

秒、黒領域に 838 ± 27 秒滞在した。よって薬剤によるコンディショニングは白領域で行った。3 日目はギロチンドアを取り付け、メタンフェタミン 5 mg/kg または MDMA 5 mg/kg を投与して白領域に 30 分間閉じ込めた。4 日目は生理食塩水を投与して 30 分間黒領域に閉じ込めた。どのマウスも 4 日間の薬物投与と 4 日間の生理食塩水投与によってコンディショニングを行った。11 日目に生理食塩水を投与して、ギロチンドアを取り除いた測定箱に入れて、コンディショニング後の測定を 20 分間行った。Preference score はコンディショニング後に白に滞在した時間からコンディショニング前に白に滞在した時間を引いて計算した。

3 Fos 免疫染色

(1) 切片作成および染色方法

メタンフェタミン 1 mg/kg または MDMA 5 mg/kg を投与して 2 時間後に断頭し、開頭して脳を取り出し、前脳を標本台にのせて接着し、粉末化したドライアイスで直ちに凍結した。10 μ m の水平断面切片を -12°C に冷却したクライオスタットで作成し、シランコートスライドガラスに貼り付けた。扇風機を用いて 1 時間風乾し、スライドガラスを -80°C の冷凍庫に保存した。

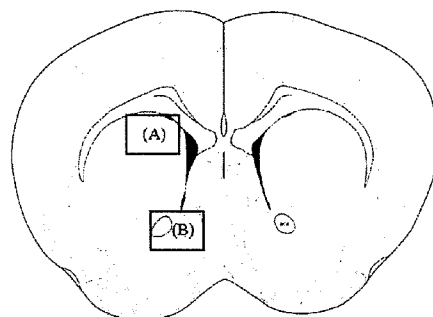
免疫染色は以下に示す方法で行った。脳切片を 4% paraformaldehyde solution in phosphate-buffered saline (PBS; pH 7.4) で 20 分間固定した。PBS で洗浄後、内因性ペルオキシダーゼを 0.3% H_2O_2 含有メタノールでブロックし、その後ウサギ血清で非特異的結合をブロックした。脳切片を一次抗体であるウサギ抗 c-Fos 抗体 (Ab-2, CALBIOCHEM, Germany) と常温で一晩反応させた。翌日、切片を PBS で洗浄し、二次抗体であるヤギ抗ウサギ抗体と 1 時間反応させ、洗浄後 Vector 社製 ABC キット (Vectastain ABC Elite Kit; Vector Laboratories,

burlingame, CA, USA) を用いて反応を増幅した。洗浄後、抗体ペルオキシダーゼ複合体を可視化するために 0.05%

3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB; Sigma), 3% H_2O_2 溶液に 5 分間浸漬した。滅菌蒸留水で反応を停止し、アルコールで脱水後、キシレンで透徹した。

(2) 細胞カウント

デジタルカメラ (Olympus, Tokyo, Japan) を用いて 100 倍の拡大写真を撮影した。Fos 陽性細胞はグループ分けについてあらかじめ分からないようにして、下図に示した領域内 (1.05 mm^2) の細胞数をカウントした。カウントは少なくとも 50 μm 離れた 5 枚の切片を数えて平均値を算出した。



図は Paxinos and Watson (1997) から引用した。断面は bregma から 1.18 mm 前方である。(A) は caudate putamen、(B) は nucleus accumbens である。aca; anterior commissure, anterior part.

4 薬剤

メタンフェタミン (大日本製薬) : 運動量の測定には 1 mg/kg を用い、CPP の測定には 5 mg/kg を用いた。

3,4-methylenedioxymethamphetamine (岐阜薬大

岩村博士より供与)：運動量、CPP の測定とも、5 mg/kg を使用した。

メタンフェタミン投与後の運動量の測定に 1 mg/kg を用いた理由は 5 mg/kg を投与すると常同行動が惹起されて正確な運動量が測定できなかったからである。

5 統計処理

運動量の検定は Two-way ANOVA によって、両群間に交互作用が存在するかどうかを調べた。両群間の運動量の比較については、運動量変化グラフの Area under the curve を計算し、student's *t*-test で検定した。運動量の sensitization についての検定は Repeated measures ANOVA の後に Dunnett's test で検定し、day 7 の運動量が day 1 の運動量より有意に増加した場合に sensitization が形成されたと判断した。

CPP の結果については、two-way ANOVA を用いて交互作用が存在するかどうかを確認した。Pre-conditioning と post-conditioning の比較は paired-sample *t*-test で行った。Preference score の検定は student's *t*-test で行った。

c-Fos 陽性細胞数の比較は student's *t*-test を用いて検定した。すべてのデータは平均 ± S.E.M. で表示し、 $p < 0.05$ を統計学的有意とした。

C. 結果

1 運動量

(1) メタンフェタミン

生理食塩水投与後の運動量にヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスで差はなかった ($P = 0.313$, Fig. 1)。Two-way ANOVA による検定の結果、両群間に交互作用が存在した ($F = 3.84$, $P = 0.013$)。Sensitization 形成については、repeated measures

ANOVA の後に Dunnett's test で検定した結果 (KO マウス: $F = 31.6$, $P < 0.001$; 野生型マウス: $F = 3.92$, $P = 0.035$)、ヒスタミン H3KO マウスおよび野生型マウス双方とも day 4 および day 7 において、day 1 より有意に運動量が増加し sensitization が形成された (KO マウス: day 4, $P < 0.001$, day 7, $P < 0.001$; 野生型マウス: day 4, $P < 0.001$, day 7, $P < 0.001$)。運動量変化グラフの Area under the curve を計算し、student's *t*-test で検定した結果、day 1 において KO マウスの運動量は野生型マウスの運動量より有意に低かったが ($P = 0.045$)、day 4 および day 7 では両群間の運動量に有意差は無かった (day 4, $P = 0.202$; day 7, $P = 0.170$)。

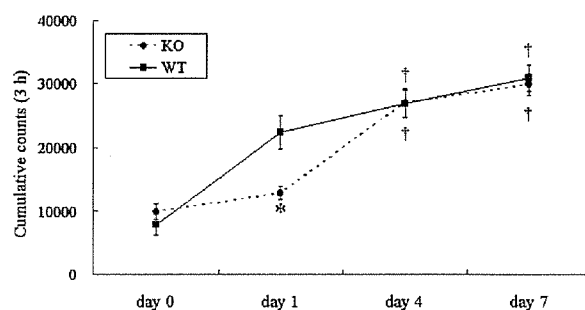


Fig. 1 メタンフェタミン投与後の運動量の変化

メタンフェタミン投与後3時間の積算運動量を示す。Day 0 は生理食塩水を投与し、day 1 から day 7 まではメタンフェタミンを連日投与した。データは平均 ± S.E.M. で表示した ($n = 12$)。

*運動量の差については、運動量変化グラフの Area under the curve を計算し、student's *t*-test で検定した結果、野生型マウスより有意に少ないことを示す ($p < 0.05$)。

†Repeated measures ANOVA の後に Dunnett's test で検定した結果、day 1 より有意に増加し sensitization が形成されたことを示す ($p < 0.05$)。

(2) MDMA

生理食塩水投与後の運動量にヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスで差はなかった ($P = 0.931$,

Fig. 2)。Two-way ANOVA による検定の結果、両群間に交互作用は存在しなかった ($F = 1.851$, $P = 0.146$)。Sensitization 形成については、Repeated measures ANOVA の後に Dunnett's test で検定した結果 (KO マウス: $F = 6.969$, $P = 0.005$; 野生型マウス: $F = 4.746$, $P = 0.019$)、ヒスタミン H3KO マウスでは day 4 および day 7 に、野生型マウスでは day 7 において day 1 より有意に運動量が増加し sensitization が形成された (KO マウス: day 4, $P = 0.016$, day 7, $P = 0.004$; 野生型マウス: day 4, $P = 0.675$, day 7, $P = 0.013$)。運動量変化グラフの Area under the curve を計算し、student's t-test で検定した結果、day 1 および day 4 においては両群間の運動量に有意差は無かったが (day 1, $P = 0.121$; day 4, $P = 0.136$)、day 7 では KO マウスの運動量は野生型マウスの運動量より有意に低かった ($P = 0.016$)。

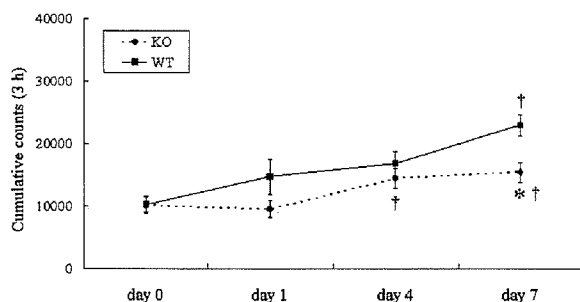


Fig. 2 MDMA 投与後の運動量の変化

MDMA 投与後 3 時間の積算運動量を示す。Day 0 は生理食塩水を投与し、day 1 から day 7 までは MDMA を連日投与した。データは平均 $\pm$ S.E.M.で表示した ($n = 12$)。

*運動量の差については、運動量変化グラフの Area under the curve を計算し、student's t-test で検定した結果、野生型マウスより有意に少ないことを示す ($p < 0.05$)。

†Repeated measures ANOVA の後に Dunnett's test で検定した結果、day 1 より有意に増加し sensitization が形成されたことを示す ($p < 0.05$)。

2 Conditioned place preference

(1) メタンフェタミン

ヒスタミン H3KO マウス、野生型マウスともコンディショニング後の値はコンディショニング前の値より有意に増加した (H3KO マウス, $P < 0.001$; 野生型マウス, $P = 0.001$, Fig. 3)。Two-way ANOVA による検定の結果、ヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスの間には交互作用は存在しなかった ($F = 0.805$, $P = 0.381$)。Preference score の値もヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスの間で有意差は無かった ($P = 0.344$, Fig. 4)。

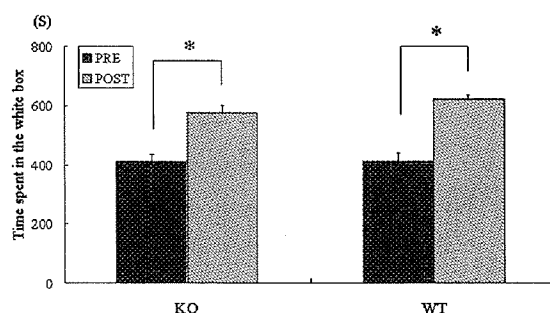


Fig. 3 メタンフェタミン投与前後の変化

メタンフェタミン (5 mg/kg、腹腔内投与) によるコンディショニング前後の白領域滞在時間を示す。データは平均 $\pm$ S.E.M. で表示した ($n = 10$)。ヒスタミン H3KO マウス、野生型マウスともコンディショニング後に有意に滞在時間が増加した。*paired sample t-test で検定した結果、コンディショニング後に白に滞在した時間が有意に増加したことを示す。

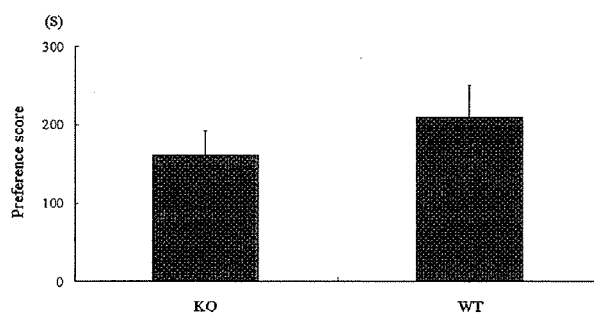


Fig. 4 Preference score

メタンフェタミン (5 mg/kg、腹腔内投与) による

Preference score を示す。データは平均 $\pm$ S.E.M. で表示した ($n=10$)。両群に有意差は無かった。

(2) MDMA

ヒスタミン H3KO マウス、野生型マウスともコンディショニング後の値はコンディショニング前の値より有意に増加した (H3KO マウス, $P=0.016$; 野生型マウス, $P=0.011$, Fig. 5)。Two-way ANOVA による検定の結果、ヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスの間には交互作用は存在しなかった ($F=0.945$, $P=0.344$)。Preference score の値もヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスの間で有意差は無かった ($P=0.344$, Fig. 6)。

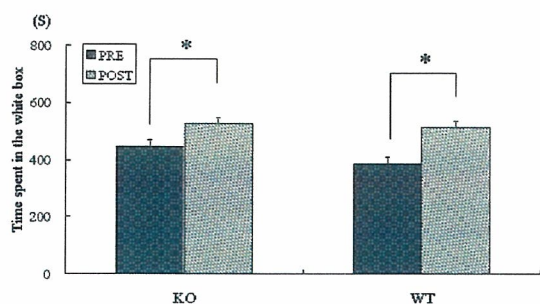


Fig. 5 MDMA 投与前後の変化

MDMA (5 mg/kg、腹腔内投与) によるコンディショニング前後の白領域滞在時間を示す。データは平均 $\pm$ S.E.M.で表示した ($n=10$)。ヒスタミン H3KO マウス、野生型マウスともコンディショニング後に有意に滞在時間が増加した。*paired sample t -test で検定した結果、コンディショニング後に白に滞在した時間が有意に増加したことを示す。

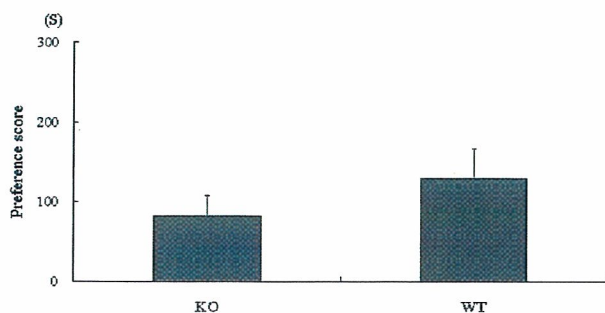


Fig. 6 Preference score

MDMA (5 mg/kg、腹腔内投与) による Preference score を示す。データは平均 $\pm$ S.E.M. で表示した ($n=10$)。両群に有意差は無かった。

3 Fos カウント

(1) メタンフェタミン

Caudate putamen において、ヒスタミン H3KO マウスの方が野生型マウスより Fos 陽性細胞の数は少なかった ($P=0.001$, Fig. 7, 8)。Nucleus accumbens においては、両群間に有意差は無かった ($P=0.294$, 図省略)。

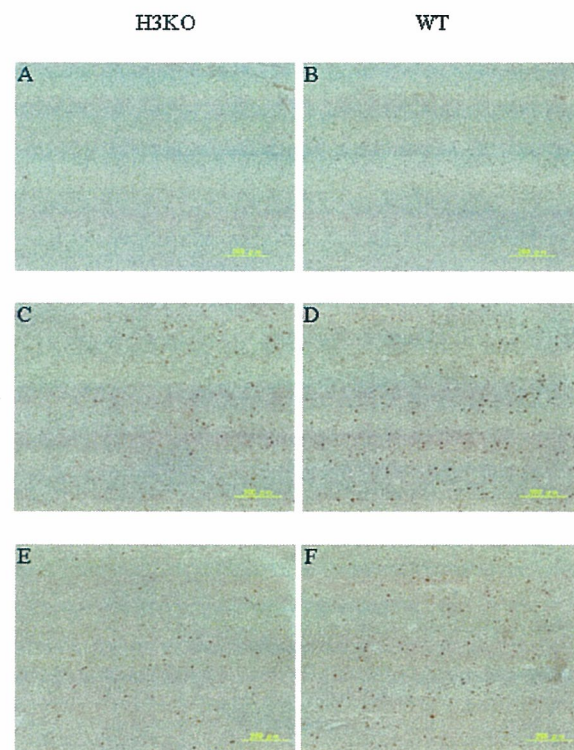


Fig. 7 メタンフェタミン投与後の c-Fos 顕微鏡写真

Caudate putamen における Fos 陽性細胞の代表的顕微鏡写真 ($\times 100$) を示す。A、C、E はヒスタミン H3KO マウス、B、D、F は野生型マウスである。A と B は生理食塩水、C と D はメタンフェタミン投与後、E と F は MDMA 投与後の写真である。

Scale bar = 200 μ m

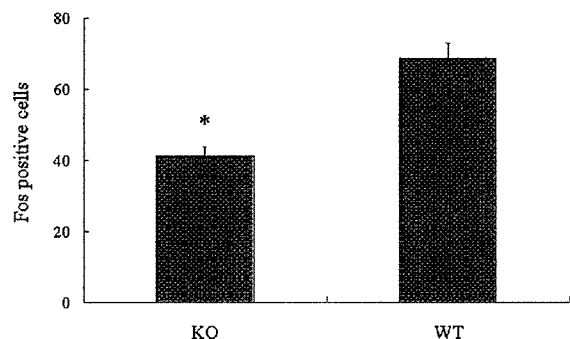


Fig. 8 メタンフェタミン投与後の c-Fos 陽性細胞数

メタンフェタミン投与後の Caudate putamen における Fos 陽性細胞数を示す。データは平均 $\pm$ S.E.M.で表示した ($n = 5$)。*Student t -test で検定した結果、野生型マウスより有意に少ないことを示す。

(2) MDMA

Caudate putamen において、ヒスタミン H3KO マウスの方が野生型マウスより Fos 陽性細胞の数は少ない傾向を示した ($P = 0.082$, Fig. 7, 9)。Nucleus accumbens においては、両群間に有意差は無かった ($P = 0.444$, 図省略)。

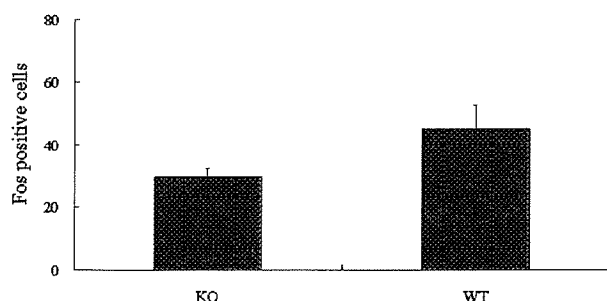


Fig. 9 MDMA 投与後の c-Fos 陽性細胞数
MDMA 投与後の Caudate putamen における Fos 陽

性細胞数を示す。データは平均 $\pm$ S.E.M.で表示した ($n = 5$)。 $p = 0.082$ であり、ヒスタミン H3KO マウスは野生型マウスより少ない傾向を示した。

D. 考察

本研究で分かったことは、メタンフェタミンによって惹起される過剰運動は急性投与の場合だけ、ヒスタミン H3KO マウスの方が野生型マウスより少ないことである。これは過去の薬理学研究⁹⁾やヒスタミン H3KO マウスの characterization を報告した研究¹³⁾と一致している。しかし、慢性投与後の運動量や CPP の preference score はヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスの間で有意差は無かった。これらのデータはヒスタミン H3 受容体の欠損は急性投与後の運動量には影響を及ぼすが、慢性投与後の逆耐性や CPP には影響を及ぼさない可能性があることを示している。一方、MDMA 投与では CPP の preference score には差が無いものの、慢性投与後の運動量はヒスタミン H3KO マウスの方が野生型マウスより少ないことがわかった。

ヒスタミン H3 受容体は自己受容体としてヒスタミン自身の遊離を抑制するだけでなく¹⁾、ヘテロ受容体としてドパミン³⁾、セロトニン⁴⁻⁶⁾、GABA⁷⁾、グルタミン酸⁸⁾など他の神経伝達物質の遊離も抑制することが報告されている。生体内においてヘテロ受容体としての作用が優位であると仮定すると、ヒスタミン H3 受容体が欠損することでドパミンの遊離に抑制がかからず、メタンフェタミンによる運動量は増加すると考えられる。しかし今回の実験ではヒスタミン H3KO マウスのメタンフェタミン急性投与後の運動量は野生型と比較して有意に低かった。ヘテロ受容体の欠損による影響が優位であるとするならば説明がつかない。よってヒスタミン H3KO マウスの生体内では自己受容体の欠損による影響が大き

いと考えられ、ヒスタミンの遊離に抑制がかからないためヒスタミンの遊離が亢進し、メタンフェタミン急性投与によって惹起される過剰運動が抑制されたのではないだろうか。過去の報告ではヒスタミン H1/H2 ダブル KO マウスや HDC KO マウスでメタンフェタミン投与後の過剰運動や逆耐性形成が促進されることが報告されている^{14, 15)}。ヒスタミン神経系は GABA ニューロンまたはグリア細胞上にあるヒスタミン H1/H2 受容体を介してドパミン神経に対して抑制的に作用すると考えられている。ヒスタミン神経系のシグナルが遮断される、あるいは伝達物質である脳内ヒスタミンが減少するとドパミン神経系を介した行動が増強されると考えられる。しかし今回の実験で、慢性投与後の運動量はヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスの間で有意差は無かったことから、逆耐性を抑制する作用は無い可能性が考えられる。よって中枢ヒスタミン神経はメタンフェタミンの急性の運動効果に対しては抑制作用を示すが、逆耐性すなわち慢性効果に対しては抑制作用を示さないのではないかと考えられた。

なぜ急性投与時だけ、ヒスタミン H3KO マウスでメタンフェタミン投与後の過剰運動が抑制されたのだろうか？ このメカニズムを考える前に、メタンフェタミン投与によって惹起される過剰運動のメカニズムを明らかにする必要がある。そのメカニズムは以下の様に説明されている。メタンフェタミンは caudate putamen でドパミン神経の神経終末からドパミンの遊離を促進する。Caudate putamen に存在するニューロンの 90～95%は GABA 作動性ニューロンであることが分かっており¹⁶⁾、およそ半分にドパミン D1 受容体が発現しドパミンが結合すると GABA の遊離が促進され (direct pathway)、残りの半分にはドパミン D2 受容体が発現しドパミンが結合すると GABA の遊離が抑制される (indirect pathway)。ドパミン D1 受容体と D2 受容体はシナプスでの働

きは逆だが、最終的にはどちらの経路も globus pallidus による視床皮質路の抑制を減少させるため運動を促進すると考えられている¹⁷⁾。

ドパミン神経の投射先は Cortex, Caudate putamen, Nucleus accumbens であり、セロトニン神経の投射先は Cortex, Basal ganglia, Hippocampus, Hypothalamus である。これらの脳部位の中で、Basal ganglia は動物の運動を制御するうえで重要な役割をはたしており、メタンフェタミンおよび MDMA 投与によって c-Fos タンパク質の発現が増加することが報告されている¹⁸⁻²⁰⁾。c-Fos タンパク質は神経細胞活性化のマーカーとして広く受け入れられており²¹⁾、Fig. 10 に示したようにヒスタミン神経がグリア細胞または GABA interneuron を介してドパミン神経およびセロトニン神経に抑制的に作用するのであれば Basal ganglia での c-Fos タンパク質の発現に変化がみられるのではないかと考えた。本研究の結果からヒスタミン H3KO マウスの c-Fos タンパク質の発現は野生型マウスより少ないことが分かった (Fig. 7, 8)。過去の研究から、caudate putamen における c-Fos タンパク質の発現はドパミン D1 受容体作動薬によって惹起されることがわかっている¹⁸⁾。Caudate putamen において、ドパミン D1 受容体の活性化は direct pathway での GABA 遊離を促進する。今回の組織化学的データはヒスタミン H3KO マウスではドパミン D1 受容体を介した GABA 遊離が抑制されている可能性を示唆している。ヒスタミン H3 受容体は basal ganglia、特に caudate putamen、globus pallidus、reticular part of the substantia nigra に多く発現しているが²²⁾、これらは運動機能と関連している部位である。よって、ヒスタミン H3KO マウスでは caudate putamen に存在する GABA ニューロンによる神経伝達が減少したため、視床に対して強い抑制をかけている globus pallidus に対する抑制が减弱した結果、視床皮質路への抑制が強くなり、運動量が減少したのではないかと推測

された。正確なメカニズムは不明であるが、中枢ヒスタミン神経は運動機能の調節に重要な役割を果たしている可能性があると考えられた。

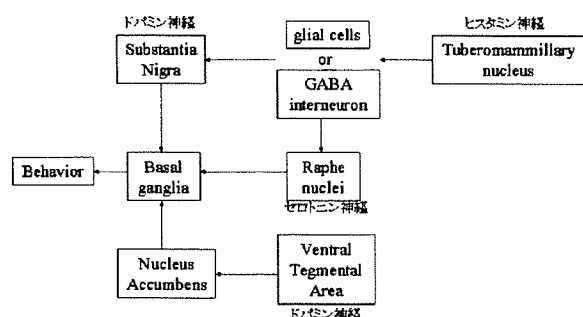


Fig. 10 神経ネットワークの仮説

ヒスタミン神経系はグリア細胞または GABA 神経を介してドパミン神経やセロトニン神経系に対して抑制的に作用しているのではないかと推測されている。

CPP 実験においてヒスタミン H3KO マウスも野生型マウスもメタンフェタミンに対する嗜好性を示し、またコンディショニング後の値が両群で有意差は無かった。これはメタンフェタミンによる報酬効果に対してヒスタミン H3 受容体の欠損が何ら影響を与えなかったことを示している。また今回の組織化学的データでは、nucleus accumbens における c-Fos タンパク質の発現は、ヒスタミン H3KO マウスと野生型マウスに有意差が無かった。過去の薬理学実験によると、ヒスタミン H3 受容体拮抗薬であるチオペラマイドはラットにおいてメタンフェタミンの自己投与を増強する^{10, 11)}、あるいはマウスにおいてコカインの報酬効果を増強する¹²⁾と報告されている。ところが、イミダゾール基を持つチオペラマイドは薬物代謝酵素である cytochrome P450 に対して抑制作用を持つ可能性が示唆されており²³⁾、チオペラマイドとメタンフェタミンとの間には薬物相互作用が存在する可能性も否定できない。これについては今後さらなる検討が必要であると考えられ

る。

MDMA を用いた実験では、CPP の preference score に両群間で有意差は無かったものの、運動量の逆耐性形成はヒスタミン H3KO マウスで抑制されることが分かった。MDMA はドパミンも遊離させるが、主としてセロトニンの遊離を促進することが分かっている²⁴⁾。これらのデータから、中枢ヒスタミン神経はセロトニン神経に対する抑制作用を持つ可能性が示唆された。過去にヒスタミン H3 受容体拮抗薬が MDMA によって惹起される行動に対する影響を調べた報告はなく、今後さらなる研究が必要であると考えられた。

まとめると、中枢ヒスタミン神経にはメタンフェタミンによって惹起される急性の運動効果に対しては抑制作用を示すが、慢性効果に対しては抑制作用を示さないことがわかった。このことから、中枢ヒスタミン神経がドパミン神経に対して抑制的に作用する可能性はあるが、従来考えられてきたことよりも弱く、急性の運動効果に限定される可能性が示唆された。一方で、MDMA の慢性投与によって惹起される運動量の逆耐性現象に対して、中枢ヒスタミン神経が抑制的に作用する可能性が示唆され、中枢ヒスタミン神経がドパミン神経よりセロトニン神経に対して抑制作用を持つ可能性が考えられた。しかし、遺伝子改変マウスには欠損による未知の代償機構が働いている可能性も否定できないため、今後さらに研究を進めていく必要があると考えられた。

E. 結論

中枢ヒスタミン神経の抑制作用についてヒスタミン H3 受容体欠損マウスを用いて検討した。逆耐性や依存形成に対する抑制作用は従来考えられてきたよりも弱い可能性が考えられる。しかし、不明な点がたくさんあることから、更なる研究が必要であると考えられた。

[参考文献]

- 1) Arrang, J.M., Garbarg, M., Schwartz, J.C.: Auto-inhibition of brain histamine release mediated by a novel class (H3) of histamine receptor. *Nature* 302: 832-837, 1983.
- 2) Brown, R.E., Stevens, D.R., Haas, H.L.: The physiology of brain histamine. *Prog. Neurobiol.* 63: 637-672, 2001.
- 3) Schlicker, E., Fink, K., Detzner, M., et al.: Histamine inhibits dopamine release in the mouse striatum via presynaptic H3 receptors. *J. Neural. Transm. Gen. Sect.* 93: 1-10, 1993.
- 4) Schlicker, E., Betz, R., Gothert, M.: Histamine H3 receptor-mediated inhibition of serotonin release in the rat brain cortex. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.* 337: 588-590, 1988.
- 5) Fink, K., Schlicker, E., Neise, A., et al.: Involvement of presynaptic H3 receptors in the inhibitory effect of histamine on serotonin release in the brain cortex. *Naunyn. Schmiedeberg's. Arch. Pharmacol.* 342: 513-519, 1990.
- 6) Threlfell, S., Cragg, S.J., Kallo, I., et al.: Histamine H3 receptors inhibit serotonin release in substantia nigra pars reticulata. *J. Neurosci.* 24: 8704-8710, 2004.
- 7) Garcia, M., Floran, B., Arias-Montano, J.A., et al.: Histamine H3 receptor activation selectively inhibits dopamine D1 receptor-dependent [3H]GABA release from depolarization-stimulated slices of rat substantia nigra pars reticulata. *Neuroscience* 80: 241-249, 1997.
- 8) Brown, R.E., Haas, H.L.: On the mechanism of histaminergic inhibition of glutamate release in the rat dentate gyrus. *J. Physiol.* 515: 777-786, 1999.
- 9) Clapham, J. Kilpatrick, G.J.: Thioperamide, the selective histamine H3 receptor antagonist, attenuates stimulant-induced locomotor activity in the mouse. *Eur. J. Pharmacol.* 259: 107-114, 1994.
- 10) Munzar, P., Nosal, R., Goldberg, S.R.: Potentiation of the discriminative-stimulus effects of methamphetamine by the histamine H3 receptor antagonist thioperamide in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 363: 93-101, 1998.
- 11) Munzar, P., Tanda, G., Justinova, Z., et al.: Histamine H3 receptor antagonists potentiate methamphetamine self-administration and methamphetamine-induced accumbal dopamine release. *Neuropsychopharmacology* 29: 705-717, 2004.
- 12) Brabant, C., Charlier, Y., Quertemont, E., et al.: The H3 antagonist thioperamide reveals conditioned preference for a context associated with an inactive small dose of cocaine in C57BL/6J mice. *Behav. Brain Res.* 160: 161-168, 2005.
- 13) Toyota, H., Dugovic, C., Koehl, M., et al.: Behavioral characterization of mice lacking histamine H3 receptors. *Mol. Pharmacol.* 62: 89-397, 2002.
- 14) Kubota, Y., Ito, C., Sakurai, E., et al.: Increased methamphetamine-induced locomotor activity and behavioral sensitization in histamine-deficient mice. *J. Neurochem.* 83: 837-845, 2002.
- 15) Iwabuchi, K., Kubota, Y., Ito, C., et al.: Methamphetamine and brain histamine: a study using histamine-related gene knockout mice. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1025: 129-134, 2004.
- 16) Kemp, J.M., Powell, T.P.: The structure of the caudate nucleus of the cat: light and electron microscopy. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 262: 383-401, 1971.
- 17) DeLong, M.R.: The basal ganglia. In: *Principles*

- of neural science. 4th ed (Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M., ed), pp 853-867, McGraw-Hill, USA, 2000.
- 18) Graybiel, A.M., Moratalla, R., Robertson, H.A.: Amphetamine and cocaine induce drug-specific activation of the c-fos gene in striosome-matrix compartment and limbic subdivisions of the striatum. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 6912-6916, 1990.
 - 19) Wirtshafter, D.: A comparison of the patterns of striatal Fos-like immunoreactivity induced by various dopamine agonists in rats. *Neurosci. Lett.* 289: 99-102, 2000.
 - 20) Stephenson, C.P., Hunt, G.E., Topple, A.N., et al.: The distribution of 3,4-methylenedioxymethamphetamine "Ecstasy"-induced c-Fos expression in rat brain. *Neuroscience* 92: 1011-1023, 1999.
 - 21) Hughes, P., Dragunow, M.: Induction of immediate-early gene and the control of neurotransmitter-regulated gene expression within the nervous system. *Pharmacol. Rev.* 47: 133-178, 1995.
 - 22) Pillot, C., Heron, A., Cochois, V., et al.: A detailed mapping of the histamine H3 receptor and its transcripts in rat brain. *Neuroscience* 114: 173-193, 2002.
 - 23) Zang, M., Ballard, M.E., Pan, L., et al.: Lack of cataleptogenic potentiation with non-imidazole H3 receptor antagonists reveals potential drug-drug interactions between imidazole-based H3 receptor antagonists and antipsychotic drugs. *Brain Res.* 1045: 142-149, 2005.
 - 24) Green, A.R., Mehan, A.O., Elliott, J.M., et al.: The pharmacology and clinical pharmacology of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "Ecstasy"). *Pharmacol. Rev.* 55: 463-508, 2003.
- F.
1. 論文発表
 1. Okuda, T., Okamura, N., Xu, A.J., Kato, M., Yanai, K. Effects of histamine H3 receptors deficiency on methamphetamine- and 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced sensitization of locomotion and reward in mice. 現在投稿中
 2. Dai H, Kaneko K, Kato H, Fujii S, Jing Y, Sakurai E, Kato M, Okamura N, Kuramasu A, Yanai K. Selective cognitive dysfunction in mice lacking histamine H1 and H2 receptors. *Neuroscience Research.* ;57(2):306-13. (2007)
 3. Ishiwata K, Kawamura K, Yanai K, Hendrikse H.N. In Vivo Evaluation of P-Glycoprotein Modulation of 8 PET Radioligands Used Clinically. *J Nucl Med* 48:81-87 (2007)
 4. Sakurai E, Sakurai E, Orelund L, Nishiyama S, Kato M, Watanabe T, and K. Yanai. Evidence for the presence of histamine uptake into the synaptosomes of rat brain. *Pharmacology* 78(2):72-80 (2006)
 5. Mobarakeh J I, Takahashi K, Sakurada S, Kuramasu A, Yanai K. Enhanced antinociceptive effects of morphine in histamine H2 receptor gene knockout mice. *Neuropharmacology* 51(3): 612-22 (2006).
 6. Owada Y, Abdelwahab S A, Kitanaka N, Sakagami H, Takano H, Sugitani Y, Sugawara M, Kawashima H, Kiso Y, Mobarakeh J I, Yanai K, Kaneko K, Sasaki H, Kato H, Saino-Saito S, Matsumoto N, Akaike N, Noda T, and Kondo, Altered emotional behavioral responses in mice lacking brain-type fatty acid-binding protein gene. *Eur. J. Neurosci.* 24(1):175-87 (2006).

7. Yanai K, Tashiro M. The physiological and pathophysiological roles of neuronal histamine: An insight from human PET studies. *Pharmacology & Therapeutics* 113: 1-15 (2007)
 8. Maeyama K, Yanai K. Recent advances in molecular pharmacology of the histamine system: preface. *J Pharmacol Sci.* 101(1):1-2 (2006)
 9. Kuramasu A, Sukegawa J, Yanagisawa, Yanai K, T, Recent advances in molecular pharmacology of the histamine systems: roles of C-terminal tails of histamine receptors. *J Pharmacol Sci.* 2006; 101(1):7-11.
 10. Seeman P, Schwarz J, Chen JF, Szechtman H, Perreault M, McKnight GS, Roder JC, Quirion R, Boksa P, Srivastava LK, Yanai K, Weinshenker D, Sumiyoshi T. Psychosis pathways converge via D2 (High) dopamine receptors. *Synapse* 60(4):319-346 (2006)
 11. Ennis M, Masini E, Sturman G, Yanai K. Honorary membership of the European Histamine Research Society (EHRS). *Inflamm Res.* 2006 Apr;55(Supplement 1):S03-S04.
 12. Jia F, Kato M, Dai H, AJ Xu, T. Okuda, E. Sakurai, N. Okamura, T. W. Lovenberg, A. Barbier, N. I. Carruthers, K. Iinuma, K. Yanai. Effects of Histamine H3 antagonists and Donepezil on Learning and Mnemonic Deficits Induced by Pentylene-tetrazol Kindling in Weanling Mice. *Neuropharmacology*, 50(4):404-411 2006.
 13. 谷内一彦、加藤元久 抗アレルギー薬、抗精神病薬、抗うつ薬のヒスタミン H1 拮抗作用と認知機能 脳 21 解説「脳とくすり」 10(1): 85-90 (2007)
 14. 奥田友宏、谷内一彦 脳内ヒスタミン *Clinical Neuroscience* 24(8), 848-849 (2006)
 15. 岡村信行、谷内一彦 アルツハイマー病の β アミロイドメーキング 特集「分子イメーキングと認知症」 *Cognition and Dementia* 5(3): 192-198 (2006)
 16. 奥田友宏、谷内一彦 ストレスと覚醒剤依存形成 医学のあゆみ 271, 1161-1166 (2006)
 17. 望月秀紀、谷内一彦 痒みに関する脳機能イメーキング研究の展開 日薬理誌 127, 147 ~150 (2006)
2. 学会発表
 1. 櫻井映子、賈飛勇、代紅梅、覚せい剤とストレスによる精神障害発現におけるヒスタミン H1 受容体の役割、第 10 回日本ヒスタミン研究会(岡山)、平成 18 年 12 月 15-16 日
 2. Hongmei Dai, Kazuhiko Yanai, The roles of histamine receptors on cognition: a study of H1 and H2 receptors knockout mice. The Society for Neuroscience 2006, Annual Meeting, Atlanta, GA. 平成 18 年 10 月 13-19 日
 3. Eiko Sakurai, Feiyong Jia, Hongmei Dai, Effect of H1 receptors blockage on social isolation-induced behavioral changes, 第 49 回日本神経化学会(名古屋)、平成 18 年 9 月 14-16 日
 4. 奥田友宏、岡村信行、徐阿晶他、ヒスタミン H3 受容体欠損が逆耐性や報酬効果に及ぼす影響、第 57 回日本薬理学会北部会(弘前)、平成 18 年 9 月 14-15 日
 5. 代紅梅、谷内一彦 ヒスタミン神経系と認知機能: H1 受容体遺伝子欠損マウスを用いて、第 29 回日本神経科学会(京都)、平成 18 年 7 月 19-21 日
 6. Hongmei Dai, Kenya Kaneko, Hiroshi Kato, Histaminergic neuron and cognition: A study of H1 receptor mutant mice The 15th World Congress of Pharmacology, Beijing, China, 平成 18 年 7 月 2 -

7 日

7. 奥田友宏、岡村信行、代紅梅他、逆耐性や報酬効果におけるヒスタミン H3 受容体の役割、横浜、第 79 回日本薬理学会総会、3.8-10、2006

G. 知的財産権の出願

なし

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¹

研究協力者：朴英善¹，伊藤美紀¹，小原可久¹，阿部裕美¹，花尻瑠理²，合田幸広²

（¹東北大学大学院医学系研究科精神・神経生物学分野，²国立医薬品食品衛生研究所生薬部）

[研究要旨]

最近、我が国での乱用が増加しているメチロン(2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxy-phenyl]propan-1-one)は、3,4-methylenedioxy-methamphetamine(MDMA)のベンジル位がケトン基に修飾された薬物である。メチロンのモノアミン神経伝達系を介した神経毒性の機序を解明するため、野生型とモノアミントランスポーターのノックアウト(KO)マウスを用いて体温変化と神経毒性を検討した。

野生型マウスにおけるメチロンのLD₅₀は56.3mg/kgと算出され、メタンフェタミン(MAP)のLD₅₀(72.7 mg/kg)、MDMAのLD₅₀(86.8 mg/kg)と比較して低値であった。メチロン(60mg/kg)の投与により、野生型マウスではMAP、MDMAと同程度の体温上昇が観察された。野生型マウスに選択的D1受容体遮断薬SCH 23390または選択的D2受容体遮断薬racloprideを前投与することによりメチロン(60mg/kg)投与による体温上昇が抑制される傾向が認められた。メチロン60mg/kg投与による野生型マウスの致死率は66.7%に対して、ドーパミントランスポーター(DAT) KOマウスの致死率は12.5%と有意に低下した(p=0.024)。一方、DAT-KOマウスにメチロン60mg/kgを投与した際の体温上昇は野生型と違いを認めなかった。

メチロンのマウスにおける致死毒性はMAP、MDMAよりも強く、MAP、MDMAを上回る神経毒性が示唆された。DAT欠損によりメチロンの致死毒性が著しく低下したことから、DATがメチロンの神経毒性の標的分子の一つであることが示唆された。メチロンの体温上昇作用はドーパミン受容体遮断により減少したことからドーパミン神経伝達が関与していると考えられる。しかし、DATが欠損しても体温上昇作用に影響を及ぼさなかったことから、メチロンによる体温上昇の機序と致死毒性のメカニズムへのドーパミン神経伝達の関与には相違する部分が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、覚醒剤と有機溶媒が多数を占めていた。しかし最近になって、メチレンジオキシメタンフェタミン(MDMA)や、平成19年2月に違法ドラッグとして規制の対象と認定されたメチロン(2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxy-phenyl]propan-1-one)の乱用が増加し、深刻な社会問題となっている[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)作動性神経に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)作動性神経にも作用する[2]。メチロンはMDMAのベンジル位がケトン基に修飾された薬物であることから、DA、5-HT神経ともに作用を及ぼすと考えられている(図1)。メチロンに関しては*in vitro*の先行研究で、カテコールアミントランスポーターの取り込みを抑制することが分かったが、*in vivo*におけるメチロンの神経毒性の機序は明らかではない[3]。今年度は、メチロンのモノアミン系

を介した神経毒性の機序を解明することを目的に、ドーパミントランスポーター(DAT)とセロトニントランスポーター(SERT)のノックアウト(KO)マウスを用いてメチロンによる体温変化と神経毒性を調べ、野生型マウスと比較した。

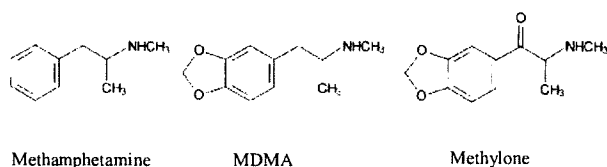


図 1 メタンフェタミン、MDMA、メチロンの構造式

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致死毒性の実験には 8-31 週齢の C57 遺伝背景の野生型及び 129/C57 混合遺伝背景の DAT-KO、SERT-KO マウスを用いた[4]。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

塩酸メチロンは国立医薬品食品衛生研究所生薬部で合成したものを用いた。選択的 D1 受容体遮断薬 SCH23390 と選択的 D2 受容体遮断薬 raclopride は Sigma から購入した。メチロン 60mg/kg 投与 30 分前に SCH23390 1mg/kg、raclopride 3mg/kg、または生理食塩水を腹腔内に投与した。

3. 体温測定と致死毒性

メチロンを投与して 0、30、60、120 分後の体温変化を測定した。測定には Physitemp Instrumens 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、塩酸メチロン生理食塩水溶液を投与して 24 時間までの死亡を観察した。24 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. 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フィッシャを用いた。マウスの体温変化に関しては一元配置の ANOVA で検定後 Dunnett の t 検定を行った。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. メチロンの致死毒性

a)野生型マウスにおけるメチロンの致死毒性

メチロンは、40、60、80mg/kg の 3 種類の用量で検討した。結果を図 2 と表 1 に示す。野生型マウスにおいて、メチロンの LD50 は 56.3mg/kg と算出され、MAP の 0.8 倍、MDMA の 0.6 倍であった。

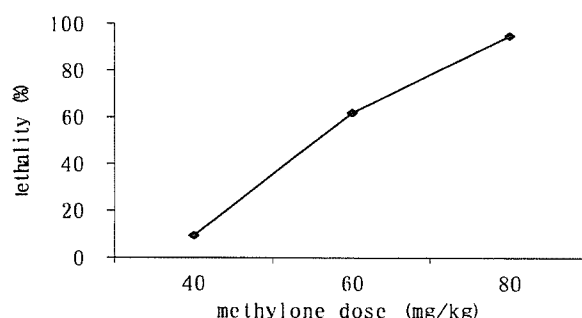


図 2 野生型マウスにおけるメチロンの致死毒性

表 1 メチロン、MAP、MDMA の LD50

薬物	LD50 (mg/kg)
メチロン	56.3
MAP	72.7
MDMA	86.8

b)D1、D2 antagonist 前投与によるメチロンの致死毒性

メチロン 60mg/kg 投与 30 分前の選択的 D1 受容体遮断薬 SCH23390 1mg/kg または選択的 D2 受容体遮断薬 raclopride 3mg/kg 投与による致死率に有意な差は見られなかった(表 2)。

表 2 D1、D2 antagonist 前投与によるメチロン (60mg/kg)の致死率

薬物	致死率(%)
0.9%NaCl + methylone	71.4
SCH23390 + methylone	70.0
raclopride + methylone	57.1

c)DAT-KO におけるメチロン投与による致死毒性
メチロン 60mg/kg 投与において、DAT-KO の致死率 12.5%は、野生型 66.7%に比べて有意に減少していた($p<0.05$, 表 3)。

表 3 DAT-KO におけるメチロン 60mg/kg 投与による致死率

遺伝子型	致死率(%)
野生型	66.7
DAT ヘテロ KO	57.1
DAT-KO	12.5

(*: $p<0.05$, compared to WT, Fisher's test)

d)SERT-KO におけるメチロン投与による致死毒性

メチロン 60mg/kg 投与において、野生型と SERT-KO の致死率は大きな差が見られなかった(表 4)。

表 4 SERT-KO におけるメチロン 60mg/kg 投与による致死毒性

遺伝子型	致死率(%)
野生型	66.7
SERT-KO	72.7

2. メチロンによる体温変化

a)野生型マウスにおけるメチロンによる体温変化

メチロン 40、60mg/kg 投与において、30 分後、60 分後ともに、0.9%NaCl 投与に比較して体温が有意に上昇した(図 2)。

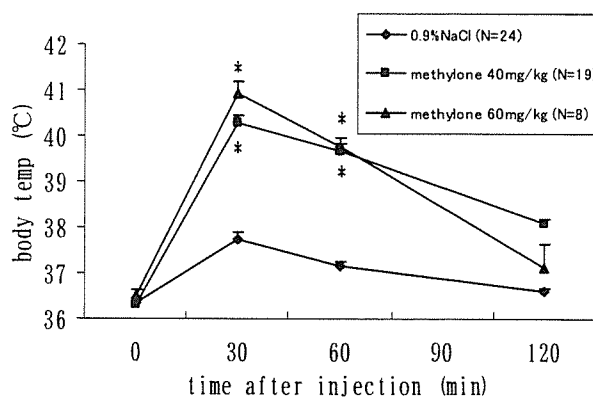


図 2 メチロン 40、60mg/kg 投与による体温変化 (mean±SE, *: $p<0.05$, compared to 0.9%NaCl at 30, 60 min, Dunnett's test)

b) D1、D2 antagonist 前投与においてメチロンによる体温変化

メチロン 60mg/kg 投与 30 分前に、選択的 D1 受容体遮断薬 SCH23390 1mg/kg 投与によって、上昇した体温が抑制された($p<0.05$)。一方選択的 D2 受容体遮断薬 raclopride 3mg/kg 投与による体温上昇は抑制される傾向だが、有意差が見られなかった(図 3)。

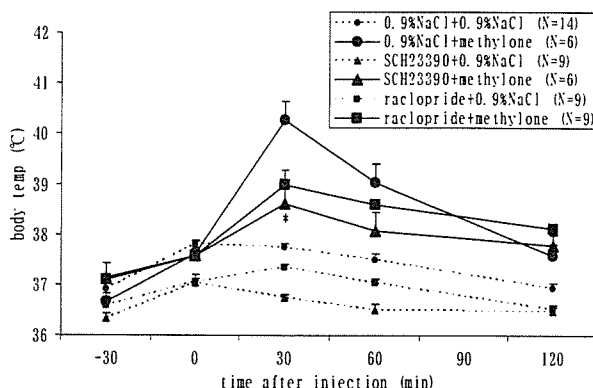


図 3 D1、D2 antagonist 前投与によってメチロン 60mg/kg 投与による体温変化

(mean±SE, *: $p<0.05$, compared to 0.9%NaCl + methylone at 30 min, Dunnett's test)

c) DAT-KO におけるメチロン投与による体温変化

メチロン 60mg/kg 投与により DAT-KO マウスでは野生型と同様に体温上昇が認められ、両者の体温上昇に有意な差がなかった(図 4)。

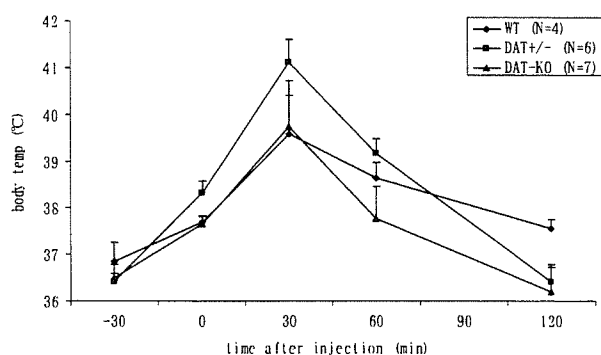


図 4 DAT-KO におけるメチロン 60mg/kg 投与による体温変化

(mean±SE, DAT-KO compared to WT at 30 min, Dunnett's test)

d) SERT-KO におけるメチロン投与による体温変化

SERT-KO ではメチロン 60mg/kg 投与 30 分-60 分まで野生型に比べて、有意な体温変化が見られなかった。

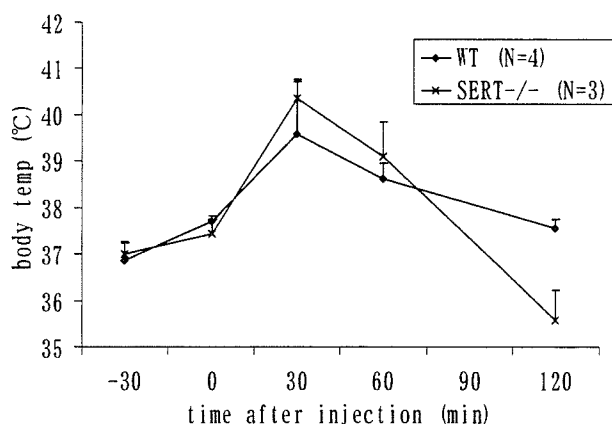


図 5 SERT-KO におけるメチロン 60mg/kg 投与による体温変化

(mean±SE, SERT-KO compared to WT at 30 min, Dunnett's test)

D. 考察

メチロンは、最近になり違法薬物として規制対象と認定されたが、我々の実験結果より MAP と MDMA と同様に強く、危険な薬物であることが示された。また、メチロンは MDMA と構造が非常に似ているため、DA 神経のみならず 5-HT 神経へも作用していると考えられている。しかし、メチロンの致死毒性は DAT 欠損に伴って減弱したが、SERT 欠損によっては変わらなかったことから、DAT がメチロンの主な神経毒性の標的分子の一つと考えられた。モノアミントランスポーターの培養細胞において、メチロンは主にドーパミントランスポーターの取り込み作用を抑制していると考えられている[3]。我々のモノアミントランスポーター KO マウスにおけるメチロンの致死毒性は SERT よりも DAT に依存している結果と一致した。

メチロンの投与後 30-60 分まで野生型、DAT-KO、SERT-KO マウスにおいて体温上昇を引き起こした。DAT-KO におけるメチロン投与による体温上昇は野生型に比べて有意差が見られないことから、体温変化には DAT のかわりが少ないことが示唆された。選択的 D1 受容体遮断薬を前投与すると、メチロン投与による体温上昇は 30 分で有意に抑制された。また、選択的 D2 受容体遮断薬の前投与は、メチロン投与による体温上昇と比較して有意差が認められなかったが、抑制される傾向が見られた。先行研究ではメチロンの投与による顕著な運動促進が D1 受容体拮抗薬の前処置で有意に抑制されることが分かった[5]。これらの結果からメチロンの神経毒性にはドーパミン神経系の役割が大きいと考えられる。

上記のようにメチロンの致死毒性は SERT より DAT が関与していることが明らかになった。また、メチロンによる体温上昇の機序と致死毒性のメカニズムにはドーパミン神経伝達が関与していることが明らかとなったが、その関与には相違する部分があることが示唆された。

E. 結論

以上の結果から、メチロンの神経毒性には脳内ドーパミン神経系の役割が大きいことが示唆された。

[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: 316-318. 2004.
2. Green AR, Mechan AO, Elliott JM et al. : The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). Pharmacol Rev. 55(3):463-508. 2003.
3. Cozzi NV, Seivert MK, Shulgin AT et al.: Inhibition of plasma membrane monoamine transporters by beta-ketoamphetamines. Eur J Pharmacol. 381:63-69. 1999.
4. Sora I, Wichems C, Takahashi N, et al. Cocaine reward models: conditioned place preference can be established in dopamine- and in serotonin-transporter knockout mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 95(13):7699-7704. 1998
5. 船田正彦. 脱法ドラッグの構造修飾特性とその依存性および神経毒性発現の関連性. 平成 17 年厚生労働科学研究費補助金(厚生労働科学研究事業)総括研究報告書(H17-特別-033) 1-21. 2005. 船

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Harburg GC, Hall FS, Harrist AV, Sora I, Uhl GR and Eisch AJ. Knockout of the mu opioid receptor enhances the survival of adult-generated hippocampal granule cell neurons. Neuroscience. 144(1):77-87(2007)
- 2) Okuyama K, Ohwada K, Sakurada S, Sato N, Sora I, Tamura G, Takayanagi M, Ohno I. The distinctive effects of acute and chronic psychological stress on airway inflammation in a murine model of allergic asthma. Allergy International. 56(1):29-35(2007)
- 3) Kobayashi H, Ujike H, Hasegawa J, Yamamoto M, Kanzaki A, Sora I. Identification of a risk haplotype of the a-synuclein gene in sporadic Parkinson's disease. Mov Disord. 21(12): 2157-64 (2006)
- 4) Wu HE, Sun HS, Terashivili 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)
- 5) 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 59:652-659 (2006)
- 6) Yamada H, Shimoyama N, Sora I, Uhl R. G, Fukuda Y, Moriya H, Shimoyama M.

- Morphine can produce analgesia via spinal kappa opioid receptors in the absence of mu opioid receptors. *Brain Research*. 1083:61-69 (2006)
- 7) Kasai S, Han W, Ide S, Hata H, Takamatsu Y, Yamamoto H, Uhl GR, Sora I, Ikeda K. Involvement of the 3' non-coding region of the mu opioid receptor gene in morphine-induced analgesia. *Psychiatry Clin Neurosci*. 60: S11-17 (2006)
 - 8) Nomura A, Ujike H, Tanaka Y, Otani K, Morita Y, Kishimoto M, Morio A, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. Genetic variant of prodynorphin gene is risk factor for methamphetamine dependence. *Neurosci Lett*. 400:158-162 (2006)
 - 9) Han W, Kasai S, Hata H, Takahashi T, Takamatsu Y, Yamamoto H, Uhl GR, Sora I, Ikeda K. Intracisternal A-Particle Element in the 3' Noncoding Region of the Mu Opioid Receptor Gene in CXBK Mice: A New Genetic Mechanism Underlying Differences in Opioid Sensitivity. *Pharmacogenetics and Genomics* 16(6):451-460 (2006)
 - 10) 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* 141B:482-486 (2006)
 - 11) Han W, Hata H, Imbe H, Liu QR, Takamatsu Y, Koizumi M, Murphy NP, Senba E, Uhl GR, Sora I, Ikeda K. Increased body weight in mice lacking mu-opioid receptors. *Neuroreport* 17(9):941-944 (2006)
 - 12) Ide S, Kobayashi H, Ujike H, Ozaki N, Sekine Y, Inada T, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Iyo M, Iwata N, Tanaka K, Shen H, Iwahashi K, Itokawa M, Minami M, Satoh M, Ikeda K, Sora I. Linkage disequilibrium and association with methamphetamine dependence/psychosis of mu-opioid receptor gene polymorphisms. *Pharmacogenomics J* 6(3):179-188 (2006)
 - 13) Kobayashi H, Ujike H, Hasegawa J, Yamamoto M, Kanzaki A, Sora I. Correlation of Tau gene polymorphism with age at onset of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 405:202-206 (2006)
 - 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* 16(4):133-138. (2006)
 - 15) Nakamura K, Chih-Ken Chen, Sekine Y, Iwata Y, Anitha Pillai, El-Wui Loh, Takei N, Kawai M, Takebayashi K, Suzuki K, Minabe Y, Tsuchiya K, Yamada K, Iyo M, Ozaki N, Inada T, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, David M Ball, Yoshikawa T, Shih-Ku Lin, Mori N. Association Analysis of SOD2 Variants with Methamphetamine Psychosis in Japanese and Taiwanese Populations. *Hum Genet* 120(2):243-252 (2006)
 - 16) Ide S, Minami M, Ishihara K, Uhl GR, Sora I, Ikeda K. Mu opioid receptor-dependent and

- independent components in effects of tramadol. *Neuropsychopharmacology* 51(3):651-658 (2006)
- 17) Yamamoto H, Imai K, Kamegaya E, Takamatsu Y, Irago M, Hagino Y, Kasai S, Shimada K, Yamamoto T, Sora I, Koga H, Ikeda K. Repeated methamphetamine administration alters expression of the NMDA receptor channel $\epsilon 2$ subunit and kinesins in the mouse brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1074: 97-103 (2006)
 - 18) 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* 31(10):2132-2139. (2006)
 - 19) Ujike H, Sakai A, Nakata K, Tanaka Y, Kodaka T, Okahisa Y, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Hori T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. Association study of the dihydropyrimidinase-related protein 2 gene and methamphetamine psychosis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1074: 90-96 (2006)
 - 20) Nomura A, Ujike H, Tanaka Y, Kishimoto M, Otani K, Morita Y, Morio A, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Hori T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. Association study of the tumor necrosis factor- α gene and its 1A receptor gene with methamphetamine dependence. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1074: 116-124 (2006)
 - 21) Morio A, Ujike H, Nomura A, Tanaka Y, Morita Y, Otani K, Kishimoto M, Harano M, Inada T, Komiyama T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. No association between CART (Cocaine- and Amphetamine-Regulated Transcript) gene and methamphetamine dependence. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1074: 411-417 (2006)
 - 22) Aoyama N, Takahashi N, Kitaichi K, Ishihara R, Saito S, Maeno N, Ji X, Takagi K¹, Sekine Y, Iyo M, Harano M, Komiyama T, Yamada Y, Sora I, Ujike H, Iwata N, Inada T, Ozaki N. Association Between Gene Polymorphisms of *SLC22A3* and Methamphetamine Use Disorder. *Alcohol Clin Exp Res.* 30(10):1644-1649 (2006)
 - 23) 曾良一郎. オピオイド受容体 Opioid receptor. H19 キーワード精神医学. 印刷中
 - 24) 曾良一郎, 伊藤美紀, 沼知陽太郎. 違法ドラッグと覚せい剤の精神神経毒性と標的分子への作用機序. *医学のあゆみ* : 217(13);1152-1154 (2006)
 - 25) 曾良一郎, 福島攝. 脳の発達障害 ADHD はどこまでわかったか? *日本薬理学雑誌* 128: 8-12 (2006)
 - 26) 曾良一郎. 集中内観を受けて. *精神医学* 48(7): 704-705 (2006)
 - 27) 曾良一郎. 第 3 回 Schizophrenia 研究会 講演紹介. *臨床精神薬理* 9(8): 1964-1702 (2006)
 - 28) 岡崎祐士, 曾良一郎, 前田久雄, 融道男, 臺弘, 氏家寛, 福田正人, 松岡洋夫, 米田博, 小澤寛樹, 倉知正. 第 3 回 Schizophrenia 研究会 講演紹介. *臨床精神薬理* 9(8): 1703-1713(2006)
 - 29) 曾良一郎, 有銘預世布. 前頭葉のモノアミン神経伝達による行動制御機構. *実験医学* 24(15):84-89(2006)
 - 30) 曾良一郎, 朴英善. モノアミン神経伝達

と「こころの病」. Bionics
24(11):40-45(2006)

- 31) 曾良一郎. こころの病と脳内神経伝達物質. In: こころの病・脳の病 : 9-27 NPO 法人脳の世紀推進会議編, 東京 (2006)

2. 学会発表

- 1) Kishimoto M, Ujike H, Tanaka Y, Otani K, Morita Y, Morio A, Okahisa Y, Kotaka T, Harano M, Inada T, Yamada M, Komiyama T, Hori T, Sekine Y, Iwata N, Sora I, Iyo M, Ozaki N, Kuroda S. The Frizzled 3 (FZD3) gene is associated with methamphetamine psychosis. XIV world congress on psychiatric genetics, Cagliari, Italy [2006/10/28-11/1]
- 2) Okahisa Y, Ujike H, Tanaka Y, Otani K, Morita Y, Kishimoto M, Morio A, Inada T, Harano M, Komiyama T, Hori T, Yamada M, Sekine Y, Iwata N, Iyo M, Sora I, Ozaki N, Kuroda S. Association study between the NrCAM gene and patients with methamphetamine use disorders. XIV world congress on psychiatric genetics, Cagliari, Italy [2006/10/28-11/1]
- 3) Matsuzawa D, Hashimoto K, Miyatake R, Shirayama Y, Shimizu E, Maeda K, Suzuki Y, Mashimo Y, Sekine Y, Inada T, Ozaki N, Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Hata A, Sawa A, Iyo M. PICK1 polymorphisms and association with methamphetamine psychosis. The Society for Neuroscience (SFN) 36th Annual Meeting, Atlanta, USA [2006/10/14-18]
- 4) Li X, Hall FS, Sora I, Lesch KP, Murphy DL, Caron MG, Uhl GR. Cocaine context-dependent sensitization in DAT, NET, and SERT knockout mice. The Society for Neuroscience (SFN) 36th Annual Meeting, Atlanta, USA [2006/10/14-18]
- 5) Centeno M, Hall FS, Sora I, Murphy DL, Lesch KP, Tecott LH, Hen R, Uhl GR. Interaction of serotonin 5-HT1A and 5-HT1B receptors with the dopamine transporter in cocaine reward. The Society for Neuroscience (SFN) 36th Annual Meeting, Atlanta, USA [2006/10/14-18]
- 6) Yamamoto H, Hagino Y, Takamatsu Y, Kamegaya E, Imai K, Tamura K, Yamamoto T, Takeshima T, Koga H, Uhl G.R, Ikeda K, Sora I. Genetic depletion of vesicular monoamine transporter-2 (VMAT2) reduces dopamine transporter activity in primary culture. The Society for Neuroscience (SFN) 36th Annual Meeting, Atlanta, USA [2006/10/14-18]
- 7) Ito M, Numachi Y, Kobayashi H, Sora I. Toxicity and hyperthermia induced by methamphetamine in dopamine D1 or D2 receptor knock-out mice. The Society for Neuroscience (SFN) 36th Annual Meeting, Atlanta, USA [2006/10/14-18]
- 8) Arime Y, Yamashita M, Fukushima S, Shen H-W, Hagino Y, Hall F. S, Uhl G R, Numachi Y, Kobayashi H, Ikeda K, Sora I. Norepinephrine transporter blockade reversed the prepulse inhibition deficits in dopamine transporter knockout mice. The Society for Neuroscience (SFN) 36th Annual Meeting, Atlanta, USA [2006/10/14-18]
- 9) Matsuzawa D, Hashimoto K, Miyatake R, Shirayama Y, Shimizu E, Maeda K, Suzuki Y, Mashimo Y, Sekine Y, Inada T, Ozaki N,

- Iwata N, Harano M, Komiyama T, Yamada M, Sora I, Ujike H, Hata A, Sawa A, Iyo M. PICK1 polymorphisms and association with methamphetamine psychosis. The Society for Neuroscience (SFN) 36th Annual Meeting, Atlanta, USA [2006/10/14-18]
- 10) 富田博秋, 曾良一郎. 認知機能障害評価の標準化としての MATRICS. 第2回統合失調症学会, 富山 [2007/3/24-25]
 - 11) 曾良一郎, 山本秀子, 池田和隆. 依存性薬物の分子標的としてのモノアミントランスポーター. 第80回日本薬理学会年会, 名古屋 [2007/3/14-16]
 - 12) Soichiro Ide, Masabumi Minami, George R Uhl, Kumatoshi Ishihara, Masamichi Satoh, Ichiro Sora, Kazutaka Ikeda ■ オピオイド受容体遺伝子欠損を用いたブトルファノールの抗侵害受容作用評価. 第80回日本薬理学会年会, 名古屋[2007/3/14-16]
 - 13) 曾良一郎, 有銘預世布, 福島攝. 精神疾患動物モデルとしての遺伝子改変マウス. シンポジウム「精神疾患の遺伝解析: マウスからヒトへ, ヒトからマウスへ」 第14回日本精神・行動遺伝医学会 筑波 [2006/11/18]
 - 14) 奥山香織, 荒井良枝, 梶川聡子, 成瀬茉耶, 土橋和久, 田村弦, 櫻田忍, 曾良一郎, 高柳元明, 大野勲. 精神的ストレスによるアレルギー性気道炎症増悪における μ -オピオイド受容体の役割. 第56回日本アレルギー学会秋期学術大会, 東京 [2006/11/2-4]
 - 15) 氏家寛, 森田幸孝, 原野睦生, 稲田俊也, 小宮山徳太郎, 堀達, 山田光彦, 関根吉統, 岩田 仲生, 伊豫雅臣, 曾良一郎, 尾崎紀夫, 黒田重利. 覚醒剤精神病とグリシントランスポーター遺伝子における相関研究 第18回日本アルコール精神医学会・第9回ニコチン・薬物依存フォーラム 平成18年度合同学術総会, 千葉 [2006/9/28-30]
 - 16) 氏家寛, 森田幸孝, 原野睦生, 稲田俊也, 小宮山徳太郎, 堀達, 山田光彦, 関根吉統, 岩田 仲生, 伊豫雅臣, 曾良一郎, 尾崎紀夫, 黒田重利. 覚醒剤精神病とグリシントランスポーター遺伝子における相関研究 第18回日本アルコール精神医学会・第9回ニコチン・薬物依存フォーラム 平成18年度合同学術総会, 千葉 [2006/9/28-30]
 - 17) 岡久裕子, 氏家寛, 田中有史, 大谷恭平, 森田幸孝, 岸本真希子, 森尾亜希子, 小高辰也, 原野睦生, 小宮山徳太郎, 堀達, 山田光彦, 関根吉統, 岩田仲生, 伊豫雅臣, 曾良一郎, 尾崎紀夫, 黒田重利. NrCAM 遺伝子多型と覚醒剤精神病の関連研究. 第28回日本生物学的精神医学会・第36回日本神経精神薬理学会・第49回日本神経化学会大会 三学会合同大会, 名古屋 [2006/9/14-16]
 - 18) 岸本真希子, 氏家寛, 田中有史, 大谷恭平, 森尾亜希子, 岡久裕子, 小高辰也, 原野睦生, 稲田俊也, 山田光彦, 小宮山徳太郎, 堀達, 関根吉統, 岩田仲生, 曾良一郎, 伊豫雅臣, 尾崎紀夫, 黒田重利. セロトニン1B受容体と覚醒剤依存症の関連解析. 第28回日本生物学的精神医学会・第36回日本神経精神薬理学会・第49回日本神経化学会大会 三学会合同大会, 名古屋 [2006/9/14-16]
 - 19) 有銘預世布, 山下元康, 福島攝, 小林秀昭, 沼知陽太郎, 富田博秋, 曾良一郎. Aripiprazole recovered deficits of prepulse inhibition in dopamine transporter knockout