

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 千葉 秀一

哺乳類の性腺で合成される性ステロイドは、発生段階の脳に作用して性分化を誘導し、性成熟後の脳に作用して雌雄それぞれの性的役割を発揮させる。前者は形成作用と呼ばれ、後者は活性化作用と呼ばれている。さらに、近年性ステロイドが脳の高次機能の維持や虚血性脳疾患からの回復に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつあり、この作用は保護作用と呼ばれている。申請者らの研究室ではラットの脳の性分化期に視床下部において性ステロイドにより発現が誘導される遺伝子としてグラニューリン (Grn) 遺伝子が同定され、脳の雄型化に関与する遺伝子であることが示唆されている。本研究は、性ステロイドの形成作用および保護作用における Grn の役割の解明を目的としたものである。

第1章で研究の背景や目的が述べられた後、第2章ではエストロジェンの神経新生促進作用におけるグラニューリンの役割が検討されている。本章ではまず、3ヶ月齢の卵巣摘出ラットを用いて、エストラジオール投与後の海馬歯状回において、ブロモデオキシウリジン (BrdU) を取り込んだ細胞数が増加していることを確認した。また、Grn、インスリン様成長因子および脳由来神経栄養因子の遺伝子発現量を検討した結果、Grn 前駆体の mRNA 量のみが増加していた。一方、12ヶ月齢のラットではエストロジェンの神経新生および Grn 遺伝子発現に対する促進作用はともに見られなかった。次に、神経前駆細胞を培養し、その増殖に対するエストロジェンの作用を検討した結果、神経前駆細胞数は培養液中のエストラジオール濃度依存的に増加していた。また、この細胞増殖促進作用は培養液中への Grn 前駆体に対する抗体の添加により低下した。これらの結果から、エストロジェンは海馬歯状回の神経前駆細胞に作用して Grn の発現を誘導すること、さらに分泌された Grn が神経前駆細胞の増殖を促進することが示唆されたが、このようなエストロジェンの作用は加齢により低下すると考えられた。

第3章では、Grn ノックアウト (KO) マウスを用いて成体海馬の神経新生に対する Grn の作用をさらに検討した。7週齢の雄 Grn KO マウスへの BrdU の投与後、海馬歯状回において BrdU 標識された細胞数は野生型 (WT) よりも KO マウスで有意に多かった。海馬歯状回における細胞増殖に対する Grn の作用が第2章と本章では異なっていたが、その原因として、雄マウスにおけるアンドロジェンの存在などの内分泌環境の違いが細胞増殖を抑制する分子種の Grn を分泌させた可能性が考えられた。次に、Morris 式水迷路を用いた空間学習試験では、6ヶ月齢の KO マウスにおけるプラットホームへの到達時間が短い傾向が見られたが、18ヶ月齢の KO マウスでは有意な延長が見られた。以上より、Grn KO マウスでは細胞の増殖や生存が促進されることによって新生神経細胞数が増加しており、空間学習能力が高い傾向にあると考えられた。しかし、18ヶ月齢の Grn KO マウスでは空間学習能力の低下が見られ、老齢期の脳の高次機能の維持に Grn が関与していることが示唆された。

第4章では不安傾向に関する性分化の機序を検討することにより、周生期の脳における **Gm** の役割を検討した。その結果、**WT** マウスにおいて雄は雌と比較すると不安傾向が低いという性差の存在が示された。一方、**KO** マウスにおける雄の不安傾向は **WT** の雄より高く、雌とほぼ同じレベルであった。次に、このような不安傾向の性差に関与していると考えられる性的二型を示す神経核の発達について検討した。青斑核は不安様行動への関与が示唆されており、ラットにおいては雄よりも雌においてその体積が大きいことが知られている。青斑核の体積は、**WT** マウスでは雄に比べて雌の方が大きい傾向が見られ、**KO** マウスでは雌雄の **WT** マウスよりも有意に大きく、かつ性差も認められなかった。以上の結果から、**Gm** は青斑核の発達を抑制することで形態学的な性差を形成し、この形態学的な性差が不安傾向の性差発現の基盤となっていることが示唆された。

以上の研究により、性ステロイドにより誘導された **Gm** は、神経前駆細胞の増殖や分裂を終えた神経細胞の生存を調節することにより性的二型核や海馬の形成に関与し、それらの機能に影響していることが考えられた。このような **Gm** の作用は、成体海馬におけるエストロジェンの神経保護作用のみならず、周生期における性ステロイドによる脳の性分化においても共通して働いていると考えられた。本研究は性ステロイドの新しい作用機序を解明し、さらに老齢期の脳機能の維持における性ステロイドの有効性を示すもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査員一同は本論文が博士(獣医学)の学位論文として価値あるものとして認めた。