

論文の内容の要旨

論文題目 老化に伴うラット脳内の性ステロイド合成系と受容体の変化

氏名 棟朝 亜理紗

【背景・目的】

記憶・学習能は老化に伴い低下する。この低下を引き起こす重要な要因の一つとして性ホルモン濃度の低下が考えられている。実際に、更年期により閉経した女性へ女性ホルモン補充をすると、低下した記憶力の改善がみられる。一方、老齢の男性への男性ホルモン補充を行う研究は行われていない。また、男性（オス）における男性ホルモン低下と記憶力低下の関係を示す研究も非常に少ない。

従来、男性・女性ホルモンの記憶力への影響を研究する場合、男性ホルモンは精巣で、女性ホルモンは卵巣で合成され、血流を通じて、海馬に作用するものだと考えられてきた。この描像では、海馬は性ホルモンの単なる標的器官に過ぎない。しかし、川戸研究室の3ヶ月齢（若齢）オスラットを用いた研究により、海馬の神経細胞に性ホルモン合成酵素・受容体の mRNA とタンパク質が局在していることが明らかになった (Hojo *et al.*, 2004, PNAS)。また、海馬内の性ホルモン濃度は血中に比べてかなり高い (Hojo *et al.*, 2009, Endocrinology)。このことから、性ホルモンが海馬に作用する場合、血中の寄与よりも海馬自身の合成した性ホルモンの寄与の方が大きいと考えられる。

以上より、老化と記憶学習、そして男性・女性ホルモンの関係を研究するには、海馬自身の男性・女性ホルモンの濃度や、男性・女性ホルモンの合成酵素・受容体の発現を解析しなければならない。そこで本研究では、実験動物として3ヶ月齢（若年、ヒトでは20歳）、12ヶ月齢（中年、ヒトでは40歳）、24ヶ月齢（老年、ヒトでは80歳）のWistar系オスラットを用いて、下記の目的を設定し、実験を行った。

- (1) 海馬の男性ホルモン (T; testosterone, DHT; dihydrotestosterone) および女性ホルモン (E2; 17 β -estradiol) 濃度を3ヶ月齢、12ヶ月齢、24ヶ月齢で調べ、老化に伴い減少するかどうか調べた。

- (2) 3ヶ月齢、12ヶ月齢、24ヶ月齢の海馬において、男性・女性ホルモン合成酵素および、その受容体の mRNA 発現量を解析して、(1) で得られる男性・女性ホルモンの変化が対応するか調べた。
- (3) 海馬以外の重要な脳部位である大脳皮質（精神中枢）、視床下部（生殖中枢）、小脳（運動中枢）について (2) と同じく mRNA 解析を行った。そして、それらが海馬の老化の特徴と似ているのか、異なるのかを比較した。この部位間の比較は、海馬の老化の特徴を抽出させるために必要である。

【結果】

(1) 質量分析 (LC-MS/MS) 法を用いて、海馬内の男性ホルモン (T、DHT) と女性ホルモン E2 濃度を定量した。その結果、T 濃度は 17 nM (3ヶ月齢) → 5 nM (12ヶ月齢) → 0.2 nM (24ヶ月齢) と老化により大きく減少した。DHT 濃度も、7 nM (3ヶ月齢) → 2 nM (12ヶ月齢) → 0.4 nM (24ヶ月齢) と大きく減少した。それに対して、E2 濃度は 8 nM (3ヶ月齢) → 8 nM (12ヶ月齢) → 2 nM (24ヶ月齢) となり、緩やかな減少であることが明らかになった。これらのことから、海馬においては、主に男性ホルモンが老化で大きく減少することがわかった。

(2) 海馬内の性ホルモン濃度測定の結果から、海馬では老化により男性ホルモンが大きく減少することが明らかとなったため、次に海馬内の男性および女性ホルモン合成酵素と受容体の遺伝子発現量を RT-PCR 法で解析した。この解析において困難な点は、海馬内の性ホルモン合成酵素および受容体の発現量が精巣・卵巣の約 1/100-1/1000 であり、著しく低い点である。

この問題を克服するため、自由エネルギー ΔG を計算して、プライマーと相補鎖の安定性を評価することで、高い特異性と高増幅効率能を兼ね備えたプライマーの設計を実現させた。その結果、3ヶ月齢、12ヶ月齢、24ヶ月齢と、老化が進むにつれて、男性ホルモン合成酵素 (*Cyp17a1*、*Hsd17b3*、*Srd5a2*) がはっきりと減少することが分かった (図 1 の水色点線)。男性ホルモン受容体 *Ar* も老化で減少した。この結果から、老化に伴って、海馬自身の男性ホルモン合成酵素系が減少することが、海馬内男性ホルモン濃度の減少を引き起こす一因であることが示唆される。一方、女性ホルモン合成酵素 *Cyp19a1* や女性ホルモン受容体 *Esr1* は減少しなかった (図 1)。

(3) 大脳皮質（精神中枢）・視床下部（生殖中枢）・小脳（運動中枢）の mRNA 解析を行い、3、12、24ヶ月齢の各酵素・受容体の mRNA 発現量の変化の仕方をまとめた。視床下部では男性ホルモン受容体 *Ar* が増加するという、海馬とは全く反対の結果が得られた。大脳皮質・小脳では、海馬と似ており、男性ホルモン合成系が減少していた。ただし、大脳皮質・小脳では、女性ホルモン合成酵素 *Cyp19a1* の発現がほぼ見られないという特徴があった。

【考察】

海馬では、正常老化により神経細胞の数は変化せず、神経シナプス後部（スパイン）の密度が減少する (平櫛, 2014, 東京大学修士論文)。このことは、老化による記憶力の低下がシナプスの減少によるものであることを示唆する。川戸研の先行研究から、老齢ラットに男性ホルモン T または DHT を皮下投与によって補充すると、海馬神経スパインの密度が回復することが分かっている (平櫛, 2014, 東京大学修士論文)。そのことと、本研究で得られた結果を合わせると、老化に伴う記憶力低下の機構として以下のことが

示唆される。老化に伴い海馬内の男性ホルモン合成酵素系が減少し、海馬内の男性ホルモン濃度が減少する。さらに、男性ホルモン受容体も減少していた。その結果、記憶を貯蔵する構造の神経シナプスが減少し、記憶能力が低下するという機構である。そして、ここに男性ホルモン（T、DHT）を補充すると神経シナプスが回復して、記憶力が回復すると考えられる。

老化に伴う記憶力の低下に関しては、これまで女性ホルモンに着目した研究が多く行われてきた。しかし、本研究の結果により、オスにおける海馬の老化については、むしろ男性ホルモンの減少の方が、記憶能力の低下に大きく寄与していることが示唆された。本研究の結果は、男性の認知症に対する T、DHT の効果を示唆するものであり、記憶能力に対する男性ホルモンの作用機序に関して新たな分野を切り開くものと考えられる。また、現在主流となっている女性ホルモン補充に関わる、新しいホルモン補充を提案するものになると考えられる。

また、神経細胞が死ぬアルツハイマー病やパーキンソン病などの病的な老化に関しては数多くの研究が行われている。それに対して、正常老化では神経細胞数が変化しない。それゆえ、病的な老化と正常老化は質的に区別して研究を行う必要がある。しかし、実験動物の入手困難などの理由から、正常老化の研究はこれまでほとんど進んでこなかった。その点においても本研究は、正常老化における脳内の男性・女性ホルモン合成系の老化に伴う変化と海馬内の老化の特徴を初めて明らかにした点で重要な意義を持つ。

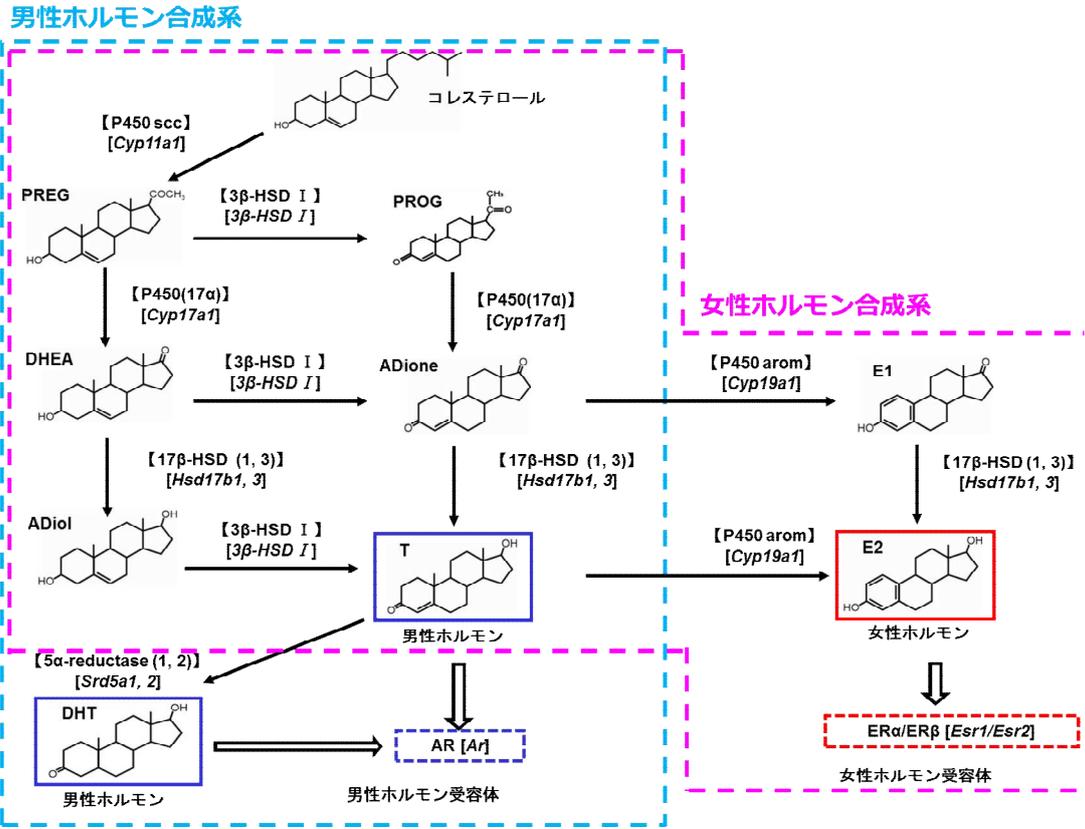


図1 海馬内の性ステロイド合成系の模式図

男性・女性ホルモンは、コレステロールより合成される。男性ホルモン合成系は水色の点線、女性ホルモン合成系はピンクの点線の囲みで示した。女性ホルモン E2 は男性ホルモン T から変換される。この変換を触媒する酵素が *Cyp19a1* である。合成された男性ホルモン (T; testosterone、DHT; dihydrotestosterone) は男性ホルモン受容体 *Ar*、女性ホルモン (E2; 17β-estradiol) は女性ホルモン受容体 (*Ers1/Esr2*) にそれぞれ結合して作用を発揮する。[]内は性ホルモン合成酵素の遺伝子名、【 】内はタンパク質名、→合成酵素反応、⇒はホルモンの受容体への結合を意味する。