



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	統合失調症の病態進行過程におけるラモトリギンの影響に関する研究 : 精神刺激薬モデルの観点から
Author(s)	仲唐, 安哉
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第9850号
Issue Date	2011-03-24
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k9850
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/52979
Type	doctoral thesis
File Information	Nakato.pdf



学 位 論 文

統合失調症の病態進行過程における
ラモトリギンの影響に関する研究
-精神刺激薬モデルの観点から-

2 0 1 1 年 3 月

北 海 道 大 学

仲 唐 安 哉

目 次

発表論文目録および学会発表目録 . . .	1 頁
緒言	2 頁
略語表	9 頁
実験方法	10 頁
実験結果	16 頁
考察	25 頁
総括および結論	30 頁
謝辞	31 頁
引用文献	32 頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Yasuya Nakato, Tomohiro Abekawa, Koki Ito, Takeshi Inoue, Tsukasa Koyama
Lamotrigine blocks the initiation and expression of repeated high-dose methamphetamine-induced prepulse inhibition deficit in rats.
Neuroscience Letters, 481 • 183-187, (2010)
2. Yasuya Nakato, Tomohiro Abekawa, Koki Ito, Takeshi Inoue, Tsukasa Koyama
Lamotrigine blocks apoptosis induced by repeated administration of high-dose methamphetamine in the medial prefrontal cortex of rats.
Neuroscience Letters, (in press)

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. Yasuya Nakato, Tomohiro Abekawa, Koki Ito, Aya Kakuta, Tsukasa Koyama
Lamotrigine prevented neuroplastic disruption of prepulse inhibition induced by repeated administration of a high-dose of methamphetamine.
The Society for Neuroscience 38th Annual Meeting, 2008. 11. 15-19 • Washington, DC.
2. Yasuya Nakato, Tomohiro Abekawa, Koki Ito, Aya Kakuta, Tsukasa Koyama
Lamotrigine prevented apoptosis induced by repeated administration of a high-dose of methamphetamine.
The 1st Meeting of the Asian College of Neuropsychopharmacology, 2009. 11. 13-14 • Kyoto
3. 仲唐安哉、伊藤侯輝、安部川智浩、井上猛、小山司
メタンフェタミンの反復投与によって生じるMK-801に対する交差逆耐性形成へのラモトリギンの効果
第40回日本神経精神薬理学会, 2010. 9. 15-17 • 仙台

緒言

1. 統合失調症による社会的損失（統合失調症研究の重要性）

統合失調症の生涯発症率は約 1%であり、統合失調症は common disease といっても過言ではない。また、世界保健機構によると、全世界で 2400 万人が統合失調症に罹患していると推定されており (World Health Organization, 2010)、我が国では、統合失調症による社会的損失は国民総生産の約 2 %に相当する (平安, 2006)。統合失調症の効果的な治療法の開発は急務の課題であるが、現在もなお、その病態や原因は明らかになっていない。

2. 統合失調症の経過

統合失調症は思春期から 20 歳代にかけて好発する。統合失調症の発症時期は持続する精神病症状の出現時期とされている。しかし、最近では精神病症状出現以前に生じる進行性の症候学的小および脳の形態学的な病的変化が多数報告されており、この精神病症状出現前後数年間における病態進行が、統合失調症の経過を理解する上で重要であることがわかってきた。そのため顕在発症前の「初期統合失調症」(中安, 1990)、「警告期」(安部川ら, 2004)や at risk mental state を呈する時期 (McGorry et al., 2002) が注目され、同時期における病態進行を阻止する取り組みに関する報告がなされるようになった。この時期は、症候学的には、自生体験、気付き亢進、漠とした被注察感および緊迫困惑気分という症状と硬い表情や緊迫した余裕のない態度などの表出異常 (中安, 1990)、もしくは短期間の間歇的な精神病状態、微弱な陽性症状と社会的機能低下 (McGorry et al., 2002) で特徴づけられる。統合失調症と確定診断することはできないが、将来、顕在発症する可能性が極めて高く、この時期からの早期治療介入が必要と考えられている。精神病症状が出現してから治療開始までの期間が長いほど治療反応性が低下 (Lieberman et al., 1996) する上に、寛解到達時間の延長および寛解時の社会的機能の低下 (Barnes et al., 2008) が認められることも、この考えを支持する所見と言える。以上から、「警告期」もしくは at risk mental state から顕在発症後数年経過するまでの期間は critical period と捉えられ、この時期における病態進行阻止が予後を規定する (安部川ら, 2009)。この病態進行の背景に存在する脳の病態変化についてはまだよくわかっていないが、少なくともドパミン D₂ 型受容体遮断薬に対する治療反応性の低下、脳萎縮および認知機能障害が病態進行過程で最も顕著であることがわかってきている。

3. 統合失調症の治療反応性

抗精神病薬は統合失調症治療に欠かせない。現在市販されている全ての抗精神病薬はドパミンD₂型受容体遮断作用を有しており、それらの使用などで統合失調症患者の約半数は比較的安定した経過をたどる。よって、臨床的に問題となるのはドパミンD₂型受容体に非反応のいわゆる薬物治療抵抗性の場合である。この薬物治療抵抗性病態には次の2種類のタイプが存在する。一つは、発病初期からドパミンD₂型受容体遮断薬に反応しないタイプであり、もう一つは、発病初期にはドパミンD₂型受容体遮断薬に反応したが、再発や再燃を繰り返すことによりドパミンD₂型受容体遮断薬に反応しなくなるタイプである(Robinson et al., 1999)。前者のタイプの病態にはドパミンD₂型受容体の関与が少なく、後者の病態ではドパミンD₂型受容体の関わりが動的に変化していることが推測される。

フェンサイクリジンに代表される N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) 受容体拮抗薬は、統合失調症の陽性症状に類似した幻覚および妄想症状と意欲低下や無関心など陰性症状に類似した症状を引き起こし、それらはドパミンD₂型受容体遮断薬に反応しない(Javitt and Zukin, 1991)。そのため、治療抵抗性統合失調症の病態はNMDA受容体機能低下すなわちグルタミン酸系神経伝達異常であると推測されている。よって、NMDA受容体拮抗薬の単回使用は、前述した治療抵抗性統合失調症の前者のタイプを表現していると考えられ、その病態解明および治療薬の開発などにNMDA受容体拮抗薬や遺伝子変異を利用した動物モデルが使用されている(高雄ら, 2008)。

一方、ドパミンD₂型受容体遮断薬への反応性が変化していく後者の治療抵抗性統合失調症の病態を反映する動物モデルは存在しない。そこで、我々のグループは精神刺激薬であるメタンフェタミン (METH) を用いて、ドパミンD₂型受容体遮断薬に反応するドパミン放出亢進病態からドパミンD₂型受容体遮断薬に反応しないNMDA受容体機能低下病態へと進行していく新たな動物モデルを提案している(Abekawa et al., 2008; Abekawa et al., 2010; Ito et al., 2006a; 安部川ら, 2009)。METHなどの精神刺激薬を用いた統合失調症の動物モデルは統合失調症のドパミン伝達過剰仮説に基づいて構築されたモデルであり、一括して覚醒剤モデルと呼称される。ドパミン伝達過剰仮説は、抗精神病薬の主作用がドパミンD₂型受容体遮断である事実と覚醒剤乱用で生じる精神症状が統合失調症の幻覚や妄想などの陽性症状と非常に類似していることより導き出された。精神病症状発現時には中脳辺縁系でドパミン放出が亢進している(Laruelle et al., 2005)が、覚醒剤使用時にも同様の現象が脳内で生じていることが確認されている(Sekine et al., 2001)。この覚醒剤モデルと統合失調症の研究については後に詳述する。

4. 統合失調症と脳萎縮

統合失調症では精神病症状発症前に既に脳萎縮が存在し(Pantelis et al., 2003)、

発症前後にその脳萎縮は進行する (Kasai et al., 2003a)。横断的な画像研究では、統合失調症患者で皮質灰白質体積の減少と脳室容積の増加が認められており (Fornito et al., 2009)、縦断的な画像研究では、発症後早期に灰白質体積の減少が進行することが示されている (Kasperek et al., 2009)。また、死後脳研究では皮質神経網の減少が指摘されており、灰白質体積減少にはこれらの神経組織学的所見が関与していると考えられている (Lieberman et al., 2005)。同じく死後脳研究で、グリオシスが認められず、Bax/Bcl-2 比が高いことなどより脳萎縮へのアポトーシスの関与が示唆されている (Jarskog et al., 2005)。この脳萎縮の成立および進行性変化のメカニズムは不明であるが、進行性変化については、未治療期間の長さや脳萎縮の程度が相関することより、精神病症状出現時の脳内変化が神経細胞障害をもたらす可能性が考えられている (Malla et al., 2010)。

5. 統合失調症と認知機能障害および prepulse inhibition 障害

統合失調症では、幻覚や妄想などの陽性症状、無関心や意欲低下などの陰性症状の他に、記憶障害や情報処理能力低下などの認知機能障害が認められる。認知機能障害は統合失調症の中核的症状であり、社会機能のみでなく日常生活へ大きな影響を及ぼす (Stirling et al., 2003)。認知機能障害の一つである情報処理能力低下の基盤には原始的レベルの情報処理能障害が想定されており、その障害を測定する神経生理学的検査の一つに prepulse inhibition (PPI) 測定がある。PPI とは驚愕刺激の前に微弱な先行刺激を提示することで減弱する驚愕反応のことであり、PPI は情報処理の初期段階の機能を反映すると考えられている (Geyer et al., 2001)。統合失調症患者およびその健常近親者では PPI が障害されることが多く、遺伝的影響の関与が示唆され、統合失調症の中間表現型として注目されている (Swerdlow et al., 2008)。

6. 覚醒剤モデルの位置づけ

覚醒剤モデルはこれまで数十年にもわたって研究され、現在でも同モデルを用いた統合失調症治療薬スクリーニングなどの薬理学的研究が盛んに行われている (Miyamoto et al., 2005)。ヒトにおいて、METH の単回使用は、興奮、多幸感、過覚醒、常同行動などの急性症状を引き起こし、反復使用すると次第に音などの外界刺激に対する過敏性、幻覚や妄想が出現し、活力低下、感情鈍麻や無関心もみられるようになる (佐藤と松本, 1999)。また、注意集中困難、作業記憶障害や判断力の低下も出現する (Gonzalez et al., 2004)。覚醒剤使用によって幻覚妄想などの精神病症状が生じる病態は覚醒剤精神病と位置づけられ、これまで我が国を中心にその臨床的特徴が検討されてきた (佐藤ら, 1988)。我が国では覚醒剤中止後も 1 か月以上にわたって症状が持続するものを覚醒剤精神病の遷延・持続型と定義している (佐藤ら, 1988) が、

欧米では同様の病態は統合失調症と診断される (American Psychiatric Association, 2000)。これは、欧米では覚醒剤精神病を覚醒剤による直接的薬理作用による急性中毒と捉えているのに対して、我が国では、覚醒剤の長期反復使用による慢性中毒と捉えている見解の違いによる。いずれにせよ、統合失調症と覚醒剤精神病の症状はかのように類似しており、しばしばその鑑別が問題となる。また、覚醒剤は反復使用により多幸感や過覚醒に耐性が生じ、これらの反応を惹起する用量が徐々に増えていく一方で、幻覚や妄想などの精神病症状はより少量の覚醒剤使用や不眠、飲酒などの非特異的ストレスで生じるようになり、長期の休薬期間を設けても同様に精神病症状が惹起される。これは逆耐性（感作）現象として知られており、その発現には覚醒剤反復使用による脳内の不可逆的変化が関与していると推測される (Sato et al., 1992)。覚醒剤依存という観点からの研究では、中脳辺縁系および中脳皮質系のドーパミン作動性神経系が依存症状に関わっていることが明らかにされている (Cami and Farre, 2003)。覚醒剤による線条体および側坐核でのドーパミン放出増大 (Robinson et al., 1988)、逆耐性現象の発現がドーパミン D_2 型受容体遮断薬で阻止されること (Kuribara, 1995) や覚醒剤乱用者の線条体でのドーパミントランスポーター異常が指摘されていること (Sekine et al., 2001) などより、精神症状の逆耐性現象にもドーパミン神経系が関与していると考えられる (Sato et al., 1983)。一方、統合失調症では、特に critical period において、精神病エピソードを反復することによりストレス耐性の低下が生じ、容易に精神病症状が再発・再燃するようになる。また、再発を繰り返すごとに、難治になり人格水準の低下という後遺症を残す。このことより統合失調症の脳内では “endogenous sensitization” が形成されていると推測されている (Laruelle, 2000)。つまり、統合失調症での再発準備性形成および難治化への進行過程と覚醒剤精神病の形成過程は非常に類似しており、逆耐性現象は覚醒剤精神病にとどまらず統合失調症の病態進行・慢性化の病態をも説明しうる概念である。

7. 本研究での動物モデルについて

我々のグループが構築した動物モデルでは、METH 2.5 mg/kg 反復投与によって、統合失調症の病態進行と類似の行動および脳内変化が形成される。本モデルでは、NMDA 受容体遮断薬に対する感受性亢進、内側前頭前野 (mPFC) での terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 陽性細胞数の増加 (すなわちアポトーシスの亢進) と PPI 障害が引き起こされる (Abekawa et al., 2008)。本モデルでの重要な点は METH の投与量設定である。側坐核および mPFC において、METH 2.5 mg/kg 単回投与は細胞外グルタミン酸濃度上昇を生じるが、METH 1.0 mg/kg では同様の所見は認められないことが以前の検討で確認されている (Abekawa et al., 2008; Ito et al., 2006a)。METH は用量依存的に脳内の細胞外ドーパミン濃度を

上昇させるが、我々は METH 1.0 mg/kg と 2.5 mg/kg とでは細胞外ドパミン濃度上昇に差がみられることを確認しており、細胞外ドパミン濃度上昇の差が細胞外グルタミン酸濃度上昇に関与していると推測している (Abekawa et al., 2008; Ito et al., 2006a)。この METH 投与後遅発性に生じる細胞外グルタミン酸濃度上昇の有無により、前述した NMDA 受容体遮断薬に対する感受性亢進、TUNEL 染色陽性細胞数増加および PPI 障害の発現が規定される（これらの3現象は、グルタミン酸濃度を上昇させる 2.5 mg/kg では惹起されるが、1.0 mg/kg では惹起されない）。これらの動物モデルの実験結果と統合失調症の臨床的事象とを照らし合わせ、NMDA 受容体遮断薬に対する感受性亢進がドパミン D₂ 型受容体遮断薬抵抗性の病態、TUNEL 染色陽性細胞数増加が形態学的脳萎縮、PPI 障害が認知機能低下の基盤を表現していると考ええる。

我々のグループはこれまでに、抗てんかん薬および気分安定薬であるバルプロ酸 (Ito et al., 2006b)、第二世代抗精神病薬であるオランザピン、リスペドン (Abekawa et al., 2008) とアリピプラゾール (Abekawa et al., 2010) が、METH 2.5 mg/kg 投与による細胞外グルタミン酸濃度上昇を抑制し、METH 反復投与により生じる NMDA 受容体遮断薬に対する感受性亢進、TUNEL 染色陽性細胞数増加と PPI 障害の形成を阻止することを報告してきた。統合失調症治療において、バルプロ酸は抗精神病薬との併用で、オランザピン、リスペリドンおよびアリピプラゾールは単独使用で有用である。これらの知見より我々のグループでは、統合失調症の治療抵抗性への進行、認知機能障害の進行、脳萎縮の進行という3様態の阻止効果の有無という視点から、本動物モデルは統合失調症治療薬のスクリーニングに有用であると考えている。

8. ラモトリギンについて

ラモトリギン (LTG) は、本邦では 2008 年に発売された抗てんかん薬であるが、海外では 1991 年より使用されている。てんかんに対しては幅広い適応を持ち、副作用が少ないことが特徴である。LTG の主作用は神経細胞膜上にある電位依存性ナトリウムチャネルの不活性状態からの回復を遅延させることであり、その結果、神経細胞膜が安定化し、過剰なグルタミン酸遊離および神経細胞の興奮が抑制される (Wheless et al., 2007)。LTG はてんかんに伴う抑うつなどの精神症状に効果があることが報告されており (Smith et al., 1993)、双極性障害の治療薬としても使用されている (Calabrese et al., 1996; Yatham et al., 2009)。統合失調症に関しては、1999 年に Dursun らが治療抵抗性統合失調症患者に対する LTG と第二世代抗精神病薬であるクロザピンの併用療法の有用性を報告 (Dursun et al., 1999) して以降、治療抵抗性統合失調症治療に対する抗精神病薬と LTG との併用療法についての報告が相次ぎ、Tiihonen らのメタ解析により治療抵抗性統合失調症患者に対するクロザピンと LTG 併用療法の有用性は確立された (Tiihonen et al., 2009)。しかし、LTG 単剤の統合失調

症の精神病エピソードに対する効果に関する報告はない。

統合失調症治療は、精神病エピソードが治療標的である急性期治療と再発・再燃を防止する維持治療に大きく二分される。統合失調症治療の臨床研究は急性期治療に関する報告がほとんどであり、維持治療に関する研究は少ないが、精神病症状の再発・再燃の予防に関しては、急性期治療で効果のあった抗精神病薬の継続使用が推奨されている (Buchanan et al., 2010)。しかし、特に定型抗精神病薬の長期使用は不可逆性の錐体外路症状を誘発し、生活の質 (QOL) に多大な影響を与えるため、非定型抗精神病薬の導入や、これらの補助あるいは代替薬が必要である。LTG は抗精神病薬との併用で急性期治療に効果があることが示されており、てんかん患者における長期使用に伴う不可逆的な副作用はほとんどない (Richens, 1994)。本邦でのてんかん患者における長期使用の検討では、LTG は使用が長期になるとむしろ副作用の発現率は減少し、QOL は向上していたため、LTG は長期使用に適した薬剤であると考えられている (八木と村崎, 2009)。これらのことより、非定型抗精神病薬使用、非定型抗精神病薬と LTG の併用あるいは LTG への代用が統合失調症の維持治療に有効で、これまでの定型抗精神病薬継続治療に代わり得れば、遅発性の副作用が減り、統合失調症患者の QOL 向上に大きく寄与すると考えられる。しかし、これまで LTG による統合失調症の維持治療に関する研究は存在せず、今後の検討が必要な領域である。

9. 本研究について

これまでの知見より統合失調症の病態進行の背景にグルタミン酸神経系が関与していることが想定される。本研究では、METH 2.5 mg/kg 投与で惹起される細胞外グルタミン酸濃度上昇を抑制する薬剤は統合失調症の病態進行を抑制するという仮説を基に、グルタミン酸放出抑制効果を有する LTG の統合失調症治療への応用の可能性を探る目的で、我々の開発した病態進行動物モデル (Abekawa et al., 2008, 2010) を用いて LTG の効果を調べた。

METH 2.5 mg/kg 反復投与によって形成される十分な離脱期間を経た時点で確認される①NMDA 受容体遮断薬への感受性亢進、②PPI 障害と③mPFC における TUNEL 染色陽性細胞数の増加に対する LTG の阻止効果の有無を検証した。また、統合失調症の病態進行メカニズムと推測している METH 2.5mg/kg 投与後の細胞外グルタミン酸濃度上昇に対する LTG の抑制効果の有無を確認した。その結果、我々のグループの先行研究と同様に、LTG も METH 反復投与によって惹起される①NMDA 受容体遮断薬への感受性亢進、②PPI 障害の形成およびその発現と③mPFC における TUNEL 染色陽性細胞数の増加のいずれをも阻止した。また、LTG は mPFC で METH 投与後に生じる細胞外グルタミン酸濃度上昇を抑制し、LTG 自体は細胞外グルタミン酸濃度に影響を与えなかった。これらの結果より、LTG は細胞外グルタミン酸濃度上昇の抑制を介し、ドパミン D₂ 型受容体

遮断薬への抵抗性の進行、認知機能障害の進行と脳萎縮の進行を含む統合失調症の病態進行を抑制し得ると推測された。

略語表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである。

AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid
GABA	gamma-aminobutyric acid
LTG	lamotrigine
mPFC	medial prefrontal cortex
NMDA	N-methyl-D-aspartic acid
PPI	prepulse inhibition
TUNEL	terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling

実験方法

動物

全ての実験において、Sprague-Dawley 系雄性ラット (SLC, INC., Japan) を用いた。6:30-18:30 までを明期、18:30-6:30 までを暗期に設定し、一定の温度 (24 度) および湿度 (50 %) に保たれた室内でラットを飼育した。飼育ケージはプラスチック製で、その大きさは 30 cm x 25 cm x 18 cm であり、底にはおがくずが敷かれ、ステンレス製メッシュフタでふたをした。ラットは 1 匹ずつ飼育した。餌および水は自由に摂取できるようにした。実験および処置開始前に 3 日間ハンドリングを施行した。なお、実験動物の扱いおよび実験においては、北海道大学動物実験に関する規程を遵守して実施した。

薬剤

• METH

大日本住友製薬より購入した。生理食塩水に溶解し、ラットに投与する際には、1.0 ml/kg の用量に調整し、投与経路は皮下を用いた。

• LTG

GlaxoSmithKline から提供された。10 ml の蒸留水に 10 滴の塩酸 (0.1 規定) を加えて溶解し、ラットに投与する際には、4.0 ml/kg の用量に調整し、投与経路は腹腔内を用いた。

• Dizocilpine (MK-801)

Tocris Bioscience より購入した。蒸留水に溶解し、ラットに投与する際には、1.0 ml/kg の用量に調整し、投与経路は皮下を用いた。

実験装置

• SUPERMEX (自発運動量測定システム)

移所運動量測定には SUPERMEX (室町機械, 東京) を使用した。同装置では受動型赤外線センサーを用いて動物の水平方向の運動量の測定が可能である。データの集録は CompACT AMS プログラムによって自動的に行われるが、今回の実験では 10 分単位でラットの水平方向の運動量を測定した。

• SR-LAB ABS system (小動物用驚愕反応測定装置)

PPI 測定には SR-LAB ABS system (San Diego Instruments, California, U.S.A.) を使用した。同装置は、マイクロ増幅器を内蔵した密封型の高感度センサーにより、音刺激および無刺激時のラットの驚愕反応の測定が可能であり、音刺激条件設定と実

験結果の集録は同装置に付属している windows 用のソフトウェアを用いて行った。音刺激の設定については後述する。

実験 1 (METH 急性投与後の移所運動量測定)

一連の実験で使用する LTG の用量を決定する目的で、自発運動量測定システムである SUPERMEX を用いて、METH 投与後の LTG 投与による移所運動量の変化を測定した。体重 230 - 250 g のラットを METH+Vehicle 群 (n = 8)、METH+LTG(30)群 (n = 8)、METH+LTG(10)群 (n = 8) の 3 群に分けた。METH 2.5 mg/kg もしくは Saline 投与 120 分後に LTG 30 mg/kg、10 mg/kg もしくは Vehicle をそれぞれ投与した。移所運動量は METH もしくは Saline 投与後 210 分、すなわち LTG もしくは Vehicle 投与後 90 分まで測定した。

実験 2 (METH 反復投与後の移所運動量測定)

METH に対する感受性を測定する目的で、METH および LTG 反復投与後の METH 0.2 mg/kg 投与による移所運動量への影響を測定した。前処置開始時 6 週齢、体重 160 - 180 g の Sprague-Dawley ラットを Saline+Vehicle 群 (n=8)、METH+Vehicle 群 (n=8)、Saline+LTG 群 (n = 7)、METH+LTG 群 (n = 5) の 4 群に分けた。METH 2.5 mg/kg もしくは Saline をそれぞれのラットに皮下投与し、その 120 分後に LTG 30 mg/kg もしくは Vehicle を投与した。同処置を隔日で 5 回、連日で 5 回の計 10 回施行した。移所運動量測定前に 8 - 9 日間の休薬期間を設定した (図 1)。飼育部屋から実験施行部屋にラットを移動し、新しい飼育ケージにそれぞれのラットを 1 匹ずつ入れた。120 分の馴化期間後に、Saline を全てのラットに 1.0 ml/kg の用量で皮下投与した。Saline 投与 90 分後に METH 0.2 mg/kg を全てのラットに投与し、90 分間移所運動量を測定した。

次に、NMDA 受容体遮断薬に対する感受性を測定する目的で、METH、LTG 反復投与の MK-801 0.15 mg/kg 投与による移所運動量への影響を測定した。前処置開始時 6 週齢、体重 160 - 180g の Sprague-Dawley ラットを Saline+Vehicle 群 (n=8)、METH+Vehicle 群 (n = 8)、Saline+LTG 群 (n = 8)、METH+LTG 群 (n = 8) の 4 群に分けた。METH 2.5 mg/kg もしくは Saline をそれぞれのラットに皮下投与し、その 120 分後に LTG 30 mg/kg もしくは Vehicle を投与した。同処置を隔日で 5 回、連日で 5 回の計 10 回施行した (図 1)。移所運動量測定前に 30 - 31 日間の休薬期間を設定した。飼育部屋から実験施行部屋にラットを移動し、新しい飼育ケージにそれぞれのラットを 1 匹ずつ入れた。120 分の馴化期間後に、Saline を全てのラットに 1.0 ml/kg の用量で皮下投与した。Saline 投与 90 分後に MK-801 0.15 mg/kg を全てのラットに投与し、90 分間移所運動量を測定した。

実験 3 (脳内微小透析法を用いた細胞外グルタミン酸濃度測定)

METH 2.5 mg/kg急性投与後遅発性に生じる細胞外グルタミン酸濃度上昇に対する LTGの影響を検討する目的で行った。体重230-250gのラットをSaline+Vehicle群 (n = 4)、METH+Vehicle群 (n = 8)、Saline+LTG群 (n = 8)、METH+LTG群 (n = 7) の4群に分けた。Pentobarbital 30 mg/kgでラットに麻酔をかけた後に脳定位術を施行した。G-4 guide cannula (Eicom, Japan) をmPFCの表面 (Bregmaから前方3.0 mm, 左側方0.8 mm, 深さ1.8 mm) まで挿入し、透析プローブ (BDP-IV-03, Eicom, Japan) をguide cannulaを通してその先から組織内に更に3 mm挿入した。手術翌日に透析プローブを介してラットのmPFCに人工脳脊髄液を2 μ l/分で環流した。90分間環流した後、20分毎に環流液を回収した。その間、ラットはケージ内で自由に動き回れる状態においていた。環流開始150分後にラットにMETH 2.5 mg/kgもしくはSalineを皮下投与し、その120分後にLTG 30 mg/kgもしくはVehicleを腹腔内投与した。METH 2.5 mg/kg投与後260分間環流し、人工脳脊髄液を回収した (図2)。回収した人工脳脊髄液は液体クロマトグラフィーを用いて解析し、同液中のグルタミン酸濃度を測定した。

実験 4 (驚愕反応測定装置を用いた PPI 測定)

METH 2.5 mg/kg 反復投与による PPI 障害の形成過程と発現過程に対する LTG 30 mg/kg の影響を検討する目的で行った。SR-LAB システムを用いて音に対するラットの驚愕反応を測定した。65 デシベルの白色雑音を背景ノイズとし、その装置内に 10 分間ラットを置き、その後に 40 ミリ秒、120 デシベルの音刺激で驚愕刺激を 5 回行い装置内環境および驚愕刺激に馴化させた。驚愕刺激には 40 ミリ秒、120 デシベルの音刺激を、先行刺激には、それぞれ 20 ミリ秒の 0、68、71、77 デシベルの音刺激を用いた。刺激なし (no stimuli)、驚愕刺激のみ (120 デシベル)、4 種類の先行刺激 (0、68、71、77 デシベル) とその 100 ミリ秒後の驚愕刺激 (120 デシベル) の 6 種類のセッションを行い、それぞれのセッションの間隔は 10 - 20 秒とした。各セッションはランダムに装置内で生じるようプログラムし、全部で 45 セッションを各ラットに行った。驚愕刺激後 100 ミリ秒間のラットの反応を 1 ミリ秒毎に記録し、それぞれの刺激の間隔は 10 - 20 秒とした。先行刺激に対する反応は以下の計算式で計算し、その平均を各群で比較した。

計算式 : %PPI = 100 - (先行刺激ありの驚愕反応/驚愕刺激なしの驚愕反応) x 100。

1) METH 反復投与による PPI 障害の形成過程に対して LTG が及ぼす影響

前処置開始時 6 週齢、体重 160 - 180g の Sprague-Dawley ラットを Saline+Vehicle 群 (n = 11)、METH+Vehicle 群 (n = 11)、Saline+LTG 群 (n = 11)、METH+LTG 群 (n =

12) の4群に分けた。METH 2.5 mg/kg もしくは Saline をそれぞれのラットに皮下投与し、その120分後にLTG 30 mg/kg もしくは Vehicle を投与した。同処置を隔日で5回、連日で5回の計10回施行した。休薬期間を11 - 13日間おいた後、PPI を測定した (図1)。

2) METH 反復投与による PPI 障害の発現過程に対して LTG が及ぼす影響

前処置開始時6週齢、体重160 - 180g の Sprague-Dawley ラットを Saline 群、METH 群の2群に分けた。Saline または METH 2.5 mg/kg の皮下投与をそれぞれのラットに1日1回、隔日で5回、連日で5回の計10回施行した。休薬期間を11 - 13日間おいた後、Saline 前処置群および METH 前処置群にそれぞれ Vehicle もしくは LTG 30 mg/kg を急性投与し、その20分後に PPI を測定した。最終的にラットは Saline/Vehicle 群 (n = 13)、METH/Vehicle 群 (n = 14)、Saline/LTG 群 (n = 13)、METH/LTG 群 (n = 13) の4群に分けられた。

実験5 (TUNEL 染色を用いたアポトーシス陽性細胞数測定)

METH 2.5 mg/kg 反復投与で惹起される TUNEL 染色陽性細胞数の増加に対する LTG 30 mg/kg の影響を検討する目的で行った。

前処置開始時6週齢、体重160 - 180 g の Sprague-Dawley ラットを Saline+Vehicle 群 (n = 6)、METH+Vehicle 群 (n = 6)、Saline+LTG 群 (n = 6)、METH+LTG 群 (n = 6) の4群に分けた。METH 2.5 mg/kg もしくは Saline をそれぞれのラットに皮下投与し、その120分後にLTG 30 mg/kg もしくは Vehicle を投与した。連日21回の反復処置後、休薬期間を7日間設けた。ラットは過量の pentobarbital (0.5 - 0.8 ml) を投与した後、経心臓的にリン酸緩衝液 (PBS, 0.1 M phosphate containing 0.9 % sodium chloride; pH 7.4) を脳に環流させ、4 %パラホルムアルデヒド(in 0.1 M PBS)で固定した。固定した脳を取り出し、4 %パラホルムアルデヒド液中に4度で一晩浸した後、30 %蔗糖液中に4度で保存した。凍結ミクロトームで mPFC を含む 30 μ m の連続冠状切片を作製し、TUNEL 染色を行った。それぞれの標本切片を PBS で1回洗浄し、ブロッキング溶液 (メタノール中 0.3 % H_2O_2) で30分間インキュベートした。PBS で1回洗浄した後、浸透化溶液 (0.1 %クエン酸ナトリウム中 0.1 %, TrionX-100) 中で、氷上 (4度) で2分間インキュベートし、PBS で2回洗浄した。固定、浸透化細胞を、DNase Iで10分間インキュベートした後にPBSで1回洗浄し、陽性コントロールを作成した。標本切片に TUNEL 反応液 50 μ l を均一に振りかけ、37度で60分間インキュベートした。この際に、TUNEL 反応液の代わりに 50 μ l の標識溶液でインキュベートした標本切片を陰性コントロールとした。PBS で3回洗浄した後に 50 μ l のコンバーターPOD 溶液を標本切片に均一に振りかけ、37度で30分間インキュベートし、PBS で3回洗浄

後に 50 μ l の DAB 溶質液を加えて、5 分間インキュベートした。PBS で 3 回洗浄後に 70 %エタノールに 2 分間、100 %エタノールに 2 分間、キシレンに 1 分間浸した後にガラスカバー下にマウントし、光学顕微鏡下で観察した。各切片標本は検鏡する前にコード化して盲検化および無作為化を行った。Paxinos and Watson (1997) の解剖図に従い、Bregma から前方に 2.9 – 3.2 mm に位置する mPFC を検鏡した。左右の mPFC 部位をそれぞれ格子で 500 $\times$ 500 μ m² の 6 つのフィールドに分割し、TUNEL 染色陽性細胞数を顕微鏡接眼レンズを用いて計測した (図 3)。計測した細胞数は 1 平方ミリメートルあたりの細胞数で表した。

統計

METH 急性投与および反復投与後の移所運動量測定結果の比較には、投与薬剤と時間を独立因子として、2 元配置反復測定分散分析を用い、その結果が有意であった場合、個々の有意差は Bonferroni の多重比較検定を用いて調べた。細胞外グルタミン酸濃度の測定結果の比較には、投与薬剤 (METH もしくは Saline、LTG もしくは Vehicle) と時間を独立因子として、3 元配置反復測定分散分析を用い、その結果が有意であった場合、個々の有意差は Bonferroni の多重比較検定を用いて調べた。PPI 測定結果の比較には、投与薬剤 (METH もしくは Saline、LTG もしくは Vehicle) と先行刺激 (68 デシベル、71 デシベル、77 デシベル) を独立因子として 3 元配置反復測定分散分析を用い、その結果が有意であった場合、個々の有意差は Bonferroni の多重比較検定を用いて調べた。TUNEL 染色陽性細胞数測定結果の比較には、投与薬剤 (METH もしくは Saline、LTG もしくは Vehicle) を独立因子として 2 元配置分散分析を用い、その結果が有意であった場合、個々の有意差は Bonferroni の多重比較検定を用いて調べた。

図 1. 移所運動量測定および PPI 測定前処置スケジュール

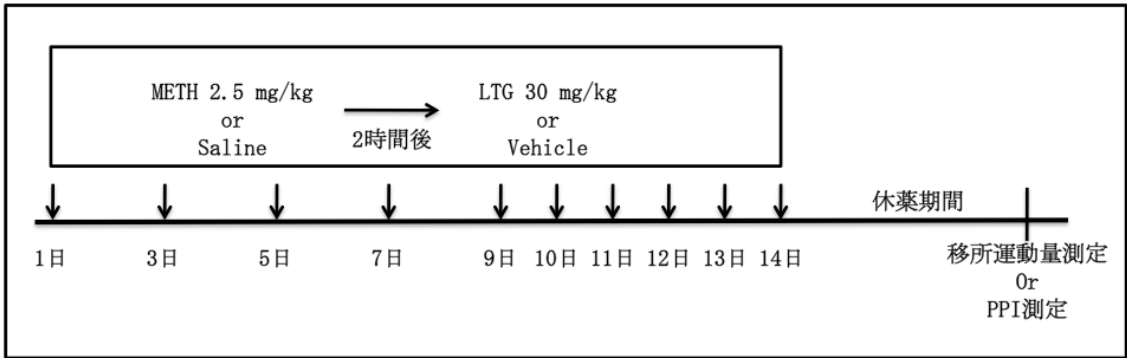


図 2. 脳内微小透析実施スケジュール

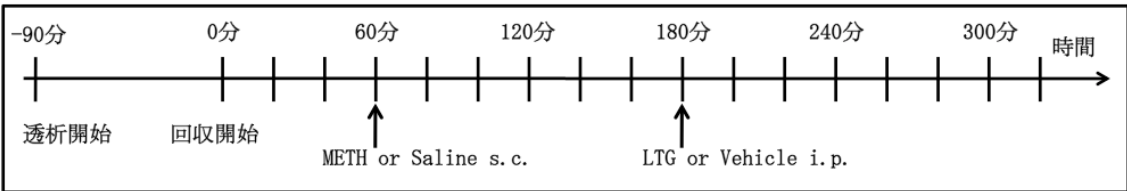
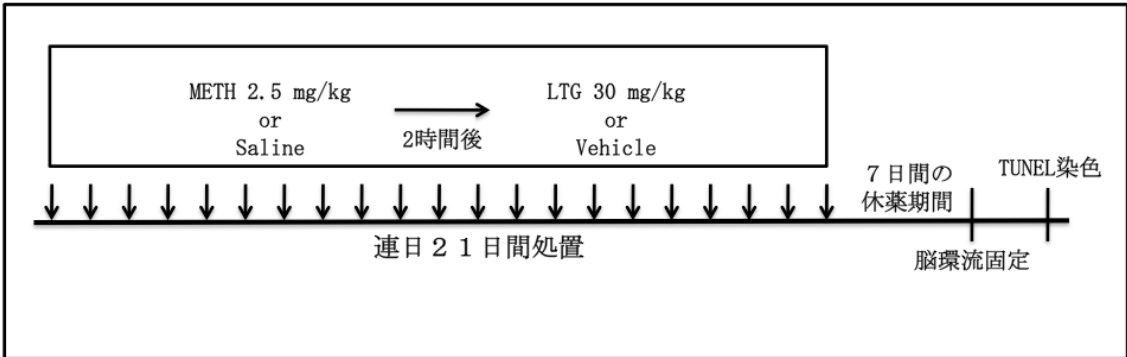


図 3. TUNEL 染色前処置スケジュール



実験結果

実験 1 METH 急性投与後の移所運動量測定

METH 2.5 mg/kg 投与 120 分後の LTG 10 mg/kg および 30 mg/kg 投与は移所運動量に影響を与えなかった (図 4)。この結果より、一連の実験において使用する LTG の投与量は 30 mg/kg に設定した。なお、LTG 10 mg/kg および 30 mg/kg の単独投与も移所運動量に影響を与えなかった (データは示していない)。

実験 2 METH 反復投与後の移所運動量測定

METH 2.5 mg/kg 反復投与処置は、METH 0.2 mg/kg 投与による移所運動量の増加を増強した。LTG 30 mg/kg 反復併用投与は、この METH 0.2 mg/kg 投与による移所運動量の増加の増強を抑制しなかったが、METH 0.2 mg/kg 投与 40 分後では METH+Vehicle 群に比べてむしろ増強した。LTG 30 mg/kg 反復単独投与は対照群 (Saline+Vehicle 群) と比較して METH 0.2 mg/kg による移所運動量に影響を与えなかった (図 5)。

METH 2.5 mg/kg 反復投与処置は、MK-801 0.15 mg/kg 投与による移所運動量の増加を増強した。LTG 30 mg/kg 反復併用投与は、この MK-801 0.15 mg/kg 投与による移所運動量の増加の増強を阻止した。LTG 30 mg/kg 反復単独投与は対照群 (Saline+Vehicle 群) と比較して MK-801 0.15 mg/kg 投与による移所運動量に変化を生じさせなかった (図 6)。

実験 3 脳内微小透析法を用いた細胞外グルタミン酸濃度測定

METH 2.5 mg/kg 投与は mPFC において遅発性の細胞外グルタミン酸濃度上昇を惹起した。METH 2.5 mg/kg 投与 120 分後の LTG 30 mg/kg 投与は、同部位での METH 2.5 mg/kg 投与による遅発性の細胞外グルタミン酸濃度上昇を抑制した。LTG 30 mg/kg 単独投与は対照群 (Saline+Vehicle 群) と比較して細胞外グルタミン酸濃度に変化を生じさせなかった (図 7)。

実験 4 驚愕反応測定装置を用いた PPI 測定

1) PPI 障害の形成過程

METH 2.5 mg/kg 反復投与処置は、反復処置離脱時点で、68 デシベルの先行刺激セッションにおいて PPI 障害を惹起した。LTG 30 mg/kg 反復併用投与は、68 デシベルの先行刺激セッションにおける METH 2.5 mg/kg 反復投与による PPI 障害の形成を阻止した。LTG 30 mg/kg 反復単独投与は対照群 (Saline+Vehicle 群) と比較して PPI 障害の形成に影響を与えなかった (図 8 上)。

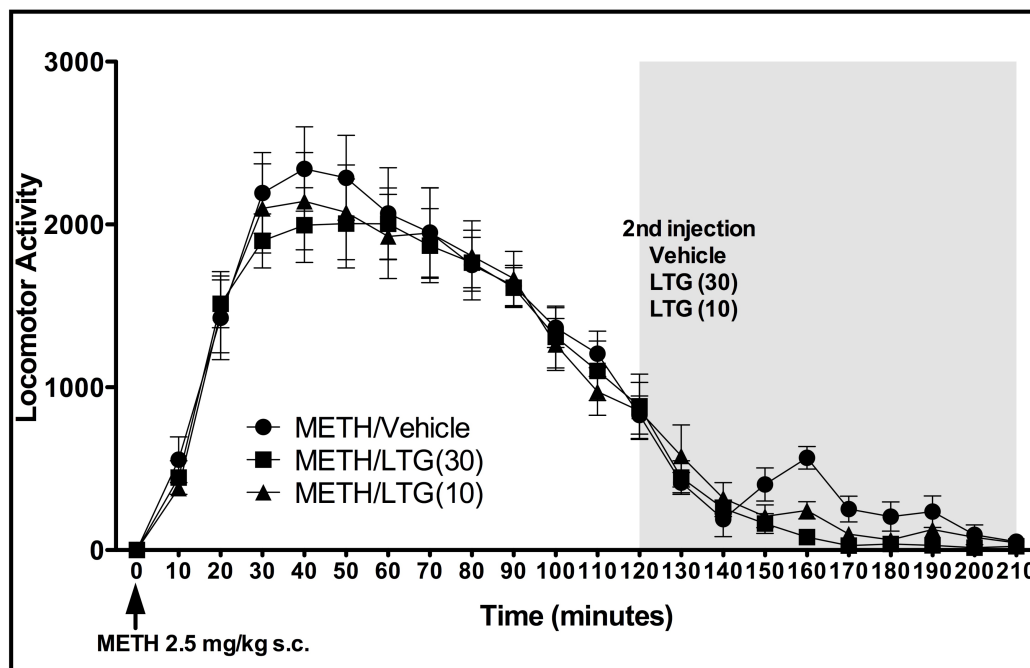
2) PPI 障害の発現過程

METH 2.5 mg/kg 反復投与処置ラットにおいて、反復処置離脱後の LTG 30 mg/kg の単回投与は、PPI 障害の発現を抑制した。LTG 30 mg/kg 単回投与は対照群 (Saline+Vehicle 群) と比較して PPI 障害の発現に影響を与えなかった (図 9 上)。

実験 5 TUNEL 染色を用いたアポトーシスの測定

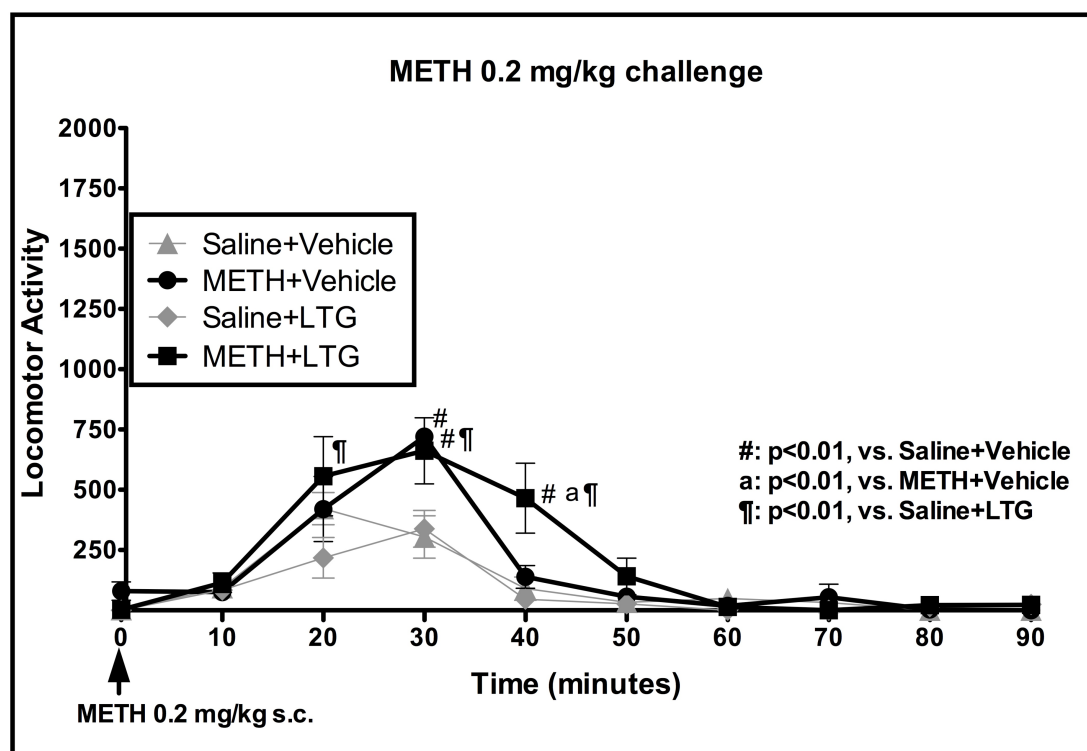
METH 2.5 mg/kg 反復投与処置は、ラットの mPFC において TUNEL 染色陽性細胞数を増加させた。LTG 30 mg/kg 反復併用投与は mPFC における METH 2.5 mg/kg 反復投与による TUNEL 染色陽性細胞数の増加を阻止した。LTG 30 mg/kg 反復単独投与は対照群 (Saline+Vehicle 群) と比較して TUNEL 染色陽性細胞数を変化させなかった (図 10)。

図 4. METH 2.5 mg/kg 急性投与による移所運動量の経時的変化



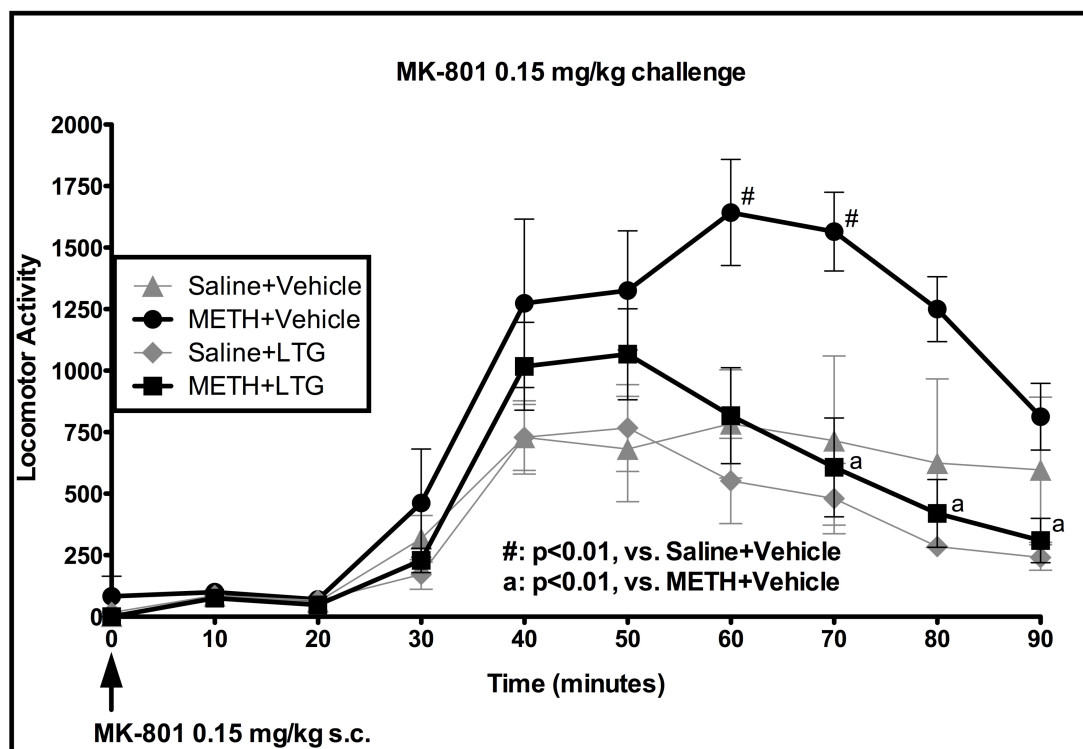
METH/Vehicle 群 ($n = 8$)、METH/LTG(30)群 ($n = 8$)、METH/LTG(10)群 ($n = 8$) の 3 群間で比較した。METH 投与開始から投与 210 分後までの移所運動量の変化および METH 投与 120 分後 (2nd injection 時) から 210 分後までの移所運動量の変化における 2 元配置反復測定分散分析の結果では、いずれも時間の有意な主効果が示された ($[F(21, 441) = 110.96, p < 0.01]$ および $[F(9, 189) = 30.32, p < 0.01]$) が薬剤の主効果は有意ではなく ($[F(2, 21) = 0.39, p > 0.05]$ および $[F(2, 21) = 2.05, p > 0.05]$)、薬剤と時間との間の交互作用も有意ではなかった ($[F(42, 441) = 0.41, p > 0.05]$ および $[F(18, 189) = 1.52, p > 0.05]$)。

図5. METH 2.5 mg/kg と LTG 30 mg/kg の反復併用投与終了8 - 9 日後の METH 0.2 mg/kg による移所運動量の経時的変化



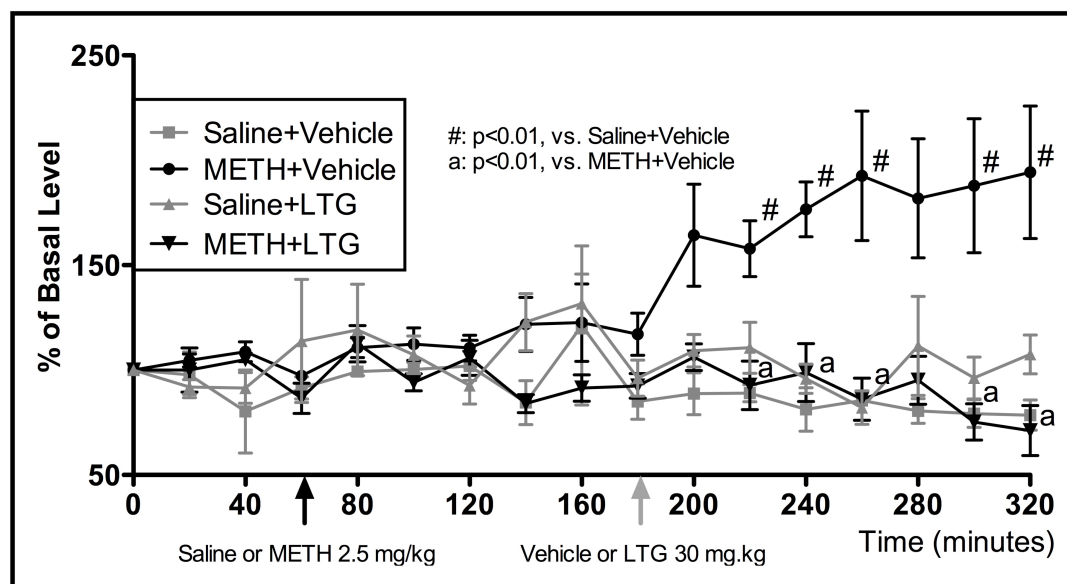
Saline+Vehicle 群 (n=8)、METH+Vehicle 群 (n=8)、Saline+LTG 群 (n=7)、METH+LTG 群 (n=5) の4群間で比較した。2元配置反復測定分散分析の結果では、薬剤 [$F(3, 23) = 3.95$, $p < 0.05$] および時間による有意な主効果が示され [$F(9, 207) = 54.03$, $p < 0.01$]、薬剤と時間との交互作用も有意であった [$F(27, 207) = 3.49$, $p < 0.01$]。事後検定(Bonferroniの多重比較検定)では、投与20分後のMETH+LTG群とSaline+LTG群 ($p < 0.01$)、投与30分後のMETH+Vehicle群 ($p < 0.01$) およびMETH+LTG群 ($p < 0.01$) とSaline+Vehicle群、METH+LTG群とSaline+LTG群 ($p < 0.01$)、投与開始40分後のMETH+LTG群とSaline+Vehicle群 ($p < 0.01$)、METH+Vehicle群 ($p < 0.01$) およびSaline+LTG群 ($p < 0.01$) との間で有意差を認めた。

図 6. METH 2.5 mg/kg と LTG 30 mg/kg の反復併用投与終了 30 - 31 日後の MK-801 0.2 mg/kg による移所運動量の経時的変化



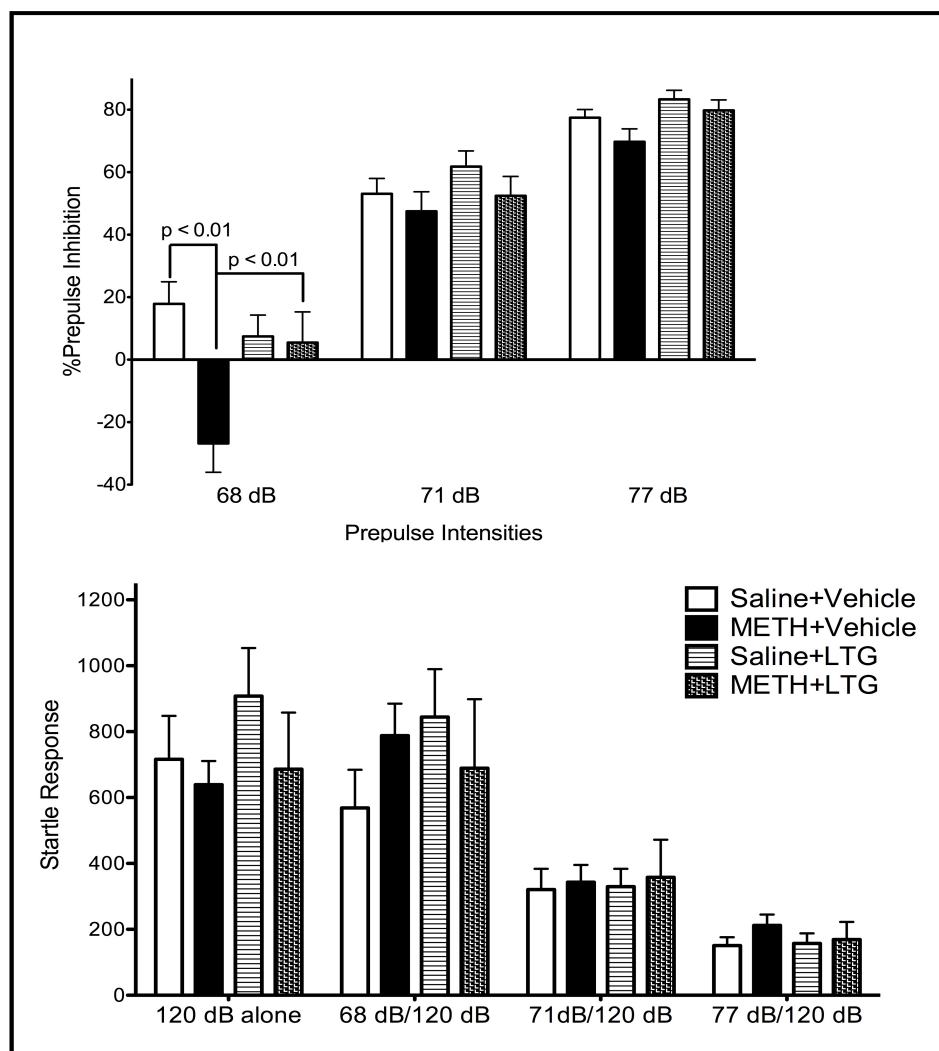
Saline+Vehicle 群 (n=8)、METH+Vehicle 群 (n=8)、Saline+LTG 群 (n=8)、METH+LTG 群 (n=8) の 4 群間で比較した。2 元配置反復測定分散分析の結果では、薬剤 [F(3, 28) = 4.55, $p < 0.05$] および時間 [F(9, 252) = 35.24, $p < 0.01$] による有意な主効果が示され、薬剤と時間との交互作用も有意であった [F(27, 252) = 2.47, $p < 0.01$]。事後検定 (Bonferroni の多重比較検定) では、MK-801 投与開始 60 分後と 70 分後の METH+Vehicle 群と Saline+Vehicle 群 ($p < 0.01$) の間で、投与開始 70 分後、80 分後および 90 分後の METH+LTG 群と METH+Vehicle 群 (いずれも $p < 0.01$) の間で有意差を認めた。

図 7. METH 2.5 mg/kg 投与による細胞外グルタミン酸濃度上昇に対する LTG 30 mg/kg 投与の影響



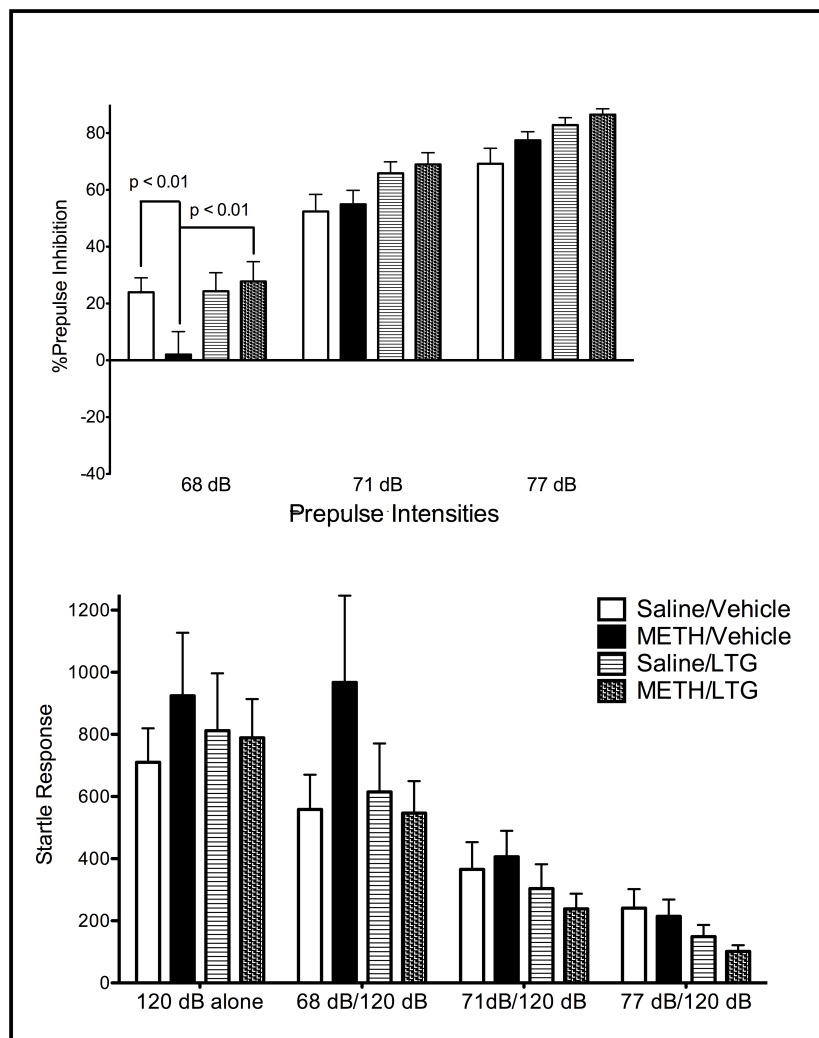
Saline+Vehicle 群 (n=4)、METH+Vehicle 群 (n=8)、Saline+LTG 群 (n=8)、METH+LTG 群 (n=7) の 4 群間で比較した。3 元配置反復測定分散分析の結果では、METH 2.5 mg/kg による有意な主効果 [$F(1, 23) = 6.91$, $p < 0.05$] と LTG 30 mg/kg による有意な主効果 [$F(1, 23) = 4.82$, $p < 0.05$] が示された。METH 2.5 mg/kg と LTG 30 mg/kg との交互作用 [$F(1, 23) = 17.24$, $p < 0.01$]、METH 2.5 mg/kg と時間との交互作用 [$F(16, 368) = 2.66$, $p < 0.05$] および METH 2.5 mg/kg と LTG 30 mg/kg と時間との交互作用 [$F(16, 368) = 3.17$, $p < 0.05$] も有意であった。事後検定 (Bonferroni の多重比較検定) では、METH 2.5 mg/kg 急性投与後 220 分、240 分、260 分、300 分および 320 分で、METH+Vehicle 群と Saline+Vehicle 群 ($p < 0.01$) および METH+LTG 群と METH+Vehicle 群 ($p < 0.01$) の間で有意差を認めた。

図 8. METH 2.5 mg/kg 反復投与による PPI 障害の形成過程に対する LTG 30 mg/kg 反復併用投与の影響



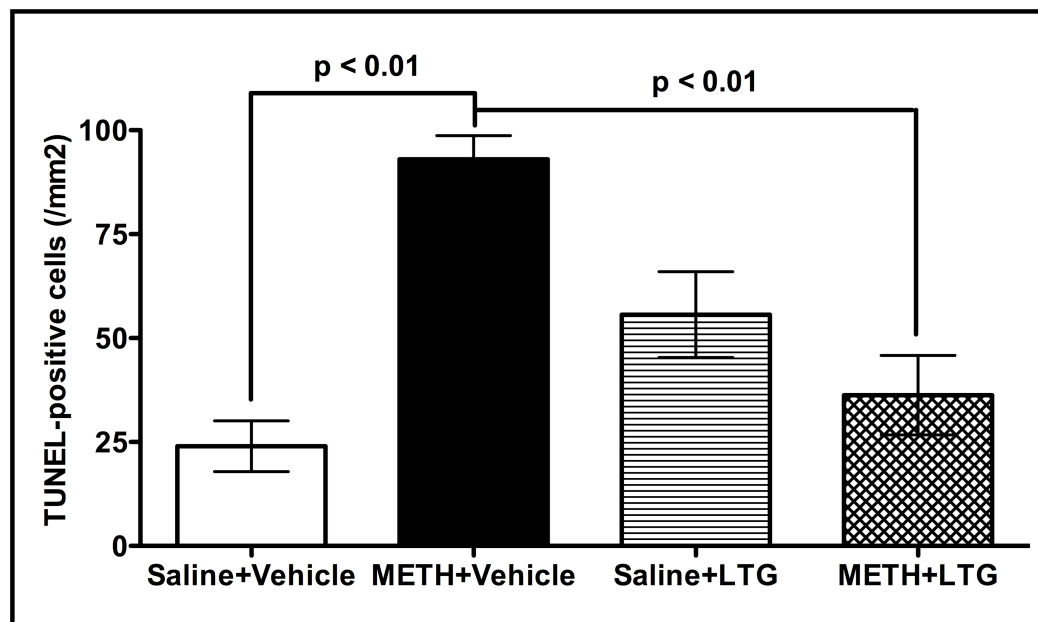
Saline+Vehicle 群 (n = 11)、METH+Vehicle 群 (n = 11)、Saline+LTG 群 (n = 11)、METH+LTG 群 (n = 12) の 4 群間で比較した。驚愕反応 (図下) における 3 元配置反復測定分散分析の結果では、先行刺激による有意な主効果が示されたが、METH 2.5 mg/kg、LTG 30 mg/kg による主効果および 3 要因による交互作用は有意ではなかった。PPI (図上) における 3 元配置反復測定分散分析の結果では、METH 2.5 mg/kg [$F(1, 41) = 6.77$, $p < 0.05$] と先行刺激 [$F(2, 82) = 250.16$, $p < 0.01$] の有意な主効果が示された。METH 2.5 mg/kg と先行刺激 [$F(2, 82) = 3.84$, $p < 0.05$]、METH 2.5 mg/kg と LTG 30 mg/kg と先行刺激 [$F(2, 82) = 6.37$, $p < 0.05$] との交互作用も有意であった。事後検定 (Bonferroni の多重比較検定) では、先行刺激 68 デシベルで、METH+Vehicle 群と Saline+Vehicle 群 ($p < 0.01$) および METH+LTG 群と METH+Vehicle 群 ($p < 0.01$) の間に有意差を認めた。

図9. METH 2.5 mg/kg 反復投与による PPI 障害の発現過程に対する LTG 30 mg/kg 投与の影響



Saline/Vehicle 群 (n = 13)、METH/Vehicle 群 (n = 14)、Saline/LTG 群 (n = 13)、METH/LTG 群 (n = 13) の4群間で比較した。驚愕反応 (図下) における3元配置反復測定分散分析の結果では、先行刺激による有意な主効果が示されたが、METH 2.5 mg/kg、LTG 30 mg/kg による主効果および3要因による交互作用は有意ではなかった。PPI (図上) における3元配置反復測定分散分析の結果では、LTG 30 mg/kg による有意な主効果 [$F(1, 49) = 9.49, p < 0.01$] および先行刺激による有意な主効果 [$F(2, 98) = 238.53, p < 0.01$] が示された。METH 2.5 mg/kg と先行刺激 [$F(2, 98) = 4.18, p < 0.05$] およびMETH 2.5 mg/kg と LTG 30 mg/kg と先行刺激 [$F(2, 98) = 4.23, p < 0.05$] との交互作用も有意であった。事後検定 (Bonferroni の多重比較検定) では、先行刺激 68 デシベルで、METH+Vehicle 群と Saline+Vehicle 群 ($p < 0.01$) および METH+LTG 群と METH+Vehicle 群 ($p < 0.01$) の間に有意差を認めた。

図 10. METH 2.5 mg/kg 反復投与による mPFC での TUNEL 染色陽性細胞数の増加に対する LTG 30 mg/kg 反復併用投与の影響



Saline+Vehicle 群 (n=6)、METH+Vehicle 群 (n=6)、Saline+LTG 群 (n=6)、METH+LTG 群 (n=6) の 4 群間で比較した。2 元配置反復測定分散分析の結果では、METH 2.5 mg/kg による有意な主効果が示された [$F(1, 20) = 9.23$, $p < 0.01$]。METH 2.5 mg/kg と LTG 30 mg/kg との交互作用も有意であった [$F(1, 20) = 29.24$, $p < 0.01$]。事後検定 (Bonferroni の多重比較検定) では、METH+Vehicle 群と Saline+Vehicle 群の間 ($p < 0.01$)、および METH+LTG 群と METH+Vehicle 群 ($p < 0.01$) の間に有意差を認めた。

考 察

本研究では、mPFC での細胞外グルタミン酸濃度を増加させうる量である METH 2.5 mg/kg の反復投与は、MK-801 に対する感受性の増加、PPI 障害ならびに mPFC における TUNEL 染色陽性細胞数の増加の 3 現象を惹起した。LTG 30 mg/kg の反復併用投与はこれら METH 2.5 mg/kg 反復投与によって生じた行動異常ならびに神経組織学的異常の形成を阻止した。また、METH 2.5 mg/kg 反復投与によって生じた PPI 障害の発現を LTG 30 mg/kg は回復した。脳内微小透析実験では、METH 2.5 mg/kg は mPFC において遅発性の細胞外グルタミン酸濃度上昇を惹起したが、LTG 30 mg/kg 併用投与はこれを抑制した。これらの結果は、LTG が細胞外グルタミン酸濃度上昇の抑制を介して、統合失調症の病態進行の基盤現象を阻止する可能性を示している。

1. METH 急性投与後の移所運動量に対する影響

LTG 30 mg/kg と LTG 10 mg/kg は、METH 2.5 mg/kg 投与 120 分後に投与しても単独で投与しても移所運動量に影響を与えなかった。METH 急性投与による移所運動量増加は、常同行動が出現しない程度の METH 投与量であれば、METH 投与 30 分後あたりがピークとなり、その後は徐々に減少していく。LTG の前投与は D-amphetamine による移所運動量増加を抑制することが報告されている (Arban et al., 2005) が、本研究では、METH 投与による移所運動量増加がほぼ終了した METH 投与 120 分後に LTG を投与している。同時期には METH による移所運動量への影響はほとんど認めず、LTG は METH 誘発性の移所運動量に影響を与えなかったと考えられる。

2. METH 反復投与により惹起される少量の METH あるいは MK-801 チャレンジ投与時の移所運動量増強に対する LTG 反復併用投与の影響

LTG 30 mg/kg 反復併用投与は METH 2.5 mg/kg 反復投与処置後、十分な離脱後の時点での METH 0.2 mg/kg による移所運動量増加の増強の形成は阻止しなかったが、MK-801 0.15 mg/kg に対する移所運動量増加の増強の形成は阻止した。生理食塩水と LTG 30 mg/kg の反復投与は METH 0.2 mg/kg および MK-801 0.15 mg/kg に対する移所運動量に変化を生じさせなかった。

METH の反復投与は、ドパミン神経終末からのドパミン放出増加を介して、行動感作を引き起こす (Ujike et al., 1989)。METH が誘発する行動異常はドパミン D_2 型受容体遮断薬反応性の統合失調症モデルとされている (Sato et al., 1983) が、この行動異常発現は側坐核でのドパミン神経伝達の増強と関連しており (Pierce and Kalivas, 1997)、ドパミン D_2 型受容体遮断薬によってこの行動異常は抑制される。一方、NMDA

受容体遮断薬であるフェンサイクリジンや MK-801 によって生じる行動異常も統合失調症のモデルとされるが、この行動異常はドパミン D₂ 型受容体遮断薬では抑制されない(Bakshi et al., 1994; Corbett, 1995)。

METH の反復投与は METH だけでなく NMDA 受容体遮断薬に対しても行動感作を引き起こしたが、このことは METH 反復投与によって NMDA 受容体機能に変化が生じている可能性を示している。以前に、Xue らは 5.0 mg/kg の amphetamine が側坐核において遅発性にグルタミン酸濃度の上昇を生じることを報告した(Xue et al., 1996)が、我々のグループも側坐核と mPFC において、METH 2.5 mg/kg が遅発性にグルタミン酸濃度の上昇を生じることを確認している(Ito et al., 2006a; Abekawa et al., 2008, 2010)。METH の反復投与は、海馬で NMDA 受容体のサブユニットである NR1 の mRNA の発現を減少させる(Simoes et al., 2007)。また、線条体では NMDA 受容体のサブユニットである NR1 および NR2 の免疫活性を低下させ、NMDA 受容体刺激によるドパミン放出を減少させる(Yamamoto et al., 1999)。一方、持続的な NMDA 受容体刺激は同受容体の脱感作を引き起こす(Nahum-Levy et al., 2001; Krupp et al., 2002)。これらのことより、METH の反復投与による NMDA 受容体遮断薬への行動感作形成には、グルタミン酸による反復的な NMDA 受容体刺激が NMDA 受容体の脱感作および機能低下を引き起こすことが関与していると推測される。しかし、本研究では、METH 反復投与による NMDA 受容体への影響を直接的に検討していないため、今後の研究で METH 反復投与の NMDA 受容体への影響を確認する必要がある。

LTG 30 mg/kg の反復併用投与は METH 2.5 mg/kg 反復投与による MK-801 に対する行動感作形成を阻止したが、METH に対する行動感作形成は阻止しなかった。LTG の投与時期が METH 投与 120 分後であったため、LTG は METH 投与後比較的速やかに生じるドパミン放出亢進に影響を与えず、METH に対する行動感作形成を抑制することはできなかったと考えられる。むしろ LTG の反復併用投与は METH 2.5 mg/kg 反復投与による METH に対する行動感作に対して一部増強する効果を示したが、この機序については不明である。一方、METH 投与後のグルタミン酸濃度上昇は遅発性 (METH 投与 120 分以降) に生じており、LTG はそのグルタミン酸濃度上昇を抑制した。その結果、グルタミン酸濃度上昇による持続的な NMDA 受容体刺激が抑制され、NMDA 受容体の脱感作および機能低下が生じず、NMDA 受容体遮断薬に対する行動感作が形成されなかったと推測される。

3. 細胞外グルタミン酸濃度に対する影響

METH 2.5 mg/kg は mPFC で細胞外グルタミン酸濃度を上昇させたが、これは以前の我々の研究結果と一致するものであった(Abekawa et al., 2008, 2010)。さらに、METH 2.5 mg/kg 投与 120 分後の LTG 30 mg/kg 投与は、METH が誘発する細胞外グルタミン酸

濃度上昇を阻害した。

Ahmad らは、ラットの海馬で、veratridine 刺激によるグルタミン酸の放出が LTG で抑制されることを報告している (Ahmad et al., 2004)。Veratridine はナトリウムチャネル賦活剤であるが、LTG はナトリウムチャネルを阻害することにより veratridine によるグルタミン酸放出を抑制すると考えられている (Lees and Leach, 1993; Xie et al., 2001)。我々の結果と一致してナトリウムチャネル阻害剤である lubeluzole が veratridine による細胞外グルタミン酸濃度増加と METH による細胞外グルタミン酸濃度増加を阻害すると報告されている (Wallace et al., 2001)。このことから LTG がナトリウムチャネルブロッカーとして METH が惹起する細胞外グルタミン酸濃度上昇を抑制していることが示唆される。だが、METH が誘発する細胞外グルタミン酸濃度上昇に対する LTG の抑制機序についての詳細な検討は行っていないため、METH 投与後の細胞外グルタミン酸濃度上昇を LTG がどのような機序で抑制したのか、今後検討する必要がある。

4. PPI 測定に対する影響

METH 2.5 mg/kg 反復投与は PPI 障害を誘発したが、LTG 30 mg/kg 反復併用投与はその PPI 障害の形成を阻止した。また、LTG 30 mg/kg 単回投与は METH 2.5 mg/kg 反復投与によって一旦形成された PPI 障害の発現を回復した。

LTG はグルタミン酸の過剰な放出を抑制し、その結果、神経伝達物質の開口分泌を減少させると考えられている (Lees and Leach, 1993; Xie et al., 2001)。PPI にはドパミン、グルタミン酸、セロトニン、gamma-aminobutyric acid (GABA) や神経ペプチドなどの神経伝達物質が関与している (Geyer et al., 2001)。数々の研究により PPI に関わっている神経回路の理解が進んでおり (Swerdlow et al., 2001)、その回路には、扁桃核、海馬や mPFC が含まれる (Bakshi and Geyer, 1998) が、中でも mPFC は PPI の調節に中心的役割を果たしている (Schwabe and Koch, 2004)。

我々のグループは、METH 2.5 mg/kg は mPFC (Abekawa et al., 2008, 2010) や側坐核 (Ito et al., 2006a, 2006b) で細胞外グルタミン酸濃度を上昇させることに加えて、非定型抗精神病薬である olanzapine や risperidone および aripiprazole が mPFC で METH 2.5 mg/kg 投与後の細胞外グルタミン酸濃度上昇を抑え、同薬剤の反復併用投与が METH 2.5 mg/kg 反復投与による PPI 障害の形成を阻止することを報告した (Abekawa et al., 2008, 2010)。このことより、mPFC や側坐核を含む神経回路で生じる反復する細胞外グルタミン酸濃度上昇が、METH による PPI 障害の形成に関与していることが示唆される。LTG の主な薬理作用がグルタミン酸放出の抑制である (Cunningham and Jones, 2000) ことを考慮すると、LTG は mPFC を含む神経回路での METH 投与後の細胞外グルタミン酸濃度上昇を抑制することで、METH 反復投与による PPI 障害の形成を阻

止したことが推測される。本研究では、PPI は処置薬物反復投与後 11 - 13 日間の休薬期間を経た後に測定しているため、METH 急性投与の PPI に対する影響は除外されている。

今回の研究でさらに興味深い点は、METH 反復投与で形成された PPI 障害の発現が、LTG 急性投与で回復した点である。METH の反復投与は NMDA 受容体のサブユニットである NR1 の mRNA の発現を減少させ、ワーキングメモリの障害を引き起こす (Simoes et al., 2007)。これらの神経認知や神経化学的な変化は長い休薬期間においても持続する。METH によって誘発された本研究での持続性の PPI 障害においても、NMDA 受容体の機能低下がその背景にあるかもしれない。NMDA 受容体機能低下を引き起こす NMDA 受容体遮断薬の急性投与によっても PPI 障害は生じ (Bakshi et al., 1994)、LTG は NMDA 受容体遮断薬である ketamine 急性投与による PPI 障害を回復させる (Brody et al., 2003)。グルタミン酸は NMDA 受容体を介して GABA 神経伝達を刺激する (Krystal et al., 2003) ため、NMDA 受容体機能低下は GABA 神経伝達機能低下を惹起する。パッチクランプを用いた検討で LTG が GABA 放出を促進することが示されており (Cunningham and Jones, 2000)、LTG は NMDA 受容体の機能低下が引き起こす PPI 障害を GABA 神経伝達の強化で回復させているかもしれない。

認知機能障害の進行 (Pukrop et al., 2006) は統合失調症の慢性化や治療抵抗性への進行の基盤とされており (Lieberman et al., 1996, 1998)、NMDA 受容体遮断薬による PPI 障害は統合失調症の認知機能障害モデルの 1 つと考えられている (Brody et al., 2003)。統合失調症患者では PPI 障害と生活機能障害との関連が認められる (Swerdlow et al., 2006) ことより、幻覚や妄想などの陽性症状に対する治療に加えて、認知機能障害に対する治療が重要である。LTG が METH による PPI 障害の形成を阻害および発現を回復した本研究の結果は、統合失調症の認知機能障害進行の阻害およびその回復に LTG が有用である可能性を示唆したものである。

5. アポトーシスに対する影響

METH 2.5 mg/kg 反復投与は、mPFC において TUNEL 染色陽性細胞数の増加を惹起し、LTG の反復併用投与はそれを阻止した。生理食塩水と LTG の反復投与は TUNEL 染色陽性細胞数に影響を与えなかった。

METH はアポトーシスもしくはネクローシスを介して細胞死を生じさせる (Gold et al., 2009)。本研究においては、METH の反復投与は mPFC でアポトーシスを生じさせたが、METH がアポトーシスを生じさせるメカニズムは明らかになっていない。METH はドパミンおよびグルタミン酸の放出を介して、酸化物、活性酸素や一酸化窒素ラジカルを生じさせるが、それらの物質が METH によるアポトーシスに関与しているかもしれない (Abekawa et al., 2008; Cadet and Krasnova, 2009)。

METH 2.5 mg/kg ではmPFC で細胞外グルタミン酸濃度の上昇が生じるが、1.0 mg/kg では生じない。これと並行して、METH 2.5 mg/kg の反復投与で誘発されるアポトーシスは、1.0 mg/kg の反復投与では誘発されない(Abekawa et al., 2008)。このことより、細胞外グルタミン酸濃度の上昇とMETHが引き起こすアポトーシスとは関連していることが推測される(Abekawa et al., 2008; Gold et al., 2009)。METHにより増加したグルタミン酸が α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) 受容体やNMDA 受容体を介して、神経毒性やアポトーシスを生じる可能性がある(Gold et al., 2009; Ohmori et al., 1996)。今後はMETHによるアポトーシスに対するNMDA 受容体遮断薬とAMPA 受容体遮断薬の影響およびmPFCにおける細胞死を反映する遅延行動課題などを用いた行動変化についての検討が必要である。

LTG 30 mg/kg の反復併用投与はMETH 2.5 mg/kg に誘発されるmPFCでのTUNEL染色陽性細胞の増加の惹起、すなわち、アポトーシス誘導を阻止した。LTGはrotenoneまたは1-methyl-4-phenylpyridiniumによって生じるミトコンドリア障害を抑制し、その結果、caspase-3の活性化、酸化ストレスの増加と細胞死を抑制する(Kim et al., 2007)。また、LTGは一酸化窒素の発生および放出も阻害する(Bashkatova et al., 2003; Lizasoain et al., 1995)。したがって、LTGのグルタミン酸放出抑制作用の他に、前述したようなLTGの作用がmPFCにおけるアポトーシス誘導の阻止に関与している可能性も考えられ、今後の検討が必要である。

6. まとめ

統合失調症の精神病エピソードの顕在化には、脳萎縮等の進行性の病態生理が関与していると考えられている(Kasai et al., 2003b; Thompson et al., 2009)が、その進行性の病態変化メカニズムについては明らかにされていない。統合失調症の精神病エピソード発現と覚醒剤精神病エピソード発現の様態の類似性と、これらの基盤にあるドーパミン放出増加という脳内現象の共通性ことから、統合失調症の進行性病態変化の基盤はMETHが誘発する行動的变化や神経組織学的変化に共通していると考えられる。本研究では、METHが惹起する行動的および神経組織学的変化の形成をLTGが阻止することを示した。このことから、LTGは統合失調症の病態進行阻止に対して有効な薬剤であるかもしれない。

我々のグループは、LTGに限らず、実験動物でMETH反復投与によって誘発される行動的もしくは神経組織学的な変化を阻止しうる薬物は統合失調症の病態進行を阻止するのではないかと推測している。加えて、統合失調症の病態進行を表現する本研究で用いた我々の開発した動物モデルは、今後の統合失調症治療薬開発において、重要な知見を提供し得ると考えている。

総括および結論

① 本研究全体から得られた新知見

- LTG の反復併用投与は、統合失調症の病態進行を反映する METH 2.5 mg/kg 反復投与動物モデルが示す MK-801 への行動感作形成、PPI 障害の形成および mPFC における TUNEL 染色陽性細胞数の増加を阻止した。
- LTG の併用投与は、METH 2.5 mg/kg 投与によって惹起される mPFC における細胞外グルタミン酸濃度増加を抑制した。
- LTG の単回投与は、METH 2.5 mg/kg 反復投与によって惹起される PPI 障害の発現を回復させた。

② 新知見の意義

統合失調症で生じるドパミンD₂型受容体遮断薬反応性から同薬抵抗性への病態進行、脳萎縮および認知機能障害の進行を阻止することは臨床上重要であるが、有効な治療法は未だ確立されていない。また、統合失調症では再燃・再発防止目的でドパミンD₂型受容体遮断薬を長期使用することは少なくないが、同薬剤の長期使用は不可逆性の副作用を惹起するため、新たな統合失調症治療薬の開発が急務の課題となっている。今回示した新知見は、LTG が、統合失調症の病態進行の基盤と類推される行動学的および神経組織学的3様態、すなわち、MK-801 に対する行動感作形成が示すドパミンD₂型受容体遮断薬抵抗性への進行、PPI 障害の形成が示す認知機能障害の進行およびアポトーシス増加が示す脳萎縮の進行からなる病態進行を阻止しうることを示した点に意義がある。

③ 新知見から展開されうる今後の研究

LTG は第二世代抗精神病薬との併用で治療抵抗性統合失調症の急性期治療に有用であることが示されている。LTG 単剤による統合失調症治療への治療効果は検討されていないが、ドパミンD₂型受容体遮断作用を有しないLTG は統合失調症の急性期治療には有用でないと推測される。しかし、急性期症状改善後の統合失調症の維持治療においてはその限りではない。本研究の結果から、LTG は統合失調症の病態進行の阻止に有用であることが示唆されるため、今後、統合失調症の維持治療においてLTG の有用性が示されることが期待される。LTG は長期使用に伴う副作用が少ないため、統合失調症の維持治療でのLTGの使用は統合失調症患者のQOL向上に貢献しうる。

④ 今後の課題

本研究では、統合失調症の病態進行の背景に細胞外グルタミン酸濃度増加が関与している可能性が示唆された。しかし、METHによる細胞外グルタミン酸濃度増加とアポトーシスの誘導、PPI 障害の形成およびMK-801 に対する行動感作の形成における詳細な分子メカニズムは確認されておらず、同メカニズムの解明は今後の研究課題である。

謝 辞

本研究の立案、研究計画作成および実験手技について、毎日のようにご指導下さった、医療法人弘徳会愛光病院診療部長の安部川智浩先生ならびに北海道大学大学院医学研究科精神医学分野の伊藤侯輝先生、献身的に実験の助手を務めていただいた角田亜彩様、熱心に論文を指導し実験についての示唆を数多く与えて下さった北海道大学大学院医学研究科精神医学分野の井上猛先生に深く感謝いたします。最後になりますが、このような大変興味深い研究テーマを与えていただき、大学院での勉強や研究を支えていただきました北海道大学大学院医学研究科精神医学分野の小山司教授に厚く御礼を申し上げます。

引用文献

- Abekawa, T., Ito, K., Nakagawa, S., Nakato, Y., and Koyama, T. (2008). Olanzapine and risperidone block a high dose of methamphetamine-induced schizophrenia-like behavioral abnormalities and accompanied apoptosis in the medial prefrontal cortex. *Schizophr. Res.* *101*, 84-94.
- Abekawa, T., Ito, K., Nakagawa, S., Nakato, Y., and Koyama, T. (2010). Effects of aripiprazole and haloperidol on progression to schizophrenia-like behavioural abnormalities and apoptosis in rodents. *Schizophr. Res.* (in press).
- 安部川智浩, 伊藤侯輝, 仲唐安哉, and 小山司 (2009). 統合失調症の病態進行のメカニズム. *脳と精神の医学* *20*, 311-317.
- 安部川智浩, 北市雄士, 松山哲晃, and 小山司 (2004). 「統合失調症の警告期状態」に対する非定型抗精神病薬の使用経験. *精神神経学雑誌* *106*, 1357-1372.
- Ahmad, S., Fowler, L.J., and Whitton, P.S. (2004). Effects of acute and chronic lamotrigine treatment on basal and stimulated extracellular amino acids in the hippocampus of freely moving rats. *Brain Res.* *1029*, 41-47.
- American Psychiatric Association. (2000). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*, 4th edition, Text Revision. APA (Washington, D.C.)
- Arban, R., Maraia, G., Brackenborough, K., Winyard, L., Wilson, A., Gerrard, P., and Large, C. (2005). Evaluation of the effects of lamotrigine, valproate and carbamazepine in a rodent model of mania. *Behav. Brain Res.* *158*, 123-132.
- Bakshi, V.P., and Geyer, M.A. (1998). Multiple limbic regions mediate the disruption of prepulse inhibition produced in rats by the noncompetitive NMDA antagonist dizocilpine. *J. Neurosci.* *18*, 8394-8401.
- Bakshi, V.P., Swerdlow, N.R., and Geyer, M.A. (1994). Clozapine antagonizes phencyclidine-induced deficits in sensorimotor gating of the startle response. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* *271*, 787-794.
- Barnes, T.R., Leeson, V.C., Mutsatsa, S.H., Watt, H.C., Hutton, S.B., and Joyce, E.M. (2008). Duration of untreated psychosis and social function: 1-year follow-up study of first-episode schizophrenia. *Br. J. Psychiatry* *193*, 203-209.

- Bashkatova, V., Narkevich, V., Vitskova, G., and Vanin, A. (2003). The influence of anticonvulsant and antioxidant drugs on nitric oxide level and lipid peroxidation in the rat brain during penthylenetetrazole-induced epileptiform model seizures. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 27, 487-492.
- Brody, S.A., Geyer, M.A., and Large, C.H. (2003). Lamotrigine prevents ketamine but not amphetamine-induced deficits in prepulse inhibition in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 169, 240-246.
- Cadet, J.L., and Krasnova, I.N. (2009). Molecular bases of methamphetamine-induced neurodegeneration. *Int. Rev. Neurobiol.* 88, 101-119.
- Calabrese, J.R., Fatemi, S.H., and Woysville, M.J. (1996). Antidepressant effects of lamotrigine in rapid cycling bipolar disorder. *Am. J. Psychiatry* 153, 1236.
- Cami, J., and Farre, M. (2003). Drug addiction. *N. Engl. J. Med.* 349, 975-986.
- Corbett, R. (1995). Clozapine but not haloperidol antagonizes an MK-801 discriminative stimulus cue. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 51, 561-564.
- Cunningham, M.O., and Jones, R.S. (2000). The anticonvulsant, lamotrigine decreases spontaneous glutamate release but increases spontaneous GABA release in the rat entorhinal cortex in vitro. *Neuropharmacology* 39, 2139-2146.
- Dursun, S.M., McIntosh, D., and Milliken, H. (1999). Clozapine plus lamotrigine in treatment-resistant schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry* 56, 950.
- Fornito, A., Yucel, M., Dean, B., Wood, S.J., and Pantelis, C. (2009). Anatomical abnormalities of the anterior cingulate cortex in schizophrenia: bridging the gap between neuroimaging and neuropathology. *Schizophr. Bull.* 35, 973-993.
- Geyer, M.A., Krebs-Thomson, K., Braff, D.L., and Swerdlow, N.R. (2001). Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: A decade in review. *Psychopharmacology (Berl)* 156, 117-154.
- Gold, M.S., Kobeissy, F.H., Wang, K.K., Merlo, L.J., Bruijnzeel, A.W., Krasnova, I.N., and Cadet, J.L. (2009). Methamphetamine- and trauma-induced brain injuries: comparative cellular and molecular neurobiological substrates. *Biol.*

Psychiatry 66, 118-127.

Gonzalez, R., Rippeth, J.D., Carey, C.L., Heaton, R.K., Moore, D.J., Schweinsburg, B.C., Cherner, M., and Grant, I. (2004). Neurocognitive performance of methamphetamine users discordant for history of marijuana exposure. *Drug Alcohol. Depend.* 76, 181-190.

平安良雄 (2006). 統合失調症はどのような病気か:最近の進歩. 日本統合失調症学会. <http://square.umin.ac.jp/jssr05/gyouji/index.html>.

Ito, K., Abekawa, T., and Koyama, T. (2006a). Relationship between development of cross-sensitization to MK-801 and delayed increases in glutamate levels in the nucleus accumbens induced by a high dose of methamphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 187, 293-302.

Ito, K., Abekawa, T., and Koyama, T. (2006b). Valproate blocks high-dose methamphetamine-induced behavioral cross-sensitization to locomotion-inducing effect of dizocilpine (MK-801), but not methamphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 186, 525-533.

Jarskog, L.F., Glantz, L.A., Gilmore, J.H., and Lieberman, J.A. (2005). Apoptotic mechanisms in the pathophysiology of schizophrenia. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 29, 846-858.

Javitt, D.C., and Zukin, S.R. (1991). Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 148, 1301-1308.

Kasai, K., Shenton, M.E., Salisbury, D.F., Hirayasu, Y., Lee, C.U., Ciszewski, A.A., Yurgelun-Todd, D., Kikinis, R., Jolesz, F.A., and McCarley, R.W. (2003a). Progressive decrease of left superior temporal gyrus gray matter volume in patients with first-episode schizophrenia. *Am. J. Psychiatry* 160, 156-164.

Kasai, K., Shenton, M.E., Salisbury, D.F., Onitsuka, T., Toner, S.K., Yurgelun-Todd, D., Kikinis, R., Jolesz, F.A., and McCarley, R.W. (2003b). Differences and similarities in insular and temporal pole MRI gray matter volume abnormalities in first-episode schizophrenia and affective psychosis. *Arch. Gen. Psychiatry* 60, 1069-1077.

Kasperek, T., Prikryl, R., Schwarz, D., Kuceroval, H., Marecek, R., Mikl, M.,

- Vanicek, J., and Ceskova, E. (2009). Gray matter morphology and the level of functioning in one-year follow-up of first-episode schizophrenia patients. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry* 33, 1438–1446.
- Kim, Y.J., Ko, H.H., Han, E.S., and Lee, C.S. (2007). Lamotrigine inhibition of rotenone- or 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced mitochondrial damage and cell death. *Brain Res. Bull.* 71, 633–640.
- Krupp, J.J., Vissel, B., Thomas, C.G., Heinemann, S.F., and Westbrook, G.L. (2002). Calcineurin acts via the C-terminus of NR2A to modulate desensitization of NMDA receptors. *Neuropharmacology* 42, 593–602.
- Krystal, J.H., D'Souza, D.C., Mathalon, D., Perry, E., Belger, A., and Hoffman, R. (2003). NMDA receptor antagonist effects, cortical glutamatergic function, and schizophrenia: toward a paradigm shift in medication development. *Psychopharmacology (Berl)* 169, 215–233.
- Kuribara, H. (1995). Inhibition of methamphetamine sensitization by post-methamphetamine treatment with SCH 23390 or haloperidol. *Psychopharmacology (Berl)* 119, 34–38.
- Laruelle, M. (2000). The role of endogenous sensitization in the pathophysiology of schizophrenia: implications from recent brain imaging studies. *Brain Res. Rev.* 31, 371–384.
- Laruelle, M., Frankle, W.G., Narendran, R., Kegeles, L.S., and Abi-Dargham, A. (2005). Mechanism of action of antipsychotic drugs: from dopamine D(2) receptor antagonism to glutamate NMDA facilitation. *Clin. Ther.* 27 Suppl A, S16–24.
- Lees, G., and Leach, M.J. (1993). Studies on the mechanism of action of the novel anticonvulsant lamotrigine (Lamictal) using primary neurological cultures from rat cortex. *Brain Res.* 612, 190–199.
- Lieberman, J.A., Koreen, A.R., Chakos, M., Sheitman, B., Woerner, M., Alvir, J.M., and Bilder, R. (1996). Factors influencing treatment response and outcome of first-episode schizophrenia: implications for understanding the pathophysiology of schizophrenia. *J. Clin. Psychiatry* 57 Suppl 9, 5–9.
- Lieberman, J.A., Sheitman, B., Chakos, M., Robinson, D., Schooler, N., and Keith,

S. (1998). The development of treatment resistance in patients with schizophrenia: a clinical and pathophysiologic perspective. *J. Clin. Psychopharmacol.* 18, 20S-24S.

Lieberman, J.A., Tollefson, G.D., Charles, C., Zipursky, R., Sharma, T., Kahn, R.S., Keefe, R.S., Green, A.I., Gur, R.E., McEvoy, J., *et al.* (2005). Antipsychotic drug effects on brain morphology in first-episode psychosis. *Arch. Gen. Psychiatry* 62, 361-370.

Lizasoain, I., Knowles, R.G., and Moncada, S. (1995). Inhibition by lamotrigine of the generation of nitric oxide in rat forebrain slices. *J. Neurochem.* 64, 636-642.

Malla, A.K., Bodnar, M., Joober, R., and Lepage, M. (2010). Duration of untreated psychosis is associated with orbital-frontal grey matter volume reductions in first episode psychosis. *Schizophr. Res.* (in press).

McGorry, P.D., Yung, A.R., Phillips, L.J., Yuen, H.P., Francey, S., Cosgrave, E.M., Germano, D., Bravin, J., McDonald, T., Blair, A., *et al.* (2002). Randomized controlled trial of interventions designed to reduce the risk of progression to first-episode psychosis in a clinical sample with subthreshold symptoms. *Arch. Gen. Psychiatry* 59, 921-928.

Miyamoto, S., Duncan, G.E., Marx, C.E., and Lieberman, J.A. (2005). Treatments for schizophrenia: a critical review of pharmacology and mechanisms of action of antipsychotic drugs. *Mol. Psychiatry* 10, 79-104.

Nahum-Levy, R., Lipinski, D., Shavit, S., and Benveniste, M. (2001). Desensitization of NMDA receptor channels is modulated by glutamate agonists. *Biophys. J.* 80, 2152-2166.

中安信夫 (1990). 初期分裂病. 星和書店 (東京) .

Ohmori, T., Abekawa, T., and Koyama, T. (1996). The role of glutamate in behavioral and neurotoxic effects of methamphetamine. *Neurochem. Int.* 29, 301-307.

Pantelis, C., Velakoulis, D., McGorry, P.D., Wood, S.J., Suckling, J., Phillips, L.J., Yung, A.R., Bullmore, E.T., Brewer, W., Soulsby, B., *et al.* (2003).

Neuroanatomical abnormalities before and after onset of psychosis: a cross-sectional and longitudinal MRI comparison. *Lancet* 361, 281-288.

Pierce, R.C., and Kalivas, P.W. (1997). A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res. Rev.* 25, 192-216.

Pukrop, R., Schultze-Lutter, F., Ruhrmann, S., Brockhaus-Dumke, A., Tendolkar, I., Bechdolf, A., Matuschek, E., and Klosterkötter, J. (2006). Neurocognitive functioning in subjects at risk for a first episode of psychosis compared with first- and multiple-episode schizophrenia. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 28, 1388-1407.

Robinson, D.G., Woerner, M.G., Alvir, J.M., Geisler, S., Koreen, A., Sheitman, B., Chakos, M., Mayerhoff, D., Bilder, R., Goldman, R., *et al.* (1999). Predictors of treatment response from a first episode of schizophrenia or schizoaffective disorder. *Am. J. Psychiatry* 156, 544-549.

Robinson, T.E., Jurson, P.A., Bennett, J.A., and Bentgen, K.M. (1988). Persistent sensitization of dopamine neurotransmission in ventral striatum (nucleus accumbens) produced by prior experience with (+)-amphetamine: a microdialysis study in freely moving rats. *Brain Res.* 462, 211-222.

Sato, M., Chen, C.C., Akiyama, K., and Otsuki, S. (1983). Acute exacerbation of paranoid psychotic state after long-term abstinence in patients with previous methamphetamine psychosis. *Biol. Psychiatry* 18, 429-440.

佐藤光源 (1988). 覚醒剤精神病及びその精神分裂病との関連. *精神医学* 30, 433-442.

Sato, M., Numachi, Y., and Hamamura, T. (1992). Relapse of paranoid psychotic state in methamphetamine model of schizophrenia. *Schizophr. Bull.* 18, 115-122.

佐藤光源, 松本和紀 (1999). 薬物・アルコール関連障害, 臨床精神医学講座8, 中山書店 (東京).

Schwabe, K., and Koch, M. (2004). Role of the medial prefrontal cortex in N-methyl-D-aspartate receptor antagonist induced sensorimotor gating deficit in rats. *Neurosci. Lett.* 355, 5-8.

- Sekine, Y., Iyo, M., Ouchi, Y., Matsunaga, T., Tsukada, H., Okada, H., Yoshikawa, E., Futatsubashi, M., Takei, N., and Mori, N. (2001). Methamphetamine-related psychiatric symptoms and reduced brain dopamine transporters studied with PET. *Am. J. Psychiatry* *158*, 1206-1214.
- Simoes, P.F., Silva, A.P., Pereira, F.C., Marques, E., Grade, S., Milhazes, N., Borges, F., Ribeiro, C.F., and Macedo, T.R. (2007). Methamphetamine induces alterations on hippocampal NMDA and AMPA receptor subunit levels and impairs spatial working memory. *Neuroscience* *150*, 433-441.
- Smith, D., Baker, G., Davies, G., Dewey, M., and Chadwick, D.W. (1993). Outcomes of add-on treatment with lamotrigine in partial epilepsy. *Epilepsia* *34*, 312-322.
- Stirling, J., White, C., Lewis, S., Hopkins, R., Tantam, D., Huddy, A., and Montague, L. (2003). Neurocognitive function and outcome in first-episode schizophrenia: a 10-year follow-up of an epidemiological cohort. *Schizophr. Res.* *65*, 75-86.
- Swerdlow, N.R., Geyer, M.A., and Braff, D.L. (2001). Neural circuit regulation of prepulse inhibition of startle in the rat: current knowledge and future challenges. *Psychopharmacology (Berl)* *156*, 194-215.
- Swerdlow, N.R., Light, G.A., Cadenhead, K.S., Sprock, J., Hsieh, M.H., and Braff, D.L. (2006). Startle gating deficits in a large cohort of patients with schizophrenia: relationship to medications, symptoms, neurocognition, and level of function. *Arch. Gen. Psychiatry* *63*, 1325-1335.
- Swerdlow, N.R., Weber, M., Qu, Y., Light, G.A., and Braff, D.L. (2008). Realistic expectations of prepulse inhibition in translational models for schizophrenia research. *Psychopharmacology (Berl)* *199*, 331-388.
- 高雄啓三, 山崎信幸, 宮川剛 (2008). 統合失調症のモデル動物行動評価. *Schizophrenia Frontier* *9*, 148-154.
- Thompson, P.M., Bartzokis, G., Hayashi, K.M., Klunder, A.D., Lu, P.H., Edwards, N., Hong, M.S., Yu, M., Geaga, J.A., Toga, A.W., *et al.* (2009). Time-lapse mapping of cortical changes in schizophrenia with different treatments. *Cereb. Cortex.* *19*, 1107-1123.

Tiihonen, J., Wahlbeck, K., and Kiviniemi, V. (2009). The efficacy of lamotrigine in clozapine-resistant schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Schizophr. Res.* 109, 10–14.

Ujike, H., Onoue, T., Akiyama, K., Hamamura, T., and Otsuki, S. (1989). Effects of selective D-1 and D-2 dopamine antagonists on development of methamphetamine-induced behavioral sensitization. *Psychopharmacology (Berl)* 98, 89–92.

Wallace, T.L., Vorhees, C.V., and Gudelsky, G.A. (2001). Effects of lubeluzole on the methamphetamine-induced increase in extracellular glutamate and the long-term depletion of striatal dopamine. *Synapse* 40, 95–101.

Wheless, J.W., Clarke, D.F., Arzimanoglou, A., and Carpenter, D. (2007). Treatment of pediatric epilepsy: European expert opinion, 2007. *Epileptic Disord.* 9, 353–412.

World Health Organization (2010). WHO : schizophrenia. http://www.who.int/mental_health/management/schizophrenia/en/

Xie, X., Dale, T.J., John, V.H., Cater, H.L., Peakman, T.C., and Clare, J.J. (2001). Electrophysiological and pharmacological properties of the human brain type IIA Na⁺ channel expressed in a stable mammalian cell line. *Pflugers Arch.* 441, 425–433.

Xue, C.J., Ng, J.P., Li, Y., and Wolf, M.E. (1996). Acute and repeated systemic amphetamine administration: effects on extracellular glutamate, aspartate, and serine levels in rat ventral tegmental area and nucleus accumbens. *J. Neurochem.* 67, 352–363.

Yamamoto, H., Kitamura, N., Lin, X.H., Ikeuchi, Y., Hashimoto, T., Shirakawa, O., and Maeda, K. (1999). Differential changes in glutamatergic transmission via N-methyl-D-aspartate receptors in the hippocampus and striatum of rats behaviourally sensitized to methamphetamine. *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2, 155–163.

Yatham, L.N., Kennedy, S.H., Schaffer, A., Parikh, S.V., Beaulieu, S., O'Donovan, C., MacQueen, G., McIntyre, R.S., Sharma, V., Ravindran, A., *et al.* (2009). Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) and International

Society for Bipolar Disorders (ISBD) collaborative update of CANMAT guidelines for the management of patients with bipolar disorder: update 2009. *Bipolar Disord.* *11*, 225-255.