

Estrogen receptor present in the ultimobranchial gland of goldfish

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/42701

キンギョの鰓後腺に存在するエストロゲンレセプター Estrogen receptor present in the ultimobranchial gland of goldfish

哺乳類において、カルシトニン様ホルモンは破骨細胞に働き、その活性を抑え、血液中のカルシウム濃度を低下させる。一方、魚類におけるカルシトニン様の生理作用は不明な点が多いが、生殖時に特にメスの血液中のカルシトニン濃度が上昇することは、サケ科の魚類(Björnsson *et al.*, J. Endocrinol., 108:17-23, 1986)やウナギ(Yamauchi *et al.*, Gen. Comp. Endocrinol., 36:526-52, 1978)で知られている。また、エストロゲンがウロコから Ca を溶出させ、血液中の Ca 濃度を上昇させることも知られている(Suzuki *et al.*, Peptides, 21:115-124, 2000)。そこで本研究では、鰓後腺においてエストロゲンレセプターの存在を調べ、カルシトニンとエストロゲンとの関係を解析した。

キンギョ (*Carassius auratus*) の鰓後腺を用いてエストロゲンレセプターのバインディングアッセイ及びラットのエストロゲンレセプターの抗体を用いた免疫組織化学を行った。さらに、キンギョでは、 β (Ma *et al.*, Biochim. Biophys. Acta. 1490:145-152, 2000)及び γ (Tchoudakova *et al.*, Gen. Comp. Endocrinol., 113:388-400, 1999)タイプのエストロゲンレセプター cDNA がクローニングされており、 α タイプは存在しないと考えられている。そこでこれらの塩基配列に基づきプライマーを設計し、RT-PCR を行い、筋肉組織と比較した。また、用いた組織中の mRNA 量が同じであることを調べる為、キンギョのハウスキーピング遺伝子である β アクチンの cDNA も同様に増幅した。PCR 終了後、2.5%アガロース (NuSieve GTG, FMC) 電気泳動により、PCR 産物を解析した。

バインディングアッセイの結果、レセプターの特異的結合がみられ、Scatchard プロットにより、Kd は 18.52 nM であり、サイトゾール 1mg 当たり 1.35 pmol のレセプターが存在することがわかった。また、免疫組織化学により、鰓後腺の中にエストロゲンレセプター陽性細胞が検出された。さらに RT-PCR を行った結果、鰓後腺に β 及び γ タイプのエストロゲンレセプターが存在することが判明した(Fig.1A)。なお、これらのバンドはダイレクトシークエンスにより確認してある。また同じ条件下では、筋肉には検出されなかった(Fig.1A)。以上のことより、本研究ではキンギョの鰓後腺に

エストロゲンレセプターが存在し、エストロゲンによりカルシトニンが分泌されることがわかった。これは、硬骨魚類では初めての報告である。最近我々は、キンギョのウロコを用いた培養系において、エストロゲンにより活性化した破骨細胞をカルシトニンが抑制することを証明した(Suzuki *et al.*, Peptides, 21:115-124, 2000)。この結果と本研究とを考えあわせると、カルシトニンがエストロゲンにより分泌され、ウロコからの Ca の供給量が過剰にならないように制御していることがわかる。さらに我々は、ヒラメの生殖巣にカルシトニンレセプターを検出している(Suzuki *et al.*, Gene 244: 81-88, 2000)。したがって、カルシトニンは、直接卵巣に作用し、何らかの働きをしている可能性がある。一方、哺乳類において、プロゲステロンはカルシトニンの分泌を促すという報告がある(Greenberg *et al.*, Endocrinology 118: 2594-2598, 1986)。また brown trout において、カルシトニンのピークと 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one のピークが一致している(Norberg *et al.*, Gen. Comp. Endocrinol. 75: 316-326, 1989)。今後、カルシトニンとプロゲステロンとの関係についても調べ、魚類の生殖時におけるその作用を解明していく予定である。

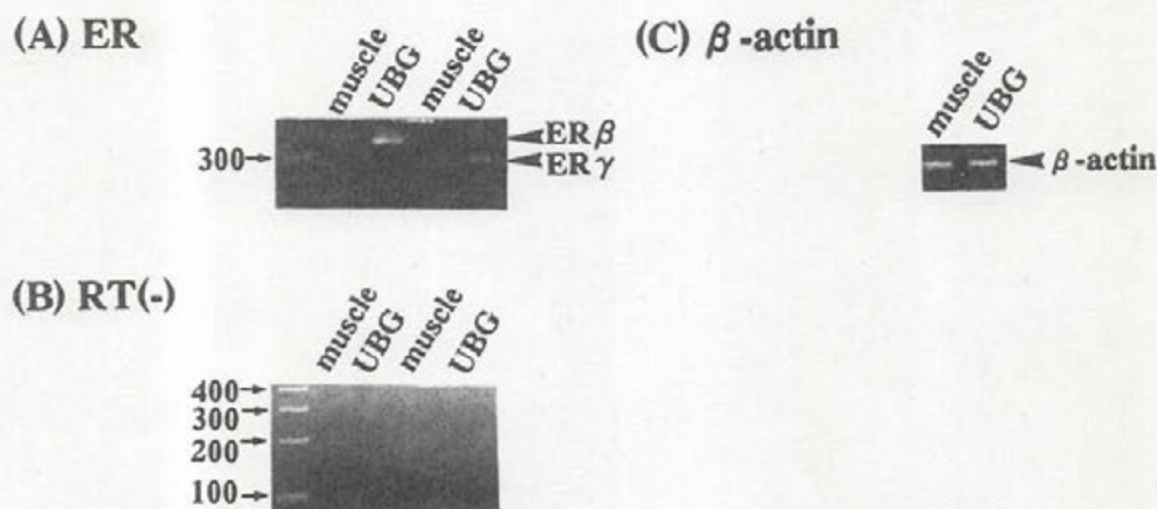


Figure 1. PCR amplification of *ER β* and *ER γ* cDNA in the UBG and muscle of goldfish. *ER β* and *ER γ* cDNA were detected in the UBG but not in the muscle (A). There is no band in PCR amplification without reverse transcriptase (B). In both tissues, *β -actin* cDNA (200 bp) was detected equally (C). Arrowheads indicate the PCR products of *ER β* cDNA (289 bp) and *ER γ* cDNA (326 bp). Arrows indicate the size marker.

(本研究は、当臨海実験所鈴木信雄助手により行われた。)