

博士学位論文審査報告書

大学名 早稲田大学
研究科名 人間科学研究科
申請者氏名 伊藤広幸
学位の種類 博士 (人間科学)
論文題目 セロトニン神経の性差と生殖制御における役割
Sex difference in serotonergic neurons and the role of serotonin on reproduction
論文審査委員 主査 早稲田大学教授 山内兄人 医学博士(順天堂大学)(神経内分泌)
副査 早稲田大学教授 榊原伸一 博士(医学)(東京大学)(神経発生学)
副査 早稲田大学教授 千葉卓哉 博士(医学)(京都大学)(老化生物学)
副査 日本医科大学名誉教授 佐久間康夫 医学博士(横浜市立大学)
(神経内分泌学)

脳内セロトニン神経系はからだの生理機能、感覚機能、行動制御機能に関わる重要な神経系の一つであり、ヒトにおいては精神活動にも強い影響をもつものである事が知られている。また、セロトニン神経細胞体は中脳から延髄にかけて存在する縫線核群に集中して存在し、脳と脊髄の広範にセロトニン神経突起を張り巡らしており、セロトニン神経の機能の低下がからだの多くの働きを損なうことになる。幼年期のセロトニン神経機能が生殖機能の性分化や成長後学習能力などの高次な脳の働きに影響を与えることも報告されている。しかし、縫線核群のセロトニン神経そのものの性差や生殖機能制御における役割についてまだ明らかになっていないことのほうが多い。本論文はその点を明らかにするため、ラット中脳と延髄の縫線核セロトニン神経のセロトニン阻害剤に対する反応性の性差と部位差に関わる実験結果、生後の縫線核セロトニン神経の発達の解析、それに、セロトニン神経系の生殖制御における役割を探るために脳内エストロゲン受容体との関係を調べ、それらの結果を論じたものであり、1章から4章、その結語よりなるものである。

第1章で、セロトニンおよびセロトニン神経の特性と脳内の存在部位、セロトニン神経系の発達、セロトニン神経のからだの機能制御、特に雌生殖機能制御における働き、雌生殖機能制御の重要なファクターであるエストロゲンとその受容体について、現在までの知見をまとめ本研究の目的を明らかにしている。

第2章は縫線核セロトニン神経の性差と部位差と題し、中脳と延髄の縫線核におけるセロトニン神経そのものの性差と部位差を明らかにするため、セロトニン合成阻害剤を雌雄ラットに投与して、セロトニン免疫陽性細胞数を計測することにより、反応性の違いを調

べた結果を論じている。セロトニン合成阻害剤である para-chlorophenylalanin (PCPA) (100mg/kgbw) を4日間生殖腺除去雌雄ラットに投与し、中脳の背側縫線核 (DR)、正中縫線核 (MR)、および延髄の大縫線核 (RMg) のセロトニン免疫陽性細胞数を計測し比較した結果、雌においては DR, MR, RMg のいずれの部位においても免疫陽性細胞数は PCPA 投与にかかわらず生理食塩水投与の対照群と変わりがなかった。一方、雄では、PCPA 投与群の DR および MR のセロトニン免疫陽性細胞数は対照群に比べ有意に少なかった。雄の RMg においては PCPA 投与群と対照群に差は見られなかった。これらの結果より、DR と MR の PCPA に対する反応性に性差があること、しかし、延髄の RMg では PCPA に対する反応性に雌雄差がないことを明らかにした。また、PCPA に対する反応性が縫線核によって異なることも示されている。考察の中ではこのような PCPA に対する反応性の違いはセロトニン合成の酵素の性差や部位差に起因する可能性を論じている。この実験結果はセロトニンに関わる薬物投与の際に男女差を考慮して行う必要性を示しており、神経科学における基礎研究結果としてばかりではなく、性差医療における基礎研究結果として意義のあるものである。

第3章は縫線核セロトニン神経の生後発達と題し、ラットの縫線核の形態的発達、神経におけるセロトニン発現を調べた結果より論じている。セロトニン神経の性差や機能における性差を考えるには縫線核の発達を知る必要がある。ラットでは出生前に縫線核セロトニン神経の分裂は終了しており、また生殖機能の性差形成が出生直後に生じることが知られているが、縫線核の生後の発達は調べられていない。その点を明らかにするため、前脳の生殖機能制御に関わる多くの神経核に神経投射をする中脳の背側縫線核 (DR) と正中縫線核 (MR) の面積やセロトニン免疫陽性細胞数の変化を5、15、30日齢および成体の雄ラットにおいて調べている。DR における背外側 (1DR)、背内側 (dDR)、腹内側 (vDR) の三領域と MR の一定面積内のセロトニン免疫陽性細胞数を計測した結果、5日齢では DR の面積は成体より小さく、dDR のセロトニン免疫陽性細胞数は他の部位より多い傾向にあることがわかった。さらに15日齢では DR 面積が成体と同程度になり、1DR のセロトニン免疫陽性細胞数が有意に他の領域より多くなった。一方、MR のセロトニン免疫陽性細胞数は5日齢から成熟ラットと違いはがないことが示されている。これらの結果は、DR の面積が出生5日から15日の間に急増し、1DR のセロトニン発現細胞がその時期に急激に増えることを示している。一方、MR は5日齢の早期に成体と同程度に発達している可能性を示すものである。縫線核により発達形態やセロトニンの発現に違いがあることが明らかになり、2章の結果と同様、幼少期におけるセロトニン薬治療の基礎データとして重要なものである。

第4章はセロトニン神経による視床下部エストロゲン受容体発現の調節と題し、生殖制御に関わる視床下部のエストロゲン受容体 α (ER α) の発現に対するセロトニン神経の影響を見るため、2章と同様の方法を用いて卵巣除去ラットに PCPA を投与し、視床下部の視索前野前腹側脳室周囲核 (AVPV)、視床下部腹内側核腹外側部 (v1VMN)、弓状核

(ARCN) における ER α 免疫陽性細胞数を測定した結果を論じている。AVPV における ER α 免疫陽性細胞数は PCPA 投与群において生理食塩水群よりも有意に高くなることが示された。一方で、v1VMN と ARCN では差がなかった。また DR を高周波破壊し同様に ER α 免疫陽性細胞数を計測すると、PCPA 投与と同様に AVPV でのみ対照群よりも有意に高くなった。この結果は、AVPV においては DR のセロトニン神経系が ER α 発現を抑制していることを示すものである。セロトニン神経が直接 ER α 発現に影響を与えることは今までに報告が無く、脳内セロトニン神経による生殖機能制御における新たな機構を提唱する重要な発見といえるであろう。

なお、本論文(一部を含む)が掲載された主な学術論文は以下の通りである。

- [1] Ito, H. and Yamanouchi, K.: Sex and regional differences in decrease of serotonin-immunoreactive cells by parachlorophenylalanine in rat raphe nuclei, *Neuroscience Research*, Vol. 67, No.1, pp. 33-39 (2010)
- [2] Ito, H., Moriizumi, T., Shimogawa, Y. and Yamanouchi, : Postnatal changes in the number of serotonin-immunoreactive cells in midbrain raphe nuclei of male rats, *Anatomical Science International*, Vol. 89, No. 4, pp. 199-206 (2014)
- [3] Ito, H., Shimogawa, Y., Kohagura, D., Moriizumi, T. and Yamanouchi, : Inhibitory role of the serotonergic system on estrogen receptor α expression in the female rat hypothalamus, *Neuroscience Letters*, Vol. 583, pp. 194-198 (2014)

以上より、本論文は博士（人間科学）の学位を授与するに十分値するものと認める。

以上