



Title	Structual Organization of the Human Oxytocin Receptor Gene
Author(s)	井上, 朋子
Citation	大阪大学, 1995, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/39652
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	井 上 朋 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 2 1 1 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 7 年 1 0 月 1 7 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	Structural Organization of the Human Oxytocin Receptor Gene (ヒトオキシトシン受容体遺伝子の構造解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡田伸太郎 (副査) 教 授 谷口 直之 教 授 綱野 信行

論 文 内 容 の 要 旨

【目 的】

ヒトオキシトシン受容体 (OTR) は、分娩時子宮筋層では非妊娠時に比べて数百倍に増加しているが、その変化は遺伝子の発現レベルの調節である。この発現調節機構を明らかにするためにヒト OTR 遺伝子をクローニングし、構造解析を行なった。

【方法ならびに成績】

1. OTR 遺伝子の単離

ヒト OTR cDNA の, XhoI/PstI (−367~+711) 断片と, PstI/PstI (+1195~+2821) 断片をプローブにして、2種類のヒトゲノムライブラリー、計 2.5×10^6 pfu をブラークハイブリダイゼーション法によりスクリーニングした。得られたファージクローンは適切な制限酵素により切断し、遺伝子地図を作成すると同時に、プラスミドにサブクローニングを行ない、塩基配列は非 RI 系を用いた dideoxy chain termination 法にて決定した。

2. OTR 遺伝子の構造

ヒト OTR 遺伝子は全長約 17Kb で、4つのエキソンと3つのイントロンから構成されていた。cDNA との比較によると、エキソン 1, 2 は 5' 非翻訳部位に相当し、翻訳部位はエキソン 3, 4 に含まれていた。エキソン/イントロン間のスプライシング部位を検討すると、ほかの 7 回膜貫通型レセプター遺伝子ファミリー (バソプレッシン V2 レセプター, TXA2R, ET-AR 等) と同様の位置にスプライシング部位を認め、遺伝子間の近縁性をうかがわせた。

3. ゲノム内 OTR 遺伝子の数

OTR cDNA の BamHI/PstI (−67~+711) 断片をプローブにして、genomic southern blot を行なうことにより、ヒト OTR 遺伝子はヒトゲノム内に 1 コピー存在していた。

4. OTR 遺伝子の染色体上の位置

OTR cDNA の全長 4.1Kb をプローブにして、FISH 法 (fluorescence in situ hybridization 法) でヒト染色体を検索したところ、ヒト OTR 遺伝子は第 3 染色体短腕遠位端, 3p26.2 に存在することが明らかになった。

5. 転写開始点の決定

2種類の合成プライマー (PE-1; -521~-540, PE-2; -505~-544) を作製し, primer extension法にて OTR 遺伝子の転写開始部位を調べたところ, メチオニンコドンより上流-621bp と-618bp の2箇所に転写開始点が存在した。

6. 転写調節エレメントの解析

転写開始点より上流約 1.8Kb の塩基配列をコンピューター解析にて, 既知の転写因子の結合部位配列と比較すると, TATA様配列が -28bp, -31bp の位置に, また Sp-1 結合配列がその約-35bp の部位に存在していた。さらに上流には GATA モチーフが4箇所, c-Mybが1箇所, AP-2が1箇所, AP-1が2箇所に認められた。エストロゲン反応エレメント (ERE) はハーフサイトとして, 5'-GGTCA-3' モチーフが2箇所, 5'-TGACC-3' モチーフが1箇所に存在していた。また炎症時に出現する核蛋白に関しては, NFIL-6 (nucleo factor interleukin 6) 結合部位が3箇所に, その近傍には APRE (acute phase reactant responsive element) が2箇所に存在していた。

【総括】

ヒトオキシトシン受容体遺伝子をクローニングすることにより, 下記の知見が得られた。

1. OTR 遺伝子は全長17Kbで, 4つのエキソンと3つのイントロンから構成されていた。
2. OTR 遺伝子はゲノム内1コピー存在していた。
3. OTR 遺伝子の染色体上の位置は3p26.2であった。
4. 転写開始点は, -621bp, -618bp の2箇所であった。
5. 転写調節部位には TATA 様配列, SP-1 配列等が存在していた。さらに ERE や NFIL-6CS, APRE の存在が確認され, OTR 遺伝子の発現にエストロゲンや炎症性サイトカインが関与していることが予想された。

論文審査の結果の要旨

本論文においてヒトオキシトシン受容体遺伝子をクローニングし解析した結果, 同遺伝子は,

- (1) 全長17kbで, 4 exon と 3 intron から構成されていた。
- (2) ゲノム上に1コピー存在し, 染色体上の位置は3P26.2に位置していた。
- (3) 転写開始点はメチオニンコドンより -618bp と -621bp の2箇所に認めた。
- (4) 遺伝子のの上流にはERE, NFIL-6CS, APREなどが存在し, エストロゲンや炎症性サイトカインが発現に関与していると予想された。

妊娠, 分娩の過程上, 子宮収縮(陣痛)が適切にコントロールされているのはオキシトシン受容体遺伝子の発現調節機構に基づくと考えられており, そのためオキシトシン受容体遺伝子の構造解析を行った本論文は, ヒトの分娩発来メカニズムを分子生物学的手法を用いて解明するために重要な知見であり, 学位を授与されるに値するものと認める。