



Title	Structure and expression of a human oxytocin receptor
Author(s)	木村, 正
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38708">https://hdl.handle.net/11094/38708</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	木村	正
博士の専攻分野の名称	博士(医学)	
学位記番号	第 10817 号	
学位授与年月日	平成 5 年 5 月 11 日	
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当	
学位論文名	Structure and expression of a human oxytocin receptor (ヒトオキシトシン受容体の構造と発現)	
論文審査委員	(主査) 教授 谷澤 修	
	(副査) 教授 岡山 博人 教授 谷口 直之	

### 論文内容の要旨

#### [目的]

オキシトシン (OT) は主に視床下部で産生され下垂体後葉より分泌されるペプチドホルモンである。その主な作用は子宮収縮作用であるが子宮の OT に対する感受性は陣痛発来直前に急上昇し、これは子宮筋の OT 受容体 (OTR) 数の急激な上昇に依存している。この OTR 誘導のメカニズムを解明することは、陣痛発来機構の解明のみならず、早産や過強陣痛といった陣痛異常の制御にまったく新しいアプローチ法を与える可能性がある。このために我々はまず OTR の構造を分子クローニングにより決定し、その発現調節を遺伝子レベルで検討した。

#### [方法]

経腔分娩ののち、子宮破裂による大出血のため全摘を行ったヒト子宮筋より GuSCN/CsTFA 法を用いて全 RNA を抽出、オリゴ dT セルロースカラムを用いて mRNA に精製した。この mRNA を鋳型に、SP 6, T 7 RNA polymerase promotor をもつ pcD 改変ベクター pcDSP 6 / T 7 に Okayama-Berg 法を用いて  $4 \times 10^7$  独立クローンをもつ cDNA ライブラリーを構築した。これより更にインサート 4 Kb 以上のサブライブラリーを作成し、その  $10^5$  クローンを約 6000 クローン  $\times$  16 プールにわけ、各々よりプラスミド DNA を精製した。この DNA を鋳型に SP 6 RNA polymerase を用いて、Cap アナログと共に試験管内転写法により各プール由來の mRNA を合成し、アフリカツメガエル卵母細胞 (Xenopus oocyte) に微量注入、培養した。この oocyte に whole cell clamp (-60mV) 下で OT を作用させ、その時の膜電流陽性プールを選択していくことにより、最終的に単一のクローン、pOTR を得た。本クローンの塩基配列を Sanger 法を用いて決定した。又、oocyte を用いて受容体の薬理学的特性を検討した。またヒト手術標本および剖検例から種々の組織由來 RNA を抽出し、Northern blot 法にて OTR mRNA の発現を検討した。

#### [成績]

OTcDNA は 4103 bp よりなり、その塩基配列より 389 個のアミノ酸をコードすると推定された。この蛋白は hydrophobicity score より 7 回の膜貫通領域を有し、homology search にて、ロドプシン、アセチルコリン M 2 受

容体、 $\beta_2$ -アドレナリン受容体等と膜貫通領域に20-30%のホモロジーを有するG蛋白結合型受容体であることが明らかになった。OTRは、OTのみならずArg<sup>8</sup>-バソプレッシン（AVP）にも反応したが、そのV<sub>1</sub>受容体アゴニストである[Phe<sup>2</sup>Ile<sup>3</sup>Orn<sup>8</sup>]-バソトシンとは反応しなかった。またOTの作用はOT拮抗剤にて著明に抑制された。またヒト各組織におけるOTR mRNAの発現をみると、大脳皮質、肺、肝臓、腎臓、脾臓ではシグナルをみとめることができず、乳腺、卵巢、子宮内膜、子宮筋で発現をみとめた。子宮筋では、非妊娠子宮筋ではシグナルを認めず、妊娠13週の子宮筋にて中程度の、分娩時の子宮筋にて極めて大量のOTR mRNAの発現をみとめた。以上の成績より、クローニングされたpOTRはたしかにOT特異的受容体をコードしており、子宮筋における分娩時OTR量の劇的な増加は主にその転写レベルで調節を受けていることが明らかになった。

#### [総括]

- (1) ヒト分娩時子宮筋より、オキシトシン受容体cDNA(pOTR)をクローニングし、G蛋白と結合する7回膜貫通型受容体ファミリーに属することを明かにした。
- (2) OTRはOT及び高濃度AVPと反応したが、V<sub>1</sub>アゴニストとは反応しなかった。
- (3) OTR mRNAは乳腺、卵巢、子宮内膜、子宮筋に発現し、分娩時に子宮筋で極めて大量の発現誘導が認められた。

#### 論文審査の結果の要旨

上記論文において、オキシトシン受容体の分子クローニングに成功し、そのcDNAの塩基配列を決定、アミノ酸配列を推定した。またこのcDNAを用いてオキシトシン受容体の薬理学的特性や、そのmRNAの臓器別発現を検討し、分娩時の子宮筋で極めて大量の発現を認めた。

以上の新知見を示した本論文は学位を授与されるに値する研究であることを確認した。