

Title	腹側被蓋野ニューロン活動に対する内側視索前野電気刺激の効果
Author(s)	志村, 剛; 下河内, 稔
Citation	大阪大学人間科学部紀要. 1987, 13, p. 197-226
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/3650
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

腹側被蓋野ニューロン活動に対する 内側視索前野電気刺激の効果

志 村 剛, 下 河 内 稔

序 論

1. はじめに
2. オス型交尾行動と腹側被蓋野
3. 養育行動と腹側被蓋野
4. ドーパミン作動性ニューロンの同定
5. 本実験の目的

方 法

結 果

1. 腹側被蓋野ニューロンの自発発火
2. 内側視索前野刺激の効果
 - 1) 逆行性応答
 - 2) 順行性の影響
3. 側坐核刺激の効果
4. 組織学的検索

考 察

1. 自発発火の特徴について
2. 内側視索前野刺激の効果について
 - 1) 逆行性応答
 - 2) 順行性の影響
3. 腹側被蓋野と動機づけ行動との関連
4. ま と め

腹側被蓋野ニューロン活動に対する 内側視索前野電気刺激の効果

序 論

1. はじめに

中脳腹側被蓋野は黒質の内側，脚間核の背側，赤核の腹側に位置し，ドーパミンを含む細胞体の起始核のひとつ A10領域¹⁰⁾として知られている。腹側被蓋野は扁桃体の諸核，中隔野，視索前野，側坐核，その他の前脳辺縁構造から内側前脳束を介して入力を受ける³⁸⁾。一方，腹側被蓋野からの主要な出力経路として，中脳一辺縁系ドーパミン経路があり，内側前脳束の背側部を上行する。一部は扁桃体と梨状葉へ，大部分のものは対角帯の高さまで上行し，外側中隔野，側坐核，嗅結節，前頭前野諸部位に投射する⁴⁵⁾。また，非ドーパミン作動性の出力も証明されている⁴⁾。このような解剖学的位置を占める腹側被蓋野は，これまでの多くの実験から種々の行動に関与していることが示唆されてきた。なかでも，個体保存のための摂食²³⁾，飲水²⁴⁾，攻撃行動¹⁾や種族保存のための生殖行動^{2, 25)}など，いわゆる動機づけ行動の発現に深く関係するといわれている。

著者らは従来から，種族保存の目的をもち，かつ，他個体との相互作用が行動の発現に非常に大きな役割を果たす交尾行動や養育行動などの動機づけ行動に関心をもち，その神経メカニズムを明らかにすべく研究を進めてきた。そこでまず，これらの行動と腹側被蓋野との関係についての従来の知見を簡単に述べる。

2. オス型交尾行動と腹側被蓋野

これまでに行われてきた破壊¹⁸⁾，電気刺激^{17, 27)}，ホルモン留置¹¹⁾，電気生理学的実験²¹⁾などから，オス型交尾行動の発現に最も重要な部位は内側視索前野であるとされている。オス型交尾行動発現機構の中で，内側視索前野を中心的な機能単位と考えるならば，内側視索前野に出入りする神経情報の流れを知ることは非常に重要である。

内側視索前野から内側前脳束を下行する経路は，その出力系の有力候補の一つとして重視されている²⁸⁾。即ち，内側前脳束の破壊によりオス型交尾行動が減退し³⁷⁾，その電気刺激に

より促進された⁷⁾ことから、内側前脳束を通過する線維の中にオス型交尾行動の発現に重要な要素が含まれている可能性が示唆された。解剖学的には内側視索前野からいくつかの中脳領域への投射が証明されており、既に述べたごとく、腹側被蓋野もその一つに数えられる^{9,41)}。

オス型交尾行動における腹側被蓋野の役割に関しては、いくつか研究が行われているものの、必ずしも一致した知見が得られているわけではない。例えば、腹側被蓋野を破壊すると射精後の不応期が短縮するという報告がある²⁾一方で、腹側被蓋野の電気刺激により射精潜時や不応期が短縮するという報告もなされている¹⁸⁾。通常、破壊と刺激では逆の効果が予測されるので、これらの結果の解釈は容易ではないが、後者の実験では刺激によって促進、抑制両方の機構が賦活された可能性も示唆されている。また、Brackett ら⁵⁾は腹側被蓋野破壊により、側坐核のドーパミン量は著明に減少したが、交尾行動の遂行にはほとんど影響がなく、射精後不応期だけが延長したと述べている。このように、破壊ならびに電気刺激実験から腹側被蓋野の交尾行動における役割を特定することは困難であるが、実際の交尾行動中に腹側被蓋野からニューロン活動を記録すると、交尾行動と相関した変化が現れる²⁰⁾ことから、内側視索前野と腹側被蓋野は交尾行動発現時に密接に情報交換している可能性が示唆された。

3. 養育行動と腹側被蓋野

養育行動は種族保存の意味で交尾行動とならんで重要な行動であるが、その神経メカニズムに関しては未知の部分が多い。近年、内側視索前野を中心とする神経回路が養育行動の開始と維持に主要な役割を演じていることが明らかにされつつあるが、なかでも内側視索前野と腹側被蓋野の連絡が非常に重要であると考えられている³⁴⁾。内側視索前野の両側性破壊により、養育行動の主要な構成要素である仔の連れ戻し行動をはじめとして、養育行動全般に重篤な障害が生じる³⁸⁾。Numan ら³⁵⁾は、この内側視索前野の破壊効果が内側視索前野とどの部位との間の神経連絡が遮断されたために生じたのかを明らかにするため、解剖学的に内側視索前野との線維連絡が証明されているいくつかの部位との連絡を遮断してその効果をしらべた。その結果、1) 腹側被蓋野両側性の破壊により、仔の連れ戻し行動や造巣行動が顕著に障害される、2) 一侧の腹側被蓋野と、反対側の内側視索前野の外側部のナイフカットを同時に施行したときのみ養育行動に重篤な障害が生じることから、養育行動の発現に際して内側視索前野と腹側被蓋野の神経連絡が本質的な役割を果していることを示唆した。

また、Gaffori ら¹⁵⁾は妊娠前に両側性に腹側被蓋野破壊をうけたメスラットは、妊娠、出産は正常動物と変わらないが、出産直後に仔を食べてしまうか、出産後まったく養育行動を

示さないという結果を報告している。

4. ドーパミン作動性ニューロンの同定

既に述べたように、腹側被蓋野の特徴は前脳辺縁系にドーパミン線維を投射していることであり、上述した腹側被蓋野と動機づけ行動の関係についても、これらのドーパミン線維が重要な役割を担っていると推察される。

ドーパミン作動性ニューロンの機能を知るためには、実際に記録したニューロンがドーパミン作動性であるか否かを明らかにする必要がある、電気生理学的なドーパミン作動性ニューロン同定の試みがなされてきた。その嚆矢となった Bunney ら⁶⁾は Dahlström ら¹⁰⁾が A9 (黒質緻密部)、A10 (腹側被蓋野) と命名したドーパミン作動性ニューロンの起始部から、自発発火頻度が 3-9 Hz と低く、時々群発発射を示す特徴的なニューロン活動を記録した。これらのニューロン活動は 6-ヒドロキシドーパミン (6-OHDA) を前処置すると記録できなくなったが、反対側の非処置側からは依然として記録可能であった。6-OHDA はカテコールアミンの細胞を選択的に破壊することが知られているため、この結果は上述の電気生理学的性質がドーパミン作動性ニューロンに特有のものであることを示唆する。また、このような性質をもつニューロン活動の記録後に、その部位にドーパミンの前駆物質である L-ジヒドロキシフェニルアラニン(L-DOPA)をイオン泳動的に注入し、のちに組織蛍光法により観察すると、記録部位は周囲の組織に比べてより明るい蛍光を発した。しかし、上の電気生理学的性質をもたないニューロン活動の記録後に同じように観察しても蛍光は見いだせなかった。L-DOPA はドーパミン作動性ニューロンの中でドーパミンに転換され貯蔵されるために、ドーパミン作動性ニューロンが明るい蛍光を発すると考えられるので、この結果もまたドーパミン作動性ニューロンが上述の電気生理学的特徴を持つことを示している。

A10ドーパミン作動性ニューロンの特徴に関する研究も数多く行われているが、その中で Deniau ら¹²⁾は前脳のいくつかの部位を電気刺激して逆行性に賦活される A10ニューロンの特徴をしらべた。逆行性に賦活されるニューロンにはドーパミン作動性ニューロンの特徴と考えられる性質を示すニューロンが見いだされたが、これらのニューロンの伝導速度は約 0.5m/sec と非常に遅いことがわかった。また、伝導速度の遅いニューロンは 6-OHDA の前処置により消失した⁴³⁾。Wang⁴⁶⁾は腹側被蓋野ニューロンの電気生理学的特徴をさらに詳細に検討し、これらを 2つのタイプに分類した。即ち、type Iニューロンは、1) 自発発火が 0.5-8 Hz と低く、しばしば群発発射を示すものがある、2) 活動電位持続時間が 2.4 msec 以上で、IS (初節) スパイクと SD (細胞体・樹状突起) スパイクの分離が生じる場合がある、3) 側坐核刺激による逆行性応答潜伏時間が長く、伝導速度は平均 0.46m/sec である、4) 不

応期は平均 2.62 msec と長い, 5) 内側前脳束に 6-OHDA を注入すると, 側坐核刺激に対する逆行性応答が消失する, 6) ドーパミンのアゴニストであるアポモルフィンを静注すると発火が抑制される, などの性質を示した。これに対して type II ニューロンは, 1) 自発発火は 0.1-50 Hz とばらつきが多く, 群発はみられない, 2) 活動電位持続時間は 2.4 msec 未満である, 3) 伝導速度は平均 0.85m/sec である, 4) 不応期は 1.1 msec と短い, 5) 6-OHDA の内側前脳束注入により, 側坐核刺激に対する逆行性応答がブロックされない, 6) アポモルフィン投与の効果はない, という性質を示した。これらの電気生理学的特性の相違から, Wang は type I はドーパミン作動性, type II は非ドーパミン作動性と考えた。

しかし, この分類はあくまでも間接的な証拠に基づくものであり, これらの基準が適切であるか否かはさらに直接的な知見によって検討される必要がある。最近, 細胞内電気活動記録と種々の化学物質の細胞内注入を組み合わせた方法により, ドーパミン作動性と神経化学的に同定されたニューロンが, 間接的な証拠からドーパミン作動性と分類されたニューロンの電気生理学的性質をもつことが証明された⁹⁾。このことによって, 上述の電気生理学的性質の相違を中脳の A 9, ならびに A10 領域のドーパミン作動性ニューロンの同定基準として採用する根拠が確立されたことになる。

5. 本実験の目的

上に述べたオス型交尾行動や養育行動の例のごとく, 腹側被蓋野が動機づけ行動になんらかの関わりをもつことは確実視してよい。しかし, 腹側被蓋野が動機づけ行動のどの側面に特に関係するのかという点については, 研究者の間でも統一した見解が得られているわけではない。こうした状況の中で, Mogenson ら³²⁾は腹側被蓋野が動機づけ行動に果たす役割について興味ある仮説を提唱している。

即ち, 大脳辺縁系からの衝動や情動などの情報が運動系へ伝えられて実際の行動が生じるまでの経路の中で, 側坐核を動機づけと運動とのインターフェイスとして位置づけ, この部位への腹側被蓋野からのドーパミン線維投射が, 大脳辺縁系からの情報を修飾すると考えた。視床下部や大脳辺縁系が動機づけ機構に深く関与することは多くの実験から明らかにされているが, それがどのような神経機構を介して実際の筋運動として現れるのかという問題は非常に重要であるにも拘らずこれまであまり省みられることがなく, この点において Mogenson らの仮説は傾聴に値する。

腹側被蓋野が Mogenson らの示唆するような役割を果たしているか否かは, なお多くの実験的検討を必要とするが, 腹側被蓋野の線維連絡を考慮すると, 動機づけ行動の神経機構を明らかにするための重要な方略の一つとして腹側被蓋野の機能を知ることがあげられる。な

かでも、腹側被蓋野と内側視索前野、さらに側坐核の関係をしらべることは、著者らが研究対象としている交尾行動や養育行動の神経機構を明らかにしていく上で最も重要な点の一つに数えられる。幸い、ドーパミン作動性ニューロンの電気生理学的同定基準について諸家の意見が一致してきており、その基準を採用することによってドーパミン作動性ニューロンと非ドーパミン作動性ニューロンを分離することが可能になっている。本実験では腹側被蓋野のこれら二種類のニューロンと内側視索前野ならびに側坐核の神経回路を電気生理学的に明らかにすることを目的とし、それらが上述した動機づけ行動、特にオス型交尾行動や養育行動の発現においてどのような役割を果たしうるかを考察する。

方 法

実験対象は成熟オス Wistar 系ラット (体重 250-540g) で、ウレタン (1.2-1.5g/kg) により全身麻酔した。動物を脳定位固定装置 (David Kopf) に固定し、赤外線ランプを照射して体温の下降を防止した。König & Klippel²⁹⁾ の脳図譜を参照し、腹側被蓋野;ラムダの前方 2.6mm, 正中線の側方 1.5mm, 内側視索前野;ラムダの前方 7.0-7.6mm, 正中線の側方 1.0mm, 側坐核;ブレグマの前方 2.0mm, 正中線の側方 1.4mm の頭蓋骨に歯科用ドリルで穿孔し、硬膜を除去した。矢状静脈洞の損傷を避けるため、内側視索前野の刺激電極は矢状面に対して 3.7°, 腹側被蓋野の記録電極は同じく 7.5° の角度をつけて定位的に刺入した。

電気刺激には、直径 200 μ m のポリウレタン被覆の軟質ステンレススチール線 (ユニークメディカル) 2 本を撚りあわせた双極電極を用いた。電極先端は 0.5mm 絶縁を剥離し、極間距離は 1mm とした。刺激電極の電気抵抗は 5-35k Ω であった。電気刺激は電気刺激装置 (日本光電 SEN 7103M) とアイソレータ (同 SS 102J) により持続時間 0.3 msec, 強度 0.2-0.8 mA の单相矩形波を発生させた。ニューロン活動の記録には 2% ポンタミンスカイブルー 6 B を含む 0.2M 酢酸ナトリウム溶液を充填したガラス毛细管電極を用いた。電極先端の直径は 1-2 μ m で、抵抗は 10-20M Ω であった。不関電極として鼻骨に直径 1.4mm のステンレススチール製のねじを植え込んだ。電気活動は FET 入力 of 緩衝増幅器を介して生体電気現象測定用増幅器 (日本光電 AVB 10) に入力した。増幅した電気信号をオシロスコープ (日本光電 VC 10) で監視するとともに、オーディオモニターで聴取し、自発発火のみられるニューロンを検索した。自発発火を認めたニューロンについては、安定した自発活動を確認したのち、5 分間 FM データレコーダ (ティアック R260) に自発活動を記録した。その後、記録部位と同側の内側視索前野刺激を 2.1 sec 以上の刺激間隔で 100 回以上反復して与え、のちのデータ処理用にデータレコーダに収録した。刺激に対して一定潜時

の応答がみられた場合には、逆行性応答か否かを判断するために、自発発火との衝突テスト (collision test), および高周波数刺激テストを行った。また、半数のニューロンについては、内側視索前野刺激とともに側坐核刺激を行い、その影響をしらべた。

電気活動の記録終了後、記録電極側を陰極として 2-5 μA の直流通電を15分間行い、電極に充填したポントアミンスカイブルー 6 B を記録部位に沈着させて標識した。刺激電極については、深部側を陽極として 10 μA を10秒間通電し、電気凝固した。その後、10%ホルマリン溶液を左心室から灌流し、脳を摘出して10%ホルマリン溶液中で固定した。24時間以上経過してから、100 μm の前額断切片を作成し、記録部位、刺激部位の組織学的検索を行った。

磁気テープに収録した電気活動は実験後にオフライン処理した。自発発火については、スパイクカウンタ (ダイヤモンド DSE 335P) のウインドーディスクリミネータにより、単一ニューロン活動を分離して1秒毎の発火数を計数し、そのデジタル値をパーソナルコンピュータ (日本電気 PC 9801E) に転送して発火頻度の平均値および分散を求めた。単一ニューロンの活動電位波形は10 μsec のサンプリング時間で A/D 変換したのち、X-Yレコーダで描画し、その持続時間を計測した。内側視索前野ならびに側坐核の刺激効果については、オシロスコープ画面を写真撮影するとともに、シグナルプロセッサ (三栄 7T07) を用いて刺激時点を同期させた刺激前後時間発火ヒストグラムを作成して検討した。

結 果

1. 腹側被蓋野ニューロンの自発発火

98個の腹側被蓋野ニューロンについて、刺激を与える以前の自発発火活動をしらべた。図1 A-C に3つの典型的な活動電位波形を示した。腹側被蓋野では活動電位持続時間の短いニューロン (A) と、長いニューロン (B, C) が記録できたが、Cのように IS スパイクと SD スパイクが分離し、ノッチが生じた (↓部) ニューロンの多いことが特徴的であった。Dに98個の腹側被蓋野ニューロンについて活動電位持続時間の分布を示した。活動電位持続時間は 1.2 msec から 5.1 msec まで広範囲に及んだが、比較的長いものが多かった。Dの斜線部はCのような IS スパイクと SD スパイクの分離が生じたニューロンの活動電位持続時間を示すが、短いものはなく、いずれも 2.4 msec 以上に分布していた。このため、本論文では便宜上、以下、活動電位持続時間 2.4 msec 未満のニューロンを S 型、2.4 msec 以上のニューロンを L 型とする。L 型ニューロンは 86.7% (85/98) を占め、S 型ニ

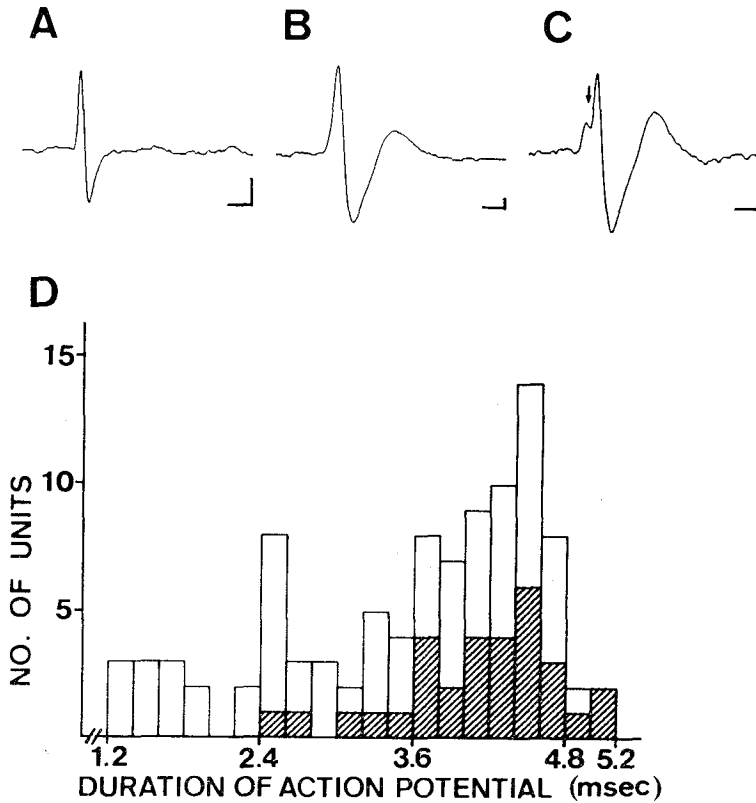


図1 A-C: 腹側被蓋野ニューロンの代表的な活動電位波形 (A: S型ニューロン, B: L型ニューロン, C: L型でISスパイクとSDスパイクの分離がみられるニューロン。較正電圧は200 μ v, 時標は1msec)。D: 98個の腹側被蓋野ニューロンの活動電位持続時間の分布。斜線部はCのようにISスパイクとSDスパイクの分離がみられるニューロンを示す。

ニューロンの13.3% (13/98) より多かった。

図2に個々のニューロンの活動電位持続時間と平均自発発火頻度の関係を示した。腹側被蓋野ニューロンの平均発火頻度は全般に低く、6 Hz 以下のものが86.7%を占めた。またL型ニューロンは発火頻度が低く、S型ニューロンは発火頻度が高い傾向にあった。

自発発火の時間的パターンについては、スパイク間隔が比較的一定なニューロンが65個 (66.3%) あった。残りの33個 (33.7%) はスパイク間隔が一定せず、不規則な発火パターンを示した。これらの中には、群発発射を示すニューロンもみられた。不規則な発火パターンを示すニューロンのうち、S型は24.2% (8/33) であり、S型ニューロンが全体に占める割合 (13.3% : 13/98) に比べると高かった。

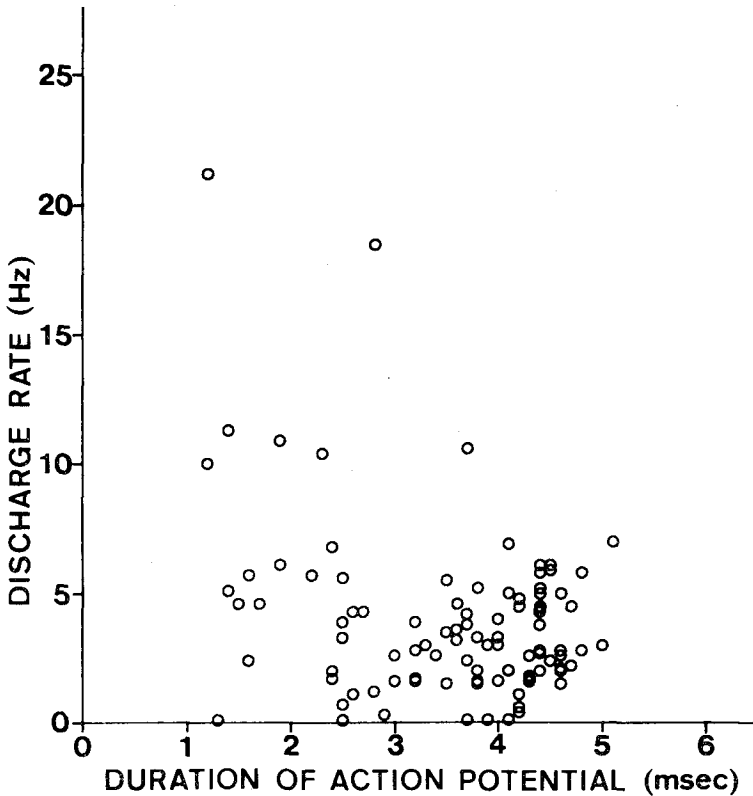


図2 腹側被蓋野ニューロンの活動電位持続時間（横軸）と自発発火頻度（縦軸）の関係。説明は本文。

2. 内側視索前野刺激の効果

1) 逆行性応答

内側視索前野刺激に対して9個（9.2%）のニューロンが，(1)一定潜時，(2)自発発火との衝突，(3)高周波数刺激に追従，の3つの逆行性応答の基準を満たした。図3にその1例を示す。Aは3回の重ねがきであるが，内側視索前野刺激に対して常に一定潜時（15.6 msec）で応答がみられた。Bは自発発火をトリガーにして，その10 msec後に内側視索前野刺激を与えたものであるが，軸索上で自発発火による順行性の活動電位と内側視索前野刺激による逆行性活動電位が衝突し，Aでみられた刺激に対する潜時15.6 msecの応答が消失したことを示す。C～Fは2発刺激に対する反応を刺激間隔10 msecから徐々に短くしてしらべた結果である。刺激間隔5 msec（C）では2発の刺激に対してそれぞれ応答がみられるが，2発めの刺激に対する反応は振幅が小さくなっている。Dは刺激間隔3 msecで

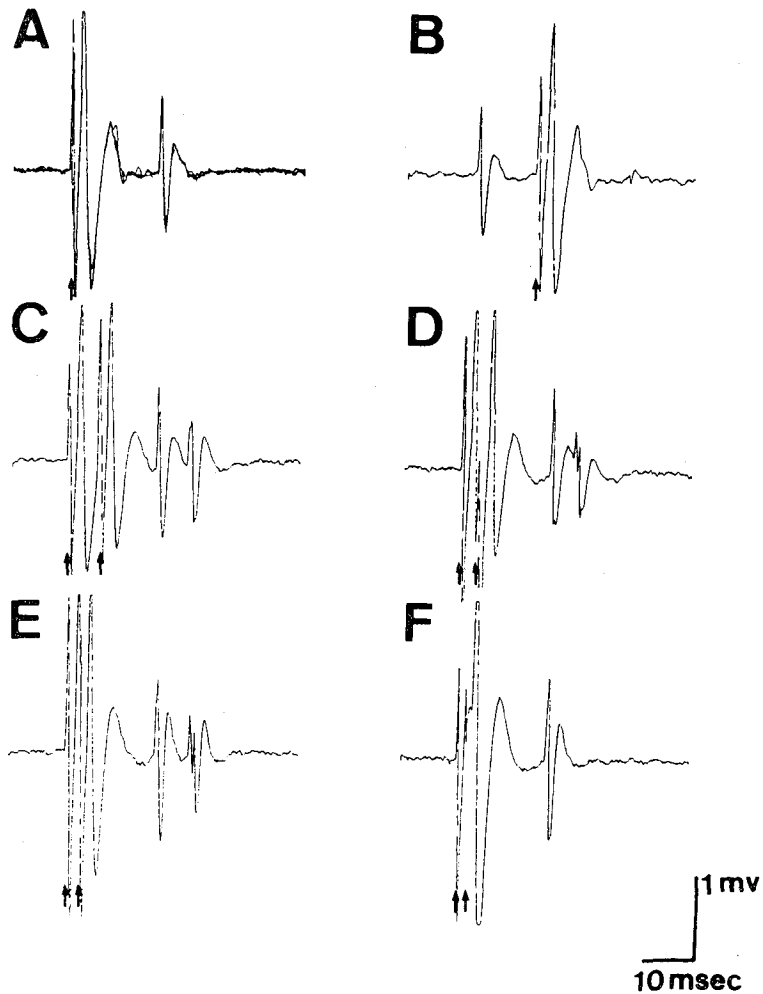


図3 内側視索前野刺激に対する腹側被蓋野ニューロンの逆行性応答。矢印は刺激時点を示す。A: 3回の重ねがき, B: 自発発火との衝突, C-F: 2発刺激に対する応答, 刺激間隔は C: 5 msec, D: 3 msec, E: 2 msec, F: 1 msec。説明は本文。

あるが、2発めの刺激に対する反応には IS スパイクと SD スパイクの分離が生じている。刺激間隔が 2 msec になると (E)、2発めの応答潜時が遅延し、試行によっては2発めの刺激に対する応答が消失する場合があった。1 msec の刺激間隔では2発めの刺激に対する応答は完全に消失した (F)。

逆行性応答を示した9個のニューロンの反応潜時、伝導速度、活動電位持続時間、自発発火頻度を表1に示した。伝導速度は内側視索前野から腹側被蓋野までの距離を脳定位固定装置の座標から算出して求めた。潜時が 6.4 msec 以下の3つのニューロンは活動電位持続時間が 1.9 msec 以下と短く、潜時が 10.8 msec 以上の6つのニューロンは活動電位持続時

表1 内側視索前野刺激に対する腹側被蓋野ニューロンの逆行性応答の特徴。

neuron	latency (msec)	conduction velocity (m/sec)	spike duration (msec)	discharge rate (Hz)
#1	3.8	1.66	1.9	10.9
#2	5.0	1.24	1.3	0.1
#3	6.4	0.87	1.6	2.4
#4	10.8	0.57	4.2	0.6
#5	13.3	0.40	2.9	0.3
#6	15.6	0.38	2.8	1.2
#7	15.8	0.36	4.4	4.5
#8	17.2	0.34	4.2	0.4
#9	18.8	0.32	3.6	3.2

間が、2.8 msec 以上と長かった。また、逆行性応答を示したニューロンの自発発火頻度は全般に低く、1 Hz 未満のものが半数近くを占めた。

また、このようなニューロンの中には、逆行性応答後に自発発火が抑制されるものがあった。

2) 順行性の影響

内側視索前野刺激時点前後の腹側被蓋野ニューロンの発火ヒストグラムを作成して刺激効果をしらべた。刺激前 100 msec と比較して、刺激後に発火数が増加した場合を促進、減少した場合を抑制とした。

図4 A, Bは内側視索前野刺激により促進効果が認められたニューロンの一例である。Bの発火ヒストグラムにみられるように、発火頻度は刺激後 29 msec の潜時で増加しはじめ、その後 37 msec 持続して元のレベルに戻った。このように刺激後はじめに促進効果が現れたニューロンは37.8% (37/98) であった。図4 C, Dは内側視索前野刺激により抑制効果が認められたニューロンの一例である。この例では刺激後 32 msec から発火が抑制され、その効果が 84 msec 持続した。このように、内側視索前野刺激によりはじめに抑制効果が現れたニューロンは20.4% (20/98) であった。

表2には、S型ニューロンと、L型ニューロンに分けて、内側視索前野刺激に対してはじめに現れる効果の潜時を示した。L型ニューロンは、内側視索前野刺激に対して順行性の影響をうけるものが63.5% (54/85) であるのに対し、S型ニューロンでは23.1% (3/13) にすぎなかった。一方、逆行性応答の比率はS型ニューロン23.1% (3/13) に対し、L型ニューロン7.1% (6/85) と反対の傾向を示した。内側視索前野刺激効果の潜時については、促進効果が比較的広範囲に分布しているのに対し、抑制効果は約半数が10 msec 未満の短潜時で現れ、しかもこれらのニューロンはいずれもL型であった。

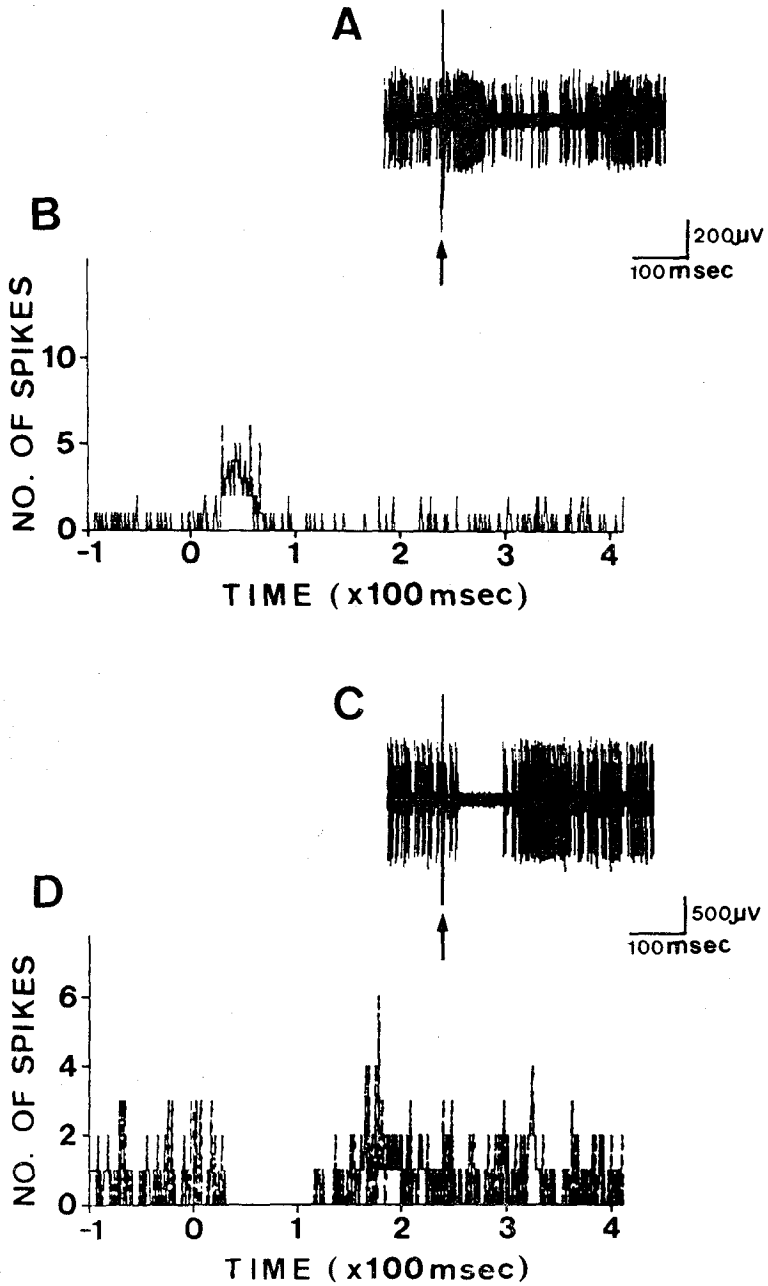


図4 内側視索前野刺激に対する腹側被蓋野ニューロンの順行性応答。A, Bは促進性応答, C, Dは抑制性応答の例。A, Cは刺激時点(矢印)を同期させオシロスコープ上でニューロン活動を100回重ねがいたもの。B, DはA, Cの応答を刺激時点をもととし、その前後の発火ヒストグラムとしてあらわしたものである。

表2 腹側被蓋野ニューロンに及ぼす内側視索前野刺激の効果とその応答潜時。

	latency of response (msec)				total
	<10	10-20	20-50	>50	
facilitatory					
type S	0	1	0	0	1
type L	8	13	14	1	36
inhibitory					
type S	0	1	1	0	2
type L	9	3	5	1	18
antidromic					
type S	3	0	0	0	3
type L	0	6	0	0	6
no response					
type S					7
type L					25

図5に活動電位持続時間と内側視索前野刺激効果の関係を示した。促進(B)、抑制(C)ともL型のうちでも持続時間の長いニューロンに多くみられた。刺激効果が現れなかったニューロン(D)の活動電位持続時間は広範囲に分布した。

促進効果の持続時間は2 msec から130 msec までに及んだが、50 msec 以内のものが81.1% (30/37) を占めた。抑制効果の持続時間は17 msec から130 msec までに及び、25~75 msec のものが65% (13/20) を占めた。

上述した内側視索前野刺激の初期効果に続いて、反対方向の効果が生じる場合があった。図6 A, Bは促進-抑制の例で、刺激後31 msec で始まった発火頻度の増加が34 msec 持続したのち、294 msec にわたって発火が完全に抑制された。このように、内側視索前野刺激により、促進-抑制反応がみられたのは40.5% (15/37) であった。さらに、促進-抑制-促進反応を示したのは8.1% (3/37) であった。図6 C, Dは抑制-促進の例で、刺激後7 msec から53 msec にわたって発火が抑制されたが、その後、308 msec の間、発火数が刺激前のレベルに比べて上昇した。このように、抑制-促進反応がみられたニューロンは15% (3/20) であり、抑制-促進-抑制反応は5% (1/20) にすぎなかった。これらの促進-抑制、抑制-促進などの場合を含めて、内側視索前野刺激に対する効果が始まってから終了するまでの全過程は、最も長いもので416 msec に及んだ。

3. 側坐核刺激の効果

内側視索前野刺激を与えた98個のニューロンの半数49個については側坐核刺激の効果もしらべた。表3は同一腹側被蓋野ニューロンに対する内側視索前野刺激と側坐核刺激の効果をも

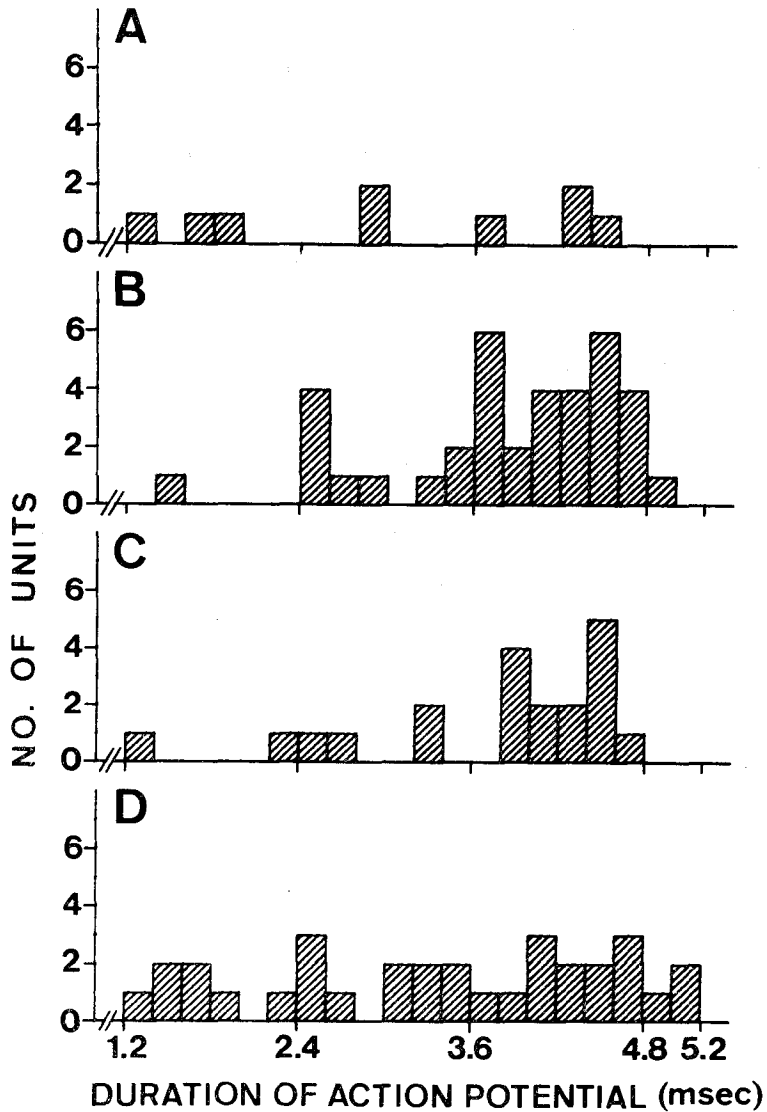


図5 内側視索前野刺激効果と腹側被蓋野ニューロンの活動電位持続時間との関係。
 A: 逆行性応答 (n=9), B: 促進性応答 (n=37), C: 抑制性応答 (n=20),
 D: 応答なし (n=32)。促進, 抑制とも活動電位持続時間の長いものが多い。

まとめたものである。側坐核刺激に対して30.6% (15/49) のニューロンでなんらかの影響がみられた。逆行性応答を示したものは5個 (10.2%) であり, これらはいずれも活動電位持続時間が 2.9 msec 以上と長く, 自発発火も 3.2 Hz 以下と低いL型ニューロンであった。また側坐核刺激に対して逆行性応答を示したニューロンのうち2個が内側視索前野刺激に対しても逆行性応答を示した。残りの3個も内側視索前野刺激に対して促進 (n=2), あ

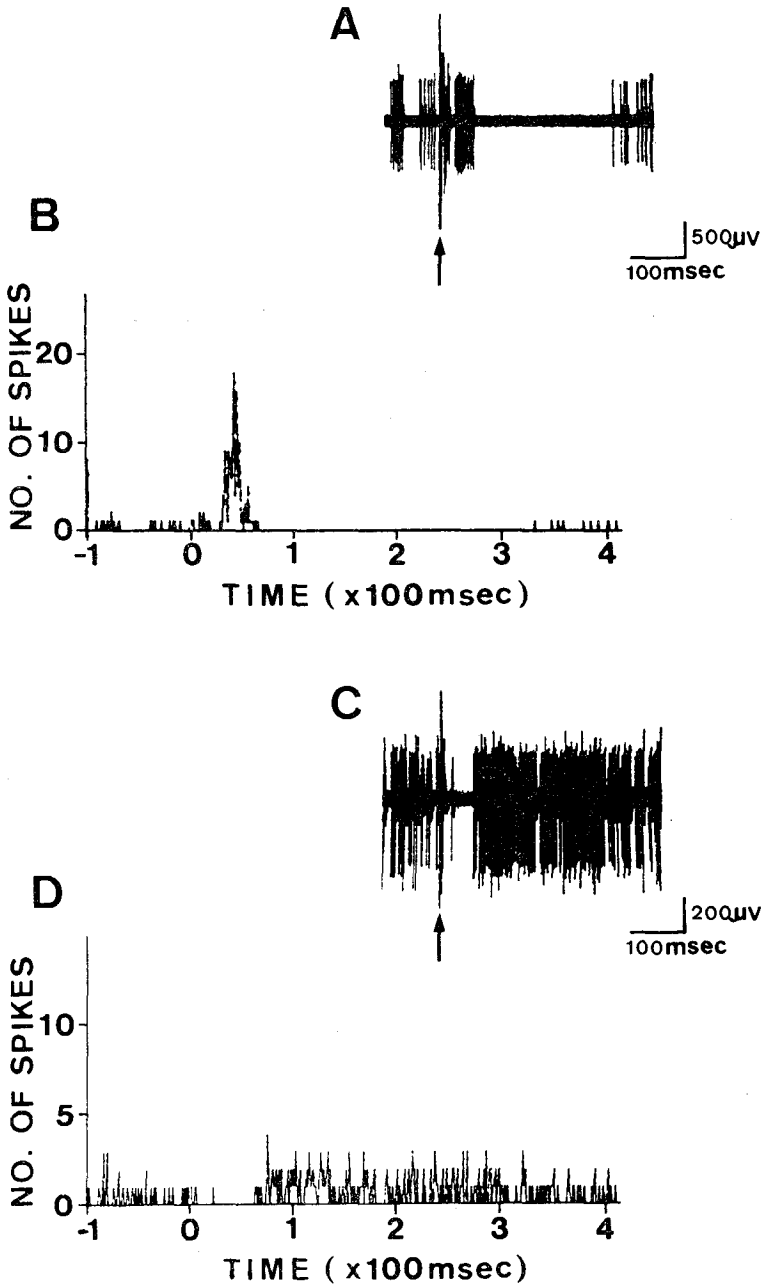


図6 内側視索前野刺激に対する腹側被蓋野ニューロンの順行性の複合応答。A, Bは促進-抑制応答, C, Dは抑制-促進応答の例。A, Cは刺激時点(矢印)を同期させオシロスコープ上でニューロン活動を100回重ねがいたもの。B, DはA, Cの応答を刺激時点を0とし, その前後の発火ヒストグラムとしてあらわしたものである。

表3 腹側被蓋野ニューロンに及ぼす内側視索前野 (MPO) ならびに側坐核 (NAcc) 刺激の効果。

effects of MPO stimulation	effects of NAcc stimulation			
	antidromic	facilitatory	inhibitory	no response
antidromic	2	2	0	1
facilitatory	2	3	0	13
inhibitory	1	0	2	5
no response	0	2	1	15
total	5	7	3	34

るいは抑制 ($n=1$) の影響をうけた。側坐核刺激により促進反応が生じたニューロンは7個 (14.3%) あった。このうち内側視索前野刺激に対して逆行性応答を示したものが2個みられたが、いずれも活動電位持続時間が短かった (1.6 msec, 1.9 msec)。側坐核刺激、内側視索前野刺激とも促進効果が現れたニューロンは3個あり、側坐核刺激、内側視索前野刺激とも抑制効果が生じたニューロンは2個みられた。しかし、側坐核刺激と内側視索前野刺激の効果が反対、即ち一方に対して促進、他方に対して抑制となる例はみられなかった。

4. 組織学的検索

図7に98個の腹側被蓋野ニューロンの記録部位を内側視索前野刺激に対する効果別に示した。記録部位は、König & Klippel²⁹⁾の脳図譜で1610 μm から2180 μm に分布していた。

しかし、内側視索前野刺激効果と記録部位の間には一定の関係は見いだせなかった。また、S型、L型ニューロンの分布にも特徴は認められなかった。

腹側被蓋野ニューロンの逆行性応答は、内側視索前野の前外側部刺激の場合に多い傾向があった。

考 察

1. 自発発火の特徴について

従来^{16, 25, 43, 46, 48)}の諸家の成績と同じく、本実験においても腹側被蓋野では活動電位持続時間の長いニューロン (L型) と、短いニューロン (S型) が記録できた。活動電位持続時間

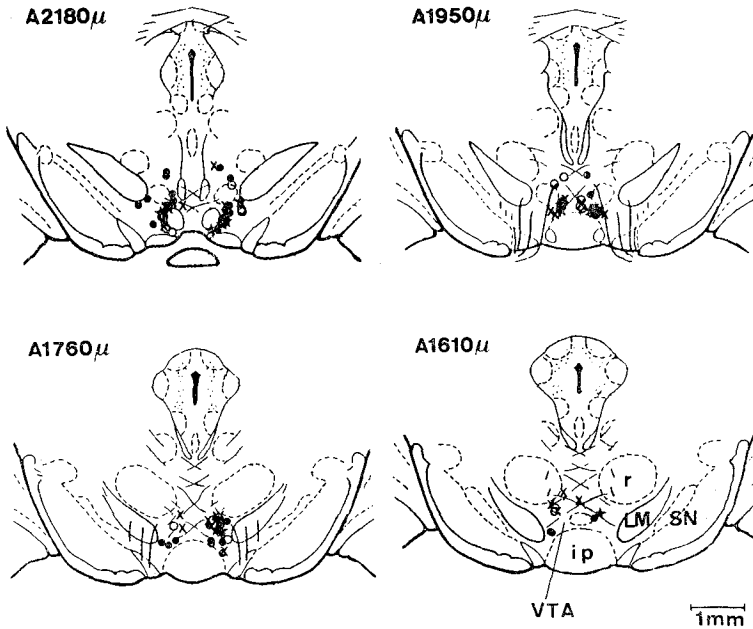


図7 腹側被蓋野ニューロンの記録部位と内側視索前野刺激の効果。König and Klippel²⁸⁾の脳図譜にもとづく。●：促進性応答，○：抑制性応答，★：逆行性応答，×：応答なし。VTA：腹側被蓋野，SN：黒質，r：赤核，ip：脚間核，LM：内側毛帯。

の分類については研究者によりその境界が異なるが、本実験では IS スパイクと SD スパイクの分離が生じたニューロンが 2.4 msec 以上の活動電位持続時間をもつことから、L 型、S 型の境界を 2.4 msec と定めた。この値は Wang⁴⁶⁾の基準と一致する。また、L 型ニューロンの自発発火頻度は全般に低く、さらに、L 型ニューロンの中には群発発射をするものがみられた。これらの L 型ニューロンの特徴は、先に述べたドーパミン作動性ニューロンの同定基準のいくつかを満たしている。したがって、本実験で L 型と分類したニューロンをドーパミン作動性、S 型と分類したニューロンを非ドーパミン作動性と考えることができる。

本実験では L 型ニューロン 86.7% に対し、S 型ニューロンは 13.3% と L 型ニューロンが圧倒的に多数記録できた。ドーパミン作動性と考えられる活動電位持続時間の長いニューロンが多いという結果は、同様に腹側被蓋野で自発発火を記録した Maeda ら²⁵⁾とは一致するが、Wang⁴⁶⁾の type II (本実験の S 型に相当) が type I (本実験の L 型に相当) に比べてやや多いという成績とは対照的である。おそらくサンプリングのバイアスや麻酔の相違などが影響しているのであろう。

組織学的検索の結果、S 型ニューロンと L 型ニューロンの記録部位には顕著な相違は認め

られなかった。腹側被蓋野の中でもドーパミン作動性ニューロンと非ドーパミン作動性ニューロンでは分布パターンに差があると報告されているが⁴⁶⁾、本実験では非ドーパミン作動性と考えられるS型ニューロンのサンプル数が上述の通り非常に少なかったため、分布の相違が現れなかった可能性がある。

いずれにしても、腹側被蓋野には電気生理学的特性の異なる二種類のニューロン群が存在し、これらを活動電位持続時間、波形、発火頻度などからドーパミン作動性、非ドーパミン作動性に分類できることが本実験からも支持された。この判断が妥当であるか否かは、実際にはこれらのニューロンに対するドーパミンアゴニストやアンタゴニストの影響をしらべることや、さらに直接的に、前述したような神経化学的な同定を必要とする。しかしながら、このような電気生理学的同定法は、神経化学的同定が困難な自由行動中の記録においても充分活用できるので、実際の行動中のドーパミン作動性ニューロンの働きを知る上で有力な方略となろう。

2. 内側視索前野刺激の効果について

1) 逆行性応答

内側視索前野刺激に対して9.2% (9個)の腹側被蓋野ニューロンが逆行性応答を示した。本実験では、1)一定潜時、2)自発発火との衝突、3)高周波数刺激に追従、の3点を逆行性応答の基準としたが、この3つは多くの研究で用いられている基準であり^{12,25,43,46,48)}、これらを満足した9個の腹側被蓋野ニューロンが内側視索前野に直接軸索を送っていることは確かであろう。

内側視索前野刺激に対する逆行性応答潜時が6.4 msec以下のニューロンは活動電位持続時間が短く(S型)、潜時10.8 msec以上のニューロンはL型であった。前脳各部の刺激に対する逆行性応答をしらべた研究¹²⁾では、腹側被蓋野ニューロンには伝導速度の速いものと遅いものがあり、前者は非ドーパミン作動性、後者はドーパミン作動性であると考えられている。したがって、逆行性応答潜時に関する上の結果はL型ニューロンはドーパミン作動性で、S型ニューロンは非ドーパミン作動性であろうという上述の推察を支持する。さらに、ドーパミン作動性ニューロンは無髄の細い軸索をもつ¹⁰⁾ため伝導速度も遅いと考えられており¹²⁾、L型ニューロンの伝導速度が遅いという事実は、このニューロンがドーパミン作動性であることを強く支持する。

最近の報告³⁹⁾によれば、腹側被蓋野から内側視索前野へはある程度の直接投射が存在するが、これがドーパミン作動性か否かはまだ明らかにされていない。本実験では9.2%のニュー

ーロンに逆行性の応答がみられ、解剖学的に証明されている比較的弱い腹側被蓋野から内側視索前野への直接投射を電気生理学的に証明したことになる。しかも、上に述べたように、内側視索前野へのドーパミン作動性の投射と、非ドーパミン作動性の投射が電気生理学的に示唆された。

しかし、本実験では電気刺激により逆行性応答を誘発しているため、これらの応答が内側視索前野に存在する腹側被蓋野の軸索終末を刺激したことによる効果であると必ずしも断言できない。単に内側視索前野を通過している線維を刺激した可能性や、内側視索前野近傍への電流滑走による効果の可能性も残されている。この点に関してはさらに詳細な検討が必要である。

また、逆行性応答が得られた内側視索前野の刺激部位は前外側部に多いという結果を得たが、腹側被蓋野の記録部位に特徴はなく、さらに多数のサンプルを得て改めて吟味する必要がある。

内側視索前野刺激に対して逆行性応答するニューロンの中には、逆行性応答直後に自発発火が抑制されるニューロンがみられた。このような応答パターンの出現には、次のような機構が考えられる。一つは、内側視索前野刺激により、逆行性賦活とともに順行性の抑制入力時間が時間的に遅れて腹側被蓋野ニューロンに及んだ可能性である。側坐核から腹側被蓋野へは γ アミノ酪酸 (GABA) 作動性の抑制入力が見られる^{16,48)}。実際、腹側被蓋野ニューロンの多くが GABA のイオン泳動によって抑制される⁴⁹⁾ことから、内側視索前野からも腹側被蓋野へ GABA 性の抑制入力を想定することができるが、直接的な証拠はまだ得られていない。

ほかの一つは、ドーパミン作動性ニューロンが自己受容体を持ち、しかもそれが抑制的に作用するという知見⁴⁸⁾に基づく。ドーパミン作動性ニューロンが興奮すると、反回性軸索側枝あるいは樹状突起-樹状突起間結合を介して放出されたドーパミンが自己受容体に結合し、ニューロン活動を抑制すると考えられている⁴⁷⁾。L型ニューロンはおそらくドーパミン作動性であろうと推察されるため、逆行性賦活後の抑制機構としてこの可能性を考えることもできる。

内側視索前野刺激に対して逆行性応答を示したニューロンの中に、側坐核刺激に対して 15 msec 以上の長潜時で逆行性応答を示したニューロンがあった。これらはいずれも L型に属し、内側視索前野刺激によるインパルスの伝導速度が遅いことからドーパミン作動性と考えられる。内側視索前野刺激、側坐核刺激に対していずれも逆行性応答がみられたことは、1個の腹側被蓋野ニューロンから両部位に軸索が分枝して達していることを示している。Deniau ら¹²⁾は腹側被蓋野から前脳のいくつかの部位への投射を逆行性応答を指標としてしらべ、大部分の腹側被蓋野ニューロンはそれぞれ特定の一部位にのみ投射しており、複

数の部位に同時に投射するニューロンは非常に数が少ないと述べている。しかも、Deniauらが明らかにした分枝パターンは、外側中隔一前頭皮質、外側中隔一線条体、外側中隔一側坐核の組合せであり、内側視索前野についてはしらべていない。したがって、本実験は腹側被蓋野ニューロンの分枝パターンに新たに内側視索前野一側坐核への同時投射を加えたことになる。ちなみに、Deniauらが明らかにした分枝をもつ腹側被蓋野ニューロンの伝導速度は遅いものが多く、この点で本実験結果と一致することから、伝導速度の遅い腹側被蓋野のドーパミン作動性ニューロンの一部が軸索分枝して別々の部位に同時に投射すると考えることができる。

一方、内側視索前野刺激に対して逆行性に応答し、側坐核刺激に対しては順行性の促進効果が生じたニューロンがあった。これらはいずれもS型に属し、伝導速度が比較的速かったことから、非ドーパミン作動性ニューロンと考えることができる。非ドーパミン作動性ニューロンは側坐核刺激に対して抑制されるものが多いと報告されている²⁵⁾が、本実験では、内側視索前野刺激に対して逆行性に応答し、しかも側坐核刺激により抑制されるニューロンは見いだせなかった。したがって、側坐核から抑制性入力をうける非ドーパミン作動性ニューロンが内側視索前野に投射する確率は低いと考えられる。

このように、内側視索前野刺激にも側坐核刺激にも逆行性に賦活されるニューロンがL型でドーパミン作動性と考えられること、これに対して、内側視索前野刺激に逆行性応答したS型ニューロンは側坐核刺激で抑制されず、むしろ促進されるという結果は、両部位におけるドーパミン作動性、非ドーパミン作動性の相互作用を知る上で興味深い知見であるといえよう。

2) 順行性の影響

本実験では記録した98個のうち57個(58.2%)が内側視索前野刺激に対して順行性の影響を示した。そのうち促進効果がみられたものが抑制効果の約2倍あった。Maedaら²⁵⁾は内側視索前野刺激に対して抑制性の効果の方が多いと述べており、本実験結果と一致しない。

効果の現れる潜時に着目すると、抑制効果は10 msec以内の短潜時で現れるものが比較的多いのに対し、促進効果はそれより長い潜時帯に及ぶという相違がみられた。Maedaら²⁵⁾も内側視索前野一視床下部前部刺激に対して多くの腹側被蓋野ニューロンに10 msec以内の短潜時で抑制効果が生じることを報告しており、本実験結果と合致する。このような刺激後10 msec以内の短潜時で現れる効果は、おそらく伝導速度の速い線維を介した単シナプス性の影響であると考えられる。既に述べた通り、側坐核から腹側被蓋野へは伝導速度の速いGABA性の抑制入力が示唆されている^{16,48)}。内側視索前野から腹側被蓋野への直接投射は解剖学的に証明されているが^{9,41)}、それがどのような伝達物質をもっているかはまだ明ら

かではない。しかし、短潜時の効果をもたらすのはおそらく伝導速度の速い有髄線維であろうから、モノアミンがこれに関係する可能性は少ない。何故なら、モノアミン線維は無髄で細いことが証明されており⁴⁵⁾、当然その伝導速度も遅いからである。

腹側被蓋野ニューロンに対する辺縁系刺激の影響をしらべた研究²⁶⁾では、70-90%の腹側被蓋野ニューロンが10 msec以上の潜時で応答しており、本実験ならびにMaedaら²⁵⁾で得られた内側視索前野刺激による短潜時の抑制効果は辺縁系の中では内側視索前野に特有のものともみなすことができる。このように、内側視索前野に特徴的な短潜時抑制効果がドーパミン作動性と考えられるL型のみ認められたことは、腹側被蓋野のドーパミン作動性ニューロンに及ぼす内側視索前野の調節的影響のうち特に迅速な抑制性の影響が重要であることを示唆している。

これに反して、潜時の長い効果は多シナプス性の入力をうけていると考えられる。解剖学的には内側視索前野から外側視索前野への投射^{9,41)}、外側視索前野から内側前脳束を通り腹側被蓋野への投射⁸⁹⁾が明らかにされているので、外側視索前野で中継された情報が腹側被蓋野へ至る可能性も考えられる。この他にも、内側視索前野の遠心性線維は広範に投射しており、その投射部位からさらに第2、第3の連絡が存在することが推察されるので、多シナプスを介し内側視索前野刺激の影響が間接的に腹側被蓋野に及ぶ可能性も高い。

上に述べてきたような内側視索前野刺激の初期効果に続いて、反対方向の変化が生じる場合があった。即ち、促進—抑制、抑制—促進などの場合である。促進—抑制ははじめに促進効果のみられたニューロンの40.5%と多数において見いだされたが、その機構を次のように考えることができる。第1の可能性は、刺激により賦活されたニューロンの軸索側枝が抑制性介在ニューロンにシナプスし、反回性抑制回路を形成していることである。この回路が作動すれば、興奮の後には必ず抑制が生じる。第2の可能性は促進入力と抑制入力の伝導速度の違いである。もし、同一ニューロンに伝導速度が異なり、しかもその影響が反対である入力が収束していれば、当然、促進—抑制、抑制—促進などの応答パターンが生じるであろう。第3の可能性は、これらのニューロンがドーパミン作動性であるという前提のもとに成り立つ。既に述べたように、A10ドーパミン作動性ニューロンは自己受容体を持ち、自らの興奮により放出されたドーパミンによって抑制されるという機構が提唱されている^{47,48)}。本実験の場合にも、促進—抑制反応を示したニューロンの大部分はL型でドーパミン作動性と考えられることから、この機構の可能性も高いと思われる。しかし、現段階でこれらの可能性を特定することは困難である。

抑制—促進パターンは、はじめに抑制をうけたニューロンのうち3個(15%)にのみ認められた。このパターンの生じる機構については例えば抑制後の膜の感受性の上昇などいくつかの可能性が考えられるが、本実験結果からそれを特定することはできない。いずれにして

も、内側視索前野刺激効果はこのような2次効果さらには3次効果までいれると、長いもので400 msecを超えて持続した。おそらく非常に広範な神経回路が賦活されて、腹側被蓋野に持続時間の長い効果をもたらしているのであろう。

以上のように、内側視索前野から腹側被蓋野へは潜時の短い直接的な入力と、多シナプスを介した間接的な入力が見られたが、これらがいずれもドーパミン作動性と考えられるL型ニューロンに投射していることは、ドーパミン作動性ニューロンに複雑な調節的影響が及ぶ可能性を示唆している。

内側視索前野刺激に対して順行性効果をうけたニューロンのうち、側坐核刺激により逆行性に賦活されたものはいずれもL型であった。この結果は、側坐核に投射するドーパミン作動性ニューロンには、内側視索前野から促進性あるいは抑制性入力をうけるものがあることを示しており、Maedaら²⁵⁾と一致する。しかし、彼らは非ドーパミン作動性ニューロンも内側視索前野一視床下部前部からの促進および抑制入力をうけることを示しており、内側視索前野の刺激効果は必ずしもドーパミン作動性ニューロンに限って生じるのではないと思われる。また、促進効果の潜時が28 msec以上と長いのに対し、抑制効果の潜時は6 msecと短く、おそらく前者は多シナプス性で、後者は単シナプス性であろうと考えられる。

内側視索前野と側坐核からの順行性入力の収束については、本実験ではサンプル数が少ないものの、両部位から促進をうけるものと、両部位から抑制をうけるものだけが見いだされ、一方から促進、他方から抑制というパターンは現れなかった。この両部位からの収束入力をしらべたMaedaら²⁵⁾の結果は必ずしも本実験結果とは一致せず、側坐核から促進、内側視索前野から抑制というパターンもある程度含まれているという。しかし、両部位から同方向の影響をうけるものが多数存在すると述べているので、この点では本実験結果に近いといえる。

3. 腹側被蓋野と動機づけ行動との関連

上述してきた腹側被蓋野ニューロンの性質、および内側視索前野、側坐核との神経回路に関する電気生理学的知見は、実際の行動とどのように関係するのであろうか。以下、オス型交尾行動と養育行動について若干の考察を試みる。

本実験では、腹側被蓋野においてドーパミン作動性と考えられるニューロンを多数記録した。既に述べたごとく、腹側被蓋野はオス型交尾行動や養育行動になんらかの関係をもつことが示唆されている^{2,5,13,35)}ことから、この部位のドーパミン作動性ニューロンの役割が注目される。しかし、従来から行われている破壊や刺激実験は、腹側被蓋野のドーパミン作動性ニューロンを選択的に破壊したり刺激したりするものではないため、これらの結果からド

ーパミン作動性ニューロンの機能を特定することは困難である。

たとえば、Brackett ら³⁾は腹側被蓋野の破壊によって側坐核のドーパミン量が著明に減少したが、オス型交尾行動の遂行にはほとんど影響がなく、わずかに射精後の不応期が延長したと述べている。ドーパミンはオス型交尾行動に促進的にはたらくという説もあるが、腹側被蓋野よりむしろ黒質一線条体系のドーパミンが関与している可能性が高い³⁹⁾。また、養育行動に関しては腹側被蓋野の重要性が示唆されている³⁵⁾もののドーパミンの関与についてはほとんど知られていない。

腹側被蓋野のドーパミン作動性ニューロンは locomotion の調節に関係すると考えられている³⁾。locomotion はオス型交尾行動や養育行動の遂行には不可欠な運動であるため、ドーパミンは運動遂行の面で間接的にこれらの行動に関係しているのかもしれない。また、養育行動の中でも仔の連れ戻しや造巢などの要素が腹側被蓋野破壊によって障害される³⁵⁾のは、口の運動が阻害されたためと考えることもできる。実際、ドーパミンは口の運動と関係するといわれている³²⁾。このように、これらの行動と腹側被蓋野のドーパミンの関係については運動の面から捉えていく必要もある。

内側視索前野刺激に対して多くの腹側被蓋野ニューロンに順行性の影響がみられたことは、オス型交尾行動や養育行動の発現には内側視索前野からの遠心性の投射が重要であるという説^{5,34,42)}を支持する。中でも、順行性の促進的な影響が多かったことは、内側視索前野で統合された情報の多くが腹側被蓋野へ送られている可能性を示唆する。最近、エストラジオールを含む内側視索前野ニューロンが腹側被蓋野へ投射していることが証明され¹⁴⁾、この経路とオス型交尾行動や養育行動との関連が一層注目される。

また、内側視索前野刺激効果の潜時が広範囲に及んだことから、多シナプスを介した入力もこれらの行動の発現に重要であると思われる。実際、養育行動の発現には、内側視索前野から腹側被蓋野へ直接投射する線維よりも、内側視索前野から外側視索前野でニューロンを替え、腹側被蓋野へ至る経路が重要であると考えられている³⁰⁾。

一方、内側視索前野から腹側被蓋野への抑制入力は短潜時のものが多かったが、これらのおそらく単シナプス性の入力は、オス型交尾行動の非常に素早い動作の調節になんらかの役割を果していると思われる。

上述のように、オス型交尾行動や養育行動の発現には内側視索前野からの遠心性投射が重要であるといわれているが、腹側被蓋野から内側視索前野への求心性投射の役割も決して否定されるものではない。本実験で得られた内側視索前野刺激に対する逆行性応答は、腹側被蓋野から内側視索前野への投射を示したもので、そのような入力が内側視索前野における統合過程に関わっている可能性もある。また、腹側被蓋野から内側視索前野ならびに側坐核へ同時に投射するドーパミン作動性ニューロンの存在が示唆されたことから、Mogenson ら³⁸⁾

の提唱するように辺縁系から運動系へと情報が送られる際に、腹側被蓋野は内側視索前野にフィードバック情報を送り込んでいると考えることもできる。

既に述べたとおり、オス型交尾行動中に腹側被蓋野ニューロンには行動と関連したいくつかの活動パターンの変化がみられる²⁰⁾。また、最近著者らは養育行動中の腹側被蓋野ニューロン活動が仔の連れ戻し行動前後に顕著な変化を示すことを観察した（未公刊）。このように、腹側被蓋野ニューロンのあるものは実際の動機づけ行動に関連して活動変化を示すので、これらのニューロンがドーパミン作動性か否かが問題となる。著者らの実験では、既に述べたような同定基準からドーパミン作動性と判断できるニューロンはごく少数しか記録できなかった。大部分は活動電位持続時間が2 msec以下と短く、発火頻度も比較的高いものが多かった。この結果は、同じく慢性実験で腹側被蓋野ニューロン活動を記録した Miller ら⁸⁰⁾の結果と合致する。彼らは急性実験ではドーパミン作動性ニューロンを比較的高い確率で記録できるのに対し、慢性実験ではドーパミン作動性ニューロンはあまり記録できないと述べている。麻酔の有無がその大きな原因であろうが、無麻酔時にはドーパミン作動性ニューロンに持続的な強い抑制が働いているのであろうと Miller らは考えている。

さらに、ネコ⁴⁴⁾、ラット⁸¹⁾の慢性実験では、ドーパミン作動性ニューロンは動物の睡眠-覚醒状態に依存せず、常に一定の発火レベルを保つと報告されており、ノルアドレナリン作動性ニューロンやセロトニン作動性ニューロンが睡眠-覚醒サイクルに依存して大きく変化するのは対照的であるという。著者らの慢性実験においても、稀に記録し得たドーパミン作動性と思われる活動電位持続時間の長いニューロンは、動物の覚醒水準によらず、一定の発火レベルを保つ傾向があった。

このように、慢性実験からはドーパミン作動性ニューロンよりもむしろ非ドーパミン作動性ニューロンが実際の行動に直接関与していることが示唆されたが、Steinfels ら⁴⁰⁾はこれに対してドーパミン作動性ニューロンの重要な役割を提唱している。即ち、条件づけ事態にあるネコの中脳ドーパミン作動性ニューロンは動物にとって意味のある刺激に対して興奮性応答を示し、その後比較的長い抑制が生じるという。彼らはこの抑制期間が動物の不動状態、反応抑制、あるいは注意などの過程と対応するのではないかと考えており、ドーパミン作動性ニューロンが適応行動に深く関係する可能性を示唆している。

4. ま と め

本実験の結果、腹側被蓋野にはドーパミン作動性と考えられるニューロンが多数存在し、その過半数が内側視索前野から順行性の影響をうけることが明らかになった。促進効果は抑制効果より多く現れ、多シナプス性と考えられるものも多かった。これに対し、抑制効果は

単シナプス性と考えられるものが比較的多かった。一方、腹側被蓋野から内側視索前野への直接投射も証明されたが、そのうちドーパミン作動性と考えられるニューロンには側坐核に同時に投射するものがあった。

このようなニューロンレベルでの相互作用は、上に考察してきたように、オス型交尾行動や養育行動の発現において、たとえば、運動機能の調節のような重要な役割を担っていると推察される。しかし、それが動機づけ行動に特異的であるか否かを判断するには、依然として資料が不足している。動機づけ行動における腹側被蓋野の役割を特定するためには、今後さらに精緻な神経薬理学的的方法による伝達物質の同定や、行動とニューロン活動との詳細な対応関係を明らかにしていく必要がある。

本研究は昭和59年度および60年度文部省科学研究費補助金（課題番号59710064, 60710063）によった。

また、実験の実施にあたって、本学部昭和60年度卒業の福本浩行君の協力をえた。

文 献

- 1) Bandler, R. J., Chi, C. C., and Flynn, J. P. (1972) Biting attack elicited by stimulation of the ventral midbrain tegmentum of cats. *Science*, 177:364-366.
- 2) Barfield, R. J., Wilson, C., and McDonald, P. G. (1975) Sexual behavior: extreme reduction of postejaculatory refractory period by midbrain lesions in male rats. *Science*, 189: 147-149.
- 3) Beninger, R. J. (1983) The role of dopamine in locomotor activity and learning. *Brain Res. Rev.*, 6: 173-196.
- 4) Berger, B., Nguyen-Legros, J., and Thierry, A. M. (1978) Demonstration of horseradish peroxidase and fluorescent catecholamines in the same neuron. *Neurosci. Lett.*, 9: 297-302.
- 5) Brackett, N. L., Iuvone, P. M., and Edwards, D. A. (1986) Midbrain lesions, dopamine and male sexual behavior. *Behav. Brain Res.*, 20: 231-240.
- 6) Bunney, B. S., Walters, J. R., Roth, R. H., and Aghajanian, G. K. (1973) Dopaminergic neurons: effect of antipsychotic drugs and amphetamine on single cell activity. *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 185: 560-571.
- 7) Caggiula, A. R. (1970) Analysis of the copulation-reward properties of posterior hypothalamic stimulation in male rats. *J. comp. physiol. Psychol.*, 70: 399-412.
- 8) Chiodo, L. A., Bannon, M. J., Grace, A. A., Roth, R. H., and Bunney, B. S. (1984) Evidence for the absence of impulse-regulating somatodendritic and synthesis-modulating nerve terminal autoreceptors on subpopulations of mesocortical dopamine neurons. *Neuroscience*, 12: 1-16.
- 9) Conrad, L. C. A. and Pfaff, D. W. (1976) Efferents from medial basal forebrain and hypothalamus in the rat. I. an autoradiographic study of the medial preoptic area. *J. Comp. Neurol.*, 169: 185-220.
- 10) Dahlström, A. and Fuxe, K. (1964) Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta physiol. scand.*, 62, Suppl. 232: 1-55.
- 11) Davidson, J. M. (1966) Activation of the male rat's sexual behavior by intracerebral

- implantation of androgen. *Endocrinology*, 79: 783-794.
- 12) Deniau, J. M., Thierry, A. M., and Feger, J. (1980) Electrophysiological identification of mesencephalic ventromedial tegmental (VMT) neurons projecting to the frontal cortex, septum and nucleus accumbens. *Brain Res.*, 189: 315-326.
 - 13) Eibergen, R. D. and Caggiula, A. R. (1973) Ventral midbrain involvement in copulatory behavior of the male rat. *Physiol. Behav.*, 10: 435-441.
 - 14) Fahrbach, S. E., Morrell, J. I., and Pfaff, D. W. (1986) Identification of medial preoptic neurons that concentrate estradiol and project to the midbrain in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 247: 364-382.
 - 15) Gaffori, O. and Le Moal, M. (1979) Disruption of maternal behavior and appearance of cannibalism after ventral mesencephalic tegmentum lesions. *Physiol. Behav.*, 23: 317-323.
 - 16) German, D. C., Dalsass, M., and Kiser, R. S. (1980) Electrophysiological examination of the ventral tegmental (A10) area in the rat. *Brain Res.*, 181: 191-197.
 - 17) Hanada, M., Yamaguchi, K., and Shimokochi, M. (1980) Copulatory behavior in male rats: excitability and modulation in the brain. *Neurosci. Lett.*, Suppl. 4: S 82.
 - 18) Heimer, L. and Larsson, K. (1966/67) Impairment of mating behavior in male rats following lesions in the preoptic-anterior hypothalamic continuum. *Brain Res.*, 3: 248-263.
 - 19) Hökfelt, T. and Ungerstedt, U. (1973) Specificity of 6-hydroxydopamine induced degeneration of central monoamine neurones: an electron and fluorescence microscopic study with special reference to intracerebral injection on the nigro-striatal dopamine system. *Brain Res.*, 60: 269-297.
 - 20) Horio, T., Shimura, T., and Shimokochi, M. (1985) The neuronal activity in the ventral tegmental area during male copulatory behavior in the rat. *Neurosci. Res.*, Suppl. 1: S 8.
 - 21) Horio, T., Shimura, T., Hanada, M., and Shimokochi, M. (1986) Multiple unit activities recorded from the medial preoptic area during copulatory behavior in freely moving male rats. *Neurosci. Res.*, 3: 311-320.
 - 22) Huang, Y. H. and Mogenson, G. J. (1972) Neural pathways mediating drinking and feeding in rats. *Exp. Neurol.*, 37: 269-286.
 - 23) König, J. F. R. and Klippel, R. A. (1963) *The Rat Brain: A Stereotaxic Atlas of the Forebrain and Lower Parts of the Brain Stem*. Williams and Wilkins, Baltimore.
 - 24) Kucharczyk, J. and Mogenson, G. J. (1977) The role of mesencephalic structures in thirst induced by centrally administered angiotensin II. *Brain Res.*, 126: 225-241.
 - 25) Maeda, H. and Mogenson, G. J. (1980) An electrophysiological study of inputs to neurons of the ventral tegmental area from the nucleus accumbens and medial preoptic-anterior hypothalamic areas. *Brain Res.*, 197: 365-377.
 - 26) Maeda, H. and Mogenson, G. J. (1981) Electrophysiological responses of neurons of the ventral tegmental area to electrical stimulation of amygdala and lateral septum. *Neuroscience*, 6: 367-376.
 - 27) Malsbury, C. W. (1971) Facilitation of male rat copulatory behavior by electrical stimulation of the medial preoptic area. *Physiol. Behav.*, 7: 797-805.
 - 28) Malsbury, C. W. and Pfaff, D. W. (1974) Neural and hormonal determinants of mating behavior in adult male rats. A review. In: L. Dicara (ed.) *The limbic and autonomic nervous system: Advances in research*. pp. 85-136. Plenum, New York.
 - 29) McIntosh, T. K. and Barfield, R. J. (1984) Brain monoaminergic control of male reproductive behavior. II. dopamine and the post-ejaculatory refractory period. *Behav. Brain Res.*, 12: 267-273.
 - 30) Miller, J. D., Sanghera, M. K., and German, D. C. (1981) Mesencephalic dopaminergic unit activity in the behaviorally conditioned rat. *Life Sciences*, 29: 1255-1263.
 - 31) Miller, J. D., Farber, J., Gatz, P., Roffwarg, H., and German, D. C. (1983) Activity of mesencephalic dopamine and non-dopamine neurons across stages of sleep and waking

- in the rat. *Brain Res.*, 273: 133-141.
- 32) Mogenson, G. J., Jones, D. L., and Yim, C. Y. (1980) From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Progress in Neurobiology*, 14: 69-97.
 - 33) Numan, M. (1974) Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat. *J. comp. physiol. Psychol.*, 87: 746-759.
 - 34) Numan, M. (1984) Brain mechanisms and parental behavior. In: N. Adler, D. Pfaff, and R. W. Goy (eds.) *Handbook of Behavioral Neurobiology*, vol. 7: 537-605. Plenum, New York.
 - 35) Numan, M. and Smith, H. G. (1984) Maternal behavior in rats: evidence for the involvement of preoptic projections to the ventral tegmental area. *Behav. Neurosci.*, 98: 712-727.
 - 36) Numan, M., Morrell, J. I., and Pfaff, D. W. (1985) Anatomical identification of neurons in selected brain regions associated with maternal behavior deficits induced by knife cuts of the lateral hypothalamus in rats. *J. Comp. Neurol.*, 237: 552-564.
 - 37) Paxinos, G. and Bindra, D. (1973) Hypothalamic and midbrain neural pathways involved in eating, drinking, irritability, aggression, and copulation in rats. *J. comp. physiol. Psychol.*, 82: 1-14.
 - 38) Phillipson, O. T. (1979) Afferent projections to the ventral tegmental area of Tsai and interfascicular nucleus: a horseradish peroxidase study in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 187: 117-144.
 - 39) Simerly, R. B. and Swanson, L. W. (1986) The organization of neural inputs to the medial preoptic nucleus of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 246: 312-342.
 - 40) Steinfels, G. F., Heym, J., Strecker, R. E., and Jacobs, B. L. (1983) Behavioral correlates of dopaminergic unit activity in freely moving cats. *Brain Res.*, 258: 217-228.
 - 41) Swanson, L. W. (1976) An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat. *J. Comp. Neurol.*, 167: 227-256.
 - 42) Szechtman, H., Caggiula, A. R., and Wulkan, D. (1978) Preoptic knife cuts and sexual behavior in male rats. *Brain Res.*, 150: 569-591.
 - 43) Thierry, A. M., Deniau, J. M., Herve, D., and Chevalier, G. (1980) Electrophysiological evidence for non-dopaminergic mesocortical and mesolimbic neurons in the rat. *Brain Res.*, 201: 210-214.
 - 44) Trulsson, M. E. and Preussler, D. W. (1984) Dopamine-containing ventral tegmental area neurons in freely moving cats: activity during the sleep-waking cycle and effects of stress. *Exp. Neurol.*, 83: 367-377.
 - 45) Ungerstedt, U. (1971) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta physiol. scand.*, 82, Suppl. 367: 1-48.
 - 46) Wang, R. Y. (1981) Dopaminergic neurons in the rat ventral tegmental area. I. identification and characterization. *Brain Res. Rev.*, 3:123-140.
 - 47) Wang, R. Y. (1981) Dopaminergic neurons in the rat ventral tegmental area. II. evidence for autoregulation. *Brain Res. Rev.*, 3:141-151.
 - 48) Yim, C. Y. and Mogenson, G. J. (1980) Electrophysiological studies of neurons in the ventral tegmental area of Tsai. *Brain Res.*, 181: 301-313.

THE EFFECTS OF ELECTRICAL STIMULATION OF THE MEDIAL PREEPTIC AREA UPON NEURONAL ACTIVITIES OF THE VENTRAL TEGMENTAL AREA

Tsuyoshi SHIMURA and Minoru SHIMOKOCHI

The mesencephalic ventral tegmental area (VTA) contains a large number of dopaminergic cell bodies and receives neural projections from many limbic forebrain structures. VTA is implicated in a number of motivated behaviors, including feeding, drinking, attack, and reproduction, associated with these limbic forebrain structures. Among limbic structures, the medial preoptic area (MPO) is deeply involved in male copulatory behavior and parental behavior. Therefore, it is of interest to investigate the influence of MPO on the electrical activity of VTA neurons.

Extracellular activities were recorded from neurons in VTA of urethane-anesthetized rats and the effects of electrical stimulation of MPO and the nucleus accumbens (NAcc) upon these units were examined.

These neurons were divided into two types based on the durations of action potentials. Type L neurons (86.7%: 85/98) had longer durations of action potentials (>2.4 msec), while type S neurons (13.3%: 13/98) had shorter durations of action potentials (<2.4 msec). The spontaneous firing frequencies of type L neurons were relatively low, compared with those of type S neurons.

A small number of type L and type S (9.2%) neurons were antidromically activated by electrical stimulation of MPO. Antidromically activated type L neurons had slow conduction velocities (less than 0.57m/sec), while type S neurons had fast (more than 0.87m/sec) ones. Some type L neurons responded antidromically to both MPO and NAcc stimulation.

Thirty seven point eight percent (37/98) of VTA neurons were orthodromically activated by MPO stimulation. The onset latencies of these activation were widely distributed. On the other hand, 20.4% (20/98) of VTA neurons were suppressed by MPO stimulation. A half of type L neurons of these were suppressed with onset latencies less than 10 msec. A small number of VTA neurons had convergent inputs from MPO and NAcc (activated-activated ($n=3$) or suppressed-suppressed ($n=2$)).

Judging from the proposed criteria based on the duration of action potential, firing frequency, conduction velocity and so on, type L and type S neurons were considered to be dopaminergic and non-dopaminergic, respectively. Our present findings suggested

that the majority of VTA dopaminergic neurons received monosynaptic or polysynaptic inputs from MPO.

Since the efferent projections of MPO neurons to the brain stem are thought to be essential for male copulatory behavior and parental behavior, these results may suggest a possible neural interaction between VTA and MPO responsible for these behavior.