

Title	A Novel Role of Estrogen : Estrogen Regulates Synaptic Plasticity in the Central Nervous System
Author(s)	横幕, 大作
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/44071">http://hdl.handle.net/11094/44071</a>
DOI	
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	横 幕 大 作
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 17551 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	A Novel Role of Estrogen: Estrogen Regulates Synaptic Plasticity in the Central Nervous System (エストロゲンの新しい役割: エストロゲンは中枢神経系においてシナプス可塑性を制御する)
論文審査委員	(主査) 教授 小倉 明彦  (副査) 教授 永井 克也 助教授 富永 恵子 系長 田口 隆久

### 論文内容の要旨

近年サルを用いた行動実験において、エストロゲンが空間学習能力の形成を向上させることなどが示唆され、注目を浴びてきている。この知見は、エストロゲンが記憶・学習などの脳機能を調節している可能性を示唆している。しかし、これまでの研究では、エストロゲンがどのように記憶・学習機能の調節を行っているのか、その作用メカニズムについてはほとんど分かっていない。そこで、私はエストロゲンがニューロンの伝達機能に対して与える影響について研究を進めてきた。私は、エストロゲンがシナプス前側からの伝達物質放出量を変化させているのではないかという仮説をたて、検討を行った。

#### ①エストロゲンは脱分極刺激に伴うグルタミン酸放出を増強する

初代培養海馬ニューロンに高カリウム溶液で脱分極刺激を行うと、培地中にグルタミン酸が放出される。このニューロンより放出されたグルタミン酸量を HPLC を用いて定量した。その結果、エストラジオールを 24 時間添加しておいたニューロンからは、無添加群のものに比べて、有意にグルタミン酸放出が増強されていることが明らかとなった。一方、抑制性の伝達物質の一つである $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) の放出量はエストラジオールによって変化しなかった。また、このエストラジオールによるグルタミン酸放出増強効果は、エストロゲン受容体を介した作用であることを明らかにした。以上の結果から、エストロゲンはニューロンに作用して、興奮性神経伝達の調節を行っている可能性が示唆された。

#### ②エストロゲンによるグルタミン酸放出増強効果には PI 3-kinase と MAPK の活性化が必要である

近年エストロゲンがいくつかの細胞内シグナル伝達分子を活性化することで、様々な細胞機能の調節を行っていること、またこのシグナル分子活性化には細胞膜上にあるエストロゲン受容体が関与している可能性が指摘されはじめてきている。そこで今回、PI 3-kinase と MAPK 経路に着目し、検討を行った。その結果、エストラジオールはエストロゲン受容体を介して 30 分以内に PI 3-kinase と MAPK 経路を活性化する事を見いだされた。これらのシグナル伝達経路を阻害する薬剤である LY294002 (PI 3-kinase の阻害剤)、U0126 (MAPK 経路の阻害剤) は、①で観察されたグルタミン酸放出増強効果をそれぞれ完全に抑制した。これらのことから、エストロゲンが細胞膜上のエストロゲン受容体を介して PI 3-kinase と MAPK を活性化し、これらの分子の活性化がシナプス前側の機能向上に重要である

ことが明らかとなった。

### ③エストロゲンは開口放出機構を亢進することで、グルタミン酸放出を増強する

神経伝達物質の放出は、開口放出機構によるものが主である。私は、エストロゲンによるグルタミン酸放出の増強効果は、この開口放出機構を亢進させた結果起こっているのではないかと考え、検討を行った。開口放出をモニタリングするのに有効な蛍光指示薬である FM1-43 を用いて観察したところ、エストロゲンはシナプス前側の数は変化させずに、それぞれのシナプスにおける放出効率を上昇させている可能性が示された。次に、この開口放出に関わる蛋白質に着目した。開口放出関連蛋白質は、長期増強現象に必要な因子と言われている。そこで私は、この開口放出調節蛋白質の発現にエストラジオールが影響を与えている可能性を考え、これら蛋白質の発現を観察した。その結果、エストラジオールによってこれらの蛋白質の発現量が有意に上昇していることが分かった。以上の結果から、エストラジオールは開口放出機構を亢進することで、グルタミン酸放出を増強していることが明らかとなった。

## 論文審査の結果の要旨

横幕大作君は、従来末梢組織における雌性形質の発現に関与するとされてきた性ホルモンであるエストロゲンが、中枢神経系シナプスでの神経伝達物質（グルタミン酸）放出を修飾することを見出し、このホルモンがシナプス可塑性にも関与する可能性を示した。また、そのグルタミン酸放出修飾作用が、通常いわれているステロイドの細胞内受容体ではなく細胞膜受容体を介すること、ホスファチジルイノシトール 3-キナーゼと MAP キナーゼの活性化を通じて開口放出装置タンパク質の新合成を促す機構によることを示した。これらの成果は、性ホルモンの作用研究とシナプス可塑性の機構研究とに新たな視点を提供するものであり、博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。