1P241

ラット海馬神経細胞における脳ステロイド合成の解析

○北條 泰嗣^{1,2}、中嶋 浩平^{1,3}、中西 広典^{3,4}、石井 寛高^{3,4}、木本 哲也^{1,3}、川戸 佳^{1,2,3,4} (1 東大院・総合文化・広域科学、²MEXT、³CREST・JST、⁴東大院・理学系・物理)

記憶・学習の中核である海馬は、神経細胞においてステロイドホルモンを合成する。このステロイドを脳ステロイドと呼ぶ。これまでに新生期(10日齢)と成獣(12週齢)のオスラット海馬のいずれにも(1)DHEA→アンドロステジオール(ADiol)→テストステロン→エストラジオール(女性ホルモン, E2)(2)テストステロン→ジヒドロテストステロン(男性ホルモン, DHT)→3 α アンドロスタンジオールという合成経路が神経細胞に存在することを証明した。エストラジオールは、12週齢オスラットの海馬神経細胞のスパイン密度を変化させる(CA1領域では増加、CA3領域では減少)ことが、川戸研究室の釣木沢らによって明らかにされている(本学会発表)。このような作用を引き起こすのに十分な量のエストラジオールを海馬が合成していることを証明するために、以下の実験を行なった。12週齢オスラットから海馬・血液を採取し、質量分析法(LC-MS/MS)を用いて、そこに含まれるエストラジオール・テストステロン・ジヒドロテストステロンの量を定量した。その結果、いずれのステロイドも血液中よりも海馬に圧倒的に高い濃度で存在した。精巣を摘出して、末梢からのステロイド供給を断ち切った状態においても、海馬では、エストラジオールが約6nM、テストステロンが約14nM存在した。この量は、上述した神経細胞のスパイン密度を変化させるのに十分な量である。以上より、海馬で合成されたエストラジオールが、合成された付近の神経細胞のシナプスに局所的に作用する機構が示唆される。

Y.Hojo, K.Nakajima, H.Nakanishi, H.Ishii, T.Kimoto and S.Kawato : Synthesis of Brain Steroids in Rat Hippocampal Neurons.

1P243

グルコルチコイド受容体を介した海馬神経スパインの急性的形態変化

○小松崎 良将^{1,3}、村上 元^{2,3}、木本 哲也^{2,3}、川戸 佳^{2,3} (1 日大・文理・物理生命システム、²東大院・総合文化・広域科学、³CREST・JST)

記憶学習の中核である海馬神経細胞の樹状突起上には数多くのスパイン(シナプス後細胞)があり、記憶の貯蔵に伴いスパインの形態変化が起きる。シナプス伝達の長期増強に伴うスパインの形態変化が記憶能に関与していると考えられる。海馬はストレスの最大の標的であるが、これまで、ストレスステロイドcorticosterone (CORT)が神経細胞の形態変化に与える影響を調べた研究は、数日もしくは数週間といった長期的な作用を見たものがほとんどである。我々の研究で、ストレスホルモンであるCORTとグルコルチコイド受容体(GR)の選択的アゴニストであるDexamethasone (DEX)が、ラット海馬のCA1錐体細胞でスパイン密度の上昇(40~50%の上昇)と形態変化を急性的(1時間程度)に引き起こすことがわかった。これらのストレスホルモンの作用経路を特定するために阻害実験を行った。GRの選択的アンタゴニストであるRU-486を同時投与するとその効果が阻害された。また、NMDA受容体の阻害剤、MK-801でもそれらの効果が抑制された。これらの結果から、ストレスホルモンがスパイン上昇を引き起こす作用経路は、GR、NMDA受容体を介したものであることが明らかになった。一方、cycloheximideを同時投与したときスパイン上昇効果は抑制されなかった。DEXが海馬神経スパインの形態変化を引き起こす作用は、遺伝子転写を介さないnon-genomic効果であることが示唆された。

Y. Komatsuzaki, G. Murakami, T. Kimoto and S. Kawato : Acute morphological changes of hippocampal dendritic spine mediated by glucocorticoid receptor.

1P242

脳海馬における女性ホルモンとストレスホルモンによる神経伝達モデュレーション

○大石 悠貴^{1,2}、北條 泰嗣²、川戸 佳^{2,3} (1 東大院・理学系、²CREST・JST、³東大院・総合文化)

副腎皮質ホルモンの一種であるストレスホルモンは副腎で合成されるステロイドホルモンであり、ストレス状態時に過剰に分泌される。しかし濃度が数100nM程度になると記憶学習傷害の原因ともなり、特に海馬はストレスホルモンの受容体が他に比べ非常に多く発現していることからストレスの最大の標的と言われている。当研究室の専攻研究によって1 μ Mのストレスホルモンで海馬における長期増強が急性的に抑制されることが証明された。一方女性ホルモンは核内受容体を介した効果として、グルタミン酸や β アミロイド等による神経細胞傷害の保護効果をもつことが知られている。本研究では、ストレスを含み神経細胞傷害の保護効果をもつ女性ホルモンによるストレスホルモン効果の解消について検討し、その作用経路の解析を行なった。その結果、女性ホルモンによってストレスホルモンによる長期増強抑制効果が急性的に解消され、しかも女性ホルモンの受容体 α 、 β それぞれのアゴニストによって同様の効果が得られた。このことから女性ホルモンは従来から知られている古典的女性ホルモン受容体を介した効果によってストレスホルモン効果の解消をしていることがわかった。

Y Ooishi, Y Hojo, S Kawato : Modulation of neurotransmission at hippocampus by female hormone and stress hormone.

1P244

ラット脳海馬では脳ニューロステロイド合成酵素の発現は幼若期に顕著である。

○石井 寛高^{1,2,3}、園木 康大^{2,3}、古川 愛造^{3,4}、北條 泰嗣³、木本 哲也^{2,3}、川戸 佳^{1,2,3} (1 東大院・理学系・生物物理、²東大院・総合文化・生命環境、³CREST・JST、⁴国立病院機構久里浜アルコール症センター)

当研究室ではこれまで成獣の脳海馬を用いて脳ニューロステロイド研究を行い、記憶・学習の中核である海馬で一連の脳ニューロステロイド合成酵素が神経細胞で発現していること、そして、コレステロールから女性ホルモンであるエストロゲンや男性ホルモンであるアンドロゲン合成することを示してきた。今回、我々はこれら脳ニューロステロイドが成獣のみならず幼若期にも合成されうる可能性を検討する為、コレステロールからエストロゲン・アンドロゲンを合成する一連の合成酵素の発現を定量的解析をおこなった。試料として生後1、4、7、10、14日齢及び4、12週齢のオスラット海馬を使用し、一連のニューロステロイドステロイド合成酵素であるCyps (cytochrome P450s)、3 β -HSDs (3 β -水酸化ステロイド脱水素酵素)、17 β -HSDs (17 β -水酸化ステロイド脱水素酵素)、Srd5as (5 α -ステロイド還元酵素)及びAkr (aldo-keto還元酵素)の発現を半定量的RT-PCR/Southern blot assayにより解析した。解析の結果、性ステロイドであるアンドロゲン及びエストロゲンを合成する一連の酵素群は生後1-14日齢において顕著に発現量が多く、4-12週齢では減少する傾向が見られた。これらの結果から脳ニューロステロイド特に性ステロイドホルモンであるアンドロゲンやエストロゲンは成獣脳のみならず幼若期の脳で非常に重要であることが明らかにされた。

H.Ishii, Y.Sonoki, A.Furukawa, Y.Hojo, T.Kimoto, S.Kawato : mRNA analysis of enzymes for brain neurosteroid synthesis in the postnatal and adult rat hippocampus