

leucine zipper(GILZ)を見出した。そこで、フェネチルアミン誘導体2C-T-7および2C-T-2投与によるGILZ mRNA発現に対する影響を検討した。その結果、MAP、MDMA同様に、2C-T-7および2C-T-2投与によりGILZ mRNA発現は有意に増加していた。さらに多くの薬物を使用しての検証が必要であるが、少なくとも2種類のフェネチルアミン誘導体2C-T-7および2C-T-2でGILZ mRNA増加は共通した変動であることから、薬物の依存形成能を推測するマーカーになり得るものと期待される。

GILZはglucocorticoidにより発現が誘導される遺伝子であることから、MAP、MDMA、フェネチルアミン誘導体2C-T-7および2C-T-2によりglucocorticoidを中心とする下垂体副腎系の制御に変化が生じて、依存形成につながる可能性がある。MAPの逆耐性形成において中脳辺縁ドパミン神経系が重要な役割を果していることが報告されている<sup>6,7)</sup>。一方、生体内のcorticosterone量の変動は中脳辺縁ドパミン神経系に影響を与えることが報告されていることから<sup>9)</sup>、おそらく、MAPなど依存性薬物の慢性投与によって生じる下垂体副腎系の異常がドパミン神経系に影響を与えているものと考えられる。今後は、慢性投与による影響を含め、薬物依存形成におけるGILZ mRNA発現増加の意義について解析する必要がある。

## E. 結 論

薬物による中枢興奮作用と精神依存形成能の相関性から、中枢興奮作用の発現用量を参考にCPP試験を行うことにより、効率良く化学物質の精神依存性を評価できると考えられる。一方、単独でCPP試験を行うことにより、報酬効果が発現しないケースではMAPを再投与することでMAP作用の増強の有無を評価するこ

とが有用である。今回の研究から、2C-T-7は覚せい剤や麻薬の作用を増強することから、いわゆるgate-way drugとなり得る危険性があると考えられる。

物質の乱用危険性を推測する生化学的マーカーとして、脳内のドパミンおよびその代謝産物の変動が利用できると考えられる。脳内のドパミン含量の増加およびドパミン代謝回転の増加は危険因子である。さらに、GILZ mRNA発現の増加も依存形成能を有する薬物に共通した危険因子である可能性が示唆された。

薬物の神経毒性発現の有無については、培養細胞を利用する方法は、迅速かつ正確な評価が可能であり、その有用性が明確になった。

こうした一連の評価システムにより、国内で流通が確認されている違法ドラッグの精神依存性および神経毒性の検討を行い、危険化合物の迅速な発見に活用できると考えられる。また、将来的に乱用拡大につながる化学物質を特定し規制薬物指定への早期の対策に有用であると考えられる。

## 【参考文献】

- 1) Drug Enforcement Administration, Department of Justice. Schedules of controlled substances: temporary placement of alpha-methyltryptamine and 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine into Schedule I. Final rule. Fed Regist. 68, 16427-1630, 2003.
- 2) De Boer, D., Bosman, I. : A new trend in drugs-of-abuse; the 2C-series of phenethylamine designer drugs. Pharmacy World and Science. 26, 110-113, 2004.
- 3) 船田正彦, 佐藤美緒, 青尾直也, 和田清 : 依存性薬物による脳内遺伝子群の発現調節.

生体の科学. 56: 323-327, 2005.

4) Franklin K.B.J., Paxinos G.: The mouse brain in stereotaxic coordinates, Academic Press, San Diego 1997.

5) 船田 正彦: 条件付け場所嗜好性試験による薬物報酬効果の評価: 基礎と応用. 日本薬理学雑誌 126: 10-16, 2005.

6) Pierce R.C., Kalivas P.W.: A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. Brain Res Brain Res Rev, 25: 192-216, 1997.

7) White F.J., Kalivas P.W.: Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. Drug Alcohol Depend, 51: 141-153, 1998.

8) Sokolov, B.P., Polesskaya, O.O., Uhl, G.R.: Mouse brain gene expression changes after acute and chronic amphetamine. J. Neurochem. 84: 244-252, 2003.

9) Louk J. M., Vanderschuren J., Donne Schmidt, E., et al.: A single exposure to amphetamine is sufficient to induce long-term behavioral, neuroendocrine, and neurochemical sensitization in rats. J. Neurosci., 19(21): 9579-9586, 1999.

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1) 船田 正彦. 条件付け場所嗜好性試験による薬物報酬効果の評価: 基礎と応用. 日本薬理学雑誌 126: 10-16, 2005.

2) Sato M, Wada K, Funada M.: Barium potentiates the conditioned aversion to, but not the somatic signs of, morphine withdrawal in mice. Eur J Pharmacol. 519:

215-222, 2005.

3) 船田正彦, 佐藤美緒, 周曉華, 金井裕子, 和田清. 揮発性有機溶剤の精神依存形成メカニズム. 日本神経精神薬理学雑誌. 25: 1-9, 2005.

4) 船田正彦, 佐藤美緒, 青尾直也, 和田清. 依存性薬物による脳内遺伝子群の発現調節. 生体の科学. 56: 323-327, 2005.

## 2. 学会発表

1) 船田正彦, 佐藤美緒, 周 曉華, 青尾直也, 和田 清. トルエン精神依存形成におけるドパミン神経系の役割. 第40回日本アルコール薬物医学会総会. 金沢 9月8-9日 (2005)

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

### 1. 特許取得

特になし。

### 2. 実用新案登録

特になし。

### 3. その他

特になし。

## ストレスと覚醒剤依存形成：ヒスタミン神経系の役割を中心に 覚せい剤とストレスによる精神障害発現におけるH1受容体の役割

分担研究者：谷内一彦

研究協力者：櫻井映子，賈飛勇，代紅梅，奥田友宏，渡邊建彦，加藤元久，倉増敦朗，岡村信行  
(東北大学大学院医学系研究科・機能薬理学分野)

### 【研究要旨】

非定型型抗精神病薬は、統合失調症の認知機能障害の改善に有効であるというエビデンスが定着しつつある。非定型型抗精神病薬はヒスタミンH1受容体の拮抗作用を併せ持つため、統合失調症へのヒスタミン神経系の関与が示唆されているが、ヒスタミンH1受容体の役割については未だに明らかになっていない。そこで統合失調症陰性症状の動物モデルである離乳後の社会隔離をICRマウス施し、動物の多角的な行動観察から、認知機能の障害度と脳の障害部分を推定することを試みた。行動実験は、驚愕反応、物体認識試験、恐怖条件付け試験、モリス水迷路試験と受動回避試験を行った。さらにヒスタミン受容体の役割について、昨年度報告したヒスタミンH1受容体欠損マウスを用いた結果との比較、及び非定型型抗精神病薬のクロザピンの効果について考察した。

ICRマウスを用いた今回の実験結果は、驚愕反応、恐怖の条件付け試験、モリス水迷路試験では、グループ飼育群に比べ、社会的隔離群で有意に抑制されたが、社会的隔離マウスにメタンフェタミン(METH)を投与した群ではさらに社会的隔離群に比べて有意に抑制されていた。また物体認識試験、受動回避試験では、グループ飼育群では新奇のものへの接触時間が有意に長かったのに対して、社会的隔離群ではMETHの投与の有無に関係なく、同程度だった。最も記憶が障害されていたMAPを投与した群に5mg/kgのクロザピンを処置すると、グループ飼育群のレベル程度まで不動時間が延長し、記憶の改善が認められた。精神障害発現と依存形成におけるヒスタミンH1受容体の役割を検討した昨年度の結果は、野生型マウスに与えた社会的隔離ストレスは、MAPの驚愕反応における効果を著明に増大させ空間認知機能を低下させた。しかしH1KOマウスには社会的隔離ストレスとMETHの逆耐性形成による変化はみられなかった。したがってH1拮抗作用が覚せい剤とストレスによる精神障害の発現抑止に関係していることが示唆され、クロザピンの認知機能障害改善の一つの作用機序としてヒスタミンH1受容体拮抗作用が関係していると考えられた。

### A. 研究目的

統合失調症や覚せい剤精神病で見られる特徴であるPrepulse inhibitionの障害には、定型抗

精神病薬であるハロペリドールで改善効果がなく、非定型抗精神病薬により改善されるという結果が、動物実験のみならず臨床的にも報告さ

れてきている3,4,5)。非定型抗精神病薬はヒスタミンH1受容体の拮抗作用を有するため、統合失調症や覚せい剤精神病へのヒスタミン神経系の関与が示唆されるが、病態惹起時におけるヒスタミンH1受容体の役割についてはまだ明らかにされていない。そこで統合失調症陰性症状の動物モデルである離乳後の社会隔離をICRマウス施し、動物の多角的な行動観察から、認知機能の障害度と脳の障害部分を推定することを試みた。さらに認知機能障害を起こしたマウスについて、ヒスタミン神経系関連薬物投与による認知機能改善効果を 認知症の治療薬として用いられているドネペジルと比較し検討した。

## B. 研究方法

### ① 動物モデルと認知機能試験

雄性ICRマウスを離乳後(3週齢)個別飼育して、社会的隔離ストレスを4週間与え、それぞれの群にMETH(1mg/kg)またはSalineを7日間連続投与し、1週間休薬後、再投与を行なったモデルについて、事前音刺激による驚愕反応の減弱(PPI)を測定し、グループで飼育した群と比較した。認知機能評価としては、物体認識、恐怖の条件付けモリス水迷路による空間認知機能および受動回避試験を用いた。驚愕反応はコロバス社製のResponder-X®を使用した。さらに行動観察から1週間経過後、GFAP免疫染色法を用いてGFAP陽性細胞を検出した。

### ② 認知障害モデル動物への薬物投与による改善効果

雄性ICRマウスを離乳後(3週齢)個別飼育して、社会的隔離ストレスを4週間与え、それぞれの群にMETH(1mg/kg)7日間連続投与し、1週間休薬後、再投与を行なったモデルについて、クロザピン(5mg/kg, i.p., 非定型抗精神病薬、

ピリラミン(3mg/kg, i.p., ヒスタミンH1受容体拮抗薬)、チオペラミド(15mg/kg, i.p., ヒスタミンH3およびH4受容体拮抗薬)とドネペジル(1mg/kg, p.o., アセチルコリンエステラーゼ阻害薬)のいずれかを投与し、認知機能障害改善効果について検討した。認知機能評価としては、物体認識、恐怖の条件付けモリス水迷路による空間認知機能および受動回避試験を用いた。

## C. 研究結果

### ① 動物モデルと認知機能試験

社会的隔離ストレスを4週間与えると、グループ飼育群に比べ驚愕反応が増加し、有意にPPIが低下していた。社会的隔離ストレスを4週間与えMETHを7日間連続投与した逆耐性モデルマウスでは、さらにPPIは低下した。図1にPPIの抑制率(%)を示した。グループ飼育群、社会隔離ストレス負荷群、社会隔離ストレス負荷+METH投与群の3群の間で得られた認知機能検査の結果から、社会隔離ストレスの効果にMETHの効果を上乗せされた学習・機能障害が観察されたのは、恐怖の条件付け試験(扁桃体関連課題)とモリス水迷路(海馬関連課

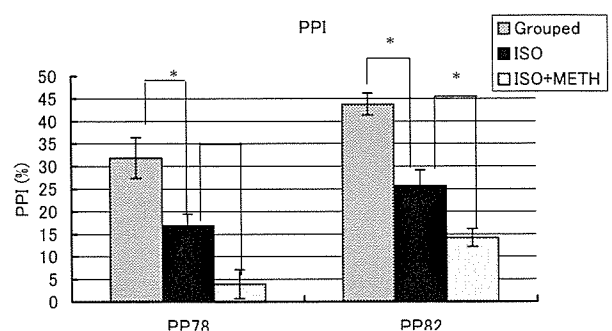


図1. 社会的隔離ストレスと社会的ストレス負荷METH逆耐性の事前音刺激による驚愕反応抑制率

PPI: 118 dBより100 msec事前に弱い音刺激を与えた時の驚愕反応の抑制を調べる。統合失調症ではPPIが生じないことが報告されている。Grouped: グループ飼育マウス、ISO: 社会的隔離ストレス負荷マウス、ISO+METH: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウス。Mann-Whitney U-test \* P<0.01 社会的隔離ストレスを4週間与えMETHを7日間連続投与した逆耐性モデルマウスでは、さらにPPIは低下した。

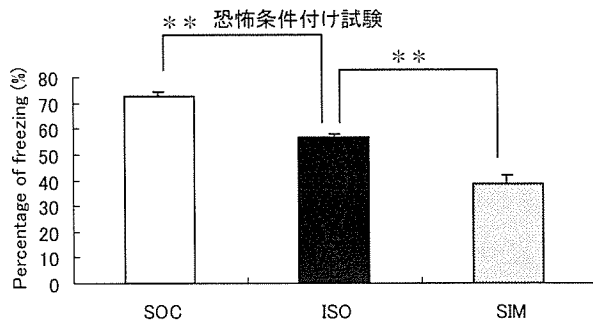


図2. 社会的隔離ストレスと社会的ストレス負荷METH逆耐性の恐怖の条件付け試験に及ぼす影響

マウスを防音箱の中で馴らした後85dBの音を30秒間聞くと0.3mAのフットショックがかかることを学習させた。翌日、同じ防音箱に入れた時の不動時間を測定した。Grouped: グループ飼育マウス、ISO: 社会的隔離ストレス負荷マウス、ISO+METH: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウス。Mann-Whitney U-test \*\*  $P < 0.01$  社会的隔離ストレスを4週間与えMETHを7日間連続投与した逆耐性モデルマウスでは、有意に不動時間が短縮された。

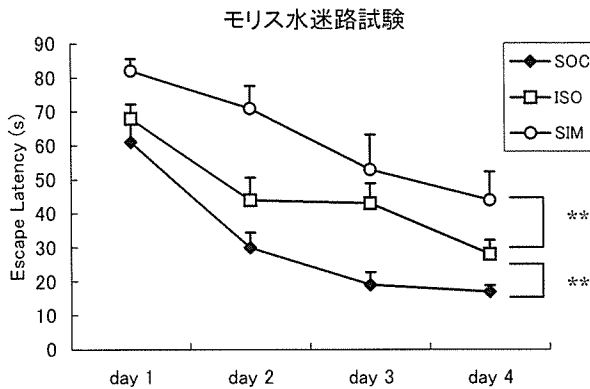


図3. 社会的隔離ストレスと社会的ストレス負荷METH逆耐性の恐怖のモリス水迷路試験に及ぼす影響

水面下1cmのところにあるプラットフォームの位置を学習させ、翌日から5日間プラットフォームにたどり着くまでの時間を測定した。Grouped: グループ飼育マウス、ISO: 社会的隔離ストレス負荷マウス、ISO+METH: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウス。Mann-Whitney U-test \*\*  $P < 0.01$  社会的隔離ストレスを4週間与えMETHを7日間連続投与した逆耐性モデルマウスでは、有意に探索時間が延長した。

題) だった。恐怖の条件付け試験の結果を図2に、モリス水迷路の結果を図3に示した。一方、隔離ストレスの効果にMETHの逆耐性効果が見られなかったのは、物体認識試験(前頭前野関連課題)と受動回避試験(前頭前野、扁桃体、海馬関連課題)だった。また認知障害を起こしたマウスでは、GFAP陽性細胞が前脳前野、海

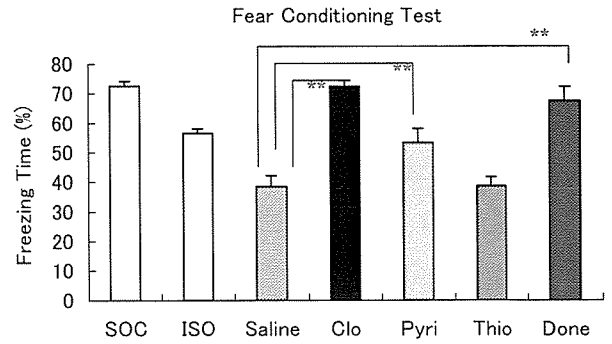


図4. 各種薬物投与の社会的ストレス負荷METH逆耐性の恐怖の条件付け試験に及ぼす影響

Grouped: グループ飼育マウス、ISO: 社会的隔離ストレス負荷マウス、Saline: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにSalineを投与した群、Clo: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにClozapineを投与した群、Pyri: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにPyrilamineを投与した群、Thio: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにThiopramideを投与した群、Donepezil: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにDonepezilを投与した群。Mann-Whitney U-test \*\*  $P < 0.01$ . Clozapine (5 mg/kg, i.p.), Pyrilamine (3 mg/kg, i.p.), Donepezil (1 mg/kg, p.o.)を投与したマウスでは、有意に不動時間が延長した。

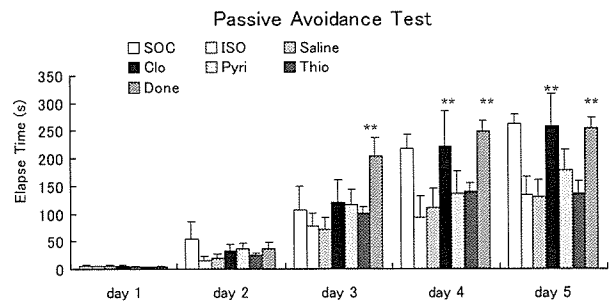


図5. 各種薬物投与の社会的ストレス負荷METH逆耐性の受動回避試験に及ぼす影響

明所からマウスの四肢が暗所に侵入した時、電気ショックがかかるように学習させた。Grouped: グループ飼育マウス、ISO: 社会的隔離ストレス負荷マウス、Saline: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにSalineを投与した群、Clo: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにClozapineを投与した群、Pyri: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにPyrilamineを投与した群、Thio: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにThiopramideを投与した群、Donepezil: 社会的ストレス負荷METH逆耐性マウスにDonepezilを投与した群。Mann-Whitney U-test \*\*  $P < 0.01$ . Clozapine (5 mg/kg, i.p.), Donepezil (1 mg/kg, p.o.)を投与したマウスでは、有意に明所にいる時間が延長した。

馬、扁桃体で増えていた。

## ② 認知障害モデル動物への薬物投与による改善効果

H1受容体拮抗薬であるピリラミンは、PPIと受動回避を除いた試験において、社会隔離ストレスにMETHを投与し逆耐性を形成した群

の認知機能障害に、有意な改善効果が見られた。ドネペジルではPPIを除いたほかの試験で、クロザピンにおいては全ての試験で認知機能障害を有意に改善することが認められた。しかしヒスタミンH3拮抗薬であるチオペラミドには、改善効果は認められなかった。図4に恐怖の条件付け試験の結果を、図5には5日間観察した受動回避試験の結果を示した。

#### D. 考察

統合失調症の陰性モデルとされている、離乳後(3週齢)に社会的隔離ストレスを与えたマウスでは、PPIの低下が起こり、学習・記憶障害が認められた。社会隔離ストレスを与えたマウスに、METH投与により逆耐性を形成させると、さらに障害度が助長される脳部位があることが示唆された。

精神障害発現と依存形成におけるヒスタミンH1受容体の役割を検討した昨年度の結果は、野生型マウスに与えた社会的隔離ストレスは、MAPの驚愕反応における効果を著明に増大させ空間認知機能を低下させた。しかしH1KOマウスには社会的隔離ストレスとMETHの逆耐性形成による変化はみられなかった<sup>1)</sup>。今回の実験で用いたクロザピンには強いH1拮抗作用があること、ピリラミンの全処置により、いくつかの行動薬理的課題で見られた認知障害が改善されたことから、H1拮抗作用が覚せい剤とストレスによる精神障害の発現抑止に関係していることが示唆され、クロザピンの認知機能障害改善の一つの作用機序としてヒスタミンH1受容体拮抗作用が関係していると考えられた。

一方、加齢やてんかん発作などが原因で引き起こされる認知機能障害を有意に改善すると認められた<sup>2)</sup>ヒスタミンH3拮抗薬のチオペラミドでは、社会的隔離ストレスとMETHの逆耐

性形成による認知機能障害への改善効果は認められなかった。

#### E. 結論

H1拮抗作用は覚せい剤とストレスによる精神障害の発現抑止に関係していることが示唆され、クロザピンの認知機能障害改善の一つの作用機序としてヒスタミンH1受容体拮抗作用が関係していると考えられた。

#### 【参考文献】

- 1) Dai H, Okuda T, Sakurai E, Kato M, Iinuma K, Yanai K, Blockage of histamine H1 receptor attenuates social isolation-induced disruption of pre-pulse inhibition: A study in H1 receptor gene knockout mice, *Psychopharmacology (Berl)*, 183 (3):285-93 2005.
- 2) Jia F, Kato M, Dai H, Xu A, Okuda T, Sakurai E, Okamura N, Lovenberg TW, Barbier A, Carruthers NI, Iinuma K, Yanai K, Effects of Histamine H3 antagonists and Donepezil on Learning and Mnemonic Deficits Induced by Pentylentetrazol Kindling in Weanling Mice, *Neuropharmacology*, 50 (4):404-411 2006.
- 3) Ojima T, Ito C, Sakurai E, Sakurai E, Watanabe T, Yanai K., Effects of serotonin-dopamine antagonists on prepulse inhibition and neurotransmitter contents in the rat cortex., *Neurosci Lett.* 366 (2):130-4, 2004.
- 4) 小島照, 伊藤千裕, 松岡洋夫, Haloperidol から perospirone への切り替えによって慢性統合失調症患者の prepulse inhibition が改善した1症例, *臨床精神薬理*, 8 (9) 1443-1447,

2005.

- 5) Oranje B, Van Oel CJ, Gispen-De Wied CC, Verbaten MN, Kahn RS. Effects of typical and atypical antipsychotics on the prepulse inhibition of the startle reflex in patients with schizophrenia., *J Clin Psychopharmacol.* 22(4):359-65, 2002.

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Jia F, Kato M, Dai H, Xu A, Okuda T, Sakurai E, Okamura N, Lovenberg TW, Barbier A, Carruthers NI, Iinuma K, Yanai K, Effects of Histamine H3 antagonists and Donepezil on Learning and Mnemonic Deficits Induced by Pentylentetrazol Kindling in Weanling Mice, *Neuropharmacology*, 50(4):404-411 2006.
- 2) Okamura N, Yanai K., Molecular imaging techniques for research on brain function using PET, *Nippon Yakurigaku Zasshi* 126(5):347-352, 2005.
- 3) Suzuki A, Tashiro M, Kimura Y, Mochizuki H, Ishii K, Watabe H, Yanai K, Ishiwata K, Ishii K., Use of reference tissue models for quantification of histamine H1 receptors in human brain by using positron emission tomography and [11c]doxepin, *Ann Nucl Med.*, 19(6):425-433, 2005.
- 4) Dai H, Okuda T, Sakurai E, Kato M, Iinuma K, Yanai K, Blockage of histamine H1 receptor attenuates social isolation-induced disruption of pre-pulse inhibition: A study in H1 receptor gene knockout mice, *Psychopharmacology (Berl)*, 183(3):285-93 2005.
- 5) Tashiro M, Horikawa E, Mochizuki H, Sakurada Y, Kato M, Inokuchi T, Ridout F, Hindmarch I, Yanai K., Effects of fexofenadine and hydroxyzine on brake reaction time during car-driving with cellular phone use, *Hum Psychopharmacol.*, 20(7):501-509, 2005.
- 6) Iwabuchi K, Ito C, Tashiro M, Kato M, Kano M, Itoh M, Iwata R, Matsuoka H, Sato M, Yanai K., Histamine H1 receptors in schizophrenic patients measured by positron emission tomography, *Neuropsychopharmacol.*, 15(2), 185-191, 2005.
- 7) 鹿野理子, 谷内一彦 ストレス関連障害の脳イメージング 特集「ストレスに耐える脳, 耐えられない脳」*脳*21 9(1): 32-36 (2006)
- 8) 櫻井映子, 田代学, 谷内一彦 食物アレルギー治療におけるヒスタミン受容体アンタゴニスト カレントセラピー 23(11): 66-71 (2005)
- 9) 谷内一彦, 岡村信行, 倉増敦朗 中枢ヒスタミン神経の解剖とその機能 アレルギー・免疫 Vol. 12(2): 94-99 (2005)

### 2. 学会発表

- 1) 櫻井映子, 賈飛勇, 加藤元久, 代紅梅, 倉増敦朗, 岡村信行, 飯沼一字, 谷内一彦, ヒスタミンH3拮抗薬はPTZキンドリング幼若期マウスの学習・記憶障害を改善する, 第9回日本ヒスタミン研究会(徳島), 平成17年12月9日-10日
- 2) 櫻井映子, 賈飛勇, 加藤元久, 代紅梅, 倉増敦朗, 岡村信行, 飯沼一字, 谷内一彦, PTZ

- キンドリング幼若期マウスモデルの学習・記憶障害をヒスタミンH3拮抗薬は改善する：ドネペジルとの比較, 第56回日本薬理学会北部会(新潟), 平成17年10月3日
- 3) Hongmei Dai, Kennari Kaneko, Hiroshi Kato, Eiko Sakurai, Kazuhiko Yanai, Selective cognitive dysfunction in mice lacking histamine H1 and H2 receptors, 第56回日本薬理学会北部会(新潟), 平成17年10月3日
- 4) Kazuhiko Yanai, Jia Feiyong, Dai Hongmei, Motohisa Kato, Eiko Sakurai, Methamphetamine Treatment Further Deteriorates Cognitive Dysfunction in Socially-isolated Mice: A Useful Mouse Model of Schizophrenia, 第56回日本神経化学学会(福岡), 平成17年9月28日-30日
- 5) 奥田友宏, 岡村信行, 代紅梅, 賈飛勇, 櫻井映子, 徐阿晶, 加藤元久, 谷内一彦, メタンフェタミン逆耐性におけるヒスタミンH3受容体の役割, 第78回日本薬理学会年会(横浜), 平成17年3月22-24日
- 6) 代紅梅, 奥田友宏, 櫻井映子, 倉増敦朗, 谷内一彦, ヒスタミンH1受容体の阻害は, 社会的隔離ストレスにより引き起こされた驚愕反応を減弱させる, 第78回日本薬理学会年会(横浜), 平成17年3月22-24日



## 依存性薬物の精神神経毒性と標的分子への作用機序の解明

分担研究者：曾良一郎<sup>1,4</sup>

研究協力者：小原可久<sup>1</sup>，伊藤美紀<sup>1</sup>，山下元康<sup>1</sup>，福島 攝<sup>1</sup>，近江香予<sup>1</sup>，岩村樹憲<sup>2</sup>，岩渕好治<sup>3</sup>，  
小林秀昭<sup>1</sup>，沼知陽太郎<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 東北大学大学院医学系研究科精神・神経生物学分野，<sup>2</sup> 岐阜薬科大学薬化学教室，<sup>3</sup> 東北大学大学院薬学研究科合成制御化学分野)

### 【研究要旨】

我が国で代表的な依存性薬物であるメタンフェタミン(MAP)、最近乱用が激増しているメチレンジオキシメタンフェタミン(MDMA)と5-Meo-DIPT(5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine)のモノアミン系を介した神経毒性の機序を解明するため、中枢性シナプス小胞モノアミントランスポーター(VMAT2)ヘテロノックアウト(KO)マウスで、各薬物による体温変化と致死毒性を調べた。MAP(45mg/kg)で、野生型、VMAT2-KOともに有意の体温上昇を認めたが、LD50はVMAT2-KO(66.2mg/kg)が野生型(73.6mg/kg)より低かった。これに対して、MDMA(80mg/kg)では、野生型、VMAT2-KOで有意に体温が上昇、LD50はVMAT2-KO(85.8mg/kg)と野生型(82.2mg/kg)では差がなかった。また、5-MeO-DIPT(50mg/kg)では、野生型、VMAT2-KOとも有意に体温が低下、LD50はVMAT2-KO(58.3mg/kg)≒野生型(60.0mg/kg)と差を認めなかった。以上から、VMAT2はMAPの致死毒性に対して保護的に作用するが、MDMAおよび5-MeO-DIPTの急性毒性には関与しないことが示唆された。

VMAT2完全欠損マウスは生後2~3日で致死となるため、依存性薬物とVMAT2の関連についての研究はヘテロ欠損マウスに限られていた。我々はノルエピネフリン作動性神経系にのみVMAT2が発現し、他のモノアミン神経系のVMAT2は完全欠損している遺伝子導入マウスを作成した。このマウスは生後2週間まで生存し、導入遺伝子によって明らかに寿命が延長したが、生存期間中の体重増加は野生型に比べて有意に少なかった。従って、生後2週目までの生存にはノルエピネフリン神経のVMAT2が重要で、体重増加とその後の延命には他のモノアミン神経系のVMAT2の存在が重要であることが示唆された。

### A. 研究目的

従来、我が国の乱用薬物は、覚醒剤とトルエンが主流であった。しかし最近になって、新規の規制薬物であるメチレンジオキシメタンフェタミン(MDMA)や、2005年4月より違法となっ

た新規の合成麻薬5-Meo-DIPT(5-methoxy-N,N-diisopropyl-tryptamine)およびその類似物質の乱用が激増し、深刻な問題となっている[1]。覚醒剤であるメタンフェタミン(MAP)が主にドーパミン(DA)作動性神経終末でreleaserと

して作用するのに対して、MDMAはドーパミン(DA)に加えてセロトニン(5-HT)作動性神経終末に対してreleaserとして作用し[2]、5-MeO-DIPTはセロトニン神経系に対してアゴニストとして作用すると考えられている[3]。

今年度は、MAP、MDMAおよび5-MeO-DIPTのモノアミン系を介した神経毒性の機序を解明することを目的に、MAPの標的分子の一つであることが判明している中枢性シナプス小胞モノアミントランスポーター(VMAT2)ヘテロノックアウト(KO)マウス[4,5]で、両薬物による体温変化と神経毒性を調べるとともに、生後数日で致死となるVMAT2ホモKOマウスの致死回避・延命の研究を行った。

## B. 研究方法

### 1. 実験動物

全ての実験は東北大学大学院医学系研究科動物実験委員会の許可のもとに行った。薬物による体温変化と神経毒性の実験には12週齢前後の129/C57混合遺伝背景の野生型およびヘテロKOマウスを用いた。VMAT2ホモKOマウスの致死回避・延命の実験にはC57BL/6マウスのドーパミンβヒドロキシラーゼ(DBH)発現部位にヒトVMAT2遺伝子を導入した遺伝子導入マウス、C3Hマウス、DBAマウス、BALB/cマウスを用いた。マウスの遺伝子型は、尻尾断片組織からゲノムDNAを抽出し、PCR法にて判別した。

### 2. 薬 剤

塩酸MAP(ヒロポン)は大日本製薬(大阪)から購入した。塩酸MDMAは、岐阜薬科大で合成したものをを用いた。塩酸5-MeO-DIPTは、購入した品を東北大学薬学研究科にて精製して用いた。ヒト成長ホルモン(rh des-pheGH)は和光純薬(大阪)より購入した。

### 3. 体温測定と致死毒性：

薬剤を投与して0～60分後の体温変化を、15分おきに測定した。測定にはPhysitemp Instruments社(Clifton, NJ, USA)の体温測定装置BAT-10と、マウス直腸温測定プローブRET-3を用いた。

致死毒性は、塩酸MAP、塩酸MDMAまたは塩酸5-MeO-DIPT生理食塩水溶液を投与して1時間までの死亡を観察した。1時間後も生存しているマウスは速やかに安楽死させ、死亡率を算出した。

### 4. 遺伝子導入

ドーパミンβヒドロキシラーゼ(DBH)プロモーター下流にヒトVMAT2遺伝子を導入した遺伝子断片を、C57BL/6マウス受精卵に注入した。導入遺伝子の保持はマウス尻尾断片組織よりゲノムDNAを抽出し、サザンブロッティングおよびPCR法によって判別した。

### 5. 免疫組織化学

マウスをペントバルビタールにより麻酔した後、脳を取り出し、固定液としてパラフォルムアルデヒドを含む0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)で二晩固定を行った後、15%スクロースを含む0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)中に保存した。ミクロトームにより20ミクロン厚の冠状切片を作成しスライドガラスに貼り付けた後、ブロッキング液に浸しブロッキングした。VMAT2の検出には抗ヒトVMAT2抗体(CHEMICON International Inc., Temecula, CA, USA)を用いた。抗体を反応させた後、リン酸生理食塩水で洗浄し、さらに蛍光標識した二次抗体を反応させた。反応後、リン酸生理食塩水で洗浄し、封入後染色をLeica社の蛍光顕微鏡で観察した。

### 6. 統計解析

薬物の致死毒性の解釈については各薬物投与量ごとの $\chi^2$ 乗検定を用いた。マウスの体温変

化に関してはDunnettのt検定および一元配置のANOVAを用いた。統計ソフトはSPSS For Windowsを用いた。また、致死毒性における半数致死量の算出にはMario H. Vargas, MD氏作成のED50Plus 1.0を用いた。

### C. 研究結果

1. MAP、MDMAおよび5-Meo-DIPTの致死毒性  
MAPは45、75、90、100mg/kg、MDMAは、30、80、100、130mg/kg、5-MeO-DIPTは50、75mg/kgの各用量で検討した。

MAPに関しては、野生型のLD50に比べて、VMAT2ヘテロKOのLD50は野生型の0.9倍に減少していた(図1、表1)。

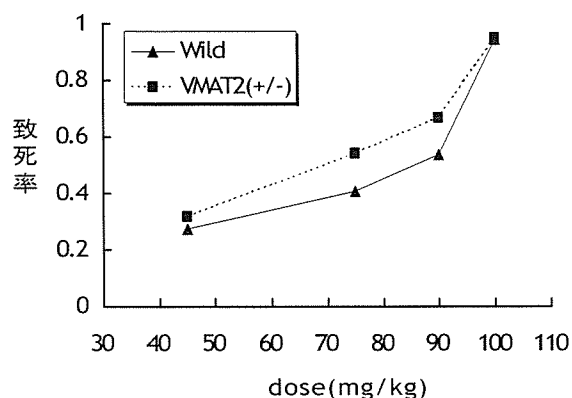


図1 MAPの致死毒性

表1 MAPのLD50

遺伝子型	LD50 (mg/kg)
野生型	73.6
VMAT2ヘテロKO	66.2(野生型の0.9倍)

MDMAに関しては、野生型とVMAT2ヘテロKOのLD50に大きな差は見られなかった(図2、表2)。

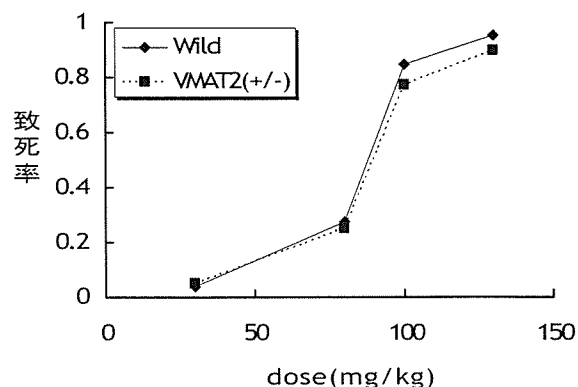


図2 MDMAの致死毒性

表2 MDMAのLD50

遺伝子型	LD50 (mg/kg)
野生型	82.2
VMAT2ヘテロKO	85.8

5-MeO-DIPTに関しても、野生型とVMAT2ヘテロKOのLD50には大きな差はなかった(図3、表3)。

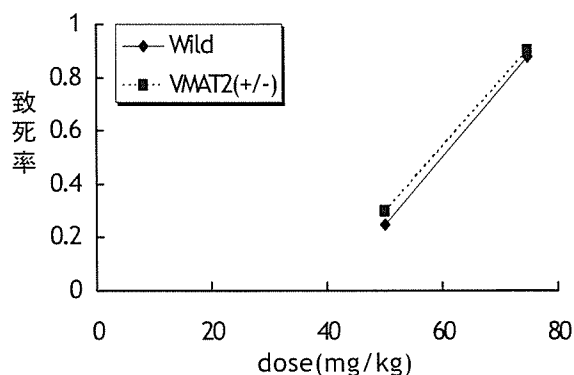


図3 5-MeO-DIPTの致死毒性

表3 5-MeO-DIPTのLD50

遺伝子型	LD50 (mg/kg)
野生型	60.0
VMAT2ヘテロKO	58.3

## 2. MAP、MDMA、5-MeO-DIPTによる体温変化

MAP 45mg/kg投与においては、野生型は30分後より60分まで、VMAT2ヘテロマウスでは15分後より60分まで、体温が有意に上昇した(図4)。

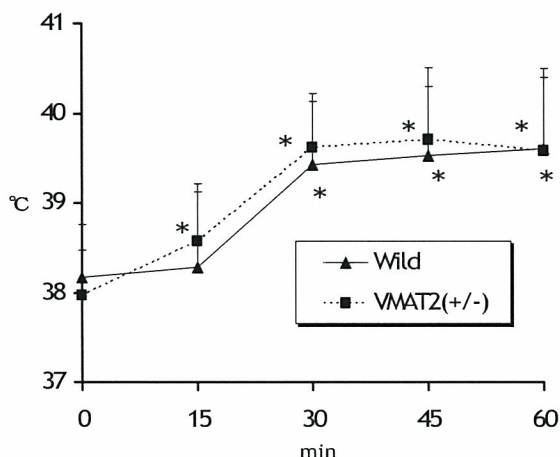


図4 MAP 45mg/kgによる体温変化

(mean ± SD, \*: p<0.05, compared to 0 min, Dunnett's test)

MDMA 80mg/kg投与においては、野生型は15分後より60分まで、VMAT2ヘテロマウスは30分後より60分まで、体温が有意に上昇した(図5)。

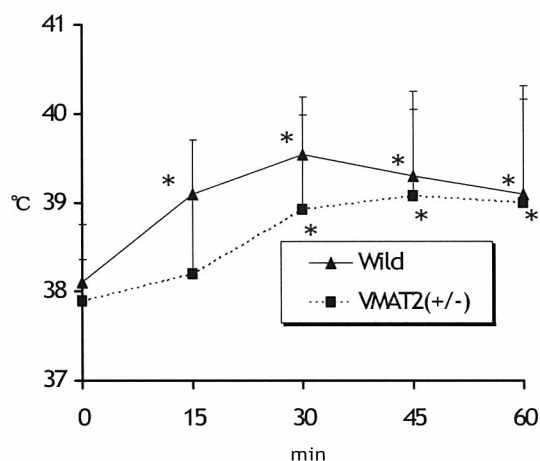


図5 MDMA 80mg/kgによる体温変化

(mean ± SD, \*: p<0.05, compared to 0 min, Dunnett's test)

また、5-MeO-DIPT 50mg/kg投与では、野生型、VMAT2ヘテロマウスともに、投与直前に比べて15分後から60分後まで体温が有意に下降した(図6)。なお、それぞれの薬物において、両遺伝子型間での体温変化パターンに有意差はなかった。

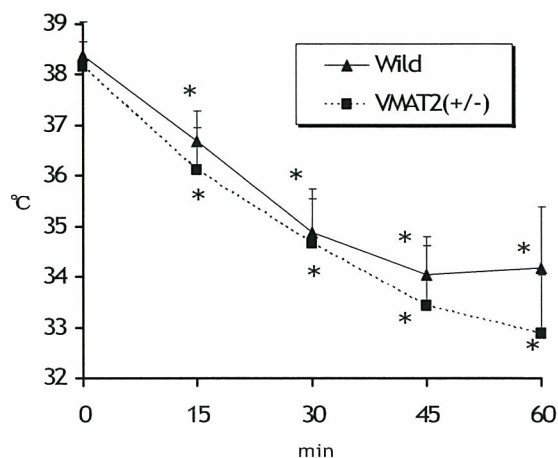


図6 5-MeO-DIPT 50mg/kgによる体温変化

(mean ± SD, \*: p<0.05, compared to 0 min, Dunnett's test)

## 3. VMAT2-KOマウスの致死回避

ノルエピネフリン神経領域にVMAT2を過剰発現させるため、ドーパミンβヒドロキシラーゼプロモーター下流にヒトVMAT2遺伝子を導入した遺伝子断片(図7)を作成し、C57BL/6マウス受精卵に注入し、偽妊娠マウスの子宮に移植した。



図7 作成した遺伝子断片

出生したマウスのうち、PCRおよびサザンブロットングで導入遺伝子が確認されたものをトランスジェニック(TG)(+)マウスとし、TG(+)マウスとVMAT2 KO(+/-)マウスを掛

け合わせることでTG(+)かつVMAT2 KO(+/-)のマウスを作成、またさらに掛け合わせることでTG(+)かつVMAT2 KO(-/-)マウスを作成した(図8)。

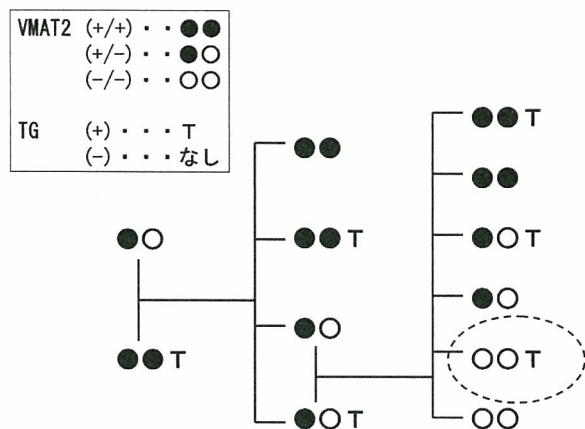


図8 掛け合わせによる目的マウスの作成

作成されたTGマウスおよび野生型の脳切片を用いて抗ヒトVMAT2抗体による免疫組織染色を行った。結果、作成されたTG(+) KO(-/-)マウスのノルエピネフリン神経領域である青斑核にはヒトVMAT2が、野生型マウスの青斑核にはマウスVMAT2がそれぞれ発現していた(図9、図10)。

これに対し、ドーパミン神経領域である線条体およびセロトニン神経領域である縫線核では、野生型にのみマウスVMAT2が発現しており(図11、図12、図13、図14)、作成されたTG(+) KO(-/-)マウスはノルエピネフリン神経領域にのみヒトVMAT2が発現し、他のモノアミン神経領域ではマウスVMAT2が欠損しているということが確認された。

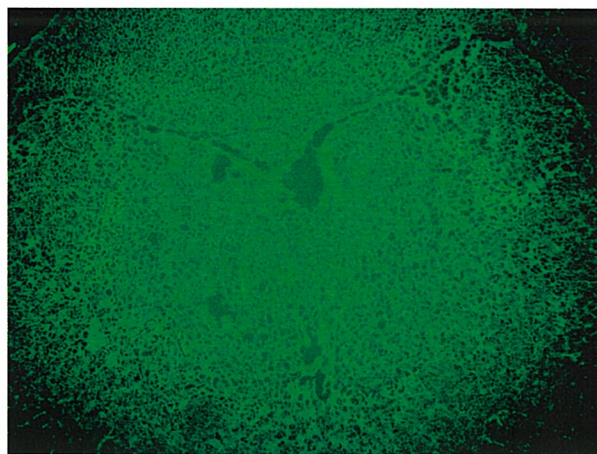


図9 TG(+) KO(-/-) マウス青斑核領域 (50倍)

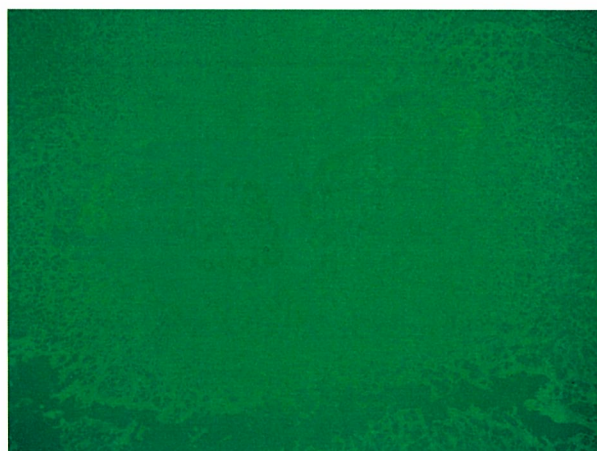


図10 野生型マウス青斑核領域 (50倍)

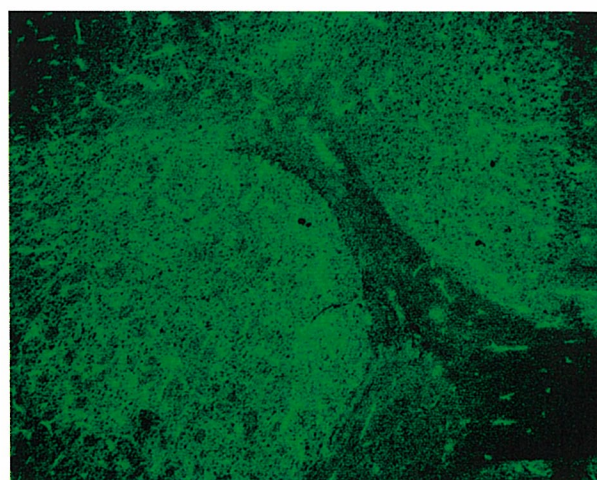


図11 TG(+) KO(-/-) マウス線条体 (50倍)

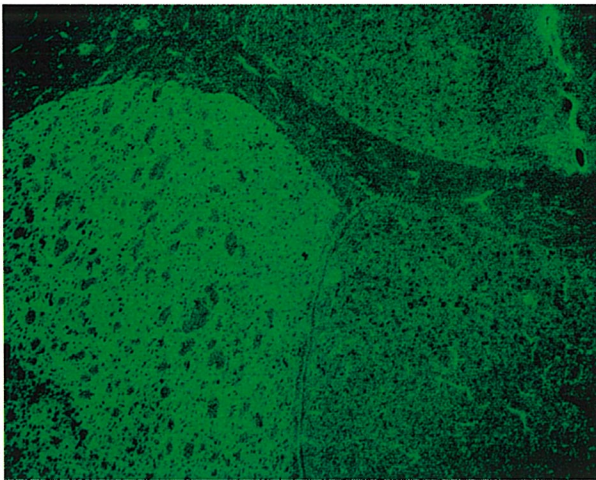


図12 野生型マウス線条体 (50倍)

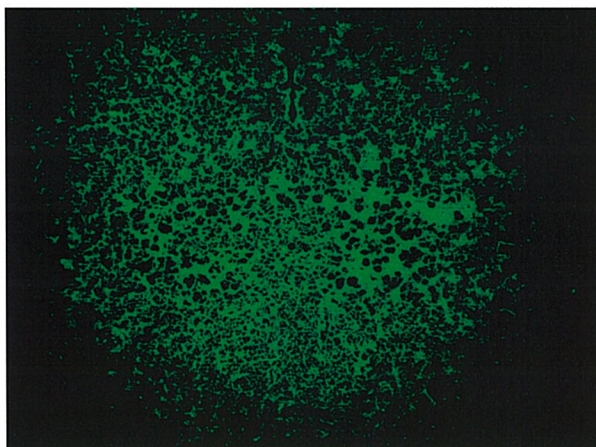


図13 TG (+) KO (-/-) マウス縫線核領域 (50倍)

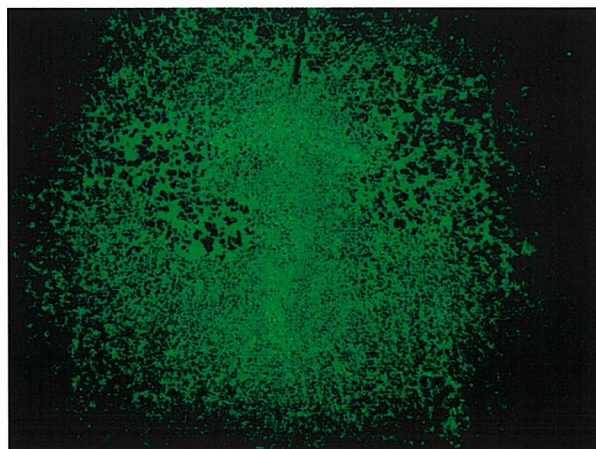


図14 野生型マウス縫線核領域 (50倍)

こうして作成されたTG(+) $KO(-/-)$ マウスは、従来のノックアウトマウスTG(-) $KO(-/-)$ に比して寿命が生後3日前後→生後2週間前後と延長していることが確認された(図15)。しかし、野生型マウスに比較すると、体重増加が半分程度と著しく少ないことも確認された(図16)

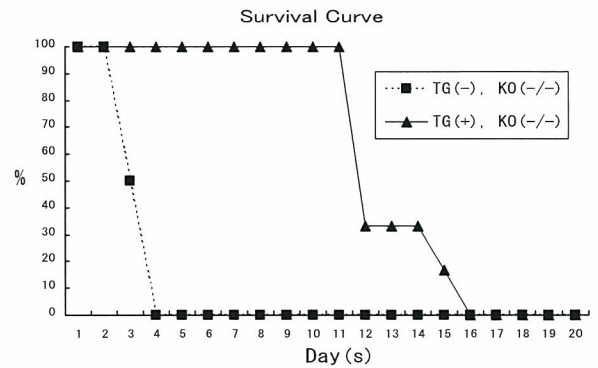


図15 TG(+) $KO(-/-)$ マウスとTG(-) $KO(-/-)$ マウスの出生後日数による生存曲線

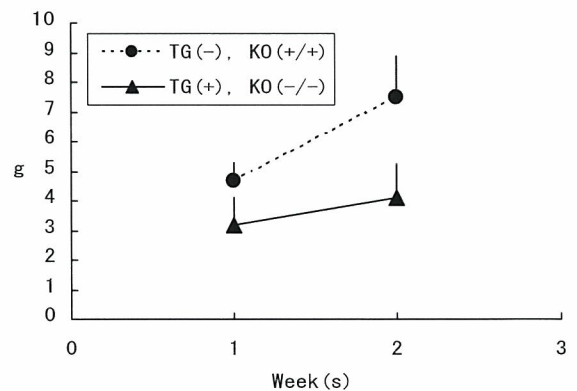


図16 TG(+) $KO(-/-)$ マウスと野生型マウスの体重比較 (mean  $\pm$  SD, 生後1週目および2週目)

次に、TG(-) $KO(-/-)$ マウスに、VMAT2を標的分子とするアンフェタミンを投与すると寿命が延長したという報告[6]をもとに、同様にVMAT2を標的分子とするメタンフェタミンをTG(+) $KO(-/-)$ マウスに投与することで寿命の延長をはかった。生後3日目より週3回、1回1mg/kgおよび10mg/kgの皮下注射を行った。

結果、メタンフェタミン連続投与によるTG(+)  
KO(-/-)マウスの寿命の延長はみられなかった  
(図17)。

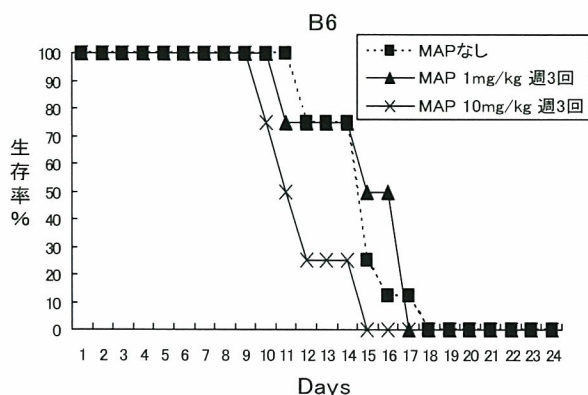


図17 TG(+)  
KO(-/-)マウスに対するMAP投与による寿命の延長効果

さらに、TG(+)  
KO(+/-)マウスと異系統マウス(C3H、BALB/c、DBA)を掛け合わせることでC57との混合の雑種とし、さらに掛け合わせてTG(+)  
KO(-/-)マウスを作成して寿命の延長を観察した結果、C3H/C57の遺伝背景では、寿命が数日延長する効果がみられた(図18)。

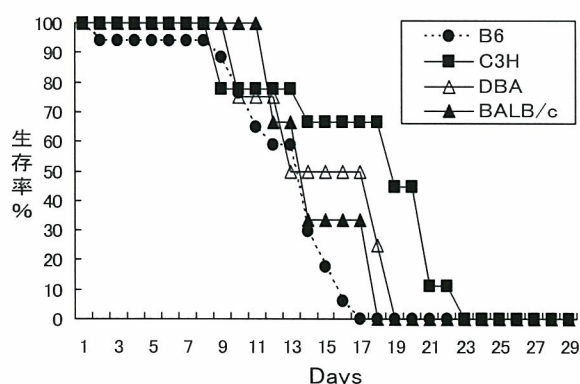


図18 雑種形成による寿命の延長効果

加えて、さらなる寿命の延長目的で、体重増加を図るためにC3H/C57のTG(+)  
KO(-/-)マウスに対し、成長ホルモン(2mg/kg、生後1週目より週3回皮下注射)および練りエサ供給による

摂食補助を試みたが、それらによる寿命の延長効果は確認できなかった(図19)。

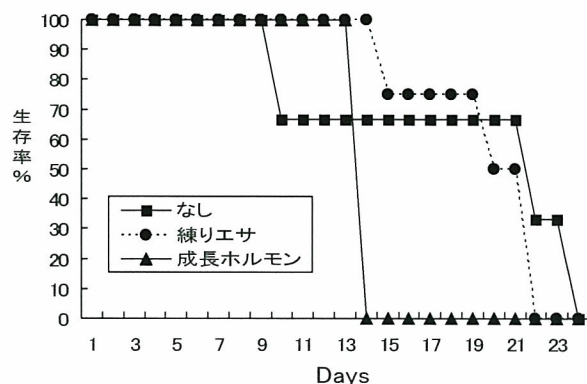


図19 C3H/C57のTG(+)  
KO(-/-)マウスに対する追加処置と延命効果

#### D. 考 察

MAPの致死毒性は、野生型<VMAT2ヘテロKOであり、MDMAおよび5-MeO-DIPTの致死毒性は、野生型≒VMAT2ヘテロKOであった。VMAT2はMAPの標的分子の1つとされている。今回の検討から、VMAT2はMAPの致死毒性に対して弱い保護効果を有すること、MDMAと5-MeO-DIPTの致死毒性にはVMAT2は関与していないことが示唆された。VMAT2ヘテロKOマウスでは、シナプス小胞内にモノアミンを取り込むことが出来ないため、細胞内のモノアミンが増加していると考えられている[4,5]。MAPはDA神経に対して最も強力な間接的アゴニストとして作用する。したがって、今回の結果はVMAT2ヘテロKOマウスにおける細胞内DAの増大がMAP致死毒性の増大に結びついた可能性がある。

各薬物における、野生型およびVMAT2ヘテロKOマウスに対する体温変化の効果については、MAPおよびMDMAの両者で同様に体温上昇し、5-MeO-DIPTでは両者ともに同様に体温

降下がおこった。それらの効果はVMAT2発現量の差に無関係であり、少なくとも薬物による急性の体温変化にはVMAT2は関わりが薄いことが示唆された。

VMAT2ホモKOマウスに対するノルエピネフリン神経領域単独VMAT2発現の効果は、生後2週間程度までに限られる。少なくとも生後から2週間目程度までは、ノルエピネフリン神経伝達が生命の維持に重要であり、また2週間目以降の生存に関しては、ノルエピネフリン領域「以外」の、他のモノアミン神経のVMAT2の存在が必須であることが示唆される。また、ノルエピネフリン領域のVMAT2のみの発現では、体重増加が著しく少ないため、その時期の生存に必須ではないものの、身体発育に対してはノルエピネフリン神経伝達のみでは不十分であることも示唆された。また、それらの欠損は、外部からのMAPや成長ホルモンの投与、簡単な摂食の補助では補えず、遺伝背景の違いは限定された効果をもたらすことが判明した。

## E. 結論

MAPの致死毒性は、VMAT2に関連し、MDMAおよび5-MeO-DIPTの致死毒性はVMAT2と無関係であることが判った(表4)。

また出生後の生存に際し、生後2週目まではノルエピネフリン神経領域伝達が重要であり、また生後2週目以降はそれ以外のモノアミン神経伝達が関与していると考えられた。

表4 VMAT2の発現と各薬物の効果

	VMAT2	MAP	MDMA	5-MeO-DIPT
体温変化	+/+	上昇	上昇	下降
	+/-	上昇	上昇	下降
致死毒性	+/+	∧	≡	≡
	+/-			

## 【参考文献】

- 1) 小原可久, 沼知陽太郎, 小林秀昭, et al.: インターネットを用いた未規制薬物乱用の実態調査. 日本神経精神薬理学雑誌, 24: p. 316-318. 2004.
- 2) Green AR, M.A., Elliott JM, O'Shea E, Colado MI.: The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA, "ecstasy"). Pharmacol Rev. 2003.
- 3) Meatherall, R. and P. Sharma: Foxy, a designer tryptamine hallucinogen. J Anal Toxicol, 27 (5): p. 313-7. 2003.
- 4) Takahashi N, Miner LL, Sora I, Ujike H, Revay RS, Kostic V, Przedborski S, Uhl GR. VMAT2 knockout mice: heterozygotes display reduced amphetamine-conditioned reward, enhanced amphetamine locomotion and enhanced MPTP toxicity. Proc Natl Acad Sci USA 94: 9938-9943. 1997
- 5) Uhl GR, Li S, Takahashi N, Itokawa K, Lin Z, Hazama M, Sora I. The VMAT2 gene in mice and humans: amphetamine responses, locomotion, cardiac arrhythmias, aging, and vulnerability to dopaminergic toxins. FASEB J 14: 2459-2465. 2000
- 6) Fon, E. A., Pothos, E. N., Sun, B. C., et.al: Vesicular transport regulates monoamine storage and release but is not essential for amphetamine action. Neuron 19 (6): p. 1271-83. 1997.

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ikeda K, Ide S, Han W, Hayashida M, Uhl GR, Sora I. How individual sensitivity to



- opiates can be predicted by gene analyses. *Trends Pharmacol Sci* 26 (6): 311-317 (2005)
- 2) Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Ohtani K, Kishimoto M, Morio A, Imamura T, Sakai A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. A nonsynonymous polymorphism in the human fatty acid amide hydrolase gene did not associate with either methamphetamine dependence or schizophrenia. *Neurosci Lett* 376 (3): 182-187 (2005)
- 3) Nishiyama T, Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Sekine Y, Iyo M, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Inada T, Furukawa T, Ozaki N. Haplotype association between GABA (A) receptor gamma2 subunit gene (GABRG2) and methamphetamine use disorder. *Pharmacogenomics J* 5 (2): 89-95 (2005)
- 4) Yamamoto H, Imai K, Takamatsu Y, Kamegaya E, Kishida M, Hagino Y, Hara Y, Shimada K, Yamamoto T, Sora I, Koga H, Ikeda K. Methamphetamine modulation of gene expression in the brain: analysis using customized cDNA microarray system with the mouse homologues of KIAA genes. *Brain Res Mol Brain Res* 137 (1-2): 40-46 (2005)
- 5) Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Ohtani K, Kishimoto M, Morio A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N. The X-box binding protein 1 (XBP1) gene is not associated with methamphetamine dependence. *Neurosci Lett* 383 (1-2): 194-198 (2005)
- 6) Ohgake S, Hashimoto K, Shimizu E, Koizumi H, Okamura N, Koike K, Matsuzawa D, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Shirayama Y, Iyo M. Functional polymorphism of the NQO2 gene is associated with methamphetamine psychosis in Japanese. *Addiction Biology* 10: 145-148 (2005)
- 7) Ikeda M, Iwata N, Suzuki T, Kitajima T, Yamanouchi Y, Kinoshiya Y, Sekine Y, Iyo M, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Inada T, Ozaki N. Positive association of AKT1 haplotype to Japanese methamphetamine use disorder. *Int J Neuropsychopharmacol* 8: 1-5 (2005)
- 8) Itoh K, Hashimoto K, Shimizu E, Sekine Y, Ozaki N, Inada T, Harano M, Iwata N, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Nakata K, Ujike H, Iyo M. Association study between brain-derived neurotrophic factor gene polymorphisms and methamphetamine abusers in Japan. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 132 (1): 70-73 (2005)
- 9) Hashimoto T, Hashimoto K, Matsuzawa D, Shimizu E, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Iyo M. A functional glutathione-S-transferase P1 polymorphism is associated with methamphetamine-induced psychosis in Japanese population. *Am J Med Genet* 135 (1): 5-9 (2005)
- 10) Ide S, Han W, Kasai S, Hata H, Sora

- I, Ikeda K. Characterization of the 3' untranslated region of the human mu-opioid receptor (MOR-1) mRNA. *GENE* 364:139-45 (2005)
- 11) Wu HE, Sun HS, Terashvili M, Schwasinger E, Sora I, Scott Hall F, Uhl GR, Tseng LF. dextro- and levo-morphine attenuate opioid delta and kappa receptor agonist produced analgesia in mu-opioid receptor knockout mice. *Eur J Pharmacol.* 531(1-3):103-107 (2006)
- 12) Arai M, Yamada K, Toyota T, Obata N, Haga S, Yoshida Y, Nakamura K, Minabe Y, Ujike H, Sora I, Ikeda K, Mori N, Yoshikawa T, Itokawa M. Association Between Polymorphisms in the Promoter Region of the Sialyltransferase 8B (SIAT8B) Gene and Schizophrenia. *Biol Psychiatry* (2006) in press
- 13) Ide S, Kobayashi H, Tanaka K, Ujike H, Ozaki N, Sekine Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Iwata N, Shen H, Iwahashi K, Itokawa M, Minami M, Satoh M, Ikeda K, Sora I. Gene polymorphisms of the mu opioid receptor in methamphetamine abusers. *Pharmacogenomics J* (2006) in press
- 14) Suzuki A, Nakamura K, Sekine Y, Minabe Y, Takei N, Suzuki K, Iwata Y, Kawai M, Takebayashi K, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Mori N. An association study between COMT gene polymorphism and methamphetamine psychotic disorder. *Psychiat Genet* (2006) in press
- 15) Yamashita M, Fukushima S, Shen H, Hall FS, Uhl GR, Numachi Y, Kobayashi H, Sora I. Norepinephrine Transporter Blockade Can Normalize the Prepulse Inhibition Deficits Found in Dopamine Transporter Knockout Mice. *Neuropsychopharmacology* (2006) in press
- 16) Kobayashi H, Hata H, Ujike H, Harano M, Inada T, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Ozaki N, Itokawa M, Naka M, Ide S, Ikeda K, Numachi Y, Sora I. Association analysis of delta-opioid receptor gene polymorphisms in methamphetamine dependence/psychosis. *Am J Med Genet* (2006) in press
- 17) 井手聡一郎, 南雅文, 佐藤公道, 曾良一郎, 池田和隆. 報酬効果と鎮痛効果の異なる作用機序. *日本薬理学雑誌* 125; 11-15 (2005)
- 18) 曾良一郎, 小林秀昭. モノアミン神経系と報酬. 特集: 行動を司る脳機能の分子メカニズム. *実験医学* 23(8); 1159-1163 (2005)
- 19) 曾良一郎, 福島攝. 遺伝子ノックアウトマウスの行動実験を行う前に必要なこと. *日本薬理学雑誌* 125; 373-377 (2005)
- 20) 小林秀昭, 曾良一郎.  $\mu$ オピオイド受容体(OPRM1)遺伝子多型. *分子精神医学* 5(3); 64-74 (2005)
- 21) 岡崎祐士, 豊嶋良一, 倉知正佳, 松岡洋夫, 林拓二, 福田正人, 西川徹, 丹波真一, 氏家寛, 曾良一郎. 第2回 Schizophrenia研究会講演紹介. *臨床精神薬理* 8(8); 152-168 (2005)
- 22) 池田和隆, 高松幸雄, 萩野洋子, 中本百合江, 吉井光信, 福島攝, 曾良一郎. ADHDのモデル動物の解析 Analyses of ADHD model animal. *脳と精神の医学* 16(3); 161-167 (2005)

23) 池田和隆, 大谷保和, 西澤大輔, 井手総一郎, 曾良一郎. モルヒネ感受性の遺伝子解析. 遺伝子診療学－遺伝子診断の進歩と遺伝子治療の展望－, 日本臨床 63増刊号 12 ; 463-466 (2005)

## 2. 学会発表

- 1) Ozaki N, Iwata N, Inada T, Ikeda M, Nishiyama T, Sekine Y, Iyo M, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA). Candidate gene analysis of methamphetamine-related disorders. Molecular Mechanism of Neurotoxicity and Psychosis induced by Methamphetamine, the 8th World Congress of Biological Psychiatry, Vienna, Austria [2005/6/28-7/3]
- 2) Sora I. Transgenic knockout animal models for drug abuse. The 6th Biomedical Brain Research Center Symposium; Dementia, Mental Disease and Drug Abuse., Soul, Korea [2005/3/4]
- 3) Sora I, Ide S, Minami M, Uhl GR, Ikeda K. Exclusive expression of mu-opioid receptors in noradrenergic neurons reverses the decrements in stress responses noted in mu-opioid receptor knockout mice. Symposium VIII: Psychostimulants, opioids and monoamine interactions, The 36th meeting of the International Narcotics Research Conference (INRC), Annapolis [2005/7/10-15]
- 4) Ikeda K, Ide S, Kasai S, Uhl GR, Sora I. A possible genetic mechanism of individual sensitivity to opiates. Symposium : The 36th meeting of the International Narcotics

Research Conference (INRC), Annapolis [2005/7/10-15]

- 5) Hall FS, Ishiguro H, Mills C, Sora I, Murphy DL, Lesch KP, Uhl GR. Roles for dopamine (DAT), serotonin (SERT) and vesicular monoamine 2 (VMAT2) transporters in D-amphetamine -conditioned place preference. Symposium VIII: Psychostimulants, opioids and monoamine interactions, The 36th meeting of the International Narcotics Research Conference (INRC), Annapolis [2005/7/10-15]
- 6) Ujike H, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N. Candidate gene analysis of methamphetamine-related disorders. Symposium: Molecular mechanisms of drug dependence induced by amphetamine and related drugs, The American College of Neuropsychopharmacology, 44th Annual Meeting, Waikoloa, USA [2005/12/11-15] Neuropsychopharmacology, 30, Suppl 1, S24-S25, 2005
- 7) Harburg G, Hall FS, Harrist A, Sora I, Uhl GR, Eisch A. Knockout of the mu opioid receptor enhances survival of progenitor cells in the adult hippocampus. The 36th meeting of the International Narcotics Research Conference (INRC), Annapolis [2005/7/10-15]
- 8) Morio A, Ujike H, Nomura A, Tanaka Y, Morita Y, Otani K, Kishimoto M, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. Association Study between the CART Gene and Methamphetamine Dependence

- and Psychosis. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Venice, Italy [2005/8/16-19]
- 9) Morita Y, Ujike H, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Otani K, Kishimoto H, Morio A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. The glycine transporter 1 (GlyT-1) gene is associated with methamphetamine-induced psychosis. Satellite Meeting Of The International Society For Neurochemistry, Venice, Italy [2005/8/16-19]
- 10) Otani K, Ujike H, Sakai A, Tanaka Y, Uchida N, Nomura A, Kishimoto M, Morio A, Morita Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. Association Study between Cytochrome P450 2D6 Genotype and Patients with Methamphetamine Dependence / Psychosis. Satellite Meeting of The International Society For Neurochemistry, Venice, Italy [2005/8/16-19]
- 11) Kishimoto M, Ujike H, Tanaka Y, Nomura A, Otani K, Morita Y, Morio A, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. Association study between the *fzd3* gene and methamphetamine psychosis. Satellite Meeting of The International Society For Neurochemistry, Venice, Italy [2005/8/16-19]
- 12) Nomura A, Ujike H, Tanaka Y, Kishimoto M, Otani K, Morita Y, Morio A, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. Association studies of the tumor necrosis factor-alpha gene and its receptor gene in methamphetamine dependence. Satellite Meeting of The International Society For Neurochemistry, Venice, Italy [2005/8/16-19]
- 13) Ujike H, Sakai A, Nakata K, Tanaka Y, Kodaka T, Okahisa Y, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. The dihydropyrimidinase-related protein 2 (DRP-2) gene and methamphetamine-induced psychosis. Satellite Meeting of The International Society For Neurochemistry, Venice, Italy [2005/8/16-19]
- 14) Yoshida S, Hirai M, Suzuki S, Awata S, Yamashita M, Ohara A, Hinokio Y, Sora I, Matsuoka H, Oka Y. Independent factors associated with depression in Japanese subjects with diabetes. The 18th World Congress on Psychosomatic Medicine, Kobe [2005/8/21-26]
- 15) Iijima Y, Inada T, Arinami T, Ohtsuki T, Maeda T, Iwashita S, Kunugi H, Ozaki N, Iyo M, Harano M, Yamada M, Sekine Y, Sora I, Komiyama T, Iwata N, Ujike H. An association study of methamphetamine psychoses with CHGB. The 20th Congress of Korean Society of Biological Psychiatry, Seoul, South Korea [2005/9/29-30]
- 16) Kobayashi H, Naka M, Hata H, Ujike H, Ozaki N, Sekine Y, Inada T, Harano M, Iwata N, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Numachi Y, Itokawa M, Sora I. Association analysis of the delta opioid receptor gene