S3Y52

小脳プルキンエ細胞におけるニューロステロイドのシナプス形成誘導作用と内分泌攪乱化学物質の影響

○筒井 和義（広島大・総合科学・脳科学）

高次情報中枢である脳は末梢内分泌腺が合成するステロイドの標的器官として捉えられてきたが、最近の研究により、脳も独自にコレステロールをもとにステロイドを合成していることが明らかとなった。この新しい概念の脳分子は、末梢内分泌腺がつくる従来の「古典的ステロイド」と区別して、「ニューロステロイド」と呼ぶ。ニューロステロイドの作用を解析するには、脳のニューロステロイド合成細胞を明らかにする必要があった。我々は、可塑性シナプスを有するニューロンとして知られる小脳のプルキンエ細胞が活発にニューロステロイドを合成することを見だし、ニューロンによるニューロステロイド合成を証明した。プルキンエ細胞が脳の代表的ニューロステロイド合成細胞であることは脊椎動物に一般化される重要な発見である。プルキンエ細胞では特定のニューロステロイドが時期特異的に合成されており、ニューロステロイドの作用を解析する優れた細胞モデルとなった。小脳皮質が形成される新生期にはプルキンエ細胞のプロゲステロンとエストラジオールの合成が共に高まる。これらのニューロステロイドは、プルキンエ細胞に発現するプロゲステロン受容体とエストロゲン受容体を介したゲノミック作用により、プルキンエ細胞の樹状突起の伸長とシナプス形成を誘導することが明らかになった。このニューロステロイドのゲノミック作用により、新生期の小脳では、神経回路網の構築が促進されると考えられる。さらに、エストロゲン様作用を有する内分泌攪乱化学物質であるオクチルフェノールとビスフェノール A にも、エストラジオールと同様に、エストロゲン受容体を介した作用によりプルキンエ細胞の発達を促進する作用があることが明らかになった。

K. Tsutsui : Synaptogenesis in response to neurosteroids and endocrine disrupting chemicals in the cerebellar Purkinje neuron

S3Y54

女性ホルモンと環境ホルモンによる海馬神経伝達のモジュレーション

○川戸 佳、高田 則雄、向井 秀夫、北条 泰嗣、木本 哲也（東大院・総合文化・広域科学専攻・CREST）

我々の脳は、環境によって形作られる「環境脳」で、環境からの入力で日々神経回路は変化している。環境ホルモンは、この環境攪乱入力のひとつである。我々は、環境ホルモンが擬似女性ホルモンであることから、脳の女性ホルモン合成経路と作用経路に影響を与えることで、記憶学習・精神を攪乱する、様子を解析してきた。記憶学習の中心である海馬脳内ではチトクロム P450 系がニューロステロイド（女性・男性ホルモンなど）を合成する。女性ホルモンは神経シナプスに存在するエストロゲン受容体を經由して、数分で神経伝達（長期増強など）に急性的に作用する。環境ホルモン（ビスフェノール、DES など）も、同じ受容体を經由して数分で効果を発揮する。この、従来知られている核受容体を經由する慢性型の作用ではなく、神経シナプス（膜）に存在する受容体を經由して、数分でグルタミン酸受容体をモジュレートする急性効果は、全く新しいステロイドホルモン作用として新しい分野を開くものである。神経シナプスに存在するエストロゲン受容体や P450 酵素は、海馬スライスの組織染色や免疫抗体電子顕微鏡解析によって、局在を特定した。mRNA も同定している。

S. Kawato, N. Takata, Y. Hojo, T. Kimoto : Modulation of synaptic plasticity of hippocampal neurons by estrogen and endocrine disrupters

S3Y53

環境ホルモンが神経細胞 GT1 の Ca²⁺濃度に及ぼす影響

○太田 善浩、関口 真理子、千代 智子（東農工大・工・生命）

ステロイドや環境ホルモンが GnRH ニューロンである GT1-7 の細胞内 Ca²⁺ 濃度に及ぼす影響を検討するため、GT1-7 にプロゲステロン (PROG) あるいはトルブチルスズ (tri-n-butyltin, TBT) を添加し、その影響を Indo-1 を用いた単一細胞のカルシウムイメージングで測定した。PROG と TBT 添加の影響は、2 種類に分けることができた。1 つは、添加後に速やかに観察される Ca²⁺ 濃度上昇であり、もう一つは長時間（72 時間）のインキュベーション後に観察される Ca²⁺ 濃度上昇である。添加後速やかに生じる Ca²⁺ 濃度上昇は、PROG は 10 μM、TBT は 5 μM と高濃度で添加したときに観察された。Ca²⁺ 濃度の上昇は PROG の場合約 40% の細胞で観察されたのに対し、TBT の場合はほぼ全ての細胞で認められた。また、PROG が細胞内部に入らないように BSA と結合させた PROG-BSA を PROG 濃度が 10 μM になるように添加した際にも、同様に細胞内 Ca²⁺ 濃度上昇が観察できた。これらのことから、少なくとも PROG は細胞表面に作用して細胞内 Ca²⁺ 濃度を上昇させていることがわかった。次に PROG と TBT を 100 nM の濃度で添加した。添加直後には細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇は認められなかったが、72 時間のインキュベーション後には細胞内 Ca²⁺ 濃度は 200nM から 250nM 程度に上昇していた。この上昇に伴って、細胞内 Ca²⁺ 濃度の自発的変動の振幅も増加していた。また、どちらの物質とインキュベーションした場合でも、72 時間後には GABA による細胞内 Ca²⁺ 濃度の上昇は優位に抑制された。PROG と TBT の作用は細胞内 Ca²⁺ 濃度への影響を見る限り、結果として似ている。もしかしたら、TBT は PROG が生理的に作用する経路に作用するのかもしれない。

Y. Ohta, M. Sekiguchi and T. Chiyo : Effects of endocrine disrupters on intracellular Ca²⁺ level of GT1

S3Y55

女性ホルモンの神経保護作用を含む多様な神経生理作用

○原田 信広（藤田保衛大・医学部・生化学）

エストロゲンは従来、女性ホルモンとして生殖生理に関与するものと考えられてきた。しかし最近の研究で、エストロゲンは男女を問わず種々の末梢組織で多様な生理機能に関わっており、特に脳においては脳の性分化・性行動制御、電気生理学的制御、神経保護・栄養因子的な役割など様々な生理作用が報告されてきている。脳・神経系に対する多様なエストロゲン作用を解析するために、エストロゲン合成酵素（アロマターゼ）遺伝子を破壊した (ArKO) マウスを作成して、その神経生理作用を解析した。得られた ArKO マウスは完全にエストロゲンを消失しており、ArKO 雄では雄型性行動であるマウント、ペニス挿入、射精の低下、消失が認められた。性的対象に対する認識にも異常が認められ、ArKO 雄マウスは性的対象の雌マウスに対して激しい攻撃行動を示す一方、性的競争相手の雄マウスに対する攻撃行動は減少していた。また高頻度に子殺し行動が観察された。同様に ArKO 成熟雌マウスでも、雌型性行動であるロードシス行動の消失及び幼仔に対する母性行動の低下が観察された。エストロゲンは性行動・生殖行動に関する脳の性分化過程に不可欠であることが示唆された。エストロゲンはアルツハイマー型痴呆症を抑制することが疫学的に知られている。そこで神経毒作用を持つカイニン酸を低用量投与後、海馬・歯状回の神経細胞に対する細胞障害について解析した。エストロゲンが供給されている正常の海馬細胞は細胞毒性を示さない用量でも ArKO マウスや去勢、アロマターゼ阻害剤投与によりエストロゲン欠乏となった海馬では細胞障害が生じ、エストロゲン補充により回復した。また実験的脳梗塞では梗塞部位周辺でアロマターゼの発現が観察され、脳内エストロゲンが神経細胞障害に対して神経保護・栄養因子として機能している可能性を示した。

N.Harada : Diverse neurophysiological functions including neuroprotective action of estrogen