

# Haloperidol-induced Induction Block of Long-Term Potentiation in Perforant Path-Dentate Gyrus Pathway in Chronically Prepared Rabbits

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8588">http://hdl.handle.net/2297/8588</a>

## 慢性実験における家兔の貫通路一歯状回での長期増強に対する ハロペリドール急性投与の効果について

金沢大学医学部神経精神医学講座 (主任: 越野好文教授)

脇 田 茂 樹

長期増強 (long-term potentiation, LTP) は、海馬の興奮性入力線維群をテタヌス刺激するとシナプス伝達促進されるため、記憶や学習の神経可塑性モデルとして広く研究されている。慢性実験における家兔の貫通路一歯状回での LTP の発現およびあらかじめ誘発された LTP に対するドーパミンレセプター拮抗薬である抗精神病薬のハロペリドール (haloperidol, HPD) の影響を検討した。体重 2.5~3.5kg の雄の成熟家兔27羽を用い、急性実験下で皮質層分析によって、一側の海馬歯状回に記録電極、貫通路に刺激電極を植え込んだ慢性モデルを作製し、2週間の回復期間後に無麻酔、無拘束の慢性条件下で実験を行った。テタヌス刺激前に家兔の腹腔内に注入された 0.8mg/kg の HPD は、単発刺激による通常の反応波に対しては影響を与えなかったが、その後のテタヌス刺激による LTP の誘発を完全に抑制した。一方、テタヌス刺激によって LTP を誘発し、その後に 0.8mg/kg あるいは 1.6mg/kg の HPD を腹腔内に注入したところ、その先に誘発された LTP は影響を受けなかった。これらの結果は、HPD は LTP の発現に対しては抑制的に働くが、いったん誘発された LTP に対しては影響しないことを示唆する。

**Key words** long-term potentiation, hippocampus, haloperidol, calmodulin

連続電気刺激 (テタヌス刺激) による興奮性シナプス伝達効率の持続的な増強は長期増強 (long-term potentiation, LTP) と呼ばれており、神経可塑性ないしシナプス可塑性 (neuronal or synaptic plasticity) としてよく知られている。一方、記憶はシナプスの可塑性の結果生ずるもので、特定の神経回路の強化という形で残されると考えられている。この点から LTP は記憶の維持や学習との関連が示唆されており、それらの生理学的メカニズムの一つのモデルとも考えられている<sup>1)~4)</sup>。さらに、LTP は後発射を誘発しない程度の弱いテタヌス刺激により誘発されるが、てんかんの実験モデルの一つであるキンドリングすなわち『後発射を誘発するテタヌス刺激の反復によって生じててんかん性反応の進行性増強』の際に、その刺激間歇期にみられる興奮性シナプス伝達効率の増強 (キンドリング誘発性増強, kindling-induced potentiation) は、LTP と生理学的にきわめて類似している<sup>5)~8)</sup>。それで、LTP は中枢神経系の異常な興奮に由来するてんかんの基礎メカニズムと関連しているとも考えられている。

LTP は海馬で最も顕著に見られ、さらにグルタミン酸受容体のサブタイプの一つである N-メチル-D-アスパラギン酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 受容体の活性化により誘発されることが一般的に知られている<sup>9)</sup>。これに関連して、Jibiki ら<sup>10)</sup> は NMDA 受容体の拮抗薬である (+)-10, 11-ジヒドロ-5-メチル-5H-ジベンゾ [a; d] シクロヘプテン-5, 10-イミンリンゴ酸

((+)-10, 11-dihydro-5-methyl-5H-dibenzo [a; d] cycloheptene-5, 10-imine maleate) を用いて、NMDA 受容体の活性化が LTP と類似したキンドリング誘発性増強にも関与することを報告している。

一方、LTP の誘発のためには Ca/カルモジュリン依存性キナーゼ II (CaM キナーゼ) を介した機能的蛋白質のリン酸化が最も強く関わっていると考えられており、抗精神病薬がカルモジュリン (calmodulin) 介在性の現象に対する遮断作用を有することやドーパミン (dopamin) 受容体の強力な拮抗薬であることから種々の抗精神病薬 (トリフロペラジン<sup>10)11)</sup>、スルピリド<sup>11)</sup>、フルペンチキソール<sup>11)</sup>、スピロペリドール<sup>12)</sup>、ハロペリドール<sup>13)</sup>、ピモジド<sup>14)</sup>など) によるカルモジュリンやドーパミン性の修飾が LTP の発現ないし維持に対してどのように関与しているかが検討されている。特に Krug ら<sup>15)</sup> は、ハロペリドール (haloperidol, HPD) が無拘束ラットの貫通路一歯状回における LTP に与える影響を検討した。しかしながら、LTP の発現に促進的効果を見いだした彼らの研究とはほかのタイプのドーパミン拮抗薬を使用した種々の報告との間には少なからぬ矛盾がある。我々もまた HPD が、精神分裂病やてんかん精神病などの精神疾患の治療に最も広く使用されている抗精神病薬であることから、HPD によるカルモジュリンやドーパミン性の修飾が LTP にどのような影響を与えるかに関心がある。そこで本研究では HPD が LTP の発現および維持に及ぼす影響を無麻酔

平成 6 年 10 月 14 日受付, 平成 6 年 11 月 21 日受理

Abbreviations: EAA, excitatory amino acid; EPSP, excitatory postsynaptic potential; HPD, haloperidol; LTP, long-term potentiation; NMDA, N-methyl-D-aspartate; PCP, 1-(1-phenylcyclohexyl) piperidine; PS, population spike

無拘束の慢性条件下の家兎を用いて検討した。

材料および方法

1. 実験動物および脳刺激部位

体重 2.5~3.5kg の雄の成熟家兎27羽を用い、ペントバルビタールナトリウム (20~30mg/kg) で麻酔した後、Ridge<sup>®</sup> の脳図譜に基づき前頂 (bregma) から側方 6mm, 尾側 4mm の位置を中心に、直径約 10mm の丸い穴を右側の頭蓋骨に開け、硬膜を切開して脳表面を露出した。脳表は乾燥を防ぐためミネラルオイルで浸した。図 1 に示したように先端直径 1~2mm, 電気抵抗 1~5kΩ のタングステン記録電極と直径 0.6mm の双極性同芯刺激電極を一組として各々の先端をほぼ同じ高さに揃え、電極ホルダーに取り付け、油圧式マイクロマニピュレーターで上記の脳表の中心点より徐々に脳深部に刺入した。この刺入は皮質層分析、すなわち 0.2~0.3msec の矩形波パルス、0.4~0.6mA, 10秒間隔の一定強度の単発刺激によって生じる外界電位 (field potential) の反応波を VC-10 メモリーオシロスコープ (日本光電, 東京) とこれに接続した X-Y レコーダー (理科電機, 東京) で 50~100μm の深さ毎に観察しながら行い、図 2 に示すごとく特有の位相逆転の見られる部位を歯状回と同定した<sup>10)</sup>。その部位の脳表からの深さは 4200~5000μm (4500±264μm, 平均値±標準偏差) であった。次にもう一つの双極性同芯刺激電極を前頂から側方 1mm, 尾側 4mm の位置の脳表より刺入し、0.2~0.5msec の矩形波パルス 0.4~0.8mA, 30秒間隔の一定強度の単発刺激を行って歯状回の記録電極から得られる反応波を観察しながら図 3A の最上段に示した波形で最大振幅の反応波の得られる部位を貫通路と同定した。その脳表からの深さは 3800~5300μm (4730±509μm, 平均値±標準偏差) であった。その後、これらの電極を互いに接触しないように歯科用セメント (ジーシー, 東京) で頭蓋骨に固定し、慢性モデル

を作製した。術後 2 週間の回復期間後に、無麻酔無拘束の慢性条件下で以下の実験を行った。

II. 実験手順 (図 4)

1. 対照実験 (実験 I)

対照実験では、家兎 5 羽を用いて、テタヌス刺激の前にも後にも HPD を投与しないで長期増強現象の経時的变化を観察した。ただしそのうちの 2 羽では生理食塩水を投与した。初めに対照記録として貫通路を一定の刺激強度で単発刺激し、歯状回における外界電位の反応波を記録した。この対照記録のための刺激強度は以下のように決定した。すなわち、単発刺激の刺激強度を変えて反応波を観察し、0.5mV 以下の比較的小さい集合スパイク (population spike, PS) とそれに先行する陽性の集合興奮性シナプス後電位 (population excitatory postsynaptic potential, 集合 EPSP) の先行傾斜と、これらの成分に引き続いて出現する緩徐な陽性波からなる貫通路-歯状回反応波が出現する刺激強度とした。この刺激のパラメーターは 0.2~0.5

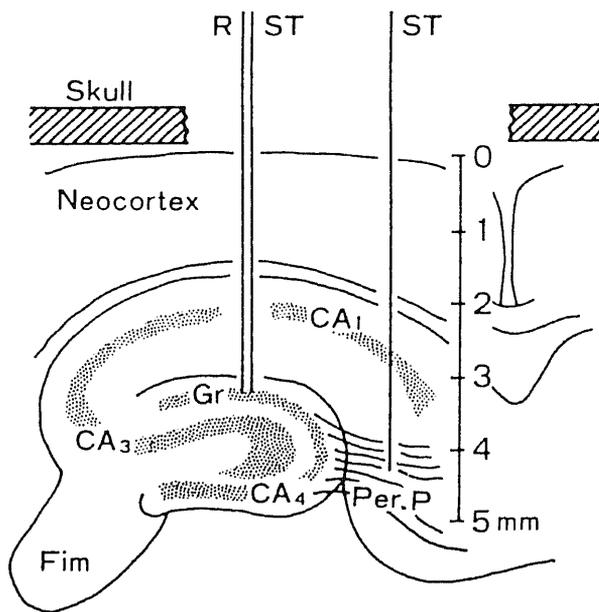


Fig. 1. Experimental schema of rabbit brain. CA<sub>1</sub>, CA<sub>3</sub> and CA<sub>4</sub> show hippocampal regions, respectively. Fim, fimbria; Gr, granular cell layer; Per. P., perforant path; R, a tungsten recording electrode; ST, stimulating electrode.

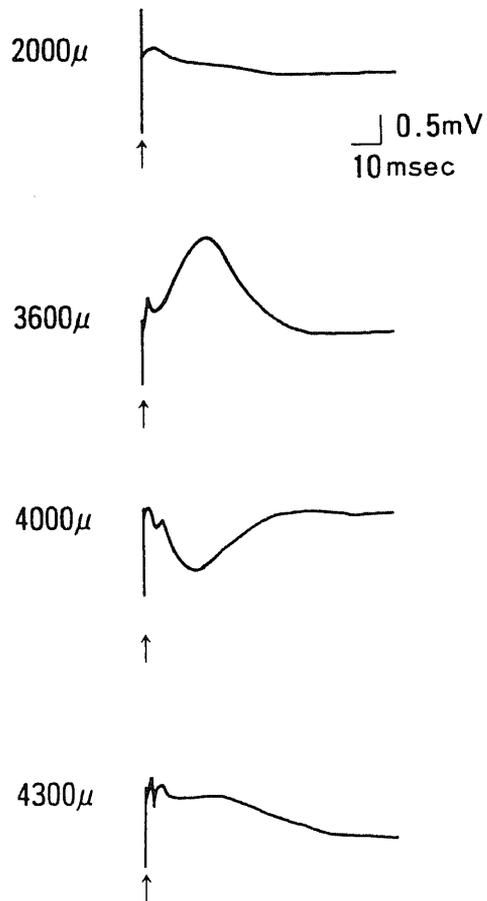


Fig. 2. Identification of the dentate gyrus in a laminar analysis. Responses in the dentate gyrus show a phase reversal observed simultaneously with insertion of electrodes into its gyrus (4000 μm depth). When electrodes are inserted downward further, responses reveal the second phase reversal (4300 μm depth). The width between the first and second reversal points corresponds to the dendrite layer of the granule cells (usually 300 μm width). Arrow marks, single shocks at a constant intensity (monopolar square pulses of 0.2 msec duration, 400 μA, 10 sec stimulus interval); numerals, depths from the cortical surface.

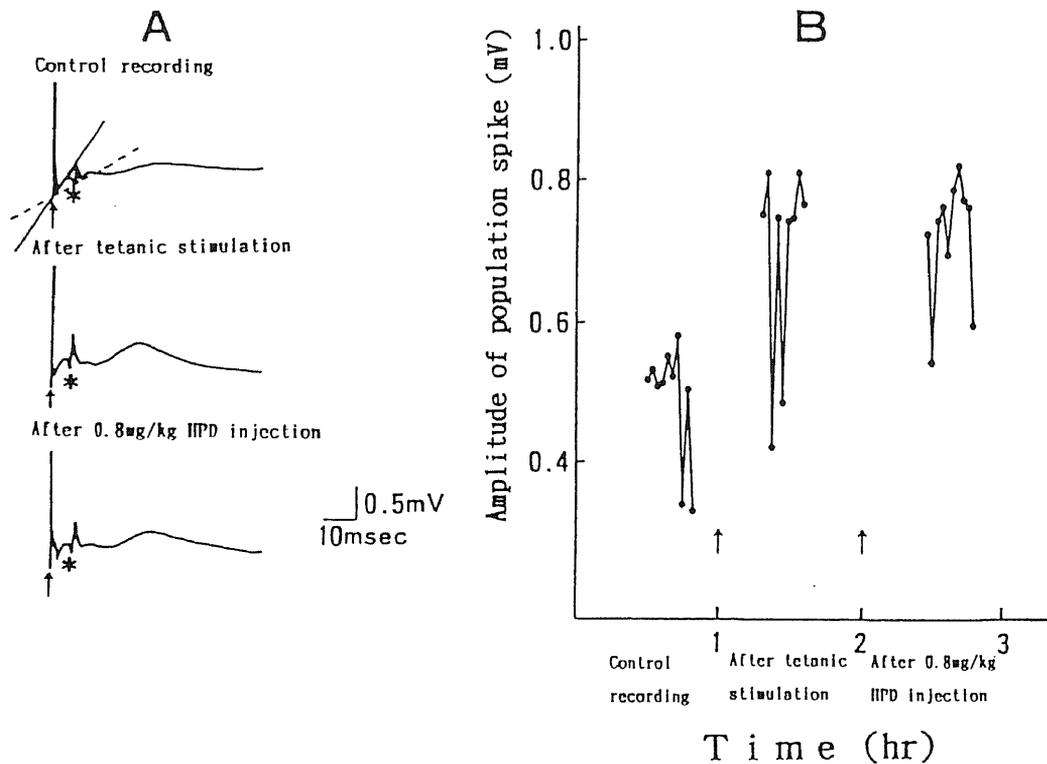


Fig. 3. Effect of HPD injection (0.8 mg/kg) on LTP. (A) A typical averaged response evoked in the dentate gyrus by single shocks at a fixed intensity to the perforant path in each session in a rabbit in experiment II. Arrows, the single shocks (0.5 msec pulse duration, 400  $\mu$ A, 30 sec stimulus interval); \*, population spike; Dotted and solid lines in uppermost response (control recording) show how to measure the population spike amplitude from tangent across onset and offset of spike to the peak of the spike and population EPSP slope (slope of the leading edge to the first component in the response, mV/msec), respectively. The second and third traces show the responses after tetanic stimulation and after 0.8 mg/kg HPD injection, respectively. (B) Serial changes of the population spike amplitudes in the 10 averaged dentate responses elicited consecutively by the single shocks at a fixed intensity in each session in the same rabbit as in A. The arrows indicate the stage of the tetanic stimulation and HPD injection (0.8 mg/kg).

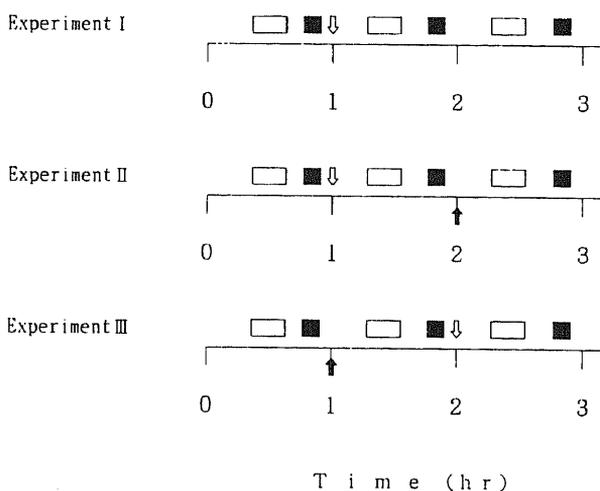


Fig. 4. Procedures in each experiment. White arrows, the stage of the tetanic stimulation; black arrows, the stage of HPD injection (0.8 mg/kg or 1.6 mg/kg in experiment II, 0.8 mg/kg in experiment III).  $\square$ , period of single shocks at a fixed intensity;  $\blacksquare$ , period single shocks at a changeable intensity.

msec の矩形波パルス, 0.4~0.8mA, 30秒間隔 (0.03Hz) であった. なお反応波は DAT1100 加算平均装置 (日本光電) を用いて 4 個を加算平均して観察記録した. 対照記録は30分間行い, その内の最初の20分間は, 上記の一定強度の単発刺激による反応波を記録し, 残りの10分間は刺激強度を4段階に変えての反応波の変化を観察するいわゆる入力-出力曲線 (input/output curve) を作成するための操作を行った. 次に弱いテタヌス刺激 (実験開始1時間後) を貫通路に加えて LTP を起こさせた. テタヌス刺激のパラメーターは 0.5msec の矩形波パルス, 0.6mA, 60Hz, 1秒の刺激時間で, 一回だけのテタヌス刺激では必ずしも LTP を発現できないので3分間隔で3回刺激を繰り返した. テタヌス刺激後は再び貫通路を対照記録で行ったのと同じ一定強度および可変強度の単発刺激をして歯状回の反応波の変化を観察した.

2. LTP に対する HPD の効果 (実験 II)

家兎12羽を用い, あらかじめ誘発された LTP に対する HPD の効果に関する実験を行った. 対照記録およびそれに引き続いてテタヌス刺激 (実験開始1時間後) を行った. LTP 確立後, 30分間一定強度および可変強度の単発刺激で観察後, 家兎の腹腔内に HPD を注射 (実験開始2時間後) した. HPD は低投与量 (0.8mg/kg) と高投与量 (1.6mg/kg) とを用い各々6羽で実験した. HPD 投与後, 再び一定強度と可変強度の単発刺激

を行った。

3. LTP 発現に対する HPD の効果 (実験Ⅲ)

10羽の家兎を用い、HPD 投与後に LTP が誘発されるかどうかの実験を行った。対照記録を行った後、0.8mg/kg の HPD を腹腔内に注射 (実験開始 1 時間後) した。HPD 注射後は再び一定強度の単発刺激を加えた。過去の文献上、腹腔内への HPD 注射後 1 時間たったところが、海馬を含むラット脳内で HPD の血中濃度が最大となると言われているため<sup>17-19)</sup>、HPD 注射後 1 時間でテタヌス刺激を貫通路に加えた。そのあと再び一定強度と可変強度の単発刺激をして LTP が発現するかどうかをみた。

なお実験Ⅱおよび実験Ⅲの最後に HPD の血中濃度レベルを測定するため、家兎の耳の静脈より採血を行った。

Ⅲ. 反応波の解析

反応波の解析に関しては図 3A の対照記録に示すごとく 4 個を加算平均した波形について、その PS の振幅と集合 EPSP の勾配 (mV/msec) を測定した<sup>9)</sup>。実験Ⅰではテタヌス刺激前の対照記録、テタヌス刺激による LTP 誘発後前半と後半の 3 つの時期、また実験Ⅱでは、テタヌス刺激前の対照記録、テタヌス刺激による LTP 誘発後および HPD 注入後の 3 つの時期、実験Ⅲでは、HPD 注入前の対照記録、HPD 注入後そしてテタヌス刺激後の 3 つの時期で、それぞれ各時期の終盤の 10 分間に一定強度の単発刺激によって誘発された反応波について測定した。すなわちそれぞれ一定強度の単発刺激による 5 個の加算平均した反応波 (実際の反応波の数は 20 個) の PS の振幅と集合 EPSP の勾配の平均値を、それぞれ各実験の対照記録の値を基準としたパーセンテージで各時期における変化を測定した。

Ⅳ. 脳組織標本の作製

実験終了後二つの刺激電極に直流通電を行って先端部位を電気凝固し脳をホルマリン固定した。その後、脳切片にし、ニッスル染色によって組織標本を作製し、図 5 に示すごとく貫通路と歯状回に刺激電極が刺入されていたことを確認した。タンダステン記録電極の位置はその刺激電極の一つと先端をそろえて刺入したことから推定できた。これらの解剖学的同定は、Ridge<sup>15)</sup> の脳図譜および Shek ら<sup>20)</sup> のアトラスを参照して行った。

Ⅴ. 統計解析

各実験間で、PS の振幅や集合 EPSP の勾配のパーセンテージの統計的有意差を検定するために、Student の t 検定により統計解析を行い、いずれも危険率 5% 以下を統計学的に有意とした。

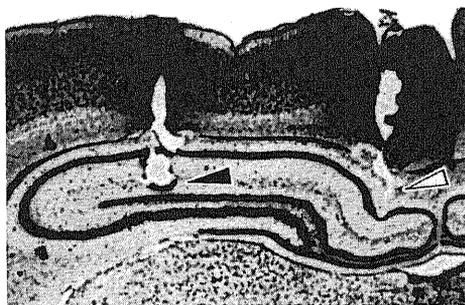


Fig. 5. Histological analysis of experimental sites. Arrows, the perforant path (white) and the dentate gyrus (black). ×6.0

成 績

Ⅰ. 対照実験 (実験Ⅰ)

テタヌス刺激前に、生理食塩水を注入した 2 羽の家兎を含めた 5 羽の家兎全例で、貫通路の一定強度の単発刺激による歯状回における反応波の大きさは、テタヌス刺激前の記録中、時にかなり変動したが全体としてはほとんど変化しなかった。テタヌス刺激後、集合 EPSP の勾配および PS とこれに続く陽性緩電位からなる反応波の振幅は、著しく増大した。このような増大した反応波は、テタヌス刺激後 2 時間にわたる観察中もずっと見られた。テタヌス刺激後、前半の時期および後半の時期でそれぞれ 5 例全体の PS の振幅と集合 EPSP の勾配を測定し

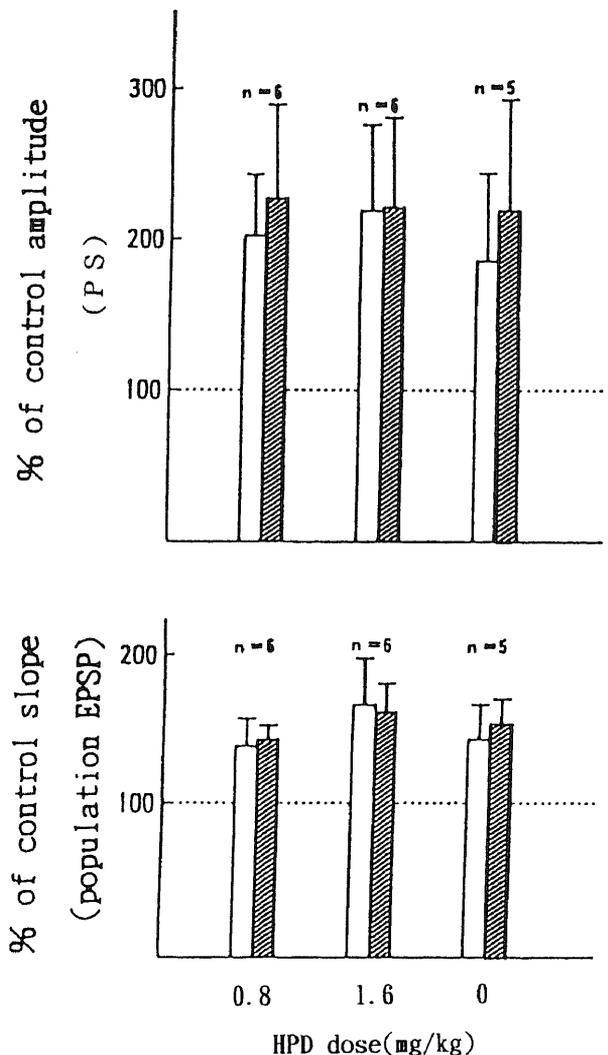


Fig. 6. Mean and standard deviation of percent changes of the population spike amplitudes and EPSP slopes in the total of each rabbit group in experiments I and II. The percent changes in experiment I show those in the respective 5 averaged responses elicited in the earlier and later stages after tetanic stimulations per rabbit, including data from 2 rabbits injected with NaCl solution before the stimulations. Further, the percent changes in experiment II show those in the respective 5 averaged responses elicited soon after tetanic stimulations and in the later stage after subsequent HPD injection per rabbit. □, after tetanic stimulation; ▨, after HPD injection.

た。Student の  $t$  検定上、PS と集合 EPSP の勾配はともにテタヌス刺激後の前半と後半との間で有意差はなかった。

## II. LTP に対する HPD の効果 (実験 II)

図 3A に代表的な 1 例の貫通路の一定強度の単発刺激による歯状回における反応波の対照記録、テタヌス刺激後の変化および 0.8mg/kg の HPD 投与後の変化を示した。反応波は対照記録では比較的小さい PS とこれに続く陽性緩電位からなり、これらの成分の大きさは記録中ほとんど変化しなかった。図 3B は図 3A と同一家兎の反応波の PS の振幅変化の全容をグラフで経時的に示したものである。個々の刺激による反応波の PS の振幅はこのグラフでわかるように実際にはかなり変動した。12羽の家兎全例で、一定強度の単発刺激による反応波はテタヌス刺激後、対照記録と比べて著明に増大した。次に HPD の低投与量群 (0.8mg/kg) と高投与量群 (1.6mg/kg) の両群で、HPD 投与後 1 時間観察したが、一定強度の単発刺激による反応波はほとんど変化しなかった。両群どちらも HPD 投与後の値は上述の投与前の値と比べて、数値に有意差はなかった。図 6 に実験 I と実験 II の 17 例全体の PS の振幅と集合 EPSP の勾配のデータ値を棒グラフで示した。

## III. LTP 発現に対する HPD の効果 (実験 III)

図 7A に代表的な 1 例の貫通路の一定強度の単発刺激による歯状回における反応波の対照記録、0.8mg/kg の HPD 投与後の変化およびテタヌス刺激後の変化を示した。反応波は対照記録、HPD 投与後およびテタヌス刺激後のいずれにおいても前述のごとく比較的小さい PS とこれに続く陽性緩電位からな

り、これらの成分の大きさは記録中ほとんど変化しなかった。図 7B は図 7A と同一家兎の反応波の PS の振幅変化の全容をグラフで経時的に示したものである。個々の刺激による反応波の PS の振幅はこのグラフでわかるように実際にはかなり変動した。10羽の家兎に、テタヌス刺激前に 0.8mg/kg の HPD を注入した。一定強度の単発刺激による反応波は HPD の投与前後ではほとんど変化しなかった。その後テタヌス刺激を行って 1 時間観察したが反応波はほとんど変化しなかった。これらのテタヌス刺激前後の数値に有意差はなかった。ただしテタヌス刺激後の数値は、実験 I のそれと比べると有意差がみられた ( $p < 0.01$ )。図 8 に実験 III の 10 例全体の PS の振幅と集合 EPSP の勾配のデータ値を棒グラフで示した。

## IV. 入力-出力曲線での変化

図 9 に実験 II の 1 例の入力-出力曲線による変化を示した。横軸に 4 段階の異なる刺激強度を、縦軸に PS の振幅を示す。対照記録におけるグラフが示すように、PS の振幅は刺激強度に平行して増大した。テタヌス刺激後、いずれの刺激強度においても PS の振幅が対照記録と比べると著しく増大しており、このグラフからも LTP が明瞭に生じていることがわかった。HPD 投与後のグラフは、テタヌス刺激後のグラフとはほぼ同様であった。図 10 に実験 III の 1 例の入力-出力曲線を示した。対照記録、HPD 投与後およびテタヌス刺激後で PS の振幅に大きな差異は認められなかった。

## V. HPD の血中濃度

実験 II の終了後 (HPD 注入後 2 時間後) に採取した静脈血の

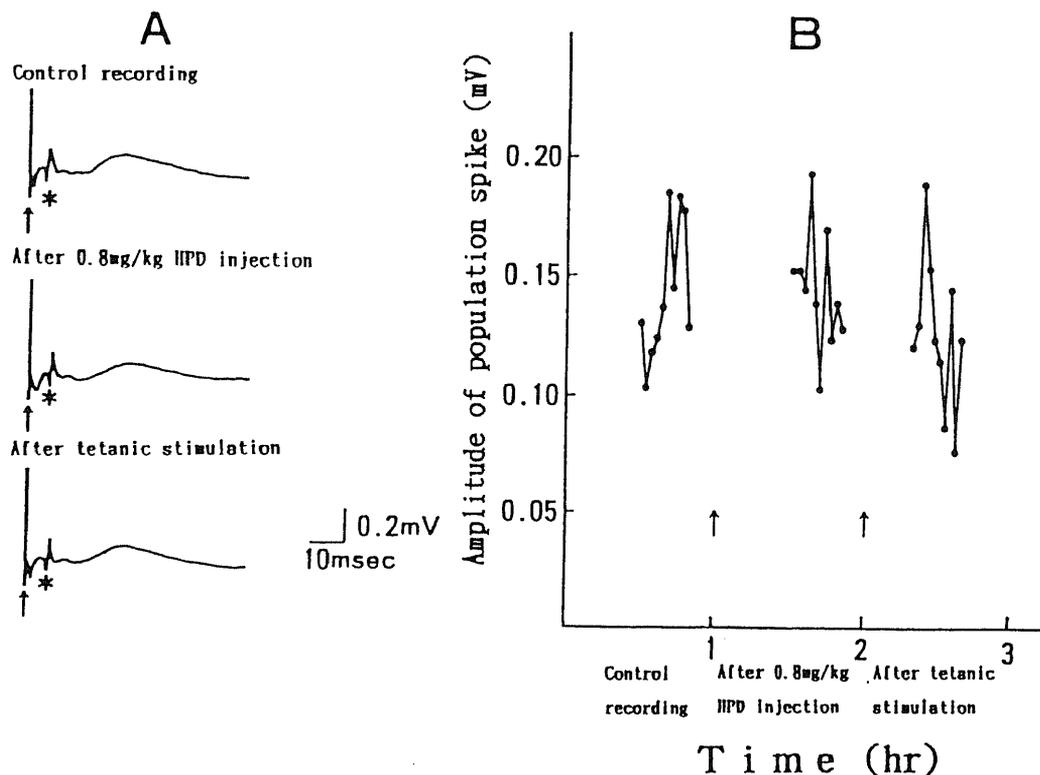


Fig. 7. Effect of tetanic stimulation after HPD injection (0.8 mg/kg) on LTP induction. (A) A typical averaged response evoked in the dentate gyrus by the single shocks at a fixed intensity to the perforant path in each session in a rabbit in experiment III. Arrows, the single shocks (0.5 msec pulse duration, 400  $\mu$ A, 30 sec stimulus interval); \*, population spike. (B) Serial changes of the population spike amplitudes in the 10 averaged dentate responses elicited consecutively by the single shocks at a fixed intensity in each session in the same rabbit as in A. The arrows indicate the stage of the HPD injection (0.8 mg/kg) and the tetanic stimulation.

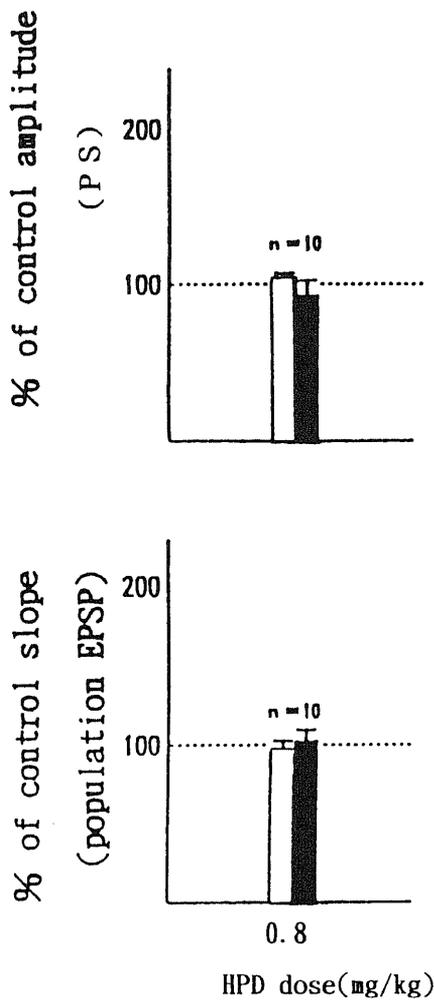


Fig. 8. Mean and standard deviation of percent changes of the population spike amplitudes and slopes in the total in experiment III. The percent changes in experiment III show those in the respective 5 averaged responses elicited just before tetanic stimulations following HPD injection and in the later stage after the tetanic stimulations per rabbit. □, after HPD injection; ■, after tetanic stimulation.

HPD の血清レベルは、低投与量群 (0.8mg/kg) で 3.2~19.2 (9.6±7.2, 平均±標準偏差) ng/ml および高投与量群 (1.6mg/kg) で 10.9~22.5 (17.5±6.0) ng/ml であった。また実験Ⅲの終了後 (HPD 注入後3時間) の HPD の血清レベルは、2.9~5.0 (3.7±1.1) ng/ml であった。

考 察

Lewi ら<sup>10)</sup> はラットに 0.04mg/kg から 2.5mg/kg までのいろいろな量の HPD を静脈注射して血中濃度および脳内濃度を調べている。投与量によって変化はあるが脳内濃度のピークに達する時間は30~60分で、数時間後も相当量存在しているという。我々の実験では、家兎に HPD (0.8mg/kg あるいは 1.6mg/kg) を腹腔内注射した。HPD は血中濃度の測定結果より2~3時間後も相当量存在しており、脳内濃度のピークに達する時間は静脈注射よりやや時間がかかると思われるが、HPD 投与後数時間は脳内 (海馬) に十分量が存在しているとい

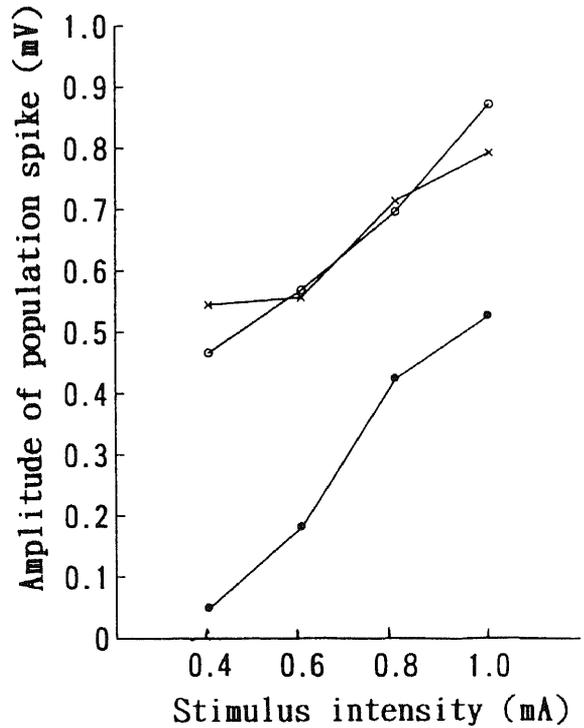


Fig. 9. Effect of HPD dose on LTP demonstrated by input/output curves. Data from rabbit were presented. The axis of abscissa shows the stimulus intensity of a single shock. ●, control recording; ○, after tetanic stimulation; ×, after HPD injection.

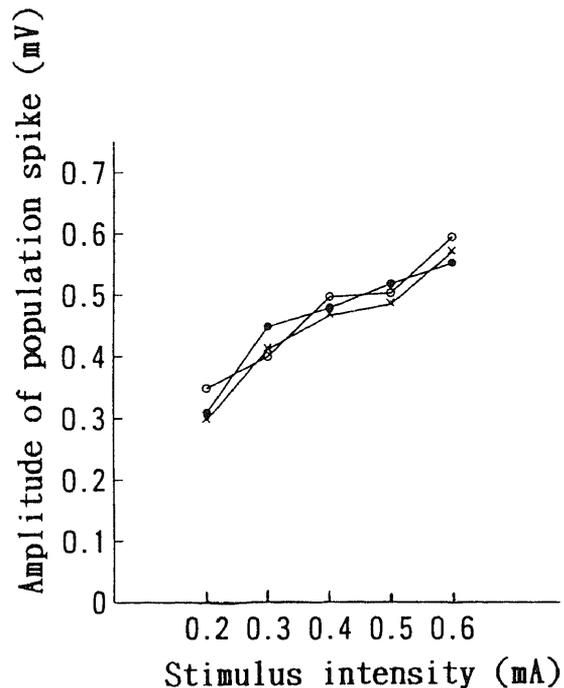


Fig. 10. Effect of tetanic stimulation after HPD dose on LTP induction demonstrated by input/output curves. Data from a rabbit were presented. The axis of abscissa shows the stimulus intensity of a single shock. ●, control recording; ○, after HPD injection; ×, after tetanic stimulation.

える。

LTP は1973年, Bliss ら<sup>21)</sup>により海馬の貫通路線維-歯状回顆粒細胞間のシナプスで最初に報告され, 通常シナプス前線維をテタヌス刺激(高頻度刺激)することにより誘発される。1975年には海馬薄切片を用いた実験でも LTP をおこすことがわかってから<sup>22,23)</sup>, 最も研究が進められているシナプス可塑性の一つである。海馬において LTP が成立する部位は, 興奮性シナプスが形成されている所であり, グルタミン酸が主要な伝達物質である<sup>24)</sup>。歯状回顆粒細胞層は NMDA 受容体の高い分布を示す<sup>25)</sup>。海馬シナプスでは高頻度の電気刺激により神経終末から多量の伝達物質(グルタミン酸)が放出され後シナプス細胞が大きく脱分極する。これにより通常の膜電位では  $Mg^{2+}$  によって遮断されている NMDA レセプター/チャンネルが開閉し,  $Ca^{2+}$  が細胞内に流入する。その後種々のセカンドメッセンジャー系を介し, 新規の蛋白質合成を伴って LTP が確立する<sup>26-28)</sup>。最初に細胞内  $Ca^{2+}$  の上昇がシナプス伝達効率の調節に必須であると考えを提唱したのは Lynch ら<sup>29)</sup> で, 彼らは LTP を生じさせるための強い刺激を与える時に, 外液の  $Ca^{2+}$  を除去しておくこと LTP が成立しないことを示し, さらにシナプス後ニューロン内に, カルシウムキレート剤を注入すると, そのニューロンには LTP が生じないことを確かめ,  $Ca^{2+}$  要求性がシナプスの後部にあることを示した。しかし, グルタミン酸受容体を介する細胞内  $Ca^{2+}$  の上昇は, 必ずしも NMDA 受容体のみでないことが証明されている。代謝活性型受容体と呼ばれるもので, キスカル酸の作用の一部が, グルタミン酸受容体サブタイプの内, G-蛋白質に連動したイノシトールリン脂質のりん酸化分解を促進し, その結果, 細胞質へイノシトール 1, 4, 5-三リン酸を遊離する。イノシトール 1, 4, 5-三リン酸は細胞内の  $Ca^{2+}$  貯蔵部位である小胞体に作用して, そこから  $Ca^{2+}$  を遊離させる<sup>30)</sup>。セカンドメッセンジャーによって賦活される蛋白キナーゼの中でも, LTP の誘発のためには cAMP, ジアシルグリセロール,  $Ca^{2+}$  によってりん酸化能が調節されている CaM キナーゼおよびりん脂質依存性キナーゼ(Cキナーゼ)がともに賦活される必要があることを, Cキナーゼ抑制薬である H-7 や CaM キナーゼ抑制薬(カルモゾリウム, トリフロペラジン, ピモジド)が LTP を抑制する事実や両キナーゼのそれぞれについて活性を阻害する合成ペプチドを用いた実験などから Malinow ら<sup>31)</sup> Malenka ら<sup>32)</sup>は見いだした。なかでもシナプス後膜に密に存在する CaM キナーゼを介した機能性蛋白質のりん酸化が最も LTP に強く関わっていると考えられている。

本研究における HPD による LTP の発現の遮断には, 一つの可能性としてニューロンの細胞膜におけるイオンチャンネルに対する HPD の作用が考えられる。すなわちナトリウムイオンの細胞内流入やカリウムイオンの細胞外への流出は通常の神経細胞の興奮の根底に起こる現象である。本研究で観察の対象とした貫通路-歯状回の反応波における集合 EPSP や PS もそれらの電位変動の基礎にはやはりナトリウムイオンの細胞内流入やカリウムイオンの細胞外への流出が生じている。そこで HPD の LTP の発現に対する抑制作用がこれらのイオンチャンネルに及ぼす HPD の抑制作用から生じる可能性が考えられる。ただしこのような HPD のイオンチャンネルに対する抑制作用を考えた場合, LTP の発現を抑えるだけでなくテタヌス刺激前の通常の反応波の集合 EPSP や PS に対しても何らかの抑制作用がみられてもよいように考えられるが, 本研究ではこ

れが観察されなかった。それで, 今回の LTP 発現に対する HPD の抑制作用がこれらのイオンチャンネルに対する HPD の作用によるかは考えにくい。

海馬のドーパミン作動性入力線維は, 腹側被蓋野(一部は黒質)であり, 多くの生化学的研究から海馬にはドーパミンレセプター-D1 および D2 が存在することが知られている<sup>33)-38)</sup>。LTP 発現に対する HPD 以外のドーパミンレセプター拮抗薬の効果についてのこれまでの研究をみると, 海馬スライスを使った研究から低濃度(1 $\mu$ M)のドーパミンレセプター拮抗薬ドンペリドン, スルピリドおよびフルペンチキソールが LTP の発現には影響しないが, LTP の持続時間を短縮し, ドーパミン作用薬であるアモルフィンが同時に存在するとこの LTP の持続に対する抑制がなくなったことが報告されている<sup>11)</sup>。ドーパミンレセプターを介すると考えるこれらの知見は, 我々の今回の知見と抑制という点では似ているが大きく異なることから, 本研究の LTP の発現の抑制はドーパミンレセプター以外の別の要因が関与する可能性が高い。

一方, 比較的高濃度(10 $\mu$ M)のピモジドおよびトリフロペラジンがラット海馬スライスの CA1 領域で LTP の発現を完全に遮断することが知られている<sup>10,14)</sup>。ピモジドとトリフロペラジンはともに抗ドーパミン作用のほかカルシウム-カルモジュリン複合体への高親和結合によってカルモジュリン媒介性の現象に対する強力な阻害剤として働くことが知られている。しかも, これらの薬物による LTP の発現に対する遮断作用は, これらの有するドーパミン拮抗能力の度合いと関係がないことから, LTP の発現の基礎をなすカルモジュリン活性の抑制によると推測されている<sup>10,11,14)</sup>。本研究における HPD による LTP の発現に対する遮断効果はこれらの薬物のそれに類似している。おそらく本研究がドーパミン性神経支配が主に寄与している CA1 領域と異なり貫通路-歯状回で行われたことや, 投与量においても高量の HPD を用いたため, カルモジュリン活性の抑制の結果として LTP の発現の遮断が生じた可能性が最も高い。

ところで海馬に投射しているノルエピネフリン作動性線維は主に青斑核にその細胞体を有している。青斑核からの作動線維を破壊すると, 貫通路-歯状回のシナプスで誘導される LTP が抑制されるが, 投射の少ない海馬 CA1 領域においてはノルエピネフリンは LTP 形成に影響を及ぼさないことを Bliss ら<sup>3)</sup>は示した。グルタミン酸を伝達物質とする興奮性シナプスでも LTP の起きやすさはほかの神経伝達物質の影響を受けることが示された。HPD はノルエピネフリンに対する抑制作用を有することが知られており, またいくつかの研究で海馬でのノルエピネフリンレセプターの存在が示されている。そして Stanton ら<sup>39,40)</sup>は, ラットの海馬スライスを使って 6-ハイドロキシンドーパミンでノルエピネフリンを枯渇させると LTP が抑制されることを認め, ノルエピネフリンが貫通路-歯状回では促進的な効果を持つことを示した。一方, Robinson ら<sup>41)</sup>は, ラットをレセルピンで前処置してノルエピネフリンを枯渇させた実験で, ノルエピネフリンが貫通路-歯状回での LTP に影響を与えないことを示した。本研究では HPD 投与によって LTP の発現は完全に遮断された。したがって HPD がノルエピネフリン機能を介して LTP に作用したとしても, この完全な遮断は説明できない。

本研究において, HPD (0.8mg/kg) の腹腔内注射をテタヌス

刺激前に行くと貫通路—歯状回における LTP の発現が遮断された。これは HPD が貫通路—歯状回における LTP の効果的な遮断薬であることを示す。しかしこの投与量では、貫通路を単発刺激して誘発される通常の反応波に対して影響を与えなかった。我々と同様の研究で Krug ら<sup>13)</sup>は、無拘束ラットに HPD を腹腔内注射 (ただし 0.5mg/kg) し、貫通路—歯状回の単発刺激による通常の反応波および LTP の発現に対する影響を研究した。結果として彼らは HPD 投与がその通常の反応波に影響を与えないが、PS の増強 (集合 EPSP は影響を受けない) から成る LTP の発現に促進的な効果を見出した。彼らはこの促進的な効果が歯状回の顆粒細胞の神経興奮に対するドーパミン性抑制の遮断によると推測している。HPD の投与量は我々の研究においても彼らの研究においても海馬のドーパミンレセプターを遮断するのに十分な量である<sup>13)</sup>。にもかかわらずこの LTP に関する彼らの知見は我々のものと全く相反する。以前は LTP はシナプス後膜レセプターの質的变化 (感受性増大) と量的変化 (数の増加) によるのではないかという考えが主流であったが、最近になって LTP が前シナプス (presynapse) の機能亢進、すなわち伝達物質の遊離量の増大によるためであるとする考え方が強く提唱されるようになってきた<sup>42)</sup>。さらにこれらの前シナプス説と後シナプス (postsynapse) 説の両方を活かすために、後シナプスから前シナプスへの逆行性伝達物質としてアラキドン酸や NO などが考えられている。このように LTP の発現場所が解明されていないことや電気生理学的技術の経験と実験条件などの問題および伝達効率を高めるといった一見単純な現象を生じさせるだけでも、多数の細胞内情報伝達系が同時に関与していると考えられ、海馬 LTP の論文間で違いや矛盾がある。彼我の相違は HPD の投与量および実験動物の種類の違いにもよると思われるが、本研究における HPD による LTP の発現の遮断にはドーパミンレセプター以外の別の要因が関与している可能性が高い。

いろいろのタイプの抗精神病薬がカルモジュリンで活性化される酵素の強力な拮抗薬であることが報告されている<sup>43)~45)</sup>。1970年、Kakiuchi ら<sup>46)</sup>は  $Ca^{2+}$  によりサイクリックヌクレオチド分解酵素 (phosphodiesterase, PDE) を活性化する蛋白質を発見した。この蛋白質は  $Ca^{2+}$  依存性に他の酵素あるいは蛋白質機能を修飾する意味から  $Ca^{2+}$  依存性モジュレータータンパク ( $Ca^{2+}$ -dependent modulator protein) 略してカルモジュリンとよばれることになり、蛋白質リン酸化反応の調整、サイクリックヌクレオチド代謝の調節など広く細胞現象の  $Ca^{2+}$  媒介物質としての役割が注目されるようになった。フェノチアジン系薬物がカルモジュリンの強力かつ特異的な阻害剤であることが Levin ら<sup>44)</sup>により発表され、宮本ら<sup>45)</sup>は、トリフロペラジン、クロプロマジン、フルフェナジン、ペラジン、カルピラミンなどが  $Ca^{2+}$ -カルモジュリン蛋白質キナーゼ活性に対して阻害効果を示すことを明らかにした。一方トリペリドールのようにカルモジュリン阻害作用がほとんどみられないものもある。HPD はカルモジュリンに対してカルシウム依存性結合を示すことが知られている。ただしその結合はピモジドやトリフロペラジンより弱い。それ故 LTP に対する HPD の抑制効果は、ドーパミンレセプターやノルエピネフリンレセプターに対して影響を与えるのではなく、カルモジュリン阻害によるものであると思われる<sup>43)~45)</sup>。

本研究でのもう一つのあらかじめ誘発された LTP に対する

HPD の効果に関する実験 (実験 II) で、HPD 0.8mg/kg および 1.6mg/kg の投与量は両者とも、前もって誘発された LTP に影響を与えなかった。我々の知るかぎり、ドーパミンレセプター拮抗薬があらかじめ誘発された LTP にどのような影響を及ぼすかについての報告はこれまでにない。海馬スライスを使った研究から、ドーパミンが CA1 領域での通常の集合電位に二元的効果を持つ、すなわちはじめは電位の抑制そしてそのあと増強を示すということが知られている<sup>12)</sup>。それ故今回の実験で HPD が、あらかじめ誘発された LTP にも通常の反応波に対しても何の影響を与えなかったことは理に合わないと思われる。今回の HPD の投与量および実験部位がこういった結果に影響を与えたかも知れないが、それでもこれらの結果に対して十分な説明は出来ない。近年アデノシンが神経伝達を抑制的に調節するとされる神経伝達修飾物質 (neuromodulator) として注目されるようになった。アデノシンは  $Ca^{2+}$  の細胞内流入を抑制して神経終末からの神経伝達物質の放出を抑制することが知られている<sup>47)</sup>。一方、アデノシンには興奮作用があることも明らかとなり Okada ら<sup>48)49)</sup>は LTP とアデノシンとの関係について、海馬スライスの実験でアデノシンが高頻度刺激によってシナプス間隙で濃度が高まることや先に確立した LTP を最初は抑制するがその後は徐々に促進することに報告し、濃度依存性に興奮と抑制の二相性の効果があることを見出した。アデノシンが LTP の発現や維持に関与している可能性が高い。また海馬の背側と腹側とではレセプターの分布が異なり、スライス実験の場合にどの部位を使ったかによってもデータが違う。この点からも今回の我々の結果との比較は困難である。HPD の投与量に関しては用量依存的な影響があるのか、もう少し低濃度での追加実験が必要と思われる。

最後に HPD の LTP に対する抑制効果が HPD の抗精神病効果と関係があるかどうかについて考える。現在のところ LTP と精神病の関連を示唆する報告はない。近年の分裂病研究はドーパミン過剰仮説を中心に進められた。また最近精神疾患において側頭葉内側部が盛んに研究されるようになり、特に精神分裂病で海馬や海馬傍回等の異常が指摘されている。磁気共鳴画像を用いた研究で、精神分裂病患者において海馬や側頭葉内側部の体積減少が指摘され、精神分裂病の発症における海馬の重要性が示唆されている。またフェンサイクリジン (1-(1-phenylcyclohexyl) piperidine, PCP) 精神病の出現により分裂病の病因として興奮性アミノ酸 (excitatory amino acid, EAA) の関与が示唆され、ドーパミンに非依存的な分裂病の病態の解明が試みられている。PCP は EAA 受容体の一つである NMDA 受容体のイオンチャンネル内に結合し、NMDA 受容体を介する一連の作用を阻害すると考えられているので、分裂病の精神症状と EAA ニューロン系の関連が注目されるようになり、分裂病の自閉、無為、感情鈍麻および疎通性障害などを中心とする陰性症状に対して EAA 系の活動低下が示唆されている。PCP は、陽イオンチャンネル内の特異的結合部位 (PCP 受容体) に作用してチャンネルを閉じ、NMDA 受容体コンプレックスを介する神経伝達を阻害する非競合的アンタゴニストと考えられている。PCP 以外の NMDA 受容体アンタゴニストが PCP 精神病様の異常を引き起こす事実も、精神異常と NMDA 受容体遮断作用との関連を支持している<sup>50)</sup>。もし PCP による精神分裂病症状の惹起が NMDA 受容体に対する遮断作用によるならば、HPD の LTP に対する抑制作用は HPD の抗

精神病作用とは結びつかないように思われる。

### 結 論

無麻酔、無拘束の慢性条件下で雄の成熟家兎27羽を用い、二つの実験を行った。一つはHPDを腹腔内注射し、その血中濃度定常状態下で海馬貫通路をテタヌス刺激して歯状回でLTPが誘発されるかどうかを検討した。もう一つはあらかじめ誘発されたLTPに対してHPDを腹腔内注射し、LTPに影響を与えるかどうかを検討し、次の結論を得た。

1) HPDを投与していない対照実験で、PSの振幅と集合EPSPの勾配(mV/msec)はテタヌス刺激後著しく増大し、LTPが誘発されたが、PSの振幅および集合EPSPの勾配ともテタヌス刺激後の前半と後半との間で有意差はなかった。

2) あらかじめ誘発されたLTPに対して、HPD投与の前と後でのPSの振幅と集合EPSPの勾配は、HPD低投与量(0.8mg/kg)の場合には対照記録を基準として $200.5 \pm 45.8\%$ と $136.0 \pm 21.2\%$ が $226.5 \pm 65.9\%$ と $141.0 \pm 9.9\%$ を示し、高投与量(1.6mg/kg)の場合には $217.5 \pm 57.1\%$ と $166.0 \pm 32.0\%$ が $220.5 \pm 60.6\%$ と $161.5 \pm 18.9\%$ を示して有意な変化はなく、あらかじめ誘発されたLTPに対してHPDは影響を与えなかった。

3) LTPの発現に対するHPDの効果に関する実験で、テタヌス刺激前に0.8mg/kgのHPDを注入しても、テタヌス刺激前と後でのPSと集合EPSPの勾配は、対照記録を基準として $102.7 \pm 1.87\%$ と $98.5 \pm 4.90\%$ が $92.3 \pm 7.58\%$ と $101.5 \pm 6.4\%$ を示し有意な変化はなく、LTPの発現が遮断された。

4) 生理食塩水および低濃度と高濃度のHPDはいずれも、テタヌス刺激前の通常の反応波に対して影響を及ぼさなかった。

5) HPDがLTPの発現を遮断するのは、高投与量のHPDがカルモジュリンの活性化を抑制するためと考えられる。

### 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導および御校閲をいただいた越野好文教授に心からの謝意を表します。本研究開始にあたり御指導戴きました山口成良名誉教授に深甚なる謝意を表します。そして直接ご助言、御指導をいただいた金沢大学医学部神経精神医学教室の地引逸亀助教授、共同研究者で御指導、御援助をいただいた窪田孝博士、黒川賢造博士および福岡敏信博士に厚くお礼申し上げます。なお、本論文の要旨は第21回日本脳波筋電図学会(松本, 1991)において発表した。

### 文 献

- 1) Morris, R. G., Anderson, E., Lynch, G. S. & Baudry, M.: Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, **319**, 774-776 (1989).
- 2) Teyler, T. J. & Discenna, P.: Long-term potentiation as a candidate mnemonic device. *Brain Res. Rev.*, **7**, 15-28 (1984).
- 3) Bliss, T. V. P., Goddard, G. V. & Riives, M.: Reduction of long-term potentiation in the dentate gyrus of the rat following selective depletion of monoamines. *J. Physiol.*, **334**, 475-491 (1983).
- 4) Bliss, T. V. P. & Collingridge, G. L.: A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocamp-

us. *Nature*, **361**, 31-39 (1993).

- 5) Douglas, R. M. & Goddard, G. V.: Long-term potentiation of the perforant path-granule cell synapse in the rat hippocampus. *Brain Res.*, **86**, 205-215 (1975).
- 6) Sutula, T. & Stewart, O.: Facilitation of kindling by prior induction of long-term potentiation in the perforant path. *Brain Res.*, **420**, 109-117 (1987).
- 7) Jibiki, I., Fujimoto, K., Kubota, T. & Yamaguchi, N.: MK-801 (noncompetitive NMDA receptor antagonist)-induced blockade of the "burst response" in the dentate gyrus after perforant path kindling in acutely prepared rabbits. *Neurosci. Lett.*, **116**, 221-226 (1990).
- 8) Jibiki, I., Fujimoto, K., Kubota, T. & Yamaguchi, N.: Inhibitory effect of MK-801 (noncompetitive NMDA receptor antagonist) on kindling-induced synaptic potentiation in acutely prepared rabbits. *Pharmacol. Biol. Behav.*, **38**, 163-168 (1991).
- 9) Kempf, J. A., Foster, A. C. & Wong, E. H. F.: Non-competitive antagonists of excitatory amino acids receptors. *Trends Neurosci.*, **10**, 294-298 (1987).
- 10) Finn, R. C., Browning, M. & Lynch, G.: Trifluoperazine inhibits hippocampal long-term potentiation and the phosphorylation of a 40,000 dalton. *Neurosci. Lett.*, **19**, 103-108 (1980).
- 11) Frey, U., Schroeder, H. & Matthies, H.: Dopaminergic antagonists prevent long-term maintenance of posttetanic LTP in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain Res.*, **522**, 69-75 (1990).
- 12) Gribkoff, V. K. & Ashe, J. H.: Modulation by dopamine of population responses and cell membrane properties of hippocampal CA1 neurons in vitro. *Brain Res.*, **292**, 327-338 (1984).
- 13) Krug, M., Chepkova, A. N., Geyer, C. & Ott, T.: Aminergic blockade modulates long-term potentiation in the dentate gyrus of freely moving rats. *Brain Res. Bull.*, **11**, 1-6 (1983).
- 14) Mody, I., Baimbridge, K. G. & Miller, J. J.: Blockade of tetanic and calcium-induced long-term potentiation in the hippocampal slice preparation by neuroleptics. *Neuropharmacol.*, **23**, 625-631 (1984).
- 15) Ridge, J. W.: The stereotactic dissection of the excised rabbit brain. *J. Neurochem.*, **11**, 765-778 (1964).
- 16) 永田実男: 家兎海馬歯状回顆粒細胞層の電気生理学的性質—とくにその海馬発作における役割について—. *精神経誌*, **68**, 480-501 (1966).
- 17) Naylor, R. J. & Olley, J. E.: The distribution of haloperidol in rat brain. *Br. J. Pharmacol.*, **36**, 208-209 (1969).
- 18) Lewi, P. J., Heykants, J. J. P., Allewijn, F. T. N., Dony, J. G. H. & Janssen, P. A. J.: Distribution and metabolism of Neuroleptic drugs. *Arzneim. -Forsch. (Drug Res.)*, **20**, 943-948 (1970).
- 19) Marcucci, F., Airoidi, L., Mussini, E. & Garattini, S.: Distribution of haloperidol and trifluoperidol in brain and blood of rats. *Chem. -Biol. Interact.*, **4**, 427-430 (1971/72).

- 20) Shek, J. W., Wen, G. Y. & Wisniewski, H. M.: Atlas of the Rabbit Brain and Spinal Cord, 2nd ed., pl-139, Karger, New York, 1986.
- 21) Bliss, T. V. P. & Lømo, T.: Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol. (Lond.)*, **232**, 331-356 (1973).
- 22) Deadwyler, S. A., Dudek, F. E. & Cotman, C. W.: Intracellular responses of rat dentate granule cell in vitro: posttetanic potentiation to perforant path stimulation. *Brain res.*, **88**, 59-65 (1975).
- 23) Schwartzkroin, P. A. & Wester, K.: Long-term facilitation of a synaptic potential following tetanization in the vitro hippocampal slice. *Brain Res.*, **89**, 107-119 (1975).
- 24) White, W. F., Nadler, J. V., Hamberger, A., Cotman, C. W. & Cummins, J. T.: Glutamate as transmitter of hippocampal perforant path. *Nature*, **270**, 356-357 (1977).
- 25) Monaghan, D. T. & Cotman, C. W.: Distribution of N-methyl-D-aspartate-sensitive L<sup>[3H]</sup> glutamate-binding sites in rat brain. *J. Neurosci.*, **5**, 2909-2919 (1985).
- 26) Collingridge, G. L., Kehl, S. J. & McLennan, H.: The antagonism of amino acid-induced excitations of rat hippocampal CA1 neurons in vitro. *J. Physiol. (Lond.)*, **334**, 19-34 (1983).
- 27) Collingridge, G. L.: Long-term potentiation in the hippocampus: mechanisms of initiation and modulation by neurotransmitters. *Trend. Pharmacol. Sci.*, **6**, 407-411 (1985).
- 28) Harris, E. W., Ganong, A. H. & Cotman, C. W.: Long-term potentiation in the hippocampus involves activation of N-methyl-D-aspartate receptors. *Brain Res.*, **323**, 132-137 (1984).
- 29) Lynch, G., Larson, J., Kelso, S., Barrionuevo, G. & Schottler, F.: Intracellular injection of EGTA block induction of hippocampal long-term potentiation. *Nature*, **305**, 719-721 (1983).
- 30) Coan, E. J., Saywood, W. & Collingridge, G. L.: MK-801 blocks NMDA receptor-mediated synaptic transmission and long-term potentiation in rat hippocampal slice. *Neurosci. Lett.*, **80**, 111-114 (1987).
- 31) Katayama, K., Morimoto, K. & Otuki, S.: Effects of competitive and noncompetitive antagonists of N-methyl-D-aspartate receptors (CPP and MK-801) on amygdala kindling and hippocampal long-term potentiation. *Epilepsia*, **30**, 702-703 (1989).
- 32) Sugiyama, H., Ito, I. & Hirono, C.: A new type glutamate receptor linked to inositol phospholipid metabolism. *Nature*, **325**, 531-533 (1987).
- 33) Malinow, R., Schulman, H. & Tsien, R. W.: Inhibition of postsynaptic PKC or CaMK II blocks induction but not expression of LTP. *Science*, **245**, 862-866 (1989).
- 34) Malenka, R. C., Kauer, J. A., Perkel, D. J., Mauk, M. D., Kelly, P. T., Nicoll, R. A. & Waxham, M. N.: An essential role for postsynaptic calmodulin and protein kinase activity in long-term potentiation. *Nature*, **340**, 554-557 (1989).
- 35) Scatton, B., Simon, H., Moal, M. L. & Bischoff, S.: Origin of dopaminergic innervation of the rat hippocampal formation. *Neurosci. Lett.*, **18**, 125-131 (1980).
- 36) Boyson, S. J., McGonigle, P. B. & Molinoff, P. B.: Quantitative autoradiographic localization of the D1 and D2 subtypes of dopamine receptors in rat brain. *J. Neurosci.*, **6**, 3177-3188 (1986).
- 37) Dawson, T., Gahlert, D., Yamamura, H., Barnett, A. & Wamsley, J. K.: D1 dopamine receptors in the rat brain: autoradiographic localization using [<sup>3H</sup>] SCH23390. *Eur. J. Pharmacol.*, **108**, 323-325 (1985).
- 38) Dubois, A., Savasta, M., Curet, O. & Scatton, B.: Autoradiographic distribution of the D1 agonist [<sup>3H</sup>] SKF 38393 in the rat brain and spinal cord. Comparison with the distribution of D2 dopamine receptors. *Neuroscience*, **19**, 125-138 (1986).
- 39) Stanton, P. K. & Sarvey, J. M.: Depletion of norepinephrine, but not serotonin, reduces long-term potentiation in the dentate gyrus rat hippocampal slices. *J. Neurosci.*, **5**, 2169-2176 (1985).
- 40) Stanton, P. K. & Sarvey, J. M.: Norepinephrine regulates long-term potentiation of both the population spike and dendritic EPSP in hippocampal dentate gyrus. *Brain Res. Bull.*, **18**, 115-119 (1987).
- 41) Robinson, G. B. & Racine, R. J.: Long-term potentiation in the dentate gyrus: effects of noradrenaline depletion in the awake rat. *Brain Res.*, **325**, 71-78 (1985).
- 42) Bekkers, J. M. & Stevens, C. F.: Presynaptic mechanism for long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, **346**, 724-729 (1990).
- 43) Weiss, B. & Wallace, T. L.: Mechanisms and pharmacological implications of altering calmodulin activity. *In* W. Y. Chung (ed.), *Calcium and Cell Function*, 1st ed., p329-379, Academic Press, New York, 1980.
- 44) Levin, R. M. & Weiss, B.: Selective binding of antipsychotics and other psychoactive agents to the calcium-dependent activator of cyclic nucleotide phosphodiesterase. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **208**, 454-459 (1979).
- 45) 宮本英七, 福永浩司: 脳神経系における Ca 系とサイクリック AMP, サイクリック GMP 系との相互作用におよぼす向精神薬の効果. *精神薬療基金研究年報*, **12**, 32-36 (1980).
- 46) Kakiuchi, S. & Yamazaki, R.: Calcium dependent phosphodiesterase activity and its activating factor (PAF) from brain. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **41**, 1104-1110 (1970).
- 47) Dunwiddie, T. V. & Fredholm, B. B.: Adenosine A1 receptors inhibit adenylate cyclase activity and neurotransmitter release and hyperpolarize pyramidal neurons in rat hippocampus. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **249**, 31-37 (1989).
- 48) Okada, Y., Nisimura, S. & Miyamoto, T.: Excitatory effect of adenosine on neurotransmission in the slices of superior colliculus and hippocampus of guinea pig. *Neurosci.*

Lett., 120, 205-208 (1990).

49) Okada, Y., Sakurai, T. & Mori, M.: Excitatory effect of adenosine on neurotransmission is due to increase of transmitter release in the hippocampal slices. *Neurosci.*

Lett., 142, 233-236 (1990).

50) Johnson, K. M. & Jones, S. M.: Neuropharmacology of phencyclidine. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 30, 707-750 (1990).

**Haloperidol-induced Induction Block of Long-Term Potentiation in Perforant Path-Dentate Gyrus Pathway in Chronically Prepared Rabbits** Shigeki Wakita, Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med Soc.*, 103, 912—922 (1994)

**Key words** long-term potentiation, hippocampus, haloperidol, calmodulin

#### Abstract

Long-term potentiation (LTP) of synaptic transmission results from tetanic stimulation of afferent fibers in the hippocampus and is widely studied as a neuronal model of learning and memory. The author investigated the effects of the representative neuroleptic and dopamine receptor antagonist, haloperidol (HPD), on the induction of LTP and on the previously induced LTP in the perforant path-dentate gyrus pathway in chronically prepared rabbits. Experiments were carried out on 27 adult male rabbits weighing 2.5-3.5 kg each. After unilateral craniectomy, a recording electrode was inserted into the dentate gyrus and a stimulating electrode was inserted into the perforant path ipsilateral to the dentate gyrus, guided by laminar analysis. After a 2-week postsurgical recovery period, chronic experiments were performed on the freely moving rabbits. The intraperitoneal HPD injection of 0.8 mg/kg blocked the induction of LTP when it was given before LTP-inducing tetanic stimulations, although this dose showed virtually no effect on the baseline control responses to single shocks in the perforant path-dentate gyrus pathway. However, neither 0.8 mg/kg nor 1.6 mg/kg HPD doses affected the previously induced LTP. These findings suggest that HPD suppresses the induction of LTP but it dose not affect the previously induced LTP.