ドーパミンD2受容体は両生類脳下垂体前葉からの TRH誘導性PRL放出に対するドーパミンの 抑制作用を仲介する

中 野 真 樹 (埼玉大・院理工・生命科学)

E-mail: s08db005@mail.saitama-u.ac.jp

1. はじめに

プロラクチン(PRL)は、他の前葉ホルモンに比べて多様な生理作用を有している。両生類では、PRLは、電解質代謝や生殖行動に、また幼生の成長や変態に関与していることが知られている。両生類PRLの分泌は、哺乳類と同様に、主に甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(TRH)により惹き起こされ、ドーパミン(DA)により抑制される¹⁾。DAの作用を仲介するDA受容体は、構造的、機能的な違いからD1とD2の2つの受容体サブタイプに大別されている²⁾。現在までに、両生類PRLの分泌抑制に関与するDA受容体サブタイプや、その構造などはほとんど明らかにされていない。そこで我々は、ウシガエル(*Rana catesbeiana*)を材料として用い、PRLの分泌抑制作用を仲介するDA受容体サブタイプの同定と、cDNAのクローニングを行った。

2. PRLの分泌抑制作用を仲介するDA受容体サブタイプの同定

ウシガエル脳下垂体前葉を細切後、ゲル(Sephadex G-25)とともにチャンバー内へ充填し、両生類用リンガー液にて組織灌流(0.2 ml/min)を行った。5分間ごとにフラクションを回収し、各フラクション中のPRL濃度を酵素免疫測定法により測定した。縦軸にPRL量、横軸に時間をとったチャートを作成し(図1)、TRH刺激によるPRL分泌増加時のArea Under the Curveを求め、このPRL分泌に対するDA受容体サブタイプのアゴニスト、およびアンタゴニストの効果を検討した。その結果、D2受容体アゴニスト(Quin-

pirole)はDAと同様に、TRH誘導性のPRL分泌上昇を抑制し、またD2受容体アンタゴニスト(L-741,626)はDAのPRL分泌抑制作用を打ち消した。一方で、D1受容体アゴニスト(SKf-38393)、およびアンタゴニスト(SCH-23390)は、いずれもPRL分泌に対し影響を与えなかった。

以上の結果から、ウシガエル脳下垂体前葉からのTRH誘導性PRL分泌に対するDAの抑制作用は、D2受容体サブタイプにより仲介されていると結論した。

3. ウシガエルD2受容体cDNAのクローニング

縮重プライマーを用いたRT-PCR、および5'-RACE、3'-RACEにより、ウシガエル脳下垂体前葉からドーパミンD2受容体cDNA

図1 TRH誘導性のPRL分泌上昇に及ぼすDAの抑制効果の一例

TRH (10^{-7} M) 刺激により誘導される両生類PRLの分泌増加は、DA (10^{-8} M) の添加により抑制された。

図2 ウシガエルD2 受容体アイソフォームmRNAの発現分布

欠失の存在する領域を挟む特異的プライマーを用いてRT-PCRを行い、得られたcDNA断片を3%アガロースゲルにて電気泳動した。

のクローニングを試みた。その結果、444 (bfD2A)、440 (bfD2B) および411 (bfD2C) アミノ酸残基から成ると推定される、3種のD2受容体アイソフォームが同定された。このウシガエルD2受容体の推定アミノ酸配列は、他の脊椎動物で既に単離されているD2受容体と高い相同性を示し(75~87%)³⁾、また、この配列中にはDAとの結合に関与するとされる4つのアミノ酸残基が保存されていた⁴⁾。これらアイソフォームmRNAの発現分布をRT-PCRにより解析したところ、脳や脳下垂体では3種全てのアイソフォームが発現していた。一方、末梢組織では、主にbfD2Cが発現し、bfD2AおよびbfD2Bの発現はほとんど認められなかった(図2)。

DA受容体は7回膜貫通型受容体として知られるが、bfD2BおよびbfD2Cでは、bfD2Aに比べ、本受容体の第3細胞内領域に、それぞれ4および33アミノ酸残基の欠失がみられた。この領域は、D2受容体においてG-タンパク質との共役に関与すると考えられている。これらのことから、同定されたウシガエルD2受容体の各アイソフォーム間には機能的な相違があると推測される。

4. まとめ

本論文において、両生類脳下垂体前葉からのTRH誘導性PRL放出に対するDAの抑制

作用は、D2受容体サブタイプにより仲介されていることが明らかになった。また、3種のウシガエルD2受容体アイソフォームが同定され、これらアイソフォーム間には機能的な相違があることが推測された。今後、PRL産生細胞に発現するアイソフォームの同定に加え、これら各アイソフォームの細胞内情報伝達機構や、機能の違いなどについて解明することが必要であろう。

本論文は、Molecular cloning of bullfrog D2 dopamine receptor cDNA: Tissue distribution of three isoforms of D2 dopamine receptor mRNA (Nakano M, Hasunuma I, Okada R, Yamamoto K, Kikuyama S, Machida T, Kobayashi T)と題して、General and Comparative Endocrinology (2010) **168**, 143-148に、D2 Dopamine receptor subtype mediates the inhibitory effect of dopamine on TRH-induced prolactin release from the bullfrog pituitary (Nakano M, Minagawa A, Hasunuma I, Okada R, Tonon MC, Vaudry H, Yamamoto K, Kikuyama S, Machida T, Kobayashi T)と題して、General and Comparative Endocrinology (2010) **168**, 287-292に発表した。

文 献

- 1) Kikuyama S, Yamamoto K, Kobayashi T, Tonon MC, Galas L, Vaudry H, 2005. Hormonal regulation of growth in amphibians. In: Heatwole, H (Ed), Amphibian Biology, vol.6. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton, Australia, pp.2267-2300 (Chapter 7).
- 2) Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG, 1998. Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev*, **78**, 189-225.
- 3) Martens GJ, Molhuizen HO, Gröneveld D, Roubos EW, 1991. Cloning and sequence analysis of brain cDNA encoding a *Xenopus* D2 dopamine receptor. *FEBS Lett*, **281**, 85-89.
- 4) Javitch JA, Li X, Kaback J, Karlin A, 1994. A cysteine residue in the third membrane-spanning segment of the human D2 dopamine receptor is exposed in the binding-site crevice. *Proc Natl Acad Sci USA*, **91**, 10355-10359.