

すのかもしれない。

一方、serine racemase ノックアウトマウスでは、内側前頭葉皮質の細胞外 D-セリン濃度が著明に減少した。Serine racemase 欠失マウスの海馬では、細胞外 D-セリン濃度が対照群の 10%程度に低下することが報告されており<sup>5)</sup>、本研究の減少率 60%より大きい。その理由は、明らかではないが、D-セリンの合成阻害が、組織中 D-セリンだけでなく細胞外 D-セリンも低下させる点では一致している。いずれも、組織中 D-セリンと同様に、完全な消失は見られないことから、D-セリンには serine racemase 以外にも合成系があるか、または末梢から何らかのメカニズムで供給されると推測される。

細胞外 D-セリンについては、その重要性にも拘わらず、未だ主要な放出細胞や分子機構が解明されていない<sup>12)</sup>。本研究から、亜鉛イオンの関与が新たに示唆されるとともに、serine racemase の活性に影響されることがさらに支持された。本研究グループでは、アフリカツメガエルの卵母細胞の発現実験系で D-セリンの細胞内外の濃度を変化させる因子として dsm-1 遺伝子（ヒト 3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate transporter 1 のオーソログ(orthologue)）を検出し、脳内で D-セリンと類似した発現分布を示すことを見出した<sup>13)</sup>。さらに、D-セリンの取り込み能・分解能をもつ分子や NMDA 受容体に作用する D-サイクロセリンが細胞外 D-セリンを増加させることも観察した<sup>2)</sup>。

前述したように、D-セリン、D-サイクロセリン等が、実験動物において、依存性薬物の異常行動惹起作用や依存性行動に拮抗すること（研究目的の項参照）や、消去学習を促進する点<sup>8)</sup>を考慮すると、これらの所見は、D-セリンの細胞外シグナル調節機構だけでなく、依存性薬物による精神障害や依存形成の治療・予防法開発の標的分子の手がかりになると考えられる。今後は、1)本研究に

用いた serine racemase 欠失マウス、2)後脳優位に脳内 D-セリン濃度を増加させる D-アミノ酸参加酵素活性欠損マウス、等における、精神症状や依存形成のモデルに対する影響を検討する。さらに、臨床応用が可能な D-サイクロセリンについて、これらモデルへの拮抗作用を調べる予定である。

## E. 結論

本研究から、齧歯類の内側前頭葉皮質において、亜鉛イオンが細胞外 D-セリン濃度を低下させることが見出され、D-セリンの放出調節に関与することが示唆された。また、serine racemase の欠損により D-セリンの細胞外濃度が低下することが分かった。D-セリンは、依存性薬物による精神症状誘発や依存形成の動物モデルに影響することから、D-セリンシグナルを変化させる物質は、これらの精神障害の治療・予防に役立つと推測される。したがって、今年度に得られた所見は、このような治療・予防法の標的分子を検索するのに有用と考えられる。

## [参考文献]

- 1) Fernandez-Espejo E, Ramiro-Fuentes S, Portavella M, et al. D-serine within the ventral tegmental area in the development of cocaine's sensitization. *Neuropsychopharmacology*. 33:995-1003, 2008.
- 2) Fujihira T, Kanematsu S, Umino A, et al. Selective increase in the extracellular D-serine contents by D-cycloserine in the rat medial frontal cortex. *Neurochem Int*. 51:233-236. 2007.
- 3) Hashimoto A, Nishikawa T, Oka T, et al.: D-Alanine inhibits methamphetamine-induced hyperactivity in rats. *Eur J Pharmacol* 202: 105-107, 1991.
- 4) Hashimoto A, Oka T, Nishikawa T: Extracellular concentration of endogenous free D-serine in the rat brain as revealed by in vivo microdialysis.

- Neuroscience. 66:635-643, 1995.
- 5) Horio M, Kohno M, Fujita Y, et al. Levels of D-serine in the brain and peripheral organs of serine racemase (Srr) knock-out mice. *Neurochem Int* 59:853-859, 2011.
  - 6) Javitt DC: Glutamate as a therapeutic target in psychiatric disorders. *Mol Psychiatry*. 9:984-997, 2004.
  - 7) Kanematsu S, Ishii S, Umino A, et al. Evidence for involvement of glial cell activity in the control of extracellular D-serine contents in the rat brain, *J Neural Transm*, 113:1717-1721, 2006.
  - 8) Kelamangalath L, Seymour CM, Wagner JJ. D-serine facilitates the effects of extinction to reduce cocaine-primed reinstatement of drug-seeking behavior. *Neurobiol Learn Mem*. 92:544-551, 2009.
  - 9) Kelamangalath L, Wagner JJ. D-serine treatment reduces cocaine-primed reinstatement in rats following extended access to cocaine self-administration. *Neuroscience*. 2010 Sep 1;169(3):1127-35.
  - 10) Kotaka T, Ujike H, Okahisa Y, et al. G72 gene is associated with susceptibility to methamphetamine psychosis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 33:1046-1049, 2009.
  - 11) Matthews JN, Altman DG, Campbell MJ, et al.: Analysis of serial measurements in medical research. *BMJ* 300:230-235, 1990.
  - 12) Nishikawa T. Analysis of free D-serine in mammals and its biological relevance. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 879: 3169-3183, 2011;.
  - 13) Shimazu D, Yamamoto N, Umino A, et al. Inhibition of D-Serine Accumulation to the *Xenopus* Oocyte by Expression of the Rat Ortholog of Human 3'-Phosphoadenosine 5'-Phosphosulfate Transporter Gene Isolated from the Neocortex as D-Serine Modulator-1, *J Neurochem*, 96:30-42, 2006.
  - 14) Tanii Y, Nishikawa T, Hashimoto A, et al. Stereoselective inhibition by D- and L-alanine of phencyclidine-induced locomotor stimulation in the rat. *Brain Res*, 563:281-284, 1991
  - 15) Tanii Y, Nishikawa T, Hashimoto A, et al.: Stereoselective antagonism by enantiomers of alanine and serine of phencyclidine-induced hyperactivity, stereotypy and ataxia in the rat. *J.Pharmacol Exp Ther* .269: 1040-1048, 1994
  - 16) Yang FY, Lee YS, Cherng CG, et al. D-cycloserine, sarcosine and D-serine diminish the expression of cocaine-induced conditioned place preference. *J Psychopharmacol*, in press.
  - 17) Yao X. Effect of zinc exposure on HNE and GLT-1 in spinal cord culture. *Neurotoxicology* 30:121-126, 2009.
- F. 健康危険情報  
なし
- G. 研究発表
1. 論文発表  
[原著]
1. Uezato A, Yamamoto N, Kurumaji A, Toriihara A, Umezaki Y, Toyofuku A, Nishikawa T. Improvement of asymmetrical temporal blood flow in refractory oral somatic delusion after successful electroconvulsive therapy, *J ECT*. 2011, in press.
  2. Uezato A, Kimura-Sato J, Yamamoto N, Iijima Y, Kunugi H, Nishikawa T. Further evidence for a male-selective genetic association of synapse-associated protein 97 (SAP97) gene with schizophrenia. *Behavioral and Brain Functions*, in press.
  3. Ozaki A, Nishida M, Koyama K, Ishikawa K, Nishikawa T. Donepezil-induced sleep spindle in a patient with dementia with Lewy bodies.

Psychogeriatrics, in press.

4. Nishida M, Nariai T, Hiura M, Ishii K, Nishikawa T. Memory deficits due to brain injury: unique PET findings and dream alterations. *BMJ Case Reports*, doi:10.1136/bcr.09.2011.4845
5. Kurumaji A, Umino M, Nishikawa T. Effects of novelty stress on hippocampal gene expression, corticosterone and motor activity in mice. *Neuroscience Research*. 2011;71:161-167.
6. Jitoku D, Hattori E, Iwayawa Y, Yamada K, Toyota T, Kikuchi M, Maekawa M, Nishikawa T, Yoshika T. Association Study of Nogo-related Genes with Schizophrenia in a Japanese Case-control Sample. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*. 2011;156:581-592.
7. 吉池卓也, 竹内 崇, 佐々木健至, 石川洋世, 藤田宗久, 熱田英範, 正木秀和, 西多昌規, 行実知昭, 大島一成, 柏 淳, 山本直樹, 車地曉生, 西川 徹. Aripiprazole のせん妄に対する有用性. *精神医学*. 2011;53: 543-549.

#### [著書]

1. 西川 徹. 薬の作用メカニズムから見た統合失調症の病態. 脳 (ブレイン) バンク—精神疾患の謎を解くために—. 加藤忠史&ブレインバンク委員会 (編集). 東京, 光文社, 2011, pp. 184-193.

#### [総説]

1. Nishikawa T. Analysis of free D-serine in mammals and its biological relevance. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2011;879:3169-3183.
2. 西川 徹. 統合失調症の臨床と基礎の最前線. *Medical Science Digest*, 2011; 37:14(402)-17(405).
3. 上里 彰仁, 西川 徹. 統合失調症の病態メ

カニズム. *ファルマシア* 2011;47(9): 824-828.

4. 治徳大介, 西川 徹, 吉川武男. 統合失調症における遺伝と環境要因. *精神科治療学* 2011; 26:1355-1362.

#### 2. 学会発表

[特別講演・シンポジウム]  
(国際学会)

1. Nishikawa T. D-Serine and schizophrenia. *CBIR International Symposium*, Tokyo, September 10, 2011.
2. Uezato A. Genetic association and postmortem studies of D-serine modulator PAPST1 in bipolar disorder. *Proceedings of the CBIR International Symposium: Function and dysfunction of D-amino acids in the central nervous system*, Tokyo, September 10, 2011.
3. Nishikawa T. Molecular mechanisms of adolescence-dependent onset of schizophrenia. *The 32nd Naito Conference on Biological basis of mental functions and disorders*, Yamanashi, October 19, 2011.

(国内学会)

4. 西川 徹. 心の健康を考える, 公開市民講演会 輝く未来のために. *日本薬剤学会第 26 年会*, 東京, 2011 年 5 月 28 日.
5. 西川 徹. グルタミン酸系を標的とした新しい抗精神病薬について. 第 4 回城北統合失調症研究会, 東京, 2011 年 5 月 30 日.
6. 西川 徹. 統合失調症発症の分子メカニズム—発達神経科学的視点から—. 旭川精神医学研究会, 旭川, 2011 年 9 月 2 日.
7. 西川 徹. D-セリンと統合失調症. シンポジウム「D-アミノ酸の生化学:飛躍する新領域」, 第 84 回日本生化学会大会, シンポジウム. 京都, 2011 年 9 月 24 日.
8. 西川 徹. D-セリンの代謝・機能の分子細胞機

構一統合失調症の病態解析と治療法開発における意義一. 鳥取県精神科医療講演会, 米子, 2011年10月7日.

9. 上里彰仁, 西川 徹. PCP 精神病. 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会 第 41 回日本神経精神薬理学会 合同年会, シンポジウム. 東京, 2011年10月27日.
10. 西川 徹. 統合失調症の病因論. 第 21 回地域精神保健学講座, 東京, 2011年11月25日
11. 西川 徹. 新しい診断・治療法開発に向けた統合失調症の分子病態の解析. 第3回北里神経科学フォーラム, 相模原, 2011年12月19日

[一般発表]  
(国際学会)

1. Yamamoto N, Kimura-Sato J, Uezato A, Jitoku D, Umino M, Umino A, Kurumaji A, Iijima Y, Kunugi H, Nishikawa T. Genetic association of synapse-associated protein 97(SAP97) in Schizophrenia. The 32nd Naito Conference on Biological basis of mental functions and disorders, Yamanashi, October 20, 2011.
2. Uezato A, Yamamoto N, Shimazau D, McCullumsmith RE, Meador-Woodruff JH, Nishikawa T. Alteration of genomic DNA and gene expression of D-serine modulator PAPST1 in schizophrenia. The 32nd Naito Conference on Biological basis of mental functions and disorders. Yamanashi, October18-21, 2011.
3. Yoshiike T, Kuriyama K, Honma M, Simazaki M, Kim Y, Nishikawa T. An NMDA receptor agonist facilitates sleep-independent synaptic plasticity associated with enhancement of working memory capacity, Worldslepp2011, Kyoto, October 16-20, 2011.

(国際学会)

1. 渡小百合, 海野麻未, 海野真一, 西川 徹. 内側前頭葉皮質における AMPA 型グルタミン酸受容体作用薬の細胞外 D-セリンおよびグリシンに対する影響. 第 7 回 D-アミノ酸研究会学術講演会, 東京, 2011年9月9-10日.
2. Ishiwata S, Umino M, Umino A, Nishikawa T. Decreasing effects of an AMPA receptor agonist and zinc ion on the extracellular D-serine contents in the medial frontal cortex of the rat. The 34th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Yokohama, September 14-17, 2011.
3. 上里彰仁, 島津 奈, 山本直樹, Robert E. McCullumsmith, James H. Meador-Woodruff, 西川 徹. 統合失調症におけるD-セリン調節因子PAPST1の遺伝子関連解析および死後脳研究. 第34回日本神経科学大会 こころの脳科学, 横浜, 2011年9月16日.
4. 西川 徹, 村岡新一郎, 梶井 靖, 戸田重誠, 沼知陽太郎, 山本直樹. メタンフェタミンの脳新皮質におけるスピノフィリン遺伝子発現に与える影響. 第 34 回日本神経科学大会 こころの脳科学, 横浜, 2011年9月17日.
5. 車地曉生, 大島一成, 行実知昭, 古田 光, 正木秀和, 熱田英範, 平沢俊行, 新垣 浩, 寺田 倫, 川上礼子, 柏 淳, 吉池卓也, 西多昌規, 藤田宗久, 上里彰仁, 成島健二, 筒井啓太, 西川 徹. 高齢者の気分障害入院患者に関する臨床的研究. 第 107 回日本精神神経学会学術総会, 東京, 2011年10月26日.
6. 竹内 崇, 西川 徹. うつ病における社交不安障害の併存に関する研究. 第 107 回日本精神神経学会総会, 東京, 2011年10月26日.
7. 竹内 崇, 西川 徹. 非定型抗精神病薬による副作用の調査とアドヒアランス向上のための試み. 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会, 第 41 回日本神経精神薬理学会 合同年

会,東京,2011年10月27日.

8. 治徳大介, 服部栄治, 岩山佳美, 豊田倫子, 山田和男, 西川 徹, 吉川武男. 統合失調症とNogo 関連遺伝子の関連研究. 第107回日本精神神経学会, 東京, 2011年10月27日.
9. 石渡小百合, 海野麻未, 海野真一, 西川 徹. AMPA 型グルタミン酸受容体作用薬の内側前頭葉皮質細胞外 D-セリンおよびタウリンに対する影響. 第21回日本臨床精神神経薬理学会・第41回日本神経精神薬理学会 合同年会, 東京, 2011年10月27-29日.
10. 車地暁生, 成島健二, 京野穂集, 奥住祥子, 西多昌規, 高木俊輔, 上里彰仁, 山本直樹, 竹内 崇, 西川 徹. 高齢うつ病患者に対する電気けいれん療法後の維持療法を目的としたリチウムの併用投与に関する臨床研究. 第21回日本臨床精神神経薬理学会, 第41回日本神経精神薬理学会 合同年会, 東京, 2011年10月29日.
11. 車地暁生, 成島健二, 行実知昭, 大島一成, 柏 淳, 熱田英範, 西多昌規, 正木秀和, 京野穂集, 上里彰仁, 武田 充弘, 西川 徹. 双極性障害2型入院患者の診断および縦断的経過に関する臨床研究. 第31回日本精神科診断学会, 松本, 2011年11月19日.
12. 吉池卓也, 栗山健一, 本間元康, 金 吉晴, 西川 徹. NMDA 受容体作動薬は覚醒時間帯における作働記憶容量増大に関わる神経可塑性を促進する. 第18回日本時間生物学会学術大会, 名古屋, 2011年11月24-25日.
13. 治徳大介, 松本 薫, 久保田真由, 池井大輔, 奥住祥子, 高木俊輔, 京野穂集, 上里彰仁, 武田充弘, 西多昌規, 竹内 崇, 成島健二, 山本直樹, 車地暁生, 西川 徹. 練炭自殺後に大脳白質病変を伴わずに間歇型一酸化炭素中毒様症状が出現した一例. 第24回日本総合

病院精神医学会, 福岡, 2011年11月26日.

## H 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし

## フェンサイクリジンにより誘発される行動障害に対するエピジェネティクス制御および GABA 作動性神経前駆細胞移植による予防効果

研究代表者：鍋島俊隆<sup>1</sup>

研究協力者：毛利彰宏<sup>1,2,3</sup>，鳥海和也<sup>1</sup>，古関竹直<sup>1</sup>，青山雄紀<sup>2</sup>，間宮隆吉<sup>1</sup>，野田幸裕<sup>3</sup>，山田清文<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>名城大学薬学部薬品作用学,<sup>2</sup>名古屋大学大学院医学系研究科医療薬学,<sup>3</sup>名城大学薬学部病態解析学)

### [研究要旨]

依存性薬物による精神障害は断薬後も持続的に惹起されるため、乱用者の社会復帰への大きな妨げとなり、このような精神障害に対する予防法の開発は急務である。依存性薬物の一つであるフェンサイクリジン (PCP) は、ヒトにおいて統合失調症に類似した精神症状を惹起することが知られている。一方、依存性薬物による精神障害に対する脆弱性には発達期の環境要因が関わっていることが知られている。特に、転写の活性化、その後続くタンパク質合成に対するヒストン修飾をはじめとするエピジェネティック制御は生育環境により変化し、依存性薬物による精神障害の発症やその病態に深く関与していると考えられる。また、PCP 連続投与により  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) 作動性神経の機能低下が報告されている。本研究では、エピジェネティクス制御および GABA 作動性神経機能の活性化が PCP 連続投与による行動障害の発現を抑制するかを検討した。PCP 連続投与によりヒストンのアセチル化 (AcH3K9) の低下を伴った行動障害が認められた。また、幼若期におけるエンリッチ環境下での飼育およびヒストン脱アセチル酵素 (HDAC) 阻害剤である酪酸ナトリウムの投与は、成体期において PCP 連続投与により誘発される行動障害および AcH3K9 の低下を抑制した。さらに、新生児期における GABA 作動性神経前駆細胞の前頭皮質への移植は、成体期において PCP 急性投与により誘発される行動障害を抑制した。これら知見から、エピジェネティクス制御および GABA 作動性神経前駆細胞移植は PCP により誘発される行動障害に対して予防効果を示すことが示唆された。

### A 研究目的

現在の薬物依存に関する研究は、依存形成や再発の抑制に注目がおかれており、認知機能および情動の障害に対する予防法の開発は少ない。一方、依存性薬物による精神障害に対する脆弱性には発達期の環境要因が関わっていることが知られている。そのため、発達期において養育環境や神経機能を強化することで依存性薬物による精神

障害の発現を抑制できる予防法を開発することは社会的要求性の高いものになると考えられる。大きいサイズのケージに様々なオブジェクトを設置したエンリッチ環境と呼ばれる飼育環境で飼育した動物は、神経細胞の突起伸長<sup>1</sup>やスパイン密度の増加<sup>2</sup>、神経新生や長期増強現象の亢進<sup>3,4</sup>などの神経機能の亢進がみられ、恐怖条件付け文脈学習試験やモリス水迷路試験において学

習・記憶機能の亢進<sup>5</sup>を生じることが知られている。また、エンリッチ環境は多くの神経疾患モデル動物の行動異常や神経化学的異常を改善することが知られている<sup>6</sup>。このような改善効果にはクロマチンレベルで遺伝子発現の活性化を制御する後成的修飾変化であるエピジェネティクス制御が関与していることが報告されている<sup>5</sup>。

また、中枢における神経細胞には大きく興奮性と抑制性に分けられる。脳の神経ネットワークのなかでは、興奮性と抑制性の神経細胞がバランスよく働くことが重要であり、このバランスの乱れが精神疾患につながるということが唆されている。抑制性神経細胞には $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) 作動性神経細胞があり、その機能低下が精神障害に関与していることが報告されている<sup>7</sup>。

依存性薬物であるフェンサイクリジン (PCP) は統合失調症様の精神障害を示す事が知られている<sup>8</sup>。本研究では、幼若期のエンリッチ環境によるエピジェネティクス制御もしくは新生児期の GABA 作動性前駆神経細胞の移植による抑制性神経機能の亢進が PCP による精神障害の発現に対して与える影響について検討を行った。

## B. 研究方法

### 1. 実験動物および薬物

実験には、出生 1 日齢および 3 週齢の ICR 系雄性マウス (日本エスエルシー、静岡) を使用した。動物は実験を開始する前少なくとも 3 日間は、室温  $23 \pm 1$  °C、湿度  $50 \pm 5$  % で、明暗サイクル (明期 8 時~20 時) の室内にて飼育し、水および餌は自由に摂取させた。なお、本実験計画は Principles of Laboratory Animal Care (National Institutes of Health Publication 85-23, 1985) に準じて行った。

### 2. エンリッチ環境

透明なアクリル製の特製ケージ (50×70×20 cm) 内に木製のソフトチップを敷き、トンネル、シーソー、ランニングホイールなどの様々なオブジェ

クトを加え、エンリッチ環境とした。ランニングホイールはケージ内に 2 つ設置し、他のオブジェクトを含め計 7 つのオブジェクトを設置した。新奇な環境を保つため、毎日オブジェクトの配置を変え、5 つのオブジェクトのうち 2 つは交換するようにした。水および飼料を自由摂取できるよう、給水ビンと飼料箱をケージ内に設置した。本実験では、マウスを 3 週齢より 4 週間、1 日 12 時間 (20:00-8:00) エンリッチ環境下で飼育した。

### 3. GABA 作動性神経前駆細胞移植

胎生 13.5 日目の GFP 発現 C57BL6/J マウス (CAG-GFP) の胎児より、GABA 作動性神経前駆細胞を豊富に含む領域である Medial Ganglionic Eminence (MGE) を切り出し、その細胞群を生後 1 日目の ICR マウスの前頭前皮質内に移植した。その後、生後 42 日目において、PCP を急性投与し行動学的解析を行った。

### 4. 社会性行動試験

実験装置には灰色のアクリル製ボックス (25×25×30 cm) を使用した。マウスを装置に馴化させるため、最初の 2 日間はマウスを 1 匹ずつ装置に入れ、10 分間自由に探索させた (Habituation)。3 日目にテストするマウスと、別のケージで飼育した体重がほぼ同じである同系統のマウス (Social partner) を同時に装置に入れ、テストするマウスの Social partner に対して行う匂いを嗅ぐ (sniffing)、追いかける (following)、上に乗りかかる (mounting)、下に潜る (crawling) などの社会性行動を 10 分間測定した。

### 5. 新奇物体認識試験

実験装置にはプレキシグラス製のオープンフィールド箱 (縦 40×横 40×高さ 29 cm) を用い、装置の底には木屑を敷いた。装置は静かな部屋に設置し、光源を用いて約 40 ルクスの照明を与えた。試験は馴化試行、訓練試行および保持試行からなり、1-3 日目の馴化試行では、実験装置にオブジェクトを設置せず、装置に 10 分間マウスを慣ら

した。4日目の訓練試行では、装置内に2つのオブジェクトを設置し、マウスを10分間自由に探索させた。5日目の保持試行では、いずれか片方のオブジェクトを新奇オブジェクトに置換し、訓練試行24時間後に、再びマウスを装置内に入れ、10分間自由に探索させた。各オブジェクトの探索時間および2つのオブジェクトを探索している総探索時間をストップウォッチで測定した。訓練試行においては総探索時間に対するいずれかのオブジェクトへの探索時間の割合(%)を、保持試行においては探索時間に対する新奇オブジェクトに対する探索時間の割合(%)を探索嗜好率として算出し、認知機能の指標とした。

#### 6. プレパルスインビジョン試験

SR-LAB システム (San Diego Instrument, USA) を用いて行った。プラスチック製防音箱内に、長さ13 cm、直径3.8 cmの透明なアクリル製測定チューブが設置され、測定装置には信号増幅センサーに接続されている振動センサーが取り付けられている。防音箱内は、測定チューブ上部に設置されているスピーカーより、70 dBの back ground white noise が流れる環境下に設定されている。試行開始10分前に測定チューブに保持して馴化させたのち、prepulse (86 dB, 40 ms) および pulse (120 dB, 40 ms) の刺激を繰り返し各10回与え、刺激開始直後の測定ケージの振動を40 msec測定した。1回ごとのPPIを算出し、計10回の平均値±標準誤差で表した。また、Acoustic startle responseは、pulse aloneの際の驚愕反応として、測定ケージの振動を計10回の平均値±標準誤差で表した。

#### 7. 免疫組織化学的解析

抱水クロラル (200 mg/kg, i.p.) を投与してマウスを麻酔し、左心室より Saline を還流し、その後氷冷した4%パラホルムアルデヒドを還流して脳を固定した。脳を摘出し、固定液に浸して固定したのち、PBSで調製した30%スクロース液に浸した。凍結切片は、脳組織を包埋し、クリオスタ

ット (HM 560M, Carlzeiss, Jena, Germany) を用いて薄切した。切片に4%パラホルムアルデヒド液を添加して室温で静置し、PBSで洗浄後、0.3% $H_2O_2$  (和光純薬工業) を含んだメタノール (和光純薬工業) を添加して室温で静置した後、メタノールを乾燥させた。0.3%Triton-X (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 含有0.1 M Tris-HCl buffer と37°Cでインキュベートし、その後 antigen unmasking solution (Vector Laboratories) にスライドガラスを浸し、100°Cで2分間インキュベートした。PBSで洗浄後、Diluted normal blocking serum を添加して室温でインキュベートし、さらにPBSで洗浄後、1次抗体を添加して4°Cで一晩インキュベートした。PBSで洗浄後、ビオチンもしくは Alexa Fluor 488 および 546 を付加した2次抗体を添加して室温でインキュベートした。PBSで洗浄後、ビオチン付加2次抗体を用いたサンプルに対しては VECTASTAIN ABC reagent を用いて可視化した。

#### 8. 統計処理

すべてのデータは平均値±標準誤差で示した。データの統計解析は、一元配置分散分析 [one-way analysis of variance (ANOVA)] を用いた。Student-Newman-Keulsの多重比較検定に従い、危険率5%未満 ( $P<0.05$ ) の場合に、統計的有意差があるとした。

### C. 研究結果

#### 1. 幼若期にエンリッチ環境下で飼育されたマウスの社会性行動に対するフェンサイクリジンの影響

幼若期にエンリッチ環境下で飼育されたマウスの社会性行動がPCP連続投与によりどのような影響を受けるか検討するため、社会性行動試験を行った。標準的な環境下で飼育されPCPを連続投与されたマウスでは、Salineを投与されたマウスに比べ、社会性行動を行う時間の有意な短縮が

認められた (Figure 1). しかし, エンリッチ環境下で飼育され PCP を連続投与されたマウスでは, 標準的な環境下で飼育され PCP を連続投与されたマウスに比べ, 社会性行動を行う時間が有意に延長した (Figure 1).

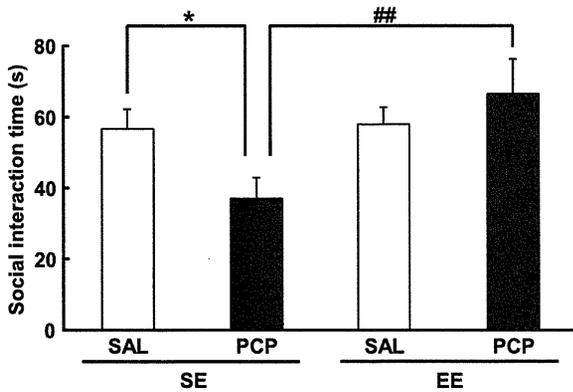


Figure 1. Effect of PCP on social behaviors in mice housed in enriched environment during childhood. The time spent in social behavior (sniffing, grooming, following, mounting, and crawling) was measured for 10 min. Values are mean±S.E. (n=11-14). \*p<0.05 compared to the SE-exposed mice treated with Sal. ##p<0.01 compared to the SE-exposed mice treated with PCP. SE: Standard environmental housing, EE: Enriched environmental housing, SAL: Saline, PCP: Phencyclidine.

## 2. 幼若期にエンリッチ環境下で飼育されたマウスの認知機能に対するフェンサイクリジンの影響

幼若期にエンリッチ環境下で飼育されたマウスの認知機能が PCP 連続投与によりどのような影響を受けるか検討するため, 新奇物体認識試験を行った. 訓練試行において, 各群の物体に対する探索時間に差はみられなかった (Figure 2). 保持試行において, 標準的な環境下で飼育され PCP を連続投与されたマウスでは, Saline を投与されたマウスに比べ, 新奇物体に対する探索時間の有意な短縮が認められた (Figure 2). また, エンリッチ環境下で飼育され PCP を連続投与されたマウスは, 標準的な環境下で飼育され PCP を連続投与されたマウスに比べ, 新奇物体に対する探索時間が有意に延長した (データ示さず).

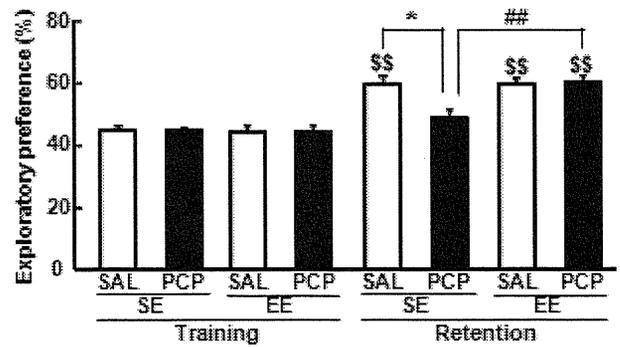


Figure 2. Effect of PCP on cognitive function in mice housed in enriched environment during childhood. The retention session was carried out 24hr after the training session. Values are mean±S.E. (n=11-14). \*p<0.05 compared to the SE-exposed mice treated with Sal in the retention session. ##p<0.01 compared to the SE-exposed mice treated with PCP in the retention session. \$\$p<0.01 compared to the training session in the same group. SE: Standard environmental housing, EE: Enriched environmental housing, SAL: Saline, PCP: Phencyclidine.

## 3. 免疫組織化学的解析によるアセチル化ヒストン H3K9 陽性細胞数の定量

統合失調症患者の白血球細胞において, ヒストンのアセチル化 (アセチル化ヒストン H3K9 および H3K14) の減少が報告されている<sup>9</sup>. また, 動物実験において, エンリッチ環境下で飼育すると, ヒストンのアセチル化が生じて学習記憶機能が亢進することが報告されている<sup>5</sup>. そこで, PCP 連続投与および幼若期におけるエンリッチ環境下飼育がヒストンのアセチル化にどのような影響を与えるかについて検討するため, マウスの脳をサンプル化し, 前頭皮質におけるアセチル化ヒストン H3K9 陽性細胞を免疫染色法により可視化してその陽性細胞数を測定した. 標準的な環境下で飼育され PCP を連続投与されたマウスは, Saline を投与されたマウスに比べ, 前頭前皮質におけるアセチル化ヒストン H3K9 陽性細胞数の有意な減少が認められた (Figure 3). また, エンリッチ環境下で飼育され PCP を連続投与されたマウスでは, 標準的な環境下で飼育され PCP を連続投与されたマウスに比べ, 前頭前皮質におけるアセチル化ヒストン H3K9 陽性細胞数の有意な増加が認められた (Figure 3).

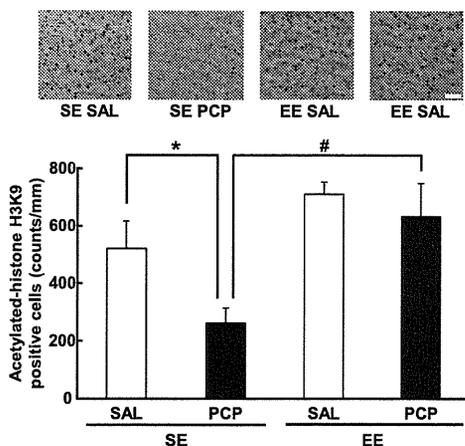


Figure 3. Effect of PCP on the acetylated-histone H3K9 positive cells in the prefrontal cortex of mice housed in enriched environment during childhood. Mice were sacrificed 24 hr after the last PCP injection. Three sequential sections for prefrontal cortex were examined for counting the acetylated-histone H3K9 positive cells. In each section, we defined a region of interest, the size of which was 360×360 μm, using software WinRoof. The average of the three determinations was used for statistical analysis. Values are mean±S.E. (n=4). \*p<0.05 compared to the SE-exposed mice treated with Sal. #p<0.05 compared to the SE-exposed mice treated with PCP. SE: Standard environmental housing, EE: Enriched environmental housing, SAL: Saline, PCP: Phencyclidine.

#### 4. 幼若期に酪酸ナトリウムを投与されたマウスの社会性行動に対するフェンサイクリジンの影響

PCPを連続投与されたマウスの前頭前皮質では、ヒストンアセチル化陽性細胞数が減少し、そのような減少はエンリッチ環境下飼育されたマウスでは認められなかった。そこで、幼若期のヒストンアセチル化の変化が PCP 連続投与による行動異常の惹起にどのような影響を与えるかについて検討を行った。HDAC 阻害剤である酪酸ナトリウム (Sodium butyrate: SB) を幼若期に連続投与したマウスの社会性行動が PCP 連続投与によりどのような影響を受けるか検討した。Saline を連続投与され、その後 PCP を連続投与されたマウスでは、Saline を連続投与され、その後 Saline を投与されたマウスに比べ、社会性行動を行う時間の有意な短縮が認められた (Figure 4)。また、SB を連続投与され、その後 PCP を連続投与されたマウスでは、Saline を投与され、PCP を連続投与されたマウスに比べ、社会性行動を行う時間が有意に延長した (Figure 4)。

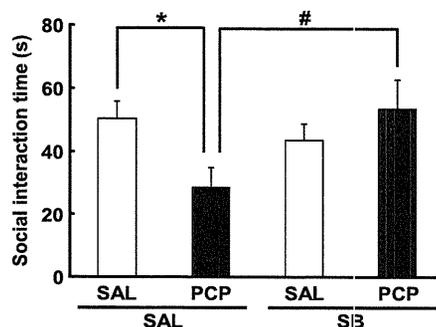


Figure 4. Effect of PCP on social behaviors in mice treated with sodium butyrate during childhood. The time spent in social behavior (sniffing, grooming, following, mounting, and crawling) was measured for 10 min. Values are mean±S.E. (n=13-15). \*p<0.05 compared to saline-, saline-treated mouse group. #p<0.05 compared to saline-, PCP-treated mouse group. SB: Sodium butyrate, SAL: Saline, PCP: Phencyclidine.

#### 5. 幼若期に酪酸ナトリウムを投与されたマウスの認知機能に対するフェンサイクリジンの影響

HDAC 阻害剤である SB を幼若期に連続投与したマウスの認知機能が PCP 連続投与によりどのような影響を受けるか検討するため、新奇物体認識試験を行った。訓練試行において、各群の物体に対する探索時間に差はみられなかった (Figure 5)。保持試行において、Saline を連続投与され、その後 PCP を連続投与されたマウスでは、Saline を連続投与され、その後 Saline を投与されたマウスに比べ、新奇物体に対する探索時間の有意な短縮が認められた (Figure 5)。また、SB を連続投与され、その後 PCP を連続投与されたマウスでは、Saline を投与され、PCP を連続投与されたマウスに比べ、新奇物体に対する探索時間が有意に延長した (Figure 5)。

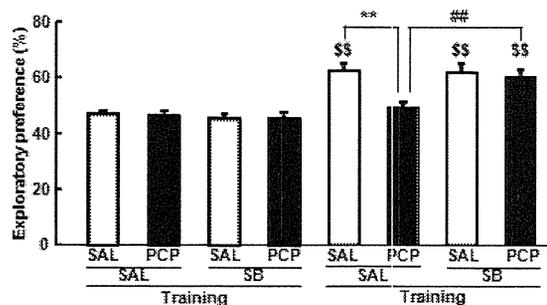


Figure 5. Effect of PCP on cognitive function in mice treated with sodium butyrate during childhood. The retention session was carried out 24hr after the training session. Values are mean±S.E. (n=13-15). \*\*p<0.01 compared to the Sal-treated mice in the Sal group in the retention session. ##p<0.01 compared to the Sal-treated mice in the PCP group in the retention session. \$\$ p<0.01 compared to the training session in the same group. SAL SAL: Saline treatment + Saline treatment. SB: Sodium butyrate, SAL: Saline, PCP: Phencyclidine.

## 6. 新生児期に移植された GABA 作動性神経前駆細胞の生着

胎生 13.5 日目の GFP 発現 C57BL/6/J マウスの胎児より摘出した GABA 作動性神経前駆細胞を生後 1 日目の ICR マウスの前頭皮質に移植した. 生後 42 日目にマウスを還流固定し, 前頭皮質における GFP と GABA サブタイプのマーカー(パルプアルブミン: PV, ソマトスタチン: SST, リーリン: Reelin, 血管作動性腸管ペプチド: VIP) に対する 2 重染色を行った, その大部分がソマトスタチン及びリーリンを発現する GABA 作動性神経細胞に分化していることが明らかとなった (Figure 6).

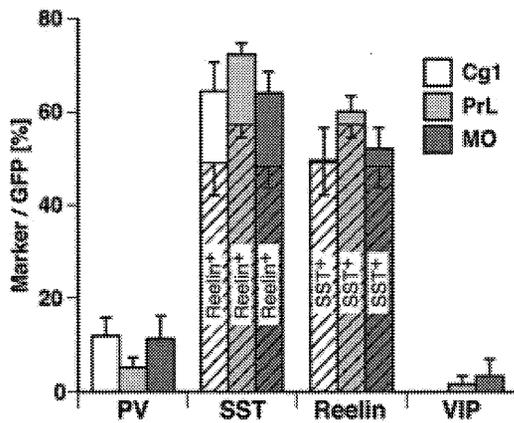


Figure 6. Calculation of the percentage of GFP-expressing cells expressing an interneurons subtype marker(s) within the cingulate cortex (Cg1) (n= 255 GFP-expressing cells), the prelimbic cortex (PrL) (n= 497 GFP-expressing cells) and the medial orbital cortex (MO) (n= 343 GFP-expressing cells) at 6 weeks after

## 7. 新生児期に移植された GABA 作動性神経前駆細胞による機能的なネットワークの形成

新生児期に GABA 作動性神経前駆細胞を前頭皮質に移植された ICR マウスを生後 42 日目に新規環境下に 10 分間暴露した. その後, 暴露 1 時間後にマウスを還流固定し, 前頭皮質における GFP と c-Fos に対する 2 重染色を行った (Figure. 7A). 新奇環境下への暴露により c-Fos 陽性細胞の増加が認められた (Figure. 7B). また, 移植された GFP 陽性の GABA 作動性神経細胞においても, 新奇環境への暴露により c-Fos の発現が認められたことから (Figure. 7C-E), 移植された GABA 作動性神経前駆細胞は前頭皮質に生着し, 周囲の神経細胞

と機能的なネットワークを構成していることが示唆された.

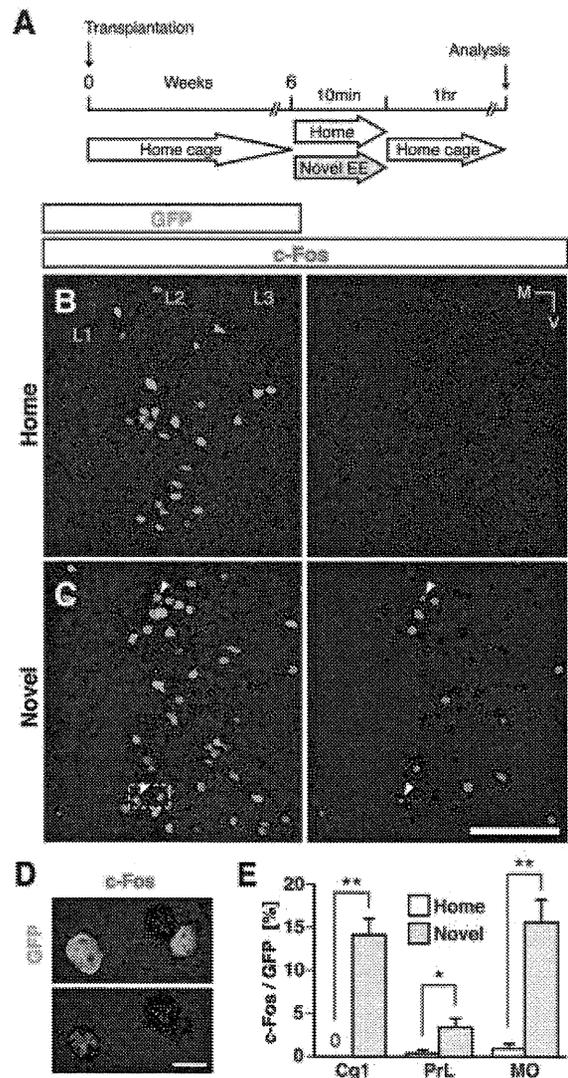


Figure 7. Some transplanted MGE cells were functionally integrated into the host neuronal circuitry within the PFC. A, Schema of the experimental design for investigating the functional integration of the transplanted cells into the neuronal circuitry of the host. Both the control mice and experimental mice underwent MGE cell transplantation. The experimental mice were exposed to a novel enriched environment for 10 min at 6 weeks after transplantation (yellow arrow), then returned to their home cages, and their brains were analyzed 1 h later. Control mice continued to be housed in their home cages. B, C, Expression of c-Fos (magenta) in GFP-expressing cells (green) within the PrL in the control mice (B) and mice exposed to a novel enriched environment (C). Some GFP-expressing cells in the mice exposed to a novel enriched environment expressed c-Fos (arrowheads). D, Enlarged single-optical-sectional view of the boxed region in C. E, The percentages of GFP-expressing cells that expressed c-Fos within the Cg1 (n= 345 GFP-expressing cells), the PrL (n= 522 GFP-expressing cells), and the MO (n= 500 GFP-expressing cells) of the control mice (white bars) (n= 6 hemispheres) and within the Cg1 (n= 733 GFP-expressing cells), the PrL (n= 962 GFP-expressing cells), and the MO (n= 1088 GFP-expressing cells) of mice exposed to a novel enriched environment (yellow bars) (n= 8 hemispheres). \*\*p= 0.0007; \*p= 0.042 (Mann-WhitneyUtest). EE, Enriched environment; L1-3, layers 1-3; M, medial; V, ventral. Scale bars: B, C, 200µm; D, 10µm.

8. 新生児期に GABA 作動性神経前駆細胞を移植されたマウスの認知機能に対するフェンサイクリジンの影響

新生児期に GABA 作動性神経前駆細胞を前頭皮質に移植された ICR マウスの認知機能が PCP 急性投与によりどのような影響を受けるか検討するため、新奇物体認識試験を行った。PCP (1 mg/kg) は訓練試行 30 分前に投与した。訓練試行において、各物体に対する探索時間の割合に差は認められなかった (Figure 8)。保持試行において、PCP を投与されたマウスでは Saline を投与されたマウスに比べ、新奇物体に対する探索時間の有意な短縮が認められた (Figure 8)。また、新生児期に GABA 作動性神経前駆細胞を前頭皮質に移植されたマウスでは、PCP 急性投与による新奇物体に対する探索時間の有意な短縮が認められなかった (Figure 8)。一方、新生児期にグルタミン酸作動性神経前駆細胞を前頭皮質に移植されたマウスでは、PCP 急性投与による新奇物体に対する探索時間の有意な短縮が認められた (Figure 8)。

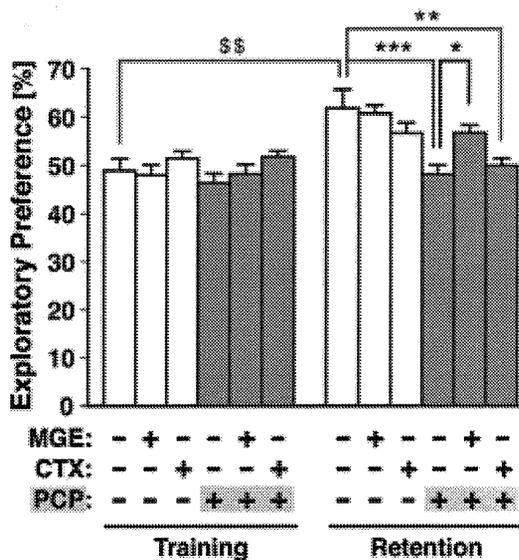


Figure 8. MGE cell transplantation into the mPFC prevented the induction of cognitive deficits by PCP in the novel object recognition test. MGE cells, rostromedial cortex cell (CTX), or vehicle were transplanted into the mPFC of P0 neonates. PCP or vehicle was injected subcutaneously 6 weeks after transplantation, 30 min before training trial. Gray bars indicate the results obtained under PCP-treated conditions. MGE-/CTX-/PCP-(-/-) group, n= 14; +/-/- group, n= 14; -/+/- group, n= 11; -/-/+ group, n= 13; +/-/+ group, n= 17; and -/+/+ group, n= 12. \$\$\$ p< 0.01 (paired t test); \*\*\*p< 0.001; \*\*p< 0.01; \*p< 0.05 (Bonferroni's test).

9. 新生児期に GABA 作動性神経前駆細胞を移植されたマウスの感覚情報処理機能に対するフェンサイクリジンの影響

新生児期に GABA 作動性神経前駆細胞を前頭皮質に移植された ICR マウスの感覚情報処理機能が PCP 急性投与によりどのような影響を受けるか検討するため、プレパルスインビジョン試験を行った。PCP (1 mg/kg) は試験 30 分前に投与した。PCP を投与されたマウスでは Saline を投与されたマウスに比べ、プレパルスによる驚愕反応の抑制の低下が認められ、感覚情報処理機能の障害が示唆された (Figure 9A)。新生児期に GABA 作動性神経前駆細胞を前頭皮質に移植されたマウスでは、感覚情報処理機能の障害が認められなかった (Figure 9A)。一方、新生児期にグルタミン酸作動性神経前駆細胞を前頭皮質に移植されたマウスでは、PCP 急性投与による感覚情報処理機能の障害が認められた (Figure 9A)。また、すべての群において驚愕反応そのものに有意な差は認められなかった (Figure 9B)。

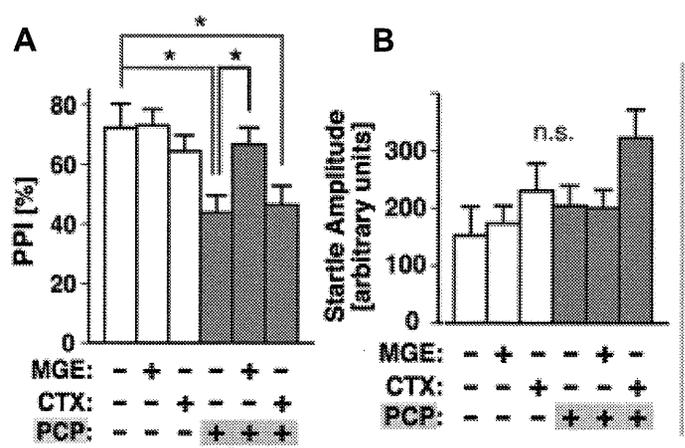


Figure 9. MGE cell transplantation into the mPFC prevented the induction of sensorymotor deficits by PCP in the prepulse inhibition test. MGE cells, rostromedial cortex cells (CTX), or vehicle were transplanted into the mPFC of P0 neonates. PCP or vehicle was injected subcutaneously 6 weeks after transplantation, 30 min before behavioral analysis. Gray bars indicate the results obtained under PCP-treated conditions. MGE-/CTX-/PCP-(-/-) group, n= 14; +/-/- group, n= 14; -/+/- group, n= 11; -/-/+ group, n= 13; +/-/+ group, n= 17; and -/+/+ group, n= 12. \$\$\$ p< 0.001; \$\$\$ p< 0.01 (paired t test); \*\*\*p< 0.001; \*\*p< 0.01; \*p< 0.05 (Bonferroni's test).

#### D. 考察

幼若期にエンリッチ環境下で飼育され、その後 PCP を連続投与されたマウスでは、PCP の連続投与により惹起される社会性行動の低下や認知機能障害などの行動異常が認められなかった。PCP 連続投与動物において、前頭前皮質におけるスパイン密度の低下<sup>10</sup>などの形態的な異常も報告されている。一方、エンリッチ環境下で飼育した動物において、樹状突起の伸長<sup>1</sup>やスパイン密度の増加<sup>2</sup>、さらにシナプトフィジンや Postsynaptic density (PSD)-95 などシナプスタンパク質の増加<sup>11</sup>が報告されている。以上のことから、幼若期におけるエンリッチ環境下飼育が PCP 連続投与により惹起される行動異常を抑制する作用は、神経機能の亢進や神経形態の可塑的な変化が脳の構造的、機能的構築を増強し、PCP による脳機能障害を抑制した結果と考えられる。

エンリッチ環境下で飼育することによりヒストンのアセチル化を介して神経変性疾患モデルマウスに認められる行動異常が改善するとの報告がある<sup>5</sup>。本研究では、PCP を連続投与されたマウスの前頭前皮質において、アセチル化ヒストン H3K9 陽性細胞数の減少がみられ、幼若期にエンリッチ環境下で飼育され、その後 PCP を連続投与されたマウスではそのような変化はみられなかった。また、ヒストンアセチル化を促進する作用をもつ HDAC 阻害剤である酪酸ナトリウムを幼若期に連続投与すると、PCP 連続投与による社会性行動や認知機能障害は認められなかった。PCP を連続投与した動物の大脳皮質では、GABA receptor  $\alpha 1$  (GABRA1) や GABA receptor  $\beta 2$  (GABRB2) が減少しており、GABA 作動性神経系の機能が低下している可能性が示唆されている<sup>12</sup>。一方、エンリッチ環境下で飼育するとリーリンなどの GABA 作動性神経系の機能に関わる分子の増加がみられる<sup>13</sup>。エンリッチ環境下での飼育によるヒストンのアセチル化の亢進によるエピジ

エネティック制御は、GABA 作動性神経をはじめとする神経機能に関連した遺伝子の発現増加をもたらし、PCP 連続投与により惹起される行動異常の抑制、緩解作用に関わっている可能性が考えられる。

新生児期に移植された GABA 作動性神経前駆細胞は前頭皮質に生着し、機能的なネットワークを構成し、PCP 誘導性の行動障害を抑制することが明らかとなった。GABA 作動性神経細胞を移植によって増やすと、移植部位では神経細胞は通常よりもさらに抑制されるようになると想像されるが、移植されたマウスの行動は対照群と変化は認められなかった。移植され定着した GABA 作動性神経前駆細胞は、移植された組織の中の神経回路のリズム活動に影響を与えるなど、神経回路を構造的、機能的に再構成することによって、PCP に対する予防効果を発揮したのではないかと考えられる。また、移植された神経細胞の多くがソマトスタチンおよびリーリン陽性細胞という、特定の特徴を持つ抑制性神経細胞に分化していた。とくにリーリンについては、これまで統合失調症や自閉症をはじめとする多くの精神疾患との関連が示唆されている分子であり<sup>14,15</sup>、NMDA 受容体を介したシグナル伝達を強化することも知られている<sup>16</sup>。そのため、GABA 作動性神経前駆細胞の移植が PCP による行動障害を抑制した作用序の一つとしてリーリンの増加が考えられる。詳細についてはさらなる解析が必要であるが、本成果によって、抑制性神経細胞の数を増やすことそれ自体が、依存性薬物による精神障害に対して予防的に働くことが示唆された。神経細胞の移植による予防法をそのまま臨床治療に応用することは難しいが、脳内で神経細胞の新生を活性化させ、前頭皮質での抑制性神経細胞の数を増やすような薬剤や手法の開発によって、今後の依存性薬物による精神障害の予防・治療法の開発に新たな進展が得られる可能性があると考えられる。

## E. 結論

エピジェネティクス制御および GABA 作動性神経前駆細胞移植は PCP により誘発される行動障害に対して予防効果を示すことが示唆された。

## [参考文献]

1. Faherty CJ, Kerley D, Smeyne RJ. A Golgi-Cox morphological analysis of neuronal changes induced by environmental enrichment. *Brain Res Dev Brain Res* 2003; **141**(1-2): 55-61.
2. Kozorovitskiy Y, Gross CG, Kopol C, Battaglia L, McBreen M, Stranahan AM *et al.* Experience induces structural and biochemical changes in the adult primate brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; **102**(48): 17478-17482.
3. Duffy SN, Craddock KJ, Abel T, Nguyen PV. Environmental enrichment modifies the PKA-dependence of hippocampal LTP and improves hippocampus-dependent memory. *Learn Mem* 2001; **8**(1): 26-34.
4. Ziv Y, Ron N, Butovsky O, Landa G, Sudai E, Greenberg N *et al.* Immune cells contribute to the maintenance of neurogenesis and spatial learning abilities in adulthood. *Nat Neurosci* 2006; **9**(2): 268-275.
5. Fischer A, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, Tsai LH. Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature* 2007; **447**(7141): 178-182.
6. Nithianantharajah J, Hannan AJ. Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 2006; **7**(9): 697-709.
7. Lewis DA. GABAergic local circuit neurons and prefrontal cortical dysfunction in schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev* 2000; **31**(2-3): 270-276.
8. Mouri A, Noda Y, Enomoto T, Nabeshima T. Phencyclidine animal models of schizophrenia: approaches from abnormality of glutamatergic neurotransmission and neurodevelopment. *Neurochem Int* 2007; **51**(2-4): 173-184.
9. Gavin DP, Kartan S, Chase K, Grayson DR, Sharma RP. Reduced baseline acetylated histone 3 levels, and a blunted response to HDAC inhibition in lymphocyte cultures from schizophrenia subjects. *Schizophr Res* 2008; **103**(1-3): 330-332.
10. Hajszan T, Leranath C, Roth RH. Subchronic phencyclidine treatment decreases the number of dendritic spine synapses in the rat prefrontal cortex. *Biol Psychiatry* 2006; **60**(6): 639-644.
11. Nithianantharajah J, Levis H, Murphy M. Environmental enrichment results in cortical and subcortical changes in levels of synaptophysin and PSD-95 proteins. *Neurobiol Learn Mem* 2004; **81**(3): 200-210.
12. Toyooka K, Usui M, Washiyama K, Kumanishi T, Takahashi Y. Gene expression profiles in the brain from phencyclidine-treated mouse by using DNA microarray. *Ann N Y Acad Sci* 2002; **965**: 10-20.
13. Li C, Niu W, Jiang CH, Hu Y. Effects of enriched environment on gene expression and signal pathways in cortex of hippocampal CA1 specific NMDAR1 knockout mice. *Brain Res Bull* 2007; **71**(6): 568-577.
14. Caruncho HJ, Dopeso-Reyes IG, Loza MI, Rodriguez MA. A GABA, reelin, and the neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia. *Crit Rev Neurobiol* 2004; **16**(1-2): 25-32.
15. Fatemi SH. The role of reelin in pathology of autism. *Mol Psychiatry* 2002; **7**(9): 919-920.
16. Chen Y, Beffert U, Ertunc M, Tang TS, Kavalali ET, Bezprozvanny I *et al.* Reelin modulates

NMDA receptor activity in cortical neurons. *J Neurosci* 2005; **25**(36): 8209-8216.

F. 健康危険情報  
なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Koseki T, Mouri A, Suzuki S, Nakajima A, Mamiya T, Yan Y, Nabeshima T. : Galantamine attenuates reinstatement of cue-induced methamphetamine-seeking behavior in mice. *Addict Biol.* In press.
2. Mizoguchi H., Yamada K., Nabeshima T. :Matrix metalloproteinases contribute to neuronal dysfunction in animal models of drug dependence, Alzheimer's disease, and epilepsy. *Biochem Res Int*, In press
3. Tran HY, Shin EJ, Saito K, Nguyen XK, Chung YH, Jeong JH, Bach JH, Park DH, Yamada K, Nabeshima T, Yoneda Y, Kim HC. :Protective potential of IL-6 against trimethyltin-induced neurotoxicity in vivo. *Free Radic Biol Med.* In press.
4. Mouri A, Koseki T., Narusawa S., Niwa M., Mamiya T., Kano S., Sawa A., Nabeshima T.: Mouse strain differences in phencyclidine-induced behavioral changes. *Int J Neuropsychopharmacol*, In press
5. Koseki T, Mouri A, Mamiya T, Aoyama Y, Toriumi K, Suzuki S, Nakajima A, Yamada T, Nagai T, Nabeshima T. : Exposure to enriched environments during adolescence prevents abnormal behaviours associated with histone deacetylation in phencyclidine-treated mice. *Int J Neuropsychopharmacol.* In press
6. Miwa M, Tsuboi M, Noguchi Y, Enokishima A, Nabeshima T, Hiramatsu M. : Effects of betaine on lipopolysaccharide-induced memory impairment in mice and the involvement of GABA transporter 2. *J Neuroinflammation.* In press.
7. Nam Y, Shin EJ, Yang BK, Bach JH, Jeong JH, Chung YH, Park ES, Li Z, Kim KW, Kwon YB, Nabeshima T, Kim HC. : Dextromethorphan-induced psychotoxic behaviors cause sexual dysfunction in male mice via stimulation of  $\sigma$ -1 receptors. *Neurochem Int.* In press.
8. Toriumi K, Mouri A, Narusawa S, Aoyama Y, Ikawa N, Lu L, Nagai T, Mamiya T, Kim HC, Nabeshima T.: Prenatal NMDA Receptor Antagonism Impaired Proliferation of Neuronal Progenitor, Leading to Fewer Glutamatergic Neurons in the Prefrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology.* In press.
9. Lu P, Mamiya T, Lu L, Mouri A, Ikejima T, Kim HC, Zou LB, Nabeshima T. : Xanthoceraside attenuates amyloid  $\beta$  peptide25-35-induced learning and memory impairments in mice. *Psychopharmacology* In press.
10. Yan Y, Nitta A, Koseki T, Yamada K, Nabeshima T. :Dissociable role of tumor necrosis factor alpha gene deletion in methamphetamine self-administration and cue-induced relapsing behavior in mice. *Psychopharmacology (Berl).* In press.
11. Song Z, Ge D, Ishii K, Yamada H, Toriumi K, Watanabe H, Nabeshima T, Fukushima T. : Determination of N-acetylaspartic acid concentration in the mouse brain using HPLC with fluorescence detection. *Biomed Chromatogr.*26, 147-151 (2012).
12. Espallergues J, Mamiya T, Vallè M, Koseki T, Nabeshima T, Tamsamani J, Laruelle C, Maurice T. : The antidepressant-like effects

- of the  $3\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor trilostane in mice is related to changes in neuroactive steroid and monoamine levels. *Neuropharmacology*. 62, 492-502 (2012)
13. Lu L, Mamiya T, Lu P, Toriumi K, Mouri A, Hiramatsu M, Zou LB, Nabeshima T.: Prenatal exposure to PCP produces behavioral deficits accompanied by the overexpression of GLAST in the prefrontal cortex of postpubertal mice. *Behav Brain Res*. 220, 132-139 (2011)
  14. Alkam T, Hiramatsu M, Mamiya T, Aoyama Y, Nitta A, Yamada K, Kim HC, Nabeshima T.: Evaluation of object-based attention in mice. *Behav Brain Res*. 220, 185-193(2011)
  15. Furukawa-Hibi Y, Nitta A, Ikeda T, Morishita K, Liu W, Ibi D, Alkam T, Nabeshima T, Yamada K.: The hydrophobic dipeptide Leu-Ile inhibits immobility induced by repeated forced swimming via the induction of BDNF. *Behav Brain Res*. 220, 271-280 (2011)
  16. Nagai T, Kitahara Y, Ibi D, Nabeshima T, Sawa A, Yamada K.: Effects of antipsychotics on the behavioral deficits in human dominant-negative DISC1 transgenic mice with neonatal polyI:C treatment. *Behav Brain Res*. 225, 305-310 (2011)
  17. Lu L, Mamiya T, Koseki T, Mouri A, Nabeshima T. : Genetic animal models of schizophrenia related with the hypothesis of abnormal neurodevelopment. *Biol Pharm Bull*.34, 1358-1363 (2011)
  18. Shin EJ, Kim JM, Nguyen XK, Nguyen TT, Lee SY, Jung JH, Kim MJ, Whang WK, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC. : Effects of *gastrodia elata* bl on phencyclidine-induced schizophrenia-like psychosis in mice. *Curr Neuropharmacol*. 9, 247-250 (2011)
  19. Niwa M, Nabeshima T. : Roles of a novel molecule 'shati' in the development of methamphetamine - induced dependence. *Curr Neuropharmacol*.9, 104-108 (2011)
  20. Takamura A, Okamoto Y, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Mouri A, Nabeshima T, Sun H, Abe K, Urisu T, Yamamoto N, Shoji M, Yanagisawa K, Michikawa M, Matsubara E. : Extracellular and intraneuronal HMW-AbetaOs represent a molecular basis of memory loss in Alzheimer's disease model mouse. *Mol Neurodegener*. 6(1) 20. (2011)
  21. Mizoguchi H, Nakade J, Tachibana M, Ibi D, Someya E, Koike H, Kamei H, Nabeshima T, Itohara S, Takuma K, Sawada M, Sato J, Yamada K. : Matrix metalloproteinase-9 contributes to kindled seizure development in pentylentetrazole-treated mice by converting pro-BDNF to mature BDNF in the hippocampus. *J Neurosci*. 31, 12963-12971 (2011)
  22. Tanaka DH, Toriumi K, Kubo K, Nabeshima T, Nakajima K. : GABAergic precursor transplantation into the prefrontal cortex prevents phencyclidine-induced cognitive deficits. *J Neurosci*. 31, 14116-14125 (2011)
  23. Shichi K, Fujita-Hamabe W, Harada S, Mizoguchi H, Yamada K, Nabeshima T, Tokuyama S. : Involvement of matrix metalloproteinase-mediated proteolysis of neural cell adhesion molecule in the development of cerebral ischemic neuronal damage. *J Pharmacol Exp Ther*. 338, 701-710 (2011)

24. Shin EJ, Bach JH, Lee SY, Kim JM, Lee J, Hong JS, Nabeshima T, Kim HC.: Neuropsychotoxic and neuroprotective potentials of dextromethorphan and its analogs. *J Pharmacol Sci.* , 116, 137-148. (2011)
  25. Hritcu L, Ciobica A, Stefan M, Mihasan M, Palamiuc L, Nabeshima T.: Spatial memory deficits and oxidative stress damage following exposure to lipopolysaccharide in a rodent model of Parkinson's disease. *Neurosci Res.* 71(1):35-43 (2011)
  26. Shin EJ, Duong CX, Nguyen XK, Bing G, Bach JH, Park DH, Nakayama K, Ali SF, Kanthasamy AG, Cadet JL, Nabeshima T, Kim HC. : PKC $\delta$  inhibition enhances tyrosine hydroxylase phosphorylation in mice after methamphetamine treatment. *Neurochem Int.* 59 , 39-50 (2011)
  27. 鍋島俊隆：精神疾患の臨床検査は可能か？ *臨床薬理*第 59 巻 12 号、1123 (2012)
  28. 鍋島俊隆：アセチルコリンエステラーゼ阻害薬の薬理的特性—ガラントミンを中心として. *Cognition & Dementia*vol, 10, 24-29 (2011)
  29. 鍋島俊隆：ガラントミンの基礎および臨床薬理作用の特長治療 93 , 1879-1884 (2011)
  30. 鍋島俊隆：オピオイド鎮痛薬による  $\mu$  受容体を介した耐性形成機構. *ペインクリニック* 31, 57-63 (2011)
  31. 鍋島俊隆:「ガラントミンの薬理作用--APL 作用による各種神経伝達物質の遊離（認知症新薬の最先端. *老年精神医学雑誌*, 22, 33-39 (2011)
1. Kiyofumi Yamada : "Nicotinic Receptors: A Potential Drug Target for Treatment of Cognitive Impairments Associated with Methamphetamine Dependence" The 2nd congress of Asian college of Neuropsychopharmacology.(Seoul, 2011. 9. 23)
  2. Hirotake Hida, Akihiro Mouri, Yu Ando, Yurie Ogino, Kiyofumi Yamada, Toshitaka Nabeshima, Yukihiro Noda : "Combination of a Neonatal Viral Infection with an Adolescent Substance Use Affect Psychological Function in Adult". The 2nd congress of Asian college of Neuropsychopharmacology.(Seoul, 2011. 9. 24)
  3. Akihiro Mouri, Takenao Koseki, Shiho Narusawa, Minae Niwa, Takayoshi Mamiya, Shin-ichi Kano, Akira Sawa, Toshitaka Nabeshima Mouse Strain Differences in Phencyclidine-induced Behavioral Changes. The 2nd congress of Asian college of Neuropsychopharmacology. (Seoul, 2011. 9. 24)
  4. Atsumi Nitta, Yohko Furukawa-Hibi, Toshitaka Nabeshima Over Expression of Piccolo C2A Domain Induces Depression-like Behavior in Mice The 2nd congress of Asian college of Neuropsychopharmacology.(Seoul, 2011. 9. 24)
  5. Takeonao Koseki, Akihiro Mouri, Takayoshi Mamiya., Yuki Aoyama, Kazuya Toriumi, Shizuka Suzuki, Azusa nakajima, Takuma Yamada, Taku Nagai, Toshitaka Nabeshima : "Enriched Environment in Adolescent Prevents Abnormal Behavior Associated with Histone Deacetylation in Phencyclidine-treated Mice" The 2nd congress of Asian college of
2. 学会発表

- Neuropsychopharmacology.(Seoul, 2011. 9. 24)
6. Toshitaka Nabeshima: Physiological function of new drug dependence-related molecule, Shati. 第32回内藤コンファレンス「こころの機能と疾患の分子機構」(The 32nd Naito Conference) (山梨県北杜市, 2011.10.20)
  7. 鍋島俊隆(特別講演) 恐ろしい薬物乱用の魔力. 第119回日本薬理学会近畿部会市民公開講座 (名古屋, 2011.7.8)
  8. 鳥海和也、丹羽美苗、古関竹直、永井拓、宋 梓瑜、新田淳美、山田清文、福島 健、鍋島俊隆: 新規薬物依存抑制因子 Shati の機能解析. 第54回日本神経化学学会大会 (金沢, 2011.9.26)
  9. 新田淳美、日比陽子、宇野恭介、鍋島俊隆、宮本嘉明: 覚せい剤精神病マウス側坐核から単離された精神病関連分子について. 第54回日本神経化学学会大会(金沢, 2011.9.26)
  10. 石川雄大、宮本嘉明、家恒典幸、日比陽子、村松慎一、鍋島俊隆、新田淳美: マウス覚せい剤応答性に対する新規遺伝子シヤチの脳部位特異性過剰発現の影響. 第21回日本医療薬学会年会(神戸, 2011. 10. 1)
  11. 鍋島俊隆:薬物依存について (保険講話) 愛知県立春日井工業高等学校 全体指導行事(愛知県春日井市, 2011.10.5)
  12. 古関竹直、毛利彰宏、鈴木静香、中島杏紗、間宮隆吉、鍋島俊隆: メタンフェタミン依存に対するガラントミンの抑制作用. 平成23年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.13)
  13. 衣斐大祐、永井 拓、澤 明、鍋島俊隆、山田清文: 統合失調症動物モデルにおける精神刺激薬に対する感受性.平成23年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.13)
  14. 濱 みなみ、箕浦由里絵、古関竹直、間宮隆吉、鍋島俊隆:メタンフェタミン依存に対するコレシストキニン2受容体拮抗薬 CI-988 の抑制作用. 平成23年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.13)
  15. 本荘龍輝、鳥海和也、渡辺裕之、宋 梓瑜、近藤水生、武藤瑛里子、間宮隆吉、新田淳美、福島 健、鍋島俊隆: shati 遺伝子欠損マウスにおける行動異常と脳内の神経化学的な変化. 平成23年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会.(名古屋, 2011.10.13)
  16. 鳥海和也、近藤水生、本荘龍輝、武藤瑛里子、永井 拓、宋 梓瑜、新田淳美、山田清文、福島 健、鍋島俊隆: 新規薬物依存抑制因子 shati は微小管の安定化に関与する. 平成23年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.13)
  17. 近藤水生、鳥海和也、本荘龍輝、武藤瑛里子、古関竹直、間宮隆吉、永井 拓、新田淳美、山田清文、鍋島俊隆: 新規薬物依存抑制因子 shati 結合タンパク質の探索. 平成23年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.13)
  18. 毛利彰宏、古関竹直、小林万佑子、清水重臣、辻本賀英、野田幸裕、山田清文、鍋島俊隆:モルヒネ精神依存形成におけるシクロフィリンDの関与.平成23年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.13)
  19. 布目貴大、毛利彰宏、青山雄紀、鳥海和也、古関竹直、間宮隆吉、鍋島俊隆: 依存

- 性薬物による精神障害への冬季出産の影響. 平成 23 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 011.10.13)
20. 萩野洋子、笠井慎也、山本秀子、曾良一郎、鍋島俊隆、三品昌美、池田和隆: フェンサイクリジンの作用における NMDA 受容体チャネル GluN2D サブユニットの役割. 平成 23 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011. 10. 13)
  21. 中野 博、鍋島俊隆 Nicotine の神経芽細胞腫 (Neuro2A) の増殖能に対する影響: 平成 23 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.13)
  22. 青山雄紀、Alkam Tursun、山田清文、鍋島俊隆: 胎生期のニコチン暴露が成体期の情動行動および認知機能に与える影響. 平成 23 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.13)
  23. 服部友哉、青山雄紀、Alkam Tursun、鳥海和也、山田清文、鍋島俊隆: 胎生期のニコチン暴露が神経発達に与える影響. 平成 23 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会(名古屋, 2011.10.14)
  24. 家垣典幸、宮本嘉明、石川雄大、日比陽子、村松慎一、鍋島俊隆、新田淳美: 新規分子 Shati の脳部位特異的過剰発現がマウスの情動行動に及ぼす影響. 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会合同年会(東京, 2011. 10. 27)
  25. 古関竹直、毛利彰宏、鈴木静香、中島杏紗、間宮隆吉、鍋島俊隆: ガランタミンのメタンフェタミン依存形成抑制作用におけるニコチン性およびムスカリン性アセチルコリン受容体の関与. 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会合同年会(東京, 2011. 10. 27)
  26. 齊鹿絵里子、宮本嘉明、日比陽子、村松慎一、鍋島俊隆、新田淳美: 新規分子 Shati の”ジストニア”モデル動物に対する影響. 第 21 回日本臨床精神神経薬理学会・第 41 回日本神経精神薬理学会合同年会.(東京, 2011.10.28)
  27. 永井拓、Yu Jinghua,北原裕子、衣斐大祐、鍋島俊隆、山田清文: 周産期免疫応答異常によって誘発される精神機能発達障害に対するニコチンの効果. 第 21 回日本病院薬剤師会東海ブロック学術集会・平成 23 年度日本薬学会東海支部例会 (名古屋, 2011.11.23)
  28. Yurie Ogino , Hirotake Hida, Takeshi Seki Yurie Matsumoto, Akihiro Mouri, Kiyofumi Yamada, Norio Ozaki, Toshitaka Nabeshima, Yukihiro Noda: Blonanserin ameliorates phencyclidine - induced impairment of recognition memory through dopamine D1 receptor. 第 5 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(名古屋, 2011.11.26)
  29. Hirotake Hida, Akihiro Mour, Yu Ando, Mayu Ukai, Yurie Ogino, Masayuki Taniguchi. Kiyofumi Yamada, Toshitaka Nabeshima, Yukihiro Noda: Combined two factors of neonatal immune activation and adolescent Phencyclidine exposure affect psychological function in adult. 第 5 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(名古屋, 2011.11.27)
  30. Mayu Ukai, Yu Ando, Akihiro Mouri, Hirotake Hida, Masayuki Taniguchi, Akira Yoshimi, Kiyofumi Yamada Toshitaka Nabeshima , Norio Ozaki , Yukihiro Noda: Social defeat stress during the juvenile period causes the antidepressants-resistant social withdrawal 第 5 回次世代を担う若手医療薬科学シンポジウム(名古屋, 2011.11.27)
  31. 鍋島俊隆、間宮隆吉: 隔離飼育および

DISC1 遺伝子発現抑制による新たな精神疾患モデル動物の作製. 第 44 回精神神経系薬物治療研究会 (大阪, 2011.12.2)

32. 鳥海和也、毛利彰宏、成澤志穂、青山雄紀、井川夏美、陸玲玲、永井拓、間宮隆吉、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前駆細胞の分裂を障害し、前頭前皮質内グルタミン酸作動性神経細胞数の減少を生じる. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都, 2012.3.14)
33. 古関竹直：幼若期のエンリッチ環境はフェンシクリジン連続投与マウスのヒストンアセチル化に関連した行動異常を予防する. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都, 2012.3.15)
34. 布目貴大、毛利彰宏、青山雄紀、松本友里恵、鳥海和也、古関竹直、間宮隆吉、澤明、山田清文、鍋島俊隆 妊娠期における温度および日照環境の変化は依存性薬物および遺伝子変異による統合失調症様行動変化に対して脆弱化させる. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都, 2012.3.15)
35. 肥田 裕丈、荻野由里恵、松本友里恵、毛利 彰宏、関 壮史、山田 清文、尾崎 紀夫、鍋島俊隆、野田 幸裕:プロナンセリンはドパミン D1 受容体を介して、フェンシクリジン投与による認知機能障害を改善する. 第 85 回日本薬理学会年会 (京都, 2012.3.15)
36. 長倉 美由紀, 玉地 亜衣, 宇野 恭介, 宮本 嘉明, 鍋島 俊隆, 尾崎 紀夫, 新田 淳美: 精神疾患関連遺伝子 shati の産じよく期うつ病診断マーカーとしての可能性. 日本薬学会第 132 年会(札幌 ,2012. 3. 30)