

## 特集 第41回脳のシンポジウム

### ● Steroid/thyroid ホルモン系による脳発達の調節機構

## エストロゲンによる脳の性分化と機能の調節\*

佐久間 康 夫\*\*

キーワード：アロマターゼ仮説, 性的二型, ロードーシス反射

### はじめに

雌雄が異なった配偶子を生産することで子孫を残す有性生殖では、成功の戦略として内分泌的調節と行動学的調節を一致させなければならない。すなわち、雌では子孫に伝える遺伝情報の他に、発生に必要とされる代謝機構やタンパクを大量に持つ卵子を成熟させるため、大きな投資をしなければならず、必要な時間も長い。一方、雄の産生する精子には遺伝情報と授精に必要な鞭毛を動かすための僅かなエネルギー源しか必要とされない。大きくて運動性を欠く卵子の成熟にあわせて授精が成立するために、配偶子の成熟と雌雄が邂逅する行動学的調節が一致する必要がある。このため、多くの哺乳類では周期的に繰り返される卵子の成熟のたびに、卵子を取り囲む卵胞も成熟してエストロゲンを分泌し、その都度雌の生殖行動を起こす。一方、精子はアンドロゲンの作用のもとで常時持続的に産生され、アンドロゲンに支配される雄の生殖行動も常時みられることになる。雌における周期的な卵子の成熟と発情、雄の連続発情という現象は、性腺の分泌する性ホルモンの相違ではなく、脳内神経回路の性ホルモン感受性の相違によることがわかっている。しかもこの相違は、遺伝的に決まるものではなく、脳の発育途上の特定の時期にアンドロゲンが作用すると、脳の雄型化・脱雌型化が起こることが実験的に確かめられる。この時期は多くの哺乳類で在胎中、あるいは周産

期にあり、この時期のアンドロゲンの有無により、脳の性転換を実験的に起こすことができる。この時期を過ぎると、脳の性別は固定し、個体の生殖能力が完成する思春期まで、血中には性ホルモンが認められなくなる<sup>1)</sup>。個体の生殖能力が完成し、大量の性ホルモン分泌が始まる時期を思春期と呼ぶ。最近第19常染色体上に存在するGPR54受容体遺伝子の異常により、低ゴナドトロピン性性腺機能低下症から、思春期が発動しない症例<sup>2,3)</sup>が報じられ、GPR54とそのリガンドとして同定されたkisspeptin(当初ガン転移を抑制するmetastinとして報告された<sup>4)</sup>)の、思春期発動への関与がにわかに注目を集めるに至った。思春期以降の雌にみられる周期的な卵子の成熟と、雄の精巣での連続的な精子の産生も、それぞれの性に特異な脳の調節のもとにあり、視床下部ペプチドの1つである、性腺刺激ホルモン放出ホルモン(Gonadotropin-releasing hormone: GnRH)を最終共通路として、下垂体前葉のゴナドトロピン分泌、ひいては卵巣・精巣の性ホルモン分泌が制御される<sup>5)</sup>。分泌された性ホルモンは脳に作用して、GnRH分泌にフィードバック調節を及ぼすとともに、それぞれの性に特異な生殖行動を起こす。なお、脳内でもコレステロールから新規合成される、ニューロステロイドと呼ばれる一群の性ホルモンの存在が明らかになっており、一部のトリなどで脳の性分化への関与が示唆されるに至っているが、思春期以降の生殖内分泌・生殖行動への関与についての評価はま

2006年9月15日受稿

\* Brain sex difference through actions of steroid hormones.

\*\* 日本医科大学大学院医学研究科システム生理学分野(〒113-8602 東京都文京区千駄木1-1-5) Yasuo SAKUMA: Department of Physiology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan.

0001-8724/06/¥500/論文/JCLS

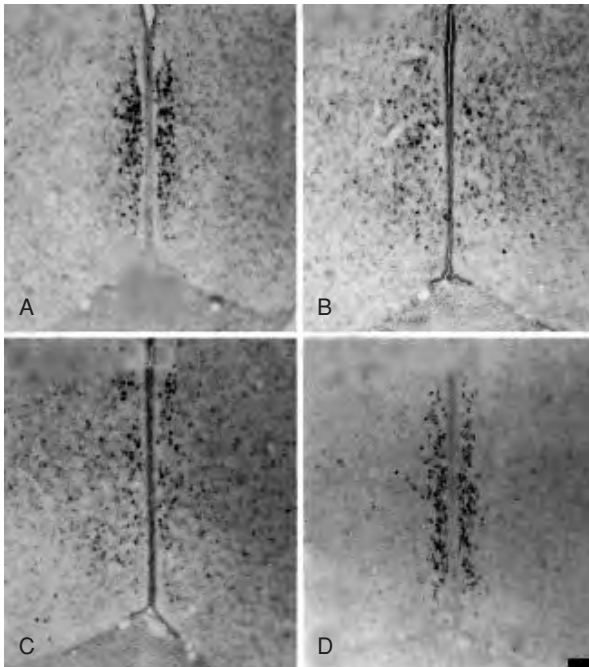


図1 性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) 産生ニューロンを支配すると考えられているラットの視索前野前室周囲核には、エストロゲン受容体 $\beta$ のmRNAを発現するニューロンが雌(A)で多く、雄(B)で少ないという著しい性差がみられる。新生仔期にエストロゲンを投与された雌は雄型(C)の、同じ時期に精巣を摘除された雄は雌型(D)の表現型を示す。免疫組織化学でも同様の結果がみられる(標本はいずれも14日齢、スケールは100 $\mu$ m。文献<sup>4)</sup>から改変)。

だ不十分である<sup>6)</sup>。また、中脳ドーパミンニューロンの数など、性ホルモンに依存しない性差の存在も知られており、何らかの性決定遺伝子が脳内で作用している可能性<sup>7)</sup>も提案されている。

## I. エストロゲンの2つの作用

哺乳類のY染色体短腕末端の偽常染色体領域近傍にある性決定遺伝子SRYは、原始性腺のSertoli細胞に発現して、精巣への分化を起こす<sup>8)</sup>。今日の共通の認識では、少なくともラット、マウスにおける生殖内分泌調節や性特異的な複数の生殖行動の性差は、精巣のLeydig細胞から分泌されるアンドロゲンの作用に依存する。アンドロゲンの作用は、脳の性分化の臨界期と呼ばれている特定の時期に限って起こる。つまり、新生仔雄ラットの精巣を除去すると、生殖内分泌調節における周期性が維持され、性ホルモンの投与で雌型の行動が起こり、逆に新生仔雌にアンドロゲンを投与

すると、連続発情となって、なわばり形成や雄型の行動を示すようになる。このような機能の性転換に伴って、形態にも目立った変化が起こる<sup>1)</sup>。精巣は胎児期から新生仔期には視床下部下垂体系の制御を受けず、代表的なアンドロゲンであるテストステロンを自律的に大量に分泌する<sup>9)</sup>。脳の雄型化・脱雌型化においてはテストステロンはプロホルモンであって、特定部位のニューロンに局在する芳香化酵素アロマターゼP450aromにより、脱メチル化・芳香化されて生じるエストラジオールがエストロゲン受容体 $\alpha$ に作用して、連続発情やマウンティングといった雄型の生殖行動に関わる神経回路が形成される。一方、グリア細胞に存在するステロイド還元酵素 $5\alpha$ リダクターゼにより生じたジヒドロテストステロンが、アンドロゲン受容体に作用して、なわばり形成や他個体への攻撃といった、雄に固有の行動に関わる神経回路が形成される<sup>10,11)</sup>。この時期の卵巣では $3\beta$ -水酸化ステロイド脱水素酵素の活性が精巣に比べると著しく低く、テストステロンについてはエストロゲンの産生が抑えられており、後述のアロマターゼ仮説と相まって脳の性分化には寄与しない。雄型の神経回路はその後の血中ホルモン濃度の低下に関わりなく存続するので、これらの現象を性ホルモンの形成的作用と呼び、思春期以降血中性ホルモン濃度の消長に応じてみられる、性ホルモンの活性化作用と区別する。

思春期以降性腺からの性ホルモン分泌が増すと、性腺では卵子・精子の産生と雌雄に特異な行動パターンがみられるようになる。行動にみられる性差が精巣アンドロゲン、卵巣のエストロゲンという性ホルモンの相違によるものではなく、脳内神経回路の性ホルモン感受性の相違に起因することは、性成熟後の精巣摘除雌にエストロゲンを投与して現れる行動がマウンティングであること、卵巣摘除雌にテストステロンを投与して現れる行動が雌の主要な受容行動であるロードーシス反射であることから推論できる。むしろ、エストロゲンは陰茎の勃起には無効であり、匂いを手掛かりとする性指向が性成熟後も雌雄の性ホルモンにより規定されるといった例外が明らかになってはいるが、基本的には脳は雌型がデフォルトで、性分化の臨界期におけるアンドロゲン作用により脱雌型化・雄型化するとの理解が共有されている<sup>5)</sup>。

## II. エストロゲンの活性化作用

思春期以降のエストロゲンの活性化作用については典型的な例を生殖内分泌、生殖行動のそれぞれについて挙げるができる。成熟後卵巣摘除雌ラットの血



図2 雄ラットが発情雌ラットの側腹部に圧・触刺激を加えると(左)、雌は脊柱を背屈するロードーシス反射を起こす。この反射を受容行動と呼ぶ。

中エストロゲン濃度を、徐放性のカプセルの留置などにより比較的高値に保つと、24時間間隔で性腺刺激ホルモンの大量分泌が起こる。正常雌における性腺刺激ホルモンの排卵性大量放出に相当すると考えられるこの現象は、カプセル留置後ほぼ5日間継続し、環境の明暗周期に依存し、暗期の始まりにほぼ一致して起こる特徴がある<sup>12)</sup>。精巣除去雄に同様の処置を行った場合には、エストロゲン、アンドロゲンのいずれによっても、性腺刺激ホルモンの分泌はみられない<sup>13)</sup>。

エストロゲンによって誘発される性腺刺激ホルモンの大量分泌は、視索前野前室周囲核(図1)を介するGnRHニューロンの賦活によると考えているが、いまだ不明な点が多い<sup>14)</sup>。これに対して、発情雌ラットのロードーシス反射については、エストロゲンの作用部位、促進・抑制に関わる神経回路の同定が進んでおり、雄ではこの行動がみられない理由を含め、細部までかなり判明している<sup>5)</sup>。性的に特異な雌型の行動の代表は母性行動や生殖行動である。雌の生殖行動はさらに誘惑行動と受容行動に大別され、いずれも血中エストロゲン濃度が高い発情期に限ってみられるので、発情行動と呼ぶこともある。研究が最も進んでいるロードーシス反射は受容行動の主要な要素である。雄の生殖行動では主要な要素はマウンティングで、なわばり形成や攻撃行動とならんで雄に特異とされている。雌雄双方の行動要素それぞれに、複数の促進・抑制回路の存在が想定されており、これらのバランスから行動表現が決定されていることは、脳内神経回路の選択的遮断により、雌がマウンティングしたり、雄がロードーシス反射を示すことから明らかである<sup>15)</sup>。

### Ⅲ. ロードーシス反射の神経回路

発情雌ラットは雄のなわばりに侵入し、特異な歩行パターンや耳を激しく振る誘惑行動で雄を挑発する。

これらの行動は、発情期に卵巣の分泌する女性ホルモンであるエストロゲンとプロゲステロンの作用である。挑発された雄がマウントし、腰部と側腹部を圧迫すると、雌ラットは脊柱を背弯するロードーシス反射を起こし、雄を受容する(図2)<sup>5)</sup>。卵巣摘除雌ラットに前もって閾値量以下のエストロゲンを全身投与した上で、視床下部腹内側核にごく微量のエストロゲン結晶を埋め込むと、ロードーシス反射を起こすようになる。閾値量以下のエストロゲンの全身投与が必要であることは、ロードーシス反射の調節に複数の神経回路が関わることを示すもので、実際内側視索前野への結晶埋め込みによっても、より大量を要するものの同様の効果を得ることができる<sup>16)</sup>。

腹内側核の腹外側部や内側視索前野には、エストロゲン受容体(ER)α陽性ニューロンが集まっている。ERαノックアウトマウスがロードーシス反射を示さないことから、ロードーシス反射はERαを介するエストロゲンの作用で起こると考えられる<sup>17)</sup>。なお、これらの部位にエストロゲンによりプロゲステロン受容体が誘導され、誘惑行動の発現に関わるが、ロードーシス反射は実験的にはエストロゲン単独で起こすことができる。これらの部位でERαを発現するニューロン数が目立って雌に多いことが、雌に限ってロードーシス反射がみられることに関係していると考えられる<sup>18)</sup>。ERα陽性ニューロンの脳内分布は、哺乳類に限らず多くの脊椎動物に共通しており、内側視索前野、腹内側核を中心とする視床下部内側底部、嗅覚の中継核である扁桃核、中脳中心灰白質に限られている。これらの部位の間には互いに密接な線維連絡があり、内分泌や行動の調節に関わっているのが妥当である(図3)。

前脳や視床下部のレベルでは、エストロゲンは複数の独立した神経回路に別個に作用してロードーシス反

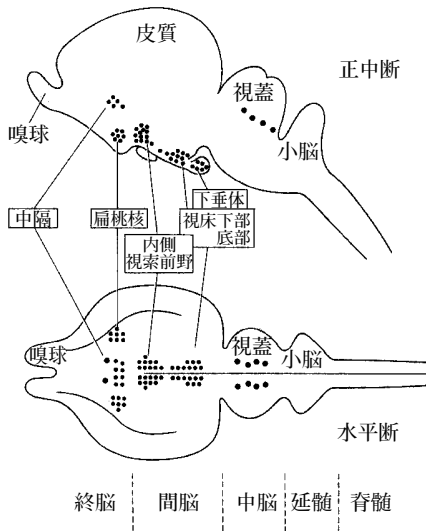


図3 エストロゲン受容体 $\alpha$ を発現する細胞の分布パターンは、成熟した脊椎動物では広い種にわたり共通で、外側中隔、内側視索前野、視床下部正中底部、扁桃核、中脳中心灰白質にほぼ限定される。脳の形態形成の途上では、一過性の受容体発現が大脳皮質や脳幹などでみられる。

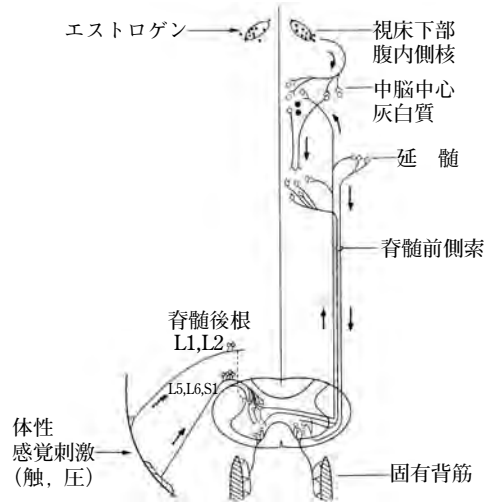


図4 ロードーシス反射の促進回路の概念図  
この経路とは独立に、内側視索前野から腹側被蓋野をへて、延髄背内側部に至る抑制経路も存在する。

射を起こす。卵巣を摘除した雌ラットの内側視索前野、あるいは視床下部腹内側核のいずれかにエストロゲンの微小な結晶を植え込むと、全身投与と同様の効果が得られる。逆に内側視索前野や中隔を破壊した動物では、ロードーシス反射の誘発に必要なエストロゲンの全身投与量が減少する。一方、腹内側核の破壊によりロードーシス反射は消失するが、エストロゲン投与を続けると、3週間程度で有意に回復する。これらの観察から、雌ラットの脳内にはこの反射に関して複数の、異なった機序によりロードーシス反射を起こすエストロゲン感受性神経回路が存在すると考えた<sup>19)</sup>。ロードーシス反射の主要な促進系は視床下部腹内側核のニューロンに起こり、中脳中心灰白質でシナプス交換して延髄の網様体脊髄路ニューロンを支配して、脊髄運動ニューロンに至る。脊髄運動ニューロンによる固有背筋の収縮がロードーシス反射である(図4)。腹内側核、中心灰白質背側部、延髄網様体巨細胞性核など、この回路を構成する部位の電気刺激によりロードーシス反射が促進され、破壊や神経路の切断により、反射が消失する(図5)<sup>20)</sup>。内側視索前野を電気刺激すると、ロードーシス反射は中断される。微小ナイフで中隔と内側視索前野を切断し、下行性通過線維を除去した雌ラットでも、内側視索前野の電気刺激が強力な抑制効

果を持つことから、刺激の効果は局所のニューロンの賦活によるもので、通過線維を介するものではないことが明らかである(図5)<sup>21)</sup>。また、中隔と内側視索前野の切断によりロードーシス反射の誘発に必要なエストロゲンの量が減少する一方で、電気刺激の抑制効果が増強されることから、エストロゲンによりロードーシス反射をそれぞれ抑制するものと、促進するものの2種類の通過線維が、内側視索前野を下行することが示されている。中隔、帯状回や海馬などに起こる抑制系の通過線維の存在は、神経毒により細胞体が脱落した内側視索前野の電気刺激によりロードーシス反射が抑制され、電気刺激の効果が中隔と内側視索前野の切断により失われることから推論される<sup>22)</sup>。内側視索前野のニューロンから起こるエストロゲン感受性の抑制回路は、下行して腹側被蓋野に至る<sup>23)</sup>。腹側被蓋野からは中脳中心灰白質腹側部を通過して延髄背内側部に投射し、固有背筋をはじめ全身の筋緊張の低下により、ロードーシス反射を抑制する<sup>24)</sup>。これらの部位のいずれを電気刺激しても、ロードーシス反射の強力な抑制が起こることから推測されるように<sup>25,26)</sup>、この系の神経伝達もロードーシス反射の促進系と同様、すべて興奮性シナプスを介している。中脳腹側被蓋野は上行性の中脳辺縁系ドーパミン作動性投射の起始核として知られるが、ドーパミン伝達を遮断したり、神経毒によりドーパミン作動性ニューロンを脱落させても、この部位によるロードーシス反射の調節は失われない<sup>26)</sup>こ

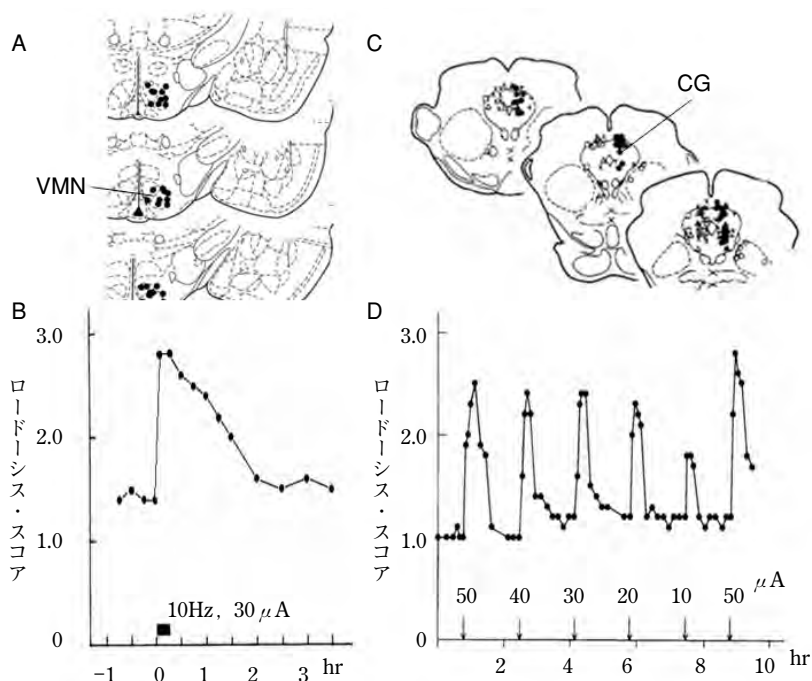


図5 視床下部腹内側核 (VMN) の電気刺激によりロードーシス反射の増強が起こった部位 (A, 黒点)

エストロゲン前投与により軽度のロードーシス反射を起こした雌ラットの VMN を 30 秒間隔で低頻度・長時間刺激すると、ロードーシス反射の強度が徐々に増し、刺激切断後緩徐にもとに戻る (B)。中脳中心灰白質 (CG) の電気刺激 (黒点) では 100 Hz の刺激でロードーシス反射が急速に増強され、刺激中断により直ちにもとのレベルに戻る。

とから、エストロゲンによるロードーシス反射の調節には、ドーパミン作動性ニューロンではなく、解剖学的に延髄背内側部への投射が示されているエストロゲン感受性<sup>24)</sup>の、ペプチド作動性ニューロン<sup>27)</sup>が関与する。

#### IV. ロードーシス反射にみられる雌雄差

雌ではこのように、ロードーシス反射の促進・抑制の神経回路の存在が明らかとなったが、雄ではどのような理由でこの反射が現れないのだろうか。雄ラットを去勢し、女性ホルモンを投与して発情期の雌と同等の内分泌環境においてもロードーシス反射が起こらないことから、性腺の分泌する性ホルモンが、行動上の性差の原因でないことは明らかである。実際、去勢雄ラットにエストロゲンなどを投与すると、去勢によって消失した雄型の生殖行動が復活してくる。すなわち、雌雄の行動上の性差は、脳の相違によっていることが推論される。去勢雄ラットにおいて中隔と内側視索前野の間の結合を切断し、大量のエストロゲンを投与す

ると、ロードーシス反射が起こる<sup>28)</sup>。内側視索前野の破壊によってもロードーシス反射を示す雄が得られる<sup>29)</sup>。これらの実験から、ロードーシス反射を遂行するための神経回路は雄でも存在していること、雌と同様内側視索前野をはじめ、前脳に強力なロードーシス反射の抑制機構があり、この抑制がエストロゲンで除去されないことが、雄における反射の欠如の一因と考えている。ロードーシス反射の存否は遺伝的な性別によるものではなく、周産期の内分泌環境によって決定されることはよく知られている<sup>1)</sup>。雌ラットの出生後 5 日以内に男性ホルモンを投与すると、この動物は雄型の脳を持つようになり、成熟後ロードーシス反射を示さなくなる。逆に雄新生仔を出生当日に去勢すると、遺伝的性別とは逆に、成熟後雌として振る舞う、雌型の脳を持つ動物が得られる。行動実験の結果から、ロードーシス反射の有無という行動上の性差は、特定の神経回路の性ホルモン感受性の相違に起因する可能性がある。雌では腹内側核、内側視索前野の 2 つの部位がそれぞれ独立のエストロゲン感受部位である<sup>19,20)</sup>。腹

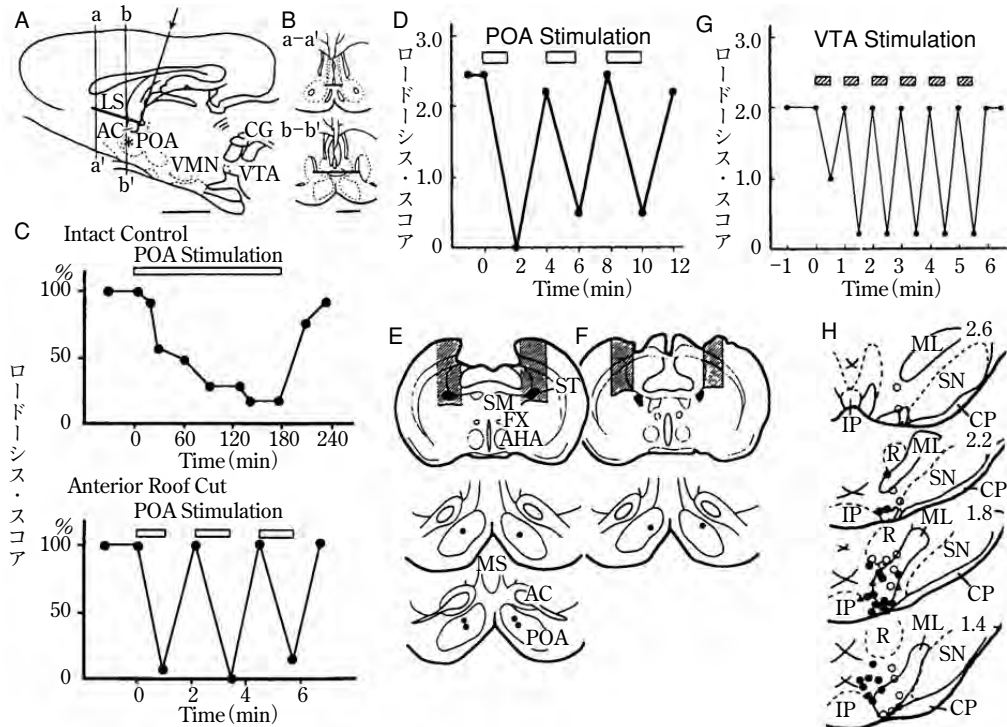


図6 L字型の針金を脳の正中線で刺入し、水平面で180°回転させることで、内側視索前野の通過線維を切断することができる(Aは矢状断、Bは前額断)。針金を回転しなかったコントロール群で内側視索前野(POA)を電気刺激すると、ロードーシス反射の強度(Lordosis Reflex Score)は徐々に減少するが、切断群では電気刺激によりロードーシス反射は直ちに抑制される(C)。同様の迅速な効果(D)は扁桃核から内側視索前野への投射路である分界条を選択的に切断(E)しても起こる。同じ大きさの切断が分界条から外れた場合(F)には、内側視索前野の刺激効果は(C)のコントロールと同様の時間経過を示す。内側視索前野の投射野の一つである、腹側被蓋野の電気刺激(G)も急速なロードーシス反射の遮断を起こす。刺激の有効部位は腹側被蓋野に一致する(H)。

内側核は第3脳室に沿って下行する室周線維と、内側前脳束に入る側方への投射を持ち、視蓋深部、特に中脳中心灰白質の背側部に終わる。内側視索前野からの下行性線維は、内側前脳束を通して腹側被蓋野に終わっている。中心灰白質と腹側被蓋野に投射するニューロンの電気生理学的性質を解析し、エストロゲンの効果を観察するために、ウレタン麻酔下の動物で逆行性興奮の誘発による電気生理学的実験を試みた。中脳中心灰白質から逆行性に駆動される細胞は、腹内側核の吻側に多い(図6)<sup>30)</sup>。雌雄、周産期の内分泌学的処置により、行動の逆転した動物の間で、記録された細胞の総数、さらに腹内側核内外における分布を定量的に比較しても、相違は認められない。つまり、腹内側核ないしその周辺に細胞体があり、中心灰白質に投射するニューロンは行動の存否に関係なく存在している。ところが、逆行性興奮誘発の閾値、絶対不応期

に対するエストロゲンの効果を調べると、卵巣摘除雌と出生当日去勢雄に限って、エストロゲン投与により、閾値の低下と不応期の短縮が有意に起こっていた。これらの動物は、麻酔に先立つ体性感覚刺激に対して、例外なくロードーシス反射を示した。他方、出生後の男性ホルモン投与により反射を示す能力を失った雌では、ニューロンレベルでのエストロゲン感受性も失われていた。エストロゲン投与後の興奮性の増加の時間的経過は、反射の出現と並行する。すなわち、逆行性興奮閾値の低下は、エストロゲン投与後48~72時間で有意となる<sup>31)</sup>。エストロゲン投与後ロードーシス反射が起こるまでの長い潜時は、エストロゲンによる遺伝子活性化が神経細胞の興奮性の変化に寄与していることを示唆する。

雌ラットの腹内側核においても、中心灰白質に投射するすべてのニューロンにエストロゲン感受性がある

わけではない。2つに大別される腹内側核の下行路のうち、傍矢状断面で腹内側核の外側に微小ナイフによる切断を両側性に加え、核の側方で内側前脳束に入る軸索を遮断すると、エストロゲンを与えてもロードーシス反射が起こらない。これに対して、腹内側核の後方で室周線維を遮断してもロードーシス反射は失われない。つまり、行動学的解析からは前者が不可欠ということになる<sup>32)</sup>。卵巣摘除雌ラットで同様の切断を急性的に行い、中心灰白質からの逆行性興奮誘発に要するパラメーターをエストロゲン処置動物と無処置動物で比べると、側方の切断を行った動物から記録される腹内側核ニューロンは、雌でもエストロゲン感受性がない。他方、後方切断群では正常雌と同様に、エストロゲン投与によって興奮性の上昇するニューロンが記録された<sup>33)</sup>。これらのニューロンは腹内側核の吻側から後視交差領域に分布し、エストロゲン非感受性ニューロンより大きな細胞体を持つと考えられた<sup>33)</sup>。同様の検討を腹側被蓋野の電気刺激により同定されるニューロンについて行くと、エストロゲンにより抑制されるものが見出される(図7)<sup>23)</sup>。行動実験から予測されるように、腹側被蓋野に投射するニューロンの細胞体は、内側視索前野、対角帯野、前交連床核などに分布する。その他、外側中隔や分界上床核にもいくつかの細胞体が同定されている。これら前脳諸部位のニューロンの逆行性興奮誘発に際して、卵巣摘除雌ラットをあらかじめエストロゲン処置しておく、興奮閾値の上昇、絶対応期の延長ならびに逆行性興奮潜時の延長と、いずれもニューロンの興奮性が低下していることを示す所見が得られた。さらに、周産期に内分泌学的処置を行った動物についても調べて、出生当日去勢雄では雌と同様の変化が起こるのに対して、男性ホルモン処置雌はエストロゲン感受性を失っていることが明らかになった(図8)<sup>19,20)</sup>。行動学的にロードーシス反射の制御に関係することが示されている内側視索前野と腹内側核の2つの領域で、破壊や電気刺激による反射の消長と逆行性興奮誘発に必要な刺激のパラメーターを比較することにより、エストロゲンがそれぞれ抑制と促進という正反対の作用を及ぼしていることを見出すことができた<sup>20)</sup>。また、これらの作用が周産期の内分泌環境により規定され、内因性、外因性を問わず、この時期に男性ホルモンが存在すると、双方のニューロンともエストロゲン感受性を失うことが明らかになった。すなわち、雄ラットがロードーシス反射を示さないのは、この行動の促進系、抑制系が、脳の発育途上における男性ホルモンの作用のため、雌に比べてエストロゲン感受性を欠くことによると考え

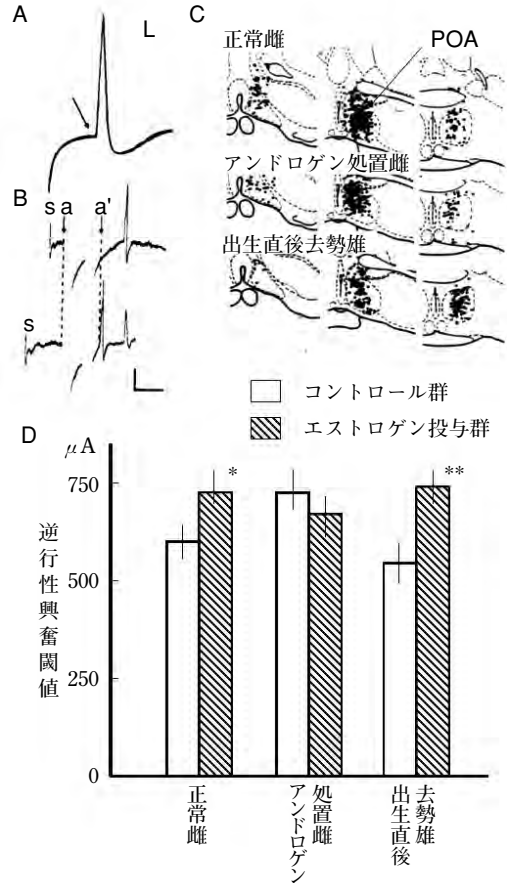


図7 腹側被蓋野の電気刺激により内側視索前野に誘発される逆行性興奮電位

立ち上がりにシナプス性要素がみられず(A)、自発放電と衝突して消滅する(B)ので逆行性電位である。内側視索前野から腹側被蓋野への投射ニューロンの数は、出生直後の性ホルモン処置の影響を受けない(Cの黒点)が、エストロゲン投与による逆行性活動電位の誘発閾値の上昇は反射を示す動物群に限られ、この部位ではエストロゲンが行動の脱抑制を起こしていることがわかる。

るに至った。

## V. エストロゲンの作用機序

周知のように、エストロゲンは細胞核内受容体を介して遺伝子の活性化作用を発揮する。発現に長い潜時を要し、核酸やタンパク合成の阻害薬でエストロゲンの作用がみられなくなるロードーシス反射のような現象は、基本的には核内受容体を介する古典的な作用と考えられる<sup>5)</sup>。逆行性興奮の誘発により見出される、内側視索前野や腹内側核ニューロンの興奮性の変化

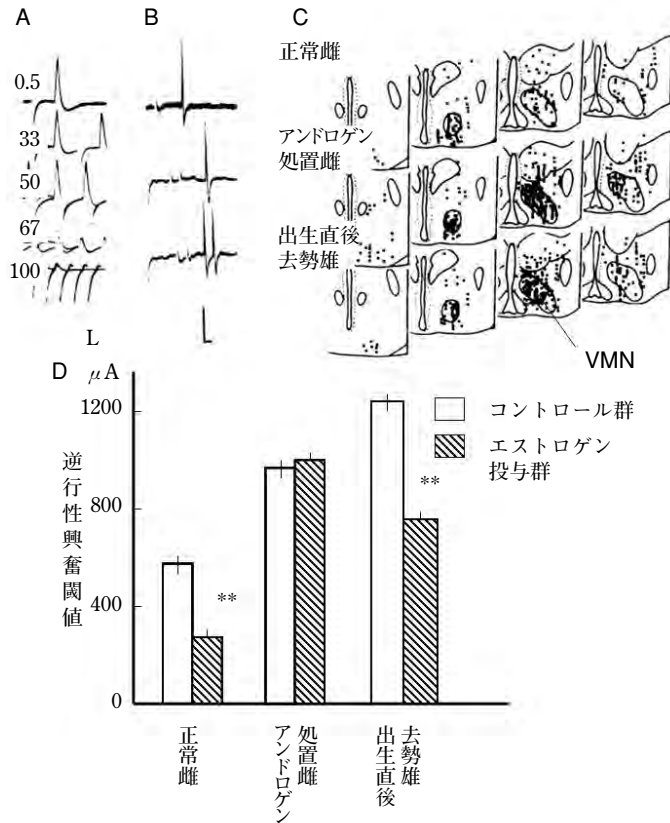


図 8 ウレタン麻酔下のラットで中脳中心灰白質の刺激により視床下部腹内側核に誘発される逆行性活動電位

高頻度の刺激(数字は Hz)に追随(A)し, 自発放電と衝突して消滅する(B)ので逆行性の電位であることがわかる。ロードーシス反射を示す雌と出生直後去勢雌と同様, 反射を示さないアンドロゲン処置雌でも, 腹内側核から中心灰白質への投射ニューロン(黒点)は存在する。ただし, エストロゲンによる逆行性活動電位の誘発閾値の低下は, 反射を示す動物群に限られる。

も, 長い潜時やエストロゲン感受性細胞と核内受容体陽性細胞の分布の一致などから, 細胞核内受容体を介する作用の可能性が大きい。ただし, エストロゲンにはニューロンの興奮性に対する急性作用もあり, 古典的作用とこれらの急性作用の関連の有無が検討課題である。実際, Parsons ら<sup>34)</sup>は, 初回のエストロゲン投与から 48 時間の間をおいた 2 回の投与で, ロードーシス反射が発現することを示しており, 初回の投与により何らかの遺伝子活性化が起こり, 48 時間後のエストロゲン作用が急性的に作用を発揮する, 異なった過程の関与が考えられる。エストロゲン投与後, ロードーシス反射の発現と同様の時間経過で, 特定のニューロン群の興奮性に変化が現れること<sup>31)</sup>から, 軸索を含む興奮性が変化すると考えている。ニューロンの興奮性

は膜コンダクタンスの変化や, 外部からのリガンドがカルシウムや環状ヌクレオチドなどのセカンドメッセンジャーを介する細胞内情報伝達系に起こす変化によって決まる。なかでも  $K^+$ チャネルがニューロンの興奮性や活動を規定し, 突然変異による機能の喪失が発作的興奮を引き起こす現象は, ショウジョウバエを用いたチャネル遺伝子の初のクローニングの手掛かりとなったことで有名である<sup>35)</sup>。カルシウム感受性チャネルと電位依存性チャネルに大別される  $K^+$ チャネルのうち, コンダクタンスの大きい BK チャネルでは, エストロゲンが  $\beta 1$  サブユニットに直接結合し, 活性化を起こして血管平滑筋の弛緩を起こす<sup>36)</sup>。また, 海馬歯状回では BK チャネルの  $\beta 4$  サブユニットが再分極を抑えて活動電位の持続時間を延長し, 小コンダク



タンスのSKチャンネルを活性化してニューロンの放電頻度を下げる<sup>37)</sup>。内側視索前野ニューロンでは、SKチャンネルの $\alpha 1$  アドレナリン受容体による抑制がエストロゲンにより強化される<sup>38)</sup>。SKチャンネルは後過分極電位の発生を通じて、視床下部ニューロンにしばしばみられる phasic な放電活動を調節している。筆者らは最近、GnRHニューロンに発現するSKチャンネルが、このニューロンに特徴的な放電活動の制御に関わっていることを示した<sup>39)</sup>。他にもGタンパク共役性の内向き整流性 $K^+$ チャンネルをエストロゲンが活性化し、GABA<sub>B</sub>受容体や $\mu$ オピオイド受容体との共役を抑制するという報告がある<sup>38)</sup>。最近、7回膜貫通型のGタンパク共役型のオーファン受容体であるGPR30がエストロゲン受容体であって、これらの急性的作用を介する可能性が示されている<sup>40,41)</sup>。急性的作用と慢性的作用の橋渡しには、エストロゲンによる子宮筋での $K^+$ チャンネル mRNA の新規合成<sup>42)</sup>や、血管内皮細胞におけるBKチャンネルの $\alpha$ サブユニットの合成促進<sup>36)</sup>が関わっているのかも知れない。エストロゲンの結合部位とされる $\beta$ サブユニットの合成にはエストロゲンは無効で、視床下部、内側視索前野、扁桃体あるいは下垂体でも作用はみられないといわれてきたが<sup>43)</sup>、筆者らは最近、マウスGnRHニューロンの株細胞であるGT1-7細胞を用いて、エストロゲン受容体 $\beta$ を介するBKチャンネルの増加を見出した<sup>44)</sup>。エストロゲンによるニューロンの興奮性の部位特異的な制御<sup>45)</sup>、ひいては行動の制御をチャンネルのレベルで説明できるようになるのもさほど遠い未来の話ではあるまい。

### おわりに

脳の性分化の臨界期における性ホルモンの作用は、行動やニューロンの電気生理学的性質にとどまらず、脳の形態にも及ぶ。本稿は行動と神経の電気的性質にみられる性差の話題に限ったので、脳の形態にみられる性差と機能の関連については別稿<sup>46)</sup>を参照されたい。

### 文 献

- 1) Arnold AP, Gorski RA : Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 7 : 413-442, 1984
- 2) de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E : Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 : 10972-10976, 2003
- 3) Seminara SB, Messager S, Chatzidakis EE, Thresher RR,

- Acierno JS Jr, Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwino KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MB, Crowley WF Jr, Aparicio SA, Colledge WH : The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 349 : 1614-1627, 2003
- 4) Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M : Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 411 : 613-617, 2001
- 5) Pfaff DW, Sakuma Y, Kow L-M, Lee AWL, Easton A : Hormonal, neural, and genomic mechanisms for female reproductive behaviors, motivation, and arousal. In Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*, 3rd Ed, ed by JD Neill, Elsevier, New York, 2006
- 6) Baulieu EE, Robel P, Schumacher M : Neurosteroids : Beginning of the story. *Int Rev Neurobiol* 46 : 1-32, 2001
- 7) Carruth LL, Reisert I, Arnold AP : Sex chromosome genes directly affect brain sexual differentiation. *Nat Neurosci* 5 : 933-934, 2002
- 8) Barsoum I, Yao HH : The road to maleness : From testis to Wolffian duct. *Trends Endocrinol Metab* 17 : 223-228, 2006
- 9) O'Shaughnessy PJ, Baker P, Sohnius U, Haavisto AM, Charlton HM, Huhtaniemi I : Fetal development of Leydig cell activity in the mouse is independent of pituitary gonadotroph function. *Endocrinology* 139 : 1141-1146, 1998
- 10) Lephart ED, Lunda TD, Horvath TL : Brain androgen and progesterone metabolizing enzymes : biosynthesis, distribution and function. *Brain Res Rev* 37 : 25-37, 2001
- 11) Sato T, Matsumoto T, Kawano H, Watanabe T, Uematsu Y, Sekine K, Fukuda T, Aihara K, Krust A, Yamada T, Nakamichi Y, Yamamoto Y, Nakamura T, Yoshimura K, Yoshizawa T, Metzger D, Chambon P, Kato S : Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101 : 1673-1678, 2004
- 12) Legan SJ, Karsch FJ : A daily signal for the LH surge in the rat. *Endocrinology* 96 : 57-62, 1975
- 13) Horvath TL, Garcia-Segura LM, Naftolin F : Lack of gonadotropin-positive feedback in the male rat is associated with lack of estrogen-induced synaptic plasticity in the arcuate nucleus. *Neuroendocrinology* 65 : 136-140, 1997
- 14) Orikasa C, Kondo Y, Hayashi S, McEwen BS, Sakuma Y : Sexually dimorphic expression of estrogen receptor  $\beta$  in the anteroventral periventricular nucleus of the rat preoptic area : Implication in luteinizing hormone surge. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 : 3306-3311, 2002
- 15) Ohnishi H, Kondo Y, Sakuma Y : Oestrogen-induced vigorous mounting in female rats carrying hypothalamic knife cuts. *J Neuroendocrinol* 15 : 602-606, 2003

- 16) Davis PG, McEwen BS, Pfaff DW : Localized behavioral effects of tritiated estradiol implants in the ventromedial hypothalamus of female rats. *Endocrinology* 104 : 898-903, 1979
- 17) Ogawa S, Eng V, Taylor J, Lubahn DB, Korach KS, Pfaff DW : Roles of estrogen receptor- $\alpha$  gene expression in reproduction-related behaviors in female mice. *Endocrinology* 139 : 5070-5081, 1998
- 18) Orikasa C, Mizuno K, Sakuma Y, Hayashi S : Exogenous estrogen acts differently on production of estrogen receptor in the preoptic area and the mediobasal hypothalamic nuclei in the newborn rat. *Neurosci Res* 25 : 247-254, 1996
- 19) Sakuma Y : Estrogen-induced changes in the neural impulse flow from the female rat preoptic region. *Horm Behav* 28 : 438-444, 1994
- 20) Sakuma Y : Differential control of proceptive and receptive components of female rat sexual behavior by the preoptic area. *Jpn J Physiol* 45 : 211-228, 1995
- 21) Takeo T, Chiba Y, Sakuma Y : Suppression of the lordosis reflex of female rats by efferents of the medial preoptic area. *Physiol Behav* 53 : 831-838, 1993
- 22) Hoshina Y, Takeo T, Nakano K, Sato T, Sakuma Y : Axon-sparing lesion of the preoptic area enhances receptivity and diminishes proceptivity among components of female rat sexual behavior. *Behav Brain Res* 61 : 197-204, 1994
- 23) Hasegawa T, Sakuma Y : Developmental effect of testosterone on estrogen sensitivity of the rat preoptic neurons with axons to the ventral tegmental area. *Brain Res* 611 : 1-6, 1993
- 24) Sakamoto Y, Suga S, Sakuma Y : Estrogen-sensitive neurons in the female rat ventral tegmental area : A dual route for the hormone action. *J Neurophysiol* 70 : 1469-1475, 1993
- 25) Arendash GW, Gorski RA : Suppression of lordotic responsiveness in the female rat during mesencephalic electrical stimulation. *Pharmacol Biochem Behav* 19 : 351-357, 1983
- 26) Hasegawa T, Takeo T, Akitsu H, Hoshina Y, Sakuma Y : Interruption of the lordosis reflex of female rats by ventral midbrain stimulation. *Physiol Behav* 50 : 1033-1038, 1991
- 27) Kalen P, Skagerberg G, Lindvall O : Projections from the ventral tegmental area and mesencephalic raphe to the dorsal raphe nucleus in the rat. Evidence for a minor dopaminergic component. *Exp Brain Res* 73 : 69-77, 1988
- 28) Yamanouchi K, Arai Y : Possible inhibitory role of the dorsal inputs to the preoptic area and hypothalamus in regulating female sexual behavior in the female rat. *Brain Res* 127 : 296-301, 1977
- 29) Hennessey AC, Wallen K, Edwards DA : Preoptic lesions increase the display of lordosis by male rats. *Brain Res* 370 : 21-28, 1986
- 30) Sakuma Y : Influences of neonatal gonadectomy or androgen exposure on the sexual differentiation of the rat ventromedial hypothalamus. *J Physiol* 349 : 273-286, 1984
- 31) Tashiro S, Kondo Y, Sakuma Y : Temporal coincidence between the excitation of ventromedial hypothalamic efferents and the induction of lordosis reflex in ovariectomized estrogen-primed rats. *Endocr J* 45 : 519-528, 1998
- 32) Edwards DA, Pfeifle JK : Hypothalamic and midbrain control of sexual receptivity in the female rat. *Physiol Behav* 26 : 1061-1067, 1981
- 33) Sakuma Y, Akaishi T : Cell size, projection path, and localization of estrogen-sensitive neurons in the rat ventromedial hypothalamus. *J Neurophysiol* 57 : 1148-1159, 1987
- 34) Parsons B, McEwen BS, Pfaff DW : A discontinuous schedule of estradiol treatment is sufficient to activate progesterone-facilitated feminine sexual behavior and to increase cytosol receptors for progestins in the hypothalamus of the rat. *Endocrinology* 110 : 613-619, 1982
- 35) Laine M, Papazian DM, Roux B : Critical assessment of a proposed model of Shaker. *FEBS Lett* 564 : 257-263, 2004
- 36) Nadal A, Diaz M, Valverde MA : The estrogen trinity : Membrane, cytosolic, and nuclear effects. *News Physiol Sci* 16 : 251-255, 2001
- 37) Brenner R, Chen QH, Vilaythong A, Toney GM, Noebels JL, Aldrich RW : BK channel  $\beta$ 4 subunit reduces dentate gyrus excitability and protects against temporal lobe seizures. *Nat Neurosci* 8 : 1752-1759, 2005
- 38) Kelly MJ, Qiu J, Ronnekleiv OK : Estrogen modulation of G-protein-coupled receptor activation of potassium channels in the central nervous system. *Ann N Y Acad Sci* 1007 : 6-16, 2003
- 39) Kato M, Tanaka N, Usui S, Sakuma Y : The SK channel blocker apamin inhibits slow afterhyperpolarization currents in rat gonadotropin-releasing hormone neurones. *J Physiol* 574 : 431-442, 2006
- 40) Filardo EJ, Thomas P : GPR30 : A seven-transmembrane-spanning estrogen receptor that triggers EGF release. *Trends Endocrinol Metab* 16 : 362-367, 2005
- 41) Revankar CM, Cimino DE, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER : A transmembrane intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science* 307 : 1625-1630, 2005
- 42) Pragnell M, Snay KJ, Trimmer JS, MacLusky NJ, Naftolin F, Kaczmarek LK, Boyle MB : Estrogen induction of a small, putative  $K^+$  channel mRNA in rat uterus. *Neuron* 4 : 807-812, 1990
- 43) Jamali K, Naylor BR, Kelly MJ, Ronnekleiv OK : Effect of  $17\beta$ -estradiol on mRNA expression of large-conductance, voltage-dependent, and calcium-activated potassium channel  $\alpha$  and  $\beta$  subunits in guinea pig. *Endocrine* 20 : 227-237, 2003
- 44) Bosch MA, Kelly MJ, Ronnekleiv OK : Distribution, neuronal colocalization, and  $17\beta$ - $E_2$  modulation of small

- conductance calcium-activated K<sup>+</sup> channel (SK3) mRNA in the guinea pig brain. *Endocrinology* 143 : 1097-1107, 2002
- 45) Nishimura I, Kato M, Sakuma Y : Estrogen augments BK currents in GnRH neuronal cell line GT1-7 by acting through estrogen receptor  $\beta$ . *Jpn Neurosci Soc Program* 29 : H135, 2006
- 46) 佐久間康夫 : 脳の構築に見る雌雄差. *細胞工学* 25 : 383-387, 2006

**Abstract**

Brain sex difference through actions of steroid hormones

*Yasuo Sakuma*

from

*Department of Physiology, Nippon Medical School, 1-1-5 Sendagi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8602, Japan.*

In the rat, the most common animal model for the study of brain sexual dimorphism, testosterone accounts for most, if not all, of the known sex differences. Testosterone masculinizes the brain at a particular stage of development, and establishes male brain morphology and functional pattern in behavior and reproductive endocrinology. Testosterone is aromatized in the rat brain to form estrogens, and masculinization is accomplished via the activation of estrogen receptors in several structures. Although estrogen receptor is indispensable for the masculinization of the brain, recent observations suggest involvement of androgen receptors in masculinization of certain brain morphology and functions. In each sexually dimorphic region, more work is needed to determine specific cellular and molecular events which culminate in the sex difference. Neuronal death, migration, neurogenesis will contribute to brain sexual dimorphism. Whether early hormone action is also at work in the human brain is attracting much interest. Anecdotal evidence shows that early activation of androgen receptor masculinizes the human brain.

*(Received : September 15, 2006)*