自発運動を制御する新規ニューロステロイド 7 α -ヒドロキシプレグネノロンの作用機構と発現制御機構

原 口 省 吾 (東京学芸大・教育・生命科学分野、
早稲田大・教育・生物学専修)

E-mail: haraguchi@toki.waseda.jp

1. ニューロステロイドについて

過去15年の研究により、末梢内分泌腺が分泌するステロイドの標的器官として捉えられてきた脊椎動物の脳がコレステロールをもとに独自にステロイドを合成することが明らかになった。脳のステロイド合成は、哺乳類を用いたフランス国立保健医学研究所のBaulieuらのグループの研究と、私の所属している筒井研究室の非哺乳類を用いた研究により見いだされた^{1~7)}。この新しい概念の脳分子は、末梢内分泌腺が合成する従来の「古典的ステロイド (classical steroids)」と区別して「ニューロステロイド (neurosteroids)」と名付けられた。脳におけるニューロステロイド合成は脊椎動物に普遍化される重要な発見であるが、脳には未同定のニューロステロイドが存在していると考えられる。

2. 新規ニューロステロイドの同定

筒井研究室の研究により、イモリの脳幹で合成される新規ニューロステロイドの存在が明らかになった。このニューロステロイドは、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、薄層クロマトグラフィー (TLC)、ガスクロマトグラフ質量分析計 (GC-MS) を用いた生化学的解析の結果、プレグネノロンを基質として生合成される7 α -ヒドロキシプレグネノロン

であることが明らかになった (図1)。7 α -ヒドロキシプレグネノロンは脊椎動物の脳に共通に存在しており、その合成量が他のニューロステロイドと比較して著しく多いことから、重要なニューロステロイドの発見となった⁸⁾。

7 α -ヒドロキシプレグネノロンの生理作用を解析したところ、イモリの自発運動量を増加させることがわかった。次に、7 α -ヒドロキシプレグネノロンの自発運動制御機構を解析したところ、7 α -ヒドロキシプレグネノロンは後隆起核や腹側被蓋野のドーパミンニューロンに作用して、自発運動を支配する線条体と側坐核へドーパミンの放出を促すことで自発運動を高めることがわかった。したがって、7 α -ヒドロキシプレグネノロンは脳においてドーパミンの放出を促して動物の自発運動量を高める新規の脳分子であることが明らかとなった⁸⁾ (図2)。

3. 7 α -ヒドロキシプレグネノロンの日内変動とその発現制御機構

続いてイモリと同様に、ウズラの脳でも7 α -ヒドロキシプレグネノロンが合成されており、自発運動量を増加させることを明らかにした⁹⁾。鳥類の自発運動量は明確な日内変動を示すことが知られている。そこで、7 α -ヒドロキシプレグネノロン合成の日内変動を

図1 7 α -ヒドロキシプレグネノロンの合成経路

図2 7α-ヒドロキシプレグネノロンの作用機構

解析した。その結果、7α-ヒドロキシプレグネノロン合成はウズラの自発運動量が上昇する明期に増加し、自発運動が低下する暗期において減少することが明らかになった⁹⁾。

次に、7α-ヒドロキシプレグネノロン合成の日内変動の制御機構をメラトニンの作用に着目して解析した。外界の光環境情報を体内の内分泌環境に変換する脳ホルモンが松果体で作られるメラトニンである。メラトニンは暗期に分泌され、明期には分泌が低下する。メラトニン合成部位である松果体と網膜を除去するとウズラの脳内の7α-ヒドロキシプレグネノロン合成が増加した。松果体と網膜を除去したウズラにメラトニンを投与すると7α-ヒドロキシプレグネノロン合成が減少した。これらの結果から、昼行性動物のウズラでは、メラトニンが自発運動を増加させる7α-ヒドロキシプレグネノロンの合成を抑制することが明らかになった。従って、メラトニン分泌が低下する明期に7α-ヒドロキシプレグネノロン合成が増加して、昼行性の活動リズムが形成されることが考えられる⁹⁾ (図3)。

図3 メラトニンによる7α-ヒドロキシプレグネノロン合成の発現制御機構

4. 7α-ヒドロキシプレグネノロンの季節変動とその発現制御機構

繁殖期を迎えた野生動物では自発運動や生殖行動などの本能行動が増加する。脳における7α-ヒドロキシプレグネノロン合成の季節変動を解析したところ、繁殖期に増加することがわかった¹⁰⁾。

続いて、7α-ヒドロキシプレグネノロン合成の季節変動の制御機構を解析した。繁殖期のイモリでは、プロラクチンなどの下垂体ホルモンの分泌が増加し、生殖行動などが発現することが知られている。そこで、プロラクチンなどの下垂体ホルモンの作用に着目し、下垂体を除去したイモリの7α-ヒドロキシプレグネノロン合成の変動を解析した。その結果、脳内の7α-ヒドロキシプレグネノロン合成が減少したことから、7α-ヒドロキシプレグネノロン合成には下垂体ホルモンが重要な働きをしていることが明らかになった。次に、下垂体除去を行ったイモリの脳内へプロラクチンを投与すると7α-ヒドロキシプレグネノロン合成が増加した。以上の結果から、繁殖期の7α-ヒドロキシプレグネノロン合成の増加は下垂体から放出されるプロラクチンの作用により誘導されることが明らかになった⁸⁾。プロラクチンによる7α-ヒドロキシプレグネノロン合成の制御機構を明らかにするために、7α-ヒドロキシプレグネノロン合成酵素(CYP7B)とプロラクチン受容体(PRLR)の局在を解析したところ、CYP7BとPRLRは間脳において共局在していた¹⁰⁾。以上の研究により、繁殖期のイモリでは下垂体から放出されたプロラクチンが7α-ヒドロキシプレグネノロン合成を増加させることにより繁殖行動の発現を増加させることが示唆される¹⁰⁾ (図4)。

5. まとめ

本研究により同定された新規ニューロステロイド7α-ヒドロキシプレグネノロンは動物の活動量の増加を誘導することが明らかになったが、動物の特異的な行動(例えば生殖行動など)に関与しているのかについては不明

図4 プロラクチンによる7α-ヒドロキシプレグネノロン合成の発現制御機構

である。現在、共同研究者の方々と解析を進めており、予備的な結果は得られつつある。また、7α-ヒドロキシプレグネノロンの受容体の同定の研究も進めており、近いうちに日本比較内分泌学会で報告したい。

6. 提言

プレイブニングシンポジウムの際には準備不足で見苦しい発表をしてしまい、共同研究者の方々、お声をかけてくださった方々、聞きに来て下さった方々にはこの紙面を借りてお詫び申し上げます。若い学生の方々が反面教師として参考にして頂ければ幸いです。プレイブニングシンポジウムには「若手研究者からの提言」という立派な副題がついておりましたので、先輩の皆様と後輩の皆様へ簡単に書かせて頂こうと思います。

後輩の皆様へ

まずは指導して下さる方の言うことを良く聞いて、行う実験が何を目的としているのかを理解し、その実験操作でどのような反応が起きているのか理解することが重要です。そうすれば実験操作でミスをしてしまっても、その実験は続行可能なのか中断するべきなのか判断出来るようになります。また、実験系の場合はハードワークが基本ですので、ひたすら実験して待ち時間にどんどん論文を読んで書いて下さい。

先輩の皆様へ

先輩方の研究に対する姿勢や研究テーマなどを我々若手は参考にするために見ていますので、どんどん面白い研究をして頂ければ

我々自身の研究の励みになります。個人的には広島大学の浮穴和義先生の新規ホルモンの同定とその生理作用を明らかにすることを目指したご研究はかなり楽しみにしております。他にも面白い研究がたくさん行われており、毎年学会でお話を聞くのを楽しみにしております。是非、今後も学会を盛り上げていって頂きたいと思います。

謝 辞

本研究を行うにあたり多大なご指導、ご助言を頂きました早稲田大学 筒井和義先生に深く感謝いたします。また、早稲田大学 菊山榮先生、山本和俊先生、蓮沼至先生、広島大学 浮穴和義先生、藤田保健衛生大学 松永昌宏先生にもご指導、ご助言頂きましたこと深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Baulieu EE, 1997. Neurosteroids: Of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system., *Recent Prog Horm Res*, **52**, 1-32.
- 2) Tsutsui K, Ukena K, Takase M, Kohchi C, Lea RW, 1999. Neurosteroid biosynthesis in vertebrate brains., *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol*, **124**, 121-129.
- 3) Compagnone NA, Mellon SH, 2000. Neurosteroids: Biosynthesis and function of these novel neuromodulators., *Front Neuroendocrinol*, **21**, 1-56.
- 4) Mellon SH, Vaudry H, 2001. Biosynthesis of neurosteroids and regulation of their synthesis., *Int Rev Neurobiol*, **46**, 33-78.
- 5) Tsutsui K, Matsunaga M, Miyabara H, Ukena K, 2006. Review: Neurosteroid biosynthesis in the quail brain., *J Exp Zool*, **305**, 733-742.
- 6) Tsutsui K, Mellon SH, 2006. Review: Neurosteroids in the brain neuron: biosynthesis, action and medicinal impact on neurodegenerative disease., *Central Nerv Syst Agents Med Chem*, **6**, 73-82.
- 7) Do Rego JL, Seong JY, Burel D, Leprince J, Luu-The V, Tsutsui K, Tonon MC, Pelletier G, Vaudry H, 2009. Neurosteroid biosynthesis: enzymatic pathways and neuroendocrine regulation by neurotransmitters and neuro-

- peptides., *Front Neuroendocrinol*, **30**, 259-301.
- 8) Matsunaga M, Ukena K, Baulieu EE, Tsutsui K, 2004. 7α -Hydroxypregnenolone acts as a neuronal activator to stimulate locomotor activity of breeding newts by means of the dopaminergic system., *Proc Natl Acad Sci USA*, **101**, 17282-17287.
- 9) Tsutsui K, Inoue K, Miyabara H, Suzuki S, Ogura Y, Haraguchi S, 2008. 7α -Hydroxypregnenolone mediates melatonin action underlying diurnal locomotor rhythms., *J Neurosci*, **28**, 2158-2167.
- 10) Haraguchi S, Koyama T, Hasunuma I, Vaudry H, Tsutsui K, 2010. Prolactin increases the synthesis of 7α -hydroxypregnenolone, a key factor for induction of locomotor activity, in breeding male newts., *Endocrinology*, **151**, 2211-2222.