社会行動の調節を司るホルモンの働き

小川園子¹⁾

Hormonal Regulation of Social Behavior

SONOKO OGAWA¹⁾

Abstract Gonadal steroid hormones, androgen and estrogen, regulate the expression of sex-typical behavior through organizational and activational action. To understand the biological basis of animal behavior, particularly social behavior, it is very important to focus on the life-long action of various hormones in the brain. In this article, we first summarize basic concepts in behavioral neuroendocrinology. We then overview our up-to-date findings in mice on the neuroendocrine basis of social behaviors such as sex and aggression, and effects of environmental and experiential manipulations during perinatal and pubertal periods. Based on these findings, we address the significance to study hormonal actions on formation, maintenance and modification of social bonding in both animals and humans, and propose an emerging field of translational social neuroendocrinology.

Key words : Estrogen, Androgen, Life-Long Action of Steroid Hormones, Social Bonding, Adeno-Associated Virus Mediated RNAi, Knockout Mice, Translational Social Neuroendocrinology

はじめに

自身を取り巻く他個体（人）と行動的、情動的関係性を築くこと、すなわち「社会性の形成と維持」は、ヒトを含め多くの動物種にとって根幹的な問題であり、その神経生物学的基盤を理解することは極めて重要である。個体間関係の形成と維持を支えるのは、個体間にみられる対他個体行動、すなわち「社会行動」である。社会行動の神経基盤については、現在、様々な視点や専門領域からの研究が行われているが、我々は、個体の一生において時期特異的、性特異的、脳領域特異的に働くホルモンの作用に着目した解析を進めている。本稿では、社会行動の表出を支える脳内機構がホルモンの働きによりどのように構築され制御されているのかについて、主に実験室マウスを用いて行っている我々の研究の成果と

今後の展開について、動物心理学会第72回大会チュートリアル講演の内容に基づき概説する。

1) 行動調節の基盤としてのホルモンの中枢作用

胎児期、新生児期、幼少期、思春期、成体期、老齢期、等の各発達段階においては、各々に特徴的なホルモンレベルの変動とそれに呼応する脳内ホルモン受容体の発現が見られる。内分泌系は、受精、出生、授乳、離乳、性成熟、交尾、出産、閉経といった、ヒトを含めたほ乳類の動物に共通するライフイベントの制御に中心的役割を果たしている。個体はその一生において、この様なライフイベントをめぐる、親子関係（子としての養育者との関係）、仲間関係、恋人関係、夫婦関係、親子関係（親としての子との関係）などの個体間関係を築き上げる。従っ

1) 筑波大学人間系行動神経内分泌学研究室
〒305-8577 茨城県つくば市天王台1-1-1
総合研究棟D409

連絡先：小川園子

E-mail: ogawa@kansei.tsukuba.ac.jp

1) Laboratory of Behavioral Neuroendocrinology,
University of Tsukuba
Corresponding author: SONOKO OGAWA

J-STAGE Advance Published Date: July 24, 2013.
doi: 10.2502/janip.63.1.7

て、これらの関係の樹立や維持を支える社会行動もまた、脳に働くホルモンの影響を大きく受けていると言える。ホルモンは、化学構造からステロイドホルモン、ペプチド（タンパク質）ホルモン、アミンホルモンに分けられる。我々は、主にステロイドホルモンの働きに着目し、ホルモン、ホルモン受容体、及びその転写制御産物を総合して脳内ホルモン機構として捉え、社会行動の制御に果たす役割についての解析を進めている。

ステロイドホルモンには、主に生殖腺から分泌されるアンドロゲン、エストロゲン、プロゲステイン（プロゲストーゲン）や主に副腎から分泌されるコルチコイドなどがある。これらのホルモンは、内分泌腺から分泌されたのち、末梢の標的器官に働いてさまざまな生理的作用を引き起こすと同時に、血流を通して脳に到達し神経細胞（一部はグリア細胞にも）に作用する。また、最近では、脳内で産生されるステロイドホルモン、すなわちニューロステロイドの存在も知られている。ステロイドホルモンは、通常、細胞膜を通過して神経細胞内に存在するそれぞれの受容体（アンドロゲン受容体、エストロゲン受容体等）に結合したのち、核内のDNAの特定の部位に作用して様々な遺伝子の転写制御に関わり、その結果として脳機能の調節が起こる（ステロイドホルモンの genomic action）。遺伝子発現の結果として産生されるタンパク質は多岐にわたり、行動の調節や脳の組織的構築等に関与している様々な物質、たとえばペプチドホルモンやその受容体、成長因子、脳内物質の合成・分解酵素等、がこれにあたる。従って、ステロイドホルモンが核内受容体への結合を介して、行動や脳機能をどのように制御しているのかを解析することは、行動神経内分泌学における中心的研究課題となっている。脳内のどの領域の、どの様な神経化学的特性をもつ細胞にステロイ

ドホルモンが働くのか、それによって発現が調節される遺伝子とは何か、ステロイドホルモンによる行動調節に雌雄差はあるのか、ストレスなど環境要因の変化によってステロイドホルモンが行動へ及ぼす効果がどの様に修飾されるのか、等々、行動の分子、生化学、組織、生理基盤に関わる幅広い研究が進められている。近年では、ステロイドホルモンが（ペプチドホルモンと同様）神経細胞の膜上に存在する受容体を介して働くことによって（non-genomic rapid action, membrane action）行動調節に関与していること（eg., Kelly & Ronnekleiv, 2008; Vasudevan & Pfaff, 2007）、また神経細胞ばかりでなくグリア細胞に存在するステロイドホルモン受容体も脳機能調節に関与していること（Garcia-Segura, Lorenz & DonCarlos, 2008; Johnson, Schneider, DonCarlos, Breedlove, & Jordan, 2012; Krebs-Kraft, Hill, Hillard & McCarthy, 2010）が明らかとなっている。従って、社会行動調節の基盤としてのホルモンの働きは複雑であり、多くの課題が未解決のまま残されていると言える。

2) 性に特徴的な行動の発現を支えるホルモンの働き

アンドロゲンやエストロゲンといった性ステロイドホルモンは、形成作用（organizational action）と活性作用（activational action）を通して脳機能や行動の制御を行っていることが知られている（Phoenix, Goy, Gerall, & Young, 1959; Wallen, 2009）。形成作用は、発達途上に脳組織の性特異的な構築に関わり、脳の性分化を決定づけるステロイドホルモンの働きである。一方、活性作用は、成長した脳に作用して、脳機能の生理学的、生化学的な調節や行動の発現の制御に関わるステロイドホルモンの働きを指す（図1）。ほ乳類の生殖性

Figure 1. Life-Long Action of Gonadal Steroids in the Regulation of Sex-Typical Behavior

分化においては、XX 性染色体を持つ雌が基本型 (default) であり、Y 染色体上の SRY 遺伝子の働きにより雄への性分化プロセスが引き起こされ、精巣が形成される。周生期の精巣からは多量のテストステロン (アンドロゲンの一種) が分泌され、一部は脳に到達して「雄型の脳組織」の構築、すなわち脳の雄性化を促す。少なくとも齧歯類においては、テストステロンのエストラジオール (エストロゲンの一種) への代謝変換 (芳香化) が雄性化過程に必須であることが知られている (図 2)。一方、精巣を持たずテストステロンが分泌されない雌では、基本型である「雌型の脳組織」が構築される。雌の卵巣は周生期には不活発な状態で、エストラジオールを分泌しないので、エストラジオールが脳の性分化に重要な役割を果たしている齧歯類においても、雌の脳組織が雄性化されることはない。性成熟後には、雄型の脳組織を持つ個体 (通常は、=雄) は、テストステロン等の雄性ホルモンに反応して雄型の性行動 (マウント等) を示し、雌型の脳組織を持つ個体 (通常は、=雌) は、エストラジオールやプロゲステロン (プロゲステロンの一種) 等の雌性ホルモンに反応して雌型の性行動 (ロードーシス) を示す。この様な、ステロイドホルモンの形成作用と活性作用による、性特異的な脳構造の発達と、それに基づく行動の性差発現は、行動神経内分泌学のセントラルドグマとなっている。胎仔期や新生仔期の雌にテストステロンを実験的に投与すると、成体期で雄型の行動が増加 (テストステロンに反応してマウントを示す) したり、雌型の行動の減少 (エストラジオールやプロゲステロンを投与してもロードーシスを示さない) が見られる。これを、各々、周生期のステロイドホルモンの雄性化および脱雌性化作用とよぶ (図 1)。同様に雄でも新生仔期に精巣を除去すると、成体期になって、雄型の行動が減少 (脱雄性化作用) したり、雌型の行動が増加 (雌性化作用) したりする。(注：行動神経内分泌学では、通常、雄性化・脱雄性化や雌性化・脱雌性化という用語は、ステロイドホルモンの形成作用にのみ用いる。成体期での卵巣切除後にテストステロンを投与した雌で

雄様の行動が生起しても、これを雄性化とはよばない。) この様に、周生期のステロイドホルモン環境に依存して、脳構造や行動がより雄的、あるいは、より雌的な特徴を持つようになることから、雄と雌の違いは連続軸上でのバリエーションとして捉えるべきであると言える。更に、後に詳しく述べる様に、最近の研究では、周生期 (perinatal period) と並んで、性成熟期 (pubertal period, 図 4 参照) に大きく変化するステロイドホルモンも形成作用を有し、性成熟後に見られる性特異的な行動の発現に関与していることが明らかとなっている。

3) ステロイドホルモンによる社会行動制御の脳内機序

我々は、性行動をはじめとして、攻撃行動、養育行動、さらには未知の個体と既知の個体を見分け記憶する社会的認知や他個体への関心や選好性 (social preference や sexual preference) 等の社会行動が、性ステロイドホルモンの作用によってどの様に制御されているのかについて、主にエストロゲン受容体の役割に着目して解析している。すでに述べた様に、テストステロンやエストラジオールは、神経細胞に局在するアンドロゲン受容体、エストロゲン受容体に各々結合し、genomic action を介して、性特異的な行動や脳機能の調節に重要な役割を果たしている。なかでも、雌の生殖や性行動の発現には、視床下部や辺縁系の諸領域に局在するエストロゲン受容体の活性化が不可欠である。更に、雄の性ホルモンであるテストステロンの一部は脳内でエストラジオールに代謝変換 (芳香化) されることから、テストステロンの形成作用や活性作用による雄の行動の制御に際しても、エストロゲン受容体の関与を無視できない (図 2)。

エストロゲン受容体には、少なくとも、アルファ (ER α) とベータ (ER β) の 2 種類があることが知られている。エストラジオールは、ER α と ER β に対してほぼ同程度の親和性を示すが、脳内での分布は、両者でかなり異なる。そこで、ER α と ER β の各々が担っている役割と、その脳内機構について、遺伝子欠損マウスや脳部位特異的に遺伝子の発現を操作した雌雄のマウスの行動解析を通して明らかとなった事実を紹介する。

(1) 雌マウスの社会行動を制御するステロイドホルモンの脳内作用機序

(a) 雌マウスの性行動の制御に果たすエストロゲン受容体の役割

雌マウスやラットでは、約 4 日間の周期で変動するエストラジオールやプロゲステロンが相乗的

Figure 2. Metabolic Pathways of Gonadal Steroid Hormones and Receptors Involved in their Action

に働いて、排卵および性行動（ロードーシス）の生起をコントロールしている。卵巣を除去した雌にこの様な性周期に伴う性ステロイドホルモンの変化にならって、エストラジオール（行動テストの48時間前）とプロゲステロン（行動テストの4～6時間前）を投与すると、雄のマウントに対してロードーシスを示す。この過程には、ロードーシスの発現を制御している神経回路(Pfaff, 1980)の最も上位に位置する視床下部腹内側核でのERを介したエストロゲンの genomic action により、プロゲステロン受容体 (PR) が惹起されることが極めて重要であることがわかっている。ER α の遺伝子欠損マウス（以下、 α ERKO ; Lubahn, Moyer, Golding, Couse, Korach, & Smithies, 1993）では、野生型マウスに比べて、エストラジオール濃度が約3倍、テストステロン濃度が約10倍程度になっており (Couse & Korach, 1999 ; Tsukahara, Tsuda, Kurihara, Kato, Kuroda, Nakata, Xiao, Nagata, Toda, & Ogawa, 2011), 性周期が見られず、性行動も示さない (Ogawa, Taylor, Lubahn, Korach, & Pfaff, 1996 ; 表1)。また、卵巣除去後にエストラジオールおよびプロゲステロンを投与しても、ロードーシスやそれに先立つ proceptive still posture を含め、性行動は全く見られない (Ogawa, Eng, Taylor, Lubahn, Korach, & Pfaff, 1998 ; 表1)。このことは、腹内側核には、ER α が高濃度で局在するのに対して、ER β を発現している細胞はごくわずかであるという組織学的知見 (Mitra, Hoskin, Yudkovitz, Pear, Wilkinson, Hayashi, Pfaff, Ogawa, Rohrer, Schaeffer, McEwen, & Alves, 2003 ; Shughrue, Lane, &

Merchenthaler, 1997) とあわせて、雌の性行動には、ER α が必須であることを示唆する。更に我々は、アデノ随伴ウイルス (adeno-associated virus, AAV) に ER α に相補的な配列を持つ RNA を組み込んで腹内側核に局所的に投与することにより、ER α の遺伝子発現を抑制（ノックダウン）することを試みた (Musatov, Chen, Pfaff, Kaplitt, & Ogawa, 2006 ; 図3-(A))。このようなマウスでは、卵巣を除去した上でエストラジオールおよびプロゲステロンを処置しても性行動は全く見られず、拒否行動が多発した (図3-(B))。免疫組織化学染色の結果、ER α 発現は、腹内側核でのみほぼ完全に消失しており、隣接する弓状核では全く影響されていないことが確かめられた (図3-(C))。更に、PR 陽性細胞も、腹内側核でのみ、ほぼ完全に消失しており (図3-(D) 参照)、エストラジオールによる PR の惹起には、ER α が必須であることが示された。この研究を通して、AAV を用いた RNA 干渉法（あるいは遺伝子導入）は、特定遺伝子の局所的な発現操作に極めて有効であることが確かめられた (Musatov, Pfaff, Kaplitt, & Ogawa, 2005)。我々は現在、後に詳しく述べる様に、同様な方法を用いて、性ステロイドホルモンによる様々な社会行動制御の標的脳部位の特定を試みている。

ER α 遺伝子欠損マウスや、腹内側核 ER α ノックダウンマウスでの性行動の劇的な変容とは対照的に、ER β 遺伝子の欠損マウス（以下、 β ERKO ; Kregge, Hodgin, Couse, Enmark, Warner, Mahler, Sar, Korach, Gustafsson, & Smithies, 1998）では、野生型マウスと比較して、ステロイドホルモン濃度の変化や性周期、更には

Table 1. Effects of ER- α or ER- β Gene Disruption on Sex and Aggression in Mice

			α ERKO	β ERKO
			Abolished	Prolonged
Females	Sex	Gonadally Intact	Abolished	Prolonged
		Steroid Primed	Abolished	Prolonged
Males	Sex	Ultrasonic Vocalization & Mount	Reduced	Not Affected
		Ejaculation	Abolished	Not Affected
		Pubertal Age	(Not Tested)	Increased
	Aggression	Adult	Abolished	Small Increase

Nomura, Andersson, Korach, GustafssonPfaff, & Ogawa, 2006
 Nomura, Durbak, Chan, Smithies, Gustafsson, Korach, Pfaff, & Ogawa, 2002
 Ogawa, Chan, Chester, Gustafsson, Korach, & Pfaff, 1999
 Ogawa, Chester, Hewitt, Walker, Gustafsson, Smithies, Korach, & Pfaff, 2000
 Ogawa, Eng, Taylor, Lubahn, Korach, & Pfaff, 1998
 Ogawa, Lubahn, Korach, & Pfaff, 1997
 Ogawa, Taylor, Lubahn, Korach, & Pfaff, 1996
 Ogawa, Washburn, Taylor, Lubahn, Korach, & Pfaff, 1998

Figure 3. Silencing of Estrogen Receptor α by Adeno-Associated Virus (AAV)-Mediated RNAi in the Ventromedial Nucleus of the Hypothalamus (VMN) in Female Mice

(A) Structure of the AAV used in the study.

(B) Effects of ER α knockdown on female behavior during sexual behavioral tests with male mice. All females were ovariectomized and primed with estrogen (E) and progesterone (P).

(C) Representative photomicrographs showing almost complete abolition of ER α immunopositive cells in the VMN but not in the arcuate nucleus (ARC) in the ER α knockdown (KD) group.

(D) ER α knockdown in the VMN also affected induction of progesterone receptor (PR) by E in the VMN, but not ARC, running wheel activity and body weight in female mice.

Data based on

Musatov, Chen, Pfaff, Kaplitt, & Ogawa, 2006

Musatov, Chen, Pfaff, Mobbs, Yang, Clegg, Kaplitt, & Ogawa, 2007

性行動にも顕著な異常は報告されていない。我々の研究室で、性周期の各ステージで性行動を測定したところ、発情期 (behavioral estrus) のロードーシス比 (一定回数の雄マウスのマウントに対して雌マウスがロードーシスを示した割合) には、 β ERKO マウスと野生型マウスとの間で、全く違いはなかった (Ogawa, Chan, Chester, Gustafsson, Korach, & Pfaff, 1999)。しかし、主に、プロゲステロンの抑制的作用 (プロゲステロンは発情期の数時間には性行動を促進するが、その後はむしろの抑制的に働くことが知られてい

る) により通常はロードーシスがほとんど見られなくなる発情期翌日にも、 β ERKO マウスは、野生型マウスに比べて有意に高いロードーシス比を示すことがわかった (表 1)。従って、ER β が発情期以外のステージでの性行動の抑制に関与している可能性が示唆された。この様な ER β の作用は、ER β 陽性細胞数が極めて少ない腹内側核ではなく、むしろ、ER α に比べて ER β の発現が優勢である中脳背側縫線核や、脳幹の青斑核等が関与していると考えられる。事実、これらの脳部位では、ER β の遺伝子欠損により、エストラジオールによる PR

の惹起が大きく阻害されるが、 $ER\alpha$ の遺伝子欠損による影響はわずかであることがわかっている (Alves, McEwen, Hayashi, Korach, Pfaff, & Ogawa, 2000; Helena, Gustafsson, Korach, Pfaff, Anselmo-Franci, & Ogawa, 2009)。これらの事実から、 $ER\alpha$ は、雌の性行動のON/OFFの決定付けに、 $ER\beta$ は行動発現の修飾に各々働いている可能性が考えられる。我々は、この仮説に基づき、エストロゲンとプロゲステリンによる性行動制御の脳内機構の解析を現在進めている。

(b) 性行動以外の雌マウスの社会行動

エストロゲンが雌の性行動の制御に中心的役割を果たしていることは上述の通りであるが、エストロゲンは、その他の社会行動、すなわち、養育行動、妊娠・授乳期での攻撃行動、社会的文脈での不安様行動や、社会的認知・再認 (social recognition) 等の調節にも関与していることが明らかとなってきた。遺伝子欠損マウスの行動解析の結果、これらのエストロゲン作用においても、 $ER\alpha$ と $ER\beta$ が各々異なる役割を果たしている可能性がしばしば指摘されている (Ågmo, Choleris, Kavaliers, Pfaff, & Ogawa, 2008; Choleris, Gustafsson, Korach, Muglia, Pfaff, & Ogawa, 2003; Handa, Ogawa, Wang, & Herbison, 2012)。更に、社会的文脈での行動表出にも影響すると考えられる様々な行動形質、例えば、活動性 (Morgan, Schulkin, & Pfaff, 2004; Ogawa, Chan, Gustafsson, Korach, & Pfaff, 2003; Ogawa, Watai, Tsuda, Uchimura, Sano, Wintermental, Elzer, Schutz, Toda, & Vasudevan, 2008; 図3-(D)参照)、覚醒状態 (Frohlich, Ogawa, Morgan, Burton, & Pfaff, 1999; Pfaff, 2006) や、基礎代謝 (Musatov, S., Chen, Pfaff, Mobbs, Yang, Clegg, Kaplitt, & Ogawa, 2007; 図3-(D)参照) にも、エストロゲンが関わっている。しかし、脳内のどの部位の $ER\alpha$ と $ER\beta$ が、どの様に関与しているのかについては未だ不明な点が多く、今後の解析が待たれるところである。

(2) 雄マウスの社会行動を制御するステロイドホルモンの脳内作用機序

(a) エストロゲン受容体遺伝子欠損雄マウスの性・攻撃行動

雄の性行動や攻撃行動は、テストステロンや 5α 還元代謝産物であるジヒドロテストステロンがアンドロゲン受容体に作用することによって亢進する (McGinnis, Williams, & Lumia, 1996;

Sato, Matsumoto, Kawano, Watanabe, Uematsu, Sekine, Fukuda, Aihara, Krust, Yamada, Nakamichi, Yamamoto, Nakamura, Yoshimura, Yoshizawa, Metzger, Chambon, & Kato, 2004)。しかし、テストステロンは脳内でエストラジオールに芳香化し、 ER を介してテストステロン依存性の「雄型」の社会行動の制御に関与している可能性も十分に考えられる (図2参照)。そこで、雄マウスの性行動および攻撃行動の発現に、 $ER\alpha$ と $ER\beta$ が各々、どの様な役割を担っているのかを決定するために、遺伝子欠損マウスの行動解析を行った。その結果、 $\alpha ERKO$ マウスでは、血漿テストステロン濃度 (但し、マウスではテストステロンはパルス状で分泌されるので、正確な測定は困難である) は、野生型マウスよりもやや高いにもかかわらず (Eddy, Washburn, Bunch, Goulding, Gladen, Lubahn, & Korach, 1996; Tsukahara, et al., 2011)、性行動、攻撃行動共に、野生型マウスと比べて顕著に低下していることがわかった (表1)。すなわち、発情雌に対するマウント (mount)、挿入 (intromission) や、これらの行動に先立って見られる超音波発声の生起頻度に大きな減少が見られ、射精 (ejaculation) する個体は皆無であった (Ogawa, Chester, Hewitt, Walker, Gustafsson, Smithies, Korach, & Pfaff, 2000; Ogawa, Lubahn, Korach, & Pfaff, 1997; Ogawa, Washburn, Taylor, Lubahn, Korach, & Pfaff, 1998)。また、自身のテリトリーに侵入してきた未知の雄マウスに対しても、 $\alpha ERKO$ マウスは、野生型の雄マウスが示すような激しい攻撃行動 (wrestling や lateral attack with biting) は、ほとんど示さないことがわかった。更に、神経細胞でのみ $ER\alpha$ が欠損し、グリア細胞や末梢細胞には $ER\alpha$ が発現しているマウスでも、雄型の性行動や攻撃行動がほぼ完全に消失していた (Sano, Vasudevan, Nagata, Nakata, Uchimura, Xiao, Tsuda, & Ogawa, 2013)。これらの結果とは対照的に、 $ER\beta$ 遺伝子の欠損は性行動に影響せず、 $\beta ERKO$ マウスでも、野生型マウスと同様な頻度のマウント、挿入、射精が見られた (Ogawa, et al., 1999, 2000; 表1)。攻撃行動も、 $ER\beta$ 遺伝子の欠損によって減少することはなく、むしろ特定の状況下では、 $\beta ERKO$ マウスは野生型マウスよりも激しい攻撃を示すことが分かった (Nomura, Andersson, Korach, Gustafsson, Pfaff, & Ogawa, 2006; Nomura, Durbak, Chan, Gustafsson, Smithies, Korach, Pfaff, & Ogawa, 2002; 表1)。特に、

攻撃行動が最初に出現する性成熟期には、野生型マウスと比べて β ERKOマウスの攻撃行動に顕著な亢進が見られた。また、この時期でのみ血漿テストステロン濃度が野生型マウスよりも β ERKOマウスで高い傾向にあったことから、性成熟期の発動そのものがER β の欠損により早まっている可能性も示唆されている (Nomura et al., 2002)。以上のことから、ER α については、雄の性行動および攻撃行動の発現に必要不可欠であるのに対して、ER β は性・攻撃行動の発現自体に必須ではなく、むしろ行動の生起頻度や強度などの微調整に関与している可能性が考えられた。

(b) テストステロンの性差形成作用におけるエストロゲン受容体の役割

上述したER遺伝子欠損マウスを用いた解析では、ER α 欠損による行動変容の原因を、時間的(形成作用 vs 活性作用)、空間的(脳部位)に特定することができない。アロマタース遺伝子欠損により芳香化アンドロゲンを持たない(テストステロンからエストラジオールが全く産生されない)マウス(ArKO)は、 α ERKOマウスと同様、性行動も攻撃行動もほとんど示さないことが知られている(Matsumoto, Honda, & Harada, 2003; Toda, Okada, Takeda, Akira, Saibara, Shiraishi, Onishi, & Shizuta, 2001; Toda, Saibara, Okada, Onishi, & Shizuta, 2001)。しかし、生後7日までにエストラジオールの補充処置を開始すれば、野生型マウスのレベルには達しないものの、ArKOマウスでも性行動や攻撃行動が生起するようになることが報告されている。以上のことから、 α ERKOマウスで見られた性行動や攻撃行動の減少の理由は、主に、周生期にER α が活性化されなかったことにあとと推測される。すなわち、周生期に多量に分泌されるテストステロンが芳香化されてエストラジオール変換し、ER α に作用することが、雄型の性・攻撃行動の発現を支える「雄型の脳組織構築」に必須であるということである。しかし、このことは、周生期以後にはER α が、ステロイドホルモンの形成作用による性特異的な行動発現に全く関係しなくなるということではない。むしろ、後に述べるように、最近の我々の解析では、性成熟期に再び増加するテストステロンの作用にも、ER α の存在が重要であることを示す結果が得られている。

成長後の雄型の性・攻撃行動の発現の基盤となるアンドロゲンや芳香化アンドロゲンの形成作用の標的脳部位については、未だ特定されていない。しかし、脳内には、細胞の数あるいは各細胞の大

きさの違いにより雌雄で体積が異なる神経核、すなわち性的二型核がいくつか存在することが知られている。なかでも、雌より雄で体積の大きい視索前野の性的二型核(sexually dimorphic nucleus of preoptic area, SDN-POA)の構築が周生期のテストステロンの形成作用により制御されていることはよく知られている(eg., McCarthy & Arnold, 2011; Morris, Jordan, & Breedlove, 2004)が、この核の機能については、未だ、決定的には同定されていない。我々は、ArKO、 α ERKO、 β ERKOの雌雄のマウスを用いて、分界条床核主核(bed nucleus of stria terminalis, BNSTp)と前腹側脳室周囲核(anteroventral periventricular nucleus, AVPV)の体積や神経細胞数を比較した(Kurihara, Tsuda, Aung, Nakata, Okoshi, Toda, Ogawa, & Tsukahara, 2011; Tsukahara, et al., 2011)。BNSTは、攻撃行動や情動性の制御に働くことが知られており、通常、雄の方が雌よりも体積が大きい。AVPVは、排卵調節に関わる核で、通常、雌の方が雄よりも体積が大きい。解析の結果、ArKOと α ERKOの雄マウスは、共に雌型のBNST(野生型に比べて体積や神経細胞数が減少)、AVPV(野生型に比べて体積や神経細胞数が増加)を示し、通常見られる性差がこの2つの遺伝子欠損マウスでは消失していた。一方、どちらの核においても、ER β の遺伝子欠損の影響は見られなかった。これらの研究で明らかとなったER α を介した芳香化アンドロゲンの作用による性差形成が、成長後の性・攻撃行動の「性特異的な発現」に具体的にどの様に関係しているかについては、今後の研究課題である。

(c) エストラジオール(芳香化アンドロゲン)の標的脳領域の決定

アンドロゲンが形成作用ばかりでなく、性成熟後に活性作用を通して、雄型の性行動や攻撃行動の発現を促進する際にも、ER α が関与しているかどうかについても検討した。前述の通り、通常、の遺伝子欠損マウスを用いた解析だけでは、ER α を介した芳香化アンドロゲンであるエストラジオールによる行動制御に、形成作用と活性作用とがどの様に関与しているのかを明確にできないばかりでなく、責任脳領域の特定も不可能である。発情雌の匂いによって誘発される雄の性行動と、テリトリーに侵入する雄の匂いによって誘発される雄の攻撃行動の発現調節には、各々、嗅球で感知された匂い刺激の情報を的確に処理し、最終的な行動の表出までを制御する様々な脳領域が関与して

Figure 4. Experimental Paradigm to Investigate the Effects of Knockdown of Estrogen Receptor (ER) α on Male Behavior.

(A) Adeno-associated virus (AAV)-mediated shRNA against ER α injection in adulthood.

(B) Pre-pubertal injection of AAV-mediated shRNA against ER α .

いる。Newman (1999) は、内側扁桃体・境界条床核、外側中隔、内側視索前野、視床下部腹内側核、前視床下部域、中脳から成る社会行動神経ネットワーク (social behavioral network) を提唱している。雄、雌を含め、様々な社会行動はこの神経ネットワークを構成する脳領域活動の相対的バランスによって、各々発現がコントロールされていると仮定されている (Newman, 1999; Crews, Rushworth, Gonzalez-Lima, & Ogawa, 2009)。ER α はこれらの脳領域のほぼすべてにおいて発現している (Shughrue et al, 1997; Nelson & Trainor, 2007)。そこで、我々は、雌マウスの性行動の解析において有効性が確立された RNA 干渉法を用いて (図 3)、成体期の雄マウス (ICR/Jcl) で、部位特異的にその遺伝子発現をノックダウンすることにより、芳香化アンドロゲンによる性・攻撃行動の制御の責任脳領域の特定を試みた (図 4-(A))。特に、性・攻

撃行動の両方に重要であることが知られている内側扁桃体、視床下部腹内側核、主に、性行動の制御に参与している内側視索前野の各々において、AAV を用いた RNA 干渉法により、ER α の発現を局所的に阻害した。その結果、性行動は、内側視索前野や視床下部腹内側核での ER α 阻害で減少するのに対して、攻撃行動は、視床下部腹内側核での ER α 阻害でのみ減少することがわかった (Sano, Tsuda, Musatov, Sakamoto, & Ogawa, 2013a; 表 2)。これまでは、性行動、攻撃行動の発現にテストステロンの ER α を介した「活性作用」が必要であることは、間接的には示されていたが、我々の結果は、これを決定的なものにするとともに、ER α の役割の部位特異性を明らかにした新しい知見である。また内側視索前野での ER α の発現の阻害の影響が性行動に限定的であるという本研究の結果は、性行動と攻撃行動の神経ネットワークの違いを指摘してきた先行研究

Table 2. Effects of Brain Site Specific Knockdown of ER- α on Sex and Aggression in Male Mice

		Medial Amygdala	Medial Preoptic Area	Ventromedial Nucleus of Hypothalamus
Knockdown in Adults	Sex	No Effect	Reduced	Reduced
	Aggression	No Effect	No Effects	Reduced
Prepubertal Knockdown	Sex	Reduced	Reduced	(Not Tested)
	Aggression	Reduced	No Effect	(Not Tested)

Sano, Tsuda, Musatov, Sakamoto, & Ogawa, 2013a

Sano, Tsuda, Musatov, Sakamoto, & Ogawa, 2013b

の知見を支持するものであるとともに、その基盤に $ER\alpha$ が関与していることを示唆する。

一方、社会行動神経ネットワークの中でも、嗅覚刺激情報処理機構に重要な役割を果たしていると思われる内側扁桃体で $ER\alpha$ の発現を阻害しても、性行動および攻撃行動の発現には影響が見られなかったことは予想外であった。性成熟期開始前に精巣を除去することによって、性成熟期の発動を促すテストステロンを欠乏させると、成体期における内側扁桃体の体積や神経細胞数が変化することから、この部位の発達には性成熟期でのテストステロンの作用が重要であると考えられる (Ahmed, Zehr, Schulz, Lorenz, DonCarlos, & Sisk, 2008; Johansen, Jordan, & Breedlove, 2004; De Lorme, Schulz, Salas-Ramirez, & Sisk, 2012)。更に、この様な雄では、成体期にテストステロン処置をしても、性行動や攻撃行動の生起頻度が、正常に育った雄に比べ顕著に低下することが知られている (柏村・津田・Hood・Sisk・坂本・小川, 2009; Romeo, Richardson, & Sisk, 2002; Sisk & Foster, 2004; 図5)。しかし、テストステロンの脳内作用機序や、成体期での行動発現との因果関係については明らかとなっていない。そこで、性成熟期発動の前の生後21日齢で、内側扁桃体の $ER\alpha$ の発現を阻害することによって、

成体期での性行動、攻撃行動にどのような変化が見られるかを検討した (図4-(B))。その結果、性行動、攻撃行動がともに著しく減少することがわかった (Sano, Tsuda, Musatov, Sakamoto, & Ogawa, 2013b; 表2)。先に述べた性成熟期を過ぎた成体期に内側扁桃体で発現している $ER\alpha$ を阻害しても性行動、攻撃行動の発現には影響がなかったという事実 (Sano et al, 2013a) と合わせて考えると、この結果は、性成熟期における内側扁桃体での $ER\alpha$ を介したテストステロンの作用が、雄の性行動および攻撃行動の発現の基盤となる神経組織構築に不可欠である可能性を示唆する。このことは、これまで主に周生期において記述されてきたテストステロンの形成作用が、性成熟期にも存在すること、さらにその基盤にテストステロンの芳香化と $ER\alpha$ を介した作用が重要であることを示すものである。

(d) エストロゲン受容体ベータの役割

前述した、性成熟期の攻撃行動が $\beta ERKO$ マウスで亢進していたという事実は、 $ER\beta$ の活性化が攻撃行動の発現に抑制的に働いている可能性を示唆するが、その脳内機構については未だ不明な点が多い。成体期では通常、性成熟期に見られたほどの $ER\beta$ 欠損による攻撃行動の亢進は見られな

Figure 5. Potential Organizational Action of Testosterone during the Pubertal Period on Male Sexual Behavior

- (A) Testosterone replacement successfully restored male sexual behavior in mice gonadectomized at the age of 60days.
 (B) In contrast, testosterone replacement failed to restore male sexual behavior in mice gonadectomized pre-pubertally at the age of 25days.

い (Ogawa et al, 1999, 2000; 表1)。しかし、透明仕切り板の反対側に侵入個体を提示することで、相手個体を見たり、嗅いだりできるにも拘らず、身体接触はできないような状況にしばらく置いた後 (挑発期間)、仕切り板を取り除くという状況では、成体期の β ERKO マウスでも攻撃行動の亢進が見られることがわかっている。また、ホームテリトリー内に、小さな穴を開けた透明の筒に未知の雄マウスを入れて提示した場合、野生型マウスは、最初のうちは穴に鼻を入れてしきりに探索をするが、時間と共にこの行動は減少する。ところが、 β ERKO マウスでは、この減少が見られず、探索をし続けることがしばしば観察されている。このようなマウスでは、内側扁桃体や分界条床核での *c-fos* mRNA レベルの上昇も見られる。これらのことから、ER β は、他個体との遭遇によって引き起こされるストレスや不安に対処する脳内機構に関わっており、その欠損が過度な攻撃行動を誘発しているとも考えられる。実際、様々な場面での行動観察において、 β ERKO マウスでは雌雄を問わず不安傾向が亢進していることを裏付ける事実が見出されている (Oyola, Portillo, Reyna, Foradori, Kudwa, Hinds, Handa, & Mani, 2012; Tomihara, Soga, Nomura, Korach, Gustafsson, Pfaff, & Ogawa, 2009)。

様々な社会行動制御において、ER β が、ER α とは明らかに異なる役割を担っていることは間違いないものの、その脳内作用機序については、未だ十分に解析が進んでいない。前述したように、エストラジオールに対する親和性は、ER α とER β との間でほとんど違いがないが、両者の脳内分布にはかなりの違いが見られる。どういう機能を司っている脳内領域の神経細胞にエストラジオールが結合するのかによって、アウトプットの行動も変わってくる。実際、ER β は、ER α に比べて、情動中枢であり攻撃行動や社会的認知行動への関与も知られている扁桃体、記憶中枢の海馬、性的二型性を示す分界条床核などの辺縁系脳領域や、性特異的な行動の制御に関わる内側視索前野のほか、物理的、心理的ストレスへの対処反応に関わるペプチドホルモンを産生する視床下部室傍核、気分や不安、攻撃性の調節に関与する神経伝達物質であるセロトニンを産生する細胞が分布する中脳背側縫線核、注意や衝動性の調節を司る神経伝達物質であるノルアドレナリンの産生細胞が局在する脳幹の青斑核などの脳部位に高濃度で存在することが分かっている (Mitra et al, 2003; Nomura, Korach, Pfaff, & Ogawa, 2003; Helena et al, 2009; Shughrue et al, 1997)。我々は、テス

トステロンと並んで、社会行動に果たす役割が確立しているオキシトシンやバソプレシン (Carter, Grippio, Pournajafi-Nazarloo, Ruscio, Porges, 2008; McCall & Singer, 2012; Young & Flanagan-Cato, 2012; Young & Wang, 2004) や、攻撃行動や不安様行動の調節に関与しているセロトニン (Miczek, Maxson, Fish, & Faccidomo, 2001) に着目して、性ステロイドホルモンによる遺伝子発現の制御にER β が関与していることを明らかにしてきた (Nomura, Akama, Alves, Korach, Gustafsson, Pfaff, & Ogawa, 2005; Nomura, McKenna, Korach, Pfaff, & Ogawa, 2002)。これらの個々のしくみが、個体の情動、不安、ストレス耐性、嗜好性や、認知、記憶等を調節し、全体的に調和・統合したシステムとして最終的な社会行動の表出 (onset) や、その維持 (maintenance) をどのように制御・調節しているのかについては、今後の研究課題である。

4) 生育環境や経験による性特異的な行動の変容

ここまでの、雌マウスの性行動、雄マウスの性行動、攻撃行動に焦点をあてて、性ステロイドホルモンによる制御機構について概説してきた。このような性特異的な行動の発現が、発達初期の生育環境や経験によってどの様に変容するのかについて、新生仔期母仔分離ストレスの影響に焦点をあてて、現在、我々が進めている研究の成果を最後に紹介したい。

(1) 新生仔期母仔分離ストレスが雄マウスの社会行動に及ぼす影響

C57BL/6マウスで、生後1日目から連続2週間、明暗サイクルの暗期に毎日3時間ずつ母親と仔を分離するパラダイムを用いて、後の社会行動に及ぼす影響を調べた。その結果、性成熟後の雄マウスの性行動や攻撃行動の発現には大きな違いが見られなかった。ところが、生後5週間目から毎週、攻撃行動を測定したところ、母仔分離群の雄マウスではその発現頻度が大きく減少していることがわかった (Tsuda, Yamaguchi, & Ogawa, 2011)。コントロール群では、性成熟期の発動に伴って、5週齢で攻撃行動の発現が見られ、その後、6週から7週齢にかけて生起頻度が急激に増加したのに対して、母仔分離群では、6週齢に低頻度で発現し始め、8週齢以降に徐々に増加するにとどまった。血中テストステロン濃度も、コントロール群では、4週齢と比べて、5週から6週齢にかけて大幅に増加したのとは対照的に、母仔分離群では、ほとんど変化が見られなかった。更に、視床下部室傍核でのオキシトシン及びバソプレシンの発現を免疫組織化学的に解析したところ、

母仔分離群では、コントロール群に比べてオキシトシン陽性細胞数が増加し、バソプレシン陽性細胞数が減少していた。従って、新生仔期の生育環境やストレス経験が、社会行動の調節に中心的役割を果たしているテストステロン、オキシトシン、バソプレシンに影響することが確かめられた。しかしながら、母仔分離ストレスが、雄の社会行動に及ぼす影響については、雄の攻撃行動に限ってみても、動物種や系統、分離パラダイムや行動テストの方法、時期によってかなり異なることが報告されている (Tsuda & Ogawa, 2011)。従って、脳内機構に関しても未だ、不明な点が多く残されているのが現状である (Veenema, 2012)。

(2) 新生仔期母仔分離ストレスが雌マウスの社会行動に及ぼす影響

社会行動のホルモン基盤と経験の影響との関係の理解には、性行動や攻撃行動といった特徴的な行動型を基にした定量が可能である行動ばかりでなく、個体間関係の樹立に関わる選好性 (social preference)・関心、社会的不安、社会的認知・記憶等についても解析していく必要があると言える。そこで、マウスが本来持つ特性を考慮し、社会行動の表出・変容の様相をより定量的、継続的に測定する行動テスト法を新たに考案し、それらを用いて、母仔分離ストレス経験が性成熟後の雌マウスの行動に及ぼす影響を明らかにすることを試みた (Tsuda and Ogawa, 2012)。

第一に、行動解析の対象となる雌マウスのホームケージ中央に、未知の雌あるいは雄マウスを、底面から1/3の部分に26個の小さな穴 (直径6mm) のある透明シリンダー (Mouse Cylinder SIOT1) に入れて提示し、接近・回避行動やケージ内での移動活動量・軌跡を測定する社会的探索行動テストを行った (SOSI TYPE1; Tsuda and Ogawa, 2012 Supporting Information 参照)。その結果、母仔分離群のマウスでは、コントロール群のマウスに比べて、シリンダーの穴に鼻を入れて匂いを嗅ぐ探索行動が相手マウスの性別に関わらず半減していた。その代わりに、シリンダーに向かって体を伸ばす回数 (stretched approach) や、ケージの隅に座ったままシリンダーの方向の匂いを嗅ぐ行動が大きく増加していた。従って、新生仔期での母仔分離ストレスが、未知の個体との出会いの場面での社会的探索行動を抑制し、社会的不安レベルを亢進させると結論された。

第2に、長期間にわたって社会的選好性 (long-term social preference) を連続的に測定することを試みた。行動解析の対象となるテストマウスのホーム

ケージに金網を介して2つの刺激個体提示ケージを隣接させた装置 (AMAZENG TYPE1; Tsuda and Ogawa, 2012 Supporting Information 参照) を作製し、3種類の異なる刺激の組み合わせの条件下で、各々の刺激提示ケージに対する探索行動を5日間測定した。その結果、母仔分離群のマウスは、コントロール群のマウスと比べて、「雄マウスと雌マウス」の組み合わせでは時間経過とともに雌マウスをより好むようになり、「雄マウスと空ケージ」の組み合わせでは、時間経過とともに、雄マウスを避けるようになることがわかった。「雌マウスと空ケージ」の組み合わせでは、母仔分離群のマウスは、コントロール群と同様、一貫して雌マウスを好んだことから、母仔分離ストレスによって、雄マウスに対する選好性に影響が出た可能性がある。

これらの事実に基づき、社会行動を支える脳内ホルモン機構が、様々な時期での、様々な経験や環境要因 (母仔分離等の心理的環境ばかりでなく、内分泌攪乱物質等への曝露といった環境も含む) によりどの様に変容していくかについて、更に解析を進めているところである。

5) Behavioral Neuroendocrinology から Translational Social Neuroendocrinology への開展

本稿では、性特異的、時期特異的に脳の諸領域へ働くホルモンの作用とそれを修飾する環境要因とにより、社会行動の表出が個体の一生の中で様々に調節されていることを示す我々の研究成果の一端を紹介した。行動研究を通して社会性を理解していく際には、細胞内シグナリングや神経ネットワークの解析のみならず、それらと外的環境とを結ぶ統合的調節機能としてのホルモン情報伝達系の存在が不可欠であることはこれまでも十分に認識されてきた。事実、欧米では、動物心理学 (biopsychology)、神経科学 (neuroscience) と内分泌学 (endocrinology) の融合した学際領域としての行動神経内分泌学 (behavioral neuroendocrinology) が確立し、性行動をはじめとする社会行動の研究が展開されてきた (Dewsbury, 2003; McCall & Singer, 2012)。行動神経内分泌学の歴史が浅い我が国においても、脳内ホルモン機構を軸に、行動の神経基盤の解明を目指す研究領域は、近年、急速な発展をとげている (近藤・小川・菊水・富原・山田, 2010)。我々は、行動神経内分泌学の学術基盤に立脚しつつも、より多様な社会行動の神経内分泌基盤の理解し、究極的にはヒトの社会性の理解を目指す研究の必要性を認識しており、現在、“Translational Social Neuroendocrinology” の確立・推進を図っているところである。

要 約

本稿では、社会行動の制御の神経内分泌機構について、マウスの性・攻撃行動や社会的認知行動に着目して進めてきた研究の成果を概説した。なかでもアンドロゲンやエストロゲン等の性ステロイドホルモンが、形成作用と活性作用を通して性特異的な行動の発現の調節に果たす役割とその脳内作用機序に関する研究の動向について論じた。更に、周生期から性成熟期 (pubertal period) における内分泌要因や生育環境の操作が、後の社会行動表出に及ぼす影響についても言及した。これらの知見に基づき、脳に働くホルモンに着目して、ヒトを含めて個体の一生を通じての社会的愛着関係 (social bonding) の樹立、維持、修飾の過程を理解する新学術領域としての“translational social neuroendocrinology”の重要性を解き明かした。

謝辞

本稿は日本動物心理学会第72回大会におけるチュートリアル講演の発表に基づいている。チュートリアル講演を企画してくださった大会会長の中島定彦先生に感謝申し上げる。また、本稿で紹介した研究は、日・米両国の研究費支援のもと、多くの共同研究者の方々の協力を得て行われたものである。心より感謝する次第である。

引 用 文 献

- Agmo, A., Choleris, E., Kavaliers, M., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2008 Social and sexual incentive properties of estrogen receptor alpha, estrogen receptor beta, or oxytocin knockout mice. *Genes, Brain, and Behavior*, **7**, 70-77.
- Ahmed, E. I., Zehr, J. L., Schulz, K. M., Lorenz, B. H., DonCarlos, L. L., & Sisk, C. L. 2008 Pubertal hormones modulate the addition of new cells to sexually dimorphic brain regions. *Nature Neuroscience*, **11**, 995-997.
- Alves, S. E., McEwen, B. S., Hayashi, S., Korach, K. S., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2000 Estrogen-regulated progesterone receptors are found in the midbrain raphe but not hippocampus of estrogen receptor alpha ER alpha gene-disrupted mice. *The Journal of Comparative Neurology*, **427**, 185-195.
- Carter, C. S., Grippio, A. J., Pournajafi-Nazarloo, H., Ruscio, M. G., & Porges, S. W. 2008 Oxytocin, vasopressin and sociality. *Progress in Brain Research*, **170**, 331-336.
- Choleris, E., Gustafsson, J.-A., Korach, K. S., Muglia, L. J., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2003 An estrogen-dependent four-gene micronet regulating social recognition: a study with oxytocin and estrogen receptor-alpha and -beta knockout mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **100**, 6192-6197.
- Couse, J. F., & Korach, K. S. 1999 Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? *Endocrine Reviews*, **20**, 358-417.
- Crews, D., Rushworth, D., Gonzalez-Lima, F., & Ogawa, S. 2009 Litter environment affects behavior and brain metabolic activity of adult knockout mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, **3**, Article 12.
- De Lorme, K. C., Schulz, K. M., Salas-Ramirez, K. Y., & Sisk, C. L. 2012 Pubertal testosterone organizes regional volume and neuronal number within the medial amygdala of adult male Syrian hamsters. *Brain Research*, **1460**, 33-40.
- Dewsbury, D. A. 2003 The conference on reproductive behavior: a history. *Hormones and Behavior*, **43**, 465-473.
- Eddy, E. M., Washburn, T. F., Bunch, D. O., Goulding, E. H., Gladen, B. C., Lubahn, D. B., & Korach, K. S. 1996 Targeted disruption of the estrogen receptor gene in male mice causes alteration of spermatogenesis and infertility. *Endocrinology*, **137**, 4796-4805.
- Frohlich, J., Ogawa, S., Morgan, M., Burton, L., & Pfaff, D. 1999 Hormones, genes and the structure of sexual arousal. *Behavioural Brain Research*, **105**, 5-27.
- Garcia-Segura, L. M., Lorenz, B., & DonCarlos, L. L. 2008 The role of glia in the hypothalamus: implications for gonadal steroid feedback and reproductive neuroendocrine output. *Reproduction*, **135**, 419-429.

- Handa, R. J., Ogawa, S., Wang, J. M., & Herbison, A. E. 2012 Roles for oestrogen receptor beta in adult brain function. *Journal of Neuroendocrinology*, **24**, 160-173.
- Helena, C., Gustafsson, J.-A., Korach, K., Pfaff, D., Anselmo-Franci, J. A., & Ogawa, S. 2009 Effects of estrogen receptor alpha and beta gene deletion on estrogenic induction of progesterone receptors in the locus coeruleus in female mice. *Endocrine*, **36**, 169-177.
- Johansen, J. A., Jordan, C. L., & Breedlove, S. M. 2004 Steroid hormone masculinization of neural structure in rats: a tale of two nuclei. *Physiology and Behavior*, **83**, 271-277.
- Johnson, R. T., Schneider, A., DonCarlos, L. L., Breedlove, S. M., & Jordan, C. L. 2012 Astrocytes in the rat medial amygdala are responsive to adult androgens. *The Journal of Comparative Neurology*, **520**, 2531-2544.
- 柏村実生・津田夢芽子・Hood, K.D.・Sisk, C.L.・坂本敏郎・小川園子 2009 思春期のステロイドホルモン環境が情動・社会行動に及ぼす影響 動物心理学研究, **59**, 245.
- Kelly, M. J., & Ronnekleiv, O. K. 2008 Membrane-initiated estrogen signaling in hypothalamic neurons. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **290**, 14-23.
- 近藤保彦・小川園子・菊水健史・富原一哉・山田一夫(編) 2010 脳とホルモンの行動学, 西村書店.
- Krebs-Kraft, D. L., Hill, M. N., Hillard, C. J., & McCarthy, M. M. 2010 Sex difference in cell proliferation in developing rat amygdala mediated by endocannabinoids has implications for social behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **107**, 20535-20540.
- Krege, J. H., Hodgkin, J. B., Couse, J. F., Enmark, E., Warner, M., Mahler, J. F., Sar, M., Korach, K.S., Gustafsson, J.-A., & Smithies, O. 1998 Generation and reproductive phenotypes of mice lacking estrogen receptor beta. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **95**, 15677-15682.
- Kurihara, R., Tsuda, M. C., Aung, K. H., Nakata, M., Okoshi, K., Toda, K., Ogawa, S., & Tsukahara, S. 2011 Effects of aromatase or estrogen receptor gene deletion on the formation of sexually dimorphic nuclei in mice. *Neuroscience Research*, **71**, e263.
- Lubahn, D. B., Moyer, J. S., Golding, T. S., Couse, J. F., Korach, K. S., & Smithies, O. 1993 Alteration of reproductive function but not prenatal sexual development after insertional disruption of the mouse estrogen receptor gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **90**, 11162-11166.
- Matsumoto, T., Honda, S.-I., & Harada, N. 2003 Alteration in sex-specific behaviors in male mice lacking the aromatase gene. *Neuroendocrinology*, **77**, 416-424.
- McCall, C., & Singer, T. 2012 The animal and human neuroendocrinology of social cognition, motivation and behavior. *Nature Neuroscience*, **15**, 681-688.
- McCarthy, M. M., & Arnold, A. P. 2011 Reframing sexual differentiation of the brain. *Nature Neuroscience*, **14**, 677-683.
- McGinnis, M. Y., Williams, G. W., & Lumia, A. R. 1996 Inhibition of male sex behavior by androgen receptor blockade in preoptic area or hypothalamus, but not amygdala or septum. *Physiology and Behavior*, **60**, 783-789.
- Miczek, K. A., Maxson, S. C., Fish, E. W., & Faccidomo, S. 2001 Aggressive behavioral phenotypes in mice. *Behavioural Brain Research*, **125**, 167-181.
- Mitra, S. W., Hoskin, E., Yudkovitz, J., Pear, L., Wilkinson, H. A., Hayashi, S., Pfaff, D. W., Ogawa, S., Rohrer, S. P., Schaeffer, J. M., McEwen, B. S., & Alves, S. E. 2003 Immunolocalization of estrogen receptor beta in the mouse brain: comparison with estrogen receptor alpha. *Endocrinology*, **144**, 2055-2067.
- Morgan, M. A., Schulkin, J., & Pfaff, D. W. 2004 Estrogens and non-reproductive behaviors related to activity and fear. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **28**, 55-63.

- Morris, J. A., Jordan, C. L., & Breedlove, S. M. 2004 Sexual differentiation of the vertebrate nervous system. *Nature Neuroscience*, **7**, 1034-1039.
- Musatov, S., Chen, W., Pfaff, D. W., Kaplitt, M. G., & Ogawa, S. 2006 RNAi-mediated silencing of estrogen receptor {alpha} in the ventromedial nucleus of hypothalamus abolishes female sexual behaviors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103**, 10456-10460.
- Musatov, S., Chen, W., Pfaff, D. W., Mobbs, C. V., Yang, X.-J., Clegg, D. J., Kaplitt, M. G., & Ogawa, S. 2007 Silencing of estrogen receptor alpha in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **104**, 2501-2506.
- Musatov, S., Pfaff, D. W., Kaplitt, M. G., & Ogawa, S. 2005 Use of viral vectors to influence behavior. In Kaplitt, M. G. and During, M. Eds. *Gene Therapy of the Central Nervous System: From Bench to Bedside*. Pp.195-205, Elsevier.
- Nelson, R. J., & Trainor, B. C. 2007 Neural mechanisms of aggression. *Nature Reviews. Neuroscience*, **87**, 536-546.
- Newman, S. W. 1999 The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **877**, 242-257.
- Nomura, M., Akama, K. T., Alves, S. E., Korach, K. S., Gustafsson, J.-A., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2005 Differential distribution of estrogen receptor ER-alpha and ER-beta in the midbrain raphe nuclei and periaqueductal gray in male mouse: Predominant role of ER-beta in midbrain serotonergic systems. *Neuroscience*, **130**, 445-456.
- Nomura, M., Andersson, S., Korach, K. S., Gustafsson, J.-A., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2006 Estrogen receptor-beta gene disruption potentiates estrogen-inducible aggression but not sexual behaviour in male mice. *The European Journal of Neuroscience*, **23**, 1860-1868.
- Nomura, M., Durbak, L., Chan, J., Smithies, O., Gustafsson, J.-A., Korach, K. S., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2002 Genotype/age interactions on aggressive behavior in gonadally intact estrogen receptor beta knockout betaERKO male mice. *Hormones and Behavior*, **41**, 288-296.
- Nomura, M., Korach, K. S., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2003 Estrogen receptor beta (ERbeta) protein levels in neurons depend on estrogen receptor alpha (ERalpha) gene expression and on its ligand in a brain region-specific manner. *Brain research. Molecular Brain Research*, **110**, 7-14.
- Nomura, M., McKenna, E., Korach, K. S., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2002 Estrogen receptor-beta regulates transcript levels for oxytocin and arginine vasopressin in the hypothalamic paraventricular nucleus of male mice. *Brain research. Molecular Brain Research*, **109**, 84-94.
- Ogawa, S., Chan, J., Chester, A. E., Gustafsson, J.-A., Korach, K. S., & Pfaff, D. W. 1999 Survival of reproductive behaviors in estrogen receptor beta gene-deficient betaERKO male and female mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **96**, 12887-12892.
- Ogawa, S., Chan, J., Gustafsson, J.-A., Korach, K. S., & Pfaff, D. W. 2003 Estrogen increases locomotor activity in mice through estrogen receptor alpha: specificity for the type of activity. *Endocrinology*, **144**, 230-239.
- Ogawa, S., Chester, A. E., Hewitt, S. C., Walker, V. R., Gustafsson, J.-A., Smithies, O., Korach, K. S., & Pfaff, D. W. 2000 Abolition of male sexual behaviors in mice lacking estrogen receptors alpha and beta alpha beta ERKO. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97**, 14737-14741.
- Ogawa, S., Eng, V., Taylor, J., Lubahn, D. B., Korach, K. S., & Pfaff, D. W. 1998 Roles of estrogen receptor-alpha gene expression in reproduction-related behaviors in female mice. *Endocrinology*, **139**, 5070-5081.

- Ogawa, S., Lubahn, D. B., Korach, K. S., & Pfaff, D. W. 1997 Behavioral effects of estrogen receptor gene disruption in male mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **94**, 1476-1481.
- Ogawa, S., Taylor, J. A., Lubahn, D. B., Korach, K. S., & Pfaff, D. W. 1996 Reversal of sex roles in genetic female mice by disruption of estrogen receptor gene. *Neuroendocrinology*, **64**, 467-470.
- Ogawa, S., Washburn, T. F., Taylor, J., Lubahn, D. B., Korach, K. S., & Pfaff, D. W. 1998 Modifications of testosterone-dependent behaviors by estrogen receptor-alpha gene disruption in male mice. *Endocrinology*, **139**, 5058-5069.
- Ogawa, S., Watai, K., Tsuda, M. C., Uchimura, T., Sano, K., Wintermantel, T. M., Elzer, J., Schutz, G., Toda, K., & Vasudevan, N. 2008 Regulation of running wheel activity by estrogen in male mice. *動物心理学研究*, **58**, 180.
- Oyola, M. G., Portillo, W., Reyna, A., Foradori, C. D., Kudwa, A., Hinds, L., Handa, R. J., & Mani, S. 2012 Anxiolytic effects and neuroanatomical targets of estrogen receptor-beta ERbeta activation by a selective ERbeta agonist in female mice. *Endocrinology*, **153**, 837-846.
- Pfaff, D. W. 1980 Estrogens and Brain Function: Neural Analysis of a Hormone-Controlled Mammalian Reproductive Behavior. New York: Springer-Verlag.
- Pfaff, D. W. 2006 Brain Arousal and Information Theory: Neural and Genetic Mechanisms. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Phoenix, C. H., Goy, W. R., Gerall, A. A., & Young, W. C. 1959 Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology*, **65**, 369-382.
- Romeo, R. D., Richardson, H. N., & Sisk, C. L. 2002 Puberty and the maturation of the male brain and sexual behavior: recasting a behavioral potential. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **26**, 381-391.
- Sano, K., Tsuda, M. C., Musatov, S., Sakamoto, T., & Ogawa, S. 2013a Differential effects of site-specific knockdown of estrogen receptor α in the medial amygdala, medial preoptic area, and ventromedial nucleus of the hypothalamus on the sexual and aggressive behavior of male mice. *European Journal of Neuroscience*, **37**, 1308-1319.
- Sano, K., Tsuda, M. C., Musatov, S., Sakamoto, T., and Ogawa, S. 2013b Pubertal activation of estrogen receptor α in the medial amygdala is essential for the expression of social behavior in adult male mice. *Journal of Physiological Sciences*, **63**, S258.
- Sano, K., Vasudevan, N., Nagata, K., Nakata, M., Uchimura, T., Xiao, K., Tsuda, M. C., & Ogawa, S. 2013 Loss of neuronal ER α abolishes sexual and aggressive behaviors in male mice. *筑波大学心理学研究*, **45**, 1-9.
- 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. 2004 Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 1673-1678.
- Shughrue, P. J., Lane, M. V., & Merchenthaler, I. 1997 Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. *The Journal of Comparative Neurology*, **388**, 507-525.
- Sisk, C. L., & Foster, D. L. 2004 The neural basis of puberty and adolescence. *Nature Neuroscience*, **7**, 1040-1047.
- Toda, K., Okada, T., Takeda, K., Akira, S., Saibara, T., Shiraishi, M., Onishi, S., & Shizuta, Y. 2001 Oestrogen at the neonatal stage is critical for the reproductive ability of male mice as revealed by supplementation with 17beta-oestradiol to aromatase gene Cyp 19 knockout mice. *The Journal of Endocrinology*, **168**, 455-463.

- Toda, K., Saibara, T., Okada, T., Onishi, S., & Shizuta, Y. 2001 A loss of aggressive behaviour and its reinstatement by oestrogen in mice lacking the aromatase gene Cyp19. *The Journal of Endocrinology*, **168**, 217-220.
- Tomihara, K., Soga, T., Nomura, M., Korach, K. S., Gustafsson, J.-A., Pfaff, D. W., & Ogawa, S. 2009 Effect of ER-beta gene disruption on estrogenic regulation of anxiety in female mice. *Physiology and Behavior*, **96**, 300-306.
- Tsuda, M. C., & Ogawa, S. 2011 Behavioral neuroendocrine studies of the influences of early adverse experiences on the development of emotional and social behaviors, 筑波大学心理学研究, **41**, 1-10.
- Tsuda, M. C., & Ogawa, S. 2012 Long-lasting consequences of neonatal maternal separation on social behaviors in ovariectomized female mice. *PloS One*, **7**, e33028.
- Tsuda, M. C., Yamaguchi, N., & Ogawa, S. 2011 Early life stress disrupts peripubertal development of aggression in male mice. *Neuroreport*, **22**, 259-263.
- Tsukahara, S., Tsuda, M. C., Kurihara, R., Kato, Y., Kuroda, Y., Nakata, M., Xiao, K., Nagata, K., Toda, K., & Ogawa, S. 2011 Effects of aromatase or estrogen receptor gene deletion on masculinization of the principal nucleus of the bed nucleus of the stria terminalis of mice. *Neuroendocrinology*, **94**, 137-147.
- Vasudevan, N., & Pfaff, D. W. 2007 Membrane-initiated actions of estrogens in neuroendocrinology: emerging principles. *Endocrine Reviews*, **28**, 1-19.
- Veenema, A. H. 2012 Toward understanding how early-life social experiences alter oxytocin- and vasopressin-regulated social behaviors. *Hormones and Behavior*, **61**, 304-312.
- Wallen, K. 2009 The Organizational Hypothesis: Reflections on the 50th anniversary of the publication of Phoenix, Goy, Gerall, and Young (1959). *Hormones and Behavior*, **55**, 561-565.
- Young, L. J., & Flanagan-Cato, L. M. 2012 Editorial comment: oxytocin, vasopressin and social behavior. *Hormones and Behavior*, **61**, 227-229.
- Young, L. J., & Wang, Z. 2004 The neurobiology of pair bonding. *Nature Neuroscience*, **7**, 1048-1054.

(2012. 10. 29 受稿, 2013. 5. 29 受理)