

Healthcare, Buckinghamshire, UK) に反応させ、ChemiDoc XRS (Bio-rad Laboratories Inc, CA, USA)を用いて検出した。

10. 定量的リアルタイム RT-PCR 解析

Total RNA 抽出は RNeasy Kit (Qiagen, Hilden, Germany) を用いて行った。その後、SuperScript™ III First-Strand System for RT-PCR Kit (Invitrogen) を用いて、cDNA への逆転写を行い、プライマーおよび TaqMan probe を使用し、定量化した。PCR 反応は iCycle iQ Detection System (BioRad Laboratories, Inc., CA, USA) を用いて 95°C 5 分加熱後、95°C 30 秒 (変性) 59°C 40 秒 (アニーリング) 72°C 1 分 (伸長) を 1 サイクルとし、これを 40 サイクルの条件で行った。発現量は $\Delta\Delta Ct$ 法により計算した。

11. 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。

12. In vivo マイクロダイアリシス法

ペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg, i.p.) 麻酔下のマウスを脳固定器に固定し、脳地図 (Franklin and Paxinos, 1997) を参考に、ガイドカニューレ (AG-6, EICOM Corp., Kyoto, Japan) を NAc (A: -1.7, L: +0.75, V: -4.0 mm) に挿入した。ガイドカニューレを歯科用セメント (SHOFU Inc., Kyoto, Japan) により頭蓋骨に固定した。手術翌日にガイドカニューレからダイアリシスプローブ (A-I-6-1, 1 mm membrane length, EICOM Corp.) を NAc に挿入した実験動物をアクリルケース (30 cm × 30 cm × 35 cm) の中に入れ、自由に行動できるようにした。人工脳脊髄液 (NaCl: 147 mM, KCl: 4 mM, $CaCl_2$: 2.3 mM) を 1.0 μ l/min の流速にてプローブ内に灌流した。灌流液は 10 分ごとに回収し、液中のドパミン含量を高速液体クロマトグラフィー (HTEC-500, EICOM Corp.) により定量した。移動相は 1% メタノール、デカンスルホン酸ナトリウム (SDS, 500 mg/L) および EDTA · 2Na (50 mg/L) を含む 99% 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.0) を使用し、流速 500 μ l/min で通液した。分離カラム (EICOMPAK PP-ODS, 30 × 4.6 mm ϕ , EICOM Corp.), プレカラム (EICOM PREPAKSET CA-ODS,

EICOM Corp.) を用いて分析し、検出には作用電極にグラファイト電極 (WE-3G) を備えた電気化学検出器を用い、設定加電圧を +400 mV vs Ag/AgCl に設定した。細胞外ドパミン遊離量が安定した後、薬物を投与し、その後 5 時間の細胞外ドパミン遊離量を測定した。

13. 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)], 二元配置分散分析[two-way analysis of variance (ANOVA)]および重複分析 [repeated analysis of variance (ANOVA)] を用いて行った。Post hoc テストは Bonferroni, Student-Newman-Keuls, もしくは Tukey test 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. モルヒネの精神依存形成におけるシクロフィリン D の役割

1.1. モルヒネ誘発性行動感作の形成に対するシクロスポリン A の効果

各測定日における 1 時間あたりの行動量を Fig. 1 に示した。装置に対する馴化を行った 1 日目において、各群の行動量に有意な差はみられなかった。2, 4, 6, 8 日目および休薬後の 14 日目のモルヒネ (MOR/saline) 投与群において、モルヒネ誘発性行動量増加が比較対照 (saline/saline) 投与群と比較して有意に認められた (Fig. 1)。4, 6, 8 日目の MOR/saline 投与群において、行動感作が 2 日目の同群と比較して有意に認められた (Fig. 1)。MOR とシクロスポリン A (CsA) [MOR/CsA (10 mg/kg) および

MOR/CsA (20 mg/kg)] 併用投与群においても MOR 誘発性行動量増加および行動感作が saline/saline 投与群と比較して有意に認められたが (Fig. 1), MOR/CsA (10 mg/kg) 投与群においては CsA の併用投与により、MOR 誘発性行動量増加および行動感作に対する有意な抑制作用が認められた (Fig. 1)。一方、MOR/CsA (20 mg/kg) 投与群ではそのような抑制は認められなかった (Fig. 1)。Saline/CsA (10 mg/kg) 投与群および saline/CsA (20 mg/kg) 投与群において、生理食塩水と CsA の併用投与による行動量への影響は認められなかった (Fig. 1)。

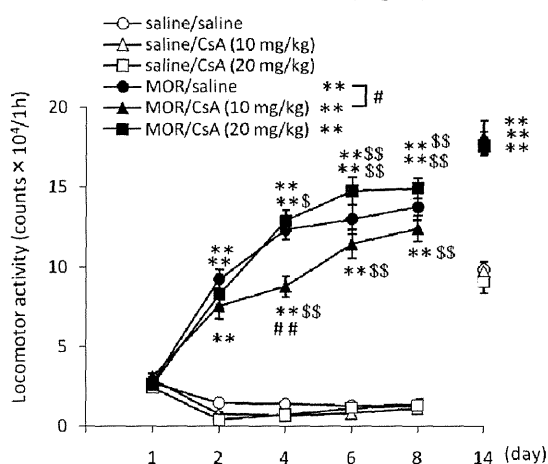


Fig. 1, CsA suppressed MOR-induced sensitization in mice. **p<0.01 vs saline/saline-treated group. #p<0.05, ##p<0.01 vs MOR/saline-treated group. \$p<0.05, \$\$p<0.01 vs day 2. Values are means ± S.E. (n = 9-15). CsA: cyclosporin A, MOR: morphine.

1.2. モルヒネ誘発性場所嗜好性の形成に対するシクロスポリン A の予防効果

Pre test と post test から求めた conditioned place preference 値を Fig. 2 に示した。MOR/saline 投与群において、NOR による場所嗜好性が saline/saline 投与群と比較して有意に認められた (Fig. 2)。MOR/CsA 投与群において、CsA (10 mg/kg) の併用投与により MOR 誘発性場所嗜好性は saline/saline 投与群と比較して認められず、MOR 誘発性場

所嗜好性の抑制が MOR/saline 投与群と比較して有意に認められた (Fig. 2). また, saline/CsA 投与群において, 生理食塩水と CsA の併用投与による場所嗜好性への影響は認められなかった (Fig. 2).

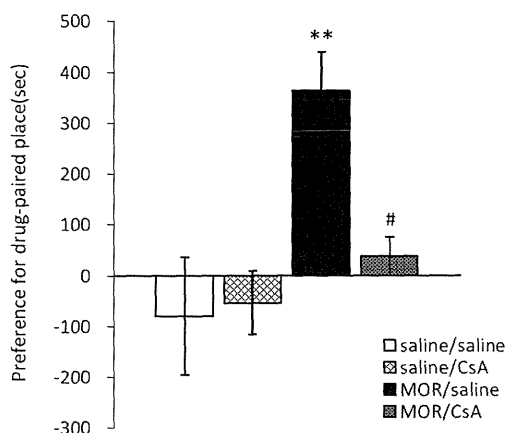


Fig. 2. CsA suppressed MOR-induced place preference in mice. ** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated group. # $p < 0.05$ vs MOR/saline-treated group. Values indicate the mean \pm s.e.m. CsA: cyclosporin A, MOR: morphine.

1.3. 一旦形成されたモルヒネ誘発性行動感作に対するシクロスポリン A の効果

各測定日における 1 時間あたりの行動量を Fig. 3 A, B に示した. 装置に対する馴化を行った 1 日目において, 各群の行動量に有意な差はみられなかった. 2, 4, 6, 8 日目の MOR 投与群において, MOR 誘発性行動量増加が saline 投与群と比較して有意に認められた (Fig. 3A). 4, 6, 8 日目の MOR 投与群において, 行動感作が 2 日目の MOR 投与群と比較して有意に認められた (Fig. 3A). その後, 5 日間シクロスポリン A を投与したが, 14 日目における MOR/CsA (10 mg/kg) 投与群および MOR/CsA (20 mg/kg) 投与群において, MOR 誘発性行動量増加は抑制されず, saline/saline 投与群と比較して有意に認められた (Fig. 3B, $p < 0.01$). また,

saline/CsA (10 mg/kg) 投与群および saline/CsA (20 mg/kg) 投与群において, CsA の 5 日間投与による行動量への影響は認められなかった (Fig. 3B).

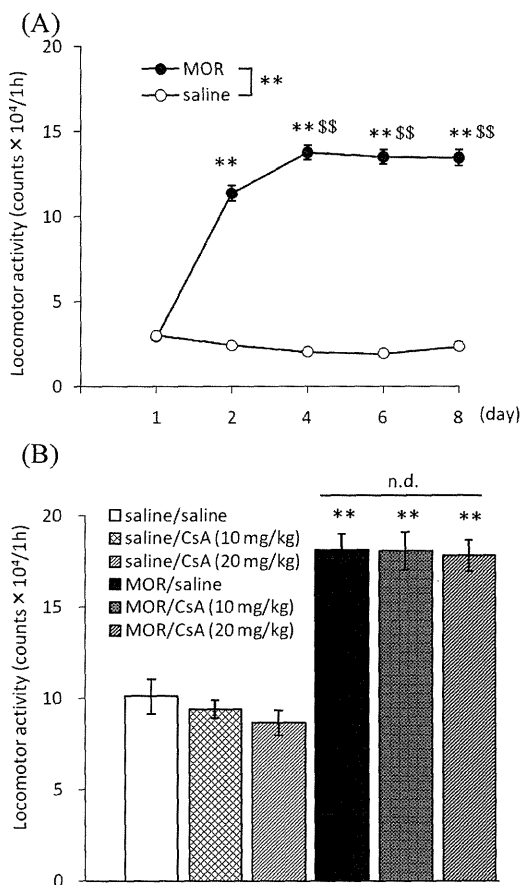


Fig. 3 Post-treatment with CsA did not attenuate the MOR-induced sensitization after its development. (A) MOR developed sensitization in mice. Results with the repeated ANOVA were: ** $p < 0.01$ vs saline-treated group. \$\$\$ $p < 0.01$ vs day 2. Values are means \pm S.E. ($n = 24, 28$). CsA: cyclosporin A, MOR: morphine. (B) Treatment with CsA without MOR for 5 days after the development of MOR-induced sensitization did not inhibit its development. Values are means \pm S.E. ($n = 8-10$).

1.4. 一旦形成されたモルヒネ誘発性場所嗜好性に対するシクロスポリン A の効果

Pre test と条件付け後から 5 日間の CsA 投与から 1 日後の 2 回目の post test から求めた conditioned place preference 値を Fig. 4 に示した. 条件付け後の 1 回目の post test における MOR 投与群において, MOR による

場所嗜好性が saline 投与群と比較して有意に認められた (データ示さず). その後, 5 日間の生理食塩水投与後の post test における MOR/saline 投与群において, モルヒネによる場所嗜好性が saline/saline 投与群と比較して有意に認められた (Fig. 4). MOR/CsA (10 mg/kg) 投与群および MOR/CsA (20 mg/kg) 投与群において, 5 日間 CsA を投与しても, MOR 誘発性場所嗜好性を抑制できなかった (Fig. 4). また, saline/CsA (10 mg/kg) 投与群および saline/CsA (20 mg/kg) 投与群において, CsA を 5 日間投与しても場所嗜好性への影響は認められなかった (Fig. 4).

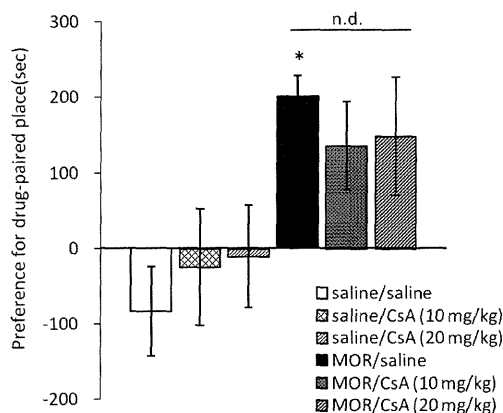


Fig. 4. Post-treatment with CsA did not attenuate the MOR-induced place preference after its development. Values are means \pm S.E. (n = 7-11). * p <0.05 vs saline/saline-treated group. CsA: cyclosporin A, MOR: morphine, n.d., no difference.

1.5. シクロフィリン D および μ オピオイド受容体の脳内局在の確認

雄性 C57BL/6J マウスの腹側被蓋野 (VTA) におけるシクロフィリン D (Cyp D) および μ オピオイド受容体 (μ OR) の抗体を用いた免疫染色像を Fig. 5 に示した. VTA において, Cyp D と μ OR は共局在が認められた (Fig. 5).

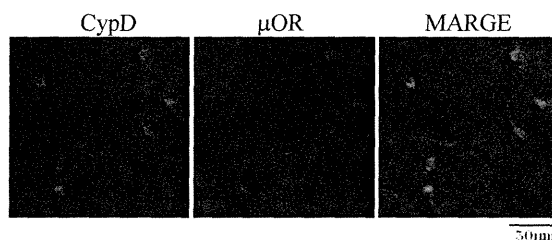


Fig. 5. Cyp D and μ OR were colocalized in the ventral tegmental area of mice. Cyp D: cyclophilin D, μ OR: μ opioid receptor.

1.6. シクロフィリン D 遺伝子欠損マウスにおけるドパミン遊離量の測定

シクロフィリン D 遺伝子欠損マウス [Cyp D (-/-)] 群の側坐核 (NAc) におけるモルヒネにより誘発される細胞外ドパミン遊離量の変化を Fig. 6 に示した. 野生型マウス (WT) 群の NAc において, モルヒネ誘発性細胞外ドパミン量の増加が認められた. 一方, Cyp D (-/-) 群の NAc において, モルヒネ誘発性細胞外ドパミン量増加に対する低下が WT 群と比較して有意に認められた (Fig. 6)

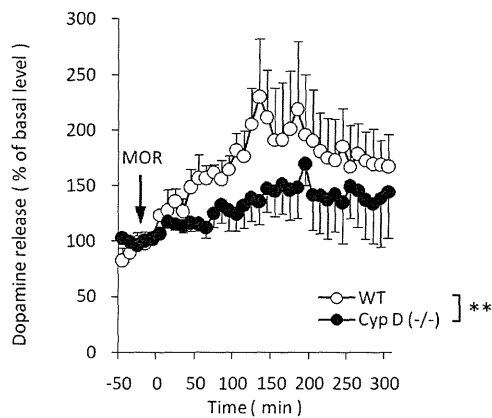


Fig. 6. MOR-induced dopamine release was decreased in the nucleus accumbens of Cyp D (-/-) mice. ** $p < 0.01$ vs WT group. Values are means \pm S.E. (n = 3). WT: wild-type, Cyp D: cyclophilin D, MOR: morphine.

1.7. シクロフィリン D 遺伝子欠損マウスにおけるモルヒネ誘発性行動感作

各測定日における 1 時間あたりの行動量を Fig. 7 に示した。装置に対する馴化を行った 1 日目において、各群の行動量に有意な差はみられなかった。2, 4, 6, 8 日目および休薬後の 14 日目の MOR/WT 群において、モルヒネ誘発性行動量増加が saline/WT 群と比較して有意に認められた (Fig. 7)。4, 6 日目の MOR/WT 群において、行動感作が 2 日目の MOR/WT 群と比較して有意に認められた (Fig. 7)。MOR/Cyp D (-/-) 群においてもモルヒネ誘発性行動量増加および行動感作が saline/Cyp D (-/-) 群と比較して有意に認められたが (Fig. 7), Cyp D 遺伝子欠損群ではモルヒネ誘発性行動量増加が MOR/WT 群と比較して有意に抑制された (Fig. 7)。しかし, saline/Cyp D (-/-) 群と saline/WT 群の間には差が認められなかった (Fig. 7)。

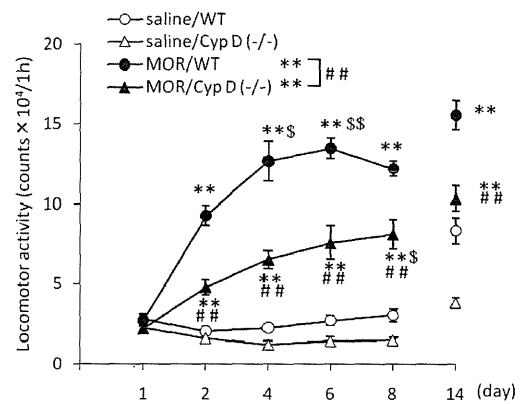


Fig. 7. MOR-induced sensitization was decreased in Cyp D (-/-) mice. ** $p < 0.01$ compared to respective saline-treated group. ## $p < 0.01$ compared to MOR/WT group. \$ $p < 0.05$, \$\$ $p < 0.01$ compared to day 2. Values are means \pm S.E. (n = 6). WT: wild-type, Cyp D: cyclophilin D, MOR: morphine.

1.8. シクロフィリン D 遺伝子欠損マウスにおけるモルヒネ誘発性場所嗜好性

Pre test と post test から求めた conditioned place preference 値を Fig. 8 に示した。MOR/WT 群において、MOR による場所嗜好性が saline/WT 群と比較して有意に認められた (Fig. 8)。MOR/Cyp D (-/-) 群において、MOR 誘発性場所嗜好性は saline/Cyp D (-/-) 群と比較して認められず、Cyp D 遺伝子欠損により MOR 誘発性場所嗜好性が抑制された (Fig. 8)。また, saline/Cyp D (-/-) 群と saline/WT 群の間には差は認められなかった (Fig. 8)。

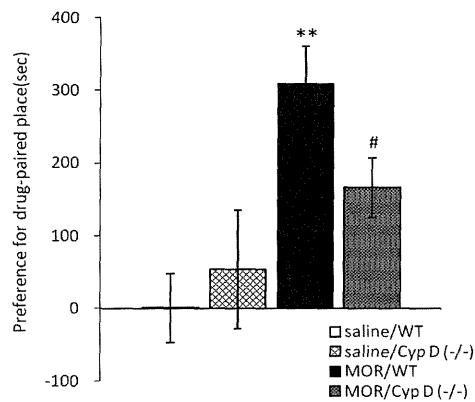


Fig. 8. MOR-induced place preference was decreased in Cyp D (-/-) mice. ** $p < 0.01$ compared to respective saline-treated group. # $p < 0.05$ compared to MOR/WT group. Values are means \pm S.E. ($n = 12-14$). WT: wild-type, Cyp D: cyclophilin D, MOR: morphine.

2. 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

2.1. 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 (Fig. 9)。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 (Fig. 9)。

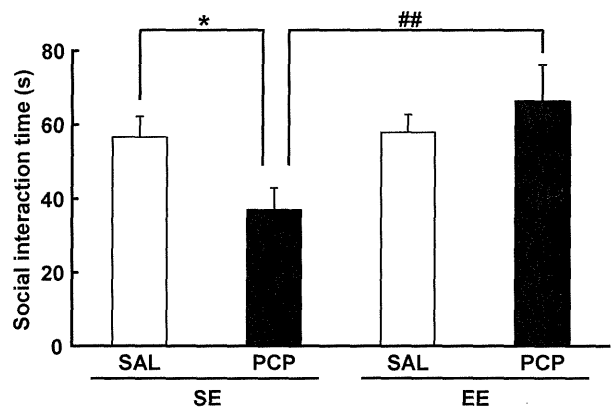


Fig. 9. Effect of PCP on social behaviors in mice housed in enriched environment during childhood. The time spent in social behavior (sniffing, grooming, following, mounting, and crawling) was measured for 10 min. Values are mean \pm S.E. ($n=11-14$). * $p < 0.05$ compared to the SE-exposed mice treated 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.

2.2. 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 (Fig. 10)。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 (Fig. 10)。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 (Fig. 10)。

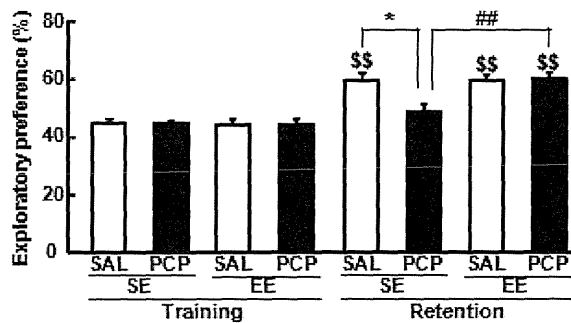


Fig. 10. Effect of PCP on cognitive function in mice housed in enriched environment during childhood. The retention session was carried out 24hr after the training session. Values are mean±S.E. (n=11-14). *p<0.05 compared to the SE-exposed mice treated with Sal in the retention session. ##p<0.01 compared 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.

2.3. 幼若期にエンリッチ環境下で飼育されたマウスのアセチル化ヒストン H3K9 陽性細胞数に対するフェンサイクリジンの影響

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(3)。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 (Fig. 11)。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 (Fig. 11)。

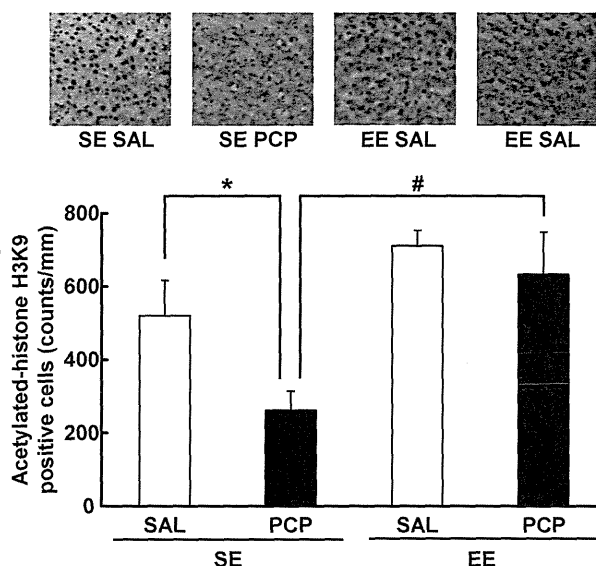


Fig. 11. Effect of PCP on the acetylated-histone H3K9 positive cells in the prefrontal cortex of mice housed in enriched environment during childhood. Mice were sacrificed 24 hr after the last PCP injection. Three sequential sections for prefrontal cortex were examined for counting the acetylated-histone 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:

2.4. 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 (Fig. 12). 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 (Fig. 12).

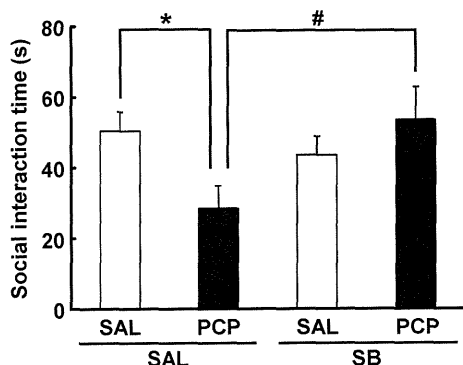


Fig. 12. Effect of PCP on social behaviors in mice treated with sodium butyrate during childhood. The time spent in social behavior (sniffing, grooming, following, mounting, and crawling) was measured for 10 min. Values are mean±S.E. (n=13-15). *p<0.05 compared to saline-, saline-treated mouse group. #p<0.05 compared to saline-, PCP-treated mouse group. SB: Sodium butyrate, SAL: Saline, PCP: Phencyclidine.

2.5. 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 (Fig. 13). 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 (Fig. 13). 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 (Fig. 13).

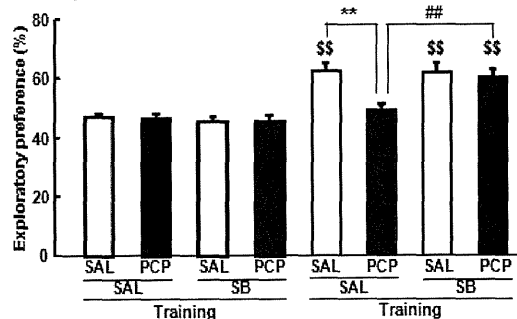


Fig. 13. Effect of PCP on cognitive function in mice treated with sodium butyrate during childhood. The retention session was carried out 24hr after the training session. Values are mean±S.E. (n=13-15). **p<0.01 compared to the Sal-treated mice in the Sal group in the retention session. ##p<0.01 compared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

2.6. 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 C57BL6/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 (パルブアルブミン: 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 (Fig. 14).

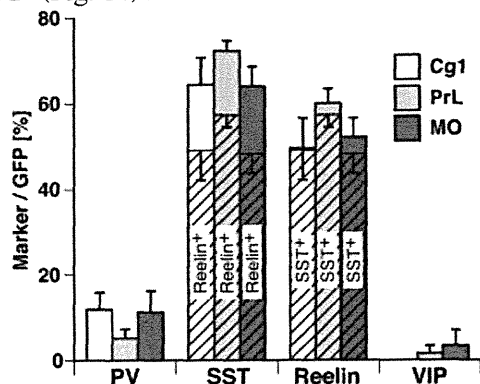


Fig. 14. Calculation of the percentage of GFP-expressing cells expressing an interneuron subtype marker(s) within the cingulate cortex (Cg1) (n= 255 GFP-expressing cells), the prelimbic cortex (PrL) (n= 497 GFP-expressing cells) and the medial orbital cortex (MO) (n= 343 GFP-expressing cells) at 6 weeks after transplantation (n= 5-6 hemispheres). Shaded bars indicate the percentage of GFP-expressing cells that are SST/Reelin-coexpressing cells.

2.7. 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 (Fig. 15A)。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 (Fig. 15B)。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 (Fig. 15C-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。

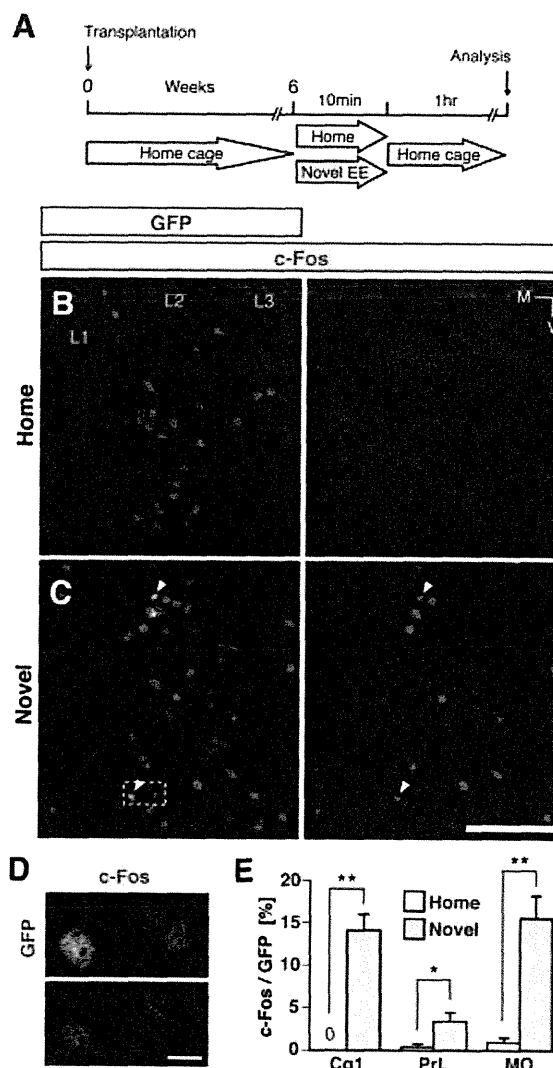


Fig. 15. Some transplanted MGE cells were functionally integrated into the host neuronal circuitry within the PFC. A, Schema of the experimental design for investigating the functional integration of the transplanted cells into the neuronal circuitry of the host. Both the control mice and experimental 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-Whitney U-test). EE, Enriched environment; L1-3, layers 1-3; M, medial; V, ventral. Scale bars: B, C, 200 μ m; D, 10 μ m.

2.8. 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 (Fig. 16)。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 (Fig. 16)。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 (Fig. 16)。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 (Fig. 16)。

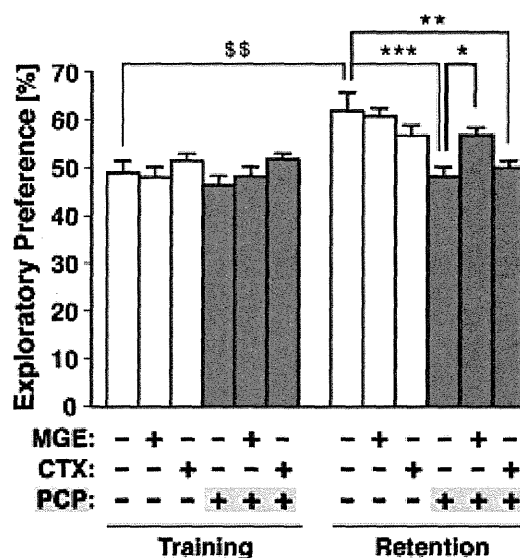


Fig. 16. MGE cell transplantation into the mPFC prevented the induction of cognitive deficits by PCP in the novel object recognition test. MGE cells, rostromedial cortex cell (CTX), or vehicle were transplanted into the mPFC of P0 neonates. PCP or vehicle was injected subcutaneously 6 weeks after transplantation, 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).

2.9. 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 (Fig. 17A)。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 (Fig. 17A)。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 (Fig. 17A). 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 (Fig. 17B).

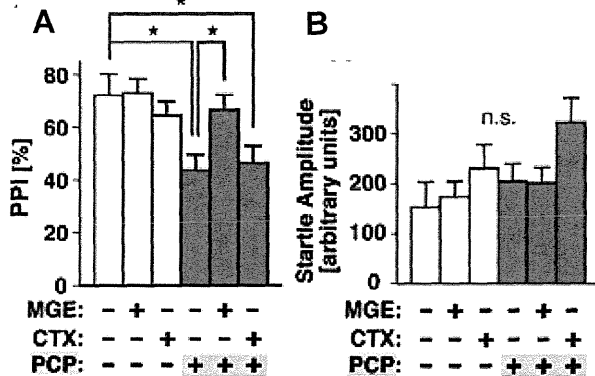


Fig. 17. MGE cell transplantation into the mPFC prevented the induction of sensorymotor deficits by PCP in the prepulse inhibition test. MGE cells, rostromedial cortex cells (CTX), or vehicle were transplanted into the mPFC of P0 neonates. PCP or vehicle was injected subcutaneously 6 weeks after transplantation, 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. * $p < 0.05$ (Bonferroni's test).

3. 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抗精神病薬およびエピソードネティクス制御による治療効果

3.1. フェンサイクリジン連続投与による行動障害に対する抗精神病薬の効果

PCP連続投与による行動障害に対する抗精神病薬の作用を検討するため, 新奇物体認識試験および社会性行動試験を行った. 新奇物体認識試験の訓練試行において, 片方の物体に対するexploratory preferenceはすべての群間に有意な差が認められなかった. 保持試行において, PCP連続投与マウスの新奇物体に対するexploratory preferenceはSAL連続投与マウスのそれと比較して有意に低下したことから, PCP連続投与による物体認知記憶障害が示唆された (Fig. 18A). PCP連続投与による物体認知記憶障害はCLZ (10 mg/kg, *p.o.*) の投与により有意に緩解されたが, HAL (1.0 mg/kg, *p.o.*) の投与

では緩解されなかった (Fig. 18A). また, 社会性行動試験において, PCP連続投与マウスの社会性行動時間はSAL連続投与マウスのそれと比較して有意に短縮したことから, PCP連続投与による社会性行動障害が示唆された (Fig. 18B). PCP連続投与による社会性行動障害はCLZの投与により有意に緩解されたが, HALの投与では緩解されなかった (Fig. 18B). 一方, CLZおよびHALの投与はSAL連続投与マウスの物体認知記憶および社会性行動には影響を与えなかった (Fig. 18A, B).

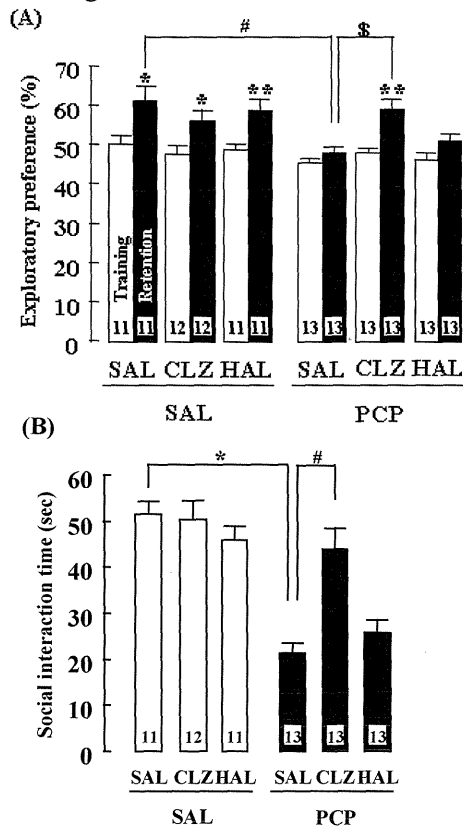


Fig. 18. Clozapine but not haloperidol attenuated phencyclidine-induced behavioral impairments.

Clozapine but not haloperidol attenuated phencyclidine-induced cognitive dysfunction in novel object recognition test (A). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs training. # $p < 0.05$ vs saline/saline-treated mice. \$ $p < 0.05$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Clozapine but not haloperidol attenuated phencyclidine-induced social deficit in social interaction test (B). * $p < 0.05$ vs saline/saline-treated mice. # $p < 0.05$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, HAL: haloperidol, CLZ: clozapine.

3.2. フェンサイクリジン連続投与による前頭前皮質におけるアセチル化ヒストン H3K9 (AcH3K9) の減少及びそれに対する抗精神病薬の効果

PCP 連続投与によるエピジェネティックな変化を検討するため、ウェスタンブロット法を用いて前頭前皮質における AcH3K9 量について評価した。PCP 連続投与により前頭前皮質において AcH3K9 が有意に減少した (Fig. 19)。また、PCP 連続投与による AcH3K9 の減少は CLZ の投与により有意に緩解されたが、HAL の投与では緩解されなかった (Fig. 19)。

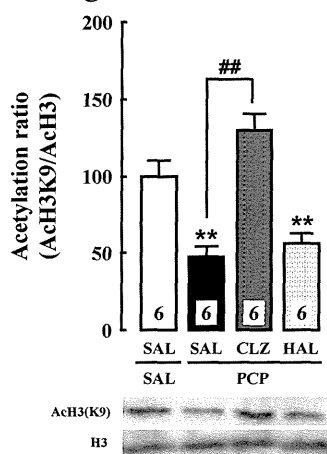


Fig. 19. Clozapine but not haloperidol attenuated phencyclidine-induced decrease of the acetylation level of histone H3 at lysine 9 residues in the prefrontal cortex.

** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. ## $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, HAL: haloperidol, CLZ: clozapine.

3.3. フェンサイクリジン連続投与による行動障害に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の効果

PCP 連続投与により物体認知記憶および社会性行動障害とともに前頭前皮質において AcH3K9 が減少し、それらは CLZ の投与により緩解された。そこで、PCP 連続投与による行動障害とヒストンアセチル化の関連

を検討するため、PCP 連続投与による行動障害に対する HDAC 阻害剤 (酪酸ナトリウム: SB 0.2, 1.0, 2.0 g/kg, *i.p.*) の作用を新奇物体認知試験および社会性行動試験を用いて評価した。PCP 連続投与による物体認知機能および社会性行動障害は SB (1.0, 2.0 g/kg, *i.p.*) の投与により共に緩解した (Fig. 20A, B)。一方、SB の投与は SAL 連続投与マウスの物体認知記憶および社会性行動には影響を与えなかった (Fig. 20A, B)。

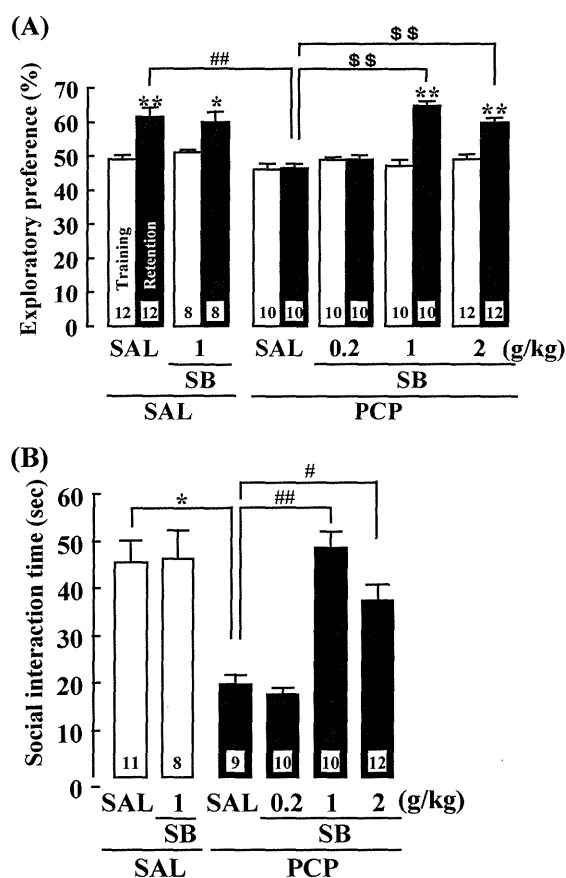


Fig. 20. Histone deacetylase inhibitor: sodium butyrate attenuated phencyclidine-induced behavioral impairments.

Sodium butyrate attenuated phencyclidine-induced cognitive dysfunction in novel object recognition test (A). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs training. ## $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. \$\$ $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Sodium butyrate attenuated phencyclidine-induced social deficit in social interaction test (B). * $p < 0.05$ vs saline/saline-treated mice. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, SB: sodium butyrate.

3.4. フェンサイクリジン連続投与による前頭前皮質におけるアセチル化ヒストン H3K9 の減少に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の効果

PCP 連続投与による前頭前皮質における AcH3K9 の減少に対する SB の作用について検討するため、ウェスタンブロット法を用いて前頭前皮質における AcH3K9 量について評価した。PCP 連続投与による AcH3K9 の減少は SB の投与により有意に緩解した (Fig. 21)。

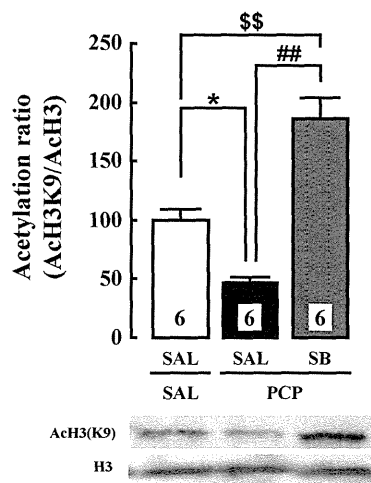


Fig. 21. Sodium butyrate attenuated phencyclidine-induced decrease of the acetylation level of histone H3 at lysine 9 residues in the prefrontal cortex. * $p < 0.05$ vs saline/saline-treated mice. ## $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. \$\$ $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, SB: sodium butyrate.

3.5. フェンサイクリジン連続投与による前頭前皮質におけるアセチル化ヒストン H3K9 の減少に対するクロザピンの緩解作用におけるドパミン D1 受容体の関与

PCP 連続投与による AcH3K9 の減少に対する CLZ の緩解作用にドパミン D1 受容体が関与するかどうか検討するため、ウェスタンブロット法を用いて CLZ とドパミン D1 受容体拮抗薬: SCH-23390 (SCH) の併用投

与時の前頭前皮質 AcH3K9 量について評価した。PCP 連続投与による AcH3K9 の減少に対する CLZ の緩解作用は SCH の併用投与により有意に拮抗された (Fig. 22)。

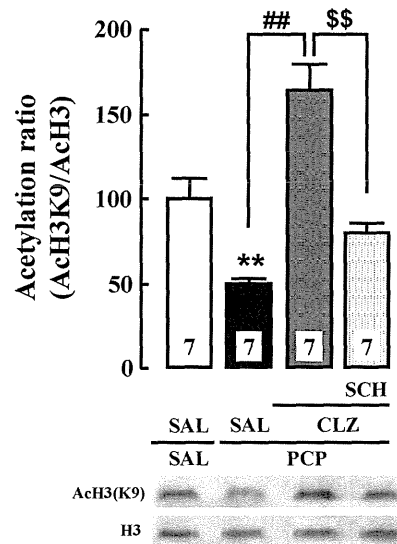


Fig. 22. Dopamine D1-receptor was involved in the ameliorating effect of clozapine on phencyclidine-induced decrease of acetylation level of histone H3 at lysine 9 residues in the prefrontal cortex. ** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. ## $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. \$\$ $p < 0.01$ vs phencyclidine/clozapine-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, CLZ: clozapine, SCH: SCH-23390.

3.6. フェンサイクリジン連続投与による行動障害に対するクロザピンおよびヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の緩解作用におけるドパミン D1 受容体の関与

PCP 連続投与による物体認知記憶および社会性行動障害に対する CLZ および SB の緩解作用におけるドパミン D1 受容体の役割を検討するため、SCH を CLZ または SB と併用投与し、新奇物体認識試験および社会性行動試験を行った。その結果、PCP 連続投与による物体認知記憶および社会性行動の障害に対する CLZ の緩解作用は SCH によりなくなったが、SB の緩解作用には影響を与えなかった (Fig. 23A, B)。

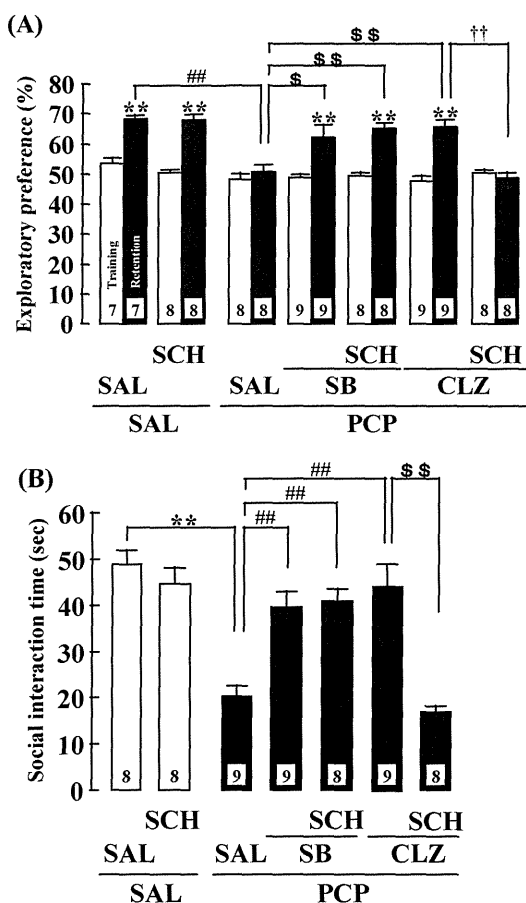
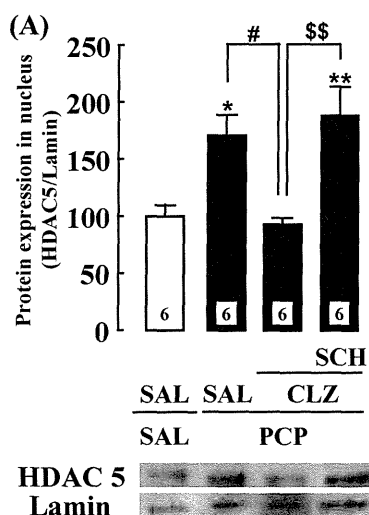


Fig. 23. Dopamine D1-receptor was involved in the ameliorating effect of clozapine but not sodium butyrate on the behavioral impairments induced by phencyclidine. Dopamine D1-receptor was involved in the ameliorating effect of clozapine but not sodium butyrate on object recognition memory impairment induced by phencyclidine in novel object recognition test (A). ** $p < 0.01$ vs training. ## $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. \$ $p < 0.05$, \$\$ $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. †† $p < 0.01$ vs phencyclidine/clozapine-treated mice. Dopamine D1-receptor was involved in the ameliorating effect of clozapine but not sodium butyrate on social deficit induced by phencyclidine in social interaction test (B). ** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. ## $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. \$\$ $p < 0.01$ vs phencyclidine/clozapine-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, SB: sodium butyrate, CLZ: clozapine, SCH: SCH-23390.

3.7. フェンサイクリジン連続投与による前頭前皮質におけるヒストン脱アセチル化酵素：HDAC5 の細胞内局在変化に対するクロザピンの効果とその機序

ヒストン脱アセチル化酵素の細胞内局在変化によりアセチル化ヒストンの量に変化する。そこで、ヒストン脱アセチル化酵素：HDAC5 の細胞内局在に対する PCP 連続投与の影響、およびそれに対するドパミン D1 受容体を介した CLZ の作用について検討するため、マウスの脳をサンプル化し、ウェスタンブロット法を用いて前頭前皮質の核内および細胞質内の HDAC5 量について評価した。PCP 連続投与により前頭前皮質の核内 HDAC5 の有意な増加が認められ (Fig. 24A)、細胞質内 HDAC5 の有意な減少が認められた (Fig. 24B)。PCP 連続投与による核内および細胞質内 HDAC5 の変化は CLZ の投与により緩解するが、その緩解作用は SCH の併用投与により拮抗された (Fig. 24A, B)。



(次ページ続く)

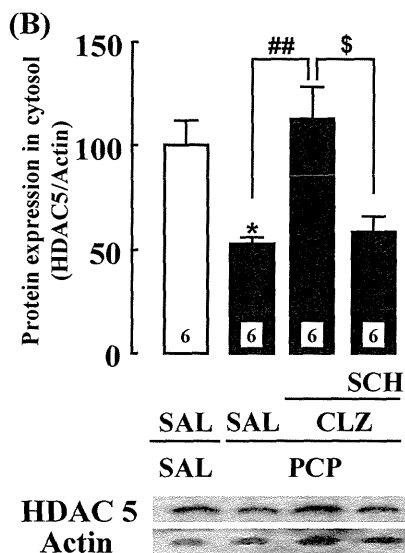


Fig. 24. Clozapine attenuated phencyclidine-induced change in intracellular localization of HDAC5 through dopamine D1-receptor.

Clozapine attenuated phencyclidine-induced increase of nuclear localization of HDAC5 through dopamine D1-receptor (A). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. # $p < 0.05$ vs phencyclidine/saline-treated mice. \$\$ $p < 0.01$ vs phencyclidine/clozapine-treated mice. Clozapine attenuated phencyclidine-induced decrease of cytoplasmic localization of HDAC5 through dopamine D1-receptor (B). * $p < 0.05$ vs saline/saline-treated mice. ## $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. \$ $p < 0.05$ vs phencyclidine/clozapine-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, CLZ: clozapine, SCH: SCH-23390.

3.8. フェンサイクリジン連続投与による前頭前皮質における核内リン酸化 CaMKIIの減少に対するクロザピンの効果とその機序

HDAC5 の細胞内局在は核内リン酸化 CaMKII により調節されている。そこで、核内のリン酸化 CaMKII に対する PCP 連続投与の影響、およびそれに対するドパミン D1 受容体を介した CLZ の作用について検討するため、マウスの脳をサンプル化し、ウェスタンブロット法を用いて前頭前皮質の核内リン酸化 CaMKII 量について評価した。PCP 連続投与により前頭前皮質の核内リン酸化 CaMKII が有意に減少した (Fig. 25A)。PCP 連続投与による核内リン酸化 CaMKII の減少は CLZ の投与により緩解されたが、

SCH の併用投与により拮抗された (Fig. 25A)。また、すべての群において核内総 CaMKII 発現量に差はなかった (Fig. 25B)。

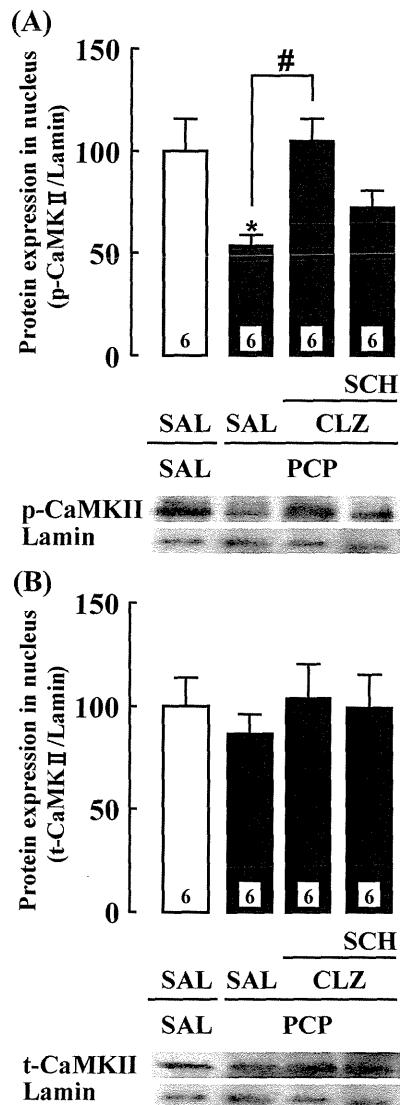


Fig. 25. Clozapine attenuated phencyclidine-induced decrease of phosphorylated but not total CaMKII level in nucleus.

Clozapine attenuated phencyclidine-induced decrease of phosphorylated CaMKII level in nucleus (A). * $p < 0.05$ vs saline/saline-treated mice. # $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. There was no difference in total CaMKII level in nucleus among all groups (B). Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. p-CaMKII: phosphorylated CaMKII, t-CaMKII: total CaMKII, SAL: saline, PCP: phencyclidine, CLZ: clozapine, SCH: SCH-23390.

3.9. フェンサイクリジン連続投与による前頭前皮質 GABA 作動性神経系関連遺伝子発現の減少に対するクロザピンの効果

ヒストンのアセチル化は転写活性に関与している。また、PCP 連続投与は前頭前皮質の GABA 作動性神経系の機能を低下させる。そこで、転写活性に対する PCP 連続投与の影響、およびそれに対する CLZ の作用について検討するため、定量的リアルタイム RT-PCR 法を用いて GABA 作動性神経系関連遺伝子 mRNA を定量した。PCP 連続投与により前頭前皮質における *Gad1*, *Gabra1* および *Pvalb* mRNA が有意に減少した。PCP 連続投与による *Pvalb* mRNA の減少は CLZ の投与により緩解したが、*Gad1* および *Gabra1* mRNA の減少は CLZ の投与では緩解しなかった。*Gabrb2* mRNA においては、PCP 連続投与による減少およびそれに対する CLZ による緩解の傾向があった (Fig. 26A-D)。

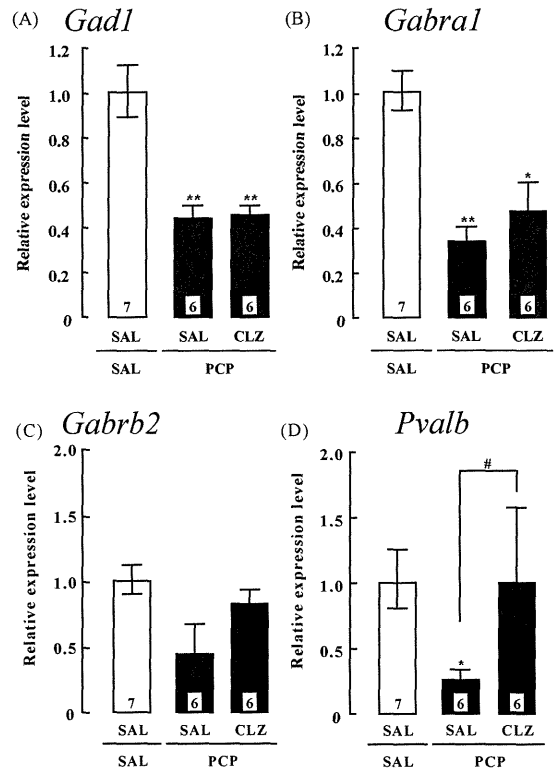


Fig. 26. Clozapine attenuated phencyclidine-induced decrease of Parvalbumin (*Pvalb*) but not Glutamic acid decarboxylase 1 (*Gad1*) or GABA A receptor subunit alpha 1 (*Gabra1*) mRNA level.

Clozapine did not attenuate phencyclidine-induced decrease of *Gad1* mRNA level (A). ** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. Clozapine did not attenuate phencyclidine-induced decrease of *Gabra1* mRNA level (B). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. There was no difference in *Gabrb2* mRNA level among all groups (C). Clozapine attenuated phencyclidine-induced decrease of *Pvalb* mRNA level (D). * $p < 0.05$ vs saline/saline-treated mice. # $p < 0.05$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, CLZ: clozapine, *Gabrb2*: GABA A receptor subunit beta 2

3.10. フェンサイクリジン連続投与による前頭前皮質 GABA 作動性神経系関連遺伝子発現の減少に対するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の効果

転写活性に対する PCP 連続投与の影響、およびそれに対する SB の作用について検討するため、マウスの脳をサンプル化し、定量的リアルタイム RT-PCR 法を用いて GABA 作動性神経系関連遺伝子 mRNA を定量した。PCP 連続投与により惹起された

Gabra1, *Gabrb2* および *Pvalb* mRNA の減少は SB の投与により緩解したが, PCP 連続投与による *Gad1* の減少は SB の投与では緩解しなかった (Fig. 27A-D).

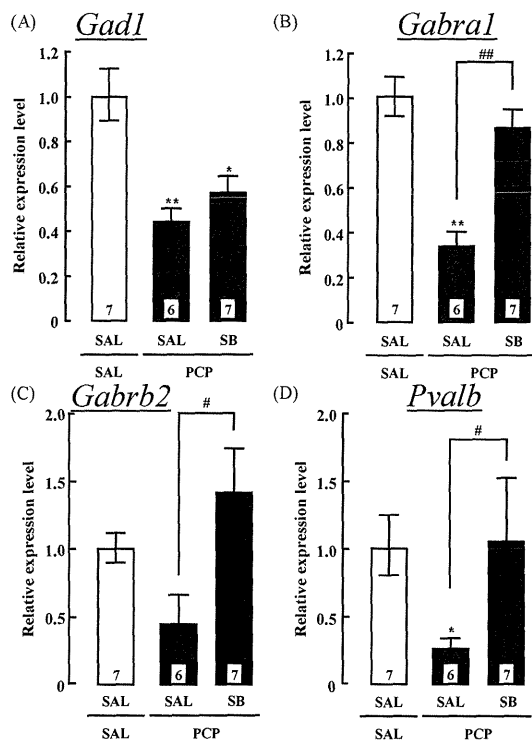


Fig. 27. Sodium butyrate attenuated phencyclidine-induced decrease of GABA A receptor subunit alpha 1 (*Gabra1*), GABA A receptor subunit beta 2 (*Gabrb2*) or Parvalbumin (*Pvalb*) but not Glutamic acid decarboxylase 1 (*Gad1*) mRNA level.

Sodium butyrate did not attenuate phencyclidine-induced decrease of *Gad1* mRNA level (A). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. Sodium butyrate attenuated phencyclidine-induced decrease of *Gabra1* mRNA level (B). ** $p < 0.01$ vs saline/saline-treated mice. ## $p < 0.01$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Sodium butyrate increased *Gabrb2* mRNA level (C). # $p < 0.05$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Sodium butyrate attenuated phencyclidine-induced decrease of *Pvalb* mRNA level (D). * $p < 0.05$ vs saline/saline-treated mice. # $p < 0.05$ vs phencyclidine/saline-treated mice. Values indicate the mean \pm s.e.m. The number of animals was indicated within the columns. SAL: saline, PCP: phencyclidine, SB: sodium butyrate

D. 考察

シクロスポリン A はシクロフィリン D の阻害によりモルヒネによる精神依存の形成を抑制したと考えられ, シクロフィリン D がモルヒネによる脳内報酬系である腹側被蓋

野を起始核として側坐核に投射するドパミン作動性神経系の活性化に関与している可能性が示唆された. シクロスポリン A はカルシニューリン阻害作用を介した免疫抑制作用があり, モルヒネの依存性軽減のためにシクロスポリン A を使用する場合に, 副作用の原因となる可能性が高い. 今後の臨床応用を目指した検討において, 免疫抑制作用のないシクロスポリン A 誘導体を用いることが必要となる.

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た. しかし, 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. 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ェネティック制御は, 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, 緩解作用に関与し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。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。

PCP 連続投与による行動障害は核内でリン酸化 CaMKII が減少し、HDAC5 の核内局在が増加するため、AcH3K9 が減少し、遺伝子発現が低下すること、および第二世代抗精神病薬である CLZ は PCP 連続投与によるこれら異常をドパミン D1 受容体依存的に緩解することが示唆された。また、SB の投与においても PCP 連続投与によるこれら異常を緩解した。以上の結果から、依存性薬物による精神障害の病態および抗精神病薬の効果にヒストン修飾変化が関与していることが示唆された。エピジェネティクスに関連したバイオマーカーを指標とした統合失調症の診断への応用が期待される。ま

た、抗精神病薬の作用機序にヒストン修飾変化に伴うタンパク発現の変化が重要であることが示唆されたことから、ヒストン修飾や DNA 修飾などのエピジェネティクスを直接的に制御するような薬剤を依存性薬物による精神障害の新規治療薬として開発することが期待される。

E. 結論

本研究で得られた結果が、依存性薬物による精神依存および精神障害に対する病態解明ならびに予防及び治療法の開発の確立につながることを期待したい。

[参考文献]

1. Nakagawa T, Shimizu S, Watanabe T, Yamaguchi O, Otsu K, Yamagata H, Inohara H, Kubo T, and Tsujimoto Y: Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. *Nature*. 434.652-658 (2005)
2. Gavin DP, Kartan S, Chase K, Grayson DR, and Sharma RP: Reduced baseline acetylated histone 3 levels, and a blunted response to HDAC inhibition in lymphocyte cultures from schizophrenia subjects. *Schizophr Res*. 103.330-332 (2008)
3. Fischer A, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, and Tsai LH: Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodelling. *Nature*. 447.178-182 (2007)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Noda Y, Wang D, Ando Y, Waki Y, Yamada S, Yoshimi A, Yamada K, Ozaki N, Mouri A, Nabeshima T. Galantamine ameliorates the impairment of recognition memory in mice repeatedly treated with methamphetamine: involvement of allosteric potentiation of nicotinic acetylcholine receptors and dopaminergic-ERK1/2 systems. *Int J Neuropsychopharmacol*, 13, 1343-1354 (2010).
2. Lu L, Mamiya T, Lu P, Toriumi K, Mouri A, Hiramatsu M, Kim HC, Zou LB, Nagai T, Nabeshima T. Prenatal exposure to phencyclidine produces abnormal behaviour and NMDA receptor expression in postpubertal mice. *Int J Neuropsychopharmacol*, 13, 877-889 (2010).
3. Niwa M, Kamiya A, Murai R, Kubo KI, Gruber AJ, Tomita K, Lu L, Tomisato S, Jaaro-Peled H, Seshadri S, Hiyama H, Huang B, Kohda K, Noda Y, O'Donnell P, Nakajima K, Sawa A, Nabeshima T. Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. *Neuron* 65, 480-489 (2010).
4. Lu P, Mamiya T, Lu L, Mouri A, Niwa M, Kim HC, Zou LB, Nagai T, Yamada K, Ikejima T, Nabeshima T. Silibinin attenuates cognitive deficits and decreases of dopamine and serotonin induced by repeated methamphetamine treatment. *Behav Brain Res.*207, 387-393 (2010) .
5. Prasanth S Ariyannur, John R Moffett, Pachiappan Manickam, Nagarajan Pattabiraman, Peethambaran Arun, Atsumi Nitta, Toshitaka Nabeshima, Chikkathur N Madhavarao, Aryan M Namboodiri. Methamphetamine-induced neuronal protein NAT8L is the NAA biosynthetic enzyme: implications for specialized acetyl coenzyme A metabolism in the CNS. *Brain Research*, 1335, 1-13 (2010)
6. Ikeda M, Tomita Y, Mouri A, Koga M, Okochi T, Yoshimura R, Yamanouchi Y, Kinoshita Y, Hashimoto R, Williams HJ, Takeda M, Nakamura J, Nabeshima T, Owen MJ, O'Donovan MC, Honda H, Arinami T, Ozaki N, Iwata N. Identification of Novel Candidate Genes for Treatment Response to Risperidone and Susceptibility for Schizophrenia: Integrated Analysis Among Pharmacogenomics, Mouse Expression, and Genetic Case-Control Association Approaches. *Biol Psychiatry*. 207, 235-243 (2010).
7. Mouri A, Noda Y, Shimizu S, Tsujimoto Y, Nabeshima T. The Role of Cyclophilin D in Learning and Memory. *Hippocampus*, 20, 293-304 (2010).
8. Shin EJ, Whang WK, Kim S, Bach JH, Kim JM, Nguyen XK, Nguyen TT, Jung BD, Yamada K, Nabeshima T, Kim HC. Parishin C. Attenuates Phencyclidine-Induced Schizophrenia-Like Psychosis in Mice:

- Involvements of 5-HT(1A) Receptor. *J Pharmacol Sci.* 113,404-408 (2010).
9. Mizoguchi H, Ibi D, Takuma K, Toth E, Sato J, Itohara S, Nabeshima T, Yamada K. Alterations of Emotional and Cognitive Behaviors in Matrix Metalloproteinase-2 and -9-Deficient Mice. *The Open Behavioral Science Journal*, 4, 19-25 (2010)
 10. Hagino Y, Kasai S, Han W, Yamamoto H, Nabeshima T, Mishina M, Ikeda K. Essential Role of NMDA Receptor Channel ϵ 4 Subunit (GluN2D) in the Effects of Phencyclidine, but Not Methamphetamine. *PLoS ONE*. 5, e13722 (7 pages) (2010).
 11. 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).
 12. 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).
 13. Niwa M, Matsumoto Y, Mouri A, Ozaki N, Nabeshima T. Vulnerability in early life to changes in the rearing environment plays a crucial role in the etiopathology of psychiatric disorders. *Int J Neuropsychopharmacol*, 14, 459-477 (2011).
 14. Yun J, Koike H, Ibi D, Toth E, Mizoguchi H, Nitta A, Yoneyama M, Ogita K, Yoneda Y, Nabeshima T, Nagai T, Yamada K. Chronic restraint stress impairs neurogenesis and hippocampus-dependent fear memory in mice: possible involvement of a brain-specific transcription factor Npas4. *J Neurochem.* 14,1840-1851 (2011).
 15. Iritani S, Sekiguchi H, Habuchi C, Torii Y, Yamada S, Waki Y, Noda Y, Furukawa H, Nabeshima T, Ozaki N. Immunohistochemical study of vesicle monoamine transporter 2 in the hippocampal formation of PCP-treated mice. *Neurosci Res.* 68,125-130 (2011).
 16. 安藤 雄, 野田幸裕, 毛利彰宏, 鍋島俊隆: 統合失調症モデル動物に認められる行動異常. *アニテックス*. 22, 20-22(2010)
 17. 野田幸裕, 毛利彰宏, 鍋島俊隆 第1編 行動薬理研究における実験技術 10 統合失調症動物モデルとその評価法 実験薬理学シリーズ 第1巻, 日本薬理学会編集, 金芳堂, 東京, pp.79-93(2010)
 18. 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)
 19. 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,