

# ラットの口唇性母性行動に関連した脳幹部ニューロン活動

山 口 勝 機

The purpose of the present experiment was to investigate the neuronal activities of the ventral tegmental area (VTA) and midbrain central gray (MCG) during retrieving, nest-building or nursing in the lactating female rats. As a result, two types of neuronal activities were identified during retrieving in both areas. The type I was a neuronal activity that increased its firing rates when a mother rat was approaching a pup to retrieve. The type II increased its firing rates remarkably not only when a mother rat was retrieving a pup to the nest but also when she put nest materials such as chips in its mouth. But these two types were silent during nursing. These results indicated that both VTA and MCG neurons were concerned with oral component of the active maternal behaviors such as retrieving and nest building.

**Key Words:** rat, retrieving, nest building, neuronal activity, ventral tegmental area, midbrain central gray

ラットの母性行動発現に関する神経系については多くの破壊実験が行われており、内側視索前野の両側性破壊やその遠心性経路である外側路から外側視索前野に至る経路の破壊などにより仔ラットの連れ戻し行動、巣造り行動などの口唇性母性行動に著しい障害が現れてくる<sup>(3)(6)(7)(12)</sup>。更に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中脳腹側被蓋野に達するが、この中脳腹側被蓋野の両側性破壊によっても連れ戻し行動が障害される<sup>(8)</sup>。また、内側視索前野の片側の外側経路の切断とその対側にある中脳腹側被蓋野後部の経路の切断を組み合わせると同じような母性行動の障害がおこることから<sup>(9)</sup>、中脳腹側被蓋野を経由し下位脳幹にたつする内側視索前野からの投射経路が分娩ラットの母性行動には重要であると考えられる。また HRP 法を用いた研究では中脳腹側被蓋野後部経路の切断は視索前野の遠心性経路を損傷することも示された<sup>(9)</sup>。さらに解剖学的研究からも内側視索前野から中脳腹側被蓋野又は中脳内側部の中心灰白質へ長い軸索を送るエストロゲン感受性ニューロンの存在が明らかにされている<sup>(1)</sup>。こうした結果は内側視索前野へのエストロゲン植え込みにより連れ戻し行動などの母性行

動が促進されることとも一致している<sup>(7)</sup>。これまでの破壊実験や解剖学的研究結果を要約すると内側視索前野に始まり、その下行経路である外側視索前野を経て中脳腹側被蓋野および中脳中心灰白質に至る神経系が母性行動の発現には最重要であると考えられる。

以上述べてきた神経系の中で内側視索前野、外側視索前野における母性行動発現時のニューロン活動については、基本的に仔ラットへの接近時にニューロン活動が増加するタイプと、口にくわえて巣に連れ戻す時にニューロン活動が増加する二つのタイプが存在することを明らかにしてきた<sup>(14)(15)</sup>。

本実験の目的は仔ラットの連れ戻し行動や巣造り行動のような口唇性の母性行動が発現時、中脳腹側被蓋野から中脳中心灰白質に至る脳幹経路において前記の基本的に二つのタイプのニューロン活動が認められるかどうかについて検討することである。

## 実験方法

【被験体】 実験に使用した被験体は出産直後のWistar系アルビノ雌ラットを15匹使用した。体重は350グラム前後であった。被験体は昼夜反転下で飼育した(AM 7:00 消灯, PM 7:00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。これらの雌ラットは妊娠後期まで単独で飼育し、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。このケージは母性行動の観察とニューロン活動の記録時にも使用した。

【微小電極植え込み】 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、微小電極植え込みのための手術をおこなった。中脳腹側被蓋野又は中脳中心灰白質の座標はラット用脳地図(11)に基づいて決定し、各頭骨上に微小電極植え込み用の穴を小型ドリルで定位的に穿孔した。脳座標はBregmaを前後方向に関してゼロとする時、中脳腹側被蓋野(8匹)がAP=-4.8~-5.3mm, ML=0.5~1.0mm, DV=-8.0~-8.5mm, 中脳中心灰白質(7匹)がAP=-5.6~-6.3mm, ML=-0.5~-0.8mm, DV=-5.0~-6.0mmである。次に母性行動発現時の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<sup>(13)</sup>。微小電極は直径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。この

マニピュレータの重さは3g、セットした微小電極の可動範囲は最大8mmであった。また微小電極の損傷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。不関電極ならびにアース電極は直径1mmのステンレス製の小ネジで鼻骨上に植え込んだ。すべての電極は小型コネクタに接続後、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あたえた。

〔ニューロン活動の分析〕ニューロン活動の記録にさいし、母ラットの頭部コネクタはスリッピングコネクタを介して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、ニューロン活動を観察しやすくするために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、巣造り行動などとしたが、授乳行動や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一匹ずつ呈示することにより開始した。呈示間隔は20秒から50秒でランダムに15回から20回反復呈示した。母性行動発現時のニューロン活動はメモリオシロコ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や行動の観察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行った。

母性行動の中で仔ラットの連れ戻し行動と中脳腹側被蓋野ニューロン活動との関係についてはパルス処理用ソフト(PDV-1)をセットしたシグナルプロセッサにニューロン活動を入力後、一定振幅以上のニューロン活動をディスクリミネータにより識別した。

更にこれらのニューロン活動について仔ラットに対する行動が発現時の時点を中心とした前後それぞれ1.8秒間におけるパルス密度の変化を30ミリ秒毎に求め、これらの結果はXYレコーダで描画した。中脳中心灰白質ニューロン活動については振幅の異なる複数のニューロンが記録された場合は、ウインドーディスクリミネータにより特定のニューロン活動を識別後、パルス変換しパーソナルコンピュータに入力した。こうした一連のニューロン活動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回求めると同時に、それらを加算したヒストグラムや累積度数曲線を求めた。ラスターモードを駆動するトリガー信号には母ラットが仔ラットを口にくわえた時点のマーカーをパルス変換したものを使用した。また一連の母性行動発現時の

ニューロン活動の中で、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。

## 結 果

ラットの母性行動発現に関与する神経系としては内側視索前野に始まりその外側路である外側視索前野を経由し中脳腹側被蓋野に至るが、この経路はさらに下行して中脳中心灰白質にまで達することが明らかにされている<sup>(9)</sup>。この内側視索前野からの下行性経路の中で脳幹部にあたる中脳腹側被蓋野と中脳中心灰白質のニューロン活動を、仔ラットの連れ戻し行動を中心とした母性行動発現時に検討した。

その結果、中脳腹側被蓋野において連れ戻し行動に関して基本的に二つのニューロン活動が観察された。第一のタイプは特に仔ラットへの接近時にニューロン活動が増加し、口にくわえて巣に連れ戻す行動ではニューロン活動が減少す

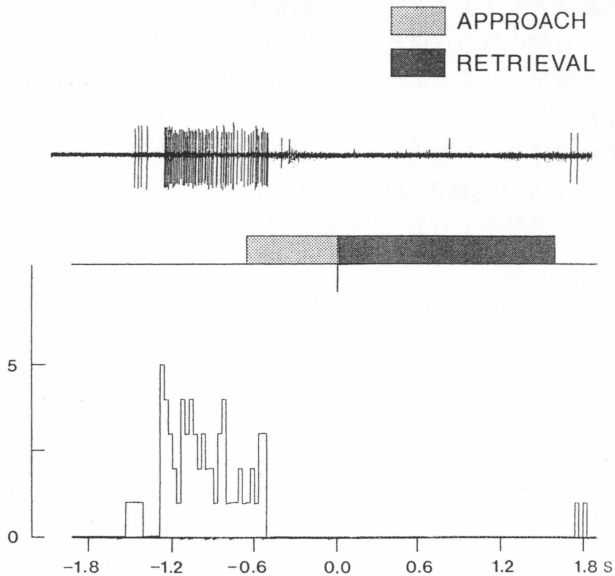


Fig.1 仔ラットへの接近行動開始直前から発現時にかけて、放電頻度の増加を示した中脳腹側被蓋野ニューロン活動。連れ戻し行動発現時 (X 軸の0.0) を中心とした、その前後のニューロン活動の変化を30ミリ秒毎に示してある。

るタイプである (Fig.1)。このタイプの特徴として仔ラットへ接近したにもかかわらず連れ戻し行動を示さなかった場合でもニューロン活動は増加したことがある。しかし、観察ケージ内を移動するなどの単なる移行行動ではニューロン活動はほとんど増加しなかった。従って、このニューロン活動は運動性のタイプではなく、仔ラットへの接近行動の発現に関係した動機づけ的反応であると考えられる。このタイプの特徴をまとめたのが Fig.2 である。

巢外の仔ラットへ接近したが連れ戻し行動を発現させなかった場合でもニューロン活動は増加を示した (B)。また仔ラットへのグルーミング時にもニューロン活動は増加したが (C)、これは口唇性によるというよりも仔ラットが近くにいるということに対する反応だと考えられる。つまり巢材のチップスをくわえてもニューロン活動は増加しなかったからである。その他、授乳行動時にはほとんど無反応であった (D)。

第二のタイプは仔ラットを母ラットの前方に呈示した時、一時的にニューロン活動が増加するが仔ラットへの接近時にはほとんど変化がなく、口にくわえて巢に連れ戻す時に顕著なニューロン活動の増加を示すタイプである (Fig.3)。この

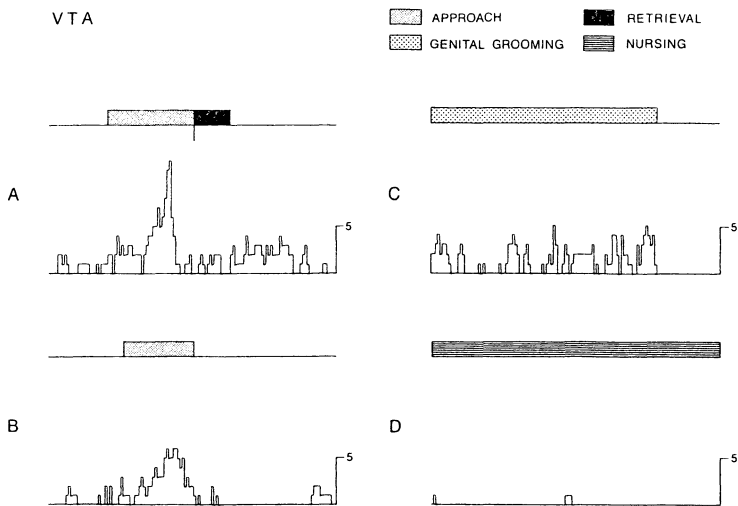


Fig.2 接近行動時に放電頻度が増加するタイプ (A) は、巢内で仔ラットへ接近しただけの場合 (B) でも同様に放電頻度は増加した。またグルーミング時にも活動が増えたが (C)、これは仔ラットがそばにいることと関係していると思われる。しかし授乳行動時 (D) には無反応であった。

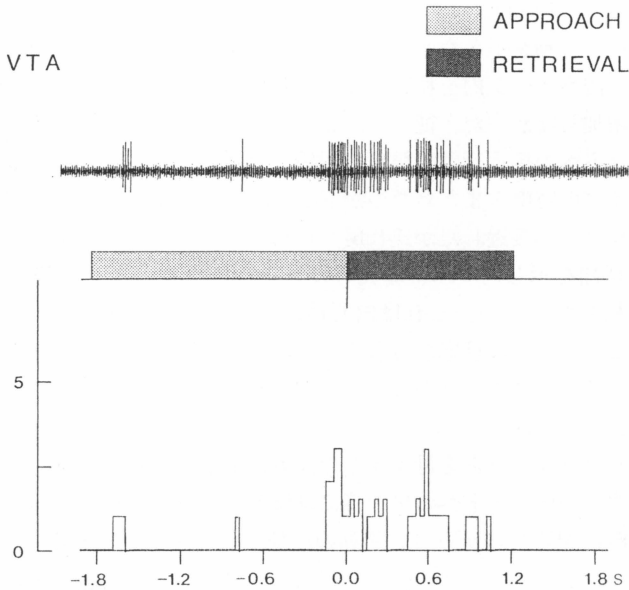


Fig.3 連れ戻し行動の発現時 (X 軸の0.0) から終了時まで、放電頻度の増加が持続した中脳腹側被蓋野ニューロン活動。

タイプの特徴をまとめたのが Fig.4 である。巣内において仔ラットを近くに引き寄せる時や (B)、巣材であるチップスをくわえたりする時にニューロン活動の増加を示していることから (C)、口唇性の反応であることが明らかである。しかし授乳行動ではほとんど反応はみられなかった (D)。

中脳中心灰白質ニューロン活動について検討した結果、基本的には中脳腹側被蓋野において観察された二つのタイプと同様なニューロン活動が認められた。まず、第一のタイプとして仔ラットへの接近時に、特に仔ラットを口にくわえる直前にニューロン活動が顕著に増加するが、巣に連れ戻す時にはほとんどニューロン活動を示さないタイプである (Fig.5)。このタイプと類似の反応を示すニューロン活動として、仔ラット呈示直後から仔ラットを口にくわえる直前まで持続的にニューロン活動の増加を示すタイプも観察された。次に第二のタイプとして仔ラットを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タイプが観察された (Fig.6)。これら二つのタイプはいずれも授乳行動時にはほとんど反応を示さなかった。更に第三の興味あるニューロン活動として仔ラットへの接近行動か

山口：ラットの口唇性母性行動に関連した脳幹部ニューロン活動

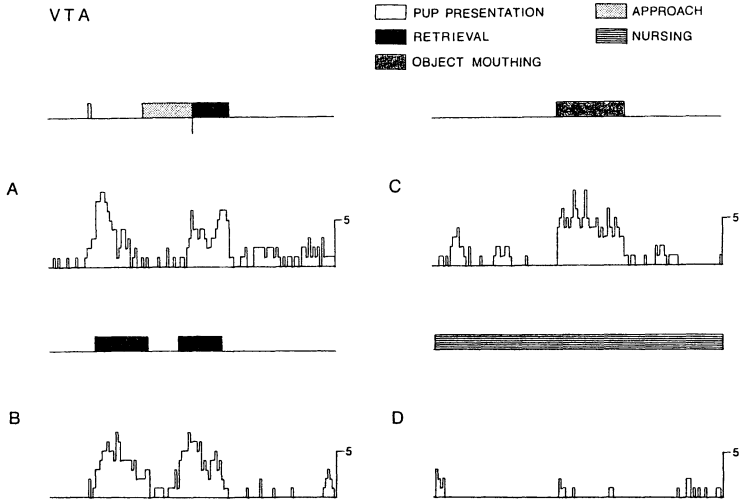


Fig.4 連れ戻し行動時に放電頻度が増加するタイプ (A) は、巣内で仔ラットを口で引き寄せる時 (B) や巣材のチップスをくわえたりする時 (C)、放電頻度の増加を示していることから口唇性の反応である。しかし授乳行動時 (D) にはほとんど変化は見られなかった。

ら口にくわえて巣に連れ戻す間、持続的にニューロン活動が増加するタイプも観察された。このタイプは第一と第二のタイプの特徴をあわせたニューロン活動であろうと考えられる。このタイプは仔ラットへのグルーミング時にもニューロン活動の増加を示した。

以上の中脳腹側被蓋野および中脳中心灰白質ニューロン活動が仔ラットや巣材のチップスを口にくわえる時に増加するという結果から、脳幹系のニューロンは口唇性の母性行動に重要であると考えられる。

## 考 察

ラットの母性行動発現に関与する神経系の中で、内側視索前野からの下行性経路である外側視索前野、外側視床下部のニューロン活動については、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が増加するタイプと、巣に連れ戻すときにニューロン活動が増加する二つのタイプが共通して存在することを明らかにしてきた<sup>(14)(15)(16)</sup>。また内側視索前野からの下行性経路は中脳腹側被蓋

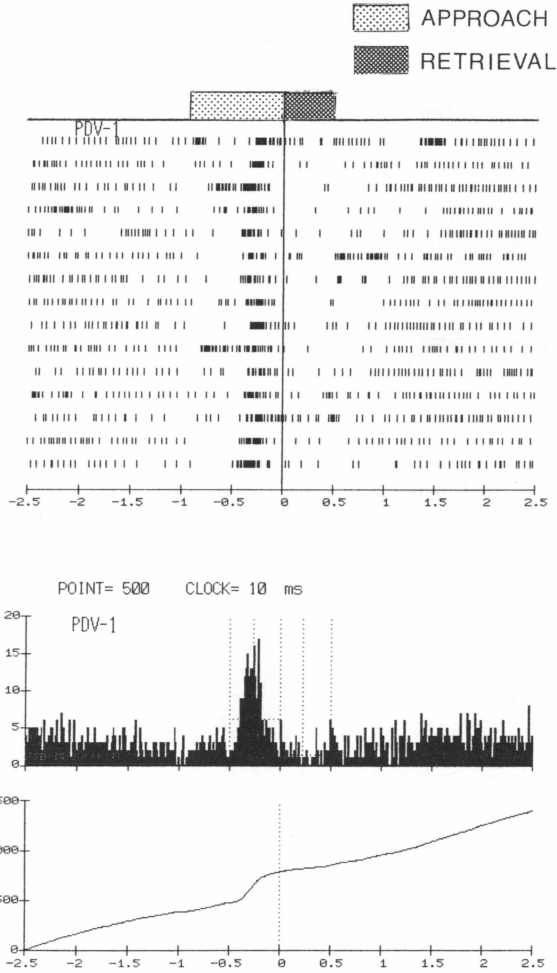


Fig.5 仔ラットへの接近行動時に放電頻度の増加を示した中脳中心灰白質ニューロン活動。図上は同一ニューロンについて母ラットに仔ラットを15回反復提示した際、連れ戻し行動発現時点(0)を中心とした前後2.5秒間におけるニューロン活動の変化を、10ミリ秒毎に5秒間にわたって示したラスター表示である。図中のヒストグラムはこれらのニューロン活動を加算したものである。図下はこのニューロン活動の累積度数曲線である。



山口：ラットの口唇性母性行動に関連した脳幹部ニューロン活動

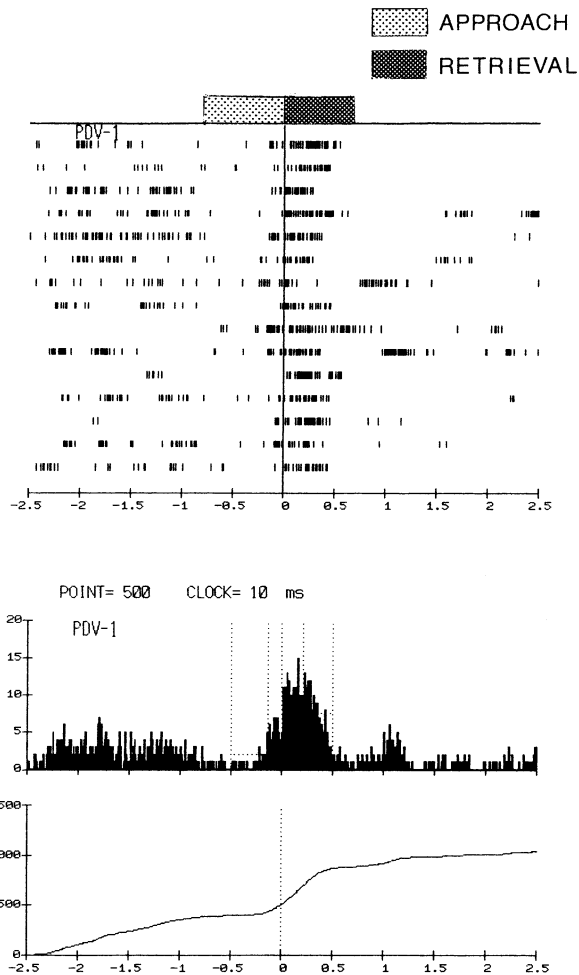


Fig.6 連れ戻し行動の持続時間に同期して放電頻度の増加を示した中脳中心灰白質ニューロン活動。図上は同一ニューロンについて母ラットに仔ラットを15回反復提示した際、連れ戻し行動の発現した時点(0)を中心とした前後2.5秒間におけるニューロン活動の変化を10ミリ秒毎、5秒間にわたって示したラスタ活動である。図中のヒストグラムはこれらのニューロン活動を加算したものである。図下はこのニューロン活動の累積度数曲線である。

野と中脳中心灰白質にまで達していることが明らかにされている<sup>(9)</sup>。従って脳幹系に属する中脳腹側被蓋野と中脳中心灰白質のニューロン活動がラットの代表的母性行動である仔ラットの連れ戻し行動や巣造り行動発現時にどのような反応を示すか検討した結果、仔ラットの連れ戻し行動に関して両部位において内側視索前野等と同様、仔ラットへの接近時にニューロン活動が増加するタイプと巣に連れ戻す時にニューロン活動が増加する二つの共通したタイプのニューロン活動が観察された。この他に中脳中心灰白質では二つのタイプを合わせた様式で、仔ラットへの接近時から巣へ連れ戻すまでの間ニューロン活動の増加が持続するタイプも観察された。しかし授乳行動ではいずれの部位のニューロン活動もまったく変化を示さなかった。

こうした結果は、運動的にはあまり活動的でない授乳行動にとってよりも母性行動の活動的な要素である連れ戻し行動や巣造り行動にとって脳幹系は重要であることを示している<sup>(10)</sup>。つまり連れ戻し行動も巣造り行動も、口により仔ラットや巣材が扱われる必要があることから、この経路は母性行動の口唇性要素にとくに重要であると考えられる。従って連れ戻し行動時に観察されたタイプの中ではニューロン活動が増加する第二のタイプの活動がこうした機能を反映していると考えられる。さらに解剖学的には内側視索前野から中脳腹側被蓋野又は中脳中心灰白質へ長い軸索を送るエストロゲン感受性ニューロンの存在が明らかにされており、内側視索前野へのエストロゲン植え込みにより連れ戻し行動などの母性行動が促進される<sup>(7)</sup>。こうした経路においても内側視索前野や外側視索前野などの脳部位で観察されているのと同様の二つのタイプのニューロン活動が母性行動の発現に関係していると考えられる。

母性行動の動機づけには神経伝達物質であるドーパミンが重要な役割を果たしている。中脳腹側被蓋野や黒質にはドーパミン細胞群がありこれらがドーパミン系を構成している<sup>(5)</sup>。中脳腹側被蓋野へドーパミン受容体の阻害薬を入れると連れ戻し行動や巣造り行動は損傷を受けるのに対し、授乳行動や移行行動は影響を受けないことから、口唇性の母性行動である連れ戻し行動や巣造り行動はドーパミン依存性であることが明らかである<sup>(2)(4)</sup>。

このことはドーパミン阻害薬は運動性の反応よりも行動の動機づけそのものを阻害しているといえる。従って中脳腹側被蓋野や中脳中心灰白質で観察された第一のタイプのニューロン活動は連れ戻し行動や巣造り行動などの口唇性の母性行動の発現過程、言い換えると動機づけ過程を反映していると考えられる。

結論として、ラットの口唇性で活動的な連れ戻し行動や巣造り行動などの母性

行動発現と遂行過程には中脳腹側被蓋野や中脳中心灰白質が関与しており、その動機づけにドーパミンが作用していると考えられる。

## REFERENCES

- (1) 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. *The Journal of Comparative Neurology*, 247: 364-382.
- (2) Hansen, S., Harthorn, C., Lofberg, L. and Svenson, K. (1991) Mesotelencephalic dopamine system and reproductive behavior in the rat: Effects of ventral tegmental 6-hydroxydopamine lesions on maternal and sexual responsiveness. *Behavioral Neuroscience* 105: 588-598.
- (3) Jacobson, C. D., Terkel, J., Gorski, R. A. and Sawyer, C. H. (1980) Effects of small medial preoptic lesions on maternal behavior: Retrieving and nest building in the rat. *Brain Research* 194: 471-478
- (4) Keer, S. E. and Stern, J. M. (1999) Dopamine receptor blockade in the nucleus accumbens inhibits maternal retrieval and licking, but enhances nursing behavior in lactating rats. *Physiology and Behavior* 67: 659-669.
- (5) McGeer, P. L., Eccles, J. C. and McGeer, E. G. (1978) *Molecular neurobiology of the mammalian brain*. Plenum, New York.
- (6) Numan, M. (1974) Medial preoptic area and maternal behavior in the female rat. *Journal of Comparative Psychology* 87: 746-759.
- (7) Numan, M., Rosenblatt, J.S. and Komisarck, B. R. (1977) Medial preoptic area and onset of maternal behavior in the rat. *Journal of Comparative Physiological Psychology* 91: 146-164.
- (8) 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.
- (9) Numan, M. and Numan, M. J. (1991) Preoptic - brainstem connections and maternal behavior in rats. *Behavioral Neuroscience* 105: 1013-1029.
- (10) Numan, M. and Smith, H. G. (1984) Maternal behaviors in rats: Evidence for the involvement of preoptic projections to the ventral tegmental area.
- (11) Paxinos, G. and Watson, C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Second Edition. Academic Press. 1986.
- (12) Terkel, 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: 376-380.

- (13) Yamagutchi, 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.
- (14) 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.
- (15) 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.
- (16) 山口勝機 (2002) ラットの母性行動と外側視床下部ニューロン活動 志学館大学文学部研究紀要 23 : 15-26.

本研究は平成17年度教員特別研究費の助成を受けた。