

17. 渇きの中枢機序におけるナトリウムや浸透圧に感受性を有する 神経細胞の役割 (No.8917)

大坂 寿雅 (産業医科大学)

前脳の基底部にある視床下部の中には体液の浸透圧を感知する神経細胞が存在し、この細胞の働きを中心として塩や水分に関する調節反応の統合が行なわれるものと想定されている。視床下部の中の外側視束前野はこれまでの研究から飲水中枢の候補の一つとされている。最近、我々は多連微小ピペットからの圧吐出法を用いて麻酔下の動物の神経細胞の近傍に高張および低張の塩化ナトリウムやマニトールの溶液を投与することでこれらの溶液に対する細胞の感受性を調べる方法を開発した。そこで、この方法を飲水行動中の動物に適用して渇きの中枢機序におけるナトリウムや浸透圧に感受性を有する神経細胞の役割を明らかにすることを試みた。また、浸透圧に対する感受性を調べていない細胞についても飲水行動との相関について調べ、外側視束前野の神経細胞の総合的な飲水行動における役割を調べた。

実験には固定装置用アダプターを頭蓋骨に慢性的に装着したラットを用い、脳定位固定装置に固定後、半拘束にした状況で溶液(蒸留水、食塩水、砂糖水)を飲むように訓練した。単一神経細胞の活動電位を記録し、活動頻度と溶液の摂取行動との対応を解析した。合計 105 個の外側視束前野の神経細胞の活動を調べた結果、蒸留水摂取時に何らかの反応を示した細胞は 40% あり、砂糖水の摂取時には 23% の細胞が反応し、食塩水の摂取時には 24% の細胞が反応した。このうち、特定の溶液にのみ反応した細胞は、蒸留水に対しては 5例、砂糖水に対しては 1 例、食塩水に対しては 2 例見つかった。したがって、調べた外側視束前野の神経細胞のなかでは蒸留水を飲むときに特異的に反応する細胞が最も多かったものの、統計的な有意水準には達しなかった。一方多くの細胞は、異なった種類の溶液をに反応し、また溶液の提示に先行して音刺激を与えた時に同じように反応した。したがって、反応の一部は溶液に対する口腔内の機械的受容器を介するものや動物の覚醒状態による非特異的反応の可能性がある。細胞の浸透圧感受性については、記録した細胞のうち 29 個について調べることができた。このうち 3 個は高浸透圧の溶液によって興奮する高張型の細胞であり、2 個は低浸透圧の溶液によって興奮する低張型の細胞、残りの 24 個は浸透圧変化によって影響を受けない細胞であった。低張型の細胞の一つは水の摂取時に特異的に興奮する細胞であり、高張型の細胞の一つは食塩水摂取時に特異的に抑制される細胞であった。以上の結果は、外側視束前野の神経細胞は飲水の調節に関与しているという仮説を支持するものである。

16. 渇きの中枢機序におけるナトリウムや浸透圧に感受性を有する 神経細胞の役割 (No.8917)

大坂 寿雅 (産業医科大学)

1. 研究目的

生体における塩や水分の調節は脳が統御している。とりわけ前脳の基底部にある視床下部の中には体液の浸透圧を感知する神経細胞が存在し、この細胞の働きを中心として塩や水分に関する調節反応の統合が行なわれるものと想定されている。浸透圧感受性神経細胞は視床下部の前域に散在しているが、この中でも外側視束前野 (lateral pre-optic area; LPO) には浸透圧感受性細胞が比較的多く存在する。外側視束前野はこれまでの研究から飲水中枢の候補の一つとされている⁵。しかしながら、水や塩の摂取時に浸透圧や塩に感受性のある神経細胞の活動を記録した研究はこれまでになされておらず、渇きの中枢神経機構には不明な点が多い。その主な理由は生体内の神経細胞について塩や浸透圧に対する反応性を調べることができなかったという技術上の問題点があったためである。最近、我々は多連微小ピペットからの圧吐出法を用いて麻酔下の動物の神経細胞の浸透圧などに対する感受性を調べる方法を開発した³。そこで、次に、この方法を飲水行動中の動物に適用して渇きの中枢性機序においてナトリウムや浸透圧に感受性のある神経細胞の役割を明らかにすることを試みた。また、浸透圧感受性を同定していない外側視束前野の神経細胞についても飲水行動時の反応を調べ、この部位の神経細胞が総合的に飲水行動にどのように関わっているかを明らかにすることを試みた。

2. 研究方法

2. 1. 動物と手術

実験には 10 匹のウィスター系雄ラット (体重 280-370 g) を用いた。動物は個別に飼育し、神経活動記録の前日をのぞいて、餌と水は自由に摂取できるようにした。飼育室は 23-25 °C に保ち、24 時間の明暗周期で、7 時から 19 時までを明期にした。手術時はネブタール (50 mg/kg) 麻酔下に Paxinos & Watson⁴ の方法にしたがって脳定位

固定装置に頭部を固定し、頭皮切開して頭蓋骨を露出した。十字縫合を中心に直径約 4 mm の範囲の頭蓋骨をドリルで削り取り、硬膜を露出し、神経活動記録用の電極の刺入ができるよう開口部を設けた。覚醒時に頭部を固定するためのアダプターを頭部に装着しておくために、まずステンレススチール製の T 字型固定材 5 本を頭蓋骨に埋め込み、2 本の金属性チューブをアクリル樹脂でこの固定材に接着・包埋した。この 2 本の金属製チューブを慢性用頭部固定装置 (SR-8、成茂科学) に固定することで、動物の頭部を再現性良く定位置に固定することができた。なお、内径 0.2 mm のステンレススチール管を、前後軸が十字縫合の位置で、正中から右に 5 mm の位置に 1 本固定した。この管の中心を後で電極を刺入するときの座標の指標として用いた。手術終了後、頭蓋骨の開口部は抗生物質とステロイドの合剤の軟膏 (Rinderon VG^R、塩野義) を塗布し、歯科用シリコン樹脂で覆った。

2. 2. 動物の訓練

手術から約 1 週間たち手術侵襲の影響が収まった後に、半拘束の状況下で動物が溶液を摂取できるように訓練を開始した。動物はエーテル麻酔下に慢性用頭部固定装置に取り付け、体はアクリル性チューブで覆うことによって半拘束にした。麻酔から回復後、この状況下で小型の柄杓 (liquid dipper 容量 20 μ l) からラットの好物である 9% 砂糖水を飲むように訓練した。訓練の方法は Ono et al. の論文²を参考にした。Fig. 1C に動物および実験の装置を示す。溶液の提示前には、400 Hz の手がかり音刺激が 1.5 秒間鳴り、その後に小型柄杓が動物に接近して 0.5 秒間後に動物が飲む位置に到達するようにした。この合計 2 秒間を手がかり提示期 (cue period) とした。柄杓は動物が飲む位置に 3-4 秒間留まり砂糖水を飲むことができるようにし、その後は動物から遠ざかるように設定した。動物がこの状況下で砂糖水を飲むことを覚え始めると、柄杓を動物が飲むことのできる位置に留めておく溶液摂取期間 (drinking period) を 2 秒間まで短くした。これらの時間関係を Fig. 1B に模式図で示した。溶液の提示は繰り返し行ったが、提示間隔を動物が学習して予期的に反応することを防ぐ目的で、間隔は 10-20 秒の間で手動で変化させるか、ランダムパルス発生器 (EX-601J、日本光電) を用いて、10 秒を基数とするランダムな間隔 (平均 17 秒) で行った。多くの動物は訓練の最初の日の 1 時間以内に、この状況下で砂糖水を摂取する行動を学習した。

その後、上述と同じ状況下で食塩水 (0.93%) または蒸留水も与えた。これらの 3 種類の溶液のうち、同一の溶液を約 20 回連続して与えて 1 セットとした。3 種類の溶液を動物にランダムに提示したが、訓練の初期にはラットが最も好む砂糖水を頻繁に与えて、提示された溶液に対して摂取反応がより頻繁に起こるように強化した。なお、用いた 9% 砂糖水と 0.93% 食塩水はラットの体液の浸透圧と等張のものである。

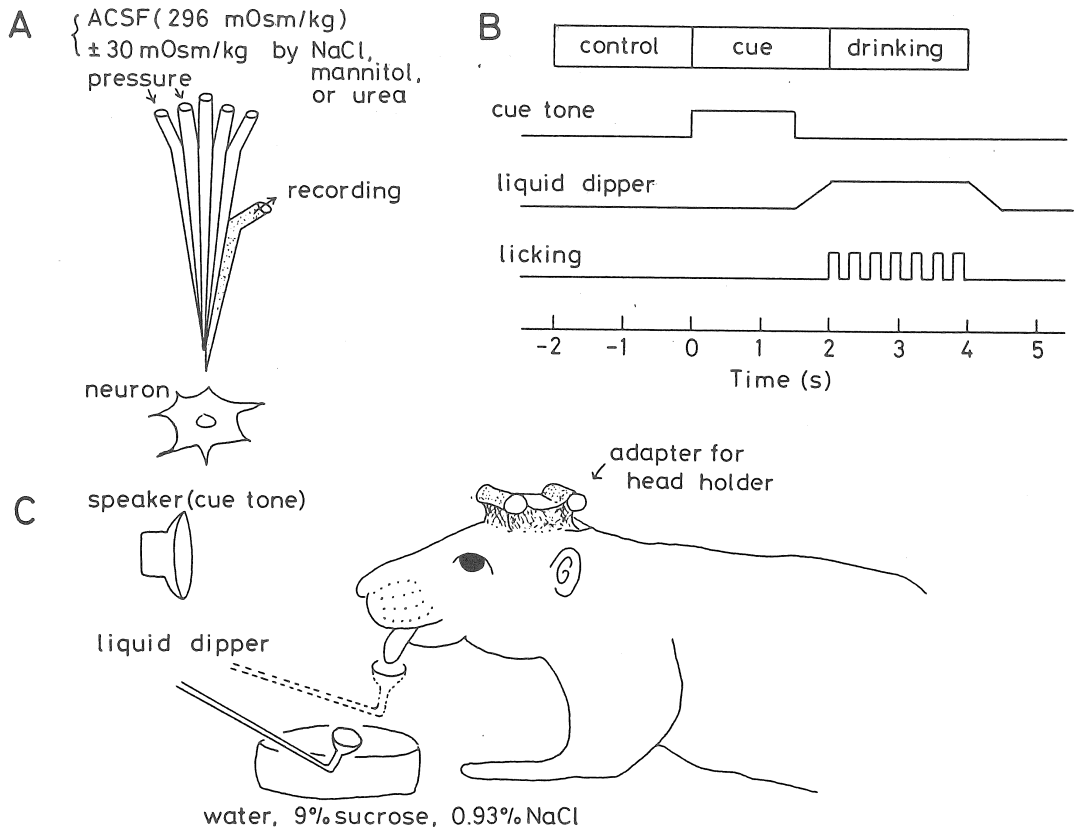


Fig. 1. Diagram of experiment. (A) A multibarrel micropipette and a recording electrode. Physiologically hypertonic and hypotonic solutions were applied by pressure through the multibarrel pipette to immediate vicinity of recorded neurons. (B) Time sequence of experiment. (C) Rats were prepared for chronic recording by using an adapter for a head holder. The rat was trained to lick when the liquid dipper was automatically placed close to its mouth.

2.3. 記録

ラットは溶液を舌でなめて摂取する (licking behavior)。そこで動物の舌の動き (licking act) を観察するために、舌が柄杓に触れる度におきる静電容量の変化を検出しパルス信号が発生する licking monitor¹ を用いた。ラットが溶液を摂取するときは舌を 5-6 Hz の一定のリズムでなめ、柄杓の中の 20 μ l の溶液を 5-6 回なめて飲み込んだ。

半拘束下で溶液を摂取する行動が学習された後に、動物を1晩絶水し、その翌日の溶液の摂取時に神経活動の記録を行った。記録直前に頭蓋骨の開口部を覆っていたシリコン樹脂を取り除き、エーテル麻酔下で硬膜の一部を切開した。この切開部からガラス管微小電極を刺入し、神経細胞の活動電位を細胞外記録した。記録電極には等張の人工脳脊髄液に2% Pontamine sky blue 色素を加えた溶液を充填し、同じ液を充填した多連微小ピペットの中心管との間の電位差を差動増幅した。不関電極には頭部固定用のT字型スチール錨のうちの1本を用いた。記録している神経細胞の浸透圧感受性を調べるために、記録電極に接着した多連ガラス管ピペットから高張および低張の人工脳脊髄液を細胞の近傍に圧吐出法で投与した。多連ガラス管ピペットは、7本のガラス管を融合させて作った先端外径2.5-5.0 μm のもので、その先端位置は記録用ガラス電極の先端から30 μm 後退したものを作成した。記録電極および多連微小ピペットを Fig. 1A に模式的に示す。

投与した溶液は以下の6種類を用いた。それは等張(296 mOsm/kg)の人工脳脊髄液、等張液のナトリウム濃度を30 mOsm/kg 減らした低張液、等張液にナトリウムカマニトールか尿素を30 mOsm/kg 加えた高張液、等張液にグルタミン酸ナトリウムを1 mmol/kg 加えた溶液であった。グルタミン酸は神経細胞を非特異的に興奮させることが知られており、溶液の吐出が正常に行われ、記録している細胞に溶液が投与されたことを確認するために用いた。グルタミン酸溶液に反応しない細胞については浸透圧反応性に関する解析には含めなかった。尿素溶液は細胞膜を自由に通過するために細胞にとって有効浸透圧物質にならない物質であり、対照液として用いた。尿素溶液や等張の人工脳脊髄液に反応した場合も解析に含めなかった。なお等張の人工脳脊髄液の組成は次のとおりであった。NaCl; 144, KCl; 1.6, CaCl₂; 1.26, MgSO₄; 1.16, NaHCO₃; 8.4, KH₂PO₄; 1.25, glucose 3.3 (単位 mmol/kg, pH 7.4)。

溶液は圧縮窒素ガスの圧力を用いて投与した。圧力範囲は100から820 kPa (15-120 psi)であった。圧力は3方向電磁弁で制御し、ピペットから溶液を圧吐出しないときにはピペット内は大気に連絡させ、圧力がピペット内に残らないようにして、圧吐出が速やかに終了するようにした。圧吐出法の詳細は、文献³と同じものである。

2.4. データ解析

神経細胞の活動は単位時間(1秒または0.5秒)ごとに発生した活動電位の数をパルス計数器によって測定し、ペンレコーダの縦向きの振れとして記録(ratemeter record)し、上述の溶液の局所圧投与に対する反応性を調べた。高張液の投与に対して活動電位の発生頻度が増加するか、低張液の投与によって活動電位の発生頻度が低下する神経細胞を高張型の細胞と名付け、逆に高張液で活動電位頻度が減少するか、低張液で増加す

る細胞を低張型の細胞と名付けた。

神経細胞の活動と溶液摂取の licking act はミニコンピュータ (ATAC-450 日本光電) を用い peri-event time histogram によって解析した。これは、単位時間 (70-100 ms) あたりの活動電位の数と licking の発生数とをそれぞれ何回かの試行について加算平均する方法で、手がかりを提示した時点をトリガ点とした。これによって、神経活動の揺らぎや行動に関連しない活動の影響を抑え、神経活動と溶液摂取行動との相関を解析した。

溶液の摂取行動は通常 20 回の試行を 1 ブロックとして動物に与え、そのうち実際に摂取を行った試行のみについて加算しヒストグラムを作成した。ヒストグラムは Fig. 1B に示したように 3 つの期間に分けて、それぞれの期間での活動電位の発生数について解析を行った。3 つの期間とは、手がかりを提示する前の 2 秒間の対照期 (pretest control period) と手がかり提示期の 2 秒間、さらに溶液の摂取期である 2 秒間についてであり、分散分析によりこれらの期間の活動電位発生数の差を調べた。期間の間の差は Duncan の方法で解析し、危険率5% を有意水準とした。対照期と比較して、活動電位の発生数が有意に増加した期間は興奮反応とし、活動電位数が減少した期間を抑制反応と定義した。溶液を提示したが実際には飲まなかった試行、および、手がかりのみを提示し与え溶液は与えないようにした場合の試行についてもそれぞれ同様に解析を行った。

2. 5. 組織学的検索

神経細胞の活動を記録した約 1 カ月の期間の後で記録部位の組織学的検索を行った。ネブタール麻酔下に、記録時と同じ頭部固定装置に動物を固定し、ガラス管微小ピペットから色素 (2% Pontamine sky blue) を 1 つの記録部位に電気泳動 ($5 \mu\text{A}$, 5 min) によって投与してマークした。その後、頸動脈からホルマリン溶液を灌流し、脳を固定した。脳は取り出してトリミングし、さらに 24 時間以上ホルマリンで固定した。凍結マイクロトームを用いて厚さ $40 \mu\text{m}$ の切片を作成し、中性赤で染色して記録部位の同定を行った。色素でマークしなかった記録部位については、手術時に埋め込んだ指標の座標の読みで補正し記録部位を決定した。

3. 研究結果

全部で 105 個の外側視束前野の神経細胞の活動を溶液の摂取時に記録した。このうち 29 個の細胞については浸透圧感受性を調べることができ、3 個は高張型の細胞であり、

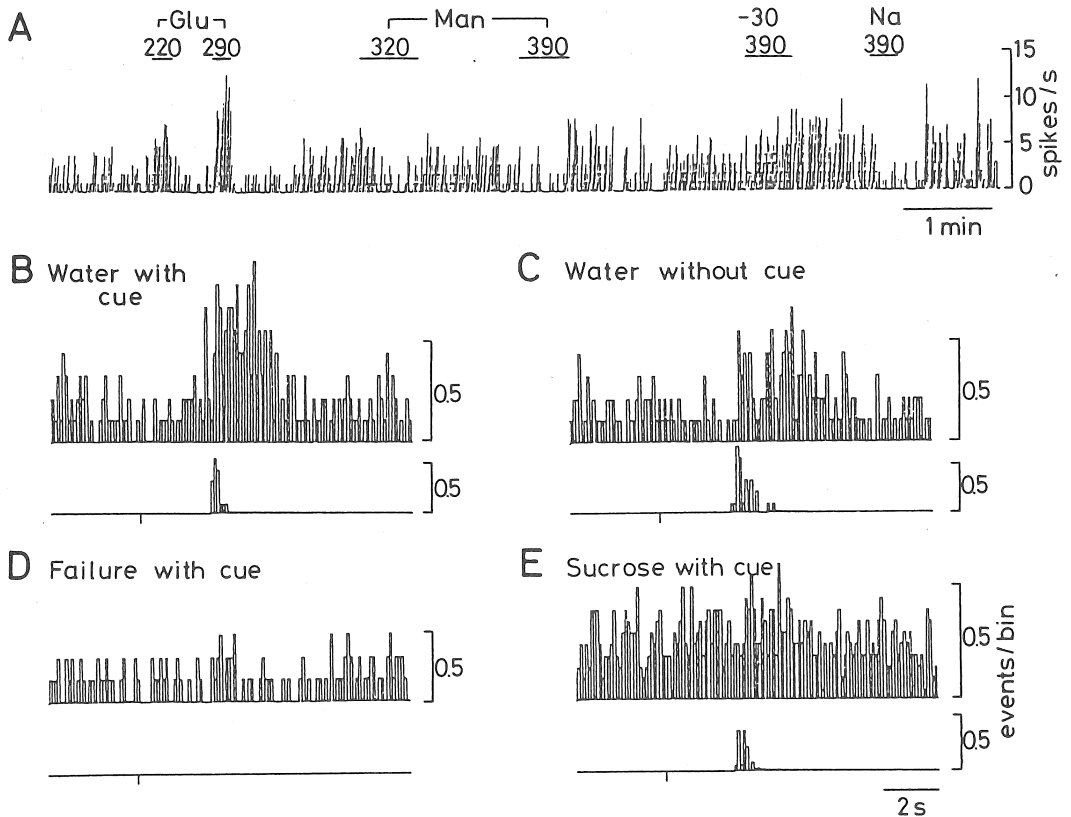


Fig. 2. (A) A ratemeter record of an LPO neuron to locally applied osmotic stimuli, showing hypotonic-type responses. Numerals above bars: applied pressure for ejection from multibarrel pipette in kPa. Abbreviations: Glu, 1 mM glutamate added ACSF; Man, hypertonic solution by adding mannitol; -30, hypotonic solution by reducing NaCl; Na, hypertonic solution by adding NaCl (B to E) Peri-event time histograms of neural activity (upper) and licking (lower) during intake of various solutions. These histograms show specific responses to intake of water. Number of trials were 9 (B), 9(C), 6(D), and 20(E). Time resolution of the histograms was 100 ms/bin. .

2 個は低張型の細胞であり、残りは浸透圧変化に反応しない細胞であった。ラットは与えた 3 種類の溶液のうち砂糖水を最も好んで飲み、提示された 81% の場合は lick した。食塩水の場合がこれに続き 77% であり、蒸留水の場合は 70% の場合に licking 行動を起こした。

3. 1. 蒸留水摂取時の神経細胞の反応

動物が水を摂取するときに合計 52 個の細胞の活動を記録した。低張型の浸透圧感受性細胞について、飲水行動時の反応例を Fig. 2 に示す。この細胞は高張のマニトールおよびナトリウムの溶液を細胞の近傍局所に投与したときに抑制され、低張液を投与すると興奮反応を示した。水飲み行動時にこの細胞は興奮し、砂糖水の摂取や手がかり提示期には反応しなかった。したがってこの細胞は、液体の摂取に対する口腔内の機械的刺激や行動反応に伴う覚醒状態によって興奮反応が起きたとは考えにくく、水摂取に特異的な反応であることが示唆される。

蒸留水の摂取時に反応した細胞は全体の 40% あり、手がかり提示時に反応した細胞は 23% あった。水摂取および手がかり提示時の反応の相関を Table 1 にまとめた。飲水時にのみ反応し、手がかりには反応しない細胞は 12 例 (23%) あり、逆に手がかり提示時にのみ反応する細胞は 3 例 (6%) であった。手がかり提示時にも水飲み時にも共に反応しない細胞が一番多く (54%) 見られ、また手がかり時に抑制される細胞は水飲み時にも抑制される傾向がみられた。

Table 1. Number of LPO neurons classified by their responses to water intake and cue stimuli.

Water		I	E	N	total
Cue	I	5	2	1	8
	E	0	2	2	4
	N	5	7	28	40
	total	10	11	31	52

Table 2. Number of LPO neurons classified by their responses to sucrose intake and cue stimuli.

Sucrose		I	E	N	total
Cue	I	3	1	1	5
	E	1	0	3	4
	N	8	8	65	81
	total	12	9	69	90

I; inhibition, E; excitation,
N; no response.

3. 2. 砂糖水摂取時の反応

砂糖水を摂取するときには 90 個の細胞の活動を記録した (Table 2)。全体の 23% の

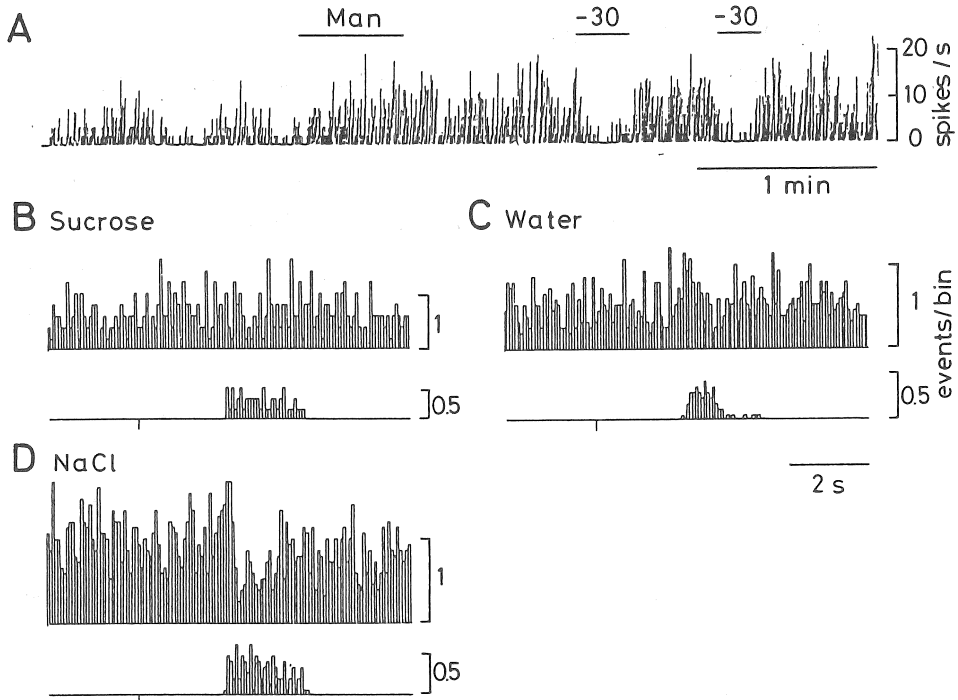


Fig. 3. (A) A ratemeter record of an LPO neuron, showing hypertonic-type responses. Applied pressure was 490 kPa in all cases. (B to D) Peri-event time histograms showing specific responses to intake of NaCl solution. Number of trials were 5 (B), 15 (C) and 15 (D). Time resolution was 70 ms/bin.

細胞が砂糖水の摂取時に反応した。しかしながら、摂取時にも手がかり提示期にも反応しない細胞が一番多く 72% あった。手がかり期に反応しないで、砂糖水摂取時に反応する細胞が 18%、逆のタイプの細胞が 4% あり、これらの比率は水飲みの場合と似ていた。

3. 3. 水と砂糖水の摂取に対する反応の比較。

水と砂糖水の両方の摂取時に活動を記録した細胞が 43 個あり、反応の相関を Table 3 にまとめた。Fig. 2 に示したように水の摂取時に特異的に反応する細胞が 5 個 (12%) あり、砂糖水の摂取時に特異的に反応する細胞が 1 個 (2%) あった。どちらの溶液を摂取するときも同方向の活動変化をした細胞は 13 個 (30%) であった。逆方向の反応

をした場合はなかった。

3.4. 食塩水摂取時の反応

食塩水摂取時の反応は Table 4 にまとめた。全部で 21 個の細胞を調べ、5 個 (24%) が反応した。このなかで、2 個の細胞は水および砂糖水の摂取時には反応がなく、食塩水の摂取時に特異的に反応した。この内の 1つは高張型の浸透圧感受性細胞であり、Fig. 3 にこの細胞の局所浸透圧刺激に対する反応および溶液摂取時の反応を示す。

Table 3. Number of LPO neurons classified by their responses to water and sucrose intake.

Water		I	E	N	total
Sucrose	I	6	0	0	6
	E	0	7	1	8
	N	3	2	24	29
total		9	9	25	43

Table 4. Number of LPO neurons classified by their responses to NaCl intake and cue stimuli.

NaCl		I	E	N	total
Cue	I	1	0	3	4
	E	0	0	0	0
	N	2	2	13	17
total		3	2	16	21

3.5. 浸透圧感受性と溶液摂取時の反応

高張型の浸透圧感受性細胞は 3 個あり、水および砂糖水の摂取行動時において、このうちの 1 個はどちらの溶液の摂取の時にも興奮し、2 個はどちらの場合にも無反応であった。食塩水摂取時の反応を調べることができた浸透圧感受性細胞は 1 個だけであり、Fig. 3 にその例を示したように、食塩水の摂取時に特異的に反応した。

低張型の細胞 2 個のうち 1 例は Fig. 2 に示した飲水時に特異的に反応する細胞であり、残りの 1 個は活動電位の発生頻度が無刺激の状態で非常に低かったため、溶液摂取行動時の反応の有無について検討できなかった。

したがって、調査できた細胞数が少ないために、浸透圧感受性と溶液の摂取時の反応とに特定の相関を見いだすことはできなかった。また、浸透圧感受性細胞と非感受性細胞とを比較した場合にも、同様の理由で、有意差を検出することはできなかった。

4. 考察

行動下の動物の神経細胞の浸透圧感受性を同定して行動との対応を調べることは技術的に困難を伴うので、多くの細胞については溶液の摂取行動に対する反応のみを調べた。合計 105 個の外側視束前野の神経細胞の活動を記録し行動との対応を調べたうちで、蒸留水の飲水時に何らかの反応を示した細胞は 40% あり、砂糖水の摂取時には 23% の細胞が反応し、食塩水の摂取時には 24% の細胞が反応した。このうち、特定の溶液の摂取時にのみ反応した細胞は、水に対しては 5 例、砂糖水に対しては 1 例、食塩水に対しては 2 例見つかった。したがって、外側視束前野の神経細胞では水を飲んだときにのみ特異的に反応する細胞が最も多く、この部位が渇きの中枢機構に含まれるという仮説が支持されるが、蒸留水特異的に反応する細胞の割合は統計的に有意に多いという水準には達しなかった。一方、異なった種類の溶液を摂取したとき、および溶液の提示の手がかり刺激時に多くの細胞は同じように反応した。したがって、外側視束前野細胞の一部には溶液に特異的に反応する細胞はあるものの、多くの細胞の反応は溶液に対する口腔内の機械的受容器を介する非特異的なものである可能性や動物の覚醒状態による反応の可能性は否定できない。しかしながら、行動反応として、licking behavior が起きた確率が最も低かった蒸留水の摂取の場合に神経反応は最も高率で起きたことから、外側視束前野の細胞の少なくとも一部には水の摂取行動に密に関連したものがあることが考えられる。

神経活動を記録する前夜には動物は一夜の絶水を行った。非拘束の動物ではこのようにすると、水の提示後しばらくのあいだ連続的に水を飲み、水に対して動因が高まっていることが分かる。0.93% 食塩水も二瓶選択法の実験からラットは好んで飲むことが知られており、本研究に用いた溶液はラットにとって、すべて報酬としての意味を持っていた。したがって、溶液摂取時の反応のなかには、その報酬としての側面に反応していた可能性も考えられる。

食塩嗜好 (sodium appetite) の中枢機構において、食塩水を飲むときに特異的に反応する細胞は重要な役割を果たしていることが考えられる。ことに Fig. 3 に示したように浸透圧に感受性を有する神経細胞がこのような特異的な反応をした場合には、この細胞は食塩嗜好において何らかの役割を担っていると考えられる。今回の研究においては食塩水摂取時の反応を調べた細胞の数が少なく 21 例しかないので、外側視束前野の神経細胞が食塩嗜好の中枢機構においてどのような位置を占めるか結論は出せない。今後調査例数を増すと共に、食塩嗜好に関与することが推定されている不確帯や第三脳室前壁部の細胞と比較する必要がある。

5. 引用文献

- 1) Mundl, W. J. and Malmo, H. P., Capacitive sensor for lick-by-lick recording of drinking. *Physiol. Behav.*, 21, 781-784, 1979.
- 2) Ono, T. et al., Hypothalamic neuron involvement in integration of reward, aversion, and cue signals. *J. Neurophysiol.*, 56, 63-79, 1986.
- 3) Osaka, T. et al., Osmotic responses of rat paraventricular neurons by pressure ejection method. *Brain Res. Bull.*, 24, 493-497, 1990.
- 4) Paxinos, G. and Watson, C., *The rat brain in stereotaxic coordinates.* Academic, New York, 1982.
- 5) Rolls, B. J. and Rolls, E. T., *Thirst.* Cambridge Univ., London, 1982.

Role of osmosensitive neurons in the lateral preoptic area for the central mechanisms of thirst.

Toshimasa Osaka and Hiroshi Yamashita

Dept. of Physiol., Univ. of Occup. and Environ. Health, Japan.

Summary

Osmosensitive neurons in the hypothalamus are assumed to have a cardinal role in the central control of body water and salt homeostasis. The lateral preoptic area (LPO) of the hypothalamus is one of candidates of drinking centers. In the present study, we recorded activities of osmosensitive LPO neurons during drinking behavior. Non-osmosensitive LPO neurons were also recorded for comparison.

Adult male rats of Wistar strain were trained to drink water, 9% sucrose solution, and 0.93% NaCl solution under partial restraint with a head holder. During drinking behavior, activities of 105 LPO neurons were extracellularly recorded with a multibarrel pipette. Of these, neurons responded (excited or inhibited) to distilled water were most frequent (40%). On the other hand, neurons responded to sucrose and NaCl solutions were 23% and 24%, respectively. Five neurons responded specifically to distilled water. In contrast, 1 neuron responded specifically to sucrose and 2 neurons responded specifically to NaCl, although the difference was not statistically significant. Artificial cerebrospinal fluid solutions with different osmolalities with physiological range were ejected from the multibarrel micropipette to immediate vicinity of recorded neurons. Of 29 neurons tested, 3 were excited by hypertonic solutions or inhibited by hypotonic solutions. They were designated as a hypertonic cell. Two neurons were excited by hypotonic solutions and inhibited by hypertonic solutions, and designated as a hypotonic cell. Other 24 neurons were non-osmosensitive cells. One hypertonic cell specifically excited during distilled water intake, and one hypotonic cell specifically inhibited during intake of NaCl solution. These data support the idea that the LPO is involved in the central mechanisms of thirst.