

# サーカディアンリズムの生後発達の解析

## — 周期的授乳制限の影響 —

高橋清久\*      下田和孝\*  
山田尚登\*      花田耕一\*

### はじめに

生体内計時機構は先天的に備わっており<sup>1,2)</sup>、また、胎生期または生下後間もなくから作動していることが知られているが<sup>3,22)</sup> どのような因子が生後のリズムの個体発生に影響を及ぼすかは論争の的である。

Takahashi らはこれまでに生母とリズムの逆転した育母が盲目仔ラットのリズムを同調しうることを示してきた<sup>28-31)</sup>。これらの事実は出生後の養育過程において、仔ラットの内因性リズムに対して母親が同調因子として働いていることを示唆している。さらに、Smith と Anderson は母親および同胞との接触を断ち、人工飼育した仔ラットでは明瞭なリズムが認められないと報告している<sup>25)</sup>。

一方、Hiroshige らは Takahashi らと同様の方法で親子交換実験を行い育母の“Scatter effect”を報告し、育母は仔ラットのリズムの位相を一時的に修飾するが、内因性計時機構に本質的影響を与えないと結論した<sup>6)</sup>。Deguchi は松果体の N-acetyltransferase (NAT) 活性の日内リズムを指標にとり、同様に親子交換実験を行い、生母と逆転したリズムをもつ育母に育てられた場合の仔ラットの NAT リズムの位相は、生母により近いと報告した。しかしながら、その仔ラットの NAT リズムは生母に比べて3時間の差があり、生母、育母ともに仔ラットのリズム位相決定に影響すると結論した<sup>4)</sup>。一方、Reppert らは、妊娠中に生母と逆転した照明条件で飼育した育母に恒常暗条件下で、ラットを育てさせ、仔ラットのリズムを観察した。その結果、仔ラットの育母に対する反応には3つのタイプがあり、一定しないと

報告した<sup>21)</sup>。

これらの矛盾した結果は実験条件の差にもよるが、育母の同調因子としての力価の低さもその一因と考えられる。その問題を解決するためには母親が同調因子としてより強く作用する条件が必要である。そこでわれわれは生母が盲目仔ラットに接触する時間を暗期または明期に制限すること、すなわち periodic maternal deprivation (PMD) を行い、母親がより強く同調因子として働くことを期待した。

一般に、明期は母親が授乳を行う時期と考えられており<sup>14,15)</sup> 明期みに母親を接触させることは通常の哺育パターンの周期性をより強調させることになる。また、接触を暗期みに制限すると、哺育パターンは通常とは逆転したものとなる。この PMD は生母と逆転したリズムをもつ育母を、24時間仔ラットに接触させた場合よりも強い同調因子となるものと思われる。われわれはこの PMD を授乳期のいろいろな時期に行い、以下の問題点について検討した。

a) 生後に母親側の同調因子によって仔ラットのリズムは影響を受けるか? b) もし影響を受けるとすれば、それは一時的なものであるか否か? c) 生母のリズムと逆転したリズムをもつ育母に比べて PMD の同調因子としての強さは? d) PMD を行う時期の違いによって効果に差はあるか?

### 方法

48匹の Wistar 系ラット (オス:16, メス:32) を購入し、LD 条件 (明期:0800-2000h, 暗期:2000-0800h) 下で交配させた。温度  $25.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、湿度  $50.0 \pm 0.5\%$  とほぼ一定に保った。妊娠を確認した後、妊娠ラットは個別のケージで飼育した。飲水、摂食には制限を加えなかった。

仔ラットは出生日 (この日を生後第1日とする) に即

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

日、両側眼球摘出を行った。母親は盲目としなかった。同腹仔ラットはそれぞれ2つのグループ (L群, D群) に分け、前述の照明条件下にて飼育し、生後第22日に離乳し、その後、恒常明条件 (LL 条件) にて飼育した。

PMD は生母を L, D 群間で0800 h と2000 h に移動させることによって行った。図1は21日間の授乳期のう

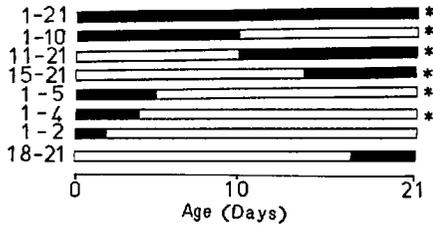


図1 Schematic presentation of schedule of periodic maternal deprivation (PMD) study. Each asterisk along the right edge of the figure represents effective PMD schedule.

ち、PMD を行った時期を示した。

各仔ラットは2000, 0800h に体重を計測した。

指標とする内因性リズムとして血中コルチコステロン (CS) リズム, および飲水リズムを離乳後、数週にわたって観察し、その自由継続のパターンを検討した (その予定については表1に示した)。

各リズムの観察は以下のように行った。尾部切開法<sup>27)</sup>にて4時間ごとに血液を採取、Murphy の protein binding assay 法<sup>18)</sup>を一部改変し、血中 CS レベルを測定し、CS リズムを観察した。Intra- および interassay variance はそれぞれ CV=8.9~10.1% および 18.5~21.1%であった。飲水量の測定は50 ml プラスチック製チューブにボール弁付マウスピース (CL-2746-2; Nihon CLEA) をつけ、それを水で満たし、4時間ごとにその重さを測定した。2回の測定値の差を時間あたりの飲水量とした。

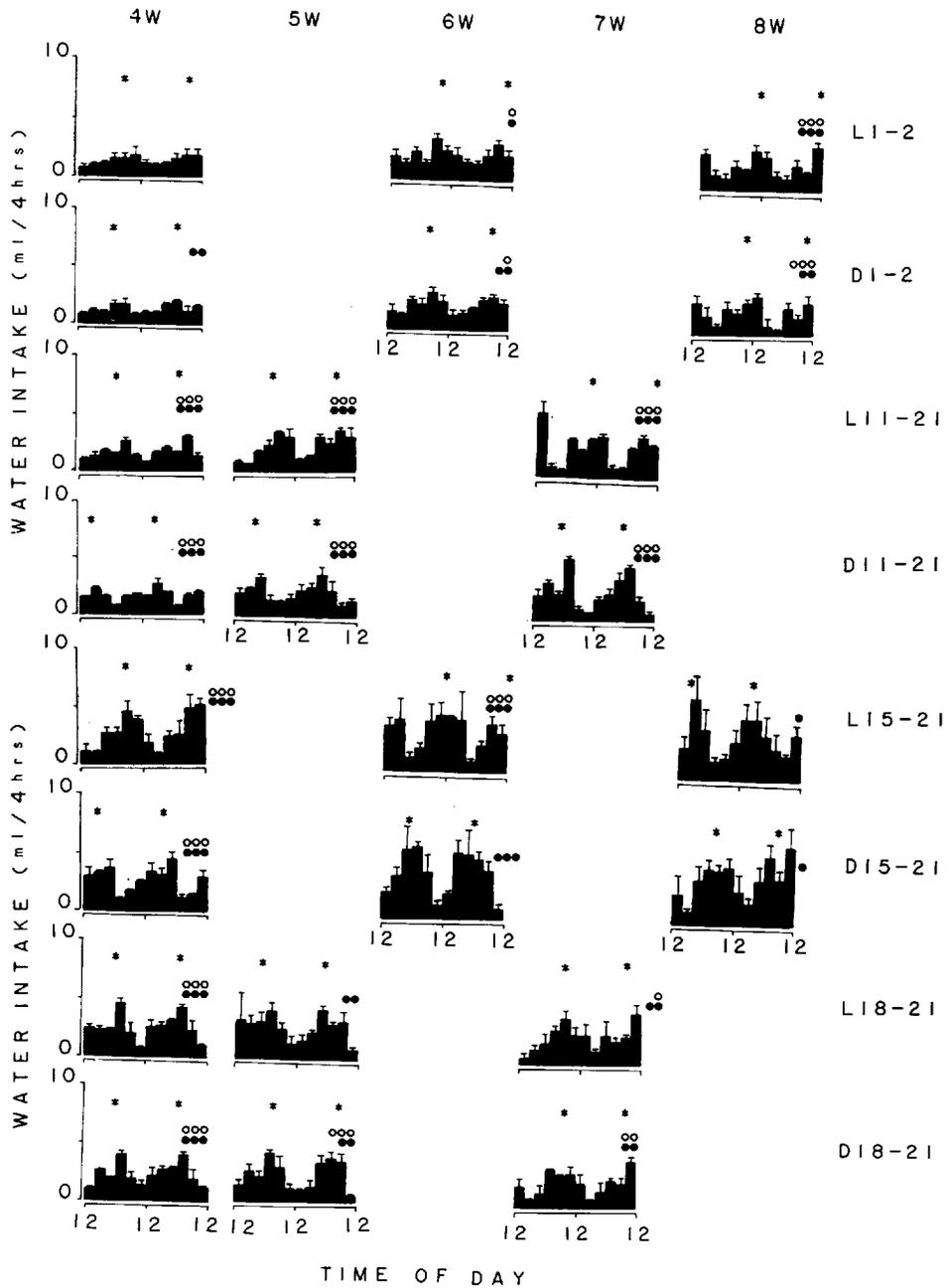
グループとして有意なリズムがあるか否かの判断は次

表1 Schedule of determination of blood corticosterone and water intake rhythms (\*: water intake, +: blood sampling). Numbers in parenthesis represent the number of animals in each group.

PMD	Week after birth				
	4 W	5 W	6 W	7 W	8 W
Control (L, D=6)	*	*	*		
1-21 (L, D=6)	+*	+*	+*		
1-10 (L, D=6)	*	*	+	*	
1-5 (L=6, D=5)	*		*		*
1-4 (L, D=6)	*		*	+	*
1-2 (L, D=6)	*		*	+	*
11-21(L=5, D=6)	*	*	+	*	
15-21 (L, D=6)	*		*		*
18-21 (L, D=4)	*	*	+	*	

表2 Increase in body weight (g) during the nursing period in blinded pups subjected to PMD from day 1 to day 21. Asterisk indicate significant levels of the difference in body weight (\*\*\*\*: P<0.001, \*\*: P<0.01, \*: P<0.05). NS means no significance in the difference.

Age (days)		0800 h			2000 h		
		8	14	20	5	15	21
L 1-21	Mean	9.36	17.46	28.25	9.05	20.54	32.69
	SE	0.37	0.75	0.76	0.27	0.77	1.13
D 1-21	Mean	11.64	23.29	34.25	8.57	23.47	36.01
	SE	0.58	1.06	2.17	0.25	1.15	2.51
	t-test	**	****	*	NS	*	NS



2 Two day patterns of water intake in blinded rat pups subjected to PMD. Each thick and thin bar represents the mean with SE of water intake determined every 4 hr in each pup group. Each asterisk indicates the acrophase of the rhythm. Numerals on the right edge of illustration represent the lighting condition of mother's access period and time of PMD during the nursing period and age in week studied is shown on the upper edge. Significant difference over time analyzed by ANOVA are shown by blank circles (○ ○ ○:  $p < 0.005$ , ○ ○ ○:  $p < 0.01$ , ○ ○ ○:  $p < 0.05$ ). Significant difference between the lowest and the highest mean each day tested by paired t-test are represented by filled circles (● ● ●:  $p < 0.005$ , ● ● ●:  $p < 0.01$ , ● ● ●:  $p < 0.05$ ). Note the difference in acrophase between L-and D-groups.

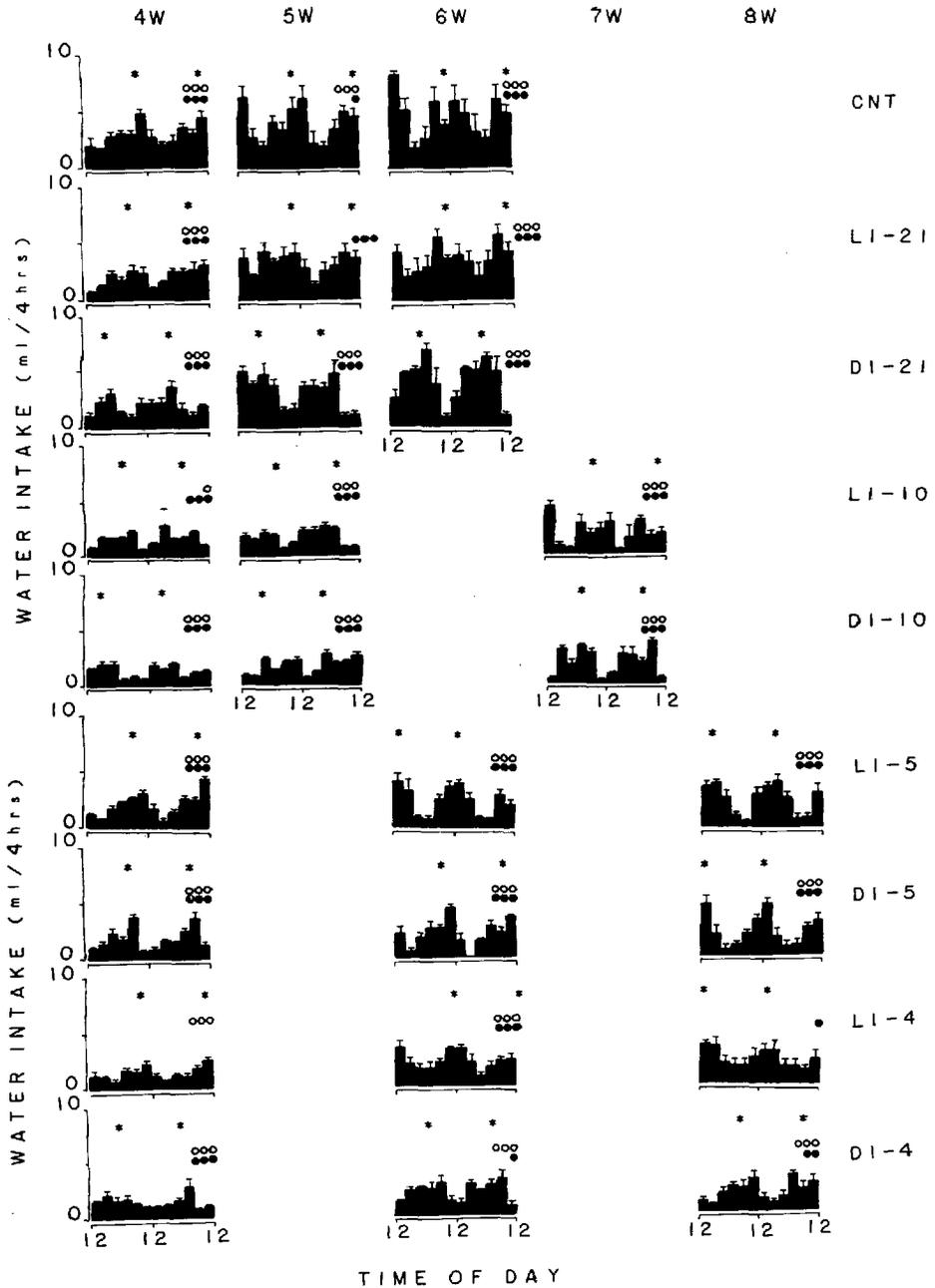


図 3 Two day patterns of water intake in blinded rat pups subjected to PMD. Refer to the legend of Fig. 2 for more details.

の基準に従った。a) 時間軸に関する分散分析または1日のうちで平均値の最大値および最小値間で有意差がみられること(後者については paired t-test によって検定した)。b) 飲水量, CS 値とも48時間にわたって観察し, 前半24時間の最小平均值と後半24時間の最小平

均値が同時刻 $\pm$ 4時間に起こることとした。各個体の頂点位相は最小二乗法<sup>23)</sup>によって求めた。2つのグループ間の頂点位相および体重の差については Student's t-test によって検定した。

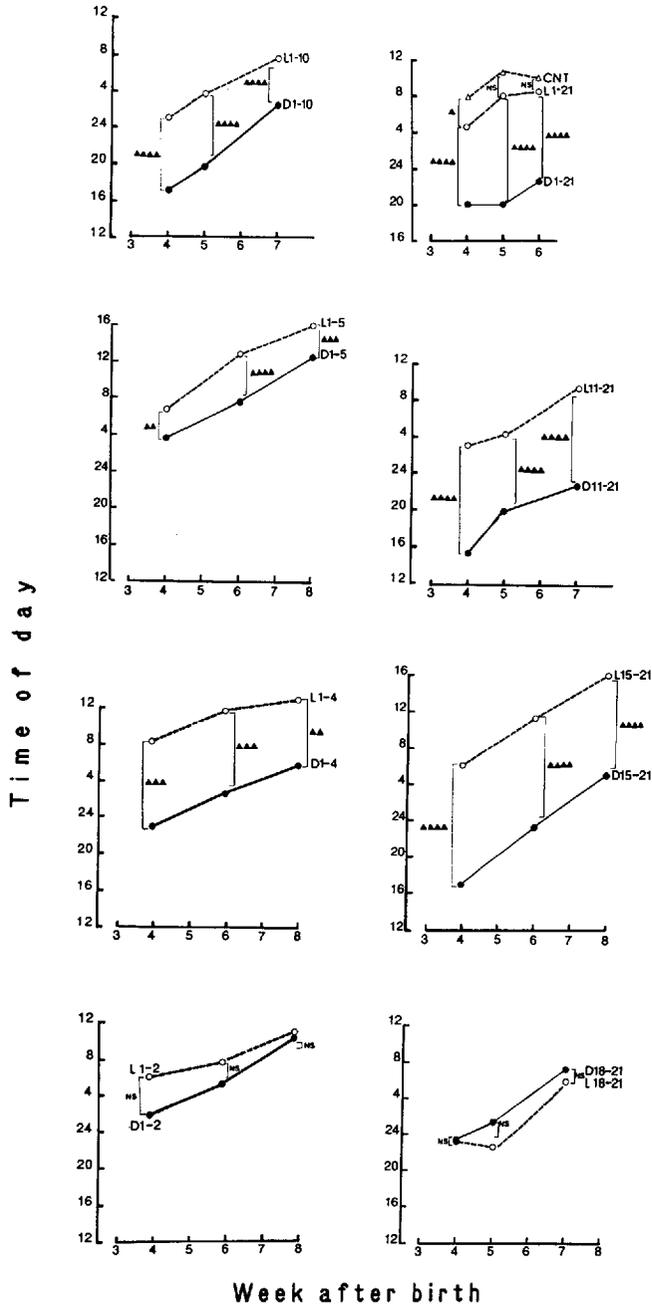


图 4 Phase shift pattern of acrophase of drinking rhythm in blinded rat pups subjected to PMD. Ordinate and abscissa show the acrophase in time of the day and weeks after birth of pups, respectively. Numerals on the right edge of each charts identify the lighting condition of mother-accessing period and periods of periodic mother deprivation. Statistical difference in acrophase between L- and D-groups tested by Student's t-test are shown by filled triangles (▲▲▲▲:  $p < 0.001$ , ▲▲▲:  $p < 0.005$ , ▲▲:  $p < 0.01$ ). NS means no statistical significance in the phase angle difference.

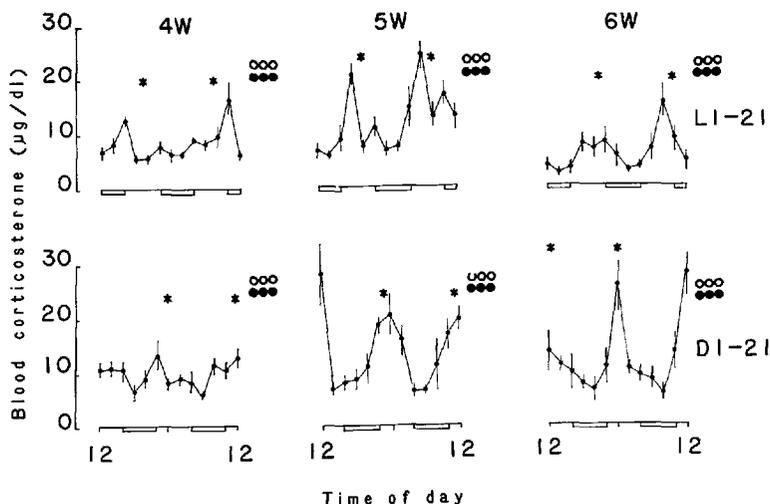


図5 Forty-eight hour patterns of blood corticosterone levels in blinded rat pups subjected to PMD from day 1 to day 21. Numerals on the upper edge of illustration identify weeks after birth. The patterns of blood corticosterone of L1-21 and D1-21 group are illustrated in the upper and lower rows of the figure, respectively. The time of day when pups had access to the mother are shown by the blank bars along abscissa. Each asterisk indicates the acrophase of the rhythm. Significant differences over time analyzed by ANOVA are represented by blank circles (○○○:  $p < 0.005$ ). Significant difference between the lowest and the highest mean each day were tested by paired t-test are shown by filled circles (●●●:  $p < 0.005$ ). Note the difference in patterns of corticosterone rhythm between the two groups.

## 結果

表2は盲目仔ラットに対してPMDを生後第1日から第21日まで行った場合の授乳期における体重増加を示した。おおむね授乳期を通して、D1-21群はL1-21群よりも体重は重かったが、生後第21日の2000hに両群の体重に有意な差はなかった(以下PMDを行った期間については母親の接触した時期を示すD、Lのあとの数字で示した)。

図2および3は授乳期のいろいろな時期にPMDを行った場合の生後第4週から第8週における飲水行動の48時間のパターンを示したものである。すでに生後第4週においてL1-2群以外のすべての群で有意なリズムが観察された。生後第5、6、7、8週においてもすべての群で有意なリズムが認められ、週を重ねるに従ってその振幅は増大した。対照群とL1-21群はそのリズムの位相がほぼ一致していたのに対して、L1-21群とD1-21群の間では逆転した位相関係が認められた。PMDを生後、第1日から第10日、第1日から第5日、第1日から第4日、第11日から第21日、第15日から第21日まで行っ

たそれぞれの場合で、L群とD群の間で逆転した位相関係が認められた。それに対して、PMDを生後第1日から第2日、第18日から第21日まで行ったそれぞれの場合にはL群とD群とは同位相であった。

図4は各グループの飲水リズムの頂点位相の移動パターンを示したものである。L、D群間の前述の位相関係は明らかである。生後第4、5、6週におけるL1-21群とD1-21群間の頂点位相の差は統計学的に有意であった。その各グループで2週間(生後第4から6週)で2から4時間の頂点位相の後方移動が認められた。L、D群間で頂点位相に統計学的に有意差が認められたのはPMDを生後第1日から第21日、第1日から第10日、第1日から第5日、第1日から第4日、第11日から第21日、第15日から第21日まで行ったそれぞれの場合であった。この結果は図1に要約して示した。

図5はPMDを生後第1日から第21日まで行った場合の生後第4、5、6週におけるL、D群の血中CSレベルの48時間の変動パターンである。L1-21群は生後第4週において前半24時間と後半24時間で最小平均値の認められた時刻が±4時間を越えていたので、方法で示した

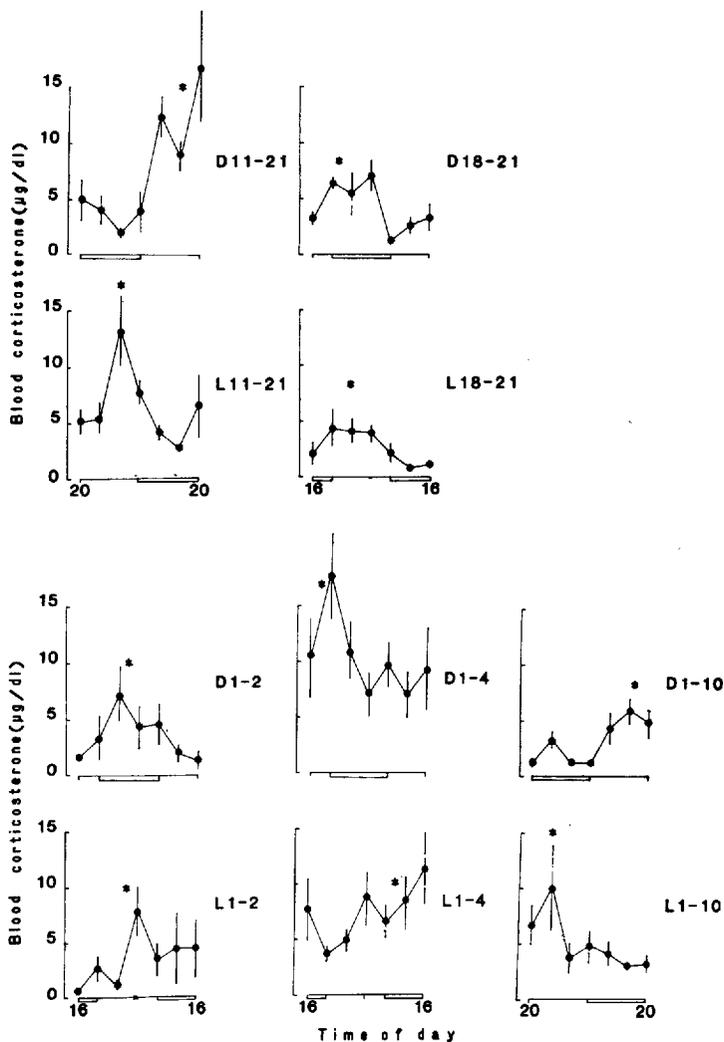


図 6 Twenty-four hour patterns of blood corticosterone levels in blinded rat pups subjected to PMD. Refer Table 1 to identify the week of age studied.

基準を満たさず有意なリズムが認められなかった。それに対して、D1-21群ではその振幅は小さいものの、生後第4週においてすでに有意なリズムが認められた。一方、生後第5、6週においては両群ともに有意なリズムが認められた。その頂値はD1-21群では1200hころに認められ、L1-21群では0400hころに認められた。すなわち、L1-21群、D1-21群間では逆転した位相関係のCSリズムが認められた。図6はPMDを生後第1日から第2日、第1日から第4日、第1日から第10日、第11日から第21日、第18日から第21日まで行ったそれぞれ場合の生後第6または7週(表1参照)における血中CSレベルの24時間の変動パターンである。PMDを生後第

1日から第4日、第1日から第10日、第11日から第21日まで行ったそれぞれの場合で、L、D群間で逆転した位相関係が認められたが、生後第18日から第21日、第1日から第2日まで行ったそれぞれの場合には、L群とD群はほぼ同位相を示した。この結果は飲水リズムの観察で認められた所見と一致する。

### 考 察

本実験では、生母が盲目仔ラットの飲水リズムおよびCSリズムを生後に同調しえることを示した。また、これらのリズムを2週から4週間にわたって観察したところ、リズムの一定方向への自由継続が認められ(後方移

動), PMD という操作が内因性リズムを同調したことも明らかである。仔ラットのリズムを PMD によって同調するには授乳期全体にわたって PMD を行う必要はなく, 授乳期前半では 4 日間, 後半では 7 日間で十分であった。このことは授乳期前半と後半で仔ラットの生後の母親の影響に対する感受性が異なることを示している。

D および L1-21 群では, ほぼ授乳期全般を通して D1-21 群のほうが L1-21 群よりも体重が重かった。このことは D 群の仔ラットが通常とは逆転した哺乳パターン, すなわち暗期に哺乳するパターンを早期に獲得したことが示唆される。しかしながら, 離乳時に L1-21 群と D1-21 群の間に体重の差が認められなかったことから, L1-21 群と D1-21 群との間に認められた逆転した位相関係は L1-21 群と D1-21 群が授乳期に受けた栄養の差によるものではないことが示唆される。

これまでに生母を用いて PMD を行った実験に関する論文は 2 編あるが互いに矛盾した結果を報告している。Hiroshige らは盲目仔ラットに対して PMD を行ったが, 仔ラットのリズムの位相に本質的影響を与えなかったと報告している<sup>7)</sup>。というのは, PMD を行った場合, D 群は生後第 4 週の CS リズムの位相は 3 つのタイプが認められるが, そのような現象は一時的であったという。それに対して, Miyabo らは PMD を施した盲目仔ラットでは CS リズムの頂値は授乳の時期に認められると報告している<sup>17)</sup>。

われわれが予想したように PMD は生母と逆転したリズムをもつ育母よりも, 内因性リズムに対して強い同調因子となりえることが示された。というのも Sasaki らの報告にみられるように生母と逆転したリズムをもつ育母に盲目仔ラットを育てさせた場合, リズム同調に重要な時期は生後第 4 日から第 10 日であるが<sup>24)</sup>, PMD の場合, 生後第 4 日から第 15 日であった。いいかえれば, 生後第 15 日に開始した 7 日間の PMD が盲目仔ラットの内因性リズムに影響を与えたのに対して, 生後第 10 日以降に始めた生母—育母の親子交換は無効であった。このことは, myelination の進んだ授乳期後半<sup>16)</sup>でも脳内の同調に関する責任部位の可塑性を残していることが示唆される。また, 授乳期前半の最初 4 日間という短い PMD によっても, 盲目仔ラットの内因性リズムは影響を受けた。このことからまだ脳の発達が未熟な授乳期前半<sup>16)</sup>でも同調責任部位は十分に感受性があると考えられる。

近年, Fuchs と Moore<sup>5)</sup> および Reppert と Schwartz<sup>22)</sup> はラットの胎生期および新生児期の視床下部の視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus: SCN) の計時機構について 2-deoxy-(<sup>14</sup>C)-glucose の SCN への取り込みを用いて検討した。とくに, 後者は胎生期のラットの SCN が

すでに活動を始めており, その活動リズムは母親の計時機構を通して, 外界の照明条件に同調していることを示した。また, Honma らはラットの CS リズムの基底にある時計の中核は胎生期にすでに母親の計時機構によって同調されていることを報告した<sup>8)</sup>。

よって, PMD を施した D 群のラットは胎生期にすでに母親によって同調されていたものが PMD によって, “re-entrain” され, 対照群のラットとは逆転したリズムを示したものと考えられる。

母親から伝達されるどのような因子が仔ラットリズムの同調に重要かについては不明であるが, いくつかの可能性があげられる。その 1 つは母親の授乳行動である。というのも制限給餌 (RF) が内因性リズムを同調しえるという多くの報告<sup>10, 11, 13, 19, 26)</sup>があるからである。しかしながら, Takahashi らの RF による同調は一時的であるという報告<sup>28)</sup> ゲッ歯類の内因性リズムの中核といわれている SCN を破壊したラットでも RF によってリズムが同調しえること<sup>12)</sup>, ラット SCN の multiple unit activity の概日リズムが RF によって同調しえないこと<sup>9)</sup> から摂食の制限 (PMD の場合, 授乳の制限) によって内因性計時機構は影響を受けないことが示唆される。本実験では, 飲水リズムおよび CS リズムは一定方向への自由継続 (後方移動) が認められ, PMD による内因性リズムの同調がされたことは明らかである。したがって, 食餌としての授乳が仔ラットの母親による同調の主たる因子であることには疑問が残る。その他の因子としては milk 内に存在し, 経時的にその濃度の変化する特殊な物質が同調因子として作用しているという可能性である。たとえば, そのような物質の候補としてメラトニンがあげられる。メラトニンの一定時刻の反復投与はラットの概日リズムを同調しえる<sup>20)</sup>。また, 母親が仔ラットを抱いたり一個所に集めたり, 便や尿の排泄を促すためになめたりする母性行動も重要な同調因子かもしれない。これらの可能性の解析には, なおいっそうの検討が必要である。

## 文 献

- 1) Aschoff, J. and Meyer-Lohmann, J.: Angeborene 24-Stunden-Periodik beim Kücken. Pflügers Arch., 260: 170-176, 1954.
- 2) Aschoff, J.: Tagesperiodik beim Mäusestamm unter konstanten Umgebungsbedingungen. Pflügers Arch., 262: 51-59, 1955.
- 3) Boulos, B., Rosenwasser, A.M. and Terman, M.: Feeding schedules and the circadian organization of behavior in the rat. Behav. Brain Res., 1: 39-65, 1980.
- 4) Deguchi, T.: Ontogenesis of a biological clock

- for serotonin: acetyl coenzyme A N-acetyltransferase in pineal gland of rat. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 72: 2814-2818, 1975.
- 5) Fuchs, J. L. and Moore, R.Y.: Development of circadian rhythmicity and light responsiveness in the rat suprachiasmatic nucleus: A study using 2-[1-<sup>14</sup>C] glucose method. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 77: 1204-1208, 1980.
  - 6) Hiroshige, T., Honma, K. and Watanabe, K.: Possible Zeitgebers for external entrainment of the circadian rhythm of plasma corticosterone in blind infant rats. *J. Physiol.*, 325: 507-519, 1982.
  - 7) Hiroshige, T., Honma, K. and Watanabe, K.: Prenatal onset and maternal modifications of the circadian rhythm of plasma corticosterone in blinded infantile rats. *J. Physiol.*, 325: 521-531, 1982.
  - 8) Honma, S., Honma, K., Shirakawa, T. and Hiroshige, T.: Maternal phase setting of fetal circadian oscillation underlying the plasma corticosterone rhythm in rats. *Endocrinology*, 114: 1791-1796, 1984.
  - 9) Inouye, S.T.: Restricted daily feeding does not entrain circadian rhythms of the suprachiasmatic nucleus in the rat. *Brain Res.*, 232: 194-199, 1982.
  - 10) Johnson, J.T. and Levine, S.: Influence of water deprivation on adrenocortical rhythms. *Neuroendocrinology*, 11: 268-273, 1973.
  - 11) Krieger, D.T.: Food and water restriction shifts corticosterone, temperature, activity and brain amine periodicity. *Endocrinology*, 95: 1195-1201, 1974.
  - 12) Krieger, D.T., Hauser, H. and Krey, L.C.: Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. *Science*, 197: 398-399, 1977.
  - 13) Krieger, D.T.: Rhythms in CRF, ACTH and corticosteroids. In: *Endocrine rhythms* (Krieger, D.T. ed.), Raven Press, New York, 1979, pp. 123-142.
  - 14) Lee, M.H.S. and Williams, D.I.: A longitudinal interaction in the rats: The effects of infantile stimulation, diurnal rhythm, and pup maturation. *Behaviour*, 63: 241-261, 1977.
  - 15) Levine, R. and Stern, J.M.: Maternal influences on ontogeny of suckling and feeding rhythm in rats. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 89: 711-721, 1975.
  - 16) MacIlwain, H. and Bachelard, H.S.: Chemical and enzymic make-up of the brain during the development. In: *Biochemistry and the central nervous system*, 4th edition, London, Churchill, 1971, pp. 406-444.
  - 17) Miyabo, S., Yanagisawa, K., Ooya, E., Hisada, T. and Kishida, S.: Ontogeny of circadian rhythm in female rats: Effects of periodic maternal deprivation and food restriction. *Endocrinology*, 106: 636-642, 1980.
  - 18) Murphy, B.E.P.: Some studies of protein-binding of steroids and their application to routine micro and ultramicro measurement of various steroids in body fluids by competitive protein binding radioassay. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 27: 973-990, 1967.
  - 19) Nelson, W., Scheving, L. and Halberg, F.: Circadian rhythms in mice fed a single daily meal at different stages of lighting regimen. *J. Nutr.*, 105: 171-184, 1975.
  - 20) Redman, J., Armstrong, S. and Ng, K.T. Free running activity rhythms in the rat: Entrainment by melatonin. *Science*, 219: 1089-1091, 1983.
  - 21) Reppert, S.M., Coleman, R.J., Heath, H.W. and Swedlow, J.R.: Pineal N-acetyltransferase activity in 10-day-old rats: A paradigm for studying the developing circadian system. *Endocrinology*, 115: 918-925, 1984.
  - 22) Reppert, S.M. and Schwartz, W.J.: Maternal coordination of fetal biological clock in utero. *Science*, 220: 969-971, 1983.
  - 23) Sasaki, T.: Analysis of cyclicity. In *Chronobiology* (in Japanese) (Sasaki, T. and Chiba, Y. eds.) Tokyo, Asakura Shoten, 1978, pp. 312-332.
  - 24) 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.
  - 25) Smith, G.K. and Anderson, V.: Effects of maternal isolation on the development of activity rhythms in infant rats. *Physiol. Behav.*, 33: 751-756, 1984.
  - 26) Sulzman, F.G., Fuller, C.A. and Moore-Ede, M.C.: Feeding time synchronizes primate circadian rhythms. *Physiol. Behav.*, 18: 775-779, 1977.
  - 27) Takahashi, K., Hanada, K., Kobayashi, K., Hayafuji, C., Otani, S. and Takahashi, Y.: Development of circadian rhythm in rats: studied by determination of 24- or 48-hour patterns of blood corticosterone levels in individual pups. *Endocrinology*, 104: 954-961, 1979.
  - 28) Takahashi, K., Hanada, K. and Takahashi, Y.: Factors setting the phase of adrenocortical rhythm in rats. In *biological rhythms and their central mechanism* (Suda, M., Hayashi, O. and Nakagawa, H. eds.), Amsterdam: Elsevier/North-Holland, 1979, pp. 233-245.
  - 29) Takahashi, K., Hayafuji, C. and Murakami, N.: Foster mother rat entrains circadian rhythm in blinded rat pups. *Am. J. Physiol.*, 243 (Endocrinol. Metab. 6): E443-E449, 1982.
  - 30) Takahashi, K. and Deguchi, T.: Entrainment



of the circadian rhythms of blinded infant rats by nursing mothers. *Physiol. Behav.*, 31: 373-378, 1983.

- 31) Takahashi, K., Murakami, N. Hayafuji C. and Sasaki, Y.: Further evidence that circadian

rhythm of blinded rat pups is entrained by the nursing dams. *Am. J. Physiol.*, 246 (Regulatory Integrative Comp. Physiol. 15): R 359-363, 1984.

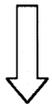
#### abstract

### Postnatal Development of the Circadian Rhythms in the Rat Pup: Effect of Periodic Maternal Deprivation

*Kiyohisa Takahashi, Kazutaka Shimoda, Naoto Yamada and Koichi Hanada*

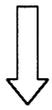
It has been well known that circadian clock mechanism is inborn nature and that the oscillation of the clock starts during fetal stage or the early phase of infant age. However, the postnatal influence of mothers on the pups' endogenous rhythm as an entrainer seems to be still a matter of debate. To study the possibility and potency of the maternal factors for entrainment, access of the natural mother of which pups were optically enucleated on the day of birth (day 1) was restricted to either light phase (L-group) or the dark phase (D-group) for various durations beginning on various days during the nursing period (i.e. Periodic maternal deprivation: PMD). Drinking rhythm of both of L-and D-groups were determined once per one or two weeks between the 4th and 8th postnatal week. The corticosterone

rhythm was determined to confirm the results obtained by the measurement of water intake. Both rhythms were clearly observed by 5 weeks of age, and a reversed phase relationship was observed even when PMD was performed for a short period during days 1-4 or days 15-21. On the other hand, no phase angle difference was observed between L-and D-groups, when pups were periodically exposed to their original mother either during days 1-2 or days 18-21. These facts indicate that periodic exposure to mother can set the phase of the blinded pups' rhythm and that the period required for entrainment of the rhythm is as short as 4 or 7 days in the early or late times during the nursing period respectively, showing the high potency of PMD in entraining the circadian rhythm of blinded pups.



## 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



はじめに

生体内計時機構は先天的に備わっており(1・2),また,胎生期または生下後間もなくから作動していることが知られているが(5・22)どのような因子が生後のリズムの個体発生に影響を及ぼすかは論争の的である。

Takahashi らはこれまでに生母とリズムの逆転した育母が盲目仔ラットのリズムを同調しうることを示してきた(28-31)。これらの事実は出生後の養育過程において,仔ラットの内因性リズムに対して母親が同調因子として働いていることを示唆している。さらに,Smith と Anderson は母親および同胞との接触を断ち,人工飼育した仔ラットでは明瞭なリズムが認められないと報告している(25)。

一方,Hiroshige らは Takahashi らと同様の方法で親子交換実験を行い育母の "Scatter effect" を報告し,育母は仔ラットのリズムの位相を一時的に修飾するが,内因性計時機構に本質的影響を与えないと結論した(6)。Deguchi は松果体の N-acetyltransferase(NAT)活性の日内リズムを指標にとり,同様に親子交換実験を行い,生母と逆転したリズムをもつ育母に育てられた場合の仔ラットの NAT リズムの位相は,生母により近いと報告した。しかしながら,その仔ラットのリズムは生母に比べて3時間の差があり,生母,育母ともに仔ラットのリズム位相決定に影響すると結論した(4)。一方,Reppert らは,妊娠中に生母と逆転した照明条件で飼育した育母に恒常暗条件下で,ラットを育てさせ,仔ラットのリズムを観察した。その結果,仔ラットの育母に対する反応には3つのタイプがあり,一定しないと報告した(21)。

これらの矛盾した結果は実験条件の差にもよろうが,育母の同調因子としての力価の低さもその一因と考えられる。その問題を解決するためには母親が同調因子としてより強く作用する条件が必要である。そこでわれわれは生母が盲目仔ラットに接触する時間を暗期または明期に制限すること,すなわち periodic maternal deprivation(PMD)を行い,母親がより強く同調因子として働くことを期待した。

一般に,明期は母親が授乳を行う時期と考えられており(14・15)明期のみ母親を接触させることは通常の哺育パターンの周期性をより強調させることになる。また,接触を暗期のみ

に制限すると、哺育パターンは通常とは逆転したものとなる。この PMD は生母と逆転したリズムをもつ育母を、24 時間仔ラットに接触させた場合よりもより強い同調因子となるものと思われる。われわれはこの PMD を授乳期のいろいろな時期に行い、以下の問題点について検討した。

a) 生後に母親側の同調因子によって仔ラットのリズムは影響を受けるか? b) もし影響を受けるとすれば、それは一時的なものであるか否か? c) 生母のリズムと逆転したリズムをもつ育母に比べて PMD の同調因子としての強さは? d) PMD を行う時期の違いによって効果に差はあるか?