

### (3) ヒトゲノムにおける薬物性精神障害候補遺伝子の解析

MAP あるいは PCP に対して、それぞれ発達依存的応答を示す薬物性精神障害候補遺伝子 *mrt1* および *prt1* のヒト相同遺伝子について、薬物依存患者を含む精神疾患と多型との関連の解析を続けた。なお、*MRT1* のプロモーター領域約 3 Kb の解析から、計 6 個の SNP が発見された。

#### D. 考察

今年度は、PCP 投与に対する mRNA の発現変化が成熟期には見られるが幼若期には認められない遺伝子が、ラットおよびマウス的大脑新皮質に発現していることが明らかになり、*prt4* と呼ぶこととした。この遺伝子の成熟期における PCP 誘発性発現増加は *haloperidol* により抑制されなかったことから、抗精神病薬抵抗性の精神症状に関与することが示唆された。

一方、覚醒剤に発達に伴う応答変化を示す *mrt1* については、ヒト相同遺伝子がコードする蛋白と相互作用を示す分子の検索が進んだ。これまでの研究により、*mrt1b* は①覚醒剤に対する応答性が逆耐性成立と同じく生後 3 週頃以降に出現する、②COC に対する交叉逆耐性を有する、③MAP 反復投与後基礎発現量の持続的上昇を見る、などの点で逆耐性現象と薬理学的特徴が一致することがわかっている。*mrt1* は神経伝達物質の受容体・トランスポーター・遊離装置等と細胞骨格蛋白等を結合させる働きを持つ分子に多く見られる PDZ ドメイン<sup>2)</sup>、細胞内の蛋白局在に関与すると考えられる PX ドメイン<sup>13)</sup>、細胞膜上での分子の安定化や整列に関わる B41 ドメイン(*band4.1* homologue)<sup>3)</sup>を一つずつ持つ。これらのドメイン構造より、*mrt1* はシナプス膜上において受容体等の膜分子のダイナミックな動的変化を司る物質であることが想定される。すなわち、逆耐性現象というシナプスの可塑性にかかわると考えられる膜上のダイナミックな変化

を引き起こす一連の分子カスケードの一部をなすと考えられる。

この分子カスケードを明らかにすることが逆耐性現象の分子メカニズム解明への端緒となることを期待し、*mrt1b* 蛋白と相互作用を持つ分子のクローニングを行った。これまでに得られた分子には PDZ、B41、WW などを含む分子があり、*mrt1* とともにこれらのドメインを介して情報伝達を行うアダプター分子と考えられる。今後はこの分子カスケードの全容を明らかにすることで、逆耐性現象の分子メカニズムにアプローチしていく予定である。

#### E. 結論

- (1) 覚醒剤・麻薬による依存および精神病状態の分子機構にアプローチする目的で、これらの障害が小児期には生じにくく、実験動物においても、薬物性精神病の発症や再発のモデルである覚醒剤・COC が引き起こす逆耐性現象や PCP 誘発性の異常行動が特定の生後発達段階以降に出現するようになることに注目し、ラット大脑新皮質において、MAP または PCP 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およびそれらが構築する分子カスケードの検索を進めた。
- (2) PCP に発達依存的応答を示す遺伝子 *prt4* を、マウスおよびラット的大脑新皮質から新たに検出した。
- (3) 覚醒剤に発達依存的応答を示す新規逆耐性関連遺伝子群のうち、*mrt1* が関与する分子カスケードを明らかにするため、ヒト相同遺伝子 *MRT1* がコードする *MRT1b* 蛋白と直接相互作用をもつ蛋白 *mips1*~*6* (*mrt1* interacting proteins 1-6) を、yeast two-hybrid 法を用いて検出した。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

#### (1) 原著

1. Macara IG, Baldarelli R, Field CM, Glotzer M, Hayashi Y, Hsu S-H, Kennedy MB, Kinoshita M, Longtine M, Low C, Maltais LJ, McKenzie L, Mitchison T, Nishikawa T, Noda M, Petty EM, Peifer M, Pringle JR, Robinson PJ, Roth D, Russell SEH, Stuhlmann H, Tanaka M, Tanaka T, Trimble WS, Ware J, Zeleznik-Le NJ, and Zieger B: Mammalian septins nomenclature. *Mol Biol Cell* 13: 4111-4113, 2002.
2. Kakeyama M, Umino A, Nishikawa T, Yamanouchi K: Decrease of serotonin and metabolite in the forebrain and facilitation of lordosis by dorsal raphe nucleus lesions in male rats. *Endocrine Journal*, 49: 573-579, 2002.
3. Oda K, Okubo Y, Ishida R, Murata Y, Ohta K, Matsuda T, Matsushima E, Ichimiya T, Suhara T, Shibuya H and Nishikawa T: Regional cerebral blood flow in depressed patients with white matter magnetic resonance hyperintensity. *Biol Psychiatry* 53:150-156, 2003.
4. Kajii Y, Muraoka S, Hiraoka S, Fujiyama K, Umino A, and Nishikawa T: A developmentally-regulated and psychostimulant-inducible novel rat gene *mrt1* encoding PDZ-PX proteins isolated in the neocortex. *Mol Psychiatry*, in press.
5. Ogawa M, Shigeto H, Yamamoto T, Oya Y, Wada K, Nishikawa T, and Kawai M: D-Cycloserine for the treatment of ataxia in spinocerebellar degeneration. *J Neurological Sci*, in press
6. Mikami T, Naruse N, Furuya Y, Ohkubo H, Ohkubo T, Matsuura M, Moriya H, Nishikawa T, Kojima T: Vulnerability to schizophrenia in methamphetamine psychosis — using exploratory eye movements. *Psychiatry Clinical Neurosci*, in press.
7. Fujiyama K, Kajii Y, Hiraoka S and Nishikawa T: Differential regulations by stimulants of neocortical expression of *mrt1*, *arc* and *homer1a* mRNA in the rats treated with repeated methamphetamine. *Synapse*, in press.

#### (2) 著書

1. 西川 徹、融 道男：精神分裂病の生物学—最近の進歩 脳を知る・創る・守る 「脳の世紀」推進会議編 クバプロ、東京、pp.160-183, 2002.
2. 安宅勝弘、岩間久行、西川 徹：精神分裂病、看護のための最新医学講座 第12巻:pp266-284、中山書店、東京、2002
3. 黒田 安計、西川 徹、ドパミン・興奮性アミノ酸仮説、佐藤光源編『精神分裂病の治療—臨床と基礎』(3. 原因と病態モデル 3-3、精神分裂病の概念)、印刷中、朝倉書店.

#### (3) 総説

1. 黒田安計、西川 徹：覚せい剤による遺伝子発現. *分子精神医学* 2: 31-37 2002
2. 西川 徹：分裂病の分子メカニズムを探る. ころのクリニック (東京精神神経科診療所協会誌) 2号: 76-91, 2002
3. 車地暁生, 西川 徹：ストレス関連遺伝子. 特集「PTSD の分子生物学」 *分子精神医学* 2: 205-210, 2002.
4. 西川 徹：薬理学的モデルを用いた分裂病の発症および再燃に関与する遺伝子の探索精神神経学雑誌 104: 487-492, 2002
5. 西川 徹：精神分裂病(統合失調症)の分子メカニズム. *Pharma Medica* 20(11): 25-33, 2002
6. 西川 徹：統合失調症—動物モデルからのアプローチ 特集「精神疾患の分子医学」 *Molecular Medicine* 40: 270-278, 2003
7. 柏 淳、西川 徹：統合失調症の病態・治癒機転と神経可塑的变化 特集「分子薬理学の進歩

「新しい仮説の提言」 分子精神医学 3: 1-7, 2003

## 2. 学会発表

### (1) 特別講演, シンポジウム

1. 西川 徹、梶井 靖、村岡新一郎、海野麻未、黒田安計: 心と行動を分子で読む, 「精神分裂病研究の新しい芽生え」, 第 45 回日本神経科学学会, 札幌, 7.17, 2002
2. 山本直樹、土田英人、海野麻未、嶋津 奈、櫻井新一郎、谷口 豪、西川 徹: 神経伝達物質「ラット大脳皮質において D-セリンによって発現調節される遺伝子の解析」, 第 45 回日本神経化学会, 札幌, 7.18, 2002
3. 西川 徹: 精神分裂病研究の最前線, 第 25 回日本神経科学大会, 東京, 7.8, 2002
4. 西川 徹、海野麻未、梶井 靖、黒田安計、柏 淳、伊藤 卓、車地暁生: ストレス脆弱性モデルとしての逆耐性現象と遺伝子発現. 「ストレスの脳科学: モデル動物における遺伝子発現」 第 53 回千里神経懇話会, 大阪, 7.23, 2002
5. 西川 徹、車地暁生、伊藤 卓、海野麻未: 急性ストレス反応およびストレス脆弱性に関与する分子の発達神経科学的研究. 「ストレス性機能障害とその修復過程の分子機構解明および治療法の開発」 研究, 平成 14 年度研究報告会, 東京, 9.6, 2002
6. 西川 徹: 精神科における薬物療法, 第 11 回関東地区精神科研修医合同研修会, 東京, 9.14, 2002
7. 西川 徹: 新規抗精神病薬開発のターゲットタンパク質の探索. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会, 前橋, 10.17, 2002
8. 西川 徹: 統合失調症 (スキゾフレニア) の分子病理. 「統合失調症 (スキゾフレニア) 研究の最前線」 精神医学 21 世紀シンポジウム in 福島, 福島, 11.16, 2002
9. 西川 徹: 精神分裂病の病因論. 第 12 回地域精神保健講座, 東京, 11.22, 2002
10. 西川 徹: 覚醒剤による逆耐性現象に関わる脳回路と遺伝子について. テーマ「前頭葉・その機能とネットワーク」, 第 12 回神経科学の基礎と臨床プログラムセミナー, 大阪, 12.14, 2002

### (2) 国際学会

1. Nakamura M, Uchida S, Maehara T, Hirai N, Nakabayashi T, Nishikawa T: Sellp Spindle in Human Prefrontal Cortex: An Electrographic Study. XII WORLD CONGRESS OF PSYCHIATRY, partnership for Mental Health. Yokohama, Japan, August 28, 2002.
2. Yamamoto N, Tomita U, Umino A, Tsuchida H, Sakurai S, Shimazu D, Taniguchi G, Nishikawa T: Uptake and release of D-serine in the rat cortical synaptosome. 32nd Society for Neuroscience Annual Meeting. Orland, FL, USA, November 4, 2002.
3. Tsuchida H, Yamamoto N, Kajii Y, Umino A, Fukui K, Nishikawa T: Cloning of a D-serine-regulated transcript dsr-1 from the rat cerebral cortex. 32nd Society for Neuroscience Annual Meeting. Orland, FL, USA, November 4, 2002.
4. Yamashita M, Yoshida S, Numachi Y, Fujiyama K, Toda S, Matsuoka H, Kajii Y, Nishikawa T: Methamphetamine altered the expression of EphA5 mRNA in memory-related brain regions. 32nd Society for Neuroscience Annual Meeting. Orland, FL, USA, November 6, 2002.
5. Y Numachi, Yoshida S, Fujiyama K, Yamashita M, Toda S, Matsuoka H, Kajii Y, Nishikawa T: Methamphetamine increased spinophilin mRNA in medio-dorsal thalamus. 32nd Society for Neuroscience Annual Meeting. Orland, FL, USA,

November 6, 2002.

(3) 一般学会

1. 山本直樹、土田英人、海野麻未、鳴津 奈、櫻井新一郎、谷口 豪、西川 徹: 神経伝達物質「ラット大脳皮質において D-セリンによって発現調節される遺伝子の解析」 第 45 回日本神経化学会, 札幌, 7.18, 2002

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記すべきことなし

## 覚醒剤依存の分子生物学的研究

分担研究者：東北大学大学院医学系研究科精神・神経生物学分野

沼知陽太郎

研究協力者：東北大学大学院医学系研究科精神神経学分野

山下元康, 藤山 航, 吉田寿美子, 松岡洋夫

研究要旨 薬物依存、なかでも覚醒剤依存は断薬後にも薬物の再使用で容易に再燃することが知られている。実験動物では覚醒剤によって神経細胞の遺伝子発現の変化、さらには神経細胞の形態的变化が生じる。従って覚醒剤依存は神経細胞の可塑的变化を基盤とする不可逆的な脳機能変化として捉えることができ、断薬後に再燃への脆弱性が長期に持続するのこのためと考えられている (Berke, 2000)。

覚醒剤は前頭葉、側坐核で軸索の伸長や樹状突起棘の増加を引き起こす (Robinson, 1997, 1999)。スピノフィリンは樹状突起棘に豊富に存在し、神経の可塑的变化に深く関与する蛋白である (Allen, 1997, Satoh, 1998)。本研究では覚醒剤急性投与ラット脳でスピノフィリン mRNA の変化を調べ、覚醒剤による脳内遺伝子発現、神経の可塑的变化の機序に関して検討した。尾状核、側坐核、嗅結節では覚醒剤を投与して 24 時間後に 20-25%の有意なスピノフィリン mRNA の減少を認めた。海馬 CA1-3 領域、視床外側部では、覚醒剤投与 9 時間後に 25%の有意な発現増加を認めた。視床内側部では、覚醒剤投与後からスピノフィリン mRNA は徐々に増加し、投与後 24 時間では約 2 倍の有意な増加を認めた。

視床内側部は脳皮質と双方向性の神経連絡をもち、limbic subcircuit と motor subcircuit の中継部位で、学習、記憶、薬物依存の形成に重要な役割を果たす (Kalivas, 1999)。今回の結果から、覚醒剤が視床内側部で神経の可塑的变化を引き起こすこと、これが覚醒剤依存の再発脆弱性の形成に関与することが示唆される。

### A. 研究目的

薬物依存は長期に断薬して離脱症状が消失した後にも薬物の再使用で容易に再燃する。依存性薬物に対する脳の反応は、(1) 薬物による過剰な刺激に対する神経細胞の homeostatic な適応反応 (neuronal adaptations) と、(2) 薬物に関連した刺激と特定の学習さ

れた行動の統合を引き起こす神経細胞の可塑性 (synaptic plasticity) の 2 つに分けられ、前者は依存に伴う離脱症状に、後者は依存の長期にわたる再発脆弱性と関連しているとされている。

近年の分子生物学的な研究により、薬物依存の形成、維持、再発に学習記憶に関わる神

経機構、及び神経細胞の可塑的变化が深く関与していることが明らかになっている。ほとんどの依存性薬物は、線条体をはじめとするドーパミン (DA) 系神経終末から DA の放出を引き起こす (Kuczenski, 1991)。線条体の DA 放出は学習された行動の実行を強化し、新規行動の記憶の保持に関与していることが知られている。これに引き続く線条体 DA D1 受容体の刺激は、神経可塑性に重要な役割を果たすとされる cAMP/PKA/CREB の分子カスケードを駆動する。依存性薬物の連用効果による神経細胞の遺伝子発現の変化に始まり、おそらくは神経細胞の可塑的变化に至る一連の変化が、断薬後も長期に持続する薬物依存の再発への脆弱性として考えられている (Berke, 2000)。こうした意味で、薬物依存は神経科学的には不可逆性の脳機能変化として捉えられている。

強力な依存性薬物である覚醒剤は、ラット前頭葉皮質や側坐核で軸索の伸長、樹状突起の枝分かれの数と樹状突起棘の数の増加を引き起こす (Robinson, 1997, 1999)。また、やはりラット脳で覚醒剤によってシナプスや樹状突起棘形成に関与する分子の発現が変化するという報告がある (Ujike, 2002)。これらの報告は、神経の可塑的变化に関与する分子が覚醒剤によって発現調節を受けることを示唆している。こうした分子や、その発現が変化する脳部位や神経回路は、薬物依存の病態に深く関与すると考えられる。

スピノフィリンは樹状突起棘に豊富に存在し、アクチンやプロテインフォスファターゼ-1 と結合する (Allen, 1997, Satoh, 1998)。スピノフィリンのノックアウトマウスでは神経突起棘の著明な増加が認められ、同分子は神経突起棘の機能調節に重要な役割を果たすと

考えられている (Feng, 2000)。本研究では覚醒剤急性投与ラット脳でスピノフィリン mRNA の変化を調べ、覚醒剤による脳内遺伝子発現、神経の可塑的变化の機序に関して検討した。

## B. 研究方法

全ての実験は東北大学動物実験倫理委員会の承認を得て行った。

生後 50 日令の Wister 系雄性ラット (熊谷農場) を用いた。ラットは 12 時間の明暗周期 (午前 8 時点灯) のもとプラスチック製のケージに 3 頭ずつ分け、餌と水は自由に摂取させて飼育した。ラットに塩酸メタンフェタミン (MAP, 4mg/kg, i.p., 大日本製薬、大阪) を投与、1、3、9、24 時間後に断頭し氷上にて脳を採取した。無処置のラットを対照群として用いた。

クリオスタットで厚さ 14  $\mu$ m に海馬や線条体を含む冠状断で脳切片を作成した。これら切片について、35S 標識した cRNA プロブを用いて in situ ハイブリダイゼーションを行った。切片は Kodak XAR フィルムに 5-10 日間暴露した。ハイブリダイゼーションの間、センス鎖の cRNA プロブを in situ hybridization のネガティブコントロールとした。

画像解析にはコンピューターソフト MCID (Imaging Research Inc) を用いてフィルムから帯状回、前頭葉皮質、梨状葉皮質、海馬 (CA1-3、歯状回)、手綱核、扁桃体の黒化度を半定量的に計測した。統計解析には、ANOVA を用いた。

## C. 研究結果

プローブの特異性を確認するためにラット海馬を用いて行ったノザンブロットで、アンチセンス cRNA プローブにより既報 (Allen, 1997) と一致した 4.6kb のバンドが認められた (Fig 1)。さらにセンス cRNA プローブを用いた in situ hybridization では、シグナルが認められなかった。アンチセンス cRNA プローブを用いた in situ では、前頭葉皮質、尾状核、梨状葉皮質、海馬、視床内側部、手綱核にスピノフィリン mRNA の高い発現を認めた (Fig 2)。MAP を投与して 24 時間後には、スピノフィリン mRNA は尾状核、側坐核、嗅結節で 20-25% の有意な発現減少を認めた。海馬 CA1-3 領域、視床外側部では、覚醒剤投与後 9 時間後で 25% の有意な発現増加を認めた。視床内側部では、覚醒剤投与後のスピノフィリン mRNA は徐々に増加し、投与後 24 時間では約 2 倍の有意な増加を認めた。

#### D. 考察

今回我々が行った予備的検討でのノザンブロットの結果は既報と一致しており、我々が作成したプローブがスピノフィリンに特異的であることが確認された。

スピノフィリンは、DAD2 受容体 (Smith, 1999) と、興奮性アミノ酸であるグルタミン酸受容体 (Feng, 2000) と機能的関連をもつ。一方 MAP は、DA 神経系と興奮性アミノ酸神経系双方の神経伝達を増強する。スピノフィリン mRNA は、MAP を投与して 24 時間後に尾状核、側坐核、嗅結節で有意に減少、視床で有意に増加した。これらの脳部位には、黒質線条体 DA 系、中脳辺縁 DA 系、興奮性アミノ酸系の終末が存在する。一方、前頭葉では MAP 投与後 9 時間でスピノフィリン mRNA の増加傾向を認めたが、有意な変化で

はなかった。前頭葉には中脳皮質 DA 系の終末が存在するが、興奮性アミノ酸系の神経終末はない。従って MAP は、DA 系と興奮性アミノ酸系の双方を介してスピノフィリン mRNA の脳内発現に影響を与える可能性がある。

今回、発現変化が認められた脳部位のうち、視床、特に内側部で最も大きな変化が観察された。視床内側部は大脳皮質と双方向性の神経連絡をもち、limbic subcircuit と motor subcircuit の中継部位で、学習、記憶、薬物依存の形成に重要な役割を果たす (Kalivas, 1999)。今回の結果から、覚醒剤が視床内側部で神経の可塑的变化を引き起こすこと、これが覚醒剤依存の再発脆弱性の形成に関与することが示唆される。

#### E. 結論

依存性薬物による神経細胞の遺伝子発現の変化と神経細胞の可塑的变化は、断薬後も長期に持続する薬物依存の再発への脆弱性として考えられてきた。

本研究では、覚醒剤投与ラットの脳を用いて、学習、記憶、薬物依存の形成に重要な役割を果たす部位である視床内側部で、神経の可塑的变化に関連する分子であるスピノフィリン mRNA の発現変化を見出した。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1) 国内

口頭発表	0 件
原著論文による発表	0 件

それ以外（レビュー等）の発表 1件

## 1. 論文発表

(1) 原著 なし

(2) それ以外の発表

(2-1) 著書

1. 佐藤光源, 梶井靖, 菊池周一, 沼知陽太郎, 西川徹: 薬物依存研究の進歩. In: 脳科学研究はここまで進んだ(高橋清久編), 印刷中, (株)じほう, 東京

(2-2) 総説

## 2. 学会発表

(1) 特別講演・シンポジウム なし

(2) 一般学会発表 なし

## 2) 海外

口頭発表 4件

原著論文による発表 2件

それ以外（レビュー等）の発表 0件

## 1. 論文発表

(1) 原著

1. Matsuoka, H., Takahashi, T., Sasaki, M., Yoshida, S., Numachi, Y., Sato, M. The long-term course of seizure susceptibility in two patients with juvenile myoclonic epilepsy. *Seizure*, 11, 126-130, 2002
2. Shen, H., Numachi, Y., Yoshida, S., Fujiyama, K., Toda, S., Awata, S., Matsuoka, H., Sato, M.: Electroconvulsive shock increases serotonin transporter in the rat frontal cortex. *Neuroscience Letters*, in press, 2003

(2) それ以外の発表

(2-1) 著書 なし

(2-2) 総説 なし

## 2. 学会発表

(1) 特別講演・シンポジウム

1. Numachi, Y. Methamphetamine-induced Alteration in mRNA for DNA methyltransferase. XII World Congress of Psychiatry Symposium: 'Epigenetics of Psychiatric Disorders', Yokohama, Aug 25, 2002
2. Numachi, Y. Japanese Concept of Methamphetamine Psychosis. XII World Congress of Psychiatry Symposium: 'Neurobiological Basis of Acute Psychotic Episodes', Yokohama, Aug 25, 2002

(2) 一般国際学会

1. Numachi, Y., Yoshida, S., Fujiyama, K., Yamashita, M., Toda, S., Matsuoka, H., Kajii, Y., Nishikawa, T. Methamphetamine increased spinophilin mRNA In medio-dorsal thalamus. 32nd Annual meeting of Society for Neuroscience, Orlando, USA, Nov 6, 2002
2. Yamashita, M., Yoshida, S., Numachi, Y., Fujiyama, K., Toda, S., Matsuoka, H., Kajii, Y., Nishikawa, T. Methamphetamine altered the expression of EphA5 mRNA In memory-related brain regions. 32nd Annual meeting of Society for Neuroscience, Orlando, USA, Nov 6, 2002

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

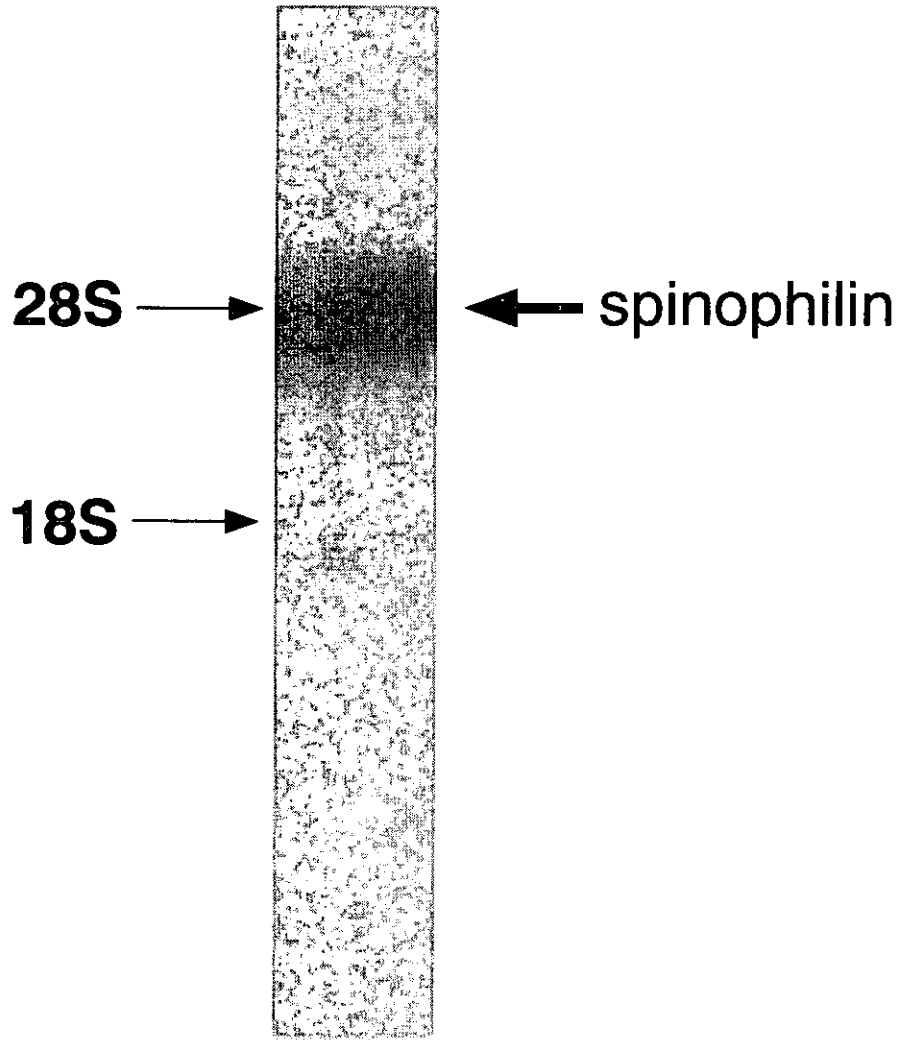
1-3とも、特になし



## 文 献

1. Berke JD, Hyman SE. (2000) Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron*, 25, 515-32.
2. Robinson TE, Kolb B. (1999) Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine. *Eur J Neurosci.*, 11, 1598-604.
3. Robinson TE, Kolb B. (1997) Persistent structural modifications in nucleus accumbens and prefrontal cortex neurons produced by previous experience with amphetamine. *J Neurosci.*, 17, 8491-7.
4. Allen PB, Ouimet CC, Greengard P. (1997) Spinophilin, a novel protein phosphatase 1 binding protein localized to dendritic spines. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, 9956-61.
5. Satoh A, Nakanishi H, Obaishi H, Wada M, Takahashi K, Satoh K, Hirao K, Nishioka H, Hata Y, Mizoguchi A, Takai Y. (1998) Neurabin-II/spinophilin. An actin filament-binding protein with one pdz domain localized at cadherin-based cell-cell adhesion sites. *J Biol Chem.*, 273, 3470-5.
6. Kalivas PW, Churchill L, Romanides A. (1999) Involvement of the pallidal-thalamocortical circuit in adaptive behavior. *Ann N Y Acad Sci*, 877, 64-70.
7. Kuczenski R, Segal DS, Aizenstein ML. (1991) Amphetamine, cocaine, and fencamfamine: relationship between locomotor and stereotypy response profiles and caudate and accumbens dopamine dynamics. *J Neurosci.* 11, 2703-12.
8. Ujike H. (2002) Stimulant-induced psychosis and schizophrenia: the role of sensitization. *Curr Psychiatry Rep.* 4, 177-84.
9. Feng J, Yan Z, Ferreira A, Tomizawa K, Liauw JA, Zhuo M, Allen PB, Ouimet CC, Greengard P. (2000) Spinophilin regulates the formation and function of dendritic spines. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 97, 9287-92.

**Fig 1 Northern hybridization of spinophilin mRNA**



**Using antisense cRNA probe, single signal of 4.6 kb was detected, which were consistent with the previous report (Allen PB, 1997 ).**

**Fig 2 Representative *in situ* image of spinophilin mRNA**



**Strong signals of spinophilin mRNA were observed in piriform cortex, hippocampus, medial thalamus, habenular nucleus, cerebral cortex and caudate putamen.**

## ノックアウトマウスを用いた薬物依存の分子遺伝学的研究

分担研究者：東北大学大学院医学系研究科精神・神経生物学分野

曾良一郎

**研究要旨** 中枢ドーパミン(DA)神経伝達はメタンフェタミン(MAP)逆耐性形成において重要な役割を果たしていると考えられているが、DA 以外のモノアミン神経伝達の関与は十分には明らかにされていない。我々は MAP のターゲット分子の一部を欠損しているモノアミントランスポーター-KO マウスを用いて MAP 逆耐性形成を検討した。ドーパミントランスポーター (DAT)、もしくはセロトニントランスポーター (SERT) の部分欠損は、逆耐性の形成に影響しないが、DAT の部分欠損は逆耐性の発展に抑制していた。DAT 完全欠損、或いは SERT 完全欠損の場合では、逆耐性が形成されなかった。これらの結果から逆耐性の形成には DAT の正常な発現は非常に重要であり、また SERT も重要な役割を果たしていることが示唆される。

### A. 研究目的

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(NE)、セロトニン(5-HT)それぞれの作動性ニューロンの、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ので、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。

覚醒剤であるアンフェタミン及びメタンフェタミン(MAP)はモノアミントランスポーターに作用し、モノアミンの細胞外への逆流出を引き起こすことによって、シナプス間隙のモノアミン濃度を増加させ、モノアミン神経伝達を亢進させる(Seiden et al., 1993)。覚せい

剤は長期使用により妄想性精神病状態（覚せい剤精神病）を生じることが知られている(Ellinwood et al., 1973)。覚せい剤精神病は断薬もしくは治療で症状が軽快しても覚せい剤の再使用、或いは心理社会的なストレスで再燃しやすい。この経過は逆耐性現象と呼ばれる(Sato et al., 1992)。実験動物においても覚醒剤を反復投与すると常同行動・移所運動量が増加し、長期断薬後には以前に無効であった少量の覚醒剤でこの増加が再現する(Robinson and Becker, 1986)。これより、実験動物に覚せい剤を反復投与した際に観察される逆耐性現象は、覚せい剤精神病や統合失調症の再発・脆弱性の有用な疾患モデルとされている。MAP の急性薬理作用及び逆耐性現象の形成には、中枢カテコラミン系神経伝達の変化については詳細に検討されている(Kalivas and Stewart, 1991; Pierce and Kalivas, 1997)が、セロトニン神経伝達の関与についてはまだ十分

には明らかにされていない。我々は DAT および SERT 遺伝子の発現を欠損させたノックアウトマウス (KO マウス) 製作し、これらのマウスの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)。これらの KO マウスは、MAP のターゲット分子の一部を欠損していることから、MAP 逆耐性形成の変化が予測される。本研究は、DAT-KO マウス及び SERT-KO マウスの MAP 逆耐性形成を検討し、逆耐性現象における DA 及び 5-HT 神経伝達系の関与を解明することを目的とした。

## 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。

実験動物：本実験は雄性、10-12 週齢、体重 18-25 g の 129/C57 混合遺伝背景の KO マウスを用いた。DAT/SERT ダブル KO マウスは、既報に従い DAT 単独 KO マウスと SERT 単独 KO マウスを交配して作製した (Sora et al., 2001)。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-/-)、SERT ヘテロ KO (SERT+/-)、SERT-KO (SERT-/-)、DAT/SERT ダブル KO (DAT-/-SERT-/-) マウス計 6 群、各群 n=7~15 として以下の実験に供した。

移所運動量計測：MAP (1mg/kg) をマウスに隔日皮下投与し、7 回 MAP 投与後一週間休薬した後に、8 回目の MAP を再投与した。マウスは MAP 投与 3 時間前にホームケージ

より行動量測定装置 (Supermex、室町機械) 内に移し、馴化過程における移所運動量の変化および MAP 投与後 3 時間の移所運動量の変化を 5 分ごとに計測した。

統計解析：(1) 馴化過程の群間比較について、マウスが測定装置に入って一時間目の移所運動量を一元配置分散分析 (one-way ANOVA) で検定した。(2) 薬物の初回投与前後の比較、或いは初回投与後と反復投与後の比較について、対応のある t 検定 (paired t-test) を用いた。MAP 反復投与後の 1 時間目の運動量は初回投与時に比べて運動量は増加した場合、逆耐性形成を認める。(3) 逆耐性形成を認めた場合、Badiani ら (1995) の方法 (Badiani et al., 1995) を採用し、逆耐性形成の発展過程に対する評価を各回投与後の運動量の直線回帰の傾き (slope coefficient) で算出した後、t 検定 (Students's t-test) を用いて野性型マウスとの比較を行なった。多重比較は最小有意差法を用いて行なった。有意水準は  $p < 0.05$  とした。統計ソフトは STATISTICA for Windows (StatSoft Inc., Tulsa, USA) を用いた。

## C. 研究結果

馴化過程 (Fig. 1)：野生型マウス及び各種 KO マウスの MAP 初回投与前後の移所運動量の経時的变化を Fig. 1 に示した。初回投与前、新奇環境における 1 時間目の移所運動量については、既報と一致し (2)、DAT 完全欠損マウスは野生型より活発な自発運動量を呈した ( $p < 0.01$ 、Fig. 1)。また、SERT が部分或いは完全欠損したマウスは新奇環境における 1 時間目の移所運動量が野生型に比べて有意に低かった ( $p < 0.01$ 、Fig. 1)。

MAP の急性投与による移所運動量の変化 (Fig. 2)：野生型 (n=14) と SERT +/- マウ

ス群では、初回投与後の 1 時間運動量は投与前に比べて有意に増加した ( $p<0.05$ )。DAT<sup>-/-</sup>と DAT<sup>-/-</sup>SERT<sup>-/-</sup>マウス群では、初回投与後の 1 時間運動量は投与前に比べて有意に減少した ( $p<0.01$ )。DAT<sup>+/-</sup>と SERT<sup>-/-</sup>マウス群では、投与前後の 1 時間運動量は有意に変化しなかった。

MAP の反復投与による移所運動量の変化 (Fig. 3) : (1) 野生型マウス群では、2 回目投与から、MAP 投与後の 1 時間目の運動量は初回投与後に比べて運動量は増加していた ( $p<0.01$ )。また、一週間の休薬後に MAP を 8 回目再投与した際にも同様に運動量が増加し、野生型マウス群の逆耐性形成を認めた。

(2) DAT<sup>+/-</sup>マウス群では、3 回目投与してから、MAP 投与後の 1 時間目の運動量は初回投与後に比べて運動量は増加していた ( $p<0.05$ )。1 週間休薬後も、再投与後の 1 時間運動量は初回投与後より有意に高かった ( $p<0.01$ )。DAT<sup>+/-</sup>マウス群の逆耐性形成を認めた。(3) SERT<sup>+/-</sup>マウス群では、4 回目投与以降、MAP 投与後の 1 時間目の運動量は初回投与後に比べて運動量は増加していた ( $p<0.01$ )。また、1 週間休薬後、再投与後の 1 時間運動量は初回投与後より有意に高かった ( $p<0.01$ )。SERT<sup>+/-</sup>マウス群の逆耐性形成を認めた。(4) DAT<sup>-/-</sup>、SERT<sup>-/-</sup>或いは DAT<sup>-/-</sup>SERT<sup>-/-</sup>マウス群では、初回投与後と反復投与後の 1 時間運動量は有意な変化がなかった。

(5) 野生型、DAT<sup>+/-</sup>と SERT<sup>+/-</sup>マウスでは逆耐性形成を認めた為、逆耐性が発展する際の直線回帰の傾きを算出した。野生型マウス :  $R^2=0.9546$ ,  $p<0.001$ ; Average ( $\pm$  S.E.M.) of slope coefficient for individual mice =  $323.25 \pm 75.11$ 。DAT<sup>+/-</sup>マウス :  $R^2=0.8452$ ,  $p<0.01$ ; Average ( $\pm$  S.E.M.) of slope coefficient

for individual mice =  $126.38 \pm 46.41$ 。SERT<sup>+/-</sup>マウス :  $R^2=0.9263$ ,  $p<0.001$ ; Average ( $\pm$  S.E.M.) of slope coefficient for individual mice =  $222.19 \pm 43.80$ 。野生型と SERT<sup>+/-</sup>マウスの逆耐性が発展の傾きには有意な差が認められなかったが、DAT<sup>+/-</sup>マウスは野生型マウスより低かった。この結果は、野生型と SERT<sup>+/-</sup>マウスの逆耐性の発展について差がないが、DAT<sup>+/-</sup>マウスの逆耐性の発展は野生型マウスと比べて遅れていることを示した。

#### D. 考察

既報と一致して (Giros et al., 1996; Sora et al., 1998; Sora et al., 2001)、DAT<sup>-/-</sup>マウスは活発な自発運動量を呈していた。DAT<sup>-/-</sup>マウス及び DAT<sup>-/-</sup>SERT<sup>-/-</sup>マウスの細胞外 DA 濃度は野生型マウスの約 10 倍であることから、DAT 完全欠損マウスは、細胞外 DA が極めて上昇し hyperdopaminergic となり (Jones et al., 1998)、新奇環境で活発な自発運動量を呈した原因になっていると考えられる。Gainetdinov らは、DAT<sup>-/-</sup>マウスの活発な自発運動量が、アンフェタミン、選択的セロトニン取り込み阻害薬 (Selective serotonin uptake inhibitor, SSRI)、5-HT の前駆体である L-トリプトファンの投与などのセロトニン神経伝達を増強させる薬物によって抑制されたことから、5-HT の上昇が DAT<sup>-/-</sup>マウスの活発な運動に抑制すると推測した (Gainetdinov et al., 1999)。しかし、我々の結果は、上記の薬物のターゲット分子が欠損した DAT<sup>-/-</sup>SERT<sup>-/-</sup>マウスの運動量に対しても MAP の抑制効果を示した。この結果から、単純なセロトニン神経伝達の増強だけでは MAP の多動に対する抑制効果を説明できない。このメカニズムは MAP 類縁のメチルフェニデートの注意欠

陥多動性障害に対する奏効機序にも関連すると考えられることから、注意欠陥多動性障害の病態解明にも結びつく課題と考えられる。

一方、SERT が一部或いは完全欠損したマウスは新奇環境での自発運動量が有意に低下していた。SERT が完全欠損した場合は、細胞外セロトニン(5-HT)濃度は野生型マウスの約 10 倍であり (Shen and Sora, unpublished observation)、細胞外 5-HT が著しく上昇し hyperserotonergic となっている。また、SERT が一部欠損した場合は、たとえ細胞外 5-HT 濃度が正常であっても 5-HT 神経伝達のなんらかの変化が想定される。新奇環境における SERT 欠損マウスの探索行動の抑制は、セロトニン神経伝達の変化が新奇環境への適応性に関わっている可能性が考えられる。

DAT $\pm$ -マウスは MAP 初回投与による運動量の増加は見られず、しかも MAP に対する感受性は低く、逆耐性の発展は野生型マウスより遅れていた。しかし、反復投与によって、逆耐性の形成を認めた。MAP とは異なり、コカインの投与では DAT $\pm$ -マウスにおける移所運動量の増加は野生型マウスと変わらなかった (Sora et al., 2001)。さらに、DAT $\pm$ -マウスにおいてコカインの投与による細胞外 DA の増加は野生型マウスと変わらなかった (Shen and Sora, unpublished observation)。しかし、MAP の場合では、DAT が部分欠損すると、モノアミンのトランスポーター経由の放出は野生型に比べて減少したと十分に考えられる。MAP による DA 放出の減少は、DAT $\pm$ -マウスの MAP に対する感受性を低下させると考えられる。従って、DAT 発現の減少は逆耐性の発展を阻害するという結論から、覚せい剤の長期使用者の中脳辺縁系 DAT

が減少していること (Sekine et al., 2001) は薬物長期使用の結果と考えるのが妥当と思われる。

SERT $\pm$ -と SERT $-/-$ マウスは新奇環境での自発運動量が同じく低下していたが、SERT $\pm$ -マウスは MAP 初回投与後運動量の増加を観察され、しかも反復投与によって野生型マウスと同じ発展過程で逆耐性が形成した。しかし、SERT $-/-$ マウスは MAP 初回投与後運動量の変化と、反復投与によって感受性の増加を観察されなかった。SERT が部分欠損しても、MAP による 5-HT の放出は減少せず、細胞外 5-HT 基礎濃度は正常である。SERT が欠損した場合は、高濃度の細胞外 5-HT は野生型マウスの約 10 倍である。高濃度の細胞外 5-HT を示す SERT $-/-$ マウスは複数種類の 5-HT 受容体が down-regulation か desensitization になっていることがすでに報告されている (Rioux et al., 1999; Fabre et al., 2000; Li et al., 2000)。従って、SERT $-/-$ マウスにおける逆耐性形成の阻害は、高濃度の細胞外 5-HT か二次的な 5-HT 受容体の機能低下によるものと考えられる。

## E. 結論

DAT、もしくは SERT の部分欠損は、逆耐性の形成に影響しないが、DAT の部分欠損は逆耐性の発展を抑制する。DAT、或いは SERT の完全欠損は逆耐性形成を阻害する。これらの結果により、逆耐性の形成には DAT の正常な発現は非常に重要であり、また SERT も重要な役割を果たしていることが示唆された。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1) 国内

#### (1) 原著

1. 岩橋和彦, 鮎野清, 鮎野節子, 井尻巖, 滝本高広, 寺山隼人, 末吉悟史, 福西勇夫, 曾良一郎, 原田勝二 (2002) ニコチン (タバコ) 依存と CCK および CYP2A6 に関する分子生物学的研究. 臨床精神医学 31: 87-90

#### (2) それ以外の発表

##### (2-1) 著書

##### (2-2) 総説

1. 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

### 1. 学会発表

#### (1) 特別講演・シンポジウム

1. 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]
2. 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~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]
3. 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]
4. 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]

5. 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]
6. 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]

#### (2) 一般学会発表

1. 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]
2. 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]
3. 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]
4. 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]



5. 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]
  6. 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]
- 2) 海外
1. 論文発表
    - (1) 原著
      1. Zhou Y, Spangler R, Schlussman SD, Yuferov VP, Sora I, Ho A, Uhl GR, Kreek MJ (2002) Effects of acute "binge" cocaine on preprodynorphin, 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.
      2. 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.
      3. 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.
    - (2) それ以外の発表
      - (2-1) 著書
        1. 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)
        2. Ikeda K, Yoshii M, Sora I, Kobayashi T (2002) Opioid receptor coupling to GIRK channel: in vitro studies using a Xenopus oocyte expression system and in vivo studies on weaver mutant mice, in *Opioid Research: Methods and Protocols*, edited by Zhizhong Z. Pan, Humana Press (in press)
      - (2-2) 総説
        1. Uhl G R, Hall F S, Sora I (2002) Cocaine, reward, movement and monoamine transporters. **Molecular Psychiat** 7: 21-26
        2. 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
        3. 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

## 2. 学会発表

### (1) 特別講演・シンポジウム

- 1.
2. 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]
3. 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]
4. I.Sora (2002), Monoamine function and psychostimulants, Workshop: Sensitization in methamphetamine psychosis and schizophrenia, XII World Congress of Psychiatry, Yokohama [2002/08/27]

### (2) 一般国際学会

1. 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]
2. 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]
3. Hall FS, Li XF, Drgonova 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]
4. 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]
5. 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 gria derived from rat telencephalon.. Society for Neuroscience, Washington DC, USA [2002/11/3]
6. 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]
7. 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 ( *sigmar1* ) - associated protein. Society for Neuroscience, Washington DC, USA [2002/11/7]
8. 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**
1. 特許取得
  2. 実用新案登録
  3. その他
- 1 - 3とも、特になし
- 文 献**
- Badiani A, Anagnostaras SG, Robinson TE (1995) The development of sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine is enhanced in a novel environment. *Psychopharmacology (Berl)* 117:443-452.
- Ellinwood EH, Jr., Sudilovsky A, Nelson LM (1973) Evolving behavior in the clinical and experimental amphetamine (model) psychosis. *Am J Psychiatry* 130:1088-1093.
- Fabre V, Beaufour C, Evrard A, Rioux A, Hanoun N, Lesch KP, Murphy DL, Lanfumey L, Hamon M, Martres MP (2000) Altered expression and functions of serotonin 5-HT1A and 5-HT1B receptors in knock-out mice lacking the 5-HT transporter. *Eur J Neurosci* 12:2299-2310.
- Gainetdinov RR, Wetsel WC, Jones SR, Levin ED, Jaber M, Caron MG (1999) Role of serotonin in the paradoxical calming effect of psychostimulants on hyperactivity. *Science* 283:397-401.
- Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG (1996) Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 379:606-612.
- Jones SR, Gainetdinov RR, Jaber M, Giros B, Wightman RM, Caron MG (1998) Profound neuronal plasticity in response to inactivation of the dopamine transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:4029-4034.
- Kalivas PW, Stewart J (1991) Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Res Brain Res Rev* 16:223-244.
- Li Q, Wichems C, Heils A, Lesch KP, Murphy DL (2000) Reduction in the density and expression, but not G-protein coupling, of serotonin receptors (5-HT1A) in 5-HT transporter knock-out mice: gender and brain region differences. *J Neurosci* 20:7888-7895.
- Pierce RC, Kalivas PW (1997) A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev* 25:192-216.
- Rioux A, Fabre V, Lesch KP, Moessner R, Murphy DL, Lanfumey L, Hamon M, Martres MP (1999) Adaptive changes of serotonin 5-HT2A receptors in mice lacking the serotonin transporter. *Neurosci Lett* 262:113-116.
- Robinson TE, Becker JB (1986) Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Res* 396:157-198.
- Sato M, Numachi Y, Hamamura T (1992) Relapse

of paranoid psychotic state in methamphetamine model of schizophrenia. *Schizophr Bull* 18:115-122.

Seiden LS, Sabol KE, Ricaurte GA (1993) Amphetamine: effects on catecholamine systems and behavior. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 33:639-677.

Sekine Y, Iyo M, Ouchi Y, Matsunaga T, Tsukada H, Okada H, Yoshikawa E, Futatsubashi M, Takei N, Mori N (2001) Methamphetamine-related psychiatric symptoms and reduced brain dopamine transporters studied with PET. *Am J Psychiatry* 158:1206-1214.

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.

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