一過性虚血による遅発性網膜神経細胞死における NMDA 型受容体の役割

新潟大学医学部眼科学教室
（主任・阿部春樹教授）
橋　本　　薫

The Role of the NMDA Receptor Channel Subunit for the Delayed Retinal Cell Death Induced by Transient Ischemia

Kaoru HASHIMOTO

Department of Ophthalmology,
Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Haruki ABE)

Abstract

It is well known that transient ischemic insult induces delayed neuronal cell death in the retina, probably due to disturbance of Ca^{2+} homeostasis triggered by excessive amounts of excitatory amino acids through glutamate recepter channels. To clarify how NMDA receptor channels are involved in the delayed neuronal cell death in the retina, we used the Glu R ε 1 (NR 2 A) and GluR ε 2 (NR 2 B) subunits knockout mice for ischemia-reperfusion experiments. Transient retinal ischemia was generated by raising intraocular pressure up to about 120mmHg for 45-60 minutes under anesthesia. In the wild type, almost all the retinal ganglion cells were lost at 14 days after the insult. The number of cells in the inner nuclear layer and the thickness of the inner plexiform layers were also signifcantly decreased. In the GluR ε 1 knockout mice, however, the extent of cell degeneration was lower than in the wild type under the same ischemic condition. In contrast, in the GluR ε 2 knockout mice, no cell degeneration was observed by day 3, but after day 7, they presented severe degeneration as that seen in the wild type. These results suggest that the NMDA recepter channel subunits, especially GluR ε 1 subunit, may have a direct role in the mechanism of retinal neuronal cell death.

Key words: NMDA recepter channel, ε subunit, delayed cell death, ischemia-reperfusion experience, knockout mouse

Reprint requests to: Kaoru HASHIMOTO
Department of Ophthalmology
Niigata University School of Medicine
1-757 Asahimachi-dori,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510　新潟市旭町通り 1-757
新潟大学医学部眼科学教室　　橋 本　薫

はじめに

グルタミン酸は主要な興奮性神経伝達物質の一つであり，グルタミン酸受容体チャネルを介して，中枢神経系における速いシナプス伝達を担う．この受容体チャネルには，いくつかのサブタイプが存在するが，その一つであるNMDA（N-methyl-D-aspartate）型受容体は，高いカルシウム透過性と電位依存性の活性調節という特性を持ち，シナプス伝達の可塑性や，記憶や空間学習などの脳高次機能に関与することが示されている[1]．近年，虚血状態で過剰分泌されるグルタミン酸により誘導される細胞内カルシウム濃度の増加が神経細胞死を引き起こしていることが指摘され，様々な分野においてその機序の解析が進められている．眼科領域においても，視機能予後に重要な影響を与える緑内障や網膜血管閉塞等によって生ずる網膜神経細胞死に，グルタミン酸が関与しているという報告がなされてきた[2]．例えば高カルシウム状態の培養液中の神経節細胞がその阻害剤であるMK-801の投与によって細胞死が抑制されることが報告されている[3]．しかし，一方，APVではその効果を認めなかった[4)5)]という報告もあり，その真相は明確ではない．いずれにしても，これらの実験は間接的なもので，その分子機序は不明のままであり，現在もその根本的な証明なしに議論がなされている状態である．

本研究の目的は，NMDA型グルタミン酸受容体が網膜神経細胞死にどのように関与しているのかを分子レベルで明らかにすることである．このために，NMDA型受容体を構成しているサブユニットのうち網膜に局在しているGluRε1及びε2サブユニット遺伝子を欠損したマウスを用いて一過性の眼虚血負荷モデルを作製した．これらモデルマウス網膜の病変を組織学的に検索し，NMDA型受容体が網膜神経細胞死にどのように関与するかを検討した．

材料と方法

動物

週齢6～12週，体重20～25gのNMDA型受容体GluRε1及びε2サブユニットをそれぞれ遺伝子的に欠損したマウスを使用した[1)6)]．対照として遺伝子背景を同一にするC57BL/6マウスを使用した．なお，遺伝子欠損マウスはC57BL/6と10代以上バッククロスさせたものを使用した．また，使用したマウスは全てサザンブロッティング法により遺伝子型を確認した．但し，GluRε2サブユニットを完全に欠損すると，吸啜反射が消失するため生後24時間以内に死亡してしまう[6]．このため，このサブユニットの解析にはサブユニットの発現量が約半分に減少しているヘテロタイプのマウスを用いた．また，その比較対照としてGluRε1サブユニットのヘテロ欠損マウスを用いた．

虚血・再灌流モデル

ペントバルビタール（ネンブタール）腹腔内注射（75mg/kg）により全身麻酔したマウスを固定する．点眼麻酔（0.5%塩酸オキシブプロカイン）を施した片眼の前房内に30G針を挿入し，高さ150cmに設置した生理的食塩水より約120mmHgの高眼圧を45～60分間負荷した[7)-9)]．他眼はコントロールとした．高眼圧によって生じた虚血は，網膜血管が蒼白化していることを直接眼底を観察することにより確認した．また，実験中はネンブタールによる体温低下と，それに基づく神経保護作用を回避するために，ホットプレートを用いてマウスを保温した．

組織学的評価

一定時間後に高眼圧負荷を解除し，経時的に経過観察を行った．経過観察期間は3日，7日，14日とした．なお，高眼圧負荷中に前房内より房水や生理的食塩水の漏出が認められたもの，また経過観察期間中に眼内炎等の感染症が認められた場合は対象より除外した．経過観察期間後，全身麻酔を施したマウスを4%パラホルムアルデヒド（pH 7.4）を用いて全身灌流固定した後に眼球を摘出し，角膜及び虹彩と水晶体を除去してから4%パ

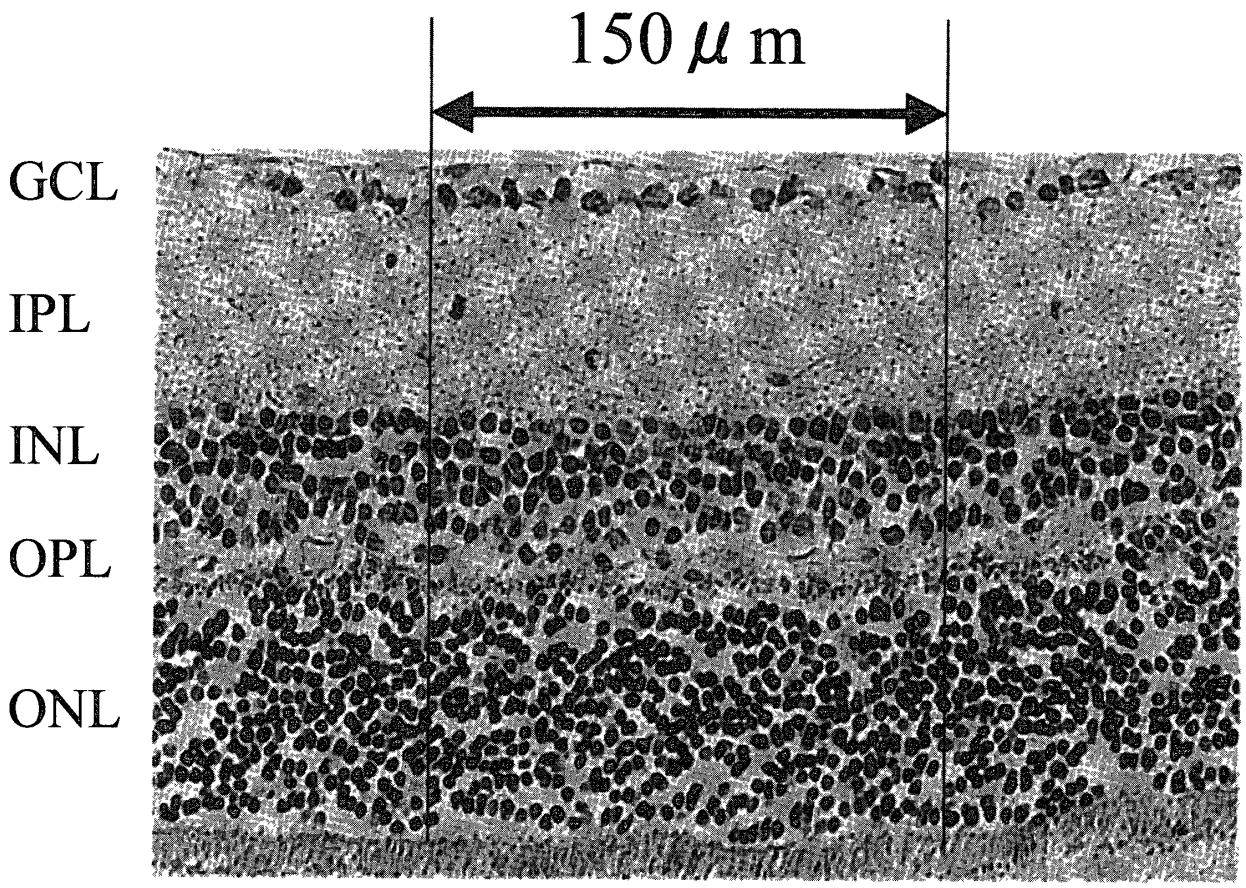

図1　マウス網膜における各層神経細胞数の計測方法を示す．150μmの範囲内にある各層の神経細胞を計測した．400倍で撮像した場合，写真上では6cmの範囲に相当する．同一領域を3回計測し，その平均値をその網膜における細胞数とした．
GCL，神経節細胞，IPL；内網状層，INL；内顆粒層，OPL；外網状層，ONL；外顆粒層．

ラホルムアルデヒド（pH 7.4）を用いて4時間の後固定を行った．以降，常法により4μm厚の網膜断層のパラフィン切片を作製した．網膜上の観察部位を一定にするために，視神経より約1mm耳側における網膜断層切片を選択した．

網膜神経細胞数を計測するために，ヘマトキシリン－エオシン染色を施行した．また，壊死する細胞がアポトーシスの機序によるものであることを検索するために，TUNEL（TdT-dUTP nick end labeling）染色を施行した．

病変の定量的評価

虚血負荷前後の網膜神経細胞の変化を定量化するために，ヘマトキシリン－エオシン染色で得られた網膜切片を顕微鏡（400倍）で撮像し，その像の一定領域における各網膜神経細胞数，すなわち神経節細胞，内顆粒層細胞，外顆粒層細胞を計測した（**図1**）．それぞれの変化率はt検定を用いいて統計学的に評価した．なお，危険率5％未満を有意とした．

結　　果

GluRε1，ε2サブユニット欠損マウス網膜は正常である．

6週齢のGluRε1完全欠損，ε2サブユニットヘテロ欠損マウスと野生型マウスの網膜を比較した．その結果，神経節細胞，内顆粒層細胞，外顆粒層細胞の密度及びその形態には各群マウス間の差異を認めなかった．また，内，外網状層の組織学的な相違点も全く認めなかった（**図2A，2E，図4A，**

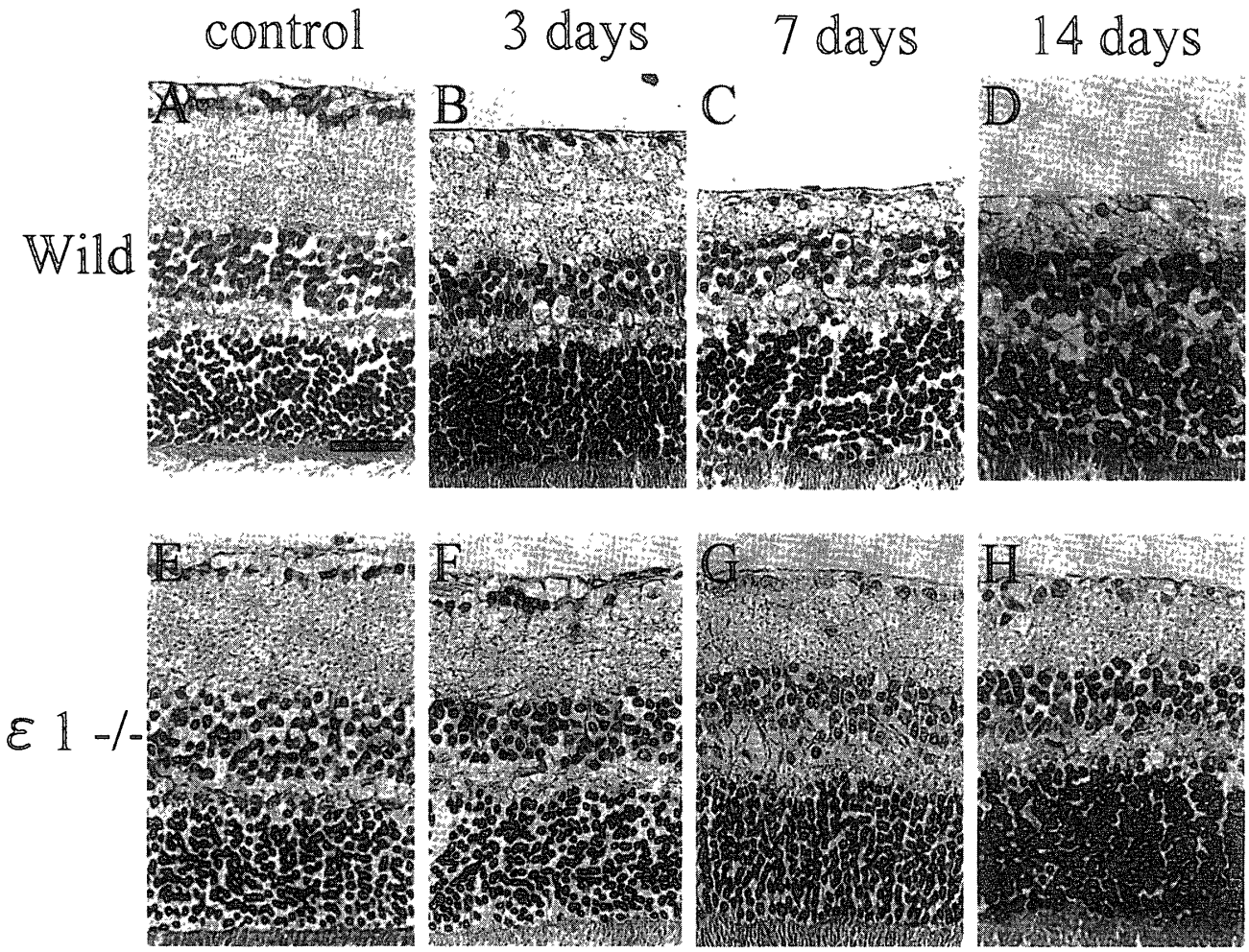

図2　虚血負荷後における各群マウス網膜の変化．野生型（A, B, C, D），GluR ε 1 完全欠損（ε 1－/－）（E, F, G, H）の網膜を，コントロール（A, E），3日後（B, F），7日後（C, G），14日後（D, H）で示している．ヘマトキシレン－エオシン染色．光学顕微鏡400倍．スケールバーは25μm を示す．

4E）．

GluR ε 1 サブユニット完全欠損マウスは一過性虚血負荷後の神経節細胞死が抑制されていた．

GluR ε 1 サブユニット完全欠損マウスとその対照の野生型マウス（C57BL/6）に60分間の一過性虚血を負荷した．野生群の網膜神経節細胞は虚血解除3日後から著明に減少し（**図2B**），7日後ではさらに減少した（**図2C**）．また，内網状層の菲薄化を認めた．14日後では，神経節細胞はほぼ消失し，内顆粒層細胞も相当量が減少しており，内，外網状層もほとんど確認できなかった（**図2D**）．HPC-1免疫染色を用いて内網状層の変化を観察した結果，野生型マウスの内網状層は経過観察期間を通じて減少し，14日後ではほぼ消失していた．また，内網状層の厚みと内顆粒層細胞の減少から，アマクリン細胞が欠失したことが予想される．また，14日後になると，外顆粒層細胞も若干の減少がみられた．これに対し，GluR ε 1 サブユニット完全欠損マウスは，3日後，7日後で組織学的変化をほとんど認めなかったが，14日後には神経節細胞と内，外顆粒細胞のいずれでも僅かな減少が起こった（**図2F－H**）．これらの組織学的変化を定量的に評価するために，網膜各層の細胞数を計測した（**表1**）．さらに 部位の違いによる細胞密度の変化を補正するために，ほとんど変化がおこらない外顆粒細胞（視細胞）数を基準

表1　一過性虚血による網膜神経細胞壊死におけるNMDA受容体εサブユニット欠損の効果．各群マウスの特定領域における神経細胞数．各経過観察期間における網膜を光学顕微鏡を用いて400倍で撮像した網膜像の150μmの範囲にある神経節細胞，内顆粒層細胞，及び外顆粒層細胞数を計測し，その平均値を求めた（mean±SD）．表中の括弧は計測したマウスの数を示している．

genotype	eye	days after reperfusion (d)					
		3		7		14	
		GCL	ONL	GCL	ONL	GCL	ONL
C57BL/6	Rt (control)	16.0±1 41 (8)	353.0±29 7 (8)	18.67±3.05 (6)	373 7±21.5 (6)	16.6±3.78 (8)	339.5±10.6 (8)
	Lt (treated)	9.5±2.38 (8)	351.5±28.4 (8)	2.75±0.96 (6)	263.0±11.3 (6)	3.38±1.51 (8)	305.3±18.1 (8)
GluRε1-/-	Lt	15.7±0.58 (6)	377.3±19 7 (6)	14.0±1.83 (5)	341.8±19.6 (5)	17 9±3.67 (10)	313.3±33.8 (10)
GluRε1+/-	Lt	17.3±1.71 (4)	292.5±7.32 (4)	12.5±2 15 (12)	339 1±29.6 (12)	6.88±4.05 (8)	231.5±43.2 (8)
GluRε2+/-	Lt	17.5±3.80 (11)	305.8±31 3 (11)	2.83±1.17 (6)	256.5±32.9 (6)	1 00±0.00 (14)	163.8±28.3 (14)

mean ± SD (n)

表2　一過性虚血による網膜神経細胞壊死におけるNMDA受容体εサブユニット欠損の効果．各群マウスの（神経節細胞/外顆粒層細胞）比（%）を示している．Table 1より，虚値負荷後に最も変化の少なかった外顆粒層細胞を基準にして，神経節細胞数の変化率を求めた．

genotype	ischemic time (min)	days after reperfusion (d)		
		3	7	14
C57BL/6	0	4.54±0.30 (8)	5.02±0.91 (6)	4.85±1.38 (6)
	60	2.74±0.81 (8)	1.05±0.40 (6)	1.10±0.48 (8)
GluRε1 -/-	60	4.15±0.07 (6)	4.09±0.42 (5)	5.70±1.04 (10)
GluRε1 +/-	45	5.91±0.71 (4)	3.70±0.65 (12)	3.33±2.40 (8)
GluRε2 +/-	45	5.60±1.21 (11)	1.13±0.55 (6)	0.62±0.10 (14)

mean ± SD (n)

として，神経節細胞の変化率（神経節細胞/外顆粒層細胞×100；GCL/ONL比）を算出した（**表2**）．また，遺伝子欠損マウスの網膜神経細胞の変化は，野生型マウスを基準として比較した．その結果，野生型マウスはコントロール眼が16.0±1.41より9.50±2.38（n＝8）と虚血解除3日から統計学的に有意な神経節細胞の減少を示した（$p<0.05$，**図3**）．14日後では，神経節細胞数はほぼ消失し（3.38±1.51；コントロール），GCL/ONL比は4.85±1.38から1.10±0.48にまで減少した．なお，全

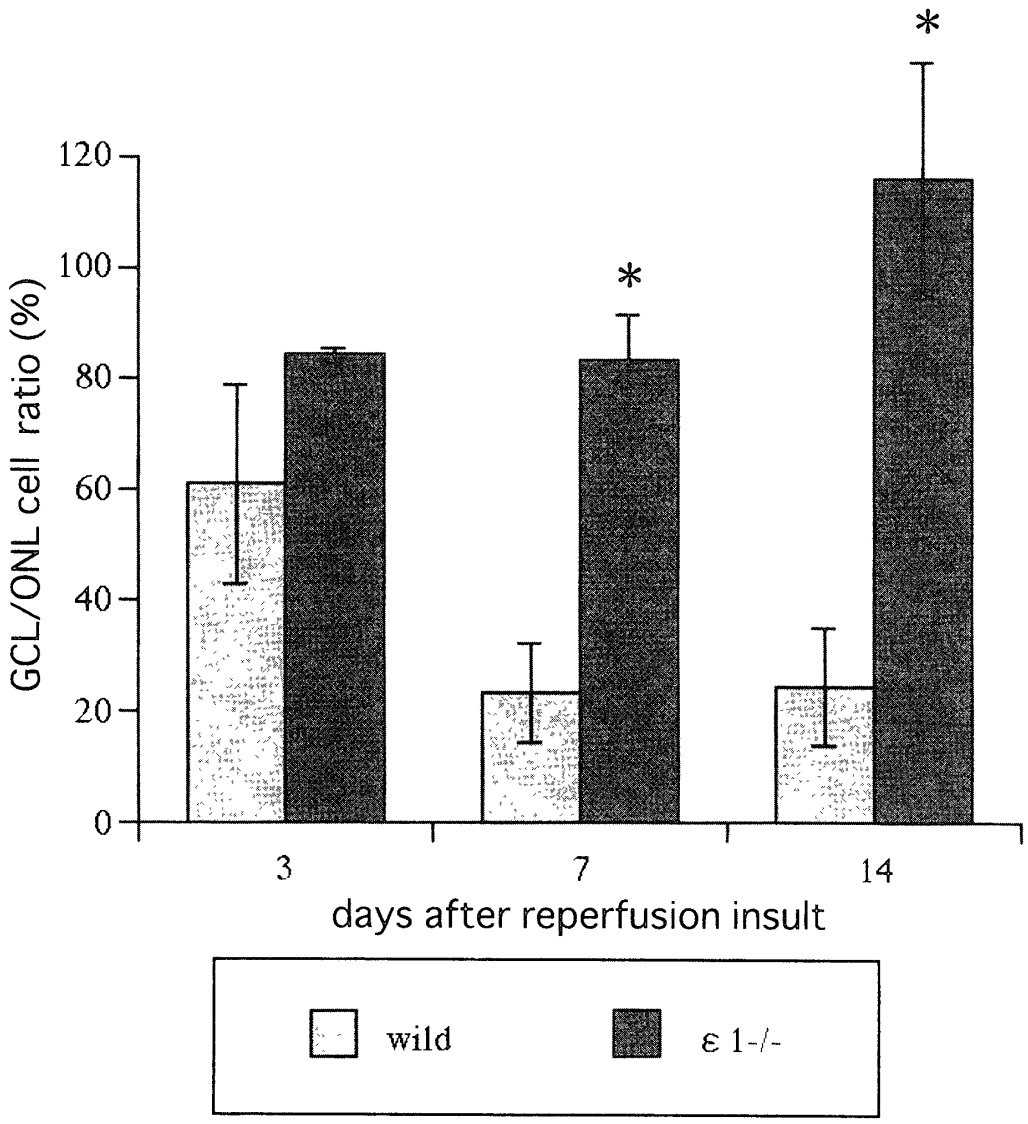

図 3　虚血負荷後における野生型，及び GluR ε 1 完全欠損マウスの網膜神経細胞の変化率（GCL/ONL比）. Table 2 より作成　グラフ中の＊は，野生型マウスの値を基準に，t 検定にて 5 % 未満の有意差を認めたものを示す.

観察期間を通して非虚血群における GCL/ONL 比の平均値は 4.78±0.90 であった. これに対し，GluR ε 1 完全欠損マウスは，14日時点で，神経節細胞数は 17.9±3.67 と有意に減少せず，また，GCL/ONL 比も 5.70±1.04 と，非虚血群と有意な差を認めなかった. 内顆粒層細胞は統計学的に有意な変化を認めないものの，減少傾向を示した. 以上の結果より，GluR ε 1 サブユニット完全欠損マウスでは一過性虚血により神経節細胞及び内顆粒細胞数の壊死が抑制されることが明らかになった. しかも，経過観察期間が長くなるにつれ，神経節細胞及び内顆粒細胞数は変化しないにも関わらず外顆粒層細胞数が減少することから，GCL/ONL 比は逆に増加傾向を示した（図 3）.

GluR ε 1 サブユニットと GluR ε 2 サブユニットは一過性虚血負荷に対する感受性が異なる.

次に虚血に対する GluR ε 2 サブユニットの果たす役割を評価するために GluR ε 2 サブユニットヘテロ欠損マウスと，対照として野生型マウス及び GluR ε 1 サブユニットを GlUR ε 2 サブユニッ

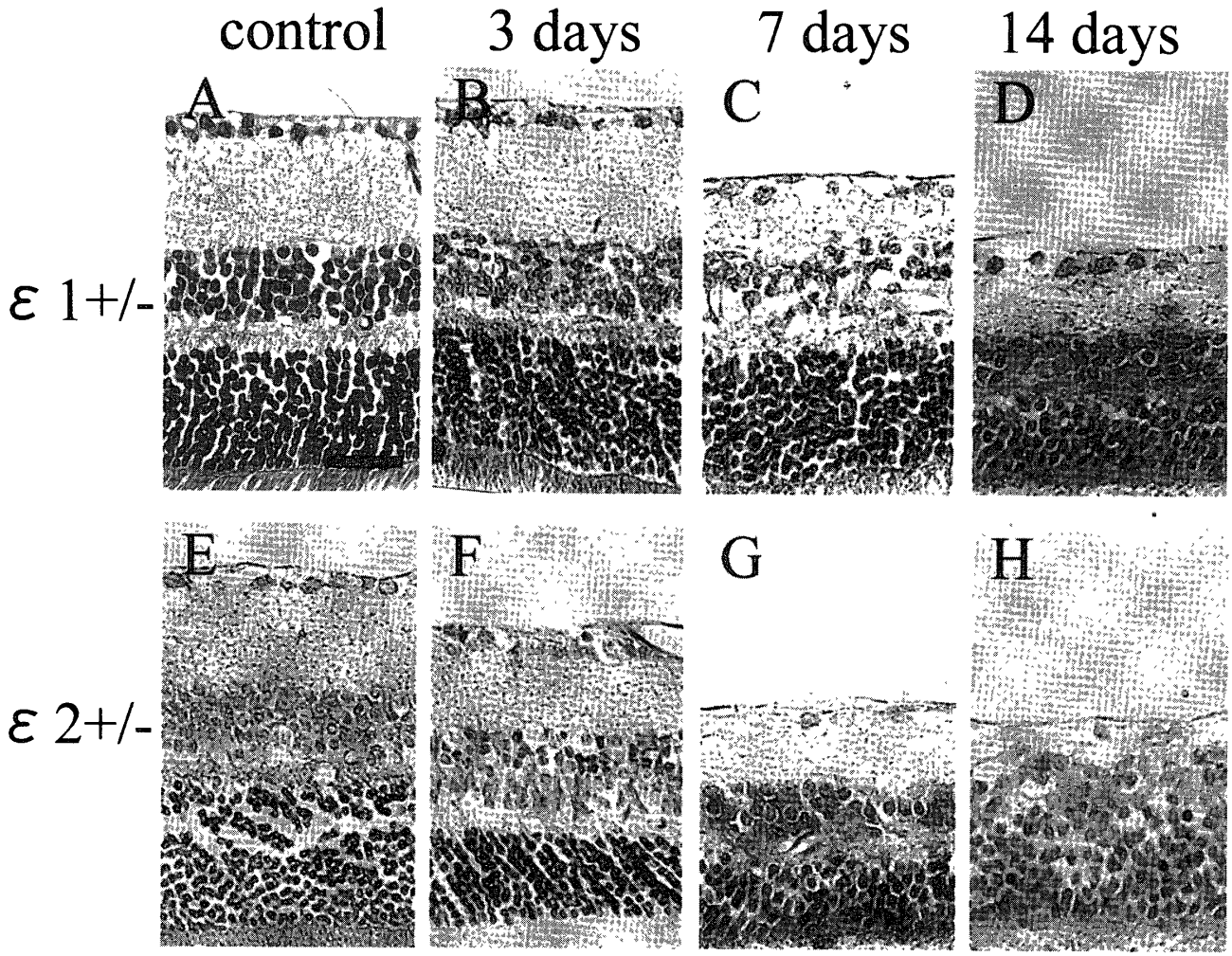

図4　虚血負荷後における各群マウス網膜の変化. GluRε1ヘテロ欠損マウス（ε1+/−）(A, B, C, D), GluRε2ヘテロ欠損マウス（ε2+/−）(E, F, G, H) の網膜を, コントロール (A, E), 3日後 (B, F), 7日後 (C, G), 14日後 (D, H) で示している. ヘマトキシレン－エオシン染色. 光学顕微鏡400倍. スケールバーは25μmを示す.

トと同様にヘテロ欠損させたマウスを用いて比較した. 各サブユニットをヘテロ欠損にすることにより, 網膜上におけるそれらサブユニットの発現量は半量となる. 生後24時間以内で致死してしまうGluRε2サブユニット完全欠損マウスを実験に用いることは不可能であるが, 発現量を半量にしたヘテロ欠損マウスであれば生存が可能であるために評価することができると考えた. 前述のGluRε1完全欠損マウスと同様に, 60分間の一過性虚血を負荷すると, 網膜神経細胞の壊死の程度は各群間で全く差異を認められなかったため, 虚血負荷時間を45分に減少させた. その結果, GluRε2サブユニットヘテロ欠損マウスは, 虚血解除3日後では網膜細胞の変化はあまり認めなかったが (**図4F**), 7日後以降では急激に減少し, 14日後ではほとんどの神経節細胞及び内顆粒細胞の消失を見た (**図4G, 4H**) 一方, GluRε1サブユニットヘテロ欠損マウスは, 3日後では変化を認めなかったが (**図4B**), 7日後より僅かな減少を認めた (**図4C**). 14日後に神経節細胞及び内顆粒層細胞の減少と内網状層の菲薄化を認めたが, その程度は野生型より軽度であった (**図4D**).

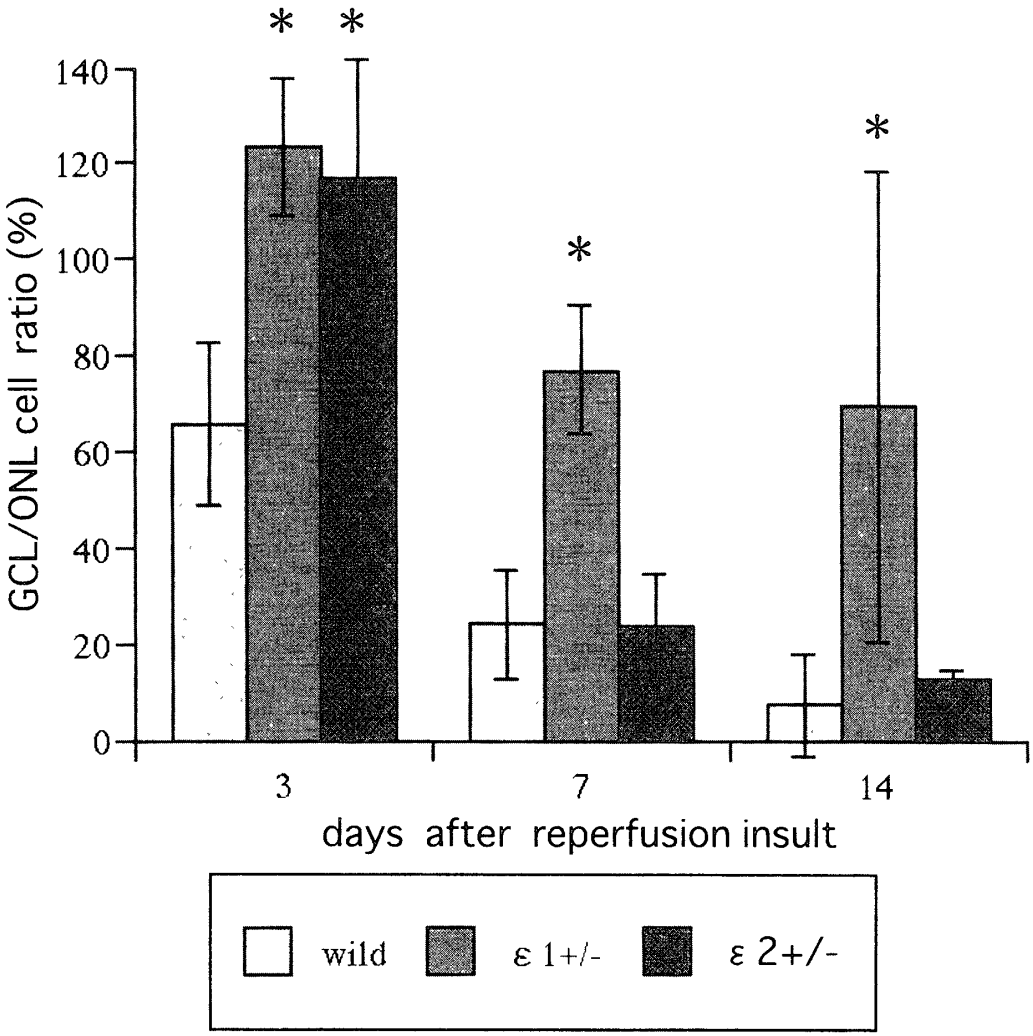

図5　虚血負荷後における野生型，GluR ε 1 ヘテロ欠損マウス，及び ε 2 ヘテロ欠損マウスの網膜神経細胞の変化率（GCL/ONL比）．グラフ中の＊は，野生型マウスの値を基準に，t 検定にて 5 %未満の有意差を認めたものを示す．

GluR ε 1 サブユニット完全欠損マウスと同様に網膜各層の神経細胞数の変化を定量的に評価した（**表1，2，図5**）．その結果，GluR ε 2 サブユニットヘテロ欠損マウスは，虚血解除 3 日目までは野生型よりも有意に神経節細胞が維持された（17.5 ±3.80, $p<0.01$）．しかし 7 日後以降の細胞壊死の程度は神経節細胞及び内顆粒層細胞ともに野生型と有意差がなく，14日後では野生型と同様，ほとんどの網膜細胞が消失した（1.00±0.00）．これに対してGluR ε 1 サブユニットヘテロ欠損マウスは，7 日後までは神経節細胞及び内顆粒細胞の変化が認められなかったが，14日後になると，両者とも有意に減少していた（6.88±4.05）．同様に内網状層の菲薄化も認めた．これらの結果は，GluR ε 1 サブユニットと GluR ε 2 サブユニットの虚血に対する応答性が異なっており，GluR ε 1 サブユニットがより強い影響を持つことを示す．

また，本虚血モデルにおける神経細胞死の様式を検索する目的で，全ての虚血負荷動物群に対して TUNEL 染色を行った．その結果，神経細胞が減少している層で，陽性像が一部認められた（**図6**）．

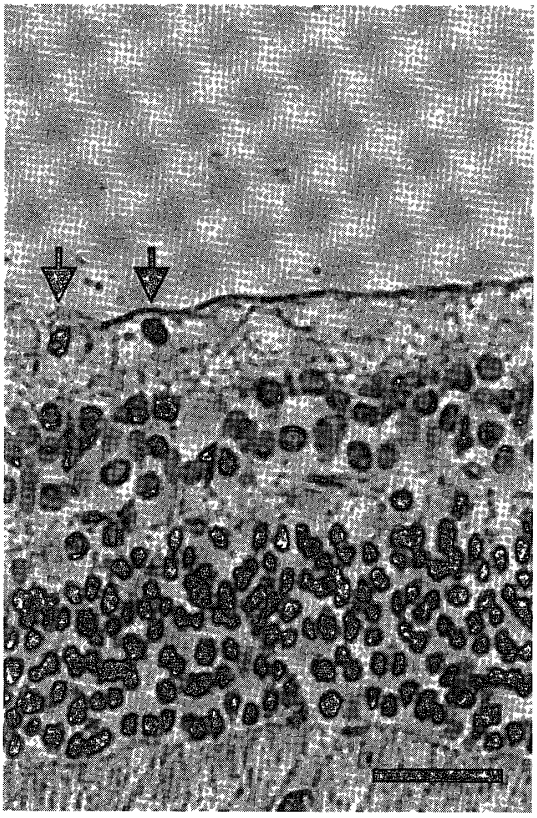

図6　虚血後のマウス網膜におけるアポトーシス細胞の検出．虚血解除2週間後の野生型マウス網膜に対してTUNEL染色を施行した．既にほとんどの神経節細胞が脱落しているが，一部に陽性細胞を認める（矢印）．光学顕微鏡400倍．スケールバーは25μmを示す．

考　　察

一過性虚血後に生じる網膜神経細胞の減少は，NMDA型受容体チャネルε1サブユニットを欠損したマウスにおいて抑制されることが明らかになった．さらにこのサブユニットの発現が半量残るヘテロ欠損型で効果が低下したことから，その機能が活動量依存的であることを示唆している．これに対して，GluRε2サブユニットを欠損したマウスの結果は，虚血負荷に対する反応に違いがあり，GluRε2サブユニットがGluRε1サブユニットとは異なる機序で神経細胞死に関与する可能性を示している．しかし，その効果はGluRε1サブユニットに比べて弱いものであると考えられる．また，これまでの報告では，アフリカツメガエル卵母細胞発現系でみたε1/ζ1 channelとε2/ζ1 channelのカルシウム透過性に大きな差が認められなかった[10]ことから，虚血による網膜神経細胞の壊死には，カルシウムの流入のみではなく，GluRε1サブユニットを介したシグナルが関与していることが考えられる．GluRε1サブユニット（Mr 175K）及びε2サブユニット（180K）は極めてその配列と分子量が類似しているが，C末端側で異なった部位も存在していることから，この領域が，これらの機能の差の原因であるかもしれない．また，GluRε1サブユニット及びGluRε2サブユニットの発現が確認されていない外顆粒層細胞が軽度に減少したことは，NMDA型受容体を介さない細胞死の機構が関与したと推定される．

また，虚血負荷された網膜において，TUNEL染色に陽性を示す細胞が一部認められたことから，一過性虚血による神経細胞死にはアポトーシスの機構が関与したものもあることが示唆された．ただし，TUNEL染色陽性細胞はネクローシスの機序で死んだ細胞でも認められることがあり，陽性細胞の全ての原因がアポトーシスによるものではないと思われる．むしろ高眼圧負荷による虚血によって，ネクローシス及びアポトーシスの双方を含む死の径路が活性化して最終的に細胞を死に至らしめていると考えた方がよいであろう．以上のことから，NMDA受容体，特にGluRε1サブユニットは網膜神経細胞死に主要な役割を果たしていることが考えられる．ただし，それぞれの細胞死がいずれの径路の結果に因っているのかは我々の研究では明らかではない．近年の報告によると，高眼圧負荷による細胞死の径路にcaspase-3が関与しているとの報告があるものの，その分子機構は未だ明らかではない[11)-13)]．

近年，培養神経細胞を用いた研究により，NMDA型受容体とは別に，AMPA型受容体が神経細胞死に関与しているとする報告がある[14)15)]．このことは，虚血負荷による網膜神経細胞死の過程が必ずしも1径路ではないことを示唆していると考え

られる

網膜上の神経節細胞及びアマクリン細胞にはNMDA型受容体ε1サブユニット，ε2サブユニット及びζ1サブユニットが存在していることは既に知られている[16)-18)] 生体内において，NMDA型グルタミン酸受容体チャネルGluRεサブユニットの分子的多様性が，機能的多様性の基盤であることは様々な研究で示されてきた[10)] 今回の研究により，一過性虚血による網膜神経細胞死に，GluRε1サブユニットがその誘導決定因子として働くことが明らかになった このことは，細胞死という負の事象にも，GluRεサブユニットの分子的多様性が基礎にあることを示し，非常に興味深い

結　　語

虚血性疾患によって過剰に産生されたグルタミン酸による興奮毒性が細胞死に関与していることは，これまで間接的に示されてきているが，今回の研究により，その分子機序の主要な役割をNMDA型受容体GluRε1サブユニットが果たしていることが明確に示された この結果は，将来におけるGluRε1サブユニット選択的阻害剤が神経節細胞死を引き起こしうる病態に対する有効な治療となりうる可能性を示唆している

謝辞

本研究の御指導と本稿の御校閲をいただきました崎村建司教授（脳研究所細胞神経生物学教室）及び阿部春樹教授に深謝いたします

参 考 文 献

1）Sakimura K, Kutsuwada T, Ito I, Manabe T, Takayama C, Kushiya E, Yagi T, Aizawa S, Inoue Y, Sugiyama H and Mishina M Reduced hippocampal LTP and spatial learning in mice lacking NMDA receptor ε1 subunit Nature 373 151-155 1995

2）Nickells RW Retinal ganglion cell death in glaucoma The how, the why, and the maybe J Glaucoma 5 345-356 1996

3）Hahn JS, Aizenman E and Lipton SA Central mammalian neurons normally resistant to glutamate toxicity are made sensitive by elevated etracellular Ca^{2+} Toxicity blocked sensitive by the N-methy-D-asparate antagonist MK-801 Proc Natl Acad Sci USA 85 6556-6560 1988

4）Levy BADI and Lipton SA Comparison of delayed administration of competitive and uncompetitive antagonists in preventing NMDA receptor-mediated neuronal death Neurology 40 852-855 1990

5）Sucher NJ, Lei SZ and Lipton SA Calcium channel antagonists attenuate NMDA receptor-mediated neurotoxicity of retinal ganglion cells in culture Brain Res 297 297-302 1991

6）Kutsuwada T, Sakimura K, Manabe T, Takayama C, Katakura N, Kushiya E, Natsume R, Watanabe M, Inoue Y, Yagi T, Aizawa S, Arakawa M, Takahashi T, Nakamura Y, Mori H and Mishina M Impairment of sucking responce, trigeminal neuronal pattern formation, and hippocampal LTD in NMDA receptor ε2 subunit mutant mice Neuron 16 333-344 1996

7）Anderson DR and Davis EB Sensitivities of ocular tissues to acute pressure-induced ischemia Arch Ophthalmol 93 267-274 1975

8）Hughes FW Quantitation of ischemic damage in the rat retina Exp Eye Res 53 573-582 1991

9）Buchi ER Cell death in the rat retina after a pressure-induced ischaemia-reperfusion insult An electron microscopic study I Ganglion cell layer and inner nuclear layer Exp Eye Res 55 605-613 1992

10）Mori H and Mishina M Structure and function of the NMDA recepter chanel Neuropharmacology 34 1219-1237 1995

11）Katai N and Yoshimura N Apoptotic retinal neuronal death by ischemia-reperfusion is

executed by two distinct family proteases Invest Ophthalmol Vis Sci 40 2697-2705 1999

12) Chen TA, Yang F, Cole GM and Chan SO Inhibition of caspase-3-like activity reduces glutamate induced cell death in adult rat retina Brain Res 904 177-188 2001

13) Singh M, Savitz SI, Hoque R, Gupta G, Roth S, Rosenbaum PS and Rosenbaum DM Cell-specific caspase expression by different neuronal phenotypes in transient retinal ischemia J Neurochemi 77 466-475 2001

14) Oguro K, Oguro N, Kojima T, Grooms SY, Calderone A, Zheng X Bennett MVL and Zukin RS Knockdown of AMPA recepter ε 2 expression causes delayed neurodegeneration and increases damage by sublethal ischemia in hippocampal CA 1 and CA 3 neurons J Neurosci 19 9218-9227 1999

15) Yu W and Miller RE The mechanism by which NBQX enhances NMDA currents in retinal ganglion cells Brain Res 709 184-196 1996

16) Watanabe M, Mishina M and Inoue Y Diffrerntial distributions of the NMDA receptor channel subunit mRNAs in the mouse retina Brain Res 634 328-332 1994

17) Fletcher EL, Hack I, Brandstatter JH and Wassle H Synaptic localozations of NMDA receptor subunits in the rat retina J Comp Neurol 420 98-112 2000

18) Nagasawa M, Sakimura K, Mori KJ, Bedell MA, Copeland NG, Jenkins NA and Mishina M Gene structure and chromosomal localization of the mouse NMDA recepter subunits Mol Brain Res 36 1-11 1996

（平成14年 1 月29日受付）