〔ミニレビュー〕

泌乳開始における乳腺プロラクチン受容体遺伝子発現の役割

溝 口 康

東京大学農学部獣医学科動物育種繁殖学研究室

〒113 文京区弥生 1-1-1

(現所属：畜産技術協会附属動物遺伝研究所
〒961 福島県西白河郡西郷村大字小田倉字小田倉原 1)

Regulation of Prolactin Receptor Gene Expression at Lactogenesis

Yasushi Mizoguchi

Department of Animal Breeding, Faculty of Agriculture,
University of Tokyo, Yayoi 1-1-1, Bunkyo-ku, Tokyo 113, Japan

1. は じ め に

哺乳類の繁殖において重要な生理現象の一つに泌乳がある。この現象は雌に特異的で、分娩に伴いミルク（乳汁）の合成と分泌が起こる。泌乳の役割は、乳児に栄養物質を供与することである。乳腺は春機発動機以降、乳管の伸長と分枝が起こり、妊娠すると更に乳管の各所で細胞分裂が活発になり小胞構造を形成する（図1）。妊娠後期になると小葉の先端部の腺腔が拡張し、乳腺濾胞を構築し、分娩後に泌乳が開始する。乳腺の増殖及び

分化は、様々なホルモンによって調節される。中でもプロラクチンは下垂体前葉から分泌され、乳腺において細胞の増殖と分化及びミルクの合成等を調節するタンパク質ホルモンである。プロラクチンは乳腺に存在するプロラクチン受容体と結合しホルモン刺激を伝える。生理的あるいは内分泌環境の変化に対応して乳腺プロラクチン受容体数が増加する。特に泌乳が始まる時点で急激に増加し、泌乳期間中は高いレベルに維持される（Sakai ら, 1978）。また、乳腺の発達段階でプロラクチン受容体を調節するのに必要なホルモンが異なる。しかしその調節機構については不明な点が多い。従来、乳腺におけるプロラクチン受容体の動態を知る手段として、乳腺細胞へのプロラクチンバイディングアッセイが主な手法であった。しかし妊娠中の動物には大量の胎盤性ラクタゲンが存在し、プロラクチン受容体を占拠しているため正確な受容体数を測定することが出来ない。特に泌乳開始とプロラクチン受容体の関係を明らかにする手段として、プロラクチン受容体遺伝子の発現レベルでの調節を把握する必要があった。1989年、ウサギでプロラクチン受容体のcDNA がクローニングされ（Edery ら, 1989）、その後様々な種でもクローニングされた。乳腺での

図1 繁殖サイクルでの乳腺の形態学的変化
(畜産学大事典より引用)

図 2 (A) プロラクチン受容体 cDNA とコンペティター DNA の模式図
線の位置がプライマーを設計した個所 (B) 一定の cDNA 量と段階希釈したコンペティ
ター DNA の存在下で PCR 反応を行った電気泳動図 (C) 両者のバンドの濃さを比較し
てプロットしたもの

プロラクチン受容体遺伝子発現を調べることに
より、泌乳の調節機構をより明確に知ることが出来
ると考えた。本稿では現在までの筆者の研究の知
見をまとめ、報告したい。

2. 妊娠及び泌乳期のプロラクチン 受容体遺伝子発現量

プロラクチン受容体遺伝子の発現量を調べるた
め、mRNA 量を正確に測定する方法としてコン
ペティティブ RT-PCR 法を確立した。コンペ
ティター DNA に外来遺伝子が挿入されており、
共通のプライマーを用いて行うため両者の間で奪
い合いが起こり、量比に対応して PCR 産物の比
率が増減するのを利用して測定するものである
(図 2)。この方法は、微量の mRNA 量を正確に測
定できる。この方法を用いて以下の研究を行っ
た。

動物は ICR マウスを用いた。プロラクチン受
容体は、分子量の異なるロングタイプとショール
タイプがあり、細胞内領域が異なっている。また、
各々に対応する mRNA の存在も明らかとなっ

た。プロラクチン受容体遺伝子は一つであること
から、選択的スプライシングにより調節されてい
る (Kelly ら, 1992)。図 3 は、妊娠期及び泌乳期
のプロラクチン受容体遺伝子発現量の変化を示し
ている。この図からも明らかなように、乳腺にお
いて優位に発現しているのは、ロングタイプの
mRNA である。一方肝臓では、ショールタイプ
の方が多く存在しているがその役割については明
かではない。乳腺でのロングタイププロラクチン
受容体は、*in vitro* の実験からミルクタンパク質
の合成に必要であることが明らかとなっている
(Lesueur ら, 1991, 1993)。その量は妊娠 0 日
に高レベルで存在し、その後妊娠中期にかけて急
激に減少した (Mizoguchi ら, 1997)。そのレベ
ルは妊娠末期まで少なく分娩直前から泌乳初期に
かけて増加した。また、乳腺細胞当たりのプロラ
クチン受容体数の変化は、妊娠初期は mRNA 量
と同様に減少し、妊娠後期から増加し、泌乳中
期でその量は最大となる (Sakai ら, 1978)。本
稿では特に、泌乳開始におけるプロラクチン受
容体遺伝子の発現機構について以下に述べる。

3. 泌乳開始時におけるプロラクチン受容体遺伝子発現

一般的に乳腺のプロラクチン受容体は分娩後に増加する。マウスやラットでは妊娠中に高いプロラクチン活性に関わらず、泌乳は起こらない。即ち、妊娠中はプロラクチンが乳腺を刺激出来ないことを示している。その原因として、プロラクチン受容体が少ないことによると考えられる。マウスやラットでは妊娠中期以降、卵巣を除去すると泌乳が開始する。これは一定の時間で流産が起こるため、特に分娩前に起こる経時的变化を調べ

るのに有効なモデルである。このモデル及び自然分娩時におけるプロラクチン受容体の増加には、以下の2つが考えられる。実際には、プロラクチン受容体量には変化がなく内因性の胎盤性ラクトゲンがプロラクチン受容体と結合しており、流産及び分娩により胎盤性ラクトゲンが消失し、見かけ上プロラクチン受容体が多くなるという考えである。一方の見解として、遺伝子レベルでの発現機構を介して増加することが考えられる。直接の解答は、プロラクチン受容体遺伝子発現の有無を調べることににより得られると考え、妊娠中期卵巣除去したモデルと、自然分娩下のモデルを用いて実験を行った。

妊娠12日目で卵巣除去後、22時間で流産が起こった。ロングタイプのプロラクチン受容体 mRNA 量は、卵巣除去後8時間まで変化はなく、その後増加し卵巣除去後16時間でピークに達した(図4-1)(Mizoguchi ら, 1996)。またミルクタンパク質の一種であるカゼインの遺伝子発現量も同様に増加し卵巣除去後32時間がピークとなった。即ち、ロングタイプのプロラクチン受容体 mRNA 量は、流産の起こる前に増加が始まったことを示している。一方自然分娩下においては、分娩の起こる直前に急激な増加が起こった(図4-2)(Mizoguchi ら, 1997)。カゼイン遺伝子の発現は分娩後に起こった。両者の実験系から、

図3 妊娠期および泌乳期におけるプロラクチン受容体遺伝子発現

図4 妊娠12日目に卵巣除去後(1)及び妊娠後期から泌乳初期まで(2)のプロラクチン受容体の遺伝子発現量の変化 A: 午前10時, B: 午後10時

図 5 妊娠 12 日目に卵巣除去後(1)及び妊娠後期から泌乳初期まで(2)の血中プロゲステロン及びコルチコステロン量の変化 A: 午前 10 時, B: 午後 10 時

泌乳開始時のプロラクチン受容体遺伝子の発現は、分娩の始まる直前に始まることが明らかとなった。では、その発現はどのように調節されているのだろうか？

4. プロラクチン受容体遺伝子発現の制御機構

妊娠中期の血中プロゲステロン濃度は高い。この時期に卵巣を除去すると 2 時間で急激に減少する。この時、プロゲステロンを投与すると乳腺のプロラクチン受容体遺伝子発現は抑制された (Mizoguchi ら, 1996)。また卵巣と同時に副腎を除去してもプロラクチン受容体遺伝子発現は抑制された。しかし、糖質コルチコイドを投与するとその量は増加した。また妊娠後期の乳腺器官培養した実験からも同様の結果を得た。そうした変化はプロラクチン受容体数の変化と良く対応している (Harigaya ら, 1981)。これは、乳腺のプロラクチン受容体遺伝子発現は糖質コルチコイドが正に、プロゲステロンが負に、制御していることを示している。実際の妊娠後期の血中プロゲステロン濃度と血中コルチコステロン濃度の変化を図 5 に示した (Mizoguchi ら, 1997)。よって、分娩に先だって起こるプロラクチン受容体遺伝子発現の

増加は、血中プロゲステロン濃度の減少と、増加の起こる前にコルチコステロン濃度が高レベルであることが重要である。つまりプロラクチン受容体遺伝子発現の増加に先立ち、乳腺がコルチコステロンに数時間さらされる必要があることが明らかとなった。

5. 泌乳開始への役割

泌乳が開始するには、プロラクチンの刺激が必要である。しかし生体内にプロラクチンが大量に存在していても泌乳は起こらない。標的器官側のプロラクチン受容体の制御機構によって泌乳は調節されていると言える。本研究で、その制御機構は遺伝子発現レベルで調節されていることを示した。この発現が分娩直前に増加することにより泌乳開始を誘導していると筆者は仮説を立てた。哺乳類の繁殖サイクルは、内分泌環境と密接に連動して行われている。発情周期、妊娠期を経て起こる分娩を促すにも、好都合な内分泌環境を造り上げていると考えられる。また泌乳の開始機構にもそのいくつかを利用して獲得しているものと思われる。こうした巧妙な生物の仕組みの中で泌乳開始機構の一端を明らかにしたと考えた。

謝 辞

本研究は、東京大学農学部教授酒井仙吉先生の御指導のもとに行った。数々の御教授を賜り深謝の意を表します。また、投稿の機会を与えてくださった中国農業試験場の小松正憲先生に感謝致します。

文 献

- 1) Edery MC, Jolicoeur C, Levi - Meyrueis, Dusanter-Fount I, Petridou B, Boutin JM, Lesueur L, Kelly PA, Djiane J. Identification and sequence analysis of a second form of prolactin receptor by molecular cloning of complementary DNA from rabbit mammary gland. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 86 : 2112-2116. 1989.
- 2) Harigaya T, Sakai S, Kohmoto K, Shoda Y. Influence of glucocorticoids on mammary prolactin receptors in pregnant mice after ovariectomy. *J. Endocrinol.*, 94 : 149-155. 1982.
- 3) Kelly PA, Djiane J, Edery M. Different form of the prolactin receptor. *Trends Endocrinol. Metab.* 3 : 54-59. 1992.
- 4) Lesueur L, Edery M, Ali S, Paly J, Kelly PA, Djiane J. Comparison of long and short forms of the prolactin receptor on prolactin induced milk protein gene transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 88 : 824-828. 1991.
- 5) Lesueur L, Paly J, Kelly PA, Djiane J. Roles of extracellular and cytoplasmic domains of the prolactin receptor in signal transduction to milk protein genes. *Mol. Endocrinol.* 7 : 1178-1184. 1993.
- 6) Sakai S, Enami J, Nandi S, Banerjee M. Prolactin receptor on dissociated mammary epithelial cells at different stages of development. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 12 : 285-298. 1978.
- 7) Mizoguchi Y, Kim JY, Sasaki T, Hama T, Sasaki M, Enami J, Sakai S. Acute expression of the PRL receptor gene after ovariectomy in midpregnant mouse mammary gland. *Endocrine J.*, 92 : 1527-1530. 1996.
- 8) Mizoguchi Y, Kim JY, Enami J, Sakai S. The regulation of the prolactin receptor gene expression in the mammary gland of early pregnant mouse. *Endocrine J.*, 44 : 53-58. 1997.
- 9) Mizoguchi Y, Yamaguchi H, Aoki F, Enami J, Sakai S. Corticosterone is required for the prolactin receptor gene expression in the late pregnant mouse mammary gland. *Mol Cell. Endocrinol.* 132 : 177-183. 1997.

(平成9年11月28日 受理)