

## Hippokampus und räumliches Kurz- und Langzeitgedächtnis

Seeburg, Peter H.; Sprengel, Rolf;

Max-Planck-Institut für medizinische Forschung, Heidelberg

Korrespondierender Autor

Seeburg, Peter H.,

E-Mail: [seeburg@mpimf-heidelberg.mpg.de](mailto:seeburg@mpimf-heidelberg.mpg.de)

---

### Zusammenfassung

Glutamat ist der wichtigste erregende Signalstoff an den Schaltstellen unseres Nervensystems und damit unerlässlich für alle Leistungen des Gehirns. Im Modellorganismus Maus kann durch genetische Eingriffe die detaillierte Funktion der in Schaltstellen durch Glutamat aktivierten Schlüssel-moleküle bei Lernvorgängen untersucht werden. Eine Mausmutante zeigte erstmals, dass eines dieser Schlüssel-moleküle zum Erlernen von soeben erlebten, räumlichen Situationen notwendig ist und somit als molekularer Baustein bei Lernen und Erinnern fungiert.

### Abstract

*Glutamate is the most prevalent neurotransmitter at excitatory synapses of our nervous system and thus indispensable for the activity and accomplishments of our brain. Genetic manipulations in the model organism mouse permit an evaluation of the role of synaptic key components activated by glutamate in spatial learning paradigms. A mouse mutant reveals that a particular synaptic component is essential for a sense of familiarity with a recently encountered spatial environment, and hence functions as a molecular building block in learning and memory.*

Der Hippokampus, sein Name leitet sich von seiner seepferdchenähnlichen Struktur ab, repräsentiert zusammen mit dem entorhinalen Kortex das räumliche Navigationssystem des Gehirns (**Abb. 1**) und ist für das Ablegen von Gedächtnisinhalten, besonders der räumlichen Art, verantwortlich. Bestimmte Nervenzellen (*place cells*) im Hippokampus feuern Impulse mit erhöhter Frequenz, in Abhängigkeit von der jeweiligen räumlichen Position des sich in einem abgegrenzten Raum bewegenden Versuchstieres. Chirurgische Entfernung oder zytotoxische Läsionen des Hippokampus führen im Nager zum Verlust jeglichen räumlichen Lernens sowie einiger anderer Lernmodalitäten. Dies gilt auch für den Menschen, wie man durch die beidseitige hippokampale Resektion bei dem Epileptiker H.M. in den 50er-Jahren des letzten Jahrhunderts gelernt hat.

Fig. 1



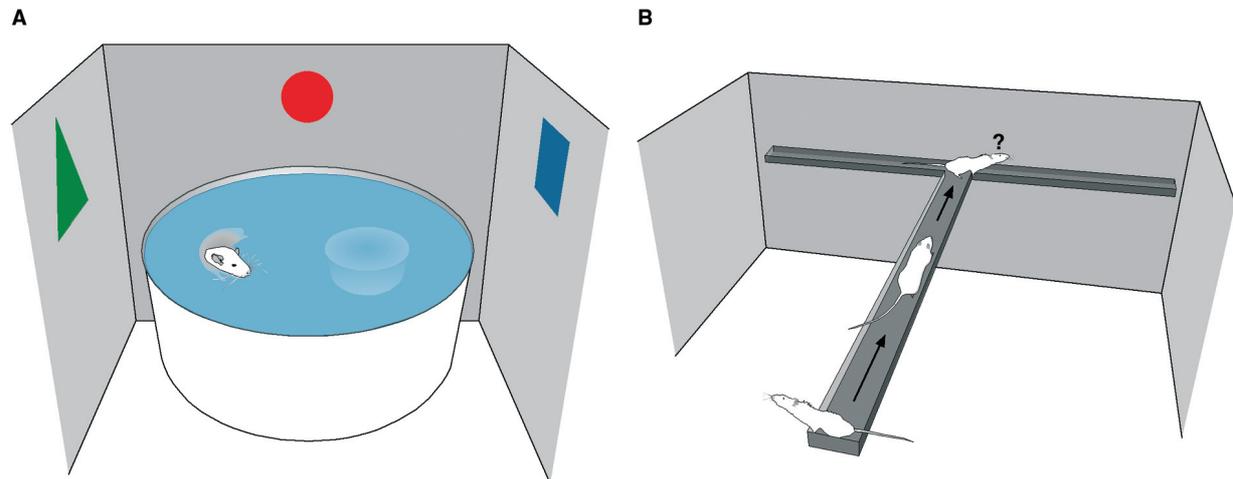
**Abb. 1:** Maus, die aus einem Loch in einen Irrgarten blickt und sich zu orientieren versucht. Dazu benötigt sie ihren Hippokampus, der im Gehirn schematisch in rot eingezeichnet ist.

Urheber: Max-Planck Institut für medizinische Forschung/Sprengel; Heil: art for biomed

Räumliches Lernverhalten wird deshalb schon seit langem im Tiermodell intensiv erforscht. Ratten oder Mäuse erlernen zum Beispiel in einem einfachen Labyrinth die fixe Position von Futterbelohnungen und suchen diese ohne Umwege sofort auf. Der Goldstandard für räumliches Lernen ist allerdings ein Test in trübem Wasser (Morris-Wasserlabyrinth) (**Abb. 2A**). Hier gilt es, in einem runden Schwimmbecken eine für das Tier unsichtbare Plattform unter der eingetrübten Wasseroberfläche zu lokalisieren und damit dem unangenehmen Nass zu enttrinnen. Die Tiere orientieren sich an Objekten außerhalb des Bassins und lernen nach vielen Versuchen (etwa 40 innerhalb von 5 Tagen), die Unterwasserplattform von jeder Position des Beckenrandes aus zielsicher anzuschwimmen. Ein ganz anders gearteter Versuch erkundet das räumliche Kurzzeitgedächtnis, das in Nagern ebenfalls einen intakten Hippokampus voraussetzt (**Abb. 2B**). In einem dem Buchstaben T nachgebildeten Labyrinth (T-Labyrinth) macht das Tier zunächst einen Probelauf und kurz danach (innerhalb etwa 15 Sekunden) einen Testlauf, immer die Basis des T's als Startpunkt nutzend. Während des Probelaufs ist einer der beiden Arme (Balken über dem T) blockiert und so erkundet das Tier den offenen Arm. Während des anschließenden Testlaufs sind beide Arme frei zugänglich. Das Tier erinnert sich, welcher Arm während des Probelaufs verschlossen war, und inspiziert aus Neugier diesen Arm nun im Testlauf. Wenn Belohnung die Motivation steigert, kann das erfolgreiche Armwechseln einer Versuchsreihe auf über 90% erhöht werden. Für die richtige Entscheidung, den im Probelauf unzugänglichen Arm zu erkunden, muss sich das Tier an die Gegebenheiten des Probelaufs erinnern, da von Test zu Test die Position des blockierten Arms (links oder rechts) durch einen Zufallsgenerator bestimmt wird.

Eine ungelöste Frage ist, ob das räumliche Kurz- und Langzeitgedächtnis denselben physiologischen Prozess nutzt oder ob der Hippokampus unterschiedliche Mechanismen für eine getrennte, unabhängige Etablierung der beiden Gedächtnisformen zur Verfügung stellt. Eine exakte Analyse der Verschaltung von Nervenzellen im Hippokampus und der molekularen Mechanismen der Informationsübertragung an den Schaltstellen zwischen Nervenzellen, den Synapsen, sollte darüber erste Erkenntnisse liefern.

**Fig. 2**



**Abb. 2:** Das Morris-Wasserlabyrinth (Feld A) und das T-Labyrinth (Feld B). In beiden Versuchsanordnungen wird das räumliche Lang- und Kurzzeitgedächtnis von Mäusen oder Ratten erfasst.

Urheber: Max-Planck Institut für medizinische Forschung/Sprengel; Heil: art for biomed

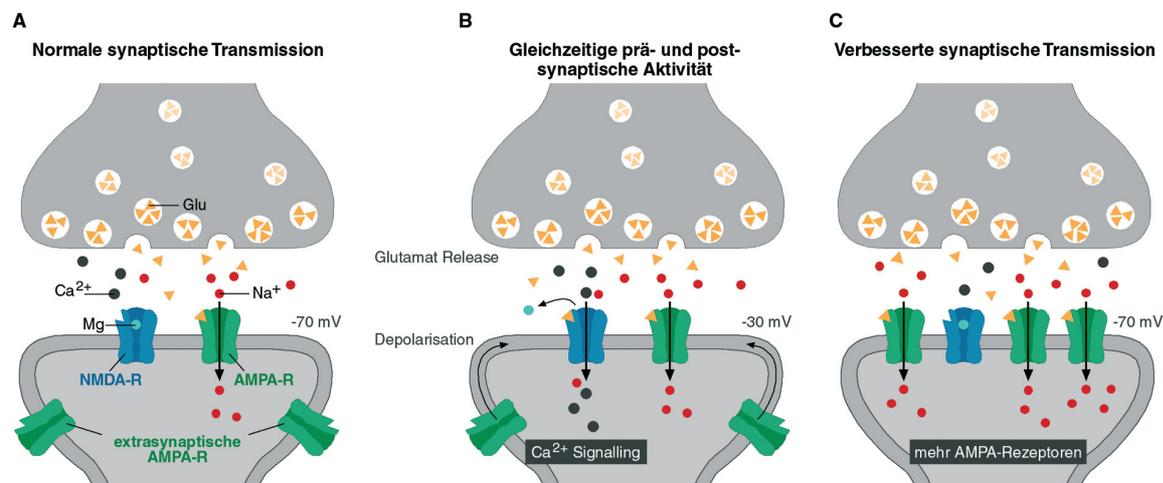
## Signalverarbeitung im Hippokampus

Wie alle Nervenzellen des zentralen Nervensystems sind auch die Nervenzellen des Hippokampus über erregende glutamaterge Schaltstellen vernetzt. Durch einen primären, elektrischen Impuls wird an solchen Synapsen in Bruchteilen einer Sekunde der Signalstoff Glutamat freigesetzt, der sich über den gesamten synaptischen Spalt verteilt und dabei an spezifische Empfängermoleküle, den Glutamatrezeptorkanälen am empfangenden Teil der Synapse, andockt. Diese Andockung bewirkt eine kurzzeitige Öffnung der Pore im Rezeptorkanal, durch die nun positiv geladene Natriumionen in die Zelle einfließen und so eine nachgeschaltete Impulsausbildung begünstigen.

Die molekulare Vielfalt der Rezeptoren für synaptisch freigesetztes Glutamat wurde während der letzten zwanzig Jahre weitgehend entschlüsselt. Die numerisch wichtigsten Glutamatrezeptoren werden in zwei Klassen eingeteilt, die zentralen AMPA- und die modulatorischen NMDA-Rezeptoren, deren Bezeichnung sich jeweils auf selektive Agonisten gründet; chemischen Verbindungen, die ausschließlich Mitglieder der einen oder anderen Rezeptorklasse aktivieren. Es wird angenommen, dass AMPA- und NMDA-Rezeptoren die meisten erregenden Synapsen, zumindest im Hippokampus, gemeinsam bevölkern und dass die modulatorischen Eigenschaften des NMDA-Rezeptors die dynamischen Charakteristika erregender Synapsen gestalten (**Abb. 3**). Erregende Synapsen ändern nämlich ihre Verbindungsstärke über einen vermehrten oder verminderten Signalfluss durch die ubiquitären AMPA-Rezeptoren. Diese Modulation der synaptischen Reizweiterleitung an wenigen Synapsen, zur Optimierung oder Inaktivierung neuronaler Schaltkreise, scheint Neurowissenschaftlern ein plausibles Grundprinzip für Lernprozesse.

Eine Modulation der Reizweiterleitung kommt an vielen Synapsen durch ein Zusammenspiel von AMPA- und NMDA-Rezeptoren zustande. Bei der normalen Signalweitergabe werden lediglich die AMPA-Rezeptoren als die zentralen Rezeptoren aktiviert. Vermehrter und häufigerer Signalfloss an einer Synapse führt allerdings zu zusätzlicher Aktivierung kolokalisierter NMDA-Rezeptoren, die aufgrund ihrer speziellen Porenauskleidung zum Einstrom von Kalziumionen beitragen. Der Kalziumeinstrom durch NMDA-Rezeptoren bewirkt zumeist eine Verbesserung der Reizweiterleitung. Dieses Phänomen, eine Erhöhung der synaptischen Stärke nach Aktivierung von NMDA-Rezeptoren, wird auch als Langzeitpotenzierung erregender Synapsen bezeichnet. AMPA-Rezeptoren, wie auch die molekular verwandten NMDA-Rezeptoren, bestehen aus mehreren Proteinkomponenten. Im Falle der AMPA-Rezeptoren werden diese vier separat kodierten Proteine neuerdings einheitlich mit GluA1 bis GluA4 bezeichnet.

Fig. 3



**Abb. 3:** Erregende Synapsen enthalten AMPA- und NMDA-Rezeptoren, die durch andockendes Glutamat aktiviert werden können. Bei einer normalen erregenden Reizweiterleitung (Feld A) hat die Zellmembran der nachgeschalteten Zelle in der Postsynapse zuerst eine Ruhespannung von  $-70\text{ mV}$ , und die NMDA-Rezeptoren sind durch Magnesiumionen in ihrer Rezeptorpore blockiert. Wird durch einen Reiz präsynaptisch Glutamat freigesetzt, so aktiviert dies nur die AMPA-Rezeptoren. Dies führt zu einem Einstrom von Natriumionen, zur Depolarisation der postsynaptischen Membran (z.B. von  $-70\text{ mV}$  auf  $-30\text{ mV}$ ) und somit zu einer Weiterleitung des elektrischen Signals. Allerdings wird durch die Depolarisation auch der Magnesiumblock der NMDA-Rezeptoren aufgehoben (Feld B). Eine zu diesem Zeitpunkt stattfindende, erneute Glutamatfreisetzung, aktiviert jetzt sowohl AMPA- als auch NMDA-Rezeptoren. Die nun durch NMDA-Rezeptoren einfließenden Kalziumionen bewirken, dass mehr AMPA-Rezeptoren in die postsynaptische Membran eingebaut werden, um die Stärke der Synapse für lange Zeit zu erhöhen (Feld C). Für diesen Prozess werden AMPA-Rezeptoren rekrutiert, die bereits in der Zellmembran aber noch nicht direkt in der Postsynapse sitzen.

Urheber: Max-Planck Institut für medizinische Forschung/Sprengel; Heil: art for biomed

### Eine spezifische Gendelektion weist auf unterschiedliche Mechanismen für räumliches Lang- und Kurzzeitgedächtnis hin.

Glutamaterge Nervenzellen im Hippokampus besitzen wesentlich mehr GluA1-haltige AMPA-Rezeptoren als z.B. kortikale Nervenzellen, und im Gegensatz zu letzteren tragen hippocampale Pyramidennervenzellen viele GluA1-haltige AMPA-Rezeptoren nicht nur in Synapsen, sondern auch auf der gesamten Zelloberfläche. Da die Maus für genetische Eingriffe gut geeignet ist, konnte eine GluA1-Verlustmutante (GluR-A-Knockout-Mäuse) hergestellt werden, und mit ihr die Bedeutung von GluA1-haltigen AMPA-Rezeptoren für die hippocampale Signalweiterleitung, für deren Plastizität sowie für das räumliche

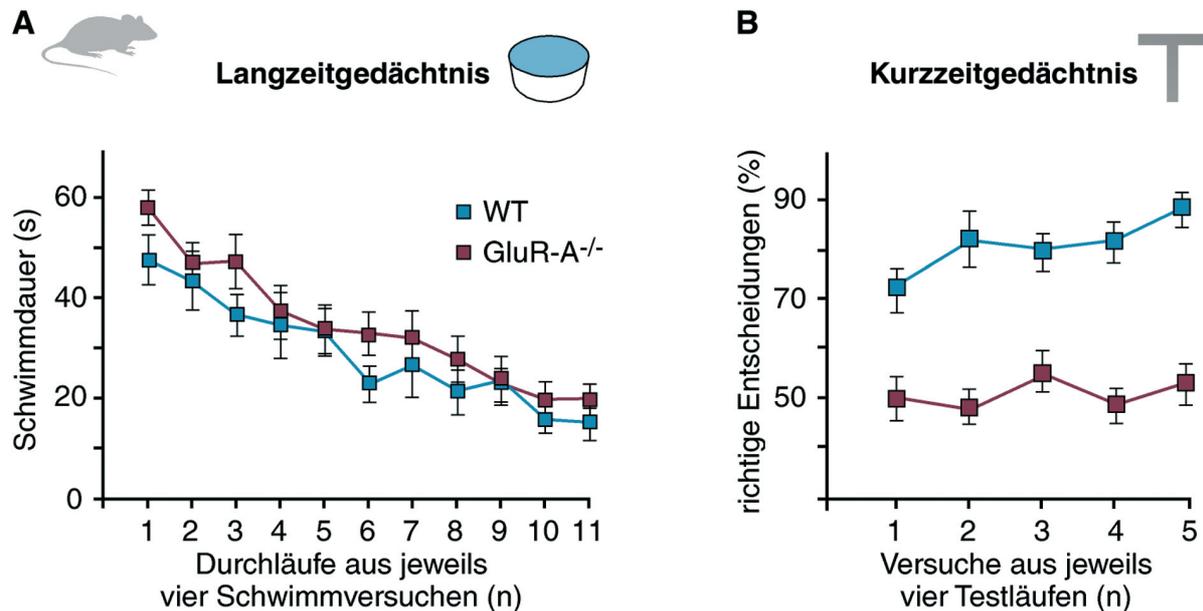
Lernen untersucht werden. Es zeigte sich, dass die GluA1-Mutanten trotz Verlust der GluA1-haltigen Rezeptoren die Position der Plattform im Morris-Wasserlabyrinth genauso schnell finden wie ihre normalen Geschwister. Allerdings fehlte den GluR-A-Knockout-Mäusen das im T-Labyrinth getestete räumliche Kurzzeitgedächtnis (**Abb. 4**). Diese Befunde, die zusammen mit dem Labor von Nicholas Rawlins und David Bannerman in Oxford erarbeitet wurden, beweisen eindeutig, dass GluA1-haltige AMPA-Rezeptoren für die Ausbildung von räumlichem Langzeitgedächtnis nicht benötigt werden, jedoch in Tests auf räumliches Kurzzeitgedächtnis unerlässlich sind. Weitere Verhaltensanalysen offenbarten, dass die GluA1-Verlustmutante ihre Umgebung nicht als vertraut erkennt, wenn diese ihr nach kurzer Zeit wieder präsentiert wird [1]. Nach psychologischer Terminologie fehlt der Mutante die Kurzeithabituierung, was eine Orientierungslosigkeit im T-Labyrinth verständlich macht. Bemerkenswert ist, dass GluR-A-Knockout-Mäuse eine verbesserte Langzeithabituierung aufweisen, möglicherweise verursacht durch fehlende Interferenz der beiden Habituierungsmodalitäten.

Die erregende synaptische Transmission im Hippokampus der Mutante zeigt sich als fast unverändert, wohingegen die synaptische Plastizität in CA1-Pyramidalzellsynapsen in wesentlichen Gesichtspunkten als abnorm gemessen wird. Der völlige Verlust der AMPA-Rezeptoren in der nicht-synaptischen Zellmembran, wie er bei GluR-A-Verlustmutanten zu beobachten ist, scheint die Ursache und begründete die Hypothese: Bei Lernvorgängen in erregenden Nervenzellen des Hippokampus werden zuerst die nicht-synaptisch lokalisierten AMPA-Rezeptoren zur unmittelbaren Verstärkung aktiver, synaptischer Verbindungen hinzugezogen [2]. Da eine Modifikation synaptischer Signalübertragung essentiell für Lernen ist, kann man alle Aspekte der synaptischen Plastizität, in denen sich die GluA1-Mutante von normalen Mäusen unterscheidet, als nicht relevant zum Erlernen des Morris-Wasserlabyrinths ansehen. Ebenso können nun andere Aspekte der synaptischen Plastizität, die sich nicht durch Abwesenheit von GluA1 verändern, für eine Beteiligung der Kurzeithabituierung relativiert werden. Obwohl an dieser Stelle die technischen Einzelheiten nicht dargelegt werden können, geben die experimentellen Befunde wichtige Hinweise, welche der bekannten synaptischen Plastizitätsmechanismen im Hinblick auf ihre Rolle bei räumlichem Lang- oder Kurzzeitgedächtnis in Zukunft näher beleuchtet werden sollten.

### **Genügt die Wegnahme von GluA1 im Hippokampus, um im T-Labyrinth verhaltensauffällig zu werden?**

Wie eingangs erläutert bildet der Hippokampus mit dem mit ihm eng vernetzten entorhinalen Kortex das räumliche Navigationssystem des Säugerhirns. Elektrophysiologische *In-vivo*-Messungen in Zusammenarbeit mit Evgeny Resnik, Mayank Mehta und Bert Sakmann zeigen, dass positionsabhängige Impulsaktivitäten von hippokampalen *place cells* in der Mutante erheblich gestört sind, was mit der fehlenden Kurzeithabituierung der Tiere korreliert. Allerdings fehlen der GluA1-Mausmutante die GluA1-haltigen AMPA-Rezeptoren im gesamten zentralen Nervensystem. Es stellt sich nun die Frage, ob der Verlust von GluA1, spezifisch im Hippokampus, zur selben Verhaltensauffälligkeit im T-Labyrinth und zu ähnlich gestörten hippokampalen Nervenaktivitäten führt. Eine genetisch kontrollierte Rekonstitution GluA1-haltiger AMPA-Rezeptoren, eingeschränkt auf glutamaterge Nervenzellen des Hippokampus und der Großhirnrinde, ermöglichte den GluA1-Mutanten ein normales Alternieren zwischen den Armen im T-Labyrinth Test [3]. Die reziproken Versuche, mithilfe von viraler Technologie [4] nur im Hippokampus GluA1 zu entfernen und Verhaltensauffälligkeiten im T-Labyrinth zu erzeugen, sind noch im Gange. Gleichzeitig werden mittels der gleichen Technik genetische Aktivitätsindikatoren in den Hippokampus eingebracht, damit optische Methoden Aktivitätsmuster ganzer Nervenzellpopulationen in GluA1-Verlustmutanten und normalen Mäusen beobachten können [5]. Es wird sich zeigen, ob und welche physiologische Anomalie im Hippokampus von GluA1-Verlustmutanten ausreicht, um eine Verhaltensauffälligkeit im T-Labyrinth zu erzeugen, oder ob bereits bei der Kurzeithabituierung eine GluA1-abhängige Kommunikation zwischen Hippokampus und Kortexarealen involviert ist.

Fig. 4



**Abb. 4:** *GluR-A-Knockout-Mäuse, denen GluA1-haltige AMPA-Rezeptoren fehlen, zeigen normales Lernverhalten im Morris-Wasserlabyrinth (A), jedoch nicht im T-Labyrinth (B). Dargestellt sind die Lernkurven von GluR-A-Knockout (GluR-A<sup>-/-</sup>)- und normalen Mäusen (wt) in Abhängigkeit von der Zahl der Versuchsdurchläufe. Es wurden jeweils vier Durchläufe von 10 bis 12 Mäusen in einem Datenpunkt festgehalten, um die Varianz einzelner Durchläufe zu reduzieren.*

*Urheber: Max-Planck Institut für medizinische Forschung/Sprengel; Heil: art for biomed*

## Literaturhinweise

- [1] D. J. Sanderson, M. A. Good, P. H. Seeburg, R. Sprengel, J. N. P. Rawlins, D. M. Bannerman: The role of GluR-A containing AMPA receptors in learning and memory. *Progress in Brain Research* **169**, 159-178 (2008).
- [2] P. Osten, W. Wisden, R. Sprengel: Molecular mechanisms of synaptic function in the hippocampus: Neurotransmitter exocytosis, glutamatergic, GABAergic and cholinergic transmission. *The Hippocampus*: Editor: Per Andersen, Richard Morris, David Amaral, Tim Bliss, John O'Keefe 243-295 (2006).
- [3] W. B. Schmitt, R. Sprengel, V. Mack, R. W. Draft, P. H. Seeburg, R. M. J. Deacon, J. N. P. Rawlins, D. M. Bannerman: Restoration of spatial working memory by genetic rescue of GluR-A deficient mice. *Nature Neuroscience* **8**, 270-272 (2005).
- [4] A. Cetin, S. Komai, M. Eliava, P. H. Seeburg, P. Osten: Stereotaxic gene delivery in the rodent brain. *Nature Protocols* **1**, 3166-3173 (2006).
- [5] D. J. Wallace, S. Meyer Zum Alten Borgloh, S. Astori, Y. Yang, M. Bausen, S. Kügler, A. E. Palmer, R. Y. Tsien, R. Sprengel, J. N. Kerr, W. Denk, M. T. Hasan: Single-spike detection in vitro and in vivo with a genetic Ca(2+) sensor. *Nature Methods* **5**, 797-804 (2008).

