周生期ラット脳内aromatase活性に及ぼす 母体ストレスの影響

帝京大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 森宏之教授)

村 瀬 隆 之

The Effects of Maternal Stress on the Aromatase Activity in the Perinatal Rat Brain

Takayuki MURASE

Department of Obstetrics and Gynecology, Teikyo University, School of Medicine, Tokyo

(Chief: Prof. Hiroyuki Mori)

To investigate the influences of intrauterine stress on the aromatase activity (AA) in the perinatal rat's brain, mothers underwent 3 grades of stress: saline injection stress(S), light-heat-mild restraint stress(M), and forced immobilization stress(F). The aromatase activities in the offsprings' hypothalamus and amygdala were determined on day 19 of gestation and on the 1st day after birth. In addition, serum levels of testosterone(T) and androstenedione(A) were measured.

In males, perinatal levels of T and A decreased with every grade of prenatal stress. In females, T levels were not affected by prenatal stress. Fetal hypothalamic AA on the 19th day of gestation decreased significantly only in male fetuses of group M and F. Neonatal hypothalamic AA on day 1 after birth decreased only in males of all stress groups. Meanwhile, fetal and neonatal AA in the amygdala did not show any changes in either sex. These results indicate that intrauterine stress depletes both serum androgens and hypothalamic AA in the critical period for sexual differentiation of the brain, which mainly regulates the hypothalamic sex differentiation.

Keywords: Prenatal stress, aromatase, brain, sexual differentiation, rat

緒 言

生殖行動および生殖機能を司る内分泌機能には明らかな性差が存在することが知られている。これらの性差は脳の機能の性差に由来すること、即ち脳の性分化にもとづいており、その分化機構としては発達段階の特定の時期における性ステロイドの脳への暴露が決定的な役割を果たすとされている¹⁾。ラットでは胎生後期から生後10日前後の間に脳の性分化の臨界期が存在し、この時期に脳が充分量のアンドロゲンに暴露されると本来雌型であった脳が雄性化され、成長後に雄型の行動や機能が導かれる²⁾。

1972年にWardは、ラットを用いて、妊娠中の母体に対する身体的、心理的ストレスが仔の脳の性分化を障害することを初めて報告した³⁾。その後の研究から出生前ストレスを経験した雄仔では、脳の性分化臨界期のアンドロゲンが低下し⁴⁾⁵⁾、そのため生長後各種の性特異的指標が脱雄性化すると考えられている。しかしながら、出生前ストレスが中枢性分化に及ぼす効果についてはいまだ解明すべき点が多い。周生期に雄の

精巣から分泌されるアンドロゲンは脳内の特定部位に存在するアロマターゼによりエストロゲンに変換されて性分化に決定的な作用をするとしてされており²⁾, したがってアンドロゲンのエストロゲンへの転換を検討することは, アンドロゲンの血中レベルを検討すると同じ程度に重要である。しかし出生前ストレスが周生期の脳内アロマターゼ活性を変化させるか否かについては, ほとんど知られていない。

以上の点から, 本研究では, 行動や内分泌機能の不可逆的偏位が報告されている3種の出生前ストレスを用いて, 周生期の脳内アロマターゼ活性に及ぼす出生前ストレスの影響を検討し, ストレスの強度や周生期のアンドロゲンレベルとの関連を考察した。

実験方法

1. ストレス負荷

Wistar系妊娠ラットを実験に用いた。動物は飼料, 水を自由摂取させL14:D10の明暗条件下SPF環境で個別飼育し, 妊娠14日目に無処置対照群 (C群) と3種の出生前ストレス群に割りつけた。

出生前ストレスは以下の手順に従って妊娠14-21日の連日施行した。Saline injection stress (S) 群は1日に3回 (0830, 1130, 1530h) 生理食塩水0.4mlを皮下注射した。Moderate stress (M) 群はWardらの方法³⁾に従い1日に3回 (0800, 1130, 1530h) 水銀灯点灯下 (4000lx, 40℃) に45分間拘束箱内に留置した。Forced stress (F) 群は1日2時間 (0900-1100h) 四肢および頭をストレスボード⁴⁾に固定した。

2. 屠殺および組織採取

妊娠19日目に母獣を断頭屠殺し可及的速やかに開腹, 胎仔を摘出し, 断頭して血液を採取した。胎仔の脳は視交叉前縁および乳頭体後縁の2箇所をcoronal cutし, 次いで視床下部両側縁でsagittal cut, 厚さ約1mmの組織片とし, 視床下部(mediobasal hypothalamus+preoptic area)と扁桃核を採取, 直ちにドライアイス上で凍結した。アロマターゼ活性測定まで脳組織は-80℃にて保存した。採取血液は血清分離を行ないステロイド測定まで-80℃にて保存した。

生後1日目の仔は断頭屠殺して採血し, 同様に視床下部と扁桃核を採取凍結した。その後母獣および雌雄新生仔の副腎を摘出し微量天秤にて重量を測定した。また雄新生仔についてはAno-genital distanceを計測した。

3. ステロイドホルモンの測定

母獣血清および胎仔血清はジエチルエーテルで抽出後, 乾固し, メタノールに溶解してCorticosterone (B) のラジオイムノアッセイ (RIA) に供した。使用した抗体はanti-B-3-CMO-BSA, トレーサーは[1, 2-³H(N)] -B (NEN Reserch Products) を用いた。B-F分離は硫酸塩析法で行なった。

胎仔血清は3-4匹分, 新生仔血清は1-2匹分をプールしジエチルエーテルで抽出後, 乾固し, メタノールに溶解してTestosterone (T), および Δ^4 -Androstenedione (A) のRIAに供した。T, AのRIAに使用した抗体はそれぞれanti-T-11 α -Succ-BSA, anti-A-11 α -Succ-BSAであり, トレーサーは[1, 2, 6, 7, 16, 17-³H(N)] -T, [1, 2, 6, 7-³H(N)] -A (NEN Reserch Products) を用いた。B-F分離は硫酸塩析法で行なった。

4. アロマターゼ活性の基礎的検討

胎生19日の胎仔視床下部, 扁桃核, 大脳皮質をプールしテフロンガラスホモジナイザーを用いて1mM EDTA, 10mM dithiothreitol (DTT) を含む67mMリン酸緩衝液中でホモジナイズし酵素源とした。

アロマターゼ活性は³H₂O法⁵⁾により測定した。³H-1 β - Δ^4 -Androstenedione (3056GBq/mmol, NEN Research Products), NADPH (Boehringer Mannheim) 0.5mg および1mM EDTAを含む67mMリン酸緩衝液(pH7.4) 0.15mlを試験管にとり, 脳ホモジネート0.1mlを加え, 37℃の温浴中に振盪しながらインキュ

パートした。一定時間経過後20% Trichloroacetic acid 0.25mlを加えて反応を停止させ、5% Charcoal懸濁液0.75mlを加え室温で30分攪拌した。その後、3000rpm, 10分間遠心し、上清を綿栓付きキャピラリーカラムで濾過し濾液の放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。脳組織の蛋白定量はBradford®の方法で行なった。

以上の方法による $^3\text{H}_2\text{O}$ 生成について、基質量、反応時間および酵素量依存性を検討するとともに、アロマトラーゼ阻害剤4-hydroxy-androstenedione (4-OH-A, Sigma) 添加時の酵素活性ならびに脳各部位の酵素活性を測定した。

5. 周生期脳内アロマトラーゼ活性の測定

胎仔、新生仔より採取した視床下部または扁桃核は個別に1mM EDTA, 10mM DTTを含む67mM リン酸緩衝液0.25ml中で超音波破碎した。脳ホモジネート0.1mlと基質50pM, NADPH0.5mgを含むリン酸緩衝液0.15mlを試験管にとり、37℃, 30分インキュベートし、前項の方法に従って生成 $^3\text{H}_2\text{O}$ を測定した。アロマトラーゼ活性はfmol estrogen/mg protein/hrで表記した。

6. 統計処理

すべての測定値は平均±標準誤差で示した。有意差の検定にはStudent's t-testを用いた。

結 果

1. 血中corticosterone

妊娠19日に測定した母獣血中BはC, S, M, F群の順で増加し、F群でC群の3倍程度の増加が認められた。同時期の胎仔血中Bはストレス群間で大差はないものの、C群に比べ有意に増加した。(Fig.1)

Fig. 1 Effects of maternal stress on serum corticosterone levels on 19th day of gestation
p<0.01, *p<0.001 vs C
a) M vs F(p<0.05)

2. 副腎重量

分娩翌日の母獣副腎重量はC, S, M, F群の順に増加し、出生前ストレス全群で対照群に比べ有意の増加を示した (Fig.2a)。一方、新生仔の副腎重量は出生前ストレス全群で有意に減少し、F群はS, M群より有意に低値で、著しい重量低下を示した (Fig.2b)。

3. ano-genital distance

雄新生仔のano-genital distanceはC, S, M, Fの順で短縮し、ストレス全群で対照群に比べ有意な短縮を示した (Fig.3)。また、F群のano-genital distanceはS, M群より有意に短かった。

Fig. 2 Effects of maternal stress on adrenal weight on 1st day after birth

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs C

a) S vs F ($p < 0.05$)

b) S vs F, M vs F ($p < 0.001$)

Fig. 3 Effects of maternal stress on ano-genital distance of male neonates on 1st day after birth

* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ vs C

S vs F ($p < 0.001$), M vs F ($p < 0.05$)

4. 周生期血中アンドロゲン

胎生19日の雄胎仔血中Tは、出生前ストレス群で低下傾向を示し、F群では対照群に比べ有意に低下した (Fig.4a)。また、生後1日の雄仔においても、血中Tは出生前ストレス全群で対照群に比べ有意に低下した (Fig.5)。雌胎仔血中Tは群間で差を認めなかった。

胎仔血中Aは、雌雄で出生前ストレスにより低下し、雄はM、F群、雌はF群が対照群に比べ有意な低値を示した (Fig.4b)。生後1日の仔血中Aは、雄ではC群：774.7 ± 66.5, S群：585.5 ± 134.6, M群：729.5 ± 86.7, F群：955.3 ± 130.4 pg/ml, 雌ではC群：480.5 ± 47.7, S群：596.4 ± 46.1, M群：533.8 ± 45.9, F群：412.3 ± 36.8 pg/mlであり、Aのストレスによる変動は認めなかった。

5. アロマターゼ活性の基礎的検討

基質濃度0.8-200nMの範囲で測定したアロマターゼ活性はFig.6aの如くであった。Lineweaver-Burk plotから求めた視床下部および扁桃核中アロマターゼのKmはそれぞれ26.7, 27.0nM, Vmaxはそれぞれ0.83, 0.66 pmol/mg protein/hrであった (Fig.6b)。これらの組織で生成するestrogen量は、実験条件の範囲内で、反応時間および酵素量に依存して直線的に増加した (Fig.7)。

アロマターゼ阻害剤の添加により、視床下部および扁桃核のアロマターゼ活性は著明に阻害された。4-OH-Aの50%阻害濃度は、視床下部46.8, 扁桃核56.2nMであった (Fig.8a)。

大脳皮質、視床下部、および扁桃核のアロマターゼ活性を比較すると、視床下部の活性が最も高く、扁桃核では視床下部における活性の43%, 大脳皮質では視床下部の1.6%と低値であった (Fig.8b)。

a) testosterone

b) Δ^4 -androstenedione

Fig. 4 Effects of maternal stress on serum androgen levels of fetuses on 19th day of gestation

* $p < 0.05$ vs C

b) male: S vs M ($p < 0.05$),
S vs F ($p < 0.01$)

Fig. 5 Effects of maternal stress on serum testosterone levels of neonates on 1st day after birth

** $p < 0.01$ vs C

Fig. 6 Kinetics of brain aromatase activity in fetuses on 19th day of gestation

Fig. 7 Brain aromatase activity in fetuses on 19th day of gestation
a) time dependency
b) tissue concentration

Fig. 8 Localization of aromatase activity in rat brain and effects of aromatase inhibitor on it in fetuses on 19th day of gestation
a) Effects of 4-OH-A
b) Aromatase activity in the rat brain

6. 周生期脳内アロマターゼ活性

対照群視床下部のアロマターゼ活性は胎生19日で雌雄ともに高く、生後1日では胎生19日の50-60%に活性が低下した。扁桃核では、胎生19日と生後1日で活性に差は認めなかった。両時期の対照群視床下部および扁桃核におけるアロマターゼ活性は、雄が雌より若干高値をとるが、いずれも統計的な性差は検出されなかった。

胎生19日の視床下部アロマターゼ活性は雄でC, S, M, Fの順に低下し、M, F群では対照雄に比べ有意に減少した。一方雌は出生前ストレスで若干低下するものの、統計的な有意差はみられなかった (Fig.9a)。胎生19日の扁桃核アロマターゼ活性は、雌雄とも群間に差はなく、出生前ストレスの効果は認めなかった (Fig.9b)。

生後1日の雄仔視床下部アロマターゼ活性は、出生前ストレス全群で対照雄に比べ有意に低下した。同日の雌仔視床下部アロマターゼ活性には出生前ストレスにともなう有意な変化を認めなかった (Fig.10a)。胎生19日と同様、扁桃核のアロマターゼ活性にストレスによる変化はみられなかった (Fig.10b)。

Fig. 9 Effects of maternal stress on aromatase activity in fetuses on 19th day of gestation
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs C

Fig. 10 Effects of maternal stress on aromatase activity in neonates on 1st day after birth
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs C

考 察

ラットにおける中枢の性分化は、出生前数日から生後約10日までのT濃度に依存して決定され⁹⁾、正常雄では、胎生18-19日に認められるTピーク¹⁰⁾および生後のT分泌¹¹⁾¹²⁾がともに脳の雄性化に寄与することが知られている。従来、出生前ストレスはこれら周生期のT分泌を抑制することにより、生長後、中枢の脱雄性化を導くと考えられてきた³⁾¹³⁾。今回用いた3種のストレスモデルは、母獣副腎重量の増加、並びに、母獣由来グルココルチコイドの増加による仔副腎重量の抑制効果の強度から判断して、 $S < M < F$ の順に強いと考えられるが、このうちSでは周生期Tレベルに関する情報は無いものの、生長後ごく軽度の雄性性行動の低下¹⁴⁾が、MおよびFでは、胎生後期から新生期にかけて雄仔Tの持続的な分泌抑制と成長後の雄性性行動の脱雄性化が報告されている³⁾⁴⁾⁵⁾。

今回測定した周生期の雄仔血中TおよびAの成績は過去の報告と同様に、出生前ストレスによるアンドロゲンの低下を示すものであった。最も強いストレスであるFでは、胎生19日と生後1日の血中Tは有意に低

下、胎生19日血中Aも有意に減少した。Mでは胎生期の低下は軽度であったが、新生期Tおよび胎生後期Aに有意な低下が見られ、Sでは新生期Tのみ有意に減少した。このように、周生期雄のアンドロゲンレベルはほぼストレスの強さに従って低下した。また、胎生期のアンドロゲン環境を反映すると考えられる新生期雄ano-genital distanceがC>S>M>Fの順で短縮した成績からも、同様に出生前ストレスの強度とアンドロゲン低下との関連性が伺えた。

ラットのアンドロゲン依存性分化の過程において、アロマトラーゼによるアンドロゲンからエストロゲンへの転換が必須であることは、周生期のアロマトラーゼ阻害剤または抗エストロゲン剤投与が雄ラットの性行動を脱雄性化、雌性化する事実によって明らかである²¹⁾⁵⁾。さらに、周生期においては脳以外でアロマトラーゼ活性(AA)はほとんど認められず、活性は生後の性行動やゴナドトロピン分泌を支配する間脳および辺縁系に局在すること¹⁶⁾、また、組織当りのAAは視床下部(MBH+POA)で胎生18-20日にピークを示し¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾、扁桃核では胎生後期から生後数日で高く¹⁹⁾²⁰⁾、ともに脳の性分化臨界期に成熟時の数倍に達することが報告されている。これらの成績は、いずれも、周生期の脳内AAが中枢の性分化と密接に関連し、重要な役割を果たすことを示している。本実験の無処置群で得られた脳内部位別AAの分布と出生前後の酵素活性の変化並びに酵素のKm値は過去の報告¹⁶⁾²⁰⁾²¹⁾と一致した。

本実験では各種の出生前ストレス負荷により雄仔視床下部AAは低下し、胎生19日ではストレスの強さに応じた変動が、生後1日ではストレス全群で有意な低下が認められた。一方、雌仔においては軽微な酵素活性の減少が見られるものの有意差は見られなかった。このように、視床下部AAは同時に測定した周生期Tの変化と類似の変動を示したが、扁桃核AAは出生前ストレスの影響を受けず一定レベルで推移した。Weiszらは、Mタイプの出生前ストレスによる胎生18-20日のT低下が雄仔のみで見られる²²⁾のに対し、視床下部+扁桃核のAAは雌雄同等に低下する¹⁷⁾ことから、ストレス下のAA調節にTは関与しないと結論した。両実験結果の相違が何に起因するかは不明であるが、彼らの報告ではアロマトラーゼのKm値は8nMであり、今回の結果および諸家の報告による20-30nM¹⁶⁾²⁰⁾²¹⁾と異なっている。従って、彼らのAA評価の方法に何らかの問題がある可能性も考えられる。

成熟ラットの視床下部AAはアンドロゲンリセプターを介してTによる調節を受ける²³⁾²⁴⁾が、周生期、特に胎生後期においてこのアンドロゲンによる調節機構が作動しているかについては定説をみていない。既に述べたWeiszらの成績の他に、血中Tに明らかな性差を認める胎生18-19日に組織当りのAAに有意な雌雄差はなく、雌の視床下部も高いAAを示す¹⁶⁾¹⁸⁾など、周生期のTによるAA調節に否定的な報告も多い。しかし、一方、周生期のAAは統計的有意差の有無によらず、全期間にわたって雄が雌に比べて高く、いくつかの報告では、生後数日の間で視床下部、扁桃核のAAに有意な性差が認められる¹⁸⁾¹⁹⁾。また、雌雄共にみられる胎生後期から幼若期にかけての視床下部AAの低下が、norepinephrine (NE)系の発達²⁵⁾または視床下部の内因的過程²⁶⁾など他の要因に支配されることも推定されている。さらに、周生期ラット間脳、辺縁系にアンドロゲンリセプターが存在する²⁷⁾ことが知られ、卵巢・副腎摘除ラットに移植した胎生17日の視床下部のAAがT投与で亢進すること²⁶⁾など、周生期TによるAAの調節を強く示唆する報告もある。今回の実験成績は、これらの報告と同じく、Tが周生期AAの調節因子の一つである可能性を支持する成績であった。

出生前ストレスによるAAの変動が扁桃核で認められないことは興味深い。Roselliらは、成熟ラットの神経核に含まれるAAを測定し、扁桃核のうちmedial amygdala (MA)の活性はTで亢進するが、cortical amygdala (CA)の活性はTの影響を受けないことを示した²⁸⁾²⁹⁾。今回測定した脳ブロックにはMA、CA両者が含まれるが、両者の発生時期の相違またはブロックの調製法によりCAが優勢であれば出生前ストレスによるT低下の影響は検出不能となる。しかし、扁桃核AAは全実験群で等しく雄がわずかに高い。従って、

扁桃核AAとTの解離はTに対する感受性の未熟に起因するのかもしれない。扁桃核AAは、出生後視床下部AAと比べて相対的に上昇し、生後5日前後に明らかな性差が出現する¹¹⁾ことから、主に出生後の中枢性分化に重要な役割を果たすと考えられている。

脳内AAの調節機構は多彩であり、アンドロゲンの他、カテコールアミン (CAs)³⁰⁾、cyclic AMP³¹⁾などの調節を受けることが知られている。ストレスは脳内CAs代謝を変化させるが、胎仔視床下部細胞の培養実験からNEに特異的なAA低下作用²⁹⁾が報告されている。出生前ストレスの急性負荷により、実際、胎仔視床下部NE含量が低下する³²⁾。しかし、本実験で認めたAA減少の程度は雄が雌に比べて強いが、一方、視床下部NEの減少に雌雄差はない³²⁾。また、新生期の脳内AAとCAsの局在に相関は認められず²⁵⁾、ストレス下のAA低下にNEが寄与する可能性については今後の検討を要すると思われる。

以上、今回の成績から、出生前ストレスは周生期の雄仔血中アンドロゲンレベルを減少させるのみならず、中枢性分化に重要な役割を果たす視床下部AAを抑制することが明らかになった。さらに、周生期のTと視床下部AAの間に相関がみられることから、ストレス下のAAの調節にTが関与することが推定された。このように、中枢の性分化臨界期においてaromatizable androgenとAAがともに減少することは、出生前ストレスによる生後の脳の脱雄性化を導く主要な原因と考えられた。

謝辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜った森宏之教授、故荒井清教授に深謝致します。また直接ご指導いただいた大川とみ講師に深謝致します。

文 献

- 1) Davidson JM, Levins S. Endocrine regulation of behavior. *Rev Physiol* 1972; 34: 375—408
- 2) McEwen BS, Lieberburg I, Chaptal C, Krey LC. Aromatization; important for sexual differentiation of the neonatal rat brain. *Horm Behav* 1977; 9: 249—63
- 3) Ward IL. Prenatal stress feminizes and demasculinizes the behavior of males. *Science* 1972; 175: 82—4
- 4) Stahl F, Götz F, Poppe I, Amendt P, Dörner G. Pre- and early postnatal testosterone levels in rat and human. In: Dörner G, Kawakami M, eds, *Hormone and Brain Development*. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press 1978; 99—109
- 5) Ohkawa T, Arai K, Okinaga S, Götz F, Stahl F, Dörner G. Tyrosine prevents the diminished male copulatory behavior in prenatally stressed male rats. In: Dörner G, McCann SM, Martini L, eds, *Systemic hormones, neurotransmitter and brain development*. Basel: Karger, 1986; 167—71
- 6) Repceková D, Mikulaj L. Plasma testosterone of rats subjected to immobilization stress and/or HCG administration. *Horm Res* 1977; 8: 51—7
- 7) Thompson EA, Siiteri PK. The involvement of human placental microsomal cytochrome P-450 in aromatization. *J Biol Chem* 1974; 249: 5373—8
- 8) Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248—54
- 9) Kincl FA, Pi AF, Maqueo M, Lasso LH, Oriol A, Dorfman RI. Inhibition of sexual development in male and female rats treated with various steroids at the age of five days. *Acta Endocrinol* 1965; 49: 193—206
- 10) Weisz J, Ward IL. Plasma testosterone and progesterone titers of pregnant rats, their male and female fetuses, and neonatal offspring. *Endocrinology* 1980; 106: 306—16
- 11) Corbier P, Kerdelhue CB, Picon R, Roffi J. Changes in testicular weight and serum gonadotropin and testosterone levels before, during, and after birth in the perinatal rat. *Endocrinology* 1979; 103: 1985—91
- 12) Pang SF, Caggiula AR, Gay VL, Goodman RL, Pang CSF. Serum concentration of testosterone, oestrogens, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in male and female rats during the critical period of neural sexual differentiation. *J Endocr* 1979; 80: 103—10
- 13) Rohde W, Ohkawa T, Götz F, Stahl F, Tönjes S, Takeshita S, Arakawa S, Kambegawa A, Arai K, Okinaga S, Dörner G. Sex-specific effects on the fetal neuroendocrine system during acute stress in late pregnancy of rat and the influence of a simultaneous treat-

- ment by tyrosine. *Exp Clin Endocrinol* 1989; 94: 23—42
- 14) Ward OB, Monaghan EP, Ward IL. Naltrexone blocks the effects of prenatal stress on sexual behavior differentiation in male rats. *Pharmacol Biochem Behav* 1986; 25: 573—6
 - 15) Takahashi Y, Yamanaka H, Akiyama I, Sakuma Y. Brain aromatase activity and behavioral consequences in the male rat treated in utero with 4-hydroxy-androstenedione. *Endocrinol Japon* 1989; 36: 29—36
 - 16) George FW, Ojeda SR. Changes in aromatase activity in rat brain during embryonic, neonatal, and infantile development. *Endocrinology* 1982; 111: 522—9
 - 17) Weisz J, Brown BL, Ward IL. Maternal stress decrease steroid aromatase activity in brains of male and female fetuses. *Neuroendocrinol* 1982; 35: 374—9
 - 18) 高橋康男, 山中英寿, 本間誠次郎: 中枢 aromatase の制御機構 (第2報) 中枢内 aromatase 活性の加令による変動および aromatase の脳内分布について. *日内分泌会誌* 1987; 63: 862—9
 - 19) Maclusky NJ, Philip A, Hurlburt C, Naftolin F. Estrogen formation in the developing rat brain: Sex differences in aromatase activity during early post-natal life. *Psychoneuroendocrinology*. 1985; 10: 335—61
 - 20) Tobet SA, Baum MJ, Tang HB, Shim JH, Canick JA. Aromatase activity in the perinatal rat forebrain: Effect of age, sex and intrauterine position. *Dev Brain Res* 1985; 23: 171—8
 - 21) 竹沢 豊, 深堀能立, 本間誠次郎: 中枢における estrogen 生成の証明とその酵素の性状. *日内分泌会誌* 1991; 67: 96—110
 - 22) Ward IL, Weisz J. Differential effects of maternal stress on circulating levels of corticosterone, progesterone, and testosterone in male and female rat fetuses and their mothers. *Endocrinology* 1984; 114: 1635—44
 - 23) Roselli CE, Ellinwood WE, Resko JA. Regulation of brain aromatase activity in rats. *Endocrinology* 1984; 114: 192—200
 - 24) 高橋康男, 深堀能立, 摘木 豊, 山中英寿: 中枢内 aromatase の制御機構 (第1報) 視床下部 aromatase 活性の androgen 投与による影響. *日内分泌会誌* 1986; 62: 1212—21
 - 25) Canick JA, Tobet SA, Baum MJ, Vaccaro DE, Ryan KJ, Leeman SE, Fox TO. Studies on the role of catecholamines in the regulation of the developmental pattern of hypothalamic aromatase. *Steroids* 1987; 50: 509—20
 - 26) Paden CM, Roselli CE. Modulation of aromatase activity by testosterone in transplants of fetal rat hypothalamus-preoptic area. *Dev Brain Res* 1987; 33: 127—33
 - 27) Lieberburg I, Maclusky NJ, Macwen BS. Androgen receptor in the perinatal rat brain. *Brain Res* 1980; 196: 125—38
 - 28) Roselli CE, Horton LE, Resko JA. Distribution and regulation of aromatase activity in the rat hypothalamus and limbic system. *Endocrinology* 1985; 117: 2471—7
 - 29) Roselli CE, Salisbury RL, Resko JA. Genetic evidence for androgen-dependent and independent control of aromatase activity in the rat brain. *Endocrinology* 1987; 121: 2205—10
 - 30) Cardinali DP, Ritta MN, Gejman PV. Norepinephrine stimulates testosterone aromatization and inhibits 5α reduction via β -adrenoceptors in rat pineal gland. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1982; 28: 199—209
 - 31) Callard GV. Aromatization is cyclic AMP-dependent in cultured brain cells. *Brain Res* 1981; 204: 461—4
 - 32) Ohkawa T, Takeshita S, Murase T, Okinaga S, Arai K. The effect of an acute stress in late pregnancy on hypothalamic catecholamines of the rat fetus. *Acta Obstet Gynecol Japonica* 1991; 43: 783—7

(受付日: '93. 7.30)

(採択日: '93.11.11)