

グルタミン酸モノナトリウム投与新生児雌ラットにおけるコルチコステロン日周リズムの発現について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9100

グルタミン酸モノナトリウム投与新生児雌ラットにおける コルチコステロン日周リズムの発現について

金沢大学医学部内科学第三講座 (主任: 服部絢一教授)

山 村 至

(昭和58年12月14日受付)

新生児雌ラットにおけるコルチコステロン日周リズムの発現を検討するために3日齢から10日齢までグルタミン酸モノナトリウム (monosodium glutamate, 以下MSGと略) を体重1gあたり3.5mgを0.1mlの生理食塩水に溶解し毎日皮下注射しMSGラットを作成した。ラットは明暗交代下(点燈8時~20時)で飼育した。コントロール群として10%食塩水を体重1gあたり0.1ml同じ期間皮下注射した。コルチコステロン日周リズムの測定は, 21, 28, 35, 56, 120日齢に尾尖切開部より同一個体で6時間毎24時間ないし48時間の反復採血10 μ lを行った。MSG群もコントロール群も21日齢には明暗サイクルに完全に同調した有意なコルチコステロン日周リズムを認め, 28日齢以後はしだいに振幅を増した。両群間には有意差はなかった。次に35日齢に4時間毎24時間採血完了後ただちに眼球摘出を行い, 術後3週, 5週目に前記の採血スケジュールに従ってコルチコステロン日周リズムを観察した。この結果は両群ともコルチコステロン日周リズムがフリーランし, 内因性のリズムであることを示した。しかしフリーランリズムの周期はMSG群で短縮していた。120日齢にラットを解剖した。MSG群は成長障害, 肥満, 下垂体重量減少, 副腎萎縮, 卵巣萎縮, 子宮の萎縮がみられた。脳の組織学的検索では, 弓状核と視神経に著明な障害が認められたが, 他の視床下部諸核には明らかな変化はみられなかった。しかし, 連続脳切片でコンピュータ付プランメーターを用いて視床下部諸核の容積を測定すると, MSG群ではコントロール群に比し, 弓状核は23%, 視交叉上核は80%の容積で, 弓状核ばかりでなく, 視交叉上核にも有意な容積減少が認められた。これらの結果は, 弓状核のニューロンは視交叉上核から下垂体へのコルチコステロン日周リズムの伝達に一次的な役割を果たしていないと考えられ, 新生児期MSG投与ラットにおいて軽度ではあるが有意な視交叉上核の萎縮がみられたことはコルチコステロンのフリーランリズムの周期の短縮(位相の遅れ)に関与している可能性があることを示唆している。

Key words Circadian rhythm, Corticosterone, Hypothalamus, Arcuate nucleus, Monosodium glutamate

地球の環境は, その自転により24時間を単位として変化し, 多くの生体機能は, その影響を受けており, 副腎皮質ホルモン分泌にも, 振幅, 位相, 周期の3要素をもった日周リズムがあることは周知の事実である。ラットにおいては, 早朝に底値, 夕刻に頂値を呈するコルチコステロン(corticosterone, 以下CSと略)日周リズムが認められる¹⁾²⁾。この日周リズムは, 明暗, 摂食などの外部因子(同調因子)には同調するが, 恒常暗-自由摂取などの恒常条件下では, 24~25時間の

個体固有の周期でフリーランすることから, 内因性の日周リズムと考えられる³⁾。

CS分泌に日周リズムがあるのは, 視床下部 corticotropin releasing factor (以下CRFと略)産生, 放出のリズム, 下垂体細胞のCRFに対す感受性リズム, 下垂体ACTH分泌リズム, 副腎皮質細胞のACTH感受性リズム, 副腎皮質におけるCS産生リズムの総合された結果と考えられる⁴⁾⁵⁾。

ラットにおいては, 視床下部-下垂体-副腎系の日

Ontogeny of Circadian Corticosterone Rhythm in Female Rats Neonatally Treated with Monosodium Glutamate. **Itaru Yamamura**, Department of Internal Medicine (III), (Director: Prof. K. Hattori), School of Medicine, Kanazawa University.

周リズムは、生後3～4週に発現し、視床下部での第一の自律発振機構(生物時計)は、Mooreら⁹⁾の破壊実験以後、視床下部前部にある視交叉上核(suprachiasmatic nucleus, 以下SCNと略)であると考えられるようになった^{7,8)}。SCNから正中隆起(median eminence, 以下MEと略)への神経伝達網は、直接連絡するものと、弓状核(arcuate nucleus, 以下ARCと略)を経由するものとが既に証明されている⁹⁾⁻¹²⁾。性周期の調節におけるARCの重要性^{7,13)}が承認されていることに比較して、視床下部-下垂体-副腎系の日周リズムにおけるARCの役割は、それほど知られていない。ARCおよび脳室近傍核を電気破壊すると、ストレスに対するCSの反応は阻害されないが、CSの日周リズムが失われるという報告¹⁴⁾がある。また、新生児ラットの視床下部に、コーチゾンアセテート(cortisone acetate, 以下CAと略)を埋入すると、CS日周リズムの発現遅延が生じ、この影響は、視床下部前部にCAを埋入した時より、ARCに密着させた内側底部に埋入した時の方が強いという報告¹⁵⁾から、ARC付近がCS日周リズムの伝達路である可能性が示唆されるが、伝達路の局在は明らかにされていない。

最近、新生児ラットにグルタミン酸モノナトリウム(monosodium glutamate, 以下MSGと略)を投与すると、中枢神経系とりわけARC、網膜視神経に限局した影響を与え、数多くの内分泌、代謝、行動上の異常を呈することが報告¹⁶⁾⁻²⁴⁾されている。このようなMSGの神経毒性の特徴は、その部位特異性ととも、細胞体およびシナプスは障害するが、そこを通過する軸索は障害しない点にあり、CS日周リズムの伝達路上におけるARCの意義を検討するのに有用と考えられる。しかし、MSG投与ラットにおける視床下部-下垂体-副腎系についての研究は少なく、またCS日周リズムについての報告もない。

本研究はSCNに発する日周リズムの伝達路上に示めるARCの意義を知る目的で、MSG投与ラットの臓器重量、血中CS日周リズム、眼球摘出後のフリーランリズムおよび視床下部諸核の容積測定を行い、新たな知見を得たので報告する。

材料および方法

I. 実験動物

Sprague-Dawley系成熟妊娠ラットを、出産予定日の1週間前に静岡実験動物より購入した。室温24±0.5°C、湿度60%の外部より隔離された部屋で、8時～20時が明、20時～8時が暗の12時間毎の人工照明下で、オリエンタル固型資料(粗蛋白24.5%、粗灰分6.6%、粗脂肪4.5%、粗繊維4.0%、炭水化物52.4%、

水分8.0%、100g中348.1Cal)と水道水を自由摂取させて飼育した。ケージはウレア製の不透明ケージを用い、おがくずを敷き使用した。出産日を毎朝チェックし、24時間以内に雌の仔ラットのみを選びだし、1腹あたり5匹～7匹のlitterを作製し、実験動物として、この新生児Sprague-Dawley系雌ラットを用いた。

II. 新生児期MSG皮下注射の影響

1. MSGの投与方法

出産日を1日齢とし、(1)3日齢から10日齢(第1群、n=11)、(2)3日齢から7日齢(第2群、n=12)の2群にわけ、MSG(Sigma)3.5mgを0.1mlの生食に溶解し、体重1gあたり0.1mlずつ毎日仔ラットの背側皮下に注射し、MSG群とした。コントロール群(n=12)として、MSG溶解液と等張の10%食塩水を体重1gあたり0.1ml、第1群と同様3日齢から10日齢まで毎日皮下注射した。22日齢に離乳し、1ケージあたり2匹～3匹の群居飼育を行った。

2. 血中CSの測定

血中CSのパターンをみるために、21日齢、28日齢、35日齢、56日齢、120日齢の8時、14時、20時、2時の各6時間毎に連続48時間にわたり、個々のラットの尾尖より採血した。ただし56日齢と120日齢は24時間のみとした。

ラットの尾部の血管部位にカミソリで切開を加え、マイクロピペット(ACCU-FILL 90, Beton, Dickinson Co.)で10μl採血し、200μlの蒸留水に溶解させ、ただちに-20°Cで凍結保存した。採血はストレスの影響を考慮して、30秒以内に完了した。凍結保存した材料は後日室温に放置し、融解後全血のまま、Gomez-Sanchezら²⁵⁾の方法に準じたラジオイムノアッセイ法(radioimmunoassay法、以下RIA法と略)で全血CS血中濃度を測定した^{15,16)}。測定はすべてduplicateで行った。この方法のintra-assay変動係数は朝と夕のプールした試料でそれぞれ6.3%と5.4%であり、intra-assay変動係数は9.6%である。

3. 臓器重量測定と視床下部諸核の組織学的検討

120日齢の採血完了後、体重、体長(鼻尖から臀部の先端まで、naso-anal length)、尾長の測定を行い、次の式からLee's index²⁷⁾を算出した。

$$\text{Lee's index: } \sqrt[3]{\text{Body weight in g/naso-anal length}}$$

ひき続き、ネンプタノール麻酔下で開胸し、下行大動脈を鉗子でクリップし、心臓の左心室に10%ホルマリン・バッファーを注入しながら脳組織を灌流固定し、組織標本を作成した。下垂体(ホルマリン固定されたもの)、副腎、卵巣、子宮の湿重量をメトラ(Mettler, ME-22)にて測定した。脳切片を作成し、cresyl violet

と luxol fast blue 染色をほどこし、視床下部諸核の組織標本を作成した。

III. 眼球摘出の影響

1. 眼球摘出の方法

上述の実験の第1群と同様の方法で、MSG 溶解液あるいは10%食塩水を皮下注射し、35日齢(眼球摘出後0週)の血中CS測定のための採血完了直後に、両眼球を眼科用ハサミを用いて摘出し、眼窩部にコロジオン液を塗布して盲目ラットを作成した。

2. 血中CSの測定

MSG 投与群 (n=16) とコントロール群 (n=10) を56日齢(眼球摘出後3週)と70日齢(眼球摘出後5週)とに、8時、12時、16時、20時、0時、4時の各4時間毎に連続24時間採血を行い、RIA法で血中CSを測定した。

3. 視床下部神経核の容積測定

新生児期に食塩水もMSG溶解液も投与せず、22日齢に離乳し、眼球摘出をしない無処置(インタクト)群(n=10)、新生児期の3日齢から10日齢まで10%食塩水を体重1gあたり0.1mlずつ毎日皮下注射し、35日齢に眼球摘出をしたコントロール群(n=10)、同様の方法でMSG溶解液を注射し、眼球摘出をしたMSG群(n=14)、の3群について実験した。およそ120日齢に、先に述べた方法で脳を取り出し、厚さ60μmの連続切片を作成し、cresyl violet と luxol fast blue 染色を施した。視床下部諸核のうちSCN、腹内側核(ventromedial hypothalamic nucleus, 以下VMHと略)、ARCをコンピュータ付プランメーターで計測し、これらの核の容積(V:×10⁶μm³)を、隣接切片間の距離(h=120μm)と各々の切片の核の面積(S)から次の式より算出した。

$$V = \frac{h}{3} \sum_{a=1}^n \left(S_a + S_{a+1} + \sqrt{S_a \times S_{a+1}} \right)$$

この計測は、triplicateとし、その平均値を解析に用いた。

IV. 統計処置と日周リズムの判定

CS日周リズムのグループデータについては、経時的変化の有意性を一元配置分散分析法(ANOVA法)、頂値と底値の差の有意差をNewman-Keuls法で検定した²⁸⁾。

個々のラットでのCS日周リズムの判定は、Wilsonら³⁾のものを参考にして、Miyaboら²⁹⁾の変法を用いた。すなわち、(1)頂値が2日とも20時か2時である、(2)頂値と底値の振幅がコントロール群のもの平均±2×標準偏差の範囲内にある、(3)連続した2日間で各時間の値に正の相関がある、(4)その相関係数がコントロール群での平均±2×標準偏差の範囲内にある。以

上のうち24時間採血では(1)と(2)、48時間採血では(1)から(4)の全てを満たすものを日周リズムがあると判定した。なお採血の1日目の8時の値は、ストレスの影響が強い可能性もあり、除外して判定した。体重、臓器重量はDunnettの検定²⁸⁾を用い、MSG投与群とコントロール群とのフリーランの位相のずれはMann-WhitneyのU検定を行った。視床下部諸核の容積には、T検定と一部Aspin-Welch検定²⁹⁾を行った。

成 績

I. 新生児期MSG皮下注射の影響

血中CS日周リズム

血中CS日周リズムの発達の様子は図1に示す通り、コントロール群、MSG-第1群および第2群いずれも、21日齢において低値ながらも20時に頂値をもつ有意(p<0.01)な日周リズムが出現した。以後28日齢、35日齢、56日齢、120日齢と頂値はしだいに振幅をましていった。またMSG-第1群と第2群の間では日周リズムに差は認められなかった。

個々のラットでCS日周リズムの有無を前述した判定基準にもとづき検討したところ、コントロール群において、21日齢に判定基準を十分みさなかつた2例を除き、12例のうち10例において日周リズムが観察された。判定基準をみさなかつた2例は、その後も日周リズムの発現はみられなかった。MSG群においては、21日齢に判定基準をみさなかつたのは、第1群では11匹中1匹、第2群では12匹中1匹であった。しかし28日齢以後は、MSG-第1群、第2群ともすべてのラットに定型的な日周リズムが出現してきた。

2. 臓器重量と視床下部諸核の組織学的検討

120日齢での剖検の体重、Lee's index、下垂体、副腎、卵巣、子宮の各臓器重量(体重100gあたり)を表1に示した。体重は、コントロール群243.4±13.8、MSG-第1群230.7±18.6、MSG-第2群247.1±22.2で有意差はなかった。Lee's indexにおいては、コントロール群306.2±8.4に比し、MSG-第1群322.5±10.4およびMSG-第2群318.7±11.1でMSG群で有意(p<0.01)に高値を示した。すなわちMSG群は、体重はコントロール群とかわらないが、短軀、肥満、短尾傾向が著明であり、典型的なMSGラットの体型を示している。下垂体重量は、コントロール群5.6±1.4に比し、MSG-第1群3.4±0.9、MSG-第2群4.9±1.7でMSG群において減少し、とくに第1群で有意(p<0.01)に減少していた。副腎重量は、コントロール群26.5±4.8、MSG-第1群16.3±3.9、MSG-第2群20.6±4.3でMSG群で有意(p<0.01)に減少していた。卵巣重量は、コントロー

ル群 43.5 ± 7.9 , MSG-第1群 26.6 ± 5.7 , MSG-第2群 30.5 ± 6.1 でやはり MSG 群で有意 ($p < 0.01$) に減少していた。子宮重量も, コントロール群 160.3 ± 29.3 に比し, MSG-第1群 100.2 ± 51.4 , MSG-第2群 117.3 ± 25.1 で MSG 群で有意 ($p < 0.01$) に減少し

ていた。Lee's index, 下垂体, 副腎, 卵巣, 子宮の変化はいずれも MSG-第1群のほうが MSG-第2群より著明であった。

視神経は, MSG 群できわめて萎縮が強かった。脳の組織学的検査では, 図2に示すように, 視床下部神経

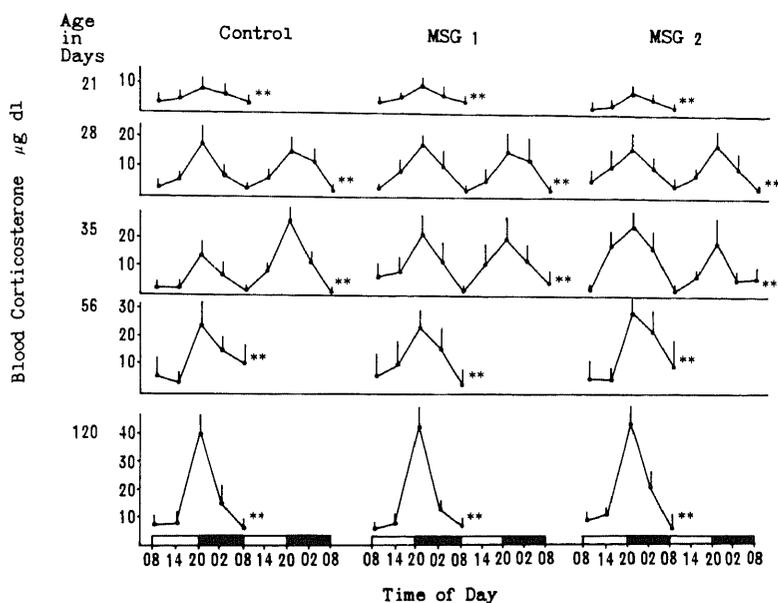


Fig. 1. Twenty four or 48 hour patterns of blood corticosterone (mean \pm S. D.) in rats neonatally treated with saline (control) or monosodium glutamate (MSG). Rats were given 3.5mg/g of MSG during day 3 to 10 (MSG 1) or during day 3 to 7 (MSG 2). Light and dark periods are shown by open and solid areas below the figure. Asterisks indicate P values ($p < 0.01$) calculated by ANOVA and N-K test for grouped data.

Table 1. Effect of neonatal monosodium glutamate (MSG)-treatment on body and organ weights at day 120 (mean \pm S.D.)

	Control	MSG-treated	
		Group 1	Group 2
Body weight	243.4 ± 13.8	$230.7 \pm 18.6^{n.s.}$	$247.1 \pm 22.2^{n.s.}$
Lee's index $\times 100$	306.2 ± 8.4	$322.5 \pm 10.4^{***}$	$318.7 \pm 11.1^{***}$
Pituitary weight**	5.6 ± 1.4	$3.4 \pm 0.9^{***}$	$4.9 \pm 1.7^{n.s.}$
Adrenal weight**	26.5 ± 4.8	$16.3 \pm 3.9^{***}$	$20.6 \pm 4.3^{***}$
Ovary weight**	43.5 ± 7.9	$26.6 \pm 5.7^{***}$	$30.5 \pm 6.1^{***}$
Uterine weight**	160.3 ± 29.3	$100.2 \pm 51.4^{***}$	$117.3 \pm 25.1^{***}$

* $\sqrt[3]{(\text{Body weight in g})/(\text{naso-anal length})}$

** Organ weights expressed as mg/100 g body weight.

*** $P < 0.01$ vs control. P values based on the Dunnet's test.

n.s. not significant

核のうち ARC の神経細胞の脱落, 変性が MSG 群で顕著であったが, VMH の神経細胞の脱落は認められず, また他の部位にも変化はなかった。

II. 眼球摘出の血中 CS 日周リズムにおよぼす影響
MSG 群とコントロール群の眼球摘出前, 眼球摘出後 3 週, 5 週の血中 CS の 24 時間パターンは図 3 に示す通りである。

眼球摘出により同調因子としての光の影響が除かれると, CS 日周リズムは, コントロール群も MSG 群もしだいに振幅は減少するものの, 両群とも有意 ($p < 0.01$) に持続し頂値が次第にずれ, いわゆるフリーランリズムを示した。しかし両群間において, CS 日周リズムの頂値位相のずれの程度に差がみられた。すなわちコントロール群では, 眼球摘出前には 20 時に CS の頂値を示したが, 眼球摘出後 3 週間で CS の頂値

は, 0 時~4 時にあらわれるようになった。一方 MSG 群では, 20 時~0 時の間に認められた。CS の頂値の位相のずれは, コントロール群では眼球摘出後 3 週間で 4 ± 0.8 時間, 5 週間で 8 ± 1.4 時間であった。これに対して MSG 群では 3 週間で 1.5 ± 0.7 時間, 5 週間で 3.3 ± 0.8 時間であった。このように MSG 群のフリーランリズムにおける周期は延長するが, コントロール群に比較すると, 眼球摘出後 3 週間で $p < 0.05$, 眼球摘出後 5 週間で $p < 0.02$ の危険率で短縮を示した。

III. 視床下部神経核の容積

無処置のインタクト群, 食塩水投与のコントロール群および MSG 群を 120 日齢で解剖して, 視床下部神経核中の SCN, VMH, ARC の容積を求めた。SCN が変性高度のため容積測定が不能であったものはインタ

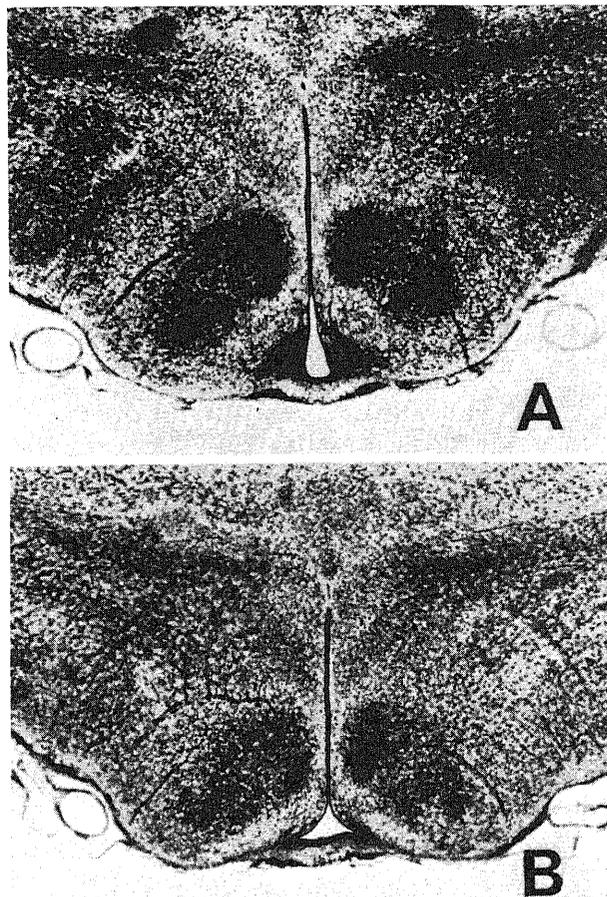


Fig. 2. Photomicrographs of the medial basal hypothalamus about $500\mu\text{m}$ posterior to the caudal end of the suprachiasmatic nucleus in rats neonatally treated with injection of saline (A) or MSG (B). $\times 24$. Brain histology reveals a severe lesion limited to the arcuate nucleus in B.

クト群で2匹, MSG群で3匹であったが, コントロール群はすべて測定可能であった。VMH, ARCは3群ともすべて容積測定が可能であった。その成績は表2に示した。

右側のSCNはインタクト群は 25.1 ± 1.8 , コントロール群 21.7 ± 1.1 , MSG群 17.3 ± 1.5 , 左側のSCNはインタクト群 24.6 ± 2.1 , コントロール群 21.1 ± 1.2 , MSG群 17.0 ± 1.3 であった。右側のSCNはイン

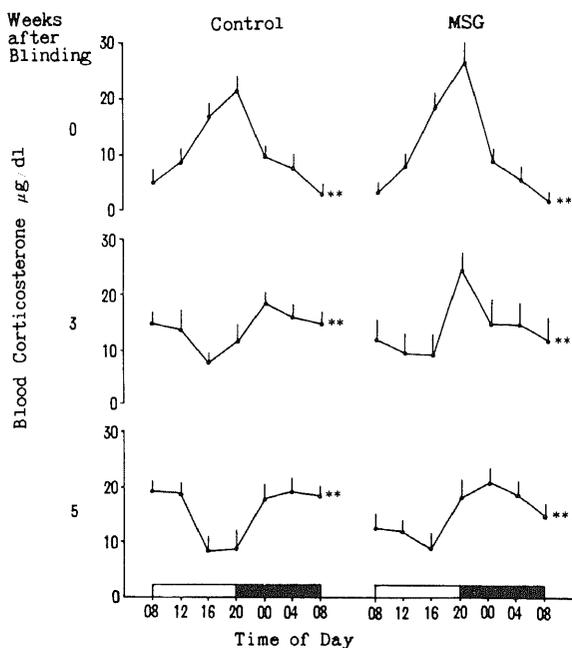


Fig. 3. Twenty four hour patterns of blood corticosterone (mean \pm S. D.) in rats neonatally treated with saline (control) or MSG and blinded at 35 days of age. Light and dark periods are shown by open and solid areas below the figure. Asterisks indicate P values ($p < 0.01$) calculated by ANOVA and N-K test for grouped data.

Table 2. Effect of neonatal MSG-treatment on volumes of hypothalamic nuclei. SCN, suprachiasmatic nucleus; VMH, ventromedial hypothalamic nucleus; ARC, arcuate nucleus

	Animals n	Right		t-test	Left		t-test
		mean \pm S.E. $\times 10^6 \mu\text{m}^3$	S.S.		mean \pm S.E. $\times 10^6 \mu\text{m}^3$	S.S.	
SCN							
Intact	8	25.1 ± 1.8	190.59	> n.s. > $P < 0.05$ } $P < 0.001$	24.6 ± 2.1	255.92	> n.s. > $P < 0.02$ } $P < 0.02$
Saline-blind	10	21.7 ± 1.1	101.36		21.1 ± 1.2	121.29	
MSG-blind	11	17.3 ± 1.5	235.81		17.0 ± 1.3	174.92	
VMH							
Intact	10	232.4 ± 8.9	7135.06	> n.s. > $P < 0.001$ } $P < 0.001$	220.4 ± 9.0	7346.63	> n.s. > $P < 0.01^*$ } $P < 0.01$
Saline-blind	10	222.8 ± 5.8	3026.86		224.5 ± 5.1	2358.08	
MSG-blind	14	173.1 ± 8.1	11830.73		176.3 ± 7.8	11076.27	
ARC							
Intact	10	58.9 ± 3.0	821.68	> n.s. > $P < 0.001^*$ } $P < 0.001^*$	54.6 ± 2.0	349.88	> n.s.* > $P < 0.001^*$ } $P < 0.001^*$
Saline-blind	10	57.9 ± 4.0	1435.72		56.8 ± 3.9	1357.19	
MSG-blind	14	13.7 ± 0.9	160.67		13.3 ± 1.0	173.03	

* Aspin-Welch test
n.s. not significant

タクト群とコントロール群間で有意差はなかったが、MSG群の縮少はインタクト群に比較して $p < 0.001$ 、コントロール群とは $p < 0.05$ で有意であった。同様に左側のSCNもインタクト群とコントロール群間で有意差はなかったが、MSG群はインタクト群、コントロール群と比較して $p < 0.02$ で有意に容積は縮少していた。

右側のVMHはインタクト群 232.4 ± 8.9 、コントロール群 222.8 ± 5.8 、MSG群 173.1 ± 8.1 、左側のVMHはインタクト群 220.4 ± 9.0 、コントロール群 224.5 ± 5.1 、MSG群 176.3 ± 7.8 であった。右側のVMHはインタクト群とコントロール群で有意差はなかったが、MSG群はインタクト群、コントロール群と比較して $p < 0.001$ で有意に容積は縮少していた。同様に左側のVMHもインタクト群とコントロール群両群間に有意差はなかったが、MSG群はインタクト群、コントロール群に比較して $p < 0.01$ で有意に縮少していた。

右側のARCはインタクト群 58.9 ± 3.0 、コントロール群 57.9 ± 4.0 、MSG群 13.7 ± 0.9 、左側のARCはインタクト群 54.6 ± 2.0 、コントロール群 56.8 ± 3.9 、MSG群 13.3 ± 1.0 であった。両側のARCともインタクト群とコントロール群間に有意差はなかったが、MSG群でインタクト群、コントロール群と比較して $p < 0.001$ で有意な容積の縮少がみられた。

すなわち、MSG群の視床下部諸核の容積はインタクト群と比較してSCNで約69%、VMHで約77%、ARCで約24%であり、コントロール群との比較でもSCNで約80%、VMHで約76%、ARCで約23%で、とりわけMSG投与により、ARCの容積の縮少が顕著にみられた。一方インタクト群とコントロール群の間には、視床下部神経諸核の容積に有意差はなく、食塩水の皮下注射や眼球摘出などの処置は、何ら影響を与えていないことがわかった。

考 察

I. CS日周リズムと視床下部—下垂体—副腎皮質系の分泌調節機構

1943年Pincus³⁰⁾がヒト正常男子において17-KSの尿中排泄量に昼夜の差を認めて以来、副腎皮質ホルモン分泌の日周リズムは代表的内分泌リズムとして広く研究されている。ラットなど夜行性げっ歯類の血中CSはヒトとは逆に暗期初期に頂値、明期に底値を示す¹²⁾。

従来ラットにおいて行われていたCS日周リズムの研究は断頭採血によるもので、この方法では1個体1試料しか得られず、各個体間のリズムが同調していな

い場合、リズムの存在を見落す可能性が大である。Kriegerら³¹⁾は尾尖静脈採血により経時的にCS変動を測定し、はじめて1個体のリズムが観察できるようになった。

これまでの研究ではCSリズムについて、(1)生後3～4週に出現する¹⁵⁾²⁶⁾³²⁾³³⁾、(2)光や食餌が同調因子となるが、光や食餌の位相を急に変えてもそれに完全に同調するには数日を要する^{31)34)~40)}、(3)動物を恒常条件においてもリズムは消失せず約24時間の周期を保つフリーランリズムを示す³¹⁾⁴¹⁾⁴²⁾ことが明らかにされている。つまりCSリズムは、体温、摂食、活動性などと同様、内因性リズムとしての特徴をそなえ、しかもその発現には生後離乳期までの脳の発達が必要な要件をなしていることが示唆されている。

CSの分泌は、下垂体前葉から分泌されるACTHによって支配され、ACTHの分泌は、さらに上位の視床下部から放出されるCRFによって制御されている。Kriegerら⁴³⁾はコルチコステロイドの分泌の全くみられないAddison病患者で、異常な高値を示すACTH分泌に日周性を示すことを報告した。Hiroshigeら⁴⁾はラットの視床下部CRF活性はCSに約4時間先行する日周リズムを示すことをみいだしたが、その後Ixartら⁵⁾もラットの視床下部CRF活性、下垂体ACTH含量、血中CSは、明期開始より9.4時間、10.3時間、14時間後に頂値を示すことを報告した。これらのことよりCS日周リズムは単に副腎皮質の活動性のあるリズムを表わしているだけでなく、CRFを介して中枢神経系に由来していると考えられる。

外界からの刺激から独立した内因性日周リズムを維持する体内の自律発振体(体内時計)については従来から多くの研究がなされてきた。しかし1972年Mooreら⁶⁾がラットで両側SCNの電気破壊を行い、CS日周リズムが消失することを報告して以来、自発運動、飲水、松果体N-アセチルトランスフェラーゼ(N-acetyltransferase、以下NATと略)活性、睡眠—覚醒、体温、摂食、TSH分泌など種々の日周リズムについて同様な事実が承認された。

さらにInoue & Kawamura⁴⁴⁾はHalaszのナイフ⁴⁵⁾を用いラット視床下部にSCNを含み、しかも周囲との神経連絡を断った視床下部島を作り、島内に電極を挿入、神経活動を記録し、島内では日周リズムが存在するが、島外では消失することをみいだした。また最近大村ら⁴⁶⁾はSCNの薄片を用い、in vitroにおいて単一ニューロンで自発放電の日周リズムを証明した。これらの事実より少なくともラットなどげっ歯類では内因性日周リズムの自律発振体はSCNにあると考えられる。

II. 新生児期 MSG 皮下注射の影響

1. MSG ラットにおける臓器重量と脳の組織学的検索

新生児期の動物に MSG を投与すると、図 4 に示すような肥満をともなった成長障害を生じ、脳においては視床下部とくに ARC および網膜視神経に比較的限局した障害をあたえ、数多くの内分泌、代謝、行動の異常を呈し、表 3 のような特異的な症候群を生じることが多くの研究者^{16)~24)}により報告されている。本実験においても、MSG 投与ラットの体重、Lee's index、体型、下垂体、副腎、卵巣、子宮重量は他の人達の報告と同じであった。

脳組織への影響に関しては、ARC および視索前野以外の視床下部諸核の障害を明らかにした報告は少なく、Inouye ら⁴⁷⁾や田中⁴⁸⁾や Lemkey-Johnson ら⁴⁹⁾の報告をみるにすぎない。Inouye ら⁴⁷⁾は妊娠末期、特に妊娠 18 日目の親マウスに体重 1g あたり 2mg の MSG を投与することにより、胎児マウスの ARC と VMH の両核に障害を惹起させた。またこの時期では ARC

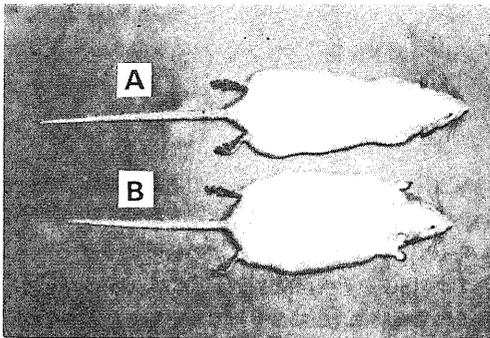


Fig. 4. Comparative appearance of rats neonatally treated with injection of saline (A) or MSG (B) at 120 days. The obesity is remarkable in B.

Table 3. MSG-syndrome

Stunted Growth
Obesity
Small Pituitary
Gonadal Atrophy
Hypothyroidism
Adrenal Atrophy
Retinal Atrophy
Behavioral Abnormalities
Brain ACTH, β -Endorphin, β -Lipotrophin ↓
Pituitary GH ↓
Pituitary LH ↓

よりも VMH でより障害が顕著であったと述べている。田中⁴⁸⁾は、マウスに生後 1 日目から 5 日目まで体重 1g あたり 2mg の MSG が投与された場合、ARC、視索前野および VMH の約 2/3 にも広く変性と壊死が生じ、さらに n. premamillaris dorsalis, n. premamillaris ventralis, n. mamillaris prelateralis, n. mamillaris medialis, n. mamillaris lateralis の一部にも障害が惹起されることを明らかにした。

MSG による視床下部障害の原因として、Lemkey-Johnson ら⁴⁹⁾は血液より脳組織への MSG の移行がわずかであること、障害部位が脳脊髄液に接しており、しかもこれに近いほど障害が広範囲におよぶことより、障害は脳脊髄液を介して惹起されるものと考えた。Inouye ら⁴⁷⁾は VMH の障害が MSG の投与時間が早いほど強いことを観察し、MSG の神経毒性はニューロンの未熟性に関係あるとした。

本実験では光頭レベルで著明な障害は従来の多くの報告^{16)~20)}の通り視神経と ARC のみであり、VMH, SCN には組織学上明らかな変化はみられなかった。しかし連続切片で視床下部諸核の容積を測定すると、MSG 投与ラットでは食塩水投与盲目の対照ラットに比し ARC は 23%, VMH は 76%, SCN は 80% の容積で、VMH, SCN にも有意な容積減少が認められた。

MSG による SCN の障害について従来明らかな記載はない。しかしいわゆる脳室周囲系の神経核の 1 つとして脳脊髄液を介してある程度の障害がおよぶことは充分考えられる。今 1 つの可能性は視神経が視交叉を形成した後、第一次視覚路、下副視覚路および網膜-視床下部路 (retinohypothalamic tract, 以下 RHT と略) にわかれるが、この第三の RHT は SCN に終わっており、MSG による SCN の萎縮は視神経障害に続発したものであるかも知れない。

2. MSG ラットにおける CS 日リズムと眼球摘出後のフリーランリズムにおよぼす影響

前述の如く SCN にラットの内因性リズムの発振機構 (生体時計) が存在すると考えられるが、通常の明暗交代下ではこの時計は光に同調して作動する。

MSG 投与ラットでは網膜視神経は強くおかされるが、明暗交代下での飼育ではその CS 日リズムの発生時期、振幅、位相は正常ラットと全く同一であった。このことは MSG 投与ラットでは松果体 NAT 活性リズムの明暗同調に変化がないという報告²²⁾とも一致し、日リズムの同調因子としての明暗の伝達は第一次視覚路や副視覚路を介するものでなく、第三の経路 RHT-SCN によるという Moore ら⁶⁾の説を裏づけるものである。

一方 SCN からの遠心路として Swanson, Cowan¹⁰⁾

はラベルしたアミノ酸をSCN内に微量注入し、オートラジオグラフィ法で追求した結果、(1)ME、(2)内側前縦束、(3)脳室周囲系へ投射する3群に分けた。そのうちMEへの投射路が下垂体ホルモン分泌調節に関与していると考えられる。さらにSCNからMEへの伝達は直接連絡するものとARCを経由するものがすでに証明されている⁹¹⁻¹²¹。ARCはドーパミン、アセチルコリン、ガンマアミノブチリクアシッド(γ -aminobutylic acid, 以下GABAと略)作動性ニューロンに豊富、性周期の調節に重要な役割を果たしていることはすでに認められている⁹⁷が、下垂体-副腎日周リズムにおけるARCの役割についてはよく知られていない。ARCおよび脳室近傍核を電気破壊するとCS日周リズムが消失するという報告¹²²や新生児ラットの視床下部にCAペレットを埋入する際、ARC近傍に埋入した方がCS日周リズムの発達遅延が強いという報告¹⁵がある。しかしこの様な外科的処置ではARCに由来するニューロンもARCの中またはその付近を通過する軸索も共に破壊され、CS日周リズムの中継点としてのARCの役割を明らかにすることはできない。この点MSGによる化学的破壊はARC中の細胞体およびシナプスを障害するが、ここを通過する軸索は障害しない特徴があり²⁴好都合である。ARCはまた脳内のACTH、 β エンドロフィン、 α -MSH、 β リポトロピンの産生部位であり⁵⁰MSG投与によりドーパミン、アセチルコリン、GABAと共にこれらACTH関連ペプチドも著減することが知られている⁵¹。

今回の実験結果よりMSGはARCの著明な変性、萎縮をきたすにもかかわらずCSリズムは全く正常に出現し、眼球摘出後にフリーランすることは、少なくともARCあるいはここに含まれる種々の神経伝達物質はSCNから下垂体へのCS日周リズムの伝達に一次的な役割を果たしていないことを示すといえる。残存ARCニューロンがCS日周リズムを伝達するのに十分である可能性は完全には否定できないが、おそらくARCを介せず直接SCNからMEに到達するセロトニン作動性ニューロンなどが重要と考えられる。事実CS日周リズムがセロトニン合成阻害剤であるパラクロロフェニルアラニン(parachlorophenylalanine, 以下PCPAと略)全身投与で不明瞭化することについてはいくつかの報告^{52,53}があるが、その全身毒性である可能性が残されていた。しかし著者は先に全身に影響をおよぼさない少量のPCPAをAlzetの浸透圧ミニポンプで持続的に脳室内に投与しCS日周リズムが消失することを報告した⁵⁴。さらに最近Williamsら⁵⁵は直接SCNに5, 7-ジヒドロキシトリプタミン(5, 7-dihydroxytryptamine)を注入しセロト

ニンを枯渇するとCSリズムの消失をみている。

興味あることにMSG投与ラットでは眼球摘出後もCS日周リズムはフリーランしたが、コントロール群と比較してフリーランの位相の遅れがみられた。その説明として1つには、ARCはSCNからニューロンを受けている一方SCNにアクソンを送っている⁵⁶ので、MSGにより高度に障害されたARCがSCNの活性を変化させる可能性が考えられる。今1つは、MSGのSCNに対する直接効果である。MSG投与群はコントロール群に比べSCNに有意な容積減少が観察された。Vanden PolとPowley⁵⁷はラットのSCNの電気破壊とその日周リズムにおよぼす影響を観察した結果、50%以上の破壊で日周リズムがなくなり、8時間周期のウルトラジアンリズムが出現したと報告している。またStephanはSCNが40~50%破壊されたラットは、日周リズムそのものの消失はないが、明暗サイクルでその位相を12時間ずらした時、頂点位相の移行に要する時間が無傷ラットに比べると倍程度延長することを観察している。これらのことによりMSG投与ラットにみられるSCNの23~24%の軽度の萎縮は、CS日周リズムの発現時期、振幅や眼球摘出後のフリーランのものには影響しないが、フリーランのリズムの周期を短縮させる原因となり得ると考えられる。

結 論

MSG投与ラットを用い、CS日周リズムおよびその発生や伝達に関与すると考えられる視床下部神経核に与える影響について検討し、次の結果を得た。

(1) MSGを新生児期に投与しても、CS日周リズムはその発現時期、振幅とも何ら影響をもたらしなかった。

(2) MSG投与ラットを35日齢で眼球摘出すると、CS日周リズムはフリーランした。

(3) MSG投与ラットにおいて、CSのフリーラン周期の短縮がみられた。

(4) MSG投与ラットは、従来報告されているような成長障害、肥満、下垂体重量減少、副腎萎縮、性腺萎縮、ほぼ選択的な視神経とARCの破壊以外に視床下部諸核の容積測定でVMHおよびSCNにも軽度ながらも有意な萎縮をきたすことが明らかとなった。

以上よりCS日周リズムの視床下部の遠心路、すなわちSCNからME-下垂体への日周リズムのシグナル伝達にARCは一次的役割を果たしていないものと考えられる。またMSG投与は、CSのフリーランリズムの位相を遅らせるが、これはSCNが軽度ではあるがMSGにより障害されるためと考えられる。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御校閲を賜った服部絢一教授に深謝致します。本研究を遂行するにあたり、直接の御指導を賜った宮保 進前助教授（現 福井医科大学教授）、東京都神経科学総合研究所林 横治先生、ならびに御助言をいただいた研究室の各位に深く謝意を表します。

本論文の要旨は第55回日本内分泌学会総会において発表した。また、本研究は文部省科学研究費総合A、高等動物の環境適応機構のリズム学的解析の援助によった。

文 献

- 1) **Guillemin, R., Dear, W. E. & Liebelt, R. A. :** Nychthemeral variations in plasma free corticosteroid levels of the rat. *Proc. Soc. Exp. Med.*, **101**, 394-395 (1959).
- 2) **Halberg, F., Peterson, R. E. & Silber, R. H. :** Phase relations of 24-hour periodicities in blood corticosterone, mitoses in cortical adrenal parenchyma, and total body activity. *Endocrinol.*, **64**, 222-230 (1959).
- 3) **Wilson, M. M., Rice, R. W. & Critchlow, V. :** Evidence for a free-running circadian rhythm in pituitary-adrenal function in blinded adult female rats. *Neuroendocrinol.*, **20**, 289-295 (1966).
- 4) **Hiroshige, T. & Sakakura, M. :** Circadian rhythm of corticotropin-releasing activity in the hypothalamus of normal and adrenalectomized rats. *Neuroendocrinol.*, **7**, 25-36 (1971).
- 5) **Ixart, G., Szafarczyk, A., Belugou, J. & Assenmacher, I. :** Temporal relationships between the diurnal rhythm of hypothalamic corticotrophin releasing factor, pituitary corticotrophin and plasma corticosterone in the rat. *J. Endocrinol.*, **72**, 113-120 (1977).
- 6) **Moore, R. Y. & Eichler, V. B. :** Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Res.*, **42**, 201-206 (1972).
- 7) **Moore, R. Y. :** Central neural control of circadian rhythms. p185-206. In W. F. Ganong and L. Margini (ed.), *Frontiers in Neuroendocrinology*, Vol. 5. Raven Press, New York, 1978.
- 8) **Rusak, B. & Zucker, I. :** Neural regulation of circadian rhythms. *Physiol. Rev.*, **59**, 449-525 (1979).
- 9) **Moss, R. L. :** Unit responses in preoptic and arcuate neurons related to anterior pituitary function. p95-128. In L. Martini and W. F. Ganong (ed.), *Frontiers in Neuroendocrinology*, Vol. 4. Raven Press, New York, 1976.
- 10) **Swanson, L. W. & Cowan, W. M. :** The efferent connections of the suprachiasmatic nucleus of the hypothalamus. *J. comp. Neurol.*, **160**, 1-12 (1975)
- 11) **Campbell, C. B. G. & Ramaley, J. A. :** Retinohypothalamic projections: Correlations with onset of the adrenal rhythm in infant rats. *Endocrinol.*, **94**, 1201-1204 (1974).
- 12) **Stanfield, B. & Cowan, W. M. :** Evidence for a change in the retino-hypothalamic projection in the rat following early removal of one eye. *Brain Res.*, **104**, 129-136 (1966).
- 13) **Kawakami, M. and Kimura, F. :** Possible role of CNS estrogen-neuron systems in the control of gonadotropin release. p216-231. In W. E. Stumpf and L. D. Grant (ed.), *Anatomical Neuroendocrinol.*, S. Karger, Basel, 1975.
- 14) **Slusher, M. A. :** Effects of chronic hypothalamic lesions on diurnal and stress corticosteroid levels. *Amer. J. physiol.*, **206**, 1161-1164 (1964).
- 15) **Miyabo, S., Ooya, E. & Hayashi, S. :** Effect of intrahypothalamic implantation of cortisone acetate on the onset of circadian corticosterone rhythm in neonatal female rats. *Neuroendocrinol.*, **33**, 46-51 (1981).
- 16) **Lucas, D. R. & Newhouse J. P. :** The toxic effect of sodium L-glutamate on the inner layers of the retina. *A. M. A. Arch. Ophth.*, **58**, 193-201 (1957).
- 17) **Potts, A. M., Modrell, R. W. & Kingsbury, C. :** Permanent fractionation of the ERG by sodium glutamate. *Am. J. Ophth.*, **50**, 900-961 (1960).
- 18) **Onley, J. W. :** Brain lesions, obesity and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science*, **164**, 719-721 (1969).
- 19) **Onley, J. W. :** Glutamate-induced retinal degeneration in neonatal mice. Electron microscopy of the acutely evolving lesion. *Neuropath. Exper. Neurol.*, **28**, 455-474 (1969).
- 20) **Brude R. M., Schainker, B. & Kayers, J. :** Monosodium glutamate: acute effect of oral and subcutaneous administration on the arcuate nucleus of hypothalamus in mice and rats. *Nature*, **233**, 58-60 (1971).
- 21) **Nemeroff, C. B., Grant, L. D., Bisette, G., Ervin, G. N., Harrel, L. E. & Prange, A. J. :** Growth, endocrinological and behavioral deficits

- after monosodium L-glutamate in the neonatal rat : possible involvement of arcuate dopamine neuron damage. *Psychoneuroendocrinol.*, **2**, 179-196 (1977).
- 22) **Nemeroff, C. B., Konkol, R. J., Bissette, G. Youngblood, W., Martin, J. B., Brazeau, P., Rone, M. S., Prange, A. J., Breese, G. R. & Kizer, J. S.** : Analysis of the disruption in hypothalamic-pituitary regulation in rats treated neonatally with monosodium-L-glutamate (MSG) : evidence for the involvement of tuberoinfundibular cholinergic, and dopaminergic systems in neuroendocrine regulation. *Endocrinol.*, **101**, 613-622 (1976).
- 23) **Bakke, J. L., Lawrence, N., Bennett, J., Robinson, S. & Bowers, C. Y.** : Late endocrine effects of administering monosodium glutamate to neonatal rats. *Neuroendocrinol.*, **26**, 220-128 (1978).
- 24) **Kizer, J. S., Nemeroff, C. B. & Youngblood, W. W.** : Neurotoxic amino acids and structurally related analogs. *Pharmacol. Rev.*, **29**, 301-318 (1978).
- 25) **Gomez-Sanchez, C., Murry, B. A., Kem, D. C. & Kaplan, N. M.** : A direct radioimmunoassay of corticosterone in rat serum. *Endocrinol.*, **96**, 796-798 (1975).
- 26) **Miyabo, S., Yanagisawa, K., Ooya, E. Hisada, T. & Kishida, S.** : Ontogeny of circadian corticosterone rhythm in female rats : effects of periodic maternal deprivation and food restriction. *Endocrinol.* **106**, 636-642 (1980).
- 27) **Lee, M. O.** : Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Amer. J. Physiol.* **89**, 24-33 (1964).
- 28) **Winer, B. J.** : Statistical principles in experimental design. P261. McGraw-Hill, New York, 1962.
- 29) **Aspin, A. A. & Welch, B. L.** : Tables for use in comparisons where accuracy involves two variances, separately estimated. *Bio metrika*, **36**, 290-296 (1949).
- 30) **Pincus, G.** : A diurnal rhythm in the excretion of urinary ketosteroids by young men. *J. Clin. Endocrinol.*, **3**, 195-199 (1943).
- 31) **Krieger, D. T.** : Food and water restriction shifts corticosterone, temperature, activity and brain amine periodicity. *Endocrinol.*, **95**, 1195-1201 (1974).
- 32) **Allen, C. & Kendall, J. W.** : Maturation of the circadian rhythm of plasma corticosterone in the rat. *Endocrinol.*, **80**, 926-930 (1967).
- 33) **Takahashi, K., Hanada, K., Kobayashi, K., Hayafuji, C., Otani, S. & Takahashi, Y.** : Development of the circadian adrenocortical rhythm in rats : Studied by determination of 24-or 48-hour pattern of blood corticosterone levels in individual pups. *Endocrinol.*, **104**, 954-961 (1979).
- 34) **Krieger, D. T.** : Effect of ocular enucleation and altered lighting regimens at various ages on the circadian periodicity of plasma corticosterone levels in the rat. *Endocrinol.*, **93**, 1077-1091, (1973).
- 35) **Johnson, J. T. & Levine, S.** : Influence of water deprivation on adrenocortical rhythms. *Neuroendocrinol.*, **11**, 268-273, (1963).
- 36) **Moberg, G. P., Bellinger, L. L. & Mendel, V. E.** : Effect of meal feeding on daily rhythms of plasma corticosterone and growth hormone in rat. *Neuroendocrinol.*, **19**, 160-169, (1975).
- 37) **Shaving, L. E. & Pauly, J. E.** : Effect of light on corticosterone levels in plasma of rats. *Am. J. physiol.*, **210**, 1112-1117, (1966).
- 38) **Critchlow, V., Liebelt, R. A., Bar-Sela, M., Mountcastle, W. & Lipscomb, H. S.** : Sex difference in resting pituitary-adrenal function in the rat. *Am. J. Physiol.*, **205**, 807-815 (1963).
- 39) **Coover, G. D., Goldman, L. & Levine, S.** : Plasma corticosterone levels during extinction of a level-press response in hippocampectomized rats. *Physiology & Behavior*, **7**, 727-732, (1971).
- 40) **Johuson, J. T. & Levine, S.** : Influence of water deprivation on adrenocortical rhythm. *Neuroendocrinol.*, **11**, 268-273 (1973).
- 41) **Takahashi, K., Inoue, K. & Takahashi, Y.** : Parallel shift in circadian rhythm of adrenocortical activity and food intake in blinded and intact rats exposed to continuous illumination. *Endocrinol.*, **100**, 1097-1107 (1977).
- 42) **Honma, K. & Hiroshige, T.** : Internal synchronization among several circadian rhythms in rats under constant light. *Am. J. Physiol.*, **235**, 243-249 (1978).
- 43) **Krieger, D. T. & Gewirtz, G. P.** : The nature of circadian periodicity and suppressibility of immunoreactive ACTH levels in Addison's disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **39**, 46-52 (1974).
- 44) **Inoue, S. & Kawamura, H.** : Persistence of

circadian rhythmicity in a mammalian hypothalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 5962-5966 (1979).

45) Halasz, B. Slusher, M. A. & Goraki, R. A. : Adrenocorticotrophic hormone secretion in rats after partial or total deafferentation of the medial basal hypothalamus. Neuroendocrinol., 2, 43-55 (1967).

46) 大村 裕・柴田重信 : 視交叉上核と食欲中枢との神経生理学的関係, 蛋白質・核酸・酵素, 27, 391-403 (1982).

47) Inouye, M. & Murakami, U. : Brain lesions in the mouse fetus caused by maternal administration of monosodium glutamate. Cong. Anom., 11, 171-177 (1971).

48) 田中和彦 : Monosodium glutamate による乳仔期の視床下部傷害とその後の身体発育について, I. 投与時期と視床下部傷害の範囲について, 自律神経, 15, 1-8 (1978).

49) Lemkey-Johnston, N. & Reynolds, W. A. : Nature and extent of brain lesions in mice related to ingestion of monosodium glutamate. J. Neuro-path. Exp. Neurol., 33, 74-97 (1974).

50) Pelletier, G., Leclerc, R., Saavedra, J. M., Brownstein, M. J., Vaudry, H., Ferland, L. & Labbe, F. : Distribution of β -lipotropin (β -LPH), adrenocorticotropin (ACTH) and α -melanocyte-

stimulating hormone (α -MSH) in the rat brain. I. Origin of the extrahypothalamic fibers. Brain Res., 192, 433-440 (1980).

51) Buckingham, J. C. : Corticotrophin releasing factor. Pharmacol. Rev., 31, 253-275 (1980).

52) 森本靖彦 : 副腎皮質ホルモン分泌における日周リズムとその調節機構・蛋白質・核酸・酵素, 27, 196-212 (1982).

53) 広重 力・本間研一 : 生物時計の時刻発信機構における脳内アミンの役割, 蛋白質・核酸・酵素, 27, 404-415 (1982).

54) 山村 至・大屋栄一・久田友一郎・宮保 進 : ラット用F式脳室内注入装置について, 医学のあゆみ, 122, 879-880 (1982).

55) Williams, J. H., Miall-Allen, V. M., Klinowski, M. & Azimitia, E. C. : Effects of microinjections of 5, 7-dihydroxytryptamine in the suprachiasmatic nuclei of the rat on serotonin reuptake and the circadian variation of corticosterone levels. Neuroendocrinol., 36, 431-435 (1983).

56) Makara, G. B. & Hodacs, L. : Rostral projections from the hypothalamic arcuate nucleus. Brain Res., 84, 23-29 (1965).

57) Van den Pol, A. N. & Powley, T. : A fine-grained anatomical analysis of the role of the rat suprachiasmatic nucleus in circadian rhythms of feeding and drinking. Brain, Res., 160, 307-326 (1979).

Ontogeny of Circadian Corticosterone Rhythm in Female Rats Neonatally Treated with Monosodium Glutamate Itaru Yamamura, Department of Internal Medicine (III), (Director: Prof. K. Hattori), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - J. Juzen Med. Soc., 92, 862-874 (1983)

Key words: Circadian rhythm, Corticosterone, Hypothalamus, Arcuate nucleus, Monosodium glutamate

Abstract

The ontogeny of circadian corticosterone rhythm was studied using neonatal female rats treated with monosodium glutamate (MSG). The agent in amount of 3.5 mg/g.bw./day in 0.1 ml of saline was subcutaneously administrated to the animal from the 3rd to the 10th day after birth. The treated animals were kept under diurnal lighting conditions with illumination from 8 a.m. to 8 p.m. Control animals were treated with 0.1 ml of 10% saline which was isotonic to the MSG solution. The daily patterns of blood corticosterone were determined during 24 or 48 hours at 21, 28, 35, 56 and 120 days of age by serial blood sampling from the tail tip of individual animals. Both MSG-treated and control rats showed a significant circadian rhythm at day 21,

completely entrained to the light-dark cycle. After day 28, a definite increase of amplitude was noted. However, the difference between the two groups was not significant. In another experiment, both MSG treated and control animals were blinded by bilateral optic enucleation at 35 days of age. Blood corticosterone was measured over 24 hours at 3 or 5 weeks after surgery. The corticosterone rhythm persisted and free-ran in both groups. However, MSG treatment seemed to delay the phase shift of free-running rhythm. Animals at 120 days of age were sacrificed. MSG-treated rats showed stunted growth, obesity and reduced weights in the pituitary, adrenals, ovaries and uterus. Histology of brain showed severe lesions in the arcuate nucleus and optic nerve, whereas damage was scarce in the other hypothalamic nuclei. Computer-assisted planimetry of the volumes of these nuclei on serial brain sections revealed that MSG-treatment reduced the volumes of nuclei not only in the arcuate nucleus to 23% of the control but also in the suprachiasmatic nucleus to 80% of the control. These results indicate that the neurons in the arcuate nucleus do not play an essential role in the mediation of circadian signals from the suprachiasmatic nucleus to the pituitary-adrenocortical system and that a slight atrophy of the suprachiasmatic nucleus caused by neonatal MSG treatment may be responsible for the shortening (delayed phase-shift) of free-running corticosterone rhythm.