

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究推進事業）

乱用薬物による神経毒性・依存症に対する診断・予防及び治療法に関する研究

平成19年度 総括研究報告書

**Establishment of the Methods of Diagnosis, Therapy and Prophylaxis for
Dependence and Neurotoxicity induced by Drugs of Abuse.**

**Annual Report
Research on Pharmaceutical and Medical Safety
Supported by Grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare,
Japan in 2007
(Chief ; Toshitaka Nabeshima)**

平成20年3月

主任研究者 鍋島俊隆

1. 平成19年度総括研究報告 鍋島俊隆…………… 1
2. 平成19年度総括報告

乱用薬物による神経毒性・依存症に対する診断・予防及び治療法に関する研究…………… 7

主任研究者：鍋島俊隆¹

リサーチレジデント：毛利彰宏¹

研究協力者：野田幸裕²

(¹名城大学薬学部薬品作用学, ²名城大学薬学部病態解析学)

乱用薬物への渴望(薬物検索行動)の再燃の脳内機序解明およびその治療薬開発に関する研究…………… 19

分担研究者：山本経之¹

研究協力者：縄田陽子¹、平仁田尊人²

(¹長崎国際大学薬学部薬理学研究室、²米国国立衛生研究所薬物乱用研究所)

乱用薬物による依存形成における視床下部神経ペプチドの役割…………… 25

分担研究者：鈴木 勉

研究協力者：成田 年, 鈴木雅美

(星薬科大学 薬品毒性学教室)

乱用薬物に共通の依存症発症因子に対する新規Ca²⁺動態調節剤の治療への応用…………… 29

分担研究者：大熊誠太郎

研究協力者：桂 昌司、芝崎真裕、黒川和宏

(川崎医科大学薬理学教室)

乱用薬物に共通の治療薬の開発ならびに新規標的遺伝子の検討…………… 40

分担研究者：新田淳美¹

研究協力者：丹羽美苗^{1,2}、Cen Xiabo¹、衣斐大祐¹、日比陽子¹、山田清文¹、鍋島俊隆^{1,2,3}

(名古屋大学大学院医学系研究科・医療薬学・医学部附属病院・薬剤部、²名城大学大学院薬学研究科臨床薬学専攻病態解析学コース薬品作用学研究室、³特定非営利活動法人 医薬品適正使用推進機構)

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…………… 49

分担研究者：曾良一郎¹

研究協力者：李 炳錦¹、十川千春²、十川紀夫²、猪狩もえ¹、北山滋雄²

(¹東北大大学院精神・神経生物学分野, ²岡山大学大学院歯科薬理学分野)

覚せい剤投与によるドパミン神経傷害に及ぼすmithramycinの効果……………60

分担研究者：伊豫雅臣^{1,2}

研究協力者：萩原裕子^{1,2},宮武良輔¹,橋本謙二²

(¹千葉大学大学院医学研究院・精神医学,²千葉大学社会精神保健教育研究センター・病態解析研究部門)

乱用薬物による易再発性精神病様状態および依存症の予防・治療法開発に関する研究……………69

分担研究者：西川 徹

研究協力者：柏 淳、金子雄二郎、伊藤 卓、海野麻未、山本直樹、車地暁生

(東京医科歯科大学大学院精神行動医科学分野)

薬物依存における薬物再使用危険度評価尺度の開発と候補治療薬の探索……………78

研究分担者：池田和隆¹

研究協力者：大谷保和¹、高松幸雄¹、原口彩子¹、萩野洋子¹、山本秀子¹、笠井慎也¹、渡部 崇²、妹尾栄一³、曾良一郎⁴

(¹東京都精神医学総合研究所・分子精神医学研究チーム、²静岡刑務所、³東京都精神医学総合研究所・嗜癖行動研究チーム、⁴東北大学大学院医学研究科精神神経生物学分野)

薬物依存の新たな治療開発のための候補分子の探索 Dysbindin 遺伝子の解析……………88

分担研究者：氏家 寛¹

研究協力者：岸本真希子¹、本橋靖子¹、岡久祐子¹、小高辰也¹、稲田俊也²、原野陸正²、小宮山徳太郎²、堀達²、山田光彦²、関根吉統²、曾良一郎²、岩田仲生²、伊豫雅臣²、尾崎紀夫²、黒田重利¹

(¹岡山大学大学院医歯学総合研究科精神神経病態学分野、²Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA))

3. 主任・分担研究者一覧……………97

平成19年度 総括研究報告

主任研究者 鍋島俊隆

平成19年度厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究推進事業)

「乱用薬物による神経毒性・依存症に対する診断・予防及び治療法」

主任研究者 鍋島俊隆

総括研究報告

薬物依存および薬物乱用については各省庁によって様々な薬物乱用防止施策が執られているが、決定的な解決策には結びついていない。日本においてはメタンフェタミン（ヒロポン）を主とした覚せい剤や麻薬による乱用事犯の若年化が進み、深刻な社会問題となっていることから、法的施策、教育指導、そして医療体制などが連携した適正な対策を講じる必要がある。本研究では、基礎研究者を中心とした研究グループによってカルシウムチャンネル調節剤、視床下部神経ペプチド、ストレス関連ホルモンや新規遺伝子等の薬物依存形成機構への関与を詳細に調べることによって、依存性薬物の乱用の予防や依存に陥った患者への治療薬のターゲットを検討するとともに、臨床医を中心としたグループによって、薬物依存に共通して標的となる分子の検索および診断法や依存尺度の精度に関する研究を進め、新たな治療薬の開発を目指している。この臨床系研究者の多くは、薬物依存ゲノム解析研究組織である **Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse (JGIDA)** に所属しており、組織を通じて覚せい剤乱用者のDNAバンクから臨床サンプルが収集可能なことから、薬物依存候補遺伝子と覚せい剤の使用による精神神経障害に陥った患者との関連解析が行われており、非常に意義ある成果が得られつつある。本研究班では、それぞれのグループの研究成果を相互に検証して薬物依存の予防や有効な治療法の確立に繋げることを最終目標としており、初年度となる平成19年度にもすでにいくつかの新たな知見が得られている。

(I) 基礎研究

1. 乱用薬物による神経毒性や依存症に対する予防・治療および診断法に関する研究
(名城大学大学院薬学研究科臨床薬学専攻 薬品作用学研究室 鍋島俊隆)
2. マンフェタミンおよびMDMAへの渴望(薬物検索行動)の再燃の脳内機序解明及びその治療薬開発に関する研究(長崎国際大学薬学部薬理学研究室 山本経之)
3. 乱用薬物による依存形成における視床下部神経ペプチドの役割
(星薬科大学 薬品毒性学教室 鈴木 勉)
4. 乱用薬物に共通の依存症発現因子に対する新規Ca²⁺動態調節剤の治療への応用
(川崎医科大学 薬理学教室 大熊誠太郎)
5. 乱用薬物に共通の治療薬の開発ならびに新規標的遺伝子の検討
(名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部 新田淳美)

(II) 臨床研究

1. ケミカルドラッグ乱用への治療薬開発のための標的分子機序の解明
(東北大学大学院医学系研究科 精神・神経生物学分野 曾良一郎)
2. 覚せい剤誘発性神経障害の修復および逆耐性現象の治療に関する研究
(千葉大学大学院医学研究院 精神医学 伊豫雅臣)
3. 乱用薬物による易再発性精神病様状態および依存症の予防・治療薬開発に関する研究
(東京医科歯科大学医学部精神行動医科学 西川 徹)
4. 薬物依存における薬物再使用危険度評価尺度の開発と候補治療薬の検索
(東京都精神医学総合研究所 分子精神医学研究部門 池田和隆)
5. 薬物依存の新たな治療法開発のための候補分子の探索
(岡山大学大学院医歯学総合研究科 精神神経病態学分野 氏家 寛)

(I) 基礎研究

基礎研究については鍋島俊隆教授（名城大学大学院）がリーダーとなり、5名の基礎研究者の研究を統括した。その結果、神経ペプチドであるオレキシンがモルヒネへの報酬効果に対して重要な役割を果たしていること、薬物依存と関連する新規遺伝子のshatiやpiccoloについての報告がなされ、薬物依存形成メカニズム解明に大きな一歩を踏み出した。また、薬物乱用のメカニズムについてさらに解析を進めるためにカルシウムイオンの挙動との関連に着目し、新規カルシウム動態調節剤を用いて検討した。その結果、双方の関係づけが大きく進展し、治療薬開発に向けての成果も得られている。また、薬物依存はいったん治療に成功してもストレスや薬物を連想するエピソードの経験によって、再度薬物依存に陥る“再燃”という現象が起きる。この現象について、ラットを用いた薬物自己投与方法を用い、再燃とストレスの関係について詳しく調査したところ、ストレス関連因子である副腎皮質刺激ホルモンが再燃を起しやすくしていることが分かった。副腎皮質刺激ホルモンによって産生調節される生体内活性物質は数多くあるため、次年度以降の成果が期待されている。

乱用薬物による神経毒性や依存症に対する予防・治療および診断法に関する研究

(依存性薬物による精神障害に対するガラントミンの作用)

(名城大学院薬学研究科臨床薬学専攻 薬品作用学研究室 鍋島俊隆)

依存性薬物の一つであるフェンシクリジン (PCP) は、ヒトにおいて統合失調症に類似した精神症状を惹起することが知られている。一方、ガラントミンはニコチン様アセチルコリン受容体 (nAChR) に対するアロステリックモデュレーターとして働き、また弱いコリンエステラーゼ阻害作用を併せ持つアルツハイマー病の治療薬である。本研究では、ガラントミンおよびリスペリドンの依存性薬物による精神障害に対する作用について検討を行った。その結果、それらの単独および併用投与によってPCP連続投与マウスに認められる精神障害に対する緩解効果を確認した。

メタンフェタミンおよびMDMAへの渴望（薬物探索行動）の再燃の脳内機序解明及びその治療薬開発に関する研究

（長崎国際大学薬学部薬理学研究室 山本経之）

薬物依存症患者はストレス負荷により薬物への渴望を誘発し、薬物探索行動を誘発する事が知られている。本研究ではこの点に着目し、覚せい剤methamphetamine (MAP) の渴望の再燃に対するストレス関連因子である副腎皮質刺激ホルモン放出因子 (corticotropin-releasing factor: CRF) の関与を追究した。その結果、MAP探索行動はCRF受容体拮抗薬 α -Helical CRF₉₋₄₁の脳室内、側坐核および扁桃体内への微量注入によって有意に抑制された。一方、逆にCRFの脳室内、側坐核および扁桃体内への微量注入は、ラットのレバー押し行動を有意に増加させMAP探索行動を惹起した。これらのMAP探索行動は、CRF受容体拮抗薬 α -Helical CRF₉₋₄₁の側坐核ならびに扁桃体への微量注入によって抑制されたがコルチコステロン合成酵素阻害薬であるmetyraponeでは抑制されなかった。

以上の今回の知見から、MAP探索行動はCRF受容体の活性化を介して発現するが、コルチコステロンの生成を介した反応ではない事が明らかとなった。

乱用薬物による依存形成における視床下部神経ペプチドの役割

（星薬科大学 薬品毒性学教室 鈴木 勉）

本研究では、腹側被蓋野内 orexin 神経に焦点を当て、orexin 神経系による中脳辺縁 dopamine (DA) 神経系の活性化ならびに morphine 報酬効果発現機構における orexin 神経系の役割を詳細に検討した。その結果、脳内 orexin 神経系は DA 神経上に発現する orexin 受容体を介して興奮性細胞内情報伝達を引き起こすことにより、直接的かつ促進的に DA 神経系の活動性を調節し、神経終末において DA 遊離を促すことで、精神依存などの情動行動の発現を一部調節している可能性が明らかとなった。また、脳内 orexin 神経系は morphine のような opioid によってその神経活動が高められることにより orexin を遊離し、中脳辺縁 DA 神経系を興奮性に調節することで opioid が引き起こす精神依存形成に一役を担う可能性が明らかとなった。

乱用薬物に共通の依存症発現因子に対する新規Ca²⁺動態調節剤の治療への応用

（川崎医科大学 薬理学教室 大熊誠太郎）

本研究では、覚醒剤精神依存形成過程における L 型高電位開口性カルシウムチャンネル (HVCCs) の機能亢進の詳細と、この亢進に対する ryanodine 受容体活性化の関与について、methamphetamine (METH) 誘発精神依存マウス、および METH を連続曝露した初代培養大脳皮質神経細胞（神経細胞）を用いて、行動薬理学的および神経化学的観点から検討した。その結果、METH 誘発精神依存の形成および発現には ryanodine 受容体の活性化を介した CICR 機構の機能亢進と、これに続く細胞膜結合型 L 型 HVCC α 1C および α 2/ δ 1 subunits 蛋白発現の増加により L 型 HVCC の機能亢進が生じることが明らかとなった。さらに、本研究成果より dantrolene および ryanodine 受容体拮抗薬は精神依存形成時および獲得後の治療薬としての有用性が期待される。

乱用薬物に共通の治療薬の開発ならびに新規標的遺伝子の検討

（名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部 新田淳美）

これまでにも薬物依存の形成に寄与すると考えられるいくつかの遺伝子が報告されているが、我々は

覚せい剤であるメタンフェタミンを連続投与したマウス脳において発現量の高い2つの遺伝子をcDNAサブトラクション法を用いて見出した。1つはすでに既知のタンパクでありインシュリン分泌に関係するタンパクとして研究がなされていた **piccolo** と、全く新規の遺伝子である **shati** である。両タンパクの遺伝子配列にもとづいて作成したアンチセンスヌクレオチドを脳に注入し、各タンパクの発現を減少させたマウスでは、覚せい剤による場所嗜好性や自発運動の亢進が促進されたことから、両遺伝子は薬物依存形成を抑制すると考えられる。また、追加実験により両遺伝子の薬物依存形成抑制作用は、ドパミン遊離の調節を受けている可能性が確認された。さらに培養細胞や *ex vivo* の実験により、両遺伝子がドパミントランスポーターの機能調節に関係しているという新しい知見を得た。

(II) 臨床研究

臨床系研究においては曾良一郎教授（東北大学大学院）によって5名の研究者が統括された。

違法ドラッグのメチロンは、覚せい剤ほど危険ではない薬物として誤った認識の下に使用されているが、その毒性や依存形成について検討を行ったところ、実際は覚せい剤のメタンフェタミンより強いドパミントランスポーター阻害作用を持つことが判明した。また我が国においてこれまで確固たるガイドラインが存在しなかった薬物依存患者の診断法について、日本語表記による標準診断法を提言し、多施設による臨床研究をスタートした。また、薬物依存患者の遺伝子では **Dysbindin** という筋接合部および脳に存在するタンパクをコードする遺伝子の変異が有意に発現することを見出しており、次年度以降、対象患者数を増やして更に調査を進め、薬物依存患者の診断マーカーへの応用を検討している。また、抗生物質として承認されている **mithramycin** がメタンフェタミン誘発性の行動異常を抑制することをマウスによる実験で確認した。 **mithramycin** は長年本邦で使用され、薬物としての安全性も確立しているので、今回薬物依存治療薬となる可能性が示されたことから、今後はサルなどの高次神経機能を持つ動物を用いた研究にステップアップすることを考えている。また、臨床系グループから薬物依存関連遺伝子として **mrt1** が報告され、薬物依存発症との関係解明について今後の展開に注目している。

ケミカルドラッグ乱用への治療薬開発のための標的分子機序の解明

（東北大学大学院医学系研究科 精神・神経生物学分野 曾良一郎）

最近、我が国での乱用が増加しているメチロンについて、モノアミン神経伝達系への機序を解明するため、メチロンの神経伝達物質トランスポーター輸送機能に及ぼす効果と細胞毒性を検討した。その結果、メチロンは濃度依存性において細胞毒性を示し、 **DAT** 発現 **CHO** 細胞により強く現れたが、 **NET** 発現 **CHO** 細胞ではほとんど細胞毒性を示さなかった。また、その毒性におけるドーパミンおよびセロトニン神経伝達の関与が *in vivo* のデータだけではなく、モノアミントランスポーター発現 **CHO** 細胞を用いた *in vitro* の結果からも示唆された。

覚せい剤誘発性神経障害の修復および逆耐性現象の治療に関する研究

（千葉大学大学院医学研究院 精神医学 伊豫雅臣）

本研究では、覚せい剤 (**methamphetamine: METH**) 誘発性の行動異常やドパミン (**DA**) 神経傷害に対す

る抗腫瘍抗生物質mithramycinの効果を検討した。今回、我々はmithramycinがMETHの繰り返し投与による逆耐性形成を抑制し、線条体におけるDAの減少やドパミントランスポーター(DAT)の減少を抑制することを見出した。以上の結果より、mithramycinは覚せい剤乱用によって引き起こされる精神神経傷害の治療薬となる可能性が示唆された。

乱用薬物による易再発性精神病様状態および依存症の予防・治療薬開発に関する研究

(東京医科歯科大学医学部 精神行動医科学 西川 徹)

乱用薬物による精神障害の分子病態を明らかにし、予防・治療法を開発することを目的として、薬物性統合失調症様精神病の発症や再発のモデルと考えられる逆耐性現象の分子薬理学的研究を進めた。ラットの脳で臨界期以後に覚せい剤(メタンフェタミン)や麻薬(フェンサイクリジン)に反応するようになる遺伝子を探索・検出し、構造、コード蛋白、脳内分布、薬理学的性質などを検討した。その結果セロトニン選択的再取り込み阻害薬(SSRI)が、一度形成された逆耐性現象の発現を長期にわたって抑制することが見出され、易再発性の薬物性精神病状態に対する治療薬開発の標的分子や既存の向精神薬による予防法の手がかりとなった。

薬物依存における薬物再使用危険度評価尺度の開発と候補治療薬の検索

(東京都精神医学総合研究所 分子精神医学研究部門 池田和隆)

本研究では、薬物依存における薬物再使用リスクを客観的な指標によって評価するシステムを構築すると同時に、モデル動物を用いて薬物依存治療薬を探索し、最終的にこれらを組み合わせて、治療薬の開発・評価ならびに治療プログラムの改善を目指している。今年度は、研究分担者らが標準化した尺度であるASI(Addiction Severity Index)日本語版(ASI-J)とSRRS(Stimulant Relapse Risk Scale)について、法務機関への応用を図った。特にASIに関しては刑務所において52例に実施し、その有用性を明らかにした。また、今年度社会的に大きな問題となったメチルフェニデート(商品名:リタリン)に関して、その作用機序を行動薬理学的に解析した。

薬物依存の新たな治療法開発のための候補分子の探索

(岡山大学大学院医歯学総合研究科 精神神経病態学分野 氏家 寛)

薬物依存における大きな問題の1つが慢性中毒と呼ばれる神経精神毒性であり、それによる精神病性障害の合併である。その合併しやすさや重症度には個人差が強く、ゲノム要因が大きいことが推定されるが、その具体的な遺伝子因子や発現機序は不明な部分が多いため、これらの解明を進めることにより慢性中毒の予防や治療法の開発を目指した。特にDysbindin をコードするDTNBP1遺伝子に視点を当て、調査研究を行った。統合失調症と相関が確認されているこの遺伝子について双極性障害での解析をおこなったところ、双極性障害全体では関連しないが、精神病性双極性障害に限定すると有意な相関が見られ、さらにその防禦ハプロタイプが統合失調症と共通していたことにより、疾患を問わず精神病症状の発現脆弱性に関係する可能性が示唆された。その結果、DTNBP1遺伝子が統合失調症自体の発症脆弱性よりは精神病症状の合併脆弱性に関与している可能性を指示した。

平成19年度 分担研究報告

乱用薬物による神経毒性や依存症に対する予防・治療および診断法 に関する研究 (依存性薬物による精神障害に対するガランタミンの作用)

主任研究者：鍋島俊隆¹

リサーチレジデント：毛利彰宏¹

研究協力者：野田幸裕²

(¹名城大学薬学部薬品作用学, ²名城大学薬学部病態解析学)

[研究要旨]

依存性薬物による精神障害は、断薬後も持続的に惹起されるため、乱用者の社会復帰への大きな妨げとなり、このような精神障害に対する治療薬の開発は急務である。依存性薬物の一つであるフェンシクリジン（PCP）は、ヒトにおいて統合失調症に類似した精神症状を惹起することが知られている。一方、ガランタミンはニコチン様アセチルコリン受容体（nAChR）に対するアロステリックモデュレーターとして働き、また弱いコリンエステラーゼ阻害作用を併せ持つアルツハイマー病の治療薬である。本研究では、ガランタミンの依存性薬物による精神障害に対する作用について検討を行った。PCP 連続投与動物の休薬後に認められる社会性行動の低下および水探索試験における注意障害はガランタミン（0.3 mg/kg）およびリスペリドン（0.1 mg/kg）の投与により緩解した。また、ガランタミン（0.05 mg/kg）とリスペリドン（0.05 mg/kg）の低用量の併用投与においても PCP 連続投与によるこれら精神障害に対して緩解が認められ、この緩解作用は nAChR 拮抗薬であるメカミラミンにより拮抗された。リスペリドンおよびガランタミンの低用量の併用投与は PCP 連続投与マウスの前頭皮質の細胞外ドパミン遊離量を著しく増加させ、この遊離量の増加作用はメカミラミンの併用投与により拮抗された。PCP 連続投与マウスに認められる社会性行動の低下および潜在学習障害に対するガランタミンとリスペリドンの低用量の併用投与による緩解作用は、ドパミン D1 受容体拮抗薬である SCH23390 により拮抗された。以上の結果より、ガランタミンおよびリスペリドンの単独および併用投与による PCP 連続投与マウスに認められる精神障害に対する緩解効果は nAChR を介した前頭皮質のドパミン遊離量の増加および、それによるドパミン D1 受容体の刺激によるものと考えられる。

A 研究目的

現在、一般人への依存性薬物汚染の実態は深刻である。海上自衛隊員が大麻、覚せい剤や MDMA（3,4-methylenedioxymethamphetamine）の所持の容疑などで逮捕されたのに続き、航空自衛隊員も覚せい剤使用容疑で捕まっている。元国会議員が国

会や選挙演説中に覚せい剤を使用したことが発覚し逮捕されている。幻覚などを起こす薬物を使用中に国政や国防の業務に就く怖さは計り知れない。一方、現在の薬物依存に関する研究は、依存形成や再発の抑制に注目がおかれており、学習および情動への障害に対する治療法の開発は少

ない。薬物依存患者を一般社会に復帰させるには、これら障害の治療が必須となっている。そのため、こうした依存性薬物を投与した動物を用いて依存性薬物による精神障害に対する治療薬を評価するような研究は社会的要求性の高いものになると考えられる。依存性薬物であるフェンシクリジン (PCP) は統合失調症様の精神障害を示す事が知られている^{1,2)}。一方、ガラントミンは、ニコチン様アセチルコリン受容体 (nAChR) に対するアロステリックモデュレーターとして働き、また弱いコリンエステラーゼ阻害作用を併せ持つアルツハイマー病の治療薬である³⁾。ガラントミンが統合失調症患者に認められる感情鈍磨などの陰性症状や注意力低下などの認知障害の改善効果を示したとの臨床報告がある⁴⁻⁶⁾。これらの報告から、ガラントミンは依存性薬物による精神障害に対する治療薬としての可能性がある。本研究は PCP 連続投与後に認められる認知および情動障害とそれに関連した神経機能低下に対するガラントミンの効果について検討を行った。

B. 研究方法

1. 実験動物および薬物

実験には、野生型である 6-8 週齢の ICR 系雄性マウス (日本エスエルシー, 静岡) を使用した。動物は実験を開始する前少なくとも 3 日間は、室温 23 ± 1 °C, 湿度 50 ± 5 % で、明暗サイクル (明期 8 時~20 時) の室内にて飼育し、水および餌は自由に摂取させた。なお、本実験計画は *Principles of Laboratory Animal Care (National Institutes of Health Publication 85-23, 1985)* に準じて行った。

実験には、我々が合成した PCP, ガラントミン (ヤンセンファーマ, 東京), リスペリドン, メカミラミン, スコポラミン, および SCH23390 (シグマアルドリッチ, 米国) を使用した。リスペリドンは酒石酸溶液に溶解した。また、他の薬物は生理食塩水に溶解した。投与時はすべての薬物を

10 mL/kg の投与用量に調整した。

2. 水探索試験

PCP を連続投与し、休薬 3 日後に水探索試験を行った。木製オープンフィールド (30×50 cm, 高さ 15 cm) の長い側壁の中央に一つの入り込み小部屋 (10×10 cm, 高さ 10 cm) を設置し、この小部屋の天井の中央から、ホームケージで使われているものと同じ型の給水用ノズルを挿入した。訓練試行は、十分に水を与えたマウスを一匹ずつ入り込み部屋と反対側のオープンフィールドの壁の角に頭を向けて置き、マウスが探索行動を開始するまでの時間を *start latency* として測定した。その後、マウスに装置内を 3 分間自由に探索させた。3 分以上経過しても探索行動を開始しなかったマウスと 3 分間の探索期間中に一度も給水ノズルに接触しなかったマウスはテスト試行を行わず、実験の対象から削除した。訓練試行終了後、直ちにマウスをホームケージに戻し、テスト試行を開始するまで絶水した。テスト試行は、訓練試行の翌日に行った。訓練試行終了後絶水したマウスを再びテスト装置内の同じ角に置き、マウスが給水ノズルのある部屋に入ってから、水を飲むまでの時間を *finding latency* として記録した。訓練試行を経験しなかったマウス (*naïve*) についても同様にテスト試行を行い、これらのマウスのデータとの比較から、マウスの基礎的な潜在学習能力を評価した。

3. 社会性行動試験

PCP を連続投与し、休薬 1 日後に装置に対して 10 分間の馴化を行い、2 日後に社会性行動試験を行った。壁の高さ 25 cm の 25×30 cm 四方のフィールドを使用した。それぞれ異なるケージ内で飼育していた同系統の 2 匹のマウスを同時に装置中央に入れ、その直後から 10 分間、社会性行動として、お互いに嗅ぎ合う行動 (*sniffing*), 相手の動物を追いかける行動 (*following*), 相手の動物の上

に乗りかかる行動 (mounting), 相手の動物の下に潜ろうとする行動 (scrawling) のいずれかを示している時間を測定した。

4. マイクロダイアリシス法

マウスはペントバルビタール (40 mg/kg i.p.) の麻酔下において, ガイドカニューレ (AG-6, エイコム, 京都) を左前頭皮質 (AP +1.7, ML +1.0 from bregma, DV -1.5 from skull) に 15 度の角度から挿入した。翌日, ダイアリシスプローブ (AI-6-1; 膜長 1mm, エイコム) をガイドカニューレを介して挿入し, 人工脳脊髄液 (147 mM NaCl, 4 mM KCl and 2.3 mM CaCl₂) を 1.2 μl/min の流速で還流した。還流液を採取し, 高速液相クロマトグラフィー (HTEC-300, エイコム) により細胞外ドパミン遊離量を測定した。

5. 統計解析

結果は平均値±標準誤差として示した。得られた結果は, one-way による分散分析を行い, 各群間比較には, Tukey の多重比較検定法を用いた。なお, 危険率が 5% 以下の場合を有意差ありと判定した。

C. 研究結果

1. PCP 連続投与マウスにおける潜在学習障害に対するガラントミンおよびリスペリドンの効果

水探索試験は, マウスが一度ある環境に曝されたとき, どれだけその環境を認知しているかを調べるもので, 装置の構成についての空間的記憶とそこにある給水用のノズルの位置についての記憶を測定することができる。これらの記憶は, 自由な探索行動の中でマウスを絶水していなくても獲得されるため, 動物の潜在的な学習能力 (注意力) を反映すると考えられている。生理食塩水連続投与マウスを絶水させ, 再び装置に戻すと, 絶水条件で訓練していないのに素早く水を見つ

け, 訓練を受けていないマウスと比較し, 飲水までの時間が短くなる。PCP 連続投与マウスでは, 訓練した時に給水ノズルへの接触回数などの行動には生理食塩水連続投与マウスと差は認められないが, テスト時にノズルを見つけるまでの時間が延び, 潜在学習が障害されている⁷⁾。PCP 最終投与から 4 日間休薬しても, この潜在学習障害は認められる⁷⁾。PCP を連続投与し, 休薬後に水探索試験におけるガラントミンおよびリスペリドンの効果を検討したところ, 訓練試行前にガラントミン単独の低用量 (0.05 mg/kg) またはリスペリドン単独の低用量 (0.05 mg/kg) を投与しても, PCP 連続投与マウスに認められる潜在学習障害は緩解されないのに対し, ガラントミンの高用量 (0.3 mg/kg) およびリスペリドンの高用量 (0.1 mg/kg) では緩解された (Fig. 1)。また, ガラントミンとリスペリドンの低用量の併用投与により潜在学習障害が緩解され (Fig. 1), この緩解作用は nAChR 拮抗薬であるメカミラミン (3 mg/kg) により拮抗されたが, ムスカリン型アセチルコリン受容体 (mAChR) 拮抗薬であるスコポラミン (0.1 mg/kg) では拮抗されなかった (Fig. 2)。

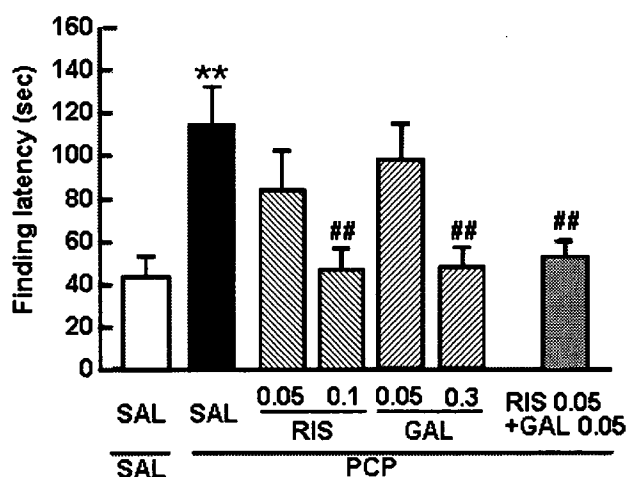


Fig. 1. Synergistic effect of galantamine with risperidone on impairment of latent learning in PCP-treated mice. PCP (10 mg/kg, s.c.) was injected for 14 days. Control groups were treated with same volume of saline. Galantamine (0.05 mg/kg, p.o.) and risperidone (0.05 mg/kg, p.o.) were administered 1 h before the training trial. Results are expressed as means ± SEM, n=12-17. **p < 0.01, compared to Sal/Sal-treated group. #p < 0.05, ##p < 0.01, compared to PCP/Sal-treated group.

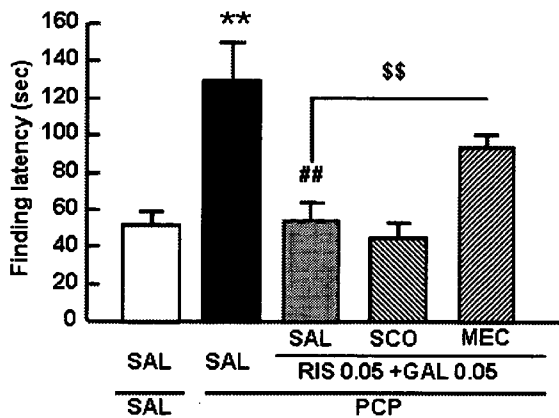


Fig. 2. Nicotinic, but not muscarinic, AChRs are critical for the synergism of galantamine with risperidone. PCP (10 mg/kg, s.c.) was injected for 14 days. Control groups were treated with same volume of saline (Sal). Galantamine (0.05 mg/kg, p.o.) and risperidone (0.05 mg/kg, p.o.) were administered 1 h before the training trial, and mecamlamine (3 mg/kg, s.c.) or scopolamine (0.1 mg/kg, s.c.) was injected 20 min after the co-administration. Results are expressed as means \pm SEM, $n=10-12$, and analyzed by a one-way ANOVA, followed by the modified Tukey test for multiple comparisons.

** $p < 0.01$, compared to Sal/Sal-treated group. ## $p < 0.01$, compared to PCP/Sal-treated group. \$\$\$ $p < 0.01$, compared to PCP/Risp/Galan-treated group.

2. PCP 連続投与マウスにおける社会性行動障害に対するガランタミンの効果

社会性行動は実験動物においても認められ、別々のケージで飼育され、それまで接触する機会の無かった2匹のマウスやラットを同時に観察ケージに入れると、お互いに匂いを嗅ぐ、毛繕いをする、後をついて歩くといった行動を示す。PCP 連続投与マウスにおいては社会性行動の低下が認められ、PCP 最終投与4週間後においても社会性行動の低下は認められる⁸⁾。PCP をマウスに連続投与し、休薬後にガランタミン (0.05, 0.3 mg/kg)、リスペリドン (0.05, 0.1 mg/kg) の単独またはこれらを併用 (ガランタミン; 0.05 mg/kg, リスペリドン; 0.05 mg/kg) 急性投与したところ、ガランタミン単独の低用量 (0.05 mg/kg) ではPCP 連続投与マウスに認められる社会性行動の低下が緩解されないのに対し、高用量 (0.3 mg/kg) では緩解された。リスペリドン単独においても、低用量 (0.05 mg/kg) では緩解されないが、高用量 (0.1

mg/kg) では緩解される (Fig. 3)。また、低用量の両薬併用によっても緩解される。この緩解作用はメカミラミン (3 mg/kg) により拮抗されたが、スコポラミン (0.1 mg/kg) では拮抗されなかった (Fig. 4)。

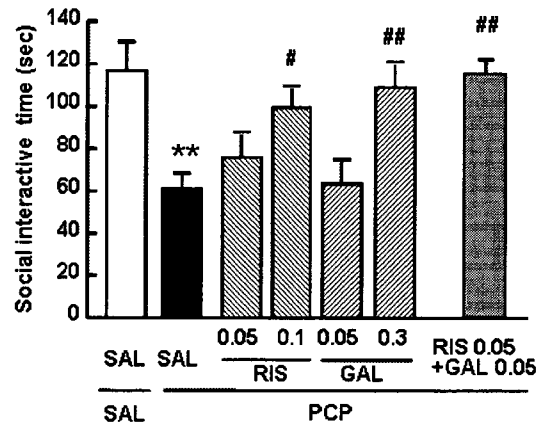


Fig. 3. Synergistic effect of galantamine with risperidone on impairment of social behavior in PCP-treated mice. PCP (10 mg/kg, s.c.) was injected for 14 days. Control groups were treated with same volume of saline (Sal). Galantamine (0.05 mg/kg, p.o.) and risperidone (0.05 mg/kg, p.o.) were administered 1 h before the trial. Results are expressed as means \pm SEM, $n=12-17$. ** $p < 0.01$, compared to Sal/Sal-treated group. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, compared to PCP/Sal-treated group.

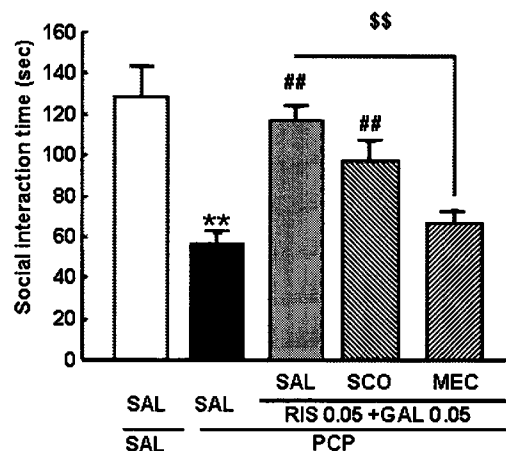


Fig. 4. Nicotinic, but not muscarinic, AChRs are critical for the synergism of galantamine with risperidone. PCP (10 mg/kg, s.c.) was injected for 14 days. Control groups were treated with same volume of saline (Sal). Galantamine (0.05 mg/kg, p.o.) and risperidone (0.05 mg/kg, p.o.) were administered 1 h before the trial, and mecamlamine (3 mg/kg, s.c.) or scopolamine (0.1 mg/kg, s.c.) was injected 20 min after the co-administration. Results are expressed as means \pm SEM, $n=10-12$, and analyzed by a one-way ANOVA, followed by the modified Tukey test for multiple comparisons. ** $p < 0.01$, compared to Sal/Sal-treated group. ## $p < 0.01$, compared to PCP/Sal-treated group. \$\$\$ $p < 0.01$, compared to PCP/Risp/Galan-treated group.

3. PCP 連続投与マウスにおけるガラントミンおよびリスペリドンの併用による前頭皮質細胞外ドパミン遊離量の増加

PCP 連続投与マウスにおいてドパミン作動性神経系の機能低下が報告されている⁷⁾。PCP 連続投与マウスにリスペリドン (0.05 mg/kg) およびガラントミン (0.05 mg/kg) の低用量を単独投与しても、細胞外ドパミン遊離量の有意な変化は認められないが、それぞれを併用投与したとき、細胞外ドパミン遊離量が著しく増加し (Fig. 5A), この遊離量の増加作用はメカミラミン (3 mg/kg) の併用投与により拮抗された (Fig. 5B)。

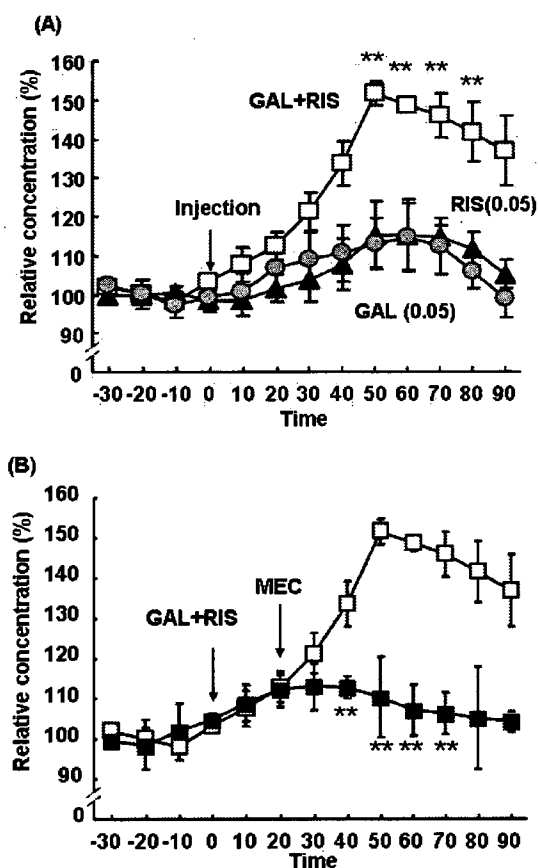


Fig. 5. Synergistic effect of galantamine with risperidone on extracellular concentration of dopamine in mPFC of PCP-treated mice (A). PCP (10 mg/kg, s.c.) was injected for 14 days. Galantamine (GAL: 0.05 mg/kg, p.o.) and/or risperidone (RIS: 0.05 mg/kg, p.o.) were administered 3 days after the withdrawal of PCP. Results are expressed as means \pm SEM, $n=4-5$. $**p < 0.01$, compared to PCP/RIS-treated group. Mecamylamine blocked synergistic effect of galantamine with risperidone on extracellular concentration of dopamine in mPFC of PCP-treated mice (B). Mecamylamine (Mec, 3 mg/kg, s.c.) was injected 20 min after the coadministration. Results are expressed as means \pm SEM, $n=4-5$. $**p < 0.01$, compared to PCP/Risp/Galantreated group.

4. PCP 連続投与マウスに認められる精神障害に対するガラントミンおよびリスペリドンの併用による緩解効果におけるドパミン D1 受容体の関与

PCP 連続投与マウスに認められる社会性行動の低下および潜在学習障害に対するガラントミンおよびリスペリドンの高容量の単独投与およびそれらの低用量の併用投与による緩解作用は、ドパミン D1 受容体拮抗薬である SCH23390 (0.02 mg/kg)を併用投与すると拮抗された (Fig. 6A, B)。

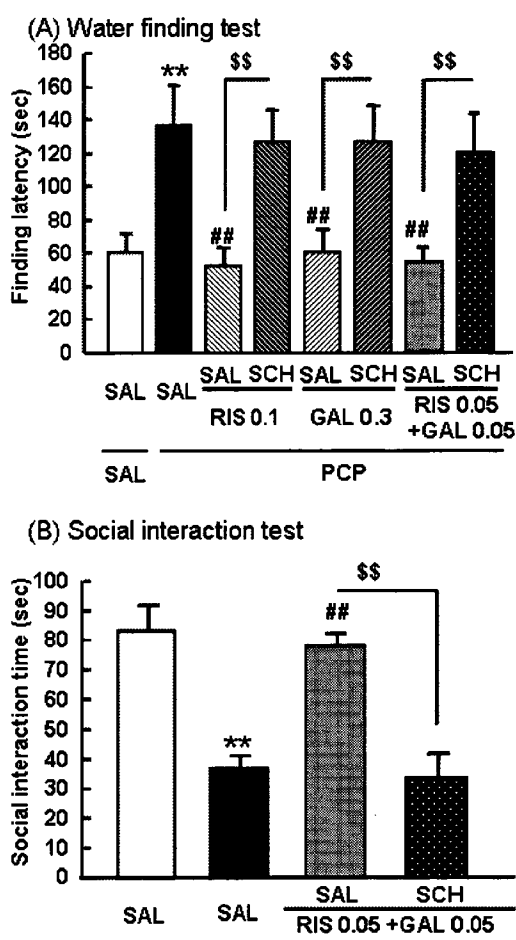


Fig. 6. Synergistic effect of galantamine with risperidone is mediated by D1 receptors in water finding test (A) and social interaction test (B). PCP (10 mg/kg, s.c.) was injected for 14 days. Control groups were treated with same volume of saline (SAL). Galantamine (GAL, 0.05 and 0.3 mg/kg, p.o.) and/or risperidone (RIS, 0.05 and 0.1 mg/kg, p.o.) were administered 1 h before the training trial. The dopamine D1 receptor antagonist SCH 23390 was s.c. injected at the dose of 0.02 mg/kg 30 min after the co-administration. Results are expressed as means \pm SEM, $n=11-17$. $**p < 0.01$, compared to SAL/SAL-treated group, $##p < 0.01$, compared to PCP/SAL-treated group, $$$p < 0.01$, compared to PCP/Risp/Galan-treated group.

D. 考察

PCP は薬物依存者に統合失調症に酷似した精神症状 (PCP 精神病) を惹起することが知られている⁹⁾. 覚せい剤依存者においても幻覚・妄想や認知障害など覚せい剤精神病を発症する¹⁰⁾. これらの依存性薬物による精神障害は統合失調症の症状に類似している. PCP 連続投与動物は, 陽性症状の指標となる自発運動量の増加や常同行動, 陰性症状の指標となる社会性行動の低下や強制水泳試験における意欲の低下および認知障害の指標となる放射状迷路試験における作業記憶障害や水探索試験における注意障害など, 臨床症状を反映した多様な行動異常を示すことから, 包括的な統合失調症のモデルとして提唱されている^{1,2)}. 一方, 抗精神病薬の中には依存性薬物による精神障害に対して緩解作用を持つものがある. ガランタミンは, nAChR に対するアロステリックモジュレーターとして働き, また弱いコリンエステラーゼ阻害作用を併せ持つアルツハイマー病の治療薬である³⁾. また, 本研究室においても, ガランタミンはアルツハイマー病モデル動物であるベータアミロイド注入マウスにおいて, ニコチン型アセチルコリン受容体を介して海馬内の細胞外ドパミン遊離量を増加し, 学習障害を緩解することを報告している¹¹⁾.

本発表において PCP 連続投与マウスに認められる社会性行動の低下および潜在学習障害に対するガランタミンおよびリスペリドンの高用量の単独投与は緩解効果を示し, ガランタミンとリスペリドンの低用量の併用投与においても緩解作用を示すことから, これら薬物の併用投与により相乗効果が認められる事が示唆された. また, ガランタミンとリスペリドンの低容量による併用投与による相乗効果は前頭皮質における細胞

外ドパミン遊離量の増加作用においても認められた. また, このような相乗効果は nAChR 拮抗薬であるメカミラミンにより拮抗された. リスペリドンは前頭皮質の細胞外アセチルコリン遊離量を増加させることが報告されており¹²⁾, また nAChR が活性化されるとドパミンの遊離量が増加することが知られていることから^{13,14)}, この相乗作用は, リスペリドンによるアセチルコリンの遊離を介した間接的 nAChR の活性化とガランタミンのアロステリック作用による nAChR の活性化により, 細胞外ドパミン遊離量が増加されたものと考えられる. また, ドパミン D1 受容体拮抗薬である SCH23390 はガランタミンとリスペリドンの併用投与による PCP 連続投与マウスに認められる精神障害に対する緩解効果を抑制した. 前頭前皮質へのドパミン D1 受容体作動薬の微量注入は PCP 連続投与マウスに認められる潜在学習障害を緩解することから⁷⁾, ガランタミンとリスペリドンの併用投与による PCP 連続投与マウスに認められる精神障害に対する緩解効果はドパミン D1 受容体が刺激された結果であると考えられる.

E. 結論

本研究では, ガランタミンおよびリスペリドンは PCP 連続投与マウスで認められる精神障害に対して緩解効果を示し, ガランタミンおよびリスペリドンの低用量の併用においても緩解効果は認められ, PCP 連続投与による精神障害に対してガランタミンが有効であることが示唆された. 一方, 臨床において統合失調症の治療には SDA であるリスペリドンが頻用されているが, 用量依存的にみられる高プロラクチン血症や錐体外路系症状などの多様な副作用の発現が問題となっている. 以上の知見から, ガランタミンとの併用によりリスペリドンの使用量を下げることができ, その様な副作用の軽減が期待される. 今後, 覚せい剤精神病などの他の依存性薬物による精神障害に対す

るガラントミンの効果について検討していく予定である。

[参考文献]

1. Mouri A, Noda Y, Enomoto T, Nabeshima T. Phencyclidine animal models of schizophrenia: approaches from abnormality of glutamatergic neurotransmission and neurodevelopment. *Neurochem Int*, 51: 173-184 (2007).
2. Enomoto T, Noda Y, Nabeshima T. Phencyclidine and genetic animal models of schizophrenia developed in relation to the glutamate hypothesis. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 29: 291-301 (2007).
3. Samochocki M, Höfle A, Fehrenbacher A, Jostock R, Ludwig J, Christner C, Radina M, Zerlin M, Ullmer C, Pereira EF, Lübbert H, Albuquerque EX, Maelicke A. Galantamine is an allosterically potentiating ligand of neuronal nicotinic but not of muscarinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther*, 305:1024-1036 (2003).
4. Arnold DS, Rosse RB, Dickinson D, Benham R, Deutsch SI, Nelson MW. Adjuvant therapeutic effects of galantamine on apathy in a schizophrenia patient. *J Clin Psychiatry*, 65:1723-1724 (2004).
5. Deutsch SI, Rosse RB, Schwartz BL, Weizman A, Chilton M, Arnold DS, Mastropaolo J. Therapeutic implications of a selective $\alpha 7$ nicotinic receptor abnormality in schizophrenia. *Isr J Psychiatry Relat Sci*, 42:33-44 (2005).
6. Bora E, Veznedaroglu B, Kayahan B (2005) The effect of galantamine added to clozapine on cognition of five patients with schizophrenia. *Clin Neuropharmacol*, 28:139-141.
7. Mouri A, Noda Y, Noda A, Nakamura T, Tokura T, Yura Y, Nitta A, Furukawa H, Nabeshima T. Involvement of a dysfunctional dopamine-D1/N-methyl-d-aspartate-NR1 and Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II pathway in the impairment of latent learning in a model of schizophrenia induced by phencyclidine. *Mol Pharmacol*, 71:1598-1609 (2007).
8. Qiao H, Noda Y, Kamei H, Nagai T, Furukawa H, Miura H, Kayukawa Y, Ohta T, Nabeshima T. Clozapine, but not haloperidol, reverses social behavior deficit in mice during withdrawal from chronic phencyclidine treatment. *Neuroreport*. 12: 11-15 (2001).
9. Carlsson A, Waters N, Holm-Waters S, Tedroff J, Nilsson M, Carlsson ML. Interactions between monoamines, glutamate, and GABA in schizophrenia: new evidence. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 41: 237-260 (2001).
10. Ujike H, Sato M. Clinical features of sensitization to methamphetamine observed in patients with methamphetamine dependence and psychosis. *Ann N Y Acad Sci*. 2004 Oct;1025:279-87.
11. Wang D, Noda Y, Zhou Y, Mouri A, Mizoguchi H, Nitta A, Chen W, Nabeshima T. The allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors by galantamine ameliorates the cognitive dysfunction in beta amyloid25-35 i.c.v.-injected mice: involvement of dopaminergic systems. *Neuropsychopharmacology*. 32: 1261-1271 (2007).
12. Ichikawa J, Dai J, O'Laughlin IA, Fowler WL, Meltzer HY. Atypical, but not typical, antipsychotic drugs increase cortical acetylcholine release without an effect in the nucleus accumbens or striatum. *Neuropsychopharmacology*. 26: 325-339 (2002).
13. Cao YJ, Surowy CS, Puttfarcken PS. Nicotinic

acetylcholine receptor mediated dopamine release from hippocampus. *J Pharmacol Exp Ther*, 312: 1298-1304 (2005).

14. Wonnacott S. Presynaptic nicotinic Ach receptors. *Trends Neurosci*, 20: 92-98 (1997).

1. 論文発表

1. Yan, Y., Yamada, K., Niwa, M., Nagai, T., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Enduring vulnerability to reinstatement of methamphetamine-seeking behavior in glial cell line-derived neurotrophic factor mutant mice. *FASEB J.*, 21, 1994-2004 (2007).
2. Mouri, A., Noda, Y., Hara, H., Mizoguchi, H., Tabira, T. and Nabeshima, T.: Oral vaccination with a viral vector containing A β cDNA attenuates age-related A β accumulation and memory deficits without causing inflammation in a mouse alzheimer model. *FASEB J.*, 21, 2135-2148 (2007)
3. Yoshida, M., Morita, R., Lefor, A.T. and Nabeshima, T.: Implementation and evaluation of a once daily amikacin dosing protocol in a long-term care facility. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 29, 113-116 (2007)
4. Ando, M., Kojima, S., Ozeki, Y., Nakayama, Y. and Nabeshima, T.: Development and evaluation of a novel dry-coated tablet technology for pellets as a substitute for the conventional encapsulation technology. *Int. J. Pharm.*, 336, 99-107 (2007)
5. Ando, M., Ito, R., Ozeki, Y., Nakayama, Y. and Nabeshima, T.: Evaluation of a novel sugar coating method for moisture protective tablets. *Int. J. Pharm.*, 336, 319-328 (2007)
6. Usami, M., Misawa, K., Yagi, N., Sekikawa, H. and Nabeshima, T.: Buserelin-acetate microparticle dispersion effects drug release and plasma E1 levels. *Int. J. Pharm.*, 339, 130-138 (2007)
7. 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.*, 100, 1579-1588 (2007)
8. 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.*, 101, 1392-1399 (2007)
9. Niwa, M., Nitta, A., Mizoguchi, H., Ito, Y., Noda, Y., Nagai, T. and Nabeshima, T.: A novel molecule 'shati' is involved in methamphetamine-induced hyperlocomotion, sensitization, and conditioned place preference. *J. Neurosci.*, 27, 7604-7615 (2007)
10. Nagai, T., Takuma, K., Kamei, H., Ito, Y., Nakamichi, N., Ibi, D., Nakanishi, Y., Murai, M., Mizoguchi, H., Nabeshima, T. and Yamada, K.: Dopamine D1 receptors regulate protein synthesis-dependent long-term recognition memory via extracellular signal regulated kinase 1/2 in the prefrontal cortex. *Learn. Mem.*, 14, 117-125 (2007)
11. Mouri, A., Noda, Y., Noda, A., Nakamura, T., Tokura, T., Yura, Y., Nitta, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Involvement of a dysfunctional dopamine-D1/NMDA-NR1 and CaMK II pathway in the impairment of latent learning in a model of schizophrenia induced by phencyclidine. *Mol. Pharmacol.*, 71, 1598-1609 (2007)
12. Shin, E.-J., Nah, S.-Y., Chae, J.S., Bing, G., Shin, S.W., Yen, T., Baek, I.-H., Kim, W.-K., Maurice, T., Nabeshima, T. and Kim, H.-C.: Dextromethorphan attenuates trimethyltin-induced neurotoxicity via α 1 receptor activation in rats. *Neurochem. Int.*, 50, 791-799 (2007)
13. Mouri, A., Noda, Y., Enomoto, T. and Nabeshima, T.: Phencyclidine animal models of schizophrenia: approaches from abnormality of glutamatergic neurotransmission and neurodevelopment. *Neurochem. Int.*, 51, 173-184
14. Wang, D., Noda, Y., Zhou, Y., Nitta, A., Furukawa, H. and Nabeshima, T.: Synergistic effect of

- galantamine with risperidone on impairment of social interaction in phencyclidine-treated mice as a schizophrenic animal model. *Neuropharmacology*, 52, 1179-1187 (2007)
15. Wang, D., Noda, Y., Zhou, Y., Mouri, A., Mizoguchi, H., Nitta, A., Chen, W. and Nabeshima, T.: The allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors by galantamine ameliorates the cognitive dysfunction in beta amyloid25-35 i.c.v.-injected mice: involvement of dopaminergic systems. *Neuropsychopharmacology*, 32, 1261-1271 (2007)
 16. Yan, Y., Yamada, K., Mizoguchi, H., Noda, Y., Nagai, T., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Reinforcing effects of morphine are reduced in tissue plasminogen activator (tPA)-knockout mice. *Neuroscience*, 146, 50-59 (2007)
 17. Mizoguchi, H., Yamada, K., Mouri, A., Niwa, M., Mizuno, T., Noda, Y., Nitta, A. Itohara, S., Banno, Y. and Nabeshima, T.: Role of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of MMP in methamohetamine-induced behavioral sensitization and reward: implications for dopamine reseptor down-regulation and dopamine release. *J. Neurochem.*, 102, 1548–1560 (2007)
 18. Wang, D., Noda, Y., Tsunekawa, H., Zhou, Y., Miyazaki, M., Senzaki, K., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Role of NMDA receptors in antidepressant-like effects of sigmal receptor agonist SA-4503 in olfactory bulbectomized rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 322, 1305-1314 (2007)
 19. Nagai, T., Takuma, K., Dohniwa, M., Ibi, D., Mizoguchi, H., Kamei, H., Nabeshima, T. and Yamada, K.: Repeated methamphetamine treatment impairs spatial working memory in rats: reversal by clozapine but not haloperidol. *Psychopharmacology (Berl.)*, 194, 21-32 (2007)
 20. Hritcu, L., Clicinschi, M. and Nabeshima, T.: Brain serotonin depletion impairs short-term memory, but not long-term memory in rats. *Physiol. Behav.*, 91, 652-657 (2007)
 21. Ito M., Nagai T., Mizoguchi H., Sato K., Hayase M., Otsuka N., Fukakusa A., Kumagai N., Kim H.C., Nabeshima T., Takuma K. and Yamada K.: Activation of post-synaptic dopamine D1 receptors promotes the release of tissue plasminogen activator in the nucleus accumbens via PKA signaling. *J. Neurochem.* 103, 2589–2596 (2007).
 22. Wang, D., Noda, Y., Zhou, Y., Nitta, A., Furukawa H. and Nabeshima, T.: Synergistic effect of combined treatment with risperidone and galantamine on phencyclidine-induced impairment of latent visuospatial learning and memory: role of nAChR activation-dependent increase of dopamine D1 receptor-mediated neurotransmission. *Neuropharmacology*, in press.
 23. Cen XB, Nitta A., Ibi D, Zhao Y., Niwa M, Taguchi K., Hamada M, Ito Yoshihisa., Ito Yasumoto, Wang L., Nabeshima T.: Identification of Piccolo as a regulator of behavioral plasticity and dopamine transporter internalization : Piccolo as a regulator of behavioral plasticity and DAT internalization. *Molecular Psychiatry*, In press.
 24. Alkam, T., Nitta, A., Mizoguchi, H., Saito, K., Seishima, M., Itoh, A. M., Yamada, K., and Nabeshima, T.: Restraining tumor necrosis factor-alpha by thalidomide prevents the Abeta-induced impairment of recognition memory in mice. *Behav. Brain Res.* in press.
 25. Tsunekawa, H., Noda, Y., Miyzaki M., Yoneda, F. and Nabeshima, T.: (R)-(-)-1-(benzofuran-2-yl)-2-propylaminopentane hydrochloride [(-)-BPAP] in animal models of mood disorders. *Behav. Brain Res.* in press.
 26. Fukakusa A, Mizoguchi H, Koike H, Nabeshima T, Takuma K, Yamada K.: Tissue plasminogen activator is not involved in methamphetamine-induced neurotoxicity. *J Pharmacol Sci.* 106, 321-324 (2008)
 27. Kobayashi M, Sone M, Umemura M, Nabeshima T, Nakashima T, Hellström S.: Comparisons of cochleotoxicity among three gentamicin compounds following intratympanic application. *Acta Otolaryngol.* 128, 245-249 (2008)
 28. Mizoguchi H, Yamada K, Nabeshima T.: Neuropsychotoxicity of abused drugs: involvement of matrix metalloproteinase-2 and -9

- and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-2 in methamphetamine-induced behavioral sensitization and reward in rodents. *J Pharmacol Sci.* 106(1):9-14. (2008)
29. Shin EJ, Lee PH, Kim HJ, Nabeshima T, Kim HC.: Neuropsychotoxicity of abused drugs: potential of dextromethorphan and novel neuroprotective analogs of dextromethorphan with improved safety profiles in terms of abuse and neuroprotective effects. *J Pharmacol Sci.* 106, 22-27(2008)
 30. Ibi D, Takuma K, Koike H, Mizoguchi H, Tsuritani K, Kuwahara Y, Kamei H, Nagai T, Yoneda Y, Nabeshima T, Yamada K.: Social isolation rearing-induced impairment of the hippocampal neurogenesis is associated with deficits in spatial memory and emotion-related behaviors in juvenile mice. *J Neurochem.* in press
 31. Shin EJ, Jeong JH, Kim HJ, Jang CG, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC. :Exposure to extremely low frequency magnetic fields enhances locomotor activity via activation of dopamine D1-like receptors in mice. *J Pharmacol Sci.* 105, 367-371(2007).
 32. Fukakusa A, Nagai T, Mizoguchi H, Otsuka N, Kimura H, Kamei H, Kim HC, Nabeshima T, Takuma K, Yamada K.: Role of tissue plasminogen activator in the sensitization of methamphetamine-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *J Neurochem.* in press
 33. Yoshida M, Nabeshima T, Gomi H, Lefor AT.: Technology and the prevention of surgical site infections. *J Surg Educ.* 64, 302-310(2007).
 34. Ito M, Nagai T, Mizoguchi H, Sato K, Hayase M, Otsuka N, Fukakusa A, Kumagai N, Kim HC, Nabeshima T, Takuma K, Yamada K.: Activation of post-synaptic dopamine D(1) receptors promotes the release of tissue plasminogen activator in the nucleus accumbens via PKA signaling. *J Neurochem.* in press
 35. Amioka K, Kuzuya T, Kushihara H, Ejiri M, Nitta A, Nabeshima T.: Carvedilol increases ciclosporin bioavailability by inhibiting P-glycoprotein-mediated transport. *J Pharm Pharmacol.* 59, 1383-7 (2007)
 36. Nomoto H, Takaiwa M, Mouri A, Furukawa S. Pro-region of neurotrophins determines the processing efficiency. *Biochem Biophys Res Commun.* 356: 919-924 (2007)
 37. Mouri A, Nomoto H, Furukawa S. Processing of nerve growth factor: the role of basic amino acid clusters in the pro-region. *Biochem Biophys Res Commun.* 353(4):1056-62 (2007)
2. 学会発表
 1. Nitta, A., Cen, X., Niwa, M., Ohya, Y., Yamada, Y., Nakajima, A., Saito, K., Seishima, M., Shen, L., Suzuki, M., Saito, K., Noda, Y., Furukawa, S. and Nabeshima, T.: The blocking mechanisms of Leu- I le against methamphetamine and morphine dependence in mice. 69th Annual Meeting of College on Problems of Drug Dependence (Quebec City, Canada, June 16-21, 2007)
 2. Nabeshima, T., Niwa, M., Yamada, K., Saito, K., Seishima, M., Noda, Y. and Nitta, A.: Tumor necrosis factor- α and its inducer inhibit drug-induced dependence. 69th Annual Meeting of College on Problems of Drug Dependence (Quebec City, Canada, June 16-21, 2007)
 3. 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, but not cognitive impairment, in matrix metalloproteinase-2 and -9 deficient mice. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007), San Diego, California, U.S.A. (November 3-7, 2007)
 4. Yan, Y., Yamada, K., Niwa, M., Nagai, T., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Enduring vulnerability to reinstatement of methamphetamine-seeking behavior in glial cell line-derived neurotrophic factor mutant mice. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007), San Diego, California, U.S.A. (November 3-7, 2007)
 5. Nitta, A., Ishikawa, K., Mizoguchi, H., Mouri, A., Murai, R., Miyamoto, Y., Noda, Y., Kitaichi, K.,