特集 教授定年退職
記念講演

順天堂医学 44 (2)
p. 128~135 (1998)

性ホルモンと神経細胞の可塑性**

Neuronal plasticity to sex hormones

新井 康 允*

YASUMASA ARAI

性ホルモンは主として性ホルモン受容体含有ニューロン系を介して神経内分泌調節や性行動の発現調節を行っている。ニューロンレベルでは受容体を介して軸索や樹状突起の伸展、シナプス形成ばかりでなく、ニューロンの生存にも関与している。

発生過程における作用は形成的 (organizational) で、不可逆的であり、脳の形態的、機能的性分化を誘起する。成体での作用は刺激的 (activational) で、可逆的であるが、性ホルモンは胎生期より成体、老年期に至るまで、ニューロンの可塑的な反応性を引き出す作用をもつ。

キーワード：神経回路の性分化、神経内分泌調節、性行動、ニューロンの可塑性、脳の老化

Key words：brain sexual differentiation, neuroendocrine and behavioral control, neuronal plasticity, brain aging

性ホルモンは標的器官である脳に多様な作用を及ぼし、ニューロンの成長と生存、神経回路網の構築、神経内分泌調節、性行動や情動反応に決定的な役割を果たしているばかりでなく、最近では脳の認知機能や記憶の保持にも重要な役割を果たしていることが明らかになっている。

脳の性分化とアンドロゲン

神経内分泌調節や性行動にみられる脳の機能的性分化では、ラットの精巣を出生後数日以内に摘出すると、遺伝的に雄でありながら、成熟後、ゴナドトロピンの周期的分泌パターンを示すようになり、内分泌学的に雌性化し、性行動パターンも

雌性化する。一方、雌ラットに生後1週間以内にアンドロゲンを注射すると、成熟してから無排卵になり、遺伝的に雌でありながら性周期を示さず、雌の性行動を示さず脱雌性化し、むしろ雄の性行動パターンを示すようになる (雄性化)。

このことから、ラットのゴナドトロピンの神経内分泌調節機構や性行動の制御神経機構は新生期では未分化であり、この時期に精巣から分泌されるアンドロゲンが脳に働くことによって性分化が起こることがわかる。

われわれはこのアンドロゲンによる脳の機能的性分化の神経機序を解明する一つのアプローチとして、特殊なL型のナイフを用いて、雄ラットの中隔野と視束前野との間の線維結合を図-1のように水平に切断する実験を行った。

その結果、正常に成長してきた雄ラットでは、エストロゲンとプロゲステロンを処理しても、雌の典型的な性行動パターンであるロードシス行動を示さないのに、図-1の水平断手術 (ARD) を行ってから、エストロゲンとプロゲステロンの

*順天堂大学医学部解剖学第二講座教授

Professor and Chairman, Department of Anatomy
(II), Juntendo University School of Medicine,
Tokyo, Japan

**第284回順天堂医学会学術集会 [Mar. 25, 1998 開催]
[Aug. 20, 1998 原稿受領]

図-1 中隔野 (LS, MS) と視床前野の間の水平切断ARDは前方180°, PRDは後方180°L型ナイフを回転して切断したもので、ARDが有効であった

処理をして調べてみると、雌と同様にロードーシスを示すことが明らかになった。しかも、発情状態の高い雌が示す雄に対する勧誘行動も示すことが認められた¹⁾²⁾。

当時、雄ラットが脱雌性化してロードーシスを示さないのは、脳の性分化が起こる際に、アンドロゲンによって、雌の性行動のシステムが壊されてしまうと考えられていた。しかし、この結果から手術後直ちにロードーシス発現のための神経機構が形成されるということは考えにくいので、ロードーシス発現のためのハードウェアとプログラムは雄ラットの脳内にもともと存在していて、雄ではそれが作動しないように強力な抑制回路が作られている可能性が出てきたわけである。同様な手術で、新生雌にアンドロゲンを投与して脱雌性化した個体でもロードーシス行動が回復することがわかり³⁾、新生期のアンドロゲンはロードーシス発現機構に強力な抑制回路を組み込むことによって脱雌性化が起こると考えられるようになった。その後の研究から、この抑制系の起始は中隔外側部になることが判明している。

ゴナドトロピン分泌の神経内分泌調節機構に関しては、新生期にアンドロゲンを投与して、排卵で多嚢胞化卵巣をもつ雌ラットに性周期を回復する試みは未だ誰も成功していない。視床前野や視床下部などを電気刺激して一過性に排卵を誘起し

た例しかない⁴⁾。

性ホルモンによるニューロン数の調節

前節で、周生期のアンドロゲンの脳に対する作用が脳の性分化の決め手になると述べたが、実際に、脳の性分化が起こる場合、アンドロゲンのままで作用する場合と、アンドロゲンがニューロン内で芳香化酵素の働きによってエストロゲンに転化してから作用する場合があります。ラットなどの実験動物では芳香化されて働く場合が多い。その場合も、アンドロゲンは芳香化酵素活性を高めるように働くから、アンドロゲンは脳の性分化にやはり重要である。

視床前野、弓状核、腹内側核、扁桃体内側核、分界条床核、青斑核などのエストロゲン受容体 (ER) やアンドロゲン受容体 (AR) に富む神経核で、神経核の大きさやニューロン数に性差が認められている⁵⁾。その中で、内側視床前野のやや大型で濃染する神経細胞群は性的二型核 (sexually dimorphic nucleus of the preoptic area, SDN-POA) と呼ばれ、ラットでは雄の細胞群の体積が雌の約5倍にあたり、細胞数が多い。この性差は胎生期のアンドロゲンと芳香化酵素の働きに依存していて、妊娠中の母親にアンドロゲンを注射すると、生まれてきた雌ラットのSDN-POAは雄のものに近くなる⁶⁾。SDN-POAはラットばかりでなく、モルモット、ハムスター、スナネズミ、シロイタチなど多くの動物にも認められ、機能的には雄の性行動の制御に関係していると考えられている。ヒトにもSDN-POAに相当する神経細胞群が視床下部に存在することが明らかになっている。

一方、雌のほうが神経核の大きさや細胞数の多いものとして、ラットの視床前野の前腹側脳室周囲核 (anteroventral periventricular nucleus of the preoptic area, AVPVN-POA) があり、雄に比べて体積が2倍あり、ニューロン数も多いが、周生期に雌ラットにアンドロゲンあるいはエストロゲンを投与すると、神経核の大きさは雄の

ものとほぼ同じレベルまで減少する⁷⁾⁸⁾⁹⁾。この神経核は下垂体前葉からのゴナドトロピンの周期的分泌に関係あると考えられ、雌にとって重要な部位と考えられている。

新生期にアンドロゲンあるいはエストロゲンを雌ラットに投与すると、SDN-POA領域内のニューロンのアポトーシスが著しく抑制され、一方、AVPvN-POA領域ではアポトーシスが有意に促進されることが明らかになった¹⁰⁾¹¹⁾。このことは、芳香化酵素によりアンドロゲンから転化されたエストロゲンがこれらの神経核のニューロンのアポトーシスを制御することにより雌雄でのニューロン数を調節していることを示している。

図-2は生後5日の雌ラットにエストラジオール・ベンゾエート (EB) を1回注射して24時間後に調べた結果であるが、EB注射後24時間以内に、SDN-POAでは有意にアポトーシスが抑制され、一方、AVPvN-POAではアポトーシスが有意に促進されることがわかる¹¹⁾。最近の実験では、SDN-POAのアポトーシスはEB注射後5時間以内に有意に抑制されることが判明している。このことはEBが標的ニューロンの遺伝子に依拠して、抑制的にも、促進的にも働きうることを示している。

図-2 生後5日に25 μ gのエストラジオール・ベンゾエート (EB) を1回注射してAVPvN-POA領域のアポトーシス細胞を注射後10時間 (EB10)、24時間 (EB24) 後で調べた。C10, C24はそれぞれの対照群。* $p < 0.005$

エストロゲンのシナプス形成促進作用

以前から、新生雌ラットに大量のエストロゲンを生後20～30日間投与すると、無排卵になるばかりでなく、卵巣は完全に萎縮して、子宮も糸状になり、膣スメアの角化もみられない、ほとんどゴナドトロピンの分泌がないと思われる状態を作ることが出来ることが知られていた。しかも、そのとき視床下部のゴナドトロピンの分泌調節に関係する神経核群のニューロンに萎縮が起こっていることが知られていた¹²⁾。そのようなエストロゲン処理して作った低ゴナドトロピン性卵巣機能低下症のラットの視床下部の神経回路がどうなっているのかは興味ある問題であった。

そこでわれわれは視床下部弓状核のニューロピルのシナプス形成に対するエストロゲンの影響を調べることとした。ラットの弓状核の神経芽細胞は妊娠17日までに細胞分裂を終了し、それ以後数が増えることはない。この部分のニューロピルは成体のものと比較して、著しく未発達で、軸索や樹状突起も未熟で、シナプスも極めて少ない。このような未熟なニューロピルはエストロゲンの連続投与によって、軸索や樹状突起の伸展が促進され、図-3に示すように、シナプス形成が著し

エストロゲンによる雌ラットのSDN-POAにおけるアポトーシスの抑制。** $p < 0.0001$

く促進された。対照群では軸索、樹状突起シナプスの数は生後31日で、成体の半数位であるのに対して、エストロゲン投与群では成体と同じになり、エストロゲン投与終了後生後150日で測定しても、対照群と同じレベルを維持していた¹³⁾。

図-3 弓状核の生後発生にともなうシナプス数の変化

黒色のヒストグラムは樹状突起シナプスを、白色のヒストグラムは細胞体シナプスを表す。C-5, 20, 31, 150は対照の動物で5日齢, 20日齢, 31日齢, 150日齢で殺して調べたもの、Eは新生時にEBを注射したもの

この結果はエストロゲンで誘起された低ゴナドトロピン性卵巢機能低下症状から期待されるものとはかに異なっており、発想の転換をせまられたわけである。

同様なことが扁桃体内側核でも認められ、しかも、成体雌ラットの前眼房に移植された新生雌ラットの扁桃体内側部の組織においてもエストロゲンがシナプス形成を促進することが明らかになり¹⁴⁾、発生過程でのERを含むニューロン系でのエストロゲンのシナプス形成促進作用はほぼ立証されたことになった。

最近では、ヒト由来の神経芽細胞腫細胞株やPC12細胞を用いて、ヒトのERのcDNAを強制導入した実験が行われるようになり、培地にエストロゲンを添加すると、培養細胞はニューロン様に変化し、シナプトフィジンの発現が認められることが明らかになり、われわれの組織レベルの結果が細胞レベル、分子レベルで検討されている¹⁵⁾。

神経回路の性分化と性ホルモン

前節で、エストロゲンが脳の発生過程でシナプス形成を促進することを述べたが、これが脳の神経回路の配線に性差を生ずる原因となっている。

図-4 扁桃体内側核のシナプス結合の性差 ♂は出生当日去勢された雄ラット、♀ TPは生後5日にテストステロン・プロピオネートを1回注射された雌ラット

その一例として、扁桃体内側核の場合を図-4に示す¹⁶⁾。

樹状突起シナプスを棘突起上にある棘シナプスとそうでないものを幹シナプスに分けて計測してみると、雄ラットの幹シナプスと棘シナプスとの合計は雌と比べて有意に多い。出生当日に精巢を摘出して、機能的に雌性化した雄ラットでは、シナプス総数が有意に減少し、雌のレベルより少し低くなった。一方、生後5日にテストステロン・プロピオネート注射された雌では、シナプス数は増加し、雄と有意差が認められなくなるまでに増加した。精巢摘出やアンドロゲン投与によって影響を受けるシナプスは図-4Bに示すように幹シナプスであって、棘シナプスはそれほど大きな影響を受けなかった。

このことから、扁桃体内側核の神経回路の配線は遺伝的に決まっているのではなく、新生期の性ステロイド的作用によって決まることがわかる。

扁桃体内側核ばかりでなく、視床前野、視交叉上核、弓状核、腹内側核などのER、ARに富む神経核においても、同様に神経回路の配線の性差が認められ、それが新生期の性ステロイドにさらされるかどうかによって決まることが明らかになっている¹⁷⁾。このような神経回路における性差が、脳の機能的な性差の基盤にあることは注目すべきである。

シナプスの可塑性とエストロゲン

弓状核は正中隆起に近い視床下部内側底部(MBH)にあるが、この部分をHalász型の特殊なナイフを用いて、卵巣を摘出した成体ラットの弓状核を、図-5のように島状に孤立させる手術を行い、3週間後、島内のニューロピルのシナプス数を計測した。その結果、島外よりの入力線維は切断されていて、変性してしまうので、シナプスは対照群の半分までに減少した(図-6)。これに対してEB2 μ gを3週間注射したグループでは、術前とほぼ同じレベルまで回復することが明らかになった¹⁸⁾。

島の切断面の境界はグリアの突起が層状に重なって存在するので、島外からの線維の再侵入は不可能であり、エストロゲンが島内のERを含む弓状核ニューロンに働いて、無傷の軸索からの発芽(sprouting)を誘起し、変性して空席になったシナプスの場所に新しいシナプスを生じさせたことになる。これは性ホルモンが成体のニューロンのシナプスの可塑的な反応性を引き出すことを示

図-5 弓状核島内における核内神経回路の模式図
ARCは弓状核、MEは正中隆起。黒色ニューロンはDAニューロンを示す

図-6 成体における弓状核のシナプスの可塑性とエストロゲン

した初めての結果であった。

傷を加えなくとも、正常なシナプスの変性像がみられることがあり、神経回路の改修はしばしば起きているはずで、ERを含むニューロン系ではエストロゲンに対する可塑性を潜在的に持っていると思われ、雌ラットの中隔外側核などでも、実際にエストロゲンに反応してシナプス数の増加が起こるのがみられた¹⁹⁾。

最近、成体ラットの海馬のCA1の錐体ニューロンのシナプス形成をエストロゲンが5時間以内で起こすことが報告されている。この場合、NMDA受容体の拮抗剤をエストロゲンと同時に投与しておくとしなぷす形成は起こらない。したがって、NMDA受容体の賦活化が新しいシナプス形成に密接に関係していることが考えられる²⁰⁾。

脳の老化とエストロゲン

老化に伴って、ニューロンの可塑性の低下が指摘されるが、720～930日齢の老齢ラットの弓状核ニューロンにもエストロゲンに対する可塑的な反応性が残っていることを示す研究結果がある。

実験的に前述と同様な手術を老齢ラットに行って、弓状核の島を作り、入力線維のシナプスを全部退化させてしまうと、島内のシナプス数は約3分の1に減少するが、同様な手術後、3週間エストロゲンを投与しておく、島内のシナプス数は術前の約60～68%まで回復する²¹⁾。図-5で示した若齢ラットの結果では回復率は90%以上であるので、老化によってエストロゲンに対する可塑的な反応性が低下している傾向は否定できないが、いまだにエストロゲンに反応して、シナプスを再生する能力を保持していることがわかる。この結果がライフサイエンスの老化制御のプロジェクトで発表された当時は視床下部とエストロゲンという組み合わせからか、十分に評価されたとはいえなかった。

その後、前節で述べたように、エストロゲンが視床下部のみでなく、記憶に関係する海馬のシナ

プスの可塑性を引き出すことや、大脳皮質に広く投射するマイネルト基底核ニューロンのコリンアセチル転移酵素の活性をエストロゲンが高めるという研究結果が発表され²²⁾、さらに、エストロゲンが老齢女性の認知能力や記憶保持能の低下を防止するという結果が出るに及んで²³⁾、エストロゲンのホルモン補充療法(HRT)が骨粗鬆症や性活動のみでなく、知的機能の回復にも有効である可能性が大いに注目されるようになってきた。

その一例として、アルツハイマー病に関するアメリカのデータを紹介すると、HRTを受けていない158名の閉経後の女性のアルツハイマー病の発症率は16.3%であるのに、HRTを受けている女性では5.8%、しかも1年以上HRTを受けている女性では発症率は1.7%にも下がるという²⁴⁾。現在アメリカではNIHAを中心として大がかりの追跡調査が行われつつあるという。

エストロゲンは女性化作用が強く、そのままでは男性には不適なので、女性化作用を出来るだけ少なくして、しかも、脳の老化に効力のあるエストロゲンを現在開発中と聞く。完成すれば男性にとって朗報となるだろう。

30年以上も順天堂大学にお世話になりました。その間、快適な研究環境、教育環境を与えていただいた石井理事長をはじめとする大学当局に心からお礼を申し上げます。また、本日発表した研究に心よく協力してくれた第2解剖教室の同僚諸氏をはじめ、多くの共同研究者の方々に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Yamanouchi K, Arai Y : Female lordosis pattern in the male rat induced by estrogen and progesterone : effect of interruption of dorsal inputs to the preoptic area and hypothalamus. *Endocrinol Jpn*, 1975 ; **22** : 243～246.
- 2) Yamanouchi K, Arai Y : Lordosis behaviour in male rats : effect of deafferentation in

- the preoptic area and hypothalamus. *J Endocrinol*, 1978 ; **73** : 381~382.
- 3) Kondo Y, Shinoda A, Yamanouchi K, *et al.* : Recovery of lordotic activity by dorsal deafferentation of the preoptic area in male rats and androgenized female rats. *Physiol Behav*, 1986 ; **37** : 495~498.
- 4) Arai Y : Some aspects of the mechanisms involved in steroid-induced sterility. In : *Steroid Hormones and Brain Function*. ed. by Sawyer CH, Gorski RA, Univ Calif. Press, Berkeley, Los Angeles, London, 1971 : 185~191.
- 5) 新井康允：性ステロイドに対するニューロンの可塑性——脳の性分化と生後の神経回路形成の調節. *神経研究の進歩*, 1989 ; **33** : 140~149.
- 6) Ito S, Yamanouchi K, Arai Y : Perinatal androgen exposure, preoptic area and reproductive functions in the female rat. *Brain Dev*, 1986 ; **8** : 463~468.
- 7) Ito S, Murakami S, Yamanouchi K, *et al.* : Perinatal androgen exposure decreases the size of the sexually dimorphic medial preoptic nucleus in the rat. *Proc Japan Acad*, 1986 ; **62B** : 408~411.
- 8) Arai Y, Nishizuka M, Murakami, *et al.* : Morphological correlates of neuronal plasticity to gonadal steroids : sexual differentiation of the preoptic area. In : *The Development of Sex Differences and Similarities in Behavior* ed. by Hang M, Whalen RE, Aron C, *et al.* Kluwer Acad Publisher, Dordrecht, 1993 : 311~323.
- 9) Murakami S, Arai Y : Neuronal cell death in the developing sexually dimorphic periventricular nucleus of the preoptic area in the female rat : effect of neonatal androgen treatment. *Neurosci Lett*, 1989 ; **102** : 185~190.
- 10) Arai Y, Murakami S, Nishizuka M : Androgen enhances neuronal degeneration in the developing preoptic area : Apoptosis in the anteroventral periventricular nucleus (AVPVN-POA). *Horm Behav*, 1994 ; **28** : 313~319.
- 11) Arai Y, Sekine M, Murakami S : Estrogen and apoptosis in the developing sexually dimorphic preoptic area in female rats. *Neurosci Res*, 1996 ; **25** : 403~407.
- 12) Arai Y, Kusama T : Effect of neonatal treatment with estrone on hypothalamic neurons and regulation of gonadotrophin secretion. *Neuroendocrinology*, 1968 ; **3** : 107~114.
- 13) Arai Y, Matsumoto A : Synapse formation of the hypothalamic arcuate nucleus during postnatal development in the female rat and its modification by neonatal estrogen treatment. *Psychoneuroendocrinology*, 1978 ; **3** : 31~45.
- 14) Nishizuka M, Arai Y : Synapse formation in response to estrogen in the medial amygdala developing in the eye. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1982 ; **79** : 7024~7026.
- 15) Ma ZQ, Spreafico E, Pollio G, *et al.* : Activated estrogen receptor mediates growth arrest and differentiation of a neuroblastoma cell line. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993 ; **90** : 3740~3744.
- 16) Nishizuka M, Arai Y : Sexual dimorphism in synaptic organization in the amygdala and its dependence on neonatal hormone environment. *Brain Res*, 1981 ; **213** : 31~38.
- 17) Arai Y : Synaptic correlates of sexual differentiation. *Trends Neurosci*, 1981 ; **4** : 291~293.
- 18) Matsumoto A, Arai Y : Neuronal plasticity in the deafferented hypothalamic arcuate nucleus of adult female rats and its enhancement by treatment with estrogen. *J Comp Neurol*, 1981 ; **197** : 197~205.
- 19) Miyakawa M, Arai Y : Synaptic plasticity to estrogen in the lateral septum of the adult

- male and female rats. *Brain Res*, 1987 ; **436** : 184~188.
- 20) McEwen B : Steroid hormone actions on the brain : What is the genome involved? *Horm Behav*, 1994 ; **28** : 396~405.
- 21) Matsumoto A, Arai Y, Osanai M : Estrogen stimulates neuronal plasticity in the deafferented hypothalamic arcuate nucleus in aged female rats. *Neurosci Res*, 1985 ; **2** : 412~418.
- 22) Luine V : Estradiol increases choline acetyltransferase activity in specific basal forebrain nuclei and projection areas of female rats. *Exp Neurol*, 1985 ; **89** : 484~490.
- 23) Resnik S, Metter EJ, Zonderman AB : Estrogen replacement therapy and longitudinal decline in visual memory. *Neurology*, 1997 ; **49** : 1491~1497.
- 24) Tang M-X, Jacobs D, Stern Y, *et al.* : Effect of oestrogen during menopause on risk and age at onset of Alzheimer's disease. *Lancet*, 1996 ; **348** : 429~432.

Special Review

Summary

Sex steroids play an important role in regulating neuroendocrine and sexual behavior. These responses to sex steroids are primarily specific to the steroid receptor-containing neuronal system. The circuitries involved in neuroendocrine and behavioral functions are under the direct control of gonadal steroids throughout life.

In perinatal animals, gonadal steroids affect brain sexual differentiation by regulating the number of target neurons, stimulating axonal and dendritic growth, modifying synaptic connectivity and maintaining neuronal survival. These steroidal actions in perinatal animals are organizational and irreversible, whereas they are activational in adult animals.

Neuronal plasticity to gonadal steroids in the neuroendocrine brain is detectable at different sequences of the developmental process and after aging. At the synaptic level, some evidence suggests that estrogen prevents age-dependent decreases of synaptic density in certain neuronal groups, presumably by facilitating neuronal plasticity.

Key words : brain sexual differentiation, neuroendocrine and behavioral control, neuronal plasticity, brain aging

YASUMASA ARAI

*Professor and Chairman, Department of Anatomy (II),
Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan*