



話題

テストステロンと記憶 (アンチエイジングの観点から見る)*

川戸 佳**¹⁾

Key Words : testosterone, memory, hippocampus, neuron, aging

はじめに

テストステロン(T)の脳への作用は性行動(視床下部), 攻撃性(扁桃体?・視床下部?)や抗不安作用(海馬)が, よく知られているが, 記憶とのかかわりは余り知られていなかった。受容体である androgen receptor (AR) は記憶中枢の海馬のグルタミン酸神経に発現しており, CA1 領域> CA3 領域> DG 領域, というような量的に偏った発現をしている(図1)。したがって, CA1 に特徴的な記憶(たとえば空間記憶)にかかわる作用が期待される。

記憶に関しては女性ホルモン(E2, エストラジオール)の作用の方が注目を浴びてきた。女性ホルモン補充が更年期過ぎの女性の記憶・認知などに効いて, アンチエイジング効果がある, というのは, 世界中で1,000万人もの対象者に治療して, よくわかってきた事柄であるが, この分子機構を神経科学的に説明するために膨大な研究が積み重ねられてきた。「Estrogen and Cognition」という題名をつけた特別号が有名なジャーナルから2000年以降15年間のあいだに度々出版されている。最初はE2による, 脳神経の保護作用(遅いステロイド作用, 数日~数週間かかる), が中心であった。また視床下部-下垂体-性腺軸での制御が老化により異常になる現象に関するものが中心であった。ところが, 2010年以降は

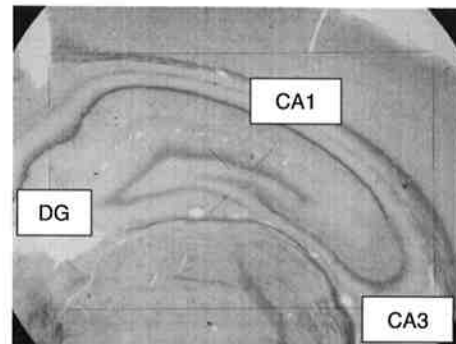


図1 グルタミン酸神経細胞に分布するAR
海馬のグルタミン酸神経(CA1, CA3, DG)に男性ホルモン受容体ARが発現している。抗体組織染色の結果(畑中 2009, 東大修士論文)。ARは細胞体や核に分布していることがわかる。Scaleは海馬スライスの左右直径約3 mm。組織染色では, 神経シナプスは小さすぎて見えてないが, 電子顕微鏡で分解能をあげるとARは神経シナプスにもあることが金抗体染色で発見されている(CA1は空間記憶を行い, CA3は連想記憶を行い, DGでは神経が新生する)。

記憶中枢の海馬内でE2による神経シナプスのモジュレーション作用で記憶が改善するということが確立してきた。このモジュレーション作用は1日かかる遅いもののほかに, 1時間程度の早い作用が注目されている。このようなE2の神経作用は♀ラットの海馬だけでなく♂の海馬でも同じくらい研究されている。♂では海馬内でいったんTがE2に変換されて作用する, という解釈が主流

* Testosterone and memory (with anti-aging point of view).

** Suguru KAWATO, Ph.D.: 東京大学大学院総合文化研究科広域科学専攻(〒153-8902 東京都目黒区駒場3-8-1); Graduate School of Arts and Sciences, The University of Tokyo, Tokyo 153-8902, JAPAN

¹⁾ 現 順天堂大学医学部泌尿器科学(〒113-8421 東京都文京区本郷2-1-1); Department of Urology, Graduate School of Medicine, Juntendo University, Tokyo 113-8421, JAPAN

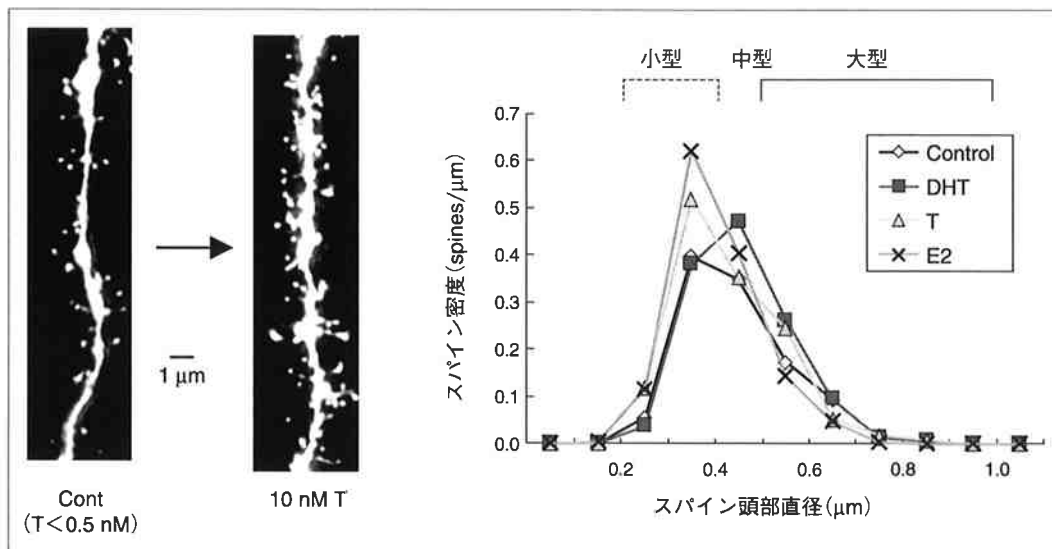


図2 T, DHT, E2の作用によるスパイン増加と頭部直径の変化

頭部直径は光の波長程度 $0.3 \sim 0.8 \mu\text{m}$ という微小なものである。海馬スライスに 1 nM の E2, 10 nM の DHT と T を作用させると、2時間 でグルタミン酸神経の全スパイン密度がいずれも $1.2 \sim 1.4$ 倍程増加する。頭部直径の分布を調べると E2 < T < DHT の順で頭部直径が大きいという差が見出せる。単一神経には樹状突起が 50 本程度あり、左図で太い棒状の樹状突起に存在する小さな棘(スパイン)が $1 \mu\text{m}$ あたり 1 個、単一神経全体では合計 1 万程度もある。神経の記憶は、シナプスという、隣り合う神経の接合部に貯蔵されるが、スパインはそのシナプス後部のことである。海馬はマウスを使用。これらの結果から推測すると、前立腺がんの治療薬や毛はえ薬として使用されるフィナステリドは海馬に入ると T → DHT 変換を止めるので、記憶に悪影響を及ぼすかもしれない。

なので、E2作用が研究されているわけである。

しかし、マウスなら T がそのまま作用してもおかしくないはずである。ところがマウスでも E2 の研究に比べると T の研究は非常に研究が少ないのである。そこで最近われわれは、男性ホルモン T や DHT (ジヒドロテストステロン) の直接作用を測定している。

海馬での神経シナプスへの作用

海馬スライス中のグルタミン酸神経のシナプスに蛍光色素を注入し、共焦点顕微鏡で 3 次元可視化して調べる方法を用いて、T, DHT や E2 を 2 時間作用させると、この 3 種類はすべてが神経シナプス後部 (= スパイン) の密度を増加させることがわかった (図 2)¹⁾²⁾。ただし効果を発揮するには、E2 は 1 nM 程度で良いのであるが T, DHT は 10 nM 程度必要である。このスパイン増加作用をひき起こす信号系は、「シナプスに存在する AR (男性ホルモン受容体) や ER α (女性ホルモン受容体) → 下流のタンパクキナーゼ (LIM kinase, MAPK, PKA, PKC) → アクチン制御タ

ンパク (cofilin, cortactin) のリン酸化 → アクチン重合 → スパイン増加」というものであることを突き止めた (図 3)。これまで E2 (T → E2 も含む) がスパインなどの神経回路を変化させるためには $6 \sim 24$ 時間くらいの長い時間を必要として、「核受容体 → 遺伝子転写 → タンパク合成 → シナプス・スパイン増加」という経路が主体であると考えられてきたが、われわれの発見した非常に早いシナプス変動は 2 時間程度で効果を発揮するので、この常識を覆すものである (図 3)。早い作用を担う E2 の受容体に関しては、ER α /ER β 以外に膜上受容体 (GPR30 など) も提唱されてきたが、E2 との結合能が低いなど、現在その可能性ははっきりしていない。AR, ER α , ER β などは、もともと核に移行する核内受容体であるが、われわれはこれらが (核に移行することなく) 神経スパイン内に存在して働く (膜結合型とは限らない) ことを見出したことになる^{1)3)~7)}。

T や DHT も神経スパインを増やすことがわかった。この作用は E2 と似ている。一方、長期増強 LTP (long-term potentiation) という記憶

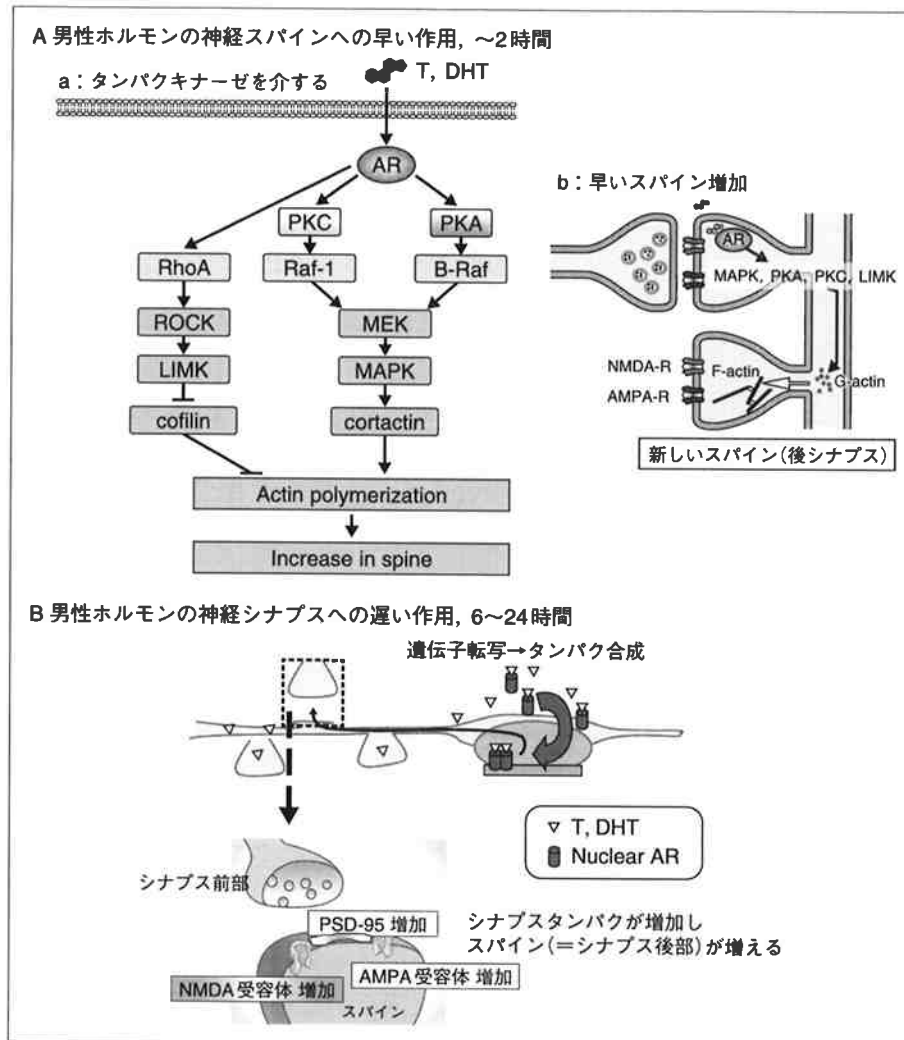


図3 男性ホルモンT, DHTの神経シナプス作用のモデル図
 A: 早い作用。2時間程度の反応。シナプスに存在するAR→下流のタンパクキナーゼ(LIM kinase, MAPK, PKA, PKC)→アクチンタンパク結合(cofilin, cortactin)のリン酸化→アクチン重合→スパインが増加する。B: 遅い慢性作用。6~24時間かかって、ARが核に移行し→遺伝子転写が起こり→PSD-95, AMPA型やNMDA型グルタミン酸受容体などのシナプスタンパク質が合成され→スパインが増加する。

の書き込みを電気生理測定で調べると、E2はLTPを促進するのであるが、T, DHTはこのE2のLTP促進を多少阻害することがわかった(E2による過剰な興奮を抑える作用のようである)(図4)⁸⁾。このようにTとE2の作用は似ている部分(スパイン増加)と異なる部分(LTP)があるということがわかってきた。さらなる研究が必要である。

T, DHTの作用の研究では、よく知られてい

るARを介する作用のほかに、同定されていないnonARを介した作用があるという報告も結構多くある(Yale Univ.のLeranth groupなど)⁹⁾。これはT, DHTを海馬スライスに作用させると、シナプスを形成しているスパイン(スパイン-シナプスと呼ぶ)のみを電子顕微鏡により観測すると、これも増加する。これはわれわれが共焦点顕微鏡で観測しているスパイン(シナプスを形成していないスパインとシナプスを形成しているスパ

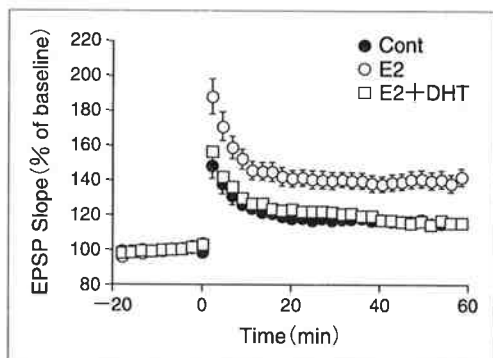


図4 閾値以下の電気刺激の場合に、E2による長期増強LTPの成立(記憶の書き込み過程)が起こる海馬スライスのCA1領域(空間記憶)のグルタミン酸神経を弱い θ バースト刺激すると、10 nM E2を灌流しておいた場合のみ、長期増強が成立する(○)(E2-LTP, 縦軸のEPSP興奮性シナプス後電位が増大している). E2なしのcontrolは(●)である. ところがそこに同量の10 nM DHTを灌流するとE2の効果が抑えられてしまうという(□), 予想しない結果が得られた. 記憶書き込みにおいてDHTはE2より少ない方が良いという結論になる. これはなぜであろう?
(文献⁹⁾より引用)

インの合計)とは異なるので注意が必要である. しかし, このスパイン-シナプスには奇妙な性質があり, AR阻害剤のフルタミドを加えてもT, DHTの作用が止まらず, さらにフルタミドだけを加えた場合にも, スパイン-シナプスが増加するのである⁹⁾. このような場合はnonARを介した信号系が働いていると説明してあるが, 10年以上も受容体が一向に同定されないで, おかしな現象であると思っている. これに対して, われわれの扱っている早いT, DHT, E2効果は, 新しい膜上受容体が発見されたわけではないが, シナプスに存在するAR, ER α /ER β がkinaseを駆動するという, 信号系としては新しい機構となっている.

海馬での性ホルモンの合成

われわれは, 精巣が合成するTやE2が脳に流入して働くいわゆる内分泌作用ではなく, 脳が合成して脳内で働くTやE2の研究をしている. これは局所合成→局所作用である. そこからは, 通常の内分分泌作用とは異なる, いろいろなことがわかってくる. 記憶中枢の海馬は独自にT, E2, DHTを合成している(♂♀の両方と

も)(図5)^{4)5)10)~13)}. 海馬内での濃度を測定すると, 血中をめぐっているTやE2濃度より高いので, 海馬のT, E2は脇役ではなく主役であると思われる. 海馬の記憶形成を行う神経シナプスは, このTとE2の神経栄養因子的作用により, 数や機能の低下が起こらないように調節されている.

詳しく言うと, 2000年の前後に, 海馬スライスを用いて抗体染色で, シトクロムP450scc, P450(17 α), P450aromが, グルタミン酸神経に局在していることを発見した^{10)~12)}. ミクロソームやミトコンドリアだけでなく, 神経シナプスにも発現していたということが, 記憶力の観点から言うと画期的であった. その他の合成酵素(StAR, 17 β -HSD, 3 β -HSDなど)のmRNAも神経に発現していた. T→DHT合成を行う5 α -reductase(1,2)も神経に発現していた(図6)¹⁴⁾¹⁵⁾. 海馬中で放射性ステロイドの代謝を解析すると, コレステロール→プレグネノロン→DHEA or プログステロン→T→DHT, あるいはT→E2という, 精巣と卵巣を合わせたような合成経路が神経で見出された. 高感度質量分析LC/MS/MSによって, 海馬中での性ホルモンの濃度を正確に測定することに成功し, その結果, 成獣♂ラットの海馬での濃度は, T(17 nM), DHT(7 nM), E2(8 nM)と決定できた¹⁵⁾. (期待したように)これらの濃度は血中よりも高かったのであるが, なぜであろうか? 確かにmRNA, 抗体染色の解析などから, 合成酵素の発現は, 精巣・卵巣などと比べて1/200~1/5,000と大変低いのであるが, しかし神経細胞は小さく, 海馬の体積は0.1 ml程度で血管の体積20 mlの1/200程度である. 海馬は全身にステロイドを配達する内分泌器官ではないので, 海馬では地産地消で使うとすれば, 少量の酵素で十分であると説明できる.

T合成のスイッチは何かを同定することは, 大きな課題である. 神経シナプス伝達を活性化させると, 神経ステロイド合成が上昇するのでこれは一つのスイッチである¹⁰⁾. 運動は神経を活性化させるので, その結果DHT合成が上がるのではないと思われる.

以上の神経でのT, DHT, E2の合成と作用を図7にまとめた.

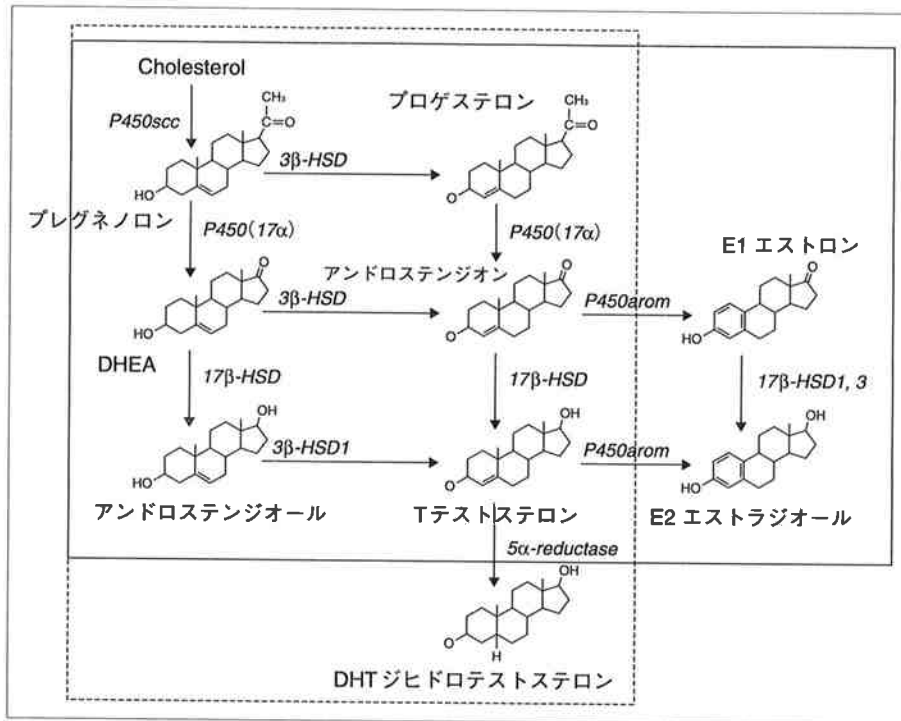


図5 海馬神経でのコレステロールから男性・女性ホルモンの合成経路と合成酵素
 海馬は精巣型(点線で囲んだ) + 卵巣型(実線で囲んだ)の融合型で、♂と♀の経路に大きな差はない。しかし濃度は♂が♀よりずっと高い。精巣における代謝経路は「DHEA→アンドロステジオール→T→DHT」で、卵巣では「プロゲステロンPROG→アンドロステジオン→エストロン→E2」が主経路とされている。脳のステロイド合成は神経シナプス活動に依存してすばやく起こり、パルスの合成である。一方、血中から来るT、E2はサーカディアンリズムに依存していて24時間でゆっくりと変動する。E2は脳内でT→E2で合成されるので、♂が8 nM >> ♀が1 nMと♂の方が高い。

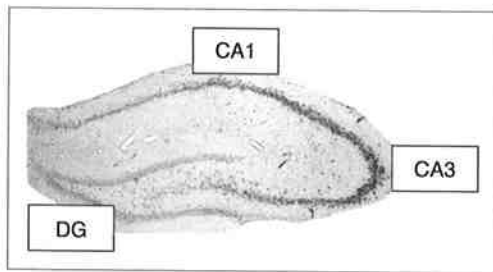


図6 海馬のグルタミン酸神経(CA1, CA3, DG)に5α-reductase(T→DHT合成酵素)が発現している様子
 5α-reductaseはmRNAのin situ hybridizationで検出した。(文献¹⁴⁾より引用)

老化による変化

老化により、海馬内のTやE2濃度は大きく減少することがわかった。もともと血中ではT

やE2濃度の老化による低下は、ヒトや動物でわかっていたが、海馬内での測定は難しくわかっていなかった。この性ホルモンの海馬での減少は記憶能力の低下に一役買っているはずである。しかし、海馬内には、よく知られた神経栄養因子が複数ある。脳由来神経栄養因子(brain derived neurotrophic factor; BDNF)、神経成長因子(neurogrowth factor; NGF)などである。神経科学的には、これらが神経シナプスや神経回路を維持している主役であると思われる。男性・女性ホルモンが、強力な神経栄養因子であると思っている人は、あまり多くない。驚いたことにBDNFやNGFは海馬の老化によってまったく減少しない¹⁶⁾。したがって、TやE2の低下は海馬記憶力の老化の主な原因であるといえてよいであろう。

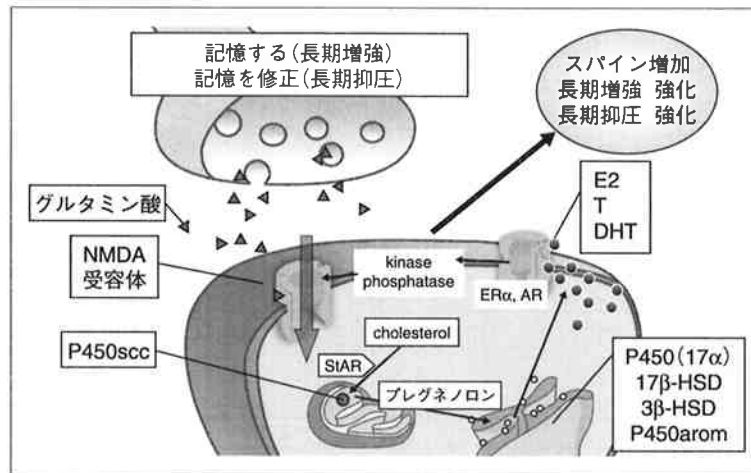


図7 海馬神経シナプスや神経細胞体でのT, DHT, E2の合成と神経シナプス伝達のモジュレーションの機構モデル
神経のシナプスと細胞体で、合成→作用の地産地消が起こる。

ここで朗報がある。24か月の老齢ラット(ヒトでは70～80歳に相当)の海馬でも、T, DHT, E2の合成酵素は若いころの70～80%程度にしか低下しない¹⁷⁾。一方、精巣ではこれらの合成酵素が激減してしまう(合成能ほぼゼロ)のと比べると、海馬が頑張れば、記憶の神経シナプスはかなり維持できるのではないであろうか?

最近、ラットに適度な運動を2週間させると、海馬のDHTが増加して→受容体ARを介して神経新生が増えることを見出した¹⁸⁾。精巣摘出したラットでも運動で同じ効果がある。これは海馬が合成する男性ホルモンの記憶神経効果の新しい展開であり、ホルモン補充をしなくても、運動で記憶力が良くなることは朗報である。

さて、脳の男性ホルモンだけで何ができるのだろうか?と考えると→答えは中国の宦官にあるのでは。史記を書いた司馬遷、紙を発明した蔡倫、大航海を成し遂げた鄭和、後宮から政治を牛耳った宦官などが有名である。宦官は、精巣の男性ホルモンがなくとも、脳の男性ホルモンが発揮する知力で偉業を成し遂げ政治を動かせたのである(子供は作れないが)。

以上の事実(と推測)は、この15年間に大いに進んだ神経ステロイド学の成果によっているが、詳しくは川戸研のhome page(<http://kawato-glia.sakura.ne.jp>)にある、論文や記事を読んでい

ただくともっとよくわかる。

謝辞：以上の研究は、川戸研の学生や研究員であった、北條・畑中・長谷川・釣木澤・荻上・向井・村上・石井・肥後・大石・小松崎・三橋・木本・棟朝の各博士が中心となって進めたものです。運動効果は征矢・岡本(筑波大)両氏との共同研究です。科学技術振興機構のCREST, Bioinformatics, 科学技術振興調整費のプロジェクトに支えられた成果でもあります。

文 献

- 1) Mukai H, Tsurugizawa T, Murakami G, et al. Rapid modulation of long-term depression and spinogenesis via synaptic estrogen receptors in hippocampal principal neurons. *J Neurochem* 2007 ; 100 : 950.
- 2) Mukai H, Hatanaka Y, Mitsuhashi K, et al. Automated analysis of spines from confocal laser microscopy images : application to the discrimination of androgen and estrogen effects on spinogenesis. *Cereb Cortex* 2011 ; 21 : 2704.
- 3) Hatanaka Y, Mukai H, Mitsuhashi K, et al. Androgen rapidly increases dendritic thorns of CA3 neurons in male rat hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun* 2009 ; 381 : 728.
- 4) Mukai H, Kimoto T, Hojo Y, et al. Modulation of

- synaptic plasticity by brain estrogen in the hippocampus. *Biochim Biophys Acta* 2010 ; 1800 : 1030.
- 5) Hojo Y, Higo S, Kawato S, et al. Hippocampal synthesis of sex steroids and corticosteroids : essential for modulation of synaptic plasticity. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2011 ; 2 : 43.
 - 6) Ooishi Y, Mukai H, Hojo Y, et al. Estradiol rapidly rescues synaptic transmission from corticosterone-induced suppression via synaptic/extracellular steroid receptors in the hippocampus. *Cereb Cortex* 2012 ; 22 : 926.
 - 7) Hatanaka Y, Hojo Y, Mukai H, et al. Rapid increase of spines by dihydrotestosterone and testosterone in hippocampal neurons : dependence on synaptic androgen receptor and kinase networks. *Brain Res* doi: 10.1016/j.brainres.2014.12.011.
 - 8) Hasegawa Y, Hojo Y, Kojima H, et al. Estradiol rapidly modulates synaptic plasticity of hippocampal neurons : Involvement of kinase networks. *Brain Res* doi: 10.1016/j.brainres.2014.12.056.
 - 9) Hajszan T, MacLusky NJ, Leranth C. Role of androgens and the androgen receptor in remodeling of spine synapses in limbic brain areas. *Horm Behav* 2008 ; 53 : 638.
 - 10) Kimoto T, Tsurugizawa T, Ohta Y, et al. Neurosteroid synthesis by cytochrome p450-containing systems localized in the rat brain hippocampal neurons : N-methyl-D-aspartate and calcium-dependent synthesis. *Endocrinology* 2001 ; 142 : 3578.
 - 11) Kawato S, Hojo Y, Kimoto T. Histological and metabolism analysis of P450 expression in the brain. *Methods Enzymol* 2002 ; 357 : 241.
 - 12) Hojo Y, Hattori TA, Enami T, et al. Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone by cytochromes P45017alpha and P450 aromatase localized in neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 ; 101 : 865.
 - 13) Kato A, Hojo Y, Higo S, et al. Female hippocampal estrogens have a significant correlation with cyclic fluctuation of hippocampal spines. *Front Neural Circuits* 2013 ; 7 : 149.
 - 14) Higo S, Hojo Y, Ishii H, et al. Endogenous synthesis of corticosteroids in the hippocampus. *PLoS One* 2011 ; 6 : e21631.
 - 15) Hojo Y, Higo S, Ishii H, et al. Comparison between hippocampus-synthesized and circulation-derived sex steroids in the hippocampus. *Endocrinology* 2009 ; 150 : 5106.
 - 16) Perovic M, Tesic V, Mladenovic Djordjevic A, et al. BDNF transcripts, proBDNF and proNGF, in the cortex and hippocampus throughout the life span of the rat. *Age (Dordr)* 2013 ; 35 : 2057.
 - 17) Munetomo A, Hojo Y, Higo S, et al. Aging-induced changes in sex-steroidogenic enzymes and sex-steroid receptors in the cortex, hypothalamus and cerebellum. *J Physiol Sci* 2015 ; 65 : 253.
 - 18) Okamoto M, Hojo Y, Inoue K, et al. Mild exercise increases dihydrotestosterone in hippocampus providing evidence for androgenic mediation of neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012 ; 109 : 13100.

* * *