

- トする, 座談会) 動き出した精神科医療 (2)
東京、2001. 4
12. 佐藤光源: 精神医学研修コース 8: 精神分裂病の治療ガイドライン, 第 97 回日本精神神経学会総会, 大阪、2001. 5
 13. 佐藤光源: 覚醒剤精神病の発症脆弱性, 第 97 回日本精神神経学会総会、教育講演 大阪、2001. 5
 14. 佐藤光源: 精神分裂病の研究と治療: 今後の展望, 多摩精神医学研究会 多摩、2001. 5
 16. 佐藤光源: 精神分裂病の治療ガイドライン, 第 77 回福井県神経科精神科精神科医会、特別講演 福井、2001. 6
 17. 佐藤光源: 精神分裂病の治療ガイドライン, 埼玉臨床精神薬理研究会、講演 川越、2001. 6
 18. 佐藤光源: 「21 世紀の外来精神医療」～大学病院の立場から, 第 1 回日本外来精神医学会、シンポジウム「21 世紀の外来精神医療」, 東京、2001. 6
 19. Sato M: Clinical and experimental approaches to methamphetamine-induced psychosis, The 6th Study Programme for Overseas Experts on Drug Abuse and Narcotics, Control - Challenge for Promotion of the Countermeasures against Amphetamine, Type Stimulants Abuse, 東京、2001. 6
 20. 佐藤光源: 精神分裂病治療はかわるか, Fujisawa Satellite Journal 特別企画, 仙台、2001. 7
 21. 佐藤光源: 新世紀における薬物療法への期待, 学術講演会, 東京、2001. 7
 22. 佐藤光源: 精神分裂病の疾病概念と治療計画, 第 1 回関西精神科フォーラム、特別講演 大阪、2001. 9
 23. 佐藤光源: 軽症うつ病と難知性うつ病の治療指針, 古川医師会、特別講演, 古川、2001. 9
 24. 佐藤光源: 「21 世紀の外来精神医療」～大学病院の立場から, 第 1 回日本外来精神医学会総会、シンポジウム「21 世紀の外来精神医療」 東京、2001. 10
 25. 佐藤光源: 分裂病の医療モデル概念と治療方針, 第 17 回東京精神病院学会、特別講演 東京、2001. 10
 26. Sato M: Current Psychiatry in Japan., Asian and Oceanian Society President and WPA zonal representative meeting in Kyoto., Kyoto, 2001.10
 27. Sato M: Kindling, reverse tolerance and relapse susceptibility., 2002 Annual Meeting of the Korean Neuropsychiatric Association, Special Lecture, Seoul, 2001.10
 28. Sato M: Introduction of 12th World Congress of Psychiatry in Yokohama., Annual Meeting of the Korean Neuropsychiatric Association, General Assembly, Seoul, 2001.10
 29. 佐藤光源: 覚せい剤精神病のメカニズム, 平成 13 年度薬物乱用防止指導者研修会 東京、2001.11
 30. 佐藤光源: 内因性精神障害研究の現状と将来に関する研究, 平成 13 年度「脳科学研究の現状と将来に関する研究」(主任研究者高橋清久) 班会議, 東京、2001.12
 31. 佐藤光源: 精神分裂病の呼称変更と抗スティグマ活動, 山梨精神科医会、特別講演 甲府、2001.12
 32. 佐藤光源: なぜいま「統合失調症」なのか—もう一つのいのち, 仙台的いのちの電話、公開講演会、仙台、2002. 6
 33. 佐藤光源: 精神分裂病から統合失調症へ, 宮城県精神保健福祉大会、特別講演、仙台、2002.10
 34. 佐藤光源: なぜ、いま統合失調症なのか, 山梨県精神保健福祉大会、特別講演、甲府、2002.11
 35. 佐藤光源: 精神医学講座担当者会議—日本精神神経学会から, 第 20 回精神医学講座担当者会議シンポジウム、犬山、2002.9
 36. 佐藤光源: 精神分裂病の発症脆弱性と治療計画, 第 8 回精神保健指定医研修会、東京、2002.10
 37. 佐藤光源: 精神科医から見た薬物依存者の諸問題, 仙台保護観察所研修会、仙台、2002.10
 38. 佐藤光源: 覚せい剤中毒の特徴—覚せい剤精神病について, 平成 14 年度薬物乱用防止指導者研修会、東京、2002.11
 39. 佐藤光源: 何故いま、統合失調症なのか, 第 35 回精神神経系薬物治療研究報告会、基調講演、大阪、2002.12
 40. 佐藤光源: 統合失調症と発症脆弱性, 第 8 回外来臨床精神医学懇話会、特別講演、東京、

- 2002.12
41. 佐藤 光源：Citizens' Forum to Fight against Stigma toward Mental Disorders. - Why now "togo-sicchoshu"、横浜、2002. 8
 42. Sato, M: Prospects of psychiatry and psychiatric care in Japan., 12th WCP Yokohama, Symposium, Yokohama, 2002. 8
 43. 佐藤 光源：理事長あいさつ—日本精神神経学会の回顧と展望、日本精神神経学会創立百周年記念式典、横浜、2002.8
 44. Sato M. Psychopharmacology algorithm in Japan., Satellite Symposium, 横浜、2002.8
 45. 佐藤 光源：21世紀の精神医学：求められるものと目指すもの。Medical Journalist 通常総会、特別講演、東京、2002.5
 46. 佐藤 光源：統合失調症研究の現状と将来計画に関する研究。平成14年度「こころの健康科学研究事業評価」班、東京、2002.12
 47. 佐藤 光源：精神科研修の必修化と専門医制度。日本医師会卒後教育シンポジウム、東京、2002.10
 48. 佐藤 光源：精神分裂病の治療ガイドライン—最近の動向。会津医師会、会津、2002.2
 49. 佐藤 光源：治療ガイドラインと薬物選択基準。第6回城東地区精神科懇話会。東京、2002.3
 50. 佐藤 光源：WPA/JSPN Anti-stigma Program Focus Group Interview Training。東京 1月、2003.
 51. 佐藤 光源：統合失調症と発症脆弱性。学術講演会、京都 2月、2003.
 52. 佐藤 光源：規制薬物の依存及び神経毒性の発現に係わる仕組みの分子生物学的解明に関する研究。厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）研究報告会、東京 2月、2003.
 53. 佐藤 光源：統合失調症—名称変更がもたらす波及効果。第17回リハビリテーション会議、記念講演 東京 2月、2003.
 54. 佐藤 光源：呼称変更—精神分裂病から統合失調症へ、ラジオ短波「医学講座」東京 2月、2003.
 55. 佐藤 光源：厚生科学研究費補助金障害保健福祉研究事業「精神障害の偏見除去等に関する研究」平成14年度研究成果報告会、東京 3月、2003.
 56. 佐藤 光源：「精神障害者の偏見除去に関する研究」中間報告。第12回 Lilly Mental Health Forum、基調講演、東京 5月、2003.
 57. 佐藤 光源：統合失調症の Second Illness—呼称変更と WPA 横浜大会。Mental Illness Seminars—精神科領域最新のトレンド。特別講演 東京 5月、2003.
 58. 佐藤 光源：統合失調症の発症脆弱性と治療ガイドライン。第13回堺精神神経科懇話会、特別講演 堺市 6月、2003.
 59. Sato M. Methamphetamine Psychosis: Clinical and Basic Evidence., The XVIII Study Programme for Overseas Experts on Drug Abuse and Narcotics Control. Lecture 東京、6月、2003.
 60. 佐藤 光源：統合失調症の脆弱性モデルと治療計画。平成15年度精神保健指定医研修会、東京 6月、2003.
 61. 佐藤光源：統合失調症—呼称変更と新たな医療の展開。第8回東北統合失調症研究会、特別講演 盛岡 7月、2003.
 62. 佐藤光源：統合失調症の病名告知と新たな医療の展開。第31回日本精神科病院協会精神医学会ランチオンセミナー講演 札幌 7月、2003.
 63. 佐藤光源：心の健康と”第2の病”。第12回松原記念講演会特別講演、金沢 8月、2003.
 64. 佐藤光源：”統合失調症”と新たな医療の展開。第4回SDA研究会、特別講演、出雲、11月、2003.
 65. 佐藤光源：統合失調症とその発症メカニズム。日本衛生会、第45回精神保健シンポジウム：心の病のメカニズム—科学はここまで明らかにした、大分 11月、2003.
 66. 佐藤光源：統合失調症と急性期治療ガイドライン。第7回徳島精神科薬物療法セミナー、特別講演 徳島 11月、2003.
 67. 佐藤光源：精神障害者の偏見除去等に関する研究。厚生労働科学研究費研究成果等普及事業、障害保健福祉総合研究成果発表会 東京 12月、2003.
 68. 佐藤光源：統合失調症研究の現状と将来計画に関する研究。平成15年度厚生労働科学研究費補助金「こころの健康科学研究事業に係わる企画及び評価に関する研究報告会、東京 12月、2003.

69. Iwabuchi K, Ito C, Tashiro M, Sato M, Yanai K.: Neuroimaging of histamine H1-receptor in the schizophrenic human brain by positron emission tomography (PET) 8th International Conference on Functional Mapping of the Human Brain, Sendai, Japan (2002.6)
70. Iwabuchi K, Kubota Y, Ito C, Ohtsu H, Watanabe T, Watanabe T, Matsuoka H.: The role of histaminergic neuron system in the methamphetamine induced behavioral sensitization : A study using histamine related gene knockout mice. XII World Congress of Psychiatry, Yokohama, Japan (2002. 8)
71. 岩渕健太郎、伊藤千裕、窪田恭彦、田代学、鹿野理子、岩田錬、伊藤正敏、佐藤光源、谷内一彦:統合失調症 脳内ヒスタミン H₁受容体の PET による測定 - Haloperidol および Risperidone 内服群の検討. 第12回日本臨床精神神経薬理学会, 新潟 (2002. 10)
72. Iwabuchi K, Kubota Y, Ito C, Watanabe T, Watanabe T, Yanai K.: Methamphetamine and brain histamine; a study using histamine related gene knockout mice. International Society for Neurochemistry Japanese Forum on Nicotine and Drug Dependence Studies, Kyoto, Japan (2003. 8)

平成15年度 総括研究報告

主任研究者 曾良 一郎

平成 15 年度厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

規制薬物の依存及び神経毒性の発現にかかわる仕組みの分子生物学的解明に関する研究

研究代表者 曾良一郎

総括研究報告

平成 15 年度は曾良一郎が、平成 13,14 年度と研究代表者を務められた佐藤光源より班研究を引き継いだ。薬物依存とそれに伴う毒性の発生機序を明らかにするという本研究班の目標は継続した。薬物依存とその毒性の脳内基盤には移行する部分や共有部分があるので厳密には分けることはできないが、便宜上、鍋島グループは主にメタンフェタミンの精神毒性を、曾良（旧佐藤）グループは主に薬物精神病の発症と再発の原因を担当している。本年度は 3 年間の研究期間の最終年度であり、平成 13,14 年度と同様に多くの研究成果が得られたので、その概要を報告する。なお今年度も両グループが一堂に会して研究報告会(2004 年 1 月 30 日、KKR 東京)を行い、活発かつ有意義な討論が行われた。

(I) メタンフェタミンの精神毒性に関する神経精神薬理学的研究

1. メタンフェタミンの神経毒性に対する腫瘍壊死因子関連治療薬の開発
(名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部 鍋島俊隆)
2. メタンフェタミンによるドバミン神経毒性のチロシナーゼによる修飾
(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・浅沼幹人)
3. メタンフェタミン反復投与後の側坐核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
(広島大学大学院医歯薬学総合研究科治療薬効学・石原熊寿)
4. 覚醒剤神経毒性モデルにおける覚醒剤脳移行性の経時的变化に関する検討
(名古屋大学大学院医学系研究科 長谷川高明)
5. 覚せい剤精神依存形成に関わる遺伝子発現の研究
(国立精神・神経センター 精神保健研究所 薬物依存研究部・松田正彦)
6. 低濃度セロトニン連続曝露に伴う L 型高電位開口性カルシウムチャネルの機能変化? 大脳皮質神経細胞を用いた解析
(川崎医科大学薬理学教室 大熊誠太郎)

7. 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

(東北大学大学院医学系研究科精神神経生物学分野 曾良一郎)

(II) 薬物精神病の発症と再発の原因

1. 覚せい剤精神病に関わる臨床遺伝学的研究 ? prodynorphin および dihydropyrimidinase-like 2 遺伝子における相関研究

(岡山大学大学院医歯学総合研究科精神神経病態学分野 氏家 寛)

2. 覚せい剤精神病のドーパミンレセプターD2 遺伝子 Taq I A 多型と脳MRI に関する相関研究

(久留米大学医学部 精神神経科 内村直尚)

3. 覚醒剤精神病の精神症状に関する研究

(日本大学医学部精神神経科学教室 小島 卓也)

4. 規制薬物の依存メカニズムと慢性精神毒性に関する神経科学的研究

(千葉大学大学院医学研究院精神医学 伊豫雅臣)

5. 逆耐性モデルを用いた覚醒剤精神病における脳障害の分子病態の解明

(東京医科歯科大学大学院精神行動医科学分野 西川 徹)

6. メタンフェタミン、フェンシクリジン投与による Nurr 1 mRNA の変化に及ぼす精神科治療薬の影響

(獨協医科大学精神神経医学教室・秋山一文)

7. メタンフェタミン逆耐性形成における中枢ヒスタミン神経系の影響

(東北大学大学院医学系研究科細胞・病態薬理学分野 谷内一彦)

8. 覚せい剤の神経毒性、体温変化に対するドーパミン・セロトニン神経系の関与

(東北福祉大学大学院精神医学 佐藤光源)

(I) メタンフェタミンの精神毒性に関する神経精神薬理学的研究 (鍋島グループ)

依存と神経毒性に関与する分子として、メタンフェタミンの標的分子であるモノアミントランスポーターのみならず腫瘍壊死因子、チロシナーゼ、グルココルチコイド関連遺伝子等の関与が報告され、新規治療薬の開発に結びつく結果が得られた。さらに従来、

依存と神経毒性の機序はドーパミン神経伝達が中心と考えられていたが、セロトニン神経伝達も関与するとの報告がなされ、ドーパミン以外の神経伝達系を変化させる薬物が、依存と神経毒性の治療効果を持つ可能性が示唆された。

メタンフェタミンの神経毒性に対する腫瘍壊死因子関連治療薬の開発

(担当：鍋島 俊隆)

メタンフェタミン反復投与により運動亢進および場所嗜好性を示すようになった野生型マウスに腫瘍壊死因子(TNF- α)のみを5日間連続投与すると運動亢進および場所嗜好性が抑制された。一方、グリア細胞株由来神経栄養因子(GDNF)産生誘導物質のひとつであるLeu-Ileを反復投与すると脳内でのTNF- α mRNAの発現が増加した。Leu-IleはTNF- α 同様にメタンフェタミン誘発の場所嗜好性ならびに自発運動亢進を抑制した。本研究で用いたLeu-Ileは末梢投与で脳内のTNF- α およびGDNFを増加させ、薬物依存を改善させた。今後、Leu-IleがTNF- α およびGDNFを産生する機序を解明することによって、治療薬の開発に結びつくと考えられる。

メタンフェタミンによるドーパミン神経毒性のチロシナーゼによる修飾

(担当：浅沼 幹人)

メタンフェタミン投与によるドーパミン神経毒性におけるチロシナーゼの関与を明らかにするために、カテコールアミン系CATH.a細胞を用いてメタンフェタミン神経毒性に対するチロシナーゼ阻害剤phenylthiocarbamide (PTU)の影響について検討した。CATH.a細胞でのメタンフェタミン神経毒性はPTU処置により増悪された。さらに、メタンフェタミン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、メタンフェタミンの神経毒性が減弱された。これらのことから、チロシナーゼあるいはその関連分子は末梢においてメタンフェタミンに何らかの修飾を加え、メタンフェタミンによるドーパミン神経毒性を減弱させる可能性が示唆された。

メタンフェタミン反復投与後の側坐核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

(担当：石原 熊寿)

側坐核におけるセロトニン性調節が塩酸メタンフェタミン(MAP)の反復(5日間)投与により影響を受けるか否かについてラットを用い電気生理学的検討を行った。側坐核の集合活動電位に対して、ドーパミン(100 μ M)およびセロトニン(10 μ M)は抑制作用を示した。MAP反復投与後のラットにおいて、ドーパミンによる抑制は投与中止24時間後においては減弱する傾向が見られ、5日後においては増強された。一方、セロトニンによる抑制作用は最終投与24時間後においてはMAP群とControl群の間に差はなかったが、5日後においてはセロトニンによる抑制がMAP群において消失した。側坐核におけるセロトニン性調節はそのグルタミン酸性シナプス活動を抑制するように作用す

ることが示された。このセロトニンによる抑制作用はドパミンによる抑制作用とは異なる影響を MAP 反復投与により受けることが明らかとなった。最終投与 5 日後における側坐核でのセロトニン性抑制の消失は側坐核におけるシナプス伝達の増強を意味しており、精神依存発現におけるセロトニン神経機能の変化の役割が示唆された。

覚醒剤神経毒性モデルにおける覚醒剤脳移行性の経時的变化に関する検討

(担当：長谷川 高明)

メタンフェタミン(METH)による神経毒性モデル作成後の METH 体内動態および脳移行性について検討を行った。モデル作成より 1 週間後あるいは 1 ヶ月後に METH (5 mg/kg) を投与して、その血漿中濃度-時間推移、脳組織間隙内濃度-時間推移を検討した。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対照群に比して有意に上昇することが明らかになった。次に、METH の脳組織間隙内からの除去に重要である OCT3 の発現についても検討を行った。その結果、OCT3 の発現はモデル作成より 1 週間後あるいは 1 ヶ月後のいずれにおいても有意に低下していることが明らかになった。したがって、この OCT3 発現の長期的な低下もまた METH 脳組織間隙内濃度の上昇に一部関与している可能性が示唆された。以上の結果より、METH 神経毒性モデル作成後においても METH の体内挙動には変化があることが明らかになった。

覚せい剤精神依存形成に関わる遺伝子発現の研究

(担当：船田 正彦)

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。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、MAP 急性投与から慢性投与で 1.5 倍の発現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 glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) は、MAP 急性投与 24 時間後から休薬後までの長期間に渡り持続した増加が認められた。そこで、GILZ antisense を作製し MAP 逆耐性および精神依存形成に対する影響を検討したところ、GILZ antisense の前処置により、MAP 逆耐性形成および精神依存形成は抑制された。また、MAP 逆耐性の発現は Raf-1 拮抗薬 GW-5074 の前処置により有意に抑制された。MAP 慢性動物の limbic forebrain においてリン酸化 Raf-1 量の増加が認められ、この増加は GILZ antisense の前処置により抑制された。

低濃度セロトニン連続曝露に伴う L 型高電位開口性カルシウムチャネルの機能変化—大脳皮質神経細胞を用いた解析

(担当：大熊 誠太郎)

初代培養マウス大脳皮質神経細胞を用い、低濃度セロトニン (5-HT) を連続曝露した場合の L 型高電位開口性カルシウムチャネル (HVCC) 機能変化を検討した。5-HT (1 μM)

の連続曝露により $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入は経時的に増加し、曝露48時間後には有意な流入増加が見られ、この流入増加は曝露後72時間目には plateau に達した。また5-HTは用量依存性に $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入増加をもたらした。この流入増加は5-HT₁および2受容体拮抗薬であるmethysergideにより用量依存性に抑制され、また5-HT₃受容体拮抗薬であるMDL72222によっても用量依存性に抑制されたが、両拮抗薬を同時に曝露した場合には5-HT連続曝露により誘発される $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入増加は完全に消失した。5-HT連続曝露により生じた30mM KCl誘発性 $[^{45}\text{Ca}^{2+}]$ 流入の増加はnifedipineの同時曝露によって消失したが、P/QおよびN型HVCC拮抗薬では影響を受けなかった。Western blot法により上記HVCCのサブユニットの発現変化を解析したところ、それぞれP/QおよびN型HVCCを構成する?1Aおよび?1Bサブユニットのみならず、L型HVCCの $\alpha 1C$ および $\alpha 1D$ サブユニットの発現にも変化が認められなかった。さらに $[^3\text{H}]$ diltiazem結合実験を行ったところ、5-HTの連続曝露により $[^3\text{H}]$ diltiazem結合は増加し、この増加はKd値の低下に起因していた。これらの成績から、5-HT連続曝露により生じるL型HVCCの機能亢進は5-HT₁、2および3受容体が関与しており、しかもその機能亢進はL型HVCCの $[^3\text{H}]$ diltiazemに対する結合親和性の増加に起因することが明らかとなった。

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

(担当：曾良 一郎)

コカインによる報酬はドーパミントランスポーター(DAT)完全欠損にセロトニントランスポーター(SERT)部分あるいは完全欠損が加わることにより消失した。これらの報酬試験の結果に対応する脳内モノアミン神経伝達の解析を目的として、脳内微量透析法を用いてコカインに対する線条体、側坐核、前頭前野における細胞外ドーパミン(DA_{ex})、セロトニン濃度(5-HT_{ex})の変化を検討し、モノアミンに対応しないトランスポーターによる再取り込み補完作用の存在が示唆された。しかし、コカインの局所投与は、SERTKOマウスにおいては5-HT_{ex}を増加させたがDATKOマウスにおいてはDA_{ex}を増加させなかったことから、残存するDATがセロトニン再取り込みを補完するが、残存するSERTは必ずしもドーパミン再取り込みを補完しないと考えられた。MAPの逆耐性はDATもしくはSERTの完全欠損では形成されないことから、逆耐性の形成にはDATのみならずSERTも重要な役割を果たしていることを示唆してきた。さらにDATもしくはSERTを部分欠損した場合は、MAP逆耐性の表出(expression)には影響しないが、DATの部分欠損は逆耐性の発展(development)を遅延させることを示し、逆耐性の発展にはDATの正常な発現が必須であることを示唆してきた。

(II) 薬物精神病の発症と再発の原因(曾良グループ)

薬物精神病の発症と再発には依存性薬物の摂取が必要だが、必ずしも十分条件ではなく、遺伝的差による個人差に大きく影響されることから、脆弱性候補遺伝子である

ダイノルフィン、ドーパミン受容体の遺伝子多型を解析し、薬物精神病の間に相関を認めた。覚醒剤精神病と妄想型統合失調症の関連について臨床例、遺伝子改変マウスを含む動物モデルを用いて検討を行い、薬物精神病の発症と再発の機序を明らかにした。

覚せい剤精神病に関わる臨床遺伝学的研究 - prodynorphin および dihydropyrimidinase-like 2 遺伝子における相関研究

(担当：氏家 寛)

覚せい剤依存および覚せい剤精神病における遺伝子リスクファクターを遺伝子相関法により検討した。候補遺伝子としてオピオイド系の dynorphin などをコードする prodynorphin 遺伝子について検討した。prodynorphin 遺伝子多型の 68bp-VNTR は覚せい剤依存および覚せい剤精神病は遺伝子型で有意な相関 ($p=0.0037$ および 0.0057) を示し、後者はアレル頻度でも有意な相関を示した ($p=0.0250$)。更に、機能との関連から、1-2 リピートを L (低活性) アレル、3-4 リピートを H (高活性) アレルと定義すると、やはり強い相関が得られ、H アレルのオッズ比は、覚せい剤依存症で 1.83、覚せい剤精神病で 1.75 であった。覚せい剤依存患者の臨床パラメーターでの検討では、初回使用の年齢、初回使用から精神病発現までの潜時、治療後の寛解までの期間、フラッシュバックの有無では相関が無かったが、多剤乱用の有無ではより重度の多剤乱用 (シンナー以外の大麻やコカインの使用歴) と相関を示した (H アレルのオッズ比 1.88)。今回の結果から、prodynorphin 遺伝子多型が覚せい剤依存と多剤乱用の危険因子であることが明らかとなった。

覚せい剤精神病のドーパミンレセプターD2 遺伝子 Taq I A 多型と脳 MRI に関する相関研究

(担当：内村 直尚)

ドーパミンレセプターD2(DRD2)遺伝子の Taq I A 多型について、endophenotype として MRI による脳の形態にも着目し、解析、検討を行った。特に、脳の形態解析は、MRI のデータを Voxel-Based Morphometry によって解析し、定量的に行った。その結果、覚せい剤精神病と DRD2 遺伝子の Taq I A 多型との間に相関があること、覚せい剤精神病罹患患者では、左) 側頭葉 (中側頭回・上側頭回前部) と中脳 (被蓋) が健常者に比べて狭小であること、A2/A2 遺伝子型の罹患患者では、特に中脳 (被蓋) と左) 前頭葉下面 (内側眼窩回) が狭小であることが示された。これらの結果は、Taq I A 多型が覚せい剤精神病の発症・重篤化の規定因子であることを明らかにするとともに、左側頭葉と中脳の一部が責任部位である可能性を示唆し、さらに、その責任部位とは別に同多型と係わる発症・重篤化の責任部位が左) 前頭葉下面の内側眼窩回に存在する可能性をも示唆している。

覚醒剤精神病の精神症状に関する研究

(担当：小島 卓也)

覚醒剤精神病の中でも休薬後長期にわたり精神症状が持続する患者がおり、統合失調症との異同が議論となっている。今回、我々は臨床経過により早期消退型、遷延型、持続型の3群に分け、その精神症状をBPRSとGAFを用いて統合失調症と比較検討した。覚醒剤精神病各群のBPRS各得点は妄想型統合失調症よりも有意に低く、またGAFは有意に高かったことから、覚醒剤精神病は妄想型統合失調症と異なる群である可能性が示唆された。また覚醒剤精神病3群間では、持続型が早期消退型よりも陰性症状項目点が有意に高く、持続型が早期消退型と異なる群である可能性も示唆された。

規制薬物の依存メカニズムと慢性精神毒性に関する神経科学的研究

(担当：伊豫 雅臣)

覚せい剤使用者のPET研究より、覚せい剤使用者の脳内ドーパミン・トランスポーター(DAT)の密度が、健常者と比較して有意に低下していること、およびこの低下が覚せい剤の使用期間や臨床症状と相関していることが報告されている。最近われわれは、ラットを用いた実験において、抗酸化物質NAC(N-アセチルL-システイン)が覚せい剤投与によるドーパミン神経障害を抑制することを見出した。本研究では、覚せい剤投与によるドーパミン神経障害の予防及び治療法の開発を目的として、サルを用いたPET研究において、抗酸化物質NACの効果を調べた。覚せい剤の投与によってサル脳内DATは著しく減少したが、5-HTTの減少は軽度であった。NACの投与は、覚せい剤投与によるDATの減少を顕著に抑制した。以上の結果より、NACなどの抗酸化物質は覚せい剤乱用による脳内のドーパミン神経障害の予防薬および治療薬になる可能性が示唆された。

逆耐性モデルを用いた覚醒剤精神病における脳障害の分子病態の解明

(担当：西川 徹)

覚せい剤・麻薬精神病が小児期には出現し難く、げっ歯類では逆耐性が生後3週齢頃(臨界期)以降に成立する点に着目し、逆耐性関連候補分子として、ラットやマウスの脳から覚醒剤・麻薬に対し臨界期以後に異常応答を示す遺伝子群や産生蛋白、それらと相互作用をもつ分子等を検索し、逆耐性に関連する分子カスケードを検討した。本年度は、大脳新皮質で、新たに覚せい剤・麻薬に対する反応が臨界期の前後で著明に変化する遺伝子の検索を続けるとともに、これら薬物の異常行動発現作用を抑制するD-セリンを含むさまざまなアミノ酸の組織中濃度の変化を調べた。ラット大脳新皮質から、統合失調症様症状を引き起こすphencyclidine(PCP)投与後の発現増加が、臨海期以降には著明になる遺伝子が新たに検出され、prt4(phencyclidine-responsive transcript 4)と呼ぶこととした。一方、大脳新皮質および線条体で、覚せい剤methamphetamine(MAP)とPCPのアミノ酸に対する影響を解析したところ、1)D-セリン濃度には有意な

変化を引き起こさない、2)PCP はアスパラギン酸濃度を低下させる、3)MAP はアスパラギンおよびアルギニンの濃度を有意に増加させ、この効果は抗精神病薬で抑制される、などの点が明らかになった。

メタンフェタミン、フェンシクリジン投与による Nurr 1 mRNA の変化に及ぼす精神科治療薬の影響 (担当：秋山 一文)

オーファン核内レセプターに属する転写因子である Nurr 1 mRNA の発現について 1) フェンシクリジン(PCP)急性投与前に抗精神病薬投与処置を施した効果、2)メタンフェタミン(METH)急性投与によって誘発される mRNA 発現に与える慢性リチウム投与の影響について検討した。PCP 急性投与による大脳皮質での Nurr 1 の mRNA 発現増加は olanzapine, clozapine の前処置によってほぼ完全に阻止されたが、haloperidol, risperidone の前処置では阻止されなかった。2)正常餌、リチウム含有餌で2週間飼育されたラットに生食または METH 4 mg/kg を投与、その1時間後に断頭した。METH 急性投与によって広汎な大脳皮質で Nurr 1 の mRNA 発現が増加した。retrosplenial cortex での発現はリチウム餌飼育群で有意に抑制されたが、それ以外の部位では有意な影響はなかった。PCP 急性投与によって Nurr 1 の mRNA 発現が olanzapine, clozapine によって阻止されたことは、これらの非定型抗精神病薬が NMDA 型グルタミン酸受容体拮抗作用を介する精神症状や行動を改善させるという仮説に矛盾していないと考えられる。

メタンフェタミン逆耐性形成における中枢ヒスタミン神経系の影響

(担当：谷内 一彦)

H1、H2 受容体、HDC(histidine decarboxylase) knockout mouse を用いた研究から中枢ヒスタミン神経がメタンフェタミン(MAP)逆耐性形成などの有害な刺激に対して抑制的に作用する可能性を示している。OTC に多く含まれる抗ヒスタミン薬の MAP 逆耐性形成への影響を調べた。自発運動量と驚愕反応の事前音刺激による抑制 (Pre-pulse inhibition) を指標に調べると、抗ヒスタミン薬の中でクロルフェニラミンが特に強く MAP による行動への効果を増大させること、またその増強効果に比例して血清中及び脳組織中 MAP 濃度の測定が数倍増大することが明らかになった。さらに H3 受容体遺伝子ノックアウトマウス (H3KO) を用いて MAP 逆耐性形成過程における H3 受容体の役割を調べた。H3 受容体は auto receptor としてヒスタミンの放出を制御するだけでなく、hetero receptor としてドパミン、ノルアドレナリン、セロトニンなど他の神経伝達物質の放出も調節している。H3KO では MAP 逆耐性の形成が遅延することが明らかになった。

覚せい剤の神経毒性、体温変化に対するドーパミン・セロトニン神経系の関与

(担当：佐藤 光源)

MAPの神経毒性と体温上昇作用におけるドーパミン、セロトニン神経伝達の役割を明らかにすることを目的に、MAPの主な作用分子であるドーパミントランスポーター(DAT)とセロトニントランスポーター(SERT)のノックアウト(KO)マウスにおけるMAPの神経毒性と体温上昇効果を調べた。野生型、DAT-KO、SERT-KOマウスではMAPで有意に体温が上昇、DAT/SERT-ダブルKOマウスでは、MAPにより逆に体温が有意に下降した。MAPによる致死率は、野生型マウスに比較してDAT-KOマウス、SERT-KOマウスでは低下していた。また、DAT/SERT-ダブルKOマウスで、選択的ノルエピネフリン(NE)取り込み阻害薬のニソキセチンは体温を上昇させたが、モノアミン取り込み阻害薬のメチルフェニデート、SSRIのフルオキセチンは体温を変化させなかった。DAT/SERTダブルKOマウスでのMAPの体温下降は残存するノルエピネフリントランスポーター(NET)への作用が想定された。さらに、MAPの急性毒性に関しても、DATのみならずSERT欠損が保護的に作用することから、ドーパミンに加えてセロトニン神経伝達がMAP急性毒性に関与することが示唆された。

平成15年度 分担研究報告

メタンフェタミンの神経毒性に対する腫瘍壊死因子関連治療薬の開発

分担研究者: 鍋島俊隆¹

研究協力者: 新田淳美¹、山田裕一郎¹、丹羽美苗¹、野田幸裕¹、齋藤邦明²、清島 満²、山田清文³

¹名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部

²岐阜大学医学部・臨床検査医学

³金沢大学薬学部・病院薬学

[研究要旨]

腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor- α ; TNF- α) はマクロファージや単球などの免疫担当細胞で産生される炎症性サイトカインである。近年、脳でも産生され、高次神経機能に関与していることが報告されている。本研究では、昨年度に引き続き、メタンフェタミンの逆耐性・精神依存に対する TNF- α の抑制作用を検討した。本年度はさらに薬物依存形成を抑制するタンパクの 1 つとして報告されているグリア細胞株由来神経栄養因子(glial cell line-derived neurotrophic factor; GDNF) との関連についても検討した。さらに、我々が GDNF の産生を誘導することを報告しているジペプチドの Leu-Ile の TNF- α の産生に及ぼす影響および薬物依存の治療薬としての可能性についても検討した。

メタンフェタミン反復投与により運動亢進および場所嗜好性を示すようになった野生型マウスに TNF- α のみを 5 日間連続投与すると運動亢進および場所嗜好性が抑制された。TNF- α 遺伝子欠損マウスでは野生型マウスに比べ、メタンフェタミンにより誘発される場所嗜好性が増強されたが、この増強作用も TNF- α を併用投与することで抑制された。また野生型マウスに TNF- α を投与すると側坐核における GDNF 含量は増加した。一方、Leu-Ile を反復投与すると脳内での TNF- α mRNA の発現が増加した。Leu-Ile は TNF- α 同様にメタンフェタミン誘発の場所嗜好性ならびに自発運動亢進を抑制した。

本研究ではあらかじめメタンフェタミン依存を形成させた動物に TNF- α を投与した場合でも薬物依存が改善され、この作用は GDNF を介している可能性が示唆された。しかし、TNF- α は炎症性サイトカインであり、一方、GDNF は脳血液関門を通過出来ず、ともに末梢投与による治療は期待できない。本研究で用いた Leu-Ile は末梢投与で脳内の TNF- α および GDNF を増加させ、薬物依存を改善させた。今後、Leu-Ile が TNF- α および GDNF を産生する機序を解明することによって、治療薬の開発に結びつくと考えられる。

A. 研究目的

覚せい剤であるメタンフェタミンの乱用により精神依存が形成され、大きな社会問題となっている。

昨年度までの本研究において、メタンフェタミンの反復投与により、脳各部位で TNF- α mRNA が誘導されること、TNF- α はメタンフェタミンの精神神経毒性および弁別刺激効果に対して抑制的に働き、その作用点の一つとして側坐核における c-Fos の発現が関与していることを報告している。

本年度は、TNF- α がいったん形成された依存に対しても、有効かどうかを検討した。一方、TNF- α が GDNF の産生を誘導すること¹や GDNF がコカインの依存を抑制することが報告されている³。我々は、疎水性ジペプチドの Leu-Ile が GDNF の産生を誘導することを見出している⁶。これらの報告と我々の昨年までの研究成果と考えあわせ、Leu-Ile が TNF- α の産生誘導を介して、メタンフェタミンによる精神神経毒性の発現を抑制する可能性が考えられる。そこで、メタンフェタミンによる精

神神経毒性に対する Leu-Ile の効果を検討し、TNF- α や GDNF との関連を明らかにすることにより、メタンフェタミンによる精神神経毒性に対する治療薬の開発の糸口になることを目指した。

B. 方法

1. 動物および薬物

実験には 8~10 週齢の C57BL/6J (日本 SLC) および TNF- α 遺伝子欠損マウスを用いた。マウスは明暗サイクルが 12 時間 (点灯 A.M.8:00)、室温 23 \pm 1 $^{\circ}$ C、湿度 50 \pm 5 % の条件下で飼育し、餌 (CE2: 日本クレア、東京) および水は共に自由に与えた。なお、本研究計画は名古屋大学医学部動物実験委員会により承認され、名古屋大学医学部動物実験指針および Principles of Laboratory Animal Care (National Institutes of Health Publication 85-23, 1985) に従って行った。実験には塩酸メタンフェタミン (ヒロポン[®]、大日本製薬、大阪)、human recombinant TNF- α (大日本製薬、大阪) および Leu-Ile (国産化学、東京) を使用した。いずれの薬物も生理食塩水に溶解した。

2. real-time RT-PCR による TNF- α mRNA の半定量法

野生型マウスに Leu-Ile (1.5, 15 μ mole/kg, *i.p.*) の反復投与 (12 日間) を行い、最終投与から 2 時間後に断頭し、脳を摘出した。また、Leu-Ile (1.5, 15 μ mole/kg, *i.p.*) とメタンフェタミン (1 mg/kg, *s.c.*) の反復併用投与 (12 日間) を行い、同様に最終投与から 2 時間後に断頭し、脳を摘出した。

脳組織に TRIZOL (Invitrogen, CA, USA) を加え、超音波破碎し、遠心後、上清を回収し mRNA を塩析により抽出した。mRNA を SuperScript[™]First-Standard Synthesis for RT-PCR (Invitrogen, CA, USA) を用いて逆転写反応を行い、cDNA を作成した。

real-time RT-PCR による遺伝子発現量の測定には、iCycler iQ Detection System (BIO-RAD, CA, USA) を用いた。PCR の条件、用いたプライ

マー、プローブおよび内在性のコントロールの塩基配列は以下に示した。

条件: denature 95 $^{\circ}$ C 15 sec, annealing and elongation 60 $^{\circ}$ C 1min

TNF- α : forward primer

CCCTTGCCCAGCCAGAA

reverse primer

CCCCCTAAAAGACACGAAGATG

probe:

AGCTTGATGTCATCTCTTCGTGGGCT

TaqMan[™], Fluorescent Probe (Applied Biosystems, CA, USA)

Control: TaqMan Ribosomal RNA Control Regents (VIC[™] Probe) (Applied Biosystems, CA, USA)

3. 条件付け場所嗜好性 (conditioned place preference: CPP) 試験

CPP 試験は 2-compartment box を用いて、既報に従って行った⁷⁾。

野生型マウスを用いてメタンフェタミン (1 mg/kg, *s.c.*) の場所嗜好性形成後の TNF- α (1, 4 μ g/body, *i.p.*) の効果を検討した。一方、Leu-Ile (1.5, 15 μ mole/kg, *i.p.*) を併用投与した時のメタンフェタミン (1 mg/kg, *s.c.*) 誘発による場所嗜好性形成および形成後への影響を検討した。さらに、TNF- α 遺伝子欠損マウスを使用し、Leu-Ile (1.5, 15 μ mole/kg, *i.p.*) を併用投与した時のメタンフェタミン (0.3 mg/kg, *s.c.*) 誘発による場所嗜好性への影響も検討した。

4. 自発運動量測定

実験にはホームケージと同一種類のアクリルケージ (縦 28 cm, 横 17 cm, 高さ 13 cm) を用い、床には少量の飼育用チップを置いた。実験開始日から終了日まで、測定時のケージおよび飼育用チップは各マウスごとに同一とした。行動量の測定には、INFRARED DETECTOR (ニューロサイエンス、大阪) を用い、AB305 Measure および ABTEXT (ニューロサイエンス、大阪) で解析した。

5. 酵素免疫測定法 (enzyme immunoassay; EIA)

TNF- α 遺伝子欠損マウスおよび野生型マウスを断頭して脳を摘出し、側坐核を採取した。野生型マウスに TNF- α (1, 4 $\mu\text{g}/\text{body}$, *i.p.*) または生理食塩水を 5 日間連続投与し、最終投与から 24 時間後に断頭して同様に側坐核を採取した。

各部位の重量を測定し、1M 塩化ナトリウム、2% ウシ血清アルブミン、2mM EDTA、0.2% アジ化ナトリウム、80 trypsin inhibitor unit /L セリンプロテアーゼ阻害剤のアプロチニン (Sigma, MO, USA) を含む 0.1M トリス-塩酸緩衝液 (pH.7.4) を組織重量の 19 倍容量 (5 %w/v) 加え、超音波破砕機でホモジナイズした。ホモジネートを 4°C、10,000 $\times g$ で 30 分間遠心した。上清を分取し、GDNF の定量用のサンプルとした。EIA は既報に従って行った⁵。

6. 統計処理

結果は全て平均値と標準誤差によって示した。統計解析には一元配置分散分析を行い、有意差が認められた場合、さらに Bonferroni の多重比較検定を行った。なお、危険率 5% 以下で差がある場合を有意な差があったとした。

C. 結果

1. メタンフェタミン誘発による場所嗜好性形成後の TNF- α 投与の効果

野生型マウスにメタンフェタミンで条件付けを行い、場所嗜好性が形成されてから休薬 6 日後においても場所嗜好性が観察された。TNF- α を場所嗜好性形成後から再試験までの間の 5 日間連続投与することでメタンフェタミンによる場所嗜好性が減少

した (Fig.1)。

2. メタンフェタミン誘発による自発運動亢進後の TNF- α 投与の効果

野生型マウスにメタンフェタミンを反復投与することによって生理食塩水投与群と比べて自発運動が亢進した。5 日の休薬後、これらのマウスにメタンフェタミンを再投与したところ自発運動は亢進されたままであった。5 日間のメタンフェタミン休薬中に TNF- α を投与すると自発運動の亢進が抑制された (データ示さず)。

3. メタンフェタミン誘発による場所嗜好性に対する Leu-Ile の効果

野生型マウスではメタンフェタミンの投与により場所嗜好性が形成された。この場所嗜好性は Leu-Ile (1.5 $\mu\text{mole}/\text{kg}$, *i.p.*) を併用投与すると抑制された。しかし、野生型マウスに Leu-Ile (1.5, 15 $\mu\text{mole}/\text{kg}$, *i.p.*) を単独で投与した時には、場所嗜好性に影響を与えなかったことより、Leu-Ile には嗜好性や嫌悪効果はないものと考えられる (Fig.2)。野生型マウスにメタンフェタミン (1 mg/kg, *s.c.*) を投与すると場所嗜好性が形成されてから 6 日後においても場所嗜好性が観察された。場所嗜好性形成後から再試験までの間の 5 日間に Leu-Ile (1.5 $\mu\text{mole}/\text{kg}$, *i.p.*) を連続投与すると場所嗜好性が減少した。 (Fig.3)。

TNF- α 遺伝子欠損マウスでは野生型マウスで場所嗜好性が惹起されない低用量のメタンフェタミン (0.3 mg/kg, *s.c.*) の投与により場所嗜好性が形成された。この場所嗜好性は Leu-Ile (1.5, 15 $\mu\text{mole}/\text{kg}$, *i.p.*) を併用投与しても抑制されなかった (Fig.4)。

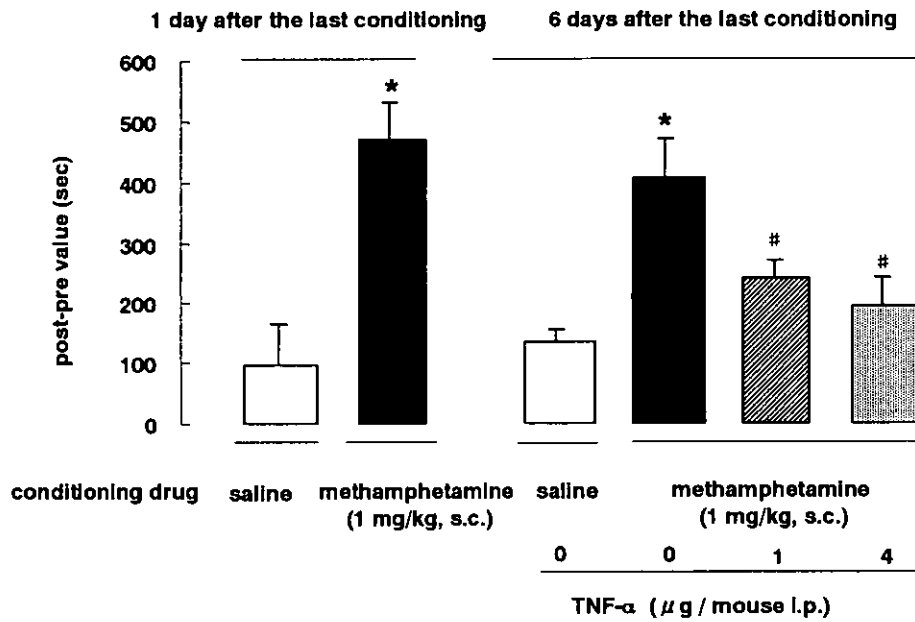


Fig. 1 Effect of TNF- α after the acquisition on methamphetamine-induced place preference in mice. Mice were treated with TNF- α (*i.p.*) for 5 days after the acquisition of methamphetamine (1 mg/kg, *s.c.*) -induced place preference ($n = 5$). * $p < 0.05$ vs. saline/saline-treated mice. # $p < 0.05$ vs. methamphetamine/saline-treated mice.

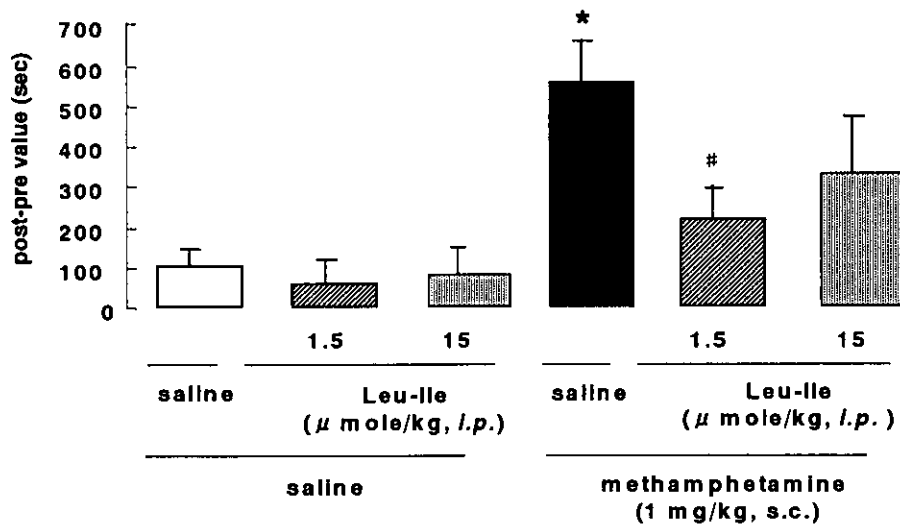


Fig. 2 Effect of Leu-Ile on methamphetamine-induced place preference in mice. Mice were treated with Leu-Ile in combination with methamphetamine (1 mg/kg, *s.c.*) or saline during the conditioning ($n=8-10$). * $p < 0.05$ vs. saline/saline-treated group. # $p < 0.05$ vs. saline/methamphetamine-treated group.

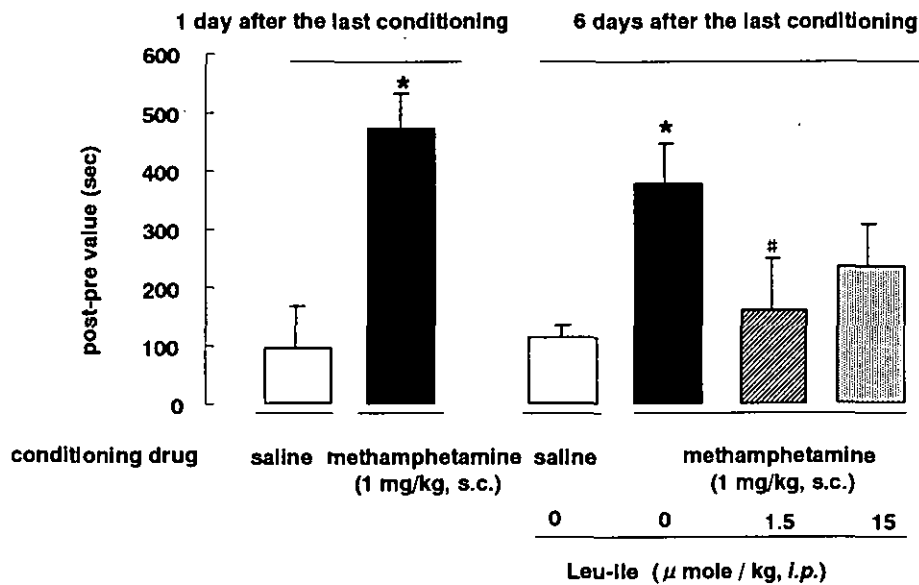


Fig. 3 Effect of Leu-Ile on methamphetamine-induced place preference after the acquisition in mice. Mice were treated with Leu-Ile for 5 days after the acquisition of methamphetamine (1 mg/kg, s.c.)-induced CPP (n =10). *p<0.05 vs. saline/vehicle-treated group. # p<0.05 vs. MAP/saline-treated group.

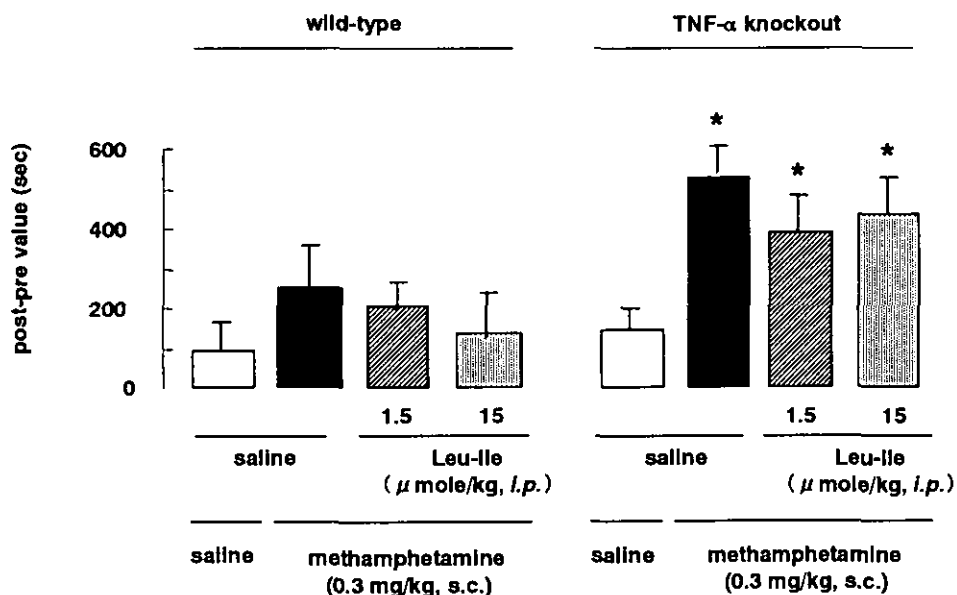


Fig. 4 Effect of Leu-Ile on methamphetamine-induced place preference in TNF-α knockout mice. Mice were treated with methamphetamine (0.3 mg/kg, s.c.) or saline during the conditioning. (n=4). *p<0.05 vs. methamphetamine-treated wild-type mice.

4.メタンフェタミン誘発による自発運動亢進に対する Leu-Ile による効果

メタンフェタミンを反復投与されたマウスは自発運動が亢進した。Leu-Ile (1.5, 15 $\mu\text{mole/kg}$, *i.p.*) をメタンフェタミンと併用投与するとメタンフェタミン単独投与マウスと比較して自発運動亢進が用量依存的に減少した。投与9日目以降では、両投与量群とも有意に抑制された。Leu-Ile (1.5, 15 $\mu\text{mole/kg}$, *i.p.*) を単独で投与した場合には、自発運動への影響は観察されなかった (データ示さず)。

メタンフェタミンの10日間投与によって、自発運動が亢進しているマウスを用いて5日間メタンフェタミンを休薬後、メタンフェタミンを再投与したところ自発運動は亢進されたままであった。5日間のメタンフェタミン休薬中に Leu-Ile (15 $\mu\text{mole/kg}$, *i.p.*) を投与すると自発運動の亢進が減少した (データ示さず)。

5. Leu-Ile および Leu-Ile とメタンフェタミンの併用投与による TNF- α mRNA の発現変化

Leu-Ile (1.5, 15 $\mu\text{mole/kg}$, *i.p.*) の単独投与で脳のいくつかの部位で TNF- α mRNA の発現が増加した (データ示さず)。

Leu-Ile (1.5 $\mu\text{mole/kg}$, *i.p.*) とメタンフェタミン (1 mg/kg, *s.c.*) を併用投与するとそれぞれの単独投与よりも側坐核および線条体において更に TNF- α mRNA の発現が増加した (Fig.5)。

6. TNF- α 遺伝子欠損マウスにおける側坐核での GDNF 含量の変化

野生型マウスおよび TNF- α 遺伝子欠損マウスの側坐核での GDNF 含量は、それぞれ 98.9 および 64.3 pg/g tissue であり、TNF- α 遺伝子欠損マ

ウスでは野生型マウスに比べて減少していた (データ示さず)。

7. TNF- α が側坐核での GDNF 含量に及ぼす影響

生理食塩水および TNF- α (1, 4 $\mu\text{g/body}$, *i.p.*) を5日間連続投与したマウスの側坐核での GDNF 含量はそれぞれ 98.9、100.6 および 119.3 pg/g tissue であり、TNF- α (4 $\mu\text{g/body}$, *i.p.*) の投与により側坐核での GDNF の含量が増加した (データ示さず)。

D. 考察

薬物依存症の治療に奏効を示す薬物はほとんどないのが現状である。昨年度までに、我々は、TNF- α がメタンフェタミンによるドーパミンの遊離および再取り込み阻害を改善することにより依存を抑制することを明らかにしている。しかし、昨年度までの報告では、野生型マウスでメタンフェタミンと TNF- α を併用投与すると依存形成が抑制されることを示すに留まり、一旦形成された依存に対しての TNF- α の作用については検討されていない。本研究では、メタンフェタミン投与によって一旦形成された場所嗜好性に対しても TNF- α は改善効果を示すことを明らかにした。このことは TNF- α もしくは TNF- α を産生誘導するような化合物が薬物依存症の治療薬として使用できる可能性を示す重要な知見である。

GDNF は腹側被蓋野におけるチロシンヒドロキシラーゼの増加を抑制し、コカインにより誘発される場所嗜好性を抑制することが報告されている³。また、培養アストロサイトに TNF- α を添加すると GDNF mRNA 発現およびタンパク含量が増加することも報告されている^{1,4}。