

氏 名（本籍）	横須賀 誠（千葉県）
学 位 の 種 類	博士（獣医学）
学 位 記 番 号	獣医博甲第 17 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 7 年 3 月 14 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 及 び 専 攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	東京農工大学
学 位 論 文 題 目	脳内エストロジェン受容体含有細胞の発生に関する研究－脳の発育と性分化に対するエストロジェン受容体の存在意義に関する考察－
審 査 委 員	主査 東京農工大学 教授 笹 本 修 司 副査 帯広畜産大学 教授 山 田 純 三 副査 岩 手 大 学 教 授 金 田 義 宏 副査 岐 阜 大 学 教 授 鈴 木 義 孝 副査 東京農工大学 助教授 田 谷 一 善

論 文 の 内 容 の 要 旨

脳、とくに視床下部内の神経核には雌雄で差異があり、この差異（脳の性分化）は雄への分化にさいし周生期に精巣から分泌されるアンドロジェンが脳内でエストロジェンに変換され、このエストロジェンが神経細胞に作用するために発現すると考えられている。脳の性分化に及ぼすエストロジェン作用は、神経核の大きさや性腺刺激ホルモン分泌パターンの不可逆的な性差を誘導する。このエストロジェンの作用発現の第一段階は細胞核内に存在するエストロジェンレセプター（ER）との結合にあるので、とくに性分化の機構に注目し、ラット ER にたいする特異的な抗体を応用し免疫組織学的手法によって脳内 ER の出現部位とその性差を、胎子期および未だ雌雄への脳の性分化以前の段階にある新生子ラットから分化の完了している成熟ラットに至るまでを用いて精査した。また、アンドロジェンからエストロジェンへの転換酵素であるアロマターゼ（AR）の存在部位を併せて吟味した。

脳内における ER は神経細胞の核内に存在しており、出生当日においてすでに基本的には成熟動物の脳と同様の分布パターンを示していた。また基本的な分布パターンは雌雄間に差異は無いが、内側視束前核の後背側部から分界状床核へかけての部位、および視床下

部腹内側核においては明らかに雌の反応性が雄よりも強く且つ広範囲に及び、その後も明瞭な性差を示すこと、また、視床下部腹内側核においてER陽性神経細胞数が雌では雄よりも多いことを確証した。これら雌雄差発現の要因を吟味し、出生初期の精巣摘出およびステロイド投与試験から、新生子期の性ステロイドホルモンがこの性差を発現させることを明らかにした。ERの反応が雌では雄より低いことには、周生期の精巣から分泌されたアンドロジェンが脳内のアロマターゼによってエストロジェンに転換され、このエストロジェンがERの発現抑制に関与するためと考察した。

ついで、アンドロジェンをエストロジェンへ転換する酵素であるアロマターゼ (AR) の発現部位を、ERの発現と併せ二重免疫組織化学的手法を用いて検索した。新生子ラット脳では雌雄共に内側視束前核の前部、内側視束前核の後背側部から分界状床核へかけての部位、扁桃体内側核の後背側部および視床下部腹内側核などの部位でERとARの発現が重なって認められた。視床下部腹内側核では同一の細胞にARとERの共存が認められたが、その他の部位では共存していなかった。従ってアンドロジェンから変換されたエストロジェンはその近隣あるいは同一細胞に作用しうるものと考えられた。また内側視束前核の後背側部から分界状床核へかけての部位ではARの発現は雄に強く雌に弱いという性差を示した。またARの発現は雌雄共に発育に伴って低下し、とくに内側視束前核の前部および視床下部腹内側核ではARの反応性は生後10日令までに激減した。この時期はラット脳の性分化の臨界期と一致することから、内側視束前核の前部および視床下部腹内側核は周生期の性ステロイドホルモンによる脳の雄性化に重要な部位であると考えられた。

また、新生子脳におけるERと性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) との共存性を検討し、両者の共存が認められないことを確認し、雄性への分化に伴う性腺刺激ホルモンの周期的放出パターンの消失はエストロジェンのGnRH産生細胞に対する直接作用ではないことが示された。さらにERと一酸化窒素合成酵素との共存性も調査し、終板器官や視床下部腹内側核での共存が認められ、周生期のエストロジェン作用の一部は一酸化窒素の産生調節を介してシナプス形態などの性差の発現に関与する可能性も示唆された。

以上の成績から、内側視束前核の前部、内側視束前核の後背側部から分界状床核へかけての部位、扁桃体内側核の後背側部および視床下部腹内側核などの部位で、周生期に精巣から分泌されたアンドロジェンがエストロジェンへ転換され、これらの部位のERに結合することがラット脳の雄性化に重要なステップとなっているものと判断された。ERおよびARの脳内の分布には基本的には性差が認められないことから、脳の性分化は周生期の脳に作用する性ステロイドホルモンの量的性差によって誘導されるものと考えられる。さらに、周生期には顔面神経核や大脳皮質聴覚野にも一過性にERが発現することから、エストロジェンがこの部位に作用し脳の一般的な発達に関与するという新たな可能性が示された。

審 査 結 果 の 要 旨

脳の形態・機能には雌雄で差異があり、この差異（脳の性分化）は特に雄への分化にさいし周生期に精巣から分泌されるアンドロジェンが脳内でエストロジェンに変換され、このエストロジェンが神経細胞に作用するために発現するものと考えられている。脳に対するエストロジェン作用には activational な作用（効果が一過性でエストロジェンレベルの低下によって効果も消失するもの）と organizational な作用（効果が機能的あるいは形態的に不可逆的でありエストロジェンの消失後も作用の結果が不可逆的に残るもの）とがある。脳の性分化に及ぼすエストロジェン作用は、神経核の大きさや性腺刺激ホルモン分泌パターンの不可逆的な性差を誘導することから、organizationalな作用といえる。エストロジェンの作用発現の第一段階はエストロジェンレセプター（ER）との結合にあるが、脳におけるエストロジェンの作用は細胞核内に存在するERと結合しこの複合体が遺伝子を活性化し、新しい蛋白質を生成することによってorganizationalな作用を発現するものと考えられる。

エストロジェンの作用する部位を特定するため、従来は放射活性エストロジェンが応用され、視床下部についての分布が示されたが、方法上の限界もあってエストロジェンレセプター（ER）を特定することはできていなかった。近年、林らは、ラット子宮のエストロジェンレセプター（ER）のcDNAをもとに大腸菌を利用してエストロジェンレセプター（ER）蛋白質を産生させこれを兎に免疫して抗ラット・エストロジェンレセプター（ER）抗体の作製に成功した。この特異的な抗体を応用し免疫組織学的手法によって脳内ERの出現部位とその性差が胎子期から成熟ラットに至るまでの詳細が検索された。

下垂体からの性腺刺激ホルモン分泌パターンの雌雄差（雄における非周期性）はよく知られた事実であり、これは、視床下部の性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）を産生・放出するGnRHニューロンの活動の差異による。GnRHニューロンは発育期においてもエストロジェンにたいする特異的受容体を欠いており、雄性への分化に伴う性腺刺激ホルモンの周期的放出パターンの消失はエストロジェンのGnRHニューロンへの直接作用でないことが明確となった。結論的には、脳の性分化は周生期の性ステロイドホルモンの雌雄における量的差異が、とくに内側視束前核の前部、内側視束前核の後背側部から分界状床核へかけての部位、扁桃体内側核の後背側核および視床下部腹内側核においてアンドロジェンからエストロジェンに変換され、これらの部位のエストロジェンレセプター（ER）と結合しorganizationalな作用を発現するためと解せられる。

さらに発育期において、顔面神経核内側亜核および大脳皮質聴覚野において（生後15日令までの間）一過性にエストロジェンレセプター（ER）の発現する事実をはじめて明らかにした。この一過性のER発現には性差は認められず、またこの領域にはアロマターゼ（AR）は検出されない。従って周生期における性ステロイドホルモンによる脳の性分化機構とは別個に、ステロイドホルモンが神経細胞の分化・成熟に関与する新たな可能性

が示唆された。

平成7年1月26日における学位論文審査委員会において、提出論文ならびに学位論文の基礎となる学術論文2編、その他の既発表学術論文4編の内容を5名の審査委員が審議した結果、提出論文は大学院連合獣医学研究科の学位論文としてふさわしいものであると判定した。