

- excretion of levofloxacin. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 29, 167-172, 2002.
- 15) Takeuchi M., Tatsumi Y., Kitaichi K., Baba K., Suzuki R., Shibata E., Takagi K., Miyamoto K.-I., Hasegawa T., Takagi K. Selective Phosphodiesterase Type 4 Inhibitors Reduce the Prolonged Survival of Eosinophils Stimulated by Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor. *Biol Pharm Bull* 252, 184-187, 2002.
- 16) Yoshida N., Shimizu Y., Kitaichi K., Hiramatsu K., Takeuchi M., Ito Y., Kume H., Yamaki K., Suzuki R., Shibata E., Hasegawa T., Takagi K. Differential effect of phosphodiesterase inhibitors on IL-13 release from peripheral blood mononuclear cells. *Clin Exp Immunol*, 126, 384-389, 2001.
- 17) Nadai M., Zhao Y. L., Wang L., Nishio Y., Takagi K., Kitaichi K., Takagi K., Yoshizumi Y., Hasegawa T. Endotoxin impairs biliary transport of sparfloxacin and its glucuronide in rats. *Eur J Pharmacol*. 432, 99-105, 2001.
- 18) Yoshida M., Kimura T., Kitaichi K., Suzuki R., Baba K., Matsushima M., Tatsumi Y., Shibata E., Takagi K., Hasegawa T., Takagi K. Induction of histamine release from rat peritoneal mast cells by histatins. *Biol Pharm Bull*, 24, 1267-1270, 2001.
- 19) Ando H., Nishio Y., Ito K., Nakao A., Wang L., Zhao Y. L., Kitaichi K., Takagi K., Hasegawa T. Effect of endotoxin on P-glycoprotein-mediated biliary and renal excretion of rhodamine-123 in rats. *Antimicrob Agents Chemother*, 45, 3462-3467, 2001.
- 20) Yoshida M., Yoshida H., Kitaichi K., Hiramatsu K., Kimura K., Ito Y., Kume H., Yamaki K., Suzuki R., Shibata E., Hasagawa T., Takagi K. Adrenomedullin and proadrenomedullin N-terminal 20 peptide induce histamine release from rat peritoneal mast cell. *Regul Peptides*, 101, 163-168, 2001.
- 21) Iwase M., Yokota M., Kitaichi K., Wang L., Takagi K., Nagasaka T., Izawa H., Hasegawa T. Cardiac functional and structural alterations induced by endotoxin in rats: importance of platelet-activating factor. *Crit Care Med*, 29, 609-617, 2001.
- 22) Kitaichi K., Ito Y., Aoyama N., Fukuda M., Nakayama H., Takagi K., Hasegawa T. 2003. The altered disposition of methamphetamine in the model of methamphetamine-induced neurotoxicity. In *Current Status of Dependence/Abuse Studies: Cellular and Molecular Mechanisms of Drugs of Abuse and Neurotoxicity* (Eds. Ali S., Nabeshima T.) *Ann NY Acad Sci*, in press.
- 23) 北市清幸, 森下友喜, 長谷川高明. 逆耐性動物モデルにおけるメタンフェタミンの生体内挙動変化. *日本神経精神薬理学雑誌*, 21 133-144, 2001. [Pharmacokinetic behavioral changes of methamphetamine in methamphetamine-sensitized animal model] *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi*. 2001 Nov;21(5):133-44.
- 24) 北市清幸, 土井悠子, Zhao Yin Lan, 巽康彰, 高木健次, 高木健三, 長谷川高明.

K. pneumoniae 由来エンドトキシンによる肝薬物代謝酵素活性低下および一酸化窒素過剰産生に対するサイトカインの関与. エンドトキシン研究4, 125-130, 2001.

2. 学会発表

1. Kitaichi K., Fukuda M., Ito Y., Aoyama N., Takagi K., Hasegawa T. Altered disposition of methamphetamine during the development of methamphetamine-induced neurotoxicity in rats. *33rd Annual Meeting Society for Neuroscience*, New Orleans, LN, USA, November 9-12, 2003.
2. Kitaichi K., Ito Y., Aoyama N., Nakayama K., Takagi K., Hasegawa T. The emergence of altered disposition of methamphetamine in the model of methamphetamine-induced neurotoxicity. *ISN Satellite Meeting "Current Status of Dependence/Abuse Studies: Cellular and Molecular Mechanisms of Drugs of Abuse and Neurotoxicity" (Abstracts p118)*, Kyoto, Japan, July 29-August 1, 2003.
3. Ueyama J., Kitaichi K., Doi Y., Takagi K., Hasegawa T. The lack of involvement of TNF- α , IL-1 and PAF in endotoxin-induced decrease in hepatic drug-metabolizing enzyme activity. *The 18th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (Clin Chem Lab Med 40 suppl S297)*, Kyoto, Japan, October 2002.
4. Kitaichi K., Morishita Y., Ueyama J., Matsushima M., Takagi K., Takagi K., Hasegawa T. Methamphetamine: sensitization and pharmacokinetics. *XII World Congress of Psychiatry*, Yokohama, Japan, August 2002.
5. Kitaichi K., Morishita Y., Ueyama J., Matsushima M., Zhao Y.L., Takagi K., Hasegawa T. Pharmacokinetic changes of methamphetamine and their mechanisms in rats having behavioral sensitization to methamphetamine. *23rd Congress of Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum*, Montreal, Canada, June 2002.
6. Kitaichi K., Morishita Y., Doi Y., Ueyama J., Tatsumi Y., Takagi K., Takagi K., Hasegawa T. Altered disposition of methamphetamine in rats repeatedly treated with methamphetamine: the possible involvement of organic cation transporters. *31th Annual Meeting Society for Neuroscience*, San Diego, CA, USA, November 2001.
7. Kitaichi K., Morishita Y., Doi Y., Ueyama J., Tatsumi Y., Takagi K., Shibata E., Takagi K., Hasegawa T. Repeated administration of methamphetamine alters pharmacokinetic parameters of methamphetamine in rats: the possible involvement of organic cation transporters. *Congress of Collegium Internationale Neuro-Psychopharmacologicum, Regional meeting, (Abstracts p286)*, Hiroshima, Japan, October 2001.
8. 北市清幸, 伊藤佑希子, 福田昌也, 中山寛尚, 青山 渚, 高木健三, 長谷川高明. 覚醒剤による神経毒性モデルにおけるメタンフェタミン中枢移行性の経時的変化. 第13回神経行動薬理若手研究者の集い,

- 2004.3.7. 神戸.
9. 北市清幸, 伊藤佑希子, 青山 渚, 福田昌也, 高木健三, 長谷川高明. メタンフェタミン神経毒性モデルにおけるメタンフェタミンの生体内挙動に関する検討. 第33回日本神経精神薬理学会年会 (発表要旨集 p.120) (日本神経精神薬理学雑誌***), 2003.10.8-10 奈良.
10. 北市清幸, 福田昌也, 森下友喜, 高木健次, 高木健三, 長谷川高明. メタンフェタミンによる神経毒性惹起時のメタンフェタミン生体内挙動の解析. 第26回日本神経科学大会, 2003.7.24-26 名古屋.
11. 北市清幸, 森下友喜, 松島充代子, 高木健次, 高木健三, 長谷川高明. メタンフェタミン神経毒性モデルにおけるメタンフェタミン生体内挙動の変化. 第123回日本薬学会年会, 2003.3.27-29 長崎.
12. 北市清幸, 森下友喜, 上山 純, 中山寛尚, 巽 康彰, 高木健三, 長谷川高明. メタンフェタミン神経毒性モデルラット作成時のメタンフェタミンの生体内挙動に関する検討. 第32回日本神経精神薬理学会年会 (日本神経精神薬理学雑誌 22 275, 2002), 2002年10月 前橋.
13. 北市清幸, 森下友喜, 上山 純, 中山寛尚, 高木健三, 長谷川高明. ラットにおけるメタンフェタミン神経毒性モデル作成時のメタンフェタミン体内動態の変化. 第8回日本行動薬理研究会(要旨集 p. 62), 2002年8月名古屋.
14. 森下友喜, 北市清幸, 巽 康彰, 高木健次, 柴田英治, 高木健三, 長谷川高明. 覚醒剤連続投与により作製した覚醒剤逆耐性動物とこれを用いた覚醒剤依存メカニズムの解析. 第49回日本実験動物学会総会(講演要旨集 p. 192), 2002年5月名古屋.
15. 北市清幸, 森下友喜, 土井悠子, 上山純, 巽 康彰, 高木健次, 柴田英治, 高木健三, 長谷川高明. 依存性薬物メタンフェタミンによって惹起される逆耐性現象に及ぼすメタンフェタミン体内動態変化の関与. 第31回日本神経精神薬理学会年会 (日本神経 90 ク神薬理学雑誌 21 314, 2001), 2001年10月広島.
16. 北市清幸, 森下友喜, 巽 康彰, 高木健次, 柴田英治, 高木健三, 長谷川高明. メタンフェタミン逆耐性現象におけるメタンフェタミン体内動態の変化. 第7回日本行動薬理研究会(要旨集 p. 22), 2001年8月猪苗代.

「覚せい剤精神依存形成に関わる遺伝子発現の研究」 3年間のまとめ

分担研究者: 船田正彦

研究協力者: 周曉華、佐藤美緒、和田清

(国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部)

薬物依存の発症機序やその病態について、脳内の遺伝子発現の変化という観点から精力的な研究がなされている。薬物依存関連遺伝子の同定は、薬物依存の診断の指標となり、更には原因遺伝子をターゲットにした遺伝子治療および新規治療薬開発への応用が可能になると予想される。薬物投与による遺伝子発現の変動を探索する方法として、DNA chip 法(マイクロアレイ法)が注目されている。本法は、ゲノムプロジェクト後の全遺伝子情報を有効に利用するための技術として重要な役割を担っており、薬物依存形成の責任遺伝子の同定にも応用が期待できる。本研究では methamphetamine (MAP) による精神依存および逆耐性動物モデルを作成し、マイクロアレイ法を用いて MAP 慢性投与後および休薬時において変動する脳内遺伝子群のスクリーニングを行った。

1. マイクロアレイによる遺伝子発現の解析

MAP 慢性投与 (2 mg/kg, s.c., 7 日間) で、MAP 精神依存および運動活性における逆耐性が形成されていることを確認した。この MAP 慢性投与動物の中脳辺縁系ドパミン神経系の細胞体である腹側被蓋野を含有する midbrain および主要投射先である側坐核を含む limbic forebrain における mRNA の変動をマイクロアレイ法により解析した。900 種の遺伝子発現を検討し、安定した発現量が認められた遺伝子群について変化率を算出した。

Midbrain: 900 種の遺伝子の発現変化を検討した結果、MAP 急性投与群では 708 種、MAP 慢性投与群では 698 種および MAP 休薬群では 696 種の遺伝子において安定した発現量が認められた。安定した発現量が認められた遺伝子群について解析を行った結果、MAP 休薬群においては 21 個の遺伝子が増加 (1.5 倍以上) し、4 個の遺伝子が低下 (1.5 倍以下) していた。MAP 休薬群を中心に MAP 急性投与群および慢性投与群を比較したところ、

慢性投与から休薬時まで変動が維持される遺伝子は 7 (増加 3、減少 4) 個であった。MAP 急性投与、慢性投与および休薬時まで変動が維持されている遺伝子としては、glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) および未知遺伝子 3 個であった。

Limbic forebrain: 900 種の遺伝子の発現変化を検討した結果、MAP 急性投与群では 689 種および MAP 慢性投与群では 671 種の遺伝子において安定した発現量が認められた。安定した発現量が認められた遺伝子群について変化率を算出した。MAP 休薬群においては、10 個の遺伝子が増加し、18 個の遺伝子が低下していた。MAP 急性投与および慢性投与で変動が維持されている遺伝子としては、遺伝子 6 (既知: 3、未知: 3) 個であった。

Midbrain および limbic forebrain における MAP 急性投与群および慢性投与群を解析したところ、MAP 急性投与から慢性投与で変動が維持される遺伝子 4 (既知: 1、未知: 3) 個を見出した。既知遺伝子である GILZ は、MAP 急性投与 24 時間後から休薬後までの長期間にわたり持続した増加が認められた。

2. GILZ の役割

MAP 慢性投与時に GILZ antisense を前処置したところ、MAP 逆耐性形成が有意に抑制された。同様に、MAP による精神依存形成も抑制された。MAP 慢性投与後、血中 corticosterone 量を測定したところ、休薬群において有意な増加が認められた。また、MAP 慢性投与群に MAP を再投与したところ血中 corticosterone 量は有意に増加していた。

3. MAP 慢性投与の Raf-1 に及ぼす影響

MAP 慢性投与後、選択的 Raf-1 拮抗薬である GW-5074 を MAP 再投与前に処置したところ MAP 逆耐性の発現は有意に抑制された。また、MAP 慢性投与群に MAP を再投与した場合、limbic

forebrainにおいてリン酸化 Raf-1 タンパク質量は有意に増加していた。一方、この効果は GILZ antisense の前処置により有意に抑制された。

[考察]

覚せい剤による逆耐性および精神依存形成には中脳辺縁系ドパミン神経系の関与が示唆されている¹⁾。そこで、ドパミン神経系の細胞体である腹側被蓋野を含有する midbrain および主要投射先である側坐核を含有する limbic forebrain を標的部位として、マイクロアレイを利用した mRNA 発現の変動を検討した。MAP 休薬群を中心に解析を行い、(1) MAP 休薬のみ、(2) MAP 慢性投与および休薬で変化が維持されるもしくは(3) MAP 急性から休薬時まで変化が維持される遺伝子を同定した。

今回の解析で MAP 急性投与 24 時間後から休薬時まで長期間 mRNA レベルの増加が認められた GILZ の役割について検討した。GILZ antisense の前処置により MAP 精神依存形成および逆耐性形成が抑制されることから、GILZ mRNA の誘導は MAP 精神依存および逆耐性形成に関与することが明らかになった。一方、GILZ は glucocorticoid によりその発現が誘導される遺伝子群として同定された経緯があることから、MAP 慢性投与群で、血中 corticosterone 変動について検討した。その結果、MAP 慢性投与群では MAP の再投与により血中 corticosterone 量が増加していることが明らかになった。また、MAP 急性投与では、血中 corticosterone 量に有意な影響は認められなかったことから、MAP 慢性投与によって下垂体副腎系の制御に異常が生じている可能性が示唆された。生体内の corticosterone 量の変動は中脳辺縁系ドパミン神経系に影響を与えることが報告されていることから²⁾、おそらく、MAP 慢性投与によって生じる下垂体副腎系の異常が中脳辺縁系ドパミン神経系に影響を与えているものと考えられる。

最近、GILZ が Raf-1 結合能を有することが報告され、GILZ の作用点として Raf-1 が注目されている³⁾。そこで、MAP 逆耐性発現における Raf-1 の役割を検討した。選択的 Raf-1 拮抗薬の前処置により、MAP 逆耐性発現は抑制された。したがって、MAP 逆耐性発現に Raf-1 が関与していることが明らかに

なった。また、Raf-1 タンパク質量を測定したところ、MAP 慢性投与によってリン酸化 Raf-1 量の増加が認められた。この効果は、GILZ antisense の前処置により抑制された。したがって、MAP による GILZ mRNA の誘導は MAP 精神依存および逆耐性形成に関与し、そのメカニズムに Raf-1 のリン酸化が重要な役割を果していると考えられた。

[結論]

マイクロアレイ法は多数の遺伝子群から薬物の慢性投与で特異的変動を示す遺伝子を同定し、行動や細胞内情報伝達系の変化を含めて、解析すべき遺伝子の決定に有用である。今回の解析結果から MAP 急性投与から休薬時までの長期間変動が維持される GILZ を見出し、MAP 精神依存形成および逆耐性形成に関与することを明らかにした。MAP 慢性投与により下垂体副腎系の制御に障害が生じ、MAP による GILZ の誘導が引き起こされる可能性が示唆された。さらに、GILZ はプロテインキナーゼカスケードのうち Raf-1 のリン酸化機能を調節し、MAP 精神依存形成および逆耐性の発現に関与していると考えられた。

[参考文献]

1. Pierce R.C., Kalivas P.W.: A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev*, 25: 192-216, 1997.
2. Louk J. M., Vanderschuren J., Donne Schmidt, E., et al.: A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioral, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. *J. Neurosci.*, 19(21): 9579-9586, 1999.
3. Ayroldi E., Zollo O., Macchiarulo A., et al.: Glucocorticoid-induced leucine zipper inhibits the Raf-extracellular signal-regulated kinase pathway by binding to Raf-1. *Mol Cell Biol.*, 22(22): 7929-7941, 2002.

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) Funada M., Hara C., Wada K.: Involvement of corticotropin-releasing factor receptor subtype 1 in morphine withdrawal regulation of the brain noradrenergic system. *Eur J Pharmacol*, 430: 277-281, (2001).
- 2) Funada M., Hara C.: Differential effects of psychological stress on activation of the 5-hydroxytryptamine- and dopamine-containing neurons in the brain of freely moving rats. *Brain Res*, 901: 247-251, (2001).
- 3) Sora I., Elmer G., Funada M., Pieper J., Li X.F., Hall F.S., Uhl G.R.: Mu opiate receptor gene dose effects on different morphine actions: evidence for differential in vivo mu receptor reserve. *Neuropsychopharmacology*, 25: 41-54, (2001).
- 4) Funada M., Sato M., Makino Y., Wada K.: Evaluation of rewarding effect of toluene by the conditioned place preference procedure in mice. *Brain Res Proto* 10(1): 47-57, (2002).
- 5) Sato M., Wada K., Funada M.: Alternation of kappa opioid receptor protein following the administration of phencyclidine. *J. Mental Health*, 48, 59-66, (2002).
- 6) Matsui M., Funada M.: Recent progress in the research of the muscarinic acetylcholine receptor subtypes and related diseases. *J. Mental Health*, 48, 43-51, (2002).
- 7) 船田正彦. 揮発性有機溶剤吸入による精神依存性評価装置の開発. *精神保健研究* 49: 29-33 (2003).
- 8) Funada M., Sato M., Zhou, X., Wada K.: Profiling of Methamphetamine-Induced Modifications of Gene Expression Patterns in the Mouse Midbrain. *Neuroscience* (submit).
- 9) Funada M., Zhou, X., Sato M., Makino Y., Wada K.: Role of the Raf-extracellular Signal-Regulated Kinase Pathway on the Expression of Methamphetamine Reward in Mice. *Eur. J. Pharmacol.* (submit)

2. 学会発表

- 1) Funada M., Sato M., Hara C.: Involvement of corticotropin-releasing factor receptor-1 in morphine-induced hyperlocomotion and the rewarding effect in mice. *College on Problems of Drug Dependence, 63th Annual Scientific Meeting, Arizona* (2001).
- 2) Sato M., Wada K., Funada M.: Changes in G protein-activated inwardly rectifying potassium channel protein levels in

- morphine-dependent mice. *College on Problems of Drug Dependence, 63th Annual Scientific Meeting, Arizona*, (2001).
- 3) 佐藤美緒、和田清、船田正彦: モルヒネの慢性投与はマウス海馬の G protein-activated inwardly rectifying potassium channel protein の発現を調節する. 第 31 回日本神経精神薬理学会年会、広島 (2001).
- 4) Funada M., Sato M., Hara C.: Effects of corticotropin-releasing factor receptor-1 antagonist CRA1000 on naloxone-precipitated morphine withdrawal in mice. *CINP, Hiroshima* (2001).
- 5) Funada M., Sato M., Makino Y.: Role of the dopamine receptor on the abused solvent toluene-induced rewarding effect in mice. *College on Problems of Drug Dependence, 64th Annual Scientific Meeting, Quebec City* (2002).
- 6) 船田正彦、佐藤美緒、周曉華: トルエン精神依存形成におけるドパミン神経系の役割. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会、前橋 (2002).
- 7) Funada M.: Conditioned place preference paradigm: a simple and effective method for assessing the rewarding effect of drug. *Jpn. Medical society of alcohol & drug studies. Annual Scientific Meeting, Tokyo* (2002).
- 8) 船田正彦: Conditioned place preference 法: 薬物報酬効果評価のための簡便かつ効果的な方法. 第 37 回日本アルコール・薬物医学会、東京 (2002).
- 9) 船田正彦、佐藤美緒、周 曉華: トルエン報酬効果発現におけるドパミン神経系の役割. 第 32 回日本神経精神薬理学会、群馬 (2002).
- 10) 船田正彦、周 曉華、和田 清: トルエン吸入による脳内モノアミン代謝酵素に対する影響. 第 33 回日本神経精神薬理学会、奈良 (2003).
- 11) Funada, M., Zhou, X., Sato, M. : Role of the dopamine D1 receptor on the abused solvent toluene-induced rewarding effect in mice. 第 76 回日本薬理学会年会、福岡 (2003).

「覚醒剤依存における脳内高電位開口性カルシウムチャネルの機能変化とその分子機構」3年間のまとめ

分担研究者 大熊 誠太郎
(川崎医科大学薬理学教室)

覚醒剤による依存形成については、覚醒剤の主たる薬理作用がシナプス間隙に過剰に存在するモノアミンに起因しており、この変化はモノアミンの放出促進あるいは不活性化機構、特にドパミントランスポーター機能、の低下によると考えられている。一方、アルコール、morphine、nicotineなどの身体依存を誘発する依存性薬物では、共通の神経細胞機能の変化としてL型高電位開口性カルシウムチャネル(HVCC)の機能亢進が生じることを本研究分担者らは報告してきた。

これらの研究経緯から、本研究分担者らは覚醒剤依存における神経細胞のHVCC機能変化について、初代培養マウス大脳皮質神経細胞を用い、低濃度のdopamine(DA)およびセロトニン(5-HT)の連続曝露を行った場合のHVCC機能変化を検討し、併せて依存性薬物のnicotineを連続した場合の変化とを比較検討した。

1. Nicotine長期曝露に伴うHVCCの機能変化

Nicotine(0.1 μ M)の連続曝露は30 mM KCl誘発性 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入を有意に増加させ、この増加はnifedipineによってのみ有意に抑制され、P/QおよびN型HVCC阻害薬は影響を与えなかった。また、 $[^3\text{H}]$ verapamil結合も有意に増加し、この増加はBmax値の増加に起因していることが判明した。

Western blot法による検討の結果、L型HVCC

サブユニットである $\alpha 1C$ 、 $\alpha 1D$ 、 $\alpha 1F$ および $\alpha 2/\delta$ サブユニットの有意な増加が観察されたが、それぞれP/QおよびN型HVCC $\alpha 1$ サブユニットである $\alpha 1A$ および $\alpha 1B$ 発現には変化が認められなかった。

これらの結果から、nicotine連続曝露により誘発される $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入の増加はL型HVCCを構成する $\alpha 1$ サブユニットの発現増加に起因することが判明した。

2. 低濃度DAの連続曝露に伴うHVCCの機能変化

低濃度DA(0.1 μ M)の連続曝露により30 mM KCl誘発性 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入増加が生じ、この増加がD1受容体拮抗薬によってのみ生じていることから、DA連続曝露により生じる $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入にD1受容体の関与が示唆された。D1受容体作動薬であるSKF38393を連続曝露させた後には、30 mM KCl誘発性 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入の増大が誘発された。このSKF38393による30 mM KCl誘発性 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入増加はL型HVCC拮抗薬であるnifedipineによってのみ有意に抑制、P/QおよびN型HVCC拮抗薬は影響を与えなかった。

SKF38393連続曝露後、神経細胞における各種HVCC $\alpha 1$ サブユニットの発現変化についての検討結果から、P/Q型、N型HVCCの $\alpha 1$ サブユニットのみならず、L型HVCC $\alpha 1$ サブユニット

の発現も、非曝露群との間に有意な相違は認められなかった。SKF38393 連続曝露後の神経細胞から調製した顆粒画分への $[^3\text{H}]$ diltiazem 結合は非曝露群に対し、有意な増加を示していた。Scatchard 解析を行ったところ、この結合増加は K_d 値の減少に起因することが判明した。

3. 低濃度 5-HT の連続曝露に伴う HVCC の機能変化

5-HT (1 μM) の連続曝露により 30 mM KCl 誘発性 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入は有意に増加し、この増加はそれぞれ 5-HT 1 および 2 受容体、および 5-HT₃ 受容体拮抗薬である methysergide (MSG) および MDL72222 (MDL) によって有意に抑制され、両拮抗薬を同時に 5-HT 曝露と共に神経細胞に曝露すると、 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入増加は完全に消失した。またこの流入増加は nifedipine によってのみ有意に抑制されたが、P/Q および N 型 HVCC 拮抗薬は影響を与えなかった。

5-HT 連続曝露後の神経細胞における各種 HVCC $\alpha 1$ サブユニットの発現は、P/Q 型、N 型 HVCC の $\alpha 1$ サブユニットのみならず、L 型 HVCC $\alpha 1$ および $\alpha 2/\delta 1$ サブユニットの発現も、非曝露群との間に有意な相違は認められなかった。また $[^3\text{H}]$ diltiazem 結合実験の成績を Scatchard 解析したところ、 $[^3\text{H}]$ diltiazem 結合に対する K_d 値の減少に起因するものであり、 $[^3\text{H}]$ diltiazem 結合部位数には変化が認められないことが判明した。

4. まとめ

身体依存を生じる nicotine の長期曝露では L 型 HVCC 機能亢進が誘発されるが、この亢進は L 型 HVCC の $\alpha 1$ サブユニットの発現増加が原因

となっていることが明らかとなった。なお、アルコールや morphine の場合も nicotine の場合と同様であった。一方、DA および 5-HT では L 型 HVCC 機能亢進が生じるが、この機能亢進には $\alpha 1$ サブユニットの発現増加が認められず、 $\alpha 1$ サブユニットの $[^3\text{H}]$ diltiazem 結合に対する結合親和性の増加によることが判明した。これらの薬物群における L 型 HVCC 機能変化の機序の相違は、身体依存形成機序と精神依存形成機序の相違の解明に有用なデータである可能性が考えられる。

【研究業績】

1. 発表論文

- 1) Katsura M., Shuto K., Mohri Y., Tsujimura A. and Ohkuma S.: Withdrawal from nicotine facilitates diazepam binding inhibitor mRNA expression in mouse cerebral cortex. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 97: 194-198, 2001.
- 2) Shirovani K., Katsura M., Higo A., Takesue M., Mohri Y., Shuto K., Tarumi C. and Ohkuma S.: Suppression of Ca^{2+} influx through L-type voltage-dependent calcium channels by hydroxyl radical in mouse cerebral cortical neurons. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 92: 12-18, 2001.
- 3) Suwaki H., Kalant H., Higuchi S., Crabbe J.C., Ohkuma S., Katsura M., Yoshimura M., Stewart R.C., Li T.K. and Weiss F.: Recent research on alcohol tolerance and dependence. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 25: 189S-196S, 2001.
- 4) Katsura M., Takesue M., Shuto K., Mohri Y., Tarumi C., Tsujimura A., Shirovani K. and Ohkuma S.: NMDA receptor activation enhances diazepam binding inhibitor and its mRNA expressions in mouse cerebral cortical neurons. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 88: 161-165, 2001.
- 5) Ohkuma S. and Katsura M.: Nitric oxide and peroxynitrite as factors to stimulate neurotransmitter release in the CNS. *Prog. Neurobiol.* 64: 97-108, 2001.
- 6) Ohkuma S., Katsura M. and Tsujimura A.: Alterations in cerebral diazepam binding inhibitor expression in drug dependence: a possible biochemical alteration common to drug dependence. *Life Sci.* 68: 1215-1222, 2001.
- 7) Ohkuma S., Katsura M., Higo A., Shirovani K., Hara

- A., Tarumi C. and Ohgi T.: Peroxynitrite affects Ca^{2+} influx through voltage-dependent calcium channels. *J. Neurochem.* 76: 341-350, 2001.
- 8) 大熊誠太郎、桂 昌司: アルコール依存の分子機構. *脳* 21 4: 35-39, 2001.
 - 9) 桂 昌司: 細胞内活性調節タンパク質のモルヒネ耐性発現における役割. *日薬理誌* 117: 316, 2001.
 - 10) 桂 昌司: 薬物依存形成に伴う脳内 diazepam binding inhibitor (DBI) の機能的変化とその意義. *日薬理誌* 117: 159-168, 2001.
 - 11) 大熊誠太郎、桂 昌司: “GABAB 受容体” 7 回膜貫通型受容体研究の新展開 (佐藤公道、赤池昭紀編) 医歯薬出版 (東京), pp.33- 37, 2001.
 - 12) 桂 昌司、大熊誠太郎: “アルコール依存形成における脳内 diazepam binding inhibitor (DBI) 発現の機能的関連性” 臨床薬理の進歩 2002 薬物療法と QOL (海老原昭夫、佐久間 昭、藤村昭夫編) 財団法人 臨床薬理研究振興財団 (東京), pp.76-81, 2002.
 - 13) Ohkuma S. and Katsura M.: Protracted withdrawal syndrome - special reference to alteration of endogenous anxiety-inducing substances in the brain. *Jpn. J. Neuropsychopharmacol.* 22: 203, 2002.
 - 14) Katsura M., Mohri Y., Shuto K., Hai-Du Y., Amano T., Tsujimura A., Sasa M. and Ohkuma S.: Up-regulation of L-type voltage-dependent calcium channels after long term exposure to nicotine in cerebral cortical neurons. *J. Biol. Chem.* 277: 7979-7988, 2002.
 - 15) Katsura M., Shuto K., Mohri Y., Shigeto M. and Ohkuma S.: Functional significance of nitric oxide in ionomycin-evoked [3H]GABA release from mouse cerebral cortical neurons. *J. Neurochem.* 81: 130-141, 2002.
 - 16) Katsura M., Mohri Y., Shuto K., Tsujimura A., Ukai M. and Ohkuma S.: Psychological stress, but not physical stress, causes increase in diazepam binding inhibitor (DBI) mRNA expression in mouse brains. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 104, 103- 109, 2002.
 - 17) Katsura M. and Ohkuma S.: Up-regulation of high voltage-gated calcium channels in nicotine dependence. *Jpn. J. Neuropsychopharmacol.* 22, 208, 2002.
 - 18) 大熊誠太郎、桂 昌司: 新しい睡眠薬 (ソツレピデム、クアゼパム) の薬理学特性. *精神医学* 44: 305-311, 2002.
 - 19) Watanabe S., Sato S., Nagase S., Shimosato K. and Ohkuma S.: Chemotherapeutic targeting of etoposide to regions of the brain on the basis of polyamine level. *J. Drug Target.* 10: 457-461, 2002.
 - 20) 大熊誠太郎、桂 昌司: “II 個体の反応。4 章 生体と薬物” コア・カリキュラム対応 医学一般 (今西二郎 編) 金芳堂 (京都), pp.281-302, 2002.
 - 21) Mohri Y., Katsura M., Shuto K., Tsujimura A., Ishii R. and Ohkuma S.: L-Type high voltage-gated calcium channels cause an increase in diazepam binding inhibitor mRNA expression after sustained exposure to ethanol in mouse cerebral cortical neurons. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 113: 52-56, 2003.
 - 22) 桂 昌司: 物依存形成における diazepam binding inhibitor (DBI) 発現と L 型電位依存性カルシウムチャネルの機能的関連性. *神経化学* 42: 47-59, 2003.
 - 23) 大熊誠太郎、桂 昌司: ” 4. 脳細胞分離・培養法” 生物薬科学実験講座 11 神経 (脳) II (佐藤公道、野村靖幸編) 廣川書店 (東京), pp.30-53, 2003.
 - 24) 大熊誠太郎、桂 昌司: ” 6. モルヒネ依存とアミノ酸神経伝達” 覚せい剤精神病と麻薬依存 (佐藤光源、櫻井映子編) 東北大学出版会 (仙台), 159-173, 2004.
 - 25) Ohsawa Y., Toko H., Katsura M., Morimoto K., Yamada H., Ichikawa Y., Murakami T., Ohkuma S., Komuro I. and Sunada Y.: Overexpression of P104L mutant caveolin-3 in mice develops hypertrophic cardiomyopathy with enhanced contractility in association with increased endothelial nitric oxide synthase activity. *Human Mol. Gen.* 13: 151-157, 2004.
 - 26) Katsura M., Mohri Y., Shuto K., Tsujimura A., Shibata D., Tachi M. and Ohkuma S.: Continuous exposure to nitric oxide enhances diazepam binding inhibitor mRNA expression in mouse cerebral cortical neurons. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2004 (in press).
 - 27) Katsura M. and Ohkuma S.: Functional relationship of diazepam binding inhibitor to L-type high voltage-gated calcium channels in alcohol dependence. *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 2004 (in press).
 - 28) Katsura M. and Ohkuma S.: Pharmacological basis for management of drug dependence. *Ann. New York Acad. Sci.* 2004 (in press).
 - 29) Ohkuma S., Katsura M., Amano T., Hayashida S., Shimo T., Sakai N. and Tsujimura A.: Sustained

ethanol exposure increases expression of $\alpha 1$ subunits of L-type high voltage-gated calcium channels in cerebral cortical neurons. *Mol. Pharmacol.* 2004 (in press).

2. 学会発表

- 1) 桂 昌司、大熊誠太郎: 薬物依存形成および禁断症状発現における脳内 diazepam binding inhibitor (DBI) 発現の関与. 第 74 回日本薬理学会年会, 2001.
- 2) 首藤恵二郎、桂 昌司、武居道彦: 初代培養膀胱平滑筋細胞における一酸化窒素(NO)誘発性 [$^{45}\text{Ca}^{2+}$] チャンネルの関与. 第 74 回日本薬理学会年会, 2001.
- 3) 毛利 豊、桂 昌司、首藤恵二郎: Nicotine 長期曝露に伴う L 型電位依存性 Ca^{2+} チャンネル (VDCC) 機能の up-regulation について. 第 74 回日本薬理学会年会, 2001.
- 4) 桂 昌司、武居道彦、毛利 豊: NMDA 受容体刺激に伴う脳内 diazepam binding inhibitor (DBI) 発現増加における NO の関与. 第 99 回日本薬理学会近畿部会, 2001.
- 5) Katsura M. and Ohkuma S.: Long-term exposure of neurons to nicotine induces up-regulation of L-type voltage-dependent calcium channels (VDCCs). 2001 Collegium Internationale Neuro-Pscho Pharmacologium (CINP) Regional Meeting, 2001.
- 6) Katsura M. and Ohkuma S.: Functional involvement of L-type voltage-dependent calcium channels (VDCCs) in ethanol-induced increase of diazepam binding inhibitor (DBI) mRNA in the cerebrocortical neurons. 31th Annual Meeting of Japanese Society of Neuropharmacology, 2001.
- 7) 桂 昌司、大熊誠太郎: アルコールと DBI (diazepam binding inhibitor). 第 36 回日本アルコール・薬物医学会総会, 2001.
- 8) 桂 昌司、首藤恵二郎、毛利 豊: Nicotine 退薬後における脳内 diazepam binding inhibitor (DBI) 発現増加に対する L 型電位依存性 Ca^{2+} チャンネル (VDCC) の関与. 第 100 回日本薬理学会近畿部会, 2001.
- 9) 桂 昌司、首藤恵二郎、毛利 豊: アルコール誘発性脳内 diazepam binding inhibitor (DBI) mRNA 発現増加と L 型電位依存性 Ca^{2+} チャンネル (VDCC) の機能的相関. 第 75 回日本薬理学会年会, 2002.
- 10) 毛利 豊、桂 昌司、首藤恵二郎: ニコチンの長期曝露により誘発される L 型電位依存性 Ca^{2+} チャンネル (VDCC) の変化. 第 75 回日本薬理学会年会, 2002.
- 11) 桂 昌司、毛利 豊、首藤恵二郎: Ionomycin (IMY) 誘発性神経伝達物質放出機序. 第 101 回日本薬理学会近畿部会, 2002.
- 12) 桂 昌司、大熊誠太郎: 薬物依存形成における L 型電位依存性カルシウムチャンネル (VDCCs) の役割. 第 37 回日本アルコール・薬物医学会総会, 2002.
- 13) 桂 昌司、大熊誠太郎: Nicotine 依存形成における L 型電位依存性カルシウムチャンネル (VDCC) の機能変化. 第 37 回日本アルコール・薬物医学会総会, 2002.
- 14) Ohkuma S. and Katsura M.: Protracted withdrawal syndrome—special reference to alteration of endogenous anxiety-inducing substances in the brain. The 5th Annual Meeting of the Japanese Forum on Nicotine and Drug Dependence Studies, 2002.
- 15) Katsura M. and Okuma S.: Up-regulation of high voltage-gated calcium channels in nicotine dependence. The 5th Annual Meeting of the Japanese Forum on Nicotine and Drug Dependence Studies, 2002.
- 16) 桂 昌司: 薬物依存における diazepam binding inhibitor (DBI) 発現と L 型電位依存性カルシウムチャンネルの機能的関連性. 第 45 回日本神経化学会, 2002.
- 17) 桂 昌司、林田信介、鳥越史子: アルコール依存形成に伴う diazepam binding inhibitor (DBI) 発現増加に対する L 型高電位開口性カルシウムチャンネル (HVCC) の機能的関連性. 第 32 回日本神経精神薬理学会年会, 2002.
- 18) 桂 昌司、林田信介、鳥越史子: Pravastatin 長期曝露に伴う高電位開口性カルシウムチャンネル (HVCC) の機能変化. 第 102 回日本薬理学会近畿部会, 2002.
- 19) 桂 昌司、林田信介、鳥越史子: アルコール連続曝露停止後の L 型高電位開口性カルシウムチャンネル (HVCC) の機能変化. 第 76 回日本薬理学会年会, 2003.
- 20) 桂 昌司、林田信介、鳥越史子: 大脳皮質神経細胞への dopamine 長期曝露に伴う L 型高電位開口性カルシウムチャンネル (HVCC) の機能変化. 第 103 回日本薬理学会近畿部会, 2003.
- 21) 桂 昌司、大熊誠太郎: Dopamine 連続曝露に伴う大脳皮質神経細胞における L 型高電位開口性カルシウムチャンネルの機能変化. 第 37 回日本アルコール・薬物医学会総会, 2003.
- 22) Katsura M. and Ohkuma S.: Pharmacological basis for management of drug dependence. The International Society for Neurochemistry (ISN)/Asian Pacific Society for Neurochemistry

- (APSN) Sponsored Satellite Meeting, 2003.
- 23) Katsura M. and Ohkuma S.: Functional relationship of diazepam binding inhibitor to L-type high voltage-gated calcium channels in alcohol dependence. 1st Symposium of Neurobehavioral Pharmacology, 2003.
 - 25) 桂 昌司、林田信介、鳥越史子: Morphine 長期曝露に伴う diazepam binding inhibitor (DBI) 発現増加に対する L 型高電位開口性カルシウムチャネル(HVCC)の機能的関連性. 第 33 回日本神経精神薬理学会年会, 2003.
 - 26) 桂 昌司、大熊誠太郎: 内在性不安誘発物質 (diazepam binding inhibitor, DBI) の脳内発現変化とその意義. 第 33 回日本神経精神薬理学会年会, 2003.
 - 27) 桂 昌司、林田信介、鳥越史子: Morphine 長期曝露に伴う L 型高電位開口性カルシウムチャネル(HVCC)の up-regulation について. 第 104 回日本薬理学会近畿部会, 2003.
 - 28) 桂 昌司、大熊誠太郎: L 型高電位開口性カルシウムチャネル機能に及ぼす dopamine 連続曝露の影響?初代培養大脳皮質神経細胞を用いた解析一. 第 13 回神経行動薬理研究会若手研究者の集い, 2004.
 - 29) 桂 昌司、大熊誠太郎: 高電位開口性カルシウムチャネルの機能変化とその機序:薬物依存における機能変化を中心として. 第 77 回日本薬理学会年会, 2004.
 - 30) 桂 昌司、林田信介、鳥越史子: Diazepam 連続曝露に伴う L 型高電位開口性カルシウムチャネル(HVCC)の機能亢進作用. 第 77 回日本薬理学会年会, 2004

「モノアミントランスポーター欠損マウスモデルを用いた 覚醒剤の分子作用機序の検討」3年間のまとめ

分担研究者： 曾良一郎^{1,2}

共同研究者： 沈昊偉²、萩野洋子²、小林秀昭²、井手聡一郎²、近江香子¹、山下元康¹、福島攝¹、小原可久¹、
山本敏文^{2,3}、山本秀子²、池田和隆²、沼知陽太郎¹

(¹ 東北大学大学院医学系研究科精神神経生物学分野、² 東京都医学研究機構・精神研・分子精神医学、³ 横浜市立大大学院総合理学研究科)

コカインや、覚醒剤であるメタンフェタミン(MAP)はドーパミントランスポーター(DAT)、セロトニントランスポーター(SERT)及びノルエピネフrintランスポーター(NET)に作用してモノアミン神経伝達を変化させる。従来、コカインや覚醒剤の作用機序には中枢ドーパミン(DA)神経伝達が重要な役割を果たすとされてきたが、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。

コカインの報酬効果は DAT を介していると考えられていた。しかし、DAT を欠損させたノックアウト(KO)マウスでも、SERT、NET をそれぞれ単独に欠損させた KO マウスでも、コカインの報酬効果は保持されていた。我々は、DAT 欠損に SERT 部分あるいは完全欠損が加わるとコカインの報酬が消失することを見出した。これらの結果は、コカインの報酬には DAT と SERT が共に関与し、同族トランスポーターの補完作用が存在することを示唆している。

そこで我々は、報酬に関する上記の結果に対応する脳内モノアミン神経伝達を解析することを目的に、脳内微量透析法を用いてコカインに対する線条体(CPu)、側坐核(NAc)と前頭前野皮質(PFc)細胞外ドーパミン(DA_{ex})、セロトニン(5-HT_{ex})濃度の変化を3年間にわたり検討してきた。

コカインの報酬に対応して細胞外ドーパミン濃度(DA_{ex})が増加したのは、側坐核、前頭前野皮質ではなく、線条体であることが分かった。DAT-KO マウスでは DAT が欠損しているにもかかわらずコカインの報酬があり、DAT/SERT ダブル KO マウスで報酬がなくなるのは、線条体において DAT-KO で DA_{ex} の増加があり、DAT/SERT ダブル KO では DA_{ex} の増加がないからと考えられる。DAT-KO マウスで DAT

が欠損しているにもかかわらず DA_{ex}が増加しているのは、SERT が DA 再取り込みを補完したことを示唆している。側坐核では DAT が欠損すると DA_{ex} の増加が見られなかった。前頭前野皮質では DAT-KO、DAT/SERT-KO でも DA_{ex} の増加が見られ、前頭前野皮質では NET による DA 再取り込みの補完が考えられた。5-HT については、SERT-KO で前頭前野皮質での細胞外 5-HT 濃度(5-HT_{ex})の増加が見られないが、線条体、側坐核では増加が見られ、DAT/SERT ダブル KO マウスで見られなくなったことから、線条体、側坐核では DAT が 5-HT の再取り込みを補完していると考えられた。以上の結果については補完的な取り込みの他に、複雑な神経ネットワークの関与も考えられる。そこで、線条体において cocaine を局所投与し、補完的な取り込みが阻害されるか次に検討した。

線条体への局所投与には、脳内微量透析用に脳内に固定した透析プローブを通じて直接コカインを注入した。その結果、DAT-KO マウスでは皮下投与と異なり、局所投与では DA_{ex} の増加が見られなくなった。線条体内の SERT に直接コカインが働き、そこから DA_{ex} の増加するのであれば、局所投与においても DA_{ex} は増加するはずである。従って、コカイン皮下投与による DAT-KO マウス線条体での DA_{ex} の増加は、当初予想された SERT による DA 取り込みの補完作用ではなく、複雑な神経ネットワークによるものであることが強く示唆された。DAT-KO では、皮下投与されたコカインが 5-HT 神経系或いはノルエピネフリン(NE)神経系を間接的に刺激して、DA 神経系に何らかの制御が加わって DA_{ex}が増加する可能性がある。5-HT についても同様に検討したところ、SERT-KO マウスではコカイン皮下投与でも局所投与

でも線条体 5-HT_{ex} が増加した。5-HT については DAT が局所的に SERT 欠損を補完していることが支持された。

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、モノアミンを細胞外へ逆流させて、シナプス間隙のモノアミン濃度を増加させ、神経伝達を変化させる。覚醒剤は長期使用により妄想性精神病状態を生じることが知られているが、このような精神病状態は、断薬か治療によって症状が軽快しても覚醒剤の再使用、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。実験動物においても新規環境下で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。これより、実験動物に覚醒剤を反復投与した際に観察される逆耐性現象は、覚醒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 は強力な DA 神経伝達系の作動薬なので、逆耐性現象に関するこれまでの研究では、DA 神経伝達の変化を中心として行われてきた。一方、5-HT 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。そこで我々は DAT/SERT-KO マウスを用いて、MAP の逆耐性について検討した。

DAT あるいは SERT の欠損、あるいは両者の欠損では MAP で逆耐性が形成されなかった。このことは DAT のみならず SERT も逆耐性形成に関与していることを強く示唆している。さらに DAT の発現が半減すると、逆耐性の表出(expression)には影響しないものの、逆耐性の発展(development)が遅延することが分かった。SERT の発現が半減しても逆耐性の表出および発展は認められた。以上の結果から、これまで重視されてきた DAT のみならず、SERT も逆耐性形成に関与することが示された。

そこで次に、DAT と逆耐性の発展形成について相關する脳部位を明らかにすることを目的に、DAT ヘテロ KO マウスについて、線条体と側坐核で脳内微量透析法を用いて DA_{ex}、5-HT_{ex} の変化を解析した。その結果、側坐核での MAP による DA_{ex} の増加は野生型と変わらなかった。これに対し、線条体では DA_{ex} の増加量は野生型の 1/3 程度となり、増加量は

大幅に減少していた。この結果は移所運動の逆耐性形成には側坐核 DA 伝達が重要であるというこれまでの報告とは異なり、線条体 DA 伝達の役割を見直す必要を示唆すると考えられた。SERT が部分欠損すると、線条体と側坐核ともに、MAP による細胞外 5-HT 濃度の増加が減少した。SERT が完全欠損すると、MAP による細胞外 5-HT 濃度の増加はなくなった。しかし、いずれの場合、DA の増加は野生型と変わらなかった。SERT-KO マウスの逆耐性形成の阻害は高濃度の細胞外 5-HT が関与していると考えられた。

覚醒剤反復使用者における PET を用いた研究により、中脳辺縁系で DAT の減少が報告されているが、この結果を考え合わせると臨床においても DAT の発現量と覚醒剤の精神毒性との関連が興味深い。DAT ヘテロ KO マウスでは、DAT の発現が半減しているものの、野生型マウスと比べ自発運動量は変化せず、また、線条体での基礎的細胞外 DA 濃度も変化していない。また、MAP と異なり cocaine による投与では細胞外 DA 濃度の増加が野生型と比べ変化しないことから、DAT の発現が半減しても DA を十分に再取り込みできると考えられる。これらのことから、線条体での MAP による細胞外 DA 濃度増加の分子機序は、cocaine と違って、単なる線条体の DAT 阻害ではない、DAT の reverse transport (DA efflux) が主な原因であると推測できる。また、側坐核では、DAT の減少は、MAP による DA の上昇に影響しない。この部位では、MAP による DA 上昇の原因は cocaine と同じようなメカニズムであるかもしれない。

本研究では、覚醒剤の分子作用機序を明らかにすることを目的に、脳内微量透析法を用いてモノアミントランスポーター KO マウスにおける覚醒剤投与の行動変化と一致する脳内のモノアミン放出部位を明らかにしようと試み、上述のような一定の成果を得ることが出来た。さらに最終年度ではコカインの脳内局所投与という方法を用いて局所的な働きなのか神経ネットワークによるものなのか検討した。また、覚醒剤による逆耐性形成過程における表出にはモノアミントランスポーターの発現量が影響することが示唆された。覚醒剤の分子作用機序におけるモノアミントランスポーターの役割は、従来想定されていた以上に複雑な分子機構が考えられた。

【研究業績】

1. 論文発表

- 1) Yamamoto H, Imai K, Takamatsu Y, Kamegaya E, Hara Y, Shimada K, Yamamoto T, Shen HW, Hagino Y, Kobayashi H, Ide S, Sora I, Koga H, Ikeda K. Changes in expression of the mouse homologues of KIAA genes after subchronic methamphetamine treatment. *Ann New York Acad Sci* in press
- 2) Han W, Ide S, Sora I, Yamamoto H, Ikeda K. A possible genetic mechanism underlying individual and interstrain differences in opioid actions: focus on the mu opioid receptor gene. *Ann New York Acad Sci* in press
- 3) Ide S, Kobayashi H, Tanaka K, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Ikeda K, Sora I. Gene polymorphisms of the mu opioid receptor in methamphetamine abusers. *Ann New York Acad Sci* in press
- 4) Hironaka N, Ikeda K, Sora I, Uhl GR, Niki H. Food-reinforced operant behavior in dopamine transporter knockout mice: enhanced resistance to extinction. *Ann New York Acad Sci* in press
- 5) Kobayashi H, Ide S, Hasegawa J, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Shen HW, Ikeda K, Sora I. Association study between alfa-synuclein gene polymorphism and methamphetamine dependence. *Ann New York Acad Sci* in press
- 6) Harano M, Uchimura N, Abe H, Ishibashi M, Iida N, Yanagimoto K, Tanaka T, Maeda H, Sora I, Iyo M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Ujike H. TaqI A polymorphism of DRD2 gene and brain atrophy in methamphetamine psychosis. *Ann New York Acad Sci* in press
- 7) Inada T, Iijima Y, Uchida N, Maeda T, Iwashita S, Ozaki N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iyo M, Sora I, Ujike H. No association between the type 1 sigma receptor gene polymorphisms and methamphetamine abuse in the Japanese population: A collaborative study by the Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA). *Ann New York Acad Sci* in press
- 8) Iwata N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iyo M, Sora I, Ujike H, Ozaki N. No association between the candidate genes of t-PA/Plasminogen system and Japanese methamphetamine related disorder: A collaborative study by the Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA). *Ann New York Acad Sci* in press
- 9) Numachi Y, Yoshida S, Yamashita M, Fujiyama K, Naka M, Matsuoka H, Sato M, Sora I. Psychostimulant alters expression of DNA methyltransferase mRNA in the rat brain. *Ann New York Acad Sci* in press
- 10) Hall FS, Sora I, Drgonova J, Li XF, Goeb M, Murphy DL, Lesch KP, Caron M, Tecott Laurence H, Hen R, Uhl GR. The molecular mechanisms underlying the rewarding effects of cocaine. *Ann New York Acad Sci* in press
- 11) Shen H, Hagino Y, Kobayashi H, Shinohara-Tanaka K, Ikeda K, Yamamoto H, Yamamoto T, Lesch KP,

- Murphy DL, Hall FS, Uhl GR, Sora I. Regional differences in extracellular dopamine and serotonin assessed by in vivo microdialysis in mice lacking dopamine and/or serotonin transporters. *Neuropsychopharmacology* in press
- 12) Yamamoto T, Nishizaki I, Nukada T, Kamegaya F, Furuya S, Hirabayashi Y, Ikeda K, Hata H, Kobayashi H, Sora I, Yamamoto H. Functional identification of ASCT1 neutral amino acid transporter as the predominant system for the uptake of L-serine in rat neurons in primary culture. *Neurosci Res* in press
 - 13) Ide S, Minami M, Satoh M, Uhl GR, Sora I, Ikeda K. Buprenorphine antinociception is abolished, but naloxone-sensitive reward is retained, in μ -opioid receptor knockout mice. *Neuropsychopharmacology* in press
 - 14) Mansikka H, Zhao C, Sheth RN, Sora I, Uhl GR, Raja SN. Nerve injury induces a tonic bilateral μ -opioid receptor mediated inhibitory effect on mechanical allodynia in mice. *Anesthesiology* in press Hall FS, Goeb M, Li XF, Sora I, Uhl GR. μ Opioid receptor knockout mice display reduced cocaine conditioned place preference but enhanced sensitization of cocaine induced locomotion. *Brain Res* 121(1-2): 123-130 (2004)
 - 15) Hall FS, Sora I, Uhl GR. Sex-Dependent Modulation of Ethanol consumption in vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2) and dopamine transporter (DAT) knockout mice. *Neuropsychopharmacology* 28: 620-628 (2003)
 - 16) Hall FS, Li XF, Goeb M, Roff R, Hoggatt H, Sora I, Uhl GR. Congenic C57BL/6 μ opiate receptor (MOR) knockout mice: baseline and opiate effects. *Genes Brain Behav* 2: 114-121 (2003)
 - 17) Yuyama K, Yamamoto H, Nakamura K, Nishizaki I, Yamakuni T, Si-Young Song, Sora I, Nagatsu T, Yamamoto T. Overexpression of V-1 prevents NO-induced cell death: involvement of enhanced tetrahydrobiopterin (BH4) biosynthesis. *J Neurosci Res* 72(6): 716-725 (2003)
 - 18) Yuyama K, Yamamoto H, Nishizaki I, Kato T, Sora I, Yamamoto T. Caspase-independent cell death by low concentrations of nitric oxide (NO) in PC12 cells: involvement of the inhibition of cytochrome c oxidase and the production of reactive oxygen species (ROS) in mitochondria. *J Neurosci Res* 73(3): 351-363 (2003)
 - 19) Itokawa M, Arai M, Kato S, Ogata Y, Furukawa A, Haga S, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Yoshikawa T. Association between a novel polymorphism in the promoter region of the neuropeptide Y gene and schizophrenia in humans. *Neurosci Lett* 347: 202-204 (2003)
 - 20) Ujike H, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Sekine Y, Sora I, Iyo M, Katsu T, Nomura A, Nakata K, Ozaki N. Nine-or fewer repeat alleles in VNTR polymorphism of the dopamine transporter gene is a strong risk factor for prolonged methamphetamine psychosis. *Pharmacogenomics J* 3(4): 242-247 (2003)
 - 21) Mizoguchi H, Wu HE, Narita M, Sora I, Hall FS, Uhl GR, Loh HH, Nigase H, Tseng F. Lack of the μ -opioid

- receptor-mediated G-protein activation in the mouse spinal cord lacking exon1 and exon 2 & 3 of MOR-1 gene. *J Pharmacol Sci* 93: 423-429 (2003)
- 22) Murphy DL, Uhl GR, Holmes A, Ren-Patterson R, Hall FS, Sora I, Detera-Wadleigh S, Lesch KP. Experimental gene interaction studies with SERT mutant mice as models for human polygenic and epistatic traits and disorders. *Genes Brain Behav* 2(6): 350-364 (2003)
- 23) Sora I, Ikeda K, Mishina Y. Receptor knockout and gene targeting – Generation of knockout mice, in *Opioid Research: Methods and Protocols*, edited by Zhizhong Z. Pan, pp205-216. Totowa, NJ (USA): Humana Press (2003)
- 24) Ikeda K, Yoshii M, Sora I, Kobayashi T. 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, pp53-64. Totowa, NJ (USA): Humana Press (2003)
- 25) Ikeda K, Kobayashi T, Kumanishi T, Yano R, Sora I, Niki H. Molecular mechanisms of analgesia induced by opioids and ethanol: is the GIRK channel one of the keys? *Neurosci Res* 44: 121-131 (2002)
- 26) Karasawa J, Yamamoto H, Yamamoto T, Sagi N, Horikomi K, Sora I. 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* 70(14): 1631-1642 (2002)
- 27) Hall FS, Li XF, Sora I, Xu F, Caron M, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR. Cocaine mechanisms: enhanced cocaine, fluoxetine and nisoxetine place preferences following monoamine transporter deletions. *Neuroscience* 115(1): 153-161 (2002)
- 28) Mizoguchi H, Wu HE, Narita M, Hall FS, Sora I, Uhl GR, Nagase H, Tseng LF. 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* 115(3): 715-721 (2002)
- 29) Zhou Y, Spangler R, Schlussman SD, Yuferov VP, Sora I, Ho A, Uhl GR, Kreek MJ. 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* 45(4): 220-229 (2002)
- 30) Uhl GR, Hall FS, Sora I. Cocaine, reward, movement and monoamine transporters. *Mol Psychiatry* 7: 21-26 (2002)
- 31) Ikeda K, Kobayashi T, Kumanishi T, Yano R, Sora I, Niki H. Molecular mechanisms of analgesia induced by opioids and ethanol: is the GIRK channel one of the keys? *Neurosci Res* (44): 121-131 (2002)
- 32) Mizoguchi H, Tseng LF, Suzuki T, Sora I, Narita M. Differential mechanism of G-protein activation induced by endogenous mu-opioid peptides, endomorphin and beta-endorphin. *Jpn*

- J Pharmacol 89(3): 229-234 (2002)
- 33) Wisor JP, Nishino S, Sora I, Uhl GR, Mignot E, Edgar DM. Dopaminergic role in stimulant-induced wakefulness. J Neurosci 21: 1787-1794 (2001)
- 34) Hall FS, Sora I, Uhl GR. Ethanol consumption and reward are decreased in mu-opiate receptor knockout mice. Psychopharmacol 154: 43-49 (2001)
- 35) Sora I, Elmer G, Funada M, Pieper J, Li XF, Hall FS, Uhl GR. Mu opiate receptor gene dose effects on different morphine actions. evidence for differential in vivo mu receptor reserve. Neuropsychopharmacol 25(1): 41-54 (2001)
- 36) Sora I, Hall FS, Andrews AM, Itokawa M, Li XF, Wei HB, Wichems C, Lesch K, Murphy DL, Uhl GR. Molecular mechanisms of cocaine reward: combined dopamine and serotonin transporter knockouts eliminate cocaine place preference. Proc Natl Acad Sci USA 98: 5300-5305 (2001)
- 37) Yamamoto H, Karasawa J, Sagi N, Takahashi S, Horikomi K, Okuyama S, Nukada T, Sora I, Yamamoto T. Multiple pathways of sigma 1 receptor ligand uptakes into primary cultured neuronal cells. Eur J Pharmacol 425: 1-9 (2001)
- 38) Yuyama K, Yamamoto H, Nakamura K, Kato T, Sora I, Yamamoto T. Resistance of PC12 cells against nitric oxide (NO)-induced toxicity in long-term culture: implication of neuronal NO synthase expression. Neurosci Lett 309: 169-172 (2001)
- 39) Persico AM, Mengual E, Moessner R, Hall FS, Revay RS, Sora I, Arellano J, DeFelipe J, Giménez-Amaya JM, Conciatori M, Marino R, Baldi A, Cabib S, Pascucci T, Uhl GR, Murphy DL, Lesch KP, Keller F. Barrel pattern formation requires serotonin uptake by thalamocortical afferents, and not vesicular monoamine release. J Neurosci 21(17): 6862-6873 (2001)
- 40) 沼知陽太郎, 吉田寿美子, 曾良一郎, 佐藤光源. 覚醒剤の体内動態と脳内分布. Clinical Neuroscience 22(6), in press
- 41) 沼知陽太郎, 吉田寿美子, 曾良一郎, 佐藤光源. ストレス逆耐性仮説. こころの臨床, 17 巻増刊号第 2 版, in press
- 42) 曾良一郎, 小林秀昭. カテコラミントランスポーターと高次神経機能. 自律神経 40: 238-243 (2003)
- 43) 曾良一郎, 池田和隆, 三品裕司. 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 (2002)
- 44) 曾良一郎. 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—. 東北医学雑誌 114: 191-193 (2002)
- 45) 曾良一郎. 特集: 精神分裂病へのアプローチ 次世代への展望, 遺伝子改変による精神分裂病モデル動物の開発. 分子精神医学 1: 27-34 (2001)
- 46) 那波宏之, 任海学, 染矢俊幸, 曾良一郎. 連載講座: 脳・神経系実験動物モデル〜テクニック・方法論〜, 精神疾患モデルとしての遺伝子改変動物. 分子精神医学 1: 159-163 (2001)
- 47) 曾良一郎. セロトニントランスポーターと精神疾患. セロトニン 最新的话题 第 4 回神経伝達物質研究会記録集: 42-54 (2001)
- 48) 曾良一郎. 遺伝子改変動物を用いた薬物依存の研究. 日本神経精神薬理学雑誌 21: 163-164 (2001)
- 49) 曾良一郎. モノアミントランスポーターと精神疾患. 第 12 回高次脳機能障害シンポジウム要旨集: 29-32 (2001)

- 50) 曾良一郎, 山本秀子. 精神疾患の分子医学 ?基礎と臨床, 臨床 : 薬物依存の分子医学. 現代医療 33(11): 120-125 (2001)
- 51) 曾良一郎. 遺伝子改変動物を用いた薬物依存の研究. 日本神経精神薬理学雑誌 21: 163-164 (2001)
- 52) 曾良一郎, 沈昊偉. 特集: 生物学的精神医学 最近の進歩, 精神疾患の観点から見たノックアウトマウス. 最新精神医学 6(6): 537-542 (2001)
- 53) 池田和隆, 小林徹, 曾良一郎. アルコールと脳機能. 日本醸造協会誌 97: 124-130 (2001)

2. 学会発表

- 1) Ujike H, Uchida N, Sakai A, Kobayashi H, Hasegawa J, Yamamoto M, Fujisawa Y, Kanzaki A, Kohira I, Nakashima M, Takehisa Y, Sora I, Kuroda S. Association Study Between Polymorphisms in the Promoter Region of the Alpha-synuclein Gene and Alzheimer's Disease. International Conference 2003 Alzheimer's and Parkinson's Diseases - New Perspectives. Seville, Spain [2003/5/8-12]
- 2) Sora I, Ide S, Hall FS, Uhl GR, Ikeda K. Molecular Genetics Of Opioid Receptor In Substance Abuse. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto [2003/7/30-8/1]
- 3) Inada T, Iijima Y, Kikuchi K, Maeda T, Iwashita S, Arinami T, Otsuki T, Ozaki N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iyo M, Sora I, Ujike H. Search For The Susceptibility Genes To Methamphetamine Psychoses: A Collaborative Study By The Japanese Genetics Initiative For Drug Abuse(JGIDA). Satellite Meeting Of

- The International Society For Neurochemistry, Kyoto [2003/7/30-8/1]
- 4) Ozaki N, Iwata N, Yamanouchi Y, Suzuki T, Kitajima T, Ikeda M, Maeno N, Ujike H, Sekine Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Sora I. Candidate Gene Analysis Of Amphetamine-Related Disorders. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto [2003/7/30-8/1]
- 5) Shen H, Kobayashi H, Hall FS, Uhl GR, Sora I. Molecular Genetics Of Monoamine Transporter: Psychostimulant And Extracellular Monoamines. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto [2003/7/30-8/1]
- 6) Han W, Idea S, Sora I, Yamamoto H, Ikeda K. A Possible Genetic Mechanism Underlying Individual And Interstrain Differences In Opioid Actions: Focusing On The Mu-Opioid Receptor Gene. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto [2003/7/30-8/1]
- 7) Ide S, Tanaka YK, Kobayashi H, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Ikeda K, Sora I. A118G Single Nucleotide Polymorphism Of Opioid Receptor Gene In Japanese Methamphetamine Abuser. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto [2003/7/30-8/1]
- 8) Harano M, Uchimura N, Abe H, Ishibashi M, Iida N, Tanaka T, Maeda H, Sora I, Iyo M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Ujike H. TaqI A Polymorphism Of DRD2 Gene And Brain Atrophy In

- Methamphetamine Psychosis. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto [2003/7/30-8/1]
- 9) Kobayashi H, Hasegawa J, Ide S, Ujike H, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Ikeda K, Sora I. No Association For The Alpha-Synuclein Gene Polymorphism In Methamphetamine Abuser/Psychosis In Japan. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto [2003/7/30-8/1]
 - 10) Yamamoto H, Imai K, Takamatsu Y, Kamegaya E, Shen HW, Hagino Y, Kobayashi H, Yamamoto T, Sora I, Koga H, Ikeda K. Methamphetamine Modulation Of Gene Expression In The Brain: Analyses Using Customized cDNA Microarray System With The Mouse Homologues Of KIAA Genes. *Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto* [2003/7/30-8/1]
 - 11) Numachi Y, Yoshida S, Yamashita M, Fujiyama K, Matsuoka H, Sato M, Sora I. Psychostimulant Alters Expression Of DNA Methyltransferase mRNA In The Rat Brain. *Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto* [2003/7/30-8/1]
 - 12) Hironaka N, Ikeda K, Sora I, Uhl GR, Niki H. Food-Reinforced Operant Behavior In Dopamine Transporter Knockout Mice: Enhanced Resistance To Extinction. *Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Kyoto* [2003/7/30-8/1]
 - 13) Ujike H, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Sekine Y, Sora I, Iyo M, Katsu T, Nomura A, Nakata K, Ozaki N. Nine or fewer repeat alleles in VNTR polymorphism of the dopamine transporter gene is a strong risk factor for prolonged methamphetamine psychosis. ECNP, Prague, Czech republic [2003/9/20-24]
 - 14) Arai M, Itokawa M, Yamada K, Toyota T, Haga S, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Yoshikawa T. Association of neural cell adhesion molecule gene with schizophrenia and mood disorders. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
 - 15) Itokawa M, Arai M, Kato S, Ogata Y, Furukawa A, Haga S, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Yoshikawa T. Association between a novel polymorphism in the promoter region of the neuropeptide Y gene and schizophrenia. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
 - 16) Numachi Y, Ohara A, Yamashita M, Ohmi K, Fukushima S, Kobayashi H, Hall SF, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR, Ikeda K, Sora I. Methamphetamine induced hyperthermia and neurotoxicity in dopamine and/or serotonin transporter knockout mice. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
 - 17) Hall FS, Li FX, Goeb M, Sora I, Murphy DL, Lesch K, Tecott LH, Hen R, Uhl GR. Double dopamine and serotonin system gene knockouts and cocaine reward. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
 - 18) Hall FS, Goeb M, Li FX, Sora I, Uhl GR. Mu opiate receptor knockouts

- reduce cocaine effects. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
- 19) Shen H, Hagino Y, Kobayashi H, Numachi Y, Yamamoto H, Yamamoto T, Lesch K, Murphy DL, Hall SF, Uhl GR, Ikeda K, Sora I. Methamphetamine sensitization in dopamine (DAT) and/or serotonin (SERT) transporter knockout mice. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
- 20) Yamamoto T, Nishizaki I, Nukada T, Furuya S, Hirabayashi Y, Ikeda K, Kobayashi H, Hata H, Sora I, Yamamoto H. Cloning, regional distribution in brain and functional characterization of the rat ASCT1 amino acid transporter. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
- 21) Nakamura K, Sekine Y, Osada N, Suzuki A, Minabe Y, Takei N, Suzuki K, Iwata Y, Kawai M, Takebayashi K, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Mori N. Methamphetamine. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
- 22) Kobayashi H, Numachi Y, Yamashita M, Ohmi K, Tohmi M, Shen HW, Hagino Y, Ide S, Yamamoto H, Nawa H, Lesch KP, Murphy DL, Hall FS, Uhl GR, Ikeda K, Sora I. Prepulse inhibition in monoamine transporter knockout mice. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
- 23) Ikeda K, Sora I, Takamatsu Y, Takahashi T, Nakahara D, Ohta M, Uhl GR, Niki H. Distinct roles of opioid and dopamine systems in lateral hypothalamic self - stimulation. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
- 24) Yamamoto H, Yamamoto T, Kamegaya E, Shen H, Hagino Y, Kobayashi H, Ikeda K, Sora I, Yoshii M, Nukada T. Positive regulation of dopaminergic functions by overexpression of sigma - 1 receptors: focusing on synapsin phosphorylation. The Society for Neuroscience 33rd Annual Meeting, New Orleans, USA [2003/11/8-14]
- 25) 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. Association between dopamine D1 receptor family (DRD1, DRD5) gene polymorphisms and methamphetamine psychoses. XXIII CINP Congress, Montreal, Canada [2002/06/23-27]
- 26) 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. Cocaine-induced alteration of monoamine neurotransmission in mice lacking monoamine transporter. XII World Congress of Psychiatry, Yokohama, Japan [2002/08/25]
- 27) Yamamoto H, Karasawa J, Yamamoto T, Takahashi S, Horikomi K, Shen H, Hagino Y, Ikeda K, Sora I. Haloperidol potently inhibits function of the VMAT-2. XII World Congress of Psychiatry, Yokohama, Japan [2002/08/27]
- 28) Tsujita T, Arinami T, Yoshikawa T, Fukumaki Y, Tashiro N, Inada T, Someya T, Mineta M, Ujike H, Ozaki N,