

研究紹介

鳥類における
アルギニンバソトシン神経の性差

齋藤 昇

(応用動物科学コース)

Sexual Dimorphism of Arginine Vasotocin
Neuron in Birds

Noboru Saito

(Course of Applied Animal Science)

Arginine vasotocin (AVT) is one of neurohypophysial peptides in birds and is well known both as an antidiuretic and oxytocic hormone. AVT is produced in the hypothalamus and mainly synthesized in magnocellular neurons, supraoptic nucleus (SON) and paraventricular nucleus (PVN). Recent, immunocytochemistry and *in situ* hybridization results indicate that AVT is also synthesized in parvocellular neurons corresponding to mammalian stria terminalis (nST). The AVT neurons in nST in the male are more numerous than those in the female. Therefore, these data suggest that there is sexual dimorphism in the distribution of AVT neurons. Several experiments involving electrical lesion, testosterone implantation, and the detection of the immediately-early gene expression in birds expressing copulatory behavior suggested that nST and nucleus pre-opticus medialis (POM) were related to the reproductive behavior. When male embryo was treated with estradiol, the distribution of AVT neurons assumes the same distribution as found in the female, and reproductive behavior was abolished, suggesting that AVT in the brain has an important role in reproductive behavior.

Key Words: arginine vasotocin, sexual dimorphism, reproductive behavior, parvocellular neurons, bird

はじめに

動物において、生殖腺が精巣と卵巣に分化するように、脳も雌雄に性分化する。脳における性は、一般的に動物における繁殖行動などの雌雄の違いから、判断することができる。鳥類は、哺乳類と異なるZW型の性染色体であり、そのことから性分化の仕組みが哺乳類と異なることが示唆されている。また、最近の研究から、鳥類において抗利尿ホルモンと知られる下垂体神経葉ホルモンであるアルギニンバソトシン (AVT) の脳内分布が、雌雄で異なることが明らかになり、そのために AVT の脳内

分布が脳の性の判断に使われるようになってきている。ここでは、鳥類における AVT の生理作用とともに、脳内分布における性差についての研究を紹介する。

AVT の生理作用

鳥類の下垂体神経葉ホルモンは、AVT とメソトシン (MT) であり、それぞれ9個のアミノ酸からなっている。AVT は、魚類、両生類、爬虫類や^{3,4)}、哺乳類の胎児期¹⁶⁾に存在する。AVT は、脳の視床下部で産生され、軸索を通過して下垂体神経葉まで運ばれそこで貯蔵され、刺激に応じて分泌される。AVT の主な生理機能は、体液調節や浸透圧調節に関わり、哺乳類のアルギニンバソプレッシン (AVP) のように抗利尿ホルモン (ADH) である。鳥類に飲み水を与えない状態で血中浸透圧を上昇させると、血中 AVT 濃度が上昇し、上昇した AVT が腎臓において水分の再吸収を高めると報告されている^{7, 20, 26, 28)}。血中浸透圧と血中 AVT 濃度との関係は、高浸透圧塩水あるいは低浸透圧塩水による処理や、さまざまな塩分濃度を変えた飼料を摂取させたような実験から、これらの間に高い相関関係があることが明らかになっている^{6, 19, 26, 35)}。また、AVT は、子宮筋の収縮作用を有しており^{29, 32)}、ニワトリの子宮筋を用いた *in vitro* の収縮実験では、オキシトシンや AVP に比べ強い収縮作用を有している。そして、産卵周期中において、血中 AVT 濃度は、自然放卵時に急激な上昇をすることが観察されている^{28, 33, 36)}。

近年の研究において、AVT は浸透圧調節や子宮筋収縮のみではなく、繁殖行動に関係していることが明らかになってきている。雄キンカチョウの中隔野 (septal region) に AVP アンタゴニスト ([β -Mercapto- β , β -cyclopentamethylenepropionyl, O-Me-Tyr2, Arg8]-vasopressin) を投与すると、ツツキや追い掛け、くちばしのフェンシングのような行動を減少させることが明らかになった¹⁷⁾。また、雄ウズラにおいても、AVT の脳室内投与は、用量依存的に繁殖行動を抑制すると報告もされている。また、AVP の V1 レセプターのアンタゴニスト ([deamino-Pen1, Tyr(Me)2, Arg8]-vasopressin) を脳室内に投与すると、繁殖行動を促進することが報告されている¹³⁾。このように、AVT は、まだ明確な役割は明らかではないが、鳥類の雄の繁殖行動に関与すると考えられている。

AVT の脳内分布

鳥類の脳内における AVT 神経の分布は、キンカチョウ、カナリヤ、ニワトリ、ウズラなどにおいて免疫組織化学の手法により研究されている。AVT 神経の分布は、主に外側視索前野、外側視床下部、視索前野脳室周囲、視床下部脳室周囲、間脳背側部に観察されている³⁹⁾。こ

これらの神経核の部位は、哺乳類の視索上核(SON)室傍核(PVN)の小型細胞と大型細胞に相当する³⁴⁾。全般的に、AVT神経の分布様式は、研究された鳥類の中ではほぼ一致する^{18, 25, 31, 40, 41)}。

近年、免疫組織化学の手法の高感度化により、大型細胞のみではなく小型のAVT神経細胞が明らかになってきた。初めに、カナリアにおいて小型のAVT細胞が分界条床核(nST)において確認された。その後、他の鳥種においても同様に小型のAVT細胞の存在が報告された^{8, 10, 22, 40, 41)}。小型のAVT細胞の分布は、nucleus rotundusとその周りと外側膝状核(lateral geniculate nucleus)の間で観察された³⁰⁾。また、in situ ハイブリダイゼーションによっても免疫組織化学と同じAVTの分布が観察された^{9, 23)}。

AVT神経の分布の性差

ニワトリとウズラにおいて、免疫組織化学的手法によるAVTの分布では、雄においてのみ分界条床核における小型AVT神経が観察され、雌では観察されない明らかな性差が観察された^{8, 10, 22)}。in situ ハイブリダイゼーションによるAVT遺伝子発現においても分界条床核に性差が確認された^{9, 23)}。カナリアにおけるAVT細胞分布の性差は、ニワトリやウズラと比べるとあまり明確ではなく、雌雄ともに分界条床核においてAVTの免疫陽性反応が観察されるが、雄の方が雌よりも免疫陽性反応が少し強い程度の差である⁴¹⁾。また、キンカチョウにおいては、分界条床核におけるAVT神経細胞に性差が観察されなかった⁴⁰⁾。

小型AVT神経細胞の免疫陽性反応は、視床下部-下垂体神経葉系に関わる大型細胞に比べ細胞が小さく、樹状突起が単純で、免疫陽性反応性も弱くなっている。発生段階における研究において、ニワトリの14日胚において、雄の分界条床核における小細胞性の分布は雌に比べ、多くのAVT細胞が存在することが明らかになった。しかしながら、孵卵16日胚と孵化後7日齢の間では、分界条床核におけるAVT mRNA発現細胞の数や分布パターンに性差が無いことが観察された。その後、35日齢に、再びAVT神経細胞の分布に性差が確認され、それは成熟したニワトリと同様な分布を示した²⁴⁾。

AVT免疫陽性線維も、細胞と同様に性差を示す。雄の中隔野外側AVT免疫陽性線維は、雌に比べより高い密度で分布している^{37, 38)}。ウズラにおいても、分界条床核、視索前野、室傍核などのようないくつかの部位において性差が観察された^{37, 38)}。これらの性差が観察される神経核のいくつか(中隔野外側、分界条床核、視索前野)では、雄の繁殖行動に関わっていることが示唆されている。雄ウズラを用いた脳の神経核(分界条床核、視索前野)の電氣的破壊実験において、雄ウズラの繁殖行動は減少したか無くなることが観察された¹²⁾。中隔野領域の破壊は、雄のヒメドリにおいて攻撃的な行動を減少させ

たが、交尾行動などは減少させなかった。しかしながら、キンカチョウにおいては、中隔野破壊は交尾行動のサエズリと攻撃行動の両方を減少させた¹⁷⁾。

AVT神経細胞分布の性差は、ウズラの脳において分界条床核のみでなく他の部位においても確認されている。そのためこれらの結果から、ウズラにおいてAVTは繁殖行動のみではなく、他の社会性行動などに関係する可能性が示唆された。これらの鳥類において見つかったAVT神経細胞の局在性に関する性差は、主に前脳に局在する小細胞と線維であることが明らかになった。他方、視床下部-下垂体神経葉系である大型細胞系においてはほとんど性差が報告されていない。近年の研究から、浸透圧刺激によるAVT遺伝子発現において性差があることが報告されている¹⁴⁾。この性差は、大型細胞における性差を反映していると考えられるが、小型細胞の性差に比べると性差が比較的小さい。

鳥類の脳の性分化機構

生殖腺の性分化は、基本的に性染色体に依存している。哺乳類と異なり、雄がホモの性染色体(ZZ型)であり精巣を持ち、雌がヘテロ(ZW型)であり卵巣を持つ。生殖腺の性分化は、遺伝子制御によるが、ホルモンによる影響がニワトリの胚において無視はできない。なぜなら、例えば、プロゲステロン、アンドロゲン、エストロゲン、抗エストロゲンやアロマトーゼ抑制剤がニワトリの初期胚に投与されると、生殖腺は卵精巣や性転換を起こすことが報告されている²¹⁾。

アロマトーゼ阻害剤(ファドロゾール)を遺伝的雌胚に生殖腺が未分化である孵卵0-7日胚までの間に投与すると、成熟後ニワトリは雄の表現型を示すことが報告されている^{1, 2, 15, 42)}。アロマトーゼ阻害剤の投与は、アロマトーゼ酵素活性を阻害するのみでなく、結果としてアロマトーゼの遺伝子発現を抑制し、抗ミューラ管抑制ホルモン(AMH)の発現を促進する²⁷⁾。遺伝的雌ニワトリは、アロマトーゼ阻害剤の投与により表現型として雄に性転換する^{1, 2, 15, 42)}。性転換した雌ニワトリが成熟した時、さまざまな点で雄の表現型(鶏冠、羽根、生殖腺、交尾行動など)を示した。

他方、ウズラの受精卵は、孵卵10か11日胚にエストラジオールを投与されると、処理されたウズラは性成熟後にテストステロンを投与しても交尾行動を示さない。しかしながら、エストラジオールが孵卵13日胚か14日胚に投与されても、交尾行動に影響を与えない^{5, 34)}。このような結果は、脳の性分化に関して、雄から雌への分化に対して、おおよそ12日胚が臨界期であることが示唆され、エストロゲンが脳の性分化に重要な役割を果たしていることが示唆された。そして、この脳の雌性化に影響を与えるエストラジオールは、生殖腺である卵巣から分泌されることが考えられており、脳の性分化は生殖腺依存的で

あると考えられてきた。しかし、最近、ウズラの胚時期において脳の分界条床核におけるアロマターゼの発現を調べた結果は、雌のアロマターゼ発現が雄よりも強いことを示すことが明らかになった¹¹⁾。このような結果は、脳が自立的に雌性化に分化している可能性を示唆しており、今後の研究の動向に興味を持たれる。

おわりに

下垂体神経葉ホルモンは、長年、抗利尿ホルモンあるいは分娩に関係するホルモンであるとして知られており、そのような生理作用に関する研究がほとんどであった。近年の動物行動学および脳科学の発展から、下垂体神経葉ホルモンは様々な社会行動あるいは繁殖行動に密接に関係することが哺乳類で明らかになってきた。鳥類においても、同様に AVT が繁殖行動や社会行動に関与する報告が次第に増えてきている。また、鳥類においては、下垂体神経葉から分泌され末梢の生理作用に関与する大型細胞と脳内に分泌され様々な行動などに関与する小型細胞に分かれることが明らかになってきた。AVT の脳内に局在における性差もそのような、繁殖行動や社会行動における性差と関連づけて考えられ、今後さらに行動などにどのように AVT が関与するか解明が待たれる。また、脳の性分化機構は、生殖腺からのエストロジオールが重要な因子として長年考えられてきたが、脳が自立的に分化する可能性も出てきており、新たな展開が待たれる。

引用文献

- 1) Abinawanto, K. Shimada, K. Yoshida and N. Saito : Effects of aromatase inhibitor on sex differentiation and levels of P45017 α and P450arom messenger ribonucleic acid of gonads in chicken embryo. *Gen Comp Endocrinol.*, **102**, 241-246 (1996)
- 2) Abinawanto, C. Zhang, N. Saito, Y. Matsuda and K. Shimada : Identification of sperm-bearing female-specific chromosome in the sex-reversed chicken. *J Exp Zool.*, **280**, 65-72 (1998)
- 3) Acher R. : Neurohypophysial peptide systems : processing machinery, hydroosmotic regulation, adaptation and evolution. *Regul Pept.*, **45**, 1-13 (1993)
- 4) Acher R. : Principle of evolution : the neural hierarchy model, *In Brain Peptides.* (Kreger D.T., M. J. Brownstein, and Martin J. B. eds.), John Wiley & Sons, New York, 135-163 (1983)
- 5) Adkins E. K. : Effect of embryonic treatment with estradiol or testosterone on sexual differentiation of the quail brain. *Neuroendocrinol.*, **29**, 178-185 (1979)
- 6) Arad Z., G. E. Rice and E. Skadhauge : Osmotic stimuli and NaCl-intake in the fowl; release of arginine vasotocin and prolactin. *J Comp Physiol.*, **156**, 399-406 (1986)
- 7) Arnold-Aldea S. A. and C. Sterritt : Sites of origin and patterns of migration of vasotocin/mesotocin neurons in developing brain of the chick. *J Neurobiol.*, **31**, 103-116 (1996)
- 8) Aste N., J. Balthazart, P. Absil, R. Grossmann, E. Mühlbauer, C. Viglietti-Panzica, and G. C. Panzica : Anatomical and neurochemical definition of the nucleus of the stria terminalis in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *J Comp Neurol.*, **396**, 141-157 (1998)
- 9) Aste N., E. Mühlbauer and R. Grossmann : Distribution of AVT gene expressing neurons in the prosencephalon of Japanese quail and chicken. *Cell Tissue Res.*, **286**, 365-373 (1996)
- 10) Aste N., G. C. Panzica, P. Aimar, C. Viglietti-Panzica, A. Foidart and J. Balthazart : Implication of testosterone metabolism in the control of the sexually dimorphic nucleus of the quail preoptic area. *Brain Res Bull.*, **31**, 601-611 (1993)
- 11) Aste N., Y. Watanabe, N. Harada and N. Saito : Distribution and sex differences in aromatase-producing neurons in the brain of Japanese quail embryos. *J Chem Neuroanat.*, **39**, 272-288 (2010)
- 12) Balthazart J., P. Absil, M. Gerard, D. Appeltants and G. F. Ball : Appetitive and consummatory male sexual behavior in Japanese quail are differentially regulated by subregions of the preoptic medial nucleus. *J Neurosci.*, **18**, 6512-6527 (1998)
- 13) Castagna C., P. Absil, A. Foidart and J. Balthazart : Systemic and intraverebroventricular injections of vasotocin inhibit appetitive and consummatory components of male sexual behavior in Japanese quail. *Behav Neurosci.*, **112**, 233-250 (1997)
- 14) Chaturvedi C. M., A. Chowdhary, P. T. Wall, T. I. Koike and L. E. Cornett : A sexual dimorphism in hypothalamic arginine vasotocin (AVT) gene expression and AVT plasma levels in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) in response to water deprivation. *Gen Comp Endocrinol.*, **117**, 129-137 (2000)
- 15) Elbrecht A. and R. G. Smith : Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. *Science*, **255**, 467-470 (1992)
- 16) Ervin M.G., R. D. Leake, M. G. Ross, G. C. and D. A. Fisher : Arginine vasotocin in ovine fetal blood, uterine and amniotic fluid. *J Clin Invest.*, **75**, 1696-1701 (1985)
- 17) Goodson J. L. and E. Adkins-Regan : Effect of intraseptal vasotocin and vasoactive intestinal polypeptide infusions on courtship song and aggression in the male zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *J Neuroendocrinol.*, **11**, 19-25 (1999)
- 18) Goossens N., S. Bläher, A. Oksche, F. Vandesande and K. Dierick : Immunocytochemical investigation of the hypothalamo-neurohypophysial system in birds. *Cell Tissue Res.*, **184**, 1-13 (1977)
- 19) Goto K., T. I. Koike, H. L. Neldon and D. W. McKay : Peripheral angiotensin II stimulates release of vasotocin in conscious chickens. *Am J Physiol.*, **251**, R333-R339 (1986)
- 20) Gray D. A. and E. Simon : Mammalian and avian antidiuretic hormone : studies related to possible species variation in osmoregulatory systems. *J Comp Physiol B*, **151**, 241-246 (1983)
- 21) Hutson J. M., P. K. Donahoe and D. T. MacLaughlin : Steroid modulation of Müllerian duct regression in the chick embryo. *Gen Comp Endocrinol.*, **57**, 88-102 (1985)
- 22) Jurkevich A., S. W. Barth, N. Aste, G. C. Panzica and R. Grossmann : Intracerebral sex differences in the vasotocin system in birds : possible implication in behavioral and autonomic functions. *Hormone & Behav.*, **30**, 673-681 (1996)
- 23) Jurkevich A., S. W. Barth and R. Grossmann : Sexual dimorphism of arg-vasotocin gene expressing neurons in the telencephalon and dorsal diencephalon of the domestic fowl. An immunocytochemical and *in situ* hybridization study. *Cell Tissue Res.*, **287**, 69-77 (1997)
- 24) Jurkevich A., S. W. Barth, W. J. Kuenzel, A. Kohler and

- R. Grossmann : Development of sexually dimorphic vasotocinergic system in the bed nucleus of stria terminalis in chickens. *J Comp Neurol.*, **408**, 46-60 (1999)
- 25) Kiss J. Z., T. A. M. Voorhus, J. A. M. van Eekelen, E. R. de Kloet and D. de Wied : Organization of vasotocin-immunoreactive cells and fibers in the canary brain. *J Comp Neurol.*, **263**, 347-364 (1987)
- 26) Koike T. I., J. A. Estavillo, L. R. Pryor and H. L. Neldon : Effect of acute and chronic cardiac denervation on osmotic releasing of vasotocin in chickens. *Proc Soc Exp Biol Med.*, **181**, 277-283 (1986)
- 27) Nishikimi H., N. Kansaku, N. Saito, M. Usami, Y. Ohno and K. Shimada : Sex differentiation and mRNA expression of P450c17, P450arom and AMH in gonads of the chicken. *Mol Reprod Develop.*, **55**, 20-30 (2000)
- 28) Nouwen E. J., E. Decuypere, E. R. Kühn, H. Michels, T. R. Hall and A. Chadwick : Effect of dehydration, haemorrhage and oviposition on serum concentrations of vasotocin, mesotocin, and prolactin in the chicken. *J Endocrinol.*, **102**, 345-351 (1984)
- 29) Olson D. M. and F. Hertelendy : Avian shell gland contractility : interaction of PGF2 α and arginine vasotocin with Ca²⁺. *Am J Physiol.*, **244**, C150-C157 (1983)
- 30) Panzica G. C., M. Calcagni, G. Ramieri and C. Viglietti-Panzica : Extrahypothalamic distribution of vasotocin-immunoreactive fibers and perikarya in the avian central nervous system. *Basic Appl Histchem.*, **32**, 89-94 (1988)
- 31) Panzica G. C., L. Plumari, E. Garcia-Ojeda and P. Deviche : Central vasotocin-immunoreactive system in a male passerine bird (*Junco hyemalis*). *J Comp Neurol.*, **409**, 105-117 (1999)
- 32) Saito N. and T. I. Koike : Alterations in uterine contractility during the oviposition cycle in domestic hens. *Brit Poul Sci.*, **33**, 663-668 (1992)
- 33) Sasaki T., K. Shimada and N. Saito : Changes of AVT levels in plasma, neurohypophysis and hypothalamus in relation to oviposition in the laying hen. *Comp Biochem Physiol.*, **121A**, 149-153 (1998)
- 34) Schmacher M., J. C. Hendrick and J. Balthazart : Sexual differentiation in quail : critical period and hormonal specificity. *Horm Behav.*, **23**, 130-149 (1989)
- 35) Simon-Oppermann C. and E. Simon : Osmotic and volume control of diuresis in conscious ducks (*Anas platyrhynchos*). *J Comp Physiol B*, **146**, 17-25 (1982)
- 36) Tanaka K., K. Goto, Y. Yoshioka, T. Terao and O. Koga : Changes in the plasma concentration of immunoreactive arginine vasotocin during oviposition in the domestic fowl. *Br Poult Sci.*, **25**, 589-595 (1984)
- 37) Viglietti-Panzica C., N. Aste, J. Balthazart and G. C. Panzica : Vasotocinergic innervation of sexually dimorphic medial pre-optic nucleus of the male Japanese quail : influence of testosterone. *Brain Res.*, **657**, 171-184 (1994)
- 38) Viglietti-Panzica C., N. Aste, J. Balthazart and G. C. Panzica : Sexual dimorphism of vasotocin system in the Japanese quail. *Soc Neurosci Abst.*, **23**, 554 (1997)
- 39) Viglietti-Panzica C. : Immunohistochemical study of the distribution of vasotocin reacting neurons in avian diencephalon. *J Hirnforsch.*, **27**, 559-566 (1986)
- 40) Voorhus T. A. M. and E. R. de Kloet : Immunoreactive vasotocin in the zebrafish brain (*Taeniopygia guttata*). *Dev Brain Res.*, **69**, 1-10 (1992)
- 41) Voorhus T. A. M., J. Z. Kiss, E. R. de Kloet and D. de Wied : Testosterone-sensitive vasotocin-immunoreactive cells and fibers in the canary brain. *Brain Res.*, **442**, 139-146 (1988)
- 42) Wartenberg H., E. Lenz and H. U. Schweikert : Sexual differentiation and the germ cell in sex reserved gonads after aromatase inhibition in the chicken embryo. *Andrologia.*, **24**, 1-6 (1992)