

151 分娩時オキシトシン受容体遺伝子転写活性機構の解析

大阪大

木村 正、東 千尋、竹村昌彦、徳川吉弘、
緒方 功、松村洋子、佐治文隆、村田雄二

〔目的〕 分娩時子宮筋におけるオキシトシン受容体(OTR)の増加は、上に転写レベルで制御される。その制御因子の解析のため以下の実験を行った。〔方法〕 同意を得て摘出した分娩時子宮破裂筋層及び黄体期子宮筋腫正常筋層より核蛋白を抽出した。OTR遺伝子5'上流2.7kbを断片化し、両核蛋白との結合をゲルシフト法で調べた。差のある部分を更に細分化し-1026⁻-1150bp(+1;転写開始点)に対しメチル化干渉フットプリントを行った。決定したエレメントを4回つなぎ、チミジンキナーゼプロモーターと共に応答遺伝子(pGL3)に導入、子宮筋腫由来SKN株に導入しルシフェラーゼアッセイを行った。エレメントを8回つなぎラテックス粒子(Easy Anchor)に固着化、SKN細胞1010個よりアフィニティーバッチ法でDNA結合蛋白を精製した。UVクロスリンク法で、その蛋白の分子量を決定した。〔結果〕 OTR上流-826⁻-1152bp断片への結合蛋白が分娩時子宮筋で増加した。フットプリントの結果、この蛋白は-1058⁻-1074の17bpよりなるエレメント(US1)に結合した。US1を4回タンデムにつなぐとチミジンキナーゼ最小プロモーターに対し、SKN細胞内で2.8倍のエンハンサー活性を示した。精製の結果、US1への結合能は約500倍に濃縮されたが、銀染色では、約20種類のポリペプチドよりなる混合物だった。US1に結合する蛋白の分子量は70kDであった。〔結論〕 OTR遺伝子の分娩子宮での転写活性化のエレメントを同定し、それに結合する蛋白質の部分精製に成功した。本分子のクローニングにより、OTRの大量発現の機構解明が期待される。

152 胞状奇胎妊娠の子宮筋層におけるオキシトシン受容体発現

大阪府立母子医療センター

信永敏克、石郷岡哲郎、榎本 修、佐藤 敦、
島野美保、荻田和秀、水谷隆洋、上浦祥司、
末原則幸

〔目的〕 子宮筋におけるオキシトシン受容体(OTR)の発現は妊娠後半徐々に増加し、陣発発来後に最大になる。オキシトシン(OT)は分娩誘発以外に、胞状奇胎娩出のため静脈内投与も行われている。我々は胞状奇胎妊娠子宮筋層における OTR の発現を検討し、奇胎娩出時における OT の作用機序を検討した。

〔対象〕 奇胎妊娠により子宮全摘を行った妊娠11週から13週までの5症例および正常産で経膈分娩後子宮破裂により子宮全摘を行った1症例、また子宮筋腫により全摘を行った1症例を対象とした。

〔方法〕 ①各症例の子宮筋層より RNA を抽出しノーザンブロット法により OTR mRNA 量を定量した。②同様に蛋白を抽出し、ウエスタンブロット法により OTR 蛋白の発現量を定量した。③免疫組織染色法により、胞状奇胎妊娠子宮筋における OTR 蛋白の発現を検討した。

〔結果〕 ①5例の胞状奇胎妊娠子宮筋に4.4kbの OTR mRNA 発現を認め、その mRNA 量は非妊娠子宮筋に比べ24~38倍であったが、正常産に対して1/3~1/4であった。②OTR 蛋白発現量においても20~35倍の増加を認めたが、正常産子宮筋に比べ1/3~1/4であった。③免疫組織染色により胞状奇胎妊娠子宮筋において OTR 蛋白の発現を認めたが、正常産に比べ OTR 陽性細胞数は減少していた。

〔考察〕 妊娠初期にもかかわらず、胞状奇胎妊娠子宮筋層には、mRNA レベル、蛋白レベル共に約20~30倍の OTR の発現を認めるため、胞状奇胎娩出時において、OT は OTR を介して作用すると考えられる。