

- Hyatt Regency Merida, Merida, Mexico[2007/8/14-17]
- 4) Kinoshita, Y., Ikeda, M., Ujike, H., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kishi, T., Kawashima, K., Ohkouchi, T., Ozaki, N., Inada, T., Harano, M., Komiyama, T., Hori, T., Yamada, M., Sekine, Y., Iyo, M., Sora, I., Aleksici, B., and Iwata, N.: Association study of the calcineurin A gamma subunit gene (PPP3CC) and methamphetamine use disorder in the Japanese population. The First Annual International Drug Abuse Research Society Meeting in collaboration with The International Society for Neurochemistry / The American Society for Neurochemistry, Hyatt Regency Merida, Merida, Mexico[2007/8/14-17]
  - 5) Kishi, T., Ikeda, M., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Sekine, Y., Iyo, M., Harano, M., Komiyama, T., Yamada, M., Sora, I., Ujike, H., Inada, T., Ozaki, N., and Iwata, N.: No association between alpha4 and beta2 subunit of neuronal nicotinic acetylcholine receptors genes and Methamphetamine use disorder in the Japanese population. The First Annual International Drug Abuse Research Society Meeting in collaboration with The International Society for Neurochemistry / The American Society for Neurochemistry, Hyatt Regency Merida, Merida, Mexico[2007/8/14-17]
  - 6) Kishi, T., Ikeda, M., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Sekine, Y., Iyo, M., Harano, M., Komiyama, T., Yamada, M., Sora, I., Ujike, H., Inada, T., Ozaki, N., and Iwata, N.: No association between Glutamate cysteine ligase modifier (GCLM) subunit gene and Methamphetamine use disorder in the Japanese population. The First Annual International Drug Abuse Research Society Meeting in collaboration with The International Society for Neurochemistry / The American Society for Neurochemistry, Hyatt Regency Merida, Merida, Mexico[2007/8/14-17]
  - 7) Kishi, T., Ikeda, M., Kitajima, T., Yamanouchi, Y., Kinoshita, Y., Kawashima, K., Sekine, Y., Iyo, M., Harano, M., Komiyama, T., Yamada, M., Sora, I., Ujike, H., Inada, T., Ozaki, N., and Iwata, N.: No association between Prostate apoptosis response 4 gene (PAWR) and Methamphetamine use disorder in the Japanese population. The First Annual International Drug Abuse Research Society Meeting in collaboration with The International Society for Neurochemistry / The American Society for Neurochemistry, Hyatt Regency Merida, Merida, Mexico[2007/8/14-17]
  - 8) Arime, Y., Fukushima, S., Hall, FS., Uhl, GR., Sora, I.: The local administration of a selective NET blocker ameliorates prepulse inhibition deficits in DAT knockout mice. The Society for Neuroscience (SFN) 37th Annual Meeting, San Diego , USA [2007/11/3]
  - 9) Perona, M.T.G., Waters, S., Hall, FS., Sora, I., Murphy, DL., Lesch, KP., Caron, MG., and Uhl, GR.: The effects of DAT, NET and SERT gene knockout in animal models of depression. The Society for Neuroscience (SFN) 37th Annual Meeting, San Diego , USA [2007/11/6]
  - 10) Komatsu, H., Ohara, A., Hattori, H., Abe, H., Hall, F.S., Uhl, GR., and Sora, I.: Chronic social defeat stress induced behavioral and neurochemical changes in mu opioid receptor knockout mice. The Society for Neuroscience (SFN) 37th Annual Meeting, San Diego, USA

- [2007/11/7]
- 11) Arime, Y., Fukushima, S., Hall, F. S., Uhl, G., and Sora, I.: The selective norepinephrinetransporter blockade in prefrontal cortex ameliorates prepulse inhibition deficits in dopamine transporter knockout mice. The 1st International Conference of Tohoku Neuroscience GCOE, Zao, Japan [2008/1/23-24]
- 12) Komatsu, H., Ohara, A., Hattori, H., Abe, H., Hall, F., Uhl, G., and Sora I.: Decreased psychosocial stress response in mu opioid receptor knockout mice. The 1st International Conference of Tohoku Neuroscience GCOE, Zao, Japan [2008/1/23-24]
- 13) 曾良一郎. モノアミン神経伝達と機能性精神疾患. 第13回 PharmaScience フォーラム「こころ」の神経科学-精神疾患・情動障害のより良い治療をめざして-, 札幌 [2007/6/4]
- 14) 曾良一郎, 福島攝, 山本秀子, 池田和隆. ADHD 動物モデルとしてのドーパミントランスポーター欠損マウス. シンポジウム4 AD/HD 研究の新機軸-基礎と臨床のクロストーク-. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会, 札幌 [2007/7/11-13]
- 15) 曾良一郎. オピオイド感受性の遺伝的個人差. 特別講演 第28回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム, 札幌 [2007/8/31]
- 16) 井手聡一郎, 南雅文, 石原熊寿, George R Uhl, 佐藤公道, 曾良一郎, 池田和隆: mu オピオイド受容体遺伝子欠損マウスを用いた麻薬拮抗性鎮痛薬の抗侵害受容作用の評価. 第28回鎮痛薬・オピオイドペプチドシンポジウム(JNRC), 札幌 [2007/9/1]
- 17) 曾良一郎. 機能性精神疾患におけるモノアミン神経伝達. 東北大学脳科学 GCOE 発足シンポジウム, 東京 [2007/10/13]
- 18) 岡久祐子, 氏家寛, 岸本真希子, 小高辰也, 森尾亜希子, 稲田俊也, 原野睦生, 小宮山徳太郎, 堀達, 山田光彦, 関根吉統, 岩田仲生, 伊豫雅臣, 曾良一郎, 尾崎紀夫, 黒田重利: ニューロペプチドY 遺伝子多型と覚せい剤依存症/精神病の関連研究. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会, 札幌 [2007/7/11-13]
- 19) 岸本真希子, 氏家寛, 岡久祐子, 小高辰也, 森尾亜希子, 稲田俊也, 原野睦生, 小宮山徳太郎, 堀達, 山田光彦, 関根吉統, 岩田仲生, 伊豫雅臣, 曾良一郎, 尾崎紀夫, 黒田重利: FZD3 遺伝子は精神病に関連する. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会, 札幌 [2007/7/11-13]
- 20) 小高辰也, 氏家寛, 岸本真希子, 岡久祐子, 森田幸孝, 稲田俊也, 原野睦生, 小宮山徳太郎, 堀達, 山田光彦, 関根吉統, 岩田仲生, 伊豫雅臣, 曾良一郎, 尾崎紀夫, 黒田重利: Casein Kinase 1 Epsilon 遺伝子と覚醒剤依存症との関連研究. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会, 札幌 [2007/7/11-13]
- 21) 有銘預世, 布萩野洋子, 池田和隆, 曾良一郎: DAT 欠損マウスにおける PPI 障害へのノルエピネフリン再取り込み阻害剤の効果. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会, 札幌 [2007/7/11-13]
- 22) 小松浩, 小原可久, 服部寿妃, 安部裕美, 畑春実, 曾良一郎: Chronic social defeat stress におけるオピオイド神経伝達の役割. 第29回日本生物学的精神医学会・第37

回日本神経精神薬理学会，札幌

[2007/7/11-13]

G. 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

## 覚せい剤投与によるドーパミン神経傷害に及ぼす mithramycin の効果

分担研究者：伊豫雅臣<sup>1,2</sup>

研究協力者：萩原裕子<sup>1,2</sup>, 宮武良輔<sup>1</sup>, 橋本謙二<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>千葉大学大学院医学研究院・精神医学,<sup>2</sup>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)

### [研究要旨]

本研究では、覚せい剤(methamphetamine: METH)誘発性の行動異常やドーパミン(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 の減少やドー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。

### A. 研究目的

覚せい剤(methamphetamine: METH)の長期乱用によって脳内のドーパミン神経系やセロトニン神経系などに傷害を受けることが既に報告されているが、現在のところ、覚せい剤精神薬の治療は対症療法であり、これらの神経傷害に対する治療法は未だ確立されていない。

そこで今回我々は、神経変性疾患(Huntington 病)でのモデルマウスにおいて改善効果が認められた抗腫瘍抗生物質 mithramycin に着目した<sup>4),5)</sup>。

METH 投与後に起こる急性投与による異常行動および繰り返し投与による神経傷害（脳内ドーパミン量、ドーパミントランスポーターの減少）、逆耐性の形成に及ぼす効果を検討し、また、mithramycin の主な作用機序といわれている DNA 上の特定部位 Sp1 との結合に着目し、メタンフェタミンの作用メカニズムの解明を目的として研究を行った。

### B. 研究方法

#### 1. 実験動物と細胞培養

動物は、雄性 Balb/C マウス(7~8 週齢, 25~30g: 日本チャールズリバー)を使用した。本研究では、METH (3 mg/kg)ごとに 3 回皮下投与したマウスを METH 誘発性ドーパミン神経傷害モデルとした。In vitro の細胞培養系の試験では、ヒト神経芽細胞腫である SK-N-SH を使用した。

#### 2. 実験方法

##### a) 単回投与による急性の行動異常に対する効果

移所行動量解析システム(SCANET)にマウスを入れ、30 分後に vehicle (生理食塩水, 10 ml/kg, i.p.) もしくは mithramycin (300 µg/kg, i.p.) を投与し、その 30 分後に METH (3 mg/kg, s.c.) を投与した。METH 投与後 2 時間の行動量を METH 単回投与による急性の移所行動量として測定した。

##### b) 逆耐性形成に対する効果

METH (3 mg/kg)投与の 30 分前に saline (10

mg/kg)もしくは mithramycin (300 µg/kg, i.p.)を i.p. 処置した。投与は1日1回、5日間連続で投与した。その後1週間を休薬期間とした。

休薬期間後のマウスを移所行動量解析システム(SCANET)に入れ、その1時間後に METH (1 mg/kg)を s.c.で処置し、その後2時間の移所行動量を測定した。

#### C)METH 誘発性神経傷害に対する効果

雄性 Balb/c マウス 7週齢 1群 10匹を control (saline + saline)群、saline (10 mg/kg)+ METH (3 mg/kg)群、mithramycin (300 µg/kg) + METH (3 mg/kg)群、mithramycin (300 µg/kg, i.p.) + saline (10 mg/kg)群の4群に分けて実験を行った。

##### C-1)METH 誘発性体温上昇に対する効果

一日目にマウスに saline もしくは mithramycin を i.p.で処置し、その30分後から3時間間隔で計3回、METH を s.c.で処置する。2,3日目には1日1回 saline もしくは mithramycin を i.p.で処置した。1日目は薬物投与前と各 METH 投与の1時間後にそれぞれ直腸にプローブを挿入して直腸体温を測定する。2,3日目は薬物投与前に測定した。

##### C-2)HPLC によるドパミン及び代謝物 DOPAC の測定

1日目にマウスに saline もしくは mithramycin を i.p.で処置し、その30分後から3時間間隔で計3回、METH を s.c.で処置する。2,3日目には1日1回 saline もしくは mithramycin を i.p.で処置した。投与から4日目にマウスに無麻酔下で頸椎脱臼処置後に断頭し、頭蓋骨を取り除き脳を摘出し、サンプルとし測定した。

##### C-3) DAT の免疫組織化学

一日目にマウスに saline もしくは mithramycin を i.p.で処置し、その30分後から3時間間隔で計3回、METH を s.c.で処置する。2,3日目には1日1回 saline もしくは mithramycin を i.p.で処置した。4日目に還流固定後断頭し、DAT 免疫組

織化学を行った。

##### D)SK-N-SH 細胞を用いた Sp1 の EMSA

SK-N-SH 細胞に PBS, PBS + METH (1 mM), PBS + mithramycin (100 nM), METH (1 mM) + mithramycin (100 nM)を添加した。また、mithramycin と PBS は METH 投与の30分前に添加した。METH 投与1時間後に核抽出を行い、そのサンプルから EMSA を行った<sup>2)</sup>。

#### C. 研究結果

##### a)単回投与による急性の行動異常に対する効果

METH (3 mg/kg, s.c.)投与の30分前に Saline (10 ml/kg)あるいは mithramycin (300 µg/kg)を投与した群はその2群間に有意差は認められなかった。以上より、mithramycin は METH 単回投与によって生じる急性移所行動量の増加に影響を与えなかった。

##### b)逆耐性形成に対する効果

METH (3 mg/kg, s.c.)の繰り返し投与(1日1回、5日間連続)は逆耐性を形成し、その後少量の METH (1 mg/kg, s.c.)投与で移所行動量は増加する。Mithramycin の前投与は、METH のくりかえし投与によって生じる逆耐性の形成を有意に抑制した。なお、逆耐性形成時に METH ではなく、Saline を投与していた群はコントロール群と比べて著しい差は見られなかった。

##### C-1)METH 誘発性体温上昇に対する効果

Mithramycin (300 µg/kg)は METH 投与による体温上昇を有意に抑制した。また mithramycin の単独投与は体温に影響を与えなかった。

##### C-2)HPLC によるドパミン及び代謝物 DOPAC の測定

METH (3 mg/kg×3, 3h intervals)投与後のマウス脳、線条体における DA およびその代謝物である DOPAC 量を測定した結果、コントロール群に比べ、saline + METH 群においては有意に両者の含量が低下していた。また、DA, DOPAC とともに

mithramycin 投与群では用量依存的に含量減少を抑制していることが確認された。

さらに、mithramycin (300 µg/kg) + saline 投与群はコントロール群と比較しても有意差は認められず、マウスの線条体における DA および DOPAC 含量に影響を与えなかった。本実験の投与期間における行動観察では saline + METH 群においては、発汗、自傷行為、他害行動などを確認することが出来たが、その他の群においては特に異常行動は確認できなかった。

### C-3) DAT 免疫組織化学

METH 連続投与群(3 mg/kg, 3h intervals)はマウス脳内の DAT の密度を有意に減少した。

Mithramycin (300 µg/kg)を前投与と後投与した群に関しては、METH の連続投与における神経毒性 (DAT の減少) を顕著に抑制していることが確認された。さらに、mithramycin (300 µg/kg) + saline 投与群ではコントロール群と比較しても有意差は認められず、マウス線条体における DAT の密度変化には関与しないことが明らかとなった。

### D)SK-N-SH 細胞を用いた Sp1 の EMSA

METH の添加により Sp1 と DNA との結合が増強し、また mithramycin の併用投与により抑制された。更に、mithramycin は control 群と同様であった。

### D. 考察

今回使用した mithramycin は Huntington 病モデルマウスにおいて神経変性を改善し、延命させることが報告されている。これについての作用機序は未だ明らかにはされていないが、mithramycin の SP1 阻害作用が関与していることが示唆されている。<sup>1),3),4),5)</sup>

今回の培養細胞系を用いた in vitro 実験結果より、mithramycin の作用に Sp1 の関与が関与していることが示唆された。しかしながら、実験動物実験では、mithramycin の作用に Sp1 が関与して

いるかどうかは不明であり、今後詳細に調べる必要があるだろう。Mithramycin が Sp1 の結合を阻害することはよく知られていることから、Sp-1 は METH 神経障害の治療ターゲットとして有望であろう。

### E. 結論

現在、mithramycin は日本では臨床的には使用できないが、米国では臨床適応があるので、METH 乱用における神経傷害の治療薬として有用であろう。

### [参考文献]

1. Chen-Plotkin AS, Sadri-Vakili G, Yohrling GJ, et al., Decreased association of the transcription factor Sp1 with genes downregulated in Huntington's disease. *Neurobiol Dis.* 22(2):233-41. 2006.
2. Ippai Kuwahara, Erik P. Lillehoj, Akinori Hisatsune, et al., Neutrophil elastase stimulates *MUC1* gene expression through increased Sp1 binding to the *MUC1* promoter, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.*;289(2):L355-62., 2005.
3. Outsodontis G, Kardassis D. Inhibition of p53-mediated transcriptional responses by mithramycin. *Oncogene*, ;23(57):9190-200, 2004
4. Qiu Z, Norflus F, Singh B, Swindell MK, et al. :Sp1 is up-regulated in cellular and transgenic models of Huntington disease, and its reduction is neuroprotective. *J Biol Chem.*, 281(24):16672-80 2006.
5. Robert J. Ferrante, Hoon Ryu, James K., et al. :Chemotherapy for the brain: the antitumor antibiotic mithramycin prolongs survival in a mouse model of Huntington's disease.

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukushima, T., Mitsuhashi, S., Tomiya, M., Iyo, M., Hashimoto, K. and Toyo'oka, T.: of Determination kynurenic acid in human serum and its correlation with the concentration of certain amino acids. *Clin. Chim. Acta.*, 377: 174-178.2007.
2. Fujita, Y., Ishima, T., Kunitachi, S., Hagiwara, H., Zhang, L., Iyo, M. and Hashimoto, K.: Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of the antibiotic drug minocycline. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* .,32: 336-339. 2008.
3. Hagiwara, H., Fujita, Y., Ishima, T., Kunitachi, S., Shirayama, Y., Iyo, M. and Hashimoto, K. :Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of the antipsychotic drug perospirone: role of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptor. *Eur. Neuropsychopharmacology* in press.
4. Hashimoto, K., Fujita, Y. and Iyo, M: Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of fluvoxamine: Role of sigma-1 receptors. *Neuropsychopharmacology* 32:514-521,2007.
5. Hashimoto, K., Sawa, A. and Iyo, M. :Increased levels of glutamate in brains from patients with mood disorders. *Biol. Psychiatry*, 62:1310-1316 ,2008.
6. Hashimoto, K., Tsukada, H., Nishiyama, S., Fukumoto, D., Kakiuchi, T. and Iyo, M.: Protective effects of minocycline on the reduction of dopamine transporters in the striatum after administration of methamphetamine: A PET study in conscious monkeys. *Biol. Psychiatry*: 61: 577-581,2007.
7. Hashimoto, K., Ishima, T., Fujita, Y., Matsuo, M., Kobashi, T., Takahagi, M., Tsukada, H. and Iyo, M.: Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of the novel selective  $\alpha 7$  nicotinic receptor agonist SSR180711. *Biol. Psychiatry* 63,:92-97,2008.
8. Hashimoto, K., Fujita, Y., Ishima, T., Chaki, S. and Iyo, M. Phencyclidine-induced cognitive deficits in mice are improved by subsequent subchronic administration of glycine transporter-1 inhibitor NFPS and D-serine. *Eur Neuropsychopharmacol.* in press.
9. Hashimoto, T., Shimizu, E., Koike, K., Orita, Y., Suzuki, T., Kanahara, N., Fukami, G., Miyatake, R., Shinoda, N., Fujisaki, M., Shirayama, Y., Hashimoto, K. and Iyo, M. :Deficits in auditory P50 inhibition in obsessive-compulsive disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 32:288-296,2008.
10. Hashimoto, T., Hashimoto, K., Miyatake, R., Matsuzawa, D., Sekine, Y., Inada, T., Ozaki, N., Iwata, N., Harano, M., Komiyama, T., Yamada, M., Sora, I., Ujike, H. and Iyo, M. :Association study between polymorphisms in glutathione -related genes and methamphetamine use disorder in a Japanese population. *Am. J. Med. Genet. Part B* in press,2008.
11. Ishikawa, M., Ishiwata, K., Ishii, K., Kimura, Y., Sakata, M., Naganawa, M., Oda, K., Miyatake, R., Fujisaki, M., Shimizu, E., Shirayama, Y., Iyo, M. and Hashimoto, K.: High occupancy of sigma-1 receptors in the human brain after single oral administration of fluvoxamine: A PET study

- using [11C]SA4503. *Biol. Psychiatry* 62:878-883,2007.
12. Iyo, M., Shirayama, Y., Watanabe, H., Fujisaki, M., Miyatake, R., Fukami, G., Shiina, A., Nakazato, M., Shiraishi, T., Ookami, T. and Hashimoto, K. :Fluvoxamine as a sigma-1 receptor agonist improved cognitive impairments in a patient with schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* in press,2008.
  13. Matsuzawa, D., Hashimoto, K., Miyatake, R., Shirayama, Y., Shimizu, E., Maeda, K., Suzuki, Y., Mashimo, Y., Sekine, Y., Inada, T., Ozaki, N., Iwata, N., Harano, M., Komiyama, T., Yamada, M., Sora, I., Ujike, H., Hata, A., Sawa, A. and Iyo, M. :Identification of functional polymorphisms in the promoter region of the human PICK1 gene and their association with methamphetamine psychosis. *Am. J. Psychiatry* 164:1105-1114,2007.
  14. Nakajima, M., Hattori, E., Yamada, K., Iwayama, Y., Toyota, T., Iwata, Y., Tsuchiya, K.J., Sugihara, G., Hashimoto, K., Watanabe, H. and Iyo, M., Hoshika, A. and Yoshikawa, T. :Association and synergistic interaction between promoter variants of the DRD4 gene in Japanese schizophrenics. *J. Hum. Genet.* 52: 86-91,2007.
  15. Okamura, N., Hashimoto, K., Iyo, M., Shimizu, E., Dempfle, A., Friedel, S., Reinscheid, R.K. :Gender-specific association of a functional coding polymorphism in the neuropeptide S receptor gene with panic disorder but not with schizophrenia or attention-deficit/hyperactivity disorder. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 31:1444-1448,2007.
  16. Shimizu, E., Watanabe, H., Kojima, T., Hagiwara, H., Fujisaki, M., Miyatake, R., Hashimoto, K. and Iyo, M.: Combined intoxication with methylone and 5-MeO-MIPT. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 31:288-291,2007.
  17. Shimizu, E., Hashimoto, K., Ochi, S., Fukami, G., Fujisaki, M., Okamura, N., Koike, K., Watanabe, H., Nakazato, M., Shinoda, N., Komatsu, N., Morita, F. and Iyo, M.: Posterior cingulate metabolite changes may reflect cognitive deficits in schizophrenia, more than the left and right medial temporal lobes: a proton magnetic resonance spectroscopy investigation. *J. Psychiatry Res.* 41: 49-56,2007.
  18. Takeshita, M., Yamada, K., Hattori, E., Iwayama, Y., Toyota, T., Iwata, Y., Tsuchiya, K.J., Sugihara, G., Hashimoto, K., Watanabe, H., Iyo, M., Kikuchi, M., Okazaki, Y. and Yoshikawa, T. :Genetic examination of the PLXNA2 gene in Japanese and Chinese schizophrenics. *Schizophrenia Res.* in press,2008.
  19. Tomiya, M., Fukushima, T., Watanabe, H., Fukami, G., Fujisaki, M., Iyo, M., Hashimoto, K., Mitsuhashi, S. and Toyo'oka, T. :Alterations in serum amino acid concentrations in male and female schizophrenic patients. *Clin. Chim. Acta.* 380:186-190,2007.
  20. Tsuchiya, K., Hashimoto, K., Iwata, Y., Tsujii, M., Sekine, Y., Sugihara, G., Matsuzaki, H., Suda, S., Kawai, M., Nakamura, K., Minabe, Y., Yagi, A., Iyo, M., Takei, N. and Mori N.:Decreased serum levels of PECAM-1 in subjects with high-functioning autism: a negative correlation with head circumference at birth. *Biol. Psychiatry* 62:1056-1058,2007.
  21. Zhang, L., Shirayama, Y., Iyo, M. and Hashimoto, K. :Minocycline attenuates hyperlocomotion and prepulse inhibition deficits in mice after



administration of the NMDA receptor antagonist dizocilpine. *Neuropsychopharmacology* 32:2004-2010,2007.

## 2.学会発表

1. Hashimoto, K., Ishima, T., Fujita, Y., Matsuo, M., Kobashi, T., Takahagi, M., Tsukada, H. and Iyo, M. (2007) Phencyclidine-induced cognitive deficits are ameliorated by subsequent subchronic administration of the selective  $\alpha 7$  nicotinic receptor agonist SSR180711. The 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA. November 3-7, 2007.
2. Nishimura, T., Miyatake, R., Iyo, M. and Hashimoto, K. (2007) Role of PI3K and Ras/Raf signaling pathways in the enhancement of NGF-induced neurite sprouting in PC12 cells by sigma-1 receptor agonists. The 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA. November 3-7, 2007.
3. Matsuzawa, D., Shirayama, Y., Nonaka, H., Kanazawa, Y., Yoshitome, E., Takanashi, J., Matsuda, T., Shimizu, E., Obata, T., Ikehira, H., Hashimoto, K. and Iyo, M. (2007) Negative correlation between brain glutathione level and negative symptoms in schizophrenia: 1H-MRS study. The 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA. November 3-7, 2007.
4. 松澤大輔、橋本謙二、宮武良輔、白山幸彦、清水栄司、前田和久、鈴木洋一、真下陽一、関根吉統、稲田俊也、尾崎紀夫、岩田仲生、原野睦夫、小宮山徳太郎、山田光彦、曾良一郎、氏家 寛、羽田 明、澤 明、伊豫雅臣 PICK1機能的遺伝子多型と覚せい剤精神病との関連. 第34回日本脳科学会、出雲市. 2007年6月8日、9日。
5. 萩原裕子、藤田有子、石間環、伊豫雅臣、橋本謙二 フェインサイクリジン投与による認知機能障害に及ぼす非定型抗精神病薬ペロスピロンの効果. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会 (2007)
6. 石間環、藤田有子、松尾昌昭、小橋達弘、高萩誠、塚田秀夫、伊豫雅臣、橋本謙二 フェインサイクリジン投与による認知機能障害に及ぼす $\alpha 7$ ニコチン受容体アゴニスト SSR 180711の効果. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会 (2007)
7. 藤田有子、石間環、茶木茂之、伊豫雅臣、橋本謙二 フェインサイクリジン投与による認知機能障害に及ぼすグリシントランスポーター1阻害薬NFPSの効果. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会 (2007)
8. Kanahara, N., Shimizu, E., Ohgake, S., Hashimoto, K., Fujita, Y., Hashimoto, T., Shirayama, Y., Iyo, M. Glycine improves MK-801 induced prepulse inhibition deficits in a way similar to D-serine. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会 (2007)
9. 宮武良輔、橋本謙二、松澤大輔、萩原裕子、伊豫雅臣 シグマ-1受容体遺伝子の発現における転写因子Sp1の役割. 第29回日本生物学的精神医学会・第37回日本神経精神薬理学会 合同年会 (2007)
10. 石川雅智、石井賢二、木村裕一、坂田宗之、織田圭一、伊豫雅臣、橋本謙二、石渡喜一 ドネペジルによるシグマ-1受容体の占拠: [11C]SA4503-PETを用いて. 第47回日本核医学会学術総会 (2007)

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得  
特になし。

2. 実用新案登録  
特になし。

3. その他  
特になし。

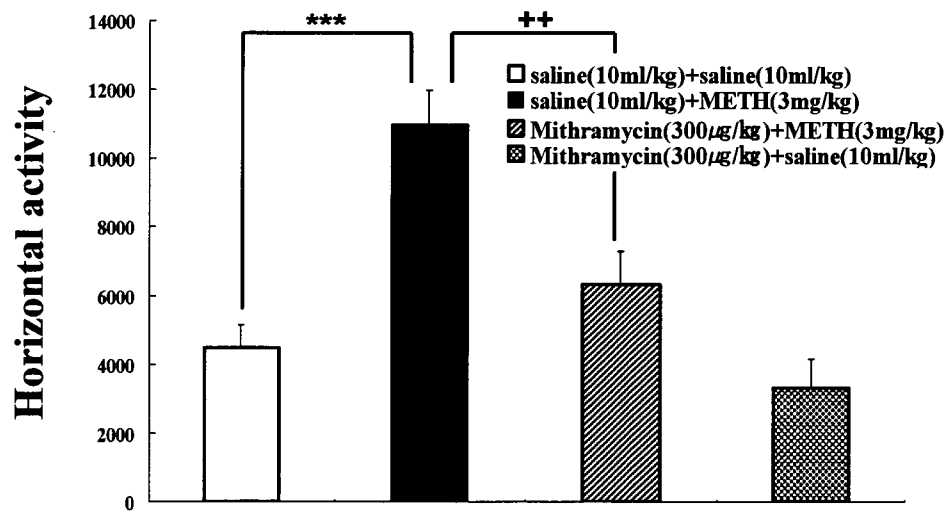


Figure 1. Effects of mithramycin on development of behavioral sensitization in mice after repeated administration of METH.

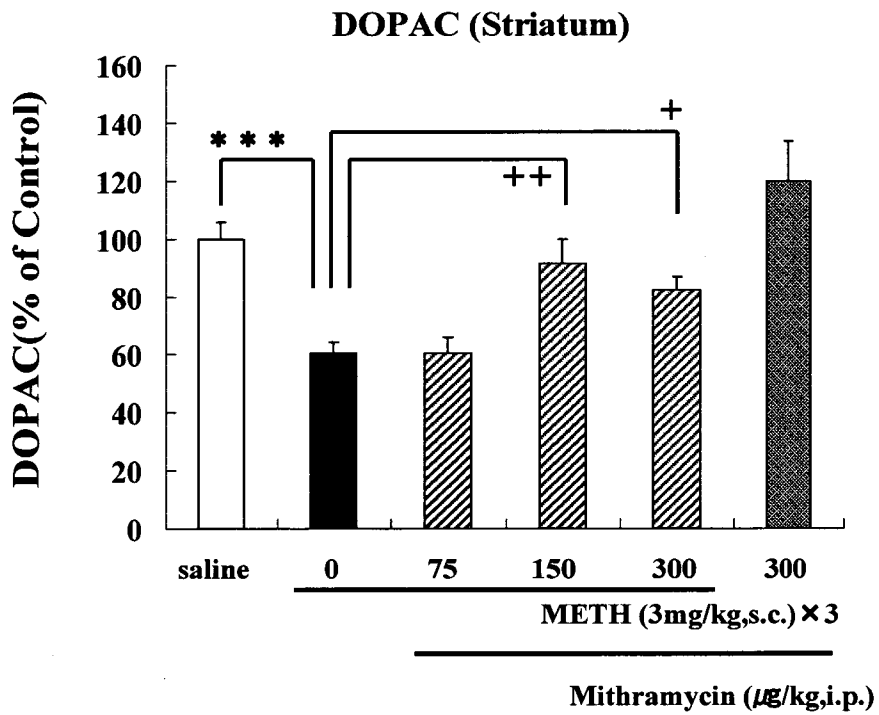
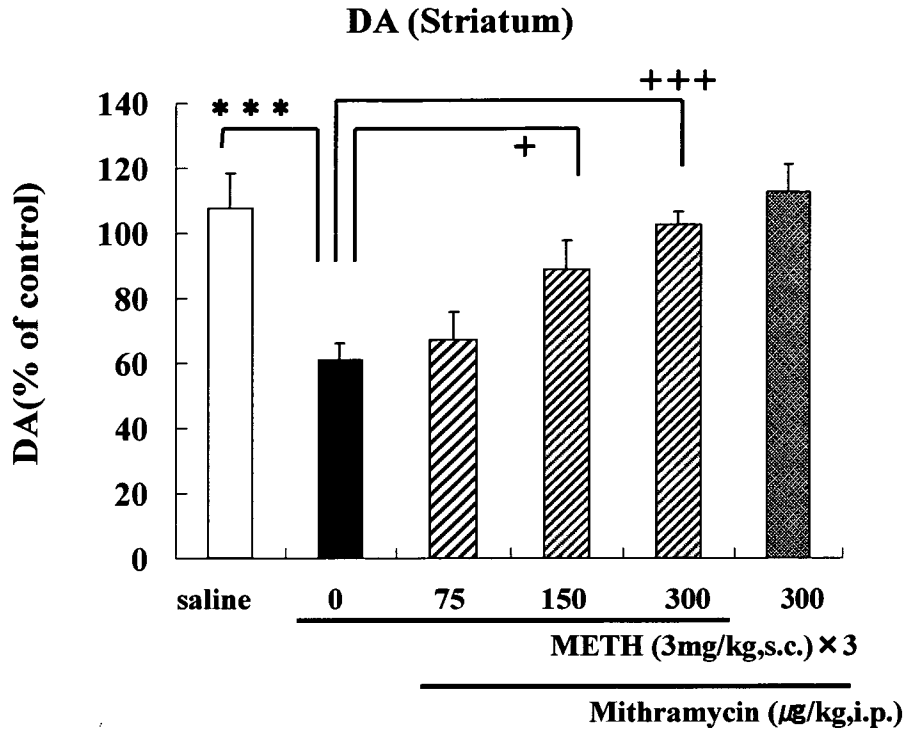
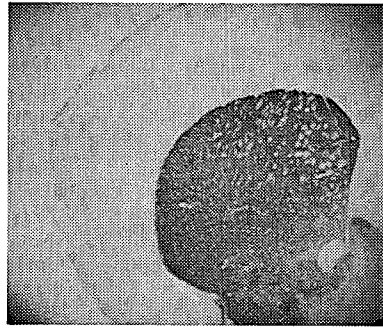
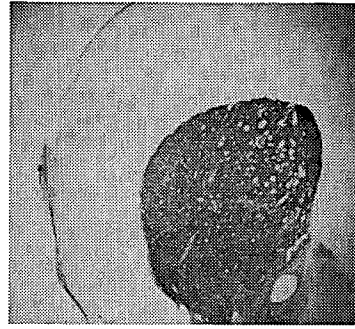


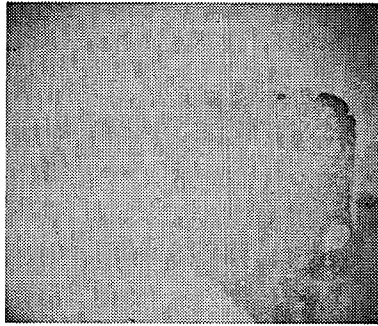
Figure 2. Effects of mithramycin on the reduction of the levels of DA and DOPAC by the administration of METH.



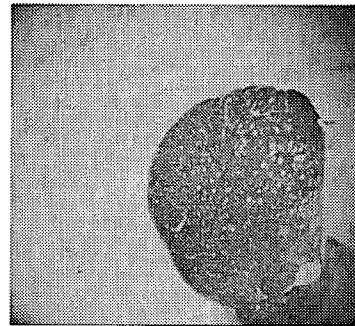
**Control (saline+saline)**



**Mithramycin+saline**



**saline+METH**



**Mithramycin+METH**

*Figure 3.* Effects of mithramycin on the reduction of DAT in mouse brain after repeated METH administration.

## 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

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

### 【研究要旨】

乱用薬物による精神障害の分子病態を明らかにし、予防・治療法を開発する目的で、ラットを用い、薬物性統合失調症様精神病のモデルと考えられる、NMDA型グルタミン酸受容体遮断薬やドーパミン作動薬が引き起こす異常行動や逆耐性現象の分子薬理学的研究を進めた。中枢刺激薬や麻薬による依存や統合失調症様の精神病状態が小児期には生じにくいことや、これらの動物モデルが一定の発達期（臨界期）以降に形成されることから、ラットの脳で臨界期以後にドーパミン作動薬の覚せい剤（メタンフェタミン）や、強力な NMDA 受容体遮断作用をもつ麻薬（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。本年度は、フェンサイクリジンに発達依存的応答を示し覚せい剤によっても発現誘導される、乱用薬物誘発性精神障害関連候補遺伝子として *CCN1* を同定した。

### A. 研究目的

本研究は、乱用が問題となっている覚醒剤（アンフェタミン、メタンフェタミン（MAP）など）、コカインなどのドーパミン作動薬や、フェンサイクリジン（PCP）、ケタミンなどの NMDA 型グルタミン酸受容体遮断薬による易再発性の統合失調症様精神病状態の分子機構を解明し、新しい治療法開発の標的となる神経機構や、臨床診断、経過、予後などのマーカー物質を見いだすことを目的としている。このため、1) ドーパミン作動薬や NMDA 受容体遮断薬の精神機能に及ぼす影響が思春期前後では異なり、小児期までは依存形成や精神症状が生じ難いことが知られている、2) 齧歯類では、上記の薬物が引き起こす行動変化およびその易再発性状態（逆耐性現象）がヒトの統合失

調症型精神病状態のモデルと考えられているが、こうした行動異常は一定の生後発達期（臨界期）以降に見られるようになる、などの点に着目して分子生物学的研究を進めた。以上の事実は、これらの乱用薬物が惹起する依存あるいは精神病状態に特異的に関与する脳内情報処理系は、特定の発達段階に成熟して薬物の影響を受けられるようになることを示唆している。実際、MAP や PCP 投与ラットの脳の活動異常のパターンも生後発達に伴って変化し、上述した行動異常の臨界期頃から成熟期のパターンとなる<sup>2,6,8,14)</sup>。

そこで、このような情報処理系を構築する分子群を明らかにするため、臨界期以後に、MAP や PCP に対する応答性を獲得する遺伝子群を検索している。本年度は、PCP に発達依存的応答を示

す遺伝子として、CCN1 (connective tissue growth factor/cysteine-rich 61/nephroblastoma over-expressed または cysteine-rich protein 61 (CYR61)) を検出し薬理的な解析を行った。

## B. 研究方法

今回報告した研究は、東京医科歯科大学の実験動物委員会の承認を得た上、倫理ガイドラインを遵守して行った。

### 1. 対象および薬物

動物実験には、生後 8-56 日令の Wistar 系雄性ラットまたは C57BL/6 系雄性マウスを用いた。動物は  $25.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 、湿度 55%、8 時より 20 時を明期とする明暗条件下で飼育した。

PCP は山之内製薬 (現、アステラス製薬) のご好意で合成・分与していただいた。そのほかの試薬は、すべて市販のものを用いた。薬物投与は、皮下 (s.c.) への注射により行った。対照群の動物には注射溶媒を投与した。薬物の投与量は、常に free base で計算した。

### 2. DNA アレイ

PCP または生理食塩水を投与した、生後 8 日齢および 56 日齢のマウス大脳新皮質 (neocortex) から total RNA を抽出した。このうち、0.4  $\mu\text{g}$  を用いて、random hexamer priming による逆転写反応によって cDNA を合成し、8,374 クローンに対する DNA チップ (Incyte Genomics, Inc (Genome Systems Inc.)) を使って、生後 8 日と 56 日の間で薬物応答に差のある遺伝子のスクリーニングを行った。さらに、この結果を定量的 RT-PCR により確認した。

### 3. 遺伝子発現の定量的解析

上記のように調整した、ラットまたはマウス大脳新皮質 cDNA を、10 倍量の TE buffer で希釈した。この cDNA 溶液 5  $\mu\text{l}$  を以後の定量的 PCR のテンプレートとして用いた。標的遺伝子の発現量補正のための内因性コントロールとしては

GAPDH を用いた。標的遺伝子 mRNA および GAPDH mRNA に特異的なプライマーペアーにより、LightCycler (Roche) を用いてリアルタイム PCR (LightCycler FastStart DNA master SYBR Green 1 Kit) を行った。PCR 増幅産物の量は Syber Green の蛍光強度として、各サイクルの伸長反応の終わりの時点で測定した。RT-PCR には、次のプライマーセットを用いた: CCN1, 5'-AGTGCCGCCTGGTGAAAGAGA-3' および 5'-CACGCAGGAGCCGCAGTATTT-3'; GAPDH, 5'-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3' および 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'。得られた PCR 増幅曲線から LightCycler Software を用いて、GAPDH および標的遺伝子の mRNA 量の相対値を算出した。標的遺伝子の mRNA 発現量は GAPDH mRNA 量に対する比として補正した後、統計解析を行った。なお、PCR 産物の特異性の検討は、PCR 後の融解曲線解析およびアガロースゲル電気泳動による単一バンドの確認により行った。mRNA 発現の定量は、mRNA の濃度に比例した測定値が得られる条件下における RT-PCR によっても検討した。

### 4. ノーザンプロット分析

各ラット大脳親皮質より全 RNA を、RNeasy Midi Kit (Qiagen, GmbH, Hilden, Germany) を用いて抽出した。それぞれのサンプル 15  $\mu\text{g}$  をアガロース・ホルムアルデヒドゲル (6.3% formaldehyde, 1% agarose, 1x 3-[N-morpholino]propanesulfonic acid (MOPS) buffer (0.4 M MOPS, 0.1 M sodium acetate, 0.01 M EDTA: pH 7.0)) を使った電気泳動によって分離した。これをナイロンメンブレイン (Hybond N+, Amersham Bioscience, Freiburg, Germany) に転写し、紫外線照射により固定した。42°C に保ったハイブリダイゼーションバッファー (ULTRAhyb, Ambion, Texas, U.S.A.) 中で for 30 分間インキュベーションした後、 $^{32}\text{P}$  標識の

cDNA プローブ (ラット CCN1 cDNA, 1140 bases (nucleotides 186-1325, GenBank Accession No. NM031327); ラット GAPDH cDNA, 609 bases (nucleotides 331-939, GenBank Accession No. X02231) と 42°C において 16 時間反応させた。0.1% (w/v) SDS (sodium dodecyl sulfate) を含む 0.2× 標準生理食塩水-クエン酸ナトリウムバッファー (SSC) による high stringency 条件下、68°C で 60 分間洗浄の後風乾し、放射線感受性プレート (Fuji Image Plate) に暴露した。このプレートをデンシトメトリックイメージアナライザー (Fuji BAS 2000 Image Analyzer) によりシグナル強度を定量的に解析した。測定値の比較は、the optical densities of the bands of the CCN1 と GAPDH の mRNA のバンドの電子密度の比について行った。

## 6. 統計解析

データの統計的解析においては、2 群間の平均値の比較は Student's t test または Cokran-Cox t test を使って行った。多群間 (3 群以上) の比較には、一元分散分析 (one-way ANOVA) にもとづく、多重比較 (Scheffe's test) を用いた。異なる日齢間における CCN1 の PCP に対する反応の差異は、二元分散分析 (two-way ANOVA) により検討した。

## C. 研究結果

### 1. PCP に対し発達依存的応答を示す遺伝子 CCN1 のスクリーニング

DNA アレイにより、生後 8 日と 56 日における PCP (10mg/kg) および生理食塩水 (対照群) の投与 60 分後の各遺伝子発現量を比較し、56 日齢で増加指数 1.5 以上の変化を示し、8 日齢では変化を示さない転写産物をスクリーニングした。この結果、CCN1 と transthyretin が候補となり、成熟期における増加率が大きい CCN1 を今回の解析対象とした。

RT-PCR を用いた定量的解析から、PCP 投与後の CCN1 mRNA は成熟期に対照群の 398% に達するのに対し、幼若期では 140% にとどまり、両時期間の増加率の差は統計的に有意であることがわかった (Fig.1) : 56 日齢, saline  $100 \pm 11\%$ , PCP  $398 \pm 11^{**}$ ,  $^{**}p < 0.01$  vs saline-treated controls; 8 日齢, saline  $100 \pm 7\%$ , PCP  $140 \pm 10$ ,  $p > 0.05$  vs saline-treated controls; 生後日齢 X PCP 処置の交互作用,  $F_{1,16} = 40.813$ ,  $P < 0.0001$ 。

### 2. 異なる用量の PCP による成熟ラット大脳親皮質 CCN1 発現の変化

PCP 投与成熟ラット (56 日齢) の大脳親皮質

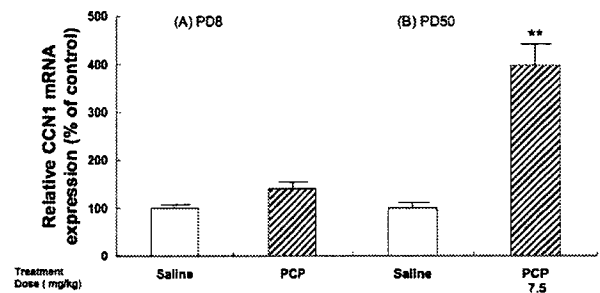


Fig. 1. Differential effects of PCP on CCN1 expression in the neocortex of the infant (PD8) and adult (PD56) rats. The data were obtained by the real-time RT-PCR method and are expressed as percentage of the values of the respective saline-treated controls.  $^{**} P < 0.01$  vs. respective saline-treated controls.  $n = 5$ .

CCN1 発現量は、10mg/kg の方が 5mg/kg より高いが、20mg/kg 投与時には 10mg/kg より低下することが、RT-PCR により明らかになった (Fig.2)。PCP 10mg/kg 投与時の大脳親皮質 CCN1 発現の増加は、ノーザンプロット分析でも確認された: saline  $100 \pm 1\%$ , PCP  $317 \pm 4\%^{**}$ ,  $^{**}p < 0.01$  vs saline-treated controls。

### 3. PCP, dizocilpine および MAP の成熟ラット大脳親皮質の CCN1 発現に与える影響

成熟期ラットに PCP (7.5mg/kg), NMDA 受容体の選択的な非競合的遮断薬 dizocilpine

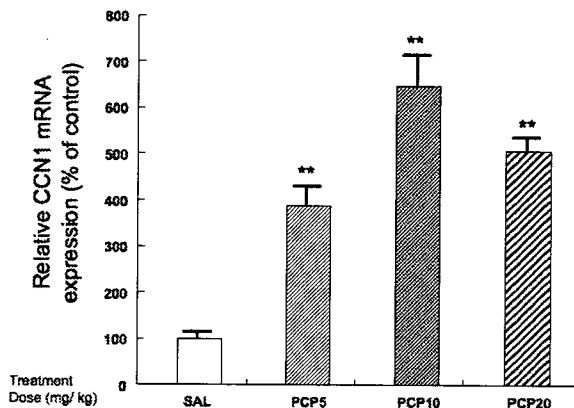


Fig. 2. Effects of PCP on CCN1 expression in the neocortex of the adult (PD56) rats. The data were obtained by the real-time RT-PCR method and are expressed as percentage of the values of the respective saline-treated controls. \*\*  $P < 0.01$  vs. saline-treated controls.  $n = 5$ . SAL, saline; MK801, dizocilpine.

(1.0mg/kg)または間接的ドーパミン作動薬 MAP (4.8mg/kg) を投与した 60 分後においては、いずれの薬物でも、大脳新皮質 CCN1 mRNA は著明に増加していた (Fig.3): saline  $100 \pm 7\%$ , PCP  $452 \pm 5^*$ , dizocilpine  $396 \pm 9\%^*$ , methamphetamine  $564 \pm 9\%^*$ ,  $*p < 0.01$  vs saline-treated controls.

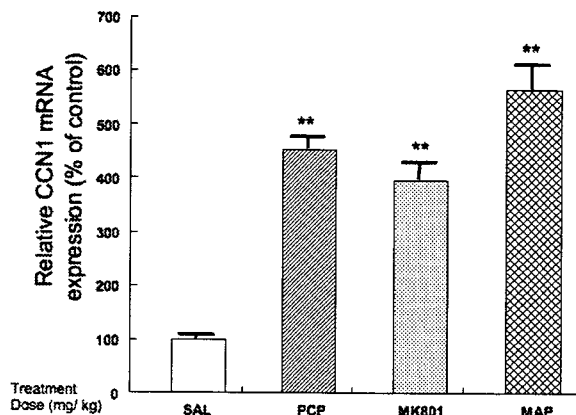


Fig. 3. Effects of PCP, dizocilpine and MAP on CCN1 expression in the neocortex of the in the adult (PD56) rats. The data were obtained by the real-time RT-PCR method and are expressed as percentage of the values of the respective saline-treated controls. \*\*  $P < 0.01$  vs. saline-treated controls.  $n = 6-10$ . SAL, saline; MK801,

#### D. 考察

本研究より、以前に本研究者が RNA arbitrarily primed PDR 法により検出した prt1 (PCP-responsive transcript 1) の他にも、ラット大脳新皮質において、PCP が成熟期に発現を誘導するが新生仔期には発現を変化させない遺伝子が存在することが明らかになった。この結果は、研究目的で述べた、精神異常発現薬に応答する神経回路 (情報処理システム) の中に、一定の発達期に成熟するものがあるという仮説をさらに支持している。また、大脳新皮質の CCN1 発現が、統合失調症様症状を引き起こす乱用薬物により、著明に増加することが初めて明らかになった。

CCN1 はマウス 3T3 fibroblasts およびヒト umbilical vein endothelial cells で同定され、血清および血清成長因子により急速かつ一過性に発現誘導されることが知られていた。本遺伝子は、CCN1-6 からなる、CCN 遺伝子ファミリーのメンバーで、細胞外マトリックス蛋白に共通するドメインを持つ、細胞外分泌性のヘパリン結合蛋白をコードしている。今回の実験で、哺乳類大脳新皮質の CCN1 の基礎的発現が非常に低レベルであり、最初期遺伝子としての性質をもつ結果が得られた点は、従来の報告と矛盾しない。

成熟期ラットの大脳新皮質で、PCP だけでなくより選択的な NMDA 受容体遮断薬の dizocilpine によって CCN1 の発現誘導が見られたことから、この発現誘導には NMDA 受容体を介するグルタミン酸伝達の低下が関与することが示唆される。一方、ドーパミン作動薬 MAP も CCN1 mRNA を増加させ、NMDA 受容体遮断薬が大脳新皮質のドーパミン放出を上昇させるため、CCN1 の発現誘導がドーパミン伝達の亢進によってもたらされた可能性も考えられる。ただし、大脳新皮質の c-fos は PCP、dizocilpine、および MAP の投与後共通して発現量が著明に増加するが、そのメカニ



ズムは NMDA 受容体遮断薬とドーパミン作動薬では異なることを考え合わせると、CCNI の発現も同様に、複数の分子カスケードによって独立に影響を受ける可能性を否定できず、さらに検討が必要である。

PCP に対する CCNI の応答が、生後発達に伴って変化する機序は未だ不明である。上記の薬理的性質を考慮すると、NMDA 受容体の脳内分布や、ドーパミン作動性シナプスの機能が、発達期によって異なることとの関連が注目される。

大脳親皮質の CCNI は、PCP、dizocilpine、MAP いずれの投与によっても発現が増加することから、依存形成や易再発性の統合失調症型精神病状態の分子基盤に関係すると推測される。しかし、CCNI の哺乳類脳における研究はほとんど行われておらず、そのためには CCNI 発現の大脳新皮質における増加の機能的・病態生理学的な意義の検討が不可欠である。最近、種々の細胞において、CCNI が  $\alpha_6\beta_1$ ,  $\alpha_v\beta_2$ ,  $\alpha_{IIb}\beta_3$ ,  $\alpha_M\beta_2$  and  $\alpha_v\beta_5$  などのインテグリン類に結合することが明らかになり、細胞の分裂、接着、移動、増殖などで生理的役割を果たすことが示唆されている。脳のインテグリンは、神経の分化、移動、ガイダンス、長期増強などへの関与が指摘されていることから、乱用薬物による大脳親皮質の CCNI の変化は、特定の神経回路の改変、再構築などを引き起こすことにより依存形成や精神病状態の発症・再燃につながる可能性がある。このような視点から見ると、本分担研究者らが、PCP、MAP、コカインなどの投与ラットの前頭前野で、別の分泌性の細胞間マトリックス蛋白である tissue type plasminogen activator (tPA) 遺伝子の発現増加を見出し、他の研究グループが tPA は乱用薬物を渴望する現象と関係する実験結果を得ていることと、今回の所見との関連に興味もたれる。また、CCNI を介する海馬の神経細胞死のシグナルカスケードが示唆されており、CCNI の変化は PCP や MAP による神

経細胞障害の手がかりになるかもしれない。

#### E. 結論

本年度の研究において、ラット大脳新皮質から、PCP に対して発達依存的応答を示す遺伝子として CCNI を検出した。CCNI は、新生仔期には PCP 投与によっても発現変化が見られず、成熟期に PCP、MAP および dizocilpine などの薬物により発現が著明に増加することがわかった。乱用薬物による精神病状態・依存形成の動物モデルは、ラットでは離乳前の新生仔期には成立し難いことから、CCNI は、乱用されている NMDA 受容体遮断薬およびドーパミン作動薬が引き起こす易再発性精神病状態や依存症に関与する分子の候補となることが示唆された。

#### [参考文献]

1. Albrecht C, von Der Kammer H, Mayhaus M, Klaudiny J, Schweizer M, Nitsch RM (2000). Muscarinic acetylcholine receptors induce the expression of the immediate early growth regulatory gene CYR61. *The Journal of Biological Chemistry*. 275, 28929-28936.
2. Chung KC, Ahn YS (1998). Expression of immediate early gene *cyr61* during the differentiation of immortalized embryonic hippocampal neuronal cells. *Neuroscience Letters* 255, 155-158.
3. Deutch AY, Tam SY, Freeman AS, Bowers MB Jr, Roth RH (1987). Mesolimbic and mesocortical dopamine activation induced by phencyclidine: contrasting pattern to striatal response. *European Journal of Pharmacology* 134, 257-264.
4. Hashimoto T, Kajii Y, Nishikawa T (1998). Psychotomimetic-induction of tissue plasminogen activator mRNA in corticostriatal neurons in rat brain. *European Journal of Pharmacology* 10, 3387-3399.
5. Javitt DC, Zukin SR (1991). Recent advances in the

- phencyclidine model of schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry* 148, 1301-1308.
6. Kajii Y, Muraoka S, Hiraoka S, Fujiyama K, Umino A, Nishikawa T (2003). A developmentally regulated and psychostimulant-inducible novel rat gene *mrt1* encoding PDZ-PX proteins isolated in the neocortex. *Molecular Psychiatry* 8, 434-444.
  7. Kim KH, Min YK, Baik JH, Lau LF, Chaqour B, Chung KC (2003). Expression of angiogenic factor Cyr61 during neuronal cell death via the activation of c-Jun N-terminal kinase and serum response factor. *The Journal of Biological Chemistry* 278, 13847-13854.
  8. Kireeva ML, MO FE, Yang GP, Lau LF (1996). Cyr61, a product of a growth factor-inducible immediate-early gene, promotes cell proliferation, migration, and adhesion. *Molecular and Cellular Biology* 16, 1326-1334.
  9. Kolesnikova TV, Lau LF (1998). Human CYR61-mediated enhancement of bFGF-induced DNA synthesis in human umbilical vein endothelial cells. *Oncogene* 16, 747-754.
  10. McCann UD, Ricaurte GA (2004). Amphetamine neurotoxicity: accomplishments and remaining challenges. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27: 821-826.
  11. Nagai T, Yamada K, Yoshimura M, Ishikawa K, Miyamoto Y, Hashimoto K, Noda Y, Nitta A, Nabeshima T (2004). The tissue plasminogen activator-plasmin system participates in the rewarding effect of morphine by regulating dopamine release. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 3650-3655.
  12. Nishijima K, Kashiwa A, Hashimoto A, Iwama H, Umino A, Nishikawa T (1996). Differential effects of phencyclidine and methamphetamine on dopamine metabolism in rat frontal cortex and striatum as revealed by in vivo dialysis. *Synapse* 22, 304-312.
  13. O'Brien TP, Yang GP, Sanders L, Lau LF (1990). Expression of *cyr61*, a growth factor-inducible immediate-early gene. *Molecular and Cellular Biology* 10, 3569-3577.
  14. Olney JW, Labruyere J, Price MT (1989). Pathological changes induced in cerebrocortical neurons by phencyclidine and related drugs. *Science* 244, 1360-1362.
  15. Perez-Navarro E, Alberch J, Marsal J (1993). Postnatal development of functional dopamine, opioid and tachykinin receptors that regulate acetylcholine release from rat neostriatal slices. Effect of 6-hydroxydopamine lesion. *International Journal of Developmental Neuroscience* 11, 701-708.
  16. Rachfal AW, Brigstock DR (2005). Structural and functional properties of CCN proteins. *Vitamins and Hormones* 70, 69-103.
  17. Reich DL, Silvey G (1989). Ketamine: an update on the first twenty-five years of clinical experience. *Canadian journal of Anaesthesia* 36, 186-197.
  18. Sato D, Umino A, Kaneda K, Takigawa M, Nishikawa T (1997). Developmental changes in distribution patterns of phencyclidine-induced c-Fos in rat forebrain. *Neuroscience Letters* 239, 21-24.
  19. Scalzo FM, Burge LJ (1994). The role of NMDA and sigma systems in the behavioral effects of phencyclidine in preweanling rats. *Neurotoxicology* 15, 191-200.
  20. Scalzo FM, Holson RR (1992). The ontogeny of behavioral sensitization to phencyclidine. *Neurotoxicology and Teratology* 14, 7-14.
  21. Umino A, Nishikawa T, Takahashi K (1995). Methamphetamine-induced nuclear c-Fos in rat brain regions. *Neurochemistry International* 26, 85-90.
  22. Umino A, Takahashi K, Nishikawa T (1998). Characterization of the phencyclidine-induced

increase in prefrontal cortical dopamine metabolism in the rat. *British Journal of Pharmacology* 124, 377-385.

23. Watanabe M, Inoue Y, Sakimura K, Mishina M (1992). Developmental changes in distribution of NMDA receptor channel subunit mRNAs. *Neuroreport* 3, 1138-1140.

24. White PF, Way WL, Trevor AJ (1982). Ketamine--its pharmacology and therapeutic uses. *Anesthesiology* 56, 119-136.

25. Yue H, Eastman PS, Wang BB, Minor J, Doctolero MH, Nuttall RL, Stack R, Becker JW, Montgomery JR, Vainer M, Johnston R (2001). An evaluation of the performance of cDNA microarrays for detecting changes in global mRNA expression. *Nucleic Acids Research* 29:E41-1.

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

###### [原著]

1. Kaneko Y, Kashiwa A, Ito T, Ishii S, Umino A, Nishikawa T. Selective serotonin reuptake inhibitors, fluoxetine and paroxetine, attenuate the expression of the established behavioral sensitization induced by methamphetamine. *Neuropsychopharmacol.* 32: 658-664, 2007.

2. Takeuchi T, Furuta K, Hirasawa T, Masaki H, Yukizane T, Atsuta H, Nishikawa T. Perospirone in the treatment of patients with delirium. *Psychiatry Clin Neurosci.* 61: 67-70, 2007.

3. Ito T, Hiraoka, S, Kuroda Y, Ishii S, Umino A, Kashiwa A, Yamamoto N, Kurumaji A, Nishikawa T. Effects of schizophrenomimetics on the expression of CCN1 (CYR 61) gene encoding a matricellular protein in the infant and adult neocortex of the mouse and rat. *Int J Neuropsychopharmacol.* 717-725, 2007.

4. Fujihira T, Kanematsu S, Umino A, Yamamoto N,

Nishikawa T. Selective increase in the extracellular D-serine contents by D-cycloserine in the rat medial frontal cortex. *Neurochem. Int.* 51:233-236, 2007.

5. Numachi Y, Yoshida S, Yamashita M, Fujiyama K, Toda T, Matsuoka H, Kajii Y, Nishikawa T. Altered EphA5 mRNA expression in rat brain with a single methamphetamine treatment. *Neurosci. Lett.* 424:116-121, 2007.

6. 熱田英範, 横溝美緒, 筒井啓太, 柏 淳, 車地 暁生, 西川徹. Imipramine によって音楽性幻聴が生じた反復性うつ病の 1 症例. *精神科.* 10:518-523, 2007.

###### [総説]

1. 正木秀和, 西川 徹. 統合失調症の治療薬開発研究: 特集「新しい時代の統合失調症—研究から治療へ—」. *臨床精神医学.* 36-1:43-51, 2007.

2. 柏 淳, 金子雄二郎, 伊藤 卓, 石井澄和, 海野麻未, 西川徹. 統合失調症の薬理学再発防止への展望 —セロトニン作動性薬物による逆耐性消失から—. *脳と精神の医学.* 18(3):197-203, 2007.

###### [著書]

1. Nishikawa T. A systematic approach to the brain d-serine system. Fujii N, Homma H, Bruecker H, Fisher GH, Konno R (eds.) *A New Frontier in Amino Acid and Protein Research.* Nova Science Publishers, New York, in press, 2007.

2. 貫名信行, 西川 徹. 脳神経疾病研究の成果と課題. 実験医学増刊『脳神経疾患の分子病態と治療への展開』(貫名信行, 西川 徹 編集). 25:1914-1922, 羊土社, 東京, 2007.

3. 山本直樹, 黒田安計, 西川 徹. ドーパミン・興奮性アミノ酸仮説 — 3.原因と病態モデル —□. 統合失調症の概念 - 統合失調症の治療-臨床と基礎. p38-54, 朝倉書店, 東京, 2007.

4. 西川 徹. 2 ストレスに対する生体の応答, 2.7

発達, ストレスの科学と健康. p88-93, 二木鋭雄編著. 共立出版株式会社, 東京, 印刷中

[その他刊行物]

1. 山本直樹, 島津奈, 海野麻未, 石井澄和, 櫻井新一郎, 谷口豪, 小柄渚, 金子雄二郎, 竹林裕直, 佐藤潤子, 兼松宗太郎, 柏 淳, 車地暁生, 西川 徹. グルタミン酸-D-セリン系に作用する統合失調症の新規治療薬開発に関する研究-. 精神薬療研究年報 2007:39:22-27.

2. 学会発表

特別講演, シンポジウム

1. 西川 徹. 統合失調症の分子機序への発達神経薬理学的アプローチ: こころの障害を分子から解く — 新たなアプローチで理解するこころの問題 —. 第 27 回日本医学総会 (いのちひと夢). 大阪, 2007 年 4 月 7 日.

2. 西川 徹. 動物モデルを用いた統合失調症の病態進行と難治化に関する分子の検索. シンポジウム 1 統合失調症の病態進行・難治化と動物モデル 第 29 回日本生物学的精神医学会, 第 37 回日本神経薬理学会 合同年会, 札幌, 2007 年 7 月 11 日.

3. 西川 徹. 抗精神病薬の D2 受容体以外の作用メカニズム. ランチョンセミナー6 第 29 回日本生物学的精神医学会. 第 37 回日本神経薬理学会 合同年会, 札幌, 2007 年 7 月 12 日.

4. 西川 徹. 精神科薬物療法における将来展望-基礎的観点から. 抗精神病薬 50 年を振り返る—諏訪・佐野メモリアルシンポジウム—, 札幌, 2007 年 7 月 14 日.

5. 西川 徹. 「薬理学的モデルを用いた統合失調症の分子病態の解析」. 特定領域研究『統合脳』夏のワークショップ, 病態脳シンポジウム, 札幌, 2007 年 8 月 21 日.

6. 西川 徹. 統合失調症の病態と治療—脳科学の

進歩により統合失調症はどこまで解明されたか?— 針生ヶ丘病院夏期特別講義. 郡山, 2007 年 8 月 30 日.

7. 西川 徹. 脳内 D-セリンの代謝・機能と精神神経疾患. 疾患酵素学研究の最前線と新展開. 徳島, 2007 年 9 月 6 日.

8. 西川 徹. 統合失調症の分子病態と薬物療法. 創薬薬理フォーラム 第 15 回シンポジウム, 東京, 2007 年 9 月 20 日.

9. 西川 徹. 統合失調症の病因論. 第 17 回地域精神保健講座, 東京, 2007 年 11 月 30 日

10. 西川 徹. **Molecular and cellular mechanisms of extracellular release of cerebral D-serine in the rat.** 第 30 回日本分子生物学会年会, 第 80 回日本生化学会大会 合同大会, 横浜, 2007 年 12 月 11 日.

11. 西川 徹. 統合失調症はなぜ思春期以降に発症するのか. 文部科学省特定領域研究「統合脳」5 領域冬の公開シンポジウム, 合同領域班会議, 東京, 2007 年 12 月 22 日.

国際学会

1. Kaneko Y, Kashiwa A, Ito T, Ishii S, Umino A, Nishikawa T. Selective serotonin reuptake inhibitors, fluoxetine and paroxetine, attenuate the expression of the established behavioral sensitization induced by methamphetamine. **Keystone Symposia: Neurobiology of Addiction (C3), Santa Fe, 2.26, 2007.**

国内学会

1. 竹内 崇, 宮本康史, 治徳大介, 川上礼子, 甫母瑞枝, 奥住祥子, 大友康裕, 登坂直規, 行実知昭, 正木秀和, 熱田英範, 嶋津 奈, 大島一成, 柏淳, 山本直樹, 車地暁生, 西川 徹. 東京医科大学医学部附属病院救急科に入院となった自殺関連行動のみられた患者の実態. 第 103 回日本精神神経学会総会, 高知, 2007 年 5 月 19 日.

2. 山本直樹, 村岡新一郎, 海野麻未, 西川 徹. ラ