

イオンチャンネル型および代謝型グルタミン酸レセプターと 学習・記憶に関する行動的研究の概観

筑波大学大学院(博)心理学研究科 吉原 亨

筑波大学心理学系 一谷 幸男

A review of behavioral studies on the roles of ionotropic and metabotropic glutamate receptors in learning and memory

Toru Yoshihara and Yukio Ichitani (*Institute of Psychology, University of Tsukuba, Tsukuba 305-8572, Japan*)

Glutamate receptors are known to play essential roles in long-term potentiation (LTP), which is thought to be the neural base of learning and memory. Physiological and pharmacological studies have revealed that glutamate receptors perform various roles within the hippocampal LTP, with these roles being subtype-specific. Based on these findings, many behavioral studies have been conducted using substances that act on these receptor subtypes as agonists or antagonists. Here, we mainly review behavioral studies that have investigated the functional roles of NMDA, AMPA and metabotropic glutamate receptors in memory and learning in rats. Recent developments of behavioral research using NMDA receptor gene-manipulated mice are also discussed briefly.

Key words: LTP, glutamate receptors, learning and memory, hippocampus, rats.

Bliss & Lømo(1973)によって報告された長期増強(long term potentiation: LTP)と呼ばれる現象は、神経繊維に対する一過性の電気的な高頻度刺激(テタヌス刺激)によって、シナプス後部における興奮性シナプス後電位の振幅が増大し、その効果が長期間にわたって維持され、情報伝達効率が上昇するという現象である。このような性質のみならず、古くから学習・記憶に関わりの深いことが知られてきた海馬で顕著に発現することから、LTPは学習・記憶の生理学的な基盤であると考えられるようになった。さらにその後の薬理学的な研究によって、LTPの発現にはグルタミン酸レセプターが必須の役割を担っていることが明らかにされ、LTP、グルタミン酸レセプター、学習・記憶という3者の関係について、多くの生理学的、薬理学的研究、そして行動的研究が行われてきている。

本稿では、まずグルタミン酸レセプターの分類と

各々の生理学的、薬理学的機能、およびLTPとの関連を述べた後、各レセプターサブタイプごとの学習・記憶における役割を検討した行動的研究を概観する。

1. グルタミン酸レセプター

L-グルタミン酸およびL-アスパラギン酸は中枢神経系に高濃度に分布し、ニューロン活動の興奮を引き起こすことから、興奮性アミノ酸と呼ばれている。特にグルタミン酸は中枢神経系の主要な興奮性神経伝達物質であると考えられており、脳神経系の情報伝達、個体発生過程における組織形成、および種々の病態における神経細胞死に関与することが示唆されている。また、学習・記憶の生理学的基盤であると考えられているLTPをはじめとしたシナプス可塑性にとって、重要な役割を担うことが知られ

ている。

グルタミン酸レセプターはニューロンの電気活動に対する薬理的な性質や、その構造と情報伝達機構の違いから、①イオンチャンネルを内蔵して、ミリ秒単位の速いシナプス伝達を担うイオンチャンネル型グルタミン酸レセプターと、②シナプス後部の細胞内に存在するGタンパク質と共役して、セカンドメッセンジャーなどの細胞内分子を調節することで、比較的ゆっくりと、間接的に情報伝達を行う代謝型グルタミン酸レセプターとに大別される。

1.1. イオンチャンネル型グルタミン酸レセプターの分類と機能

イオンチャンネル型グルタミン酸レセプター (ionotropic glutamate receptor) は、アゴニストに対する反応性の違いから、NMDA (N-methyl-D-aspartate) 型、KA (kainic acid) 型、AMPA (α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid) 型の3つのサブタイプに大きく分類することができる。しかし、KA型とAMPA型には、それぞれに十分に特異的なアンタゴニストが見いだされておらず、明確な区別がなされない場合もある。したがってイオンチャンネル型グルタミン酸レセプターを、NMDA型とnonNMDA型(もしくはKA/AMPA型)として大別することもある。最近になってAMPA型レセプターの特異的な薬物が開発されており、LTPや学習・記憶における役割がAMPA型レセプターに限局して論じられるようになってきた。

AMPA型レセプターは Na^+ を細胞内に透過させることで、通常の興奮性シナプス伝達に関与している。一方で、NMDA型レセプターはチャンネルが通常 Mg^{2+} で閉塞されており、陽イオンを透過させない。しかし、AMPA型レセプターによりシナプス後部の細胞膜が十分に脱分極されると Mg^{2+} が解放され、陽イオンを透過することができる。その際、NMDA型レセプターは Na^+ のみならず Ca^{2+} に対しても高い透過性を持つため、この Ca^{2+} の流入によりLTPが誘発されると考えられている。

1.2. 代謝型グルタミン酸レセプターの分類と機能

代謝型グルタミン酸レセプター (metabotropic glutamate receptor) は比較的最近になって同定され、遺伝子クローニングにより、現在までにmGluR1からmGluR8までの8つのサブタイプが存在することが知られている。代謝型グルタミン酸レセプターはイオンチャンネルを持たず、結合部位にリガンド(グルタミン酸など)が結合することで、細

胞内のGタンパク質が活性化され、セカンドメッセンジャーの産生や細胞内代謝系の変化が生じる。このような代謝経路に対する調節性の伝達様式から、代謝型あるいは代謝調節型グルタミン酸レセプターと呼ばれている。本稿では以下、代謝型レセプターと記す。代謝型レセプターのサブタイプは中枢神経系に広く存在するが、その分布は不均一である。海馬では、CA1領域でmGluR5,7,1, CA2でmGluR4,7, CA3でmGluR1,5,7,2が、それぞれ順に高い密度で分布している。また、歯状回には全てのサブタイプが存在する (Fotuhi, Standaert, Testa, Penney & Young, 1994; Okamoto, Hori, Akazawa, Hayashi, Shigemoto, Mizuno & Nakanishi, 1994; Saugstad, Kinzie, Mulvihill, Segerson & Westbrook, 1994)。

代謝型レセプターはアミノ酸配列の相同性によって、大きく3つのグループ、すなわちグループI、グループII、グループIIIに分類される。グループI (mGluR1, mGluR5) は、フォスホリパーゼCと結合するGタンパク質と共役して、フォスフォイノシチド加水分解を生じさせる。その結果、細胞内のイノシトール3リン酸濃度が上昇して、小胞体からの Ca^{2+} の放出が増大することで細胞活動が賦活される。他方、グループII (mGluR2, mGluR3) とグループIII (mGluR4, mGluR6, mGluR7, mGluR8) はアデニル酸シクラーゼを抑制して、サイクリックAMPの産生を低下させることで、細胞活動を抑制する方向に機能する。

2. グルタミン酸レセプターと海馬LTP

海馬LTPにはグルタミン酸レセプターが重要な役割を担うことが知られているが、上述したそれぞれのグルタミン酸レセプターが、LTPの発現にとって多様な役割を担うことが明らかになっている。

2.1. イオンチャンネル型グルタミン酸レセプターとLTP

イオンチャンネル型グルタミン酸レセプターの中でも、NMDAレセプターとAMPAレセプターが海馬LTPに重要な機能を担っていることが知られており、NMDAレセプターはLTPの誘発に、また、AMPAレセプターは誘発されたLTPの維持に関与することが、各々のレセプターに対するアンタゴニストを用いた研究から明らかになっている。以下、海馬LTPにおけるイオンチャンネル型グルタミン酸レセプターの役割をBliss & Collingridge (1993) にしたがって概観する。

シナプス後膜にはNMDAレセプターとAMPAレセプターとが混在している。通常の弱い刺激によりシナプス前膜から放出されるグルタミン酸は、AMPAレセプターに結合して、イオンチャンネルを開放し、 Na^+ を流入させることでシナプス後細胞に興奮性シナプス後電位(EPSP)を生じさせる。この際、NMDAレセプターは Mg^{2+} によりイオンチャンネルが閉塞されたままであり、NMDAレセプターを介したEPSPは生じない。しかし、テタヌス刺激(100-200Hz, 1秒間)が与えられた場合は、シナプス前膜から放出された多量のグルタミン酸により、AMPAレセプターを介してシナプス後膜が十分に脱分極する。その結果、膜電位の変化によりNMDAレセプターチャンネル内に結合していた Mg^{2+} が遊離して、イオンチャンネルを通して細胞外から Na^+ が流入する。これと同時にNMDAレセプターは Ca^{2+} に対しても高い透過性を持つことから、細胞内に大量の Ca^{2+} が流入して、シナプス後膜以降での長期的な興奮状態、すなわちLTPが誘発されると考えられている。

いったん誘発されたLTPはAMPAレセプターの機能によって維持されるが、そのメカニズムがいくつか提唱されている。シナプス前仮説では、シナプス後膜からの逆行性伝達物質(一酸化窒素、一酸化炭素、アラキドン酸など)により、シナプス前膜に情報が送られて、シナプス前膜のシナプス小胞の数が増加すると考えている。シナプス後仮説では、放出される伝達物質の量は変化しないが、細胞内に流入した Ca^{2+} が代謝系路を変化させ、シナプス後膜のAMPAレセプターをリン酸化して、その機能が上昇すると考える。また、近年ではシナプス前部、シナプス後部の両方の活性化が必要であるという仮説も提唱されている。その根拠の1つとして、持続的な興奮によって、それまで活動の見られなかったシナプス("silent synapse")が、活動を引き起こすようになる現象が確認されている(Isaac, Nicoll & Malenka, 1995; Liao, Hessler & Malinow, 1995)。この現象は、シナプス後部の樹状突起内に存在していたAMPAレセプターが、シナプス後膜に融合して機能を発現するために生じると考えられている。

2.2. 代謝型グルタミン酸レセプターとLTP

上述のようにLTPにはNMDAレセプターを介した Ca^{2+} の細胞内への流入が必要である。また、先に代謝型レセプターは細胞内の Ca^{2+} の活性化に役割を担っていることを述べた。したがって、細胞内 Ca^{2+} 濃度を高める機能を持つ代謝型レセプターが、LTPに深く関与することが推測されてきた。実際、多

くの研究で代謝型レセプター依存的な代謝経路や細胞内分子が間接的に調節を受け、LTPが発現することが報告されている。

Otani & Ben-Ari(1991)は、それだけではLTPを引き起こさないような閾値以下のテタヌス刺激と、代謝型レセプターのグループIおよびIIのアゴニストである(1S, 3R)-aminocyclopentane-1, 3-dicarboxylate(1S, 3R-ACPD)を組み合わせることで、LTPが誘発することを報告した。この結果は、代謝型レセプターがLTPの発現に何らかの役割を果たしていることを示唆するものである。この1S, 3R-ACPDのLTP促進作用はプロテインキナーゼC(PKC)により媒介されていること(Anwyl, 1991; Otani & Ben-Ari, 1993)、PKCの賦活によりNMDAレセプター介在性の反応が増強されること(Ben-Ari & Aniksztejn, 1995)が報告されている。

また、代謝型レセプターアタゴニストを用いた研究では、 α -methyl-3-carboxyphenylglycine(MCPG)がCA1領域のLTPの誘発を阻害するという報告がある(Bashir, Bortolotto, Davies, Berretta, Irving, Seal, Henley, Jane, Watkins & Collingridge, 1993)。さらに、Bortolotto, Bashir, Davies & Collingridge(1994)は、*in vitro*の海馬CA1領域における、テタヌス刺激による初回のLTP誘発はMCPGによって阻害されるが、すでにLTPを誘発した経路での2回目のLTP誘発をMCPGが阻害しないことを報告している。彼らはこの結果をもとに、LTPにおける代謝型レセプターの役割はNMDAレセプターの役割とは異なるとして、代謝型レセプターの分子スイッチ説を提唱している。この仮説では、LTPが誘発することで代謝型レセプター依存的な細胞内の「分子スイッチ」が賦活される。このスイッチは数時間にわたって機能するため、その後のLTPを誘発するためには代謝型レセプターは必要とされない。したがって2回目以降のLTPの誘発は、MCPGによって阻害されないという。この仮説はレセプター機能と細胞内の代謝経路とをうまく結びつける仮説ではあるが、2回目以降のLTPの誘発もMCPGにより阻害されるという事実など、この仮説とは矛盾する報告もいくつかある(Aiba, Chen, Herrup, Rosenmund, Stevens & Tonegawa, 1994; Thomas & O'Dell, 1995)。

また、頻繁に用いられるテタヌス刺激によるLTPはMCPGにより阻害されないものの、 θ バーストとよばれる比較的緩やかな高頻度刺激により引き起こされるLTPは、MCPGにより阻害されることが報告されている(Brown, Rabe & Reymann, 1994; Selig, Lee, Bear & Malenka, 1995)。この結果は、

十分に強い高頻度刺激による LTP には、細胞内 Ca^{2+} が関与していない (Behnisch & Reymann, 1995) が、 θ バーストによる LTP には細胞内に貯蔵された Ca^{2+} が関与しているという事実 (Harvey & Collingridge, 1992) と一致している。

現段階では、代謝型レセプターが直接的に LTP の発現に関与しているというよりは、このレセプターに依存的な細胞内の変化、とりわけ Ca^{2+} による代謝系の賦活が、LTP にとって重要な調節因子となっていると考えられる。

3. グルタミン酸レセプターと学習・記憶

上述の海馬 LTP とグルタミン酸レセプターに関する生理学的、薬理学的知見を受けて、グルタミン酸レセプターに作用するアゴニスト、アンタゴニストを用いた多くの学習・記憶研究が行われている。以下では特に述べない限り、ラットを被験体とした行動的研究を概観する。

3.1. イオンチャンネル型グルタミン酸レセプターと学習・記憶

3.1.1. NMDA レセプターと学習・記憶

Morris, Anderson, Lynch & Baudry (1986) は、D,L-2-5-aminophosphopentanoic acid (D,L-AP5) を海馬 LTP を阻害する用量 (40mM) で脳室内に慢性投与すると、Morris 型水迷路課題の習得が障害されることを報告した。この研究をきっかけとして、より詳細な研究が行われており、海馬内 NMDA レセプターが水迷路課題 (Morris, 1989; Morris, Halliwell & Bowery, 1989)、放射状迷路課題 (Kawabe, Ichitani & Iwasaki, 1998; Ward, Mason & Abraham, 1990)、受動的回避反応課題 (Jerusalinsky, Ferreira, Walz, da Silva, Bianchin, Ruschel, Zanatta, Medina & Izquierdo, 1992) などの海馬依存的な学習・記憶にとって、重要な役割を担っていることが報告されている。また、近年では記憶、保持、検索といった記憶過程に注目した研究も行われている。以下ではこれらの記憶過程と海馬内 NMDA レセプターとの関連を検討した研究を取り上げる。なお、その他の研究については川辺・岩崎 (1995) のレビューに詳しい。

Jerusalinsky et al. (1992) は受動的回避課題を用いて、訓練後の様々な時期に AP5 (5.0 μ g) を海馬内投与して検討を行った。その結果、訓練直後に AP5 を投与した場合は、24時間後の保持テストでの遂行成績が障害されるが、訓練90分後、180分後に投与した場合は、そのような障害が見られなかった。

また吉原 (1999) では、8方向放射状迷路課題の前半第4正選択までと、後半第5正選択以降の間に2時間の遅延時間を挿入する、遅延挿入放射状迷路課題を用いた。前半の遂行15分前、前半の遂行直後、および後半の遂行15分前のいずれかの時期に AP5 (20-40nmol) を海馬内投与して、この課題で必要とされる空間的な情報に関する作業記憶の、どの記憶過程で海馬内 NMDA レセプターが機能しているのか検討した。その結果、前半の遂行直前、および後半の遂行直前に薬物投与を行うことで、後半の正反応が有意に低下し、前半の遂行直後に投与した場合には遂行成績の低下は見られなかった。この結果は、空間的作業記憶の記憶、検索過程に海馬内 NMDA レセプターが重要な役割を担っているのに対し、保持過程には積極的な関与をしていないことを示唆している。上述の Jerusalinsky et al. (1992) と合わせて考えると、海馬内 NMDA レセプターは記憶過程の比較的早い段階 (記憶/符号化) や、その情報の利用 (検索/再符号化) に役割を担っているが、いったん形成された記憶の保持過程には積極的な役割を担っていないことが示唆される。

他方、Steele & Morris (1999) も Morris 型水迷路課題を用いて同様の検討を行っている。彼らは訓練の日ごとに逃避プラットフォームの位置が変わるという方法で、1日4試行を訓練した。各訓練日の第1試行のプラットフォームの位置についての情報を、一定の遅延時間後の第2試行以降まで保持しておくことで、速やかに逃避できる水迷路課題 (遅延場所見本合わせ課題) を考案して実験を行った。この課題の遅延時間は15秒、または2時間であり、それぞれの第1試行直前に AP5 (30mM) を海馬内投与した。その結果、15秒の遅延課題では AP5 による課題遂行障害は見られないが、2時間の遅延課題では、遅延後の第2試行以降の遂行成績が低下すること、すなわち遅延時間依存的な AP5 の効果が明らかとなった。この結果をもとに、海馬内 NMDA レセプターが比較的短時間の空間的記憶にとっては不要であるが、2時間におよぶ、比較的長時間の記憶の固定化に役割を担っていると彼らは考察した。この結論は、受動的回避課題や放射状迷路課題を用いた研究からの示唆とは対照的であり、現段階ではこのようなくい違いがどのような要因によるものかは明らかでない。海馬内 NMDA レセプターと記憶過程との関連については、今後さらなる検討が必要であろう。

3.1.2. AMPA レセプターと学習・記憶

学習・記憶における AMPA レセプターの役割につ

いては、これまで十分な検討が行われてこなかった。これは、従来用いられてきた AMPA レセプターアンタゴニストである 6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) や、6,7-dinitroquinoxaline-2,3-dione (DNQX) が、同時に KA レセプターにも作用してしまうために、十分に特異的な薬物とは言えなかったこと、また、これらの薬物は水溶性が低く、生体位の動物を用いた局所投与実験には使用しにくかったこと等の理由によるものと思われる。しかし、ここ数年で 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo (F) quinoxaline (NBQX), 6-(1-imidazolyl)-7-nitroquinoxaline-2,3-(1*H*,4*H*)-dione (YM90K), (3*S*,4*aR*,6*R*,8*aR*)-6-[2-(1(2)*H*-tetrazole-5-yl)ethyl]decahydroisoquinoline-3-carboxylic acid (LY293558) など、AMPA レセプターに対して選択性が高く、扱いやすいアンタゴニストが開発され、ある程度 AMPA レセプターに限局して、学習・記憶への関与が論じられてきている。

Morris 型水迷路課題を用いた研究では、NBQX を習得訓練後の保持テスト直前に腹腔内投与すると、課題遂行が障害されるが、訓練期間中に NBQX 投与を行っても、習得過程に障害は見られないことが報告されている (Filliat, Pernot-Marino, Baubichon & Lallement, 1998)。また、海馬内に LY293558 を慢性投与あるいは急性投与した Riedel, Micheau, Lam, Roloff, Martin, Bridge, de Hoz, Poeschel, McCulloch & Morris (1999) の研究では、訓練期間中の LY293558 慢性投与により習得が遅延し、その後の薬物無投与状態での保持テストにおいて、成績が低下した。この結果をもとに、彼らは海馬内 AMPA レセプターが記銘/符号化過程や、習得後の検索/再符号化過程に役割を担っていると結論した。また、訓練後、保持テストまでの 2 週間の保持期間のうちの最初の 1 週間、もしくは中期の 1 週間に LY293558 を海馬内に慢性投与すると、やはり保持テストの成績が低下することから、訓練後の情報の固定化や、比較的長期間の保持にも AMPA レセプターが役割を担っていると考えた。

受動的回避課題による研究では、KA/AMPA レセプターアンタゴニストである DNQX をヒヨコ脳室内に投与すると保持テストの成績が障害されること (Flood, Baker & Davis, 1990)、KA/AMPA レセプターアンタゴニストである CNQX を、訓練後 90 分および 180 分に海馬内投与すると、24 時間後の保持テストが障害されるが、やはり学習・記憶との関連が示唆されている嗅内皮質に同様の手続きで薬物投与を行っても、保持テストの遂行障害は認められないことが明らかにされている (Jerusalinsky et al.,

1992)。これらの結果は、記憶の固定/保持過程に AMPA レセプターが関与しており、その中でも特に海馬に存在するものが重要な役割を担っていることを示唆する。

放射状迷路を用いた研究では、8 選択肢による標準的な課題、および第 3 選択の後に 15 分の遅延を挿入する課題を十分に訓練したラットに、YM90K を腹腔内投与しても課題遂行が障害されないことが報告されている (Li, Matsumoto, Yamamoto & Watanabe, 1997)。しかし、Yoshihara & Ichitani (2000) では、十分にラットを訓練した後の薬物テストで、海馬内投与した NBQX (2.5-10.0 nmol) が、用量依存的に放射状迷路課題の遂行を障害した。これらの 2 つの研究結果のくい違いは、末梢投与による手続きでは、脳内、特に海馬に到達する薬物の濃度が十分に高くないため、行動に影響をもたらすほどの効果が発現しないのに対して、海馬内投与の場合は、海馬に限局して AMPA レセプターの機能を効果的に阻害したことに起因するのかもしれない。また Yoshihara & Ichitani (2000) では、吉原 (1999) と同じ遅延挿入放射状迷路課題を用いて、課題遂行の様々な時期に NBQX (2.5-5.0 nmol) を海馬内に投与した。その結果、いずれの投与時期でも NBQX の用量依存的に後半の遂行が障害された。この結果は Riedel et al. (1999) と同様に、海馬内 AMPA レセプターが記銘/符号化、固定/保持、検索/再符号化といった記憶過程の広範にわたって機能していることを示唆する。

以上、AMPA レセプターのアンタゴニストを用いた行動薬理的な研究を概観したが、これらとは別に AMPA レセプターの機能を間接的に上昇させる薬物を用いた研究も行われている。Staubli, Rogers & Lynch (1994) はイオンチャンネルの開放時間を延長させることで、AMPA レセプター依存的なシナプス後部の反応を増強する aniracetam 類似物質を開発し、この薬物を嗅覚弁別課題、Morris 型水迷路課題、および放射状迷路課題の遂行直前にラットに投与した。その結果、いずれの課題の遂行成績も促進され、AMPA レセプター依存的なシナプス伝達が様々な学習・記憶にとって、積極的な役割を担っていることが示唆された。同様の記憶促進効果は、ampakine と呼ばれる AMPA レセプターのモデュレーターを用いた研究でも報告されている (Hampson, Rogers, Lynch & Deadwyler, 1998a; 1998b)。

3.2. 代謝型グルタミン酸レセプターと学習・記憶

代謝型レセプターの学習・記憶における役割は、

イオンチャンネル型レセプターの場合と同様に、アゴニストやアンタゴニストを用いて検討されている。当初はグループ非特異的な薬物を用いた研究が多かったが、ここ数年で特にグループⅠとグループⅡそれぞれに特異的な薬物が開発され、サブグループごとの役割が検討されつつある。先述のようにグループⅠはシナプス後部の細胞体を賦活し、グループⅡ、Ⅲは抑制する機能を持つ。ここではグループⅠ、およびグループⅡ、Ⅲの2つに分けて行動的研究を概観する。

3.2.1. グループⅠ代謝型レセプターと学習・記憶

グループⅠ代謝型レセプターは内因性リガンドであるグルタミン酸により、細胞活動を賦活させる機能を持つことが生理学的、薬理学的研究から明らかにされているため、もっぱらアンタゴニストの効果が検討されてきた。比較的古い研究では、MCPGをアンタゴニストとして用いたものが多い。しかし、MCPGは同時にグループⅡに対してもアンタゴニストとして作用してしまうため、近年では、グループⅠに対して選択性のより高い(S)4-carboxyphenylglycine ((S)-4CPG)や、(RS)-1-aminoindan-1,5-dicarboxylic acid(AIDA)が用いられている。

Riedel, Wetzle & Reymann(1994)はMCPG脳室内投与により、ラット歯状回においてLTPが誘発しなくなることを確認した。その後の行動実験では、電撃を罰として、空間的記憶を必要とする高架式Y迷路における交替反応を用いて、この課題の訓練時、および訓練後の保持テスト直前にMCPGを脳室内投与した。その結果、訓練時にMCPGを投与すると、24時間後の保持テストでの誤選択数は有意に増加したが、保持テスト直前にMCPGを投与した場合は、成績に変化は見られなかった。また、Morris型水迷路課題を用いて、習得期間中にMCPGを脳室内投与した研究(Bordi, Marcon, Chiamulera & Reggiani, 1996; Richter-Levin, Errington, Maegawa & Bliss, 1994)では、訓練時の成績が障害されることなく、薬物無投与状態での保持テストが障害されることが明らかになっている。さらに近年、より選択性の高い(S)-4CPGや、AIDAを用いた研究(Balschun, Manahan-Vaughan, Wagner, Behnisch, Reymann & Wetzle, 1999; Balschun & Wetzle, 1998; Nielsen, Macphail & Riedel, 1997)でも、水迷路課題、放射状迷路課題などの海馬依存的な課題の遂行が障害されることが報告されており、グループⅠ代謝型レセプターが、海馬依存的な学習・記憶にとって重要な役割を担っ

ている可能性が示されている。ただ、グループⅠ代謝型レセプターの阻害が、学習・記憶障害を引き起こすかどうかについては、懐疑的な研究報告もある(Christoffersen, Christensen, Harrington, Macphail & Riedel, 1999; Barros, Izquierdo, Mello e Souza, Ardenghi, Pereira, Medina & Izquierdo, 2000)。

3.2.2. グループⅡおよびグループⅢ代謝型レセプターと学習・記憶

グループⅡおよびグループⅢ代謝型レセプターはレセプターの賦活により細胞体の活動を抑制することから、学習・記憶実験ではアゴニスト投与による課題の遂行障害を指標として検討が行われている。

グループⅡに関しては1S, 3R-ACPDを、ラットのMorris型水迷路課題の訓練時に脳室内投与すると、習得が障害されるという報告(Pettit, Lutz, Gutierrez, Eveleth, 1994)、習得は障害されないが、その後の保持テスト前に投与すると障害が見られるという報告(Hölscher, McGlinchey, Anwyl & Rowan, 1997)の2つがあり、一致した結果は得られていない。また、グループⅡ代謝型レセプターに対して、より高い選択性を持つアゴニストである(2S, 1'S, 2'S)-2-(carboxycyclopropyl)glycine(L-CCG-I)を用いた研究でも、課題遂行の明確な障害は示されていない(Van der Staay, Antonicek, Helpap, Freund, 1995)。Hölscher et al.(1997)では、常に一定の選択肢にのみ報酬を置いて、作業記憶と参照記憶を分離して測定する放射状迷路課題の習得期間中にも、同様の手続きで1S, 3R-ACPDを脳室内投与したが、わずかに作業記憶エラーが増えたのみで、明確な薬物の効果は確認されなかった。

他方、Hölscher, McGlinchey & Rowan(1996)はグループⅢレセプターのアゴニストであるL(+)-2-amino-4-phosphonobutyrate(L-AP4)をラット脳室内投与して、Morris型水迷路課題、および放射状迷路課題を行わせ、いずれの課題の習得も遅延することを報告している。

現段階ではグループⅡ、およびグループⅢ代謝型レセプターの学習・記憶における役割を検討した行動的研究は非常に数少なく、今後のさらなる検討が待たれる。

3.2.3. 他のグルタミン酸レセプターとの相互作用

イオンチャンネル型グルタミン酸レセプターと代謝型レセプターの間には、細胞内代謝系を介した相互作用が存在することを先述した。学習・

記憶場面において、これらのレセプター間の相互作用を検討した研究もある。3パネルランウェイ課題を用いた Ohno & Watanabe(1996)では、それぞれ単独では課題遂行を障害しない用量の MCPG と、NMDA レセプターアンタゴニストである (+)3-(2-carboxypiperazine-4yl)-propyl-1-phosphonic acid (CPP) とを、同時にラットの海馬内に投与することで、はじめてこの課題の遂行障害が生じた。また、その後の研究では、やはり3パネルランウェイ課題を用いて同様の手続きで薬物投与を行い、AIDA 海馬内投与による課題遂行障害が、NMDA レセプターグリシン調節部位のアゴニストである D-cycloserine により、改善された(Ohno & Watanabe, 1998)。これら2つの結果は、海馬内代謝型レセプターと NMDA レセプターが相互作用している可能性を示しており、細胞内代謝系を介したレセプター間の相互作用が、学習・記憶行動を指標とした研究においても明らかにされた例と言えよう。

3.3. 遺伝子操作動物による研究

近年の急速な遺伝子操作技術の進歩により、グルタミン酸レセプターに関連する遺伝子を操作した動物(マウス)を用いた研究が盛んに行われるようになった。従来は全体的に遺伝子を欠損したマウス(ノックアウトマウス)が用いられてきた。ノックアウトマウスを用いた研究は、特定の遺伝子の発現が抑えられるため、薬物の脳内局所投与による行動薬理学的研究で常に統制困難とされる、薬物の拡散範囲や作用時間の問題を克服でき、遺伝子と行動との関係をより厳密に検索できるという長所がある。しかし一方で、個体発生の初期から、その個体が特定の遺伝子を持たないことによる補償作用の可能性、あるいは脳内のどの部位の遺伝子発現がその行動にとって重要であるかは議論できないという問題もあり、この点においては局所的かつ可逆的な機能阻害による行動変化を観察することが可能な、薬理学的手法に頼らざるを得なかった。ところが、ここ数年で特定の脳領域の特定のレセプターや酵素のみを欠損、もしくは過剰に発現させる技術が開発され、そのような動物における行動特性の研究が行われている。

Tsien, Huerta & Tonegawa(1996)は、NMDA レセプターを構成するサブコンポーネントである NMDAR1 遺伝子を、海馬 CA1 領域でのみ欠損させたマウスを作成した。このマウスは NMDA レセプター依存的なシナプス後部の反応と LTP が阻害され、同時に Morris 型水迷路課題の習得が有意に障害された。また、Tang, Shimizu, Dube, Rampon,

Kercher, Zhuo, Liu & Tsien(1999)は NMDA レセプターの NMDAR2B サブコンポーネントを、海馬を含む前脳領域で過剰に発現させることで、LTP やその他のシナプス増強が促進されることを見出した。さらにこの動物では、物体認知課題、文脈恐怖条件づけ、および Morris 型水迷路課題の習得・保持が有意に促進された。

このような遺伝子操作技術は、上記のようなノックアウトマウスを用いた研究の問題点を克服でき、脳内の特定の領域に発現する特定の遺伝子と学習・記憶との関連を解明していく上で有効な方法であり、今後の展開が注目されている。

引用文献

- Aiba, A., Chen, C., Herrup, K., Rosenmund, C., Stevens, C.F. & Tonegawa, S. 1994 Reduced hippocampal long-term potentiation and context-specific deficit in associative learning in mGluR1 mutant mice. *Cell*, **9**, 365-375.
- Anwyl, R. 1991 The role of the metabotropic receptor in synaptic plasticity. *Trends in Pharmacological Sciences*, **12**, 324-326.
- Balschun, D. & Wetzell, W. 1998 Inhibition of group I metabotropic glutamate receptors blocks spatial learning in rats. *Neuroscience Letters*, **249**, 41-44.
- Balschun, D., Manahan-Vaughan, D., Wagner, T., Behnisch, T., Reymann, K.G. & Wetzell, W. 1999 A specific role for group I mGluRs in hippocampal LTP and hippocampus-dependent spatial learning. *Learning and Memory*, **6**, 138-152.
- Barros, D.M., Izquierdo, L.A., Mello e Souza, T., Ardenghi, P.G., Pereira, P., Medina, J.H. & Izquierdo, I. 2000 Molecular signalling pathways in the cerebral cortex are required for retrieval of one-trial avoidance learning in rats. *Behavioural Brain Research*, **114**, 183-192.
- Bashir, Z.I., Bortolotto, Z.A., Davies, C.H., Berretta, N., Irving, A.J., Seal, A.J., Henley, J.M., Jane, D.E., Watkins, J.C. & Collingridge, G.L. 1993 Induction of LTP in the hippocampus needs synaptic activation of glutamate metabotropic receptors. *Nature*, **363**, 347-350.
- Behnisch, T. & Reymann, K.G. 1995 Thapsigargin blocks long-term potentiation induced by weak, but not strong tetanisation in rat hippocampal CA1 neurons. *Neuroscience Letters*, **192**, 185-188.

- Ben-Ari, Y. & Aniksztejn, L. 1995 A united theory for the multiple forms of LTP? *Trends in Neuroscience*, **18**, 19-20.
- Bliss, T.V.P. & Collingridge, G.L. 1993 A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, **361**, 31-39.
- 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**, 331-356.
- Bordi, F., Marcon, C., Chiamulera, C. & Reggiani, A. 1996 Effects of the metabotropic glutamate receptor antagonist MCPG on spatial and context-specific learning. *Neuropharmacology*, **35**, 1557-1565.
- Bortolotto, Z.A., Bashir, Z.I., Davies, C.H. & Collingridge, G.L. 1994 A molecular switch activated by metabotropic glutamate receptors regulates induction of long-term potentiation. *Nature*, **368**, 740-743.
- Brown, R.E., Rabe, H. & Reymann, K.G. 1994 (RS)-alpha-methyl-4-carboxyphenylglycine (MCPG) does not block theta burst-induced long-term potentiation in area CA1 of rat hippocampal slices. *Neuroscience Letters*, **28**, 17-21.
- Christoffersen, G.R., Christensen, L.H., Harrington, N.R., Macphail, E.M. & Riedel, G. 1999 Task-specific enhancement of short-term, but not long-term, memory by class I metabotropic glutamate receptor antagonist 1-aminoinidan-1,5-dicarboxylic acid in rats. *Behavioural Brain Research*, **101**, 215-226.
- Filliat, P., Pernot-Marino, I., Baubichon, D. & Lallement, G. 1998 Behavioral effects of NBQX, a competitive antagonist of the AMPA receptors. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **59**, 1087-1092.
- 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.
- Fotuhi, M., Standaert, D.G., Testa, C.M., Penney, J.B. Jr & Young, A.B. 1994 Differential expression of metabotropic glutamate receptors in the hippocampus and entorhinal cortex of the rat. *Molecular Brain Research*, **21**, 283-292.
- Hampson, R.E., Rogers, G., Lynch, G. & Deadwyler, S.A. 1998a Facilitative effects of the ampakine CX516 on short-term memory in rats: enhancement of delayed-nonmatch-to-sample performance. *Journal of Neuroscience*, **18**, 2740-2747.
- Hampson, R.E., Rogers, G., Lynch, G. & Deadwyler, S.A. 1998b Facilitative effects of the ampakine CX516 on short-term memory in rats: correlations with hippocampal neuronal activity. *Journal of Neuroscience*, **18**, 2748-2763.
- Harvey, J. & Collingridge, G.L. 1992 Thapsigargin blocks the induction of long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Neuroscience Letters*, **139**, 197-200.
- Hölscher, C., McGlinchey, L. & Rowan, M. 1996 L-AP4 (L-(+)-2-amino-4-phosphonobutyric acid) induced impairment of spatial learning in the rat is antagonized by MAP4 ((S)-2-amino-2-methyl-4-phosphonobutanoic acid). *Behavioural Brain Research*, **81**, 69-79.
- Hölscher, C., McGlinchey, L., Anwyl, R. & Rowan, M.J. 1997 HFS-induced long-term potentiation and LFS-induced depotentiation in area CA1 of the hippocampus are not good models for learning. *Psychopharmacology*, **130**, 174-182.
- Isaac, J.T., Nicoll, R.A. & Malenka, R.C. 1995 Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP. *Neuron*, **15**, 27-34.
- Jerusalinsky, D., Ferria, M.B.C., Walz, R., da Silva, R.C., 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.
- 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.
- Li, H.B., Matsumoto, K., Yamamoto, M. & Watanabe, H. 1997 NMDA but not AMPA receptor antagonists impair the delay-interposed radial maze performance of rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **58**, 249-253.
- Liao, D., Hessler, N.A. & Malinow, R. 1995 Activation of postsynaptically silent synapses during

- pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice. *Nature*, **375**, 400-404.
- 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., 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.
- Nielsen, K.S., Macphail, E.M. & Riedel, G. 1997 Class I mGlu receptor antagonist 1-aminoin丹-1,5-dicarboxylic acid blocks contextual but not cue conditioning in rats. *European Journal of Pharmacology*, **326**, 105-108.
- Ohno, M. & Watanabe, S. 1996 Concurrent blockade of hippocampal metabotropic glutamate and N-methyl-D-aspartate receptors disrupts working memory in the rat. *Neuroscience*, **70**, 303-311.
- Ohno, M. & Watanabe, S. 1998 Enhanced N-methyl-D-aspartate function reverses working memory failure induced by blockade of group I metabotropic glutamate receptors in the rat hippocampus. *Neuroscience Letters*, **240**, 37-40.
- Okamoto, N., Hori, S., Akazawa, C., Hayashi, Y., Shigemoto, R., Mizuno, N. & Nakanishi, S. 1994 Molecular characterization of a new metabotropic glutamate receptor mGluR7 coupled to inhibitory cyclic AMP signal transduction. *Journal of Biological Chemistry*, **269**, 1231-1236.
- Otani, S. & Ben-Ari, Y. 1991 Metabotropic receptor-mediated long-term potentiation in rat hippocampal slices. *European Journal of Pharmacology*, **205**, 325-326.
- Otani, S. & Ben-Ari, Y. 1993 Biochemical correlates of long-term potentiation in hippocampal synapses. *International Review of Neurobiology*, **35**, 1-41.
- Pettit, H.O., Lutz, D., Gutierrez, C. & Eveleth, D. 1994 I.c.v. infusions of ACPD(1S,3R) attenuate learning in a Morris water maze paradigm. *Neuroscience Letters*, **178**, 43-46.
- Richter-Levin, G., Errington, M.L., Maegawa, H. & Bliss, T.V.P. 1994 Activation of metabotropic glutamate receptors is necessary for long-term potentiation in the dentate gyrus and for spatial learning. *Neuropharmacology*, **33**, 853-857.
- Riedel, G., Wetzell, W. & Reymann, K.G. 1994 (R,S)-alpha-methyl-4-carboxyphenylglycine (MCPG) blocks spatial learning in rats and long-term potentiation in the dentate gyrus *in vivo*. *Neuroscience Letters*, **167**, 141-144.
- Riedel, G., Micheau, J., Lam, A.G.M., Roloff, E.v.L., Martin, S.J., Bridge, H., de Hoz, L., Poeschel, B., McCulloch, J. & Morris, R.G.M. 1999 Reversible neural inactivation reveals hippocampal participation in several memory processes. *Nature Neuroscience*, **2**, 898-905.
- Saugstad, J.A., Kinzie, J.M., Mulvihill, E.R., Segerstrom, T.P. & Westbrook, G.L. 1994 Cloning and expression of a new member of the L-2-amino-4-phosphonobutyric acid-sensitive class of metabotropic glutamate receptors. *Molecular Pharmacology*, **45**, 367-372.
- Selig, D.K., Lee, H.K., Bear, M.F. & Malenka, R.C. 1995 Reexamination of the effects of MCPG on hippocampal LTP, LTD, and depotentiation. *Journal of Neurophysiology*, **74**, 1075-1082.
- Staubli, U., Rogers, G. & Lynch, G. 1994 Facilitation of glutamate receptors enhances memory. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, **91**, 777-781.
- Steele, R.J. & Morris, R.G.M. 1999 Delay-dependent impairment of a matching-to-place task with chronic and intrahippocampal infusion of the NMDA-antagonist D-AP5. *Hippocampus*, **9**, 118-136.
- Tang, Y.P., Shimizu, E., Dube, G.R., Rampon, C., Kerchner, G.A., Zhuo, M., Liu, G. & Tsien, J.Z. 1999 Genetic enhancement of learning and memory in mice. *Nature*, **401**, 63-69.
- Thomas, M.J. & O'Dell, T.J. 1995 The molecular switch hypothesis fails to explain the inconsistent effects of the metabotropic glutamate receptor antagonist MCPG on long-term potentiation. *Brain Research*, **695**, 45-52.
- 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.

- Van der Staay, F.J., Antonicek, H., Helpap, B. & Freund, W.D. 1995 Effects of the selective metabotropic glutamate receptor agonist, L-CCG-I, on acquisition of a Morris task by rats. *European Journal of Pharmacology*, **294**, 361-365.
- Ward, L., Mason, S.E. & Abraham, W.C. 1990 Effects of the NMDA antagonists CPP and MK-801 on radial maze performance in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **35**, 785-790.
- 吉原 亨 1999 ラットの遅延挿入放射状迷路課題の遂行に及ぼすNMDA受容体拮抗薬海馬内投与の効果 筑波大学心理学研究科中間論文(未公開).
- Yoshihara, T. & Ichitani, Y. 2000 Role of hippocampal AMPA receptors in spatial working memory: standard and delay-interposed radial maze performance in rats. *Neuroscience Research*, Supplement, **24**. (In press)

—2000. 9. 29 受稿—