

371 ヒトオキシトシン受容体転写調節因子のクローニング

大阪大、大阪府立母子センター*

木村 正、荻田和秀、楠井千賀、竹村昌彦*、
徳川吉弘、信永敏克、大橋一友、東 千尋、
村田雄二

【目的】ヒトオキシトシン受容体(OTR)遺伝子は妊娠満期子宮筋にて強い転写促進を受ける。我々は分裂酵母を用いた発現クローニングを用いこの転写調節機構の解明を試みた。【方法】OTR遺伝子上流-1433~-1414bp(US-2領域)を6回タンデムに持つ応答遺伝子pHIS1-1(US2)6を分裂酵母YM4271に導入した。酵母One-hybrid systemを用いて、GAL-4活性化ドメインの下流に構築したヒト分娩時子宮筋由来cDNAライブラリー、 1.4×10^7 クローンをスクリーニングした。56個の陽性コロニー由来の分娩時子宮筋cDNAを鋳型に試験管内で蛋白合成し、バンドシフト法でOTR遺伝子と結合するcDNAを得た。5'-, 3'-RACE法を併用し全長の塩基配列を決定した。RNAプロットにて子宮での発現を確認した。MCF-7細胞にOTR遺伝子上流応答遺伝子と共に導入してその転写に対する影響を検討した。【結果】得られたcDNAは全長2.3kb, 164個のアミノ酸よりなるロイシンジッパー構造を持つ新しいDNA結合蛋白をコードし、Mafと呼ばれる転写調節因子ファミリーに属した(UMaf)。UMaf蛋白はOTR遺伝子上流と結合した。非妊娠、妊娠子宮ともにUmaf mRNAを発現していた。US-2領域を持つOTR遺伝子上流に対して、UMafは転写を促進しなかった。MCF-7細胞におけるOTR遺伝子の転写はエストロゲン、フォルスコリン、ホルボールエステルの刺激で変動せずUMafとの相乗作用も認めなかった。【結論】分娩時子宮筋からOTR遺伝子結合蛋白をクローニングする方法を確立した。今回得られたUMafは、OTR遺伝子と結合し子宮に発現するが、直接の転写調節活性を持たず、他の転写調節因子との蛋白質間結合などを調節すると推察される。

372 Subfornical organ(脳弓下器官)に対するOxytocinの作用

大阪大、同保健学科[†]、阪南中央病院**

細野剛良、山地建二[†]、福家信二、早田憲司、
福田裕償、富松拓治、光田信明、神崎 徹、
村田雄二、中村益久**

【目的】Subfornical organ (S) は脳室周囲器官の一つで、血中 Angiotensin II (A) を感受し水電解質(特にNa, Ca)調節・摂取に関与する。SにはOxytocin (OT) 受容体 (OTR) が存在し、OT神経も分布する。また、OTの脳室内投与は水電解質摂取を修飾する。OTがSで水電解質調節作用を持つ可能性について、ラットを用い電気生理学的に検討した。

【方法】新鮮ラット脳からSを切出、スライス標本を作製した。Sを人工脳脊髄液 (aCSF) で灌流、白金電極でS神経の活動を細胞外記録した。aCSFにOT等を加えて神経活動が20%以上変化した場合、有意な感受性ありとした。1) S神経へのOT, Aの効果の雌雄差。2) S神経へのOT, OTR antagonist (OTRA), 低Ca濃度にしたaCSF, Aの効果を各々検討した。

【成績】ラットのS (n=62) から214個のS神経活動を記録できた。1) S神経へのOT, Aの効果に雌雄差はなかった。2) S神経の24%が10の-6乗Mの閾値でOTに量依存性感受性を示した。うち、55%は神経活動が促進され、45%は抑制された。3) 促進・抑制反応ともOTRAにより消失した。4) 低CaのaCSFで灌流しシナプス伝達をブロックすると、抑制反応は消失したが促進反応は維持された。5) OT感受性S神経の93%はAにも感受性を示した。

【結論】24%のS神経はOTRを介するOT感受性を示した。OT感受性S神経はA感受性も有した。よって、授乳・分娩など脳内OT神経活動亢進状態では、SにおけるA感受性水電解調節・摂取をOTが修飾していることが示唆された。