

## 論文審査結果の要旨

氏名 石井 寛高

この論文では、記憶・学習の中枢器官である海馬を用い、性ステロイド合成系を中心として脳ニューロステロイド合成酵素及びその受容体の発現を分子生物学的・生化学的手法を用いて網羅的に解析した内容が述べられている。

脳はステロイドホルモンの標的器官であり、ステロイドホルモンが脳に作用して神経伸長・神経保護・神経活動の調節を行なうことは古くから知られていた。従来の常識では、これらのステロイドホルモンは副腎・卵巣・精巣といった末梢ステロイド合成器官で合成され、血流にのって脳に到達して作用するとされていた。しかし、近年、ステロイドホルモンが脳内の特定の領域でコレステロールから独自に合成されることが判明し、コレステロールから1段階ないし2段階の反応を経て合成される PREG (pregnenolone) や PROG (progesterone) などのステロイドが神経細胞で産生されることが明らかとなってきた。女性ホルモンや男性ホルモンの性ステロイドホルモンも脳に作用することが知られていたが、脳内コレステロールからの性ステロイド合成に関しては、性ステロイド中間体 DHEA (dehydroepiandrosterone) の合成酵素である P450(17 $\alpha$ ) の発現やその活性が脳で検出できないため、脳内性ステロイド合成系の存在は否定されて来た。ところが、その一方で、P450(17 $\alpha$ ) の代謝産物である DHEA が脳で高濃度に存在するので、脳内に P450(17 $\alpha$ ) が存在しないと考える従来の報告は明らかに矛盾していた。

論文提出者は、RT-PCR プライマー設計法に物理化学的なパラメーターを導入して最適化することにより高感度で特異性の高いプライマーを作製し、これを RT-PCR/Southern blotting 法に適用した。これにより発現検出系の高感度化をはかり、性ステロイド合成系を中心に P450(17 $\alpha$ ) 及びそれ以降の脳ニューロステロイド合成酵素・受容体の網羅的発現解析を行なった。さらに、HPLC 法を用いて海馬におけるステロイド代謝能を測定し、性ステロイド合成経路を同定した。また、一連の酵素群の海馬内における発現局在を免疫組織化学染色法と *in situ* hybridization 法を用いて同定した。

本研究では、プライマー設計法の改良により、これまで20年以上ないとされていた P450(17 $\alpha$ ) の脳内発現を見出し、DHEA 合成経路を決定することに成功した。これにより、脳内の性ステロイド合成系の解明に道筋をつけるとともに、DHEA 以降の脳内の性ステロイド合成系に関する網羅的解析を行なった。本研究の結果、以下が明らかとなった。(1) 成獣ラット脳にはコレステロールから性ステロイド合成に必要な一連の酵素群が発現している。(2) 記憶・学習の中枢である海馬では DHEA からアンドロステジオールを経て男性ホルモンであるテストステロンが合成され、そのテストステロンは、さらに強い男性ホルモンである DHT や女性ホルモンであるエストラジオールに変換される。(3) 性ステロイドの作用先である受容体が脳で発現している。(4) 性ステロイド合成酵素群が海馬神経細胞に局在する。(5) 海馬では脳ニューロステロイド合成酵素・受容体が生後すぐから2週齢にかけての幼若期に高発現する。

本研究は、(1) 高感度で特異性の高いプライマー設計法の開発、(2) 成獣ラット脳における脳ニューロステロイド合成経路およびその受容体の網羅的解析の成功、(3) 海馬での性ステロイド合成系の同定、(4) 性ステロイド合成酵素群の神経局在の発見、(5) 海馬発達段階における脳ニューロステロイド合成経路およびその受容体の網羅的解析の成功などの点で新規性がある。本博士論文の結果から、記憶・学習の中核である海馬では、神経細胞が独自にコレステロールから女性ホルモン・男性ホルモンを合成して自己・近隣に分泌することにより神経伝達調節因子様の作用を発揮することが示された。また、これらは成獣脳海馬のみならず神経回路網の構築が盛んな幼若期の海馬にも重要であることが示唆された。従来ステロイドホルモンの神経作用は、神経内分泌学分野の枠内で議論されていたが、本研究により、性ステロイドホルモンを神経細胞が独自に合成し、自己・近隣の神経細胞に分泌していることが明らかとなり「神経近接分泌学」ともいふべき新規分野が開拓された。

なお、本研究は、川戸佳氏、木本哲也氏、古川愛造氏、北條泰嗣氏らとの共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行なったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、審査員一同は同提出者が博士(理学)の学位を授与するのに十分であると判断した。