

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17502

研究課題名（和文）ネグレクトに対するニューロエストロゲンの作用と分子メカニズム解明

研究課題名（英文）Neuroestrogens on neglect and investigating molecular mechanisms of action.

研究代表者

林 孝典（Hayashi, Takanori）

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：40724315

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：エストラジオール（E2）はエストロゲン受容体（ER）を介して内側視索前野（MPOA）を刺激し、子育てモチベーションを調節することが明らかになっている。E2の生合成はその律速酵素であるアロマターゼによって調整されており、組織特異的にその発現が調節されている。アロマターゼはMPOAの神経でも発現している。MPOAで生合成されたエストロゲンが母性の形成や促進に関与している可能性がある。そこで卵巣切除マウス（OVX）、神経特異的アロマターゼ過剰発現マウス（BrTG-Arom）を用いてMPOAの神経で合成されるエストロゲン（ニューロエストロゲン）の作用を検証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

母マウスの脳内では未交尾の雌マウスに比べてアロマターゼ遺伝子およびERの発現量が増加していた。この結果から、母マウスのもつ育児に対するモチベーションは卵巣から分泌されるエストロゲンよりもニューロエストロゲンに強く依存するのではないかと考えた。実際に、未交尾のOVXマウスを用いて卵巣から供給されるエストロゲンの影響を排除したが、養育行動に変化はなかった。さらに、ニューロエストロゲンが過剰に合成されているBrTG-Arom母マウスのもとでは仔の成長や生存率が向上することも明らかになった。本研究によって血液中のエストロゲンとは独立して作用するニューロエストロゲンが養育行動を促進することが示された。

研究成果の概要（英文）：Estradiol (E2), commonly known as a female hormone, has been shown to regulate maternal motivation by stimulating the medial preoptic area (MPOA) through estrogen receptor alpha (ER). The synthesis of E2 is regulated by aromatase, its rate-limiting enzyme, with tissue-specific expression. Aromatase is expressed in the MPOA neurons too, suggesting that locally synthesized estrogen in the MPOA may be involved in maternal formation and promotion. Therefore, this study aimed to investigate the role of neuroestrogen in maternal behavior, estrogen synthesized in the neurons of MPOA, using ovariectomized mice (OVX), aromatase knockout mice (ArKO), and mice with neuron-specific aromatase overexpression (BrTG-Arom).

研究分野：解剖生理学

キーワード：ニューロエストロゲン 母性

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

厚生労働省の発表によると、平成 30 年度の児童虐待相談件数は 159,850 件に上り、過去最多となった。その内、ネグレクト(育児放棄)は 29,474 件(18.4%)を占めており、社会的に深刻な問題となっている。母性は大きく分けて、脳の性分化(養育中枢の発達)と、出産・育児などの体験や刺激によって培われるが、母性の形成不全によって引き起こされるネグレクトの分子メカニズムは不明な点が多い。

・ニューロエストロゲンと母性形成：中枢神経(特に視床下部や海馬)細胞にはステロイド代謝に関係する一連の酵素群が含まれており、神経細胞内ではエストロゲンが de novo 合成されて高濃度存在している(4-15 nM: 排卵期女性血中濃度の 1/2 から 2 倍程度)。特に視床下部内側視索前野(MPOA)には、エストロゲン合成酵素アロマターゼが高発現して神経独自に調節されており、特別に「ニューロエストロゲン」と呼ばれて研究が進んでいる。ニューロエストロゲンは核内受容体であるエストロゲン受容体(ER)と結合して転写因子として働き、脳の性分化を制御するため、脳の養育中枢発達を促すと考えられる。さらに近年、エストロゲンには細胞膜結合型 ER や小胞体局在 GPR30 などを介して細胞内シグナルを惹起する。そのため、授乳や仔の匂いの様な、外部刺激に対してニューロエストロゲンの生合成やシグナルが即座に应答している可能性がある。

ニューロエストロゲンは脳の成長(脳の性分化)といった長期的な事から、仔の匂い・授乳の様な短期的に終始する生理応答に至るまで、様々な事象を通して養育行動に大きな影響を与えていると考えられる。

・エストロゲン合成酵素の活性調節：申請者はリン酸化修飾によってアロマターゼ活性が調節されると報告し、これによって短期間に起こる生理現象とエストロゲン生合成調整の分子メカニズムが明らかとなった。実際に、筒井(早大)らとの共同研究で、アロマターゼのリン酸化修飾によって増減するニューロエストロゲンが、生殖行動を制御すると証明した。現在は摂食行動もニューロエストロゲンに影響されると明らかにし、論文投稿中である。さらに、申請者はマウスの解析からアロマターゼとニューロエストロゲンを介した中枢神経の制御が、養育行動にも大きく影響する可能性を見出している。

本研究では、ニューロエストロゲンが生殖や摂食行動のみならず養育行動の重要な制御因子であるのか、またその分子機構を解析する。本申請研究を通してこれらを明らかにする事で、エストロゲンをを用いたネグレクトの治療法へと発展できる可能性がある。

2. 研究の目的

ニューロエストロゲンが養育行動に及ぼす影響を精査するとともに、その機構を分子レベルで明らかにする事である。これまでは、エストロゲンの全身へ作用を排除し、ニューロエストロゲンの働きのみを解析する事は困難であった。本研究では、ニューロエストロゲンが育児行動に及ぼす影響と関連する分子メカニズムを明らかにするため、養育行動の解析、脳の性分化と養育関連物質およびアロマターゼの発現局在を解析してシグナル経路の活性化状態や各遺伝子の発現を評価する。

3. 研究の方法

養育行動の解析：以下の 5 つの行動を撮影し、行動解析ソフトを用いて評価する。

Nest building(巣作り)：マウスはよく巣作りを行う動物であり、出産数日前から普段よりも大きく深い巣を作るようになる。出生直前の巣の大きさと場所を指標として評価する。

Placentophagia(胎盤・羊膜除去)：母マウスは通常夜間、一腹 4~9 匹の仔を約 10 分ごとに 1 匹ずつ出産する。1 匹産むごとに、母親は仔の身体をなめる事で羊膜と羊水を取り除くとともに、臍帯と胎盤を食べる。この行動が不十分だと残った羊膜が仔の呼吸を妨げて仔が死んでしまう。これは出産を撮影し、出産数と生存数の割合で評価する。

Retrieving(仔集め行動)：出産後に母親はすべての仔を 1 か所に集める。これは実験者が仔をバラバラにしても母親が修復するまでに要した時間を指標として評価する。

Grouping：さらに母親は巣の中で仔同士が接触し合うまでまとめ、授乳姿勢をとる。単独評価は難しいため Retrieving と合わせて授乳姿勢をとるまでに要した時間を評価指数とする。

Licking：仔を舐めて排泄を促し、清潔な状態を保とうとする Licking を行う。ラットでは養育の指標として用いるが、マウスは小さいため部位を観察するのはやや難しい。そのため、本研究では参考値として解析を試みる。

養育行動関連分子とアロマターゼの局在および発現量の解析

養育中枢が存在する視床下部内側視索前野(MPOA)にはアロマターゼが高発現しており、脳の性分化に重要な働きをしている。脳の性分化が起こる出生前後、成熟期(8 週齢)の雌マウス脳を採取し、MPOA のアロマターゼと養育関連分子(プロラクチン受容体、オキシトシン受容体、cFos、

FosB 等)との局在および発現量を免疫染色法で評価する。また、授乳期と離乳後の母獣についても同様の解析を行う。免疫染色は学内の共同利用研究サポートセンター協力の下で実施し、観察は共焦点レーザー顕微鏡 LSM-710 (Zeiss) を用いる。

4. 研究成果

エストラジオール (E2) はエストロゲン受容体 (ER) を介して内側視索前野 (MPOA) を刺激し、子育てモチベーションを調節することが明らかになっている。E2 の生合成はその律速酵素であるアロマターゼによって調整されており、組織特異的にその発現が調節されている。アロマターゼは MPOA の神経でも発現している。MPOA で生合成されたエストロゲンが母性の形成や促進に関与している可能性がある。そこで本研究では、卵巣切除マウス (OVX)、神経特異的アロマターゼ過剰発現マウス (BrTG-Arom) を用いて MPOA の神経で合成されるエストロゲン (ニューロエストロゲン) の作用を検証した。

はじめに母マウスの脳内では未交尾の雌マウスに比べてアロマターゼ遺伝子 (Cyp19a) および ER の発現量が増加していた。我々はこの結果から、母マウスのもつ育児に対するモチベーションは卵巣から分泌されるエストロゲンよりもニューロエストロゲンに強く依存するのではないかと考えた。実際に、未交尾の OVX マウスを用いて卵巣から供給されるエストロゲンの影響を排除したが、養育行動に変化はなかった。さらに、ニューロエストロゲンが過剰に合成されている BrTG-Arom 母マウスのもとでは仔の成長や生存率が向上することも明らかになった。本研究によって血液中のエストロゲンとは独立して作用するニューロエストロゲンが養育行動を促進することが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------