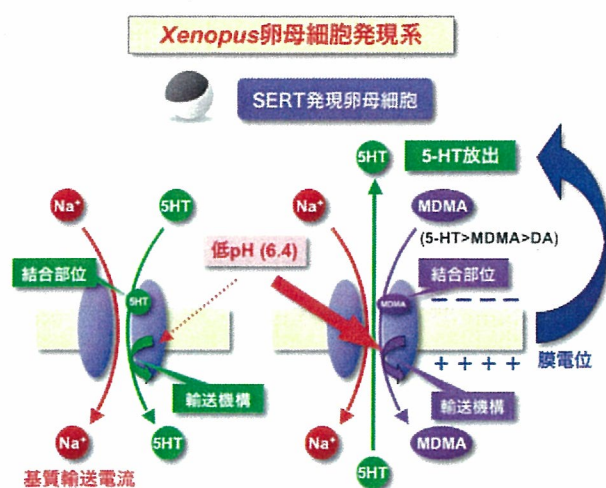


細胞に MDMA を適用することで逆輸送現象を再現した。この MDMA による 5-HT 逆輸送は、膜電位を -80 mV に固定した場合と比較して、+40 mV の場合有意に増強されることを明らかにした。これらの結果から、SERT に対する MDMA の作用は、細胞の静止膜電位により影響を受けることが明らかとなった。

以上、本研究により、MDMA、METH や 5-MeO-DiPT などの規制薬物のセロトニン神経、ドパミン神経、あるいはその作用点である SERT などのモノアミントランスポーターに対する作用を *in vitro* で解析した。本研究で開発した脳切片培養系でのセロトニン神経感作およびドパミン神経感作は、薬物依存といった現象を初めて *in vitro* で再現できたものであり (*in vitro* 薬物依存モデル)、また *Xenopus* 卵母細胞発現系では規制薬物あるいは未規制薬物の分子作用機序を解析するのに適した系であった。これらの *in vitro* 解析系は、規制薬物・未規制薬物による薬物依存あるいは精神障害のメカニズムを分子レベルで詳細に解析するのに有用なモデルになるだけでなく、メカニズム不明の未規制薬物あるいは新規薬物の依存形成能などの有無を検討する上で有用なスクリーニング系にもなると考えられる。



【研究業績】

(1) 論文発表

- 1) Shimamoto, K., Otsubo, Y., Shigeri, Y., Yasuda-Kamatani, Y., Satoh, M., Kaneko, S., and Nakagawa T.: Characterization of the tritium-labeled analog of L-threo-β-benzyloxy aspartate binding to glutamate transporters. *Mol. Pharmacol.*, 71: 294-302, 2007
- 2) Deyama, S., Nakagawa, T., Kaneko, S., Uehara, T., and Minami, M.: Involvement of the bed nucleus of the stria terminalis in the negative affective component of visceral and somatic pain in rats. *Behav. Brain Res.*, 176: 367-371, 2007
- 3) Tokuda, S., Kuramoto, T., Tanaka, K., Kaneko, S., Takeuchi, IK., Sasa, M., and Serikawa, T.: The ataxic groggy rat has a missense mutation in the P/Q-type voltage-gated Ca²⁺ channel α_{1A} subunit gene and exhibits absence seizures. *Brain Res.*, 1133: 168-177, 2007
- 4) Kaneko, S., Kawakami, S., Hara, Y., Wakamori, M., Itoh, E., Minami, T., Takada, Y., Kume, T., Katsuki, H., Mori, Y., and Akaike, A.: A critical role of TRPM2 in neuronal cell death by hydrogen peroxide. *J. Pharmacol. Sci.*, 101: 66-76, 2006
- 5) Fukui, M., Nakagawa, T., Minami, M., Satoh, M., Kaneko, S.: Inhibitory role of supraspinal P2X₃/P2X_{2/3} subtypes on nociception in rats. *Mol. Pain*, 2: 19, 2006
- 6) 中川貴之、金子周司: MDMA によるセロトニン放出および神経毒性発現の分子機序. *週刊医学のあゆみ*, 217: 4490-4493, 2006
- 7) Nakagawa, T., Yamamoto, R., Fujio, M., Suzuki, Y., Minami, M., Satoh, M., and Kaneko, S.: Involvement of the bed nucleus of the stria terminalis activated by the central nucleus of the amygdala in the negative affective component of morphine withdrawal in rats. *Neuroscience*, 134: 9-19, 2005

- 8) Fujio, M., Nakagawa, T., Sekiya, Y., Ozawa, T., Suzuki, Y., Minami, M., Satoh, M., and Kaneko, S.: Gene transfer of GLT-1, a glutamate transporter, into the nucleus accumbens shell attenuates methamphetamine- and morphine-induced conditioned place preference in rats. *Eur. J. Neurosci.*, 22: 2744-2754, 2005
- 9) Fujio, M., Nakagawa, T., Suzuki, Y., Satoh, M., Kaneko, S.: Facilitative effect of a glutamate transporter inhibitor (2S,3S)-3-{3-[4-(trifluoromethyl)benzoylamino]benzyloxy}aspartate on the expression of methamphetamine-induced behavioral sensitization in rats. *J. Pharmacol. Sci.*, 99: 415-418, 2005

(2) 学会発表

招待講演・シンポジウム

- 1) 中川貴之、山内陽介、鈴木祐一、樋口めぐみ、金子周司: Molecular and neural mechanisms of neuropsychotoxicity induced by drugs of abuse. 第 80 回日本薬理学会年会、名古屋、平成 19 年 3 月.
- 2) 中川貴之: オピオイド系鎮痛薬耐性・依存性形成の分子-神経機構 ーより安全な疼痛管理を目指してー. 技術情報協会医薬系セミナー、東京、平成 18 年 12 月.
- 3) 中川貴之、佐藤公道、金子周司: 薬物依存におけるグリア細胞の役割. 第 26 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム、岐阜、平成 17 年 6 月.
- 4) Nakagawa, T. and Satoh, M.: Roles of a glial glutamate transporter GLT-1 in morphine dependence. The IIIrd Meeting of Asian Pacific Opioid Symposium on Molecular Basis of Opioid Tolerance and Dependence, Kyoto, 平成 16 年 7 月.
- 5) 中川貴之、佐藤公道: 薬物依存におけるグルタミン酸トランスポーターGLT-1 の役割. 第 31 回日本トキシコロジー学会、大阪、平成 16 年 7 月.

国際学会

- 1) Nakagawa, T., Fujio, M., Suzuki, Y., Satoh, M. and Kaneko, S.: Glial glutamate transporter GLT-1 plays an inhibitory role in the conditioned rewarding effects of morphine and psychostimulants. Neuroscience2005, Washington DC, 平成17年11月.
- 2) Yamauchi, Y., Izumi, T. and Kaneko, S.: Galantamine potentiates the current response of $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptors heterologously expressed in *Xenopus* oocytes. Neuroscience2005, Washington DC, 平成17年11月.
- 3) Shimamoto, K., Otsubo, Y., Hirose, T., Shigeri, Y. and Nakagawa, T.: Characterization of the radioisotope labeled analog of L-threo- β -benzyloxyaspartate (TBOA) binding to glutamate transporters. Neuroscience2005, Washington DC, 平成17年11月.
- 4) Nakagawa, T., Fujio, M., Suzuki, Y., Ozawa, T., Sekiya, Y., Minami, M., Kaneko, S. and Satoh, M.: Roles of a glial glutamate transporter GLT-1 in drug dependence. INRC2004, Kyoto, 平成16年7月.
- 5) Fujio, M., Yamamoto, R., Nakagawa, T., Minami, M., Kaneko, S. and Satoh, M.: A role of the extended amygdala in the negative affective component of morphine withdrawal in rats. INRC2004, Kyoto, 平成16年7月.

国内学会

- 1) 大坪泰斗、八谷由美、中川貴之、金子周司: Mechanism of intracellular clustering and trafficking of glial glutamate transporter GLT-1 in

- astroglia-neuronal culture. 第80回日本薬理学会年会、名古屋、平成19年3月。
- 2) Yamauchi, Y.: Enhancement of dopamine and MDMA transport by serotonin transporter in acidic condition. 21st Century COE Program – Knowledge Information Infrastructure for Genome Science– Open International Symposium "From Genomics to Chemical Genomics", 京都、平成19年1月
 - 3) Suzuki, Y.: Effects of repeated treatment with addictive drugs on dopamine release in rat mesocorticolimbic system reconstructed using organotypic slice co-cultures. 21st Century COE Program –Knowledge Information Infrastructure for Genome Science – Open International Symposium "From Genomics to Chemical Genomics", 京都、平成19年1月
 - 4) 中川貴之、島本啓子、大坪泰斗、佐藤公道、金子周司: Na⁺依存性グルタミン酸トランスポーターに対する新規放射性標識リガンド [³H]ETB-TBOA の結合特性. 第1回トランスポーター研究会、東京、平成18年12月。
 - 5) 中川貴之、大坪泰斗、八谷由美、金子周司: 培養神経-グリア共培養系におけるグリア型グルタミン酸トランスポーターGLT-1 のクラスター化および細胞内輸送の分子機構. 第1回トランスポーター研究会、東京、平成18年12月。
 - 6) 中川貴之、鈴木祐一、樋口 萌、金子周司: Repeated methamphetamine induces dopaminergic sensitization in mesocorticolimbic slice co-cultures. 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 合同年会、名古屋、平成18年9月。
 - 7) 鈴木 祐一、樋口 萌、中川 貴之、金子 周司: 中脳皮質辺縁脳切片共培養系における依存性薬物反復処置によるドーパミン遊離増強作用. 第27回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム、和歌山、平成18年9月。
 - 8) 山内陽介、泉 貴也、中川貴之、金子周司: Effects of MDMA and 5-MeO-DiPT on serotonin transporter and dopamine transporter. 第29回日本神経科学大会、京都、平成18年7月。
 - 9) 中尾賢治、杉下亜唯子、金子周司: Involvement of Ca²⁺ in thrombin-induced morphological change of 1321N1 astrocytoma cells. 第29回日本神経科学大会、京都、平成18年7月。
 - 10) 鈴木祐一、中川貴之、樋口 萌、金子周司: Effects of MDMA on serotonergic neurons in rat organotypic mesencephalic slice culture including the raphe nuclei. 第29回日本神経科学大会、京都、平成18年7月。
 - 11) 山内陽介: モノアミントランスポーターに対する依存性薬物 MDMA、5-MeO-DiPT の作用に関する研究. 1世紀COEプログラム –ゲノム科学の知的情報基盤・研究拠点形成– 第2回21世紀COE若手研究者研究討論会、京都、平成18年3月。
 - 12) 山内陽介、金子周司: モノアミントランスポーターに対する非合法薬物 MDMA の作用の検討. 第4回ファーマ・バイオフィォーラム2005、西宮、平成17年12月
 - 13) 大坪泰斗、中川貴之、廣瀬知子、島本啓子、上田真史、久下裕司、佐治英郎、佐藤公道、金子周司: Na⁺依存性グルタミン酸トランスポーターに対する新規放射性標識リガンドの作製とその結合特性. 第108回日本薬理学会近畿部会、西宮、平成17年11月。
 - 14) 中川貴之、金子周司: 薬物依存時の中脳辺縁ドーパミン神経活動亢進における前頭前皮質由来側坐核内グルタミン酸神経の役割. 第9回神経伝達物質研究会、東京、平成17年9月。
 - 15) 鈴木祐一、中川貴之、南 雅文、金子周司:

Effects of methamphetamine on in vitro mesocorticolimbic dopaminergic system reconstructed using organotypic slice co-cultures. 第 28 回日本神経科学大会、横浜、平成 17 年 7 月.

16) 神谷明裕、久米利明、片山貴博、岡村敏行、金子周司、赤池、南 雅文: Morphological change in astrocytes induced by glutamate in the astroglia-neuronal co-culture. 第 28 回日本神経科学大会、横浜、平成 17 年 7 月.

17) 中川貴之、富士尾まゆみ、鈴木祐一、小澤 徹、関谷由美子、佐藤公道: 薬物依存形成時におけるグルタミン酸神経系の可塑的变化 -グルタミン酸トランスポーターの関与-. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会、名古屋、平成 17 年 3 月.

18) 中川貴之、佐治英郎、久下裕司、上田真史、島本啓子、廣瀬知子、大坪泰斗、富士尾まゆみ、鈴木祐一、佐藤公道: 依存性薬物により誘発されるグルタミン酸トランスポーター機能変化のイメージング. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会、名古屋、平成 17 年 3 月.

19) 鈴木祐一、富士尾まゆみ、関谷由美子、小澤 徹、中川貴之、南 雅文、金子周司、佐藤公道: モルヒネおよびメタンフェタミンによる条件付け場所嗜好反応に対する側坐核へのグルタミン酸トランスポーターGLT-1 遺伝子導入の効果. 第 25 回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム、京都、平成 16 年 7 月.

(3) 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

「依存性薬物および未規制薬物による神経毒性と精神病の発現機序」3年間のまとめ

メタンフェタミンにより誘発される認知障害の機構の解明と治療法の確立

分担研究者：山田清文¹

研究協力者：田熊一徹¹、溝口博之¹、永井拓^{1, 2}、鍋島俊隆²

(¹金沢大学大学院自然科学研究科薬物治療学, ²名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学)

1. はじめに

比較的少量の覚醒剤（メタンフェタミン、METH）を実験動物に反復投与すると、次第に移所運動促進などの急性薬理効果の増強効果が形成され、長期間断薬しても、少量の覚醒剤の再投与や非特異的ストレスの負荷によりこの増強効果が再燃する。この現象は行動感作あるいは逆耐性と呼ばれ、その経過がヒトの覚醒剤精神病に酷似することから、統合失調症や精神病性障害の形成・発現機序の研究によく用いられている。さらに、統合失調症の陽性症状はドパミン作動性神経系の過活動に起因するという「ドパミン過剰仮説」に基づいて、METH 連続投与モデルが抗精神病薬の開発に利用されてきた。一方、覚醒剤精神病患者や統合失調症患者では記憶や認知に障害があることが明らかになっている。認知障害の発症機構を解明し、その治療方法を確立するためには動物モデルの開発が不可欠であるが、現段階では覚醒剤精神病や METH 依存患者の認知記憶障害を反映した適切な動物モデルはほとんどない。本研究では、METH 誘発性認知障害モデルの開発とその分子機序の解明および抗精神病薬の治療効果について検討した。

2. 認知記憶に対するメタンフェタミンの障害作用と抗精神病薬の治療効果

平成 16 年度は、新奇物質探索試験を用いてマウスの認知記憶に対する METH の作用について検討し、METH 誘発性認知記憶障害モデルの作製

を試みた。さらに、記憶障害の発現機序と抗精神病薬の治療効果について検討した。

2-1. METH 誘発性認知記憶障害

METH (1-4 mg/kg) を訓練試行の前に単回投与しても保持試行における記憶障害は全く認められなかった。一方、METH (1 mg/kg) を 7 日間連続投与すると、訓練から 1 時間後の保持試行では障害は認められなかったが、24 時間後の保持試行では認知記憶の有意な障害が認められた。また、METH による認知記憶障害は、METH の断薬から 28 日間経過した後でも認められた (Fig. 1)。

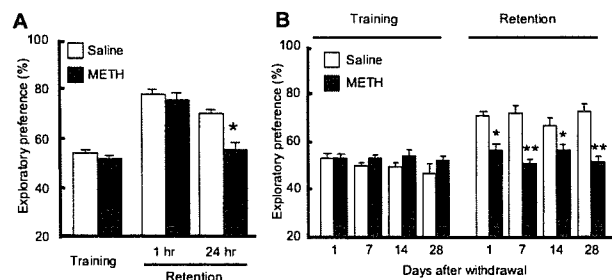


Fig. 1 Effect of repeated administration of METH on performance in NORT. (A) METH-induced cognitive impairment in the retention session 1 hr or 24 hr after the training. One day after the last treatment with saline (n=24) or METH (n=24, 1mg/kg, SC, for 7 days), NORT was performed. Retention sessions were performed either 1 hr (n=12) or 24 hr (n=12) after the training session. Values indicate the mean $\pm$ SE (n=12-24). *P<0.05 versus the corresponding saline-treated group. (B) METH-induced cognitive impairment following various periods of withdrawal from METH. One, 7, 14 or 28 days after the withdrawal of METH (1mg/kg, SC, for 7 days), NORT was performed. Values indicate the mean $\pm$ SE (n=10-12). *P<0.05 and **P<0.01 versus the corresponding saline-treated group.

2-2. METH による認知記憶障害に対する抗精神病薬の効果

METH により誘発される認知記憶障害は断薬後も長期間持続することから、薬物の治療効果を評価することが可能である。そこで、METH 誘発性認知記憶障害に対する抗精神病薬の治療効果

評価することが可能である。そこで、METH 誘発性認知記憶障害に対する抗精神病薬の治療効果について検討した。抗精神病薬として clozapine (3 mg/kg, p.o.) と haloperidol (1 mg/kg, p.o.) を用い、METH の最終投与の翌日より 7 日間連続投与した。Clozapine は METH 誘発性認知記憶障害を有意に改善したが、haloperidol には効果は認められなかった。なお、clozapine および haloperidol は単回投与では効果を示さなかった。以上の結果より、METH 誘発性認知記憶障害の治療には clozapine が有効であることが示唆された (Fig. 2)。

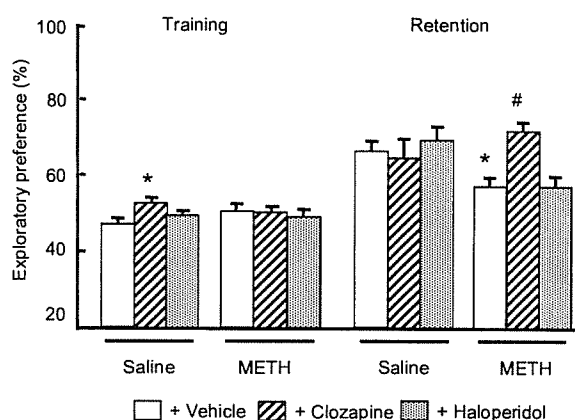


Fig. 2 Effects of clozapine and haloperidol on METH-induced cognitive impairment in NORT. Clozapine (3 mg/kg, PO) or haloperidol (1 mg/kg, PO) was administered once a day for 7 days to mice that had previously been treated with saline or METH (1 mg/kg, SC) for 7 days. NORT was performed 24 hr after the last treatment with clozapine or haloperidol. Values indicate the mean $\pm$ SE (n=14-16). *P<0.05 versus vehicle-treated control group, #P<0.05 versus vehicle-treated METH group.

2-3. METH による認知記憶障害の発現機序

METH の薬理作用にはドパミンが重要な役割を果たしているため、METH 誘発性認知記憶障害におけるドパミン作動性神経系の役割について検討した。選択的ドパミン D1 受容体アンタゴニストの SCH23390 (0.03 mg/kg, i.p.) を METH と併用投与すると、METH 誘発性認知記憶障害の形成は抑制された。一方、ドパミン D2 受容体アンタゴニストの raclopride (4 および 8 mg/kg, i.p.) 併用投与では METH 誘発性認知機能障害を抑制しなかった。

次に、新奇 object に暴露した時のマウスの脳神経活動の変化と METH 連続投与の影響を Western blotting 法により解析した。訓練試行直後、マウスの前頭前皮質において、リン酸化 ERK 1/2 の増加が認められたが、訓練試行 30 分後では object に暴露しなかったコントロール群との間に有意な差は認められなかった。一方、METH を反復投与したマウスでは、正常マウスで観察されたような ERK 1/2 のリン酸化の増加は認められなかった (Fig. 3)。

ERK 1/2 のリン酸化を制御する MAP kinase kinase (MEK) の阻害薬である SL-327 (30 および 50 mg/kg, i.p.) を訓練試行前に投与すると、訓練試行 24 時間後の保持試行において認知記憶障害が認められた。しかし、訓練試行 1 時間後では SL-327 投与群とコントロール群との間に有意な変化は認められなかった。さらに、MEK 阻害薬の PD-98059 (2 μ g/1 μ L/site) を訓練試行前に前頭前皮質に微量注入すると、24 時間後の保持試行において認知記憶障害が誘発された。

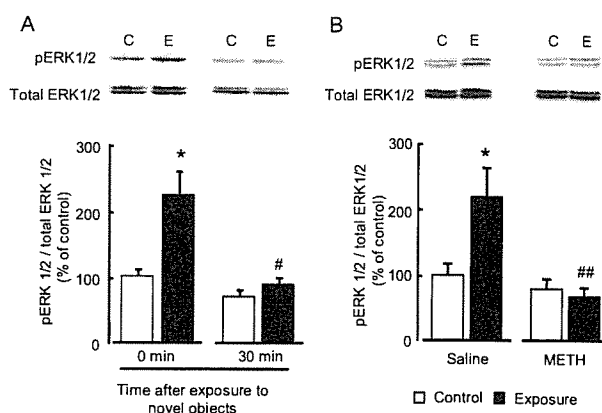


Fig. 3 Changes in ERK1/2 phosphorylation in the prefrontal cortex of mice exposed to novel objects. Control (C); mice were not exposed to novel objects in training session, Exposure (E); mice were exposed to novel objects in training session. Values indicate the mean $\pm$ SE (n=5-6). *P<0.05 versus control group. #P<0.05, ##P<0.01 versus exposed group.

2-4. 考察

本研究において、METH (1 mg/kg) の単回投与では記憶障害が観察されず、METH を反復投与したマウスにおいて記憶障害が観察された。また、METH を反復投与したマウスの認知記憶障害は

訓練試行 24 時間後に認められたことから、METH 誘発性記憶障害は、記憶の獲得や短期的保持ではなく、長期固定の障害によるものと考えられる。さらに、この記憶障害は METH の断薬から少なくとも 28 日後まで継続し、長期持続性であることも示唆された。

Clozapine は METH 誘発性記憶障害を改善したが、haloperidol には改善効果が認められなかった。この結果は、統合失調症の認知障害に対して非定型抗精神病薬である clozapine が改善効果を示すという臨床報告と一致するものであった。したがって、本研究において作製した認知記憶障害モデルは、覚醒剤依存のみならず統合失調症の認知障害を反映した動物モデルとして有用性が高いと考えられる。さらに、METH 誘発性認知記憶障害はドパミン D1 受容体アンタゴニストにより抑制され、ドパミン D2 受容体アンタゴニストでは抑制されなかったことから、METH 誘発性認知記憶障害の形成にはドパミン D1 受容体の慢性的な刺激が重要であると考えられる。

ERK 1/2 はシナプス可塑性に関与しており、学習や記憶形成および依存性薬物に対する行動変化に関与していることが報告されている。これまでの研究から、シナプス可塑性や記憶形成における ERK 1/2 の活性化を引き起こす経路について、①Gs タンパクと共役している G-protein-coupled receptors (GPCRs) を介する経路、②NMDA 受容体を介した細胞内への Ca^{2+} 流入により活性化される CaMK II が関与する経路および③Gq タンパクと共役している G-protein-coupled receptors (GPCRs) を介する経路が存在すると考えられている。ドパミン D1 受容体は Gs タンパクと共役しており、D2 受容体は Gi タンパクと共役している。また、ERK 1/2 の活性化は、ドパミンやセロトニンの刺激後に起こることが報告されている。本研究において、MEK 阻害薬を前頭前皮質に微量注入すると、認知記憶障害が認められたことから、

object 暴露による D1 受容体の刺激によって細胞内の cAMP 濃度が上昇し、この cAMP の濃度上昇に伴い ERK 1/2 が活性化されると考えられる。

以上の結果から、object に関する記憶の長期固定には前頭前皮質におけるドパミン D1 受容体を介した ERK1/2 の活性化が重要であることが示唆された。また、METH の連続投与によりドパミン D1 受容体が慢性的に刺激され、ドパミン D1 受容体を介した ERK 1/2 の活性低下により認知記憶が障害されることが示唆された。

3. 空間作業記憶に対するメタンフェタミンの障害作用と抗精神病薬の治療効果

平成 17 年度は、放射状迷路における delayed spatial win-shift (SWSh) 課題を用いて、ラットの空間作業記憶に対する METH の影響について解析した。さらに、METH 誘発性作業記憶障害に対する抗精神病薬の治療効果について検討した。

3-1. 空間作業記憶に対する METH の作用

METH (2 mg/kg, s.c.) を 7 日間反復投与した後、投与終了日より 1、4、7 および 14 日後に delayed SWSh 課題を行った。METH 投与終了 1 から 14 日までの training phase における error 数および response time は、METH 処置群と saline 処置群との間に有意な変化は認められなかった。

Test phase において saline 処置群の error 数は遅延時間を 60 分まで延長しても有意な変化は認められなかった。一方、METH 処置群では、遅延時間延長に伴い error 数の増加が認められ、METH 休薬 14 日まで作業記憶障害が認められた (Fig. 4)。さらに、test phase の結果を within phase error と across phase error に分けて解析した。METH 処置群の across phase error 数は、saline 処置群に比べ有意に増加した。一方、METH 処置群および saline 処置群の within phase error 数に有意な差は認められなかった。なお、METH 処置群と saline 処置群

の response time に有意な差は認められなかった。

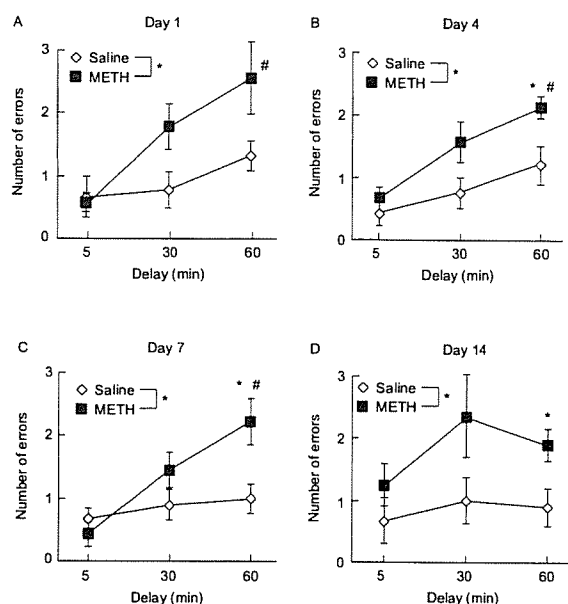


Fig. 4. Effect of repeated METH treatment on performance in the test phase of the delayed SWSh task. Delayed SWSh task was carried out 1 day (A), 4 days (B), 7 days (C) and 14 days (D) after the last treatment with saline or METH. Test phase performance was examined 5 to 60 min after the training phase. * $p < 0.05$ compared to the corresponding saline-treated group. # $p < 0.05$ compared to the corresponding 5-min delay group.

3-2. METH 誘発性作業記憶障害に対する抗精神病薬の効果

はじめに、METH 誘発性空間作業記憶に対する clozapine の効果を検討した。Training phase において各群の error 数に有意な変化は認められなかった。METH による test phase error 数の増加は、clozapine の反復投与により有意に改善した。また、clozapine の改善作用は反復投与7日目において用量依存のかつ顕著に認められたが、clozapine 休薬7日後には消失した。Test phase の結果を within phase error と across phase error に分けて解析した。各群の within phase error 数に有意な変化は認められなかったのに対し、METH-clozapine 処置群では、METH-vehicle 処置群に比べ across phase error 数が有意に減少した。Training phase および test phase における response time に有意な変化は認められなかった (Fig. 5)。

次に、METH 誘発性空間作業記憶に対する haloperidol の効果を検討した。Training phase において各群の error 数に有意な変化は認められなかった。また、METH による test phase error 数の増加は、haloperidol を反復投与しても変化しなかった。Test phase の結果を within phase error と across phase error に分けて解析したが、両 error 数に有意な変化は認められなかった。Haloperidol は training phase および test phase における response time を有意に延長し、運動障害を誘発した。

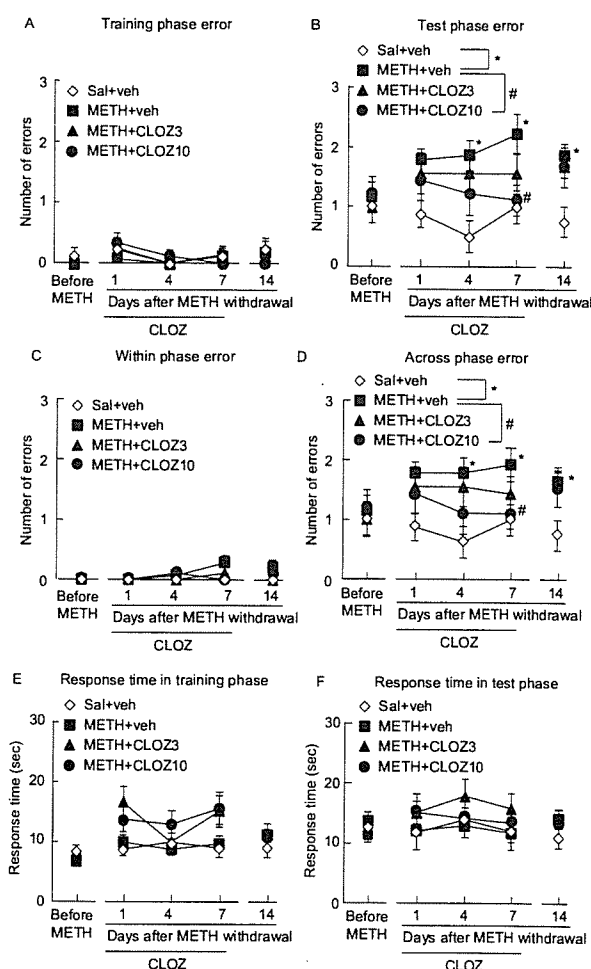


Fig. 5. Effect of CLOZ on METH-induced memory impairment in the delayed SWSh task. CLOZ (3 or 10 mg/kg, p.o., 7 days) was administered repeatedly after the cessation of repeated METH treatment. (A) Training phase error. (B) Test phase error. (C) Within phase error. (D) Across phase error. (E) Response time in the training phase. (F) Response time in the test phase. Values indicate the mean $\pm$ S.E.M. ($n = 8-14$). * $p < 0.05$ compared to saline-vehicle-treated group. # $p < 0.05$ compared to METH-vehicle-treated group.

3-3. リン酸化 ERK1/2 に対する METH の影響

Training phase 終了後、saline 処置群と METH 処置群の海馬におけるリン酸化 ERK1/2 の発現量の変化を検討した。Training phase から 5 分および 60 分後において、saline 処置群の海馬におけるリン酸化 ERK 1/2 の発現量は control 群に比較して有意に増加した。一方、METH 処置群では training phase から 5 分および 60 分後の海馬におけるリン酸化 ERK の発現量に有意な変化は認められなかった。さらに、training phase から 60 分後において METH 処置群の海馬リン酸化 ERK の発現量は saline 処置群に比べ有意に減少していた (Fig. 6)。

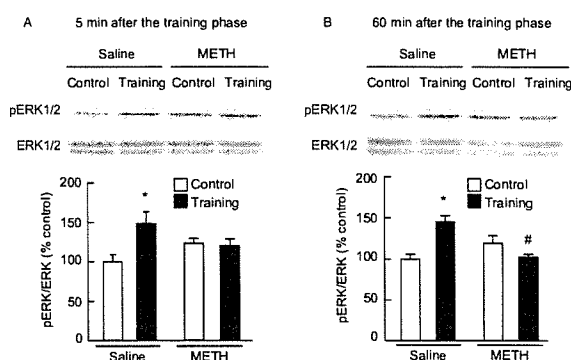


Fig. 6. Effect of repeated METH treatment on phosphorylation of ERK1/2 in the hippocampus 5 min (A) and 60 min (B) after the training phase of the delayed SWSH task. Values indicate the mean $\pm$ S.E.M. (n=7). *p<0.05 compared to the saline-treated control group. #p<0.05 compared to the saline-treated training group.

3-4. MEK 阻害剤による空間作業記憶障害

選択的 MEK 阻害剤の PD98059 (2 μ g / 1 μ l) を両側海馬内に微量注入し delayed SWSH 課題を行った。PD98059 を投与した群では、溶媒投与群に比べ test phase error および across phase error が有意に増加した。一方、within phase error および response time に有意な変化は認められなかった。

3-5. 考察

Delayed SWSH 課題は training phase、遅延時間および test phase より成り立っており、within phase error と across phase error を指標として記憶を評価する行動試験である。Within phase error は

同一試行内に同じアームに進入した回数を示すものであり、ラットの作業記憶を反映している。しかし、test phase の餌取り行動は非常に短時間で終了することから、記憶を保持すべき時間が短く、そのために脳機能障害の影響を受けにくいと考えられる。一方、test phase における餌取り行動を効率よく行うためには、training phase の情報を遅延時間の間記憶している必要があり、その指標が across phase error である。Across phase error も作業記憶を反映していると考えられるが、遅延時間があるために、within phase error よりも脳機能障害に対して鋭敏な指標となる。また、response time はラットの放射状迷路 1 アームあたりの滞在時間を示したものであり、ラットの運動機能にも影響を受ける。本研究において、METH の反復投与により training phase error 数は変化せず、test phase error 数が増加した。また、METH による test phase error 数の増加は across phase error 数とほぼ一致していた。さらに、METH によるこの障害は休業 14 日後まで観察された。したがって、METH は作業記憶を障害し、その障害は長期持続性であると考えられる。

Clozapine は METH 誘発性作業記憶障害を改善したが、haloperidol には改善効果が認められなかった。この結果は、新奇オブジェクト探索試験において clozapine は METH 誘発性認知記憶障害を改善し、haloperidol は効果がないという我々の報告および統合失調症の認知障害に対して clozapine が改善効果を示すという臨床報告と一致するものであった。したがって、本研究において作製した作業記憶障害モデルは、覚醒剤依存のみならず統合失調症の認知障害を反映した動物モデルとして有用性が高いと考えられる。

ERK1/2 は神経可塑に関与し、記憶と学習に重要であることが知られている。Morris 水迷路試験において訓練後に海馬のリン酸化 ERK1/2 が増加すること、リン酸化 ERK1/2 の抑制は空間記憶を

障害することが報告されている。本研究において、海馬のリン酸化 ERK1/2 の増加は、training phase 終了 60 分後まで認められた。これは、ラットが training phase 終了 60 分後まで training phase の情報を保持できるという行動実験の結果と一致している。一方、MEK 阻害剤である PD98059 を両側海馬に微量注入すると、across phase error が有意に増加した。したがって、delayed SWSH 課題における空間作業記憶の保持に海馬での ERK1/2 の活性化が関与していることが示唆された。

我々は、METH の連続投与によりドパミン D1 受容体が慢性的に刺激され、その結果、前頭皮質においてドパミン D1 受容体-ERK 1/2 シグナルの機能不全が生じ、認知記憶障害が起こることを提唱している（平成 16 年度）。本研究においても METH を反復投与したラットでは training phase 後のリン酸化 ERK1/2 の増加が認められなかった。したがって、METH による作業記憶障害についても ERK1/2 シグナルの機能不全が関与している可能性がある。

ERK1/2 シグナルの機能不全の関与が示唆されるものの、METH 誘発性作業記憶障害の詳細な分子メカニズムは不明である。METH は海馬の長期増強 (long-term potentiation: LTP) を障害することが報告されている。一方、LTP の誘導には NMDA 受容体を介した ERK1/2 の活性化が関与していることが示唆されている。また、海馬神経細胞においてドパミン D1 受容体は NMDA 受容体と複合体を形成し、ドパミン D1 受容体が NMDA 受容体の機能を制御することも報告されている。したがって、METH 誘発性認知記憶障害と同様、ドパミン D1 受容体-ERK 1/2 シグナルの機能不全が METH 誘発性作業記憶障害に関与している可能性があるが、この点については今後の課題である。

4. 感覚情報処理に及ぼすメタンフェタミンの障害作用

平成 18 年度は、感覚情報処理機能に対する METH の影響を明らかにするために、マウスを用いて音刺激に対する驚愕反応のプレパルス抑制 (PPI) に関与する神経回路を追究し、同回路機能に及ぼす METH の作用を検討した。

4-1. 音刺激による各脳部位における c-Fos の発現変化

PPI の制御に関与する神経回路を調べるため、コントロール群、パルス群、PPI 群 および プレパルス群における c-Fos タンパクの発現を調べた。Somatosensory cortex (SC)、nucleus accumbens (NAc) shell および caudal pontine reticular nucleus (PnC) では、コントロール群と比較してパルス群の c-Fos 発現は有意に増加した。そのうち、NAc shell および PnC におけるパルス刺激誘発性 c-Fos 発現は、プレパルス刺激の挿入により有意に抑制された。一方、PPI 群およびプレパルス群の lateral globus pallidus (LGP)においては、コントロール群と比較して有意に高い c-Fos 発現が認められた。なお、medial prefrontal cortex (mPFC)、NAc core、caudate putamen (CPu)、ventral pallidum (VP)、CA1 subfield (CA1) and dentate gyrus (DG) of the dorsal hippocampus、substantia nigra reticular (SNR)、pedunculopontine tegmental nucleus (PPTg)および locus coeruleus (LC)では c-Fos 発現に変化は認められなかった。

4-2. LGP おける c-Fos と GAD67 の二重染色

LGP には GABA 作動性神経が豊富に存在していることが報告されている。そこで、プレパルス刺激によって活性化される LGP の細胞が GABA 作動性神経系かどうかを調べるため、c-Fos と GABA 作動性神経のマーカーである GAD67 との二重染色を行った。

コントロール群に比べプレパルス群では c-Fos 発現細胞が増加し ($p<0.01$)、その多くは GAD67

陽性の GABA 作動性神経であった。LGP の GAD67 陽性細胞のうち、プレパルス群では $62.1 \pm 3.2 \%$ が c-Fos 陽性細胞であり、コントロール群の $41.9 \pm 4.1 \%$ と比較して有意に高値を示した。

4-3. LGP への lidocaine の微量注入による PPI の変化

PPI おける LGP 神経の役割を明らかにするために、LGP へ局所麻酔薬である lidocaine を微量注入して PPI の変化を解析した。Lidocaine により PPI は障害されたが、驚愕強度は何ら変化しなかった (Fig. 7)。

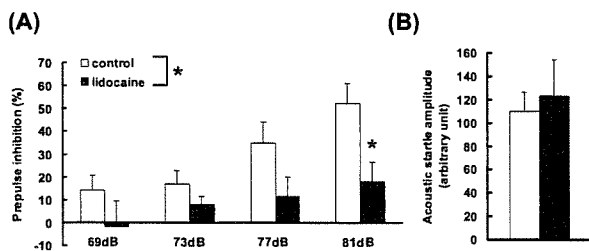


Fig. 7. Effect of bilateral microinjections of lidocaine into the LGP on PPI of the startle reflex in mice. Values indicate the mean $\pm$ SE ($n = 9-10$). (A) PPI. $F(1,17)=5.978$, $p<0.05$. (B) Acoustic startle amplitude. * $P<0.05$ vs. control group.

4-4. 逆行性トレーサーを用いた神経投射の解析

驚愕反応の出力に重要である PnC へは PPTg からの神経投射が報告されているが、LGP と PnC との間の神経連絡については不明である。そこで、逆行性トレーサーである FG を両側性に PnC へ微量注入して神経投射を調べた。その結果、PPTg では FG 陽性細胞が認められたが、LGP では陽性細胞は認められなかった。一方、FG を PPTg へ微量注入した場合、LGP において FG 陽性細胞が認められた。二重免疫染色の結果より、LGP から PPTg に投射する細胞には GAD67 陽性の GABA 作動性神経が含まれていることが示唆された。

4-5. PPI に対する GABA 受容体アンタゴニストの作用

PPTg へ GABA 受容体アンタゴニストを微量注入し、PPI に関する GABA 受容体について解析した。PPTg へ GABA_A 受容体アンタゴニストの picrotoxin あるいは GABA_B 受容体アンタゴニストの phaclofen を両側性に微量注入した結果、溶媒注入群と phaclofen 注入群との間で PPI に有意差が認められた ($p<0.01$)。一方、picrotoxin 注入群と溶媒注入群との間に有意な差は認められなかった。なお、驚愕強度には 3 群間で有意な変化は認められなかった。同様に、両側の PnC へ picrotoxin ($25.0 \text{ ng}/0.5 \mu\text{L}/\text{side}$) あるいは phaclofen ($2.5 \text{ ng}/0.5 \mu\text{L}/\text{side}$) を微量注入したが、何れの薬物も PPI および驚愕反応強度に影響しなかった。

4-6. PPI に対する METH の作用

METH ($1-3 \text{ mg/kg}$)の単回投与では驚愕強度は変化しなかったが、用量依存的な PPI の障害が誘発された。同様に、MK-801 ($0.3-1 \text{ mg/kg}$)の単回投与でも用量依存的な PPI の障害が認められた。単回投与では PPI に影響しなかった METH (1 mg/kg)を連続 1 週間投与すると、PPI の障害が認められた。この METH 連続投与による PPI の障害は断薬 7 日後まで維持されたが、14 日後にはコントロールレベルまで回復した (Fig. 8)。

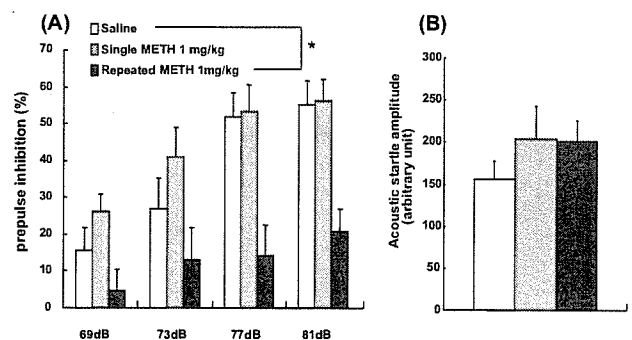


Fig. 8. Effect of single and repeated METH treatment on PPI of the startle reflex in mice. Values indicate the mean $\pm$ SE ($n=7$). (A) PPI. $F(2,18)=9.152$, $P<0.01$. (B) Acoustic startle amplitude. $F(2,18)=0.793$, $P=0.4678$. * $P<0.05$ vs. saline-treated group.

4-7. PPI 試験により誘発される LGP および PnC での c-Fos 発現の変化に対する METH の作用

PPI 装置に入れただけのコントロール群に比較して、PPI 群では LGP の c-Fos 発現が顕著に増加した。一方、METH (3 mg/kg) および MK-801 (1 mg/kg) の単回処置あるいは METH (1 mg/kg) の連続投与により PPI が障害された群では、溶媒投与群に比較して LGP における c-Fos 発現が有意に低下し、PnC では c-Fos 発現が増加した (Fig. 9)。

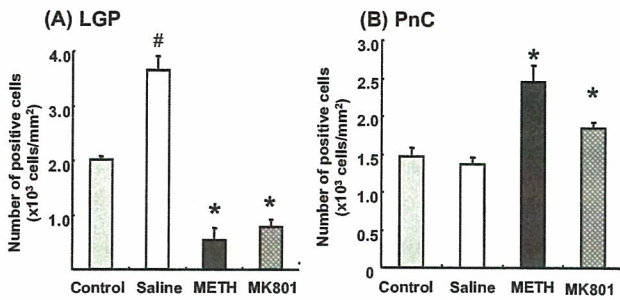


Fig. 9. Changes in c-Fos expression in the LGP and PnC induced by PPI test in mice that were pretreated with METH or MK-801. Values indicate the mean $\pm$ SE (n=4-5). (A) $F(3,14)=60.936$, $P<0.001$. (B) $F(3,14)=14.43$, $P<0.001$. [#] $P<0.001$ vs. control. ^{*} $P<0.01$ vs. saline-treated group.

4-9. 考察

聴覚刺激によって引き起こされる驚愕反応の発生は、蝸牛神経核、PnC および運動神経を介した神経回路により制御されていると考えられている。本研究では、驚愕反応を誘発する強大なパルス刺激によって PnC における c-Fos タンパクの発現が増加し、プレパルス刺激の挿入により c-Fos 発現が抑制されることを見出した。したがって、PnC におけるパルス刺激による c-Fos タンパクの発現増加は、聴覚性の驚愕反応を制御している神経回路の活性化を反映している可能性がある。

これまでの研究により、PPI に影響を与える神経系は、PPI の発現に直接関与する実行回路と PPI を制御する制御回路の2つに分けて捉えることが可能であり、それぞれの神経回路が協調して感覚情報処理機構がコントロールされていると考えられている。実行回路は、弱いプレパルス刺激を伝達する下丘 (inferior colliculus; IC)、上丘

(superior colliculus; SC) および PPTg を含む上行性の聴覚神経など、脳幹に存在する神経核から構成されている。一方、PPI の制御回路は前脳に存在し、特に海馬、mPFC および扁桃体などの辺縁系皮質が PPI の制御に重要な役割を果たしていると考えられている。

本研究では、プレパルス刺激により c-Fos 発現が増加した脳部位は LGP のみであり、LGP で活性化される神経は GABA 作動性神経であることが示唆された。また、lidocaine を局所微量注入して LGP の神経を一過性に抑制すると、PPI の障害が誘発されたことから、LGP の GABA 作動性神経は PPI の制御に重要な役割を果たしていると考えられる。また、逆行性トレーサーである FG と GAD67 の免疫染色を組み合わせた実験より、LGP の GABA 作動性神経は PPTg へ投射していることが明らかになった。さらに、GABA_B 受容体アンタゴニストである phaclofen を PPTg へ微量注入すると PPI が障害されたことより、LGP から PPTg へ投射している GABA 作動性神経は、脳幹に存在する PPI の実行回路と前脳に存在する制御回路とをつなぐインターフェイスとして機能しており、感覚情報処理機構の制御に重要な役割を果たしていることが示唆された (Fig. 10)。

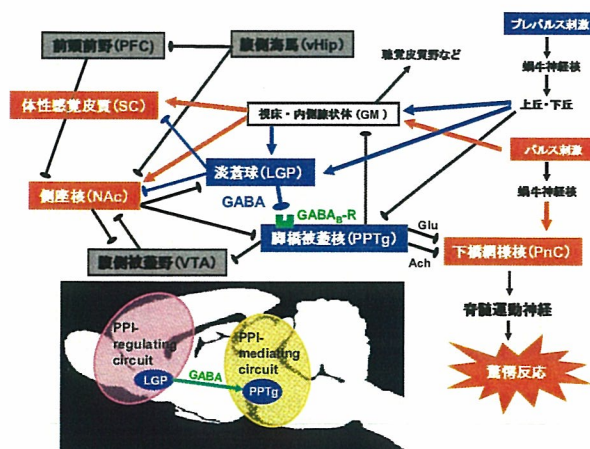


Fig. 10. Possible neural circuit underlying PPI of the startle reflex in mice.

前脳の多くの部位が PPI の制御に関わっている

ことが報告されているが、本研究では LGP 以外の脳部位では c-Fos 発現に変化は認められなかった。したがって、mPFC や海馬などの他の部位については PPI の制御に対する寄与が低い、もしくは PPI の制御に必要な部位ではあるが c-Fos タンパクが誘導される閾値までは活性化されなかった可能性がある。あるいは、PPI に対する LGP 以外の脳部位の作用は活動依存的ではなく、緊張性の抑制であることが考えられる。

METH は、単回投与では PPI に影響のないような低用量でも、連続投与することにより感覚情報処理を障害することが明らかとなった。さらに、METH 連続投与による PPI の障害は遷延性であり、断薬後も障害が維持されることが示唆された。さらに、METH による PPI の障害には LGP の GABA 作動性神経系の機能不全が関与していることが示唆された。

【研究業績】

(1) 論文発表

- 1) Nakajima, A., Yamada, K., Nagai, T., Uchiyama, T., Miyamoto, Y., Mamiya, T., Nitta, A., Mizuno, M., Tran, M.H., Seto, A., Yoshimura, M., Kitaichi, K., Hasegawa, T., Saito, K., Yamada, Y., Seishima, M., Sekikawa, K., Kim, H.C. and Nabeshima, T.: Role of TNF- α in methamphetamine-induced drug dependence and neurotoxicity. *J. Neurosci.*, 24: 2212-2225, 2004.
- 2) Nagai, T., Yamada, K., Yoshimura, M., Ishikawa, K., Miyamoto, Y., Hashimoto, K., Noda, Y., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Tissue plasminogen activator-plasmin system participates in the rewarding effect of morphine by regulating dopamine release. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 3650-3655, 2004.
- 3) Mizoguchi, H., Yamada, K., Mizuno, M., Mizuno, T., Nitta, A., Noda, Y., and Nabeshima, T.: Regulations of methamphetamine reward by extracellular signal-regulated kinase 1/2/ets-like gene-1 signaling pathway via the activation of dopamine receptors. *Mol. Pharmacol.*, 65: 1293-1301, 2004.
- 4) Zeng, N., Nakajima, A., He, J., Nitta, A., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Fos expression associated with the discriminative stimulus effects of methamphetamine in rats. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1025: 236-241, 2004.
- 5) Yan, Y., Mizuno, T., Nitta, A., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Nefiracetam attenuates methamphetamine-induced discriminative stimulus effects in rats. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1025: 274-278, 2004.
- 6) Nakajima, A., Yamada, K., He, J., Zeng, N., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Anatomical substrates for the discriminative stimulus effects of methamphetamine in rats. *J. Neurochem.*, 91: 308-317, 2004.
- 7) Yamada, K. and Nabeshima, T.: Pro- and anti-addictive neurotrophic factors and cytokines in psychostimulant addiction (Review). *Ann. NY Acad. Sci.*, 1025: 198-204, 2004.
- 8) Yamada, K., Mizuno, M. and Nabeshima, T.: Interaction of BDNF/TrkB signaling and NMDA receptors in learning and memory. *Drug News Perspect.*, 17: 1-4, 2004.
- 9) Nabeshima, T., Tran, M.H., Kim, H.C. and Yamada, K.: Oxidative stress mechanism of amyloid β -peptide-induced impairment of neurotransmission and memory. *Method Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 26: 1-3, 2004.
- 10) Yamada, K. and Nabeshima, T.: Nitric oxide in learning and memory, In *From Messengers to Molecules: Memories are Made of These* (G. Riedel and B. Platt, eds) p480-491, Georgetown,

- Texas, LANDES BIOSCIENCE, 2004.
- 11) Matsuoka, Y., Furuyashiki, T., Yamada, K., Nagai, T., Bito, H., Tanaka, Y., Kitaoka, S., Ushikubi, F., Nabeshima, T. and Narumiya, S.: Prostaglandin E receptor EP1 controls impulsive behavior under stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 102: 16066-16071, 2005.
 - 12) Yamada, K., Takayanagi, M., Kamei, H., Nagai, T., Dohniwa, M., Kobayashi, K., Yoshida, S., Ohhara, T., Takuma, K. and Nabeshima, T.: Effects of memantine and donepezil on amyloid β -induced memory impairment in a delayed-matching to position task in mice. *Behav. Brain Res.*, 162: 191-199, 2005.
 - 13) Nagai, T., Kamei, H., Ito, M., Hashimoto, K., Takuma, K., Nabeshima, T. and Yamada, K.: Modification by the tissue plasminogen activator-plasmin system of morphine-induced dopamine release and dopamine-dependent hyperlocomotion, but not antinociceptive effect in mice. *J. Neurochem.*, 93: 1272-1279, 2005.
 - 14) Nagai, T., Noda, Y., Ishikawa, K., Miyamoto, Y., Yoshimura, Y., Ito, M., Takayanagi, M., Takuma, K., Yamada, K. and Nabeshima, T.: The role of tissue plasminogen activator in methamphetamine-related reward and sensitization. *J. Neurochem.*, 92: 660-667, 2005.
 - 15) Yamada, K., Nagai, T. and Nabeshima, T.: Drug dependence, synaptic plasticity, and tissue plasminogen activator. *J. Pharmacol. Sci.*, 97: 157-161, 2005.
 - 16) 永井拓, 田熊一徹, 山田清文: 脳と組織プラスミノゲン活性化因子. *脳* 21, 8: 437-442, 2005.
 - 17) 亀井浩行, 野田幸裕, 山田清文, 鍋島俊隆: 薬物依存と前頭前野. *Clinical Neuroscience (臨床神経科学)*, 23: 682-684, 2005.
 - 18) 山田清文, 永井拓, 中島晶, 鍋島俊隆: 覚せい剤および麻薬に共通する依存関連分子の検索. *日本薬理学雑誌*, 126: 49-53, 2005.
 - 19) 田熊一徹, 山田清文, 松田敏夫: グリア細胞の遅発性アポトーシス. *Clinical Neuroscience (臨床神経科学)*, 23: 181-183, 2005.
 - 20) 永井拓, 山田清文, 鍋島俊隆: 遺伝子改変動物における情動性の評価. *日本薬理学雑誌*, 125: 71-76, 2005.
 - 21) Kamei, H., Nagai, T., Nakano, H., Togan, Y., Takayanagi, M., Takahashi, K., Kobayashi, K., Yoshida, S., Maeda, K., Takuma, K., Nabeshima, T. and Yamada, K.: Repeated methamphetamine treatment impairs recognition memory through a failure of novelty-induced ERK 1/2 activation in the prefrontal cortex. *Biol. Psychiatry*, 59:75-84, 2006.
 - 22) Chen, L., Yamada, K., Nabeshima, T. and Sokabe, M.: $\alpha 7$ Nicotinic acetylcholine receptor as a target to rescue deficit in hippocampal LTP induction in β -amyloid infused rats. *Neuropharmacology*, 50:254-268, 2006.
 - 23) Yan, Y., Nitta, A., Mizoguchi, H., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Relapse of methamphetamine-seeking behavior in C57BL/6J mice demonstrated by a reinstatement procedure involving intravenous self-administration. *Behav. Brain Res.*, 168:137-143, 2006.
 - 24) Ishikawa, K., Nitta, A., Mizoguchi, H., Mohri, A., Murai, R., Miyamoto, Y., Noda, Y., Kitaichi, K., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Effects of single and repeated administration of methamphetamine or morphine on neuroglycan C gene expression in the rat brain. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, 9:407-415, 2006.
 - 25) Yan, Y., Nitta, A., Mizuno, T., Nakajima, A., Yamada, K. and Nabeshima, T.:

- Discriminative-stimulus effects of methamphetamine and morphine in rats are attenuated by cAMP-related compounds. *Behav. Brain Res.*, 173:39-46, 2006.
- 26) Nagai, T., Kamei, H., Dohniwa, M., Takayanagi, M., Suzuki, M., Matsuya, T., Nabeshima, T., Takuma, K. and Yamada, K.: Involvement of hippocampal ERK1/2 in spatial working memory in rats. *NeuroReport*, 17:1453-1457, 2006.
- 27) Ito, M., Nagai, T., Kamei, H., Nakamichi, N., Nabeshima, T., Takuma, K. and Yamada, K.: Involvement of tissue plasminogen activator-plasmin system in depolarization-evoked dopamine release in the nucleus accumbens of mice. *Mol. Pharmacol.*, 70:1720-1725, 2006.
- 28) Nagai, T., Ito, M., Nakamichi, N., Mizoguchi, H., Kamei, H., Fukakusa, A., Nabeshima, T., Takuma, K. and Yamada, K.: The rewards of nicotine: regulation by tissue plasminogen activator-plasmin system through protease activated receptor-1. *J. Neurosci.*, 26:12374-12383, 2006.
- 29) 田熊一徹, 山田清文, 松田敏夫: 中枢神経系のアポトーシスにおけるミトコンドリアの役割に関する研究. *日本薬理学雑誌*, 127:349-354, 2006.
- 30) 山田清文: 覚せい剤により誘発される記憶障害一発症機構と薬物治療. *医学のあゆみ*, 217:1171-1173, 2006.
- 31) 永井拓, 鍋島俊隆, 田熊一徹, 山田清文: モルヒネ依存形成における組織プラスミノゲン活性化因子の役割. *日本アルコール・薬物医学会雑誌*, 41:23-30, 2006.
- 32) Yan, Y., Yamada, K., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Transient drug-primed but persistent cue-induced reinstatement of extinguished methamphetamine-seeking behavior in mice. *Behav. Brain Res.*, 177:261-268, 2007.
- 33) Takahashi, K., Nagai, T., Kamei, H., Maeda, K., Matsuya, T., Arai, S., Mizoguchi, H., Yoneda, Y., Nabeshima, T., Takuma, K. and Yamada, K.: Neural circuits containing pallidotegmental GABAergic neurons are involved in the prepulse inhibition of the startle reflex in mice. *Biol. Psychiatry*, in press.
- 34) Mizoguchi, H., Yamada, K., Niwa, M., Mouri, A., Mizuno, T., Noda, Y., Nitta, A., Itohara, S., Banno, Y. and Nabeshima, T.: Reduction of methamphetamine-induced sensitization and reward in matrix metalloproteinase-2 and -9 deficient mice. *J. Neurochem.*, in press.
- 35) Ito, M., Nagai, T., Mizoguchi, H., Fukakusa, A., Nakanishi, Y., Kamei, H., Nabeshima, T., Takuma, K. and Yamada, K.: Possible involvement of protease-activated receptor-1 in the regulation of morphine-induced dopamine release and hyperlocomotion by the tissue-plasminogen activator-plasmin system. *J. Neurochem.*, in press.

(2) 学会発表

国内学会

- 1) 山田清文, 永井拓, Yan Yijin, 亀井浩行, 野田幸裕, 新田淳美, 鍋島俊隆: モルヒネの報酬効果における組織プラスミノゲン活性化因子-プラスミン系の関与 (シンポジウム) 第 77 回日本薬理学会年会 (大阪), (2004.3).
- 2) 山田清文, 鍋島俊隆: 覚せい剤および麻薬依存に共通する内因性 anti-addictive および pro-addictive substances. (シンポジウム: 薬物依存の分子機構) 第 31 回トキシコロジー学会学術年会 (大阪), (2004.7).
- 3) 永井拓, 亀井浩行, 中野寛子, 東岸由里子, 小

- 林香奈, 田熊一浩, 鍋島俊隆, 山田清文: メタンフェタミン誘発認知障害におけるドパミン作動性神経系の関与, 第10回日本行動薬理研究会 (栗駒), (2004, 8).
- 4) 山田清文, 永井 拓, 新田淳美, 鍋島俊隆: 覚醒剤および麻薬依存に共通する依存関連分子の検索, 薬理学セミナー2004 (神奈川), (2004, 8).
 - 5) 東岸由里子, 亀井浩行, 永井拓, 田熊一浩, 中野寛子, 鍋島俊隆, 山田清文: メタンフェタミン誘発性認知障害におけるドパミン及びNMDA受容体の関与, 第27回日本神経科学大会・第47回日本神経化学会大会合同大会 (Neuro 2004) (大阪), (2004, 9).
 - 6) 小林香奈, 永井拓, 亀井浩行, 中野寛子, 東岸由里子, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: 認知記憶における extracellular signal-regulated kinaseの関与, 第106回日本薬理学会近畿部会 (京都), (2004, 11).
 - 7) 亀井浩行, 永井 拓, 東岸由里子, 小林香奈, 中野寛子, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: メタンフェタミン誘発性認知障害に対する抗精神病薬の効果, 第8回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋), (2005, 3).
 - 8) 永井拓, 伊藤美奈, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: 組織プラスミノージェン活性化因子/プラスミンによるドパミン作動性神経系の制御. 第16回マイクロダイアリス研究会 (東京), (2005, 12, 3).
 - 9) 伊藤美奈, 永井拓, 亀井浩行, 橋本和樹, 中道範隆, 鍋島俊隆, 田熊一徹, 山田清文: ニコチン精神依存形成における組織プラスミノージェン活性化因子/プラスミン系シグナルの関与. 日本薬学会北陸支部第113回例会 (金沢), (2005, 11, 20).
 - 10) 高月公博, 永井拓, 小林加奈, 洞庭生悟, 高橋健次, 高柳匡徳, 田熊一徹, 山田清文: Delayed matching to position 課題における作業記憶に関する責任部位同定の試み. 日本薬学会北陸支部第113回例会 (金沢), (2005, 11, 20).
 - 11) 深草亜由美, 永井拓, 伊藤美奈, 亀井浩行, 鍋島俊隆, 田熊一徹, 山田清文: モルヒネ誘発性ドパミン遊離におけるプロテアーゼ活性化受容体の関与. 日本薬学会北陸支部第113回例会 (金沢), (2005, 11, 20).
 - 12) 洞庭生悟, 永井拓, 高柳匡徳, 小林加奈, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: 放射状迷路を用いた methamphetamine における作業記憶障害モデルに対する抗精神病薬の治療効果. 第108回日本薬理学会近畿部会 (西宮), (2005, 11, 11).
 - 13) 洞庭生悟, 永井拓, 高柳匡徳, 小林加奈, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: 放射状迷路を用いた methamphetamine における記憶障害モデルの作成と抗精神病薬 clozapine の効果. 第15回日本医療薬学会年会 (岡山), (2005, 10, 1-2).
 - 14) 伊藤美奈, 永井拓, 亀井浩行, 橋本和樹, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: ニコチン依存における組織プラスミノージェン活性化因子/プラスミン系シグナルの役割. 第48回日本神経化学会大会 (福岡), (2005, 9, 28-30).
 - 15) 高橋健次, 亀井浩行, 永井拓, 田熊一徹, 山田清文: 組織化学的手法を用いた prepulse inhibition に関与する脳神経回路の同定. 第11回日本行動薬理研究会 (千歳), (2005, 8, 5-6).
 - 16) 永井拓, 伊藤美奈, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: 線条体における脱分極刺激誘発性ドパミン遊離に対する protease activated receptor-1 の関与. 第28回日本神経科学大会 (横浜), (2005, 7, 26-28).
 - 17) 小林香奈, 永井拓, 亀井浩行, 田熊一徹, 東岸由里子, 中野寛子, 鍋島俊隆, 山田清文: 認知記憶に対する前頭前皮質のドパミン D1 受容

- 体/ERK1/2 シグナルの関与. 第 28 回日本神経科学大会 (横浜), (2005. 7. 26-28).
- 18) 洞庭生悟, 永井拓, 高柳匡徳, 小林加奈, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: 空間作業記憶に関連する海馬における extracellular signal-regulated kinase のリン酸化. 第 27 回日本生物学的精神医学会・第 35 回日本神経精神薬理合同年会 (大阪), (2005. 7. 6-8).
 - 19) 高橋健次, 永井 拓, 田熊一徹, 山田清文: c-Fos マッピングによる prepulse inhibition に関与する脳神経核の同定. 第 107 回日本薬理学会近畿部会 (金沢), (2005. 6. 24).
 - 20) 永井拓, 野田幸裕, 石川和宏, 宮本嘉明, 伊藤美奈, 高柳匡徳, 田熊一徹, 山田清文, 鍋島俊隆: メタンフェタミン報酬効果における組織プラスミノゲン活性化因子 (tPA) の役割. 第 78 回日本薬理学会年会 (横浜), (2005. 3. 22-24).
 - 21) 永井拓, 小林香奈, 東岸由里子, 中野寛子, 亀井浩行, 橋本和樹, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: ドパミン D1 受容体/ERK1/2 シグナルによる認知記憶の制御. 第 14 回神経行動薬理若手研究者の集い (横浜), (2005. 3. 21).
 - 22) 山田清文, 中島晶, 永井拓, 宮本嘉明, 間宮隆吉, 水野誠, Tran Manh Hung, 新田淳美, 北市清幸, 長谷川高明, 斎藤邦明, 清島満, Kim Hyoung Chun, 鍋島俊隆: メタンフェタミン依存および神経毒性に対する内因性保護因子 TNF- α の作用. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋), (2005. 3. 18).
 - 23) 永井拓, 石川和宏, 宮本嘉明, 橋本和樹, 野田幸, 新田淳美, 山田清文, 鍋島俊隆: 麻薬依存における組織プラスミノゲン活性化因子/プラスミン系シグナルの役割. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋), (2005. 3. 18).
 - 24) 永井拓, 野田幸裕, 石川和宏, 宮本嘉明, 伊藤美奈, 高柳匡徳, 田熊一徹, 亀井浩行, 山田清文, 鍋島俊隆: メタンフェタミンの報酬効果における組織プラスミノゲン活性化因子の関与. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋), (2005. 3. 18).
 - 25) 永井拓, 亀井浩行, 橋本和樹, 伊藤美奈, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: モルヒネの自発運動量増加作用およびドパミン遊離作用に対する組織プラスミノゲン活性化因子関連分子の効果. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋), (2005. 3. 18).
 - 26) 伊藤美奈, 永井拓, 橋本和樹, 亀井浩行, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: ニコチンにより誘発される神経伝達物質遊離に対する組織プラスミノゲン活性化因子/プラスミン経路の関与. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋), (2005. 3. 18).
 - 27) 中島晶, He Jue, Zeng Nan, 新田淳美, 山田清文, 鍋島俊隆: メタンフェタミン弁別刺激による c-Fos タンパクの脳部位特異的発現. 第 8 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム学術年会 (名古屋), (2005. 3. 18).
 - 28) Yan, Y., Nitta, A., Yamada, K., and Nabeshima, T.: Relapse of methamphetamine-seeking behavior in mice. 第 109 回日本薬理学会近畿部会 (倉敷), (2006.06.16).
 - 29) 深草亜由美, 永井拓, 伊藤美奈, 亀井浩行, 鍋島俊隆, 田熊一徹, 山田清文: モルヒネによる精神依存形成における tPA-plasmin-PAR-1 系の関与. 第 109 回日本薬理学会近畿部会 (倉敷), (2006.06.16).
 - 30) 福崎笑子, 田熊一徹, 永井 拓, David M. Stern, Shirley ShiDu Yan, 山田清文: マウス培養神経細胞における A β の細胞内移行と細胞障害. 第 109 回日本薬理学会近畿部会 (倉敷), (2006.06.16).
 - 31) 玉置啓祐, 山田清文, 米田幸雄: トラウマ体

- 験マウスを用いた成熟脳内神経細胞新生の解析. 日本薬学会北陸支部第 114 回例会 (金沢), (2006.07.08).
- 32) 小池宏幸, 田熊一徹, 永井拓, 溝口博之, 中津史, 大野博司, 山田清文: アダプター蛋白複合体 μ 3B サブユニット欠損マウスの多動性に対する GABA 作動薬の効果. 日本薬学会北陸支部第 114 回例会 (金沢), (2006.07.08).
- 33) 伊藤幸男, 田熊一徹, 中道範隆, 溝口博之, 永井拓, 山田清文: 覚醒剤誘発性認知障害モデルにおける ERK1/2 シグナル系の役割. 日本薬学会北陸支部第 114 回例会 (金沢), (2006.07.08).
- 34) 新井佐和子, 永井 拓, 高橋健次, 亀井浩行, 田熊一徹, 山田清文: プレパルス抑制の制御に関与する神経回路の同定. 第 29 回日本神経科学大会 (京都), (2006.07.19-21).
- 35) 伊藤美奈, 永井拓, 山田清文: ニコチンによる精神依存形成における組織プラスミノーゲン活性化因子/プラスミンシグナルの関与. 第 41 回日本アルコール・薬物医学会総会 (京都), (2006.07.27-28).
- 36) 新井佐和子, 保科有希, 姫野友紀子, 田熊一徹, 永井拓, 山田清文: 更年期認知障害モデルに対するイチヨウ葉エキス(EGb761)の効果. 第 3 回サプリメント研究会 (岐阜), (2006.7.29-30).
- 37) 衣斐大祐, 田熊一徹, 小池宏幸, 溝口博之, 山田清文: 幼若期マウスの学習記憶・情動発達に対する長期隔離飼育の影響. 第 12 回日本行動薬理研究会 (能登), (2006.09.01-02).
- 38) 溝口博之, 山田清文, 丹羽美苗, 毛利彰宏, 野田幸裕, 新田淳美, 糸原重美, 坂野喜子, 鍋島俊隆: メタンフェタミン連続投与による異常行動とマトリクスメタロプロテアーゼの生理活性変化. 第 12 回日本行動薬理研究会 (能登), (2006.09.01-02).
- 39) 伊藤幸男, 田熊一徹, 溝口博之, 永井拓, 山田清文: メタンフェタミン誘発性認知障害モデルに対する ZSET1446 の治療効果にはドパミン D1 受容体/ERK1/2 シグナルが関与する. 第 12 回日本行動薬理研究会 (能登), (2006.09.01-02).
- 40) 新井佐和子, 高橋健次, 永井拓, 亀井浩行, 田熊一徹, 山田清文: Prepulse inhibition に関与する脳神経回路網とメタンフェタミンの作用. 第 12 回日本行動薬理研究会 (能登), (2006.09.01-02).
- 41) 玉置啓祐, 山田清文, 前田紗弥香, 米田幸雄: トラウマ体験による成熟脳内神経細胞新生の制御. 第 12 回日本行動薬理研究会 (能登), (2006.09.01-02).
- 42) 深草亜由美, 永井 拓, 溝口博之, 鍋島 俊隆, 田熊一徹, 山田清文: メタンフェタミン連続投与により誘発されるドパミン遊離増強における tPA-plasmin 系の関与, 生体機能と創薬シンポジウム 2006 (福岡), (2006.09.08-09).
- 43) 玉置啓祐, 福井正樹, 吉田浩平, 前田紗弥香, 鎌倉昌樹, 山田清文, 米田幸雄: Regulation of adult neurogenesis by traumatic experience in mice. 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 回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 44) Yan, Y., Yamada, K., Niwa, M., Nitta, A., and Nabeshima, T.: Enduring vulnerability to reinstatement of methamphetamine-seeking behavior in GDNF mutant mice. 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 回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 45) 山田清文, 永井 拓, 伊藤美奈, 中道範隆, 亀井浩行, 深草亜由美, 鍋島俊隆, 田熊一徹: Role of tPA-plasmin system in nicotine reward. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 46) 永井拓, 中道範隆, 小林香奈, 伊藤幸男, 鍋島俊隆, 田熊一徹, 山田清文: Dopamine D1 receptor/ERK1/2 activation regulates long-term retention of recognition memory in mice. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 47) 姫野友紀子, 田熊一徹, 保科有希, 新井佐和子, 永井拓, 溝口博之, 小池浩司, 井上正樹, 山田清文: Effects of chronic stress and estrogen on contextual fear conditioning in ovariectomized mice. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 48) 福崎笑子, 田熊一徹, 永井拓, David M. Stern, Shirley ShiDu Yan, 山田清文: Neuronal uptake of amyloid β -peptide and its cellular toxicity. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 49) 伊藤幸男, 田熊一徹, 中道範隆, 溝口博之, 永井拓, 山田清文: ZSET1446 improves the object recognition impairment by repeated methamphetamine treatment in mice. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 50) 前田健二, 杉野春日子, 廣瀬 毅, 北川 久, 永井拓, 溝口博之, 田熊一徹, 山田清文: repeated administration of phencyclidine and MK-801 decreases the neurogenesis in the dentate gyrus. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 51) 溝口博之, 山田清文, 丹羽美苗, 毛利彰宏, 水野朋子, 野田幸裕, 新田淳美, 糸原重美, 坂野喜子, 鍋島俊隆: MMP-2/9 deficient mice show reduced responses to METH in behavioral changes and dopamine release. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 52) 伊藤美奈, 永井拓, 溝口博之, 田熊一徹, 山田清文: Release of tissue plasminogen activator in the nucleus accumbens by drugs of abuse. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 53) 山田清文, 永井拓, 伊藤美奈, 中道範隆, 亀井浩行, 深草亜由美, 鍋島俊隆, 田熊一徹: Role of tPA-plasmin system in nicotine reward. 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回日本神経化学学会大会合同年会 (名古屋), (2006.09.14-16).
- 54) 姫野友紀子, 田熊一徹, 保科有希, 新井佐和子, 永井拓, 溝口博之, 小池浩司, 井上正樹, 山田清文: 更年期障害モデル動物の記憶障害に対するエストロゲンの効果. 第16回日本医療薬学会年会 (金沢), (2006.09.30-10.01).
- 55) 衣斐大祐, 田熊一徹, 小池宏幸, 溝口博之, 山田清文: 幼若期長期隔離飼育マウスの発達障害モデルとしての有用性. 第110回日本薬理学会近畿部会 (京都), (2006.11.11).
- 56) 深草亜由美, 永井拓, 溝口博之, 鍋島俊隆, 田熊一徹, 山田清文: 組織プラスミノゲン活性化因子によるメタンフェタミン誘発性ドパミン遊離の増強. 日本薬学会北陸支部第115回例会 (富山), (2006.11.12).
- 57) 中出順也, 溝口博之, 深草亜由美, 田熊一徹, 鍋島俊隆, 山田清文: てんかんモデル動物における Matrix Metalloproteinase-9 の動態と機

能解析. 日本薬学会北陸支部第 115 回例会 (富山), (2006.11.12).

58) 溝口博之, 山田清文, 丹羽美苗, 毛利彰宏, 野田幸裕, 新田淳美, 糸原重美, 坂野喜子, 鍋島俊隆: メタンフェタミン誘発性行動障害におけるマトリックスメタロプロテアーゼの動態変化: 細胞外ドパミン遊離量の調節. 第 17 回マイクロダイアリシス研究会 (東京), (2006.12.02).

59) 田熊一敏, 福崎笑子, 永井拓, 溝口博之, David M. Stern, Shirley ShiDu Yan, 山田清文: Alzheimer 病におけるミトコンドリア機能破綻の分子機序. 第 80 回日本薬理学会年会 (名古屋), (2007.03.14-16).

60) 衣斐大祐, 田熊一敏, 小池宏幸, 溝口博之, 山田清文: 幼若期長期隔離飼育による海馬歯状回の神経新生抑制と認知・行動発達異常の発現. 第 80 回日本薬理学会年会 (名古屋), (2007.03.14-16).

61) 姫野友紀子, 田熊一敏, 保科有希, 新井佐和子, 大野佑城, 船津瑤子, 永井拓, 溝口博之, 小池浩司, 井上正樹, 山田清文: 閉経後認知症障害モデルマウスの作成. 第 80 回日本薬理学会年会 (名古屋), (2007.03.14-16).

62) 伊藤幸男, 田熊一敏, 溝口博之, 永井拓, 鍋島俊隆, 山田清文: メタンフェタミン誘発性認知障害に対するミノサイクリンの効果. 第 80 回日本薬理学会年会 (名古屋), (2007.03.14-16).

63) 伊藤美奈, 永井拓, 中道範隆, 溝口博之, 亀井浩行, 鍋島俊隆, 田熊一敏, 山田清文: ニコチンの報酬効果における tPA-plasmin-PAR1 シグナルの役割. 第 80 回日本薬理学会年会 (名古屋), (2007. 03. 14-16).

国際学会

1) Yamada K., Hashimoto K, Nagai T, Kamei H,

Takuma K and Nabeshima T: Involvement of tissue plasminogen activator-plasmin system in the modulation of depolarization-evoked dopamine release. 34th Meeting of Society for Neuroscience (San Diego), (2004. 10).

2) Yamada, K., Nagai, T., Ito, M., Takuma, K. and Nabeshima, T.: The role of tissue plasminogen activator in methamphetamine-related reward and sensitization. The American College of Neuropsychopharmacology (ACNP) 44th Annual Meeting (Symposium “Molecular Mechanism of Drug Dependence Induced by Amphetamine and Related Drugs”), (Hawaii, USA), (2005. 12. 11-15).

3) Nagai, T., Noda, Y., Ishikawa, K., Miyamoto, Y., Ito, M., Takuma, K., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Tissue plasminogen activator participates in methamphetamine-related reward and locomotor sensitization. 35th Annual meeting Society for Neuroscience (Washington, DC, USA), (2005. 11. 12-16).

4) Yan, Y., Nitta, A., Mizoguchi, H., Noda, Y., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Reinstatement of methamphetamine-seeking behavior in C57BL/6J mice demonstrated by intravenous self-administration. 35th Annual meeting Society for Neuroscience (Washington, DC, USA), (2005. 11. 12-16).

5) Mizoguchi, H., Yan, Y., Nagai, T., Nitta, A., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Tissue plasminogen activator (tPA) knock-out mice overrespond to morphine self-administration mediated by dopamine D1 receptor. 35th Annual meeting Society for Neuroscience (Washington, DC, USA), (2005. 11. 12-16).

6) Mizoguchi, H., Yamada, K., Mizuno, M., Mizuno, T., Nitta, A., Noda, Y. and Nabeshima, T.: