

されていない。最も一貫しているのは、認知障害が重篤なほど生活機能や社会的・職業的予後が不良となることである<sup>42)</sup>。それらの詳細は別稿<sup>33,37)</sup>を参照されたい。ここでは、冒頭で述べた社会認知について簡単に述べる。

前項でも述べたように、統合失調症の症状構造に関する3症状群モデルや4症状群モデルにおいて、対人関係の障害（関係症状群）が陰性症状から比較的独立したものと指摘されている<sup>50)</sup>。さらに、社会的・職業的な機能障害は、陽性症状や陰性症状ではなく様々な神経心理学的異常に反映される認知障害によって最もよく説明されることが多くの研究で明らかになった<sup>15)</sup>。こうしたことから、社会的機能に直接的に関わる症状領域ないし病態次元として社会認知 social cognition に注目が集まるようになってきた<sup>10,36,51)</sup>。

社会認知は、“他人の意図や気持ちを理解する人間の能力を含むような、社会的相互作用の基底にある心的操作”<sup>52)</sup>あるいは“自分自身と他人との関係についての表象を作り、その表象を社会行動を柔軟に導くために利用する能力”<sup>53)</sup>などと定義される。Pinkhamら<sup>51)</sup>によると、統合失調症での社会認知は、1) “こころの理論 Theory of Mind” 技能、2) 帰属スタイル、3) 社会知覚（顔の感情認識や社会的手がかりの知覚）の領域で主に検討されており、神経認知（知覚、注意、記憶、実行機能など）を統御してもなお社会的機能障害により密接に関連するという。この領域は、自我意識（自他分離）、情動行動、社会的判断といった観点から統合失調症を解明する新たな手がかりを与えてくれるだろう。

治療論と認知機能の関係では（詳細は別稿<sup>36)</sup> 参照）、定型抗精神病薬（第1世代抗精神病薬）と比較して、非定型抗精神病薬（第2世代抗精神病薬）は認知機能を悪化させる要因が少ないだけでなく、積極的に認知機能を改善させる可能性が指摘されている<sup>11,22)</sup>。臨床的にも、定型薬から非定型薬に変更するこ

とで、精神症状の改善をそれほど認めないものの社会的機能や QOL が改善される症例に遭遇することがある。今後は、非定型薬が社会的機能や QOL を改善させ、長期予後まで変えうるかどうかを検討することが重要である。また、精神科リハビリテーションを行うさいに患者ごとに認知機能を評価して、それに基づいた治療を行うことでいわゆるオーダーメイド医療が実現する<sup>34)</sup>。

#### 4. 事象関連電位による認知機能の評価

認知機能を臨床的に計測する方法は様々ある。それぞれに長所、短所があるため、目的に応じて評価方法が選択される。ここでは脳波の中でも、特に事象関連電位を中心に概説する。脳波は神経細胞の活動に伴って発生する集合電位を見ているため、脳血流や代謝産物を計測するものと比べるとより直接的に脳活動を見ていることになる。通常の研究や臨床で使用される頭皮上脳波は、簡便に非侵襲的に計測ができミリ秒単位での優れた時間解像度を示すので、刻々と変化する認知活動を評価するのに優れているが、空間解像度が低いため解剖学的部位を特定するには困難がある。その欠点を克服するために、記録部位を通常の20ヶ所程度から256ヶ所にしたり、コンピュータを用いた特殊な解析方法を使用したりすることもあるが、詳細な解剖学的部位について論じる場合は、基本的には同一の課題を用いて fMRI などで傍証する必要がある。

認知機能の評価の中心は、神経心理学において心理課題を用い行動指標（正答率、誤答率、反応時間など）で評価されてきた。しかし、行動指標を用いるような一般の神経心理検査では、脳機能の時間的および空間的特性を評価できないため偽陰性の結果になる場合があり、神経画像や精神生理学的手法を組み合わせた評価方法の確立が望まれている<sup>16)</sup>。実際、統合失調症において、知覚の組織化過

程に関して比較的単純な標的弁別課題（例えば、continuous performance test）を行うと、神経心理学的には行動指標で評価すると正常と判断される<sup>45)</sup>。一方、事象関連電位では頂点潜時が有意に遅延するため知覚組織化過程には何らかの障害が起こっていると判断される<sup>28)</sup>。また、統合失調症の潜在記憶に関しては神経心理学では正常という報告が多いが<sup>37)</sup>、事象関連電位での評価では異常と報告されている<sup>17,32)</sup>。したがって、各検査方法の感受性を十分に考慮して結果を解釈しなければならない。

認知過程は、情報処理における処理容量、意図や課題要求、意識的知覚などの特徴から注意を要しない前注意的な自動処理 automatic processing と、注意を要する統御処理 controlled processing とに分けられる。自動処理は容量に制限がなく意図や意識を要しない処理で、一方の統御処理は能動的に注意を向けて行われる処理で容量に制限があり意図や課題要求に応じて意識的に行われる処理である<sup>19)</sup>。各種の事象関連電位はいずれかの特徴をそれぞれもっているが、両者は画然と分かれる処理ではなく、例えば、自動処理で検出した重要な情報が統御処理されたり、統御処理で行われていた処理が自動化したりという相互の移行があり連続的、補完的なものである<sup>7,19)</sup>。

ここではいくつかの電位（図3）を取り上げて統合失調症の認知障害との関連を概説し、それらをもとに統合失調症の病態仮説を述べたい。ここで取り上げる電位の中で、類似の時間帯域に出現する3つの内因性陰性電位（Nd、NA、MMN）の相互関係を図4に示した<sup>29)</sup>。

#### 1) 聴覚 P50 抑制<sup>7,19,23)</sup>

外的情報が一次感覚野に到達し知覚されると、脳波上 P1-N1-P2 複合体が出現する。この中の P1 は、聴覚刺激の場合は刺激後約 50msec に頂点を示すため聴覚 P50 とも呼ば

れる。第1刺激（条件付け刺激）の後に第2刺激を与えるような対刺激課題で聴覚 P50 を検討すると、典型的な条件では第1刺激と比べて第2刺激に対する P50 振幅が約 80% 減弱する。これは、第1刺激によって抑制性神経回路が活性化するためと考えられ、これには海馬を含むコリン系の神経回路が関与するという。

この聴覚 P50 抑制を統合失調症で検討したところ、第1刺激の P50 は健常者と同等であったが、第2刺激に対する P50 抑制はほとんど起こらなかった<sup>55)</sup>。第2刺激に対して起こる P50 抑制は、効率的な情報処理を行うための脳の調整機能を反映するものと考えられ、統合失調症ではこうした機能が作動しないため情報の過剰負荷に帰結し、最終的には知覚の組織化などに影響を及ぼすものと推定される。臨床的には注意障害、思考障害の基盤に存在する障害を反映している可能性がある。

この異常は患者家族や統合失調型人格障害でも観察され、前述のエンドフェノタイプの有力候補の可能性が高く多くの研究が行われている。疾患特異性は乏しいため、様々な精神疾患に共通するような病態に関連する。また、第1刺激と第2刺激の間の刺激間間隔が短い場合は、統合失調症での P50 抑制は健常者とほぼ同様に起こるので<sup>43)</sup>、P50 発生機構自体というよりは調整機構の障害と考えられる。ニコチンにより一過性に正常化するため、α7 ニコチン性コリン作動性受容体に作用する薬物が認知改善薬として期待されている。

#### 2) ミスマッチ陰性電位 mismatch negativity (MMN)<sup>7,29,58)</sup>

MMN は、例えば、繰り返される一定の音刺激のなかに、ピッチ、強度、出現部位、持続時間などの物理的特徴の異なる刺激が混入した場合に、脳が無意識的、自動的にそれを検出したさいに出現する電位で、先行刺激の感覚記憶痕跡を用いて行う刺激偏倚の検出過

程を反映するものと考えられている。聴覚領域での研究がすすんでおり、その発生源として一次および二次聴覚野および背外側前頭前野が、そして NMDA 受容体が関連するグルタミン酸系の関与が指摘されている<sup>66)</sup>。

統合失調症では、刺激偏倚の条件や薬物治療の有無に関わらず MMN が減弱している<sup>40)</sup>。精神症状との関連も指摘されているが、患者家族やハイリスク群でも MMN 減弱を認めるため、有力なエンドフェノタイプとして期待されている<sup>7,41)</sup>。MMN 減弱は感覚記憶の容量の減少ないし急速な減衰によるものとされ、このため知覚組織化や作業記憶に影響すると推定される。詳細は矢部による優れた総説<sup>68)</sup>を参照されたい。

### 3) Nd

Nd は、複数の異なる特性をもつ刺激の中からある特定の刺激に選択的に注意を向けさせに出現する電位で統御処理を反映する。Michie ら<sup>39)</sup>は、音刺激を用いて右耳か左耳かという音の出現部位と音のピッチ変化の二つを聞き分けているときに発生する Nd を記録した。健常者では部位効果とピッチ効果が順番に Nd の振幅増大として認められ、最初に出現部位を同定し、次にピッチを同定するといった注意の階層性があり、さらにその増強された注意効果がかなり持続することも明らかにされた。統合失調症者では部位効果が減弱し、ピッチ効果と注意持続効果はほとんど消失しており、彼女らはこれを実行機能の障害に基づく不適切な処理方略と注意維持の困難を示すものと解釈した。

### 4) NA<sup>29)</sup>

NA は、Nd と同様に随意的に刺激を処理した際に発生する統御処理を反映する電位である。NA や Nd は処理陰性電位 *processing negativity* と総称される。この電位は、選択的注意によって増強される Nd の直前に出現する電位で (図 3)、その前半部はパターン認知と関連し、後半部はその後の高次処理と関

連する。

統合失調症において図形や文字の弁別課題で NA を検討したところ、その振幅は正常であったが、頂点潜時が遅延していた<sup>28)</sup>。パターン認知全般にわたる障害が推定され、知覚組織化や作業記憶に影響を与えるものと考えられる。気分障害<sup>62)</sup>や早期アルツハイマー病<sup>63)</sup>では NA に異常を認めないため疾患特異性が高く、さらに前方視的追跡研究<sup>31)</sup>により NA 潜時が再発予後の強力な予測因子であることが明らかになり、先のエンドフェノタイプとは異なり発病や再発を規定する指標である可能性が高い。

### 5) P300

P300 (P3) は、典型的には同一刺激列の中に稀にランダムに出現する標的刺激を探すような“オドボール課題” (統御処理) で容易に記録できる。単純な課題では P1-N1-P2-N2 に引き続いて出現し、刺激後 300msec 付近に陽性頂点を示す (図 3)。複数の構成成分があり、最初に定位反応としての P3a が前方優位に、その後刺激同定に関わる P3b が後方優位に出現する。P300 は作業記憶を必要とする課題で刺激状況 (文脈) の更新を必要とされたときに発生し、その振幅は処理された情報の程度と関係し、その潜時は反応過程とは独立しており刺激分類速度に関係する。発生源は課題や感覚様式によって異なるが、主に、P3a は前頭葉と島、P3b は側頭・頭頂の感覚野傍連合野皮質と感覚様式非特異的連合野皮質が関係する<sup>6)</sup>。

P300 は、これまで統合失調症で最も検討されてきた事象関連電位である。統合失調症では、一貫して P300 の振幅低下が示され、潜時延長もしばしば指摘されてきた。メタ解析<sup>20)</sup>では、P300 振幅は状態ではなく素因とより関連し薬物治療の影響を受けにくい、一方、P300 潜時は疾患重症度や罹病期間など状態の影響を受ける。ただし、課題条件によっては P300 の振幅異常を示さない場合も

あり、P300 発生源の異常というよりは、P300 調整系の異常である可能性がある。

#### 6) N400<sup>26,30)</sup>

期待に反する意味的逸脱語が提示されると、刺激後約 200msec に起し 400msec に頂点をもつ N400 が出現する (図 3)。N400 は期待と一致する語でも多少なりとも出現するが、意味的逸脱語のように意味処理をより必要とするような状況で大きな振幅を示す。文章、単語、手話、絵、顔写真など意味的な処理を必要とする場合に出現するため、N400 は意味処理の指標といえる。また、意味の正しい文では単語の位置が文の後方ほどその振幅が減弱することや、同一の単語の繰り返して N400 振幅にプライミング効果が生じるため、N400 は記憶処理の指標としても用いられる。N400 に関連する神経ネットワークは用いる課題によって異なるが、脳磁図での研究によると文章課題では左半球優位の前頭・側頭領域が関与し、時間的にはウェルニッケ野にはじまり、次に腹側前側頭葉、最後にブローカ野に広がるとされている<sup>18)</sup>。

統合失調症での N400 研究では<sup>26,30)</sup>、その頂点潜時については、多くの研究で遅延することが指摘されてきたが、これが意味処理そのものの遅延によるのか意味処理以前の処理の遅れによるのかは結論できないでいた。一方、N400 の振幅については、計測方法の技術的な問題や認知課題の条件が不統一ということもあり、結果は相反するものであった。筆者らは、コンピュータ画面上に提示される 2 文字の意味単語、擬似単語あるいは音読不能な外国文字の中から、前もって指定したある意味範疇 (例えば、色を示す単語) に属する標的刺激を検出する課題を考案した。P300 などの事象関連電位成分の混入を最小限に抑える目的で、非標的に対する事象関連電位を解析した。さらに、潜在記憶を検討するために非標的刺激の中に反復する単語を挟み、単語反復は課題遂行には無関係になるように先

の課題と同様に非標的に対する事象関連電位を解析した。これによって反復プライミング効果を評価した。

以上の実験により、統合失調症での意味処理効果は健常者とほぼ同等であり、N400 発生機構自体はほぼ正常であり過剰に活性化されていないことがわかった。ただし、N400 の延長が見られ意味処理自体が遅延していることが推定された。一方、反復プライミングに関しては、健常者では初回提示単語と比較して直後反復単語で N400 相当成分が顕著に減弱しており、先行刺激の情報を利用して効率的な意味処理を行っていると考えられた。しかし、統合失調症では反復効果がほとんど認められず、先行刺激の情報ないし文脈の利用による N400 の抑制機構に障害のあることがわかった<sup>32)</sup>。さらに、微細な思考障害を検出する目的で、Johnston と Holzman<sup>20)</sup>による思考障害評価尺度 Thought Disorder Index (TDI) を用い N400 直後反復効果と TDI 総得点との相関を検討したところ、N400 が思考障害と関連することが明らかになった<sup>27)</sup>。

#### 5. 事象関連電位の脳内分布の推定

前述のように頭皮上脳波では、皮質から頭皮までの体積伝導の問題などから正確な電位分布を示すことが難しい。そこで数学的手法を用いて電位分布を三次元画像表示する LORETA (Low-Resolution Electromagnetic Tomography)<sup>44,48)</sup>による N400 の脳画像研究を簡単に紹介する。LORETA は隣接する神経細胞群は類似した活動を行う (smoothness) と仮定することで、頭皮上で測定された脳波や脳磁図データから脳の電気活動を反映する電流密度を計算する逆問題の解法である。脳実質内に数千の正立方格子を想定し平方ラプラスの和を最小化して smoothness をはかることで電源推定を可能としており、未知の活動部位や同時に複数の

活動部位が存在する場合においてもそれらを推定することが可能である(2394 ボクセルで空間解像能 7mm)。実際、事象関連 fMRI を用いて脳波と同様の課題で前述の N400 反復プライミングと関係する脳血流変化を観察したところ、LORETA による結果とほぼ同様の結果が得られた(秋月、川島ほか、未発表データ)。

ここでは、単語の直後反復に対する N400 の LORETA 解析例を示す。図5は、健常対照群での初回提示に対する直後反復の電気活動を示している。左前頭前野(ブロードマン10野:BA10)と前帯状回(BA24)の電気活動が有意に減弱している。一方、図6は統合失調症群における同様の条件での電気活動で、左側頭下面領域で電気活動が減弱している。また、初回提示単語に対する統合失調症群と健常群の電気活動を比較すると、左前頭前野(BA8)と前帯状回(BA32)の電気活動が有意に低下している(図7)。

これらの所見の意味について説明する。視覚情報処理において提示された文字情報に対して最も一致した意味情報を検索し照合する過程を意味符号化といい、左前頭前野がそれに関わるとされている<sup>12)</sup>。具体的には、意味情報の蓄えられているとされる側頭領域に対して左前頭前野が働きかけることで、最も一致した意味情報の検索を行う。同一の刺激が直後に反復提示された場合は、先行刺激により既に活性化された意味情報は他の意味情報に比べ再活性化されやすい状態となっているため、左前頭前野における検索・照合処理の負荷が初回提示よりも少なくとも適した意味情報が十分に活性化され、速やかに照合過程が終了すると考えられる。この検索処理に対する負荷の軽減が、左前頭前野の電気活動の減弱という結果になったと推測される(図5)。統合失調症群では、初回提示語に対して既にこの意味符号化に関わる左前頭前野の活動が低下しており(図7)、さらに反復プライミン

グでは左前頭前野ではなく左側頭葉下面の活動が変化した(図6)。つまり、統合失調症では初回提示と同一の刺激が直後に反復提示されても左前頭前野で行われる意味検索・照合処理の負荷は減弱せず、初回提示刺激の意味検索に関わったと考えられる左側頭下面領域における処理負荷のみが軽減されており、健常者とは異なる神経ネットワークが意味処理に関わっていると推測される。これは統合失調症における神経ネットワーク異常仮説<sup>3,47,57)</sup>、特に前頭葉と側頭葉の結合異常を支持するものである。

## 6. 事象関連電位からみた統合失調症の病態

本稿では、主に統合失調症の寛解期やハイリスク群で認められるような脆弱性と関係する事象関連電位を概説した。それらは情報の入力レベルから高次レベルまで、また自動処理から統御処理まで広範囲にわたっており、統合失調症が極めて限局した脳の機能異常や解剖学的異常によって引き起こされるものではないことがわかる。しかし、それらの異常が脆弱性をどのように形成しているのかは明らかになっていない。そこで、事象関連電位研究の所見を中心に脆弱性の病態構造についての私論を述べたい(図8)<sup>33)</sup>。

ここでは、言語や思考に関連する意味処理を例に挙げて説明する。随意的な努力を要する統御処理(図8の左)に関しては、NAとN400を脆弱性指標としてとり上げた。NAは早期の知覚処理(パターン認知)を反映し、N400は後期の意味処理を反映する電位である。寛解期の統合失調症患者では、NA頂点の遅延およびN400の遅延ないし延長が見られ、統御処理が全体的に遅延している。しかも、これらの課題では反応時間の延長と誤反応率の増加も見られ、これは、健常者でみられる速度と精度の trade-off 現象(速度が遅いと精度が高くなる)を考慮すると、統合失調症では情報処理内容の質的な異常も伴ってい

ることが推測できる。

一方、知覚や意味処理に対する調整系 (図8の右) では、情報の入力段階での P50 振幅抑制障害や MMN 減弱、さらに Nd 後期成分の減弱など、主に事象関連電位の振幅異常を指摘する報告が多い。前述のように、統合失調症では刺激反復による N400 振幅抑制としてのプライミング効果が顕著に減弱していた。このため、先行刺激による記憶情報や文脈情報を利用して知覚や意味の処理を効率的に行うような高次レベルの調整系にも障害のあることが推定できる。統合失調症の脆弱性にはこれらの統御処理系と調整系の障害が内在していて、おそらくストレスなどを契機に調整系のさらなる破綻が起こり、それが統御処理に過剰な負荷をかけ症状が発現するものと考えられる。Bosch<sup>6)</sup>は、認知障害から精神症状への発展過程について、調整的役割をもつ自動的な情報処理の破綻が、統御処理へ過剰な負荷をかけるために精神症状が発現するという仮説を提唱している (図9)。

## 7. おわりに

統合失調症の病態論、症候論、治療論における認知障害の重要性と、脳波を用いた認知機能の評価方法と統合失調症での結果について述べた。臨床的には、非定型抗精神病薬が認知機能を改善させるのか、そしてその認知機能の改善が患者の QOL や予後を改善させるのかということが最も興味のもたれる点である。既に神経心理学の領域では多くの研究が積み重ねられ、様々な結果が報告されている<sup>54)</sup>。しかし、この領域では多くの解決すべき問題があり<sup>9,36)</sup>、結論を急ぐべきではない。事象関連電位に対する非定型抗精神病薬の影響についての研究はまだ不十分だが、P50 に関しては活発に行われている。例えば、P50 抑制に対する4種類の非定型抗精神病薬の効果を検討した最近の研究ではクロザピンによる改善を報告している<sup>7)</sup>。いずれにせよ、非

定型抗精神病薬の影響に関しては、神経心理検査や事象関連電位を用いて継続的に検討し、最終的にはその影響が QOL や予後にどのように関係するのかを明確にしていくことが今後の課題である。

## 文献

- 1) Adler, L.E., Olincy, A., Cawthra, E.M., et al.: Varied effects of atypical neuroleptics on auditory P50 gating in schizophrenia patients. *Am J Psychiatry*, 161; 1822-1828, 2004
- 2) Adolphs, R.: The neurobiology of social cognition. *Curr Opin Neurobiol* 11; 231-239, 2001
- 3) Andreasen, N.C.: A unitary model of schizophrenia: Bleuler's "fragmented phrene" as schizencephaly. *Arch Gen Psychiatry*, 56; 781-787, 1999
- 4) 栗田主一、松岡洋夫: 分裂病の前駆症候と警告症候. *精神科治療学*, 13; 431-438, 1998
- 5) Bledowski, C., Prvulovic, D., Hoechstetter, K.: Localizing P300 generators in visual target and distractor processing; A combined event-related potential and functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci*, 24; 9353-9360, 2004
- 6) Bosch, R.J. van den: Context and cognition in schizophrenia. *Advances in the neurobiology of schizophrenia: Clinical and neurobiological advances in psychiatry Vol. 1* (ed. by Den Boer, J.A., Westenberg, H.G.M., et al.), John Wiley & Sons, Chichester, p.343-366, 1995
- 7) Braff, D.L., Light, G.A.: Preattentional and attentional cognitive deficits as targets for treating schizophrenia. *Psychopharmacology*, 174; 75-85, 2004

- 8) Brothers, L.: The social brain: A project for integrating primate behavior and neurophysiology in a new domain. *Concepts in Neuroscience* 1: 27-51, 1990
- 9) Carpenter, Jr., W.T., Gold, J.M.: Another view of therapy for cognition in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 52: 969-871, 2002
- 10) Corrigan, P.W., Penn, D.L.: *Social Cognition and Schizophrenia*. American Psychological Association, Washington D.C., 2001
- 11) Davis, J.M., Chen, N., Glick, I.D.: A meta-analysis of the efficacy of second-generation antipsychotics. *Arch Gen Psychiatry*, 60: 553-564, 2003
- 12) Fletcher, P.C., Shallice, T., Dolan, R.J.: The functional roles of prefrontal cortex in episodic memory: I. encoding. *Brain*, 121: 1239-1248, 1998
- 13) Gazzaniga, M.S.: *The Cognitive Neuroscience*. The MIT Press, Massachusetts, 1995
- 14) Gottesman, I.I., Gould, T.G.: The endophenotype concept in psychiatry: etymology and strategic intentions. *Am J Psychiatry*, 160: 636-645, 2003
- 15) Green, M.F., Kern, R.S., Braff, D.L., et al.: Neurocognitive deficits and functional outcome in schizophrenia: Are we measuring the "right stuff"? *Schizophr Bull*, 26: 119-136, 2000
- 16) Green, R.L., Gazzaniga, M.S.: Linking neuroimaging and cognitive neuropsychiatry. *Cognitive Neuropsychiatry*, 6: 229-234, 2001
- 17) Guillem, F., Bicu, M., Hooper, R., et al.: Memory impairment in schizophrenia: A study using event-related potentials in implicit and explicit tasks. *Psychiatry Res*, 104: 157-173, 2001
- 18) Halgren, E., Dhond, R.P., Christensen, N., et al.: N400-like magnetoencephalography responses modulated by semantic context, word frequency, and lexical class in sentences. *NeuroImage*, 17: 1101-1116, 2002
- 19) Hoffman, J.E.: Event-related potentials and automatic and controlled processes. *Event-related brain potentials: Basic issues and applications* (ed. by Rohrbaugh, J.W., Parasuraman, R., et al.), Oxford University Press, New York, p.145-157, 1990
- 20) Jeon, Y-W., Polich, J.: Meta-analysis of P300 and schizophrenia: Patients, paradigms, and practical implications. *Psychophysiology*, 40: 684-701, 2003
- 21) Johnston, M.E., Holzman, P.S.: *Assessing Schizophrenic Thinking: A Clinical and Research Instrument for Measuring Thought Disorder*. Jossey-Bass, San Francisco, 1979
- 22) Kasper, S., Resinger, E.: Cognitive effects and antipsychotic treatment. *Psychoneuroendocrinology*, 28: 27-38, 2003
- 23) Kelly, K.A., Nuechterlein, K.H.: *Neurophysiology and psychophysiology. Current issues in the psychopharmacology of schizophrenia* (ed. by Breier, A., Tran, P.V., et al.), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p.148-191, 2001 (松岡洋夫訳: 神経生理と精神生理. 統合失調症; 最新精神薬理学 [村崎光邦監修]、オフィス エム・アイ・ティ、東京、p.175-225, 2003)
- 24) Lawrie, S.M., Johnstone, E.C., Weinberger, D.R.: *Schizophrenia: from Neuroimaging to Neuroscience*. Oxford

- University Press, New York, 2004
- 25) Maier, W., Wagner, M., Falkai, P., et al.: Genetics of schizophrenia and the impact of neuropsychology. Search for the causes of schizophrenia Vol. V (ed. by Gattaz, W.F., Hafner, H.), Steinkopff Verlag, Darmstadt, p.267-277, 2004
- 26) 松本和紀、山崎尚人、松岡洋夫：精神疾患の事象関連電位。臨床脳波と脳波解析(鶴紀子編)、新興医学出版社、東京、p.241-254, 2000
- 27) Matsumoto, K., Matsuoka, H., Yamazaki, H., et al.: Impairment of an event-related potential correlate of memory in schizophrenia: Effects of immediate and delayed word repetition. *Clinical Neurophysiol*, 112: 662-673, 2001
- 28) Matsuoka, H., Saito, H., Ueno, T., et al.: Altered endogenous negativities of the visual event-related potential in remitted schizophrenia. *Electroenceph clin Neurophysiol*, 100: 18-24, 1996
- 29) 松岡洋夫：刺激弁別と事象関連電位。事象関連電位；事象関連電位と神経情報科学の発展(鶴紀子、丹羽真一編)、新興医学出版社、東京、p.51-64, 1997
- 30) 松岡洋夫、松本和紀、山崎尚人、ほか：分裂病の意味処理障害；最近のN400研究。脳と精神の医学, 9: 287-294, 1998
- 31) Matsuoka, H., Matsumoto, K., Yamazaki, H., et al.: Delayed visual NA potential in remitted schizophrenia: A new vulnerability marker for psychotic relapse under low-dose medication. *Biol Psychiatry*, 45: 107-115, 1999
- 32) Matsuoka, H., Matsumoto, K., Yamazaki, H., et al.: Lack of repetition priming effect on visual event-related potentials in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 46: 137-140, 1999
- 33) 松岡洋夫、松本和紀：精神分裂病の脆弱性とその臨床指標。精神医学, 43: 236-249, 2001
- 34) 松岡洋夫、中村真樹、藤山航、ほか：統合失調症の異種性；オーダーメイド医療を目指して。脳と精神の医学, 14: 285-291, 2003
- 35) 松岡洋夫、中村真樹、伊藤文晃、ほか：統合失調症における認知障害；東北大学における取り組みを中心に。脳と精神の医学, 15: 1-7, 2004
- 36) 松岡洋夫：統合失調症における治療標的としての認知障害。精神経誌、(印刷中)
- 37) 松岡洋夫：認知障害仮説。統合失調症の治療；臨床と基礎(佐藤光源、丹羽真一、ほか編)、朝倉書店、東京、(印刷中)
- 38) 松岡洋夫、佐藤光源：ストレス脆弱性仮説。統合失調症の治療；臨床と基礎(佐藤光源、丹羽真一、ほか編)、朝倉書店、東京、(印刷中)
- 39) Michie, P.T., Fox, A.M., Ward, P.B., et al.: Event-related potential indices of selective attention and cortical lateralization in schizophrenia. *Psychophysiology*, 27: 209-227, 1990
- 40) Michie, P.T.: What has MMN revealed about the auditory system in schizophrenia? *Int J Psychophysiol*, 42: 177-194, 2001
- 41) Michie, P.T., Innes-Brown, H., Todd, J., et al.: Duration mismatch negativity in biological relatives of patients with schizophrenia spectrum disorders. *Biol Psychiatry*, 52: 749-758, 2002
- 42) Mueser, K.T.: Cognitive functioning, social adjustment and long-term outcome in schizophrenia. *Cognition in schizophrenia: Impairments, importance and treatment strategies* (ed. by Sharma, T.,



- Harvey, P.), Oxford, New York, p.157-177, 2000
- 43) Nagamoto, H.T., Adler, L.E., Waldo, M.C., et al.: Sensory gating in schizophrenics and normal controls: Effects of changing stimulation interval. *Biol Psychiatry*, 25; 549-561, 1989
- 44) 中村真樹 : LORETA: Low-resolution electromagnetic tomography. *分子精神医学*, 4; 244-245, 2004
- 45) Nuechterlein, K.H., Dawson, M.E., Gitlin, M. et al.: Developmental processes in schizophrenic disorders: Longitudinal studies of vulnerability and stress. *Schizophr Bull*, 18; 387-425, 1992
- 46) 刑部和仁, 宮腰哲生, 山崎尚人, ほか : 精神分裂病に特異的な主観的精神症状について ; Bonn 大学基底症状評価尺度 (BSABS) による検討. *精神医学*, 40; 729-735, 1998
- 47) Pantelis, C., Brewer, W.: Neurocognitive and neurobehavioural patterns and the syndromes of schizophrenia: Role of frontal-subcortical networks. *Schizophrenia: A neuropsychological perspective* (ed. by Pantelis, C., Nelson, H.E., et al.), John Wiley & Sons, Chichester, p.317-343, 1996
- 48) Pascual-Marqui, R.D., Michel, C.M., Lehmann, D.: Low-resolution electromagnetic tomography; A new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol*, 18; 49-65, 1994
- 49) Pascual-Marqui, R.D.: Review of methods for solving the EEG inverse problem. *Int J Bioelectromagnet* 1; 75-86, 1999
- 50) Peralta, V., Cuesta, M.J., de Leon, J.: An empirical analysis of latent structures underlying schizophrenic symptoms: A four-syndrome model. *Biol Psychiatry*, 36; 726-736, 1994
- 51) Pinkham, A.E., Penn, D.L., Perkins, D.O., et al.: Implications for the neural basis of social cognition for the study of schizophrenia. *Am J Psychiatry*, 160; 815-824, 2003
- 52) 斎藤秀光, 松岡洋夫, 上埜高志, ほか : うつ病の認知機能に関する事象関連電位を用いた研究 ; 精神分裂病および健常者との比較. *精神経誌*, 99; 555-574, 1997
- 53) Saito, H., Yamazaki, H., Matsuoka, H., et al.: Visual event-related potential in mild dementia of the Alzheimer's type. *Psychiat Clin Neurosci*, 55; 365-371, 2001
- 54) Sharma, T., Harvey, P.: *Cognition in Schizophrenia: Impairments, Importance and Treatment Strategies*, Oxford, New York, 2000
- 55) Siegel, C., Waldo, M., Mizner, G., et al.: Deficits in sensory gating in schizophrenic patients and their relatives: Evidence obtained with auditory evoked responses. *Arch Gen Psychiatry*, 41; 607-612, 1984
- 56) Umbricht, D., Vollenweider, F.X., Schmid, L., et al.: Effects of the 5-HT<sub>2A</sub> agonist psilocybin on mismatch negativity generation and AX-continuous performance task; Implications for the neuropharmacology of cognitive deficits in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 28; 170-181, 2003
- 57) Weinberger, D.R.: Anteromedial temporal-prefrontal connectivity; A functional neuroanatomical system implicated in schizophrenia. *Psychopathology and the brain* (ed. by Carroll, B.J., Barrett, J.E.), Raven Press, New

York, p.25-43, 1991

58) 矢部博興 : Mismatch negativity の反映する感覚記憶の研究とその臨床的意義. 精神神経誌、106: 1-16, 2004

#### Summary

Recent development in neuroscience, especially in neuropsychology and neuroimaging, has shed light on the cognitive dysfunction in schizophrenia. Cognitive dysfunction may be the underlying basis of schizophrenic symptoms and also the vulnerability marker such as an endophenotype used in the genetic study. Among various cognitive functions, attention is currently focused on "social cognition" as a new realm of research because it may determine the social and occupational abilities of patients with schizophrenia. Recent studies indicate that the second-generation antipsychotics may improve some aspects of cognitive dysfunction in schizophrenia. This urges us to reveal whether such drugs also improve the long-term prognosis as well as quality of life of the patients. Although cognitive

function has been usually evaluated by neuropsychological tests, it is advisable to employ electroencephalogram, especially event-related potential, which has high time resolution, in combination with neuroimaging with high spatial resolution. In this paper, studies with event-related potentials including P50, MMN, Nd, NA, P300, and N400 are reviewed and we propose a pathophysiological model of schizophrenia from a viewpoint of information processing. The model consists of controlled processing system (e.g., perceptual organization, and semantic integration) and regulatory system which is mainly automatic processing and enables the controlled processing to be efficient. We postulate that both systems will be primarily affected in schizophrenia and that disruptions in regulatory system from any cause will impose further burden on controlled system and then lead to psychosis. Finally comprehensive and sophisticated assessment of these systems will be required in schizophrenia research.

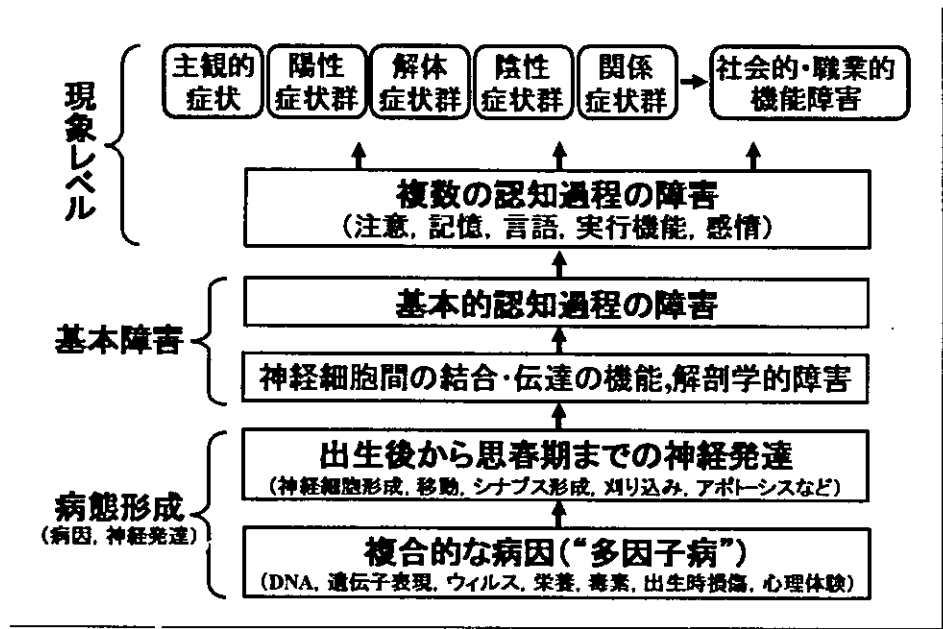


図1 統合失調症の病態モデル

統合失調症の病態を、病態形成 (病因, 神経発達)、基本障害 (機能・解剖学的障害, 基本的認知過程の障害)、複数の認知過程の障害, 臨床表出 (最上段) として示している (Andreasen<sup>3)</sup>の図を改変, 松岡<sup>36)</sup>より引用)。

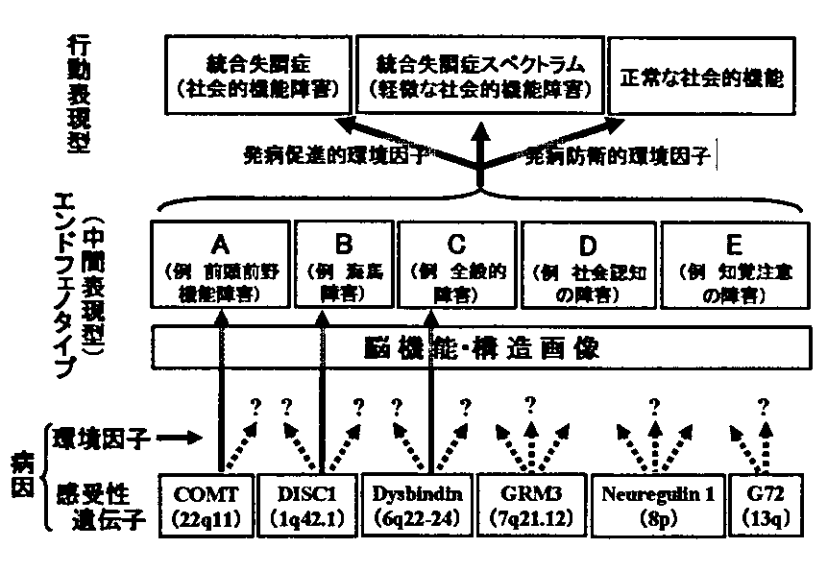


図2 統合失調症での遺伝子機能研究

図1に対応するように最近のゲノム機能学の例を示した (Maierら<sup>25)</sup>の図を改変)。感受性遺伝子異常はいくつかの認知障害に関連する (関係がある程度わかっているものだけ実線の矢印で示している)。複数の感受性遺伝子異常に環境要因が加わりはじめて発病する。

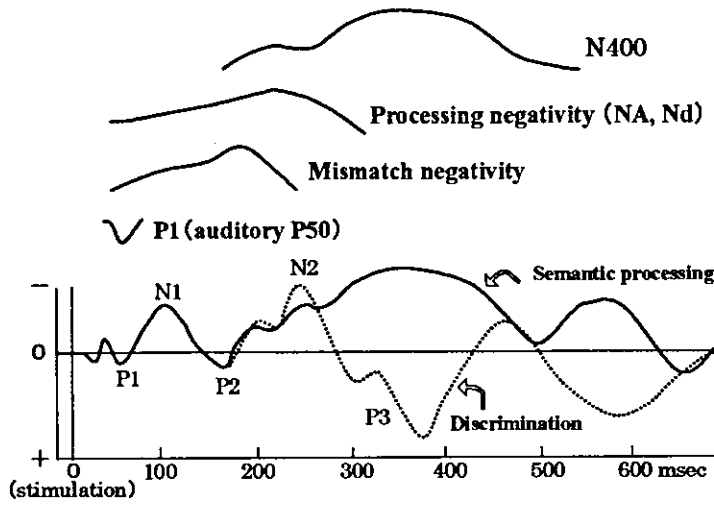


図3 各種事象関連電位の時間関係

最下段の事象関連電位は刺激弁別 (discrimination) や意味処理 (semantic processing) を行ったさいの原波形で、一般的にはP1、N1、P2、N2、P3で構成されるが、意味処理の場合はさらに陰性側 (マイナス方向) に大きくシフトするN400が重畳する。心理課題を工夫したり波形の引算操作などによって、上に示したような特定の認知活動に対応する電位が原波形から単離できる。刺激提示時点が横軸の0ミリセカンドで、こうした事象関連電位を用いてミリセカンド単位で認知活動の時間的変化を解析できる。図は全て模式図。

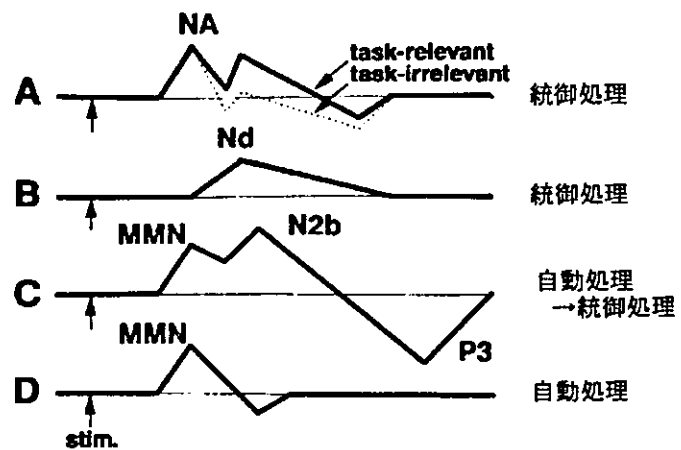
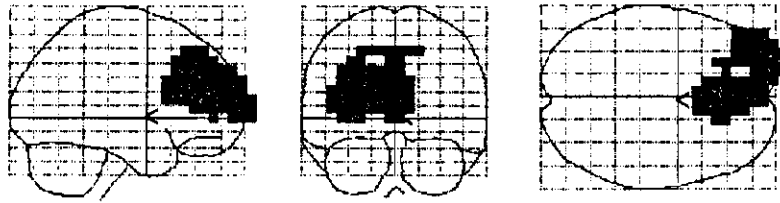


図4 早期の内因性陰性電位の相互関係 (松岡<sup>29)</sup>より引用)

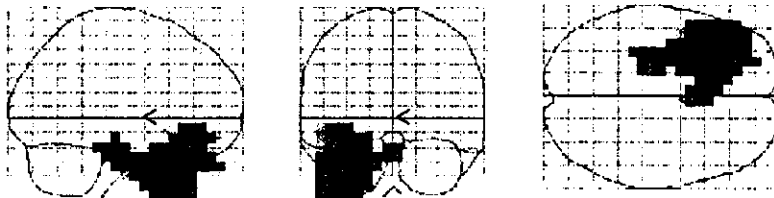
Aは二重選択課題の非標的刺激への反応から単純反応課題での反応を差し引きしたNA電位 (実線は課題関連のNA、破線は課題無関連のNA)。Bは同じ二重選択課題の課題関連側非標的の刺激への反応から課題無関連側非標的の刺激への反応を差し引きしたNdであるが、Aの課題関連側NAから課題無関連側NAを差し引きしたものに等しい。A、Bともに注意依存的な統御処理。Cは同じ二重選択課題の課題関連側の稀な偏倚刺激への反応から標準刺激への反応を差し引きしたもので、自動処理 (MMN) で検出された情報が意識化され統御処理 (N2b-P3) を受けた場合の電位。Dは無視条件で稀な偏倚刺激への反応から標準刺激への反応を差し引きした電位で、自動処理のMMNのみを認める。上向きを陰性として表示。



voxel-level				x,y,z [mm]
$p_{\text{corrected}}$	$T$	$(Z_{\#})$	$p_{\text{uncorrected}}$	
0.009	5.05	( 3.94)	0.000	-4 28 14
0.039	4.20	( 3.46)	0.000	-18 70 14

図5 健常群における N400 反復効果の LORETA 解析

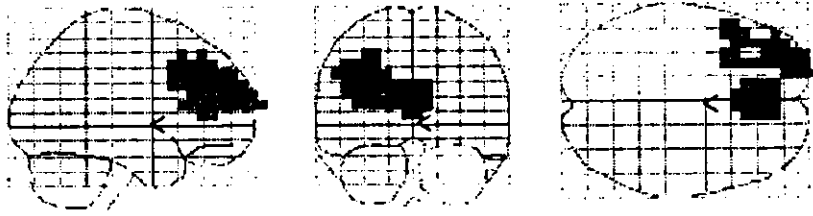
健常群 (N=19) を対象に、有意味かな単語が反復して提示されたさいの N400 の変化を SPM99 で解析した。ただし、正確にはノンパラメトリックな方法である SnPM による解析が好ましい<sup>49)</sup>。



voxel-level				x,y,z [mm]
$p_{\text{corrected}}$	$T$	$(Z_{\#})$	$p_{\text{uncorrected}}$	
0.050	4.14	( 3.43)	0.000	-18 14 -49
0.093	3.75	( 3.18)	0.001	-25 -28 -21

図6 統合失調症群における N400 反復効果の LORETA 解析

統合失調症群 (N=19) を対象に、有意味かな単語が反復して提示されたさいの N400 の変化を SPM99 で解析した。ただし、正確にはノンパラメトリックな方法である SnPM による解析が好ましい<sup>49)</sup>。



voxel-level				x,y,z [mm]		
$p_{corrected}$	$T$	$(Z_{\alpha})$	$p_{uncorrected}$			
0.033	3.47	( 3.20)	0.001	-32	21	42
0.047	3.25	( 3.02)	0.001	-25	35	35
0.049	3.22	( 3.00)	0.001	-18	63	28
0.037	3.41	( 3.15)	0.001	-11	35	14

図7 初回提示単語に対するN400のLORETA解析

図5, 図6と同一の対象で、初回提示単語に対するN400を両群間で比較した。解析方法も同一。

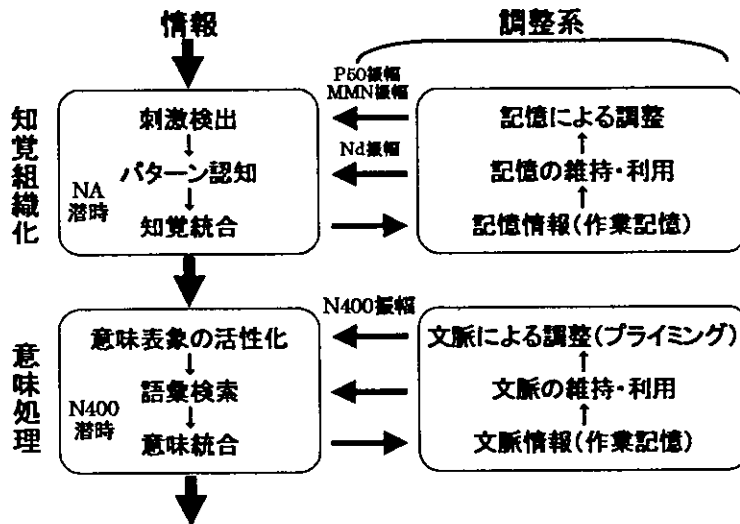


図8 認知活動と事象関連電位 (松岡の論文<sup>33)</sup>より一部改変)

感覚情報が処理(知覚組織化)され、その情報をもとにして意味処理が行われるさいの認知活動を示した。左列が能動的に行われる統御処理で、右列は統御処理を効率的に行うための調整系である。右列の処理は、不要な情報の遮断、重要な情報の取り込み、先行情報による処理の簡略化などを行っており、基本的には自動処理に相当する。付記されている事象関連電位を用いて、それぞれの活動が評価(ここでは振幅または潜時)される。

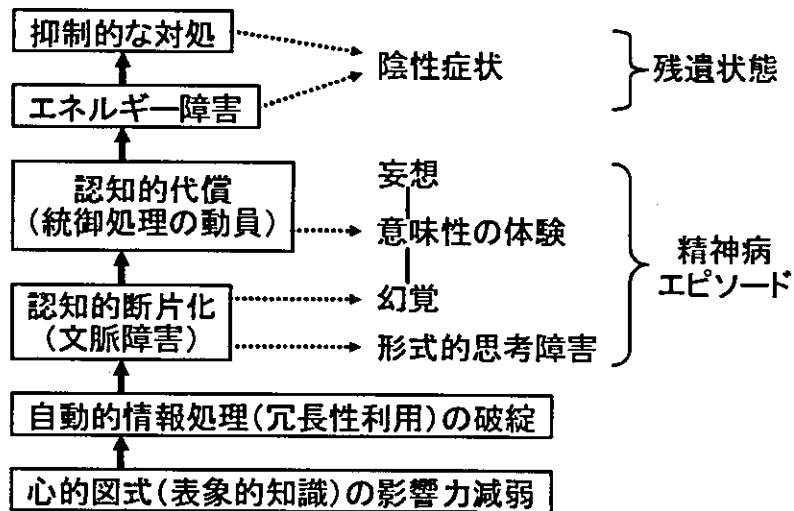


図9 認知障害と統合失調症状の関係

自動処理の破綻により統御処理に過剰な負荷がかかることで精神症状が出現するという仮説<sup>6)</sup>

## LORETA

low-resolution electromagnetic tomography

東北大学大学院医学系  
研究科精神神経学分野

中村真樹  
(NAKAMURA Masaki)

LORETAとはlow-resolution electromagnetic tomographyの略であり、1994年にPascual-Marqui<sup>1)</sup>によって開発された新たな脳機能の三次元画像表示法である。LORETAは、隣接する神経細胞群が類似した活動をおこなう(smoothness)と仮定することで、頭皮上で測定された脳波や脳磁図データから脳の電気活動を反映する電流密度を計算する逆問題の解法であり、脳実質内に数千の正立方格子を想定し平方ラプラスの和を最小化してsmoothnessをはかることで電源推定を可能としている。同じように逆問題の解法を用いて電位発生源を推定する方法に双極子追跡法があるが、双極子追跡法のように活動点の数をあらかじめ設定する必要や、活動点以外の脳部位が電氣的に静止しているといった制約条件を必要としないため、未知の活動部位や同時に複数の活動部位が存在する場合においても、その活動部位を推定することが可能であるという利点がある。また電位発生源をPETやfMRIで一般的に用いられているTalairach標準脳アトラス上の大脳皮質と海馬のみとしており、2394ボクセルで空間解像能7mmというように比較的空間解像能が高く<sup>2)</sup>、このため脳波の利点である高い時間解像能を生かしつつ脳機能画像研究をおこなうことが可能となった。

その信頼性は、fMRIなどにより従来から指摘されていた脳部位と一致した領域にその電位発生源を推定していることから、かなり高いものとされている。たとえば、視覚刺激に対して後頭葉の視覚野<sup>3)4)</sup>、聴覚刺激に対しては側頭葉の聴覚野<sup>5)6)</sup>、運動・視覚運動課題遂行時に視覚野と運動野<sup>7)8)</sup>、相貌認知課題においては内側後頭側頭回<sup>9)</sup>にそれぞれ電位発生源をfMRI研究と同様の部位に推定している。また、てんかん焦点に関する報告では、頭皮上電極で計測した脳波のLORETAによる焦点部位の解析結果は、硬膜下電極で記録されたスパイクの部位とほぼ一致していた<sup>10)</sup>。当研究室でおこなった単

語課題を遂行中の事象関連電位に対するLORETA解析の結果では、健常者では提示語に対して両側側頭葉と左前頭前野に強い電気活動が認められるが(図1a)、統合失調症患者ではほぼ同部位で活動が認められるものの、その活動は減弱していた(図1b)。両群の活動部位に対してSnPM(statistical nonparametric mapping)を用いて統計解析をおこなったところ、統合失調症患者では両側前頭前野を含めて広範囲にわたって脳活動が低下していることが判明した(図1c)。またこのように活動部位に有意差が認められたのは刺激提示後270~500msの区間であった<sup>11)</sup>。

以上のように、LORETAはある程度の広がりをもつ神経活動や、同時に複数の部位が活動していると考えられる場合には有用な脳機能部位推定法であるといえ、また脳波や脳磁図のもつミリ秒オーダーの高い時間解像能を十分に生かしつつ脳活動の空間特性を把握するにはすぐれた技術であると考えられる。なお、開発者であるPascual-Marquiが作成した最新のLORETA解析ソフトウェアでは、神経活動部位の経時的な変化をアニメーションで表示することが可能となっている(<http://www.unizh.ch/keyinst/NewLORETA/LORETA01.htm>)。

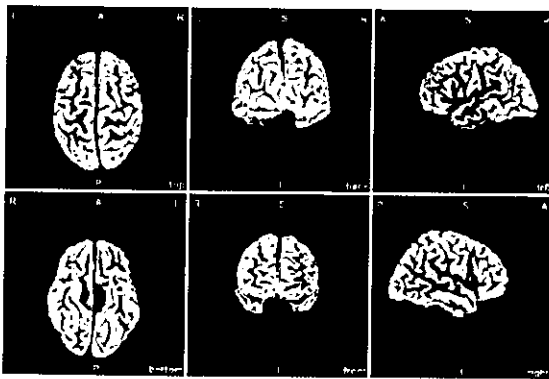
\*\*\*\*\*

### 参考文献

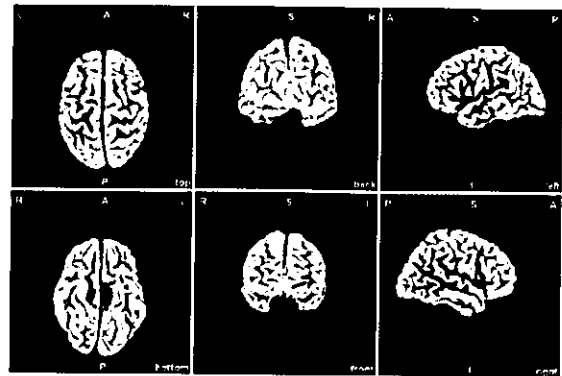
- 1) Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D: Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol* 18: 49-65, 1994
- 2) Pascual-Marqui RD: Review of methods for solving the EEG inverse problem. *Int J Bioelectromagnet* 1: 75-86, 1999
- 3) Hirota T, Yagyu T, Pascual-Marqui RD *et al*: Spatial structure of brain electric fields during intermit-



(a) 健常者で活躍した部位



(b) 統合失調症患者で活躍した部位



(c) 統合失調症患者で有意に活躍が低下した部位

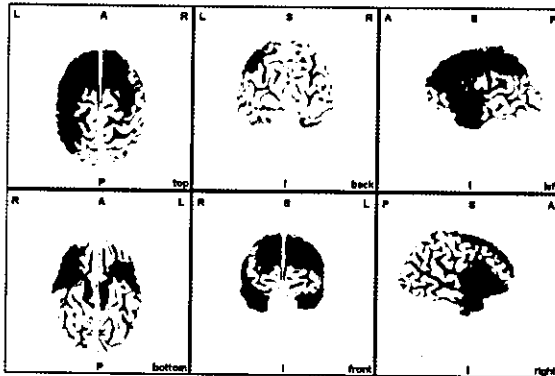


図 1. 単語課題遂行中の活動部位と SnPM 解析結果

刺激提示後 270~500 ms にかけて電位活動が認められた部位を LORETA によって推定し, SnPM により両群の活動部位について統計検定をおこなった。

健常者も統合失調症患者も左優位に両側側頭葉と左前頭前野に電位活動が認められ (a) (b), 統合失調症患者は健常者と比較し, 両側側頭葉と両側前頭葉, および左頭頂葉で電位活動が有意に低下していた (c)。

(筆者作成)

tent photic stimulation. *Neuropsychobiol* 44 : 108-112, 2001

- 4) Khatib A, Michel CM, Pegna AJ *et al* : The time course of semantic category processing in the cerebral hemispheres : an electrophysiological study. *Cog Brain Res* 10 : 251-264, 2001
- 5) Anderer P, Pascual-Marqui RD, Semlitsch HV *et al* : Electrical sources of P 300 event-related brain potentials revealed by low resolution electromagnetic tomography. 1. Effects of normal aging. *Neuropsychobiol* 37 : 20-27, 1998
- 6) Anderer P, Pascual-Marqui RD, Semlitsch HV *et al* : Differential effects of normal aging on sources of standard N1, target N1 and target P 300 auditory event-related brain potentials revealed by low resolution electromagnetic tomography (LORETA). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 108 : 160-174, 1998
- 7) Thut G, Hauert CA, Morand S *et al* : Evidence for interhemispheric motor-level transfer in a simple reaction time task : an EEG study. *Exp Brain Res* 128 : 256-261, 1999
- 8) Thut G, Hauert CA, Viviani P *et al* : Internally driven vs externally cued movement selection : a study on the timing of brain activity. *Cog Brain Res* 9 : 261-269, 2000
- 9) Pizzagalli D, Lehmann D, Koenig T *et al* : Face-elicited ERPs and affective attitude : brain electric microstate and tomography analyses. *Clin Neurophysiol* 111 : 521-531, 2000
- 10) Lantz G, Michel CM, Pascual-Marqui RD *et al* : Extracranial localization of intracranial interictal epileptiform activity using LORETA (low resolution electromagnetic tomography). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 102 : 414-422, 1997
- 11) 松岡洋夫, 中村真樹 : LORETA (Low-resolution Electromagnetic Tomography) による精神分裂病における直接プライミング異常の解析. 平成 14 年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書, 2002, pp. 7-28

## Psychostimulant Alters Expression of DNA Methyltransferase mRNA in the Rat Brain

YOHTARO NUMACHI,<sup>a,c</sup> SUMIKO YOSHIDA,<sup>b</sup> MOTOYASU YAMASHITA,<sup>a</sup> KO FUJIYAMA,<sup>c</sup> MAKI NAKA,<sup>a</sup> HIROO MATSUOKA,<sup>c</sup> MITSUMOTO SATO,<sup>d</sup> AND ICHIRO SORA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Department of Psychobiology and Department of Psychiatry, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, 980-8574, Japan*

<sup>b</sup>*Department of Health and Welfare, Sendai College, Miyagi, 989-1693, Japan*

<sup>c</sup>*Department of Psychiatry, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, 980-8574, Japan*

<sup>d</sup>*Department of Psychiatry, Tohoku Fukushi University Graduate School, Sendai, 981-8522, Japan*

**ABSTRACT:** Methamphetamine (MAP), the most frequently abused substance in Japan, causes severe drug dependence and psychosis, similar to schizophrenia. It is suggested that long-term alterations in gene expression is related to MAP-induced brain dysfunction, including dependence and psychosis. DNA (cytosine-5) methyltransferase (Dnmt), a methylating enzyme of cytosine residues on CpG-dinucleotides, plays an important role in X chromosome inactivation, genomic imprinting, and gene expression. Reelin is an extracellular matrix protein secreted by GABAergic interneurons. Heterozygous reeler mice that exhibit a 50% downregulation of reelin expression replicate the dendritic spine and GABAergic defects described in schizophrenia. DNA methylation plays an important role in the epigenetic modification of reelin expression. We previously found that MAP could alter expression of Dnmt1 mRNA in the rat brain. In this study, we examined the brain mRNA for Dnmt2 and reelin in MAP-treated Wistar rats. Acute MAP (4 mg/kg) treatment significantly decreased Dnmt2 mRNA by 27% to 39% in hippocampus dentate gyrus, CA1, and CA3 24 h after treatment, and significantly decreased reelin mRNA by 28% in frontal cortex 3 h after treatment. These results suggest that (1) MAP can alter DNA methylation as well as expression of genes in these brain regions, and (2) decrease in reelin mRNA in the frontal cortex is similar to heterozygous reeler mice, which might be related to schizophrenia-like psychotic symptoms of MAP psychosis.

**KEYWORDS:** psychostimulant; DNA methyltransferase; reelin; psychosis; gene expression

Address for correspondence: Yohtaro Numachi, M.D., Ph.D., Division of Psychobiology, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, 980-8574, Japan. Voice: +81-22-717-7262; fax: +81-22-717-7266.  
ynumachi-thk@umin.ac.jp

Ann. N.Y. Acad. Sci. 1025: 102–109 (2004). © 2004 New York Academy of Sciences.  
doi: 10.1196/annals.1316.013

## INTRODUCTION

Methamphetamine (MAP) is a potent psychostimulant that has been widely abused in Japan. MAP is an indirect dopamine agonist and causes paranoid psychotic state (stimulant-induced psychosis) almost identical to schizophrenia. Clinical features of stimulant-induced psychosis are: (1) the psychotic state may continue after MAP withdrawal; (2) vulnerability to relapse by reuse of MAP or psychological stress persists for a long time; and (3) neuroleptics prevent relapse by MAP reuse. These features suggest that MAP can cause long-term changes in brain function as well as gene expression,<sup>7</sup> which would underlie the relapse of psychotic state in stimulant-induced psychosis as well as schizophrenia.<sup>5</sup>

Recently, it was reported that reelin and glutamate decarboxylase<sub>67</sub> (GAD<sub>67</sub>: GABA synthesizing enzyme) mRNA and protein levels are reduced by 50% in post-mortem brain from schizophrenic patients.<sup>2</sup> Reelin is an extracellular matrix protein that regulates positioning of cortical pyramidal neurons, interneuron, and Purkinje cell during development.<sup>2</sup> In adult brain, reelin is secreted by specific GABAergic interneurons from the telencephalon and hippocampus. The defective gene in the reeler mouse, characterized by locomotor defects and ataxia caused by defective neuronal migration in the developing brain, was identified as the reelin gene. The reelin haploinsufficient heterozygous reeler mouse does not express the phenotype of the reelin null mutant. But the heterozygous reeler mouse shows similar neuroanatomical and neurochemical abnormalities with schizophrenic patients, including downregulation of GAD<sub>67</sub> and the neuropil density with reduced pyramidal dendritic spines in the telencephalon. Collectively, reelin and GABAergic function downregulation might be related to neurodevelopmental abnormalities for vulnerability to schizophrenia.<sup>2</sup>

It is suggested that epigenetic regulation through DNA methylation is responsible for reelin downregulation in the schizophrenic brain. DNA (cytosine-5) methyltransferase (Dnmt), a methylating enzyme of cytosine residues on CpG-dinucleotides, plays an important role in X chromosome inactivation, genomic imprinting, and gene expression.<sup>3</sup> Experiments using cultured human cell showed that methylation of the CpG island in the promoter of human reelin gene acts as an epigenetic switch to silence reelin gene expression.<sup>2</sup> There are four mammalian Dnmts: Dnmt1, 2, 3a, and 3b. We previously found that MAP can alter mRNA expression of Dnmt1, which maintains methylation pattern of DNA, in the rat brain. In this study, we examined the brain mRNA for Dnmt2 and reelin in MAP-treated Wistar rats.

## MATERIALS AND METHODS

### *Animals and Tissue Preparation*

All experiments were conducted in accordance with the guidelines of the animal ethics committee at Tohoku University Graduate School of Medicine (Sendai, Japan). Male Wistar rats (Funabashi Farm, Japan, 7 wks old, 150–200 g) were sacrificed 0, 1, 3, 9, and 24 h after injection of 4 mg/kg MAP hydrochloride (Philopon, Dainippon Pharmaceutical Co., Ltd., Osaka, Japan) in saline solution. Brains were quickly frozen, from which coronal brain sections of 14-mm thickness were cut.

### *Preparation of RNA Probe and Northern Hybridization*

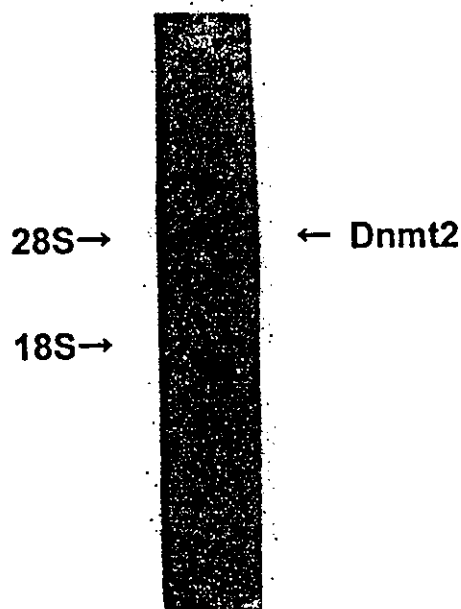
Rat Dnmt2 and reelin cDNA fragment (Genbank accession NM\_010067, n.t. 102-547, 446 bp, Genbank accession NM\_080394, n.t. 8726-9147, 422 bp, respectively) was subcloned into pGEM-T Easy Vector. Northern hybridization was performed using a DIG RNA labeling kit and the signal was detected by the luminescent system.

### *In Situ Hybridization and Quantification of Radioactive Signals*

The brain sections were hybridized with <sup>35</sup>S-labeled anti-sense cRNA probe overnight at 55°C. Sections were exposed to a Kodak XAR film for 6 days after the posthybridization process. A sense cRNA probe was used as a negative control. Optical density measurements were quantified from the X-ray film using MCID (Imaging Research Inc.) software and an NIH image. The signals were corrected by background.

### *Statistical Analysis*

Statistical analyses were performed using ANOVA followed by the Fischer or Scheffe *post hoc* test. The criterion of statistical significance was less than .05.



**FIGURE 1.** Representative Northern image of Dnmt2. Using antisense RNA probe, single signal of 4.4 kb was detected, which is consistent with a previous report.<sup>4</sup>