

環境温度と生物時計

—母仔間同調因子としての体温サイクル—

本間 さと¹⁾ 本間 研 —¹⁾

1) 北海道大学医学部生理学第一講座

はじめに

生物は外界の明暗サイクルに同調した昼行性あるいは夜行性のサーカディアンリズムを示すが、恒明あるいは恒暗条件下では、24時間からわずかに離れた個体固有の周期を示すようになる。このように、同調因子がない条件下で出現する内因性リズムをフリーランリズムと呼ぶ。フリーランリズムの存在は、サーカディアンリズムが内因性の自律振動体、すなわち生物時計に駆動されたものであることを示している¹⁾。

すべての生物時計にとって最も強力な同調因子は光であるが、環境温度も変温動物では同調因子となりうることが知られている²⁾。哺乳動物では、温度サイクルによる同調の報告は極めて少なく³⁾、その機序も、環境温度による直接作用と、低温環境下で生じる活動上昇の生物時計へのフィードバック作用のいずれか、判定が困難だった⁴⁾。我々は、授乳期の一定期間、仔ラットの時計が母親のリズムに同調することを見だし、哺乳動物における光以外の同調因子によるリズム同調として、そのメカニズムを追求してきた⁵⁻⁷⁾。この時期は、また、仔の体温調節機構が未発達であるため、体温の維持を母親に依存している時期でもある。そこで、母親のリズムを介する仔の体温変動が同調因子となる可能性を検討した。

母仔間リズム同調とその証明方法

図1は、授乳中の母親と、離乳後の仔の自発行動リズムをアニメックス(島津社 Animex III)にて測定し、15分毎のカウントをヒストグラムとしダブルプロットしたものである。離乳までの21日間は、母親一匹と出生第一日目に眼球摘出した仔ラット5匹の行動量が含まれるが、明暗サイクルに同調した母親のリズムを反映して、暗期に上昇する24時間周期のリズムがみられる。21日以降の盲目仔ラットの自発行動リズムは、光同調を欠くため、24時間よりも長い周期でフリーランしていることが分かる。仔ラットの離乳日の位相を見ると、その行動開

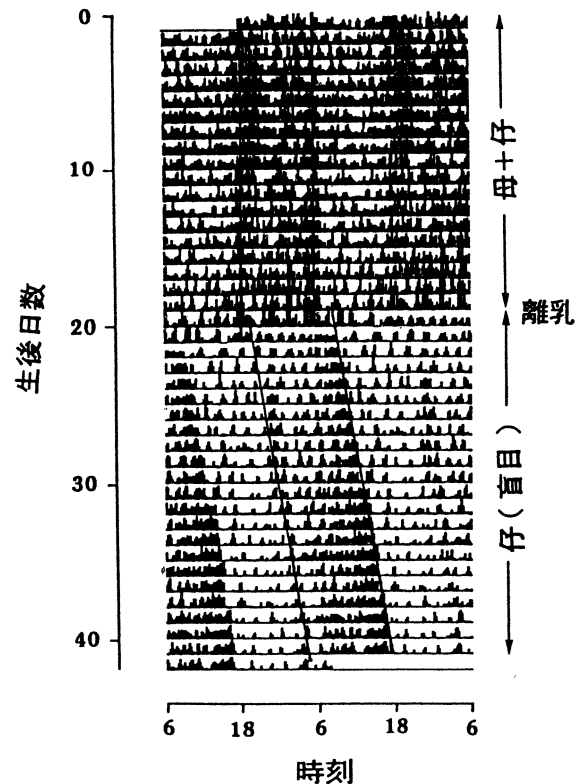


図1 ラット自発行動リズムのダブルプロット

15分毎のカウントをヒストグラム表示した。21日までは、母親1匹と出生第1日に盲目にした仔ラット5匹の、21日以降は内1匹の仔ラットの行動量を示す。明期6—18時。図中の線は行動開始および終了位相。

始位相が、母親の行動開始位相に比べてわずかに後退していることが示されている。このようにして測定した仔ラット18匹の行動リズムのフリーラン周期を離乳日の行動開始および終了位相に対してプロットすると図2のようになり、有意の正の相関がみられる。また、同腹の仔でも各個体でフリーラン周期が異なることが分かる。こ

別刷請求宛先：本間 さと

〒060 札幌市北区北15条西7丁目 北海道大学医学部生理学第一講座

Reprint Requests to Sato Honma, Department of Physiology 1, Hokkaido Univ. School of Medicine, N-15, W-7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido 060 Japan

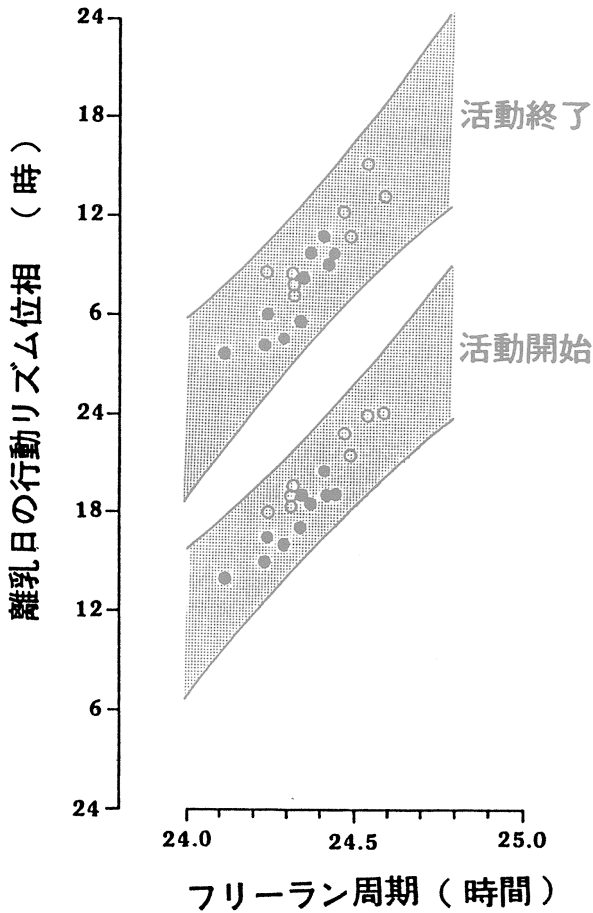


図2 仔ラットの離乳日の活動リズム位相とフリーラン周期の関係
仔は出生第一日に眼球摘出により盲目にした。明暗サイクルに同調した母親が、5匹の仔を飼育した場合と(●)、2匹の仔を飼育した場合(○)。網かけ部分は回帰直線の99%信頼区間。

の図から、仔ラットの生物時計が離乳前からすでにフリーランしていること、しかし、すべての個体の活動リズム位相が離乳前にある一定位相に集束していたこと、すなわち24時間周期に同調していたことがわかる。その後、同一位相から一斉にフリーランを開始したため、周期が長いほど離乳日に活動位相が後退したと考えられる。仔ラットは盲目であるため、明暗周期に同調した母親のリズム以外には環境の24時間周期は存在しない。ラットの授乳や仔との接触は主に、休息期である明期に集中し、活動期である暗期、特に暗期開始時期には母親が仔と接触する時間が最も少ない。この様な母親のサーカディアンリズムの内、仔の同調因子として考えられるものには、1. 授乳リズムによって生じる仔の満腹と空腹あるいは口渴のサイクル、2. ミルク中の何らかの液性因子、3. 母親の活動リズムに伴って生じる仔の体温変動、4. 保温以外の母性行動、等が考えられる。そこで、授乳期間

中に周期的な母親との隔離を行い、この間の室温を調節して、周期的な環境温の変動が同調因子となり得るかどうかを検討した。

環境温サイクルによる仔ラットのリズム同調

実験には一定環境下(室温: 22±2℃、湿度: 60±5%、明期: 6-18時、照度: ケージの位置で約100ルクス)で繁殖、飼育したウイスター系のラットを用いた。同日に出産した母親8匹と雄の仔64匹を実験に用いた。出生第一日目に、母親1匹に対し、授乳する仔を雄のみ9匹にそろえ、低体温麻醉下で眼球を摘出した。同腹の仔9匹を3匹ずつ3群にわけ、内1群を対照として常に母親と一緒に置き(母親群)、他2群は生後2日目から21日目の離乳まで、連日、10時から14時の4時間母親から離し、10℃(低温群)、22℃(室温群)、30℃(高温群)のいずれかにおいた。授乳中の母仔、および離乳後の仔の自発行動量をアニメックスにて測定した。各群16匹の活動リズムの周期はカイ二乗ペリオドグラム法にて、位相は視察法にて解析した。また、隔離前後で仔ラットの体重を測定した。

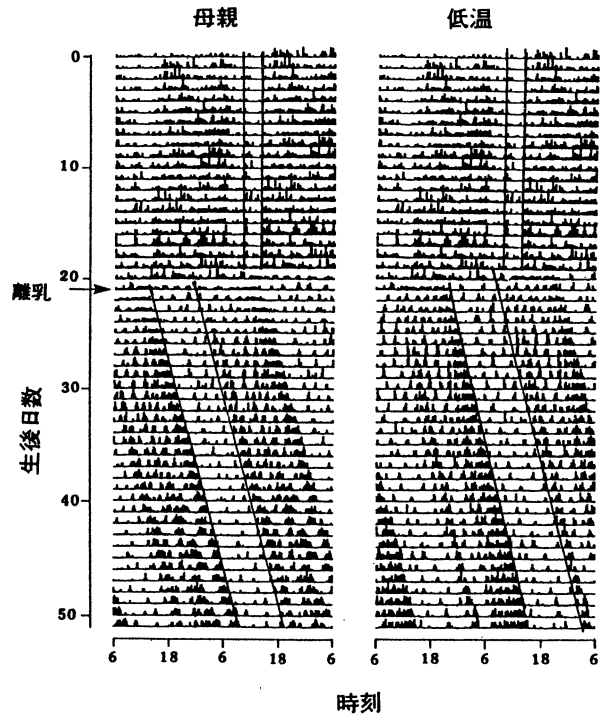


図3 授乳中に周期的母仔隔離を行った場合の自発行動リズム
同一の母親が飼育した、周期的低温暴露ラット(低温)と、母親のもとに残したラット(母親)。図中、離乳日までの2本の線は、隔離時間帯を、離乳後の斜線は、活動開始および終了位相。

図3は授乳中の母仔と、その母親に飼育された仔の離

乳後の自発行動リズムを示したものである。授乳中の行動リズムは、母親一匹が飼育する仔の数が図1の場合よりも多いため、暗期に上昇する母親の行動リズムが不明瞭となり、また、毎日10時に仔の3分の2を取りだし、14時に戻す作業を繰り返すため、この間の行動量の低下が示されている。しかし、離乳後、仔に発現する行動リズムに注目すると、同一の母親に飼育されたにもかかわらず低温群のラットでは、離乳日の行動開始がそれまでの隔離開始位相にわずかに先行し、一方、母親群では、親の行動開始よりもわずかに後退した位相から始まって

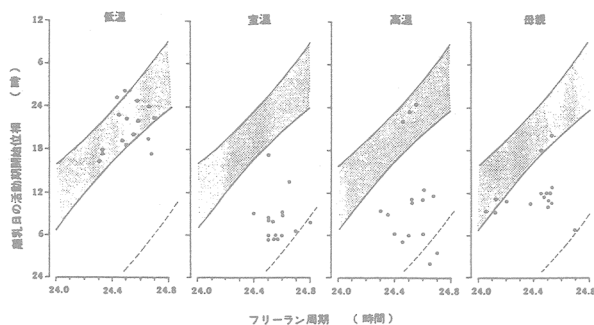


図4 隔離群と母親群ラットの自発行動リズムの、離乳日の活動開始位相とフリーラン周期の関係

網かけ部分は、対照群(図2)で求めた、回帰直線の99%信頼区間。

おり、両者にほぼ180度の位相角差がみられる。このようにして解析した仔ラットの離乳日の行動開始位相をフリーラン周期に対してプロットすると図4の様になる。対照群では、16例中12例が、図2で示した99%の信頼区間内にあり、残る4例も信頼区間からわずかに離れた位置にあった。隔離群の内、低温群では16例全例が信頼区間外にあり、室温群では16例中13例が信頼区間外で、残る3例は母親に同調したと考えられる。一方高温群では16例中12例が信頼区間外にあったが、行動開始位相はフリーラン周期に関わらず隔離の時間帯に一致していた。母親からの隔離が、強い同調因子であれば、同調が離乳日まで続くと考えられ、この場合、離乳日の仔のリズム位相は、フリーラン周期に関係なく、ほぼ同一位相となる。低温群では一例も信頼区間内になかったことから、周期的隔離に比較して、隔離中の低温暴露がより強い同調因子であると考えられる。

図5は、離乳日の位相を比較したものである。母親からの隔離は、各群共、毎日10-14時に行われているが、低温と室温群では、活動開始が7時前後で、11時前後を示す高温群との間に有意差がみられる。低温および室温群の行動位相が隔離開始に2-3時間先行していること

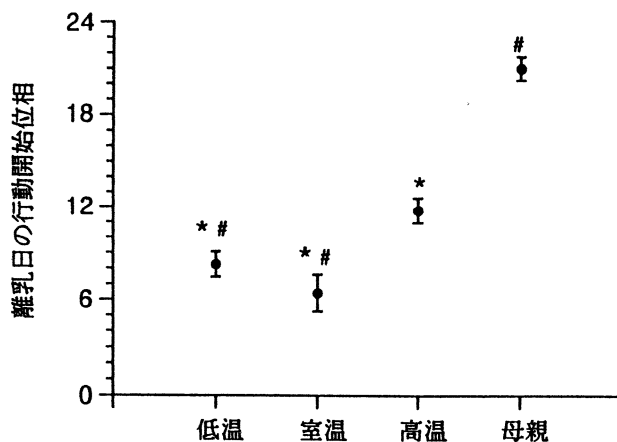


図5 離乳日の活動開始位相

平均値±標準誤差。*：母親群との有意差 ($P < 0.01$)、#：高温群との有意差 ($P < 0.01$)。

から、同調因子は、母親からの隔離による空腹や、母性行動の欠如よりも、隔離前に生じる現象である可能性が高い。毎日10℃の低温にさらされた低温群の仔ラットでは、交感神経支配で褐色脂肪組織による産熱が盛んに行われたと考えられる。低温群の体重が生後1週目から、すでに他群と比較して有意に低かったため、産熱によるエネルギー消費が示唆される。ラットの体温レベルは生後15-17日で成熟ラットと同等となるが、体温リズムの発現は25日以降と報告されている⁸⁾。今回の実験では、仔の深部体温を記録していないため、体温が活動開始と共に上昇しているかどうかは不明であるが、仔の時計が温度サイクルに同調して、低温暴露前に活動期に入るとは、仔の生存にとって有利である。一方、高温群では、離乳日のリズム位相から、母親の隔離そのものが同調因子として働いたと考えられる。母親からの周期的隔離が、仔のリズムの同調因子となること、その際、隔離開始位相が仔の活動開始位相と一致することは、すでに、母親への周期的制限給餌⁷⁾。母親との接触制限^{9, 10)}等の実験結果からも明らかである。同調可能期間も、同調作用が強いほど、(たとえば、接触時間が短くなるほど)長くなる^{7, 9)}。高温群の結果は、これらの報告と一致している。

3つの隔離群間でも、温度によって、リズム位相に差が生じたことから、授乳時間帯の変位による仔の空腹満腹のサイクル、あるいはミルク中の何らかの液性因子が、同調因子として作用した可能性は低い。また、隔離時間は、本来授乳が盛んに行われる時間帯に一致するが、今回の実験では、母親群の仔ラットも、この時間帯の哺乳に伴う体重の増加がほとんどみられなかった。これは隔離群の仔の出し入れによって、母親の休息が妨げられた

ためと考えられるが、共に哺乳が行われなくても、母親群と隔離群の間には大きな位相差がみられたため、やはり、同調因子は、哺乳やミルク中の成分ではなく、保温を含めた母性行動にある可能性が高い。

幼若ラットでは、低温環境下でも活動は亢進しないため、成熟個体で問題となる、活動亢進による時計へのフィードバックの可能性が少ない。今回の結果は、成熟した恒温動物では、外界の温度変化による生物時計の同調がみられなくても、体温調節の未熟な授乳期のラットにとって、周期的な母親の不在によって生じる体温低下が同調因子として働く可能性を示唆している。視床下部視交叉上核に存在する生物時計への作用が、低温の直接作用か、あるいは、交感神経系の作用など、産熱に伴う諸因子にあるのかは、今後の研究に残された課題である。

circadian clock of pups. *Nature* 317: 530-531, 1985

文 献

- 1) 本間研一、本間さと、廣重力、「生体リズムの研究」、北海道大学図書刊行会、1989
- 2) Underwood, H: Pineal melatonin rhythms in the lizard *Anolis carolinensis*: effects of light and temperature cycles. *J. Comp. Physiol A.* 157: 57-65, 1985
- 3) Tokura, H, Aschoff, J: Effects of temperature on the circadian rhythm of pig-tailed macaque *Macaca nemestrina*. *Am. J. Physiol.* 245: R800-R804, 1983
- 4) DeCoursey, PJ: Phase control of activity in a rodent. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 25: 49-54, 1960
- 5) Honma, S, Honma, K. et al: Maternal phase setting of fetal circadian oscillation underlying the plasma corticosterone rhythm in rats. *Endocrinology* 114: 1791-1796, 1984
- 6) Honma, K, Honma, S. et al: Phase setting of circadian locomotor rhythm of infant rat. *Am. J. Physiol.* 252: R256-R261, 1987
- 7) Honma, S, Honma, K et al: Restricted daily feeding during nursing period resets circadian locomotor rhythms of infant rats. *Am. J. Physiol.* 252: R262-R268. 1987
- 8) Kittrell, EMW, Satinoff, E: Development of the circadian rhythm of body temperature in rats. *Physiol. Behav.* 38: 99-104, 1986
- 9) Shimoda, K, Takahashi, K, et al: Periodic exposure to mother is potent zeitgeber of rat pups's rhythm. *Physiol. Behav.* 36: 723-730, 1986
- 10) Viswanathan, N, Chandrashekar, MK: Cycles of presence and absence of mother mouse entrain the