

## アンドロゲンの神経機能調節作用

川戸 佳\*

近年の研究により、アンドロゲンやエストロゲンが海馬で独自に合成されていることが、明らかになってきた。ステロイドの合成酵素や受容体はグルタミン酸神経に沿って発現している。しかし、合成酵素の mRNA や蛋白のレベルは精巣・卵巣の数百分の一である。しかしながら、海馬内のアンドロゲンやエストロゲン濃度は血中から来る濃度よりずっと多い。これは、血管体積の数百分の一体積が小さい海馬で計算するのでこうなるのである。一方、作用研究からは、アンドロゲンやエストロゲンは、記憶中枢の海馬の神経回路のシナプスに早く・強く作用することがわかってきた。更年期を過ぎると、海馬の性ステロイド合成能は衰え（卵巣・精巣の合成能は脳より早く衰える）、アンドロゲンやエストロゲンの脳内の濃度は低下し、その結果、記憶能力が低下して 認知症・アルツハイマー病・うつ病などになると考えられる。性ホルモン補充療法は記憶機能回復に有効であり、臨床的にも重要な分野である。

### Role of Androgen in the Elderly.

#### *Modulation of synaptic plasticity by brain-synthesized androgens.*

*Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo, Japan.*

*Suguru Kawato*

Recently, brain synthesis of androgen and estrogen has been extensively investigated. Steroidogenic enzymes and receptors are expressed in glutamatergic neurons. The expression levels of mRNA or proteins for enzymes are as low as 1/200 ~ 1/1,000. However, hippocampal levels of androgen and estrogen are much higher than those of plasma. This is due to the fact that the volume of hippocampus is as small as 1/200 of the blood vessels. Androgen and estrogen can rapidly modulate synaptic plasticity of neural circuits. After andropause or menopause, the levels of androgen and estrogen in the hippocampus may significantly decrease, inducing dementia, Alzheimer's or depression. Hormone replacement therapy is valid for rescue of memory function, therefore synthesis and action of hippocampal androgen and estrogen is an important field for investigations.

\*東京大学大学院総合文化研究科・広域科学専攻・教授（かわと・すぐる）

はじめに

従来、神経内分泌学では脳神経に作用するステロイドホルモンは精巣・卵巣・副腎皮質などで合成され、血流によって供給されるものと信じられてきた。ペプチドホルモンが脳でも体でも合成されるのと比べると、脳で合成されないステロイドは不思議な存在であった。しかし近年の研究により、男性・女性ホルモンをはじめとする様々な神経ステロイドが脳で独自に合成されていること

が、明らかになってきた。

ところが、合成酵素の mRNA や蛋白のレベルは精巣・卵巣の数百分の一である。しかしながら、海馬内のアンドロゲンやエストロゲン濃度は血中から来る濃度よりずっと多い。このような一見矛盾する事実は、実はうまく説明できる。一方、作用研究からは、アンドロゲンやエストロゲンは、記憶中枢の海馬の神経回路のシナプスに早く・強く作用することがわかってきた。従来の核受容体

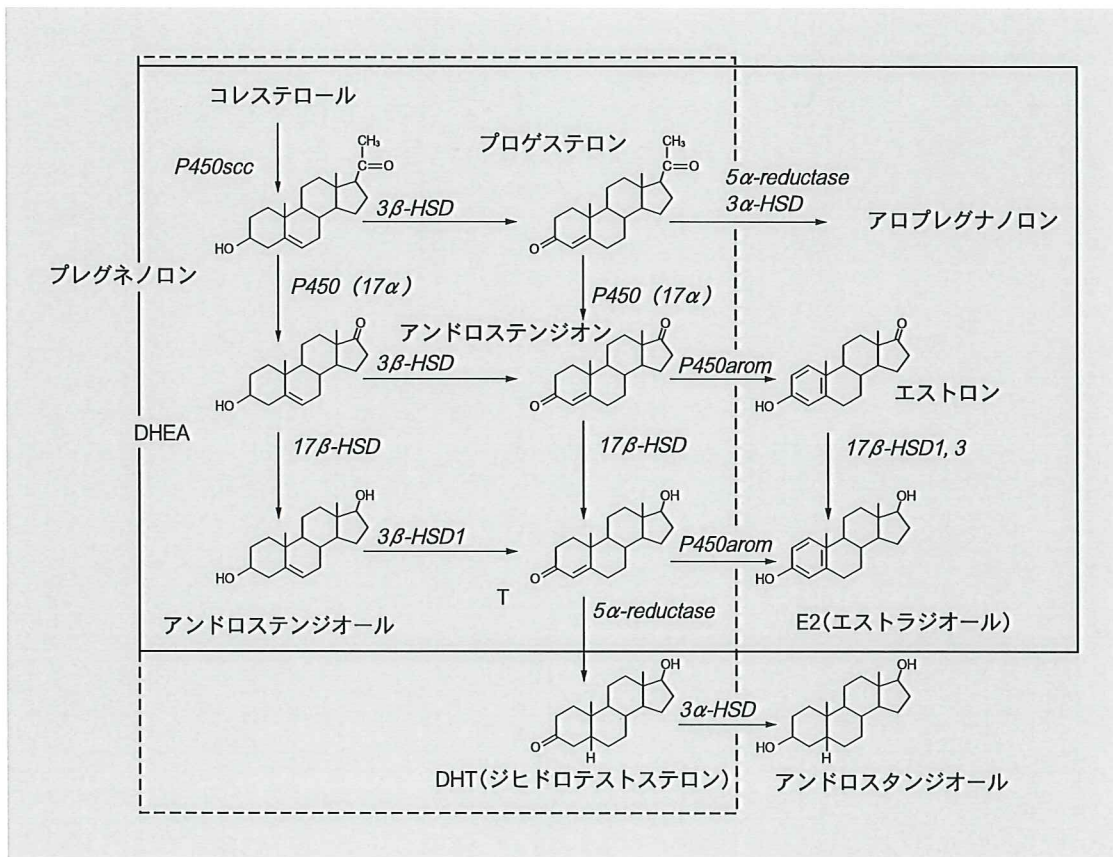


図1 海馬神経でのコレステロールからの女性・男性ホルモンの合成経路と合成酵素

コレステロールも海馬内で合成される。海馬は精巣+卵巣の融合型でオスとメスに大きな差はない。精巣におけるテストステロン (T) の代謝経路は「DHEA→アンドロステジオール→T→DHT」で、卵巣においてはE2の代謝経路は「プロゲステロン (PROG)→アンドロステジオン→エストロン→E2」とされている。視床下部や皮質などでも、似たような合成系が働いている結果も得られている。脳のステロイド合成は、神経活動に依存してすばやく起こりパルシ的合成である。それに比較して、血中から来るステロイドは時間変化がサーカディアンリズムに依存してゆっくりと変動する。メスでは、海馬Tは1.5 nM程度で、E2は海馬1 nM > 血中0.01 ~ 0.1 nMと海馬が圧倒的に高い。オスではTは海馬17 nM > 血中15 nMと海馬が少し高く、E2は海馬8 nMとメスE2よりずっと高い。

(筆者作成)

が働いて蛋白合成を経る遅いステロイド作用と異なる新しい複数の作用経路は、神経作用においては非常に重要である。

### 海馬におけるアンドロゲンとエストロゲンの合成<sup>1)~11)</sup>

我々の研究を含む、最近 10 年間の研究の結果判明した、海馬(主にラットとマウス)でのステロイドの生合成経路を図 1 に示す。コレステロール → プレグネノロン(PREG, cytochrome P450scc が合成) → デヒドロエピアンドロステロン(DHEA, cytochrome P450 [17 $\alpha$ ] が合成) → テストステロン(T, 17 $\beta$ -HSD が合成) → ジヒドロテストステロン(DHT, 5 $\alpha$ -reductase が合成、平行して T → エストラジオール(E2, P450arom が合成) という経路である。最も難題であったのは、P450 (17 $\alpha$ ) が mRNA でも蛋白でも、脳には存在しないという数多くの論文報告を覆すことであった。この分野の開拓者 E. Baulieu 教授(パリの国立医学衛生学研究機構、最近退官して 80 歳近いが元気)は、PREG やプロゲステロン(PROG)までが神経ステロイドであって、その先のステロイド代謝物は脳にはない、つまり、どんな実験からも P450 (17 $\alpha$ ) は存在しないし DHEA や T も合成されないという論文を PNAS 誌などに繰り返し書いていたので、これは大きな壁であった<sup>9)~11)</sup>。「DHEA より下流の性ステロイドは、卵巣・精巣のみで合成され、血中をめぐり脳に到達して作用する」というのが、今に至る常識であった。精巣摘出を行うと 2 日以内で、確かに脳内の T は大きく減少する(従来の Radioimmunoassay や質量分析の技術ではゼロになってしまう程に減少する)。しかし検出感度を 100 ~ 1,000 倍上げることで、ようやく脳内合成から来

る T を捉えることができるようになった。

1990 年代には分子生物解析が進み、P450, 3 $\beta$ -HSD などの mRNA は卵巣や副腎皮質の 1/100 以下であるということが示されてしまい、ほとんどの P450 生化学者は、脳での働きは重要性がないものだと考え、研究からは撤退していった。しかし我々は、E2 やストレスステロイドが神経機能に 1 時間ほどで早く効くことから、脳で作られていないとつじつまが合わないと思い、粘り強く研究を進めた(1990 年~)。10 年間かけて抽出法や測定法の検出感度を 1,000 倍上げることで、ようやく脳内ステロイドの実態を捉えることができるようになった。対象として神経内分泌学でよく使われる視床下部ではなく、海馬を使用した理由は、記憶の研究がやりたかったからだが、これが神経ステロイド作用を特定するのに適していた。

海馬スライスを用いた抗体染色で、(よく用いられている抗血清ではなく)精製した綺麗な抗体を用いて P450scc, P450 (17 $\alpha$ ), P450arom (図 4 [59 頁] 参照) が神経にきれいに局在していることを発見した<sup>1)2)4)12)</sup>。それまでの学会の予想<sup>8) 13)</sup>とは異なり、グリアには少なかった。

性ホルモン合成に必要な他の酵素(17 $\beta$ -HSD [type 1, 2, 3, 4], 3 $\beta$ -HSD, 5 $\alpha$ -reductase など)も全て見出せた。mRNA や Western blot から、これらの濃度は、精巣・卵巣などと比べて 1/200 ~ 1/5,000 と大変低かったが、私がかかりしなかった。なぜなら神経細胞は小さく、海馬の体積は 0.1 mL 程度で血管体積 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なく、海馬では地産地消なのでこれで十分のはずである。

合成解析では、<sup>3</sup>H- 標識した酵素の基質を海馬

PREG : プレグネノロン, DHEA : デヒドロエピアンドロステロン, T : テストステロン  
DHT : ジヒドロテストステロン, E2 : エストラジオール, PROG : プロゲステロン

スライスとインキュベートして代謝させ、生成物を HPLC (high performance liquid chromatography) で精製して計測することで、T, DHT, E2 などの合成経路を決定した。海馬の合成系の特徴は、精巣・卵巣の合成系の融合型であり、オスとメスの間で顕著な差が見られず、オスの脳でも E2 が、そしてメスの脳でも T, DHT が合成される点である。これは、精巣・卵巣の性ステロイドは文字通り生殖機能の調節を担っているが、脳合成の性ステロイドは性別であり異なる神経伝達・神経可塑性の制御を行っていることを示していると考えている。

更に高感度質量分析 LC/MS/MS によって海馬中での性ホルモンの濃度を測定することに成功し<sup>3)</sup>、その結果、成獣オスラットの海馬での濃度は、T (17 nM), DHT (7 nM), E2 (8 nM)であった。ここで血中から海馬に入ってくる T の寄与を除くために、精巣摘出したラットの実験を行って比較した結果、T → DHT の合成経路では海馬内の T の 8 割は血中から供給され、2 割は海馬内で合成されることがわかった。一方、海馬の DHT (7 nM) は血中の DHT (0.6 nM) より 10 倍多いことがわかり、海馬での合成が多い。面白いことに、メスでも海馬の E2 (1 nM) は血中 (0.1 ~ 0.01 nM) より 10 倍以上も高く、メスでも血中から海馬に入る E2 の寄与は非常に低く、海馬内合成が主であることがわかった。また E2 はオスの方がメスより 8 倍も多く、性腺や血中での男性ホルモン・女性ホルモンの多寡の常識とは反対である。

海馬における合成経路は、精巣・卵巣の融合型であり、オスとメスの間で顕著な差が見られず、オスの脳でも E2 が、そしてメスの脳でも T, DHT が合成されるという、面白い現象が展開している。精巣・卵巣のような生殖機能の調節を担

う部位と異なり、海馬合成の性ステロイドは性によらない神経伝達・神経可塑性の制御を行っているからではないかと考えている。さらに、P450 (17 $\alpha$ ) と P450arom は神経細胞のミクロソームのみならず、シナプス後部 (= スパイン) 内やシナプス後肥厚にも存在することが免疫電子顕微鏡観察によって明らかとなった<sup>4)</sup>。これは即ち、E2 が細胞体のみならずシナプスにおいても局所的に合成されていること (シナプス分泌) を示唆し、E2 が神経シナプス伝達を 1 ~ 10 分程度の短時間のうちにも制御することが可能であることを支持する。

海馬における E2 の合成については、我々以外にも、Rune 教授 (Hamburg 大学) が発達期の培養海馬スライスを使用して、海馬の E2 産生が P450arom 阻害剤の添加で 24 時間後に低下する事実から合成能を報告している<sup>7)</sup>。しかし 2000 年以前は、神経ステロイドは神経ではなくグリアで合成されるという論文がほとんどであった。これは、当時は培養し増やすことのできる細胞は生誕後すぐのグリア細胞だけであったことによる。神経細胞は分裂・増加しないので、取り扱いが難しかったせいであろう<sup>13)</sup>。

#### エストロゲンとアンドロゲンの海馬神経シナプスへの作用<sup>14)~20)</sup>

更年期過ぎの女性にはアルツハイマー病や認知症が多発するので、E2 を送り込み海馬の記憶能力を活性化するホルモン補充療法が広く行われている<sup>15)</sup>。この効果の理由を解明するためもあって、E2 の作用研究は活発に行われている。面白いことに実験対象はオスの海馬が結構多い。これはオスの海馬では T から変換される E2 が多く存在するので生理的な意味があることと、メスでは生理周期を区別する必要があつて実験が大変面倒

HPLC : high performance liquid chromatography

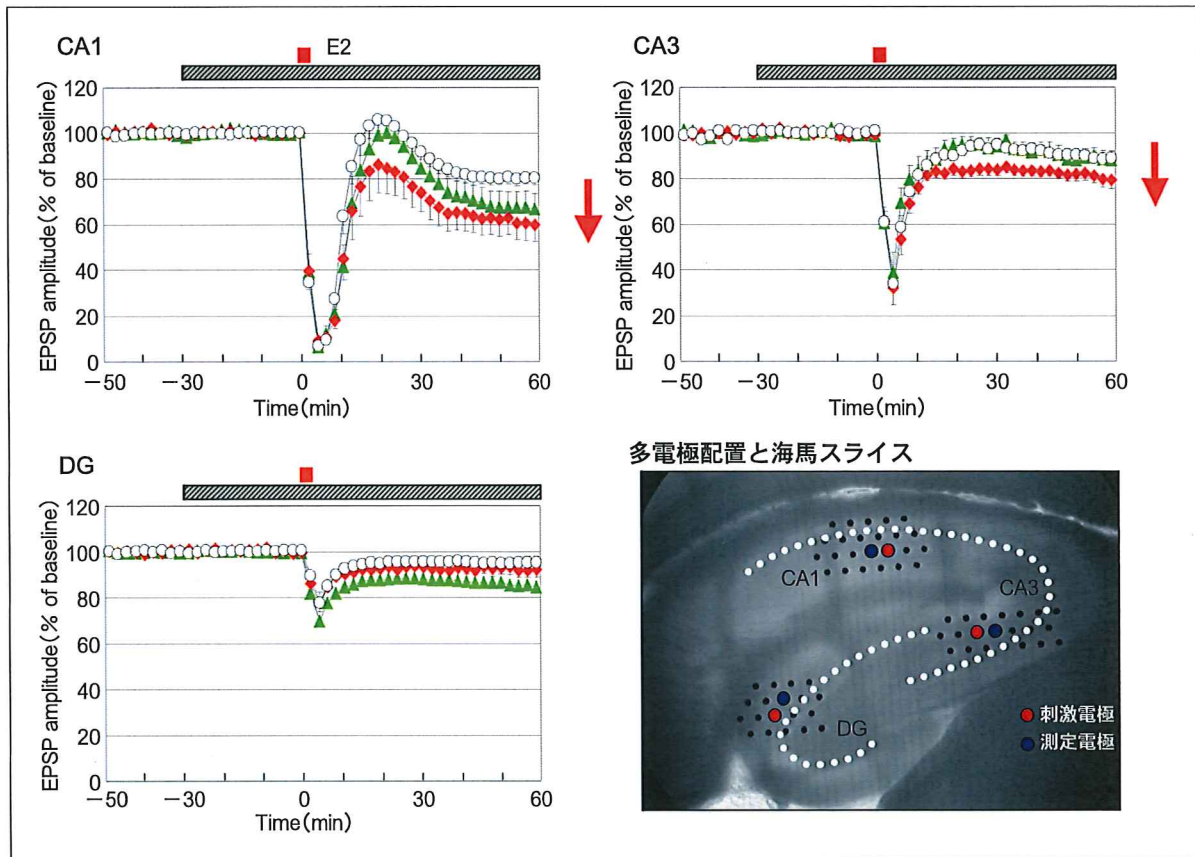


図2 E2による長期抑圧の強化

海馬スライスのCA1, CA3, DG領域のグルタミン酸神経系では, NMDA (N-メチル-D-アスパラギン酸) の3分間刺激(図上部の小四角)により,  $1\mu\text{M}$ 程度の $\text{Ca}^{2+}$ がスパインに流入し長期抑圧が誘導される(縦軸の興奮性シナプス後電位が減少)。斜線横棒で示すようにE2を灌流しておくで長期抑圧が強化される。グラフのE2濃度は上から0 nM 白, 1 nM 緑色, 10 nM 赤色。長期抑圧の強化はCA1で一番顕著である。

(文献14より)

であることが理由である。ステロイドホルモン作用機構としてよく研究されているのは, 核に移行するエストロゲン受容体を介し遺伝子転写の制御によって数時間~数日かけて機能を発現するもの(長期作用; 神経保護やシナプス増加)である。海馬ではこの他に, 遺伝子の転写を介さずに短時間(2時間程度)で記憶に効果が現れる短期作用を見出した。E2は, 長期増強(記憶の書き込み)や長期抑圧を強化するのである(図2)<sup>14)~16)</sup>。長期抑圧は誤ったシナプス記憶を消す作用であり, この作用がないと, 全体として正しい記憶を形成でき

ない。最初は大雑把に記憶するが, 半分程度は誤った記憶で, その後反復して正しい記憶に修正しているのが常である。長期抑圧ができないようにすると神経行動テストの成績が悪くなる。海馬スライスでは1~10 nMのE2を灌流しておくで, 長期抑圧が強化される<sup>14) 21)</sup>。

記憶作用では, 神経シナプスの構造を可視化して調べる方法もある。(オスでもメスでも)E2は, 神経スパイン(棘突起: シナプス後部)の密度を変化させることによって, 海馬の神経可塑性を制御している<sup>14) 19)</sup>。スパインは, シナプス前部と

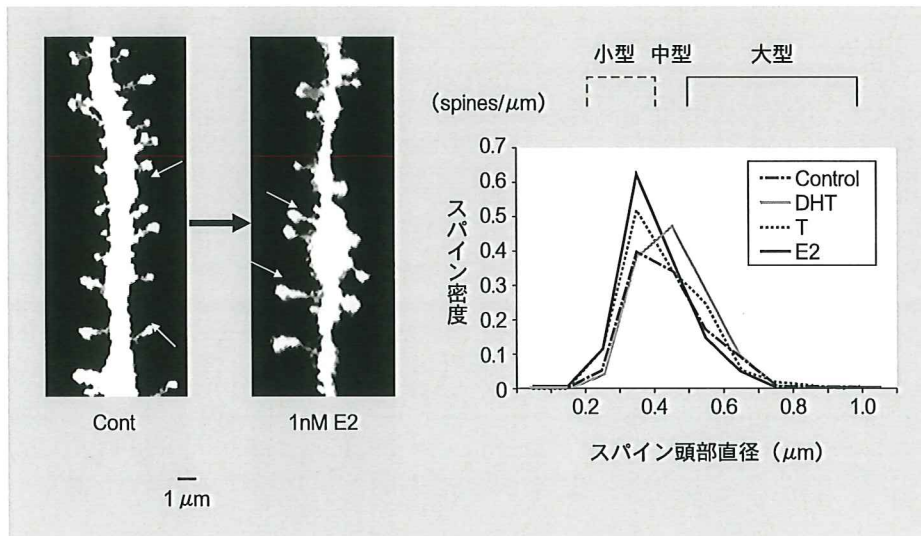


図3 E2, T, DHT の作用によるスパイン増加と頭部形態の変化

海馬スライスに1 nMのE2, 10nMのDHTとTを作用させると、2時間でグルタミン酸神経のスパイン密度が1.2～1.4倍増加する。単一神経には樹状突起が存在するスパイン(矢印)は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り、その頭部直径は光の波長程度0.2～1.0 μmという微細なものである。

海馬はオスを使用。

これらの結果から推測すると、前立腺がんの治療薬や男性型脱毛症用薬として使用される5α-reductase阻害薬は海馬でもT→DHT変換を止めるので、記憶や抗不安作用に悪影響を及ぼすかもしれない。同様に、前立腺がんの治療薬の男性ホルモン受容体阻害剤も記憶や抗不安作用に悪影響を及ぼすかもしれない。

E2：エストラジオール, DHT：ジヒドロテストステロン, T：テストステロン

(文献16より)

一緒になって記憶を蓄える最小部位シナプスを構成する。神経に蛍光色素を注入して共焦点顕微鏡で3次元画像を撮影し、個々のスパインを可視化し、E2の作用を検討したところ、海馬スライスに1～10 nM E2を2時間作用させると、CA1部位ではスパイン密度が増加する<sup>14)16)</sup>(図3)。スパイン頭部の直径は0.2～1.0 μmと可視光の波長ほど小さいが、特に小型スパイン(0.2～0.4 μm)の増加が目立つ。中型スパイン(0.4～0.5 μm)や大型スパイン(0.5～1.0 μm)は変化が少ない。この頭部直径の解析では、我々が開発した

スパインの数理解析プログラム Spiso-3D の威力で可能になった<sup>16)</sup>。

このスパイン作用を媒介する情報伝達は、E2→受容体ERα(シナプス局在, 図4参照)→PKA, PKC→MAPK(mitogen-activated protein kinase), PI3K(phosphoinositide 3-kinase)などのキナーゼ群となっていることがわかった。シナプスに局在するERαは、核に移動しなくともすぐに隣のキナーゼを活性化するというところが、新しい概念である。キナーゼはアクチンの重合/脱重合を制御する蛋白質のリン酸化を行い、

MAPK : mitogen-activated protein kinase, PI3K : phosphoinositide 3-kinase

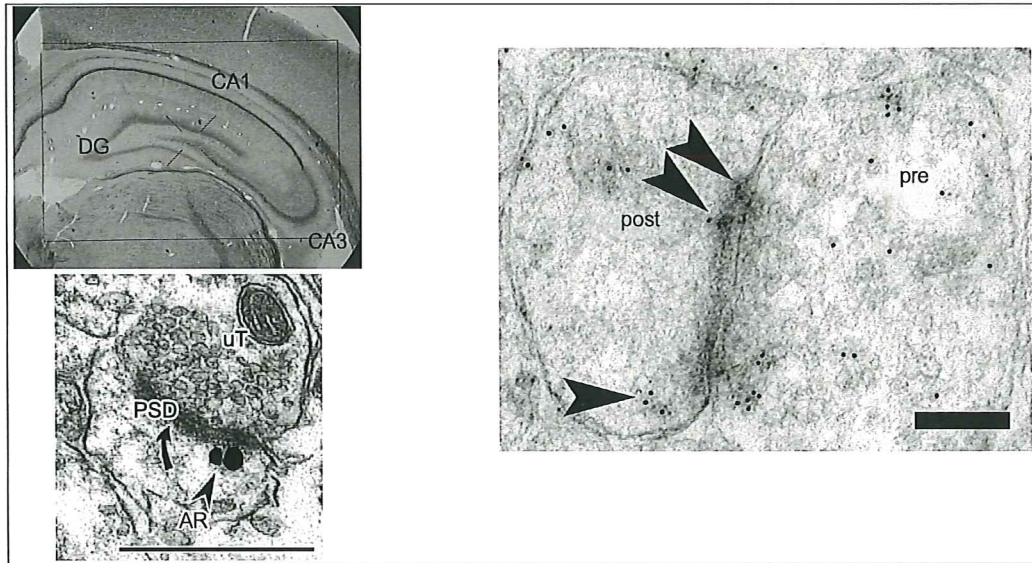


図4 海馬神経でのAR<sup>23)</sup>とP450 (17 $\alpha$ )<sup>4)</sup>の局在

左上はARがグルタミン酸神経に分布している抗体染色像で、存在量はCA1 > CA3 ~ DGである。左下は、ARのCA1神経シナプスでの局在を示す金抗体免疫電子顕微鏡像（銀増幅法で1個のARでも大きく染色）。右は、シトクロムP450 (17 $\alpha$ )のCA1神経シナプスでの局在を示す金抗体免疫電子顕微鏡像（後包埋法で黒点は1分子のP450 [17 $\alpha$ ]に対応）。これらの蛋白はスパイン=シナプス後部 (post) に発現しているが、細胞質にもある。T, DHTの局所合成→局所作用のシナプス分泌機構を示唆するはずである。

PSDはpostsynaptic density。Scale barは500 nm (AR), 200 nm (P450 [17 $\alpha$ ])。

(文献4, 23より)

その結果スパインが増加すると考えている。これまでE2がスパインなどの神経回路を変化させるためには12時間以上の長い時間が必要と考えられてきたが<sup>3)</sup>、我々の発見した非常に早いスパイン変動は、この常識を覆すものである。

#### 加齢とアンドロゲン

更年期などの加齢により海馬内のE2が低下するとスパイン数が減少して、シナプスも減少するので、記憶機能は低下するはずである。ヒトの女性にホルモン補充療法でE2を送り込むと海馬の記憶能力を活性化できる理由は、このスパイン密度回復効果にあると解釈できる。我々は、E2の作用部位エストロゲン受容体ER $\alpha$ の局在を調べるため精製抗体RC-19を作成し（広島大学・小南教授、故人）、金コロイド免疫電子顕微鏡解析を

行った。その結果、海馬のグルタミン酸神経に発現しており、細胞体や核のみならず、神経シナプス後部（スパイン）・前部にもER $\alpha$ が確かに局在していることを発見した（図4）<sup>14)</sup>。我々の研究以前には、ER $\alpha$ は抑制性のGABA神経に極わずかに存在するという結果が常識だったので、大きな違いである。これは世界中で、あまり精製度の良くない抗血清が使用されてきたことによる。内分泌器官ではER $\alpha$ が多いので、抗血清でもしっかりした染色が得られるが、脳のようにER $\alpha$ が少ない場所では、抗血清は結合が悪いが、他の類似蛋白に結合してしまい、正しい結果が得られないのである。注意すべきはmonoclonal antibodyといえども抗原が少ない脳では、他の類似ペプチド配列を持つ蛋白に結合してしまうので、結果は信用できない。このことを認識している人は少な

いが、分子生物学の創始者として有名で ER $\alpha$  の発見者 Prof. Chambon と話した時、「そうだそうだ monoclonal antibody is not monoclonal」と意見が一致して、この人は頭がいいと、うれしかったことを思い出す。

一方、男性ホルモンの T や DHT の記憶作用研究は、E2 と比べるとずっと少なく、高次脳機能での T、DHT の作用は良くわかっていない。これは男性の更年期が女性の更年期に比べて研究されていないことにもよる。海馬への注入で、脳では T や DHT には抗不安作用 (勇敢にする作用) がある。我々の実験では、T や DHT を海馬神経スパインに 2 時間作用させると、急性的に CA1、CA3 でスパイン密度が増加した<sup>16) 20)</sup>。E2 効果と似ているが、PI3K を駆動しない点と、大型スパイン

(0.5 ~ 1.0  $\mu$ m) が増加する点が E2 とは異なる。T と DHT を比較すると、作用は似ているが DHT のほうが T より作用力が強い。男性ホルモン受容体としてはシナプスにも核と同じアンドロゲン受容体 (AR) が見出されており、この AR を介して下流のキナーゼ群 (MAPK, PKA, PKC) を駆動しているという結果を得ている<sup>20)</sup>。

男性でも、更年期や加齢により、脳内の T や DHT の低下でスパイン数が減少して記憶機能は低下し、アルツハイマー病や認知症が発生すると思われる。これに対する方法として、男性患者に対するテストステロン補充療法 (飲む・パッチを貼る・鼻スプレーなど) が考えられるが、現在のところ女性に対する女性ホルモン補充療法ほど一般化していない。しかし近い将来は一般化すると

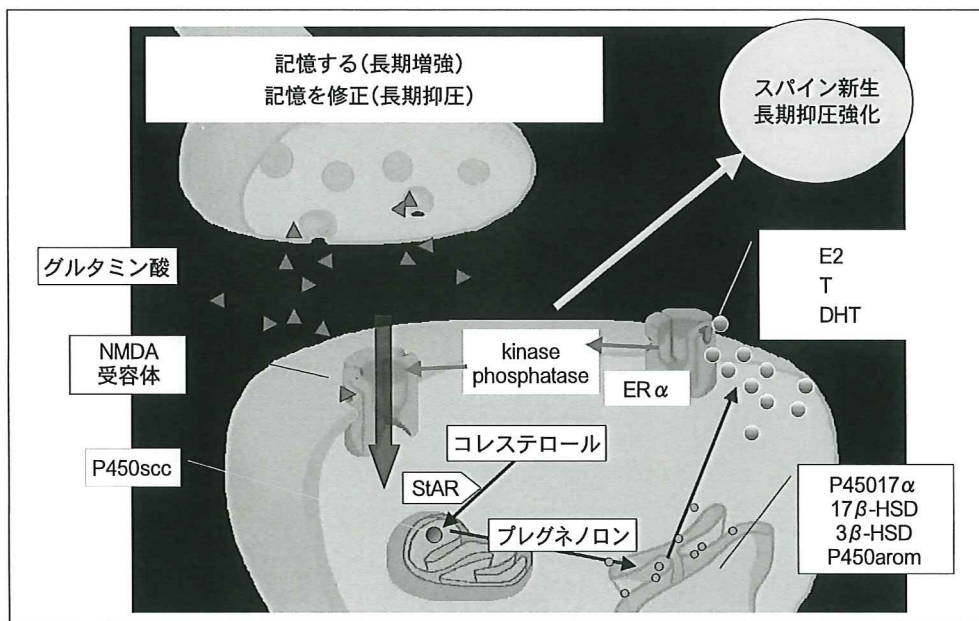


図5 海馬神経シナプスでの T、DHT、E2 の合成と神経シナプス伝達のモジュレーションの機構 (synaptocrine 機構)

神経で合成→作用の地産地消が起こるので neurocrine 神経分泌ともいえる。

E2：エストロジオール， T：テストステロン， DHT：ジヒドロテストステロン， StAR：steroidogenic acute regulatory protein

(筆者作成)

AR：アンドロゲン受容体， StAR：steroidogenic acute regulatory protein



期待する。男性に体に接種する E2 補充療法を行うと、体への副作用が問題となるので、むしろ T を入れて脳の内部で E2 と DHT に変換したほうが良いと考える。ちなみに 2013 年、80 歳でエベレスト登頂を成し遂げた三浦雄一郎さんは、テストステロン補充療法で、やる気が回復したという話を日本 Men's Health 医学会の熊本理事長から聞いている。

## おわりに

以上の合成と作用のまとめを図 5 に示す<sup>15) 18) 22)</sup>。「記憶するぞ」と努力すると、 $10 \mu\text{M}$  程度の  $\text{Ca}^{2+}$  がミリ秒幅のパルスで繰り返シスパイン (シナプス後部) に流入する、また「誤った記憶を修正したい」と努力すると、数分間  $1 \mu\text{M}$  程度の  $\text{Ca}^{2+}$  がスパインに流入する、これらの  $\text{Ca}^{2+}$  濃度上昇により StAR (steroidogenic acute regulatory protein) がミトコンドリアにコレステロールを運び、神経ステロイドの合成活性化が起こる。合成された T, DHT, E2 などは、スパインにある受容体  $\rightarrow$  PKC, PKA, MAPK (蛋白キナーゼ類)  $\rightarrow$  アクチン制御蛋白のリン酸化  $\rightarrow$  アクチン重合  $\rightarrow$  スパインの増加を引き起こす。合成された T, DHT, E2 はスパインにある受容体  $\text{ER}\alpha$ , AR やキナーゼを経て長期増強や長期抑圧の強化、更にスパインの増加を引き起こす。これらは 1~2 時間程度で起こる。神経で合成されて作用するので、「神経分泌, neurocrine」ともいえる。もちろんステロイド受容体は核にも移動し、遺伝子転写作用も引き起こす。これは時間が 12~24 時間と長くかかる、常識的なホルモン作用であるが、これによりシナプス蛋白が合成され、機能するシナプスを増加させる。

脳のアンドロゲンやエストロゲンは新種の神経栄養因子と考えられ、脳由来神経栄養因子 BDNF の増加を引き起こして間接的に作用するという経路と、それとは独立に受容体を介して直接作用す

るという経路の二つがあると思われる。今後も、直接作用の新経路が見出されて、認知症・アルツハイマー病・うつ病の治療法の開発に役に立つことを願う。

## 謝 辞

以上の研究は、川戸研究室の学生や研究員であった、向井・北條・釣木澤・荻上・村上・畑中・石井・肥後・大石・小松崎・三橋・木本の各博士が中心となって進めたものである。また、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る。

## 文 献

- 1) 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* **142** : 3578-3589, 2001.
- 2) Kawato S, Hojo Y, and Kimoto T : Histological and metabolism analysis of P450 expression in the brain. *Methods Enzymol* **357** : 241-249, 2002.
- 3) Kawato S, Yamada M, and Kimoto T : Brain neurosteroids are 4th generation neuromesengers in the brain : cell biophysical analysis of steroid signal transduction. *Adv Biophys* **37** : 1-48, 2003.
- 4) 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* **101** : 865-870, 2004.
- 5) Hojo Y, Higo S, Ishii H, et al : Comparison between hippocampus-synthesized and circulation-derived sex steroids in the hippocam-

- pus. *Endocrinology* **150** : 5106-5112, 2009.
- 6) Kimoto T, Yamada M, Ichikawa T, et al : Digital fluorescence analysis of trafficking of single endosomes containing low-density lipoprotein in adrenocortical cells : facilitation of centripetal motion by adrenocorticotrophic hormone. *Mol Cell Endocrinol* **307** : 185-195, 2009.
  - 7) Kretz O, Fester L, Wehrenberg U, et al : Hippocampal synapses depend on hippocampal estrogen synthesis. *J Neurosci* **24** : 5913-5921, 2004.
  - 8) Le Goascogne C, Robel P, Guezou M, et al : Neurosteroids : cytochrome P-450scc in rat brain. *Science* **237** : 1212-1215, 1987.
  - 9) Le Goascogne C, Sananes N, Guezou M, et al : Immunoreactive cytochrome P-450 (17 alpha) in rat and guinea-pig gonads, adrenal glands and brain. *J Reprod Fertil* **93** : 609-622, 1991.
  - 10) Baulieu EE : Neurosteroids : of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system. *Recent Prog Horm Res* **52** : 1-32, 1997.
  - 11) Baulieu EE, and Robel P : Dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) as neuroactive neurosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95** : 4089-4091, 1998.
  - 12) Shibuya K, Takata N, Hojo Y, et al : Hippocampal cytochrome P450s synthesize brain neurosteroids which are paracrine neuromodulators of synaptic signal transduction. *Biochim Biophys Acta* **1619** : 301-316, 2003.
  - 13) Zwain IH, and Yen SS : Dehydroepiandrosterone : biosynthesis and metabolism in the brain. *Endocrinology* **140** : 880-887, 1999.
  - 14) 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* **100** : 950-967, 2007.
  - 15) Mukai H, Kimoto T, Hojo Y, et al : Modulation of synaptic plasticity by brain estrogen in the hippocampus. *Biochim Biophys Acta* **1800** : 1030-1044, 2010.
  - 16) Mukai H, Hatanaka Y, Mitsunashi 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* **21** : 2704-2711, 2011.
  - 17) Ooishi Y, Mukai H, Hojo Y, et al : Estradiol rapidly rescues synaptic transmission from corticosterone-induced suppression via synaptic/extranuclear steroid receptors in the hippocampus. *Cereb Cortex* **22** : 926-936, 2012.
  - 18) Ooishi Y, Kawato S, Hojo Y, et al : Modulation of synaptic plasticity in the hippocampus by hippocampus-derived estrogen and androgen. *J Steroid Biochem Mol Biol* **131** : 37-51, 2012.
  - 19) Tsurugizawa T, Mukai H, Tanabe N, et al : Estrogen induces rapid decrease in dendritic thorns of CA3 pyramidal neurons in adult male rat hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun* **337** : 1345-1352, 2005.
  - 20) Hatanaka Y, Mukai H, Mitsunashi K, et al : Androgen rapidly increases dendritic thorns of CA3 neurons in male rat hippocampus. *Biochem Biophys Res Commun* **381** : 728-732, 2009.
  - 21) Ishii H, Tsurugizawa T, Ogiue-Ikeda M, et al : Local production of sex hormones and their modulation of hippocampal synaptic plasticity. *Neuroscientist* **13** : 323-334, 2007.
  - 22) Hojo Y, Higo S, Kawato S, et al : Hippocampal synthesis of sex steroids and corticosteroids : essential for modulation of synaptic plasticity. *Front Endocrinol (Lausanne)* **2** : 43, 2011.
  - 23) Tabori NE, Stewart LS, Znamensky V, et al : Ultrastructural evidence that androgen receptors are located at extranuclear sites in the rat hippocampal formation. *Neuroscience* **130** : 151-163, 2005.