

DB
1485
1998
419

ラットの空間的記憶における 脳内 NMDA レセプターの役割

1998 年度筑波大学博士論文

川辺 光一

寄	贈
	平成
	年
	月
	日

99012452

目次

第1章 序論	1
第1節 空間的記憶	1
1. 空間的記憶の測定法	
2. 空間的記憶と海馬	
第2節 長期増強	8
1. 脳の可塑性	
2. 長期増強	
2. 1. 長期増強の性質	
2. 2. 長期増強と学習・記憶	
第3節 グルタミン酸レセプターと学習・記憶	15
1. グルタミン酸レセプター	
2. グルタミン酸レセプターと長期増強	
3. NMDA レセプターと学習・記憶	
第4節 本研究の目的	27
第2章 ラットの空間的記憶に及ぼす NMDA アンタゴニスト・ アゴニスト単回投与の効果	29
第1節 ラットのオープンフィールド行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト・アゴニスト単回投与の効果	30

1. ラットのオープンフィールド行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト単回投与の効果 (実験 1)	
第 2 節 ラットの放射状迷路行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト・ アゴニスト単回投与の効果	35
1. ラットの放射状迷路行動に及ぼす競合的 NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果 (実験 2)	
2. ラットの放射状迷路行動に及ぼす非競合的 NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果 (実験 3)	
3. ラットの放射状迷路行動における作業記憶・参照記憶に及ぼす NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果 (実験 4)	
4. NMDA アンタゴニスト投与ラットの放射状迷路行動に及ぼす グリシン部位アゴニスト海馬内投与の効果 (実験 5)	
第 3 節 ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト単回投与の効果	69
1. ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト腹腔内投与の効果 (実験 6)	
2. ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果 (実験 7)	
第 4 節 第 2 章の総合的考察	85

第3章	ラットの空間的記憶に及ぼす NMDA アンタゴニスト	
	新生仔期反復投与の効果	87
第1節	ラットの放射状迷路行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト	
	新生仔期反復投与の効果	88
	1. ラットの放射状迷路行動に及ぼす非競合的 NMDA	
	アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果 (実験 8)	
	1. 1. 放射状迷路行動に及ぼす効果 (実験 8-1)	
	1. 2. オープンフィールド行動に及ぼす効果 (実験 8-2)	
	2. ラットの放射状迷路行動に及ぼす競合的 NMDA	
	アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果 (実験 9)	
	1. 1. 放射状迷路行動に及ぼす効果 (実験 9-1)	
	1. 2. オープンフィールド行動に及ぼす効果 (実験 9-2)	
第2節	ラットの放射状迷路行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト	
	成体期反復投与の効果	109
	1. ラットの放射状迷路行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト	
	成体期反復投与の効果 (実験 10)	
	1. 1. 放射状迷路行動に及ぼす効果 (実験 10-1)	
	1. 2. オープンフィールド行動に及ぼす効果 (実験 10-2)	
第3節	ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA	
	アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果	118
	1. ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA	
	アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果 (実験 11)	
第4節	第3章の総合的考察	126

第4章 総合的考察および今後の展望	129
第1節 総合的考察	129
第2節 今後の展望	131
1. 学習・記憶における脳内 NMDA レセプターの役割	
2. 海馬の NMDA レセプターの機能の大きさと学習・記憶 能力との関係	
要 旨	139
引用文献	143
付 録	156
謝 辞	157

第1章

序論¹

第1節 空間的記憶

人間は、目標とする特定の場所に向かうにあたって、環境に存在するさまざまな視覚的手がかりを利用する。しかも我々は、これらの空間的手がかりを単体で記憶しているわけではなく、複数の手がかり間の位置関係をも把握し、記憶することができる。いわば、我々は複数の手がかりからなる表象、つまり地図に似た情報を脳内に蓄えているといえよう。このような、環境の中に存在する手がかりの空間的位置関係に関する記憶が空間的記憶であり、動物においても数々の研究がなされてきた(e.g., Menzel, 1973; Tolman, 1948)。

1. 空間的記憶の測定法

動物の空間的記憶能力を測定するために、いくつかの学習課題が開発されているが、ラットを被験体とした場合に用いられる課題の中で、最も代表的なものが放射状迷路課題(Olton, Collison & Werz, 1977)と Morris 型水迷路課題(Morris, 1981)である。

放射状迷路課題では、中央部のプラットフォームと、そこから放射状に伸びた数本(8本の選択肢のものが最も多く用いられている)の選択肢

¹ 本章の一部は、川辺・岩崎(1995)として公刊された。

から構成される高架式迷路 (Fig. 5 を参照) を用いる。この迷路の各選択肢の先端には報酬が置かれるが、迷路内を自由に行き来し、その報酬を採ることが許される。通常は、被験体が迷路内に投入されてから、報酬すべてを採り終えるまでが 1 試行と定義される。この課題における正選択は、まだ選択していない選択肢を選択することであり、誤選択はその試行で以前に選択して報酬を採り終えた選択肢を重複選択することである。ラットは、訓練初期こそ誤選択をするが、訓練を重ねるとほとんど誤選択を行うことなく試行を終了できるようになる。また、嗅覚を剥奪したり、試行途中で迷路を回転することによって、迷路内手がかりの利用を妨害しても、被験体は正常に課題を遂行することができることから、この課題の解決には主に、迷路外に置かれた空間的手がかりについての記憶を利用することが必要であると考えられている。

放射状迷路課題は、空間的記憶能力を測定すると同様に、作業記憶 (working memory) 能力の測定にも用いられる。作業記憶、およびそれに相対する概念である参照記憶 (reference memory) は、記憶の機能的な分類法の一つであり、動物実験でしばしば議論の対象となる概念である。作業記憶は 1 試行にのみ有効な記憶であるのに対し、参照記憶は全試行にわたって有効な記憶のことである。放射状迷路課題の場合、作業記憶は「どの選択肢を選択したか (もしくは選択していないか)」ということに関する記憶であり、参照記憶は迷路外手がかりの配置関係についての記憶や、「一度報酬を得た選択肢にはもう報酬が置かれていない」というような課題解決に必要な手続きに関する記憶である。

選択肢すべてに報酬を置く通常の手続き (以下、8/8 手続き²と呼ぶ) で

² 8 方向迷路の場合、8 本の選択肢すべてに餌が置かれるため、本論文ではこのように呼ぶことにした。

は、被験体に施した実験的処置によってもたらされた記憶障害が、作業記憶、参照記憶のどちらの障害によるものかを判別するのは困難である。そこで、あらかじめ決められた特定の数本の選択肢のみに餌を置く手続き（以下、4/8 手続き³と呼ぶ）が用いられる。この手続きにおいて、作業記憶障害の指標（作業記憶エラー）となるのは、その試行で既に選択した選択肢を再び選択した回数である。一方、参照記憶障害の指標（参照記憶エラー）は、初めから餌が置かれていない選択肢を選択した回数である。

Morris 型水迷路は、水を満たした円形のプールに逃避用のプラットフォームを置いたものである。Morris 型水迷路課題では、水中に投入された被験体が迷路内を自由遊泳し、このプラットフォームまで泳ぎ着くことが要求される。空間的記憶を測定するための課題（空間的課題⁴）では、プラットフォームを水中に隠したり、迷路内の水を白濁させたりすることによって、プラットフォームをラットには見えなくしてあるため、迷路外に置かれた空間的手がかりについての記憶を利用することが課題遂行にとって必要となる。一方、手がかり課題と呼ばれる課題では、プラットフォームの表面に目立った手がかりが取り付けられるため、被験体はその手がかりを目標にして逃避すればよい。したがって、課題解決には空間的記憶は必要とされない。この課題においては、被験体に空間的記憶を利用させないようにするために、迷路の周りをカーテンで覆ったり、プラットフォームの位置を試行ごとにランダムな位置に置き換えたりする場合が多い。空間的課題、手がかり課題ともに、学習の指標として、プラットフォームに達するまでの逃避潜時や遊泳距離が用いられ

³ 8方向迷路の場合、餌が置かれる選択肢が4本のみになることが多いため、このように呼ぶことにした。

⁴ 以下、単に「Morris 型水迷路課題」とした場合、この空間的課題のことを指す。

る。また、空間的課題の習得訓練後に、プローブ試行と呼ばれる試行を行う場合もある。これは、迷路からプラットフォームを取り除き、その迷路内を被験体に遊泳させるというものである。もし被験体がプラットフォームの存在に依存した迷路内手がかりでなく、迷路外手がかりを訓練時に利用していたならば、訓練時にプラットフォームが置かれていた場所の近隣を遊泳する傾向にあるはずである。そこで、この試行では学習指標として、迷路を4分割し、それぞれの区画の滞在時間が計測される。滞在時間がプラットフォームが置かれていた区画に偏っている被験体は、空間的学習が成立しているものと考えられる。また、訓練時の学習曲線のみを見ると空間的学習に障害のある被験体でも、「迷路の外周近辺にはプラットフォームはない」などという非空間的方略を用いることによって、訓練に伴った成績の上昇が見られる場合もある。しかし、プローブ試行を行うことによって、このような方略を用いた学習の可能性を排除し、実際に空間的学習が行われているかをより厳密に測定することが可能となる。

2. 空間的記憶と海馬

海馬は側頭葉内側深部に存在し、旧皮質に属する脳構造である。この脳部位は、古くから記憶との関連が指摘されており、とりわけ空間的記憶との関連についての研究が進められてきている。

海馬が空間的記憶に関わっているという仮説は、O'Keefe & Dostrovsky (1971)の研究がきっかけとなって生まれた。彼らは、ラットに3本の選択肢からなる迷路内を自由探索させ、その間のニューロン活動を記録したところ、特定の空間的位置に進入したときのみ反応するニューロン群

(場所ユニット; place unit) が海馬 CA1 領域に存在することを発見した。この結果をもとに、O'Keefe & Nadel (1978)は、海馬が空間的記憶の貯蔵の場であるとする認知地図(cognitive map)説を提唱した。

O'Keefe & Dostrovsky (1971)の研究以来、空間ユニットに関する研究は数多く行われるようになり、その機能も一層明確にされてきた。例えば、O'Keefe & Conway (1978)は、高架式十字迷路の特定の 1 本の選択肢に報酬を置き、その選択肢を選択するような訓練をラットに施した。課題習得後、迷路外に配置されたすべての空間的手がかりについて、その位置を同時に同じ角度分ずらしたところ、場所ユニットもこの位置のずれに対応して反応することが分かった。したがって、場所ユニットは迷路内手がかりに対してではなく、迷路外の空間的手がかりに対して反応しているということが示唆される。また、O'Keefe & Speakman (1987)は、同様の訓練を施したラットに、任意の選択肢に置き空間的手がかりをしばらく見せた後、そのまま選択肢を自由選択させた場合（知覚条件）と、同様にして空間的手がかりを提示した後、空間的手がかりをすべて取り除き、手がかりを除去する前に置かれた位置から選択肢を自由選択させた場合（記憶条件）の場所ユニットが、それぞれどの空間的位置で反応するかを比較した。その結果、知覚条件と記憶条件の場所ユニットの反応パターンはきわめて類似しているということが分かった。つまり、場所ユニットは、空間的手がかりが置かれていない状態でも、自分が位置する場所を推測しているかのように振る舞うのである。

また、海馬と空間的記憶の関連は、海馬損傷動物を用いた学習実験においても示唆されている。例えば、海馬系の損傷により、放射状迷路課題(Jarrard, 1986; Olton, Walker & Gage, 1978)、Morris 型水迷路課題(Morris, Garrud, Rawlins & O'Keefe, 1982)の遂行が障害されることが見いだされて

いる。一方、これらと同じ迷路を用いた場合でも、空間的手がかりでなく、非空間的な迷路内手がかりについての記憶を必要とする課題については、海馬系の損傷による影響を受けにくいということも報告されている(Jarrard, 1986; Morris et al., 1982)。

一方で、Olton & Papas (1979)は、17 方向放射状迷路を用い、4/8 手続きと同様の方法で特定の選択肢でのみ報酬を与える手続きを用い、海馬系が作業記憶、参照記憶のどちらに関わっているかを調べた。海馬系の損傷によって作業記憶エラーが大きく増加することから、Olton らは、海馬が参照記憶に依存する認知地図に関わっているのではなく、主に作業記憶に関わっているという説（作業記憶説）を提唱した。

Morris 型水迷路課題の様に作業記憶要素がさほど重要とならない空間的学習課題(Morris et al., 1982)、低反応率分化強化(differential reinforcement of low rate; DRL)課題⁵(Sinden, Rawlins, Gray & Jarrard, 1986)や非空間的情報を用いた遅延見本合わせ(delayed matching-to-sample)課題⁶(Rawlins, Lyford, Seferiades, Deacon & Cassaday, 1993; Raffaele & Olton, 1988)の様な空間的情報を含まない作業記憶課題の遂行が、海馬損傷によって明らかに障害されることが分かっている。一方で、ある種の複雑な対連合学習(Rudy & Sutherland, 1989) のような空間的記憶、作業記憶のいずれも必要としない課題の遂行についても海馬が関係していることが知られている。これらの事実は、海馬の機能を空間的記憶、作業記憶といった限定された記憶機能に留めるのではなく、より包括的に捉える必要があることを

⁵ オペラント学習強化スケジュールの一種で、ある一定時間が経過するまで反応を抑制することが要求される。

⁶ 作業記憶課題の一種。この課題では、見本刺激が提示され、遅延時間を経た後に、複数の選択刺激が提示される。遅延見本合わせ課題では、この選択刺激のうち、見本刺激と同一の刺激を選択した場合を正選択とする。遅延非見本合わせ(delayed non-matching-to-sample)課題では逆に、見本刺激と異なる刺激を選択した場合を正選択とする。

示唆しているといえよう。

前述のように、空間的記憶は空間的手がかり間の関係についての記憶である。また、作業記憶は、項目間の時間関係についての記憶という点で、時間的文脈についての記憶である。つまり、空間的記憶、作業記憶のいずれも何らかの「関係」についての記憶であるといえる。また、これらは単なる連合記憶というよりもはるかに柔軟性に富み、複雑な様相を呈しているといえる。この様な海馬が携わっている記憶の性質は、形態的連合(configural association) (Squire, 1992; Sutherland & Rudy, 1989)、関係性記憶(relational memory) (Squire, 1992)などと呼ばれている。

第2節 長期増強(long-term potentiation; LTP)

1. 脳の可塑性

記憶とは、経験を通じて、環境から得られる情報を生体が入り入れ、保存し、必要に応じてその情報を再現する能力のことである。生体が持つ記憶情報は、脳内に蓄えられており、物事を新たに記憶したり、忘れていたりするのは脳内で何らかの変化が起こっているからである。では、記憶過程は脳内でどの様に表現されているのであろうか。

Hebb (1949)は、記憶には、短期的な過程（短期記憶）と長期的な過程（長期記憶）があると仮定している。また彼は、短期記憶に対応するものとして、反響回路、すなわち、神経インパルスの循環を想定し、長期記憶に対応するものとしてシナプスの構造的変化を仮定した。また彼は、学習・記憶過程を「細胞Aの軸索が細胞Bのごく近くにあつて、Bの発火に何度も関与すると……Aの効率を上昇させるために……成長や代謝変化などが起こる」過程であると考えた (Hebb, 1949)。すなわち彼は、ある神経細胞間の連絡が何度も利用され、シナプス前部からの情報伝達とシナプス後部の興奮が同期することにより、その神経細胞が形態的・生理的变化を起こし細胞間の伝達効率が上昇すると仮定し⁷、このような中枢神経の形態的・生理的变化が学習・記憶現象の基盤であると考えたのである。脳が環境に応じて変化していくという性質は、可塑性(plasticity)と呼ばれており、可塑性が学習・記憶の基礎であるという考えは現在でも支持されている。中でも、近年、シナプスの可塑性と学習・記憶の関係が注目を集めている。

⁷ この仮定はしばしばHebb則(Hebbian rule)と呼ばれる。また、Hebb則を満たすシナプスはHebb型シナプス(Hebbian synapse)と呼ばれる。

可塑性が学習・記憶と関係しているということを示唆する証拠も、いくつか挙げられている。これらの知見の例として、(1)知覚経験の差異によって、大脳皮質の大きさや重さが増加すること(Cummins, Walsh, Cudtz-Olsen, Konstantions & Horsfall, 1973)、(2)視覚経験の差異や視覚剥奪によって、神経細胞の活動性が変化すること(Blakemore & Cooper, 1970; Hubel & Wiesel, 1970; Wiesel & Hubel, 1963)、(3)視覚剥奪によって、神経細胞体、樹状突起、樹状突起棘、終末突起、シナプス小胞、シナプスに形態的な変化が生じること(Frégnac & Imbert, 1984)、(4)条件づけ時には、海馬や中隔などのニューロンの活動が上昇すること(Berger & Thompson, 1978a, b)、(5)条件づけによって大脳運動領-赤核路のシナプスが発芽すること(Murakami, Higashi, Katsumaru & Oda, 1987; Tsukahara & Oda, 1981)などが挙げられる。

2. 長期増強(long-term potentiation; LTP)

LTP は、シナプスの可塑的性質が最も典型的に反映された例として知られる。この現象は、求心性神経の高頻度刺激(テタヌス刺激)によって、シナプスの伝達効率が長期間にわたって上昇するという現象であり、Bliss & Lømo (1973)がウサギの海馬で初めて発見した。

LTP の持続時間は、テタヌス刺激を1回しか与えない急性実験では、一般に数時間程度であるが、慢性的に何度も刺激を与えた場合では数日～数週間におよんだという例も報告されている。このように、LTP は、記憶現象と同様に持続時間が長期におよぶことから、LTP が学習・記憶の生理的実体であるという仮説が提唱されるようになった。同時に、海馬のように学習・記憶と関わりの深い脳部位で、LTP が顕著に見られることからみても、LTP と学習・記憶の関連性の深さが示唆されよう。ま

た、LTP は、テタヌス刺激のような生体内では起こり得ない高レベルの刺激のみではなく、生体内で起こりうるレベルの弱い刺激でも誘発されることから、LTP は決して人工的にのみ作られうる現象という訳ではなく、生体内で自然に起こりうる現象であると考えられる。

また、LTP が起こるためには、伝達物質放出量の増加というシナプス前部の変化と、シナプス後膜の脱分極というシナプス後部の変化が必要となる。つまり、シナプス前部からの情報伝達とシナプス後部の興奮が同期することにより、LTP というシナプス間の伝達効率の上昇が引き起こされるという事実は Hebb 則とよく一致している。

さらに後年になって、行動実験により、LTP が学習・記憶に関係しているということをより直接的に示した研究が数多く報告されるようになってきた。本項では、LTP の基本的性質に触れた後、これらの研究について概観する。

2. 1. 長期増強の性質

前述のように、LTP は海馬で最も顕著に見られるため、その研究も海馬を用いた研究が主体である。中でも、(1)貫通路－歯状回顆粒細胞間、(2)Shaffer 側枝・交連線維－CA1 錐体細胞間、(3)苔状線維－CA3 錐体細胞間のシナプスという 3 つの経路を用いて研究が進められる場合が多い。これらの研究から、LTP は、いくつかの注目すべき特徴を持っていることが分かってきた。特に、入力特異性(input specificity)、協力性(cooperativity)、連合性(associativity)と呼ばれる性質は、LTP の行動的機能や生理的メカニズムについて考える上で重要な役割を果たしてきた。

LTP は、テタヌス刺激を与えた入力線維についてのみ起こり、これとは独立した、テタヌス線維を与えない入力線維については起こらない。

この性質は、入力特異性と呼ばれる。また、LTP は、テタヌス刺激がある程度大きくないと誘発されない。したがって、LTP を誘発するためには、複数の入力線維が同時に興奮することが必要となる。このように、LTP 誘発のために、入力線維が協力して作用する性質のことを、協力性と呼ぶ。

さらに、LTP が連合条件づけ様の性質を示すことも明らかにされている。この性質は連合性と呼ばれる。これは、ある入力線維系に LTP を発現できない程度の弱い刺激(S_w)を与えた場合でも、別の入力線維系について強いテタヌス刺激(S_s)を与えた場合、弱いテタヌス刺激を与えた経路についても LTP が発現するという性質である。すなわち、この現象を条件づけ場面に当てはめて考えると、 S_s を無条件刺激、 S_w を条件刺激と対応させることができる。

特定の刺激によって特定の反応が引き起こされる（入力特異性）、複数の刺激が結びついて特定の反応が誘発されることがある（協力性、連合性）という LTP の性質は、学習現象と類似しているといえる。

2. 2. 長期増強と学習・記憶

前述のように、行動研究から、LTP と学習・記憶の関係を示唆する知見も数多く得られている。代表的なものとして、LTP を薬理的・生理学的・遺伝子学的な方法で操作し、その後の学習成績の変化を調べた研究、学習能力と LTP の間に何らかの相関を見いだそうとした研究の 2 種類の研究が多く行われている。

前者の研究は、NMDA(*N*-methyl-D-aspartate)レセプター（後述）のアンタゴニストなどにより LTP を阻害したり(e.g., Morris et al., 1986)、学習前に LTP を最大限に誘発（飽和）することによって、シナプスの可塑的变化

を阻害したり (Barnes, Jung, McNaughton, Korol, Andreasson & Worley, 1994; Castro et al., 1989; McNaughton et al., 1986)、NMDA レセプターのサブユニット⁸ (Tsien, Huerta & Tonegawa, 1996)や calmodulin 依存性 protein kinase II (Silva, Paylor, Wehner & Tonegawa, 1992)、protein kinase C (Abeliovich, Paylor, Chen, Kim, Wehner & Tonegawa, 1993)などの LTP に関連した遺伝子の発現を妨げたり⁹することによって、処置後の学習・記憶が阻害されるかどうかを調べるものである。NMDA アンタゴニストを用いた実験については、後に詳述する。

また、後者の相関研究においては、LTP の減衰速度と空間的課題の忘却速度 (Barnes, 1979; Barnes & McNaughton, 1985)、LTP の累積強度と Morris 型水迷路の成績 (Jeffery & Morris, 1993)、LTP 誘発に必要な刺激頻度の閾値とシャトル回避課題の成績 (Ramirez & Carrer, 1989)などの間に相関が認められている。

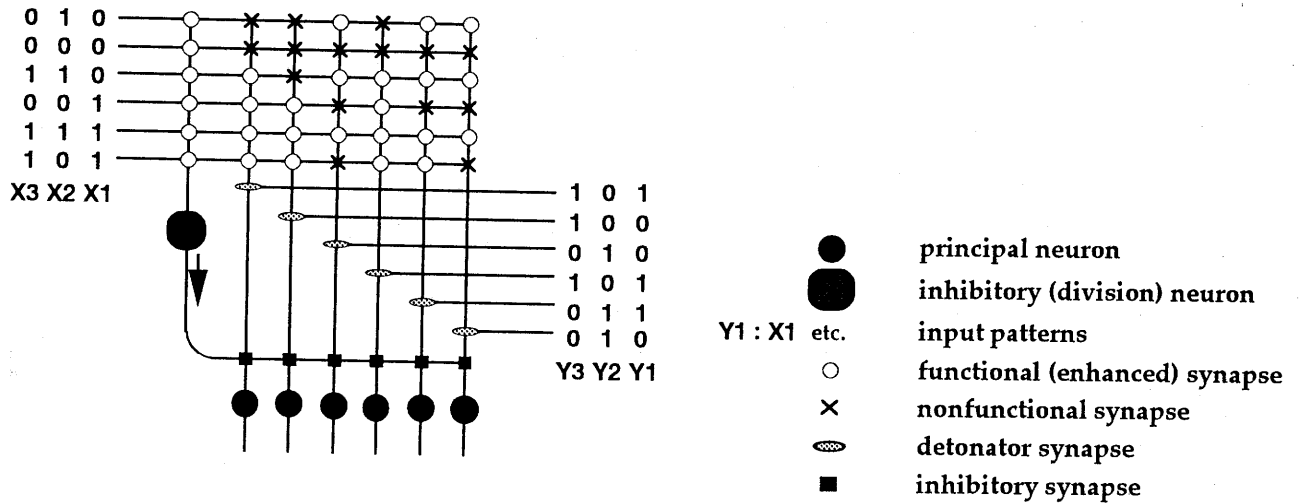
そのほかにも、(1)空間的に複雑、かつ新奇な刺激に出会った場合、海馬の誘発電位の振幅が増大すること (Green & Greenough, 1986; Sharp, McNaughton & Barnes, 1985)、(2)LTP の発現後に、神経細胞に構造的な変化が起こること、(3)LTP 誘発後 (Bliss, Douglas, Errington & Lynch, 1986)、および古典的条件づけ後 (Laroche, Errington, Lynch & Bliss, 1987)に、歯状回のシナプス前部におけるグルタミン酸放出が増加すること、(4)LTP は入力特異性、協力性、連合性といった性質を有することなどからも、LTP と学習・記憶との関連が示唆される。

⁸ NMDA レセプターはサブユニットと呼ばれる数種の蛋白群から構成される。NMDA レセプターのサブユニットは、現在のところ、NMDAR1(ζ 1, 2)、NMDAR2A~D(ϵ 1~4)が知られる。

⁹ このような処置はノックアウト(knockout)と呼ばれる。また、この処置を施されたマウスのことをノックアウトマウスと呼ぶ。

学習・記憶の基礎として、海馬の LTP を仮定したニューラルネットワークモデルも提唱されている。例えば、McNaughton & Morris (1987)は、連合記憶の貯蔵メカニズムをモデル化している。彼らが提唱した相関マトリックス(correlation matrix)モデルを Fig. 1A に示した。6つの垂直なチャンネルと6つの水平なチャンネルからなり、水平なチャンネル (X 入力) と垂直なチャンネル (Y 入力) が36個のノードで連結しているマトリックスを仮定する。チャンネルが活性化している状態は 1 という値で、不活性化状態は 0 という値で表わされる。あるノードへの入力がともに '1' となったときに、ノードは 0 から 1 へ変化する。記憶される事象は、このようなノードが集合したマトリックスとして表現される。この事象は、対応する対連合子とマトリックスとを掛けあわせ、その結果について除算処理を行うことによって再生される。こうして得られた商は、それほど多くのパターンが提示されない場合は完全な再生となる(Fig. 1B)が、マトリックスが飽和に近づくとつれ、再生に誤りが起き始める(Fig. 1C)。また、X 入力と Y 入力の連結部、すなわち 2つの入力線維間に形成されたシナプスにおいては、Hebb 則による長期的変化、つまり LTP を仮定している。このニューラルネットワークモデルは海馬の解剖学的構造ともよく一致しており興味深いものである。

A



B		Y INPUTS							
		1	0	1	1	0	Y3		
		0	0	1	0	1	1	Y2	
		1	1	0	1	0	0	Y1	
I N P U T S	X	0	1	0	0	0	1	0	1
	I	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	0	1	0	1	1	1	1
	0	0	1	1	1	0	1	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	0	1	1	1	0	1	1	0
	X3 X2 X1								

C		Y INPUTS								
		1	1	0	0	0	1	Y4		
		1	0	0	1	1	0	Y3		
		0	0	1	0	1	1	Y2		
		1	1	0	1	0	0	Y1		
I N P U T S	X	0	0	1	0	0	0	1	1	
	I	1	0	0	0	1	1	0	0	1
	1	1	1	1	0	1	1	1	1	
	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1
	0	1	1	1	1	1	1	1	1	
	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0
	X4 X3 X2 X1									

Fig. 1. McNaughton & Morris (1987)による相関マトリックスモデル (A)と相関マトリックスモデルにより仮定される再生パターン(B, C)。Bの様に入力パターンが少ない場合 (この場合3組のパターン)、完全な再生が可能であるが、Cの様に入力パターンが多くなると (この場合4組のパターン) 誤りが生じ始める。

第3節 グルタミン酸レセプターと学習・記憶

L-グルタミン酸（以下単にグルタミン酸とする）をはじめとした酸性アミノ酸は生体のあらゆる組織に存在し、数々の生体の基本的活動に関与している物質である。さらに、これらのアミノ酸が中枢神経系での脱分極作用を有するということが発見されて以来、神経伝達物質としての役割が注目されるようになった。現在では、これらのアミノ酸は、無脊椎動物から哺乳類に至る幅広い動物種において興奮性神経伝達物質として働いていることが認められていることから、興奮性アミノ酸と総称されている。また、興奮性アミノ酸レセプター（グルタミン酸レセプター¹⁰）は海馬の長期増強に関与していることが分かって以来、これらのレセプターと学習・記憶の関連性が指摘されるようになった。そこで、本節では、グルタミン酸レセプターに関する基本的知見を概観し、さらにこれらのレセプターと学習・記憶の関係について論ずることとする。

1. グルタミン酸レセプター

グルタミン酸レセプターは、イオンチャンネルを通して興奮を伝達するイオンチャンネル型レセプターと、G 蛋白と呼ばれる蛋白質を介して興奮が伝達される代謝型（G 蛋白型）レセプターに大別される。また、イオンチャンネル型レセプターは、外因性のアゴニストに対する感受性に基づき、(1)NMDA 型、(2)AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-

¹⁰ 脳内には、L-グルタミン酸のほかにL-アスパラギン酸、L-ホモシステイン酸、キノリン酸などの興奮性アミノ酸も存在するが、これらが神経伝達物質であるかどうかは明確でないため、興奮性アミノ酸レセプターのことをグルタミン酸レセプターと呼ぶことも多い。

4-propionic acid)型¹¹、(3)カイニン酸(kainate)型の3種のサブタイプに分けられることが多い。一方で、AMPA型、カイニン酸型レセプターには、完全な特異的アンタゴニストが発見されていないため、この2種のレセプターをまとめて非NMDA型レセプターと呼ぶ場合も多い。

グルタミン酸レセプターの中でも、NMDAレセプターは、(1)NMDA部位、(2)グリシン部位、(3)ポリアミン部位、(4)PCP(phencyclidine)部位、(5)Mg²⁺部位、(6)Zn²⁺部位と呼ばれる複数のサブコンポーネントから構成されている。これらのサブコンポーネントは、NMDAレセプター複合体と総称される(Fig. 2)。NMDA部位は、伝達物質として働くグルタミン酸が結合する部位である。グリシン部位、ポリアミン部位は、イオンチャンネルの解放を促進する正の調節部位である。また、PCP部位、Mg²⁺部位はイオンチャンネル内に、Zn²⁺部位はイオンチャンネル外に存在し、それぞれイオンチャンネルの解放を抑制する。

ここで、グルタミン酸レセプターに作用する薬物（アゴニスト、アンタゴニスト）について触れることにしよう。各レセプターの主要なアゴニスト、アンタゴニストをTable 1にまとめた。NMDAアンタゴニストは、NMDA部位に結合することによって、伝達物質であるグルタミン酸のNMDA部位への結合を阻害する競合的アンタゴニストと、イオンチャンネル内（特にPCP部位）に結合し、イオンの流入を妨害する非競合的アンタゴニスト¹²に大別される(Fig. 2)。

¹¹ 以前はキスカル酸(quisqualate)型と呼ばれたが、キスカル酸よりもAMPAの方がこのレセプターに対する反応性が強いということが近年になって分かったため、現在ではAMPA型と呼ばれることが多くなった。

¹² 厳密には、グリシン部位、ポリアミン部位などNMDA部位以外に結合するアンタゴニストのすべてが非競合的アンタゴニストであるといえるが、NMDAレセプターの場合、特にイオンチャンネル内（さらに狭義ではPCP部位）に結合するアンタゴニストのことを非競合的アンタゴニストと呼ぶことが多い。

Table 1. グルタミン酸レセプターに作用する薬物。
代謝型グルタミン酸レセプターはここでは取り上げなかった。(+)で
表した部位は正の調節部位、(-)で表した部位は負の調節部位である。

	Agonist	Antagonist	略称	正式名
NMDA receptor	NMDA	D-AP5	AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid
	NMDA site (+)	D-AP7 CPP CGS 19755 CGP 37849 quinolinat	AP5 AP7 CGS 19755 CGP 37849 CNOX	2-amino-5-phosphonopentanoic acid 2-amino-7-phosphonoheptanoic acid <i>cis</i> -4-phosphonomethyl-2-piperidine carboxylic acid (<i>E</i>)-2-amino-4-methyl-5-phosphono-3-pentanoic acid 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione
PCP site (-)		NPC 12626 PCP MK-801 TCP ketamine 7-ClKYNA KYNA HA-966 DCOX MNOX 5,7-DCKYNA CNOX DNOX ifenprodil SL 82.0715 Mg ²⁺ Zn ²⁺	CPP 5,7-DCKYNA DCQX DNQX HA-966 MK-801 MNOX NMDA NPC 12626 PCP 7-ClKYNA SL 82.0715 TCP	3-(2-carboxypiperazin-4-yl)-propyl-1-phosphonic acid 5,7-dichlorokynurenic acid 6,7-dichloroquinoxaline-2,3-dione 6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione 3-amino-1-hydroxy-2-pyrrolidone 5-methyl-10,11-dihydro-5 <i>H</i> -dibenzo[<i>a,d</i>]-cyclohepten-5,10-imine 5,7-dichlorokynurenic acid <i>N</i> -methyl-D-aspartate
	glycine site (+)	glycine D-serine D-alanine D-cycloserine		
polyamine site (+)	spermidine spermine			
	Mg ²⁺ site (-) Zn ²⁺ site (-)			
AMPA receptor	AMPA	NBOX CNOX DNOX		
Kainate receptor	kainate L-glutamate L-aspartate L-homocysteic acid	NBOX CNOX DNOX		

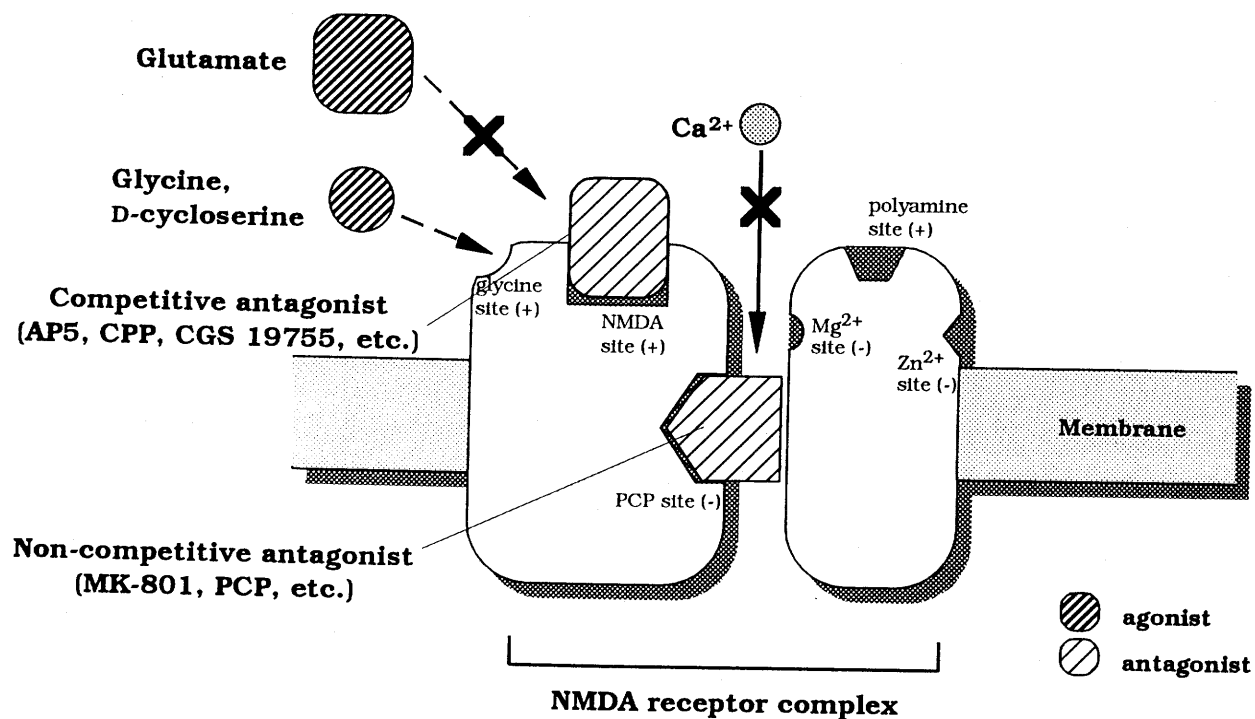


Fig. 2. NMDAレセプター複合体。

NMDAレセプターは、NMDA部位、グリシン部位、ポリアミン部位、PCP部位、Mg²⁺部位、Zn²⁺部位と呼ばれる複数のサブコンポーネントから構成され、複合体を形成している。(+)で表した部位 (NMDA部位、グリシン部位、ポリアミン部位) は正の調節部位であり、NMDAレセプターの活動を促進する。逆に、(-)で表した部位 (PCP部位、Mg²⁺部位、Zn²⁺部位) は負の調節部位として働き、NMDAレセプターの活動を抑制する。

2. グルタミン酸レセプターと長期増強

近年の研究によって、海馬の LTP にはグルタミン酸レセプターが関与していることが明らかにされてきている。グルタミン酸レセプターは、NMDA 型、非 NMDA 型、代謝型に大別されるが、LTP の誘発(induction)には NMDA 型、発現(expression)・維持(maintenance)には非 NMDA 型が関与しているものと考えられている。

Harris, Ganong & Cotman (1984)は、AP5、AP7 が LTP の誘発を阻害することを明らかにしている。同様に、CPP (Abraham & Mason, 1988)、MK-801 (Abraham & Mason, 1988; Coan, Saywood & Collinglidge, 1987)、PCP (Stringer, Greenfield, Hackett & Guyenet, 1983)なども LTP の誘発を阻害するということが分かっている。以上の実験結果は、NMDA レセプターが LTP の誘発に関与しているということを示唆している。また、NMDA レセプターが海馬 (特に CA1 領域) に最も多いという結果(Monaghan & Cotman, 1985)も、海馬の LTP にとって NMDA レセプターが重要であるということを示唆している。

また、Muller, Joly & Lynch (1988)は、DNQX の存在する溶液内で、海馬にテタヌス刺激を与えると LTP が発現しないが、続けて DNQX を除去するとテタヌス刺激を与えない状態で LTP が発現するということを見いだした。これは、非 NMDA レセプターが LTP の発現・維持に関与しているということを示唆するものである。また、非 NMDA レセプターが海馬に多く存在しているという知見(Monaghan, Yao & Cotman, 1984; Rainbow, Wiczorek & Halpain, 1984; Unnerstall & Wamsley, 1983)も、非 NMDA レセプターが海馬の LTP に関係しているということを間接的に支持している。

以上のように、海馬の LTP にはグルタミン酸レセプターが関係していることが明らかになってきた。以下に、LTP の生理的メカニズムについ

て簡単に概略する (Collingridge & Bliss, 1987; 工藤, 1992; 小澤, 1988)。

テタヌス刺激提示前は、NMDA レセプター複合体のイオンチャンネルは、 Mg^{2+} によって遮断されている。このため、通常の低頻度刺激によってシナプス終末から放出されるグルタミン酸は、非 NMDA レセプターのイオンチャンネルを活性化させることによって、シナプス電位を生じさせる。

ところが、テタヌス刺激が加えられると、大量のグルタミン酸が放出され、シナプス後膜が興奮、脱分極する。そして、NMDA レセプターのイオンチャンネル内に結合している Mg^{2+} による抑制が解除され、 Ca^{2+} がシナプス後細胞内に流入する。これが契機となり、蛋白質リン酸化酵素 (protein kinase C、calmodulin 依存性 protein kinase II)、リン脂質分解酵素 (PLA2、PLC)、蛋白質分解酵素(calpain I)、細胞内伝達系が賦活化する。その結果、シナプス後膜上のレセプター、イオンチャンネルに変化が生じたり、遺伝子発現が活性化したりすることにより、LTP が誘発される。さらに一酸化窒素、アラキドン酸などの逆向性伝達物質がシナプス前膜に作用したり、シナプス後膜の蛋白がリン酸化などの分子修飾を受けたりすることによって、伝達物質放出量の増大やチャンネル機能の促進が起り、LTP が維持される。このとき、グルタミン酸レセプター、特に非 NMDA レセプターのイオンチャンネルの開口率が上昇することが知られている。

3. NMDA レセプターと学習・記憶

NMDA レセプターが海馬の LTP に深く関わっているという知見をもとに、NMDA レセプターと学習・記憶との関係が行動的にも調べられるようになってきた。これらの行動研究の多くは、海馬の正常な機能を必要

とする学習課題、例えば、受動的回避課題(Danysz, Wroblewski & Costa, 1988; Venable & Kelly, 1990)、DRL 課題(Tonkiss, Morris & Rawlins, 1988; Welzl, Berz & Bättig, 1991)、嗅覚弁別課題(Staubli, Thibault, DiLorenzo & Lynch, 1989)などを用いている。前述のように海馬と空間的記憶の間に深い関連が認められていることから、放射状迷路課題(Butelman, 1989; Danysz et al., 1988; Lyford & Jarrard, 1991; Ward, Mason & Abraham, 1990)、Morris 型水迷路課題(Heale & Harley, 1990; Morris, 1989; Morris, Anderson, Lynch & Baudry, 1986; Morris, Halliwell & Bowery; 1989)などの空間的課題を用いたものが特に多く行われている。本項では、これらの行動的研究について概観する。

NMDA レセプターと学習・記憶との関係を行動的に初めて明らかにしたのは、Morris et al. (1986)の研究である。彼らは、AP5 脳室内投与が Morris 型水迷路課題遂行にどのような影響をもたらすかを調べた。彼らは、Morris 型水迷路の空間的課題、視覚的弁別課題の両方について AP5 の効果を調べたが、AP5 は空間的課題の習得のみに選択的な障害を及ぼすことが見いだされた。海馬の正常な機能が必要とされる空間的課題の習得のみに障害が認められたということから、NMDA レセプターは、海馬を必要とした学習・記憶にとって重要であるということが示唆される。同時に彼らは、AP5 投与を行ったラットは海馬の LTP が誘発しないということを見いだしている。この結果は海馬が関与している記憶成分に LTP が関わっているということの間接的証拠となる。

また、Morris (1989)は、Morris 型水迷路課題習得後に、AP5 脳室内投与を行い、空間的学習の保持に対する AP5 の効果を調べたところ、AP5 はこの学習の保持には影響を与えないということを見いだしている。この結果は、NMDA レセプターは記憶の保持・検索過程には関与していない

ということを示唆している。また、AP5 が学習の習得過程にのみ影響し、保持には影響しなかったという結果は、NMDA レセプターが LTP の発現・保持過程ではなく、誘発過程に関与しているという知見を支持している。

また、NMDA アンタゴニストは、放射状迷路課題の遂行(Butelman, 1989; Danysz et al., 1988; Ward et al., 1990; Wozniak, Olney, Kettinger, Price & Miller, 1990)や受動的回避学習(Danysz et al., 1988; Venable & Kelly, 1990)などにも影響を与えることが知られている。

例えば、Danysz et al. (1988)は、AP5 脳室内投与、および CPP、PCP 腹腔内投与が放射状迷路課題の遂行を妨げるということを報告している。また、Ward et al. (1990)は、次の3つの手続きを用いて、放射状迷路課題遂行に対する PCP、MK-801 腹腔内投与の効果調べた。第1に、薬物投与後に8つの選択肢を連続で選択させる手続きが用いられ、PCP、MK-801 ともにこの課題の遂行を障害するということが分かった。第2に、第4正選択終了後に1時間の遅延時間を置き、その後残りの4選択肢を選択させる手続きが用いられた。その結果、PCP は遅延時間後の誤選択数を増加させるが、MK-801 は誤選択数に影響を与えないということが分かった。第3に、4/8 手続きを用いてこれらの薬物の作業記憶、参照記憶への影響を調べた。その結果、CPP は作業記憶エラー、参照記憶エラーの両方を増加させるが、特に作業記憶エラーをより多く増加させる傾向にあった。一方、MK-801 はどちらのエラーも増加させたものの、その増加は有意なものではなかった。

受動的回避課題も海馬損傷による影響を受けやすい課題であり、このため NMDA レセプターに関する研究にもよく用いられる課題である。また、この課題は、ある実験的処置がもたらした記憶障害が、記銘障害、

検索・保持の障害のどちらに基づくものなのかということ調べるのにしばしば用いられる課題である。この課題では、被験体はまず装置内の電撃提示地点と近接した安全な区画に置かれ、その後、被験体が電撃提示地点に移動した場合、その場で電撃が与えられるという課題である。したがって、被験体には、安全区画から動かずにその場で留まっていることが要求される。この課題は、習得試行と保持テストの2回の試行に分けて行われ、両試行の反応潜時（電撃区画に移動するまでの時間）、および電撃区間での滞在時間が学習の指標として用いられる。習得試行前に（あるいはそのすぐ直後に）投与した薬物がその後の成績に影響した場合、その薬物は記憶に作用したと考えられる。一方、習得試行後に投与した場合に薬物効果が認められた場合、薬物は検索・保持過程に影響したといえることができる。したがって、NMDA レセプターが記憶過程に関与しているならば、NMDA アンタゴニストを課題習得時に投与した場合に保持テストの成績が低下するはずである。この仮説はいくつかの研究によって証明されている(Jerusalinsky, Ferreira, Walz, da Silva, Bianchin, Ruschel, Zanatta, Medina & Izquierdo, 1992; Venable & Kelly, 1990)。

これらの行動研究においては、その簡便さゆえに、レセプターに作用する薬物を末梢投与、脳室内投与したものが主体となっている。しかし、これらの投与方法では、脳全体に薬物が浸透するため、ある特定の脳部位のレセプターの機能について正確に議論することはできない。実際、NMDA レセプターは、前頭皮質、扁桃核、尾状核、中隔、側坐核といった海馬以外の部位にも広範に分布している(Monaghan & Cotman, 1992)。また、感覚、運動などにも障害が行き及ぶ可能性も大きくなるため、薬物の効果を学習・記憶機能への効果に帰属することが困難である。NMDA アンタゴニストの脳室内投与や末梢投与によってもたらされる効果が、

海馬損傷の結果と異なっているということを示唆する研究もいくつかある。例えば、Lyford & Jarrard (1991)は、次のような2種類の放射状迷路課題(Jarrard, 1986)を用いて、CPP 腹腔内投与の効果調べた。1つは、一般的に用いられている手続きであり、課題解決に空間的手がかりに対する記憶が必要とされる空間的課題である。もう1つは、手がかり課題と呼ばれる課題である。この課題では、迷路の周囲がカーテンで隠されるため、課題解決に空間的手がかりについての記憶は必要とならない。その代わりに、選択肢の入り口に様々な触覚的な手がかりが置かれており、この手がかりに対する記憶が必要とされる。海馬損傷は空間的課題の遂行を大きく障害するが、手がかり課題の遂行はあまり障害しないということが知られているが(Jarrard, 1986)、CPP は両方の課題遂行に大きな障害をもたらした。もし記憶機能に関与しているのが海馬のNMDAレセプターのみならば、CPP は空間的課題に選択的な障害を及ぼすはずである。したがって、海馬以外のNMDAレセプターも記憶機能に大きく関わっており、末梢投与による薬物効果から得られる結果を、海馬のNMDAレセプターの機能のみから解釈するのは危険である。

さらに、薬物を末梢投与した場合の効果と、脳室内投与した場合の効果が異なるということを示唆する結果もある。Gutnikov & Rawlins (1996)は、非空間的な遅延見本合わせ(delayed matching-to-sample; DMTS)課題を用い、CGP-37849 腹腔内投与の効果調べたところ、CGP-37849 は、AP5 脳室内投与の場合(Lyford, Gutnikov, Clark & Rawlins, 1993)と同様に課題遂行を障害したが、その障害の様相はAP5 脳室内投与の場合とは若干異なっていた。このことは、脳室内投与よりも末梢投与の方が、薬物の作用領域が広いということを示唆する。

上記のような薬物の非特異的作用による解釈の混乱を避けるため、よ

り近年になって、薬物のある特定の脳部位（特に海馬）に局所投与した研究もいくつか行われるようになった。例えば、AP5 の海馬内投与によって、Morris 型水迷路課題(Morris et al., 1989)、受動的回避課題(Jerusalinsky et al., 1992)の習得が障害されるということが見いだされている。また、AP5 嗅内皮質内投与が受動的回避課題の遂行を障害するという報告(Jerusalinsky et al., 1992)、AP5 扁桃体内投与が条件性恐怖反応の習得を障害するという報告(Falls, Miserendino & Davis, 1992; Miserendino, Sananes, Melia & Davis, 1990)、AP5 線条体内投与によって自発的交替反応は障害されるが、放射状迷路課題の遂行は障害されないという報告(Hauber & Schmidt, 1989)などもある。しかしながら、脳内局所投与を用いた研究はまだ数が少なく、今後の研究が望まれるところである。

ここまで述べた研究は、NMDA アンタゴニストを投与し、その直後の即時的効果、つまり NMDA レセプター遮断の効果を調べたものであるが、新生仔期に NMDA アンタゴニストを反復投与し、成育後における効果を調べた研究もある。Gorter, Veerman & Mirmiran (1992)は、MK-801 を新生仔期（8～19 日齢時）に反復的に投与し、被験体の成育後に、NMDA 投与によって起こる海馬の興奮性電位を測定し、この反応に対する NMDA アゴニスト、アンタゴニストの効果を検討した。その結果、MK-801 を投与した被験体は、この興奮性電位に対する AP5 の抑制能が強まるということが分かった。また、この電位に対するグルタミン酸の亢進作用も、わずかながら強まっている。この結果は、NMDA レセプターの慢性的な遮断によって、NMDA レセプターの機能が障害されたということの意味する。しかも、アゴニスト、アンタゴニストの作用を増強することから、この機能障害はレセプター機能を抑制したことによるものではなく、む

しろ亢進したことによるものであると考えられる¹³。また、Gorter, Titulaer, Bos & Huisman (1991)は、MK-801 新生仔期反復投与 (8~19 日齢時) が、海馬キンドリング¹⁴によるけいれん発作の誘発を促進するということを報告している。このけいれん発作の誘発に NMDA レセプターが関係していることから考えると、この知見からも MK-801 反復投与が NMDA レセプターの機能亢進をもたらすということが示唆される。さらに、Gorter & de Bruin (1992)は、MK-801 を新生仔期反復投与 (8~19 日齢時) したラットに Morris 型水迷路課題の習得訓練を行った。その結果、MK-801 投与によって課題の習得が遅れるということが見いだされた。この結果は、NMDA レセプターの機能が抑制された場合のみでなく、過剰亢進した場合においても空間的記憶が阻害されるということを示唆するものである。NMDA レセプター遮断、つまりレセプター機能の抑制によって記憶が阻害されるという報告は数多いが、レセプター機能の亢進によっても記憶が阻害されうるということは注目すべき点である。

¹³ Gorter ら自身は、この機能障害がレセプター機能の亢進であるということは明示していない。彼らは、この機能異常を NMDA レセプターの形態変化(configurational change) であると推測している。

¹⁴ 特定の脳部位 (海馬、扁桃体など) に定期的に電気刺激を与えることによって、てんかん様のけいれん発作を生じさせることができる。このような実験的処置のことをキンドリングと呼ぶ。また、このけいれん発作の発生メカニズムは、LTP とある程度共通したものであるとされており、少なくとも海馬においては、このけいれん反応の生起には LTP と同様、NMDA レセプターが関与しているといわれている。

第4節 本研究の目的

LTP は、シナプスの可塑的性質が最も典型的な形で表現された例であり、学習・記憶の生理的モデルの一種であると考えられている。また生理学的研究によって、海馬の LTP の誘発には、NMDA レセプターが関与しているということが分かってきた。特に、学習・記憶機能の中でも、空間的学習・記憶は海馬と関わりが深いということが知られていることから、NMDA レセプターが空間的学習・記憶に関連があるのではないかという仮説が生まれるようになった。この仮説に基づき、NMDA レセプターと空間的学習・記憶の関係が数多くの行動実験によって調べられるようになった。

しかし、従来の NMDA レセプターに関する行動研究の多くが、NMDA アンタゴニスト、アゴニストを末梢投与、脳室内投与したものがほとんどである。これらの投与方法は簡便ではあるものの、脳全体に薬物が浸透するため、ある特定の脳部位のレセプターの機能について正確に議論することはできない。また、感覚、運動などにも障害が行き及ぶ可能性も大きくなるため、薬物の効果を学習・記憶機能への効果に帰属することが困難である。そこで、脳内の NMDA レセプターの中でも、海馬の NMDA レセプターが空間的記憶にとって重要であるということを調べるために、NMDA アンタゴニスト、およびアゴニストを海馬内に局所投与し、その空間的記憶に対する効果を調べた（第2章）。

また、NMDA アンタゴニストを新生仔期に反復投与すると、成体期において海馬の NMDA レセプターに機能異常が生じることが明らかにされている。従来の研究では、NMDA アンタゴニスト投与直後に学習課題を行わせ、その記憶阻害効果を調べた研究が主体であった。これらの研究

は、NMDA レセプターの遮断、つまり NMDA レセプター機能の抑制の効果を調べたものである。一方、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与によって起こる機能異常は、レセプター機能の過剰亢進であり、レセプター遮断による機能異常とは逆方向の異常であるといえる。そこで、本研究ではこれらの知見をもとにして、空間的記憶に対する NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果を調べた（第 3 章）。

第2章

ラットの空間的記憶に及ぼす NMDA アンタゴニスト・アゴニスト単回投与の効果

海馬がある種の学習・記憶に深く関わっているということが古くから知られている。中でも、空間的記憶は海馬の重要な機能として知られており、放射状迷路は動物の空間的記憶能力を測定するのに適した装置の一つとして用いられている。

本章は、放射状迷路を使った2つの課題（放射状迷路課題、場所非見本合わせ課題）を用いて、空間的記憶に対する、海馬内のNMDAレセプターの役割を調べることを目的とした。本研究では、NMDAアゴニスト、アンタゴニストを課題遂行前に海馬内投与することによって、末梢投与、脳室内投与よりもより正確に海馬内のレセプターの機能について推論することが可能となった。

本章では、まず、NMDAアンタゴニストのオープンフィールド行動に対する効果を調べた（第1節）。続いて、放射状迷路課題遂行（第2節）、場所非見本合わせ課題遂行（第3節）に対するNMDAアンタゴニスト、アゴニストの効果が調べられた。

第1節 ラットのオープンフィールド行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト単回投与の効果

放射状迷路行動に対する効果を調べるに先立ち、NMDA アンタゴニスト海馬内投与後のオープンフィールド活動性を測定することによって、NMDA アンタゴニスト海馬内投与が一般活動性にどのような影響を及ぼすか調べた。

1. ラットのオープンフィールド行動に及ぼす競合的 NMDA アンタゴニスト単回投与の効果 (実験1) (Kawabe, Ichitani & Iwasaki, 1998)

本実験は、NMDA アンタゴニスト(AP5; 2-amino-5-phosphonopentanoic acid)の海馬内微量投与による一般活動性への影響を測定し、以降の実験で用いる AP5 の用量を決定することを目的とした。

方 法

被験体 Wistar-Imamichi 系の雄ラットを 8 匹用いた。実験開始時において約 4 ヶ月齢で、体重は平均 436 (SD=31) g であった。実験期間中は、12 時間サイクルの明暗周期で飼育し (明期 8:00~20:00)、餌・水は自由摂取させた。

装置 行動自動解析装置 (BTA-1; 室町機械) を用いた。この装置は、床 50×50cm、高さ 60cm のオープンフィールド状のフォトセル装置であった。フォトセルは、床上 3.3cm のところに縦横にそれぞれ 24 個、また床上 12cm のところには 2cm の間隔で縦に 24 個配置されていた。フォトセルから放射されるビームがカットされることにより被験体の水平位置を検

出し、被験体の水平位置が 0.3 秒以内に 2cm 以上移動した場合を移動活動とみなしこれを測定した。また被験体が床から 12cm 以上伸び上がった場合を立ち上がり反応とみなし、これを測定した。装置床面の照度は、180 lx であった。

薬物 D,L-AP5 を生理食塩水(SAL)に 20, 40, 60, 80 mM の割合で溶解した。AP5 または SAL の投与は左右の海馬に片側ずつ継時的に行った。AP5 溶液を、カニューレの先端より 1 mm だけ突き出した注射針を介して、マイクロシリンジポンプ(EP-60; EICOM)によって 1 μ l/min の投与速度で一側あたり 2 μ l 投与した。

手続き

(1)手術

被験体を sodium pentobarbital(45mg/kg i.p.)で麻酔した。その後 Paxinos & Watson (1986)に従い、頭蓋を水平にした状態で、脳定位固定装置を用い bregma を基準として AP -3.8、LM \pm 2.7、DV (頭蓋表面より) -2.7 の位置にガイドカニューレを差し込み、デンタルセメントで固定した。

(2)一般活動性測定

術後 1 週間の回復期をおき、装置内馴化を 3 日間行った。被験体を装置中央に置き、15 分間にわたって装置内を自由探索させた。装置内馴化の翌日から、一般活動性の測定を行った。薬物投与の 10 分後に装置の中央に被験体を投入し、15 分間にわたって移動活動量と立ち上がり反応数を計測した。移動活動量および立ち上がり反応数の検出・記録は、マイクロコンピュータ(PC-9801VM; NEC)で制御した。薬物条件は、SAL 投与条件と AP5 20, 40, 60, 80mM 投与条件の 5 条件であり、各被験体がランダムな順序でこれらの条件を 1 回ずつ受けるようにした。直前に投与した薬物の影響を避けるために、薬物投与の間隔は最低でも 1 日以上あけた。

(3)組織学的検索

実験終了後、sodium pentobarbital によって被験体を深麻酔し、開胸後左心室より 10% formalin 液を灌流して脳を取り出した。さらに、この脳を 10% formalin 液で固定した後、脳の前額断標本を作り薬物投与用の注射針の挿入位置を確認した。

結果・考察

組織学的検索の結果を Fig. 3 に示した。すべての被験体について、注射針の先端が海馬内に挿入されていることが確認された。

移動活動量の 5 分ごとの変化を Fig. 4A に示した。薬物条件と時間経過の 2 要因の分散分析を行ったところ、時間経過に伴い活動量が有意に減少した [$F(2,14)=23.99, p<.01$] が、薬物の主効果、および薬物条件と時間経過の交互作用は見られなかった。立ち上がり反応数の 5 分ごとの変化を Fig. 4B に示した。2 要因の分散分析を行ったところ、時間経過に伴い立ち上がり反応は有意に減少する [$F(2,14)=15.63, p<.01$] が、薬物の主効果、および薬物条件と時間経過の交互作用は見られなかった。以上の結果から、AP5 20~80mM の海馬内投与は移動活動量、立ち上がり反応数の両者に顕著な影響を及ぼさないと考えられる。

しかし、薬物を投与した被験体の中には、平衡感覚を乱して歩行が困難になったものが見られた。この運動障害は、AP5 60mM 投与条件のうち 1 匹、80mM 投与条件のうち 2 匹に見られた。

以上の結果より、AP5 の海馬内投与は一般活動性には大きな影響をもたらさないことが分かったが、60mM 以上の AP5 を投与した場合、一部の被験体に顕著な運動障害が見られたため、以降の実験では 20mM と 40mM の AP5 溶液を用いることにした。

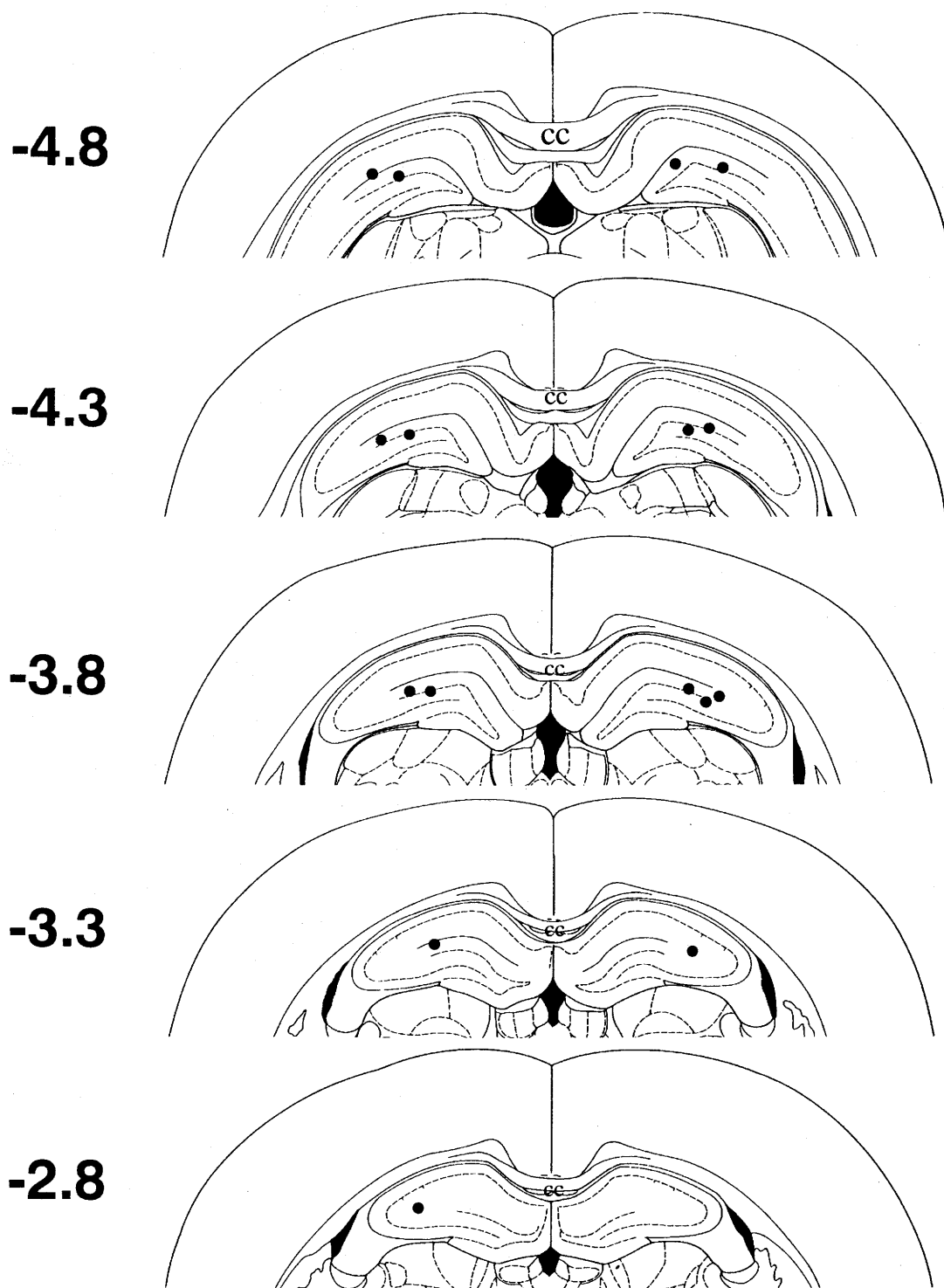


Fig. 3. 実験1の組織学的検索の結果。

黒丸が刺入部位の先端部分の位置を示す。図の左の数字は、bregmaからの前後軸における距離(mm)を示す。cc = corpus callosum.

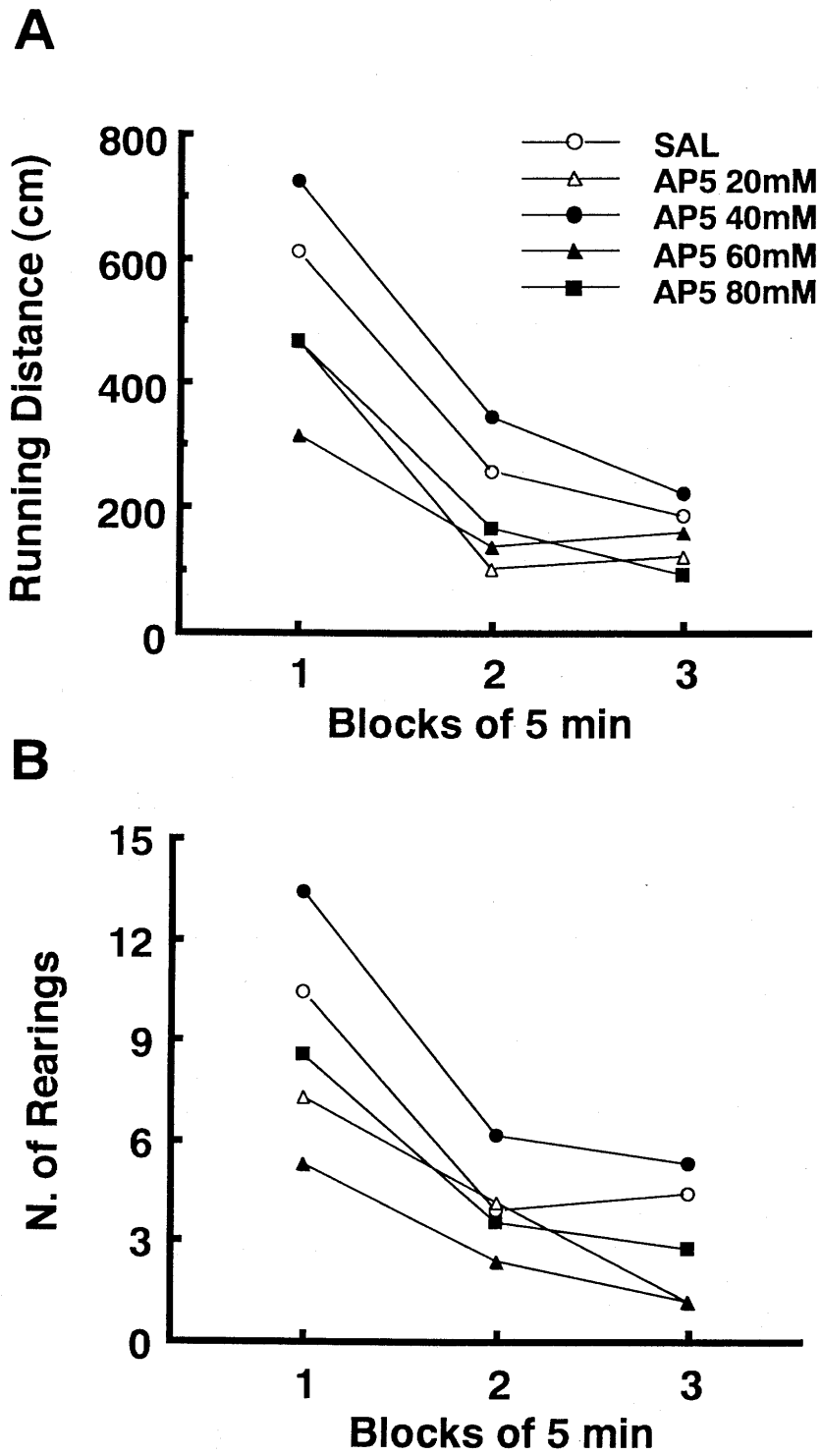


Fig. 4. オープンフィールド行動に及ぼすAP5海馬内投与の効果。
 移動活動量(A)、立ち上がり反応数(B)の5分ごとの推移を示した。生理食塩水(SAL)、AP5溶液(20, 40, 60, 80 mM)は、一側あたり2 μ lずつ投与した。

第2節 ラットの放射状迷路行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト・アゴニスト単回投与の効果

放射状迷路は、中央のプラットフォームから伸びた数本の選択枝を持つ迷路であり、放射状迷路課題は、この迷路の選択枝の先端に報酬を置き、選択枝を重複選択することなく報酬が置かれた選択枝すべてを選択させるという課題である。この課題を適切に遂行するためには、迷路外に置かれた空間的手がかりの配置関係に対する記憶を利用することが必要となる。この課題を適切に遂行するためには、海馬の正常な機能が必要とされるということが知られている(Olton & Papas, 1979; Olton, Walker & Gage, 1978; Jarrard, 1986)。したがって、海馬の NMDA レセプターの役割を調べるのに、適した課題の一つであるといえる。本節では放射状迷路課題を用いて、NMDA アンタゴニストおよびアゴニストの効果が調べられた。特に、これらの薬物を海馬内に直接微量投与することによって、従来用いられてきた薬物投与方法（末梢投与、脳室内投与）よりも、より正確に海馬内の NMDA レセプターの機能を論ずることを目的とした。

1. ラットの放射状迷路行動に及ぼす競合的 NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果（実験2）(Kawabe, Ichitani & Iwasaki, 1998)

本実験は、海馬損傷による影響を受けやすい課題として知られる放射状迷路課題を用い、NMDA アンタゴニストである AP5 の海馬内投与の効果を検討することを目的とした。

方 法

被験体 実験開始時に4~6ヶ月齢のWistar-Imamichi系雄ラットを14匹用いた。自由摂食時の体重は、平均411(SD=31)gであった。実験期間中は、体重を自由摂食時の80~85%に維持するよう食餌制限を行った。その他の条件は、実験1と同じであった。

装置 灰色の塩化ビニル製の高架式8方向放射状迷路を用いた(Fig. 5)。中央の八角形のプラットフォームの直径は33.5cmで、各選択肢の長さは60cm、幅は12cmであった。床から迷路底面までの高さは50cmであった。各選択肢の入口にはギロチンドアを取りつけた。選択肢の周りには被験体の落下を防ぐための高さ4cmの側壁を設けた。なお、選択肢の入口から12cmまでの側壁は、被験体がプラットフォームを経由せずに隣りの選択肢に飛び移るのを防ぐために高さを12cmとした。選択肢の先端には、報酬用の餌を置く窪み(直径3cm、深さ1cm)を設けた。プラットフォーム中央の照度は140lxであった。また、装置の置かれた実験室には、机、棚、黒板、行動観察用ケージなどが実験期間中を通して同じ位置に配置されており、豊富な迷路外手がかりを利用できる状況にあった(Fig. 6)。

薬物 D,L-AP5を20および40mMの割合でSALに溶解した。これらの薬物は実験1と同様の方法で投与された。

手続き

(1)習得訓練

ハンドリング、装置内馴化を3日間行った後、習得訓練を1日1試行を行った。習得訓練では、8本の選択肢の先端の穴に45mgの餌ペレットを1個ずつ置き、一度選択した選択肢の再選択を避けるように、すべて

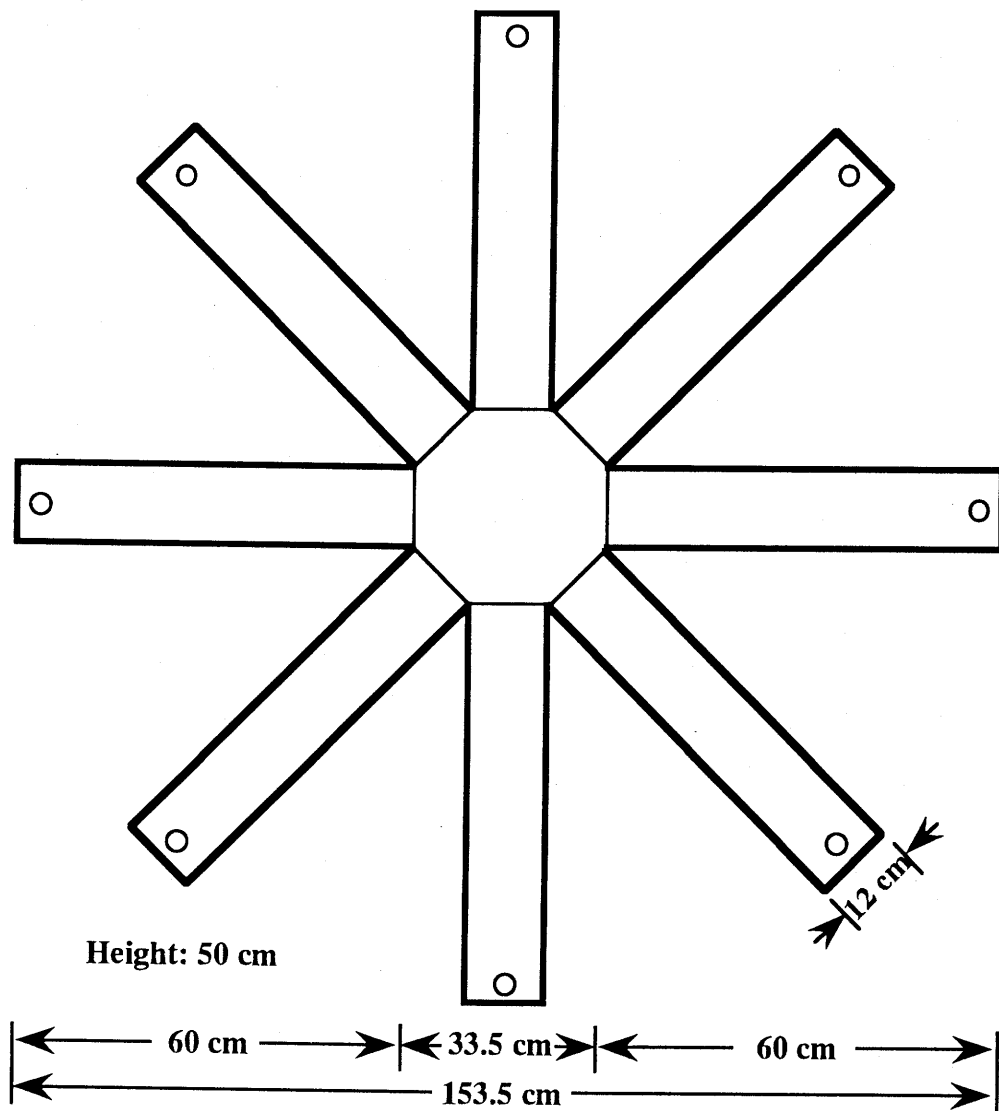


Fig. 5. 本研究で用いた高架式8方向放射状迷路。

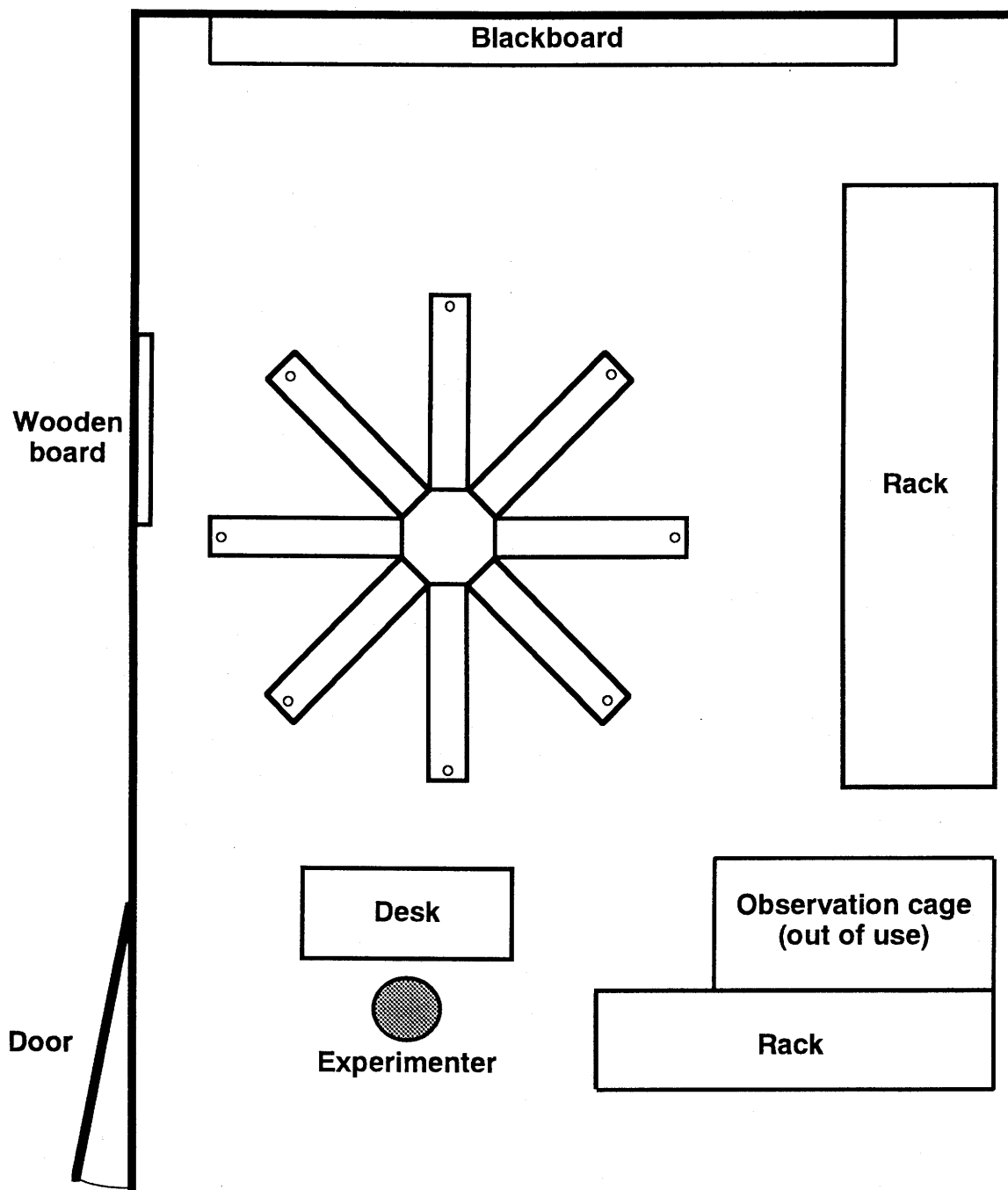


Fig. 6. 放射状迷路の配置と実験室内に存在する迷路外手がかり。

の選択肢を選択して餌を採ることをラットに学習させた。被験体をプラットフォームの中央に置いてから 5 秒後にすべての選択肢のギロチンドアを開け、試行を開始した。ラットの四肢が選択肢にすべて入った時を選択とみなし、すべてのギロチンドアを閉め、ラットがアームの先端に到達した時点でギロチンドアを開けた。被験体が選択肢の先端の餌を取り終え、プラットフォームにラットの四肢がすべて入ったときギロチンドアを閉め、この 5 秒後に再度すべてのギロチンドアを開け選択を行わせた。なお、その試行において一度も入っていない選択肢を選択することを正選択とし、既に選択した選択肢を重複選択することを誤選択とした。ラットがすべての餌を取り終えプラットフォームに戻ってきた時点、または試行開始から 10 分が経過した時点を試行の終了とした。最初の 8 選択中 7 選択以上が正選択であった試行が 5 試行連続することを習得基準とし、この基準に達するまで訓練を続けた。

(2)手術

習得訓練終了後、実験 1 と同様の方法で行った。

(3)再習得訓練

術後 1~2 週間の回復期をおいた後に、再習得訓練を開始した。この訓練の手続きおよび習得基準は習得訓練と同様であった。

(4)薬物テスト（保持テスト）

再習得訓練終了後、薬物テストを行った。薬物テスト日には、薬物投与を行い、その 20 分後より習得訓練と同様の試行を行わせた。薬物条件は、SAL、AP5 20mM、40mM の 3 条件とし、各被験体に 1 回ずつランダムな順で行った。薬物投与を行った翌日から薬物無投与の試行を 1 日 1 試行行い、最初の 8 選択中 7 選択以上が正選択である日が 2 日間連続することを確認した後に、次の薬物条件に移った。

(5)組織学的検索

実験 1 と同様の手続きで行った。

結 果

組織学的検索の結果を Fig. 7 に示した。すべての被験体について、注射針の先端が海馬内に挿入されていることが確認された。

放射状迷路課題を習得するまでに要した日数は、習得基準として用いた 5 日間を除き、平均 10.9 (SD=4.4) 日であった。また、手術後に放射状迷路課題を再習得するのに要した日数は、平均 1.5 (SD=1.8) 日であった。

Fig. 8A に各条件の保持テストにおける誤選択数の平均を示した。この図が示すように、薬物の用量に依存して誤選択数が増加する傾向が見られた。3 つの薬物条件を要因とした 1 要因の分散分析を行った結果、薬物投与により誤選択数は有意に増加することが分かった [$F(2,26)=4.65$, $p<.05$]。さらに Newman-Keuls 法による多重比較によって各条件間の比較を行ったところ、AP5 20、40mM 条件は SAL 条件より有意に誤選択数が多かった ($p<.05$)。また図から明らかなように、SAL 投与条件においても、薬物投与前日 (図中の Non-Drug) の成績と比べ、成績が低下する傾向が見られ、両者の成績を t 検定で比較したところ、有意な差が得られた [$t(13)=2.55$, $p<.05$]。

最初の 8 選択中に見られた正選択数の平均を Fig. 8B に示した。薬物の用量に依存してこの正選択数が減少する傾向がみられた。分散分析の結果、正選択数の減少は有意であることが分かった [$F(2,26)=5.70$, $p<.01$]。さらに、多重比較を行った結果、AP5 20 ($p<.05$)、40mM ($p<.01$) 条件は SAL 条件よりも有意に正選択数が少なかった。また、SAL 投与条件においても、薬物投与前日と比べ成績が低下する傾向があり、両者の成績を t

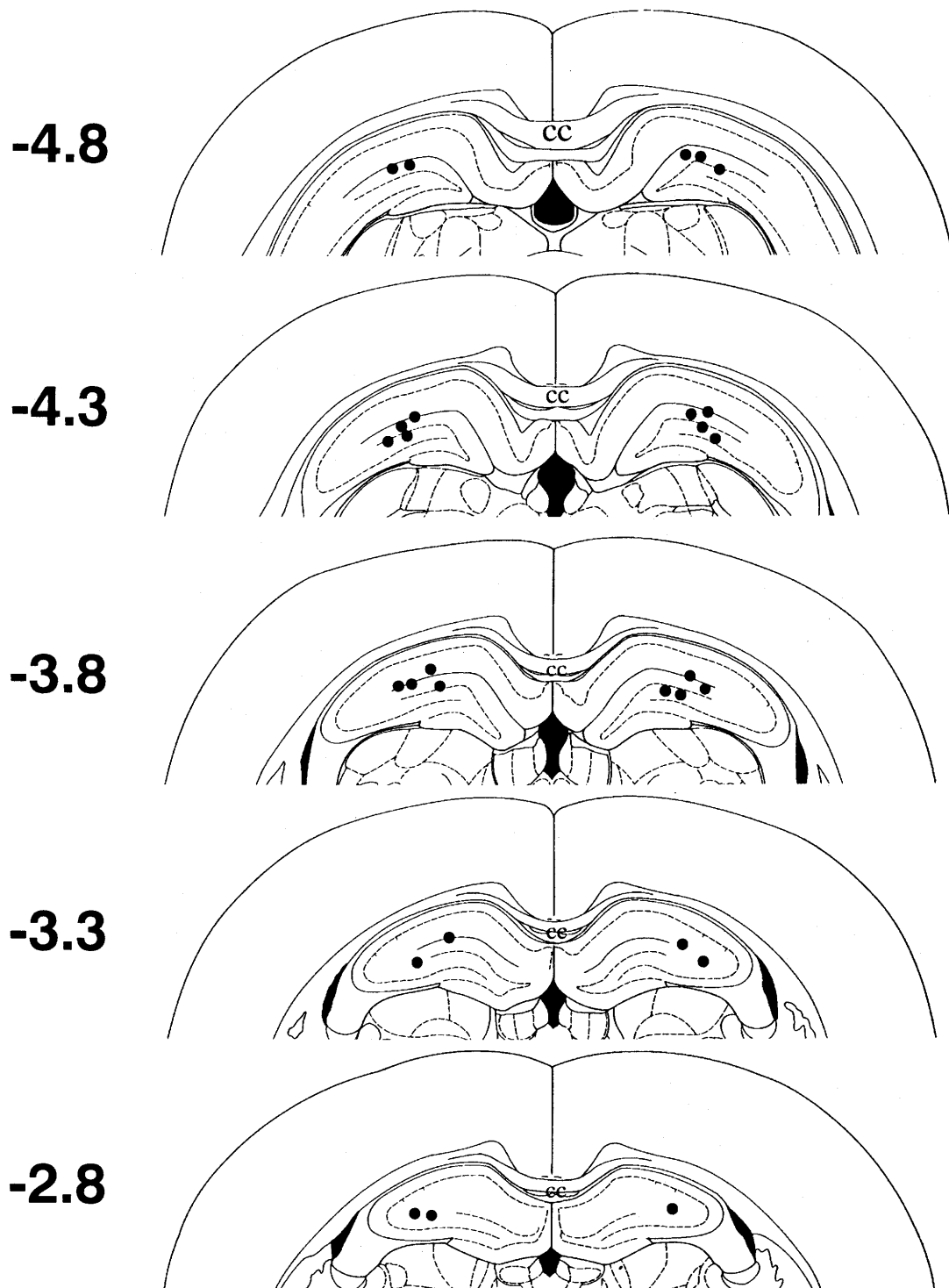


Fig. 7. 実験2の組織学的検索の結果。
 黒丸が刺入部位の先端部分の位置を示す。図の左の数字は、bregmaからの前後軸における距離(mm)を示す。cc = corpus callosum.

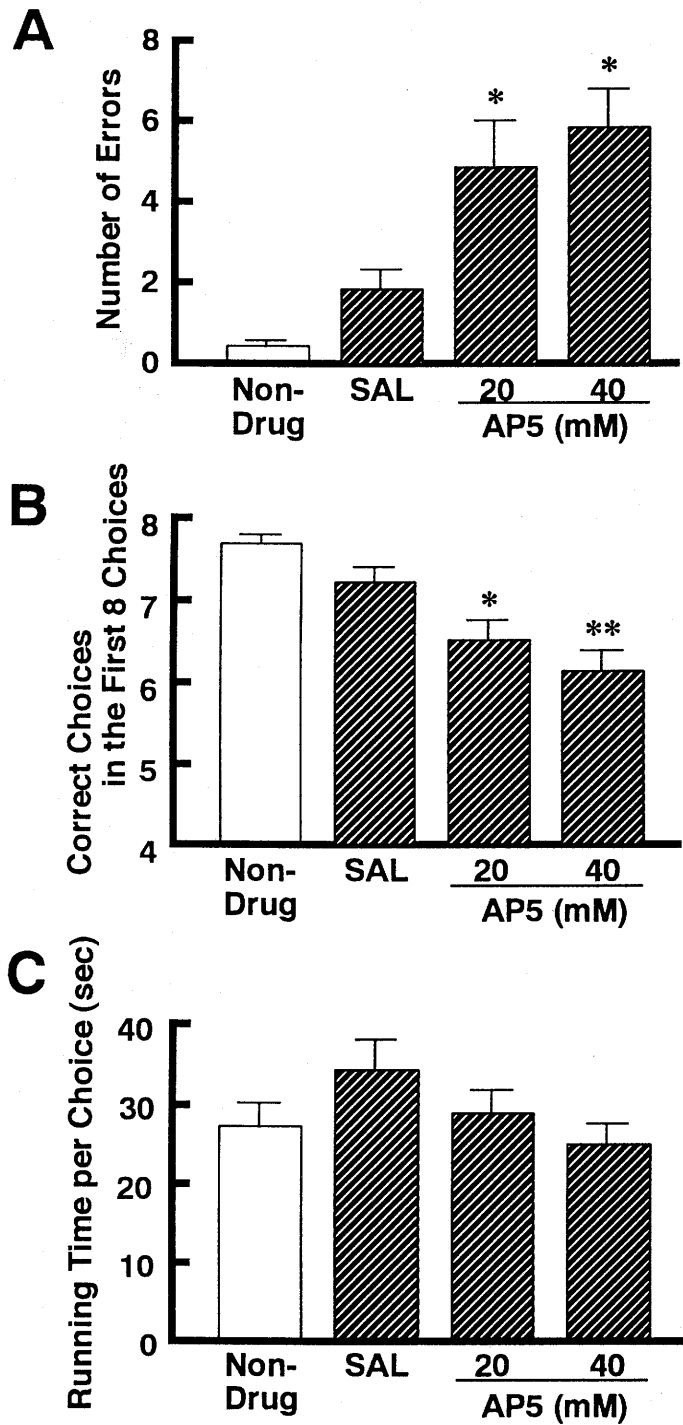


Fig. 8. 放射状迷路行動に及ぼすAP5海馬内投与の効果。

誤選択数(A)、最初の8選択中の正選択数(B)、1選択あたりの走行時間(C)を示した(\pm SEM)。生理食塩水(SAL)、AP5溶液(20, 40 mM)は、一側あたり $2\mu\text{l}$ ずつ投与した。図中のNon-Drugの値は、薬物投与前日の試行におけるそれぞれの値を平均したもの。* $p < .05$, ** $p < .01$ vs. SAL.

検定で比較したところ、有意な差が得られた[t(13)=2.38, p<.05]。

1 選択あたりの走行時間の平均を Fig. 8C に示した。この値は、(各試行での走行時間) / (その試行における総選択数) という式から求められた。なおこの走行時間には、各選択間で被験体をプラットフォームに閉じこめておいた 5 秒間は含まれていない。また、すべての選択肢を選択し終わらずに試行が終了した場合、その試行にかかった時間を 600 秒として計算した。図が示すように、薬物の用量に依存して走行時間が減少する傾向があった。しかし分散分析の結果、薬物条件間に有意差は認められなかった。なお、SAL 投与条件と薬物投与前日の走行時間を t 検定で比較したところ有意な差は見いだされなかった。また、薬物を投与した被験体の中に、平衡感覚を乱して歩行が困難になったものが見られた (AP5 20mM 条件 1 匹、40mM 条件 2 匹) が、選択反応そのものを妨げることはなかった。

考 察

AP5 の海馬内投与によって用量依存的に放射状迷路行動が障害されることが認められた。これは、NMDA アンタゴニストの脳室内投与・末梢投与が放射状迷路課題の遂行を障害するという結果(Butelman, 1989; Danysz et al., 1988; Lyford & Jarrard, 1991; Ward et al., 1990)と一致する。これらのことから、海馬内の NMDA レセプターが放射状迷路課題の遂行に重要な役割を果たしていることが示唆される。また本実験の結果は、AP5 の海馬内投与が Morris 型水迷路の習得を阻害したという結果(Morris, 1989)と合わせて考えると、海馬損傷動物で典型的に障害される(Morris et al., 1982; Olton et al., 1978; Olton & Papas, 1979)この種の空間的記憶課題の遂行にとって、海馬内の NMDA レセプターが非常に大きな役割を果たし

ているということの有力な証拠となる。また、本実験で用いた AP5 の用量は、海馬の LTP を阻害する用量(Morris et al., 1989)とほぼ一致することから、本実験の結果は海馬の LTP が空間的学習に深く関与しているということを示唆するものである。

一方、Hauber & Schmidt (1989)は、AP5 の線条体内投与は放射状迷路課題の遂行を障害しないことを明らかにしている。この結果と本研究の結果を比較すると、放射状迷路課題の遂行には、脳内でも特に海馬内の NMDA レセプターが重要であることが示唆されるであろう。

また、本実験では SAL 投与によっても、この行動が阻害されることが示された。マウスに SAL を海馬内投与し、放射状迷路を遂行させたとき(Guillou, Micheau & Jaffard, 1993)にも同様の結果が報告されており、おそらく脳内投与による組織の圧迫等の物理的な影響であろうと考えられる。このような影響を防ぐためには、投与する溶媒の体積や投与速度を減じるなどの解決策が必要とされよう。

また、走行時間については、AP5 投与によって大きな変化が生じなかったことから、放射状迷路行動の障害は感覚、運動、動機づけなどの障害による副次的なものというよりは、記憶過程に直接影響したものと考えた方がよいであろう。

2. ラットの放射状迷路行動に及ぼす非競合的 NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果 (実験 3)

本実験は、海馬損傷による影響を受けやすい課題として知られる放射状迷路課題を用い、非競合的 NMDA アンタゴニストである MK-801 の海

馬内投与の効果を検討することを目的とした。

方 法

被験体 実験開始時において4~6ヶ月齢のWistar-Imamichi系雄ラットを11匹用いた。自由摂食時の体重は平均 412 (SD=23) gであった。実験期間中は、体重を自由摂食時の80~85%に維持するよう食餌制限を行った。その他の条件は、実験1と同じであった。

装置 実験2と同様の高架式8方向放射状迷路を用いた。

薬物 MK-801を10および25 mMの割合でSALに溶解した。これらの溶液を、カニューレの先端より1 mmだけ突き出した注射針を介して、マイクロシリンジポンプ(EP-50; EICOM)によって0.5 μ l/minの投与速度で一側あたり2 μ l投与した。

手続き

(1)習得訓練

実験2と同様の習得訓練を行った。

(2)手術

習得訓練終了後、実験1と同様の方法で行った。

(3)再習得訓練

術後1週間の回復期をおいた後に、再習得訓練を開始した。この訓練の手続きおよび習得基準は習得訓練と同様であった。

(4)薬物テスト（保持テスト）

再習得訓練終了後、薬物テストを行った。薬物テスト日には、薬物投与を行い、その20分後より習得訓練と同様の試行を行わせた。薬物条件は、SAL、MK-801 10mM、25mMの3条件とし、各被験体に1回ずつランダムな順で行った。薬物投与を行った翌日から薬物無投与の試行を1

日1 試行行い、最初の8 選択中7 選択以上が正選択である日が2 日間連続することを確認した後に、次の薬物条件に移った。

(5)組織学的検索

実験1 と同様の手続きで、カニューレ挿入位置を確認した。

結 果

組織学的検索の結果を Fig. 9 に示した。すべての被験体について、注射針の先端が海馬内に挿入されていることが確認された。また、放射状迷路課題を習得するまでに要した日数は、習得基準として用いた5 日間を除き、平均8.9 (SD=4.4) 日であった。また、手術後に放射状迷路課題を再習得するのに要した日数は、平均0.8 (SD=1.3) 日であった。

Fig. 10A に各条件の保持テストにおける誤選択数の平均を示した。この図が示すように、薬物の用量に依存して誤選択数が増加する傾向が見られた。3つの薬物条件を要因とした1 要因の分散分析を行った結果、薬物投与により誤選択数は有意に増加することが分かった[F(2, 20)=12.18, $p<.01$]。さらに多重比較によって各条件間の比較を行ったところ、SAL 条件とMK-801 25 mM 条件の間に有意差がみられた($p<.01$)。またSAL 投与条件の成績と、薬物投与前日(図中の Non-Drug) の成績の差をt 検定で比較したところ、有意差は認められなかった。

最初の8 選択中に見られた正選択数の平均を Fig. 10B に示した。薬物の用量に依存してこの正選択数が減少する傾向がみられた。分散分析の結果、正選択数の減少は有意であることが分かった[F(2, 20)=6.55, $p<.01$]。さらに、多重比較を行った結果、SAL 条件とMK-801 25 mM 条件の間に有意差が得られた($p<.01$)。また、またSAL 投与条件の成績と、薬物投与前日(図中の Non-Drug) の成績の差をt 検定で比較したところ、有意差

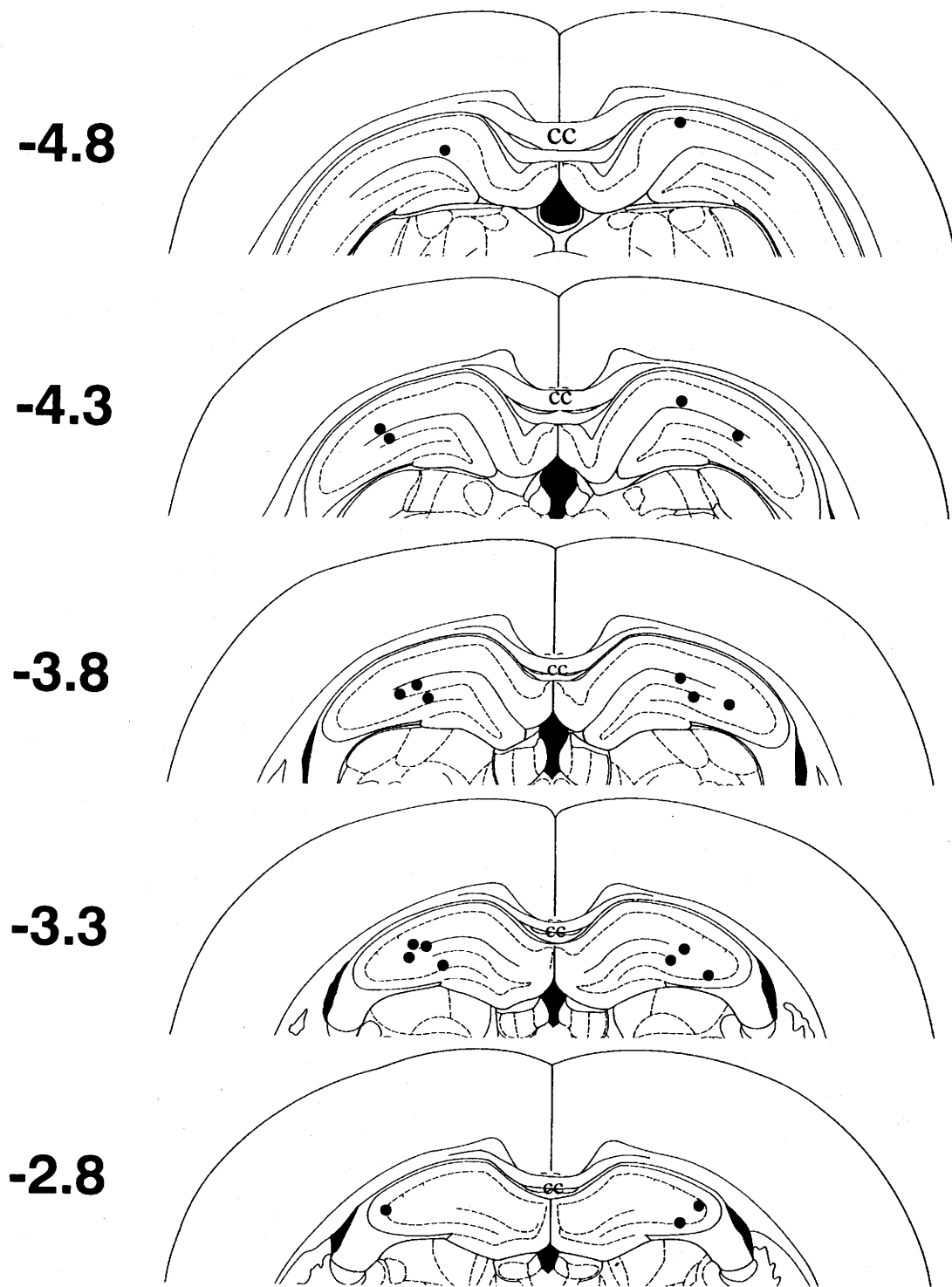


Fig. 9. 実験3の組織学的検索の結果。
 黒丸が刺入部位の先端部分の位置を示す。図の左の数字は、
 bregmaからの前後軸における距離(mm)を示す。cc = corpus
 callosum.

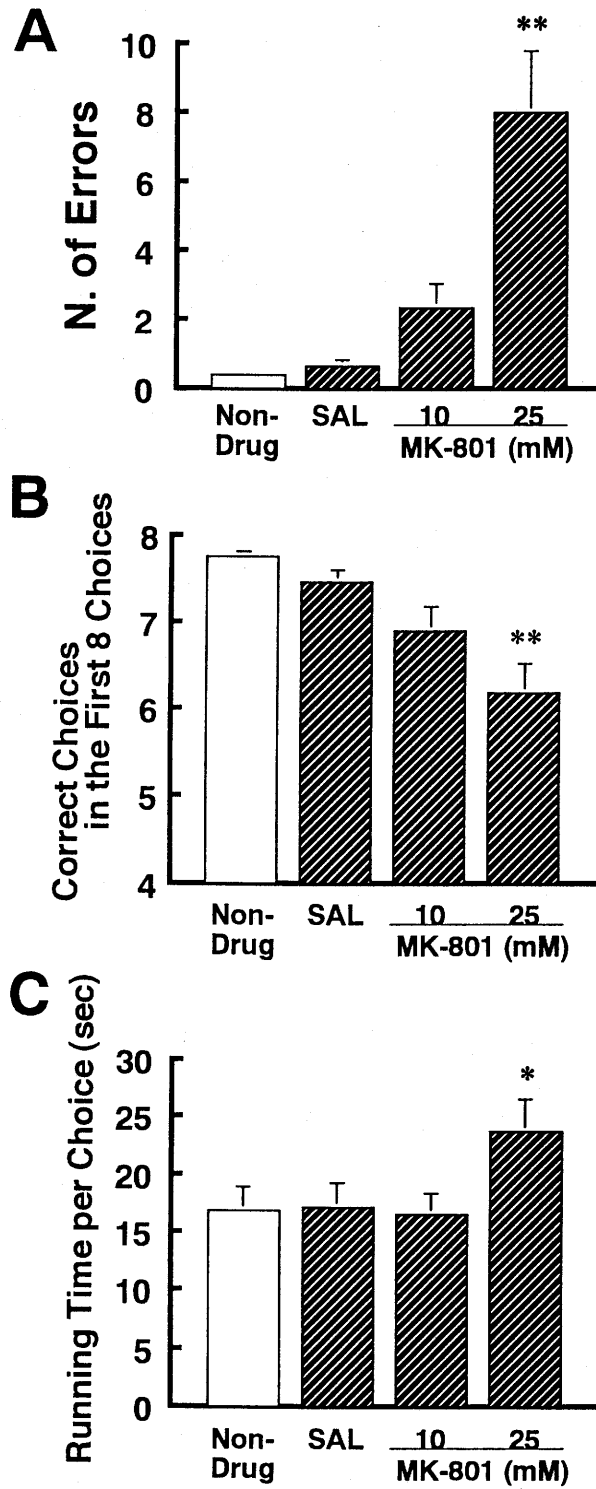


Fig. 10. 放射状迷路行動に及ぼすMK-801海馬内投与の効果。
 誤選択数(A)、最初の8選択中の正選択数(B)、1選択あたりの走行時間(sec)(C)を示した(\pm SEM)。生理食塩水(SAL)、MK-801溶液(10, 25 mM)は、一側あたり 2μ ずつ投与した。図中のNon-Drugの値は、薬物投与前日の試行におけるそれぞれの値を平均したもの。* $p < .05$, ** $p < .01$ vs. SAL.

は認められなかった。

1 選択あたりの走行時間の平均を Fig. 10C に示した。図が示すように、MK-801 25 mM 条件において、走行時間が増加する傾向があった。分散分析の結果、薬物条件間に有意差が認められた[F(2, 20)=4.50, $p < .05$]。多重比較の結果、MK-801 25mM 条件は SAL 条件より有意に走行時間が長いということが分かった($p < .05$)。なお、SAL 投与条件と薬物投与前日の走行時間を t 検定で比較したところ有意な差は見いだされなかった。また、MK-801 25 mM を投与した被験体のうち 6 匹に、餌をうまく食べられない、ふらつくといった顕著な行動障害が認められたが、いずれの被験体も選択反応自体は行うことができた。

考 察

MK-801 の海馬内投与によって用量依存的に放射状迷路課題の遂行が障害されることが認められた。これは実験 2 の結果とほぼ同様の結果であった。したがって、NMDA レセプター複合体内のイオンチャンネルを遮断した場合も、NMDA 部位を遮断した場合と同様に放射状迷路課題の遂行を阻害することが分かった。この結果から、AP5 海馬内投与の結果（実験 2）と同様、海馬内の NMDA レセプターが空間的記憶に重要な役割を果たしていることが再度示唆される。

AP5 が NMDA 部位に作用する競合的アンタゴニストであるのに対し、MK-801 はイオンチャンネルに結合する非競合的アンタゴニストである。このような作用機序の違いによって行動への影響が変化する可能性も考えられるが、本実験と実験 2 の結果を比較したところ、MK-801 の方が課題遂行（および一般行動）に対する効果が大きいという点以外はさほど大きな違いはないといえる。

また、AP5 の場合と同様、MK-801 を海馬内投与した場合にも顕著な非特異的行動障害が認められた。また、MK-801 の海馬内投与は走行時間の延長を引き起こした。これは、前述のように、記憶過程というよりも感覚、運動、動機づけなどその他の機能に薬物が影響を及ぼした可能性を示唆するものである。しかし、このような行動障害が見られなかった被験体においても課題遂行が明らかに障害されたことや、選択行動自体は妨げられなかったことは、MK-801 が記憶機能に直接作用した可能性を示唆するものである。

3. ラットの放射状迷路行動における作業記憶・参照記憶に及ぼす NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果（実験 4）

近年になって、人間の記憶を認知的にとらえようという動きが盛んになり、その動きが動物実験にも反映されるようになってきた。作業記憶－参照記憶と呼ばれる記憶機能も、この認知的立場をとる分類であり、動物実験においてもその応用が進められている。作業記憶とは、1 試行のみにしか有効でない記憶である。一方、参照記憶とは全試行にわたって有効な記憶である。

放射状迷路課題の遂行には、作業記憶と参照記憶の両方が必要であることが知られている。放射状迷路課題の場合、作業記憶とは「どの選択肢を選択したか（もしくは、選択していないか）」ということに関する記憶であり、参照記憶とは空間的手がかりの配置関係についての記憶や「一度選択した選択肢には、もはや報酬がおかれていない」というような課題の手続きに関する記憶である。

実験 2、3 によって、海馬内の NMDA レセプターが放射状迷路課題の遂行に関与しているということが明らかにされたが、この結果のみでは、この障害が作業記憶・参照記憶のどちらの障害によるものかは明確ではない。そこで、実験 3 では 4/8 手続きを用いることにより、作業記憶成分・参照記憶成分を分離し、海馬内の NMDA レセプターが作業記憶・参照記憶のうちどちらの記憶成分に関与しているか明らかにすることを目的とした。

方 法

被験体 実験開始時において約 3~6 ヶ月齢の Wistar-Imamichi 系雄ラット 17 匹を用いた。自由摂食時の平均体重は 378 (SD=39) g を用いた。その他の条件は実験 2 と同じであった。

装置 実験 2 と同じ 8 方向放射状迷路を用いた。

薬物 D,L-AP5 を 20 および 40mM の割合で SAL に溶解した。これらの薬物は実験 1 と同様の手続きで投与された。

手続き

(1) 習得訓練

ハンドリング、装置内馴化を 3 日間行った後、習得訓練を行った。習得訓練は、最初の 10 日間は 1 日 1 試行、それ以降は 1 日 2 試行を行った。試行間間隔(intertrial interval; ITI)は 15 分以上とした。この訓練では、8 本の選択肢のうちあらかじめ被験体ごとに決めておいた 4 本のみに餌ペレット(45 mg)を 1 個ずつ置き、もともと餌の置かれていない選択肢を選択せず、かつ一度選択した選択肢を再選択せずに、この 4 本の選択肢すべてを選択することをラットに学習させた。ラットが 4 つの報酬すべてを取り終えるか、試行開始から 10 分が経過した場合に試行を終了した。

11 日目以降の連続した 5 日間において、これらすべての試行（合計 10 試行）で最初の 4 選択中 3 選択以上が正選択であり、かつこのうちの 5 試行において最初の 4 選択すべてが正選択であることを習得基準とし、この基準に達するまで訓練を続けた。なお、90 試行行ってもこの基準に達しない被験体は以降の手続きから除外した。その他の手続きは、実験 1 の習得訓練と同じ手続きであった。

(2)手術

習得訓練終了後、実験 1 と同様の手続きで両側の海馬にガイドカニューレを差し込んだ。

(3)再習得訓練

手術から 1 週間経過後、再習得訓練を 1 日 2 試行行った。再習得訓練は、習得訓練と同様の手続きで習得基準まで行った。

(4)薬物テスト（保持テスト）

薬物テスト日には、薬物を投与してから 20 分後に習得訓練と同様の試行を行った。薬物条件は、SAL、AP5 20mM および 40mM 投与の 3 条件とし、各被験体に 1 回ずつランダムな順で行った。薬物投与を行った翌日から薬物無投与の試行を 1 日 2 試行行い、連続する 2 日間（合計 4 試行）において、最初の 4 選択中すべてが正選択である試行が 2 試行あり、残りの 2 試行が最初の 4 選択中 3 選択以上が正選択であることを確認した後に、次の薬物条件に移った。

(5)組織学的検索

実験 1 と同様の手続きで、カニューレ挿入位置を確認した。

結 果

被験体が課題を習得するのにかかった試行数は、習得基準として用いた 10 試行を除き 66.7 (SD=18.6) 試行であった。なお、90 試行経過しても習得基準に達しなかった 6 匹の被験体はこの試行数を 90 試行として計算したが、以下の分析には加えなかった。手術後の再習得にかかった試行数は、4.0 (SD=3.7) 試行であった。

組織学的検索の結果を Fig. 11 に示した。すべての被験体について、注射針の先端が海馬内に挿入されていることが確認された。

各薬物条件下のテストにおける誤選択数の平均を Fig. 12 に示した。図が示すように AP5 の用量に依存し、誤選択数が増加するという傾向が認められた。この結果について薬物条件を要因とした 1 要因の分散分析を行ったところ、有意な差は認められなかった。実験 2 と同様に、SAL 条件においても薬物投与前日と比べ、誤反応が増加する傾向があり、この傾向は有意であった [$t(10)=3.51, p<.05$]。

誤選択を作業記憶エラーと参照記憶エラーに分けた結果を Fig. 13 に示した。作業記憶エラー (Fig. 13A,B) は既に選択してしまった選択肢を再選択した回数であり、参照記憶エラー (Fig. 13C) は初めから報酬の置かれていない選択肢を選択した回数である。また、作業記憶エラーはもともと報酬が置かれていた選択肢を再選択したもの (baited; Fig. 13A) と、報酬が置かれていなかった選択肢を再選択したもの (unbaited; Fig. 13B) に二分した。作業記憶エラーは、AP5 投与によって増加する傾向がみられ、その傾向は特に baited arms の方が大きかった。また、参照記憶エラーは SAL 投与条件、AP5 投与条件ともにほぼ同じ値であった。しかし、分散分析の結果では、作業記憶エラー (baited, unbaited)、参照記憶エラーともに有意な差は認められなかった。また、作業記憶エラー、参照記憶エラーと

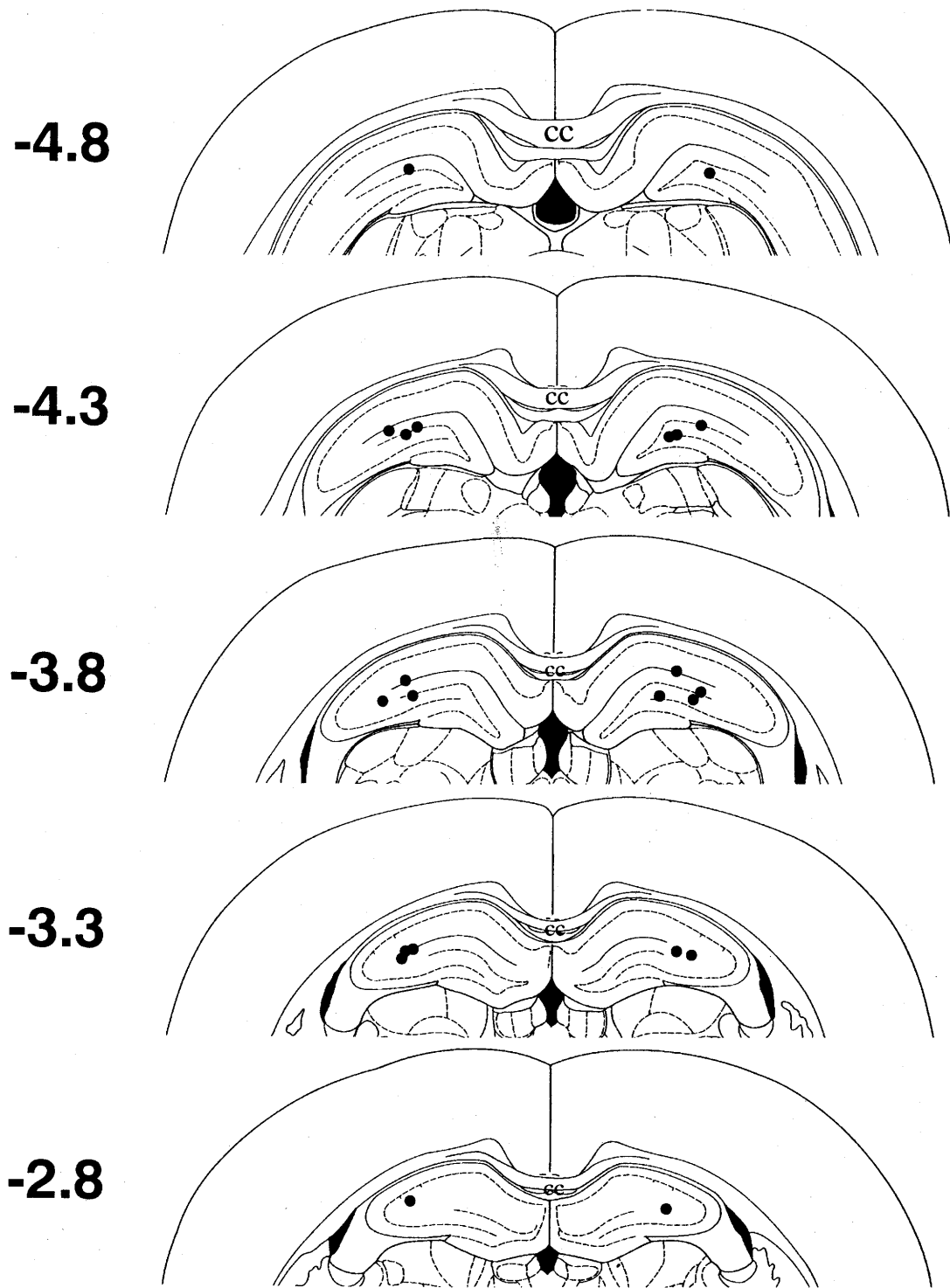


Fig. 11. 実験4の組織学的検索の結果。
 黒丸が刺入部位の先端部分の位置を示す。図の左の数字は、
 bregmaからの前後軸における距離(mm)を示す。cc = corpus
 callosum.

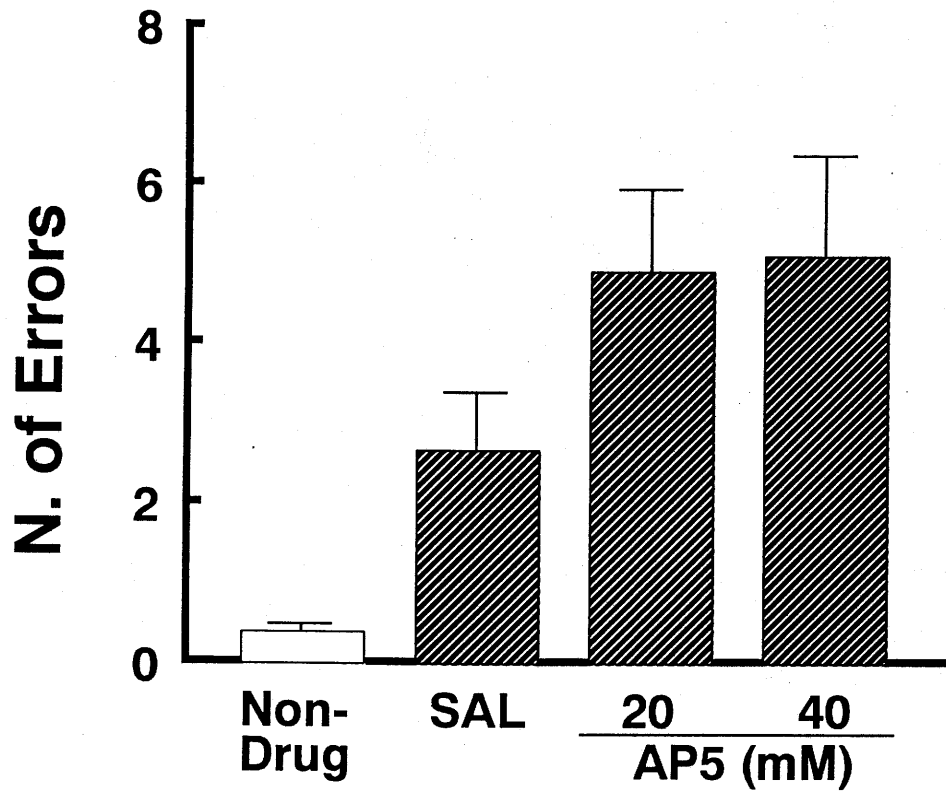


Fig. 12. 4/8手続きにおける誤選択数に及ぼすAP5海馬内投与の効果。
 生理食塩水(SAL)、AP5溶液(20, 40 mM)は、一側あたり2 μ lずつ投与した。図中のNon-Drugの値は、薬物投与前日の試行におけるそれぞれの値を平均したもの。

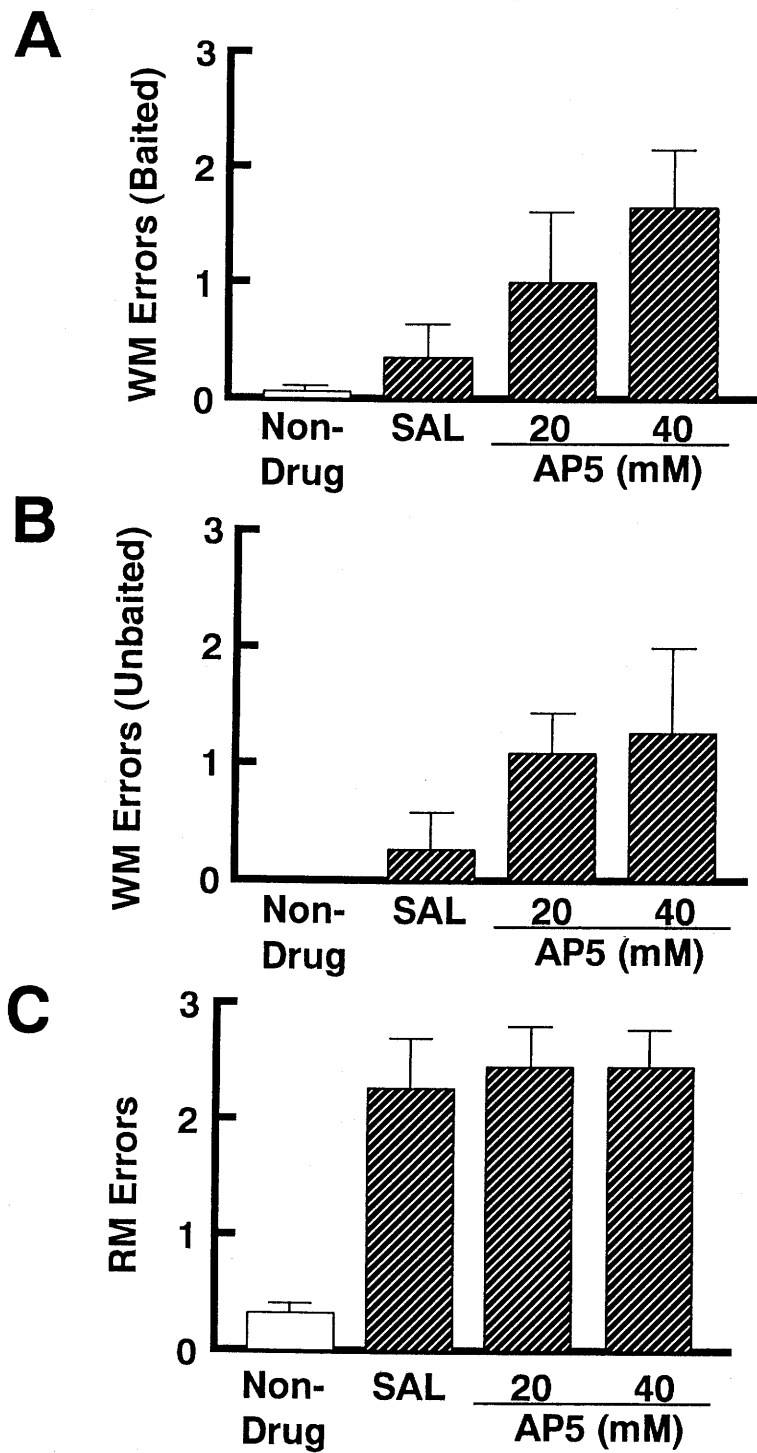


Fig. 13. 放射状迷路課題における作業記憶・参照記憶に及ぼす効果。
 誤選択を作業記憶エラー(A, B)と参照記憶エラー(C)に分け、さらに作業記憶エラーを、報酬が置かれていた選択肢を再選択したもの(A)と、報酬が置かれていなかった選択肢を再選択したもの(B)に分けた(±SEM)。図中のNon-Drugの値は、薬物投与前日の試行におけるそれぞれの値を平均したもの。

もに SAL 条件においても薬物投与前日に比べ、エラーが増加する傾向があった。SAL 条件と薬物投与前日の成績を、作業記憶エラー(baited)と参照記憶エラーについては t 検定で、薬物投与前日の分散が 0 だった作業記憶エラー(unbaited)については符号検定で比較したところ、参照記憶エラーのみ有意な差が得られた[t(10)=4.92, p<.01]。

1 選択あたりの走行時間を Fig. 14 に示した。薬物条件について分散分析を行ったところ、有意な差はみられなかった。SAL 投与前条件と薬物投与前日の走行時間を t 検定で比較したところ有意な差は見いだされなかった。

考 察

本実験の結果から、AP5 によって特に作業記憶が障害される傾向が認められたが、有意な差を得るには至らなかった。また、参照記憶については AP5 による阻害効果がほとんど認められなかった。作業記憶の方が大きく阻害されたという結果は海馬損傷による結果(Olton & Papas, 1979) とほぼ一致することから、海馬の正常な機能を必要とした記憶には海馬内の NMDA レセプターが重要であるということが示唆される。また、走行時間については、実験 2 と同様に AP5 の効果が認められなかったことから、本実験で得られた遂行の障害は記憶過程に直接影響したために起こった可能性が強い。

放射状迷路課題を遂行するには、作業記憶と参照記憶の両方が必要である。前述のように、作業記憶は既に選択した選択肢がどれであるかという 1 試行ごとに変化する記憶であり、参照記憶は試行間で安定な、課題の手続きに関する記憶である。したがって、NMDA レセプターが主に記憶に関与しているという仮説(Morris, 1989; Venable & Kelly, 1990)に基

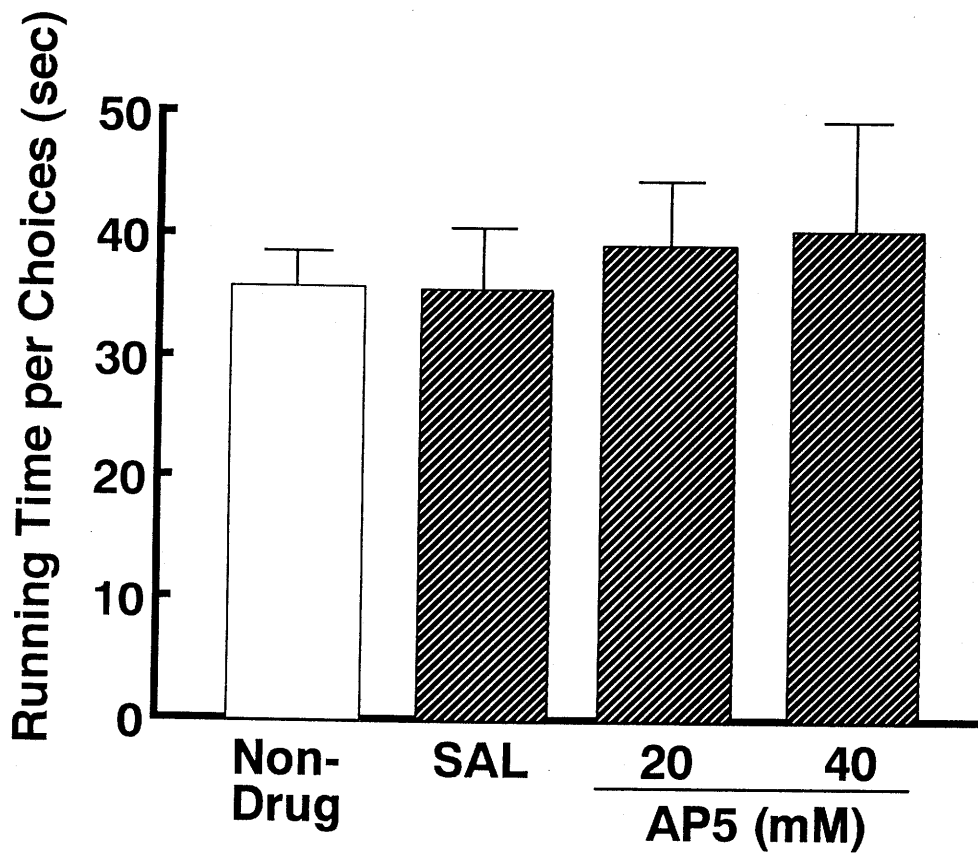


Fig. 14. 4/8手続きにおける平均走行時間に及ぼすAP5海馬内投与の効果(±SEM)。

づく、課題を既に習得させた場合、AP5 投与によって作業記憶の方が障害される可能性が大きい。作業記憶の方がより大きく障害される傾向を示した本研究の結果も、この仮説を支持するといえよう。しかし、本実験では、作業記憶・参照記憶の障害はどちらも有意なものではなく、この実験のみから NMDA レセプターが作業記憶に関与していると判断するのは困難である。また、参照記憶エラーが増加しなかったという結果については、AP5 が参照記憶を阻害しなかったためなのか、あるいは天井効果のため見かけ上エラー数がそれ以上は増加しなかっただけなのかは明確ではない。

4. NMDA アンタゴニスト投与ラットの放射状迷路行動に及ぼすグリシン部位アゴニスト海馬内投与の効果 (実験 5) (Kawabe, Yoshihara, Ichitani & Iwasaki, in press)

序論で述べたように、NMDA レセプターは様々な調節部位による調節を受けることが知られている。グリシン部位はこのような調節部位の 1 つであり、NMDA レセプター依存性の反応に対し、促進的な作用を持つ部位（正の調節部位）とされている。

例えば、グリシン部位の内因性アゴニストであるグリシンが、NMDA により誘発される興奮性の反応(Johnson & Ascher, 1987)や LTP (Abe, Xie, Watanabe & Saito, 1990)を増強することが知られている。また、ストリキ

ニーネ非感受性のグリシンのレセプター結合¹⁵が NMDA レセプターの結合とよく一致していることも明らかにされている。これらの知見はグリシンが NMDA レセプターの活性化に関与していることを示唆している。

これらの知見に基づき、グリシン部位に作用する薬物が学習・記憶に影響するかどうかを調べた研究がいくつか見られる。例えば、グリシン部位のアンタゴニストである 7-ClKYNA が Morris 型水迷路(Watanabe, Himi, Saito & Abe, 1992)や 3 パネル型直線走路課題(Ohno, Yamamoto & Watanabe, 1994)の遂行を障害することが分かっている。また、グリシン部位の部分アゴニストである DCS (D-cycloserine)が、脳損傷(Myhrer & Paulsen, 1995; Schuster & Schmidt, 1992)、薬物(Fishkin, Ince, Carlezon & Dunn, 1993; Matsuoka & Aigner, 1996; Maurice, Lockhart, Su & Privat, 1996; Ohno & Watanabe, 1996; Pitkänen, Sirviö, MacDonald, Ekonsalo & Riekkinen, 1995; Sirviö, Ekonsalo, Riekkinen, Lahtinen & Riekkinen, 1992)、加齢(Baxter, Lanthorn, Frick, Golski, Wan & Olton, 1994; Riekkinen & Riekkinen, 1997; Schwartz, Hashtroudi, Herting, Schwartz & Deutsch, 1996)によってもたらされた学習・記憶障害を改善することも明らかにされている。しかしながら、これらの行動研究は、NMDA アンタゴニストの場合と同様に、薬物を末梢投与、脳室内投与しているものがほとんどであるため、これらの研究から海馬のレセプターの機能について正確に議論するのは難しい。

そこで本実験では、MK-801 投与により記憶障害を起こしたラットの海馬内に、グリシン部位アゴニストである DCS を投与し、海馬内のグリシン部位が空間的記憶に対し積極的な役割を持っているかどうか調べるこ

¹⁵ グリシンのレセプター結合には、ストリキニーネ感受性のものと非感受性のものが存在する。ストリキニーネ感受性のものは抑制性グリシンレセプターの存在を示唆するものであるのに対し、非感受性のものは NMDA レセプター複合体におけるグリシン部位の指標となる。

とを目的とした。

方 法

被験体 実験開始時に3ヶ月齢のWistar-Imamichi系雄ラットを12匹用いた。自由摂食時の体重は、平均 359 (SD=35) g であった。その他の条件は、実験2と同じであった。

装置 実験2と同様の高架式8方向放射状迷路を用いた。

薬物 MK-801 を 0.4 mg/ml、DCS は 100、300 mM の割合で SAL に溶解した。MK-801 溶液は腹腔内投与され、DCS は実験3と同様の手続きで、一側あたり 1 μ l ずつ海馬内投与された。

手続き

(1)習得訓練

ハンドリング、装置内馴化を3日間行った後、実験2と同様の習得訓練を行った。

(2)手術

習得訓練終了後、実験1と同様の手続きでカニューレを両側海馬内に埋め込んだ。

(3)再習得訓練

術後1週間の回復期をおいた後に、再習得訓練を開始した。この訓練の手続きおよび習得基準は習得訓練と同様であった。

(4)薬物テスト(保持テスト)

再習得訓練終了後、薬物テストを行った。薬物テスト日には、試行開始の120分前にSALまたはMK-801 0.4 mg/kg を腹腔内投与し、試行開始20分前にSAL、DCS 溶液を海馬内投与した。その後、習得訓練と同様の試行を行わせた。薬物条件は、SAL-SAL、MK-801-SAL、MK-801-DCS 100

mM、MK-801-DCS 300 mM の 4 条件とし、各被験体に 1 回ずつランダムな順で行った。薬物投与を行った翌日から薬物無投与の試行を 1 日 1 試行行い、最初の 8 選択中 7 選択以上が正選択である日が 2 日間連続することを確認した後に、次の薬物条件に移った。

(5)組織学的検索

実験 1 と同様の手続きで、カニューレ挿入位置を確認した。

結 果

習得基準、再習得基準に到達するまでの試行数の平均は習得基準として用いた 5 試行は除くと、それぞれ 6.8 (SD=2.8)、0.2 (SD=0.4) 試行であった。また、組織学的検索の結果を Fig. 15 に示した。その結果、全ての被験体で、薬物投与に用いた注射針の先端が海馬内にあることが確認された。

各薬物投与条件における誤選択数の平均を Fig. 16A に示した。SAL-SAL 投与条件と MK-801 を投与した 3 条件を比較した場合、MK-801 を投与した 3 条件は、SAL-SAL 投与条件に比べ、誤選択数が顕著に増加する傾向が見られた。また、MK-801 を投与した 3 条件を比較した場合、DCS の用量の増加にしたがって、誤選択数が減少する傾向が見られた。この結果について、薬物条件を要因とする 1 要因分散分析を行った結果、薬物の主効果に有意差が認められた[F(3, 44)=10.97, $p<.01$]。さらに、各薬物条件間の差について、Newman-Keuls 法による多重比較を行ったところ、SAL-SAL 投与条件に比べ、MK-801 を投与した 3 条件は有意に誤選択数が多かった (MK-801-SAL および MK-801-DCS 100 mM $p<.01$; MK-801-DCS 300 mM $p<.05$)。また、MK-801-SAL 投与条件に比べ、MK-801-DCS 300mM 投与条件は有意に誤選択数が少なかった($p<.05$)。したがって、

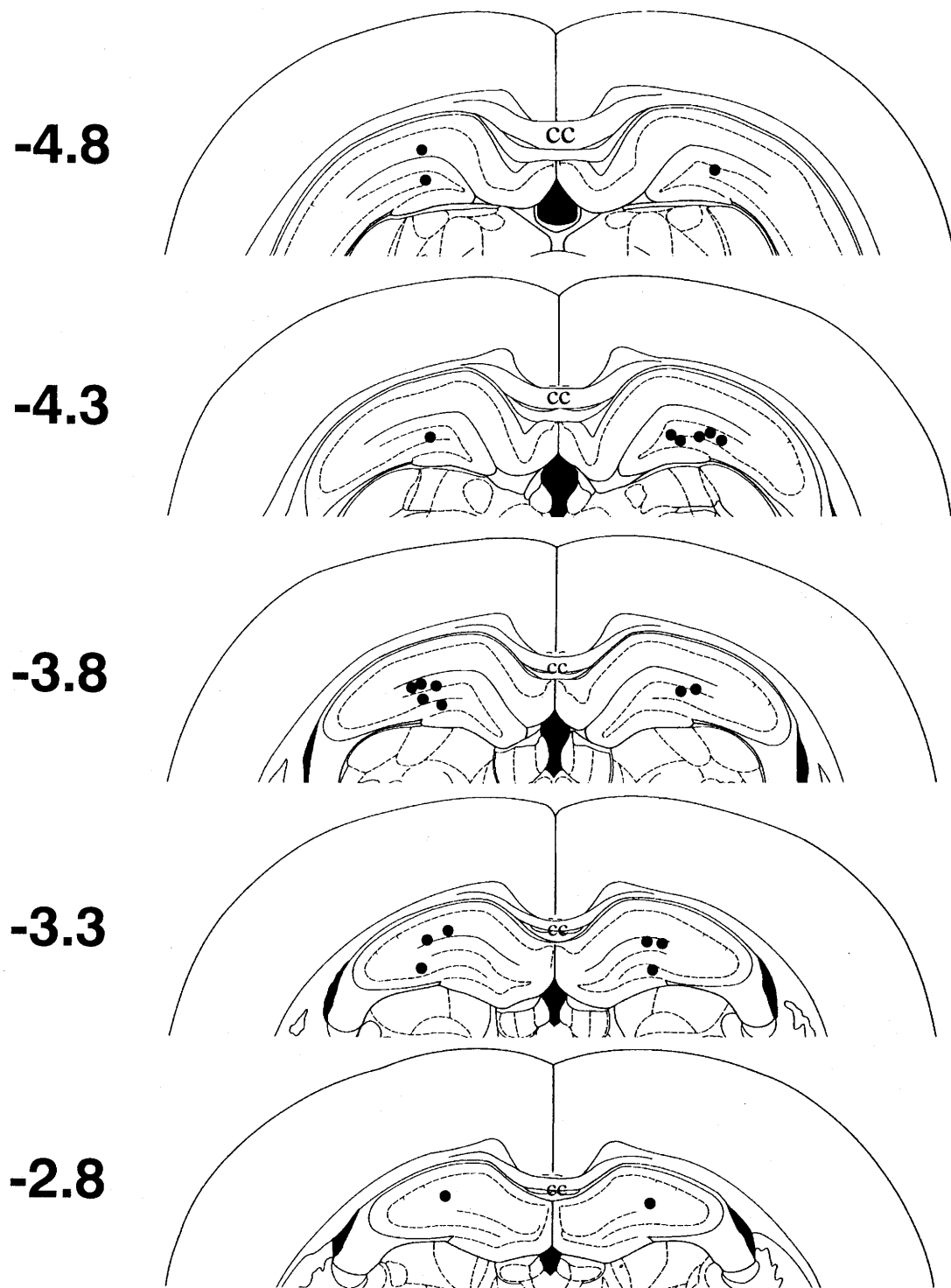


Fig. 15. 実験5の組織学的検索の結果。
 黒丸が刺入部位の先端部分の位置を示す。図の左の数字は、
 bregmaからの前後軸における距離(mm)を示す。cc = corpus
 callosum.

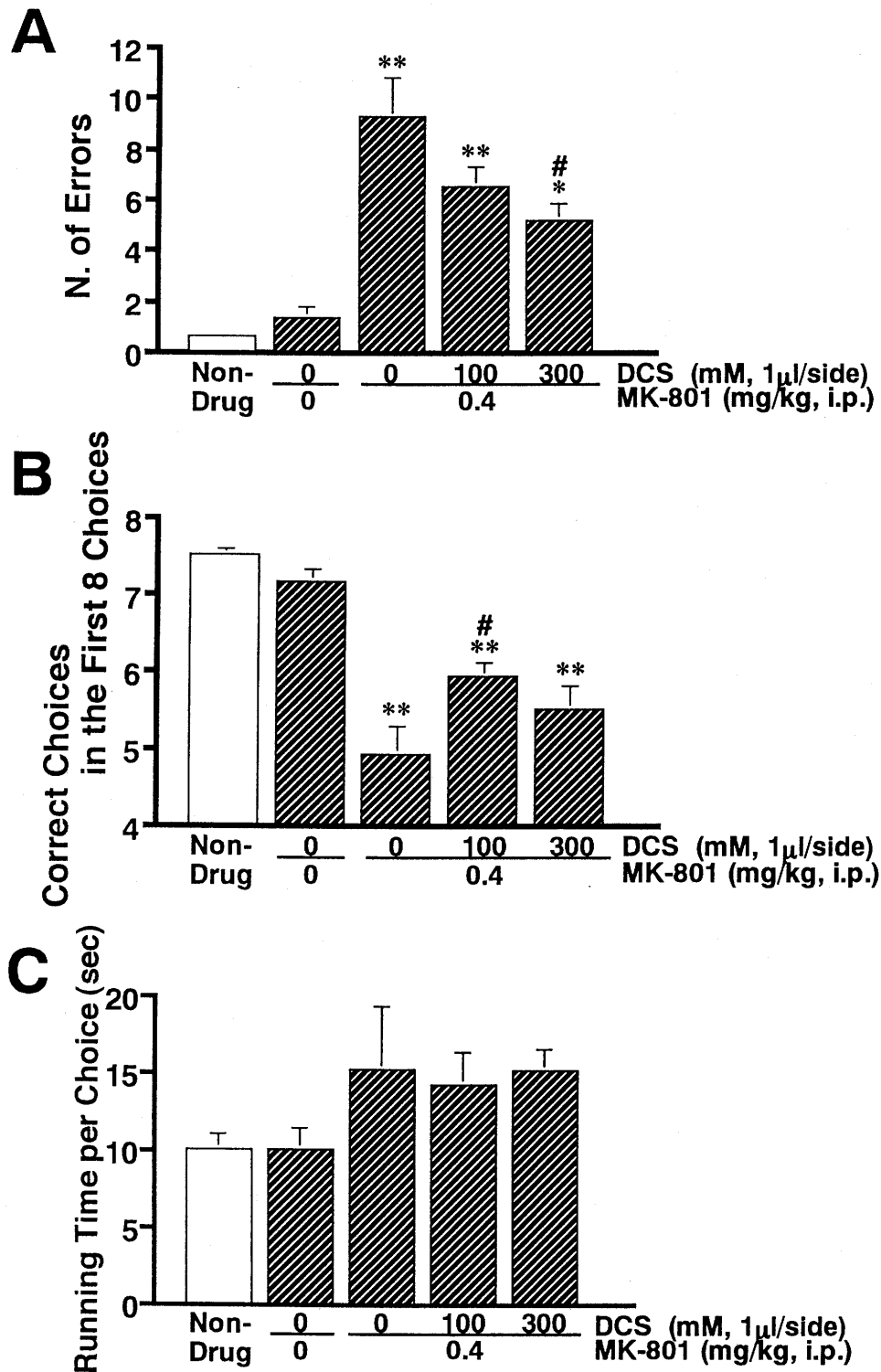


Fig. 16. 放射状迷路行動に及ぼすDCS海馬内投与の効果。
 誤選択数(A)、最初の8選択中の正選択数(B)、1選択あたりの走行時間(sec)(C)を示した(\pm SEM)。MK-801 (0, 0.4 mg/kg)は腹腔内投与され、DCS溶液(0, 100, 300 mM)は一側あたり1 μ lの量を海馬内投与された。MK-801 0 mg/kg, DCS 0 mMはそれぞれ生理食塩水(SAL)を同体積分だけ投与したことを表す。* $p < .05$, ** $p < .01$ vs. SAL-SAL. # $p < .05$ vs. MK-801 0.4 mg/kg-SAL.

MK-801 腹腔内投与が放射状迷路課題の遂行を障害し、DCS 海馬内投与がこの障害を改善するということが分かる。また、薬物投与前日の薬物無投与試行（図中の Non-Drug）と SAL-SAL 投与条件の誤選択数を t 検定により比較した結果、SAL-SAL 投与条件で誤選択数が有意に多かった [t(11)=2.21, p<.05]。

各薬物投与条件における最初の 8 選択中の正選択数の平均を Fig. 16B に示した。SAL-SAL 投与条件と MK-801 を投与した 3 条件を比較した場合、MK-801 を投与した 3 条件は、SAL-SAL 投与条件に比べ正選択数が減少する傾向がみられた。また、MK-801 を投与した 3 条件を比較した場合、DCS を投与した 2 条件は、SAL を投与した条件と比べ、わずかではあるが正選択数が増加する傾向が見られた。この結果について、薬物条件を要因とする 1 要因分散分析を行った結果、薬物の主効果に有意差が見られた [F(3, 44)=11.86, p<.01]。さらに各薬物条件間の差について多重比較を行ったところ、SAL-SAL 投与条件に比べ、MK-801 投与を行った 3 条件は有意に正選択数が少なかった（それぞれ p<.01）。また、MK-801-SAL 投与条件に比べ、MK-801-DCS 100mM 投与条件は有意に正選択数が多かった (p<.05)。この結果も、誤選択数の結果と同様、MK-801 腹腔内投与が放射状迷路課題の遂行を障害し、DCS 海馬内投与がこの障害を改善するということが示唆するものである。また、薬物投与前日の薬物無投与試行と SAL-SAL 投与条件の最初の 8 選択中の正選択数を t 検定により比較した結果、SAL-SAL 投与条件で正選択数が有意に少なかった [t(11)=2.75, p<.05]。

各薬物投与条件における 1 選択あたりの走行時間を Fig. 16C に示した。SAL-SAL 投与条件と MK-801 を投与した 3 条件を比較した場合、MK-801 を投与した 3 条件で、走行時間が増加する傾向があった。一方、DCS 投

与による差はほとんど認められなかった。しかし、薬物条件を要因とする1要因分散分析を行った結果、薬物の主効果に有意差は認められなかった。同様に、薬物投与前日の薬物無投与試行と SAL-SAL 投与条件の1選択あたりの走行時間を t 検定により比較した結果、有意差は認められなかった。

MK-801 を投与した条件の一部の被験体で、餌がうまく食べられない、しっかりと立ってられないなどの顕著な運動障害が認められた。その被験体数は、MK-801-SAL 投与条件 5 匹、MK-801-DCS 100 mM 投与条件 5 匹、MK-801-DCS 300 mM 投与条件 2 匹であった。

考 察

本実験では、MK-801 投与によって空間的記憶に障害を起こしたラットに、グリシン調節部位アゴニストである DCS を海馬内投与し、放射状迷路課題を行わせることにより、空間的記憶に対する海馬内のグリシン調節部位の役割を検討した。その結果、MK-801 腹腔内投与が放射状迷路課題の遂行を障害すること、DCS 海馬内投与がこの遂行障害を改善することが見いだされた。この結果は、海馬内の NMDA レセプターが空間的記憶に重要な役割を果たしているということ、また、グリシン部位が空間的記憶に対し積極的に関与しているということを示唆するものである。

本研究の結果は、MK-801 が放射状迷路課題を障害すること、また、このような MK-801 投与によって引き起こされた遂行障害が、DCS 海馬内投与により改善されることが分かった。また、グリシン部位が NMDA 依存性の生理反応(Johnson & Ascher, 1987)や海馬 LTP(Abe et al., 1990; Watanabe et al., 1992)に関与しているという知見に基づくと、本研究で得られた DCS の記憶改善効果は、MK-801 が阻害した NMDA レセプター依

存性の LTP を DCS が回復したことによると思われる。

また、本研究は DCS を海馬内に直接投与しているため、末梢投与、脳室内投与などに比べ、海馬の NMDA レセプターおよびグリシン調節部位と、空間的記憶との関係をより正確に測定したと言える。前述の実験により、AP5 (実験 2)、MK-801 (実験 3) の海馬内投与が、放射状迷路課題の遂行を障害するというところを見いだした。本研究の結果は、これらの結果とともに、空間的学習・記憶にとって海馬内の NMDA レセプターが特に重要であるということを示唆するものである。

また、MK-801 投与後、一部の被験体で走行姿勢の異常、餌を上手く食べることができない、しっかりと立ってられないなどの、MK-801 投与によると思われる行動障害が観察された。したがって、本研究で得られた MK-801 による課題の遂行障害は、感覚、運動、動機づけなどの障害から生じたという可能性も否定できない。さらに、MK-801-DCS 300 mM 投与条件の被験体の一部に、MK-801-SAL 投与条件と比較した場合、MK-801 投与によって生じたと思われる行動障害が極端に緩和されたものがいた。高用量の DCS 投与が Morris 型水迷路課題における遊泳速度を速めるといった報告(Sirviö et al.,1992)もあることから、DCS が MK-801 によって生じた感覚、運動的能力などの非特異的障害を改善した副次的な結果として、課題遂行が改善されたという可能性も考えられる。このような可能性についてはさらに検討を要するが、MK-801 投与が走行時間や選択反応自体には影響しなかったこと、行動障害が起こらなかった被験体に関しても課題の遂行障害が見られたこと、DCS 投与が走行時間に影響を及ぼさなかったことなどから考えると、これらの非特異的障害による影響は最小限に留められたといえよう。また、DCS 100 mM 溶液投与が行動障害の改善を引き起こすことなく、最初の 8 選択中の正選択数の上

昇を引き起こしたことから、DCS による課題遂行の改善効果がこれらの非特異的機能の改善によるものではなく、主に記憶機能の改善によるものであることを示唆している。

第3節 ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト単回投与の効果

場所非見本合わせ(non-matching-to-place; NMTP)課題は放射状迷路を利用した空間的学習課題の一種である。この課題は、見本走行(information run)と選択走行(choice run)の2つの走行から構成される。見本走行では迷路の選択肢1本を強制的に走行させ、選択走行では見本走行で走行させた選択肢を含んだ2本の選択肢のうちから1本を自由選択させる。選択走行において、見本走行で走行しなかった選択肢を選択した場合が正選択、見本走行で走行した選択肢を再選択した場合が誤選択となる。課題解決に空間的記憶とこの記憶に対応する作業記憶が必要となるという点で、NMTP 課題と放射状迷路課題は類似しているといえるが、放射状迷路課題が既に選択した選択肢の位置、つまり最大7ヶ所の選択肢の位置を作業記憶内に記憶しておかなければならないのに対し、NMTP 課題は見本走行で選択した選択肢のみを記憶しておけばよい。したがって、NMTP 課題は放射状迷路課題よりも比較的難易度が低い課題であるといえる。このことは、NMTP 課題の習得にはごくわずかな試行数しか要しないということ(佐々木, 1996)から見ても明らかである。しかし、第2節で考察したように NMDA レセプターが主に作業記憶の記録に関与しているならば、NMDA アンタゴニストを十分量投与し、レセプター機能を完全に抑制した場合、作業記憶が成立しなくなるため、放射状迷路課題と同様、NMTP 課題に対しても重篤な遂行障害が認められるはずである。

そこで本節では、作業記憶に対する負荷が比較的軽い NMTP 課題の遂行に、NMDA アンタゴニストがどのような効果をもたらすかを調べた。

1. ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト腹腔内投与の効果 (実験 6)

NMTP 課題遂行に対する、NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果を調べるに先立ち、NMDA アンタゴニスト腹腔内投与の効果を調べた。

方 法

被験体 実験開始時に 3~5 ヶ月齢の Wistar-Imamichi 系雄ラット 7 匹を用いた。自由摂食時の平均体重は 422 (SD=19) g であった。その他の実験条件は、実験 2 と同じであった。

装置 実験 2 と同様の高架式 8 方向放射状迷路を用いた。

薬物 MK-801 を 0.2 または 0.4 mg/ml の割合で SAL に溶解した。

手続き

(1) 走行訓練

ハンドリング、装置内馴化を 3 日間行った後、走行訓練を 5 日間行った。この訓練では、迷路の 8 本の選択肢をランダムな順で被験体に強制的に選択させ、選択肢の先端で餌ペレット(45 mg) 3 個を与えた。2 分経過しても選択肢を選択しない場合は、実験者が被験体を目標とする選択肢に誘導した。被験体がすべての選択肢を選択するか、10 分間経過した時点で試行を終了した。5 日間の訓練終了時には、すべての被験体が遅くとも 10 秒前後で選択肢を選択するようになった。

(2) 習得訓練

NMTP 課題の習得訓練を 1 日 6 試行行った(Fig. 17)。この課題は、見本走行と選択走行という 2 つの走行から構成された。見本走行では迷路の選択肢 1 本を強制的に走行させ、選択肢の先端で餌ペレット 3 個を与え

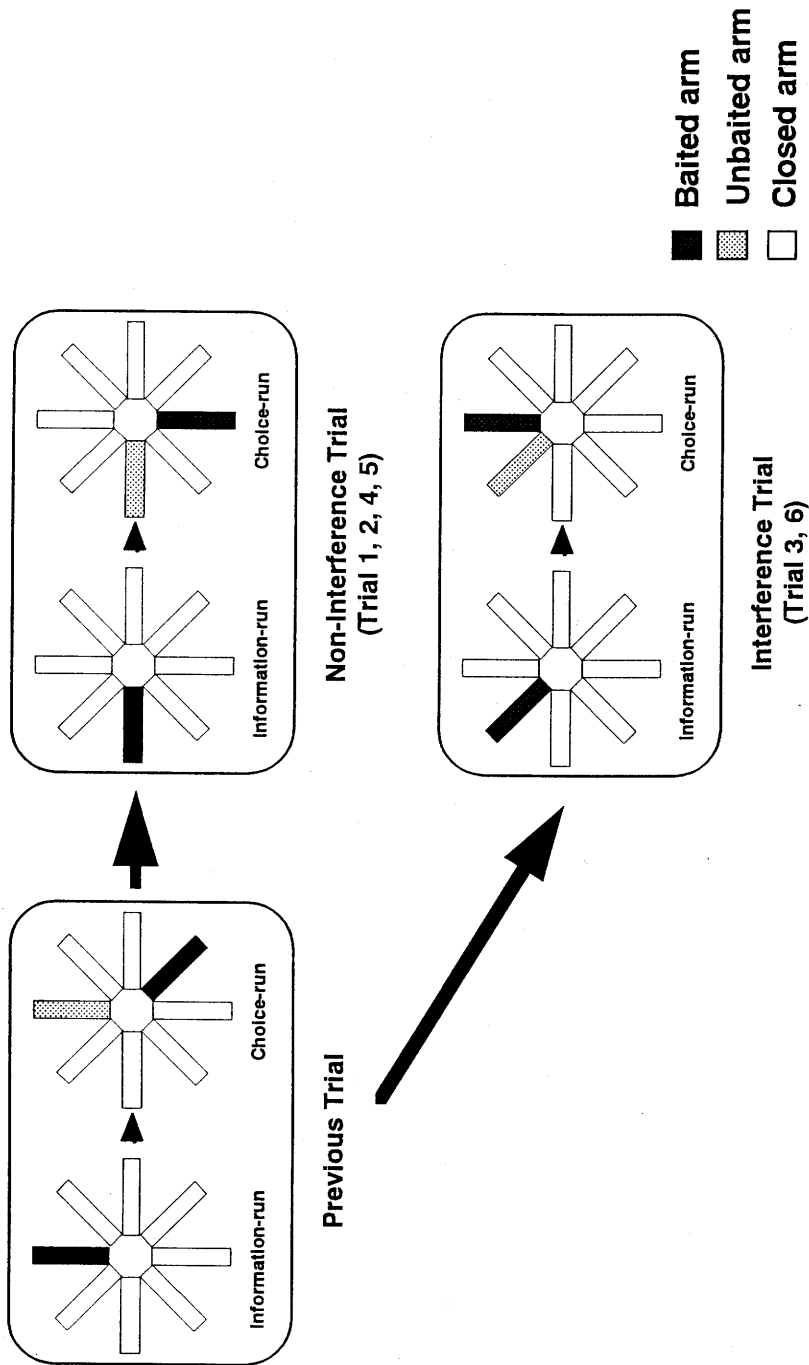


Fig. 17. 本研究で用いた場所非見合わせ(non-matching-to-place; NMTP)課題。

場所非見合わせ課題は見本走行(information-run)と選択走行(choice-run)から構成される。見本走行ではある1本の選択肢を強制選択させる。選択走行では見本走行と同じ選択肢を含んだ2選択肢から自由選択させ、見本走行と異なる選択肢を選択した場合のみを正選択とし、報酬を与える。また、1日に行われる6試行のうち、第1、2、4、5試行を非干渉試行(non-interference trial)、第3、6試行を干渉試行(interference trial)とする。非干渉試行では、同じ日の試行で既に提示された選択肢は用いない。一方、干渉試行では、選択走行の正選択肢として、直前の試行の見本走行で用いた選択肢が用いられる。

た。選択走行は、見本走行で走行させた選択肢を含んだ 2 本の選択肢のうちから 1 本を自由選択させた。なお、選択走行において、見本走行で走行しなかった選択肢を選択した場合を正選択、見本走行で走行した選択肢を再選択した場合を誤選択とし、正選択の場合のみに餌ペレット 3 個を与えた。また、記憶項目間に生じる順向性干渉への薬物効果を見るために、セッション中に干渉試行と呼ばれる試行を設けた。1 日のセッションのうち、第 1、2、4、5 試行に非干渉試行、第 3、6 試行に干渉試行が行われた。非干渉試行は、見本走行、選択走行で選択させる選択肢として、それまでの試行で選択させていない選択肢が用いられた。干渉試行においては、選択走行における正選択肢が、直前の試行における見本走行で走行させた選択肢となるようにした。したがって、干渉試行の直前の試行における見本走行での選択肢が、干渉試行の選択走行の正選択肢に対し順向性の干渉効果をもたらすことになる。なお、ITI は 10~15 分程度とした。

このような習得訓練を習得基準達成まで繰り返した。習得基準は、連続する 5 日間（計 30 試行）において、(1)1 日のセッション中の正選択数が 5 以上である、(3)誤選択数が 2 以内（正選択率 93.3%以上）である、(2)非干渉試行、干渉試行ともに正選択率が 90%以上であるという 3 つの条件すべてを満たすこととした。20 日経過しても課題を習得しない被験体は、実験から除外した。

(3)薬物テスト

NMTP 課題習得後、薬物テストを開始した。試行の 120 分前に SAL または MK-801 (0.2、0.4 mg/kg)のいずれかを腹腔内投与し、同じ課題を遂行させた。各薬物条件は、被験体 1 匹につきランダムな順で 2 回ずつ行った。薬物投与を行った翌日より、薬物無投与のセッションを行い、すべ

ての試行で正選択が得られた日が 2 日連続するまで次の薬物条件に移らなかった。

結 果

課題習得までに要した日数は習得基準として用いた 5 試行を除くと、平均 4.3 (SD=6.1) 日であった。なお、20 日経過しても課題を習得しない被験体 (1 匹) は習得日数を 20 日として計算し、以降の実験スケジュールから除外した。

全試行、非干渉試行、干渉試行の正選択率をそれぞれ Fig. 18A、B、C に示した。いずれの試行においても、MK-801 の用量に依存して正選択率が大きく低下した。特に、0.4 mg/kg 投与群において、いずれの試行においても、正選択率がランダムレベル(50%)近くまで低下することが分かった。しかしながら、いずれの群においても非干渉試行と干渉試行の成績差はほとんど認められなかった。SAL 条件における全試行、非干渉試行、干渉試行のそれぞれの正選択率の分散がすべて 0 となったため、Friedman 検定を分析法として用いた。その結果、全試行、非干渉試行、干渉試行のいずれにおいても薬物条件間に有意差が認められた [全試行 $\chi^2(2)=13.07$, $p<.01$; 非干渉試行 $\chi^2(2)=10.50$, $p<.01$; 干渉試行 $\chi^2(2)=8.35$, $p<.05$] 。

見本走行、選択走行における選択潜時を Fig. 19A、B に示した。見本走行、選択走行ともに、MK-801 0.4mg/kg 条件で潜時が長くなる傾向が認められた。対数変換を行った後、薬物条件を要因とした 1 要因の分散分析を行ったところ見本走行、選択走行ともに薬物条件の主効果が有意であった [見本走行 $F(2,12)=20.13$, $p<.01$; 選択走行 $F(2,12)=17.63$, $p<.01$] 。さらに、薬物条件について Newman-Keuls 法による多重比較を

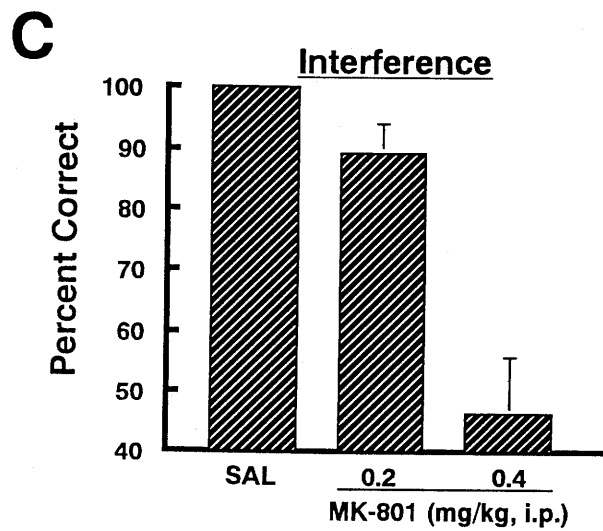
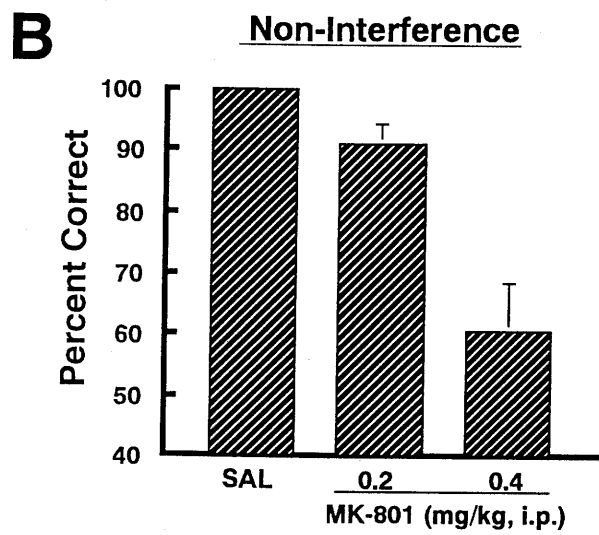
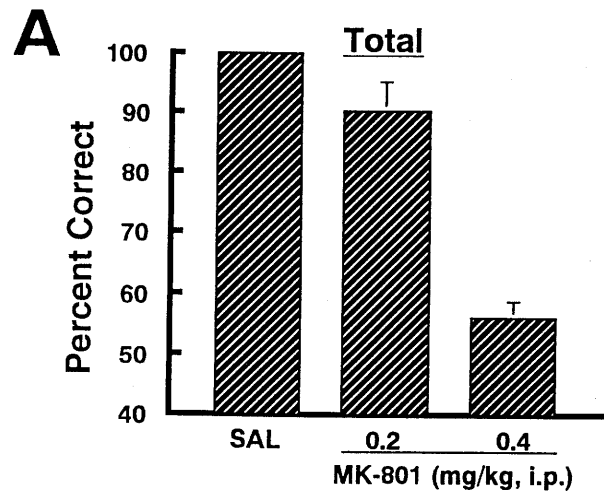


Fig. 18. NMTP反応に及ぼすMK-801腹腔内投与の効果。
全試行(A)、非干渉試行(B)、干渉試行(C)の正選択率を示した(±SEM)。

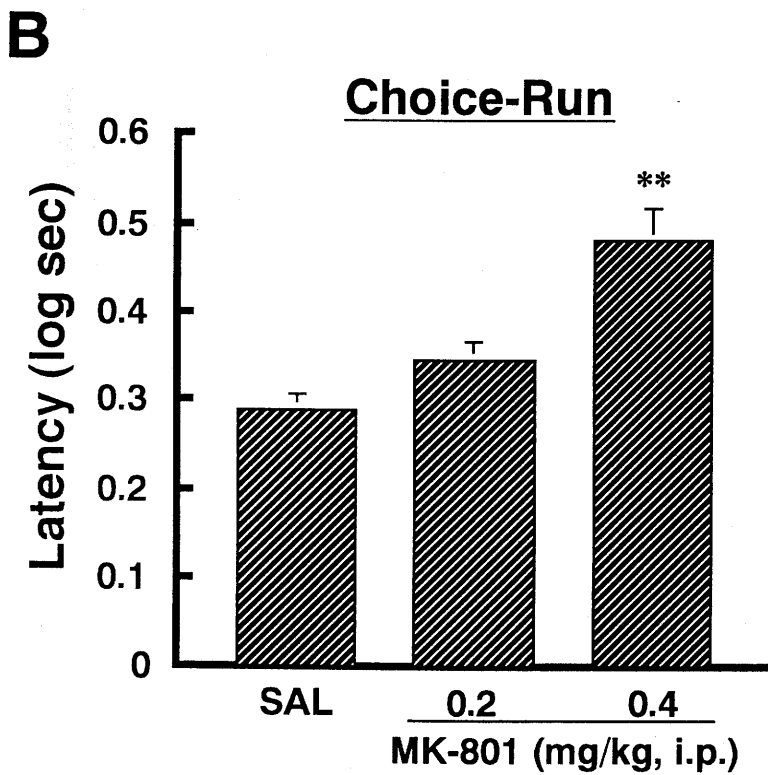
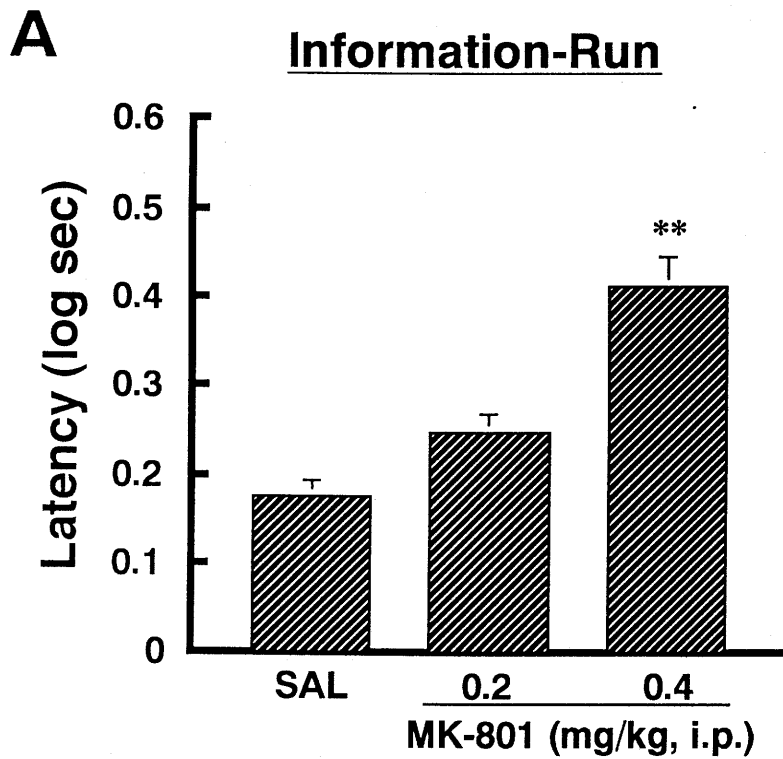


Fig. 19. NMTP課題における選択潜時に及ぼすMK-801腹腔内投与の効果。

見本走行(A)、選択走行(B)の選択潜時を示した(\pm SEM)。** $p < .01$ vs. SAL.

行ったところ、両走行ともに、SAL 条件に比べ、MK-801 0.4mg/kg 条件において選択潜時が有意に長いということが分かった($p < .01$)。また、MK-801 0.4mg/kg を投与した被験体のうち 7 匹に、餌をうまく食べられない、ふらつくといった顕著な行動障害が認められたが、いずれの被験体も選択反応自体は行うことができた。

考 察

本実験では、空間的記憶における海馬内の NMDA レセプターの機能をより詳細に検討するために、作業記憶に対する負荷が比較的軽い NMTP 課題の遂行に、NMDA アンタゴニストがどのような効果をもたらすかを調べることを目的とした。

本実験の結果から、MK-801 が NMTP 課題の遂行を重篤に障害するということが分かった。したがって、MK-801 腹腔内投与は放射状迷路課題（実験 5）と同様、NMTP 課題の遂行も阻害することが分かる。

また、この障害はかなり重篤なものであり、MK-801 腹腔内投与により起こる放射状迷路課題の遂行障害（実験 5）の重篤度とほぼ一致しているといえる。したがって、空間的作業記憶の負荷が軽い場合でも、MK-801 腹腔内投与は空間的学習課題の遂行に重篤な障害をもたらすことが分かる。このことから、レセプター機能を十分に抑制すると、空間的作業記憶がほとんど記録、保持できなくなるということが予測される。

しかし、干渉試行の成績は、各群ともに非干渉試行の成績と同程度であり、順向性干渉の効果は明確でなかった。したがって、MK-801 が干渉効果にどのような効果をもたらすかについては検討することはできなかった。十分な干渉効果を得るためには、ITI を短くする、非見本合わせ課題ではなく見本合わせ課題を用いるなど、手続きを変更する必要がある。

るだろう。

また、最終的に NMTP 課題を習得できなかった被験体がわずかながら存在した。セッション内で同じ選択肢を選択させない手続きでは、すべての被験体が速やかに課題を習得すること（佐々木, 1996）から考えると、本実験の手続きでは干渉試行の存在により、1 セッション内で同じ選択肢を 2 度選択する必要があるため課題習得が困難となったのかもしれない。しかし、課題を習得できた被験体のほとんどが 5 日以内に課題を習得できており、これらの被験体にとっては課題解決がかなり容易であったといえるであろう。

2. ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果（実験 7）

実験 6 で得られた、MK-801 による NMTP 課題の遂行障害が、海馬の NMDA レセプター遮断によるものかどうかをより厳密に検討するために、NMTP 課題遂行に対する MK-801 海馬内投与の効果を調べた。

方 法

被験体 実験開始時に 4~6 ヶ月齢の Wistar-Imamichi 系雄ラット 9 匹を用いた。自由摂食時の平均体重は 392 (SD=36) g であった。その他の実験条件は、実験 2 と同じであった。

装置 実験 2 と同様の高架式 8 方向放射状迷路を用いた。

薬物 MK-801 を 10 または 25 mM の割合で SAL に溶解した。SAL もしくは MK-801 溶液は、実験 3 と同様の手続きで一側あたり 2 μ l ずつ海馬

に投与された。

手続き

(1) 走行訓練

ハンドリング、装置内馴化を3日間行った後、走行訓練を実験7と同様の手続きで行った。

(2) 習得訓練

実験6と同様の手続きで行った。

(3) 手術

課題習得後、実験1と同様の手続きでカニューレを両側海馬内に埋め込んだ。

(4) 再習得訓練

手術が終了してから1週間後より再習得訓練を開始した。この訓練は、習得訓練と同じ手続きで行われた。

(5) 薬物テスト

再習得訓練が終了した翌日より、薬物テストを行った。このテスト日には、薬物 (SAL、MK-801 10 mM、25 mM) を海馬に投与してから20分後に、習得訓練と同様のセッションを行った。各薬物条件は、被験体につきランダムな順で2回ずつ行った。これ以外の手続きは実験6の手続きに準じた。

(6) 組織学的検索

実験1と同様の手続きで、カニューレ挿入位置を確認した。

結果

課題習得までに要した日数は、平均4.2 (SD=5.6) 日であった。なお、20日経過しても課題を習得しない被験体 (1匹) は習得日数を20日とし

て計算し、以降の実験スケジュールから除外した。再習得に要した日数は0.1 (SD=0.3) 日であった。また、組織学的検索の結果、すべての被験体において注射針の先端部が背側海馬内に挿入されていることが認められた(Fig. 20)。また、薬物テスト期間中に、カニューレを外してしまった被験体が2匹いたが、これらの被験体は既に各薬物条件を1回ずつ経験していたため、そこまでのデータを分析に用いた。

全試行、非干渉試行、干渉試行の正選択率をそれぞれ Fig. 21A、B、C に示した。いずれの試行においても、MK-801 の用量に依存して正選択率が大きく低下した。特に、いずれの試行においても、25 mM 投与条件において正選択率が70%近くまで低下することが分かった。しかしながら、いずれの条件においても非干渉試行と干渉試行の成績差はほとんど認められなかった。

全試行、非干渉試行、干渉試行のそれぞれの正選択率について、角変換を行った後、薬物条件を要因とした1要因の分散分析を行った。その結果、全試行、非干渉試行、干渉試行のいずれにおいても薬物条件の主効果に有意差が認められた [全試行 $F(2,16)=5.68, p<.05$; 非干渉試行 $F(2,16)=3.82, p<.05$; 干渉試行 $F(2,16)=3.77, p<.05$]。さらに、薬物条件について Newman-Keuls 法による多重比較を行ったところ、いずれの試行においても MK-801 25 mM 条件が SAL 条件に比べ有意に正選択率が低下していることが分かった($p<.05$)。

見本走行、選択走行における選択潜時を Fig. 22 に示した。MK-801 25 mM 条件で潜時が長くなる傾向が認められた。対数変換を行った後、薬物条件を要因とした1要因の分散分析を行ったところ、見本走行における薬物条件の主効果が有意であった [$F(2,16)=4.50, p<.05$]。さらにこの差について、薬物条件について Newman-Keuls 法による多重比較を行ったと

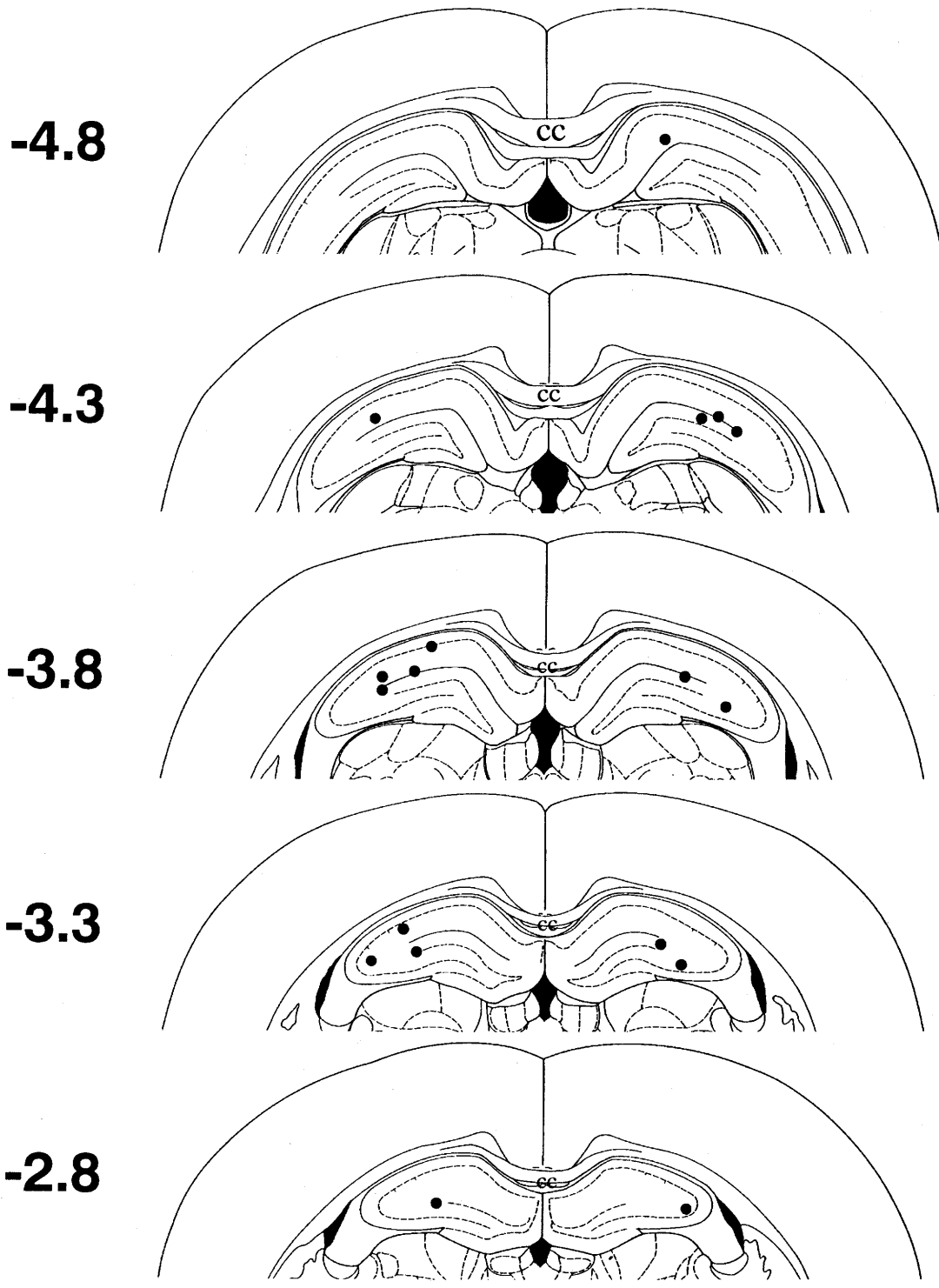


Fig. 20. 実験7の組織学的検索の結果。
 黒丸が刺入部位の先端部分の位置を示す。図の左の数字は、
 bregmaからの前後軸における距離(mm)を示す。cc = corpus
 callosum.

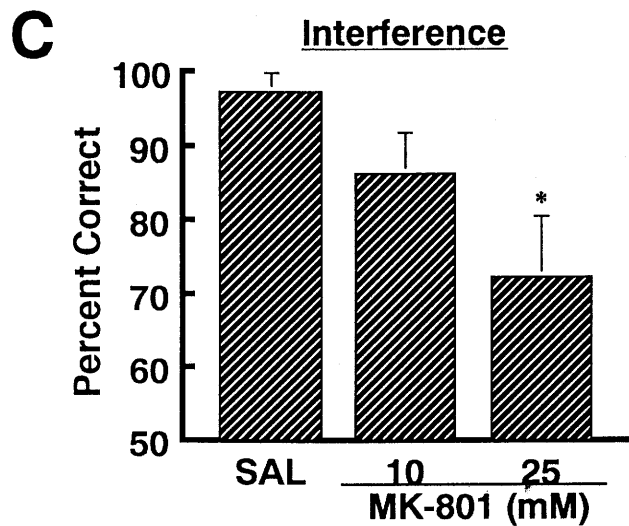
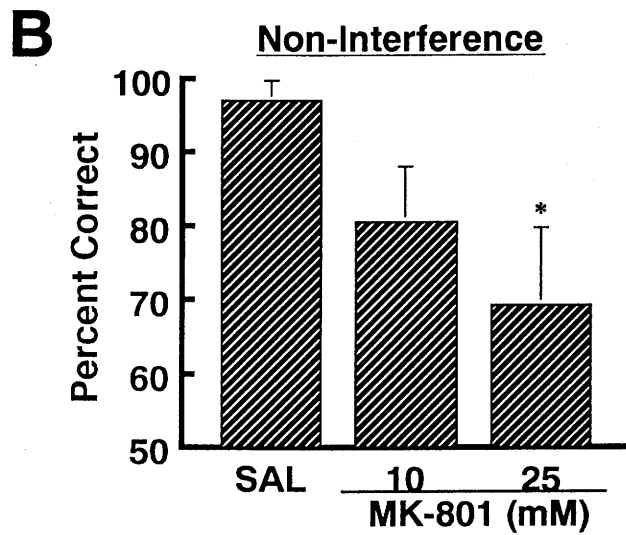
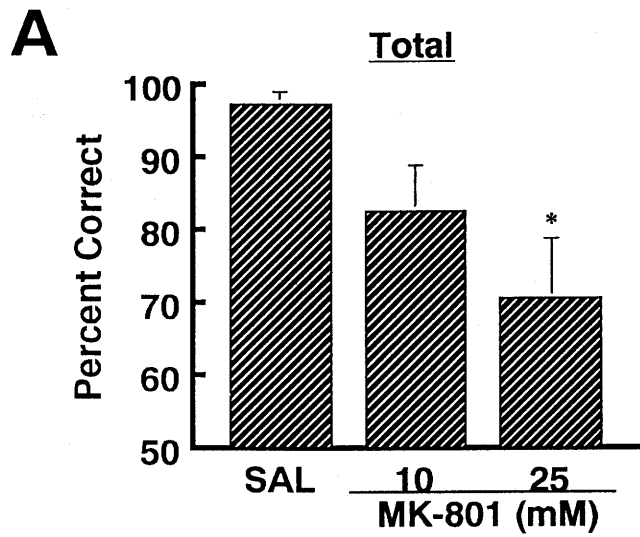


Fig. 21. NMTP反応に及ぼすMK-801海馬内投与の効果。
 全試行(A)、非干渉試行(B)、干渉試行(C)の正選択率を示した(±SEM)。* p<.05 vs. SAL.

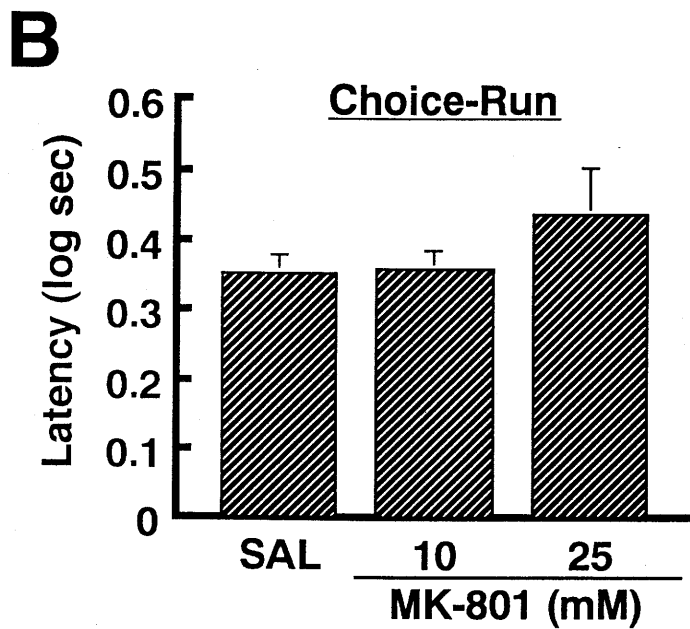
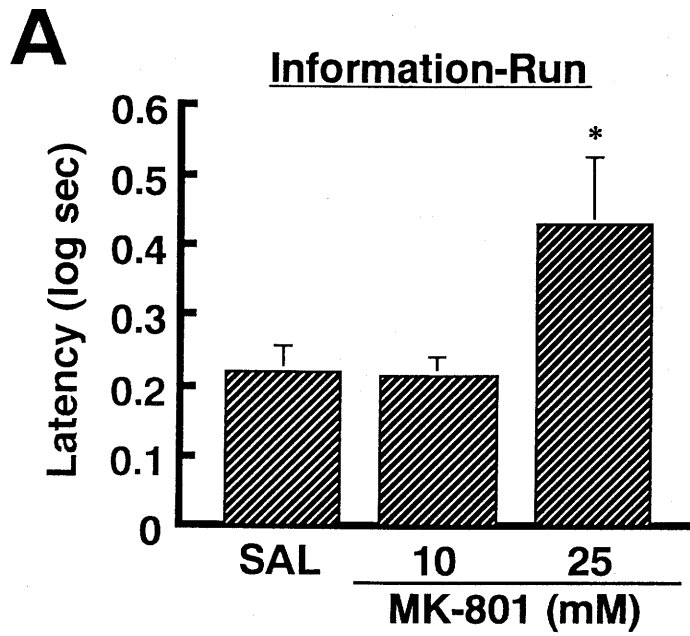


Fig. 22. NMTP課題における選択潜時に及ぼすMK-801海馬内投与の効果。

見本走行(A)、選択走行(B)の選択潜時を示した(±SEM)。* $p < .05$ vs. SAL.

ころ、SAL 条件に比べ、MK-801 25mM 条件において選択潜時が有意に長いということが分かった($p < .05$)。また、MK-801 25mM を投与した被験体のうち 4 匹に、餌をうまく食べられない、ふらつくといった顕著な行動障害が認められたが、いずれの被験体も選択反応自体は行うことができた。

考 察

本実験では、NMTP 課題遂行に対する MK-801 海馬内投与の効果を調べ、実験 6 で得られた MK-801 腹腔内投与の効果と比較することにより、海馬内の NMDA レセプターと空間的作業記憶の関係をより厳密に検討することを目的とした。

本実験の結果から、MK-801 海馬内投与は腹腔内投与と同様、NMTP 課題の遂行を障害するということが分かった。したがって、NMTP 課題の遂行にとっては、脳内に存在する NMDA レセプターの中でも、海馬のものが特に重要であるということが示唆される。さらにこれは、放射状迷路課題遂行に対する MK-801 海馬内投与の効果（実験 3）と同様の結果であり、海馬の NMDA レセプターが空間的作業記憶にとって重要であることが再度示唆された。

また、MK-801 海馬内投与は、放射状迷路課題の遂行障害（実験 3）と同様に、NMTP 課題の遂行にもかなり重篤な障害をもたらした。したがって、空間的作業記憶の負荷が軽い場合でも、MK-801 海馬内投与は空間的学習課題の遂行に重篤な障害をもたらすことが分かる。これは、レセプターの遮断によって、空間的作業記憶がほとんど記録、保持できなかったことによるものと考えられる。

また、干渉試行の成績は、実験 7 と同様に各群ともに非干渉試行の成

績と同程度であり、順向性干渉の効果は明確でなかった。したがって、MK-801 が干渉効果にどのような効果をもたらすかについては検討することはできなかった。

第4節 第2章の総合的考察

本章は、放射状迷路を用いた2種類の空間的学習課題を用い、空間的記憶に対するNMDAレセプターの機能について論ずることを目的とした。特に、薬物を海馬内投与することによって、海馬内のレセプターの機能について検討した。

第1節では、一般活動性に対するNMDAアンタゴニスト海馬内投与の効果を調べた。その結果、NMDAアンタゴニストの海馬内投与は運動障害をもたらすが、適量を用いれば、一般活動性には影響が出ないということが分かった。

第2節では、放射状迷路課題を用いて、NMDAアンタゴニスト、アゴニスト海馬内投与が空間的記憶にどのような効果をもたらすかを調べた。実験2、3から、NMDAアンタゴニストの海馬内投与が放射状迷路課題の遂行を障害することが明らかにされた。この結果はNMDAレセプターが空間的記憶にとって重要な役割を果たしているという仮説を支持する。また、NMDAアンタゴニストを海馬内に局所投与した場合においても、脳室内、末梢投与した場合の結果と同様に空間的記憶が障害されるということから、脳内のNMDAレセプターの中でも、特に海馬のものが空間的記憶にとって重要であるということが示唆された。また、実験4では、放射状迷路課題遂行時において、NMDAアンタゴニスト海馬内投与が参照記憶よりも、作業記憶を大きく障害することが明らかにされた。NMDAレセプターが保持・検索過程よりも記銘過程に関与しているという仮説(Morris, 1989; Venable & Kelly, 1990)に従うと、参照記憶が試行間で不変な記憶であるのに対し、作業記憶は試行ごとに更新される記憶であることから、NMDAアンタゴニストは主に作業記憶を阻害するはずである。本

実験の結果は、この仮説をほぼ支持しているといえる。実験5では、NMDAレセプター複合体内に存在し、正の調整部位として働くグリシン部位の役割について検討した。グリシン部位アゴニスト海馬内投与が、NMDAアンタゴニストによる記憶障害を改善したという本実験の結果は、海馬のNMDAレセプターが空間的記憶にとって重要であるという仮説を補強し、グリシン部位が記憶過程に対して積極的役割を持つことを示唆するものである。

第3節では、放射状迷路課題よりも作業記憶への負荷が軽い課題であるNMTP課題を用いて、空間的記憶に対するNMDAレセプターの役割を再検討した。結果より、記憶負荷が軽い課題であっても、課題遂行障害が重篤であることが分かった。課題の難易度に関わらず、重篤な障害が認められたという本研究の結果は、アンタゴニストを投与し、NMDAレセプターの機能を強く抑制した被験体では空間的作業記憶がほとんど記録されないために起こったと考えられる。また、NMDAアンタゴニストを海馬内投与した場合(実験7)においても、全身的投与を行った場合(実験6)と同じように重篤な障害が認められたことから、空間的記憶にとっては、海馬内のNMDAレセプターが特に重要であるということが再確認された。

本章の実験結果から、海馬のNMDAレセプターの機能を抑制すると、空間的記憶が阻害されることが分かった。したがって、脳内、特に海馬のNMDAレセプターが空間的記憶にとって重要な役割を果たしていることが示唆された。また、NMDAレセプターが海馬のLTPの誘発に関係しているという知見から、海馬のLTPが空間的記憶に深く関わっているということも示唆される。

第3章

ラットの空間的記憶に及ぼす NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果

新生仔期に NMDA アンタゴニストを反復投与すると、海馬の NMDA レセプターに長期的な機能異常が生じることが明らかにされている。この機能異常は、レセプターの機能の過剰亢進によるものであることが示唆されている(Gorter et al., 1992)。本章では、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与が、空間的記憶に対しどのような効果をもたらすかを調べた。これによって、NMDA レセプターが過剰亢進した場合の記憶障害の性質について推論することが可能となる。

本章では、まず NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の放射状迷路課題の習得への効果を調べ、空間的作業記憶に対する NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果について検討した（第1節）。また、オープンフィールド行動に対する NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果についても検討することによって、一般活動性に対する効果も検討した。さらに NMDA アンタゴニスト成体期反復投与についても、放射状迷路課題の習得、オープンフィールド行動に対する効果を調べ、新生仔期反復投与の結果と比較した（第2節）。また、NMTP 課題の習得に対する NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果を調べることにより、空間的作業記憶の負荷が小さい場合において、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与が空間的作業記憶に対しどのような効果をもたらすかを調べた（第3節）。

第1節 ラットの放射状迷路行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果

NMDA アンタゴニスト(MK-801)を新生仔期に反復投与すると、海馬の NMDA レセプターに機能異常が生じることが示唆されている(Gorter et al., 1991, 1992a, b; Gorter & de Bruin, 1992)。また、この機能異常はレセプター機能が亢進したことによるものであることが示唆される。

本節では、放射状迷路課題を用い、空間的記憶に対する NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果調べた。これらの実験によって、NMDA レセプターの機能亢進が空間的記憶にどのような影響をもたらすかということについて検討し、NMDA レセプターを遮断した場合の結果(第2章)と比較することを目的とした。さらに、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与が一般活動性にどのような影響をもたらすかを調べることを目的として、オープンフィールド行動に対する効果についても検討した。

また、従来の研究では、新生仔期に投与する NMDA アンタゴニストとして、非競合的アンタゴニストである MK-801 が用いられることが多かったが、MK-801 とは作用機序が異なる競合的アンタゴニスト (CGS 19755; *cis*-4-phosphonomethyl-2-piperidine carboxylic acid)を用いた場合でも、同様の薬物効果が得られるかどうかということも合わせて検討した。

1. ラットの放射状迷路行動に及ぼす非競合的 NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果 (実験 8)

1. 1. 放射状迷路行動に及ぼす効果 (実験 8-1)

非競合的 NMDA アンタゴニストを新生仔期反復投与したラットの成育後に、放射状迷路課題を遂行させることによって、新生仔期における NMDA レセプター遮断が空間的記憶にどのような影響をもたらすか調べた。

方 法

被験体 Wistar-Imamichi 系雄ラット 27 匹を用いた。1 リターを雄 6 匹、雌 3 匹に調整し、雄のみを実験に用いた。また、訓練期間中は体重を自由摂食時の 80~85% に維持するよう、食餌制限を行った。その他の飼育条件は実験 1 と同様であった。

装置 実験 2 と同様の高架式 8 方向放射状迷路を用いた。

薬物 MK-801 を 0.2、0.4 mg/ml の割合で SAL に溶解した。

手続き

実験スケジュールを Fig. 23 に示した。

(1)薬物投与

7 日齢時に被験体を SAL 投与群、MK-801 0.2 mg/kg 投与群、0.4 mg/kg 投与群の 3 群に振り分けた (各群 10 匹ずつ)。8~21 日齢時にわたり、SAL もしくは MK-801 (0.2、0.4 mg/kg) のいずれかを 1 日 2 回腹腔内投与した。薬物投与の間隔は、8 時間以上あけられた。

(2)習得訓練

ハンドリング、装置内馴化を 3 日間行った後、実験 2 と同様の習得訓練を 1 日 1 試行、20 日間行った。習得基準は最初の 8 選択中の正選択数

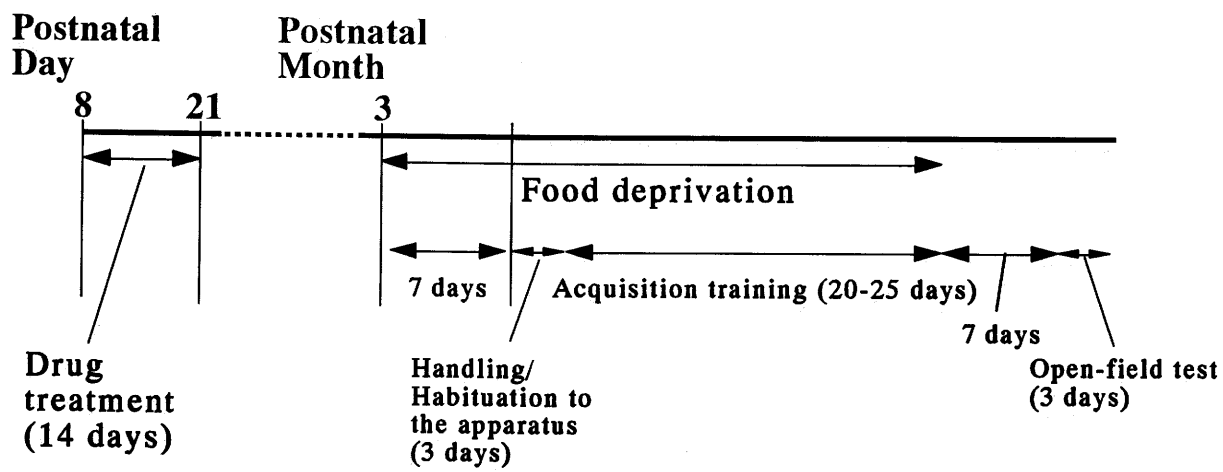


Fig. 23. 実験8、9、11のスケジュール。
 ただし、実験11ではオープンフィールドテストは行わなかった。

が7以上である試行が5試行連続することとし、20日たってもこの習得基準に到達しなかった被験体はさらに5日間訓練を行った。

結 果

薬物投与期間中に、SAL群、MK-801 0.2 mg/kg群、0.4 mg/kg投与群の被験体のうちそれぞれ1匹ずつが死亡した。

Fig. 24に各群の放射状迷路課題習得までに要した日数を示した。この結果から、MK-801の用量に従って、課題習得が遅れるということが分かる。特に、MK-801 0.4 mg/kg群においては、20日以内に課題を習得できたものは1匹もいなかった。この習得日数においてMK-801 0.4 mg/kg群の分散が0であったため、分析法としてKruskal-Wallis検定を用いて習得日数の検定を行ったところ、有意差が認められた($p < .01$)。

Fig. 25Aに誤選択数の推移を示した。ここでは5試行を1ブロックとし、各ブロックごとにそれぞれの値について1試行あたりの平均値をとった。この図が示すように、各群ともに訓練後半の方が誤選択数が少ない傾向があった。全期間を通じてMK-801の用量が増加するに従い、誤選択数が増加する傾向があった。この結果について、薬物条件、ブロックを要因とした2要因の分散分析を行ったところ、薬物条件の主効果[F(2, 24)=55.65, $p < .01$]、ブロックの主効果[F(3, 72)=7.87, $p < .01$]が有意であった。また、Newman-Keuls法による多重比較の結果、MK-801 0.2 ($p < .05$)、0.4 ($p < .01$) mg/kg群ともにSAL群より誤選択数が有意に多いということが分かった。同様に、Fig. 25Bに最初の8選択中の正選択数の推移を示した。この図が示すように、各群ともに時間経過に伴い正選択数が増加する傾向があった。また第1ブロックはMK-801を投与した被験体の方が正選択数が多い傾向にあったが、第2ブロック以降は、MK-801の用量が

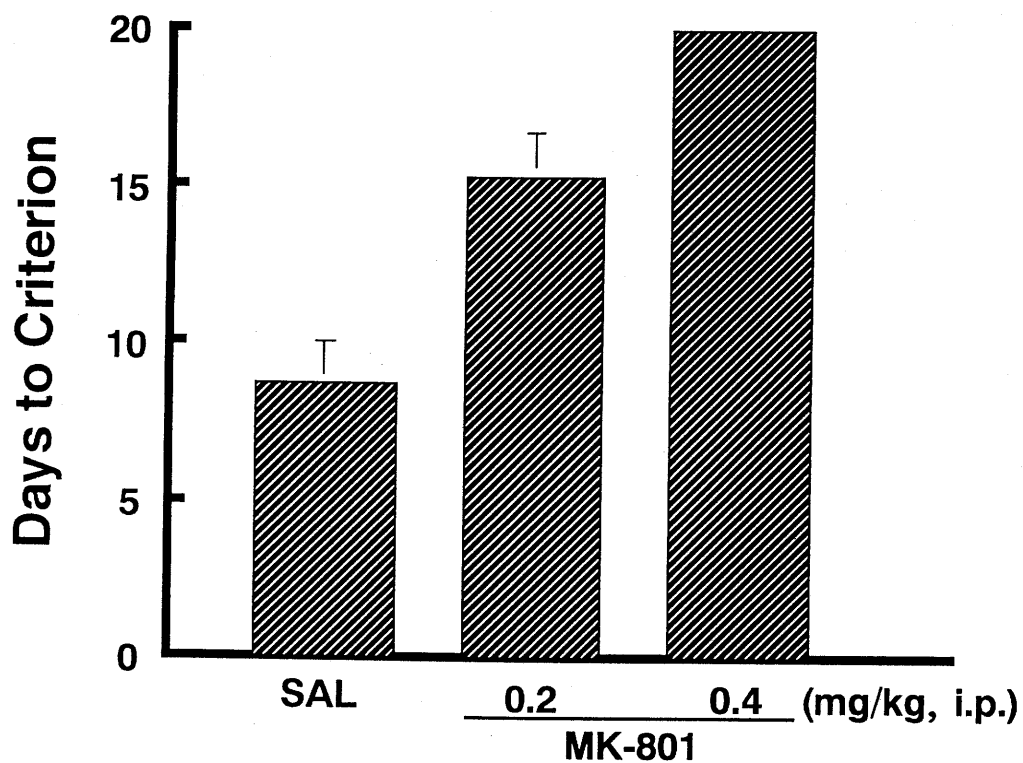


Fig. 24. MK-801新生仔期反復投与 (0.2, 0.4 mg/kg; 8~21日齢時に1日2回) を行ったラットが放射状迷路課題習得までに要した日数(±SEM)。

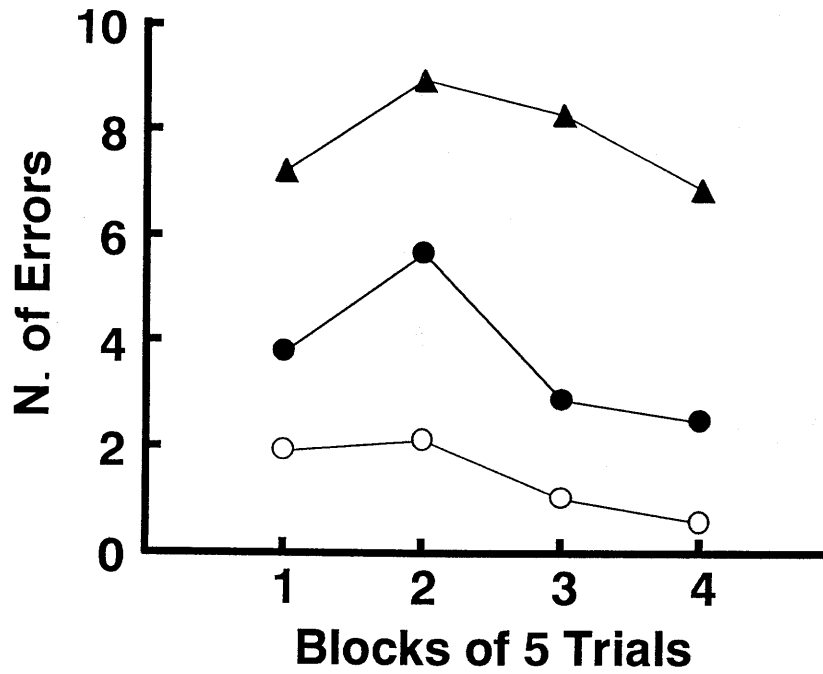
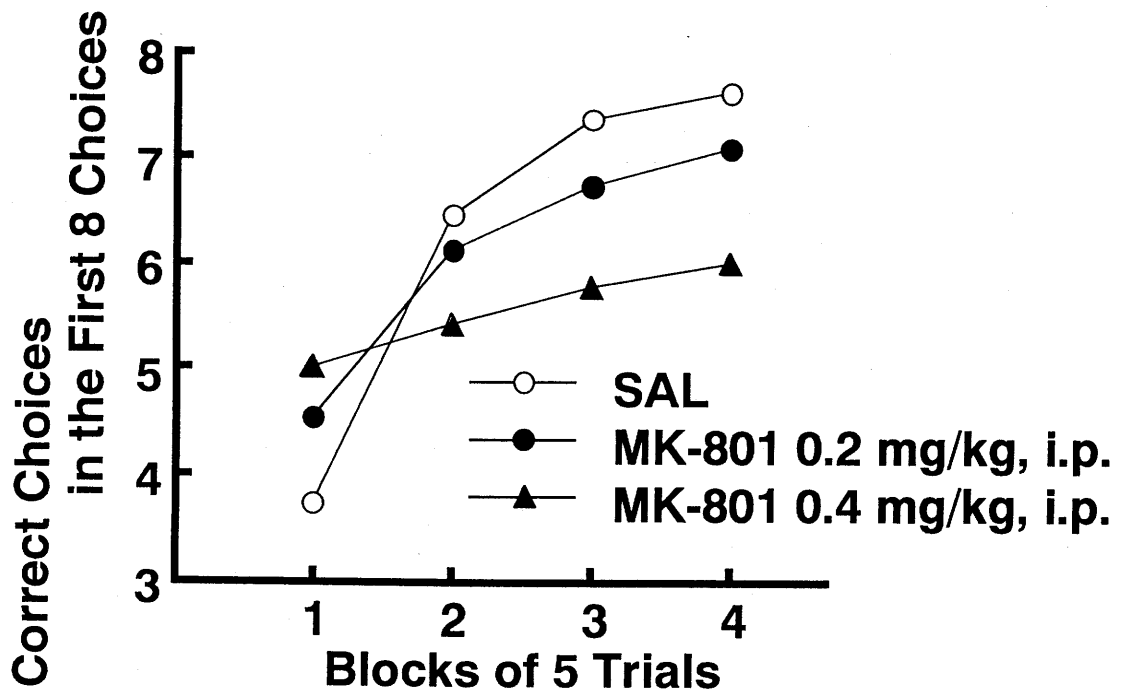
A**B**

Fig. 25. 放射状迷路学習に及ぼすMK-801新生仔期反復投与の効果。
5試行を1ブロックとして、誤選択数と最初の8選択中の正選択数の推移を示した。

増加するに従い、正選択数が減少する傾向があった。2 要因の分散分析の結果、薬物条件[F(2, 24)=5.07, p<.05]、ブロックの主効果[F(3, 72)=104.05, p<.01]、および薬物条件とブロックの交互作用 [F(6, 72)=13.40, p<.01]が有意であった。また、Newman-Keuls 法による多重比較の結果、MK-801 0.2 (p<.05)、0.4 (p<.01) mg/kg とともに SAL 群より正選択数が有意に少ないということが分かった。これらの結果から、MK-801 新生仔期反復投与が放射状迷路課題の習得を障害することが示唆される。

Fig. 26 に 1 選択あたりの走行時間の推移を示した。この値についても、5 試行を 1 ブロックとし、1 試行あたりの平均値を示した。MK-801 を投与した被験体は、走行時間が短い傾向にあるが、薬物条件、ブロックを要因とした分散分析の結果では有意差は得られなかった。

1. 2. オープンフィールド行動に及ぼす効果 (実験 8-2)

非競合的 NMDA アンタゴニストを新生仔期反復投与したラットの成育後に、オープンフィールドテストを行い、新生仔期における NMDA レセプター遮断が一般活動性にどのような影響を及ぼすか調べた。

方 法

被験体 Wistar-Imamichi 系雄ラット 27 匹 (SAL 群、MK-801 0.2 mg/kg 群、0.4 mg/kg 群 各 9 匹ずつ) を用いた。これらの被験体は実験 8 と同一の被験体であり、実験 8-1 が終了した後、直ちに本実験に用いられた。本実験開始時において、被験体は約 4 ヶ月齢であった。その他の飼育条件は、実験 1 に準じた。

装置 木製のオープンフィールド (縦 90×横 90×高さ 30cm) を用いた。装置内部は灰色に塗装され、床面は縦 5×横 5=25 区画に区切られていた。

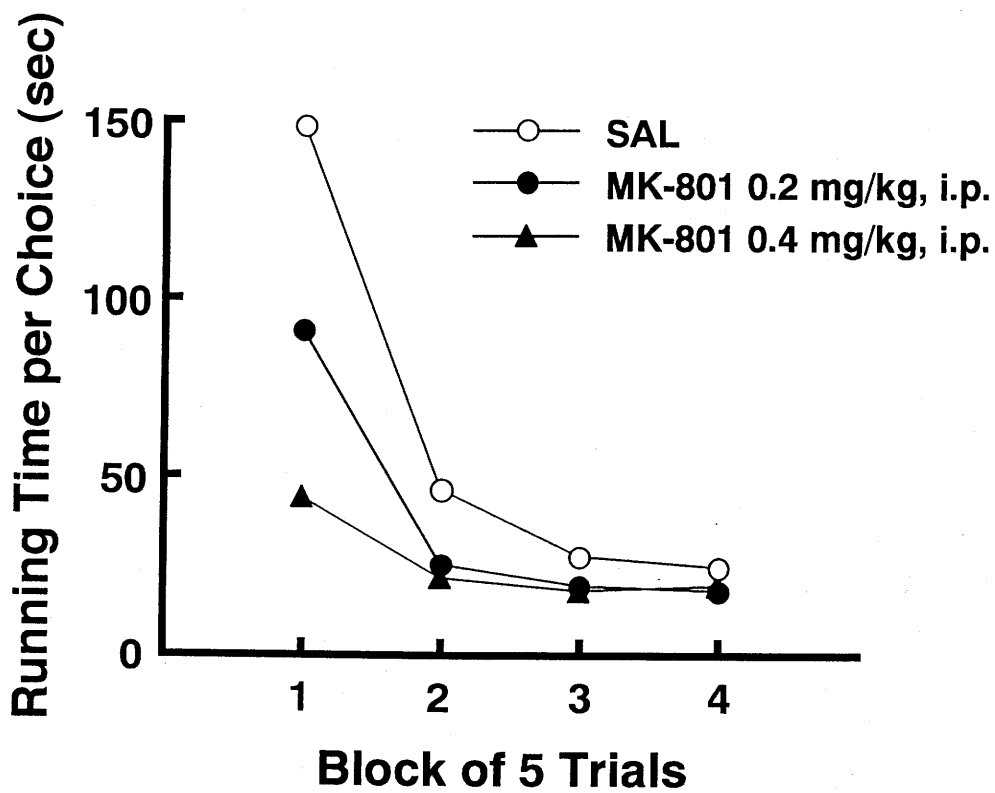


Fig. 26. MK-801新生仔期反復投与を行ったラットの放射状迷路課題遂行時の走行時間。
5試行を1ブロックとして、1選択あたりの走行時間の推移を示した。

装置中央部の真上に白熱電球を点灯し、装置中央の明るさを約 300 lx に固定した。

手続き 被験体は実験 8-1 が終了した後、食餌制限を解除された。その 1 週間後よりオープンフィールドテストを 3 日間にわたって行った(Fig. 23)。このテストでは、装置中央に被験体を置き、その後 5 分間にわたって通過区画数と立ち上がり反応数を測定した。

結 果

Fig. 27A に通過区画数の推移、Fig. 27B に立ち上がり反応数の推移を示した。各群ともに、日数の経過に伴い、通過区画数、立ち上がり反応数が変化した。この 2 つの測度について、薬物条件と日を要因とした 2 要因の分散分析を行ったところ、立ち上がり反応数のみにおいて、薬物条件[F(2, 24)=6.32, $p<.01$]、および日[F(2, 48)=16.76, $p<.01$]の主効果に有意差が認められた。また、通過区画数においては、いずれの主効果、交互作用にも有意差は認められなかった。立ち上がり反応数における薬物条件の主効果について、Newman-Keuls 法による多重比較を行ったところ、MK-801 0.4 mg/kg 群は SAL 群よりも立ち上がり反応数が有意に少ないということが分かった($p<.01$)。

考 察

本実験では非競合的 NMDA アンタゴニスト(MK-801)の新生仔期反復投与が放射状迷路課題の習得にどのような影響をもたらすかが調べられた。その結果、MK-801 投与によってこの課題の習得が大きく障害されることが分かった。したがって、アンタゴニスト新生仔期反復投与が空間的学習の習得を障害したということが分かる。また、この結果は、

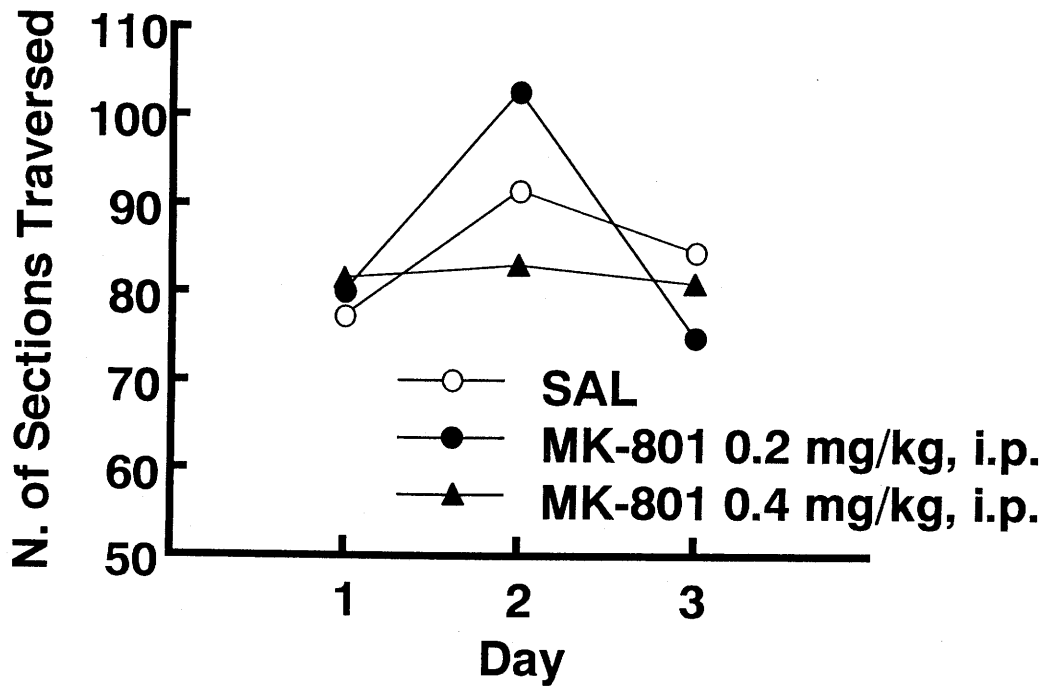
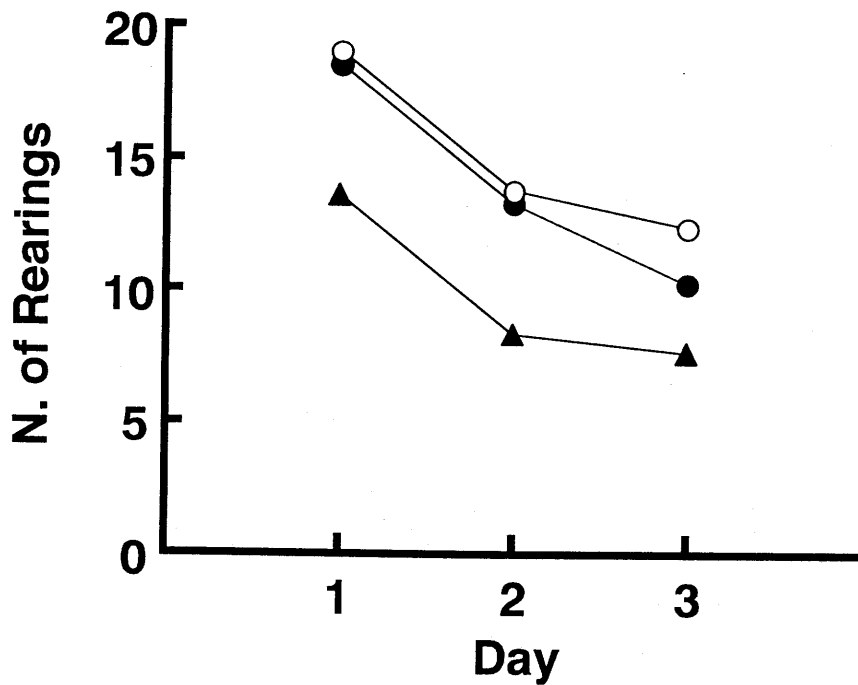
A**B**

Fig. 27. オープンフィールド行動に及ぼすMK-801新生仔期
反復投与の効果。
移動区画数(A)、立ち上がり反応数(B)を1日につき5分間
で、3日間測定した。

NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与が Morris 型水迷路の遂行を障害するという結果(Gorter & de Bruin, 1992)と一致する。MK-801 は走行時間には大きな影響を与えなかったことから、MK-801 によってもたらされた課題習得障害は感覚、運動機能や動機づけなどの非特異的機能の障害による副次的効果ではなく、記憶機能に直接影響したことによるものだという可能性が強い。また、第 1 ブロックにおいて、SAL 群に比べ、MK-801 群の方が走行時間が短い傾向にあったということは、MK-801 が課題習得に対する動機づけを障害したわけではないということを示唆する。

しかしながら、MK-801 を投与した被験体は、実験者が触れると飛び上がる、grooming (身繕い) が多いなど、顕著な行動の違いを見せた。また、オープンフィールド内においても、立ち上がり反応数が減少した。これらの観察結果は、NMDA レセプターの遮断が学習・記憶機能以外に影響したことを示唆する結果である。また、NMDA レセプターがてんかんや精神分裂病に関係しているという知見もある。実際、MK-801 新生仔期反復投与によって、海馬キンドリングによるけいれん反応を誘発しやすくなるという知見もある(Gorter et al., 1991)。MK-801 新生仔期反復投与が学習・記憶以外の機能に作用するかどうかということについては、さらに検討する必要があるだろう。

本実験で得られた課題遂行障害の一因として、NMDA アンタゴニストの新生仔期反復投与による NMDA レセプターの機能異常が挙げられる。また、この機能異常は、レセプターの機能の過剰亢進によるものであるということが示唆されている(Gorter et al., 1992)。したがって、本実験の結果は、アンタゴニスト遮断直後 (第 1 章) のように NMDA レセプターの機能が抑制されたときのみでなく、逆に機能が亢進した場合でも記憶が障害されうるということを示唆する。しかし、MK-801 群の被験体は、

発達に伴った体重の増加が SAL 群に比べ小さいということも分かっている。したがって、本実験で得られた MK-801 による課題習得障害は、MK-801 が発達障害をもたらしたことによるのかも知れない。この可能性については、解剖学的、生理学的、行動的研究などさまざまな側面から検討されるべきであろう。

2. ラットの放射状迷路行動に及ぼす競合的 NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果 (実験 9)

1. 1. 放射状迷路行動に及ぼす効果 (実験 9-1)

競合的 NMDA アンタゴニストをラットの新生仔期に反復投与し、その成育後に放射状迷路課題の習得訓練を行い、非競合的アンタゴニスト処置の結果 (実験 8-1) と比較した。

方 法

被験体 Wistar-Imamichi 系雄ラット 48 匹を用いた。飼育条件は実験 8 と同様であった。

装置 実験 2 と同様の高架式 8 方向放射状迷路を用いた。

薬物 CGS 19755 を 2、4 mg/ml の割合で SAL に溶解した。

手続き

実験スケジュールは実験 8 と共通のものであった(Fig. 23)。

(1)薬物投与

7 日齢時に被験体を SAL 群、CGS 19755 2 mg/kg 群、4 mg/kg 群の 3 群 (各群 16 匹ずつ) に振り分けた。8~21 日齢時にわたり、SAL もしく

は CGS 19755 (2、4 mg/kg) のいずれかを 1 日 2 回腹腔内投与した。薬物投与の間隔は 8 時間以上あけられた。

(2) 習得訓練

実験 2 と同様の習得訓練を 1 日 1 試行、20 日間行った。習得基準は最初の 8 選択中の正選択数が 7 以上である試行が 5 試行連続することとし、20 日たってもこの習得基準に到達しなかった被験体はさらに 5 日間訓練を行った。

結 果

SAL 群の 1 匹、CGS 19755 2 mg/kg 群の 2 匹、CGS 19755 4 mg/kg 群の 5 匹が実験期間中に死亡した。このため、最終的な被験体数は SAL 群 15 匹、CGS 19755 2 mg/kg 群 13 匹、CGS 19755 4 mg/kg 群 11 匹となった。

Fig. 28 に各群の放射状迷路課題習得までに要した日数を示した。この結果から、MK-801 の用量に依存して、課題習得が遅れるということが分かる。薬物条件を要因とした 1 要因の分散分析の結果、薬物条件の主効果が有意であった [$F(2, 36)=20.67, p<.01$]。また、Newman-Keuls 法による多重比較の結果、CGS 19755 4 mg/kg 群は SAL 群より習得までに要した日数が有意に多いということが分かった ($p<.01$)。

Fig. 29A に誤選択数の推移を示した。ここでは 5 試行を 1 ブロックとし、各ブロックごとにそれぞれの値について 1 試行あたりの平均値をとった。この図が示すように、各群ともに訓練後半の方が誤選択数が少ない傾向があった。また全期間を通じて、CGS 19755 の用量が増加するに従い、誤選択数が増加する傾向があった。この結果について、薬物条件、ブロックを要因とした 2 要因の分散分析を行ったところ、薬物条件

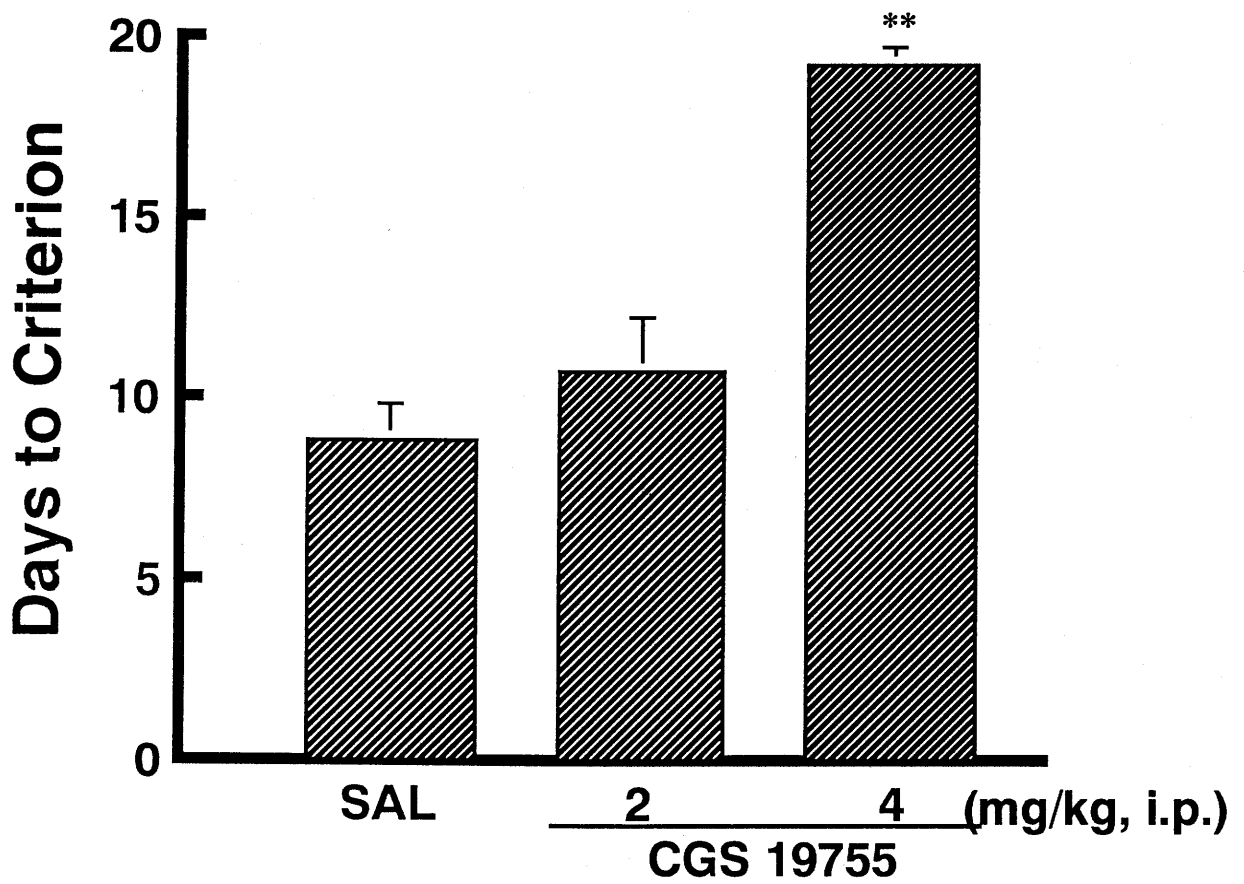


Fig. 28. CGS 19755新生仔期反復投与 (2, 4 mg/kg; 8~21日齢時に1日2回)を行ったラットが放射状迷路課題習得までに要した日数(±SEM)。** p<.01 vs. SAL.

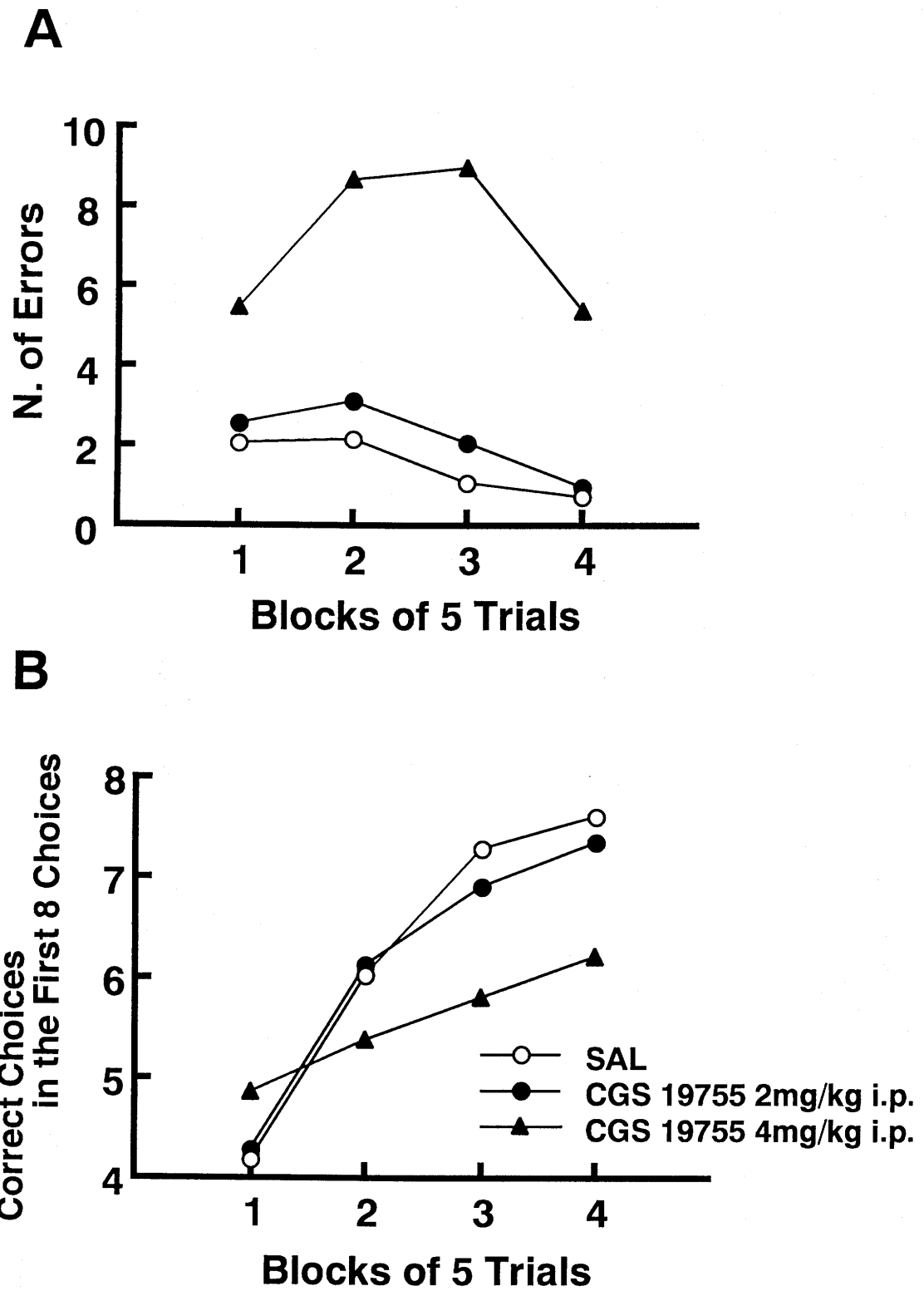


Fig. 29. 放射状迷路学習に及ぼすCGS 19755新生仔期反復投与の効果。
5試行を1ブロックとして、誤選択数(A)と最初の8選択中の正選択数(B)の推移を示した。

[F(2,36)=59.58, $p<.01$], ブロック[F(3, 108)=12.15, $p<.01$]の主効果、および薬物条件とブロックの交互作用[F(6, 108)=4.51, $p<.01$]が有意であった。また、Newman-Keuls 法による多重比較の結果、CGS 19755 4 mg/kg 群は SAL 群より誤選択数が有意に多いということが分かった($p<.01$)。同様に、Fig. 29B に最初の 8 選択中の正選択数の推移を示した。この図が示すように、各群ともに時間経過に伴い正選択数が増加する傾向があった。また第 1 ブロックは CGS 19755 を投与した被験体の方が正選択数が多い傾向にあったが、第 2 ブロック以降は、CGS 19755 の用量が増加するに従い、正選択数が減少する傾向があった。2 要因の分散分析の結果、薬物条件[F(2, 36)=4.29, $p<.05$]、ブロックの主効果[F(3, 108)=80.65, $p<.01$]、および薬物条件とブロックの交互作用[F(6, 108)=5.47 $p<.01$]が有意であった。また、Newman-Keuls 法による多重比較の結果、CGS 19755 4 mg/kg 群は SAL 群より正選択数が有意に少ないということが分かった($p<.05$)。これらの結果から、CGS 19755 の新生仔期反復投与が放射状迷路課題の習得を障害したことが分かる。

また、Fig. 30 に 1 選択あたりの走行時間の推移を示した。この値についても、5 試行を 1 ブロックとし、1 試行あたりの平均値を表した。CGS 19755 を投与した被験体は、走行時間が短い傾向にあるが、薬物条件、ブロックを要因とした分散分析の結果では有意差は得られなかった。

1. 2. オープンフィールド行動に及ぼす効果 (実験 9-2)

競合的 NMDA アンタゴニストを新生仔期反復投与したラットの成育後に、オープンフィールドテストを行い、非競合的アンタゴニスト処置の結果 (実験 8-2) と比較した。

Running Time per Choice (sec)

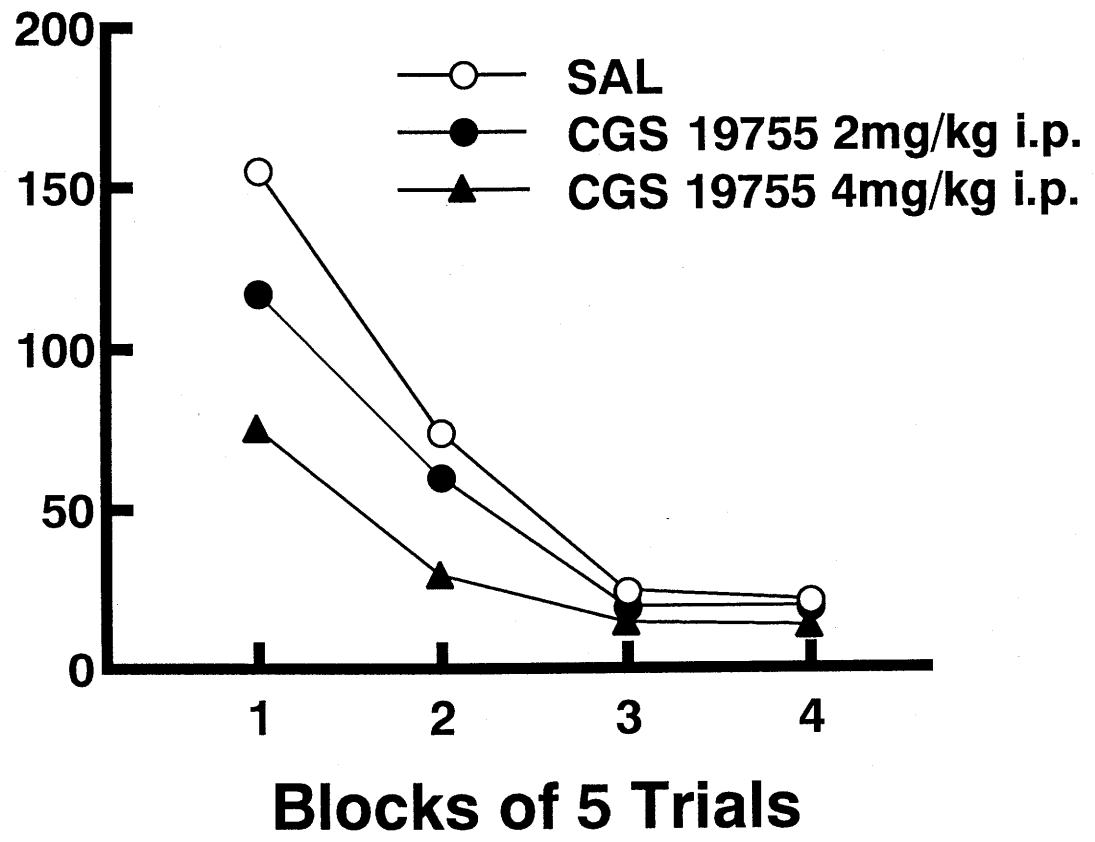


Fig. 30. CGS 19755新生仔期反復投与を行ったラットの放射状迷路課題遂行時の走行時間。
5試行を1ブロックとして、1選択あたりの走行時間の推移を示した。

方 法

被験体 Wistar-Imamichi系雄ラット 39匹(SAL群 15匹、CGS 19755 2 mg/kg 群 13匹、CGS 19755 4 mg/kg 群 11匹)を用いた。これらの被験体は実験 9-1 と同一の被験体であり、実験 9-1 が終了した後、直ちに本実験に用いられた。本実験開始時において、被験体は約 4 ヶ月齢であった。その他の飼育条件は、実験 1 に準じた。

装置 実験 8-2 と同じオープンフィールドを用いた。

手続き

被験体は実験 9-1 が終了した後、食餌制限を解除された。その 1 週間後よりオープンフィールドテストを 3 日間にわたって行った(Fig. 23)。このテストでは、装置中央に被験体を置き、その後 5 分間にわたって通過区画数と立ち上がり反応数を測定した。

結 果

Fig. 31A に通過区画数の推移、Fig. 31B に立ち上がり反応数の推移を示した。各群ともに、日数の経過に伴い、通過区画数、立ち上がり反応数を変化させる傾向にあった。また、3 日間を通じ、CGS 19755 4 mg/kg 群は SAL 群に比べ通過区画数、立ち上がり反応数が少ない傾向にあった。この 2 つの測度について、薬物条件と日を要因とした 2 要因の分散分析を行ったところ、立ち上がり反応数のみにおいて、日の主効果[F(2, 72)=20.38, $p<.01$]、薬物と日の交互作用[F(4, 72)=3.22, $p<.05$]に有意差が認められた。通過区画数については、いずれの主効果、交互作用においても有意差は認められなかった。立ち上がり反応数において、薬物と日の交互作用に有意差が認められたため、薬物条件について単純主効果の検定を行った。その結果、第 1 日目において有意差が認められた

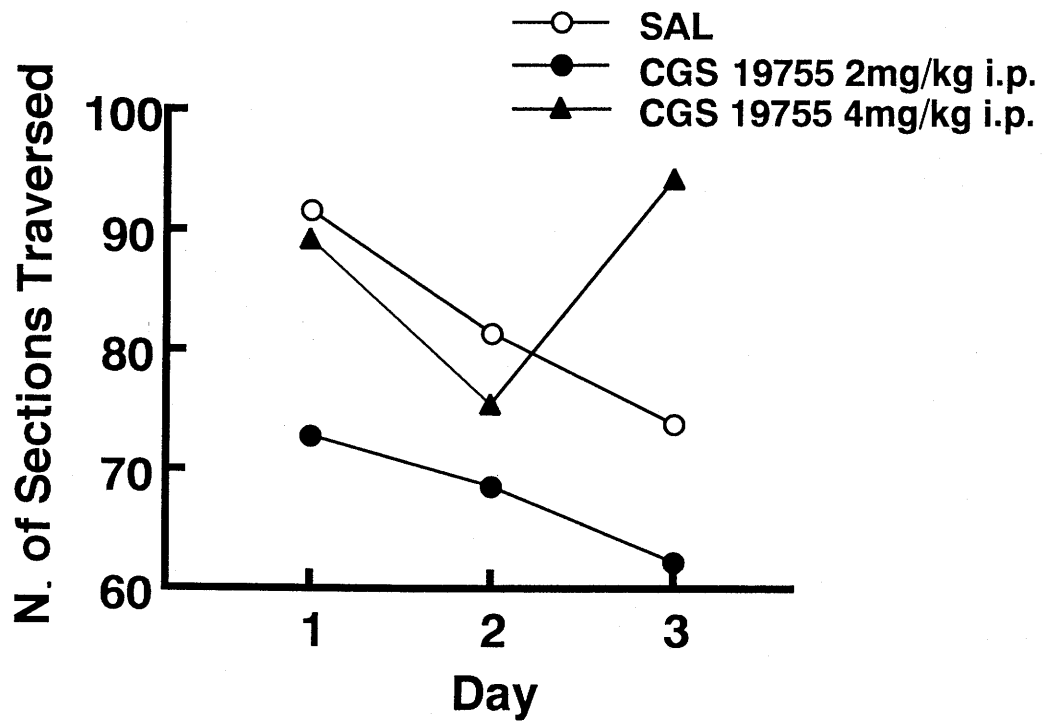
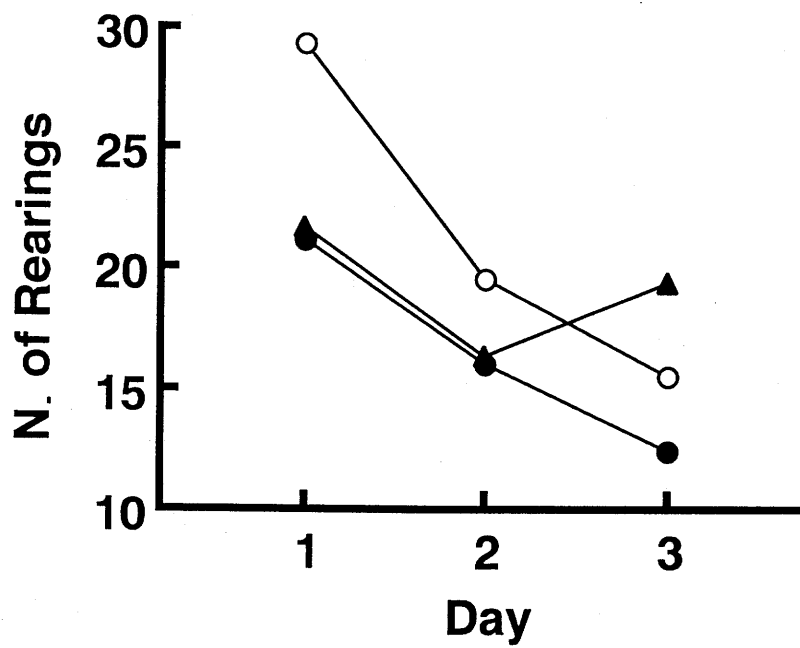
A**B**

Fig. 31. オープンフィールド行動に及ぼすCGS 19755新生仔期
反復投与の効果。
移動区画数(A)、立ち上がり反応数(B)を1日につき5分間で、
3日間測定した。

[F(2,108)=4.96, $p<.01$]. さらにこの単純主効果について Newman-Keuls 法による多重比較を行ったところ、CGS 19755 を投与した 2 群は SAL 群に比べ立ち上がり反応数が少ないということが分かった($p<.05$).

考 察

本実験では競合的 NMDA アンタゴニスト(CGS 19755)の新生仔期反復投与が放射状迷路課題の習得にどのような影響をもたらすかを調べた。その結果、アンタゴニスト投与によってこの課題の遂行が大きく障害された。したがって、競合的アンタゴニストの新生仔期反復投与が、非競合的アンタゴニストと同様、空間的学習の習得を障害するということが分かった。また、CGS 19755 は走行時間には大きな影響を与えなかったことから、CGS 19755 によってもたらされた課題習得障害は感覚、運動機能や動機づけなどの障害による副次的効果ではなく、記憶機能に直接影響したことによる可能性が強い。また、この障害は、MK-801 と同様、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与によりもたらされる NMDA レセプターの機能異常（機能の過剰亢進）によるものであるという可能性が考えられる。

しかし一方で、CGS 19755 群の被験体は、MK-801 新生仔期反復投与した被験体ほど顕著ではないものの、これらの被験体と同様の行動の変化（実験者が触れると飛び上がる、grooming が多い、オープンフィールドにおける立ち上がり反応数の減少など）を見せた。この観察結果は、CGS 19755 が学習・記憶以外の機能に作用した可能性を示唆するものである。また、CGS 19755 群の被験体は、発達に伴った体重の増加が SAL 群に比べ小さいということも分かった。したがって、本実験で得られた CGS 19755 による課題遂行障害は、CGS 19755 が発達障害をもたらしたことに

よるのかも知れない。これらの可能性については、議論の余地が残されている。

もう一つの問題として、CGS 19755 新生仔期反復投与が、MK-801 投与の場合と同様に、NMDA レセプターの機能異常（過剰亢進）を引き起こすのかという問題が挙げられる。先行研究(Gorter et al., 1992b)によって、MK-801 新生仔期反復投与が NMDA レセプターの機能の過剰亢進をもたらすという結果は示唆されているものの、その他の NMDA アンタゴニストを新生仔期反復投与した時の効果についてはほとんど分かっていない。しかし、本実験と実験 8 の結果を比較すると、CGS 19755、MK-801 の新生仔期反復投与はともに、放射状迷路課題の習得障害、走行時間の短縮、一般行動の変化、体重の低下、オープンフィールドにおける立ち上がり反応数の減少を引き起こした。したがって、CGS 19755 によってもたらされた行動的、身体的変化は、MK-801 による変化と類似している。このことから考えると、CGS 19755 新生仔期反復投与は、MK-801 新生仔期反復投与と同様の神経学的変化を引き起こした可能性が強い。しかし、CGS 19755 によってどのような神経学的変化が生じるのかということは、より詳細に検討する必要がある。

第2節 ラットの放射状迷路行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト成体期 反復投与の効果

放射状迷路課題を用いて、NMDA アンタゴニストを成体期に反復投与し、新生仔期反復投与によって得られる効果（第1節）と比較し、新生仔期反復投与と同様の効果が得られるかどうかを検討することを目的とした。

1. ラットの放射状迷路行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト成体期反復投与の効果（実験10）

1. 1. 放射状迷路行動に及ぼす効果（実験10-1）

放射状迷路課題の習得に対する NMDA アンタゴニスト成体期反復投与の効果調べた。

方 法

被験体 薬物投与開始時において約3ヶ月齢の Wistar-Imamichi 系雄ラット 24 匹を用いた。被験体は SAL 群、MK-801 0.2 mg/kg 群、0.4 mg/kg 群の 3 群（各群 8 匹ずつ）に分けられた。薬物投与開始前の平均体重は 345 (SD=45) g であった。習得訓練時には食餌制限を行い、体重を自由摂食時の 80~85% に維持した。

装置 実験2と同様の高架式8方向放射状迷路を用いた。

薬物 MK-801 を 0.2、0.4 mg/ml の割合で SAL に溶解した。

手続き

実験スケジュールを Fig. 32 に示した。

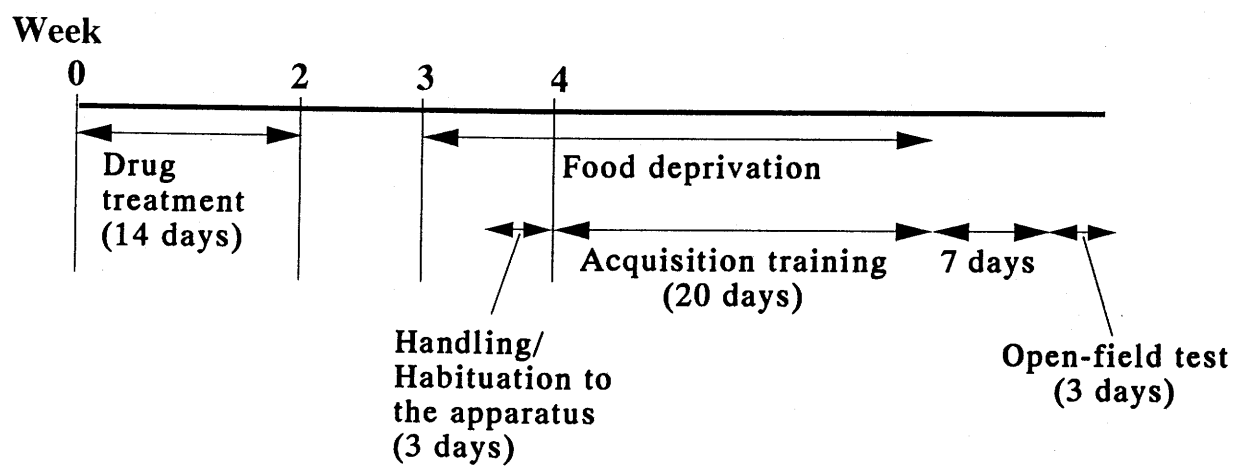


Fig. 32. 実験10のスケジュール。

(1)薬物投与

14 日間にわたり SAL もしくは MK-801 (0.2、0.4 mg/kg) を 1 日 2 回腹腔内投与した。薬物投与の間隔は 8 時間以上あけられた。

(2)習得訓練

薬物投与が終了した 2 週間後より、ハンドリング、装置内馴化を 3 日間行い、その後実験 2 と同様の習得訓練を 20 日間にわたり行った。習得基準も実験 2 と同様のものとし、20 日間経過しても基準を達成できなかった被験体は、さらに訓練を 5 日間行った。

結 果

Fig. 33 に各群の放射状迷路課題習得までに要した日数を示した。MK-801 投与によって、習得日数が減少する傾向が認められたものの、薬物条件を要因とした 1 要因の分散分析の結果、いずれの主効果、交互作用にも有意差は認められなかった。

Fig. 34A に誤選択数の推移を示した。ここでは 5 試行を 1 ブロックとし、各ブロックごとにそれぞれの値について 1 試行あたりの平均値を示した。この図が示すように、各群ともに訓練後半の方が誤選択数が少ない傾向があった。この結果について、薬物条件、ブロックを要因とした 2 要因の分散分析を行ったところ、ブロックの主効果[F(3, 63)=3.08, $p<.01$]のみが有意であった。同様に、Fig. 34B に最初の 8 選択中の正選択数の推移を示した。この図が示すように、各群ともに時間経過に伴い正選択数が増加する傾向があった。2 要因の分散分析の結果、ブロックの主効果[F(3, 63)=117.94, $p<.01$]のみが有意であった。これらの結果から、MK-801 の成体期反復投与は放射状迷路課題の習得を障害しないということが分かる。

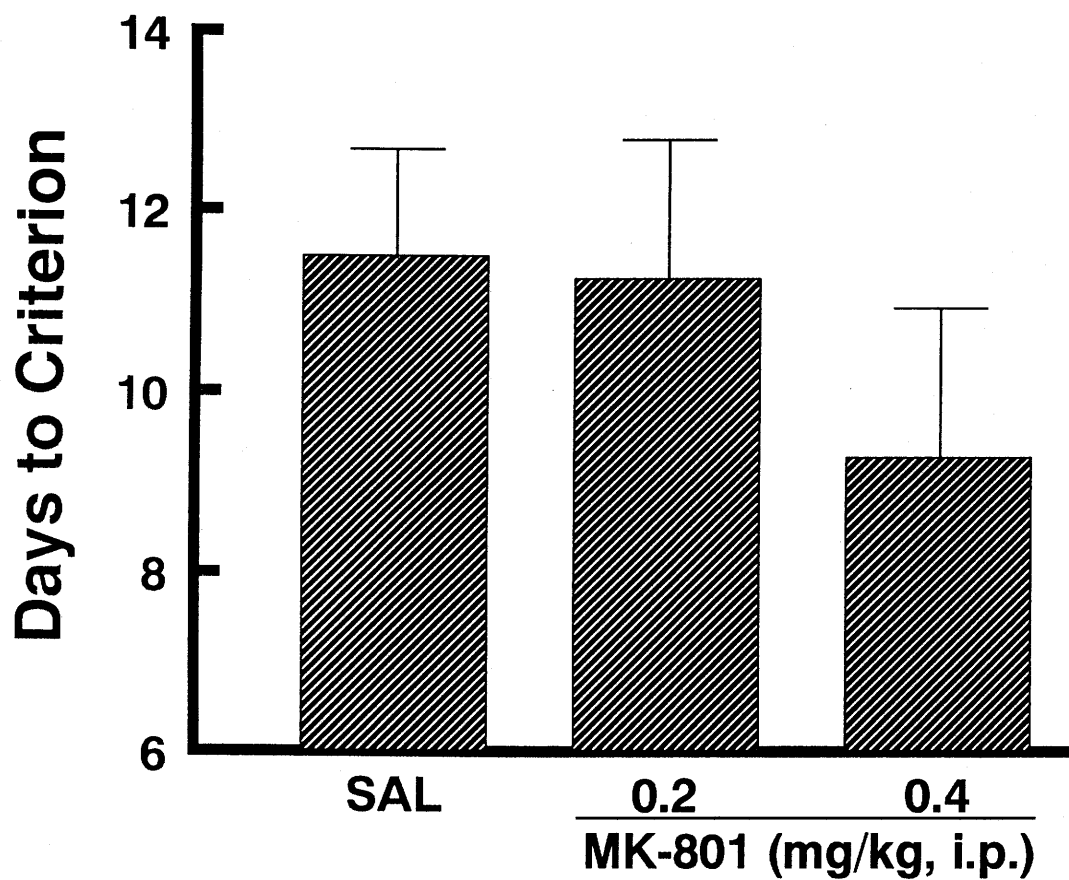


Fig. 33. MK-801成体期反復投与 (0.2, 0.4 mg/kg; 14日間にわたって1日2回投与) を行ったラットが放射状迷路課題習得までに要した日数(±SEM)。

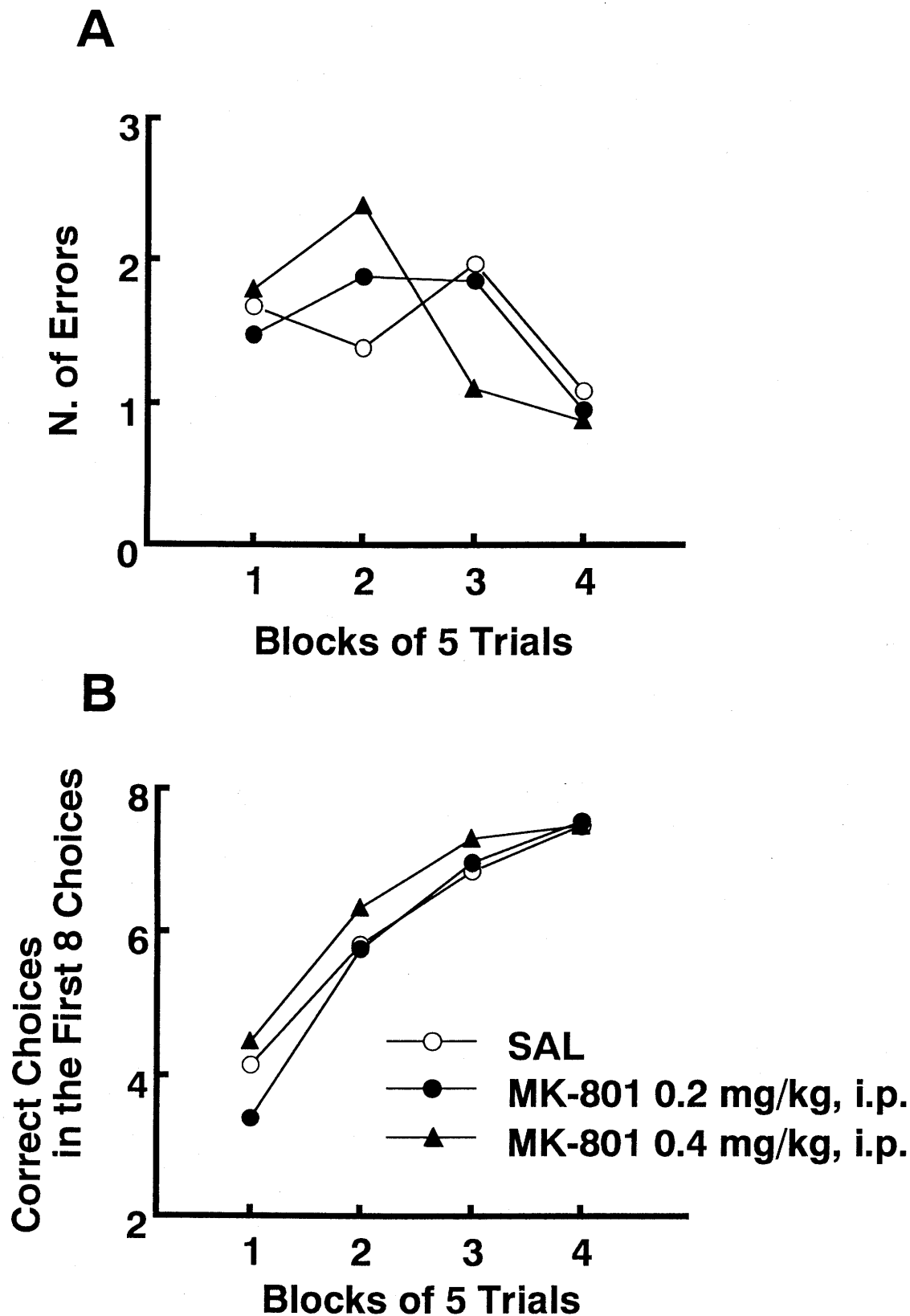


Fig. 34. 放射状迷路学習に及ぼすMK-801成体期反復投与の効果。
 5試行を1ブロックとして、誤選択数(A)と最初の8選択中の正選択数(B)の推移を示した。

また、Fig. 35 に 1 選択あたりの走行時間の推移を示した。この図が示すように、各群ともに時間経過に伴い走行時間が低下する傾向があった。この値についても、5 試行を 1 ブロックとし、1 試行あたりの平均値をとった。2 要因の分散分析の結果、ブロックの主効果[F(3, 63)=47.32, $p < .01$]のみが有意であった。

以上の結果から、NMDA アンタゴニスト成体期反復投与は、新生仔期反復投与とは異なり、放射状迷路課題の習得に影響を与えないということが分かった。

1. 2. オープンフィールド行動に及ぼす効果 (実験 10-2)

NMDA アンタゴニスト成体期反復投与が一般活動性にどのような影響をもたらすか調べ、新生仔期反復投与による効果 (第 1 節) と比較することを目的とした。

方 法

被験体 Wistar-Imamichi 系雄ラット 24 匹 (SAL 群、MK-801 0.2 mg/kg 群、0.4 mg/kg 群 各 8 匹ずつ) を用いた。この被験体は実験 10-1 で使用したものと同一であり、実験開始時において、約 4 ヶ月齢であった。

装置 実験 8-2 と同様のオープンフィールドを用いた。

薬物 MK-801 を 0.2、0.4 mg/ml の割合で SAL に溶解した。

手続き

実験 10-1 の終了後、食餌制限を解除しその 1 週間後よりオープンフィールドテストを 3 日間行った (Fig. 32)。このテストでは、装置中央に被験体を置き、その後 5 分間にわたって通過区画数と立ち上がり反応数を測定した。

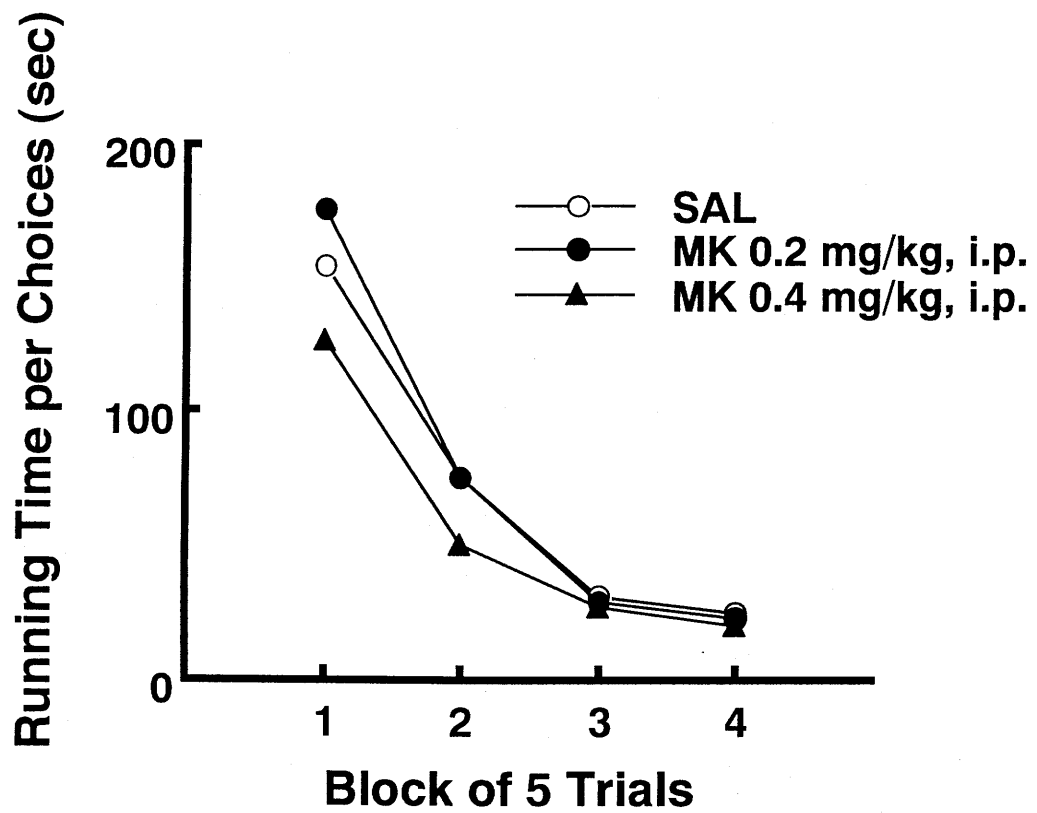


Fig. 35. MK-801成体期反復投与を行ったラットの放射状迷路課題遂行時の走行時間。

5試行を1ブロックとして、1選択あたりの走行時間の推移をとった。

結 果

通過区画数、立ち上がり反応数の推移をそれぞれ Fig. 36A, B に示した。各群ともに時間経過に伴い、通過区画数、立ち上がり反応数を減少させる傾向にあった。薬物条件と日を要因とした分散分析の結果、いずれの指標についても日の主効果のみが有意であり[通過区画数 $F(2, 42)=8.38$, $p<.01$; 立ち上がり反応数 $F(2, 42)=34.36$, $p<.01$]、MK-801 はこれら2つの指標に影響を与えないことが分かった。これらの結果から、MK-801 成体期反復投与は、新生仔期反復投与の場合と異なり、一般活動性にも影響を与えないということが示唆される。

考 察

本実験の結果より、NMDA アンタゴニスト成体期反復投与が放射状迷路課題の遂行の障害をもたらさないということが分かった。同様に、この処置は一般活動性にも影響をもたらさなかった。これらの結果は、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与が放射状迷路課題の遂行や、一般活動性に影響を与えたという第1節の結果とは異なっている。このことから、NMDA アンタゴニストの反復投与は、その投与時期によって作用が大きく異なるということが分かる。このように、投与時期によって行動に対する効果が異なる原因については明らかではないが、海馬のNMDA レセプターの感受性は生後1~3週齢時において最も高いということが知られており(McDonald & Johnston, 1990)、このような感受性の違いが薬物投与時期による差異を生んだのかも知れない。

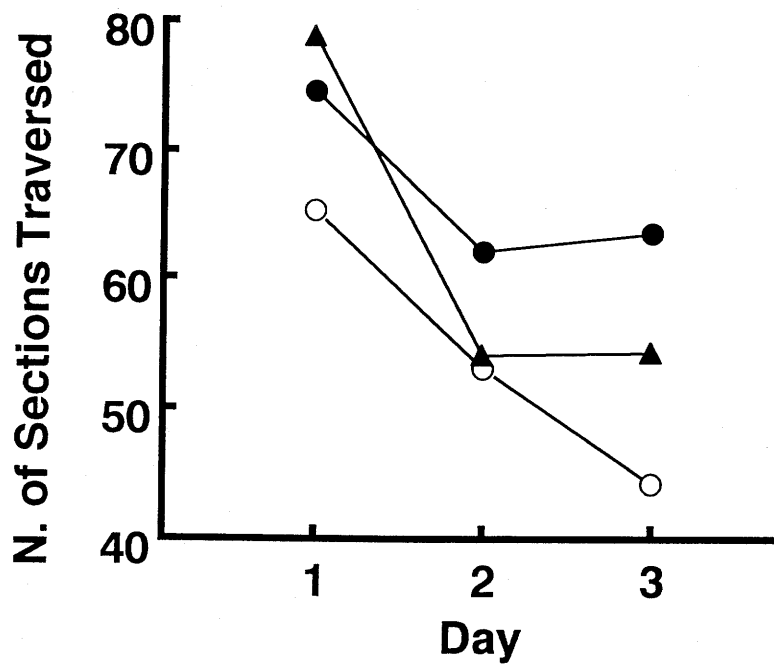
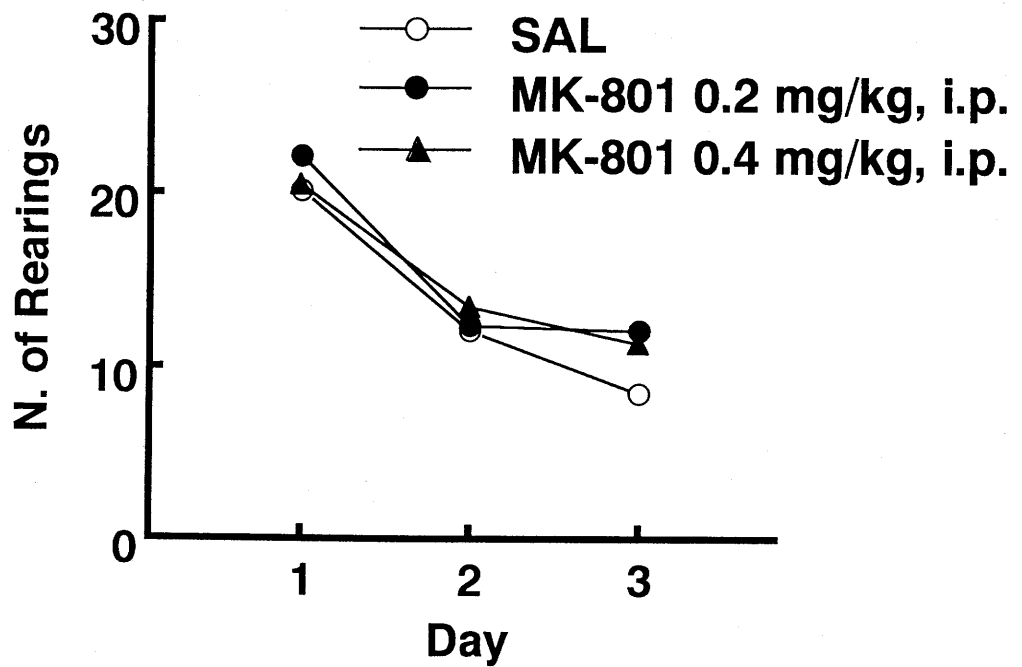
A**B**

Fig. 36. オープンフィールド行動に及ぼすMK-801成体期反復投与の効果。
移動区画数(A)、立ち上がり反応数(B)を1日につき5分間で、3日間測定した。

第3節 ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす NMDA アンタゴニスト 新生仔期反復投与の効果

NMTP 課題を用い、空間的記憶に対する、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果を中心に検討した。前述のように、NMDA レセプターを遮断してしまった場合（第2章参照）はレセプター機能が抑制されてしまうのに対し、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与を行ったラットの、成育後の海馬の NMDA レセプターの機能は、むしろ亢進気味に働くことが知られている。つまり、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与によってレセプターの働きが完全に失われるわけではないので、作業記憶内にある程度の項目は貯蔵できるということが予想される。したがって、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与を行った被験体は、放射状迷路課題が習得できない場合でも、記憶負荷が比較的軽い NMTP 課題は、ある程度は習得可能であると考えられる。

1. ラットの場所非見本合わせ行動に及ぼす非競合的 NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果（実験 11）

NMTP 課題を用い、空間的記憶に対する、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果を中心に検討し、放射状迷路課題を用いたときの結果（実験 8-1）と比較した。

方 法

被験体 Wistar-Imamichi 系雄ラット 36 匹（SAL 群、MK-801 0.2 mg/kg 群、0.4 mg/kg 群 各 12 匹ずつ）を用いた。飼育条件は、実験 8 と同様の

ものであった。

装置 実験 2 と同様の高架式 8 方向放射状迷路を用いた。

薬物 MK-801 を 0.2、0.4 mg/ml の割合で SAL に溶解した。

手続き

(1)薬物投与

実験 8 と同一の手続きで薬物投与を行った。

(2)習得訓練

ハンドリング、装置内馴化を 3 日間行った後、実験 7 と同様の習得訓練を 20 日間行った。習得基準も実験 7 で用いたものと同じであり、20 日たってもこの習得基準に到達しなかった被験体はさらに 5 日間訓練を行った。

結 果

Fig. 37 に各群の NMTP 課題習得までに要した日数を示した。この結果から、MK-801 の用量に依存して、課題習得が遅れるということが分かる。薬物条件を要因とした 1 要因の分散分析の結果、薬物条件の主効果が有意であった[F(2, 33)=3.71, $p<.05$]。また、Newman-Keuls 法による多重比較の結果、MK-801 0.2、0.4 mg/kg 群は SAL 群より習得までに要した日数が有意に多いということが分かった($p<.05$)。

全試行、非干渉試行、干渉試行における正選択率の推移をそれぞれ Fig. 38A、B、C に示した。ここでは 5 試行を 1 ブロックとし、各ブロックごとにそれぞれの値について 1 試行あたりの平均値を算出した。この図が示すように、各群ともに訓練後半の方が正選択率が高い傾向にあった。また、いずれの試行においても、MK-801 を投与した被験体は用量依存的に課題習得が遅れる傾向があった。薬物条件とブロックを要因とした 2

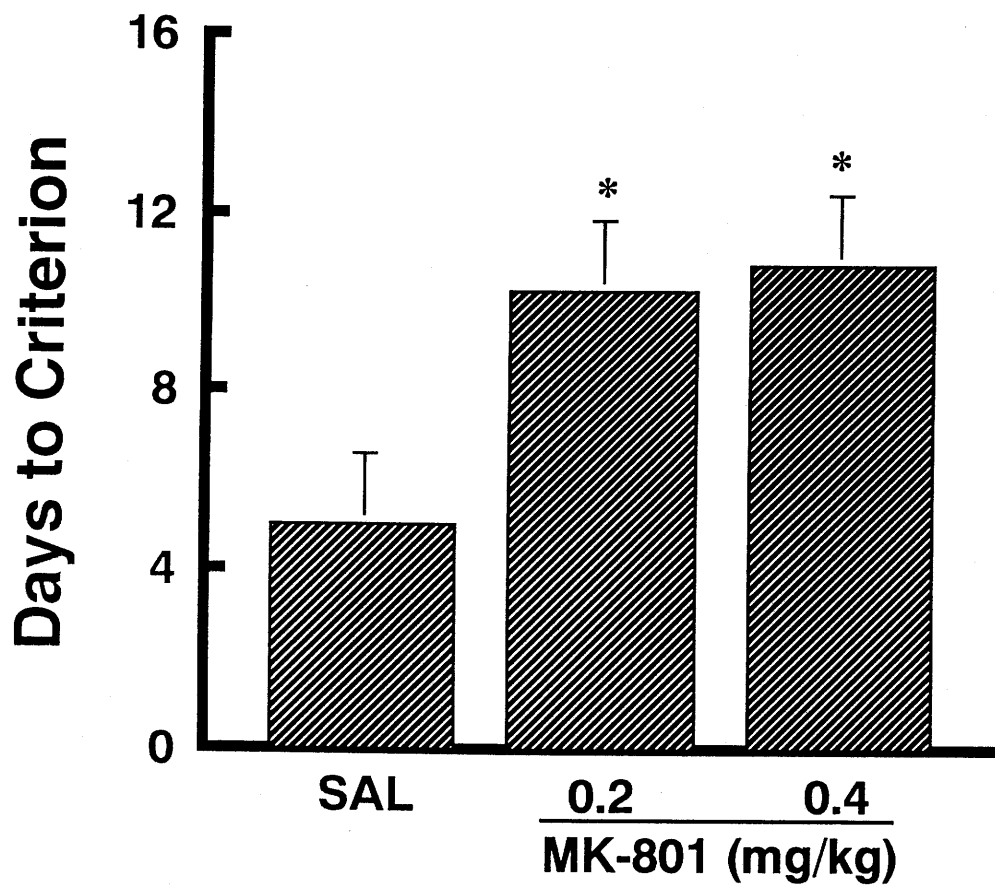


Fig. 37. MK-801新生仔期反復投与 (0.2, 0.4 mg/kg; 8~21日齢時に1日2回) を行ったラットがNMTP課題習得までに要した日数(±SEM)。* p<.05 vs. SAL.

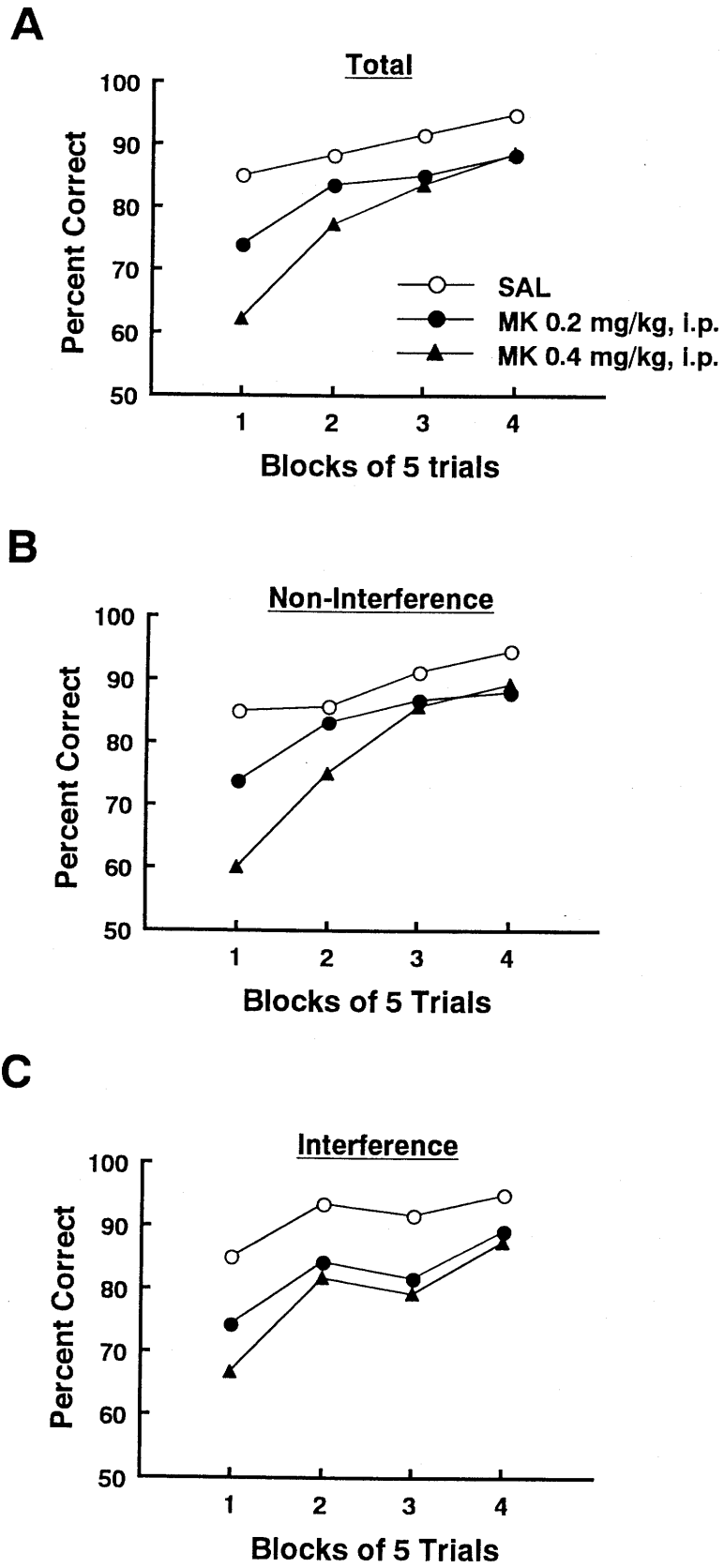


Fig. 38. NMTP学習に及ぼすMK-801新生仔期反復投与の効果。
 5日間のセッションを1ブロックとして、全試行(A)、非干渉試行(B)、干渉試行(C)の推移をとった。

要因の分散分析の結果、いずれの試行においても、薬物の主効果 [全試行 $F(2, 33)=5.02, p<.05$; 非干渉試行 $F(2, 33)=3.89, p<.05$; 干渉試行 $F(2, 33)=4.62, p<.05$]、ブロックの主効果 [全試行 $F(3, 99)=18.39, p<.01$; 非干渉試行 $F(3, 99)=21.70, p<.01$; 干渉試行 $F(3, 99)=8.32, p<.01$] が有意であった。さらに、それぞれの試行の薬物条件について、Newman-Keuls 法による多重比較を行ったところ、全試行、非干渉試行においては 0.4 mg/kg 群のみが、干渉試行においては 0.2 mg/kg、0.4 mg/kg の両群が SAL 群と比較して有意に正選択率が低かった($p<.05$)。

また、見本走行、選択走行における選択潜時をそれぞれ Fig. 39A、B に示した。この指標についても 5 試行を 1 ブロックとし、各ブロックごとにそれぞれの値について 1 試行あたりの平均値をとった。各群とも、見本走行、選択走行のいずれも時間経過に伴い走行時間が短縮していった。薬物条件とブロックを要因とした 2 要因の分散分析の結果、見本走行においてはブロックの主効果 [$F(3, 99)=114.20, p<.01$] のみが、選択走行においてはブロックの主効果 [$F(3, 99)=45.75, p<.01$] と薬物条件とブロックの交互作用 [$F(6, 99)=6.03, p<.01$] が有意であった。選択走行において交互作用が有意であったため、薬物条件についての単純主効果検定を行ったところ、第 1 ブロックにおいて有意差が認められた [$F(2, 132)=10.52, p<.01$]。さらに Newman-Keuls 法による多重比較を行ったところ、MK-801 0.2 mg/kg、0.4 mg/kg とともに SAL 群と比較して有意に走行時間が短かった ($p<.01$)。

考 察

本実験では非競合的 NMDA アンタゴニスト (MK-801) の新生仔期反復投与が NMTP 課題の習得にどのような影響をもたらすか調べた。その結果、

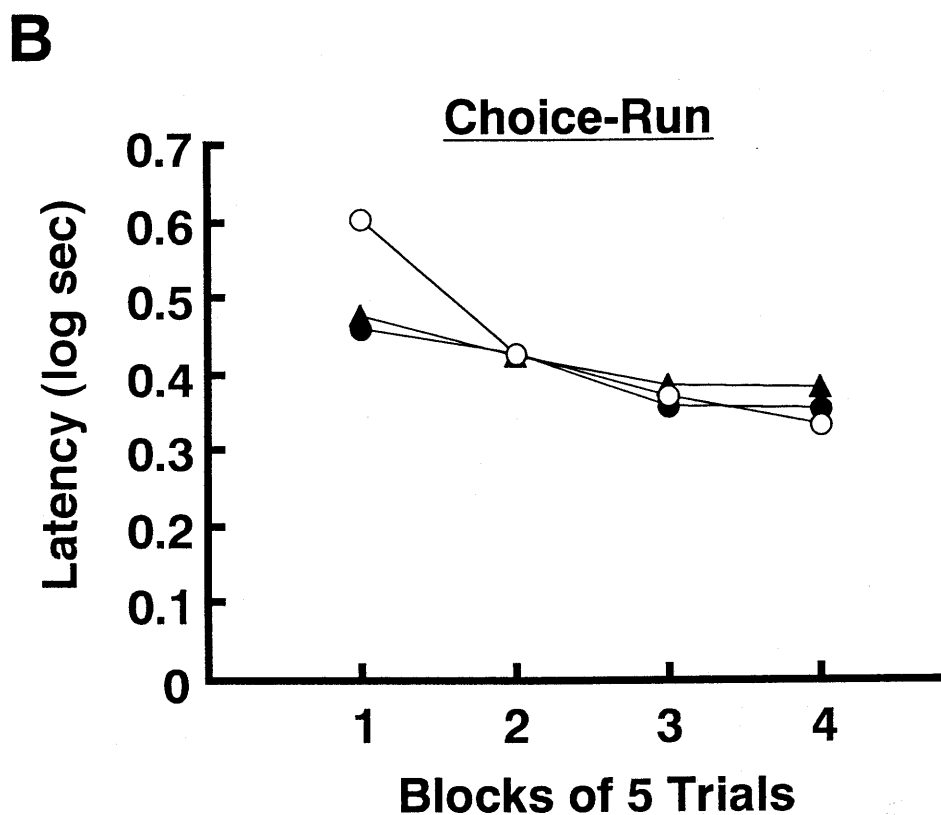
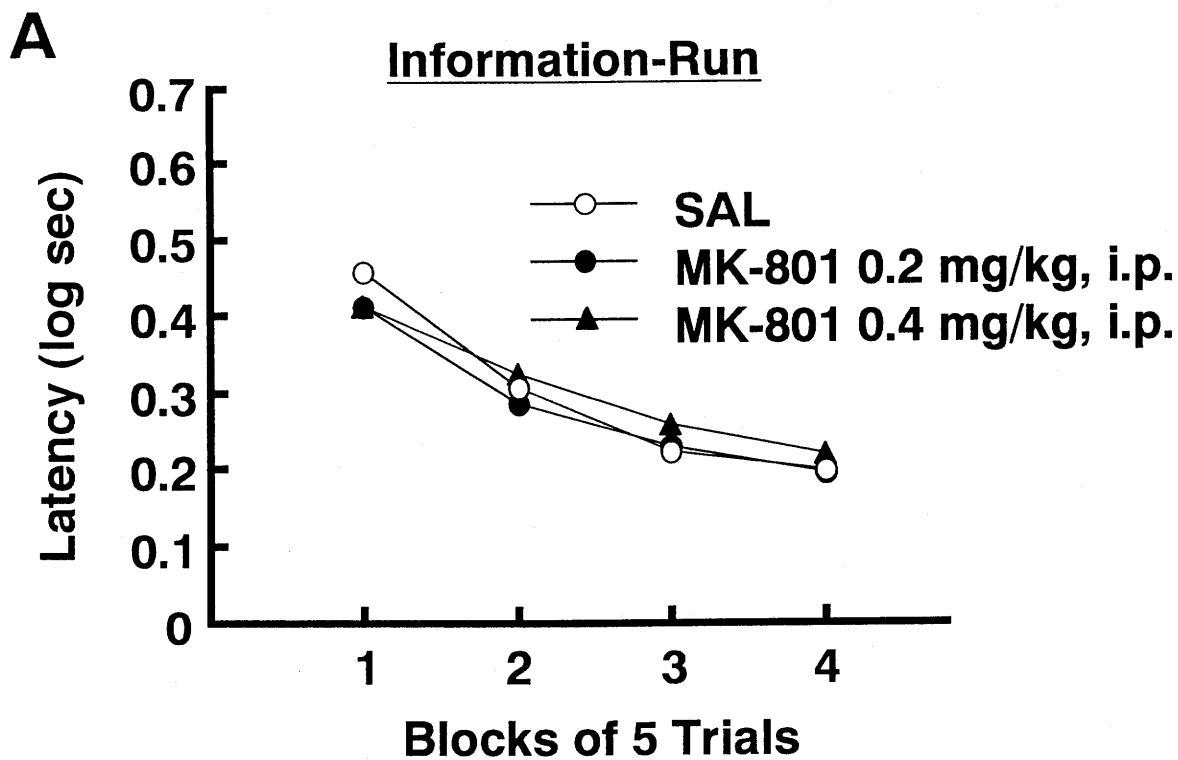


Fig. 39. MK-801新生仔期反復投与を行ったラットのNMTP課題遂行時における選択潜時。
5日間のセッションを1ブロックとして、見本走行(A)、選択走行(B)における選択潜時の推移を示した。

MK-801 新生仔期反復投与は、放射状迷路課題と同様に、NMTP 課題の習得も遅らせるということが分かった。

しかし、MK-801 0.2 mg/kg 群ではほとんどの被験体が、0.4 mg/kg 群でもほぼ半数の被験体が最終的に課題を習得することが可能であった。また、MK-801 0.4mg/kg 群の被験体は、放射状迷路課題の成績は訓練最終期においてもランダムレベルに近い成績であったのに対し、NMTP 課題の場合は訓練最終期には正選択率が90%近くまで上昇した。0.2 mg/kg 群の被験体においては訓練最終期の正選択率は、SAL 群の被験体とほとんど変わらなかった。この結果は、MK-801 新生仔期反復投与がもたらす NMTP 課題の習得障害は、さほど重篤なものではないということを意味している。NMDA レセプター単回投与直後においては、放射状迷路課題、NMTP 課題の両課題の遂行が重篤に障害されたという結果が得られている（第1章）が、この結果は本実験の結果とやや異なっているといえる（ただし、単回投与の場合は課題遂行に対する効果を調べたのに対し、新生仔期反復投与の場合は課題習得に対する効果を調べたということには幾分注意を要する）。放射状迷路課題と NMTP 課題は、課題遂行に空間的作業記憶を必要とするという点で類似した課題であるといえる。しかしながら、放射状迷路課題は以前に選択した複数の選択肢についての情報を作業記憶内に貯蔵しておく必要があるのに対し、NMTP 課題は見本走行で選択した1つの項目についての情報のみを貯蔵すればいい。したがって、NMTP 課題は放射状迷路課題に比べ容易な課題であるといえる。つまり、MK-801 を新生仔期反復投与した被験体は、作業記憶の負荷が軽い場合は、ある程度は課題を解決することが可能であるということである。

また、干渉試行の成績は、実験7と同様に各群ともに非干渉試行の成

績と同程度であり、順向性干渉の効果は明確でなかった。したがって、MK-801 が干渉効果にどのような効果をもたらすかということについては検討することはできなかった。

第4節 第3章の総合的考察

第1節において、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与が放射状迷路課題の習得を障害するということが分かった。これは、新生仔期におけるNMDA レセプターの慢性的遮断が空間的記憶の障害を引き起こすということを意味している。このような記憶障害が生じる原因として、薬物処置によって生じたNMDA レセプターの機能異常が考えられる。この機能異常は、レセプター機能がむしろ亢進気味に働くことによるものであることから、NMDA レセプターの機能が抑制された場合のみでなく、過剰亢進した場合にも記憶が阻害されるという可能性が示唆される。この結果は、海馬のLTPを最大限に誘発（飽和）すると空間的記憶が障害されるという結果(Castro et al., 1989; McNaughton et al., 1986)と同様に、過度のLTPが逆に記憶障害をもたらすということを示唆しているのかもしれない。また、非競合的アンタゴニスト、競合的アンタゴニストの2種類の薬物において、その新生仔期反復投与による行動的变化（放射状迷路課題の遂行障害、立ち上がり反応数の減少、その他の一般行動の変化など）は、類似したものであった。この結果から、両種の薬物がNMDA レセプター遮断を通じてほぼ同様の神経学的変化を引き起こしたことが予想される。

一方、第2節においては、NMDA アンタゴニスト成体期反復投与は、新生仔期反復投与とは異なり、放射状迷路課題の遂行障害をもたらさないということが分かった。したがって、発達のより初期にNMDA レセプターを遮断した方が行動的、神経学的変化が大きいということが推測される。これは、NMDA レセプターの感受性が発達初期において最も高いということに関係しているのかもしれない。

第3節では、空間的記憶に対する NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果、NMTP 課題を用いて再検討した。その結果、新生仔期反復投与は NMTP 課題の遂行をも阻害するものの、その重篤度は放射状迷路課題の障害よりもかなり軽度のものであった。この結果は、NMDA レセプター遮断直後において、放射状迷路課題、NMTP 課題の両方が大きく障害されたという結果（第2章参照）とは多少異なっているといえる。前述のように、NMTP 課題は、放射状迷路課題とほぼ同様の課題遂行方略を有するにも関わらず、放射状迷路課題よりも作業記憶に対する負荷が軽い課題である。したがって今回の結果は、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与を行った被験体は、作業記憶内にある程度の項目を保持することが可能であり、作業記憶の負荷が軽い場合は課題を正常に遂行できるということを示唆している。つまり、NMDA レセプターの機能が強く抑制された場合は空間的作業記憶をほとんど記憶できないのに対し、NMDA レセプターの機能が過剰亢進した場合は空間的作業記憶をある程度は記憶、保持できるということが示唆される。

しかしながら本研究においては、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与が一般活動性にも影響を及ぼすという結果も同時に得られた。この結果から、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与により引き起こされた課題遂行障害は、記憶障害によるものではなく、感覚、運動、動機づけなどが障害されたことによる副次的な効果であるという可能性も否定できない。アンタゴニスト新生仔期反復投与が記憶に作用したのか、それとも記憶以外の非特異的機能に作用したのかということは、本研究の結果のみからは判断することができず、今後の課題とされる。

また、本研究では先行研究(Gorter et al., 1992b)に基づき NMDA アンタゴニストの新生仔期反復投与が NMDA レセプターの機能亢進を引き起こ

すということを仮定しているが、一方でこのような薬物処置が、生育後のモノアミン系の代謝(Gorter, Botterblom, Feenstra & Boer, 1992)や神経系の発達に影響を与えるということ(McDonald & Johnston, 1990)も報告されている。したがって、本研究で得られた課題遂行障害がNMDAレセプターの障害によるものなのか、他の系が変化したことによるものかを更に検討する必要があるといえるだろう。

第 4 章

総合的考察および今後の展望

第 1 節 総合的考察

本研究では、放射状迷路課題、および放射状迷路を用いた場所非見本合わせ課題(NMTP)課題を用いて、脳内 NMDA レセプターと空間的記憶の関係を調べることを目的とした。

第 2 章では、NMDA アンタゴニストおよびアゴニストを海馬内投与することにより、海馬内の NMDA レセプターと空間的記憶の関係を調べた。その結果、作用機序の異なる 2 種類の NMDA アンタゴニストを海馬内に投与したところ、放射状迷路課題の遂行が障害されるということが分かった。さらに、この課題遂行障害は作業記憶の障害によるところが大きいということが示唆された。また、NMDA レセプターの調節部位であるグリシン部位のアゴニストを投与したところ、NMDA アンタゴニストによる記憶障害が回復するということが明らかにされた。これらの結果から、海馬の NMDA レセプターが空間的作業記憶に関与していることが明らかとなった。

また、第 3 章では NMDA アンタゴニストを新生仔期に反復投与することにより、海馬の NMDA レセプターの機能を亢進させた場合の空間的記憶に対する効果を調べた。その結果、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与後においても、第 2 章の結果と同様、放射状迷路課題の遂行が障害されるということが見いだされた。これらの結果は、NMDA レセプターの機能が抑制された場合 (NMDA アンタゴニスト単回投与によるレセプ

ター遮断)だけではなく、過剰亢進した場合(NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与後に見られるレセプターの機能亢進)によっても空間的記憶が障害されうるということを示唆するものである。

さらに、NMDA アンタゴニストを単回投与直後、および新生仔期反復投与後に、放射状迷路課題と解決方略がほぼ同様の課題である、NMTP 課題を行わせた。その結果、NMDA アンタゴニスト単回投与においては、NMTP 課題の遂行が重篤に障害されたのに対し、新生仔期反復投与後においては比較的軽度の障害しか認められなかった。したがって、NMDA アンタゴニスト単回投与時においては、空間的作業記憶をほとんど記録、保持できないのに対し、新生仔期反復投与時においては少なくとも一部の情報については保持できるということが分かる。この結果から、NMDA レセプターの機能が過剰亢進しても、空間的作業記憶の負荷が軽い場合には課題をある程度は正常に遂行することができるということが示唆される。

第2節 今後の展望

1. 学習・記憶における脳内 NMDA レセプターの役割

本研究では、特に海馬の NMDA レセプターの空間的記憶に対する役割に注目して実験を行ったが、ここでは、海馬、あるいはその他の脳部位の NMDA レセプターがどのような記憶機能に関係しているのかということについて概観する。残念なことに、NMDA アンタゴニスト、アゴニストを脳内の特定の部位に局所投与した研究はさほど多くないため、これらの問題についてはあまり多くを言及することはできないが、海馬をはじめとして、扁桃体、嗅内皮質、中隔、線条体などに局所投与を行った実験が行われている。

例えば、Falls et al. (1992)、Miserendino et al. (1990)は、条件性恐怖反応において、AP5 扁桃体内投与の効果を調べている。彼らは、AP5 扁桃体内投与は条件性恐怖反応の習得を障害するものの、その保持は障害しないという結果を見いだしている。この結果は、AP5 海馬内投与が Morris 型水迷路課題や受動的回避課題の習得を阻害するが、これらの保持については阻害しないという知見に類似している。また、Izquierdo et al. (1992)は、受動的回避反応習得直後に、NMDA アンタゴニストを海馬、扁桃体、内側中隔内に投与したところ、いずれの部位に投与しても回避反応の阻害が起こることを報告している。また Jerusalinsky et al. (1992)は、受動的回避反応に対する NMDA アンタゴニストの海馬、扁桃体、嗅内皮質内投与の効果を調べている。この実験では、アンタゴニストの投与時期の効果についても調べているが、海馬、扁桃体においては、習得訓練の直後にアンタゴニストを投与した場合にのみ、回避反応の阻害効果が認められ、その後に投与した場合は効果が認められないのに対し、嗅内皮質内

に投与した場合は、逆に、習得訓練直後に投与を行った場合には効果は認められなかったが、習得訓練の 90~120 分後に投与を行った場合のみ阻害効果が起こることが見いだされた。これらの知見から見ると、NMDA アンタゴニスト海馬内投与と扁桃体内投与の行動的效果は類似しているように見える。扁桃体の LTP も海馬と同様、NMDA レセプターが関与しているという考えもあり、これらの結果を合わせ考えると学習・記憶機能においては、海馬、扁桃体にはある程度共通したメカニズムが存在しているのかも知れない。

一方、Hauber & Schmidt (1989)は、AP5 の線条体内投与は自発的交替反応は障害するものの、放射状迷路課題の遂行は障害しないということを見いだしている。この結果から考えると、線条体の NMDA レセプターは空間的記憶にとっては大きな役割を果たしているとはいえないのかも知れない。

また、序論で述べたように、海馬が関係している記憶機能は空間的記憶のみではない。作業記憶はその代表的なものの一つとして知られる。本研究で用いられた放射状迷路課題および NMTP 課題も作業記憶課題としての側面を持つ。また、実験 4 においては、海馬の NMDA レセプターは主に参照記憶よりも作業記憶に関与しているということが示唆された。本研究で用いられた課題は、いずれも空間的情報の保持を必要とする課題であるが、NMDA レセプターが空間的情報を必要としない作業記憶にも関係していることを示唆する研究もいくつかある。

例えば、Gutnikov & Rawlins (1996)、Lyford et al. (1993)は、中に置かれた物体、内部の触覚、色という 3 つの要素が異なっている箱を刺激材料として、これらの刺激要素を弁別刺激とした遅延見本合わせ課題を用いて、空間的情報を要しない作業記憶に対する NMDA アンタゴニストの効

果を調べ、NMDA アンタゴニストがこの課題の遂行を障害することを明らかにした。また、DRL 課題も時間情報を一時的に保持する必要があるという点で、作業記憶を必要とした課題であるといえる。この課題の遂行も NMDA アンタゴニストによる障害が認められる(Tonkiss et al., 1988; Welzl et al., 1991)。しかしながら、このような作業記憶課題を用いた研究の中には、薬物の海馬内投与を行ったものは数少なく、海馬の NMDA レセプターの機能を正確に捉えているとはいえない。したがって、これらの課題に対しても海馬内投与を用いた研究が望まれるといえよう。

本研究も含めて、NMDA レセプターと空間的学習・記憶の関係は多くの研究により示唆されている。しかし一方で、別の空間的手がかり下であらかじめ訓練を行ったり(Bannerman, Good, Butcher, Ramsay & Morris, 1995)、訓練前に空間的手がかりに対する馴化を行ったりすること(Shapiro & O'Connor, 1992)によって、NMDA アンタゴニストによって生じる空間的学習課題の遂行障害が抑制されるということも報告されている。これらの結果は、空間的記憶の中にも NMDA レセプターを必要としない要素が存在することを示唆している。したがって、空間的記憶と NMDA レセプターの関係はさらに詳細な検討が必要であるといえよう。同時に、空間的記憶や作業記憶は海馬の一機能に過ぎないため、海馬の NMDA レセプターが、海馬が関係している学習・記憶機能すべてに関与しているのかどうかという議論については、さらに広範な研究が必要とされよう。

また、海馬の NMDA レセプターが LTP の誘発に関与していることから、これらのレセプターは保持・検索過程よりも記銘過程に関与しているという仮説がある(Morris, 1989; Venable & Kelly, 1990)。本論文でも、参照記憶が既に成立している場合には、既に固定してしまった参照記憶よりも、毎試行ごとに変化する作業記憶の方が NMDA アンタゴニストの影響を受

けやすいという仮説を立て実験を行った（実験4）。この仮説は一部支持されたものの、その障害の程度はあまり大きくなかった。海馬の NMDA レセプターが記憶過程のみに関与しているのか、保持・検索過程にも関与しているのかという問題はさらに検討する必要がある。

2. 海馬の NMDA レセプターの機能の大きさと学習・記憶能力との関係

本研究の結果、海馬の NMDA レセプターが空間的記憶にとって重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに、NMDA レセプターの機能が抑制された場合（NMDA アンタゴニスト単回投与によるレセプター遮断）、および過剰亢進した場合（NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与後に見られるレセプターの機能亢進）にも空間的記憶が障害されうるということも示唆された。

本研究では NMDA レセプターの機能亢進が記憶機能を阻害するということが示唆されたが、正常なラットにおいて、グルタミン酸レセプターを賦活させた場合、学習・記憶機能が亢進したという報告もある (Flood, Baker & Davis, 1990; Izquierdo, da Cunha, Rosat, Jerusalinsky, Ferreira & Medina, 1992; Staubli, Rogers & Lynch, 1994)。これらの結果は本研究から推測される結果とは逆であるが、これはグルタミン酸レセプターの賦活の大きさの差に起因しているのかもしれない。つまり、適度にレセプターが賦活された場合は記憶機能が亢進されるが、それ以上に賦活された場合は逆に記憶機能が阻害されてしまうという可能性が考えられる。

本研究においては、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与が海馬の NMDA レセプターの機能亢進を引き起こすかどうかということを実際に観察していない。Gorter et al. (1992)は、MK-801 を新生仔期（8～19日齢時）に反復的に投与し、成育後の海馬の興奮性反応に対する NMDA アゴ

ニスト、アンタゴニストの効果を検討した結果、MK-801 を投与した被験体は、この興奮性電位に対する AP5 の抑制能が強まるということが分かった。また、グルタミン酸に対する反応性も、有意ではないものの増大する傾向が認められた。また、Gorter et al. (1991)は、同様の処置によって、海馬キンドリングによるけいれん発作の誘発が促進されるということ報告している。これらの知見は、NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与によって、海馬の NMDA レセプターの機能が亢進されることを示唆する結果である。

本研究の結果から、海馬の NMDA レセプターの機能を抑制した場合においても、逆に亢進した場合においても、記憶機能が障害されるという可能性が示唆される。また、NMDA レセプターの機能を亢進した場合よりも、抑制した場合の方が記憶障害の程度が大きいということが示唆された。したがって、海馬の NMDA レセプターの作用の大きさと、記憶機能の働きの大きさの間には、Fig. 40 のような逆 U 字型の関係があるということが出来る。これは、McEachern & Shaw (1996)の提唱したモデルとよく一致している。彼らは、LTP とキンドリング、興奮性の神経毒性を同一線上に置き、ニューロンの興奮が適度に働いた場合はシナプスの可塑性（すなわち LTP）を引き起こし、興奮が過度に働いた場合はキンドリング、もしくは興奮性の神経細胞死をもたらすということを仮定している。同時に彼らは、長期抑圧(long-term depression; LTD)¹⁶も同軸におき、その抑制が過度に働いた場合にも異常な神経変性をもたらすと考えている。すなわち、彼らのモデルを図式化すると Fig.41 のようになる。

NMDA アンタゴニストの新生仔期反復投与によってもたらされる

¹⁶ 長期増強とは逆に、神経活動の結果として、シナプスの伝達効率が持続的に抑制される現象。

NMDA レセプターの機能亢進は、キンドリングや神経変性をもたらすほど異常なものとはいえないが、海馬キンドリングによるけいれん反応が誘発しやすくなっているという知見(Gorter et al., 1991)から考えると、これらの神経学的異常の準備段階にあるのかもしれない。LTP の大きさが NMDA レセプターの活動の大きさに対応するとすれば、本研究の結果も彼らのモデルとある程度一致しているといえる。しかしながら、本論文および McEachern & Shaw (1996)のモデルの正否についてはまだ不明な点が多く、今後の課題とされよう。

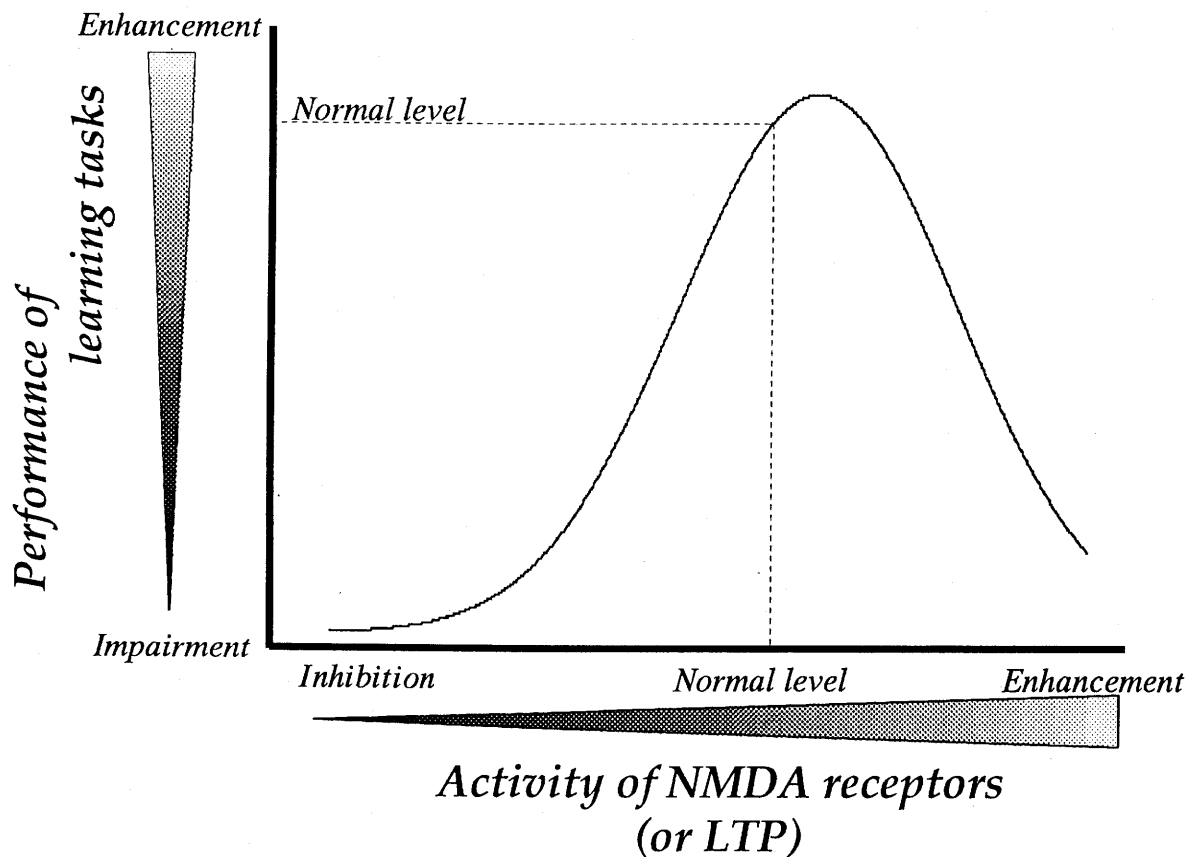


Fig. 40. 本研究から予測される海馬NMDAレセプターの活動と学習・記憶能力との関係。

NMDAレセプターの活動が抑制、もしくは過度に亢進した場合に、通常よりも学習・記憶能力が低下するという逆U字型の曲線関係になることが推測される。NMDAレセプターの活動が通常よりやや高い場合は、学習・記憶が亢進されることも考えられる。

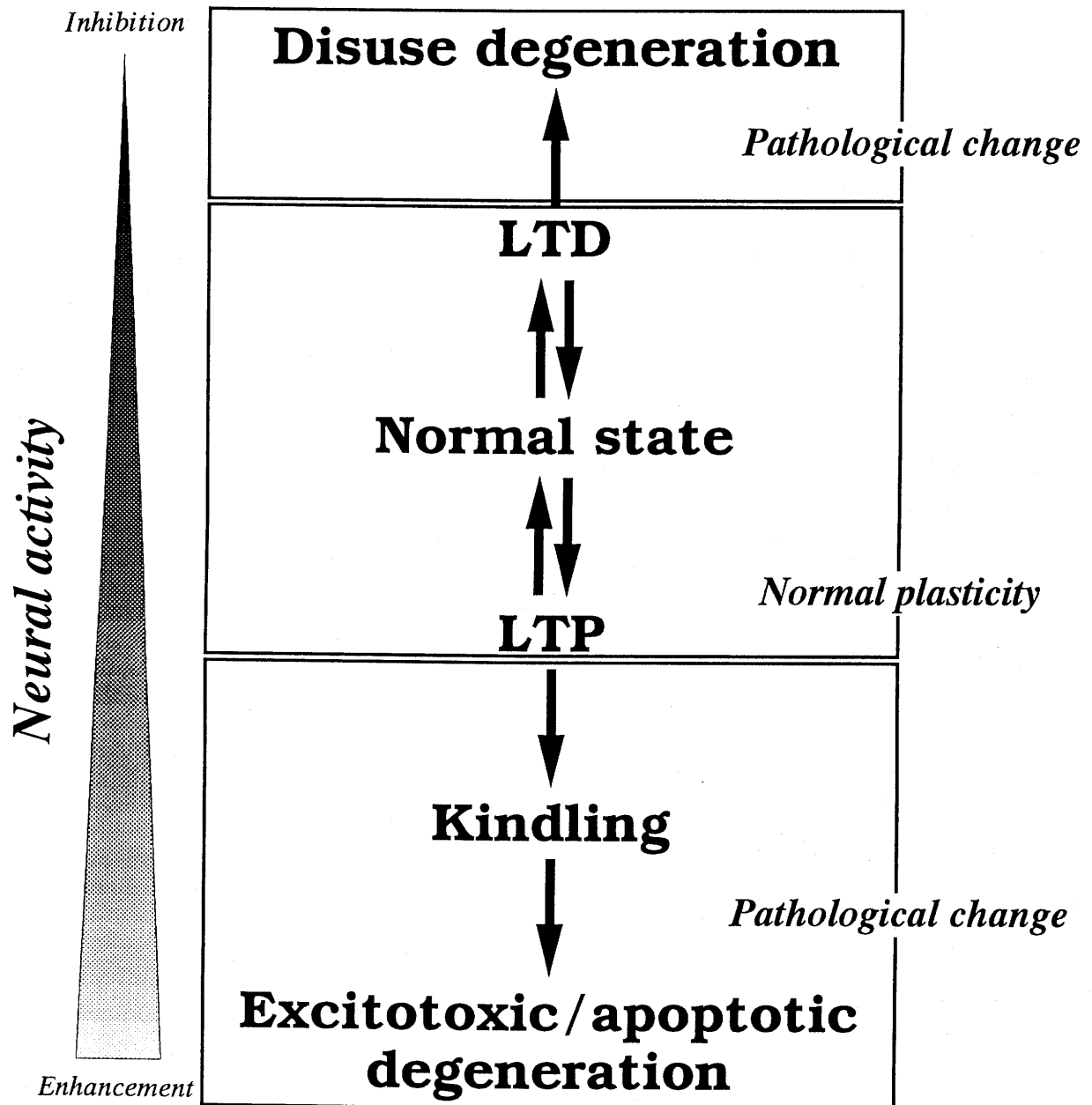


Fig.41. McEachern & Shaw (1996)のモデル。

神経の興奮が持続した場合、LTPが生じる。LTP自体は正常な生理現象であるが、興奮が過度になった場合、キンドリング、さらには興奮性・発作性(apoptotic)の神経変性を引き起こす。一方、興奮が持続的に抑制された場合はLTDが引き起こされる。これも、LTP同様、正常な現象であるが、抑制が過度になった場合も異常な神経変性 (disuse degeneration; 神経細胞が使われないことにより、抑制性シナプスが新生したり、細胞が脱落したりする) を引き起こす。 [McEachern & Shaw (1996)より一部改変]

要 旨

長期増強(long-term potentiation; LTP)はシナプスの伝達効率が長期的に上昇する現象であり、記憶との関わりが深い海馬において最も顕著に認められる現象である。この現象は、学習・記憶の生理的基盤と考えられているシナプスの可塑的性質が最も典型的に表現された例であるため、学習・記憶との関連が示唆されるようになった。また生理学的研究によって、海馬の LTP の誘発には、グルタミン酸レセプターのサブタイプの一つである NMDA(*N*-methyl-D-aspartate)レセプターが関与しているということが分かってきた。さらに、学習・記憶機能の中でも、空間的学習・記憶は海馬と関わりが深いということが知られていることから、海馬の NMDA レセプターと空間的学習・記憶との関連が示唆されている。以上の知見に基づき、本論文では、海馬の NMDA レセプターと空間的学習・記憶の関係を調べることを目的とした。

第 2 章では、脳内の NMDA レセプターの中でも、海馬の NMDA レセプターが空間的記憶にとって重要であるということを調べるために、NMDA アンタゴニストおよびアゴニストを海馬内に局所投与し、その空間的記憶に対する効果を調べた。海馬内投与を用いることによって、従来用いられてきた薬物の投与方法である末梢投与や脳室内投与よりも正確に海馬のレセプター機能について論じることが可能となった。また、学習課題としては、空間的学習課題の一つとして知られる放射状迷路課題、および放射状迷路を用いた場所非見本合わせ(non-matching-to-place; NMTP)課題を用いた。その結果から以下のことが明らかになった。

1. NMDA アンタゴニストの海馬内投与は、顕著な行動障害を引き起

こすことがあるが、適当な用量を用いることによってこの行動障害を回避することができた（実験1）。

2. 競合的（実験2）・非競合的（実験3）NMDA アンタゴニストの海馬内投与によって、放射状迷路課題の遂行が障害された。このことから、空間的記憶にとって海馬のNMDA レセプターが重要であることが示唆される。

3. 特定の選択肢のみに報酬を置く手続きを用い、放射状迷路課題に及ぼすNMDA アンタゴニスト海馬内投与の効果を調べた結果、アンタゴニスト投与によって参照記憶エラーよりも作業記憶エラーが増加する傾向が見られた（実験4）。この結果に基づくと、実験2、3で得られた放射状迷路課題の遂行障害は、参照記憶の障害によるというよりも作業記憶の障害によるものであるという可能性が高い。

4. グリシン部位アゴニストの海馬内投与は、NMDA アンタゴニストによる放射状迷路課題の遂行障害を改善した（実験5）。このことから、海馬のNMDA レセプター上に存在するグリシン部位が、空間的記憶の調節に関係していることが示唆される。同時に、脳内のNMDA レセプターの中でも海馬のものが空間的記憶にとって重要であることが再確認された。

5. 放射状迷路課題とほぼ同様の課題遂行方略を有するが、放射状迷路課題よりも空間的作業記憶の負荷が小さい課題であるNMTP課題の遂行も、NMDA アンタゴニストの末梢投与（実験6）、海馬内投与（実験7）によって重篤に障害された。このことから、NMDA アンタゴニストを投与し、NMDA レセプターの機能を強く抑制した被験体では空間的作業記憶をほとんど記憶できないということが示唆される。

また、NMDA アンタゴニストを新生仔期に反復投与すると、成体期において海馬の NMDA レセプターの機能の過剰亢進が生じることが知られている。従来は NMDA レセプター遮断の効果、つまりレセプター機能の抑制の効果を調べた研究がほとんどであったが、NMDA アンタゴニストの新生仔期反復投与によって、従来は論じられることのなかった NMDA レセプター機能の過剰亢進の効果について論じることが可能となる。第3章においては、空間的記憶に対する NMDA アンタゴニスト新生仔期反復投与の効果を調べた。その結果は以下の通りである。

6. 放射状迷路課題の習得は、非競合的 (実験 8-1) ・競合的 (実験 9-1) NMDA アンタゴニストの新生仔期反復投与によって障害された。このことから、海馬の NMDA レセプターの機能が過剰に亢進した場合においても、空間的記憶が阻害されるということが示唆される。しかしながら、非競合的 (実験 8-2) ・競合的 (実験 9-2) NMDA アンタゴニストの新生仔期反復投与は一般活動性に対しても変化をもたらすことから、NMDA アンタゴニストの新生仔期反復投与により生じた課題習得障害が、感覚、運動、動機づけといった非特異的な機能障害の副次的効果である可能性も残された。この可能性についての議論は今後の課題とされる。

7. NMDA アンタゴニストの成体期反復投与は、新生仔期反復投与とは異なり、放射状迷路課題の習得 (実験 10-1) および一般活動性 (実験 10-2) に変化をもたらさなかった。新生仔期反復投与の効果と異なる結果が得られたのは、新生仔期の方が NMDA レセプターの感受性が高いということに起因するのかもしれない。

8. NMDA アンタゴニストの新生仔期反復投与は、NMTP 課題の習得にも障害をもたらしたが、同処置が放射状迷路課題の習得に対してもた

らした障害よりも軽度であった（実験 11）。これは、NMDA アンタゴニストを新生仔期反復投与された被験体は、アンタゴニストを単回投与された直後の被験体（第 2 章参照）と異なり、空間的作業記憶の負荷が比較的軽い場合はある程度は課題を正常に遂行できるということを意味している。したがって、NMDA アンタゴニストを新生仔期反復投与された被験体は空間的作業記憶をある程度は記録、保持できるのかも知れない。

以上の結果は、海馬の NMDA レセプターが空間的記憶にとって重要な役割を果たしているということ、また NMDA レセプターの機能が抑制された場合（アンタゴニスト単回投与直後のレセプターの遮断）、亢進した場合（アンタゴニスト新生仔期反復投与後に起こるレセプター機能の亢進）のいずれにおいても、空間的記憶に障害が生じるということを示唆している。また、NMDA レセプターの機能が強く抑制された場合は、空間的作業記憶の負荷の大きさに関わらず、課題遂行が重篤に障害されるのに対して、レセプター機能が過剰亢進した場合においては、空間的作業記憶の負荷が比較的軽い場合はある程度は課題を正常に遂行できるということが示唆された。これは、NMDA レセプターの機能が強く抑制された場合は空間的作業記憶をほとんど記録できないのに対し、NMDA レセプターの機能が過剰亢進した場合は空間的作業記憶をある程度は記録、保持できるということを示唆している。

したがって、本研究の結果から、空間的記憶にとっては、海馬の NMDA レセプターが重要な役割を果たしており、これらのレセプターの過不足ない、正常レベルの活動が必要であることが示唆される。

引用文献

- Abeliovich, A., Paylor, R., Chen, C., Kim, J.J., Wehner, J.M. & Tonegawa, S. (1993) PKC gamma mutant mice exhibit mild deficits in spatial and contextual learning. *Cell*, **75**, 1263-1271.
- Abraham, W.C. and Mason, S.E. (1988) Effects of the NMDA receptor/channel antagonists CPP and MK801 on hippocampal field potentials and long-term potentiation in anesthetized rats. *Brain Research*, **462**, 40-46.
- Abe, K., Xie, K., Watanabe, Y. & Saito, H. (1990) Glycine facilitates induction of long term potentiation in rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, **117**, 87-92.
- Bannerman, D.M., Good, M.A., Butcher, S.P., Ramsay, M. & Morris, R.G.M. (1995) Distinct components of spatial learning revealed by prior training and NMDA receptor blockade. *Nature*, **378**, 182-186.
- Barnes, C.A. (1979) Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, **93**, 74-104.
- Barnes, C.A., Jung, M.W., McNaughton, B.L., Korol, D.L., Andreasson, K. & Worley, P.F. (1994) LTP saturation and spatial learning disruption: effects of task variables and saturation levels. *Journal of Neuroscience*, **14**, 5793-5806.
- Barnes, C.A. & McNaughton, B.L. (1985) An age comparison of the rates of acquisition and forgetting of spatial information in relation to long-term enhancement of hippocampal synapses. *Behavioral Neuroscience*, **99**, 1040-1048.

- Baxter, M.G., Lanthorn, T.H., Frick, K.M., Golski, S., Wan, R.-Q. & Olton, D.S. (1994) D-Cycloserine, a novel cognitive enhancer, improves spatial memory in aged rats. *Neurobiology of Aging*, **15**, 207-213.
- Berger, W.F. & Thompson, R.F. (1978a) Neuronal plasticity in the limbic system during classical conditioning of the rabbit nictitating membrane: I. hippocampus. *Brain Research*, **145**, 323-346.
- Berger, W.F. & Thompson, R.F. (1978b) Neuronal plasticity in the limbic system during classical conditioning of the rabbit nictitating membrane: II. septum and mammillary body. *Brain Research*, **156**, 293-314.
- Blakemore, C. & Cooper, G.F. (1970) Development of the brain depends on visual environment. *Nature*, **288**, 477-478.
- Bliss, T.V., Douglas, R.M., Errington, M.L. & Lynch, M.A. (1986) Correlation between long-term potentiation and release of endogenous amino acids from dentate gyrus of anaesthetized rats. *Journal of Physiology*, **377**, 391-408.
- Bliss, T.V.P. & Lømo, T. (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, **232**, 241-254.
- Bristow, D.R., Bowery, N.G. & Woodruff, G.N. (1986) Light microscopic autoradiographic localization of [³H]glycine and [³H]strychnine binding sites in rat brain. *European Journal of Pharmacology*, **126**, 303-307.
- Butelman, E.R. (1989) A novel NMDA antagonist, MK-801, impairs performance in a hippocampal-dependent spatial learning task. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **34**, 13-16.
- Castro, C.A., Silbert, L.H., McNaughton, B.L. & Barnes, C.A. (1989) Recovery of spatial learning deficits after decay of electrically induced

- synaptic enhancement in the hippocampus. *Nature*, **342**, 545-548.
- Coan, E.J., Saywood, W. & Collingridge, G.L. (1987) MK-801 blocks NMDA receptor-mediated synaptic transmission and long term potentiation in rat hippocampal slices. *Neuroscience Letters*, **80**, 111-114.
- Collingridge, G.L. & Bliss, T.V.P. (1987) NMDA receptors-their role in long-term potentiation. *Trends in Neurosciences*, **10**, 288-293.
- Collingridge, G.L., Kehl, S.J. & McLennan, H. (1983) The antagonism of amino acid-induced excitations of rat hippocampal CA1 neurons in vitro. *Journal of Physiology*, **334**, 19-34.
- Cummins, R.A., Walsh, R.N., Cudtz-Olsen, O.E., Konstantions, T. & Horsfall, C.R. (1973) Environmentally-induced changes in the brains of elderly rats. *Nature*, **243**, 516-518.
- Danysz, W., Wroblewski, J.T. & Costa, E. (1988) Learning impairment in rats by *N*-methyl-D-aspartate receptor antagonists. *Neuropharmacology*, **27**, 653-656.
- Falls, W.A., Miserendino, M.J.D. & Davis, M. (1992) Extinction of fear-potentiated startle: blockade by infusion of an NMDA antagonist into the amygdala. *Journal of Neuroscience*, **12**, 854-863.
- Fishkin, R.J., Ince, E.S., Carlezon, W.A.Jr. & Dunn, R.W. (1993) D-Cycloserine attenuates scopolamine-induced learning and memory deficits in rats. *Behavioral Neural Biology*, **59**, 150-157.
- Flood, J.F., Baker, M.L. & Davis, J.L. (1990) Modulation of memory processing by glutamic acid receptor agonists and antagonists. *Brain Research*, **521**, 197-202.
- Frégnac, Y. & Imbert, M. 1984 Development of neuronal selectivity in primary

- visual cortex of cat. *Physiological Review*, **64**, 325-434.
- Gorter, J.A., Botterblom, M.H., Feenstra, M.G. & Boer, G.J. (1992a) Chronic neonatal NMDA receptor blockade with MK-801 alters monoamine metabolism in the adult rat. *Neuroscience Letters*, **137**, 97-100.
- Gorter, J.A. & de Bruin, J.P.C. (1992) Chronic neonatal MK-801 treatment results in an impairment of spatial learning in the adult rat. *Brain Research*, **580**, 12-17.
- Gorter J.A., Titulaer, M., Bos, N.P. & Huisman, E. (1991) Chronic neonatal MK-801 administration leads to a long-lasting increase in seizure sensitivity during the early stages of hippocampal kindling. *Neuroscience Letters*, **134**, 29-32.
- Gorter, J.A., Veerman, M. & Mirmiran, M. (1992b) Hippocampal neuronal responsiveness to NMDA agonists and antagonists in the adult rat neonatally treated with MK-801. *Brain Research*, **572**, 176-181.
- Green, E.J. & Greenough, W.T. (1986) Altered synaptic transmission in dentate gyrus of rats reared in complex environments: evidence from hippocampal slices maintained in vitro. *Journal of Neurophysiology*, **55**, 739-750.
- Guillou, J.-L., Micheau, J. & Jaffard, R. (1993) Effects of intrahippocampal injections of somatostatin and cysteamine on spatial discrimination learning in mice. *Psychobiology*, **21**, 265-271.
- Gutnikov, S.A. & Rawlins, J.N.P. (1996) Systemic NMDA antagonist CGP-37849 produces non-specific impairment in a working memory task: the effect does not resemble those of AP5 and of lesions of the hippocampus or fornix. *Neuropsychologia*, **34**, 311-314.
- Harris, E.W., Ganong, A.H. & Cotman, C.W. (1984) Long-term potentiation in

- the hippocampus involves activation of *N*-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Research*, **323**, 132-137.
- Hauber, W. & Schmidt, W.J. (1989) Effects of intrastriatal blockade of glutamatergic transmission on the acquisition of T-maze and radial maze tasks. *Journal of Neural Transmission*, **78**, 29-41.
- Heale, V. & Harley, C. (1990) MK-801 and AP5 impair acquisition, but not retention, of the Morris milk maze. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **36**, 145-149.
- Hebb, D.O. (1949) *The Organization of Behavior*. New York: Wiley.
- Hubel, D. & Wiesel, T. (1970) The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens. *Journal of Physiology*, **206**, 419-436.
- Izquierdo, I., da Cunha, C., Rosat, R., Jerusalinsky, D., Ferreira, M.B.C. & Medina, J.H. (1992) Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behavioral and Neural Biology*, **58**, 16-26.
- Jarrard, L.E. (1986) Selective hippocampal lesions and behavior: implications for current research and theorizing. In R.L. Isaacson and K.H. Pribram (Eds.), *The Hippocampus*, Vol. 4, Plenum Press, New York, pp. 93-126.
- Jeffery, K.J. & Morris, R.G. (1993) Cumulative long-term potentiation in the rat dentate gyrus correlates with, but does not modify, performance in the water maze. *Hippocampus*, **3**, 133-140.
- Jerusalinsky, D., Ferreira, M.B.C., Walz, R., da Silva, R.C.D., Bianchin, M., Ruschel, A.C., Zanatta, M.S., Medina, J.H. & Izquierdo, I. (1992) Amnesia by post-training infusion of glutamate receptor antagonists into the

- amygdala, hippocampus, and entorhinal cortex. *Behavioral and Neural Biology*, **58**, 76-80.
- Johnson, J.W. & Ascher, P. (1987) Glycine potentiates the NMDA response in cultured mice brain neurons. *Nature*, **325**, 529-531.
- Kawabe, K., Ichitani, Y. & Iwasaki, T. (1998) Effects of intrahippocampal AP5 treatment on radial-arm maze performance in rats. *Brain Research*, **781**, 300-306.
- 川辺光一・岩崎庸男 (1995) ラットの学習・記憶における脳内グルタミン酸レセプターの役割に関する研究の動向 筑波大学心理学研究, **17**, 19-27.
- Kawabe, K., Yoshihara, T., Ichitani, Y. & Iwasaki, T. Intrahippocampal D-cycloserine improves MK-801-induced memory deficits: radial-arm maze performance in rats. *Brain Research*, in press.
- 工藤佳久 (1992) 記憶とカルシウム *Clinical Neuroscience*, **10**, 40-46.
- Laroche, S., Errington, M.L., Lynch, M.A. & Bliss, T.V. (1987) Increase in [³H]glutamate release from slices of dentate gyrus and hippocampus following classical conditioning in the rat. *Behavioural Brain Research*, **25**, 23-29.
- Lyford, G.L. Gutnikov, S.A., Clark, A.M. & Rawlins, J.N.P. (1993) Determinants of non-spatial working memory deficits in rats given intraventricular infusions of the NMDA antagonist AP5. *Neuropsychologia*, **31**, 1079-1098.
- Lyford, G.L. & Jarrard, L.E. (1991) Effects of the competitive NMDA antagonist CPP on performance of a place and cue radial maze task, *Psychobiology*, **19**, 157-160.

- McDonald, J.W. & Johnston, M.V. (1990) Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Research Reviews*, **15**, 41-70.
- McEachern, J.C. & Shaw, C.A. (1996) An alternative to the LTP orthodoxy: a plasticity-pathology continuum model. *Brain Research Reviews*, **22**, 51-92.
- McNaughton, B.L., Barnes, C.A., Rao, G., Baldwin, J. & Rasmussen, M. (1986) Long-term enhancement of hippocampal synaptic transmission and the acquisition of spatial information. *Journal of Neuroscience*, **6**, 563-571.
- McNaughton, B.L. & Morris, R.G.M. (1987) Hippocampal synaptic enhancement and information storage within a distributed memory system. *Trends in Neurosciences*, **10**, 408-415.
- Matsuoka, N. & Aigner, T.G. (1996) D-Cycloserine, a partial agonist at the glycine site coupled to *N*-methyl-D-aspartate receptors, improves visual recognition memory in rhesus monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **278**, 891-897.
- Maurice, T., Lockhart, B.P., Su, T.-P. & Privat, A. (1996) Reversion of β_{25-35} -amyloid peptide-induced amnesia by NMDA receptor-associated glycine site agonists. *Brain Research*, **731**, 249-253.
- Menzel, E.W. (1973) Chimpanzee spatial memory organization. *Science*, **182**, 943-945.
- Miserendino, M.J.D., Sananes, C.B., Melia, K.R. & Davis, M. (1990) Blocking of acquisition but not expression of conditioned fear-potentiated startle by NMDA antagonists in the amygdala. *Nature*, **345**, 716-718.
- Monaghan, D.T. & Cotman, C.W. (1985) Distribution of *N*-methyl-D-aspartate-

- sensitive L-[³H]-glutamate-binding sites in rat brain. *Journal of Neurosciences*, **5**, 2909-2919.
- Monaghan, D.T., Yao, D. & Cotman, C.W. (1984) Distribution of ³H-AMPA binding sites in rat brain as determined by quantitative autoradiography. *Brain Research*, **324**, 160-164.
- Morris, R.G.M. (1981) Spatial localization does not require the presence of local cues. *Learning and Motivation*, **12**, 239-260.
- Morris, R.G.M. (1989) Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning in rats and blockade of long-term potentiation in vivo by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *Journal of Neuroscience*, **9**, 3040-3057.
- Morris, R.G.M., Anderson, E., Lynch, G.S. & Baudry, M. (1986) Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, **319**, 774-776.
- Morris, R.G.M., Garrud, P., Rawlins, J.N.P. & O'Keefe, J. (1982) Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, **297**, 681-683.
- Morris, R.G.M., Halliwell, R.F. & Bowery, N. (1989) Synaptic plasticity and learning II: do different kinds of plasticity underlie different kinds of learning?, *Neuropsychologia*, **27**, 41-59.
- Muller, D., Joly, M. & Lynch, G. (1988) Contribution of quisqualate and NMDA receptors to induction and expression of LTP. *Science*, **242**, 1694-1697.
- Murakami, F., Higashi, S., Katsumaru, H. & Oda, Y. (1987) Formation of new corticorubral synapses as a mechanism for classical conditioning in the cat. *Brain Research*, **437**, 379-382.

- Myhrer, T. & Paulsen, R.E. (1995) Memory impairment in rats with glutamatergic temporal systems disrupted is attenuated by D-cycloserine: effects of postoperative time of injection. *Psychobiology*, **23**, 233-239.
- Ohno, M. & Watanabe, S. (1996) D-Cycloserine, a glycine site agonist, reverses working memory failure by hippocampal muscarinic receptor blockade in rats. *European Journal of Pharmacology*, **318**, 267-271.
- Ohno, M., Yamamoto, T. & Watanabe, S. (1994) Intrahippocampal administration of a glycine antagonist impairs working memory performance of rats. *European Journal of Pharmacology*, **253**, 183-187.
- O'Keefe, J. & Conway, D.H. (1978) Hippocampal place units in the freely moving rat: why they fire where they fire. *Experimental Brain Research*, **31**, 573-590.
- O'Keefe, J. & Dostrovsky, J. (1971) The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. *Brain Research*, **34**, 171-175.
- O'Keefe, J. & Nadel, L. (1978) *The Hippocampus as a Cognitive Map*. Oxford University Press, London.
- O'Keefe, J. & Speakman, A. (1987) Single unit activity in the rat hippocampus during a spatial memory task. *Brain Research*, **68**, 1-27.
- Olton, D.S., Collison, C. & Werz, W.A. (1977) Spatial memory and radial arm maze performance by rats. *Learning and Motivation*, **8**, 289-314.
- Olton, D.S. & Papas, B.C. (1979) Spatial memory and hippocampal function. *Neuropsychologia*, **17**, 669-682.
- Olton, D.S., Walker, J.A. & Gage, F.H. (1978) Hippocampal connections and spatial discrimination. *Brain Research*, **139**, 295-308.

- 小澤瀨司 (1988) 海馬の長期増強の発現機構 久保田競(編) 脳-可塑性
と記憶と物質 朝倉書店 Pp.117-131.
- Paxinos, G. & Watson, C. (1986) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*.
2nd edn., Academic Press, Sydney.
- Pitkänen, M., Sirviö, J., MacDonald, E., Ekonsalo, T. & Riekkinen, P.Sr.
(1995) The effects of d-cycloserine, a partial agonist at the glycine binding
site, on spatial and working memory in scopolamine-treated rats. *Journal of
Neural Transmission: Parkinson's Disease and Dementia Section*, **9**,
133-144.
- Rainbow, T.C., Wiczorek, C.M. & Halpain, S. (1984) Quantitative
autoradiography of binding sites for ³H-AMPA, a structural analogue of
glutamic acid. *Brain Research*, **309**, 173-177.
- Ramirez, O.A. & Carrer, H.F. (1989) Correlation between threshold to induce
long-term potentiation in the hippocampus and performance in a shuttle box
avoidance in rats. *Neuroscience Letters*, **104**, 152-156.
- Raffaele, K.C. & Olton, D.S. (1988) Hippocampal and amygdaloid involvement
in working memory for nonspatial stimuli. *Behavioral Neuroscience*, **102**,
349-355.
- Rawlins, J.N., Lyford, G.L., Seferiades, A., Deacon, R.M. & Cassaday, H.J.
(1993) Critical determinants of nonspatial working memory deficits in rats
with conventional lesions of the hippocampus or fornix. *Behavioral
Neuroscience*, **107**, 420-433.
- Riekkinen, M. & Riekkinen, P.Jr. (1997) Nicotine and D-cycloserine enhance
acquisition of water maze spatial navigation in aged rats. *Neuroreport*, **8**,
699-703.

- Rudy, J.W. & Sutherland, R.W. (1989) The hippocampal formation is necessary for rats to learn and remember configural discriminations. *Behavioural Brain Research*, **34**, 97-109.
- 佐々木康成 (1996) ラットの場所非見本合わせ反応における海馬入出力系の役割 筑波大学修士論文 (未公刊) .
- Schuster, G.M. & Schmidt, W.J. (1992) D-Cycloserine reverses the working memory impairment of hippocampal-lesioned rats in a spatial learning task. *European Journal of Pharmacology*, **224**, 97-98.
- Schwartz, B.L., Hashtroudi, S., Herting, R.L., Schwartz, P. & Deutsch, S.I. (1996) d-Cycloserine enhances implicit memory in Alzheimer patients. *Neurology*, **46**, 420-424.
- Shapiro, M.L. & O'Connor, C. (1992) N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 and spatial memory representation: working memory is impaired in an unfamiliar environment but not in a familiar environment. *Behavioral Neuroscience*, **106**, 604-612
- Sharp, P.E., McNaughton, B.L. & Barnes, C.A. (1985) Enhancement of hippocampal field potentials in rats exposed to a novel, complex environment. *Brain Research*, **339**, 361-365.
- Silva, A.J., Paylor, R., Wehner, J.M. & Tonegawa, S. (1992) Impaired spatial learning in alpha-calcium-calmodulin kinase II mutant mice. *Science*, **257**, 206-211.
- Sinden, J.D., Rawlins, J.N., Gray, J.A. & Jarrard, L.E. (1986) Selective cytotoxic lesions of the hippocampal formation and DRL performance in rats. *Behavioral Neuroscience*, **100**, 320-329.
- Sirviö, J., Ekonsalo, T., Riekkinen, P.Jr., Lahtinen, H. & Riekkinen, P.Sr.

- (1992) D-Cycloserine, a positive modulator the *N*-methyl-D-aspartate receptor, improves spatial learning in rats treated with muscarinic antagonist. *Neuroscience Letters*, **146**, 215-218.
- Squire, L.R. (1992) Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychological Review*, **99**, 195-231.
- Staubli, U., Rogers, G. & Lynch G. (1994) Facilitation of glutamate receptors enhances memory. *Proceedings of National Academy of Science of the United States of America*, **91**, 777-781.
- Staubli, U., Thibault, O., DiLorenzo, M. & Lynch, G. (1989) Antagonism of NMDA receptors impairs acquisition but not retention of olfactory memory. *Behavioral Neuroscience*, **103**, 54-60.
- Stringer, J.L., Greenfield, L.J., Hackett, J.T. & Guyenet, P.G. (1983) Blockade of long-term potentiation by phencyclidine and σ opiates in the hippocampus in vivo and in vitro. *Brain Research*, **280**, 127-138.
- Sutherland, R.W. & Rudy, J.W. (1989) Configural association theory: the role of the hippocampal formation in learning, memory, and amnesia. *Psychobiology*, **17**, 129-144.
- Tolman, E.R. (1948) Cognitive maps in rats and men. *Psychological Review*, **55**, 189-208.
- Tonkiss, J., Morris, R.G.M. & Rawlins, J.N.P. (1988) Intra-ventricular infusion of the NMDA antagonist AP5 impairs performance on a non-spatial operant DRL task in the rat. *Experimental Brain Research*, **73**, 181-188.
- Tsien, J.Z., Huerta P.T. & Tonegawa, S. (1996) The essential role of hippocampal CA1 NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in spatial memory. *Cell*, **87**, 1327-1338

- Tsukahara, N. & Oda, Y. (1981) Appearance of new synaptic potentials at corticorubral synapses after the establishment of classical conditioning. *Proceedings of the Japan Academy. Series B: Physical and Biological Sciences*, **57**, 398-401.
- Unnerstall, J.R. & Wamsley, J.K. (1983) Autoradiographic localization of high-affinity ³H-kainic acid binding sites in the rat forebrain. *European Journal of Pharmacology*, **86**, 361-371.
- Venable, N. & Kelly, P.H. (1990) Effects of NMDA receptor antagonists on passive avoidance learning and retrieval in rats and mice. *Psychopharmacology*, **100**, 215-221.
- Ward, L., Mason, S.E. & Abraham, W.C. (1990) Effects of the NMDA antagonists CPP and MK-801 on radial arm maze performance in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **35**, 785-790.
- Watanabe, Y., Himi, T., Saito, H. & Abe, K. (1992) Involvement of glycine site associated with the NMDA receptor in hippocampal long-term potentiation and acquisition of spatial memory in rats, *Brain Research*, **582**, 58-64.
- Welzl, H., Berz, S. & Bättig, K. (1991) The effects of the noncompetitive NMDA receptor antagonist MK 801 on DRL performance in rats. *Psychobiology*, **19**, 211-216.
- Wiesel, T. & Hubel, D. (1963) Single cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *Journal of Neurophysiology*, **26**, 1003-1017.
- Wozniak, D.F., Olney, J.W., Kettinger, L.II, Price, M. & Miller, J.P. (1990) Behavioral effects of MK-801 in the rat. *Psychopharmacology*, **101**, 47-56.

付 録

本論文で用いられた略称

略称	正式名	和訳	備考
AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-proprionic acid		AMPAレセプター (非NMDAレセプターのサブタイプの一つ) アゴニスト
AP5	2-amino-5-phosphopentanoic acid		競合的NMDAレセプターアアンタゴニスト
CGP-37849	cis-4-phosphonomethyl-2-piperidine carboxylic acid		競合的NMDAレセプターアアンタゴニスト
CGS 19755	(E)-2-amino-4-methyl-5-phosphono-3-pentanoic acid		競合的NMDAレセプターアアンタゴニスト
7-ClKYNA	7-chlorokynurenic acid		グリシン部位アアンタゴニスト
CPP	3-(2-carboxypiperazin-4-yl)-propyl-1-phosphonic acid		競合的NMDAレセプターアアンタゴニスト
DCS	D-cycloserine		グリシン部位アゴニスト
DNQX	6,7-dinitroquinoline-2,3-dione		非NMDAレセプターアアンタゴニスト
DRL	differential reinforcement of low rate	低反応率強化	オヘラント型強化スケジュールの一種
ITI	intertrial interval	試行間隔	
LTD	long-term depression	長期抑圧	シナプスの伝達効率が長期的に低下する現象
LTP	long-term potentiation	長期増強	シナプスの伝達効率が長期的に上昇する現象
MK-801	5-methyl-10,11-dihydro-5H-dibenzo [a,d]cyclohepten-5,10-imine		非競合的NMDAレセプターアアンタゴニスト
NMDA	N-methyl-D-aspartate		NMDAレセプターアゴニスト
NMTP	non-matching-to-place	場所非見本合わせ	空間的作業記憶課題の一種
SAL	saline	生理食塩水	

謝 辞

筑波大学第二学群生物学類在学時に、心理学系動物実験棟で卒業研究をはじめることになってから、はや9年が経過しようとしています。当初は心理学や行動実験について全く無知であった私が、博士論文を完成するまでに至ったのは数多くの皆さんのおかげであるのはいうまでもありません。本論文をまとめるにあたって、以下の方に大変お世話になりました。

指導教官の岩崎庸男先生には、御多忙の中、実験計画立案から博士論文作成まで度重なり御教授頂きました。先生の御助言は、研究上新たな展望を与えて頂いたり、時に協道にそれがちな私の考えを軌道修正して頂いたり、非常に有益なものばかりでした。一谷幸男先生にも、常日頃より手厚いご指導を頂きました。先生には、この論文や投稿論文をまとめあげるのに多大な労力を割いて頂きました。

また、副指導教官の牧野順四郎先生にも貴重な御助言、ご指導を頂きました。古川聡さんには、私が本論文のテーマに行き着くきっかけを与えて頂きました。岡内隆さん、中津山英子さんには、大学院時代はもとより、私の現在の職場である放射線医学総合研究所に異動してからも励まし頂きました。和田由美子さん、細川裕士君には夜遅くまで校正や印刷を手伝って頂きました。筑波大学動物実験棟の皆様には議論の場を与えて頂いたり、いろいろと励まして頂いたり、いろいろとお世話になりました。以上の方々に心より感謝の意を捧げます。ありがとうございました。

最後になりましたが、これまでいろいろとわがママを聞いてもらった両親にも感謝の意を捧げます。

1998.12.2

川辺 光一