

Fig. 12. The effect of galantamine on METH-induced hyperlocomotion and behavioral sensitization. Mice were treated with galantamine (GAL: 0.3 and 3 mg/kg p.o.) 30min before methamphetamine (METH: 1 mg/kg s.c.) or saline (SAL) administration once a day for 7days. Locomotor activity was measured for 120min on the 1st (acute) and 7th (chronic) day. Values indicate the mean  $\pm$  S.E. (n = 9-15). \*\*p < 0.01 compared with SAL/SAL-treated group, #p < 0.05, ###p < 0.01 compared with corresponding acute-treated group, respectively, \$p < 0.05, \$\$p < 0.01 compared with SAL/METH-treated group.

条件付け場所嗜好性試験は、動物に依存性薬物を投与した時、薬物が引き起こす感覚効果と環境刺激を結びつけさせることにより、精神依存を検討することができる。条件付け場所嗜好性試験において METH による場所嗜好性はガラントアミンの前投与により抑制された (Fig. 13)。

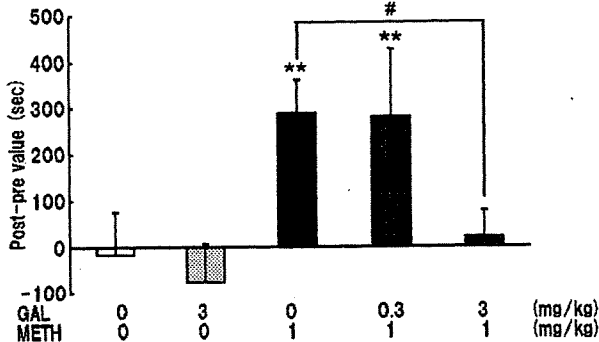


Fig. 13. The effect of galantamine on METH-induced place preference. Mice were treated with galantamine (GAL: 0.3 and 3 mg/kg p.o.) 30min before methamphetamine (METH: 1 mg/kg s.c.) or saline (SAL) administration during conditioning. Values indicate the mean  $\pm$  S.E. (n = 9-14). \*\*p < 0.01 compared with SAL/SAL-treated group, #p < 0.05 compared with SAL/METH-treated group.

薬物自己投与法は動物がレバーを押すなどして自ら薬物を摂取し、休薬過程を経て薬物関連環境刺激の再提示や少量の薬物再投与をすることで薬物に対する渴望状態を再現した薬物探索行動を観察、評価できる。本研究において、FR1 および FR2 スケジュール下で active ホールに鼻を突

っ込む回数が増加し安定したことから、METH 自己投与による自覚効果を得ていることが示唆される。その後の消去訓練では、active ホールに鼻を突っ込む回数が徐々に減少していった (Fig. 14)。

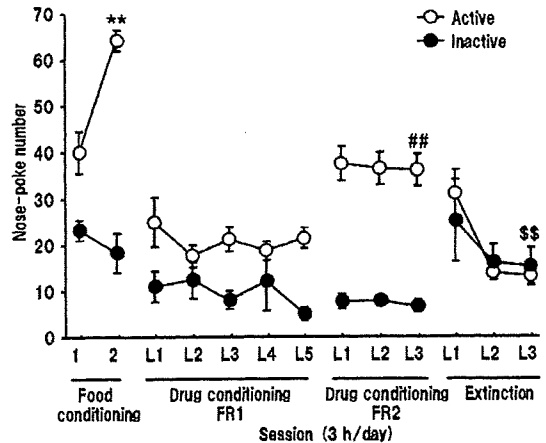


Fig. 14. Nose-poke responses during METH self-administration task. Nose-poke number during food conditioning, the last 5 sessions (session L1-L5/ FR1) and the last 3 sessions (session L1-L3/ FR2) of methamphetamine (METH) self-administration under FR1 and FR2 schedules and the last 3 sessions (L1-L3/ Extinction) of extinction training in C57BL/6J mice. Values indicate mean  $\pm$  S.E. (n=8). \*\*P < 0.01 compared with inactive nose-poke number, ##P < 0.01 compared with active nose-poke number on the last day (session L5) of the FR1 schedule, \$\$P < 0.01 compared with active nose-poke number on the last day (session L3) of the FR2 schedule.

この METH 自己投与マウスを用いて、薬物関連環境刺激による METH 探索行動に対するガラントアミンの影響を検討したところ、ランプを再提示することにより惹起される active ホールに鼻を突っ込む行動の回数の有意な増加は、ガラントアミンの前投与により有意に抑制された (Fig. 15)。

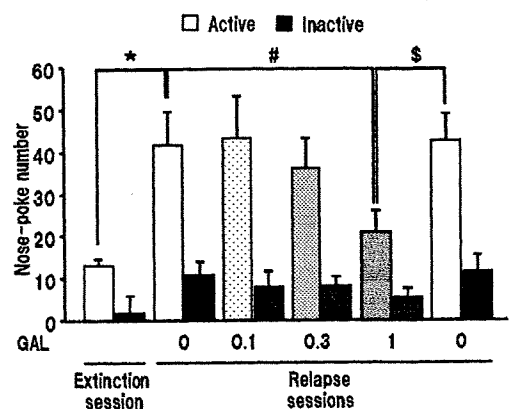


Fig. 15. The effect of galantamine on cue-induced relapse in METH-treated mice. Nose-poke responses during last extinction session and 5 sessions (Galantamine: GAL 0-1 mg/kg) of cue-induced reinstatement of drug-seeking behavior were shown. Values are mean  $\pm$  S.E. (n=8). \*p < 0.05 compared with active nose-poke number in extinction session, #p < 0.05 compared with active nose-poke number in the 1st day of relapse phase, \$p < 0.05 as compared with active nose-poke number in the 4th day of relapse sessions. SAL: Saline.

METH の投与による側坐核ドパミン細胞外遊離量の増加はガラントミンの前投与により有意に抑制されたことから、ガラントミンのMETHにより誘発される精神依存関連行動に対する抑制効果は側坐核におけるドパミン伝達の調節が関与していることが示唆される (Fig. 16).

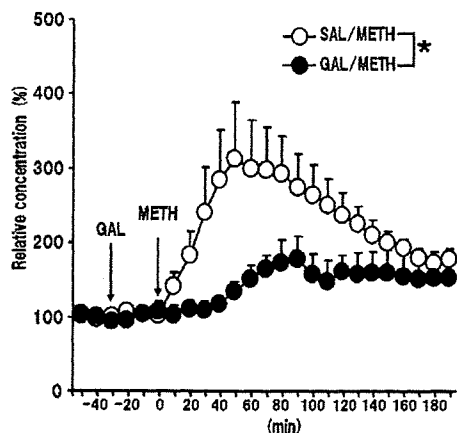


Fig. 16. The effect of galantamine on METH-induced dopamine release in nucleus accumbens. Methamphetamine (METH: 1 mg/kg s.c.)-induced dopamine release was measured in the nucleus accumbens. Galatamine (GAL) was pretreated 30min before METH treatment. Values indicate the means  $\pm$  S.E. \*  $p < 0.05$  vs. SAL/METH-treated mice. SAL; saline.

nAChR 拮抗薬メカミラミンの併用投与はガラントミンのMETHによる運動量増加/行動感作への抑制作用は拮抗したが (Fig. 17), 場所嗜好性形成への抑制作用は拮抗しなかった (Fig. 18).

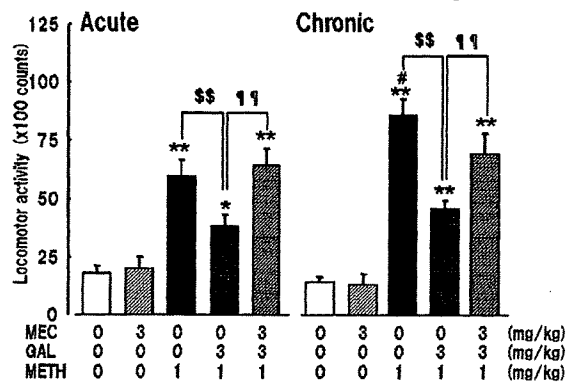


Fig. 17. The involvement of nicotinic acetylcholine receptor in suppressive effect of galantamine on METH-induced hyperlocomotion and behavioral sensitization. Mice were treated with Mecamylamine (MEC: 3 mg/kg s.c.) and Galantamine (GAL: 3 mg/kg p.o.) 30min before Methamphetamine (METH: 1 mg/kg s.c.) or saline (SAL) administration once a day for 7days. Locomotor activity was measured for 120 min on the 1st (acute) and 7th (chronic) day. Values indicate the mean  $\pm$  S.E. ( $n = 10-15$ ). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  compared with SAL/SAL/SAL-treated group, # $p < 0.05$  compared with corresponding acute-treated group, respectively, \$\$ $p < 0.01$  compared with SAL/SAL/METH-treated group, \$\$\$ $p < 0.01$  compared with SAL/SAL/METH-treated group, \$\$\$ $p < 0.01$  compared with SAL/GAL/METH-treated group.

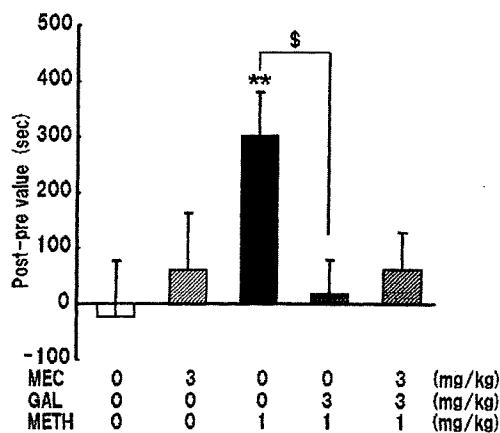


Fig. 18. The involvement of nicotinic acetylcholine receptor in suppressive effect of galantamine on METH-induced place preference. Mice were treated with Mecamylamine (MEC: 3 mg/kg s.c.) and galantamine (GAL: 3 mg/kg p.o.) 30min before methamphetamine (METH: 1 mg/kg s.c.) or saline (SAL) administration during conditioning. Values indicate the mean  $\pm$  S.E. ( $n = 10-17$ ). \*\* $p < 0.01$  compared with SAL/SAL/SAL-treated group, # $p < 0.05$  compared with SAL/SAL/METH-treated group.

mAChR 拮抗薬であるスコポラミンの併用投与によりガラントミンのMETHによる運動量増加/行動感作 (Fig.19) および場所嗜好性形成への抑制作用は拮抗された。

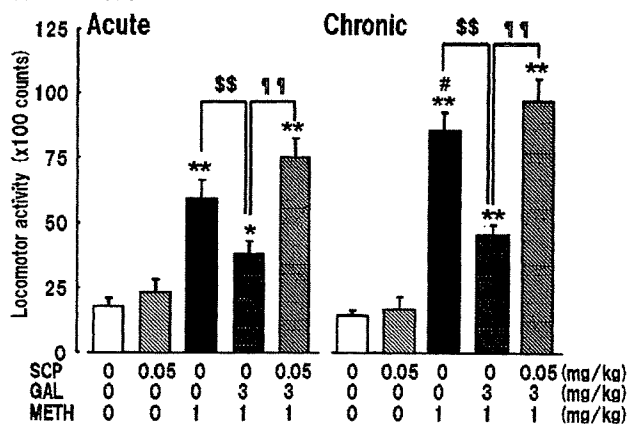


Fig. 19. The involvement of muscarinic acetylcholine receptor in suppressive effect of galantamine on METH-induced hyperlocomotion and behavioral sensitization. Mice were treated with Scopolamine (SCP: 0.05 mg/kg s.c.) and Galantamine (GAL: 3 mg/kg p.o.) 30min before METH (1 mg/kg s.c.) or saline (SAL) administration once a day for 7days. Locomotor activity was measured for 120min on the 1st (acute) and 7th (chronic) day. Values indicate the mean  $\pm$  S.E. ( $n = 10-15$ ). \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  compared with SAL/SAL/SAL-treated group, # $p < 0.05$  compared with corresponding acute-treated group, respectively, \$\$\$ $p < 0.01$  compared with SAL/SAL/METH-treated group, \$\$\$ $p < 0.01$  compared with SAL/SAL/METH-treated group, \$\$\$ $p < 0.01$  compared with SAL/GAL/METH-treated group. SAL: Saline, METH: Methamphetamine, GAL:, SCP:.

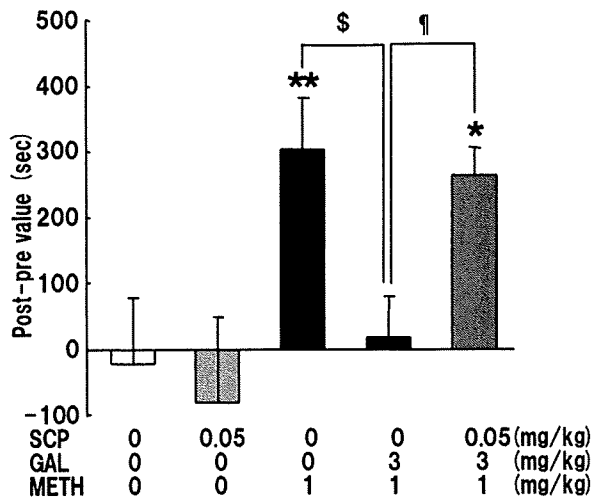
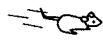





Fig. 20. The involvement of muscarinic acetylcholine receptor in suppressive effect of galantamine on METH-induced place preference. Mice were treated with scopolamine (SCP: 0.05mg/kg s.c.) and galantamine (GAL: 3 mg/kg p.o.) 30min before methamphetamine (METH: 1 mg/kg s.c.) or saline (SAL) administration during conditioning. Values indicate the mean  $\pm$  S.E. (n = 10-17). \*p<0.05, \*\*p< 0.01 compared with SAL/SAL/SAL-treated group, #p< 0.05 compared with SAL/SAL/METH-treated group, \$p< 0.05 compared with SAL/GAL/METH-treated group.

したがって、ガラタミンの METH による運動量増加/行動感作および場所嗜好性形成への抑制作用は nAChR ならびに mAChR の刺激によるものと考えられる (Table. 3).

Table.3

メタンフェタミンにより誘発される精神依存に対するガラタミンの効果

メタンフェタミンにより誘発される行動学的・生化学的変化	+ガラタミン	
	+メカミラミン (3 mg/kg)	+スコポラミン (0.03 mg/kg)
運動量増加 	↓	±
場所嗜好性 	↓	±
刺激による再発 	↓	N.D.
ドパミン濃縮 	↓	N.D.

↓: 抑制作用 ±: 拮抗作用 N.D.: 検出せず

### E. 結論

ガラタミンは、nAChR のアロステリックな調節を介して PFC におけるドパミン作動性神経系の伝達を亢進させ、学習に関連した ERK1/2 シグナルの活性化を増強することにより、PCP および METH 連続投与マウスに認められる精神および認知障害を改善するものと示唆される。また、ガラタミンは METH 精神依存の指標となる行

動変化およびそれらに関連した側坐核ドパミン細胞外遊離量増加を抑制し、それら効果は nAChR ならびに mAChR の刺激によるものと考えられる。ガラタミンはすでにアルツハイマー病の治療薬として使用されており、今後は依存性薬物による精神・認知障害および精神依存に対する治療薬としての適応拡大となる可能性が考えられる。

### [参考文献]

- 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).
- Machiyama Y: Chronic methamphetamine intoxication model of schizophrenia in animals. *Schizophr Bull*, 18: 107-13 (1992).
- Samochocki M, Höffle 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).
- 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).
- 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.
- 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: 1179-87 (2007).

7. 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*, 53: 379-89 (2007).
8. Noda Y, Mouri A, Ando Y, Waki Y, Yamada S, Yoshimi A, Yamada K, Ozaki N, Wang D, Nabeshima T. Galantamine ameliorates the impairment of recognition memory in mice repeatedly treated with methamphetamine: involvement of allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors, dopaminergic-extracellular signal-regulated kinase 1/2 systems. *Int J Neuropsychopharmacology*, inpress, (2010).

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Yan Y, Yamada K, Niwa M, Nagai T, Nitta A, 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. Ito M, Nagai T, Mizoguchi H, Fukakusa A, Nakanishi Y, Kamei H, Nabeshima T, Takuma K, 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).
3. Niwa M, Nitta A, Mizoguchi H, Ito Y, Noda Y, Nagai T, Nabeshima T.: A novel molecule 'shati' is involved in methamphetamine-induced hyperlocomotion, sensitization, and conditioned place preference. *J. Neurosci.*, 27, 7604-7615 (2007).
4. Mouri A, Noda Y, Noda A, Nakamura T, Tokura T., Yura Y, Nitta A, Furukawa H, 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).
5. 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, Kim H.-C.: Dextromethorphan attenuates trimethyltin-induced neurotoxicity via  $\alpha 1$  receptor activation in rats. *Neurochem. Int.*, 50, 791-799 (2007).
6. 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).
7. Wang D, Noda Y, Zhou Y, Nitta A, Furukawa H, 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).
8. 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).
9. Yan Y, Yamada K, Mizoguchi H, Noda Y, Nagai T, Nitta A, Nabeshima T.: Reinforcing effects of morphine are reduced in tissue plasminogen activator (tPA)-knockout mice. *Neuroscience*, 146, 50-59 (2007).
10. Mizoguchi H, Yamada K, Mouri A, Niwa M,

- Mizuno T, Noda Y, Nitta A, Itohara S, Banno Y, Nabeshima T.: Role of matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of MMP in methamphetamine-induced behavioral sensitization and reward: implications for dopamine receptor down-regulation and dopamine release. *J. Neurochem.*, 102, 1548–1560 (2007).
11. Wang D, Noda Y, Tsunekawa H, Zhou Y, Miyazaki M, Senzaki K, Nitta A, Nabeshima T.: Role of NMDA receptors in antidepressant-like effects of sigma1 receptor agonist SA-4503 in olfactory bulbectomized rats. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 322,1305-1314 (2007).
  12. Nagai T, Takuma K, Dohniwa M, Ibi D, Mizoguchi H, Kamei H, Nabeshima T, Yamada K.: Repeated methamphetamine treatment impairs spatial working memory in rats: reversal by clozapine but not haloperidol. *Psychopharmacology (Berl.)*, 194, 21-32 (2007).
  13. Ito M, Nagai T, Mizoguchi H, Sato K, Hayase M, Otsuka N, Fukakusa A, Kumagai N, Kim H.C, Nabeshima T, Takuma K, 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).
  14. Wang D, Noda Y, Zhou Y, Nitta A, Furukawa H, 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*, 53: 379-389 (2007).
  15. 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).
  16. 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).
  17. 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).
  18. 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).
  19. 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).
  20. Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Saito K, Seishima M, Itoh A, Yamada K, Nabeshima, T.: Restraining tumor necrosis factor-alpha by thalidomide prevents the Abeta-induced impairment of recognition memory in mice. *Behav. Brain Res*, 189: 100-106 (2008).
  21. Tsunekawa H, Noda Y, Miyzaki M, Yoneda F, Nabeshima T. (R)-(-)-1-(benzofuran-2-yl)-2-propylaminopentane hydrochloride [(-)-BPAP] in animal models of mood disorders. *Behav. Brain Res*, 189: 107-116 (2008).
  22. Tsunekawa H, Noda Y, Mouri A, Yoneda F, Nabeshima T. Synergistic effects of selegiline and donepezil on cognitive impairment induced by amyloid beta (25-35) *Behav. Brain Res*, 194: 224-232 (2008).
  23. 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*, 105: 436-444 (2008).
  24. 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).
25. 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*, 349: 451-463 (2008).
26. Kanazawa Y, Makino M, Morishima Y, Yamada K, Nabeshima T, Shirasaki Y. Degradation of PEP-19, a calmodulin-binding protein, by calpain is implicated in neuronal cell death induced by intracellular Ca(2+) overload. *Neuroscience*, 154: 473-481 (2008)
27. 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).
28. Yan Y, Nabeshima T. Mouse model of relapse to the abuse of drugs: Procedural considerations and characterizations. *Behav. Brain Res*, 196: 1-10 (2009).
29. 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).
30. 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).
31. Niwa M, Nitta A, Mizoguchi H, Ito Y, Noda Y, Nagai T, Nabeshima T.: A novel molecule shati increases dopamine uptake via the induction of tumor necrosis factor- in pheochromocytoma-12 cells: Shati increases dopamine uptake via TNF-a. *J. Neurochem*, 107:1697-708 (2008).
32. 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).
33. Shin EJ, Chae JS, Park SJ, Kim SC, Koo KH, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC Growth hormone-releaser diet attenuates beta-amyloid(1-42)-induced cognitive impairment via stimulation of the insulin-like growth factor (IGF)-1 receptor in mice. *J Pharmacol Sci*, 109: 139-143 (2009).
34. Niwa M, Yan Y, Nabeshima T. Genes and molecules that can potentiate or attenuate psychostimulant dependence: relevance of data from animal models to human addiction. *Ann N Y Acad Sci*, 1141: 76-95 (2008).
35. 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: 408-414 (2008).
36. 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).
37. 辻美江, 石川和宏, 野田幸裕, 山田清文, 田中聡, 尾崎紀夫, 鍋島俊隆 【処方計画法】 心身・精神疾患 薬物依存症 総合臨床 57 巻増刊 Page1458-1461(2008).
38. 丹羽美苗, 鍋島俊隆 GDNFおよびTNF-a誘導剤が薬物依存症治療薬になりうる 分子精神医学 8巻2号 Page168-171(2008.04)
39. Noda Y, Mouri A, Ando Y, Waki Y, Yamada S, Yoshimi A, Yamada K, Ozaki N, Wang D,

- Nabeshima T. Galantamine ameliorates the impairment of recognition memory in mice repeatedly treated with methamphetamine: involvement of allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors, dopaminergic-extracellular signal-regulated kinase 1/2 systems. *Int J Neuropsychopharmacology*, In press (2010).
40. Alkam T, Nitta A, Furukawa-Hibi Y, Niwa M, Mizoguchi H, Yamada K, Nabeshima T. Oral supplementation with Leu-Ile, a hydrophobic dipeptide, prevents the impairment of memory induced by amyloid beta in mice via restraining the hyperphosphorylation of extracellular signal-regulated kinase. *Behav Brain Res*, In press (2010).
  41. Ikeda M, Tomita Y, Mouri A, Koga M, Okochi T, Yoshimura R, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Hashimoto R, Williams HJ, Takeda M, Nakamura J, Nabeshima T, Owen MJ, O'Donovan MC, Honda H, Arinami T, Ozaki N, Iwata N. Identification of Novel Candidate Genes for Treatment Response to Risperidone and Susceptibility for Schizophrenia: Integrated Analysis Among Pharmacogenomics, Mouse Expression, and Genetic Case-Control Association Approaches. *Biol Psychiatry*. In press (2010).
  42. Lu L, Mamiya T, Lu P, Toriumi K, Mouri A, Hiramatsu M, Kim HC, Zou LB, Nagai T, Nabeshima T. Prenatal exposure to phencyclidine produces abnormal behaviour and NMDA receptor expression in postpubertal mice. *Int J Neuropsychopharmacol*. In press (2010).
  43. Niwa M, Kamiya A, Murai R, Kubo K, Gruber AJ, Tomita K, Lu L, Tomisato S, Jaaro-Peled H, Seshadri S, Hiyama H, Huang B, Kohda K, Noda Y, O'Donnell P, Nakajima K, Sawa A, Nabeshima T. Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. *Neuron* 65: 1-10 (2010).
  44. Lu P, Mamiya T, Lu L, Mouri A, Niwa M, Kim HC, Zou LB, Nagai T, Yamada K, Ikejima T, Nabeshima T. Silibinin attenuates cognitive deficits and decreases of dopamine and serotonin induced by repeated methamphetamine treatment. *Behav Brain Res* 207: 387-393 (2010).
  45. Mouri A, Noda Y, Shimizu S, Tsujimoto Y, Nabeshima T. The Role of Cyclophilin D in Learning and Memory. *Hippocampus* 20: 293-304 (2010).
  46. Ibi D, Nagai T, Koike H, Kitahara Y, Mizoguchi H, Niwa M, Jaaro-Peled H, Nitta A, Yoneda Y, Nabeshima T, Sawa A, Yamada K. Combined effect of neonatal immune activation and mutant DISC1 on phenotypic changes in adulthood. *Behav Brain Res* 206: 32-37 (2010).
  47. Mizoguchi H, Arai S, Koike H, Ibi D, Kamei H, Nabeshima T, Kim HC, Takuma K, Yamada K. Therapeutic potential of nicotine for methamphetamine-induced impairment of sensorimotor gating: involvement of pallidotegmental neurons. *Psychopharmacology (Berl)* 207: 235-243 (2009).
  48. Ibi D, Nitta A, Ishige K, Cen X, Ohtakara T, Nabeshima T, Ito Y. Piccolo knockdown-induced impairments of spatial learning and long-term potentiation in the hippocampal CA1 region. *Neurochem Int* 56: 77-83 (2009).
  49. Lu P, Mamiya T, Lu LL, Mouri A, Niwa M, Hiramatsu M, Zou LB, Nagai T, Ikejima T, Nabeshima T. Silibinin attenuates amyloid 25-35 peptide-induced memory impairments: Implication of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-a) in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 331: 319-326 (2009).
  50. Mizoguchi H, Takuma K, Fukuzaki E, Ibi D, Someya E, Akazawa KH, Alkam T, Tsunekawa H, Mouri A, Noda Y, Nabeshima T, Yamada K. Matrix metalloprotease-9 inhibition improves amyloid  $\beta$ -mediated cognitive impairment and neurotoxicity in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 331: 14-22 (2009).
  51. Shin EJ, Bing G, Chae JS, Kim TW, Bach JH, Park DH, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC. Role of Microsomal Epoxide Hydrolase in Methamphetamine-induced Drug Dependence in Mice. *Journal of Neuroscience Research* 87: 3679-3686 (2009).
  52. Jin CH, Shin EJ, Park JB, Jang CG, Li Z, Kim

- MS, Koo KH, Yoon HJ, Park SJ, Choi WC, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC. Fustin flavonoid attenuates  $\beta$ -amyloid (1-42)-induced learning impairment. *J Neurosci Res* 87: 3658-3670 (2009).
53. Tomida S., Mamiya T., Sakamaki H., Miura M., Aosaki T., Niwa M., Kameyama T., Kobayashi J., Iwaki Y., Imai S., Ishikawa A., Abe K., Yoshimura T., Nabeshima T., and Ebihara S. Identification of Usp46, encoding a ubiquitin specific peptides, as a quantitative trait gene regulating mouse immobile behavior in the tail suspension test and the forced swimming test. *Nature Genetics* 43: 648-653 (2009).
54. Lu P, Mamiya T, Lu LL, Mouri A, Zou L, Nagai T, Hiramatsu M, Ikejima T, Nabeshima T. Silibinin prevents amyloid  $\beta$  peptide-induced memory impairment and oxidative stress in mice.:Silibinin and memory deficits. *British Journal of Pharmacology* 157: 1270-1277 (2009).
55. Shin EJ, Jang CG, Bing G, Park DH, Oh CH, Koo KH, Oh KW, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC. Prodynorphin gene deficiency potentiates nalbuphine-induced behavioral sensitization and withdrawal syndrome in mice. *Drug and Alcohol Dependence* 104: 175-184 (2009).
56. Ibi D, Nagai T, Kitahara Y, Mizoguchi H, Koike H, Shiraki A, Takuma K, Kamei H, Noda Y, Nitta A, Nabeshima T, Yoneda Y, Yamada K. Neonatal polyI:C treatment in mice results in schizophrenia-like behavioral and neurochemical abnormalities in adulthood. *Neurosci Res* 64: 297-305 (2009).
57. Koike H, Ibi D, Mizoguchi H, Nagai T, Nitta A, Takuma K, Nabeshima T, Yoneda Y, Yamada K. Behavioral abnormality and pharmacologic response in social isolation-reared mice. *Behav Brain Res* 202: 114-121 (2009).
58. Hritcu L, Clicinschi M, Nabeshima T. Kainic acid lesion-induced spatial memory deficits of rats. *Central Europe. Journal of Biology* 4: 179-185 (2009).
59. Villard V, Espallergues J, Keller E, Alkam T, Nitta A, Yamada K, Nabeshima T, Vamvakides A, Maurice T. Antiamnesic and Neuroprotective Effects of the Aminotetrahydrofuran Derivative ANAVEX1-41 Against Amyloid beta(25-35)-Induced Toxicity in Mice. *Neuropsychopharmacology* 34: 1552-1566 (2009).
60. Shin EJ, Chae JS, Park SJ, Kim SC, Koo KH, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC. Growth hormone-releaser diet attenuates beta-amyloid(1-42)-induced cognitive impairment via stimulation of the insulin-like growth factor (IGF)-1 receptor in mice. *J Pharmacol Sci* 109: 139-143 (2009).
61. 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).
62. 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).
63. Miwa M, Shinki C, Uchida S, Hiramatsu M. Distinct effects of nociceptin analogs on scopolamine-induced memory impairment in mice. *Eur J Pharmacol* 602: 328-333 (2009).
64. Yan Y, Nabeshima T. Mouse model of relapse to the abuse of drugs: Procedural considerations and characterizations. *Behav. Brain Res* 196: 1-10 (2009).
65. 野田幸裕, 毛利彰宏, 鍋島俊隆 第1編 行動薬理研究における実験技術 10 統合失調症動物モデルとその評価法 実践行動薬理学 79-93 (2010).
66. 野田幸裕, 毛利彰宏, 脇由香里, 鍋島俊隆 臨床知見に基づいた統合失調症動物モデルを作製するために - 統合失調症モデル作成のため, 基礎研究者が臨床医に臨むこと - 日本神経薬理学雑誌 29巻, 2号, 47-53 (2009).

## 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-1le against methamphetamine and morphine dependence in mice. 69th Annual Meeting of College on Problems of Drug Dependence (Quebec City, Canada, June, 2007)
2. Nabeshima, T., Niwa, M., Yamada, K., Saito, K., Seishima, M., Noda, Y. and Nitta, A.: Tumor necrosis factor- $\alpha$  and its inducer inhibit drug-induced dependence. 69th Annual Meeting of College on Problems of Drug Dependence (Quebec City, Canada, June, 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, 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, 2007)
  5. Nitta, A., Ishikawa, K., Mizoguchi, H., Mouri, A., Murai, R., Miyamoto, Y., Noda, Y., Kitaichi, K., Yamada, K. and Nabeshima, T.: Effects of single and repeated administration of methamphetamine or morphine on neuroglycan C gene expression in the rat brain. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007), San Diego, California, U.S.A. (November, 2007)
  6. Kushida, S., Hori, N., Kimoto, K., Nitta, A., Nabeshima, T. and Onozuka, M.: Changes of masticatory activity influenced the dopamine release levels in the hippocampus. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007), San Diego, California, U.S.A. (November, 2007)
  7. Alkam, T., Nitta, A., Mizoguchi, H., Itoh, A. and Nabeshima, T.: A natural scavenger of peroxynitrite, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by Abeta(25-35). 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007), San Diego, California, U.S.A. (November, 2007)
  8. Niwa, M., Nitta, A., Yamada, Y., Saito, K., Seishima, M., Shen, L., Noda, Y. and Nabeshima, T.: Inhibitory effects of TNF- $\alpha$  and its inducer on morphine-induced rewarding effects and behavioral sensitization. 37th Annual Meeting of Society for Neuroscience (Neuroscience 2007), San Diego, California, U.S.A. (November, 2007)
  9. 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. 第 111 回日本薬理学会近畿部会 (名古屋, 2007.6)
  10. Wang, D., Noda, Y., Nitta, A. and Nabeshima, T.: Allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors by galantamine ameliorates the cognitive dysfunction in beta amyloid<sub>25-35</sub> i.c.v.-injected mice: involvement of dopaminergic systems. 第 111 回日本薬理学会近畿部会 (名古屋, 2007.6)
  11. 串田祥生, 堀紀雄, 木本克彦, 豊田實, 新田淳美, 鍋島俊隆, 小野塚実: 軟性食餌飼育がドパミン遊離量に及ぼす影響. (Effect of Semi-fluid diet breeding on the hippocampal dopamine release.) 第 30 回日本神経科学大会, 第 50 回日本神経化学学会大会, 第 17 回日本神経回路学会大会合同学会 (横浜, 2007.9)
  12. Tursun Alkam, Atsumi Nitta, Hiroyuki Mizoguchi, Akio Itoh, Toshitaka Nabeshima: A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by Abeta (25-35). 第 30 回日本神経科学大会, 第 50 回日本神経化学学会大会, 第 17 回日本神経回路学会大会合同学会 (横浜, 2007.9)
  13. 溝口博之, 山田清文, 丹羽美苗, 毛利彰宏, 野田幸裕, 新田淳美, 糸原重美, 坂野喜子, 鍋島俊隆: メタンフェタミン連続投与による異常行動とマトリクスメタロプロテアーゼの生理活性変化. 第 42 回日本アルコール・薬物医学会, 第 19 回日本アルコール精神医学会, 第 10 回二

- コチン・薬物依存研究フォーラム平成 19 年度合同学術総会 (大津, 2007.9)
14. 新田淳美, 奥野友香, 曾南, 丹羽美苗, 宮崎雅之, 野田幸裕, 鍋島俊隆: ストレス誘発うつ病モデル動物におけるニコチン連続投与による抗うつ作用. 第 42 回日本アルコール・薬物医学会, 第 19 回日本アルコール精神医学会, 第 10 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム平成 19 年度合同学術総会 (大津, 2007.9)
  15. 新田淳美, 古川昭栄, 山田清文, 鍋島俊隆: 疎水性ジペプチドによる神経栄養因子誘導と精神・神経疾患治療薬への可能性. 第 35 回薬物活性シンポジウム (広島, 2007.11)
  16. Nabeshima T. (Invited lecture) Our Bright Future: International Collaboration Francke Medal Lecture, ASHP Meeting, (Seattle, 2008.6)
  17. Purified compounds from chinese natural products induce or inhibit apoptosis or autophagy: Mutual relationship between apoptosis and autophagy. Takashi IKEJIMA, Ping LU and Toshitaka NABESHIMA. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  18. Disturbance of disrupted-in-schizophrenia-1 in the cerebral cortex impairs neurodevelopment via in utero gene transfer. Toshitaka NABESHIMA, Minae NIWA, Rina MURAI, Yukihiro NODA, Atsushi KAMIYA, Ken-ichiro KUBO, Lingling LU, Hanna JAARO-PELED, Kazunori NAKAJIMA, and Akira SAWA. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  19. Learning and memory impairment by water-immersion restraint stress and its underlying molecular mechanism. Masayuki HIRAMATSU, Yukari TAKAHASHI, Yusuke KAKEHI, Anna AMANO, Mio KAWAMURA, Masaya MIWA and Toshitaka NABESHIMA. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  20. Molecular mechanism of cognitive deficits in schizophrenic animal models and efficacy of antipsychotics. Yukihiro NODA, Akihiro MOURI, Rina MURAI, Minae NIWA, Hiroshi FURUKAWA, Toshitaka NABESHIMA. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  21. The extensive nitration of neurofilament light chain in the hippocampus is associated with the cognitive impairment induced by amyloid in mice. Tursun ALKAM, Atsumi NITTA, Hiroyuki MIZOGUCHI, Akio ITOH, Rina MURAI, Taku NAGAI, Kiyofumi YAMADA, and Toshitaka NABESHIMA. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  22. Prenatal psychological stress causes anxiety and depression-like behavior and serotonin depletion in the prefrontal cortex. P Lu, T Mamiya, A Mouri, LL Lu, M Hiramatsu, LB Zou, T Ikejima, T Nabeshima. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  23. Long-lasting effects of prenatal exposure to nmda receptor antagonist, phencyclidine on behavior and drug-induced sensitivities in mice. Lingling Lu, Takayoshi Mamiya, Akihiro Mouri, Ping Lu, Masayuki Hiramatsu, Li-Bo Zou, Toshitaka Nabeshima. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  24. Dipeptide leu-ile has an anti-depressant like effect in a chronic forced swim test. Yoko HIBI, Atsumi NITTA, Takeshi IKEDA, Koji MORISHITA, Toshitaka NABESHIMA and Kiyofumi YAMADA (Poster). International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  25. Efficacy of metylphenidate and atomoxetine in pcp-treated animal. Shiho Narusawa Akihiro Mouri, Kazuya Toriumi, Takenao Koseki, Yuuki Aoyama, Natsumi Ikawa, Takayoshi Mamiya, Toshitaka Nabeshima (Poster) International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  26. Uptake via the induction of tumor necrosis factor in pc-12 cells. Minae NIWA, Atsumi NITTA, Xiaobo CEN, Norio OZAKI, and Toshitaka

- NABESHIMA (Poster) Methamphetamine dependence-related molecule 'shati' increases dopamine. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders.名古屋 (2008.9)
27. Prenatal treatment with phencyclidine induced the behavioral deficits in mice. Kazuya TORIUMI, Akihiro MOURI, Shiho NARUSAWA, Yuki AOYAMA, Natsumi IKAWA, Lingling LU, Toshitaka NABESHIMA (Poster) International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders.名古屋 (2008.9)
  28. The ameliorating effect of galantamine on cognitive impairment through nicotin-dopamine-erk1/2 systems in mice treated with methamphetamine repeatedly. Yu ANDO, Yukihiko NODA, Dayong WANG, Yukari WAKI, Hiroki KUWAHARA, Akihiro MOURI and Toshitaka NABESHIMA(Poster) International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders.名古屋 (2008.9)
  29. The roles of glutamate transporter, glast in learning and memory. Yukari WAKI, Rina MURAI, Akira YOSHIMI, Shinnosuke YAMADA, Yu ANDO, Akihiro MOURI, Norio OZAKI, Kiyofumi YAMADA, Kohichi TANAKA, Yukihiko NODA and Toshitaka NABESHIMA (Poster) International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders.名古屋 (2008.9)
  30. Activation of postsynaptic dopamine D1 receptors promotes the release of tissue plasminogen activator in the nucleus accumbens via PKA signaling. Taku NAGAI, Mina ITO, Hiroyuki MIZOGUCHI, Hyoung-Chun KIM, Toshitaka NABESHIMA, Kiyofumi YAMADA (Poster) International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders.名古屋 (2008.9)
  31. Involvement of dopamine D4 receptor in the effects of clozapine on cognitive dysfunction in phencyclidine-treated mice. Akihiro MOURI, Yukihiko NODA, Akihiro NODA and Toshitaka NABESHIMA. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  32. Enriched environment in childhood prevents abnormal behaviors induced by phencyclidine in adulthood (Poster) Takenao KOSEKI, Akihiro MOURI, Takayoshi MAMIYA, Yuki AOYAMA, Hiroshi FURUKAWA and Toshitaka NABESHIMA. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders.名古屋 (2008.9)
  33. Nociceptin improves long-term memory impairment induced by a mek inhibitor, but not a pka inhibitor. (Poster) Masaya MIWA, Shogo UCHIDA, Fumika HORIBA, Kumi FUJII, Toshitaka NABESHIMA and Masayuki HIRAMATSU. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  34. Involvement of inflammatory cytokines in learning and memory impairment induced by water-immersion restraint stress. (Poster) Yukari TAKAHASHI, Anna AMANO, Mio KAWAMURA, Masaya MIWA, Toshitaka NABESHIMA and Masayuki HIRAMATSU. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders.名古屋 (2008.9)
  35. Growth hormone releaser ameliorates b-amyloid (1-42)-induced cognitive deficit in mice. (Poster) Kyo Hwan KOO, Eun-Joo SHIN, Jong Seok CHAE, Seok Joo PaRK, Minsoo KIM, Kiyofumi YAMADA, Toshitaka NABESHIMA and Hyoung-Chun KIM. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  36. Effect of cilostazol on learning and memory impairment induced by $\beta$ -amyloid peptide (25-35) in mice. (Poster) Osanao TAKIGUCHI, Shota SEKI, Hiromasa MORI, Toshitaka NABESHIMA and Masayuki HIRAMATSU. International Symposium on Brain Development and Neuropsychiatric Disorders. 名古屋 (2008.9)
  37. Knockdown of Disrupted-in-schizophrenia-1 in the developing cerebral cortex leads to dopaminergic disturbance and behavioral deficits after puberty. (Symposium) Toshitaka NABESHIMA, Minae NIWA, Atsushi KAMIYA, Rina MURAI, Ken-ichiro KUBO, Lingling LU,

- Hanna JAARO-PELED, Kazunori NAKAJIMA, Yukihiro NODA and Akira SAWA. The 19th Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology, Pusan (2008.11)
38. The functional roles of methamphetamine dependence-related molecule 'shati'. (Oral) Minae NIWA, Atsumi NITTA, Hiroyuki MIZOGUCHI, Xiaobo CEN, Yoshitomo ITOH, Norio OZAKI and Toshitaka NABESHIMA. The 19th Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology, Pusan (2008.11)
39. Anti-ADHD drugs attenuate abnormal behaviors induced by PCP. (Poster) Shiho NARUSAWA, Akihiro MOURI, Kazuya TORIUMI, Takenao KOSEKI, Yuki AOYAYAMA, Natsumi IKAWA, Takayoshi MAMIYA, Toshitaka NABESHIMA. The 19th Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology, Pusan (2008.11)
40. PRENATAL PHENCYCLIDINE-TREATED MICE SHOWED ABNORMAL BEHAVIOR IN ADULT. (Poster) Kazuya TORIUMI, Akihiro MOURI, Shiho NARUSAWA, Yuki AOYAMA, Natsumi IKAWA, Lingling LU, Toshitaka NABESHIMA. The 19th Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology, Pusan (2008.11)
41. Phencyclidine-induced abnormal behaviors in adulthood is prevented by enriched environment breeding in childhood. (Poster) Takenao KOSEKI, Akihiro MOURI, Takayoshi MAMIYA, Yuuki AOYAMA, Hiroshi HURUKAWA and Toshitaka NABESHIMA. The 19th Korea-Japan Joint Seminar on Pharmacology, Pusan (2008.11)
42. 遺伝子変異マウスを用いた薬物依存モデルの行動解析 : Behavioral Analysis of animal model for drug dependence/addiction in mutant mice. 山田清文、Yan Yijin、永井拓、溝口博之、新田淳美、鍋島俊隆 (シンポジウム) 日本実験動物科学技術 2008 大会 (第 55 回日本実験動物学会総会、第 42 回日本実験動物技術者協会総会 仙台 (2008.5))
43. 統合失調症モデルマウスに認められる情動障害におけるグルタミン酸トランスポーターの関与について 毛利 彰宏、野田 幸裕、村井 里菜、脇由 香里、田中 光一、鍋島 俊隆 第 3 回トランスポーター研究会年会、京都 (2008.6)
44. Restraining tumor necrosis factor-alpha by thalidomide prevents the Amyloid beta-induced impairment of recognition memory in mice. (一般) Tursun Alkam, Atsumi Nitta, Hiroyuki Mizoguchi, Kuniaki Saito, Mitsuru Seshima, Akio Itoh, Kiyofumi Yamada, Toshitaka Nabeshima. 第 113 回薬理学会近畿部会、岡山 (2008.6)
45. Protective effect of silibinin on amyloid  $\beta$  peptide-induced learning and memory deficits in mice. (一般) 路 平、陸 玲玲、間宮隆吉、池島 喬、鍋島俊隆 第 113 回薬理学会近畿部会、岡山 (2008.6)
46. アルツハイマー病認知症薬・塩酸ドネペジル服用患者家族に関するアンケート調査 (ポスター) 榊原幹夫、石原俊樹、岡田啓、荒井恵二、鍋島俊隆 第 10 回日本医療マネジメント学会学術総会、名古屋、(2008.6)
47. メタンフェタミン依存における“Shati”の生理機能の解明 丹羽美苗、新田淳美、溝口博之、伊藤康之、野田幸裕、永井拓、尾崎紀夫、鍋島俊隆 Neuroscience2008 (第 31 回日本神経科学学会大会)、横浜 (2008.7)
48. モルヒネ誘発性精神障害における tPA-プラスミンシステムの役割 (一般) 永井拓、鍋島俊隆、山田清文 第 51 回日本神経化学学会年会 日本生物学的精神医学会合同シンポジウム 富山 (2008.9)
49. Identification of piccolo as a regulator of behavioral plasticity and dopamine transporter internalization. Nitta Atsumi, Xiaobo Cen, Ibi Daisuke, Niwa Minae, Yamada Kiyofumi, Nabeshima Toshitaka. 第 51 回日本神経化学学会年会 富山 (2008.9)
50. A novel molecule “Shati” ameliorates the methamphetamine-induced decrease in dopamine uptake via necrosis factor-a in PC12 cells. Niwa Minae, Nitta Atsumi, Cen Xiaobo, Ozaki Norio, Toshitaka Nabeshima. 第 51 回日本神経化学学会年会 富山 (2008.9)
51. The extensive nitration of neurofilament light chain in the hippocampus contributes to the cognitive impairment in AB-treated mice. Alkam Trusun, Nitta Atsumi, Mizoguchi Hiroyuki, Itoh

- Akio, Yamada Kiyofumi, Nabeshima Toshitaka 第 51 回日本神経化学学会年会 富山 (2008.9)
52. What is appropriate animal models of mental disorders? : Dialogue between basic science and clinical field 鍋島俊隆 (オーガナイザー) シンポジウム 1 精神疾患モデルは如何にあるべきか: 基礎と臨床の対話 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)
53. 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(シンポジウム) 野田幸裕 他 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)
54. ジペプチド Leu-Ile は連続強制水泳によるうつ様症状の誘導を抑制する (口演) 日比(古川)陽子、新田淳美、池田武史、森下幸治、衣斐大祐、鍋島俊隆、山田清文 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)
55. PCP 連続投与マウスに認められる行動障害に対する酪酸ナトリウムの効果 (ポスター) 青山雄紀、毛利彰宏、井川夏実、古関竹直、間宮隆吉、鍋島俊隆 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)
56. 明暗リズムおよび気温を変化させた飼育環境がマウスの情動・認知機能に及ぼす影響 (ポスター) 井川夏実、毛利彰宏、青山雄紀、間宮隆吉、鍋島俊隆 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)
57. モルヒネ依存におけるシクロフィリン D の関与 小林万佑子、古関竹直、毛利彰宏、間宮隆吉、山田清文、清水重臣、辻本賀英、鍋島俊隆 (ポスター) 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)
58. 覚せい剤精神病から単離・同定した piccolo 分子の生理機能について研究 (ポスター) 新田淳美、Cen Xiaobo, 衣斐大祐、日比陽子、丹羽美苗、伊藤友康、山田清文、鍋島俊隆 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)
59. 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 (ポスター) 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 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)
60. 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 (ポスター) 毛利彰宏、野田幸裕、古川宏、小林和人、鍋島俊隆 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)
61. 胎生期における NMDA 受容体拮抗薬フェンサイクリジンの効果 (シンポジウム) 鳥海和也、毛利 彰宏、成澤 志穂、青山 雄紀、井川 夏実、陸 玲玲、永井 拓、鍋島 俊隆 名城大学学術フロンティア事業第 1 回若手シンポジウム 名古屋 (2009. 3)
62. 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 (ポスター) 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: 第 82 回日本薬理学会年会 横浜 (2009. 3)
63. 丹羽美苗, 神谷篤, 村井里菜, 久保健一郎, Jaaro-Peled Hanna, 陸玲玲, 仲嶋一範, 野田幸裕, 澤明, 鍋島俊隆: 発達期大脳皮質における Disrupted-in-Schizophrenia-1 の役割: ドパミン作動性神経系および精神疾患への関与 第 82 回日本薬理学会年会横浜 (2009. 3)
64. 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 横浜 (2009. 3)
65. 溝口博之, 田熊一徹, 衣斐大祐, アルカムトルソン, 毛利彰宏, 野田幸裕, 鍋島俊隆, 山田清文: アミロイド蛋白により誘発される記憶障害における Matrix metaroproteinasases の役割: 第 115 回日本薬理学会近畿部会 金沢(2009. 6)
66. 日比(古川)陽子, 新田淳美, 池田武史,

- 森下幸治, 鍋島俊隆, 山田清文: ジペプチド Leu-Ile による抗うつ効果の解析: 第 115 回日本薬理学会近畿部会 金沢(2009. 6)
67. 山田真之亮, 永井拓, 吉見陽, 野田幸裕, 尾崎紀夫: 精神疾患発症脆弱性因子の網羅的解析による病態解明のためのアプローチ第 55 回(平成 21 年度)日本薬学会東海支部総会・大会 名古屋 (2009. 7)
68. 毛利彰宏, 野田 幸裕, Dayong Wang, 安藤雄, 脇由香里, 古関竹直, 間宮隆吉, 鍋島俊隆: 覚せい剤により誘発される精神障害に対するガラントミンの効果: 第 12 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム(第 44 回日本アルコール・薬物医学会・第 21 回日本アルコール精神医学会・平成 21 年度合同学術総会) 横浜 (2009. 9)
69. 永井拓, 鍋島俊隆, 山田清文: ニコチンの報酬効果における組織プラスミノージェン活性化因子の関与: 第 12 回ニコチン・薬物依存研究フォーラム(第 44 回日本アルコール・薬物医学会・第 21 回日本アルコール精神医学会・平成 21 年度合同学術総会) 横浜 (2009. 9)
70. 丹羽美苗, Hannna JP, 尾崎紀夫, 澤明, 鍋島俊隆: 隔離飼育ストレス負荷 Disrupted-in-Schizophrenia-1 変異遺伝子過剰発現マウスは新規統合失調症および気分障害病態モデルマウスとして有用である: 第 52 回日本神経化学会大会 伊香保 (2009. 9)
71. 衣斐大祐, 永井拓, 新田淳美, 鍋島俊隆, 澤明, 山田清文: 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エンドフェノタイプにおける polyI:C 処置の影響: 第 32 回日本神経科学会大会 Neuro2009 名古屋(2009. 9)
72. 鳥海和也, 毛利彰宏, 成澤志穂, 青山雄紀, 井川夏実, 陸玲玲, 永井拓, 鍋島俊隆: 胎生期におけるフェンシクリジンの投与は神経産生を障害し、長期間持続する行動障害をもたらす: 第 32 回日本神経科学会大会 Neuro2009 名古屋 (2009. 9)
73. 新田淳美, 山田清文, 鍋島俊隆: ピッコロによるドパミントランスporter 内在化抑制とマウス行動変化: 第 32 回日本神経科学会大会 Neuro2009 名古屋 (2009. 9)
74. 丹羽美苗, 神谷篤, 村井里菜, 久保健一郎, Hanna Jaaro-Peled, 陸玲玲, 尾崎紀夫, 仲嶋一範, 野田幸裕, 澤明, 鍋島俊隆: 発達期大脳皮質における Disrupted-in-Schizophrenia-1 の発現異常はドパミン作動性神経系機能異常を伴う精神疾患表現型を発現する: 第 32 回日本神経科学会大会 Neuro2009 名古屋 (2009. 9)
75. 溝口博之, 衣斐大祐, 亀井浩之, 鍋島俊隆, H-C Kim, 田熊 一徹, 山田 清文, 覚せい剤誘発感覚情報処理機能障害に対するニコチンの有効性: 第 32 回日本神経科学会大会 Neuro2009 名古屋 (2009. 9)
76. 青山雄紀, 毛利彰宏, 鳥海和也, 古関竹直, 成澤志穂, 井川夏実, 間宮隆吉, 鍋島俊隆: フェンサイクリジン連続投与マウスを用いた抗精神病薬の作用発現におけるヒストン修飾の関与について: 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 京都 (2009. 11)
77. 鳥海和也, 毛利彰宏, 成澤志穂, 青山雄紀, 井川夏実, 陸玲玲, 永井拓, 鍋島俊隆: 胎生期におけるフェンサイクリジンの投与は神経産生を障害し、長期間持続する行動異常を惹起する: 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 京都 (2009. 11)
78. 成澤志穂, 毛利彰宏, 鳥海和也, 青山雄紀, 古関竹直, 井川夏実, 間宮隆吉, 鍋島俊隆: フェンサイクリジン連続投与マウスの行動障害に対する注意欠陥・多動性障害治療薬の作用: 第 19 回日本臨床精神神経薬理学会・第 39 回日本神経精神薬理学会 京都 (2009. 11)
79. 間宮隆吉, 路平, 毛利彰宏, 鍋島俊隆: 胎生期に受けた心理的ストレスによる成熟期以降の行動障害: 第 83 回日本薬理学会 大阪 (2010. 3)
80. 毛利彰宏, 野田幸裕, 佐々木文, 宮本嘉明, 渡辺研, 鍋島俊隆: MAGE-D1 遺伝子欠損マウスはモノアミン作動性神経機能低下を伴った意欲低下を示す “うつ病モデルマウスとしての可能性”: 第 83 回日本薬理学会 大阪 (2010. 3)
81. Tursun Alkam, 平松正行, 間宮隆吉, 毛利彰宏, 鳥海和也, 鍋島俊隆: 妊娠期ニコチン曝露は出生マウスの感情及び認識行動を障害する: 第 83 回日本薬理学会 大阪 (2010. 3)
82. 日比(古川)陽子, 新田淳美, 鍋島俊隆,

- 山田清文：新規蛋白質 Shati をノックアウトしたマウスの行動解析：第 83 回日本薬理学会 大阪（2010.3）
83. 衣斐大祐、永井拓、溝口博之、鍋島俊隆、山田清文：PolyI:C 処置アストロサイト由来の液性因子が初代培養神経細胞に及ぼす影響：第 83 回日本薬理学会 大阪（2010.3）
84. 于静華、永井拓、衣斐大祐、北原裕子、鍋島俊隆、山田清文：NMDA 受容体が関与する精神病モデルマウス：第 83 回日本薬理学会 大阪（2010.3）
85. 古関竹直、毛利彰宏、間宮隆吉、鍋島俊隆：マウスのメタンフェタミン探索行動に対するガラントミンの効果：第 83 回日本薬理学会 大阪（2010.3）
86. 北原裕子、永井拓、衣斐大祐、鍋島俊隆、澤明、山田清文：新生仔期 PolyI:C 投与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行動異常に対する抗精神病薬の効果：第 83 回日本薬理学会 大阪（2010.3）
87. 安藤雄、脇由香里、山田真之亮、吉見陽、毛利彰宏、鍋島俊隆、尾崎紀夫、野田幸裕：神経発達過程における慢性社会ストレス負荷が社会性行動に及ぼす影響：第 83 回日本薬理学会 大阪（2010.3）
88. 青山雄紀、毛利彰宏、鳥海和也、古関竹直、成澤志穂、井川夏実、間宮隆吉、鍋島俊隆：クロザピンはドパミン D1 受容体を介したヒストンアセチル化によりフェンサイクリジン投与マウスに認められる行動異常を緩解する：第 83 回日本薬理学会 大阪（2010.3）
89. 成澤志穂、星野佑太、毛利彰宏、吉村崇、鍋島俊隆：甲状腺刺激ホルモン受容体欠損マウスはメチルフェニデート応答性の ADHD 様の行動変化を示す：第 83 回日本薬理学会 大阪（2010.3）
- 発明者：新田淳美、鍋島俊隆
- 2) 発明の名称：精神障害関連遺伝子及びその利用（2006年9月8日国際公開）  
2007年8月16日国内移行（特願 2007-505883）  
2007年9月4日米国移行（番号未定）  
出願人：国立大学法人名古屋大学  
発明者：新田淳美、丹羽美苗、鍋島俊隆
- 3) 発明の名称：脳内酸化抑制剤およびその使用  
2007年10月23日国際出願（PCT/JP2007/070628）  
出願人：国立大学法人名古屋大学  
発明者：新田淳美、鍋島俊隆
- 4) 発明の名称：抗うつ・抗不安剤  
2008年1月24日出願（特願 2008-013630）  
出願人：協和醗酵工業株式会社、国立大学法人名古屋大学  
発明者：新田淳美、日比陽子、鍋島俊隆、森下幸治、池田武史
- 5) 発明の名称：新規ステロイド誘導体及びその製造方法（現在 PCT 出願準備中）  
国内（特願 2009-039770）  
発明者：小鹿一、間宮隆吉、鍋島俊隆
2. 実用新案登録  
（あれば記入、なければ“なし”）  
なし
3. その他  
なし

## H 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

- 1) 発明の名称：Akt 活性化剤  
（2006年8月31日国際公開）  
2007年8月7日国内移行（特願 2007-504648）  
出願人：国立大学法人名古屋大学

## 乱用薬物への渴望（薬物探索行動）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

分担研究者：山本経之

研究協力者：北市清幸、縄田陽子

（長崎国際大学薬学部薬理学研究室）

### [研究要旨]

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) への渴望の再燃に対するストレスならびにストレス関連分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。加えて、MAP 反復投与によって減少する事が知られている有機カチオントランスポーターOCT3に着目し、MAP 自己投与ならびに退薬時における OCT3 タンパク発現の変容を調べた。実験は、ラットがレバーを1回押せば、MAP が薬物関連刺激 (cue) と共に微量注入される薬物自己投与実験法を用いて行った。10日間のMAP自己投与実験を行い（獲得過程）、その後MAPを生理食塩液に置換し自己投与実験（cue 呈示なし）を続けた（消去過程；MAP 退薬）。レバー押し行動が減弱した時点で、薬物関連刺激の呈示または少量のMAP投与によりレバー押し行動が再発するが、この反応をMAP探索行動（生理食塩液自己投与下）の指標とした。合わせて、ストレス誘発性薬物探索行動のモデル確立を試みた。

初年度は、MAP探索行動発現におけるCRFの関与を調べ、またその脳内責任部位を追究した。MAP priming または cue により誘発されるMAP探索行動は非選択的CRF受容体拮抗薬の脳室内、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る事が明らかとなった。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、コルチコステロン合成阻害薬メチラポンでは抑制されなかった。これらの結果から、MAP探索行動は扁桃体ならびに側坐核でのCRF受容体の活性化を介して発現する事が明らかになったが、その作用はコルチコステロンを介していない事が示唆された。

2年目は、MAP探索行動発現に関わるCRF受容体サブタイプを究明した。MAP priming により誘発されるMAP探索行動はCRF<sub>1</sub>受容体拮抗薬NBI27914によって、cueにより誘発されるMAP探索行動の発現にはNBI27914ならびにCRF<sub>2</sub>拮抗薬Astressin 2Bにより抑制された。また、オペラントボックス内でのfoot shock 負荷によりMAP探索行動が誘発される事も明らかにした。これらの結果から、MAP priming により誘発されるMAP探索行動はCRF<sub>1</sub>受容体の活性化を介して、一方cueにより誘発されるMAP探索行動の発現にはCRF<sub>1</sub>ならびにCRF<sub>2</sub>受容体の活性化を介して発現する事が示唆された。このようにMAP探索行動の発現に関わるCRF受容体の役割は、一様ではなくサブタイプにより異なる事が明らかになった。



3年目は、ストレス誘発性 MAP 探索行動に着目し実験を行った。ストレス誘発性 MAP 探索行動は、非選択的 CRF 受容体拮抗薬により抑制され、CRF 受容体の活性化を介して発現している事が分かった。一方、MAP 退薬時では、血漿ならびに扁桃体での CRF 濃度が増加した。この事から MAP 探索行動の発現には扁桃体の CRF 濃度増加が関与している可能性が示唆され、同時に“渴望”のバイオマーカーとしての血漿 CRF 測定の有用性が示唆された。一方、高架式十字迷路試験法を用いての実験では、MAP 退薬におけるオープンアームへの進入回数ならびに滞在時間は、コントロール群と比較し有意に低下していた。このように MAP 退薬時では不安状況にある事が分かった。加えて、MAP 自己投与成立時および MAP 退薬時において有機カチオントランスポーター OCT3 の発現が低下していることが明らかとなった。この知見が、MAP 探索行動の発現といかなる関わりを持つのかは今後の課題として残っている。

## A. 研究目的

薬物依存症患者では、長期断薬後において薬物への渴望が容易に再燃する事が知られている。この渴望再燃を誘発する因子として、①類似薬物の使用、②薬物の使用に関連する環境刺激および、③ストレス負荷の3種類が挙げられる。一方、ストレス負荷により血漿中の ACTH ならびにコルチゾール量が増加する事が知られている。これらの知見より、薬物依存症患者の渴望再燃に視床下部-下垂体-副腎系 (hypothalamic-pituitary- adrenal system; HPA 系) が関与している可能性が示唆されるが、その詳細なメカニズムは明らかではない。そこで、本研究では覚せい剤 methamphetamine (MAP) 自己投与実験法を用いて、MAP 探索行動の発現における CRF の関与の有無を検討した。

一方、有機カチオントランスポーター OCT3 は、脳内では脈絡叢、グリア細胞など神経支持細胞に局在し、モノアミンの量的調節に重要な役割を果たしていると考えられている。MAP 連続投与によって OCT3 の脳内発現が低下するとともに、MAP 脳移行が増大することはすでに確認されていることから<sup>6)</sup>、薬物自己投与実験法を用いて MAP 摂取/退薬時での OCT3 の変容を調べた。

## B. 研究方法

### 1. 実験動物

薬物自己投与実験には Wistar-ST 系雄性ラット

[<sup>6)</sup> 日本エスエルシー、300-350g] を使用した。

### 2. 使用薬物

methamphetamine [MAP : (株) 大日本製薬] ならびに metyrapone (Sigma-Aldrich, Inc.) は生理食塩液 [<sup>6)</sup> 大塚製薬] に溶解した。また、Corticotropin Releasing Factor human, rat (Sigma-Aldrich, Inc.)、 $\alpha$ -helical CRF<sub>9,41</sub> (Sigma-Aldrich, Inc.) ならびに Astressin 2B (Sigma-Aldrich, Inc.) は蒸留水に溶解した。NBI27914 (Sigma-Aldrich, Inc.) は蒸留水、ethanol および cremophor EL の混合溶液 (18:1:1) に溶解した。ONO-SF-353-02 は蒸留水とメチルセルロース混合溶液に溶解した。

### 3. エサを正の強化子としたオペラント訓練

薬物自己投与実験に先立ち餌ペレット (45 mg; Holton Industries Co. LTD.) を正強化子としたオペラント訓練 (fixed ratio 1) を実施した。訓練ではラットが 30 個の餌ペレットを獲得するまでの時間を測定し、3 回連続して 300 秒以内でペレットを獲得するまで繰り返した。また、1200 秒を cut off time とした。

### 4. 薬物自己投与用カテーテルの埋め込み手術

ラットに餌ペレットを正強化子としたレバー押し行動を獲得させた後、自己投与用のカテーテルの静脈内留置手術を行った。カテーテルはシラ

スティックカテーテル [外径 1.0 mm、内径 0.5 mm ; ㈱カネカメディクス] を使用し、ラットの右頸静脈から挿入し、先端を心耳の入り口直前に留置した。

## 5. 薬物自己投与実験法

カテーテル埋め込み手術後、オペラント実験を再開した。自己投与実験には、レバー押しに伴い薬物が注入されるアクティブレバーと、薬物が得られないインアクティブレバーの2つのレバーが装着されたオペラント箱 [29 cm×23 cm×33 cm ; ㈱ニューロサイエンス] を使用した。ラットがアクティブレバーを1回押せば(FR1条件下)、MAP (0.02 mg/100 µL/infusion) が薬物関連刺激 (drug-associated cue : 音; 85 dB/2.9 kHz, 光; 200 lux) と共に微量注入される。10日間のMAP自己投与実験後、MAPを生理食塩液に置換した自己投与実験 (cue 呈示なし) を続けた (消去過程)。レバー押し行動が減弱した時点で、薬物関連刺激の呈示、MAP-priming 投与ならびにストレス負荷を行い“渴望”の指標としてのMAP探索行動 (生理食塩液自己投与下でのレバー押し反応) の発現の有無を調べた。

## 6. ストレス負荷

ストレス負荷はMAP自己投与実験を実施するオペラント装置内で行った。ストレスとして、foot shock (0.8 mA, ON; 1秒, variable interval; 10-70秒) を用い、オペラントボックスの床面の金属性グリッドから15分間負荷した。

## 7. 高架式十字迷路実験 (不安様行動の測定)

高架式十字迷路装置は互いに直行するオープンアーム、クローズドアームと実験開始位置のセンターからなる。各々のアームは長さ50 cm、幅10 cmで、closed armは高さ50 cmの壁で周囲が覆われている。迷路の床からの高さは50 cmである。

実験では、まずラットをセンターに置き、10分間でのオープンアームへの進入回数 (number of open arm entries)、滞在時間 (time in open arm) ならびに中央を横切った回数 (number of crossings) を記録した。

## 8. 血漿中ならびに脳内 CRF 濃度の測定

血漿中ならびに脳内 CRF 濃度は、Mouse/Rat CRF-HS Elisa キット [YK131 ; ㈱矢内原研究所] を用いて測定した。血液は、イソフルラン麻酔下にて、眼窩静脈叢より反復採取を行った。血液はEDTA-2Na 採血管を用いて採取し、採血後直ちに遠心処理 (4°C, 3000 rpm) を行い得られた上清を血漿サンプルとした。一方、ペントバルビタール (50mg/kg, i.p.) 深麻酔下、左心室より大動脈にPBS溶液を灌流し脱血した後、脳を摘出した。扁桃核、側坐核ならびに視床下部に分画し、脳重量を測定した。各組織はマイクロチューブに移し、氷冷しておいたPBS (0.2% Nonidet P-40 含有) を脳重量の30倍量加え、ハンディソニケーター (TOMY SEIKO Co., LTD; UR-20P) を使用して組織をホモジナイズし測定サンプルとした。作製したサンプルは使用するまで-80°Cで冷凍保存した。

## 9. 脳内有機カチオントランスポーターOCT3発現量の測定

脳内 OCT3 発現の測定はウエスタンブロッティング法で行った。すなわち、小脳を除く脳サンプルはプロテアーゼインヒビターを含むTris溶液中でホモジナイズ、6,500 rpm, 4°Cで15分間遠心した。その後上清を100,000 g, 30 min, 4°Cでさらに遠心し、ペレットを得た。得られたペレットは可溶化し、電気泳動の後、PVDF膜に転写した。さらに、ブロッキングの後、抗OCT3抗体 (Transgenic社)、抗ウサギIgG抗体を反応させ、OCT3のシグナルを化学発光法により発光、検出した。

## 10. 統計学的処理

値は全て平均±標準誤差で表した。二群間の有意差検定には、Bonferroni / Dunn test を用いた。

### C. 研究結果

#### 1. 薬物関連刺激および MAP priming 投与による MAP 探索行動の発現

##### ① 非選択的 CRF 受容体拮抗薬の作用

MAP 自己投与最終日のラットのレバー押し回数は  $35.8 \pm 5.2$  回であった。その後 MAP を生理食塩液に置換するとそのレバー押しは徐々に低下し、5 日目のレバー押し回数は  $3.6 \pm 0.7$  回となった。退薬 6 日目に (生理食塩液自己投与下)、MAP 関連刺激または MAP (1.0 mg/kg, i.p.) priming 投与を行うと、有意なレバー押し回数の増加が認められ、MAP 探索行動が発現した。これら 2 つの誘発因子によって発現する MAP 探索行動は、CRF 受容体拮抗薬  $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> (10  $\mu$ g/side) の脳室内投与によって有意に抑制された。 $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> の脳内作用部位を調べる目的で、脳実質内投与を試みた。MAP 関連刺激呈示によって発現する MAP 探索行動は、 $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> (10  $\mu$ g/side) の側坐核ならびに扁桃体内への微量注入によって有意に抑制された。一方、MAP priming 投与によって発現する MAP 探索行動は、 $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> (10  $\mu$ g/side) の側坐核内への微量注入によって抑制されたが、扁桃体内への微量注入では抑制されなかった。前頭前皮質ならびに海馬内への  $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> (10  $\mu$ g/side) 微量注入は、いずれの MAP 探索行動も抑制しなかった。

##### ② 選択的 CRF 受容体拮抗薬の作用

MAP 関連刺激ならびに MAP-priming 投与による MAP 探索行動は、いずれも選択的 CRF<sub>1</sub> 受容体拮抗薬 NBI27914 (32  $\mu$ g/side) の脳室内微量注入により有意に抑制された。さらに、経口投与可能な選択的 CRF<sub>1</sub> 受容体拮抗薬 ONO-SF-353-02 (1.0

-10 mg/kg, p.o.) もまた、両刺激による MAP 探索行動を抑制した。一方、選択的 CRF<sub>2</sub> 受容体拮抗薬 Astressin 2B (32, 100  $\mu$ g/side) の脳室内投与は、MAP 関連刺激による MAP 探索行動を抑制したが、MAP-priming による MAP 探索行動を抑制しなかった。

##### ③ CRF の作用

MAP 自己投与後の MAP 退薬 6 日目での CRF (3.2  $\mu$ g/side) の脳室内微量注入により、レバー押し行動は有意に増加し、MAP 探索行動が誘発された。同様に、側坐核ならびに扁桃体内への微量注入は、MAP 探索行動を誘発した。しかしながら、前頭前皮質ならびに海馬内への微量注入では、MAP 探索行動は誘発しなかった。この CRF 脳室内微量注入による MAP 探索行動は、側坐核ならびに扁桃体内への  $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> 微量注入によって有意に抑制された。

##### ④ MAP 探索行動に対するコルチコステロン合成阻害薬の作用

CRF 脳室内投与によって発現する MAP 探索行動は、コルチコステロン合成酵素阻害薬メチラポン (10-100 mg/kg, i.p.) 投与では抑制されなかった。また、メチラポンは、MAP 関連刺激ならびに MAP-priming 投与により誘発される MAP 探索行動にも抑制作用を示さなかった。

#### 2. MAP 摂取行動に及ぼす非選択的 CRF 受容体拮抗薬の作用

MAP 自己投与実験 10 日目における MAP 摂取行動は、 $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> (3.2, 10  $\mu$ g/side) の脳室内投与によって全く影響を受けなかった。

#### 3. ストレス負荷による MAP 探索行動の発現

##### ① ストレスによる MAP 探索行動の発現様式

MAP 自己投与後の退薬時に MAP を生理食塩液

に置換するとそのレバー押しは徐々に低下し、9日目のレバー押し回数は $5.4 \pm 0.7$ 回となった。退薬10日目に（生理食塩液自己投与下）、オペラントボックス床面のグリッドからfoot shockを負荷すると、レバー押し行動は有意に増加し、MAP探索行動が誘発された。しかし、このレバー押し行動は、ストレス負荷を中止するとほとんど認められなかった。

## ② 非選択的 CRF 受容体拮抗薬の作用

foot shock ストレスにより誘発される MAP 探索行動は、非選択的 CRF 受容体拮抗薬である  $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> (30  $\mu$ g/side) の脳室内微量注入により有意に抑制された。

## 4. MAP 自己投与時、退薬時ならびに MAP 探索行動発現時における CRF 濃度の変容

### ① 血漿 CRF 濃度

MAP 自己投与実験直前の CRF 濃度は  $0.31 \pm 0.02$  ng/mL であり、また第1日目実験直後の CRF 濃度は  $0.40 \pm 0.12$  ng/mL であった。その後、MAP 自己投与最終日（10日目）の実験直後の CRF 濃度は  $0.43 \pm 0.07$  ng/mL で、第1日目直後と差がなかった。一方、MAP 退薬1日目では CRF 濃度の変化は認められなかった ( $0.38 \pm 0.04$  ng/mL)。しかし、退薬日数を重ねるに従って CRF 濃度は増加し、10日目では有意に差が認められた ( $0.47 \pm 0.06$  ng/mL)。また、foot shock ストレス直後においても CRF 濃度はさらに増加する事はなかったが、pre 値と比較し変わらず高値を示した ( $0.46 \pm 0.07$  ng/mL;  $p < 0.05$ )。

### ② 脳内 CRF 濃度

コントロール群における脳分画 10 mg 当たりの扁桃体内 CRF 量は、 $153.5 \pm 17.0$  pg であった。MAP 退薬日数の増加に伴いこの CRF 濃度は増加し、退薬 10 日目には有意な増加が認められた ( $234 \pm$

$25.3$  pg)。しかし、側坐核ならびに視床下部では退薬に伴う CRF 量の変化は認められなかった。一方、退薬 10 日目での foot shock 負荷により、側坐核ならびに視床下部での CRF 濃度は増加傾向が認められたが有意な差は認められなかった。

## 5. MAP 退薬時における情動（不安様）行動の変容

naïve ラット（コントロール群）の10分間でのオープンアームへの進入回数は  $17 \pm 4$  回、滞在時間は  $216.8 \pm 70.6$  秒であった。また、中央を横切った回数は  $16 \pm 3$  回であった。MAP 自己投与ラットの退薬時でのオープンアームへの進入回数および滞在時間は退薬日数を重ねるに従って減少し、退薬 10 日目では、コントロール群と比較していずれも有意に減少した。（進入回数： $6 \pm 2$  回,  $p < 0.05$ 、滞在時間： $20.8 \pm 4.9$  秒,  $p < 0.05$ ）。この時、中央を横切った回数 ( $16 \pm 5$  回) に差はなかった。

## 6. MAP 自己投与時および退薬時における有機カチオントランスポーター-OCT3 発現量の変容

OCT3 の発現は現在のところ各群  $N=2$  であるが、コントロール群に比べて、MAP 自己投与成立時および MAP 退薬時のいずれにおいても低下していた。

## D. 考察

### 1. MAP 摂取行動ならびに MAP 探索行動の発現における CRF の関与

MAP priming 投与ならびに MAP 関連刺激によって惹起される MAP 探索行動は、いずれも CRF 受容体拮抗薬  $\alpha$ -helical CRF<sub>9-41</sub> の脳室内投与によって抑制された。この結果から、MAP 探索行動の発現は CRF 受容体の活性化によって起こる事が示唆される。さらに、脳実質内微量注入実験の結果から、MAP 関連刺激呈示による MAP 探索行動