

# 小鸡记忆形成神经机制研究进展<sup>①</sup>

翁旭初 陈双双 匡培梓

(中国科学院心理研究所)

## 0 引言

在本世纪初及40年代末,Cajal和Hebb曾分别提出过记忆形成(memory formation)的突触可塑性理论假设。但直至70年代初期,Bliss等在麻醉兔海马发现长时程增强(long-term potentiation, LTP)现象后,才真正开始了突触可塑性的实验研究。现已初步阐明,LTP的诱导和保持涉及从神经递质释放至突触形态变化的一系列分子、细胞水平的级联反应。<sup>[1]</sup>这些知识对理解记忆形成的神经机制具有参考价值,但不少研究者仍采用动物行为模型研究学习记忆。在各种脊椎动物的学习记忆行为模式中,小鸡一次性被动回避行为是影响较大的一种。这种行为首先让小鸡啄食蘸有令其厌恶的化学物质的小珠子,以后小鸡将回避这种颜色的小珠,但仍继续啄食其它颜色的小珠,其记忆可保持数天之久。由于颅内注射和训练(一次啄食动作)都在数秒钟内完成,因而可以精确地测量训练后不同时间点的药物效应和生理、生化及形态学的变化,并具有与LTP模型相似的操作简单的优点。<sup>[2]</sup>更重要的是,在这种行为模式中,小鸡对记忆的获得和提取表现出快速和灵活等陈述性记忆(declarative memory)的特点,<sup>[3]</sup>因此被认为是一种研究动物复杂记忆行为的理想模型。

## 1 记忆形成的阶段性

以Hebb的记忆双痕迹假说(the dual-trace hypothesis of memory)为代表的各种记忆痕迹理论都认为,记忆形成具有阶段性。Gibbs等曾根据对小鸡一次性被动回避行为的研究提出了记忆形成三阶段模型,认为小鸡的记忆形成过程分别由短时、中时和长时记忆三个相对独立的阶段组成,它们分别起始于训练后5、10和50min。<sup>[4]</sup>上述模型的一个突出优点是可以较好地解释短时记忆向长时记忆转化的机制。这些工作发表后引起了各国学者的普遍关注,<sup>[2]</sup>并相继在海兔、果蝇、小鼠和大鼠等动物发现相似的记忆形成阶段性。<sup>[5]</sup>

## 2 记忆形成有关的生物学变化

据2-脱氧葡萄糖(2-DG)放射自显影资料,参与小鸡记忆形成的脑区,主要位于中间腹内侧上纹体(IMHV)和嗅旁小叶(LPO),它们分别相当于哺乳动物的联合皮层和基底神经节。<sup>[3]</sup>在训练后的不同时间,IMHV和LPO内可检测出一系列生理、生化和形态学的变化。通常把这些变化划分为早晚两个阶段。早期阶段可见递质释放、受体结合力提高、膜蛋白质磷酸化和即刻早基因(immediate early gene, IEG)的表达;晚期阶段可见糖蛋白合成和突触形态变化。上述生物学的变化与

① 中科院重大项目及国家自然科学基金资助项目。与此文有关的交流请与翁旭初(100012 北京北沙滩中科院心理所)联系。

记忆形成各个阶段有一定的对应关系(表1)。

表1 小鸡记忆形成有关的生物学变化

	生物学变化	与记忆形成各阶段的关系
早期阶段	谷氨酸能、胆碱能和 GABA 能	短时记忆
	系统的活动	或
	膜蛋白磷酸化	中时记忆
晚期阶段	即刻早基因表达	
	管蛋白合成	长时记忆
	糖蛋白合成	
	突触结构的变化	

## 2.1 神经递质和受体的变化

谷氨酸受体的一些亚型(如 NMDA、AMPA 和代谢性受体)已被证明参与小鸡记忆形成的早期阶段。Burchuladze 等发现,NMDA 受体拮抗剂 MK-801 可以导致小鸡记忆障碍,而非 NMDA 受体拮抗剂 DNQX 等似乎不影响记忆功能。<sup>[6]</sup>这一结果与 Stewart 等的受体结合试验结果相吻合。他们发现,训练后 30min 左侧 IMHV 的 NMDA 受体的结合力明显增加,而 AMPA 受体的结合力没有改变。由此认为,小鸡记忆形成过程只依赖于 NMDA 受体,而与 AMPA 等非 NMDA 受体无关。但 Richard 等人的结果与此不同,他们发现,NMDA 受体、AMPA 受体和代谢性谷氨酸受体的拮抗剂均可引起小鸡记忆障碍,只是若采用 AMPA 受体颞颥剂,只有当它在训练后 10-25min 给药时才有效。<sup>[7]</sup>因此,Richard 等认为,Burchuladze 等人未能发现非 NMDA 拮抗剂对记忆影响的原因,是因为他们没有观察训练后给药的作用。

脑内一氧化氮(NO)可能是一种逆行递质,在 LTP 形成过程中的作用已被初步证明。Holscher 等发现,NO 合成抑制剂 N-硝基-L-精氨酸可以阻止小鸡的记忆形成,其记忆障碍起始于训练后 30min,并至少可持续至训练后 24h(小时)。这种效应可被合成 NO 的前体 L-精氨酸逆转。<sup>[8]</sup>

我们<sup>[9]</sup>和其它实验室的工作表明,GABA 能和胆碱能系统主要参与中时记忆的形成过程。

## 2.2 膜蛋白质磷酸化

Ali 等曾在小鸡突触前膜分离到一种 52kDa 的蛋白质,经免疫学鉴定,这种蛋白与哺乳动物的 B50 为同一物。B50 是蛋白激酶 C(PKC)的底物,小鸡一次性被动回避行为可以改变这种蛋白的磷酸化状态,其变化起始于训练后 10min,至训练后 30min 达到高峰。而在低强度训练时,小鸡既不能形成长时记忆,也不能使 B50 磷酸化。药理学研究显示:PKC 制剂不但可阻断 IMHV 内 B50 的磷酸化,而且可引起严重的记忆障碍;与之相反,PKC 激活剂可以促进记忆或逆转 PKC 抑制剂对记忆的伤害作用。上述结果提示,小鸡学习行为通过某种机制激活 PKC 而导致 B50 的磷酸化,促进记忆的形成。目前尚存争议的是,膜蛋白磷酸化究竟参与记忆形成的哪个阶段。Zhao 等人发现,PKC 抑制剂引起的记忆障碍起始于训练后 25min,因此认为主要参与中时记忆。<sup>[10]</sup>但 Serrano 等人观察了十几种蛋白激酶抑制剂对小鸡记忆形成过程的影响,发现除 5 种影响中时记忆外,其余都影响长时记忆。<sup>[11]</sup>

近年来发现,与 LTP 形成有关的 PKC 底物至少有两种:一种是位于突触前膜的 B50,其磷酸化出现较早;另一种是 neurogranin,主要位于突触后胞浆,其磷酸化出现较晚。<sup>[12]</sup>因此极有可能,Zhao 观察到的只是 B50 磷酸化受抑制的结果,而 Serrano 则同时观察到了这两种底物磷酸化受阻的效应。

### 2.3 蛋白质合成

在训练后 30min 左右,IMHV 可见 c-fos 和 c-jun 的表达。<sup>[13]</sup>它们分别为 IEG 家族的重要成员,所编码的核蛋白被认为与蛋白质合成等较为持久的生物学变化有关。因此,c-fos 和 c-jun 的表达虽发生于中时记忆阶段,但对长时记忆的形成显然是必要的。

在小鸡记忆形成过程中,可见到两种蛋白质合成加速:一种是管蛋白;另一种是糖蛋白。早期工作表明,小鸡被动回避行为可使管蛋白浓度提高并增加该蛋白对亮氨酸的摄取,这种效应从训练后不久开始并一直持续至训练后 24h,后来由于制备了抗  $\alpha$ -管蛋白的单克隆抗体,可以较特异地检测出学习记忆有关的管蛋白免疫活性物质在脑内的含量和分布。结果表明;训练可以引起这些免疫活性物质增加,并主要分布于左侧 IMHV。<sup>[14]</sup>

糖蛋白参与小鸡记忆形成过程的证据主要来自两个方面的研究<sup>[15]</sup>:第一,小鸡被动回避行为可增加突触前后膜糖蛋白对岩藻糖的摄取;第二,与其竞争参与蛋白糖基修饰的 2-脱氧半乳糖(2-Dgal)可阻止长时记忆的形成。Rose 及其合作者曾在小鸡前脑的突触小体中分离出几种与记忆形成过程高度相关的糖蛋白,其中一些分子的分子量与神经细胞粘着分子(NCAMs)非常接近。进一步研究发现,训练后 30min 和 6h 注射 2-Dgal 均可破坏小鸡的记忆形成,但若采用抗 NCAM 抗体,只有在训练后 6h 注射才能达到同样的作用。<sup>[16]</sup>这些结果提示,学习导致的糖蛋白合成可能有两个高峰,其中第二个高峰主要合成 NCAMs,生化测量证实了这种推测。<sup>[15]</sup>Sandi 等还观察到,在弱强化训练条件下,记忆仅能保持 8h,此时脑内只见到糖蛋白合成的第一个高峰。看来,糖蛋白合成的两个高峰对形成完整的长时记忆是必需的。

### 2.4 突触结构的改变

LTP、点燃效应(kindling)和多种学习行为均可引起神经元结构的变化,这种变化往往较为持久。小鸡学习行为引起的神经元结构的变化也已得到证实。<sup>[17]</sup>利用经典的 Golig 技术就可观察到,训练后 24h,左侧 IMHV 及双侧 LOP 内部分神经元树突棘的密度均有一定程度的增加,原有的神经元形态的左右脑不对称性也被一定程度地逆转。从电镜还可观察到记忆形成有关的突触形态改变的细节,其中最明显的是训练后 12h 双侧 LPO 突触数量及左侧 IMHV 囊泡数量的增多。突触前扣结活动区(active zones)的大小和形状以及囊泡的排列方式,被认为与突触功能密切相关。Rusakov 等发现,训练后半时已经可以见到活动区长度的增加及囊泡排列方式的变化,其中离活动区较近的囊泡的数量明显增加。<sup>[18]</sup>

总之,通过对小鸡一次性被动回避模式的行为、生化和形态学的研究,已初步揭示了与记忆形成有关的一系列生物学变化过程,而采用其它脊椎动物目前还很难在一种学习行为模式上获得如此系统的资料。这种行为模式的不足之处是,小鸡的大脑结构与哺乳动物有一定差异,这有待于比较解剖及相关学科研究者的共同努力。

## 3 参考文献

- 1 Bliss TVP, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in hippocampus. *Nature*, 1993;361:31-39
- 2 Andrew TJ, ed. *Neural and Behavioural Plasticity: The Use of Domestic Chick as a Model*. Oxford: Oxford University Press, 1991
- 3 Squire LR, Knowlton B, Musen G. The structure and organization of memory. *Ann Rev Psychol*, 1993;44:453-495
- 4 Gibbs ME, Ng KT. Psychobiology of memory: towards a model of memory function. *Biobehav Rev*, 1977;1: 113-136

- 5 DeZazzo J, Tully T. Dissection of memory formation; from behavioral pharmacology to molecular genetics. *Trends Neurosci*, 1995; 18: 212-218.
- 6 Burchuladze R, Rose SPR. Memory formation in day-old chicks requires NMDA but not non-NMDA glutamate receptors. *Eur J Neurosci*, 1992; 4: 533-538
- 7 Richard NS, Poot AC, Gibbs ME, et al. Both non-NMDA and NMDA glutamate receptors are necessary for memory consolidation in the day-old chick. *Behav Neural Biol*, 1994; 62: 33-40
- 8 Holscher C, Rose SPR. An inhibitor of nitric oxide synthesis prevents memory formation in the chick. *Neurosci Lett*, 1992; 145: 165-167
- 9 翁旭初, 陈双双, 匡培梓. 中枢胆碱能系统在小鸡记忆形成过程中的作用. *心理学报*(待发表), 1996
- 10 Zhao WQ, Sedman GL, Gibbs M, et al. 1994 Effect of PKC inhibitors and activators on memory. *Behav Brain Res*, 1994; 60: 151-160
- 11 Serrano PA, Beniston DS, Oxonian MG, et al. Differential effects of protein kinase inhibitors and activators on memory formation in the 2-day-old chick. *Behav Neural Biol*, 1994; 60-72
- 12 Pasinelli P, Ramakers GMJ, Urban IJA, et al. Long-term potentiation and synaptic protein phosphorylation. *Behav Brain Res*, 1995; 66: 53-59
- 13 Anokhin KV, Rose SPR. Learning-induced increase of immediate early gene messenger RNA in the chick fore-brain. *Eur J Neurosci*, 1991; 3: 162-167
- 14 Scholey AB, Bullick S, Rose SPR. Passive avoidance in the young chick results in time- and locus-specific elevations of  $\alpha$ -tubulin immunoreactivity. *Neurochem Int*, 1992; 21: 343-350
- 15 Rose SPR. Cell-adhesion molecules, glucocorticoids and long-term memory formation. *Trends Neurosci*, 1995; 18: 502-506.
- 16 Scholey AB, Rose SPR, Zamani MR, et al. A role of the neural cell adhesion molecule in a late, consolidating phase of glycoprotein synthesis six hours following passive avoidance training of the young chick. *Neurosci*, 1993; 55: 499-509
- 17 Stewart MG, Rusakov DA. Morphological changes associated with stages of memory formation in the chick following passive avoidance training. *Behav Brain Res*, 1995; 66: 21-28
- 18 Rusakov DA, Stewart MG, Davies HA et al. Spatial re-arrangement of the vesicle apparatus in forebrain synapses of chicks 30 min after passive avoidance training. *Neurosci Lett*, 1993; 154: 13-16

## 《脑诱发电位学》出版

《脑诱发电位学》,由张明岛、陈兴时等编著。该书较系统地阐述 BEP 基本理论、各种技术问题以及 BEP 在临床上的应用进展,分基础篇、临床篇和科研篇三大部分,计 30 章。该书中有图表 290 帧,基础与临床并重,基本反映了当前 BEP 研究的现状。该书是工具书,也可作为医学院校研究生的教学参考书,尤其适宜于心理学、生理学和神经精神科使用。该书系上海科技教育出版社出版,16 开特精装本,80 万字。每册定价:60 元(含邮挂费)。欲购者请汇款至:上海愚园路 918 号,上海市医学书店发行组收,邮编 200050。