

スポンター (GLAST) は前頭前皮質において有意な増加が認められた (図 1A)。一方, グルタミン酸トランスポーター (GLT-1), グルタミン酸合成酵素 (GLS), 小胞性グルタミン酸トランスポーター (VGLUT1), セリンラセマーゼ (SR), グリア繊維性酸性タンパク (GFAP) の発現にはいずれの群間においても有意な差は認められなかった (図 1B-F)。

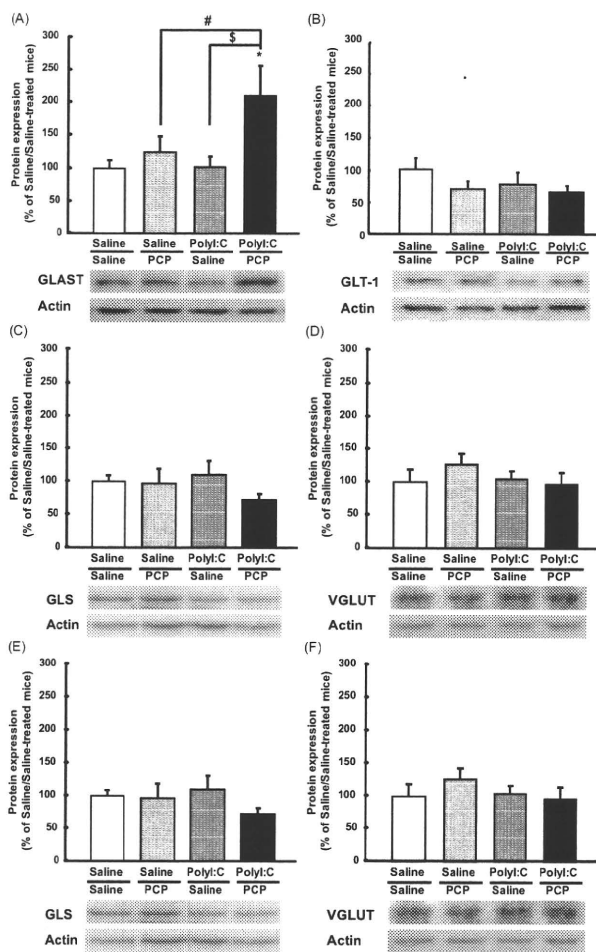


図 1. 新生仔期 PolyI:C 処置マウスにおける PCP 連続投与によるグルタミン酸作働性神経系関連タンパク質発現への影響。新生仔期 (出生 2 日から 6 日まで) に 5 日間 saline あるいは polyI:C を連続投与し, 青年期 (5 週齢) に 7 日間 saline あるいは PCP を連続投与した。PCP 最終投与 15 日後における前頭前皮質におけるタンパク質発現変化についてウニスタンプロベディング法により検討した。グラフは平均±標準誤差で示した。* $p < 0.05$ vs saline /saline 投与群, # $p < 0.05$ vs saline /PCP 投与群, \$ $p < 0.05$ vs polyI:C /saline 投与群 (two-way ANOVA/ Bonferoni test)。

1.2. 新生仔期 PolyI:C 処置マウスにおけるフェンシクリジン (PCP) 連続投与による学習障害に対するグルタミン酸トランスポーター阻害薬の効果

新奇物体認知試験において, 新生仔期 PolyI:C 処置マウスへの PCP 連続投与による新奇物体に対する探索嗜好率の低下 (物体認知記憶の障害) は, グルタミン酸トランスポーター阻害薬 dl-threo- β -Benzyloxyaspartate (TBOA) の前頭前皮質内投与によって有意に改善された (図 2)。一方, 対照マウスの前頭前皮質内に TBOA を投与しても物体認知記憶に影響を及ぼさなかった (図 2)。TBOA は, 訓練試行および保持試行における総探索時間に影響を及ぼさなかった (図 2)。

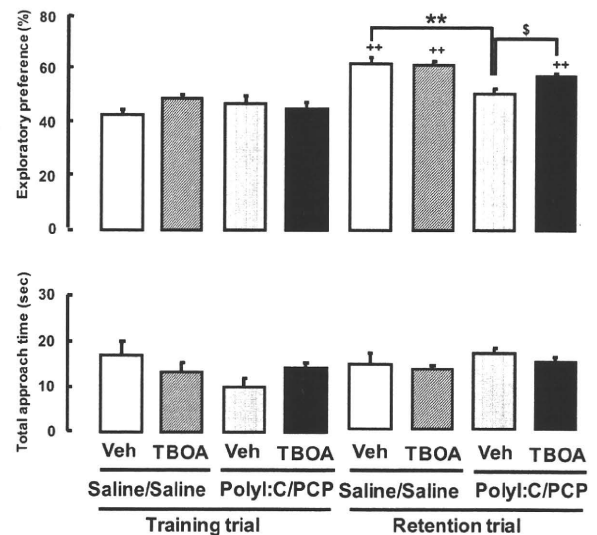


図 2. 新生仔期 PolyI:C 処置マウスにおける PCP 連続投与による学習障害に対するグルタミン酸トランスポーター阻害薬 (TBOA) の効果。7 日間 saline あるいは PCP を連続投与し, 5 日後に新奇物体認知試験を行った。訓練試行 30 分前に dl-threo- β -Benzyloxyaspartate (TBOA) あるいは vehicle (Veh) を前頭前皮質内に投与した。グラフは平均±標準誤差で示した。~ $p < 0.01$ vs saline/saline/vehicle 投与群 (訓練試行), ** $p < 0.01$ vs saline/saline/vehicle 投与群 (保持試行), \$ $p < 0.05$ vs PolyI:C/PCP/vehicle 投与群 (保持試行) (Repeated ANOVA/ Bonferoni test)。

2. GLAST 遺伝子欠損マウスを用いた GLAST の生理機能の解析

新生仔期 PolyI:C 処置マウスにおけるフェンシクリジン (PCP) 連続投与による認知障害には GLAST の発現増加が関与することが示唆された。そこで, GLAST の生理機能について検討するため,

GLAST遺伝子欠損マウスを用いて行動解析を行った。

2.1. GLAST 遺伝子欠損マウスを用いた情動機能における GLAST の役割

GLAST遺伝子欠損マウスの情動機能について検討を行うため、一連の行動試験を行った。高架式十時迷路試験においてオープンアームでの滞在時間に差が認められず、GLAST遺伝子の欠損は開放された高所に対する不安に対して影響を与えないことが示唆された (図 3A)。強制水泳試験において無働時間に差が認められず、GLAST遺伝子の欠損は意欲に影響を与えないことが示唆された (図 3B)。新奇環境下自発運動量測定試験において時間の経過に伴う新奇環境下における探索時間の短縮に差が認められず、GLAST遺伝子の欠損は探索行動・馴化に影響を与えないことが示唆された (図 3C)。社会性行動試験において道マウスに対する社会性行動時間に差が認められず、GLAST遺伝子の欠損は社会性に影響を与えないことが示唆された (図 3D)。

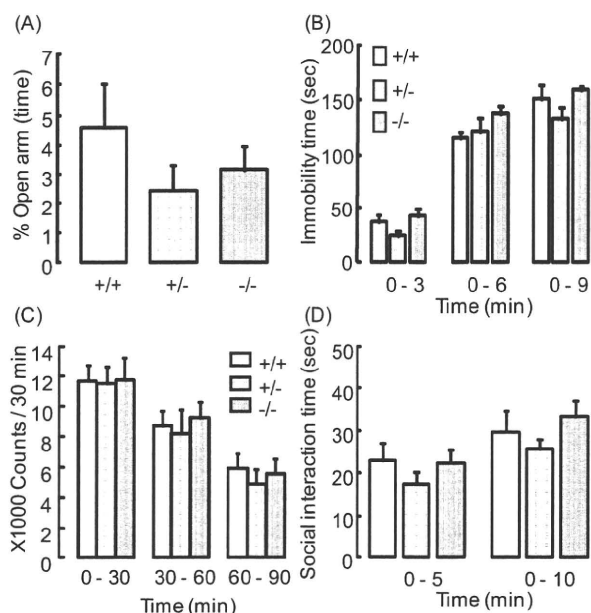


図 3. GLAST 遺伝子欠損による情動機能への影響。成体期の野生型およびヘテロおよびホモ GLAST 遺伝子欠損マウスに一連の行動試験 (A: 高架式十時迷路試験, B: 強制水泳試験, C: 新奇環境下自発運動量測定試験, D: 社会性行動試験) を負荷し、それらの情動機能について検討した。グラフは平均±標準誤差で示した。

2.2. GLAST 遺伝子欠損マウスを用いた認知機能における GLAST の役割

GLAST 遺伝子欠損マウスの認知機能について検討を行うため、一連の行動試験を行った。新奇物体認識試験において、野生型およびヘテロ GLAST 遺伝子欠損マウスでは保持試行において新奇物体に対する探索行動の増加が認められたのに対して、ホモ GLAST 遺伝子欠損マウスにおいてはそのような増加が認められず、新奇物体に対する探索嗜好率の低下 (物体認知記憶の障害) が認められた (図 4A)。すべての群において、訓練ならびに保持試行における総物体探索時間には差がそれぞれ認められなかった (図 4A)。恐怖条件付け学習試験において、野生型およびヘテロ GLAST 遺伝子欠損マウスではテスト試行において、音刺激および装置暴露に対するフリージング行動が認められたが、ホモ GLAST 遺伝子欠損マウスではそれらに対するフリージング時間が有意に短縮し、音刺激学習・文脈学習に対する障害が認められた (図 4B)。また、すべての群において電気刺激に対する応答性の閾値に有意な差は認められなかった (図 4B)。

3. フェンシクリジン (PCP) 連続投与による行動変化における GLAST の関与

PCP連続投与による行動変化に対する GLAST の関与を検討するために、ヘテロ GLAST 遺伝子欠損マウスに PCP (10 mg/kg/day s.c.) を 14日間連続投与し、行動解析を行った。

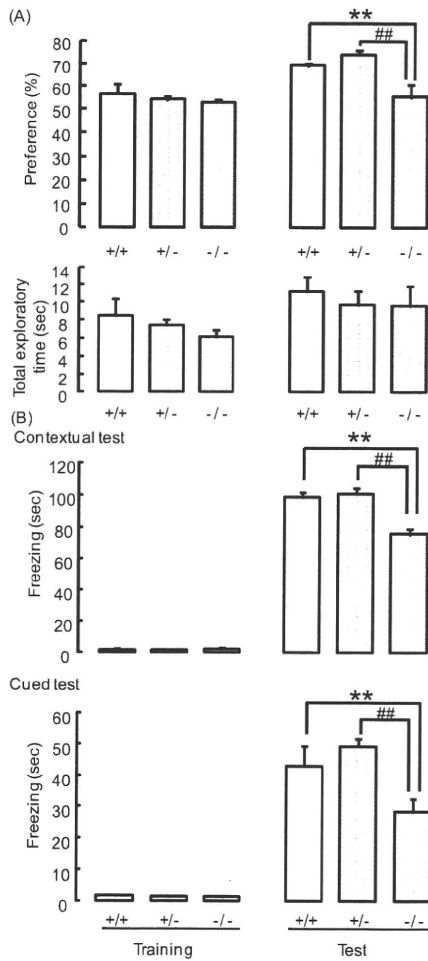


図4. GLAST 遺伝子欠損による認知機能への影響. 成体期の野生型およびヘテロおよびホモ GLAST 遺伝子欠損マウスに一連の行動試験 (A: 新奇物体認識試験, B: 恐怖条件づけ学習試験) を負荷し, それらの認知機能について検討した. グラフは平均±標準誤差で示した. ** $p < 0.01$ vs 野生型マウス (+/+), ## $p < 0.01$ vs ヘテロ GLAST 遺伝子欠損マウス (Two-way ANOVA/ Bonferroni test).

3.1. GLASTヘテロ遺伝子欠損マウスにおけるフェンシクリジン (PCP) 連続投与による意欲低下への影響

強制水泳試験において野生型マウスにPCP (10 mg/kg/day s.c.) を14日間連続投与すると無動時間の延長 (意欲の低下) が認められた (図 5A). 一方, GLASTヘテロ遺伝子欠損マウスにPCPを14日間連続投与しても意欲の低下は認められなかった (図 5B).

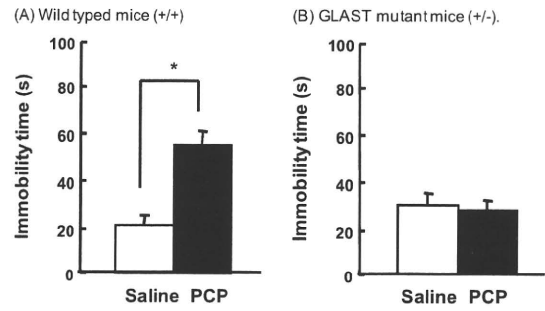


図5. GLASTヘテロ遺伝子欠損マウスにおけるフェンシクリジン (PCP) 連続投与による意欲低下への影響. (A) 野生型マウス (+/+) および (B) GLASTヘテロ遺伝子欠損マウス (+/-) に14日間 saline (□) もしくはPCP (■) を連続投与し, 24時間後に強制水泳試験を行った. グラフは平均±標準誤差で示した. * $p < 0.05$ vs 各マウスの saline 投与群 (対応のある t 検定).

3.2. GLASTヘテロ遺伝子欠損マウスにおけるフェンシクリジン (PCP) 連続投与による認知機能への影響

新奇物体認識試験において, 野生型マウスにPCP (10 mg/kg/day s.c.) を14日間連続投与すると新奇物体に対する探索嗜好率の低下 (物体認知記憶の障害) が認められた (図 6). 一方, GLASTヘテロ遺伝子欠損マウスにPCPを14日間連続投与しても物体認知記憶の障害は認められなかった (図 6).

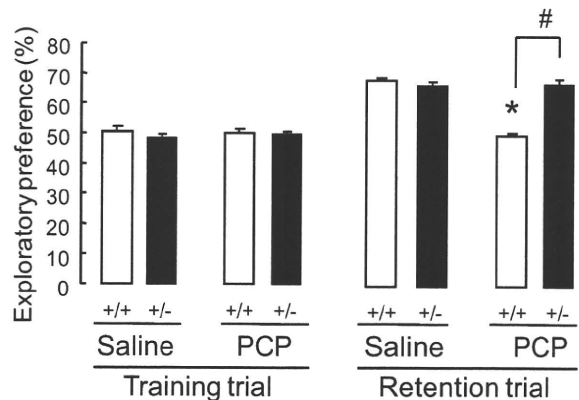


図6. GLASTヘテロ遺伝子欠損マウスにおけるフェンシクリジン (PCP) 連続投与による認知機能への影響. 野生型マウス (+/+) および GLASTヘテロ遺伝子欠損マウス (+/-) に14日間 saline (□) もしくはPCP (■) を連続投与し, 5日後に新奇物体認知試験を行った. グラフは平均±標準誤差で示した. * $p < 0.05$ vs 野生型マウスの saline 投与群, # $p < 0.05$ vs 野生型マウスの PCP 投与群 (Repeated ANOVA/ Bonferroni test).

D. 考察

統合失調症患者では海馬の体積減少、側脳室の拡大が認められること、死後脳においてグリオーシスが認められないこと、さらにほとんどが思春期以降に発症することから、統合失調症の病態および脳内の構造変化は発達過程や成熟時期を規定する因子の異常が関与すると考えられており (Ashe et al., 2001), この神経発達障害仮説に基づいたモデル動物が作製されている。統合失調症の発症には、胎生中期のインフルエンザ流行などの初期要因が疫学的に関連していることが報告されている (Brown, 2006)。合成二本鎖 RNA アナログである Poly I:C を妊娠マウスに投与すると、母胎の免疫系が賦活化され、この母体から生まれたマウスは、成体期以降、覚せい剤誘発運動量の増加 (Ozawa et al., 2006)、プレパルス・インヒビション (PPI) 試験での情報処理障害 (Ozawa et al., 2006)、レイテント・インヒビション試験での注意力障害 (Zuckerman et al., 2003)、モリス水迷路試験での作業記憶障害 (Meyer et al., 2005)、新奇物体認識試験における認知障害 (Ozawa et al., 2006) など統合失調症に類似した行動異常を示す。ヒトの妊娠中期に当たるマウスの出生 2 日後から 5 日間に Poly I:C を投与すると、新奇物体認識試験における認知障害、PPI 試験での情報処理障害や社会性行動の低下が認められる (Ibi et al., 2009)。我々は昨年度、two-hit 仮説に基づいた新生仔期の PolyI:C 投与が若年期の PCP 連続投与による精神障害の発症脆弱性を高めることについて、PCP 連続投与による意欲低下の増強および物体認知記憶の障害等から明らかにした。本年度はそのような障害の脆弱性に関わる因子について、グルタミン酸作動性神経系関連タンパク質から探索を行った。PolyI:C 処置マウスへの 7 日間の PCP 連続投与マウスにおける前頭前皮質の GLAST の発現は、有意に増加しており、認知障害は GLAST 阻害薬の前頭前皮質への注入により改善した。14 日

間の PCP 連続投与による意欲低下には前頭前皮質における GLAST の発現増加が関与することが報告されている (Murai et al., 2007)。GLAST が PCP 連続投与による行動異常に関与しているだけでなく、新生仔期 PolyI:C 処置による若年期 PCP 連続投与による行動異常の増強においても GLAST の発現増加が関与していることが示唆された。

また、GLAST の生理機能について、GLAST 遺伝子欠損マウスを用いて検討を行った。情動機能については差が認められなかったが、ホモ GLAST 遺伝子欠損マウスにおいて物体認知記憶ならびに連合学習に障害が認められた。一方、正常マウスに対する GLAST 阻害薬の前頭前皮質への注入は認知機能への影響は認められなかった。さらに詳細な検討が必要であるが、ホモ GLAST 遺伝子欠損マウスにおける認知機能の低下は遺伝子欠損による発達障害の可能性が示唆された。一方、顕著な変化が認められなかったヘテロ GLAST 遺伝子欠損マウスにおいて、PCP 連続投与により惹起される認知障害や意欲低下が認められなかった。遺伝学的に PCP 連続投与による GLAST の発現増加を抑制することで行動障害が認められなかったことが示唆された。

E. 結論

本研究において、精神疾患の発症に関与する発達期の環境的要因が高次精神機能へ与える影響について検討した。さらに詳細な神経化学的な解析を行い、環境的要因による脳機能の変化に関与する脆弱性因子を探索し、GLAST を同定した。本研究成果から精神疾患の発症機序や病態生理の解明および病態生理に基づいた治療法や予防法の開発につなげたい。

[参考文献]

- 1) Ashe, P.C., Berry, M.D., and Boulton, A.A.: Schizophrenia, a neurodegenerative disorder with

- neurodevelopmental antecedents. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 25, 691-707, 2001.
- 2) Bayer, T.A., Falkai, P. and Maier, W.: Genetic and non-genetic vulnerability factors in schizophrenia: the basis of the "two hit hypothesis". *J. Psychiatr. Res.*, 33, 543-548, 1999.
 - 3) Belmaker, R.H.: Bipolar disorder. *N. Engl. J. Med.*, 351, 476-486, 2004.
 - 4) Brown, A.S.: Prenatal infection as a risk factor for schizophrenia. *Schizophr. Bull.*, 32, 200-202, 2006.
 - 5) Freedman, R.: Schizophrenia. *N. Engl. J. Med.*, 349, 1738-1749, 2003.
 - 6) Heim, C., Newport, D.J., Mletzko, T., et al.: The link between childhood trauma and depression: insights from HPA axis studies in humans. *Psychoneuroendocrinology*, 33, 693-710, 2008.
 - 7) Ibi, D., Nagai, T., Kitahara, Y., et al: Neonatal polyI:C treatment in mice results in schizophrenia-like behavioral and neurochemical abnormalities in adulthood. *Neurosci. Res.*, 64, 297-305, 2009.
 - 8) Maddox, V.H., Godefroi, E.F. and Parcell, R.F.: The synthesis of phencyclidine and other 1-arylcyclohexylamines. *J. Med. Chem.*, 8, 230-235, 1965.
 - 9) Maynard, T.M., Sikich, L., Lieberman, J.A., et al.: Neural development, cell-cell signaling, and the "two-hit" hypothesis of schizophrenia. *Schizophr. Bull.*, 27, 457-476, 2001.
 - 10) McCarley, R.W., Wible, C.G., Frumin, M., et al.: MRI anatomy of schizophrenia. *Biol. Psychiatry*, 45, 1099-1119, 1999.
 - 11) Meyer, U., Feldon, J., Schedlowski, M., et al.: Towards an immuno-precipitated neurodevelopmental animal model of schizophrenia. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 29, 913-947, 2005.
 - 12) 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.
 - 13) Ozawa, K., Hashimoto, K., Kishimoto, T., et al.: Immune activation during pregnancy in mice leads to dopaminergic hyperfunction and cognitive impairment in the offspring: a neurodevelopmental animal model of schizophrenia. *Biol. Psychiatry*, 59, 546-54, 2006.
 - 14) Zuckerman, L., Rehavi, M., Nachman, R., et al.: Immune activation during pregnancy in rats leads to a postpubertal emergence of disrupted latent inhibition, dopaminergic hyperfunction, and altered limbic morphology in the offspring: a novel neurodevelopmental model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 28, 1778-1789, 2003.
- F. 研究発表
1. 論文発表
 1. Mouri A, Noda Y, Shimizu S, Tsujimoto Y, Nabeshima T. The role of Cyclophilin D in learning and memory. *Hippocampus*, 20: 293-304, 2010.
 2. 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*, 13, 1343-54, 2010.
3. Iritani S, Sekiguchi H, Habuchi C, Torii Y, Yamada S, Waki Y, Noda Y, Furukawa H, Nabeshima T, Ozaki N. Immunohistochemical study of vesicle monoamine transporter 2 in the hippocampal formation of PCP-treated mice. *Neurosci. Res.*, 68, 125-30, 2010.
 4. Yoshimi A, Aleksic B, Kawamura Y, Takahashi N, Yamada S, Usui H, Saito S, Ito Y, Iwata N, Inada T, Noda Y, Yamada K, Ozaki N. Gene-wide association study between the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) and schizophrenia in the Japanese population, with an updated meta-analysis on currently available data. *Schizophr. Res.*, 124, 216-22, 2010.
 5. 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, 480-9, 2010.
 6. Takahashi M, Iwamoto K, Kawamura Y, Nakamura Y, Ishihara R, Uchiyama Y, Ebe K, Noda A, Noda Y, Yoshida K, Iidaka T, Ozaki N. The effects of acute treatment with tandospirone, diazepam, and placebo on driving performance and cognitive function in healthy volunteers. *Hum. Psychopharmacol.*, 25, 260-267, 2010.
 7. Miura H, Ando Y, Noda Y, Isobe K, Ozaki N. Long-lasting effects of inescapable-predator stress on brain tryptophan metabolism and the behavior of juvenile mice. *Stress*, inpress 2011.
 8. 安藤 雄, 野田幸裕, 毛利彰宏, 鍋島俊隆 : 統合失調症モデル動物に認められる行動異常. *アニテックス*. 22, 20-25, 2010
 9. 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 実験薬理学シリーズ 第1巻, 日本薬理学会編集, 金芳堂, 東京, pp.79-93, 2010
 10. 野田幸裕, 大橋美月 : 臨床に役立つ薬学研究的の進歩. *P-CUBE*. 7, 10, 2010
 11. 山田真之亮, 野田幸裕, 尾崎紀夫 : 神経発達障害・統合失調症関連遺伝子に基づく統合失調症モデルマウス, モデル動物利用マニュアル, エル・アイ・シー. 印刷中, 2010
- ## 2. 学会発表
1. Toshitaka Nabeshima, Minae Niwa, Atsushi Kamiya, Ken-ichiro Kubo, Patricio O'Donnell, Kazunori Nakajima, Kazuhisa Kohda, Yukihiro Noda, Akira Sawa: Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. *CINP WORLD CONGRESS* (香港 2010年 6月)
 2. Akihiro Mouri, Yukihiro Noda, Dayong Wang, Yu Ando, Yukari Waki, Shinnosuke Yamada, Toshitaka Nabeshima: Galantamine ameliorates the impairment of recognition in micetreated with methamphetamine repeatedly. *The College on Problem of Drug Dependence 72nd Annual Meeting* (アリゾナ 2010年 6月)
 3. 毛利彰宏, 野田幸裕, 肥田裕丈, 安藤 雄, 永井 拓, 山田清文, 鍋島俊隆 : 新生仔期の

- 免疫異常は若年期における精神異常発現薬による情動・認知機能の障害を増強する。名古屋大学医学研究科・生理学研究所合同シンポジウム（岡崎 2010年8月）
4. 肥田裕丈, 毛利彰宏, 安藤 雄, 鍋島俊隆, 野田幸裕: 新生仔期の免疫異常は, 若年期における精神異常発現薬による情動・認知機能の障害を増強する. Neuro2010 (33回日本神経科学大会・第53回日本神経科学学会大会・第20回日本神経回路学会大会) (神戸 2010年9月)
 5. 野田幸裕, 毛利彰宏, 肥田裕丈, 安藤 雄, 間宮隆吉, 山田清文, 鍋島俊隆: 新生仔期の PolyI:C 投与は若年期フェンサイクリジン投与による情動・認知機能の障害を増強する. 第20回日本臨床精神神経薬理学会・第40回日本神経精神薬理学会 (仙台 2010年9月)
 6. Yukihiro Noda, Akihiro Mouri, Yu Ando, Yukari Waki, Shinnosuke Yamada, Akira Yoshimi, Kiyofumi Yamada, Norio Ozaki, Dayong Wang, Toshitaka Nabeshima: Galantamine, a novel cholinergic agent with a dual mode of action, on cognitive deficits in animal models of Alzheimer's disease and schizophrenia. The International Symposium of Pharmacology—The 3rd Mainland, Taiwan and Hongkong Symposium of Pharmacology (瀋陽 2010年9月)
 7. Yukihiro Noda, Akihiro Mouri, Hirotake Hida, Yu Ando, Kiyofumi Yamada, Toshitaka Nabeshima: Immune activation during neonatal exacerbates phencyclidine-induced behavioral phenotypes in adult mice. The International Symposium of Pharmacology—The 3rd Mainland, Taiwan and Hongkong Symposium of Pharmacology (瀋陽 2010年9月)
 8. Toshitaka Nabeshima, Minae Niwa, Atsushi Kamiya, Ken-ichiro Kubo, Lingling Lu, Yukihiro Noda, Kazunori Nakajima, Akira Sawa: Impairment of postnatal dopaminergic maturation and adult behavior in *disc1* knockdown mice by utero gene transfer. The International Symposium of Pharmacology—The 3rd Mainland, Taiwan and Hongkong Symposium of Pharmacology (瀋陽 2010年9月)
 9. Akira Yoshimi, Branko Aleksic, Yukiko Kawamura, Nagahide Takahashi, Shinnosuke Yamada, Nakao Iwata, Toshiya Inada, Yukihiro Noda, Kiyofumi Yamada, Norio Ozaki.: Gene-wide association study between the methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) and schizophrenia in the Japanese population, with an updated meta-analysis on currently available data. XVIII World Congress on Psychiatric Genetics (アテネ 2010年10月)
 10. 山田真之亮, 伊藤圭人, Branko Aleksic, 吉見陽, 永井拓, 野田幸裕, 大野欽司, 尾崎紀夫: 統合失調症におけるリンパ芽球様細胞株を用いたトランスクリプトーム解析 第43回精神神経系薬物治療研究報告会 (大阪 2010年12月)
 11. 毛利彰宏, 佐々木文, 渡辺研, 布目貴大, 十川千春, 北山滋雄, 宮本嘉明, 間宮隆吉, 山田清文, 野田幸裕, 鍋島俊隆: MAGE-D1 遺伝子欠損マウスはセロトニン作動性神経機能低下を伴ったうつ様行動を示す. 名城大学学術フロンティア推進事業 第3回若手研究者シンポジウム・第1回研究・大学活性化を目的とした学生フォーラム 合同開催 (名古屋 2011年1月)
 12. 肥田裕丈, 毛利彰宏, 安藤雄, 山田清文, 鍋島俊隆, 野田幸裕: 新生仔期の免疫異常は, 若年期における精神異常発現薬による情動・認知機能の障害および GLAST の異常発現を増強する. 名城大学学術フロンティア推

進事業 第3回若手研究者シンポジウム・第1回研究・大学活性化を目的とした学生フォーラム 合同開催 (名古屋 2011年1月)

13. 安藤雄、鵜飼麻由、毛利彰宏、肥田裕丈、鍋島俊隆、尾崎紀夫、野田幸裕：幼若期における慢性的な社会性ストレスが実験動物の社会性行動や脳機能に及ぼす影響。名城大学学術フロンティア推進事業 第3回若手研究者シンポジウム・第1回研究・大学活性化を目的とした学生フォーラム 合同開催 (名古屋 2011年1月)
14. 大橋美月、山田真之亮、吉見陽、石原良子、永井拓、山田清文、野田幸裕、尾崎紀夫：統合失調症および双極性障害の発症脆弱性因子探索のためのプロテオーム解析。名城大学学術フロンティア推進事業 第3回若手研究者シンポジウム・第1回研究・大学活性化を目的とした学生フォーラム 合同開催 (名古屋 2011年1月)
15. 野田幸裕、安藤雄、毛利彰宏、鵜飼麻由、肥田裕丈、山田清文、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。平成22年度名城大学学術フロンティア推進事業研究成果報告会 (名古屋 2011年2月)
16. 野田幸裕、肥田裕丈、毛利彰宏、荻野由里恵、関壮史、鍋島俊隆：第二世代抗精神病薬と認知機能：統合失調症モデル動物を用いたブロンセリンの薬効の評価。DSフォーラム2011 (東京 2011年3月)
17. 肥田裕丈、毛利彰宏、安藤雄、鵜飼真由、荻野由香里、山田清文、鍋島俊隆、野田幸裕：新生仔期の免疫異常と若年期における精神異常発現薬の複合負荷が情動・認知機能に与える影響。第20回神経行動薬理若手研究者の集い (東京 2011年3月)
18. 大橋美月、山田真之亮、吉見陽、石原良子、

永井拓、山田清文、野田幸裕、尾崎紀夫：統合失調症および双極性障害の発症脆弱性因子探索のためのプロテオーム解析。第84回日本薬理学会年会 (横浜 2011年3月)

19. 安藤雄、毛利彰宏、肥田裕丈、脇由香里、吉見陽、鍋島俊隆、尾崎紀夫、野田幸裕：幼若期における社会敗北ストレスは、脳内モノアミン量変化を伴う社会性行動の障害を惹起する。第84回日本薬理学会年会 (横浜 2011年3月)
20. 毛利彰宏、肥田裕丈、安藤雄、間宮隆吉、永井拓、山田清文、鍋島俊隆、野田幸裕：新生児期の PolyI:C 投与はフェンシクリジン投与によるグルタミン酸作動性神経伝達を障害し、異常行動を増悪させる。第84回日本薬理学会年会 (横浜 2011年3月)

G. 知的所有権の取得状況

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

研究協力者：衣斐大祐、山田真之亮、山田清文

（名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学・附属病院薬剤部）

[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。本研究では、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質発現変化を網羅的に解析した。

ICR 系の新生仔マウスに polyI:C を生後 2 日目から 6 日目まで連続皮下投与した。10 週齢に成長したマウスの海馬から細胞質分画タンパクを抽出し、fluorescence two-dimensional difference gel electrophoresis 法よりスポットの発現量を比較した。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。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。発現変化が認められたスポットについて peptide mass fingerprinting 法によりタンパク同定を行った結果、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。イムノブロットング法を行った結果、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。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。さらに、polyI:C 最終投与 24 時間後の新生仔マウスの海馬においても、同様の結果を得た。一方、polyI:C を投与した C57BL/6 系マウスでは ALDH1L1 および CRMP5 の発現に有意な変化は認められなかった。

PolyI:C を処置したアストロサイトの培養上清 (polyI:C-ACM) を初代培養神経細胞に添加した後の CRMP5 の発現を免疫染色法により調べた。CRMP5 の免疫活性は神経細胞の細胞体および軸索に認められた。コントロール細胞と比較して、polyI:C-ACM を処置した神経細胞では神経突起の抑制が認められ、軸索における CRMP5 の免疫活性も減弱していた。PolyI:C-ACM によって惹起される神経細胞の発達障害機構を調べるため、セクレトーム解析の予備的検討を行った。以上の結果から、新生仔期に polyI:C を投与した ICR 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り、その発現変化には種差が認められることが明らかとなった。

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。これまでに、ICR系の新生仔マウスにpolyI:Cを生後2日目から6日目まで連続皮下投与した。10週齢に成長したマウスの海馬から細胞質分画タンパクを抽出し、fluorescence two-dimensional difference gel electrophoresis法よりスポットの発現量を比較した。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。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。発現変化が認められたスポットについてpeptide mass fingerprinting法によりタンパク同定を行った結果、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。イムノブロットティング法を行った結果、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。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。さらに、polyI:C最終投与24時間後の新生仔マウスの海馬においても、同様の結果を得た。

本年度は、C57BL/6J系マウスを用いてマウスの系統差について比較検討した。培養細胞を用いて変化が認められたALDH1L1およびCRMP5の遺伝子発現変化について検討した。さらに、セクレトーム解析の予備的検討を行った。

B. 研究方法

1. polyI:C 処置マウスの作製

実験にはICR系またはC57BL/6J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℃で凍結保存した。

3. イムノブロットティング法

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℃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 にブ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

ンした後、blocking solution で 1:2000 倍に希釈した 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℃、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-rabbit 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。

4. 初代培養神経細胞の調製

妊娠 16 日目の ICR マウス (日本エスエルシー) より胎児の海馬を実体顕微鏡下で取り出し、trypsin および DNase を用いて酵素処理をした後、ポリリジンでコーティングをしたシャーレに播いた。PolyI:C (10 µg/mL) またはアストログリア培養細胞培地の処置は培養開始 2 日目に行い、培養 3 日目に解析を行なった。免疫細胞化学解析では 24 well プレートに 1×10^4 個/well で播いた。イムノプロットング解析では 24 well プレートに 1.0×10^6 個/well で播いた。

5. アストログリア培養細胞の調製

生後 0~2 日の新生児 ICR マウス (日本エスエルシー) から大脳皮質を取り出し、dispase および DNase を用いて酵素処理をした後、初代培養としてフラスコに播いた。90~95%コンフルエントになった時点で二次培養を行った。

実験を開始する 5 日前に培地を血清入り DMEM 培地から B27 サプリメントおよびグルタミンを添加した Neurobasal 培地に換え、polyI:C (10 µg/mL) 添加後 24 時間後の培地を初代神経細胞に処置した。

6. 免疫細胞化学

4%パラホルムアルデヒドで固定した後、抗 CRMP5、MAP2 および tau 抗体を用いて免疫染色を行った。

7. リアルタイム PCR 法

細胞から抽出した 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 ALDH1L1 および CRMP5 の mRNA 量を定量した。

β-actin primer

Forward: CGATGCCCTGAGGCTCTTT

Reverse: TGGATGCCACAGGATTCCA

CRMP5 primer

Forward: GCGGTGTACAGGATCGAATGA

Reverse: CATCCATCTTTCTCCAACCA

ALDH1L1 primer

Forward: GGTCTGTGGTGGGAACCAAGT

Reverse: TGAAAACGGTTGGCTGAAAGA

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

初代培養アストロサイトに polyI:C (10 µg/mL) 添加後を 24 時間後の培地 (polyI:C-ACM) から抽出したタンパクを蛍光ラベルした。蛍光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。

C. 研究結果

1. 新生仔期に polyI:C を処置した C57BL6/J 系マウスにおける ALDH1L1 および CRMP5 の発現解析

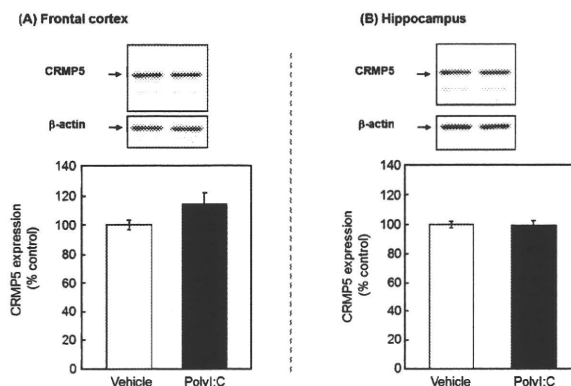


Fig. 1. Expression levels of CRMP5 protein in the prefrontal cortex (A) and hippocampus (B) of polyI:C-treated C57BL/6J mice at the age of 18 weeks. Values indicate the mean \pm SE (n=3).

ICR 系マウスでは 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。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。さらに、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。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。

CRMP5 の発現変化にマウスの系統差が認められるかどうかを調べるため、新生仔期に polyI:C を処置した C57BL/6J 系マウスを用いてイムノブロッティング解析を行った。PolyI:C を投与して 18 週齢に成長したマウスの海馬および前頭皮質において、CRMP5 の発現に有意な変化は認められなかった (Fig. 1)。また、polyI:C を投与して 2 週齢に成長したマウスの海馬および前頭皮質でも、および CRMP5 の発現に有意な変化は認められなかった (Fig. 2)。

2. 初代培養細胞を用いた ALDH1L1 および CRMP5 の発現解析

中枢神経系において ALDH1L1 はアストロサイトに発現し、CRMP5 は神経細胞に発現していることが報告されている^{7,8)}。そこで、初代培養細胞を用いて、polyI:C 処置により ALDH1L1 および CRMP5 mRNA 発現が変化するかどうかを検討し

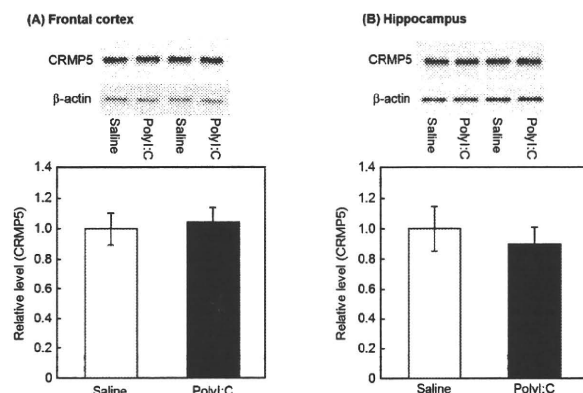


Fig. 2. Expression levels of CRMP5 protein in the frontal cortex (A) and hippocampus (B) of polyI:C-treated C57BL/6J mice at the age of 2 weeks. Values indicate the mean \pm SE (n=4).

た。皮質由来初代培養アストロサイトにおいて、polyI:C を処置しても ALDH1L1 mRNA 発現に有意な発現変化は認められなかった (Fig. 3)。また、海馬由来初代培養神経細胞に polyI:C を処置しても CRMP5 mRNA 発現に有意な発現変化は認められなかった (Fig. 4)。

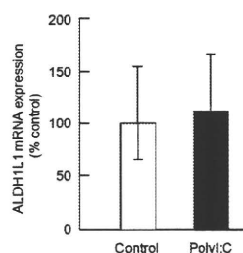


Fig. 3. Effect of polyI:C treatment on the expression level of ALDH1L1 mRNA in primary cultured astrocyte. Values indicate the mean \pm SE (n=4).

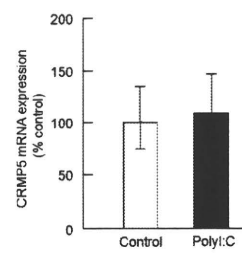


Fig. 4. Effect of polyI:C treatment on the expression levels of CRMP5 mRNA in primary cultured hippocampal neurons. Values indicate the mean \pm SE of three independent experiments (n=3).

3. PolyI:C による神経—グリア相互作用解析

PolyI:C を処置したアストロサイトの培養上清を初代培養神経細胞に添加すると神経突起の伸展が抑制されることが山田清文教授らのグループから報告されている⁹⁾。また、CRMP5 は神経細胞において軸索の伸展に関与していることが報告されている。そこで、polyI:C を処置したアストロサイトの培養上清 (polyI:C-ACM) を初代培養神経細胞に添加した後の CRMP5 の発現を免疫染色法により調べた。CRMP5 の免疫活性は神経細胞の細胞体および軸索に認められた。コントロール細胞と比較して、polyI:C-ACM を処置した神経細胞では神経突起の抑制が認められ、軸索におけ

る CRMP5 の免疫活性も減弱していた (Fig. 5)。一方、免疫ブロッティング法を用いて CRMP5 のタンパク発現を検討したが、polyI:C-ACM を処置した神経細胞では有意な変化が認められなかった (Fig. 6)。

さらに、polyI:C による神経-グリア相互作用に係る分子を調べるため、polyI:C-ACM 中に含まれるタンパク発現を 2D-DIGE 法を用いて予備検討を行った。神経細胞培養用添加物 B27 含有 control-ACM および polyI:C-ACM では、B27 由来のスポットのみ検出された。一方、B27 を含まない control-ACM および polyI:C-ACM では多数のスポットが認められ、control-ACM および polyI:C-ACM の間に発現変化を示すスポットが複数認められた (Fig. 7)。

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、正常なマウスと比較して学習・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⁹⁾。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⁹⁾。我々は、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、ALDH1L1 および CRMP5 の発現が変化することを見出した。

本研究において、C57BL/6J 系マウスでは polyI:C を処置しても CRMP5 の発現に有意な差は認められなかった。マウスの系統による相違の理由については明らかではないが、行動学的解析でも C57BL/6J 系マウスは ICR 系マウスに比べて polyI:C による行動異常が殆ど認められないことから、おそらく polyI:C に対する感受性の相違によると考えられる。

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^{10,11)}。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¹²⁾、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⁷⁾。興味深いことに統合失調症患者の脳内で ALDH1L1 mRNA 発現が健常者に比べて増加していることが示されている¹³⁾。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

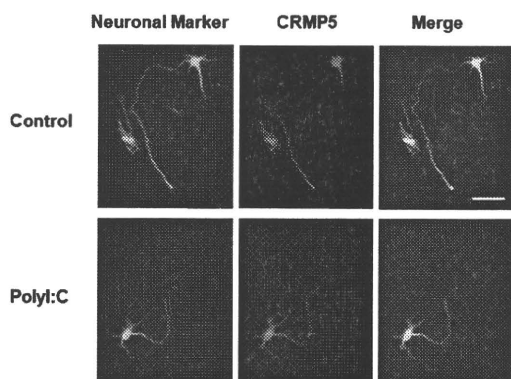


Fig. 5. Effect of polyI:C treatment on the expression of CRMP5-immunoreactivity in primary cultured hippocampal neurons
Scale bar: 100 μ m

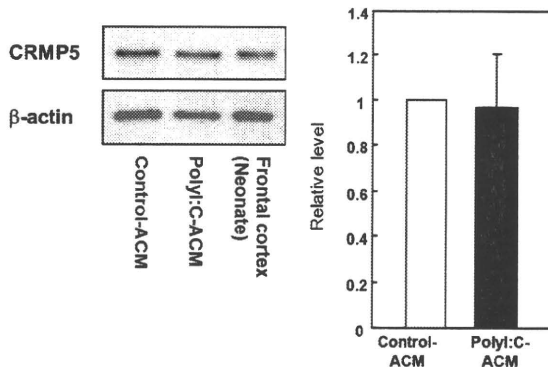


Fig. 6. Expression levels of CRMP5 protein in primary cultured hippocampal neurons treated with polyI:C-ACM
Values indicate the mean \pm SE (n=3).

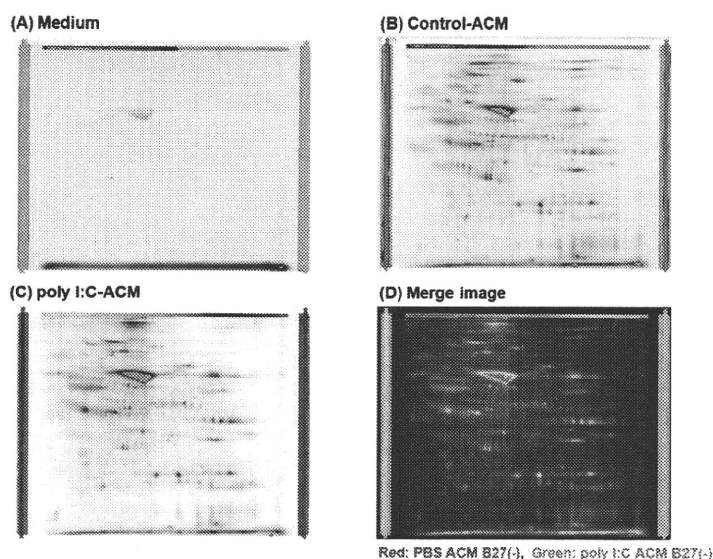


Fig. 7. 2D-DIGE analysis in the polyI:C-ACM.
Representative 2D image of CyDye-labeled culture medium (A), control-ACM (B), polyI:C-ACM (C) and merge image of B and C (D).

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。本研究では培養アストロサイトに polyI:C を処置しても ALDH1L1 mRNA 発現に有意な変化は認められなかったことから、polyI:C は間接的に ALDH1L1 の発現を調節していると考えられる。

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⁹⁾。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¹⁴⁾。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¹⁵⁾。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。本研究では培養神経細胞に polyI:C を処置しても CRMP5 mRNA 発現に有意な変化は認められなかったことから、polyI:C は間接的に CRMP5 の発現を調節していると考えられる。さらに、polyI:C を処置したアストロサイトの培養上清を初代培養神経細胞に添加すると神経突起の伸長が抑制され、軸索における CRMP5 の免疫活性も減弱していた。この結果は polyI:C によりアストロサイトから遊離された液性因子が神経突

起の伸長を抑制し、そのメカニズムに CRMP5 が関与している可能性を示唆している。

PolyI:C による神経—グリア相互作用に係る分子を調べるため、polyI:C-ACM 中に含まれるタンパク発現を 2D-DIGE 法を用いて予備検討を行った。B27 を含まない control-ACM および polyI:C-ACM では多数のスポットが認められ、control-ACM および polyI:C-ACM の間に発現変化を示すスポットが複数認められた。B27 不含 polyI:C-ACM が神経細胞の突起伸長を抑制するかどうかを確認する必要があるが、

セクレトーム解析の条件を確立することができた。今後は、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。CRMP5 の発現変化にはマウスの系統差が認められた。PolyI:C は間接的に ALDH1L1 および CRMP5 の発現を調節していた。以上の結果から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. 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.
 8. 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.
 9. 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, 2010.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. Barley K, Dracheva S, Byne W. et al. Subcortical oligodendrocyte- and astrocyte-associated gene expression in subjects with schizophrenia, major depression and bipolar disorder. *Schizophr. Res.* 112: 54-64, 2009.
 14. 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.
 15. 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) Lu, P., Mamiya, T., Lu, L., Mouri, A., Niwa, M., Kim, H.C., Zou, L.B., Nagai, T., Yamada, K., Ikejima, T. and Nabeshima, T. Silibinin attenuates cognitive deficits and decreases of dopamine and serotonin induced by repeated methamphetamine treatment. *Behav Brain Res.* 207: 387-393, 2010.
 - 2) Nagai, T., Kitahara, Y., Shiraki, A., Hikita, T., Taya, S., Kaibuchi, K. and Yamada, K. Dysfunction of dopamine release in the prefrontal cortex of dysbindin deficient sandy mice: an in vivo microdialysis study. *Neurosci. Lett.* 470: 134-138, 2010.
 - 3) Yu, J., Nagai, T.*, Ibi, D., Kitahara, Y., Nabeshima, T., Yamada, K. Nicotine ameliorates emotional and cognitive impairments induced by neonatal polyI:C

treatment in mice. *Open Behav. Sci. J.* 4: 9-18, 2010. (*co-first author).

- 4) Yun, J., Koike, H., Ibi, D., Toth, E., Mizoguchi, H., Nitta, A., Yoneyama, M., Ogita, K., Yoneda, Y., Nabeshima, T., Nagai, T., Yamada, K. Chronic restraint stress impairs neurogenesis and hippocampus-dependent fear memory in mice: Possible involvement of a brain-specific transcription factor Npas4. *J. Neurochem.* 114: 1840–1851, 2010.
- 5) Nagai, T., Ibi, D., Yamada, K. Animal model for schizophrenia through gene-environment interaction. *Biol. Pharm. Bull.* in press.
- 6) Mizoguchi, H., Ibi, D., Takase, F., Nagai, T., Kamei, H., Toth, E., Sato, J., Takuma, K., Yamada, K. Nicotine ameliorates impairment of working memory in methamphetamine-treated rats. *Behav Brain Res*, in press.

2. 学会発表

- 1) 于静華, 永井拓, 衣斐大祐, 北原裕子, 鍋島俊隆, 山田清文. Emotional and cognitive impairment induced by polyI:C was ameliorated by NMDA receptor co-agonist D-serine in mice. 第 83 回日本薬理学会年会. (大阪), (2010. 3. 16-18).
- 2) 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およぼす影響. 第 83 回日本薬理学会年会. (大阪), (2010. 3. 16-18).
- 3) 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 回日本薬理学会年会. (大阪), (2010. 3. 16-18).
- 4) 山田清文, Yu Jinghua, 北原裕子, 衣斐大祐, 鍋島俊隆, 永井拓. 新生仔期 polyI:C 処置によって誘発される不安様行動および学習記憶障害に対するニコチンの効果. 第 117 回日本薬理学会近畿部会 (徳島), (2010. 7. 8).
- 5) 永井拓, 衣斐大祐, 鍋島俊隆, 澤明, 山田清文. 周産期の免疫異常が神経精神発達におよぼす影響 (シンポジウム). *Neuro2010* 第 33 回日本神経科学大会、第 53 回日本神経化学学会大会、第 20 回日本神経回路学会大会. (神戸), (2010. 9. 2-4).
- 6) 衣斐大祐, 永井拓, 中島晶, 鍋島俊隆, 山田清文. 発達期疑似ウイルス感染モデル動物の神経発達障害における Ifitm3 の役割. 第 20 回日本臨床精神神経薬理学会、第 40 回日本神経精神薬理学会合同年会 (仙台), (2010. 9. 15-17).
- 7) 山田清文, 衣斐大祐, 中島晶, 鍋島俊隆, 永井拓. PolyI:C 誘発性神経発達障害モデル：結合失調症動物モデルとしての有用性と発症機構 (シンポジウム), 第 20 回日本臨床精神神経薬理学会、第 40 回日本神経精神薬理学会合同年会 (仙台), (2010. 9. 15-17).
- 8) 永井拓, 于静華, 北原裕子, 衣斐大祐, 鍋島俊隆, 山田清文. 新生仔期 polyI:C 処置によって誘発される不安様行動および学習記憶障害. 第 20 回日本医療薬学会年会(千葉), (2010. 11. 13-14).
- 9) 衣斐大祐, 永井拓, 中島晶, 鍋島俊隆, 山田清文. PolyI:C：誘発性神経発達障害における interferon-induced transmembrane protein 3 の役割. 第 118 回日本薬理学会近畿部会 (大阪), (2010. 11. 19).
- 10) 衣斐大祐, 永井拓, 中島晶, 鍋島俊隆, 山田清文：神経発達期の免疫応答誘発性脳機能障害における IFITM3 の役割. 第 84 回日本薬理学会年会 (横浜), (2011.3.22-24).

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

「統合失調症マーカー及びその利用」尾崎紀夫, 永井拓, 吉見陽, 山田真之亮. 国立大学法人名古屋大学, 日本, 特願 2010-147017. 2010 年 6 月

29日.

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

