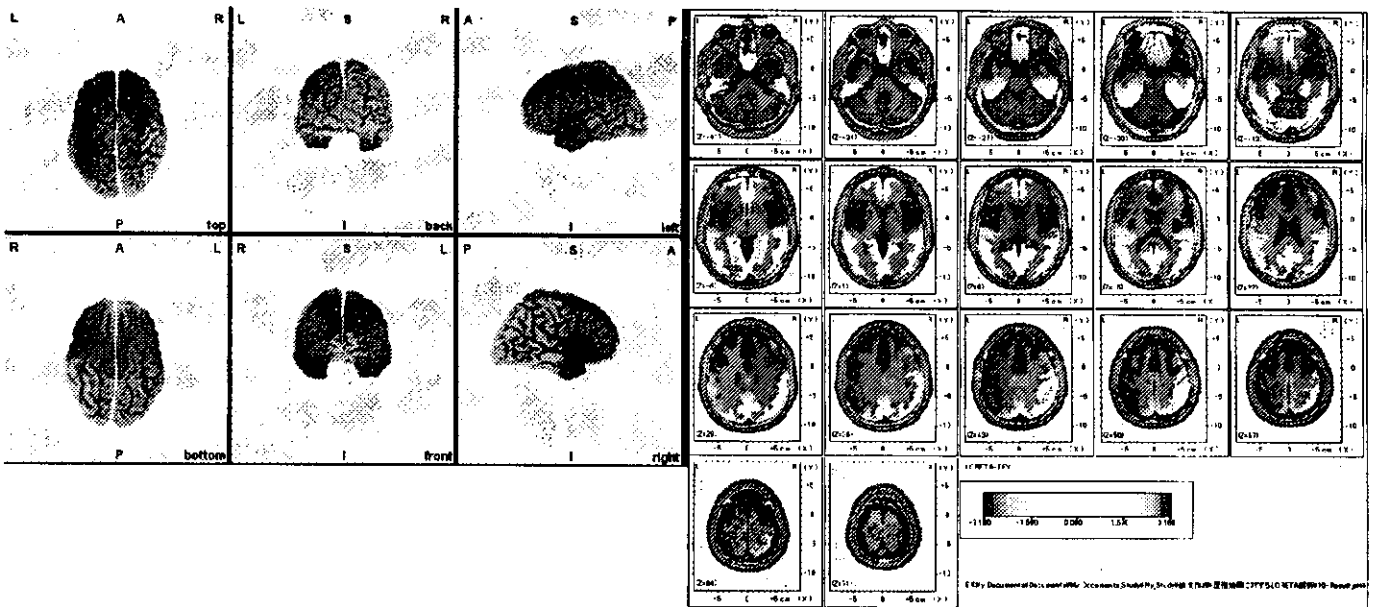


図 13

初回提示に対して健常群に比べ精神分裂病群は両側前頭前野、両側側頭葉前方部を中心に広範囲にわたり有意に電位活動が減弱している。

健常群における意味符号化処理モデル

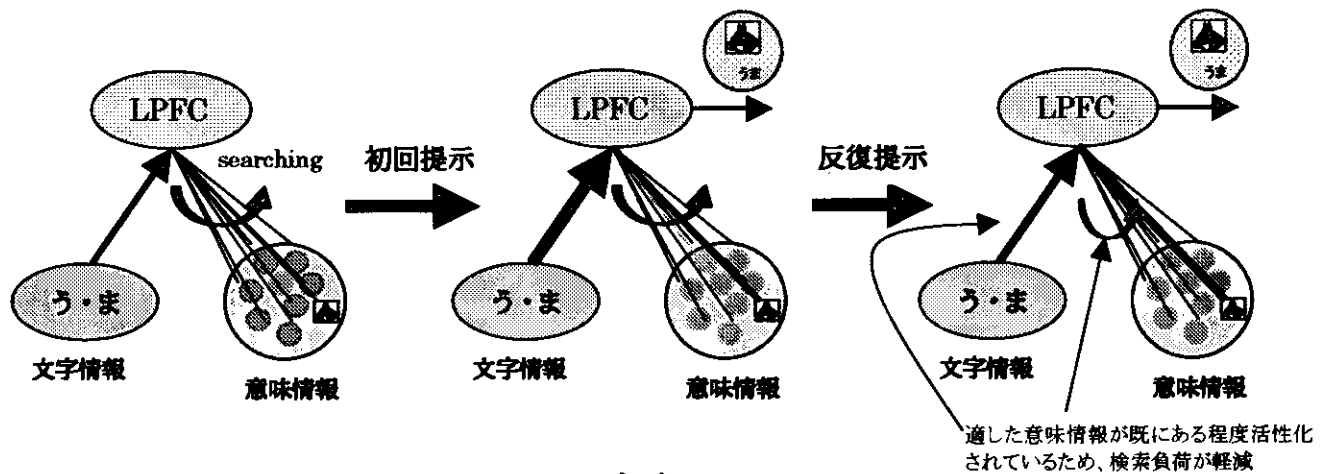


図 14

視覚的に提示された文字情報に対して最も適切な意味情報を検索・照合し符号化する過程において、LPFC (left prefrontal cortex: 左前頭前野) が重要な役割を果たす。最も適した意味情報が検索されることで符号化が完了し次の情報処理段階へ進行するが、同一の視覚刺激が直後に反復提示された場合、その意味情報は先に活性化されているために他の意味情報よりも活性化の程度が高く、意味検索・照合の負荷が少なくても速やかに符号化処理が完了するため、LPFC の活動は初回提示に対する場合に比べ低いものとなる。

精神分裂病における意味符号化処理モデル

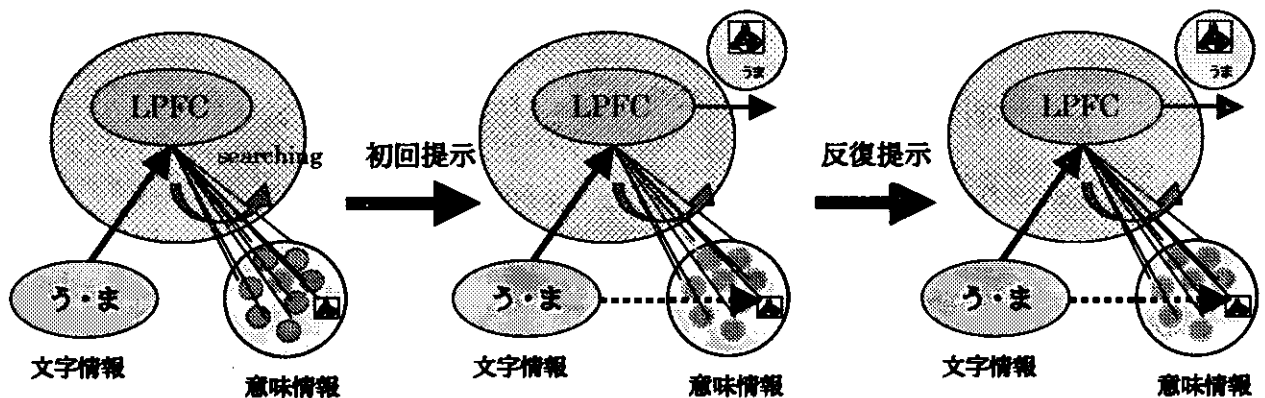


図 15

精神分裂病では、何かしらの原因で意味情報の検索・照合処理の機能が低下しているため意味検索・照合がスムーズに行われず、十分に検索されることなく最終的に最も活性化の高かった意味情報が符号化されることでこの処理が完了する。そのため、反復提示に対して意味検索・照合処理に関わる部位の負荷は減弱せず、初回提示刺激の意味符号化に関わった部位における処理負荷の軽減のみ認められる。

表 1. 健常群の原波形において反復効果が有意に認められた部位

刺激提示後 300~420ms

TX	TY	TZ	Value	side	BA	area
-10	-81	36	-4.321	left	19	precuneus
-24	3	-41	-2.960	left	20	uncus
-31	-4	-41	-2.960	left	20	inferior temporal
-24	38	43	-2.926	left	8	superior frontal
-31	38	43	-2.926	left	8	middle frontal
25	-18	-20	-2.994	right	28	parahippocampal
p<0.05 t=4.0858						significant cluster t=2.4003

刺激提示後 420~520ms

TX	TY	TZ	Value	side	BA	area
-24	-81	36	-3.407	left	19	precuneus
-24	-88	36	-3.407	left	20	cuneus
-59	-46	-13	2.956	left	20	inferior temporal
53	-11	-13	3.576	right	21	middle temporal
25	-53	64	2.393	right	7	superior parietal
11	-39	1	2.309	right	30	parahippocampal
p<0.05 t=4.1854						significant cluster t=1.1918

TX, TY, TZ: Talairach 標準脳アトラスにおける x 座標、y 座標、z 座標

Value: voxel-by-voxel 解析における t 値

side: 大脳左半球、右半球の区別

BA: Brodmann's Area

表 2. 精神分裂病群の原波形において反復効果が有意に認められた部位

刺激提示後 300~540ms

TX	TY	TZ	Value	side	BA	area
-38	-39	-20	-4.266	left	20	fusiform
p<0.05 t=4.2158						significant cluster t=4.2656

表 3. 初回提示語に対して原波形において健常群と精神分裂病群間に有意に活動の差が生じた部位

刺激後 300~540ms

TX	TY	TZ	t-Value	side	BA	area
-59	10	22	-2.714	left	45	inferior frontal
-31	-32	-13	3.035	left	36	parahippocampal
-31	-39	-20	3.035	left	20	fusiform
32	-25	-27	2.748	right	36	parahippocampal
p<0.05 t=3.612						significant cluster t=2.6979

表 4. 健常群の引算波形において反復効果が有意に認められた部位

刺激提示後 306-540ms

TX	TY	TZ	Value	side	BA	area
-17	38	50	-4.395	left	8	superior frontal
-24	24	36	-3.875	left	8	middle frontal
-31	10	8	-3.426	left	13	insula
-24	10	-13	-3.183	left	47	inferior frontal

p<0.05 t= 4.1443 significant cluster t=2.4414

表 5. 精神分裂病群の引算波形において反復効果が有意に認められた部位

刺激提示後 306-540ms

TX	TY	TZ	Value	side	BA	area
-38	24	-20	-3.668	left	47	inferior frontal
-31	17	-34	-3.668	left	38	superior temporal

p<0.05 t= 4.0487 significant cluster t=3.2608

表 6. 初回提示語に対して健常群と精神分裂病群間に有意に電位活動の差が生じた部位

刺激提示後 270-392ms

TX	TY	TZ	Value	side	BA	area
-3	24	22	-4.360	left	24	anterior cingulate
-38	3	57	-3.792	left	6	middle frontal
-45	-4	43	-3.580	left	6	precentral
-38	-60	57	-3.544	left	7	superior parietal
-17	45	43	-3.544	left	8	superior frontal
-38	-53	57	-3.544	left	40	inferior parietal
-45	-53	57	-3.544	left	41	inferior parietal
-24	17	50	-3.509	left	6	superior frontal
-24	17	43	-3.509	left	8	superior frontal
-38	-46	43	-3.509	left	40	inferior parietal
-52	-4	8	-3.438	left	6	precentral
-45	-4	1	-3.438	left	13	insula
-52	-4	1	-3.438	left	22	superior temporal
-38	24	8	-3.225	left	45	inferior frontal
-31	24	8	-3.225	left	46	inferior frontal
-31	17	-34	-3.119	left	38	superior temporal
-3	-39	36	-2.871	left	31	cingulate
-10	-39	36	-2.871	left	32	cingulate
-3	-46	64	-2.765	left	5	paracentral
25	24	57	-4.501	right	6	middle frontal
25	17	57	-4.501	right	6	superior frontal
11	31	29	-4.360	right	9	middle frontal
4	24	22	-4.360	right	24	anterior cingulate
11	24	29	-4.360	right	32	cingulate
60	3	15	-4.147	right	6	precentral
46	3	8	-4.076	right	44	precentral
11	59	36	-4.005	right	9	superior frontal
39	45	-13	-3.225	right	11	middle frontal
11	-39	50	-2.835	right	7	paracentral
11	-39	36	-2.835	right	31	cingulate
11	-39	43	-2.835	right	32	cingulate
18	-32	-13	-2.694	right	36	parahippocampal

p<0.05 t= 3.1804 significant cluster t=2.5007

厚生労働科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)
分担研究報告書

遺伝子改変動物を用いた精神分裂病の分子遺伝学的研究

分担研究者 曾良一郎 東北大学大学院医学系研究科医科学専攻神経科学講座精神・神経生物学分野

研究要旨

統合失調症のドーパミン(DA)仮説は、(1)覚醒剤などの中枢DA作動性神経系の作動薬が統合失調症類似の症状を引き起こす、(2)統合失調症の症状を改善する抗精神病薬の多くがDA神経系拮抗薬である、などの臨床的事実を根拠としている。さらに最近、非定型抗精神病薬がDA神経系だけでなくセロトニン作動性神経系の拮抗作用も併せ持つことから、統合失調症の病態にはモノアミン神経系が深く関連すると考えられている。

統合失調症では感覚運動情報制御の生理指標であるプレパルス・インヒビション(PPI)が減弱しており、DA神経作動薬を投与した動物でもPPIは減弱する。従って、統合失調症でのPPI減弱はDAをはじめとするモノアミン神経伝達の異常を反映すると考えられている。

我々は覚醒剤の標的分子である、DAトランスポーター(DAT)を遺伝的に欠損させたノックアウト(KO)マウスを作成した。DAT-KOマウスではDA神経系の伝達が著しく亢進している。こうしたマウスは、モノアミン神経作動薬を用いた従来の薬理学的手法における選択性の欠如を補完できるので、統合失調症の病態や治療薬の分子薬理学的機序の解明に有用な動物モデルと予想される。

本研究ではDAT-KOマウスを用いて、驚愕反応刺激装置によってPPIを調べた。まず野生型マウスを用いて、プレパルスの強度に依存した抑制が認められるような条件を検討、決定した。DATヘテロKOマウスのPPIは野生型マウスとほとんど変わらなかったが、DAT-KOマウスのPPIは減弱傾向が見られた。今回の結果は、やはりDAT-KOマウスを用いた報告や、覚醒剤投与ラットで観察された報告と一致しており、DA神経系の伝達亢進によってPPIが減弱するという従来の仮説が再認された。DAT-KOマウスは統合失調症におけるPPI減弱の神経機構を解明する上で有用と考えられる。今後さらにセロトニントランスポーター(SERT)のKOマウスや、DAT/SERTのダブルKOマウスでPPIを測定すれば、DA、セロトニン神経系の相互作用が解明できる可能性がある。こうした研究は非定型抗精神病薬の作用機序を解明や、新規の統合失調症治療薬開発に寄与することが期待される。

A. 研究目的

統合失調症の病態に関しては、ドーパミン(DA)仮説をはじめとしてモノアミン神経伝達の関与が想定されているものの、十分には解明されていない(Sato, 1992)。統合失調症の治療に近年よく用いられるようになった非定型抗精神病薬の中で、セロトニン・ドーパミン受容体アンタゴニストはDA神経系のみならずセロトニン神経系の拮抗作用を併せ持つ。

モノアミントランスポーター欠損マウスはモノアミン神経伝達に変異していることから、統合失調症の病態を解明する上で有用な動物モデルになる可能性が考えられる。

細胞膜モノアミントランスポーターはドーパミン(DA)、ノルエピネフリン、セロトニン作動性神経系の、主に前シナプス神経終末の細胞膜に位置する(Uhl, 1992)。モノアミントランスポーターは、神経終末から放出された

モノアミンを神経終末に再取り込みし、神経伝達を終了させる。モノアミン受容体には多数のサブタイプが存在するが、細胞膜モノアミントランスポーターは各モノアミンに一種類しかないことから、モノアミン神経伝達の制御には極めて重要な役割を果たすと考えられる。我々はドーパミントランスポーター (DAT) およびセロトニントランスポーター (SERT) 遺伝子の発現を欠損させたノックアウトマウス (KO) を作成し、行動解析を行なった。DAT KO マウス及び DAT/SERT ダブル KO マウスは活発な自発運動量を呈し、また、後者のコカイン報酬が消失していることを報告している (Sora et al., 1998; Sora et al., 2001)。

本研究では DAT/SERT KO マウスを用いて、統合失調症等で見られる感覚運動情報制御障害の指標のひとつであるプレパルス・インヒビション (PPI) の変化について検討することにした。今年度はまず、DAT KO マウスを用いて PPI の変化を検討した。

B. 研究方法

全ての実験は東京都精神医学総合研究所動物実験委員会、もしくは東北大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

129/C57 混合遺伝背景のドーパミントランスポーター (DAT) 欠損マウス (Sora et al, PNAS, 1998) は、施設内で繁殖させ、4週齢のものを用いた。KO マウス遺伝型判別は、尻尾断片組織からゲノム DNA を抽出し、PCR 法にて判別した。野生型、DAT ヘテロ KO (DAT+/-)、DAT KO (DAT-/-) 計 3 群として以下の実験に供した。

プレパルス・インヒビションの測定装置は SD Instruments 社の驚愕刺激反応装置を用いた。実験は、まず、マウスをチャンバー内に入れ 70dB のホワイトノイズの下で 5 分間馴化させた。馴化後、プレパルス+驚愕刺激、驚愕刺激のみ、ホワイトノイズのみのセッシ

ョンを 15 秒間隔で 50 回行った。プレパルス + 驚愕刺激では、プレパルスとして 73, 76, 79dB を 20ms 与えた後、100ms のホワイトノイズ後に驚愕刺激として 120dB を 40ms 与えた。驚愕刺激のみではプレパルスは与えずその間はホワイトノイズを流した。ホワイトノイズのみでは刺激を全く与えなかった。驚愕反応の記録は驚愕刺激と同時に開始し、100ms 間とした。

C. 研究結果

今年度から、この驚愕刺激反応を用いたマウスの実験を開始した。まず、実験系の構築のために 14 例の野生型マウスを用いて条件を検討した。プレパルスとして 73db、76dB、79dB を与えた時、驚愕刺激はそれぞれ 7%、25%、36%抑制され、プレパルスの強度依存に抑制が見られた。以上のことからこの条件を用いて PPI の測定を行うことにした。

PPI の測定は DAT KO、DAT ヘテロ KO それぞれ 5 例、33 例について行った。結果を図 1 に示す。DAT KO では 73db、76dB、79dB のプレパルスにより 12%、2%、8%の阻害であり、PPI の抑制傾向が見られた。DAT ヘテロ KO ではそれぞれ 8%、23%、34%の阻害で、野生型と殆ど変わらなかった。

D. 考察

PPI は統合失調症の病態解明のためのモデルとして近年注目されてきている。PPI に影響を及ぼす薬物として、DA アゴニスト、セロトニンアゴニスト、グルタミン酸アゴニストなどが知られ、また、発達障害によっても影響されることが明らかにされてきている。しかし分子生物学的な解析はようやく端緒にいたばかりである。我々の構築した DAT KO マウス (Sora et al, PNAS, 1998) は、DA 再取り込み作用を担う DAT を欠損しているため、統合失調症のモノアミン仮説を検証する上で非常に重要なツールになりうるはずであり、

今回統合失調症の感覚運動情報制御障害の指標のひとつである PPI に注目した。DAT 欠損マウスは PPI が阻害される傾向にあり、この傾向は Ralph らの報告 (Ralph RJ, J Neurosci, 2001) を支持するものである。今後はさらに例数を重ね、PPI における DAT の役割を検討すると共に、このマウスを用いてセロトニン神経系との相互作用、さらには分子生物学的な解析まで次年度以降行う予定である。

E. 結論

統合失調症のドーパミン (DA) 仮説は、(1) 覚醒剤などの中枢 DA 作動性神経系の作動薬が統合失調症類似の症状を引き起こす、(2) 統合失調症の症状を改善する抗精神病薬の多くが DA 神経系拮抗薬である、などの臨床的事実を根拠としている。統合失調症では感覚運動情報制御の生理指標である PPI が減弱しており、DA 神経作動薬を投与した動物でも PPI は減弱する。従って、統合失調症での PPI 減弱は DA をはじめとするモノアミン神経伝達の異常を反映すると考えられている。我々は DAT を遺伝的に欠損させた KO マウスを作成した。DAT-KO マウスでは DA 神経系の伝達が著しく亢進している。本研究では DAT-KO マウスを用いて、驚愕反応刺激装置によって PPI を調べた。DAT ヘテロ KO マウスの PPI は野生型マウスとほとんど変わらなかったが、DAT-KO マウスの PPI は減弱傾向が見られた。今回の結果は、やはり DAT-KO マウスを用いた報告や、覚醒剤投与ラットで観察された報告と一致しており、DA 神経系の伝達亢進によって PPI が減弱するという従来の仮説が再認識された。DAT-KO マウスは統合失調症における PPI 減弱の神経機構を解明する上で有用と考えられる。

[文献]

Sato M, Numachi Y, Hamamura T (1992) Relapse of paranoid psychotic state in

methamphetamine model of schizophrenia. *Schizophr Bull* 18:115-122.

Uhl GR (1992) Neurotransmitter transporters (plus): a promising new gene family. *Trends Neurosci* 15:265-268.

Sora I, Wichems C, Takahashi N, Li XF, Zeng Z, Revay R, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR (1998) Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:7699-7704.

Sora I, Hall FS, Andrews AM, Itokawa M, Li XF, Wei HB, Wichems C, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR (2001) Molecular mechanisms of cocaine reward: combined dopamine and serotonin transporter knockouts eliminate cocaine place preference. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:5300-5305.

Ralph RJ, Paulus MP, Fumagalli F, Caron MG, Geyer MA (2001) Prepulse inhibition deficits and perseverative motor patterns in dopamine transporter knock-out mice: differential effects of D1 and D2 receptor antagonists. *J Neurosci* 21:305-313

F. 健康危険情報

特記事項はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

(著書、総説)

曾良一郎, 池田和隆, 三品裕司 (2002) 実験技術: オピオイド受容体ノックアウトマウスの作製・解析の概要. *日本薬理学雑誌* 120: 47-54

Sora I, Ikeda K, Mishina Y (2002) Receptor knockout and gene targeting - Generation of knockout mice, in *Opioid Research: Methods and Protocols*, edited by Zhizhong Z. Pan,

- Humana Press (in press)
- Uhl GR, Hall FS, Sora I (2002) Cocaine, reward, movement and monoamine transporters. *Molecular Psychiatry* 7: 21-26
- Ikeda K, Kobayashi T, Kumanishi T, Yano R, Sora I, Niki H (2002) Molecular mechanisms of analgesia induced by opioids and ethanol: is the GIRK channel one of the keys? *Neuroscience Research* 2002 (44): 121-131
- Mizoguchi H, Tseng LF, Suzuki T, Sora I, Narita M (2002) Differential mechanism of G-protein activation induced by endogenous mu-opioid peptides, endomorphin and beta-endorphin. *Jpn J Pharmacol* 2002 Jul;89 (3):229-34
(原著)
- Zhou Y, Spangler R, Schlussman SD, Yuferov VP, Sora I, Ho A, Uhl GR, Kreek MJ (2002) Effects of acute "binge" cocaine on prodynorphin, preproenkephalin, proopiomelanocortin, and corticotropin-releasing hormone receptor mRNA levels in the striatum and hypothalamic-pituitary-adrenal axis of mu-opioid receptor knockout mice. *Synapse*. 2002 Sep 15; 45(4):220-9.
- Mizoguchi H, Wu HE, Narita M, Hall FS, Sora I, Uhl GR, Nagase H, Tseng LF (2002) Antagonistic property of buprenorphine for putative epsilon-opioid receptor-mediated G-protein activation by beta-endorphin in pons/medulla of the mu-opioid receptor knockout mouse. *Neuroscience*. 2002; 115(3):715-21.
- Hall FS, Li XF, Sora I, Xu F, Caron M, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR (2002) Cocaine mechanisms: enhanced cocaine, fluoxetine and nisoxetine place preferences following monoamine transporter deletions. *Neuroscience*. 2002; 115(1):153-61.
- Karasawa J, Yamamoto H, Yamamoto T, Sagi N, Horikomi K, Sora I (2002) MS-377, a selective sigma receptor ligand, indirectly blocks the action of PCP in the N-methyl-D-aspartate receptor ion-channel complex in primary cultured rat neuronal cells. *Life Sci*. 2002 Feb 22; 70(14):1631-42.
2. 学会発表
(特別講演・シンポジウム)
- 曾良一郎 (2002) 精神疾患への分子遺伝学的アプローチ—遺伝子改変動物モデルを用いて—。第 87 回東北医学会総会, 仙台 [2002/05/24]
- 曾良一郎, 沈昊偉, 萩野洋子, 小林秀昭, 池田和隆 (2002) 遺伝子改変動物モデルと創薬。シンポジウム: 中枢神経系作動薬へ創薬のための新しい薬理学モデルの可能性, 第 106 回日本薬理学会関東部会シンポジウム, 東京 [2002/06/08]
- 曾良一郎 (2002) 薬物依存の分子精神薬理。つくばブレインサイエンスセミナー, 筑波 [2002/07/16]
- 曾良一郎 (2002) カテコラミントランスポーターと高次神経機能。シンポジウム: カテコラミントランスポーター, 第 55 回日本自律神経学会総会, 大宮 [2002/10/31]
- 曾良一郎, 沈昊偉, 萩野洋子, 小林秀昭, 沼知陽太郎, 池田和隆 (2002) 演題: 精神疾患モデルとしての遺伝子変異マウス。第 25 回日本分子生物学会年会ワークショップ, 横浜 [2002/12/12]
- 池田和隆, 高松幸雄, 畑春実, 高橋雄大, 井手聡一郎, 二木宏明, 曾良一郎 (2002) 演題: 遺伝子変異マウスから知る鎮痛および快情動の分子メカニズム, 第 25 回日本分子生物学会年会ワークショップ, 横浜 [2002/12/12]
- G.R. Uhl, N. Ozaki, H. Ujike, I. Sora (Chairperson) (2002) Symposium: Molecular Genetics of Drug Addiction Vulnerability, XII World Congress of Psychiatry, Yokohama,

- Japan [2002/08/25]
- I. Sora, S.F. Hall, P.K. Lesch, D.L. Murphy, G.R. Uhl (2002), Cocaine and monoamine transporters, Symposium: Molecular Genetics of Drug Addiction Vulnerability, XII World Congress of Psychiatry, Yokohama, Japan [2002/08/25]
- I.Sora (2002), Monoamine function and psychostimulants, Workshop: Sensitization in methamphetamine psychosis and schizophrenia, XII World Congress of Psychiatry, Yokohama [2002/08/27]
- (一般学会発表)
- 唐沢淳一, 山本秀子, 山本敏文, 高橋真司, 堀込和利, 池田和隆, 曾良一郎 (2002) 抗精神病薬 Haloperidol および MS-377 の VMAT2 に対する作用. 第24回日本生物学的精神医学会, 大宮 [2002/04/11]
- 沈昊偉, 萩野洋子, 小林秀昭, 田中慶子, 池田和隆, 山本敏文, 山本秀子, 曾良一郎 (2002) モノアミントランスポーター欠損マウスにおけるモノアミン神経伝達の変化. 第24回日本生物学的精神医学会, 大宮 [2002/04/11]
- 野口孝則, 山田真久, 萩野洋子, 河野真子, 沈昊偉, 曾良一郎, 糸原重美, ウェス・ユーン, 小川正晴 (2002) ムスカリン受容体 M5 欠損マウスにおける脳循環と神経学的行動. 日本神経科学大会, 東京 [2002/07/07-09]
- 山本秀子, 亀谷富由樹, 並木芳子, 山本敏文, 唐沢淳一, 曾良一郎, 額田敏秀 (2002) Identification of GRP78 as a type-1 sigma receptor (sigmaR1)-associated protein. 第45回日本神経化学会, 札幌 [2002/07/18]
- 沈昊偉, 萩野洋子, 小林秀昭, Uhl GR, 池田和隆, 山本敏文, 山本秀子, 曾良一郎 (2002) モノアミントランスポーター欠損マウスにおける逆耐性形成の変化. 第32回日本神経精神薬理学会, 前橋 [2002/10/17~10/18]
- 高松幸雄, 池田和隆, 二木宏明, Uhl GR, 曾良一郎 (2002) ミューオピオイド受容体遺伝子欠損マウスにおけるうつ様行動の低下. 第32回日本神経精神薬理学会, 前橋 [2002/10/17~10/18]
- Kikuchi K, Inada T, Iijima Y, Maeda T, Ujike H, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Ozaki N, Sekine Y, Iyo M, Iwashita S, Sora I, Yagi G, Kashima H (2002) Association between dopamine D1 receptor family (DRD1, DRD5) gene polymorphisms and methamphetamine psychoses. XXIII CINP Congress, Montreal, Canada [2002/06/23-27]
- Shen HW, Hagino Y, Kobayashi H, Shinohara-Tanaka K, Hall FS, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR, Ikeda K, Yamamoto T, Yamamoto H, Sora I (2002) Cocaine-induced alteration of monoamine neurotransmission in mice lacking monoamine transporter. XII World Congress of Psychiatry, Yokohama, Japan [2002/08/25]
- Hall FS, Li XF, Drongova J, Goeb M, Sora I, Hen R, Uhl GR (2002) Serotonin receptor 1B knockout complements dopamine transporter knockout effects on basal - and cocaine - stimulated locomotion. Society for Neuroscience, Washington DC, USA [2002/11/3]
- Tang A, Hall FS, Sora I, Uhl GR, Gonzales RA (2002) Ethanol - induced extracellular dopamine in the ventral striatum is decreased in - opioid receptor knockout mice. Society for Neuroscience, Washington DC, USA [2002/11/3]
- Nishizaki I, Yamamoto H, Ikeda K, Nukada T, Sora I, Furuya S, Hirabayashi Y, Takahashi K, Okuyama S, Yamamoto T (2002) Characterization of [3H] serine uptake into the

- primary neuron and glia derived from rat telencephalon. Society for Neuroscience, Washington DC, USA [2002/11/3]
- Shen HW, Hagino Y, Kobayashi H, Shinohara-Tanaka K, Ikeda K, Yamamoto H, Yamamoto T, Lesch KP, Murphy DL, Hall FS, Uhl GR, Sora I (2002) Associations between extracellular monoamines and cocaine reward in mice lacking dopamine or/and serotonin transporters. Society for Neuroscience, Washington DC, USA [2002/11/5]
- Yamamoto H, Kametani F, Namiki Y, Yamamoto T, Karasawa J, Shen HW, Ikeda K, Hagino Y, Kobayashi H, Sora I, Nukada T (2002) Identification of grp78 as a type - 1 sigma receptor (sigma1) - associated protein. Society for Neuroscience, Washington DC, USA [2002/11/7]
- Ikeda K, Sora I, Takamatsu Y, Uhl GR, Niki H (2002) Increased intracranial self - stimulation (ICSS) in mu - opioid receptor knockout mice. Society for Neuroscience, Washington DC, USA [2002/11/7]

H. 知的財産権の出願・登録状況
特記事項はない。

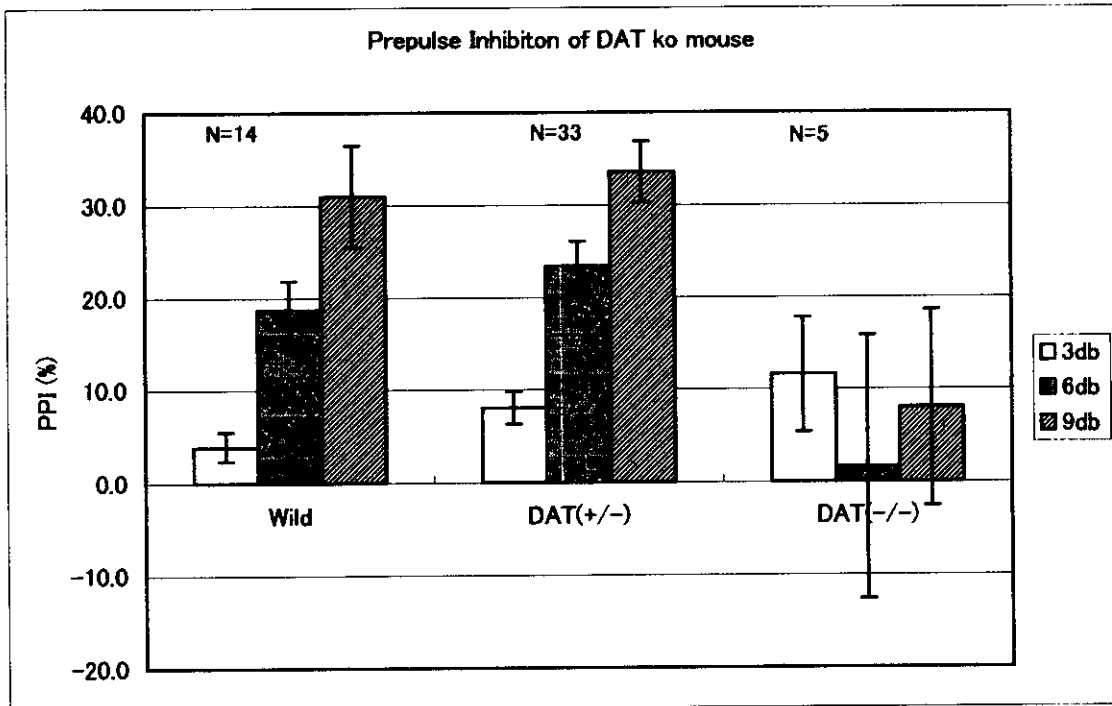


図1：野生型(n=14)、DATヘテロKO(n=33)、DATKO(n=5)マウスにおけるPPI。縦軸は平均値±標準偏差。DATKOでは野生型に比べてPPIの抑制傾向が見られた。DATヘテロKOでは野生型と殆ど変わらなかった。

厚生労働科学研究費補助金(こころの健康科学研究事業)
分担研究報告書

PET 受容体測定法を用いた精神分裂病の神経ネットワークの解明と客観的診断法の確立

分担研究者 谷内一彦 東北大学大学院医学系研究科医科学専攻生体機能制御学細胞薬理学分野
共同研究者： 岩淵健太郎¹⁾、田代学¹⁾、櫻井映子¹⁾、伊藤千裕¹⁾、奥田友宏¹⁾、望月秀紀¹⁾、加藤元久¹⁾、遠藤雅俊¹⁾、鹿野理子¹⁾、小島照正¹⁾、船木善仁²⁾、岩田錬²⁾、伊藤正敏²⁾、岡村信行¹⁾、倉増敦朗¹⁾、代紅梅¹⁾、行場次朗³⁾、渡邊建彦¹⁾、石渡喜一⁴⁾、木村裕一⁴⁾、石井賢二⁴⁾

¹⁾ 東北大学大学院医学系院薬理、精神科、人間行動学

²⁾ 東北大学サイクロトンRIセンター

³⁾ 東北大学大学院文学研究科

⁴⁾ 東京都老人総合研究所ポジトロン医学研究部門

研究要旨

平成14年度脳科学研究事業「精神分裂病の発症脆弱性の解明およびその客観的な診断方法の確立」の分担者として、PET 受容体測定法を用いた精神分裂病の神経ネットワークの解明と客観的診断法の確立について研究した。今年度は小動物を用いた研究とヒトPET研究を併行しておこなうことにより、統合的に統合失調症(精神分裂病)の発症脆弱性に関係する病態生理学的研究を行った。我々が研究テーマは以下の通りである。1) ガス相法とメチルトリプレート法による新しい¹¹C]ヨウ化メチル合成と固相抽出法による標識薬剤合成法を完成させた。¹¹C]ラクロプライドと¹¹C]ドキセピンをもちいて受容体測定の臨床応用を行い、また新規に¹¹C]ドネペジルを合成した。2) うつ病と統合失調症においてPETを用いてヒスタミンH1受容体量の測定を行い、両疾患において共通してH1受容体の減少し、ヒスタミンの神経伝達が低下していることを明らかにした。3) 心身症発症の基礎となる性格傾向であるアレキシサイミアにおける顔表情認知の情報処理機構の違いについてH₂¹⁵O-PETを用いて研究した。アレキシサイミア性格傾向のある人では情動に関係する脳内情報処理をする場合には左半球を優位に使用することがわかった。4) 社会的隔離ストレスや抗ヒスタミン薬がメタンフェタミン(MAP)逆耐性モデルにどのように影響するのか調べた。社会的隔離ストレスや鎮静性抗ヒスタミン薬はMAP逆耐性形成を促進することが明らかになった。以上統合失調症の発症脆弱性に関係する要因として、社会的隔離ストレス、鎮静性抗ヒスタミン薬服用などのヒスタミン神経系の機能低下などが考えられた。

A. 研究目的

社会の安寧とよりよき生存を考えた場合、脳科学が解決すべき様々な緊急の社会的問題がある。そのひとつに精神分裂病の発症脆弱性因子は何かという問いがある。このような具体的な脳科学が解決すべき諸問題について、ポジトロンCT(PET)を中心とした脳機能イメージング、認知心理学的研究、ノックアウトマ

ウスを含む小動物を用いた神経薬理学的研究を有機的に組み合わせて、その基礎となるメカニズムを明らかにできると考えられる。認知神経科学は特異的神経伝達のイメージング技術の開発や様々な生体情報の機能計測法によりこの数年飛躍的進歩を遂げた。また小動物モデルを用いた神経薬理学的モデル研究もノックアウトマウスを含む遺伝子改変マウスにより

大きな進歩があった。

本研究の目的は、非侵襲的脳機能画像法やノックアウトマウスなど小動物モデルモデルを用いて、統合失調症における病態研究を行い、発症脆弱性に関係する因子を明らかにすることである。まず手段としてPET (ポジトロン・エミッション・トモグラフィ) を用いたヒト被験者研究の方法論的開発と応用を行った。PET 研究には高比放射能の標識リガンドを頻回に合成する必要がある。そのために頻回に合成できるガス相法とメチルトリプレート法による¹¹C-標識薬剤合成と固相抽出法を用いる合成化合物を精製する方法を確立した。開発した新標識合成システムを用いて¹¹C-ドキセピン (強力なH₁アンタゴニスト) を合成し、うつ病と精神分裂病においてH₁受容体量がどう変化しているか明らかにすることを試みた。さらに3次元データ収集PETとH₂¹⁵Oを用いた脳血流量測定法により、アレキシサイミアという性格傾向を持った人と平均的な性格の人の顔表情認知機構の違いを検討した。またMAP逆耐性モデルを用いて社会的隔離ストレスやOTCに多く含まれている鎮静性抗ヒスタミン薬であるd-クロルフェニラミンのMAP逆耐性形成への影響をしらべた。

B. 研究方法

1) ガス相法による¹¹Cヨウ化メチル合成と¹¹Cメチルトリプレート法による標識薬剤合成法の確立と固相抽出法による精製

¹¹CO₂をトラップしたあと¹¹CH₄に還元し、ヨウ素(I₂)と反応させることにより¹¹C-ヨウ化メチルを合成する。Lithium aluminum hydrideを還元剤として用いる従来の方法と、比放射能などを比較しながら自動合成法を確立することをおこなった。さらに反応収率を上げるために¹¹C-メチルトリプレートを前駆体として合成法の開発をおこなった。この新規標識合成法を、さらにルーチン化するためにループ合成法という効率のよい方法を開発した。さらにHPLC

による分取後に残る溶媒を除去するために固相抽出法を開発した。

2) PETを用いたうつ病と統合失調症におけるH₁受容体量

うつ病 PET 検査対象：患者群は、DSM-IVの診断基準に基づき、うつ病と診断された男性10名 (平均39.9歳) と、健常ボランティア男性10名 (平均41.5歳) であり、全員に前もって十分に説明し、書面での同意を得た。患者群は抗うつ薬であるSSRI (フルボキサミン) のみを継続的に内服していた。それ以外の内服薬は服用していなかった。研究プロトコールについては東北大学医学部倫理委員会の承認を得て実施した。

統合失調症 PET 検査対象：患者群は、DSM-IVの診断基準に基づき、統合失調症と診断された男性10名 (平均29.4歳) と、健常ボランティア男性10名 (平均29.9歳) であり、全員に前もって十分に説明し、書面での同意を得た。患者群は全員がハロペリドールと抗コリン薬を継続的に内服していた。それ以外は服用していなかった。研究プロトコールについては東北大学医学部倫理委員会の承認を得て実施した。

PET 測定：H₁受容体の放射性リガンドである [¹¹C]ドキセピンを用いて、PETによる脳内H₁受容体の測定を行った。 [¹¹C]ドキセピンを静脈内投与した後、SET2400W (島津製作所)PET装置を用いて、3D-modeで90分間のダイナミックスキャンを行った。ドキセピンのH₁受容体結合能 (BP=Bmax/Kd) は、Loganらによる graphical analysis 法により、H₁受容体の少ない小脳を参照部位としてボクセル毎に算出した。また患者で動脈採血をしないでも同じH₁受容体結合能を得られることを証明するために、正常被験者 (20-26歳) 5名に動脈採血を行い、放射能と代謝物を測定して個々の動脈インプットを用いた場合と標準の平均した動脈インプットを用いた場合を比較した。

PET 解析：統計解析ソフトのSPM