

- Minae Niwa, Hiroshi Furukawa and Toshitaka Nabeshima: Molecular mechanisms of cognitive deficits in schizophrenic animal models and efficacy of antipsychotics. 文部科学省学術フロンティア推進事業「International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders」(名古屋、平成20年9月24日)
7. Ai Tamaji, Akira Yoshimi, Yukiko Kawamura, Yukari Waki, Keizo Yoshida, Yukihiro Noda and Norio Ozaki: High-performance liquid chromatographic of determination of fluvoxamine in human plasma. 文部科学省学術フロンティア推進事業「International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders」(名古屋、平成20年9月24日)
 8. Yukari Waki, Rina Murai, Akira Yoshimi, Shinnosuke Yamada, Yu Ando, Akihiro Mouri, Norio Ozaki, Kiyofumi Yamada, Kohichi Tanaka, Yukihiro Noda and Toshitaka Nabeshima: The roles of glutamate transporter, GLAST in learning and memory. 文部科学省学術フロンティア推進事業「International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders」(名古屋、平成20年9月24日)
 9. Shinnosuke Yamada, Yoshihito Ito, Nagahide Takahashi, Shinichi Saito, Akira Yoshimi, Toshiya Inada, Yukihiro Noda and Norio Ozaki: NO Association between the protein TYROSINE phosphatase, receptor-type, Z polypeptide 1 (PTPRZ1) gene and schizophrenia in the Japanese population. 文部科学省学術フロンティア推進事業「International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders」(名古屋、平成20年9月24日)
 10. 野田幸裕、毛利彰宏、鍋島俊隆: 精神疾患モデルは如何にあるべきか: 基礎と臨床の対話 統合失調症モデル作成のため、基礎研究者が臨床医に望むこと. 第18回日本臨床精神神経薬理学会・第38回日本神経精神薬理学会合同年会(東京、平成20年10月1日)
 11. 安藤 雄、野田幸裕、Wang Dayong、山田真之亮、吉見 陽、脇由香里、玉地亜衣、毛利彰宏、鍋島俊隆: メタンフェタミン連続投与マウスに認められる認知障害に対するガラントミンの作用: ドパミン-extracellular signal-regulated kinase 1/2系の関与. 第18回日本臨床精神神経薬理学会・第38回日本神経精神薬理学会合同年会(東京、平成20年10月2日)
 12. 毛利彰宏、野田幸裕、古川 宏、小林和人、鍋島俊隆: クロザピンのPCP連続投与による認知障害に対する緩解効果にはドパミン D4 およびセロトニン S2 受容体拮抗作用が関与する. 第18回日本臨床精神神経薬理学会・第38回日本神経精神薬理学会合同年会(東京、平成20年10月2日)
 13. Yukihiro Noda, Dayong Wang, Akihiro Mouri and Toshitaka Nabeshima: Study on the molecular mechanism of neuropsychotoxicity induced by psychostimulants Effects of galantamine, a novel cholinergic agent with a dual mode of action, on cognitive deficits in animal models. Japan-Korea Joint Project (Korea, 平成20年10月6日)
 14. 山田真之亮、伊藤圭人、吉見 陽、野田幸裕、尾崎紀夫: PTPRZ1 を候補遺伝子とした日本人の統合失調症患者と健常者における遺伝子多型の関連解析. 第2回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(京都、平成20年12月21日)
 15. 野田幸裕、脇由香里、吉見 陽、山田真之亮、

安藤 雄、玉地亜衣、永井 拓、鍋島俊隆、
尾崎紀夫：ストレスと精神障害の発症脆弱性
に関する分子の探索：発達過程における慢性社
会敗北ストレス負荷による高次機能への影
響。文部科学省学術フロンティア推進事業研
究報告会（名古屋、平成 21 年 1 月 9 日）

なし

16. 永井 拓、尾崎紀夫、吉見 陽、山田真之亮、
野田幸裕、山田清文、鍋島俊隆：ストレス関
連疾患に関するプロテオーム解析。文部科学
省学術フロンティア推進事業研究報告会（名
古屋、平成 21 年 1 月 9 日）
17. 脇由香里、吉見 陽、山田真之亮、安藤 雄、
永井 拓、鍋島俊隆、尾崎紀夫、野田幸裕：
マウスの発達過程における慢性社会敗北ス
トレス負荷による社会性行動への影響。第 1
回名城大学学術フロンティア推進事業若手
研究者シンポジウム「人間社会で感じるスト
レスと解決への手立て」（名古屋、平成 21
年 3 月 2 日）
18. 脇由香里、村井里菜、吉見 陽、山田真之亮、
安藤 雄、毛利彰宏、尾崎紀夫、山田清文、
田中光一、野田幸裕、鍋島俊隆：グルタミン
酸トランスポーターGLAST の学習・記憶お
よび情動における役割。第 82 回日本薬理学
会年会（横浜、平成 21 年 3 月 16 日）
19. 山田真之亮、伊藤圭人、吉見 陽、野田幸裕、
尾崎紀夫：日本人の統合失調症患者と健常者
における PTPRZ1 遺伝子多型の関連解析。第
82 回日本薬理学会年会（横浜、平成 21 年 3
月 17 日）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

周産期における異常免疫応答による神経精神毒性に関する研究

分担研究者：山田清文

研究協力者：衣斐大祐、小池宏幸、北原裕子、Jinghua Yu、新田淳美

（名古屋大学大学院医学系研究科・附属病院薬剤部）

[研究要旨]

本研究では、生体との相互作用を介した化学物質による精神発達障害の機構解明を目的として、周産期における異常免疫応答が脳神経発達および成長後の脳機能に及ぼす影響について動物モデルを用いて研究を行う。具体的には、生後2日目から6日目までの5日間、ICR系マウスに合成2本鎖RNAアナログである polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (polyI:C, 5 mg/kg) を皮下投与し、周産期擬似ウイルス感染モデルを作製した。なお、コントロール群には溶媒として用いた生理食塩液を投与した。PolyI:C 処置マウスが10週齢に達した後、学習記憶および情動の異常を系統的な行動解析により調べた。海馬におけるグルタミン酸作動性神経系の機能変化は *in vivo* dialysis 法を用いて解析した。さらに、polyI:C 処置により誘発される脳機能障害の分子機構を解明するために、DNA アレイを用いて海馬における遺伝子発現変化を網羅的に解析するとともに、統合失調症関連遺伝子の発現変化をリアルタイム PCR 法で調べた。PolyI:C 処置マウスはコントロール群と比較して、不安様行動の増加、学習記憶や感覚情報処理機能の障害および社会性行動の異常を示した。しかし、自発運動活性やメタンフェタミンおよび NMDA 受容体アンタゴニストである MK-801 により誘発される多動には変化は認められなかった。さらに、polyI:C 処置マウスでは、学習記憶や情動に関与している海馬におけるグルタミン酸の基礎遊離量が増加し、逆に高カリウム刺激による脱分極誘発性グルタミン酸遊離は低下した。DNA アレイを用いた解析により、polyI:C 処置マウスの海馬において mRNA レベルが 50%以下に有意に低下した4つの遺伝子 (*Srd5a21*, *Creg2*, *Ptgds* および機能不明の遺伝子) を見出した。一方、リアルタイム PCR 法による解析では、*Ifitm3* mRNA が polyI:C 最終投与2時間から24時間後まで持続的に増加することが明らかになった。今後、polyI:C 処置マウスにおける脳機能障害とこれら遺伝子の発現変化との関連性について、より詳細に検討する予定である。

A. 研究目的

化学物質の精神毒性には、物理化学的な性質に基づくそれぞれの化学物質に固有の毒性と化学物質と生体との相互作用に基づく化学物質全般に共通する影響があると考えられる。生体との相互作用を介した化学物質による精神発達障害の機構解明を目的として、周産期における異常免疫

応答が脳神経発達および成長後の脳機能に及ぼす影響について動物モデルを用いて研究を行う。

B. 研究方法

1. 周産期擬似ウイルス感染動物モデルの作製

生後2日目から6日目までの5日間、ICR系マウス(日本エスエルシー、静岡)に合成2本鎖RNA

アナログである polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (polyI:C) を 5 mg/kg の用量で 1 日 1 回皮下投与し、周産期擬似ウイルス感染モデルを作製した。コントロール群には溶媒として用いた生理食塩水を投与した。なお、本実験計画は名古屋大学医学部動物実験委員会で承認され、名古屋大学医学部実験動物指針に準じて行った。

2. 行動解析

PolyI:C 処置マウスが 10 週齢に達した後、学習記憶および情動の異常を以下の行動試験により調べた。

オープンフィールド試験

灰色の亚克力製円形オープンフィールド（直径 60 cm、高さ 35 cm）の中央にマウスを置き、5 分間の外円および内円（直径 40 cm）における歩行量および滞在時間を Ethovision 自動トラッキングプログラム（BrainScience Idea Co. Ltd., Osaka, Japan）を用いて解析した。

新奇物体探索試験

新奇物体探索試験は Nagai らの方法 (2007) に準じて行った³⁾。実験装置は亚克力製のオープンフィールドを用いた (30×30×35 cm)。マウスを実験装置に 3 日間 (10 日間/日) 慣らした後、訓練試行を行った。訓練試行では装置内に異なる 2 つの物体を置き、装置内を 10 分間自由に探索させた。訓練試行の 24 時間後に保持試行を行った。保持試行では訓練試行時に用いた 2 つの物体の片方を新奇物体と置き換え、動物を装置内に入れ 5 分間自由に探索させた。訓練試行および保持試行における 2 つの物体に対するそれぞれの探索（接触、臭い嗅ぎなど）時間を測定した。訓練試行においては、2 つの物体のいずれかを探索した時間と総探索時間との比を、保持試行においては新奇物体を探索した時間と総探索時間と

の比を探索嗜好性 (exploratory preference; EP) として示した。

プレパルス抑制試験

プレパルス抑制試験は Takahashi らの方法 (2007) に準じて SR-LAB 驚愕反応測定システム (San Diego Instruments, San Diego, CA, U.S.A.) を用いて測定した⁵⁾。装置内には背景ノイズ (Background; BG) として 65 dB の音を流した。65 dB の BG 下で 10 分間馴化させた後、次の 3 種類のトライアルをそれぞれ 10 回ずつ負荷した。①驚愕反応を引き起こす 120dB、40 msec の音刺激（パルス刺激）のみ、②パルス刺激の 100 msec 前に 69、73、77 または 81 dB、20 msec の音刺激（プレパルス刺激）を加えたトライアル、③BG のみ。テストでは最初にパルス刺激を 5 回、次に 3 種類のトライアルを 10 から 22 秒の間隔でランダムに 10 回ずつ、最後にパルス刺激を 5 回提示し、合計 70 回のトライアルを負荷した。この時、音刺激と同期させて 1 msec 間隔で 1 秒間驚愕強度を記録した。得られたデータから、以下の式に従い PPI を算出した。

$$PPI (\%) = [1 - (pPx / P120)] \times 100$$

P120 : パルス刺激の単独提示時の驚愕強度最大値の平均

pPx : プレパルス刺激 (69-81dB) とパルス刺激の連続提示時の驚愕強度最大値の平均

社会性行動試験

社会性行動試験は Tremolizzo らの方法 (2005) に準じて行った⁶⁾。生理食塩水または polyI:C 処置マウスをポリカーボネート製試験ケージ（透明：34×22×15 cm）に移して 2 日間馴らした。これらのマウスとは別に通常飼育を行ったマウス（新奇侵入マウス）を試験ケージに入れ、5 分間の行動を解析した。社会性行動試験はこの試行を 30 分間間隔で 4 回繰り返した。能動的な接近行動、

追尾行動、臭い嗅ぎ行動、毛繕い行動を社会性行動として、噛み付き行動、尾の戦振、襲いかかり行動を攻撃行動として、また新奇侵入マウスから離れる行動を逃避行動として、それぞれの行動の時間を測定した。

自発運動量および薬物誘発性運動量増加反応

マウスをアクリル製オープンフィールド (25×30×18 cm) に入れ 120 分間馴化させた後、MK-801 (0.1-0.3 mg/kg) あるいはメタンフェタミン (2 mg/kg) を皮下投与した。投与直後から 180 分間の運動量を赤外線センサー (NS-AS01, Brainscience Idea Co. Ltd.) を用い測定した。

3. インピボ・ダイアリス

10~12 週齢雄性マウスの海馬 (AP: -3.3, ML: +2.8 from bregma, DV: -2.5 mm from the skull) にプローブを挿入し 1.0 μ L/min の流速でリングル液を灌流した。10 分毎に回収されたリングル液中に含まれるグルタミン酸量を高速液体クロマトグラフィ (HTEC 500, EICOM, Corp., Kyoto, Japan) を用いて定量した²⁾。脱分極誘発性のグルタミン酸遊離量を測定する場合には 60 mM KCl を含むリングル液を灌流した。

4. 遺伝子発現解析

Bioanalyzer 2100 electropherograms (Agilent; Santa Clara, CA, USA) を用いて、電気泳動後の 18S および 28S リボソーム RNA のシグナルを指標に抽出した全 RNA のクオリティを検査した。全 RNA (5 μ g) から T7 オリゴプライマーを用いた逆転写により cDNA を合成した。ビオチン標識されたリボヌクレオチド存在下において T7 RNA ポリメラーゼにより cDNA からビオチン化 cRNA を合成した。ビオチン化 cRNA を金属誘発性の加水分解により約 20 から 200 塩基程度に断片化し、GeneChip mouse Genome 430 2.0 Array (Affymetrix;

Santa Clara, CA, USA) にハイブリダイズさせた。DNA マイクロアレイを洗浄し、フィコエリスリン標識ストレプトアビジンと反応させ GCS3000 laser scanner (Affymetrix) で蛍光強度を読み取った。得られたシグナルのバックグラウンドノイズ補正および正規化には Bioconductor (<http://www.bioconductor.org/>) から提供されている GCRMA アルゴリズムを用いた。統計計算やグラフ化には R 言語を用いた (<http://www.r-project.org/>)。コントロール群と polyI:C 投与群の間の遺伝子発現変化は線形モデルを用いて解析した。スキッチャープロットおよび階層的クラスタリング解析は SPOTFIRE 8.2.1 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, USA) を用いた。

リアルタイム PCR 法による定量では、polyI:C 最終投与 24 時間後の海馬から抽出した RNA を Superscript III (Invitrogen, Eugene, OR) を用いて cDNA に変換した後、7300 real-time PCR (Applied Biosystems, Foster City, CA) を用いて mRNA 量を定量した。

5. 統計解析

データは平均±標準誤差で示した。独立多群間の比較には一元配置分散分析 (analysis of variance, ANOVA) または反復測定分散分析法 (repeated measures ANOVA) を用い、有意差が認められた場合には Bonnferroni/Dunn の検定を用いた。いずれの検定においても、危険率 5% 以下で差が認められる場合を有意差ありと判定した。2 群間の比較は Student t-test を用いて行った。

C. 研究結果

1. PolyI:C 処置マウスの学習記憶および情動変化

新生児期に polyI:C (5mg/kg) を連続投与すると、4 週齢までは若干の体重減少 (10% 以下、 $p<0.05$) が観察されたが、それ以降は生理食塩水を投与し

たコントロール群と全く差は認められなかった。また、10 週齢の polyI:C 処置マウス脳の Nissl 染色では、脳細胞の形態・層構造に異常は認められなかった。

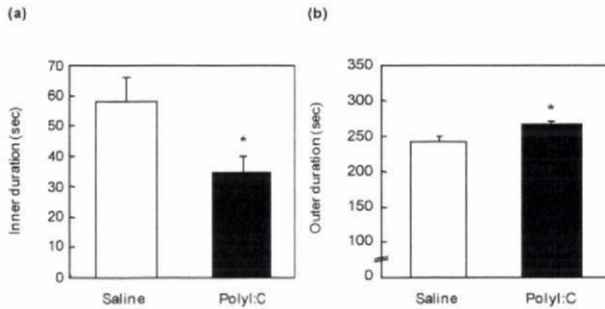


Fig. 1 Effect of neonatal polyI:C treatment on anxiety-like behavior in mice. Individual mice were allowed to explore the open field freely for 5 min. Time spent in (a) inner and (b) outer sectors. Values indicated the mean \pm SE (n=7-8). *p<0.05 vs. saline-treated control group (two-tailed t-test).

オープンフィールド試験において、polyI:C 処置群はコントロール群に比較して内円での滞在時間が減少し、外円での滞在時間および歩行距離が有意に増加した (Fig.1)。一方、オープンフィールド内での総歩行距離は両群間で差がなかったことから、polyI:C 処置マウスでは不安が増加していると考えられた。

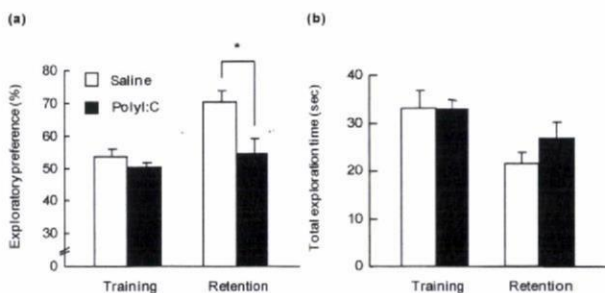


Fig. 2 Effect of neonatal polyI:C treatment on recognition memory in mice. (a) Exploratory preference. (b) Total exploration time. Values indicated the mean \pm SE (n=8). *p<0.05 vs. saline-treated control group (two-tailed t-test).

次に、polyI:C 処置の認知記憶を新奇物体探索試

験により評価した。訓練試行における新奇物体への総探索時間 (Fig.2b) および探索嗜好性 (Fig.2a) は、polyI:C 処置群とコントロール群との間で差はなく、新奇物体に対する好奇心などには変化がないことが示唆された。一方、保持試行における探索嗜好性はコントロール群に比較して polyI:C 処置群で有意に低下した (Fig.2a)。したがって、polyI:C 処置マウスにおける認知記憶の障害が示唆された。

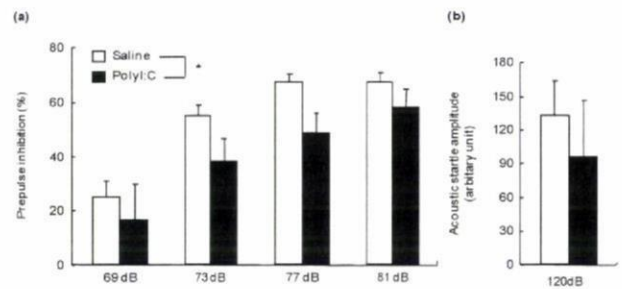


Fig. 3 Effect of neonatal polyI:C treatment on PPI in mice. (a) PPI (%) at four different prepulse intensities (69, 73, 77 and 81 dB). (b) Acoustic startle amplitude as measured in trials without prepulse. Values indicated the mean \pm SE (n=8). *p<0.05 vs. saline-treated control group.

PolyI:C 処置マウスの感覚情報処理能力をプレパルス抑制試験により評価した (Fig.3)。PolyI:C 処置群とコントロール群の間でパルス刺激により誘発される驚愕反応に差は認められなかった (Fig.3b)。パルス刺激の直前に弱いプレパルス刺激を挿入すると驚愕反応の減弱 (プレパルス抑制) が観察されたが、その程度はコントロール群に比較して polyI:C 処置群で低下していた (Fig.3a)。すなわち、polyI:C 処置マウスではプレパルス抑制の障害が認められた。

PolyI:C 処置マウスの社会性行動の変化を Fig.4 に示した。第 1 試行におけるマウス間の相互作用の時間には、polyI:C 処置群とコントロール群の間で差は認められなかった。第 2 試行以降、コントロールマウスでは相互作用の時間が漸減し、新奇

マウスに対する慣れが観察された。一方、polyI:C 処置群ではこの減少反応の増強が認められた。新奇物体探索試験において、polyI:C 処置マウスの認知記憶障害が示唆されたことから、この行動変化は新奇マウスの記憶に関連した慣れの促進ではないと考えられる (Fig. 4a)。なお、新奇マウスに対する逃避行動 (Fig.4b) や攻撃行動 (Fig.4c) は何れのマウスもほとんど示さず、差は認められなかった。

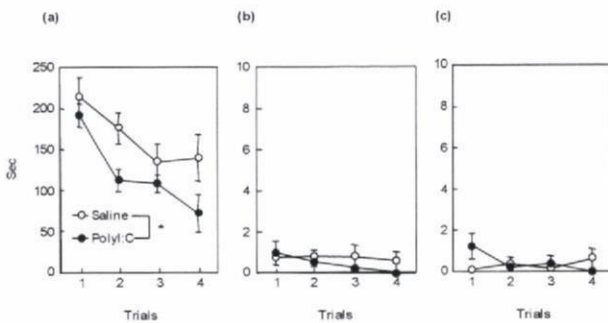


Fig. 4 Effect of neonatal polyI:C treatment on social behavior in mice. (a) Social interaction, (b) Escape behavior and (c) Aggressive behavior for 5 min in each trial. Values indicated the mean \pm SE (n=8). *p<0.05 vs. saline-treated control group.

最後に NMDA 受容体アンタゴニストである MK-801 およびメタンフェタミンに対する反応性を比較した。薬物投与前の自発運動量、MK-801 あるいはメタンフェタミンにより誘発される運動過多に変化は認められなかった (Fig.5)。

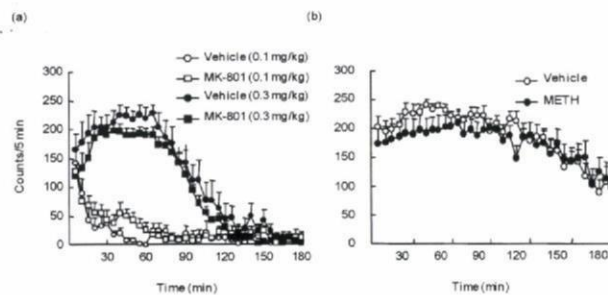


Fig. 5 Effect of neonatal polyI:C treatment on sensitivity to MK-801 or METH in mice. Hyperactivity was induced by (a) MK-801 (0.1 or 0.3 mg/kg, i.p.) or (b) METH (2 mg/kg, i.p.) treatment. Values indicate the mean \pm SE (n=7-10).

2. PolyI:C 処置マウスの海馬におけるグルタミン酸神経伝達

学習記憶や情動に関与している海馬のグルタミン酸作動性神経系の機能を調べるために、*in vivo* dialysis 法を用いて細胞外グルタミン酸量を測定した。PolyI:C 処置マウスではコントロール群に比較して、海馬におけるグルタミン酸基礎遊離量が増加し、高カリウム刺激による脱分極誘発性グルタミン酸遊離は低下していた (Fig.6)。

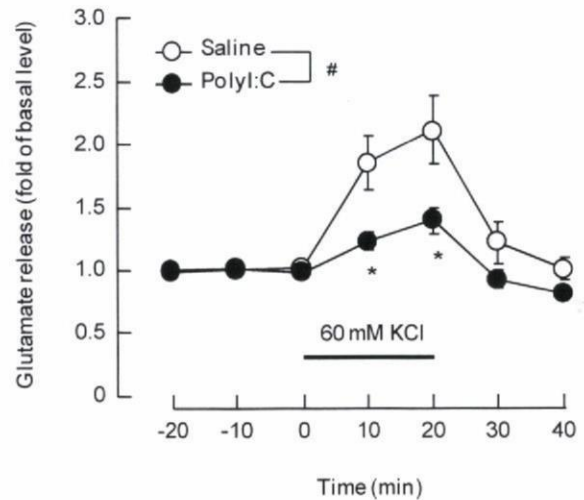


Fig. 6 Effect of neonatal polyI:C treatment on depolarization-evoked glutamate release in the hippocampus of mice. Values indicated the mean \pm SE (n=7). *p<0.05 vs. saline-treated control group (two-tailed t-test). #p <0.05 vs. saline-treated control group.

3. PolyI:C 処置マウスの海馬における遺伝子発現変化

DNA アレイを用いた解析により、polyI:C 処置マウスの海馬において mRNA レベルが 50%以下に有意に低下した 4 つの遺伝子 (*Srd5a21*, *Creg2*, *Ptgs* および機能不明の遺伝子) を見出した。一方、リアルタイム PCR 法による解析より、*interferon-induced transmembrane protein 3 (ifit3)* mRNA が polyI:C 最終投与 2 時間から 24 時間後まで持続的に増加することが明らかになった。

D. 考察

本研究では、生体との相互作用を介した化学物質による精神発達障害の機構解明を目的として、特に周産期のウイルス感染が胎児・新生児の脳神経精神発達に及ぼす影響について新たな動物モデルを作製して研究した。すなわち、グリア細胞の増殖・移動や脳一血液関門の形成が活発な新生児期のマウス（生後2日目から6日目）に二本鎖RNAアナログである polyI:C を5日間連日皮下投与して動物モデルを作製した。脳一血液関門はヒトでは妊娠中期から後期の胎生期に形成されること¹⁾、またこの時期に妊婦がインフルエンザに感染すると胎児が統合失調症などの精神疾患を発症するリスクが高くなることから⁴⁾、本擬似ウイルス感染モデルは、ヒトにおける胎生期ウイルス感染モデルと考えられる。また、polyI:C は toll-like receptor 3 を活性化して炎症性サイトカインの産生を誘導など⁷⁾、自然免疫を活性化することが知られている。

10週齢に成長した polyI:C 処置マウスの神経精神機能を系統的行動解析により調べた結果、本モデルマウスには不安行動の増加、認知機能の障害および社会性行動の異常が認められた。さらに、*in vivo dialysis* による研究により、学習記憶や情動に関与している海馬のグルタミン酸作動性神経系に機能障害があることも示唆された。すなわち、脳神経系の発達期にウイルス感染あるいは化学物質への暴露等により異常な免疫応答が生じると、海馬における神経伝達の障害を伴った記憶・情動障害や社会性行動の異常が生じる可能性が示唆された。

PolyI:C 処置により誘発される脳機能障害の分子機構を解明するために、海馬における遺伝子発現の変化を網羅的に解析し、発現レベルが低下する4つの遺伝子 (*Srd5a21*, *Creg2*, *Ptgds* および機能不明の遺伝子) と増加する1つの遺伝子 (*Ifitm3*) を見出した。今後、polyI:C 処置により誘発される

脳機能障害の分子機構について、これらの遺伝子の発現変化との関係から検討していく予定である。

E. 結論

新生児期に polyI:C を連続処置したマウスは、成長後に不安様行動の増加、認知機能障害および社会性行動の異常を示し、海馬における脱分極誘発性グルタミン酸遊離が低下した。脳神経系の発達期にウイルス感染や化学物質への暴露等により異常な免疫応答が生じると、海馬における神経伝達の障害を伴った記憶・情動障害や社会性行動の異常が生じる可能性が示唆された。

[参考文献]

- 1) Clancy B, Darlington RB, Finlay BL: Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience*, 105: 7-17, 2001.
- 2) Murai R, Noda Y, Matsui K, et al.: Hypofunctional glutamatergic neurotransmission in the prefrontal cortex is involved in the emotional deficit induced by repeated treatment with phencyclidine in mice: Implications for abnormalities of glutamate release and NMDA-CaMKII signaling. *Behav Brain Res.*, 180: 152-160, 2007.
- 3) Nagai T, Takuma K, Kamei H, et al.: 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.
- 4) Patterson PH: Maternal effects on schizophrenia risk. *Science*, 318: 576-577, 2007.
- 5) Takahashi K, Nagai T, Kamei H, et al.: Neural circuits containing pallidotegmental GABAergic neurons are involved in the prepulse inhibition of the startle reflex in mice. *Biol. Psychiatry*, 62:148-157, 2007.

- 6) Tremolizzo L, Doueiri MS, Dong E, et al.: Valproate corrects the schizophrenia-like epigenetic behavioral modifications induced by methionine in mice. *Biol. Psychiatry*, 57:500-509, 2005.
- 7) Wang T, Town T, Alexopoulou L, et al.: Toll-like receptor 3 mediates West Nile virus entry into the brain causing lethal encephalitis. *Nat. Med.*, 10: 1366-1373, 2004.

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Arai, S., Takuma, K., Mizoguchi, H., Nagai, T., Kamei, H. and Yamada, K.: GABA_B receptor agonist baclofen improve methamphetamine-induced cognitive deficit in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, 602: 101-104, 2009.
- 2) Nagai, T. Nabeshima, T. and Yamada, K.: Basic and translational research on proteinase-activated receptors: Regulation of nicotine reward by the tissue plasminogen activator (tPA)-plasmin system via proteinase-activated receptor 1. *J. Pharmacol. Sci.*, 108: 4048-414, 2008.
- 3) Niwa, M., Nitta, A., Cen, X., Kitaichi, K., Ozaki, N., Yamada, K. and Nabeshima, T.: A novel molecule 'shati' increases dopamine uptake via the induction of tumor necrosis factor- α in pheochromocytoma-12 cells. *J. Neurochem.*, 107: 1697-1708, 2008.

2. 学会発表

- 1) Ibi D, Nagai T, Mizoguchi H, Nitta A, Takuma K and Yamada K: Development of schizophrenia-like behaviors and susceptibility gene expression in a viral infection model during perinatal stage. *International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders*. Nagoya, Japan, September 24, 2008.
- 2) 衣斐大祐, 永井拓, 溝口博之, 小池宏幸, 田熊一徹, 山田清文: 周産期ウイルス感染モデル

における認知障害. 第31回日本神経科学大会, 東京, 2008.7.9-11.

- 3) 衣斐大祐, 永井拓, 溝口博之, 田熊一徹, 北原裕子, 小池宏幸, 日比(古川)陽子, 新田淳美, 米田幸雄, 山田清文: 周産期におけるウィルス感染が精神機能発達および統合失調症関連遺伝子発現に及ぼす影響. 第18回日本臨床精神神経薬理学会・第38回日本神経精神薬理学会合同年会, 東京, 2008.10.1-3.
- 4) 北原裕子, 永井拓, 衣斐大祐, 新田淳美, 山田清文: 周産期における免疫応答異常が精神機能発達およびグルタミン酸作動性神経系に及ぼす影響. 第114回日本薬理学会近畿部会, 神戸, 2008.11.4.
- 5) 永井拓, 北原裕子, 衣斐大祐, 山田清文: 周産期 polyinosine:polycytidylic acid 投与による精神機能発達およびグルタミン酸作動性神経系の変化. 第19回マイクロダイアリシス研究会, 東京, 2008.12.6.
- 6) 永井拓, 衣斐大祐, 溝口博之, 鍋島俊隆, 山田清文: 周産期における免疫異常は思春期マウスにおける情動および認知機能を障害する. 第2回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 京都, 2008.12.20-21.
- 7) 衣斐大祐, 永井拓, 溝口博之, 北原裕子, 小池宏幸, 新田淳美, 米田幸雄, 澤明, 鍋島俊隆, 山田清文: 新生児期 polyI:C 投与がドミナントネガティブ型 DISC1 トランスジェニックマウスの情動・認知機能に及ぼす影響. 第82回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.16-18.
- 8) 山田清文: 遺伝-環境相互作用に基づく統合失調症モデル. 第82回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.16-18.

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

新生仔期に polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (polyI:C) を投与したマウスの海馬におけるタンパク発現の変化

分担研究者：永井拓

（名古屋大学大学院医学系研究科臨床薬物情報学）

[研究要旨]

化学物質には、生体に対してホルモン様の作用を有する物質や、逆にホルモン作用を阻害する物質、すなわち内分泌攪乱物質がある。生体内には内分泌系の他にも免疫系と呼ばれる生体恒常性を維持する機構が存在し、感染症によって異常免疫応答が惹起される。特に、周産期・発育期におけるウイルス感染症は脳発達異常を引き起こすことがある。したがって、生体内に取り込まれた化学物質が免疫系の異常を引き起こし、中枢神経系に対して障害をもたらす可能性を考える必要がある。本年度は、自然免疫機構を活性化する合成 2 本鎖 RNA アナログである polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (polyI:C) を新生仔期に投与し、成長したマウスの脳内におけるタンパク発現変化を網羅的に解析した。二次元電気泳動によってタンパクを分離した結果、2 個のスポットに有意な発現変化が認められた。polyI:C 投与群において発現が増加したスポットが 1 個、逆に発現が減少したスポットが 1 個検出された。発現変化が認められたスポットについて質量分析およびデータベース検索を行った結果、aldehyde dehydrogenase family 1 member L1 (ALDH1L1) および collapsin response mediator protein 5 (CRMP5) を同定した。以上の結果から、新生仔期に polyI:C を投与したマウスにおいて発現が変化するタンパク群が存在することが明らかとなった。今後は ALDH1L1 および CRMP5 の機能解析を行うとともに新生仔期の免疫異常によって惹起される精神発達異常との関連について検討する予定である。

A. 研究目的

化学物質には、生体に対してホルモン様の作用を有する物質や、逆にホルモン作用を阻害する物質、すなわち内分泌攪乱物質がある。生体内には内分泌系の他にも免疫系と呼ばれる生体恒常性を維持する機構が存在し、感染症によって異常免疫応答が惹起される。特に、周産期・発育期におけるウイルス感染症は脳発達異常を引き起こすことがある。これら脳発達に影響するウイルスとしてサイトメガロウイルス、インフルエンザウイルス、ボルナ病ウイルスおよびヒト免疫不全ウイルス 1 型などが報告されている¹⁻⁴⁾。さらに、周産

期におけるウイルス感染により引き起こされる脳発達異常が、統合失調症、双極性障害および広汎性発達障害の発症に関与していることが示唆されている^{5,6)}。したがって、生体内に取り込まれた化学物質が免疫系の異常を引き起こし、中枢神経系に対して障害をもたらす可能性を考える必要がある。本年度は、自然免疫機構を活性化する合成 2 本鎖 RNA アナログである polyriboinosinic-polyribocytidilic acid (polyI:C) を新生仔期に投与し、成長したマウスの脳内におけるタンパク発現の変化を網羅的に解析した。

B. 研究方法

1. polyI:C 処置マウスの作製

実験には ICR 系マウスを使用した。生後 2 日目から 6 日目までの 5 日間、マウスに合成 2 本鎖 RNA アナログである polyI:C を 5 mg/kg の用量で 1 日 1 回皮下投与し、周産期擬似ウイルス感染モデルを作製した。コントロール群には溶媒として用いた生理食塩液を投与した。なお、本実験計画は名古屋大学医学部動物実験委員会で承認され、名古屋大学医学部実験動物指針に準じて行った。

2. サンプル調製

10 週齢に成長したマウスから脳を摘出し、氷冷下で海馬を分割した。脳サンプルは使用直前まで -80°C で凍結保存した。脳サンプルは proteoextract subcellular proteome extraction kit を用いて細胞質分画 (F1)、膜分画 (F2)、核分画 (F3)、細胞骨格分画 (F4) を抽出し、以下の実験に使用した。

3. Fluorescence two-dimensional difference gel electrophoresis (2D-DIGE) 法

PolyI:C 投与マウスおよびコントロールマウスから抽出したタンパクを Cy3 または Cy5 で蛍光ラベルした。内部標準として各サンプルの混合物を Cy2 で蛍光ラベルした。これら Cy2、Cy3 または Cy5 で標識したサンプルを混合して同一ゲル内で等電点電気泳動および二次元電気泳動を行った。泳動後のゲルは蛍光スキャナー (Typhoon trio) にて可視化し、画像解析ソフト (PD Quest) を使用してデータの解析を行った。

4. Peptide mass fingerprinting 法

2D-DIGE 法により発現に変化が認められたタンパクをゲルから切り出し、trypsin により消化した。トリプシン処理後のペプチド断片のアミノ酸配列を質量分析装置 (LC-MS/MS) により決定し、データベース (Mascot) 検索によりタンパクの同

定を行った。

5. イムノプロットティング法

各 sample に sample buffer [0.125 M Tris-HCl (pH 6.8) , 4% SDS , 10% sucrose , 0.006% bromophenol blue, 10% 2-mercaptoethanol] を加え 95°C で 5 分間加熱し、10% ポリアクリルアミドゲルで電気泳動した。PVDF membrane にプロットティングを行った後、メンブレンを blocking solution [3% BSA, 20 mM Tris-HCl (pH 7.4) , 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20] を用い室温で 1 時間インキュベーションした後、blocking solution で 1:2000 倍に希釈した mouse anti-NeuN (Millipore) , rabbit anti-Calbindin (Sigma) , rabbit anti-Carnexin (Stressgen) , mouse anti-ALDH1L1 (Abnova) , rat anti-CRMP5 (Abcam) 抗体あるいは goat anti-actin (Santa cruz) をインキュベーションした (4°C , 一晚) 。反応後、TBS-Tween [20 mM Tris-HCl (pH 7.4) , 150 mM NaCl, 0.1% Tween 20] で 10 分間 3 回洗浄し、blocking solution で 1:2000 倍に希釈した house-radish peroxidase 標識 anti-mouse IgG , anti-rat IgG あるいは anti-goat IgG 抗体で室温に 1 時間インキュベーションした。TBS-Tween で 10 分間 3 回洗浄した後、ECL Western Blotting Detection System を用い、LumiViewer (AISIN) でバンドの検出を行った。

C. 研究結果

1. イムノプロットティングによる細胞分画マーカータンパクの確認

海馬から調製した細胞分画が適切に行われているかを確認するため、各分画のマーカータンパクの存在についてイムノプロットティング法を用いて調べた。細胞質タンパクである carbindin の発現は F1 分画に強く、F2 分画には弱いシグナルが認められ、F3 分画には発現が認められなかった (Fig. 1) 。膜タンパクである calnexin の発現は F2

分画に強く、F1 分画および F3 分画に弱く認められた (Fig. 1)。核タンパクである NeuN の発現は、F3 分画のみで認められた (Fig. 1)。F4 分画において、いずれのマーカートンパクの発現が認められなかった (Fig. 1)。

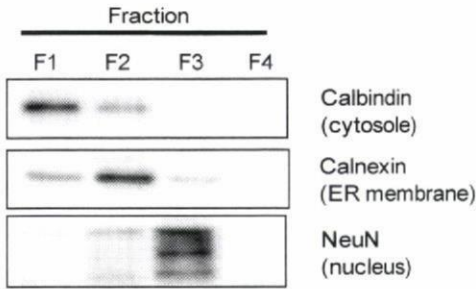


Fig. 1. Selectivity of subcellular extraction by immunoblotting against marker proteins.

Mouse hippocampus was extracted using proteoextract subcellular proteome extraction kit. The proteins were separated by SDS-PAGE and blotted onto PVDF membrane. Immunoblotting with antibodies directed against the indicated marker proteins show the separation of the cell compartments according to their subcellular localization.

2. 2D-DIGE 法を用いたタンパク発現差異解析

二次元電気泳動によってタンパクを分離した結果、約 1000 個のスポットが検出された (Fig. 2A)。各群の検出されたスポット数の平均はコントロール群が 1065.3 ± 0.2 個、polyI:C 群が 1065.8 ± 0.2 個であった。Scatter plot 解析の結果では、コントロールマウスに比べて polyI:C を投与したマウスで発現が 2 倍以上の増減を示すスポットが 29 個存在した (Fig. 2B) さらに、個々のスポットについて解析した結果、スポット番号 SSP3707 および SSP7512 の 2 個のスポットに有意な発現変化が認められた (Fig. 2C)。SSP3707 は polyI:C 投与群においてタンパク発現がコントロール群に比べて 1.6 倍増加した ($p < 0.05$, Table 1)。逆に、SSP7512 は polyI:C 投与群においてタンパク発現がコントロール群に比べて 0.6 倍減少した ($p < 0.01$, Table 1)。

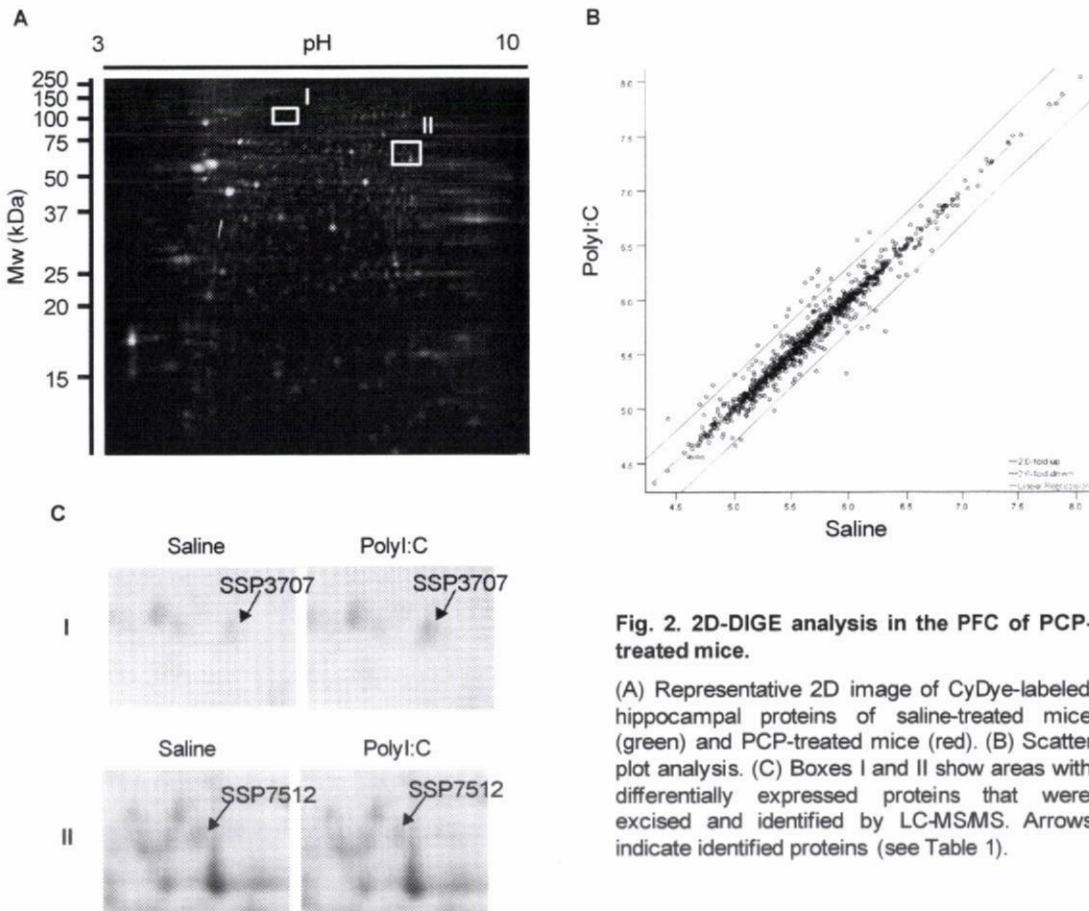


Fig. 2. 2D-DIGE analysis in the PFC of PCP-treated mice.

(A) Representative 2D image of CyDye-labeled hippocampal proteins of saline-treated mice (green) and PCP-treated mice (red). (B) Scatter plot analysis. (C) Boxes I and II show areas with differentially expressed proteins that were excised and identified by LC-MS/MS. Arrows indicate identified proteins (see Table 1).

Table 1. List of identified proteins that are differently expressed in the hippocampus of polyI:C-treated mice

Spot no. ^a	protein name	SWTR Acc ^b	Fold change ^c	p-value	MASCOT score ^d	Sequence coverage (%) ^e	Mr (kDa) /pI ^f
3707	Aldehyde dehydrogenase family 1 member L1	Q8R0Y6	1.6	<0.05	803	34	99/5.64
7512	Collapsin response mediator protein 5	Q9EQF6	0.6	<0.01	382	42	61/6.62

^aSpot no. corresponds to those in Fig. 2. ^bAccession number is derived from Swiss-Prot/TrEMBL database.

^cFold changes in polyI:C-treated mice. ^dMASCOT score indicated the total of individual peptide scores.

^eSequence coverage achieved by MS-Fit search. ^fTheoretical molecular weight (Mr) /isoelectrical point (pI) of the protein.

3. Peptide mass fingerprinting 法によるタンパク 同定

発現変化が認められたスポットについて質量分析およびデータベース検索を行った結果、SSP3707はaldehyde dehydrogenase family 1 member L1 (ALDH1L1) および SSP7512はcollapsin response mediator protein 5 (CRMP5) であると同定された (Table 1)。

4. イムノブロットング法による ALDH1L1 および CRMP5 の発現解析

同定されたタンパクが ALDH1L1 および CRMP5 であるかどうかを調べるため、それぞれのタンパクに対する特異的抗体を用いてイムノブロットングを行った。PolyI:C 投与群において ALDH1L1 のタンパク発現がコントロール群に比べて 1.6 倍増加した ($p < 0.05$, Fig. 3A)。逆に、CRMP5 は polyI:C 投与群においてタンパク発現がコントロール群に比べて 0.7 倍減少していた ($p < 0.01$, Fig. 3B)。さらに、新生仔期に polyI:C を投与した 10 週齢のマウスに認められた ALDH1L1 および CRMP5 の発現変化が、polyI:C 処置直後から認められるかどうかを調べた。PolyI:C 最終投与 24 時間後のマウスの海馬において、ALDH1L1 のタンパク発現がコントロール群の 1.4 倍に増加した ($p < 0.01$, Fig. 4A)。逆に、CRMP5 は polyI:C 投与群においてタンパク発現がコントロール群の 0.8 倍に減少していた ($p < 0.05$, Fig. 4B)。

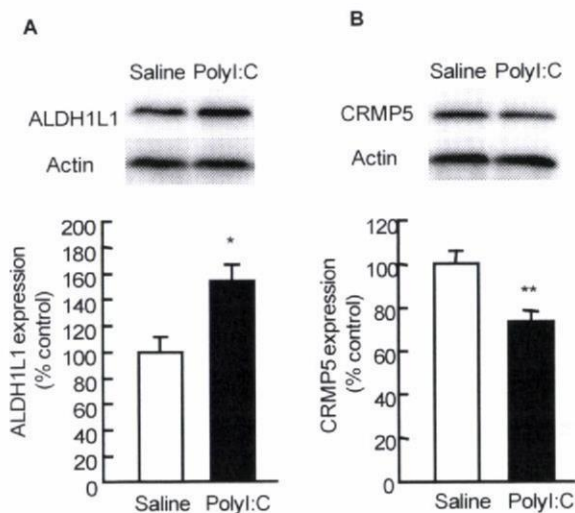


Fig. 3. Expression of ALDH1L1 and CRMP5 in the hippocampus of polyI:C-treated mice at the age of 10 weeks

From PD 2 to 6, mice were injected s.c. daily with either pyrogen-free saline or polyI:C at a dose of 5 mg/kg. Mice were sacrificed at the age of 10 weeks. Values indicate the mean \pm SE ($n=6$). * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ vs saline

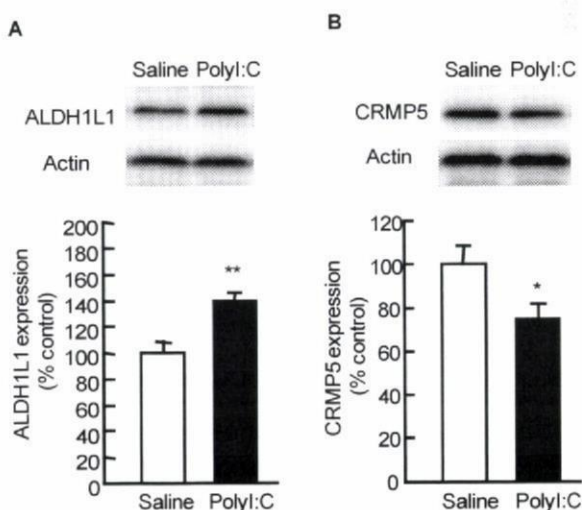


Fig. 4. Expression of ALDH1L1 and CRMP5 in the hippocampus of polyI:C-treated mice at the age of 7 days

From PD 2 to 6, mice were injected s.c. daily with either pyrogen-free saline or polyI:C at a dose of 5 mg/kg. Neonatal mice were sacrificed 24 h after final treatment with polyI:C. Values indicate the mean \pm SE ($n=6$). * $P < 0.05$ and ** $P < 0.01$ vs saline

D. 考察

Toll-like receptor 3 を介して自然免疫機構を活性化する合成 2 本鎖 RNA アナログである polyI:C を新生仔期に投与されたマウスでは、正常なマウスに比較して学習・記憶の障害、感覚情報処理の障害、不安関連行動の増加、社会性行動の異常などが認められる⁷⁾。さらに、学習・記憶との関連性が示唆されている海馬におけるグルタミン酸放出の異常も確認されている⁷⁾。本年度は、新生児期の異常な免疫応答が学習・記憶や情動の発達に影響をおよぼす因子を調べるために、polyI:C を新生仔期に投与し、成長したマウスの脳内におけるタンパク発現変化を網羅的に解析した。

細胞内には何千種類ものタンパクが存在し、微小な変化を一度に検出することは困難である。また、細胞内の情報伝達に関与するタンパクのほとんどは細胞質に存在することから、海馬組織から細胞質に存在するタンパクを抽出することを試みた。細胞質分画のマーカータンパクである carbindin は F1 分画に強い発現、F2 分画には弱い発現が認められ、F3 分画には発現が認められなかった。また、F1 分画に膜タンパクである calnexin の弱い発現が認められたが、核タンパクの NeuN については発現が認められなかった。したがって、本実験条件にて調製した F1 分画は細胞質タンパクを多く含む分画であると考えられる。

これまで二次元電気泳動の欠点として再現性が低いこと。定量性に問題があること。ロースループレットであること。比較的多量のタンパクを必要とすること指摘されてきた。したがって、本研究では上記問題点を回避するため 2D-DIGE 法を採用した。その結果、約 1000 個のスポットが検出され、その中で有意な発現変化を示したスポットは 2 個であった。Scatter plot 解析の結果では、コントロールマウスに比べて polyI:C を投与したマウスで発現が 2 倍以上の増減を示すスポットが 29 個存在したことから、サンプル数を増やして解

析する必要があると考えられる。

有意な発現変化が認められたスポットについて質量分析およびデータベース検索を行った結果、ALDH1L1 および CRMP5 を同定した。ALDH1L1 は 10-formyltetrahydrofolate、NADP⁺ および H₂O から tetrahydrofolate、CO₂ および NADPH へ変換する酵素であり、細胞質に存在する。ALDH1L1 の強制発現は細胞の増殖を抑制し、逆にガン細胞においては ALDH1L1 の発現が減少していることが報告されている^{8,9)}。また、中枢神経系においては発生時期の神経管の正中部の放射状グリア細胞に特異的に発現すること¹⁰⁾、成体脳ではアストロサイトに発現していることが報告されている¹¹⁾。したがって、新生仔期の polyI:C 処置によって誘導される ALDH1L1 タンパクの増加が発達段階におけるアストロサイトの機能に影響を及ぼしている可能性がある。

一方、CRMP は神経細胞の分化および軸索の伸長に関与している分子である¹²⁾。CRMP5 は主に脳に発現しており、胎生期から新生児期に最も高い mRNA 発現が認められる¹³⁾。PolyI:C が作用する Toll-like receptor 3 は神経細胞の軸索形成に重要な役割を果たしている成長円錐に存在し、polyI:C は軸索形成を阻害することが報告されている¹⁴⁾。したがって、新生仔期の polyI:C 投与による CRMP5 の発現低下が神経発達に影響をおよぼしている可能性がある。今後は ALDH1L1 および CRMP5 の機能解析を行うとともに新生仔期の免疫異常によって惹起される精神発達障害との関連について検討する予定である。

E. 結論

新生仔期に polyI:C を投与し、成長したマウスの脳内におけるタンパク発現を 2D-DIGE 法により解析した結果、発現が変化する分子として ALDH1L1 および CRMP5 を同定した。したがって、新生仔期の異常な免疫応答が学習・記憶や情動の

発達障害の発現機序として ALDH1L1 および CRMP5 が関与している可能性が推測された。

[参考文献]

1. Tsutsui Y, Kosugi I, Kawasaki H, et al. Roles of neural stem progenitor cells in cytomegalovirus infection of the brain in mouse models. *Pathol Int.* 58: 257-267, 2008.
2. Patterson PH. Neuroscience. Maternal effects on schizophrenia risk. *Science* 318: 576-577, 2007.
3. Gonzalez-Dunia D, Volmer R, Mayer D, et al. Borna disease virus interference with neuronal plasticity. *Virus Res.* 111: 224-234, 2005.
4. Lawrence DM, Durham LC, Schwartz L, et al. Human immunodeficiency virus type 1 infection of human brain-derived progenitor cells. *J Virol.* 78: 7319-7328, 2004.
5. Ross CA, Margolis RL, Reading SA, et al. Neurobiology of schizophrenia. *Neuron* 52: 139-153, 2006.
6. Meyer U, Murray PJ, Urwyler A, et al. Adult behavioral and pharmacological dysfunctions following disruption of the fetal brain balance between pro-inflammatory and IL-10-mediated anti-inflammatory signaling. *Mol Psychiat.* 13: 208-221, 2008.
7. 山田清文ら. 周産期における異常免疫応答による神経精神毒性に関する研究. 厚生労働科学研究費補助金 (化学物質リスク総合研究事業) 分担研究報告書, 2009.
8. Krupenko SA and Oleinik NV. 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase, one of the major folate enzymes, is down-regulated in tumor tissues and possesses suppressor effects on cancer cells. *Cell Growth. Differ.* 13: 227-236, 2002.
9. Oleinik NV and Krupenko SA. Ectopic expression of 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase in A549 cells induces G1 cell cycle arrest and apoptosis. *Mol. Cancer Res.* 1: 577-588, 2003.
10. Anthony TE and Heintz N. The folate metabolic enzyme ALDH1L1 is restricted to the midline of the early CNS, suggesting a role in human neural tube defects. *J. Comp. Neurol.* 500: 368-383, 2007.
11. Cahoy JD, Emery B, Kaushal A, et al. A transcriptome database for astrocytes, neurons, and oligodendrocytes: a new resource for understanding brain development and function. *J. Neurosci.* 28: 264-278, 2008.
12. Hou ST, Jiang SX, Smith RA. Permissive and repulsive cues and signalling pathways of axonal outgrowth and regeneration. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* 267: 125-181, 2008.
13. Fukada M., Watakabe I., Yuasa-Kawada J, et al. Molecular characterization of CRMP5, a novel member of the collapsin response mediator protein family. *J. Biol. Chem.* 275: 37957-37965, 2000.
14. Cameron JS, Alexopoulou L, Sloane JA, et al. Toll-like receptor 3 is a potent negative regulator of axonal growth in mammals. *J. Neurosci.* 27: 13033-13041, 2007.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nagai T, Murai R, Matsui K, Kamei H, Noda Y, Furukawa H, Nabeshima T. Aripiprazole ameliorates phencyclidine-induced impairment of recognition memory through dopamine D₁ and serotonin 5-HT_{1A} receptors. *Psychopharmacology.* 202: 315-328, 2009.
- 2) 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.* 105: 921-932, 2008.
- 3) Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Murai R, Nagai T, Yamada K, Nabeshima T. The extensive nitration of neurofilament light chain in the

hippocampus is associated with the cognitive impairment induced by amyloid beta in mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 327: 137-147, 2008.

- 4) Arai S, Takuma K, Mizoguchi H, Nagai T, Kamei H, Yamada K. GABA_B receptor agonist baclofen improve methamphetamine-induced cognitive deficit in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 602: 101-104, 2009.
- 5) Nagai T, Nabeshima T, Yamada K. Basic and translational research on proteinase-activated receptors: Regulation of nicotine reward by the tissue plasminogen activator (tPA)-plasmin system via proteinase-activated receptor 1. *J. Pharmacol. Sci.* 108: 4048-414, 2008.
- 6) Lu L, Mamiya T, Lu P, Niwa M, Mouri A, Zou LB, Nagai T, Hiramatsu M, Nabeshima T. The long-lasting effects of cross-fostering on the emotional behavior in ICR mice. *Behav. Brain Res.* 198: 172-178, 2009.

2. 学会発表

- 1) Ibi D, Nagai T, Mizoguchi H, Nitta A, Takuma K, Yamada K. Development of schizophrenia-like behaviors and susceptibility gene expression in a viral infection model during perinatal stage. *International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders*. Nagoya, Japan, 2008.9.24.
- 2) 衣斐大祐, 永井拓, 溝口博之, 小池宏幸, 田熊一敬, 山田清文. 周産期ウイルス感染モデルにおける認知障害. 第31回日本神経科学大会, 東京, 2008.7.9-11.
- 3) 衣斐大祐, 永井拓, 溝口博之, 田熊一敬, 北原裕子, 小池宏幸, 日比(古川)陽子, 新田淳美, 米田幸雄, 山田清文. 周産期におけるウイルス感染が精神機能発達および統合失調症関連遺伝子発現に及ぼす影響. 第18回日本臨床精神神経薬理学会・第38回日本神経精神薬理学会合同年会, 東京, 2008.10.1-3.
- 4) 北原裕子, 永井拓, 衣斐大祐, 新田淳美, 山田清文. 周産期における免疫応答異常が精神機能発達およびグルタミン酸作動性神経系に及ぼす影響. 第114回日本薬理学会近畿部会, 神戸, 2008.11.4.

- 5) 永井拓, 北原裕子, 衣斐大祐, 山田清文. 周産期 polyinosine:polycytidylic acid 投与による精神機能発達およびグルタミン酸作動性神経系の変化. 第19回マイクロダイアリシス研究会, 東京, 2008.12.6.
- 6) 永井拓, 衣斐大祐, 溝口博之, 鍋島俊隆, 山田清文. 周産期における免疫異常は思春期マウスにおける情動および認知機能を障害する. 第2回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム, 京都, 2008.12.20-21.
- 7) 衣斐大祐, 永井拓, 溝口博之, 北原裕子, 小池宏幸, 新田淳美, 米田幸雄, 澤明, 鍋島俊隆, 山田清文. 新生児期 polyI:C 投与がドミナントネガティブ型 DISC1 トランスジェニックマウスの情動・認知機能に及ぼす影響. 第82回日本薬理学会年会, 横浜, 2009.3.16-18. (予定)

H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

平成 20 年度 刊行物一覧および論文紹介

名城大学大学院薬学研究科 教授	鍋島俊隆 アルカムトルソン(リサーチレジデント)
著者氏名・発表タイトル・誌名、巻号、掲載ページ及び掲載年	
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, 105: 921-32 (2008). 別刷 No.⑦	
Arai S, Takuma K, Mizoguchi H, Ibi D, Nagai T, Takahashi K, Kamei H, Nabeshima T, Yamada K. Involvement of Pallidotegmental Neurons in Methamphetamine- and MK-801-Induced Impairment of Prepulse Inhibition of the Acoustic Startle Reflex in Mice: Reversal by GABA(B) Receptor Agonist Baclofen. Neuropsychopharmacology, 33: 3164-3175 (2008). 別刷 No.⑩	
Nagai T., Murai R., Matsui K., Kamei H., Noda Y., Furukawa H., Nabeshima T., Aripiprazole ameliorates phencyclidine-induced impairment of recognition memory through dopamine D1 and serotonin 5-HT1A receptors. Psychopharmacology (Berl), 202: 315-328 (2009). 別刷 No.⑬	
Lu L., Mamiya T., Lu P., Niwa M., Mouri A., Zou LB., Nagai T., Hiramatsu M., and Nabeshima. T. The long-lasting effects of cross-fostering on the emotional behavior in ICR mice. Behav. Brain Res, 198: 172-178 (2009). 別刷 No.④	
古関竹直, 毛利彰宏, 村井里菜, 永井拓, 野田幸裕, 鍋島俊隆 【統合失調症の病態進行・難治化と動物モデル】難治性統合失調症の動物モデルと治療薬開発 脳と精神の医学 19 巻 1 号 Page31-40(2008) 別刷 No.⑯	
小松修一, 郡司明彦, 鍋島俊隆 最新の禁煙治療に対する考察 日本の喫煙状況と禁煙治療の実際 Pharma Medica 26 巻 10 号 Page145-164(2008) 別刷 No.⑮	
名城大学薬学部 助教	間宮 隆吉
Iwata Y, Suzuki K, Wakuda T, Seki N, Thanseem I, Matsuzaki H, Mamiya T, Ueki T, Mikawa S, Sasaki T, Suda S, Yamamoto S, Tsuchiya KJ, Sugihara G, Nakamura K, Sato K, Takei N, Hashimoto K, Mori N. Irradiation in adulthood as a new model of schizophrenia. PLoS ONE. 3(5):e2283 (2008). 別刷 No.⑫	

間宮隆吉 鍋島俊隆 マウスを用いた学習記憶試験法 老化・老年病研究のための動物実験ガイドブック 日本基礎老化学会 編 (株)アドスリー、東京(2008)		別刷 No.⑩
名城大学薬学部・教授	野田幸裕	
Ito, Y., Yamada, S., Takahashi, N., Saito, S., Yoshimi, A., Inada, T., Noda, Y. and Ozaki, N. No Association Between the Protein Tyrosine Phosphatase, Receptor-Type, Z Polypeptide 1 (PTPRZ1) Gene and Schizophrenia in the Japanese Population. <i>Am. J. Med. Genet B Neuropsychiatr. Genet.</i> , 147B, 1013-1018, 2008.		別刷 No.①
Tsunekawa, H., Noda, Y., Miyazaki, M., Yoneda, F., Nabeshima, T. and Wang, D.: Effects of (R)-(-)-1-(benzofuran-2-yl)-2-propylaminopentane hydrochloride [(-)-BPAP] in animal models of mood disorders. <i>Behav. Brain Res.</i> , 189, 107-116, 2008.		別刷 No.②
Tsunekawa, H., Noda, Y., Mouri, A., Yoneda, F. and Nabeshima, T.: Synergistic effects of selegiline and donepezil on cognitive impairment induced by amyloid beta (25-35). <i>Behav. Brain Res.</i> , 190, 224-232, 2008.		別刷 No.③
Iwamoto, K., Takahashi, M., Nakamura, Y., Kawamura, Y., Ishihara, R., Uchiyama, Y., Ebe, K., Noda, A., Noda, Y., Yoshida, K., Iidaka, T. and Ozaki, N.: The effects of acute treatment with paroxetine, amitriptyline, and placebo on driving performance and cognitive function in healthy Japanese subjects: A double-blind crossover trial. <i>Hum. Psychopharmacol.</i> , 23, 399-407, 2008.		別刷 No.⑥
Nagai, T., Murai, R., Matsui, K., Kamei, H., Noda, Y., Furukawa, F. and Nabeshima, T. Aripiprazole ameliorates phencyclidine-induced impairment of recognition memory through dopamine D1 and serotonin 5-HT1A receptors. <i>Psychopharmacology (Berl)</i> , 202, 315-328, 2009.		別刷 No.⑬
玉地亜衣、吉見 陽、野田幸裕 心の病を治す薬の作用。 こころのりんしょう a・la・carte, 27, 415-421, 2008.		別刷 No.⑭
吉見 陽、野田幸裕、齋藤真一、尾崎紀夫:統合失調症の病態と新薬開発の動向。 脳と精神の医学, 19, 165-172, 2008		別刷 No.⑰

名古屋大学大学院医学系研究科・ 医学部附属病院薬剤部	教授	山田清文
Arai, S., Takuma, K., Mizoguchi, H., Nagai, T., Kamei, H. and Yamada, K. GABAB receptor agonist baclofen improve methamphetamine-induced cognitive deficit in mice. Eur. J. Pharmacol., 602: 101-104, 2009. 別刷No.⑤		
Nagai, T. Nabeshima, T. and Yamada, K. Basic and translational research on proteinase-activated receptors: Regulation of nicotine reward by the tissue plasminogen activator (tPA)-plasmin system via proteinase-activated receptor 1. J. Pharmacol. Sci., 108: 4048-414, 2008. 別刷No.⑩		
Niwa, M., Nitta, A., Cen, X., Kitaichi, K., Ozaki, N., Yamada, K. and Nabeshima, T. A novel molecule 'shati' increases dopamine uptake via the induction of tumor necrosis factor- α in pheochromocytoma-12 cells. J. Neurochem., 107: 1697-1708, 2008. 別刷No.⑧		
名古屋大学大学院医学系研究科・特任講師		永井 拓
Nagai T, Murai R, Matsui K, Kamei H, Noda Y, Furukawa H, Nabeshima T. Aripiprazole ameliorates phencyclidine-induced impairment of recognition memory through dopamine D1 and serotonin 5-HT1A receptors. Psychopharmacology. 202: 315-328, 2009. 別刷No.⑬		
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. 105: 921-932, 2008. 別刷No.⑦		
Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Murai R, Nagai T, Yamada K, Nabeshima T. The extensive nitration of neurofilament light chain in the hippocampus is associated with the cognitive impairment induced by amyloid beta in mice. J. Pharmacol. Exp. Ther. 327: 137-147, 2008. 別刷No.⑨		
Arai S, Takuma K, Mizoguchi H, Nagai T, Kamei H, Yamada K. GABAB receptor agonist baclofen improve methamphetamine-induced cognitive deficit in mice. Eur. J. Pharmacol. 602: 101-104, 2009. 別刷No.⑤		