

が多いこと、双極性障害Ⅱ型よりもⅠ型群においてラピッド・サイクリング効果が増強しやすいこと、若年発症が多いこと、研究への参加時にうつ病相であった者が多いこと、参加前の1年間における全般的な機能の低下が多くみられること、ラピッド・サイクリング患者群は研究参加前の1年間の間に、有意に多くの回数の軽躁あるいは躁状態、うつ状態を経験していたことなどであった。精神病の既往の有無によってラピッド・サイクリング群とそうでない群を区別することはできなかった。しかし、双極性障害Ⅰ型群は精神病をⅡ型に比してより多く経験しやすいとの結果が報告されている。

Simom NMら¹⁶⁾は双極性障害と不安障害の関連について報告している。その結果、不安障害の既往は半分以上の患者にみられ、若年発症や、寛解可能性の減少および寛解期間の短縮、QOLおよび社会的機能遂行能力の低下、自殺企図の可能性の増加などと相関することが報告された。このように、不安症状の合併は他の疾患とは独立して、双極性障害の重症度およびその機能不全の増加と相関しており、不安の治療は双極性障害の重症度、治療反応性あるいは自殺の可能性を改善する可能性があることが示唆された。

Marangell LBら⁶⁾は参加者のlamotrigineの使用について横断的研究を行った。参加者(n=483)中、lamotrigine使用歴があるものは15.4%、現在lamotrigine使用中のものは10.4% (平均使用量258.1 mg/日)であった。また、lamotrigine使用中の群は、lamotrigineを使用していない群に比較して、ラピッド・サイクラーの比率および抗うつ剤誘発性の軽躁および躁状態になっている比率が統計学的に高かった。また、lamotrigine使用中の患者群では、抗うつ剤使用中の患者数が有意に低かった。APA (American Psychiatric Association) による治療のガイドラインにおいて推奨される以前から、lamotrigineは特にラピッド・サイクラーや抗うつ剤誘発性の躁病に対して、STEP-BD参加施設において

使用されていたことが示された。

2. First 1,000 participants

参加者が1,000人になった時点での研究結果は、数多くまた多岐にわたっており、2004年から現在まで、多数の論文として発表されている。

Kogan JNら⁴⁾はSTEP-BD参加者が1,000人を超えた時点で、参加者の人口動勢、診断学的特徴、および社会的背景を検討した。参加者の71%がDSM-IVの双極性障害Ⅰ型に適合し、患者群の平均年齢は、40.6±12.7歳であった。58.6%が女性であり、92.6%が白人であった。これらの結果を、アメリカの標準的な人口構成および他の大規模な双極性障害コホート研究と比較し、考察を行っている。アメリカの人口における比較においては、参加者は人種的な多様性に乏しく、教育水準は高いが、収入が低く、失業率が高い傾向がみられたと報告している。今後STEP-BDによって得られた知見を解釈する際にはこれらの要素を考慮しなければならないと指摘している。

若年発症の双極性障害の患者群は治療効果が悪いと多くの研究で報告されているが、それらの予後の悪さに影響を与える要因について必ずしも適切な研究は行われていない。Perlis RHら¹¹⁾は若年発症例において、予後の悪さに寄与する因子について調査を行った。その結果、若年発症の患者群は、不安障害や物質乱用の合併の頻度が多くなること、再発率の頻度の上昇、寛解期間がより短縮すること、自殺企図や暴力の頻度の増加と相関がみられることを報告した。

Morris CDら⁷⁾は、患者の治療への満足度、患者の持つ希望のレベルおよび生活機能との縦断的な関係について解析を行っている。治療の満足度の増大は、絶望感の軽減と有意に相関がみられたが、うつ/躁症状とは無関係であった。同様に絶望感の軽減は生活能力の改善と有意に相関していたが、これもうつ/躁の症状とは無関係であった。うつ病は、独立してより低い生活機能に相関していた。したがって、患者が最

大限に希望を持てるように計らうことによって、何度も繰り返す病状に伴って患者が獲得した無力感、絶望感を克服し、現実的な疾病管理計画を確立することができることが示唆された。

その他の研究に関しては、双極性障害と注意欠陥多動性障害との合併例についての研究⁹⁾、双極性障害と物質乱用障害合併群の治療効果の問題について¹⁷⁾、双極性障害における一次的あるいは二次的物質乱用性障害の患者群との違いについての明確化に関する論文²⁾、薬物療法と双極性障害に合併する精神疾患との関連に関する論文¹⁶⁾、などの非常に有用な治験が発表されている。

3. First 2,000 participants

参加者のコホート集団が2,000人に達した時点においても、より包括的な双極性障害についての興味深い研究がまとめられている。

Zhang Hら¹⁸⁾は双極性障害の患者におけるQOLが病相によって変化することに注目し、その特徴について評価を試みている。参加者を7つの病相、①depression、②mania/hypomania、③mixed、④Continued Symptomatic、⑤Recovering、⑥Roughening、⑦Recoveredに振り分け、それぞれの病相についてMedical Outcomes Study 36-Item Short Form (SF-36) およびQuality of Life Enjoyment and Satisfaction (QLESQ)の点数を用いてQOLの比較を行っている。さらにその結果に対して、年齢、性別、人種、学歴、収入などの社会人口学的変数と、病型、併発症、人格、対人関係などの臨床的変数について調整を加えている。その結果、うつ症状の存在は、SF-36 mentalスコアおよびQLESQ全スコアにおいて点数が低い、つまりQOLが低下していることと関連していた。この結果は、以前から指摘されていた双極性障害のうつ病相がQOLの低下に関連しているという報告と合致している。

Perlis RHら¹²⁾はSTEP-BD参加者コホートを対象とし、これまでほとんど研究が行われてい

なかった双極性障害の再発リスクに関連した臨床的特徴を抽出する目的で、24カ月の前方視的調査を行った。研究参加時には症状があったが、その後寛解が得られた患者について、躁、軽躁、混合およびうつ病相の再発までの時間を、Cox regression modelを用いて統計学的解析を行った。First 2,000 participantsのうち、研究参加時に症状を呈していた群は、1,469人であり、そのうち858人(58.4%)がその後寛解を得た。2年以内の観察期間の中で、これらの416人(48.5%)にあたる個人が再発している。このうち、うつエピソードの再発は、躁、軽躁、混合エピソードの再発に比べて2倍以上の頻度でみられた。25%までの個人がうつエピソードを再発するまでの時間は、平均21.4週であり、同様に軽躁、躁、混合状態の場合は、平均85.0週であった。回復期にうつあるいは躁のエピソード残存することおよび研究参加の前年における不安あるいは抑うつ症状を示す日の割合が高いことがうつエピソード再発と強い統計学的相関を示していた。同様に、回復期に躁エピソードが残存していることや、研究参加の前年に気分高揚を示す日の割合が高いことが、躁、軽躁、混合エピソード再発までの時間が短いこと強く相関していた。このように、双極性障害では再発が頻繁にみられ、回復期に残存する気分症状(residual mood symptoms)が再発の大きなリスクであることが示された。この回復期の残存症状を維持療法の標的にすることが、再発のリスクを減少させる機会になることが示唆された。

4. Treatment-resistant bipolar depression

STEP-BDから、派生した研究は上記で紹介した以外にも、発表されている。その中でも特に注目すべきものは、治療抵抗性の双極性障害に関するものだろう。

Nierenberg Aら¹⁰⁾は、治療抵抗性の双極性うつ病に対する治療法の選択を検討するため、lamotrigine, inositol, risperidoneによる抗うつ剤の増強療法についてランダムイズド・トライアルを行い、その安全性と効果を評価した。本

研究の対象は、現在大うつ病エピソードにあり、適量の気分安定薬と少なくとも1種類の抗うつ剤の組み合わせによる治療に無反応であった66人のSTEP-BP参加者である。投与中の気分安定薬は継続し、参加者は上記の3剤の増強薬のうちの1つにそれぞれ非盲験的に振り分けられた。多くの参加者が既に3剤のうちどれか1つを処方されていたり、ある薬剤を希望しないことなどがあったため、振り分けはequipoise randomizationにより行われた。equipoise randomizationでは、参加者は3剤のどれか1つに振り分けられる組、あるいは3剤のうち2剤のどちらかに振り分けられる組を選ぶことができ、この場合では4種類のグループに分かれることになる。本研究においては、他のSTEP-BDと同様に、回復の定義は①DSM-IVの大うつ病、躁、軽躁エピソードの症状が2つ以下であり、②DSM-IVの完全寛解の定義と同様、重大な症状が8週間みられないこと、とされている¹⁴⁾。それらの決定は、STEP-BDのために開発された“Clinical Monitoring Form”¹³⁾を用いて臨床医が行う。“Clinical Monitoring Form”における、うつ症状のスコアの総和をSUM-Dと呼び、また躁症状のスコアの総和をSUM-Mとしている¹³⁾。その結果、equipoise randomization studyにおいてはそれぞれのグループ間におけるどの治療の組み合わせにおいても、回復率には統計学的差異がみられなかったが、lamotriginの回復率(23.8%)は他の2剤(inositol: 17.4%, risperidone: 4.6%)よりも高い傾向にあった。しかし、ポストホックの二次検定においては、lamotrigine服用の参加者においては、研究終了時のCGI (Clinical Global Impression)による重篤度スコアおよびSUM-Dスコアが有意に低かった。また、GAF (Global Assessment of Functioning Scores)の点数も、他の2剤と比べて有意に良好なスコアが得られた。これらの結果は、lamotrigineの難治性双極性うつ病に対する有効性を示唆する。

5. その他の研究結果について

その他にも、STEP-BDから得られた種々知見の報告があり、それらの重要性も認識しておく必要がある。

Fagiolini Aら¹⁵⁾は、寛解期の双極性障害患者の機能的障害についての評価について報告している。対象群は、STEP-BDの下位群にあたるピッツバーグにおける103名の患者群であるが、結論として、双極性障害の患者は、実質的な寛解維持期においても機能障害が存在し、その機能障害の程度は、うつ病スペクトラム症状の存在の程度と相関すると報告している。

Joffe Hら³⁾は、女性における生理不順が双極性障害および単極性うつ病の患者群でより頻度が高いという知見について検証を行っている。このことは、HPG-axis (Hypothalamic-Pituitary-Gonadal axis)の障害を反映しているか、もしくは向精神薬による治療が要因となっていると考えられるが、結論として、健常群および単極性うつ病の女性に比して、双極性障害の女性群は、生理不順が双極性障害発症以前に若年発症している比率が有意に高かった。このことは、双極性障害にHPG-axisの障害が関連していることに関する研究がなされるべきであると強調している。

6. 最後に

以上、簡単ではあるが、STEP-BDの概要と、現在までに報告されている知見について紹介した。双極性障害については、その診断、治療反応性、予後についてなど、いまだ不明確な点が数多くある。STEP-BDに関してこれから続々と報告されるであろう研究結果には、今後ますます注目していく必要があるだろう。しかし、本文でも紹介したが、STEP-BDの参加者は大きく白人に偏っており、その結果をそのまま日本人に応用できるかについては、慎重な検討が必要であろう。九州大学病院精神科神経科では、双極性障害専門外来を専門外来として開設しており、今後、わが国における双極性障害の治療や病態解明に貢献したいと考えている。

謝辞：本稿を書くにあたって、神庭重信先生より多大なご指導およびご助言を頂いたことを、ここに深謝いたします。

文献

- 1) Fagiolini A, Kupfer DJ, Masalehdan A et al : Functional Impairment in the Remission Phase of Bipolar Disorder. *Bipolar Disord* 7 : 281–285, 2005
- 2) Fossey MD, Otto MW, Yates WR et al : Validity of the Distinction between Primary and Secondary Substance Use Disorder in Patients with Bipolar Disorder: Data from the First 1000 Step-Bd Participants. *Am J Addict* 15 : 138–143, 2006
- 3) Joffe H, Kim DR, Foris JM et al : Menstrual Dysfunction Prior to Onset of Psychiatric Illness Is Reported More Commonly by Women with Bipolar Disorder Than by Women with Unipolar Depression and Healthy Controls. *J Clin Psychiatry* 67 : 297–304, 2006
- 4) Kogan JN, Otto MW, Bauer MS et al : Demographic and Diagnostic Characteristics of the First 1000 Patients Enrolled in the Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (Step-Bd). *Bipolar Disord* 6 : 460–469, 2004
- 5) Lembke A, Miklowitz DJ, Otto MW et al : Psychosocial Service Utilization by Patients with Bipolar Disorders: Data from the First 500 Participants in the Systematic Treatment Enhancement Program. *J Psychiatr Pract* 10 : 81–87, 2004
- 6) Marangell LB, Martinez JM, Ketter TA et al : Lamotrigine Treatment of Bipolar Disorder: Data from the First 500 Patients in Step-Bd. *Bipolar Disord* 6 : 139–143, 2004
- 7) Morris CD, Miklowitz DJ, Wisniewski SR et al : Care Satisfaction, Hope, and Life Functioning among Adults with Bipolar Disorder: Data from the First 1000 Participants in the Systematic Treatment Enhancement Program. *Compr Psychiatry* 46 : 98–104, 2005
- 8) National Library of Medicine, Health NIoM (2006) Step-Bd Web-Site <http://wwwclinicaltrials.gov/ct/show/NCT00012558?order=1><http://www-clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00012558?order=1>
- 9) Nierenberg AA, Miyahara S, Spencer T et al : Clinical and Diagnostic Implications of Lifetime Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder Comorbidity in Adults with Bipolar Disorder: Data from the First 1000 Step-Bd Participants. *Biol Psychiatry* 57 : 1467–1473, 2005
- 10) Nierenberg AA, Ostacher MJ, Calabrese JR et al : Treatment-Resistant Bipolar Depression: A Step-Bd Equipoise Randomized Effectiveness Trial of Antidepressant Augmentation with Lamotrigine, Inositol, or Risperidone. *Am J Psychiatry* 163 : 210–216, 2006
- 11) Perlis RH, Miyahara S, Marangell LB et al : Long-Term Implications of Early Onset in Bipolar Disorder: Data from the First 1000 Participants in the Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (Step-Bd). *Biol Psychiatry* 55 : 875–881, 2004
- 12) Perlis RH, Ostacher MJ, Patel JK et al : Predictors of Recurrence in Bipolar Disorder: Primary Outcomes from the Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (Step-Bd). *Am J Psychiatry* 163 : 217–224, 2006
- 13) Sachs GS, Guille C, McMurrich SL : A Clinical Monitoring Form for Mood Disorders. *Bipolar Disord* 4 : 323–327, 2002
- 14) Sachs GS, Thase ME, Otto MW et al : Rationale, Design, and Methods of the Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (Step-Bd). *Biol Psychiatry* 53 : 1028–1042, 2003
- 15) Schneck CD, Miklowitz DJ, Calabrese JR et al : Phenomenology of Rapid-Cycling Bipolar Disorder: Data from the First 500 Participants in the Systematic Treatment Enhancement Program. *Am J Psychiatry* 161 : 1902–1908, 2004
- 16) Simon NM, Otto MW, Weiss RD et al : Pharmacotherapy for Bipolar Disorder and Comorbid Conditions: Baseline Data from Step-Bd. *J Clin Psychopharmacol* 24 : 512–520, 2004
- 17) Weiss RD, Ostacher MJ, Otto MW et al : Does Recovery from Substance Use Disorder Matter in Patients with Bipolar Disorder? *J Clin Psychiatry* 66 : 730–735, 2005; quiz 808–809
- 18) Zhang H, Wisniewski SR, Bauer MS et al : Comparisons of Perceived Quality of Life across Clinical States in Bipolar Disorder: Data from the First 2000 Systematic Treatment Enhancement Program for Bipolar Disorder (Step-Bd) Participants. *Compr Psychiatry* 47 : 161–168, 2006

単極性うつ病と双極性うつ病の鑑別

Differential diagnosis of bipolar and monopolar depression



川崎弘詔(写真) 織部直弥 神庭重信

Hiroaki KAWASAKI, Naoya ORIBE and Shigenobu KANBA

九州大学大学院医学研究院精神病態医学分野

◎今日的なうつ病の概念は多様化しており、うつ病における診断・治療における種々の問題点が明らかになってきている。そのなかでも、もっとも重要な問題は単極性うつ病と双極性うつ病の鑑別である。精神疾患の診断基準として頻用されている操作的診断基準である Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: IVth Edition(DSM-IV-TR)においては、感情障害のなかに、双極性障害と単極性障害の2つのカテゴリーとして分類が行われている。しかし、初回エピソードがうつ病相の場合、その鑑別が非常に重要な問題となる。双極性障害と単極性障害では薬物療法やその他の治療法が異なり、最初の段階での誤診はその後の予後に大きく影響するからである。本稿では、双極性うつ病および単極性うつ病の鑑別およびそれらの疫学的データについて報告したい。



Key word : うつ病, 大うつ病性エピソード, 躁病性エピソード, 単極性うつ病, 双極性障害, Bipolarity, 感情障害

現在、精神疾患の診断基準として頻用されている操作的診断基準である DSM-IV-TR のなかに記載されている診断カテゴリーにおいて、従来の躁うつ病、およびうつ病は感情障害のカテゴリーのなかで取り扱われている。そのなかに、双極性障害と単極性の大うつ病性障害の2つのサブカテゴリーが規定されている¹⁾。

本診断基準に厳密に従って診断を行えば、初回エピソードのうつ病相は単極性が双極性が明らかにならず、結果的に誤診という形に帰結してしまうことになる。両者それぞれに対する治療法も異なり、その治療効果にも当然影響があることから、患者自身の心理社会的機能が長期間損なわれることになってしまう。このため、単極性うつ病と双極性うつ病の鑑別診断は重要でありかつ必要なことであり、現在までに多くの報告がなされている。

今日的なうつ病の概念は多様化しており、うつ病における診断・治療における問題点となっているが、今回著者らが記述する、“単極性うつ病と双極性うつ病の鑑別について”という問題もその大きな問題のひとつとしてとらえられると考えられ

る²⁾。

上記の DSM-IV に従えば、双極性障害と単極性のうつ病を区別するのは躁病/軽躁病エピソードあるいは混合性エピソードの病歴上の有無である。したがって、その基準に素直に従うならば、うつ病エピソードを満たす患者に対して、その人に躁病エピソードあるいは混合性エピソードが出現するまでは単極性のうつ病と診断しなくてはいけなくなる。しかし、周知のように、双極性障害と単極性うつ病では症候学的違いのみならず、治療法や経過についても異なる点が多いため、治療の初期で鑑別する必要性が出てくる³⁾。

本稿では双極性うつ病と単極性うつ病の見分け方について、現在までに報告されている知見ならびに考え方について紹介していきたい。

上述したように、双極性障害のうつ病相の患者はしばしば大うつ病障害患者と誤診される可能性が高い。その理由としては、双極性障害の初発の感情障害エピソードがしばしばうつ病エピソードであり、また双極性障害の患者群のなかに最初の

躁病エピソードを発現する以前に、多数のうつ病エピソードを経験する群がいるからであると推測されている³⁾。

双極性障害Ⅰ型あるいはⅡ型の患者群を長期間観察すると、躁病あるいは軽躁病エピソードよりもうつ病エピソードのほうがより頻回に出現することもその理由になりうると考えられる。また、躁病の症状は患者によってなかなか誇張して表現されず、躁病相の病歴上の存在を見逃してしまう場合が多いことも指摘されている。このような理由で、臨床家が双極性障害に関して正しい診断をするのに、最初のエピソードから10年以上かかってしまうことも珍しくないという報告もある⁴⁾。

現在における双極性障害と単極性障害の治療

双極性障害のうつ病患者が単極性うつ病と誤って診断されると、抗うつ剤のみでの単剤治療という不適切な治療を受けることになってしまう。その結果として、このような患者は不良な予後、より重篤な症状や慢性的な感情障害エピソード、閾値下の症状を頻回に呈し、より多くの感情障害エピソードを発現し、より重篤な心理社会的機能障害を呈するようになってしまうことであろう³⁾。治療や予後の観点から双極性大うつ病と単極性大うつ病の症状プロファイルを比較し、一貫した相違点を同定することによって両者の相違を明確にする研究についていくつかの報告がなされている。Ghaemiらはこれらの研究のいくつかをレビューし単極性大うつ病と比較し、双極性大うつ病は、①より少ない身体的活動性、②少ない体重減少、③より長い睡眠時間、④より多くの精神運動性抑制症状がみられるとした⁵⁾。それらに加えて双極性大うつ病は、⑤不安症状や怒りの症状の合併が少なく、⑥身体的な訴えが少ないことと相関していると報告している⁵⁾。最近の報告では双極性大うつ病は、①より精神病像を伴いやすい、②より高い頻度で精神運動抑制症状を伴う、③持続した変化がない気分症状、④無快感、⑤無価値感、⑥過眠、⑦鉛管状麻痺を伴いやすいと報告している⁶⁾。

単極性うつ病と双極性うつ病の疫学的な研究

National Depressive and Manic-Depressive Association が2000年に行った調査によると、双極性障害の有病率は3.4%であった⁷⁾。しかし、正しい診断に至るまでに10年近くを要することもまれではなく、2/3以上は他の精神疾患と誤診されているといわれている。なかでも単極性うつ病と診断されているケースがもっとも多く、双極性障害患者の1/3に上ると報告されている⁷⁾。

また、Akiskalらの1995年における論文によると、入院例が大部分を占める単極性うつ病患者559名を最長11年間経過観察したところ、そのうち22名(3.9%)が双極Ⅰ型障害へ、48名(8.6%)が双極Ⅱ型障害へ移行していると報告している⁸⁾。

Goldbergらによる2001年の報告によると、74名の若年性の単極性うつ病の入院例を対象にした研究において、15年間観察した後、躁病相が約19%に認められ、加えて軽躁病エピソードが27%に出現したことを報告している⁹⁾。

また、DSM-IV-TRにおいても大うつ病シングルエピソードのうち、将来的に約5~10%の頻度で躁病エピソードが出現し、双極Ⅰ型障害となることが記述されている¹⁾。

このように、双極性障害の患者が単極性のうつ病と誤診される理由としては以下の理由が考えられている。すなわち、双極性障害はうつ病エピソードでの発症が多いこと¹⁰⁾、最初の躁病エピソードに先んじて多くのうつ病エピソードを経験していることが多いこと、双極性障害の経過を通じて、うつ病エピソードのほうが躁病エピソードよりも数が多いこと¹¹⁻¹³⁾、さらには患者は躁病エピソードについてはしばしば過小に報告しがちだということなどである¹⁴⁾。

両者に対する治療法の違いと、誤診をした場合の問題点

APA(American Psychiatry Association)のガイドラインによると、単極性うつ病に対する薬物療法では軽症、中等度、重症によらず抗うつ薬の使用が推奨されている¹⁵⁾。一方、双極性うつ病に対してはlithiumまたはlamotrigineの単剤療法が第一

選択薬とされており、抗うつ薬による単剤療法はすべきではないとされている。SSRIなどの抗うつ薬は単極性うつ病に対しては有効であるが、双極性うつ病に対して用いる場合はlithiumなどの気分安定薬への“add-ons”として用いるべきであるとされている。同様に、TMAP(Texas Medical Algorithms Project)による双極性障害の治療指針でも第1段階はlamotrigineによる単剤療法が推奨されており、2000年版では第2段階で加えられ、2005年版では第4段階に格下げされている¹⁶⁾。精神療法に関しては、対人関係療法、認知行動療法は単極性うつ病に対する効果が認められており、双極性うつ病に対する有効性も期待されている¹⁷⁾。

双極性障害の患者を単極性のうつ病と診断して治療した場合には、症状の重症化や慢性化、再発の増加を招き、最終的には患者の社会的機能が一段と障害されてしまう。また、双極性障害に対する安易な抗うつ薬の使用によりラピッドサイクリзацияが促進されるおそれもある。逆に、単極性うつ病の患者を双極性障害と診断し、気分安定薬による治療を行うことも副作用や抗うつ効果が不十分なことにより予後を悪化させることが予測できる。このように、双極性、単極性の区別は非常に重要であり、うつ病エピソードで来院した患者に対しても、つねに双極性障害との鑑別を念頭においておかなければならない。

どのように鑑別するのか

単極性うつ病と双極性うつ病を区別する特徴に関しては、現在までにいくつかの報告がある。たとえば、Mitchellらによると、単極性うつ病と比較して双極性うつ病では精神病症状(psychotic features)、焦燥感(restlessness)、アンヘドニア(anhedonia)、無価値感(worthlessness)、過眠(hypersomnia)、鉛管麻痺(leaden paralysis)などの訴えが多いという¹⁸⁾。

しかし、各研究の間で統一した見解が得られているわけではなく、ときには矛盾する報告がされている場合もある。たとえば、Ghaemiらによると、双極性うつ病では気分の変動が大きいとされているが⁵⁾、Mitchellらは双極性うつ病では一貫して単

調な気分がみられるとしている¹⁸⁾。他にも、Ghaemiらは双極性うつ病においては不安症状は少ないと報告したが¹⁹⁾、Simonらは双極性うつ病では全般性不安障害やパニック障害の併発が多いという報告をした²⁰⁾。多くの研究では双極性うつ病では非定型的な特徴、あるいは過眠、過食といった“reverse neurovegetative”な特徴がみられると報告しているが、これもすべての研究で一致しているわけではない。同様に、いくつかの研究では双極性うつ病においてメランコリック症状が多くみられることを報告しているが、これもすべての研究でみられるわけではない。

このような不一致の理由としては、双極性うつ病の比較対照となる単極性うつ病群が均一でないことや、サンプル数が少ないことなどが考えられる。

Perlisらは、アメリカで実施された3つの大規模な多施設共同研究に参加した精神病症状のない外来患者のデータを用い、双極性障害患者と大うつ病性障害の患者を比較した²¹⁾。これは双極性うつ病と単極性うつ病の比較研究としてはいままで最大規模のものである。

大うつ病性障害患者のデータは1999～2001年の間にアメリカで行われた多施設共同、ダブルブラインド、ランダム化、placebo-controlledである2つの臨床研究から用いた。これらの臨床研究の採用基準は、①Mini-international Neuropsychiatric Interview(M. I. N. I.)により大うつ病性障害と診断されたもの、②Clinical Global Impression(CGI)が4点以上、Hamilton Depression Rating Scale(HAM-D)の総得点が15点以上でのものであった²¹⁾。

双極性障害患者のデータは13カ国で実施された多施設共同、ダブルブラインド、ランダム化、placebo-controlledである臨床研究からのものを用いている。この臨床研究の採用基準は、①Structured Clinical Interview for DSM-IVで双極性障害I型と診断されたもの、②Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale(MADRS)の総得点が20点以上のものであった²¹⁾。

上記のいずれにおいても、18歳以下のもの、自殺のリスクが高いと判断されたもの、物質依存の

表 1 双極性うつ病と単極性うつ病の症候学的相違

	単極性うつ病	双極性うつ病
臨床症状	身体化症状が多い(とくに筋肉, 呼吸器, 泌尿生殖器に関する) 不眠, 認知障害, 悲哀感が多くみられる 精神病症状の合併は少ない	精神運動抑制症状が強い 恐怖感が強い 精神病症状の合併が多い 少ない体重減少 焦燥感, 無快感, 無価値観が強い
大うつ病, 躁病の家族歴	少ない	家族歴の存在が多い
発症年齢	遅い	若年発症例が多い
過去のエピソード数	少ない	うつ病エピソードが多い
結婚歴	有意差なし	有意差なし

あるもの、妊娠または授乳中のものは除外されている。

さらに、今回の双極性うつ病と単極性うつ病の比較研究を行うにあたっては、入院患者と精神病症状を伴う患者は除外された。また、上記の大うつ病性障害の臨床研究はアメリカのみで行われていたため、双極性障害の臨床研究に参加した患者のうち、アメリカ以外のもののデータは除外されている。

以上より、477人の双極性障害患者と1,074人の大うつ病性障害の患者のデータが抽出され、比較された。その結果、双極性うつ病では単極性うつ病と比べて発症年齢が低いこと、双極性障害の家族歴が多いこと、うつ病エピソードの数が多いことが示された。また、Montgomery-Åsberg Depression Rating Scale(MADRS)とHamilton Depression Rating Scale(HAM-D)の結果からは恐怖は双極性うつ病により多くみられるが、悲哀感、不眠、認知障害、身体化症状は単極性うつ病により多くみられることが指摘された²¹⁾。以上の結果をまとめると表1のようになる。

こうした特徴を把握しておくことで、初診時に双極性障害に発展するおそれのある抑うつ患者を特定し、より慎重な経過観察を行うことができると考えられる。

SAD-P

最後に、Solomonらが、双極性うつ病と単極性うつ病を区別するために考案したスクリーニングテストである、Screening Assessment of Depression-Polarity(SAD-P)について紹介したい¹⁹⁾。

SAD-Pに用いる項目を決定するために、調べられたサンプルは、1978～1981年の間にうつエピソードを主訴としてNational Institute of Mental Health-Collaborative Program on the Psychobiology of Depression-Clinical Studiesに参加したものであり、双極I型障害が91人、双極II型障害が52人、単極性うつ病が338人であった。これらのサンプルは以後20年にわたってフォローされている。これらのサンプルから得られたデータをもとにスクリーニングテストを作成し、交差検定するため、サンプルを3つのグループに振り分けて(the bipolar I index sample, the bipolar I cross-validation sample, the bipolar II cross-validation sample)、統計学的解析を行っている¹⁹⁾。

その結果、双極I型障害と単極性うつ病の間にもっとも相違がみられた3つの特徴をSAD-Pの項目として使用している。その3つの特徴とは、①現在のうつ病エピソード中に幻覚が存在したこと、②現在のエピソード以前に、うつ病エピソードがひとつ以上存在していること、③第一度親族に大うつ病あるいは躁病エピソードの家族歴があること、である。各項目に該当すればそれを1点とし、合計が2点か3点であった場合、現在のうつ病エピソードは双極性障害の一部である可能性が高いとしている。著者らの評価によると、このSAD-Pは、the bipolar I index sampleでは0.82、the bipolar I cross-validation sampleでは0.72、the bipolar II cross-validation sampleでは0.58の感度で双極性障害を特定できたと報告されている。また、the bipolar I index sampleでは0.36、the bipolar I cross-validation sampleでは0.29、the bipolar II

cross-validation sample では 0.27 の陽性適中率であったとされている¹⁹⁾。

このテストは項目が3つと非常に簡便であり、かつ初診時に判断できるものばかりであるため、双極性うつ病と単極性うつ病の区別をするツールとして期待でき、さらなる妥当性の検討が望まれる。

おわりに

以上、双極性うつ病と単極性うつ病における問題点について文献をもとに考察を行った。両者を区別することは治療方法の違い、また、その後の予後経過に大きく影響する。両者を区別する方法について現在までの知見をまとめたが、やはり経過を詳細に観察し、わが国においても大規模な prospective な臨床研究が必要であろう。外国の研究の結果がわれわれにあてはまらないことは常々起こることである。とくに、双極性障害、単極性うつ病においては、わが国固有の文化的背景や社会状況などもあり、重要な問題であると思われる。

両者の治療についても海外からは新しい薬も含めて多くの報告があるが、それらは日本では治験中あるいは適応取得の予定がなく、関係諸機関の協力で、治療薬が増えてほしいと考える。いったん診断が正確に行われると、感情安定化薬という比較的効果が認められる薬剤の使用、およびあらたな感情調整薬および非定型抗精神病薬の発売と適応拡大も海外では行われているということで、わが国でも今後、これらの流れに沿って治療効果の大幅な改善が期待できると考えられる。

今後はこれらの特徴をもって、うつ病をみたときに、双極性か単極性かを念頭におき、双極性障害の鑑別診断をつねに考慮するべきであろうと考える。

上記にも記載したが、わが国においては諸外国同様、大規模な疫学的調査が必要であり、また双極性うつ病と単極性うつ病の判別を簡便に行えるスケールの作成など、よりいっそうの臨床研究の結果の蓄積およびその検討が必要であると思われる。

文献

- 1) American Psychiatric Association : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders IVth ed. Text Version (DSM-IV-TR), 2000.
- 2) 広瀬徹也 : うつ状態(抑うつ症候群)という「状態像診断」の今日的意義. 臨床精神医学, **34**(5) : 537-542, 2005.
- 3) Benazzi, F. : Symptoms of depression as possible markers of bipolar II disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **30**(3) : 471-477, 2006.
- 4) Berk, M. et al. : Diagnosing bipolar disorder : how can we do it better? *Med. J. Aust.*, **184**(9) : 459-462, 2006.
- 5) Ghaemi, S. N. et al. : Antidepressants in bipolar disorder : the case for caution. *Bipolar Disord.*, **5**(6) : 421-433, 2003.
- 6) 大森哲郎 : 双極性障害は誤診されやすい. 臨床精神医学, **35**(10) : 1395-1398, 2006.
- 7) Hirschfeld, R. M. et al. : Screening for bipolar disorder in the community. *J. Clin. Psychiatry*, **64**(1) : 53-59, 2003.
- 8) Akiskal, H. S. et al. : Switching from 'unipolar' to bipolar II. An 11-year prospective study of clinical and temperamental predictors in 559 patients. *Arch. Gen. Psychiatry*, **52**(2) : 114-123, 1995.
- 9) Goldberg, J. F. et al. : Risk for bipolar illness in patients initially hospitalized for unipolar depression. *Am. J. Psychiatry*, **158**(8) : 1265-1270, 2001.
- 10) Lewinsohn, P. M. et al. : Bipolar disorders in a community sample of older adolescents : prevalence, phenomenology, comorbidity, and course. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry*, **34**(4) : 454-463, 1995.
- 11) Judd, L. L. and Akiskal, H. S. : The clinical and public health relevance of current research on subthreshold depressive symptoms to elderly patients. *Am. J. Geriatr. Psychiatry*, **10**(3) : 233-238, 2002.
- 12) Judd, L. L. and Akiskal, H. S. : Depressive episodes and symptoms dominate the longitudinal course of bipolar disorder. *Curr. Psychiatry Rep.*, **5**(6) : 417-418, 2003.
- 13) Judd, L. L. and Akiskal, H. S. : The prevalence and disability of bipolar spectrum disorders in the US population : re-analysis of the ECA database taking into account subthreshold cases. *J. Affect Disord.*, **73**(1-2) : 123-131, 2003.
- 14) Hirschfeld, R. M. et al. : Perceptions and impact of bipolar disorder : how far have we really come? Results of the national depressive and manic-depressive association 2000 survey of individuals with bipolar disorder. *J. Clin. Psychiatry*, **64**(2) : 161-174, 2003.
- 15) Practice guideline for the treatment of patients with bipolar disorder. American Psychiatric Association. *Am. J. Psychiatry*, **151**(12 Suppl) : 1-36, 1994.
- 16) Toprac, M. G. et al. : The Texas Medication Algorithm Project Patient and Family Education Pro-

- gram : a consumer-guided initiative. *J. Clin. Psychiatry*, **61**(7) : 477-486, 2000.
- 17) Suppes, T. et al. : The Texas implementation of medication algorithms : update to the algorithms for treatment of bipolar I disorder. *J. Clin. Psychiatry*, **66**(7) : 870-886, 2005.
- 18) Mitchell, P.B. et al. : Major advances in bipolar disorder. *Med. J. Aust.*, **181**(4) : 207-210, 2004.
- 19) Solomon, D. A. et al. : Distinguishing bipolar major depression from unipolar major depression with the screening assessment of depression-polarity (SAD-P). *J. Clin. Psychiatry*, **67**(3) : 434-442, 2006.
- 20) Simon, N. M. et al. : Comparing anxiety disorders and anxiety-related traits in bipolar disorder and unipolar depression. *J. Psychiat. Res.*, **37**(3) : 187-192, 2003.
- 21) Perlis, R. H. et al. : Clinical features of bipolar depression versus major depressive disorder in large multicenter trials. *Am. J. Psychiatry*, **163**(2) : 225-231, 2006.

* * *



A decreased survival of proliferated cells in the hippocampus is associated with a decline in spatial memory in aged rats

Henny Wati^a, Koutaro Kudo^{a,b}, Chunxiang Qiao^a, Toshihide Kuroki^c, Shigenobu Kanba^{c,*}

^a Department of Neuropsychiatry, Interdisciplinary Graduate School of Medicine and Engineering, Yamanashi University, Yamanashi, Japan

^b Department of Psychiatry, Graduate School of Medical Sciences, Tokyo University, Tokyo, Japan

^c Department of Neuropsychiatry, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

Received 16 November 2005; received in revised form 4 January 2006; accepted 28 January 2006

Abstract

In aged rats, although learning and memory impairment is prominent, both the number of granular cells and the degree of neuronal progenitor proliferation in the hippocampus are known to be preserved. We examined the association between the survival of newly generated neurons in the hippocampus and the learning ability in aged rats. By using BrdU, a cell proliferation marker to determine neurogenesis and contextual fear conditioning to determine learning ability, we found that in aged rats, along with memory impairment, the survival of both the proliferated cells at baseline and those enhanced by contextual fear conditioning decreased remarkably. These results suggest that the integration of newly generated neurons into hippocampal circuitry is decreased with aging, this phenomenon may, in part, explain the decline in learning and memory in aged rats.

© 2006 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

Keywords: Aging; Neurogenesis; Learning

Adult neurogenesis in mammals has been widely studied in rats, mice, three shrews, rhesus monkeys [1,7,10] and humans [4]. These studies revealed that hippocampal granular cells are continuously produced throughout life. Neuronal progenitor cells in the subgranular zone (SGZ) of dentate gyrus (DG) continue to proliferate, migrate to granular layer and become differentiated into granular cells [13] and thereafter become integrated into the hippocampal circuitry [17]. Then after about 1–2 weeks the new cells will become functionally involved in the learning process [21]. The survival of generated neurons is known to increase by spatial learning tasks [6] or environmental enrichment [13], while hippocampal injury [8] increases proliferation, and physical activity increases survival, proliferation, and differentiation [17]. On the other hand, acute social stress [7], the stimulation of NMDA receptors, or high adrenal steroid level [13] decreases neuronal progenitor proliferation in adult animals.

There is a vast amount of evidence on learning and memory impairment in aged rats [3,4,11,14,19,20,23], nevertheless

the roles of neurogenesis in the age-related decline in memory remains to be elucidated. In aged rats, the proliferation is significantly decreased to about 10–17% below adult level [10], although the overall granular cell number is preserved [18]. In addition, the decrease in neuronal progenitor proliferation in aged rats is not reported to be related to the spatial learning ability [11]. Therefore, it remains to be determined whether the survival of newly proliferated neurons decreases in the aging process, and if so, whether or not such a decrease in survival is related with a decline in memory.

BrdU, a thymidin analog that incorporate in cell's DNA in the S phase of cell cycle is considered to be suitable for the detection of proliferation, migration and neuron age in the central nervous system, due to its characteristics such as it is: permanently retained in the cell, it is non toxic to individual cells and it has no effect on cell differentiation and migration [12]. In our study, BrdU was administered one week before contextual fear conditioning (CFC), which is one of hippocampus-dependent tasks [2,9]. This gives a sufficient period for the newborn cells to be incorporated into the learning process [21].

Therefore, to investigate the effect of aging on learning ability and cell survival in the hippocampus, we immunohistochem-

* Corresponding author. Tel.: +81 92 642 5620; fax: +81 92 642 5644.

E-mail address: skanba@npsych.med.kyushu-u.ac.jp (S. Kanba).

ically quantified the baseline number of BrdU positive cells and the CFC-associated increase of neuron proliferation in hippocampal subregions of young and old rats.

Fifteen-week-old (240–250 g) and 120-week-old (600–900 g) SD male rats (SLC; Shizuoka, Japan), were maintained individually in a 12 h light/dark, temperature-controlled room with free access to chow and tap water. All experimental procedures were conducted in accordance with the guidelines of the Ethical Committee of Animal Experiments of Yamanashi Medical University. All efforts were made to minimize the number of animals used and their suffering. BrdU (50 mg/kg) was administered every 6 h, by intraperitoneal injection, for 7 days before CFC. CFC was conducted according to the method of Silva et al. [22]. In brief, in a clear Plexiglas conditioning chamber (28W × 21H × 22D cm), the floor was lined with 18 stainless steel bars (4 mm diameter; 1.5 cm spacing), as a footshock grid to deliver scrambled shock from a stimulator. The aversive unconditioned stimulus was 0.75 mA footshock for 2 s. The sound-attenuating box (48W × 48H × 48D cm) accompanied with a 20 W light and a ventilation fan for background white noise (74 dB). A discrete tone conditioned stimulus (CS) (800 Hz, 20-s duration, 80 dB) served as cue. Prior to the conditioning, all rats were habituated by being placed in the conditioning chamber for 1 minute once a day for consecutive 3 days. On the conditioning day, the rats were placed into the conditioning chamber and allowed to explore for 3 minutes. A footshock was delivered 18 s after the tone CS (a CFC group). In a control group, no footshock was delivered. The rats were allowed to recover for 30 s in the conditioning chamber and then were returned to their home cages. Two hours later, the rats were again introduced into the conditioning chamber and were observed for 5 min, without CS tone. The total time of freezing behavior (cessation of all but respiratory movement) was evaluated and expressed as the percentage of freezing time. Immediately after the CFC tests, the rats were deeply anesthetized with sodium pentobarbital and then were transcardially perfused with 4% PFA in 0.1 M PB, and then the brains were quickly removed. After being post-fixed, 12 coronal sections (40 μ m), 160 μ m interval throughout the hippocampal formation (2.9 mm posterior to bregma suture) were cut by a cryostat according to the Paxinos & Watson brain map [15] and then were collected in PBS (0.1 M; pH 7.4) for staining. After DNA denaturizing (formamide/SSC incubation in 65 °C; SSC rinse; 2N HCl incubation in 37 °C; 0.1 M Boric acid rinse), endogenous peroxidase was blocked by 3% H₂O₂. After blocking by 10% normal goat serum (NGS), the sections were incubated with anti-BrdU (1:1000 Harlan Sera Lab. OBT0030) for 24 h at 4 °C, followed by secondary antibody (biotinylated goat, anti-rat IgG, Vector BA9400), amplification with ABC, before color development with DAB nickel. BrdU positive cells were counted at ×400 and ×1000 under light microscopy (Olympus BX-60), by omitting the cells in the outermost forcal plane. Quantification was done by a researcher who is blind to the experimental conditions. A cell was considered to be in the SGZ of DG if it was touching or in the SGZ, or in the hilar if it was located more than two cells away

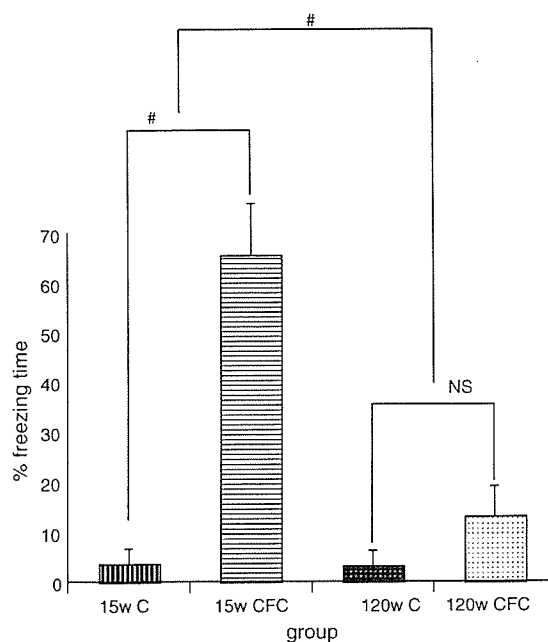


Fig. 1. Freezing behavior in response to context. In a control group, both young and aged rats exhibited little or no freezing behavior in response to the context during testing. In the CFC group, no difference was seen in the percentage of freezing time in the young and aged rats. But during the testing period 2 h after footshock, young and aged rats differed significantly in context-dependent freezing behavior ($p < 0.001$); the young CFC rats ($n = 6$, mean \pm S.E.M. 65.722 \pm 10.234) exhibited a significantly longer percentage of freezing time than the young control rats ($n = 6$, mean \pm S.E.M. 3.667 \pm 2.914). The freezing in young CFC rats was also markedly superior to that in the aged CFC rats ($n = 6$, mean \pm S.E.M. 13.111 \pm 5.822) which was not significantly different to the aged control rats ($n = 5$, mean \pm S.E.M. 3.133 \pm 3.015). # $p < 0.0001$.

from the SGZ. The average positive cell number per square millimeter of the DG area was counted. All data were analyzed by the Kruskal–Wallis and Mann–Whitney U -test based on Bonferroni's correction. Differences of $p < 0.05$ were accepted as statistically significant.

At the first exposure to context-tone paired with footshock, the young and the aged rats showed no difference in freezing behavior (data not shown). However, when exposed to the context only 2 h after the footshock, the aged rats showed a significant decrease in the percentage of freezing time compared to their younger counterparts (Fig. 1). This implies that aging-related impairment of CFC is not caused by sensory impairment. A similar impairment in spatial-learning tasks has been previously reported in aged rats [3,5,11,14,19,20,23].

DG is the only site where adult-neurogenesis is observed in the hippocampus [1,6,10,11,21]. When comparing the aged and the young rats in the control groups, it was evident that neurogenesis was remarkably impaired by aging (Fig. 2), as also reported by other studies [10,11]. Several mechanisms are thought to be responsible for the age-related reduction of neurogenesis: the decrease in the neural precursor proliferation activity, the aberrant or inhibited migratory mechanism that displaces newborn cells, or decreases in neuronal survival [10].

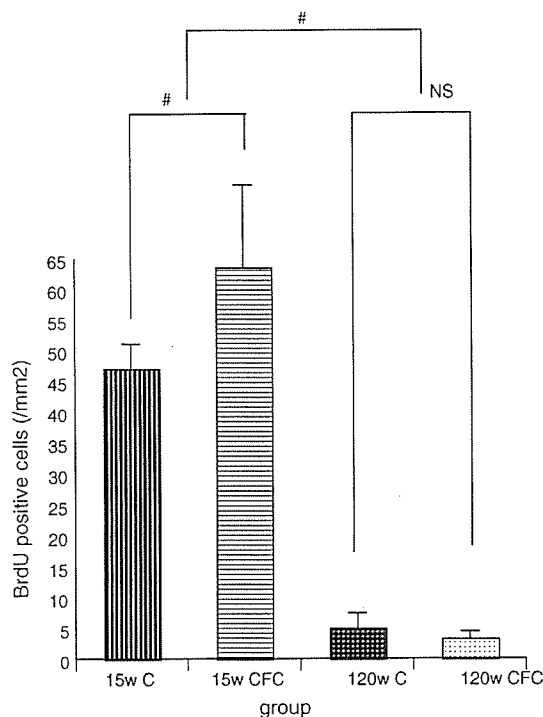


Fig. 2. BrdU positive cells in response to the context. To investigate the survival of both the proliferated cells at baseline and of those stimulated by CFC in young and aged rats, we performed a BrdU injection a week before CFC training. BrdU positive cells were only found in DG in all four groups. There was marked reduction of neurogenesis both in the aged CFC rats ($n=6$, mean \pm S.E.M. 3.302 ± 1.206) as compared to the young CFC rats ($n=6$, mean \pm S.E.M. 63.660 ± 13.349) ($p < 0.0001$) as well as in the aged control rats ($n=5$, mean \pm S.E.M. 5.074 ± 2.463) as compared to the young control rats ($n=6$, mean \pm S.E.M. 47.077 ± 4.206) ($p < 0.0001$). In the young rats, a significant difference was observed between the CFC and the control groups ($p < 0.0001$). In the aged rats, no significant increase was observed in the BrdU positive cells by CFC. # $p < 0.0001$.

With CFC, the young rats showed significant increase in BrdU positive cells in DG. However, in the aged rats CFC did not increase the number of BrdU positive cells. In adult rats, it is known that either environmental enrichment or Morris water maze increases the survival of newly generated neurons, but not their proliferation [6,13,16]. A recent study using the Morris water maze, demonstrated that aged rats had less proliferating cells than young rats. However, in the aged rats, cell proliferation did not correlate with the memory ability [11]. In their study, BrdU was injected after training, thus it labeled the neurons newly produced by the training. In addition, the ages of rats were 21–24 months and the performances of some aged rats were as good as those of young rats. After administering BrdU for 7 days prior to CFC, we examined the influence of learning on neuronal survival. In addition, we used much older rats (28–30 months) and confirmed the performance of each aged rat to be inferior to that of the young rats. Added together, we proposed that in aging both the proliferation and the survival of neurons are impaired. However, since in both young and aged rats, the number of proliferating cells is not related to spatial memory [11], the survival of proliferating cells may play more important roles in memory formation in the aged rats.

In conclusion, the survival of the number of BrdU positive cells at baseline as well as those induced by CFC decrease in the aged rats; the phenomenon may therefore explain, in part, the age-related decline in spatial learning.

Acknowledgements

This study was supported by the Target Oriented Brain Science Promotion Program and a grant from the Japanese Ministry of Culture, Sports and Science (No. 16390321). This study was also supported by grants from the Japanese Ministry of Health and Labor.

References

- [1] J. Altman, G.D. Das, Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats, *J. Comp. Neurol.* 124 (1965) 319–336.
- [2] S.G. Anagnostaras, S. Maren, M.S. Fanselow, Temporally graded retrograde amnesia of contextual fear after hippocampal damage in rats: within-subjects examination, *J. Neurosci.* 19 (1999) 1106–1114.
- [3] C.A. Erickson, C.A. Barnes, The neurobiology of memory changes in normal aging, *Exp. Gerontol.* 38 (2003) 61–69.
- [4] P.S. Eriksson, E. Perfilieva, T. Bjork-Eriksson, A. Alborn, C. Nordborg, D.A. Peterson, F.H. Gage, Neurogenesis in the adult human hippocampus, *Nat. Med.* 4 (1998) 1313–1317.
- [5] M. Gallagher, J.L. Bizon, E.C. Hoyt, K.A. Helm, P.K. Lund, Effects of aging on the hippocampal formation in a naturally occurring animal model of mild cognitive impairment, *Exp. Gerontol.* 38 (2003) 71–77. Review.
- [6] E. Gould, A. Beylin, P. Tanapat, A. Reeves, T.J. Shors, Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation, *Nat. Neurosci.* 2 (1999) 260–265.
- [7] E. Gould, B.S. McEwen, P. Tanapat, L.A.M. Galea, E. Fuchs, Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation, *J. Neurosci.* 17 (1997) 2492–2498.
- [8] E. Gould, P. Tanapat, Lesion-induced proliferation of neuronal progenitors in the dentate gyrus of the adult rat, *Neuroscience* 80 (1997) 427–436.
- [9] P.C. Holland, M.E. Bouton, Hippocampus and context in classical conditioning, *Curr. Opin. Neurobiol.* 9 (1999) 195–202.
- [10] H.G. Kuhn, H. Dickinson-Anson, F.H. Gage, Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation, *J. Neurosci.* 16 (1996) 2027–2033.
- [11] D.A. Merrill, R. Karim, M. Darraq, A.A. Chiba, M.H. Tuszynski, Hippocampal cell genesis does not correlate with spatial learning ability in aged rats, *J. Comp. Neurol.* 459 (2003) 201–207.
- [12] M.W. Miller, R.S. Nowakowski, Use of bromodeoxyuridine-immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system, *Brain Res.* 457 (1988) 44–52.
- [13] M. Nilsson, E. Perfilieva, U. Johansson, O. Orwar, P.S. Eriksson, Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory, *J. Neurobiol.* 39 (1999) 569–578.
- [14] J.A. Oler, E.J. Markus, Age-related deficits on the radial maze and in fear conditioning: hippocampal processing and consolidation, *Hippocampus* 8 (1998) 402–415.
- [15] G. Paxinos, C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Academic Press, San Diego, 1986.
- [16] H. Praag, G. Kempermann, F.H. Gage, Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus, *Nat. Neurosci.* 2 (1999) 266–270.
- [17] H. Praag, A.F. Schinder, B.R. Christie, N. Toni, T.D. Palmer, F.H. Gage, Functional neurogenesis in the adult hippocampus, *Nature* 415 (2002) 1030–1034.

- [18] P.R. Rapp, M. Gallagher, Preserved neuron number in the hippocampus of aged rats with spatial learning deficits, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93 (1996) 9926–9930.
- [19] P. Riekkinen, R. Miettinen, J. Sirvio, M. Aaltonen, P. Riekkinen, The correlation of passive avoidance deficit in aged rat with the loss of nucleus basalis choline acetyltransferase-positive neurons, *Brain Res. Bull.* 25 (1990) 415–417.
- [20] J. Shen, C.A. Barnes, B.L. McNaughton, W.E. Skaggs, K.L. Weaver, The effect of aging on experience-dependent plasticity of hippocampal place cells, *J. Neurosci.* 17 (1997) 6769–6782.
- [21] T.J. Shors, G. Miesegaes, A. Beylin, M. Zhao, T. Rydel, E. Gould, Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories, *Nature* 410 (2001) 372–375.
- [22] A. Silva, J.H. Kogan, P.W. Frankland, S. Kida, CREB memory, *Annu. Rev. Neurosci.* 21 (1998) 127–148.
- [23] J.E. Wallace, E.E. Krauter, B.A. Campbell, Animal models of declining memory in the aged: short-term and spatial memory in the aged rats, *J. Gerontol.* 35 (1980) 355–363.

Letter to the Editor

Prescription pattern of antipsychotic drugs for schizophrenic inpatients in Japan: Research on East Asia Psychotropic Prescription Pattern—Antipsychotics study

In the present study we investigated the prescription pattern of antipsychotic drugs for inpatients with schizophrenia in Japan.

According to a standardized protocol of the Research on East Asia Psychotropic Prescription Pattern-Antipsychotics first-time study,¹ patients diagnosed with schizophrenia who were inpatients between 1 July and 31 July 2004 was examined at seven hospitals from four regions in Japan (one hospital in Hokkaido, two hospitals in Iwate prefecture, one hospital in Tokyo, and three hospitals in Fukuoka prefecture). Patients selected for inclusion fulfilled the diagnostic criteria for schizophrenia of the International Classification of Disease, 10th revision (ICD-10) or the fourth edition of the *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* (DSM-IV). The design was a cross-sectional survey. Data collected included personal and clinical characteristics, physical condition, durations of illness and significant symptoms for the past month, prescription of all medications and their doses, and adverse effects. The data were collected by the attending psychiatrist at the time of study in compliance with the protocol set forth. Antipsychotic drugs were divided into first- and second-generation antipsychotic drugs, the former included chlorpromazine and all other conventional drugs while the latter consisted of the atypical agents such as risperidone, olanzapine, quetiapine, and perospirone. All antipsychotic drugs were converted into chlorpromazine equivalents (CPZeq) according to the suggestions by Inagaki *et al.*^{2,3} and Bezchlibnyk-Butler and Jeffries.⁴

A total of 323 patients were surveyed. There were more male (57.3%) than female (42.7%) patients. The age distribution was wide (17–86 years), with a mean age of 50.1 ± 16.5 years. Most patients had a long duration of illness: 77.4% had an illness duration of ≥ 10 years. In other words, most patients in the present study were considered to be chronic cases. The most frequent psychiatric symptoms in the whole sample for the previous 1 month were delusions (70.3%), social

dysfunction (68.7%), negative symptoms (64.7%), hallucinations (56.3%), disorganized speech (39.3%), disorganized/catatonic behavior (13.9%), aggression/verbal (12.4%), aggression/physical (6.5%), and other symptoms (1.5%).

The number of psychotropic drugs and antipsychotic drugs prescribed were 4.06 ± 2.48 and 1.76 ± 0.86 , respectively. Sedative/hypnotic drugs (61.3%) and antiparkinsonian drugs (60.7%) were prescribed in most cases. In contrast, mood stabilizers were prescribed in only under one-third of cases. Of all antipsychotic drugs, risperidone (47.4%) was the most frequently prescribed drug, followed by olanzapine (22.0%), haloperidol (21.7%), chlorpromazine (21.4%), zotepine (12.4%), quetiapine (11.8%), perospirone (6.8%), and sulpiride (5.9%). The mean dose for the whole sample was 798.3 ± 653.6 mg CPZeq.

The major finding was that prescribing of second-generation antipsychotic drugs is becoming popular in Japan, but prescription rates for first-generation antipsychotic drugs is still high, which is compatible with the fact that many clinicians in Japan administer oral and i.m. preparations of first-generation antipsychotic drugs such as haloperidol, chlorpromazine, or levomepromazine to patients in the acute phase of schizophrenia for the purpose of relieving excitement or hallucinatory behaviors. Recently, Currier and Simpson compared the short-term effects of a combination of oral risperidone liquid and oral lorazepam with a combination of i.m. haloperidol and i.m. lorazepam for psychotic agitation, and they found that both treatment groups showed similar improvements on different measures of agitation.⁵ We also demonstrated that risperidone liquid is effective and well tolerated for the treatment of acute-phase schizophrenia, and that efficacy is related to its effects on dopaminergic activity, but not noradrenergic activity.⁶ Another choice for ameliorating excitement and impulsiveness in schizophrenia patients is adjunctive mood stabilizers such as valproic acid and lithium.⁷ Expert consensus guidelines suggest the use of adjunctive valproate for patients with schizophrenia who exhibit agitation, excitement, aggression, or violence.⁸ Taken together, atypical antipsychotic drugs and mood stabilizers may be a useful alternative for the treatment of psychotic agitation in schizophrenia patients. In the present study, we also found that polypharmacy still goes on in Japan. Polypharmacy of antipsychotic drugs, even atypical ones, increases the total dose of antipsychotic drugs and adverse side-effects, and causes drug interactions.⁹

In conclusion, although prescribing of the second-generation antipsychotic drugs is becoming popular, the prescription rate in first-generation antipsychotic drugs and anticholinergic agents still remains high, and

clinicians also prescribe two or more antipsychotic drugs for treating schizophrenia inpatients.

REFERENCES

1. Chong M-Y, Tan CH, Fujii S *et al.* Antipsychotic drug prescription for schizophrenia in East Asia: rationale for change. *Psychiatry Clin. Neurosci.* 2004; **58**: 61–67.
2. Inagaki A, Inada T, Fujii Y *et al.* *Equivalent Dose of Psychotropics*. Seiwa Shoten, Tokyo, 1999.
3. Inagaki A, Inada T, Fujii Y *et al.* Dose equivalence of psychotropic drugs. Part XV: dose equivalence of novel neuroleptics. Perospirone. *Jpn J. Clin. Psychopharmacol.* 2001; **4**: 869–870.
4. Bezchlibnyk-Butler KZ, Jeffries JJ. *Clinical Handbook of Psychotropic Drugs*, 11th edn. Hogrefe and Huber, Toronto, 2001.
5. Currier GW, Simpson GM. Risperidone liquid concentrate and oral lorazepam versus intramuscular haloperidol and intramuscular lorazepam for treatment of psychotic agitation. *J. Clin. Psychiatry* 2001; **62**: 153–157.
6. Yoshimura R, Nakamura J, Shinkai K *et al.* An open study of risperidone liquid in the acute phase of schizophrenia. *Hum. Psychopharmacol.* 2005; **20**: 243–248.
7. Citrome L. Use of lithium, carbamazepine, and valproic acid in a state-operated psychiatric hospital. *J. Pharm. Tech.* 1995; **11**: 55–59.
8. McEvoy JP, Scheifler PL, Frances A. The expert consensus guideline series: treatment of schizophrenia. *J. Clin. Psychiatry* 1999; **60** (Suppl.): 815–818.
9. Biancosino B, Barbui C, Marmai L, Dona S, Grassi L. Determination of antipsychotic polypharmacy in psychiatric inpatients: a prospective study. *Int. Clin. Psychopharmacol.* 2005; **20**: 305–309.

REIJI YOSHIMURA, MD, PhD¹
 TATSUYA OKAMOTO, MD¹
 JUN NAKAMURA, MD, PhD¹
 MASARU TATENO, MD, PhD²
 KOTARO OTSUKA, MD, PhD³
 HIDEHIKO TAKAHASHI, MD, PhD⁴
 DAISUKE FUJISAWA, MD⁵
 TOKO TAKAMATSU, MD⁶
 SENTA FUJII, MD⁷
 SOICHIRO SATO, MD⁸
 MASAYUKI INOUE, MD, PhD⁹
 HIROMITSU SASAKI, MD, PhD⁹
 TOSHIHIDE KUROKI, MD, PhD¹⁰
 NAOTAKA SHINFUKU, MD, PhD¹¹

¹Department of Psychiatry, University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu, ²Department of Neuropsychiatry, Sapporo Medical University, Sapporo, ³Department of Neuropsychiatry, Iwate Medical University, Morioka, ⁴Asai Hospital, Chiba, ⁵Sakuragaoka Memorial Hospital, Tokyo, ⁶Department of Psychiatry and Neurology, Kobe University Graduate School of Medicine, and ⁷Hyogo Institute for Traumatic Stress, Kobe, ⁸Jikei Hospital, Okayama, ⁹Fukuma Hospital, ¹⁰Department of Neuropsychiatry, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, and ¹¹Division of Social Welfare, Seinan Gakuin University, Fukuoka, Japan

Correspondence address: Reiji Yoshimura, MD, PhD, 1-1 Iseigaoka, Yahatanishi-ku, Kitakyushu 807-8555, Japan. Email: yoshi621@med.uoeh-u.ac.jp

Received 22 May 2006; accepted 9 July 2006.

available at www.sciencedirect.com
www.elsevier.com/locate/brainres
**BRAIN
RESEARCH**

Research Report

The dopamine D₁ receptor agonist, but not the D₂ receptor agonist, induces gene expression of Homer 1a in rat striatum and nucleus accumbens

Hidetaka Yamada^{a,b}, Toshihide Kuroki^{b,c,*}, Tatsuo Nakahara^b, Kijiro Hashimoto^b,
Tetsuyuki Tsutsumi^b, Makoto Hirano^b, Hisao Maeda^a

^aDepartment of Neuropsychiatry, Kurume University School of Medicine, 67 Asahimachi, Kurume, Fukuoka 830-0011, Japan

^bCenter for Emotional and Behavioral Disorder, National Hospital Organization Hizen Psychiatric Center, Kanzaki, Saga 842-0192, Japan

^cDepartment of Neuropsychiatry, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, Maidashi 3-1-1, Higashiku, Fukuoka 812-8582, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Accepted 5 November 2006

Available online 13 December 2006

Keywords:

Homer

c-fos

Gene expression

Dopamine D₁ receptorDopamine D₂ receptor

Basal ganglia

ABSTRACT

Stimulation of dopamine receptors may induce striatal Homer 1a, an immediate-early gene (IEG) that is involved in the molecular mechanism for the signaling pathway of the group I metabotropic glutamate receptors. This study examined the effects of the agonists for dopamine D₁-like and D₂-like receptors on gene expression of Homer 1a, in comparison with the IEG c-fos expression, in the discrete brain regions of rats. The D₁-like agonist SKF38393 (20 mg/kg, s.c.) significantly increased the mRNA levels of Homer 1a in the striatum and nucleus accumbens, but not in the medial prefrontal cortex or hippocampus, 2 h after injection, whereas the D₂-like agonist quinpirole (1 mg/kg, s.c.) had no significant effect on Homer 1a mRNA levels in any brain region examined. Co-administration of SKF38393 and quinpirole significantly increased Homer 1a mRNA levels in the striatum, nucleus accumbens and hippocampus, while this effect was not significantly greater than that of SKF38393 alone. Any treatment did not affect the mRNA levels of other splicing variants, Homer 1b or 1c. In contrast, combination of both dopamine agonists produced a greater increase than SKF38393 did in the mRNA levels of c-fos in the nucleus accumbens, striatum and substantia nigra. These results suggest that stimulation of D₁-like receptors, but not D₂-like receptors, may induce gene expression of Homer 1a in the striatum and nucleus accumbens. However, in contrast to c-fos expression, it is unlikely that co-activation of both D₁-like and D₂-like receptors exerts a synergic action on Homer 1a expression in these regions.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The interactions between dopamine and glutamate within the brain regions including the basal ganglia have significant

implications for the pathophysiology of many neuropsychiatric disorders such as schizophrenia, substance abuse and Parkinson's disease (Carlsson and Carlsson, 1990; Pulvirenti

* Corresponding author. Department of Neuropsychiatry, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences, Maidashi 3-1-1, Higashiku, Fukuoka 812-8582, Japan. Fax: +81 92 642 5644.

E-mail address: toshik@npsych.med.kyushu-u.ac.jp (T. Kuroki).

and Diana, 2001). Many lines of evidence suggest the glutamatergic control of dopamine transmission and vice versa in the striatum, nucleus accumbens and prefrontal cortex (Morari et al., 1998; Vanderschuren and Kalivas, 2000). The dopamine D₁-like receptor agonist SKF38393 increased striatal Fos induction in 6-hydroxydopamine-lesioned rats following intranigral injection with AMPA/kainite receptor antagonist DNQX (McPherson and Marshall, 2000). In contrast, the D₂-like receptor agonist quinpirole decreased striatal Fos but increased the pallidal Fos induced by intranigral injection with the NMDA receptor antagonist AP5. SKF38393, but not quinpirole, significantly increased amplitude of excitatory postsynaptic current in the prefrontal cortex (Gonzalez-Islas and Hablitz, 2003). Glutamate levels during food consumption are controlled by the dopaminergic system in the nucleus accumbens via not D₁ receptor- but D₂ receptor-mediated mechanism (Mikhailova, 2003). These findings suggest that dopamine receptor subtypes may differentially regulate glutamatergic transmission in a region-specific manner.

The Homer family of proteins has been found to bind selectively to group I metabotropic glutamate receptors (mGluRs) and play an important role in the molecular mechanism for the signaling pathway of these receptors (Brakeman et al., 1997; Kato et al., 1997, 1998). The Homer family consists of three independent genes, Homer 1, 2 and 3. Homer 1 comprises three splicing variants: Homer 1a, 1b and 1c (Xiao et al., 1998). The long form of Homer, Homer 1b/c, is constitutively expressed as a multidimer linking group I mGluRs to calcium-selective endoplasmic inositol triphosphate (IP₃) receptors via the coiled-coil (CC) domain of carboxyl-terminal. In contrast, Homer 1a, a short isoform lacking the CC domain, is an immediate-early gene (IEG) product that is rapidly introduced by neuronal activation (Brakeman et al., 1997; Kato et al., 1997; Berke et al., 1998; Morioka et al., 2001; Bottai et al., 2002; Nielsen et al., 2002). Recently, dopaminergic modulation has been demonstrated to affect gene expression of Homer 1a. Cocaine, a dopamine transporter inhibitor (Brakeman et al., 1997; Swanson et al., 2001), SKF38393, a D₁-like receptor agonist (Berke et al., 1998), and haloperidol, a D₂-like receptor antagonist (de Bartolomeis et al., 2002; Polese et al., 2002), induced the Homer 1a gene expression in the striatum. In contrast, SCH23390, a D₁-like receptor antagonist, attenuated methylphenidate-induced expression of striatal Homer 1a (Yano et al., 2006). Moreover, Homer 1b and 1c-knockout mice displayed enhanced methamphetamine-induced motor behavior (Szumlinski et al., 2005), while behavioral response to amphetamine increased in transgenic mice overexpressing Homer 1a in striatal medium spiny neurons localized predominantly in the striosome (patch) (Tappe and Kuner, 2006). These findings suggest that Homer 1a could play a key role on dopamine–glutamate interactions in the striatum. In line with this assumption, we previously reported that a high dose (40 mg/kg, i.p.) of methamphetamine increased Homer 1a mRNA levels in the striatum and nucleus accumbens, but not in the medial prefrontal cortex or the substantia nigra (Hashimoto et al., 2004). Neither Homer 1b nor 1c mRNAs were affected in any brain regions examined. Striatal Homer 1a was induced to the maximal level 2 h after administration of methamphetamine, which time-dependent profile was similar to that of Homer 1a expression induced by the D₁-like receptor agonist SKF38393 (Berke et al., 1998). Glutamate is reported to

induce Homer 1a much slower (the maximal level at 4 h after application) in cerebellar granule cell culture (Sato et al., 2001). Taken into account that dopamine receptor subtypes are thought to play distinct roles in the regulation of glutamatergic transmission, methamphetamine-induced stimulation of D₁-like receptors, but not D₂-like receptors, may increase Homer 1a mRNAs in the striatum. However, it remains to be known whether D₁ and D₂ receptors differently regulate Homer 1a expression in other regions than the striatum.

In this study, we investigated the effects of the D₁-like and D₂-like agonists on gene expression of Homer 1a as well as its splicing variants (Homer 1b and 1c) in the discrete brain regions of rats. Moreover, the effect of combination of both agonists was also examined to elucidate a synergistic action of co-stimulation of both receptor subtypes, which effect has been observed in expression of the IEG *c-fos* (Gerfen et al., 1995).

2. Results

2.1. Analysis of IEG mRNAs

Ethidium bromide staining of a polyacrylamide gel revealed a single band at the expected size of amplification product for each of β -actin, Homer 1a, 1b and 1c cDNAs (Fig. 1). Since no

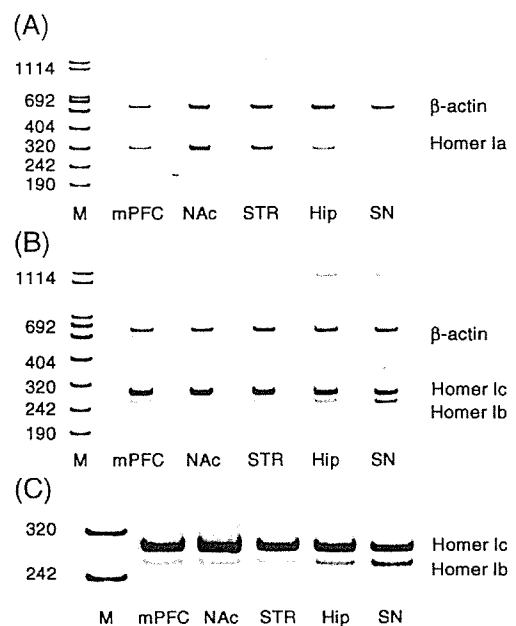


Fig. 1 – Ethidium bromide-stained polyacrylamide gel showing PCR products amplified from rat brain RNA. Total RNA extracted from the medial prefrontal cortex (mPFC), nucleus accumbens (NAc), striatum (STR), hippocampus (Hip) and substantia nigra (SN) was incubated in the absence (left lanes) or in the presence (right lanes) of reverse transcriptase. The reverse transcription products were coamplified with Homer 1a and β -actin primers (A); Homer 1b, Homer 1c and β -actin primers (B), respectively. Homer 1b and Homer 1c mRNAs were also amplified extensively for 32 cycles (C). A DNA standard lane is shown at the left of the gel with bands labeled in bp.

amplified products were observed when the reverse transcriptase step was omitted, the contamination by genomic DNA did not interfere with the signals of PCR products of Homer 1a, 1b or 1c cDNAs. Genomic DNA of Homer 1a was not contaminated to interfere with the signals of PCR products of β -actin, Homer 1b or Homer 1c because these cDNAs were amplified using the pair of primers derived from different exons of the genes.

Homer 1b and 1c mRNAs were amplified with an identical pair of primers and differed by 36 nucleotides. The levels of Homer 1b mRNA in the substantia nigra were significantly higher than those in the other brain regions ($F_{3,12}=254$, $P<0.001$). The ratios of Homer 1b mRNA levels to Homer 1c mRNA levels were as follows: the medial prefrontal cortex, 0.019 ± 0.003 ; nucleus accumbens, 0.018 ± 0.003 ; striatum, 0.020 ± 0.003 ; and substantia nigra, 0.395 ± 0.023 , respectively (Fig. 1C). The Homer 1b mRNA could be quantified only in the substantia nigra.

To determine the optimal amplifications, PCR was performed using different amounts of reverse-transcribed total RNA and different numbers of cycles. These results indicated that amplification was exponential between 18 and 24 cycles for β -actin mRNA. Amplification was also exponential

between 26 and 34 cycles for Homer 1a and 1c mRNAs. The PCR products were proportional to RNA input over a range of 5 to 50 ng total RNA for β -actin and Homer mRNAs. Thirty nanograms of reverse-transcribed RNA were amplified for 28 cycles for the quantitation of relative amount of the Homer mRNAs in the rat brain.

2.2. Effects of SKF38393 and quinpirole on Homer 1a mRNA levels in the discrete brain regions of rats

The D_1 -like receptor agonist SKF38393 (20 mg/kg) significantly increases Homer 1a mRNA levels in the striatum (+97% of saline control levels, $F_{3,33}=8.294$, $P<0.001$), nucleus accumbens (+61%, $F_{3,31}=3.03$, $P<0.05$), but not in the medial prefrontal cortex, hippocampus or substantia nigra as compared to saline controls 2 h after injection (Figs. 2 and 4). In contrast, the D_2 -like receptor agonist quinpirole (1 mg/kg) had no significant effect on the gene expression of Homer 1a in any brain regions examined. Co-administration of SKF38393 (20 mg/kg) and quinpirole (1 mg/kg) produced a significant increase in the striatum (+83%, $F_{3,33}=8.294$, $P<0.001$), nucleus accumbens (+59%, $F_{3,31}=3.03$, $P<0.05$) and hippocampus (+24%, $F_{3,36}=3.42$, $P<0.05$), but not in the medial prefrontal

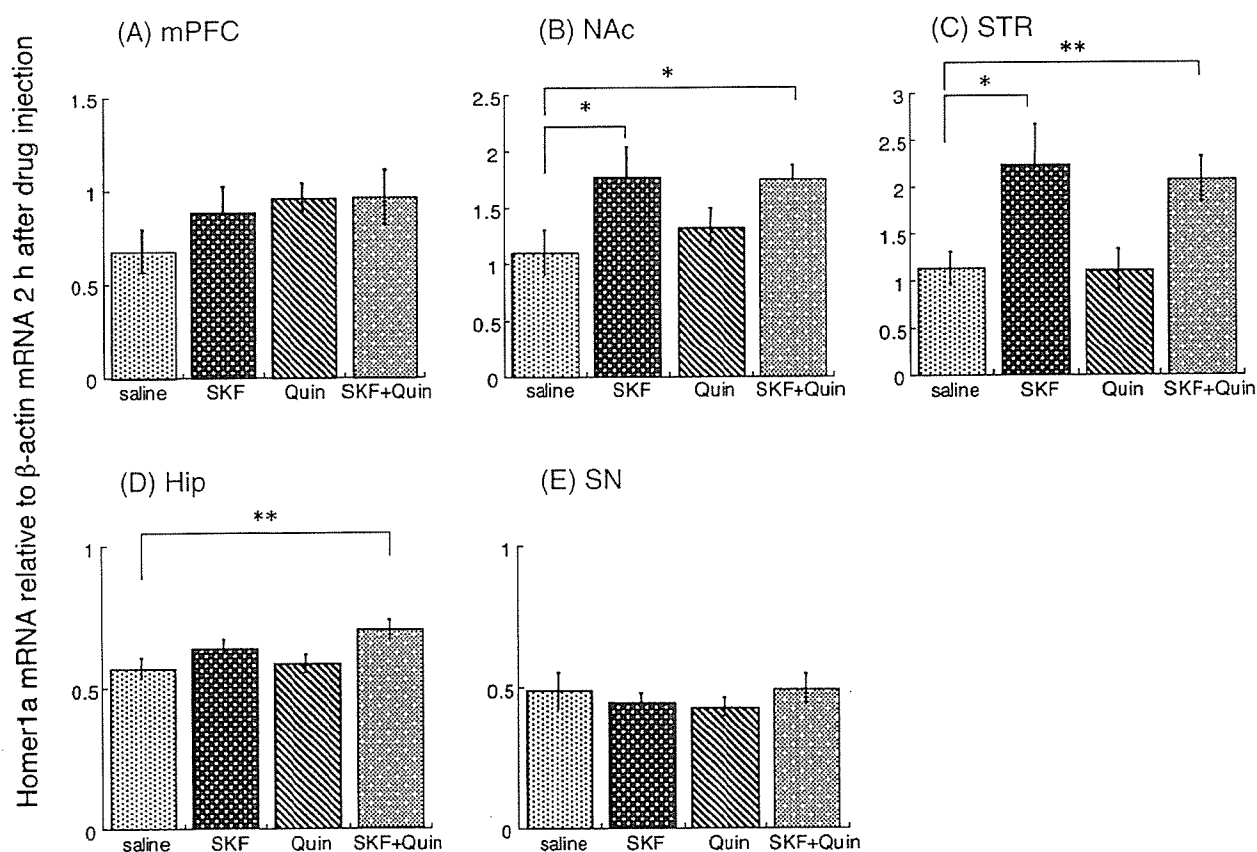


Fig. 2 – Effects of SKF38393 and quinpirole on regional Homer 1a mRNA levels. Homer 1a and β -actin cDNA were coamplified using 30 ng of total RNA for 32 and 20 cycles, respectively, in the five regions; (A) medial prefrontal cortex (mPFC); (B) nucleus accumbens (NAc); (C) striatum (STR); (D) hippocampus (Hip); (E) substantia nigra (SN). Rats were sacrificed 2 h after s.c. injection with SKF38393 (SKF; 20 mg/kg), quinpirole (Quin; 1 mg/kg), combination of SKF38393 and quinpirole (SKF + Quin; 20 mg/kg and 1 mg/kg, respectively) or saline. The values represent Homer 1a mRNA levels relative to β -actin mRNA levels (mean \pm SEM of 9–10 animals). * $P<0.05$ and ** $P<0.01$ were considered significant in this study using ANOVA followed by the Fisher's PLSD.

cortex or substantia nigra, compared to saline controls. This effect was not significantly greater than that of SKF38393 alone, while combination of both dopamine agonists, but not single treatment with either drug, significantly increased Homer 1a levels in the hippocampus.

Homer 1b mRNA levels could not be detected in the substantia nigra or other regions examined under the standard experimental condition (Figs. 1B and C). Homer 1c mRNAs were detected with homogeneous distribution in all the brain regions examined, while these were not affected by any drug treatment (Figs. 1B and C).

2.3. Effects of SKF38393 and quinpirole on *c-fos* mRNA levels in the discrete brain regions of rats

SKF38393 (20 mg/kg) significantly increased the level of *c-fos* mRNA in the striatum (+55%, $F_{3,36}=34.156$, $P<0.0001$), nucleus accumbens (+50%, $F_{3,36}=16.127$, $P<0.0001$), medial prefrontal cortex (+34%, $F_{3,36}=11.221$, $P<0.0001$), hippocampus (+55%, $F_{3,36}=30.076$, $P<0.0001$) and substantia nigra (+44%, $F_{3,36}=19.256$, $P<0.0001$) 1 h after injection, compared with saline controls (Figs. 3 and 4). Quinpirole (1 mg/kg) also significantly increased the level of *c-fos* mRNA in the nucleus

accumbens (+38%, $F_{3,36}=16.127$, $P<0.0001$), medial prefrontal cortex (+43%, $F_{3,36}=11.221$, $P<0.0001$), hippocampus (+21%, $F_{3,36}=30.076$, $P<0.0001$) and substantia nigra (+59%, $F_{3,36}=19.256$, $P<0.0001$), compared to saline controls. When administered alone, quinpirole (1 mg/kg) had no significant effect on *c-fos* mRNA levels in the striatum. However, combination of SKF38393 and quinpirole produced a greater increase in striatal *c-fos* mRNA levels (+88%, $F_{3,36}=34.156$, $P<0.0001$) than SKF38393 alone did 1 h after injection. Such a synergic effect of combination of both dopamine agonists on *c-fos* mRNA levels was also found in the nucleus accumbens (+78%, $F_{3,36}=16.127$, $P<0.0001$ versus SKF38393 treatment group) and substantia nigra (+107%, $F_{3,33}=19.256$, $P<0.0001$ versus SKF38393 or quinpirole treatment group) (Fig. 3). This synergism still remained in the striatum and substantia nigra 2 h after injection (Fig. 4).

3. Discussion

The major finding of this study is that the dopamine D_1 -like receptor agonist SKF38393, but not the D_2 -like receptor agonist quinpirole, increased Homer 1a mRNAs in the striatum and

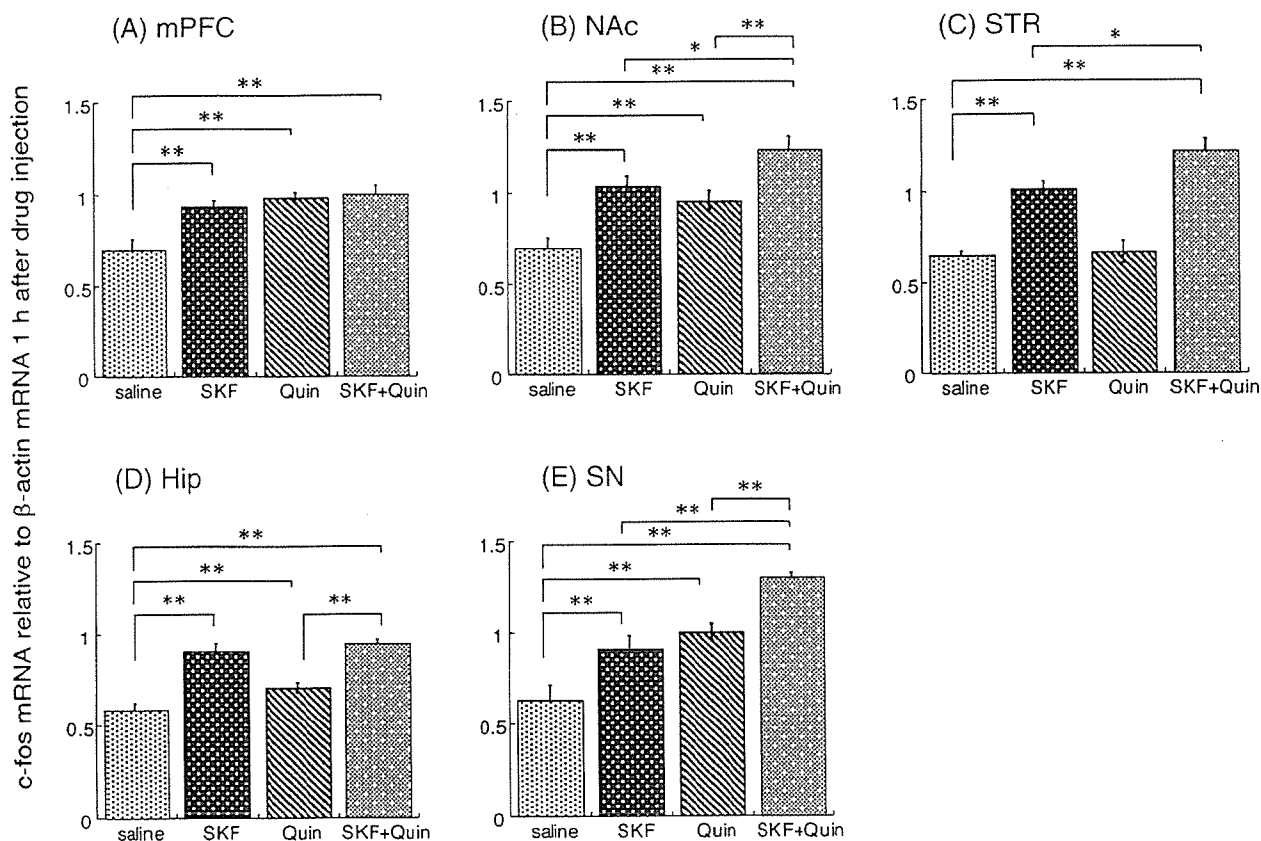


Fig. 3 – Effects of SKF38393 and quinpirole on regional *c-fos* mRNA levels. The IEG *c-fos* and β -actin cDNA were coamplified using 30 ng of total RNA for 30 and 20 cycles, respectively, in five regions; (A) medial prefrontal cortex (mPFC); (B) nucleus accumbens (NAc); (C) striatum (STR); (D) hippocampus (Hip); (E) substantia nigra (SN). Rats were sacrificed 1 h after s.c. injection with SKF38393 (SKF; 20 mg/kg), quinpirole (Quin; 1 mg/kg), combination of SKF38393 and quinpirole (SKF+Quin; 20 mg/kg and 1 mg/kg, respectively) or saline. The values represent *c-fos* mRNA levels relative to β -actin mRNA levels (mean \pm SEM of 9–10 animals). * $P<0.05$ and ** $P<0.01$ were considered significant in this study using ANOVA followed by the Fisher's PLSD.