

植物エストロゲン投与による脳内エストロゲン受容体免疫陽性細胞数の減少

杉谷 恵¹ 山田俊児² 山内兄人²

(¹早稲田大学大学院人間科学研究科, ²早稲田大学人間科学学術院)

Decrease of Estrogen Receptor Immunopositive Cells by Injections with Phytoestrogen in the Rat Brain

Megumi Sugitani, Syunji Yamada and Korehito Yamanouchi

(¹Graduate School of Human Sciences, Waseda University,

²Faculty of Human Sciences, Waseda University)

【目的】 第一回発表会では、植物エストロゲンのゲニステインやクメステロールを出生直後の雌ラットに投与すると、エストロゲンを投与した場合と同様に、性周期が消失し、雌の性行動が低下することを報告した。これは植物エストロゲンが未分化な脳に作用し機能や構造を雄性化する能力をもっていることを示す。第二回発表会では未経産ラットにエストロゲンを投与すると母性行動の開始が早まるが、クメステロールを投与しても効果が無いことを報告した。未発表であるが、クメステロールを卵巣除去ラットに投与しても発情を誘起することができない。これら成熟ラットでの結果は植物エストロゲンが脳の生殖機能に影響を及ぼさない可能性を示唆する。今回は、植物エストロゲンが成熟ラットの脳と末梢生殖器系である子宮への影響をみるため、卵巣除去ラットにクメステロールを投与して子宮の重量と脳内エストロゲン受容体免疫陽性細胞数を計測した。

【子宮に対するクメステロール投与効果】 卵巣除去1週間後に1 mgまたは5 mgクメステロール (CM)、1 mgまたは5 mgエストラディオール (E₂)、1 mgゲニステイン、1 mgダイゼインまたはオイル (対照群) を皮下投与し、24時間後に子宮を摘出して重量測定後ブアン固定し、組織検索をした。

その結果、卵巣除去対照群の子宮重量は166mgであり、1 mg E₂群は345mg、1 mg CM群は275mgと対照群より重かった。5 mg投与でも同程度の重さになった。ゲニステイン群とダイゼイン群の子宮重量はOil群と差は無かった。組織検索の結果ではE₂、CM群では子宮粘膜の増殖、子宮筋の膨大がみられた。この結果はエストロゲンと同様にクメステロールは子宮に作用することを示すものである。

【視床下部エストロゲンα受容体免疫陽性細胞に対する植物エストロゲン投与効】 脳内エストロゲン受容体α (ERα) の発現がどのように変化するか、植物エストロゲン投与後、排卵に重要な視索前野前腹側脳室周囲核 (AVPvN) や弓状核 (ARC)、雌性行動に重要な視床下部腹内側外腹側部 (vIVMN) のERα免疫陽性 (ir) 細

胞数を測定した。

卵巣除去7日目に1 mgクメステロール (CM) または1 mgエストラディオール (E₂) を1回または5回5日間皮下投与した。照群としてオイルを投与した。最終投与24時間後、脳の灌流固定を行い、クライオスタットを用いて、50μmの凍結切片を作成した。切片をrabbit anti-ERα antibody、Goat anti-rabbit IgGによりERα免疫染色し、画像を光学顕微鏡でコンピュータにとりこみ、0.2ミリ四方枠内のERα免疫陽性細胞数の計測を行った。合計した細胞数を1mm²中の数 (密度) に変換し、これを個体の数値とした。

AVPvN: E₂ 1回投与群におけるERα-ir数はOil群の約1/2でありE₂ 5回投与群は1/3であった。CM 1回群のERα-ir数はOil群と統計差が無く、CM 5回群はOil群の1/3となった。このようにCMはE₂と同様にERα-ir数を減少させた。しかし、CMは1回投与では低下は見られなかったことから、E₂より効力は弱いものと考えられる。

ARC: E₂ 1回投与群におけるERα-ir数はOil群の1/3であった。E₂ 5回群、CM 1回群、CM 5回群におけるERα-ir数はほぼ同じで、Oil群と統計差がなかった。ARCのERα-ir数はAVPvNの半分以下であった。E₂は効果があったが、CMに効果がなかったのは、この神経核にはERαが多いことから、クメステロールの作用が弱かったものと考えられる。

vIVMN: E₂ 1回群におけるERα-ir数はOil群の1/7であり、E₂ 5回群においてはOil群のおよそ1/10であった。CM 1回群、CM 5回群におけるERα-ir数は、Oil群のおよそ1/2であった。このように、E₂もCMもERαを減少させた。しかし、この部位でもCMの効果はE₂より弱いものであった。エストロゲンはERβを介してERαに影響を及ぼすことが知られているが、この部位にはERβがほとんどないことから、VMNにおけるCM効果はERαに直接作用した結果であろうと考えられる。

本研究により植物エストロゲンが成熟ラットにおいても子宮や脳内のエストロゲン受容体に部位依存的に影響を及ぼすことが明らかになった。