博士(人間科学)学位論文

雌性行動神経制御機構における卵巣ホルモンの作用機序

2000年1月

早稲田大学大学院人間科学研究科

佐藤 元康

①

博士（人間科学）学位論文

雌性行動神経制御機構における卵巣ホルモンの作用機序

２０００年１月

早稲田大学大学院人間科学研究科

佐藤　元康

指導教授　山内兄人

目次

本研究の概要 ・・・4

1章　緒論 ・・・6
　1　雌ラット性行動の神経制御機構
　2　エストロゲンの構造と神経細胞での作用機序
　3　雌性行動抑制機構と性差
　4　プロゲステロンによるロードーシスの抑制作用機構
　5　神経細胞内でのエストロゲンとプロゲステロンの作用

2章　雌性行動抑制中枢に対するエストロゲンの作用とその性差 ・・14
　序
　材料及び方法
　結果
　考察

3章　雌性行動抑制を引き起こすプロゲステロンの投与タイミング ・・25
　序
　材料及び方法
　結果
　考察

4章　アンドロゲンの雌性行動促進効果に対するプロゲステロンの抑制・・33
　序
　材料及び方法
　結果
　考察

5章　雌性行動抑制中枢に対するプロゲステロンの作用　・・41
序
材料及び方法
結果
考察

6章　雄ラットにおける雌型性行動にたいするプロゲステロンの働き　・・49
序
材料及び方法
結果
考察

7章　前脳におけるプロゲステロン受容体とプロゲステロンの性行動抑制効果
序　・・・59
材料及び方法
結果
考察

8章　結論　・・・67

謝辞　・・・72

参考文献　・・・73

研究業績　・・・88

履歴　・・・92

本研究の概要

雌の性行動は、雄のマウント行動に対するロードーシス行動と、耳をふるわせる（イヤーウィッグリング）行動、雄の前をはねていくホッピング行動である。このような雌性行動の発現には卵巣から分泌されるエストロゲンが不可欠である。また、プロゲステロンはエストロゲンによる性行動の発現を修飾する。本研究では、これら性ホルモンの中枢神経系における性行動制御機構における作用を調べることを目的とし、６つの実験を行った。

中枢神経系には雌性行動を促進的あるいは抑制的に制御する神経機構が存在している。視床下部腹内側核は雌性行動制御においてエストロゲンが直接作用して性行動が可能となる。一方、前脳と下位脳幹には雌の性行動を抑制している部位があるが、抑制中枢である中隔と中脳背側縫線核がエストロゲンによりどのような影響を受けるのか明らかではない。その点を明らかにするため、第一実験として、雌雄ラットの中隔もしくは背側縫線核にエストロゲンを植え、雌性行動に対する影響をみた。その結果、中隔にエストロゲンを植えると性行動は促進されるが、背側縫線核では効果がみられなかった。この結果より、雌の中隔の抑制力はエストロゲンが直接作用して解除されるが、背側縫線核の抑制力には直接影響しないことが判明した。さらに雄ラットは去勢されてエストロゲンを投与されても雌性行動をしないが、中隔を破壊された雌雄では雌の性行動が亢進することから、雌の中隔の抑制力に雌雄の違いがある可能性が考えられる。本実験では雄の中隔にエストロゲンを植えても雌性行動は促進されなかった。したがって雄の中隔の抑制力はエストロゲンによって解除されるが、雄では解除されない可能性が示された。

卵巣除去ラットにエストロゲンを投与し、４４時間後にプロゲステロンを投与するとエストロゲンのみを投与した場合より強い雌性行動がみられる。このようにプロゲステロンは雌性行動におけるエストロゲンの働きを強める。一方、プロゲステロンは雌型性行動において促進的な作用だけでなく抑制的な作用をもつ。卵巣除去ラットに多量のプ

ロゲステロンをエストロゲンと同時に投与すると、その後プロゲステロンを投与してもロードーシス発現が抑制されるという報告がこれまでなされている。しかし、エストロゲンとプロゲステロン投与のタイミングの詳細な解析は行われていない。そこでエストロゲン投与の前後２、３時間の間隔で時間をかえてプロゲステロンを卵巣除去ラットに投与し、雌性行動発現への影響を調べた。その結果、エストロゲン投与の前後それぞれ２４時間以内にプロゲステロンを投与すると性行動が抑制されることがわかった。従ってプロゲステロンの雌性行動に対する主な働きは抑制的なものであることが示唆された。次に、中隔、視索前野、背側縫線核の性行動抑制力とプロゲステロンの抑制がどのように関係しているのかを調べるため、中隔、視索前野、背側縫線核を破壊してプロゲステロンの抑制効果を調べた。それらの部位を破壊した雌ラットでもプロゲステロンは雌性行動を抑制した。このことはプロゲステロンの抑制作用が性行動抑制中枢とは直接関係がないことを示している。また、雄ラットにおいてはプロゲステロンが雌性行動に対して促進的な働きをもつことを示す実験は多くあるが、抑制的に働くかどうか調べた報告は皆無である。そこで中隔を破壊し、ロードーシスを示すようになった雄ラットでプロゲステロンの抑制作用を検討した。その結果、プロゲステロンは雌性行動を抑制したことからプロゲステロンの抑制作用には雌雄差はないことが明らかとなった。

次に、プロゲステロンの性行動抑制効果の作用機序を明らかにする目的で、プロゲステロン受容体拮抗剤であるRU486の性行動に対する効果を調べた。その結果、RU486はプロゲステロンと同様の抑制効果を持ちうることが分かった。RU486はプロゲステロン受容体と結合するが遺伝子の転写を促進する活性をもたないことから、プロゲステロンの抑制効果は転写前で発揮される可能性が示された。さらに、抗プロゲステロン受容体を用いた免疫組織化学により視床下部におけるプロゲステロン受容体の発現を調べた。その結果、エストロゲンによって腹内側核と視索前野のプロゲステロン受容体様シグナルの増加が認められたが、プロゲステロンまたはRU486で前処置することによりそれらはいずれも濃度依存的に減少することが明らかとなった。

ロゲステロンをエストロゲンと同時に投与すると、その後プロゲステロンを投与してもロードーシス発現が抑制されるという報告がこれまでなされている。しかし、エストロゲンとプロゲステロン投与のタイミングの詳細な解析は行われていない。そこでエストロゲン投与の前後２、３時間の間隔で時間をかえてプロゲステロンを卵巣除去ラットに投与し、雌性行動発現への影響を調べた。その結果、エストロゲン投与の前後それぞれ２４時間以内にプロゲステロンを投与すると性行動が抑制されることがわかった。従ってプロゲステロンの雌性行動に対する主な働きは抑制的なものであることが示唆された。次に、中隔、視索前野、背側縫線核の性行動抑制力とプロゲステロンの抑制がどのように関係しているのかを調べるため、中隔、視索前野、背側縫線核を破壊してプロゲステロンの抑制効果を調べた。それらの部位を破壊した雌ラットでもプロゲステロンは雌性行動を抑制した。このことはプロゲステロンの抑制作用が性行動抑制中枢とは直接関係がないことを示している。また、雄ラットにおいてはプロゲステロンが雌性行動に対して促進的な働きをもつことを示す実験は多くあるが、抑制的に働くかどうか調べた報告は皆無である。そこで中隔を破壊し、ロードーシスを示すようになった雄ラットでプロゲステロンの抑制作用を検討した。その結果、プロゲステロンは雌性行動を抑制したことからプロゲステロンの抑制作用には雌雄差はないことが明らかとなった。

次に、プロゲステロンの性行動抑制効果の作用機序を明らかにする目的で、プロゲステロン受容体拮抗剤であるRU486の性行動に対する効果を調べた。その結果、RU486はプロゲステロンと同様の抑制効果を持ちうることが分かった。RU486はプロゲステロン受容体と結合するが遺伝子の転写を促進する活性をもたないことから、プロゲステロンの抑制効果は転写前で発揮される可能性が示された。さらに、抗プロゲステロン受容体を用いた免疫組織化学により視床下部におけるプロゲステロン受容体の発現を調べた。その結果、エストロゲンによって腹内側核と視索前野のプロゲステロン受容体様シグナルの増加が認められたが、プロゲステロンまたはRU486で前処置することによりそれらはいずれも濃度依存的に減少することが明らかとなった。

1章

緒　論

1章　緒論

1　雌ラット性行動の神経制御機構

雌ラットは4日あるいは5日に一度の周期で排卵し、性行動は排卵前後をピークとして１０数時間にわたって発現する。雌の性行動は、雄のマウント行動に対する固有背筋の収縮により起こるロードーシス行動と、耳をふるわせる（イヤーウィッグリング）行動、雄の前をはねていくホッピング行動である。前者は側腹部への圧刺激に対する反射行動である。後者の２つの行動は雄の注意を引きつけることから勧誘行動と考えられている。このような雌性行動の発現には卵巣から分泌されるエストロゲンが不可欠である（Pfaff et al, 1994; Yamanouchi et al, 1985c）。成熟した雌ラットでは高濃度のエストロゲンが排卵前日の午前中に一過性に分泌される。このエストロゲンの増加の数時間後から性行動がみられる。また　排卵前日には、エストロゲンの増加後に、プロゲステロンの一過性の増加が見られるが、急性卵巣除去実験では(Moreines and Powers, 1977)、そのプロゲステロンはエストロゲンのロードーシス促進作用をさらに強める働きをもつことが示唆されている。

2　エストロゲンの構造と神経細胞での作用機序

中枢神経系には雌性行動を促進的あるいは抑制的に制御する神経機構が存在している。視床下部腹内側核（VMH）は雌性行動制御においてホルモン情報を受ける、重要な役割をもつ（Pfaff et al, 1994; Yamanouchi et al, 1985c）。雌ラットのVMHを電気刺激するとロードーシスが促進され（Pfaff and Sakuma, 1979）、逆にこの部位を破壊すると抑制される(Mathews and Edwards, 1977; Rajendren et al., 1991)。また、エストロゲン投与によって腹内側核や視索前野（POA）、弓状核を含む視床下部領域でプロゲステロン受容体の産生が誘導される(Blaustein and Turcotte, 1989; Romano et al., 1989)。行動実験においても、VMHへのエストロゲンの直接投与によってロードーシスが促進され（Barfield and Chen, 1977 Rajendren et al, 1991）、プロゲステロンを直接投与すると、エ

ストロゲンにより促進されたロードーシスがさらに強まることが示唆されている（Rubin and Barfield, 1983）。このように、雌ラットの性行動は、排卵前日に増加するエストロゲンとプロゲステロンがVMHに作用することで可能になる。

しかし、それだけではなく、前脳と下位脳幹には雌の性行動を抑制している部位がある。中隔は雌型性行動に対して抑制性の制御をしている。中隔外側部の破壊、中隔の腹側部の神経線維の切断(Yamanouchi and Arai, 1977; Yamanouchi and Arai, 1990)は雌ラットのロードーシス発現に必要なエストロゲン量の閾値を下げる。中隔の抑制力は、内側前脳束を通って、下位脳幹に行くと考えられる。

下位脳幹には雌の性行動を総合的に制御する中脳中心灰白質(Sakuma and Pfaff, 1979)やロードーシスのみに働く橋脳周囲灰白質(CG)(Yamanouchi et al., 1990)があり、中隔の雌性行動抑制力は中脳中心灰白質にいく可能性を示唆する報告もある(Kondo et al., 1993)。

中隔の抑制力がエストロゲンによりどのような影響を受けるのか未だに明らかではない。雌ラットの中隔へ、エストロゲンに拮抗する作用をもつ(Bale and Dorsa, 1995; de Jonge et al., 1986)dihydrotestosteroneを植え込むと、エストロゲン誘起のロードーシス行動が抑制される(Tobet and Baum, 1982）という間接的な証明報告はあるが、直接エストロゲンを投与した実験はない。その点を明らかにするため、本研究では、雌ラットの中隔にエストロゲンをうえ、雌性行動の発現を調べる研究をおこなった（2章）。中隔のすぐ腹側部に位置する視索前野（POA）も破壊されると、ロードーシスが強まることから、抑制的な働きをもつと考えられている。この抑制力は、中隔とは独立しており(Yamanouchi and Arai, 1990)、中脳中心灰白質の機能に影響を及ぼすと考えられている。視索前野へのエストロゲンやプロゲステロンの直接投与はロードーシスを促進するように作用する（Yanase and Gorski, 1976）ことも報告されており、視索前野の抑制力はエストロゲンやプロゲステロンで解除されるものと考えられている。このように、前脳の視床下部腹内側核の促進力や中隔や視索前野の抑制力は下位脳幹、特に、CG(McCarthy et al., 1991; Sakuma and Pfaff, 1979)に働いて、雌性行動を制御していると考えられる。

また、セロトニンニューロンが雌の性行動を抑制していることが、古くから明らかに

されており(Kakeyama and Yamanouchi, 1993; Gorzalka and Moe, 1975; Yamanouchi et al, 1982)、セロトニンニューロンを豊富に含む縫線核群が、その抑制に関わっていることが破壊実験などで明らかになっている。雌ラットの中脳の背側縫線核(DRN)を含む部位を破壊するとロードーシス発現に必要なエストロゲンの量が低くなる(Yamanouchi et al., 1990). 逆に、電気刺激を行うとロードーシスが抑制される(Arendash and Gorski, 1983)。また、DRNの腹側部を切断すると強いロードーシスが生じる(Kakeyama and Yamanouchi, 1997)。DRNは最も多くのセロトニン神経を含み（Paxinos, 1985）、そのセロトニンニューロンは前脳に神経線維を投射している。特に、VMHやPOAにいくセロトニンニューロンがロードーシスの抑制に関与している可能性がある。2章では、DRNにも直接エストロゲンを投与し、その部位の抑制力とホルモンの関係もしらべた。

3　雌性行動抑制機構と性差

雄ラットは、エストロゲンを投与されても雌型性行動をほとんど示さない(Yamanouchi and Aria, 1976)が、中隔を破壊されたり、切断された雄ラットは、雌型性行動をするようになる(Kakeyama and Yamanouchi, 1992; Kakeyama and Yamanouchi, 1994; Yamanouchi and Arai, 1985b; Yamanouchi and Arai, 1975; Yamanouchi and Arai, 1978)。前述のように雌ラットにおいても中隔は抑制的な働きをもっていることから、その抑制力に雌雄差があることで、雄は雌の性行動をしない可能性がある。さらに、抑制力とエストロゲンの作用の関係が、雌雄差を生み出している可能性が十分に考えられる(Yamanouch, 1997)。一方で、雌で抑制力をもつ中脳のDRNは、雄においても強い抑制力をもち、破壊したり、切断すると、雄でも雌の性行動をするようになる。さらに、中隔の抑制と、背側縫線核の抑制力を破壊や切断で同時に除去すると、雄でも雌と同じ程度のロードーシスが生じるようになる(Kakeyama and Yamanouchi, 1994)。そのようなことから、2章では、雄の中隔にもエストロゲンを直接投与し、ロードーシスの発現について調べた。

4　プロゲステロンによるロードーシスの抑制作用機構

プロゲステロンは雌型性行動において促進的な作用だけでなく、抑制的な作用をもつことが古くから知られている。血中プロゲステロン濃度の高い妊娠期（Morali, 1977）や授乳期(Södersten and Hansen, 1983)のラットではエストロゲンを投与してもロードーシスの発現は低い。さらにプロゲステロンはイタチ（Marshall,1945）やウサギ（Beyer,1969）においても性行動に抑制的に作用するという報告がなされている。このように、プロゲステロンは交尾排卵動物でも、自然排卵動物でも、雌の性行動に対して、促進的に働くばかりではなく抑制的にも働くことがわかっている。第3章から7章まではプロゲステロンの雌性行動に対する抑制作用の解明を行った。

プロゲステロンの抑制作用は、エストロゲンの投与時間との関係によって生じることは分かっているが、ラットにおける細かな検索は行われていない。3章ではエストロゲン投与の前後に時間をかえてプロゲステロンを卵巣除去ラットに投与し、雌性行動発現への影響を調べ、抑制力の生じるタイミングを明らかにした。

プロゲステロンの抑制力が、脳のどこで作用して生じるのか調べられた実験は少ない。プロゲステロンを直接VMH(Rubin and Barfield, 1984)や中脳被蓋部(Morin and Feder, 1974)に投与すると雌性行動が抑制されることから、それらの部位が、プロゲステロンの抑制作用に関係していると思われる。しかし、今まで述べてきた、中隔、視索前野、背側縫線核の抑制力とプロゲステロンの抑制がどのように関係しているのか調べた報告はない。そこで、5章において、それらの部位を破壊した雌ラットでプロゲステロンの抑制作用がみられるか調べた。また、プロゲステロンが雌の性行動に対して促進的な働きをもつことを示す実験は多くあるが(Olster and Blaustein, 1988; Schaeffer et al., 1986)、雄ラットにおいて抑制的に働くかどうか調べた実験は皆無である。前述のように中隔を破壊されて雌性行動を示すようになった雄ラットでプロゲステロンの抑制力を検討した（6章）。

5　神経細胞内でのエストロゲンとプロゲステロンの作用

述べてきたプロゲステロンの作用は、細胞におけるエストロゲンの作用に影響を与えて、生じるものであると考えられている。

ステロイドホルモンはコレステロールより生合成される。プロゲステロンは炭素数21ステロイドの一種であり、他のステロイドホルモンの中間代謝物としても重要である。一方、エストロゲンはプロゲステロンやアンドロステンジオンなどを経て最終的には17ベータ-エストラジオール、エストロン、エストリオールとして存在する。プロゲステロンが黄体や胎盤、卵胞にほぼ限定されて分泌されるのに比して、エストロゲンは芳香化酵素アロマターゼに依存した生合成過程を経ることで脳を含めた様々な器官器官で産生調節を受けやすいことが予想される。また、エストロゲンとプロゲステロンは脂溶性であるため血漿中では９８％がステロイド結合グロブリンと結合して可溶化している。血液脳関門はタンパク質を容易に通過させなことから最終的に脳の細胞に到達するのは遊離型のステロイドであると考えられる。

神経細胞内のステロイドの機能発現には大別して２つの経路が知られ、第一にはステロイド・核内受容体複合体の転写因子(O'Malley et al., 1991)として、第二には何らかの細胞膜受容体を介したものとして作用すると考えられている。前者は遠隔の標的部位への情報伝達モデルとして先鞭をつけた古典的概念であり、その作用様式から数時間から数日の作用時間を有する。事実、卵巣除去雌ラットにエストロゲンを投与して性行動を誘導するには１０時間以上を要する。もっとも、これは単に遺伝子発現のタイムラグを反映しているばかりではなく、エストロゲンにより生理的に有意義な抑制性、促進性の相反する機能調節がおこなわれていることも考慮に入れる必要がある。ステロイド・核内受容体複合体は二量体を形成して直接にDNAの特定の結合領域（ステロイド応答配列）に結合する。エンケファリン前駆体(Zhu and Pfaff, 1995)をコードする遺伝子のプロモーター領域にエストロゲン受容体の応答配列が存在することと、エストロゲンに対する生理応答には関連性が見いだされる(Holtzman et al, 1997; Nicot et al , 1997)。また、近年いわゆるオーファン受容体の検索によって新しいタイプのエストロゲン受容体も発見され

ている(Kuiper and Gustafsson, 1997)。

一方、ステロイド細胞膜受容体は核内受容体では理解の困難な急性のステロイド作用を説明しうるモデルとして考えられている。雌型性行動に直接関与するものとしてPAGにおけるGABAA受容体を介したプロゲステロンの性行動促進効果(McCarthy et al., 1995)が挙げられる。GABAA受容体は三量体のClイオン型膜受容体を形成しており、細胞外ドメインにベンゾジアゼピン、プロゲステロンの結合サイトをもつ。さらにエストロゲン核内受容体のシグナルカスケードにはプロテインキナーゼが介在する経路が存在することも示唆されている(Joel et al, 1998)ことも考える必要がある。

以上、多くの可能性が考えられ、それは特定のステロイドホルモンという単一の分子を引き金にして多様な反応を引き起こすために数多くの調節因子が用意されていることを示すことにもなっている。さらにプロゲステロン受容体は転写調節レベルでのエストロゲン受容体との相互作用があることも示されている(Kraus et al., 1995)。このようなことから、プロゲステロンの雌性行動の抑制作用は、神経細胞の膜上、または核内において、エストロゲンの神経細胞における作用、例えばエストロゲンまたはプロゲステロン受容体合成などが考えられるが、P-450の阻害剤によりその効果は失われる(Hsu, 1990)。4章では、プロゲステロンの抑制の作用点を調べる一端として、テストステロン誘起のロードーシスに対するプロゲステロンの抑制効果を検討した。さらに、エストロゲンのどのような作用をプロゲステロンが修飾してロードーシスを抑制している明らかにする目的で、プロゲステロン受容体拮抗剤であるRU486を投与して、受容体の免疫組織学適法法により視床下部のプロゲステロン受容体陽性細胞の数を調べた（7章）。

2章

雌性行動抑制中枢に対するエストロゲンの作用とその性差

2章　雌性行動抑制中枢に対するエストロゲンの作用とその性差

序

視床下部腹内側核（VMH）を破壊された雌ラットでは性行動の低下を招き(Mathews and Edwards, 1977; Rajendren and Dudley, 1991)、逆にこの部位の電気刺激は性行動を促進する(Pfaff and Sakuma, 1979)ことから、VMHは前脳のロードーシス促進機構の中心をなすものと考えられている。しかし、VMHを破壊された雌ラットでもモノアミン枯渇剤であるレセルピンを投与されると性行動を示すようになる(Yamanouchi and Arai, 1979)ことから、エストロゲンはVMH以外の神経系にも作用して性行動を調節しているものと思われる。

外側中隔野（LS）は雌の性行動に対して抑制力をもつ(Yamanouchi and Arai, 1990)。雌ハムスターのLSを電気刺激するとロードーシスの持続時間が短くなることも知られている(Zasorin, 1975)。さらに雄ラットでもLSを破壊されるとロードーシスを示すようになる(Nance et al, 1977; Kondo et al, 1990)ことから、LSは雌の性行動の性分化に重要な働きをしているものと考えられる（Yamanouchi, 1997）。

最近になって、エストロゲン受容体mRNAがLSで検出されている（Simerly et al, 1990）。また、エストロゲンの性行動促進効果を阻害する(Bale and Dorsa, 1995; de Jonge et al., 1986)dihydrotestosteroneを中隔に植え込むとエストロゲンによって引き起こされる卵巣除去ラットの性行動が抑制されることも示されている(Tobet and Baum, 1982)。これはエストロゲンが中隔に直接作用する可能性を示すものである。本実験ではこの点を明らかにするため、閾値以下のエストロゲンを投与された卵巣除去ラットのLSへエストロゲンを直接投与して性行動に対する影響をみた。さらに雄ラットLSにおけるエストロゲンの働きをみるため、雄ラットにおいても同様の実験を行った。

性行動抑制機構は下位脳幹にも存在する。背側縫線核（DRN）を破壊されると雄でも雌でも性行動が促進されることから、この部位は抑制機構として重要である(Kakeyama

et al., 1997; Yamanouchi et al., 1990)。DRNの電気刺激は雌ラットのロードーシスを抑制する(Arendash and Gorski, 1983)。この抑制力はDRNのセロトニンニューロンによるものである。DRNではエストロゲン受容体とセロトニンの共存は示されていないが、DRNにはエストロゲン受容体が存在するとの報告がある(Alves et al, 1998)。本実験のもう一つの目的は性行動においてDRNにおけるエストロゲンの直接的な影響を明らかにすることである。

材料と方法

Wistar系の雌雄ラット（220-260 g)を用いた。以下の全ての実験では動物は一定温度（23-26 ℃）、一定照明（14 h:10 h、明：暗）で飼育したものを用いた。ペントバルビタール麻酔下で、それぞれ精巣、卵巣を除去した後、外耳道より歯の位置を5 mm下に設定した脳定位固定装置下で22ゲージのステンレスチューブをLSまたはDRNへ固定する手術を行った。8匹の雌ラットと9匹の雄ラットにはチューブ先端をブレグマより4.6 mm下、後ろに0.3 mm、左右1.0 mmの位置へ固定した（それぞれLS、mLS群）。9匹の雌ラットには同様の位置に右側LSへのみチューブを固定した（rLS群）。DRNへのガイドチューブ固定はブレグマより6.4 mm下、後ろに7.8 mm、正中の位置へ固定した（DRN群）。また、対照群として、LSの位置と同じ位置へ上下のみブレグマから1.6 mm下ろしたグループも用意した（CX群）。これらの固定手術はデンタルセメントを用いて行い、手術後はガイドチューブ上端より27ゲージのステンレスワイヤーで栓をした。

ガイドチューブ固定手術の2週間後より2週間おきに3回の性行動観察を行った。テスト1では中程度のロードーシス発現を引き起こすエストロゲン量を検討するため、1.5 μg/kgのエストロゲン（EB、5 μg/1 mlゴマ油）を皮下注射し、44時間後に0.5 mgのプロゲステロン（P、0.5 mg/0.1 mlゴマ油）注射の後、さらに4時間後に性行動観察を行った。

テスト２ではテスト１と同様の処理を行った上に、エストロゲン（E2）の脳内への植え込みを行った。植え込みはディッシュ上に用意したE2を27ゲージのステンレスチューブ先端から１０回叩いて封入したものをガイドチューブを介して挿入した。また、被爆時間はEB注射の前後計４時間とした。テスト３ではテスト２と同様の処理を行い、E2のかわりにコレステロールを植え込んだ。

性行動観察は赤色光下で行動観察用のアクリルケージ[40 x 50 x 60 (cm)]に一匹の被検ラットと性行動経験のある若い雄ラット二匹を入れておこなった。ロードーシス商（LQ：ロードーシス/10マウントx　100）を記録し、雌の勧誘行動であるホッピング（HP）とイヤーウィグリング（EW）の有無もあわせて記録した。

行動観察終了後、脳手術を施したラット脳を取り出し、ホルマリン固定した後に50 umの凍結切片を作成した。切片はクレシルバイオレットで染色した後、PaxinosとWatsonの脳地図（Paxinos and Watson, 1985）を用いて脳手術の傷の正確な位置を確認した。グループ間の平均LQはMann-WhitneyのU検定、また勧誘行動の発生率はx二乗検定により検定をおこなった。

結果

Table 1. Incidences of lordosis, ear wiggling (EW) and hopping (HP) in each group.

Groups	1st test			2nd test			3rd test		
	Lordosis	EW	HP	Lordosis	EW	HP	Lordosis	EW	HP
LS	7/8	0/8	0/8	7/8	1/8	2/8	7/8	0/8	0/8
mLS	1/9*	0/9	0/9	5/9**	0/9	0/9	3/9***	0/9	0/9
CX	3/4	0/4	0/4	3/4	0/4	0/4	4/4	0/4	0/4
rLS	7/9	0/9	0/9	9/9	2/9	3/9	8/9	0/9	0/9
DRN	5/6	1/6	0/6	5/6	0/6	0/6	4/6	0/6	0/6

*$p<0.01$ vs. LS, rLS and DRN groups, and $p<0.05$ vs. CX group.

**$p<0.05$ vs. rLS group.

***$p<0.05$ vs. LS, rLS and CX groups.

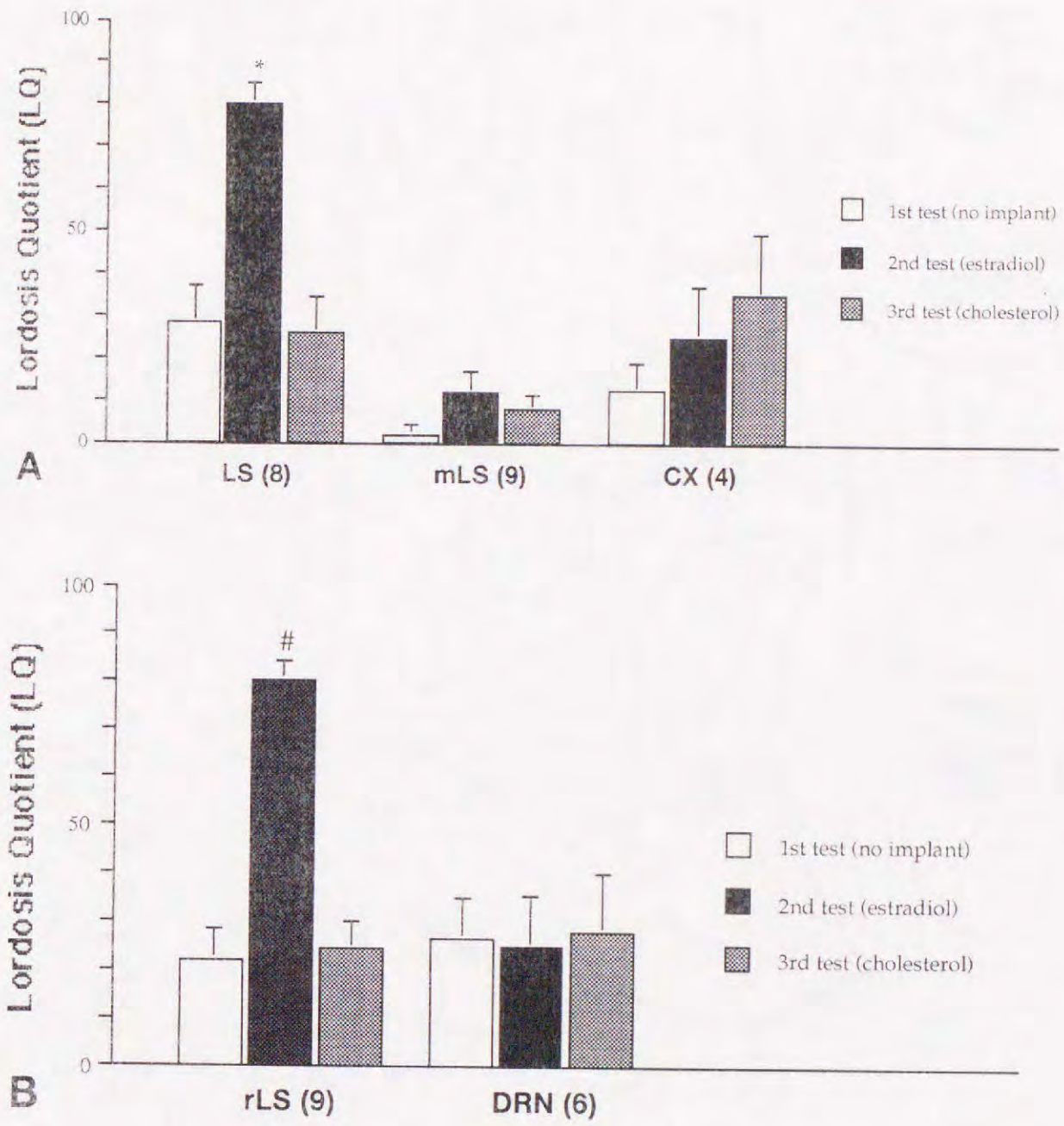


Figure. 1 Effects of the intracerebral implantation of estradiol on lordosis behavior in male and female rats.
A: The mean LQs of LS, mLS and CX groups in three tests. Female and male rats received implantation of guide cannula in the bilateral lateral septum (LS and mLS, respectively). In the CX group, the cannula was implanted bilaterally into the cortex in female rats. Three behavioral tests were performed at 2-week intervals. In the 1st, 2nd and 3rd test, animals received no intracerebral implantation, implantation of estradiol or cholesterol, respectively. All animals were injected with a subthreshold dose (1.5 mg/kg) of estradiol benzoate and 0.5 mg progesterone before the test. For details of the experimental procedure, see text. The numbers in the parentheses are numbers of rats used.
B: The mean LQs of rLS and DRN groups in three tests. Female rats received implantation of guide cannula in the right side of the lateral septum (rLS) or the dorsal raphe nucleus (DRN). Three behavioral tests were performed as described above. *$P<0.01$ vs. 1st and 3rd test, vs. the mLS and CX group in the 2nd test. #$P<0.01$ vs. 1st and 3rd test, vs. the DRN group in the 2nd test.

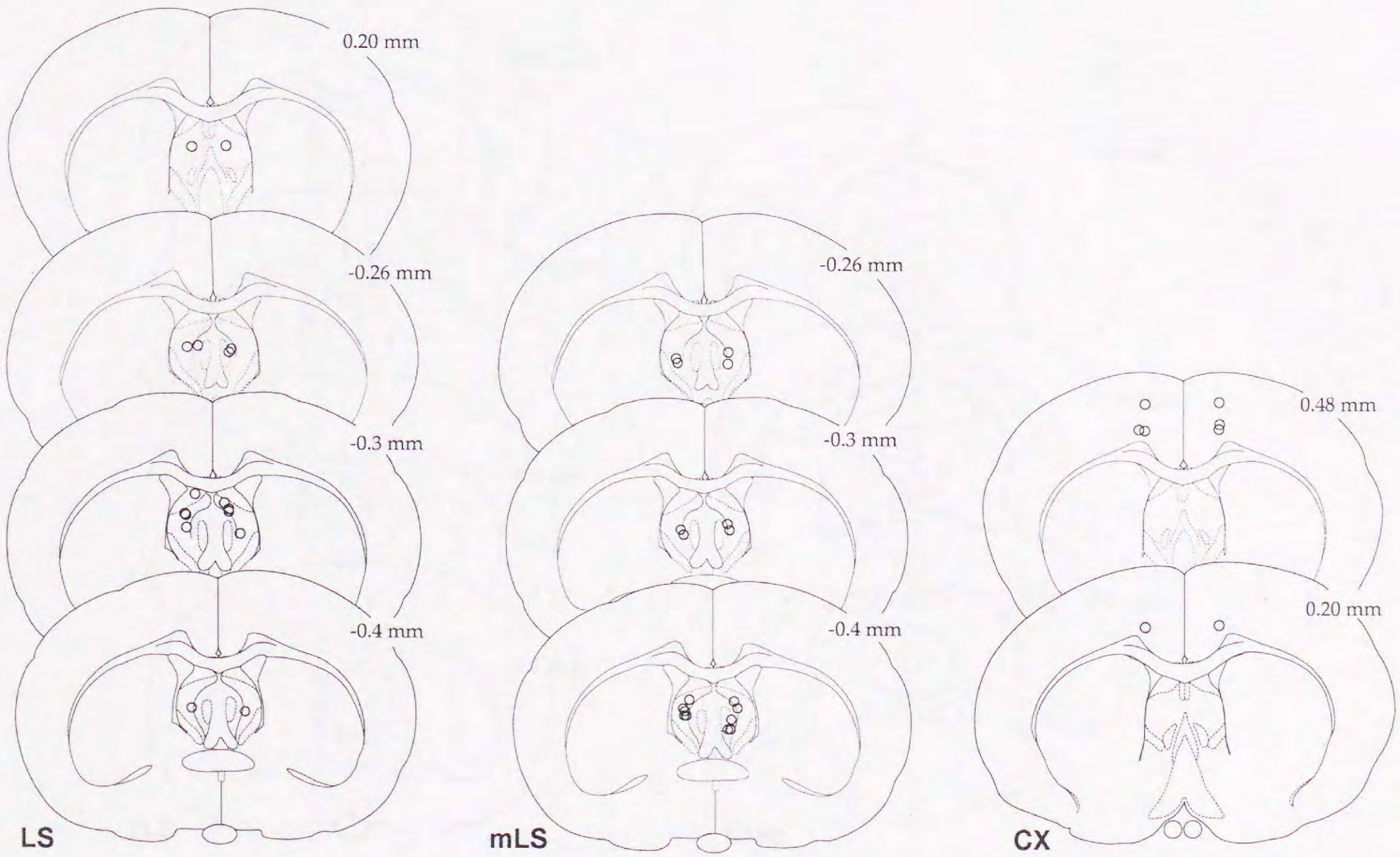
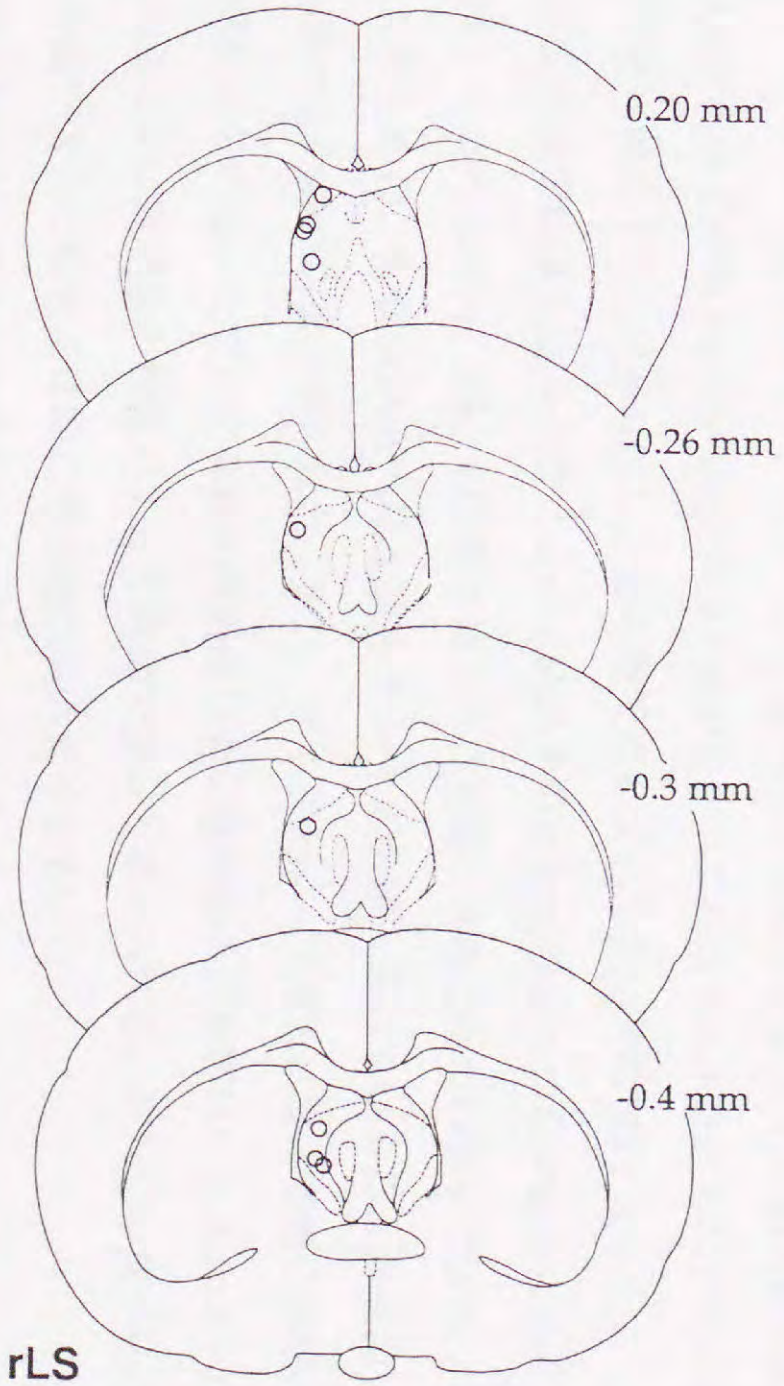
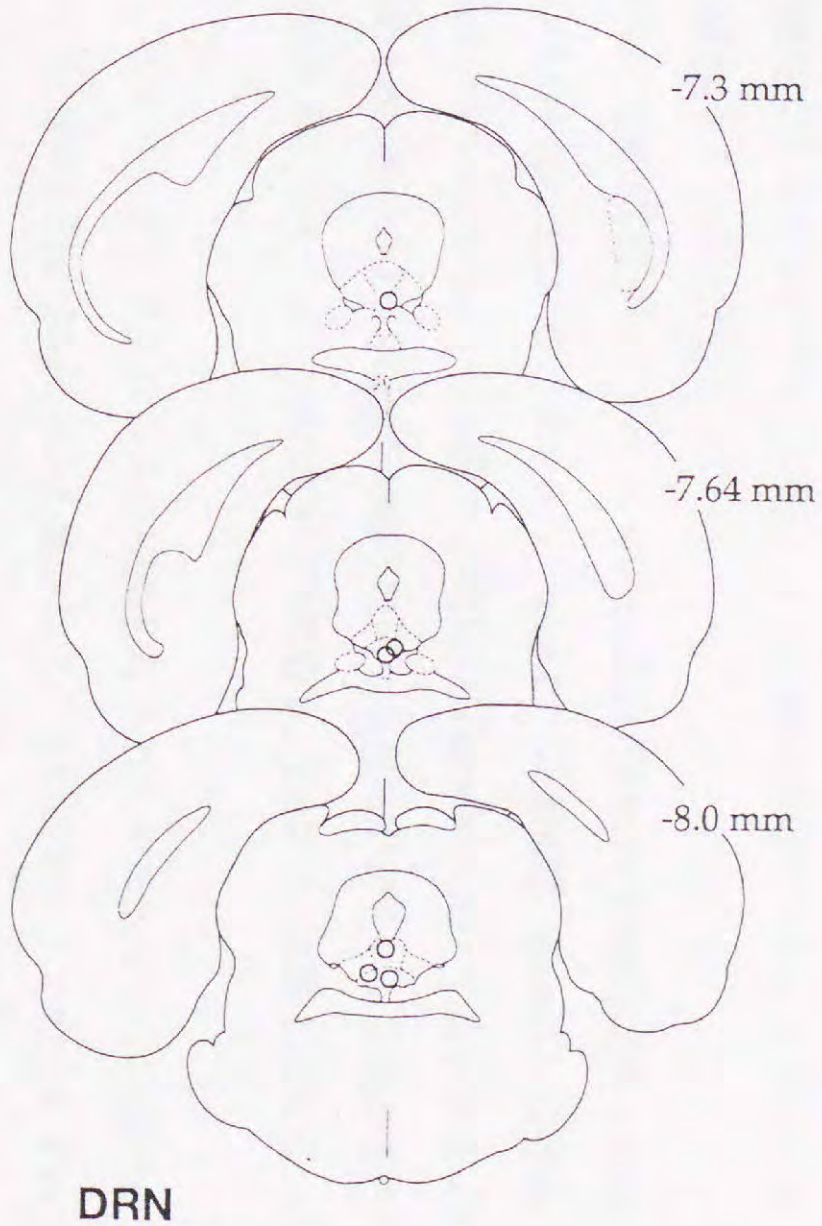


Figure 2 Coronal sections demonstrating the location of E2 implants. In 8 female and 9 male rats, the cannula were implanted into the bilateral lateral septum (LS and mLS groups, respectively). In the CX, the cannula was implanted bilaterally into the cortex in 4 females. Nine and 6 females received implantation of cannula into the the right side of the lateral septum (rLS) and the dorsal raphe nucleus (DRN). The drawings are modified from the stereotaxic atlas of Paxinos and Watson [45]. Open circles in these figures indicate the tips of the implants.


0.20 mm
-0.26 mm
-0.3 mm
-0.4 mm
rLS


-7.3 mm
-7.64 mm
-8.0 mm
DRN

テスト１ではほとんどの雌ラットがロードーシスを示したが（Table 1）、全ての群で平均LQは１０から３０の値であった（Fig. 1A, B）。勧誘行動は１匹のDRNラットのみがEWをしめした。これらの結果はテスト１でのエストロゲンとプロゲステロンの投与量が性行動発現の閾値であることを示している。また、mLS群のラットは１匹のみがロードシスを示し、LQは２０であった。

テスト２ではCX、DRN群のラットがテスト１とほぼ同程度の平均LQであったのに対して、LS群（平均LQ= 80±5.3）ではテスト１（$p<0.01$）とCX群（$p<0.01$）に比べて有意に平均LQが高かった（$p<0.01$）。rLS群の平均LQもDRN群に比べて高い値を示した（$p<0.01$）。LS群とrLS群ではともに勧誘行動の発現もみられたがテスト１他の群との比較でも有意な差はみられなかった。mLS群の平均LQは、LS群とrLS群よりも低い値であった（$p<0.01$）。

エストロゲンの代わりにコレステロールを脳内投与されたテスト３ではLS群とrLS群の平均LQはそれぞれ24.4 ± 5.6、26.3 ± 8.4と減少した。これはテスト２のそれぞれの結果に比べて低い値となった（$p<0.01$）。他の群でもいずれも低い平均LQとなった。

エストロゲンの代わりにコレステロールを脳内投与されたテスト３ではLS群とrLS群の平均LQはそれぞれ24.4±5.6、26.3±8.4と減少した。これはテスト２のそれぞれの結果に比べて低い値となった（$p<0.01$）。他の群でもいずれも低い平均LQとなった。

組織学的検査では植え込み位置について群内での個体間のばらつきが認められた（Fig. 2）。しかしながら、LS、mLS群ではともに尾側、吻側方向での若干のばらつきは認められたものの、外側中隔野へ植え込みチューブが挿入されていることが確認できた。rLS群でも同様の結果が得られた。また、ガイドチューブ挿入による背側中隔野の一部の損傷がみられた。ただし、これらの損傷による性行動への影響はコレステロールの植え込みによる対照実験の結果によって排除できると考えられる。群内での植え込み位置と性行動テストの結果には特に関連性は見いだせなかった。

DRN群における植え込み位置も吻側、尾側方向に若干のばらつきが認められた。CX群ではcingulate cortexとfrontal cortexで植え込み位置が確認された。

考察

本実験では雌ラットのLSにエストロゲンを直接植え込むと性行動が促進されたが、雄ではその効果がみられなかった。また、雌ラット両外側中隔だけでなく、片側中隔のみのエストロゲン植え込みでも同程度のロードーシスの亢進がみられた。ハムスターの片側中隔野の電気刺激がロードーシスの持続時間を短縮させるという報告(Zasorin, 1975)や、片側VMNへのエストロゲンの直接の植え込みによって雌ラットの性行動が促進されるという報告(Barfield and Chen, 1977)があることから、同一神経核内の片側へのホルモン刺激や電気刺激は反対側をも活性化することが考えられる。

雌ラット中枢神経系にはロードーシス行動を促進する機構と抑制する機構が存在する（Yamanouchi, 1997; Sakuma, 1992）。中隔野はロードーシスを抑制的に制御している。組織学的検索により、LSにはエストロゲン受容体(Pfaff and Keiner, 1973)とそのmRNA(Shughrue et al., 1997; Simerly et al., 1990)の発現が認められる。これらの報告と併せて今回の結果は、雌ラットではエストロゲンがLSに直接作用して性行動の抑制を解除する可能性を示している。さらにこの結果はdihydrotestosteroneを雌ラットの中隔野に植え込むと性行動が抑制されるという報告(Tobet and Baum, 1982)も支持するものである。

一方、エストロゲンはロードーシス促進機構であるVMNにも作用すると考えられている。今回の実験でLSへのエストロゲンの植え込みがVHNへも作用したという可能性は、脳室近傍に位置するDRNへのエストロゲン植え込みでは性行動に影響を及ぼさなかった点から退けてもよいであろう。

VMNとLSは独立してロードーシスを制御していると考えられている（Pfaff, 1994）。組織学的にも中隔野とVMNを連絡する神経線維は密ではない(Staiger and Nurnberger, 1991; Risold and Swanson, 1997)。しかし、中隔野の出力線維を切断するとVMNのエストロゲン受容体量の上昇が認められる(Chen et al., 1992)ことから、中隔の抑制力は間接的にVMNに作用している可能性は否定できない。

これらの知見をまとめると、ロードーシスの発現にはエストロゲンがLSとVMNに直接作用することが必要であるといえる。LSとVMNで受容されたホルモン情報は内側前脳束を通っておそらくはCGなどの下位脳幹へ伝達されるものと考えられる。

雄ラットLSの抑制力を神経切断によって解除すると雄でもロードーシスを示すようになる(Nance et al., 1977 ; Yamanouchi and Arai, 1975)ことから、LSは性行動の性分化を生み出していると考えられる。今回の結果から雄のLSは雌LSよりもエストロゲンに対する感受性が低いことが予想される。しかし、LSにおけるエストロゲン受容体発現の雌雄差については現在のところ報告はない。また、近年従来のエストロゲン受容体（α type）に加えて新規の受容体が単離された（β type）(Kuiper and Gustafsson, 1997)。エストロゲン受容体βのLS尾側での発現量はα typeにくらべてかなり低い(Shughrue et al., 1997)ことを考え併せると、性行動に関してはα typeが機能を担っているという可能性が高いと思われる。さらにLSでのシナプス菰成に対するエストロゲンの影響は雌のみで観察されている(Miyakawa and Arai, 1987)ことから、性行動の性分化はLSと他の部位との神経連絡に雌雄差が生じたためである可能性がある。

ロードーシス抑制機構はLSだけでなくDRNにも存在する。DRNを破壊すると雌の性行動が促進される(Yamanouchi and Arai, 1985b)だけでなく、雄ラットでもロードーシスが発現可能となる(Kakeyama and Yamanouchi, 1992)。セロトニンニューロンの抑制力は内側前脳束を通って前脳に伝達されると考えられている(Parent et al., 1981)。最近になってDRNでもエストロゲン受容体の存在が報告された(Alves et al., 1998)が、今回の結果ではDRNにエストロゲンを植え込んでも性行動には影響を及ぼさなかった。DRNの抑制力はエストロゲンでは解除されないと考えられる。

DRNはエストロゲン情報を受ける視床下部(Canteras et al., 1994)やLS(Risold and Swanson, 1997)から入力を受けている。GABAB受容体の作動剤によるロードーシスの抑制効果はDRNを破壊されたラットではみられなくなる(Kakeyama and Yanmonouchi, 1996)ことから、DRNはGABAニューロンと機能的に連絡があると思われる。また、エストロゲンはGABAニューロンへ影響をもつことも報告されている(Herbison and Fenelon, 1995)

ことから、DRNの抑制力はエストロゲンが間接的に作用して解除されるのかも知れない。今後はこれについても調べる必要がある。

3章

雌性行動抑制を引き起こすプロゲステロンの投与タイミング

3章　雌性行動抑制を引き起こすプロゲステロンの投与タイミング

序

雌ラットは卵巣を除去するとロードシスを示さなくなる。ロードシスはエストロゲンのみで発現可能であるが、卵巣除去ラットにエストロゲンを投与して40時間後にプロゲステロンを投与するとロードシス発現が著しく亢進する（Hardy and DeBold, 1971）。プロゲステロンは単独投与ではロードシスを発現させないことから、エストロゲンの作用を増強するように作用するものと考えられる。

一方、プロゲステロンはエストロゲンの生理作用を阻害することも知られる（Bauer- et al., 1995;Freeman., 1994）。ロードシス発現はプロゲステロンをエストロゲン投与と同時に投与することにより抑制される（Feder and Marrone., 1977;Morin, 1977）。しかし、ラットにおけるエストロゲンに対するプロゲステロンの投与時間とロードシス抑制効果についての詳細な報告はなされていない。そこで、本実験では卵巣除去ラットを用いてエストロゲン投与前後40時間でさまざまに時間を変えてプロゲステロンを投与し、雌型性行動抑制に対する影響を調べた。

方法及び材料

５４匹のWistar系の雌ラット（180～200 g）を一定温度（23-26 ℃）、一定周期照明下（14 h:10 h、明：暗）で飼育し、エーテル麻酔下で卵巣除去手術を施した。

卵巣除去２週間後、個々のラットでのロードシス発現を確かめるために、全てのラットに5 μg/kg estradiol benzoate（EB, Sigma, 12.5 μg/0.1 ml ゴマ油）を皮下投与し、44時間後に0.5 mg progesterone（4-pregnene-3,20-dione, Sigma, 0.5 mg/0.1 ml ゴマ油）を

投与した。行動観察はEB投与の４８時間後に行った。行動観察は観察用ケージへ雄ラット２匹と被検ラット１匹を入れて行った。雄ラットのマウント回数に対する被検ラットのロードシス回数を記録してロードシス商（LQ, ロードシス数／マウント数×１００）を求めた。また、勧誘行動であるear-wiggling（EW）とhopping（HP）の有無も併せて記録した。このテスト１で７０以上のLQを示した個体のみを以降の実験に用いた。

テスト１の２週間後、被験ラットを任意に８群に分け、２週間おきに計４回の行動観察を行った。４回のテストを通して、基本的なホルモン投与は予備テストと同様に行動観察の４８時間前に5 μg/kg EB 、４時間前に0.5 mg Pを投与し、さらに時間を変えて5 mg Pを投与した。実験群はMarroneらの実験方法（Marrone,B.L. et al., 1977）に従い、EBの前に5 mg Pを投与したPB群、EBの後に投与したPA群に大別した。対照群は４回のテストを通じてEBと同時に5 mg Pを投与したP群（７匹）と5 mg Pの代わりにゴマ油を投与したOil群（６匹）を用意した。３つのPB群（PB-1,2,3;それぞれ７、６、６匹）では、5 mg PをEB投与の１時間から４０時間前の間でそれぞれ投与した（Table 2

Table 2 Injection time (hrs) of 5 mg progesterone (P) before (PB groups) or after (PA groups) the treatment with estradiol benzoate (EB).

Groups	Injection time of 5 mg of P			
	1st test	2nd test	3rd test	4th test
P	0	0	0	0
PB-1	-1	-3	-7	-12
PB-2	-15	-18	-21	-24
PB-3	-27	-30	-33	-40
PA-1	+1	+3	+7	+12
PA-2	+15	+18	+21	+24
PA-3	+27	+30	+33	+40

EB (5 μg/kg b.w.) was given at the time 0 in each test. In the P group, 5 mg P was given at the same time of EB in all four tests (see text).

参照）。PA群も三群に分けて、PA-1群（８匹）、PA-2群（８匹）、PA-3群（６匹）について5 mg PをEB投与の１時間から４０時間後に投与した。

ロードシス商のグループ内、間検定はF検定後、t検定をおこない、行動の発現率に対してはx２乗検定を用いた。

結果

5 μg/kg EBと同時にゴマ油を投与されたOil群では4回のテストを通して全てのラットがロードシスを示し、平均LQも７０以上を示した(Table 2)。また、この群では半数以上のラットが勧誘行動を示した（Fig. 3）。一方、5 mg PをEBと同時に投与されたP群ではロードシスの発現率は低く、特にテスト１と４では３０％のラットがロードシスを示したのみであった($p<0.05$；対Oil群)。P群の平均LQは３０以下であり、Oil群よりも明らかに低い値を示した（$p<0.01$）。また、勧誘行動の発現率も低かった（$p<0.05$）。平均LQに関して４回のテスト間に統計的有意差はOil群（$p<0.01$）、P群（$p<0.01$）ともにみられなかった。

P群と同様にBP-1群の平均LQは全てOil群より低かった（$p<0.01$~0.05）（Fig. 4）。BP-2群でも各テストで平均LQはOil群より低く（$p<0.01$）、P群と差がみられなかった。この二つの群では勧誘行動はほとんど発生せず、発生率はOil群より低かった。また、BP-3群ではほとんどのラットがロードシスを示したが、平均LQはOil群より低い値であった（$p<0.01$~0.05）。２７時間前と４０時間前に投与されたラットの平均LQはP群より有意に高い値を示した（$p<0.01$）。

PA-1群では、平均LQが全てOil群より低かった（$p<0.01$）、5 mg PをEBの１２時間後に投与されたテスト４を除いてP群との差がみられなかった（Fig. 5）。PA-2群でも平均LQが全てOil群より低く（$p<0.01$~0.05）。この二群での勧誘行動発生率は０～１０％程度の低い値を示した。PA-3群では全てのラットがロードシスを示した。平均LQは

Oil群との有意な差はみられず、P群よりも顕著に高い値であった（$p<0.01$）。勧誘行動も半数以上のラットが示した。

考察

本実験では、EBと同時にPを投与されたラットでは対照群に比べてロードシス、勧誘行動発現の低下がみられた。この結果はラット、モルモット、ハムスターなどでみられるプロゲステロンのロードシス抑制作用に関するの報告（Blaustein and Wade, 1977;DeBold et al., 1976;Hansen and Södersten, 1979;Marrone et al., 1977;Zucker, 1966）と一致する。

ハムスターではエストロゲンとPを同時に投与すると最も強い抑制がみられ、エストロゲン投与の２４時間以上前にPを投与すると時間が離れるに従って抑制効果が弱まる

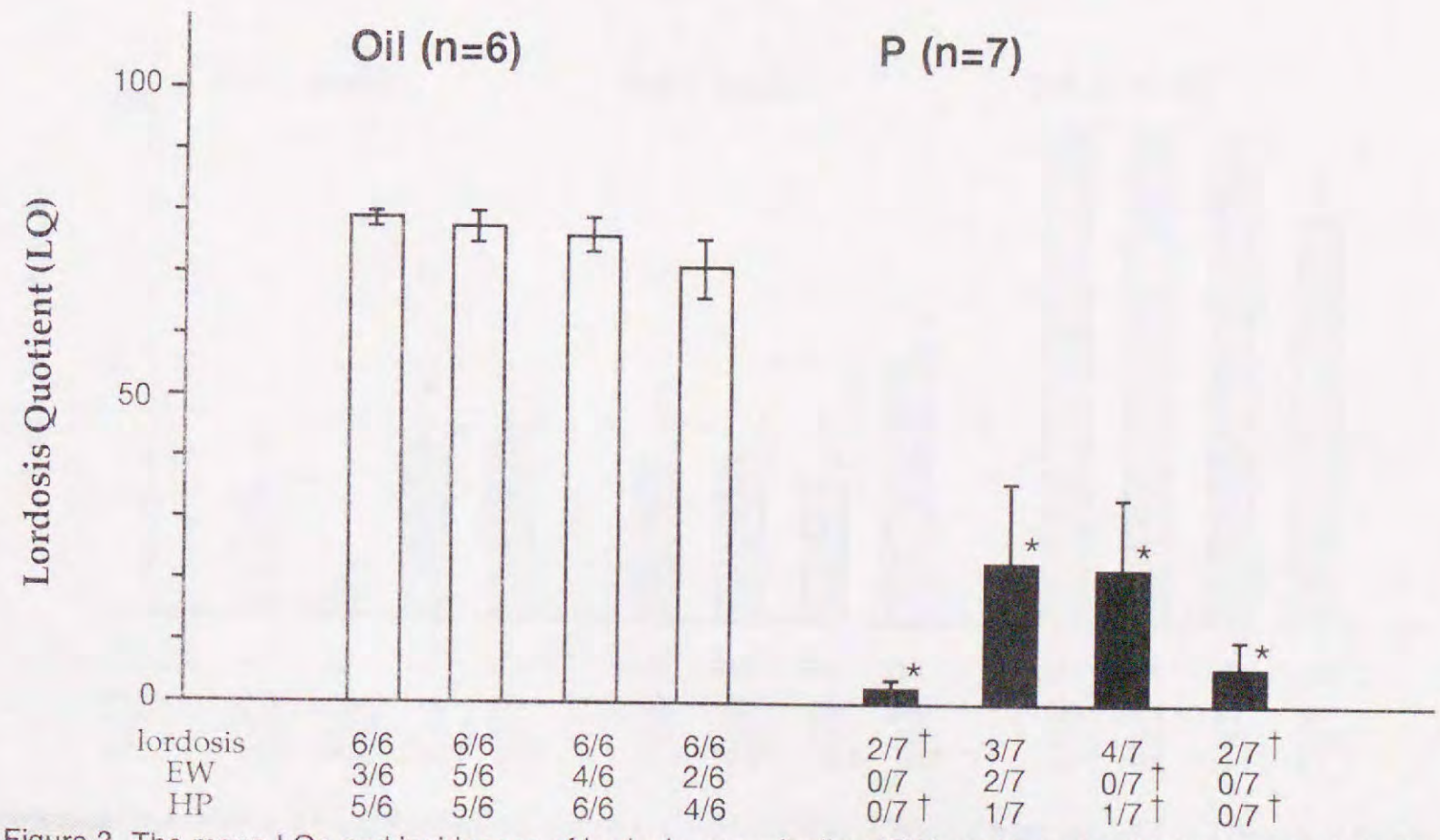
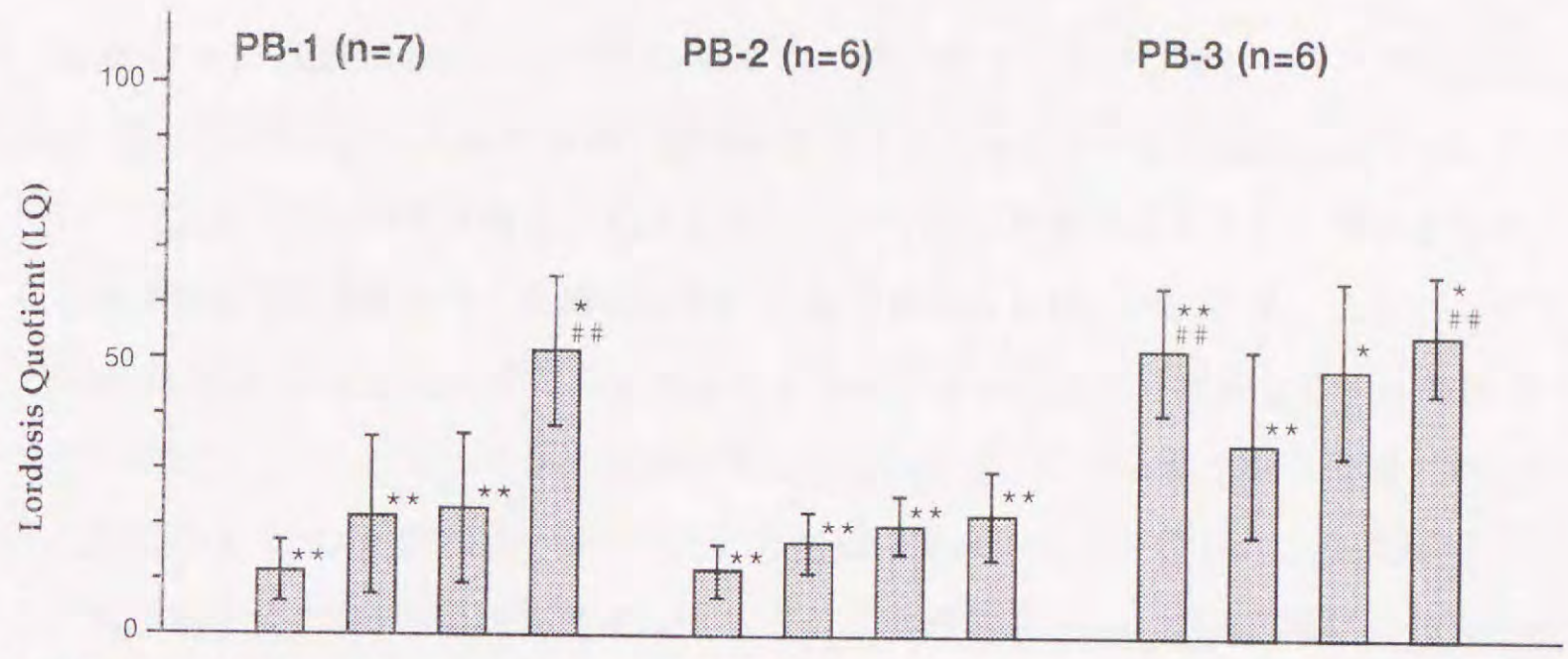
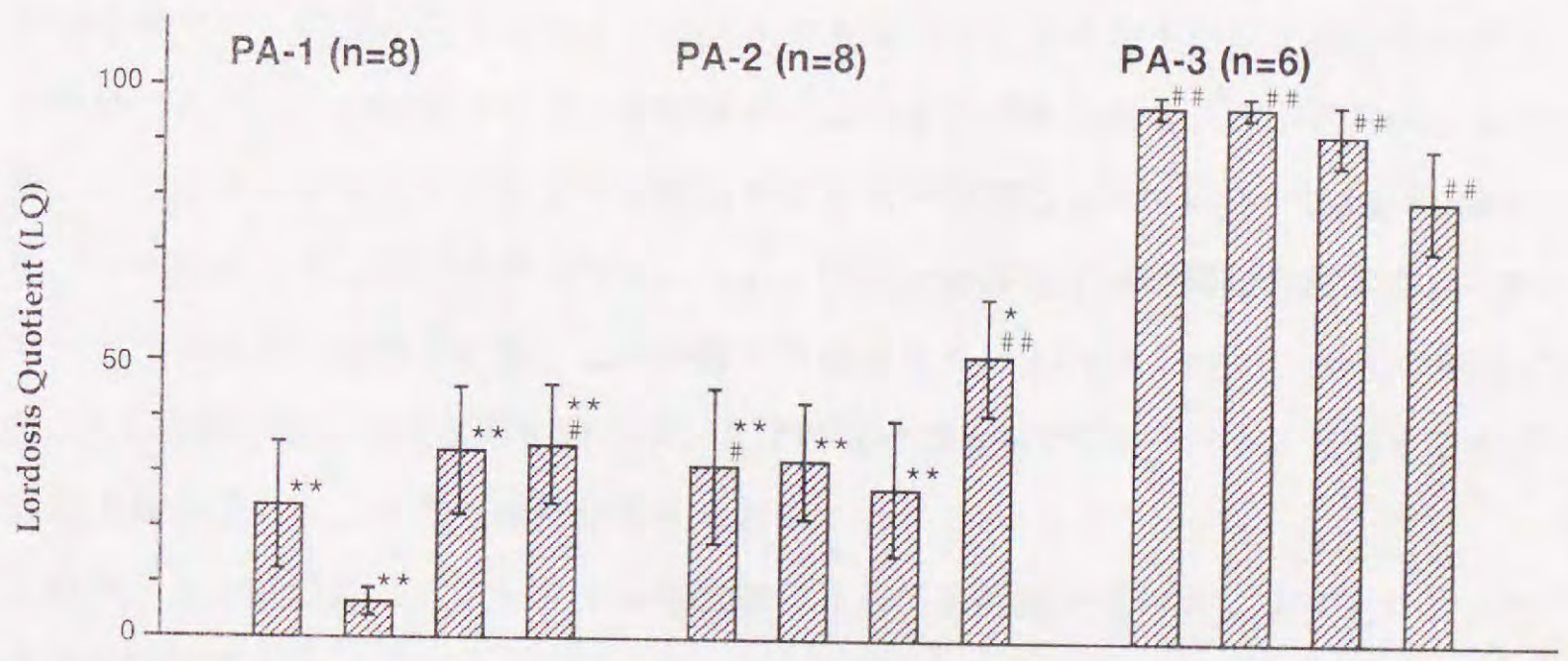


Figure 3 The mean LQs and incidences of lordosis, ear-wiggling (EW) and hopping (HP) in four tests in the Oil and P groups. In the P group, 5 mg P was injected concurrently with the estradiol benzoate (EB) in all tests. In the Oil group, oil was injected instead of 5 mg of P (see text). $p<0.01$ vs Oil group in the 1st to 4th test. †$p<0.05$ vs Oil group.



Injection Time of P	-1	-3	-7	-12	-15	-18	-21	-24	-27	-30	-33	-40	hrs
lordosis	4/7	3/7	4/7	6/7	4/6	5/6	5/6	5/6	6/6	6/6	5/6	6/6	
EW	0/7	1/7	1/7	3/7	0/6	0/6 †	0/6	0/6	2/6	1/6	1/6	2/6	
HP	0/7 †	1/7	1/7 †	3/7	0/6 †	0/6 †	0/6 †	0/6	1/6	2/6	2/6	1/6	

Figure 4 The mean LQs and incidences of lordosis, ear-wiggling (EW) and hopping (HP) in 3 groups in which P was administered before the estradiol benzoate (EB) (see text). Females were injected with 5 mg P from 1 (-1) to 40 (-40) hrs before the injection of EB. *p<0.05 vs Oil group, **p<0.01 vs Oil group, ##p<0.01 vs P group. †p<0.05 vs Oil group.



Injection Time of P	+1	+3	+7	+12	+15	+18	+21	+24	+27	+30	+33	+40	hrs
lordosis	7/8	4/8	7/8	6/8	5/8	8/8	7/8	8/8	6/6	6/6	6/6	6/6	
EW	1/8	0/8 †	1/8	0/8	0/8	0/8 †	0/8 †	0/8	5/6	5/6	4/6	3/6	
HP	1/8 †	0/8 †	1/8 †	1/8 †	0/8 †	0/8 †	1/8 †	1/8 †	6/6	5/6	5/6	5/6	

Figure 5 The mean LQs and incidences of lordosis, ear-wiggling (EW) and hopping (HP) in 3 groups in which P was administered after the estradiol benzoate (EB) (see text). Females were injected with 5 mg P from 1 (+1) to 40 (+40) hrs after the injection of EB. *p<0.05 vs Oil group, **p<0.01 vs Oil group, #p<0.05 vs P group, ##p<0.01 vs P group. †p<0.01~0.05 vs Oil group.

（DeBold et al., 1976）。また、ラットにおいては、エストロゲン投与の１６時間前の投与ではプロゲステロンによる強い抑制が報告されているが（Blaustein and Wade, 1977）、それ以前にPを投与をした報告はない。今回の実験ではエストロゲン投与から２４時間前までにPを投与した場合は強い抑制効果がみられ、ハムスターにおける報告（DeBold et al., 1976）と一致した。さらにエストロゲンの２７時間前より４０時間前までにPを投与するとロードシス抑制効果はみられたが、エストロゲンと同時にPを投与した場合より平均LQは高くなった。この結果はエストロゲン投与の２７時間前から４０時間前までの間はPの抑制効果は生じるが、その効果は２４時間以内に投与された場合よりも弱いことを示すものである。また、今回の実験ではエストロゲン投与の１２時間前にPを投与したテストではその前後の時間に比べてややLQの上昇がみられたが、対照群では４回のホルモン処理や性行動経験がLQに影響しないことが確かめられており、この結果がPの生理的な作用であるのか実験手続き上の問題であるのかは決定は出来なかった。

一方エストロゲン投与後２４時間まではPのロードシス抑制効果がみられたが、２７時間以降は全く抑制がみられなかった。ラットでは今までエストロゲン投与後の調査がなかったが、この結果から２４時間後までは効果かがみられることが明らかになった。ハムスターでも２４時間までは効果があることが確認されている（Zucker 1967）が、それ以降についての調査がない。エストロゲン投与後３６時間後に投与されるPはロードシス発現に促進的に働くことが報告されており（Zucker, 1966）、今回の結果でPは２７時間以降は抑制作用を示さず、２７時間後頃からPのロードシスに対する働きは促進的作用に変化する可能性が考えられる。

雌ラットの性行動はエストロゲン拮抗剤によっても抑制を受ける。エストロゲン受容体の拮抗剤のひとつであるCI-628はエストロゲン投与の２４時間前に投与してもロードシス抑制効果がみられる（Landau 1977）。同様に、CN-55は非ステロイドのエストロゲン拮抗剤であるが、エストロゲン投与の２４時間前に投与してもロードシスを抑制する（Arai and Gorski, 1968）。

これらの抗エストロゲン効果とPの抑制効果が必ずしも同じとは限らないが、作用時間に関しては類似性が認められる。しかし、卵巣除去ラットにエストロゲンとPを投与して、４２時間後に多量のPを投与すると先のプロゲステロンの効果がなくなるが、抗エストロゲンCI-628をエストロゲンと同時に投与した場合は性行動は回復しないとの報告もある（Hansen and Södersten, 1979）。

プロゲステロンは中枢神経系に直接作用して雌性行動を促進（Powers, 1972;Rubin and Barfield, 1983;Yanase and Gorski., 1976）あるいは抑制（Rubin and Barfield, 1984）している。ラット脳においてはプロゲステロン受容体は前脳から下位脳幹まで比較的広範囲に分布していることが知られている（Kato et al., 1978;MacLusky and McEwen, 1978;Turcotte and Blaustein, 1993）。また、去勢雌ラットでは、エストロゲンは投与後２４時間前後に視床下部領域でのプロゲステロン受容体のmRNA産生を誘導する（Romano et al., 1989）ことが報告されており、プロゲステロン受容体mRNAのアンチセンスオリゴヌクレオチドを視床下部腹内側核に注入するとプロゲステロンのロードシス促進作用がみられなくなる（Ogawa et al., 1994）。このことはエストロゲンによるプロゲステロン受容体の誘導がロードシス発現制御の一環であることを示すものである。また、エストロゲンと同時に多量のプロゲステロンを投与するとエストロゲンによるプロゲステロン受容体の増加が抑制される（Moguilewsky and Raynaud, 1979）。これらのことからプロゲステロンのロードシス抑制効果はエストロゲンによるステロイド受容体制御と関わりが深い可能性がある。

今後は、ロードシス発現において抑制性制御から促進性制御にスイッチするプロゲステロン作用の分子機構を明らかにする必要がある。

4 章

アンドロゲンの雌性行動促進効果に対するプロゲステロンの抑制

4章　アンドロゲンの雌性行動促進効果に対するプロゲステロンの抑制

序

雌ラットではエストロゲン（Stumpf et al., 1974）やプロゲステロン（MacLusky and McEwen, 1978;Wise and Parsons, 1984）の受容体が視索前野（POA）や腹内側核（VMH）を含む視床下部などに豊富にみられる。これらの部位ではエストロゲンやプロゲステロンによって受容体産生が調節を受けている（Moguilewsky and Raynaud, 1979;Pollio,G. et al., 1993;Wise,P.M. and Parsons,B., 1984）こと、受容体の拮抗剤投与がこれらの性ステロイドによる性行動発現を阻害することから、エストロゲンやプロゲステロンはそれぞれの受容体を介して性行動を制御していると考えられる。

プロゲステロンはエストロゲンを投与した卵巣除去ラットに対し、ロードシス発現をさらに促進する作用をもつ（Hardy and DeBold, 1971）。一方、3章で示したように、エストロゲン投与の40時間前から24時間後までにプロゲステロンを投与するとロードシス発現は低下する（Satou and Yamanouchi, 1996a）。このようにプロゲステロンはロードシスの発現に対して長時間にわたり抑制的影響力を持つと考えられる。プロゲステロンはエストロゲンが神経細胞に作用する段階で影響を及ぼすことが推察されるがそのメカニズムには不明な点が多い。

男性ホルモンのテストステロンを雌ラットに慢性的に投与しても雌性行動は発現可能である（Yahr and Gerling, 1978）。しかし、エストロゲンに変換されないアンドロゲンであるdihydrotestosterone（DHT）を投与してもロードシスの発現はほとんどどみられない（De Jonge et al.,1986;Erskine, 1989）。また、テストステロンと同時に芳香化阻害剤CI-628（Yahr and Gerling, 1978）、ATD（Hsu, 1990）もしくはエストロゲン受容体の拮抗剤Tamoxifen（Hsu, 1990）を投与するとロードシスがみられなくなる。

4章では、ロードシス発現を可能にするテストステロンの働きに、エストロゲンの場合と同様にプロゲステロンが抑制的に作用するかを調べるため、卵巣除去ラットにテス

トステロンとほぼ同時にプロゲステロンを投与してロードシス発現への影響を調べた。

方法及び材料

Wistar系の雌ラット（180～200 g)を一定温度（23-26 ℃）、一定照明（14 h:10 h、明：暗）で飼育したものを用いた。ラットにエーテル麻酔下で卵巣除去手術を施した。

卵巣除去２週間後、48匹のラットを任意に６群に分けて、それぞれの群に testosterone propionate（TP、Sigma 1.25 mg / 1ml ゴマ油）を100 μg/kg（TP-1群：７匹）、200 μg/kg（TP-2群：7匹）、400 μg/kg（TP-4群：7匹）、600 μg/kg（TP-6群：10匹）、800 μg/kg（TP-8群：11匹） 皮下注射した。その４４時間後、0.5 mg progesterone（4-Pregnene-3, 20-dione: P、Sigma 0.5 mg/ 0.1 ml ゴマ油）を投与した。行動観察はP投与４時間後に行った（テスト1）。また、対照群としてTPのかわりに5 μg/kgのestradiol benzoate（EB、Sigma 12.5mg / 1ml ゴマ油）を投与したEB-5群（6匹）も用意した。

テスト１から２週間後、以下の方法に従ってプロゲステロンの抑制効果を調べた。全てのラットに各群ともテスト１と同量のTPを投与する１時間前に5 mg Pを投与した。EBの投与４４時間後0.5 mg Pを投与してその４時間後に行動観察を行った（テスト2）。

行動観察は、実験1の方法に従い、LQを求めた。また、ear-wiggling（EW）、hopping（HP） など勧誘行動の有無も記録した。

グループ間の平均LQはF検定後、t検定をおこなった。また勧誘行動の発生率はx2検定により検定をおこなった。

結果

テスト１：5 μg/kg EBと0.5 mg Pを投与されたEB群では全てのラットがロードシスを示し、平均LQも80以上の値を示した（Fig. 6）。また、HPも全てのラットで観察され、EWも6匹中5匹のラットが示した（Table.3）。

100 μg/kg TPを投与されたTP-1群では半数以下のラットがロードシスを示し、勧誘行動はみられず、平均LQは10以下であった（$p<0.01$, vs EB群）。TP-2群では、全てのラットがロードシスを示したがLQは10から30でありEB群よりも低い値を示した（$p<0.01$）。TP-4群は、平均LQは40程度でTP-1群よりも高かった（$p<0.05$）がEB群よりは低い値を示した（$p<0.01$）。TP-6群では全てのラットがロードシスを示しTP-4群とほぼ同様の結果となった。平均LQはTP-1群よりも高かった（$p<0.05$）がEB群（$p<0.01$）とTP-8群（$p<0.05$）よりも低い値となった。勧誘行動の発現率も30％以下となり、EWの発現率はEB群よりも有意に低かった（$p<0.05$）。TP-8群では11匹中10匹のラットがロードシスを示し、平均LQは60以上となり、EB群との統計的な有意差はみられず、TP-1群に比べて著しく高い値を示した。HPは70％以上のラットで、EWも半数近くのラットで観察された。

テスト2：EBもしくはTP投与の一時間前に5 mg Pを投与したテスト２では、全ての群で半数以下のラットがロードシスを示し、平均LQはそれぞれ10以下であった。EB群（$p<0.01$）、TP-2群、TP-6群、TP-8群（各$p<0.05$）ではテスト１に比べて平均LQの有意な低下がみられた。また、TP-6群、TP-8群ではテスト1に比べてロードシス発現率の低下もみられた（$p<0.05$）。勧誘行動はTP-8群で11匹中1匹のラットがHPを示したのみで、他には全く観察されなかった。

考察

テスト１において、100 μg/kg TPを投与された群ではほとんどの卵巣除去ラットにロードシスを起こさせることができなかったが、200 μg/kgから800 μg/kg TP では徐々に平均LQが高くなり、800 μg/kg TP群では5 μg/kg EB群とほぼ等しくなった。今までの報告ではアンドロゲンを長期投与しロードシスの発現を調べたものがほとんどであった（Hsu, 1990;Yahr and Gerling 1978）が、今回の結果は800 μg/kgのTPであれば一回の投与でも5 μg/kg EBと同様にロードシスを引き起こすことができることが明らかとなった。また、投与量依存的にLQが上昇することも確かめられた。

テスト２においてはTPを投与された全ての群で、EBを投与された群と同様にプロゲステロンによってロードシスと勧誘行動の低下がみられた。この結果はプロゲステロンの抑制効果はテストステロン誘起のロードシスに対してもみられることを示している。

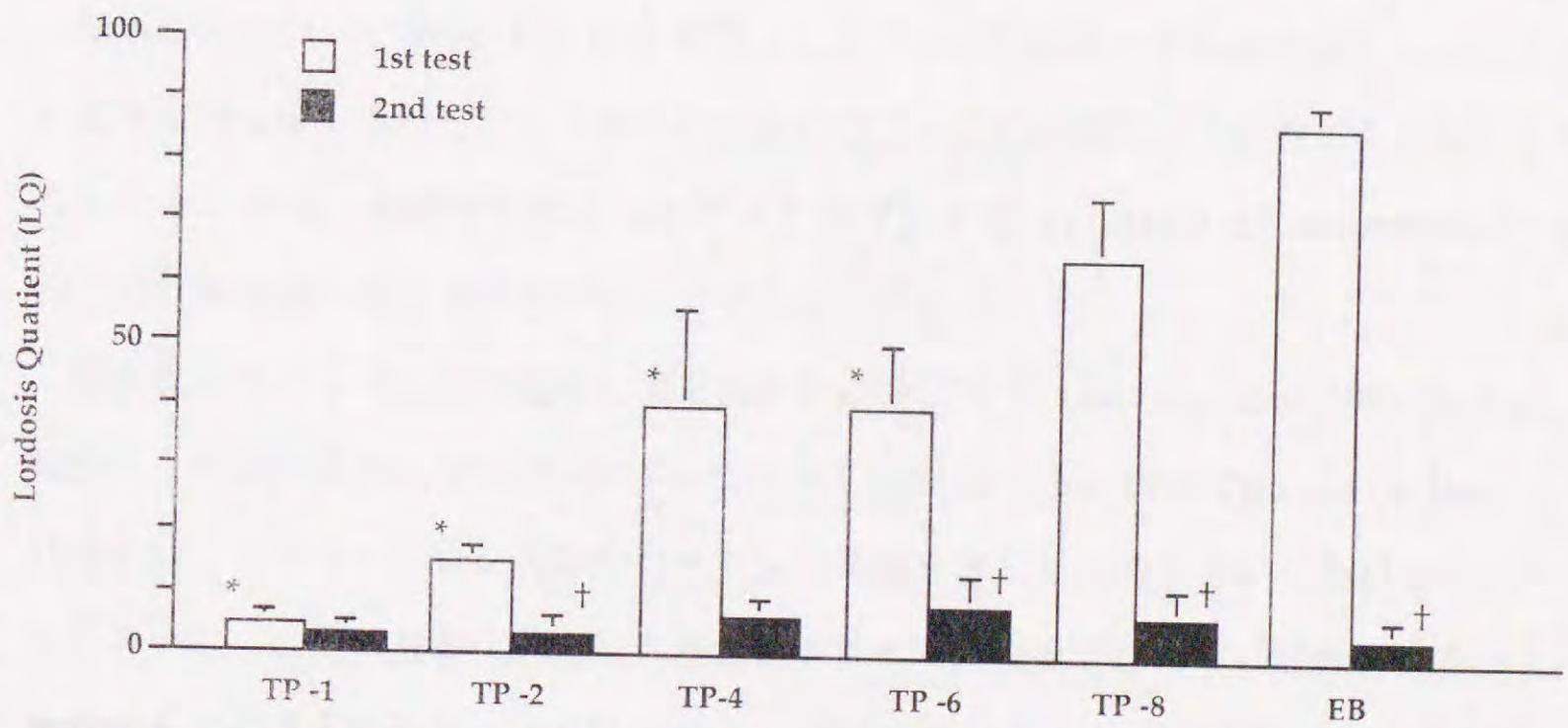


Figure 6 The mean LQs of testosterone propionate (TP) or estradiol benzoate (EB) treated female rats. Various doses (100~800 ug/kg B.W.) of TP were given in each TP group (see text). All animals received 0.5 mg P 44 h after the TP or 5 μg/kg EB, and the behavioral testing was carried out four hours later. In the 2nd test, addiotinal 5 mg P was injected concurrently with the TP or EB.
*P<0.01 vs. EB group. †P<0.05 vs. 1st test.

Table 3 Effects of various doses (100~800 μg/kg B.W.) of testosterone propionate (TP) on incidence of lordosis, ear wiggling (EW) and hopping (HP).

Groups	1st test			2nd test		
	Lordosis	EW	HP	Lordosis	EW	HP
TP-1	3/7†	0/7	0/7†	2/7	0/7	0/7
TP-2	0/7†	0/7	0/7†	1/7	0/7	0/7
TP-4	5/7	2/7	2/7†	3/7	0/7	0/7
TP-6	10/10	1/10	3/10†	3/10*	1/10	3/10
TP-8	10/11	5/11	8/11	3/11*	0/11*	1/11*
EB	6/6	6/6	5/6	3/6	0/6*	0/6*

† $p<0.05$, vs. EB group.
* $p<0.05$, vs. 1st test in each group.

アンドロゲンは雌ラットの卵巣や副腎皮質などでも生合成される。副腎皮質由来のアンドロゲンが雌における性行動発現に影響を与えるという報告もなされている（Gorzalka and Moe, 1994）が、卵巣を除去したラットではロードシスが消失することから副腎皮質で産生されるアンドロゲンは通常のロードシス発現には影響がないものと考えられる。また、副腎で合成されるアンドロゲンはおもにdihydroepiandrosteroneであり、性行動発現に対する活性は弱いものと考えられる。

卵巣除去ラットにDHTを投与しても性行動が発現せず（De Jonge et al.,1986; Erskine, 1989）、芳香化阻害剤やエストロゲン受容体の拮抗剤（Hsu, 1990;Yahr and Gerling, 1978）は、テストステロン誘起のロードシス発現を著しく阻害する。したがって、テストステロンは主に芳香化酵素によりエストロゲンに変換された後に雌性行動を引き起こすものと考えられる。卵巣除去ラットにEBを投与すると48時間後に最もLQが高くなるが、TPを投与した場合には72時間後に最も高くなる（De Jonge et al.,1986）ことか

ら、アンドロゲンはエストロゲンに比べてロードシスを発現するのにより長い時間を要する。また、本実験で、充分なロードシスを引き起こすのに必要なEB量は5 μg/kgであるのに対して、TPではその150倍以上必要とされることが示された。これらの違いは、中枢神経系内のテストステロンはエストロゲンに変換されてから作用することに起因する可能性がある。その点については、ロードシス制御機構における神経細胞内でのアンドロゲンの芳香化効率、アロマターゼ活性などに関係してくると考えられる。

雌ラットのアロマターゼ脳内分布は、POA、VMH、中隔、分界条床核や内側扁桃体（Jakab et al., 1993;Mouri-Y et al., 1994）など、ロードシス制御に関わる部位で多くみられ、エストロゲン受容体の分布とよく一致する。雌ジャコウネズミのPOAやVMHへテストステロンを直接投与すると雌型性行動が昂進する（Sharma and Rissman, 1994）報告があるが、これらの神経核でテストステロンが局所的にエストロゲンに変換されて作用していることを支持している。

本実験ではプロゲステロンがEBだけでなくTP誘起の雌性行動をも著しく抑制することが明らかとなった。中枢神経系ではハト視索前野でのアロマターゼ活性はプロゲステロンによって影響を受けないことが示されている（Wozniak and Hutchson, 1993）。従って、プロゲステロンによるTP誘起のロードシスに対する抑制作用はアロマターゼ活性を阻害したのではなく、むしろエストロゲンの作用を阻害することにより生じた可能性が高いと考えられる。

卵巣除去ラットにプロゲステロンを投与すると視床下部のエストロゲン受容体量が領域特異的に減少する（Pollio et al., 1993）。さらに最近、レポーター遺伝子アッセイ系では、プロゲステロンがエストロゲン受容体の転写促進活性を著しく阻害することが報告された（Kraus et al., 1995）。これらの実験はプロゲステロンが複数の異なった段階でエストロゲンの作用を阻害している可能性を示唆している。プロゲステロンの雌性行動

5章

雌性行動抑制中枢に対するプロゲステロンの作用

5章　雌性行動抑制中枢に対するプロゲステロンの作用

序

ラットのロードシス行動は視床下部腹内側核（VMH）を中心とする促進神経機構と、中隔-視索前野（POA）、背側縫線核（DRN）を中心とする抑制神経機構により制御されている（Yamanouchi et al., 1985c）。エストロゲンは促進機構を働かせるように作用し、抑制機構に対しては抑制を解除するように働くと考えられている。

プロゲステロンはエストロゲンのロードシス発現促進効果に対し抑制的あるいは促進的に働き、それはエストロゲンとプロゲステロンの投与時間に依存している（Blaustein and Wade., 1977）。プロゲステロンによる両作用はロードシス促進機構であるVMHに作用した結果であることを示唆する報告（Rubin and Barfield, 1983）もあるが、ロードシス抑制機構との関わりは解明されていない。その点を明らかにするため、本実験では雌ラットを用いてロードシス抑制機構に関与している中隔野、視索前野、背側縫線核をそれぞれ高周波破壊し、エストロゲンと同時にプロゲステロンを投与してロードシスに対する影響を調べた。

方法及び材料

Wistar系の雌ラット（180～200 g)を一定温度（23-26 ℃）、一定照明（14 h:10 h、明：暗）で飼育し、用いた。全てのラットにエーテル麻酔下で卵巣除去手術を施した。同時に、外耳道より歯の位置を５mm下に設定した脳定位固定装置下で０．7 mm電極を用い、中隔野、内側視索前野、中脳背側縫線核の高周波破壊を行った（高周波破壊装置：Radionics, Inc. Burnington, MA ）。両側中隔野破壊は電極をBregmaより0.3 mm後ろ、左右0.9 mmの位置で下に6.0mm降ろし、55～56°Ｃで１分間通電することに

より作成した（中隔破壊群：Septal Lesion, SL、 15匹）。同様に、内側視索前野破壊は電極をBregmaから後ろ０.４mm、左右０.５mm、下に８.５mm降ろし（内側視索前野破壊群：Preoptic Area Lesion, POAL、 10匹）、中脳背側縫線核はBregmaから後ろ7.8 mm、正中で下に6.7 mm降ろして（背側縫線核破壊群：Dorsal Raphe Lesion, DRL、 11匹）54～55°Ｃで１分間通電することにより作成した。また、去勢だけを施した対照群（24匹）も用意した。

卵巣除去２週間後、全てのラットに５μg/kgのestradiol benzoate（EB、Sigma 12.5μg / 1ml ゴマ油）を皮下注射し、その４４時間後、０.５mg progesterone（4-Pregnene-3, 20-dione: P、Sigma 0.5 mg/ 0.1 ml ゴマ油）を投与した。行動観察はP投与４時間後に行った（テスト1）。テスト１から２週間後、テスト１の方法に従ってプロゲステロンの抑制効果を調べた（テスト２）。脳手術を施した全てのラットと対照群の一部（P群：16匹）には５μg/kg EBを投与する１時間前に5 mgPを投与し、対照群の残り（Oil群：８匹）にはPの代わりにゴマ油を投与した。全てのラットにEBの投与４４時間後0.5 mg Pを投与してその４時間後に行動観察を行った。

行動観察は、２章と同様の方法でおこない、ロードシス商（ lordosis quotient : LQ, ロードシス数 / マウント数×100 ）を求めた。また、ear wiggling（EW）、hopping（HP） など勧誘行動の有無も記録した。

行動観察終了後、脳手術を施したラット脳を取り出し、ホルマリン固定した後に100 umの凍結切片を作成した。切片はクレシルバイオレットで染色した後、PaxinosとWatson の脳地図（Paxinos,G. and Watson,C., 1986）に従って脳手術の傷の正確な位置を確認した。グループ間の平均LQはt検定によって、また勧誘行動の発生率はx二乗検定により検定をおこなった。

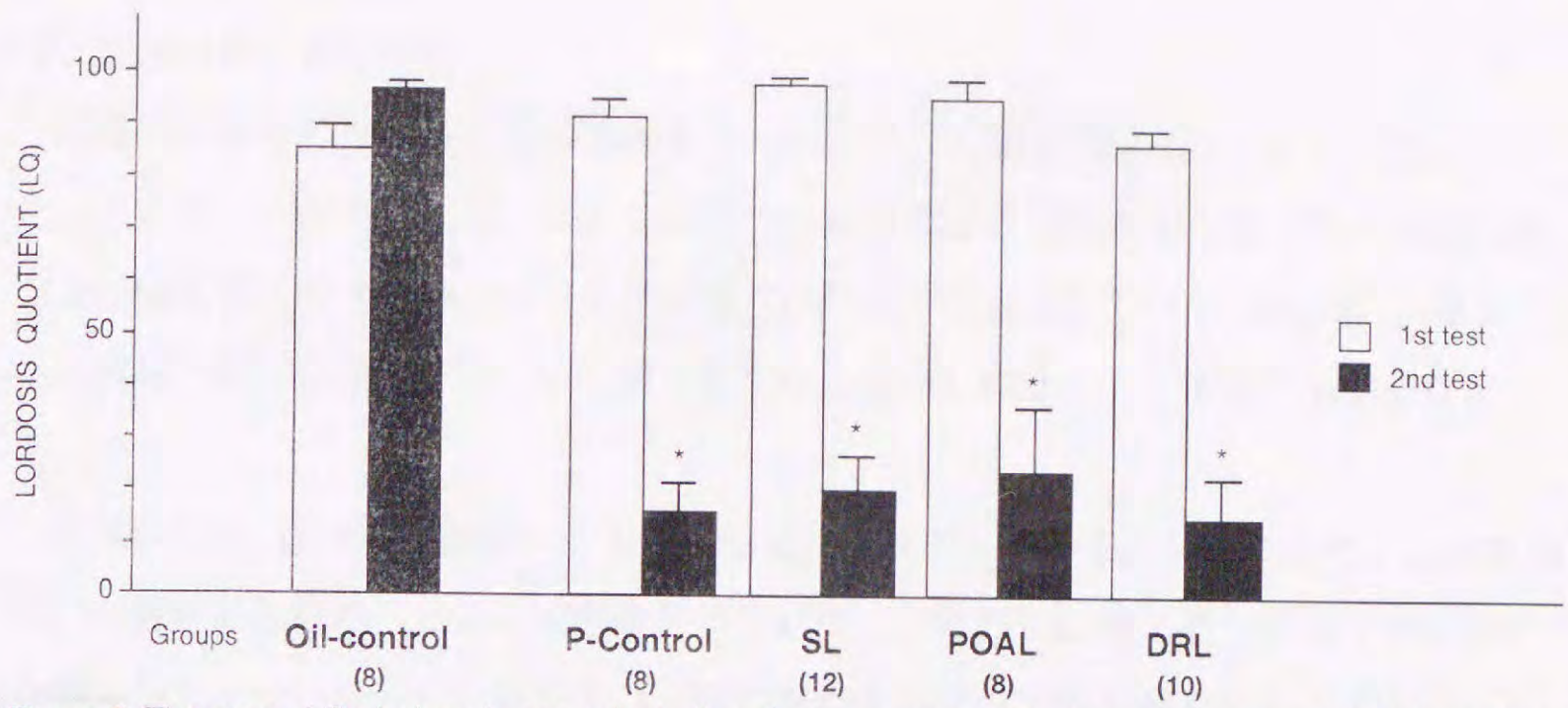


Figure 7 The mean LQs in female rats with lesions in the septum (SL), the preoptic area (POAL), and the dorsal raphe nucleus (DRL) in the first and second tests. In the 1st test, female rats were treated with estradiol benzoate (EB) and progesterone (P) (see text). In the 2nd test, 5 mg P was injected 1 hr before the EB. The females without brain surgery received 5 mg P (P-control) or oil (Oil-control). *p<0.005 vs 1st test in each group, and vs Oil-control.

結果

5 μg/kg EBと0.5 mg Pを投与したテスト１では、全てのラットがロードシスを示し、平均LQは各群とも80以上を示した（Fig. 7）。また、勧誘行動は群を通じ25～90%の発生率を示した（Table. 4）。

テスト２においてはEBの１時間前にoilを投与されたOil群ではテスト１と同様に、全てのラットがロードシスを示し、LQはほぼ100であった（平均LQ=96.3 ± 1.8）。一方、EBの１時間前に5 mg Pを投与したP群では、平均LQがテスト１（P< 0.005）およびOil群（P< 0.005）に比べて著しく低下した。また、P群では勧誘行動がまったくみられなくなった。テスト２ではSL群が12匹中6匹のラットのみがロードシスを示し、平均LQはOil群よりも有意に低い値を示した（P< 0.005）。POAL群でも8匹中5匹が、DRL群でも10匹中5匹がロードシス行動を示したのみであった。両群の平均LQはSL群と同様にOil群よりも低い値であった（P< 0.005）。脳手術を施した３群ではいずれも勧誘行動はみられなかった。実験を通し、全てのラットで体重の減少などの異常はみられ

ず、健康状態は良好であった。

組織学的検査では、SLの傷は脳梁膝のレベルから中隔采核前端レベルまで及んでいた。しかし、一部のラットでは三角中隔核の前端部にまで傷が及んでいた。中隔内側および外側核は全てのラットでほぼ全域にわたって破壊されていた（Fig. 8）。また、中隔領域の脳弓は破壊されていたが、前交連はすべてのラットで傷は及んでいなかった。

POALでは、傷は脳弓前端レベルから視交差上核のレベルまで及んでいた。前視索前核、内側視索前核のほとんどが破壊されていた。この群では視交差上核の内背側部に一部傷が及んでいるもの、前交連の一部に傷が及んでいるのもがそれぞれ２匹ずつみられた。８匹中２匹は内側視索前野前端の腹側部が一部破壊されていなかった。

DRLは、中脳の中心部分に位置し、動眼神経核最後端レベルから背側被蓋核までの間でみられた。背側縫線核は前端と後端の一部を除いてほぼ破壊されており、中心灰白質の腹側部も一部破壊が及んでいた。すべてのラットで正中縫線核は破壊を免れていた。

Table 4 Incidence of lordosis and soliciting behavior in each group.

Groups	Number of Rats	1st test			2nd test		
		Lordosis	EW	HP	Lordosis	EW	HP
Oil-control	8	8/8	4/8	3/8	8/8	4/8	5/8
P-control	8	8/8	4/8	5/8	6/8	0/8	0/8 *#
SL	12	12/12	8/12	11/12	6/12 #	0/12 *	0/12 **##
POAL	8	8/8	2/8	5/8	5/8	0/8	0/8 *#
DRL	10	10/10	3/10	6/10	5/10 #	0/10 *#	0/10 *#

* $p<0.05$, ** $p<0.01$ vs Oil group.
# $p<0.05$, ## $p<0.001$ vs 1st test in each group.

考察

雌ラットにおいてEBの１時間前にプロゲステロンを投与することにより、ロードシスだけでなく勧誘行動の発現も抑制された。この結果は実験１及びこれまでに報告されているプロゲステロンのロードシス抑制効果と一致する（Blaustein and Wade, 1977;DeBold et al., 1976; Hansen and Södersten , 1979;Marrone et al., 1977）。さらに今回の実験では中隔やPOA、DRNが破壊されてもプロゲステロンはエストロゲン誘起の雌性行動を抑制することが確かめられた。

中枢神経系においてプロゲステロン受容体産生はエストロゲンによって影響を受け、ラットではエストロゲンの皮下投与により視床下部、POA領域でのプロゲステロン受容体が増大する（Kato et al., 1978;MacLusky, and McEwen, 1978）。また、エストロゲン投与はエストロゲン受容体を増大させる（Wise and Parsons, 1984）。エストロゲンによるロードシス発現調節はこれらステロイドホルモン受容体産生の増大と密接な関連があると考えられる（Blaustein, 1982;McEwen et al., 1984;Ogawa et al., 1994）。一方、プロゲステロンはエストロゲン受容体産生を抑制する（Pollio et al., 1993）だけでなく、エストロゲンによるプロゲステロン受容体産生を領域特異的に抑制するという報告（Moguilewsky, and Raynaud, 1979）もあり、プロゲステロンのロードシス抑制作用との関連が示唆されている。

中隔は前脳におけるロードシス抑制機構の一つであり、この部位における抑制力はエストロゲンによって解除されると考えられている（Yamanouchi, 1985c）。しかし、中隔を破壊してもプロゲステロンの抑制効果がみられたことは、中隔がプロゲステロンのロードシス抑制において不可欠な部位ではないことを示している。

また、中隔のすぐ腹側に位置するPOAも雌性行動を抑制的に制御している（Pfaff,D.W. and Sakuma,Y., 1979;Powers,J.B. and Valenstein,E.S., 1972）。POAではエストロゲン投与によってエストロゲン、プロゲステロン受容体の誘導がみられる

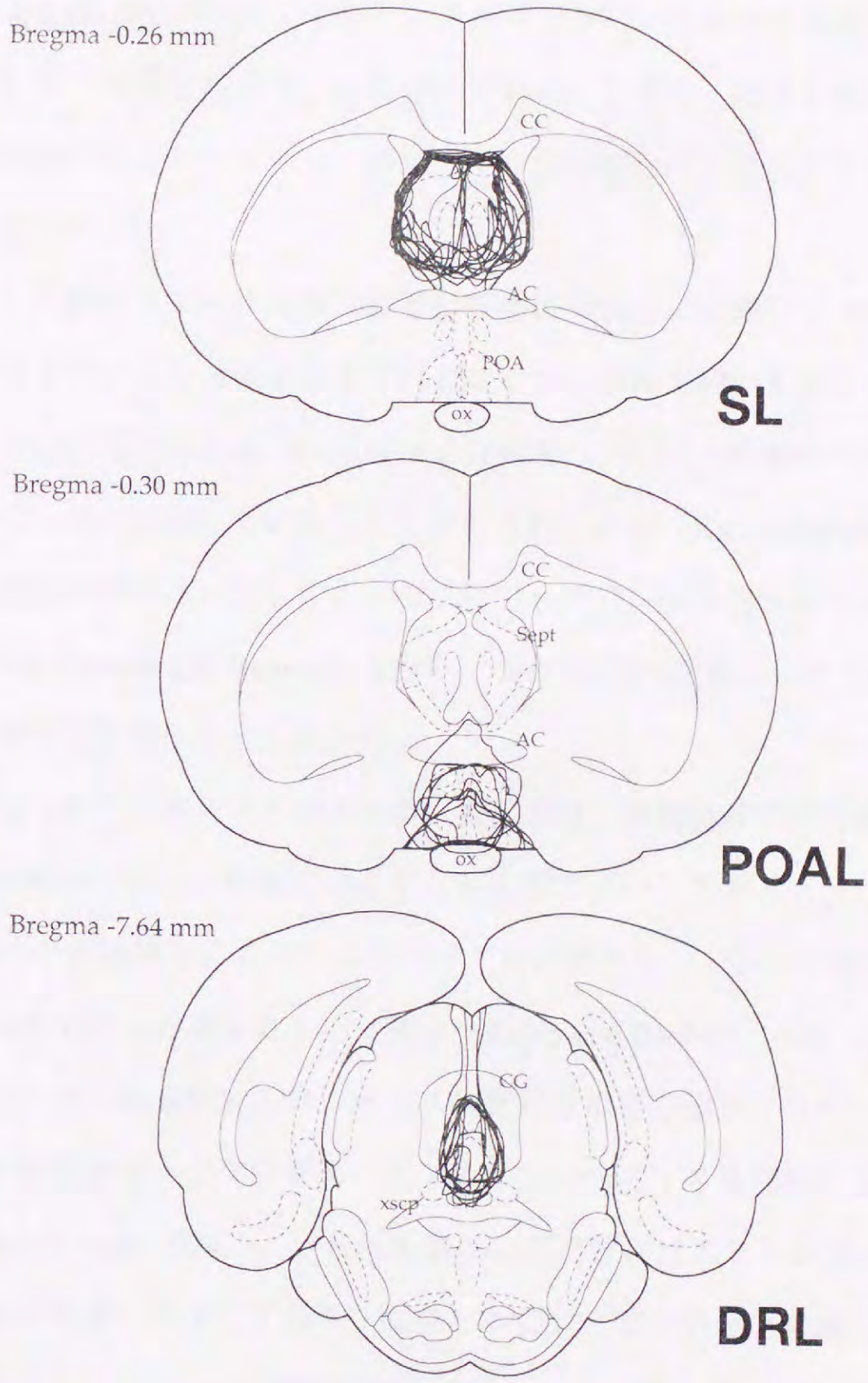


Figure 8 Outline of the areas of the bilateral septal lesions (SL, 12 rats), the bilateral preoptic area lesions (POAL, 8 rats), and the dorsal raphe nucleus lesions (DRL, 10 rats) in representative frontal sections. AC, anterior commissure; CC, corpus callosum; CG, central gray; OX, optic chiasm; Sept, septum; POA, preoptic area; XSCP, decussation of the superior colliculus. The drawings are modified from the stereotaxic atlas of Paxinos and Watson (21).

（McEwen et al., 1984）。POAへプロゲステロンを直接投与するとロードシスを促進する（Yanase and Gorski, 1976）ことから、プロゲステロンはPOAの神経細胞に直接作用してロードシスに影響を与えていると考えられる。しかし、POAを破壊した今回の実験によりこの部位もプロゲステロンのロードシス抑制作用には直接的に関与していないことが示された。

セロトニン作動性ニューロン系は雌型性行動に抑制的に機能している（Zemlan et al., 1973）。プロゲステロンは視床下部でのセロトニン活性を抑制することでロードシスを促進するという報告もある（Gereau et al., 1993）。また、DRNのセロトニンニューロンがロードシスを抑制していることも報告されている（Kakeyama and Yamanouchi, 1996）が、縫線核群ではエストロゲンやプロゲステロンの受容体産生が非常に少ない（Stumpf, 1974;Turcotte and Blaustein, 1993）。さらにDRN破壊もプロゲステロンのロードシス抑制効果に影響を与えなかった。

これらのことから、雌ラットでは中隔、視索前野、背側縫線核の抑制神経機構はプロゲステロンのロードシス抑制には必ずしも必要でないことが示された。プロゲステロンはVMHへの直接投与によってエストロゲン誘起のロードシスを促進させるだけでなく、その後抑制的に作用するという報告（Rubin and Barfield, 1984）がある。また、プロゲステロンは下位脳幹でのロードシス制御にも重要な働きをしていおり、モルモットでは中脳腹側部へのプロゲステロン投与はロードシスを抑制するという報告がある（Morin and Feder, 1974）。さらに中脳中心灰白質にはエストロゲン、プロゲステロンの受容体が豊富に存在しており、雌ラットのロードシス発現に対して重要な働きをしていると考えられている（Pfaff et al., 1994）。しかし、これらの部位におけるプロゲステロンの役割は十分に解析されていない。今後は下位脳幹におけるプロゲステロンのロードシス制御に対する役割を調べていく必要がある。

6 章

雄ラットにおける雌性行動にたいするプロゲステロンの働き

6章　雄ラットにおける雌型性行動に対するプロゲステロンの働き

序

プロゲステロンは直接視床下部腹内側核（VMH）に投与されるとロードシス抑制的にも作用することが示されている（Rubin and Barfield, 1983）。一方、実験3で明らかなようにプロゲステロンのロードシス抑制効果は中隔、視索前野（POA）をそれぞれ破壊された雌ラットでも同様にみられる（Satou. and Yamanouchi., 1996b）こと、POAへのプロゲステロンの植え込みでは抑制効果があらわれない（Rubin and Barfield, 1983）ことなどから、プロゲステロンの抑制作用はこれらのロードシス抑制機構と直接的に関係していないと考えられる。

雄ラットは、去勢され多量のエストロゲンを投与されてもほとんど雌性行動を示さない。しかし、中隔（Kondo et al., 1990;Nance et al., 1975b;Yamanouchi and Arai, 1985a）、POA（Olster, 1993;Hennessy et al., 1986）、背側縫線核（DRN）（Kakeyama and Yamanouchi, 1992;1994）を破壊された雄ラットではロードシスがみられるようになる。雄ラットがロードシスを示さないのはこれらの抑制機構が強いためである。雌の中隔の抑制機構はエストロゲンに反応し、抑制力が解除されるが（Yamanouchi et al., 1985c）、雄の抑制力は解除されない可能性が考えられる。雄ラットの中隔の抑制力神経線維を切断し、VMHや橋背内側被蓋部を破壊するとロードシスが抑制される（Yamanouch and Arai, 1985a）ことから、雄ラットにも雌と同様のロードシス促進機構があると考えられる。

中隔を破壊された雄ラットにプロゲステロンを投与するとエストロゲン誘起のロードシスを強める働きがある（Yamanouchi and Ara, 1985a）。そのほか、雄ラットでは雌型性行動発現においてプロゲステロンが促進的に作用するという報告がいくつかなされている（Olster and Blaustein, 1990;Ward et al., 1977）。その一方、雄ラットでのプロゲステロンのロードシス抑制作用に関しては報告がない。実験4では中隔を破壊されてロードシ

スを示すようになった雄ラットを用い、ロードシス発現に対するプロゲステロンの抑制効果を調べた。

材料及び方法

Wistar系の雄・雌ラット（180～200 g)を一定温度（23-26 ℃）、一定照明（14 h:10 h、明：暗）で飼育したものを用いた。エーテル麻酔下で去勢を施した後、実験3の方法に従って13匹の雄ラット（m-SL群）と8匹の雌ラット（f-SL群）の中隔野破壊をおこなった。また、対照群として脳手術を施さない去勢のみの雌ラット（f-Cont:10匹）も用意した。

手術の2週間後から2週間おきに4回の雌性行動観察テストをおこなった。テスト1では全てのラットに50 μg/kg b.w. estradiol benzoate（EB, Sigma, 125 μg/1 ml ゴマ油）を、その44時間後に0.5 mg progesterone（P, Sigma, 5 mg/1 ml ゴマ油）を皮下投与した。P投与の4時間後に行動観察をおこなった。テスト２ではEBの1時間前に5 mg P（ 5 mg/0.3 ml ゴマ油）を投与した以外はテスト１と同様におこなった。テスト３、４ではEBの量を5 μg/kgに変えて、それぞれテスト１、２と同じ計画でおこなった。

性行動観察は実験1と同様におこなった。ロードシス商（LQ：ロードシス/10マウント x 100）を記録し、雌の勧誘行動であるear-wiggling（EW）とhopping（HP）の有無もあわせて記録した。

行動観察終了後、脳手術を施したラット脳を取り出し、ホルマリン固定した後に100 μmの凍結切片を作成した。切片はクレシルバイオレットで染色した後、PaxinosとWatson の脳地図（Paxinos,G. and Watson,C., 1986）を用いて脳手術の傷の正確な位置を確認した。グループ間の平均LQはF検定後、t検定によって、また勧誘行動の発生率はx2テストにより検定をおこなった。

結果

50 μg/kg EBと0.5 mg Pを投与したテスト１では、全ての群のラットがロードシスを示し、平均LQは各群とも90以上を示した（Fig. 9,10）。また、勧誘行動はf-Cont、f-SL群ではほとんどのラットがHPを示したが、m-SL群では13匹中3匹のラットのみで観察された（Table. 9, 10）。EWはf-Cont群とmSL群では半数以上のラットが示した一方でf-SL群では8匹中3匹のラットのみであった。50 μg/kg EBの1時間前に5 mg Pを投与したテスト２においても、各群ともにテスト１とほぼ同様に高い平均LQを示した。m-SL群ではHPが全くみられなかったが、f-SL、f-Cont群ではHPの発現率は100 %であった。

5 μg/kg EBと0.5 mg Pを投与したテスト３でも、テスト１とほぼ同様に全ての群のラットが高いLQを示した。5 μg/kg EBの1時間前に5 mg Pを投与したテスト4では、f-Cont、f-SL群のロードシス発現率は50 %程度となり、特にf-Cont群ではテスト３に比べて有意な低下がみられた（P< 0.05）。これら２群の平均LQはテスト３よりも有意に低かった（P< 0.01）。m-SL群では13匹中11匹のラットがロードシスを示し、平均LQの低下がみられた（P< 0.01）。しかし、m-SL群の平均LQはf-Cont群よりも高かった（P< 0.05）。勧誘行動はf-SL群、m-SL群でそれぞれ1匹のラットが示したのみであった。実験を通し、全てのラットで体重の減少などの異常はみられず、健康状態は良好であった。

組織学的検査では、中隔の傷は脳梁膝のレベルから中隔采核前端レベルまで及んでいた。中隔外背側核、外側および内側核は全てのラットで内側視索前核のレベルを中心に広い範囲で破壊されていた（Fig. 11）。しかし、一部のラットでは三角中隔核、海馬采の前端部にまで傷が及んでいた。また、中隔領域の脳弓は腹側部の一部を除いてほぼ破壊されていたが、前交連はすべてのラットで傷は及んでいなかった。

考察

今回の実験では、50 μg/kgもしくは5 μg/kgのEBを投与した場合でも中隔破壊雄ラットは雌ラットに近いLQと勧誘行動を示した。また、50 μg/kg EB投与前に5 mg Pを投与しても雌性行動が抑制されなかったが、5 μg/kg EB投与前に5 mg Pを投与した場合には強い抑制がみられた。これらの結果は雄ラットにも雌と同様のプロゲステロンのロードシス抑制機構が存在することを示すものである。プロゲステロンのロードシス促進効果は雄ラットでもみられるという報告（Olster and Blaustein, 1990;Ward et al., 1977）もいくつかなされている。したがって、プロゲステロンの中枢作用は雌雄どちらにも存在するともの考えられる。

EB量が50 ug/kgの場合には雌雄ともプロゲステロンの抑制効果がみられなかったが、プロゲステロンの抑制効果がエストロゲン投与量に反比例して低下するというBlausteinらの報告（Blaustein and Wade, 1977）や、プロゲステロンの投与量を増やしていくと抑

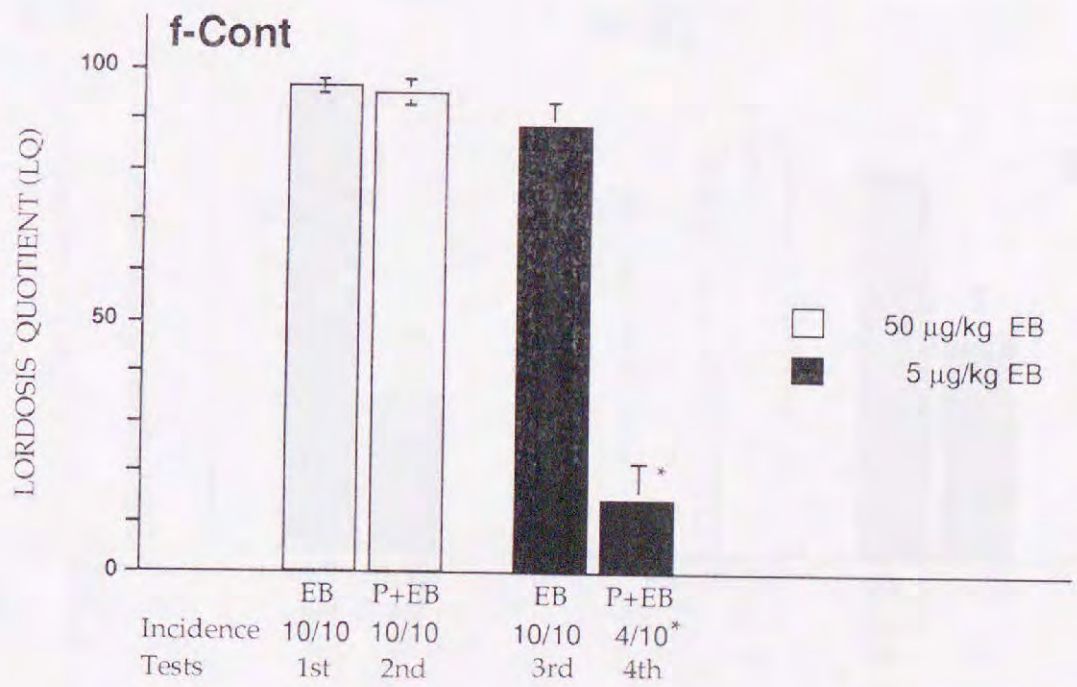


Figure 9 The mean LQs and incidences in the female control group (f-Cont) in four tests. In the 1st test, all rats were treated with 50 μg/kg b.w. estradiol benzoate (EB) and 0.5 mg progesterone (P) (see text). In thesecond test, 5 mg P was injected 1 h before the 50 μg/kg EB. Instead of 50 μg/kg EB, 5 μg/kg EB was injected in the 3rd and fourth tests. In the 4th test, 5 mg P was treated with 1 h prior to the EB. *p<0.01 vs. 3rd test.

制効果は強まるという報告（DeBold et al., 1976）と一致する。従って今回の実験では、5 mg Pが50 ug/kgの EBに対して相対的に量が少なかったために抑制効果がみられなかったものと推察される。

雄ラットは多量のエストロゲンとプロゲステロンを投与されてもロードシスの発現は低い。それは、中隔-POAやDRNに強いロードシス発現に対する抑制力が発達しているためである（Yamanouchi, et al., 1985c）。それらの抑制を外科的に解除してしまうと、雄ラットでもロードシスを示すようになる（Kakeyama and Yamanouchi., 1992; Olster, 1993;Hennessy et al., 1986;Yamanouchi and Arai, 1985a）。

今回の結果では中隔が破壊されていても、雌雄でプロゲステロンのロードシス抑制効

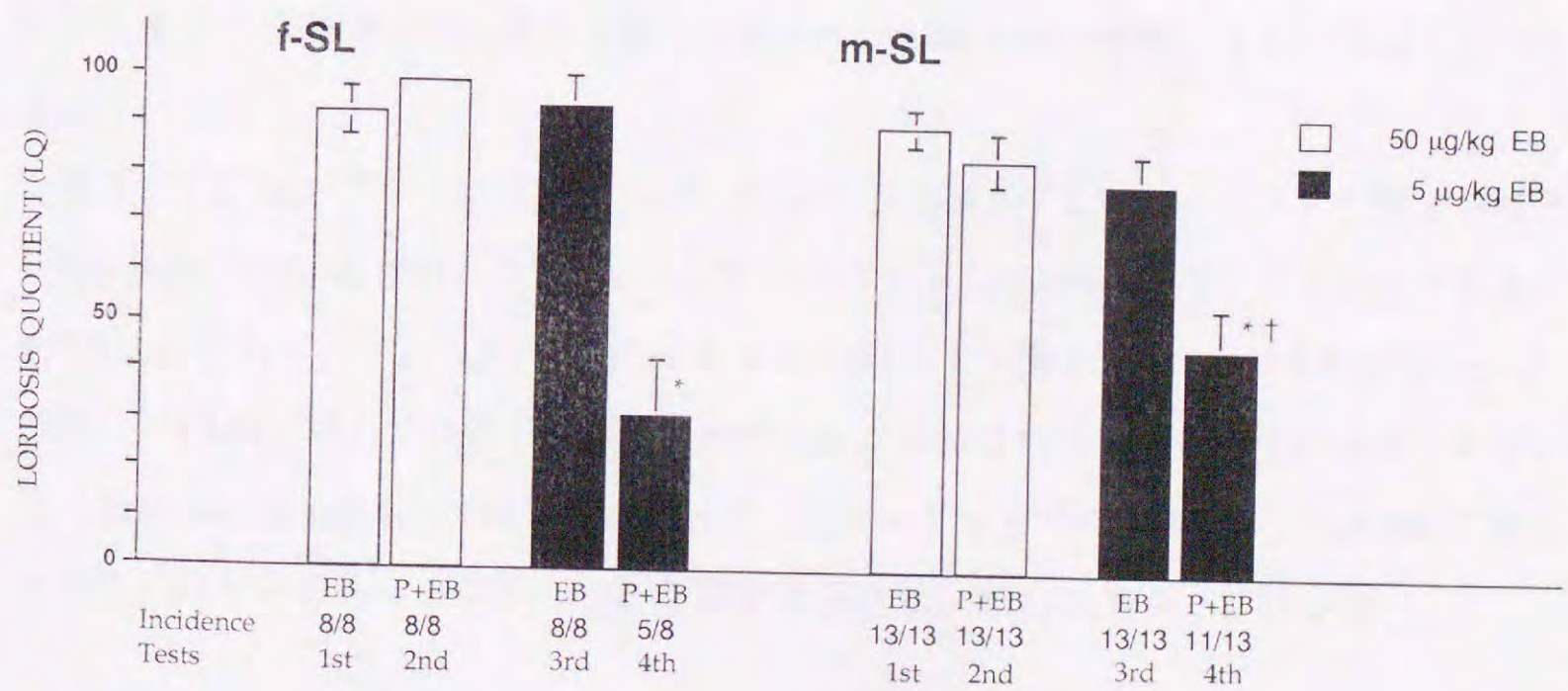


Figure 10 The mean LQs and incidence of lordosis in the females and males with septal lesions (SL). In the 1st test, all rats were treated with 50 µg/kg b.w. estradiol benzoate (EB) and 0.5 mg progesterone (P) (see text). In thesecond test, 5 mg P was injected 1 h before the 50 µg/kg EB. Instead of 50 µg/kg EB, 5 µg/kg EB was injected in the 3rd and fourth tests. In the 4th test, 5 mg P was treated with 1 h prior to the EB. *$p<0.01$ vs. 3rd test. †$p<0.05$ vs.f-Cont.

Table 5 Incidence of soliciting behavior in each group.

Groups	Number of Rats	1st test		2nd test		3rd test		4th test	
		EW	HP	EW	HP	EW	HP	EW	HP
f-Cont	10	7/10	9/10	8/10	10/10	6/10	6/10	0/10	0/10*
f-SL	8	3/8	7/8	3/8	8/8	6/8	7/8	1/8	1/8*
m-SL	13	7/13	3/13	3/13	0/13	4/13	2/13	0/13	1/13

* $p<0.05$, vs 3rd test in each group.

果が確認された。この結果は雌ラットでは中隔ばかりでなく、POAやDRNなどの抑制力をもつ部位を破壊されていても、プロゲステロンの抑制はみられるという実験3の結果を支持するものである。すなわち、抑制機構はプロゲステロンの抑制作用に直接関与していないことになる。しかし、POAには性的二形核など形態的に雌雄差が明瞭な神経核が存在する（Arai, 1981;Davis et al., 1996）ことから、雄では中隔以外の部位において、プロゲステロンの抑制作用に対して雌とは異なった制御機構が存在する可能性は否定できない。

雌ラットにおいて、プロゲステロンをVMHに直接投与するとロードシスが抑制される（Rubin and Barfield, 1984）ことから、プロゲステロンはVMHに作用する可能性がある。VMHはエストロゲンに反応し、ロードシスを促進する働きをもつ（Pfaff,D.W. et al., 1994）。VMHに関しては雄でも雌と同様の機能が維持されている可能性が示唆されている（Yamanouchi and Arai, 1985a）。従って、雄ラットでもプロゲステロンはVMHに対するエストロゲンの作用を阻害している可能性がある。雌ハムスターでは中脳

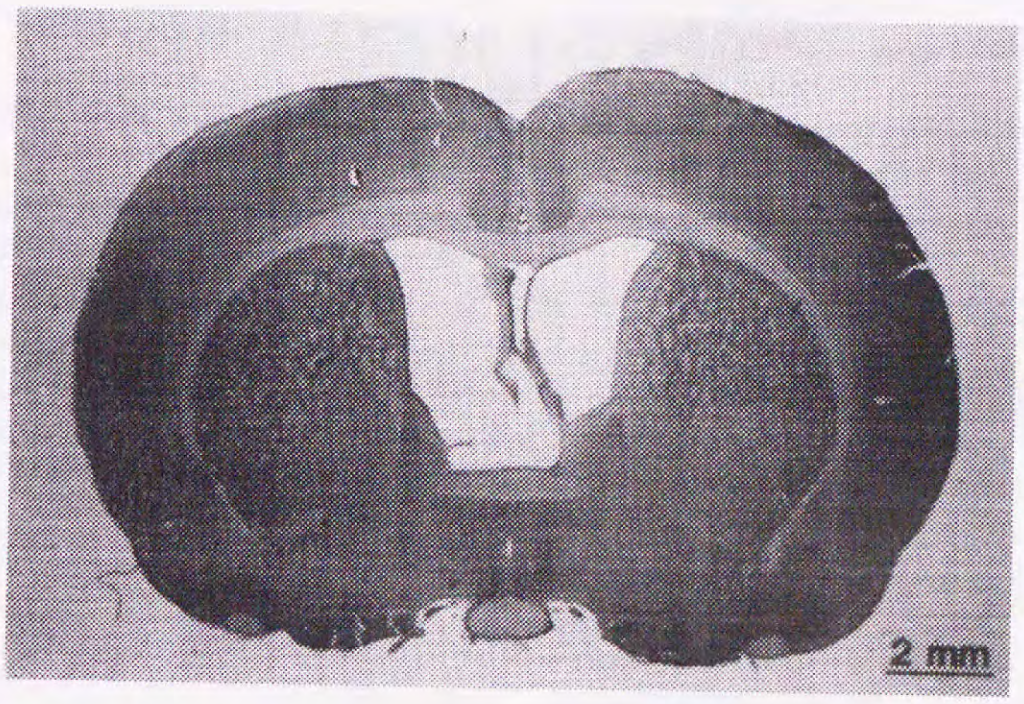


Figure 11 Representive coronal section of the forebrain in an septum-lesioned male rat (m-SL) (cresyl fast violet stain).

被蓋野へのプロゲステロンの植え込みによってもロードシスが抑制される（Morin,L.P. and Feder,H.H., 1974）という報告がある。雌ラットの中脳被蓋野を電気刺激するとロードシス発現が抑制される（Hasegawa,T. et al., 1991）。一方、雌ハムスターの腹側被蓋野では、膜受容体を介してプロゲステロンによりロードシスが促進されるという報告がある（Frye,C.A. and DeBold,J.F., 1993）。従って、中脳被蓋野の機能がハムスターとラットでは必ずしも同じではない可能性があるが、雄雌ラットにおいても下位脳幹でのプロゲステロンの抑制作用を検討する必要はある。

プロゲステロン受容体はエストロゲンによって誘導されること（McEwen,B.S. et al., 1984;Romano,G.J. et al., 1989）はロードシス発現におけるエストロゲンの生理作用のひとつとしてして重要である（Ogawa,S. et al., 1994）。プロゲステロン受容体の発現はPOA、弓状核やVMHを含む視床下部領域、内側扁桃体など比較的広範にわたり

（Hagihara et al., 1992）、分布における雌雄差は報告されていない。また、POAではプロゲステロン受容体の誘導に性差がみられないという報告（Brown et al., 1987）がある。一方で、プロゲステロンは、POAを破壊された雄モルモットではロードシス発現を停止する効果が弱いという報告（Rodriguez-S and Terasawa, 1979）もある。去勢雄にエストロゲンを投与しても、視床下部ではプロゲステロン受容体mRNA誘導がみられず（Lauber et al., 1991）、雌に比べて受容体タンパク産生量も低い（Fraile .et al., 1987）。このようなプロゲステロン受容体産生能の違いがロードシス発現における雌雄差の一端を担っている可能性は否定できない。その点を明らかにしていく必要がある。

7章

前脳におけるプロゲステロン受容体とプロゲステロンの性行動抑制効果

7章　前脳におけるプロゲステロン受容体とプロゲステロンの性行動抑制効果

序

3章で明らかになったようにプロゲステロンによる性行動抑制は卵巣除去ラットにおいてはエストロゲンの投与の前後にプロゲステロンを投与されることで強く作用する（Satou and Ymanouchi, 1996）。また、VMHにエストロゲンを直接投与すると性行動が促進される（Barfield and Chen, 1977 Rajendren et al, 1991）が、この部位へのプロゲステロンの投与は投与のタイミングにより性行動を促進（Rubin and Barfielf, 1983）あるいは抑制（Rubin and Barfielf, 1984）する。一方、ロードーシス抑制力をもつLS、POA、DRNを破壊してもプロゲステロンの抑制効果は正常にみられることが3章によって示されている（Satou and Yamanouti, 1996）。プロゲステロンは単独投与では性行動の発現に影響を与えないことも考えると、プロゲステロンはエストロゲンが神経細胞に作用する部分で何らかの影響を及ぼしている可能性がある。

卵巣除去ラットではエストロゲンを投与されると１２時間程度でVMHやPOAにおいてプロゲステロン受容体mRNAが誘導され（Romano et al., 1989）、その後プロゲステロン受容体の産生が認められる(Blaustein and Turcotte, 1989)。ラットにおいてはプロゲステロンがエストロゲン投与の２４時間以降に投与されるとロードーシスの強い促進効果がみられる。また、エストロゲンを投与された卵巣除去ラットのVMHにプロゲステロン受容体のアンチセンスオリゴヌクレオチドを微量注入するとプロゲステロンによる性行動の促進効果がみられなくなり（Okawa, 1994）、プロゲステロン受容体ノックアウトマウスでも同様に促進効果は消失する（Frye and Vongher, 1999）。これらのことから、エストロゲンによるプロゲステロン受容体の産生はロードーシス行動の促進に重要な役割をもっていると思われる。そこで本実験ではプロゲステロンの性行動抑制効果がエストロゲンによるプロゲステロン受容体産生の阻害による可能性を調べる

ためにプロゲステロン受容体の免疫組織化学をおこなった。さらにプロゲステロンによる性行動抑制効果の作用機序を調べる一端として、プロゲステロン受容体に結合するプロゲステロン拮抗剤RU486を用いて性行動発現とプロゲステロン受容体産生との関係を検討した。

方法

Wistar系の雌ラット（180~200 g）７２匹をエーテル麻酔下で卵巣除去した。手術２週間後、5 μg/kgのestradiol benzoate（EB）を皮下投与し、44時間後に0.5 mg progesterone （P）を投与した。P投与の４時間後から雌型性行動の行動観察テストを行った（テスト１）。テスト１から２週間後、同様のスケジュールで行動観察テストを行った（テスト２）。ただし、テスト２では、EBの１時間前に1, 3, 5 mgのP（それぞれP1; 9匹、P3; 9匹、P5; １１匹）もしくはエタノール、安息酸ベンジル、ゴマ油混合液に溶解した5 mgのRU486（RU: Sigma）（RU1; 9匹、RU3; 8匹、RU5; １５匹）をそれぞれ投与した。また、溶媒のみを投与した対照群（Cont; １１匹）も併せて用意した。性行動観察は実験1と同様におこなった。ロードーシス商（LQ：ロードーシス/10マウントx 100）を記録した。
プロゲステロン受容体の免疫組織化学は行動観察テスト２と同様のスケジュールで行った。卵巣除去ラットに5 mgのP（PH、３匹）もしくはRU（RUH、３匹）を投与し、１時間後に5 μg/kg EBを投与した。EBの44時間後に4％パラホルムアルデヒドにより灌流固定した。EBのみを投与した群（EBH、３匹）と去勢のみの群（ContH、３匹）も用意した。以下の操作は氷冷下で行った。取り出した脳は同固定液中にて一晩後固定した後、１０％、３０％のショ糖・リン酸緩衝液(sucrose/PBS)中に沈めた。脳は滑走式ミクロトームにて30 mm凍結切片を作製した。切片はPBSにて１０分の振盪洗浄を３回行った。以下はフリー

フローティング法による酵素抗体法に準じて操作を行った。切片はウサギ血清（Chemicon）でブロッキングの後、４０００倍希釈した抗プロゲステロン受容体（C-19; SantaCruz）と反応させ、続けてビオチン標識抗ヤギIgG（Vector）との反応を行った。陽性反応の検出はVectastain ABC Elite Kit（Vector）とジアミノベンチジン、過酸化水素によって行った。切片は１個体３枚の切片について右側視索前野（POA）および右側視床下部腹内側核（VMH）を顕微鏡CCDカメラでスキャンし、NIH Imageにて顆粒状の陽性シグナル（PR-IR）の数を算出した。LQおよび免疫組織化学の検定はMann-WhitneyのU検定で、勧誘行動の発現率はx二乗検定でそれぞれ統計処理を行った。

結果

5 μg/kg EBと0.5 mg Pを投与したテスト１では、全てのラットがロードーシスを示し、平均LQは各群とも80以上を示した（Fig. 12）。テスト２では1 mgの

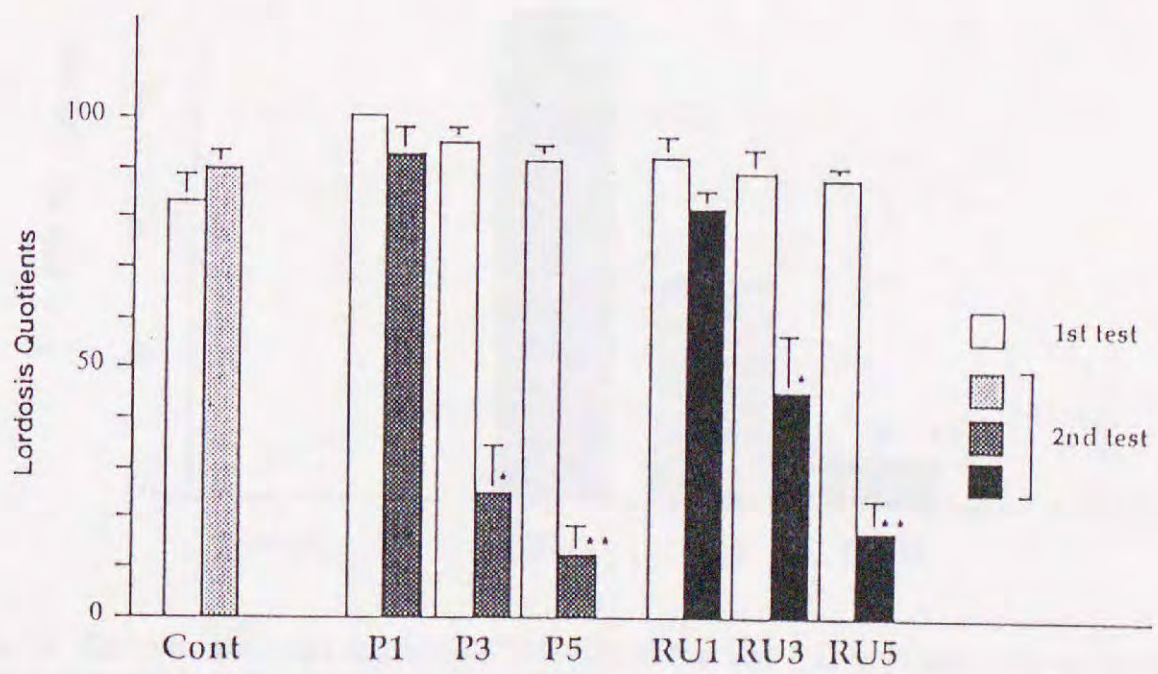


Figure 12 The mean LQs in ovariectomized rats treated with various dose of P or RU486. Cont females were received EB+P. In the P groups, 1, 3 or 5 mg P were given 1 hour before EB+P. The RU rats were treated with 1, 3 or 5 mg RU 1hour before EB+P. *P<0.05, **P<0.01 vs 1st test and the Cont group.

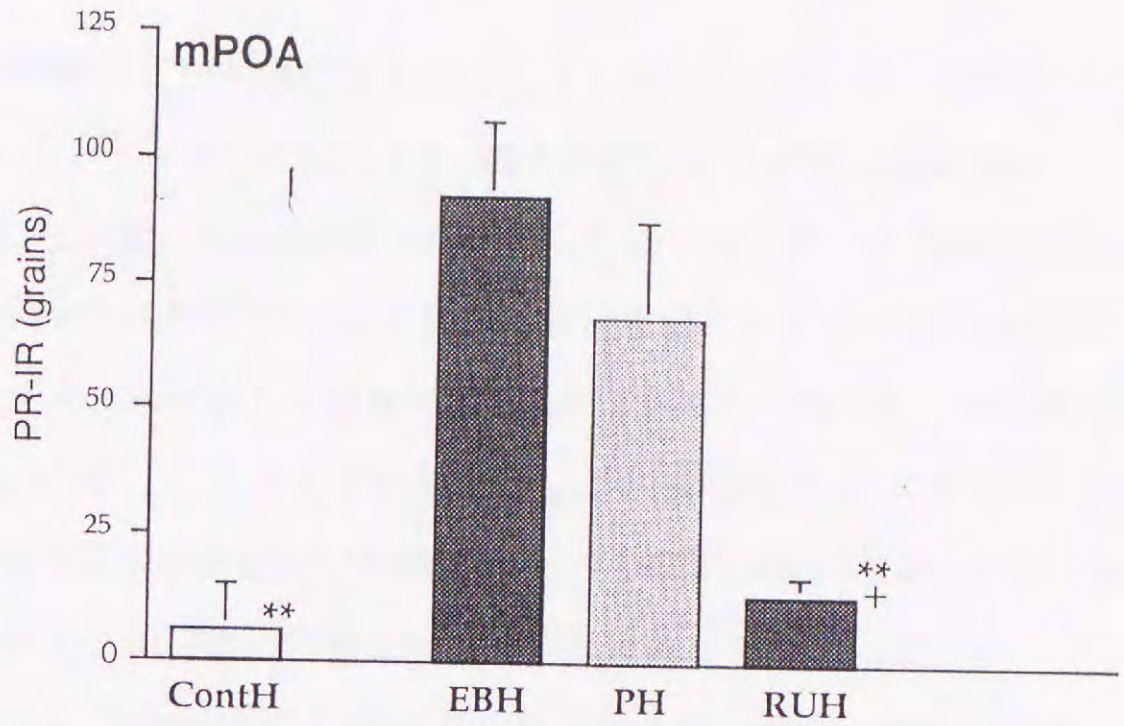


Figure 13 Semi-quantitative analysis of PR-IRs in the POA. ContH sections were obtained from ovariectomized rats, and EBH, PH, RUH indicate EB, P+EB and RU+EB treatments, respectively. **P<0.01 vs. EBH and +P<0.05 vs. PH.

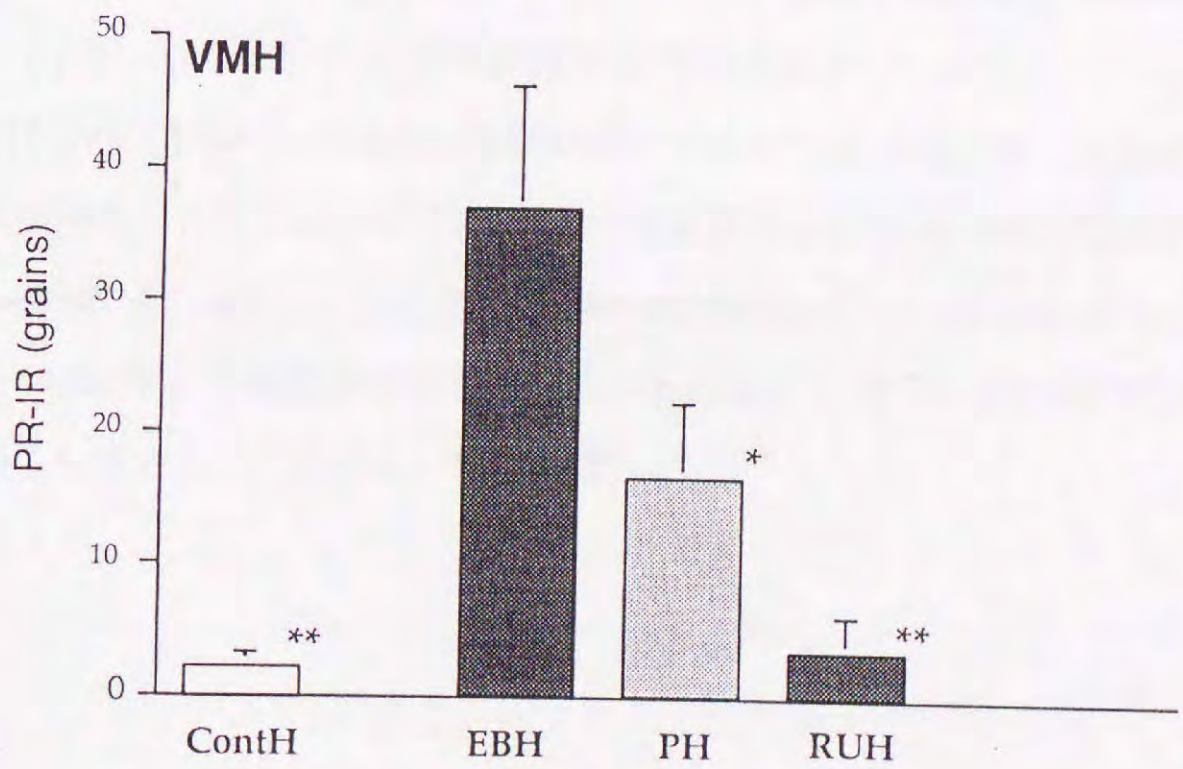


Figure 14 Semi-quantitative analysis of PR-IRs in the VMH. ContH sections were obtained from ovariectomized rats, and EBH, PH, RUH indicate EB, P+EB and RU+EB treatments, respectively. **P<0.01 and *P<0.05 vs EBH.

PもしくはRUをEBの１時間前に投与されたP1、RU1群ではともにテスト１とほぼ同程度の平均LQを示し（それぞれ92.2± 3.9、82.2± 2.8）、この値は溶媒を投与されたCont群（平均LQ=89.1± 3.4）と差が認められなかった。一方、P3、P5群の平均LQはそれぞれのテスト１の値とCont群の平均LQに比して有意な低下がみられた（$p<0.01$）。とりわけP5群ではロードーシスを示した個体は１１匹中３匹のみであった。RU3群では平均LQは45 ± 10.9となり、テスト１の値とCont群の値に比していずれも低い値となった（$p<0.05$）。RU5群の平均LQはRU3群よりもさらに低いものであったが（$p<0.01$ 対テスト１、Cont群）、RU3群との統計的な有意差はみられなかった。

卵巣除去ラット（ContH）ではPOAにおけるPR陽性細胞はほとんど認められなかった（Fig. 13）。一方、5 μg/kg EBを投与されたEBH群ではmPOA全域にわたってPR陽性細胞が観察された（$p<0.01$ 対ContH群）。EBと同時に5 mg Pを投与されたPH群でもContH群に比して有意なPR陽性細胞の増加が認められる（$p<0.05$）一方でEBH群よりは減少傾向であったが、EBH群との統計的な有意差は認められなかった。また、EBと同時に5 mg RUを投与されたRUH群ではContH群とほぼ同様の組織像が得られ、EBH群（$p<0.01$）、PH群（$p<0.05$）よりもPR陽性細胞の数は減少していた。

VMHにおけるPR-IRもPOAの場合と同様の傾向がみられた（Fig. 14）。ContH群ではほとんどPR-IRが認められず、EBH群ではVMHの外腹側部で顕著なPR陽性細胞数の増加がみられた（$p<0.01$）。PH群でも中程度のPR-IRの増加がみられたがContH群との有意差は認められず、EBH群より発現数は少なかった（$p<0.05$）。また、RUH群ではほとんどPR-IRが観察されなかった（$p<0.01$ 対EBH群）。

考察

今回の実験では3 mgと5 mgのプロゲステロンを投与した場合、投与量依存的に雌ラットのロードーシス発現を抑制した。また、1 mgのプロゲステロンでは抑制効果がみられなかった。これらの結果は既報（Blaustein and Wade, 1977）と一致するものである。一方、RU486でもプロゲステロンの場合と同様に投与量依存的な雌性行動の抑制効果がみられることが明らかとなった。この結果はプロゲステロンの拮抗剤そのものがプロゲステロンと同じ抑制作用をもちうることを示すものである。

さらにエストロゲンによる視床下部プロゲステロン受容体の産生はプロゲステロンとRU486いずれによっても抑制されることが明らかとなった。プロゲステロンによる雌性行動の促進効果についてはこれまでに数多くの研究が報告されている。その作用機序については大きく２つに分けて理解されている。第一には核内プロゲステロン受容体を介した遺伝子発現を伴う性行動の促進である（Pollio et al, 1993）。卵巣除去雌ラットにエストロゲンを投与して４４時間後にプロゲステロンを投与すると性行動の亢進がみられるが、プロゲステロン投与の前後にさらにRU486を投与しておくとプロゲステロンの促進効果がみられなくなる（Brown and Blaustein, 1984）。RU486はプロゲステロン受容体に対してプロゲステロンとほぼ同様の親和性をもち、DNA上のプロゲステロン応答配列を認識して結合すると考えられている（Cadepond et al., 1997）。しかし、RU486と結合したプロゲステロン受容体はおそらくは適切な立体配置をとることができず、転写因子としての活性は著しく低い（Zhang et al., 1998）。

これらのことからRU486によるプロゲステロンの性行動促進効果の抑制はプロゲステロンの標的遺伝子への作用を阻害したことによるものと考えられる。一方、RU486がエストロゲンによって誘起される性行動を抑制するという今回の結果は、RU486とプロゲステロンが同じメカニズムで作用していると仮定した場合、その抑制効果には転写因子としての活性は必要とされない可能性があると推察できる。

プロゲステロンによる雌性行動促進の経路の第２には核内受容体の遺伝子の

活性化を伴わないものが考えられている。これにはCGでのGABAA受容体を介したプロゲステロンの作用が研究されている(Pfaff et al, 1994)。CGではプロゲステロン受容体がほとんど検出されないが、プロゲステロン代謝産物であるallopregnanoloneをCGに微量注入すると雌ラットの性行動が促進される（McCarthy et al, 1995）。また、血清アルブミンに結合させたプロゲステロンを雌ラット内側視床下部やPOAに植え込むことで性行動の亢進がみられる（Frye et al., 1996）。血清アルブミンに結合させたプロゲステロンは細胞膜を通過できないことから、膜受容体を介した作用であることが示唆される。さらにプロゲステロン受容体ノックアウトマウスでも同様の促進効果がみられることはプロゲステロンの膜受容体の存在を強く支持する（Frye and Vongher, 1999）。抑制効果については現在までのところ膜受容体の経路を支持する報告はなされていない。しかし、プロゲステロンの抑制効果を生じるためには性行動の１日以上前に投与する必要があることやエストロゲン投与の前後にわたって数十時間のあいだの投与が有効であることから（Satou and Ymanouchi, 1996）、一般的に考えられているような膜受容体の関与するタイムコースでの作用は考えにくいと思われる。

本実験ではプロゲステロンとRU486がVMHでのプロゲステロン受容体産生を抑制することも明らかとなった。内側扁桃体や皮質でのプロゲステロン受容体産生がエストロゲン非依存性であるのに対して、本実験でも示されたとおり視床下部ではエストロゲンによって当該受容体の産生は増大する。このことはエストロゲンを投与された卵巣除去ラットのVMHにプロゲステロンを植え込むと性行動の亢進が起こるという報告（Rubin and Barfield, 1984）とよく対応する。すなわち、プロゲステロンやRU486による性行動の抑制はその後に必要とされるプロゲステロン受容体の産生を抑制してしまったためによるものである可能性がある。レポーター遺伝子による転写アッセイではエストロゲン受容体を介した転写活性はプロゲステロン受容体の共遺伝子導入によって抑制を受けることが報告されている（Bradshaw et al., 1991）。このことはプロゲステロン受容体だけでなく、他のエストロゲン誘導性の遺伝子発現にもプロゲステロンが抑制的に作用していることをも示唆している。興味深いことに本実験ではPOA

においてはRU486がVMHと同様にプロゲステロン受容体の産生を抑制したのに対して、プロゲステロンは産生を減少させる傾向にあるものの有意な差としては認められなかった。これはPOAは雌性行動においてVMHとは逆の性行動抑制機構としての働きを担っている（Yamanouchi, 1997）こと、POAの破壊はプロゲステロンによる雌ラットの性行動抑制には影響を与えない（Satou and Yamanouchi, 1996）ことなどと何らかの関係がある可能性も考えられよう。また、本実験で用いた抗プロゲステロン受容体はプロゲステロンが結合した受容体でも同様に認識されるため、あらかじめ投与したプロゲステロンやRU486によって検出系が影響を受けた可能性は少ない。今後は以上のようなプロゲステロンの領域特異的な作用と性行動発現との関連を調べていく必要があろう。

8 章

結　論

8章　結論

本研究はラットの雌性行動におけるステロイドホルモン働きについて、中枢神経系の神経核レベルでの作用点と神経細胞でのホルモン情報の受け手である受容体の機能について検討したものである。

エストロゲンとその作用点について性行動の発現そのものを担っている視床下部腹内側核や、中脳中心灰白質においてはこれまでも研究が進んできた(Pfaff et al., 1994)。これらの部位は損傷により機能が損なわれてしまうと性行動の発現が低下してしまういわば正の制御部位であるといえる。一方で性行動発現において抑制的に機能する部位があることは既に明らかである（Yamanouchi, 1997）。本研究2章において抑制機構である中隔野の機能もやはりエストロゲンによって制御を受けることがわかった。すなわち雌ラットの中隔野にはエストロゲンが直接作用して抑制力が解除される。しかし、雄ラットの中隔野ではエストロゲンによって雌性行動の抑制力が解除されることはなかった（Satou and Yamanouchi, 1999）。これらの結果は中枢神経系におけるエストロゲンの作用が部位によって逆の機能を発揮して最終的に性行動を発現させるという点と、その作用には雌雄差が存在するという点を明らかにした意味において重要である。さらに中脳背側縫線核では性行動の発現においてはエストロゲンが直接作用するという証拠は得られなかった。背側縫線核由来のセロトニン神経は視床下部だけでなく前脳に広く投射し、雌性行動において抑制的な機能を担っている（Yamanouchi and Arai, 1990;Kakeyama and Yamanouchi, 1992）。背側縫線核のセロトニン産生細胞は現在のところエストロゲン受容体を産生しているという証拠が得られておらず（Alves et al., 1998）、卵巣除去雌ラットにエストロゲンを慢性投与しても部位におけるセロトニンの分布パターンや産生量には明らかな変化は認められない（Satou et al., 1998）。したがって、エストロゲンによるセロトニン神経の直接的な制御は現時点では考えにくいといえよう。

3章以降ではプロゲステロンによる雌性行動抑制について解析を行った。はじめに3章ではプロゲステロンの抑制効果がどのようなタイミングでみられるかを詳細に検討し

た。その結果、エストロゲン投与の４０時間前にプロゲステロンを投与してもエストロゲンによる性行動の促進効果を阻害することがわかった（Satou and Yamanouchi, 1996）。また、エストロゲン投与後にプロゲステロンを投与しても２４時間以内であればやはり強い抑制効果がみられ、それ以降に投与するとむしろ促進的に作用する傾向がみられた。これらの結果は通常ではプロゲステロンはエストロゲンの作用を抑制するように作用しており、ある一定の条件下にのみ促進的に作用するというモデルを導く。正常な性周期をもつ雌ラットでは排卵に伴った発情期にのみ性行動が発現可能となる。この現象をエストロゲンレベルの一過性の上昇に帰することはもちろん妥当であろう。しかしながら内分泌器官による情報伝達はオン・オフ制御が時間的にも空間的にも厳密に調節されることは難しく、実際に雌ラットの血中エストロゲンは一定の低いレベルで認められる。これらのことから、プロゲステロンがエストロゲンによる性行動の発現制御をより安定したものにするために協調して作用する仕組みが存在することも十分考えられるであろうし、それは今後の課題となる。次に４章ではアンドロゲンによる雌性行動においてもプロゲステロンは抑制的に作用することが明らかとなった（Satou and Yamanouchi, 1998）。このことはプロゲステロンがアンドロゲンからエストロゲンに変換されるプロセスに依存せずに抑制効果をもつことを示すものである。５章では性行動抑制中枢である中隔、視索前野、中脳背側縫線核とプロゲステロンの抑制効果について機能的な関係を調べた（Satou and Yamanouchi, 1996）。その結果、これらの神経核を破壊された雌ラットでもプロゲステロンは性行動を抑制することかわかった。したがってこれらの抑制機構はプロゲステロンの抑制効果に大きな役割を果たしていないと考えられる。しかし、このことは同時にこれらの神経核でのプロゲステロンの作用を否定するものではない。プロゲステロンの性行動抑制効果は視床下部腹内側核にプロゲステロンを直接投与しても観察される（Rubin and barfield, 1984）。また、７章の実験ではプロゲステロンによってエストロゲン誘導性のプロゲステロン受容体産生が抑制された。このことはプロゲステロンによってエストロゲンの作用が阻害される可能性を示す。した

がって、2章で明らかなようにエストロゲンの作用点としての中隔がプロゲステロンによって何らかの影響を受ける可能性があることは否定できない。また、視床下部腹内側核に比べて視索前野でのプロゲステロン受容体産生はプロゲステロンによる影響が弱いことは、この部位の破壊がプロゲステロンの抑制作用に影響を及ぼさなかったことと関連がある可能性もある。

6章では中隔を破壊されて雌性行動を発現可能となった雄ラットにおいてもプロゲステロンの抑制効果がみられることが明らかとなった。中隔だけでなく、視索前野や背側縫線核を破壊された雄ラットでも雌性行動は観察される。3、4、5、7章で示された雌におけるプロゲステロンの抑制作用が雄でもみられることは雄における雌性行動の発現機構は雌と同様に存在していることを示すものであろう。これは雌性行動の抑制機構が雌雄で異なる（2章）ことと対照的である。

7章ではプロゲステロンの雌性行動抑制について作用機序の一端を明らかにした。ここでは転写因子としてプロゲステロン受容体を不活化させるRU486によっても雌性行動におけるプロゲステロンの抑制作用を再現することが示された。したがって、プロゲステロンに抑制効果は一連の核内受容体としての機能とは別の仕組みであらわれていることが推察される。さらに免疫組織化学的にプロゲステロン受容体を検出すると、視床下部腹内側核でのプロゲステロン受容体の産生もプロゲステロンまたはRU486によって抑制されることが明らかとなった。これらの領域ではプロゲステロン受容体はエストロゲン誘導性であり、エストロゲンによって産生を促されたプロゲステロン受容体はその後のプロゲステロンの性行動促進効果には必須のものである（Ogawa, 1994）。今後は、エストロゲン作用の阻害がプロゲステロン受容体に特異的なものであるか否かを調べる必要があろう。

以上のように、本研究は雌性行動の抑制に関わる現象を出発点として、ステロイドホルモンが脳で作用するいわば「入り口」を調べたことになる。ステロイド受容体についてはエストロゲン、プロゲステロンともにサブタイプの存在が知られており、これ

らの分子が性行動においてどのような役割分担をもっているかは非常に興味のあるところであった。今後、これらの点について明らかになっていくことを期待する。

謝辞

本研究の遂行にあたり、全ての面でご指導ご鞭撻下さいました山内兄人教授に心より感謝いたします。

本研究は全て早稲田大学人間科学部神経内分泌実験室でおこなわれました。松本高広君をはじめ、実験室の皆様のご協力に感謝いたします。

参考文献

Alves, S. E., Weiland, N. G., Hayashi, S., and McEwen, B. S. (1998). Immunocytochemical localization of nuclear estrogen receptors and progestin receptors within the rat dorsal raphe nucleus. J Comp Neurol 391, 322-34.

Arai,Y.;Gorski,R.A.Effect of anti-estrogen on steroid induced sexual receptivity in ovariectomized rats. Physiol.Behav.3:351-353;1968.

Arendash, G. W., and Gorski, R. A. (1983). Suppression of lordotic responsiveness in the female rat during mesencephalic electrical stimulation. Pharmacol Biochem Behav 19, 351-7.

Bale, T. L., and Dorsa, D. M. (1995). Regulation of oxytocin receptor messenger ribonucleic acid in the ventromedial hypothalamus by testosterone and its metabolites. Endocrinology 136, 5135-8.

Barfield, R. J., and Chen, J. J. (1977). Activation of estrous behavior in ovariectomized rats by intracerebral implants of estradiol benzoate. Endocrinology 101, 1716-25.

Bauer-Dantoin, A. C., Weiss, J., and Jameson, J. L. (1995). Roles of estrogen, progesterone, and gonadotropin-releasing hormone (GnRH) in the control of pituitary GnRH receptor gene expression at the time of the preovulatory gonadotropin surges. Endocrinology 136, 1014-9.

Beato,M. Gene regulation by steroid hormones. Cell 56:335-344;1989.

Beyer,C.Neuroendocrine control of mammalian estrus behavior. In:Beyer,C., ed.Endocrine control of sexual behavior.New York:Raven Press;1979:33-75.

Beyer,C.;Vidal,N.;McDonald,P.G.Interaction of gonadal steroids and their effect on sexual behaviour in the rabbit. J.Endocrinology.45:407-413;1969.

Blaustein,J.D.Alteration of sensitivity to progesterone facilitation of lordosis in guinea pigs by modulation of hypothalamic progestin receptors. Brain Res.243:287-300;1982.

Blaustein, J. D. (1982). Progesterone in high doses may overcome progesterone's desensitization effect on lordosis by translocation of hypothalamic progestin receptors. Horm Behav 16, 175-90.

Blaustein, J. D., and Turcotte, J. C. (1989). Estradiol-induced progestin receptor immunoreactivity is found only in estrogen receptor-immunoreactive cells in guinea pig brain. Neuroendocrinology 49, 454-61.

Blaustein,J.D.;Wade,G.N.Concurrent inhibition of sexual behavior, but not brain [3H]estradiol uptake, by progesterone in female rats. J.Comp.Physiol.Psycho.91:742-751;1977.

Brown, T. J.and Blaustein,J.D. (1983). Inhibition of sexual behavior in female guinea pigs by a progesterone receptor antagonist. Brain Res.i 301, 343-49.

Brown, T. J., Clark, A. S., and MacLusky, N. J. (1987). Regional sex differences in progestin receptor induction in the rat hypothalamus: effects of various doses of estradiol benzoate. J Neurosci 7, 2529-36.

Canteras, N. S., Simerly, R. B., and Swanson, L. W. (1994). Organization of projections from the ventromedial nucleus of the hypothalamus: a Phaseolus vulgaris-leucoagglutinin study in the rat. J Comp Neurol 348, 41-79.

Cadepond, F., Ulmann, A., Baulieu, E.E. (1997). RU486(mifepristone): mechanisms of action and clinical uses. Annu. Rev. Med., 48, 129-56.

Cerny,V.A.Failure of dihydrotestosterone to elicit sexual behavior in the female cat. J.Endocrinology 75:173-174;1977.

DeBold,J.F.;Martin,J.V.;Whalen,R.E.The excitation and inhibition of sexual receptivity in female hamsters by progesterone: time and dose relationships, neural localization and mechanisms of action. Endocrinology 99:1519-1527;1976.

De Jonge, F. H., Burger, J., and Van de Poll, N. E. (1986). Acute effects of sex steroids on lordosis behaviour of the female rat. Behav Brain Res 20, 57-62.

Gereau,R.W.;Kedzie,K.A.;Renner,K.J.Effect of progesterone on serotonin turnover in rats primed with estrogen implants into the ventromedial hypothalamus. Brain Res.Bull.32:293-300;1993.

Gorzalka, B. B., and Moe, I. V. (1994). Adrenal role in proceptivity and receptivity induced by two modes of estradiol treatment. Physiol Behav 55, 29-34.

Gorzalka, B. B., and Whalen, R. E. (1975). Inhibition not facilitation of sexual behavior by PCPA. Pharmacol Biochem Behav 3, 511-3

Hagihara, K., Hirata, S., Osada, T., Hirai, M., and Kato, J. (1992). Distribution of cells containing progesterone receptor mRNA in the female rat di- and telencephalon: an in situ hybridization study. Brain Res Mol Brain Res 14, 239-49.

Hansen, S., and Sodersten, P. (1979). Reversal of progesterone inhibition of sexual behaviour in ovariectomized rats by high doses of progesterone. J Endocrinol 80, 381-8.

Hasegawa, T., Takeo, T., Akitsu, H., Hoshina, Y., and Sakuma, Y. (1991). Interruption of the lordosis reflex of female rats by ventral midbrain stimulation. Physiol Behav 50, 1033-8.

Hardy,D.F.;DeBold,J.F.The relationship between levels of exogenous hormones and the display of lordosis by the female rat. Horm.Behav. 2:287-297;1971.

Hennessey, A. C., Wallen, K., and Edwards, D. A. (1986). Preoptic lesions increase the display of lordosis by male rats. Brain Res 370, 21-8.

Herbison, A. E., and Fenelon, V. S. (1995). Estrogen regulation of GABAA receptor subunit mRNA expression in preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis of female rat brain. J Neurosci 15, 2328-37.

Holtzman, D. A., Brooks, P. J., Pfaff, D. W., and Schwartz-Giblin, S. (1997). Preproenkephalin mRNA is regulated by an interaction between steroid hormones and nociceptive stimulation. J Neuroendocrinol 9, 913-22.

Hsu, C. H. (1990). Blockade of lordosis by androst-1,4,6-triene-3,17-dione (ATD) and tamoxifen in female hamsters primed with testosterone propionate. Horm Behav 24, 14-9.

Jakab, R. L., Horvath, T. L., Leranth, C., Harada, N., and Naftolin, F. (1993). Aromatase immunoreactivity in the rat brain: gonadectomy-sensitive hypothalamic neurons and an unresponsive "limbic ring" of the lateral septum-bed nucleus-amygdala complex. J Steroid Biochem Mol Biol 44, 481-98.

Joel, P. B., Traish, A. M., and Lannigan, D. A. (1998). Estradiol-induced phosphorylation of serine 118 in the estrogen receptor is independent of p42/p44 mitogen-activated protein kinase. J Biol Chem 273, 13317-23.

Kakeyama, M., Negishi, M., and Yamanouchi, K. (1997). Facilitatory effect of ventral cut of dorsal raphe nucleus on lordosis in female rats. Endocr J 44, 589-93.
Kakeyama, M., and Yamanouchi, K. (1993). Female sexual behaviors in male rats with dorsal raphe nucleus lesions: treatment with p-chlorophenylalanine. Brain Res Bull 30, 705-9.

Kakeyama, M., and Yamanouchi, K. (1996). Inhibitory effect of baclofen on lordosis in female and male rats with dorsal raphe nucleus lesion or septal cut. Neuroendocrinology 63, 290-6.

Kakeyama, M., and Yamanouchi, K. (1992). Lordosis in male rats: the facilitatory effect of mesencephalic dorsal raphe nucleus lesion. Physiol Behav 51, 181-4.

Kakeyama, M., and Yamanouchi, K. (1994). Two types of lordosis-inhibiting systems in male rats: dorsal raphe nucleus lesions and septal cuts. Physiol Behav 56, 189-92.

Kato, J., Onouchi, T., and Okinaga, S. (1978). Hypothalamic and hypophysial progesterone receptors: estrogen-priming effect, differential localization, 5alpha-dihydroprogesterone binding, and nuclear receptors. J Steroid Biochem 9, 419-27.

Kondo, Y., Koizumi, T., Arai, Y., Kakeyama, M., and Yamanouchi, K. (1993). Functional

relationships between mesencephalic central gray and septum in regulating lordosis in female rats: effect of dual lesions. Brain Res Bull 32, 635-8.

Kondo, Y., Shinoda, A., Yamanouchi, K., and Arai, Y. (1990). Role of septum and preoptic area in regulating masculine and feminine sexual behavior in male rats. Horm Behav 24, 421-34.

Kondo, Y., Shinoda, A., Yamanouchi, K., and Arai, Y. (1990). Role of septum and preoptic area in regulating masculine and feminine sexual behavior in male rats. Horm Behav 24, 421-34.

Korneyev, A., and Costa, E. (1996). Allopregnanolone (THP) mediates anesthetic effects of progesterone in rat brain. Horm Behav 30, 37-43.

Kraus, W. L., Weis, K. E., and Katzenellenbogen, B. S. (1995). Inhibitory cross-talk between steroid hormone receptors: differential targeting of estrogen receptor in the repression of its transcriptional activity by agonist- and antagonist-occupied progestin receptors. Mol Cell Biol 15, 1847-57.

Kuiper, G. G., and Gustafsson, J. A. (1997). The novel estrogen receptor-beta subtype: potential role in the cell- and promoter-specific actions of estrogens and anti-estrogens. FEBS Lett 410, 87-90.

Lambert, J. J., Belelli, D., Hill-Venning, C., Callachan, H., and Peters, J. A. (1996). Neurosteroid modulation of native and recombinant GABAA receptors. Cell Mol Neurobiol 16, 155-74.

Landau,I.T.Relationships between the effects of the anti-estrogen, CI-628, on sexual behavior; uterine growth, and cell nuclear estrogen retention after estradiol-17b-benzoate administration in the ovariectomized rat. Brain Res.113:119-138;1977.

Lauber, A. H., Romano, G. J., and Pfaff, D. W. (1991). Gene expression for estrogen and progesterone receptor mRNAs in rat brain and possible relations to sexually dimorphic functions. J Steroid Biochem Mol Biol 40, 53-62.

Lephart, E. D. (1996). A review of brain aromatase cytochrome P450. Brain Res Brain

Res Rev 22, 1-26.

MacLusky, N. J., and McEwen, B. S. (1978). Oestrogen modulates progestin receptor concentrations in some rat brain regions but not in others. Nature 274, 276-8.

Marrone, B. L., Rodriguez-Sierra, J. F., and Feder, H. H. (1977). Lordosis: inhibiting effects progesterone in the female rat. Horm Behav 8, 391-402.

Marshall,F.H.A.;Hammond,J.Jr.Experimental control by hormone action of the oestrous cycle in the ferret. J.Endocrinology4:159-168;1945.

Mathews, D., and Edwards, D. A. (1977). Involvement of the ventromedial and anterior hypothalamic nuclei in the hormonal induction of receptivity in the female rat. Physiol Behav 19, 319-26.

McCarthy, M. M., Felzenberg, E., Robbins, A., Pfaff, D. W., and Schwartz-Giblin, S. (1995). Infusions of diazepam and allopregnanolone into the midbrain central gray facilitate open-field behavior and sexual receptivity in female rats. Horm Behav 29, 279-95.

McCarthy, M. M., Pfaff, D. W., and Schwartz-Giblin, S. (1991). Midbrain central gray GABAA receptor activation enhances, and blockade reduces, sexual behavior in the female rat. Exp Brain Res 86, 108-16.

McEwen,B.S.;Biegon,A.;Fischette,C.T.;Luine,V.N.;Parsons,B.;Rainbow, T.C.Toward a neurochemical basis of steroid hormone action. In:Martini,L.;Ganong,W.F.eds. Frontiers in neuroendocrinology,vol.8.New York:Raven Press;1984:153-176.

Michael,R.P.;Saayman,G.S.;Zumpe,D.Inhibition of sexual receptivity by progesterone in rhesus monkeys. J.Endocrinology 39:309-310;1967.

Miyakawa, M., and Arai, Y. (1987). Synaptic plasticity to estrogen in the lateral septum of the adult male and female rats. Brain Res 436, 184-8.

Moguilewsky, M., and Raynaud, J. P. (1979). The relevance of hypothalamic and

hyphophyseal progestin receptor regulation in the induction and inhibition of sexual behavior in the female rat. Endocrinology 105, 516-22.

Moreines, J. K., and Powers, J. B. (1977). Effects of acute ovariectomy on the lordosis response of female rats. Physiol Behav 19, 277-83.

Morin, L. P. (1977). Theoretical review. Progesterone: inhibition of rodent sexual behavior. Physiol Behav 18, 701-15.

Morin, L. P., and Feder, H. H. (1974). Hypothalamic progesterone implants and facilitation of lordosis behavior in estrogen-primed ovariectomized guinea pigs. Brain Res 70, 81-93.

Morin, L. P., and Feder, H. H. (1974). Inhibition of lordosis behavior in ovariectomized guinea pigs by mesencephalic implants of progesterone. Brain Res 70, 71-80.

Morin, L. P.;Cruz,M.E.;Dominguez,A.R.Differences in the ovulatory response to unilateral lesinos in the preoptic or anterior hypothalamic area performed on each day of the estrus cycle of adult rats. Physiol.Behav.6:663-668;1994.

Mouri-Y.,N.;Hirata,S.;Kato,J.Distribution and postnatal changes of aromatase mRNA in the female rat brain. J.Steroid Biochem.Mol.Biol.48:529-533:1994.

Nance, D. M., Phelps, C., Shryne, J. E., and Gorski, R. A. (1977). Alterations by estrogen and hypothyroidism in the effects of septal lesions on lordosis behavior of male rats. Brain Res Bull 2, 49-53.

Nance,D.M.;Shryne,J.;Gorski,R.A.Effects of septal lesions on behavioral sensitivity of female rats to gonadal hormones. Horm.Behav.6:59-64;1975.

Nicot, A., Ogawa, S., Berman, Y., Carr, K. D., and Pfaff, D. W. (1997). Effects of an intrahypothalamic injection of antisense oligonucleotides for preproenkephalin mRNA in female rats: evidence for opioid involvement in lordosis reflex [published erratum appears in Brain Res 1998 Nov 2;809(2):337]. Brain Res 777, 60-8.

Ogawa, S., Olazabal, U. E., Parhar, I. S., and Pfaff, D. W. (1994). Effects of intrahypothalamic administration of antisense DNA for progesterone receptor mRNA on reproductive behavior and progesterone receptor immunoreactivity in female rat. J Neurosci 14, 1766-74.

Olster, D. H. (1993). Ibotenic acid-induced lesions of the medial preoptic area/anterior hypothalamus enhance the display of progesterone-facilitated lordosis in male rats. Brain Res 626, 99-105.

Olster, D. H., and Blaustein, J. D. (1988). Progesterone facilitation of lordosis in male and female Sprague-Dawley rats following priming with estradiol pulses. Horm Behav 22, 294-304.

Olster,D.H.;Blaustein,J.D.Progesterone facilitates lordosis, but not LH release, in estradiol pulse-primed male rats. Physiol.Behav.50:237-242.1990.

O'Malley, B. W., Tsai, S. Y., Bagchi, M., Weigel, N. L., Schrader, W. T., and Tsai, M. J. (1991). Molecular mechanism of action of a steroid hormone receptor. Recent Prog Horm Res 47, 1-24.

Parent, A., Descarries, L., and Beaudet, A. (1981). Organization of ascending serotonin systems in the adult rat brain. A radioautographic study after intraventricular administration of [3H]5- hydroxytryptamine. Neuroscience 6, 115-38.

Paxinos,G.The rat central nervous system.2nd ed. New York:Academic Press;1985.

Paxinos,G.;Watson,C.The rat brain in stereotaxic coordinates.2nd ed. New York:Academic Press;1986.

Pfaff, D., and Keiner, M. (1973). Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. J Comp Neurol 151, 121-58.

Pfaff,D.W.;Sakuma,Y.Facilitation of the lordosis reflex of female rats from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. J.Physiol.288:189-202;1979.

Pfaff, D. W., and Sakuma, Y. (1979). Facilitation of the lordosis reflex of female rats from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. J Physiol (Lond) 288, 189-202.

Pollio, G., Xue, P., Zanisi, M., Nicolin, A., and Maggi, A. (1993). Antisense oligonucleotide blocks progesterone-induced lordosis behavior in ovariectomized rats. Brain Res Mol Brain Res 19, 135-9.

Powers,B.;Valenstein,E.S.Sexual receptivity: facilitation by medial preoptic lesions in female rats. Science.175:1003-1005;1972.

Powers, J. B. (1972). Facilitation of lordosis in ovariectomized rats by intracerebral progesterone implants. Brain Res 48, 311-25.

Rajendren, G., Dudley, C. A., and Moss, R. L. (1991). Role of the ventromedial nucleus of hypothalamus in the male-induced enhancement of lordosis in female rats. Physiol Behav 50, 705-10.

Risold, P. Y., and Swanson, L. W. (1997). Connections of the rat lateral septal complex. Brain Res Brain Res Rev 24, 115-95.

Rodriguez-Sierra, J. F., and Terasawa, E. (1979). Lesions of the preoptic area facilitate lordosis behavior in male and female guinea pigs. Brain Res Bull 4, 513-7.

Romano, G. J., Krust, A., and Pfaff, D. W. (1989). Expression and estrogen regulation of progesterone receptor mRNA in neurons of the mediobasal hypothalamus: an in situ hybridization study [published erratum appears in Mol Endocrinol 1989 Aug;3(11):1860]. Mol Endocrinol 3, 1295-300.

Rubin, B. S., and Barfield, R. J. (1983). Progesterone in the ventromedial hypothalamus facilitates estrous behavior in ovariectomized, estrogen-primed rats. Endocrinology 113, 797-804.

Rubin, B. S., and Barfield, R. J. (1984). Progesterone in the ventromedial hypothalamus of ovariectomized, estrogen-primed rats inhibits subsequent facilitation of estrous behavior by systemic progesterone. Brain Res 294, 1-8.

Sakuma, Y.(1992). Brain control of female sexual behavior; in Yokohama Y. (ed): Brain control of the reproductive system. Tokyo, Scientific Society Press, pp141-63.

Sakuma, Y., and Pfaff, D. W. (1979). Facilitation of female reproductive behavior from mesensephalic central gray in the rat. Am J Physiol 237, R278-84.

Savouret,J.F.;Bailly,A.;Misrahi,M.;Rauch,C.;Redeuilh,G.;Chauchereau, A.;Milgrom,E.Characterization of the hormone responsive element involved in the regulation of the progesterone receptor gene. EMBO.10:1875-1883;1991.

Sharma,U.R.;Rissman,E.F.Testosterone implants in specific neural sites activate female sexual behaviour. J.Neuroendocrinology 6:423-432;1994.

Satou, M., and Yamanouchi, K. (1999). Effect of direct applicationof estrogen aimed at lateral septum or the dorsal raphe nucleus on lordosis behavior: regional and sexual differences in rats. Neuroendocrinology 69, 446-52.

Satou, M., and Yamanouchi, K. (1998). Inhibitory effect of progesterone on androgen-induced lordosis in ovariectomized rats. Endocrine J 45, 235-39.

Satou, M., and Yamanouchi, K. (1996a). Inhibitory effect of progesterone on sexual receptivity in female rats: a temporal relationship to estrogen administration. Zoolog Sci 13, 609-13.

Satou, M., and Yamanouchi, K. (1996b). Lordosis-inhibiting effect of progesterone in female rats with lesions in septum, preoptic area, or dorsal raphe nucleus. Physiol Behav 60, 1027-31.

Södersten,P.;Hansen,S.;Eneroth,P.Inhibition of sexual behavior in lactating rats. J.Endocrinology 99:189-197;1983.

Schaeffer, C., Chabli, A., and Aron, C. (1986). Endogenous progesterone and lordosis behavior in male rats given estrogen alone. J Steroid Biochem 25, 99-102.

Sharma, U. R., and Rissman, E. F. (1994). Testosterone implants in specific neural sites activate female sexual behaviour. J Neuroendocrinol 6, 423-32.

Shughrue, P., Scrimo, P., Lane, M., Askew, R., and Merchenthaler, I. (1997). The distribution of estrogen receptor-beta mRNA in forebrain regions of the estrogen receptor-alpha knockout mouse. Endocrinology 138, 5649-52.

Shughrue, P. J., Lane, M. V., and Merchenthaler, I. (1997). Comparative distribution of estrogen receptor-alpha and -beta mRNA in the rat central nervous system. J Comp Neurol 388, 507-25.

Shughrue, P. J., Scrimo, P. J., and Merchenthaler, I. (1998). Evidence for the colocalization of estrogen receptor-beta mRNA and estrogen receptor-alpha immunoreactivity in neurons of the rat forebrain. Endocrinology 139, 5267-70.

Simerly, R. B., Chang, C., Muramatsu, M., and Swanson, L. W. (1990). Distribution of androgen and estrogen receptor mRNA-containing cells in the rat brain: an in situ hybridization study. J Comp Neurol 294, 76-95.

Staiger, J. F., and Nurnberger, F. (1991). The efferent connections of the lateral septal nucleus in the guinea pig: intrinsic connectivity of the septum and projections to other telencephalic areas. Cell Tissue Res 264, 415-26.

Steinbusch,H.W.M.Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat-cell bodies and terminals. Neuroscience 6:557-618;1981.

Stumpf,W.E.;Sar,M.;Keefer,D.A.Atlas of estrogen target cells in rat brain. In:Stumpf,W.E.;Grant,L.D.,eds. Anatomical Neuroendocrinology Int.Conf.Neurobiology of CNS-Hormone Interactions.Basel,New York:Karger;104-119;1974.

Terasawa, E., Goldfoot, D. A., and Davis, G. A. (1976). Pentobarbital inhibition of progesterone-induced behavioral estrus in ovariectomized guinea pigs. Brain Res 107, 375-83.

Tobet, S. A., and Baum, M. J. (1982). Implantation of dihydrotestosterone propionate into the lateral septum inhibits sexual receptivity in estrogen-primed, ovariectomized rats. Neuroendocrinology 34, 333-8.

Tseng,L.;Mazella,J.;Sun.B.Modulation of aromatase activity in human endometrial stromal cells by steroids, tamoxifen and RU 486. Endocrinology.118:1312-1318;1986.

Turcotte, J. C., and Blaustein, J. D. (1993). Immunocytochemical localization of midbrain estrogen receptor- and progestin receptor-containing cells in female guinea pigs. J Comp Neurol 328, 76-87.

Ward, I. L., Franck, J. E., and Crowley, W. R. (1977). Central progesterone induces female sexual behavior in estrogen-primed intact males rats. J Comp Physiol Psychol 91, 1416-23.

Wozniak, A., and Hutchison, J. B. (1993). Action of endogenous steroid inhibitors of brain aromatase relative to fadrozole. J Steroid Biochem Mol Biol 44, 641-5.

Wise, P. M., and Parsons, B. (1984). Nuclear estradiol and cytosol progestin receptor concentrations in the brain and the pituitary gland and sexual behavior in ovariectomized estradiol-treated middle-aged rats. Endocrinology 115, 810-6.

Yahr, P., and Greene, S. B. (1992). Effects of unilateral hypothalamic manipulations on the sexual behaviors of rats. Behav Neurosci 106, 698-709.

Yamada, N. M., Hirata, S., and Kato, J. (1994). Distribution and postnatal changes of aromatase mRNA in the female rat brain. J Steroid Biochem Mol Biol 48, 529-33.

Yamanouchi, K.(1997). Brain mechanisms inhibiting the expression of heterotypical sexual behavior in rats; in Maeda K.I., Tsukamura H., Yokohama A. (eds): Neural control of reproduction-physiology and behavior. Tokyo, Scientific Society Press, pp291-235.

Yamanouchi, K., and Arai, Y. (1979). Effects of hypothalamic deafferentation on hormonal facilitation of lordosis in ovariectomized rats. Endocrinol Jpn 26, 307-12.

Yamanouchi,K.;Arai,Y.Forebrain and lower brainstem participation in facilitatory and inhibitory regulation of the display of lordosis in female rats. Physiol.Behav.30:155-159;1983.

Yamanouchi, K., and Arai, Y. (1977). Possible inhibitory role of the dorsal inputs to the preoptic area and hypothalamus in regulating female sexual behavior in the female rat. Brain Res 127, 296-301.

Yamanouchi, K., and Arai, Y. (1985a). Presence of a neural mechanism for the expression of female sexual behaviors in the male rat brain. Neuroendocrinology 40, 393-7.

Yamanouchi, K., and Arai, Y. (1985b). The role of mesencephalic tegmentum in regulating female rat sexual behaviors. Physiol Behav 35, 255-9.

Yamanouchi, K., and Arai, Y. (1990). The septum as origin of a lordosis-inhibiting influence in female rats: effect of neural transection. Physiol Behav 48, 351-5.

Yamanouchi,K.;Matsumoto,A.;Arai,Y.Neural and hormonal control of lordosis behavior in the rat. Zool.Sci.2:617-627;1985c.

Yamanouchi, K., Nakano, Y., and Arai, Y. (1990). Roles of the pontine dorsomedial tegmentum and midbrain central gray in regulating female rat sexual behaviors: effects of p- chlorophenylalanine. Brain Res Bull 25, 381-5.

Yamanouchi, K., Watanabe, H., Okada, R., and Arai, Y. (1982). Forebrain lordosis inhibiting system and serotonin neuron in female rats: effect of P-chloroamphetamine. Endocrinol Jpn 29, 469-74.

Yanase, M., and Gorski, R. A. (1976). Sites of estrogen and progesterone facilitation of lordosis behavior in the spayed rat. Biol Reprod 15, 536-43.

Yuan,H.;Bowlby,D.A.;Brown,T.J.;Hochberg,R.B.;MacLusky,N.J.Distribut ion of occupied and unoccupied estrogen receptors in the rat brain: effect of physiological gonadal

steroid exposure. Endocrinology 136:96-105;1995.

Zasorin, N. L. (1975). Suppression of lordosis in the hormone-primed female hamster by electrical stimulation of the septal area. Physiol Behav 14, 595-99.

Zemlan,F.P.;Ward,I.L.;Crowley,W.R.;Margules,D.L.Activation of lordostic responding in female rats by suppression of serotonergic activity. Science 179:1010-1011;1973.

Zhu, Y. S., and Pfaff, D. W. (1995). DNA binding of hypothalamic nuclear proteins on estrogen response element and preproenkephalin promoter: modification by estrogen. Neuroendocrinology 62, 454-66.

Zucker,I.Actions of progesterone in the control of sexual receptivity of the spayed female rat. J.Comp.Physiol.Psycho.2:313-361;1967.

Zucker,I.Facilitatory and inhibitory effects of progesterone on sexual responses of spayed guinea pigs. J.Comp.Physiol.Psycho.3:376-381;1966.

研究業績

修士論文

雌型性行動に対するプロゲステロンの抑制作用

学術論文

主論文

1) Satou Motoyasu[1] , Yamanouchi Korehito[2]
Lordosis-inhibiting effect of progesterone in female rats with lesions in septum, preoptic area or dorsal raphe nucleus. Physiology & Behavior 60;1027-1031:1996.

2) Satou Motoyasu[1] , Yamanouchi Korehito[2]
Inhibitory effect of progesterone on sexual receptivity in female rats: A temporal relationship to estrogen administration. Zoological Science 13;609-613:1996.

3) Satou Motoyasu[1] , Yamanouchi Korehito[2]
Inhibitory effect of progesterone on androgen-induced lordosis in ovariectomized rats. Endocrine Journal 45;235-239:1998.

4) Satou Motoyasu[1] , Yamanouchi Korehito[2]
Effect of direct application of estrogen aimed at lateral septum or dorsal raphe nucleus on Lordosis behavior: regional and sexual difference in rats. Neuroendocrinology 69;446-452:1999.

副論文

1) Satou Motoyasu[1] , Yamanouchi Korehito[2]
Inhibitory effect of progesterone on lordosis in male and female rats with septal lesions. In Advances in comparative endocrinology, Eds. Kawashima, S and Kikuyama, S, pp1756-1763, 1997.

2) 山内兄人[2]・佐藤元康[1]
「性行動制御機構とその性分化における性ホルモンの役割」
神経研究の進歩、42(4)610-622、1998

3) 山内兄人[2]・佐藤元康[1]
「雌ラットの性行動と性ホルモン」
Hormone Frontier in Gynecology 5(3)297-304, 1998.

（学会発表）

国際学会等

1) Satou Motoyasu[1] , Yamanouchi Korehito[2]
Inhibitory effect of progesterone on lordosis in male and female rats with septal lesions.XIII International Congress of Comparative Endocrinology, Yokohama, 1997.

2) Satou Motoyasu[1] , Yamanouchi Korehito[2]
Activation of lordosis behavior by direct implantation of estrogen into lateral septum or dorsal raphe nucleus: Regional and sex differences.
2nd Ann.Meet.Soc.Behavioral Neuroendocrinology., Atlanta, 1998.

2) Satou Motoyasu[1] , Yamanouchi Korehito[2]
The role of progesterone receptors in lordosis inhibiting action of progesterone.
TMIN International Symposium, Tokyo, 1998.

国内学会等

1) 佐藤元康[1]・山内兄人[2]
「プロゲステロンのロードシス抑制効果：雄雌ラットの比較」
第19回日本比較内分泌学会大会、群馬、1994年8月

2) 佐藤元康[1]・山内兄人[2]
「中隔破壊雄雌ラットにおけるプロゲステロンのロードシス抑制作用」
日本動物学会第65回大会、名古屋、1994年10月

3) 佐藤元康[1]・山内兄人[2]
「雌ラットにおけるプロゲステロンのロードシス抑制：中隔、視索前野、背側縫線核破壊効果」　日本動物学会第66回大会、東京、1995年9月

4) 佐藤元康[1]・山内兄人[2]
「雌ラットにおけるプロゲステロンのロードシス抑制効果：エストロゲン投与との時間的関係」　日本動物学会第67回大会、札幌、1996年9月

5) 佐藤元康[1]・山内兄人[2]
「雌雄ラットにおけるプロゲステロンのロードシス抑制神経機構」
第6回性差医学研究会、横浜、1997年3月

6) 佐藤元康[1]・山内兄人[2]
「ラット中隔、背側縫線核へのエストロゲン直接投与による雌型性行動促進効果」第20回日本神経科学大会、仙台、1997年7月

7）佐藤元康[1]・渡部美穂[3]・山内兄人[2]
「雌ラット背側縫線核におけるセロトニン・NO産生ニューロンの免疫組織化学的検討：エストロゲンの投与効果」
第50回日本動物学会関東支部大会、埼玉、1998年3月

8）佐藤元康[1]・渡部美穂[3]・山内兄人[2]
「中脳背側縫線核のセロトニン、NO合成酵素産生ニューロンの半定量的解析：エストロゲン投与の効果」
第21回日本神経科学大会、横浜、1998年7月

9）佐藤元康[1]・山内兄人[2]
「プロゲステロンの性行動抑制効果：視床下部プロゲステロン受容体発現との関連」
第22回日本神経科学大会、広島、1999年7月

[1]早稲田大学大学院人間科学研究科博士課程
[2]早稲田大学人間科学部教授
[3]早稲田大学大学院人間科学研究科修士課程