

学位申請論文

大石高生

Thesis

GO/NO-GO課題の学習と遂行におけるサル前頭葉の役割
―― GABA拮抗阻害剤の局所注入による研究――

大石高生

序文

さまざまな動物実験から、行動の選択や、行動の抑制には、前頭前野が関与すると言われている（たとえば、Fuster 1981の総説参照）。行動の選択や抑制を調べるのに用いられてきた課題の一つに、GO/NO-GO課題と呼ばれるものがある。この課題では、ある刺激に対しては、被検体が運動して反応することを要求し（GO反応）、別の刺激に対してはその運動をしないという反応（NO-GO反応）を要求する。サルの前頭葉（前頭前野および運動前野の一部を含む）が、GO/NO-GO課題の学習や遂行に関与していることは、これまでの破壊実験や、単一ニューロン活動記録実験などから示唆されてきた。アカゲザルの前頭前野下膨隆部を破壊すると、非対称強化性GO/NO-GO課題（NO-GO試行の正反応には報酬を与えない）の再学習が障害される（Iversen and Mishkin 1970）。また、アカゲザルの周弓状溝領域を破壊すると、視覚性および聴覚性の対称強化性GO/NO-GO課題（NO-GO反応の正反応に対しても報酬が与えられる）の再学習が障害されることが、最近報告された（Petrides 1986）。このことは、Brodmannの8野と6野の吻側部とを含む周弓状溝領域が対称強化性GO/NO-GO課題の学習成立に関与することを示唆する。さらに、Brodmannの8野、9野、12野の単一ニューロン活動は、GO/NO-GO課題のさまざまな側面（弁別刺激、反応、報酬など）に関係した変化を示すことが報告されている（Komatsu 1982; Kubota and Komatsu 1985; Watanabe 1986）。同様の単一ニューロン活動が6野の吻側からも記録されている（Watanabe 1986）。これらの結果は、周弓状溝領域が、GO/NO-GO課題の遂行にも関与することを示唆している。しかし、前頭葉の各領野（8野、6野など）がどのようにしてGO/NO-GO課題の学習や遂行に関与しているかは、まだ必ずしも明らかではない。解剖学的研究から、8野と6野（Arikuni et al. 1980, 1988; Barbas et al. 1981, 1987）、6野とその後方に隣接する4野（Barbas and Pandya 1987; Ghosh et al. 1987; Kunzle 1978; Matsumura and Kubota 1979; Muakkassa and Strick 1979）、また8野と側頭/頭頂連合野（Barbas and Mesulam 1981; Petrides and Pandya 1984）の間の線維連絡が知られている。これらのデータから、視覚性の随意運動遂行時には、側頭連合野や頭頂連合野から8野に視覚性情報が入り、それが処理されてまず6野に運ばれ、最終的に4野に到達することが示唆される（Arikuni et al. 1988）。このように、それぞれの領野が異なった関与をしていることは推測されるが、どの様に関与しているのかの詳細はまだ明らかではない。

私はGO/NO-GO課題の学習および遂行過程に、前頭葉の8野、6野、4野がどの様に関与しているか解明することを目指して、各領野を化学的に刺激する、薬物の皮質内局所微量注入法をアカゲザルの前頭葉に適用した。用いた薬物は、皮質内の抑制性伝達物質GABAの拮抗阻害剤であるビククリンメチオジド（bicuculline methiodide、BMI）である。GABAは、視覚野、体性感覚野などで、ニューロンの選択性を高めていることがイオン泳動法を用いた研究など

から知られている (Hicks and Dykes 1983; Sillito 1975; Tsumoto et al. 1979)。BMI を、サルの第一次運動野および運動前野に注入すると、前肢の筋肉の収縮が誘発される (Matsumura et al. in press; Oishi et al. 1988a)。収縮する筋肉の種類 (上腕二頭筋、上腕三頭筋、橈側手根屈筋、尺側手根屈筋、総指伸筋など) と運動のパターン (相反性か非相反性か) は BMI の用量と注入場所に依存した。これらの結果から、GABA による抑制は皮質固有の機能を形成するのに重要であることが示唆されている。従って、BMI の局所注入によって GABA の働きを抑えると、注入部位周辺の脱抑制で異常な活動亢進が起こり、その部位が本来持っている機能が障害されと考えられる。この手法は、直接効果を及ぼす領域が外科的破壊法に比べて小さいために、より細かいマッピングに向いており、可逆的阻害剤である BMI を用いたために、同じ個体で繰り返し何度も実験できるという利点を持っている。私はこの利点を活かして、対称強化性 GO/NO-GO 課題を学習する前の個体と学習した後の個体との前頭葉に BMI を局所注入し、①学習前後の注入の効果を比較し、さらに、②課題遂行に及ぼす障害の性質を検討した。その結果、①に関しては 8 野への注入では学習後にのみ、課題遂行時とよく似た前肢の運動が誘発された。このことから、GO/NO-GO 課題学習時に、学習性運動に関係する新しい構造が 8 野に形成され、GABA ニューロンがその構造を緊張的に抑制していることが示唆される。なお、8 野は今まで知られている前肢に関係するどの運動領野よりも吻側に位置し、しかも運動支配が学習によって生じるという点が、新たな知見である。また、②に関しては、8 野および 6 野の吻側部への注入でオMISSION エラー (反応すべき時に反応しない誤り)、COMMISSION エラー (反応すべきでないときに反応してしまう誤り) が共に増加し、4 野および 6 野の尾側部への注入ではおもに COMMISSION エラーが増加した。このことから、8 野および 6 野の吻側部は反応の選択過程に関与し、4 野および 6 野の尾側部は反応の遂行に関与していることが示唆される。本研究の一部は学会で発表した (Oishi et al. 1988a, b, 1989a, b)。

方法

今回の研究には、4頭の若い雄のアカゲザル（#1-#4、3.8-6.5 kg）を用いた。対称強化性二選択視覚弁別GO/NO-GO課題をサルに訓練する前後での、BMIの前頭葉局所注入による誘発運動の変化および、学習後の課題遂行の障害を観察した。

学習課題

今回用いた視覚弁別GO/NO-GO課題はこれまで我々の研究室で用いていたもの（Komatsu 1982; Kubota and Komatsu 1985）とほぼ同一である。第1図に、五つの期間からなる、この学習課題のダイアグラムを図示する。

（第1図）

サルの前には、顔の高さで57cm離れたところにコンピュータディスプレイ（PC-K D551、NEC）があり、胸の高さで20cm離れたところに反应用のレバーがある。まず、コンピュータディスプレイ中央に黄色い輪（開始信号：外径、内径はそれぞれ視角で4.5度および2.2度）が現れ、サルに試行開始を知らせる（開始期）。サルが右手でレバーを押すと、黄色い輪が消え、0.9秒間ディスプレイ上に何も刺激が存在しない期間がある（無刺激期）。次にディスプレイ中央に赤または緑の円（弁別刺激：視角で4.0度）が試行ごとに無作意な順序で現れ、0.5-3秒間点灯し続ける（弁別刺激期）。弁別刺激が消えると同時に開始信号と同じ黄色い輪（外径、内径はそれぞれ視角で4.5度および2.2度）が反応信号として再びディスプレイ中央に現れ、サルに反応期の開始を知らせる。サルは反応期に、先行する弁別刺激期に提示された弁別刺激の色に応じて、GO反応またはNO-GO反応を選択して遂行した。弁別刺激が赤い円であった場合、サルは一定時間内（#1、0.45秒；#2、0.5秒；#3、0.6秒；#4、0.8秒）にレバーを放さなければならなかった（GO試行）。弁別刺激が緑の円であった場合、サルは一定時間以上（#1および#2、2.0秒；#3および#4、1.1秒）レバーを押し続けていなければならなかった（NO-GO試行）。このGO試行およびNO-GO試行の時間制限は、個々のサルが二時間以上連続して課題を遂行するように、訓練セッション中に選んだものである。GO試行、NO-GO試行いずれの正反応に対しても報酬が与えられた。反応期が終ると黄色い輪が消え、試行間間隔（2.0秒）が始まる。学習課題の制御はマイクロコンピュータ（PC-9801F、NEC）で行った。正反応率が85%の基準に達するまでに、訓練開始から1-3.5カ月かかった。訓練セッション中、サルは1日に200-1100試行を行った。

対照実験として、わずかに改変した学習課題（GO&NO-GO課題と名付けた）も、二度のセッション（8野にBMIを注入した）で用いた。GO&NO-GO課題では、GO試行またはNO-GO試行が連続的に行われた。赤い弁別刺激の時はレバー放しで、緑の弁別刺激の時はレバーを押し続けるという刺激と反応の関係はGO/NO-GO課題と同じだが、弁別刺激の色は試行ごとには変わらず、100試行からなる試行ブロック中でただ一回だけ変化する条件を用いた（た

例えば、赤、赤、赤、・・・、赤、緑、緑、緑、・・・、緑）。

外科手術

注入セッションを始める前に、それぞれのサルに外科手術を施した（#1と#2は訓練前、#3と#4は訓練後）。ペントバルビタールNa塩（Nembutal、Abbott、35 mg/kg体重を静脈注射）深麻酔下、無菌的に、注入用のステンレス製シリンダーと頭部固定用金具を、歯科用アクリル樹脂で頭蓋骨上に固定した。約一週間の回復期間の後、注入セッションを開始した。

サルの飼育管理および使用は、NIHのガイドライン（Guide for the Care and the Use of Laboratory Animals、1985）および京都大学霊長類研究所のガイドライン（サル類の飼育管理および使用に関する指針、1986）を遵守して行った。

BMIの局所注入

注入はサルが課題で使用した手と反対側（左）の4半球と同側（右）の1半球に行った。ピククリンメチオジド（BMI、Sigma）の注入は一日に一度、サルが頭部を固定されて、モンキーチェアに座って平静にしているとき（学習前）、あるいは課題を遂行しているとき（学習後）に行った。一日の実験を始める際には毎回、注入予定部位の灰白質の厚さを知るために、白金-イリジウム電極（2-4M Ω ）で多ニューロン活動を記録した。生理的食塩水に溶かしたBMI（濃度は5 μ g/ μ l、容積は0.7-2 μ l、従ってBMIの重量は3.5-10 μ gで、通常5 μ g）を、マイクロシリンジ（MS-10、伊藤製作所）を用いて注入した。針の先端は、油圧式マニピュレータ（M0-10、成茂科学）を用いて、皮質表面から0.8-3mmの深さに固定し、一日のセッション中そのまま留置した。注入に用いたマイクロシリンジの針（外径0.55mm、内径0.16mm）は先端（0.07mm²）を除いてポリウレタンで絶縁し、注入部位の多ニューロン活動をセッション中記録した。強度、頻度ともに低いが、注入前からバースト状のニューロン活動がみられたことから、通常薬液が少量漏れていたと判断できる。しかし実際に注入するまでは、正反応率の低下も、筋肉の単収縮も見られなかったことから、漏れ（マイクロシリンジの目盛りで0.01 μ l以下）の影響は重大ではないと判断した。注入は、1 μ l/s 以下のできるだけ一定の速度で行った。運動の誘発や課題の障害がBMIの効果なのか、注入された液の量の効果なのかを決定するために、BMIと同じ手続きで、同じマイクロシリンジを用いて、8野の4か所（#3に2か所、#4に2か所）に、生理的食塩水を注入した。2頭のサル（#1と#2）に関しては、8野へのBMI注入の効果が、学習の前後で変わるかどうか調べるために、訓練後に、できるだけ訓練前と同じ位置に注入しようと試みた。

EMGとEOGの記録

注入セッション中、上腕二頭筋や、尺側手根屈筋などの前肢の筋肉や、三角筋や菱形筋などから筋電図（electromyogram、EMG）を記録した。記録にはセッション開始前に筋肉に挿入した一对の細い銅線（直径0.15mm）を用いた。EMG

記録の目的は、BMI注入によって誘発される筋活動を検出することと、課題遂行中のEMGの時空間的变化を監視することにあった。水平方向の眼球電図（electrooculogram、EOG）は、皮下に挿入した一対の注射針（26G）で記録した。運動の誘発の確認には、EMG、EOGの他に、実験者（大石および久保田）による観察、触診を併用した。課題の進行状況、反応レバーの位置、注入部位の多ニューロン活動と、EMGまたはEOGは、多元記録装置（RM-40、日本光電）と8チャンネル記録装置（R-260、TEAC）に記録し、後の解析に備えた。多ニューロン活動と、EMGまたはEOGの時間関係はアドスコープ（ATAC-210、日本光電）を用いて計測した。

データ解析

8野にBMIを注入して、前肢や肩の運動および眼球運動が誘発されたときは（学習前も学習後も）、その運動が注入後何分で初めて誘発されたかを記録した。また、バースト状ニューロン活動の開始とEMGやEOGの開始との時間間隔は、一つの注入部位のデータを10回ずつ採って平均値を計算した。

注入セッション中の正反応率、誤反応の性質、反応時間は各100試行からなる試行ブロックごとにまとめて、解析した。BMIは一日一度、対照試行ブロック終了後に注入した。正反応率の解析には、カイ二乗検定またはFisherの正確確率検定を用いた。反応時間の解析にはMann-WhitneyのU-検定（両側検定）を用いた。BMIの注入後には正反応率が低下し、二種類の誤反応が増加した。即ちコミッションエラーとオMISSIONエラーである。コミッションエラーには二通りあった。反応期に先行する無刺激期や、弁別刺激期にサルがレバーを放してしまう誤反応（反応期よりも前に犯した誤反応なので、PRE-RESPONSE errorと名付け、以下PRエラーと略称する）と、NO-GO試行の反応期にサルがレバーを放してしまうNO-GOエラー（NO-GO RESPONSE error）である。オMISSIONエラーは、サルがGO試行の反応期にレバーを放さず押し続けるGOエラー（GO RESPONSE error）である。特定の体部位の不随意運動が起こったときに、特定の誤反応が多く誘発されたかどうかは、領野ごとにFisherの正確確率検定、あるいはカイ二乗検定を用いて調べた。日々のセッションの試行数はBMIの注入によって減少する傾向があったので、各セッションの注入から120分後までの試行数を記録した。

組織学的検証（細胞構築および注入部位の同定）

実験終了後、ペントバルビタールNa塩（Nembutal、35mg/kg体重を静脈注射）深麻酔下に、心臓から生理的食塩水および10%ホルマリンを灌流した。脳は、凍結ミクロトームを用いて、100 μ m厚の冠状断切片にした。切片はクレジルバイオレットで染色し、顕微鏡下でマイクロシリンジの針の先端の位置と細胞構築を決定した（Arikuni et al. 1988; Brodmann 1909; Vogt and Vogt 1919; Walker 1940）。訓練の前後で同じ位置に注入しようと試みた#1と#2の2頭のサルでは、7か所を同じ部位と判定した（5か所はほとんど同一、2か所は先端の距離が0.8mm以下）。

第2図、第4図、第5図の、矢印で指した丸)。マイクロシリンジの針の後が訓練前のものか、訓練後のものかは、グリオーシスと出血痕の様子から判定した。訓練前には各部位に一度ずつしか注入しておらず、訓練前と訓練後の注入には1-3.5カ月の間隔があったので、刺入痕の新旧(新しいものは赤血球が多く残存しており、古いものはグリアが多数集中していた)から判断できた。Brodmannの8野は、Walkerの8A野と45野とを含む。8A野には、はっきりした第IV層、第III層から第V層にわたる放射状構造、および第V層にかなり大きい錐体細胞がある。45野は第III層と第V層に大型細胞があることと、はっきりとした放射状構造を持たないことで特徴づけられる。Brodmannの9野は、Walkerの8B野と9野、46野を含む。8B野には、はっきりした第IV層があり、第III層から第V層にかけて放射状構造があるが、第V層に大型の錐体細胞が存在しない。9野には狭いがはっきりした第IV層があるが、放射状構造は無い。46野は、発達した第IV層と第III層から第V層にかけての放射状構造、および広い顆粒上層(第II層と第III層)によって特徴づけられる。12野は、狭い第III層と第IV層、および比較的広いが分化度の低い顆粒下層(第V層と第VI層)が特徴である。Brodmannの6野は、Vogt and Vogtの6a β 野、6a α 野、6b α 野、および6b β 野を含む。6a β 野は、余り発達していない第IV層を持ち、第III層と第V層に大型の錐体細胞が無い。6a α 野は、顆粒細胞の乏しい第IV層と、第V層の大型の錐体細胞、6a β 野より広い第I層が特徴である。6b α 野は、顆粒細胞に乏しい第IV層と、比較的狭い第III層を持ち、大型の錐体細胞を持たない。6b β 野は、6b α 野よりも広くて、顆粒細胞の密度が高い第IV層を持ち、大型の錐体細胞を持たない。Brodmannの6野(6a β 野も6a α 野も含めて)の内側壁は、補足運動野(SMA)と呼ぶ。Brodmannの4野は、Vogt and Vogtの4a野、4b野、4c野を含む。4野の一般的特徴は第IV層を欠くことである。4a野の特徴は、第V層に多数の巨大錐体細胞(直径100 μ m以上)が存在することである。4b野では、4a野に比べ、第III層が狭く、第V層の巨大錐体細胞が数も少なく、大きさも小さい。4c野では、第V層の巨大錐体細胞が4b野よりもさらに小さい。

結果

第一部 学習前後の、BMI注入の効果の比較

全般

頭を固定されてモンキーチェアに座っているアカゲザル（訓練前2頭、訓練後4頭）の左半球のBrodmannの8野および9野にビククリンメチオジド（BMI、5-10 μ g、1-2 μ l）を注入し、身体の中のどの部位に運動が誘発されるかを観察した。8野へは訓練前に15か所、訓練後に37か所に注入した。第1表に示したように、前肢の運動は訓練後に8野に注入したときのみ誘発された。それに対して、眼球運動と肩の運動は、訓練の前後に関わらず誘発された。これらの運動は、注入部位のバースト状ニューロン活動に伴って現れた、各体部位の筋肉の単収縮によるものであった。

（第1表）

注入部位のニューロン活動

BMIが注入されると、注入部位では1分以内にバースト状のニューロン活動が現れる。バーストは、徐々に強度と頻度とを増し、20分から40分で最大に達し、その後徐々に減弱し、60分から180分後にはほとんど無くなった。このバースト状ニューロン活動の時間経過は、どこに注入しても同様に、領野による差はなかった。また、学習の前後でも差はなかった。バースト状ニューロン活動の時間経過の典型例は第6図を参照せよ（6野への注入であるが、8野でも基本的に同じ）。

前肢の運動

4頭の訓練完成後のサルのBrodmannの8野の合計37か所にBMIを注入したところ、13か所で60分以内に注入とは反対側（右）の前肢の運動が誘発された（第1表）。サルは頭を固定されてモンキーチェアに座っており、継続的にGO/NO-GO課題を遂行していた（第二部参照）。第2図に、一頭ごとの注入部位を皮質表面に投射して示す。下に示したA(after)-D(after)が、それぞれ訓練後の#1から#4のサルの結果を表す。

（第2図）

前肢の運動が誘発された部位を黒丸で、されなかった部位を白丸で示している。前肢の運動が誘発された部位のほとんどは、Walkerの8A野の外側部と、45野の尾側部にあった。前肢の運動の頻度は毎秒0.5-1回で（第3図）、注入後4-60分（30 $\pm$ 18分、n = 13。平均 $\pm$ 標準偏差）から始まり、通常30-45分で最大に達し、その後徐々に弱くなり、およそ60分以上経ってから消失した。収縮した筋肉は上腕二頭筋および前腕の屈筋群（橈側手根屈筋、尺側手根屈筋、腕橈骨筋など）で、拮抗筋である上腕三頭筋や前腕の伸筋群（総指伸筋など）は通常活動していなかった。注入部位のバースト状のニューロン活動の開始から、上腕二頭筋、尺側手根屈筋の筋電図の発火開始までの時間はそれぞれ48 $\pm$ 11ms（n = 20、一か所につ

き10回で、2か所)、 $40 \pm 2\text{ms}$ ($n = 10$ 、1か所)であった(第3図)。

(第3図)

拇指内転筋のような手の筋肉が収縮することもあった(8か所)。前肢の運動の内容は肘の屈曲、手首の屈曲と回外、指の屈曲であった。訓練されたサルでのみ誘発された、この相反的な筋群の収縮による前肢の運動は、目で見た限り学習課題中にサルがレバーを放す動きと似ていた。EMGからみても、上腕二頭筋の活動の様子は両者で類似していた。また、この前肢の運動は、サルがレバーの上に手を置いているときにも、モンキーチェアの腰の高さの板の上に手を置いているときにも、手が宙に浮いているときにも誘発された。サルは要求されていないときにはレバーを放さないように訓練されているので、レバーの上に手を置いているときに、バースト状ニューロン活動があって、それにともなって前肢の運動が誘発されても、指先だけでレバーを押し続けて誤反応を防ぐことがしばしば見られた。訓練後とは異なり、未訓練の状態(#1と#2)では、Brodmannの8野にBMIを注入しても前肢の運動は全く誘発されなかった(第2図の上のA(before)とB(before)の白丸)。前肢は、腰の高さの板の上にあることも宙に浮いていることもあったが、いずれの場合も運動は誘発されなかった。

Brodmannの8野の中の、前肢の運動に関係の無い場所が、訓練によって関係があるように変化することを確認するために、2頭のサル(#1と#2)ではBMIの効果は訓練の前後で比較した。この2頭のサルには訓練後に、訓練前とできるだけ同じ所に注入することを目指し、顕微鏡で切片を観察することによって7か所を同じ注入部位と判定した(5か所はほとんど同一、2か所は先端の距離が0.8 mm以下、第2図の、矢印で指した丸)。8野にBMIを注入した7か所の内、弓状溝に近い1か所(第2図A)で、このような変化が観察された。

眼球運動

訓練の前後に関わらず、左半球のBrodmannの8野にBMIを注入すると反対側(右)への両眼のサッケード性共役運動が誘発された(訓練前13か所、訓練後24か所、第1表)。この運動には訓練前後では差がなかった。第4図に、一頭ごとの注入部位を皮質表面に投射して示す。上に示したA(before)とB(before)が、訓練前の#1と#2のサルの結果を表し、下に示したA(after)-D(after)が、それぞれ訓練後の#1から#4のサルの結果を表す。

(第4図)

眼球運動を誘発する部位はBrodmannの8野(Walkerの8A野と45野)じゅうに広く分布していた(第4図の黒丸)。眼球運動は訓練前には注入後1-50分(15 ± 15 分、 $n = 12$)、訓練後には注入後4-60分(19 ± 15 分、 $n = 24$)に始まった。注入部位でのバースト状のニューロン活動の開始から眼球運動の開始までは訓練の前後でそれぞれ $37 \pm 13\text{ms}$ ($n = 90$)、 $32 \pm 13\text{ms}$ ($n = 140$)であった(第3図)。

肩の運動

さらに、訓練前後に関わらず、BMIを8野に注入すると反対側の肩の挙上

誘発された（訓練前6か所、訓練後6か所。第1表）。第5図には、一頭ごとの注入部位を皮質表面に投射して示す。上に示したA(before)とB(before)が、訓練前の#1と#2のサルの結果を表し、下に示したA(after)-D(after)が、それぞれ訓練後の#1から#4のサルの結果を表す。

（第5図）

肩の挙上を誘発する部位は主にWalkerの8 A野（Brodmannの8野の内尾側部）に分布していた（第5図の黒丸）。肩の挙上は訓練前には注入後9-60分（ 37 ± 18 分、 $n = 6$ ）、訓練後には注入後9-60分（ 30 ± 17 分、 $n = 6$ ）に始まった。注入部位でのバースト状のニューロン活動の開始から肩の挙上開始までは訓練の前後でそれぞれ 45 ± 7 ms（ $n = 30$ ）、 29 ± 15 ms（ $n = 10$ ）であった。肩の運動の性質も訓練の前後では変化がなかった。しかし肩の運動を誘発した部位は訓練前後で同じではなかった。訓練前後とも肩の挙上を誘発したのは2か所であり、訓練後に新たに誘発するようになった部位が4か所あった。

対照実験（生理食塩水の注入）

これらの誘発された運動が圧注入された液の容積の効果ではなくBMIの影響によることを確かめるために、2頭のサル（#3と#4）の8野の、BMI注入では運動が誘発された部位（眼球運動3か所、前肢の運動2か所。うち1か所は重複）に生理食塩水1 μ lを注入した。注入装置、注入速度その他の条件はBMIの注入と同じにした。生理食塩水の注入部位ではニューロン活動はバースト状にならず、運動が誘発されることもなかった。これで生理食塩水ではなくBMIが運動を誘発したことが確かめられた。

第二部 BMI注入が、GO/NO-GO課題遂行に及ぼす障害

全般

サルが継続してGO/NO-GO課題を遂行している間に、ピククリンメチオジド（BMI、5-10 μ g）を、Brodmannの4野、6野、8野および9野の尾側部に局所注入した。注入は、課題遂行に使用した手と反対側の左半球の合計152か所、同側の右半球の17か所に行った。左半球に注入した152か所中89か所、右半球に注入した17か所中3か所では、注入後60-120分の間、サルは課題を正しく遂行できない傾向があった。誤反応には、押さえ続けているべき時にレバーを放してしまうもの（PRエラーとNO-GOエラー）と、レバーを放すべき時にレバーを放さないもの（GOエラー）があった。試行を繰り返すのにかかる時間も伸びた。これらの変化は注入後1-30分で始まり、40-100分続いた。効果のあった89か所への注入のうち53か所では、前肢や肩の筋肉の単収縮を伴った。筋収縮は注入後1-60分で始まり、20-100分続き、その後頻度が低下し、消失した。通常、誤反応が最も多くなるのは、注入後20-50分であった。どの誤反応が増えるかは注入部位によって異なった。

BMIの用量効果に関しては、詳細な実験を行わなかった。しかし、5 μ gの注

入と10 μ g の注入では、課題の正反応率に及ぼす影響に差がなかった。ただし、3.5 μ g を注入した場合（一例）には、10 μ g を注入したときに比べて効果が小さかった。8野のある部位に3.5 μ g のBMIを注入したときには正反応率が94%に低下しただけであったが（ $p > 0.05$ 、カイ二乗検定）、同じ部位に10 μ g 注入したときは84%まで低下した（ $p < 0.05$ 、カイ二乗検定）。また、対照実験として、8野に生理的食塩水（2 μ l）を注入したとき（4か所）は、正反応率には全く影響がなかった。

時間経過

注入部位のバースト状のニューロン活動（下）と、課題の正反応率（上）の経時変化の典型例を第6図に示す。BMIが注入されると、注入部位では1分以内にバースト状のニューロン活動が現れた。バーストは、徐々に強度と頻度を増し、20分から40分で最大に達し、その後徐々に減弱し、60分から180分後にはほとんど無くなった。このバースト状ニューロン活動の時間経過は、どこに注入しても同様で、領野による差はなかった。課題の正反応率も注入直後から低下し始め、20分から40分後に最低値をとり、その後徐々に元のレベルに回復した。

（第6図）

約半数（152か所中72か所）の注入部位では、バースト状のニューロン活動に伴って、前肢や肩の筋収縮がみられた。4野の場合、拮抗筋の同時収縮が起こった（Matsumura et al. in press; Oishi et al. 1988a）が、8野と6野では、拮抗筋の同時収縮は起こらず、協力筋の収縮がみられた（第一部参照）。

注入部位

組織学的に確認した注入部位を、各半球ごとに第7図と第9図に示した。第7図はPRエラーに関係した部位を、第9図はGOエラーとNO-GOエラーに関係した部位を示している。注入は、Brodmannの9野（左22か所、右3か所）、8野（左37か所、右4か所）、6野（左57か所、右8か所）、4野（左36か所、右2か所）に行なった。誤反応の増加に関係した左半球の注入部位の数を、第2表にまとめた。合計152か所の注入部位（左半球）のうち、正反応率の有意な低下（ $p < 0.05$ 、Fisherの正確確率検定、あるいはカイ二乗検定）に関係したのは89か所だった。

（第2表）

全ての領野において、BMIの局所注入によってPRエラーの頻度が増大した部位（第7図の黒丸）とGOエラーの頻度が増大した部位（第9図の黒丸と黒三角）が存在した。また、9野を除く全ての領野に、NO-GOエラーの頻度が増加した注入部位（第9図の黒三角と白三角）が存在した。9野では22か所中17か所、4a野では9か所中8か所への注入が課題の正反応率を低下させなかった。

反応期以前に犯した誤反応（PRE-RESPONSE error）

BMIを前頭葉に注入すると、サルは無刺激期や、弁別刺激期にレバーを放してしまう傾向があった。すなわち、PRエラー（PRE-RESPONSE error）の頻度が、

60分以内に对照試行ブロックに比べて増加した（注入前の对照試行ブロックでは、PRエラーはたとえあってもせいぜい1回であった）。第7図の黒丸は、注入後60分以内の少なくとも一試行ブロックで、对照試行ブロックに比べてPRエラーが有意に増加した（ $p < 0.05$ 、Fisherの正確確率検定、あるいはカイ二乗検定）注入部位を示している。

（第7図）

PRエラーの誘発に関係したBMIの注入部位は、広くBrodmannの8野（10か所）、6野（30か所）、4野（20か所）に存在した。例外はWalkerの45野（10か所中0か所）とVogt and Vogtの4a野（9か所中1か所のみ）であった。第7図では4野と6野の境界は、大きい矢印ではさんだ破線で示してある。6野と8野の境界は弓状溝（as）であり、6野と9野の境界は弓状溝から正中線まで引いた破線である。Walkerの45野は弓状溝下肢の前壁とその直前の領域で、Vogt and Vogtの4a野は中心溝直前に位置する4野の中で、最も正中線よりの領域である。

PRエラーの性質を調べるために、開始信号提示後、サルがレバーを押してから放すまでの時間を領野ごとに調べた。

（第8図）

第8図のデータは、#1のサルの第3試行ブロック（第201試行から第300試行まで）を3セッション分合わせたものを用いた。この試行ブロックを選んだのは、最も誤反応が多かった（つまり、BMIの効果が最大であった）からである。まず注目すべき点は、BMIを注入しなかった对照セッションでは、サルが全くPRエラーを犯さなかったことである。

8野、6野、4野のいずれにBMIを注入した場合も、サルはレバー押し直後の無刺激期にレバーを放してしまう傾向があった（第8図の破線の左側）。筋電図で確認したところ、6野および4野に注入した場合の半分以上の誤反応で、無刺激期のレバー放しには肩（6野）あるいは前肢（4野）の筋収縮が伴っていた（点刻のある柱。6野では68誤反応中40誤反応、4野では97誤反応中62誤反応）。これらの誤反応は筋収縮によって、サルがレバーを押し続けることができなくなったためのものだと考えられる。一方、8野に注入した場合のほとんど（35誤反応中31誤反応）と、4野や6野に注入した場合の残りの誤反応は筋収縮を伴わなかった（黒い柱）。これらの誤反応は、手を正しくレバーに到達させることができずに、単に手がレバーに当たっただけであるか、またはサルがレバーに触っていることを知らせる体性感覚情報が欠損したためと考えられる。

どの領野にBMIを注入した場合も、サルは弁別刺激期にもレバーから手を放す傾向があった（破線の右側。それぞれ3セッション中に、8野では17試行、6野では71試行、4野では46試行で誤反応）。この誤反応はほとんど弁別刺激の提示後0.2秒以上経ってからであり、主に、反応すべきでない弁別刺激に誤って反応してしまったことを反映しているであろう。

GOエラーとNO-GOエラー

BMIを前頭葉に注入すると、GOエラー、NO-GOエラーともに増加した。

第9図では、GOエラーのみ増加した部位は黒丸、NO-GOエラーのみ増加した点は白三角、両方とも増加した点は黒三角で表してある（対照試行ブロックに比べて、注入後60分以内に少なくとも一試行ブロックで統計的に有意に頻度が増加した部位。 $p < 0.05$ 、Fisherの正確確率検定、あるいはカイ二乗検定）。8野ではGOエラーを誘発した注入部位の方が、NO-GOエラーを誘発した注入部位よりも多かった（10対3）。4野では逆に11対18で、NO-GOエラーを誘発した注入部位の方が多かった。6野は、全体としてみた場合は、どちらのエラーに関係した注入部位も、数はほぼ同じであった（23対19）。

（第9図）

第9図を見るとわかるように、BMIを、8野および6野の吻側部に注入した場合には、GO試行が主に障害され、4野および6野の尾側部に注入した場合はNO-GO試行が主に障害される傾向があった。私は6野を吻側部と尾側部に分け（仮想的な境界線は、第7図および第9図の一对の小さな垂直の矢印で表してある）、GOエラー、NO-GOエラーに関係した注入部位を比較した。BMIを8野および6野の吻側部に注入した場合は主にGO試行が障害され（合計77か所中、GO試行の障害が大きかったのが26か所、NO-GO試行の障害が大きかったのが9か所）、4野および6野の尾側部に注入した場合には主にNO-GO試行が障害された（合計53か所中、GO試行の障害が大きかったのが18か所、NO-GO試行の障害が大きかったのが31か所）。

注入がGO試行、NO-GO試行に及ぼした影響の領野間での違いを調べるために、GO課題の反応時間（第10図）と、NO-GO課題でレバーを放すまでの時間（第11図）を解析した。それぞれのデータは2セッション分の第3試行ブロックから得た。対照としてBMIを注入していない2セッションを用いたが、GOエラーもNO-GOエラーもなかった。

（第10図）

8野および6野にBMIを注入した後は、GO試行の反応時間が有意に延長した〔8野では 688 ± 541 ms（平均±標準偏差、 $n = 80$ ）、6野では 1196 ± 636 ms（ $n = 93$ ）、対照では 309 ± 33 ms（ $n = 92$ ）。 $p < 0.01$ 、Mann-WhitneyのU-検定〕。NO-GO試行で反応刺激提示後にレバーを押し続けることが要求される2秒間よりも長く押し続ける、つまり反応時間が2秒より長い試行もあった。これとは対照的に、4野に注入した場合には、反応時間には変化がなかった〔 327 ± 54 ms（ $n = 53$ ）〕。

NO-GO試行におけるレバー放し時間（NO-GO試行の反応信号提示からサルがレバーを放すまでの時間）は、8野に注入したときに、対照（無注入）と比べて有意に長くなった〔8野では 2861 ± 531 ms（平均±標準偏差、 $n = 94$ ）、対照は 2466 ± 139 ms（ $n = 106$ ）。 $p < 0.01$ 、Mann-WhitneyのU-検定〕。それに対して、6野や4野に注入したときは、レバー放し時間が対照と比べて有意に短くなった〔6野では 1070 ± 351 ms（ $n = 50$ ）、4野では 1810 ± 415 ms（ $n = 54$ ）。 $p < 0.01$ 、Mann-WhitneyのU-検定〕。

（第11図）

6野および4野に注入したときには、サルが余りに早く（反応信号後0.2秒以内）反応しすぎる試行があった。GO試行でのもっとも短い反応時間でさえ0.2秒以上なのに、この「反応」はそれよりも短いことから、反応信号に対する本当の反応ではないであろう。この「反応」は課題遂行に使われる右手の筋肉の単収縮のために起こったと考えられる。第11図における、点刻のある柱は、サルがレバーから手を放すときに筋肉の単収縮が観察された試行を表している。反応期の間、つまり反応信号の後に単収縮がみられたが、サルがレバーから手を放す瞬間に単収縮が起きていなかった試行は黒い柱に含めてある。もしこれらの試行も、単収縮を伴った試行であると分類するならば、第11図に示した、6野と4野への注入後の全試行はすべて単収縮を伴っていたことになる。

GO試行における反応時間および、NO-GO試行におけるレバー放し時間は、領野内ではどの点でもほぼ同じ傾向を示した。

領野間での誤反応の比較

第12図に日々のセッションの正反応、誤反応の割合の例を示した。各試行ブロック（100試行より成る）ごとのPRエラー、GOエラー、NO-GOエラーの割合で示している。

（第12図）

BMIを8野に注入したとき（セッションA-D）には、GOエラーのほうがNO-GOエラーよりも多かった。例外はセッションDで、この日はBMIの注入が前肢の不随意運動を誘発し（第一部参照）、それがあまりに激しかったので、サルがうまく課題遂行できなかった。

BMIを4野に注入したとき（セッションI-K）には、NO-GOエラーの方がGOエラーよりも多かった。どの場合にもBMIの注入によって前肢の筋肉が単収縮を起こし、その結果サルはレバーを押し続けることができなかった。

BMIを6野に注入したとき（セッションE-H）には、GOエラーの方が多かったセッション（FとH）と、NO-GOエラーの方が多かったセッション（たとえばE）があった。前者のセッションは、注入部位が主に6野の吻側部にあったときであり（吻側部は15か所、尾側部は3か所）、後者のセッションは注入部位が主に6野の尾側部にあったときである（吻側部3か所、尾側部12か所）。PRエラーに関係した注入部位は、6野の吻側部、尾側部に関わらず、一様に分布していた（吻側部に15か所、尾側部に15か所）。

BMIの局所注入によって誘発される誤反応の性質に基づいて考えると、8野、6野および4野を、大きく二つに再分類するのがよい。すなわち、8野と、6野の吻側部とを併せて、「周弓状溝領域」、4野と6野の尾側部とを併せて、「中心前領域」とするのである。「周弓状溝領域」への注入は主にPRエラーとGOエラーを誘発した。それに対して、「中心前領域」への注入は、主にPRエラーとNO-GOエラーを誘発した。これは主として肩や前肢の筋肉の単収縮に起因するであろう。「周弓状溝領域」と「中心前領域」の境界ははっきりしたのではなく、明らかに移行的な部分が存在する（第9図）。注目すべき点は、「周弓

状溝領域」への注入が、コミッションエラーとオMISSIONエラーの両方を誘発しており、一方「中心前領域」への注入が主にコミッションエラーを誘発している点である。

対照実験（GO&NO-GO課題）

8野へのBMI注入による課題遂行上の障害が、単純な運動障害によるものか、注入部位の機能障害によるものかを調べるため、私は少し改変した課題を用いた（GO&NO-GO課題）。GO&NO-GO課題では、GO/NO-GO課題と同じ刺激反応連関が存在する（赤い弁別刺激に対してレバーを放し、緑の弁別刺激に対してレバーを押し続ける）が、弁別刺激の色は1試行ブロック（100試行）の内にただ一度変化するだけである（たとえば、赤、赤、赤、・・・、赤、緑、緑、緑、・・・、緑）。それ故、もし誤反応が単なる運動障害のために起こっているならば、GO/NO-GO課題の時と全く同じように、GO&NO-GO課題の時にもサルはたくさん誤反応をするであろう。しかし実際には、8野の同じ部位にBMIを注入しても、GO/NO-GO課題のみが障害され（第13図左、第Ⅲ試行ブロックから第Ⅷ試行ブロックまで、 $p < 0.05$ 、カイ二乗検定）、同じ弁別刺激が連続して提示されるGO&NO-GO課題（第13図右）は障害されなかった。

（第13図）

それ故、8野へのBMI注入によるGO/NO-GO課題遂行の障害は、筋肉の単収縮のような単純な運動障害によるのではなく、視覚刺激（弁別刺激の色）と反応の選択（レバーを放すか押し続けるか）の連合過程の障害によるのであろう。

セッション内の試行数

1回のセッション（120分間）の試行数は、注入をしなかったときは 750 ± 133 （平均±標準偏差、 $n = 23$ ）であった。8野、6野、4野のいずれに注入したときも、1回のセッション（注入後120分間）の試行数は減少した。試行数が400回未満のセッションは、8野への注入では37回中7回、6野への注入では57回中15回、4野への注入では36回中14回であった。一回のセッション内での試行数の減少は、主に開始信号が提示されてからサルがレバーを押すまでの時間が伸びることに起因すると解釈される。つまり、注入後は、開始信号が点灯していても、サルがレバーを押さない傾向があり、これによって試行数が減少したのである。第14図に、注入後120分以内にサルが600試行以上おこなったセッションで、この時間がどのように伸びたかという例を示す。

（第14図）

データは2セッション分の第3試行ブロックから取った。どの領野に注入した場合にも、開始信号提示からレバー押しまでの時間は、対照（注入しなかったとき）よりも有意に延長した〔対照では 1049 ± 1557 ms（平均±標準偏差、 $n = 200$ ）。それに対して、8野では 1583 ± 1503 ms（ $n = 200$ ）、6野では 1167 ± 1212 ms（ $n = 200$ ）、4野では 1744 ± 951 ms（ $n = 200$ ）。 $p < 0.05$ 、Mann-WhitneyのU-検定〕。

試行数が少ないセッションでは、この時間はより長かった。

BMIを4野に注入して、試行数が400未満であった14セッション全てで、前肢の筋肉の単収縮が誘発されていた。前肢の不随意運動が激しかったときには、レバーに手が届かないことがあった。それ故、4野に注入したときの試行数の減少は前肢の不随意運動と関係していると考えられる。8野および6野に注入した場合には、前肢または肩の筋肉の単収縮が誘発されたのは、試行数が400に満たないセッションの約半分に過ぎなかった（8野では7回中4回、6野では15回中8回）。8野、6野、4野のどの領野に注入した場合も、試行数が400以上のセッションの約半数が単収縮を伴っていた（8野では30回中13回、6野では42回中21回、4野では22回中12回）。このように、少なくとも8野と6野に注入した場合は、試行数の減少は単収縮がなくても見られた。

誤反応と誘発運動との関係

8野、6野および4野に注入した場合に、前肢や肩などに誘発された筋収縮と誤反応の性質を、Fisherの正確確率検定、あるいはカイ二乗検定を用いて解析した。すなわち、特定の体部位の筋収縮が起こったときと、起きなかったときとで、各誤反応が有意に増加する頻度に差があるかどうかを検定した。

8野にBMIを注入すると、眼球運動（ $n = 23$ ）や、口角（ $n = 6$ ）、肩（ $n = 6$ ）、および前肢（ $n = 12$ ）の筋収縮が誘発された。しかし、これらの筋収縮と全ての誤反応の増加とは独立事象でないとは言えなかった。すなわち、筋収縮によって誤反応が増加したとは言えなかった。6野にBMIを注入した場合には、肩の筋肉に単収縮が起こったときにNO-GOエラーが多かった（NO-GOエラーが増えた19セッション中、単収縮を伴ったのが11回で、それに対してNO-GOエラーが増えなかった38セッション中、単収縮を伴ったのは5セッションだけ、 $p < 0.05$ ）。確かに8野や6野に注入したときも前肢の筋肉の単収縮は誘発されたのだが、その有無は誤反応の有意な増加の出現頻度に影響を及ぼさなかったもので（前肢の筋肉の単収縮があると誤反応が有意に増加することが多かったとはいえないので）、前肢の不随意運動は誤反応の主因ではなかったのであろう。4野にBMIを注入した場合、前肢の筋収縮が誘発されなかったときは、誤反応が有意に増加することはなかった。すなわち、誤反応の有意な増加（24セッション）は、前肢の筋肉の単収縮が起こったときにのみ起こったのである（ $p < 0.05$ ）。

これらのデータから、4野および6野にBMIを注入したときに誘発されるNO-GOエラーとPRエラーは、少なくとも部分的には前肢や肩の筋肉の単収縮によるものであり、8野にBMIを注入したときに誘発される誤反応は何か他のメカニズム、たとえば視覚刺激と反応の連合の障害によるものであることが示唆される。

右半球への注入

一頭のサルの右半球の17か所にBMIを注入した（9野に3か所、8野に4か所、6野に8か所、4野に2か所）。そのうち3点への注入で、PRエラーの有意な増加

があった（第7図。6野に1か所、4野に2か所）。また、3点への注入で、GOエラーの有意な増加があった（第9図。8野に1か所、6野に1か所、4野に1か所）。8野に注入すると眼球のサッケード性共役運動が誘発されたが、8野への注入によって誘発されたGOエラーはそのせいではないであろう。GOエラーが増加しなかった8野への注入（3か所）でも、眼球運動は同じように誘発されていたからである。PRエラーとGOエラーの両方を誘発した、6野と4b野への注入は、前肢の筋肉の単収縮を誘発していた。しかしこれらの誤反応は単収縮によるものではないであろう。なぜならば、単収縮は課題の遂行に用いられていない左手に誘発されたものだからである。オMISSIONエラー（GOエラー）もCOMMISSIONエラー（PRエラー）も、課題遂行に使用している前肢と同側の8野、6野および4野に、BMIを注入した時に誘発されたが、これらの誤反応は単収縮によるものではないであろう。

考察

BMIの局所注入による化学的刺激

これまで、脳のある領域の機能を調べるのに伝統的に用いられてきた手法としては、破壊、電気刺激、単一ニューロン活動記録などがある。破壊実験は、脳の特定の領域を外科的に剔除したり、線維連絡を断ったり、あるいは高周波で凝固させたり、薬物注入で細胞死を起こさせたりして、どのような障害が現れるかを観察し、失われた機能から、破壊した領域の機能を考察する手法である。電気刺激は主に運動系の解析に用いられた手法で、刺激部位のニューロン（群）を直接刺激することによって機能を推測しようとする手法である。単一ニューロン活動記録は、実際にその領域が働くような状況下で、個々のニューロンがどのように活動しているかを知る方法で、時間的、空間的な分解能が非常に高い。今回用いたBMIの局所注入による化学的刺激は、これらの手法の内、破壊および電気刺激と同様の効果が得られる手法である。

BMIの局所注入は、注入部位の活動を乱し、局所的な機能障害を起こすという点で、破壊実験と同様の効果が期待できる。脳の一部を外科的に除去する破壊実験では、通常手術後に回復の時間を置く必要があり、その間に破壊された部位の機能を脳の他の部分が代償してしまい、本来ならば見られるはずの機能障害が現れないことがある。ところが、薬物注入による化学刺激の場合、注入直後の障害を観察できるから、機能代償によって障害を検出できなくなる危険がない。しかも、注入した薬物の広がりには次の項（「局所注入したBMIの脳内での拡散」）で述べるように、さほど大きくなく、一般的に、外科的破壊よりも小さいと考えられる。従って、より狭い領域の受け持つ機能を推察することができ、機能のマッピングを行うような研究に適している。この利点は、興奮性アミノ酸関連物質（イボテン酸やカイニン酸）の微量注入を用いた、薬物破壊の手法（Newsome et al. 1985）と共通であるが、薬物破壊が不可逆的であるのに対し、BMIの効果は可逆的であるため、同一の動物で、繰り返し実験できる長所がある。ただし、一回一回の薬物の広がりを確認することが困難であることは、外科的破壊や薬物破壊に比べて不利であるといえる。

また、BMIの局所注入は、注入部位のGABA抑制を阻害し、多数のニューロンが同期したバースト状の活動を生じさせるので、その場所を電気刺激したのと類似の効果が得られる。4野に注入した場合、体部位局在的に、身体のいろいろな部位の筋肉の収縮が誘発されること、8野に注入した場合、眼球運動が誘発されることがその例として挙げられる。BMIの局所注入の場合、薬物の広がりを毎回正確に知ることは困難であるが、2mm離れた場所への注入の効果が、全く異なったものになる（たとえば前肢の運動の誘発の有無）ことがあるので、注入の効果の広がりには小さい（<2mm）と考えられる。BMIの局所注入は、マッピングの実験に十分使うことができると考えられる。ただ、薬物の広がりから考えても、皮質内微小電流刺激法（ICMS）に比べると、マッピングの精度は低いだろう。しかし、刺激強度が局所的にみるとICMSに比べて高いためか、ICMSでは

効果の見られない6野への化学刺激（BMI注入）で、筋肉の収縮が誘発された。このことは、6野の運動支配を直接的な方法で検出したといえる。古典的には、皮質表面の電気刺激で、6野でも運動が誘発されるとされていたが、それは広がった電流が4野を刺激した結果であるとの考え方が現在なされている。ICMSにしる、表面刺激にしる、電気刺激では、刺激強度を余り高くできないので、これまで6野の運動支配を直接検出できなかったと考えられる。BMIの局所注入のもう一つの利点は、電気刺激と異なり、逆行性の影響を考えなくてもよい点である。

このように、神経伝達物質の作動剤や阻害剤を脳内に局所的に注入し、その部位を化学的に刺激する方法は、注入部位の機能を研究するのに有効な手段であると言える。

局所注入したBMIの脳内での拡散

BMIによって誘発された運動の体部位や誤反応の性質は、注入部位によって異なった。これは、注入の効果が局所的であったことを示唆する。注入されたBMIの拡散の程度は明らかではないが、局所的な効果を研究するのに妨げになるほどは大きくなかったようだ。1 μ lのイボテン酸（15 μ g/ μ l）をサルの視覚野に注入すると、直径約3mmの点状の破壊巣ができた（Newsome et al. 1985）。トリチウムでラベルしたムシモール（2.7ng/0.5 μ l、18.5kBq）をサルの中心後回に注入すると、注入後40分で半径1.25mmに均一に広がった（Hirata et al. 1990）。また、ラットの線条体に注入された、トリチウムラベルされたピククリン（2 μ g/ μ l、1.5 μ l）は、注入後30分で半径約1.5mmの球形に拡散することが、最近示された（Yoshida et al. 1991）。もしBMIのサル前頭葉での拡散が上述のデータと同様ならば、今回の研究での注入後60分以内のBMIの広がり、半径1.5mm以内であろう。注入したBMIが、マイクロシリンジの針を伝わって皮質表面に上がり、そこで拡散したということは、理論上可能ではあるが、実際にあったとは考えられない。この広がりニューロン活動を局所的にのみ乱すのに十分なくらい小さく、従って各注入部位でのBMIの効果を分析することができると考えてよいだろう。もちろん、注入部位のバースト状のニューロン活動は出力線維の標的となる領域に伝わり、その領域の活動も無秩序な活性化によって乱されるであろう。従って、ある特定の領域へのBMIの注入による身体上、行動上の影響は、注入部位とその標的部位の活動が無秩序に活性化されることの総和によると考えられる。

8野の運動支配の変化

サルがGO/NO-GO課題を学習すると、訓練の結果として、反対側のBrodmannの8野内に報酬を得るための前肢の運動を導くニューロンが存在するようになることを、今回の結果は示している。しかし反復行動によって、運動ニューロンへの新しい経路ができたのか、隠されていた経路が現れてきたのかはまだわからない。サルの8野ではGO/NO-GO課題の訓練が十分でないときには課題

に関連したニューロン活動がほとんど記録できず、訓練が十分に行われた段階では課題関連ニューロン活動が記録できる (Kubota and Komatsu 1985)。また、視覚性到達運動をするサルの手好みは、運動野での部位再現の大きさと関係している、つまり好んで使われる手を支配する部分が拡大していることが、最近報告されている (Nudo et al. 1988)。サッケードで反応するGO/NO-GO課題を訓練されたサルでは、そこで訓練されたような特定の方向へのサッケード性眼球運動が背内側前頭皮質の電気刺激によって誘発される (Mann et al. 1988)。今回の結果とこれらの結果は、中枢での運動支配は運動学習によって変わりうるという仮説を支持する。しかし現在の所、8野、6野および4野での筋肉支配の変化の程度を指摘することはできない。

8野から運動ニューロンへの遠心路はまだ決定されていないが、おそらく8野のニューロン (顆粒下層の錐体細胞と考えられる) からの出力が6野 (運動前野か補足運動野) に伝えられ、次に4野 (第一次運動野) に伝えられるのであろう。いくつかの解剖学的研究がこの可能性を支持している (Arikuni et al. 1980, 1988; Barbas and Pandya 1987; Godschaik et al. 1984; Ghosh et al. 1987; Kunzle 1978; Matsumura and Kubota 1979; Muakkassa and Strick 1979)。

新たな神経支配の成立にGABAニューロンがどの様に関与しているかはまだ明らかではない。第一次視覚野ではビククリンは方位選択性ニューロンを非選択的にし (Sillito 1975; Tsumoto et al. 1979)、体性感覚野ではビククリンは受容野を拡大する (Hicks and Dykes 1983)。運動野の手領域ではビククリンは相反的に支配している手首の筋肉の同時収縮を誘発する (Matsumura et al. in press; Oishi et al. 1988a)。これらのデータから、GABAは抑制作用によって、大脳皮質の感覚野や運動野の固有の機能のメカニズムを作っていると考えられる。最近ビククリンをWalkerの46野 (遅延反応を正しく行うのに関与することが示唆されている) に注入すると、遅延反応のさまざまな側面が障害されることが報告された (Sawaguchi et al. 1988, 1989)。もし同様のメカニズムが8野でも働いているならば、GABAの働きによって、サルは異なった視覚刺激に対して正しくGOまたはNO-GO反応を選ぶことができるようになるのであろう。8野では学習によって刺激と反応の連合ができると同時に、GABAの抑制機構によって、選択的な運動による反応 (GOまたはNO-GO反応) が成立するのであろう。

肩の運動と眼球運動

行動上サッケード性眼球運動はしばしば同じ方向への首の回転を伴うことと、前頭眼野の電気刺激はしばしば眼球運動と同時に頭部の回転を引き起こすことが知られている (Bizzi 1968; Bizzi et al. 1971; Smith 1949; Wagman 1964)。今回の実験でみられた肩の挙上は眼球運動に関係した頭部の動きと関係があるだろう。訓練によって肩の運動を誘発する部位がシフトしたことは十分な説明ができないが、この変化は新しい運動を学習するときに不必要な運動が消去されることと関係があるかも知れない。

GO/NO-GO課題と前頭前野

破壊実験とニューロン活動の記録実験の両方から、前頭前野がGO/NO-GO課題の遂行に関与することが示されてきた。周弓状溝領域が剔除されたサルは、視覚性および聴覚性の対称強化性GO/NO-GO課題の再学習が障害される（Petrides 1986）。この結果は、8野あるいは6野の吻側部（もしくは両方）がGO/NO-GO課題に関与することを示唆している。最近Petrides (1985, 1987) は、弓状溝の後壁（6野の吻側部）が剔除されたサルは、視覚性対称強化性GO/NO-GO課題の再学習が障害されるが、弓状溝の前壁（8野）が剔除されたサルではそのような障害がみられないと報告している。しかし私の結果は、8野に関しては、Petridesの結果と食い違う。サルの前頭前野（Brodmannの12野、9野、8野を含む）の単一ニューロン活動は、GO/NO-GO課題の弁別刺激や、反応、報酬に関係して変化する（Komatsu 1982; Kubota and Komatsu 1985; Watanabe 1986）。さらに、このようなニューロン活動はよく訓練された状態のサルからは記録できるが、余り訓練されていない状態のサルからはほとんど記録できない（Kubota and Komatsu 1985）。また、サルがGO/NO-GO課題を学習した後で8野にBMIを注入すると、課題遂行時に要求されるのとはよく似た前肢の運動が誘発される（第一部）。解剖学的研究から、8野は側頭連合野（Barbas and Mesulam 1981）や、頭頂連合野（Petrides and Pandya 1984）と線維連絡があることが示されている。この線維連絡は、視覚性課題を遂行するときには、8野がこれらの領域から視覚入力を受けることを示唆する。これらのデータと私の今回の結果を合わせると、前頭前野の8野は、対称強化性GO/NO-GO課題の学習と遂行に関与していることが示唆される。8野がGO/NO-GO課題に関与するという結論と、Petrides (1985, 1987)のデータとの食い違いは以下の3つのいずれかの理由のためであろう。①手法が違う（GABA拮抗阻害剤の注入と外科的破壊）、②測度が違う（学習後の成績と学習の困難さ）、③課題が違う（弁別刺激と操作体が分離しているか同一か）。

8野への注入が課題遂行に及ぼした影響

8野にBMIを注入すると、GOエラーとPRエラー（反応期以前のレバー放し）の頻度が増大した。生理的食塩水の注入ではこのような影響が出なかったのので、この変化はBMI自体の効果によるのであろう（Sawaguchi et al. 1989）。4野への注入の効果とは対照的に、BMI注入によって誘発された前肢や肩の運動は誤反応の増加につながらなかった。このような運動が誘発されなかったときにも、同様に誤反応は増えていた。この結果は、GOエラーやPRエラーの増加が、単収縮のような運動障害のみによるのではなく、視覚刺激と反応の連合のような高次機能の障害に原因があることを示唆する。8野にBMIを注入すると、多くの部位で右方（注入と反対側）へのサッケード状の眼球運動（約20度）が誘発された（第一部）が、これによってサルが視覚刺激を見ることができなくなることはなかったであろう。視覚刺激は十分大きかったからである（開始信号およ

び反応信号は視角にして4.5度、弁別刺激は視角にして4.0度）。その根拠としては、8野の単一ニューロンの視覚受容野は十分に大きい（30度×30度より大きく、通常視野の四分の一か半分、Mikami et al. 1982; Mohler et al. 1973）し、サル周辺の視野での視力も十分によい（Daniel and Whitteridge 1961; Millodot et al. 1975）ことが挙げられる。また、眼球運動のために、弁別刺激を中心窩の部分で受容できず、色の弁別ができなかったことが、誤反応の原因であるという可能性もあるが、実際にはありそうにない。たとえば、弁別刺激はコンピュータディスプレイ上の赤または緑の円であったので、色だけでなく、明るさも異なっていたので、サルは弁別刺激の明るさ、あるいは周囲の画面とのコントラストの差を手がかりにしていたかも知れない。しかし、刺激を中心窩で受容することの障害が誤反応増大の原因である可能性を全く排除できるような実験はしていない。ただ、統計学的解析からも、眼球運動が誘発されたときとされなかったときで、誤反応増加の頻度が異なるとはいえない。これも、眼球運動と誤反応増加が無関係であることを示唆している。

同じ弁別刺激が連続的に提示されて（弁別刺激が試行ごとに変化しない）、サルが何十試行も同じ反応（GO反応またはNO-GO反応）をすることが許される条件下では（GO&NO-GO課題）、BMIを8野に注入してもGOエラーの頻度は増大しなかった。通常用いたGO/NO-GO課題でも、このGO&NO-GO課題でも、同じ時空間パターンの前肢の動きからなる同じ反応が要求されるのだから、もし運動障害が誤反応が生じる主な原因であったならばGO&NO-GO課題でも誤反応は増加したはずである。それ故、運動障害は誤反応の第一義的な原因ではないのであろう。GO/NO-GO課題でのみ正反応率が低下したということは、8野にBMIを注入したときに誘発される誤反応の主な原因は、課題の連合過程、つまりある刺激に対して適当な反応を選択する過程のメカニズムの障害であろう。GO試行における反応時間の延長（GOエラーの増加と関係している）、NO-GO試行でレバーを放すまでの時間の延長、開始信号が提示されてからレバーを押すまでの時間の延長、PRエラーの増加も、特定の刺激とそれに対する反応の連合過程の障害と解釈できるであろう。GO試行では反応刺激提示後、限られた短い時間以内にレバーを放せば報酬が得られるので、早くレバーを放す方がよい。NO-GO試行では、反応刺激提示後2秒経つと報酬が与えられ、サルはレバーを放してよいことになる。NO-GO試行では報酬が与えられた後はできるだけ早くレバーを放した方が早く次の試行に移れるし、開始信号が提示されたらできるだけ早くレバーを押した方が早く報酬を得ることにつながる。これらの時間の延長は、報酬をできるだけ多く得るための刺激と反応の連合が障害されたためだろう。PRエラーは、反応してはいけないときに反応したものだから、これも刺激と反応の連合が障害されたために生じたと考えられる。

今回の実験では、BMIの8野への注入でGOエラーが増加したのに、NO-GOエラーはあまり増加しなかった。NO-GOエラーの頻度が有意に増大したのは、8野では3か所に過ぎない。しかし、PRエラーが増加したのだから、不適

切な刺激に対しては反応しないでおく（コミッションエラーを抑える）メカニズムが正常であったとは考えられない。ここで、課題遂行中のサルの覚醒レベルの一般的な低下がこの現象を説明できる、と推測することがあるかも知れない。なぜならばNO-GO試行では、サルはその後の視覚信号に関わらず、レバーを押し続けているだけでよいからである。しかし、もし覚醒レベルが一般的に低下しているとするならば、PRエラーの頻度は増大しなかったであろう。覚醒レベルが低下しているのに、サルの活動が活発になって余分な反応をしたとは考えにくいからである。ところが実際にはPRエラーが増加したのだから、覚醒レベル低下仮説は棄却してよいであろう。注意や覚醒に関しては、周弓状溝領域が剔除されたサルでも、非対称強化性GO/NO-GO課題は対照群と同じくらい早く再学習できることから、Petrides (1986)も関与の可能性を否定している。今回の実験で用いた時間制限（1.1秒、あるいは2秒以上）が、NO-GOエラーを検出するには短すぎたのかも知れない。

4 野への注入が課題遂行に及ぼした影響

4 野にBMIを注入すると、NO-GOエラーとPRエラーの頻度が増大した。BMIが4野の手/腕の領域に注入されると、前肢の拮抗筋（たとえば上腕二頭筋と上腕三頭筋）の自発的な同時収縮が起こり、サルは前肢を一方向に動かすことができなくなる（Matsumura et al. in press）。NO-GOエラーとPRエラーのほとんどは、試行中に起こったこの前肢の自発運動のためであった。NO-GOエラーが自発運動の結果であるという証拠は、反応信号提示後にレバーを放す時間の解析から得られる。サルが反応信号を見て、それに対する反応としてレバーを放したと考えるにはあまりに早く（反応刺激提示後0.2秒以内に）レバーを放してしまう試行があったということである。開始信号が提示されてからレバーを押すまでの時間が伸びたのは、自発的な前肢の運動（筋収縮）がやむ間を、サルが待っていたのかも知れない。筋収縮の合間にサルがレバーに手を伸ばしたという観察を、自発運動の頻度は1秒間に0.5-1回で、4野に注入した場合の、レバー押しまでの時間は0.5-1.5秒がほとんどであったという事実が裏付けている。

誘発運動と誤反応との関係の統計学的解析からは、前肢の筋肉の単収縮が誘発されるとNO-GOエラーとPRエラーが有意に高頻度で起こることがわかった。また、前肢の筋肉に単収縮が誘発されなかった場合には、誤反応が有意に増加することはない、どの例でも正反応率の低下はみられなかった。このデータは、4野にBMIを注入したときの誤反応の主な原因が前肢の拮抗筋の同時収縮の誘発であることを示唆する。

最近、単純反応時間課題を遂行中のサルの4野にBMIを注入すると、コミッションエラー、オミッショナルエラーが、ともに増加するという報告がなされた（Matsumura et al. in press）。この単純反応時間課題の研究では、GO信号提示後0.2秒未満に反応したものをコミッションエラーと数えていた。今回の研究では、4野に注入すると11か所でオミッショナルエラー（GOエラー）が増加し（その内10か所で前肢の筋肉の単収縮を伴った）、21か所でコミッションエラー（PRエ

ラーとNO-GOエラー)が増加していた。この結果は単純反応時間課題の結果と整合性がある。4野は、GO/NO-GO課題の遂行時も単純反応時間課題の遂行時も同じような役割を果たしているだろう。

6野への注入が課題遂行に及ぼした影響

6野にBMIを注入すると、GOエラー、NO-GOエラー、PRエラーがいずれも増加した。GOエラーは6野の吻側部に注入した場合に多く、NO-GOエラーは6野の尾側部に注入した場合に多かった。つまり、6野の吻側部に注入したときの効果は8野に注入したときの効果に近く、6野の尾側部に注入したときの効果は4野に注入したときの効果に近かった。6野と8野、あるいは6野と4野への注入の効果が似ていたのは、BMIの拡散によるものではないと考えられる。6野に注入したときと隣接する領野に注入したときの効果が似ているのは、6野が8野から入力を受け、それを4野に伝えているからであろう。この可能性は複数の解剖学的研究のデータに支持されている(Arikuni et al. 1980, 1988; Barbas et al. 1981, 1987; Godschalk et al. 1984; Ghosh et al. 1987; Kunzle 1978; Matsumura and Kubota 1979; Muakkassa and Strick 1979)。

誘発運動と誤反応の関係の統計学的解析から、肩の運動が誘発されると、NO-GOエラーが有意に高頻度で起こることが示された。これは、肩の運動がNO-GOエラーの主な原因であることを示唆する。GO試行における反応時間の延長(GOエラーの増加に関係している)、開始信号提示後にレバーを押す時間の延長は、8野に注入した場合と同じように、刺激と反応の連合過程の障害によるのだろう。

6野の吻側部(弓状溝後壁を含む)に注入したときの効果と、8野(弓状溝前壁を含む)に注入したときの効果は、PRエラーおよびGOエラーの増加、開始刺激提示からレバー押しまでの時間の延長、GO試行の反応時間の延長で表され、その差は非常に小さかった。6野の尾側部に注入したときの効果と、4野に注入したときの効果は、筋肉の単収縮によるPRエラーの増加およびNO-GOエラーの増加であり、これも差は小さかった。この傾向が統計学的に有意かどうか調べるために、GOエラーの方がNO-GOエラーよりも多かった部位と、逆にNO-GOエラーの方が多かった部位を、6野の吻側部と尾側部で比較した。GOエラーの方が多かった部位は、6野の吻側部で15か所、尾側部で3か所であった。NO-GOエラーの方が多かった部位は、6野の吻側部で3か所、尾側部で12か所であった。この分布の差は、統計的に有意であった($p < 0.01$ 、カイ二乗検定)。さまざまな領野へのBMI注入によるGO/NO-GO課題の遂行における障害から判断すると、この課題に関する各領野の役割を考えるとときには、8野、6野、4野を二つに再分類するのが妥当であろう。つまり、8野と6野の吻側部からなる「周弓状溝領域」と、4野と6野の尾側部からなる「中心前領域」に分けることが妥当であろう。しかし注意してほしいのは、この再分類が、GO/NO-GO課題の遂行において8野と6野の吻側部が「全く同じ」役割を果たしているということを意味するのでは「ない」ということである。解剖学的データから示さ

れているように、8野と6野の吻側部は、4野に対して同じように結合しているわけではない。8野は4野に直接の線維連絡を持っていないが、6野の吻側部からは4野に直接線維連絡がある。これは両者が、運動支配に関して異なった役割を果たしていることを示唆するが、今回の実験ではその差異は明らかにならなかった。「周弓状溝領域」へのBMIの注入は、コミッションエラー（PRエラー）とオミッションエラー（GOエラー）の両方を誘発した。この結果は、「周弓状溝領域」が視覚（感覚）刺激と反応（運動出力）との間の連合過程に重要な役割を果たしていることを示唆する。「中心前領域」へのBMIの注入は、主にコミッションエラー（PRエラーとNO-GOエラー）を誘発した。この結果は「中心前領域」が反応の実行に関与していることを示唆する。

GO/NO-GO課題遂行における6野及び4野の役割をさらに明らかにするためには、6野および4野にBMIを注入したときに、対照実験としてGO&NO-GO課題を行わせることも必要であろう。

同側の半球への注入が課題遂行に及ぼした影響

右半球（課題遂行に用いた手と同側）へは比較的少ない回数しか注入を行わなかったが、GOエラーとPRエラーの有意な増加がみられた（8野で1か所、6野で1か所、4野で2か所）。8野への注入ではサッケード状の共役眼球運動が誘発された。しかし、視覚刺激は十分に大きかったので、この眼球運動によって、サルが刺激を見ることができなくなることはなかったであろう（「8野への注入が課題遂行に及ぼした影響」の項参照）。6野および4野に注入したときは、左肩や左腕に筋収縮があっただけで、課題遂行に関係がある右肩や、右腕に筋肉の単収縮が起きることはなかった。従って、4野や6野への注入ではあっても、運動障害は誤反応の主な原因ではないと考えられる。課題遂行に用いた手と同側の前頭葉にBMIを注入した場合のGO/NO-GO課題遂行の障害のメカニズムを判定するためには、さらなる研究が必要であろう。

謝辞

本研究の計画および遂行に当たり、終始、甚大なる御指導、御援助を賜りました京都大学霊長類研究所の久保田競教授に深く謝意を表します。また、本研究の遂行に際し、多大な御指導、御援助を賜りました京都大学霊長類研究所の三上章允助教授に心から感謝致します。本研究に深い理解を示され、有益な御助言と激励を賜りました京都大学教養部の松村道一助教授に深謝致します。この論文の一部をなす "Disinhibition in the monkey prefrontal cortex, by injecting bicuculline, induces forelimb movements learned in a GO/NO-GO task" の草稿を批評してくださった V. B. Brooks 博士に感謝致します。

まとめと結論

1. GO/NO-GO課題学習前後のBrodmannの8野の性質の変化を調べるため、GABA (γ -aminobutyric acid)拮抗阻害剤のビククリンメチオジド (BMI、5-10 μ g)を、4頭のサルの8野 (Walkerの8A野と45野)に局所注入した。前肢によるレバー放しで反応する視覚弁別GO/NO-GO課題を十分に訓練された4頭に注入すると (37か所)、反対側の前肢の運動が誘発された (13か所)。また、その反応は課題遂行中のレバー放しに似ていた。しかしその内の二頭のサルに、訓練前に注入した場合は (15か所)、同様の注入によって前肢の運動が誘発されることはなかった。
この結果は、課題学習の過程で、8野の中に新しい前肢の運動支配ができ、それがビククリンによって脱抑制されたことを示している。さらに、GABAニューロンが、運動開始に関係した8野の出力ニューロンを緊張性に抑制していることを示唆する。
2. GO/NO-GO課題遂行における前頭葉の役割を調べるため、視覚弁別GO/NO-GO課題を訓練した4頭のアカゲザルの前頭葉にBMI (5-10 μ g)を局所注入した。注入した領野は、Brodmannの分類に従うと、9野 (25か所)、8野 (41か所)、6野 (総計65か所、但し吻側部45か所、尾側部20か所)、および4野 (38か所)であった。領野は細胞構築学的に決定した。
8野と6野吻側部の各部位にBMIを注入すると、注入前に比べ、正反応率が低下した。誤反応の三分の二以上がPRエラーとGOエラーであった。
4野と6野の尾側部の各部位にBMIを注入すると、正反応率が低下した。誤反応の三分の二以上がPRエラーとNO-GOエラーであった。この障害は課題遂行に用いる前肢の不随意運動の誘発に起因する。
3. これらの結果から、8野はGO/NO-GO課題の学習過程に関与していること、8野と6野吻側部とはGO/NO-GO課題遂行の反応選択過程に関与していること、および、4野と6野尾側部とは反応実行過程に関与していることが示唆される。

引用文献

- Arikuni, T., Sakai, M., Hamada, I., and Kubota, K.
Topographical projections from the prefrontal cortex to the post-arcuate area in the rhesus monkey, studied by retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. Neurosci. Lett. 19: 155-160, 1980.
- Arikuni, T., Watanabe, K., and Kubota, K. Connections of area 8 with area 6 in the brain of the macaque monkey. J. Comp. Neurol. 277: 21-40, 1988.
- Barbas, H. and Mesulam, M-M. Organization of afferent input to subdivisions of area 8 in the rhesus monkey. J. Comp. Neurol. 200: 407-431, 1981.
- Barbas, H. and Pandya, D. N. Architecture and frontal cortical connections of the premotor cortex (area 6) in the rhesus monkey. J. Comp. Neurol. 256: 211-228, 1987.
- Bizzi, E. Discharge of frontal eye field neurons during saccadic and following eye movements in unanesthetized monkeys. Exp. Brain Res. 6: 69-80, 1968.
- Bizzi, E., Kalil, R. E., and Tagliasco, V. Eye-head coordination in monkeys: evidence for centrally patterned organization. Science. 173: 452-454, 1971.
- Brodmann, K. Vergleichende Lokalisationslehre der Grosshirnrinde. Leipzig, Barth, 1909, 324 p
- Daniel, P. M. and Whitteridge, D. The representation of the visual field on the cerebral cortex in monkeys. J. Physiol. Lond. 159: 203-221, 1961.
- Fuster, J. M. Prefrontal cortex in motor control. In: Handbook of Physiology. The Nervous System Motor

Control. Vol. II, Part 2. Edited by Brooks, V. B.
Bethesda: American Physiological Society, 1981, pp.
1149-1178.

Godschalk, M., Lemon, R. N., Kuypers, H. G. J. M., and
Ronday, H. K. Cortical afferents and efferents of
monkey postarcuate area: an anatomical and
electrophysiological study. Exp. Brain Res. 56: 410-
424, 1984.

Ghosh, S., Brinkman, C., and Porter, R. A quantitative
study of the distribution of neurons projecting to the
precentral motor cortex in the monkey (M.
fascicularis). J. Comp. Neurol. 259: 424-444, 1987.

Hicks, T. P. and Dykes, R. W. Receptive field size for
certain neurons in primary somatosensory cortex is
determined by GABA-mediated intracortical inhibition.
Brain Res. 274: 160-164, 1983.

Hirata, Y., Tanaka, M., and Iwamura, Y. Distribution of ³H-
muscimol injected into macaque somatosensory cortex
(Abstract). Neurosci. Res. Suppl. 11: S134, 1990.

Iversen, S. D. and Mishkin, M. Perseverative interference in
monkeys following selective lesions of the inferior
prefrontal convexity Exp. Brain Res. 11: 376-386,
1970.

Komatsu, H. Prefrontal unit activity during a color
discrimination task with GO and NO-GO responses in the
monkey Brain Res. 244: 269-277, 1982.

Kubota, K. and Komatsu, H. Neuron activities of monkey
prefrontal cortex during the learning of visual
discrimination tasks with GO/NO-GO performances

Neurosci. Res. 3: 106-129, 1985.

Kunzle, H. An autoradiographic analysis of the efferent connections from premotor and adjacent prefrontal regions (areas 6 and 9) in Macaca fascicularis. Brain Behav. Evol. 15: 185-234, 1978.

Mann, S. E., Thau, R., and Schiller, P. H. Conditional task-related responses in monkey dorsomedial frontal cortex. Exp. Brain Res. 69: 460-468, 1988.

Matsumura, M. and Kubota, K. Cortical projection to hand-arm motor area from post-arcuate area in macaque monkeys: a histological study of retrograde transport of horseradish peroxidase. Neurosci. Lett. 11: 241-246, 1979.

Matsumura, M , Sawaguchi, T., Oishi, T., Ueki, K., and Kubota, K. Behavioral deficits induced by local injection of bicuculline and muscimol into the primate motor and premotor cortex. J. Neurophysiol. in press, 1991

Mikami, A , Ito, S. and Kubota, K. Visual response properties of dorsolateral prefrontal neurons during visual fixation task. J. Neurophysiol. 47: 593-605, 1982

Millodot, M., Johnson, C. A., Lamont, A. and Leibowitz, H W. Effect of dioptrics on peripheral visual acuity Vision Res. 15: 1357-1362, 1975.

Mohler, C. W., Goldberg, M E. and Wurtz, R. H. Visual receptive fields of frontal eye field neurons. Brain Res. 61: 385-389, 1973.

Muakkassa, K. F and Strick, P. L. Frontal lobe inputs to

primate motor cortex: evidence for four somatotopically organized 'premotor' areas. Brain Res. 177: 176-182, 1979.

Newsome, W. T., Wurtz, R. H., Dursteler, M. R. and Mikami, A. Punctate chemical lesions of striate cortex in the macaque monkey: effect on visually guided saccades. Exp. Brain Res. 58: 392-399, 1985.

Nudo, R. J., Jenkins, W. M., and Merzenich, M. M. Interhemispheric asymmetry in the area 4 representation of movements is correlated with hand preference. Soc. Neurosci. Abstr. 14: 508, 1988.

Oishi, T. and Kubota, K. Forelimb movements were induced by bicuculline injection in the monkey prefrontal area 8 after a GO/NO-GO task was learned. Soc. Neurosci. Abstr. 15: 787, 1989a.

Oishi, T., Mikami, A., and Kubota, K. Mapping of muscle activation patterns of dorsolateral prefrontal and premotor cortex by local injection of bicuculline J. Physiol. Soc. Japan. 50: 470, 1988a.

Oishi, T., Mikami, A., and Kubota, K. Local microinjection of bicuculline in the arcuate area which induced disruption of GO/NO-GO discrimination task in the monkey (Abstract). Neurosci. Res. Suppl 7: S94, 1988b.

Oishi, T., Mikami, A., and Kubota, K. Effect of local microinjection of bicuculline in monkey frontal cortex on performance of GO/NO-GO discrimination task (Abstract) Jpn. J. Physiol. 39 (Suppl): S139, 1989b.

Petrides, M. The effect of selective lesions to the

- periarculate cortex on the performance of two nonspatial conditional tasks (Abstract). Soc. Neurosci. Abstr. 11:460, 1985.
- Petrides, M. The effect of periarculate lesions in the monkey on the performance of symmetrically and asymmetrically reinforced visual and auditory GO, NO-GO tasks. J. Neurosci. 6: 2054-2063, 1986.
- Petrides, M. Conditional learning and the primate frontal cortex. In: The Frontal Lobes Revisited, edited by Perecman, E. New York: The IBRN Press, 1987, pp. 91-108.
- Petrides, M. and Pandya, D. N. Projections to the frontal cortex from the posterior parietal region in the rhesus monkey. J. Comp. Neurol. 228: 105-116, 1984.
- Sawaguchi, T , Matsumura, M., and Kubota, K. Delayed response deficit in monkeys by locally disturbed prefrontal neuronal activity by bicuculline. Behav. Brain Res. 31: 193-198, 1988.
- Sawaguchi, T , Matsumura, M , and Kubota, K Delayed response deficits produced by local injection of bicuculline into the dorsolateral prefrontal cortex in Japanese macaque monkey. Exp. Brain Res. 75: 457-469, 1989.
- Sillito, A. M. The contribution of inhibitory mechanisms to the receptive field properties of neurons in the striate cortex of the cat. J. Physiol. Lond. 250: 305-329, 1975.
- Smith, W. K. The frontal eye fields. In: The Precentral Motor Cortex, 2nd ed., edited by Bucy, P C. Urbana:

- The University of Illinois Press, 1949, pp. 307-342.
- Tsumoto, T., Eckart, W., and Creutzfeldt, O. D. Modification of orientation selectivity of cat visual cortex neurons by GABA-mediated inhibition. Exp. Brain Res. 34: 351-363, 1979.
- Vogt, C. and Vogt, O. Allgemeinere Ergebnisse unserer Hirnforschung. J. Psychol. Neurol. 25: 273-439, 1919.
- Wagman, I. H. Eye movements induced by electric stimulation of cerebrum in monkeys and their relationship to bodily movements. In: The Oculomotor System, edited by Bender, M. B. New York: Hoeber Medical Division, Harper and Row, 1964, pp. 18-39.
- Walker, A. E. A cytoarchitectural study of the prefrontal area of macaque monkey. J. Comp. Neurol. 73: 59-86, 1940.
- Watanabe, M. Prefrontal unit activity during delayed conditional Go/No-go discrimination in the monkey. II. Relation to Go and No-go responses. Brain Res. 382: 15-27, 1986.
- Yoshida, M., Nagatsuka, Y., Muramatsu, S. and Niiijima, K. Differential roles of the caudate nucleus and putamen in motor behavior of the cat as investigated by local injection of GABA antagonists. Neurosci. Res. 10: 34-51, 1991.

第 1 表 運動誘発に関係した前頭前野の注入部位の数の訓練前後の比較。

領野 (訓練)	注入部位		前肢		眼球		肩	
	前	後	前	後	前	後	前	後
8 野	15	37	0(15)	13(24)*	13(2)	24(13)	6(9)	6(31)
8A	14	27	0(14)	8(19)*	12(2)	19 (8)	6(8)	6(21)
45	1	10	0 (1)	5 (5)	1(0)	5 (5)	0(1)	0(10)
9 野	12	22	0(12)	0(22)	4(8)	4(18)	3(9)	0(22)
9	1	2	0 (1)	0 (2)	0(1)	0 (2)	0(1)	0 (2)
8B	3	4	0 (3)	0 (4)	2(1)	2 (2)	1(2)	0 (4)
46	8	16	0 (8)	0(16)	2(6)	2(14)	2(6)	0(16)

括弧の中の数は当該部位の運動が誘発されなかった部位の数。Brodmannの8野はWalkerの8A野と45野とを含み、Brodmannの9野はWalkerの9野、8B野および46野を含む。前肢の運動は訓練後に、Brodmannの8野に注入したときにのみ誘発されることに注意せよ。*：訓練前に比べ、訓練後に有意に誘発頻度が増加（ $p < 0.05$ 、Fisherの正確確率検定）。

第2表 BMI注入が有意な誤反応増加を引き起こした部位

領野	誤反応	(GO	NO-GO	PR	)	効果無し	合計
9野	5	(4	0	3	)	17	22
9	0	(0	0	0	)	2	2
46	3	(3	0	1	)	13	16
8B	2	(1	0	2	)	2	4
8野	19	(10	3	10	)	18	37
8A	16	(7	2	10	)	11	27
45	3	(3	1	0	)	7	10
6野	41	(23	19	30	)	16	57
6a β	11	(4	2	5	)	3	14
6a α	12	(4	6	11	)	5	17
6b α	10	(9	5	8	)	4	14
6b β	4	(3	4	3	)	4	8
SMA	4	(3	2	3	)	0	4
4野	24	(11	18	20	)	12	36
4c	9	(7	7	7	)	0	9
4b	14	(3	10	12	)	4	18
4a	1	(1	1	1	)	8	9
合計	89	(48	40	63	)	63	152

誤反応の頻度が有意に増大した注入部位の数を左列に示す。括弧内に示したのは、それぞれGOエラー、NO-GOエラー、PRエラーの頻度が有意に増大した注入部位の数。注入部位の総数は右列に示してある。全てのデータは左半球への注入で得られたものである。細胞構築学的な領野の分類はBrodmann (1909)、Vogt and Vogt (1919) およびWalker (1940) に従った。Brodmannの6野の内側壁はSM Aと表した。

図の説明

第1図 対称強化性視覚弁別GO/NO-GO課題のダイアグラム。ITIは試行間間隔を表す。詳細は本文参照。

第2図 訓練前および訓練後のサルの、前肢の運動を誘発したBMI注入部位の分布。BMI ($5\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 、 $1-2\mu\text{l}$) は、 $1\mu\text{l}/\text{m}$ の速さでBrodmannの8野とそれに隣接する領野に注入した。上段は訓練前、下段は訓練後の結果。黒丸は注入後60分以内に反対側(右)の前肢の運動を誘発した注入部位を表し、白丸は前肢の運動を誘発しなかった注入部位を表す。AとBにおいて、矢印で指した丸は、訓練前、訓練後の両方で注入した部位を表す(詳細は本文参照)。注入部位は、ニッスル法で染色した冠状断連続切片($100\mu\text{m}$ 厚)を顕微鏡で観察して判定した。領野は、BrodmannとWalkerに従って、細胞構築学的に決定した。注入部位は皮質表面に垂直に投射して表した。領野の境界は、破線で表している。

挿入図(右上方): サルの大脳皮質(左半球)を背外側からみた図。四角で囲んだ中にBrodmannの8野(と隣接領野)があり、拡大した図にWalkerの分類による領野名が示してある。asは弓状溝を示し、psは主溝を示している。

第3図 バースト状ニューロン活動とEMG(A)、EOG(B)との時間関係。左は遅い掃引、右は早い掃引。それぞれ上段にバースト状のニューロン活動を、下段に上腕二頭筋の筋電図(A)あるいはEOG(B)を示す。前肢の運動および右方への眼球運動が、注入部位のバースト状ニューロン活動に伴って現れることがわかる。

第4図 訓練前および訓練後のサルの、反対側へのサッケード性眼球運動を誘発した注入部位の分布。詳細な説明は、第2図参照。

第5図 訓練前および訓練後のサルの、反対側の肩の挙上を誘発した注入部位の分布。詳細な説明は、第2図参照。

第6図 課題の正反応率と、注入部位のバースト状ニューロン活動の典型例(注入部位は6野)。BMI注入直後から、注入部位では、バースト状の多ニューロン活動が記録できた(下)。バースト状の活動は、20分で頻度も強度も最高に達し、40分から減弱し始めた。140分までに、バースト状の活動はほとんど無くなった。上のグラフは、下に示したバースト状多ニューロン活動を記録したときの正反応率の時間経過を示す。正反応率は、注入前の対照試行ブロックでは99%であったが、第2試行ブロック(II、注入後18-36分)では16%と最低になった($p < 0.01$ 、カイ二乗検定)。バースト状活動が最大になったときに、正反応率が最も低下したことに注意せよ。第8試行ブロック(VIII、注入後132-155分)には、正反応率は93%まで回復した。

controlは対照試行ブロックを表し、I-VIIIは第1-第8試行ブロック（各100試行ずつ）を表す。

第7図 PRエラーを誘発した（サルが反応期以前にレバーを放してしまうエラーが増加した）BMI注入部位。データは4頭のアカゲザルの5半球から得た。黒丸は、注入後60分以内にPRエラーの有意な増加があった注入部位（その日の対照試行ブロックと比べて、Fisherの正確確率検定、あるいはカイ二乗検定で $p < 0.05$ ）を表す。小さな点は、BMIを注入してもPRエラーの有意な増加がみられなかった部位を表す。A-Dは、それぞれ#1から#4のサルの左半球を示しており、Eは#2のサルの右半球を示している。実線は脳溝を示し、破線はVogt and VogtおよびWalkerに従って分類した細胞構築学的領野（9野、46野、8B野、8A野、45野、6a β 野、6a α 野、6b α 野、6b β 野、4c野、4b野、4a野）の境界を示す。これらの領野名は、煩雑になるのを避けるため、図では省略している。Walkerの46野は主溝（ps）の周りの領域である。Brodmannの8野と6野の境界は弓状溝（as）で、8野と9野の境界は弓状溝から正中線に伸びている破線である。A-Eの一对の大きな矢印は、Brodmannの6野と4野の境界を示している。Brodmannの4野は、中心溝（cs）の前壁とその前方の皮質を占める。Brodmannの4野は、正中線に近い方から、Vogt and Vogtの4c野、4b野、4a野に分けられる。A-Eの一对の小さな垂直の矢印をつなぐと、6野の吻側部と尾側部の仮想的境界線になる。6野の内側壁は、補足運動野として、SMAと表した（Aの一番上、上下は逆転している）。prcは中心前溝を表し、cingは帯状溝を表す。挿入図（左下）：Brodmannの8野、6野、4野を示すために、サルの大脳皮質を背外側から見た図。

第8図 PRエラーにおけるレバー放しの時間（開始信号提示後、サルがレバーを押してから、無刺激期あるいは弁別刺激期にレバーを放してしまうまでの時間）の頻度分布。縦軸は試行数。データは、各領野にBMIを注入した3回のセッションの第3試行ブロック（第201試行から第300試行まで）、合計300試行から取った。第2試行ブロックを選んだのは、注入の効果が最大であったからである。一番上に示した無注入対照群では、やはり3セッション分300試行からデータを取ろうとしたが、PRエラーは一度もなかった。視覚弁別刺激（赤または緑の円、この図の中では破線で示されている）は、サルがレバーを押した後 0.9秒（固定）で現れ、0.5-3.0秒間（可変）点灯した。8野、6野、4野のいずれに注入した場合も、無刺激期（破線の左）や弁別刺激期（破線の右）にレバーを放す誤反応が現れた。

点刻のある柱は筋肉の単収縮を伴った試行を表し、黒い柱は筋肉の単収縮を伴わなかった試行を表す。

第9図 GOエラー、NO-GOエラーを誘発した注入部位。黒丸はGOエラーのみを誘発した注入部位（注入後60分以内の少なくとも一つ以上の試行ブロックで、対照試行ブロックに比べて有意にGOエラーが増加。 $p < 0.05$ 、Fisherの正

確率検定、あるいはカイ二乗検定。但し、サルがPRエラーを犯した試行は除いて考えた)を表す。白三角はNO-GOエラーのみを誘発した注入部位を表す(基準は同上)。黒三角はGOエラーとのGOエラーの両方を誘発した注入部位を表す(基準は同上)。小さな点はいずれの誤反応も誘発しなかった注入部位を表す。A-Eの一对の大きい矢印はBrodmannの6野と4野の細胞構築学的境界を表す。A-Eの一对の小さな垂直の矢印を結ぶと、6野の吻側部と尾側部の仮想的境界線になる。詳細な説明は、第7図参照。

GOエラーを表す黒丸と黒三角は吻側に多く、NO-GOエラーを表す白三角と黒三角は主に尾側にあることに注意せよ。

第10図 反応信号の提示(0.00s)でそろえた、GO試行の反応時間の頻度分布。縦軸は試行数。各ヒストグラムのデータは、2セッション分の第3試行ブロックから取ったものである。サルが反応信号提示から0.45秒以内にレバーを放した試行を正反応と数えた(破線の左側)。対照とした無注入セッションでは、サルはGOエラーを犯さなかった。BMIを8野に注入すると、0.45秒以内にレバーを放さなかったのが80試行中14試行であった(正反応率82%)。BMIを6野に注入すると、0.45秒以内にレバーを放さなかったのが93試行中47試行であった(正反応率49%)。それとは対照的に、BMIを4野に注入したときは、サルは53試行中2回しかGOエラーを犯さなかった(正反応率96%)。

点刻のある柱は筋肉の単収縮を伴った試行を表し、黒い柱は筋肉の単収縮を伴わなかった試行を表す。

第11図 反応信号の提示(0.00 s)でそろえた、NO-GO試行におけるレバー放し時間(NO-GO試行の反応信号が提示されてから、サルがレバーを放すまでの時間)の頻度分布。縦軸は試行数。各ヒストグラムのデータは、2セッション分の第3試行ブロックから取ったものである。反応信号が提示されてから2.0秒(破線)以上レバーを放さずにいた試行を正反応と数えた。対照とした無注入セッションでは、サルはNO-GOエラーを犯さなかった。BMIを8野に注入すると、対照に比べてレバー放し時間が延長し、NO-GOエラーはほとんど無かった(140試行中2回)。それに対して、BMIを6野や4野に注入するとNO-GOエラーが増加し(6野では50試行中39回、4野では54試行中32回)、レバー放し時間も対照よりも短かった。

点刻のある柱は筋肉の単収縮を伴った試行を表し、黒い柱は筋肉の単収縮を伴わなかった試行を表す。

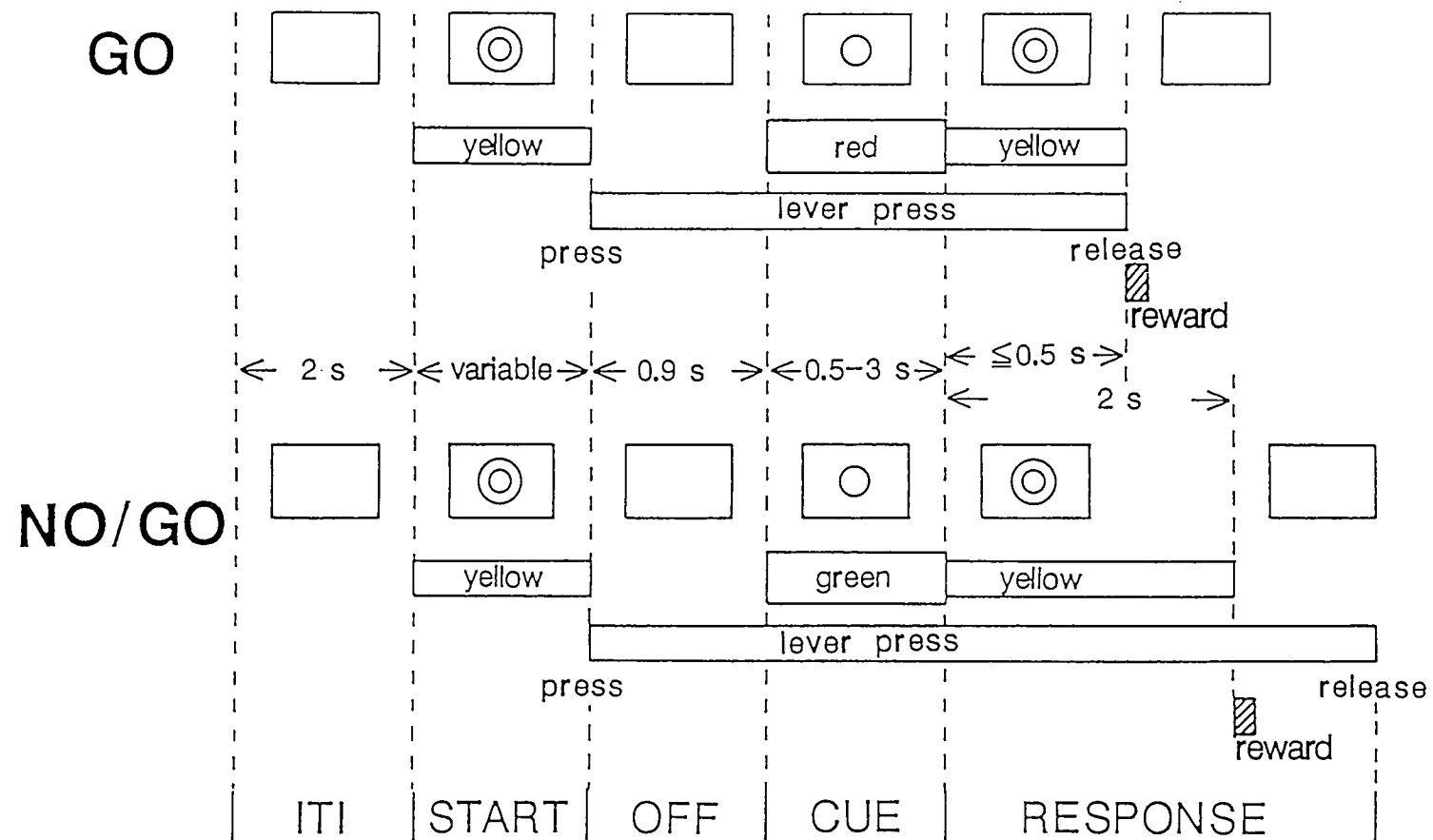
第12図 BMIを8野、6野、および4野に注入したときの、各試行ブロックごとのPRエラー、GOエラー、NO-GOエラーと正反応の割合の変化。BMIを8野に注入した場合は(A-D)、PRエラーが最も多く、次に多いのはGOエラーであった。BMIを4野に注入した場合は(I-K)、PRエラーが最も多く、次に多いのがNO-GOエラーであった。BMIを6野に注入した場合は(E-H)、

誤反応のパターンは、8野に注入したときと4野に注入したときの中間的なものであった。FとHでは、8野に注入したときと同様に、GOエラーの方がNO-GOエラーよりも多く、Eでは、4野に注入したときと同様に、NO-GOエラーの方がGOエラーよりも多かった。

cは対照試行ブロックを表し、I-VIは第1-第6試行ブロックを表す。

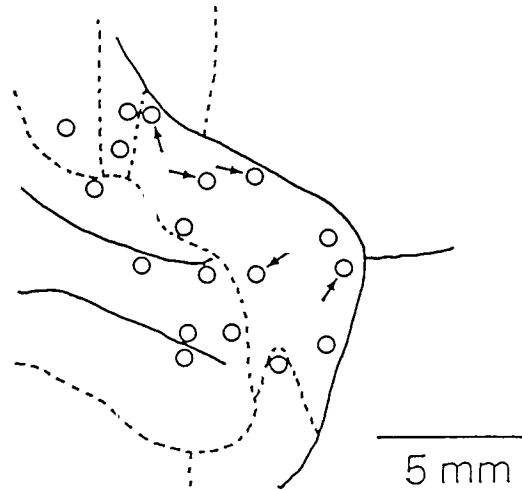
第13図 GO/NO-GO課題とGO&NO-GO課題の正反応率の比較。GO/NO-GO課題では、赤、あるいは緑の弁別刺激が試行ごとに無作意な順序で提示された。GO&NO-GO課題では、赤のみ、あるいは緑のみの弁別刺激が連続的に提示され、一回の試行ブロック中にただ一度交替するだけであった。GO&NO-GO課題（右。正反応率が最も低下したのは第3試行ブロックで97%、有意な低下ではない。 $p > 0.05$ 、カイ二乗検定）よりもGO/NO-GO課題（左。正反応率が最も低下したのは第6試行ブロックで87%、対照試行ブロックに比べ有意な低下。 $p < 0.05$ 、カイ二乗検定）で、誤反応が多かった。どちらも8野の同じ場所に同じ量のBMI（5 μ g）を注入した。

第14図 開始信号提示からサルがレバーを押すまでの時間の頻度分布。縦軸は試行数。データは2セッション分の第3試行ブロックから取った（各200試行）。対照の無注入セッションでは、サルは開始信号提示から比較的限られた、短い時間でレバーを押した。8野、6野、および4野に注入すると、レバーを押すまでの時間は伸びた。

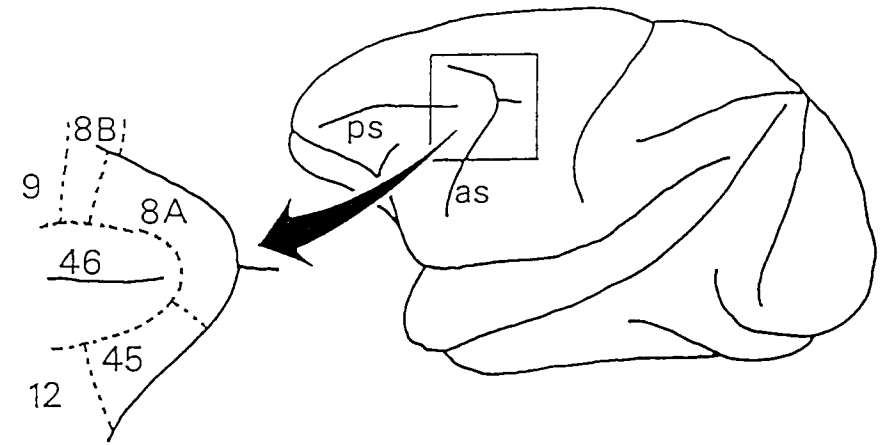
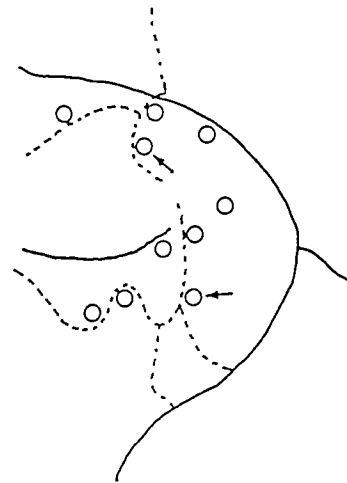


Forelimb

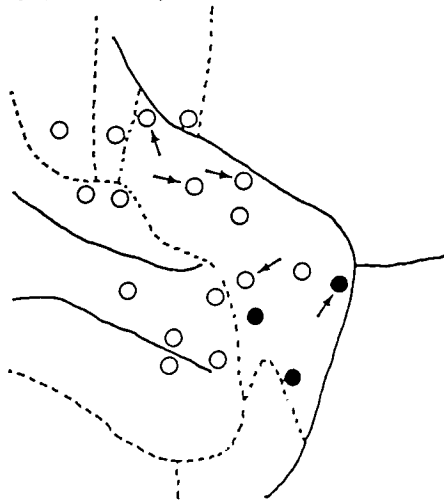
A (before)



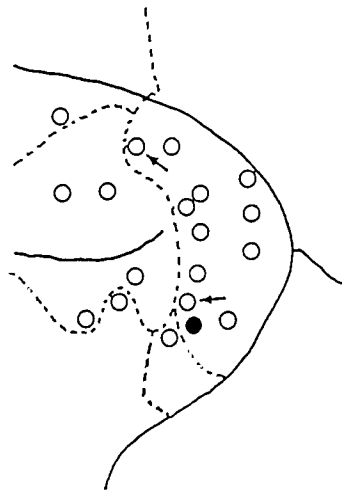
B (before)



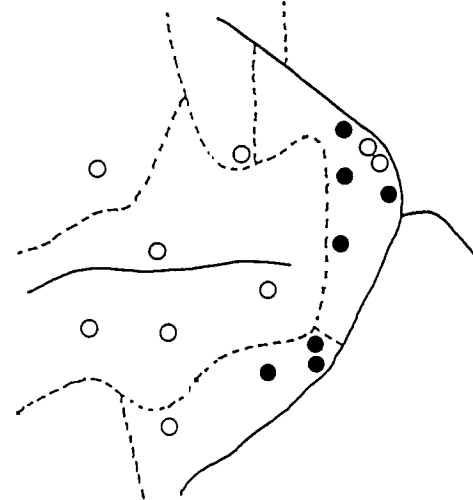
A (after)



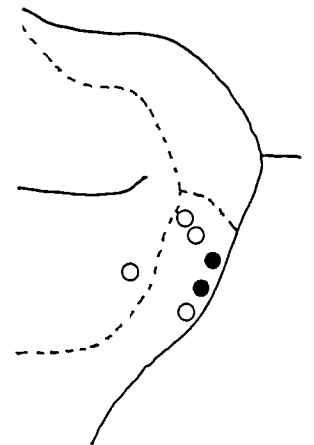
B (after)

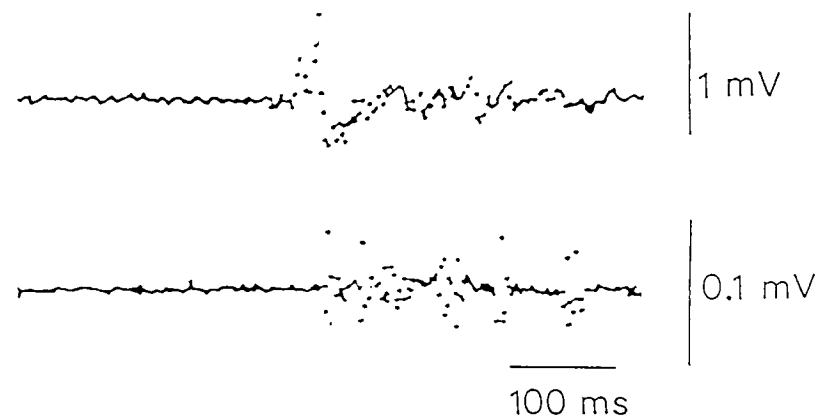
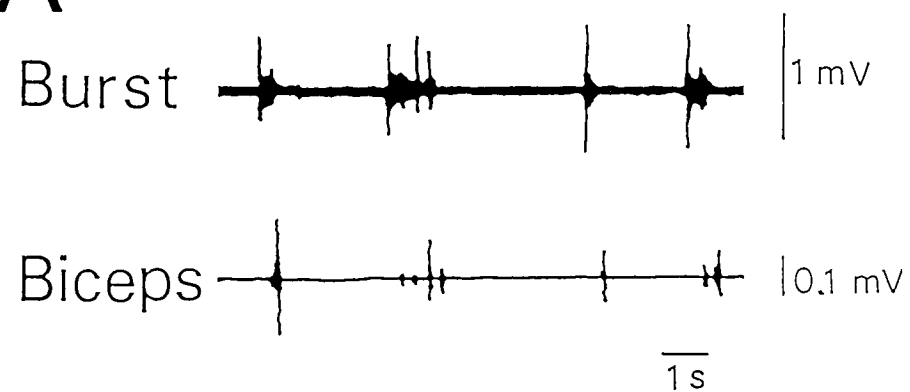
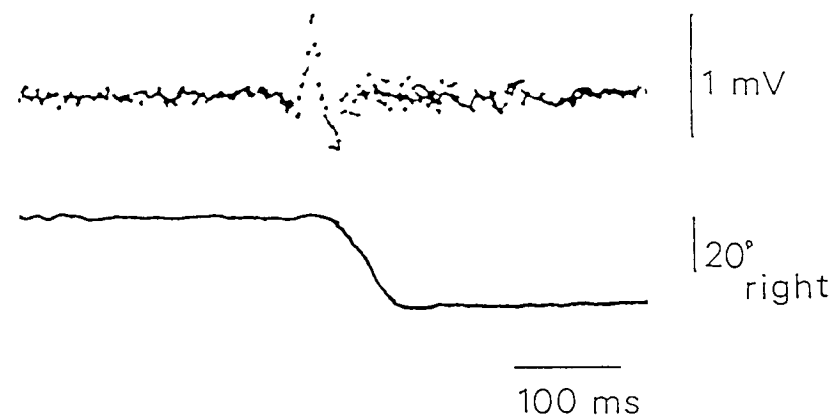
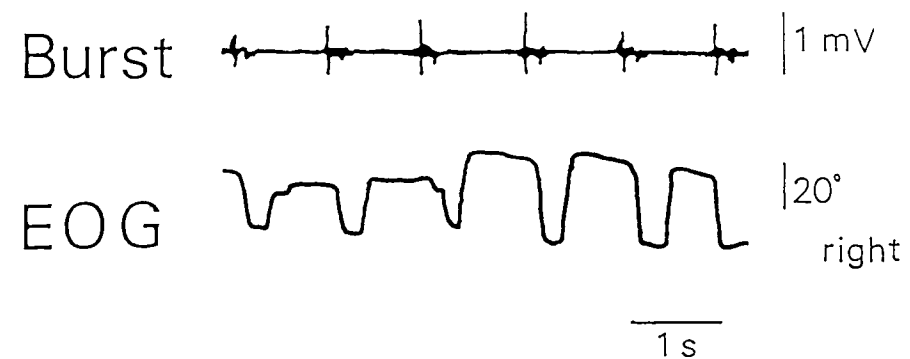


C (after)



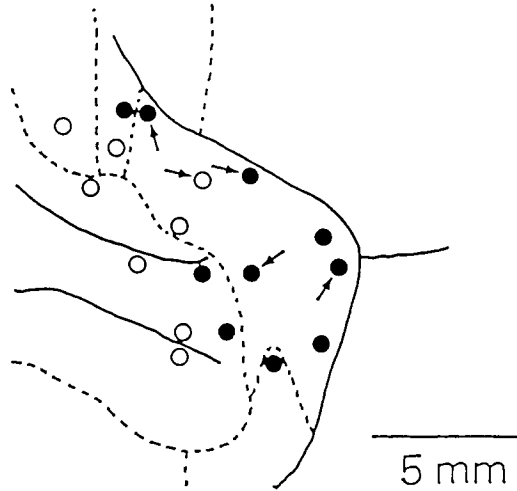
D (after)



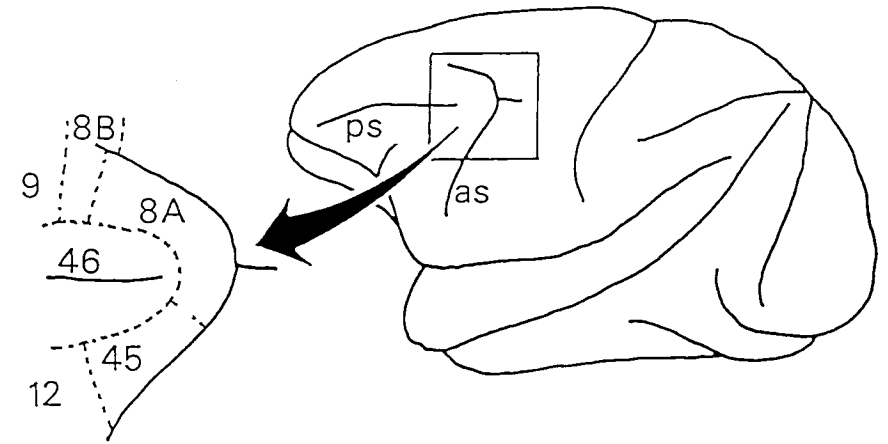
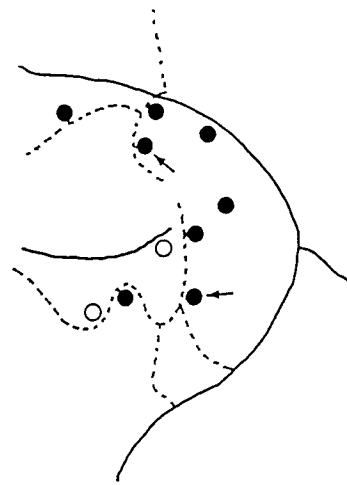
A**B**

Eye

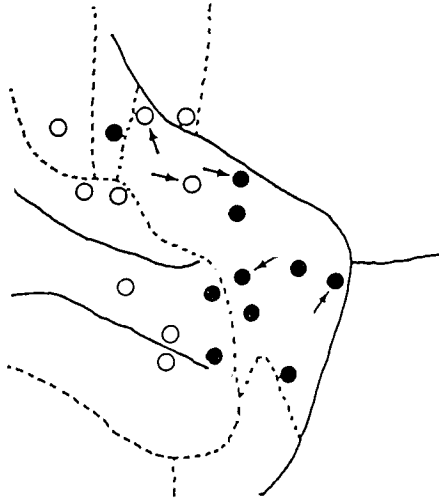
A (before)



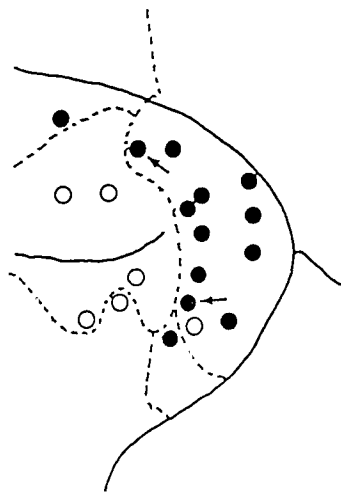
B (before)



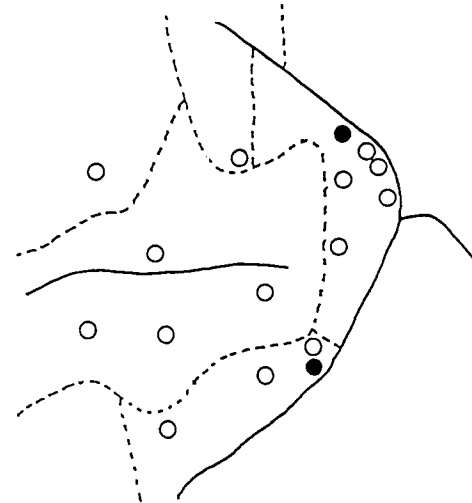
A (after)



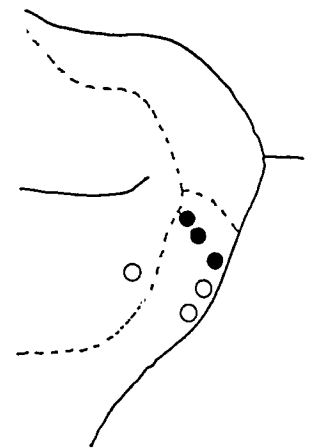
B (after)



C (after)

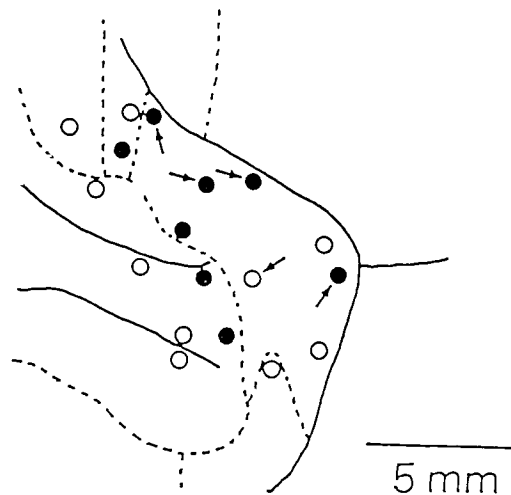


D (after)

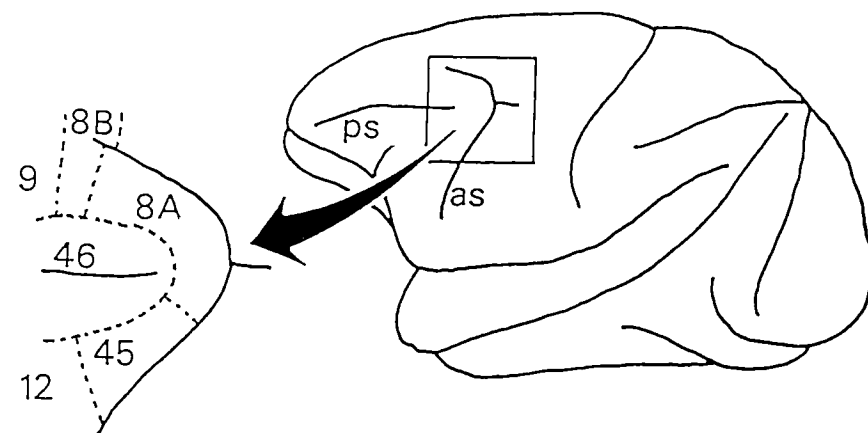
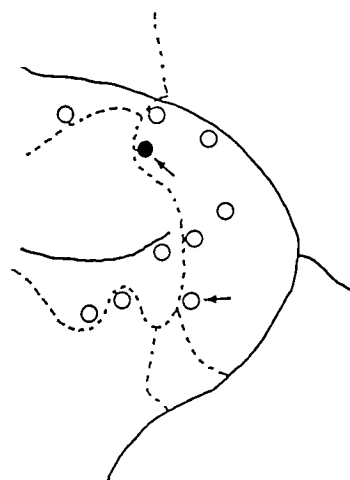


Shoulder

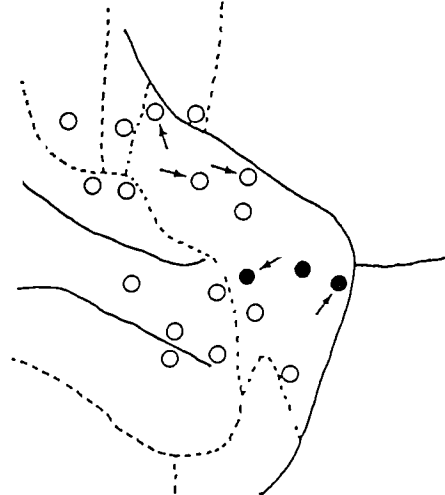
A (before)



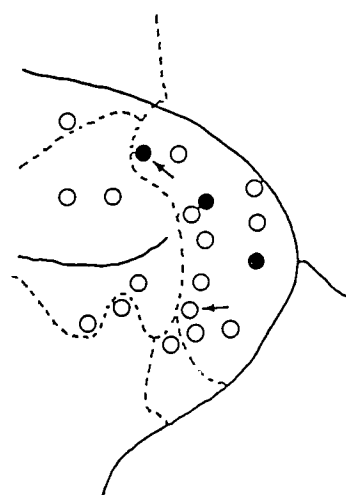
B (before)



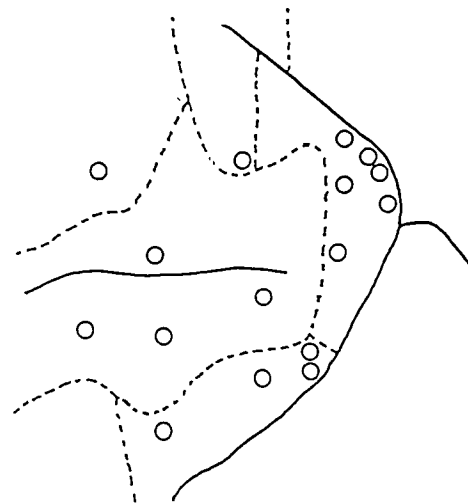
A (after)



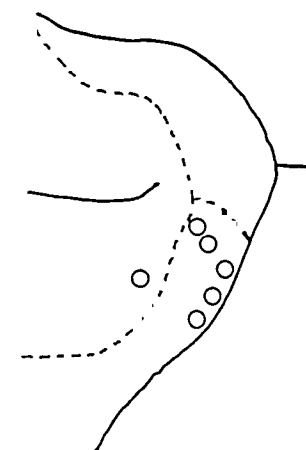
B (after)

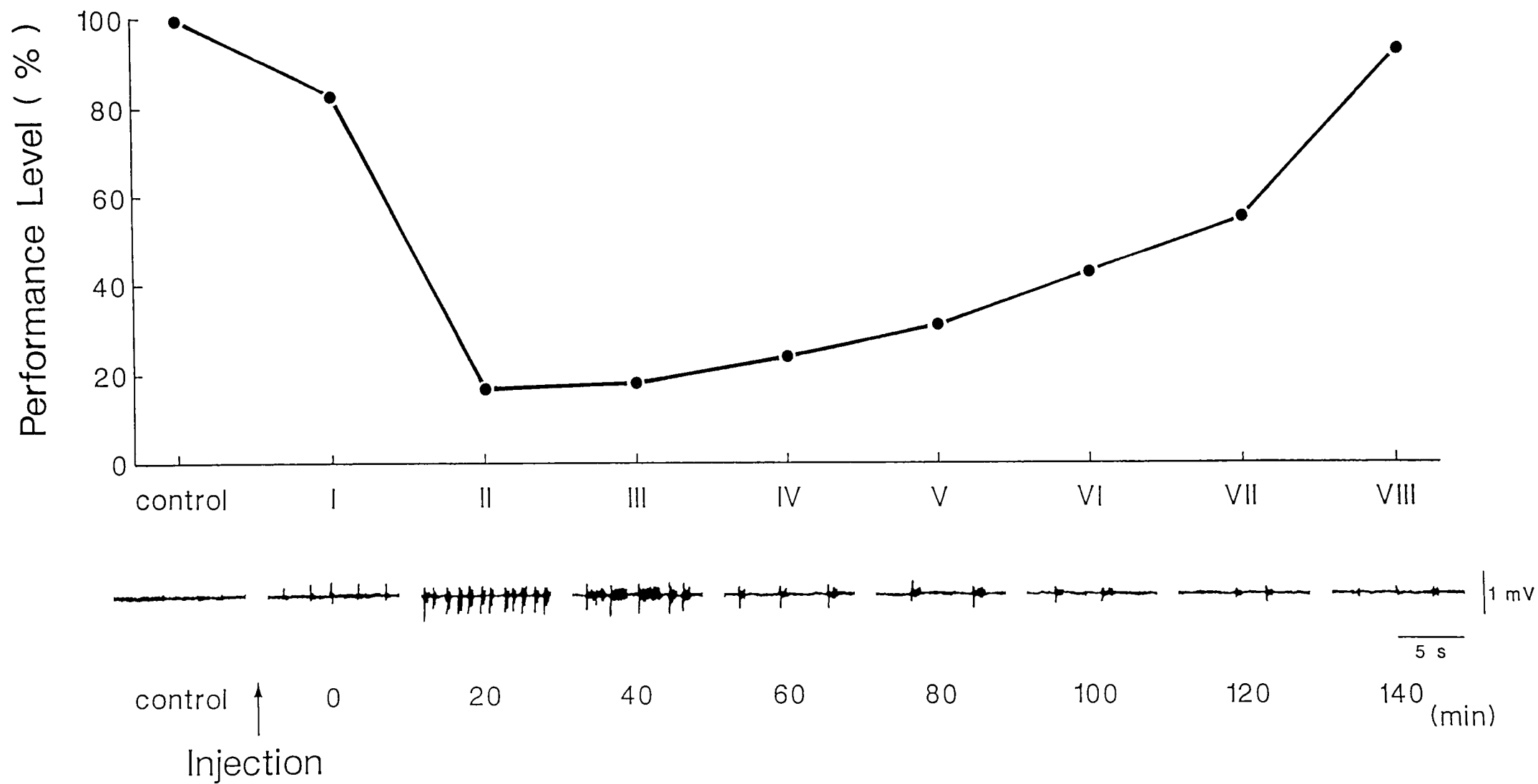


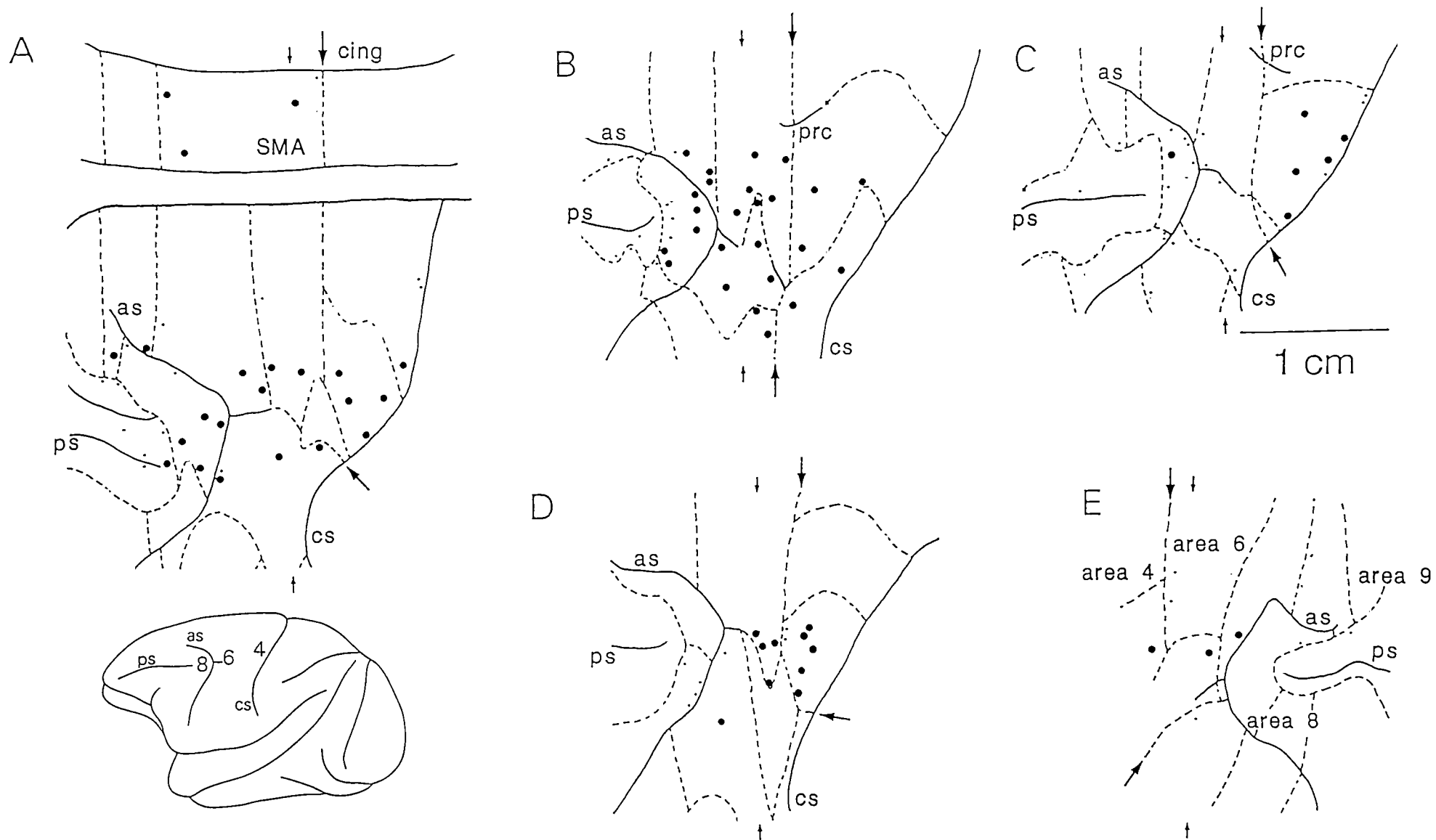
C (after)



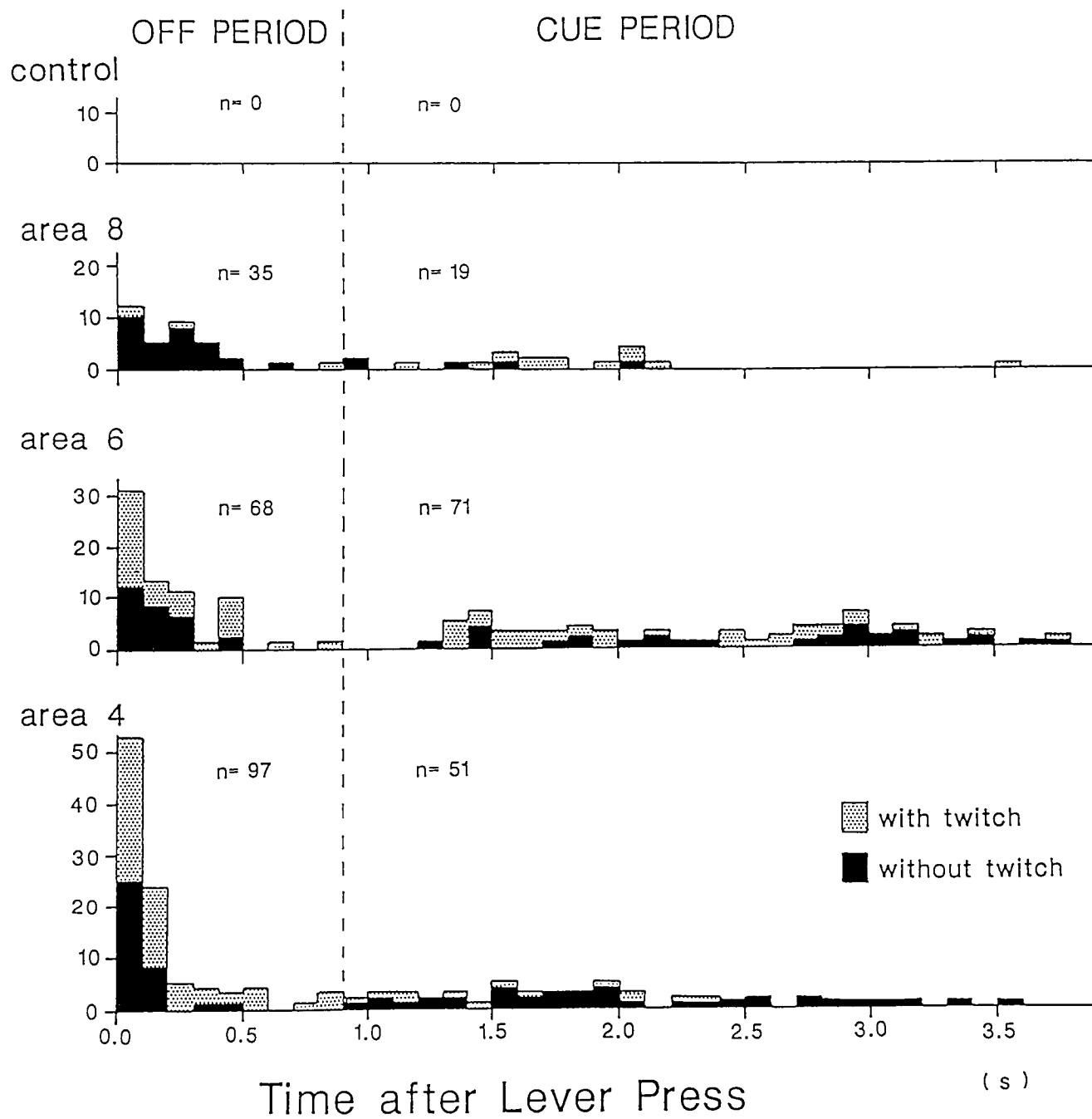
D (after)

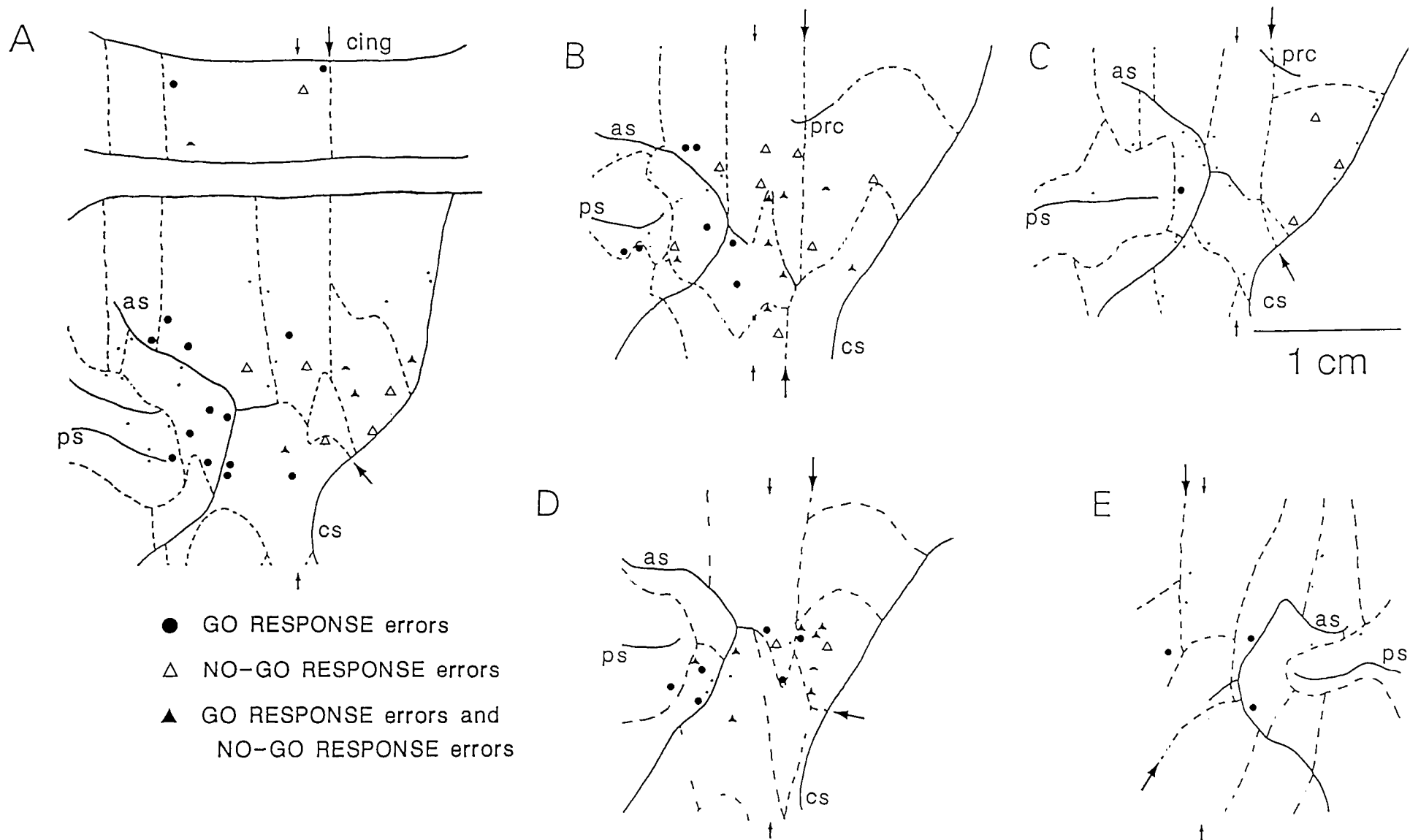




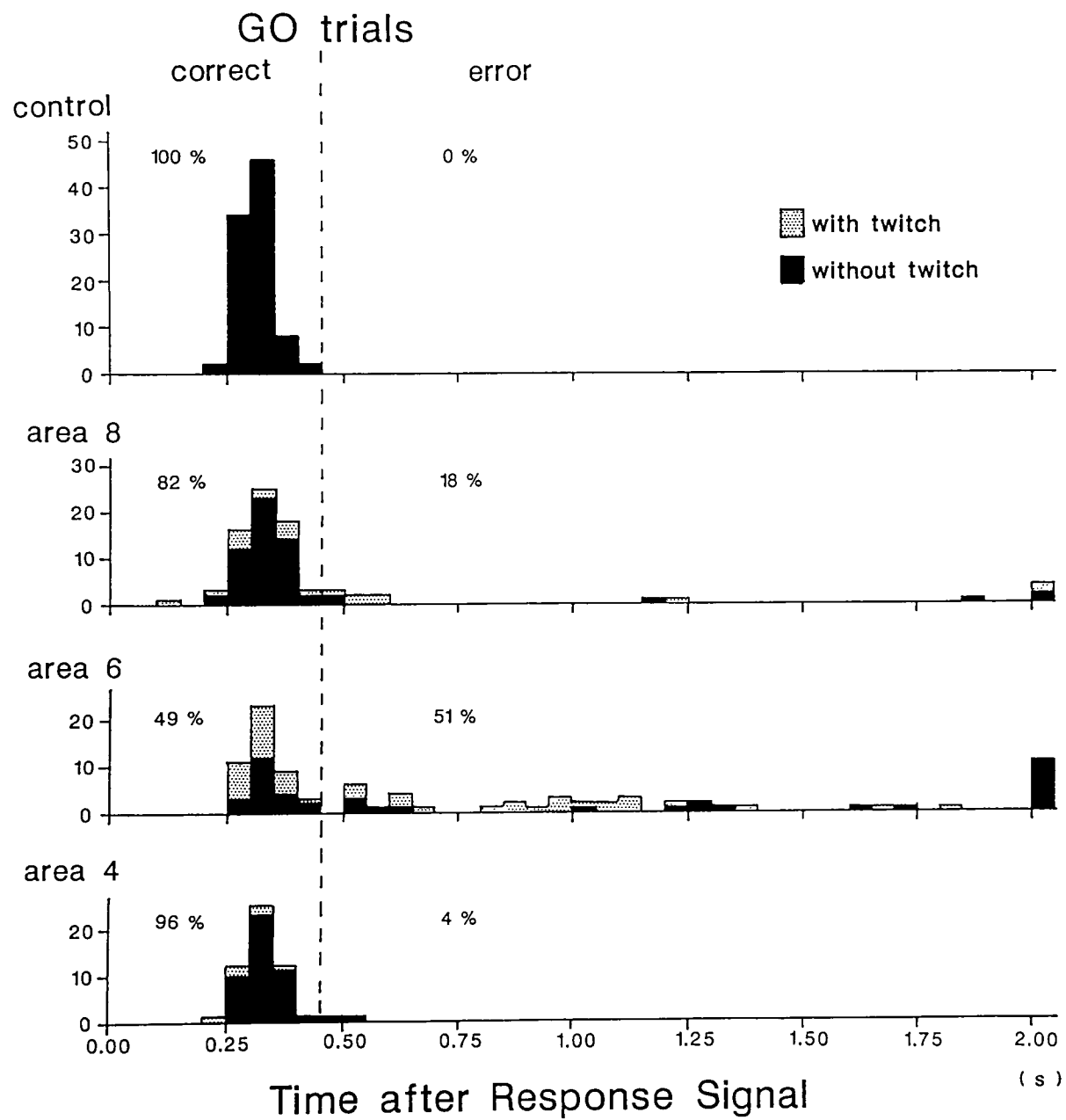


Trial Numbers

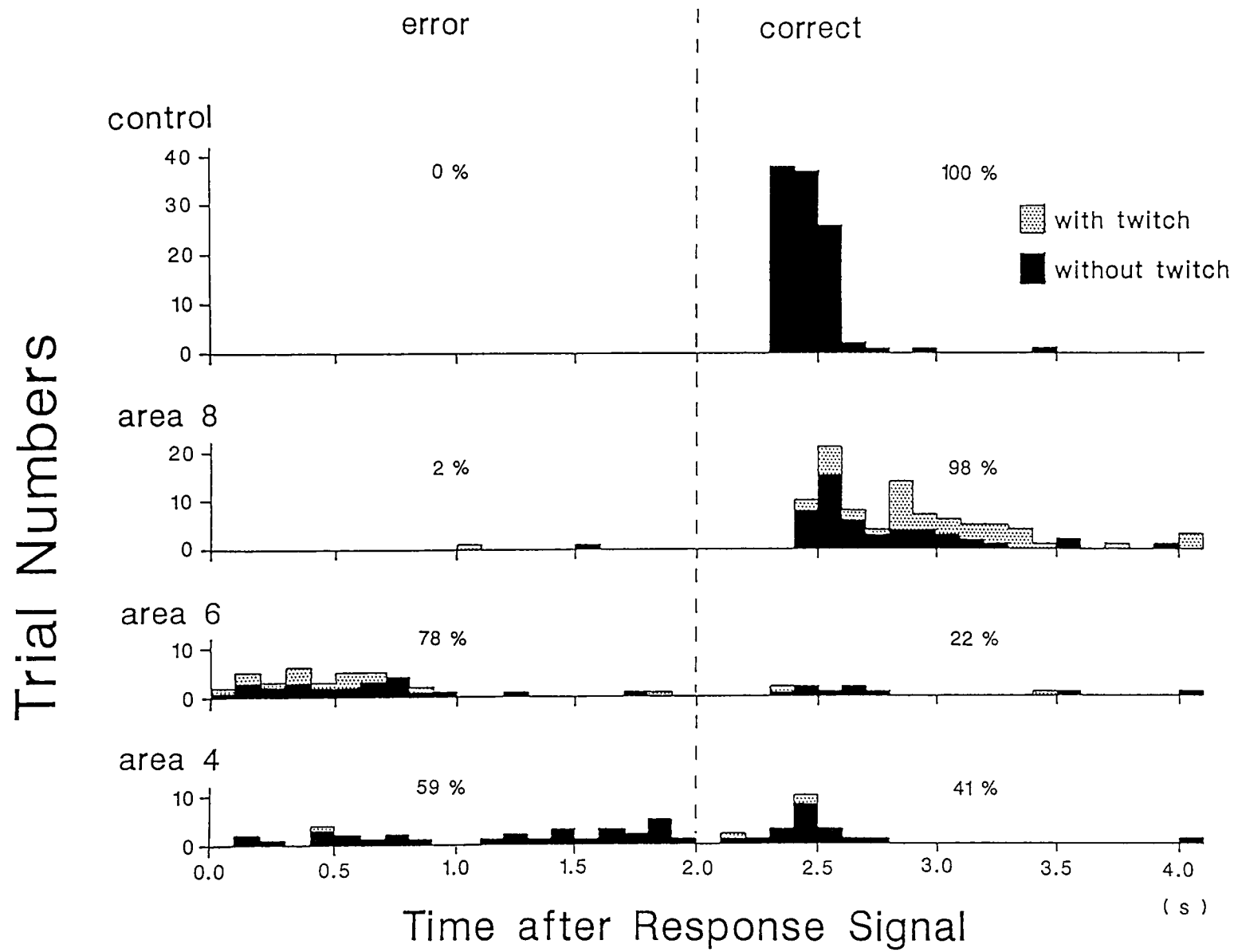


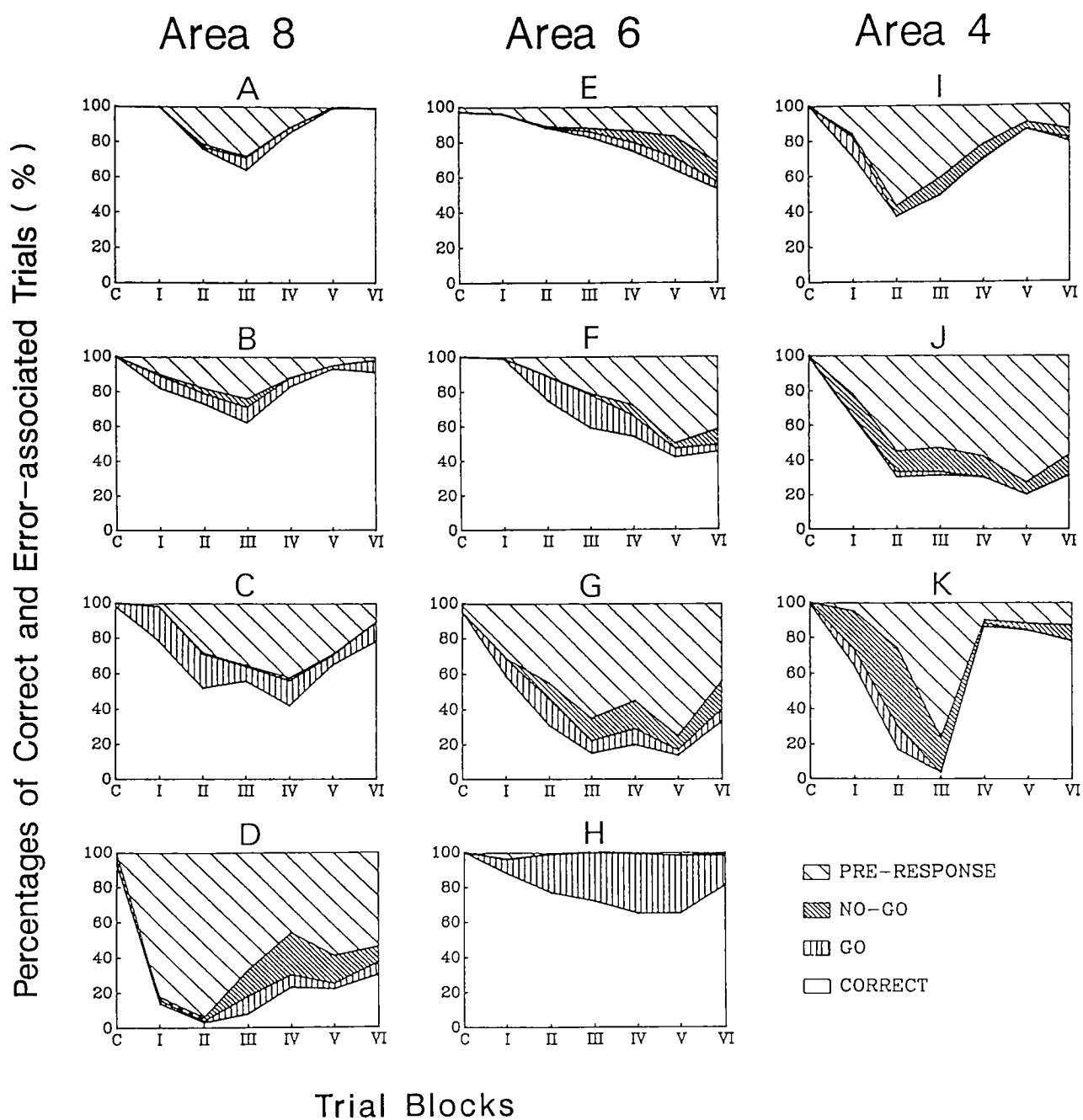


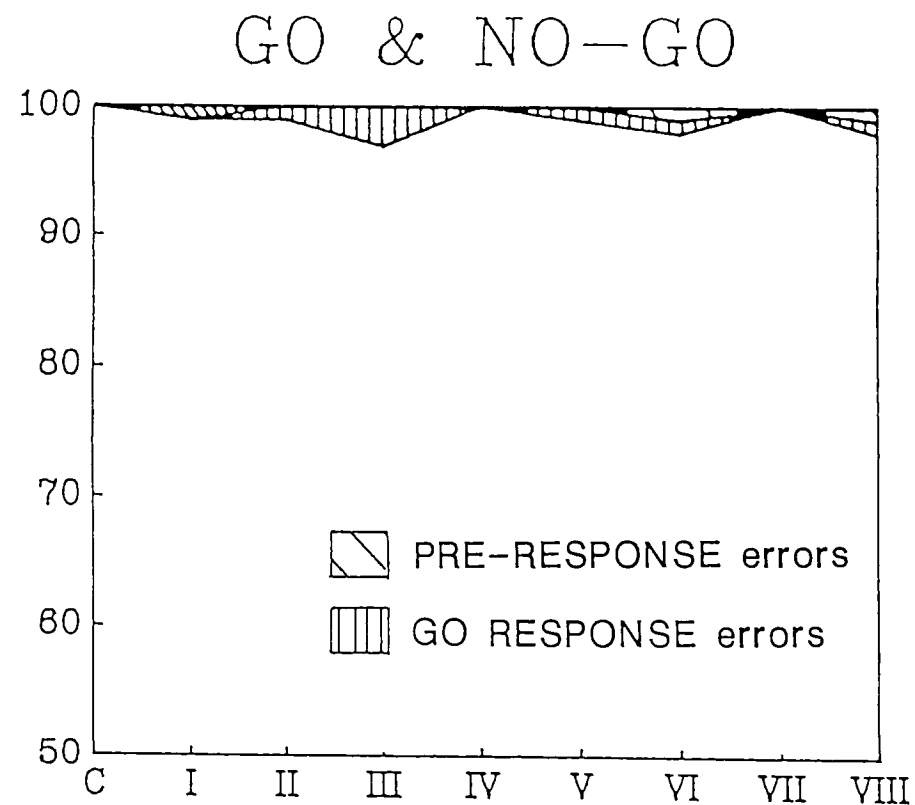
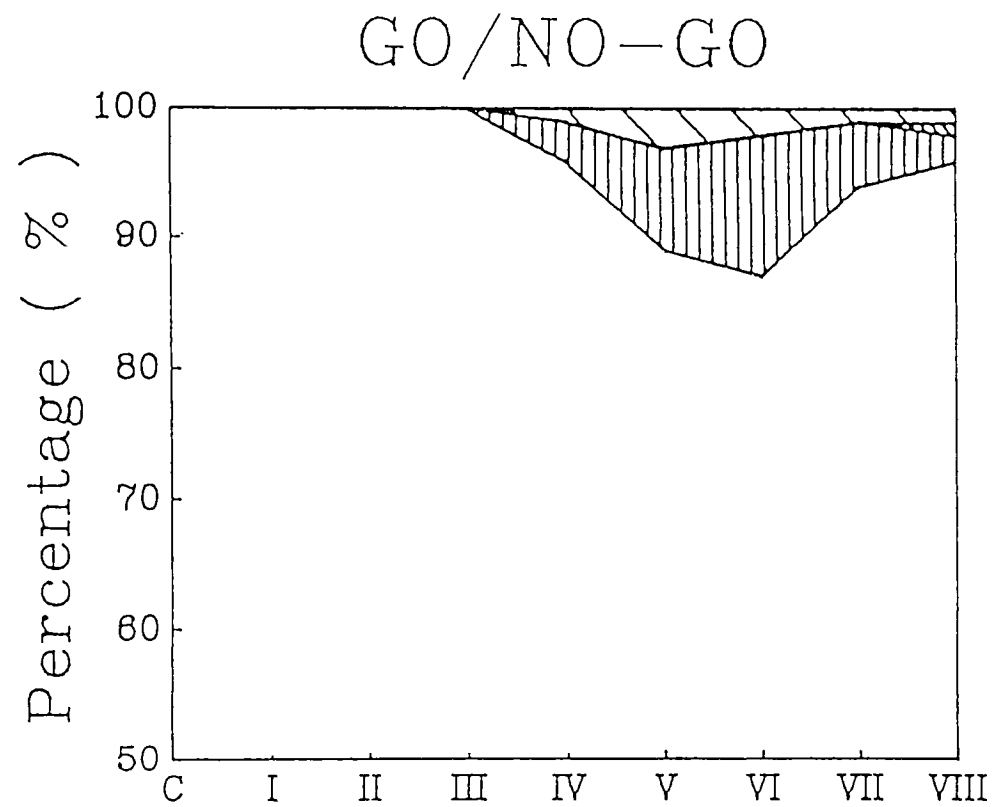
Trial Numbers



NO-GO trials







Trial Numbers

