

Title	The Role of Mitogen-Activated Protein Kinase in Oxytocin-induced Contraction of Uterine Smooth Muscle in Pregnant Rat
Author(s)	野原, 当
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41062
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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	野 原 当 ^{はら あたる}
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 5 8 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 10 年 3 月 9 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	The Role of Mitogen-Activated Protein Kinase in Oxytocin-induced Contraction of Uterine Smooth Muscle in Pregnant Rat (オキシトシンによるラット妊娠子宮平滑筋収縮における MAP キナーゼの役割)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 村 田 雄二 (副査) 教 授 遠 山 正 彌 教 授 平 野 俊 文

論 文 内 容 の 要 旨

[目的]

細胞外の種々の刺激により MAP キナーゼを含むセリン/スレオニンキナーゼ活性が刺激されることが知られている。MAP キナーゼキナーゼすなわち MEK がシグナルの上流からの刺激を受けリン酸化され、ついで下流の MAP キナーゼのスレオニン/タイロシン残基をリン酸化することによって MAP キナーゼの活性が上昇する。我々はオキシトシンによるヒト子宮筋のシグナル伝達に MAP キナーゼが関与している可能性があることを報告した。しかし、MAP キナーゼのシグナル伝達路がオキシトシンの生物学的役割にどのように関与しているかは明らかではない。そこで、MEK を特異的に抑制する MEK inhibitor (PD98059) を用いて、MAP キナーゼのリン酸化の抑制とオキシトシンによる子宮筋収縮の関連を検討した。

[方法および成績]

①ウィスター系雌ラット妊娠21日齢を断頭し子宮を摘出、胎児を除去し、胎盤付着部をのぞく子宮平滑筋部分を細切し酵素処理を施して培地上に初代培養した。これを培養5日目に実験に供した。また、インフォームドコンセントを得て選択的帝王切開時に子宮切開層より子宮筋の小片を採取し、細切酵素処理を施して培地上に初代培養した。これを培養5日目に実験に供した。MEK inhibitor 各濃度を10分間前投与した後オキシトシン $1\mu\text{M}$ を5分間投与し、細胞の可溶化成分を抗 MAP キナーゼ抗体を用いて免疫沈降し抗ホスホタイロシン抗体を用いたウェスタンブロットにて MAP キナーゼのタイロシンリン酸化を検討した。

ラット、ヒト妊娠子宮筋培養細胞においてオキシトシンによる MAP キナーゼのリン酸化はともに MEK inhibitor により濃度依存的に抑制された。

②ウィスター系雌ラット妊娠21日齢を断頭し子宮を摘出、胎児を除去し、胎盤付着部をのぞく子宮平滑筋部分を長さ15 mm 幅5 mm に切り、懸垂力測定に供した。MEK inhibitor 各濃度を前投与した後オキシトシンを投与し、ラット妊娠子宮筋のオキシトシンによる収縮力に対する MEK inhibitor による影響を検討した。

ラット妊娠子宮筋のオキシトシンによる収縮は MEK inhibitor により濃度依存的に抑制された。

③ラットおよびヒト妊娠子宮筋初代培養細胞において、カルシウムイオン感受性の蛍光色素 fura-2AM を用いたデジタルイメージング蛍光顕微鏡を使用し、MEK inhibitor 前投与の有無がオキシトシンによる細胞内カルシウムイオン濃度の変化に影響を及ぼすか検討した。

ラット、ヒト妊娠子宮筋において MEK inhibitor 前投与の有無によりオキシトシンによる細胞内カルシウムイオン濃度の変化は影響を受けなかった。

[総括]

雌ラット妊娠21日齢子宮初代培養細胞において MEK inhibitor およびオキシトシンを投与し抗 MAP キナーゼ抗体を用いた免疫沈降および抗ホスホタイロシン抗体を用いたウェスタンブロットにより、オキシトシンは濃度依存的に MAP キナーゼのタイロシン残基をリン酸化し、MEK inhibitor が濃度依存的にオキシトシンによる MAP キナーゼのタイロシン残基リン酸化を抑制することが示された。また、MEK inhibitor はヒト妊娠子宮筋初代培養細胞においてもオキシトシンによる MAP キナーゼのタイロシン残基リン酸化を抑制することが示された。

また、ラット妊娠21日齢妊娠子宮筋小片の懸垂実験にて、MEK inhibitor はオキシトシンによる子宮筋収縮を濃度依存的に抑制することが示された。

しかしながら、オキシトシンによる MAP キナーゼのリン酸化を完全に抑制する濃度の MEK inhibitor によって抑制される子宮筋収縮は約40%であった。この理由を検討するため、従来より子宮筋収縮に関与すると考えられている細胞内カルシウムイオン濃度に注目し、オキシトシンによる細胞内カルシウムイオン濃度上昇に対する MEK inhibitor の影響を検討した。MEK inhibitor 前投与の有無によりオキシトシンによる細胞内カルシウムイオン濃度上昇は影響を受けなかった。

以上の結果により、カルシウムイオン非依存性である MAP キナーゼカスケードがオキシトシンによる妊娠子宮筋収縮調節に関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本論文は、産婦人科領域で臨床上非常に重要なオキシトシンによる妊娠子宮筋収縮の細胞内情報伝達機構に、従来から知られている細胞内カルシウムイオンに依存するメカニズム以外に存在が示唆されているカルシウム非依存的なメカニズムに注目し、Mitogen-Activated protein キナーゼすなわち MAP キナーゼのカスケードの関与を検討したものである。

オキシトシンにより妊娠子宮筋細胞の MAP キナーゼがリン酸化されること、MAP キナーゼカスケードをブロックするとオキシトシンによる子宮筋繊維の収縮が抑制されること、MAP キナーゼカスケードをブロックしてもオキシトシンによる細胞内カルシウムイオン濃度の変化に影響がないことから、Ca 非依存的な MAP キナーゼカスケードがオキシトシンにより妊娠子宮筋収縮に関与している可能性があることを示した。

この内容はオキシトシンによる妊娠子宮筋収縮メカニズムに従来知られていない系の関与を示唆するもので、学位の授与に値すると思われる。