

サーカディアンリズムの生後発達の解析

—仔ラットの内因性リズムの養母による同調—

滋賀医科大学精神科

高橋清久

東京都神経科学総合研究所

林 績一 佐々木由紀子

生体には内因性の時計機構が存在し、これが種々の内因性リズムを発現させる^{1)~3)}。この内因性リズムの異常は精神的、身体的な異常を招く原因となっている。小児における心身障害にも、この内因性リズムの異常がみとめられている⁴⁾。

小児におけるリズム障害発現の機構を明らかにするためには、リズムの発達機序を知る必要がある。かかる目的で我々は子供のリズム発現に関わる母親の影響を調べてみた。

すでに我々の研究グループはラットを用いて幼若動物の副腎皮質ホルモン、松果体N-アセチル転移酵素活性、行動量などの内因性リズムの発達について検討を加えて来た。その結果、生下時直ちに盲目にした仔ラットを生母と異なるリズムを持つ育母ラットに養育させた場合、仔ラットのリズムは育母ラットが生んで育てた仔ラットと一致するリズムを示すこと、すなわち、育ての親が盲目仔ラットのリズムを同調することを明らかにした^{5) 6)}。

本研究では養母が仔ラットのリズムを同調する機序を明らかにしようと試みた。それに先き立ち仔ラットのリズムの発達を同時に多数例について測定する目的で、飲水量リズムの簡便測定法を開発した。

この方法を用いて、以下の3点について検討を加えた。

1. 養母が仔ラットのリズムを同調するために、生後何日目迄に生母のリズムと異なるリズムを持つ育母との交換を行えばよいか、すなわち、親子交換の臨界時期の決定。

2. また、同調のためにはどの位の期間、育母が養育することが必要か、すなわち最小必要養育期間の決定。

3. Partial Maternal Deprivation：親の活動期又は静止期に養母を仔ラットから隔離することの仔ラットのリズム発達に及ぼす影響。

4. 1で求めた臨界時期を決定する要因は親側にあるか、仔ラット側にあるか。

研究結果

1. 飲水リズムの簡便測定法の開発とそれによるリズム発達の観察

正常仔ラットを生後22日目に離乳、離乳後個別ケージにて飼育、水を入れた20mlメスピペットの先端をパラフィルムにてシールし、吸口を下にして、吸口部がケージ内に達するようにしてスピペットを固定した。4時間毎に2日間にわたってスピペット内の液面の高さを記録し飲水リズムを測定した。

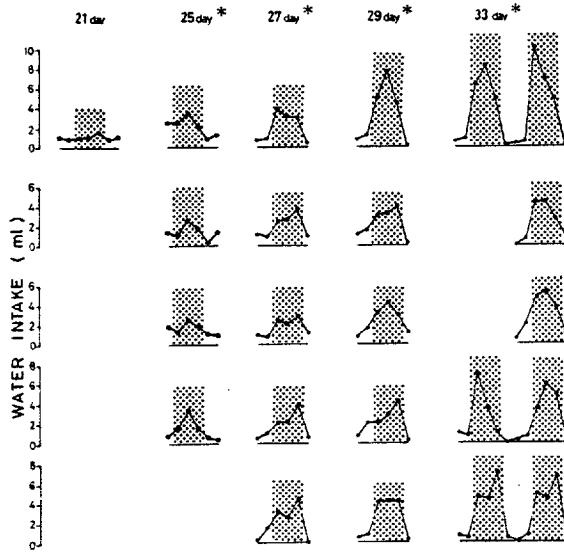
第1図に示すように離乳後間もなくの間は飲水リズムは平坦であったが、25日をすぎると夜間の飲水量が増加し、明らかなサーカディアンリズムが出現、4週目では夜間の飲水量が総飲水量の90%以上となり成熟ラットと同様なリズムを呈した。

DL (light: 0700h-1900h, dark: 1900h-0700h) 条件下で飼育した仔ラットはLD条件下で飼育した仔ラットと時刻に関して完全に逆の位相を示した。

生後直ちに盲目にした仔ラットの飲水リズムを測定した結果、週を追うごとに位相のずれがみとめられ、明らかにフリーランニングリズムを呈し、これは内因性リズムであることが知られた。

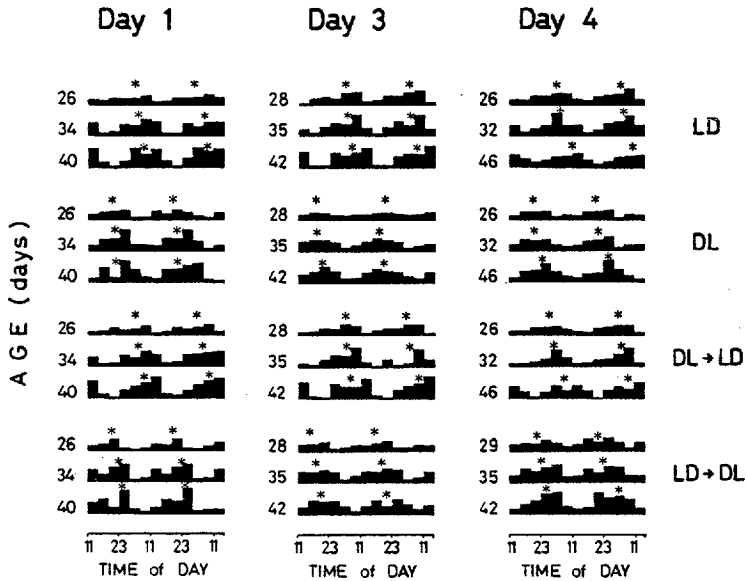
2. 親子交換の臨界時期の決定

生後直ちに盲目にした仔ラットを生母と逆転したリズムを持つ育母ラットに生後3、4、5、7、10、14日目と種々の時期から養育せしめた。



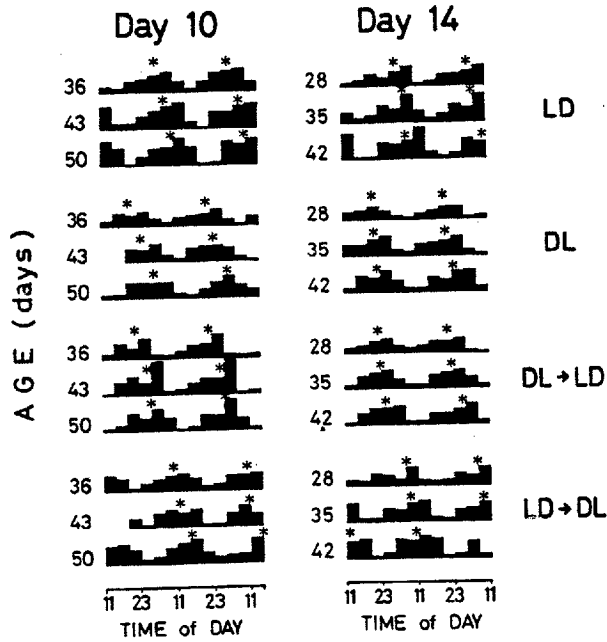
図一 正常仔ラットの飲水リズムの発達

図上部に示した各日齢において24～48時間の飲水リズムを個体別に計測した。縦軸は4時間あたりの飲水量を、陰影は暗期を示す。



図二 生母と逆転したリズムを持つ育母に育てられた盲目ラットの飲水リズム

生母と育母の交換を生後1日目(左)、3日目(中)、4日目(右)に行った。LD、DLは離乳まで生母が育てた対照群を、DL→LD、(LD→DL)はDL(LD)の生母からLD(DL)の育母への交換を示す。星印は最小二乗法にて求めた頂点位相を表わす。



図一三 生母と逆転したリズムを持つ育母に育てられた盲目仔ラットの飲水リズム

生母と育母の交換を生後10日目(左)、14日目(右)に行った。第2図の説明参照。

表一 生母と異なるリズムを持つ育母に育てられた盲目仔ラットの飲水リズムの頂点位相。

Age Exchanged	LD	DL	DL-LD	LD-DL
3 Day	05:16 ± 1:26	17:58 ± 6:04	04:53 ± 1:18 (F)	15:38 ± 3:04 (F)
3 Day	06:12 ± 2:27	20:39 ± 2:55	05:08 ± 0:46 (F)	20:52 ± 1:45 (F)
4 Day	06:12 ± 2:27	20:39 ± 2:55	04:37 ± 1:11 (F)	
5 Day	04:14 ± 0:43	20:10 ± 2:45	01:41 ± 4:24 (F)	16:14 ± 1:29 (F)
5 Day	05:02 ± 2:52	21:48 ± 1:41	00:28 ± 1:05 (N)	14:42 ± 1:10 (I)
7 Day	05:16 ± 1:26	17:58 ± 6:04	02:46 ± 1:49 (F)	11:30 ± 1:09 (I)
7 Day	04:26 ± 1:25	20:29 ± 2:08	22:54 ± 1:21 (N)	03:46 ± 1:34 (N)
10 Day	06:44 ± 1:23	19:45 ± 3:05	00:03 ± 3:15 (I)	05:32 ± 2:08 (N)
10 Day	04:59 ± 2:02	22:23 ± 1:29	22:13 ± 1:31 (N)	06:53 ± 2:13 (N)
14 Day	04:04 ± 2:50	19:49 ± 1:36	21:06 ± 0:45 (N)	04:49 ± 3:02 (H)
14 Day	05:32 ± 1:42	19:57 ± 2:21	22:20 ± 2:17 (N)	06:45 ± 0:43 (N)

DL-LD(LD-DL)はDL(LD)の生母からLD(DL)の育母へ交換した群を表わし、LD、DLは離乳まで生母が育てた対照群を示す。左側の数字は生母・育母の交換を行った日齢を表わす。

4日目までに交換した群は、第2図に示すごとく、全例、育母が生んで育てた盲目仔ラット（対照群）のリズムとほぼ一致した。一方、10日目をすぎて交換を行った群では育母に同調するものはみられなかった。（第3図）

5日あるいは7日目の交換群では育母に同調するもの、生母に同調するもの、あるいは両者の影響を受けるもの（飲水リズムの頂点位相が生母対照群と育母対照群の中間にくるもの）などがみとめられた。（第1表）

3. 最小必要養育期間の決定

生下時盲目にした仔ラットを生後1、3、5、7日の各時点で生母と逆転したリズムを持つ育母に養育を開始せしめた。そしてその養育期間を4、7、10日間の3群とし、各群のリズムが生母のそれと一致するか、あるいは育母のそれと一致するかを観察した。

いずれの時期に母仔交換を行った群でも、4日間の養育期間では育母が仔ラットのリズムを同調することはなかった（第4図）。7日間の養育期間では育

母に同調するものもあれば、生母に同調するものもあり、一定した結果は得られなかった。

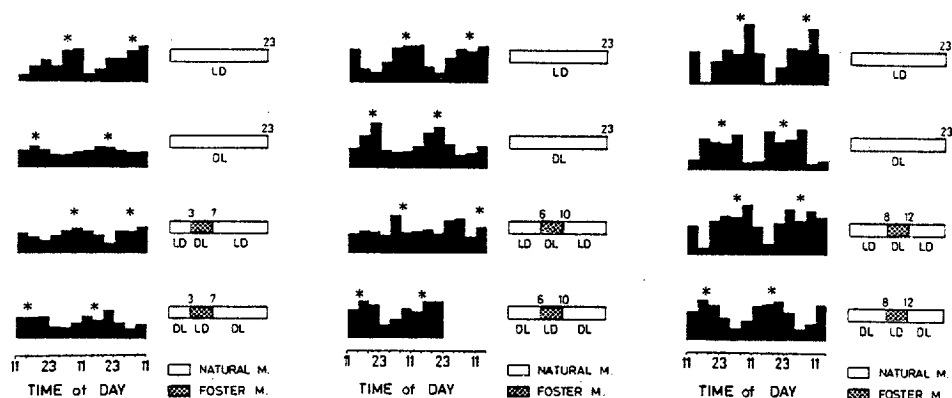
10日間の養育期間では生後1、3日目に交換をした群では全て育母に同調を示した。5日及び7日に交換したものでは結果が一致しなかった（第5図）。

以上の結果は早期に母仔交換を行った場合には、10日間の哺育期間があれば仔ラットの同調には充分であることを示している。

4. Partial Maternal Deprivation

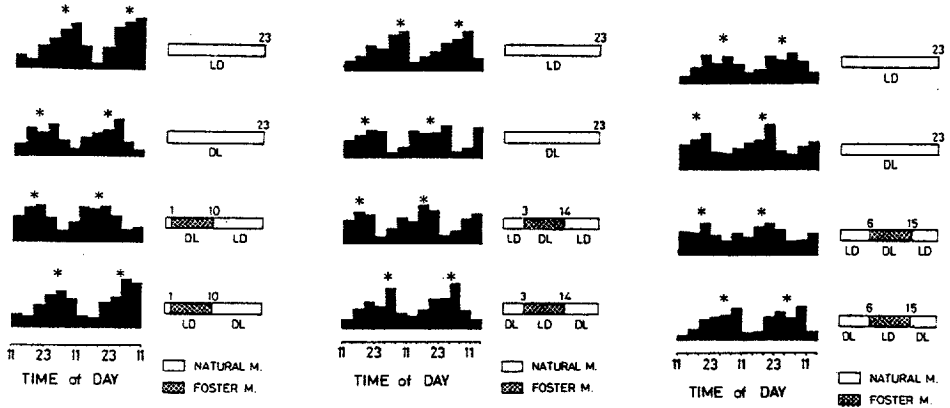
母ラットには顕著な行動のリズムがある。すなわち暗期における活動性の増加と明期におけるその減少である。さらに仔ラットへの授乳行為にもリズムが存在するといわれる。Hiroshigeらによれば仔ラットの体重増加を指標にした場合、明らかに明期の方が授乳量が大きいという。

そこで、仔ラットの母ラットとの接触を明期のみ、あるいは暗期だけに限った場合、仔ラットのリズムの発現にも何らかの影響があるものと考えられ、以下の実験を行った。生後直ちに仔ラットの眼球を摘出し、3日目より明期群は明期のみ、暗期群は暗



図一 4 生母と逆転したリズムを持つ育母の4日間哺育の影響

生後3日目(左)、6日目(中)、8日目(右)に育母による哺育を開始し、4日間哺育せしめたのち、再び生母に戻した。飲水リズムの右側にある横棒中、陰影部分は育母による哺育期間を示す。



図一五 生母と逆転したリズムを持つ育母の10日間
哺育の影響

生後1日目(左)、3日目(中)、6日目(右)に育母
による哺育を開始し、10日間哺育せしめた後、再び生母
に戻した。第4図説明参照。

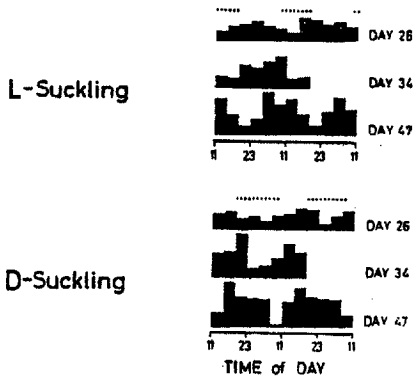
期のみ母ラットと接触せしめた。3週目で離乳、4
週目より飲水リズムの計測を行った。すると、明期
群では母親との接触遮断を行わなかった対照群と全
く同様なリズムがみとめられ、母親の部分的遮断の
影響はみとめられなかった。しかし、暗期群では4

週目に対照群とは逆転したリズムがみとめられた。
すなわち、明期における飲水量が暗期よりもはるか
に多く、頂点位相も明期後半に存在していた。この
頂点位相は週を追うごとに後方にずれ、この飲水リ
ズムが内因性のものであることが明らかであった。
(第6図)

以上の事実は通常とは異なる時間帯、すなわち暗
期のみ母ラットに接した場合、仔ラットはその時
間帯に応じた新しいリズムを獲得することになる事
を示している。この仔ラットのリズムの位相が母ラ
ットのもつかなる要因、すなわち授乳や授乳以外
の哺育行動などいかなる因子により規定されるか
については今後の検討すべき課題である。

5. 母仔交換臨界時期の決定要因

2で明らかにされたように育母が盲目仔ラットの
リズムを同調するためには生後4日目という比較的
早期に母仔交換を行わなければならない。このよ
うに早期の交換が必要であるのは、母親側の要因で
あるのか、仔ラット側の要因であるのか、を知る事は
重要なことである。母親側の要因としては乳汁成分、
乳汁分泌パターン、哺育行動などに哺育期間の初期
とそれ以後とで差があることが考えられる。一方、
仔ラット側の因子としては、脳分化の未熟な段階で
哺育する母ラットから与えられる何らかの情報を得



図一六 盲目仔ラットのリズム発達に及ぼす Partial
Maternal Deprivation の影響

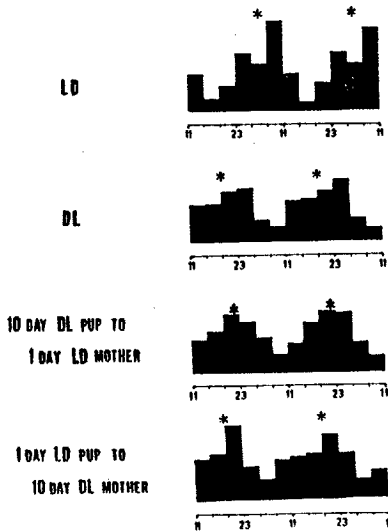
上段(L-Suckling)は明期のみ、下段(D-Suckling)は暗
期のみ母親と接触しえた仔ラットの飲水リズムを示す。
各群上部の破線は親と接触した時間帯を表わす。右端の
数字は日齢を示す。

ることが重要であるという可能性が考えられる。

そこで、生後1日目の盲目仔ラットを分娩後10日目の生母と逆転したリズムを持つ母ラットに哺育せしめた場合と、生後10日目の仔ラットを分娩後1日目の育母ラットに哺育せしめた場合とを比較した。

第7図に示すごとく、分娩後10日目の育母に育てられた盲目仔ラットは育母に同調した。これに対して生後10日目から分娩直後の母ラットに哺育された仔ラットは育母に同調せず生母ラットのリズムに一致した。

この結果は臨界時期決定の要因は仔ラット側にあることを示している。



図一七 育母による同調の臨界時期決定要因の解析

1日齢仔ラット—分娩後10日目の母ラット(最下段)及び10日齢仔ラット—分娩直後の母ラット(3段目)の組合わせにより、臨界時期決定のためには母仔いずれの要因が重要かを解析した。上二段は離乳まで生母ラットに育てられた対照群。

考 察

本研究で用いた飲水リズム計測法はきわめて簡便であり、多数の動物のリズムを同時計測するさいにきわめて有用であり、かつ信頼性を充分にもった方法であると考えられる。

この方法を用いて本研究ではいくつかの新しい事実が見出された。まず生母と異なるリズムを有する育母が盲目仔ラットの内因性リズムを同調するためには早期に交換を行う必要があることが示された。生後4日目までに交換を行えば例外なく育母に同調され、10日目をすぎても交換を行った場合には育母が同調することが不可能になる。この中間にあたる5~7日の交換では一定した結果が得られなかった。これらの事実は同調のための臨界時期は生後4~10日の間であることを示している。

また、哺育最小必要期間を求めた実験では早期に母仔交換を行った場合、10日間の哺育期間があれば充分であることが明らかとなった。これより短い期間では結果が一定せず、3日間というごく短い期間では育母による同調は不可能であった。

以上のことから育母ラットが盲目仔ラットのリズムを同調するためには生後10日目以前に交換を行い、10日間前後哺育せしめることが必要であることが明らかになったが、このような早期交換の必要性が仔ラット側の要因であることが実験4から明らかである。これはおそらく、脳の分化と関係していることであり、ミエリン形成、血液脳関門の形成などに関連した現象であると思われる。

さて本研究では育母が仔ラットのリズムを同調する場合、これがすでに存在していたリズムの位相を変化させたものなのか、あるいはそれまでは存在していなかったリズムの発現を促したものなのか明らかではない。さきに Moore⁷⁾らは¹⁴C-2-Deoxyglucoseのとりこみにより視床下部視交叉上核でのリズムを観察し、生後1日目ですでにサーカディアンリズムが存在している可能性を示唆した。その後 Leppert⁸⁾らもこの事実を確認したが、彼らは胎生期からすでに視交叉上核でのリズムが存在すると主張している。もしこれらの報告が真実のものであれば、本研究でみられた育母によるリズムの同調はすでに視交叉上核に存在していたリズムの位相を逆転したことになる。動物を明暗を逆転した環境におくと内因性リズムは6~10日で新しい明暗リズムに同調する⁹⁾。またヒトの場合、昼夜逆転をしたり、時差をこえて東西飛行を行った場合、新しい生活リズムに体温やホルモン分泌などの内因性リズムが同調するのにやはり1週間前後の期間が必要とされる^{10), 11)}。したがって、本

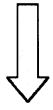
研究で定められた最小必要哺育期間が10日という事実は本来存在したリズムを逆転させるに必要な期間として妥当なものである。

本研究から母仔交換の早期必要性は仔ラット側の要因によることは明らかにされたが、では母親側からのいかなる情報が仔ラットのリズム同調に意味あるものであるかは明らかではない。しかし考えられる要因としては次の3つであろう。(1) 母親としての諸種の行動リズム。例えば仔ラットを抱く、なめる、排尿排便を促す等の行動。(2) 授乳行為。成熟ラットの副腎皮質ホルモン分泌リズムは摂食時間に同調するが、これと類似した機構が働いている可能性がある。(3) 乳汁中の特殊成分、例えばメラトニンは成熟ラットの行動リズムの同調因子となりうる^{1,2,3)}ことが報告されているが、リズム同調作用を持つ特殊な物質が乳汁中に存在し、それが周期性をもって分泌されている可能性がある。

本研究では仔の脳の発達⁴⁾が未熟な段階ではサーカディアンリズムの発達という点に関して母親が強い影響力を持つという事が示されたが、ヒトの場合でも同様なことが云えるかも知れない。今後、母親の持ついかなる因子が児のリズム同調に重要であるかを明らかにして行きたい。

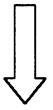
文 献

1. Moore RY, and Eichler VB. : Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res* 42: 201-206, 1972
2. Inouye ST, and Kawamura H.: Persistence of circadian rhythmicity in mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 5962-5966, 1979
3. Moore-Ede MC.: The circadian timing system in mammals: Two pacemakers preside over many secondary oscillators. *Fed Proc* 42: 2802-2808, 1983
4. 瀬川昌也: 自閉症への小児神経学的アプローチ、睡眠障害の病態生理からの考察、発達障害研究 4: 184-197, 1982
5. Takahashi K, Hayafuji C, and Murakami N.: Foster mother rat entrains circadian adrenocortical rhythm in blinded pups. *Am J Physiol* 243: E443-E449, 1982
6. Takahashi K, and Deguchi T.: Entrainment of the circadian rhythms of blinded infant rats by nursing mothers. *Physiol Behav* 31: 373-378, 1983
7. Fuchs JL, and Moore RY.: Development of circadian rhythmicity and light responsiveness in the rat suprachiasmatic nucleus: A study using the 2 - deoxy (1- C¹⁴) glucose method. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 1204-1208, 1980
8. Reppert SM, and Schwartz WJ.: Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. *Science* 220: 969-971, 1983
9. Murakami N, Hayafuji C, Sasaki Y, Yamazaki J, and Takahashi K.: Melatonin accelerates the reentrainment of the circadian adrenocortical rhythm in inverted illumination cycle. *Neuroendocrinology* 36: 385-391, 1983
10. 高橋清久、高橋康郎: サーカディアンリズム、中外医学社 1980
11. Klein KE, and Wegmann HM. The resynchronization of human circadian rhythms after transmeridian flights as a result of flight direction and mode of activity. In: *Chronobiology*, eds by Scheving LE, Halberg F, Pauly JE. Igakushoin, Tokyo 1974, pp 564-570
12. Krieger DT. : Food and water restriction shifts corticosterone, temperature, activity and brain amine periodicity. *Endocrinology* 95 : 1195-1201, 1974
13. Takahashi K, Inoue K, Kobayashi K, Hayafuji C, Nakamura Y, and Takahashi Y.: Effect of food restriction on circadian adrenocortical rhythm in rats under constant lighting conditions. *Neuroendocrinology* 23: 193-199, 1977
14. Redman, J., Armstrong, S., and Kim T. Ng: Free-running activity rhythms in the rat: Entrainment by Melatonin. *Science* 219: 1089-1091, 1983



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



生体には内因性の時計機構が存在し、これが種々の内因性リズムを発現させる。この内因性リズムの異常は精神的、身体的な異常を招く原因となっている。小児における心身障害にも、この内因性リズムの異常がみとめられている。

小児におけるリズム障害発現の機構を明らかにするためには、リズムの発達機序を知る必要がある。かかる目的で我々は子供のリズム発現に関わる母親の影響を調べてみた。

すでに我々の研究グループはラットを用いて幼若動物の副腎皮質ホルモン、松果体 N-アセチル転移酵素活性、行動量などの内因性リズムの発達について検討を加えて来た。その結果、生下時直ちに盲目にした仔ラットを生母と異なるリズムを持つ育母ラットに養育させた場合、仔ラットのリズムは育母ラットが生んで育てた仔ラットと一致するリズムを示すこと、すなわち、育ての親が盲目仔ラットのリズムを同調することを明らかにした。