

# 神経系の性差の研究

新井康允\*

## 研究計画

行動や神経内分泌調節にみられる性差を考えると、脳に機能的な性差があることは明らかである。脳の機能的性差に関連して、最近脳の形態的性差の有無が問題となってきた<sup>1)</sup>。光学顕微鏡レベルでは、ラットの内側視束前野の一部の神経細胞群に顕著な雌雄差があり、雌に比べて雄の方が神経細胞の数も多く、大きさも著しく大きいことが知られている<sup>2)</sup>。その他に腹内側核<sup>3)</sup>や扁桃体内側核<sup>10)</sup>などで神経核の体積に雌雄差が報告されている。これらの神経核の雌雄の体積は遺伝的に決まっているものではなく、周生期の血中レベルの性ホルモンによっていることが判明している。

さらに、電子顕微鏡レベルでは、視束前野の背内側部<sup>12)</sup>、視床下部弓状核<sup>7)</sup>、腹内側核<sup>3)</sup>、扁桃内側核<sup>11)</sup>でシナプス結合パターンに性差があることがラットにおいて知られており、これらの部位の神経回路の配線の雌雄パターンについても、出生時は未分化で、出生後早期の性ホルモン環境によって決まることが判明している<sup>3), 9)</sup>。

本研究では、性差の顕著な内側視束前野に注目し、その性差の発現機序を胎生・生後発生の過程を通して調べた。また、性ホルモンの周生期における向神経作用を調べる目的で、新生雌ラットの内側視束前野組織を去勢成体雌ラットの第3脳室内に移植し、性ホルモンを宿主を介して投与して移植片の成長およびシナプス形成能を調べた。これは自閉症の発症頻度に性差があり、男児に有意に多いという事実と関連して脳内の性差のある構造を研究しようとするものである。

## 研究経過および方法

ウィスター系雌雄ラットを用いて、今回は主として視束前野に注目して調べた。

\* 順天堂大学医学部第2解剖学教室 (Y. Arai, Department of Anatomy, Juntendo University School of Medicine)

## 1) 胎生期のアンドロゲンの影響

テストステロン・プロピオネート (TP) 4 mg または溶媒のゴマ油を妊娠15~22日に連続投与 (皮下注射) する群と、4 mg TP を妊娠17日または21日に1回のみ投与する群を作り、TP 連続投与群の場合は妊娠23日目に帝王切開により胎仔を取り出し、里親に哺乳させた以外は、自然分娩で出生させた。90日齢で雌ラットを殺し、体重、卵巢重量を測定後、脳を10%ホルマリンで固定した。50  $\mu$  連続凍結切片をクレシルヴィオレットで染色し、視束前野 (POA) をプレバラマイクロービューアーで55倍に投影し、性的二型核 (SDN-POA) の輪郭を連続切片の各切片でトレースした。そして NEC PC 9800 と連続した画像解像装置により各平面における SDN-POA の面積を測定し、そこから SDN-POA の体積を計算した。

## 2) 新生雌ラットの POA の脳移植

新生雌ラットの前額断のスライス (約厚さ 1.5 mm) を作り、POA の内側部を内径 0.7 mm のステンレスチューブで打抜き、脳定位固定装置によって去勢成体雌ラットの第3脳室内に移植した<sup>4), 9)</sup>。移植群の半数の動物にはエストラジオール ( $E_2$ ) を含むサイラスティックチューブを皮下に植込み、 $E_2$  非投与群と一緒に4週間後に殺して調べた。他に、POA の代りに頭頂葉皮質を移植した群も作り、同様に調べた。光学顕微鏡レベルの検査としては、10  $\mu$  の連続パラフィン切片をクレシルヴィオレットで染色し、SDN-POA の場合と同様、画像解析装置で移植片の体積を測定した。電子顕微鏡レベルでは移植片組織内におけるシナプス形成を調べる目的で、各移植片の中央部 10000  $\mu$ m<sup>2</sup> あたりの樹状突起シナプスの数を測定した。

## 研究結果

### 1) SDN-POA と胎生期のアンドロゲン

剖検時、大部分のラットの卵巢には黄体が認められ、TP 連続投与群の11匹中4匹において、卵胞のみの無排卵

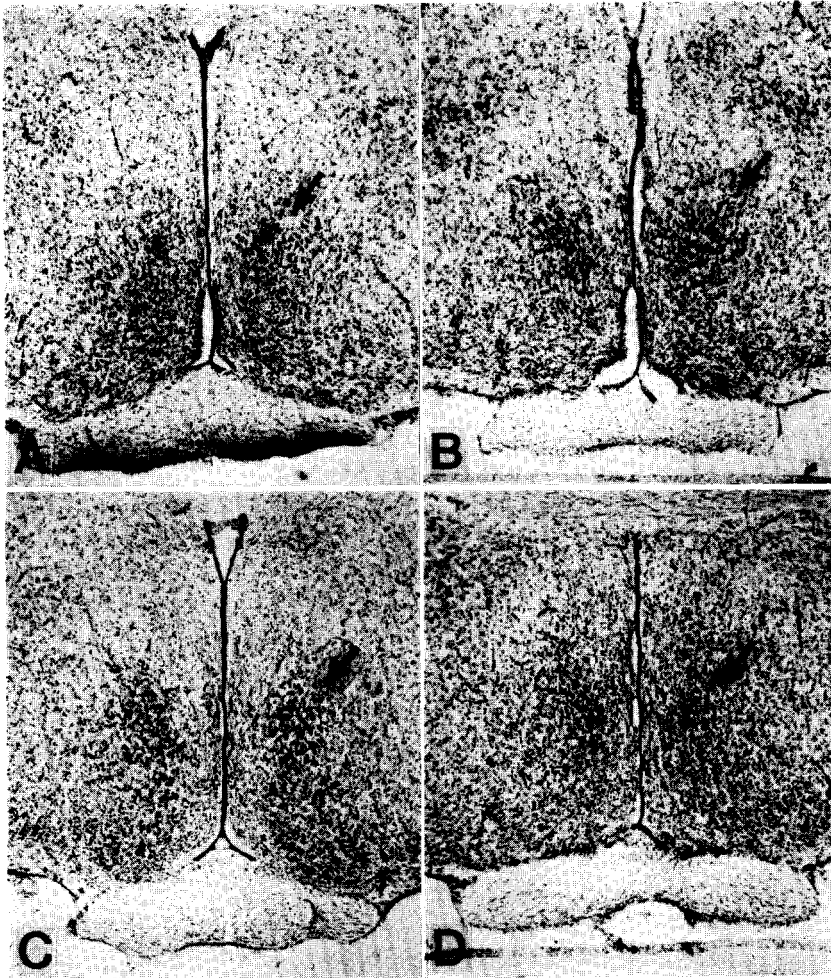


図1 視束前野の性的二型核 (SDN-POA)

- A. 正常雌
  - B. 妊娠15～22日母親を介して、テストステロン・プロピオネート (TP) 4 mg を連続投与された雌
  - C. 妊娠17日に1回 TP 4 mg 1回投与された雌
  - D. 妊娠21日に1回 TP 4 mg 投与された雌
- 矢印は SDN-POA

性の卵巣が認められた。性行動に関しては、対照群と同様ロードシス行動を示し、雄の行動であるマウント行動はほとんど示さなかった。

SDN-POA は図1のように内側 POA にみられる濃染する中型神経細胞の塊まりで、雌ラットのものは雄のものに比べて有意に小さい。この雌雄差は周生期のアンドロゲン、ことに胎生期のアンドロゲンの効果が重要な鍵をにぎっていると考えられている<sup>9)</sup>。本実験でも、妊娠15～22日 TP 連続投与群のSDN-POA の体積が対照群と比較して有意に大きいことが確認された ( $P < 0.05$ ,

図2)。さらに妊娠17日 TP 1回投与群では、連続投与群よりも SDN-POA の値は高値を示した ( $P < 0.001$ )。一方、妊娠21日 TP 1回投与群では、TP の効果は認められず、対照群と有意差はなかった。

## 2) 新生 POA 脳内移植片の成長に対するエストロゲンの影響

SDN-POA の体積に対する性ホルモンの影響に関連して、POA 組織の成長に対するホルモンの影響を脳移植の手法を使って調べた。周生期の脳の性分化に対するアンドロゲンの作用は脳の芳香化酵素によってエストロゲ

ンに転換された後に効くと考えられているので、本実験では宿主を介してエストラジオールを投与した。

表1は移植片の体積を示す。移植片の体積は移植条件の均等化がむずかしく、多少のばらつきがみられたが、E<sub>2</sub>投与群の移植片の体積は対照群の約4倍を示し、E<sub>2</sub>の向神経作用が認められた (P<0.05)。頭頂葉皮質の場合は移植片そのものの成長はPOAと比べて良好であるが、E<sub>2</sub>投与群と対照群との間で有意な差は認められなかった。

### 3) POA 移植片中のシナプス形成とエストロゲン

1日齢の雌ラットのPOAの神経網は未熟で、樹状突起や軸索も未発達であり、表2のように樹状突起シナプス(幹シナプス, 棘シナプス)の数も少ない。脳内移

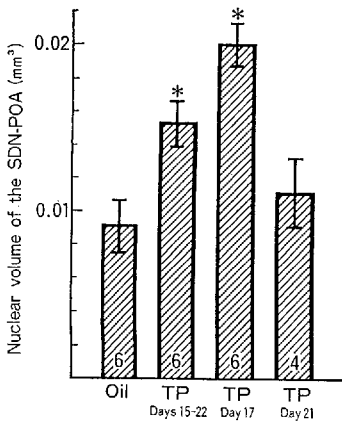


図2 視床前野の性的二型核 (SDN-POA) の体積に対する胎生期テストステロン・プロビオネート (TP) 投与の影響

表1 新生 POA または頭頂葉皮質移植片の脳内での成長とエストロゲンの効果

	POA (mm <sup>3</sup> )	大脳皮質 (mm <sup>3</sup> )
対照群	0.017 ± 0.005	0.21 ± 0.06
エストラジオール投与群	0.074 ± 0.019	0.30 ± 0.07

植4週間後、神経網の発達が著しく、正常のPOAのものに近い像を示し、対照群の移植片ではシナプス数が1日齢のPOAの約10倍に増加した。E<sub>2</sub>投与群では約15倍に増加した。E<sub>2</sub>投与群と対照群の間では幹シナプス, 棘シナプスともに有意にE<sub>2</sub>投与群の方が多く (P<0.05), E<sub>2</sub>が移植組織のシナプス形成を促進することが判明した。

### 考察と今後の展望

脳の性差の成因として、周生期の性ホルモンの影響が考えられる。本研究では、主としてPOAの神経核の体積をパラメーターとして性ホルモンの影響を調べた。その結果、SDN-POAは胎生中期までは未分化で、その後アンドロゲンの影響によって体積に差が生ずるが、妊娠15~22日連続投与群よりも、妊娠17日1回投与群の方が効果があるので、TPの連続投与は必ずしも必要でないことが判明した。また、TP1回投与でも妊娠21日では無効だったことから、SDN-POAの発生の過程でアンドロゲンに敏感な臨界期が存在することを暗示する。ただ、アンドロゲンが神経細胞の増殖を促進しているのか、細胞死を抑制するように働いているのかは不明である。

新生POA組織の脳内移植のさいに、エストロゲンが移植組織の成長を促進することが明らかになった。POAにはアンドロゲンやエストロゲンの受容体を含んだ神経細胞に富んでおり、この部分の神経細胞の樹状突起や軸索などの神経網成分にエストロゲンが働いて、突起の伸展やシナプス形成を促進したと考えられる。周生期の精巣から分泌されたアンドロゲンは脳内で芳香化されてエストロゲンになって作用するといわれており<sup>2),3)</sup>、雄の脳内でのこのようなアンドロゲン(またはエストロゲン)の向神経作用がPOAや他の性ホルモン受容体に富む脳内の部位に構造的性差を生ずる原因になっていると考えられる。

最近、青斑核を初めとして、多くのモノアミン系の神経細胞群にも性ホルモン受容体の存在が明らかにされているので<sup>4)</sup>、これらの部位での性差の有無を研究中である。

表2 POA 移植片のシナプス形成とエストロゲン

	幹シナプス	棘シナプス	合計
新生 POA (1日齢)	98.1 ± 13.2	11.7 ± 3.6	109.9 ± 16.5
POA 移植片	847.7 ± 32.6	222.5 ± 21.8	1070.2 ± 36.3
POA 移植片+エストロゲン	1242.0 ± 50.9	383.7 ± 21.9	1624.3 ± 55.9

## 文 献

- 1) 新井康允：脳の性差—形態学的パラメーター。  
*Clin. Neurosci.*, 2: 287, 1984.
- 2) Arai, Y.: Synaptic correlates of sexual differentiation. *Trends Neurosci.*, 4: 291-293, 1981.
- 3) Arai, Y.: Synaptic sexual differentiation of the neuroendocrine brain. In *Endocrine Correlates of Reproduction* (K. Ochiai et al. eds.), Jap. Sci. Soc. Press, Tokyo/Springer Verlag, Berlin, 1984, p. 29.
- 4) 新井康允, 松本 明, 小山内実：神経内分泌調節と脳移植. *生体の科学*, 35: 330-337, 1984.
- 5) Gorski, R. A.: *The Neuroscience, Fourth Study Program* (F. O. Schmitt et al. eds.), MIT Press, 1979, p. 969.
- 6) Heritage, A. S., Stumpf, W. E., Sar, M. and Grant, L.D.: Brainstem catecholamine neurons are target site for sex steroid hormones. *Science*, 207: 1377-1379, 1979.
- 7) Matsumoto, A. and Arai, Y.: Sexual dimorphism in "wiring pattern" in the hypothalamic arcuate nucleus and its modification by neonatal hormonal environment. *Brain Res.*, 190: 238-242, 1980.
- 8) Matsumoto, A. and Arai, Y.: Sex difference in volume of the ventromedial nucleus of the hypothalamus in the rat. *Endocrinol. Japon.*, 30: 277-280, 1983.
- 9) Matsumoto, A., Kobayashi, S., Murakami, S. and Arai, Y.: Recovery declined ovarian function in aged female rats by transplantation of newborn hypothalamic tissue. *Proc. Japan Acad.*, 60: 73-76, 1984.
- 10) Mizukami, S., Nishizuka, M. and Arai, Y.: Sexual difference in nuclear volume and its ontogeny in the rat amygdala. *Exp. Neurol.*, 76: 569-575, 1983.
- 11) Nishizuka, M. and Arai, Y.: Sexual dimorphism in synaptic organization in the amygdala and its dependence on neonatal hormone environment. *Brain Res.*, 212: 31-38, 1981.
- 12) Raisman, G. and Field, P.M.: Sexual dimorphism in the neuropil of the preoptic area of the rat and its dependence on neonatal androgen. *Brain Res.*, 54: 1-29, 1973.

## abstract

### Sex Difference in Central Nervous System

*Yasumitsu Arai*

Morphological sex differences in the brain are investigated. The volume of the cluster of intensely staining neurons of the rat preoptic area was found to be sexually dimorphic. This neuronal group "sexually dimorphic nucleus of the preoptic area" (SDN-POA) was affected by prenatal exposure to androgen. Treatment of female rats with testosterone propionate (TP) from days 15 to 22 of gestation through the mothers significantly increased the nuclear volume of the SDN-POA. The effect of TP on the development of the SDN-POA was most remarkable in the animals treated with TP once on day 17 of gestation, whereas TP injection on day 21 of pregnancy had no effect. These results suggest that continuous prenatal exposure to TP is not essential to stimulate the development of the SDN-POA, rather suggesting the presence of a critical period

during which the SDN-POA is most sensitive to androgen.

In order to examine the possible neurotropic effect of sex steroid on the developing brain, neonatal preoptic tissues were transplanted into the third ventricle of ovariectomized adult rats. Estrogen was given through the host. Four weeks after brain transplantation, the graft tissues showed a significant growth in the host brain. Estrogen markedly enhanced the growth of the graft, its volume being approximately 4 fold of that of non-treated group. Furthermore estrogen effectively stimulated synaptogenesis in the preoptic tissues taken from the newborn females. These neurotropic action of sex steroids on the developing brain tissues may imply for the development of sexual dimorphism in certain brain areas where receptors for sex steroids are abundant.



## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



### 研究計画

行動や神経内分泌調節にみられる性差を考えると、脳に機能的な性差があることは明らかである。脳の機能的性差に関連して、最近脳の形態的性差の有無が問題となってきた1)。光学顕微鏡レベルでは、ラットの内側視束前野の一部の神経細胞群に顕著な雌雄差があり、雌に比べて雄の方が神経細胞の数も多く、大きさも著しく大きいことが知られている5)。その他に腹内側核8)や扁桃体内側核10)などで神経核の体積に雌雄差が報告されている。これらの神経核の雌雄の体積は遺伝的に決まっているものではなく、周生期の血中レベルの性ホルモンによっていることが判明している。

さらに、電子顕微鏡レベルでは、視束前野の背内側部12)、視床下部弓状核7)、腹内側核3)、扁桃内側核11)でシナプス結合パターンに性差があることがラットにおいて知られており、これらの部位の神経回路の配線の雌雄パターンについても、出生時は未分化で、出生後早期の性ホルモン環境によって決まることが判明している2,3)。

本研究では、性差の顕著な内側視束前野に注目し、その性差の発現機序を胎生・生後発生の過程を通して調べた。また、性ホルモンの周生期における向神経作用を調べる目的で、新生雌ラットの内側視束前野組織を去勢成体雌ラットの第3脳室内に移植し、性ホルモンを宿主を介して投与して移植片の成長およびシナプス形成能を調べた。これは自閉症の発症頻度に性差があり、男児に有意に多いという事実と関連して脳内の性差のある構造を研究しようとするものである。