

および 5-MeO-DIPT (10 mg/kg)、2C-T-7 (1 mg/kg)、メチロン (10 mg/kg) 投与 1 時間後に、limbic forebrain を分画し HPLC-ECD 法に従って、ドパミンおよびそれぞれの代謝産物の含量を測定した。MAP、MDMA およびメチロン投与によりドパミン、3-MT 含量は有意に増加し、ドパミン遊離のインデックスと考えられる 3-MT/DA 比率は著明に増加していた。5-MeO-DIPT 投与では、ドパミンおよびセロトニン含量には影響は認められず、3-MT 含量のみが有意に減少していた。3-MT/DA 比率は減少していた。2C-T-7 (1 mg/kg) 投与では、ドパミンとその代謝産物含量および代謝回転の増加が引き起こされた。MAP、MDMA およびメチロンの結果から、ドパミンおよび 3-MT 含量の増加もしくは、3-MT/DA 比率の増加は、乱用危険度を推測するマーカーになる可能性が示唆された。

一方、脳内透析法にて、メチロンによる側坐核内ドパミン遊離に対する効果を検討した結果、ドパミン遊離増加が確認された。したがって、メチロンなどの MDMA 類似誘導体は、覚せい剤やコカインなどの依存性薬物と同様に、中脳辺縁ドパミン神経系に作用を及ぼし、精神依存形成を引き起こす危険性が示唆された。側坐核内でのドパミン遊離の増加は、物質の乱用危険度を推測する脳内の生化学的マーカーとして有用であると考えられる。

4. 脳内遺伝子発現に対する影響

MAP および MDMA 投与後の側坐核における遺伝子発現変動をマイクロアレイ (3130 種) 法で解析した。興味深いことに、MAP および MDMA の投与により共通して glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) 発現レベルが有意に増加していた⁷⁾。2C-T-7 およびメチロン投与でも、共通して側坐核における GILZ mRNA 発現レベルが増加していた (Fig. 2)。GILZ 発現の誘導は、薬物依存形成の危険性を予測する生化学的マーカーの 1 つである可能性が示唆された。

5. 培養神経細胞による細胞毒性の評価

ドパミン含有培養神経細胞である CATH.a 細胞を利用して、MAP、MDMA、5-MeO-DIPT、2C-T-7 およびメチロン添加による細胞障害の発現を検討した。細胞障害発現は、LDH 放出量を指標として解析した。CATH.a 細胞に薬物を添加し、有意な LDH 放出が認められる最小濃度は、MAP = 1 mM、MDMA = 1 mM、5-MeO-DIPT = 100 μ M、2C-T-7 = 50 μ M、メチロン = 2 mM 以上であった。

したがって、細胞障害の発現強度は 2C-T-7 > 5-MeO-DIPT > MAP = MDMA > メチロンであった。

6. スコア化

解析結果を Table 1 にまとめた。また、この解析データをスコア化した結果を Fig. 3 に示した。薬物のスコアは、MAP > MDMA = メチロン > 2C-T-7 > 5-MeO-DIPT であり、高スコアを示す薬物において、薬物の乱用危険度と毒性発現に関してのリスクも高くなることを確認した。本評価システムの有用性が示された。

考 察

本研究では、各種違法ドラッグ (トリプタミン誘導体、フェネチルアミン誘導体、MDMA 類似誘導体) の精神依存性および神経毒性を評価した。フェネチルアミン誘導体、MDMA 類似誘導体による運動促進作用と報酬効果の発現用量を比較すると、運動促進作用が発現する用量付近から低用量側で報酬効果が発現することが確認された。したがって、1) 違法ドラッグの中枢興奮作用 (運動促進作用) の発現用量を参考に、CPP 試験を行うことにより、効率良く精神依存性を評価できると考えられる⁸⁾。また、トリプタミン誘導体のように、違法ドラッグ単独で報酬効果の評価が困難である場合、違法ドラッグの慢性投与後に MAP を処置して、行動薬理学作用の感受性の増大を確認することが有効であると考えられる。2) トリプタミン誘導体に関しては、多くの類縁化合物の存在が知られており、規制薬物である 5-MeO-DIPT を訓練薬として、薬物弁別試験により、薬物の中枢効果の類似性を評価する必要があると考えられる。薬物弁別試験法は、MDMA 類似誘導体の様に、わずかな構造差異に基づく薬物依存性の予測には極めて有効であると考えられる。被検薬物の構造を吟味し、標準とする依存性薬物を慎重に選択する必要があり、関連薬物における更なる行動薬理的検討が必要である。3) 化学的マーカーとしては、前脳辺縁部位でのドパミンおよび 3-MT 濃度増加、側坐核内でのドパミン遊離増加、GILZ mRNA の増加が乱用危険度を推測する指標になる可能性がある。4) 薬物の細胞毒性発現の有無については、培養細胞を利用する方法は、迅速かつ正確な評価が可能であり有用性である。

本研究で実施した薬物の評価システムは、迅速な解析が可能であり、違法ドラッグを規制するために有用な基礎研究システムであると考えられ

る (Fig. 4)。

[参考文献]

- 1) Drug Enforcement Administration, Department of Justice. Schedules of controlled substances: temporary placement of alpha-methyltryptamine and 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine into Schedule I. Final rule. Fed Regist. 68: 16427-1630, 2003.
- 2) De Boer, D., Bosman, I.: A new trend in drugs-of-abuse; the 2C-series of phenethylamine designer drugs. Pharmacy World and Science. 26: 110-113, 2004.
- 3) Bossong M.G., Van Dijk J.P., Niesink R.J.M.: Methylone and mCPP, two new drugs of abuse? Addiction Biology 10: 321-323, 2005.
- 4) Pierce R.C., Kalivas P.W.: A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. Brain Res Brain Res Rev, 25: 192-216, 1997.
- 5) White F.J., Kalivas P.W.: Neuroadaptations involved in amphetamine and cocaine addiction. Drug Alcohol Depend, 51: 141-153, 1998.
- 6) Franklin K.B.J., Paxinos G.: The mouse brain in stereotaxic coordinates, Academic Press, San Diego 1997.
- 7) Funada M, Zhou X, Satoh M, Wada K.: Profiling of methamphetamine-induced modifications of gene expression patterns in the mouse brain. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1025:76-83, 2004.
- 8) 船田 正彦: 条件付け場所嗜好性試験による薬物報酬効果の評価: 基礎と応用. 日本薬理学雑誌 126: 10-16, 2005.
- 3) Sato, M., Wada, K., Funada, M.: Barium potentiates the conditioned aversion to, but not the somatic signs of, morphine withdrawal in mice. Eur J Pharmacol. 519: 215-222, 2005.
- 4) 船田正彦, 佐藤美緒, 周曉華: 揮発性有機溶剤の精神依存形成メカニズム. 日本神経精神薬理学雑誌. 25: 1-9, 2005.
- 5) 船田正彦, 佐藤美緒, 青尾直也: 依存性薬物による脳内遺伝子群の発現調節. 生体の科学. 56: 323-327, 2005.
- 6) 船田正彦, 佐藤美緒, 青尾直也: トルエン精神依存形成における脳内モノアミン神経系の役割. 日本アルコール・薬物医学学会雑誌 41: 31-38, 2006
- 7) Narimatsu, S., Yonemoto, R., Saito, K., et al.: Oxidative metabolism of 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (Foxy) by human liver microsomes and recombinant cytochrome P450 enzymes. Biochem Pharmacol., 71: 1377-1385, 2006.
- 8) Sogawa, C., Sogawa, N., Tagawa, J.: 5-Methoxy-N, N-diisopropyltryptamine (Foxy), a selective and high affinity inhibitor of serotonin transporter. Toxicology Letters (in press).

研究発表

1. 論文発表

- 1) Funada, M., Zhou, X., Satoh, M., et al.: Profiling of methamphetamine-induced modifications of gene expression patterns in the mouse brain. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1025:76-83, 2004.
- 2) 船田正彦: 条件付け場所嗜好性試験による薬物報酬効果の評価: 基礎と応用. 日本薬理学雑誌 126: 10-16, 2005.

2. 学会発表

- 1) 船田正彦, 佐藤美緒, 周曉華: トルエン精神依存形成におけるドパミン神経系の役割. 第 40 回日本アルコール薬物医学会総会. 金沢 9 月 8-9 日, 2005.
- 2) 船田正彦, 青尾直也, 和田清: メチロンの行動変化におけるドパミン神経系の役割. 第 36 回日本神経精神薬理学会, 名古屋 9 月 14-16 日, 2006.
- 3) 青尾直也, 和田清, 船田正彦: 新規デザイナードラッグ“メチロン”の行動変化と神経毒性に関する研究. 日本薬学会. 生体機能と創薬シンポジウム. 福岡 9 月 8-9 日, 2006.

知的財産権の出願・登録状況 (予定も含む)

なし。

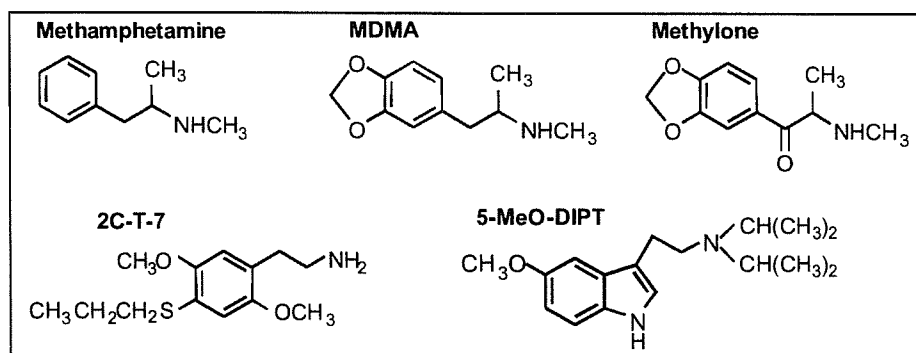


Fig. 1. Chemical structures of drugs. Methamphetamine (MAP), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 2-methylamino-1-[3,4-methylenedioxypheyl]propan-1-one (methylone), 2,5-dimethoxy-4-(*n*)-propylthio-phenethylamine (2C-T-7) and 5-methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT).

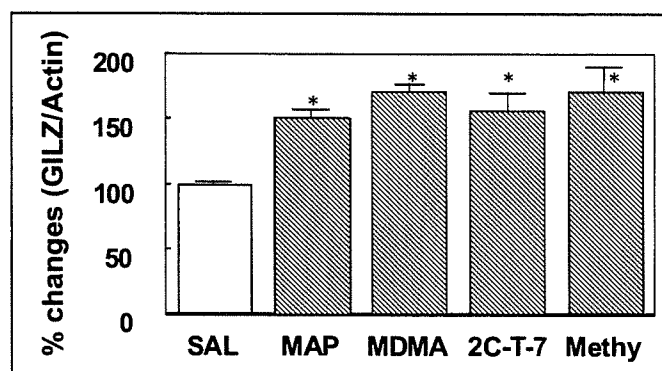


Fig. 2. Profiling of drug-induced changes in glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) expression in the mouse limbic forebrain. Mice were sacrificed 240 min after MAP (4 mg/kg), MDMA(10 mg/kg), 2C-T-7 (10 mg/kg) and methylone (10 mg/kg). Changes of GILZ mRNA level were examined using RT-PCR assay. Each column represents the mean with S.E.M. of 6 animals.
* $P < 0.05$ vs. saline-treated group.

Table 1. Summary

	MAP	MDMA	Methylone	2C-T-7	5-MeO-DIPT
Locomotion	++	++	++	+	-
Reward (CPP)	++	++	++	+	-
MAP-priming (CPP)	++	+	+	++	++
Dopamine	++	++	++	+	-
GILZ	+	+	+	+	-
Toxicity	+	+	+	++	++

++: Strong effect, +: Modest effect, -: Negative effect

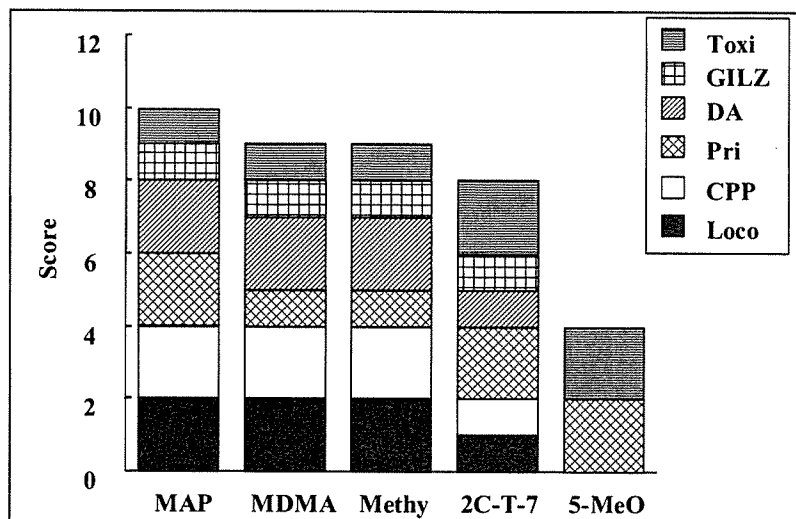


Fig. 3. Scores of abuse liability and toxicity. The score was calculated from Table 1. (+=1, -=0)

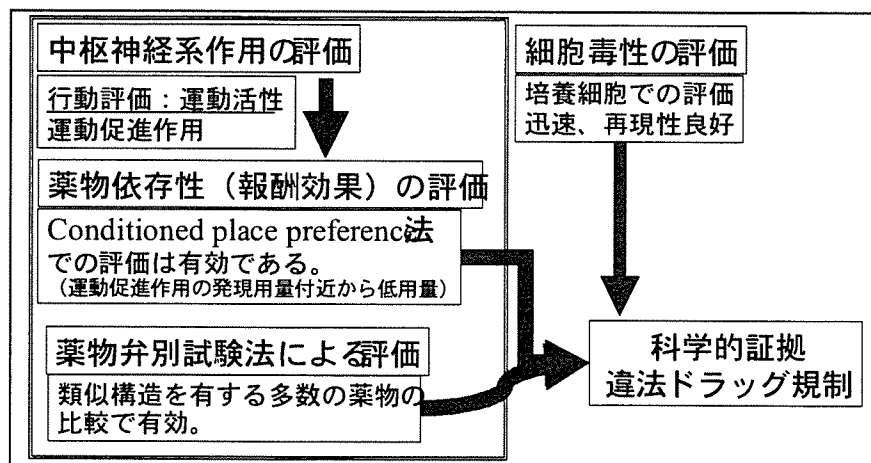


Fig. 4. 違法ドラッグの乱用危険度および毒性解析システムの概要

「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

ストレスと覚醒剤依存形成：ヒスタミン神経系の役割を中心に

分担研究者：谷内一彦

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

小動物を用いた研究と、健常者とうつ病、統合失調症患者の脳内ヒスタミン H1 受容体の結合の比較をした Positron emission tomography (PET) 研究から、精神疾患の慢性期においては、ヒスタミン神経系の機能の変化が精神疾患の一部に関与していることが明らかになっている。ヒスタミン神経系の低下は覚せい剤による逆耐性現象を増強し、ヒスタミン神経系の賦活は抑制され则认为られる。さらに、非定型抗精神病薬は、統合失調症の認知機能障害の改善に有効であるというエビデンスが定着しつつあるが、非定型抗精神病薬の多くはヒスタミン H1 受容体の拮抗作用を併せ持つため、統合失調症へのヒスタミン神経系の関与が示唆されている。そこで1年目はヒスタミン H1 受容体欠損マウスを用い、2年目には ICR マウスを用いて、覚せい剤精神病とストレスにおける精神障害とヒスタミン H1 受容体の役割について検討した。3年目は、自己受容体とヘテロ受容体機能を併せ持つヒスタミン H3 受容体の覚醒剤逆耐性と依存形成における役割に注目して、ヒスタミン H3 受容体欠損マウス(H3KO)を用いて精神障害とヒスタミン神経系の関係について検討した。

1. 覚せい剤とストレスによる精神障害発現における H1 受容体の役割

小動物を用いた研究¹⁾と、健常者とうつ病、統

合失調症患者の ¹¹C-ドキセピン投与による脳内ヒスタミン H1 受容体の結合の比較をした Positron emission tomography (PET) 研究^{2,3)}から、精神疾患の慢性期においては、ヒスタミン神経系の機能の低下が精神疾患の一部に関与していることが示唆された。

また、かぜ薬として OTC 薬にも含まれるクロルフェニラミンは、それ自身のもつ相互作用により、メタンフェタミン (METH) を併用した場合には血中 METH 濃度を増加してその作用を増強することが明らかになった⁴⁾。したがって、ヒスタミン神経系の低下は覚せい剤による逆耐性現象を増強し、ヒスタミン神経系の賦活は抑制され则认为られる。そこで1年目はヒスタミン H1 受容体欠損マウスを用い、2年目には ICR マウスを用いて、覚せい剤精神病とストレスにおける精神障害とヒスタミン H1 受容体の役割について検討した。

I. ヒスタミン H1 受容体受容体欠損マウスを用いた研究(1年目)

覚せい剤精神病は統合失調症とその症状に類似する点が多い。そこで本研究の1年目にはヒスタミン H1 受容体に関して、統合失調症の陰性モデルと考えられている離乳直後の社会隔離ストレスをヒスタミン H1 受容体欠損マウス (H1KO) とその野生型マウス (WT) に施し、統合失調症で特徴的な症状である驚愕反応試験を指標にしてグループ飼育群と比較した。また学習・記憶認知機能

の変化についても検討を行った。

実験：HIK0 と WT マウスを離乳後 (3 週令) に個別飼育した。グループ飼育群はそれぞれひとつのケージに 5 匹飼育した。個別飼育開始 4 週間後から、自発運動量 (スーパーアニメックス®、室町機械) と驚愕反応 (コロンバス社製の Responder-X®) と事前音刺激による驚愕反応の減弱 (PPI)、およびモリス水迷路による空間認知機能を検討した。またそれぞれの群にメタンフェタミン (METH 1 mg/kg) を単回投与または 7 日間連続投与し、1 週間休薬後、再投与を行なったモデルについて、PPI を測定した。

結果および考察：野生型マウスでは社会的隔離ストレスを 4 週間与えると、グループ飼育群に比べ有意に驚愕反応が増加し、PPI が低下していた。しかし、HIK0 マウスではこのような社会的ストレスの効果が見られなかった。図 1 に驚愕反応の amplitude を、図 2 には PPI の抑制率 (%) を示した。野生型マウスに与えた社会的隔離ストレスは、METH の効果を増大させた。また、METH の連続投与による逆耐性形成後には空間認知機能が低下していた。しかし HIK0 マウスには社会的隔離ストレスも METH の逆耐性形成の効果も認められなかった。したがって精神障害発現と依存形成においてヒスタミン H1 受容体は重要な役割を持っている可能性が示唆された。

II. ヒスタミン H1 受容体受容体欠損マウスを用いた研究 (2 年目)

統合失調症や覚せい剤精神病で見られる特徴である Prepulse inhibition の障害には、定型抗精神病薬であるハロペリドールで改善効果がなく、非定型抗精神病薬により改善されるという結果が、動物実験のみならず臨床的にも報告されている^{3, 4, 5)}。非定型抗精神病薬はヒスタミン H1 受容体の強い拮抗作用を有する。そこで統合失調症陰性症状の動物モデルである離乳後の社会隔離を ICR マウス施し、動物の多角的な行動観察か

ら、認知機能の障害度と脳の障害部分を推定することを試みた。さらに認知機能障害を起こしたマウスについて、ヒスタミン神経系関連薬物投与による認知機能改善効果を 認知症の治療薬として用いられているドネペジルと比較し検討した。

II-1 動物モデルと認知機能試験

統合失調症陰性症状の動物モデルである離乳後の社会隔離ストレスを ICR マウス施し、動物の多角的な行動観察から、学習・記憶の障害と脳の障害部分を推定することを試みた。

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

結果：統合失調症の陰性モデルとされている、離乳後 (3 週齢) に社会的隔離ストレスを与えたマウスでは、PPI の低下が起こり、学習・記憶障害が認められた。社会隔離ストレスを与えたマウスに、METH 投与により逆耐性を形成させると、さらに障害度が助長される脳部位があることが示唆された。図 3 に PPI の抑制率 (%) を示した。グループ飼育群、社会隔離ストレス負荷群、社会隔離ストレス負荷+METH 投与群の 3 群の間で得られた認知機能検査では、社会隔離ストレスの効果に METH の効果が上乗せされた学習・機能障害が観察されたのは、恐怖の条件付け試験 (扁桃体関連課題) とモリス水迷路 (海馬関連課題) だった。恐怖の条件付け試験の結果を図 4 に、モリス水迷路の結果を図 5 に示した。一方、隔離ストレスの効果に METH の逆耐性効果が見られなかったのは、物

体認識試験(前頭前野関連課題)と受動回避試験(前頭前野、扁桃体、海馬関連課題)だった。また認知障害を起こしたマウスでは、GFAP 陽性細胞が前頭前野、海馬、扁桃体で増えていた。

II-2 認知障害モデル動物への薬物投与による改善効果

認知機能障害を起こしたマウスについて、ヒスタミン神経系関連薬物投与による認知機能改善効果を 認知症の治療薬として用いられているドネペジルと比較し検討した。

実験：雄性 ICR マウスを離乳後(3 週齢)個別飼育して、社会的隔離ストレスを4週間与え、それぞれの群に METH (1 mg/kg) 7日間連続投与し、1週間休薬後、再投与を行なったモデルについて、クロザピン(5 mg/kg, i. p., 非定型抗精神病薬、ピリラミン(3 mg/kg, i. p., ヒスタミン H1 受容体拮抗薬)、チオペラミド(15 mg/kg, i. p., ヒスタミン H3 および H4 受容体拮抗薬)とドネペジル(1 mg/kg, p. o., アセチルコリンエステラーゼ阻害薬)のいずれかを投与し、認知機能障害改善効果について検討した。認知機能評価としては、物体認識、恐怖の条件付けモリス水迷路による空間認知機能および受動回避試験を用いた。

結果：H1 受容体拮抗薬であるピリラミンは、PPI と受動回避を除いた試験において、社会隔離ストレスに METH を投与し逆耐性を形成した群の認知機能障害に、有意な改善効果が見られた。ドネペジルでは PPI を除いたほかの試験で、クロザピンにおいては全ての試験で認知機能障害を有意に改善することが認められた。しかしヒスタミン H3 拮抗薬であるチオペラミドには、改善効果は認められなかった。図6に恐怖の条件付け試験の結果を、図7には5日間観察した受動回避試験の結果を示した。

考察：精神障害発現と依存形成におけるヒスタミン H1 受容体の役割を検討した昨年度の結果は、野生型マウスに与えた社会的隔離ストレスは、

METH の驚愕反応における効果を著明に増大させ空間認知機能を低下させた。しかし H1KO マウスには社会的隔離ストレスと METH の逆耐性形成による変化はみられなかった⁵⁾。今回の実験で用いたクロザピンには強い H1 拮抗作用があること、ピリラミンの全処置により、いくつかの行動薬理的課題で見られた認知障害が改善されたことから、H1 拮抗作用が覚せい剤とストレスによる精神障害の発現抑止に関係していることが示唆され、クロザピンの認知機能障害改善の一つの作用機序としてヒスタミン H1 受容体拮抗作用が関係していると考えられた。

2. 覚せい剤および MDMA による依存形成におけるヒスタミン H3 受容体の役割(3 年目)

薬物依存の治療にはクロニジンが臨床的に使用される。クロニジンは $\alpha 2$ 受容体アゴニストで、 $\alpha 2$ 受容体は自己受容体とヘテロ受容体の機能を併せ持っている。 $\alpha 2$ 受容体と同様に、ヒスタミン H3 受容体は自己受容体として、またヘテロ受容体として他の神経系の遊離を調節している。加齢やてんかん発作などが原因で引き起こされる認知機能障害を H3 拮抗薬のチオペラミドは有意に改善すると認められた⁶⁾が、社会的隔離ストレスと METH の逆耐性形成による認知機能障害への改善効果は認められなかった。そこで3年目にはヒスタミン H3 受容体欠損マウス(H3KO)を用いて精神障害とヒスタミン神経系の関係について検討した。

実験：H3KO とその野生型マウスに、METH (1 mg/kg) または 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) (5 mg/kg) を投与して自発運動量を測定し、逆耐性獲得後には Conditioned Place Preference (CPP) 薬物の嗜好性を検討した。また、Caudate putamen と Nucleus accumbens における c-Fos タンパク質の発現量を比較した。

結果：H3KO マウスでは METH の急性投与時、野

生型に比べ有意に運動量が抑制されていた。METH の慢性投与時の運動量には、H3KO と野生型の間に差がなかった。図 8 に METH 投与による運動量の変化を示した。CPP については METH の投与により両群とも有意に METH の嗜好性は認められたが、H3KO と野生型の間に有意差は見られなかった。一方、MDMA では慢性投与後の運動量は H3KO マウスの方が野生型マウスより有意に少なかった。図 9 に MDMA 投与による運動量の変化を示した。また CPP については、METH 投与時と同様に MDMA の投与により両群とも有意に嗜好性は認められたが、H3KO と野生型の間に有意差はなかった。

考察：METH の急性投与時に、METH により惹起される過運動がヒスタミン H3KO マウスにおいて少なかったことは、過去の薬理学研究⁷⁾やヒスタミン H3KO マウスの characterization を報告した研究⁸⁾と一致している。しかし今回の結果から、ヒスタミン H3 受容体の欠損は METH 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考えられた。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かった。METH と MDMA により惹起される行動量のヒスタミン H3KO マウスに対する差は、ヒスタミン神経系とセロトニン神経系の相互作用に関して新たな関係を想像させるものであり、今後さらなる検討が必要と考えられる。

【文献】

- 1) Endou M, Yanai K, Sakurai E, Fukudo S, Hongo M, Watanabe T. Food-deprived activity stress decreased the activity of the histaminergic neuron system in rats. *Brain Research*. 891(1-2):32-41, 2001
- 2) Kano M, Fukudo S, Tashiro A, Utsumi A, Tamaru D, Itoh M, Iwata R, Tashiro M, Mochizuki H, Funaki Y, Kato M, Hongo M, Yanai K. Decreased histamine H1 receptor binding in the brain of depressed patients. *Eur. J. Neurosci*. 20(3):803-10 (2004).
- 3) Iwabuchi K, Ito C, Tashiro M, Mochizuki H, Kato M, Kano M, Ishii K, Ishiwata K, Itoh M, Iwata R, Matsuoka H, Sato M, and Yanai K. Histamine H1 receptors in schizophrenic patients measured by positron emission tomography, *Neuropsychopharmacol.*, 15(2), 185-191, 2005.
- 4) Okuda T, Ito Y, Nakagawa N, Hishinuma T, Tsukamoto H, Iwabuchi K, Watanabe T, Kitaichi K, Goto J, Yanai K. Drug interaction between methamphetamine and antihistamines : behavioral changes and tissue concentration of methamphetamine in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 505: 135-144 (2004)
- 5) Dai H, Okuda T, Sakurai E, Kuramasu A, Kato M, Jia FY, Xu AJ, Iinuma K, Sato I, Yanai K. Blockage of histamine H1 receptor attenuates social isolation-induced disruption of pre-pulse inhibition: A study in H1 receptor gene knockout mice, *Psychopharmacology (Berl)*, 183(3):285-93 2005.
- 6) Meguro K, Yanai K, Sakai N, Sakurai Eiko, Maeyama K, Sasaki H, Watanabe T, Effects of thioperamide, a histamine H3 antagonist, on the step-through passive avoidance response and histidine decarboxylase activity in senescence-accelerated mice, *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*. 50(3), 321-325, 1995
- 7) 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.
- 8) Toyota H, Dugovic C, Koehl M, Laposky AD, Weber C, Ngo K, Lee DH, Yanai K, Sakurai Eiko, Watanabe T, Liu C, Chen J, Barbier AJ, Turek FW,

Fung-Leung WP, Lovenberg TW. Behavioral characterization of mice lacking histamine H(3) receptors. *Mol Pharmacol*. 63:389-97, 2002.

F. 研究発表

論文発表

1. 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)
2. 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)
3. Sakurai E, Sakurai E, Orelan 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)
4. 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).
5. Owada Y, Abdelwahab S A, Kitanaoka 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).
6. Yanai K, Tashiro M. The physiological and pathophysiological roles of neuronal histamine: An insight from human PET studies. *Pharmacology & Therapeutics* 113: 1-15 (2007)
7. Maeyama K, Yanai K. Recent advances in molecular pharmacology of the histamine system: preface. *J Pharmacol Sci*. 101(1):1-2 (2006)
8. 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.
9. 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)
10. 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.
11. 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.
11. 奥田友宏、谷内一彦 脳内ヒスタミン *Clinical Neuroscience* 24(8), 848-849 (2006)
12. 岡村信行、谷内一彦 アルツハイマー病のβアミロイドイメージング 特集「分子イメージングと認知症」 *Cognition and Dementia* 5(3): 192-198 (2006)
13. 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)
14. 望月秀紀、谷内一彦 痒みに関する脳機能イメージング研究の展開 *日薬理誌* 127, 147~150 (2006)
15. 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)
16. Okamura N, Yanai K., Molecular imaging techniques for research on brain function using PET, *Nippon Yakurigaku Zasshi* 126(5):347-352, 2005.
 17. Suzuki A, Tashiro M, Kimura Y, Use of reference tissue models for quantification of histamine H1 receptors in human brain by using positron emission tomography and [^{11}C]doxepin, *Ann Nucl Med.*, 19(6):425-433, 2005.
 18. Dai H, Okuda T, Sakurai E, Kuramasu A, Kato M, Jia FY, Xu AJ, Iinuma K, Sato I, Yanai K. Blockage of histamine H1 receptor attenuates social isolation-induced disruption of pre-pulse inhibition: A study in H1 receptor gene knockout mice, *Psychopharmacology (Berl)*, 183(3):285-93 2005.
 19. Tashiro M, Horikawa E, Mochizuki H, Mochizuki H, Ishii K, Watabe H, Yanai K, Ishiwata K, Ishii K. Effects of fexofenadine and hydroxyzine on brake reaction time during car-driving with cellular phone use, *Hum Psychopharmacol.*, 20(7):501-509, 2005.
 20. Iwabuchi K, Ito C, Tashiro M, Mochizuki H, Kato M, Kano M, Ishii K, Ishiwata K, Itoh M, Iwata R, Matsuoka H, Sato M, and Yanai K. Histamine H1 receptors in schizophrenic patients measured by positron emission tomography, *Neuropsychopharmacol.*, 15(2), 185-191, 2005.
 21. 鹿野理子、谷内一彦 ストレス関連障害の脳イメージング 特集「ストレスに耐える脳、耐えられない脳」脳 21 9(1): 32-36 (2006)
 22. 櫻井映子、田代学、谷内一彦 食物アレルギー治療におけるヒスタミン受容体アンタゴニスト カレントセラピー 23(11): 66-71 (2005)
 23. 谷内一彦、岡村信行、倉増敦朗 中枢ヒスタミン神経の解剖とその機能 アレルギー・免疫 Vol. 12 (2): 94-99 (2005)
 24. 田代学、鹿野理子、福土審、谷内一彦 ヒトの情動メカニズムにせまる脳イメージング研究の進歩 日本薬理学会雑誌 Vol. 125 (2): 88-96 (2005)
 25. 田代学、櫻田幽美子、谷内一彦 脳イメージングの基礎と応用 ペインクリニック Vol. 26 (1): 53-62 (2005)
 26. K. Yanai and T. Watanabe. Histamine as a neurotransmitter in the central nervous system. In: A. Falus, N. Grossman & Zs. Darvas eds. *Histamine: Biology and Medical aspects.* 2004: 251-263
 27. Okuda T, Ito Y, Nakagawa N, Hishinuma T, Tsukamoto H, Iwabuchi K, Watanabe T, Kitaichi K, Goto J, Yanai K. Drug interaction between methamphetamine and antihistamines : behavioral changes and tissue concentration of methamphetamine in rats. *Eur. J. Pharmacol.* 505: 135-144 (2004)
 28. Mochizuki H, Kimura Y, Ishii K, Oda K, Sasaki T, Tashiro M, Yanai K, Ishiwata K. Simplified PET measurement for evaluating histamine H1 receptors in human brains using [^{11}C]doxepin. *Nucl. Med. Biol.* 31(8):1005-1011 (2004)
 29. Ohinata K, Shimano T, Yamauchi R, Sakurada S, Yanai K, Yoshikawa M The anorectic effect of neurotensin is mediated via a histamine H1 receptor in mice. *Peptides* 12:2135-2138 (2004).
 30. Chen Z, Sakurai E, Hu W, Jin C, Kiso Y, Kato M, Watanabe T, Wei E, Yanai K. Pharmacological function of carbinine on histaminergic neurons in the brain. *Br. J. Pharmacol.* 143(5):573-580 (2004)
 31. S. Sakurada, H. Watanabe, H. Mizoguchi, A.

- Yonezawa, T. Orito, S. Katsuyama, A. Kuramasu, C. Sakurada, K. Yanai, T. Sakurada. Involvement of the histaminergic system in the nociceptin-induced pain-related behaviors in the mouse spinal cord. *Pain* 112(1-2): 171-182 (2004)
32. Murakami, M., Nakagawasai, O., Suzuki, T., Mobarakeh, I.I., Sakurada, Y., Murata, A., Yamadera, F., Miyoshi, I., Yanai, K. Antinociceptive effect of different types of calcium channel inhibitors and the distribution of various calcium channel $\alpha 1$ subunits in the dorsal horn of spinal cord in mice. *Brain Res.* 1024(1-2):122-129 (2004).
33. Ojima T, Ito C, Sakurai E, Sakurai E, Watanabe T, Yanai K. Effects of serotonin-dopamine antagonist on prepulse inhibition and neurotransmitter contents in the rat brain. *Neurosci. Lett.* 366: 130-134 (2004)
34. Murakami M, Mori T, Nakagawasai O, Hagiwara K, Sakurada Y, Mobarakeh I. J., Murata A, Yamadera F, Miyoshi I, Tan-No K, Yanai K, Tadano T, Iijima T. Inhibitory effect of pranidipine on N-type voltage-dependent Ca^{2+} channels in mice. *Neurosci Lett.* 367: 118-122 (2004)
35. Kano M, Fukudo S, Tashiro A, Utsumi A, Tamaru D, Itoh M, Iwata R, Tashiro M, Mochizuki H, Funaki Y, Kato M, Hongo M, Yanai K. Decreased histamine H1 receptor binding in the brain of depressed patients. *Eur. J. Neurosci.* 20(3):803-10 (2004).
36. M. Tashiro, Sakurada Y, Iwabuchi K, Mochizuki H, Kato M, Aoki M, Funaki Y, Itoh M, Iwata R, Wong DF, Yanai K. Central effects of fexofenadine and cetirizine: Measurement of psychomotor performance, subjective sleepiness and brain histamine H1-receptor occupancy using [^{11}C]doxepin PET. *J. Clin. Pharmacol.* 44(8): 890-900 (2004)
37. N. Okamura, Suemoto T, Shiomitsu T, Suzuki M, Shimadzu H, Akatsu H, Yamamoto T, Arai H, Sasaki H, Yanai K, A novel imaging probe for in vivo detection of neuritic and diffuse amyloid plaques in the brain. *J. Mol. Neurosci.* 24: 189-197 (2004)
38. Huang YW, Hu WW, Chen Z, Zhang LS, Shen HQ, Timmerman H, Leurs R, Yanai K. Effect of the histamine H(3)-antagonist clobenpropit on spatial memory deficits induced by MK-801 as evaluated by radial maze in Sprague-Dawley rats. *Behav Brain Res.* 151(1-2): 287-93 (2004)
39. Okamura N, Maruyama M, Ebihara T, Matsui T, Nemoto M, Arai H, Sasaki H, Yanai K. Aspiration pneumonia and insular hypoperfusion in patients with cerebrovascular disease. *J Am Geriatr Soc.* 52(4):645-6 (2004)
40. Ishiwata K, Kawamura K, Wang WF, Tsukada H, Harada N, Mochizuki H, Kimura Y, Ishii K, Iwata R, Yanai K. Evaluation of in vivo selective binding of [^{11}C]doxepin to histamine H1 receptors in five animal species. *Nucl Med Biol.* 31: 493-502 (2004)
41. Okamura N, Suemoto T, Shimadzu H, Suzuki M, Shiomitsu T, Akatsu H, Yamamoto T, Staufenbiel M, Yanai K, Arai H, Sasaki H, Y. Kudo, T. Sawada. Styrylbenzoxazole derivatives for in vivo imaging of amyloid plaques in the brain. *J Neurosci.* 24(10):2535-2541 (2004)
42. H. Mochizuki, Y. Kimura, K. Ishii, K. Oda, T. Sasaki, M. Tashiro, K. Yanai, and K. Ishiwata. Quantitative measurement of histamine H1 receptors in human brains by PET and [^{11}C]doxepin. *Nucl Med Biol.* 31(2):165-171

- (2004)
43. Y.-W. Huang, W.-W. Hu, Z. Chen, L.-S. Zhang, H.-Q. Shen, H. Timmerman, R. Leurs, K. Yanai. Effect of the histamine H3-antagonist clobenpropit on spatial memory deficits induced by MK-801 as evaluated by radial maze in Sprague-Dawley rats. *Behav. Brain Res.* 151: 287-293 (2004)
 44. T. Hamaguchi, M. Kano, H. Rikimaru, M. Kanazawa, M. Itoh, K. Yanai, and S. Fukudo.. Brain activity during distension of the descending colon in humans. *Neurogastroenterol Motil.* 16(3):299-309 (2004)
 45. Dai H, Okuda H, Iwabuchi K, Sakurai E, Chen Z, Kato M, Iinuma K and Yanai K (2004). Social isolation stress significantly enhanced the disruption of prepulse inhibition in repeatedly methamphetamine-treated mice. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1025: 257-266 (2004)
 46. Iwabuchi K, Kubota Y, Ito C, Watanabe T, Yanai K. 2004. Metamphetamine and Brain Histamine: A Study Using Histamine-Related Genes Knockout Mice. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1025: 129-134 (2004)
 47. 田代学、谷内一彦、望月秀紀、Jalal Izadi Mobarakeh、櫻田忍 痛みとかゆみの受容におけるヒスタミン受容体の役割 ペインクリニック Vol. 25(11): 1495-1505 (2004)
 48. 谷内一彦 アレルギー相談室Q&A アレルギーの臨床 24(11): 911 (2004)
 49. 谷内一彦 理想的な抗ヒスタミン薬の基準と CONGA 会議 *Progress in Medicine* 24(1) : 262-267 (2004)
 50. 谷内一彦、田代学、岡村信行 フェキソフェナジン：中枢に移行しない第2世代抗ヒスタミン薬 *Molecular Medicine* 41 (8) : 1008-1015 (2004)
 51. 望月秀紀、田代学、谷内一彦 中枢性かゆみの機序 特集かゆみ 総合臨床 53 巻(5) : 1645-1650 (2004)
- (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. 櫻井映子、倉増敦朗、賈飛勇, 3 重ヒスタミンノックアウトマウス作成の試み、第 79 回日本薬理学会年会(横浜)、平成 17 年 3 月 8-10 日
 8. 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(横浜)、平成 17 年 3

月 8-10 日

9. Eiko Sakurai, Eiichi Sakurai, Lars Oreland, The existence of histamine re-uptake system in the rat brain, 13th North American ISSX Meeting & 20th JSSX Meeting, Maui, USA 平成 17 年 10 月 23～29 日
 10. Y. Funaki, M. Kato, R. Iwata, Synthesis and evaluation of [¹¹C] donepezil for in vitro visualization of acetylcholinesterase, The 3rd International Symposium on Future Medical Engineering based on Bio-nanotechnology (21st Century COE Program), Togatta, 平成 15 年 11 月 4～6 日
 11. Chen Z, Xu AJ, Huang YW, Effect of TAK-147. A novel acetylcholinesterase inhibitor on spatial cognitive deficits caused by chronic cerebral hypoperfusion in rats, 第 16 回日韓合同薬理学セミナー (東京), 平成 14 年 10 月 3～5 日
 12. 櫻井映子, 賈飛勇, 加藤元久, ヒスタミン H3 拮抗薬は PTZ キンドリング幼若期マウスの学習・記憶障害を改善する, 第 9 回日本ヒスタミン研究会 (徳島), 平成 17 年 12 月 9 日-10 日
 13. 櫻井映子, 賈飛勇, 加藤元久, PTZ キンドリング幼若期マウスモデルの学習・記憶障害をヒスタミン H3 拮抗薬は改善する: ドネペジルとの比較, 第 56 回日本薬理学会北部会 (新潟), 平成 17 年 10 月 3 日
 14. Hongmei Dai, Kennari Kaneko, Hiroshi Kato, Selective cognitive dysfunction in mice lacking histamine H1 and H2 receptors, 第 56 回日本薬理学会北部会 (新潟), 平成 17 年 10 月 3 日
 15. **Kazuhiko Yanai**, Jia Feiyong, Dai Hongmei, Methamphetamine Treatment Further Deteriorates Cognitive Dysfunction in Socially-isolated Mice: A Useful Mouse Model of Schizophrenia, 第 56 回日本神経化学学会 (福岡), 平成 17 年 9 月 28 日-30 日
 16. 奥田友宏, 岡村信行, 代紅梅, メタンフェタミン逆耐性におけるヒスタミン H3 受容体の役割, 第 78 回日本薬理学会年会 (横浜), 平成 17 年 3 月 22-24 日
 17. 代紅梅, 奥田友宏, 櫻井映子, H1 受容体の阻害は, 社会的隔離ストレスにより引き起こされた驚愕反応を減弱させる, 第 78 回日本薬理学会年会 (横浜), 平成 17 年 3 月 22-24 日
 18. 加藤元久, 奥田友宏, 櫻井映子, 岡村信行, 田代学, 倉増敦朗, 谷内一彦, メタンフェタミン逆耐性形成における Telemetry System を用いた無拘束下ラットの心電図解析, 第 55 回日本薬理学会北部会 (小樽), 平成 16 年 9 月 23-24 日
 19. Tomohiro Okuda, Takanori Hishinuma, Kentorou Iwabuchi, Naoto Nakagawa, Zhong Chen, HongMei Dai, Junichi Goto and Kazuhiko Yanai. The acute chronic effects of antihistamines on methamphetamine-induced psychomotor activation in rats. 第 77 回 日本薬理学会 年会 大阪 平成 16 年 3 月 8-10 日
 20. 奥田友宏, 北市清幸, 中川直人, 菱沼隆則, 渡邊建彦, 後藤順一, 谷内一彦 メタンフェタミンと抗ヒスタミン薬の薬物相互作用 第 8 回日本ヒスタミン研究会, 仙台 平成 16 年 12 月 10-11 日
 21. T. Okuda, T. Hishinuma, N. Nakagawa, The effects of H1 antagonists on the methamphetamine induced psychomotor activation in rats: The correlation to tissue methamphetamine concentrations. 33rd EHRS, Dusseldorf, Germany, 平成 16 年 4 月 28 日 - 5 月 2 日
- G. 知的財産権の出願
なし

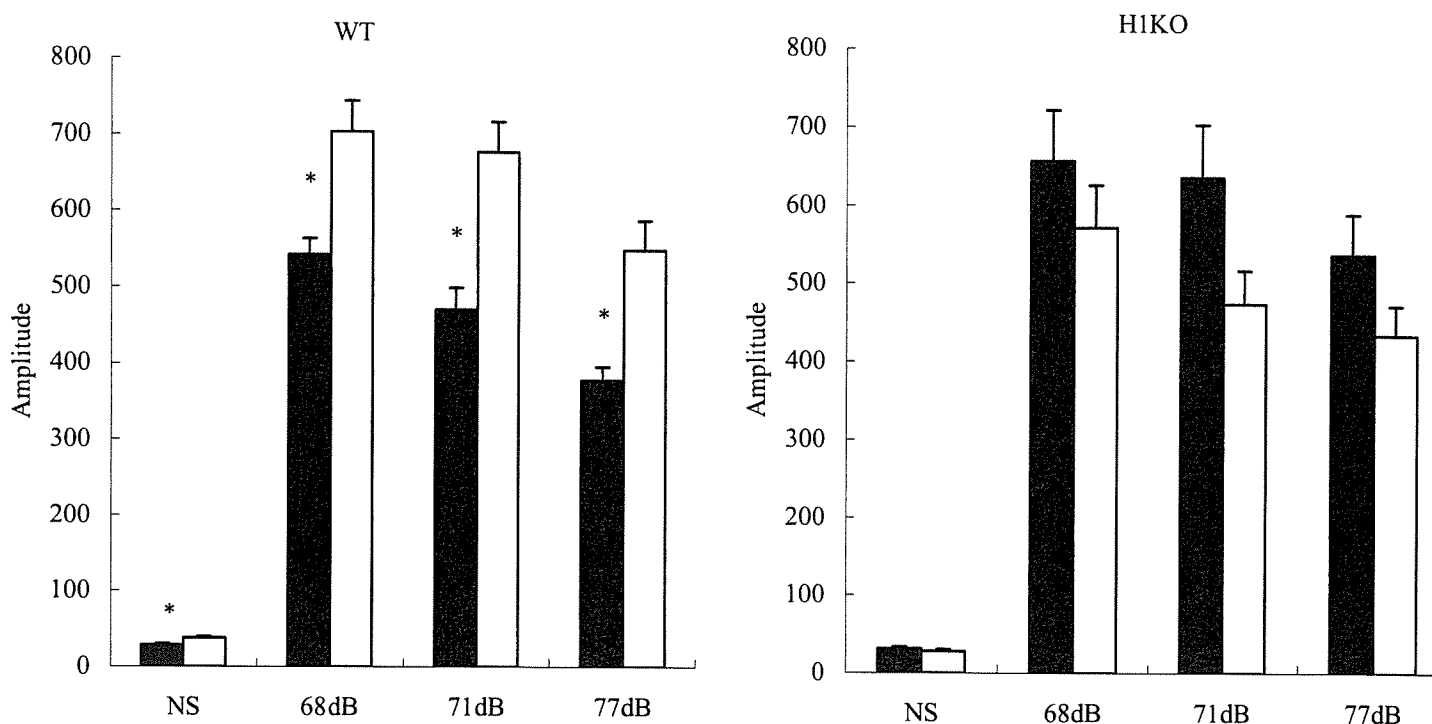


図 1. 社会的隔離ストレスと H1 受容体：驚愕反応の amplitude

120dB の大きな音刺激による驚愕反応; 120dB より 100 msec 事前に弱い音刺激を与えた時の驚愕反応の振幅を調べた。■ グループ飼育マウス、□ 社会的隔離ストレス負荷マウス。 Mann-Whitney U-test * $P < 0.05$

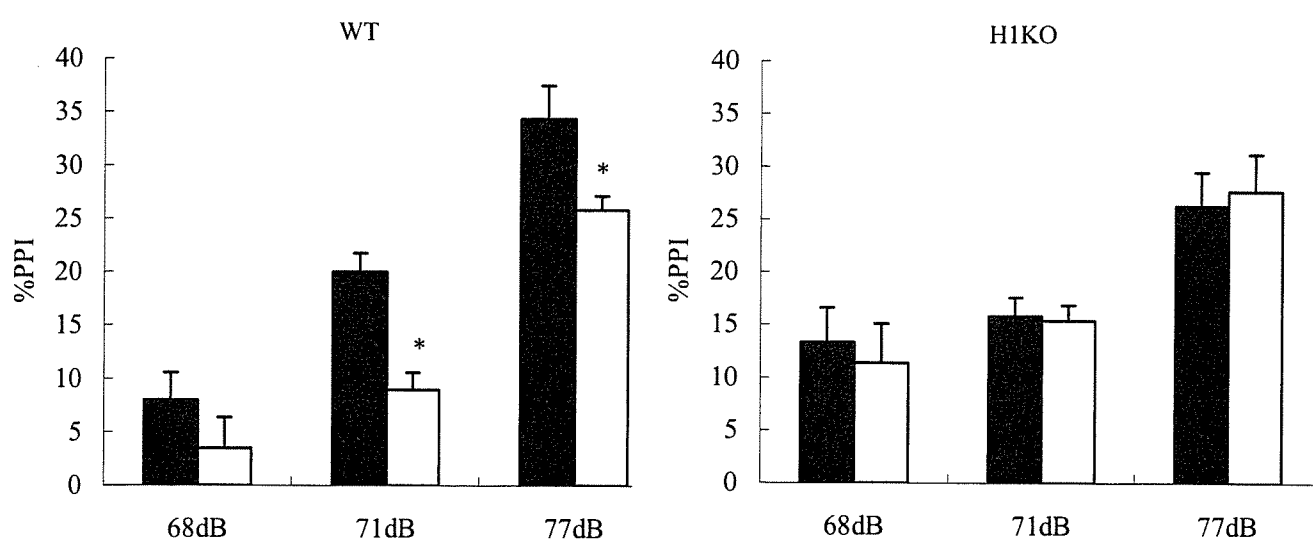


図 2. 社会的隔離ストレスと H1 受容体：事前音刺激による驚愕反応抑制率

PPI: 120dB より 100 msec 事前に弱い音刺激を与えた時の驚愕反応の抑制を調べる。統合失調症では PPI が生じないことが報告されている。■グループ飼育マウス、□社会的隔離ストレス負荷マウス。
Mann-Whitney U-test *P<0.05

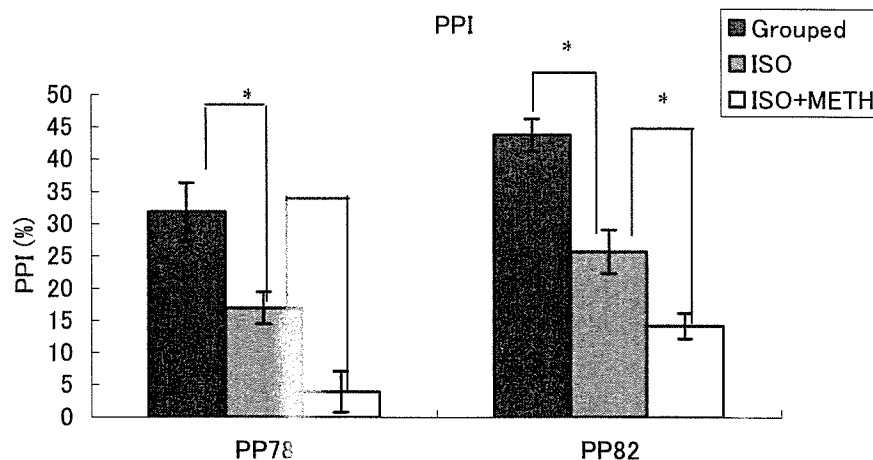


図3. 社会的隔離ストレスと社会的ストレス負荷 METH 逆耐性の事前音刺激による驚愕反応抑制率
PPI: 118dB より 100 msec 事前に弱い音刺激を与えた時の驚愕反応の抑制を調べる。統合失調症では PPI が生じないことが報告されている。Grouped:グループ飼育マウス、ISO:社会的隔離ストレス負荷マウス、ISO+METH:社会的ストレス負荷 METH 逆耐性マウス。Mann-Whitney U-test *P<0.01 社会的隔離ストレスを4週間与え METH を7日間連続投与した逆耐性モデルマウスでは、さらに PPI は低下した。

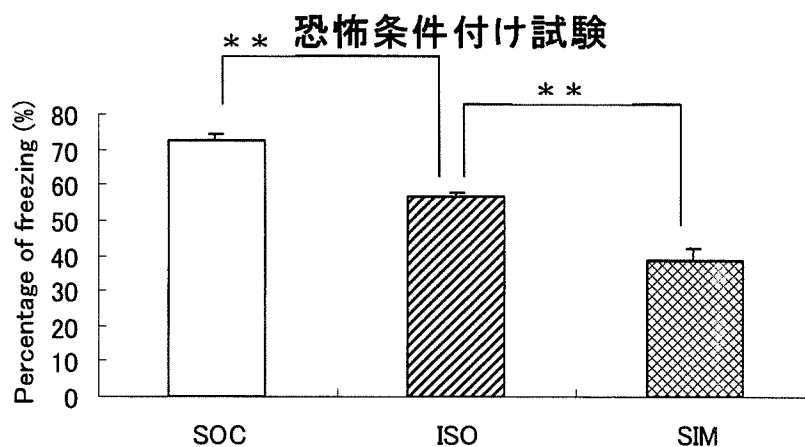


図4. 社会的隔離ストレスと社会的ストレス負荷 METH 逆耐性の恐怖の条件付け試験に及ぼす影響

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

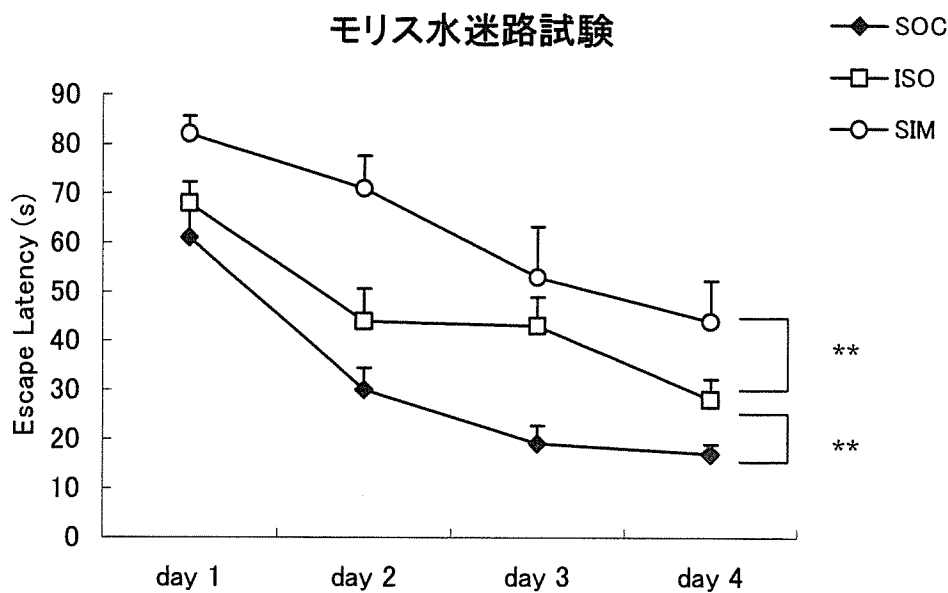


図 5. 社会的隔離ストレスと社会的ストレス負荷 METH 逆耐性の恐怖のモリス水迷路試験に及ぼす影響
水面下 1cm のところにあるプラットフォームの位置を学習させ、翌日から 5 日間プラットフォームにたどり着くまでの時間を測定した。Grouped: グループ飼育マウス、ISO: 社会的隔離ストレス負荷マウス、ISO+METH: 社会的ストレス負荷 METH 逆耐性マウス。Mann-Whitney U-test ** $P < 0.01$ 社会的隔離ストレスを 4 週間与え METH を 7 日間連続投与した逆耐性モデルマウスでは、有意に探索時間が延長した。

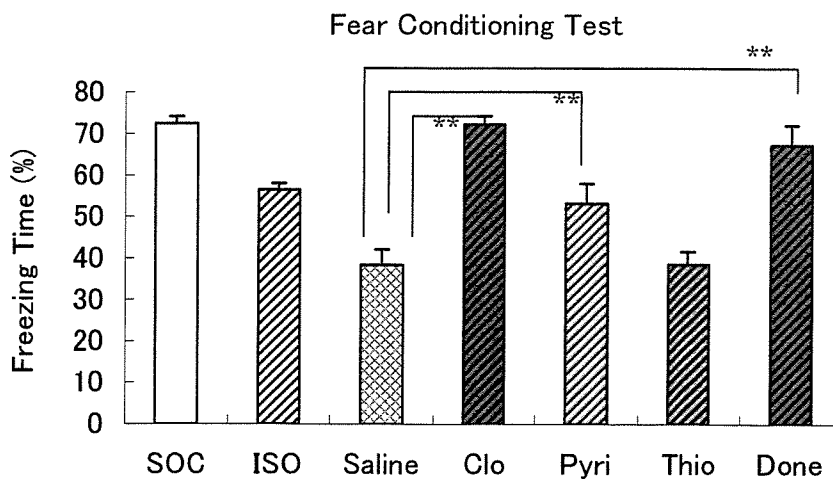


図6. 各種薬物投与の社会的ストレス負荷 METH 逆耐性の恐怖の条件付け試験に及ぼす影響

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

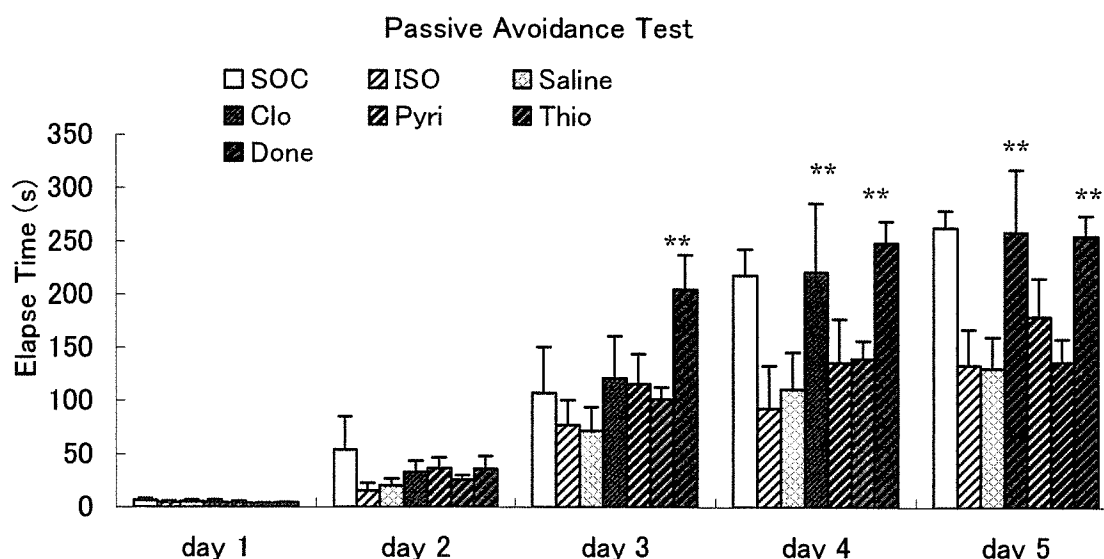


図7. 各種薬物投与の社会的ストレス負荷 METH 逆耐性の受動回避試験に及ぼす影響

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

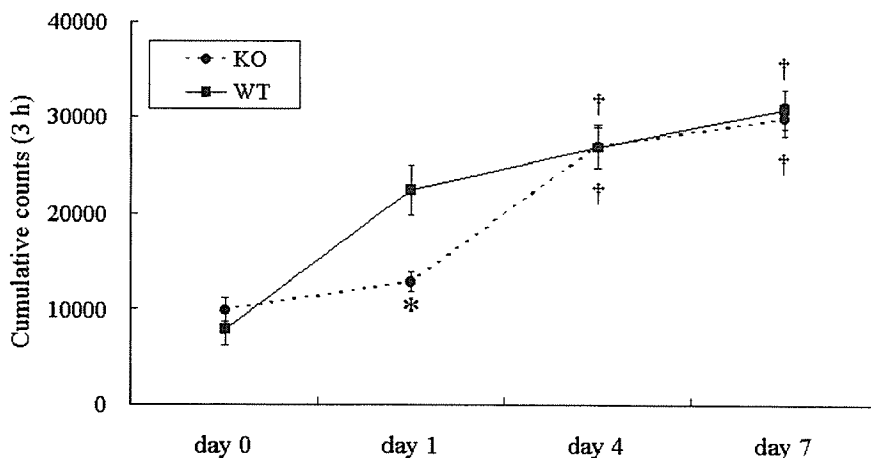


図8 メタンフェタミン投与後の運動量の変化

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 ($p < 0.05$)。

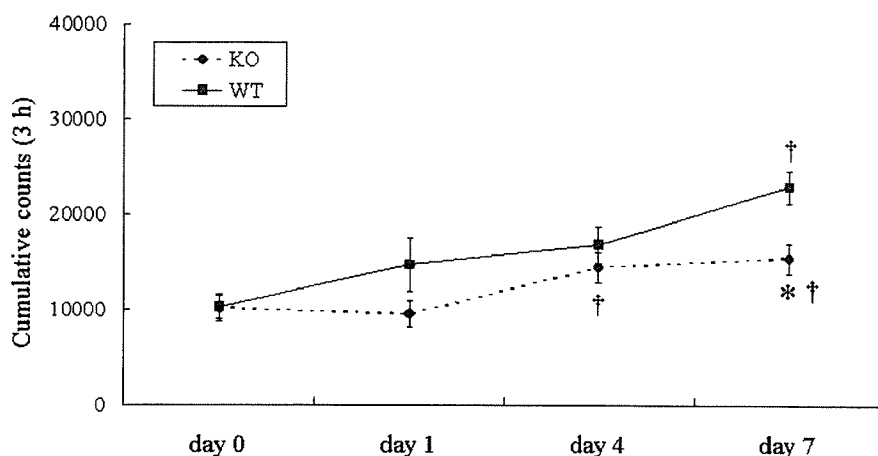


図9 MDMA 投与後の運動量の変化

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±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 ($p < 0.05$)。

「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

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：伊藤美紀¹、小原可久¹、朴英善¹、阿部裕美¹、山下元康¹、福島攝¹、近江香予¹、小林秀昭¹、岩村樹憲²、岩渕好治³、花尻瑠理²、合田幸広²、沼知陽太郎¹

(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、³岐阜薬科大学薬化学教室、³東北大学大学院薬学研究科合成制御化学分野)

覚せい剤であるメタンフェタミン (MAP) やメチレンジオキシメタンフェタミン (MDMA) に加え、2005 年 4 月にケミカル系違法ドラッグとして規制された 5-Methoxy-N,N-diisopropyltryptamine (5-MeO-DIPT) や、2007 年 2 月に新たに麻薬指定された 2-Methylamino-1-(3,4-methylenedioxy-phenyl)propan-1-one (メチロン) はカテコールアミン神経に作用し毒性を発揮すると考えられている。その中でもわれわれは違法・規制依存性薬物の標的分子として細胞膜モノアミントランスポーター、受容体また中枢性シナプス小胞モノアミントランスポーター (VMAT2) の働きに注目し、それぞれの薬剤の特性を調べた。

1. 標的分子としての細胞膜モノアミントランスポーターの違法・規制薬物の精神神経毒性における役割

MDMA はセロトニントランスポーター (SERT) への親和性が高く、セロトニン神経系に作用し毒性を発揮すると考えられてきた。またセロトニンと同骨格を有するトリプタミン系薬物である 5-MeO-DIPT や MDMA の類似化合物であるメチロンも MDMA 同様、セロトニン神経系への作用が想定された。しかし、MDMA の LD₅₀ は野生型マウス (87mg/kg) < セロトニントランスポーター欠損 (SERT-KO) マウス (100mg/kg) < ドーパミントランスポーター欠損 (DAT-KO) マウス

(142mg/kg) の順で、MDMA の致死毒性には SERT だけでなく DAT の関与が示唆された。また、5-MeO-DIPT の LD₅₀ は野生型マウス (59mg/kg) < DAT ヘテロ欠損 (DAT ヘテロ KO) マウス (65mg/kg) であり、メチロン 60mg/kg による致死率は野生型マウス (67%) > DAT ヘテロ KO マウス (57%) > DAT-KO マウス (13%) であり、5-MeO-DIPT およびメチロンの致死毒性においても MDMA 同様 DAT が役割を担っていることが明らかとなった。

Table 1. それぞれのマウスにおける薬物の LD₅₀

	MAP	MDMA	5-MeO
野生型	73	87	59
SERT-KO	82	100	n.d.
DAT-KO	112	142	n.d.
DAT ヘテロ KO	79	89	65

単位 mg/kg、n.d.: no data、5-MeO: 5-MeO-DIPT

体温変化に関しては SERT、DAT の単独欠損では野生型と同様に MDMA (80mg/kg) 投与による体温上昇が認められたが、DAT/SERT 両欠損マウスにおいては体温上昇が認められなかった。5-MeO-DIPT (50mg/kg) 投与は野生型マウス、SERT-KO マウスにおいて体温下降作用を示した。メチロン (60mg/kg) 投与は野生型、DAT-KO、SERT-KO のいずれの遺伝型マウスにおいても体

温を上昇させた。しかし、ドーパミン D1 アンタゴニストの前投与により体温上昇が抑制され、D2 受容体アンタゴニストの前投与により抑制傾向が認められた。以上のことから、ドーパミン神経系は MDMA および 5-MeO-DIPT による体温変化に関与していることが示されたが、メチロンの体温変化に関与する結果は得られなかった。

さらに体温上昇と IL-1 α の発現量に相関が認められるという報告がある。そこで MAP 投与による IL-1 α の mRNA の発現量への影響を、前頭葉皮質、側坐核、線条体および視床下部において検討した。MAP 投与により体温が上昇した野生型マウスの視床下部および側坐核において部位特異的に発現量が増加していることが分かった。一方で MAP 投与により体温上昇が起こらなかった DAT/SERT 両欠損マウスではいずれの脳部位でも変化を認めなかった。以上のことから MAP の体温上昇作用は中枢への直接の作用により惹起されている可能性が示唆された。

2. 標的分子としてのシナプス小胞モノアミントランスポーター (VMAT2) の違法・規制薬物の精神神経毒性における役割

MAP や MDMA はシナプス小胞へモノアミンを取り込む VMAT2 の働きを阻害することから、神経細胞終末の細胞内モノアミン濃度を上昇させ、神経細胞への毒性を発揮すると考えられている。VMAT2 完全欠損 (VMAT2-KO) マウスは生後 2,3 日で死亡することから、われわれはこの VMAT2 ヘテロ欠損 (VMAT2 ヘテロ KO) マウスを用いて MAP、MDMA、5-MeO-DIPT の致死毒性および体温変化作用を検討した。

結果、MAP、MDMA、5-MeO-DIPT いずれの薬物においても野生型と VMAT2 ヘテロ KO で差が認められなかった (Table2)。これらの結果は VMAT2 が約 50%発現することでは大きな機能低下は引き起こされていないと考えられた。

Table2. VMAT ヘテロ KO における薬物の LD₅₀

	MAP	MDMA	5-MeO
野生型	74	82	60
VMAT2 ヘテロ KO	66	86	58

(mg/kg)

MDMA 投与による体温上昇発現時間が野生型マウス (15 分後) と比較し VMAT2 ヘテロ KO マウス (30 分後) で遅延したことを除くと、MAP、MDMA、5-MeO による体温変化において VMAT2 ヘテロ KO マウスと野生型マウスのあいだに差は認められなかった。

依存性薬物と VMAT2 の関連についてはこれまでこの VMAT2 ヘテロ欠損マウスを用いて行われてきたが VMAT2 の働きの詳細を調べるためには VMAT2 を完全に欠損したモデルで調べる必要がある。そこでわれわれは致死である VMAT2-KO マウスの延命を試みた。ノルエピネフリン作動性神経系にのみ VMAT2 を発現させることにより、生後 2 週まで延命させることに成功した。しかし、生存中の体重増加は野生型マウスと比較して有意に小さく、それ以降の延命も認められなかった。したがって、生後 2 週目までの生存にはノルエピネフリン神経の VMAT2 が重要で、体重増加とその後の延命には他のモノアミン神経系の VMAT2 が重要であることが明らかとなった。

まとめ

これまで MDMA やメチロン、5-MeO-DIPT はセロトニン神経系に親和性が高いことから、神経毒性もセロトニン神経系の標的分子の役割が大きいと想定されてきた。しかし、致死毒性、体温変化の解析からセロトニン神経系よりもドーパミン神経系の関与が大きく反映されていることが示唆された。さらに、かつては「脱法ドラッグ」「合法ドラッグ」として入手が容易であった違法