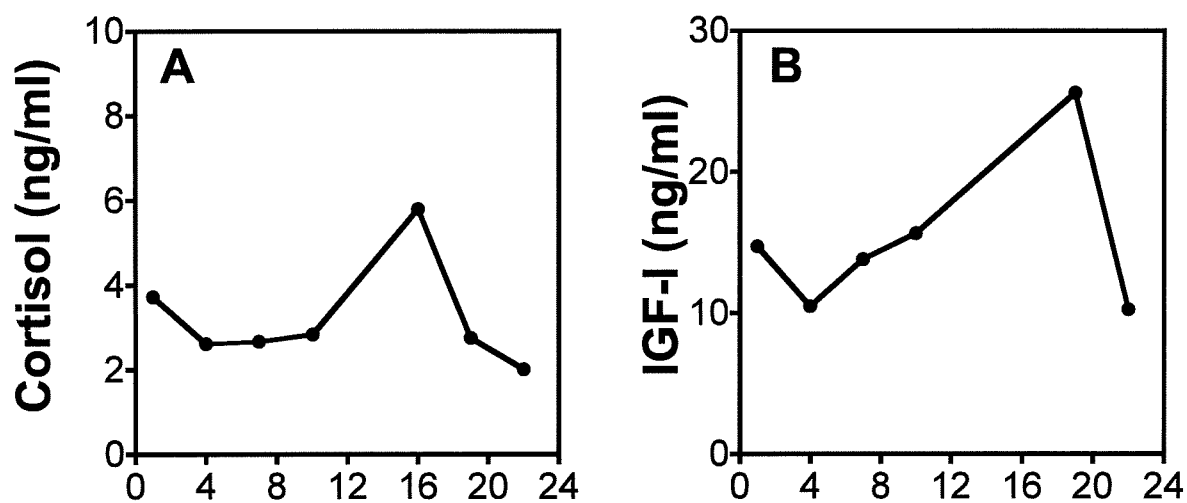
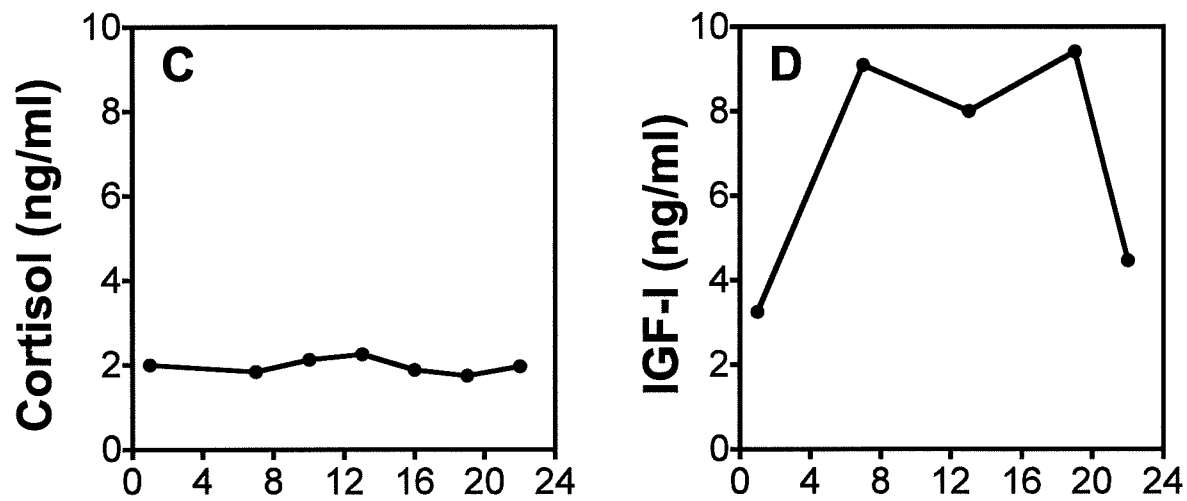


MCH081010 (KA35w5d)



MCH081016 (KA36w4d)



時刻

図4. 新生児唾液中コルチゾールとIGF-Iの測定結果 (その3) .

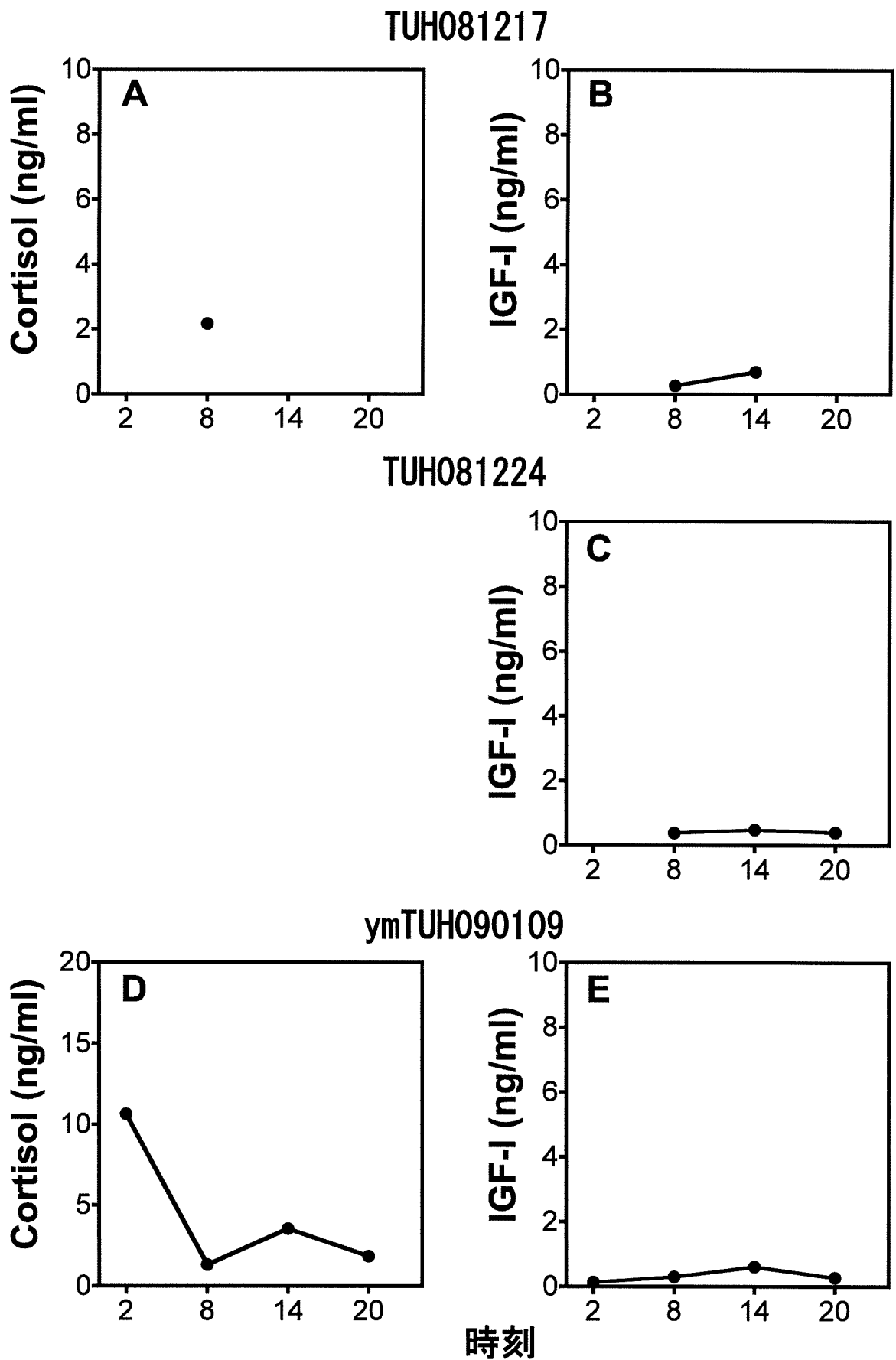


図5. 新生児唾液中コルチゾールとIGF-Iの測定結果
(その4) .

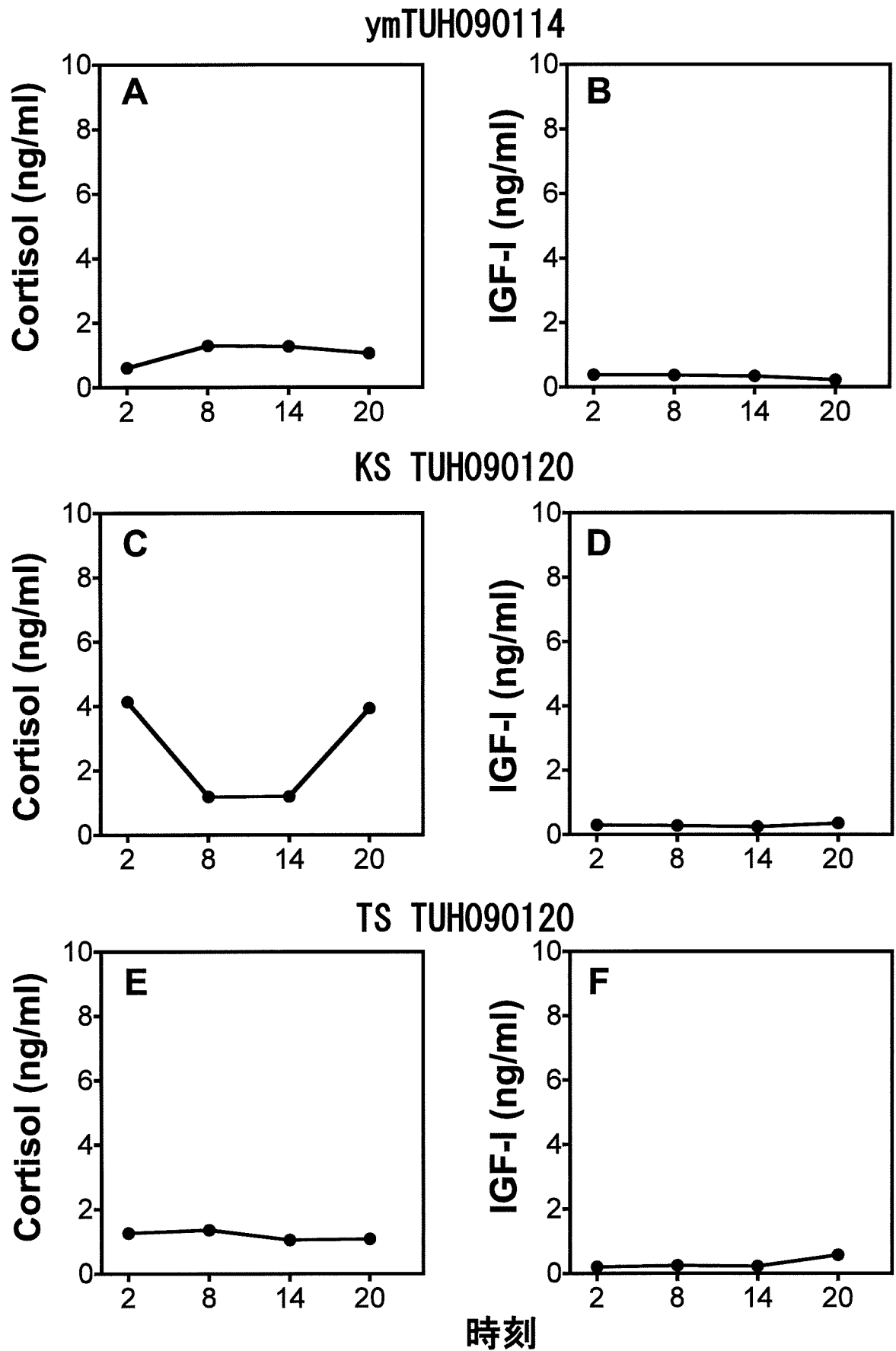


図6. 新生児唾液中コルチゾールとIGF-Iの測定結果 (その5) .

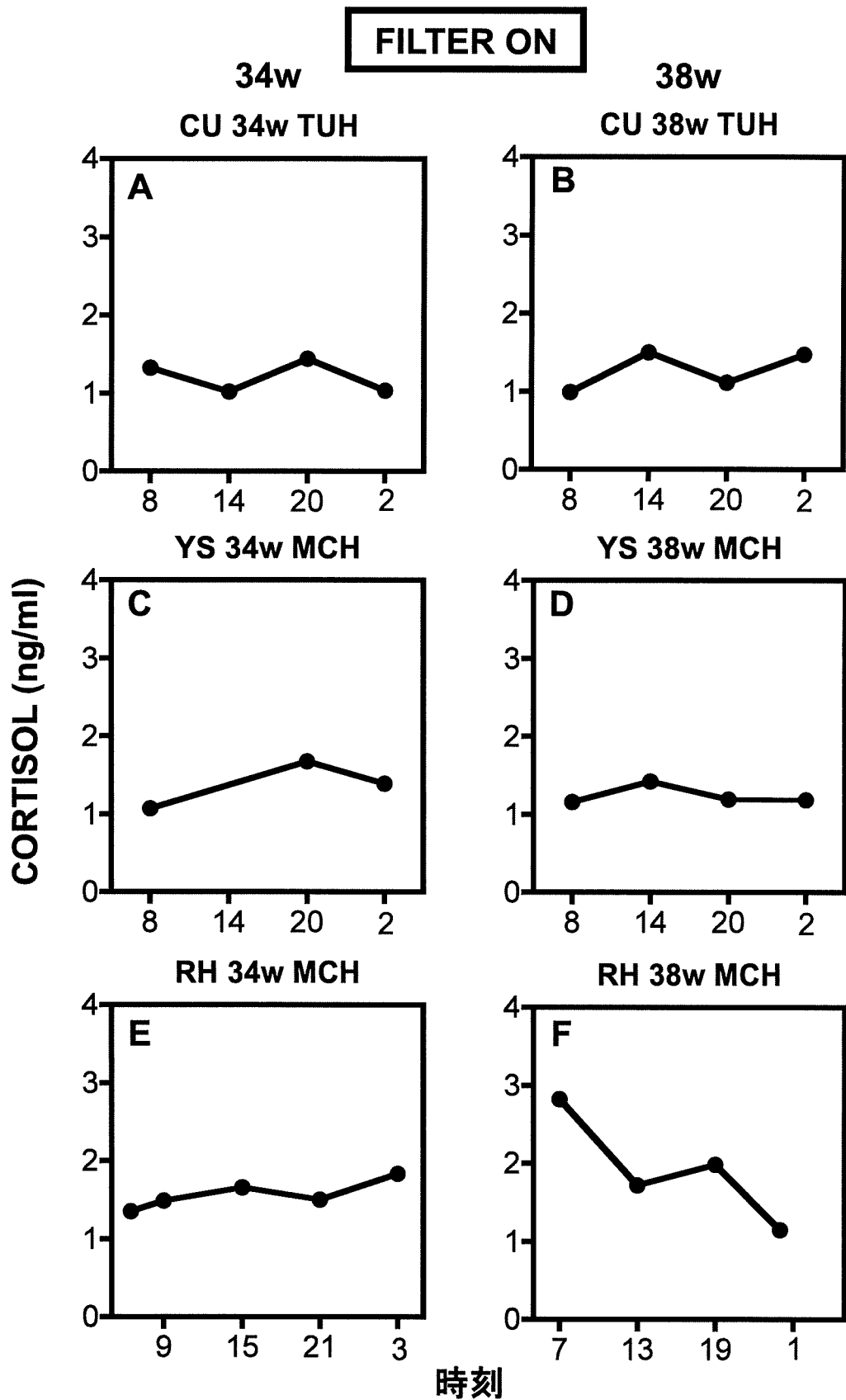


図7. 新生児唾液中コルチゾール濃度の日内変動
(光フィルター装着群その1) .

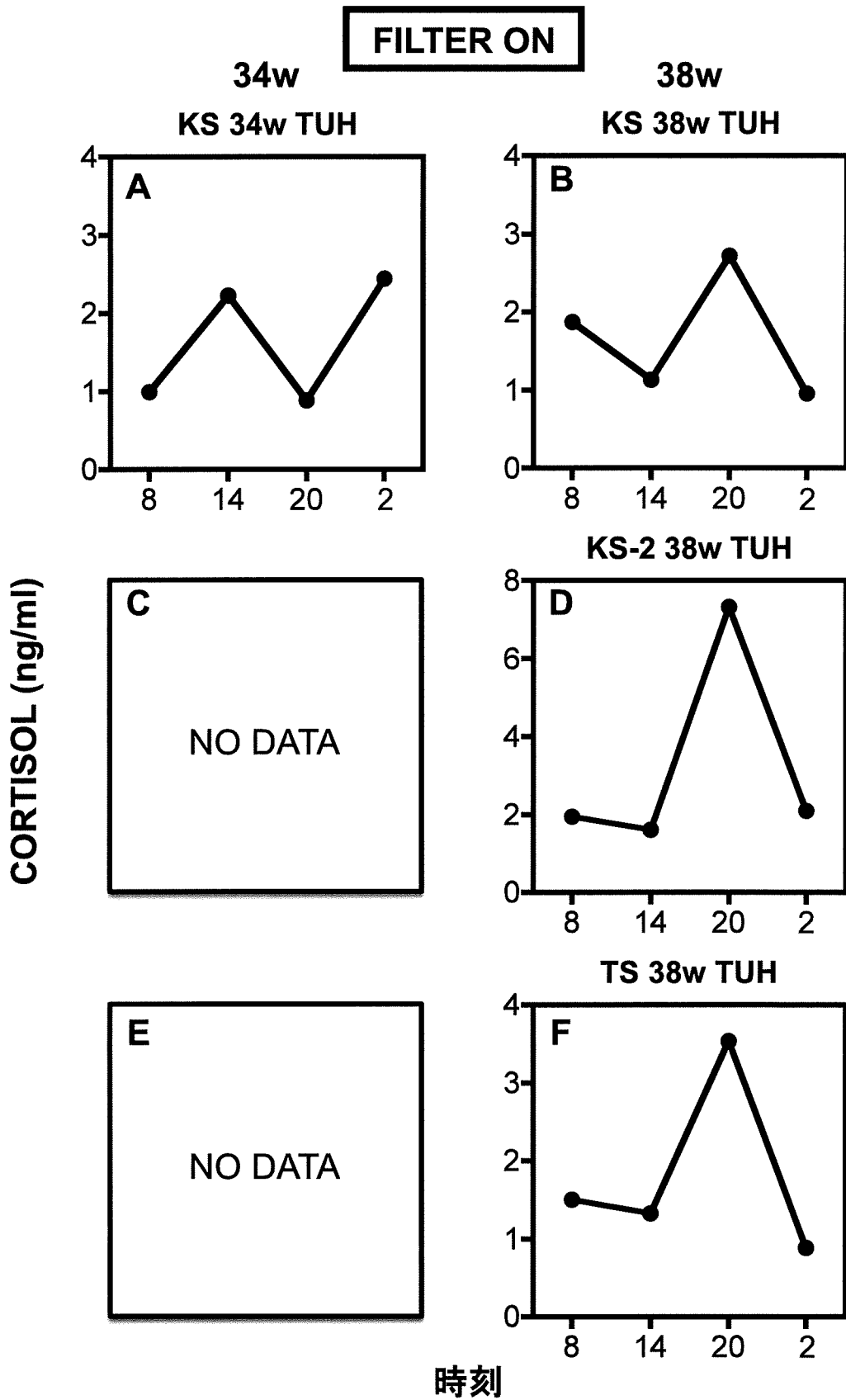


図8. 新生児唾液中コルチゾール濃度の日内変動
(光フィルター装着群その2) .

FILTER ON

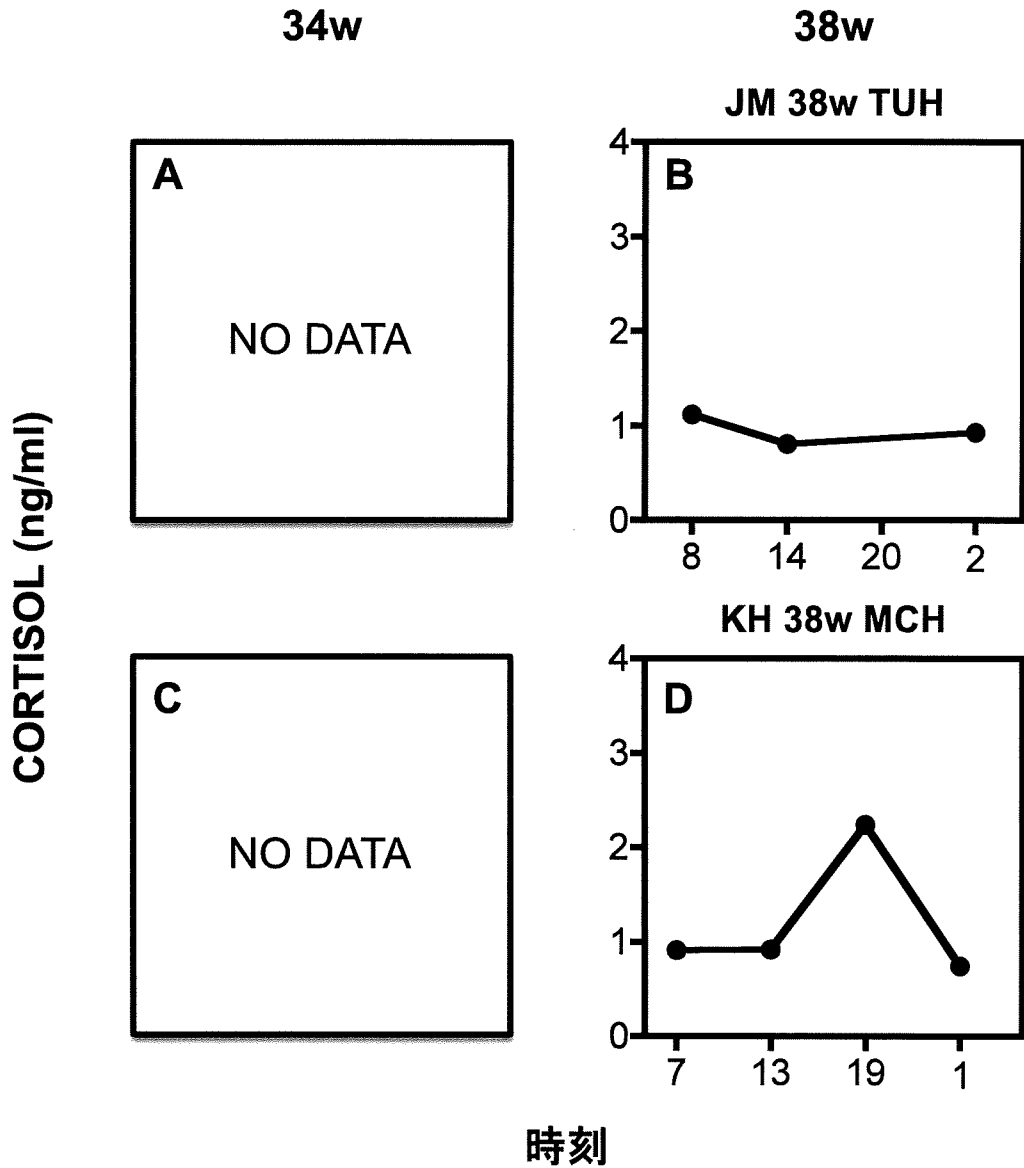


図9. 新生児唾液中コルチゾール濃度の日内変動
(光フィルター装着群その3) .

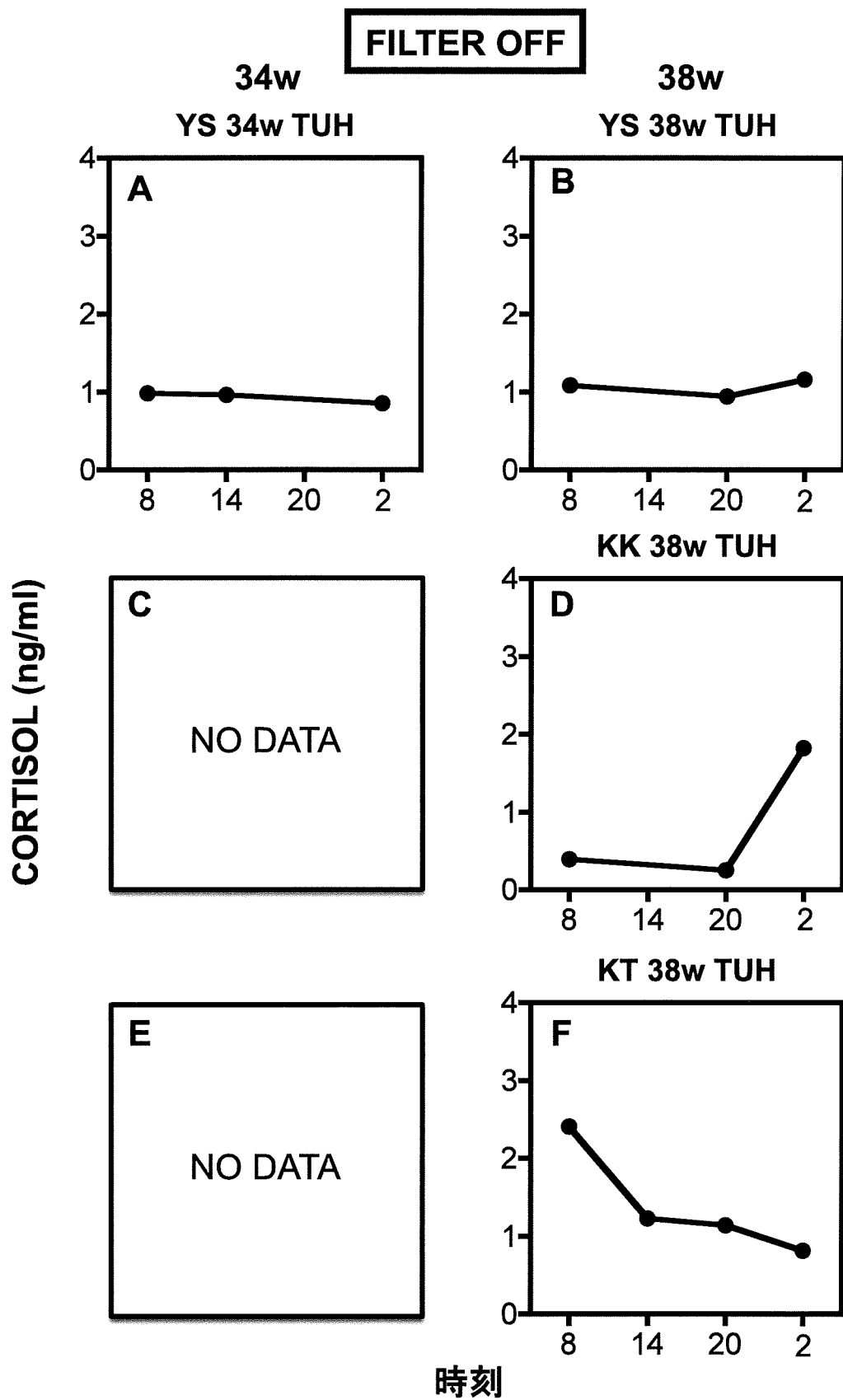


図10. 新生児唾液中コルチゾール濃度の日内変動
(光フィルター非装着群その1) .

FILTER OFF

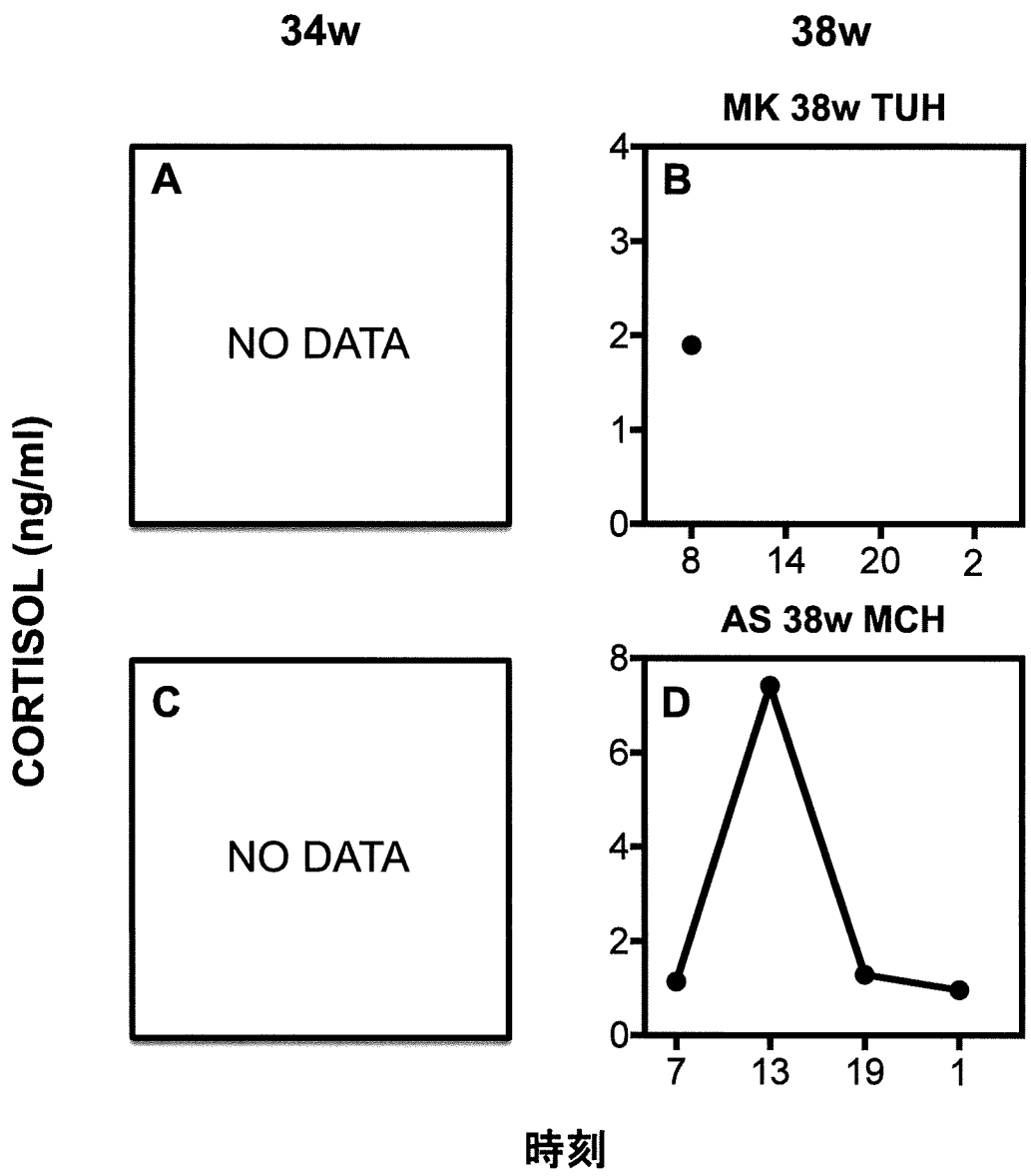


図11. 新生児唾液中コルチゾール濃度の日内変動 (光フィルター非装着群その2) .

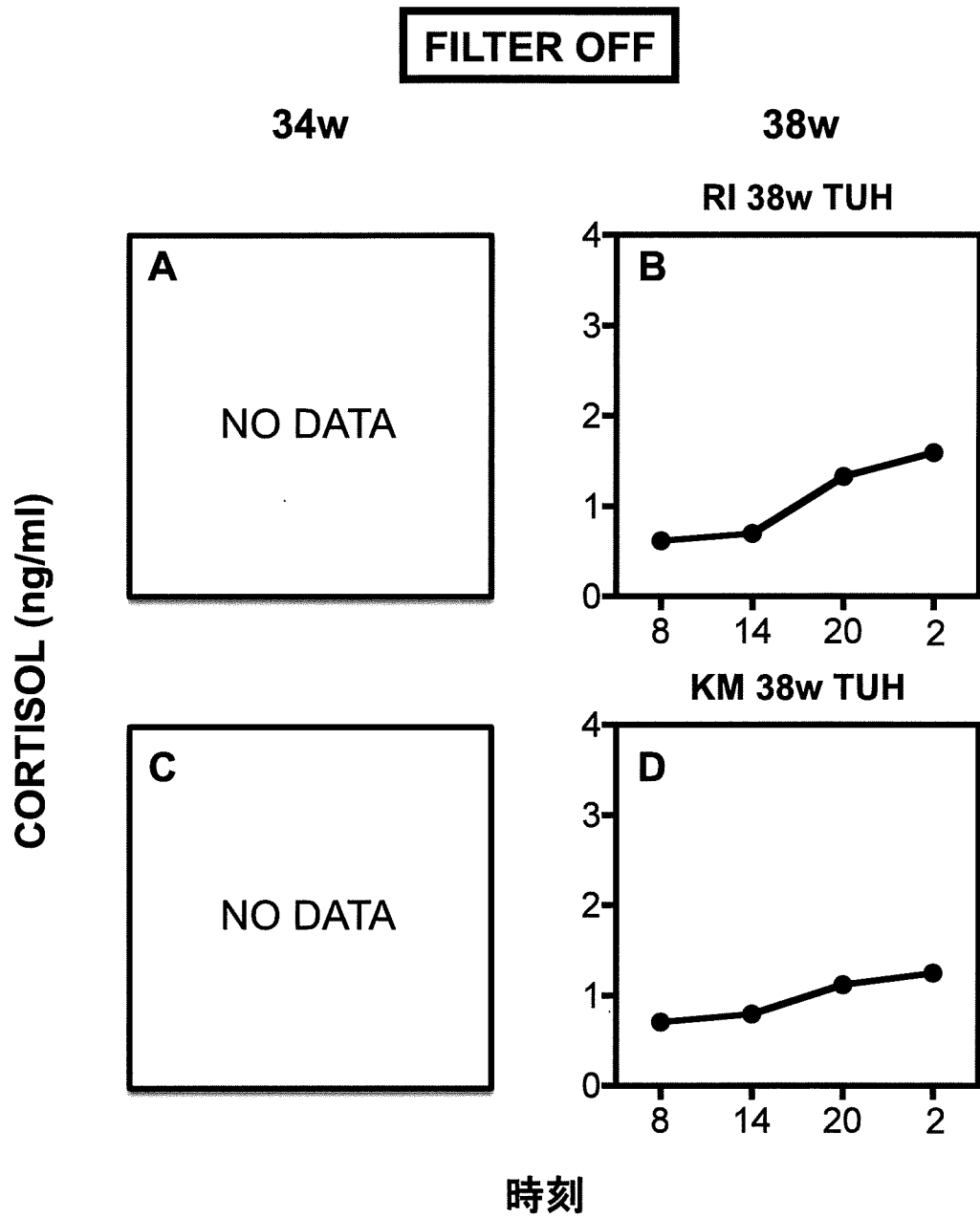


図12. 新生児唾液中コルチゾール濃度の日内変動
(光フィルター非装着群その3) .

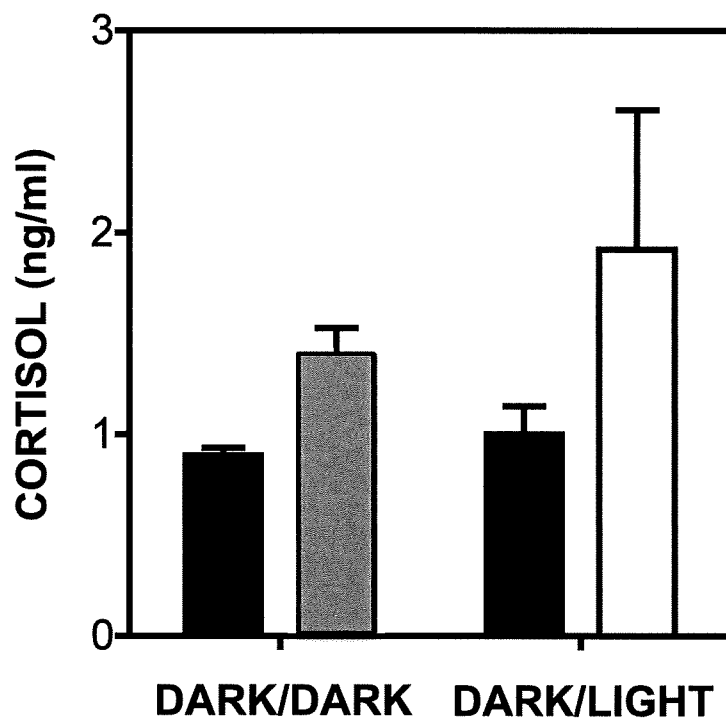


図13. 新生児唾液中コルチゾール濃度に与える早朝光照射（1時間）の影響.

厚生労働科学研究費補助金（医療技術実用化総合研究事業）
分担研究報告書

「成長因子の時間生物学的効果」

分担研究者 守屋孝洋 東北大学大学院薬学研究科・准教授

研究要旨

グレリンはオーファン受容体のGrowth hormone secretagogue (GHS) 受容体の内因性リガンドとして発見されたホルモンであり、生体内では主に胃において合成・分泌され、成長ホルモンの分泌促進作用などを介して児の発達に重要な役割を果たしている。また、グレリンの血中濃度は日内変動を示すことが報告されているが、この分泌リズムの生理的意義は明らかになっていない。そこで本研究では、新生ラットを対象にし、生後の体重・体長増加および組織重量に対するグレリン投与の効果およびその投与時刻依存性について検討することを目的とした。その結果、新生期のグレリン投与がラットの体重および体長増加を促進する作用を有することが初めて明らかになった。また、その体重および体長増加作用には投与時刻依存性が観察され、明期開始の投与や明期開始6時間後の投与では観察されず、暗期開始の投与や暗期開始6時間後の投与で顕著にあらわれた。また、出生8日目の組織重量はいずれの臓器においても溶媒投与群とグレリン投与群の間に統計学的に有意な差は観察されなかったが、肝臓において暗期開始6時間後のグレリン投与群で増加傾向が見られた。さらに、グレリンを暗期に3日齢の新生ラットに投与すると、肝臓における細胞増殖が亢進することが明らかとなった。グレリンは新生児内でも分泌され、さらに血中のみならず、母乳中にも分泌されることが知られているので、本研究で明らかとなったグレリンの体重・体長増加作用の時刻依存性は、母および児の生体リズムの発達における重要性を強く示唆するものである。

A. 研究目的

グレリンはオーファン受容体のGrowth hormone secretagogue (GHS) 受容体の内因性リガンドとして発見されたホルモンであり、生体内では主に胃において合成・分泌され、摂食促進作用、心血管系保護作用、交感神経抑制作用などに加え、成長ホルモンの分泌促進作用などを介して児の発達に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。最近の研究により、夜行性動物のラットでは、グレリンの血中濃度は休息期（明期）に高く、活動期（暗期）に低くなるといった日内変動を示すこと（Bodosi *et al.*, 2004）、およびこの日内リズムは24時間の概日リズムに重要な時計遺伝子*clock*の変異マウスによって認められなくなることが報告され（Turek *et al.*, 2005）、内因的な時計機構によって制御されていることが明らかにされた。一方、母乳中にもグレリンが含まれていること、および周産期の児においてもグレリンが発現していることが報告されているが（Hayashida *et al.*, 2002）、母乳中のグレリン含量および児の体内のグレリン量の日内リズムが発達に与える影響については全く知られていない。

そこで、本研究では、新生ラットを対象にし、生後の体重・体長増加および組織重量に対する

グレリン投与の効果およびその投与時刻依存性について検討し、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした。本研究によりホルモン分泌リズムの児の発達における生理的役割が明らかになれば、周産期の母子における日内リズムの重要性が再確認されるだけでなく、新生児集中治療室（Neonatal Intensive Care Unit: NICU）等での新生児ケアの光環境の重要性についても提言できることになるとと思われる。

B. 研究方法

Wistar系新生ラット（雄性）を対象とした。動物は恒温(23±2℃)条件及び明暗条件下(明期; 12時間、暗期; 12時間)で飼育した。水、餌は自由に与えた。母ラット1匹について、新生ラットを6匹飼養させた。

【体重・体長・組織重量に対するグレリン投与の効果】グレリン（rat acyl-ghrelin, Peptide Institute, Japan）は滅菌生理食塩水に溶解させ、出生2日目から出生7日目まで、1日1回、新生ラットに腹腔内投与(1 nmol / 0.1 mL / pup)した。薬物投与は明期開始直後（zeitgeber time (ZT)0）あるいは明期開始6時間後（ZT6）、暗期開始直後（ZT12）、暗期開始6時間後（ZT18）のいずれか1ポイントだけに行い、対照群は生理食塩

水を投与した。各群の新生ラット数は10~11とした。薬物投与時に新生ラットの体重測定を行い、出生8日目に十分なエーテル麻酔を施して安楽死させ、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、胃、脾臓を摘出し、その組織湿重量を測定した。

二群間の有意差検定は、Unpaired Student's *t*-testを用いて行った。

【肝臓の細胞増殖に対するグレリン投与の効果】グレリン (rat acyl-ghrelin, Peptide Institute, Japan) は滅菌生理食塩水に溶解させ、出生3日目の新生ラットに腹腔内投与 (1 nmol / 0.1 mL / pup) した。薬物投与は暗期開始直後 (ZT12) に行った。対照群は生理食塩水を投与した。各群の新生ラット数は3とした。薬物投与の1時間後にチミジンアナログのbromodeoxyuridine (BrdU) を腹腔内投与し (50 mg/kg)、さらにその2時間後に十分なエーテル麻酔を施して安楽死させ、肝臓を摘出した。凍結切片作製機によって薄切片をつくり、BrdU免疫染色によってBrdU標識細胞を可視化した。Hoechst33258によってカウントされる全細胞の数でBrdU標識細胞数を補正した。二群間の有意差検定は、Unpaired Student's *t*-testを用いて行った。

(倫理面への配慮)

全ての実験は、東北大学実験動物飼育管理施設委員会の承認(No. 21 薬動14号)及び東北大学遺伝子組換え実験安全専門委員会に承認された遺伝子組み換え実験計画「時計遺伝子レポータートランスジェニックラットを用いた体内時計の発振機構の解明」(研研76号)に従って行われた。

C. 研究結果

新生期の体重増加に対するグレリン投与の影響を検討した。その結果を図1に示す。いずれの群においても新生ラットの体重は測定期間を通じて増加した。ZT0およびZT6のグレリン投与はいずれの日においても新生ラットの体重に有意な影響を与えなかった。一方、暗期のグレリン投与は有意に体重増加を更新し、特にZT12の投与は出生2日目から溶媒群に比べて有意に体重増加を更新させた。

一方、体長増加に対してもグレリンは同様の効果を示した(図2)。すなわち、ZT0およびZT6のグレリン投与はいずれの日においても新生ラットの体長に有意な影響を与えなかった。一方、暗期のグレリン投与は有意に体長増加を更新し、特にZT12の投与は出生2日目から溶媒群に比べて有意に体重増加を更新させ、8日目の体長増加もその他の時刻投与群に比べても顕著だった。

出生8日目に十分なエーテル麻酔を施して安楽死させ、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、胃、脾臓を摘出し、その組織湿重量を測定したところ、いずれの臓器重量においても、溶媒投与群とグレリン投与群の間に有意な差は観察されなかった(データ示さず)。しかしながら、肝臓においてはZT12のグレリン投与がその重量を増加させる傾向を示すことが観察された(図3)

最後に肝臓の細胞増殖に対するグレリン投与の効果もBrdU免疫染色によって検討した。投与時刻は体重および体長増加促進作用が顕著に現れるZT12にした。溶媒群では全肝臓細胞中の約5%の細胞がBrdUに標識されたが、グレリン投与はBrdU標識細胞の割合を約17%にまで上昇させた。このことからグレリンは発達期の肝臓の発育を促進する作用をもつことが明らかとなった。

D. 考察

本研究により、新生期のグレリン投与がラットの体重および体長増加を促進する作用を有することが初めて明らかになった。また、その体重増加作用は明期の投与では観察されず、暗期、特に暗期開始直後の投与で顕著に認められた。また、出生8日目の組織重量はいずれの臓器においても溶媒投与群とグレリン投与群の間に差は観察されなかったことから、グレリンによる体重増加は、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、胃、脾臓以外の組織で起こっていることが示唆された。しかしながら、肝臓においてはZT12のグレリン投与がその重量を増加させる傾向を示すことが観察された。また、出生3日目の新生ラットの肝臓の細胞増殖はグレリン投与によって増加することが見出された。

グレリン受容体は発達期においても全身の様々な組織に発現していることが知られている。今後は、骨・筋肉など体幹を構成する組織に対するグレリン投与の影響も検討する必要がある。

今回の研究により、グレリンの体重増加効果は暗期に投与した場合にのみ、顕著に観察された。成体ラットを用いた研究により、血中のグレリン濃度は休息期(明期)に高く、活動期(暗期)に低くなるという明瞭な日内リズムを示すことが知られている(Bodosi *et al.*, 2004)。グレリンは空腹により胃からの分泌が亢進されることが知られており、グレリンの血中濃度における日内リズムは時計遺伝子の発現制御に加え、休息期(明期)＝絶食時間における胃からのグレリン分泌の亢進、活動期(暗期)＝摂食時間における分泌の抑制といった食事による受動的な影響が関与していると考えられる。これを発達期の新生ラットにあてはめて考えてみると、

母ラットは休息期にその仔に授乳することが知られているので、母の休息期＝明期では、仔のグレリン血中濃度は低く、母の活動期＝暗期では、仔のグレリン血中濃度は高くなっていることが予想される。今回のグレリン投与による体重増加促進効果は暗期において顕著に観察されたが、これは仔のグレリン濃度が高まっていると予想される時間帯に対応する。今後、新生ラットにおける血中および尿中グレリン濃度の日内変動を解析することに加え、母ラットの母乳中に含まれるグレリン含量を定量化することが必要であると思われる。

グレリンの体重および体長増加効果における時刻依存性のメカニズムについても今後検討していく必要がある。グレリン受容体はG_qタンパク質共役型の7回膜貫通型受容体であるが、受容体の発現量における日内変動などの薬力学的因子や、代謝酵素等の日内変動による薬物動態学的因子の関与など、血中および尿中グレリン濃度を測定することによって明らかにする必要がある。

E. 結論

本研究により、ラットにおいてグレリンは新生仔の体重および体長増加を促進する作用を有すること、およびその効果は暗期に投与した場合に顕著に観察されることが明らかとなった。また、グレリンは肝臓の発育を促す作用をもつことが明らかになった。また、体重増加は肝臓のほかにも骨・筋肉など、体幹を構成する組織に作用している可能性が示唆された。血中グレリン濃度は日内変動を示すことが明らかとなっているので、本研究で明らかとなったグレリンの体重増加作用の時刻依存性は、母および児の生体リズムの発達における重要性を強く示唆するものである。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Katura T, Moriya T, Nakahata N, 15-Deoxy- $\Delta^{12,14}$ -Prostaglandin J₂ Biphatically Regulates the Proliferation of Mouse Hippocampal Neural Progenitor Cells by Modulating the Redox State. *Mol Pharmacol*, in press
- 2) Tahara Y, Hirao A, Moriya T, Kudo T and Shibata S, Effects of medial hypothalamic lesions on feeding-induced entrainment of locomotor activity and liver Per2 expression in Per2::luc mice. *J Biol Rhythms*, 25:9-18 (2010)
- 3) Ikeda M, Hirono M, Sugiyama T, Moriya T, Ikeda-Sagara M, Eguchi N, Urade Y and Yoshioka T, Phospholipase C beta4

is essential for the progression of the normal sleep sequence and ultradian body temperature rhythms in mice. *PLoS ONE*, 4:e7737. (2009)

- 4) Tsutakawa S, Kobayashi D, Kusama M, Moriya T and Nakahata N, Nicotine enhances skin necrosis and expression of inflammatory mediators in a rat pressure ulcer model. *Br J Dermatology*, 161:1020-1027. (2009)
- 5) Moriya T, Aida R, Kudo T, Akiyama M, Doi M, Hayasaka N, Nakahata N, Mistlberger R, Okamura H and Shibata S, The dorsomedial hypothalamic nucleus is not necessary for food-anticipatory circadian rhythms of behavior, temperature or clock gene expression in mice. *Eur J Neurosci*, 29:1447-1460. (2009)
- 6) Ohta H, Xu S, Moriya T, Iigo M, Watanabe T, Nakahata N, Chisaka H, Hanita T, Matsuda T, Ohura T, Kimura Y, Yaegashi N, Tsuchiya S, Tei H, Okamura K, Maternal feeding controls fetal biological clock. *PLoS ONE*, 3:e2601. (2008)
- 7) Bastos GN, Moriya T, Inui F, Katsura T, Nakahata N, Involvement of cyclooxygenase-2 in lipopolysaccharide-induced impairment of the newborn cell survival in the adult mouse dentate gyrus. *Neuroscience*, 155:454-462. (2008)
- 8) Horie N, So K, Moriya T, Kitagawa N, Tsutsumi K, Nagata I, Shinohara K, Effects of oxygen concentration on the proliferation and differentiation of mouse neural stem cells in vitro. *Cell Mol Neurobiol*, 28:833-845. (2008)
- 9) So K, Moriya T, Nishitani S, Takahashi H and Shinohara K, The olfactory conditioning in the early postnatal period stimulated neuronal stem/progenitor cells in the subventricular zone and increased neurogenesis in the olfactory bulb of rats. *Neuroscience*, 151:120-128. (2008)
- 10) Shimazoe T, Morita M, Ogiwara S, Kojiya T, Goto J, Kamakura M, Moriya T, Shinohara K, Takiguchi S, Kono A, Miyasaka K, Funakoshi A and Ikeda M, Cholecystokinin-A receptors regulate photic input pathways to the circadian clock. *The FASEB Journal*, 22:1479-1490. (2008)

2. 学会発表

(国内学会)

- 1) Bastos Gilmar, 守屋孝洋, 乾文恵, 桂崇之, 中畑則道, Cyclooxygenase-2 is involved in lipopolysaccharide-induced impairment of the newborn cell survival in the adult mouse

- dentate gyrus、第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム、仙台、2008年5月19日(ポスター発表)、講演要旨集、p108、2008
- 2) 桂崇之、守屋孝洋、中畑則道、プロスタグランジン D₂ 及び 15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J₂ による神経幹細胞の機能調節、第5回東北大学バイオサイエンスシンポジウム、仙台、2008年5月19日(ポスター発表)、講演要旨集、p117、2008
 - 3) 守屋孝洋、乾文恵、鷹弥生、中畑則道、成熟後のマウス体内時計光同調に対する胎児期の増殖阻害剤投与の促進効果、第31回日本神経科学大会、東京、2008年7月11日(ポスター発表)、プログラム、p172、2008
 - 4) 桂崇之、守屋孝洋、中畑則道、マウス海馬由来神経幹細胞の自己複製能に対する PGD₂ 及び 15d-PGJ₂ の調節機構、第31回日本神経科学大会、東京、2008年7月11日(ポスター発表)、プログラム、p268、2008
 - 5) 守屋孝洋、ニューロン新生を調節するプロスタグランジン J₂ の新規標的タンパク質の解析、平成20年度神経回路・分子脳科学合同夏班会議、札幌、2008年8月7日(口頭発表)、第4領域ポスターセッション要旨集、p4-08、2008
 - 6) 守屋孝洋、小野塚寛、桂崇之、中畑則道、神経幹細胞における extracellular signal-regulated kinase 依存的な時計遺伝子の周期的発現機構、生体機能と創薬シンポジウム2008、東京・星薬科大学、2008年9月5日(口頭発表)、YAKUGAKU ZASSHI、128 (Suppl.3) p149、2008
 - 7) バストス ジルマラ、守屋孝洋、乾文恵、桂崇之、中畑則道、シクロオキシゲナーゼ-2 を介したリポ多糖による成体マウス歯状回における細胞新生抑制機構、生体機能と創薬シンポジウム2008、東京・星薬科大学、2008年9月5日(口頭発表)、YAKUGAKU ZASSHI、128 (Suppl.3) p145、2008
 - 8) 守屋孝洋、小野塚寛、桂崇之、中畑則道、神経幹細胞における分子時計の上皮成長因子(EGF)誘発性同調機構について、第59回日本薬理学会北部会、仙台・仙台市情報・産業プラザ、2008年9月27日(口頭発表)、第59回日本薬理学会北部会プログラム・抄録集、p39、2008
 - 9) バストス ジルマラ、守屋孝洋、乾文恵、桂崇之、中畑則道、Lipopolysaccharide suppresses the newborn cell survival in adult mouse dentate gyrus in a cyclooxygenase-2-dependent manner、第59回日本薬理学会北部会、仙台・仙台市情報・産業プラザ、2008年9月27日(口頭発表)、第59回日本薬理学会北部会プログラム・抄録集、p40、2008
 - 10) 守屋孝洋、バストス ジルマラ、中畑則道、成体マウス歯状回の細胞新生における概日変動の分子基盤について、第47回日本薬学会東北支部大会、岩手医科大学・薬学部、2008年10月26日(口頭発表)、第47回日本薬学会東北支部大会・講演要旨集、p42、2008
 - 11) 守屋孝洋、小野塚寛、桂崇之、篠原一之、中畑則道、上皮成長因子(EGF)による神経幹細胞の時計遺伝子発現調節機構、第15回日本時間生物学会学術大会、日本・岡山、岡山大学・創立五十周年記念館・農学部、2008年11月8日(ポスター発表)、時間生物学・第15回日本時間生物学会学術大会抄録集、14(2) p73、2008
 - 12) 小野塚寛、守屋孝洋、鷹弥生、太田英伸、程肇、松田直、岡村州博、中畑則道、アドレナリン受容体を介した肝臓における概日時計の同調機構、第15回日本時間生物学会学術大会、日本・岡山、岡山大学・創立五十周年記念館・農学部、2008年11月9日(ポスター発表)、時間生物学・第15回日本時間生物学会学術大会抄録集、14(2) p79、2008
 - 13) 守屋孝洋、ニューロン新生を調節するプロスタグランジン J₂ の新規標的タンパク質の解析、平成20年度特定領域研究「統合脳」5領域・冬の公開シンポジウム・合同領域班会議、日本・東京一ツ橋学術総合センター、2008年12月13日(口頭発表)、第4領域口演セッション要旨集、p13-4、2008
 - 14) 小野塚寛、守屋孝洋、鷹弥生、太田英伸、程肇、松田直、岡村州博、中畑則道、肝臓におけるアドレナリン受容体を介した概日時計の同調機構、第82回日本薬理学会年会、日本・横浜、パシフィコ横浜、2009年3月16日(口頭発表)、Journal of Pharmacological Sciences、109, Supplement 1, p65、2009
 - 15) 守屋孝洋、小野塚寛、桂崇之、篠原一

- 之、中畑則道、ラット肝臓におけるアドレナリン受容体を介した概日時計の同調機構、第6回東北大学バイオサイエンスシンポジウム、宮城県・仙台市・仙台国際センター、平成21年6月16日（ポスター発表）、第6回東北大学バイオサイエンスシンポジウムおよび第14回学際ライフサイエンスシンポジウム講演要旨集 p117、2009
- 16) 守屋孝洋、体内時計による神経前駆・幹細胞機能の周期的制御機構、2009年度・日本薬学会東北支部総会・学術講演会、宮城県・仙台市・東北薬科大学中央棟2A講義室、平成21年7月11日（講演）、要旨集なし、2009
- 17) 守屋孝洋、ニューロン新生を調節するプロスタグランジン J_2 の新規標的タンパク質の解析、平成21年度特定領域「統合脳」夏のワークショップ合同班会議、北海道・札幌市・厚生年金会館、平成21年8月12日（ポスター発表）、平成21年度特定領域「統合脳」夏のワークショップ合同班会議、サテライトシンポジウム・抄録集 p47、2009
- 18) 桂 崇之、守屋孝洋、中畑則道、プロスタグランジン D_2 (PGD₂) 及び 15-デオキシ- $\Delta^{12,14}$ -プロスタグランジン J_2 (15d-PGJ₂) による神経幹細胞の機能調節機構の解明、次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム2009、東京都・慶應義塾大学薬学部芝共立キャンパス、平成21年8月24日（口頭発表）、次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム2009 プログラム・要旨集 p62、2009
- 19) 守屋孝洋、原 弥生、藍田礼子、工藤 崇、秋山正志、土居雅夫、早坂直美、RALPH MISTLBERGER、岡村 均、柴田重信、中畑則道、視床下部背内側核はマウスの給餌性リズムに必須ではない、第32回日本神経科学大会、愛知県・名古屋市・名古屋国際会議場、平成21年9月18日（ポスター発表）、プログラム p259、2009
- 20) 桂 崇之、守屋孝洋、中畑則道、15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 は細胞内酸化還元状態を変化させてマウス海馬由来神経幹細胞の増殖能を調節する、第32回日本神経科学大会、愛知県・名古屋市・名古屋国際会議場、平成21年9月17日（ポスター発表）、プログラム p200、2009
- 21) 鈴木悠子、守屋孝洋、桂 崇之、中畑則道、受動拡散型ヌクレオシドトランスポーターを介したアデノシンによる海馬ニューロン新生調節機構、第32回日本神経科学大会、愛知県・名古屋市・名古屋国際会議場、平成21年9月17日（ポスター発表）、プログラム p200、2009
- 22) 原 弥生、守屋孝洋、小野塚 寛、太田英伸、程 肇、渡辺和人、中畑則道、ガストリン放出ペプチドによる視交叉上核の ERK1/2 を介する体内時計同調機構、第32回日本神経科学大会、愛知県・名古屋市・名古屋国際会議場、平成21年9月18日（ポスター発表）、プログラム p260、2009
- 23) 守屋孝洋、原 弥生、藍田礼子、柴田重信、中畑則道、マウス視床下部・背内側核における食事による時計遺伝子発現上昇の神経機構と生理的役割について、第60回日本薬理学会北部会、富山県・富山市・富山国際会議場、平成21年9月26日（口頭発表）、第60回日本薬理学会北部会 プログラム・抄録集 p17、2009
- 24) 鈴木悠子、守屋孝洋、桂 崇之、中畑則道、受動拡散型ヌクレオシドトランスポーター1を介したアデノシンによるニューロン新生調節機構の解明、第48回日本薬学会東北支部大会、宮城県・仙台市・東北薬科大学、平成21年10月18日（口頭発表）、第48回日本薬学会東北支部大会講演要旨集 p49、2009
- 25) 守屋孝洋、脳内の概日時計の同調機構に及ぼす薬物の影響に関する研究、第31回東北薬学セミナー・奨励賞受賞講演、宮城県・仙台市・江陽グランドホテル、平成21年12月4日（講演）、要旨集なし、2009
- 26) 桂 崇之、守屋孝洋、中畑則道、ニューロン新生を調節するプロスタグランジン J_2 の新規標的タンパク質の解析、平成21年度特定領域「統合脳」冬の公開シンポジウム、合同領域班会議、東京都・一ツ橋学術総合センター、平成21年12月19日（ポスター発表）、平成21年度特定領域「統合脳」冬の公開シンポジウム、合同領域班会議・抄録集 p4-14、2009

(国際学会)

- 1) T. MORIYA, F. INUI, Y. TAKA, N. NAKAHATA, The gestational disturbance of neurogenesis by an antimitotic agent facilitates the photic entrainment of the biological clock in mouse offspring, *Neuroscience* 2008, 米国・ワシントン ワシントン

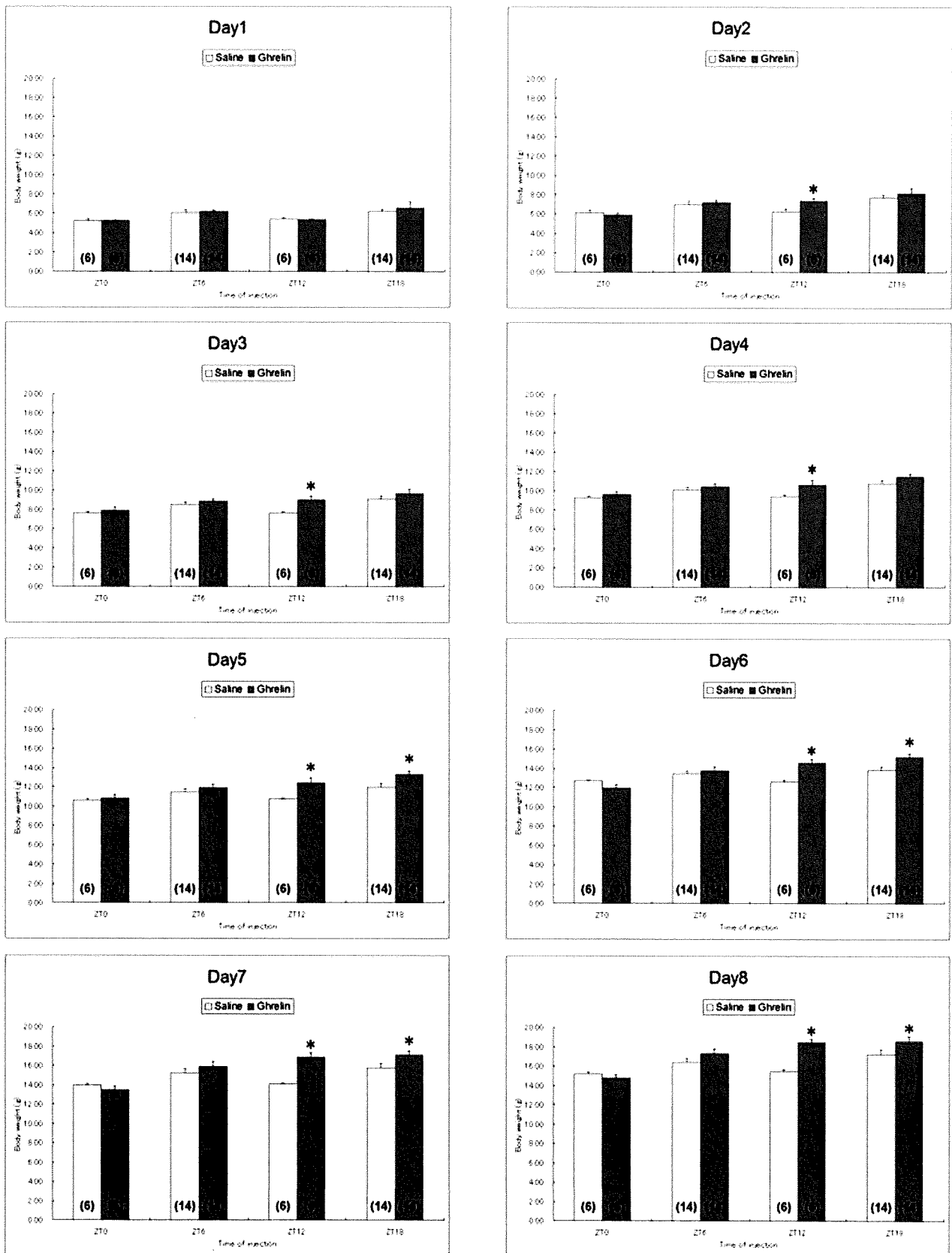
ン・コンベンションセンター、2008年11月17日（ポスター発表）、Society For Neuroscience Final Program Monday、p126、2008

- 2) 守屋孝洋、乾 文恵、橋本雄哉、原 弥生、東野 勲、恩田昌明、中畑則道、高脂肪食によるマウス時計遺伝子の発現変化に対するパントテン酸の効果、ASRS, JSSR, JSC Joint Congress 2009、大阪府・大阪市・大阪国際会議場（グランキューブ大阪）、平成 21 年 10 月 27 日（ポスター発表）、ASRS, JSSR, JSC Joint Congress 2009 PROGRAM & ABSTRACTS p265、2009
- 3) 原 弥生、守屋孝洋、小野塚 寛、太田英伸、程 肇、渡辺和人、中畑則道、ガストリン放出ペプチドによる視交叉時上核の体内時計同調における ERK1/2 の関与、ASRS, JSSR, JSC Joint Congress 2009、大阪府・大阪市・大阪国際会議場（グランキューブ大阪）、平成 21 年 10 月 27 日（ポスター発表）、ASRS, JSSR, JSC Joint Congress 2009 PROGRAM & ABSTRACTS p253、2009
- 4) 前川知子、桂 崇之、小野塚 寛、鈴木悠子、小原祐太郎、守屋孝洋、中畑則道、マウス海馬由来の神経幹細胞における時計遺伝子発現及び増殖活性の概日リズムの解析、ASRS, JSSR, JSC Joint Congress 2009、大阪府・大阪市・大阪国際会議場（グランキューブ大阪）、平成 21 年 10 月 27 日（ポスター発表）、ASRS, JSSR, JSC Joint Congress 2009 PROGRAM & ABSTRACTS p251、2009

G. 知的財産権の出願・登録（予定を含む）

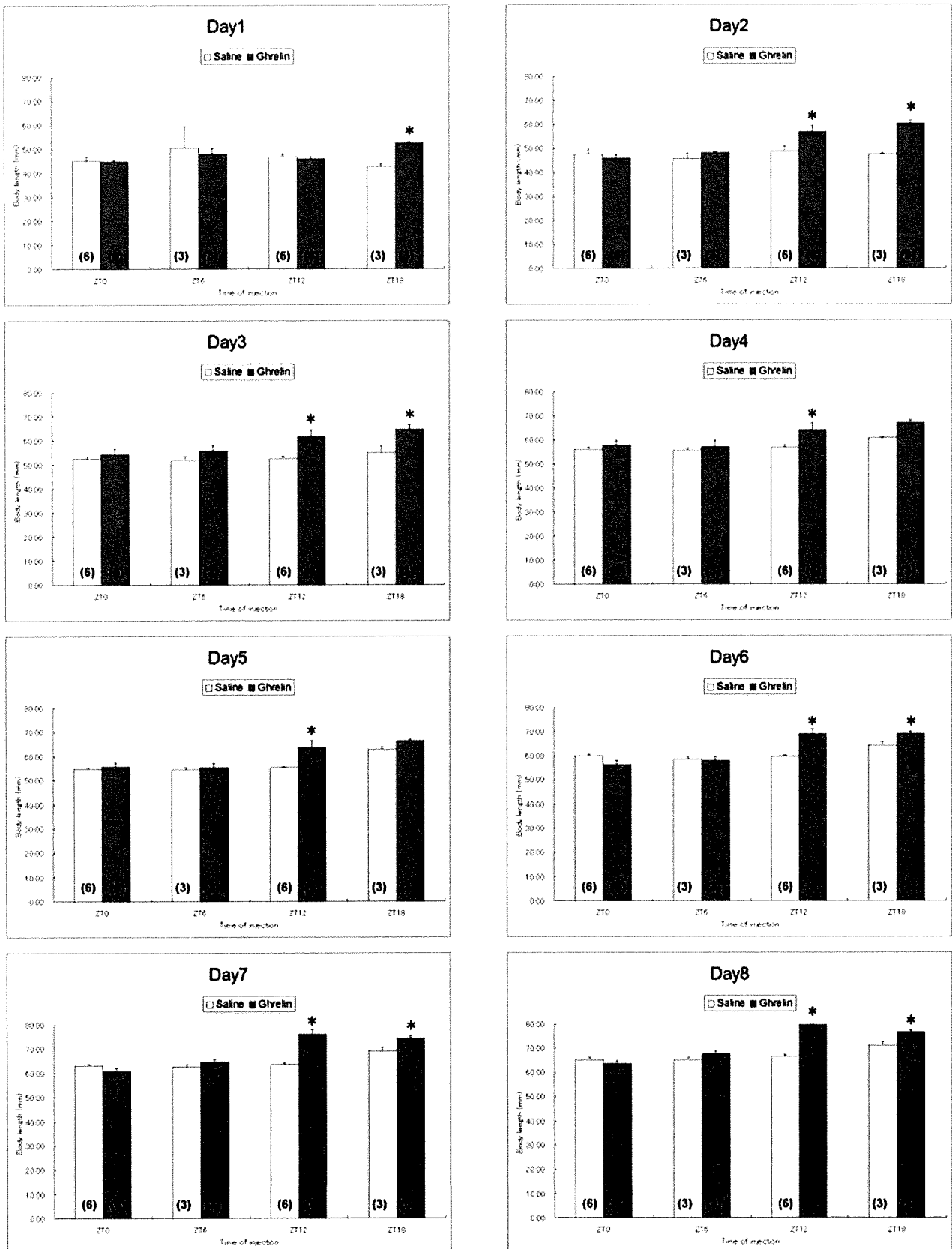
1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

図1. 新生ラットの体重増加に対するグレリン投与の効果と投与時刻依存性



* : $p < 0.05$ vs. Saline (Student's *t*-test)

図2. 新生ラットの体長増加に対するグレリン投与の効果と投与時刻依存性



* : $p < 0.05$ vs. Saline (Student's t -test)

図3. 新生ラットの肝臓重量に対するグレリンの効果と投与時刻依存性

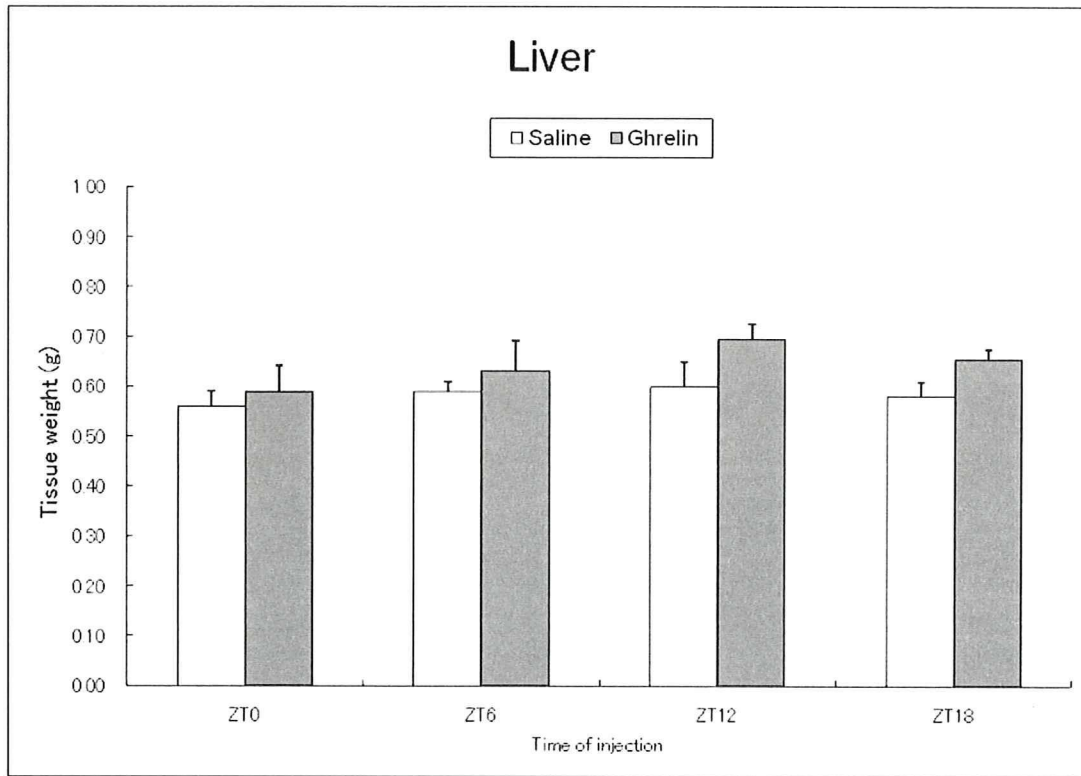
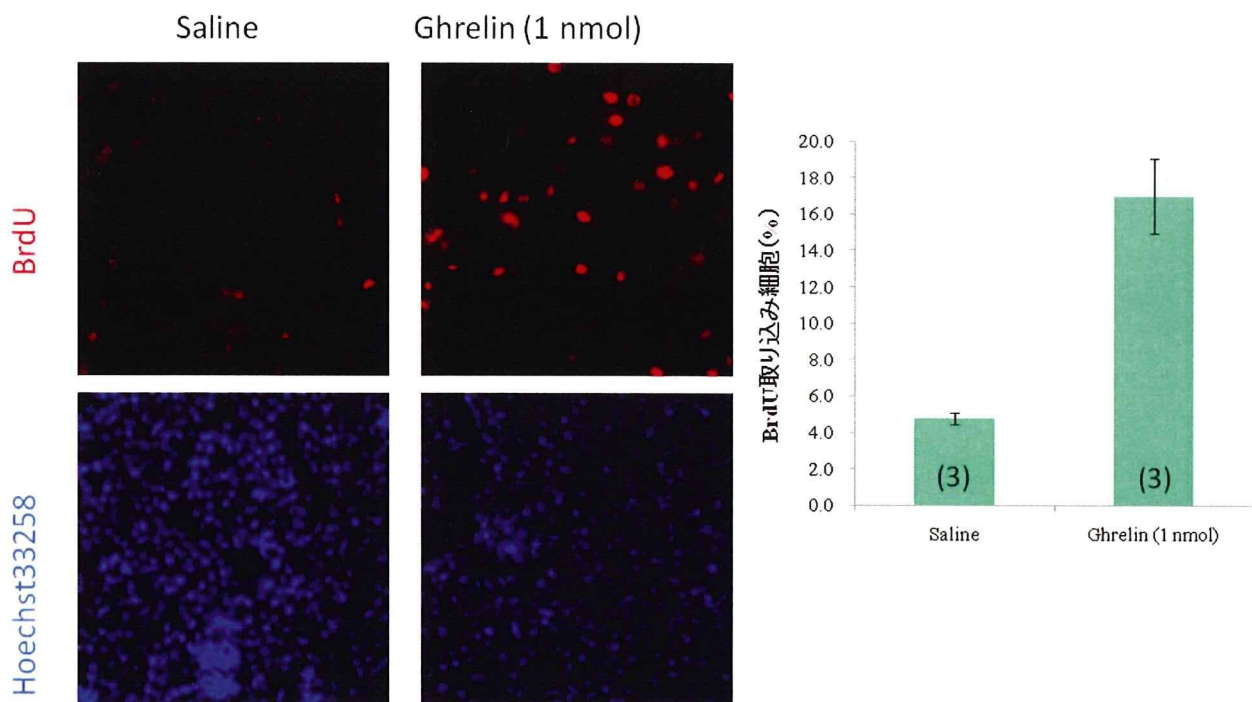


図4. 3日齢の新生ラットへのグレリン投与が肝臓の増殖(BrdU取込み)に与える影響



児の発達指標としての発達検査について

分担研究者 仲井邦彦（東北大学医学系研究科 准教授）

研究要旨

次世代人工保育器の有効性を検証するため、出生児の成長と発達を追跡することとし、検査バッテリーとして身体的発達に加え、神経行動学的な発達を測定するBayley Scales for Infant Development, 2nd edition (以下BSID)を導入した。BSIDは海外では標準的な発達検査としてよく用いられており、様々な分野で発達に影響する要因を明らかにする上で有用性が示されている。わが国では標準化されていないものの、英語圏以外の国では標準化を経ずに用いられた例も少なくない。さらに、本研究に参加する分担研究施設においてBSIDを用いた研究事例があり成果も報告されている。一方、わが国には標準的な発達検査として新版K式発達検査があるものの、海外での知名度は乏しく、国際比較は困難である。このため本研究では発達検査としてBSIDの使用を決定しているが、まずBSIDと新版K式発達検査との比較を行った。方法は前年度と同様に分担研究施設で過去に実施した生後7および18ヶ月のBSIDと新版K式発達検査のデータを用いたが、サンプル数を追加して再解析を行った（生後7ヶ月では861名、生後18ヶ月では894名）。BSIDは心理発達尺度MDIと心理運動発達尺度PDIから構成されるが、MDIは新版K式発達検査の心理発達尺度であるC-A（認知・適応）と高い相関が認められ（年齢、性およびテスターを調整した偏相関係数は、生後7ヶ月で0.65、生後18ヶ月で0.60、 $n=861$ ）、またPDIは新版K式発達検査の心理運動発達尺度であるP-M（姿勢・運動）と高い相関が認められた（生後7ヶ月で0.80、生後18ヶ月で0.61、 $n=894$ ）。従って、両検査はほぼ同じものを測定していると期待されるものの、両検査には若干の差異があることも示唆された。BSIDを応用する上でこのような特徴を考慮しつつ適用することが必要とあらためて判断された。なお、本研究ではすでにBSIDを用いた調査を実施しており、修正7ヶ月齢において光フィルター使用群・非使用群の2群間の比較を行った。まだ例数が少ないものの、いまのところ7ヶ月齢において統計学的に有意な差は観察されていない（使用群 $n=3$ 、非使用群 $n=3$ ）。今後、予定症例数（装着群 $n=25$ 、非装着群 $n=25$ ）に到達した時点で再解析を行う予定である。

A. 研究目的

次世代人工保育器の有効性を検証する層別ランダム化比較研究において、介入群および対照群の出生児の成長と発達を追跡する検査バッテリーが必要となる。身体的発達に加え、神経行動学的な発達を測定する方法が必要であり、発達検査として、海外ではBayley Scales for Infant Development (以下BSID)が多く臨床および疫学研究で標準的な方法として用いられている。BSIDは英語圏ではない国でも標準化作業を経ずに用いられることがあり、十分な検出力を有することも示されている。一方、わが国には発達検査として新版K式発達検査が標準的な方法として確立されている。残念ながら、疫学的な研究での応用例は少なく、また海外の英文雑誌での発表はほとんどなく国際的な知名度はない。このため研究結果の国際比較を行う上でも支障となると懸念され、本研究ではBSIDを発達検査法として採用した。なお、このBSIDは米国ではすでに第3版が臨床に導入されているが、本研究を準備した時点で

は第2版から第3版に切り替わる時期であったこと、分担研究施設では第2版で基礎的なデータの積み上げを行っていたことから、本研究ではBayley Scales for Infant Development, 2nd edition (以下BSIDはこの第2版を指す)を用いた。

本分担研究では、前年度に引き続き、BSIDと新版K式発達検査について比較し、BSIDの特徴を明らかにすることとした。その上で、BSIDの結果を解釈する上で検討すべき事項についても予備的に検討した。

B. 研究方法

B-1. BSIDと新版K式発達検査との比較

BSIDはThe Psychological Corporationより購入し、翻訳して使用した。翻訳後の使用に際して、検査の妥当性、信頼性などを担保するため、米国Rochester大学Davidson教授の協力を得て、a) 和訳プロトコルを逆翻訳し検査手技の正確性の検証、b) 米国より検査トレーナーを招聘し