

〈原著〉

脳室内神経網の起源となる神経細胞

細谷安彦¹, 伊藤美智子¹, 上妻行則¹, 齋藤基一郎²

Cell origin of the supra-ependymal plexus

Hosoya Y.¹, Ito M.¹, Kohzuma Y.¹, Saito K.²

Abstract

The distribution and cell morphology of the cells which contribute to the supra-ependymal plexus in the rat were studied by retrograde labeling technique using cholera toxin subunit B (CTB), as a tracer. After injection of CTB into the lateral ventricle, highly labeled profiles were seen in the supra-ependymal plexus, while tanyocytes of the third ventricle and a large number of cells in the dorsal raphe nucleus were also strongly labeled. Ependymocytes, subependymal glial cells and a few neurons in the subfornical organ and the hypothalamus (including the paraventricular hypothalamic nucleus) exhibited low levels of labeling.

Labeled cells of the dorsal raphe nucleus were most commonly located in the caudal half of the nucleus. They formed two cell groups; as a ventral group near the medial longitudinal fascicle and the dorsal one just beneath the aqueduct. Labeled cells in the dorsal group extended their dendrites to dorsomedially or dorolaterally, while the dendrites of labeled cells in the ventral group were oriented dorsally and ventrally. Dorsally, dorsomedially or dorsolaterally oriented dendrites from both groups run just beneath the aqueduct. The results of the present study show that almost all of the cells of origin of the supra-ependymal plexus extend their dendrites toward the ependyma. We assume that this peculiar dendritic organization allows the cells to monitor the ventricular milieu.

Key words: supra-ependymal plexus, dorsal raphe nucleus, cholera toxin subunit B, serotonin, immunohistochemistry, rat

はじめに

脊椎動物の脳室内には神経線維(突起)と細胞体が存在する^{1), 2)}。この神経線維は脳室を裏打ちする上衣細胞の表面に密着して網の目に走り、いわゆる脳室内神経網(supra-ependymal plexus)を形成する。脳室内神経網の編み目の細かさは脳室の場所により異なっているが、すべての脳室にこの神経網が存在する。一方、脳室内に見いだされる神経細胞体は、第三脳室の底で、正中隆起部に接した上衣細胞の表面に見られている³⁾。神経細胞体の周囲に神経線維がからみつき、全体として神経細胞体と神経線維の複

合体(脳室内神経細胞複合体, supra-ependymal neuronal complex)が形成される。

脳室内神経網や神経細胞複合体の機能は推測の域にとどまっていて、ほとんど分かっていない。これまでの研究から、1) 脳室内神経網を形成する神経線維から脳室内へ伝達物質が分泌され、脈絡叢からの脳脊髄液の産出を調節する、2) 上衣細胞に脳室内神経網の神経線維が終わり、上衣細胞の線毛運動を調節する、3) 脳室内神経網は脳脊髄液の物理化学的な変化を監視する、4) 脳室内神経網から分泌されたセロトニン(5-HT)が冬眠を誘導する、5) 脳

1. 筑波大学医療技術短期大学部 〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1
2. 茨城県立医療大学医科学センター 〒300-0394 茨城県稲敷郡阿見町阿見4669-2
1. College of Medical Technology and Nursing, University of Tsukuba, Ibaraki.
2. Center for Medical Sciences, Ibaraki Prefectural University of Health Sciences.

室内神経細胞複合体は正中隆起を介して下垂体の分泌を調節する、などが考えられている^{1, 4)}。

ホルムアルデヒドガスを使った蛍光法 (Falck-Hillarp 法) により Lorez と Richards (1973)⁵⁾ は脳室内神経網の神経線維が5-HT含有線維であることを見いだした。5-HTを産生する神経細胞 (5-HT細胞) は中脳、橋、延髄の縫線核に存在し、前脳に投射する5-HT線維は中脳の背側縫線核に由来する⁶⁾ ことが知られていた。Aghajanian と Gallager (1975)⁷⁾ は脳室内神経網の起源細胞が背側縫線核と正中縫線核に由来すると予想して、両核を含めて破壊したところ、脳室内神経網が変性・消失することを観察した。脳室内神経網を作る、起源となる細胞が中脳の縫線核にあることをはじめて彼らが報告した。最近、神経トレーサーを使った研究においても、脳室内神経網の起源細胞が中脳背側縫線核にあることが示されている⁸⁾。

しかしながら、脳室内神経網の起源となる神経細胞が中脳背側縫線核のどの領域に分布するのか、また、起源となる神経細胞はどのような形態学的特徴 (細胞の大きさ、樹状突起の数や伸びる方向、軸索突起の伸びる方向など) を持っているのか、についての詳細な研究はこれまでになされていない。脳室内神経網の起源となる神経細胞に関するこのような形態学は脳室内神経網の機能を考える上でもっとも基本的な情報となるはずである。そこで、我々はコレラ毒素Bを使った逆行性標識法と中脳背側縫線核内の5-HT細胞を検出する免疫組織化学を組み合わせ、これらの問題を解決することにした。

材料と方法

一般に、コレラ毒素Bは神経突起から取り込まれ、起源となる神経細胞の細胞体に逆行性軸索流によって運ばれる⁹⁾。本研究では、この性質を利用して、脳室内神経網を構成する神経線維からコレラ毒素Bを逆行性に取り込ませ、脳室内神経網の起源となる細胞を標識する。このため、ラットの側脳室内にコレラ毒素Bを微量注入したのち、免疫組織化学の手法を使い、以下の手順で起源となる標識細胞を検出した。背側縫線核の5-HT産生細胞の検出にも、同様の免疫組織化学的手法を用いた。

コレラ毒素Bの脳室内注入

ラット (SD系、体重210 - 230gの雌6頭) の腹腔にネプタール (大日本製薬) を一頭あたり0.2 - 0.3ml (ペントバルビタールナトリウム換算で10 -

15mg) 注射して麻酔後、脳定位固定装置を用いて頭部を固定した。頭部の皮膚を切開し、開頭した。0.1M生理リン酸緩衝液 (pH7.4) に溶解した0.5%コレラ毒素B (List Biological Laboratories) をガラス毛細管 (先端内径、30 μ m) に充填して、Paxinos と Watson (1982)¹⁰⁾ の脳地図を手がかりにガラス毛細管の先端を側脳室に挿入した (AP8.0, H4.5, L1.5)。ガラス毛細管のコレラ毒素B溶液に銀線を挿入してプラス側に、動物の体をマイナス側にして電気泳動装置 (Physiotech Co.) に結線した。泳動時間は+7 μ A で7秒間、ついで-2 μ A で5秒間を流すサイクルとし、10分間通電した。

動物の固定と脳切片の作成

3 - 5日生存後、動物一頭当たりネプタール 1 ml (ペントバルビタールナトリウム換算で50mg) を腹腔に注射し、十分に、深く麻酔した。次いで、開胸し、右心房を切開した後、左心室からロータリーポンプ (古江サイエンス, RP NE-3) を使い、一頭当たり、リンゲル液 50ml、固定液 1 (0.1Mリン酸緩衝液に溶かした10%フォルマリン, 0.2%グルタルアルデヒド) を 300ml、固定液 2 (0.1Mリン酸緩衝液に溶かした10%フォルマリン, 5%グリセリン) を 100ml、の順序で圧送し、全身を灌流固定した。固定後、全脳を取り出し、固定液 3 (0.1Mリン酸緩衝液に溶かした10%フォルマリン, 20%グリセリン) に保存した。1 - 2日間、固定液 3 に保存後、脳をドライアイスで凍結して、40 μ m厚の前額断連続切片とした。切片は0.05%アジ化ナトリウムを含む0.1Mリン酸緩衝液の入った24穴のウエルプレートに入れ、4℃で保存した。

免疫組織化学によるコレラ毒素B陽性細胞と5-HT産生細胞の検出

脳の切片を0.25%ウシ血清アルブミン (A 7638, Sigma), 0.3% H₂O₂, 0.003% Triton-X を含んだ0.01Mリン酸緩衝液に室温で30分浸漬、振盪した。つぎに、ヤギ抗コレラ毒素B血清 (20000倍希釈, List Biological Laboratories) を含む0.25%ウシ血清アルブミン, 0.003% Triton-X, 0.01Mリン酸緩衝液に4℃で一晩、振盪しながら浸漬した。0.01Mリン酸緩衝液で十分に洗浄後、ビオチン化抗ヤギIgG (1000倍希釈, Vector Co.) を含む0.25%ウシ血清アルブミン, 0.003% Triton-X, 0.01Mリン酸緩衝液に4℃で3時間浸漬、振盪した。0.01Mリン酸緩衝液で十分に洗浄後、アピチン-ビオチン HRP 複合体 (ABC kit, Vector) と0.003% Tri-

ton-Xを含んだ0.01Mリン酸緩衝液、で4℃、1時間、浸漬、振盪した。0.01Mリン酸緩衝液で十分に洗浄後、0.05%DAB (3,3-ジミノベンチジン)、0.2%硫酸ニッケルアンモニウム、0.003% Triton-X、0.003% H₂O₂、0.01Mリン酸緩衝液からなる反応液に室温で10分間反応した。ついで、0.05%アジ化ナトリウムを含む0.1Mリン酸緩衝液で十分に洗浄した。脳切片の連続性を保って、クロムミョウバン-ゼラチン処理したスライドに載せ、十分に乾燥後、対照染色のために、70%エチルアルコールに溶かした0.001%チオニンに15-20秒浸漬して、細胞核を染めた。

5-HT産生細胞の検出には一次抗体としてウサギ抗5-HT血清(5000倍希釈)をもちい、二次抗体としてビオチン化抗ウサギIgGを用いた。その他の検出過程はコレラ毒素B陽性細胞の場合と同じとした。ウサギ抗5-HT血清は酒匂博士(日本大学)より提供を受けた。この血清は5-HTのみを認識することが明らかになっている¹¹⁾。

透析によるコレラ毒素Bの脱塩化

市販のコレラ毒素Bには多量の塩が含まれている。電気泳動の際、多量の塩は電気を流れ易くさせるが、同時にコレラ毒素Bの流れを邪魔するように働いてしまう。そこで、我々はこの塩を透析によって除去し、コレラ毒素Bが目的とする脳部位に効率よく、電気泳動によって注入できるようにした。

市販のコレラ毒素Bを蒸留水で溶かし、透析カセット(Pierce)に注入した。透析カセットを蒸留水で満たした攪拌子の入ったビーカーに浮かべ、18時間、攪拌しながら冷蔵庫内で透析した。透析終了後、コレラ毒素Bが5 μ gになるように水溶液をエッペンドルフに分注し、ドライアイスで凍結後、凍結乾燥機を用いて乾燥した。コレラ毒素Bの入ったエッペンドルフはシリカゲルとともに冷蔵庫内で保存した。

結果

側脳室へのコレラ毒素Bの注入

コレラ毒素Bが注入された高さで、側脳室の前額断面は背側天井が脳梁、内側が中隔、外側と底部が尾状核によって囲まれた三角形をしていた。6例の動物のうち、側脳室のみにコレラ毒素Bが注入されたものは3例、大部分が側脳室に注入されたが、脳梁腹側部にも僅かに注入がおよんだ1例、コレラ毒素Bが内側壁の中隔に注入されたものが2例であった。中隔に注入されていた2例を除き、標本作製

した。側脳室にコレラ毒素Bが注入された全例で脳室内神経網が明瞭に標識された(図2, A)。

コレラ毒素B陽性細胞の種類

コレラ毒素Bの大部分が側脳室に注入され、脳梁の腹側部にごく僅かに漏れた例(動物番号2047)を代表とし、図1にコレラ毒素Bで標識された神経細胞の分布を示した。神経細胞のほか陽性細胞には上衣細胞、上衣直下の神経膠細胞が認められた。

コレラ毒素B陽性の上衣細胞と上衣直下の神経膠細胞

陽性を示す上衣細胞はコレラ毒素B注入側の側脳室、第三脳室、中脳水道、第四脳室に見られ、遠位の脳室になるに従い陽性を示す上衣細胞の数が少なくなった。対側の側脳室では上衣細胞、脳室内神経網ともにコレラ毒素B陽性を示すものはなかった。側脳室の外側壁(尾状核を被う上衣)と側脳室底では陽性を示す上衣細胞の細い突起(上衣線維)が脳実質に伸び、血管壁に接触し、膨大部を作って終わっていた。この種の上衣細胞の陽性突起は第三脳室、中脳水道、第四脳室でも観察されたが、遠位の脳室になるに従い、出現頻度が少なくなった。視床間橋の背側面と中脳水道を被う上衣には常に観察された。第三脳室終板と第三脳室底には異なる種類の上衣線維が観察された(図2DとE)。すなわち、突起の表面が平滑で、より太く、念珠状を示すものが少ないなどの特徴を持ち、側脳室に見られた上衣線維とは明らかに区別された。コレラ毒素B陽性を示すこの部位の上衣線維は腹外側に向かって枝分かれせずに伸び、血管壁(図2D)と脳の腹側表面(図2E)に膨大部を作って終わっていた。手綱および手綱交連を被う上衣細胞にも同じような上衣線維が観察された。この場合の上衣線維は手綱の背側表面に膨大部を作っていた。

上衣の直下にはコレラ毒素B陽性を示す神経膠細胞が観察された。核を除いた核周部に陽性物質が見られ、多くの細胞で細胞突起が不明瞭であった。少数の細胞では核周部から1ないし3本の陽性を示す細胞突起が出ていた。コレラ毒素B陽性をしめすこれらの上衣直下の神経膠細胞はコレラ毒素Bを注入した側の側脳室の周囲で容易に観察され、脳室が遠位になるほど見られなくなった。

コレラ毒素B陽性の神経細胞

体性感覚野のII、III、V層と無顆粒島皮質のV層

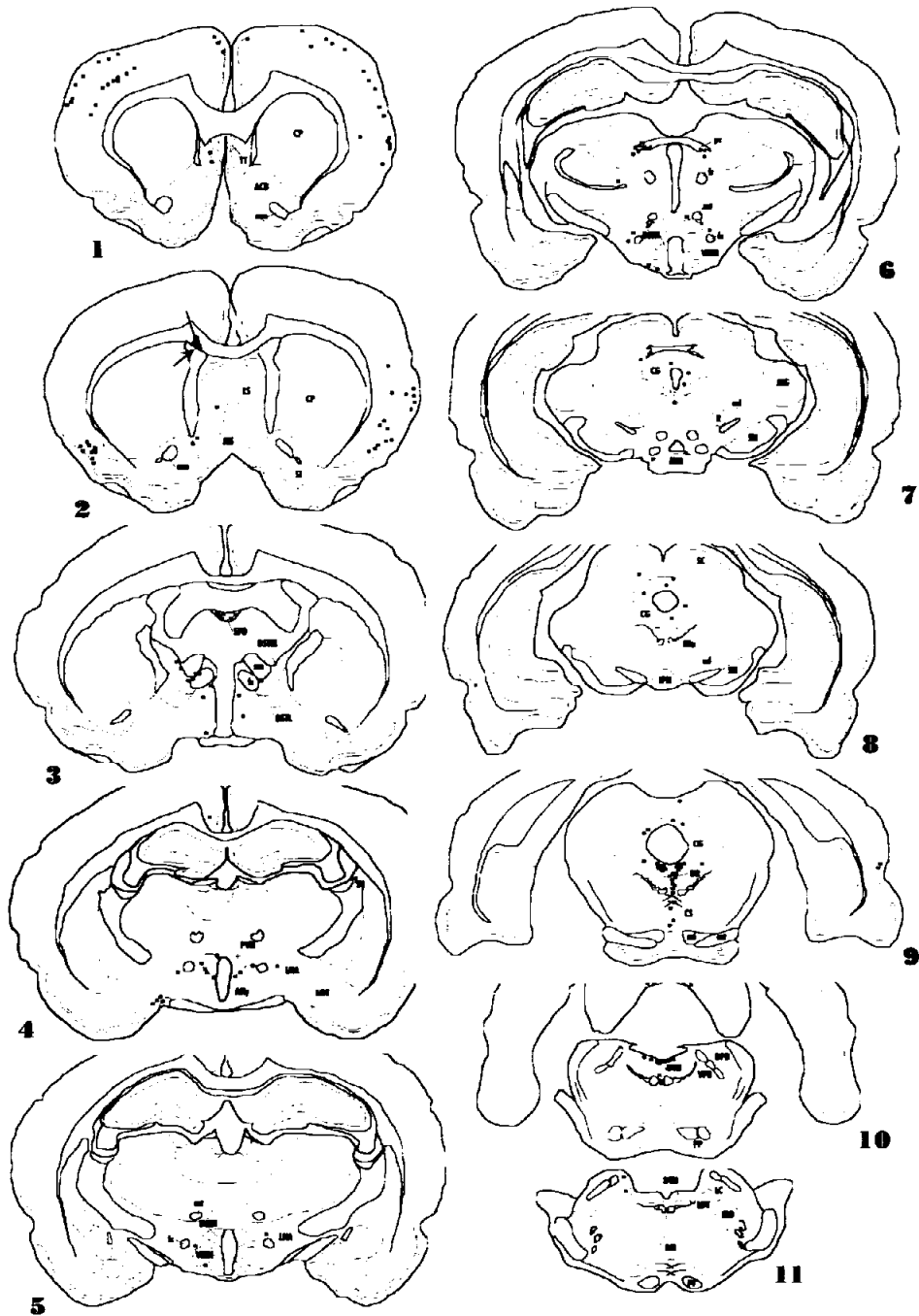


図1 コレラ毒素Bを一側の側脳室に注入した後に現れる標識神経細胞の分布(動物番号2047)。切片間はおおよそ $450\mu\text{m}$ である。コレラ毒素Bが注入された高さは切片2に相当し、僅かにコレラ毒素Bが脳梁に漏れている(矢印)。標識細胞が集団を作って、密に出現するのは切片9-10の高さに相当する中脳の背側縫線核であることが分かる。各点は相対的な密度を示すのみで、細胞の数を示しているわけではない。

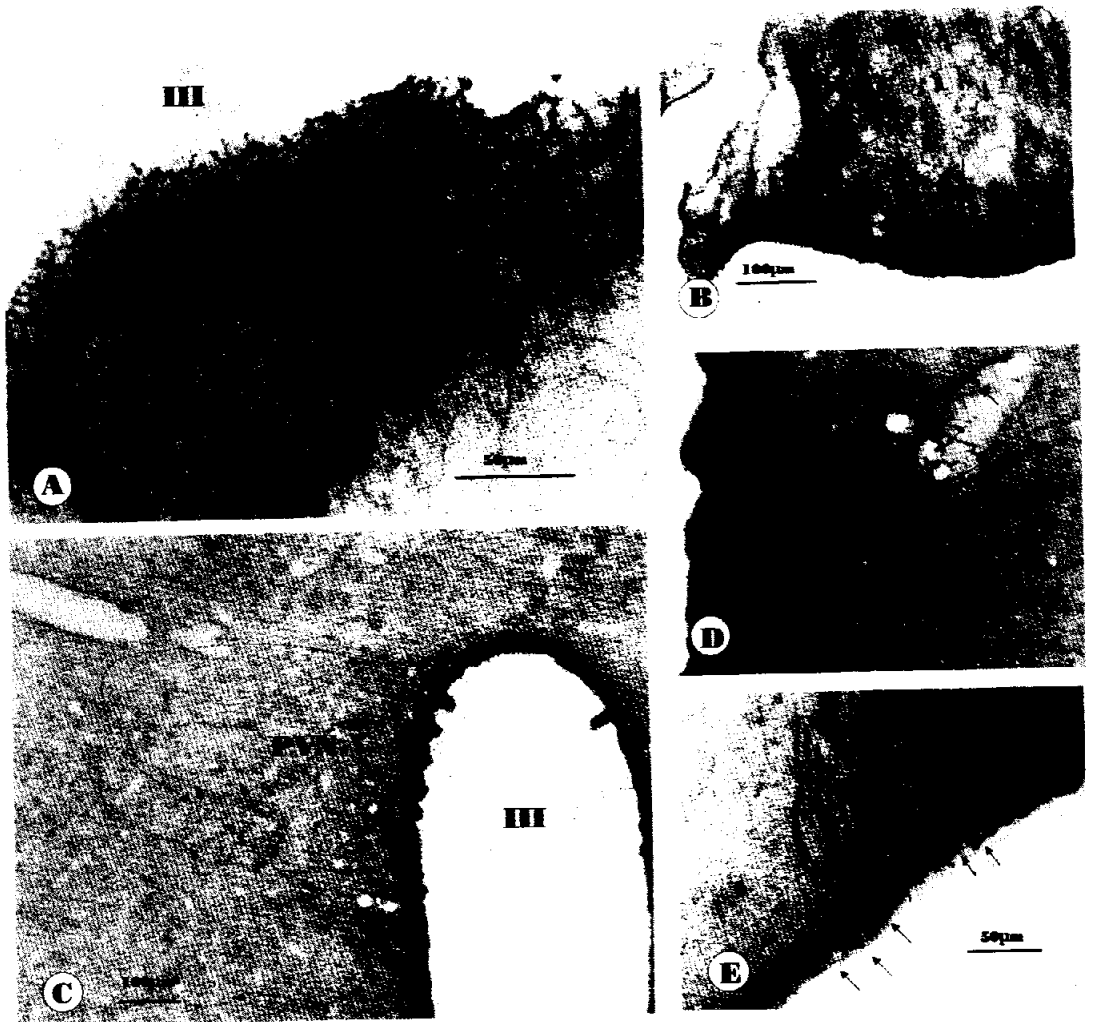


図2 コレラ毒素Bによって標識された脳室内神経網，神経細胞および上衣線維をしめす光学顕微鏡写真。

- A コレラ毒素B注入場所に近い，室間孔を裏打ちする領域にみられた脳室内神経網（動物2047）。上衣が斜めに切られている。脳室内神経網が網の目構造を示すことに注意。
- B 脳弓下器官に出現した神経細胞（矢印）（動物2047）。
- C 視床下部室傍核に出現した神経細胞（矢印）（動物2047）。小型で，標識が弱い，陽性の神経細胞が室傍核の辺縁に見られる。
- D 第三脳室底の上衣線維。上衣線維が脳実質にのび，血管壁にまわりついて終足を形成している（矢印）（動物2094）。
- E 第三脳室底の上衣線維が腹側脳表面で終足（矢印）を作る様子を示す（動物2094）。これらの上衣線維は，いわゆる tanyocyte に由来する。

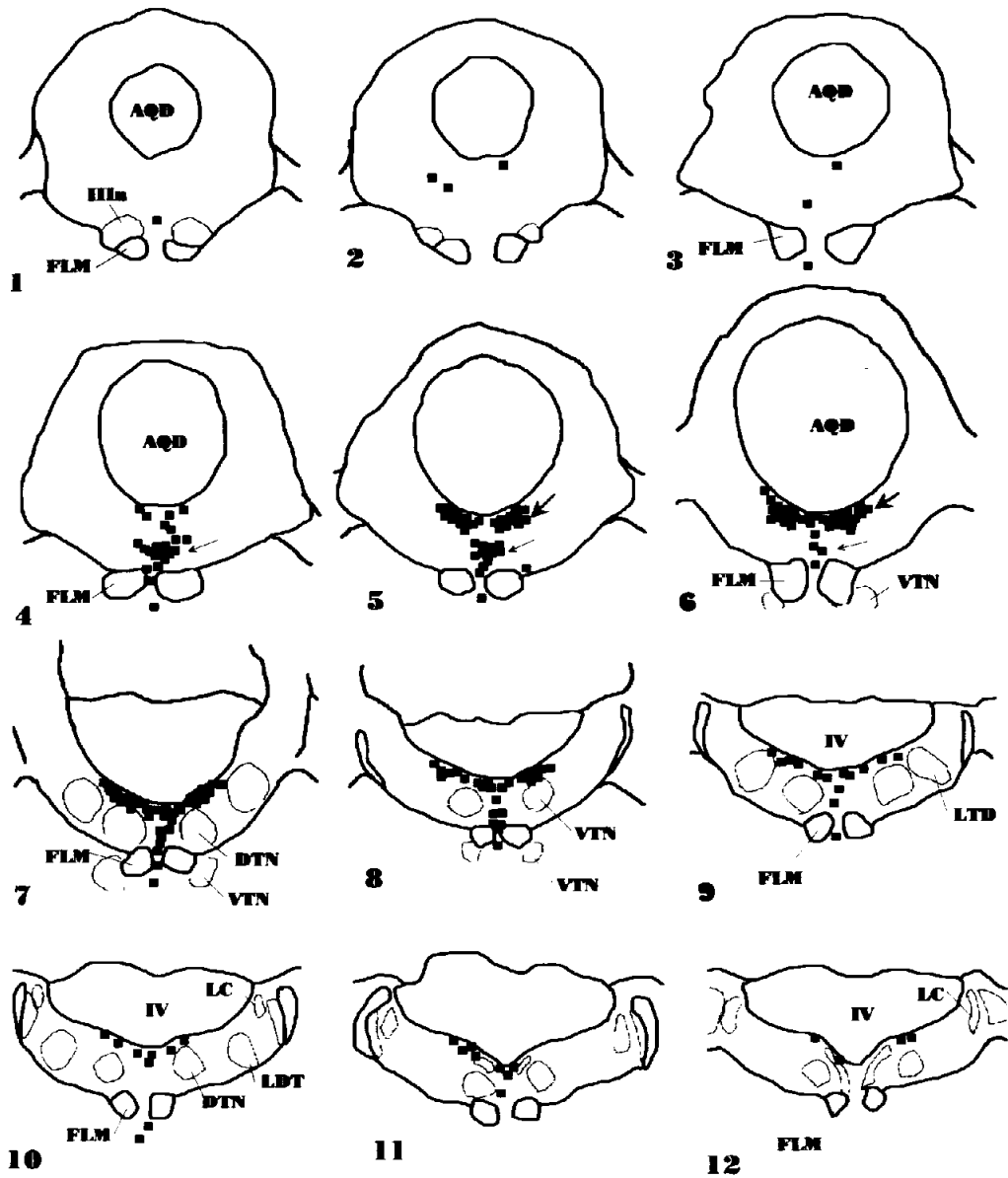


図3 背側縫線核におけるコレラ毒素B陽性神経細胞の分布を示す(動物2091)。切片間は約 $120\mu\text{m}$ である。陽性細胞は滑車神経核の高さから青斑核の高さまで分布し、背側縫線核のほぼ尾側半分に出現する。内側縦束に近い腹側群(細い矢印)、脳室直下において両側性に出現する背側群(太い矢印)が区別される(切片5)。各点は相対的な密度を示すのみで、細胞の数を示しているわけではない。

に陽性細胞を認めた。体性感覚野では一側で約20個の細胞が出現し、対側にも同程度の陽性細胞が出現していた(図1, 1-2)。皮質の陽性細胞は前頭極から下丘の高さまで(皮質の切片はこの高さまで作成した)出現した。

中隔, 無名質の吻側部に少数の陽性細胞が同側優位に出現した(図1, 2)。細胞は小型で紡錘形を示し, 多くの細胞は一端に明瞭な樹状突起を伸ばしていた。同じ形態の陽性細胞は脳弓下器官に出現し(図1, 4と図2, B), 一切片で22個の陽性細胞を数えた。

視床下部での陽性細胞は卵円形や三角形をしめし, それぞれの細胞極から細い樹状突起を伸ばしていた。視床下部室傍核では特にその吻側部に見られ, 小細胞性部に出現し, 大細胞部には見られなかった(図1, 4と図2, C)。その結果, 陽性細胞は室傍核の辺縁を取り囲むように出現した。一切片で同側室傍核に7個, 対側室傍核に2個の陽性細胞を数えた。室傍核以外の視索前野や視床下部領域に出現する陽性細胞は散在性で, ごく少数であった。出現領域は内側視索前野, 外側視床下野, 脳室周囲層に, また背内側視床下核, 腹内側視床下核, 弓状核, およびこれらの核の周囲であった。対側にもごく僅かに出現した。視床, 扁桃体に陽性細胞は出現しなかった。中脳では後交連核に数個の陽性細胞が出現し(図1, 6), 多数の細胞が背側縫線核に出現した(図1, 9-10)。背側縫線核を除いた中心灰白質領域には少数の細胞が出現した(図1, 7-8)。背側縫線核に見られる陽性細胞は数が多く, 集団を作って, 密に出現し, 他の領域に出現する陽性細胞にくらべてより強く標識されていた。

陽性細胞が背側縫線核に出現し始めるのは動眼神経核下端の高さに相当し, 青斑核の高さで消失した(図3)。背側縫線核内の陽性細胞は, まず, 内側縦束近くに少数(1から2個)出現し, 滑車神経核の高さでは, これらの細胞に加えて中脳水道直下に陽性細胞が集団を作って出現した(図3, 5)。中脳水道直下の正中部には陽性細胞の数が極端に少ないため, この領域では陽性細胞の集団が正中部を境して, 両側性に出現した。腹側被蓋核の高さでは中脳水道直下に2カ所, 内側縦束近くの正中部に1カ所の, 合計3カ所に陽性細胞が明瞭な細胞集団を作って出現した(図3, 4-8)。中脳水道直下の陽性細胞は尾側に向かうに従い, 背側被蓋核と第四脳室との間の狭い領域に板状に出現するようになり(図3, 7-10), 腹側被蓋核の下端の高さではその数が極端に

少なくなった。青斑核吻側端の高さでは一切片あたり, 左右それぞれ1ないし2個の陽性細胞を数えるまでに減少し, 青斑核吻側1/3の高さで陽性細胞が見られなくなった。一方, 内側縦束の近くに見られる正中部の陽性細胞集団は, 尾側に向かうに従い, 背腹方向に縦に伸びた細胞集団を形成した。これらの細胞は腹側被蓋核の下端で消失するが, より腹側にある中心縫線核の陽性細胞と連続した集団を形成していた。

背側縫線核におけるコレラ毒素B陽性細胞の形態

中脳水道直下の陽性細胞は楕円形ないし紡錘形を示し, 核周部から出る2~3本の樹状突起を持っていた(図4, A)。樹状突起は外側に向かい, 上衣に沿って伸びるもの(図4, C, F), 内側に向かい正中で交差して(図4, B)対側に伸びるものが主に観察された。少数ではあるが, 核周部から腹側に伸びる樹状突起を持つ細胞もあった。さらに, 正中部領域では上衣直下に樹状突起の断面が多数観察された。外側ないし内側に伸びた樹状突起が上衣細胞直下で分枝し, 吻尾方向に走る樹状突起となる様子にしばしば遭遇した。

内側縦束に近接して出現する陽性細胞は球形ないし楕円形で, 同じように核周部から2から3本の樹状突起が出て, 背側ないし背外側に伸びるものと腹側に伸びる樹状突起が区別できた。腹側に向かう樹状突起は両側の内側縦束に挟まれた領域を通り, 中央縫線核のなかに伸びていた。背側に向かう樹状突起はより背側にある陽性細胞の集まりの中へと追跡でき, 上衣直下に到達していた。これらの樹状突起が, さらに, 上衣に沿って外側や吻尾方向に伸びるかどうかについては, 多数の陽性を示す神経要素と混在してしまうために, 追跡出来なかった。

背側縫線核の高さでは, コレラ毒素B陽性の脳室内神経網が上衣の脳室側に, 同時に, 上衣直下にコレラ毒素B陽性の樹状突起が束になって出現する(図4, C, F)。陽性の樹状突起は上衣細胞の基底面に近接ないし接するものの, 上衣を突き抜けて, 脳室内に侵入することはなかった。陽性の脳室内神経網と上衣直下にある陽性の樹状突起とのあいだに, ほぼ陰性の上衣が介在し, 両者を隔てていた。

多数の樹状突起に混じって, 陽性細胞の軸索突起が観察された。軸索突起は樹状突起に比べて細く, 枝分かれせず, 太さが変わらないこと, 軸索突起の初節部には明瞭な軸索円錐が形成されていることなどで, 樹状突起から容易に区別できた。軸索突起は

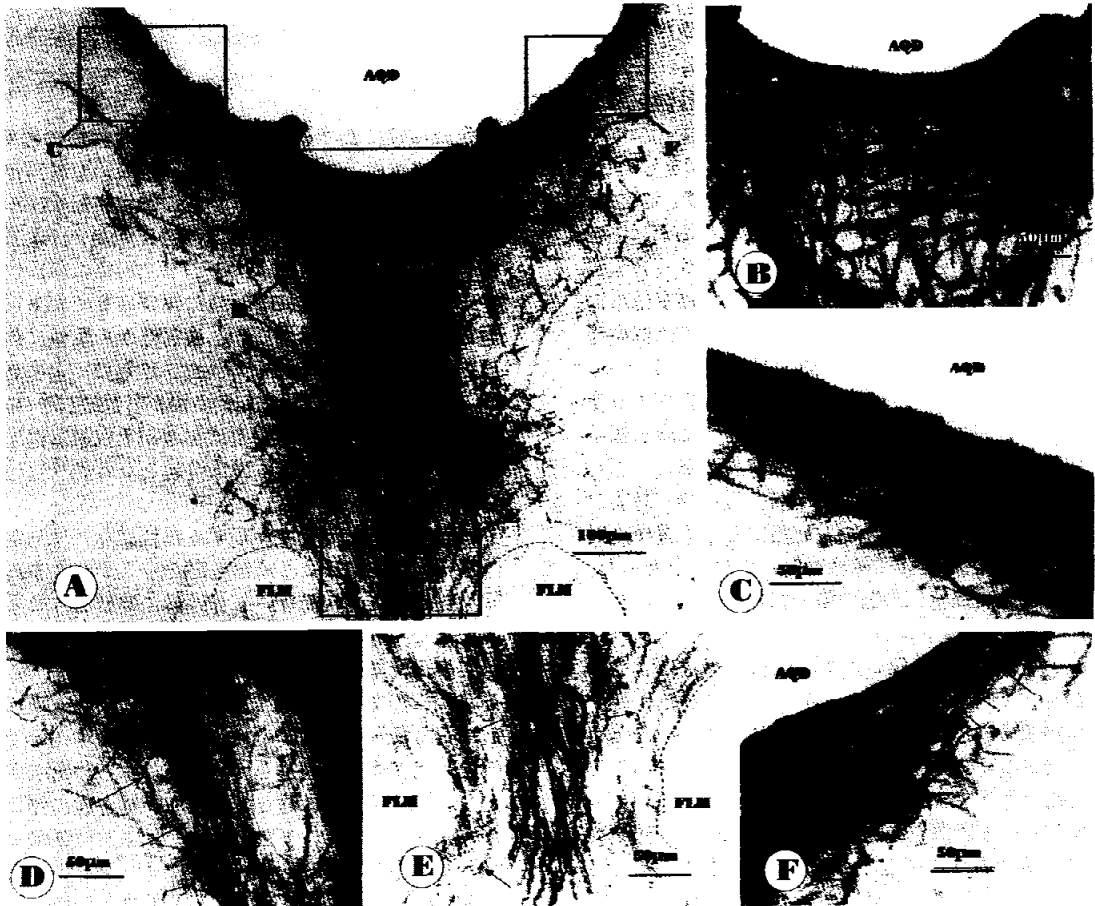


図4 背側縫線核に出現したコレラ毒素B陽性神経細胞（動物2091）の光学顕微鏡写真。

- A 図3の切片5ないし切片6に相当する領域を示す。中脳水道直下に背側群の一部、内側縦束の背内側に腹側群が見える。図Aの枠で囲んだ領域をさらに拡大してB, C, E, Fで示す。
- B 背側群から内側に伸びた樹状突起（矢印）が正中を越え、対側に伸び、交差している様子を示す。
- C コレラ毒素B注入の同側で、上衣直下を外側に伸びる樹状突起（矢印）の集団。
- D 図3の切片7に相当し、背側群から腹内側に伸びる軸索突起の束を示す（矢印）。
- E 両側の内側縦束に挟まれた領域を腹側に向かう軸索突起（矢印）。中央にあって、背腹方向に走る、標識されたより太い神経要素は樹状突起。
- F コレラ毒素B注入の対側で、上衣直下を外側に伸びる樹状突起（矢印）の集団。

核周部, または腹側に向かう一次樹状突起から出ている。中脳水道直下の陽性細胞のうち, 正中領域に見られる陽性細胞はその軸索突起を腹側方向に, 外側にある陽性細胞はその軸索突起を腹内側方向に伸ばしていた(図4, D)。一方, 内側縦束近くの陽性細胞はその軸索突起を腹側方向に伸ばしていた。すべての陽性細胞の軸索突起は, より腹側に位置する陽性細胞の軸索突起と混在しながら, 内側縦束に挟まれた領域に収斂し(図4, E), さらに腹側の中央縫線核内へと伸び, 腹側に向かう軸索突起の束を形成していた。

背側縫線核内における5-HT細胞の分布

背側縫線核内の5-HT細胞の分布はSteinbush(1981)¹²によって記載されているので, ここではコレラ毒素B陽性細胞の分布との比較に必要な程度の記載にとどめる。

背側縫線核は中脳中心灰白質の中に主な広がりを持っている。動眼神経核の吻側端の高さでは中心灰白質の正中部と外側部の脳室に近い領域に散在性に出現し, 卵円形や三角形の細胞体をもち, 2ないし3本の一次樹状突起が核周部から出ている。樹状突起の多くは背腹方向に伸び, 軸索突起は腹側ないし腹内側に伸びる。尾側になるに従い細胞数が増え, 滑車神経核の高さになると, 4つの細胞集団が確認された。すなわち, 正中部では中脳水道直下に一つ, 内側縦束の内側から背内側にかけて一つ, 加えて, 外側部の二つである(図5, 4と5の左側)。正中部の5-HT細胞は卵円形ないし球形で, 2本ないし3本の樹状突起を持つものが多い。細胞の周囲には樹状突起の断面が多数見られ, 正中部の5-HT細胞が吻尾方向に伸びる樹状突起を持っていることを示している。一方外側部の細胞は卵円形, 楕円形, 三角形をしめし, 2本ないし3本の樹状突起を核周部から伸ばしていた。樹状突起は背内側, 内側, 外側の3方向に伸びるものが多い。背内側に向かう樹状突起は中脳水道上衣の近くまで伸びると方向を背外側に変え, 正中部の5-HT細胞から伸びて来た樹状突起と一緒に, 上衣に沿って背側に上行し, 中脳水道のほぼ中央の高さまで達していた。細胞が密集しているために軸索突起を観察することは困難であったが, まれに外側部では5-HT細胞の核周部から出る軸索突起を観察できた。腹側被蓋核の高さになると5-HT細胞の数が急速に減り始め, さらに正中部の2つの細胞集団が融合して, 正中部で背腹方向にのびた一つの細胞集団となった(図5, 6と7の左側)。背側被蓋

核が出現する高さでは外側部の細胞集団が消失した(図5, 6の左側)。この高さで, 脳室と背側被蓋核に挟まれた領域には正中部の細胞集団から連続して外側にのびた5-HT細胞が板状に, 散在性に観察された。この出現傾向は, 細胞数がさらに減少するものの, 青斑核の高さまで続いていた(図5, 7と8の左側)。

背側縫線核内におけるコレラ毒素B陽性細胞と5-HT細胞の分布

背側縫線核のどの領域の細胞が脳室内神経網の形成にあずかっているかを知るために, 5-HT細胞とコレラ毒素B陽性細胞の分布を比較した。図5はその結果で, 左側には5-HT細胞を右側にはコレラ毒素B陽性細胞が示されている。コレラ毒素B陽性細胞は滑車神経核下端の高さから, 青斑核の高さまで出現する。吻側端のコレラ毒素B陽性細胞は内側縦束に接した背側縫線核の正中腹側部に現れ, 尾側になるに従い, 正中背側部に出現するようになり, 青斑核の高さでは少し外側で, 第四脳室と背側被蓋核に挟まれた狭い領域に出現するようになって, それより尾側では出現しなくなる。一方, 背側縫線核を構成する5-HT細胞は動眼神経核から滑車神経核の高さにかけて多数見られるが, この高さではコレラ毒素Bは出現しない(図5, 1-3)。コレラ毒素B陽性細胞が出現する高さで, 背側縫線核を構成する5-HT細胞は正中背側部と正中腹側部および外側部に3つの大きな細胞集団を作っている(図5, 4-5)。従って, 外側部の5-HT細胞の集団に相当する領域にコレラ毒素B陽性細胞は出現しない。より尾側では, コレラ毒素B陽性細胞は正中背側部に見られ, 5-HT細胞の分布と一致するが, 内側縦束に接した正中腹側部にはコレラ毒素B陽性細胞は出現しない(図5, 7-8)。背側縫線核の吻尾方向の広がりで見れば, 吻側半分の5-HT細胞は脳室内神経網の形成に参加せず, 尾側半分の外側部を除いた5-HT細胞が脳室内神経網の形成に与っていることになる。

考察

コレラ毒素Bの有効性

コレラ毒素Bは細胞膜にある糖鎖の一つ, ガングリオシド(GM1)と選択的に結合し, コレラ毒素Bとガングリオシドとの複合体が細胞の中に取り込まれる¹³。神経細胞の場合にも軸索突起から取り込まれたコレラ毒素Bないしコレラ毒素-HRP複合体がインパルスの流れとは逆方向に, 神経細胞の核周部

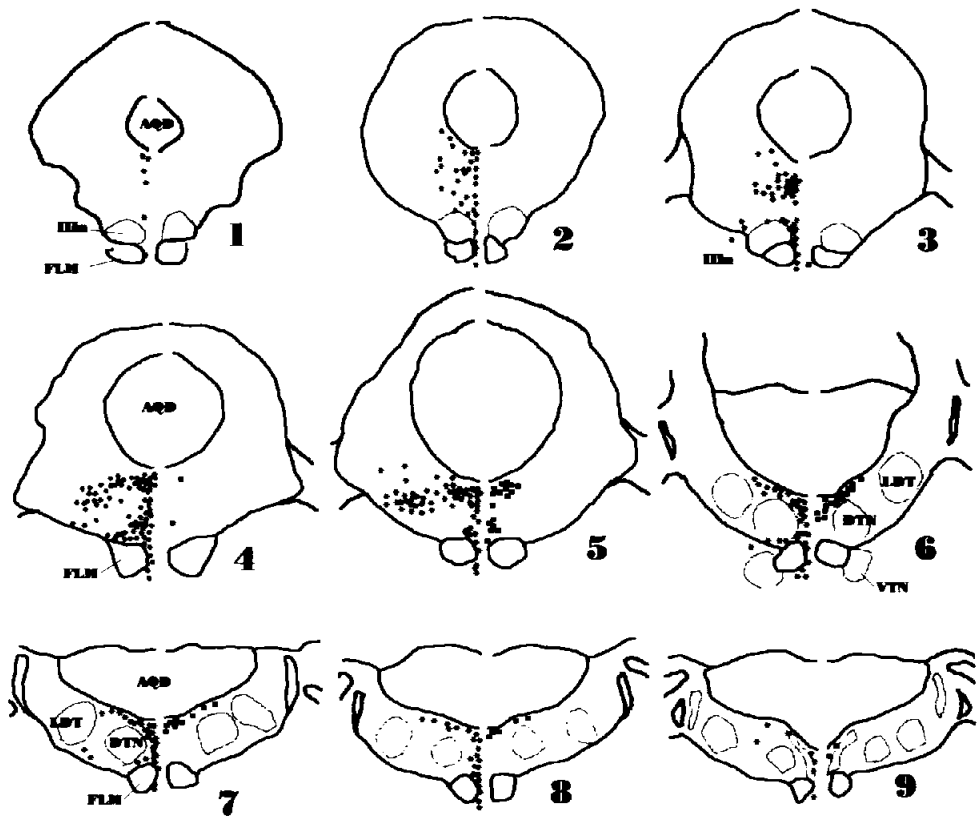


図5 背側縫線核に出現する5-HT細胞(左側)とコレラ毒素B陽性神経細胞(右側)の分布を示す(動物2091)。5-HT細胞は*, コレラ毒素B陽性神経細胞は■で示すが、各点は相対的な密度を示すのみで、細胞の数を示しているわけではない。切片間は約 $300\mu\text{m}$ である。ほぼ中央の高さ(切片5)から尾側半分にコレラ毒素B陽性神経細胞が出現することが分かる。切片5では5-HT細胞が腹側群, 背側正中群, 外側群の3群を構成し、コレラ毒素B陽性の神経細胞が腹側群と背側群の2群を構成していることが分かる。5-HT細胞からなる外側群に相当する領域にコレラ毒素B陽性細胞が出現しないことに注意。

に向かって運ばれる。この性質を使って、これまでに、視床下部と延髄縫線核の神経結合や交感神経節と脊髄中間外側核との神経結合が調べられている^{9, 14), 15)}。本研究ではラットの片側の側脳室にコレラ毒素Bを電気泳動的に与え、脳室内神経網をはじめとして、脳弓下器官、中隔、視床下部、中脳中心灰白質にコレラ毒素Bを取り込んで標識された神経細胞を見いだすことが出来た。脳室内に注入され、脳脊髄液で希釈されるような場合であっても、コレラ毒素Bは神経細胞に確実に取り込まれ、神経標識物質として有効であることが明らかになった。

コレラ毒素Bによる脳内標識細胞

一側の側脳室に注入した標識物質は脳脊髄液で希釈され、脳脊髄液の流れに従って側脳室、空間孔、第三脳室、中脳水道、第四脳室そしてクモ膜下腔へと運ばれる¹⁶⁾。神経標識物質としてコレラ毒素Bを用いた本実験でも、この脳脊髄液の流れに従って脳室内神経網の標識が観察された。すなわち、注入された側脳室の脳室内神経網は標識され、対側の脳室内神経網は標識されなかった。この結果は、側脳室で作られた脳脊髄液は空間孔を通り第三脳室へと流れ、一側の側脳室から対側の側脳室へと流れることはなく、側脳室から第三脳室への一方向の流れが作られていることを示している。

上衣細胞の標識

脳室内神経網が標識されている領域の上衣では上衣細胞と上衣線維がコレラ毒素Bにより標識されていた。また、標識された上衣線維のあいだに多数の神経膠細胞と僅かの神経細胞が観察できた。標識された上衣線維は上衣から脳実質に伸び、血管の周りやさらには脳表面にまで伸びて、膨大した終足を作っていた。このことは上衣細胞が外来性のコレラ毒素Bを積極的に取り込み、血管内腔とクモ膜下腔に排出していることを示していると考えられる。脳実質を通過して脳表面に伸びる上衣線維を持つ上衣細胞は第三脳室底と手綱交連陥凹に見られ、これらの上衣細胞は、いわゆる tanyocyte に相当する。Didier-Bazes 等 (1997)⁸⁾ はコレラ毒素Bをラットの第三脳室や第四脳室に注入し、背側縫線核の神経細胞と上衣直下の星状膠細胞が標識されることを報告している。しかし、上衣細胞と上衣線維がコレラ毒素Bで標識されること、さらに、tanyocyte が標識されることなどについては記載していない。第四脳室に注入した場合は脳脊髄液の流れから、コレラ毒素Bが第

三脳室に逆流することはないので、第三脳室の tanyocyte が標識されることはないと考えられるが、第三脳室に注入した場合には、本研究と同じように第三脳室底に存在する tanyocyte が標識されるはずであるのに、記載がない。その理由は不明であるが、彼らは第三脳室底を含めた標本を作らなかった可能性が高い。上衣線維の間に見られた神経膠細胞の種類を我々は同定することをしなかったが、Didier-Bazes 等 (1997)⁸⁾ はグリア線維由来酸性タンパクに対する抗体を用いて免疫組織化学的に染色し、これらの細胞が星状膠細胞であることを明らかにしている。神経膠細胞のほかに、上衣線維の間には、視床下部室傍核に出現する標識細胞を含め、陽性の神経細胞が少数出現する。これらの神経細胞が脳室内神経網の形成に参加していることを否定することはできないが、標識強度が背側縫線核の神経細胞に比べて、遙かに弱いことや細胞体からでる樹状突起や軸索突起がはっきりしないものが多いことなどから、上衣線維やその終足の近くに存在して、コレラ毒素Bを間接的に、神経膠細胞から取り込んだ可能性が高い。コレラ毒素Bが側脳室に限局して注入された例では大脳皮質に標識神経細胞は出現しないことから、動物番号2047で見られた皮質の標識細胞は脳梁で交叉する交連細胞である。既に、ラットの感覚運動野の交連細胞はⅢとⅣ層にあることが報告されている¹⁷⁾。本研究で見られた皮質の標識細胞もこれらの層に一致して出現していた。

脳弓下器官の標識細胞

側脳室にコレラ毒素Bを注入すると脳弓下器官の神経細胞が標識される。脳弓下器官の神経細胞は脳脊髄液や血液中のアンギオテンシンⅡに感受性があり¹⁸⁾、その機能は飲水行動や昇圧反応を引き起こすことにある¹⁹⁾。コレラ毒素Bで標識された脳弓下器官の神経細胞はアンギオテンシンⅡを含めた脳脊髄液中の生物活性物質に感受性があり、取り込む能力を持つ細胞群を示している可能性がある。

背側縫線核の標識細胞

側脳室にコレラ毒素Bを注入して標識される神経細胞の多くは背側縫線核に集中して出現する。背側縫線核は5-HT細胞からなる神経核であり、Steinbusch (1981)¹²⁾ により背側縫線核内の5-HT細胞が3集団に区別されている。すなわち、背側正中群、腹内側群、外側群である。本研究での、背側縫線核内の標識細胞は、吻側では滑車神経核の終わり

の高さから、尾側では青斑核の高さまで出現した。吻側の標識細胞は内側縦束に近い領域でSteinbusch (1981)¹²⁾の腹内側群に相当する領域に出現し、尾側になるに従い、標識細胞が出現する主要な領域は背側に移動して、彼の言う背側正中群に相当する領域になる。しかし背側部のコレラ毒素B標識細胞は、近接しているものの、はっきりと両側に分かれた2群を形成していた。従って、Steinbusch (1981)¹²⁾の背側正中群に属する5-HT細胞のうち、ほぼ正中線上に分布する5-HT細胞は脳室内神経網の形成に参加しないと結論できる。さらに、Steinbusch (1981)¹²⁾の外側群に相当する領域には標識細胞の出現はない。Didier-Bazes等 (1997)⁸⁾は第三脳室と第四脳室にコレラ毒素Bを注入して背側縫線核に標識細胞を認め、その出現領域は吻側部の正中部と外側部および背側後部であるとしている。彼らが記載した領域と本研究で得られた標識細胞の分布とを簡単に重ね合わせることが出来ないが、すくなくとも背側縫線核の背側後部、すなわちSteinbusch (1981)¹²⁾の背側正中群に相当する領域、は標識細胞の出現領域として一致している。Didier-Bazes等 (1997)⁸⁾の外側部に相当する領域に我々は標識細胞をみていない。この違いはコレラ毒素Bの注入場所の違いと関係しているのかもしれない。すなわち、外側部の細胞は脳室内神経網の形成に参加していないことが考えられる。事実、Didier-Bazes等 (1997)⁸⁾は外側部に相当する領域にコレラ毒素Bを注入し、順行性に軸索の投射野を調べると、第三脳室の上衣直下の神経要素が標識され、脳室内神経網が標識されないと記載している。我々の結果とDidier-Bazes等 (1997)⁸⁾の結果とを総合すれば、側脳室、第三脳室、第四脳室の脳室内神経網を形成する背側縫線核の細胞は、背側縫線核のほぼ中央の高さから尾側にかけて存在し、内側縦束に近い腹内側群と背側後部の正中背側群とになるものと結論できる。

本研究において、背側縫線核内に出現する標識細胞がゴルジ染色を施したように、その樹状突起と軸索突起が明瞭に染め出された。腹内側群に属する細胞の樹状突起は主として背側と腹側に伸び、上衣直下の正中背側群に属する細胞がもつ樹状突起は主として内側、外側、腹側に伸びる傾向を示した。このうち、内側に伸びる樹状突起は正中を越え、対側の細胞の樹状突起とともに上衣直下をより外側へと伸びていた。腹内側群および正中背側群の標識細胞には軸索突起が明瞭に観察できるものがあり、いずれの群でも軸索突起は腹側に向かい、両側の内側縦束

に挟まれた領域に収斂した後、より腹側へと走っていた。これまでに、脳室にコレラ毒素Bを注入して、背側縫線核に標識細胞の出現を見た研究はDidier-Bazes等 (1997)⁸⁾の研究ただ一つしかない。そのなかで彼らは、標識された細胞に樹状突起と軸索突起が染め出されてくることを見ているが、樹状突起の数や伸びの方向、軸索突起の走行については全く記載していない。彼らの論文に掲載された標識細胞の写真を見るかぎり、核周部から僅かに伸びた樹状突起が見えるのみで、標識細胞が完全な形で染め出されてはいない。この標識の強さの違いは、彼らの使ったコレラ毒素Bが我々のものとは違い、透析により塩が除かれていないこと、彼らの注入はマイクロシリンジからの圧注入であることなどによるものと考えられる。彼らはラット一頭当たり1%コレラ毒素Bを2 μ l注入している。上頭神経節にコレラ毒素Bを注入して交感神経節前細胞を染め出すのには0.5%コレラ毒素B溶液1 μ lで十分である²⁰⁾ことが示されているから、注入量が少なすぎることはない。むしろコレラ毒素Bの取り込みが、我々のばあいよりも、極端に悪かったと考えざるを得ない。

脳室内神経網の機能

背側縫線核の5-HT細胞が軸索突起を伸ばし、脳室内神経網を形成していることは明らかなものの、脳室にはどこからどのようにして侵入するのかは不明の点が多く、これまでに意見の一致を見していない。Chan-Palay (1976)²¹⁾およびMatsuura等 (1985)²²⁾は背側縫線核に始まる5-HT線維は脳室上衣細胞の直下を走りながら、所々で上衣を貫通し、脳室に侵入して脳室内神経網を作り上げているとの見解を示している。一方、DinopoulosとDori (1995)²³⁾は5-HT線維の走行を追跡して、脳室内神経網を作る5-HT線維は内側前脳束を上行したのち脳梁と尾状核の間を走って、側脳室の吻側端から側脳室に侵入するとしている。本研究では、強く標識された脳室内神経網と、同じく強く標識された背側縫線核の細胞とその突起を示すことが出来た。しかし、上衣を貫通して両者が連続する像を得ることは出来なかった。常に、ほぼ陰性の上衣が両者の間に介在していた。侵入の場所や侵入の仕方などを知るには、電子顕微鏡をつかった、脳室壁のより詳細な検索が必要である。

電子顕微鏡をつかった観察によれば、脳室内神経網を構成する神経線維はところどころで念珠状に膨らみを作っている。この膨らみが上衣細胞との間のシナプス構造であるとする報告²⁾と念珠状の膨らみ

はあるものの、上衣細胞との間でシナプス結合をすることはない²³とする全く違った報告があり、意見の一致を見ていない。上衣細胞との間にシナプス結合があるとする報告ではこのシナプス部で上衣細胞の線毛運動を調節していると考えている。一方、膨らみはシナプスではないとする報告では、この膨らみからセロトニンが放出され、脳脊髄液のセロトニン濃度を変え、さらに脈絡叢に働いて脳脊髄液の分泌を調節している、と考えている。脳脊髄液のセロトニンは脳脊髄液の分泌調節の他に、体温調節²⁴、冬眠の導入²⁵などに関係していると言われている。

本研究では脳室内神経網の由来となる背側縫線核のほぼすべての細胞がその樹状突起を中脳水道に向け、背側に伸ばし、上衣直下に樹状突起が集合する様子を示すことが出来た。上衣直下は上衣線維が網の目のように走っていると想像されるから、これらの樹状突起は上衣細胞が脳脊髄液から取り込んだ物質を上衣線維から容易に受け取ることが出来る位置にある。すなわち、樹状突起は上衣細胞を介して、間接的に脳脊髄液の組成変化を監視する受容器としての働きを持てる位置にあると考えたい。脳室内神経網を構成する神経線維が脳脊髄液の組成を監視する受容器ではないか^{26,27}との考えが示されているが、軸索突起に受容器の働きを持たせるのは無理があり、むしろ本研究が提唱するように樹状突起に受容器の働きを持たせる方がより自然である。樹状突起が受容器として働いているとの考えは既に Scheibel 等 (1975)²⁸ によって出されている。彼らは橋縫線核の細胞の樹状突起が核内を通る血管の周りに伸びていることを見だし、化学受容器や機械受容器として働いているとの考えを出している。

5-HT 細胞の軸索突起はたくさんの側枝をだす²⁹ことが知られている。脳室内神経網の起源となる背側縫線核の5-HT細胞は脳室内に軸索突起を送るほかに、側枝を出して、大脳皮質、視索前野、視床下部などいくつかの神経核に投射している可能性がある。脳脊髄液の組成変化を捉えた背側縫線核の5-HT細胞は5-HTを脳室内に分泌して脳脊髄液の分泌を促進すると同時に、脳内の神経核に働いて、さらに高次な調節を行っていると考えたい。今後はこの側枝が何処に投射しているのかを知ることが脳室内神経網の機能を考える上で不可欠な形態学的な知識になるはずである。そのためには、コレラ毒素Bを標識トレーサーとして使う場合は動物の生存期間をさらに長くして、軸索突起の走行を追うこと、また、順行性の標識トレーサー、例えば植物レクチンの一つであ

るPHA-Lを使って軸索突起の走行と終末の分布を調べ、脳室内神経網以外に投射する領域を同定することが是非とも必要である。

まとめ

脳室内神経網の起源となる細胞を逆行性標識物質であるコレラ毒素Bを使い同定し、その形態学的な特徴を調べた。コレラ毒素Bをラットの側脳室に注入すると、中脳の背側縫線核の尾側半分は強く標識された細胞が出現する。すべての標識細胞は2本ないし3本の長い樹状突起をもっている。樹状突起のうち、中脳水道に向かって背側に伸びた樹状突起は上衣直下に達すると、上衣直下を外側へと伸び、上衣直下の領域に多数の樹状突起が収斂する。脳室内神経網を作る神経細胞から伸びた、このような特異な樹状突起の走行が何を意味しているのか分かっていないが、上衣細胞との深い関係が示唆される。上衣細胞が脳脊髄液の組成変化を、近接する樹状突起に伝えるという構図があるとすれば、樹状突起と上衣細胞の形態学的な関係をさらに細かく、電子顕微鏡のレベルで検索する必要がある。

文献

- 1) Cloft, H. J., Mitchell, J. A. : Serotonergic innervation of the supraependymal neuronal complex of the golden hamster. *Brain Res.*, 761 : 210-216, 1997.
- 2) Paspalas, C. D., Papadopoulos, G. C., Michaloudi, H. : Serotonergic supra-ependymal plexus in the ventricular system of the hedgehog : Organization principles and functional implications. *J. Brain Res.*, 35 : 333-342, 1994.
- 3) Card, J. P., Mitchell, J. A. : Electron microscopic demonstration of a supraependymal cluster of neuronal cells and processes in the hamster third ventricle. *J. Comp. Neurol.*, 180 : 43-57, 1978.
- 4) Mathew, T. C. : Supraependymal neuronal elements of the floor of the fourth ventricle in adult rat : a scanning electron microscopic study. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.*, 30 : 175-181, 1998.
- 5) Lorez, H. P., Richards, J. G. : Distribution of indolealkylamine nerve terminals in the ventricles of the rat brain. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 144 : 511-522, 1973.
- 6) Kuhar, M. J., Aghajanian, G. K., Roth, R. H. : Tryptophan hydroxylase activity and synaptosomal uptake of serotonin in discrete brain regions after mid-

- brain raphe lesions : correlations with serotonin levels and histochemical fluorescence. *Brain Res.*, 44 : 165-176, 1972.
- 7) Aghajanian, G. K., Gallager, D. W. : Raphe origin of serotonergic nerves terminating in the cerebral ventricles. *Brain Res.*, 88 : 221-231, 1975.
 - 8) Didier-Bazes, M., Voutsinos, B., Aguera, M., Peyron, C., Akaoka, H., Belin, M. F. : Specific potentialities of embryonic rat serotonergic neurons to innervate different periventricular targets in the adult brain. *J. Comp. Neurol.*, 382 : 29-45, 1997.
 - 9) Luppi, P. H., Sakai, K., Salvat, D., Fort, P., Jouvot, M. : Peptidergic hypothalamic afferents to the cat nucleus raphe pallidus as revealed by a double immunostaining technique using unconjugated cholera toxin as a retrograde tracer. *Brain Res.*, 402 : 339-345, 1987
 - 10) Paxinos, G., Watson, C. : The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, Sydney, 1982.
 - 11) Sako, H., Kojima, T., Okado, N. : Immunohistochemical study on the development of serotonergic neurons in the chick. I. Distribution of cell bodies and fibers in the brain. *J. Comp. Neurol.* 253 : 61-78, 1986.
 - 12) Steinbusch, H. W. M. : Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. *Neuroscience*, 6 : 557-618, 1981.
 - 13) Van Heyningen, W. : Gangliosides as membrane receptors for tetanus toxin, cholera toxin and serotonin. *Nature*, 249 : 415-417, 1974.
 - 14) Bacon, S. J., Smith, A. D. : Preganglionic sympathetic neurones innervating the rat adrenal medulla : immunocytochemical evidence of synaptic input from nerve terminals containing substance P, GABA or 5-hydroxytryptamine. *J. Auton. Nerv. Syst.*, 24 : 97-122, 1988
 - 15) Hosoya, Y., Sugiura, Y., Okado, N., Loewy, A. D., Kohno, K. : Descending input from the hypothalamic paraventricular nucleus to sympathetic preganglionic neurons in the rat. *Exp. Brain Res.*, 85 : 10-20, 1991.
 - 16) Wright, E. M. : Secretion and circulation of the cerebrospinal fluid. *Front. Horm. Res.*, 9 : 4-14, 1982.
 - 17) Wise, S. P., Jones, E. G. : The organization and post-natal development of the commissural projection of the rat somatic sensory cortex. *J. Comp. Neurol.* 168 : 313-343, 1976.
 - 18) Buranarugsa, P., Hubbard, J. I. : The neuronal organization of the rat subfornical organ in vitro and a test of the osmo- and morphine-receptor hypotheses. *J. Physiol.*, 291 : 101-116, 1979.
 - 19) Simpson, J. B. : The circumventricular organs and the central actions of angiotensin. *Neuroendocrinology*, 33 : 248-256, 1981.
 - 20) Hosoya, Y., Matsukawa, M., Okado, N., Sugiura, Y., Kohno, K. : Oxytocinergic innervation to the upper thoracic sympathetic preganglionic neurons in the rat. A light and electron microscopical study using a combined retrograde transport and immunocytochemical technique. *Exp. Brain Res.*, 107 : 9-16, 1995.
 - 21) Chan-Palay, V. : Serotonin axons in the supra - and subependymal plexuses and in the leptomeninges; their roles in local alterations of cerebrospinal fluid and vasomotor activity. *Brain Res.*, 102 : 103-130, 1976.
 - 22) Matsuura, T., Takeuchi, Y., Kojima, M., Ueda, S., Yamada, H., Nojyo, Y., Ushijima, K., Sano, Y. : Immunohistochemical studies of the serotonergic supraependymal plexus in the mammalian ventricular system, with special reference to the characteristic reticular ramification. *Acta Anat.*, 123 : 207-219, 1985.
 - 23) Dinopoulos, A., Dori, I. : The development of the serotonergic fiber network of the lateral ventricles of the rat brain : a light and electron microscopic immunocytochemical analysis. *Exp. Neurol.*, 133 : 73-84, 1995.
 - 24) Feldberg, W., Myers, R. D. : Appearance of 5-hydroxytryptamine and an unidentified pharmacologically active lipid acid in effluent from perfused cerebral ventricles. *J. Physiol. (Lond.)*, 184 : 837-855, 1966.
 - 25) Le Beux, Y. J. : An ultrastructural study of the neurosecretory cells of the medial vascular chiasmatic gland. II. Nerve endings. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 127 : 439-461, 1972.
 - 26) Westergaard, E. : The fine structure of nerve fibers and endings in the lateral cerebral ventricles of the rat. *J. Comp. Neurol.*, 144 : 345-354, 1972.
 - 27) Scheibel, M. E., Tomiyasu, U., Scheibel, A. B. : Do raphe nuclei of the reticular formation have a neurosecretory or vascular sensor function ? *Exp. Neurol.*, 47 : 316-329, 1975.

28) van der Kooy, D., Hattori, T. : Dorsal raphe cells with collateral projections to the caudate-putamen and substantia nigra : A fluorescent retrograde double labeling study in the rat. Brain Res., 186 : 1-7, 1980.

略語

ACB 側坐核
 aco 前交連
 AHy 前視床下野
 AQD 中腦水道
 BSTM 分界條床核
 CG 中心灰白質
 CP 被殼線條體
 CS 中央縫線核
 cst 皮質脊髓路
 DMH 背內側視床下核
 DPB 背側腳傍核
 DR 背側縫線核
 DTN 背側被蓋核
 FLM 內側縱束
 fr 反屈束
 fx 腦弓
 IC 下丘
 III 第三腦室
 III_n 動眼神經核
 IV 第四腦室
 IPN 腳間核
 LC 青斑核
 LHA 外側視床下野
 LOT 外側視索核
 LS 外側中隔核
 MG 內側膝狀體
 ml 內側毛帶
 MM 內側乳頭體核
 MO 三叉神經運動核
 MS 內側中隔核
 mt 乳頭視床束
 pc 後交連
 PP 橋核
 PVN 視床下部室傍核
 py 錐體
 R 赤核
 RM 大縫線核
 SC 上丘
 SFO 腦弓下器官
 SI 無名領

sm 視床髓條
 SN 黑質
 TT 吻側海馬
 VMH 腹內側視床下核
 VPB 腹側腳傍核
 VTA 腹側被蓋野
 VTN 腹側被蓋核