

大鼠海马 CA1 区 β 受体参与长时程增强和空间学习*

季今朝^{①②†} 张雪寒^{①†} 李葆明^{①**}

(①复旦大学神经生物学研究所脑高级功能研究室, 上海 200433; ②中国科学院上海生命科学研究院, 上海 200031)

摘要 在离体海马脑片上, 激活 CA1 区 β 肾上腺素能受体 (β 受体) 易化这一区域突触传递的长时程增强 (LTP). 然而, 在体情况下, CA1 区 β 受体是否参与 LTP 的调控, 是否参与海马依赖性的学习和记忆, 尚无实验证据. 为此, 观察了 β 受体激动剂异丙肾上腺素或拮抗剂心得安对在体 CA1 区 LTP 的调控作用以及对大鼠在 Morris 水迷宫中的空间学习的影响. 正常情况下对突触强度仅有微小调制作用的 10 Hz 的 θ 节律刺激 (每串 150 个脉冲, 1 串), 在 CA1 区局部给予 L-异丙肾上腺素后, 显著地诱导出 LTP, 这一效应被 DL-心得安所阻断; 相反, 正常情况下对突触强度有显著调制作用的 5 Hz 的 θ 节律刺激 (每串 150 个脉冲, 3 串), 在 CA1 区局部给予 DL-心得安后, 诱导出的 LTP 显著地被压抑. 相应地, 训练前 20 min 在 CA1 区注射 DL-心得安, 大鼠在水迷宫中的学习速度显著地慢于对照组大鼠, 训练后 24 h 的空间记忆保持亦相应较差. 以上结果表明, β 受体参与海马 CA1 区的突触可塑性, 且对空间学习重要.

关键词 β 受体 长时程增强 CA1 区 海马 空间学习 大鼠

海马在陈述性学习和记忆中起关键作用^[1]. 海马长时程增强 (long-term potentiation, LTP) 是突触可塑性的一种, 它是学习和记忆的一种突触机制并被广泛地研究^[2-7]. 前人的研究表明, 海马脑片 CA1 区的 LTP 受 β 肾上腺素能系统的调制. 例如, θ 节律刺激 (5 或 10 Hz) 是一种中性频率的刺激, 本身并不能易化 CA1 区的突触效能, 但在 β 受体激动剂 L-异丙肾上腺素存在时, 就能够诱导出非常显著的 LTP^[8-12]. 然而, 尚不清楚在体条件下 CA1 区的 β 受体是否也参与对 LTP 的调控. 更重要的是, CA1 区的 β 受体是否参与海马依赖性的学习, 知之甚少. 为此, 我们观察了 β 受体激动剂 L-异丙肾上腺素和 β 受体拮抗剂 DL-心得安对在体 CA1 区 LTP 的调制作用, 并考察了 CA1 区局部注射 DL-心得安对大鼠在 Morris 水迷宫中空间学习的影响.

1 材料和方法

1.1 动物

实验动物为 Sprague Dawley 大鼠 (雄性, 200~250 g), 购于中国科学院上海实验动物中心.

2002-12-02 收稿, 2003-01-27 收修改稿

* 国家自然科学基金 (批准号: 39970244)、国家自然科学基金杰出青年科学基金 (批准号: 30225023)、上海市科学技术委员会科学研究与发展基金 (批准号: 00JC14040) 和国家重点基础研究规划 (批准号: G1999054000) 资助项目

** 联系人, E-mail: bmli@fudan.edu.cn

† 同等贡献

大鼠饲养在清洁恒温(23 ± 1) $^{\circ}\text{C}$)的动物房, 每笼 1~2 只, 光照模拟自然控制(上午 8:00 开灯, 下午 8:00 关灯), 并提供充足的食物和水. 所有涉及动物的实验均按美国国立卫生研究院(NIH)颁布的“实验动物的照料和使用指南”的要求进行.

1.2 兴奋性突触后电位的记录和 CA1 区局部给药

大鼠用乌拉坦麻醉(1250 mg/kg, 腹腔注射), 固定在立体定位仪上, 体温维持在 37°C . 将不锈钢引导管插到 CA1 区(Bregma 点向后 3.3 mm, 旁开中线 2.5 mm), 用于局部给药^[13]; 引导管外黏有 Teflon 绝缘的不锈钢丝, 其尖端超出引导管 1.0 mm, 定位在 CA1 区的放射层, 用于记录兴奋性突触后场电位(field excitatory postsynaptic potential, fEPSP).

将一根同心圆双极电极同侧插到 Schaffer 侧支通路(Bregma 点向后 4.2 mm, 旁开中线 3.8 mm), 作为刺激电极. 在 Schaffer 侧支通路上每 30 s 给予一个单脉冲刺激(脉冲宽度 50 μs , 强度 110~150 μA). 缓慢、精细地调节刺激电极和记录电极的深度, 直至得到最佳的 fEPSP. 不断改变刺激强度, 得出刺激-反应强度曲线, 把引起最大反应的 55%~65% 的电流强度确定为最适强度, 用于以下实验.

首先, 在 Schaffer 侧支通路上每 1 min 给予单脉冲刺激(脉冲宽度 50 μs), 记录 5 min 基线水平的 fEPSP, 然后, 把药物注射管插入引导管, 其尖端超出引导管 0.8 mm. 把 L-异丙肾上腺素(10 nmol/L, 1 μL)、DL-心得安(17 nmol/L, 1 μL)、L-异丙肾上腺素 + DL-心得安(前者 10 nmol/L, 后者 17 nmol/L, 1 μL), 或无菌生理盐水(1 μL)注射到 CA1 区的放射层, 注药时间持续 20 min. 所有药物购自美国 Sigma 公司, 溶解在无菌生理盐水. 在注药的 20 min 时间里, 持续记录基线水平的 fEPSP. 注药完毕后, 再记录 5 min fEPSP. 然后, 给予 θ 节律刺激(10 Hz, 每串 150 脉冲, 1 串, 或 5 Hz, 每串 150 脉冲, 3 串, 串间间隔 10 min), 连续记录 fEPSP 1~6 h.

1.3 CA1 区 β 受体在空间学习中的作用的为学检测

大鼠用戊巴比妥钠麻醉(40 mg/kg, 腹腔注射). 在背侧海马 CA1 区双侧埋植不锈钢引导管, 位点为 Bregma 点向后 3.3 mm, 旁开中线 1.5 mm, 颅骨平面向下 1.7 mm. 手术后, 引导管内插入实芯不锈钢管作为塞子, 以防感染.

经过 1 周的术后恢复, 大鼠接受 Morris 水迷宫行为学训练, 连续训练 5 d, 每天训练 4 次. 水迷宫为一黑色圆缸, 直径 150 cm, 高 54 cm. 训练时, 缸内水平面的高度为 38 cm, 水温保持在(26 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 并染成不透明. 圆缸内有一直径为 9 cm 的平台, 隐藏在水面下 2 cm, 由于水被染成不透明, 故平台为不可见^[14,15].

每天训练前 20 min 经引导管双侧 CA1 区注射 DL-心得安(17 nmol/L)或无菌生理盐水. 注药时, 取出引导管内的塞子, 插入不锈钢注射管, 其尖端超出引导管 1.0 mm, 即注药位点为颅骨平面下 2.7 mm. 在大鼠自由活动状态下, 以 0.5 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的速度, 每侧注射 1 μL . 注射完毕后, 注射管在引导管中停留 1.0 min, 然后取出, 重新插入塞子.

水迷宫训练和测试的方法同 Sandin 等人^[16]的描述. 隐藏平台位于迷宫东南象限的中央. 每次训练都将大鼠头向缸壁放在东、西、南、北四个出发位点中的一个, 每天每次训练的出发位点按东、南、西、北顺时针改变, 每次训练允许大鼠在缸内游 65 s 寻找隐藏平台. 如果大鼠在 65 s 内成功地找到平台, 就让大鼠在平台上停留 30 s, 然后放回笼内; 如果大鼠在 65 s 内未能找到平台, 则由实验人员将其引导到平台上, 并让其在平台上停留 30 s, 然后放回笼内. 在笼内休息 65 s, 再开始下一次训练.

第 5 天训练完成后 24 h 进行记忆保持能力的测试, 只进行一次测试. 测试时, 将隐藏平台从缸内移走. 大鼠头向缸壁, 从训练时隐藏平台所在象限的对侧象限出发, 让大鼠在缸内游 65 s, 观察大鼠在每个象限中的滞留时间. 记忆保持能力测试结束后再把平台放入缸内, 将平台抬高, 露出水面, 紧接着进行可见平台测试, 共进行 3 次测试. 在 3 次测试中, 大鼠的出发位点随意选取, 一旦选取固定不变, 而可见平台的位置则在 4 个象限中随机改变, 同样, 允许大鼠在缸内游 65 s.

使用摄像机、追踪系统及软件(美国 San Diego 仪器公司产品)记录大鼠在水迷宫中的活动. 通过软件可以直接记录或计算大鼠找到平台所需的时间、所游过的距离及游泳速度.

1.4 组织学检查

大鼠用过量的戊巴比妥钠麻醉后, 先用生理盐水, 然后用 10% 福尔马林溶液通过心脏灌注. 取出大鼠的大脑, 并在 4% 多聚甲醛溶液中低温后固定 1 周以上, 然后放在 30% 蔗糖溶液中至下沉. 将大鼠大脑在冰冻切片机上切成 50 μm 厚的冠状薄片, 薄片贴放在载玻片上, 然后用 thionin 染色.

1.5 统计学分析

对于电生理学实验数据(即兴奋性突触后场电位), 同一组在不同时间点的比较应用配对 t 检验, 不同组在同一时间点的比较应用非配对 t 检验; 对于行为学实验数据, 3 组动物之间是否存在差异, 应用 one-way 或 two-way ANOVA(with a repeated measure)分析总体处理效应, 然后采用 Planned Comparisons 进行 Post hoc 分析, 检验每两组之间是否存在差异. 所有的统计学分析都在 STATISTICA(StatSoft 公司, 美国)软件上进行(正文和图中的所有数据都以平均数 \pm 标准误差表示).

2 结果

2.1 L-异丙肾上腺素易化在体 CA1 区的长时程增强

10 Hz 的 θ 节律刺激(TPS, 每串 150 个脉冲, 1 串)在正常和注射生理盐水的大鼠上诱导出较小的 LTP(图 1(a)); TPS 后 60 min 与 TPS 前 10 min 的 fEPSP 比较, 正常对照组, $T = 2.38$, $P < 0.05$; 生理盐水组, $T = 2.61$, $P < 0.05$; 配对 t 检验). CA1 区注射 L-异丙肾上腺素后, TPS 诱导出显著大的 LTP(图 1(a)); TPS 后 60 min, L-异丙肾上腺素组与正常对照组比较, $T = 2.17$, $P < 0.05$; L-异丙肾上腺素组与生理盐水组比较, $T = 3.19$, $P < 0.01$; 非配对 t 检验). 当 L-异丙肾上腺素和 DL-心得安一同注射时, L-异丙肾上腺素的易化效应不再存在(图 1(a)); TPS 后 60 min, L-异丙肾上腺素 + DL-心得安组与正常对照组比较, $T = 0.82$, $P > 0.05$; L-异丙肾上腺素 + DL-心得安组与生理盐水组比较, $T = 0.37$, $P > 0.05$; 非配对 t 检验). 图 1(b)显示的是每组动物 TPS 前 10 min 和 TPS 后 60 min 时的 fEPSP 波形.

2.2 DL-心得安抑制在体 CA1 区的长时程增强

与上述的 10 Hz θ 节律刺激相反, 5 Hz 的 θ 节律刺激(TPS, 每串 150 个脉冲, 3 串)在对照组和 DL-心得安组都能诱导出非常显著的 LTP(图 2(a)). 对于正常对照组和生理盐水组, 从 TPS 结束后 10 min 就已表现出突触传递效能的显著增强(图 2(a)); TPS 后 10 min 与 TPS 前 10 min 的 fEPSP 比较, 正常对照组, $T = 3.84$, $P < 0.01$; 生理盐水组, $T = 10.75$, $P < 0.001$; 配对 t 检验), 而对于 DL-心得安组, 从 TPS 结束后 60 min 才表现出突触传递效能的显著增强(图 2(a));

TPS 后 60 min 与 TPS 前 10 min 的 fEPSP 比较, DL-心得安组, $T = 2.79, P < 0.05$; 配对 t 检验). 正常对照和生理盐水对照组的 LTP 持续时间超过 6 h, 但 DL-心得安组的 LTP 却随时间延长而逐渐衰减, 在 TPS 后 160 min 开始显著地变小(图 2(a); TPS 后 160 min, DL-心得安组与正常对照组比较: $T = 2.28, P < 0.05$; 与生理盐水组比较, $T = 2.36, P < 0.05$; 非配对 t 检验), 随后, DL-心得安组的 fEPSP 继续变小. 图 2(b)给出了每组动物 TPS 前 10 min 和 TPS 后 160 min 时的 fEPSP 波形.

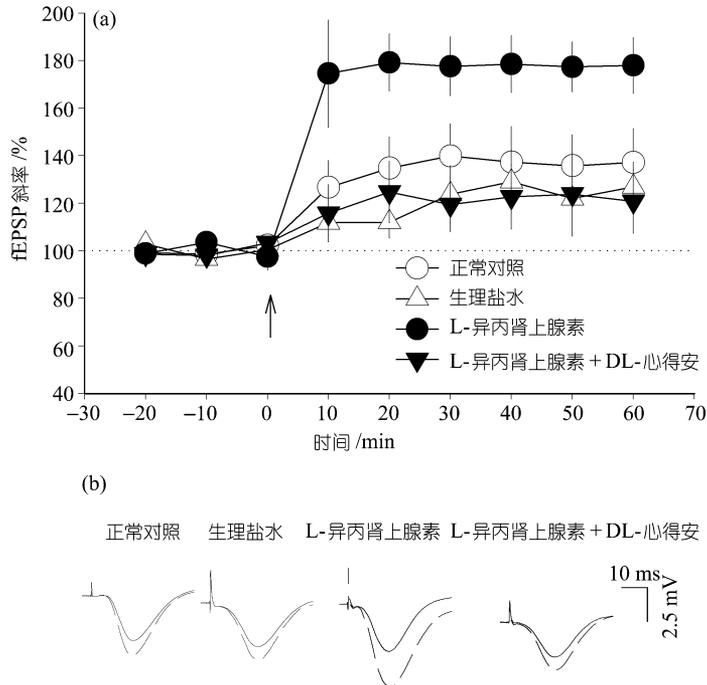


图 1 L-异丙肾上腺素对海马 CA1 区长时程增强(LTP)的作用

(a) θ 节律刺激(TPS; 10 Hz, 每串 150 个脉冲, 1 串)在正常对照组和生理盐水组大鼠诱导出较小的 LTP; CA1 区注射 L-异丙肾上腺素后, TPS 诱导显著大的 LTP, 同时给予 DL-心得安时, L-异丙肾上腺素的易化效应被阻断. 垂直箭头示 θ 节律刺激. 正常对照组 8 只大鼠, 生理盐水组 6 只大鼠, L-异丙肾上腺素组 7 只大鼠, L-异丙肾上腺素 + DL-心得安组 6 只大鼠. (b) 每组动物 TPS 前 10 min 和 TPS 后 60 min 时的 fEPSP 波形. 实线示 TPS 前 10 min 时的 fEPSP, 虚线示 TPS 后 60 min 时的 fEPSP

2.3 DL-心得安损害大鼠在水迷宫中的空间学习能力

经过 5 d 训练, 3 组大鼠在水迷宫中的空间学习能力有显著性差异(图 3(a); $F(2,21) = 10.96, P < 0.001$; two-way ANOVA). 与对照组大鼠相比, CA1 区注射 DL-心得安的大鼠的学习速度显著地慢(图 3(a); DL-心得安组与正常对照组比较, $F(1,21) = 18.14, P < 0.001$; DL-心得安组与生理盐水组比较, $F(1,21) = 14.54, P < 0.01$; Planned Comparisons). 从第 3 个训练日起, DL-心得安组与对照组比较, 需要显著长的时间才能找到隐藏平台(图 3(a); 第 3 天: DL-心得安组与正常对照组比较, $F(1,21) = 9.78, P < 0.01$; 与生理盐水组比较, $F(1,21) = 8.07, P < 0.01$; 第 4 天: DL-心得安组与正常对照组比较, $F(1,21) = 9.89, P < 0.01$; 与生理盐水组比较, $F(1,21) = 10.94, P < 0.01$; 第 5 天: DL-心得安组与正常对照组比较, $F(1,21) = 9.38, P < 0.01$; 与生理盐水组比较, $F(1,21) = 7.83, P < 0.05$; one-way ANOVA, Planned Comparisons). 在 5 个训练日内, 3 组大鼠的

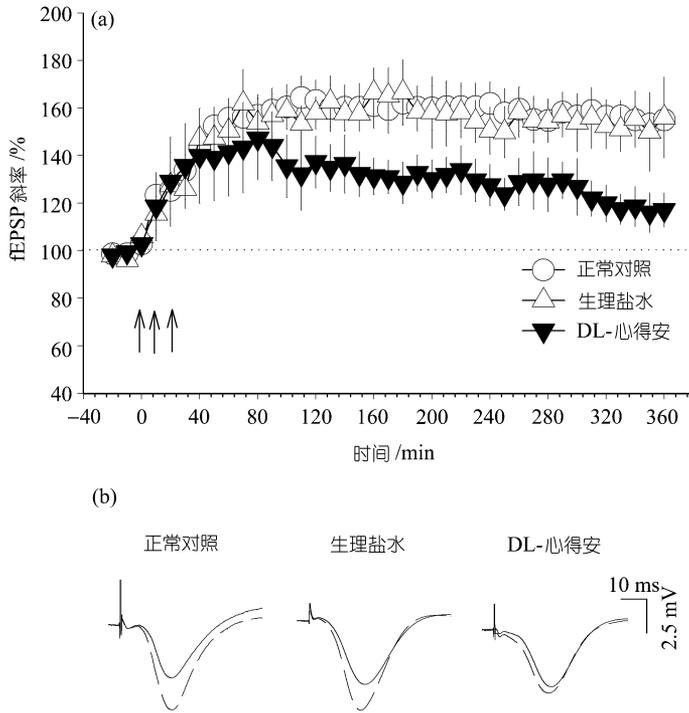


图 2 DL-心得安对海马 CA1 区长时程增强(LTP)的作用

(a) θ 节律刺激(TPS; 5 Hz, 每串 150 个脉冲, 3 串) 在正常对照组和生理盐水组大鼠诱导出很大的 LTP. CA1 区注射 DL-心得安后, LTP 被显著地抑制. 垂直箭头示 θ 节律刺激. 正常对照组 7 只大鼠, 生理盐水组 5 只大鼠, DL-心得安组 5 只大鼠. (b) 每组动物 TPS 前 10 min 和 TPS 后 160 min 时的 fEPSP 波形. 实线示 TPS 前 10 min 时的 fEPSP, 虚线示 TPS 后 160 min 时的 fEPSP

游泳速度没有显著性差别(图 3(b); $F(2,21) = 0.03, P = 0.97$, two-way ANOVA).

在 24 h 记忆保持能力的测试中, 3 组大鼠在目标象限中的搜寻时间有显著差异(图 3(c); $F(2,21) = 4.17, P < 0.05$; one-way ANOVA). DL-心得安组大鼠在目标象限中搜寻的时间显著地少于对照组大鼠(图 3(c); DL-心得安组与正常对照组比较, $F(1,21) = 6.48, P < 0.05$; DL-心得安组与生理盐水组比较, $F(1,21) = 6.02, P < 0.05$; Planned Comparisons). 在此测试中, 3 组大鼠的游泳速度没有显著差别(图 3(d); $F(2,21) = 0.36, P = 0.70$, one-way ANOVA). 图 3(e)为记忆保持测试中 3 组大鼠的代表性游泳轨迹. 在可见平台测试中, 3 组大鼠的成绩一样好(图 3(f); $F(2,21) = 0.30, P = 0.74$, two-way ANOVA).

图 4(a)显示的是生理盐水和 DL-心得安在 CA1 区的代表性注射位点, 图 4(b)是一张 DL-心得安注射位点照片的缩版.

3 讨论

本研究的主要结果如下: (i) CA1 区局部注射 L-异丙肾上腺素易化在体长时程增强, 而 DL-心得安则抑制长时程增强; (ii) CA1 区局部注射 DL-心得安损害大鼠在水迷宫中的空间学习能力. 这些结果表明, 海马 CA1 区的 β 受体参与对在体突触可塑性的调控, 同时参与依赖于海马的学习过程.

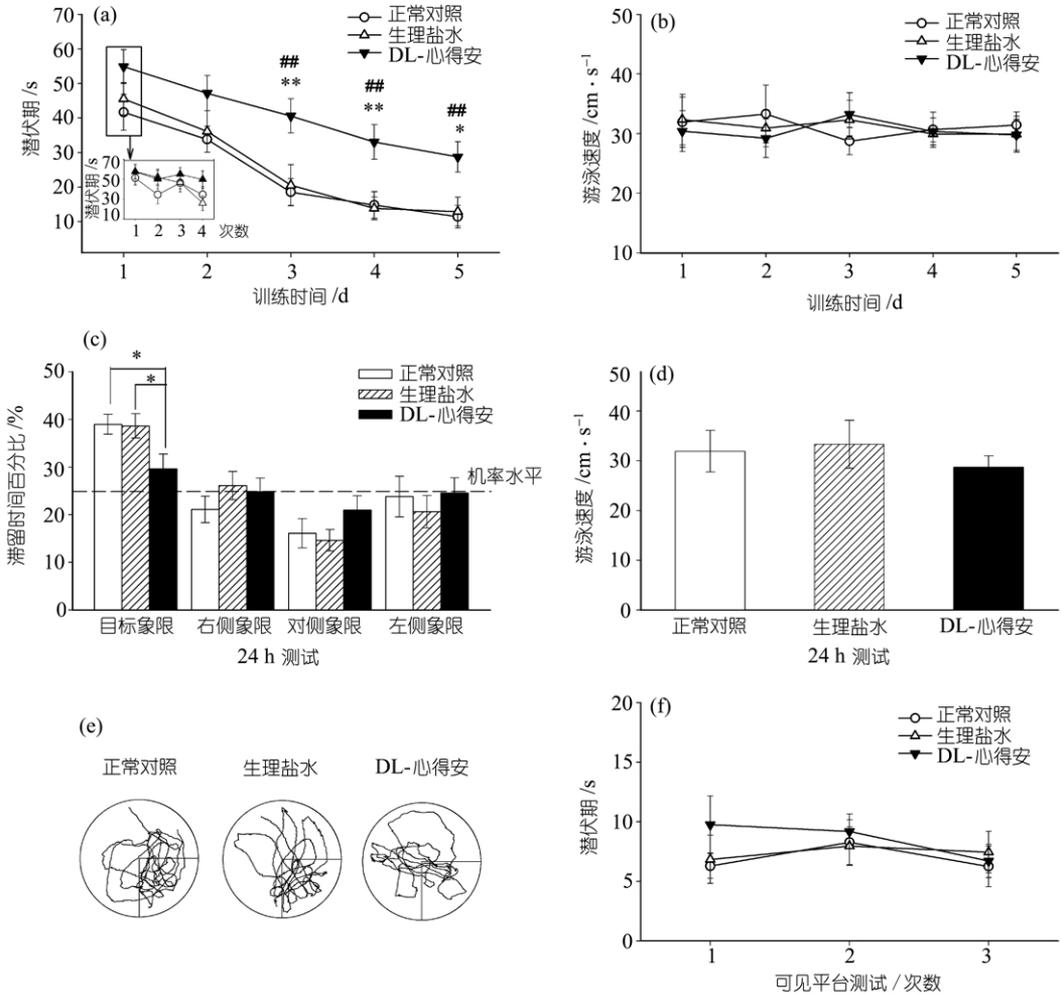


图 3 DL-心得安对大鼠在水迷宫中空间学习能力的影响

(a) 5 个训练日中每组大鼠找到平台所需的时间(小插图示 3 组大鼠在第 1 个训练日 4 次训练中的成绩). (b) 5 个训练日中大鼠的游泳速度. (c) 24 h 记忆保持能力测试中大鼠在 4 个象限中搜寻的时间. (d) 24 h 记忆保持能力测试中大鼠的游泳速度. (e) 24 h 记忆保持能力测试中每组大鼠的代表性游泳轨迹. (f) 可见平台测试中每组大鼠找到平台所需的时间, 每组有 8 只大鼠.

* 示 $P < 0.05$, ** 示 $P < 0.01$, DL-心得安组与生理盐水组相比; ## 示 $P < 0.01$, DL-心得安组与正常对照组相比

大量研究表明, 杏仁核(尤其是杏仁核的基底外侧核)中的 β 受体参与对情绪唤起经验相关的记忆巩固^[17,18]. 然而, 关于海马 β 受体在学习和记忆中的作用缺乏有力的行为学证据. 本工作作为海马 CA1 区 β 受体参与空间学习提供了重要的行为学证据. 在很多关于海马 CA1 区的突触可塑性研究中, 使用高频强直刺激诱导 LTP, 然而, θ 节律刺激(TPS)比高频强直刺激诱导的 LTP 更符合生理学意义. TPS 和 β 受体激活相结合也许正是动物学习过程中海马内所发生的情况. 以往关于 β 受体对 TPS 诱导的 LTP 的调节的研究几乎都是在海马脑片上进行的, 本工作在在体条件下, 通过 TPS 诱导 CA1 区的 LTP, 并对它的 β 受体调控作用进行了观察.

DL-心得安引起的空间学习和记忆能力受损, 不可能是由于动物的感觉运动能力受损或其他一些非特异性因素造成的. 首先, 注射 DL-心得安的大鼠在训练过程和 24 h 记忆保持能力

测试中, 游泳能力没有受损; 其次, 注射 DL-心得安的大鼠与对照组大鼠在可见平台测试中表现的一样好. 因此, 我们认为, DL-心得安通过阻断 β 受体活性影响了空间学习能力, 从而导致记忆巩固受损.

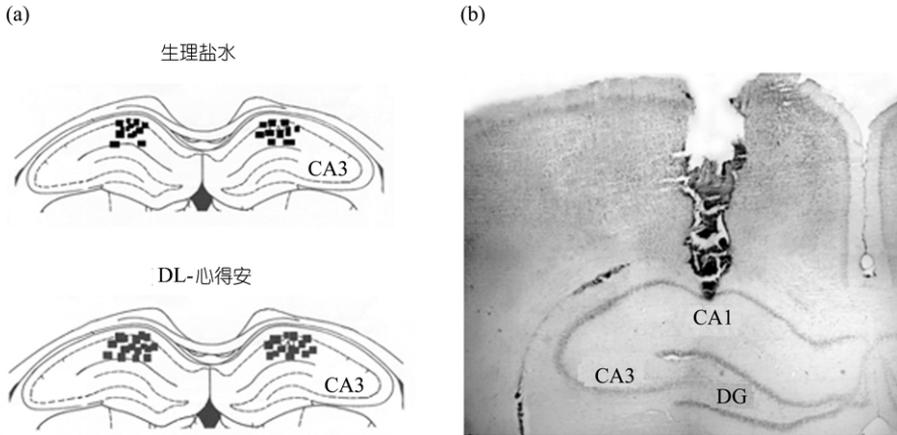


图 4 行为学实验中 DL-心得安和生理盐水在 CA1 区的代表性注射位点((a))和 DL-心得安在 CA1 区的一个注射位点的照片缩版(b)

β 受体和 G 蛋白耦联, 从而调节腺苷酸环化酶的活性. 刺激 β 受体增加胞内 cAMP 的水平, 而阻断 β 受体则降低胞内 cAMP 的水平. 因此, 刺激或阻断 β 受体可调节 PKA 和/或 MAP 激酶 (MAPK) 的活性, 从而调节核内 cAMP 反应因子结合蛋白 (CREB) 的活性. 这一机制可以解释 L-异丙肾上腺素和 DL-心得安对 CA1 区 LTP 的调制以及 DL-心得安损害大鼠空间学习的效应. 事实上, 前人的很多研究表明, CA1 区 cAMP-PKA-CREB (或 cAMP-PKA-MAPK-CREB) 信号通路对 LTP, 学习和记忆是必不可少的^[19-25].

致谢 感谢徐开静在本工作中给予的技术协助.

参 考 文 献

- 1 Squire L R. Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans. *Psychol Rev*, 1992, 99(2): 195-231
- 2 Bliss T V, Collingridge G L A. Synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*, 1993, 361(6407): 31-39
- 3 Eichenbaum H, Otto T. LTP and memory: can we enhance the connection? *TINS*, 1993, 16(5): 163-164
- 4 Malenka R C, Nicoll R A. Long-term potentiation--a decade of progress? *Science*, 1999, 285(5435): 1870-1874
- 5 Martin S J, Grimwood P D, Morris R G M. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis. *Annu Rev Neurosci*, 2000, 23: 649-711
- 6 Morris R G M. Synaptic plasticity and learning: selective impairment of learning rats and blockade of long-term potentiation *in vivo* by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist AP5. *J Neurosci*, 1989, 9(9): 3040-3057
- 7 Stevens C F. A million dollar question: does LTP = memory? *Neuron*, 1998, 20(1): 1-2
- 8 Brown G P, Blitzer R D, Connor J H, et al. Long-term potentiation induced by theta frequency stimulation is regulated by a protein phosphatase-1-operated gate. *J Neurosci*, 2000, 20(21): 7880-7887

- 9 Giovannini M G, Blitzer R D, Wong T, et al. Mitogen-activated protein kinase regulates early phosphorylation and delayed expression of Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II in long-term potentiation. *J Neurosci*, 2001, 21(18): 7053~7062
- 10 Katsuki H, Izumi Y, Zorumski C F. Noradrenergic regulation of synaptic plasticity in the hippocampal CA1 region. *J Neurophysiol*, 1997, 77(6): 3013~3020
- 11 Thomas M J, Moody T D, Makhinson M, et al. Activity-dependent beta-adrenergic modulation of low frequency stimulation induced LTP in the hippocampal CA1 region. *Neuron*, 1996, 17(3): 475~482
- 12 Winder D G, Martin K C, Muzzio I A, et al. ERK plays a regulatory role in induction of LTP by theta frequency stimulation and its modulation by beta-adrenergic receptors. *Neuron*, 1999, 24(3): 715~726
- 13 Paxinos G, Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 1986
- 14 Morris R G M, Garrud P, Rawlins J N, et al. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 1982, 297(5868): 681~683
- 15 Morris R G M, Anderson E, Lynch G S, et al. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5. *Nature*, 1986, 319(6056): 774~776
- 16 Sandin J, Nylander I, Georgieva J, et al. Hippocampal dynorphin B injections impair spatial learning in rats: a kappa-opioid receptor-mediated effect. *Neuroscience*, 1998, 85(2): 375~382
- 17 McGaugh J L, Cahill L, Roozendaal B. Involvement of the amygdala in memory storage: interaction with other brain systems. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(24): 13508~13514
- 18 Ferry B, Roozendaal B, McGaugh J L. Role of norepinephrine in mediating stress hormone regulation of long-term memory storage: a critical involvement of the amygdala. *Biol Psychiatry*, 1999, 46(9): 1140~1152
- 19 Abel T, Nguyen P V, Barad M, et al. Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory. *Cell*, 1997, 88(5): 615~626
- 20 Blum S, Moore A N, Adams F, et al. A mitogen-activated protein kinase cascade in the CA1/CA2 subfield of the dorsal hippocampus is essential for long-term spatial memory. *J Neurosci*, 1999, 19(9): 3535~3544
- 21 Schafe G E, Nadel N V, Sullivan G M, et al. Memory consolidation for contextual and auditory fear conditioning is dependent on protein synthesis, PKA, and MAP Kinase. *Learn Mem*, 1999, 6(2): 97~110
- 22 Selcher J C, Atikins C M, Trzaskos J M, et al. A necessity for MAP kinase activation in mammalian spatial learning. *Learn Mem*, 1999, 6(5): 478~490
- 23 Silva A J, Kogan J H, Frankland P W, et al. CREB and memory. *Annu Rev Neurosci*, 1998, 21: 127~148
- 24 Impey S, Obrietan K, Storm D R. Making new connections: role of ERK/MAP kinase signaling in neuronal plasticity. *Neuron*, 1999, 23(1): 11~14
- 25 Kandel E R. *The molecular biology of memory storage: A dialogue between genes and synapses*. *Science*, 2001, 294(5544): 1030~1038