

新生仔期脳内アセチルコリン系損傷動物の 行動に関する研究の動向

筑波大学心理学系 野中 博意

Behavioral effects of neonatal lesions of basal forebrain cholinergic system: A review

Hiroi Nonaka (*Institute of Psychology, University of Tsukuba, Tsukuba 305-8572, Japan*)

This review summarizes recent research using two pharmacological techniques related to the behavioral effects of neonatal basal forebrain cholinergic system dysfunction in rats. Firstly, the effects of ethylcholine mustard aziridinium ion (AF64A), a choline-analogue which selectively destroys the cholinergic system, are discussed. Secondly, studies concerning the lesion effects of the immunotoxin 192 IgG-saporin are reviewed. Discrepancies in the behavioral effects of these two neurotoxins point to the need for a comparative study investigating these two animal models.

Key words: neonatal cholinergic dysfunction, neurotoxin, AF64A, 192 IgG-saporin, learning, rats

1. 脳内アセチルコリン系について

(1) コリン作動性ニューロンと脳内アセチルコリン系

中枢神経系には、ニューロン間の情報伝達を担う化学物質がいくつか存在する。このうち、アセチルコリンを神経伝達物質として合成・遊離する神経細胞をコリン作動性ニューロンと呼ぶ。

アセチルコリンは、前駆物質であるコリンから合成される。コリン作動性ニューロンは、神経終末に位置する高親和性コリン取り込み部位 (high-affinity choline uptake site: HACU 部位) からコリンを選択的に取り込み、合成酵素であるコリンアセチル基転移酵素 (choline acetyltransferase: ChAT) と、アセチル補酵素Aを介してアセチルコリンを細胞内で合成する。合成されたアセチルコリンは、シナプス小胞によってシナプス前膜まで運ばれ、神経終末まで伝わってきた神経インパルスが引き金となってシナプス間隙に放出される。

シナプス間隙に放出されたアセチルコリンは、シナプス後膜にあるアセチルコリン受容体に受け渡され、後シナプス側のニューロンに情報伝達を行う。受容体と結合した後、再遊離したアセチルコリン

は、分解酵素であるアセチルコリンエステラーゼ (acetylcholinesterase: AChE) によって、速やかにコリンと酢酸に分解される。この分解過程で生成されたコリンは、再び HACU 部位から取り込まれ、アセチルコリン合成の基質として再利用される。

脳内アセチルコリン系は、コリン作動性ニューロンによって形成される神経細胞集団である。前脳におけるコリン作動性ニューロンの主要な分布および投射経路は、内側中隔から海馬への投射 (中隔-海馬アセチルコリン系)、巨大細胞基底核を主とする前脳基底部から大脳皮質への投射 (前脳基底部-皮質アセチルコリン系)、そして線条体内部の介在ニューロンの3つである。

(2) 脳内アセチルコリン系と学習

動物実験において、海馬へのコリン系投射の起始領域である中隔を電気破壊損傷されたラットが空間弁別課題の障害を示す (Decker, Majchrzak & Anderson, 1992)、あるいはアセチルコリン受容体拮抗薬であるスコポラミンが受動的回避学習 (Meyers & Anderson, 1964) や空間学習 (Hiraga & Iwasaki, 1984) を阻害するなどの知見が報告されており、脳内アセチルコリン系機能不全と学習・

記憶障害の関連が示唆されてきた。

また、ヒトに神経病理学的研究においても、同様の関連が示唆されている。著しい認知・記憶障害を特徴とする神経疾患であるアルツハイマー病患者の死後脳において、マイネルト基底核および内側中隔のコリン作動性ニューロンに神経変性がみられることが組織学的研究によって示されて以来、アルツハイマー病患者の認知・記憶障害が脳内アセチルコリン系機能不全に起因するものであるという仮説（コリン仮説）に注目が集められるようになった。

(3) 脳内アセチルコリン系の発達と、新生仔期脳内アセチルコリン系損傷効果研究の意義

ラットの場合、出生は受精21日目であるが、受精15日前後の間にすでに前脳のコリン作動性ニューロンの発生が始まる (Semba & Fibiger, 1988)。神経発生の直後から、コリン作動性ニューロンは、皮質の標的領域へと神経線維を伸ばし始める。前脳コリン作動性ニューロンからの神経線維投射が皮質に到達し始めるのは生後第1週目、一方海馬へと到達し始めるのは生後第2週目からであるといわれている。これらの領域への神経支配はおおよそ生後第5週目あたりで早くも成体ラットと同等にまで進展し、また、ChAT / AChE 活性などのコリン系マーカーにも十分な機能的成熟が認められる。

このように、脳内アセチルコリン系の構築は、出生前と出生後にまたがる個体発生初期段階に急速に進展する。そして、この時期に前脳基底部コリン系が正常に発達・機能することの重要性を明らかにすることは、極めて意義あることである。前述したように、脳内アセチルコリン系は、学習・記憶との関わりが深い神経伝達物質系であると考えられている。さらに、ダウン症候群とレット症候群、精神発達遅滞や自閉症状を特徴とするヒトの脳発達障害の少なくとも2つが、前脳基底部コリン作動性ニューロンの異常を特徴としている。

新生仔期脳内アセチルコリン系損傷の行動的効果を検討するためには、発達初期のラットやマウスを被験体として使用する必要があるが、新生仔ラット／マウスの小さな脳の特定期限域のみに微小な物理的損傷を加えることには技術的な困難が伴う。従って、これらの研究では、新生仔ラット／マウスの脳室内に、コリン作動性ニューロンに選択的に作用する神経毒を投与するという手法がとられることが多い。脳室内を循環する脳脊髄液中に選択的な神経毒を微量投与することにより、脳全体や他の神経伝達物質系に対するダメージを最小限に止めることがで

きるためである。本稿では、コリンのアナログ物質である AF64A、および免疫抗体反応を利用した 192 IgG-saporin、これら2つの神経毒を用いた研究の動向を概説する。

2. コリンのアナログ物質による新生仔期脳内アセチルコリン系損傷の効果

(1) AF64A の作用機序

Ethylcholine mustard aziridinium ion (AF64A) は、コリンに類似した構造を持つ物質（アナログ物質）の一つである。前述した HACU 部位は、本質的にコリンのみを選択的にニューロン内部に取り込むための機構であるが、AF64A はコリンに類似した構造を持っているため、この部位からコリン作動性ニューロンに取り込まれてしまう。その後、コリン作動性ニューロン内部において、mRNA の転写など遺伝子機能の阻害に起因する神経毒性を示すことにより、AF64A は脳内アセチルコリン系に選択的かつ持続的な損傷を生じさせる (Fisher, Mantione, Abraham & Hanin, 1982; Hanin, 1996)。また、HACU 部位の阻害薬である hemicholinium-3 を前処置しておくこと、AF64A の神経毒作用からコリン作動性ニューロンを保護することができる (Chrobak, Spates, Stackman & Walsh, 1989)。

(2) 新生仔期 AF64A 投与の組織学的・生化学的効果

これまでに報告された新生仔期 AF64A 投与の効果を検討した研究では、全て両側脳室内への投与手続きがとられている。投与時の日齢は1～8日齢の範囲である。投与用量は0.1～2 nmol の範囲であり、この範囲の用量では生存率や成育後の体重などに大きな影響はないことが示されている。

Luiten, Van der Zee, Gaspar, Buwalda, Strosberg & Nyakas (1992) は8日齢のラットに2 nmol の AF64A を投与し、成育後の被験体の脳に生じた変化を広範に検討している。AChE 染色と ChAT 免疫組織化学によって90日齢の被験体の脳を組織学的に検索したところ、コリン作動性ニューロンの投射線維が海馬において著しく脱落していることが明らかとなった。皮質と線条体ではそのような変化は認められなかった。また、ChAT と AChE の酵素活性を測定したところ、海馬でこれらの活性が統制群のおおよそ40%にまで低下していた。さらに、 $[^3\text{H}]$ quinuclidinyl benzilate を用いて受容体結合実験を行った結果、海馬のムスカリン性受容体数が、統制群のおおよそ60%にまで減少していることが明らかと

なった。

Nonaka, Ichitani & Iwasaki (1998) は、同じく 8 日齢時に AF64A を投与したラットを用いて 150 日齢時に AChE 染色による組織学的検索を行い、海馬アセチルコリン系の損傷がかなり長期間を経たのちも回復していないことを示している。新生仔期投与の場合、脳内アセチルコリン系の神経投射やシナプスがまだ十分に形成されていない時期に損傷が加えられるため、成体期投与の場合よりも回復が困難なのではないかと推測される。

新生仔期 AF64A 投与の効果は、脳内アセチルコリン系に選択的であり、脳室内に投与を行った際には海馬に選択的なアセチルコリンの涸渇が生じる。そして、この選択的な損傷効果は、HACU 部位の阻害薬である henicholinium-3 を前処置することにより、ほぼ完全に保護される (Brake & Pappas, 1994)。

(3) 生得的行動に対する新生仔期 AF64A 投与の効果

自動行動解析装置で測定された一般活動性では、15~75 日齢および 120 日齢時において、一貫して AF64A 処置群は統制群よりも高い活動性を示した (Speiser, Amitzi-Sonder, Gitter & Cohen, 1988; Speiser, Reicher, Gitter & Cohen, 1989)。しかしながら、Gaspar, Heeringa, Markel, Luiten & Nyakas (1991) が 20 日齢と 90 日齢の 2 つの発達段階でオープンフィールド・テストを行ったところ、発達の初期段階では AF64A 処置によって過活動傾向を示すが、成育後はむしろ統制群よりも低活動になる傾向があるという結果を得た。

一方、Armstrong & Pappas (1991) は高架式十字迷路を使用して 38 日齢のラットの不安傾向を測定している。高架式十字迷路は、50cm 程度の高さの側壁に囲まれた closed arm と、約 2 cm の落下防止用縁が付けられただけの open arm の 2 本を交差させた装置である。通常、ラットやマウスは open arm への進入を回避して、closed arm への偏好を示すのであるが、ヒトで臨床的に抗不安効果が実証されている薬物の投与によって open arm への進入回数や滞在時間が増加するため、十字型迷路は不安の信頼ある測定法であるといわれている (Pellow, Chopin, File & Briley, 1985)。Armstrong & Pappas (1991) の実験において、新生仔期 AF64A 投与はアームへの総進入回数を増加させたが、open arm への進入比率は統制群と同レベルであった。従って、不安傾向自体には変化がないが、移動活動量は増加したとの解釈がなされている。

このように先行研究は、少なくとも身体発達が盛んな時期においては、新生仔期 AF64A 投与によって活動性が高まることを示唆している。これに対して、野中 (1994) は 8 日齢時に 1~2 nmol の AF64A を脳室内投与したラットを用いて、20、50 および 80 日齢時にオープンフィールド・テストを行い、いずれの日齢においても移動区画数と立ち上がり反応数への影響はないという結果を得た。これらの研究の間では、使用した装置と活動性の定義、ラットの系統に違いがあるため、一般活動性に対する新生仔期 AF64A 投与の効果をさらに検討する必要がある。

(4) 学習行動に対する新生仔期 AF64A 投与の効果

成体ラットに投与を行ったときと同様、受動的回避学習は新生仔期 AF64A 投与によって阻害される (Nonaka et al., 1998; Speiser et al., 1988; Speiser et al., 1989)。これに対して、シャトル・ボックスにおける能動的回避学習では遂行障害がみられなかった (Speiser et al., 1988)。

Gaspar et al. (1991) は、等間隔にあけられた 16 個の窠みを設けた装置を使用し、特定の 4 個の窠みにだけ報酬をおいて、その位置を記憶させるという一種の空間学習課題 (hole-board test) を行った。新生仔期に AF64A を投与されたラットは、セッションごとに学習が進む傾向を示したが、正反応率は統制群よりも一貫して低いものに留まっていた。

より一般的な空間課題においても、新生仔期 AF64A 投与の効果が検討されている。モリス型水迷路は、円形のプール内部に小さな逃避用プラットフォームが一箇所設置された装置である。このプラットフォームは水面下数 cm のところまでの高さしかないため、水面を泳いでいる被験体にはその位置が見えないようになっている。従って、被験体は装置が置かれている実験室内の物体配置を手がかりとして利用し、プラットフォームの位置を把握することを学習しなければならない。標準的な手続きにおいて、プラットフォームの位置は試行間に渡って固定であるため、この課題は空間的参照記憶を測定しているものと考えられる。

Armstrong & Pappas (1991) は、同課題の検討を行い、新生仔期 AF64A 処置ラットの逃避潜時が統制群ラットよりも長いことを報告している。水面上にプラットフォームを突きだして被験体に見えるようにした手がかり試行では、両群の逃避潜時に有意差はみられなかった。また、新生仔期 AF64A 処置に先立って、HACU 部位の阻害薬である

hemicholinium-3を処置することで、モリス型水迷路課題の遂行障害が緩和された (Brake & Pappas, 1994)。

放射状迷路は、中央のプラットフォームに8~16本のアームが放射状に配置された装置である。もっとも標準的な手続きでは、全てのアームの先端部に報酬を置いて、被験体にそれらを自由に選択させるという方法がとられる。この場合、被験体は実験室内の手がかりをたよりに、すでに選択したアームを記憶しつつ、セッション中に再度そのアームに進入しないことを学習することが求められる。つまり、この課題の標準的な手続きでは、各試行毎に空間的作業記憶が必要となる。Nonaka et al. (1998)は8方向放射状迷路を用いて、新生仔期 AF64A 処置が各試行における誤選択数、および学習基準に到達するまでの試行数を増加させることを報告している。放射状迷路における1選択あたりの走行時間には、統制群と AF64A 投与群の間で差がなかった。

(5) まとめ

AF64Aを新生仔ラットの脳室内処置することにより、主に中隔-海馬アセチルコリン系に選択的な損傷が生じる。また、行動的には、一般活動性と不安傾向に大きな変化はないが、成育後まで持続する長期的な学習障害がみられ、作業記憶課題と参照記憶課題の両方に遂行障害が現れる。

3. 免疫性神経毒による新生仔期脳内アセチルコリン系損傷の効果

(1) 192 IgG-saporin の作用機序

脳内アセチルコリン系を損傷するための手段として192 IgG-saporinが有効であることを最初に報告したのは、Wiley, Oeltmann & Lappi (1991)である。ラットの前脳基底部のAChE陽性ニューロンのほとんどが低親和性NGF受容体 (p75 NGF受容体)を持つという事実に着目した彼らは、免疫抑制剤やガン治療のために発展してきた immunolesioning の手法を応用し、192 IgG-saporinによるコリン作動性ニューロンの選択的損傷を試みた。

生体がふつうに産生する抗体と異なり、モノクローナル抗体は、特定の1種類の抗原決定基だけに反応を示す。この性質により、目標とする特定のペプチドの選択・消去・標識、あるいは治療にモノクローナル抗体が利用されている。192 IgGは、p75 NGF受容体タンパクのモノクローナル抗体であり、p75 NGF受容体に対する選択的結合能を有する。一方、Saponaria Officinalis (シャボンソウ) から精

製される物質である saporin は、リボゾーム不活性化作用を有しており、細胞内部におけるタンパク合成を阻害することによって、その細胞を死に至らしめる。192 IgGと saporinをカップリングさせることにより、1) 神経毒作用を有する saporinを p75 NGF受容体を有するニューロンまで選択的に輸送すること、さらに、2) 本来は簡単には細胞内に入ることのできない saporinが、192 IgGをベクター分子として利用することによってニューロン内部に侵入し、軸索輸送によって神経細胞体まで到達することが可能となる (Wiley, 1992)。

(2) 新生仔期192 IgG-saporin 投与の組織学的・生化学的效果

AF64Aと同じく、新生仔期192 IgG-saporin 投与の効果を検討した研究においても、両側脳室内への投与手続きがとられている。投与時の日齢は1~7日齢である。投与用量は0.2~1.6 μ gの範囲であるが、生存率などに深刻な影響を与えることなく実験を行うことができる用量の上限は0.8 μ g前後のようである (Leanza, Nilson, Nikkiah, Wiley & Björklund, 1996)。

0.8 μ gの192 IgG-saporinを4日齢時に投与した Leanza et al. (1996)の場合、3ヶ月齢時のChAT活性は海馬で約80%、前頭皮質で約40%の低下が認められた。0.2 μ gを7日齢時に投与した Pappas, Davidson, Fortin, Nallathamby, Park, Mohr & Wiley (1996)の研究においては、さらに損傷効果は明白であり、投与から4ヶ月以上が経過した時点で、海馬のChAT活性は約85%、皮質のChAT活性は約50%低下していた。両者の研究において、線条体のコリン系マーカーには、ほとんど変化がなかった。これは、線条体のコリン作動性ニューロン上に、192 IgGの標的となる p75 NGF受容体が存在しないためである。

これら2つの研究のいずれにおいても、中隔/対角帯領域と巨大細胞基底核のコリン作動性神経細胞体の損傷、およびそれぞれの投射先である海馬と皮質のコリン作動性神経線維の損傷が、組織学的検索で確認された。

(3) 生得的行動に対する新生仔期192IgG-saporin 投与の効果

自動行動解析装置とオープンフィールドを用いて、一般活動性が調べられている。19日齢時 (Ricceri, Calamandrei & Berger-Sweeney, 1997)、50日齢時 (Mattsson, Ogren & Olson, 2002)、3~4ヶ月齢 (Leanza et al., 1996)のいずれの発達段

階においても、統制群との間に大きな差はみられなかった。

探索行動に関しては、いくつかの場面で検証が行われている。オープンフィールドの床面に等間隔に設けられた16個の窪みに対する nose poke 回数に関しては変化が認められず (Leanza et al., 1996)、壁のない高さ12cmのプラットフォーム上に16個の穴が設けられた装置の場合は、新生仔期192 IgG-saporin 処置ラットにおいて head dip 回数の減少がみられた (Ricceri et al., 1997)。また、オープンフィールド内に5個の新奇な物体を置いた場面では、3日間に渡る馴化過程においては新生仔期192 IgG-saporin 処置ラットと統制群ラットの行動に大きな差はなく、徐々に物体への探索行動を減少させていった。しかしながら、4日目に物体の空間的配置を変化させたところ、統制群では新奇誘発性の探索行動増加が観察されたのに対し、新生仔期192 IgG-saporin 処置群では探索行動の増加が認められなかった (Ricceri, Usiello, Valanzano, Calamandrei, Frick & Berger-Sweeney, 1999)。この結果から、新生仔期192 IgG-saporin 処置により、空間情報の変化(物体の位置関係の変化)を検出する能力に障害の生じた可能性が示唆された。

前述した高架式十字型迷路を用いて、不安傾向に関する新生仔期192 IgG-saporin 処置の効果も検討されている。Pappas et al. (1996) が検討を行ったところ、新生仔期192 IgG-saporin 処置群において、open arm への進入回数および open arm 内での滞在時間の低下、すなわち不安傾向の増加が認められた。一方、Sherren, Pappas & Fortin (1999) は雌雄ラットを用いて同課題を検討し、雌の被験体においてのみ、新生仔期192 IgG-saporin 処置による open arm 滞在時間の増加があったことを報告している。雄の被験体においては、不安傾向の変化はみられなかった。

(4) 学習行動に対する新生仔期192 IgG-saporin 投与の効果

受動的回避課題に関しては、習得期においては学習遅滞が認められるが、習得後の回避反応の保持(24時間後の再テスト)に関しては障害がみられないとの報告がなされている (Berger-Sweeney, 1998; Ricceri et al., 1997)。また、習得期においても有意な学習障害がなかったという報告もある (Ricceri et al., 1999)。

T字迷路などを用いた遅延非見本合わせ課題(遅延0~3分間)に関しては、新生仔期192 IgG-saporin 処置ラットに遂行障害が認められなかった。

遅延条件0分の場合、直前の見本走行で報酬を呈示されたアームに対する固執傾向が選択走行において観察されたが、遅延時間が長くなると、この固執傾向はみられなくなった (Pappas et al., 1996; Pappas, Nguyen, Brownlee, Tanasoiu, Fortin & Sherren, 2000)。

モリス型水迷路課題に関しては、遂行障害がほとんどみられない (Leanza et al., 1996; Pappas et al., 1996; Pappas et al., 2000)、習得の初期においてのみ学習遅滞がみられる (Sherren et al., 1999)、訓練期間中に一貫した学習障害がみられる (Mattsson et al., 2002) というように、見解がはっきりしていないというのが現状である。これらの研究のいずれにおいても、遊泳速度および手がかり試行の逃避潜時に関しては、新生仔期192 IgG-saporin 処置群と統制群の間に差がみられなかった。

放射状迷路課題に関しては、Pappas et al. (2000) が興味深い知見を報告している。彼らは、10方向放射状迷路を装置として使用し、10本のうちの2本を除く8本のアームにのみ報酬を置いて訓練を行うという手続きをとった。報酬のない2本のアームの位置は、訓練期間を通じて固定であった。このような実験条件下では、被験体は次の2つの記憶を機能させることが求められる。一つは、報酬が置かれているアーム (baited arm) と報酬が置かれていないアーム (unbaited arm) の位置を訓練期間中に記憶保持していること、すなわち参照記憶である。もう一つは、8本の baited arm のうち試行開始から進入したものを記憶し、同一試行中にそれらに再進入しないこと、すなわち作業記憶である。Pappas et al. (2000) の実験において、新生仔期192 IgG-saporin 処置群は統制群に比べ、baited arm への再進入回数は有意に多かったが、unbaited arm への進入回数に関しては両群に差がみられなかった。つまり、作業記憶に関しては障害がみられたものの、参照記憶には影響が生じていなかったことが示唆された。

(5) まとめ

192 IgG-saporin を新生仔ラットの脳室内に投与することにより、中隔-海馬アセチルコリン系と前脳基底部-皮質アセチルコリン系に極めて重篤な損傷が生じるが、学習障害の程度は比較的軽度である。また、学習障害は、主に作業記憶に関して観察される。一般活動性と不安傾向には大きな影響がみられない。

現在までの研究の成果と問題点、今後の展望

新生仔期 AF64A 投与と新生仔期192 IgG-saporin 投与の効果をまとめると、以下ようになる。1) AF64A よりも192 IgG-saporin の方が、脳内アセチルコリン系損傷の効果は強力である。2) しかしながら、学習・記憶に及ぼす効果は AF64A の方が明確であり、192 IgG-saporin の学習阻害効果は比較的軽度である。3) 新生仔期 AF64A 処置は参照記憶と作業記憶の両方に影響を与えるが、新生仔期192 IgG-saporin 処置は主に作業記憶を選択的に阻害する。4) 一般活動性と不安傾向に関しては、これら2つの新生仔処置はほとんど影響を与えない。

このように、同じ神経伝達物質系に作用する神経毒であるにもかかわらず、AF64A と192 IgG-saporin の行動的效果にはいくつかの食い違いが存在する。今後、神経毒投与と行動テストを実施する日齢、さらに使用する被験体の系統や行動実験の細かい手続きを厳密に統制することにより、新生仔期 AF64A 処置と新生仔期192 IgG-saporin 処置の行動的・生理学的効果を直接比較し、新生仔期脳内アセチルコリン系損傷の効果をより詳細に検討していくことが必要であろう。

引用文献

- Armstrong, J.N. & Pappas, B.A. 1991 The histopathological, behavioral and neurochemical effects of intraventricular injection of ethylcholine mustard aziridinium (AF64A) in the neonatal rat. *Developmental Brain Research*, **61**, 249-257.
- Berger-Sweeney, J. 1998 The effects of neonatal basal forebrain lesions on cognition: Towards understanding the developmental role of the cholinergic basal forebrain. *International Journal of Developmental Neuroscience*, **16**, 603-612.
- Brake, W.G. & Pappas, B.A. 1994 Hemicholinium-3 (HC3) blocks the effects of ethylcholine mustard aziridinium (AF64A) in the developing rat. *Developmental Brain Research*, **83**, 289-293.
- Chrobak, J.J., Spates, M.J., Stackman, R.W. & Walash, T.J. 1989 Hemicholinium-3 prevents the working memory impairment and the cholinergic hypofunction induced by ethylcholine aziridinium ion (AF64A). *Brain Research*, **504**, 269-275.
- Decker, M.E. & Majchrzak, M.J. 1992 Effects of systemic and intracerebroventricular administration of mecamylamine, a nicotinic cholinergic antagonist, on spatial memory in rats. *Psychopharmacology*, **107**, 530-534.
- Fisher, A., Mantione, C.R., Abraham, D.J. & Hanin, I. 1982 Long-term central cholinergic hypofunction induced in mice by ethylcholine aziridinium ion (AF64A) in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **222**, 140-145.
- Gaspar, E., Heeringa, M., Markel, E., Luiten, P.G.M. & Nyakas, C. 1991 Behavioral and biochemical effects of early postnatal cholinergic lesion in the hippocampus. *Brain Research Bulletin*, **28**, 65-71.
- Hanin, I. 1996 The AF64A model of cholinergic hypofunction: an update. *Life Sciences*, **58**, 1955-1964.
- Hiraga, Y. & Iwasaki, T. 1984 Effects of cholinergic and monoaminergic antagonists and tranquilizers upon spatial memory in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **20**, 205-207.
- Leanza, G., Nilsson, O.G., Nikkhah, G., Wiley, R.G. & Björklund, A. 1996 Effects of neonatal lesions of the basal forebrain cholinergic system by 192 Immunoglobulin G-saporin: Biochemical, behavioural and morphological characterization. *Neuroscience*, **74**, 119-141.
- Luiten, P.G.M., Van der Zee, E.A., Gaspar, E., Buwalda, B., Strosberg, A.D. & Nyakas, C. 1992 Long-term cholinergic denervation caused by early postnatal AF64A lesion prevents development of muscarinic receptors in rat hippocampus. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, **5**, 131-141.
- Mattson, A., Ogren, S.O. & Olson, L. 2002 Facilitation of dopamine-mediated locomotor activity in adult rats following cholinergic denervation. *Experimental Neurology*, **174**, 96-108.
- Meyers, B. & Domino, E.F. 1964 The effect of cholinergic blocking drugs on spontaneous alternation in rats. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Therapie*, **150**, 525-529.
- 野中博意 1994 新生児期脳内アセチルコリン涸渇ラットの活動性および学習行動. 1993年度筑波大学心理学研究科修士論文
- Nonaka, H., Ichitani, Y. & Iwasaki, T. 1998 Effects of early postnatal AF64A treatment on passive avoidance response and radial maze learning in

- rats. *Japanese Journal of Psychopharmacology*, **18**, 39-44.
- Pappas, B.A., Davidson, C.M., Fortin, T., Nallathamby, S., Park, G.A.S., Mohr, E. & Wiley, R.G. 1996 192 IgG-saporin lesion of basal forebrain cholinergic neurons in neonatal rats. *Developmental Brain Research*, **96**, 52-61.
- Pappas, B.A., Nguen, T., Brownlee, B., Tanasoiu, D., Fortin, T. & Sherren, N. 2000 Ectopic noradrenergic hyperinnervation does not functionally compensate for neonatal forebrain acetylcholine lesion. *Brain Research*, **867**, 90-99.
- Pellow, S., Chopin, P., File, S.E. & Briley, M. 1985 Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, **14**, 149-167.
- Ricceri, L., Calamandrei, G. & Berger-Sweeney, J. 1997 Different effects of postnatal day 1 versus 7 192 Immunoglobulin G-saporin lesions on learning, exploratory behaviors, and neurochemistry in juvenile rats. *Behavioral Neuroscience*, **111**, 1292-1302.
- Ricceri, L., Usiello, A., Valanzano, A., Calamandrei, G., Frick, K. & Berger-Sweeney, J. 1999 Neonatal 192 IgG-saporin lesions of basal forebrain cholinergic neurons selectively impair response to spatial novelty in adult rats. *Behavioral Neuroscience*, **113**, 1204-1215.
- Semba, K. & Fibiger, H.C. 1988 Time of origin of cholinergic neurons in the rat basal forebrain. *Journal of Comparative Neurology*, **269**, 87-95.
- Sherren, N., Pappas, B.A. & Fortin, T. 1999 Neural and behavioral effects of intracranial 192 IgG-saporin in neonatal rats: sexually dimorphic effects? *Developmental Brain Research*, **114**, 49-62.
- Speiser, Z., Amitzi-Sonder, J., Gitter, S. & Cohen, S. 1988 Behavioral differences in the developing rat following postnatal anoxia or postnatally injected AF-64A, a cholinergic neurotoxin. *Behavioral Brain Research*, **30**, 89-94.
- Speiser, Z., Reicher, S., Gitter, S. & Cohen, S. 1989 Tacrine or arecoline mediates reversal of anoxia- or AF64A-induced behavioural disorders in the developing rat. *Neuropharmacology*, **12**, 1325-1332.
- Wiley, R.G. 1992 Neural lesioning with ribosome-inactivating proteins: suicide transport and immunolesioning. *Trends in Neurosciences*, **15**, 285-290.
- Wiley, R.G., Oeltmann, T.N. & Lappi, D.A. 1991 Immunolesioning: selective destruction of neurons using immunotoxin to rat NGF receptor. *Brain Research*, **562**, 149-153.

(受稿10月9日：受理11月13日)