

第4章 総括

第 4 章 総括

本研究では NPY による GH 分泌制御の可能性について実験を行って来た。第 2 章では体内環境の変化に起因するステロイド変化が NPY mRNA レベルと GH パルスに与える変化について、第 3 章では光刺激による GH パルス中断と NPY mRNA 発現との関係性について、それぞれ検討した。

NPY による GH パルス制御についての考察

Figure 4-1. に全実験で得られた NPY と GH パルスの変化をまとめた。まず、第 2 章第 1 節と第 3 章では CS 濃度の高い群と光刺激を与えた群の両方において GH パルスが消失し、caud-ARC の NPY mRNA 合成が亢進するという結果が共通していたことから、caud-ARC の NPY ニューロンは NPY の mRNA 合成促進をもって GH パルスを抑制することが示唆された。

一方で、第 2 章第 2 節では OVX 処置を行った個体に高濃度の E2 を投与したことで GH パルスは消失したが、にも関わらず NPY mRNA 発現は低下していた。NPY ニューロンの反応性と GH パルスとの関係性において、この結果は第 2 章第 1 節、第 3 章の結果と反するように見えるが、このとき GH 分泌動態において基底値の上昇が認められた点で第 2 章第 1 節、第 3 章の結果と第 2 章第 2 節の結果には相違があると考えた。無処置の雌では GH パルスは不明瞭で基底値は比較的高いが、OVX を施すと基底値が低下し、GH パルスは振幅が高く明瞭になることから、GH の明瞭なパルスは低い基底値のもとでのみ形成されると考えられる。したがって、第 2 章第 2 節で GH パルスが形成されなかった原因は GH の基底値が上昇したためであると推察され、さらに caud-ARC の NPY 発現が低下したことで、GH 基底値を低く保つための GH 分泌抑制が解除されたと考えれば、NPY が GH 分泌を抑制するという前提を覆すことなく説明することが可能である。

また、第 3 章より caud-ARC の NPY ニューロンは PeVN の SRIF ニューロンへの投射を通じて SRIF ニューロンを介する作用を発現している可能性が示唆された。すなわち、NPY と SRIF は GH 分泌に関して同方向の作用を有するため、ここまで述べて来た caud-ARC の NPY ニューロンによる GH パルス抑制と基底値維持の役割は PeVN の SRIF を介しての作用が含まれると考えられる。本実験で着目した GH 分泌動態を変化させる刺激の CS、E2、光のいずれもが PeVN の

SRIF ニューロンでの変化を誘導するという報告がなされている。まず CS については CS そのものが PeVN の SRIF ニューロンにおいて分泌促進的に働くという知見 (Arancibia *et al.*, 2000; Chen and Du, 2002) が存在する。SRIF ニューロンとは確定されていないが、PeVN における糖質コルチコイド受容体の発現も報告されており (Sousa *et al.*, 1989) 、CS による SRIF ニューロンへの直接作用も否定できない。NPY ニューロンでは糖質コルチコイドによる mRNA 発現への影響と、ARC の NPY ニューロンでの糖質コルチコイド受容体の発現とが知られており (Haerfstrand *et al.*, 1989; Shimizu *et al.*, 2010) 、NPY ニューロンから SRIF ニューロンへの投射によって、PeVN の SRIF ニューロンが独自で得るものと同じ情報を伝達すると考えられる。次に E2 についてだが、PeVN の SRIF ニューロンではエストロゲン受容体の発現が見られないことが報告されている (Murray *et al.*, 1999; Simonian *et al.*, 1998) のに対して、エストロゲン受容体を持たないはずの PeVN の SRIF ニューロンはエストロゲン反応性に放出能が上昇するとされており (Baldino *et al.*, 1988; Van Vugt *et al.*, 2008) 、他のニューロンを介しての情報伝達を示唆されてきた。ARC の NPY ニューロンはエストロゲン受容体を有することが明らかにされており (Acosta-Martinez *et al.*, 2006) 、エストロゲンの情報を伝達するニューロンの候補として最適である。最後に光刺激に対しては、SRIF ニューロンの興奮性が増すことは報告されている (Davies *et al.*, 2004) が、その情報入力経路は不明である。前述のとおり、ARC から PeVN へは解剖学的に投射が確認されており、この方向への情報伝達が期待されてきた。以上より、PeVN の SRIF ニューロンよりも上流において caud-ARC の NPY ニューロンが作用し、GH パルスの抑制的制御を行っていることが示唆された。

NPY および SRIF による GH 分泌動態制御についての考察

CS と光刺激による GH パルス抑制については今回 NPY ニューロンで観察された変化の方向と報告されている SRIF ニューロンの変化の方向が一致し、作用において両者に強い連動があると推測される。一方で E2 による変化は、SRIF ニューロンでは放出能の上昇と報告されているのに対して今回検討した NPY ニューロンでは mRNA 合成の低下が観察された。神経細胞において神経興奮、ペプチド合成、ペプチド放出は異なるものとする必要はあるが、変化の方向性として両者は逆であり、SRIF は NPY の下流に位置するが、他ニューロンや他の液性因子の入力によって NPY と異なる方向の反応を示す可能性を考える。脳脊髄液中

の神経ペプチド群の濃度変化と血中 GH 濃度の相関を比較した米澤の学位論文 (2004) においては体内環境によって NPY 濃度と GH パルスとの相関が見られる場合と、その相関が消失して SRIF との相関が得られる場合の両方が観察され、NPY と SRIF 以外の因子がこの系において NPY と SRIF のバランスを調節する可能性を示唆している。すなわち、NPY を含む複数因子が SRIF ニューロンへは入力しており、NPY への応答性、SRIF ペプチド合成能などに影響を与えることで NPY 依存的な SRIF 作用の発現を調節し、また下垂体レベルにおいては他因子による受容体発現調節を介して、SRIF 依存的に発現する作用の強さが決定されていると考えられる。このモデルが成立するには、NPY ニューロンから SRIF ニューロンを介さずに下垂体へ作用する系の存在が必須である。前述のように本実験において、エストロゲン投与による NPY ニューロンでの変化は GH 分泌動態に即しているが、報告されている SRIF ニューロンの変化は GH 分泌動態との関連性が薄いため、こうした制御系の存在が推測される。ME に投射している NPY ニューロンが存在すること、下垂体門脈中に NPY が高濃度で存在すること (McDonald *et al.*, 1987; Sutton *et al.*, 1988)、下垂体に NPY Y1 受容体が発現すること (Hill *et al.*, 2004) から、下垂体への NPY の直接作用が存在すると考えられる。ここまでの結果から GH 分泌制御に NPY が関与することはほぼ確実であるが、その作用は PeVN の SRIF 産生神経を介するものと直接下垂体に作用するものに二分されると結論付けられる。詳細に GH 分泌制御を見てみると、GH パルスに関しては SRIF ニューロンを介する系が、GH の基底値に関しては NPY の直接作用がそれぞれ主にはたらくと考えられる。このスキームは Figure 4-2. に示した。GH パルスのみを変化させた CS と光刺激は急性の変化を必要とする刺激であり、一方で GH 基底値の上昇にともなって GH パルスが消失した E2 による刺激は生体内でも比較的長時間をかけて作用するものである。単一因子が直接働く系は急激な変化を起こす危険性が存在するため、急性の対応を要する系には複数因子による制御が備わったと考えることもでき、あらためて生物の進化に思いを馳せるものである。

NPY による多元的ホメオスタシス維持機構

本論文中で再三述べて来たように、NPY は GH 分泌制御への関与だけでなく、ストレス系、生殖系、睡眠—覚醒調節系、摂食系など恒常性維持機構において多くの系の調節に関わっている。NPY が GH 分泌制御を通じてエネルギー代謝系を操作し、いわば統括的に他の系の調節と同調させているとも見えるこの機構は、

やはり生物の進化にかかった淘汰圧の大きさを思わせるものである。個体においては、急性ストレス時に睡眠が誘発されたり、繁殖期に食欲が勝ったりというアンバランスが生じることは生存の上で著しく不利であるため、NPYのように多元的な調節を行う機構を備えることは当然といってよい。当然ながら、こうした多元的調節機構においては下位の調節機構同士における機能上の矛盾を最小限にするための采配が行われていると考える。NPYのように複数の調節系において作用を持つ物質は他にもグレリン、オレキシン、CRHなどが見つかり、例えばグレリンとNPYとは摂食系において同方向の、GH分泌制御系において逆方向の作用を持つように各々の系における役割が少しずつ異なっている。それぞれの間での矛盾を最小限にすることで多元的調節を可能にすると思われる。さらに第2章第1節の結果から、GH分泌制御に関わるNPYと摂食制御に関わるNPYはARC内でも異なるニューロン群であることが示唆されており、同一の因子を用いた複数の調節系においては入力系と投射先によって神経がサブグループに分類されて作用を分担する可能性が示唆された。多くの神経への入力系は単一ではなく、また入力系と投射先も完全に対応するわけではないため、入力系と投射先のそれぞれについての分類を組み合わせることで複数の調節系に向けて一つの刺激から異なる出力を生み出すことができると推測する。

脳神経科学においては、神経核ごとに作用や因子の発現を記述することが多いが、神経核とは肉眼解剖学における分類様式であり、その実は複数種類の神経が集合していることも知られている。さらに本研究においては、同一神経核内の同一物質を産生する神経であっても機能的に異なるサブグループが存在する可能性を示した。ARCに存在するNPYニューロンのサブグループの存在を確定するためには、入力系に当たるセロトニン・ヒスタミン系の受容体や機能的に協調していると考えられる摂食関連ペプチドなどの共発現タンパク質、さらにトレーサーを用いた投射先の同定と神経興奮・mRNA合成を同時に比較することが必要であると考えられる。今日では、ここに挙げたような個々の因子に対する知見は多く蓄積されているからこそ、今後の脳神経科学ではこうした機能的な分類が主流となり、多元的調節機構の解明にもつながるかもしれない。

おわりに

本研究では、NPYの持つ広範な生理作用が生体の恒常性維持において統合的な役割を持つことを期待し、その一環としてGH分泌制御に積極的に関与することを示した。前述したような機能的な分類についての検証は今後の課題として残っ

ているが、多元的な調節作用の発現する可能性については多少なりとも明らかにできたと自負している。

近年明らかになってきた多くの神経原性疾患や現代人の生活習慣病などの治療において用いられる薬剤は、こうした統括的調節作用を持つ因子を介して二次性に病態を作り出す可能性がある。病変に最も近く、かつ局所的に作用する薬剤を選択する点ではこれまでの医療と変わらないかもしれないが、独立した病態と理解されている疾患の関連づけや、病態に至る前に二次疾患を予測して予防する上で、このような統括的調節作用の解明が少しでも役立てば幸いである。

影響因子		GH パルス	cran-ARC	mid-ARC	caud-ARC
CS	Chol	○	—	—	—
	CS	×	➡	➡	➡
絶食負荷	fed	○	—	—	—
	48 h fast	×	➡	↑	➡
	72 h fast	○	➡	↑	➡
	96 h fast	×	➡	↑↑	➡
E2	Low E2	○	—	—	—
	High E2	×	➡	➡	↓
		(基底値の上昇)			
光刺激	1100	○	—	—	—
	1230	×	—	➡	➡
	1400	○	—	➡	➡

Figure 4-1. GH パルスと ARC NPY の結果

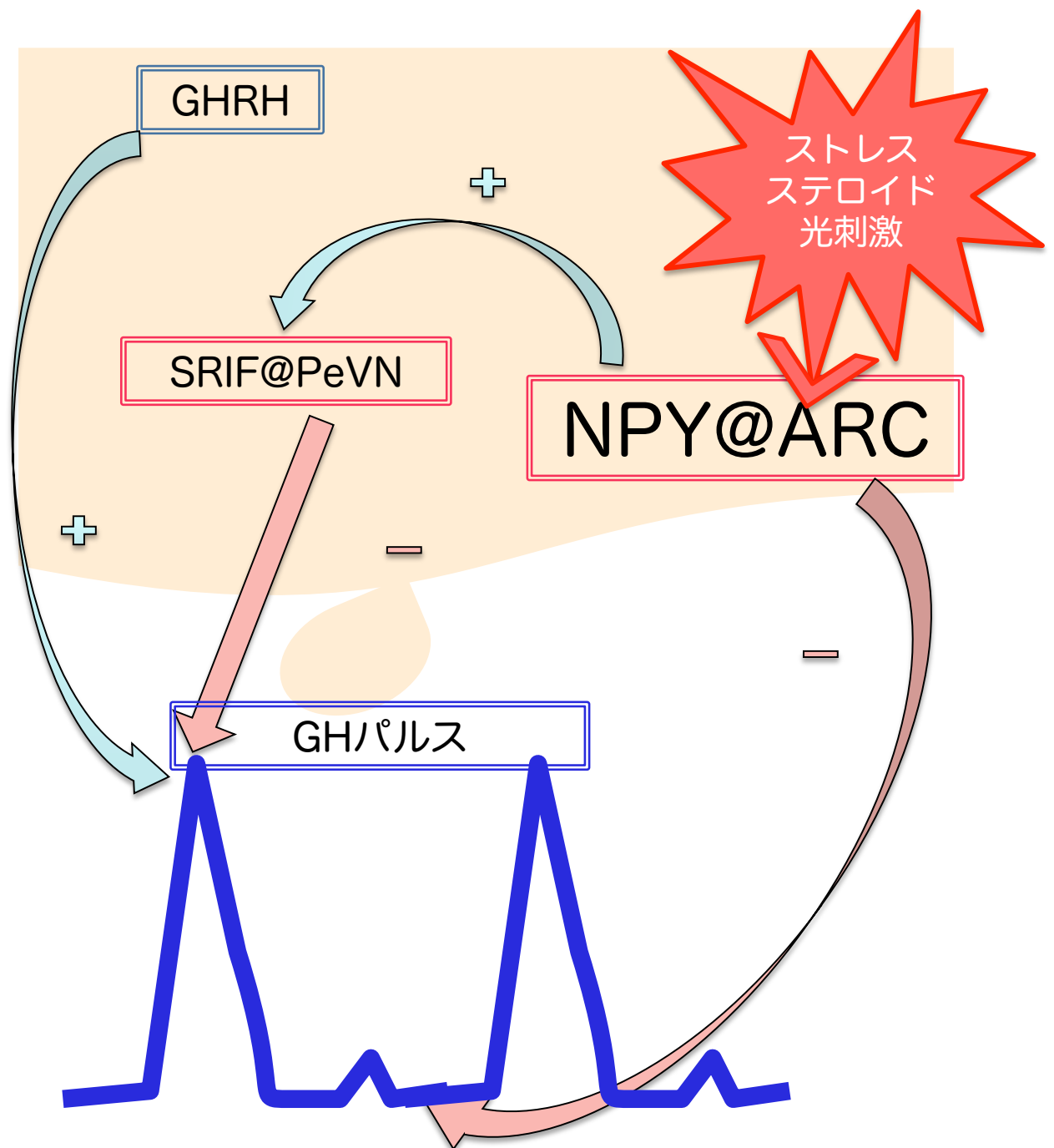


Figure 4-2. GH 分泌制御における NPY の役割に関するスキーム

参考文献

Acosta-Martinez M, Horton T, Levine JE (2006) Estrogen receptors in neuropeptide Y neurons: at the crossroads of feeding and reproduction. *Trends Endocrinol Metab* 18(2):48-50

Allen YS, Adrian TE, Allen JM, Tatemoto K, Crow TJ, Bloom SR, Polak JM (1983) Neuropeptide Y distribution in the rat brain. *Science* 221(4613):877-9

Arancibia S, Rage F, Grauges P, Gomez F, Tapia-Arancibia L, Armario A (2000) Rapid modifications of somatostatin neuron activity in the periventricular nucleus after acute stress. *Exp Brain Res* 134(2):261-7

Atkinson HC, Wood SA, Kershaw YM, Bate E, Lightman SL (2006) Diurnal variation in the responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of the male rat to noise stress. *J Neuroendocrinol* 18(7):526-33

Baldino F, Fitzpatrick-McElligott S, O'Kane TM, Gozes I (1988) Hormonal regulation of somatostatin messenger RNA. *Synapse* 2(3):317-25

Bannon AW, Seda J, Carmouche M, Francis JM, Norman MH, Karbon B, McCaleb ML (2000) Behavioral characterization of neuropeptide Y knockout mice. *Brain Res* 868(1):79-87

Baskin DG, Hahn TM, Schwartz MW (1999) Leptin sensitive neurons in the hypothalamus. *Horm Metab Res* 31(5):345-50

Berczi I (1998) Neuroendocrine response to endotoxin. *Ann N Y Acad Sci* 851(0):411-5

Bilezikjian LM, Vale WW (1983) Stimulation of adenosine 3',5'-monophosphate production by growth hormone-releasing factor and its inhibition by somatostatin in anterior pituitary cells *in vitro*. *Endocrinology* 113(5):1726-31

Brady LS, Smith MA, Gold PW, Herkenham M (1990) Altered expression of hypothalamic neuropeptide mRNAs in food-restricted and food-deprived rats. *Neuroendocrinology* 52(5):441-7

Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Butcher M, Rivier J, Guillemin R (1973) Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 179(68):77-9.

Calza L, Giardino L, Battistini N, Zanni M, Galetti S, Protopapa F, Velardo A (1989) Increase of neuropeptide Y-like immunoreactivity in the paraventricular nucleus of fasting rats. *Neurosci Lett* 104(1):99-104

Carter-Su C, Schwartz J, Smit LS (1996) Molecular mechanism of growth hormone action. *Annu Rev Physiol* 58(0):187-207

Cataldi M, Magnan E, Guillaume V, Dutour A, Conte-Devolx B, Lombardi G, Oliver C (1994) Relationship between hypophyseal portal GHRH and somatostatin and peripheral GH levels in the conscious sheep. *J Endocrinol Invest* 17(9):717-22

Chan YY, Steiner RA, Clifton DK (1996) Regulation of hypothalamic neuropeptide-Y neurons by growth hormone in the rat. *Endocrinology* 137(4):1319-25

Chen A, Zorrilla E, Smith S, Rousso D, Levy C, Vaughan J, Donaldson C, Roberts A, Lee KF, Vale W (2006) Urocortin 2-deficient mice exhibit gender-specific alterations in circadian hypothalamus-pituitary-adrenal axis and depressive-like behavior. *J Neurosci* 26(20):5500-10

Chen XQ, Du JZ (2002) Increased somatostatin mRNA expression in periventricular nucleus of rat hypothalamus during hypoxia. *Regul Pept* 105(3):197-201

Cheung PW, McCormack CE (1983) Splitting of the locomotor activity rhythm in rats by exposure to continuous light. *Am J Physiol* 244(4):R573-6

Chowen JA, Argente J, Gonzalez-Parra S, Garcia-Segura LM (1993) Differential effects of the neonatal and adult sex steroid environments on the organization and activation of hypothalamic growth hormone-releasing hormone and somatostatin neurons. *Endocrinology* 133(6):2792-802

Chronwall BM, DiMaggio DA, Massari VJ, Pickel VM, Ruggiero DA, O'Donohue TL (1985) The anatomy of neuropeptide-Y-containing neurons in rat brain. *Neuroscience* 15(4):1159-81

Clark JT, Kalra PS, Kalra SP (1985) Neuropeptide Y stimulates feeding but inhibits sexual behavior in rats. *Endocrinology* 117(6):2435-42

Connan F, Lightman SL, Landau S, Wheeler M, Treasure J, Campbell IC (2006) An investigation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity in anorexia nervosa: the role of CRH and AVP. *J Psychiatr Res* 41(1):131-43

Correa-Silva SR, Nascif SO, Lengyel AM (2006) Decreased GH secretion and enhanced ACTH and cortisol release after ghrelin administration in Cushing's disease: Comparison with GH-releasing peptide-6 (GHRP-6) and GHRH. *Pituitary* 9(2):101-7

Crown A, Clifton DK, Steiner RA (2007) Neuropeptide signaling in the integration of metabolism and reproduction. *Neuroendocrinology* 86(3):175-82

Dallman MF, Akana SF, Strack AM, Hanson ES, Sebastian RJ (1995) The neural network that regulates energy balance is responsive to glucocorticoids and insulin and also regulates HPA axis responsivity at a site proximal to CRF neurons. *Ann N Y Acad Sci* 771(0):730-42

Davies JS, Carter DA, Wells T (2004) Photic stimulation inhibits growth hormone secretion in rats: a hypothalamic mechanism for transient entrainment. *Endocrinology* 145(6):2950-8

De Gennaro Colonna V, Zoli M, Cocchi D, Maggi A, Marrama P, Agnati LF, Mueller EE (1989) Reduced growth hormone releasing factor (GHRF)-like immunoreactivity and GHRF gene expression in the hypothalamus of aged rats. *Peptides* 10(3):705-8

Delitala G, Tomasi P, Viridis R (1987) Prolactin, growth hormone and thyrotropin-thyroid hormone secretion during stress states in man. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1(2):391-414

Ehrhardt AA, Meyer-Bahlburg HF (1979) Prenatal sex hormones and the developing brain: effects on psychosexual differentiation and cognitive function. *Annu Rev Med* 30(0):417-30

Elde RP, Parsons JA (1975) Immunocytochemical localization of somatostatin in cell bodies of the rat hypothalamus. *Am J Anat* 144(4):541-8

Espelund U, Hansen TK, Hojlund K, Beck-Nielsen H, Clausen JT, Hansen BS, Orskov H, Jorgensen JO, Frystyk J (2004) Fasting unmasks a strong inverse association between ghrelin and cortisol in serum: studies in obese and normal-weight subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 90(2):741-6

Faria AC, Bekenstein LW, Booth RA, Vaccaro VA, Asplin CM, Veldhuis JD, Thorner MO, Evans WS (1992) Pulsatile growth hormone release in normal women during the menstrual cycle. *Clin Endocrinol (Oxf)* 36(6):591-6

Favier RP, Mol JA, Kooistra HS, Rijnberk A (2001) Large body size in the dog is associated with transient GH excess at a young age. *J Endocrinol* 170(2):479-84

Feletou M, Levens NR (2005) Neuropeptide Y2 receptors as drug targets for the central regulation of body weight. *Curr Opin Investig Drugs* 6(10):1002-11

Fetissov SO, Byrne LC, Hassani H, Ernfors P, Hokfelt T (2004) Characterization of neuropeptide Y Y2 and Y5 receptor expression in the mouse hypothalamus. *J Comp Neurol* 470(3):256-65

Finley JC, Maderdrut JL, Roger LJ, Petrusz P (1981) The immunocytochemical localization of somatostatin-containing neurons in the rat central nervous system. *Neuroscience* 6(11):2173-92

Frago LM, Paneda C, Argente J, Chowen JA (2005) Growth hormone-releasing peptide-6 increases insulin-like growth factor-I mRNA levels and activates Akt in RCA-6 cells as a model of neuropeptide Y neurones. *J Neuroendocrinol* 17(11):701-10

Frohman LA, Downs TR, Clarke IJ, Thomas GB (1990) Measurement of growth hormone-releasing hormone and somatostatin in hypothalamic-portal plasma of unanesthetized sheep. Spontaneous secretion and response to insulin-induced hypoglycemia. *J Clin Invest* 86(1):17

Fuh G, Mulkerrin MG, Bass S, McFarland N, Brochier M, Bourell JH, Light DR, Wells JA (1990) The human growth hormone receptor. Secretion from *Escherichia coli* and disulfide bonding pattern of the extracellular binding domain. *J Biol Chem* 265(6):3111-5

Fujikawa T, Soya H, Fukuoka H, Alam KS, Yoshizato H, McEwen BS, Nakashima K (2000) A biphasic regulation of receptor mRNA expressions for growth hormone, glucocorticoid and mineralocorticoid in the rat dentate gyrus during acute stress. *Brain Res* 874(2):186-93

Funahashi H, Takenoya F, Guan JL, Kageyama H, Yada T, Shioda S (2003) Hypothalamic neuronal networks and feeding-related peptides involved in the regulation of feeding. *Anat Sci Int* 78(3):123-38

Fuezesi T, Wittmann G, Liposits Z, Lechan RM, Fekete C (2007) Contribution of noradrenergic and adrenergic cell groups of the brainstem and agouti-related protein-synthesizing neurons of the arcuate nucleus to neuropeptide-y innervation of corticotropin-releasing hormone neurons in hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. *Endocrinology* 148(11):5442-50

Gastinger MJ, Tian N, Horvath T, Marshak DW (2006) Retinopetal axons in mammals: Emphasis on histamine and serotonin. *Curr Eye Res* 31(7):655-67

Gazal S, Kouakou B, Amoah EA, Barb CR, Barrett JB, Gelaye S (2002) Effects of N-methyl-D,L-aspartate on LH, GH, and testosterone secretion in goat bucks maintained under long or short photoperiods. *J Anim Sci* 80(6):1623-8

Gehlert DR, Chronwall BM, Schafer MP, O'Donohue TL (1987) Localization of neuropeptide Y messenger ribonucleic acid in rat and mouse brain by in situ hybridization. *Synapse* 1(1):25-31

Genazzani AD, Petraglia F, Volpogni C, Gastaldi M, Pianazzi F, Montanini V, Genazzani AR (1993) Modulatory role of estrogens and progestins on growth hormone episodic release in women with hypothalamic amenorrhea. *Fertil Steril* 60(3):465

Giustina A, Veldhuis JD (1998) Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev* 19(6):717-97

Gomez F, Chapleur M, Fernet B, Burlet C, Nicolas JP, Burlet A (1997) Arginine vasopressin (AVP) depletion in neurons of the suprachiasmatic nuclei affects the AVP content of the paraventricular neurons and stimulates adrenocorticotrophic hormone release. *J Neurosci Res* 50(4):565-74

Griffond B, Risold PY (2010) MCH and feeding behavior-interaction with peptidic network. *Peptides* 30(11):2045-51

Guillemin R, Brazeau P, Boehlen P, Esch F, Ling N, Wehrenberg WB (1982) Growth hormone-releasing factor from a human pancreatic tumor that caused acromegaly. *Science* 218(4572):585-7

Harvey S, Scanes CG, Daughday WH (1994) Growth hormone. CRC press

Haerfstrand A, Cintra A, Fuxe K, Aronsson M, Wikstroem AC, Okret S, Gustafsson JA, Agnati LF (1989) Regional differences in glucocorticoid receptor immunoreactivity among neuropeptide Y immunoreactive neurons of the rat brain. *Acta Physiol Scand* 135(1):3-9

Herrera DG, Robertson HA (1996) Activation of c-fos in the brain. *Prog Neurobiol* 50(2):83-107

Herrera DG, Maysinger D, Almazan G, Funnel R, Cuello AC (1998) Analysis of c-Fos and glial fibrillary acidic protein (GFAP) expression following topical application of potassium chloride (KCl) to the brain surface. *Brain Res* 784(1):71-81

Higuchi H, Niki T, Shiiya T (2008) Feeding behavior and gene expression of appetite-related neuropeptides in mice lacking for neuropeptide Y Y5 receptor subclass. *World J Gastroenterol* 14(41):6312

Hill JW, Urban JH, Xu M, Levine JE (2004) Estrogen Induces Neuropeptide Y (NPY) Y1 receptor gene expression and responsiveness to NPY in gonadotrope-enriched pituitary cell cultures. *Endocrinology* 145(5):2283-90

Hiroshige T (1984) Hormonal rhythm and feeding behavior. *J Auton Nerv Syst* 10(3):337-46

Hisano S, Tsuruo Y, Kagotani Y, Daikoku S, Chihara K (1990) Immunohistochemical evidence for synaptic connections between neuropeptide Y-containing axons and periventricular somatostatin neurons in the anterior hypothalamus in rats. *Brain Res* 520(1):170-7

Ho KY, Evans WS, Blizzard RM, Veldhuis JD, Merriam GR, Samojlik E, Furlanetto R, Rogol AD, Kaiser DL, Thorner MO (1987) Effects of sex and age on the 24-hour profile of growth hormone secretion in man: Importance of endogenous estradiol concentrations. *J Clin Endocrinol Metab* 64(1):51-8

Hoorneman EM, Buijs RM (1982) Vasopressin fiber pathways in the rat brain following suprachiasmatic nucleus lesioning. *Brain Res* 243(2):235-41

Horvath TL, Diano S, van den Pol AN (1999) Synaptic interaction between hypocretin (orexin) and neuropeptide Y cells in the rodent and primate hypothalamus: A novel circuit implicated in metabolic and endocrine regulations. *J Neurosci* 19(3):1072-87

Ikeda A, Matsuyama S, Nishihara M, Tojo H, Takahashi M (1994) Changes in endogenous growth hormone secretion and onset of puberty in transgenic rats expressing human growth hormone gene. *Endocr J* 41(5):523-9

Ikeda A, Chang KT, Nakano T, Matsuyama S, Nishihara M, Takahashi M (1996) hGH transgenic rats expressing severe obesity and effect of treatment with hGH in a pulsatile manner. *Endocr J* 43 Suppl(0):S99-101

Isgaard J, Carlsson L, Isaksson OG, Jansson JO (1988) Pulsatile intravenous growth hormone (GH) infusion to hypophysectomized rats increases insulin-like growth factor I messenger ribonucleic acid in skeletal tissues more effectively than continuous GH infusion. *Endocrinology* 123(6):2605-10

Jaffe CA, Turgeon DK, Lown K, Demott-Friberg R, Watkins PB (2002) Growth hormone secretion pattern is an independent regulator of growth hormone actions in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283(5):E1008-15

Jansson JO Eden S, Isaksson O (1985) Sexual dimorphism in the control of growth hormone secretion. *Endocr Rev* 6(2):128-50

Johansson O, Haekfelt T, Elde RP (1984) Immunohistochemical distribution of somatostatin-like immunoreactivity in the central nervous system of the adult rat. *Neuroscience* 13(2):265-339

Johnson DG, Ensink JW, Koerker D, Palmer J, Goodner CJ (1975) Inhibition of glucagon and insulin secretion by somatostatin in the rat pancreas perfused in situ. *Endocrinology* 96(2):370-4

Johnson RF, Moore RY, Morin LP (1988) Loss of entrainment and anatomical plasticity after lesions of the hamster retinohypothalamic tract. *Brain Res* 460(2):297-313

Kamegai, J, Minami S, Sugihara H, Higuchi H, Wakabayashi I (1994) Growth hormone induces expression of the c-fos gene on hypothalamic neuropeptide-Y and somatostatin neurons in hypophysectomized rats. *Endocrinology* 135(6):2765-71

Kamegai J, Tamura H, Shimizu T, Ishii S, Sugihara H, Wakabayashi I (2001) Estrogen receptor (ER)alpha, but not ERbeta, gene is expressed in growth hormone-releasing hormone neurons of the male rat hypothalamus. *Endocrinology* 142(2):538-43

Kaneda H, Tanimoto K, Shintani T, Kakigi T, Maeda K (1991) The effect of intracerebroventricular administration of somatostatin on prolactin and TSH release in rats. *Jpn J Psychiatry Neurol* 45(4):903-7

Kawano H, Honma S, Honma A, Horie M, Kawano Y, Hayashi S (2002) Melanin-concentrating hormone neuron system: The Wide Web that controls the feeding. *Anat Sci Int* 77(3):149-60

Kelly PA, Djiane J, Postel-Vinay MC, Edery M (1991) The prolactin/growth hormone receptor family. *Endocr Rev* 12(3):235-51

Klenke U, Constantin S, Wray S (2011) Neuropeptide Y directly inhibits neuronal activity in a subpopulation of gonadotropin-releasing hormone-1 neurons via Y1 receptors. *Endocrinology* 151(6):2736-46

Korenbrod CC, Paup DC, Gorski RA (1975) Effects of testosterone propionate or dihydrotestosterone propionate on plasma FSH and LH levels in neonatal rats and on sexual differentiation of the brain. *Endocrinology* 97(3):709-17

Krysiak R, Obuchowicz E, Herman ZS (1999) Interactions between the neuropeptide Y system and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Eur J Endocrinol* 140(2):130-6

Lado-Abeal J, Robert-McComb JJ, Qian XP, Leproult R, Van Cauter E, Norman RL (2005) Sex differences in the neuroendocrine response to short-term fasting in rhesus macaques. *J Neuroendocrinol* 17(7):435-44

Lanneau C, Peineau S, Petit F, Epelbaum J, Gardette R (2000) Somatostatin modulation of excitatory synaptic transmission between periventricular and arcuate hypothalamic nuclei in vitro. *J Neurophysiol* 84(3):1464-74

Laursen T, Gravholt CH, Heickendorff L, Drustrup J, Kappelgaard AM, Jorgensen JO, Christiansen JS (2001) Long-term effects of continuous subcutaneous infusion versus daily subcutaneous injections of growth hormone (GH) on the insulin-like growth factor system, insulin sensitivity, body composition, and bone and lipoprotein metabolism in GH-deficient adults. *J Clin Endocrinol Metab* 86(3):1222-8

Lawrence CB, Snape AC, Baudoin FM, Luckman SM (2001) Acute central ghrelin and GH secretagogues induce feeding and activate brain appetite centers. *Endocrinology* 143(1):155-62

Le Roith D, Bondy C, Yakar S, Liu JL, Butler A (2001) The somatomedin hypothesis: 2001. *Endocr Rev* 22(1):53-74

Leal-Cerro A, Torres E, Soto A, Dios E, Deghenghi R, Arvat E, Ghigo E, Dieguez C, Casanueva FF (2003) Ghrelin is no longer able to stimulate growth hormone secretion in patients with Cushing's syndrome but instead induces exaggerated corticotropin and cortisol responses. *Neuroendocrinology* 76(6):390-6

Lindblom J, Haitina T, Fredriksson R, Schioeth HB (2005) Differential regulation of nuclear receptors, neuropeptides and peptide hormones in the hypothalamus and pituitary of food restricted rats. *Brain Res Mol Brain Res* 133(1):37-46

Luque RM, Park S, Kineman RD (2006) Severity of the catabolic condition differentially modulates hypothalamic expression of growth hormone-releasing hormone in the fasted mouse: Potential role of neuropeptide Y and corticotropin-releasing hormone. *Endocrinology* 148(1):300-9

Mai JK, Junger E (1977) Quantitative autoradiographic light- and electron microscopic studies on the retinohypothalamic connections in the rat. *Cell Tissue Res* 183(2):221-37

Maiter D, Koenig JI, Kaplan LM (1991) Sexually dimorphic expression of the growth hormone-releasing hormone gene is not mediated by circulating gonadal hormones in the adult rat. *Endocrinology* 128(4):1709-16

Malven PV, Haglof SA, Jiang H (1995) Serum concentrations of luteinizing hormone, growth hormone, and prolactin in untreated and estradiol-treated ovariectomized ewes after immunoneutralization of hypothalamic neuropeptide Y. *J Anim Sci* 73(7):2105-12

McDonald JK, Lumpkin MD, Samson WK, McCan SM (1985) Neuropeptide Y affects secretion of luteinizing hormone and growth hormone in ovariectomized rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 82(2):561

McDonald JK, Koenig JI, Gibbs DM, Collins P, Noe BD (1987) High concentrations of neuropeptide Y in pituitary portal blood of rats. *Neuroendocrinology* 46(6):538-41

Merchenthaler I, Vigh S, Schally AV, Petrusz P (1984) Immunocytochemical localization of growth hormone-releasing factor in the rat hypothalamus. *Endocrinology* 114(4):1082-5

Miki N, Ono M, Murata Y, Demura H (1996) Gender difference in pituitary growth hormone-releasing factor (GRF) receptor gene expression in the rat. *Endocr J* 43 Suppl:S123-5

Minami S, Kamegai J, Sugihara H, Suzuki N, Higuchi H, Wakabayashi I (1995) Central glucoprivation evoked by administration of 2-deoxy-D-glucose induces expression of the c-fos gene in a subpopulation of neuropeptide Y neurons in the rat hypothalamus. *Brain Res Mol Brain Res* 33(2):305-10

Mode A, Tollet P, Stroem A, Legraverend C, Liddle C, Gustafsson JA (1992) Growth hormone regulation of hepatic cytochrome P450 expression in the rat. *Adv Enzyme Regul* 32(0):255-63

Montminy MR, Low MJ, Tapia-Arancibia L, Reichlin S, Mandel G, Goodman RH (1986) Cyclic AMP regulates somatostatin mRNA accumulation in primary diencephalic cultures and in transfected fibroblast cells. *J Neurosci* 6(4):1171-6

Moore RY, Halaris AE, Jones BE (1978) Serotonin neurons of the midbrain raphe: ascending projections. *J Comp Neurol* 180(3):417-38

Morin LP, Allen CN (2005) The circadian visual system, 2005. *Brain Res Rev* 51(1):1-60

Mulchahey JJ, Jaffe RB (1988) Detection of a potential progenitor cell in the human fetal pituitary that secretes both growth hormone and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* 66(1):24-32

Murphy BA, Fioramonti X, Jochnowitz N, Fakira K, Gagen K, Contie S, Lorsignol A, Penicaud L, Martin WJ, Routh VH (2009) Fasting enhances the response of arcuate neuropeptide Y-glucose-inhibited neurons to decreased extracellular glucose. *Am J Physiol Cell Physiol* 296(4):C746-56

Murray HE, Simonian SX, Herbison AE, Gillies GE (1999) Correlation of hypothalamic somatostatin mRNA expression and peptide content with secretion: Sexual dimorphism and differential regulation by gonadal factors. *J Neuroendocrinol* 11(1):27-33

Niall HD, Hogan ML, Sauer R, Rosenblum IY, Greenwood FC (1971) Sequences of pituitary and placental lactogenic and growth hormones: Evolution from a primordial peptide by gene reduplication. *Proc Natl Acad Sci USA* 68(4):866-70

Obal F, Krueger JM (2002) The somatotropic axis and sleep. *Rev Neurol (Paris)* 157(11):S12-5

Okada K, Suzuki N, Sugihara H, Minami S, Wakabayashi I (1994) Restoration of growth hormone secretion in prolonged food-deprived rats depends on the level of nutritional intake and dietary protein. *Neuroendocrinology* 59(4):380-6

Okamura H, Yokosuka M, McEwen BS, Hayashi S (1994) Colocalization of NADPH-diaphorase and estrogen receptor immunoreactivity in the rat ventromedial hypothalamic nucleus: Stimulatory effect of estrogen on NADPH-diaphorase activity. *Endocrinology* 135(4):1705-8

Page TL, Caldarola PC, Pittendrigh CS (1977) Mutual entrainment of bilaterally distributed circadian pacemaker. *Proc Natl Acad Sci U S A* 74(3):1277-81

Painson JC, Thorner MO, Krieg RJ, Tannenbaum GS (1992) Short-term adult exposure to estradiol feminizes the male pattern of spontaneous and growth hormone-releasing factor-stimulated growth hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 130(1):511-9

Painson JC, Veldhuis JD, Tannenbaum GS (2000) Single exposure to testosterone in adulthood rapidly induces regularity in the growth hormone release process. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278(5):E933-40

Park S, Peng XD, Frohman LA, Kineman RD (2005) Expression analysis of hypothalamic and pituitary components of the growth hormone axis in fasted and streptozotocin-treated neuropeptide Y (NPY)-intact (NPY+/+) and NPY-knockout (NPY-/-) mice. *Neuroendocrinology* 81(6):360-71

Parmentier R, Ohtsu H, Djebbara-Hannas Z, Valatx JL, Watanabe T, Lin JS (2002) Anatomical, physiological, and pharmacological characteristics of histidine decarboxylase knock-out mice: Evidence for the role of brain histamine in behavioral and sleep-wake control. *J Neurosci* 22(17):7695-711

Pelletier G, Leclerc R, Dube D, Labrie F, Puviani R, Arimura A, Schally AV (1975) Localization of growth hormone-release-inhibiting hormone (somatostatin) in the rat brain. *Am J Anat* 142(3):397-401

Plotsky PM, Vale W (1985) Patterns of growth hormone-releasing factor and somatostatin secretion into the hypophysial-portal circulation of the rat. *Science* 230(4724):461-3

Priego T, Granado M, Ibanez de Caceres I, Martin AI, Villanua MA, Lopez-Calderon A (2003) Endotoxin at low doses stimulates pituitary GH whereas it decreases IGF-I and IGF-binding protein-3 in rats. *J Endocrinol* 179(1):107-17

Ralph CL, Binkley S, MacBride SE, Klein DC (1975) Regulation of pineal rhythms in chickens: Effects of blinding, constant light, constant dark, and superior cervical ganglionectomy. *Endocrinology* 97(6):1373-8

Ralph MR, Foster RG, Davis FC, Menaker M (1990) Transplanted suprachiasmatic nucleus determines circadian period. *Science* 247(4945):975-8

Rauhala P, Idaepaan-Heikkilae JJ, Lang A, Tuominen RK, Maennistoe PT (1995) Cold exposure attenuates effects of secretagogues on serum prolactin and growth hormone levels in male rats. *Am J Physiol* 268(4):E758-65

Raza J, Massoud AF, Hindmarsh PC, Robinson IC, Brook CG (1998) Direct effects of corticotrophin-releasing hormone on stimulated growth hormone secretion. *Clin Endocrinol (Oxf)* 48(2):217-22

Rettori V, Milenkovic L, Aguila MC, McCann SM (1990) Physiologically significant effect of neuropeptide Y to suppress growth hormone release by stimulating somatostatin discharge. *Endocrinology* 126(5):2296-301

Sadun AA, Schaechter JD, Smith LE (1984) A retinohypothalamic pathway in man: Light mediation of circadian rhythms. *Brain Res* 302(2):371-7

Sawaki Y (1979) Suprachiasmatic nucleus neurones: Excitation and inhibition mediated by the direct retino-hypothalamic projection in female rats. *Exp Brain Res* 37(1):127-38

Sawchenko PE, Swanson LW, Rivier J, Vale WW (1985) The distribution of growth-hormone-releasing factor (GRF) immunoreactivity in the central nervous system of the rat: An immunohistochemical study using antisera directed against rat hypothalamic GRF. *J Comp Neurol* 237(1):100

Semaan SJ, Kauffman AS (2011) Sexual differentiation and development of forebrain reproductive circuits. *Curr Opin Neurobiol* 20(4):424-31

Semjonous NM, Smith KL, Parkinson JR, Gunner DJ, Liu YL, Murphy KG, Ghatei MA, Bloom SR, Small CJ (2010) Coordinated changes in energy intake and expenditure following hypothalamic administration of neuropeptides involved in energy balance. *Int J Obes (Lond)* 33(7):775-85

Senaris RM, Lago F, Coya R, Pineda J, Dieguez C (1996) Regulation of hypothalamic somatostatin, growth hormone-releasing hormone, and growth hormone receptor messenger ribonucleic acid by glucocorticoids. *Endocrinology* 137(12):5236-41

Shimizu H, Arima H, Ozawa Y, Watanabe M, Banno R, Sugimura Y, Ozaki N, Nagasaki H, Oiso Y (2010) Glucocorticoids increase NPY gene expression in the arcuate nucleus by inhibiting mTOR signaling in rat hypothalamic organotypic cultures. *Peptides* 31(1):145-9

Shiromani PJ, Magner M, Winston S, Charness ME (1995) Time course of phosphorylated CREB and Fos-like immunoreactivity in the hypothalamic supraoptic nucleus after salt loading. *Brain Res Mol Brain Res* 29(1):163-71

Shrivastava A, Lyon A, McIntosh N (2000) The effect of dexamethasone on growth, mineral balance and bone mineralisation in preterm infants with chronic lung disease. *Eur J Pediatr* 159(5):380-4

Silverman BL, Kaplan SL, Grumbach MM, Miller WL (1988) Hormonal regulation of growth hormone secretion and messenger ribonucleic acid accumulation in cultured bovine pituitary cells. *Endocrinology* 122(4):1236-41

Simonian SX, Murray HE, Gillies GE, Herbison AE (1998) Estrogen-dependent ontogeny of sex differences in somatostatin neurons of the hypothalamic periventricular nucleus. *Endocrinology* 139(3):1420-8

Smith JT, Clifton DK, Steiner RA (2006) Regulation of the neuroendocrine reproductive axis by kisspeptin-GPR54 signaling. *Reproduction* 131(4):623-30

Sousa RJ, Tannery NH, Lafer EM (1989) *In situ* hybridization mapping of glucocorticoid receptor messenger ribonucleic acid in rat brain. *Mol Endocrinol* 3(3):481-94

Sucajtys-Szulc E, Turyn J, Goyke E, Korczynska J, Stelmanska E, Slominska E, Smolenski RT, Rutkowski B, Swierczynski J (2010) Differential effect of prolonged food restriction and fasting on hypothalamic malonyl-CoA concentration and expression of orexigenic and anorexigenic neuropeptides genes in rats. *Neuropeptides* 44(1):17-23

Sutton SW, Toyama TT, Otto S, Plotsky PM (1988) Evidence that neuropeptide Y (NPY) released into the hypophysial-portal circulation participates in priming gonadotropes to the effects of gonadotropin releasing hormone (GnRH). *Endocrinology* 123(2):1208-10

Suzuki N, Okada K, Minami S, Wakabayashi I (1996) Inhibitory effect of neuropeptide Y on growth hormone secretion in rats is mediated by both Y1- and Y2-receptor subtypes and abolished after anterolateral deafferentation of the medial basal hypothalamus. *Regul Pept* 65(2):145-51

Tannenbaum GS, Martin JB (1976) Evidence for an endogenous ultradian rhythm governing growth hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 98(3):562-70

Tannenbaum GS, Ling N (1984) The interrelationship of growth hormone (GH)-releasing factor and somatostatin in generation of the ultradian rhythm of GH secretion. *Endocrinology* 115(5):1952-7

Tannenbaum GS, Epelbaum J, Bowers CY (2003) Interrelationship between the novel peptide ghrelin and somatostatin/growth hormone-releasing hormone in regulation of pulsatile growth hormone secretion. *Endocrinology* 144(3):967-74

Tarttelin MF, Gorski RA (1973) The effects of ovarian steroids on food and water intake and body weight in the female rat. *Acta Endocrinol (Copenh)* 72(3):551-68

Tarttelin MF, Shryne JE, Gorski RA (1976) Effects of testosterone propionate treatment of neonatally ovariectomized rats on growth and subsequent responsiveness to oestrogen. *Acta Endocrinol (Copenh)* 82(3):652-60

Thangavel C, Shapiro BH (2007) A molecular basis for the sexually dimorphic response to growth hormone. *Endocrinology* 148(6):2894-903

Thorsell A (2010) Brain neuropeptide Y and corticotropin-releasing hormone in mediating stress and anxiety. *Exp Biol Med (Maywood)* 235(10):1163-7

Tsigos C, Chrousos GP (2002) Hypothalamic-pituitary-adrenal axis, neuroendocrine factors and stress. *J Psychosom Res* 53(4):865-71

Van Vugt HH, Van de Heijning BJ, Van der Beek EM (2008) Somatostatin in the rat periventricular nucleus: Sex differences and effect of gonadal steroids. *Exp Brain Res* 188(4):483

Vosko AM, Schroeder A, Loh DH, Colwell CS (2007) Vasoactive intestinal peptide and the mammalian circadian system. *Gen Comp Endocrinol* 152(2):165-75

Watahiki M, Yamamoto M, Yamakawa M, Tanaka M, Nakashima K (1989) Conserved and unique amino acid residues in the domains of the growth hormones. Flounder growth hormone deduced from the cDNA sequence has the minimal size in the growth hormone prolactin gene family. *J Biol Chem* 264(1):312-6

Watanobe H, Habu S (2002) Leptin regulates growth hormone-releasing factor, somatostatin, and alpha-melanocyte-stimulating hormone but not neuropeptide Y release in rat hypothalamus in vivo: Relation with growth hormone secretion. *J Neurosci* 22(14):6265-71

Waxman DJ, O'Connor C (2006) Growth hormone regulation of sex-dependent liver gene expression. *Mol Endocrinol* 20(11):2613-29

Webster JR, Corson ID, Littlejohn RP, Stuart SK, Suttie JM (1996) Effects of season and nutrition on growth hormone and insulin-like growth factor-I in male red deer. *Endocrinology* 137(2):698-704

Weizenbaum F (1976) Effect of environmental lighting on sexual behavior and testosterone levels of female rats. *Physiol Behav* 17(6):909-13

Willesen MG, Kristensen P, Romer J (1999) Co-localization of growth hormone secretagogue receptor and NPY mRNA in the arcuate nucleus of the rat. *Neuroendocrinology* 70(5):306-16

Willoughby JO, Blessing WW (1987) Origin of serotonin innervation of the arcuate and ventromedial hypothalamic region. *Brain Res* 418(1):170-3

Wilson CA, Gonzalez I, Farabollini F (1992) Behavioural effects in adulthood of neonatal manipulation of brain serotonin levels in normal and androgenized females. *Pharmacol Biochem Behav* 41(1):91-8

Woolum JC, Strumwasser F (1980) The differential effects of ionizing radiation on the circadian oscillator and other functions in the eye of *Aplysia*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77(9):5542-6

Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR (2000) The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 141(11):4325-8

Xu NY, Chen XQ, Du JZ, Wang TY, Duan C (2004) Intermittent hypoxia causes a suppressed pituitary growth hormone through somatostatin. *Neuro Endocrinol Lett* 25(5):361-7

Yamaji A, Sasaki F, Iwama Y, Yamauchi S (1992) Mammothropes and somatotropes in the adenohypophysis of androgenized female mice: Morphological and immunohistochemical studies by light microscopy correlated with routine electron microscopy. *Anat Rec* 233(1):103-10

Yannielli P, Harrington ME (2004) Let there be "more" light: Enhancement of light actions on the circadian system through non-photic pathways. *Prog Neurobiol* 74(1):59-76

Yonezawa T, Mogi K, Li JY, Sako R, Yamanouchi K, Nishihara M (2005) Modulation of growth hormone pulsatility by sex steroids in female goats. *Endocrinology* 146(6):2736-43

Yonezawa T, Mogi K, Li JY, Sako R, Manabe N, Yamanouchi K, Nishihara M (2010) Negative correlation between neuropeptide Y profile in the cerebrospinal fluid and growth hormone pulses in the peripheral circulation in goats. *Neuroendocrinology* 91(4):308-17

Zafar M, Ezzat S, Ramyar L, Pan N, Smyth HS, Asa SL (1995) Cell-specific expression of estrogen receptor in the human pituitary and its adenomas. *J Clin Endocrinol Metab* 80(12):3621-7

Zweig M, Snyder SH, Axelrod J (1966) Evidence for a nonretinal pathway of light to the pineal gland of newborn rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 56(2):515-20

de Jonge FH, Muntjewerff JW, Louwerse AL, van de Poll NE (1988) Sexual behavior and sexual orientation of the female rat after hormonal treatment during various stages of development. *Horm Behav* 22(1):100-15

van Aken MO, Pereira AM, Froelich M, Romijn JA, Pijl H, Veldhuis JD, Roelfsema F (2004) Growth hormone secretion in primary adrenal Cushing's syndrome is disorderly and inversely correlated with body mass index. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 288(1):E63-70

van Leeuwen FW, Swaab DF, de Raay C (1978) Immunoelectronmicroscopic localization of vasopressin in the rat suprachiasmatic nucleus. *Cell Tissue Res* 193(1):1-10

今井彩乃 (2007) スモールパルスモデルを用いた成長ホルモン分泌動態の解析、卒業論文

倉本暁子 (2009) ギナドトロピン放出ホルモン・パルスジェネレーターの組織学的同定、卒業論文

藤井崇博 (2010) 成長ホルモン分泌低下モデルラットを用いた成長ホルモンによる骨量維持機構の解明、卒業論文

米澤智洋 (2004) 雌性動物における成長ホルモンパルスの生物学的意義に関する研究、学位論文

謝辞

本研究の遂行にあたり、生物から得られるデータの洞察を1から教えてくださり、また暖かい励ましと鋭いご指摘で長い研究室生活を導いてくださいました西原眞杉教授に心から感謝いたします。

また、研究室の切り盛りから実験手技におけるアドバイスまで、惜しげもなく多くをご伝授くださった山内啓太郎准教授に深く感謝いたします。

そして、研究室に入室した時より実験を教えてください、公私に渡って苦節を励まし、成功をともに喜んでくださいました松脇貴志助教に心より感謝いたします。

御三方の存在なくしてはこの博士論文を執筆することはできませんでした。重ねまして、深く感謝いたします。

本研究は多くのラットたちの犠牲の上に成り立ったものです。その尊い命の冥福を祈るとともに、深く感謝の意を表します。

獣医生理学研究室の先輩、そして後輩たちとは生活の大部分をともにし、互いに切磋琢磨しながら研究に励んで来ました。皆のおかげで研究を楽しむことができました。ここで改めまして感謝の意を表し、今後のさらなる親交を願います。

最後に、長い大学院生活の間、変わることなく精神面から経済面までサポートを賜りました両親、弟妹、そして夫に、心より感謝しております。

藤澤 彩乃