

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K13961

研究課題名(和文) ラットの時間的順序記憶における海馬 内側前頭前野グルタミン酸受容体の役割

研究課題名(英文) The role of hippocampal and medial prefrontal cortex glutamate receptors in rats' temporal order memory

研究代表者

梶田 麻菜美 (Sugita, Manami)

筑波大学・人間系・客員研究員

研究者番号：70776765

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：ラットの放射状迷路を用いた時間的順序記憶課題における海馬 内側前頭前野グルタミン酸受容体(NMDA受容体およびAMPA受容体)の役割を検討した。その結果、(1)海馬NMDAおよびAMPA受容体遮断は時間的順序記憶課題の成績を低下させる、(2)内側前頭前野NMDA受容体遮断は時間的順序記憶を障害する、(3)内側前頭前野のAMPA受容体は時間的順序記憶において重要でないこと等が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海馬や内側前頭前野といった脳領域が時間的順序記憶の処理に関与することがこれまでに報告されていたが、これらの脳領域内でどのような神経伝達物質受容体が重要であるのかについては十分検討されてこなかった。そのため、海馬や内側前頭前野内のグルタミン酸受容体の時間的順序記憶における役割を明らかにした本研究成果は、時間的順序記憶の基礎となる神経メカニズムの解明につながるものである。

研究成果の概要(英文)：We investigated the involvement of hippocampal and medial prefrontal cortex (mPFC) glutamate receptors (NMDA and AMPA receptors) in rats' temporal order memory using radial maze. Results showed that (1) blockade of hippocampal NMDA and AMPA receptors disrupted the performance of temporal order memory task, (2) temporal order memory was impaired by blockade of mPFC NMDA receptors, (3) mPFC AMPA receptors are not important for temporal order memory.

研究分野：実験心理学

キーワード：時間的順序記憶 海馬 内側前頭前野 グルタミン酸受容体 ラット

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

時間的順序記憶とは過去に経験した出来事の順序の記憶である。脳損傷ラットを用いた研究により、時間的順序記憶には海馬と内側前頭前野 (mPFC) さらには、この2領域間の神経回路が重要であることが報告されている (Chiba et al., 1994; Barker & Warburton, 2011)。しかし、脳損傷動物を用いた研究では、記憶にどの脳領域が関与するのかを検討することはできるが、脳内のどのような神経伝達物質受容体が重要であるのかまでは検討できない。

グルタミン酸受容体の1つである NMDA 受容体は、学習・記憶の神経基盤とされる長期増強に不可欠な神経伝達物質受容体である。海馬や mPFC の NMDA 受容体が学習・記憶に関与することは多くの先行研究で報告されている (e.g. Barker & Warburton, 2008; Sugita et al., 2015)。時間的順序記憶における NMDA 受容体の役割について検討した先行研究では、NMDA 受容体拮抗薬を腹腔内投与とされたラットで、放射状迷路を用いた時間的順序記憶課題の成績が低下することが報告されている (Long & Kesner, 1995)。この研究では、時間的順序記憶には海馬が関わること、NMDA 受容体は海馬内に高密度で存在することから、薬物の腹腔内投与により生じた記憶成績の低下は、海馬の NMDA 受容体が遮断されたため生じたかと考察されている。しかし、薬物の腹腔内投与は海馬以外の NMDA 受容体にも作用した可能性がある。また、NMDA 受容体と同様に長期増強に不可欠であり学習記憶に関与する、もう一つのグルタミン酸受容体である AMPA 受容体と時間的順序記憶の関連については十分に検討されていない。

2. 研究の目的

時間的順序記憶における海馬及び mPFC のグルタミン酸受容体 (NMDA および AMPA 受容体) の役割を、行動薬理学的手法を用いて検討することを目的とした。そのために、ラットに放射状迷路を用いた時間的順序記憶課題を訓練した。そして、課題を習得した動物の脳内に NMDA 受容体拮抗薬 (AP5) または AMPA 受容体拮抗薬 (NBQX) を投与し、課題成績に薬物投与が及ぼす影響を検討した。また、課題には時間順序以外の要素として空間情報が含まれていた。そのため、薬物投与が空間記憶に及ぼす影響についても検討した。

3. 研究の方法

本研究では、被験体として Wistar-Imamichi 系雄ラットを使用した。実験期間を通して体重が自由摂食時の 80 - 85% に維持されるよう食餌制限を行なった (水の摂取は自由)。装置として、灰色塩化ビニール製高架式 8 方向放射状迷路を用いた。

(1) 時間的順序記憶課題の訓練条件の検討

時間的順序記憶課題は見本期とテスト期から構成されていた。見本期では、放射状迷路の 5 本のアームにラットを順に進ませ、見本期の 1 分後にテスト期を開始した。テスト期では見本期に提示されていたアームのうち 2 本を同時に提示し、見本期でより先に提示されていたアームをラットが選択することを正選択とした (e.g. A→B→C→D→E⁺ vs. E⁻)。この課題を被験体を 2 群 (AE-BD 群および BD 群) に分け、それぞれ異なる条件で訓練した。AE-BD 群では、はじめにテスト期に見本期の最初と最後に提示されていたアームの順序弁別 (A⁺ vs. E⁻) を訓練し、習得後にテスト期の 2 番目と 4 番目に提示されていたアームの順序弁別 (B⁺ vs. D⁻) を訓練した。BD 群では、A⁺ vs. E⁻ の訓練は行わずに、B⁺ vs. D⁻ の順序弁別を訓練した。

(2) 時間的順序記憶における海馬グルタミン酸受容体の役割

ラットに放射状迷路の 5 本のアームを順に走行させ (見本期)、1 分後に見本期の 1 番目と 5 番目に提示されたアームのうちから、より古い方を選択させる (テスト期) 時間的順序記憶課題をまず訓練した (A⁺ vs. E⁻)。習得後に、テスト期に提示する 2 本のアームを見本期の 2 番目と 4 番目のアームとする課題 (B⁺ vs. D⁻) を訓練した。この課題習得後、海馬へのカニューレ埋め込み手術を行った。約 1 週間の回復期をおき、手術前と同じ B⁺ vs. D⁻ の課題を再訓練し、習得基準に達した後、薬物投与テストを行った。薬物投与テストでは、B⁺ vs. D⁻ の課題を 1 日 2 試行行い (Non-Drug (ND) 試行) 2 日間で 3 試行以上正選択すると、翌日に薬物投与試行を 1 試行行った。B⁺ vs. D⁻ の課題を行う 10 分前に AP5 (20 または 40mM)、NBQX (5mM) または溶媒 (0.02M PB) を両側の海馬に投与した (1.0 μl/side)。薬物投与試行の翌日から再び ND 試行を行ない、薬物投与を被験体内計画で行った。

(3) 時間的順序記憶における mPFC グルタミン酸受容体の役割

ラットに (2) と同様の方法で時間的順序記憶課題を訓練した。課題習得後に mPFC へのカニューレ埋め込み手術を行った。約 1 週間の回復期の後、手術前と同じ B⁺ vs. D⁻ の課題を再訓練し習得基準に達した後、薬物投与テストを行った。手続きは薬物を両側 mPFC へ投与する (1.0 μl/side) 以外は (2) と同様であった。

(4) 空間記憶における海馬グルタミン酸受容体の役割

ラットを BF 群と DF 群の 2 群に分けた。時間的順序記憶課題と同様の見本期の後、テスト期に見本期に提示されていたアームのうち 1 本 (既知アーム) とまだ進入したことのない新奇アーム 1 本を同時に開き、新奇アームへ進入することを訓練した (テスト期)。テスト期の提示アームは、BF 群では見本期の 2 番目のアームと新奇アーム、DF 群では見本期の 4 番目のアームと新奇アームであった。課題習得後に海馬へのカニューレ埋め込み手術を行ない、約 1 週間の回復期の後、手術前と同じ課題を再訓練した。そして、習得基準に達した動物に薬物投与テストを行った。薬物投与テストでは、訓練時と同じ課題を 1 日 2 試行行い (Non-Drug (ND) 試行)

2 日間で 3 試行以上正選択すると、翌日に薬物投与試行を 1 試行行った。課題を行う 10 分前に AP5 (20 または 40mM)、NBQX (5mM) または溶媒 (0.02M PB) を両側の海馬に投与した (1.0 μ l/side)。薬物投与試行の翌日から再び ND 試行を行い、薬物投与を被験体内計画で行った。

(5) 空間記憶における mPFC グルタミン酸受容体の役割

ラットに(4)の DF 群と同じ課題を訓練し、課題習得後に PFC へのカニューレ埋め込み手術を行なった。約 1 週間の回復期の後、手術前と同じ課題を再訓練した。習得基準に達した動物に薬物投与テストを行った。手続きは薬物を両側 mPFC へ投与する (1.0 μ l/side) 以外は (4) と同様であった。

4. 研究成果

放射状迷路を用いた時間的順序記憶の訓練において、AE-BD 群では 85.7% のラットが B+ vs. D- の順序弁別を習得できたのに対し、BD 群では、ほとんどのラットが課題を習得できなかった (習得できたラットの割合: 7.7%)。このことから、テスト期に見本期の最初と最後の弁別を行うという、より容易な順序弁別課題を事前に経験することにより、より困難な条件 (B+ vs. D-) の順序弁別が可能になることが示唆された。

海馬の NMDA および AMPA 受容体遮断は、いずれも時間的順序記憶課題の成績を低下させた。また、空間記憶課題においても BF 群、DF 群ともにいずれの薬物投与条件でも空間記憶が障害された。このことから、(1) 海馬 NMDA および AMPA 受容体は時間的順序記憶と空間記憶の両方において重要な働きをする、(2) 海馬 NMDA および AMPA 受容体遮断により課題に含まれる空間情報の処理が困難になったことが原因で時間的順序記憶課題の成績が低下した、という 2 つの可能性が示唆された。今後、空間情報の含まれない時間的順序記憶課題を用いて、さらなる検討を行う必要がある。

mPFC の NMDA 受容体遮断は時間的順序記憶課題の成績を低下させたのに対し、空間記憶には影響しなかった。また、AMPA 受容体遮断は時間的順序記憶には影響しなかったのに対し、空間記憶を障害した。これらの結果から、mPFC の NMDA 受容体遮断によって生じた放射状迷路における時間的順序記憶課題の成績低下は、受容体遮断による空間情報の処理機能の低下によるのではなく、時間の順序に関する記憶の障害が原因であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hatakeyama, T., Sugita, M., Yamada, K., & Ichitani, Y.	4. 巻 25
2. 論文標題 Temporal order memory of the rat in spontaneous object recognition: Effects of number of items, exposure interval, and retention time	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Learning & Memory	6. 最初と最後の頁 574-579
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi:10.1101/lm.048215.118.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Toyoshima, M., Yamada, K., Sugita, M., & Ichitani, Y.	4. 巻 21
2. 論文標題 Social enrichment improves social recognition memory in male rats	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Animal Cognition	6. 最初と最後の頁 345-351
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1007/s10071-018-1171-5.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 梶田麻菜美・山田一夫・一谷幸男	4. 巻 57
2. 論文標題 ラットの自発的物体再認記憶に及ぼす内側前頭前野損傷の効果	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 筑波大学心理学研究	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 梶田麻菜美
2. 発表標題 ラットの時間的順序記憶：放射状迷路を用いた検討
3. 学会等名 第37回日本生理心理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sugita, M., Takahashi, K., Yamada, K., & Ichitani, Y.
2. 発表標題 Effects of dorsal hippocampal glutamate receptor blockade on rats' temporal order memory in radial maze.
3. 学会等名 The 11th FENS Forum of Neuroscience (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sugita, M., Takahashi, K., Yamada, K., & Ichitani, Y.
2. 発表標題 Temporal order memory acquisition in rats: Effect of training procedures.
3. 学会等名 日本動物心理学会第78回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 梶田麻菜美・山田一夫・一谷幸男
2. 発表標題 ラットの自発的物体再認記憶に及ぼす内側前頭前野損傷の効果
3. 学会等名 日本心理学会第82回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sugita, M., Yamada, K., & Ichitani, Y.
2. 発表標題 Involvement of the rat hippocampal NMDA and AMPA receptors in temporal order memory in radial maze.
3. 学会等名 The 26th Annual Meeting of the International Behavioral Neuroscience Society (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 梶田麻菜美・山田一夫・一谷幸男
2. 発表標題 放射状迷路を用いたラットの時間的順序記憶における海馬グルタミン酸受容体の役割
3. 学会等名 KOUDOU 2017 (日本動物行動学会・日本動物心理学会・応用動物行動学会・日本家畜管理学会・日本行動神経内分泌研究会 合同大会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

筑波大学大学院人間総合科学研究科感性認知脳科学専攻行動神経科学分野 一谷・山田グループ
<http://www.kansei.tsukuba.ac.jp/~ichitani/lab/index.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	一谷 幸男 (Ichitani Yukio) (80176289)		
研究協力者	山田 一夫 (Yamada Kazuo) (30282312)		
研究協力者	高橋 克匡 (Takahashi Katsumasa)		