

若齢成熟および老齢ラットの行動量と 脳部位別モノアミン量の日内変動

岡山大学医学部脳代謝研究施設脳代謝神経科（主任：高坂陸年教授）

土 井 亨

（昭和53年11月30日受稿）

Key words：老化，日内変動，運動量，
脳内モノアミン量，部位別脳

はじめに

老化現象という問題について、様々な観点からの議論，研究が行なわれてきている。生命科学の立場からも、この問題の解明について、種々の研究がなされてきている。しかしながら、この重要な問題の生理学的背景の研究は、まだその緒についたばかりのように見える。特に老化を生化学的な立場から追究している研究は非常に少ないように思われる。しかし、中枢神経系における老化現象の基盤としては、脳内諸物質の代謝動態の変化と、特徴的な行動形態の変化が推測されるが、これらの相関を追究することは、中枢神経系の加齢の過程を解明するために重要な課題と考えられる。

Robinsonら³¹⁾³²⁾³³⁾³⁴⁾は種々の原因で死亡したヒトの脳のいくつかの部位を調べ、脳内モノアミンであるドーパミン (DA)，ノルエピネフリン (NE)，セロトニン (5-HT)，5-HT の最終代謝産物である5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA)，モノアミン関連酵素であるモノアミン酸化酵素 (MAO)，カテコール-O-メチル転移酵素 (COMT) の活性について測定し、さらに、正常ヒト血漿および血小板の MAO 活性を測定した結果、これらのモノアミン，モノアミン代謝産物およびモノアミン関連酵素活性と加齢の相関を検討し、報告している。これによると、MAO 活性は加齢と共に上昇していること、NE 量は加齢と共に減少する傾向のあること、DA 量は減少する部位とはっきりした相関はないが、増加する部位があることなどである。Grote¹²⁾ は自殺者の脳で、やはり MAO 活性が高齢者で増加していたと述べている。

実験動物における、これらのモノアミン，その代謝産物およびその関連酵素についての研究には、次のようなものがある。Finch⁸⁾はマウスを用い、老齢マウスの striatum で DA が減少し、 $[^3\text{H}]$ -チロシン、 $[^3\text{H}]$ -DOPA の DA，NE への代謝が減少していたことから、その代謝過程が遅延していると推測している。Jones¹⁴⁾は、老齢マウスで hypothalamus, striatum の synaptosome への DA 取り込みが減少しているが、チロシン、5-HT、NE の取り込みは変化しておらず、DA の取り込みのみが選択的に阻害されるのではないかと述べている。Bernard 等³⁾は、6週齢と30週齢のマウス全脳の DA、NE 量を測定し、DA 量は30週齢のマウスが高く、NE 量は両者で差がなかったとしている。

関連酵素に関しては、McGeer 等²¹⁾はヒト、ヒヒについて調べ、チロシン水酸化酵素 (TH) 活性が加齢により減少したと報告し、Reis 等³⁰⁾はラットを用い TH 活性が hypothalamus では老齢群で上昇し、caudate nucleus, olfactory tubercle では低下し、hypothalamus のドーパミン- β -水酸化酵素 (DBH) 活性は減少したと報告している。Maura 等²⁰⁾は若齢および老齢ラットに、光，音，振動による刺激を与え両群の脳内の MAO 活性を調べ、刺激に対し両群とも MAO 活性は低下したが、無刺激期、刺激期、回復期のいずれの時期においても老齢群若齢群間の差はなかったとしている。

以上のように、加齢とモノアミンの周辺との関連の知見はあまり多くはない。

老化を別の指標でとらえた報告を調べてみた。奥木ら²⁶⁾は、マウスを用い、その加齢の行動に及ぼす影響を調べている。その報告によると、マウスの行

動は、若齢成熟群では、昼間行動量が少なく、夜間に多いという特徴的なパターンを示すのに対し、老齢群では、このパターンがくずれ、昼夜の別なく行動する全日制的パターンを示すようになったと報告している。

そこで、行動量のパターンがくずれてくるのであれば、成熟実験動物の脳内モノアミンの日内変動が知られており、老齢群では脳内モノアミンの日内変動が、変化しているのではないかと推測される。Robinsonら³¹⁾³²⁾³³⁾³⁴⁾の仕事は、加齢とアミンを横断面的に追究したものであるとすれば、さらに進んで、縦断面的に比較検討する必要性が生じてくる。そこで、著者は、日内変動の観点から加齢と、行動量および脳内アミン量の相関を比較検討することにした。

なお、加齢とモノアミンの日内変動については、浅野ら²⁾が、ラットの成熟過程を生後約1, 2, 3, 4, 5, 8週のラットを用い、行動量および脳内NE, 5-HT濃度の日内変動の成熟過程を調べている。そして、行動量は生後4-5週に、5-HT含量は4週め、NE量は5週めに成熟ラットと同様の日内変動を示すに至ったとする報告がある。しかし、これは老化の過程ではなく、成熟過程についての報告である。

そこで著者は、中枢神経系における老化の過程を解明する目的で行動量および脳内アミンの日内変動を老齢群、若齢群の2群のラットを用いて調べた。

行動量はアニメックスを用いて調べ、脳はamygdala (Amy.), striatum (St.), cerebral cortex (Cor.), hippocampus (Hip.), diencephalon (Die.), brain stem (B.S.)の6部位に分別し、それぞれの部位についてDA, NE, 5-HTの3アミンを測定し、いくつかの知見を得たので若干の考察を加えた

実験方法

1) 動物と飼育条件

ウィスター系(W系)雄性ラットを用いた。16週齢、体重 394 ± 69 g (平均値±標準偏差)の若齢成熟群ラット(以下Y群と略す)と、19月齢、体重 584 ± 66 gの老齢群ラット(以下A群と略す)の2群について実験を行った。両群のラットは午前1時点灯、午後1時消灯による12時間ごとの明暗周期の人工照明下で、温度 $24 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 、湿度 $55 \pm 1\%$ の恒温恒湿室で飼育した。46×34×17.5(cm)のアルミニウム製飼育箱に6~8匹を入れ、実験開始前Y群は5週間、A群は5ヵ月間にわたり上記の条件で飼育した。飼料はオリエンタル社の固型飼料MFを与えた。エサ、水は自由に摂取できる条件で飼育した。

2) 行動量の測定

行動量はアニメックス(スウェーデン FARAD Electronics 社製)を用いて測定した。アニメックス用飼育箱(37×24×17(cm))に、1回につき2匹のラットを入れ、26時間の間、毎時間ごとの計測数を自動記録機で記録した。両群とも5回ずつ行動量を計測した。計測値としては、ラットをアニメックス用飼育箱に入れた後1時間の値を捨て、それ以後計測終了1時間前までの数値を採用した。5回の計測ののち、暗転後2時間ごとの数値を集計し、その数値の平均値を算出した。従って、Fig. 1に示す各時間の値の単位はアニメックス平均計測値/時/2匹である。

3) 脳組織試料の作成法

行動量の測定が終了した後、それぞれの飼育箱から無作為に1~2匹ずつのラットを取り出し、暗転2, 6, 10時間後(それぞれD2, D6, D10とする)、明転2, 6, 10時間後(それぞれL2, L6, L10とする)の6時点で、両群とも1時点につき6~8匹を用いた。ラットをTakahashi, Aprison³⁵⁾のNear-freezing Methodに従い、液体チッ素中に8秒間つけて殺し、断頭後速やかに脳を取り出し、氷上でSchubertら³⁶⁾およびGlowinskiら¹⁰⁾の方法を参考にし、Amy., St., Cor., Hip., Die., B.S.の6部位を左右別に分け、小型プラスチック容器に入れ、アミン分析を行うまで -80°C で凍結保存した。A群において前頭葉腫瘍1、橋直下膿瘍1が肉眼的にみられ、これらの個体は除外した。脳試料は採取後4週間以内にモノアミン量の測定を完了した。

4) 蛍光法を用いたアミンの測定方法

DA量、NE量、5-HT量を、右半側の脳部位を用いてKarasawaら¹⁶⁾の2-カラム法を一部改変して測定した。すなわち、脳試料をMettlerの微量天秤で重量を計測したのち0.4N過塩素酸3ml中に入れ、Polytron(スイスKinematica社製)を用いてホモゲナイズした。ホモゲナイズ後4℃、15,000rpmで15分間遠沈し、上清をとり、0.4M炭酸カリウムでpH 6.5~7.5に調整し、4℃、10,000rpmで6分間遠沈し沈澱を除いた。上清をAmberlite CG-50(あらかじめcl-型に前処理し、pH6.1のリン酸緩衝液で平衡化したもの約0.3g乾燥重量)をつめたカラムに通した。本法ではカラムを6mlの蒸留水で洗ったのち、0.5N HCl 3mlで溶出し、溶出液のそれぞれ1mlをDA, NE, 5-HTの測定に用いた。

DA量の測定は、溶出液に1)0.1ml 2% EDTA-2Na,

0.1ml0.08%フェリシアン化カリを混和し、2)1N NaOHに1.6% Na₂SO₃を溶かしたもの0.5mlを加え攪拌し6分間氷水中に静置、3)1ml2.5N酢酸を加え攪拌し、4)Dri-block bath (日本Scinics社製) 中で75℃20分間インキュベートし、氷冷したのち、5)島津分光蛍光光度計 (RF-510) を用い、4℃で330nm/370nmの蛍光を測定した。

NE量の測定は、溶出液に 1) 1 ml0.2Mリン酸緩衝液pH6.3を加え攪拌、2)1.25N NaOHでpH6.3に調整し全量が2.5mlになるように水を加えた、3)0.1ml0.1N I₂-NaIを加え攪拌し20分間氷水中に静置、4)2.5% Na₂SO₃, 1% EDTA-2Naを含む2.5N NaOHの氷冷液0.5mlを加え反応を止め、5) 0.01% cysteine-HClを含む2.5N酢酸を加え10分間室温に静置したのち、6)分光蛍光光度計を用い、室温で380nm/480nmの蛍光を測定した。

5-HT量は溶出液に1) 1% cysteine-HClを含む0.5N HClと0.1% orthophthal aldehydeを含む濃塩酸を加え、2)Dri-block bath 中で75℃10分間インキュベートし、3)室温に冷却したのち分光蛍光光度計を用いて、室温で355nm/480nmの蛍光を測定した。

それぞれのアミンの回収率は、DA150ng, NE50ng, 5-HT50ngを実際の脳試料に加えることによって求めた結果、いずれのアミンについても90-100%であった。定量限界は、DAで約3ng, NEおよび5-HTは約1ngであった。

5) データの解析

資料の統計的処理には Student-t test を用いた。

結 果

1) 行動量

両群のラットの行動量の日内変動をFig.1に示した。Y群では暗転後2時間から4時間にかけて急速に行動量が増加し、その後10時間まで徐々に減少し続け、明転直前に一過性に増加し、明転と同時に急速に減少した。明期を通じて行動量はおおむね低値を維持したが、明転4時間後に軽度の増加傾向を示し、6時間で最低値となり、その後少しずつ増加していき暗転直前に再び増加の傾向を示した。一方、A群の行動量は暗転後2時間で明時の値の約2倍に増加し、Y群と同様明転4時間後でピークを示した。以後明転10時間まで減少を続け、Y群と同様明転直前に増加し、明転と同時に激減した。A群では明転後各時間帯でそれほど大きな変動は示さず、ほぼ同程度の行動量を維持していた。またY群でみられた

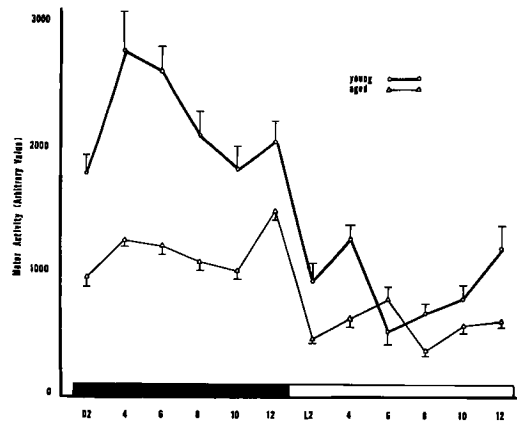


Fig. 1.

Diurnal variation of motor activity of young and aged rats. Horizontal bars represent standard errors of the mean.

■ : Dark period, □ : Light period.

暗転直前の上昇も示さなかった。行動量の大きさの点からみると、L6, L10の2時点を除き、いずれの時点でもY群に比しA群に行動量の有意な低下がみられた。Y・A両群とも暗期に行動量が大きく、明期に行動量が小さくなっていたが、明期の総行動量に対する暗期の総行動量の比はY群では2.47倍であるに対し、A群では2.03倍と小さく、Y群に比しA群の行動量が平坦化し、かつ、行動量全体も減少を示していた。特に暗期のY群の行動量に対するA群の行動量の比は、約50%に低下していた。

2) モノアミン量の日内変動

Fig. 2, Fig. 3, Fig. 4にモノアミンの日内変動を、Table 1, Table 2, Table 3にその実測値を示した。

a) DAの日内変動

Fig. 2, Table 1にDAのY・A両群の脳部位別日内変動を示した。変動の様式を比較すると、Amy. ではY・A両群とも暗期に高値、明期に低値を示した。Y群では、暗期のそれぞれの時点値と明期のそれぞれの時点値との間に統計的有意差を認めたが、A群ではどの時点値の間にも有意差は認められなかった。St.では、Y・A両群ともD6, L6で2つのピークを持つ2峰性の日内変動を示したが、変動の大きさはY群では小さく、A群では著明な変化を示した。Cor. は、Y・A両群ともAmy.の場合とは逆に暗期に低く、明期に高い変動を示した。Hip. では、Y群では暗期の始まりと明期の終りで高値を示すなどかな日内変動を認めたが、A群では特徴的な変動は認められ

Fig. 2.

Diurnal variation of Dopamine contents in brain regions of young and aged rats. Horizontal bars represent standard errors of the mean.

Statistical significance *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, †: $P < 0.005$, ††: $P < 0.001$, young vs aged at each time.

■: Dark period, □: Light period.

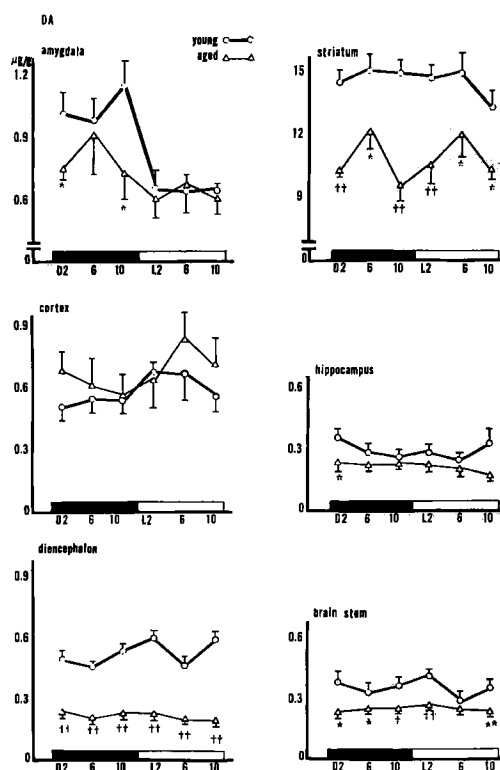


Table 1. Mean contents of Dopamine in brain regions.

Mean $\pm$ SEM μ g/g wet tissue.

Statistical significance *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, †: $P < 0.005$, ††: $P > 0.001$, young vs aged at pus, each time.

Amy: amygdala, St.: corpus striatum,

Cor.: cerebral cortex, Hip.: hippocampus,

Die.: diencephalon, B.S.: brain stem

D2 D6 D10: 2, 6, 10 hours after light off.

L2 L6 L10: 2, 6, 10 hours after light on.

DA		D2	D6	D10	L2	L6	L10
Amy.	Y	1.01 $\pm$ 0.09	0.98 $\pm$ 0.09	1.14 $\pm$ 0.13	0.66 $\pm$ 0.06	0.64 $\pm$ 0.08	0.65 $\pm$ 0.02
	A	0.75 $\pm$ 0.05*	0.92 $\pm$ 0.18	0.72 $\pm$ 0.11*	0.60 $\pm$ 0.08	0.67 $\pm$ 0.04	0.60 $\pm$ 0.06
St.	Y	14.5 $\pm$ 0.6	15.1 $\pm$ 0.9	15.0 $\pm$ 0.5	14.7 $\pm$ 0.5	15.0 $\pm$ 0.8	13.4 $\pm$ 0.6
	A	10.3 $\pm$ 0.2 ††	12.3 $\pm$ 0.7 *	9.6 $\pm$ 0.7 ††	10.5 $\pm$ 0.8 ††	12.1 $\pm$ 0.8 *	10.4 $\pm$ 0.4 *
Cor.	Y	0.54 $\pm$ 0.05	0.57 $\pm$ 0.05	0.56 $\pm$ 0.06	0.70 $\pm$ 0.03	0.70 $\pm$ 0.1	0.58 $\pm$ 0.07
	A	0.71 $\pm$ 0.08	0.63 $\pm$ 0.13	0.58 $\pm$ 0.09	0.67 $\pm$ 0.12	0.85 $\pm$ 0.13	0.73 $\pm$ 0.12
Hip.	Y	0.38 $\pm$ 0.03	0.31 $\pm$ 0.04	0.28 $\pm$ 0.02	0.30 $\pm$ 0.03	0.27 $\pm$ 0.01	0.35 $\pm$ 0.06
	A	0.26 $\pm$ 0.03*	0.24 $\pm$ 0.01	0.26 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.02	0.20 $\pm$ 0.02
Die.	Y	0.50 $\pm$ 0.04	0.46 $\pm$ 0.01	0.54 $\pm$ 0.02	0.60 $\pm$ 0.03	0.46 $\pm$ 0.03	0.59 $\pm$ 0.04
	A	0.24 $\pm$ 0.01 ††	0.21 $\pm$ 0.02 ††	0.23 $\pm$ 0.01 ††	0.23 $\pm$ 0.02 ††	0.21 $\pm$ 0.02 ††	0.20 $\pm$ 0.02 ††
B.S.	Y	0.38 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.02	0.41 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.02	0.35 $\pm$ 0.03
	A	0.24 $\pm$ 0.02*	0.25 $\pm$ 0.01*	0.25 $\pm$ 0.01†	0.26 $\pm$ 0.02 ††	0.24 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01**

Fig. 3.

Diurnal variation of Norepinephrine contents in brain regions of young and aged rats. Horizontal bars represent standard errors of the mean.

Statistical significance *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, †: $P < 0.005$, ††: $P < 0.001$, young vs aged at each time.

■: Dark period, □: Light period.

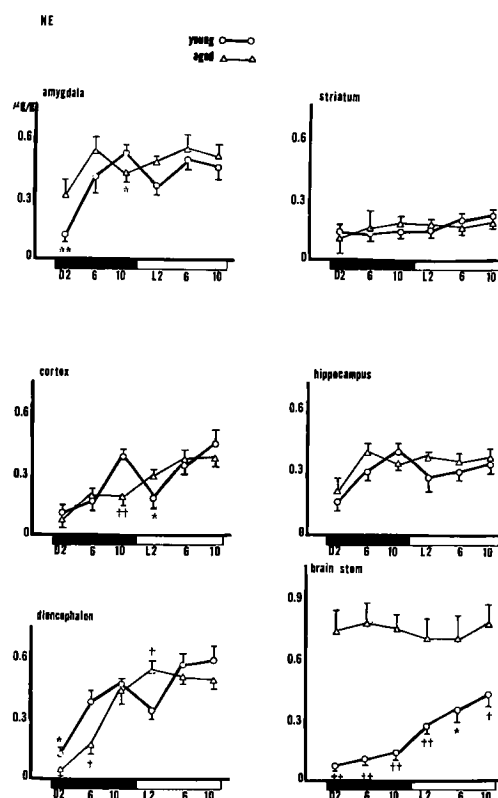


Table 2. Mean contents of Norepinephrine in brain regions. Mean $\pm$ SEM μ g/g wet tissue.

Statistical significance *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, †: $P < 0.005$, ††: $P < 0.001$, young vs aged at each time.

Amy.: amygdala, St.: corpus striatum, Cor.: cerebral cortex, Hip.: hippocampus,

Die: diencephalon, B.S.: brain stem

D2 D6 D10: 2, 6, 10 hours after light off.

L2 L6 L10: 2, 6, 10 hours after light on.

NE		D2	D6	D10	L2	L6	L10
Amy.	Y	$0.12 \pm 0.01^{**}$	0.40 ± 0.07	0.52 ± 0.03	0.36 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.45 ± 0.05
	A	0.31 ± 0.07	0.52 ± 0.06	$0.42 \pm 0.03^{*}$	0.47 ± 0.02	0.53 ± 0.06	0.50 ± 0.05
St.	Y	0.14 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.14 ± 0.02	0.20 ± 0.03	0.21 ± 0.02
	A	0.10 ± 0.06	0.13 ± 0.05	0.17 ± 0.02	0.17 ± 0.01	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.01
Cor.	Y	0.11 ± 0.02	0.16 ± 0.03	0.38 ± 0.03	$0.18 \pm 0.04^{*}$	0.34 ± 0.03	0.45 ± 0.05
	A	0.08 ± 0.03	0.17 ± 0.04	$0.18 \pm 0.03^{††}$	0.29 ± 0.02	0.35 ± 0.03	0.38 ± 0.02
Hip.	Y	0.17 ± 0.02	0.31 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.27 ± 0.05	0.31 ± 0.03	0.36 ± 0.03
	A	0.22 ± 0.06	0.41 ± 0.03	0.36 ± 0.02	0.38 ± 0.02	0.36 ± 0.03	0.38 ± 0.03
Die.	Y	$0.12 \pm 0.02^{*}$	0.38 ± 0.05	0.47 ± 0.02	0.34 ± 0.02	0.56 ± 0.05	0.59 ± 0.05
	A	0.05 ± 0.01	$0.17 \pm 0.03^{†}$	0.47 ± 0.05	$0.53 \pm 0.04^{†}$	0.50 ± 0.03	0.48 ± 0.03
B.S.	Y	$0.08 \pm 0.01^{††}$	$0.11 \pm 0.02^{††}$	$0.14 \pm 0.02^{††}$	0.26 ± 0.02	$0.35 \pm 0.04^{*}$	$0.42 \pm 0.04^{†}$
	A	0.73 ± 0.09	0.77 ± 0.10	0.74 ± 0.07	$0.70 \pm 0.09^{††}$	0.71 ± 0.13	0.77 ± 0.09

Table 3. Mean contents of Serotonin in brain regions. Mean $\pm$ SEM μ g/g wet tissue.

Statistical significance *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, †: $P<0.005$, ††: $P<0.001$,
young vs aged at each time.

Amy.: amygdala, St.: corpus striatum, Cor.: cerebral cortex,

Hip.: hippocampus, Die.: diencephalon, B.S.: brain stem,

D2 D6 D10: 2, 6, 10 hours after light off,

L2 L6 L10: 2, 6, 10 hours after light on.

5-HT		D2	D6	D10	L2	L6	L10
Amy.	Y	1.80 $\pm$ 0.08	1.81 $\pm$ 0.07	1.68 $\pm$ 0.14	1.69 $\pm$ 0.04	1.55 $\pm$ 0.05	1.45 $\pm$ 0.11
	A	1.71 $\pm$ 0.05	1.73 $\pm$ 0.07	1.72 $\pm$ 0.05	1.65 $\pm$ 0.06	1.49 $\pm$ 0.11	1.43 $\pm$ 0.05
St.	Y	1.20 $\pm$ 0.08	1.32 $\pm$ 0.06	1.51 $\pm$ 0.05	1.39 $\pm$ 0.06	1.56 $\pm$ 0.11	1.34 $\pm$ 0.06
	A	0.89 $\pm$ 0.04**	1.02 $\pm$ 0.05†	0.93 $\pm$ 0.01††	1.00 $\pm$ 0.05††	0.98 $\pm$ 0.05††	0.98 $\pm$ 0.06†
Cor.	Y	0.88 $\pm$ 0.04	0.96 $\pm$ 0.10	0.89 $\pm$ 0.04	0.99 $\pm$ 0.03	0.92 $\pm$ 0.06	0.79 $\pm$ 0.06
	A	1.43 $\pm$ 0.07††	1.28 $\pm$ 0.03*	1.27 $\pm$ 0.06††	1.30 $\pm$ 0.06††	1.29 $\pm$ 0.05††	1.22 $\pm$ 0.02††
Hip.	Y	1.15 $\pm$ 0.03	1.09 $\pm$ 0.05	0.99 $\pm$ 0.05	0.93 $\pm$ 0.03	0.80 $\pm$ 0.08	0.84 $\pm$ 0.05
	A	0.91 $\pm$ 0.06†	1.01 $\pm$ 0.04	1.06 $\pm$ 0.04	0.97 $\pm$ 0.05	0.78 $\pm$ 0.04	0.81 $\pm$ 0.03
Die.	Y	1.67 $\pm$ 0.06	1.74 $\pm$ 0.05	1.83 $\pm$ 0.06	1.59 $\pm$ 0.04	1.62 $\pm$ 0.05	1.50 $\pm$ 0.06
	A	1.72 $\pm$ 0.08	1.59 $\pm$ 0.07	1.75 $\pm$ 0.07	1.57 $\pm$ 0.08	1.33 $\pm$ 0.04†	1.41 $\pm$ 0.08
B.S.	Y	1.26 $\pm$ 0.09	1.27 $\pm$ 0.03††	1.20 $\pm$ 0.05††	1.49 $\pm$ 0.04	1.22 $\pm$ 0.03	1.31 $\pm$ 0.09
	A	1.40 $\pm$ 0.12	1.50 $\pm$ 0.05	1.59 $\pm$ 0.07	1.57 $\pm$ 0.06	1.34 $\pm$ 0.04	1.25 $\pm$ 0.05

Table 4. Amplitude of monoamine diurnal variations
(maximum mean/minimum mean)

		Amy.	St.	Cor.	Hip.	Die.	B.S.
DA	Y	1.79	1.13	1.31	1.43	1.31	1.42
	A	1.36	1.28	1.46	1.30	1.20	2.13
NE	Y	4.39	1.61	3.51	2.47	4.75	5.55
	A	1.73	1.88	4.51	1.83	9.82	1.10
5-HT	Y	1.25	1.30	1.25	1.44	1.23	1.24
	A	1.21	1.16	1.17	1.36	1.31	1.27

ずほぼ同レベルを保っていた。Die. ではY群はL2, L10でピークを示す2峰性の明らかな変化を示したが、A群では暗期明期を通じて低いレベルで経過した。B.S. では、Y・A両群とも終始ほぼ同レベルを維持していたが日内変動の幅はY群の方が大であった。

次にDA含量をY群とA群の間で比較すると、Amy. では暗期D2, D10においてA群が有意に低値を示し、St., Die., B.S. では全時点を通じて、A群が有意に低下していた。特にSt. ではA群が約20~35%, Die. では約50~65%の低下を示した。Cor. ではみかけ上A群の値が大きくみえるが、各時点での統計的有意差は認められなかった。Hip. では、D2でA群が有意に低下している他は有意差を認めず、全時点を通じてY・A両群間の差は大きくなかった。

明暗条件の中のピークがどこにあるかという点から変化をみると、Amy., Hip. では両群とも暗期にあり、St. では暗期、明期に両群ともD6, L6の2つのピークを持ち、Cor. ではY・A両群とも明期にピークを持っていたが、Die. ではY群のみが明期にピークを持っていたのに対し、A群では暗期にピークを示した。B.S. ではY群はL2, D2の2つのピークを示したのに対し、A群ではほとんど平坦な線で経過した。

明暗全経過の中の最低値がどこにあるかを調べてみると、両群ともAmy., Hip., B.S. では明期にあったが、St., Cor. ではY群は明期に、A群は暗期に最低値を示した。Die. では、Y群は暗期に、A群では明期に最低値を示した。最高値と最低値の比（最高値/最低値）をみるとTable 4に示したように、Y群ではAmy. の1.79が最も大きく、St. の1.13が最も小さな値を示した。A群ではCor. の1.47が最も大きく、B.S. の1.13が最小であった。つまりY群では日内変動の大きさは、Amy. における79%が最大であり、最小はSt. の13%であった。これに対しA群では、最大がCor. の47%、最小がB.S. の13%となっていた。

b) NEの日内変動

Fig. 3およびTable 2にNE含量の脳部位別日内変動を示した。変動の様式を比較すると、Amy., Cor., Hip., Die. の4部位で、Y・A両群ともに大きな日内変動を認めた。この4部位では、Y群ではいずれも2峰性を示し、Amy. ではそのピークはD10, L6であったが、他の3部位、Cor., Hip., Die. では、すべてD10とL10の2時点に認められた。また、この4部位ではいずれの部位でも暗期に低値、明期に高値を示し、明期の始めのL2で一旦落ち込みをみせたのち上昇した。一方、A群では、Amy. では、D6, L6

の2時点でピークを持つ2峰性を示したが、Cor., Die. ではD2に最低値を持ち明期にピークを持つ単峰性変動を示した。Hip. ではD2で最低値を認め、D6で最高値を示し以後はほぼ同レベルを維持していた。St. では、Y・A両群ともほぼ重なって走り日内変動の幅が小さかった。B.S. では、Y群はD2の暗期に低値、明期のL10に向ってほぼ直線的な上昇を示した。A群では6時点を通じてほぼ同レベルを維持した。

日内変動の大きさを最高値と最低値の比で表わすとTable 4のようになり、Y群では最大のB.S. で5.55、最小のSt. で1.61であり、A群では最大はDie. の9.82で、最小はAmy. の1.73であった。

NE含量をY・A両群で比較してみると、Amy. では、D2でA群が有意に高値を示し、D10では逆転してY群が有意に高値を示した。Cor. ではD10でA群の有意な低値が、L2ではA群の有意な高値が認められた。Die. ではD2, D6でA群の有意な低値、L2でA群の有意な高値が認められた。しかし、上記の4部位とSt. では、全時点を通じて比較すると、Y・A両群の間にNE量の量的差はほとんどなかった。ところが、B.S. では、6時点を通じてA群がすべて有意に高かった。その割合は、最大差を示したD2で約9倍、最小差のL10でも約1.8倍に達していた。

c) 5-HTの日内変動

Fig. 4, Table 3に5-HTの両群の脳部位別日内変動を示した。変動の様式を比較すると、Amy. ではY群はD6にピークを持ち、最低値を示すL10までほぼ直線的に減少する変動を示した。A群では、D2からD10まで暗期を通じてほぼ同レベルを維持し、明期の始めのL2から終りのL10まで減少し続けるパターンを示した。Y群St. では、D2が低くD10, L6に2つの高いピークを持つ大きな日内変動を示したが、A群では6時点を通じて低く、ほぼ同一レベルを維持した。Cor. では、Y群ではD6, L2に2つの小さなピークを持つ変動を示したが、A群では、D2に最高値を示しD6で減少、以後はほぼ同レベルを保ってL10に至った。Hip. では、Y群はD2で最高値を示し、最低値のL6までほぼ直線的に減少し、L10で再び増加する形態を示したが、A群では、D2で低くD10にピークを示し、L2からL6まで減少、L10で増加した。Die. では、Y群は、暗期の始めのD2より増加しD10でピークに達し、明期に低値を示す変動を示した。A群ではD2とD10の2つのピークを持ち、L6に最低値を示す変動をみせた。B.S. では、Y群は、暗期に低くL2に大きなピークを持ち、L6で減少し

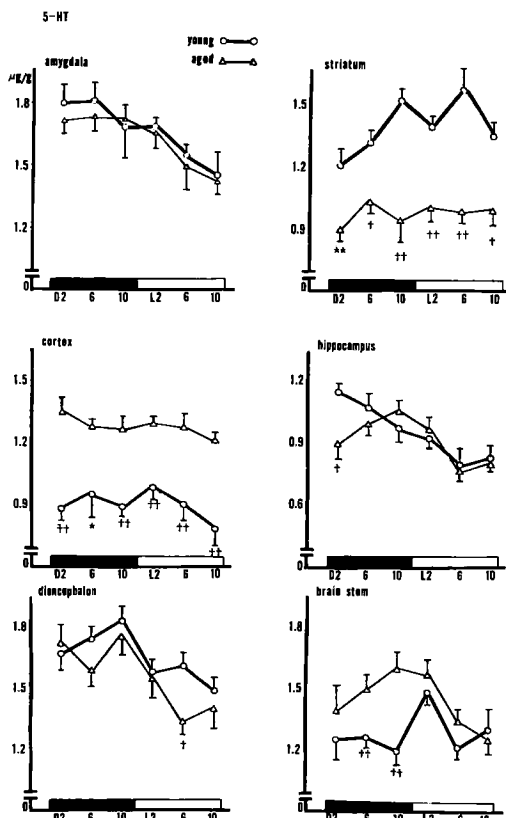


Fig. 4.

Diurnal variation of Serotonin contents in brain regions of young and aged rats. Horizontal bars represent standard errors of the mean.

Statistical significance *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, †: $P < 0.005$, ††: $P < 0.001$, young vs aged at each time.

■: Dark period, □: Light period.

てL10で再び増加した。A群はD2から上昇しD10からL2にかけて大きなプラトー持ち、L6から再び下降する単峰性的変動を示していた。

日内変動の大きさを最大値と最小値の比で比べると、Y・A両群でそれぞれTable 4に示したように、Y群では、最大のHip.の44%から最小のDie.の23%であり、A群では、最大のHip.で36%、最小のSt.で17%であった。

5-HT量を両群で比較してみると、Amy.では6時点を通じて差がなく、St.では、6時点を通じてA群が有意に減少しており、Cor.ではSt.とは全く逆に全時点でA群が高値を示した。Hip., Die.の2部位ではそれぞれ、D2とL6の時点でA群が有意に低下し

ていたが、全体的にみるとほとんど差がなかった。B.S.では暗時の2時点(D6, D10)でA群が有意に高値を示した。

考 案

ラットは生理的にヒトとよく似たモデルとされ、その生理的背景で、ヒトと比較すると雄が雌より大きく、雌の脂肪が多く雑食である点、体重に対する筋肉、臓器の比等が似ており、発育、老化の過程がほぼヒトの30分の1にあたるとされている¹⁷⁾。雌における性周期の始まりは60日齢頃、正常な妊娠可能になるのは80日齢頃、月経終止15~18月齢、寿命2~3年であるとされている¹⁷⁾。雄が生殖可能になるのは、雌の性周期の始まりとほぼ一致し、生殖能力がなくなる時期は、ほぼ雌の閉経期であろうと推測されている¹⁷⁾。

これを参考にして今回使用したラットの年齢を考えてみると、若齢群として使用した16週齢のラットは、ヒトでいえば20才~30才頃、老齢群として使用した19月齢ラットは60才前後に相当すると考えられ、いずれも青年期、老年期の代表例と考えてきつかならうと考えられる。

Greengrassら¹¹⁾は雌マウスを用いて脳内のチロシン(Tyr), DA, NE, トリプトファン(Trp.), 5-HT濃度を発情間期、発情前期、発情期、発情後期にそれぞれ測定し、Tyrは、発情間期に比し、発情前期、発情期に低下し、DAは発情前期、発情期に低下し、NEは発情期、発情後期に低下し、Trp.は発情前期、発情期、発情後期を通じて低下し、5-HTは発情期に低下したと報告している。また、Zolovickら⁴⁰⁾はラットの性周期と脳内MAO活性の相関を調べ、発情間期に比し、発情前期、発情期のMAO活性が、2.1~2.5倍に上昇したと報告している。これらのことから、著者は雌の性周期によるモノアミンの変動を避けるため雄ラットのみを用いることにした。

行動量の加齢による変化については、奥木ら²⁶⁾は、マウスを用い成熟齢のものから600日齢の行動量をアニメックスを用いて観察し、老齢群では、行動のパターンが乱れ、全日製の行動を示したと報告している。

著者らの結果では、リズムの乱れという点からは、明期から暗転直前の行動量の変化、暗期から明期に移る前の変化、いわゆる予知反応がY群でははっきりみられるのに、A群では、相似な経過をたどるがその変化の度合は、Y群に比し大きくなかった点であった。行動量が、暗転後増加しはじめる点、D4

から行動量の減少しはじめた点、暗期から明期になる直前に一過性に行動量の増加がみられる点、明転と同時に行動量の減少する点、明期を通じて行動量が暗期に比して低下している形においては、Y・A 両群間ではほぼ同様の变化を示し大差は認められなかった。Y・A 両群の差は、その日内変動の形ではなく、A群における行動量の減少(約50%減)と明暗による行動量の変化の平坦化という観点で特徴づけられるものと思われた。本実験では、飼育室が、アニメックステージのみを置いた部屋ではないため同時に同室で飼育していた他のラット・マウス群の行動音により、A群ラットの行動リズムが影響を受けた可能性は否定できない。しかし、その影響の少ないと思われる明期においても、やはり、行動量は減少したままであり、奥木ら²⁶⁾のいうように老齢群において全日制的行動パターンを示すならば、著者の結果でも明期に起伏があってもよいと思われる。ただ、彼らはマウスを用い著者はラットを用いているので、使用した動物の差によるものかも知れない。行動のリズムという点では、A群においてもその特徴は大部分は保たれていると考えてさしつかえなかろうと思われる。

つぎにDA量の日内リズムについては、Schevingら³⁵⁾が、280 gのSprague-Dawley (SD) 雄性ラットを暗・明相それぞれ12時間の飼育室で飼育し、24時間の間、毎時間ラットを殺し、全脳を試料として、24時点について測定した結果を報告している。それによると、DA量は明転2.5時間、暗転0.5~1.5時間、暗転6.5時間後の3回にそれぞれピークを認め、さらに1年後に同様の実験を行い、2つめのピークが3時間前に移動したが、あとのピークは前回の実験のピークと重なる3個の大きなピークを認めたとし、このリズムはcircadianではなく、“ultradian”であると述べている。また、Hillierら¹³⁾は120~140 gの雄のSDラットを用い、明暗12時間ずつの条件で飼育し、4時間おきにラットを殺し、medulla, striatum, hypothalamus, midbrain, cortexの5部位についてDA量を測定した。その結果日内リズムをはっきり示さなかったmedullaを除いた4部位で暗時にピークを認めたと報告している。著者の実験結果では、Y群において暗時だけにピークを持つのは、Amy.のみでSt., Hip., B.S.の3部位はピークも小さく、有意ではない。一方、Cor., Die., B.S.の明期にみられるピークはいずれも有意差をその前後の時間値との間に示している。従って、DAの場合のピークの位

置はむしろ明期にあるとする結果を得た。このようにHillierら¹³⁾と著者の成績では不一致の部分が多く、今後さらに検討を加える必要がある。Schevingら³⁵⁾の仕事は、毎時間毎の計測値であり全脳を用いたもので、著者の成績と併列で比較するのは困難である。老齢ラット部位別脳についてDAの日内変動を記載した報告を著者は得ていない。著者の実験結果からいえば、St.では、A群の2つのピークと2つの極小値との間にはそれぞれ有意差があり、最大値と最小値の比は、1.28であった。一方、Y群では、6時点いずれの間にも統計的有意差はなく最大値と最小値の比は、1.13で曲線の凹凸は少かった。A群の変動が大きいのが特徴であった。Cor.では最大、最小比は、Y群で1.31、A群で1.47であったが、Y群ではピークであるL2と他の時点との間で統計的有意差を示すのに対し、A群ではいずれの時点の間にも統計的有意差は認めなかった。他の3部位では、最大、最小比がいずれもA群が低かった(Table 4)。全体を通してみれば、A群の日内変動は平坦化しているという結果を得た。

DA含量の加齢による変化を述べた報告がいくつかある。Robinsonら³⁴⁾は、種々の原因で死亡した39人の患者の脳について、globus pallidus, thalamus, hypothalamus, hippocampus, substantia nigra, reticular activating system, orbital cortex, caudate nucleus, mammillary bodiesについて、DA, NEおよび諸関連酵素を測定し報告している。その中で、DAについては、thalamus, hypothalamusでは加齢とDA量の間には負の相関($P<0.1$)の傾向があると述べている。そして、有意ではないが正の相関を示した部位もいくつかあったと述べている。また、Bowersら⁵⁾は、30人の精神病患者の腰椎穿刺によって採取した髄液中のホモバニリン酸(HVA)と5-HIAA濃度を測定し、DAの最終代謝産物であるHVAが、老齢群で、若齢群、壮年群より有意に($P<0.01$)高かったと報告している。一方動物実験では、Finchら⁸⁾はマウスを用いて実験し、St.におけるDAが、老齢群では低下しており、L-[³H] tyrosineとL-[³H] DOPAのカテコラミンへの変換率が下がっており、St.におけるDAのカタボリズムが遅延していたと報告している。また、Jonecら¹⁰⁾はマウスを用いて、hypothalamusとSt.のsynaptosomeによるDAの取り込みを調べ、老齢群で、DAの取り込みが若齢群より有意に減少しており、NE, 5-HTの取り込みは何ら変化を示さなかったことから、加齢

が、神経膜のDA取り込みに選択的に影響を及ぼすのではないかと推論している。著者らの結果では、DA量は、Amy., Cor., Hip. でY・A両群間ではほぼ同量であり、St., Die., B.S. では有意にA群が低下していた。また、A群の方が有意に増加している部位はみあたらなかった。つまり、加齢によるDA量の変化は、低下するか、同等であることを示唆している。このことは、Robinsonら³⁴⁾のヒトの結果とは一致する部分もありまた矛盾する部分がある。彼らは死後2時間～30時間のうちにautopsyを行ったとしているが、それも測定値に変動を示す条件となると思われる。彼らはBlack⁴⁾の文献を引用し、チロシン水酸化酵素 (TH), ドーパ脱炭酸酵素 (DDC), ドーパミン-β水酸化酵素 (DBH) の死後変化をあげ、DDCでは急速に酵素活性が下がり、TH活性は5時間経過しても90～75%保たれ、DBH活性は、20時間においてもなお80%の活性が残存しているといっている。しかしながら、死後のアミンについては何も言及していないが、これをDA含量に結びつけて考えてみると、DDCの失活でDAは減少し、DBHはまだ働いていると仮定すればそこにある減少したDAはNEになりHVAになる。THがまだ失活していなくてもDDCが失活すれば、DAはチラミンを経て産生される径しかない。死後の変化であるいは、チラミンからDAへの径が広くならないとは限らない。

NEの日内変動についての報告は、次のようなものがある。Wurtmanら³⁹⁾は、160～200gの雌性SDラットの松果体についてNE量の日内変動を調べている。それによると明暗12時間ずつの周期下でラットを飼育し、暗転0時間、暗転4時間後、明転0時間、明転4時間後、明転8時間後の5点について検討している。その結果松果体におけるNE量変化の日内リズムは、暗期の終りにピークを示し、その次の時点から減少し、明期の終りに最低値を示すとしている。そして、その資料から計算すると、最高値と最低値の比はほぼ3倍である。Schevingら³⁵⁾は280g成熟雄性SDラットを用い、明暗12時間ずつの条件下で飼育したあと、24時間、毎時間ごとにラットを殺し、その全脳のNE量を測定して、NE量の日内変動には1日に4回のピークがあり、そのうち2～3のピークは暗期にあるとしている。Friedmanら⁹⁾は、250g雄性SDラットを用い、明暗12時間ごとの条件下で飼育し、6時間おきに4回の脳組織採取を行い、midbrainとcaudate nucleusについてNE

量を計測し、両部位とも暗期の終わりにピークがあったとしている。Manshardtら¹⁹⁾は、12時間ごとの明暗周期条件で、160～180gのSDラットを用い、点灯後5.5時間、12時間、消灯後6時間、11.5時間の4時点で、Anterior hypothalamus, hypothalamus, mid brain, Striatum, thalamus, subthalamusの6部位についてNE量を測定し、Striatumを除く部位で暗期の中間あるいは暗期の終わりにピークがあり、St.では変動の幅が平均値に対して、106.1%～96.3%で24時間の変動はなかったとしている。浅野ら²⁾は、生後1週齢から8週齢のWistar-King-Apektman系雄性ラットの全脳について、NE量の日内変動を明転後3, 7, 11時間、暗転後3, 7, 11時間の6点で測定し、成熟ラットのNE量の日内変動の基本的なパターンは、暗期にピークを示し明期に低値を示すことであるとしている。Morganら²²⁾は、ハムスターのCor., Die., B.S., で明期14時間、暗期10時間の周期の条件を用い、明転後2, 8時間、暗転後0, 5時間の4点のNE量の変動を調べ、いずれの部位でも暗転0時間でピークを持ったと報告している。Hillierら¹³⁾は、120～140g雄性SDラットでmedulla, St., hypothalamus, mid brain, Cor., で4時間ごとにNE量を測定し、そのピークは暗期にあるが、mid brainだけは、明期の中間にあったと述べている。長瀬ら²⁵⁾は、明期14時間、暗期10時間の条件で180g W系雄性ラットの全脳、Hip., hypothalamusにおけるNE量を3時間ごとに測定し、全脳では、夜間高値、昼間低値のリズムを、Hip. では、夜間低値、昼間高値のリズムを、hypothalamusでは、夜間の早い時間にピークを持つ以外はほぼ一定の低値を示したと報告している。Philoら²⁷⁾は、ラット(125～150g)、ハムスター(80～100g)、Gerbil, モルモット(225～275g)を用い、明期14時間、暗期10時間の条件で飼育し4時間ごとに終脳のNE量を測定した。その結果、ラットとハムスターはピークを暗期に持ち、最低値は、明期の終わりあるいは、暗期の始めであり、Gerbilとモルモットではピークは明期に最低値は暗期にあったとしている。

以上の既報と著者の結果を比べてみると、Amy., Hip. のNE量の変動は、ほぼ一致し暗期終点で高くなっている。また、St. での変動が小さいことも、Hillierら¹³⁾の報告と一致する。しかし、残る3部位のうちY群におけるCor., Die. は暗期終点D10で高く、L2で一旦下降し、L6以後再び上昇を示し、B.S. はD2よりL10まで次第に上昇した。この差がなぜ

おこったかは明らかではないが、ラットについての報告をみると Wurtman ら³⁹⁾によると、性が違うこと、Scheving ら³⁵⁾によると、時間ごとの NE 量を出しているので著者の結果とは比較しにくいことである。さらに Friedman⁹⁾, Manshardt ら¹⁹⁾, Hillier ら¹³⁾, 長瀬²⁵⁾, Philo ら²⁷⁾の用いたラットは、体重 250 g ~ 120 g であり、週齢になおすと、約 6 週齢~10 週齢程度であると孝えられ、著者の実験に用いたラットと比べるとかなり若いラットを使用している。浅野²⁾によれば、NE の日内変動は、生後 5 週目に完成するとあるので、加齢による差だけでは説明できないかも知れない。しかしながら、彼らの成熟過程を追及した仕事は、全脳を用いたものであり、部位別変動を示してはいない。またこれらの報告では、暗転 0 時間、明転 0 時間に測定しているものがみられるが、行動の最も大きな変化を示している時間に、瞬間的にその変動をとらえることは不可能であり、その計測値そのものに疑問が残る。著者の成績によれば、Y 群における日内変動の特徴は、暗期の始めに低値を示し、その後増加したのち、明期の始めに一旦低下し、その後再び増加するというリズムを示したことである。また、NE 量の日内変動の大きさは、DA, 5-HT に比し大きいことである。このことは、Wurtman ら³⁹⁾の松果体における変動が、最大値は、最低値の 3 倍であったという点と似ている。この変動の大きさも NE の 1 つの特徴と考えられる。

Y・A 両群の日内変動を、さらに比較検討すると、Amy. では暗期のピークが時間的に前に移動し、Cor., Hip., Die. では L2 における落ち込みが認められず、B.S. では D2 から L10 にかけてほぼ直線的に NE 量が増加するのに対し、A 群では全時点を通じて変化が認められなかった。また変動のパターンが Y 群では急激な動きをみせたのに対し、A 群では比較的なだらかな変化を示した。

NE 量の加齢による変化を追及した報告には Robinson ら³¹⁾⁽³²⁾⁽³³⁾のものがあつた。彼らは、autopsy によって得られた hind brain の NE 量を測定し、加齢と NE 量の間に負の相関($r = -0.54, P < 0.005$)があつたとしている。さらに、Bernard ら³⁾は、6 週齢と 30 週齢のマウスの全脳の NE 量を比較し、その間に差はなかつたと述べている。Finch ら⁸⁾は、10 ~ 12 月齢と 28 ~ 30 月齢のマウスを用い、hypothalamus, 小脳, B.S. の NE 量を測定し、両群の間には差はなかつたとしている。(Finch は months Old という言葉を使用しているが、マウスの寿命から考

えると、著者は weeks old の誤りではないかと考える) 著者の結果では、Amy., Cor., Die. で Y・A 両群の間に、2 ~ 3 の時点で NE 量が逆転しており、もしそのうちの 1 時点の数値のみを示せば、Y 群が高値を示すという結果を示すことになる。すなわち、NE 量の変動が 1 日のうちに数倍も変動するものであり、また、時刻によってはその量が逆転することもある。DA の項でも述べたが、Robinson ら³¹⁾⁽³²⁾⁽³⁴⁾の autopsy という試料採取の方法がやはり問題になるだろう。Bernard ら³⁾の結果は、全脳での成績であるが、著者の成績とほぼ一致している。Finch ら⁸⁾の成績と著者らの成績は、B.S. を除いて他の部位はほぼ一致する。部位によっては実験動物による差も可能性がある。

著者の成績では、NE 量は、B.S. を除く 5 部位で Y・A 両群でほぼ同等であり、B.S. では明らかに A 群が高値を示し、Y 群の方が高値を示す部位はなかつた。DA の項で触れたように、DA は、Amy., Cor., Hip. で A 群と Y 群とは同等レベルであり、St., Die., B.S. では A 群において明らかに低値であつたことと、DA が NE の前駆物質であることを合せて考えると興味深い。このことは、老齢群においては、DA の代謝回転率が上昇していることを示唆していると考えられる。また、先に述べたように Bower ら⁵⁾がヒトの髄液中 HVA が、若年、中年群よりも老齢群で有意に上昇していたと報告していることと、符合するようにみえる。しかし、著者らの最近の研究¹⁸⁾では、ヒトの年齢と髄液中 HVA 濃度の間には相関は認めていない。

5-HT の日内変動については、Snyder ら³⁷⁾は、雌性 SD ラット (体重 150 ~ 180g) を用いて、松果体の 5-HT を明期の午後 1 時 (明転 8 時間後) と暗期の午後 11 時 (暗転 4 時間後) の 2 時点で測定し、また持続的に暗期、あるいは明期で飼育し、同じ時刻点で 5-HT 濃度を調べた。その結果、明暗両相のある条件で飼育したラットは、明期において有意な高値を認めたが、持続的明期の場合では、明暗両相の条件のものと変化がなかつたことを示した。Dixit ら⁶⁾は W 系雄性ラットの全脳を用い、6 時間ごとの 5-HT 量の変動を調べ、明期に高値、暗期に低値を示したと報告している。Scheving ら³⁴⁾は雄性 SD ラット (280g) の全脳を用い、24 時間毎時間ごとの 5-HT 量の変動を調べ、その結果、明期の中期にピークを持ち、暗期の始めに最低値を示したと報告している。Quay ら²⁸⁾は雄性 S. maze-bright 系 5 ~ 7 月齢の

ラットを用い, frontal cortex, visual cortex, hypothalamus, B.S. の4部位について, 24時間, 13時点で5-HT量の変動を調べ, 暗期に低値, 明期に高値を示し, その変動の幅は fronteal cortexで56%, hypothalamusで35%であったとしている. Reisら²⁹⁾はネコの種々の部位の5-HT量の変動を調べ, どの部位においても, その日内変動はまちまちであったと報告している. 浅野²⁾は, 雄性W系1週~8週齢のラットの全脳を用いて5-HTを測定し, その日内変動は, 暗期低値, 明期高値であると述べている. Morganら²⁴⁾はマウス(AJAX, BALB/C)のCor.で5-HTの日内変動を調べ, AJAXでは, 明期の始めにピークがあり, 暗期に低値を示すが, BALB/Cでは, ピークは暗期の中間期に最低値は暗期の始めにあったと報告している. 浅野¹⁾は3月齢のWister-king-A系雄性ラットを用い, 全脳, hypothalamus, medulla oblongataの5-HTの日内変動を調べ, 暗期低値, 明期高値を示したと報告している. Hillierら¹³⁾は雄性SDラット(120~140g)のmedulla, St., hypothalamus, midbrainおよびcortexで日内変動を調べ, いずれの部位でもピークは明期の終りにあったとし, その変動の大きさはmedullaの30%からSt.の34%の範囲であったとしている. Morganら²³⁾は成熟雄性SDラットの終脳とB.S.の5-HTの日内変動を4時間ごとに調べ, 終脳ではピークは明期の始めにあり, B.S.ではピークは暗期中期にあったとしている. 長瀬ら²⁵⁾は雄性W系ラット(180g)の全脳およびHip.の3時間ごとの日内変動を調べ, 全脳では, 明期中間期にピークがあるが, Hip.では暗記にピークがあったと報告している. Philoら²⁷⁾は雄性ラット(125~150g)の終脳の5-HTの日内変動を調べ, そのピークは暗期中間期にあったとしている. これらの報告をまとめてみると, ラットの全脳については明期高値, 暗期低値を示し, 部分脳についても同様であるが, 終脳については, 暗期にピークがあるというものと, 明期にピークを持つという両方の報告があり, また, Hip.では暗期にピークがあるということになる. 著者の結果と比較してみると, St., Cor., B.S.では, 既報とほぼ同様の傾向を示し, また, Hip.では長瀬らの結果と一致した. Morganら²³⁾およびPhiloら²⁷⁾は終脳での結果を示しているが, 彼らのいう終脳は, 著者のAmy., St.およびCor.を包含するものと思われ, この3部位を集積すれば, むしろ, 暗期にピークができるように思われる. というのは, 部位による5-HT

含量に大きな差異はなく, また, Cor.ではその変動が著明ではなく, Amy.とSt.の5-HT含有量は, Amy.の方が高く, 脳試料の重量もAmy.の方がSt.より大きい(Amy. 50~60mg, St. 30~40mg)からであり, このことはPhiloら²⁷⁾の結果を支持するものである. 5-HTの日内変動のゆらぎの大きさを比べてみると, 著者の結果では, St.で30%, Cor.で25%, Hip.で44%, Die.で23%であり(Table 4), Cor.を除きQuayら²⁸⁾, Hillierら¹³⁾の報告とほぼ一致している.

Y・A両群における5-HT量の日内変動を比較してみると, Amy., Die.の2部位ではほぼ同様の変動を示し, St.ではY群は大きな変動を示すが, A群では変動が小さく, Cor.では両群とも変動は小さく, Hip.ではピークに達する時間がA群で8時間の位相の遅れを示した. B.S.では, Y群では急激な変動を示し, それに対し, A群はなだらかな変動を維持した. 全体的な変動を検討してみると, DA, NEと同様にY群に比べると, A群の変動の方が相対的に小さくなっているといえよう.

5-HT量の加齢に伴う変化についての報告は, Robinsonら³¹⁾が, autopsyによって得たヒトhind brainで, 加齢によって変化がなかったとしたものがある. また, Bowerら⁵⁾は, ヒト髄液中の5-HIAA濃度を測定し, 35~55才の間に低値をとり, その前後では高値であった($P<0.01$)と報告している. 著者のラットによる結果では, 5-HTの変化は, Amy., Hip., Die.でY・A両群ではほぼ同様の変化を示し, St.ではA群が有意に低値で, Cor.ではA群がY群よりはるかに高値を示し, B.S.における暗期のA群高値を示したことなどが特徴であった.

このように, 5-HT量の変動の老若間の差異は, DA, NEの場合とは違い, 部位により増加したり, 減少したりという現象としてとらえられ, それぞれのアミンでその動態が異なるということは興味深いことである.

5-HTが睡眠機構に関連しているとするJouvet¹⁵⁾によると, p-chlorophenylalanineを用いて5-HTの合成を阻害すると不眠が生じ, これに5-hydroxytryptophanの少量を投与すると不眠が回復するという結果を得た. また, 彼らはraphe systemに分布する5-HT含有細胞の破壊は不眠を生じ, その強さは, 終脳の5-HTの減少と相関していたと述べている. 著者の結果のうち行動量と5-HTを比較してみると, A群の行動量の減少をかりに睡眠量の増加

とみなしうるならば, raphe system を含む B.S. において, 行動量の増加している暗期に A 群の 5-HT が有意に高値を示し, また終脳にあたる Cor. で終始 A 群の 5-HT 含有量が有意に増加していたことは, まさに Jouvet¹³⁾ の仮説を側面から支持するものと思われる。しかし, 彼らの言う 5-HT 系ニューロンが睡眠を起し, カテコラミン作動性ニューロンが覚醒と逆説睡眠を起すという仮説には, 著者の結果, カテコラミン系持に B.S. における NE の変動の結果とは一致しない。しかし, ここで著者の得た結果, すなわち行動量の減少と, Cor., B.S. における 5-HT の増加の相関から, ただちに睡眠と 5-HT の間の相関を推論するには, まだ検討の余地があると考えられる。

行動量および 3 つのモノアミンの変動を全体的に比較してみると, 行動量は A 群で減少し, なおかつ平坦化しており, また, モノアミンの日内変動の大きさが減少していたことを合せ考えると, これらのアミンの動態が行動に関与していることが示唆される。

モノアミン量を老齢群および若齢群の間で比較してみると, DA 量は Y 群に比し A 群が同等あるいは減少しており, NE 量は, A 群が同等あるいは増加していた。DA の代謝経路は NE に移行するだけではないので一概にはいえないが, DA の代謝回転が上昇していることを示唆していると考えられる。

今回測定した 6 部位のうち生命活動の維持に最も重要である B.S. で, 3 種のアミンが, それぞれ特徴的な変動を示したことは興味深い。

3 種のアミンが, それぞれに特徴的な日内変動, 量的な変動を老齢群で示しており, 老齢ラット脳のアミン含量は, その意味でそれなりに老化現象の重要な化学的指標の 1 つとして考えることができよう。

ま と め

中枢神経系における老化の過程を解明する目的で, 若齢群, 老齢群のラットの行動量と脳部位別アミン量を測定して, その日内変動を比較検討した。ウィスター系雄性ラットを用い, 16 週齢の若齢成熟群 (Y 群), 19 月齢の老齢群 (A 群) の 2 群について実験を行った。両群のラットを明暗 12 時間ずつの恒温恒湿室で飼育した。アニメックスで行動量を測定したのち, 暗転後 2, 6, 10 時間 (D2, D6, D10), 明転後 2, 6, 10 時間 (L2, L6, L10) の 6 時点でラットを殺し, amygdala (Amy.), corpus striatum (St.), cerebral

cortex (Cor.), hippocampus (Hip.), diencephalon (Die.), brain stem (B.S.) の 6 部位に分別した。各脳部位のドーパミン (DA), ノルエピネフリン (NE), セロトニン (5-HT) 含量を蛍光法を用いて測定し, 行動量とモノアミンの日内変動を検討した。結果は次の通りであった。

1. 行動量をみると, 両群とも暗転後 4 時間まで行動量が増加した後, 次第に減少し, 明転と同時に行動量は激減し, 明期を通じて低値を維持した。両群ともに明転直前に一過性の行動量の増加の傾向が認められ, また Y 群では, 暗転直前から行動量が増加する傾向がみられた。行動量全体をみると, 明期における 2 時点を除いて, A 群が Y 群に比し, 有意に低下していた。特に, 暗期の行動量は, A 群では Y 群の約 50% 低い値を示した。

2. DA の日内変動をみると, Amy. では両群とも暗期に高値を, 明期に低値を示した。St. では両群とも 2 峰性の変化を示したが, 変動の幅は A 群の方が大きかった。Cor. では, 両群とも明期に高く, 暗期に低い変動を示した。Hip., Die., B.S. では両群とも大きな日内変動は示さなかったが, その変動の幅は A 群の方が小さかった。DA 量を比べてみると, Amy., Cor., Hip. では両群に差がなく, St., Die., B.S. では A 群の方が, ほぼ全時点を通じて有意に低下していた。

3. NE 量の日内変動をみると, Amy., Cor., Hip., Die. の 4 部位で両群とも暗期に低値, 明期に高値をとる傾向を示した。St. では両群とも他の部位ほど日内変動は大きくなかった。B.S. では Y 群は暗期に低値, 明期に高値をとる変動を示したが, A 群では, 暗期明期を通じて同レベルを維持していた。NE 量を比べると, B.S. を除く 5 部位では大差はなかったが, B.S. では, 全時点を通じて A 群が 9 倍~1.8 倍の高値を示した。

4. 5-HT 量の日内変動をみると, 両群とも Amy., Hip., Die. の 3 部位で暗期に高値, 明期に低値をとる変動を示した。St. では Y 群では D10, L6 に 2 つのピークを持つ 2 峰性の変動を示したが, A 群では大きな変動を示さず, D6 を除いてほぼ同レベルを維持していた。Cor. では両群ともあまり大きな変動は示さなかったが, その変動の大きさは A 群の方が小さかった。B.S. では Y 群は L2 に大きなピークを持つ急激な変動を示したが, A 群では D10~L2 にかけて大きなピークを持つなどかな変動を示した。5-HT 量を比べてみると Amy., Hip., Die. では両群

の間に差がなく、St. では Y 群が全時点を通じて高値を、Cor. では全時点を通じ A 群が高値を、B.S. では暗期の 2 点で A 群が高値を示していた。

以上の結果、加齢による行動量の変化と 3 つのモノアミン量の日内変動に特徴的な差異が認められた。

脳各部位の DA 量を Y, A 両群の間で比較すると、有意の差のない部位と A 群で有意に低値を示す部位が認められた。これに対し、NE 量は、有意の差のない部位と A 群で有意に高値を示す部位が認められた。このことは、A 群では DA 代謝回転が相対的に亢進していることを示唆するものと考えられる。また、3 つのモノアミン量の日内変動の大きさを両群で比較すると、A 群の方が Y 群より小さい傾向があり、行動量の減少と合せ考えると、これらのモノア

ミンの動態が行動に関与していることが示唆された。

稿を終えるにのぞみ、御指導、御高閣を賜りました高坂睦年教授に深く感謝いたします。また、終始御助言と御協力をいただきました庄盛敏廉助教授、盛政忠臣助手に感謝いたします。本研究を遂行するにあたり細心なお手伝いをしていただいた大熊寛子嬢に深謝いたします。

なお、本論文の要旨の一部は、第 5 回脳研究会（昭和 53 年 10 月）で報告した。

本研究は、昭和 53 年度文部省科学研究費（奨励研究 A）によった。

文 献

1. 浅野 裕：ラット脳内活性アミンの日内変動—睡眠覚醒および視床下部下垂体副腎皮質系の日内変動との関連について—精神誌, 76(1), 741—756, 1974.
2. 浅野 裕, 諸治隆嗣：ラット脳内活性アミンの日内変動 第一報 日内変動の成熟過程について, 脳と神経 24(1), 1445—1451, 1972.
3. Bernard, B.K. and Finkelstein, E.R.: Alterations in Mouse Aggressive Behavior and Brain Monoamine Dynamics as a Function of Age. *Physiol. & Behavior* 15, 731—736, 1975.
4. Black, I.B. and Geen S.C.: Postmortem Changes in Brain Catecholamine Enzymes. *Arch Neurol.* 32, 47—49, 1975.
5. Bowers, M.B. and Gerbode, F.A.: Relationship of Monoamine Metabolites in Human Cerebrospinal Fluid to Age. *Nature* 219, 1256—1257, 1968.
6. Dixit, B.N. and Buckley, J.P.: Circadian Changes in Brain 5-Hydroxytryptamine and Plasma Corticosterone in the Rat. *Life Sci.* 6, 755—758, 1967.
7. 江崎孝三郎：各種動物の生物学 マウスとラット・実験動物学各論, 田嶋喜雄 編(朝倉書店・東京) 3—65 1972.
8. Finch, C.E.: Catecholamine Metabolism in the Brains of Ageing Male Mice. *Brain Research* 52, 261—276, 1973.
9. Friedman, A.H. and Walker, C.A.: Circadian Rhythms in Rat Mid-Brain and Caudate Nucleus Biogenic Amine Levels. *J. Physiol.* 197, 77—85, 1968.
10. Glowinski, J. and Iversen, L.L.: Regional Studies of Catecholamines in the Rat Brain-I; The disposition of $[^3\text{H}]$ Norepinephrine, $[^3\text{H}]$ Dopamine and $[^3\text{H}]$ Dopa in Various Regions of the Brain. *J. Neurochem.* 13, 655—669, 1966.
11. Greengrass, P.M. and Tonge, S.R.: Changes in Brain Monoamine Concentrations During the Oestrous Cycle in the Mouse; Possible Pharmacological Implications. *J. Pharm. Pharmac.* 23, 897—898, 1971.
12. Grote, S.S.; Moses, S.G., Hudgens, R.W. and Croninger, A.B.: A Study of Selected Catecholamine Metabolizing Enzymes; A Comparison of Depressive Suicides and Alcoholic Suicides with Controls. *J. Neurochem.* 23, 791—802, 1974.
13. Hillier, J.G., Martin, P.R. and Redfern, P.H.: A Possible Interaction Between the 24th Rhythms in

- Catecholamine and 5-Hydroxytryptamine Concentration in the Rat Brain. *J. Pharm. Pharmacol.* 27 (Suppl.), 40, 1975.
14. Jonec, V. and Finch, C.E.: Ageing and Dopamine Uptake by Subcellular Fractions of the C57BL/6J Male Mouse Brain. *Brain Research* 91, 197—215, 1975.
 15. Jouvet M. (融 道男, 渋谷治男訳): 睡眠・覚醒サイクルの調節におけるインドールアミンおよびカテコールアミン含有ニューロンの役割, 脳と神経, 24, 797—809, 1972.
 16. Karasawa, T., Furukawa, K., Yoshida, K. and Shimizu, M.: A Double Column Procedure for the Simultaneous Estimation of Norepinephrine, Normetanephrine, Dopamine, 3-Methoxytyramine and 5-Hydroxytryptamine in Brain Tissue. *Japan. J. Pharmacol.* 25, 727—736, 1975.
 17. 小山良修, 今泉 清, 鈴木 潔, 田中利雄: 実験動物管理の実際 (医学書院・東京), 17—23, 1969.
 18. Kobayashi, K., Koide, Y., Doi, T., Kohsaka, M., Hosokawa, K., and Oku, Y.: Homovanillic Acid in Human Cerebrospinal Fluid—Its Concentration Gradient and Reduced Levels in Patient with Epilepsy—*Acta Medica Okayama* 32, 293—300, 1978.
 19. Manshardt, J. and Wurtman, R.J.: Daily Rhythm in the Noradrenaline Content of Rat Hypothalamus. *Nature* 217, 574—575, 1968.
 20. Maura, G. and Vaccari, A.: Relationships between Age of Submission to Environmental Stress, and Monoamine Oxidase Activity in Rats. *Experientia* 31, 191—193, 1975.
 21. McGeer, E.G., McGeer, P.L. and Wada, J.A.: Distribution of Tyrosine Hydroxylase in Human and Animal Brain. *J. Neurochem.* 18, 1647—1658, 1971.
 22. Morgan, W.W., McFadin, L.S. and Harvey, C.Y.: A Daily Rhythm in Norepinephrine Content in Regions of the Hamster Brain. *Comp. Gen. Pharmac.* 4, 47—52, 1973.
 23. Morgan, W.W., Yndo, C.A. and McFadin, L.S.: Daily Rhythmic Changes in the Content of Serotonin and 5-Hydroxyindoleacetic Acid in the Cerebral Cortex of Mice. *Life Sci.* 14, 329—338, 1974.
 24. Morgan, W.W., Pfeil, K.A., Reiter, R.J. and Gonzales, E.: Comparison of Changes in Tryptophan and Serotonin in Region of the Hamster and Rat Brain over a Twentyfour Hour Period. *Brain Research* 117, 77—84, 1976.
 25. 長瀬守治, 川上正澄: 脳下垂体前葉抽出物のラット脳内活性アミン含量および自発運動量の日内リズムにおよぼす影響, 日本内分泌会誌, 53, 990—1003, 1977.
 26. 奥木 実, 鈴木利秋, 幸嶋幸子: マウスの行動リズムにおよぼす光刺激の影響と加齢変化, 日本基礎老化研究会第一回大会講演集64—65, 1977.
 27. Philo, R., Rudeen, P.K. and Reiter, R.J.: A Comparison of the Circadian Rhythms and Concentrations of Serotonin and Norepinephrine in the Telencephalon of Four Rodent Species. *Comp. Biochem. Physiol.* 57, 127—130, 1977.
 28. Quay, W.B.: Differences in Circadian Rhythms in 5-Hydroxytryptamine according to Brain Region. *Am. J. Physiol.* 215(6), 1448—1453, 1968.
 29. Reis D.J., Corelli A., and Conner J.: Circadian and ultradian rhythms of serotonin regionally in cat brain. *J. Pharm. Experi. Therapeutics* 167, 328—333, 1969,
 30. Reis, D.J., Ross, R.A. and Joh, T.H.: Changes in the Activity and Amounts of Enzymes Synthesizing Catecholamines and Acetylcholine in Brain, Adrenal Medulla, and Sympathetic Ganglia of Aged Rat and Mouse. *Brain Research* 136, 465—474, 1977.
 31. Robinson, D.S., Davis, J.M., Nies, A., Ravaris, C.L., and Sylwester, D.: Relation of Sex and Aging to Monoamine Oxidase Activity of Human Brain, Plasma, and Platelets. *Arch Gen Psychiatry* 24, 536—539, 1971.
 32. Robinson, D.S., Davis, J.M., Nies, A., Colburn, R.W. Davis, J.N., Bourne, H.R., Bunney, W.E., Shaw,

- D.M. and Coppen, A.J.: Ageing, Monoamines, and Monoamine-Oxidase Levels. *Lancet* **5**, 290—291, 1972.
33. Robinson, D.S.: Changes in Monoamine Oxidase and Monoamines with Human Development and Aging. *Fed. Proc.* **34**, 103—107, 1975.
34. Robinson, D.S., Sourkes, T.L., Nies, A., Harris, L.S., Bartlett, D.L. and Kaye, I.S.: Monoamine Metabolism in Human Brain. *Arch Gen Psychiatry* **34**, 89—92, 1977.
35. Scheving, L.E., Harrison, W.H., Gordon, P. and Pauly, J.E.: Daily Fluctuation (Circadian and Ultradian) in Biogenic Amines of the Rat Brain. *Am. J. Physiol.* **214**, 166—173, 1968.
36. Schubert, J. and Sedvall, G.: Accumulation and Disappearance of ^3H -5-Hydroxytryptamine Formed in Vivo from ^3H -Tryptophan in Various Regions of the Rat Brain. *Eur. J. Pharmacol.* **17**, 75—80, 1972.
37. Snyder, S.H., Zweig, M., Axelrod, J. and Fischer, J.E.: Control of the Circadian Rhythm in Serotonin Content of the Rat Pineal Gland. *Physiology* **53**, 301—305, 1965.
38. Takahashi, R. and Aprison, M.H.: Acetylcholine Content of Discrete Areas of the Brain Obtained by a Near-freezing Method. *J. Neurochem.* **11**, 887—898, 1964.
39. Wurtman, R.J. and Axelrod, J.: A 24-hour Rhythm in the Content of the Pineal and Salivary Glands of the Rat. *Life Sci.* **5**, 665—669, 1966.
40. Zolovick, A.J., Pearse, R., Boehlke, K.W. and Eleftheriou, B.E.: Monoamine Oxidase Activity in Various Parts of the Rat Brain during the Estrous Cycle. *Science* **154**, 649, 1966.

**Diurnal variations in motor activity and
regional brain monoamine content in
young adult and aged rats**

Tohru DOI

Institute for Neurobiology, Okayama University Medical School, Okayama, Japan

Diurnal variations in motor activity and regional monoamine levels of the brain in both young adult and aged wistar male rats were compared. The young adult group (Y group) consisted of 16 week old rats. The aged group (A group) comprised 19 month old rats. All the animals were housed in a room with an alternating 12 hour dark-light cycle. The temperature was kept at 24° C and the moisture at 55%. Motor activity was measured in selected rats by Animex. Both groups were then subdivided into six smaller groups. The animals of these groups were sacrificed by decapitation every 4 hours of the 24 hour period (2, 6 and 10 hours in the dark cycle, and 2, 6 and 10 hours in the light cycle; D2, D6, D10, L2, L6 and L10). Immediately after decapitation, brains were collected, dissected into six different regions (amygdala [Amy], corpus striatum [St], cerebral cortex [Cor], hippocampus [Hip], diencephalon [Die] and brain stem [B.S.]), and the levels of dopamin [DA], norepinephrine [NE] and serotonin [5-HT] in each determined fluorometrically. The results were as follows. 1. Diurnal variation of motor activity. Both Y and A groups showed a marked difference between the dark and light cycles. Activity increased during the first 4 hours of the dark cycle, then decreased gradually during the rest of the dark cycle. Motor activity decreased markedly immediately after beginning of the light cycle, and remained decreased throughout the light period. The motor activity of the both groups increased transiently a little before the light cycle. Y group activity increased directly before the dark time. A group activity was significantly less than that of Y group, except for 2 time points during the light cycle. A group motor activity was about 50% lower than that of the Y group. 2. Diurnal variation of DA. Amy from both groups showed a higher levels in the dark time than in the light. St showed two peaks in both groups but the range of variation was wider in A group than in Y group. Cor from both groups showed a higher level in the light time than in the dark. The levels of Hip, Die and B.S. in both groups showed little variation, the range being much smaller in A group. There was no significant difference in the levels of Amy, Cor and Hip in either group, but St, Die and B.S. were significantly lower in A group throughout almost the entire 24 hour period. 3. Diurnal variation of NE levels. Marked variations in Amy, Cor, Hip and Die occurred in both groups. The NE level in the 4 brain regions tended to be lower during the dark time than during the light. The diurnal variation of amine levels in St was smaller in the groups than in the other five regions. B.S. in the Y group showed lower levels during the dark time; however, B.S. from A group showed almost constant levels during the 24 hour period. The NE levels of each groups showed little difference in brain regions other than B.S.. In A group, B.S. showed 1.8 to 9 times higher levels than Y group at all examined time points. 4. Diurnal variation in 5-HT levels. Both groups showed higher amine levels in Amy, Hip and Die during the dark period than in the light. St in Y group showed two peaks at D10 and L6 but the same region in A group showed almost constant amine levels during the diurnal period except for D6. The level in Cor from both groups showed little variation, the range being much smaller in A group than in Y group. The level in B.S. of Y group showed a marked dark-light difference with a high peak at L2 but the same region from A group showed a gradual variation in the amine level with a peak between D10 and L2. Comparison of the 5-HT levels in Y and A groups showed that there was no significant difference in Amy, Hip and Die. The level in St remained high throughout the diurnal period in Y group.

The level in Cor showed a higher value during the 24 h period in A group. The amine level in B.S. was higher in the A group at two time points of the dark period than in Y group. The data indicate a characteristic influence of aging on diurnal variations of motor activity and three monoamine contents of the brain. Some regions of the brain showed no difference in DA levels of Y and A groups, whereas other regions showed significantly lower levels in A group. Some regions showed no difference in NE levels of both groups and the other showed significantly higher levels in A group. These results suggest that the turnover rate of DA in some brain regions is accelerated in A group compared to Y group. A group tended to show less diurnal variation in the three monoamine levels of the brain than Y group when related to the reduced motor activity of A group, this suggests that metabolism of these monoamines is related to behavior.