

神経ステロイド

— 脳で合成される性ホルモンの記憶制御 —

川戸 佳

東京大学大学院総合文化研究科・広域科学専攻

(臨床麻酔 2013; 37(増): 419-29)

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は比べると、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さまざま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。脳内の濃度は血中からくる濃度よりずっと多く、驚いたことに女性ホルモンはオスの脳の方がメスの脳より多く合成する。血中とは正反対である。一方、作用研究からは、神経ステロイドは、記憶中枢の海馬の神経回路のシナプス可塑性に強く作用することが分かってきた。更年期を過ぎると、海馬の性ステロイド合成能が衰え、また卵巣・精巣の合成能は脳より早く衰えるので、男性・女性で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・Alzheimer病・うつ病などになると考えられるので、ホルモン補充療法の有用性もあり、臨床的にも重要な分野である。

1 海馬における男性・女性ホルモンの合成¹⁻¹¹⁾

われわれの研究を含む、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）での神経ステロイドの生合成経路を図①に示す。Cholesterol → プレグネノロン (PREG, cytochrome P450_{scc} が合成) → ジヒドロエピアンドロステロン (DHEA, cytochrome P450 (17 α) が合成) → テストステロン (T, 17 β -HSD が合成) → ジヒドロテストステロン (DHT, 5 α -reductase が合成), 並行して T → エストラジオール (E2, P450_{arom} が合成) という経路である。われわれにとって最も難題であったのは、

キーワード：脳、海馬、神経、記憶、神経ステロイド、内分泌

Memory and Brain-synthesized Sex-steroids

Suguru KAWATO (Graduate School of Arts and Sciences, University of Tokyo)

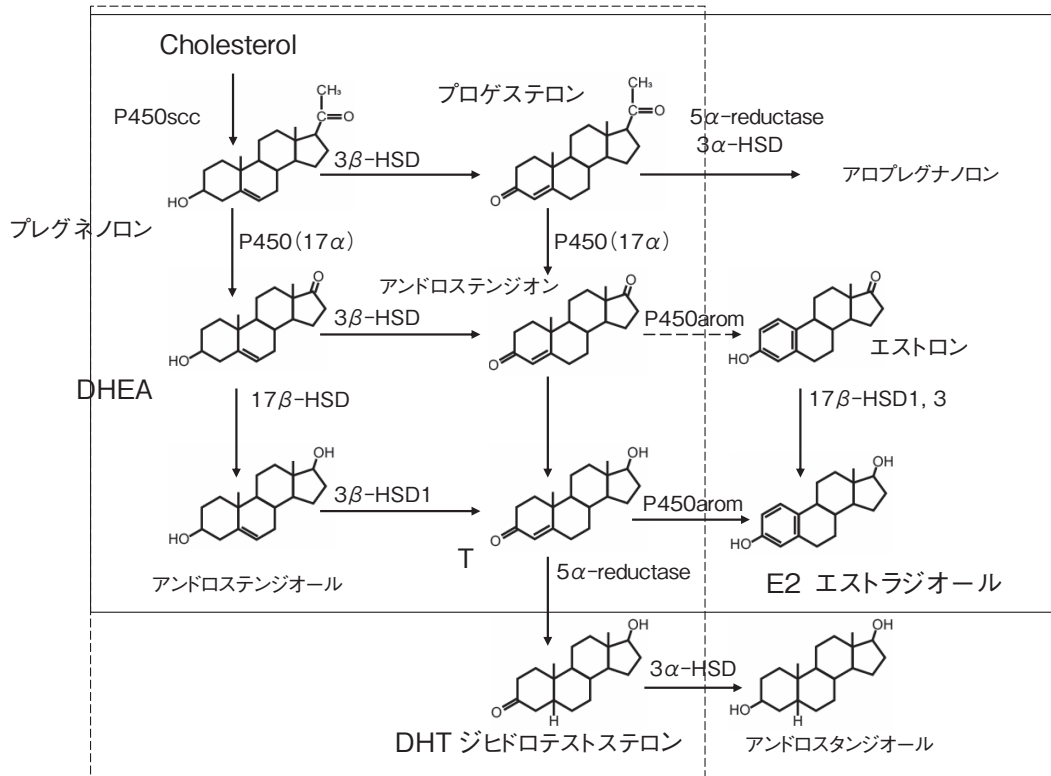


図1 海馬神経での Cholesterol からの女性・男性ホルモンの合成経路と合成酵素. Cholesterol も海馬内で合成される. 海馬は精巣+卵巣の融合型でオスとメスに大きな差はない. 精巣におけるテストステロン (T) の代謝経路は「DHEA →アンドロスタンジオール→T →DHT」で, 卵巣においては E2 の代謝経路は「プロゲステロン PROG →アンドロステンジオン→エストロン→E2」とされている. 実験結果から, 視床下部や皮質などでも, 似たような合成系が働いていると考えている. 脳のステロイド合成は神経活動に依存してすばやく起こりパルスの合成である. それに比較して血中からく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い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.

P450 (17α) 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 Progesterone (PROG) まだ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 (17α) 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⁹⁻¹¹⁾. 「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

15. 神経ステロイド—脳で合成される性ホルモンの記憶制御—

になってしまうほどに減少する)。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くるTを捉えることができるようになった。

Baulieuら¹⁰⁾は、硫酸プレグネノロンが最も重要な神経ステロイドで、これは記憶の活性化に働くという多くの論文を報告していた。世界の大勢もそれを支持していたが、何と最近、硫酸プレグネノロンは脳には存在しないと、発見者自身が報告して大騒動になった^{12,13)}。このためGustafsson教授(この分野の指導者、ノーベル医学生理学賞選考委員長も勤めた)も、2005年の私のセミナーの前置きで、“Neurosteroid is still a somewhat ambiguous field”と言っていたくらいである。1990年代後半の世界の状況は悲惨で、P450, 3 β -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いて、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、われわれはステロイド合成P450の専門家であったこともあり、脳の新しい情報伝達物質候補として解析してみたいと大胆な研究を進めた(1990年~)。体ではステロイドもペプチドも、情報伝達物質として勢力を二分しているのに、脳ではステロイドホルモンが合成されないとされているのは、間違いではないかと私は考えていた。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であるが、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P450sc, P450(17 α), P450arom(図④を参照)が神経にきれいに局在していることを発見した^{1,2,4,14)}。それまでの学会の予想^{8,15)}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 β -HSD(type 1, 2, 3, 4), 3 β -HSD, 5 α -reductaseなど)もすべて見出せた。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、私はがっかりしなかった。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、³H-標識した酵素の基質を海馬スライスとインキュベートして代謝させ、生成物をHPLC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みられず、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変わらない神経伝達・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。

さらに、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³⁾、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分かった。一方、海馬の DHT (7 nM) は血中の DHT (0.6 nM) より十倍多いことが分かった。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分かった。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みられず、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 α) 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⁴⁾。これは、すなわち 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、われわれ以外にも、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 阻害薬の添加で 24 時間後に低下する事実から合成能を報告している⁷⁾。小脳のプルキンエ細胞にも合成系があるという早稲田大学・筒井研の研究もある。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¹⁵⁾。

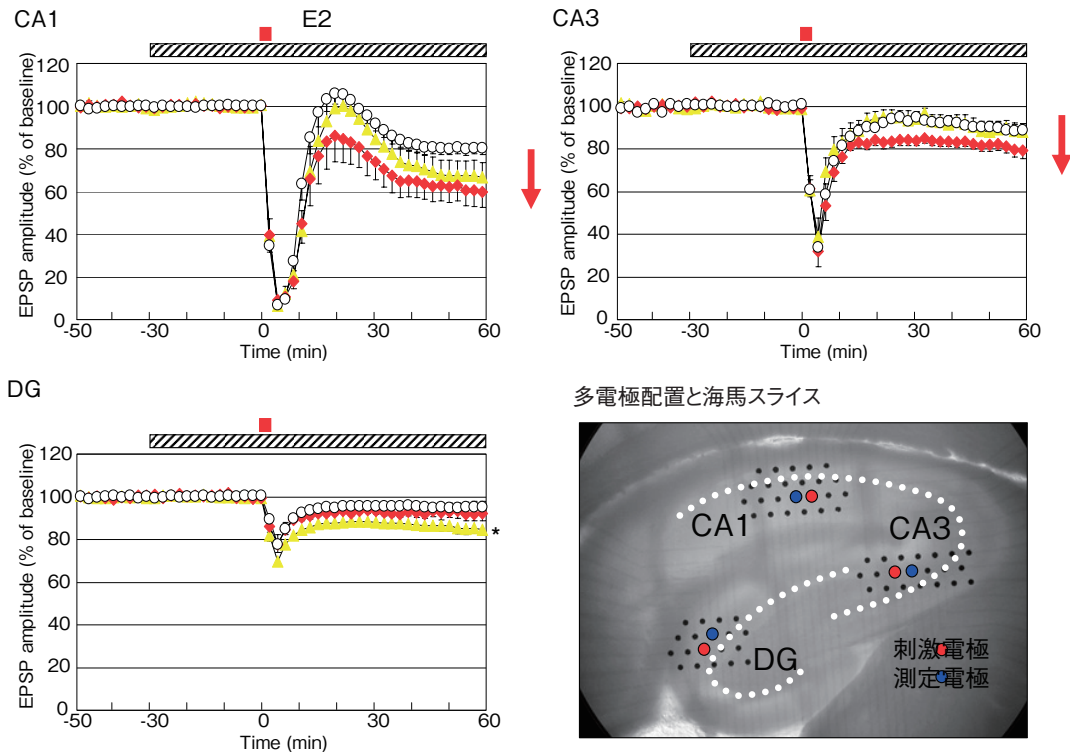
2 神経ステロイドの海馬神経シナプスへの作用¹⁶⁻²²⁾

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¹⁷⁾。この効果の理由を解明するためあって E2 の作用研究は活発に行われている。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：

15. 神経ステロイド-脳で合成される性ホルモンの記憶制御-

神経保護やシナプス増加)である。海馬では、このほか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は長期抑圧や長期増強を強化するのである(図②)¹⁶⁻¹⁸⁾。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、長期抑圧が強化される^{16,23)}。

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も、海馬の神経可塑性を制御している^{16,21)}。スパインはシナプス前部と一緒に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



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 μM程度のCa²⁺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、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黄色、10 nM赤色。長期抑圧の強化はCA1で一番顕著である。

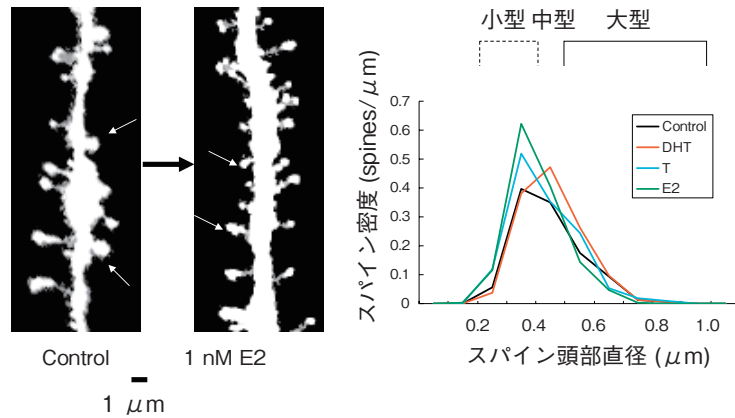


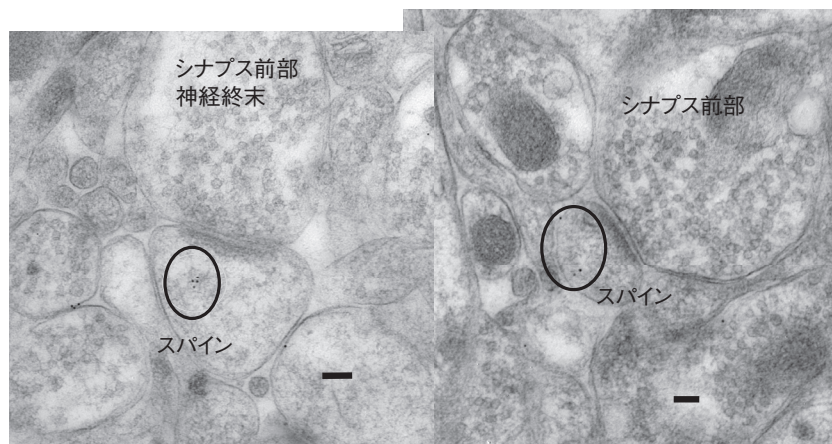
図3 E2, T, DHTの作用によるスパイン増加と頭部形態の変化. 海馬スライスに1 nMのE2, 10 nMのDHTとTを作用させると, 2時間でグルタミン酸神経のスパイン密度が1.2~1.4倍ほど増加する. 単一神経には樹状突起が50本程度あり, 左図で白い棒状の樹状突起に存在するスパイン(矢印)は単一神経全体では合計1万程度もある. 神経の記憶は, シナプスという, 隣り合う神経の接合部に貯蔵されるが, スパインはそのシナプス後部のことであり, その頭部直径は光の波長程度0.3~0.8 μmという微細なものである. 海馬はオスを使用. これらの結果から推測すると, 前立腺がんの治療薬や毛はえ薬として使用されるフィナステリドは海馬でも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. 同様に前立腺がんの治療薬の男性ホルモン受容体阻害薬も記憶に悪影響を及ぼすかもしれない.

密度が増加する^{16,18)}(**図3**). スパイン頭部の直径は0.2~1.0 μmの分布を持つが, 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, われわれが開発したスパインの数理解析プログラム Spiso-3Dの威力が大きい¹⁸⁾.

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)→MAPK, PKA, PKC, PI3Kなどのキナーゼ群となっていることが分かった. 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, 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, われわれ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.

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. 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. われわれは, E2の作用部位エストロゲン受容体ERα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

15. 神経ステロイド—脳で合成される性ホルモンの記憶制御—



ERα のシナプス局在
ここではスパイン (=シナプス後部) での
発現を示すが、当然、細胞質や核にもある

P450arom のシナプス局在
ここではスパインでの発現を示すが、
ミクロソームにもある

図4 海馬 CA1 グルタミン酸神経のシナプスにおける ERα と P450arom の局在 (丸で囲んだ点“・”). 金抗体免疫電子顕微鏡解析. ERα ではスパイン=シナプス後部に発現しているが、細胞質や核にもある. P450arom ではスパインに発現しているが、ミクロソームにもある. E2 局所合成→局所作用のシナプス分泌機構を示唆する. Scale bar は 200 nm.

ならず、神経シナプス後部 (スパイン)・前部にも ERα が確かに局在していることを発見した (図4)¹⁶⁾. われわれの研究以前には、ERα 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であったので大きな違いである。これは世界中で、あまり精製度のよ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 ERα 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 ERα が少ない場所では、抗血清は結合が悪いか、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で有名な Prof. Chambon と話したとき、「そうだそうだ monoclonal antibody is not monoclonal」と意見が一致して、この人は頭がよいと、嬉しかったことを思い出す。

一方、男性ホルモンのテストステロン (T) やジヒドロテストステロン (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 の作用はよく分かっていない。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。われわれの実験では、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^{18,22)}。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 μm) 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の方が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。

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、Alzheimer病や痴呆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（注射、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に変換した方が良いと考える。ちなみに2013年、80歳でエベレスト登頂を目指している三浦雄一郎さんは、テストステロン注射療法で、やる気が回復したという話を担当医の熊本先生から聞いている。

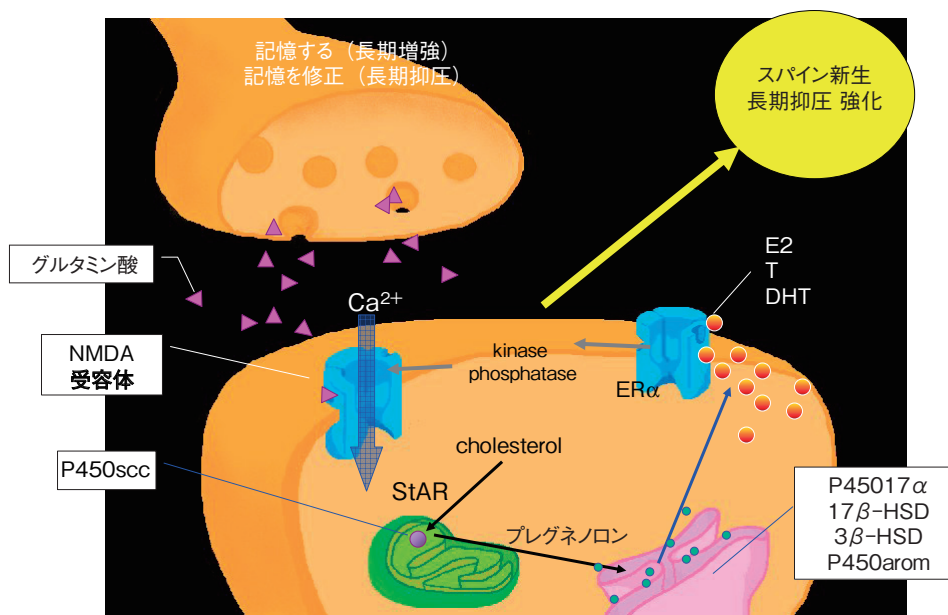


図5 海馬神経シナプスでのT, DHT, E2の合成と神経シナプス伝達のモジュレーションの機構 (synaptocrine機構)。神経で合成→作用の地産地消が起こるので neurocrine 神経分泌と言うべきでもある。

以上の合成と作用のまとめを図5に示した^{17,20,24}。「記憶するぞ」と努力すると、 $10\mu\text{M}$ 程度の Ca^{2+} がミリ秒幅のパルスで繰り返しスパイン（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 Ca^{2+} がスパインに流入する、これらの Ca^{2+} 濃度上昇によりStARがミトコンドリアにコレ

ステロールを選び、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→MAPK, PKC, PKA (蛋白キナーゼ類)→アクチン制御蛋白のリン酸化→アクチン重合→スパインの増加を引き起こす。合成された E2 はスパインにある受容体 ER α やキナーゼを経て長期増強や長期抑圧の強化、さらにスパインの増加を引き起こす。これらは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」とも言うべきものである。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、いわゆるホルモン作用であるが、これによりスパインとシナプス前部を結合させて、機能するシナプスを増加させる。

3

ストレスステロイド (コルチコステロン, CORT) の合成と作用

ストレスの神経作用については非常に多くの研究がある。ストレス→視床下部→脳下垂体→ACTH→副腎皮質→1 μ M程度の高濃度CORTの産生→血液→海馬や視床下部の機能抑制、という回路で、海馬の記憶機能が抑制される。海馬はCORT受容体GRが多いので、ストレスの主要な標的である。海馬はストレスのセンサーでもある。多くの研究は3週間くらいの慢性的なストレスで海馬神経がどのように委縮するかという、うつ病関連の研究が多い。しかし、ストレスはすぐに作用が現れもする、これを急性ストレスと言う。面白いことに、急性ストレス(1時間の1 μ M CORT作用)では海馬でスパインの増加が見出された²⁵⁾。これは試験や会議の発表などの場合の適度なストレスに相当するであろう。このような場合は、神経活動はむしろ(抑制されず)上昇することと対応しているのかもしれない。近年、体内時計の研究が爆発的に進んでいるが、CORTは生体時計の最終出力で、肝臓からグルコースを分泌させることで内臓組織を活発化させて、起床信号として働いている。さて、われわれは長年、海馬がCORTも合成していることを証明しようと頑張ってきて、最近ようやく証明に成功した。Cytochrome P450c21が存在して、Progesterone (PROG)→deoxycorticosterone (DOC)→CORTと反応が進むことを見出したのである。P450c21のmRNAは副腎皮質の1/50,000と極端に少ないので、誰も見出せなかったわけであり、DOCの産生も非常に少ない。しかし、質量分析で測定すると、血中CORTをなくした副腎皮質摘出(ADX)ラットを用いることで、海馬自身が7nM CORTを産生していることを見出した。これは性ステロイドと同じ程度の濃度である。このような低濃度のCORTが神経シナプスに作用するという研究は世界的になかったが、われわれの実験で、海馬スライスで1nM→10nMへとCORTを上昇させるとスパイン密度が増加した。つまり、神経ステロイドとしてはCORTはシナプスの密度を維持するのに役立っていることが分かったのである。今後さらにこの分子機構を解明して行きたいと思っている。

4 将来の展望

神経ステロイド研究には大きな未来が広がっているが、将来的に重要な研究テーマとして2つを挙げる。第一に、記憶中枢などで男性海馬と女性海馬には性差があるのでは？という未解決の大問題がある。空間学習や長期増強の大きさなどに確かに差があるが、脳内のE2, T, DHTの差で男性海馬と女性海馬の神経回路の差が形成されるのではなからうか？第二に、神経ステロイドは新種の神経栄養因子と考えられるので、他の神経栄養因子との比較も重要である。脳由来神経栄養因子BDNFとE2の比較研究は数多い。発生過程の作用で有名なアクチビン(性ホルモンの一種)が、海馬でも合成され、スパインを増加させることなどを見出しており、これも新しい神経栄養因子である。神経栄養因子として期待されている蜂蜜のローヤルゼリーは、スパイン密度は全く変化させずに、スパイン頭部を縮小させるという面白い力を持つことも分かった。

【謝辞】 以上の研究は、川戸研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* 2001; 142: 3578-89
- 2) Kawato S, Hojo Y, Kimoto T: Histological and metabolism analysis of P450 expression in the brain. *Methods Enzymol* 2002; 357: 241-9
- 3) Kawato S, Yamada M, Kimoto T: Brain neurosteroids are 4th generation neuromessengers in the brain: cell biophysical analysis of steroid signal transduction. *Adv Biophys* 2003; 37: 1-48
- 4) Hojo Y, Hattori TA, Enami T, et al: Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnenolone by cytochromes P45017 alpha and P450 aromatase localized in neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 865-70
- 5) Hojo Y, Higo S, Ishii H, et al: Comparison between hippocampus-synthesized and circulation-derived sex steroids in the hippocampus. *Endocrinology* 2009; 150: 5106-12
- 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* 2009; 307: 185-95
- 7) Kretz O, Fester L, Wehrenberg U, et al: Hippocampal synapses depend on hippocampal estrogen synthesis. *J Neurosci* 2004; 24: 5913-21
- 8) Le Goascogne C, Robel P, Guezou M, et al: Neurosteroids: cytochrome P-450 scc in rat brain. *Science* 1987; 237: 1212-5
- 9) Le Goascogne C, Sananes N, Guezou M, et al: Immunoreactive cyto-

15. 神経ステロイドー脳で合成される性ホルモンの記憶制御ー

- chrome P-450 (17 alpha) in rat and guinea-pig gonads, adrenal glands and brain. *J Reprod Fertil* 1991 ; 93 : 609-22
- 10) Baulieu EE: Neurosteroids: of the nervous system, by the nervous system, for the nervous system. *Recent Prog Horm Res* 1997 ; 52 : 1-32
 - 11) Baulieu EE, Robel P: Dehydroepiandrosterone (DHEA) and dehydroepiandrosterone sulfate (DHEAS) as neuroactive neurosteroids. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998 ; 95 : 4089-91
 - 12) Liu S, Sjoval J, Griffiths WJ: Neurosteroids in rat brain: extraction, isolation, and analysis by nanoscale liquid chromatography-electrospray mass spectrometry. *Anal Chem* 2003 ; 75 : 5835-46
 - 13) Liere P, Pianos A, Eychenne B, et al: Novel lipoidal derivatives of pregnenolone and dehydroepiandrosterone and absence of their sulfated counterparts in rodent brain. *J Lipid Res* 2004 ; 45 : 2287-302
 - 14) Shibuya K, Takata N, Hojo Y, et al: Hippocampal cytochrome P450 s synthesize brain neurosteroids which are paracrine neuromodulators of synaptic signal transduction. *Biochim Biophys Acta* 2003 ; 1619 : 301-16
 - 15) Zwain IH, Yen SS: Dehydroepiandrosterone: biosynthesis and metabolism in the brain. *Endocrinology* 1999 ; 140 : 880-7
 - 16) 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 : 950-67
 - 17) Mukai H, Kimoto T, Hojo Y, et al: Modulation of synaptic plasticity by brain estrogen in the hippocampus. *Biochim Biophys Acta* 2010 ; 1800 : 1030-44
 - 18) 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 : 2704-11
 - 19) 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* 2012 ; 22 : 926-36
 - 20) 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* 2012 ; 131 : 37-51
 - 21) 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* 2005 ; 337 : 1345-52
 - 22) 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 : 728-32
 - 23) Ishii H, Tsurugizawa T, Ogiue-Ikeda M, et al: Local production of sex hormones and their modulation of hippocampal synaptic plasticity. *Neuroscientist* 2007 ; 13 : 323-34
 - 24) 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
 - 25) Komatsuzaki Y, Hatanaka Y, Murakami G, et al: Corticosterone induces rapid spinogenesis via synaptic glucocorticoid receptors and kinase networks in hippocampus. *PLoS One* 2012 ; 7 : e34124