

# ラットのコルチコステロン日内リズム発生に及ぼす 摂食行動の影響

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	<a href="http://hdl.handle.net/2297/9076">http://hdl.handle.net/2297/9076</a>

## ラットのコルチコステロン日内リズム発生に 及ぼす摂食行動の影響

金沢大学医学部内科学第三講座 (主任: 服部絢一教授)

柳 沢 研 一

(昭和58年5月6日受付)

雌ラットの血中コルチコステロン (以下 CS と略) 日内リズム発生に及ぼす摂食行動の影響について、明暗交代下 (点燈 8~20 時) で検討した。雌仔ラットの半数は生後 2 日に眼球摘出を行い、すべての仔ラットの離乳は生後 23 日に行った。検体は尾尖採血で採取しラジオイムノアッセイにて測定した。自由摂食の母ラットに飼育されたコントロール群では、20 時にピークをもつ CS リズムと夜間多食という摂食リズムが生後 22 日より認められた。母ラットから定期的に 12 時間ごと隔離され、離乳後も同様に給水給餌制限を続けられた仔ラットは、開眼ラットも盲目ラットも食餌開始直前にピークをもつ CS 日内リズムを形成した。離乳まで昼間のみに給水給餌を制限された母ラットに飼育され、その後も給水給餌制限を続けられた仔ラットも、たとえ盲目であっても食餌開始時にピークをもつ CS 日内リズムを発現した。生後 5 日より定期的に母ラットから隔離された開眼ラットのみが、コントロール群よりも早期に CS リズムを発生していた。離乳後に自由給水給餌とされた開眼ラットでは CS 値のピークは 20 時にあり、同時に夜間多食であった。一方、離乳後は自由摂食とされた盲目ラットでは、母親の行動に同調した CS リズムを発現した群もみられ、母親の行動も盲目仔ラットの CS リズムの同調因子となることがあると思われる。CS リズムのみられなかった群でも個々の盲目ラットの CS 値のピークをそろえると有意の変動を示していた。これらの結果は、CS 日内リズムの発生には光よりも食餌が直接的要因となっていること、幼少時期からの摂食制限の効果は永続的でなく、離乳後自由摂食とすると開眼ラットでは光に同調した摂食および CS リズムを形成し、盲目ラットでは free-run していく事を示している。

---

**Key words** circadian rhythm, corticosterone, rat, maternal deprivation, feeding restriction

---

下垂体副腎皮質系に日内リズムの存在することは、Pincus<sup>1)</sup>がヒトの尿中 17-KS 排泄量に昼夜の差のみられることを報告して以来よく知られている。ヒトの血中コルチゾールは、覚醒前後の早朝にピークがあり日中は低下して夜間最低値を示す<sup>2)</sup>が、夜行性動物のラットでは血中コルチコステロン (corticosterone, 以下 CS と略) は朝方低値、夕刻に高値を示す日内リズムを有している。この CS の変動は下垂体の副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)、さらに視床下部の corticotropin releasing factor (CRF) といった中枢神経系に支配されるものと考えられている。CS リズムはラットの生後すぐに認められるものではなく、中枢神経系を含め

たラットの成長とともに約 3~4 週目に発生するといわれている。発生時期は handling や stress 付加にて促進する<sup>3)</sup>こと、新生児期に corticosteroid を投与すると遅れる<sup>4)</sup>こと、thyroxine 投与で促進する<sup>7)</sup>こと等、外的環境や内分泌環境によって変化することが知られている。

一方、成熟ラットに給餌時間の制限を加えると CS リズムの位相が変化しピークが給餌直前に移行し<sup>8)</sup>、眼球を摘出され盲目となった成熟ラットにおいても free-run している CS リズムは給餌時間を決めると給餌直前にピークを示すようになることが報告<sup>10)</sup>されている。しかし、これらは一度は CS リズムの確立した成

---

Influence of Feeding Behavior on the Ontogeny of Circadian Corticosterone Rhythm in Rats. Kenichi Yanagisawa, Department of Internal Medicine (III), (Director: Prof. K. Hattori), School of Medicine, Kanazawa University.

熟ラットでの実験であり、CS リズム発生前からの摂食行動の影響についての報告は乏しい。著者は自由給餌下の母ラットから定期的な隔離をされた仔ラット、ならびに明時のみの給餌制限をされた母ラットに飼育された仔ラットを用いて、摂食行動とCS リズムの発生について検討した。

### 対象および方法

実験は12時間明、12時間暗(点燈8~20時)の明暗交代下で行った。実験室内でWistar系ラットを交配、妊娠させた。妊娠ラットは別の実験室へ移し分娩予定約2日前より不透明プラスチックケージ(38×30×18cm)内で個別飼育とした。出産当日を仔ラットの生後第1日と数えた。実験にはすべて雌仔ラットのみを使用し、半数の雌仔ラットは生後2日目に氷冷麻酔後Krieger<sup>11)</sup>の方法に従って眼球摘出を行い盲目とした。離乳はすべて23日に行い、生後5, 9, 14, 19, 24, 29, 34日に仔ラットの体重測定をした。

#### 実験1 コントロール群

自由給水給餌を許された母ラットに8匹の仔ラットを飼育させ、離乳後は1ケージ当り4匹として飼育を続けた。15日より5日間隔で採血した群と、離乳前後の22, 24日さらに30, 35日に採血した群から成立つが、いずれも8, 14, 20, 2時の1日4点で採血した。離乳前には仔ラットの摂食量は測定できないため採血前々日の夕、採血前日の朝と夕に体重測定をして明時および暗時の体重増加量を計算した。

#### 実験2 生後5日からの授乳制限群

##### 2-I: 開眼仔ラット

8匹の仔ラットを生後5日より4匹ずつの2群に分け、一群は自由給水給餌の母ラットと明時のみ同居させ(L群)、この間他の群は母ラットから隔離され別のケージ(20×15×15cm)内に入れられ授乳や給水給餌の機会は一切ない(D群)。明暗交代の20時にはこの2群の入れ換えをしてL群は母親から隔離しD群は母親と同居させた。このような1日2回の定期的な入れ換えを離乳前日まで続けた。離乳後は、授乳期と同様に明時のみの12時間(L-L群)あるいは暗時のみの12時間(D-D群)の給水給餌制限を続けた群と、L群を自由給水給餌とした群(L-ad群)、D群を自由給水給餌とした群(D-ad群)に分けて飼育した。

##### 2-B: 盲目仔ラット

生後2日に眼球摘出をした仔ラットを用いて5日より8匹の盲目仔ラットを4匹ずつ2群に分け、2-I群と同様に12時間交代の母親隔離の下で飼育した(L群, D群)。離乳後も2-I群と同様に制限給水給餌を続けた群(L-L群, D-D群)と自由給水給餌とした群(L

-ad群, D-ad群)に分けた。

#### 実験3 生後16日からの授乳ならびに給水給餌制限群

##### 3-I: 開眼仔ラット

自由給水給餌の母ラットに8匹の仔ラットを飼育させ生後16日から4匹ずつの2群に分け、一群は明時のみ母ラットと同居(L群)、他群は暗時のみ母ラットと同居(D群)とした。実験2と同様の仔ラットの入れ換えを8, 20時に行い離乳まで続けた。離乳後も実験2と同様に明時あるいは暗時のみの給水給餌制限を続けた群(L-L群, D-D群)と、給水給餌制限を解除して自由給水給餌とした群(L-ad群, D-ad群)に分けた。

##### 3-B: 盲目仔ラット

母ラットに生後5日より盲目仔ラット8匹を飼育させ、生後16日より3-I群と同様に明時のみ母ラットと同居する群(L群)と暗時のみ母ラットと同居する群(D群)にグループ分けを行った。離乳後も食餌制限を続けた群(L-L群, D-D群)と自由給水給餌とした群(L-ad群, D-ad群)の各々について実験を行った。

#### 実験4 明時12時間の母ラットと仔ラットへの給水給餌制限群

##### 4-I: 開眼仔ラット

生後3日より母ラットに6匹の仔ラットを飼育させた。5日目より母ラットの給水給餌時間を8~20時の明時12時間に制限した。仔ラットは母ラットから隔離されることはないが、このような給水給餌の条件を離乳まで続けた。離乳後は明時のみの給水給餌制限を続けた群(L-L群)と制限を解除した群(L-ad群)に分けて飼育した。

##### 4-B: 盲目仔ラット

母ラットに眼球摘出をした6匹の仔ラットを生後3日より飼育させ、4-I群と同様に生後5日より明時12時間に給水給餌を制限した。離乳後も給水給餌の制限を続行した群(L-L群)と自由に食餌を摂取できる群(L-ad群)に分けて実験を行った。

#### 実験5 明時2時間の母ラットと仔ラットへの給水給餌制限群

##### 5-I: 開眼仔ラット

生後3日より6匹の仔ラットを母ラットに飼育させ、5日より12~14時の2時間のみに給水給餌を制限した。23日の離乳後は2時間の食餌制限を継続した群(L-L群)と自由給水給餌とした群(L-ad群)に分けて飼育を続けた。

##### 5-B: 盲目仔ラット

母ラットに眼球摘出をした6匹の仔ラットを生後3日より飼育させ、5日より5-I群と同様に母ラットの

給水給餌時間を 12~14 時に制限した。離乳後も 5-I 群と同様に 2 群に分類 (L-L 群, L-ad 群) して飼育した。

給水給餌制限はプラスチックケージ内への水瓶と餌箱の出し入れにより行った。離乳後の摂食量は採血前日の明時と暗時の摂食量を測定した。給水量の測定は行わなかった。実験に使用した各処置群の仔ラットは少なくとも 3 ケージ以上を用いて検討を行った。仔ラットの採血は実験 2 では生後 15 日より 5 日間隔で 1 日 4 点 (8, 14, 20, 2 時) で 35 日まで行い, 実験 3, 4, 5 では生後 20 日より 5 日ごとに 35 日まで行った。実験 4 は 1 日 5 点 (8, 14, 20, 2, 8 時), 実験 5 は食餌が与えられる直前の 12 時を加えて 1 日 6 点で採血した。また実験 4, 5 は母ラットに給水給餌制限をしているので, 母ラットの採血も 20 日の時点のみ仔ラットと同時刻に行った。尾尖採血により  $10 \mu\text{l}$  の血液を正確に目盛つきの micropipette (Bactor 社) に採取し, あらかじめ小試験管内に準備した蒸留水 0.1 ml と混和し溶血させ, 測定まで冷凍保存した。採血は各仔ラット接触後 90 秒以内に完了させた。

CS の測定は radioimmunoassay 法により行った。即ち検体にエタノールを加え攪拌混和後上層を蒸留乾固し, これに家兔を免疫して得た抗血清と tracer ( $^3\text{H}$ -CS) を加え, incubation 後に charcoal を添加, 分離し, 液体シンチレーションカウンターにて測定した。この方法で interassay と intraassay は各々 6%, 10% であった。CS 値の日内リズムの有意差は 8, 20 時の値で, paired t-test を用いて検討した。但し, 実験 5 では 8, 12 時の CS 値で検定し, 離乳後に自由給水給餌とされた盲目ラットは各群とも最高と最低の CS 値で検定した。またコントロール群の体重増加量と摂食量の有意差は昼間と夜間の値で検定した。

## 成 績

### 実験 1

Fig. 1 のように仔ラットの昼夜の体重増加量は生後 15, 20 日には差がないが, 22 日には夜間の方が昼間より多かった。離乳後の摂食量はいずれの時期においても夜間の方が昼間より多く, 発育とともにその差は明らかとなった。CS 値は 15, 20 日にはすべての時点で低値であり, 振幅もはっきりせずリズムの発生はみられない。22 日には 20 時の値が上昇しリズムの発生が認められた。離乳後の 24 日には CS リズムはよりはっきりしたものとなり, 30, 35 日と一段と明瞭になった。

### 実験 2

#### 2-1: 開眼仔ラット

L 群, D 群とも生後 15 日には CS リズムはみられないが, 20 日には L 群は 8 時, D 群は 20 時と母親のケ-

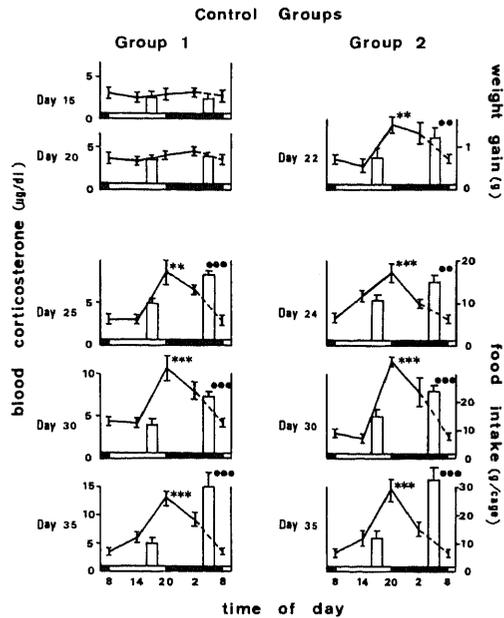


Fig. 1. Development of the circadian corticosterone rhythm in control rats. Rats of group 1 were sampled at 15, 20, 25, 30 and 35 days of age, and those of group 2 were sampled at 22, 24, 30 and 35 days of age. Columns indicate weight gain or food intake during a 12-hr period. Black horizontal bars indicate the dark period. Values represent the means with standard errors. Asterisks indicate significant differences of blood corticosterone between the values at 8:00 and at 20:00 (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ). Weight gain or food intake in the daytime is also compared with that in the night (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).

ジに移される時刻にピークをもつ CS リズムが認められた (Fig. 2)。離乳後も給水給餌制限を継続して飼育すると明時給水給餌の L-L 群は 8 時, 暗時給水給餌の D-D 群は 20 時とそれぞれ食餌により決定された CS リズムを形成した。離乳後の摂食量は 25, 30, 35 日のいずれでも L-L 群と D-D 群でほぼ等しかった。

Fig. 3 に示したように離乳後は自由給水給餌にして飼育すると, 暗時のみ母ラットと同居が許された状態から自由な食餌摂取が可能となった D-ad 群は, 20 日と同様に 20 時にピークをもつ CS リズムを示し摂食量も夜間の方が多かった。明時のみの同居から自由給水給餌となった L-ad 群は離乳前は明時のみしか食餌に接する機会がなかったにもかかわらず, 24 日には夜間の摂食量の方が昼間よりも多く, CS リズムも 25 日には 20 時にピークを示すコントロール群と同様のパターンに変化し, 20 日とはピークの時刻の異なる CS

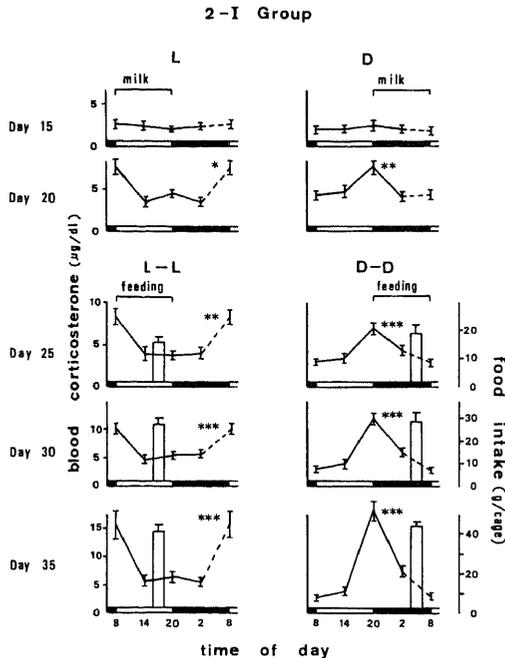


Fig. 2. Development of the circadian corticosterone rhythm in the sighted rats which were periodically isolated from their mothers after the 5th day. The left panels show the results of rats which were allowed to stay with their mothers before weaning (L) and to eat and drink after weaning (L-L) only during the light period. The right panels show the results of rats which were allowed to stay with their mothers (D) and to eat and drink (D-D) only during the dark period. Asterisks indicate significant differences of blood corticosterone between the values at 8:00 and at 20:00 (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).

リズムを形成していた。夜間多食は30, 35日と日を追って明らかになり、CSリズムの20時のピークもより顕著となった。

#### 2-B: 盲目仔ラット

生後5日目より定期的に母親から隔離された盲目仔ラットでは、15, 20日にはL群, D群ともCSリズムの発生はみられなかった (Fig. 4)。離乳後も給水給餌制限を続けるとL-L群は8時, D-D群は20時にピークを有するCSリズムを25日より形成した。ともに食餌が供与される直前にピークがあり食餌により決定されたリズムである。両群とも30, 35日とこのパターンは変化することなく、摂食量はL-L群とD-D群でほぼ等しかった。

明時のみの母ラットとの同居から自由摂食とされたL-ad群は25日にはCSリズムはみられないが、30日

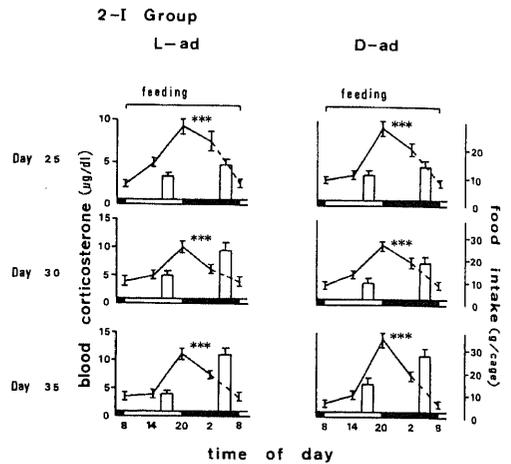


Fig. 3. Development of the circadian corticosterone rhythm in the sighted rats which were allowed free access to food and water after the 23rd day of age. The left panels (L-ad) show the results of rats reared with their mothers during the light period. The right panels (D-ad) show the results of rats reared with their mothers during the dark period. Asterisks, as in Fig. 2.

#### 2-B Group

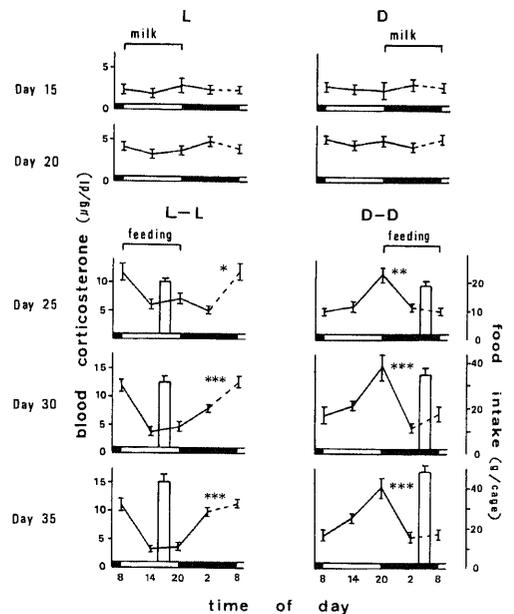


Fig. 4. Development of the circadian corticosterone rhythm in blinded rats, periodically isolated from their mothers after the 5th day of age. The left panels show the results of rats which were allowed to eat and drink only during the light period. The right panels show the results of rats which were allowed to eat and drink only during the dark period. Asterisks, as in Fig. 2.

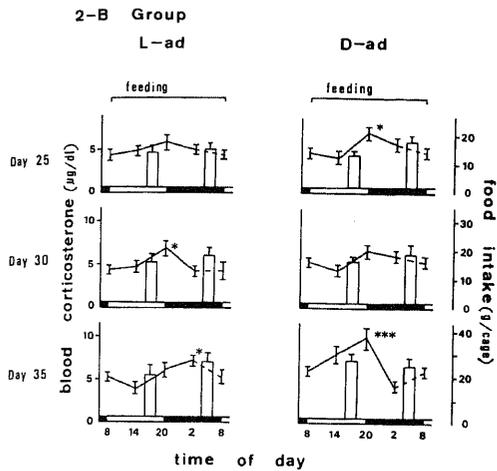


Fig. 5. Development of the circadian corticosterone rhythm in blinded rats, reared under periodic maternal deprivation after the 5th of age and allowed free access to food and water after weaning. The left panels show the results of pups housed with their mothers in the daytime until weaning, while the right panels show the results of pups housed with their mothers at night. Asterisks indicate significant differences between the peak and trough of the blood corticosterone (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ ).

には20時、35日には2時にピークを示すCS値の変動が認められた (Fig. 5)。一方、暗時のみの母ラットとの同居から自由摂食が可能となったD-ad群は、25日には20時にCS値のピークを示し摂食量も夜間の方が昼間より多かった。30日にはCS値は平坦化した。35日になると20時に最高値、2時に最低値を示していた。

### 実験3

#### 3-I: 開眼仔ラット

仔ラットの開眼がほぼ終了した生後16日よりL群、D群に2分して飼育した群のデータである。Fig. 6に示すように明時のみ母ラットのいるケージへ移されるL群、暗時のみ移されるD群とも20日のCS値は低値でリズム発生はみられない。離乳後も摂食制限を続けるとL-L群は8時、D-D群は20時にピークをもつCSリズムを25日より発生した。30、35日とこのパターンは変化することなくより明瞭となった。L-L群とD-D群の摂食量は25、30、35日ともほぼ等しかった。

生後16日より22日まで明時のみ母ラットのケージで生活し離乳後は自由摂食とされたL-ad群は、25日より20時にピークをもつCSリズムを発生し、摂食量

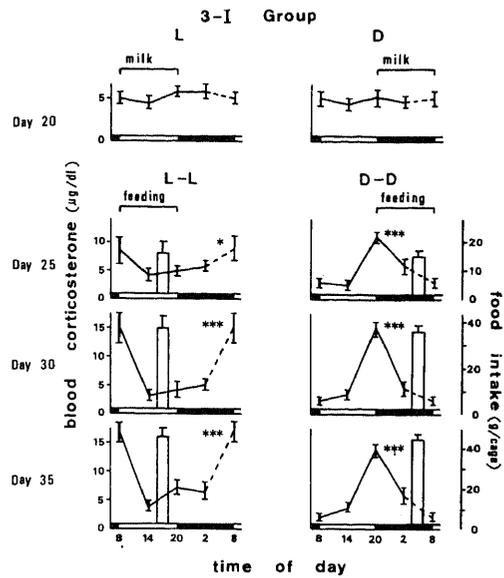


Fig. 6. Development of the circadian corticosterone rhythm in sighted rats, reared under periodic maternal deprivation after the 16th day of age. The left panels show the results of rats, housed with their mothers before weaning (L) and allowed to eat and drink after weaning (L-L) in the daytime. The right panels show the results of rats, housed with their mothers (D) and allowed to eat and drink (D-D) only the dark period. Asterisks, as in Fig. 2.

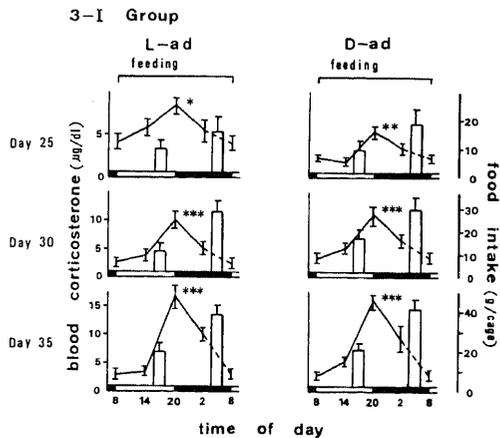


Fig. 7. Development of the circadian corticosterone rhythm in sighted rats, reared under periodic maternal deprivation after the 16th day of age and allowed free access to food and water after weaning. The left panels (L-ad) show the results of the pups that were housed with their mothers in the daytime, and the right panels (D-ad) show the results of the pups that were housed with their mothers during the dark period. Asterisks, as in Fig. 2.

は夜間多食であった (Fig. 7). D-ad 群も 25 日より夜間多食と 20 時にピークをもつ CS リズムが認められた。両群とも CS リズムと夜間多食はラットの成長とともに明らかになった。

### 3-B: 盲目仔ラット

L 群, D 群とも 20 日では 3-I 群と同様に CS リズム発生はまだみられなかった。離乳後は明時のみ食餌を与えられた L-L 群, 暗時のみ食餌を与えられた D-D 群とも 25 日より L-L 群は 8 時, D-D 群は 20 時と食餌が供与される直前にピークをもつ CS リズムを発生していた (Fig. 8). 30, 35 日には CS リズムはより顕著となり摂食量もそれぞれ増加した。いずれの時期においても L-L 群と D-D 群の摂食量はほぼ等しかった。

離乳後は自由給水給餌とした L-ad 群, D-ad 群はいずれも 25 日には CS 値は平坦であり, 食餌摂取量の昼夜の差もなかった (Fig. 9). L-ad 群は CS 値の最高値と最低値を 30 日には 20 時と 14 時, 35 日には 2 時と 14 時に示し, 最高値の時刻にずれがみられた。D-ad 群でも最高値は 30 日の 20 時から 35 日には 2 時へ,

値は 8 時から 14 時へと移行し, 最高値の CS 値も 3-I 群と比較すると低値を示している。また摂食量も昼間と夜間の差は小さかった。

### 実験 4

#### 4-I: 開眼仔ラット

生後 5 日から母ラットの給水給餌時間を明時 12 時間に制限して仔ラットを飼育させると, 2 週間後の 20 日には母ラットは 8 時にピークを示し, 自由摂食下と逆転した CS リズムが認められた (Fig. 10).

仔ラットは 20 日には CS リズムはみられなかった。離乳後も明時のみに食餌摂取を制限して飼育する (L-L 群) と, 25 日より食餌が供与される 8 時にピークをもつ CS リズムを形成し, 自由給水給餌とした群 (L-ad 群) では暗時の始まる 20 時にピークを示す CS リズムがみられ摂食量は夜間の方が多かった。両群の CS リズムのパターンは 30, 35 日と変化することなく各々のピークはより顕著となった。

#### 4-B: 盲目仔ラット

母ラットの CS リズムは 8 時にピークがあり正常の CS リズムと逆転したパターンを示した (Fig. 11).

盲目仔ラットを母ラットの給水給餌制限下で飼育したこの群では, 20 日には CS リズムは 4-I 群と同様に認められなかった。L-L 群は 25 日より食餌開始時刻の 8 時にピークをもつ CS リズムを形成し, 成長とと

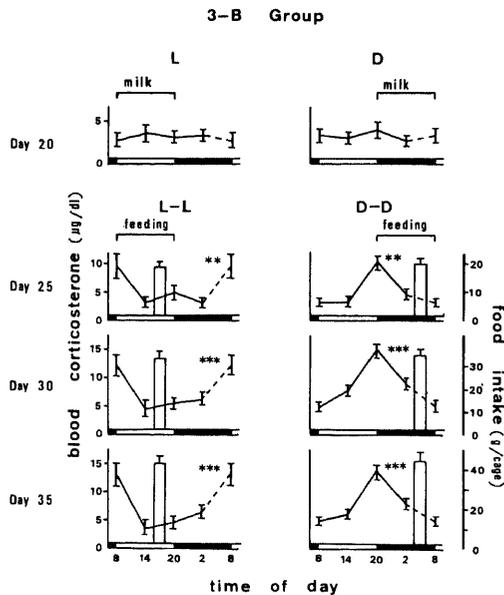


Fig. 8. Development of the circadian corticosterone rhythm in blinded rats, reared under periodic maternal deprivation after the 16th day of age. The left panels show the results of pups, housed with their mothers before weaning and allowed to eat and drink after weaning only in the daytime. The right panels show the results of pups, housed with their mothers and allowed to eat and drink only at night. Asterisks, as in Fig. 2.

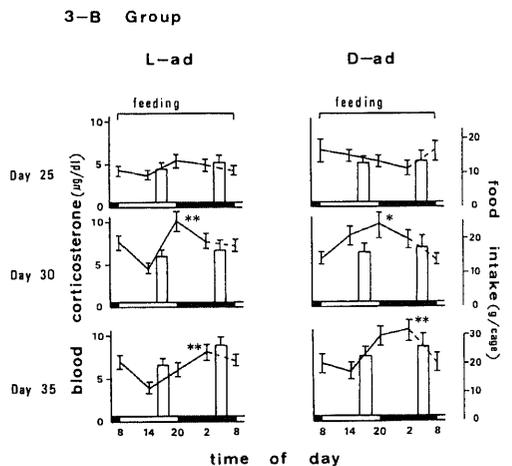


Fig. 9. Development of the circadian corticosterone rhythm in blinded rats, reared under periodic maternal deprivation after the 16th day of age and allowed free access to food and water after weaning. The left panels show the results of pups housed with their mothers in the daytime, while the right panels show the results of pups housed with their mothers during dark period. Asterisks, as in Fig. 5.

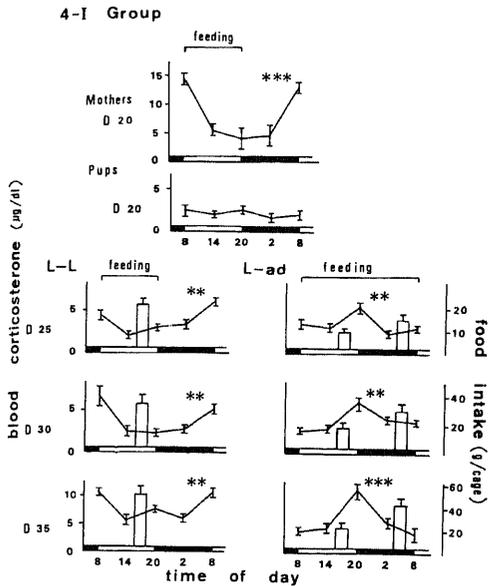


Fig. 10. Development of the circadian corticosterone rhythm in sighted rats, reared with their mothers who were fed between 8:00-20:00. The rats in the left panels (L-L) were fed only during the light period after weaning, while the right panels (L-ad) show the results of rats fed *ad libitum*. The rhythm of the mothers is indicated in the top panel. Asterisks, as in Fig. 2.

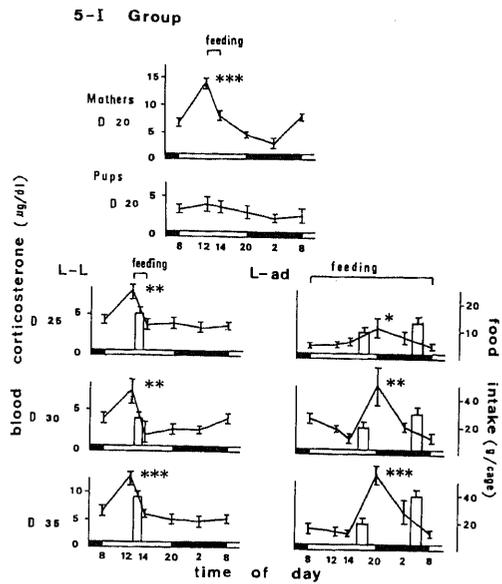


Fig. 12. Development of the circadian corticosterone rhythm in sighted rats, reared with their mothers who were fed only between 12:00-14:00. The rats in the left panels were fed only during the 2-hr period after weaning, while the right panels show the results of the rats allowed free feeding. The top panel indicates the rhythm of the mothers. Asterisks, as in Fig. 2.

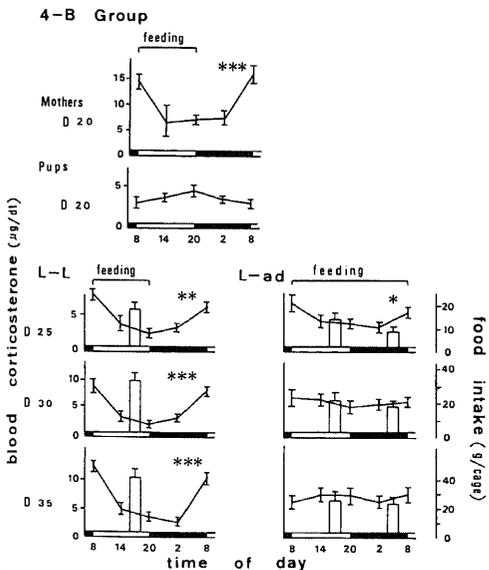


Fig. 11. Development of the circadian corticosterone rhythm in blinded rats, reared with their mothers who were fed between 8:00-20:00. The rats in the left panels were fed only during the light period after weaning, while the right panels show the results of rats fed *ad libitum*. The rhythm of the mothers is indicated in the top panel. Asterisks, as in Figs. 2 and 5.

もに8時のCS値は増大した。L-ad群は25日には8時にピークを示すCSリズムがみられ摂食量も昼間の方が多かった。しかし、30、35日になるとCS値はやや高値にて平坦化してリズムは消失し、摂食量も昼夜の差は明らかでなくなった。

実験5

5-I: 開眼仔ラット

生後5日から母ラットの給水給餌時間を12~14時の2時間に制限して飼育させると、母ラットのCSリズムは食餌供与の12時にピークをもつパターンになっていた (Fig.12)。

この実験群の仔ラットはTable 1のようにコントロール群や他の実験群と比較して有意に体重が少なく発育が悪かった。離乳後の体重増加は自由摂食とした群 (L-ad群)の方が2時間のみの摂食制限を続けた群 (L-L群)より29、34日でも多かったが、コントロール群の体重までの回復はみられなかった (Table 2, 3)。母ラットの体重測定は行わなかったが、2時間のみの食餌摂取環境で仔ラットにミルクを与えなければならぬため、離乳の頃にはやせが目立った。

仔ラットのCSリズム発生は20日にはみられず、L-L群では25日より12時にピークのあるリズムを形成し、

Table 1. Body weights in control and experimental groups from the 5th to 19th day of age.

		body weight (g)			
		day 5	day 9	day 14	day 19
Exp. 1	control pups	7.6±0.7	16.2±1.2	21.2±1.3	30.4±1.8
Exp. 2	intact pups				
	L group	7.3±0.8	15.0±1.0	19.4±1.4	28.0±2.0
	D group	7.5±0.6	15.3±1.3	19.8±1.5	28.6±1.8
	blinded pups				
	L group	7.0±0.7	14.6±1.4	19.0±1.3	29.2±2.2
	D group	6.8±0.9	14.4±1.3	19.5±1.3	29.0±1.6
Exp. 3	intact pups				
	L group	7.8±0.7	16.0±0.9	21.5±1.5	30.1±1.5
	D group	7.6±0.8	15.8±0.8	21.0±1.2	29.3±1.3
	blinded pups				
	L group	7.5±0.9	16.2±1.0	21.0±1.1	29.6±1.2
	D group	7.5±0.7	15.9±1.1	20.7±1.2	29.1±1.3
Exp. 4	intact pups	8.0±0.7	16.5±1.0	20.9±1.6	29.9±2.0
	blinded pups	7.0±0.9	16.0±0.7	20.2±1.1	28.6±1.4
Exp. 5	intact pups	7.4±0.9	13.0±0.9*	17.6±1.1*	23.0±1.7**
	blinded pups	7.4±0.5	12.6±0.8*	17.2±1.3*	22.8±1.4**

Mean ± SEM

\* p&lt;0.01, \*\* p&lt;0.001 (vs. control groups)

Table 2. Body weights in the control and experimental groups which were allowed free feeding after day 23.

		body weight (g)		
		day 24	day 29	day 34
Exp. 1	control pups	41.5±2.5	56.2±4.2	70.4±3.8
Exp. 2	intact pups L-ad group	40.0±2.8	55.0±4.6	70.8±5.0
	D-ad group	41.9±3.8	55.8±3.4	69.0±4.0
	blinded pups L-ad group	39.0±4.2	52.8±4.5	68.8±4.5
	D-ad group	40.5±3.6	53.9±5.0	69.5±5.6
Exp. 3	intact pups L-ad group	42.0±2.2	56.8±3.8	72.5±4.0
	D-ad group	42.3±3.6	57.5±4.5	73.0±4.5
	blinded pups L-ad group	38.3±3.6	52.5±4.0	68.5±5.3
	D-ad group	37.8±3.0	52.2±4.2	69.3±4.8
Exp. 4	intact pups L-ad group	40.5±3.8	55.5±4.2	71.5±5.1
	blinded pups L-ad group	38.8±3.5	53.5±4.2	68.8±4.8
Exp. 5	intact pups L-ad group	34.4±2.8**	48.5±4.0*	65.5±5.4
	blinded pups L-ad group	33.5±3.1**	46.9±3.5**	63.0±4.5*

Mean ± SEM

Asterisks, as in Table 1.

Table 3. Body weights in the experimental groups which were reared with food and water restrictions after weaning.

		body weight (g)		
		day 24	day 29	day 34
Exp. 2 intact pups	L-L group	38.4±2.5	52.3±3.2	65.0±4.3
	D-D group	39.2±2.2	51.9±3.0	63.8±3.7
blinded pups	L-L group	38.8±2.8	50.6±4.3	63.8±4.9
	D-D group	39.5±2.4	51.5±5.6	64.0±4.5
Exp. 3 intact pups	L-L group	40.0±2.2	53.0±3.2	68.1±4.5
	D-D group	38.8±2.1	53.5±2.8	68.5±4.7
blinded pups	L-L group	38.5±2.7	52.0±3.6	66.2±3.7
	D-D group	38.0±2.4	51.8±4.5	67.0±5.3
Exp. 4 intact pups	L-L group	39.2±2.8	53.2±3.3	68.0±5.6
	blinded pups	37.5±2.9	50.8±4.8	65.5±4.8
Exp. 5 intact pups	L-L group	31.0±2.2 **	38.8±4.0 **	47.6±4.3 **
	blinded pups	29.4±2.8 **	35.5±3.4 **	44.6±3.9 **

Mean ± SEM

Asterisks, as in Table 1.

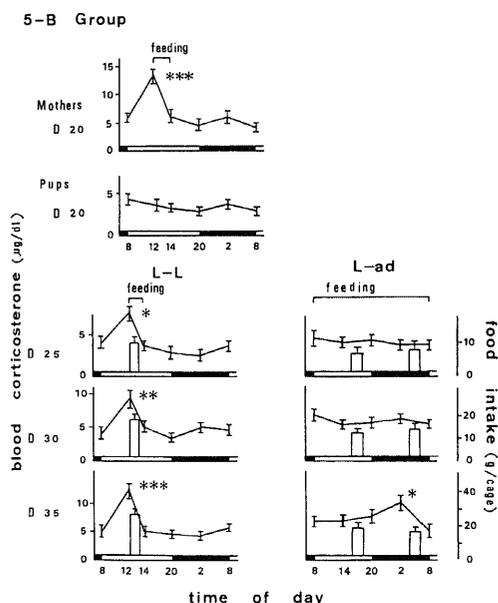


Fig. 13. Development of the circadian corticosterone rhythm in blinded rats, reared with their mothers who were fed only between 12:00-14:00. The rats in the left panels were fed only during the 2-hr period after weaning, while the right panels show the results of rats those were allowed free feeding. The top panel indicates the rhythm of the mothers. Asterisks, as in Figs. 2 and 5.

リズムの発生時期は実験4と変化なかった。L-ad群は25日よりピークを20時に示すCSリズムを形成し夜間多食の摂食リズムであった。CSリズムの振幅と昼夜の摂食量の差は30, 35日と増大した。

#### 5-I: 盲目仔ラット

給水給餌制限2週間後の母ラットのCSリズムはピークが食餌の提供される12時に移行していた (Fig. 13)。

5-I群と同様にこの群においても母ラットの摂食可能な時間が1日2時間と短いため、仔ラットの発育は不良で他の実験群と比較すると体重が少なかった (Table 1)。29, 34日の体重は自由摂食としたL-ad群の方が摂食制限を続けたL-L群より多かった (Table 2, 3)。仔ラットのCS値は20日では平坦でリズム発生はまだない。離乳後も給水給餌制限を続けたL-L群は25日より12時にピークをもつCSリズムを形成した。一方、L-ad群は25, 30日にはCS値の変動はみられず、35日には最高値と最低値をそれぞれ2時, 8時に示すCSリズムがみられた。L-ad群の昼夜の摂食量の明らかな差は認められなかった。

#### 考 察

明暗交代下でのCSリズムの発生時期については既にいくつかの報告がある。最初に報告したAllenら<sup>4)</sup>は断頭採血による朝夕のCS値の比較から生後

30~32日まではリズムの発生はみられなかったと述べている。Ader<sup>9)</sup>は雄ラットも雌ラットも21~25日にはCSリズムがみられたと報告し、Ulrichら<sup>12)</sup>は27日になってからリズムが発生したと報告している。その後心腔内採血を1日6点で行ったLevinら<sup>13)</sup>はCSリズムは18日にはなく22日より発生したと報告し、著者と同様のWistar系ラットを使用し4時間間隔の尾尖採血を行ったTakahashiら<sup>14)</sup>は23~24日にCSリズムが発生したと述べている。このように系や飼育条件の相違から報告者により発生時期は異なるものの大体3~4週という点では一致している。CSリズムの発生時期には性差がみられ雌の方が早期に出現したという報告<sup>15)16)</sup>があり、著者はすべて雌仔ラットを使用して検討した。

コントロール群は20日にはCSリズムはまだみられなかったが、22日より暗時開始時の20時にピークを示す成熟ラットと同じパターンのCSリズムを発生していた。昼夜の体重増加量は19日には差がなく21日には夜間の増加量の方が多くなり、摂食リズムの形成とCSリズムの発現の時期はほぼ一致していた。Levinら<sup>17)</sup>は生後2日から朝夕1日2回の体重測定による昼夜の体重増加量の比較から、母ラットのミルクを飲んで仔ラットは17日ごろより固型飼料を食べ始め夜間の体重増加量の方が多くなり、19日より夜間多食が確立したと述べている。盲目母ラットに飼育された仔ラットでも同時期より夜間多食となっていたとのことであり、仔ラットは母親の行動に影響されことなく明暗の変化を認知して夜間多食になるものと考えられる。著者の実験ではLevinらの報告より夜間多食という摂食リズムの形成は2日遅れていたが、この頃よりミルク以外に仔ラット自身の夜間の固型飼料の摂取が増加し始めたと思われる。離乳後の摂食量は成長に伴って夜間の摂食量が増加し、35日には全摂食量の約75%を暗時に摂取していた。20時にピークを示すCSリズムも24日にはより明瞭となり、離乳という重大な環境の変化も仔ラットのCSリズムには影響を与えなかった。

生後5日から明時授乳群と暗時授乳群に2分して飼育した実験2では2-I群、2-B群ともL群、D群間に発育の差はみられなかった。先述したLevinらは朝夕2回の仔ラットの体重測定の結果から、生後3~17日には母ラットは活動量の低下した明時に暗時よりもミルクを多く与えるため、仔ラットの体重増加は明時の方が多かったと報告している。これがそのままではまる明時のみ母ラットと同居するL群の方がD群よりも発育は良好となるはずであるが、著者の実験ではL群、D群間で体重の差はなかった。同一ラットを

24時間飼育した場合と隔離により12時間ごと異なる仔ラットを飼育した場合の実験条件の相違が原因であろう。また開眼仔ラットと盲目仔ラットの間での体重の差も認めなかった。

このような定期的な母ラットの隔離を行なうと、D群は母ラットの活動期に授乳かつ摂食が可能であるが、L群は非活動期に授乳かつ摂食が許されるので親とは逆の摂食行動リズム下で生活している。2-I群は20日よりL群は8時、D群は20時と両群とも母ラットのケージへ移される時刻にピークをもつCSリズムを形成していた。成熟ラットに食餌制限をして飼育するとCSリズムの位相が変化して食餌提供直前にピークが移行する<sup>8)9)10)19)</sup>が、いまだCSリズムの発生していない仔ラットを制限給餌下で飼育した場合もCSリズムは食餌に支配されて形成されることを示している。このCSリズムのパターンは離乳後も摂食制限を続けると25、30、35日と変化することなく振幅はより著明となった。光と食餌はCSリズム決定の2大要因と考えられている。D群では両群を同調させL群では脱同調させているわけであるが、両群の間での発生時期に差はなく、同調させることによりCSリズムの発生時期が促進されることはないと思われる。

新生児期に盲目とされ5日より授乳制限下で飼育された2-B群は20日にはCSリズムは認められず、その後も摂食制限を続けると25日よりL群、D群とも食餌に支配されたCSリズムを発生していた。盲目成熟ラットに制限給餌をすると新しく食餌開始時にピークの移行したCSリズムを形成することが報告されている<sup>10)</sup>が、CSリズムの発生段階でも食餌時間が決定されると食餌に支配されたCSリズムを形成する。このように摂食制限下で飼育された仔ラットは明暗と摂食の脱同調の場合、明暗の存在しない場合のいずれでも食餌に同調したCSリズムを発生し、食餌制限の続く限り継続していく。即ち食餌が光よりも直接的な影響をもっていることを示唆している。摂食制限下ではCS値は食餌に先立って上昇し、食餌開始により速やかに低下する<sup>20)</sup>事から、食餌がストレスとして働いているものではない。

2-I群ではL群、D群とも生後20日にはCSリズムが発生しており、コントロール群や他の処置群より発生時期が早かった。2-B群との相違は盲目か否かということのみであり、光が要因となって何か視覚を介した因子が食餌の同調効果を大きくし、リズムの早期発現をきたしたものと思われる。一方、開眼のほぼ終了した16日より母ラットの隔離を始めた実験3では20日にはCSリズムはみられなかった。3-I群と20日よりCSリズムの発現した2-I群では授乳制限を開始し

た日が異なっており、おそらく12時間の授乳制限がCSリズムの同調因子として作用するには長期間を要し、生後5日からの隔離ではリズムの早期発現を示したが、16~19日の4日間ではその効果が出なかったであろう。

実験4, 5は母ラットとの隔離はないが、母ラットが明時摂食という正常とは逆の摂食環境下で飼育された群である。Table 1のように実験5では仔ラットの発育が不良であったがCSリズムの発生は他の実験群と変化なく25日からであった。Takahashiら<sup>14)</sup>は母ラットに仔ラットを3匹飼育させた場合と15匹飼育させた場合に、CSリズムの発生は発育の悪かった後者で3日遅れただけで、仔ラットの栄養状態はCSリズム発生の本質的要因ではないと述べている。著者の実験のように明時に活動および摂食という逆転した飼育条件の下でのCSリズム発生についても、発育状態は直接的因子ではないと考えられる。離乳後も制限を継続すると実験4は8時、実験5は12時にピークを示す明暗交代とは無関係な食餌に決定されたCSリズムを発生していた。

次に23日の離乳後は自由摂食とした群について考えてみたい。2-I群, 3-I群のD群を自由摂食とした群(D-ad群)は夜行性のラットにとっては離乳後も同じ環境下で飼育され、2-I群の20時のピークはより著明となり、3-I群は25日より20時にピークをもつCSリズムを形成した。そして両群とも夜間多食であった。一方、L-ad群は強制的な明時摂食を離乳後に自由給水給餌とした群であるが、2-I群において生後20日にみられた8時のピークは、25日には20時に移行し正常のパターンとなっていた。また離乳まで明時しか食餌に接することができなかったにもかかわらず、24日の摂食量は夜間の方が多かった。実験4, 5の開眼仔ラットについても同様であり、明時のみ摂食可能な逆転したリズムをもつ母ラットに飼育された仔ラットでも離乳後自由摂食になると25日より20時にピークをもつCSリズムを形成し摂食量も夜間の方が多かった。つまり幼少時より明時しか摂食できない環境で育てられたラットや、正常と逆転した行動をもつ母親に育てられたラットでも、自由摂食に戻すと本来の明暗に同調したリズムを速やかに形成する。この事はラットにおいて明暗と暗時摂食およびCSリズムの同調は遺伝的に準備されたもので、幼少時の摂食経験や母親の行動により学習されたものではないことを示している。

一方、盲目ラットを離乳後に自由給水給餌とした群の中では、2-BのD-ad群と4-BのL-ad群で25日に前者は20時、後者は8時にピークをもつCSリズムが

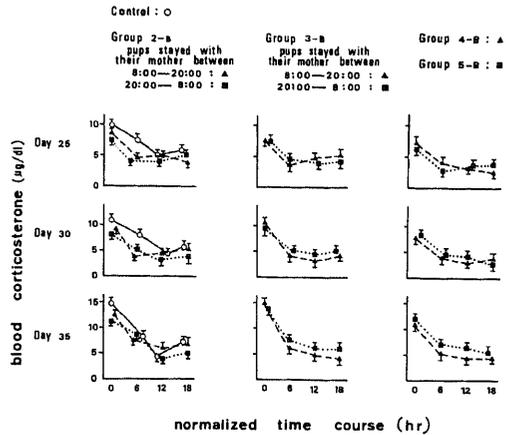


Fig. 14. The blood corticosterone levels in the blinded rats which were fed *ad libitum* after weaning. The peaks were aligned at time 0. An obvious corticosterone periodicity is observed, although the group data do not show any consistent rhythm.

みられた。しかし両群とも30日にはピークは明瞭でなくなり、35日には2-BのD-ad群のみ20時にピークが認められた。他の処置群から自由摂食とされた盲目仔ラットでは25日にはCS値は平坦であった。その後30日には20時にピークを示す群が多く、35日には2時にCS値のピークを示し、位相は一定でなかった。しかしSwanら<sup>21)</sup>の方法で個々の盲目ラットのCS値のピークを並べて表示すると、Fig.14のようにコントロール群と同様に25日よりいずれの群でも著明な日内変動が認められる。つまり個々の盲目ラットで検討するとCS値の変動は25日より存在するが、リズムの位相が同調していないため一括したデータではCSリズムが消失したり移行したりするよう見えたと考えられる。25日にCSリズムの認められた2つの処置群(2-BのD-ad群, 4-BのL-ad群)は離乳前の食餌開始時刻にピークをもつCSリズムを作っていたが、両群とも母ラットの摂食および活動リズムと一致(2-B群では夜間, 4-B群では昼間)した盲目仔ラットであった。しかし30日には25日とは異なったCS値の変動を示していた。明暗を識別できない盲目仔ラットでは母親の行動リズムが同調因子となる可能性も考えられている<sup>14)17)</sup>が、これは離乳直後までの一時的なもので永続的なものではないであろう。自由摂食の母親に飼育された盲目仔ラットはfree-runしたCSリズムを発現し、さらに継続していくと報告されている。CSリズムの位相はTakahashiら<sup>14)</sup>は育母により決定されると述べているが、Hiroshigeら<sup>22)</sup>は生母により胎生期にすでに決定されていて育母からの影響はないと

述べている。著者の実験ではどちらの母親がリズムの位相を決定するのか、論ずることはできないが、母親に摂食制限を行うか、母親の摂食行動リズムと盲目仔ラットの授乳リズムが一致している場合には母親の行動が同調因子となり得ると思われる。著者の実験結果からは、盲目ラットのCSリズムは摂食制限下で飼育すると食餌制限を続ける限りこれに同調し、自由摂食とすると一時的に母親の行動の影響を受けることがあってもやがてfree-runしていくことが示唆される。

最近、ラットで視交叉上核 (suprachiasmatic nucleus, 以下 SCN と略) を破壊するとCS<sup>23)</sup>を始め摂食行動<sup>24)</sup>や睡眠覚醒<sup>25)</sup>などの日内リズムが消失することが知られ、SCNが生物時計の中核と考えられている。ここには網膜からの線維系 (retinohypothalamic pathway)<sup>26)</sup>が連絡し、明暗と同調してSCNのニューロンが活動している<sup>27)</sup>。明暗を認識できない盲目ラットではこの線維系は作動せず、SCNの有する自動能<sup>28)</sup>により種々のリズムがfree-runしていくと考えられる。retinohypothalamic fiberとSCNの連絡、およびSCNのニューロン活性は新生児期から始まっている<sup>29)</sup>と報告されているが、CSリズムの発生は生後約3週であり、SCNから視床下部や下垂体への神経経路の完成には一定の期間が必要と思われる。

一方、Kriegerら<sup>30)</sup>はSCNを破壊されCSリズムの消失した成熟ラットに給水給餌制限を行うと食餌に同調したCSリズムを再び形成したと報告し、摂食制限下で作られるCSリズムにSCNは直接的には関与していないと述べている。しかし、摂食制限の期間中SCN活性は消失するだけでなく、SCNが破壊されない時は制限解除により制限開始前のCSリズムにすみやかに戻る<sup>31)</sup>ことから、SCN活性は摂食制限の期間中も作動しているが、表面に出てこないであろう。このように摂食制限下のCSリズム形成にはSCNとは別の機構を考えなければならない。SCNの活動は食欲中枢であるventromedial hypothalamic nucleus (以下VMHと略)、lateral hypothalamic area (以下LHと略)に伝達され<sup>32)</sup>、自由摂食の環境ではラットの夜間多食という摂食リズムが形成されると考えられる。この事はVMH、LHが生物時計の副時計であることを示唆している。最近、VMHを破壊すると摂食制限しても食餌に同調したCSリズムは出現せず、摂食制限下ではVMH活性によってCSリズムが形成されることが報告<sup>33)</sup>された。つまり摂食制限下では副時計のVMHが主役となりCSリズムが形成され主時計のSCN活性は隠蔽されているのであろう。著者の実験結果はVMHのリズム副時計としての活動は生後3週目ごろより始まり、仔ラットの食餌制限が続けられる

限りVMHによるCSリズムを形成し、制限を解除するとそれまで隠蔽されていたSCNにより決定されたCSリズムを発現すると解釈されよう。

## 結 論

雌仔ラットを使用し、血中CS日内リズムの発生に及ぼす摂食行動の影響について、12時間ごとの明暗交代下で生後35日まで検討した。

1. 自由給水給餌の母ラットに飼育されたコントロール群は、生後22日より暗時開始の20時にピークをもつCSリズムを発現し、同時期より夜間多食という摂食リズムを確立していた。

2. 母ラットから定期的に明時あるいは暗時のみ隔離され離乳後も同様の摂食制限下で飼育された仔ラットは、給餌開始時にピークをもつCSリズムを発生した。これは新生児期に眼球摘出された盲目仔ラットでも同様であった。また、明時のみの給水給餌制限を加えられた母ラットに飼育され離乳後も食餌制限を強いられた仔ラットも開眼ラット、盲目ラットともに食餌提供直前にピークをもつCSリズムを発生した。

3. 生後5日より母ラットから定期的に隔離された開眼仔ラットは、明時同居群も暗時同居群もコントロール群と同様な隔離で飼育された盲目仔ラットおよび他の処置群と比較してCSリズムの発生が早かった。

4. 明時2時間のみ摂食可能な母ラットに飼育された仔ラットは、無処置仔ラットおよび盲目仔ラットとも他の処置群より発育は悪かったが、CSリズムの発生時期の遅れはみられなかった。

5. 摂食制限下から離乳後に自由給水給餌とされた開眼ラットは、離乳後速やかに夜間多食という摂食リズムと暗時開始時にピークをもつCSリズムを形成した。一方、同様の条件で飼育された盲目ラットでは群として観察すると平坦なパターンとなることが多かったが、個々の盲目ラットは有意のCS値の変動を示していた。但し、一部に母ラットの行動リズムが離乳直後の盲目仔ラットのCSおよび摂食リズムの同調因子となったと考えられる群もあった。この群では成長とともにCSリズムは変化しfree-runして行った。

以上の結果から、ラットのCSリズムは授乳および摂食制限や盲目と関係なく生後約3週で形成され、CSリズムの同調因子としては光より定期的な食餌の方がより直接的であることが示された。光や食餌という同調因子がない場合には母親の行動リズムが一時的に同調因子となる可能性もある。しかし摂食制限が除かれると開眼ラットは本来の明暗に同調したCSおよび摂食リズムを、盲目ラットはfree-runしたリズムを示

し、幼少時からの授乳や摂食制限の効果は永続しなかった。

### 謝 辞

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました服部 純一教授に心からの謝意を表します。また終始、直接の御指導を賜りました宮保進前助教授（現福井医科大学教授）に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Pincus, G.: A diurnal rhythm in the excretion of urinary ketosteroids by young man. *J. Clin. Endocr. Metab.*, **3**, 195-199 (1943).
- 2) Krieger, D. T., Allen, W., Rizzo, F. & Krieger, H. P.: Characterization of the normal temperature pattern of plasma corticosteroid levels. *J. Clin. Endocr. Metab.*, **32**, 266-284 (1971).
- 3) Hiroshige, T., Sakakura, M. & Ito, S.: Diurnal variation of corticotropin-releasing activity in the rat hypothalamus. *Endocr. Japon.*, **16**, 465-467 (1969).
- 4) Allen, C. & Kendall, J. W.: Maturation of the circadian rhythm of plasma corticosterone in the rat. *Endocrinology*, **80**, 926-930 (1967).
- 5) Ader, R.: Early experiences accelerate maturation of the 24-hour adrenocortical rhythm. *Science*, **163**, 1225-1226 (1969).
- 6) Miyabo, S. & Hisada, T.: Sex difference in ontogenesis of circadian adrenocortical rhythm in cortisone-primed rats. *Nature*, **256**, 590-591 (1975).
- 7) Lengvári, I., Branch, B. J. & Tayler, A. N.: The effect of perinatal thyroxine treatment on the development of the plasma corticosterone diurnal rhythm. *Neuroendocrinology*, **24**, 65-73 (1977).
- 8) Johnson, J. T. & Levine, S.: Influence of water deprivation on adrenocortical rhythms. *Neuroendocrinology*, **11**, 268-273 (1973).
- 9) Krieger, D. T.: Food and water restriction shifts corticosterone, temperature, activity and brain amine periodicity. *Endocrinology*, **95**, 1195-1201 (1974).
- 10) Takahashi, K., Inoue, K., Kobayashi, K., Hayafuji, C., Nakamura, Y. & Takahashi, Y.: Effects of food restriction on circadian adrenocortical rhythm in rats under constant lighting conditions. *Neuroendocrinology*, **23**, 193-199 (1977).
- 11) Krieger, D. T.: Effect of ocular enucleation and altered lighting regimens at various ages on the circadian periodicity of plasma corticosteroid levels in the rat. *Endocrinology*, **93**, 1077-1091 (1973).
- 12) Ulrich, R., Yuwiler, A. & Geller, E.: Neonatal hydrocortisone: Effect on the development of the stress response and the diurnal rhythm of corticosterone. *Neuroendocrinology*, **21**, 49-57 (1976).
- 13) Levin, R. & Levine, S.: Development of circadian periodicity in base and stress levels of corticosterone. *Am. J. Physiol.*, **229**, 1397-1399 (1975).
- 14) 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 patterns of blood corticosterone levels in individual pups. *Endocrinology*, **104**, 954-961 (1979).
- 15) Ramaley, J. A.: Entrainment of the adrenal rhythm to photoperiod prior to puberty: Effects of early experience on the adrenal rhythm and puberty. *Neuroendocrinology*, **21**, 225-235 (1976).
- 16) 伊藤真次・広田良二: ラット副腎の生後発達について。日内分泌会誌, **52**, 1220-1229 (1976).
- 17) Levin, R. & Stern, J. M.: Maternal influences on ontogeny of suckling and feeding rhythms in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **89**, 711-721 (1975).
- 18) Moberg, G. P., Bellinger, L. L. & Mendel, V. E.: Effect of meal feeding on daily rhythms of plasma corticosterone and growth hormone in the rat. *Neuroendocrinology*, **19**, 160-169 (1975).
- 19) Morimoto, Y., Arisue, K. & Yamamura, Y.: Relationship between circadian rhythm of food intake and that of plasma corticosterone and effect of food restriction on circadian adrenocortical rhythm in the rat. *Neuroendocrinology*, **23**, 212-222 (1977).
- 20) Levine, S. & Coover, G. D.: Environmental control of suppression of the pituitary-adrenal system. *Physiology and Behavior*, **17**, 36-37 (1976).
- 21) Swan, C., Abe, K. & Critchlow, V.: Effects of age of blinding on rhythmic pituitary-adrenal function in female rats. *Neuroendocrinology*, **27**, 175-185 (1978).
- 22) Hiroshige, T., Honma, K. & Watanabe, K.:

Possible zeitgebers for external entrainment of the circadian rhythm of plasma corticosterone in blind infantile rats. *J. Physiol.*, **325**, 507-519 (1982).

23) Moore, R. Y. & Eichler, V. B.: Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. *Brain Research*, **42**, 201-206 (1972).

24) Nagai, K., Nishio, T., Nakagawa, H., Nakamura, S. & Fukuda, Y.: Effect of bilateral lesions of the suprachiasmatic nuclei on the circadian rhythm of food-intake. *Brain Research*, **142**, 384-389 (1978).

25) Ibuka, N. & Kawamura, H.: Loss of circadian rhythm in sleep-wakefulness cycle in the rat by suprachiasmatic nucleus lesions. *Brain Research*, **96**, 76-81 (1975).

26) Moore, R. Y. & Lenn, N. J.: A retinohypothalamic projection in the rat. *J. Comp. Neurol.*, **146**, 1-14 (1972).

27) Schwarz, W. J. & Gainer, H.: Suprachiasmatic nucleus: Use of  $^{14}\text{C}$ -labeled deoxyglucose uptake as a functional marker. *Science*, **197**, 1089-1091 (1977).

28) Inouye, S. T. & Kawamura, H.: Persistence of circadian rhythmicity in a mammalian hypo-

thalamic "island" containing the suprachiasmatic nucleus. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*, **76**, 5962-5966 (1979).

29) Mosko, S. S. & Moore, R. Y.: Neonatal suprachiasmatic nucleus lesions: Effects on the development of circadian rhythms in the rats. *Brain Research*, **164**, 16-38 (1979).

30) Krieger, D. T., Hauser, H. & Krey, L. C.: Suprachiasmatic nuclear lesions do not abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. *Science*, **197**, 398-399 (1977).

31) Morimoto, Y., Oishi, T., Arisue, K. & Yamamura, Y.: Effect of food restriction and its withdrawal on the circadian adrenocortical rhythm in rats under constant dark and constant lighting condition. *Neuroendocrinology*, **29**, 77-83 (1979).

32) Nishio, T., Shiosaka, S., Nakagawa, H., Sakumoto, T. & Satoh, K.: Circadian feeding rhythm after hypothalamic knife-cut isolating suprachiasmatic nucleus. *Physiol. Behav.*, **23**, 763-769 (1980).

33) Krieger, D. T.: Ventromedial hypothalamic lesions abolish food-shifted circadian adrenal and temperature rhythmicity. *Endocrinology*, **106**, 649-654 (1980).

### **Influence of Feeding Behavior on the Ontogeny of Circadian Corticosterone Rhythm in Rats**

Kenichi Yanagisawa, Department of Internal Medicine (III) (Director: Prof. K. Hattori), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — *J. Juzen Med. Soc.*, **92**, 475-489 (1983)

**Key words:** circadian rhythm, corticosterone, rat, maternal deprivation, feeding restriction.

#### **Abstract**

Influences of feeding behavior on the development of the circadian blood corticosterone rhythm in young Wistar rats (female) were studied under diurnal lighting conditions with illumination from 8 a.m. to 8 p.m. Half of the young females had their eye-balls enucleated 2 days after birth. All the animals were weaned from their mothers 23 days after birth. Blood samples were obtained by tail-tip incision and the corticosterone levels were measured by radioimmunoassay. Normally sighted pups (controls), which were housed continuously with their mothers fed *ad libitum* until weaning, showed a circadian corticosterone rhythm peaking at 8 p.m. and a nocturnal feeding pattern after the 22nd day. Both sighted and blinded pups, which were reared with periodic maternal deprivations before weaning and with periodic feeding restrictions after weaning, showed a circadian corticosterone rhythm with the peak just before food was given. When the young females were reared with their mothers, their food and water intake was limited to the daytime, and further reared with the same food restrictions after weaning, a circadian

adrenal rhythm with the peak just prior to the presentation of food and water was noted even in the blinded pups. In the sighted pups, which were periodically isolated from their mothers after the 5th day, an adrenal rhythm appeared significantly earlier than did in the control rats. When the sighted rats were freely allowed access to food and water after weaning, the zenith of the corticosterone level appeared at 8 p.m. and a nocturnal feeding pattern was observed. On the other hand, a few blinded rats, which were allowed to feed freely after weaning, developed a corticosterone rhythm in accordance with their maternal activity. It seems that maternal behavior may act as a possible synchronizer for the circadian rhythm among the blinded pups. Although the group data obtained from the blinded rats did not show a consistent corticosterone rhythm, individual rats revealed a certain periodicity. The present results indicate that the development of the circadian corticosterone rhythm is influenced more directly by feeding behavior than lighting conditions, and that the effect of feeding restrictions during their infantile period does not persist permanently. The sighted rats show a feeding and adrenal rhythm synchronized with lighting conditions, while the blinded rats show a free-running rhythm when they are allowed free access to food and water after weaning.