

(PI10/01221)', the 'Junta de Andalucía, Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa (CTS-510, CTS-4303 and CTS-7748)', the 'Cátedra-Externa del Dolor Fundación Grünenthal-Universidad de Cádiz' and FP7-PEOPLE-2010-RG (268377).

### Statement of Interest

Dr Berrocoso has served as a consultant for Grünenthal GmbH. Dr Ikeda has received research grants from Esai and Fujifilm. Dr Uhl has a patent regarding MOR gene (*oprm1*). Dr Mico has received research grants from, or served as a consultant for, Grünenthal GmbH, Eli Lilly and Company, Pfizer Inc, Takeda, Lundbeck, Pierre Fabre and Boehringer Ingelheim.

### References

- Beique JC, Lavoie N, de Montigny C, Debonnel G (1998). Affinities of venlafaxine and various reuptake inhibitors for the serotonin and norepinephrine transporters. *European Journal of Pharmacology* **349**, 129–132.
- Benbouzid M, Gaveriaux-Ruff C, Yalcin I, Waltisperger E, et al. (2008). Delta-opioid receptors are critical for tricyclic antidepressant treatment of neuropathic allodynia. *Biological Psychiatry* **63**, 633–636.
- Berrocoso E, Mico JA (2009a). Cooperative opioid and serotonergic mechanisms generate superior antidepressant-like effects in a mice model of depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology* **12**, 1033–1044.
- Berrocoso E, Mico JA (2009b). Role of serotonin 5-HT<sub>1A</sub> receptors in the antidepressant-like effect and the antinociceptive effect of venlafaxine in mice. *International Journal of Neuropsychopharmacology* **12**, 61–71.
- Berrocoso E, Rojas-Corrales MO, Mico JA (2006). Differential role of 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>1B</sub> receptors on the antinociceptive and antidepressant effect of tramadol in mice. *Psychopharmacology (Berlin)* **188**, 111–118.
- Berrocoso E, Sanchez-Blazquez P, Garzon J, Mico JA (2009). Opiates as antidepressants. *Current Pharmaceutical Design* **15**, 1612–1622.
- Besson A, Privat AM, Eschaliier A, Fialip J (1996). Effects of morphine, naloxone and their interaction in the learned-helplessness paradigm in rats. *Psychopharmacology (Berlin)* **123**, 71–78.
- Billbey DL, Salem H, Grossman MH (1960). The anatomical basis of the Straub phenomenon. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy* **15**, 540–543.
- Bodkin JA, Zornberg GL, Lukas SE, Cole JO (1995). Buprenorphine treatment of refractory depression. *Journal of Clinical Psychopharmacology* **15**, 49–57.
- Bravo L, Berrocoso E, Mico JA (2009). Animal models in psychiatry: conceptualization and preclinical models of depression. *European Journal of Psychiatry* **23** (Suppl.), 111–122.
- Chermet R, Thierry B, Mico JA, Steru L, et al. (1986). Adaptation of the tail suspension test to the rat. *Journal of Pharmacology* **17**, 348–350.
- Codd EE, Shank RP, Schupsky JJ, Raffa RB (1995). Serotonin and norepinephrine uptake inhibiting activity of centrally acting analgesics: structural determinants and role in antinociception. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **274**, 1263–1270.
- Cryan JF, Markou A, Lucki I (2002). Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in Pharmacological Sciences* **23**, 238–245.
- Cryan JF, Mombereau C, Vassout A (2005a). The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **29**, 571–625.
- Cryan JF, Valentino RJ, Lucki I (2005b). Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **29**, 547–569.
- Detke MJ, Rickels M, Lucki I (1995). Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology (Berlin)* **121**, 66–72.
- Fanelli J, Montgomery C (1998). Use of the analgesic tramadol in antidepressant potentiation. *Psychopharmacology Bulletin* **32**, 442.
- Fichna J, Janecka A, Piestrzeniewicz M, Costentin J, et al. (2007). Antidepressant-like effect of endomorphin-1 and endomorphin-2 in mice. *Neuropsychopharmacology* **32**, 813–821.
- Hegadoren KM, O'Donnell T, Lanius R, Coupland NJ, et al. (2009). The role of beta-endorphin in the pathophysiology of major depression. *Neuropeptides* **43**, 341–353.
- Ide S, Sora I, Ikeda K, Minami M, et al. (2010). Reduced emotional and corticosterone responses to stress in mu-opioid receptor knockout mice. *Neuropharmacology* **58**, 241–247.
- Jutkiewicz EM (2006). The antidepressant-like effects of delta-opioid receptor agonists. *Molecular Interventions* **6**, 162–169.
- Kennedy SE, Koeppe RA, Young EA, Zubieta JK (2006). Dysregulation of endogenous opioid emotion regulation circuitry in major depression in women. *Archives of General Psychiatry* **63**, 1199–1208.
- Kraepelin E (1901). *Einführung in Die Psychiatrische Klinik*. Leipzig: Ambrosius Barth-Verlag.
- Liu X, Gershenfeld HK (2001). Genetic differences in the tail-suspension test and its relationship to imipramine response among 11 inbred strains of mice. *Biological Psychiatry* **49**, 575–581.
- Lucki I, Dalvi A, Mayorga AJ (2001). Sensitivity to the effects of pharmacologically selective antidepressants in different strains of mice. *Psychopharmacology (Berlin)* **155**, 315–322.
- Mague SD, Pliakas AM, Todtenkopf MS, Tomasiewicz HC, et al. (2003). Antidepressant-like effects of kappa-opioid receptor antagonists in the forced swim test in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **305**, 323–330.

- Narita M, Suzuki T, Misawa M, Nagase H (1993). Antagonism of the morphine-induced Straub tail reaction by kappa-opioid receptor activation in mice. *Psychopharmacology (Berlin)* **110**, 254–256.
- Owens MJ, Morgan WN, Plott SJ, Nemeroff CB (1997). Neurotransmitter receptor and transporter binding profile of antidepressants and their metabolites. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **283**, 1305–1322.
- Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M (2005). Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology (Berlin)* **177**, 245–255.
- Pliakas AM, Carlson RR, Neve RL, Konradi C, et al. (2001). Altered responsiveness to cocaine and increased immobility in the forced swim test associated with elevated cAMP response element-binding protein expression in nucleus accumbens. *Journal of Neuroscience* **21**, 7397–7403.
- Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, et al. (1992). Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **260**, 275–285.
- Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, Shank RP, et al. (1993). Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **267**, 331–340.
- Rojas-Corrales MO, Berrocoso E, Gibert-Rahola J, Mico JA (2002). Antidepressant-like effects of tramadol and other central analgesics with activity on monoamines reuptake, in helpless rats. *Life Sciences* **72**, 143–152.
- Rojas-Corrales MO, Berrocoso E, Gibert-Rahola J, Mico JA (2004). Antidepressant-like effect of tramadol and its enantiomers in reserpinized mice: comparative study with desipramine, fluvoxamine, venlafaxine and opiates. *Journal of Psychopharmacology* **18**, 404–411.
- Rojas-Corrales MO, Gibert-Rahola J, Mico JA (1998). Tramadol induces antidepressant-type effects in mice. *Life Sciences* **63**, PL175–PL180.
- Shapira NA, Verduin ML, DeGraw JD (2001). Treatment of refractory major depression with tramadol monotherapy. *Journal of Clinical Psychiatry* **62**, 205–206.
- Shirayama Y, Ishida H, Iwata M, Hazama GI, et al. (2004). Stress increases dynorphin immunoreactivity in limbic brain regions and dynorphin antagonism produces antidepressant-like effects. *Journal of Neurochemistry* **90**, 1258–1268.
- Sora I, Elmer G, Funada M, Pieper J, et al. (2001). Mu opiate receptor gene dose effects on different morphine actions: evidence for differential *in vivo* mu receptor reserve. *Neuropsychopharmacology* **25**, 41–54.
- Spencer C (2000). The efficacy of intramuscular tramadol as a rapid-onset antidepressant. *Australian and New Zealand Journal of Psychiatry* **34**, 1032–1033.
- Steru L, Chermat R, Thierry B, Mico JA, et al. (1987). The automated tail suspension test: a computerized device which differentiates psychotropic drugs. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry* **11**, 659–671.
- Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P (1985). The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berlin)* **85**, 367–370.
- Stoll AL, Rueter S (1999). Treatment augmentation with opiates in severe and refractory major depression. *American Journal of Psychiatry* **156**, 2017.
- Tejedor-Real P, Mico JA, Maldonado R, Roques BP, et al. (1993). Effect of mixed (RB 38A) and selective (RB 38B) inhibitors of enkephalin degrading enzymes on a model of depression in the rat. *Biological Psychiatry* **34**, 100–107.
- Tejedor-Real P, Mico JA, Maldonado R, Roques BP, et al. (1995). Implication of endogenous opioid system in the learned helplessness model of depression. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **52**, 145–152.
- Tejedor-Real P, Mico JA, Smadja C, Maldonado R, et al. (1998). Involvement of delta-opioid receptors in the effects induced by endogenous enkephalins on learned helplessness model. *European Journal of Pharmacology* **354**, 1–7.
- Torregrossa MM, Folk JE, Rice KC, Watson SJ, et al. (2005). Chronic administration of the delta opioid receptor agonist (+)BW373U86 and antidepressants on behavior in the forced swim test and BDNF mRNA expression in rats. *Psychopharmacology (Berlin)* **183**, 31–40.
- Torregrossa MM, Jutkiewicz EM, Mosberg HI, Balboni G, et al. (2006). Peptidic delta opioid receptor agonists produce antidepressant-like effects in the forced swim test and regulate BDNF mRNA expression in rats. *Brain Research* **1069**, 172–181.
- Yalcin I, Aksu F, Bodard S, Chalou S, et al. (2007). Antidepressant-like effect of tramadol in the unpredictable chronic mild stress procedure: possible involvement of the noradrenergic system. *Behavioural Pharmacology* **18**, 623–631.

シン  
ポ  
ジ  
ウ  
ム

精神医学研究の到達点と展望\*

# 依存性薬物作用の解明が拓く新しい精神医学\*\*

池田和隆<sup>1)</sup>

## Key words

Substances of abuse, NMDA receptor, Opioid, Analgesia, AD/HD

## 依存性薬物と精神疾患

依存性薬物は、物質使用障害のみならず、広く精神疾患と関連している。覚せい剤であるメタンフェタミンや幻覚剤であるフェンサイクリジン(PCP)の摂取が統合失調症様の症状を引き起こすことはよく知られている。また、アルコールや各種の依存性薬物の摂取は、うつ病の重大なリスクファクターである。このように依存性薬物が精神疾患を誘発する一方で、依存性薬物は精神疾患の治療薬としても広く用いられている。メチルフェニデートは注意欠如多動性障害(AD/HD)やナルコレプシーの治療薬であり、ベンゾジアゼピン系の薬物は睡眠薬、抗不安薬、アルコール依存離脱期の治療薬であり、モルヒネなどのオピオイドはがん性疼痛治療に欠かせない精神腫瘍学における主要な薬剤である。このように依存性薬物は、人

類にとって諸刃の剣であり、さまざまな精神疾患と密接に関わっている。本稿では、筆者らの最近の研究成果を交えながら、依存性薬物の作用機序の解明が新たな精神医学の展開につながる可能性を論じたい。

## 物質使用障害の治療薬の探索

アルコール依存や薬物依存などの物質使用障害は、患者本人にとっても社会にとってもきわめて深刻な問題である。物質使用障害の治療は難しく、特効薬はないが、依存性物質の作用や代謝のメカニズムの解明から、治療法や治療薬が開発されている。たとえば抗酒剤は、アルコール代謝物のアセトアルデヒドの代謝を抑えることで、アルコール摂取によって不快感が生じるようにする薬剤である。また、ベンゾジアゼピン系の薬物は、アルコールが作動させるガンマアミノ酪酸(GABA)受容体チャンネルをアルコールに代わって作動させることで、アルコール離脱期の症状を緩和する。

筆者らは、依存性物質の作用機序を解明するために、G蛋白質活性型内向き整流性カリウム(GIRK)チャンネルに注目している。GIRKチャンネルは、オピオイド受容体やD<sub>2</sub>ドーパミン受容体などのGi/o型G蛋白質と共役する受容体の活性

2011年4月25日受稿, 2011年6月17日受理

\* 第39回精神研シンポジウム(2010年11月)より

\*\* Update of Psychiatry via Understanding Effects of Substances of Abuse

1) 東京都医学総合研究所依存性薬物プロジェクト(〒156-8506 東京都世田谷区上北沢2-1-6), IKEDA Kazutaka : Research Project for Addictive Substances, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Tokyo, Japan

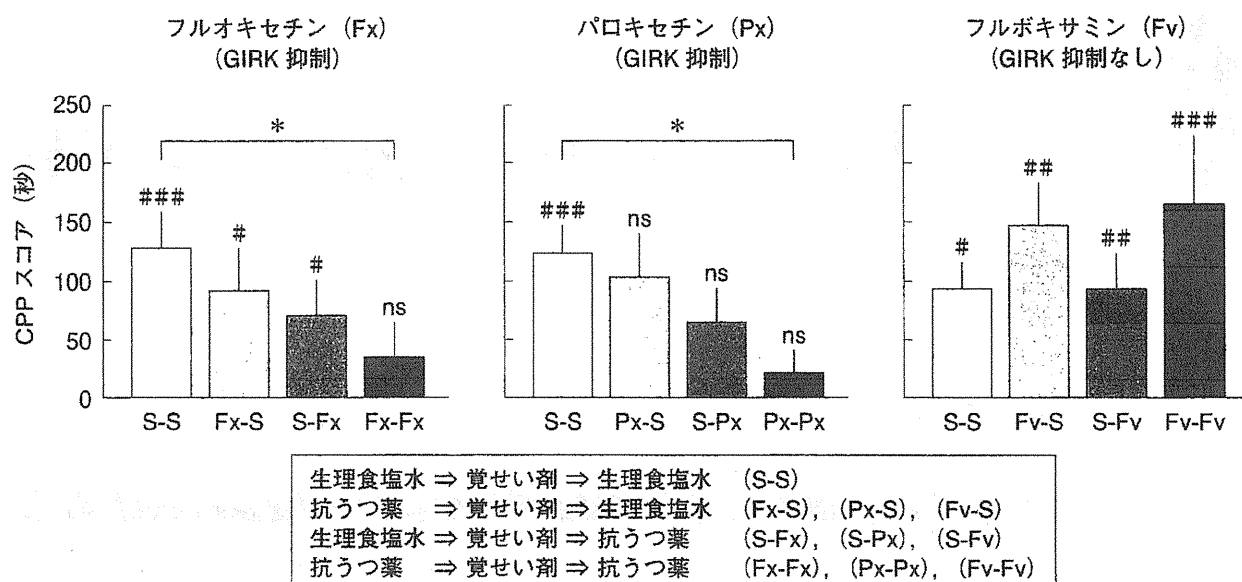


図1 GIRK 抑制作用のある抗うつ薬による覚せい剤嗜好性の減弱

覚せい剤に対する嗜好性を調べる薬物条件付け場所嗜好性試験において、条件付け前および嗜好性試験の前に生理食塩水または抗うつ薬(フルオキセチン、パロキセチン、フルボキサミン)を投与した。生理食塩水または抗うつ薬の投与順によるマウス群を図の下部に示す。

化によって開口するとともに、エタノールによっても開口するチャンネルであり、さまざまな依存性物質の情報伝達に関わると考えられる<sup>14)</sup>。

実際、このチャンネルに異常を持つウィーバーマウスでは、オピオイドやエタノールの作用が減弱することを見出している<sup>7,11)</sup>。さらに最近、GIRKチャンネルを阻害するフルオキセチンやパロキセチンがマウスにおけるメタンフェタミン嗜好性を減弱させること、類似の抗うつ薬に分類されるフルボキサミンではGIRKチャンネル阻害能が弱くメタンフェタミン嗜好性を減弱させる効果が認められないことなどを見出した<sup>12,13,15,26,27)</sup>(図1)。また、鈴木らにより薬物嗜好性を減弱させることが示されているイフェンプロジル<sup>24)</sup>も、GIRKチャンネルを阻害することを見出した<sup>16)</sup>。つまり、薬物嗜好性を減弱させる効果があるフルオキセチン、パロキセチン、イフェンプロジルはGIRKチャンネル阻害能を持ち、薬物嗜好性を減弱させる効果がないフルボキサミンにはGIRKチャンネル阻害能がなかった。このほか、GIRKチャンネルのGIRK2, GIRK3サブユニットを欠損したマウスでは、コカインの自己投与が減弱すること

が報告されている<sup>19)</sup>。また、最近の学会などで、イフェンプロジルが鎮咳薬依存患者において著効したことや、アルコール依存患者での奏効例が報告されている。以上より、GIRKチャンネルは依存性物質による報酬効果と密接に関連していると考えられ、GIRKチャンネルの阻害剤には薬物依存治療薬としての可能性が期待される。

## フェンサイクリジンと依存、統合失調症

フェンサイクリジン(PCP)は麻酔薬として開発されたが、麻酔からの回復期に幻覚などの精神病様症状が現われることから開発が中止された薬物である。PCPは、幻覚剤として乱用されており依存性物質である。また、乱用により、統合失調症と類似した症状が誘発されることから、動物にPCPを投与した統合失調症モデル動物が作製されて研究に広く用いられている。PCPの作用点はNMDA受容体チャンネルであり、異なるサブユニットで構成されるNMDA受容体チャンネルのいずれにおいてもPCPによって同様に阻害されることが示されている<sup>29)</sup>。PCPの作用機序を調べ

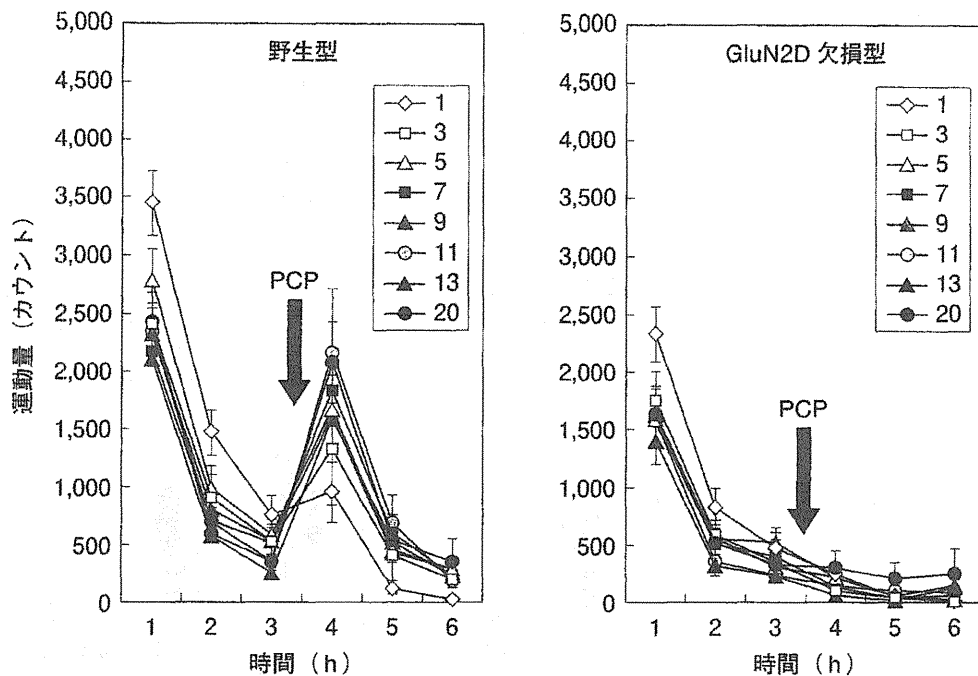


図2 GluN2D 欠損マウスにおける PCP による運動量亢進効果の消失  
野生型マウスおよび GluN2D 欠損マウスに対して、1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 20 日目に PCP を投与し、移所運動量試験を行った。

るため、NMDA 受容体チャネルサブユニットの GluN2A と GluN2D の遺伝子欠損マウスにおいて、移所運動量試験とマイクロダイアリス分析による細胞外ドーパミン量の測定を行った<sup>2)</sup>。野生型マウスでは、PCP 投与後に活動量の亢進および細胞外ドーパミン量の上昇がみられるのに対して、GluN2D 欠損マウスでは、このような PCP の効果が全くみられなかった。さらに、PCP を連続投与すると、感受性亢進が起こり、連続投与後の運動量の亢進は初回投与後の運動量の更新よりも有意に大きなものとなるが、この感受性亢進も GluN2D 欠損マウスでは全く観察されなかった(図 2)。GluN2D サブユニットは、PCP の効果発現において必須の分子であるといえる。さらに、GluN2D 遺伝子多型が統合失調症と関連することが示されていることから<sup>17)</sup>、GluN2D の研究は、薬物依存だけでなく統合失調症の病態メカニズムの解明にもつながる可能性が考えられる。

GluN2D サブユニットは 15 年以上前に筆者が cDNA クローニングや遺伝子欠損マウスの作製・

解析を担当したサブユニットである<sup>5,6)</sup>。GluN2D サブユニットは、マウスの胎生期から生後 2 週齢において強い発現を脳で示すが、成獣においては発現量が低下し、限定的な発現となる<sup>28)</sup>。GluN2D 遺伝子欠損マウスでは、移所運動量の低下などが認められるが、顕著な行動異常は報告されておらず、光学顕微鏡レベルでの脳組織も正常である<sup>6,18)</sup>。GluN2D 欠損マウスにおいて PCP の効果が消失している原因としては、成獣において限局的に発現している GluN2D が PCP の標的である可能性や発達期に GluN2D が欠損しているために何らかの脳の機能変化が起こる可能性などが考えられる。今後さらに PCP 効果における GluN2D の役割およびそのメカニズムを研究することで、PCP 依存や PCP 誘発性精神病の病態メカニズムが解明されると期待できる。

## オピオイドと精神腫瘍学

2007 年のがん対策基本法が施行され、早期からの適切な緩和医療が求められるようになった<sup>21)</sup>。緩和医療チームには精神科医の参加が必須

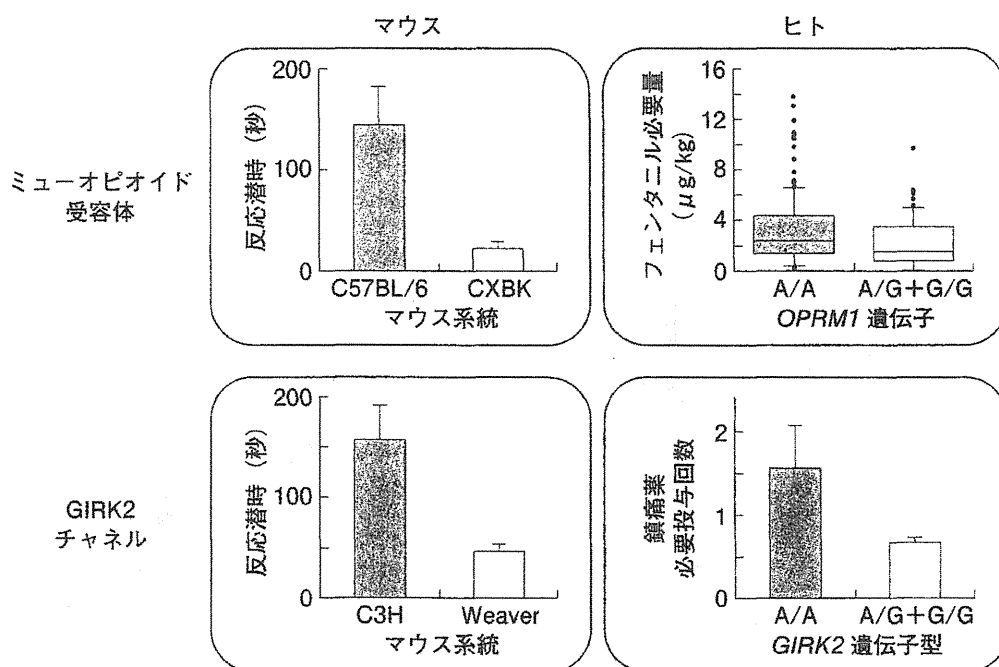


図3 マウスおよびヒトにおけるミューオピオイド受容体および GIRK チャンネルの遺伝子配列の違いと麻薬性鎮痛薬感受性の違いとの関連

ミューオピオイド受容体遺伝子の塩基配列に差異がある CXBK マウスでは、野生型マウス (C57BL/6) と比べて麻薬性鎮痛薬の効果が減弱している。ヒトにおいても、ミューオピオイド受容体遺伝子 (*OPRM1*) の多型と術後鎮痛に必要なフェンタニル量が関連する。また、GIRK チャンネルの *GIRK2* サブユニットの遺伝子配列に変異があるウィーバーマウスでは、野生型マウス (C3H) と比べて麻薬性鎮痛薬の効果が減弱している。ヒトにおいても、*GIRK2* 遺伝子の多型と術後鎮痛に必要な鎮痛薬投与回数が関連する。

であり、精神腫瘍学は精神医学においても一層重要な位置づけとなった。緩和医療において主要な薬剤は、オピオイド性鎮痛薬であり、典型的な依存性薬物である。一方、オピオイドの感受性には大きな個人差があり、効果的な疼痛治療を妨げている。そして、このような薬剤感受性個人差には、環境要因だけではなく、遺伝要因もあって考えられている<sup>9)</sup>。

筆者らは、オピオイド感受性個人差の遺伝要因を、マウスおよびヒトにおいて探索している。モルヒネ感受性が減弱している CXBK マウスは、ミューオピオイド受容体の遺伝子配列に差異を持つことを見出し<sup>3,8)</sup>、ヒトにおいてもこの遺伝子領域の多型がオピオイド性鎮痛薬の感受性と関連することを見出した<sup>1,4)</sup>(図3)。また、GIRK チャンネルの *GIRK2* サブユニットに変異を持つウィーバーマウスでは、モルヒネ鎮痛効果やアルコール

による鎮痛効果が減弱していることを見出すとともに<sup>7,11)</sup>、ヒトにおいても *GIRK2* 遺伝子の多型がオピオイド感受性と関連することを見出した<sup>20)</sup>(図3)。このような研究がさらに進むことで、個々人の鎮痛薬感受性や副作用出現リスクを遺伝子検査によって予測することが可能になり、テーラーメイドの疼痛治療に道が拓かれると期待できる。

## 中枢刺激薬と AD/HD

AD/HD は、小学生の 4~7% が罹患するきわめて頻度の高い小児精神疾患であり、患者の自尊心の低下や学習の遅れを招くだけでなく、学級崩壊など周囲を巻き込んだ問題に発展することもある。治療薬として国内外で広く用いられているメチルフェニデートは、中枢刺激薬であり、その作用機序は覚せい剤と類似している。

筆者らは、メチルフェニデートの主要作用点と考えられているドーパミントランスポーター (DAT) に注目し、その遺伝子欠損マウスにおけるメチルフェニデートの効果を検討した。興味深いことに、DAT 欠損マウスは多動や学習障害を示し、これらの障害はメチルフェニデート投与によって顕著に改善した。これらの結果から、DAT 欠損マウスは、典型的な AD/HD モデル動物といえるが、DAT が存在しない動物においてメチルフェニデートが奏効したことから、メチルフェニデートの主要標的は DAT ではないことが示唆された。さらに、マイクロダイアリス分析により、DAT 欠損マウスにおいてもメチルフェニデート投与後に、前頭前野で細胞外ドーパミン量が上昇することが明らかになり、メチルフェニデートによる AD/HD の治療メカニズムに前頭前野でのドーパミン上昇が関連する可能性が考えられた。

## 依存性薬物の作用機序解明とその医療応用

依存性薬物は、脳内報酬系など精神を担う根源的な脳機能に影響することで、一見関係が薄いと考えられる精神疾患とも関係している。依存性薬物の作用機序の解明は、さまざまな精神疾患の病態の解明や治療法の開発に寄与する可能性がある。

### 文献

- 1) Fukuda K, Hayashida M, Ide S, et al : Association between OPRM1 gene polymorphisms and fentanyl sensitivity in patients undergoing painful cosmetic surgery. *Pain* 147 : 194-201, 2009
- 2) Hagino Y, Kasai S, Han W, et al : Essential role of NMDA receptor channel epsilon4 subunit (GluN2D) in the effects of phencyclidine, but not methamphetamine. *PLoS ONE* 5 : e13722, 2010
- 3) Han W, Kasai S, Hata H, et al : Intracisternal A-particle element in the 3' noncoding region of the mu-opioid receptor gene in CXBK Mice : a new genetic mechanism underlying differences in opioid sensitivity. *Pharmacogenomics* 16 : 451-460, 2006
- 4) Hayashida M, Nagashima M, Satoh Y, et al : Analgesic requirements after major abdominal surgery are associated with OPRM1 gene polymorphism genotype and haplotype. *Pharmacogenomics* 9 : 1605-1616, 2008
- 5) Ikeda K, Nagasawa M, Mori H, et al : Cloning and expression of the epsilon4 subunit of the NMDA receptor channel. *FEBS Lett* 313 : 34-38, 1992
- 6) Ikeda K, Araki K, Takayama C, et al : Reduced spontaneous activity of mice defective in the epsilon4 subunit of the NMDA receptor channel. *Brain Res Mol Brain Res* 33 : 61-71, 1995
- 7) Ikeda K, Kobayashi T, Kumanishi T, et al : Involvement of G-protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> (GIRK) channels in opioid-induced analgesia. *Neurosci Res* 38 : 111-114, 2000
- 8) Ikeda K, Kobayashi T, Ichikawa T, et al : The untranslated region of mu-opioid-receptor mRNA contributes to reduced opioid sensitivity in CXBK mice. *J Neurosci* 21 : 1334-1339, 2001
- 9) Ikeda K, Ide S, Han W, et al : How individual sensitivity to opiates can be predicted by gene analyses. *Trends Pharmacol Sci* 26 : 311-317, 2005
- 10) 池田和隆 : 総論 依存症の生物学 : 最近の新展開一特集にあたって. *Medical Bio* 6 : 14-17, 2009
- 11) Kobayashi T, Ikeda K, Kojima H, et al : Ethanol opens G-protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels. *Nat Neurosci* 2 : 1091-1097, 1999
- 12) Kobayashi T, Washiyama K, Ikeda K : Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by fluoxetine (Prozac). *Br J Pharmacol* 138 : 1119-1128, 2003
- 13) Kobayashi T, Washiyama K, Ikeda K : Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by various antidepressant drugs. *Neuropsychopharmacology* 29 : 1841-1851, 2004
- 14) Kobayashi T, Ikeda K : G protein-activated inwardly rectifying potassium channels as potential therapeutic targets. *Curr Pharm Des* 12 : 4513-4523, 2006
- 15) Kobayashi T, Washiyama K, Ikeda K : Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by the antidepressant

- paroxetine. *J Pharmacol Sci* 102 : 278-287, 2006
- 16) Kobayashi T, Washiyama K, Ikeda K : Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by ifenprodil. *Neuropsychopharmacology* 31 : 516-524, 2006
- 17) Makino C, Shibata H, Ninomiya H, et al : Identification of single-nucleotide polymorphisms in the human N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2D gene, GRIN2D, and association study with schizophrenia. *Psychiatr Genet* 15 : 215-221, 2005
- 18) Miyamoto Y, Yamada K, Noda Y, et al : Lower sensitivity to stress and altered monoaminergic neuronal function in mice lacking the NMDA receptor epsilon 4 subunit. *J Neurosci* 22 : 2335-2342, 2002
- 19) Morgan AD, Carroll ME, Loth AK, et al : Decreased cocaine self-administration in Kir3 potassium channel subunit knockout mice. *Neuropsychopharmacology* 28 : 932-938, 2003
- 20) Nishizawa D, Nagashima M, Katoh R, et al : Association between KCNJ6 (GIRK2) gene polymorphisms and postoperative analgesic requirements after major abdominal surgery. *PLoS ONE* 4 : e7060, 2009
- 21) 小川節郎, 鈴木勉, 池田和隆, 他 : 緩和医療 : 痛みの理解から心のケアまで. 東京大学出版会, 2010
- 22) Olds J, Milner P : Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol* 47 : 419-427, 1954
- 23) Sora I, Hall FS, Andrews AM, et al : Molecular mechanisms of cocaine reward : combined dopamine and serotonin transporter knockouts eliminate cocaine place preference. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98 : 5300-5305, 2001
- 24) Suzuki T, Kato H, Tsuda M, et al : Effects of the non-competitive NMDA receptor antagonist ifenprodil on the morphine-induced place preference in mice. *Life Sci* 64 : PL151-PL156, 1999
- 25) Takahashi T, Kobayashi T, Ozaki M, et al : G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel inhibition and rescue of *weaver* mouse motor functions by antidepressants. *Neurosci Res* 54 : 104-111, 2006
- 26) Takamatsu Y, Yamamoto H, Ogai Y, et al : Fluoxetine as a potential pharmacotherapy for methamphetamine dependence : studies in mice. *Ann N Y Acad Sci* 1074 : 295-302, 2006
- 27) Takamatsu Y, Yamamoto H, Hagino Y, et al : The selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine, but not fluvoxamine, decreases methamphetamine conditioned place preference in mice. *Curr Neuropharmacol* 9 : 68-72, 2011
- 28) Watanabe M, Inoue Y, Sakimura K, et al : Developmental changes in distribution of NMDA receptor channel subunit mRNAs. *Neuroreport* 3 : 1138-1140, 1992
- 29) Yamakura T, Mori H, Masaki H, et al : Different sensitivities of NMDA receptor channel subtypes to non-competitive antagonists. *Neuroreport* 4 : 687-690, 1993



## 千里ライフサイエンス国際シンポジウム 2012 Senri Life Science International Symposium on "Cutting-edge of Autophagy Study"

日時 2012年1月20日(金)9:30~17:10

場所 千里ライフサイエンスセンタービル5階ライフホール

(大阪府豊中市新千里東町1-4-2, 地下鉄御堂筋線/北大阪急行千里中央下車)

コーディネーター 田中啓二(東京都医学総合研究所所長)

大隅良典(東京工業大学統合研究院先進研究機構教授)

主催 公益財団法人千里ライフサイエンス振興財団

※プログラム, 参加申込等詳細は, 財団ウェブサイトをご覧ください。

URL : <http://www.senri-life.or.jp>



[CINP2010 発表報告]

## 野生由来近交系マウス系統における *Oprm1* 遺伝子多型と モルヒネ感受性の関連性\*

笠井 慎也\*<sup>1</sup> 韓 文 華\*<sup>1</sup> 畑 春 美\*<sup>1</sup> 高松 幸雄\*<sup>1</sup>  
萩野 洋子\*<sup>1</sup> 城石 俊彦\*<sup>2</sup> 小出 剛\*<sup>3</sup> 池田 和隆\*<sup>1</sup>

\*<sup>1</sup>(財)東京都医学総合研究所・依存性薬物プロジェクト\*<sup>2</sup>国立遺伝学研究所 哺乳動物遺伝研究室, \*<sup>3</sup>同, マウス開発研究室

モルヒネやフェンタニルといった麻薬性鎮痛薬は、慢性痛の疼痛治療や外科手術における周術期の疼痛治療など様々な医療行為に使用されている。世界保健機関 (WHO) により公表された WHO 方式がん性疼痛治療指針には、その基本 5 原則の 1 つに、“for the individual” (個々の患者の痛みに見合った鎮痛薬の量で治療すること) という項目があり、麻薬性鎮痛薬の最適量が各個人で著しく異なることは広く知られている。日本における麻薬性鎮痛薬の使用量はアメリカ・ドイツ・カナダの約 1/20, フランス・イギリス・イタリアの約 1/2~1/7 で、他の先進諸国に比べて圧倒的に少ない。その理由の 1 つとして、麻薬性鎮痛薬は鎮痛作用のほかにも吐き気・嘔吐、便秘や呼吸抑制といった様々な副作用を引き起こし、こういった鎮痛薬の作用には上述のような著しい個人差が存在するため、各個人に最適な疼痛治療が困難であることが挙げられる。日本では副作用の面がクローズアップされてしまい、他国に比べて使用機会が少ないと考えられる。そのため、鎮痛薬感受性の個人差を引き起こす分子メカニズムを明らかにすることは、日本における各個人に最適な疼痛治療の推進につながると考えられる。

鎮痛薬感受性個人差には遺伝子要因、環境要因や生活習慣要因など様々な要因が関与すると考えられている。近年、ヒト遺伝子多型と鎮痛薬感受性 (鎮痛効果や最適鎮痛薬量など) との関連解析が行われ、鎮痛薬感受性個人差に関連する遺伝子多型が複数同定されている。しかし、いくつかの遺伝子多型については再現性が得られないという報告もあり、より統制された解析が必要である。多要因が関与する疾患・病態における遺伝子要因について解析する場合、近交系マウス系統における系統間差異の解析が有効な解析モデルの 1 つである。近交系マウス系統において、系統内では遺伝子塩基配列はほぼ一致し、系統間では様々な遺伝子の塩基配列に違いが見られることから、特に鎮痛薬感受性個人差のような、健康人における遺伝子要因の解析モデルとして有効であると考えられる。

$\mu$  オピオイド受容体 (MOP) はモルヒネなど主要な麻薬性鎮痛薬の分子ターゲットである。MOP 遺伝子

(*Oprm1*) 欠損マウスでは、モルヒネの鎮痛作用はほぼ失われ、行動量亢進、報酬作用、身体依存、耐性等の副作用についても減弱していることから、MOP はモルヒネの鎮痛作用や副作用において重要な役割を果たしていると考えられる。また、*Oprm1* ヘテロ遺伝子欠損マウスではモルヒネの鎮痛作用、行動量亢進や報酬作用が半減していることから (MOP-haploinsufficiency), モルヒネの鎮痛作用、副作用においては MOP 必要量の閾値は高く、野生型マウスにおける MOP 発現量の半分以上は必要であると考えられる。そのため、MOP が重要な働きを果たす鎮痛薬感受性において、*Oprm1* 遺伝子多型の影響は大きいと考えられる。

本研究では、野生由来の近交系マウス系統を用いて *Oprm1* 遺伝子多型を同定し、モルヒネ鎮痛作用に影響を及ぼす *Oprm1* 遺伝子多型の解析を行った。

### 方 法

本研究では、実験用マウス 1 系統 (C57BL/6), 野生由来近交系マウス 9 系統 (BFM/2, BLG2, CHD, HMI, KJR, MSM, NJL, PGN2, SWN), 愛玩用マウス 1 系統 (JF1) の計 11 系統を用いた。BLG2 (ブルガリア), CHD (中国), HMI (台湾), KJR (韓国), MSM (日本・三島市), NJL (デンマーク), PGN2 (カナダ), SWN (韓国) の各マウス系統は、静岡県三島市にある国立遺伝学研究所が世界各地 (括弧内に表示) で捕獲された野生マウスから樹立・維持している近交系マウス系統である。BFM/2 マウス系統は、フランスの研究者が有するオリジナルストックから国立遺伝学研究所が樹立した近交系マウス系統である。また、JF1 マウス系統はデンマークで見つかった愛玩用マウスから国立遺伝学研究所が樹立した近交系マウス系統であるが、遺伝子解析の結果、日本の愛玩用マウス由来であることが明らかとなっている。このマウス系統はエンドセリン受容体 B 遺伝子に変異を有し難聴を呈することから、聴覚が正常な復帰突然変異体の JF1-s<sup>+</sup> 系統を解析に用いた。

これら “Mishima battery of inbred mouse strains” (三島近交系マウスバッテリー) を用いて、モルヒネ (10 mg/kg i.p. injection) の鎮痛作用を tail-flick 試験および hot-plate 試験により検討した。鎮痛作用は % of maximal possible effect (%MPE) [ $\{(\text{latency with morphine injection}) - (\text{latency}$

\* 本稿は JSNP Excellent Presentation Award for CINP2010(香港) を受賞した報告である。

with saline injection)}/(cut-off time) - (latency with saline injection)} \times 100(\%) ] により評価した。

*Oprm1* 遺伝子の転写産物にはスプライシング変異体が数多く報告されているが、主要な転写産物は exon 1-4 から転写される *MOR-1* である。我々は、*MOR-1* の翻訳終止点が exon 4 の 3' 末端であり、翻訳終止点から約 10 kb 下流にあることを示し、実験用マウス C57BL/6 における *MOR-1* mRNA の全塩基配列を明らかにしている。そこで *MOR-1* に注目し、exon 1-4 および転写調節領域である 5' flanking 領域約 8.5 kb の全塩基配列を sequencing 法により決定した。この塩基配列を 11 近交系マウス系統間で比較し、マウス *Oprm1* 遺伝子多型の同定を行った。

統計解析は StatView software (SAS Institute Inc.) を用いてノンパラメトリック法により検定を行った。多群間の比較は Kruskal-Wallis 検定を、2 群間比較には Mann-Whitney 検定を、相関解析には Spearman's rank correlation 検定を用いた。

## 結 果

モルヒネの鎮痛作用は、tail-flick 試験では C57BL/6, BLG2, CHD, KJR, NJL, PGN2, SWN 系統で、hot-plate 試験では C57BL/6, BLG2, CHD, JF1-s<sup>+</sup>, KJR, MSM, SWN 系統で特に高かった ( $P < 0.001$ , Mann-Whitney 検定)。このモルヒネによる鎮痛作用は、試験によらずマウス系統間で有意に異なり ( $P < 0.001$ , Kruskal-Wallis 試験)、特に C57BL/6-JF1-s<sup>+</sup>, BFM/2-JF1-s<sup>+</sup> (tail-flick 試験), C57BL/6-CHD, C57BL/6-JF1-s<sup>+</sup>, C57BL/6-KJR, BFM/2-CHD, BFM/2-JF1-s<sup>+</sup>, BFM/2-KJR, BFM/2-MSM, BFM/2-SWN, BLG2-CHD, BLG2-JF1-s<sup>+</sup>, BLG2-KJR, BLG2-MSM, BLG2-SWN, CHD-NJL, JF1-s<sup>+</sup>-NJL, JF1-s<sup>+</sup>-PGN2, KJR-NJL, KJR-PGN2, MSM-NJL (hot-plate 試験) 系統間では著しい鎮痛作用の差異が見られた ( $P < 0.01$ , Games-Howell post-hoc 検定)。今回用いたマウス系統は 3 亜種に分類され、C57BL/6, BFM/2 および PGN2 系統は *Mus musculus domesticus* 亜種に、HMI 系統は *Mus musculus castaneus* 亜種に、それ以外は *Mus musculus musculus* 亜種に属する。モルヒネの鎮痛作用は *domesticus* および *musculus* 亜種間で有意に異なり ( $P < 0.001$ , Mann-Whitney 検定)、*domesticus* 亜種のマウス系統ではモルヒネの鎮痛作用は低いか中程度であるのに対し、*musculus* 亜種のマウス系統は大半が高いモルヒネ鎮痛作用を示した。

*Oprm1* 遺伝子における塩基配列の差異は、5' flanking 領域、5' 非翻訳領域および 3' 非翻訳領域において多く見られ、特に塩基配列の差異の著しい領域が 5' flanking 領域に 1 箇所 (領域 1) および 3' 非翻訳領域に 3 箇所 (領域 2~4) の計 4 箇所同定された。領域 1 には (GA)<sub>n</sub> 反復配列が、領域 2 には (T)<sub>n</sub> 反復配列が、領域 3 には (TA)<sub>n</sub> 反復配列が、領域 4 には (CA)<sub>n</sub> および (CT)<sub>n</sub> 反復配列が存在し、これら short tandem repeat (STR) 型遺伝子多型が著しい

塩基配列差異の原因であると考えられる。*Oprm1* 遺伝子の塩基配列の違いは CDS 領域においても 6 箇所 (塩基) 見られ、1 箇所を除きすべてがアミノ酸非置換型の遺伝子多型であった。アミノ酸置換型の遺伝子多型を有するマウス系統は HMI 系統のみで、この HMI 系統においては MOP の機能が変化していることが示唆される。そのため、HMI 系統を除いた 10 マウス系統において *Oprm1* 遺伝子の STR 型遺伝子多型に着目し、モルヒネの鎮痛作用との相関解析を行った。

Hot-plate 試験によるモルヒネの鎮痛作用 %MPE と STR 型遺伝子多型との関連は見いだせなかったが、tail-flick 試験によるモルヒネの鎮痛作用 %MPE は (GA)<sub>n</sub> STR と逆相関を (Spearman's correlation coefficient:  $\rho = -0.689$ ,  $P = 0.027$ ), (T)<sub>n</sub> STR および (TA)<sub>n</sub> STR と正の相関を示した (Spearman's correlation coefficient:  $\rho = 0.735$ ,  $P = 0.016$ ;  $\rho = 0.738$ ,  $P = 0.015$ )。

## 考 察

現在、世界中で使用されている実験用マウスのほとんどは *domesticus* 亜種に属しており、実験用マウス系統間では遺伝子の塩基配列や表現型の差異が小さいことから、鎮痛薬感受性系統差に関わる遺伝子要因の検出力は低いと考えられる。しかし、本研究で用いた“三島近交系マウスバッテリー”は複数の亜種に属するマウス系統を含み、モルヒネの鎮痛作用や *Oprm1* 遺伝子の塩基配列差異において著しい系統差を示したことから、鎮痛薬感受性個人差のような表現型の差異に関わる遺伝子要因を解析する動物モデルとして有用であると考えられる。

また、本研究で行った tail-flick 試験は熱刺激に対する脊髄反射反応を測定し、hot-plate 試験は熱刺激に対する上脊髄性反応を測定する行動試験である。モルヒネのターゲット分子である MOP は脳を含め神経組織に広く分布するが、側坐核、中脳水道周囲や脊髄には比較的強く発現が見られる。今回、tail-flick 試験によるモルヒネの鎮痛作用においてのみ STR 型遺伝子多型との相関性が見られ、hot-plate 試験によるモルヒネ鎮痛作用と STR 型遺伝子多型との相関性が見られなかったのは、*Oprm1* 遺伝子の寄与率が上脊髄性反応より脊髄反射反応の方が高いためであろうと考えられる。

本研究では、モルヒネ鎮痛作用と相関するマウス *Oprm1* 遺伝子における STR 型遺伝子多型を同定した。ヒト *OPRM1* 遺伝子においては、鎮痛薬感受性と関連する一塩基遺伝子多型が複数報告されているが、STR 型遺伝子多型については全く解析されていない。本研究の結果から、STR 型遺伝子多型は塩基配列の差異とともに鎮痛薬感受性に及ぼす影響が大きいと予想され、今後ヒト *OPRM1* 遺伝子においても鎮痛薬感受性に関わる STR 型遺伝子多型の解析が必要であると考えられる。

## 特集2 報酬系の脳科学と生物学的精神医学の融合

## 3. 報酬系における GIRK チャネルの役割

菅谷 渚\* 池田 和隆\*

抄録：G 蛋白質活性化型内向き整流性カリウムチャネル（GIRKチャネル）は様々な依存性物質のシグナル伝達を担う。哺乳類においてGIRKチャネルには4つのサブユニットがあり、GIRK1～3サブユニットは主に中枢神経系に広く分布し、GIRK4サブユニットは主に心臓に存在している。

著者らは、(1) GIRK2サブユニットの遺伝子配列の差異がオピオイド感受性に影響していること、(2) フルオキセチン、パロキセチン、イフェンプロジルはGIRKチャネルを阻害し、メタンフェタミン嗜好性を減弱させるが、フルボキサミンはGIRKチャネルを阻害せずメタンフェタミン嗜好性も減弱させないこと、(3) カルテ調査においてGIRKチャネル阻害能を持つ薬物に依存治療効果が期待できることを見出した。これらの研究成果から、GIRKチャネルは報酬系において鍵となる分子の1つと考えられ、依存症治療の標的分子としても期待される。

日本生物学的精神医学会誌 22 (4) : 263-268, 2011

**Key words** : GIRK channel, reward system, addictive substance, SSRI, ifenprodil

## はじめに

報酬系を賦活させる物質としてアルコールや覚せい剤などの依存性物質があげられる。依存性物質による報酬効果にはさまざまな分子がかかわっているが、近年、G 蛋白質活性化型内向き整流性カリウムチャネル（G protein-activated inwardly rectifying potassium channel : GIRKチャネル）の役割が注目されている。本稿ではGIRKチャネルの構造および分布、依存性物質の報酬効果におけるGIRKチャネルの役割について概説する。

## 1. 依存性物質の生体内標的と報酬効果

依存性物質には、メタンフェタミン（覚せい剤）やコカイン、オピオイド、大麻の成分、幻覚剤、睡眠薬、有機溶剤、アルコール、ニコチン、カフェインなど多様な物質が含まれる。また、これらの依存性物質はシナプスの神経伝達に影響を与える特異的な標的、たとえばモノアミントランスポーター、オピオイド受容体、カンナビノイド受容体、セロトニ

ン受容体、NMDA受容体、GABA受容体、ニコチンアセチルコリン受容体、アデノシン受容体などに作用する（図1）。これらの作用が次の標的分子へ作用するといった連鎖の結果、最終的に快情動（報酬効果）を発現させる。上記の依存性物質を臨床的に重大な障害や苦痛を引き起こすほどに使用し、それらの物質に対する耐性や離脱などの問題が生じている精神疾患が「依存症」であり、深刻な社会問題となっている。依存性物質が報酬効果をもたらす生物学的なメカニズムが解明されることは、依存症の病態解明に寄与することから、大きな社会的・臨床的意義も持つと言える。また、報酬系は人の意思決定においても決定的な役割を果たしている。

## 2. 依存性物質の報酬効果とGIRKチャネル

GIRKチャネルは依存性物質のシグナル伝達において重要な役割を果たしている。様々なG<sub>i/o</sub>蛋白質共役型受容体（M<sub>2</sub>ムスカリン、オピオイド、 $\alpha_2$ アドレナリン、GABA<sub>B</sub>、D<sub>2</sub>ドーパミン、5-HT<sub>1A</sub>セロ

Roles of GIRK channels in the reward system

\*財団法人 東京都医学総合研究所 依存性薬物プロジェクト（〒156-8506 東京都世田谷区上北沢2-1-6）Nagisa Sugaya, Kazutaka Ikeda : Research Project for Addictive Substances, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, 2-1-6 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo, 1563-8506 Japan

【菅谷 渚 E-mail : sugaya-ng@igakuken.or.jp】

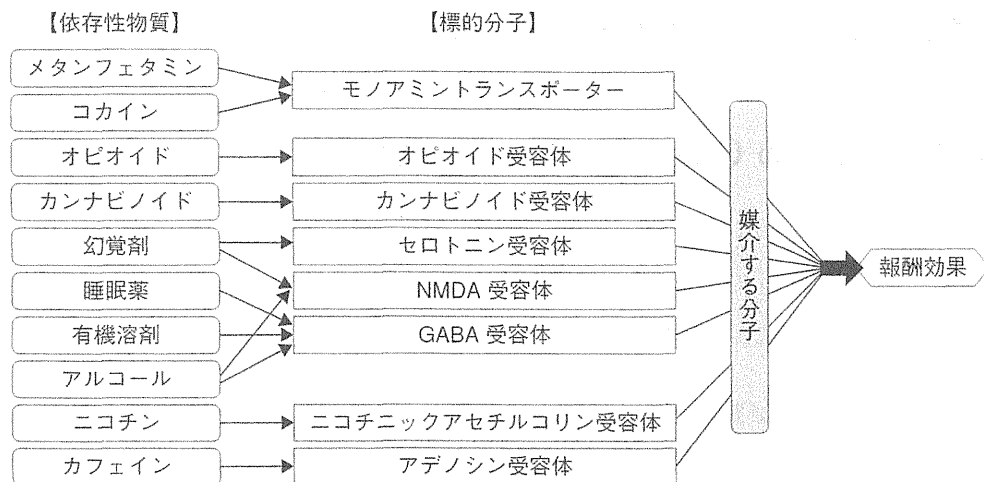


図1 報酬系に影響を与える依存性物質とその標的分子

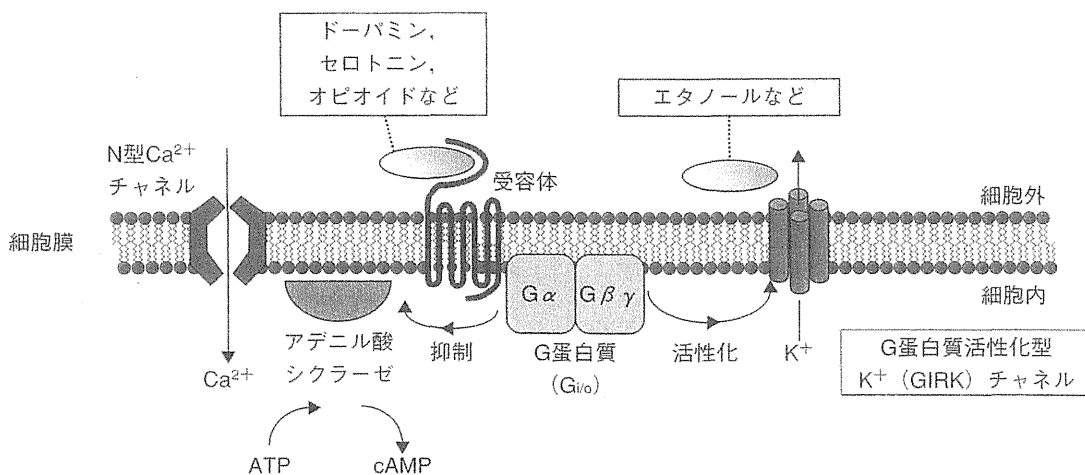


図2 GIRKチャンネルによる依存性物質のシグナル伝達

トニン、ソマトスタチン、神経ペプチドY<sub>1</sub>、ノシセプチン、CB<sub>1</sub>カンナビノイド、A<sub>1</sub>アデノシン受容体などに神経伝達物質が作用することによってG<sub>v/o</sub>蛋白質が活性化され、G蛋白質αサブユニットから遊離したG蛋白質βγサブユニットがGIRKチャンネルを直接開口する<sup>1, 5)</sup>。また、エタノールはGIRKチャンネルを直接開口することも見出されている(図2)<sup>7, 14)</sup>。GIRKチャンネルの開口によって細胞膜は過分極化し、神経細胞の興奮性を調節する。哺乳類において4つのGIRKチャンネルサブユニットが知られており<sup>4, 12, 13)</sup>、GIRK1, 2, 3サブユニットは嗅球、大脳皮質、扁桃体、海馬、視床、小脳など中枢神経系に広く分布し<sup>3, 6)</sup>、GIRK4サブユニットの発現は神経系では少なく、主に心臓に存在している<sup>12)</sup>。

### 3. GIRKチャンネル遺伝子の役割

#### a. モデル動物を用いた検討

著者らはGIRKチャンネルのサブユニットの遺伝子配列に変異を持つウィーバーミュータントマウスを用いて、依存性薬物の作用機序におけるGIRKチャンネルの役割を検討した<sup>2, 7)</sup>。このウィーバーミュータントマウスは、GIRK2サブユニットに1つのアミノ酸変異を持つ。この変異GIRKチャンネルはカリウムイオンだけでなくナトリウムイオンも透過させ、G蛋白質制御も消失している。それによって小脳顆粒細胞や黒質ドーパミン神経細胞、橋核神経細胞における神経細胞死が生じると考えられている。ウィーバーミュータントマウスでは非ステロイド性抗炎症剤であるアミノピリンによる鎮痛効果は通常のマウスと変わらないが、モルヒネおよびエタノールによる鎮痛が減弱していた(図3)。したがって、GIRKチャンネルがモルヒネやエタノールの鎮痛効果

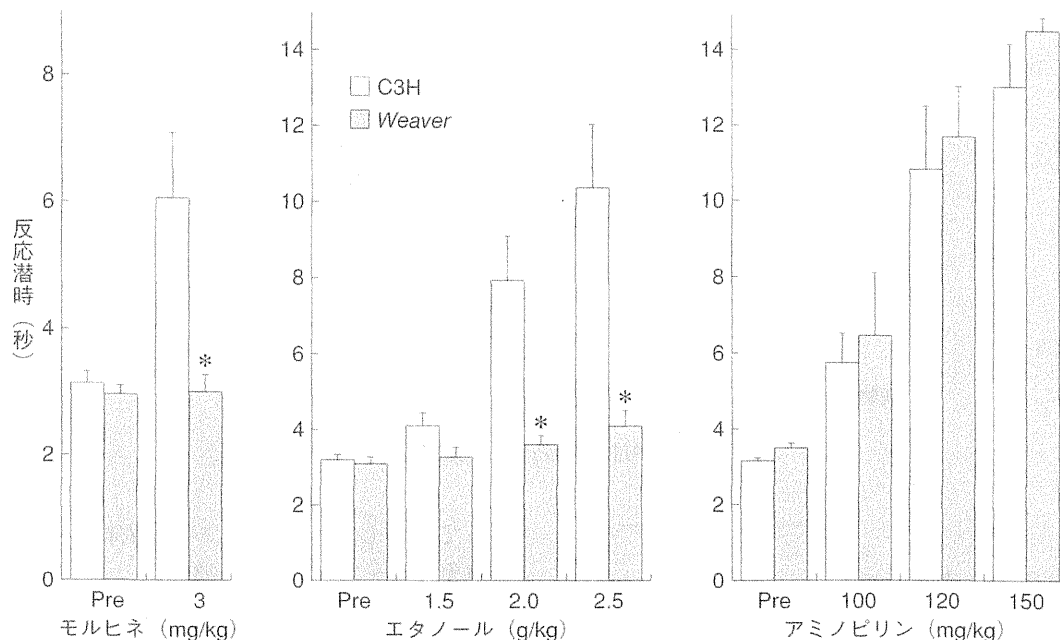


図3 ウィーバーミュータントマウスにおける鎮痛薬反応性

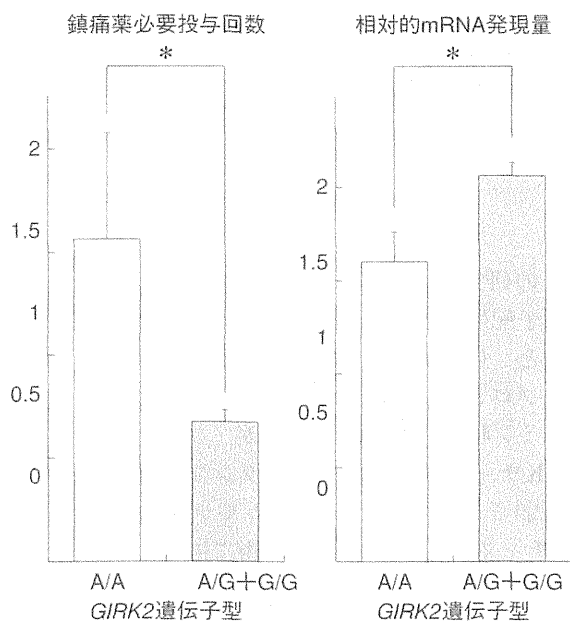


図4 G1R2遺伝子多型と鎮痛薬感受性の関連

において決定的な役割を果たすと考えられる。さらに、G1R2チャンネル欠損マウスでは、コカインの自己投与が消失することも示されている<sup>15)</sup>。

b. ヒトを対象とした検討

開腹手術の患者を対象に、術後の疼痛に対して必要とするオピオイドの投与回数を測定するとともに、G1R2チャンネルサブユニットのひとつであるG1R2サブユニットのA1032G多型(翻訳領域の同義置換多型)を解析し、両者の関連を検討した<sup>16)</sup>。

その結果、A1032G多型がA/Aタイプの患者では、A/GおよびG/Gタイプの患者と比べてオピオイドの投与必要回数が有意に多いことが明らかになった(図4左)。さらに、スタンレー財団のブレインバンクよりヒト死後脳を取り寄せ、G1R2遺伝子の発現量を調べた結果、A1032G多型がA/Aタイプの脳では、A/GおよびG/Gタイプの脳よりもG1R2遺伝子の発現が低下していることが明らかとなった(図4右)。したがって、A1032G多型がA/Aタイプのヒトでは脳内のG1R2サブユニットのメッセンジャーRNA量が低下することによって、G1R2サブユニット蛋白質質量も低下してオピオイド感受性が低下すると考えられる。

4. G1R2チャンネル阻害能を持つ薬物の効果

a. モデル動物を用いた検討

上記より、G1R2阻害能を有する化合物が依存治療効果を持つ可能性が考えられたので、著者らは精神科で用いられている治療薬のG1R2チャンネルに対する作用を広く調べている。選択的セロトニン再取り込み阻害薬(Selective Serotonin Reuptake Inhibitors: SSRI)のG1R2チャンネルへの作用をアフリカツメガエル卵母細胞実験系で電気生理学的に解析したところ、フルオキセチンとパロキセチンにはG1R2阻害能があるが、それらと同じSSRIに分類されるフルボキサミンには無いことを見出した<sup>8, 9, 11, 12)</sup>。次にマウスにおける薬物条件付け場所

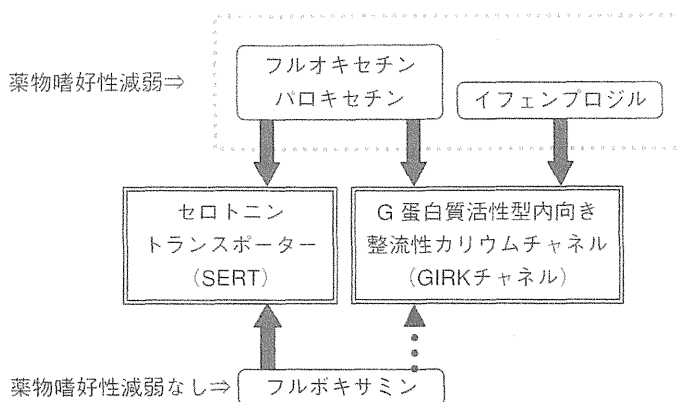


図5 薬物嗜好性抑制効果と候補標的分子

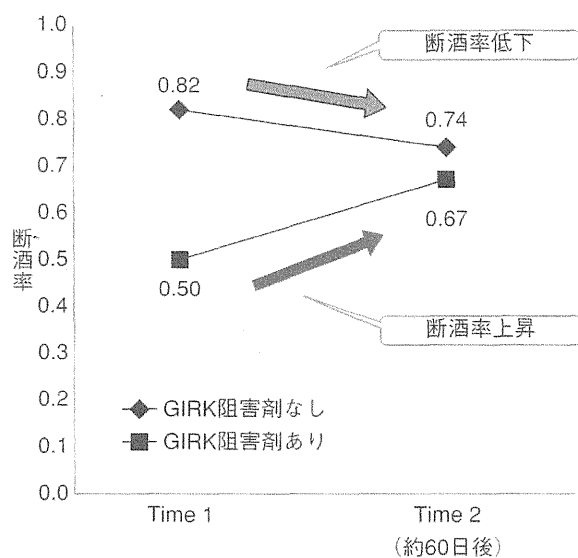


図6 GIRK阻害剤による断酒率の上昇

嗜好性試験（薬物が引き起こす報酬効果と装置の環境刺激とを関連付ける方法）を行ったところ、フルオキセチンとパロキセチンにはメタンフェタミン嗜好性を減弱させる効果が認められた。一方、フルボキサミンにはメタンフェタミン嗜好性を減弱させる効果が見られないという結果から、セロトニントランスポーター以外の分子が薬物嗜好性減弱効果に関与することが示唆された<sup>20, 21)</sup>。さらに、薬物嗜好性を減弱させる効果があることが示されているイフェンプロジルも GIRK チャネルを阻害することが示された（図5）<sup>10, 18)</sup>。

#### b. ヒトを対象とした検討

モデル動物を用いた研究から得られたエビデンスをもとに、GIRKチャネル阻害剤として分類される治療薬が、薬物依存患者あるいはアルコール依存患者において再使用を抑制するかどうかをカルテ調査に

よって評価した<sup>17)</sup>。アルコール依存外来患者44名を対象に2～3ヵ月間隔を空けて、探索的な縦断調査を行った結果、GIRKチャネル阻害剤非投与群では3ヵ月後の断酒率が低下したのに対して、GIRKチャネル阻害剤（パロキセチン、イフェンプロジル）投与群では3ヵ月後の断酒率が上昇する傾向が認められた（図6）。したがって、ヒトにおいても動物実験で示されたGIRKチャネル阻害能仮説に矛盾しない予備的知見が得られたと考えられる。

#### まとめと今後の展望

以上の研究において、(1) GIRK2サブユニットの遺伝子配列の差異がオピオイド感受性に影響していること、(2) フルオキセチン、パロキセチン、イフェンプロジルはGIRKチャネルを阻害し、メタンフェタミン嗜好性を減弱させるが、フルボキサミンはGIRKチャネルを阻害せずメタンフェタミン嗜好性も減弱させないこと、(3) カルテ調査においてGIRKチャネル阻害能を持つ薬物に依存治療効果が期待できることが示唆されてきた。これらの研究において構築されてきた依存性薬物の報酬効果とGIRKチャネルの関連を示すエビデンスから、GIRKチャネルは報酬系において鍵となる分子の1つと考えられ、依存症治療の標的分子としても期待される。

#### 文 献

- 1) Ikeda K, Kobayashi T, Kumanishi T, et al (2000) Involvement of G-protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> (GIRK) channels in opioid-induced analgesia. *Neurosci Res*, 38 : 113-116.
- 2) Ikeda K, Kobayashi T, Kumanishi T, et al (2002) Molecular mechanisms of analgesia induced by opi-

- oids and ethanol ; is the GIRK channel one of the keys? *Neurosci Res*, 44 : 121-131.
- 3) Karschin C, Dissmann E, Stuhmer W, et al (1996) IRK (1-3) and GIRK (1-4) inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel mRNAs are differentially expressed in the adult rat brain. *J Neurosci*, 16 : 3559-3570.
  - 4) Kubo Y, Reuveny E, Slesinger PA, et al (1993) Primary structure and functional expression of a rat G-protein-coupled muscarinic potassium channel. *Nature*, 364 : 802-806.
  - 5) Kobayashi T and Ikeda K (2006) G protein-activated inwardly rectifying potassium channels as potential therapeutic targets. *Curr Pharm Des*, 12 : 4513-4523.
  - 6) Kobayashi T, Ikeda K, Ichikawa T, et al (1995) Molecular cloning of a mouse G-protein-activated K<sup>+</sup> channel (mGIRK1) and distinct distributions of three GIRK (GIRK1, 2 and 3) mRNAs in mouse brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 208 : 1166-1173.
  - 7) Kobayashi T, Ikeda K, Kojima H, et al (1999) Ethanol opens G-protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels. *Nat Neurosci*, 2 : 1091-1097.
  - 8) Kobayashi T, Washiyama K and Ikeda K (2003) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by fluoxetine (Prozac) . *Br J Pharmacol*, 138 : 1119-1128.
  - 9) Kobayashi T, Washiyama K and Ikeda K (2004) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by various antidepressant drugs. *Neuropsychopharmacology*, 29 : 1841-1851.
  - 10) Kobayashi T, Washiyama K and Ikeda K (2006) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by ifenprodil. *Neuropsychopharmacology*, 31 : 516-524.
  - 11) Kobayashi T, Washiyama K and Ikeda K (2006) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by the antidepressant paroxetine. *J Pharmacol Sci*, 102 : 278-287.
  - 12) Krapivinsky G, Gordon EA, Wickman K, et al (1995) The G-protein-gated atrial K<sup>+</sup> channel IKACH is a heteromultimer of two inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel proteins. *Nature*, 374 : 135-141.
  - 13) Lesage F, Guillemare E, Fink M, et al (1995) Molecular properties of neuronal G-protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels. *J Biol Chem*, 270 : 28660-28667.
  - 14) Lewohl JM, Wilson WR, Mayfield RD, et al (1999) G-protein-coupled inwardly rectifying potassium channels are targets of alcohol action. *Nat Neurosci*, 2 : 1084-1090.
  - 15) Morgan AD, Carroll ME, Loth AK, et al (2003) Decreased cocaine self-administration in Kir3 potassium channel subunit knockout mice. *Neuropsychopharmacology*, 28 : 932-938.
  - 16) Nishizawa D, Nagashima M, Katoh R, et al (2009) Association between KCNJ6 (GIRK2) gene polymorphisms and postoperative analgesic requirements after major abdominal surgery. *PLoS ONE*, 4 : e7060.
  - 17) Ogai Y, Hori T, Haraguchi A, et al (2011) Influence of GIRK channel inhibition on alcohol abstinence and relapse risk in Japanese alcohol-dependent outpatients. *日本神経精神薬理学雑誌*, 31 : 95-96.
  - 18) Suzuki T, Kato H, Tsuda M, et al (1999) Effects of the non-competitive NMDA receptor antagonist ifenprodil on the morphine-induced place preference in mice. *Life Sci*, 64 : 151-156.
  - 19) Takahashi T, Kobayashi T, Ozaki M, et al (2006) G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel inhibition and rescue of weaver mouse motor functions by antidepressants. *Neurosci Res*, 54 : 104-111.
  - 20) Takamatsu Y, Yamamoto H, Ogai Y, et al (2006) Fluoxetine as a potential pharmacotherapy for methamphetamine dependence : Studies in mice. *Ann NY Acad Sci*, 1074 : 295-302.
  - 21) Takamatsu Y, Yamamoto H, Hagino Y, et al (2011) The selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine, but not fluvoxamine, decreases methamphetamine conditioned place preference in mice. *Curr Neuropharmacol*, 9 : 68-72.

**■ ABSTRACT**

---

**Roles of GIRK channels in the reward system**

Nagisa Sugaya, Kazutaka Ikeda

*Research Project for Addictive Substances, Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science*

G-protein-activated inwardly rectifying potassium channel (GIRK channel) mediates the signaling of various addictive substances. Four GIRK channel subunits (GIRK1 ~ 4) have been identified in mammals ; GIRK1 ~ 3 subunits are widely distributed in the central nervous system, and GIRK4 subunit is distributed primarily in the heart. The present review examines roles of GIRK channels in the reward system.

The results of review indicate that (1) the difference in genetic sequence of GIRK2 subunit is associated with opioid sensitivity, (2) fluoxetine, paroxetine and ifenprodil, but not fluvoxamine, inhibit GIRK channel and reduced methamphetamine preference, and (3) the medications with GIRK channel-inhibitory capacity appear to exert a curing effect on substance dependence based on retrospective studies. Above findings suggest that GIRK channels may be key molecules in the reward system, and are expected to become target molecules for treatment of substance dependence.

---

(Japanese Journal of Biological Psychiatry 22 (4) : 263-268, 2011)

---



[ミニレビュー]

## 脳内報酬系の分子メカニズム\*

池田 和隆\*<sup>1</sup><sup>1</sup>(財)東京都医学総合研究所精神行動医学研究分野

要約：脳には快情動を生成する報酬系が備えられている。報酬系の分子メカニズムを明らかにする上で、依存性薬物の作用機序の解明が糸口になると考えられる。また、動物行動テストやゲノム科学的手法が有用である。このようなアプローチで研究を進め、以下の知見を得た。①G 蛋白質活性化型内向き整流性カリウム (GIRK) チャネルの阻害能を有する薬物が、覚せい剤嗜好性を抑制する。②NMDA 受容体チャネル GluN2D サブユニットが、幻覚剤であるフェンサイクリジンの効果発現において必須である。③ミューオピオイド受容体および GIRK チャネルの遺伝子多型が、オピオイド感受性と関連する。

キーワード：報酬系、依存性物質、GIRK チャネル、GluN2D、オピオイド感受性

脳内報酬系は快情動を生成するシステムであり、そのメカニズムの解明は生活の質 (QOL: quality of life) の向上、ひいては人類の幸福につながると期待できる。脳に「快」の中核があることは、1954年に Olds と Milner による脳内自己刺激の発見によって明らかになった (Olds and Milner, 1954)。その後、強い脳内自己刺激を引き起こす脳領域にドーパミン神経系が存在し、依存性物質の多くがドーパミンの放出を促進することが明らかとなった。依存性物質には、メタンフェタミンやコカインなどの精神刺激薬、モルヒネなどのオピオイド、フェンサイクリジンや LSD などの幻覚剤、アルコール、ニコチン、カフェインなど、数多くが知られている。依存性物質の多くは、既に化学構造が明らかになっており、合成することもできる分子である。しかも、依存性物質は、生体内の特異的な分子に作用してその効果を発揮する (池田, 2009)。依存性物質の作用機序を明らかにすることは、脳内報酬系の分子メカニズムを解明する上で重要な糸口であると考えられる。一方、快情動の生成は、分子の結合や細胞の形態変化だけでは観察できないが、動物の行動を分析することで推測することができる。脳内自己刺激試験、薬物条件付け場所嗜好性試験、薬物自己投与試験などの動物行動テストは、脳内報酬系を研究する上で有用なツールである。さらに、最近ではゲノム科学が急速に発展しており、脳機能や薬剤感受性の遺伝子メカニズムを解明する手法が提供されてきている。本稿では、筆者らが上記の視点で研究を進めて明らかになっ

てきたことを中心に紹介する。

## 精神刺激薬の報酬効果

メタンフェタミンやコカインなどの精神刺激薬は、主にドーパミントランスポーター (DAT) に作用して細胞外ドーパミン量を増加させる。その他の依存性物質の多くも細胞外ドーパミン量の上昇を引き起こすことが知られており、快情動生成においてドーパミンの放出が鍵であるとするドーパミン仮説が有力である。しかし、最近ではドーパミン仮説に対する反証が提示されてきている。Palmiter らは、ドーパミンが欠乏するマウスを遺伝子操作によって作製し、オピオイドへの嗜好性を調べ、ドーパミンがなくてもマウスがオピオイドを好むことを報告している (Hnasko et al, 2005)。曾良らは、DAT 欠損マウスがコカインを好むこと、DAT 欠損に加えてセロトニントランスポーター遺伝子を半減あるいは欠損させたマウスではコカイン嗜好性が消失することを示し、ドーパミンだけでなくセロトニンもコカインの報酬効果発現に関与することを報告した (Sora et al, 2001)。

DAT 欠損マウスでは、細胞外ドーパミンが上昇しており、薬物依存の状態と類似している。DAT 欠損マウスにおいてセロトニントランスポーターの量が半減するとコカイン嗜好性が消失することから、筆者らは、セロトニントランスポーターの阻害が精神刺激薬への嗜好性を減弱させる可能性を考えた。そこで、選択的セロトニントランスポーター阻害剤であるフルオキシセチンをマウスに投与したところ、薬物条件付け場所嗜好性試験におけるメタンフェタミン嗜好性が抑制された (Takamatsu et al, 2006)。

\* 本論文は第 50 回脳医学・生物学研究会 (2011 年 2 月 5 日、名古屋) における講演の要旨である。

<sup>1</sup> 〒156-8506 東京都世田谷区上北沢 2-1-6

E-mail: ikeda-kz@igakuken.or.jp

(別刷請求先: 池田和隆)

## GIRK チャンネルと報酬効果

フルオキセチン以外の選択的セロトニントランスポーター阻害剤もメタンフェタミン嗜好性を抑制すると考え、パロキセチンとフルボキサミンの効果を検討したところ、パロキセチンはフルオキセチンと同様にメタンフェタミン嗜好性を抑制したが、フルボキサミンには抑制効果が認められなかった (Takamatsu et al, 2011). 一方、筆者らは、様々な依存性物質の作用機序に関わる G 蛋白質活性型内向き整流性カリウム (GIRK) チャンネルに以前より注目しており、研究を進めていた (Kobayashi and Ikeda, 2006). このような一連の研究の中で、フルオキセチンとパロキセチンは GIRK チャンネルを強く阻害するが、フルボキサミンはほとんど阻害しないことを見いだした (Kobayashi et al, 2003, 2004, 2006a; Takahashi et al, 2006). また、鈴木らにより薬物嗜好性を減弱させることが示されているイフェンプロジルも、GIRK チャンネルを阻害することを見いだした (Suzuki et al, 1999; Kobayashi et al, 2006b). つまり、薬物嗜好性を減弱させる効果があるフルオキセチン、パロキセチン、イフェンプロジルは GIRK チャンネル阻害能を持ち、薬物嗜好性を減弱させる効果がないフルボキサミンには GIRK チャンネル阻害能がなかった (図 1). このほか、GIRK チャンネルの GIRK2, GIRK3 サブユニットを欠損したマウスでは、コカインの自己投与が減弱することが報告されている (Morgan et al, 2003). また、最近の学会などで、イフェンプロジルが鎮咳薬依存患者において著効したことや、アルコール依存患者での奏効例が報告されている。以上より、GIRK チャンネルは依存性物質による報酬効果と密接に関連していると考えられ、GIRK チャンネルの阻害剤には薬物依存治療薬としての可能性が期待される。

### 幻覚剤フェンサイクリジンの作用機序

フェンサイクリジンは麻酔薬として開発されたが、麻酔からの回復期に幻覚などの精神病様症状が現れることから

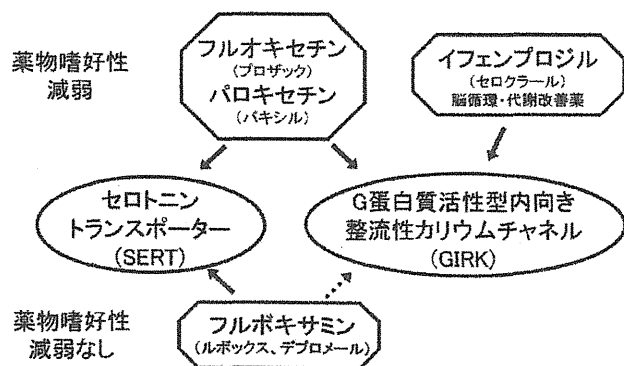


図 1 薬物嗜好性抑制効果と候補標的分子。

開発が中止された薬物である。フェンサイクリジンの作用点は NMDA 受容体チャンネルであり、異なるサブユニットで構成される NMDA 受容体チャンネルのいずれにおいてもフェンサイクリジンによって同様に阻害されることが示されている (Yamakura et al, 1993). フェンサイクリジンの作用機序を調べるため、NMDA 受容体チャンネルサブユニットの GluN2A と GluN2D の遺伝子欠損マウスにおいて、移所運動量試験とマイクロダイアリス分析による細胞外ドーパミン量の測定を行った (Hagino et al, 2010). 野生型マウスや GluN2A 欠損マウスでは、フェンサイクリジン投与後に活動量の亢進および細胞外ドーパミン量の上昇が見られるのに対して、GluN2D 欠損マウスでは、このようなフェンサイクリジンの効果が全く見られなかった (図 2). GluN2D サブユニットは、フェンサイクリジンの効果発現において必須の分子であると言える。GluN2D 遺伝子多型が統合失調症と関連することが示されていることから (Makino et al, 2005), GluN2D の研究は、薬物依存だけでなく統合失調症の病態メカニズムの解明にもつながる可能性が考えられる。GluN2D サブユニットは、15 年以上前に筆者が cDNA クローニングや遺伝子欠損マウスの作製・解析を担当したサブユニットであるが (Ikeda et al, 1992; Ikeda et al, 1995), 今回の発見はこのサブユニットの役割に関する最も重要なものであると考えられる。

### 鎮痛と報酬

痛みは重要な生体警告システムであるが、過度な痛みは QOL の低下を招くものであり、適切にコントロールされるべきである。鎮痛薬が数多く開発されており、特に強い痛みにはオピオイド性鎮痛薬が広く用いられている。オピオイドには鎮痛効果だけでなく、報酬効果があり、依存のリスクがある。適量のオピオイドを用いて疼痛を制御することが重要であるが、オピオイドの感受性には大きな個人差がある (Ikeda et al, 2005). そして、この個人差には環境要因だけでなく、遺伝要因もあると考えられてきた。

マウスには様々な系統が存在しており、マウス系統内では遺伝子配列はほとんど同一である。マウス系統間での個体差と系統内での個体差を比較することで、個体差の遺伝要因を調べることができる。筆者らは、オピオイド感受性が低いことが知られていた CXBK マウスという系統に注目し、その遺伝子メカニズムを調べた。その結果、CXBK マウスでは、ミューオピオイド受容体遺伝子の非翻訳領域にトランスポゾンが挿入されていることを見いだした (Ikeda et al, 2001; Han et al, 2006) (図 3A). また、GIRK2 サブユニットの遺伝子配列に変異を有するウィーバーマウスについて、エタノールによる鎮痛効果とオピオイドの鎮痛効果を調べた結果、どちらの鎮痛効果も減弱していることを見いだした (Kobayashi et al, 1999; Ikeda et al, 2000)

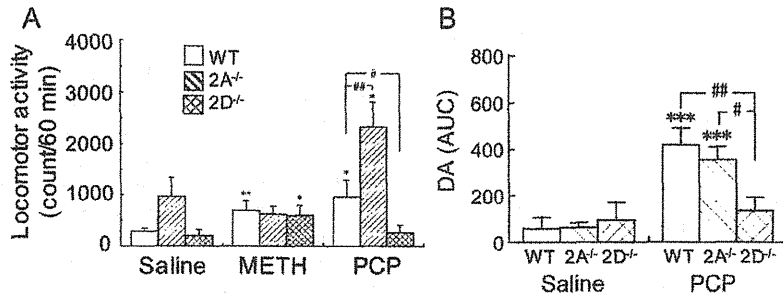


図2 GluN2D欠損マウスにおけるフェンサイクリジン効果(活動量亢進, 細胞外ドーパミン量上昇)の消失。A: 移所運動量試験。B: 線条体におけるマイクロダイアリシス分析。WT: 野生型マウス, 2A<sup>-/-</sup>: GluN2A欠損マウス, 2D<sup>-/-</sup>: GluN2D欠損マウス, METH: メタンフェタミン (1 mg/kg), PCP: フェンサイクリジン (3 mg/kg), DA: 細胞外ドーパミン量, \*: p<0.05, \*\*: p<0.01, \*\*\*: p<0.001 (生理食塩水投与群との比較), #: p<0.05, ##: p<0.01 (遺伝子型間の比較)。

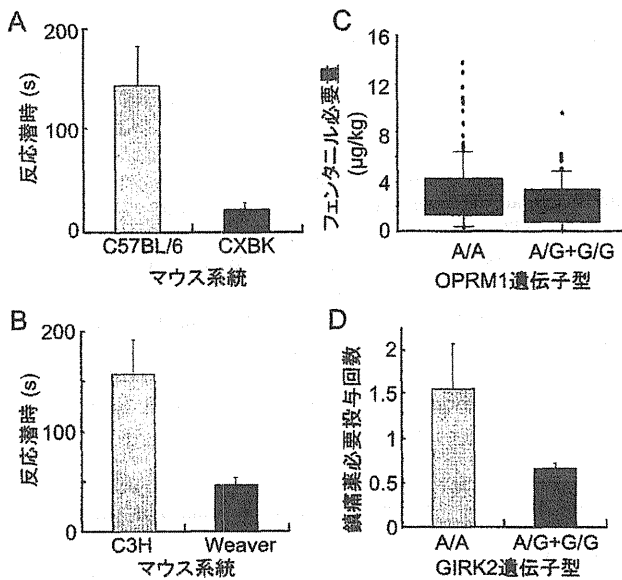


図3 マウスおよびヒトにおける遺伝子多型とオピオイド感受性との関連。A: ミューオピオイド受容体遺伝子3'非翻訳領域に挿入配列を持つCXBKマウスにおける, 減弱したモルヒネ鎮痛効果(ホットプレート試験)。B: GIRK2サブユニットの遺伝子配列に非同義置換の変異を有するウィーバーマウスにおける, 減弱したモルヒネ鎮痛効果(ホットプレート試験)。C: ミューオピオイド受容体遺伝子3'非翻訳領域の多型と, 下顎骨切り術後のフェンタニル必要量との関連。D: GIRK2サブユニットの遺伝子多型と, 開腹術後の鎮痛薬必要回数との関連。

(図3B)。

オピオイドは麻薬であり, 研究目的でヒトに投与することは難しい。また, オピオイドが最も多く用いられているがん性疼痛患者では, がんの種類やステージ, 骨転移の有無などにより痛み自体が個人ごとで異なっており, オピオイド感受性を調べるのが難しい。そこで, 筆者らは, 比較的痛みが同程度と考えられる術後痛患者に注目した。特に, 下顎骨切り術などの形成外科的手術を受ける患者は, 手術前は健常者であり, オピオイド感受性を調べる上で理想的である。このような症例で, ミューオピオイド受容体

遺伝子の非翻訳領域やGIRK2遺伝子の多型を判定し, オピオイド感受性との関連を調べた結果, ヒトにおいてもこれらの遺伝子の多型が関連することを見いだした(Fukuda et al, 2009; Nishizawa et al, 2009) (図3C, D)。以上より, ミューオピオイド受容体とGIRK2サブユニットの遺伝子多型がオピオイド感受性個人差の遺伝的要因の一部であることが明らかとなった。また, これらの知見は, テラーメイド疼痛治療に道を拓くものであり, 早期からの適切な疼痛治療の実現に貢献すると期待できる。

文献

Fukuda, K., Hayashida, M., Ide, S., Saita, N., Kokita, Y., Kasai, S., Nishizawa, D., Ogai, Y., Hasegawa, J., Nagashima, M., Tagami, M., Komatsu, H., Sora, I., Koga, H., Kaneko, Y. and Ikeda, K. (2009) Association between OPRM1 gene polymorphisms and fentanyl sensitivity in patients undergoing painful cosmetic surgery. *Pain*, 147: 194-201.

Hagino, Y., Kasai, S., Han, W., Yamamoto, H., Nabeshima, T., Mishina, M. and Ikeda, K. (2010) Essential role of NMDA receptor channel epsilon4 subunit (GluN2D) in the effects of phencyclidine, but not methamphetamine. *PLoS ONE*, 5: e13722.

Han, W., Kasai, S., Hata, H., Takahashi, T., Takamatsu, Y., Yamamoto, H., Uhl, G.R., Sora, I. and Ikeda, K. (2006) Intracisternal A-particle element in the 3' noncoding region of the mu-opioid receptor gene in CXBK Mice: A new genetic mechanism underlying differences in opioid sensitivity. *Pharmacogenetics*, 16: 451-460.

Hnasko, T. S., Sotak, B. N. and Palmiter, R. D. (2005) Morphine reward in dopamine-deficient mice. *Nature*, 438 (7069): 854-857.

池田和隆 (2009) 総論 依存症の生物学: 最近の新展開一特集にあたって. *Med Bio*, 6: 14-17.

Ikeda, K., Nagasawa, M., Mori, H., Araki, K., Sakimura, K., Watanabe, M., Inoue, Y. and Mishina, M. (1992) Cloning and expression of the epsilon4 subunit of the NMDA receptor channel. *FEBS Lett*, 313: 34-38.

Ikeda, K., Araki, K., Takayama, C., Inoue, Y., Yagi, T., Aizawa, S. and Mishina, M. (1995) Reduced spontaneous activity of mice defective in the epsilon4 subunit of the NMDA receptor channel. *Brain Res Mol Brain Res*, 33: 61-71.

Ikeda, K., Kobayashi, T., Kumanishi, T., Niki, H. and Yano, R. (2000) Involvement of G-protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> (GIRK) channels in opioid-induced analgesia. *Neurosci Res*, 38: 111-114.

Ikeda, K., Kobayashi, T., Ichikawa, T., Kumanishi, T., Niki, H. and

- Yano, R. (2001) The untranslated region of mu-opioid-receptor mRNA contributes to reduced opioid sensitivity in CXBK mice. *J Neurosci*, 21: 1334-1339.
- Ikeda, K., Ide, S., Han, W., Hayashida, M., Uhl, G. R. and Sora, I. (2005) How individual sensitivity to opiates can be predicted by gene analyses. *Trends Pharmacol Sci*, 26: 311-317.
- Kobayashi, T. and Ikeda, K. (2006) G protein-activated inwardly rectifying potassium channels as potential therapeutic targets. *Curr Pharm Des*, 12: 4513-4523.
- Kobayashi, T., Ikeda, K., Kojima, H., Niki, H., Yano, R., Yoshioka, T. and Kumanishi, T. (1999) Ethanol opens G-protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels. *Nat Neurosci*, 2: 1091-1097.
- Kobayashi, T., Washiyama, K. and Ikeda, K. (2003) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by fluoxetine (Prozac). *Br J Pharmacol*, 138: 1119-1128.
- Kobayashi, T., Washiyama, K. and Ikeda, K. (2004) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by various antidepressant drugs. *Neuropsychopharmacology*, 29: 1841-1851.
- Kobayashi, T., Washiyama, K. and Ikeda, K. (2006a) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by the antidepressant paroxetine. *J Pharmacol Sci*, 102: 278-287.
- Kobayashi, T., Washiyama, K. and Ikeda, K. (2006b) Inhibition of G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channels by ifenprodil. *Neuropsychopharmacology*, 31:516-524.
- Makino, C., Shibata, H., Ninomiya, H., Tashiro, N. and Fukumaki, Y. (2005) Identification of single-nucleotide polymorphisms in the human N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2D gene, GRIN2D, and association study with schizophrenia. *Psychiatr Genet*, 15(3): 215-221.
- Morgan, A. D., Carroll, M. E., Loth, A. K., Stoffel, M. and Wickman, K. (2003) Decreased cocaine self-administration in Kir3 potassium channel subunit knockout mice. *Neuropsychopharmacology*, 28: 932-938.
- Nishizawa, D., Nagashima, M., Katoh, R., Satoh, Y., Tagami, M., Kasai, S., Ogai, Y., Han, W., Hasegawa, J., Shimoyama, N., Sora, I., Hayashida, M. and Ikeda, K. (2009) Association between KCNJ6 (GIRK2) gene polymorphisms and postoperative analgesic requirements after major abdominal surgery. *PLoS ONE*, 4: e7060.
- Olds, J. and Milner, P. (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol*, 47: 419-427.
- Sora, I., Hall, F. S., Andrews, A. M., Itokawa, M., Li, X. F., Wei, H. B., Wichems, C., Lesch, K. P., Murphy, D. L. and Uhl, G. R. (2001) Molecular mechanisms of cocaine reward: Combined dopamine and serotonin transporter knockouts eliminate cocaine place preference. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98: 5300-5305.
- Suzuki, T., Kato, H., Tsuda, M., Suzuki, H. and Misawa, M. (1999) Effects of the non-competitive NMDA receptor antagonist ifenprodil on the morphine-induced place preference in mice. *Life Sci*, 64: PL151-PL156.
- Takahashi, T., Kobayashi, T., Ozaki, M., Takamatsu, Y., Ogai, Y., Ohta, M., Yamamoto, H. and Ikeda, K. (2006) G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel inhibition and rescue of *weaver* mouse motor functions by antidepressants. *Neurosci Res*, 54: 104-111.
- Takamatsu, Y., Yamamoto, H., Ogai, Y., Hagino, Y., Markou, A. and Ikeda, K. (2006) Fluoxetine as a potential pharmacotherapy for methamphetamine dependence: Studies in mice. *Ann NY Acad Sci*, 1074: 295-302.
- Takamatsu, Y., Yamamoto, H., Hagino, Y., Markou, A. and Ikeda, K. (2011) The selective serotonin reuptake inhibitor paroxetine, but not fluvoxamine, decreases methamphetamine conditioned place preference in mice. *Curr Neuropharmacol*, 9: 68-72.
- Yamakura, T., Mori, H., Masaki, H., Shimoji, K. and Mishina, M. (1993) Different sensitivities of NMDA receptor channel subtypes to non-competitive antagonists. *Neuroreport*, 4: 687-690.

**Abstract:** Kazutaka IKEDA (Tokyo Metropolitan Institute of Medical Science, Setagaya-ku, Tokyo, 156-8506 Japan) *Molecular mechanisms of the brain reward system.* *Jpn. J. Neuropsychopharmacol.*, 31: 263-266 (2011).

The brain possesses a reward system which produces positive emotion. To reveal the mechanisms of the brain reward system, investigation of mechanisms underlying actions of substances of abuse can be one of the promising research approaches. Various behavioral tests using animals and methods in genomic science are also useful for these studies. I introduce our findings obtained by these ideas and techniques as follows: (i) Inhibition of methamphetamine preference by G-protein activated inwardly rectifying potassium (GIRK) channel inhibitors. (ii) Essential role of NMDA receptor channel GluN2D subunit in phencyclidine effects on animal behavior. (iii) Association of polymorphisms in the mu-opioid receptor and GIRK genes with opioid sensitivity.

**Key words:** Reward system, Substances of abuse, GIRK channel, GluN2D, Opioid sensitivity

(Reprint requests should be sent to K. Ikeda)