

低い罹患群にのみ局所的な脳の狭小が認められたという結果は、年齢のマッチングをとって、その傾向が強まることはあっても、相反する傾向となることはないと考えられる。

遺伝子多型:

遺伝子多型解析の結果は、先行の同様の相関研究からすると比較的nが少ないながらも、遺伝子型での比較で $\chi^2 p=0.097$ 、A1-alleleを持つ群と持たない群に分けての比較で $\chi^2 p=0.049$ (OR=2.8)、Allele 頻度での比較で $\chi^2 p=0.027$ (OR=2.2)と、いずれの比較でも傾向ないしは有意差を認め、オッズ比も比較的高値であった。この結果は、外来・入院を問わず、また、ひろく大学病院の精神科や精神科病院から被験者を募って行い、Taq I A 多型が、覚せい剤精神病の遷延ないしは重篤化規定因子であることを報告した先の氏家らJGIDAによる多施設研究^{3,4,5}の結果を支持するばかりでなく、覚せい剤精神病を狭義にとらえ慎重に診断するならば、Taq I A 多型は発症をも規定する強い危険因子であることを示唆している。

各群間での脳の形態比較:

健常群内を遺伝子型で分けた亜群間の比較で、(両)側頭葉内側部に差異が認められた。これはにわかには信じがたく、被験者の間に何らかの偏りが生じた結果とも考えられるが、記憶力障害を持つ高齢者におけるTaq I A 多型と尾状核の体積との相関研究で、A2/A2 遺伝子型を持つ者で萎縮が著明であったとの報告¹²もあり、今後、対象を増やすなどして、さらに慎重に検討したい。

覚せい剤精神病患者では、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、そして、A2/A2 遺伝子型である罹患患者では、特に中脳(被蓋)と左)前頭葉下面の内側眼窩回が狭小であることが、それぞれ有意差をもって示された。これらの結果は、左)側頭葉の中側頭回・上側頭回前部と中脳の被蓋が覚せい剤精神病の責任部位である可能性を示唆し、さらに、それらの責任部位とは別にTaq I A 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。また、側頭葉にしても前頭葉にしても、狭小であった部位が左側だけであったことは、非常に興味深

い。特に側頭葉の狭小部位については、感覚性言語野の近傍であり、覚せい剤精神病の代表的な症状のひとつである幻聴との関連を連想させ、注目される。左)前頭葉の内側眼窩回が狭小であったことは、脱抑制的ないしは反社会的なpersonalityとの関連を疑わせる。ただ、覚せい剤の使用以前から同部位が狭小で上記のpersonalityであったことが、覚せい剤の使用開始のきっかけに係わったのではないかという想像については、健常群を遺伝子型で亜群に分けてのV.B.M.による比較において、同部位に差異が認められていないことから、否定的である。

従来の覚せい剤精神病あるいは依存症についてのMRI、CT研究では、萎縮所見はないとするもの^{13,14,15}がほとんどであった。しかしながら、本研究で狭小である部位を抽出しえたのは、手法としてV.B.M.を用いたことによるところが大きいと考えられる。覚せい剤(amphetamine、methamphetamine)の使用・乱用ないしは精神病についてのこれまでのMRI・CT以外での脳画像研究では、SPECTでは大脳皮質の複数の巣状欠損¹⁶、PETでは線条体でのドパミントランスポーター密度の低下¹⁷、また¹H MRSでは大脳基底核と前頭葉白質でのNAA(N-acetylaspartate)の低下¹⁸などが報告されている。これらの結果が示している異常部位は、本研究結果のそれと必ずしも一致していない。もっとも、使用・乱用・精神病などの対象者の状態の違いや、最終使用から計測までの時間の違いなどがあり、一概に異同を述べることはできない。今後、同一被験者(群)を対象として、これらの手法の複数を組み合わせ用いる検討が必要であろう。

治療薬剤の影響:

今回の解析で認められた脳の形態に関する所見、例えば左)側頭葉の狭小所見等は、治療で使われた薬剤の影響の結果である可能性も否定できない。この可能性を否定するためには、未治療の覚せい剤精神病患者を含めた研究デザインを考えなければならないが、現実的でなく、実施していない。しかし、覚せい剤精神病と治療薬剤がほとんど共通である統合失調症における脳画像研究で、本研究で認められたような部位についての

異常所見や治療薬剤で該当部位が萎縮したなどという報告は、われわれが調べた限りでは無く、このことから、治療薬剤の影響による脳の局所的狭小化である可能性は否定的と考えられた。

E. 結論

DRD2 遺伝子の Taq I A 多型と脳 MRI について、覚せい剤精神病患者群と健常者群の間で相関解析を行った。特に、覚せい剤精神病患者は、専門の精神科病院に入院中の者とし、脳 MRI の解析手法には、Voxel-Based Morphometry (V.B.M.)を用いた。

その結果、両群間での遺伝子型の分布頻度および allele 頻度の偏りに、傾向ないしは有意差をもって相関が認められた。V.B.M.を使った脳 MRI の解析では、覚せい剤精神病患者の左側頭葉の中側頭回と上側頭回前部、そして中脳の被蓋が、健常者に比べて狭小であること、さらに、遺伝子型によって区分した亜群間での比較によって、A2/A2 遺伝子型を持つ患者では、中脳(被蓋)および左前頭葉下面(内側眼窩回)が狭小である傾向のあることが示された。

以上の結果は、DRD2 遺伝子の 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、左側頭葉の中側頭回と上側頭回前部、および中脳の被蓋が覚せい剤精神病の責任部位である可能性を示唆し、さらに、それらの責任部位とは別に同多型と係わりながら発症・重篤化に関与する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。

【参考文献】

1) Kendler KS, Karkowski LM, Neale MC, Prescott CA: Illicit psychoactive substance use, heavy use, abuse, and dependence in a US population-based sample of male twins: *Arch Gen Psychiatry*, 57(3), 261-9, 2000
2) van den Bree MB, Johnson EO, Neale MC, Pickens RW: *Genetic and environmental influences on drug use and abuse/dependence in male and*

female twins: Drug Alcohol Depend, 52(3), 231-41, 1998

3) 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), 242-7, 2003

4) Ujike H, Nakata K, Takaki M, Harano M, Komiyama T, Mitsushio H, Sekine H, Inada T, Maeda T, Iwashita S, Yamada M, Sora I, Iyo M, Ozaki N, JGIDA: Association study between methamphetamine and psychosis and the dopamine transporter gene: *International Clinical Psychopharmacology*, 17, S45-S46, 2002

5) Ujike H, Nakata K, Takaki M, Inada T, Harano M, Yamada M, Ozaki N: D2 DOPAMINE RECEPTOR ALLELES INFLUENCE PROGNOSIS OF METHAMPHETAMINE PSYCHOSIS: *Am J Med Genet*, 105 (7), 617, 2001

6) <http://www.expasy.org/www/UIN/html1/projects/osiris/osiris.html>

7) <http://www.psychology.nottingham.ac.uk/staff/cr1/micro.html>

8) <http://www.cybernet.co.jp/matlab/>

9) <http://www.fil.ion.ucl.ac.uk/spm/>

10) Ashburner J, Friston KJ: Voxel-based morphometry—the methods: *Neuroimage*, 11, 805-21, 2000

11) Andreasen NC, Flaum M, Swayze V 2nd, O'Leary DS, Alliger R, Cohen G, Ehrhardt J, Yuh WT: Intelligence and brain structure in normal individuals: *Am J Psychiatry*, 150(1), 130-4, 1993

12) Bartres-Faz D, Junque C, Serra-Grabulosa JM, Lopez-Alomar A, Moya A, Bargallo N, Mercader JM, Moral P, Clemente IC: Dopamine DRD2 Taq I polymorphism associates with caudate nucleus volume and cognitive performance in memory impaired subjects: *Neuroreport*, 13(9), 1121-5, 2002

13) 加藤伸勝、浜元純一、花輪昭太郎、他: 覚せい

い剤中毒の CT scan に関する研究: 精神薬療基金
研究年報、16:317-324, 1985

14) 伊豫雅臣、山崎統四郎: 薬物依存と画像解
析: 精神医学、34: 875-879, 1992

15) 伊豫雅臣、関根吉統、河合正好、森則夫: 覚
醒剤精神病のイメージング: 脳の科学、22:
433-438, 2000

16) Iyo M, Namba H, Yanagisawa M, Hirai S, Yui N,
Fukui S: Abnormal cerebral perfusion in chronic
methamphetamine abusers: a study using
99mTc-HMPAO and SPECT: Prog
Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 21(5):
789-96, 1997

17) McCann UD, Wong DF, Yokoi F, Villemagne V,
Dannals RF, Ricaurte GA: Reduced striatal
dopamine transporter density in abstinent
methamphetamine and methcathinone users:
evidence from positron emission tomography
studies with [¹¹C]WIN-35,428.: J Neurosci, 18(20),
8417-22, 1998

18) Ernst T, Chang L, Leonido-Yee M, Speck O:
Evidence for long-term neurotoxicity associated
with methamphetamine abuse: A ¹H MRS study:
Neurology, 54(6), 1344-9, 2000

覚醒剤精神病の精神症状に関する研究

分担研究者：小島 卓也²⁾

研究協力者：成瀬 暢也¹⁾、三上 智子³⁾、守屋 裕文¹⁾、福良 洋一¹⁾、大久保 博美¹⁾、大久保 起延²⁾、松浦 雅人¹⁾、松島 英介⁴⁾

(埼玉県立精神医療センター¹⁾、日本大学医学部精神神経科学教室²⁾、東京都職員共済組合青山病院³⁾、東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科心療・ターミナル医学分野⁴⁾)

〔研究要旨〕

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。

A. 目的

欧米では覚醒剤精神病は覚醒剤の直接的な薬理作用によって生じる精神病症状であり、覚醒剤が体外に排出されると、速やかに精神症状も消失すると考えられている。そして覚醒剤が体内から消失した後も精神症状が持続するものは、覚醒剤により統合失調症を誘発されたものであるとしているのに対し、日本では覚醒剤精神病の中に休薬後も精神症状が長期に持続する患者がいるという考え方に立ち、遷延性の覚醒剤精神病としてこれまで多数の報告がされている[1, 2]。その中で覚醒剤精神病と統合失調症との類似点、相違点などについて、これまで様々な議論がなされてきたが、一定の見解は得られていない。

そこで本研究では覚醒剤精神病について精神症状の側面から検討した。発症メカニズムを解明するために、今回、覚醒剤精神病を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およびGAFを用いて統合失調症と比較した。

B. 方法

1. 対象 (表1参照)

埼玉県立精神医療センターに入院または通院中の覚醒剤精神病患者48名(男性34名、女性14名、平均年齢±標準偏差; 33.0 ± 8.5 歳、罹病期間; 6.0 ± 5.3 年)、これを佐藤の分類[3]により、幻覚妄想が断薬後10日未満に消退した早期消退型、1ヶ月を越えて持続した持続型、両者の中間で10日以上31日以内に消退した遷延型の3群に分けた。

また、統合失調症患者20名(男性13名、女性7名、 36.8 ± 7.1 歳、 14.6 ± 9.0 年)を対照とした。統合失調症患者は、DSM-IV[4]で統合失調症の妄想型に該当する患者とし、薬物関連障害の既往がない者を対象とした。および覚醒剤精神病患者、統合失調症患者はともに脳器質性疾患、神経学的疾患の既往または合併がなく、知能障害のある者も除外した。検査の施行に際しては、埼玉県立精神医療センター倫理委員会の承認を受け、被検者全員にあらかじめ検査目的を、文書等を用いて説明し書面による同意を得て行った。

臨床情報として教育年数、第三度親族までの妄想型統合失調症の家族歴、検査時の抗精神病薬投与量および発症時から検査時までの罹病期間を調査した。覚醒剤精神病患者の教育年数は10.3±1.5年、妄想型統合失調症患者も10.0±1.9年と、共に低く両者に有意差は認められなかった。18.8%の覚醒剤精神病患者と、40.0%の妄想型統合失調症患者に家族歴を認めた。抗精神病薬投与量は、覚醒剤精神病患者3群と統合失調症患者間に有意差はなかったが、持続型は早期消退型に比べ有意に多かった($p<0.05$)。罹病期間に有意差は認められなかった。

2. 精神症状

精神症状を評価するために、覚醒剤精神病患者および統合失調症患者の検査時の Brief Psychiatric Rating Scale(BPRS)を採点した。BPRSは①身体的愁訴、②不安、③感情的ひきこもり、④概念解体、⑤罪業感、⑥緊張、⑦衝動的な行動や姿勢、⑧誇大性、⑨抑うつ気分、⑩敵意、⑪疑惑、⑫幻覚、⑬運動減退、⑭非協調性、⑮思考内容の異常、⑯感情鈍麻、⑰興奮、⑱見当識障害の18項目からなり、これを7段階に分けて評価した。さらにこれらの項目の中から、Tandonらの研究[5]により陽性症状に親和性の高い4項目(④、⑪、⑫、⑮)と、陰性症状に親和性の高い3項目(③、⑬、⑯)を抽出し、それらの得点を合計してそれぞれ陽性症状項目点、陰性症状項目点とした。

3. 社会適応レベル

覚醒剤精神病患者および統合失調症患者の退院時の社会適応レベルを、DSM-IV[4]の機能の全体的評価 Global Assessment of Functioning(GAF) Scaleにより評価した。

4. 統計処理

統計には二元配置の分散分析、ならびにその後の多重比較(Scheffe)を用いた。

C. 研究結果(表2参照)

覚醒剤精神病患者の検査時における精神症状の評価について、各群のBPRSの平均値を比較

した。各項目の点数を比較すると、③感情的ひきこもり、④概念解体、⑤罪業感、⑦衝動的な行動や姿勢、⑧誇大性、⑨抑うつ気分、⑩敵意、⑪疑惑、⑬運動減退、⑭非協調性、⑮思考内容の異常、⑯感情鈍麻、⑰興奮、⑱見当識障害の14項目において、覚醒剤精神病患者全体が妄想型統合失調症患者より有意に点数が低かった①身体的愁訴、②不安、⑥緊張、⑫幻覚の4項目は、覚醒剤精神病患者と妄想型統合失調症患者に有意差がなかった。

また覚醒剤精神病の3群および妄想型統合失調症患者を比較すると、④概念解体、⑦衝動的な行動や姿勢、⑧誇大性、⑬運動減退、⑭非協調性、⑮思考内容の異常の6項目で、覚醒剤精神病3群はすべて妄想型統合失調症より有意に点数が低く、3群間には差がなかった。

③感情的ひきこもり、⑯感情鈍麻の2項目は、3群ともに妄想型統合失調症より有意に点数が低く各群間では早期消退型は持続型に対し有意に点数が低かった。

①身体的愁訴、②不安、⑥緊張、⑩敵意、⑪疑惑、⑫幻覚の4項目は3群ともに妄想型統合失調症と有意差がなく3群間にも差がなかった。⑨抑うつ気分、⑱見当識障害の2項目は3群のうち早期消退型のみ、妄想型統合失調症より有意に点数が低く、また⑤罪業感、⑰興奮の2項目は3群のうち持続型のみ妄想型統合失調症より有意に点数が低かった。この4つの項目は3群間で有意差を認めなかった。

BPRS総得点、陽性症状項目点、陰性症状項目点を検討すると、全体として覚醒剤精神病患者は妄想型統合失調症患者に比べて有意に低かった。早期消退型群、遷延型、持続型の3群および妄想型統合失調症患者の比較では、総得点および陽性症状項目点は、覚醒剤精神病患者3群すべて妄想型統合失調症患者より有意に低く、3群間に有意差は認められなかった。陰性症状項目点については遷延型、持続型は妄想型統合失調症患者より有意に低かったが、早期消退型は妄想型統合失調症患者だけでなく、持続型に対しても有意に低かった。

さらに退院時 GAF を各群間で比較すると、早期消退型、遷延型および持続型は、妄想型統合失調症患者に比べて有意に高く、覚醒剤精神病 3 群間に差はみられなかった。

D. 考察

欧米では、覚醒剤精神病は覚醒剤の薬理的な直接作用によって生じ、薬物が体内から消失すれば速やかに消失するものであるという考え方に立ち、遷延するものは統合失調症が誘発されたものとみなしている[6]。本研究では、覚醒剤精神病を精神症状の持続期間によって 3 群に分類し精神症状を BPRS を用いて比較したところ、覚醒剤精神病患者全体としては各項目では 18 項目中 14 項目で妄想型統合失調症患者より有意に点数が低く、また早期消退型は 18 項目中 10 項目で、妄想型統合失調症患者より有意に点数が低く、持続型でも 18 項目中 10 項目で妄想型統合失調症患者より有意に点数が低く、覚醒剤精神病患者が妄想型統合失調症患者と異なる群であることが示唆された。

さらに BPRS 総得点、BPRS 陽性症状項目点、BPRS 陰性症状項目点を比較したところ、早期消退型、遷延型、持続型の 3 群が妄想型統合失調症より有意に低く、退院時 GAF も有意に高かったことから、いずれも妄想型統合失調症とは異なる群であることが示唆された。したがって精神症状が長期間にわたって認められる持続型が、すべて薬物によって誘発された統合失調症であると考え難いと思われた。

BPRS 陰性症状項目点に関しては、早期消退型、遷延型、持続型の各群とも、統合失調症と比べて有意に低かったが、3 群間では早期消退型に比べて持続型は有意に高く、遷延型はその中間にあるという結果が得られた。これにより持続型は統合失調症の陰性症状と類似した症状を持つ患者が多く、早期消退型と異なる群であることが示唆された。

平成 14 年度に、持続型を社会適応レベルのよい軽度障害群と悪い重度障害群に分け、探索

眼球運動検査を施行したところ、持続型重度障害群の反応的探索スコアが低く統合失調症患者と有意差を認めず、持続型のこの群に統合失調症の脆弱性素因を持つ者が多いことが示唆されると報告した[7]。本研究の結果は、その結果に一致するものであった。

覚醒剤精神病と統合失調症の異同に関する臨床的研究には佐藤の分類および GAF 分類、精神症状、統合失調症の素因マーカー（探索眼球運動）が有効であると考えられた。

E. 結論

覚醒剤精神病患者の早期消退型、遷延型、持続型の 3 群は、それぞれ BPRS 総得点、陽性症状項目点、陰性症状項目点が妄想型統合失調症患者より有意に低く、退院時 GAF が有意に高かったことから、覚醒剤精神病患者は妄想型統合失調症患者と異なる群である可能性が示唆された。また覚醒剤精神病患者 3 群間を比較したところ、持続型の陰性症状項目点が早期消退型より有意に高く、持続型が早期消退型と異なる群である可能性が示唆された。

【参考文献】

- 1) Konuma K.: Use and abuse of amphetamines in Japan. Amphetamine and Its Analogs(Cho A.K., Segal D.S. ed.), pp415-435, Academic Press, San Diego, 1994)
- 2) Sato M.: A lasting vulnerability to psychosis in patients with previous methamphetamine psychosis. Annual N.Y. Acad. Sci., 654: 160-170, 1992
- 3) Sato M., Numachi Y., Hamamura T.: Relapse of paranoid psychotic state in methamphetamine model of schizophrenia. Schizophr. Bull., 18: 115-122, 1992
- 4) First MB, Spitzer RL, Gibbon M, Williams JBW. Structured Clinical Interview for DSM-IV Axis I Disorders. Biometrics Research Department, New York State Psychiatric Institute, New York, 1995

- 5) Tandon R., DeQuardo J.R., Goodson J.: Effect of Anticholinergics on Positive and Negative Symptoms in Schizophrenia. *Psychopharmacol. Bull.*, 28: 297-302, 1992
- 6) Young D., Scoville W.B.: Paranoid psychosis in narcolepsy and the possible danger of

Benzedrine treatment. *Med. Clin. N. Am.* 22: 637-646, 1938

- 7) Mikami T., Naruse N., Fukura Y.: Vulnerability to schizophrenia in methamphetamine psychosis-using exploratory eye movements. *Psychiatr. Clin. Neurosci.*, 57(4): 433-440, 2003

表1 覚醒剤精神病および妄想型統合失調症の各群の臨床特徴

群	覚醒剤精神病				妄想型 統合失調症	
		早期消退型	遷延型	持続型		
対象者数 (名)	48	16	14	18	20	
年齢 (歳, 平均±標準偏差)	33.0±8.5	32.9±8.1	31.9±10.8	34.0±7.2	30.3±6.9	
男女比	34:14	9:7	9:5	16:2	13:7	
教育年数 (平均±標準偏差)	10.3±1.5	10.8±1.7	10.5±1.5	9.7±1.2	10.0±1.8	
抗精神病薬の平均投与量 (chlorpromazine 等価換算) (mg, 平均±標準偏差)	1016±1353	488±556 [※]	596±520	1810±1872	1097±1261	
平均罹病期間 (年, 平均±標準偏差)	6.0±5.3	6.2±6.2	3.7±3.3	7.6±5.4	6.2±5.0	
統合失調症家族歴	有	9 (18.8%)	2 (12.5%)	3 (21.4%)	4 (22.2%)	8 (40.0%)
	無	39 (81.3%)	14 (87.5%)	11 (78.6%)	14 (77.8%)	12 (60.0%)

2群間の性差 ($\chi^2=0.225$ d.f.=1, $p=0.6352$)

覚醒剤精神病群と統合失調症群の統合失調症家族歴 ($\chi^2=3.400$, d.f.=1, $p=0.0652$),

覚醒剤精神病各群と統合失調症群の統合失調症家族歴 ($\chi^2=3.903$, d.f.=3, $p=0.2722$)

[※] $P<0.05$ versus 持続型 (ANOVA with Scheffé)

表2 覚醒剤精神病および妄想型統合失調症群のBPRS, 退院時GAF

群		覚醒剤精神病			妄想型 統合失調症	
		早期消退型	遷延型	持続型		
BPRS	1 身体的愁訴	1.3±1.1	1.5±1.3	1.4±0.9	1.1±1.1	1.8±1.4
	2 不安	1.7±0.9	1.6±0.9	2.0±0.8	1.4±1.0	2.0±0.9
	3 感情的ひきこもり	0.5±0.9 ^a	0.0 ^{a,c}	0.5±1.2 ^a	1.0±0.9 ^b	2.0±0.3
	4 概念解体	0.2±0.6 ^a	0.2±0.8 ^a	0.2±0.4 ^a	0.2±0.7 ^a	2.3±1.3
	5 罪業感	0.5±0.7 ^a	0.6±0.6	0.8±0.9	0.3±0.6 ^a	1.4±1.1
	6 緊張	1.5±0.9	1.1±1.0	1.6±0.8	1.6±0.9	2.0±0.9
	7 衝動的な行動や姿勢	0.0±0.2 ^a	0.0 ^a	0.0 ^a	0.1±0.3 ^a	1.5±1.4
	8 誇大性	0.1±0.3 ^a	0.1±0.3 ^a	0.1±0.5 ^a	0.1±0.2 ^a	1.4±1.0
	9 抑うつ気分	0.5±0.7 ^a	0.4±0.6 ^b	0.6±0.9	0.6±0.8	1.3±1.2
	10 敵意	0.8±1.1 ^b	1.1±1.2	0.6±1.0	0.6±1.0	1.4±1.0
	11 疑惑	0.8±1.0 ^a	0.8±1.0	0.7±0.9	0.9±1.1	1.7±1.0
	12 幻覚	0.5±1.0	0.4±0.7	0.1±0.4	0.8±1.3	1.0±1.1
	13 運動減退	0.4±0.8 ^a	0.0 ^a	0.4±0.8 ^a	0.8±0.9 ^a	2.0±1.4
	14 非協調性	0.3±0.7 ^a	0.1±0.3 ^a	0.5±0.9 ^b	0.3±0.7 ^a	1.5±1.3
	15 思考内容の異常	0.2±0.6 ^a	0.1±0.3 ^a	0.2±0.4 ^a	0.3±0.8 ^a	2.1±1.2
	16 感情鈍麻	0.5±0.8 ^a	0.0 ^{a,c}	0.2±0.8 ^a	1.1±0.8 ^a	2.6±1.3
	17 興奮	0.7±1.0 ^a	1.1±1.1	0.9±1.2	0.3±0.7 ^a	1.5±1.1
	18 見当識障害	0.1±0.3 ^a	0.0 ^b	0.1±0.3	0.1±0.5	0.7±1.0
	総得点	10.5±5.0 ^a	8.9±4.2 ^a	11.1±4.5 ^a	11.6±5.9 ^a	29.7±15.2
	陽性症状項目点	1.7±2.1 ^a	1.4±2.3 ^a	1.3±1.2 ^a	2.2±2.5 ^a	7.0±3.5
	陰性症状項目点	1.4±2.3 ^a	0.0 ^{a,c}	1.1±2.7 ^a	2.8±2.2 ^a	6.5±3.6
GAF		54.3±7.8 ^a	57.6±4.7 ^a	54.0±11.3 ^b	51.7±5.9 ^b	42.1±14.7

^a P<0.01 versus 統合失調症 (ANOVA with Scheffé)

^b P<0.05 versus 統合失調症 (ANOVA with Scheffé)

^c P<0.05 versus 持続型 (ANOVA with Scheffé)

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

分担研究者：伊豫雅臣（千葉大学大学院医学研究院精神医学）

共同研究者：橋本謙二¹、清水栄司¹、西山新吾¹、福元大¹、垣内岳春¹、塚田秀夫²

¹千葉大学大学院医学研究院・精神医学

²浜松ホトニクス株式会社・中央研究所

〔研究要旨〕

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関連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。

A. 目的

近年、若年層の覚せい剤の乱用が社会問題になってきている。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関連していることが報告されている¹⁻⁴⁾。現在のところ、覚せい剤投与によるドーパミン神経障害の詳細なメカニズムは明らかではないが、酸化ストレスが関与している事が示唆されている⁵⁻⁷⁾。

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急性の行動異常、繰り返し投与による行動感作の形成、およびドーパミン神経障害を有意に抑制することを見出した⁸⁾。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 の効果を調べる。

B. 方法

本研究は、米国 NIH のガイドラインおよび浜松ホトニクス株式会社中央研究所のガイドラインに従って行った。本研究では、実験動物としてサル (*Macaca mulatta*) を用い、覚せい剤 (2 mg/kg) を 2 時間間隔で 4 回投与した。覚せい剤の投与スケジュールは、既報⁹⁾に従って行った。抗酸化物質 NAC (150 mg/kg) を投与 30 分前に静脈投与し、その後、12 mg/kg/hr で 8.5 時間持続投与した。

PET を用いたサル脳内のドーパミン・トランスポーター (DAT)、ドーパミン D1 受容体およびセロトニントランスポーター (5-HTT) の密度を測定は、覚せい剤投与前、投与 1 週間後および投与 3 週間後に行った。サルの PET 検査は、すべて無麻酔下で施行した。受容体の結合能は、既報¹⁰⁾の方法に従って算出した。

C. 結果

覚せい剤の投与（1週間後および3週間後）によってサル線条体 DAT は有意に減少したが、5-HTT の減少は軽度であった（Figure 1 and Table 1）。一方、ドーパミン D1 受容体の結合能は覚せい剤の投与によって変化しなかった（Figure 1）。

Figure 2 と Table 1 に示すように、NAC の投与は覚せい剤投与によるサル線条体における DAT の減少を顕著に抑制することが判った。

D. 考察

最近われわれは、ラットを用いた研究より、NAC の投与は覚せい剤による急性の異常行動および繰り返し投与による感受性の亢進（逆耐性）の形成を有意に抑制することを見出した。さらに、覚せい剤投与によるラット線条体ドーパミン神経障害を有意に抑制することを報告した⁸⁾。今回のサル PET を用いた研究からも、NAC が覚せい剤によるドーパミン神経障害を抑制することより、覚せい剤によるドーパミン神経障害に酸化ストレスが関与しているものと推測される。

覚せい剤を投与すると過剰のドーパミンが放出されることが知られており、この過剰に放出されたドーパミンが線条体におけるドーパミン神経系の障害に関与していることが推測されて

いる。過剰に放出されたドーパミンは、自己酸化によりドーパミンキノンなどの反応性に富んだ化合物に変化し、これらの化合物がドーパミン神経系に障害を与えているものと考えられている。今回の実験より、抗酸化作用を有する NAC によって、覚せい剤投与によるドーパミン神経系の障害を抑制したことは、大変興味深い結果である。

一方、NAC は臨床の場でいろいろな疾患の治療に使用されており、また健康補助食品（サプリメント）として市販されているので、安全性は高いと思われる¹¹⁻¹³⁾。それゆえ、NAC は覚せい剤投与による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。

E. 結論

このように 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系の障害あるいは精神障害の予防薬および治療薬になる可能性が示唆された。

〔参考文献〕

1. Sekine Y, Iyo M, Ouchi Y, Matsunaga T, Tsukada H, Okada H, Yoshikawa E, Futatsubashi M, Takei N, Mori N (2001) Methamphetamine-related psychiatric symptoms and reduced brain dopamine transporters studied with PET. *Am J Psychiatry* 158: 1206-1214.
2. Sekine Y, Minabe Y, Ouchi Y, Takei N, Iyo M, Nakamura K, Suzuki K, Tsukada H, Okada H, Yoshikawa E, Futatsubashi M, Mori N (2003) Association of dopamine transporter loss in the orbitofrontal and dorsolateral prefrontal cortices with methamphetamine-related psychiatric symptoms. *Am J Psychiatry* 160: 1699-1701.
3. Volkow ND, Chang L, Wang GJ, Fowler JS, Franceschi D, Sedler M, Gatley SJ, Miller E, Hitzemann R, Ding YS, Logan J (2001) Loss of dopamine transporters in methamphetamine abusers recovers with protracted abstinence. *J Neurosci* 21: 9414-9418.
4. Volkow ND, Chang L, Wang GJ, Fowler JS, Leonido-Yee M, Franceschi D, Sedler MJ, Gatley SJ, Hitzemann R, Ding YS, Logan J, Wong C, Miller EN (2001) Association of dopamine transporter reduction with psychomotor impairment in methamphetamine abusers. *Am J Psychiatry* 158: 377-382.
5. Imam SZ, El-Yazal J, Newport GD, Itzhak Y, Cadet JL, Slikker W, Ali SF (2001) Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity: role of peroxynitrite and neuroprotective role of antioxidants and peroxynitrite decomposition catalysts. *Ann NY Acad Sci* 939: 366-380.
6. Cadet JL, Jayanthi S, Deng X (2003) Speed kills: cellular and molecular bases of methamphetamine-induced nerve terminal degeneration and neuronal apoptosis. *FASEB J* 17: 1775-1788.
7. Davidson C, Gow AJ, Lee TH, Ellinwood EH (2001) Methamphetamine neurotoxicity: necrotic and apoptotic mechanisms and relevance to human abuse and treatment. *Brain Res Rev* 36: 1-22.
8. Fukami G, Hashimoto K, Koike K, Okamura N, Shimizu E, Iyo M (2003) Effect of N-acetylcysteine on methamphetamine-induced neurotoxicity in rat striatum (in Japanese). *Ann Rep Mitsubishi Pharma Res Found* 35: 134-137.
9. Villemagne V, Yuan J, Wong DF, Dannals RF, Hatzidimitriou G, Mathews WB, Ravert HT, Musachio J, McCann UD, Ricaurte GA (1998) Brain dopamine neurotoxicity in baboons treated with doses of methamphetamine comparable to those recreationally abused by humans: evidence from [¹¹C]WIN-35,428 positron emission tomography studies and direct in vitro determinations. *J Neurosci* 18: 419-427.
10. Lammertsma A, Hume S (1996) Simplified reference tissue model for PET receptor studies. *Neuroimage* 4: 153-158.
11. Banaclocha MM (2001) Therapeutic potential of N-acetylcysteine in age-related mitochondrial neurodegenerative diseases. *Med Hypotheses* 56: 472-477.
12. Kelly GS (1998) Clinical applications of N-acetylcysteine. *Altern Med Rev* 3: 114-127.
13. Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, Ahmad M (2003) Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell Mol Life Sci* 60: 6-20.

「平成15年度発表論文」

1. Okamura N, Hashimoto K, Kanahara N,

- Shimizu E, Kumakiri C, Komatsu N, Iyo M. Protective effect of the antipsychotic drug zotepine on dizocilpine-induced neuropathological changes in rat retrosplenial cortex. *Eur J Pharmacol.* 2003 Feb 14;461(2-3):93-8.
2. Shimizu E, Hashimoto K, Salama RH, Watanabe H, Komatsu N, Okamura N, Koike K, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Muramatsu H, Muramatsu T, Iyo M. Two clusters of serum midkine levels in drug-naive patients with schizophrenia. *Neurosci Lett.* 2003 Jun 26;344(2):95-8.
 3. Hashimoto K, Fukushima T, Shimizu E, Komatsu N, Watanabe H, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Hasegawa H, Imai K, Iyo M. Decreased serum levels of D-serine in patients with schizophrenia: evidence in support of the N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction hypothesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry.* 2003 Jun;60(6):572-6.
 4. Toyooka K, Watanabe Y, Iritani S, Shimizu E, Iyo M, Nakamura R, Asama K, Makifuchi T, Kakita A, Takahashi H, Someya T, Nawa H. A decrease in interleukin-1 receptor antagonist expression in the prefrontal cortex of schizophrenic patients. *Neurosci Res.* 2003 Jul; 46(3):299-307.
 5. Okamoto H, Shino Y, Hashimoto K, Kumakiri C, Shimizu E, Shirasawa H, Iyo M. Dynamic changes in AP-1 transcription factor DNA binding activity in rat brain following administration of antidepressant amitriptyline and brain-derived neurotrophic factor. *Neuropharmacology.* 2003 Aug;45(2):251-9.
 6. Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, Nakazato M, Watanabe H, Shinoda N, Okada S, Iyo M. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry.* 2003 Jul 1;54(1):70-5.
 7. Miyagishima H, Isono K, Fujimura Y, Iyo M, Takihara Y, Masumoto H, Vidal M, Koseki H. Dissociation of mammalian Polycomb-group proteins, Ring1B and Rae28/Ph1, from the chromatin correlates with configuration changes of the chromatin in mitotic and meiotic prophase. *Histochem Cell Biol.* 2003 Aug;120(2):111-9.
 8. Nakazato M, Hashimoto K, Shimizu E, Kumakiri C, Koizumi H, Okamura N, Mitsumori M, Komatsu N, Iyo M. Decreased levels of serum brain-derived neurotrophic factor in female patients with eating disorders. *Biol Psychiatry.* 2003 Aug 15;54(4):485-90.
 9. 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.* 2003; 3(4):242-7.
 10. Sekine Y, Minabe Y, Ouchi Y, Takei N, Iyo M, Nakamura K, Suzuki K, Tsukada H, Okada H, Yoshikawa E, Futatsubashi M, Mori N. Association of dopamine transporter loss in the orbitofrontal and dorsolateral prefrontal cortices with methamphetamine-related psychiatric symptoms. *Am J Psychiatry.* 2003 Sep;160(9):1699-701.
 11. Hashimoto K, Shimizu E, Komatsu N, Nakazato M, Okamura N, Watanabe H, Kumakiri C, Shinoda N, Okada S, Takei N, Iyo M. Increased levels of serum basic fibroblast growth factor in schizophrenia.

- Psychiatry Res. 2003 Oct 15;120(3):211-8.
12. Shimizu E, Hashimoto K, Watanabe H, Komatsu N, Okamura N, Koike K, Shinoda N, Nakazato M, Kumakiri C, Okada S, Iyo M. Serum brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in schizophrenia are indistinguishable from controls. *Neurosci Lett*. 2003 Nov 13;351(2):111-4.
 13. Okamura N, Hashimoto K, Shimizu E, Koike K, Ohgake S, Koizumi H, Kumakiri C, Komatsu N, Iyo M. Protective effect of LY379268, a selective group II metabotropic glutamate receptor agonist, on dizocilpine-induced neuropathological changes in rat retrosplenial cortex. *Brain Res*. 2003 Nov 28;992(1):114-9.
 14. Okamura N, Hashimoto K, Shimizu E, Kumakiri C, Komatsu N, Iyo M. Adenosine A1 Receptor Agonists Block the Neuropathological Changes in Rat Retrosplenial Cortex after Administration of the NMDA Receptor Antagonist Dizocilpine. *Neuropsychopharmacology*. 2004 Mar;29(3):544-50.
 15. Itoh K, Hashimoto K, Kumakiri C, Shimizu E, Iyo M. Association between brain-derived neurotrophic factor 196 G/A polymorphism and personality traits in healthy subjects. *Am J Med Genet*. 2004 Jan 1;124B(1):61-3.
 16. Ozawa K, Kobayashi K, Noda S, Iyo M. Zonisamide-induced depression and mania in patients with epilepsy. *J Clin Psychopharmacol*. 2004 Feb;24(1):110-1.
 17. Suzuki K, Takei N, Iwata Y, Sekine Y, Toyoda T, Nakamura K, Minabe Y, Kawai M, Iyo M, Mori N. Do olfactory reference syndrome and jiko-shu-kyofu (a subtype of taijin-kyofu) share a common entity? *Acta Psychiatr Scand*. 2004 Feb;109(2):150-5.
 18. Hashimoto K, Fukushima T, Shimizu E, Okada S, Komatsu N, Okamura N, Koike K, Koizumi H, Kumakiri C, Imai K, Iyo M. Possible role of D-serine in the pathophysiology of Alzheimer's disease. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2004 Mar;28(2):385-8.
 19. Fujisaki M, Hashimoto K, Iyo M, Chiba T. Role of the amygdalo-hippocampal transition area in the fear expression: evaluation by behavior and immediate early gene expression. *Neuroscience*. 2004;124(1):247-60.

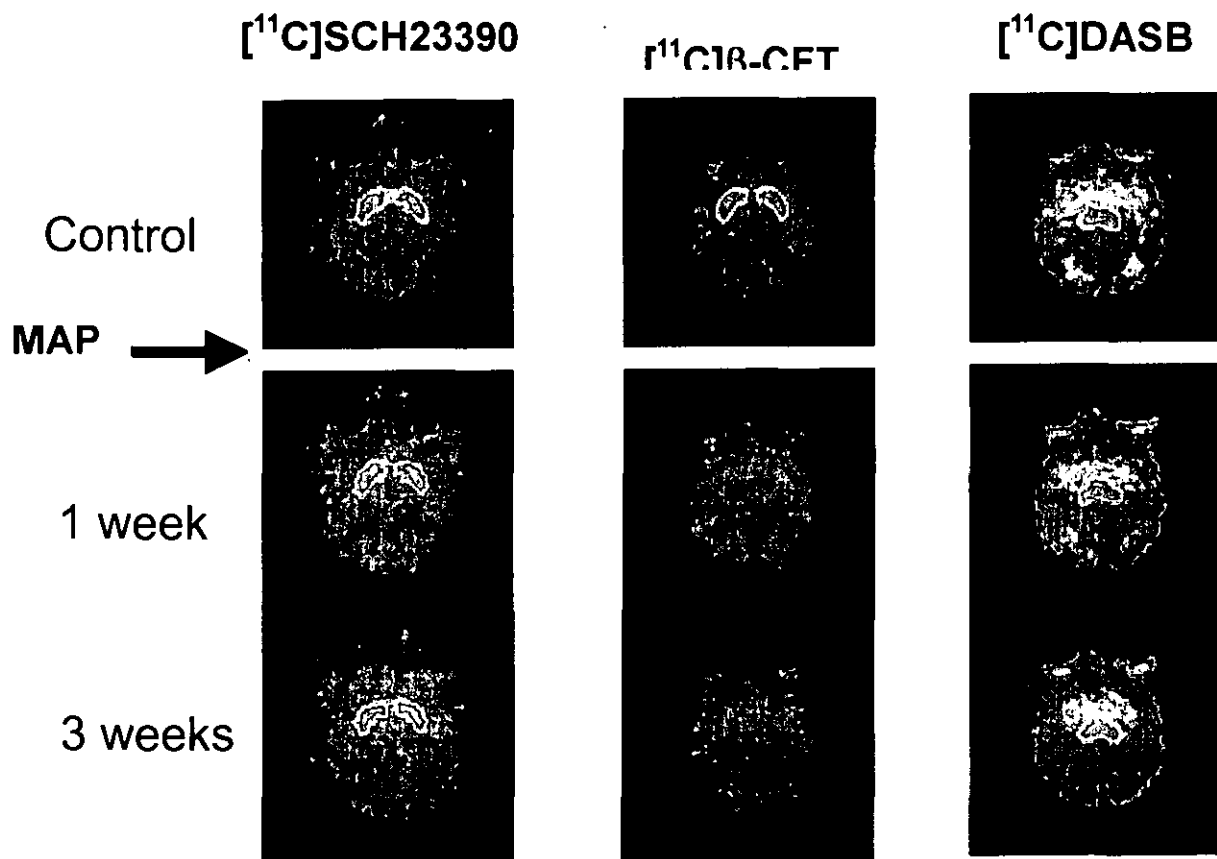


Figure 1. PET images of $[^{11}\text{C}]\text{SCH23390}$, $[^{11}\text{C}]\beta\text{-CFT}$, and $[^{11}\text{C}]\text{DASB}$ in the brains of a rhesus monkey (*Macaca mulatta*). PET data were collected on an animal PET scanner (Hamamatsu SHR-7700) with transaxial resolution of 2.6 mm (FWHM). PET image of $[^{11}\text{C}]\text{SCH23390}$ was generated by summation of data from 37-64 min after injection. PET images for $[^{11}\text{C}]\beta\text{-CFT}$ and $[^{11}\text{C}]\text{DASB}$ were generated by summation of data from 61-91 min after injection. The stereotactic coordinates of PET were adjusted based on the orbitomeatal (OM) line. These PET images were from the same monkey.

DAT

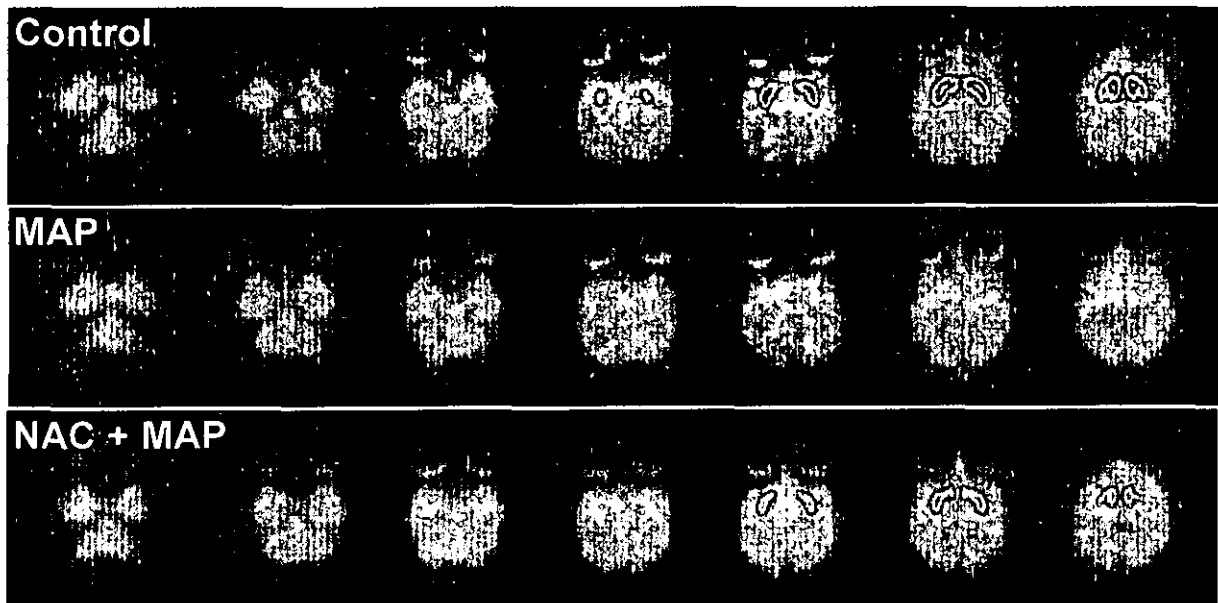


Figure 2. PET images of [^{11}C] β -CFT in the brains of rhesus monkey 3 weeks after administration of MAP or NAC plus MAP. Each PET image was generated by summation of data from 61-91 min after injection of [^{11}C] β -CFT.

Table 1. Effects of NAC on reduction of DAT and dopamine D₁ receptors in the monkey striatum after administration of MAP

Monkey-1		CONTROL	MAP
	DAT	3.643 (100 %)	1.048 (28.8 %)
	DA D ₁	1.898 (100 %)	1.764 (92.9 %)
Monkey-2			
	DAT	3.315 (100 %)	1.059 (32.0 %)
	DA D ₁	1.887 (100 %)	1.980 (104.9 %)
Monkey-3			
	DAT	5.008 (100 %)	1.720 (34.4 %)
	DA D ₁	2.349 (100 %)	2.245 (95.6 %)
.....			
DAT	Mean ± S.E.M.	3.989 ± 0.518 (100 %)	1.276 ± 0.222 (31.7 ± 1.62 %)*
DA D ₁	Mean ± S.E.M.	2.045 ± 0.152 (100 %)	1.996 ± 0.139 (97.8 ± 3.64 %)
.....			
Monkey-4		CONTROL	NAC + MAP
	DAT	4.489 (100 %)	2.755 (61.4 %)
	DA D ₁	2.851 (100 %)	2.646 (92.8 %)
Monkey-5			
	DAT	2.723 (100 %)	1.743 (64.0 %)
	DA D ₁	1.735 (100 %)	1.820 (104.9 %)
Monkey-6			
	DAT	2.611 (100 %)	1.802 (69.0 %)
	DA D ₁	1.764 (100 %)	1.730 (98.1 %)
.....			
DAT	Mean ± S.E.M.	3.274 ± 0.608 (100 %)	2.100 ± 0.328 (64.8 ± 2.23 %) [#]
DA D ₁	Mean ± S.E.M.	2.117 ± 0.367 (100 %)	2.646 ± 1.730 (98.6 ± 3.50 %)

Values of distribution volume (DV) are shown.

*P<0.05 as compared with control group (a paired t-test)

[#]P<0.001 as compared with MAP treated group (a unpaired t-test).

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

分担研究者： 西川 徹¹

共同研究者： 櫻井新一郎¹、柏 淳¹、伊藤 卓¹、石井澄和¹、海野麻未¹、
金子雄二郎¹、山本直樹¹

(¹東京医科歯科大学大学院精神行動医科学分野)

【研究要旨】

本研究は、覚せい剤や麻薬による精神病の予防・治療法の開発を目指し、そのモデルである逆耐性現象の分子メカニズムを解析している。このため、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てきた。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。成熟ラットにおいて、prt4 は覚せい剤 (methamphetamine: MAP) やストレスにも応答することがわかり、逆耐性現象との関連をさらに検討中である。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 はアスバラギン酸濃度を低下させる、3) MAP はアスバ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。MAP のアスバラギンおよびアルギニンへの影響についてはこれまでに報告がないが、アルギニンは一酸化窒素に変換されてドーパミン放出を促進することや、アスバラギンから興奮性アミノ酸であるアスバラギン酸が合成されることから、脳内のドーパミン-興奮性アミノ酸相互作用の変化を示唆する所見と考えられ、覚せい剤の精神異常誘発作用に関与することが推測される。

A. 目的

本研究は、覚醒剤 (amphetamine、methamphetamine (MAP) など)、コカイン等の、精神分裂病 (分裂病) 様症状を引き起こす規制薬物による長期持続性脳機能障害の分子機構を解明し、新しい治療法開発の標的となる神経機構や、臨床診断、経過、予後などのマーカー物質を見いだすことを目的としている。このため、1) 覚醒剤の精神機能に及ぼす影響が思春期前後では異なり、小児期までは覚醒剤を連用しても依存形成や精神症状が生じ難いことが知られている^{1,6,10}、2) 齧歯類

では、覚醒剤精神病の発症や再燃のモデルと考えられている逆耐性現象が一定の生後発達期以降にしか成立せず、覚醒剤が引き起こす脳の活動異常のパターンも生後発達に伴って変化し、一定の時期から成熟期のパターンになる^{3,6,10}、などの点に着目して分子生物学的研究を進めた。以上の事実は、覚醒剤によって異常を来す脳内情報処理系は、特定の発達段階に成熟して薬物の影響を受けられるようになることを示唆している。そこで、このような情報処理系を構築する分子群を明らかにするため、覚醒剤が誘発する逆耐性現象や脳の活動性の異常が成熟期型のパターンを示す時期以後に、

MAP に対して応答性を獲得する遺伝子群を検索しており、昨年度までに、候補として、*mrt1* (MAP-responsive transcript 1)、*mrt2*、*mrt3* 等が検出された^{9,10,11,12)}。

このうち *mrt1* に関する検討が最も進み⁹⁾、①C 末端の異なる少なくとも2種類の isoform (Mrt1a, Mrt1b) をコードし、そのうち *mrt1b* のみが MAP 急性投与により発現が誘導され逆耐性の成立と平行して基礎的発現が高値を示すこと、②構造からは PX, PDZ ドメインをもち protein-protein interaction を介して細胞内情報伝達に関与すると考えられること、③PSD 分画に存在せず synaptosome 分画に存在することから presynapse に局在する可能性が高いこと等が示唆された。さらに、ラット *mrt1* のヒト相同遺伝子としてヒト *MRT1* をクローニングするとともに、ヒト *MRT1b* 遺伝子の産物である Mrt1b 蛋白を含む分子カスケードの同定のため、Two Hybrid 法を用いて、Mrt1b と相互作用する蛋白のクローニングを行った。以上の結果は、覚せい剤または麻薬に発達依存的な応答変化を示す分子を検索することが、これらの薬物による精神毒性の分子メカニズム解明に貢献する可能性を支持している。

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た。一方、私たち³⁾は、脳の内在性物質である D-セリンが、これら薬物の異常行動発現作用を抑制することを明らかにしたことから、統合失調症様異常を引き起こす MAP や PCP (phencyclidine)、および抗精神病薬が、大脳新皮質および線条体組織中の D-セリン濃度に及ぼす影響を調べた。同時に、PCP が作用する NMDA 型興奮性アミノ酸受容体を調節するグルタミン酸、アスパラギン酸、グリシン等を含むさまざまなアミノ酸の組織中濃度の変化を検討した。

B. 方法

今回報告した研究は、東京医科歯科大学の実験動物委員会の承認を得た上、倫理ガイドラインを遵守して行った。

1. 対象および薬物

動物実験には、生後 8? 56 日令の Wistar 系雄性ラットまたは C57BL/6 系雄性マウスを用いた。動物は 25.0±0.5°C、湿度 55%、8 時より 20 時を明期とする明暗条件下で飼育した。試薬は、すべて市販のものを用いた。

薬物投与は、皮下 (s.c.) あるいは腹腔内 (i.p.) への注射により行った。対照群の動物には注射溶媒を投与した。薬物の投与量は、常に free base で計算した。

2. Differential cloning 法による MAP または PCP 応答性遺伝子の検索

生後 8 日齢および 56 日齢のラットに PCP または生理食塩水を投与後 1 時間で断頭し、大脳新皮質より total RNA を抽出した。random hexamer によって合成した cDNA をテンプレートとし、12mer からなるプライマーを用いて arbitrarily primed PCR を行った。増幅産物を変性ポリアクリルアミドゲルにて分離し、Syber Green (特)で染色後、蛍光イメージアナライザー (FMBIO(株)、TAKARA) で解析して fingerprint を得た。Fingerprint 上で 50 日齢特異的に発現誘導が変化する cDNA バンドをクローニングし塩基配列を決定した。さらに、RAP-PCR クローンに基づいて oligo dT-primed cDNA をクローニングし、対応する遺伝子の構造を解析した。

3. DNA アレイ

PCP または生理食塩水を投与した、生後 8 日齢および 56 日齢のマウス大脳新皮質 (neocortex) から total RNA を抽出した。このうち、0.4 ug を用いて、random hexamer priming による逆転写反応によって cDNA を合成し、8,374 クローンに対する DNA チップ (IncyteGenomics, Inc (Genome Systems Inc.)) を使って、生後 56 日と 540 日の間で薬物応答に差のある遺伝子のスクリーニングを行った。さらに、この結果を定量的 RT-PCR により確認した。

4. 遺伝子発現の定量的解析

上記のように調整した、ラットまたはマウス大脳新皮質 cDNA を、10 倍量の TE buffer で希釈した。この cDNA 溶液 5ul を以後の定量的 PCR のテンプレートとして用いた。標的遺伝子の発現量補正

のための内因性コントロールとしては GAPDH を用いた。標的遺伝子 mRNA および GAPDH mRNA に特異的なプライマーペアにより、LightCycler (Roche) を用いてリアルタイム PCR (LightCycler-FastStart DNA master SYBR Green 1 Kit) を行った。PCR 増幅産物の量は Syber Green の蛍光強度として、各サイクルの伸長反応の終わりの時点で測定した。得られた PCR 増幅曲線から LightCycler Software を用いて、GAPDH および標的遺伝子の mRNA 量の相対値を算出した。標的遺伝子の mRNA 発現量は GAPDH mRNA 量に対する比として補正した後、統計解析を行った。なお、PCR 産物の特異性の検討は、PCR 後の融解曲線解析およびアガロースゲル電気泳動による単一バンドの確認により行った。mRNA 発現の定量は、mRNA の濃度に比例した測定値が得られる条件下における RT-PCR によっても検討した。

5. HPLC によるアミノ酸の分離定量

HPLC 法における内部標準物質としては、D-ホモシステイン酸を用いた。TCA 処理したサンプルは、既報の通り、N-tert.-butyroxycarbonyl-L-cystein (Boc-L-Cys) と o-phthalaldehyde (OPA) で誘導化した。すなわち、Boc-L-Cys および OPA (それぞれ 10mg/ml) を含むメタノール溶液 200 μ l と、ほう酸バッファー (pH9.0) 700 μ l を、サンプル 100 μ l に加えて室温で 2 分間反応させた。反応終了後、このうち 10 μ l を蛍光検出器付 HPLC に注入した。生成されたアミノ酸のジアステレオイソメリックイソインドリル誘導体は、逆相 ODS (4 μ m) カラム (Waters 社, 3.9mm X 300 mm) を使い、7 から 47% のアセトニトリルを含む酢酸バッファーを移動相として分離した。蛍光強度測定は、励起波長 344nm、蛍光波長 433nm で行った。

6. 統計解析

データの統計的解析においては、2 群間の平均値の比較は Student's t-test または Cokran-Cox t-test を使って行った。多群間 (3 群以上) の比較には、一元分散分析 (one-way ANOVA) にもとづく、多重比較 (Scheffe's test) を用いた。

C. 結果

1. PCP に発達依存的応答を示す遺伝子

ラットおよびマウスの大脳新皮質から、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、生後 8 日では小さいが生後 56 日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。成熟ラットにおいて、prt4 は MAP ストレスにも応答することがわかった。

2. MAP または PCP 投与ラットの大脳新皮質および線条体におけるアミノ酸含量の変化

大脳新皮質および線条体で、MAP と PCP の組織中アミノ酸含量に対する影響を解析したところ (投与後 60 分)、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 L-アスパラギン酸濃度を低下させる、3) MAP は L-アスパラギンおよび L-アルギニンの濃度を有意に増加させ、この効果は、定型抗精神病薬のハロペリドールおよび非定型抗精神病薬のクロザピンで抑制される、4) PCP は、L-アスパラギンおよび L-アルギニンの濃度に有意な変化を引き起こさないなどの点が明らかになった。

覚せい剤や麻薬による興奮性アミノ酸代謝への影響を調べるため、その指標として、L-グルタミン/L-グルタミン酸比および L-アスパラギン/L-アスパラギン酸比を算出した。L-アスパラギン/L-アスパラギン酸比は、MAP 投与後に有意に上昇したが、ハロペリドールまたはクロザピンの前処置を行うと有意な変化は認められなくなった。これに対して L-グルタミン/L-グルタミン酸比は、MAP 投与後に有意な低下を示し、クロザピンを前処置しておく、有意な変化は消失した。ハロペリドールと MAP を併用した群では、線条体の変化は有意でなくなったが、大脳新皮質においては MAP 単独投与と同様に有意な低下が観察された。

さらに MAP 投与後 60 分において、大脳新皮質では L-スレオニン濃度が増加し、クロザピンの前処置によりこの効果は抑制された。線条体では、L-グルタミン、L-セリン、L-スレオニン、グリシン、L-アラニン等の濃度が上昇し、いずれの作用にもハロペリドールまたはクロザピンが拮抗した。

D. 考察

今年度の研究から、従来報告した prt1? 3 のほかにも、PCP への応答が発達依存的に変化する遺伝子 prt4 が存することが明らかになった。prt4 は、MAP やストレスにも応答することから逆耐性現象と関連する可能性があり、発現増加が生ずる脳部位やその薬理的性質を検討中である。

脳内アミノ酸の定量的解析においては、MAP および PCP が興奮性アミノ酸伝達系に異常をもたらすことが示唆されたが、両者の作用には差異があると考えられる。すなわち、PCP によって大脳新皮質・線条体双方のアスパラギン酸濃度の低下が見られた。これに対して MAP は同様の効果を示さなかったが、これらの部位で、脳において L-アスパラギン酸に変換される L-アスパアギン¹¹⁾、L-グルタミン/L-グルタミン酸比および L-アスパラギン/L-アスパラギン酸比を変化させることが見いだされた。

一方、MAP 投与後、L-アスパアギンだけでなく L-アルギニンの濃度も大脳新皮質および線条体において著明に増加することが初めてわかった。これらの現象はハロペリドールやクロザピンの前処置によって抑制されることから、MAP によって誘導されたドーパミン伝達亢進と関係すると考えられる。L-アルギニンは、(1) NMDA 受容体の調節に関わる一酸化窒素の前駆体のひとつであること^{4,13)}、(2) 細胞外液へのドーパミン放出を増加させ、この増加が一酸化窒素合成阻害薬により抑制されること¹⁰⁾、(3) MAP が異常行動およびその逆耐性現象を引き起こす作用に一酸化窒素合成阻害薬が拮抗すること^{4,13)}などから、MAP によるドーパミン伝達亢進、行動異常または精神病状態に、L-アルギニン—一酸化窒素系も関与していることが推測される。

ここで、(1) 一酸化窒素は NMDA 受容体機能を調節していること^{4,13)}、(2) NMDA 型興奮性アミノ酸受容体遮断薬が MAP の逆耐性現象惹起作用に拮抗すること^{4,14,15)}、などを考え合わせると、今回の実験結果は、MAP の精神異常惹起作用に興奮性アミノ酸伝達系が関与することをさらに支持していると考えられる。また、覚せい剤精

神病の分子機構を理解し、新しい予防・治療法を開発する上でも、従来とは違った視点をもたらす可能性がある。

E. 結論

1. ラットおよびマウスの大脳皮質において、PCP 精神病 PCP に対する応答が発達に伴って変化する遺伝子 prt4 が新たに見いだされた。PCP をはじめとする NMDA 受容体遮断薬による精神病状態が思春期頃までは生じにくいことから、prt4 はこうした精神病状態の発症に関連する候補遺伝子であることが示唆された。

2. MAP 投与後に、大脳皮質および線条体のアスパラギンおよびアルギニンの濃度が著明に増加し、この効果は抗精神病薬で抑制されることが初めて明らかになった。アルギニンは一酸化窒素に変換されてドーパミン放出を促進することや、アスパラギンから興奮性アミノ酸であるアスパラギン酸が合成されることから、脳内のドーパミン—興奮性アミノ酸相互作用の変化を示唆する所見と考えられ、覚せい剤の精神異常誘発作用に關与することが推測される。

【参考文献】

- 1) Dieterich D. C., Landwehr M., Reissner C., et al. Gliap--a novel untypical L-asparaginase localized to rat brain astrocytes. *J. Neurochem.* 85, 1117-1125, 2003.
- 2) Fujiwara Y, Kazahaya Y, Nakashima M, et al. Behavioral sensitization to methamphetamine in the rat: an ontogenic study. *Psychopharmacol.* 1987;91:316? 319.
- 3) Hashimoto A., Nishikawa T., Oka T. et al. D-alanine inhibits methamphetamine-induced hyperactivity in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 202, 105-107, 1991.
- 4) Inoue H., Arai I., Shibata S. et al. NG-nitro-L-arginine methyl ester attenuates the maintenance and expression of methamphetamine-induced behavioral sensitization and enhancement of striatal dopamine release. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277,