

学 位 論 文 題 名

The cellular distribution of estrogen receptor
- α and - β mRNAs in the reproductive organs
of the rat : an *in situ* hybridization study

（ラットの生殖器におけるエストロゲン受容体 α および β mRNA の
組織発現。 *In situ* hybridization 法による研究）

学位論文内容の要旨

本研究では、生殖器の器官形成および機能調節に関わるエストロゲンの役割を明らかにする目的で、雌雄ラットの生殖器におけるエストロゲン受容体 α と β （以下、ER α 、ER β ）mRNA の組織・細胞レベルでの発現を *in situ* hybridization 法により検索した。ER の発現に関する形態学的手法として抗体を用いた免疫組織化学が利用されてきたが、特異性が高く、ある程度の定量性が可能であるため、mRNA を検出する方法が優れている。

ER α は雌では主として卵巣、雄では精巣に、一方、ER β は雌では卵管以下の生殖管に、雄でもやはり精巣輸尿管以降の排出管系に強く発現しており、雌雄間で受容体のタイプによる発現様式が一致していた。

雌ラットの成体では、ER α mRNA の最も強いシグナルは卵管から膈までの上皮と上皮直下の結合組織（間質、支質）に発現していた。中等度の強さの発現は卵巣にも認められ、ER α mRNA のシグナルは卵胞膜と間質腺に分布していた。発生過程の雌の生殖器における ER α mRNA の最初の発現は、胎齢 14 日目の卵巣および生殖管原基の未分化間葉系細胞にびまん性に認められ、発育が進むにつれ、特定の細胞に集ぞくしていった。発達過程での生殖管系における ER α mRNA の発現は、まず上皮直下の結合組織に強く発現し、その後主要な発現部位が上皮に移行することで特徴づけられた。このことは、間質が上皮の分化を誘導するという考えを支持するものである。

雄の成体では、ER α mRNA は精液の濃縮が行われる精巣輸尿管と精巣上体の起始部にとくに強く発現していた。陰茎では、龟头表面に分布する触覚装置である陰部小体に局限していた。ER α は神経系でも広く発現しているが、骨盤臓器に投射する腰髄以降の背根神経節にも発現していることから、エストロゲンが性行動に直接関与していることが示唆された。ER α mRNA はこのほか、精管の縦走筋層、副生殖腺、尿道上皮および上皮下の結合組織に中程度の強さで発現していた。雄胎子の生殖器では、胎齢 14 日で最初の

ER α mRNA の発現が見られ、精巣輸出管、精巣上体管起始部以外に精巣のライディッヒ細胞（間質細胞）、尿道海綿体、尿道上皮などに認められた。胎子、新生子の陰茎では、ER α mRNA のシグナルは陰茎基部で非常に強く、先端部で弱くなる傾向にあった。陰茎での発現は生後急速に減弱することから、エストロゲンが陰茎の発達に重要であることが示唆された。

卵巣における ER β mRNA は卵胞形成が始まると同時に（14 日齢）顆粒層に局限して発現し、この状態が成体期まで続いた。成体雄での ER β mRNA のシグナルは副生殖腺と尿道腺の腺体部で最も強く、生殖細胞（精細胞）と尿道球腺に中等度に、精管と精巣上体にびまん性に弱く発現していた。発達過程では、ER β は胎齢 14 日から卵巣と精巣原基に ER α と共発現するが、雌雄の管系では周産期に一時的に消失した。

胎子から成体までの雌雄生殖器のさまざまな部位および細胞型における ER α と ER β の発現様式から、以下のようなエストロゲンの広範囲な役割が示唆される。1) 生殖器の器官形成、2) ステロイドおよびフェロモンの産生、3) 精液の濃縮と輸送、4) 性行動あるいは交尾。さらに、本研究から、エストロゲン様作用を有する内分泌攪乱物質の暴露によって起こる生殖器の形成異常や不妊にエストロゲン受容体が関与していることが考えられ、この方面の研究の基礎データを提供したといえる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 岩 永 敏 彦
副 査 教 授 藤 田 正 一
副 査 教 授 高 橋 芳 春
副 査 助 教 授 橋 本 善 春

学 位 論 文 題 名

The cellular distribution of estrogen receptor - α and - β mRNAs in the reproductive organs of the rat : an *in situ* hybridization study

(ラットの生殖器におけるエストロゲン受容体 α および β mRNA の
組織発現。 *In situ* hybridization 法による研究)

本研究では、生殖器の器官形成および機能調節に関わるエストロジェンの役割を明らかにする目的で、雌雄ラットの生殖器におけるエストロゲン受容体 α と β （以下、ER α 、ER β ） mRNA の発現を *in situ* hybridization 法により検索した。

ER β は雌では主として卵巣、雄では精巣に、一方、ER α は雌では卵管以下の生殖管に、雄でもやはり精巣輸卵管以降の排出管系に強く発現しており、雌雄間で受容体のタイプによる発現様式が一致していた。各部位では ER α と ER β の細胞発現は棲み分けされており、例えば卵巣では、ER α の発現は卵胞膜と間質腺に、ER β は卵胞上皮と顆粒層に局限していた。

器官形成時における ER α と ER β の最初の発現は、胎齢 14 日目の生殖腺および生殖管原基の未分化間葉系細胞にびまん性に認められ、発育が進むにつれ、特定の細胞に集ぞくしていった。発達過程の生殖管系における ER α の発現は、まず間質に強く発現し、その後主要な発現部位が上皮に移行することで特徴づけられた。

雄での ER 発現の特徴は、器官形成期の陰茎における ER α の発現が強く、成長とともに減弱すること、亀頭の触覚装置である陰部小体には成体でも ER α が発現していたことであった。一方、ER β のシグナルは副生殖腺と尿道腺の腺体部に限られた。

全般的に、ER α が ER β より強くまた広範囲に発現しており、このことは ER のノックアウトマウスでの異常発現の程度を裏付けるものであった。ER の発現様式から、以下のようなエストロゲンの広範な役割が示唆された。1) 生殖器の器官形成、2) 卵

子の輸送、3) 精液の濃縮と輸送、4) ステロイドおよびフェロモンの産生、5) 性行動や交尾の調節。

以上の結果は、生殖器における $ER\alpha$ と $ER\beta$ mRNA の発現様式を細胞・組織レベルで明らかにしたもので、エストロゲンによる調節機構、生殖器の形成異常や不妊の解明などに大きく貢献すると思われる。よって、審査員一同は、モワ チシンバ ナサン氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。