

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2006～2010

課題番号：18390070

研究課題名（和文） 個体発生の途上における細胞内イオン環境の変化を介する脳の性分化

研究課題名（英文） Steroid-induced sexual differentiation of the rat brain depends on changes in the concentration of intracellular ions

研究代表者

佐久間 康夫 (SAKUMA YASUO)

日本医科大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：70094307

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：行動生理学・神経内分泌学・生殖内分泌学

## 1. 研究計画の概要

(1) 細胞内イオン環境が脳の性分化に関わる機序について、ラットエストロゲン感受性遺伝子を対象として **targeted gene array** 分析を実施し、細胞移動と細胞死に関わる遺伝子がエストロゲンにより内側視索前野性の二型核 (SDN) と前腹側室周囲核で部位特異的に逆方向に制御されることを明らかにした。

(2) プロモータトランスジェニック法により標識した性腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) 産生ニューロンでは細胞内  $Ca^{2+}$  イオン濃度が高いため、GABA による GABA<sub>A</sub> 受容体の活性化が興奮を起こすことを解明した。

(3) 同じく標識したエストロゲン受容体 $\alpha$ 陽性ニューロンの脳切片中の移動を傾向顕微鏡による映画により観察し、*in vitro* での性差成立の機序を観察中である。

## 2. 研究の進捗状況

(1) 遺伝子の同定から現在はメッセージとタンパクの部位特異的発現に進んでいる。本年度は *In situ hybridization* によるメッセージの脳内局在、Western blotting によりタンパク発現の確認を進める。(2) GnRH ニューロンの GABA などによる制御の性差と思春期前後におけるチャネル発現の変化が明らかになった。(3) エストロゲン受容体 $\alpha$ プロモータ 0/B が SDN ニューロンで部位特異的に使用されていることを発見し、画像解析を行うことに成功した。

## 3. 現在までの達成度

① 当初計画以上に進展している。

(理由)

2009 年 5 月末現在で既に 13 編の英文論文が受理・刊行され、9 回の招待講演に招かれ

ている。

## 4. 今後の研究の推進方策

(1) この間の実験から社会行動、特に性指向性については成熟動物でも血中性ホルモンの消長に依存することが判明した。一方、対人関係の不適合とともに、旺盛な好奇心を持って新奇な環境に乗り出すといったポジティブな行動も出現する思春期における脳の完成の機序の解明が社会的にも喫緊の課題として浮上してきた。

(2) 周産期の性差の成立には関わらないことが明らかになった細胞新生が上記の思春期における脳の完成に関わる所見を得ているので、これらの視点から将来に向けた研究計画の構築を進める。

## 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

Watanabe M, Sakuma Y, Kato M: GABA<sub>A</sub> receptors mediate excitation in adult rat GnRH neurons. *Biology of Reproduction*, Published on April 8, 2009 as doi:10.1095/biolreprod.108.074583 (査読有)

Sakuma Y: Gonadal steroid action and brain sex differentiation in the rat. *Journal of Neuroendocrinology* **21**(4):410-414, 2009 (査読有)

Kato M, Tanaka N, Ishii H, Yin C, Sakuma Y:  $Ca^{2+}$  channels and  $Ca^{2+}$ -activated  $K^{+}$  channels in adult rat gonadotropin-releasing hormone neurons. *Journal of Neuroendocrinology* **21**(4): 312-315, 2009 (査読有)

Ishii H, Sato S, Yin C, Sakuma Y, Kato M: Gonadotropin-releasing hormone antagonist,

retorelix, induces the expression of melatonin receptor 1a (MT1) in the GnRH neuronal cell line GT1-7. *Neuroendocrinology*, accepted for publication, 27 November 2008 (査読有)

Ishii H, Tanaka N, Kobayashi M, Kato M, Sakuma Y: Gene structures, biochemical characterization and distribution of rat melatonin receptors. *Journal of Physiological Sciences* 59(1): 37-47, 2009 (査読有)

Sato S, Yin C, Teramoto A, Sakuma Y, Kato M: Sexually dimorphic modulation of GABA<sub>A</sub> receptor currents by melatonin in rat gonadotropin-releasing hormone neurons. *Journal of Physiological Sciences* 58 (5): 317-322, 2008 (査読有)

Sakuma Y: Neural substrates for sexual preference and motivation in the female and male rat. *Annals of New York Academy of Sciences* 1129:55-60, 2008 (査読有)

Hiraizumi Y, Nishimura I, Ishii H, Tanaka N, Takeshita T, Sakuma Y, Kato M: Rat GnRH neurons exhibit large conductance voltage- and Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> (BK) currents and express BK channel mRNAs. *Journal of Physiological Sciences* 58(1): 21- 29, 2008 (査読有)

Xu Q, Hamada T, Kiyama R, Sakuma Y, Wada-Kiyama Y: Site-specific regulation of gene expression by estrogen in the hypothalamus of adult female rats. *Neuroscience Letters* 436:35- 39, 2008 (査読有)

Nishimura I, Ui-Tei K, Saigo K, Ishii H, Sakuma Y, Kato M: 17 $\beta$ -estradiol at physiological concentrations augments BK currents via estrogen receptor  $\beta$  in the GnRH neuronal cell line GT1-7. *Endocrinology* 149:774-782, 2008 (査読有)

Orikasa C, Kondo Y, Sakuma Y: Transient transcription of the somatostatin gene at the time of estrogen-dependent organization of the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. *Endocrinology* 148: 1144-1149, 2007 (査読有) 他

[学会発表]

【招待講演】(計 9 件)

Sakuma Y: "Nurture Catches up Nature", Opening Remarks and a Lecture at Japan-China Joint Seminar on Strategies to Reduce Risks on the Brain Development Contingent to Urbanization, supported by JSPS-NSFC Bilateral Program, October 23, 2008, Tsukuba.

Sakuma Y: "Neuronal Migration or Survival, but not Neurogenesis, Contributes to Brain Sex Differentiation in the Rat", International Symposium on Gonad and Brain Sex Differentiation, supported by a MEXT Grant for Scientific Research on Priority Areas

"Mechanisms of Sex Differentiation", September 15, 2008, Fukuoka.

Sakuma Y: "Gonadal Steroids and Brain Sex Differentiation", Japan-US Neurosteroid Symposium, supported by grants from JSPS, NSF & NIH, September 11, 2008, Gifu.

Kato M: Ionic channels in rat GnRH-1 neurons that define the discharge pattern of action potentials for the regulation of reproductive neuroendocrinology. Japan-US Neurosteroid Symposium, supported by grants from JSPS, NSF & NIH, September 10, 2008, Gifu.

Sakuma Y: Estrogens and the brain circuitry for sexual behavior in the female rat, Chinese Society of Andrology, April 26, 2008, Shanghai, China

Orikasa C: Sex difference of somatostatin gene expression in the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. Complementary Research Strategy for Morphology and Physiology. A symposium organized jointly by Anatomical and Physiological Societies of Japan at The 85th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, March 25, 2008, Tokyo

Sakuma Y: IBRO Associate School Program "Hormones, Brain and Behavior", December 3, 2007, Kuala Lumpur, Malaysia 他

【一般演題】(計 43 件)

Hiraizumi Y, Nishimura I, Kato M, Sakuma Y: Expression of BK channels and their functional analysis in rat gonadotropin-releasing hormone neurons. 第 84 回日本生理学会大会、前橋、2007.3 他

〔図書〕(計 3 件)

Pfaff DW, Sakuma Y, Kow L-M, Lee AW, Easton A: Hormonal, neural and genomic mechanisms for female reproductive behaviors, motivation, and arousal. In Neill JD (ed.), Knobil and Neill's Physiology of Reproduction, 3rd ed., Vol. 1, pp.1825-1920, Elsevier, Boston, MA, 2006

佐久間康夫: ニューロンの特性からみた性差. 脳の性分化 (山内兄人・新井康允編), 2006 ; pp234-242, 裳華房、東京、他

[その他]

ホームページ

<http://www.nms.ac.jp/nms/seiri1/>