

## 脳の性分化

日本医科大学大学院医学研究科システム生理学分野

佐久間康夫

### はじめに

哺乳類では雌がデフォルトで、Y染色体短腕上の擬常染色体領域に隣接して存在するSRY遺伝子 (Sex determining Region of Y) の作用で原始性腺が精巣に分化する。核型がXXのマウスの受精卵にSRY遺伝子を導入すると、精巣が形成され逆にSRY遺伝子の欠損したXYマウスは卵巣を持ち雌の表現型を示すことからSRY遺伝子が精巣形成の単一の責任遺伝子であることがわかる [1]。SRY遺伝子はセルトリ細胞に発現し、一連の遺伝子カスケードを経て、細胞の増殖と移動の制御を通じて精巣を生じると考えられる [2]。ラット精巣からのテストステロンの分泌は胎生13日に始まり、15日以降急速に増加して18.5—19.5日に最大となる。この時期の精巣は成体とは異なり、テストステロン合成能が極めて高く、下垂体の調節を受けずに分泌が起こっているらしい [3]。ラットの脳の性分化の時期は出生前後から第5日で、遺伝的な性別に関係なくこの時期にテストステロンが存在すると雄型の脳が、存在しなければ雌型の脳が完成する [4]。この時期の卵巣では3 $\beta$ -水酸化ステロイド脱水素酵素の活性が精巣に比べると1/50以下と著しく低く、テストステロンひいてはエストロゲンの産生が抑えられており、後述のアロマトーゼ仮説と相まって脳の性分化には寄与しない [5]。

分化した精巣から分泌される男性ホルモンにより、内外の生殖器や脳が雄型化する。ヒトでは妊娠90日から260日にかけて胎児の血中性ホルモンが男女ともに高値となり、脳はおそらく妊娠

100日前後にテストステロンの作用で男性型化する [5, 6]。妊娠期間が21日前後と短いラット、マウスなどでは脳の性分化は周産期から出生第5日に起こり、遺伝的な性別には関係なくこの時期に男性ホルモンが存在すれば雄型の脳が、存在しなければ雌型の脳が完成する。内外の生殖器と同じく本来は雌型として発生する脳が、発育途上の男性ホルモン作用により改造され、雄型となる [4]。その結果生じるのが生殖行動や生殖内分泌に見られる雌雄差で、発情雌ラットは雄のなわばりに侵入し、特異な歩行パターンや耳を激しく振る行動で雄を挑発する。これらの行動は発情期に卵巣の分泌する女性ホルモンであるエストロゲンとプロゲステロンの作用である。挑発された雄がマウントし、腰部と側腹部を圧迫すると、雌ラットは脊柱を背弯するロードーシス反射を起こし、雄を受容する。ロードーシス反射、マウンティングは雌雄ラットのそれぞれに典型的な行動で、出生直後の内分泌処置により容易に性転換が起こる。この他にも、雌の母性行動、雄の縄張り形成と攻撃行動などが出生直後の内分泌処置によって決まる性特異的な行動として知られている [7] (図1)。

生殖内分泌調節に注目すると、雌では卵巣周期とよばれる周期性があり一定の間隔で排卵が反復されるのに対して、雄は連続的に精子が産生される常時発情状態にある。卵巣では下垂体前葉の分泌する2つの性腺刺激ホルモンのうち、黄体形成ホルモン (LH) が卵胞の莢膜細胞に作用してコレステロールからアンドロステンジオンを産生

し、顆粒膜細胞に供給する。顆粒膜細胞ではもう一つの性腺刺激ホルモンである卵胞刺激ホルモン (FSH) の作用によりアロマトラーゼが活性化して

アンドロステジオンからエストロゲンが産生される (図2)。エストロゲンには卵胞発育促進作用があるので、FSHは一周期に成熟する卵胞の



図1. ラットの生殖行動。雄のマウンティングにより側腹部に圧刺激が加えられる (左パネル) と、発情雌はロードーシス反射を起こして、雄を受容する (右パネル)。反射は刺激から400ms前後で最大となる。

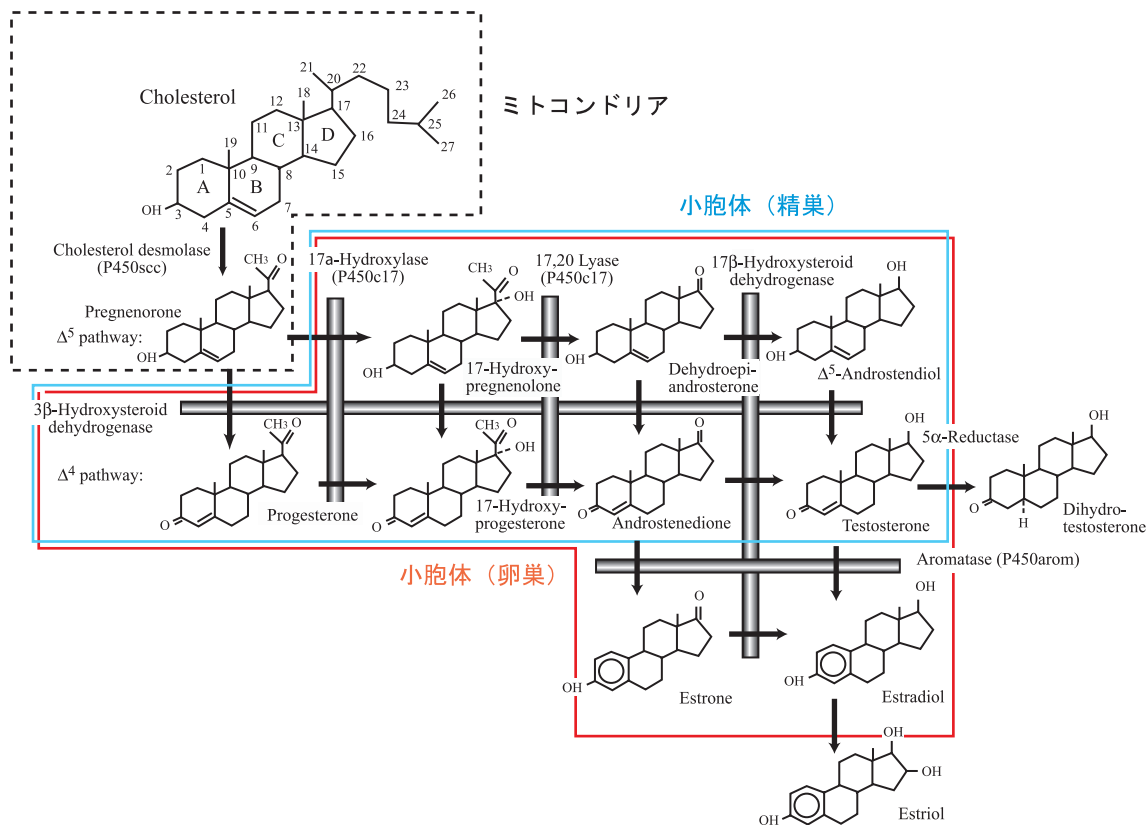


図2. 精巣と卵巣における性ホルモン合成経路。卵巣では小胞体にアロマトラーゼが存在し、アンドロステジオンとテストステロンをそれぞれエストロンとエストラジオールに変換する。テストステロンは脳ではグリア細胞、末梢では外部生殖器上皮細胞に存在する5 $\alpha$ -リダクターゼによりジヒドロテストステロンとなる。

数を決定することになる。ヒトでは一周期について約20個の卵胞が発育を開始し、最大のものが優先卵胞となって成熟に至る。このときに卵胞から分泌されるエストロゲンは脳と下垂体に作用して抑制性フィードバック効果を発揮し、LHとFSHの血中濃度を一定に維持して、卵胞の発育に必要な低濃度のエストロゲン分泌を維持する。卵胞が成熟してエストロゲンの血中濃度が一定期間高い値に維持されると、エストロゲンの正フィードバックとよばれる現象によりLHの一過性大量分泌が起こり、排卵に至る(図3)。排卵に伴って卵胞は破壊され、顆粒膜細胞が黄体細胞に分化してLHの調節のもとにプロゲステロンの分泌が始まる。妊娠が成立しない場合は黄体が退縮し、次の卵巣周期が始まる。ラットでは排卵に先立ってプロゲステロンの一過性分泌が起こり、黄体期がない点がヒトと異なる[8]。プロゲステロンまたはその代謝物が性腺刺激ホルモン放出ホルモン

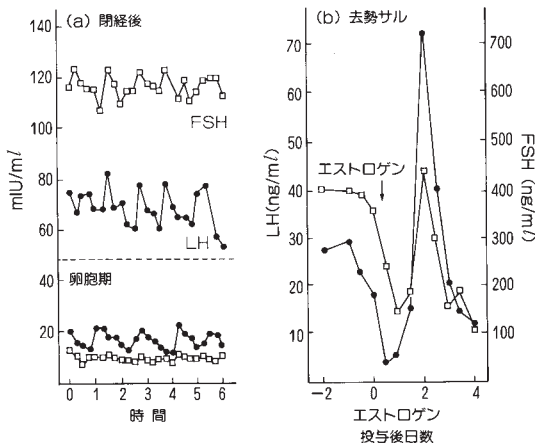


図3. (a) ヒト女性血中黄体形成ホルモン(LH)と卵胞刺激ホルモン(FSH)濃度は卵胞期に低く、閉経後はエストロゲンによる抑制性フィードバックの欠如により高値となる。ほぼ60分に一回のパルス状の分泌の振幅も閉経後に高くなっていることが判る。(b) 去勢(卵巣摘除)サルに多量のエストロゲンを投与すると、まず抑制性フィードバックにより、上昇していたLHとFSHが卵胞期のレベルに回復するが、投与後48時間で促進性フィードバックが起こり、LHの排卵性サージに相当する大量分泌が見られる。この現象は雌に限られる(文献7のデータによる)。

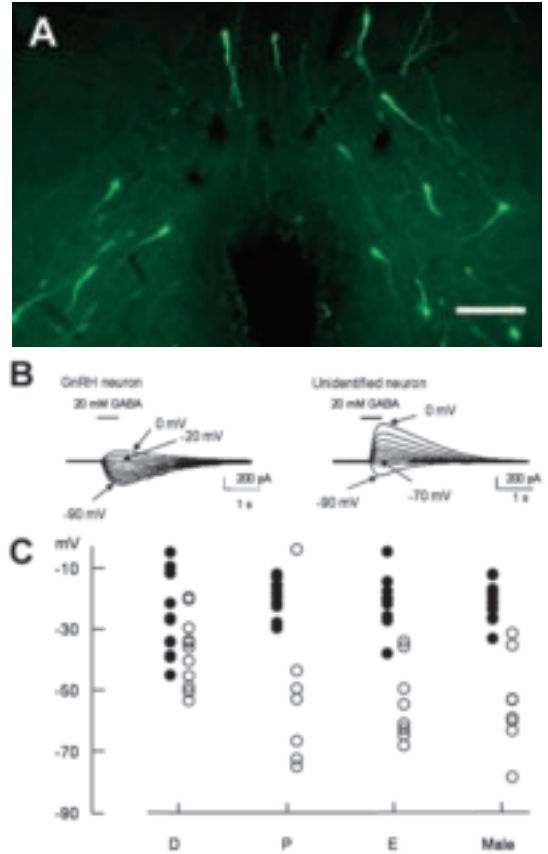


図4. プロモータトランスジェニックラットで蛍光標識したGnRHニューロンの単離初代培養系で記録されるGABA<sub>A</sub>電流。前脳における標識ニューロンの分布(A, スケールバー 100 μm)。グラミシジンパッチ下で細胞近傍にGABAを圧出(スケールバー 1s, 60sごとに反復)することでGnRHニューロン、非標識ニューロンのそれぞれに生じたGABA<sub>A</sub>電流を、膜電位を-90mVから0mVまで変化させて逆転電位を調べた(B)。GnRHニューロンの逆転電位は-48mVから-8mVと、非標識ニューロンよりも有意に陽性側にあった(C, 文献12のデータによる)。

(GnRH)ニューロンのGABA<sub>A</sub>受容体に作用し、LHの一過性大量分泌を起こす可能性が提案されている[9]。GABA<sub>A</sub>受容体の活性化がGnRHニューロンにおよぼす影響については、思春期に興奮性から抑制性に変化するという報告[10]と、Cl<sup>-</sup>輸送体分子の発現パターンによりGnRHニューロンでは細胞内Cl<sup>-</sup>濃度が高く、成熟後も興奮性を起こすとの報告[11]がいずれもマウスでの

観察から報じられ決着が付いていなかった。われわれはラットのGnRHニューロンでGABA電流の逆転電位が $-2 \sim -50\text{mV}$ と $\text{Cl}^-$ の平衡電位より陽性側にあり、GABA<sub>A</sub>受容体の活性化が脱分極をもたらすことを確かめた [12] (図4)。なお最近第19常染色体上に存在するGPR54受容体遺伝子の異常により低ゴナドトロピン性性腺機能低下症が生じ、GPR54がGnRHニューロンに発現していることから、この受容体のリガンドであるキスペプチン(メタスチン)がGnRHの分泌促進を起こす分子として注目されている [13]。

排卵直前にラットを麻酔すると排卵が遅れるが、次の排卵は麻酔された時間ではなく翌日の同時刻に起こることから、視交叉上核に存在する脳内時計が排卵性のGnRHニューロンを支配している可能性がある。また、卵巣を除去した雌ラットでエストロゲンの結晶を脳に植え込むと、排卵時と同様の下垂体前葉ホルモンの分泌を起こすことができるから、雌の卵巣周期は脳によって維持されていることが判る。脳は視床下部ホルモンであるGnRHを下垂体門脈系に分泌することで下垂体からのLHとFSH分泌を調節する。GnRHニューロンはエストロゲンの正負双方のフィードバックに不可欠なエストロゲン受容体 $\alpha$ を持たないので、GnRHニューロンのシナプス入力に性差があり、雄では脳の発育途上で正フィードバック機能に関わる脳回路が破壊され、テストステロンによる抑制性フィードバックが常時作用して、LHとFSHの血中濃度が一定に保たれていると考えられる [14]。

### 脳の性差

ヒト脳の形態に男女差があることが科学的に議論できるようになったのは画像診断により釣り合ったサンプルの間で比較が可能となった最近の出来事である(表1)。大脳は身長との差と関わりなく、男性が女性より重い。表面の脳回数は女性の方が多く、右利きの男性では左の大脳半球がより重い。女性では左右差がない。また、脳梁、前交連、視床中間質など左右の大脳半球を結ぶ複数の構造は女性でより発達している。海馬は男性

で大きい可能性がある。認知心理学的テスト(図5)では、立体図形回転課題(男性が優位)や対象物配置テスト(女性が優位)などに性差が検出されるが、一連の成書に述べられているように、脳の構造上の性差と機能がどう結びつくかは皆目不明である(一連の所見は例えば [15])。ラットやスナネズミではこれらの脳部位の発達を性ホルモン処置や刺激が豊富な環境で育てるなどの方法で実験的に促進できる [16]。エストロゲン受容体 $\beta$ ノックアウトマウスでは、大脳皮質ニューロンの移動に障害があり、細胞数の減少や層形成の異常が起こる [17]。新生仔ラットの大脳皮質には一過性にエストロゲン受容体 $\beta$ が出現するので、この時期の性ホルモン作用が大脳皮質の性差を作る可能性がある [18]。

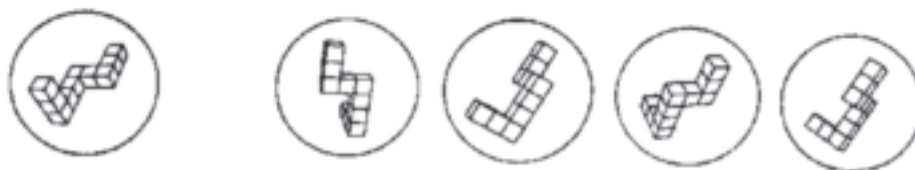
生殖行動や生殖内分泌調節に関わる前脳底部や視床下部については、脳の構造的性差と機能の関連が比較的判明している。視索前野では出生直後のテストステロンの作用により雄ラットが雌より多数のシナプス入力を持つ [19]。こと、ハムスターのこの部位に分布する個々の神経細胞を観察すると、樹状突起の分岐パターンが雌雄で異なり、雄が細胞体の近くで多数の分岐を示すのに対して、雌では分岐パターンが不規則で数も少ない [20]。特に有名なのはラットの内側視索前野の性的二型核(SDN-POA) [21]と前腹側室周囲核(AVPV) [22, 23]と呼ばれるニューロンの集まりで、前者は雄で大きく、後者は雌で大きい。SDN-POAはおそらく雄としての性的指向に関わっており、アロマターゼ阻害剤の投与により雌型の行動を示す雄ラット [24]やヒツジ [25]で正常雄より細胞数が少なく、体積が小さい。AVPVは排卵に必要な大量の下垂体性腺刺激ホルモンの一過性分泌を起こす部位とされる [26, 27]。ラットで見られる2つの部位の性差は出生直後の精巣摘除や性ホルモン投与で共に性転換が起こり、同時に生殖行動や生殖内分泌周期の存否という、機能にも逆転がおこる(図6)。

Gorskiらのグループ [28]はヒト前視床下部間質核(INAH)の4つの亜核のうち、男性の第2(INAH2)と第3(INAH3)の亜核が女性より

表1. 脳のマクロ形態学的性差

| 脳部位                                 | 性差                                       | コメント                         |
|-------------------------------------|--|------------------------------|
| 視床下部<br>内側視索前野の<br>性的二型核 (SDN)      | 雄ラット>雌ラット (5倍)                           | ヒトの前視床下部間質核 (INAH)に相当(性的指向?) |
| 前腹側室周囲核 (AVPV)                      | 雌ラット>雄ラット                                | 性周期の維持・排卵                    |
| 視床<br>視床中間質                         | 男性でしばしば欠如                                | 数量化困難                        |
| 脳梁<br>Splenum (後端部)<br>Isthmus (本体) | 女性で発達 (断面が丸い)<br>女性で発達・加齢に伴い男性<br>では萎縮   |                              |
| 前交連                                 | 女性で発達                                    | 数量化困難                        |
| 海馬                                  | 一夫多妻の雄カヤネズミで<br>は一夫一妻の雄カヤネズミ<br>より11%大きい | ヒトでも男性が大きいか?<br>空間学習効果?      |

**A 立体図形回転課題 (Mental Rotations Test, Vandenberg & Kuse, 1978)**



**B 対象物配置テスト (Object and location memory test, Silverman & Eals, 1992)**



図5. 認知機能の性差を検出するといわれる心理テストとして、男性が得意な立体図形回転課題 (A) と女性が良い成績を収めるとされる対象物配置テスト (B) がある。

大きく第1の垂核 (INAH1) が、ラット SDN-POA と相同と考えたが、ヒト INAH1 に明確な性差を見いだせなかった。Swaab ら [29] は性差の欠如は加齢により細胞脱落のためで、若い男性の INAH1 は女性より大きく、この核をヒトの

SDN-POA と命名している。LeVay [30] は、同性愛男性の INAH3 が女性と同大と報告して注目を集めた。ただし、ラットとヒトの脳の構造の対比は必ずしも容易でなく、2つのグループの見解は一致を見ていない。Swaab らの SDN-POA では

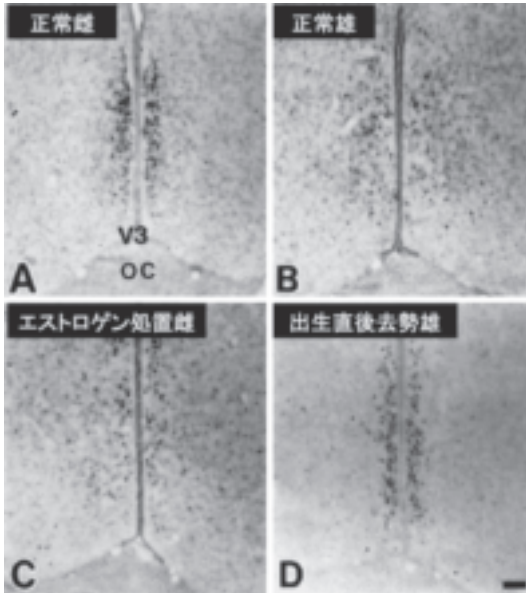


図6. 内側視索前野前室周囲核におけるエストロゲン受容体 $\beta$ 陽性ニューロンは雌で密集しており, LHの排卵性サージへの関与が考えられている. 出生直後の内分泌学的処置により, この性差を逆転することができる (文献23のデータによる).

男女とも生後2-4才にかけて細胞数が増加し, その後女兒では細胞数と体積が共に減少して女性型になるという [29]. この他, ヒトでは分界条床核が男性で大きく, 男性の性同一性障害者 (Male-to-Female) では女性とほぼ等しく, 特にソマトスタチン産生細胞の分布する領域の体積が小さく [31], 視交叉上核では男女で体積に差はないが, 女性では前後に細長く, 男性では球状を示すという [32].

ラットではSDN-POAの体積の性差は出生日から第4日までは見られないが, 第8日以降雄で有意に大きくなり, 性差は性成熟後も持続し, 精巣を摘除しても大きさは維持される. Swaabのヒトでの観察 [29] から推論されるように, 雌型の小さなSDN-POAは生後第7日から10日にこの領域で起こるアポトーシスの結果で, 去勢により雄でもアポトーシスが起これ雌型となる. つまり, 性ホルモンはアポトーシスを抑制することで雄型のSDN-POAを形成するとされてきた [33, 34]. 我々は最近, SDN-POAの性差が成立する時期に視床下部ペプチドの一つであるソマトスタチンが一過性に発現することを見いだした (図7) [35]. 大脳皮質や脳脊髄液中におけるソマトスタチンの

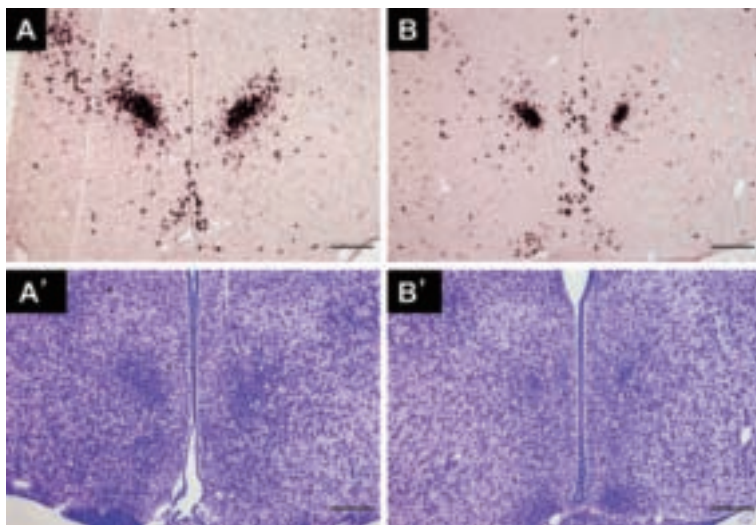


図7. ラット内側視索前野の性的二型核. 雄 (A, A') が雌 (B, B') より5倍大きいとされる. A, Bはソマトスタチン mRNAの *in situ* hybridization, A', B' はニッスル染色像.

減少とアルツハイマー病におけるニューロンの脱落の関連が示唆されている [36, 37] ので、性ホルモンによるアポトーシスの防止、ひいてはSDN-POAの雄型化にソマトスタチンが関わる可能性がある。

### アロマターゼ仮説

出生直後の性ホルモン作用によりげっ歯類の脳が雄型化する現象は「アロマターゼ仮説」により説明される (図8) [38]。この仮説は (1) 末梢のエストロゲンは脳の性分化の時期に肝から分泌される $\alpha$ フェトタンパクに結合し脳に移行しない、(2) 精巣のテストステロンは脳に入り、前脳底部や視床下部のニューロンに存在するアロマターゼによりエストラジオールなどのエストロゲン受容体リガンドとなる、(3) 非ステロイド分子で、 $\alpha$ フェトタンパクに結合しないエストロゲン受容体アゴニストであるジエチルスチルベストロール (DES) が雄型化作用を起こす内分泌攪乱物質である、(4) 芳香化を受けないアンドロゲンであるジヒドロテストステロンは生殖内分泌・行動の雄化を生じない、(5) 突然変異によりアンドロゲン受容体を欠く先天性アンドロゲン抵抗症 (testicular feminization, Tfm と呼ばれる) ラットが雄型の生殖内分泌パターン [39] とマウンティング [40] を示すなどの観察から、精巣が分泌するテ

ストステロンが脳内でアロマターゼによってエストラジオールとなり、エストロゲン受容体に作用して、雄型化するという説明である。実際、エストロゲン $\alpha$ 受容体をノックアウトした雄マウスは縄張り形成や攻撃行動といった雄型の行動を起こさない [41]。 $\alpha$ フェトタンパクや [42] アロマターゼ [43] をノックアウトした場合にも同様の効果が得られることから、アロマターゼ仮説が少なくともラット、マウスの生殖内分泌・行動の雄型化について成立する。ただし攻撃行動の脱雌型化・雄型化にアンドロゲン受容体を介するとの報告もあり断定は時期尚早であろう [44]。

ヒトを始めとする霊長類では「アロマターゼ仮説」が成立しない。ヒトでもマウスと同様の遺伝子にコードされる $\alpha$ -フェトタンパクが存在し、幼弱期の肝から分泌される。ところがヒト $\alpha$ -フェトタンパクはエストロゲンを結合しない [45]。一切の性ホルモン分泌が起こらないリポイド過形成症 (Prader 病) や17 $\alpha$ -ヒドロキシラーゼと17,20リアーゼ活性を持つP450c17の欠損といった一連のステロイドホルモン合成系の酵素の欠如による性ホルモン合成の低下が遺伝的男児の行動を女性化し、副腎過形成症における副腎アンドロゲン分泌の過剰が、女兒の行動を男性化すること [46, 47] から、ヒトの脳の男性型化はアンドロゲン受容体を介しているらしい [6, 48]。5 $\alpha$ -リダ

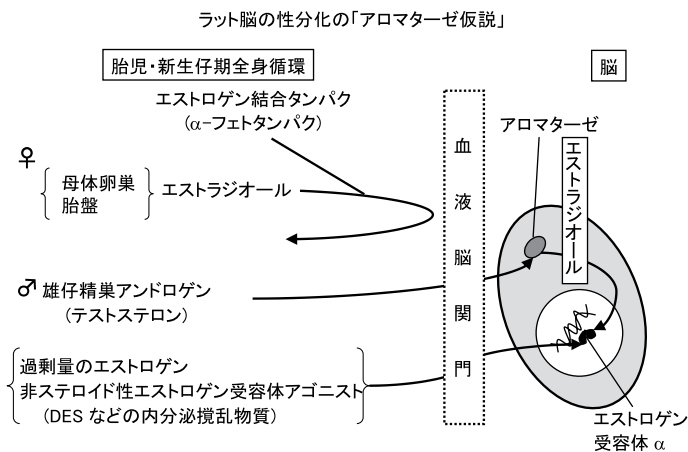


図8. 脳の性分化における「アロマターゼ仮説」。説明は本文参照。

クターゼ欠損症による5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン欠損症では思春期前は男性化が不十分で曖昧な外部生殖器を持ち女兒として振る舞うが、思春期以降のテストステロン分泌増加に反応して、生殖器の男性化と共に行動も男性化する (penis-at-12 syndrome) [49].

### 細胞レベルでの脳の性分化

性ホルモン受容体活性化以降の脳の性分化のしくみの詳細は不明である。SDN-POAの性差はハムスター、モルモット、フェレット、ヒツジなどで認められており、かなり普遍的な現象と考えられる。ラットSDN-POAにはエストロゲン受容体陽性ニューロンは存在しないとされてきたが、最近我々はエストロゲン受容体 $\alpha$ プロモータランスジェニックラット [50] において、SDN-POAが標識されることを見いだしたので、これが真実なものであるかどうか確認を急いでいる。エストロゲン受容体が存在しない場合には、アロマターゼの作用で産生されたエストロゲンがSDN-POAニューロンの支配するシナプス後ニューロンに働き、経シナプス性にアポトーシスを防いだ可能性が考えられる。類似の現象は陰茎の勃起を支配するラットの脊髄球海綿体神経核運動ニューロンで知られている [51]。アンドロゲン受容体をコードする遺伝子はX染色体上にあるので、Tfmラットのヘテロ雌新生仔の球海綿体神経核にはアンドロゲン受容体を発現するニューロンとしないものが同数存在し、多核の筋細胞にはアンドロゲン受容体がすべて発現する。この雌にテストステロンを投与したところ、正常雄と同じ大きさの球海綿体神経核が形成された。すなわち、テストステロンは筋に作用し、逆行性に何らかの成長因子を供給することで球海綿体神経核を雄型化したことになる [52]。

中枢神経系の発生では、一般に過剰なニューロンとシナプスが形成され、使用されないシナプスとニューロンがアポトーシスで除去されるというシナプス消去仮説が提唱されており、球海綿体神経核の例はこの仮説に適合する [53]。なお、Tfm雄ラットではSDN-POAが正常雄より小さ

く、正常雄ではこの部位にアンドロゲン受容体が認められることから、エストロゲン作用に加え、アンドロゲン作用の寄与の可能性も考えられる [52]。雌新生仔にエストロゲンと同時にシクロオキシゲナーゼを阻害剤であるインドメサシンを投与してプロスタグランディン (PG) 合成を抑制すると、SDN-POAの雄型化が阻止できる。逆にこの時期にPGE2を全身投与すると、SDN-POAが雄型化する [54, 55]。PGE2は細胞内Ca<sup>2+</sup>の上昇で活性化される膜のKCa電流を選択的に増強する [56]。KCa電流は活動電位発生後に再分極や後過分極を起こし、結果的に細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を低下させ、アポトーシスを防ぐ可能性がある [57]。SDN-POAには性分化の時期に細胞内Ca<sup>2+</sup>を結合するカルビンジンが発現し、細胞保護作用を発揮する可能性がある [58]。

視床下部の主要な興奮性伝達物質はN-methyl-d-aspartate (NMDA) 受容体を活性化するグルタミン酸である。活性化したNMDA受容体はCa<sup>2+</sup>の細胞内への流入を起こし、アポトーシスやシナプス可塑性の変化を招く。また、成熟した脳では抑制性伝達物質として働く $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) は幼弱なニューロンでは興奮性に働く。幼弱なニューロンではCl<sup>-</sup>イオンを取り込む1型Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup>共輸送分子 (NKCC1) が存在する一方、K<sup>+</sup>とCl<sup>-</sup>を運び出すK<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup>共輸送分子 (KCC2) の発現が少ないため、細胞内Cl<sup>-</sup>濃度が高く、GABA受容体が活性化するとCl<sup>-</sup>の流出による脱分極が起こるためである。エストロゲンが細胞の成育を促しNKCC1の発現を抑えればアポトーシスは抑制される [59]。GABA<sub>A</sub>受容体 $\beta$ 3サブユニットの遺伝子をノックアウトしたマウスで視床下部腹内側核の体積が増加した [60] のはGABA作用の遮断によるアポトーシスの阻止によるものと解釈できる。ただし、胎生13日には腹内側核をとりまく部位でGABAの合成が起っているのに対し、腹内側核にGABA陽性細胞が見られるのは出生時であること、野生型マウスではこの核の外側腹部に局在が限られるエストロゲン受容体 $\alpha$ 陽性ニューロンの分布がノックアウトマウスでは広く分散することに基づき、GABAがニ



ニューロンの移動を調節する可能性も提唱されている [60]。GABA はイオンチャネルである GABA<sub>A</sub> 受容体ばかりではなく、三量体 G タンパク共役型の GABA<sub>B</sub> を介してニューロンの移動を抑制することがマウス胎仔視床下部の培養系で示されており [61]、GABA は複数の経路で視床下部の形態形成に関わるらしい。活きたニューロンの移動に GABA が実際に影響をおよぼすことは、トランスジェニック法で可視化された GnRH ニューロンで示されている [62]。この報告では GABA<sub>A</sub> の遮断により培養脳切片中の GnRH ニューロンの動きが亢進し、本来の移動経路を逸脱することが示された。

他にも Cl<sup>-</sup> ポンプ/ATPase, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase などの活性化はニューロンのアポトーシスをまねく。キナーゼ系の活性化により、CREB の燐酸化など細胞の生存を促す経路の活性化の可能性もある。これらのイオンチャネルや酵素の転写翻訳がエストロゲンにより時期・脳部位特異的に行われて、部位特異的な脳の性差が生じると考えられる。

### 性腺に依存しない脳の性分化

脳の主要な性差が性腺、特に精巣の分泌するテストステロンに始まるカスケードで決まることはこれまで述べてきたとおりであるが、一部のニューロンあるいは行動が、遺伝的に決まる可能性を示す所見もある。ヒトのターナー症候群において海馬、大脳基底核、頭頂葉と後頭葉皮質がそれぞれ正常女性に比べて発達が悪く [63]、動作性 IQ の低下など脳機能の低下が見られる [64] のは遺伝子に起因するか、卵巣無形成に伴う二次的な現象か議論の余地がある。性の決定に関与する遺伝子が視床下部で発現していることも報告されている。精巣決定遺伝子である SRY がヒト [65] やマウス [66] の視床下部で発現している。先天性副腎低形成、下垂体性性腺低形成の原因遺伝子である DAX-1 がマウス胎仔の視床下部に発現している [67]。視床下部におけるこれらの遺伝子の発現の意義は不明である。副腎原基と性腺原基の形成、ステロイドホルモン産生に必須な p450 側鎖切断酵素遺伝子の転写を制御する Ad4BP/SF-1

は胎生マウスの視床下部腹内側核に発現する [68]。ラットでは Ad4BP/SF-1 の mRNA が腹内側核に局在し、胎生 18 日をピークにしてその後 30% 減少したまま成体に至る。Ad4BP/SF-1 遺伝子ノックアウトマウスでは腹内側核が形成されない [69, 70]。ラット Ad4BP/SF-1 mRNA の発現に性差は認められず、また成体でも性ホルモンの影響を受けない [71] ので、腹内側核が雌に特異なロードーシス反射におけるエストロゲンの作用部位で [7]、体積は雄が大きいという性差がある [72] もの、Ad4BP/SF-1 遺伝子は腹内側核の形成に関わり、性分化には関与しないと考えられる。

かねてから、Reisert ら [73] は性腺機能の発動以前の胎生 14.5 日に雌雄ラットの中脳からニューロンを採取し、性ホルモンの欠如のもとで培養すると、雄由来の組織からより多くのチロシン水酸化酵素陽性のドーパミン作動ニューロンが出現すると主張してきた。最近 Dewing ら [74] は雄ラット黒質のドーパミン作動ニューロンに SRY 遺伝子が発現しており、アンチセンスオリゴヌクレオチドの投与で SRY 遺伝子の発現を減少させると、チロシン水酸化酵素の活性が低下し、運動障害を生じると報告している。ノックアウトマウス作製の過程で見つかった SRY 遺伝子欠損による XY 雌と転座により生じた XX 雄を交配すると、XY<sup>-</sup>+SRY, XY<sup>-</sup>, XX+SRY, XX の 4 者が得られる。外側中隔に出現するバゾプレッシン陽性線維の密度が性腺の表現型とは関係なく、Y 染色体を持つ個体で多かったという [75]。また、キンカチョウでたまたま発見された、左右で性の異なる半陰陽個体では、脳には正中線を境に性特異的遺伝子の活性化が見られた [76]。ただし、ヒト Tfm では Y 染色体の存在に関わらず、多くの症例の性的自認が女性である [77] ことを考えると、性ホルモン作用によらない脳の性分化の役割の評価にはさらに検討が必要である。

キンカチョウ、カナリアといった雄のみが歌う鳴鳥では、歌に関わる脳回路に明瞭な形態学的性差があり、脳の性分化の格好の材料として使われてきた [78]。また、ニワトリやウズラも性行動

に明瞭な性差があり、多くのデータが集まっている [79]. キンカチョウでは雌にエストロゲンを長期にわたり大量投与するとアポトーシスが防止され、オス型の形態ができて歌うようになる. ただし、キンカチョウでは末梢血中エストロゲンを始めとする性ホルモン濃度には性差がないので、性差を生じるのは脳内でニューロステロイドとして新規合成されるエストロゲンの作用の可能性がある. 実際、キンカチョウの脳内には高濃度のアロマターゼが存在し、雄の末梢血中のエストロゲンは脳に由来する. ただ、トリはZZ型雄がデフォルトであることを考えると、雌へのエストロゲン投与が生理的機序を再現しているとは言い難い. 脳内でのエストロゲンの新規合成は新生仔ラットでも提唱されている [80].

キンカチョウなどのスズメ類と、ニワトリ、ウズラなどのキジ類では様相が違うようで、後者では末梢血中エストロゲン濃度は雌で高く、アロマターゼ阻害剤のファドラゾール投与により、ZW雌ニワトリが鶏鳴やマウントをするようになる [81]. 雄卵の抱卵9日でエストロゲンを投与すると行動や性的指向が雌化するが、雌卵では同様の処置が無効であるとの観察は、ZZ型雄がデフォルトであるトリでは納得できる結果である. 雌型化は末梢エストロゲンによるとのデータが多いが、雌の神経堤を雄に移植して発生したZZウズラが雄の行動を示さないことから、末梢ホルモンかニューロステロイドあるいは遺伝子の直接作用かについては依然議論がある. また、複数の卵を産んだ場合、卵黄中のテストステロン濃度が高く攻撃的なヒナが生まれるとの観察から、産卵時に母親が卵黄中にテストステロンを分泌するという説もある [82].

生殖行動や生殖内分泌に関わる脳部位の性差の研究はようやく記述の段階から、性分化の機序の解明に進みつつあるが、認知・記憶や情動に関わる脳の性差についてはその存在を含めて議論が絶えないところである. 動物種によっても多くの相違があるが、さまざまな手段で人為的に性転換を起し得る点で実験的に有利な面もあり、脳の形態形成を理解するモデルとしても有用である.

## 文 献

1. Goodfellow PN & Lovell-Badge R : SRY and sex determination in mammals. *Annu Rev Genet* **27** : 71-92, 1993
2. Kanai Y, Hiramatsu R, Matoba S & Kidokoro T : From SRY to SOX9 : Mammalian testis differentiation. *J Biochem* **138** : 13-19, 2005
3. Huhtaniemi I : Fetal testis—a very special endocrine organ. *Eur J Endocrinol* **130** : 25-31, 1994
4. Goy RW & McEwen BS : Sexual Differentiation of the Brain. Cambridge, MA : MIT Press, 1980
5. Wilson JD, George FW & Griffin JE : The hormonal control of sexual development. *Science* **211** : 1278-1284, 1981
6. Swaab DF : Sexual differentiation of the human brain : Relevance for gender identity, transsexualism and sexual orientation. *Gynecol Endocrinol* **19** : 301-312, 2004
7. Pfaff DW, Sakuma Y, Kow L-M, Lee AWL & Easton A : Hormonal neural, and genomic mechanisms for female reproductive behaviors, motivation and arousal. Neill JD ed. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3rd ed., pp. 1825-1920, Elsevier, San Diego, CA, 2005
8. Smith MS, Freeman ME & Neill JD : The control of progesterone secretion during the estrous cycle and early pseudopregnancy in the rat : Prolactin, gonadotropin and steroid levels associated with rescue of the corpus luteum of pseudopregnancy. *Endocrinology* **96** : 219-226, 1975
9. Gruber CJ & Huber JC : Differential effects of progesterins on the brain. *Maturitas* **46** : S71-S75, 2003
10. Han SK, Abraham IM & Herbison A : Effect of GABA on GnRH neurons switches from depolarization to hyperpolarization at puberty in the female mouse. *Endocrinology* **143** : 1459-1466, 2002
11. DeFazio RA, Heger S, Ojeda SR & Moenter SM : Activation of A-type  $\gamma$ -aminobutyric acid receptors excites gonadotropin-releasing hormone neurons. *Mol Endocrinol* **16** : 2872-2891, 2002
12. Yin C, Tanaka N, Kato M & Sakuma Y : GABA depolarizes GnRH neurons isolated from adult GnRH-EGFP transgenic rats. *Jpn Soc Neurosci Progr* **29** : G125, 2006
13. Seminara SB : Metastin and its G protein-coupled receptor, GPR54 : Critical pathway modulating GnRH secretion. *Front Neuroendocrinol* **26** : 131-138, 2005
14. Herbison AE : Physiology of the gonadotropin-releasing hormone neuronal network. Neill JD ed. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 3rd ed., pp. 1415-1482, Elsevier, San Diego, CA, 2005
15. Allen LS & Gorski RA : Sexual orientation and the

- size of the anterior commissure in the human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* **89** : 7199–7202, 1992
16. Mohammed AH, Zhu SW, Darmopil S, Hjerling-Lefler J, Ernfors P, Winblad B, Diamond MC, Eriksson PS & Bogdanovic N : Environmental enrichment and the brain. *Prog Brain Res* **138** : 109–133, 2002
  17. Wang L, Andersson S, Warner M & Gustafsson JA : Estrogen receptor (ER)  $\beta$  knockout mice reveal a role for ER  $\beta$  in migration of cortical neurons in the developing brain. *Proc Natl Acad Sci USA* **100** : 703–708, 2003
  18. Kritzer MF : Regional, laminar and cellular distribution of immunoreactivity for ER  $\beta$  in the cerebral cortex of hormonally intact, postnatally developing male and female rats. *Cereb Cortex* **16** : 1181–1192, 2006
  19. Raisman G & Field PM : Sexual dimorphism in the preoptic area of the rat. *Science* **173** : 731–733, 1971
  20. Greenough WT, Carter CS, Steerman C & DeVoogd TJ : Sex differences in dendritic patterns in hamster preoptic area. *Brain Res* **126** : 63–72, 1977
  21. Gorski RA, Gordon JH, Shryne JE & Southam AM : Evidence for a morphological sex difference within the medial preoptic area of the rat brain. *Brain Res* **148** : 333–346, 1978
  22. Simerly RB, Swanson LW, Handa RJ & Gorski RA : Influence of perinatal androgen on the sexually dimorphic distribution of tyrosine hydroxylase-immunoreactive cells and fibers in the anteroventral periventricular nucleus of the rat. *Neuroendocrinology* **40** : 501–510, 1985
  23. Orikasa C, Kondo Y, Hayashi S, McEwen BS & Sakuma Y : Sexually dimorphic expression of estrogen receptor  $\beta$  in the anteroventral periventricular nucleus of the rat preoptic area : Implication in luteinizing hormone surge. *Proc Natl Acad Sci USA* **99** : 3306–3311, 2002
  24. Houtsmuller EJ, Brand T, de Jonge FH, Joosten RN, van de Poll NE & Slob AK : SDN-POA volume, sexual behavior, and partner preference of male rats affected by perinatal treatment with ATD. *Physiol Behav* **56** : 535–541, 1994
  25. Roselli CE, Larkin K, Schrunk JM & Stormshak F : Sexual partner preference, hypothalamic morphology and aromatase in rams. *Physiol Behav* **83** : 233–245, 2004
  26. Wiegand SJ, Terasawa E & Bridson WE : Persistent estrus and blockade of progesterone-induced LH release follows lesions which do not damage the suprachiasmatic nucleus. *Endocrinology* **102** : 1645–1648, 1978
  27. Simerly RB & Swanson LW : The distribution of neurotransmitter-specific cells and fibers in the anteroventral periventricular nucleus : Implications for the control of gonadotropin secretion in the rat. *Brain Res* **400** : 11–34, 1987
  28. Allen LS, Hines M, Shryne JE & Gorski RA : Two sexually dimorphic cell groups in the human brain. *J Neurosci* **9** : 497–506, 1989
  29. Swaab DF, Chung WC, Kruijver FP, Hofman MA & Hestiantoro A : Sex differences in the hypothalamus in the different stages of human life. *Neurobiol Aging* **24** : S1–S16, 2003
  30. LeVay S : A difference in hypothalamic structure between heterosexual and homosexual men. *Science* **253** : 1034–1037, 1991
  31. Kruijver FP, Zhou JN, Pool CW, Hofman MA, Gooren LJ & Swaab DF : Male-to-female transsexuals have female neuron numbers in a limbic nucleus. *J Clin Endocrinol Metab* **85** : 2034–2041, 2000
  32. Hofman MA, Fliers E, Goudsmit E & Swaab DF : Morphometric analysis of the suprachiasmatic and paraventricular nuclei in the human brain : sex differences and age-dependent changes. *J Anat* **160** : 127–143, 1988
  33. Davis EC, Popper P & Gorski RA : The role of apoptosis in sexual differentiation of the rat sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. *Brain Res* **734** : 10–18, 1996
  34. Arai Y, Sekine Y & Murakami S : Estrogen and apoptosis in the developing sexually dimorphic preoptic area in female rats. *Neurosci Res* **25** : 403–407, 1996
  35. Orikasa C, Kondo Y & Sakuma Y : Sex difference in somatostatin mRNA expression in the rat preoptic area. *Soc Neurosci Progr* **761** : 19, 2005
  36. van de Nes JA, Sluiter AA, Pool CW, Kamphorst W, Ravid R & Swaab DF : The monoclonal antibody Alz-50, used to reveal cytoskeletal changes in Alzheimer's disease, also reacts with a large subpopulation of somatostatin neurons in the normal human hypothalamus and adjoining areas. *Brain Res* **655** : 97–109, 1994
  37. Bissette G : Neuropeptides and Alzheimer's disease pathology. *Ann NY Acad Sci* **814** : 17–29, 1997
  38. MacLusky NJ & Naftolin F : Sexual differentiation of the central nervous system. *Science* **211** : 1294–302, 1981
  39. Shapiro BH, Goldman AS & Gustafsson JA : Masculine-like hypothalamic-pituitary axis in the androgen-insensitive genetically male rat pseudohermaphrodite. *Endocrinology* **97** : 487–492, 1975
  40. Olsen KL : Induction of male mating behavior in androgen-insensitive (tfm) and normal (King-Holtzman) male rats : Effect of testosterone propionate, estradiol

- benzoate, and dihydrotestosterone. *Horm Behav* **13** : 66–84, 1979
41. Ogawa S, Lubahn DB, Korach KS & Pfaff DW : Behavioral effects of estrogen receptor gene disruption in male mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **94** : 1476–1481, 1997
  42. Bakker J, De Mees C, Douhard Q, Balthazart J, Gabant P, Szpirer J & Szpirer C :  $\alpha$ -Fetoprotein protects the developing female mouse brain from masculinization and defeminization by estrogens. *Nat Neurosci* **9** : 220–226, 2006
  43. Bakker J, Honda S, Harada N & Balthazart J : The aromatase knock-out mouse provides new evidence that estradiol is required during development in the female for the expression of sociosexual behaviors in adulthood. *J Neurosci* **22** : 9104–9112, 2002
  44. Sato T, Matsumoto T, Kawano H, Watanabe T, Uematsu Y, Sekine K, Fukuda T, Aihara K, Krust A, Yamada T, Nakamichi Y, Yamamoto Y, Nakamura T, Yoshimura K, Yoshizawa T, Metzger D, Chambon P & Kato S : Brain masculinization requires androgen receptor function. *Proc Natl Acad Sci USA* **101** : 1673–1678, 2004
  45. Nishi S, Matsue H, Yoshida H, Yamamoto R & Sakai M : Localization of the estrogen-binding site of  $\alpha$ -fetoprotein in the chimeric human-rat proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* **88** : 3102–3105, 1991
  46. Miller WL : Disorders of androgen synthesis—from cholesterol to dehydroepiandrosterone. *Med Princ Pract* **14** : 58–68, 2005
  47. Wilson JD : Androgens, androgen receptors, and male gender role behavior. *Horm Behav* **40** : 358–366, 2001
  48. Cooke B, Hegstrom CD, Villeneuve LS & Breedlove SM : Sexual differentiation of the vertebrate brain : Principles and mechanisms. *Front Neuroendocrinol* **19** : 323–362, 1998
  49. Imperato-McGinley J & Zhu YS : Androgens and male physiology : The syndrome of 5  $\alpha$ -reductase-2 deficiency. *Mol Cell Endocrinol* **98** : 51–59, 2002
  50. Hamada T, Wada-Kiyama Y & Sakuma Y : Visualizing forebrain-specific usage of an estrogen receptor  $\alpha$  promoter for receptor down regulation in the rat. *Mol Brain Res* **139** : 42–51, 2005
  51. Watson NV, Freeman LM & Breedlove SM : Neuronal size in the spinal nucleus of the bulbocavernosus : Direct modulation by androgen in rats with mosaic androgen insensitivity. *J Neurosci* **21** : 1062–1066, 2001
  52. Morris JA, Jordan CL, Dugger BN & Breedlove SM : Partial demasculinization of several brain regions in adult male (XY) rats with a dysfunctional androgen receptor gene. *J Comp Neurol* **487** : 217–226, 2005
  53. Jordan CL, Breedlove SM & Arnold AP : Ontogeny of steroid accumulation in spinal lumbar motoneurons of the rat : Implications for androgens site of action during synapse elimination. *J Comp Neurol* **313** : 441–448, 1991
  54. Amateau SK & McCarthy MM : Induction of PGE2 by estradiol mediates developmental masculinization of sex behavior. *Nat Neurosci* **7** : 643–650, 2004
  55. Todd BJ, Schwarz JM & McCarthy MM : Prostaglandin-E2 : A point of divergence in estradiol-mediated sexual differentiation. *Horm Behav* **48** : 512–521, 2005
  56. Katafuchi T, Duan S, Take S & Yoshimura M : Modulation of glutamate-induced outward current by prostaglandin E(2) in rat dissociated preoptic neurons. *Brain Res* **1037** : 180–186, 2005
  57. Hallworth NE, Wilson CJ & Bevan MD : Apamin-sensitive small conductance calcium-activated potassium channels, through their selective coupling to voltage-gated calcium channels, are critical determinants of the precision, pace, and pattern of action potential generation in rat subthalamic nucleus neurons in vitro. *J Neurosci* **23** : 7525–7542, 2003
  58. Sickel MJ & McCarthy MM : Calbindin-D28k immunoreactivity is a marker for a subdivision of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area of the rat : Developmental profile and gonadal steroid modulation. *J Neuroendocrinol* **12** : 397–402, 2000
  59. McCarthy MM, Auger AP & Perrot-Sinal TS : Getting excited about GABA and sex differences in the brain. *Trends Neurosci* **25** : 307–312, 2002
  60. Dellovade TL, Davis AM, Ferguson C, Sieghart W, Homanics GE & Tobet SA : GABA influences the development of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J Neurobiol* **49** : 264–276, 2001
  61. Davis AM, Henion TR & Tobet SA :  $\gamma$ -Aminobutyric acid B receptors and the development of the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J Comp Neurol* **449** : 270–280, 2002
  62. Bless EP, Walker HJ, Yu KW, Knoll JG, Moenter SM, Schwarting GA & Tobet SA : Live view of gonadotropin-releasing hormone containing neuron migration. *Endocrinology* **146** : 463–468, 2005
  63. Reiss AL, Freund L, Plotnick L, Baumgardner T, Green K, Sozer AC, Reader M, Boehm C & Denckla MB : The effects of X monosomy on brain development : Monozygotic twins discordant for Turner's syndrome. *Ann Neurol* **34** : 95–107, 1993
  64. Rovee JF : The psychoeducational characteristics of children with Turner syndrome. *J Learn Disabil* **26** : 333–341, 1993

65. Clepet C, Schafer AJ, Sinclair AH, Palmer MS, Lovell-Badge R & Goodfellow PN : The human SRY transcript. *Hum Mol Genet* **2** : 2007–2012, 1993
66. Lahr G, Maxson SC, Mayer A, Just W, Pilgrim C & Reisert I : Transcription of the Y chromosomal gene, Sry, in adult mouse brain. *Mol Brain Res* **33** : 179–182, 1995
67. Ikeda Y, Swain A, Weber TJ, Hentges KE, Zanaria E, Lalli E, Tamai KT, Sassone-Corsi P, Lovell-Badge R, Camerino G & Parker KL : Steroidogenic factor 1 and Dax-1 colocalize in multiple cell lineages : potential links in endocrine development. *Mol Endocrinol* **10** : 1261–1272, 1996
68. Hammer F, Compagnone NA, Vigne JL, Bair SR & Mellon SH : Transcriptional regulation of P450scc gene expression in the embryonic rodent nervous system. *Endocrinology* **145** : 901–912, 2004
69. Ikeda Y, Luo X, Abbud R, Nilson JH & Parker KL : The nuclear receptor steroidogenic factor 1 is essential for the formation of the ventromedial hypothalamic nucleus. *Mol Endocrinol* **9** : 478–486, 1995
70. Shinoda K, Lei H, Yoshii H, Nomura M, Nagano M, Shiba H, Sasaki H, Osawa Y, Ninomiya Y, Niwa O, Morohashi K & Li E : Developmental defects of the ventromedial hypothalamic nucleus and pituitary gonadotroph in the Ftz-F1 disrupted mice. *Dev Dyn* **204** : 22–29, 1995
71. Roselli CE, Jorgensen EZ, Doyle MW & Ronnekleiv OK : Expression of the orphan receptor steroidogenic factor-1 mRNA in the rat medial basal hypothalamus. *Mol Brain Res* **44** : 66–72, 1997
72. Matsumoto A & Arai Y : Sex difference in volume of the ventromedial nucleus of the hypothalamus in the rat. *Endocrinol Jpn* **30** : 277–280, 1983
73. Reisert I & Pilgrim C : Sexual differentiation of monoaminergic neurons—genetic or epigenetic? *Trends Neurosci* **14** : 468–473, 1991
74. Dewing P, Chiang CW, Sinchak K, Sim H, Fernagut PO, Kelly S, Chesselet MF, Micevych PE, Albrecht KH, Harley VR & Vilain E : Direct regulation of adult brain function by the male-specific factor SRY. *Curr Biol* **16** : 415–420, 2006
75. Gatewood JD, Wills A, Shetty S, Xu J, Arnold AP, Burgoyne PS & Rissman EF : Sex chromosome complement and gonadal sex influence aggressive and parental behaviors in mice. *J Neurosci* **26** : 2335–2342, 2006
76. Agate RJ, Grisham W, Wade J, Mann S, Wingfield J, Schanen C, Palotie A & Arnold AP : Neural, not gonadal, origin of brain sex differences in a gynandromorphic finch. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**(8) : 4873–4878, 2003
77. Mazur T : Gender dysphoria and gender change in androgen insensitivity or micropenis. *Arch Sex Behav* **34** : 411–421, 2005
78. Wade J & Arnold AP : Sexual differentiation of the zebra finch song system. *Ann NY Acad Sci* **1016** : 540–559, 2004
79. Ball GF & Balthazart J : Hormonal regulation of brain circuits mediating male sexual behavior in birds. *Physiol Behav* **83** : 329–346, 2004
80. Amateau SK, Alt JJ, Stamps CL & McCarthy MM : Brain estradiol content in newborn rats : Sex differences, regional heterogeneity, and possible de novo synthesis by the female telencephalon. *Endocrinology* **45** : 2906–2917, 2004
81. Clifton PG & Andrew RJ : Contrasting effects of pre- and posthatch exposure to gonadal steroids on the development of vocal, sexual, and aggressive behavior of young domestic fowl. *Horm Behav* **23** : 572–589, 1989
82. Eising CM, Muller W, Dijkstra C & Groothuis TG : Maternal androgens in egg yolks : relation with sex, incubation time and embryonic growth. *Gen Comp Endocrinol* **132** : 241–247, 2003