

## 論文の内容の要旨

### 線虫のドーパミン受容体の同定

氏名 周防 諭

ドーパミンは、神経内分泌、運動、情動を制御する主要な神経伝達物質である。ドーパミンは、細胞表面にあるドーパミン受容体によってシグナルを伝達する。哺乳類では5種類のドーパミン受容体が同定されていて、それらは全て7回膜貫通型のGタンパク質共役型受容体である。5種類の受容体はそのアミノ酸配列の相同性と薬理的性質から、D1様受容体とD2様受容体の2種類のクラスに分類されている。D1様受容体はアゴニスト刺激によってGタンパク質Gsを介してアデニル酸シクラーゼを活性化し、細胞内のcAMP濃度を上昇させる能力がある。これに対して、D2様受容体はGタンパク質Giを介してアデニル酸シクラーゼを抑制する能力を持っている。ドーパミン受容体は、cAMP以外のシグナル経路にも共役する能力があることが示され

ている。しかし、ドーパミン受容体のセカンドメッセンジャーへの共役に関する研究は、主に受容体 cDNA を導入した培養細胞を用いて行なわれてきた。そして、このような遺伝子導入を行う系では、生体内で受容体がおかれている環境を反映していない可能性がある。そこで本研究では、神経系の分子機構の研究に適したモデル生物である線虫 *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) に注目した。

*C. elegans* の雌雄同体では、細胞内にドーパミンを持つ神経細胞が 8 個存在する。いくつかのドーパミンシグナルに関わるタンパク質の遺伝子が同定され、機能的に解析されている。また、*C. elegans* においてドーパミンがいくつかの行動の制御に重要な役割を果たしていることが示されている。これらのことから、*C. elegans* においても機能的なドーパミン系が存在することが明らかであり、そのシグナル伝達に重要なドーパミン受容体も存在すると考えられる。しかし、これまで *C. elegans* にドーパミン受容体があるという報告はなかった。

単純な神経系をもち、遺伝的スクリーニングの可能である *C. elegans* のような動物でドーパミン受容体の関わるシグナル伝達を研究することにより、これまで培養細胞や哺乳類を用いて行なわれてきた研究では得られなかった知見を得られる可能性がある。そこで私は、*C. elegans* のドーパミン受容体の同定を目的として研究を行なった。

*C. elegans* の予測タンパク質のデータベースに対して、ヒトのドーパミン受容体配列を用いて相同性検索を行なった。その上位 100 個のタンパク質のうち、ドーパミンとの結合に重要である、膜貫通領域 5 のセリン残基が保存されているタンパク質をドーパミン受容体候補とした。選出された F15A8.5、K09G1.4、T14E8.3、C52B11.2、F14D12.6、および T02E9.3 の 6 種類の cDNA をクローニングした。F15A8.5 は哺乳類

の D1 様ドーパミン受容体と比較的高い相同性を持ち、K09G1.4 と T14E8.3 は哺乳類の D2 様ドーパミン受容体と比較的高い相同性を持っていた。C52B11.2 はショウジョウバエで見つかっているドーパミン受容体 DAMB と高い相同性を持ち、哺乳類のドーパミン受容体とは高い相同性は持たなかった。F14D12.6 はオクトパミン受容体と高い相同性を持ち、T02E9.3 は他のアミン受容体とは低い相同性しか持たなかった。

そのなかで特に、F15A8.5 と K09G1.4 について詳しく解析した。この 2 つの受容体を哺乳類培養細胞で発現させ、リガンド結合実験を行なった。その結果、これら 2 つの受容体は、他の神経伝達物質よりも高い親和性でドーパミンと結合することが明らかになった。しかし、哺乳類のドーパミン受容体のアンタゴニストとの親和性は低く、哺乳類のドーパミン受容体とは異なる薬理的性質を持つことを明らかにした。また、K09G1.4 の細胞内 cAMP 濃度への影響を検討したところ、K09G1.4 が D2 様受容体の特徴であるアデニル酸シクラーゼの抑制を行うことがわかった。さらに 2 つの受容体の *C. elegans* 個体内での発現部位を調べたところ、いずれの受容体も神経細胞で発現していることがわかった。K09G1.4 に関しては、ドーパミンニューロンでも発現していることを示した。

以上の結果から F15A8.5 は *C. elegans* の D1 様ドーパミン受容体であり、K09G1.4 は *C. elegans* の D2 様ドーパミン受容体であると考えられる。本研究によって *C. elegans* のドーパミン受容体が明らかになったことで、*C. elegans* を用いてドーパミン受容体のシグナル伝達に関わる分子を遺伝的スクリーニングによって探索することが可能となった。