

# 新生児ラットにおける中脳背側部破壊の リズム発達に及ぼす影響

高橋 清久\* 下田 和孝\* 山田 尚登\*  
佐々木 由紀子\*\* 林 纈治\*\*\*

小児自閉症ではサーカディアンリズムの異常が存在することが指摘されており、それがセロトニン系の障害と関連することが示唆されている<sup>1)</sup>。

このサーカディアンリズムの成立には視交叉上核が重要な役割を演じていることが、ヒトを除く哺乳動物で明らかにされている。これまで多くの研究により、げっ歯類では視交叉上核破壊後にサーカディアンリズムがひきつづき存続することはないことが確立されている<sup>2-4)</sup>。視交叉上核に関してもう1つの重要な点はこの核がセロトニン作動系の支配を受けているという点である<sup>5)</sup>。このセロトニン系神経路は主として中脳の縫線核に起源している。これらの事実をもととして、縫線核の手術的破壊ないしはセロトニン作動系の薬物による破壊実験がこれまで精力的に行われてきている<sup>6-11)</sup>。

しかしながら従来行われてきた研究はすべて成熟ラットを対象としたものである。それゆえ新生児期に与えた損傷が後の種々のリズムの発現にいかに影響を与えるかを観察することは興味深いことであり、また、小児自閉症にみられるリズムの異常の出現機序の解明の一助となることも考えられる。

本研究では生後2日あるいは5日目のラットの中脳背側部を熱破壊し、離乳後1～3週目および5カ月齢に達したさいに、活動量、飲水量、血中コルチコステロンなどのリズムの観察を行い、縫線核破壊のサーカディアンリズム発達への影響を観察した。

## 材料と方法

### 1) 新生児ラットの中脳破壊

Sprague-Dawley 系の雌ラットを温湿度一定、明暗の自動調節(明：0700 h～1900 h)を行っている動物室にて飼育、環境へ馴化せしめた後交配した。生後2または5日齢の雌ラットを対象とし、中脳背側部の破壊を行った。軟X線脳固定装置を用い、低温麻酔した新生児ラットを固定器に虫ピンで固定、ラット頭部を軟X線管とビデオスクリーンの間におき、化骨を指標として目的とする部位に電極を挿入した。0点は蝶形骨底部と後頭骨底部の中間に定めた。電極挿入部位は2日齢ラットでは正中線上0点の後方0.5 mm, 上方3 mm, 5日齢ラットでは正中線上0点の後方0.5 mm, 上方3.5 mmとした。

径0.75 mmの電極を挿入、電極先端の温度をモニターしつつ65°Cに60秒間保ち熱凝固破壊を行った。偽手術群として同じ電極を当該部位に挿入、電流の通電を行わなかった。手術回復後、仔ラットを直ちに親ラットに戻した。生後22日目まで離乳、実験日まで1ケージあたり数匹の割合で群居せしめた。

破壊群、偽手術群それぞれの生存率は2日齢で手術を行った場合、それぞれ3/18 (16.7%), 6/8 (75%)であり、5日齢で手術を行った場合にはそれぞれ7/8 (87.5%), 4/6 (66.7%)であった。

### 2) 運動量測定

運動量の測定はコロバス社オートメックスにて行った。活動量は30分ごとに印字した。離乳後1～3週の間各仔ラットについて連続4日間運動量を記録した。

### 3) 飲水量測定

すでに報告したように明暗各期の飲水量は目盛つきピペットを用い直接測定した<sup>12)</sup>。ピペットの先端をパラフィルムで封じ、中に水を満たし、吸口がケージの中に位置するように固定した。仔ラットは吸口をなめることに

\* 滋賀医科大学精神科学教室 (K. Takahashi, Department of Psychiatry, Shiga University of Medical Science)

\*\* 東京都神経科学総合研究所神経医化学

\*\*\* 東京都神経科学総合研究所解剖発生学

より飲水が可能であった。仔ラットの場合には2日間にわたり明暗各期の飲水量を計測、一方5カ月齢の成熟ラットの場合には5日間連続して飲水量を測定した後に、明暗を逆転、その後連続して7日間飲水量の測定を行った。これは新しい明暗への再同調に中脳破壊の影響があるか否かを検討するためである。

#### 4) 血中コルチコステロンレベルの測定

5カ月齢の成熟ラットを対象に4時間ごとに6点の採血を行い24時間リズムを求めた。採血はすでに報告したごとく、尾部先端採血法にて行い、同一個体を反復使用した<sup>13)</sup>。コルチコステロンの測定には Murphy の蛋白結合法を用いた<sup>14)</sup>。

#### 5) 脳組織の検索

実験終了後、動物はペントバルビタール麻酔下で10%ホルマリン-生食水にて灌流固定、脳組織はゼラチン包埋し、60  $\mu\text{m}$  の厚さに切片を作製、一枚おきにクレシルバイオレットで染色した。

### 結 果

#### 1) 脳の組織学的検索

新生児期に脳破壊を行ったラットでは、中脳正中中部で前方は滑車神経核より後方は背側被蓋核の前方部に至る間でさまざまな破壊像を呈した。破壊部の大きさはおよそ1.8mm(左右)、4mm(腹背方向)、2.5mm(前後方向)であった。したがって、背側縫線核はほぼ完全に破壊されており、さらに次の各部の破壊が認められた。中心灰白質、上丘および下丘の正中背側部、正中従束、側背部被蓋核である。破壊例によっては、滑車核が損傷を受けていた。すべての例で、背側縫線核の後部が背側被蓋核のレベルで残っており、また、内側縫線核は全く損傷なく残存していた(図1)。一方、偽手術群では中脳水道の拡大以外はほとんど破壊像は認められなかった(図2)。

#### 2) 4~6週齢ラットの活動リズム

図3に破壊ラットと偽手術ラットの代表的ペアの活動パターンを示した。双方のラットとも明らかに明期と暗期の差を示した。しかし、明期では破壊ラットの活動量は偽手術ラットのそれよりも大きいように見える。破壊ラット群と偽手術群の明期での運動量の平均を比較すると統計的有意差をもって破壊群の運動量が増加していた(図4)。しかし、暗期または24時間の運動量では有意な差は認められなかった。

明期における破壊ラットの運動量の増大が明期の特定の時間帯に認められるか否かを検討するために、各個体の運動量の1日の分布を30分ごとに求め、各30分ごとに占める割合の平均から図5のごときヒストグラムを作

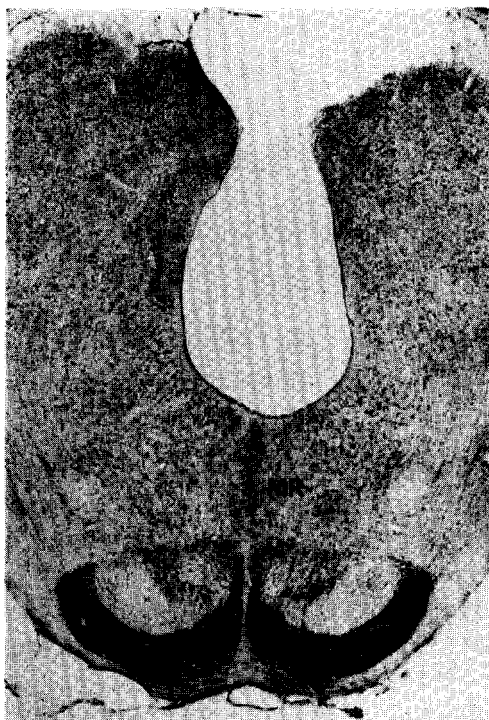


図1 破壊ラットの中脳断面組織図。背側縫線核は完全に除かれているが、内側縫線核は正常のまま残っている。

製した。1500~1530h, 1800~1830h, 1830~1900hの3つの時間帯において破壊群の平均が偽手術群のそれを大きく上まわったが、統計的な有意差は得られなかった。

#### 3) 4~6週齢ラットの飲水リズム(図6)

暗期における飲水量および1日の総飲水量は破壊群が偽手術群に比べ有意に低下していた。これに反し、明期では破壊ラットの飲水量が有意に増大した。両群とも明暗各期で明らかな飲水量の差があり、本来あるべきリズムは保たれていた。

#### 4) 5カ月齢ラットの飲水リズム

図7に示すように偽手術ラットでは明瞭な正常リズムが5日間にわたって明らかに観察された。一方、破壊ラットの飲水リズムは乱れており、明期の摂水量は日によって大きく変化した。明暗各期の5日間の平均摂水量を比較すると、破壊ラットのそれは明期では有意に増加し、暗期では有意に減少した。

明暗逆転後、新しい明暗サイクルに同調した摂水リズムが、明暗各期で統計的に有意差を示すまでに要する日数は偽手術群が2日であったのに対し、破壊群では4日と長かった。

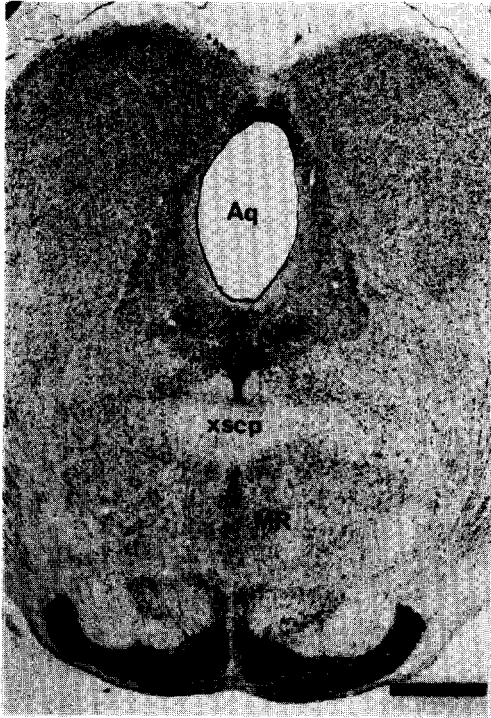


図2 偽手術対照ラットの中脳断面組織図。Superior cerebellar peduncle のレベルで切断してある。中脳水道がわずかに拡大している以外は中脳組織は正常である。DR: 背側縫線核, MR: 内側縫線核。スケールは1mmをあらわす。

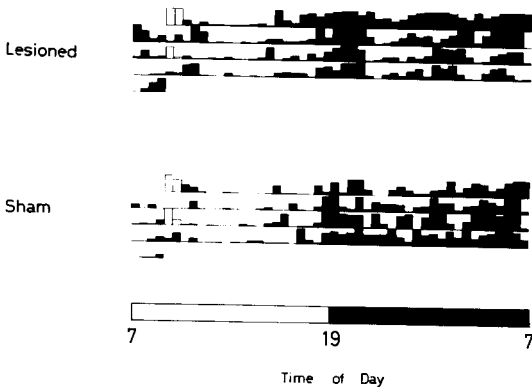


図3 4～6週齢破壊ラットと偽手術対照ラットの代表的ペアの運動量のサーカディアンパターン。ペアの動物の行動量は明暗交代下で同じ場所で同時に記録した。記録は離乳後2週間4日間連続して行った。2台のオートメックスの感度の差の影響を除くために記録第3日目にオートメックスを交換した。活動量は30分ごとに記録し、ヒストグラムとして表わしている。白棒、黒棒はおのおの明暗各期を表わす。

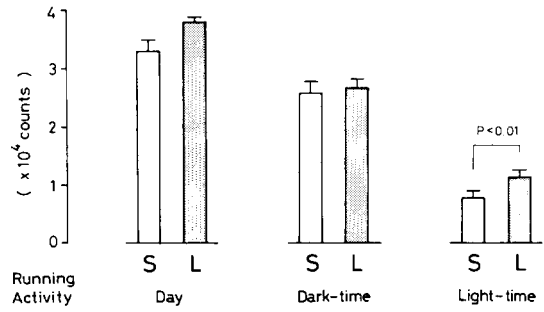


図4 4～6週齢破壊ラット(陰影)および対照ラット(白)の行動量の比較。24時間の運動量と暗期の運動量には両群で差はないが、明期には破壊ラットは対照ラットに比べ運動量は有意に増加している。SおよびLは対照群、破壊群を示す。

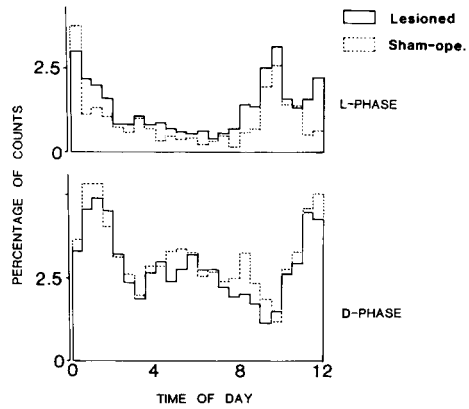


図5 4～6週齢破壊ラット(実線)および対照ラット(点線)の平均行動量の24時間パターン。各ラットにおいて1日活動総量に対する各30分ごとの運動量の割合を求め、その平均をヒストグラムで示した。

### 5) 5カ月齢ラットの cortisol リズム

明暗に同調した明らかな cortisol リズムが破壊群、偽手術群のいずれにも認められた。リズムの位相に関しても、振幅に関しても両者の間で有意の差は認められなかった。最小二乗法により求めた頂点位相<sup>15)</sup>の平均は破壊群0846h、対照群0811hであった。

### 考察

本実験により活動リズム、摂水リズムなどのサーカディアンリズムは新生児期に背側縫線核を破壊したラットでも出現することが明らかにされた。しかし、4～6週齢で計測したリズムは偽手術対照群に比べ、その振幅が小さくなった。活動リズムの場合には、明期の活動量が

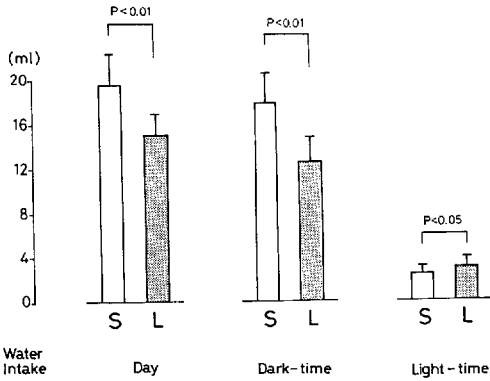


図 6 4～6週齢破壊ラット（白）と対照ラットの飲水量の比較。破壊ラットの1日総摂水量と暗期の摂水量は有意に低く、明期は逆に有意に高い。

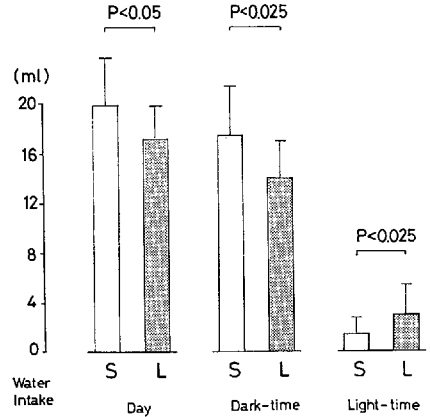


図 8 5カ月齢ラットにおける中脳破壊ラットと偽手術ラットの飲水量の比較。白は対照群、陰影は破壊群を示す。破壊ラットの1日総摂水量と暗期の摂水量は有意に低く、明期は逆に有意に高い。

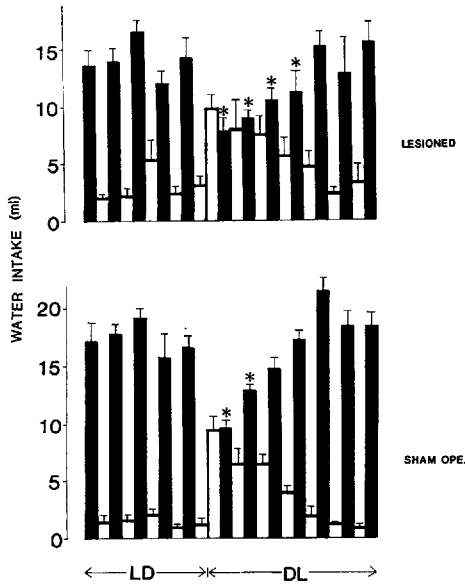


図 7 5カ月齢、中脳破壊ラット（上段）と偽手術ラット（下段）の飲水量の昼夜差。明暗おのおの12時間ごとの飲水量を12日間にわたって計測した。5日目に明期を24時間にして、明暗を逆転せしめた。その後、ひきつづいて7日間明暗逆転下での飲水量の測定を行った。白棒は明期、黒棒は暗期、それぞれの飲水量を示す。星印は、明暗各期の飲水量に統計的有意差のないもの。

増大することがその原因であり、飲水リズムは明期での飲水量増大に加え、暗期の減少もみられた。

これらの事実は背側縫線核から由来するセロトニン系ニューロンはサーカディアンリズムの発現には不可欠の

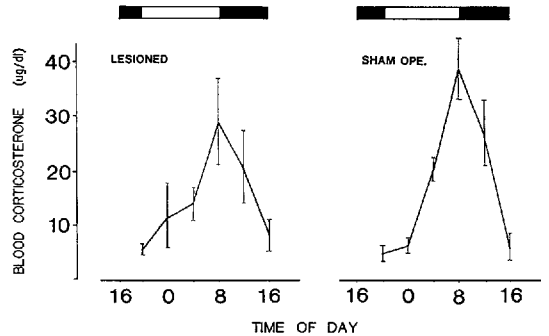


図 9 5カ月齢ラットにおける血中コルチコステロンリズムの比較。左側は破壊群、右側は対照群を示す。

ものではないが、正常リズムが完全に発達を遂げるためにはなんらかの関与があることを示唆している。

さらに、活動量の増大が明暗交代に先きだって認められたことは、破壊ラットは偽手術ラットに比べ明暗に同調されにくい。いいかえれば、背側縫線核を含む中脳背側部が明暗の同調へも関与している可能性を示唆するものである。

近年、Szafarczyk らは、手術的にまたは神経毒を用いてセロトニン系ニューロンを破壊し、ACTH とコルチコステロンの分泌、および活動量のサーカディアンリズムへの影響を観察している。彼らは5、6-ジハイドロキソトリプタミン投与後、24時間の総活動量が増大すること、とくに明期の活動量が増大するために明暗期の活動量の比が小さくなることを報告した<sup>16)</sup>。Kam and

Moberg は内側および背側縫線核を除去すると輪まわし行動量の日内分布が変化し明期の活動量の比率が増大することを示した<sup>17)</sup>。われわれは1日の運動総量が増大することは認めなかったが、明期における活動量が増大し、明暗期の比率が小さくなるという点で上記の2報告と一致した結果を得た。

しかしながら、Kam and Moberg は活動の日内分布が変化するためには内側縫線核を破壊することが必須であると主張している。彼らは背側縫線核のみの破壊では輪まわし活動にはほとんど影響を与えないことを報告している。さらに Jacobs ら<sup>18)</sup> は背側縫線核のみの破壊したラットに比べ、内側縫線核を破壊したラットでは活動量が有意に増大することを示した。Sebro and Lorens ら<sup>19)</sup> も縫線核破壊後、各回15分の運動量計測を2回にわたって行い、背側縫線核破壊のみを行ったラットに比べ、内側縫線核破壊を行ったラットでは明らかな運動量の増大を認めている。

これらの報告とは異なり、われわれの今回の研究では内側縫線核を全く傷害せずに残し、背側縫線核を含む中脳背側部を破壊したラットで運動量および摂水量のリズムに変化がみられることが明らかであった。この相違はおそらく破壊手術時のラットの年齢によるものであろう。これまでの報告はすべて成熟ラットであり、今回のわれわれの実験では2日齢あるいは5日齢の新生児ラットを用いた。未熟な発達段階にあるラットへの外科的侵襲はより大きい効果をひき起こすであろうし、また傷害部位が大きいこともその一因かも知れない。この問題を解決するためには背側縫線核のみを限局的に破壊する方法の開発が必要であろうし、また、新生児ラットの内側縫線核破壊実験も必要となろう。

飲水リズムの振幅の減少は5カ月齢ラットでも観察された。偽手術対照群と比べ、破壊ラット群では明期の飲水量は増加し、暗期の飲水量は減少した。この事実は新生児期の破壊は恒久的な不可逆性変化をもたらすことを示している。

このようなわれわれの所見とは反対に、Kam and Moberg<sup>17)</sup> は、縫線核破壊後のリズムの変化は術後2週間で正常化することを示した。われわれの所見と彼らの得た結果が異なる理由は明らかではない。しかし、前述したように、手術施行時の動物の年齢が関与しているのではなかろうか。

5カ月齢のラットでは破壊群も偽手術対照群も明暗に同調したコルチコステロンリズムが明らかに認められた。リズムの振幅および位相角に有意な差はみられなかった。縫線核破壊の副腎皮質活動リズムへの影響は現在のところ議論のあるところである。縫線核の外科的破壊

実験では正常なリズムが保たれるという報告もあれば<sup>10, 11, 20)</sup>、平均レベルや振幅が増大していることを認めるものもある<sup>9, 18)</sup>。現段階では、このように報告に差がある理由は不明であるが、われわれの実験成績では背側縫線核は副腎皮質の活動リズムには関与していないことが示唆された。

明暗を逆転したさいに、飲水リズムが新しい明暗サイクルへ同調するために要する日数には破壊ラットと偽手術対照ラットとの間に差が認められた。この差が有意のものであるか否かは明らかではなく、破壊ラットの方が対照ラットよりも再同調により長時間を要するという結論は早急にすぎよう。しかし、破壊ラットは再同調に偽手術群の倍の日数を要したこと、また、4～6週齢の破壊ラットの運動リズムの分布が、この動物の明暗への同調性が弱いことを示唆していたことから、破壊された中枢部位が同調機構になんらかの関連をもつ可能性があることが考えられる。

これらの点については今後さらに詳しい検討が必要である。

## 文 献

- 1) 瀬川昌也：自閉症児の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。
- 2) Stephan, F.K. and Zucker, I.: Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 69: 1583-1586, 1972.
- 3) Ibuka, N. and Kawamura, H.: Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. Brain Res., 96: 76-81, 1975.
- 4) Inouye, S.T. and Kawamura, H.: Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 5962-5966, 1979.
- 5) Moore, R.Y., Halaris, A.E. and Jones, B.E.: Serotonin neurones of the mid-brain raphe ascending projections. J. Comp. Neurol., 180: 417-438, 1978.
- 6) Scapagnini, U. and Preziosi, P.: Role of brain norepinephrine and serotonin in the tonic and phasic regulations of hypothalamo-hypophysial adrenal axis. Arch. Int. Pharmacodyn., Suppl. 196: 205-220, 1972.
- 7) Harrington, R.J., Scapagnini, U. and Moberg, G.P.: Diurnal plasma B after raphe and septal lesions. J. Anbim. Sci., 37: 313-314, 1973.
- 8) Balestrery, F.G. and Moberg, G.P.: Effect of midbrain raphe nuclei lesions on the circadian

- rhythm of plasma corticosterone in the rat. *Brain Res.*, 118: 503-508, 1976.
- 9) Szafarczyk, A., Ixart, G., Malaval, F., Nougui-er-Soule, J. and Assenmacher, I.: Effects of lesions of the suprachiasmatic nuclei and p-chlorophenylalanine on the circadian rhythms of adrenocorticotrophic hormone and corticosterone in the plasma and on locomotor activity of rats. *J. Endocrinol.*, 83: 1-16, 1979.
  - 10) Krieger, D.T.: Effect of intraventricular neonatal 6-OH-dopamine or 5, 7-dihydroxytryptamine administration on the circadian periodicity of plasma corticosteroids levels in the rat. *Neuroendocrinology*, 17: 62-74, 1975.
  - 11) Rosztejn, W.H., Beaudet, A., Roberge, A.C., Lalonde, J. and Fortier, C.: Role of the brain serotonin in the circadian rhythms of corticosterone secretion and the corticotropic responses to adrenalectomy in the rat. *Neuroendocrinology*, 23: 157-170, 1977.
  - 12) Sasaki, Y., Murakami, N. and Takahashi, K.: Critical period for the entrainment of the circadian rhythm in blinded pups by dams. *Physiol. Behav.*, 33: 105-109, 1984.
  - 13) Takahashi, K., Hanada, K., Kobayashi, K., Hayafuji, C., Otani, S. and Takahashi, Y.: Development of the circadian adrenocortical rhythm in rats: Studied by determination of 24- or 48-hour patterns of blood corticosterone levels in individual pups. *Endocrinology*, 104: 954-961, 1979.
  - 14) Murphy, B.E.P.: Some studies of the protein-binding of steroids and their application to the routine micro and ultramicro measurement of various steroids in body fluids by competitive protein-binding radioassay. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 27: 973-990, 1967.
  - 15) Sasaki, T.: Analysis for cyclicity. In: *Chronobiology* (in Japanese), (Sasaki, T. and Chiba, Y. eds.), Tokyo, Asakura Shoten, 1978, pp. 312-332.
  - 16) Szafarczyk, A., Alonso, G., Ixart, G., Malaval, F., Nougui-er-Soule, J. and Assenmacher, I.: Serotonergic system and circadian rhythms of ACTH and corticosterone in rats. *Am. J. Physiol.*, 239: E 482-E 489, 1980.
  - 17) Kam, L.M. and Moberg, G.P.: Effect of raphe lesion on the circadian pattern of wheel running in the rat. *Physiol. Behav.*, 18: 213-217, 1977.
  - 18) Jacobs, B.L., Wise, W.D. and Taylor, K.M.: Differential behavioral and neurochemical effects following lesions of the dorsal and medial raphe nuclei in rats. *Brain Res.*, 79: 353-361, 1974.
  - 19) Srebro, B. and Lorens, S.A.: Behavioral effects of selective midbrain raphe lesions in the rat. *Brain Res.*, 89: 302-325, 1975.
  - 20) Scapagnini, U., Gerendai, I., Clementi, G., Fiore, L., Marchetti, B. and Prato, A.: Role of brain monoamines in the regulation of the circadian variation of activity of some neuroendocrine axes (Assenmacher, I. and Farner, D.S. eds.), *Environmental Endocrinology*, Springer-Verlag, Berlin, 1978, pp. 137-143.

### abstract

## Effect of Midbrain Lesion in Newborn Rats on the Development of the Circadian Rhythm

*Kiyohisa Takahashi, Kazutaka Shimoda, Naoto Yamada, Yukiko Sasaki and Shinji Hayashi*

To investigate the relationship between serotonergic system and development of the circadian rhythm, we made destruction of dorsal region of midbrain including dorsal raphe nuclei in neonatal rat pups.

#### **Midbrain destruction of new born rats**

Female rats of Sprague-Dawley strain, which have been acclimated more than one month in an air-conditioned and light controlled animal facility (room temperature:  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ ; light on at 0700 h and off at, 1900 h), were mated with vigo-

rous males at proestrous night.

Female pups were subjected to destruction of dorsal midbrain region, including dorsal raphe nuclei at 2 or 5 days of age, the day of birth being referred to day 1, by thermocoagulation by radiofrequency current with an aid of soft X-ray stereotaxy.

The newborn rats were anesthetized in crushed ice and fixed on a rubber-based holder with insect pins. The pups' head was positioned between soft X-ray tube and videocamera, so that

its calcified bones could be recognized on the videoscreen. The stereotaxic 0 point was defined in the center of the cartilage connecting basiophenoidal and basiooccipital bones, when these two bones were maintained in a horizontal plane. The electrode tip was placed at the proper position in reference to the superimposed scales on the screen: the parameters used for the electrode tip were at the midline, 0.5 mm posteriorly and 3.0 mm dorsally to the stereotaxic 0 point for 2-day-old pups while 0.5 mm and 3.5 mm, respectively for 5-day-old pups.

Radiofrequency current was supplied from a lesion generator (Radionics, RGF 4) with an electrode of 0.75 mm in diameter, whose tip temperature was monitored by a thermister equipped inside. The tip temperature was maintained at 65°C for 60 sec. As sham operation, the same electrode was inserted into the same position in the brain, but no current was passed. Immediately after recovery from the operation, the pups were returned to their dams. Some male pups were sacrificed, leaving each dam with 10 pups. They were weaned at 22 days of age and females and males were separated. They were kept in group cages until the determination of the rhythms was started.

The survival rates were examined at weaning referring to the age of the brain operation. In the rats which have received midbrain lesioning or sham operation at 2 days of age, 3/18 (16.7%) and 6/8 (75%) have been survived, respectively, while in those given brain operation at 5 days of age, 7/8 (87.5%) and 4/6 (66.7%) have been survived, respectively.

In neonatally lesioned rats, brain histology revealed that various midbrain structure at the midline from trochlear nucleus level anteriorly to anterior part of the dorsal tegmental nucleus level posteriorly were destroyed. The ablated area was roughly as large as 1.8, 4 and 2.5 mm for lateral, dorsoventral and rostrocaudal directions, respectively. Thus, anterior part of dorsal raphe nucleus was destroyed almost totally. Moreover, the following structures which are located at these levels have received extensive damages: e.g. central grey and medio-dorsal part of superior and inferior colliculi, medial longitudinal fasciculus, laterodorsal tegmental nucleus. In some cases, trochlear nucleus was almost damaged. In all cases posterior part of dorsal raphe nucleus at dorsal tegmental nucleus level and medial raphe nucleus remained intact. On the other hand, sham operated rats had little destruction in the midbrain except slight expansion of cerebral aqueduct.

#### **Locomotor activity in 4-6 week-old-pup**

When the pups attained to 4~6 weeks of age, locomotor activity was measured by Automex (Columbus, OH) units. Counts of locomotion were printed out every 30 min. Locomotion was continuously recorded for 4 days in each pup. As only two Automex units were available, the recording was done on one pair of sham operated and lesioned pup at one time.

Both sham operated and lesioned pups manifested clear dark-light difference in locomotor activity. However, during light period locomotor activity of lesioned pup seems to be greater than that of sham operated one. A distinct difference in locomotor activity was observed during light period between the two groups, although there was no significant difference either during dark period or a 24 h time period. To investigate if there was specific period in the light phase during which activity of lesioned pup exceed that of sham operated one, distribution of activity over 24 h was examined. Although 3 epochs during the light phase (1500 h~1530 h, 1800~1830 h, and 1830~1900 h) activity of lesioned pups was greater than that of sham operated pups, the difference was not statistically significant.

#### **Water intake**

Water intake during light and dark phase was determined directly by means of volumetric pipettes, as previously described. After sealing the tip of pipettes with Parafilm the pipette was placed, so that the open mount was inside the animal cage. Rats ingested water by licking the mount of the pipette. In the case of young pups, light-dark difference of water consumption was measured for consecutive 2 days. On the other hand, in case of adult rats light-dark difference was determined consecutive 5 days and then the measurement was continued for 7 days after the light-dark cycle was reversed, to observe if there was any difference in the period required for re-entrainment of the drinking rhythm between sham operated and lesioned rats.

In the case of 4~6 week-old pups, water intake of sham operated pups exceeded that of the lesioned one in both dark phase and a 24 h time period. Contrary to this, during light phase water intake of lesioned pups was larger than that of the sham operated ones. In both groups light-dark difference in water consumption was evident. In the case of 5-month-old rats, in sham operated rats a clear and normal circadian rhythm was evident throughout the observation period before the reversal of light-dark cycle. On the other hand, in lesioned rats mean amount of water intake during the dark phase decreased and that during the light period increased, com-

pared to the sham operated rats. In lesioned rats the light-dark difference in mean water intake considerably varied from day to day.

When the light-dark cycle was reversed, a significant difference in water intake between light and dark periods emerged in 2 days in sham operated rats, while it took 4 days for lesioned rats.

#### **Blood corticosterone levels**

Blood corticosterone rhythm was determined in both sham operated and lesioned rats at 5 months old. Blood was sampled at 6 points a day with 4h intervals by tail tip incision method. Corticosterone was assayed by the protein binding method by Murphy with a minor modification.

An overt circadian corticosterone rhythm entrained to the light-dark cycle was clearly observed in both sham operated and lesioned rats. As to either phase or amplitude, no significant difference was observed between the two groups. Mean acrophases determined by the least square spectrum analysis was 0811h in lesioned and 0846h in sham operated rat group. Although the mean of peak value tended to be higher in control rats ( $36.2 \pm 5.3 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ) compared to the lesioned rats ( $27.2 \pm 5.2 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ ), the difference was not statistically significant.

#### **Conclusion**

The present study demonstrated that overt circadian rhythms of locomotor activity and water consumption clearly manifest in the rats which have received destruction in dorsal midbrain area including dorsal raphe nucleus at 2 or 5 days of age. However amplitude of the rhythms determined at 4~6 weeks of age was smaller in lesioned pups. In case of locomotor activity, this is accomplished by increase in activity during the light phase in lesioned rats. Activity of lesioned rats during the light phase tended to increase

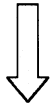
near the light-dark or dark-light transition compared to sham operated pups suggested that lesioned pups were less effectively entrained to the lighting cycle. In other words, the region ablated is possibly involved in the entraining mechanism of the circadian system to light-dark cycle. In case of water intake, suppressed amplitude was more evident than that of locomotor activity rhythm. Water consumption increased during the light phase and decreased during the dark phase in the rats given lesioning neonatally compared to sham operated ones.

These facts suggested that serotonergic system provided by dorsal raphe nucleus is not essential for the manifestation of the circadian rhythm. However, for the rhythm to fully develop, this system may be necessary.

Suppressed amplitude of drinking rhythm was still observed in adult rats 5 month after the ablation of dorsal midbrain area. Compared to water intake of sham operated rats, that of lesioned rats during the light or dark phase was significantly larger or smaller, respectively. This fact suggested that lesion made during neonatal period caused a permanent change in circadian overt rhythm such as drinking rhythm.

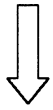
The period required for re-entrainment of drinking rhythm differed between sham and lesioned rats. In sham operated rats significant light-dark difference in water intake was observed in 2 days after reversal of lighting cycle, while it took 4 days for lesioned rats to attain it. It seems to be premature to conclude that lesioned rat takes more time to re-entrain to the new lighting cycle, because light-dark difference in water intake was irregular in this group, as compared to sham operated rats. However, it would be possible to suggest that the serotonergic system may be involved in the re-entrainment of the circadian rhythm.





## 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



小児自閉症ではサーカディアンリズムの異常が存在することが指摘されており,それがセロトニン系の障害と関連することが示唆されている 1)。

このサーカディアンリズムの成立には視交叉上核が重要な役割を演じていることが,ヒトを除く哺乳動物で明らかにされている。これまで多くの研究により,げっ歯類では視交叉上核破壊後にサーカディアンリズムがひきつづき存続することはないことが確立されている 2-4)。視交叉上核に関してもう 1 つの重要な点はこの核がセロトニン作動系の支配を受けているという点である 6)。このセロトニン系神経路は主として中脳の縫線核に起源している。これらの事実をもととして,縫線核の手術的破壊ないしはセロトニン作動系の薬物による破壊実験がこれまで精力的に行われてきている 6-11)。

しかしながら従来行われてきた研究はすべて成熟ラットを対象としたものである。それゆえ新生児期に与えた損傷が後の種々のリズムの発現にいかに関与するかを観察することは興味深いことであり,また,小児自閉症にみられるリズムの異常の出現機序の解明の一助となることも考えられる。

本研究では生後 2 日あるいは 5 日目のラットの中脳背側部を熱破壊し,離乳後 1~3 週目および 5 ヶ月齢に達したさいに,活動量,飲水量,血中コルチコステロンなどのリズムの観察を行い,縫線核破壊のサーカディアンリズム発達への影響を観察した。