

# ラットの母性行動と外側視床下部ニューロン活動

山 口 勝 機

The purpose of the experiment was to investigate the neural activities of the dorsal LH(lateral hypothalamus) during retrieving, nursing or nest-building in the lactating female rats. As a result, three types of neural activities were identified throughout retrieving. The first type increased its firing rates while a mother rat was approaching a pup to retrieve to the nest but became silent during retrieving. This type seems to reflect the motivational aspect of retrieving. The second type increased its firing rates while a mother rat retrieved a pup to the nest. Also, this type augmented its activity when a mother rat held chips of wood in her mouth. This type is considered to be related to the oral component of maternal behaviors. The third type continued to increase its firing rates from approaching to retrieving. These results have suggested that the dorsal LH play an important role in both the motivation and oral component of maternal behavior such as retrieving.

**Key Words** : maternal behavior, retrieving, rat, neural activity, dorsal LH

ラットの母性行動発現に関する神経機構については多くの破壊実験がおこなわれている。それらの結果によると内側視索前野の両側性破壊により母性行動の中で仔ラットの連れ戻し行動、授乳行動などが著しい障害を示してくる(3)(5)(8)(14)。また内側視索前野からの遠心性経路の中では、外側視索前野に入る外側路が重要であり、この経路を両側性に切断すると内側視索前野破壊の場合と同様、仔ラットの連れ戻し行動などの母性行動に障害があらわれてくる(9)(14)。この内側視索前野から外側視索前野を経て下行する神経系は内側前脳束を通り外側視床下部に入ったのち中脳腹側被蓋野に至り、最終的には中脳中心灰白質などの下位脳幹にまで達することが明らかにされている(2)(4)(7)(13)。従って、内側前脳束あるいは中脳腹側被蓋野の破壊、あるいは中脳腹側被蓋野後部の神経路を前額面で両側性に切断した場合でも母性行動に重大な障害が生じてくる(1)(6)(7)。この内側視索前野から外側視索前野に入り中脳腹側被蓋野に至る神経回路が母性行動にとって基本的な神経路であると考えられている。

外側視床下部については、内側視索前野の外側部からの遠心性経路は外側視床

下部を介して中脳腹側被蓋野に直接下行していることが明らかにされているが(12)(13)、外側視床下部の背側部と腹側部とでは母性行動に対する関与の仕方が異なる。外側視床下部の腹側部を介して脳幹に下行していく内側視索前野の大部分の軸索を破壊しても母性行動には大きな変化はなかった。しかし、外側視床下部の背側部を破壊した場合は、連れ戻し行動、造巢行動、授乳行動などの発現が消失するか、あっても極めて少ないなどの母性行動に顕著な障害がみられた(10)。こうした結果から外側視床下部については腹側部より背側部が母性行動と関係の深い部位であるといえる。

連れ戻し行動あるいは授乳行動などの母性行動発現に関与する神経系のニューロン活動については、内側視索前野、外側視索前野、中脳腹側被蓋野などについて分析してきた(15)(16)(17)。その結果、連れ戻し行動発現時にこれらの部位において、仔ラットへ接近する時にはニューロン活動が増加し、口にくわえて巣に連れ戻す時点では減少するタイプと、仔ラットを口にくわえて巣に連れ戻す時点でニューロン活動の増加する2つのタイプが観察された。こうしたニューロン活動は連れ戻し行動の動機づけ過程とその遂行過程に関係したものと考えられるが、本能行動における欲求行動と完了行動に対応したニューロン活動でもあるといえる。本実験の目的は、こうしたニューロン活動が母性行動発現時に外側視床下部背側部においても同様にみられるかどうか検討することである。

## 実験方法

実験に使用した被験体はWistar系アルビノ雌ラット、体重300グラム前後、10匹である。被験体は昼夜半転下で飼育した(AM7:00消灯, PM7:00点灯)。飼育室の温度及び湿度は空調装置により一定に維持した。餌及び水は自由に摂取させた。実験に先立ち、複数の組の雌雄ラットをそれぞれ飼育し、交尾確認後、雌ラットは妊娠後期まで単独で個別ケージで飼育した。分娩前にはチップをしきつめたケージ(縦26cm, 横41cm, 高さ20cm)に移したが、このケージは母性行動の観察及びニューロン活動の記録時にも使用した。

分娩2日目に被験体はsodium pentobarbitalの腹腔内注射(35mg/kg)により麻酔した後、脳定位固定装置に固定し、以下の微小電極植込みのための手術をおこなった。まず頭皮を正中線にそって切開し頭骨を露出させた後、ラット用脳地図(11)に基づいて外側視床下部上の頭骨に微小電極植込み用の穴を小型ドリルで定位的に穿孔した。使用した座標はAP=-2.12, ML=2.0, DV=7.9~8.4であ

る。次に母性行動発現時の外側視床下部ニューロン活動を無麻酔・無拘束下で慢性的に記録するために垂直軸方向の移動が可能な微小電極をセットした小型のマニピュレータをこの小穴に定位的に固定した(18)。微小電極には直径100ミクロンのタングステン線を電解研磨し、コーティングしたものを使用した。なおマニピュレータにセットした微小電極の可動範囲は最大8mm、重さは全体で3グラムであった。ラットのグルーミングやスクラッチによりマニピュレータにセットした微小電極が損傷するのを防ぐため透明なプラスチックのパイプでマニピュレータを保護した。次にアース及び不関電極には直径1mmのステンレス製の小ネジにリード線をハンダづけしたものを鼻骨上に植え込んだ。これらの電極及び微小電極からのリード線は3ピンの小型コネクタに接続した後、歯科用レジンによりマニピュレータとともに頭骨上に固定した。術後、被験体には十分な回復期間を与えた。

実験に際し、母ラットの頭部コネクタに3ピンの雄型コネクタを接続した。このコネクタのコードは小型のスリップリングコネクタに接続されており、ラットがどの方向に移動してもコネクタのコードはよじれない仕組みになっていた。このスリップリングコネクタは高感度交流増幅器をそなえたメモリオシロスコープに接続するが、外側視床下部ニューロン活動を観察するために3KHzでピークを示すハイパスフィルターにより脳波成分などを除去した。

分析の対象とした主な母性行動は仔ラットに対する連れ戻し行動、授乳行動などとしたが、造巢行動ならびにグルーミングなどについても観察した。実験は母ラットの前方約20cmの場所に仔ラットを1匹ずつ呈示することにより開始した。連れ戻し行動に関しては20秒から50秒間隔でランダムに15回から20回反復呈示をおこなった。母性行動発現時の外側視床下部ニューロン活動はメモリオシロスコープで観察すると同時に、各母性行動の発現を示すマーカー及び音声とともにデータレコーダによりDATテープに磁気記録した。実験を通してニューロン活動はサウンドモニターもおこない反応性のチェックをおこなった。

次に母性行動の中で仔ラットの連れ戻し行動と外側視床下部ニューロン活動との関係を分析するにあたり、振幅のことなる数種類のニューロン活動が同時に記録された場合は、ウインドウディスクリミネーターにより特定のニューロン活動を識別し、パルス変換した後、パーソナルコンピュータに入力した。こうした一連のパルスはパルス処理用ソフト(PDV-1)により、母ラットが仔ラットを口にくわえた時点を中心とした前後2.5秒間ずつのニューロン活動の変化を10ミリ秒毎のラスターモードとして10回から20回もとめると同時に、それらを加算した

ヒストグラム (Pulse Density Variation: PDV) を求めた。ラスターモードを処理するトリガー刺激には、連れ戻し行動の中で母ラットが仔ラットを口にくわえた時点のマーカー記録をディスクリミネータのスライスレベルで識別しパルス変換したものを使用した。授乳行動ならびにグルーミングなどの行動については50ミリ秒から100ミリ秒毎のニューロン活動の継時的変化として求めた。そのほか一連の母性行動発現時の外側視床下部ニューロン活動について、必要な部分については連続撮影装置により撮影し分析の参考とした。

実験終了後、深麻醉下で10%ホルマリン溶液による灌流固定をしたのち脳を摘出した。その後、脳切片を作成し記録部位の同定をおこなった。

## 結果

ラットの母性行動発現時における外側視床下部背側部ニューロン活動について検討した結果、仔ラットの連れ戻し行動に関して3つのタイプのニューロン活動が認められた。

第1のタイプは、仔ラットへの接近時に放電頻度が顕著に増加し、仔ラットをくわえて巣に連れ戻す時点では減少するものであり、その一連のニューロン活動

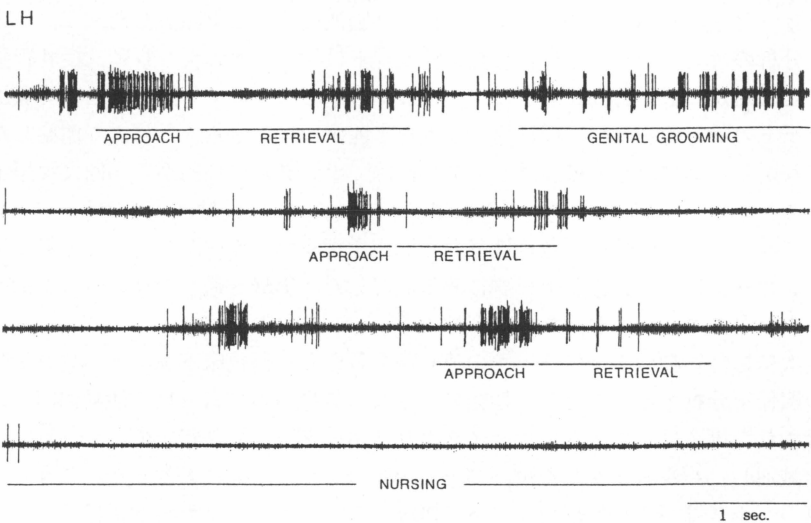


Fig. 1 連れ戻し行動の発現過程の中で、母ラットが仔ラットへ接近 (approach) する時点で放電頻度が増加する外側視床下部ニューロン活動

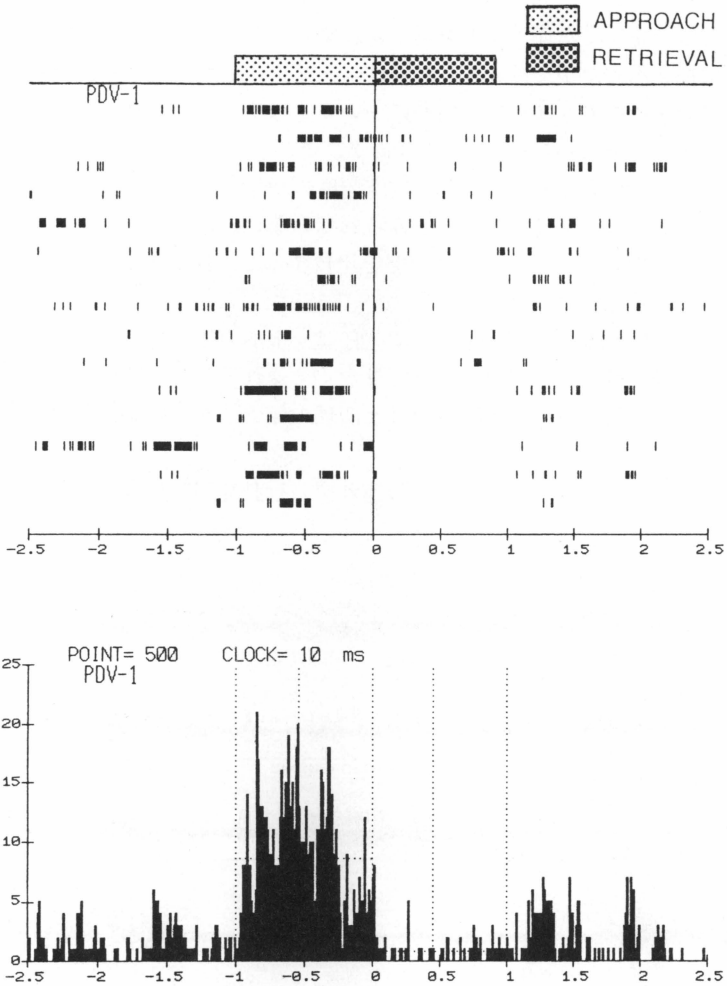


Fig. 2 仔ラットへの接近時に放電頻度が増加するニューロン活動について、仔ラットを15回反復呈示した際、母ラットが仔ラットをくわえた時点（X軸上の0）を中心とした前後2.5秒間におけるニューロン活動の変化を10ミリ秒毎に示したラスタモード（上）と、それらを加算したヒストグラム（下）である。

を連続的に示したのが Fig. 1 である。

このタイプは仔ラットを巣に連れ戻した後、再び母ラットが仔ラットの呈示場所へもどった時、また仔ラットを巣に連れ戻して困り込む行動を取る時にも放電頻度の増加を示したが、授乳行動時にはニューロン活動はほとんどみられなかった。更に同タイプのニューロン活動について、母ラットに仔ラットを反復呈示した時のニューロン活動を示したのが Fig. 2 である。

仔ラットをくわえる約 1 秒前から放電頻度の増加が始まり、実際の連れ戻し行動時にはニューロン活動はほとんどみられていない。仔ラットを口にくわえた時点の前後 1 秒間についてのパルス密度を比較すると、仔ラットへの接近時は 8.6、仔ラットをくわえて巣に連れ戻す時は 0.8 であった。このニューロン活動は母ラットの単純な移行行動では変化を示さず、仔ラットへの接近時に放電頻度が増加したことから運動性のニューロン活動ではなく、連れ戻し行動時における、特に仔ラットへの接近という行動の動機づけと関係の深いニューロン活動であろうと考えられる。

次に第 2 のタイプとして仔ラットの連れ戻し行動発現時に放電頻度が増加する

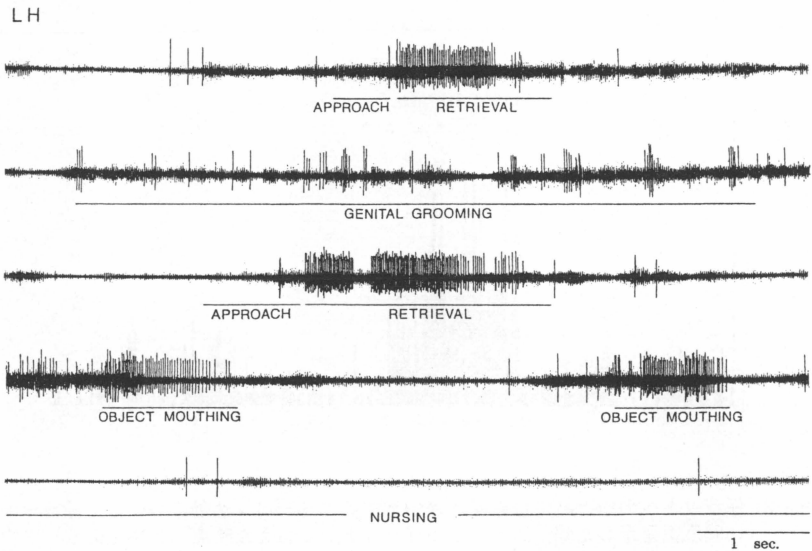


Fig. 3 連れ戻し行動に関して、仔ラットをくわえて巣へ連れ戻す (retrieval) 時点で放電頻度が増加する外側視床下部ニューロン活動

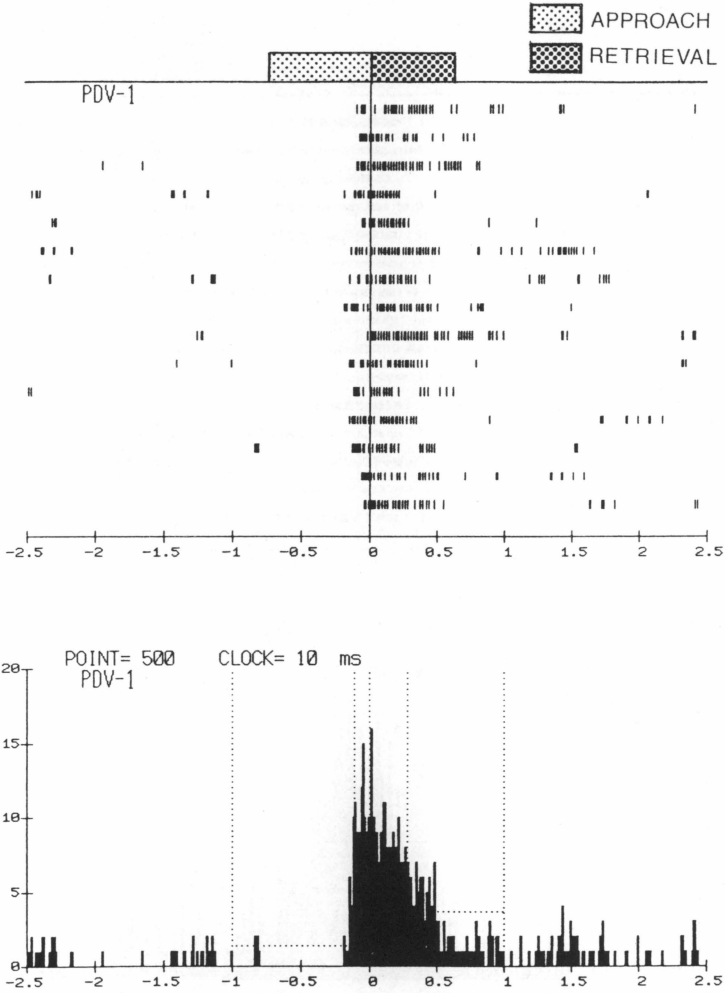


Fig. 4 仔ラットをくわえて巣に連れ戻す時点で放電頻度が増加するニューロン活動について、仔ラットを15回反復提示した時、母ラットが仔ラットをくわえた時点(0)を中心とした前後2.5秒間におけるニューロン活動の変化を10ミリ秒毎に示したラスタモード(上)と、それらを加算したヒストグラム(下)。ニューロン活動は、仔ラットをくわえる直前からすでに始まっている。

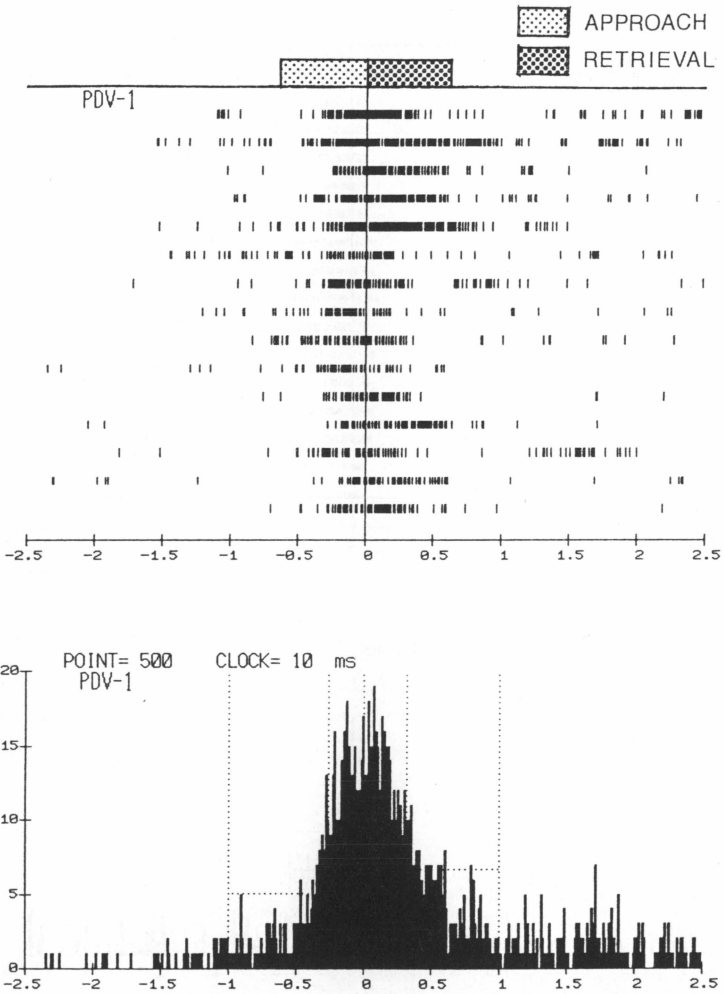


Fig. 5 仔ラットへの接近時から連れ戻し行動にかけて放電頻度が持続的に増加したニューロン活動について、仔ラットを15回反復呈示した時、母ラットが仔ラットをくわえた時点(0)を中心とした前後2.5秒間におけるニューロン活動の変化を10ミリ秒毎に示したラスターモード(上)と、それらを加算したヒストグラム。



ニューロン活動について連続的に示したのが Fig. 3 である。

このタイプの特徴は、一連の連れ戻し行動に関して仔ラットへの接近時にニューロン活動はほとんどみられず、口にくわえて巣に連れ戻す時点で顕著な放電頻度の増加を示したことである。更に巣材であるチップスをくわえた時にも同様に放電頻度の増加を示した。これと同タイプのニューロン活動について、母ラットに仔ラットを反復呈示した時のニューロン活動を示したのが Fig. 4 である。

仔ラットへの接近時にはニューロン活動はほとんどみられず、口にくわえる直前から放電頻度が増加しはじめ巣に連れ戻すまで持続した。仔ラットをくわえた前後 1 秒間についてのパルス密度を比較すると、仔ラットへの接近時が 1.4、連れ戻し行動時が 3.7 であった。このニューロン活動は移行行動などでは変化せず、仔ラットを口にくわえるか、巣材のチップスをくわえた時だけ放電頻度が増加したことから運動性の反応ではなく、物を口にくわえるという口唇性の行動と関係したニューロン活動であると考えられる。

第 3 のタイプとして、仔ラットへの接近時から連れ戻し行動時にかけて放電頻度の増加が持続したニューロン活動について示したのが Fig. 5 である。

このタイプに関しても母ラットが動き回るだけでは放電頻度は増加しなかった。仔ラットをくわえる前後 1 秒間についてのパルス密度は、接近時が 5.1、連れ戻し行動時が 6.7 であった。このニューロン活動はそのパターンから第 1 と第 2 のタイプの混合型であると考えられる。

別の雌ラットが養育中の仔ラットを呈示した場合、母性行動に対して異なる匂い刺激による影響があるかどうか、いわゆる養子の仔ラットに対する母性行動について比較検討したが、特に行動的な相違は認められず、被験体の仔ラットに対するのと同じように連れ戻し行動、授乳行動ならびにグルーミングを示した。またその時のニューロン活動についても違いは認められなかった。

## 考 察

ラットの母性行動発現時における外側視床下部背側部ニューロン活動について検討した結果、仔ラットの連れ戻し行動に関して 3 つのタイプの特徴的なニューロン活動が認められた。第 1 は仔ラットへの接近時に放電頻度が顕著に増加するが、連れ戻す時には放電頻度が減少するタイプであり、仔ラットの呈示場所への再接近、巣内での囲い込み行動などでも放電頻度の増加を示した。第 2 は仔ラットへの接近時には変化はないが、仔ラットをくわえて巣につれ戻す時点で顕著な

放電頻度の増加を示したタイプである。このタイプは巣材のチップをくわえたりしても放電頻度の増加を示した。第3は前記2つのニューロン活動の特徴をもち、仔ラットへの接近から連れ戻し行動にかけて放電頻度の増加を示したタイプである。

母性行動発現に関与する神経系については内側視索前野から外側視索前野に入り、内側前脳束を下行して外側視床下部から中脳腹側被蓋野に至り、最終的には中脳中心灰白質にまで達するといわれている(2)(4)(7)(13)。このうち外側視床下部に関しては、その背側部破壊により、連れ戻し行動、造巣行動、授乳行動などの母性行動が顕著な障害を示すことが明らかにされている(10)。また外側視床下部背側部の破壊と同時に実施したHRP検査では、背側部から外側視索前野、分界条、中脳腹側被蓋野、黒質、中脳中心灰白質などへ多くの線維連絡が標識されたが、これらの部位はいずれも母性行動発現に必要な脳部位でもある。従って、外側視床下部背側部破壊により母性行動に大きな障害が生じたのは、この背側部を通る前述した脳部位の1つもしくは複数からの遠心性経路の損傷が主な原因であると考えられる(10)。今回、外側視床下部背側部で観察した3タイプのニューロン活動はこの遠心性線維から記録したといえるが、同じようなニューロン活動を内側視索前野(17)、外側視索前野(16)、中脳腹側被蓋野および中脳中心灰白質(15)からも記録している。このことは母性行動発現にとって各脳部位間の神経連絡が密接に関係していることを示しており、これらのニューロン活動の記録は、内側視索前野-外側視索前野-外側視床下部背側部-中脳腹側被蓋野-中脳中心灰白質に至る経路が、母性行動発現に必要な神経系であることをニューロンレベルで明らかにしたものである。

更に、外側視床下部には動機づけ行動に重要な神経系が多いが、中でもその背側部に大部分の動機づけに関係する神経路があると指摘されている(10)。こうしたことから、観察されたニューロン活動の機能については、第1のタイプは仔ラットへの接近時に放電頻度が増加し、連れ戻し行動時には減少することから連れ戻し行動の発現過程(行動の動機づけ過程)に関与し、第2のタイプは仔ラットへの接近時よりも連れ戻し過程で放電頻度が増加することから、連れ戻し行動の遂行過程に関与したニューロン活動であると考えられるが、このタイプは巣材のチップをくわえても放電頻度の増加が認められたことから連れ戻し行動、造巣行動など口唇性の母性行動と関係したものと考えられる。こうした結果は、内側視索前野から外側視床下部を通り中脳腹側被蓋野へ下行する経路は、母性行動の活動的な面、つまり連れ戻し行動や造巣行動に重要であるが、中でも母性行動の口唇性

の要素に重要であるとの指摘(6)とも一致している。従って、本実験で観察された外側視床下部背側部ニューロン活動は、これらの神経系の機能を反映した反応性を示しているといえる。

## References

- (1) Avar, Z and Monos, E. (1969) Biological role of lateral hypothalamic structures participating in the control of maternal behavior in the rat. *Acta Physiologica Academic Scientiarum Hungaricae*, 35: 285-294.
- (2) 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. *Journal of Comparative Neurology* 169 : 185-220.
- (3) Jacobson, C. D., Terkel, J., Gorski, R. A. and Sawyer, C. H. (1980) Effects of small medial preoptic area lesions on maternal behavior : Retrieving and nest building in the rat. *Brain Research* 194 : 471-478.
- (4) Millhouse, O. E. (1969) A Golgi study of the descending medial forebrain bundle. *Brain Research* 200 : 47-57
- (5) Numan, M. (1974) Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat. *Journal of Comparative Physiological Psychology* 87: 746-759.
- (6) Numan, M and Smith, H. G. (1984) Maternal behavior in rats: Evidence for the involvement of preoptic projections to the ventral tegmental area. *Behavioral Neuroscience* 98: 712-727.
- (7) Numan, M. and Numan, M. J. (1991) Preoptic - brainstem connections and maternal behavior in rats. *Behavioral Neuroscience* 105: 1013-1029.
- (8) Numan, M., Rosenblatt, J. S. and Komisaruk, B. R. (1977) Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *Journal of Comparative Physiological Psychology* 91: 146-164.
- (9) Numan, M., McSparren, J. and Numan, M. J. (1990) Dorsolateral connections of the medial preoptic area and maternal behavior in rats. *Behavioral Neuroscience* 104: 964-979.
- (10) Numan, M., Morrell, J. L. and Pfaff, D. W. (1985) Anatomical identification of neurons in selected brain regions associated with maternal behavior deficits induced by knife cuts of lateral hypothalamus in rats. *The Journal of Comparative*

Neurology 237: 552-564.

- (11) Paxinos, G. and Watson, G. (1986) The rat brain in stereotaxic coordinates. Second Edition, Academic Press.
- (12) Phillipson, O. T. (1979) Afferent projections to the ventral tegmental area of Tsai and interfascicular nucleus: A horseradish peroxidase study in the rat. Journal of Comparative Neurology 187: 117-144.
- (13) Swanson, L. W. (1976) An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat. Journal of Comparative Neurology 167: 227-256.
- (14) Tarkel, J., Bridges, R. S. and Sawyer, C. H. (1972) Effects of transecting lateral neural connections of the medial preoptic area on maternal behavior in the rat: nest building, pup retrieval and prolactin secretion. Brain Research 169: 396-380.
- (15) 山口勝機 (1993) ラットの母性行動と脳幹部ニューロン活動 Neurosciences 19 : 29-32.
- (16) 山口勝機 (1994) ラットの母性行動発現時における外側視索前野ニューロン活動 Neurosciences 20 : 97-100.
- (17) 山口勝機 (1995) ラットの母性行動と内側視索前野ニューロン活動 Neurosciences 21 : 207-210
- (18) Yamaguchi, K. (1993) A microdrive with a movable microelectrode for single unit recording in freely behaving rat. 鹿児島女子大学研究紀要 15 : 93-101.

○本研究は平成11年度教員特別研究費の助成を受けた。なお、研究の一部は第60回日本心理学会（1998年）において既に報告済みである。