

平成22年4月16日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2006～2009

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) INTRACELLULAR ION ENVIRONMENT DURING THE ONTOGENY AS A DETERMINANT OF SEXUAL PHENOTYPE OF RAT BRAIN

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

研究成果の概要(和文)：

ラットの脳は雌型がデフォルトで、周産期におけるエストロゲン作用で雄型化する。神経細胞の分布に見られる性差は細胞死・移動・新生何れかの結果である。本研究計画ではエストロゲンにより制御される遺伝子カスケードがどの機構を動かすか分子生物学・形態学・電気生理学・行動生理学的手法を用いて調べた。これまで完全でなかったラットのエストロゲン受容体(ER) α の部位特異的発現に関わる遺伝子の制御領域を解明し、この部位に蛍光タンパク遺伝子を結合した人工遺伝子の導入したところ視索前野の性的二型核の神経細胞に雌雄共に蛍光標識が現れた。生殖内分泌機能調節の最終共通路である性腺刺激ホルモン放出ホルモン産生ニューロンでは脳の形態形成の時期にも成熟ラットでも γ アミノ酪酸により脱分極が送ることを見いだした。脱分極により細胞内カルシウム濃度が上昇すると細胞死や細胞移動が起こる機序を解明することができた。

研究成果の概要(英文)：

In the rat, estrogen determines sexual phenotype of the brain, acting at a critical period as neonates. The sexual phenotype thus established persists into adulthood, both in morphology and electrophysiology. In the adults, the volume of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area (SDN-POA) is larger in males than in females. The anteroventral periventricular nucleus (AVPV) is packed with estrogen receptor (ER) β -positive neurons in females but these cells scatter in the more lateral areas in males. Estrogen regulates axonal excitability of projection neurons in the ventromedial hypothalamus and those in the preoptic area in diametrically opposite directions in females but not in males. Male phenotype depends on the presence of estrogen as neonates; the lack leads to the female phenotype. This research project focused intracellular signal cascades, which are kindled by estrogen through estrogen receptor (ER) α and culminate in neurogenesis, migration or cell death. 1) By using 5'-RACE we identified a new leader exon and untranslated internal exons in ER α gene. These exons were used for site-specific transcription of ER α ; 2) In a trait of transgenic rat, which express EGFP under the control of ER α promoter 0/B, ER α -positive neurons in the SDN-POA, but not those in the adjacent areas, were fluorescent. Time lapse movies showed the establishment of the SDN-POA as a result of neuronal migration; 3) In another trait of transgenic rat, in which gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons were tagged by EGFP, activation of GABA_A receptors depolarized adult GnRH neurons due to their high chloride ion content; 4) DNA microarray, PCR and Western-blot analysis demonstrated site-specific, opposite regulations of apoptosis- and migration-related genes in the SDN-POA and AVPV.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	3,800,000	0	3,800,000
2007年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2008年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
2009年度	3,500,000	1,050,000	4,550,000
年度			
総計	14,300,000	3,150,000	17,450,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：環境生理学（含体力医学・栄養生理学）

キーワード：性分化；脳の性差；エストロゲン；細胞移動；細胞新生；アポトーシス；エストロゲン受容体；蛍光タンパク；性腺刺激ホルモン放出ホルモン(GnRH)；γアミノ酪酸(GABA)；電位依存性カルシウムチャネル(VGCC)；カリウムチャネル

1. 研究開始当初の背景

ヒトを含む哺乳類の脳にはニューロンの数、細胞体体積、シナプス数などに顕著な性差の存在する部位がある。この性差は性分化の臨界期と呼ばれる個体発生の特定の時期に内分泌環境をはじめとする環境条件によって成立する。ラットでは臨界期が周産期にあり、精巣の分泌するテストステロンが脳内でCYP19アロマトラーゼによる酵素反応により芳香化され、エストラジオールとなってエストロゲン受容体(ER)、特にER α に作用することで、性行動や生殖内分泌調節に関わる脳内神経回路が雄型化するという「アロマトラーゼ仮説」が一部例外を伴うもののとりあえず広く信じられている。しかし、ER α の活性化以後、どのような遺伝子カスケードの動作により、ニューロンの移動や選択的死滅に変化が起り、性差が生じるかは皆目不明であった。本研究計画ではER α の活性化に続き、ニューロンの移動・選択的細胞死に帰結する細胞内情報伝達系を解明することを目指して研究を開始した。

2. 研究の目的

エストロゲン作用がニューロンの移動・選択的細胞死に帰結する細胞内情報伝達系を解明する。

3. 研究の方法

(1) 分子生物学手法による研究

- ① 産総研・木山亮一博士の考案によるエストロゲン感受性遺伝子検出を目的とするDNAアレイ(EstraArray[®])を用い、脳部位特異的にエストラジオールにより駆動される遺伝子カスケードを解析、細胞新

生・移動・アポトーシスの何れが性差の成立に関わるかを検討

- ② EGFP発現により標識したラットGnRHニューロンのマルチセルRT-PCRによるメラトニン受容体遺伝子のクローニング
 ③ ラットエストロゲン受容体 α 遺伝子の上流域を5' RACE法で解析、部位特異的発現を調節するエクソンを同定
 ④ GnRHニューロンに発現するGABA受容体サブユニット、カルシウム・カリウムチャネルサブユニットのマルチセルRT-PCRによる解析

(2) 形態学手法による研究

- ① *In situ* hybridization法によりラット内側視索前野に発現する視床下部ペプチドmRNAの性差を解析
 ② 免疫組織化学によるマウス内側視索前野の性差を描出する標識タンパク質の検出
 ③ ラット胎児から採取した脳切片の培養組織のtime lapse蛍光顕微鏡画像取得による細胞移動の解析

(3) 電気生理学手法による研究

- ① マウスGnRH由来株細胞であるGT1-7を対象として穿孔パッチクランプを行い、発現するカルシウムチャネルを解析
 ② EGFP発現により標識したラットGnRHニューロンを対象として穿孔パッチクランプ法によりカルシウム・カリウム・ナトリウムチャネルの特性を解析、GnRHニューロンの興奮性調節機構を解明
 ③ EGFP標識ラットGnRHニューロンにおいて穿孔パッチクランプ法により幼若期から思春期に至る成長過程における各チャネル発現の変化を解明
 ④ EGFP標識ラットGnRHニューロンに穿孔パッチクランプ法を施行、メラトニンによ

- る GABA_A 電流の修飾を検討
- ⑤ GT1-7 を対象として穿孔パッチクランプを行い、生理学的濃度のエストラジオールが興奮性に及ぼす変化とその分子機序を解明
 - ⑥ GABA_A 受容体の活性化による成熟ラット GnRH ニューロンの脱分極を穿孔パッチクランプ法で観察、NKCC1 輸送体の関与を解明
 - ⑦ GT1-7 を対象として、GABA_A 受容体の活性化による興奮が細胞内カルシウム濃度の上昇を起こすことをイオンイメージング法で観察、GnRH 分泌を RIA により測定
- (4) 行動生理学手法による研究
- ① 内側視索前野の性的二型核が雄ラットの嗅覚を手掛かりとする性指向調節に関わる可能性を alternate choice paradigm により検討
 - ② 性指向に関わる嗅覚情報の脳内求心路、調節部位を電気凝固、興奮性神経毒による破壊実験で同定
 - ③ 性指向の決定に関わる視床下部ペプチドをラットにおける脳内投与、各種のノックアウトマウスを用いて検討
 - ④ 超音波によるマウスの母子間コミュニケーションを視床下部ペプチドノックアウトマウスを用いて検討

4. 研究成果

(1) 分子生物学手法による成果

- ① 内側視索前野の性的二型核 (SDN-POA, ♂ > ♀) と前腹側室周囲核 (AVPV, ♀ > ♂) のそれぞれで部位特異的にエストラジオールにより駆動される遺伝子を同定、細胞移動とアポトーシス関与を示した
- ② ラット GnRH ニューロンにおけるメラトニン受容体 MT1 発現に性差があることを発見
- ③ ラットエストロゲン受容体 α 遺伝子の上流域を 5' -RACE 法で解析、部位特異的発現を詳説する新規の精巢特異的 leader exon の他、非翻訳エクソン 11 を同定、部位別発現を解明した
- ④ GnRH ニューロンに発現する主要な GABA 受容体サブユニットは $\alpha 1-5$, $\beta 1-3$, $\gamma 1, 2$ で、 δ の発現は僅かであった。カルシウムチャンネルサブタイプは L, N, P/Q, R, T 型の 5 種すべてを認めた。R 型の発現量が多いことが特異であった。P/Q, T 型の発現は思春期に増加した

(2) 形態学手法による成果

- ① *In situ* hybridization 法によりラット SDN-POA にソマトスタチン mRNA が一過性に出現し、細胞の生存に関わる結果を得た
- ② カルビンジン D28 を抗原とする免疫組織化学法により、ラットのみならず、マウ

スにおいても SDN-POA が描出されることを発見、これまでマウスには存在しないとされてきた SDN-POA を詳細に記述、ノックアウトマウスを用いた SDN-POA の機能同定の途を拓いた

- ③ ラット胎児脳切片の培養組織の time lapse 蛍光顕微鏡画像解析を 3 週間にわたって行い、細胞移動によって SDN-POA が形成されることを示した

(3) 電気生理学手法による成果

- ① マウス GnRH 由来株細胞である GT1-7 を対象として穿孔パッチクランプを行い、L, N, P/Q, R, T 型の 5 種すべてのカルシウムチャンネルを介する電流を記録
- ② EGFP 発現により標識したラット GnRH ニューロンを対象として穿孔パッチクランプ法により L, N, P/Q, R, T 型の 5 種すべてのカルシウム電流、SK, BK 電流が GnRH ニューロンの興奮性を調節することを解明。
- ③ EGFP 標識ラット GnRH ニューロンにおける穿孔パッチクランプにより P/Q, T のカルシウム電流が、幼若期から思春期に至る成長過程で発現を増すことを解明
- ④ EGFP 標識ラット GnRH ニューロンに穿孔パッチクランプ法を施行、メラトニンによる GABA_A 電流が雄では増強され、雌では抑制される性差を発見
- ⑤ GT1-7 を対象として穿孔パッチクランプを行い、生理学的濃度 (300 pM) のエストラジオールが ER β を介して BK 電流の増強を起こし、興奮性を低下させて細胞生存に寄与する可能性を示した
- ⑥ GABA_A 受容体の活性化による成熟ラット GnRH ニューロンの脱分極を穿孔パッチクランプ法で観察、NKCC1 輸送体の作用で細胞内 Cl⁻ イオンが高くなっているためであることを解明
- ⑦ GT1-7 を対象として、GABA_A 受容体の活性化による興奮が細胞内カルシウム濃度の上昇を起こすことをイオンイメージング法で観察、VGCC が GnRH 分泌に関与することを示した

(4) 行動生理学手法による成果

- ① 内側視索前野の性的二型核が雄ラットの嗅覚を手掛かりとする性指向調節に関わる可能性を alternate choice paradigm により検討し、過去の報告に再現性がないことを確認した
- ② 性指向に関わる嗅覚情報は扁桃核内側核を経て内側視索前野に至ることを示した
- ③ オキシトシン、オレキシンが性指向・性的動機付けに関与することをノックアウトマウスで示した
- ④ 超音波によるマウスの母子間コミュニケーションはオキシトシンノックアウトマウスでは見られなかった

5. 主な発表論文等

(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 22 件)

- ① Orikasa C, Sakuma Y: Estrogen configures the sexual dimorphism in the preoptic area of C57/BL6J and ddN strains of mice. *Journal of Comparative Neurology*, accepted for publication on 6 April 2010 (査読有)
- ② Hamada T, Sakuma Y: Estrogen receptor α gene promoter O/B usage in the rat sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. *Endocrinology* **151** (4): 1923-1928, April 2010. Published online on 25 February 2010 (査読有)
- ③ Tanaka N, Ishii H, Yin C, Koyama M, Sakuma Y, Kato M: Voltage-gated Ca^{2+} channel mRNAs and T-type Ca^{2+} currents in rat gonadotropin-releasing hormone neurons. *Journal of Physiological Sciences*, published online on 26 January 2010. (査読有)
- ④ Ishii H, Kobayashi M, Sakuma Y: Alternative promoter usage and alternative splicing of the rat estrogen receptor α gene generate numerous mRNA variants with distinct 5'-ends. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **118**(1/2): 59-69, January 2010. (査読有)
- ⑤ Watanabe M, Sakuma Y, Kato M: GABA_A receptors mediate excitation in adult rat GnRH neurons. *Biology of Reproduction* **81** (2): 327-332, August 1, 2009. (査読有)
- ⑥ Ishii H, Sato S, Yin C, Sakuma Y, Kato M: Cetrorelix, a gonadotropin-releasing hormone antagonist, induces the expression of melatonin receptor 1a in the gonadotropin-releasing hormone neuronal cell line GT1-7. *Neuroendocrinology* **90**(3): 251-259, September 2009. (査読有)
- ⑦ 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)
- ⑧ Sato S, Yin C, Teramoto A, Sakuma Y, Kato M: Sexually dimorphic modulation of GABA_A receptor currents by melatonin in rat gonadotropin-releasing hormone neurons. *Journal of Physiological Sciences* **58** (5): 317-322, 2008 (査読有)
- ⑨ 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)
- ⑩ Hiraizumi Y, Nishimura I, Ishii H, Tanaka N, Takeshita T, Sakuma Y, Kato M: Rat GnRH neurons exhibit large conductance voltage- and Ca^{2+} -activated K^{+} (BK) currents and express BK channel mRNAs. *Journal of Physiological Sciences* **58**(1): 21- 29, 2008 (査読有)
- ⑪ 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)
- ⑫ Nishimura I, Ui-Tei K, Saigo K, Ishii H, Sakuma Y, Kato M: 17β -estradiol at physiological concentrations augments BK currents via estrogen receptor β in the GnRH neuronal cell line GT1-7. *Endocrinology* **149**: 774-782, 2008 (査読有)
- ⑬ 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)
- ⑭ Kitahashi T, Ogawa S, Soga T, Sakuma Y, Parhar IS: Sexual maturation modulates expression of nuclear receptor types in laser-captured single cells of the cichlid (*Oreochromis niloticus*) pituitary. *Endocrinology* **148**: 5822-5830, 2007 (査読有)
- ⑮ Kato M, Tanaka N, Usui S, Sakuma Y: SK channel blocker apamin inhibits slow after-hyperpolarization currents in rat gonadotropin-releasing hormone neurons. *Journal of Physiology* **574**: 431-442, 2006 (査読有)
【査読のない邦文誌】
- ⑯ 佐久間康夫 : GABA_A 受容体のモジュレーション. 生体の科学 2009; 60(5): 374-375
- ⑰ 佐久間康夫 : 脳の性差の成立機序とステロイドホルモン. クリニカルニューロサイエンス 2009; 27(10): 1102-1103
- ⑱ 佐久間康夫 : 脳の性分化とホルモンの作用. ファルマシア 2008; 44(12): 1161-1166
- ⑲ 佐久間康夫 : 内分泌調節に見る脳と身体の相互作用. 科学 2006; 76(3): 273-279.
- ⑳ 佐久間康夫 : 脳の構築に見る雌雄差. 細胞工学 2006; 25(4): 383-387.
- 21 佐久間康夫 : GnRH の構造と生理作用. 日本臨床 2006; 64(4): 7-12.
- 22 佐久間康夫 : 脳の性分化. 日本生理学雑誌 2006; 68(10): 355-367.

[学会発表] (招待講演計 24 件・一般演題計 54 件)

【招待講演】

- ① Kondo Y: Gonadal steroid action on sexual preference in adult rat brain. "*Brain sex*

- differentiation and its plasticity*" (Symposium Sponsored by Japan Endocrine Society). Organized by Y Sakuma & T Kikusui at The 14th International Congress of Endocrinology, Kyoto, 27 March 2010
- ② Orikasa C: Sex steroids and the establishment of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. Symposium "*How Are Neuroendocrine Hypothalamic Structures Sculpted?*" organized by Y Sakuma & M Kawata at The 32nd Meeting of Japan Neuroscience Society, Nagoya, September 2009
 - ③ Kato M: Slow afterhyperpolarization currents in rat GnRH neurons. Symposium "*Systems biology of hypothalamic gonadotropin releasing hormone (GnRH) neurons*" organized by Y Sakuma, QPittman & MJ Kelly, at The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, 1 August 2009
 - ④ 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.
 - ⑤ Kondo Y: "Factors in recipient for chemosensory communication of rodents", *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.
 - ⑥ 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.
 - ⑦ Sakuma Y: "Gonadal Steroids and Brain Sex Differentiation", *Japan-US Neurosteroid Symposium*, supported by grants from JSPS, NSF & NIH, September 11, 2008, Gifu.
 - ⑧ 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.
 - ⑨ Kondo Y: Steroidal regulation of sexual orientation in the rat. *Japan-US Neurosteroid Symposium*, supported by grants from JSPS, NSF & NIH, September 10, 2008, Gifu.
 - ⑩ Sakuma Y: Estrogens and the brain circuitry for sexual behavior in the female rat, *Chinese Society of Andrology*, April 26, 2008, Shanghai, China
 - ⑪ Kondo Y: Sex difference in hormonal and neural regulation of olfactory preference for conspecifics in the rat. *New Perspectives on Hormonal Bases of Reproductive Behavior* at The 85th Annual Meeting of the Physiological Society of Japan, March 25, 2008, Tokyo
 - ⑫ 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
 - ⑬ Sakuma Y: IBRO Associate School Program "*Hormones, Brain and Behavior*", December 3, 2007, Kuala Lumpur, Malaysia
 - ⑭ 佐久間康夫: 脳の性差の成立機序とステロイドホルモン. 日本性差医学・医療学会第3回学術集会, 東京, 2010. 2
 - ⑮ 佐久間康夫: 性ステロイドによる脳の性分化の分子メカニズム. 日本解剖学会第144回全国学術集会, 岡山市, 2009. 3
 - ⑯ 佐久間康夫: 脳は性によってどう違うか? 文部科学省女性研究者支援モデル育成事業第4回性差医学・医療セミナー, 東京, 2009. 12
 - ⑰ 佐久間康夫: GnRHニューロンの興奮性調節. 第34回日本神経内分泌学会シンポジウム「基礎医学の最前線」2007. 8. 5, 前橋
 - ⑱ 佐久間康夫: フェロモンと生殖研究のフロンティア. 第31回日本比較内分泌学会シンポジウム「比較内分泌学の世紀」2006. 12.
 - ⑲ 佐久間康夫: 視床下部の性分化の機構. 第16回神経科学の基礎と臨床, 2006. 12
 - ⑳ 佐久間康夫: 「ホルモンがつくる脳・動かす脳: 性ホルモンによる脳の性分化と行動の調節」. 日本母性衛生学会教育講演, 2006. 11.
 - 21 佐久間康夫: エストロゲンと脳. 北里大学獣医畜産学部ハイテク・リサーチ・センター報告会, 2006. 9.
 - 22 近藤保彦: 性成熟後に見られる雄ラット性指向性の柔軟性. 日本動物心理学会第66回大会, 2006. 10.
 - 23 近藤保彦: 心理学における神経内分泌学. 日本心理学会第70回大会, 2006. 11.
 - 24 佐久間康夫: Recent Progress in the Study of

Molecular Mechanisms of Sex Differentiation in the Brain 「脳の性分化の分子メカニズムに関する研究の進展」. 日本動物学会第77回大会, 2006. 9.

【一般演題】

(研究代表者佐久間の順位を付記)

- ① Suzuki C 他計 6 名中 5 位: Estrogen-regulated genes involved in the sexual differentiation of the rat preoptic area. 第32回日本分子生物学会年会, 横浜, 2009 12
- ② Orikasa C 他計 4 名中 4 位: Sex steroids and the establishment of the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area, Neuroscience 2009, Chicago, IL, October 2009
- ③ Dhungel S 他計 4 名中 4 位: The medial preoptic area, but not the vomeronasal pathway is essential for olfactory preference in male rats, Neuroscience 2009, Chicago, IL, October 2009
- ④ Ishii H 他計 3 名中 3 位: Genomic organization and structure of the 5'-flanking region of the rat estrogen receptor alpha gene. The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, July 2009
- ⑤ Hamada T, Sakuma Y: Visualization of nucleogenesis of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, July 2009
- ⑥ Orikasa C 他計 4 名中 4 位: Ontogeny of somatostatin neurons in the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, July 2009
- ⑦ Tanaka N 他計 5 名中 4 位: T-type Ca²⁺ channels in adult rat gonadotropin-releasing hormone(GnRH) neurons. The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, July 2009
- ⑧ Yin C 他計 5 名中 4 位: Neurosteroids augment A type γ -aminobutyric acid receptor(GABA_A) currents in rat GnRH neurons. The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, July 2009
- ⑨ Dhungel S 他計 4 名中 4 位: Olfactory preference of male rats after destruction of the medial amygdala or the medial preoptic area. The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, July 2009
- ⑩ Kondo Y 他計 6 名中 6 位: The necessity of oxytocin in development of male mouse ultrasonic vocalization in response to female odor. The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences, Kyoto, July 2009
- ⑪ Orikasa C 他計 4 名中 4 位: Sex steroids and the establishment of the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. The 13th Annual Meeting of the Society for Behavioral Neuroendocrinology, Lansing, MI, June 2009
- ⑫ Yin C 他計 5 名中 5 位: γ -Aminobutyric acid depolarizes gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons in the pre-optic area of adult rats. A poster at *Strategies to Reduce Risks on the Brain Development Contingent to Urbanization, Japan-China Symposium supported by JSPS and NSFC*, October 23-25, 2008, Tsukuba
- ⑬ Dhungel S 他計 4 名中 4 位: Functional differences of medial amygdala and medial preoptic area in the regulation of conspecific odor preferences. A poster at *Strategies to Reduce Risks on the Brain Development Contingent to Urbanization, Japan-China Symposium supported by JSPS and NSFC*, October 23-25, 2008, Tsukuba
- ⑭ Kondo Y 他計 7 名中 7 位: Oxytocin is required for developing ultrasonic vocalization in Mouse Mating. *The 12th Annual Meeting, Society for Behavioral Neuroendocrinology*, July 2008, Groningen, The Netherlands
- ⑮ Orikasa C 他計 5 名中 5 位: Generation of the Somatostatin Neurons in the Sexually Dimorphic Nucleus of the Rat Preoptic Area. *The 12th Annual Meeting, Society for Behavioral Neuroendocrinology*, July 2008, Groningen, The Netherlands
- ⑯ 濱田知宏, 張 春暁, 佐久間康夫: The efferent connections of the sexually dimorphic nucleus in the preoptic area. 第31回日本神経科学学会, 2008.7.
- ⑰ 田中伸幸 他計 5 名中 5 位: mRNA Expression of voltage-gated Ca channel mRNAs in GnRH neurons of male and female adult rats. 第31回日本神経科学学会, 2008.7.
- ⑱ 濱田知宏, 佐久間康夫: ラット視索前野性的二型核の可視化とその性差形成過程の検討. 第146回日本獣医学会学術集会, 2008.9.
- ⑲ 近藤保彦: こころに作用するホルモン. 日本心理学会第72回大会, 2008.9.
- ⑳ 田中伸幸 他計 5 名中 5 位: ラット GnRH ニューロンにおける電位依存性カルシウムチャネルの発現の発達段階による差. 第35回日本神経内分泌学会/第23回日本下垂体研究会合同学術集会, 2008.8.
- ㉑ 石井寛高 他計 4 名中 4 位: GnRH アンタゴニストの cetrorelix は, GT1-7 細胞のメ

- ラトニン受容体 1a の発現を誘導する. 第 35 回日本神経内分泌学会第 23 回日本下垂体研究会合同学術集会, 2008.8.
- 22 小林桃子 他計 5 名中 5 位: ラットメラトニン受容体の生化学的解析. 第 35 回日本神経内分泌学会/第 23 回日本下垂体研究会合同学術集会, 2008.8.
- 23 Dhungel S 他計 3 名中 3 位: Conspecific olfactory preferences of male rats carrying lesions of the medial amygdala or the preoptic area. A poster at Japan-US Neurosteroid Symposium, supported by grants from JSPS, NSF & NIH, September 8-11, 2008, Gifu.
- 24 近藤保彦 他計 7 名中 7 位: 雄マウスの交尾時超音波発声の発達におけるオキシトシンの役割. 日本動物心理学会第 68 回大会, 2008.9.
- 25 Xu Q 他計 4 名中 3 位: Roles of estrogen-responsive genes in the preoptic area of the female rat during the critical periods for sexual dimorphism of the brain. 第 31 回日本分子生物学会年会/第 81 回日本生化学会大会合同大会, 2008.12.
- 26 Hamada T 他計 3 名中 3 位: Estrogen modulates voltage dependent potassium currents in the EGFP-tagged neurons in the hippocampus of estrogen receptor gene promoter transgenic rats. The 30th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 10-12, 2007, Yokohama
- 27 Yin C 他計 5 名中 5 位: Presence of gabazine-resistant GABAA receptor currents and their modulation by neurosteroids in rat GnRH (LHRH) neurons. The 30th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 10-12, 2007, Yokohama
- 28 Urakawa S 他計 5 名中 5 位: Rearing in enriched environment calms down male rat copulatory activities in open field. The 30th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, September 10-12, 2007, Yokohama
- 29 Urakawa S 他計 4 名中 4 位: Sexual behavior in male rats reared in conventional and enriched environment. The 11th Annual Meeting, Society for Behavioral Neuroendocrinology, June 21-24, 2007, Pacific Grove, CA, USA
- 30 Dhungel S 他計 4 名中 4 位: Medial amygdala and preoptic area regulate conspecific odor preference in male rats. The 11th Annual Meeting, Society for Behavioral Neuroendocrinology, June 21-24, 2007, Pacific Grove, CA, USA
- 31 加藤昌克 他計 3 名中 3 位: ラット GnRH ニューロンに発現する A 型 GABA 受容体チャネルの機能. 第 34 回日本神経内分泌学会 2006. 8. 5, 前橋
- 32 Kato M, Sakuma Y: Presence of slow afterhyperpolarization current and its function in rat GnRH neurons. The 6th International Congress of Neuroendocrinology, June 2006, Pittsburgh, PA, USA
- 33 Tanaka N 他計 5 名中 4 位: GABA increased the intracellular calcium concentration of GnRH neurons isolated from adult GnRH-EGFP transgenic rats. The 6th International Congress of Neuroendocrinology, June 2006, Pittsburgh, PA, USA
- 34 Orikasa C 他計 3 名中 3 位: Sexually dimorphic expression of somatostatin gene in the developing rat preoptic area. Society for Behavioral Neuroendocrinology, June 2006, Pittsburgh, PA, USA
- 35 Kondo Y 他計 5 名中 4 位: Olfactory conditioning of copulatory behavior in male mice. Society for Behavioral Neuroendocrinology, June 2006, Pittsburgh, PA, USA
- 36 Hamada T, Sakuma Y: Estrogen receptor α gene promoter activity is a marker for the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. The 6th Congress of the Federation of Asian and Oceanian Physiological Societies, October 2006, Seoul, Korea
- 37 加藤昌克, 佐久間康夫: 緩徐後過分極はラット GnRH ニューロンの放電パターンを規定する. 第 29 回日本神経科学大会, 2006.7
- 38 Urakawa S 他計 4 名中 4 位: Enriched rearing environment decreases social interaction during mating in male rats. 第 84 回日本生理学会大会, 2007. 3
- 39 Xu Q 他計 5 名中 5 位: Estrogen regulated genes in the sexually dimorphic area of female rat brain during the critical periods. 第 84 回日本生理学会大会, 2007. 3
- 40 Orikasa C, Sakuma Y: Transient transcription of the somatostatin gene in the sexually dimorphic nucleus of the rat preoptic area. 第 84 回日本生理学会大会, 2007. 3
- 41 Hamada T, Sakuma Y: *In vivo* visualization of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. 第 84 回日本生理学会大会, 2007. 3.
- 42 Dhungel S 他計 4 名中 4 位: Differential roles of the medial amygdala and the medial preoptic area in control of conspecific odor preference in male rats. 第 84 回日本生理学会大会, 2007. 3.
- 43 Hiraizumi Y 他計 4 名中 4 位: 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, 2007. 3.

- 44 折笠千登世 他計3名中3位:ラット視索前野性的二型核に発現するソマトスタチンの性差. 第29回日本神経科学大会, 2006. 7.
- 45 濱田知宏, 佐久間康夫: 視索前野性的二型核特異的新規マーカーとしてのエストロゲン受容体遺伝子プロモーター活性. 第29回日本神経科学大会, 2006. 7.
- 46 尹成珠 他計4名中4位: GABA は成熟ラットから単離した GnRH ニューロンを脱分極する. 第29回日本神経科学大会, 2006. 7.
- 47 西村一路他計3名中3位: エストロゲンはエストロゲン受容体 β を介して GnRH ニューロン株細胞 GT1-7 の BK 電流を増強する. 第29回日本神経科学大会, 2006. 7.
- 48 西村一路 他計3名中3位: エストロゲン受容体 β を介する GnRH ニューロン株細胞における BK 電流の増強効果. 下垂体研究会第21回学術集会, 2006. 8.
- 49 浦川 将 他計3名中3位: 豊かな飼育環境によってもたらされる雄ラット社会行動の変化. 日本動物心理学会第66回大会, 2006. 10.
- 50 近藤保彦 他計5名中4位: 雄マウス性行動における嗅覚条件付け. 日本動物心理学会第66回大会, 2006. 10.
- 51 濱田知宏, 佐久間康夫: *in vivo* における視索前野性的二型核の可視化. 第33回日本神経内分泌学会学術集会, 2006. 10.
- 52 平泉良枝 他計4名中4位: ラット GnRH ニューロンにみられるカルシウム・膜電位依存性カリウムチャンネル. 第33回日本神経内分泌学会学術集会, 2006. 10.
- 53 薛ホーガン他計3名中3位: ラットの視索前野 GnRH ニューロンの全景描出. 第33回日本神経内分泌学会学術集会, 2006. 10.
- 54 肖 凱 他計3名中3位: ラット性指向性におけるエストロゲンの二相性作用. 第33回日本神経内分泌学会学術集会, 2006. 10.

[図書] (計3件)

- ① 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
- ② 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.
- ③ 近藤保彦: 性指向性. 脳の性分化 (山内兄人・新井康允編), 2006; pp262-271, 裳華房.

[その他]

研究成果の社会に対する発信・公的助成による学会・シンポジウムの開催

- ① 第32回日本神経科学学会公募シンポジウム "How Are Neuroendocrine Hypothalamic Structures Sculpted?" 会期: 2009年9月16-18日 会場: 名古屋国際会議場 (オーガナイザー)
- ② The 2nd School of Neuroendocrinology, supported by International Federation of Neuroendocrinology and Japan Neuroendocrine Society, August 2-4, 2009, Yufuin (オーガナイザー)
- ③ 第36回国際生理学会議全日シンポジウム "Systems biology of hypothalamic gonadotropin releasing hormone neurons" 会期: 2009年8月1日 会場: 国立京都国際会議場 (オーガナイザー)
- ④ 日本学術振興会二国間交流事業・中国とのセミナー「都市化に代表される社会変容が脳の健全な成育におよぼす影響についての二国間研究」会期: 2008年10月23日-25日 会場: 筑波大学大学会館 (主催者)
- ⑤ 文部科学省特定領域研究「性分化機構の解明」国際シンポジウム "International Symposium on Gonad and Brain Sex Differentiation" 会期: 2008年9月14日-16日 会場: JAL リゾート・シーホークホテル福岡 (オーガナイザー)
- ⑥ 日本学術振興会日米科学技術協力事業「脳分野」情報交換セミナー「脳機能における性差とステロイドホルモン作用」会期: 2008年9月8日-11日 会場: 岐阜市長良川国際会議場 (オーガナイザー)
- ⑦ 第85回日本生理学会大会 会期: 2008年3月25日-27日 会場: 京王プラザホテル東京 (大会長)
- ⑧ 第33回日本神経内分泌学会学術集会 会期: 2006年10月27-28日 会場: パシフィコ横浜会議センター (学術集会長)
- ⑨ 文部科学省特定領域研究「性分化機構」市民公開シンポジウム「性の不思議」2005年8月6日 (協力: 日本科学未来館) 会場: 日本科学未来館 (オーガナイザー)

ホームページ等

<http://www.nms.ac.jp/nms/seiri1/>
<http://kaken.nii.ac.jp/ja/r/70094307>
http://jglobal.jst.go.jp/detail.php?JGLOBAL_ID=200901011858667666&q=1000002890&t=1
<http://ci.nii.ac.jp/search?q=%E4%BD%90%E4%B9%85%E9%96%93%E5%BA%B7%E5%A4%AB&range=0&count=20&sortorder=1>
<http://researchmap.jp/UCR2GH/>

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

加藤 昌克 (KATO MASAKATSU)
日本医科大学・医学部・准教授
研究者番号：90143239
木山 裕子 (KIYAMA YUKO)
日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：60234390

近藤保彦 (KONDO YASUHIKO)
日本医科大学・医学部・講師

研究者番号：00192584

折笠 千登世 (ORIKASA CHITOSE)
日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：20270671

濱田 知宏 (HAMADA TOMOHIRO)
日本医科大学・医学部・助教

研究者番号：90312058