

- 18) Nakajima, A., Yamada, K., Zou, L. B., Yan., Y., Mizuno, M., and Nabeshima, T.: Interleukin-6 protects PC12 cells from 4-hydroxynonenal-induced cytotoxicity by increasing intracellular glutathione levels. *Free Radic. Biol. Med.*, 32, 1324-1332 (2002)
- 19) Hiramatsu, M., Yamatsu T., Kameyama T. and Nabeshima T.: Effects of repeated administration of (-)-nicotine on AF64A-induced learning and memory impairment in rats. *J. Neural Transm.*, 109, 361-375 (2002)
- 20) Miyamoto, Y., Yamada, K., Noda, Y., Mori., H., Mishina, M. and Nabeshima, T.: Lower sensitivity to stress and altered monoaminergic neuronal function in mice lacking the NMDA receptor .4 subunit. *J. Neurosci.*, 22, 2335-2342 (2002)
- 21) He, J., Yamada, K. and Nabeshima, T.: A role of Fos expression in the CA3 region of the hippocampus in spatial memory formation in rats. *Neuropsychopharmacology*, 26,259-268 (2002)
- 22) Mori, A., Noda, Y., Nagai, T., Mamiya, T., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Involvement of dopaminergic system in the nucleus accumbens in the discriminative stimulus effects of phencyclidine. *Neuropharmacology*, 42, 764-771 (2002)
- 23) Hefco, V., Yamada, K., Hefco, A., Hritcu, L., Tiron, A., Olariu, A., and Nabeshima, T.: Effects of nicotine on memory impairment induced by blockade of muscarinic, nicotinic and dopamine D2 receptors in rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 474, 227-232 (2003)
- 24) Nagai, T., Yamada, K., Kim, H.-C., Kim, Y.-S., Noda, Y., Imura, A., Nabeshima, Y., and Nabeshima, T.: Cognition impairment in the genetic model of aging *klotho* gene mutant mice: a role of oxidative stress. *FASEB J.*, 17, 50-52 (2003)
- 25) Mizuno, M., Yamada, K., He, J., Nakajima, A., and Nabeshima, T.: Involvement of BDNF receptor TrkB in spatial memory formation. *Learn. and Memory*, 10, 108-115 (2003)
- 26) Mamiya, T., Yamada, K., Miyamoto, Y., Koenig, N., Watanabe, Y., Noda, Y. and Nabeshima, T.: Neuronal mechanism of nociceptin-induced modulation of learning and memory: involvement of N-methyl-D-aspartate receptors. *Mol. Psychiat.*, 8, 752-765 (2003)
- 27) Mizuno, M., Yamada, K., Takei, N., Tran, M. H., He, J., Nakajima, A., Nawa, H., and Nabeshima, T.: Phosphatidylinositol 3-kinase: a molecule mediating BDNF-dependent spatial memory formation. *Mol. Psychiat.*, 8, 217-214 (2003)
- 28) Tran, M. H., Yamada, K., Nakajima, A., Mizuno, M., He, J. Kamei, H. and Nabeshima T.: Tyrosine nitration of a synaptic protein synaptophysin contributes to amyloid- peptide-induced cholinergic dysfunction. *Mol. Psychiat.*, 8, 407-412 (2003)
- 29) Kim, H.-C., Yamada, K., Olariu, A., Tran, M.H., Mizuno, M., Nakajima, A., Jhoo, W.-K., Im, D.-H., Shin, E.-J., Hjelle, O.P. Ottersen, O.P. Park, S.C. Kato, K. Mirault M.-E. and Nabeshima T.: Immunocytochemical evidence that amyloid β (1-42) impairs endogenous antioxidant systems in vivo. *Neuroscience*, 119, 399-419 (2003)
- 30) Nagai, T., Noda, T., Une, T., Furukawa, K., Kan, Q. M., and Nabeshima, T.: Effect of AD-5423 on animal models of schizophrenia: phencyclidine-induced behavioral changes in mice. *Neuro Report*, 14, 269-272 (2003)
- 31) Miyamoto Y., Yamada K., Nagai T., Mori H., Mishina M., Furukawa H., Noda Y., Nabeshima T.: Behavioural adaptations to addictive drugs in mice lacking the NMDA receptor. 1 subunit. *Eur J. Neurosci.*, 19, 151-158 (2004)
- 32) Nakajima, A., Yamada, K., Nagai, T., Uchiyama, T., Miyamoto, Y., Mamiya, T., He, J., Nitta, A., Tran, M.H., Seto, A., Yoshimura, M., Kitaichi, K., Hasegawa, T., Saito, K., Yamada, Y., Seishima, M., Seikikawa, K., Kim, H.-C., and Nabeshima, T.: Neuroprotective role of TNF- in methamphetamine-induced drug dependence and neurotoxicity. *J. Neurosci.* 24(9),2212-25 (2004)
- 33) Nagai, T., Yamada, K., Ishihara, K., Yoshimura, M., Miyamoto, Y., Nitta, A., Noda, Y., and Nabeshima, T.: Tissue plasminogen activator-plasmin system modulates rewarding effects of morphine by regulating dopamine release. *PNAS USA*, 101(10),3650-5 (2004)

学会発表

国際学会

- 1) He, J., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Fos expression in the CA3 region of the hippocampus is necessary for spatial learning in a radial arm maze test in rats. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (Kyoto, 3.31-4.5, 2001)
- 2) Nabeshima, T. and Yamada, K. (Invited, symposium): Development of anti-dementia drugs for Alzheimer's disease: present and future. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (Kyoto, 3.31-4.5, 2001.)
- 3) Mizuno, M. Yamada, K. Tran, M.H. and Nabeshima, T.: Phosphatidylinositol 3-kinase: a molecule mediating BDNF-dependent spatial learning. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (Kyoto, 3.31-4.5, 2001)
- 4) Yamada, K., Tran, M.H., Kim, H.-C., and Nabeshima, T. (Invited, symposium): Non-transgenic models of Alzheimer's disease: Animal model of Alzheimer's disease induced by continuous infusion of β -amyloid protein. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (Kyoto, 3.31-4.5, 2001)
- 5) Tran, M.H., Yamada, K., Nakajima, A. Mizuno, M. and Nabeshima, T.: Nitric oxide overproduction and nitrotyrosine formation are associated with amyloid β -peptide-induced brain dysfunction. 5th International Conference on Progress in Alzheimer's and Parkinson's Disease (Kyoto, 3.31-4.5, 2001)

- 6) Nakajima, A., Yamada, K., Miyamoto, Y., Mamiya, T., Saito, K., Seishima, M. and Nabeshima, T.: A role of tumor necrosis factor- α (TNF- α) in behavioral effects of methamphetamine. 9th International Catecholamine Symposium (Kyoto, 3.31-4.5, 2001)
- 7) Nagai, T., Noda, Y., Nozaki, A., Kamei, H. and Nabeshima, T.: Effects of dehydroepiandrosterone sulfate on the conditioned fear stress and dopaminergic neuronal function. 9th International Catecholamine Symposium (Kyoto, 3.31-4.5 2001)
- 8) Noda, Y., Mamiya, T., Nagai, T., Ren, X. and Nabeshima, T. (Invited, symposium): The mechanisms of morphine dependence and its withdrawal syndrome: study in mutant mice. 9th International Catecholamine Symposium (Kyoto, 3.31-4.5, 2001)
- 9) Mamiya, T., Yamada, K., Miyamoto, Y., Iida, R., Saito, K., Sekikawa, K., Seishima, M. and Nabeshima, T.: Neurobehavioral alterations in mice with a targeted deletion of the tumor necrosis factor- α gene: implications for emotional behavior. 9th International Catecholamine Symposium (Kyoto, 3.31-4.5, 2001)
- 10) Nagai, T., Yamada, K., Kim, H.-C., Mamiya, T., Noda, Y. and Nabeshima, T.: Behavioral and memory impairment in the new aging model, *klotho* gene mutant mice. 31st Annual Meeting Society for Neuroscience (San-Diego, U.S.A., 11.10- 15, 2001)
- 11) Nabeshima, T. (Invited): Role of catecholamines and cyclic AMP system: Morphine and phencyclidine dependence in mutant mice. Seminar in Kangwon University (Chunchon, Korea, 12.19, 2001)
- 12) Nabeshima, T. (Invited): Tyrosine nitrosylation of a synaptic protein synaptophysin contributes to amyloid β -peptide-induced cholinergic dysfunction. Seminar in Kwaha University (Chunchon, Korea, 12.20, 2001)
- 13) Nabeshima, T., Nagai, T. and Noda, Y.: Enhancement of stress responses induced by chronic phencyclidine in mice. International Society for Affective Disorders Conference (Sicily, Italy, 3.10- 12, 2002)
- 14) Nabeshima, T. (Invited, symposium): Chronic PCP-induced behavioral deficits in rodents as an animal model of the negative syndrome of schizophrenia. 24th Congress of Collegium Internationale Neuro- Psychopharmacologicum (CINP) (Montreal, Canada, 6.23- 27, 2002)
- 15) Nabeshima, T., Nagai, T. and Noda, Y.: Role of dopaminergic system in effect of DHEAS on stress. XII World Congress of Psychiatry (Yokohama, 8.24-29, 2002)
- 16) Nabeshima, T., Nakajima, A., Saito, K., Seishima, M., Sekikawa, K., and Yamada, K.: Role of TNF- α in methamphetamine dependence. XII World Congress of Psychiatry (Yokohama, 8.24-29, 2002)
- 17) Qiao, H., Noda, Y., Miura, H., Nabeshima, T., Ohta, T.: Effect of diazepam, risperidone, fluvoxamine on phencyclidine-induced social behavior deficit in mice. XII World Congress of Psychiatry (Yokohama, 8.24-29, 2002)
- 18) Nakajima, A., Yamada, K., Nagai, T., Uchiyama, T., Miyamoto, Y., Nitta, A., Saito, K., Yamada, Y., Seishima, M., and Nabeshima, T.: Role of TNF- α in methamphetamine-induced drug abuse and neurotoxicity. 16th Japan-Korea Joint Seminar on Pharmacology (Tokyo, October 3-5, 2002)
- 19) Umemura, M., Noda, Y., Hayakawa, R., Sugiura, M., and Nabeshima, T.: Effects of nonanoic acid vanillylamide preparation on the itching sensation of the patients with hyperbilirubinemia due to liver dysfunction. 2002 Seoul FAPA Congress (Seoul, Korea, 10. 5-8, 2002)
- 20) Mizoguchi, H., Uchiyama, T., Nakajima, A., Mizuno, T., Noda, Y., Yamada, K., and Nabeshima, T.: Effect of nefiracetam on discriminative stimulus effects of morphine in rats. 2002 Seoul FAPA Congress (Seoul, Korea, 10. 5-8, 2002)
- 21) Nagai, T., Noda, Y., Ren, X., Mamiya, T., and Nabeshima, T.: Effect of dehydroepiandrosterone sulfate on the development of morphine dependence: association with the extracellular signal-regulated protein kinase. 2002 Seoul FAPA Congress (Seoul, Korea, 10. 5-8, 2002)
- 22) Noda, Y., Kobayashi, T., Sugiura, S., Nagai, T., Ogura, Y., Watanabe, Y., Andoh, H., and Nabeshima T.: A study on methods preparing low doses of tacrolimus package. 2002 Seoul FAPA Congress (Seoul, Korea, 10. 5-8, 2002)
- 23) Nabeshima, T., Yamada, K., and Kim, H.-C.: Molecular mechanism of amyloid beta protein-induced impairment of neurotransmission and memory in relation to oxidative stress. 6th International Conference of AD/PD (Alzheimer's and Parkinson's Diseases) (Seville, Spain, 5. 8-12, 2003)
- 24) Yamada, K., Tran, M.H., Kim, H.-C., and Nabeshima, T.: Amyloid beta-peptide-induced brain dysfunction: involvement of oxidative stress, inducible nitric oxide synthase and protein tyrosine nitration. The 9th Southeast Asian-Western Pacific Regional Meeting of Pharmacologists (Busan, Korea, 8.19-23, 2003)
- 25) Nitta, A., Yamada, Y., Nakajima, A., Nagai, T., Noda, Y., Yamada, K., and Nabeshima, T.: Candidate genes or compounds for therapeutic tools against methamphetamine and/or morphine-induced dependence. The 9th Southeast Asian-Western Pacific Regional Meeting of Pharmacologists (Busan, Korea, 8.19-23, 2003)
- 26) Yan, Y., Mizuno, T., Nakajima, A., Nitta, A., Yamada, K., and Nabeshima, T.: Inhibitory effects nefiracetam on methamphetamine-induced discriminative responses via up-regulation of cAMP, but not related to voltage-sensitive calcium ion channels. The 9th Southeast Asian-Western Pacific Regional Meeting of Pharmacologists (Busan, Korea, 8.19-23, 2003)
- 27) Ishikawa, K., Nitta, A., Mizoguchi, H., Yamada, K., Katoh, T., Uchiyama, T., Yoshimura, M., Miyamoto,

- Y., and Nabeshima, T.: Effects of single and repeated administration of methamphetamine and morphine on neuroglycan C gene expression in the rat brain. The 9th Southeast Asian-Western Pacific Regional Meeting of Pharmacologists (Busan, Korea, 8.19-23, 2003)
- 28) Kamei, H., Nakano, H., Hashimoto, K., Takayanagi, M., Togan, Y., Takahashi, K., Nabeshima, T., and Yamada, K.: Cognition impairment induced by repeated administration of methamphetamine in mice. The 9th Southeast Asian-Western Pacific Regional Meeting of Pharmacologists (Busan, Korea, 8.19-23, 2003)
- 29) Nabeshima, T., Nagai, T., Yamada, K., Noda, Y., Kim, H.-C., Kim, Y.-S., Imura, A., and Nabeshima, Y.: Suppression of brain aging by klotho gene: antioxidative defense induced by klotho protein. 63rd International Congress of FIP (Sydney, Australia, 9.4-9, 2003)
- 30) Nabeshima, T., Yamada, K., Tran, M. H., and Kim, H.-C. (special lecture): Oxidative stress mechanism of amyloid beta protein-induced impairment of neurotransmission and memory. 1st Symposium of Neurobehavioral Pharmacology (Okayama, 9. 13-15, 2003)
- 31) Yamada, K., Mizuno, M., and Nabeshima, T.: Interaction of BDNF/TRKB signaling NMDA receptors in spatial memory. 1st Symposium of Neurobehavioral Pharmacology (Okayama, 9. 13-15, 2003)
- 32) Nitta, A., Hori, T., Maruyama, K., Nabeshima, T. and Furukawa, S.: Continuous infusion of GDNF can recover the functional damaged following the spinal cord transection. 1st Symposium of Neurobehavioral Pharmacology (Okayama, 9. 13-15, 2003)
- 国内学会
- 33) 山田清文, Olariu, A., 鍋島俊隆: ラット脳室内への β -アミロイド蛋白の持続注入により誘発される protein kinase C の変化. 第 23 回日本生物学的精神医学会 (長崎, 2001.4.11-13)
- 34) 喬宏, 野田幸裕, 三浦英樹, 粥川祐平, 鍋島俊隆, 太田龍朗: フェンジリジンによって惹起される社会的孤立に対する各種薬物(ハロペリドール、リスベリドン、クロザピン及びジアゼパム) マウスを用いた実験的研究
第 23 回日本生物学的精神医学会 (長崎, 2001.4.11-13)
- 35) 任海学, 二村隆史, Aguilrera, S., 小幡邦彦, 八木健, 櫻場篤, 曾良一郎, 鍋島俊隆, 那波宏之: 音刺激驚愕反応によるミュータントマウスの精神分裂病動物モデルとしての評価
第 23 回日本生物学的精神医学会 (長崎, 2001.4.11-13)
- 36) 山田清文, Tran, M.H., 鍋島俊隆: β -アミロイド蛋白により誘発される脳機能障害における誘導型一酸化炭素合成窒素の関与. 第 28 回日本脳科学会 (京都, 2001.5.31-6.1)
- 37) 山田清文, 鍋島俊隆: β -アミロイド蛋白により誘発される脳機能障害: 抗痴呆薬開発への応用. 第 19 回生物薬剤学研究会 (東京, 2001.6.8-9)
- 38) 中島晶, 山田清文, 水野誠, 鍋島俊隆: 過酸化物質 4-ヒドロキシノネナルの PC12 細胞毒性に対するインターロキシン 6 の保護効果. 第 99 回日本薬理学会近畿部会 (広島, 2001. 6.22)
- 39) 鍋島俊隆, 山田清文, Mah Hung Tran, 平松正行, 渡邊美奈子, 鶴飼良, 小島良二: アルツハイマー痴呆(AD)モデル動物におけるニコチン性コリン作動性神経系の機能変化(III)- $A\beta$ 注入によるニコチン受容体の機能低下における iNOS の関与および一酸化炭素(CO)負荷マウスにおける dynorphin mRNA 発現量の変動について 第 16 回平成 12 年度助成研究発表会(喫煙科学研究財団) (東京, 2001. 7.12)
- 40) 山田清文, 水野誠, 溝口博之, 宮本嘉明, 鍋島俊隆: メタンフェタミンの条件性場所嗜好反応の発現に伴う mitogen-activated protein kinases (MAPK) の活性化 第 4 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (東京, 2001.7.14)
- 41) 山田清文, 水野誠, 鍋島俊隆: 学習記憶における NO/BDNF シグナルの役割. 第 7 回日本行動薬理研究会 (福島, 2001.8.3-4)
- 42) Jue He, 山田清文, 鍋島俊隆: A role of Fos expression in the CA3 region of the hippocampus in spatial memory formation in rats. 第 44 回日本神経化学会・第 24 回日本神経科学合同大会 (京都, 2001, 9.26-28)
- 43) 水野誠, 山田清文, Tran, M.H., 鍋島俊隆: 放射状迷路における空間記憶形成に必要なシグナル伝達. 第 44 回日本神経化学会・第 24 回日本神経科学合同大会 (京都, 2001, 9.26-28)
- 44) 鍋島俊隆 Manh Hung Tran 山田清文 (シンポジウム): β -アミロイド蛋白により誘発される脳機能障害とシナプス蛋白のチロシンニトロ化. 第 44 回日本神経化学会・第 24 回日本神経科学合同大会 (京都, 2001, 9.26-28)
- 45) 野田幸裕, 鍋島俊隆 (シンポジウム): 遺伝子変異マウスを用いた潜在学習の形成機序の解明. 第 44 回日本神経化学会・第 24 回日本神経科学合同大会 (京都, 2001, 9.26-28)
- 46) 山田清文, 中島晶, 溝口博之, 内山武久, 宮本嘉明, 石川和宏, 鍋島俊隆 (シンポジウム): メタンフェタミンの精神依存および神経毒性における TNF- α の役割. 第 44 回日本神経化学会・第 24 回日本神経科学合同大会 (京都, 2001, 9.26-28)
- 47) He, J., Yamada, K., and Nabeshima, T.: PKA/CREB-c-fos pathway in the hippocampus is involved in spatial memory formation in rats. 第 31 回日本神経精神薬理学会 (広島, 2001. 10.4-5)

- 48) 山田清文, 水野誠, 鍋島俊隆(シンポジウム): 学習記憶における BDNF の役割. 第 31 回日本神経精神薬理学会(広島, 2001. 10.4-5)
- 49) 水野誠, 山田清文, 鍋島俊隆: 八方方向放射状迷路学習訓練によるラット脳内たんぱく質のリン酸化. 第 31 回日本神経精神薬理学会(広島, 2001. 10.4-5)
- 50) 永井拓, 野田幸裕, 亀井浩行, 鍋島俊隆: Dehydroepiandrosterone sulfate による恐怖条件付けストレス反応の緩解作用. 第 31 回日本神経精神薬理学会(広島, 2001. 10.4-5)
- 51) 野田幸裕, 鍋島俊隆(シンポジウム): フェンシクリジンモデルと医薬品の評価 第 31 回日本神経精神薬理学会(広島, 2001. 10.4-5)
- 52) 中島晶, 山田清文, Tran, M.H., 齋藤邦明, 清島満, 鍋島俊隆: メタンフェタミン神経毒性における腫瘍壊死因子(TNF- α)の役割 第 31 回日本神経精神薬理学会(広島, 2001. 10.4-5)
- 53) 桜井武男, 小宮山千賀, 渡部繁男, 鍋島俊隆: 新規脳機能改善薬フィラセタムの行動薬理学的性質: 向精神作用の検討. 第 31 回日本神経精神薬理学会(広島, 2001. 10.4-5)
- 54) 鍋島俊隆, 間宮隆吉, 野田幸裕, 宮本嘉明, 山田清文(シンポジウム): 遺伝子改変マウスにおける脳機能改善の機序. 第 12 回高次脳機能障害シンポジウム-21 世紀の治療薬創製の展望-(富山, 2001. 10.25-26)
- 55) 鍋島俊隆, 山田清文(シンポジウム): アルツハイマー病治療薬の創薬とその標的分子 第 29 回薬物活性シンポジウム(仙台, 2001.11.1-2)
- 56) 鍋島俊隆, 野田幸裕, 喬宏, 任修海, 永井拓: フェンシクリジン慢性投与による精神分裂病モデル-陰性症状と認知障害-第 29 回薬物活性シンポジウム(仙台, 2001.11.1-2)
- 57) 野田明宏, 野田幸裕, 永井拓, 古川宏, 鍋島俊隆: マウスの潜在学習に対するフェンシクリジンの作用. 第 100 回日本薬理学会近畿部会(大阪, 2001.11.17)
- 58) Noda, Y., Nagai, T. and Nabeshima, T.: Enhancement of stress responses induced by chronic treatment with phencyclidine in mice. 第 75 回日本薬理学会年会(熊本, 2002. 3. 13-15)
- 59) Uchiyama, T., Yamada, K., Nakajima, A., Mizoguchi, H., Yoshimura, M., Nishida, M. and Nabeshima, T.: Changes in expression level of TNF-alpha and its receptor TNF-R1 mRNA in the brain of methamphetamine- and morphine-treated rats. 第 75 回日本薬理学会年会(熊本, 2002. 3. 13-15)
- 60) Yamada, K., Tran, M. H., Nakajima, A., Mizuno, M., Kamei, H. and Nabeshima, Tyrosine nitrosylation of synaptophysin induced by amyloid β -protein. 第 75 回日本薬理学会年会(熊本, 2002. 3. 13-15)
- 61) Nagai, T., Yamada, K., Kim, H., Noda, Y., Nabeshima, Y. and Nabeshima, T.: Memory impairment in the genetic model of aging, *klotho* gene mutant mice. 第 75 回日本薬理学会年会(熊本, 2002. 3. 13-15)
- 62) Mizoguchi, H., Mizuno, M., Uchiyama, T., Yamada, K. and Nabeshima T.: Neuronal mechanism for the expression of methamphetamine (MAP)-induced conditioned place preference (CPP) in rats. 第 75 回日本薬理学会年会(熊本, 2002. 3. 13-15)
- 63) Nakajima, A., Yamada, K., Tran, M. H., Seto, A., Saito, K., Seishima, M. and Nabeshima, T.: Neuroprotective effect of TNF-alpha on methamphetamine-induced neurotoxicity in mice. 第 75 回日本薬理学会年会(熊本, 2002. 3. 13-15)
- 64) 鍋島俊隆, 水野誠, Jue He, 山田清文(シンポジウム): 記憶の神経メカニズム-BDNF を中心とした分子シグナルによる制御-第 24 回日本生物学的精神医学会(埼玉, 2002. 4.10-12)
- 65) 溝口博之, 内山武久, 吉村正子, 水野朋子, 山田清文, 鍋島俊隆: ラットにおける Morphine 誘発 Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-2 mRNA の発現変化 第 24 回日本生物学的精神医学会(埼玉, 2002. 4.10-12)
- 66) 鍋島俊隆: Phencyclidine 連続投与による精神分裂病陽性・陰性症状モデル動物 平成 14 年度東京都精神医学総合研究所セミナー(東京, 2002. 4.19)
- 67) 鍋島俊隆(特別講演): 精神分裂病(統合失調症)の病態と治療薬の開発 金沢大学大学院自然科学研究科総合科目「医薬品安全性学」(金沢, 2002. 6.11)
- 68) 鍋島俊隆(シンポジウム): 薬を説明する 第 29 回日本トキシコロジー学会学術年会(名古屋, 2002. 6.18-20)
- 69) 野田幸裕, 森昭友, 永井拓, 間宮隆吉, 鍋島俊隆: フェンシクリジンの弁別刺激効果における側坐核ドバミン作動性神経系の関与 第 25 回日本神経科学大会(東京, 2002. 7.7-9)
- 70) 新田淳美, 野田幸裕, Quirion Remi, 鍋島俊隆: ラット海馬培養神経細胞におけるグルココルチコイドによって誘発されるアポトーシスに対するインシュリン様増殖因子-1 の保護効果 第 8 回日本行動薬理研究会(名古屋, 2002. 8.2-3)
- 71) 水野朋子, 内山武久, 中島晶, 野田幸裕, 山田清文, 鍋島俊隆: ラットにおける Morphine 弁別刺

- 激効果に対する Nefiracetam の効果 第 8 回日本行動薬理研究会 (名古屋, 2002. 8.2-3)
- 72) 鍋島俊隆 (特別講演): β -アミロイド蛋白によるアセチルコリン性神経伝達の障害 第 6 回神経伝達物質研究会 (東京, 2002. 8.17)
- 73) 鍋島俊隆 (常任運営委員): ニコチン・薬物依存研究フォーラム常任運営委員会 (東京, 2002.8.22)
- 74) 鍋島俊隆: 遺伝子操作マウスの高次脳機能解析: 現状と展望平成 14 年度「先端脳」ワークショップ・班会議 <夏のワークショップ> (新潟, 2002. 8.23-24)
- 75) Kim, H.-C., Nabeshima, T. (特別講演): Dextromethorphan; evaluation of its neurotoxicity and anti-narcotic action by molecular modifications. 第 107 回日本薬理学会関東部会 (山梨, 2002. 10.3)
- 76) 永井拓, 山田清文, 鍋島陽一, 鍋島俊隆: 新規老化促進モデルマウス, *klotho* 遺伝子変異マウスの認知障害. 第 4 回感情・行動・認知(ABC)研究会 (東京, 2002. 10.12)
- 77) 永井拓, 山田清文, 石川和宏, 宮本嘉明, 吉村正子, 水野朋子, 溝口博之, 新田淳美, 野田幸裕, 鍋島俊隆: モルヒネ依存形成における tissue plasminogen activator の関与. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会 (群馬, 2002, 10. 17-18)
- 78) 溝口博之, 水野誠, 水野朋子, 内山武久, 吉村正子, 山田清文, 新田淳美, 鍋島俊隆: メタンフェタミン誘発条件付け場所嗜好性試験の発現に関わる神経シグナル伝達. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会 (群馬, 2002, 10. 17-18)
- 79) 水野朋子, 山田清文, 溝口博之, 石川和宏, 宮本嘉明, 吉村正子, 内山武久, 新田淳美, 鍋島俊隆: Methamphetamine 投与ラット脳内における Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 (TIM-2) の発現変化. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会 (群馬, 2002, 10. 17-18)
- 80) 中島晶, 山田清文, 永井拓, 内山武久, 宮本嘉明, 間宮隆吉, 新田淳美, 斎藤邦明, 山田泰弘, 清島満, 鍋島俊隆: メタンフェタミンによる依存形成および神経毒性に対する腫瘍壊死因子 (TNF- α) の役割. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会 (群馬, 2002, 10. 17-18)
- 81) 新田淳美, 西岡博史, 野田幸裕, 鍋島俊隆, 古川昭栄: 免疫抑制作用を有しないノムフィリンリガンドの神経栄養因子産生誘導を介した神経保護作用. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会 (群馬, 2002, 10. 17-18)
- 82) 鍋島俊隆, 野田幸裕, 亀井浩行 (シンポジスト): アルツハイマー病 (AD) 治療薬の現在と未来. 第 30 回薬物活性シンポジウム, 日本薬学会・日本薬理学会開催 (福岡, 2002. 11.14 - 15)
- 83) 新田淳美, 鍋島俊隆, 古川昭栄: 免疫抑制作用のないイムノフィリンリガンドの神経栄養因子産生誘導および神経保護作用. 第 7 回神経科学領域における分子モニタリングシンポジウム (東京, 2002. 11. 22)
- 84) 喬宏, 三浦英樹, 野田幸裕, 鍋島俊隆, 太田辰朗: フェンシクリジン慢性投与マウスの社会的行動障害に対する分子生物学的研究. 第 35 回精神神経系薬物治療研究報告会 (大阪, 2002.12.6)
- 85) 鍋島俊隆 (シンポジスト): アミロイド β 蛋白の神経毒性と酸化ストレス. 第 25 回日本学術会議トキシコロジー研究連絡委員会シンポジウム (沖縄, 2002.12.14)
- 86) 鍋島俊隆 (特別講演): 薬物依存の分子神経薬理学. 第 17 回日本中毒学会東日本地方会 (福島, 2003.1.25)
- 87) 溝口博之, 水野朋子, 内山武久, 吉村正子, 宮本嘉明, 石川和宏, 山田清文, 新田淳美, 鍋島俊隆: メタンフェタミン投与ラットにおける脳内 Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-2 (TIMP-2) の発現変化. 第 80 回日本生理学会大会 (福岡, 2003. 3.24-26)
- 88) 中野寛子, 亀井浩行, 鍋島俊隆: 認知機能に対する methamphetamine の反復投与による影響. 神経行動薬理若手研究者の集い (福岡, 2003.3.25)
- 89) Mizoguchi, H., Mizuno, T., Uchiyama, T., Yoshimura, M., Miyamoto, Y., Ishikawa, K., Yamada, K., Nitta, A., and Nabeshima, T.: Increase of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 contents in the brain of methamphetamine dependent rat. The 76th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society (Fukuoka, 2003.3.24-26)
- 90) Yan, Y., Mizuno, T., Uchiyama, T., Nakajima, A., Yamada, K., Nitta, A., and Nabeshima, T.: Inhibitory subjective effects of nefiracetam on morphine or methamphetamine discrimination in rats. The 76th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society (Fukuoka, 2003.3.24-26)
- 91) Nagai, T., Yamada, K., Yoshimura, M., Ishikawa, K., Miyamoto, Y., Nitta A., Noda, Y., and Nabeshima, T.: The role of tissue plasminogen activator in morphine dependence: association with rewarding system. The 76th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society (Fukuoka, 2003.3.24-26)
- 92) 野田幸裕, 野崎歩, 永井拓, 鍋島俊隆: 恐怖条件付けストレス反応における脳内デヒドロエピアンドロステロン硫酸の役割. 第 25 回日本生物学

- 的精神医学会 (金沢, 2003.4.16-18)
- 93) 溝口博之, 石川和宏, 山田清文, 内山武久, 吉村正子, 宮本嘉明, 新田淳美, 鍋島俊隆: ラットにおけるメタンフェタミン連続投与による neuroglycan C の発現変化. 第103回日本薬理学会近畿部会 (2003.5.22, 福井)
- 94) 中野寛子, 亀井浩行, 鍋島俊隆, 山田清文: Methamphetamine 誘発性認知障害モデル. 第103回日本薬理学会近畿部会 (2003.5.22, 福井)
- 95) 新田淳美, 丸山慶子, 西岡博史, 鍋島俊隆, 古川昭栄: 免疫抑制のないイムノフィリンリガンドの神経保護作用. 第49回日本薬学会東海支部総会・大会 (名古屋, 2003.7.5)
- 96) Mizoguchi, H., Ishikawa, K., Yamada, K., Uchiyama, T., Yoshimura, M., Miyamoto, Y., Nitta, A., Nabeshima, T.: The role of neuroglycan C on the sensitization induced by methamphetamine (MAP) in rat. The 26th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society (Nagoya, 2003.7.23-25)
- 97) 永井拓, 野田幸裕, 鍋島俊隆: 統合失語症モデルマウスを用いた陰性症状発現機序の解明および治療薬の開発に関する研究 第7回神経伝達物質研究会 (東京, 2003.8.9)
- 98) Nitta, A., Nishioka, H., Hori, T., Maruyama, K., Furukawa, Y., Nabeshima, T., Furukawa, S.: A dipeptide, leu-ile has neuroprotective effects against dopaminergic denervation. 第46回日本神経化学会 (新潟, 2003.9.24-26)
- 99) 新田淳美, 美馬達夫, 森惟明, 宮下光太郎, 鍋島俊隆, 古川昭栄: 水頭症患者脳脊髄液中の神経栄養因子含量について. 第13回日本医療薬学会年会 (神戸, 2003.9.27-28)
- 100) 中野寛子, 亀井浩行, 橋本和樹, 高柳匡徳, 東岸由里子, 高橋健次, 鍋島俊隆, 山田清文: Methamphetamine 誘発性認知障害モデルに対する clozapine 及び haloperidol の効果. 第33回日本神経精神薬理学会年会 (奈良, 2003.10.8-10)
- 101) 野田幸裕, Moustafa Mahmoud Hamdy, 宮崎雅之, 永井拓, 間宮隆吉, 鍋島俊隆: モルヒネの依存形成における N-メチル-D-スバラギン酸受容体を介するシグナル伝達系の関与. 第33回日本神経精神薬理学会年会 (奈良, 2003.10.8-10)
- 102) 山田裕一郎, 新田淳美, 中島晶, 野田幸裕, 山田清文, 鍋島俊隆: モルヒネ依存における腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α) の役割; 治療薬としての可能性. 第33回日本神経精神薬理学会年会 (奈良, 2003.10.8-10)
- 103) Yijin Yan, Tomoko Mizuno, Atsumi Nitta, Kiyofumi Yamada, Toshitaka Nabeshima: Up-regulation of camp, but not voltage-sensitive calcium ion channels is involved in the inhibitory effects of nefiracetam on methamphetamine-induced discriminative responses. 第33回日本神経精神薬理学会年会 (奈良, 2003.10.8-10)
- 104) 溝口博之, 毛利彰宏, 丹羽美苗, 水野朋子, 山田清文, 野田幸裕, 新田淳美, 鍋島俊隆: メタンフェタミン誘発行動障害における Matrix metalloproteinases(MMP)/Tissue inhibitor of Matrix metalloproteinase(TIMP) システムの関与 第1回21世紀COE若手研究発表会 名古屋大学発のブレイクスルーをめざして (名古屋, 2004.2.19)
- 105) Yijin Yan, Atsumi Nitta, Kiyofumi Yamada, Hiroyuki Mizoguchi, Taku Nagai, Toshitaka Nabeshima: Tissue plasminogen activator(tPA) is involved in morphine-induced rewarding effects in mice 第1回21世紀COE若手研究発表会 名古屋大学発のブレイクスルーをめざして (名古屋, 2004.2.19)

「メタンフェタミンの細胞内小器官での標的分子への作用と 神経細胞障害の抑制に関する研究」3年間のまとめ

分担研究者： 浅沼幹人

共同研究者： 宮崎育子，東 洋一郎，Md. Emdadule Haque，辻 武史，小川紀雄
(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)

社会的に問題となっている覚醒剤メタンフェタミン(METH)の乱用はドパミン神経終末の変性をもたらすとともに遅発性の神経障害を惹起するが、その神経毒性のメカニズムは十分に解明されていない。METH 投与によるドパミン神経終末の障害がアポトーシス関連蛋白 p53 ノックアウトマウスにおいて軽減されることから、METH によるドパミン神経障害過程にフリーラジカルや二次情報伝達系の他に、p53 などのアポトーシス関連蛋白が強く関与していると考えられている。われわれは、METH 自体が核内に集積し、核内転写因子(AP-1, CREB, p53)の DNA 結合を直接修飾し、p53 の転写因子活性を高めていることを報告した。また、核周囲(perinuclear)の細胞内小器官にも METH が集積することに気づき、METH が核周囲の細胞内小器官に局在する分子に作用あるいは結合している可能性を想定した。そこで、METH 神経毒性における p53 関連分子 p53-activated gene 608 (PAG608)の関与、METH の核、細胞内小器官への再分布、標的分子への直接作用ならびに神経細胞障害との関連を明らかにすることを目的として、METH を添加された培養神経細胞や急性大量投与されたマウスなどの METH 誘発ドパミン神経細胞障害モデルを用いた研究を行った。

また、細胞内小器官における METH の標的候補分子を網羅的に検索するために、METH を添加された培養ドパミン系神経細胞 B65 を用いて cDNA array assay を行い、METH により発現が誘導ある

いは抑制される cDNA のプロファイリングを行った。そして、その結果をもとに METH によるドパミン神経障害時に発現誘導される転写因子 NF- κ B, 誘導性 NO 合成酵素, 炎症性サイトカイン類およびそれらに関連した分子としてのシクロオキシゲナーゼに着目し、この酵素の阻害薬である非ステロイド性消炎鎮痛薬(NSAIDs) の METH 大量投与によるドパミン神経終末の障害に対する阻止効果について検討した。

さらに、過剰ドパミンおよびそれから生成される毒性の高いキノン体を速やかに代謝することで神経保護的に作用しているメラニン合成酵素チロシナーゼの METH 誘発ドパミン神経毒性への関与について検討した。

3年間で以下のような知見を得ることができた。

1. METH による神経毒性に対する PAG608 発現抑制の保護効果

p53 関連分子として、p53 により誘導されアポトーシスを惹起し、神経系に高発現している p53-activated gene 608 (PAG608)に着目し、PAG608 の遺伝子発現抑制を行い、METH による神経毒性の発現過程における PAG608 の関与について検討した。METH 添加により惹起される細胞死が、PAG608 アンチセンス cDNA 高発現細胞株ではほぼ完全に抑制されていた。また、METH 添加により惹起されるアポトーシス様の形態変化が、PAG608 アンチセンスオリゴヌクレオチド導入により抑制できた。

以上のことから、METH 神経障害において、p53 のみならず PAG608 がそのアポトーシス発現過程に関与することを明らかにした。すなわち、METH により P53 ならびに PAG608 が活性化されることで、下流のアポトーシス関連因子が活性化され神経細胞死が惹起されると考えられる。

2. METH によるドパミン神経毒性に関与する PAG608 の作用機構の解析

さらに、PAG608 の酸化ストレスによる培養神経細胞のアポトーシスにおける作用機構について検討した。アンチセンス PAG608 cDNA の導入による PAG608 の発現抑制により、6-OHDA または過酸化水素によるアポトーシスがほぼ完全に抑制され、6-OHDA 添加によって惹起されるカスパーゼ3の活性化やDNAの断片化、ミトコンドリアの膜電位の低下、p53, Bax 発現の誘導が著明に抑制された。また、PAG608 は逆に p53 発現を誘導しうることを明らかにした。

p53 によって誘導される分子とされている PAG608 は酸化ストレスによるドパミン神経細胞のアポトーシスにおいて、ミトコンドリア障害より上流の過程で、逆に p53 ならびに Bax の発現を誘導し、ミトコンドリアの膜電位の低下を惹起している可能性を示した。

GFP 標識野生型 PAG608 発現ベクターの PC12 細胞への遺伝子導入により、PAG608 が核と核小体に集積し分布していることを明らかにできた。さらに、PAG608 の第一ジンクフィンガードメインを欠失させた変異型 PAG608 発現ベクターの導入により 6-OHDA によるアポトーシスが阻止され、野生型 PAG608 の核や核小体への集積が阻止されたことから、PAG608 はそれ自身または他の分子と第一ジンクフィンガードメインを介して結合することで核や核小体に移行し、p53 発現を誘導しアポトーシスを惹起していると考えられる。

3. METH 標的候補分子の cDNA array によるプロ

ファイリング

METH 添加培養神経細胞を用いた cDNA array でのプロファイリングにより、METH で発現が誘導あるいは抑制されるサイトカイン類や細胞内小器官(小胞体-ゴルジ体輸送系、ユビキチン-プロテアソーム系およびシナプス小胞系)での標的候補分子を検索できた。

4. METH 投与によるドパミン神経障害に対する NSAIDs 投与の保護・阻止効果

次に、cDNA array によるプロファイリングでの候補分子の発現に共通して関与する分子としてシクロオキシゲナーゼに着目し、METH 神経細胞障害に対する NSAIDs 投与の効果について検討した。METH 大量投与による線条体ドパミントランスポーターの脱落ならびにミクログリアの増殖に対してインドメタシン、イブプロフェン、ケトプロフェン投与が保護・阻止効果を有することを明らかにした。しかし、アスピリン投与では高用量でも保護効果がみられなかった。

インドメタシン、イブプロフェン、ケトプロフェンの METH 誘発ドパミン神経毒性に対する保護効果は、シクロオキシゲナーゼ抑制効果によるものではなく、ミクログリアの増殖抑制による炎症性サイトカインや NO の生成抑制、NO 消去能に基づくと考えられた。

5. METH によるドパミン神経毒性のチロシナーゼによる修飾

マウスでの METH のドパミン神経毒性には系差があるという知見に基づき、数系統のマウスを用いて検討し、albino マウスが METH に対して感受性であり、有色マウスが比較的抵抗性であることを確認した。METH 投与によるドパミン神経毒性におけるメラニン合成酵素チロシナーゼの関与について検討した。METH をあらかじめチロシナーゼと incubate し、albino マウスに投与すると、METH の神経毒性が減弱された。また、METH 分子が直接チロシナーゼにより修飾を受けるこ

とを示した。

メラニン合成酵素チロシナーゼあるいはその関連分子は末梢において METH に何らかの修飾を加え、METH によるドパミン神経毒性を減弱させる可能性があることを明らかにした。

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) Hayashi, T., Hirata, H., Asanuma, M., et al.: Delta opioid peptide [D-Ala², D-Leu⁵]enkephalin causes a near complete blockade of the neuronal damage induced by a single high dose of methamphetamine: examining the role of p53. *Synapse*, 39: 305-312, 2001.
- 2) Asanuma, M., Nishibayashi-Asanuma, S., Miyazaki, I., et al.: Neuroprotective effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs by direct scavenging of nitric oxide radicals. *J. Neurochem.*, 76: 1895-1904, 2001.
- 3) Kondo, F., Asanuma, M., Miyazaki, I., et al.: Progressive cortical atrophy after forebrain ischemia in diabetic rats. *Neurosci. Res.*, 39: 339-346, 2001.
- 4) Tanaka, K., Miyazaki, I., Fujita, N., et al.: Molecular mechanism in activation of glutathione system by ropinirole, a selective dopamine D2 agonist. *Neurochem. Res.*, 26: 31-36, 2001.
- 5) Aoki Sogawa, C., Asanuma, M., Sogawa, N., et al.: Localization, regulation, and function of metallothionein-III/ growth inhibitory factor in the brain. *Acta Med. Okayama*, 55: 1-9, 2001.
- 6) 浅沼幹人, 小川紀雄: フリーラジカルと脳障害, *Clinical Neuroscience*, 19: 555-559, 2001.
- 7) 小川紀雄, 浅沼幹人: 酸化ストレスと神経細胞死, *Clinical Neuroscience*, 19: 665-667, 2001.
- 8) 浅沼幹人, 小川紀雄: 酸化ストレスによる神経障害とその防御, 酸化ストレスフリーラジカル医学生物学の最前線 (吉川敏一 編), pp177-181, 医歯薬出版, 東京, 2001.
- 9) Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., et al.: Methamphetamine-induced increase in striatal p53 DNA-binding activity is attenuated in Cu,Zn-superoxide dismutase transgenic mice. *Neurosci. Lett.*, 325: 191-194, 2002.
- 10) Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., et al.: Aggravation of 6-hydroxydopamine-induced dopaminergic lesions in metallothionein-I and -II knock-out mouse brain. *Neurosci. Lett.*, 327: 61-65, 2002.
- 11) Higashi, Y., Asanuma, M., Miyazaki, I., et al.: The p53-activated gene, PAG608, requires a zinc finger domain for nuclear localization and oxidative stress-induced apoptosis. *J. Biol. Chem.*, 277: 42224-42232, 2002.
- 12) Yoshioka, M., Tanaka, K., Miyazaki, I., et al.: The dopamine agonist cabergoline provides neuroprotection by activation of the glutathione system and scavenging free radicals. *Neurosci. Res.*, 43: 259-267, 2002.
- 13) Miyazaki, I., Asanuma, M., Higashi, Y., et al.: Age-related changes in expression of metallothionein-III in rat brain. *Neurosci. Res.*, 43: 323-333, 2002.
- 14) 浅沼幹人, 東 洋一郎, 宮崎育子 他: ニューロメラニン合成酵素チロシナーゼのドパミン神経障害への関与. *Prog. Med.*, 22: 212-215, 2002.
- 15) 浅沼幹人, 宮崎育子, 東 洋一郎 他: アルツハイマー病脳で減少している growth

- inhibitory factor (GIF)の加齢にともなう変化. 分子精神医学, 3: 69-70, 2003.
- 16) Tanaka, K., Asanuma, M. and Ogawa, N.: Blockade of late-onset reduction of muscarinic acetylcholine receptors by immunosuppressants in forebrain ischemia. In: (ed.) Borlongan, C.V., Isacson, O. and Sanberg, P.R., *Immunosuppressant Analogs in Neuroprotection*, Humana Press, Totowa, 2002, pp215-229.
 - 17) 浅沼幹人: テトラサイクリン誘導体ミノサイクリンの種々の神経障害に対する保護作用. ファルマシア, 38: 1105-1106, 2002.
 - 18) Haque, M.E., Asanuma, M., Higashi, Y., et al.: Apoptosis-inducing neurotoxicity of dopamine and its metabolites via reactive quinone generation in neuroblastoma cells. *Biochim. Biophys. Acta*, 1619: 39-52, 2003.
 - 19) Haque, M.E., Asanuma, M., Higashi, Y., et al.: Overexpression of Cu-Zn superoxide dismutase protects neuroblastoma cells against dopamine cytotoxicity accompanied by increase in their glutathione level. *Neurosci. Res.*, 47: 31-37, 2003.
 - 20) Asanuma, M., Tsuji, T., Miyazaki, I., et al.: Methamphetamine-induced neurotoxicity in mouse brain is attenuated by ketoprofen, a non-steroidal anti-inflammatory drug. *Neurosci. Lett.*, 352: 13-16, 2003.
 - 21) Kakishita, M., Nakamura, K., Asanuma, M., et al.: Direct evidence for increased hydroxyl radicals in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy through angiotensin II type 1a receptor. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 42 (suppl. 1): S67-70, 2003.
 - 22) Asanuma, M., Miyazaki, I. and Ogawa, N.: Dopamine- or L-DOPA-induced neurotoxicity: the role of dopamine quinone formation and tyrosinase in a model of Parkinson's disease. *Neurotox. Res.*, 5: 165-176, 2003.
 - 23) 浅沼幹人, 宮崎育子, 東 洋一郎 他: アルツハイマー病脳で減少している growth inhibitory factor (GIF)の加齢にともなう変化. 分子精神医学, 3: 69-70, 2003.
 - 24) 浅沼幹人, 宮崎育子, M. Emdadul Haque 他: ドパミンおよびその誘導体のキノン体生成を介したアポトーシス誘導性. *Prog. Med.*, 23: 2736-2741, 2003.
 - 25) 浅沼幹人, 宮崎育子, 辻 武史 他: 非ステロイド性消炎鎮痛薬の神経保護作用の新展開. 日本神経精神薬理学会雑誌, 23: 111-119, 2003.
 - 26) Diaz-Corrales, F.J., Asanuma, M., Miyazaki, I., et al.: Rotenone induces disassembly of the Golgi apparatus in the rat dopaminergic neuroblastoma B65 cell line. *Neurosci. Lett.*, 354: 59-63, 2004.
 - 27) Higashi, Y., Asanuma, M., Miyazaki, I., et al.: Expression of metallothionein-III and cell death in differentiated catecholaminergic neuronal cells. *Neurol. Res.*, in press.
- ## 2. 学会発表・講演
- 1) Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., et al.: Direct redistribution and accumulation of dopaminergic drugs in the nucleus. 9th International Catecholamine Symposium, 2001.
 - 2) 浅沼幹人, 東 洋一郎, 宮崎育子 他: ニューロメラニン合成酵素チロシナーゼとドパミン神経障害の相互連関に関する検討-II, 第42回日本神経学会総会, 2001.
 - 3) 宮崎育子, 浅沼幹人, 東 洋一郎 他: Metallothionein-I, II ノックアウトマウスにおける 6-hydroxydopamine によるドバ

- ミン神経毒性の増悪. 第 28 回日本脳科学会, 2001.
- 4) 宮崎育子, 浅沼幹人, 東 洋一郎 他: アストロサイトにおけるドバミンレセプターおよびトランスポーターの発現. 第 44 回日本神経化学会・第 24 回日本神経科学合同大会, 2001.
 - 5) 東 洋一郎, 浅沼幹人, 宮崎育子 他: 6-hydroxydopamine 誘導神経細胞死における PAG608 の関与. 第 44 回日本神経化学会・第 24 回日本神経科学合同大会, 2001.
 - 6) 浅沼幹人, 東 洋一郎, 宮崎育子 他: メタンフェタミン神経毒性における p53 関連遺伝子の関与. 第 31 回日本神経精神薬理学会年会, 2001.
 - 7) Asanuma, M., Higashi, Y., Miyazaki, I., et al.: Expression of tyrosinase, melanin synthetic enzyme, in hemi-parkinsonian model. 31st Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2001.
 - 8) 東 洋一郎, 浅沼幹人, 宮崎育子 他: 6-OHDA 誘導神経細胞死における PAG608 の関与. 第 24 回日本分子生物学会年会, 2001.
 - 9) 浅沼幹人, 宮崎育子, 東 洋一郎 他: チロシナーゼの Parkinson 病モデルに対する神経機能補完作用. 第 43 回日本神経学会総会, 2002.
 - 10) 田中健一, 藤田尚子, 東 洋一郎 他: 非免疫抑制性イムフィリンリガンドの神経保護効果とその分子機構 (3)? 抗アポトーシス作用?. 第 25 回日本神経科学会大会, 2002.
 - 11) 浅沼幹人, 宮崎育子, 東 洋一郎 他: パーキンソン病モデル線条体グリア細胞におけるドバミントランスポーターの発現誘導. 第 45 回日本神経化学会大会, 2002.
 - 12) 宮崎育子, 浅沼幹人, 東 洋一郎 他: アストロサイトにおけるドバミントランスポーターを会したドバミン取り込み機構. 第 45 回日本神経化学会大会, 2002.
 - 13) Yoshioka, M., Tanaka, K., Fujita, N., et al.: Molecular mechanism in neuroprotective properties of a dopamine agonist, cabergoline. 第 45 回日本神経化学会大会, 2002.
 - 14) 辻 武史, 浅沼幹人, 宮崎育子 他: メタンフェタミンによるドバミン神経障害に対する非ステロイド性消炎鎮痛薬の効果. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会, 2002.
 - 15) 浅沼幹人, 宮崎育子, 東 洋一郎 他: メラニン合成酵素チロシナーゼのドバミン神経機能補完作用. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会, 2002.
 - 16) 小川紀雄, M. Emdadul Haque, 宮崎育子 他: L-DOPA およびドバミンのキノン体生成を介したアポトーシス誘導性とそれに対する防御に関する検討. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会, 2002.
 - 17) 宮崎育子, 浅沼幹人, 東 洋一郎 他: アストロサイトにおけるドバミンレセプター発現と情報伝達系の存在に関する検討. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会, 2002.
 - 18) Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., et al.: Effects of tyrosinase replacement in hemi-parkinsonian model. 32nd Annual Meeting of Society for Neuroscience, 2002.
 - 19) 浅沼幹人, 宮崎育子, M. Emdadul Haque 他: ドバミンおよびその誘導体のキノン体生成を介したアポトーシス誘導性. 第 11 回カテコールアミンと神経疾患研究会, 2003.
 - 20) 浅沼幹人, 東 洋一郎, 宮崎育子 他: マンガン誘発ドバミン神経毒性におけるパー

- キン蛋白の関与. 第 44 回日本神経学会総会, 2003.
- 21) 浅沼幹人: ソニサミドのグルタチオン増加作用は過剰 L-DOPA による神経障害に有効か? シンポジウム 1「ソニサミド: 新しい抗パーキンソン病薬?」, 第 18 回大脳基底核研究会, 2003.
- 22) 浅沼幹人, 東 洋一郎, 宮崎育子 他: Involvement of parkin protein in manganese-induced ER stress in dopaminergic cells. 第 26 回日本神経科学大会, 2003.
- 23) 宮崎育子, M. Emdadul Haque, 浅沼幹人 他: Possible involvement of tyrosinase in methamphetamine-induced dopaminergic toxicity. 第 26 回日本神経科学大会, 2003.
- 24) Asanuma, M., Miyazaki, I., Higashi, Y., et al.: Specific gene expression and possible involvement of inflammation in methamphetamine-induced neurotoxicity. International Society For Neurochemistry (ISN) /Asian Pacific Society For Neurochemistry (APSN) Sponsored Satellite Meeting. Current Status of Dependence/Abuse Studies: Cellular and Molecular Mechanisms of Drugs of Abuse and Neurotoxicity, 2003.
- 25) 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: パーキンソン病モデル線条体へのメラニン合成酵素チロシナーゼ産生細胞の移植. 第 46 回日本神経化学会, 2003.
- 26) 宮崎育子, 浅沼幹人, 小川紀雄: 線条体アストロサイトにおけるドバミンレセプターの発現. 第 46 回日本神経化学会, 2003.
- 27) 辻 武史, 浅沼幹人, 宮崎育子 他: メタフェタミンによるドバミン神経障害に対する非ステロイド性消炎鎮痛薬の効果 - II -. 第 33 回日本神経精神薬理学会年会, 2003.
- 28) 宮崎育子, 浅沼幹人, 東 洋一郎 他: マンガン誘発神経毒性におけるパーキン蛋白のドバミン神経特異的な関与. 第 33 回日本神経精神薬理学会年会, 2003.
- 29) F. Diaz, 浅沼幹人, 宮崎育子 他: Rotenone induce fragmentation of Golgi apparatus in dopaminergic neuroblastoma cell line. 第 33 回日本神経精神薬理学会年会, 2003.
- 30) 浅沼幹人, 宮崎育子, 小川紀雄: メタロチオネインとパーキンソン病, 老化. メタロチオネイン 2003, シンポジウム II メタロチオネインの臨床, 2003.

「メタンフェタミン反復投与後のニューロン活動調節変化 におけるセロトニン神経系の関与」3年間のまとめ

分担研究者:石原 熊寿¹

研究協力者:木村 丈司¹、笹 征史²

(¹ 広島大学大学院医歯薬学総合研究科病態薬物治療学講座治療薬効学研究室、² 渚病院)

覚せい剤(メタンフェタミン:MAP)連用後に起こる精神依存や逆耐性現象には脳神経機能の長期的変化、すなわち可塑的变化などの調節機能変化が関与していると考えられる。加えてMAP連続投与によって神経毒性様のニューロン活動調節変化も引き起こされると考えられる。このMAPによる中枢神経活動調節変化について、神経伝達物質受容体機能の変化の観点から解明を行うことを目的とし、MAP投与によってシナプス領域での濃度が上昇し、伝達に変化するドパミンおよびセロトニン受容体を対象とし研究を行った。本研究では神経機能変化を直接ニューロン活動およびシナプス反応を *in vitro* スライス標本にて記録することによりMAP連続投与後の影響を解析した。電気生理学的手法により、海馬あるいは側坐核スライス標本にて主として集合活動電位を記録し、セロトニンおよびドパミン系調節の変化について検討した。MAP投与は1日1回、5日間投与した(MAP群)。対照には生理食塩水を同様のスケジュールで投与した。ニューロン活動記録は投与終了後約24時間、5日および10日目にスライス標本を作成し、行った。海馬および側坐核において、セロトニン性調節は投与中止24時間目にはほとんど変化はなく、生理食塩水投与群(コントロール群)と差が見られなかった。しかし、投与後5日目にはMAP投与による影響が現れることが示された。すなわち、海馬においてはセロトニンの抑制が増強され、一方、側坐核ではセロトニン抑制が消失することが観察された。このセロトニン調節作用の変化は投与後10日目にも残存する傾向が観察された。ドパミン系は側坐核のみで検討し、MAP連用後24時間目ではその抑制作用がわずかに減少するが、5日目には抑制作用が逆に増強されることが示された。MAPを連用し、中止した場合に見

られる長期的なニューロン活動調節変化において、脳部位および神経伝達物質の違いにより影響の方向性が異なることが明らかとなった。MAP連用後のニューロン活動調節には伝達物質間の相互関係、すなわちネットワークについても考える必要があることが示された。

1. 海馬ニューロン活動調節変化

海馬は情動機能に加え、学習・記憶にも深く関与する脳部位である。MAP投与後には学習障害も引き起こされることが知られている。この海馬のCA1野において記録した集合活動電位に対しセロトニンは用量依存性に抑制的効果を示す。この抑制作用においてMAP投与の影響を検討した。MAP投与中止後約24時間ではセロトニンによる抑制作用にMAP群とコントロール群で差が見られなかった。しかし、5日目にはMAP群のラットより作成した海馬においてセロトニンの抑制作用が増強されていた。10日目にはこのセロトニン抑制作用の増強作用は減弱し、MAP群とコントロール群の間に有意差が認められなくなり、回復の傾向が見られた。

MAP投与中止5日後に観察されたセロトニン抑制作用の増強のメカニズムを明らかにするため、変化に関与する受容体サブタイプについて検討を行った。海馬のCA1野においては、錐体細胞上に5-HT_{1A}受容体と5-HT₄受容体が存在する。5-HT_{1A}受容体の活性化は膜電位の過分極を引き起こしニューロンの活動性を低下させる。一方、5-HT₄受容体は膜電位に脱分極を引き起こしニューロン活動を亢進する方向に働いている。5-HT_{1A}受容体に選択的なアゴニストの8-OH-DPATは集合活動電位を抑制する作用を示した。この8-OH-DPATによる集合活動電位抑制作用はMAP群とコントロール群ともに同程度

の抑制が誘発され、両群間に差が見られなかった。このことはセロトニン抑制作用の増強に抑制性機能をもつ 5-HT_{1A} 受容体の機能亢進は関与しないことを示している。一方、5-HT₄ 受容体に選択的なアゴニストの RS 67333 は集合活動電位を増強する作用を示した。この RS 67333 による集合活動電位増強作用は、コントロール群では観察されたが、MAP 群ではその作用が観察されなかった。このことは MAP 投与により、ニューロン活動促進的機能を持つ 5-HT₄ 受容体の機能が減弱することを示している。すなわち、MAP 中止後 5 日目に見られたセロトニン抑制作用の増強は、その働きの中で促進的に機能している受容体サブタイプの機能が抑制されたことによると考えられた。MAP 投与後の海馬における抑制作用の増強は海馬内のニューロン間の情報伝達を減らすことになり、MAP 投与によって引き起こされる学習障害等の原因となることが推測される。

2. 側坐核ニューロン活動調節変化

2-1. ドパミン性調節

ドパミン性調節については初年度にスライスパッチクランプ法で過分極を引き起こす、ドパミン D2 受容体機能の亢進が MAP 投与により起こることが明らかとなった。この亢進には受容体サブタイプの mRNA 発現パターンの変化によるものではなかった。ドパミン受容体機能変化の実際のシナプス伝達における役割を検討したところ、ドパミンは側坐核において側坐核内の局所刺激により記録された(シナプスを介する反応であることを確認した)集合活動電位を抑制する作用を示した。このドパミンによる集合活動電位抑制作用は、MAP 投与後約 24 時間では、コントロール群に対して MAP 群で抑制が減弱する傾向が見られた。しかし、5 日目には逆に MAP 群でドパミンによる抑制作用が増強されることが示された。このドパミン調節の変化の方向性はこれまでの *in vivo* での単一ニューロン記録の結果と矛盾しないものであった。ドパミン受容体サブタイプの発現パターンに変化が見られなかったことから、ドパミン性機能亢進には細胞内情報伝達系などの

亢進の可能性が示唆された。

2-2. セロトニン性調節

続いて、側坐核の集合活動電位に対するセロトニンの作用を検討したところ、セロトニンはその集合活動電位を抑制するように働いた。MAP 投与中止後約 24 時間では、セロトニンによる抑制作用に MAP 群とコントロール群の間で差は認められなかった。しかしながら、投与後 5 日目においてはコントロール群では約 24 時間後と同様の抑制作用が認められたのに対して、MAP 群ではその抑制作用がほとんど観察されなかった。すなわち、5 日目にはセロトニン抑制作用が消失することが明らかとなった。このセロトニン抑制作用の減弱は 10 日目には回復の傾向が見られたが、統計的な有意差はないものの抑制の減弱の傾向は残存していた。

次に、この抑制の消失に関与する受容体サブタイプを明らかにするため海馬では主たる抑制作用を担う 5-HT_{1A} 受容体について検討した。5-HT_{1A} 受容体は *in vivo* での側坐核単一ニューロン記録においてその活動を抑制するように働くことが報告されている。今回、海馬で用いた用量の 10 倍の濃度を使用した。コントロール群と MAP 群ともに 10-20%程度の抑制が観察されたのみであり、両群の抑制程度に差は見られなかった。5-HT_{1A} 受容体については、さらに高用量での検討が必要と考えられた。側坐核には他に 5-HT_{1B}、5-HT₃、5-HT₄ 受容体も存在するので、これらの関与についても検討が必要であると考えられる。加えて、このセロトニン系の調節変化と先のドパミン系調節変化の相互関係についても検討することで、側坐核内の総合的な調節ネットワークが明らかになるものと考えられる。

この側坐核での MAP 投与後のセロトニン抑制の減弱は側坐核内の興奮性シナプス伝達(おそらくグルタミン酸を伝達物質とする)を促進するように働くと考えられ、精神依存の発現に関与するものと考えられる。セロトニン機能の変化は MAP 投与により見られる不安・焦燥などや MAP 中止後に見られるうつ様症状の原因となることも考えられる。

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) Muhammad Akbar, Kumatoshi Ishihara, Masashi Sasa, Yoshimi Misu. Inhibition by L-3,4-dihydroxyphenylalanine of hippocampal CA1 neurons with facilitation of noradrenaline and γ -aminobutylic acid release. *European Journal of Pharmacology* 414 (2001) 197-203.
- 2) Kumatoshi Ishihara, Masashi Sasa Potentiation of 5-HT₃ receptor functions in the hippocampal CA1 region of rats following repeated electroconvulsive shock treatment. *Neuroscience Letters* 307 (2001) 37-40.
- 3) Taku Amano, Hiroko Amano, Hiroaki Matsubayashi, Kumatoshi Ishihara, Tadao Serikawa, Masashi Sasa Enhanced Ca²⁺ influx with mossy fiber stimulation in hippocampal CA3 neurons of spontaneously epileptic rats. *Brain Research* 910(1-2) (2001) 199-203.
- 4) 石原熊寿, 笹 征史 シグマ受容体を介するニューロン活動調節 *日本神経精神薬理学雑誌* 22(1): 23-30, 2002
- 5) Satoshi Mukai, Hiromu K. Mishima, Keisuke Shoge, Makoto Shinya, Kumatoshi Ishihara, Masashi Sasa, Existence of ionotropic glutamate receptor subtypes in cultured rat retinal ganglion cells obtained by the magnetic cell sorter method and inhibitory effects of 20-hydroxyecdysone, a neurosteroid, on the glutamate response. *Japanese Journal of Pharmacology* 89 (1) 44-52 (2002) May
- 6) Ryosuke Hanaya, Masashi Sasa, Yoshihiro Kiura, Kumatoshi Ishihara, Tadao Serikawa, Kaoru Kurisu, Epileptiform burst discharges in hippocampal CA3 neurons of young but not mature Noda epileptic rats (NER). *Brain Research* 950(1-2) 317-320 (2002) Sept
- 7) Hai-Dun Yan, Kumatoshi Ishihara, Tadao Serikawa, Masashi Sasa, Activation by N-acetyl-L-aspartate of acutely dissociated hippocampal neurons in rats via metabotropic

glutamate receptors. *Epilepsia* 44 (9) 1153-1159 (2003)

- 8) Takeshi Kimura, Kumatoshi Ishihara, Koichiro Ozawa, Masashi Sasa, Augmentation of serotonin-induced inhibition of neuronal activity in the hippocampus following repeated treatment with methamphetamine. *Annals New York Academy of Sciences*. In press.

2. 学会発表

- 1) Satoshi Mukai, Hiromu K. Mishima, Makoto Shinya, Keisuke Shoge, Kumatoshi Ishihara, Masashi Sasa Inhibitory effect of neurosteroid on glutamate-induced currents in cultured rat retina. 2001 Annual Meeting of the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) Fort Lauderdale 2001, 4
- 2) Masashi Sasa, Kumatoshi Ishihara Role of σ receptors in hippocampal CA1 neurons. 第24回 Annual Meeting of Canadian College of Neuropsychopharmacology シンポジウムカナダ, Banff 2001, 6
- 3) 巖 海燉, 松林弘明, 花谷亮典, 天野 託, 石原熊寿, 芹川忠夫, 笹 征史 自然発症てんかんラット(SER)海馬急性単離ニューロンに対する Vigabatorin の作用 第99回日本薬理学会近畿部会 広島 2001, 6
- 4) 向井 聖, 三嶋 弘, 新矢誠人, 正化圭介, 石原熊寿, 笹 征史 ラット培養網膜神経節細胞における電位依存性カルシウムチャンネルの存在とベタキソロールによる抑制効果 第21回日本眼薬理学会・第13回国際眼研究会議日本部会 東京 2001, 9
- 5) 石原熊寿, 笹 征史 海馬CA1野ニューロンの5-HT₄受容体を介する興奮作用と反復電撃けいれんショック処置による無影響 第24回日本神経科学・第44回日本神経化学合同大会 京都 2001, 9
- 6) 巖 海燉, 松林弘明, 天野 託, 石原熊寿, 花谷亮典, 栗栖 薫, 芹川忠夫, 笹 征史 N-Acetyl-L-aspartate による代謝型グルタミン

- 酸受容体を介するラット海馬ニューロンの活性化 第35回日本てんかん学会 東京 2001, 9
- 7) 石原熊寿, 大亀晋仁, 吉井美智子, 小澤光一郎, 笹 征史 反復電撃痙攣ショック処置による5-HT_{1A}受容体を介する海馬CA1野ニューロン活動抑制作用の増強—集合活動電位を用いた検討— 第31回日本神経精神薬理学会年会 (CINP regional meeting 2001) 広島 2001, 10
- 8) Masashi Sasa, Kumatoshi Ishihara, Hai-Dun Yan, Tadao Serikawa Inward current induced by N-acetyl-L-aspartate in acutely dissociated hippocampal neurons. 第31回 Annual Meeting of Society for Neuroscience San Diego, USA, 2001, 11
- 9) Masashi Sasa, Hai-Dun Yan, Kumatoshi Ishihara N-Acetyl-L-Aspartate activates metabotropic glutamate receptors in hippocampal neurons 40th Annual Meeting of American Society of Neuropsychopharmacology, Hawaii, USA, 2001, 12
- 10) 向井 聖, 三嶋 弘, 新矢 誠人, 正化 圭介, 石原熊寿, 笹 征史 ラット培養網膜神経節細胞におけるベタキソロールの作用: ホールセルパッチクランプ法による研究 第75回日本薬理学会年会 熊本 2002, 3
- 11) 関 貴弘, 松林 弘明, 天野 託, 石原熊寿, 北田 一博, 芹川 忠夫, 笹 征史 組換えアデノウイルス側脳室投与による aspartoacylase 遺伝子導入の tremor rat 欠神様発作に対する抑制効果 第75回日本薬理学会年会 熊本 2002, 3
- 12) 石原熊寿 セロトニン神経系によるニューロン活動調節—セロトニン受容体と精神神経機能の関係について— 第4回新潟臨床薬理フォーラム 特別講演 新潟 2002, 5
- 13) Masashi Sasa, J. Cai, Hai-Dun Yan, Takahiro Seki, Kumatoshi Ishihara, Tadao Serikawa, Antiepileptic effects of levetiracetam on tonic convulsion and absence-like seizures of spontaneously epileptic rats (SER). XXIII CINP congress, Montreal, 2002, 6
- 14) Masashi Sasa, Hai-Dun Yan, Kumatoshi Ishihara, Takashi Nagayama, Tadao Serikawa, Is levetiracetam distinct from conventional antiepileptic drugs by antiepileptigenic properties in spontaneously epileptic rats? 第36回日本てんかん学会・第4回アジア太平洋てんかん学会議合同学会(AOEO) 軽井沢 2002, 9
- 15) 笹 征史, 巖 海燧, 石原熊寿, 天野 託, 関 貴弘 虚血誘発ラット前庭神経内側核ニューロン活動抑制の L-threo-DOPS による回復作用 第32回日本神経精神薬理学会年会 前橋 2002, 10
- 16) 石原熊寿, 巖 海燧, 笹 征史, 芹川忠夫 Vigabatrin, GABA transaminase 阻害薬, による誘発電流—自然発症てんかんラット (SER)海馬急性単離ニューロンにおけるパッチクランプ法による検討— 第32回日本神経精神薬理学会年会 前橋 2002, 10
- 17) Kumatoshi Ishihara, Hai-Dan Yan, Ryosuke Hanaya, Kaoru Kurisu, Tadao Serikawa, Masashi Sasa, Abnormal calcium channel activity in acutely dissociated hippocampal CA3 neurons of spontaneously epileptic rats (SER). 32nd Annual Meeting Society for Neurosciences, Orland (USA), 2002, 11
- 18) 蔡 際群, 石原熊寿, 花谷亮典, 岐浦禎展, 栗栖 薫, 芹川忠夫, 笹 征史 トレモアラットにおける欠神様発作の半優性遺伝 第76回日本薬理学会年会 福岡 2003, 3
- 19) Kumatoshi Ishihara, Takeshi Kimura, Masashi Sasa, Augmentation of serotonin-induced inhibition of neuronal activity in the hippocampus following repeated treatment with methamphetamine. Satellite meeting of the International Society for Neurochemistry and Japanese Forum on Nicotine and Drug Dependence Studies. Kyoto, 2003, 7-8

- 20) Kumatoshi Ishihara, Hai-Dun Yan, Tadao Serikawa, Masashi Sasa Change in calcium channel properties in hippocampal CA3 neurons of spontaneously epileptic rat (SER).
The 1st International Symposium of Neurobehavioral Pharmacology 岡山 2003, 9
- 21) 木村丈司, 石原熊寿, 小澤光一郎, 笹 征史
メタンフェタミン反復投与後の興奮性 5-HT₄受容体機能減弱を介した海馬ニューロン活動に対するセロトニン性抑制の増強
第104回日本薬理学会近畿部会 大阪 2003, 11

「薬物依存発症時における覚醒剤の体内動態の変化に関する研究」

3 年間のまとめ

分担研究者 長谷川高明
(名古屋大学医学部保健学科)

メタンフェタミン(METH)は薬物依存惹起薬として知られおり、その連用によりヒトおよび動物では脳内モノアミンの枯渇やモノアミントランスポーターの機能低下を含む神経毒性が観察される。この神経毒性発現のメカニズムを解析することはMETH依存の阻止に重要であると考えられ、これまでに様々な神経薬理的検討が行われてきた。

我々はこのようなアプローチとは別にMETHの体内挙動そのものに観点を置き、METH依存形成のメカニズムを検討してきた。その結果、別のMETH依存メカニズム探索のための動物モデルであるMETH逆耐性モデルにおいて、METHそのものの血中濃度あるいは脳移行性に変化が生じることが明らかになった。

この3年間の検討ではMETH神経毒性モデルに焦点を置き、神経毒性モデル形成時あるいは形成後のMETH体内動態について検討を行った

1. METH神経毒性形成時のMETH体内動態の解析

METH神経毒性モデル作成に用いられるMETHの短時間連続投与を行ったときのMETH体内動態を検討した。すなわち、METH(5 mg/kg)を2時間おきに4回投与し、その間の血中濃度推移を評価した。その結果、

METH血漿中濃度は投与を繰り返すごとに高値となり、3回目投与30分後のMETH血漿中濃度は初回投与の約2倍に、4回目投与30分後のMETH血漿中濃度は初回投与の約4倍に達することが明らかとなった。METH血漿中濃度-時間推移より薬物動態学的パラメーターを算出したところ、METH反復投与によってMETH組織分布が有意に低下することが観察された。

次に、METH組織分布の低下を確認する目的で、METH反復投与後のMETH組織内濃度/血漿中濃度比(K_p 値)を測定した。4回投与2時間後の K_p 値は初回投与2時間後の K_p 値より、脳および腎臓のいずれの組織においても著明に低下していることが明らかとなった。

以上の結果より、METH神経毒性モデル作成時には、METH体内動態が変化していることが明らかになった。

2. METH神経毒性形成後のMETH体内動態の解析

METH神経毒性モデル形成後のMETH体内動態を解析を行った。すなわち、すなわち、METH(3 mg/kg)を2時間おきに4回投与して神経毒性モデルを作成し、その1週間あるいは1ヵ月後にMETH(5 mg/kg)を再投与し、その間の血中濃度推移および脳組織間隙内

濃度を評価した。その結果、METH 血漿中濃度には影響が見られなかったものの、METH 脳組織間隙内濃度は1週間あるいは1ヵ月後のいずれにおいても対照群に比して有意に上昇することが明らかになった。

また、モデル作成より1週間後あるいは1ヵ月後の METH 脳組織移行性についても検討を行った。その結果、モデル作成1週間後ではモデル作成中と同程度の著明な METH 脳組織移行低下が観察されること、1ヵ月後には METH 脳組織移行が若干回復するものの以前、コントロールレベルには復さないことが明らかになった。

したがって、長期的に持続する METH 脳組織移行の低下は METH 脳組織間隙内濃度の上昇に一部関与していることが示唆された。

3. METH 神経毒性形成後の OCT3 発現の解析

我々は先に METH 逆耐性モデルでは METH 脳移行性の上昇とともに、OCT3 の発現低下が起きることを報告している。そこで、METH 神経毒性モデル形成後の OCT3 の発現についても検討を行った。その結果、METH 神経毒性モデル作成後1週間および1ヶ月のいずれにおいても、脳における OCT3 の発現が低下していることが明らかになった。

総括

この3年間の研究より、METH 神経毒性モデルにおいても MAP 体内動態が変化していることが明らかになった。したがって、METH 依存における神経機能の変化には METH 体内動態および脳内移行の変化が一部関与していることが示唆された。また、有機カチオン輸送

担体 OCT3 の発現がモデル作成より1ヶ月を経過しても低下していることも明らかになった。先に我々は METH 逆耐性モデルにおいても OCT3 が長期的に低下することを見出しており、この結果を考えあせると、OCT3 の発現低下が METH 依存の維持、再燃に関与している可能性が考えられる。OCT3 の発現調節機構および調節薬の探索を行うことが今後の課題となった。

【研究業績】

1. 発表論文

- 1) Takeshita K, Fujimori T, Kurotaki Y, Honjo H, Tsujikawa H, Yasui K, Lee JK, Kamiya K, Kitaichi K, Yamamoto K, Ito M, Kondo T, Iino S, Inden Y, Hirai M, Murohara T, Kodama I, Nabeshima YI. Sinoatrial Node Dysfunction and Early Unexpected Death of Mice With a Defect of *klotho* Gene Expression. *Circulation*. 2004 *In press*.
- 2) Nakajima A., Yamada K., Nagai T., Uchiyama T., Miyamoto Y., Mamiya T., He J., Nitta A., Mizuno M., Tran M.-H., Seto A., Yoshimura M., Kitaichi K., Hasegawa T., Saito K., Yamada Y., Seishima M., Sekikawa K., Kim H.-C., Nabeshima T. Role of TNF- α in methamphetamine-induced drug dependence and neurotoxicity. *J Neurosci*. 2004 Mar 3;24(9):2212-25.
- 3) Kitaichi K., Nakayama H., Ueyama J., Nadai M., Baba K., Takagi K., Takagi K., Ohta M., Hasegawa T. Down-regulation of Cytochrome P450 Proteins and its Activities by Shiga-Like Toxin II from *Escherichia coli* O157:H7 *Biochem Pharmacol*. 2004

- Apr 15;67(8):1427-35.*
- 4) Sugie M., Asakura E., Zhao Y. L., Torita S., Nadai M., Baba K., Kitaichi K., Takagi K., Takagi K., Hasegawa T. Possible Involvement of the Drug Transporters P Glycoprotein and Multidrug Resistance-Associated Protein Mrp2 in Disposition of Azithromycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48(3) 809-814. 2004
 - 5) Asakura E., Nakayama H., Sugie M., Zhao Y. L., Nadai M., Kitaichi K., Shimizu A., Miyoshi M., Takagi K., Takagi K., Hasegawa T. Azithromycin reverses anticancer drug resistance and modifies hepatobiliary excretion of doxorubicin in rats, *Eur J Pharmacol*, 484(2-3) 333-339. 2004.
 - 6) Takagi K., Tatsumi Y., Kitaichi K., Iwase M., Shibata E., Nakao M., Matsumoto T., Takagi K., Hasegawa T. A sensitive colorimetric assay for polyamines in erythrocytes using oat seedling polyamine oxidase. *Clinica Chimica Acta*, 340 219-217. 2004.
 - 7) Ueyama J., Kitaichi K., Iwase M., Takagi K., Takagi K. Hasegawa T. Application of ultrafiltration method to measurement of catecholamines in plasma of human and rodents by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B*, 798 35-41. 2003.
 - 8) Matsushima M., Kitaichi K., Tatsumi Y., Hasegawa T., Takagi K. The mRNA expression of calcitonin receptor-like receptor/receptor activity modifying proteins in rat peritoneal mast cells. *Eur J Pharmacol*, 464 111-114. 2003.
 - 9) Kitaichi K., Morishita Y., Doi Y., Ueyama J., Matsushima M., Takagi K., Hasegawa T. Altered pharmacokinetic properties of methamphetamine in rats having behavioral sensitization to methamphetamine. *Eur J Pharmacol*, 464 39-48. 2003.
 - 10) Zhao Y. L., Du J., Kanazawa H., Cen X. B., Takagi K., Kitaichi K., Tatsumi Y., Takagi K., Ohta M., Takagi K., Hasegawa T. Shiga-like Toxin II modifies brain distribution of a P-glycoprotein substrate, doxorubicin, and P-glycoprotein expression in mice. *Brain Res*, 956 246-253, 2002.
 - 11) Suzuki R., Kimura T., Kitaichi K., Tatsumi Y., Matsushima M., Shibata E., Zhao Y. L., Baba K., Hasegawa T., Takagi K. Platelet factor 4 fragment induces histamine release from rat peritoneal mast cells *Peptides*. 23 1713-1717. 2002.
 - 12) Zhao Y. L., Du J., Kanazawa H., Sugawara A., Takagi K., Kitaichi K., Tatsumi Y., Takagi K., Hasegawa T. Effect of endotoxin on doxorubicin transport across blood-brain barrier and P-glycoprotein function in mice. *Eur J Pharmacol*, 445 115-123. 2002.
 - 13) Zhao Y. L., Cen X. B., Ito M., Yokoyama K., Kitaichi K., Nadai M., Ohta M., Takagi K., Hasegawa T. Shiga-like Toxin II derived from *E. coli* O157:H7 modifies renal handling of levofloxacin in rats. *Antimicrob Agents Chemother*, 46 1522-1528. 2002.
 - 14) Zhao Y. L., Cai S. H., Wang L., Kitaichi K., Tatsumi Y., Nadai M., Yoshizumi H., Takagi K., Takagi K., Hasegawa T. Possible involvement of P-glycoprotein on the renal