

論文内容要旨

性ホルモン分泌障害が成長期マウスの記憶・学習能力
に及ぼす影響

総合健康科学部門小児歯科学

(主指導教員：香西克之 教授)

基礎生命科学部門口腔細胞生物学

(副指導教員：内田 隆 教授)

応用生命科学部門歯科矯正学

(副指導教員：上田 宏 講師)

石川 絵海

論文内容要旨

論文題目 性ホルモン分泌障害が成長期マウスの記憶・学習能力に及ぼす影響

学位申請者 石川 絵海

エストロゲンは、精巣や卵巣および副腎で合成されることが知られており、男女両性において体内の各臓器で重要な役割を果たしている。近年、エストロゲンが脳の機能維持にも重要な役割を果たしていることが明らかにされた。また、脳神経細胞が消失することにより認知症を呈する進行性の神経変性疾患であるアルツハイマー病は、その発症原因の一つとして、閉経期以降の急激なエストロゲン産生量の低下に起因しているとの報告もなされている。しかしながら、これらの研究は壮年から老年期における研究であり、成長期において、性ホルモンが脳の成長発育にどのような影響を及ぼしているのかは、未だ明らかにされていない。

本研究では、行動テストと神経病理学的検討により、成長期における性ホルモン分泌障害が記憶・学習能力に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

実験動物として、5 日齢 C57BL/6J マウスを用いた。実験群には、卵巣摘出術（以下、OVX）および精巣摘出術（以下、ORX）を施し、疑似手術を施した同日齢マウスを対照群とした。16 週齢時より、雌雄両性の実験群に 17- β estradiol (E₂) および 5 α -dihydrotestosterone (DHT) をそれぞれ皮下投与した。ヒトの幼少期、学童期、青年期に相当する 8、16、24、32 週齢時に学習試験を行なうとともに、神経病理学的検討および血清中のチロキシン (T₄) 濃度の測定を行った。

学習試験には 8 方向放射状迷路を用い、作業記憶を検討するために、平均所要時間、working memory error (WME：一度侵入したアームに再侵入した回数)、平均全選択数、学習試験達成率の 4 項目を評価した。

神経病理学的検討では、Nissl 染色による海馬 CA1 および CA3 領域の錐体細胞数を算定するとともに、記憶の形成に関与するアセチルコリンを生成する choline acetyltransferase (ChAT)、記憶の想起を障害する cholecystokinin-4 (CCK-4) の発現を免疫組織化学的に検討した。さらに、成長期の脳の機能発達状態を評価するため、外側尾静脈から血液を採取し、ELISA 法により血清中の T₄ 濃度を測定した。

その結果、以下の所見が明らかとなった。

1. 実験期間中の体重については、雌雄両性ともに 24、32 週齢において対照群と比較し

て ORX、OVX 群で有意に大きい値を示した。

2. 学習試験結果

1) 習得訓練実施回数は、雌雄両性の実験群と対照群の間に有意差を認めず、学習試験実施前の両群マウスに学習能力の違いがないことが実証された。

2) 平均所要時間については、16 週齢時までは、すべての実験群が対照群と比較して有意に長い時間を要したが、雄性では 32 週齢時に、雌性では 24、32 週齢時において E2 投与により対照群との間の有意差が消失した。

3) 平均全選択数についても、同様の傾向を示し、実験期間を通して OVX および ORX 群と対照群との間で有意差が認められたものの、24 および 32 週齢時には、雌雄両性において E2 投与により対照群との有意差が消失した。

3. OVX および ORX 群における海馬錐体細胞は不均一な形態を呈しており、その配列は不規則で疎であった。また、CA1 領域における海馬錐体細胞数は、OVX および ORX 群において減少傾向を示したものの、実験期間を通して全群間で有意差を認めなかった。一方、CA3 領域における海馬錐体細胞数については、24、32 週齢時に OVX および ORX 群が対照群と比較して有意な小さい値を示した、しかしながら、32 週齢時には OVX+E2 および ORX+DHT 群で対照群との間の有意差が認められなくなった。

4. ChAT 陽性細胞数については、CA1 および CA3 領域ともに、実験期間を通して OVX および ORX 群が有意に小さい値を示した。しかしながら、32 週齢時には OVX+E2 群で対照群との間の有意差が消失した。

5. CCK4 陽性細胞数については、OVX および ORX 群が、24 および 32 週齢時に対照群と比較して有意に大きい値を示した。しかしながら、24 週齢時には OVX+E2 群で、32 週齢時には OVX+E2 および ORX+DHT 群で対照群との間の有意差が認められなくなった。

6. 血清 T4 濃度は、対照群において、特に雌性で加齢とともに減少傾向を示した。また、実験期間を通して OVX および ORX 群では対照群と比較して有意に小さい値が認められた。一方、24 週齢時には OVX+E2 群で、32 週齢時には OVX+E2 および ORX+DHT 群で対照群との間の有意差が認められなくなった。

以上のことから、出生直後からの性ホルモン分泌障害により、CA3 領域の海馬錐体細胞数および ChAT 陽性細胞数の有意な減少が明らかとなった。また、CCK-4 陽性細胞数は有意に増加した。さらに、血清 T4 濃度も有意に小さい値を示したことから、脳の成長発育が著しく障害されていることが明らかになった。学習試験結果から、性腺摘出群において、平均所要時間は有意に長くなり、全選択数も有意に高い値を示した。しかしながら、雌雄両性において、E2 を投与することによって改善傾向を示し、雄性では DHT 投与群で対照群との間の有意差が認められなくなった。

これらのことより、成長期における性ホルモン分泌障害は、作業記憶に関連する記憶・学

習能力を著しく低下させることが明らかになった。また、雌性では E₂ が、雄性では時期特異的に E₂ と DHT がそれぞれ脳の成長発育に関与している可能性が強く示唆された。