

原 著

ラット母仔リズム同調機構における時計遺伝子発現について

¹⁾ 日本大学医学部産婦人科学教室²⁾ 工業技術院生命工学工業技術研究所生体情報部時計遺伝子³⁾ 筑波大学大学院農学研究科応用生物化学大塚 仁樹¹⁾ 坂本 克彦²⁾ 大石 勝隆²⁾³⁾三宅 良明¹⁾ 佐藤 和雄¹⁾ 石田直理雄²⁾

Temporal Expression Pattern of Circadian Clock Genes in the Maternal and Fetal Heart and Placenta of Rats

Hitoki OTSUKA¹⁾, Katsuhiko SAKAMOTO²⁾, Katsutaka OISHI²⁾, Yoshiaki MIYAKE¹⁾,
Kazuo SATO¹⁾ and Norio ISHIDA²⁾¹⁾ Department of Obstetrics and Gynecology, Nihon University, School of Medicine, Tokyo²⁾ Ishida Group of Clock Gene, National Institute of Bioscience and Human Technology,
Agency of Industrial Science and Technology, MITI, Ibaraki³⁾ Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba, Ibaraki

概要 これまでに概日リズムの母仔同調機構として妊娠後期のラット胎仔視交叉上核(suprachiasmatic nucleus: SCN)に母獣時計情報が伝達される多数の知見が報告されている。しかし、母仔間同調を時計関連遺伝子の観点から検討した報告はない。本研究では、哺乳類の時計中枢であるSCNのみならず、ほとんどすべての末梢組織で日周期的発現が報告されている時計遺伝子(*rPer1*, *rPer2*, *BMAL1*)の発現ならびに日周パターンを胎盤およびラット胎仔心臓において母獣心臓と比較検討した。その結果、妊娠18日目(E18)、妊娠20日目(E20)では、ラット胎仔心臓および胎盤のいずれにおいても各種時計遺伝子ならびに出力系である albumine site D-binding protein(*DBP*)の mRNA 発現が認められた。しかし胎盤や胎仔心臓における各時計遺伝子 mRNA は、成体ラットで報告されているこれら時計遺伝子の日周リズムとは全く異なる発現パターンを示し、胎仔心臓における *BMAL1* mRNA 以外は成体の末梢組織でみられる明瞭なリズムが認められなかった。また胎仔心臓における *BMAL1* mRNA は、早朝(ZT5)に最も低く夜明け前(ZT23)にピークに達する日周変動を示し、成体ラットにみられる発現パターンとは異なっていた。よって、胎盤や胎仔末梢組織での時計遺伝子発現は、成体ラットとは全く異なる機構によって制御されている可能性が考えられた。興味深いことに、E18とE20におけるそれぞれの遺伝子発現パターンを比較したところ *rPer1* mRNA は、E20ではE18と比較して顕著な発現量の増加が認められ、*rPER1*がこの時期に特異的な何らかの機能を担っている可能性が示唆された。

Abstract Objective: To investigate materno-fetal synchronization at the level of the gene expression, expression pattern of clock genes were examined in the placenta, fetal heart, and maternal heart under light-dark condition.

Methods: Female rats aged 8 weeks were impregnated, and at days 18 (E18) and E20 of pregnancy, their fetuses had removed by caesarian section at zeitgeber times of 5, 11, 17 and 23 hours. The fetal hearts and placentae as well as the maternal hearts were excised and mRNA patterns of expression of clock related genes *rPer1*, *rPer2*, *BMAL1* and clock controlled gene, albumine site D-binding proteins (*DBP*) and mRNAs were analyzed in these tissues by Northern blot.

Results: In both the E18 and E20 pregnant rats, we detected mRNA expressions of *rPer1*, *rPer2*, *BMAL1*

and *DBP* in the placenta and fetal heart as well as the maternal heart but only *BMAL1* mRNA in the fetal heart had a daily rhythm which showed a different phase from that in adult rats. No remarkable rhythms were observed in other clock genes in the placenta and fetal heart. Interestingly, levels of expression of *rPer1* mRNA in the fetal heart were significantly higher in E20 than in with those in E18.

Conclusion : Circadian expressions of clock genes such as *rPer1*, *rPer2*, and *BMAL1* were observed in all the peripheral tissues examined as well as in the SCN, but in the placenta and fetal heart, expression patterns of clock genes were remarkably different from those in other peripheral tissues. These observations suggest that the regulation of clock gene expressions in the placenta and fetal tissues are different from those in peripheral tissues of adult animals. Increased expression of *rPer1* in fetal heart at E20 suggests that *rPer1* plays an important role in fetal development, and suggests that the regulation of *rPer1* expression is different from that of *rPer2* in fetal tissues.

Key words : Feto-maternal entrainment · Circadian rhythm · Clock related genes · Placenta · Peripheral organs

緒 言

母仔概日リズム同調機構の研究はラット、ハムスター等において盛んに研究されており、妊娠後期にはすでに母仔同調機構が存在するとされている¹⁾²⁾。成熟した哺乳類では光刺激が最も強力な同調因子であり、行動リズムや内分泌リズムを明暗周期に同調させているが、胎仔の場合には子宮内への外部からの光の到達量が少なく³⁾、母獣の眼球摘出実験から光情報ではなく、母獣由来の液性因子によって time of day の情報を伝達し、胎仔リズムが形成される母体同調であると考えられている¹⁾。母体の内分泌器官である松果体、下垂体、副腎、甲状腺、副甲状腺をそれぞれ摘出して、胎仔はなお母体に同調すること²⁾、また、母体のリズム中枢である SCN (suprachiasmatic nucleus) を破壊すると新生仔は離乳後、母親のリズムに同調しなくなる⁴⁾ものメラトニン、D1-ドパミンなどを母獣に定期的に投与したり、制限給餌 (periodic feeding) を行うことによって、そのリズムに同調することが知られている⁵⁾⁶⁾。これら同調機構については、いまだ一定の見解は得られていないものの、母獣視交叉上核 (SCN) を破壊することによって、離乳後の新生仔行動リズムが同調しなくなることから⁴⁾、この母仔間同調には母獣 SCN が必須であること、母仔間同調においては神経伝達機構の存在は考え難く胎盤を介する母体液性因子の関与が主体となるものと考えられている⁵⁾。

ラット母獣への種々の薬剤投与実験からメラトニンや D1-ドパミンなどの液性因子の存在が示唆

されている⁵⁾。母獣由来のメラトニンが胎盤を通り胎仔に移行し、胎仔期から出生直後における母仔同調機構に関わっていることが教室の内藤らの実験からも示唆されている⁷⁾。また、妊娠後期 (E18) ラットやマウス胎仔 SCN には 2-deoxyglucose (2-DG) の代謝⁸⁾、および前初期遺伝子 (immediate early gene : IEG) である *c-fos* の mRNA 発現⁹⁾ に概日リズムが存在することから、胎仔 SCN が母獣 SCN からの時間情報伝達因子の標的であることが示唆されている。これらの報告から胎仔 SCN にはメラトニンや D1-ドパミンを介する母体からの光非依存的同調機構がパラクラインやエンドクライン機構を介して直接的に胎仔 SCN に働いて同調させていると考えられる。しかし、概日リズム発振機構である入力系 (同調因子)、振動体 (時計遺伝子)、出力系 (行動リズム) の三者が母仔間同調とりわけ胎仔においてどのように協同作用し形成されていくのかはいまだ不明である。

一方、1971年にショウジョウバエの羽化リズムと活動時間の周期変異体が発見されて以来¹⁰⁾、種々の時計遺伝子の分離、同定がなされ、*period* (*per*) や *timeless* (*tim*) 遺伝子のリズム的な発現が概日リズム発振機構すなわち振動体の本体であることが明らかとなってきた¹¹⁾¹²⁾。さらに哺乳類においても *per* のホモログ遺伝子が相次いでクローニングされ^{13)~16)} 哺乳類における時計機構の全貌が徐々に明らかにされつつある¹³⁾。時計振動を発振する機構として CLOCK と BMAL1 の複合体

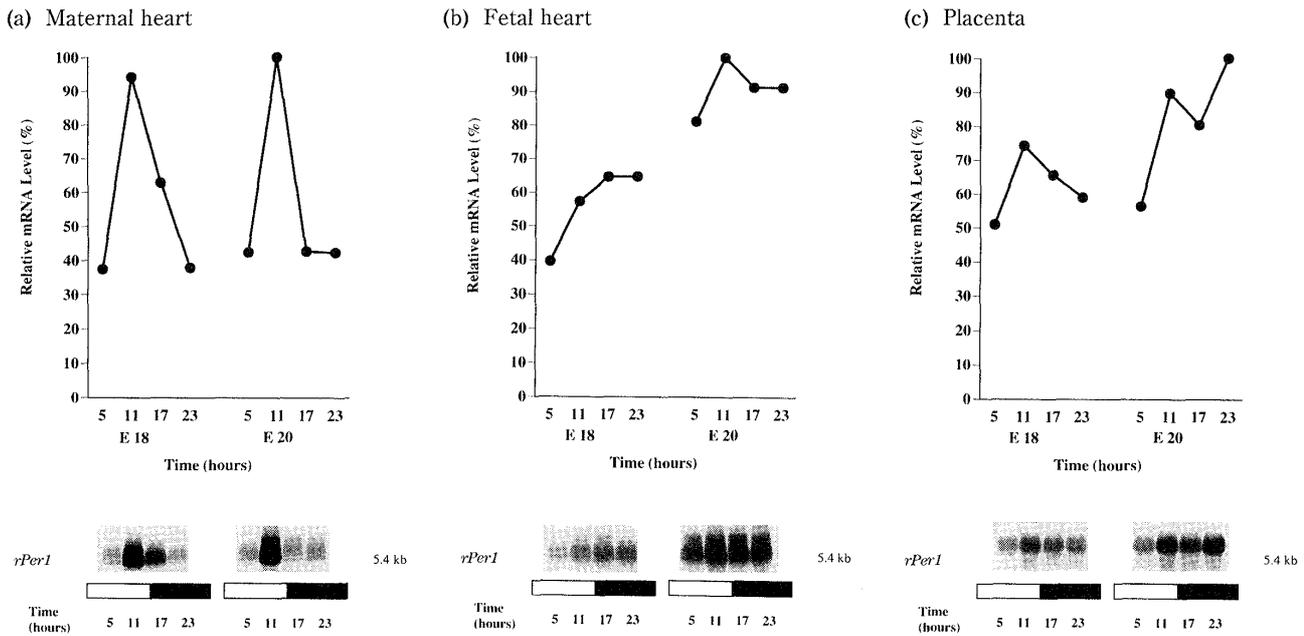


Fig. 1 Daily expression of *rPer1* mRNA in the maternal heart (a), fetal heart (b) and placenta (c) on days 18 (E18) and E20. Rats were housed in a 12hr light : 12hr dark (LD) cycle (lights on at ZT 0). The open bars indicate the light on phase, and the dark bars indicate light off. The upper graph depicts a comparison of the circadian pattern of the *rPer1* mRNA level in each tissue. The maximum value is expressed as 100% for each tissue. The lower panels show representative Northern blots of total RNA prepared from the rat tissues.

が *per* や *tim* 上流に存在する E-box に結合し、それぞれの遺伝子の転写を活性化すること、また細胞質内の PER-TIM 複合体が核内に蓄積されることによって CLOCK-BMAL1 複合体の転写活性を抑制するというネガティブフィードバック調節機構が働き、時計振動が発振されることが次第に明らかとなってきた¹¹⁾¹⁷⁾。そしてこれらの時計遺伝子は、行動リズムや内分泌リズムを司る生物時計の中樞である SCN をはじめ、ほとんどすべての末梢組織(心臓、肝臓、肺、筋組織)においても日周期的な発現が認められている^{18)~20)}。本研究では、胎仔の末梢組織である心臓と母仔同調に何らかの役割を担っているであろう胎盤での時計遺伝子発現の発現パターンを母獣末梢組織である心臓における発現パターンと比較することによって、時計遺伝子発現が母仔同調のマーカーとして使用できるか、母獣の時刻情報が胎盤や胎仔末梢組織である心臓に時計遺伝子レベルで伝達されているかについて比較検討した。

研究方法

8 週齢にて交配させた Wistar ラット(日本クレア社)を実験施行 1 週間前より、150~200Lux の白色蛍光灯にて 12 : 12 時間(7 : 00~23 : 00, 23 : 00~7 : 00)の明暗(L/D)条件下で自由飲水、摂食条件下で飼育した。妊娠 18 日目(E18)、20 日目(E20)の 12 時(zeitgeber time : ZT 5)、18 時(ZT 11)、24 時(ZT 17)、6 時(ZT 23)にそれぞれエーテル麻酔下で帝王切開しラット胎仔を娩出後、胎仔の心臓、胎盤および母獣心臓を同時に摘出し、採取した検体は即時に液体窒素で凍結し、 -80°C にて凍結保存した。本研究では、母仔間リズム同調機構を調べる目的であるため、母仔それぞれの心臓および胎盤は同一の母獣由来の検体を用い、胎盤は 3 個分、胎仔心臓は胎仔 7~10 匹分をまとめて用いた。各時刻 1 匹の妊娠ラットを用いて実験を行った。

各検体の total RNA は ISOGEN 試薬(フェノールとチオシアン酸グアニジンを含む均一な液体; NipponGene 社製)を使用し、acid guanidinium-

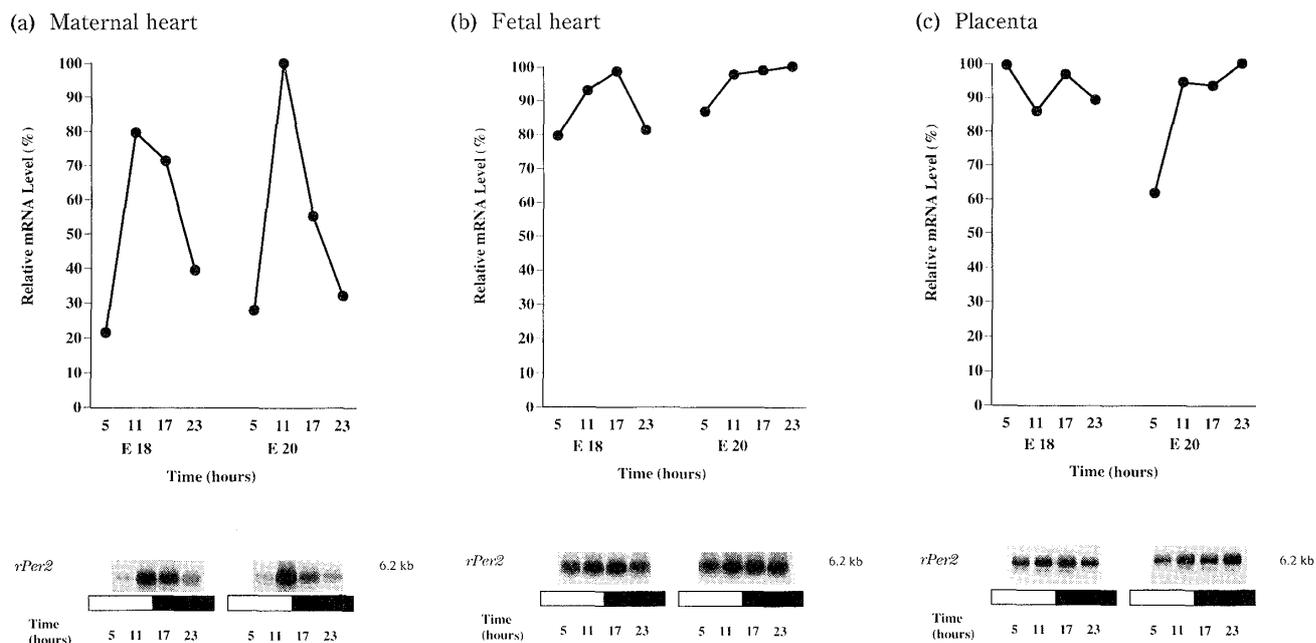


Fig. 2 Daily expression of *rPer2* mRNA in the maternal heart (a), fetal heart (b) and placenta (c) on days 18 (E18) and E20.

phenol-chloroform (AGPC)法によって抽出した。得られたRNAは各レーンに20 μ gずつ、1%アガロース/0.7Mホルムアルデヒドゲルに電気泳動し、ナイロンメンブレン (GeneScreen Plus; DuPont社製) に転写し、ノーザンブロッティングにて解析した。³²Pでランダムプライム法によって標識した *rPer2* cDNA (1144–1797 bases; GenBank accession number AB016532), *BMAL1* cDNA (231–910 bases; GenBank accession number AF015953), *DBP* (albumine site D-binding protein) cDNA (1138–1602 bases; GenBank accession number J03179) をプローブとして用いた。*rPer1* プローブはPCRを用いて以前報告したように作成した²⁰。ハイブリダイゼーションは、55 $^{\circ}$ Cで一晩行い、0.1%SSPE/1%SDSにて55 $^{\circ}$ C、40分間の洗浄を2回行い、ハイブリダイゼーションシグナルはBAS2000 (富士フィルム) にて検出、解析した。またデータの統計解析はTwo-factor ANOVAにて有意差検定した。

研究成績

1. *rPer1* mRNA の発現 (Fig. 1)

母獣ラット心臓における *rPer1* mRNA の発現は、E18, E20いずれにおいても ZT11をピークと

し約2.5倍の変動を示した ($p < 0.01$)。胎盤における mRNA 発現は、明瞭な日周リズムが認められなかったものの、E18と比較し E20で、発現量の増加傾向が認められた ($p < 0.1$)。胎仔の心臓における mRNA 発現は、胎盤と同様明瞭な日周リズムが認められなかったものの、E18と比較し E20で発現量が約2倍にまで増加した ($p < 0.01$)。

2. *rPer2* mRNA の発現 (Fig. 2)

母獣ラット心臓における *rPer2* mRNA の発現は *rPer1* mRNA 同様に、E18, E20いずれにおいても ZT11をピークとし約3.6倍の変動を示した ($p < 0.05$)。一方、胎盤および胎仔心臓では E18, E20ともにほぼ一定の mRNA 発現が認められ、日周リズムや *rPer1* mRNA でみられた E20での発現増加傾向は認められなかった。

3. *BMAL1* mRNA の発現 (Fig. 3)

母獣ラット心臓における *BMAL1* mRNA の発現は E18, E20のいずれにおいても ZT11で最低値を示しピーク時 (ZT23) の1~2%にまで発現量が低下した ($p < 0.01$)。胎仔心臓における *BMAL1* mRNA は、早朝 (ZT5) に最も低く夜明け前 (ZT17~23) にピークに達する弱い日周リズムを示し ($p < 0.05$)、成体ラットにみられる発現パターンと

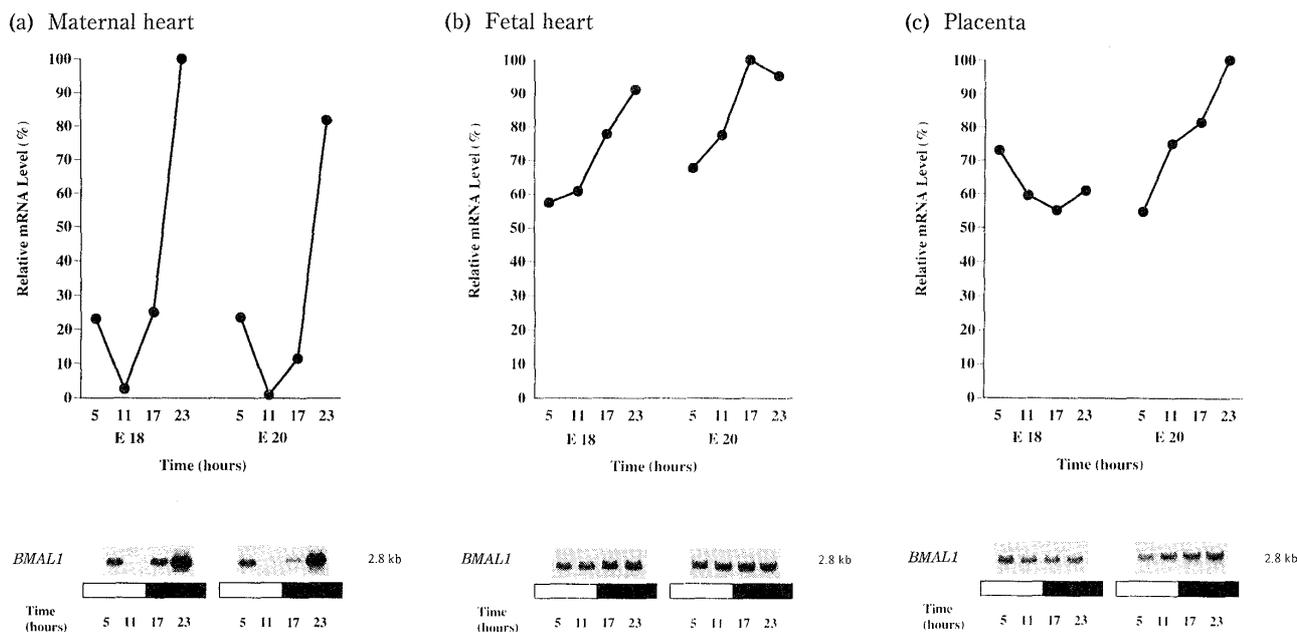


Fig. 3 Daily expression of *BMAL1* mRNA in the maternal heart (a), fetal heart (b) and placenta (c) on days 18 (E18) and E20.

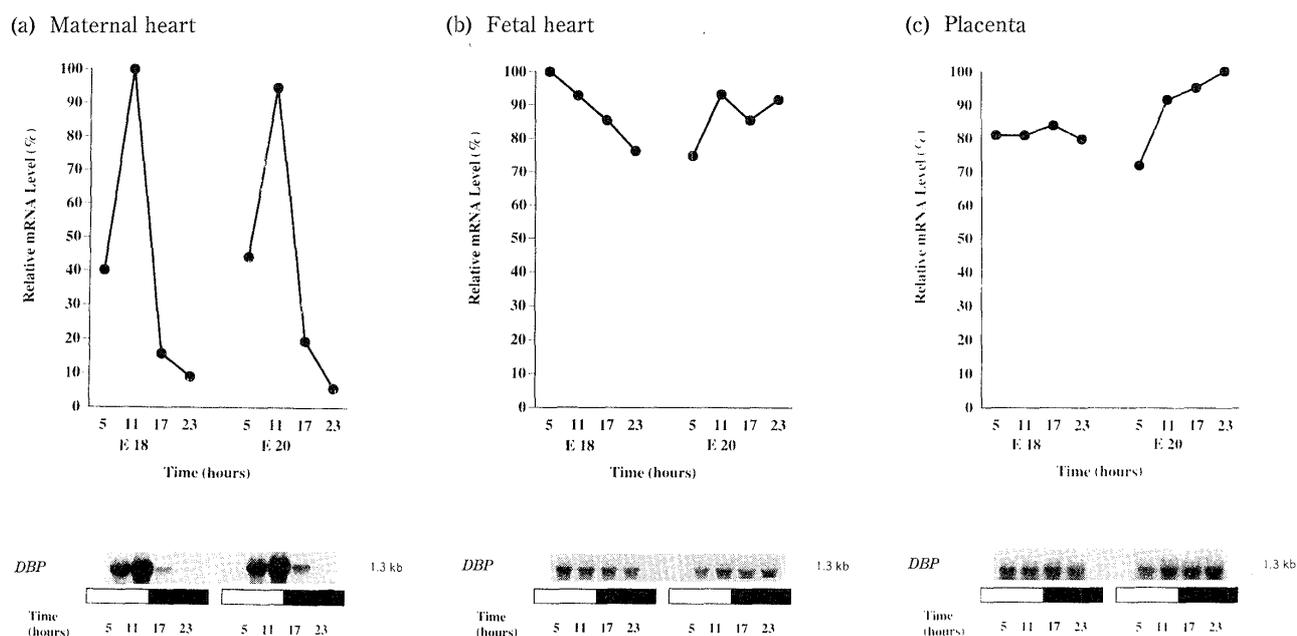


Fig. 4 Daily expression of *DBP* mRNA in the maternal heart (a), fetal heart (b) and placenta (c) on days 18 (E18) and E20.

は異なっていた。胎盤では E18, E20 ともに日周リズムは認められなかった。

4. *DBP* mRNA の発現 (Fig. 4)

母獣ラットにおける *DBP* mRNA の発現は *rPer1*, *rPer2* と同様 ZT11 にピークとなる概日リズム

を認めた ($p < 0.05$) のに対し、胎仔の心臓や胎盤ではその発現量は高いまま維持され E18, E20 ともに日周リズムは認められなかった。

考 察

母仔同調機構については母獣 SCN 由来のなん

らかの液性因子が胎仔 SCN に作用し、胎仔行動リズムを同調させていると考えられているが、時計遺伝子の視点から検討した報告はこれまでにない。今回我々は、時計遺伝子 (*rPer1*, *rPer2*, *BMAL1*) の発現ならびに日周パターンを胎盤およびラット胎仔心臓において母獣心臓と比較検討した。

その結果、胎盤や胎仔末梢組織である心臓に時計遺伝子の発現を認めるものの、*per1*, *per2*, *DBP* の発現パターンには母獣の心臓で認められた明瞭な日周リズムが認められなかった。また、胎仔心臓の *BMAL1* mRNA には日周リズムを認めるものの母獣ラットにみられる発現パターンとは異なっていた。

これらの結果から、母獣の SCN 由来の液性因子が胎仔 SCN に何らかの時間情報を伝達したとしても、胎盤や胎仔末梢組織である心臓に存在する時計遺伝子日周リズムを同調させる機構は存在しないと考えられる。

最近の報告によると、神経連絡のない末梢白血球においても *rPer2* mRNA の日周発現がみられるとされていること¹⁹⁾、また、Balsalobre et al. は *in vitro* 実験においてラット線維芽細胞系に50%血清を添加することにより、*rPer1*, *rPer2*, *DBP* などの時計関連遺伝子が少なくとも数周期に渡って、概日リズムを示すことを報告し、このことは末梢組織だけでなくほとんどすべての細胞に時計が存在することを示している²¹⁾。また我々は末梢組織における時計遺伝子発現の日周リズムはメラトニン合成器官である松果体摘出では影響を受けないものの(筆者ら未発表データ)、SCN を電気的に破壊することにより、すべての末梢組織で *rPer2* mRNA の発現リズムが失われることを報告した¹⁹⁾。さらに、胎仔あるいは新生仔 SCN を SCN 破壊ラットに移植することによって、その新しい神経連絡が完成する前に移植新生仔のリズムが再現されること²²⁾ などから、哺乳類生物時計の中核である SCN に由来する何らかのメラトニン以外の液性因子が他の脳部位さらには各末梢組織から細胞レベルに至るまでを同調させている可能性が考えられる。これまでの報告では、すべての末梢

組織でこれら時計遺伝子が日周期的に発現しており、その発現には SCN 由来の何らかの液性因子、神経伝達因子が末梢組織の同調に深く関わっている可能性が示唆されている¹⁷⁾¹⁸⁾。しかし、今回の成績からは、これら成体にみられる SCN 由来の液性因子が胎盤自体および胎盤を介して胎仔末梢組織である心臓の時計遺伝子に影響している可能性が少ないことを示している。すなわち、母体同調も末梢における時計遺伝子発現も何らかの液性因子によって制御されていると考えられているが、それらは異なる因子であると考えられる。

時計遺伝子の発現は、母体とは異なっているものの、胎盤と胎仔で特に E20 おいて同様の日周リズムを示した。

今回の結果と関連して、興味深いことにショウジョウバエでは卵巣を除くすべての末梢器官で *per* mRNA の発現リズムが認められるものの、卵巣においてのみ *per* mRNA の発現リズムが認められないことが知られており²³⁾、したがって、時計遺伝子産物は生殖や増殖、分化過程にある胎児、胎盤、卵巣などにおいては他の組織と異なる発現制御を受けている可能性も考えられる。

さらに、発生学的観点からみると胎仔では光情報を眼から SCN へ伝達する網膜視床下部路 (retino hypothalamic tract : RHT 経路)²⁴⁾、D1-ドパミンを調節する tyrosine hydroxylase-immunoreactive fiber (TIF) がいずれも生後5日目以降に出現し、光同調による仔独自の概日リズムを獲得する²⁵⁾。よって、胎仔期では胎盤および胎仔末梢組織である心臓において時計遺伝子の mRNA の日周発現パターンは認められず、生後5日目以降にはじめて仔独自の日周リズムが出現してくる可能性も考えられる。

以上のことを考慮すると、母獣 SCN から胎盤を介して胎仔 SCN に何らかの液性因子による同調機構が存在するにしても、母獣 SCN あるいは胎仔 SCN から胎仔末梢組織への時間情報の伝達経路が発生学的に未成熟なため、胎仔末梢組織である心臓や胎仔付属物である胎盤への時間情報伝達が行われていない可能性、あるいは標的組織内における遺伝子発現フィードバック調節機構が十分に

完成されていない可能性などが考えられた。

DBP mRNA の発現制御のメカニズムについては解明されていないが、ノックアウトマウスでも行動リズムが持続すること²⁶⁾から時計の出力系と考えられ、今回胎盤や胎仔心臓にみられるようなDBP mRNA の日周発現が認められなかったことは、胎盤や胎仔心臓で各時計遺伝子のリズム的な発現が認められないことから考えると矛盾しないものと思われる。

また、それぞれの遺伝子発現をE18, E20で比較したところ胎仔末梢組織で*rPer1*においてはE18に比べてE20で顕著な発現量の増加が認められ、胎盤でも増加傾向がみられた。このことから*rPer1* mRNA が*rPer2* mRNA と異なるメカニズムによって発現制御されており、*rPER1*が胎仔のこの時期(E20)に特異的な何らかの機能を担っている可能性が考えられた。

今後、母仔同調を司る液性因子の解明とともに、時計遺伝子レベルにおいての胎盤を介した母仔同調メカニズムが明らかになることにより、母仔同調メカニズムの全貌が明らかになってくるものと思われる。

文 献

1. *Reppert SM, Schwartz WJ*. Maternal coordination of the fetal biological clock in utero. *Science* 1983; 220: 969—971
2. *Reppert SM, Schwartz WJ*. Maternal endocrine extirpations do not abolish maternal coordination of the fetal circadian clock. *Endocrinology* 1986; 119: 1763—1767
3. *Parraguez VH, Sales F, Valenzuela GJ, Vergara M, Catalan L, Seron-Ferre M*. Diurnal changes in light intensity inside the pregnant uterus in sheep. *Anim Reprod Sci* 1998; 52: 123—130
4. *Reppert SM, Schwartz WJ*. Maternal suprachiasmatic nuclei are necessary for maternal coordination of the developing circadian system. *J Neurosci* 1986; 6: 2724—2729
5. *Viswanathan N, Davis FC*. Single prenatal injections of melatonin or the D1-Dopamine receptor agonist SKF 38393 to pregnant hamsters sets the offsprings' circadian rhythms to phases 180° apart. *J Comp Physiol A* 1997; 180: 339—346
6. *Weaver DR, Reppert SM*. Periodic feeding of SCN-lesioned pregnant rats entrains the fetal biological clock. *Brain Res Dev Brain Res* 1989; 46: 291—296
7. *Naitoh N, Watanabe Y, Matsumura K, Murai I, Kobayashi K, Imai K, Ohtuka H, Takagi K, Miyake Y, Satoh K, Watanabe Y*. Alteration by maternal pinealectomy of fetal and neonatal melatonin and dopamine D1-receptor binding in the suprachiasmatic nuclei. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 253: 850—854
8. *Reppert SM, Schwartz WJ*. The suprachiasmatic nuclei of the fetal rat: Characterisation of a functional circadian clock using 14c-labeled deoxyglucose. *J Neurosci* 1984; 47: 1677—1682
9. *Weaver DR, Reppert SM*. Definition of the developmental transition from dopaminergic to photic regulation of c-fos gene expression in the rat suprachiasmatic nucleus. *Mol Brain Res* 1995; 33: 136—148
10. *Konopka RJ, Benzer S*. Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971; 68: 2112—2116
11. *Hardin PE, Hall JC, Rosbash M*. Feedback of the *Drosophila* period gene product on circadian cycling of its messenger RNA levels. *Nature* 1990; 343: 536—540
12. *Sehgal A, Rothenfluh-Hilfiker A, Hunterensor M, Chen Y, Myers MP, Young MW*. Rhythmic expression of timeless: a basis for promoting circadian cycles in period gene autoregulation. *Science* 1995; 270: 808—810
13. *Sun ZS, Albrecht U, Zhuchenko ZS, Zhukenko O, Bailey J, Eichele G, Lee CC*. RIGUI, a putative mammalian ortholog of the *Drosophila* period gene. *Cell* 1997; 90: 1003—1011
14. *Albrecht U, Sun ZS, Eichele G, Lee CC*. A differential response of two putative mammalian circadian regulators, *mper1* and *mper2*, to light. *Cell* 1997; 91: 1055—1064
15. *Shigeyoshi Y, Taguchi K, Yamamoto S, Takekida S, Yan L, Tei H, Moriya T, Shibata S, Loros JJ, Dunlap JC, Okamura H*. Light-induced resetting of a mammalian circadian clock is associated with rapid induction of the *mPer1* transcript. *Cell* 1997; 91: 1043—1053
16. *Tei H, Okamura H, Shigeyoshi Y, Fukuhara C, Ozawa R, Hirose M, Sasaki Y*. Circadian oscillation of a mammalian homologue of the *Drosophila* period gene. *Nature* 1997; 389: 512—516
17. *Dunlap JC*. Molecular bases for circadian clocks Review. *Cell* 1999; 96: 271—290
18. *Oishi K, Sakamoto K, Okada T, Nagase T, Ishida N*. Humoral signals mediate the circadian expression of rat period homologue (*rPer2*) mRNA in pe-

- ripheral tissues. *Neurosci Lett* 1998 ; 256 : 117—119
19. *Sakamoto K, Nagase T, Fukui H, Horikawa K, Okada T, Tanaka H, Satoh K, Miyake Y, Ohhara O, Kato K, Ishida N.* Multitissue circadian expression of rat period homolog (*rper2*) mRNA is governed by the mammalian circadian clock, the suprachiasmatic nucleus in the brain. *J Biol Chem* 1998 ; 16 : 27039—27042
 20. *Oishi K, Sakamoto K, Okada T, Nagase T, Ishida N.* Antiphase circadian expression between *BMAL1* and *period* homolog mRNA in the suprachiasmatic nucleus and peripheral tissue of rats. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 ; 253 : 199—203
 21. *Balsalobre A, Damiola F, Schibler U.* A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell* 1998 ; 93 : 929—937
 22. *Silver R, LeSauter J, Tresco PA, Lehmann MN.* A diffusible coupling signal from the transplanted suprachiasmatic nucleus controlling circadian locomotor rhythms. *Nature* 1996 ; 382 : 810—813
 23. *Hardin PE.* Analysis of period mRNA cycling in *Drosophila* head and body tissues indicates that body oscillators behave differently from head oscillators. *Mol Cell Biol* 1994 ; 14 : 7211—7218
 24. *Speh JC, Moore RY.* Retinohypothalamic tract development in the hamster and rat. *Brain Res Dev Brain Res* 1993 ; 76 : 171—181
 25. *Strother WN, Norman AB, Lehman MN.* D1-dopamine receptor binding and tyrosine hydroxylase-immunoreactivity in the fetal and neonatal hamster suprachiasmatic nucleus. *Develop Brain Res* 1998 ; 106 : 137—144
 26. *Lopez-Morina L, Conquest F, Dubois-Dauphin M, Schibler U.* The DBP gene is expressed according to a circadian rhythm in the suprachiasmatic nucleus and influences circadian behavior. *The EMBO Journal* 1997 ; 16 : 6762—6771
(No. 8063 平11・9・14受付, 平11・10・4採用)
-