


論 文 要 旨

区 分	①・乙	氏名	水 上 正 彦 
-----	-----	----	---

p38 Mitogen-activated protein kinase and c-Jun NH₂-terminal protein kinase regulate the accumulation of a tight junction protein, ZO-1, in cell-cell contacts in HaCaT cells

研究目的

ヒト重層扁平上皮細胞株であるHaCaT細胞の二次元培養系を使って、ケラチノサイトでのタイト結合形成におけるMitogen-activated protein kinase (MAPK)、特にc-Jun NH₂-terminal protein kinase (JNK)およびp38の働きを調べることである。

材料および方法

HaCaT細胞を40 μM SP600125 (SP; JNK阻害剤)、40 μM SB202190 (SB; p38阻害剤)、0.5 μM anisomycin (AM; JNK, p38の活性化剤)の種々の組み合わせで8時間処理して固定した。また、薬剤処理8時間後に通常培地に交換して、さらに16時間培養した後に固定した。これらをタイト結合裏打ち蛋白であるZO-1またはタイト結合の膜蛋白であるclaudin-4に対する抗体で免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。さらに薬剤添加0.5時間後と8時間後のp38およびJNKのリン酸化(活性化)の状態をウエスタンブロットにて解析した。

結果

p38の活性化で、ZO-1は細胞間接着部位へ細い線状に集積した。P38の活性化とJNKの軽度の活性化で、ZO-1は細胞間接着部位へ太い線状またはジグザグ状に集積した。p38の活性化とJNKの中程度の活性化では、ZO-1の細胞間接着部位への線状の集積はなくなり、代わりに断片的なZO-1の集積がみられた。p38の活性化を8時間抑制すると、ZO-1は細胞間接着部位へ細い線状に集積したが、24時間抑制するとZO-1の集積は消失した。薬剤処理8時間後に通常培地に交換してさらに16時間培養すると、細胞間接着部位へのZO-1の集積がみられない薬剤の組み合わせでも、一部に間隙がみられるものの細い線状の集積が細胞間接着部位にみられ、claudin-4も細胞間接着部位へ細い線状に集積していた。

考察

ZO-1およびclaudin-4はタイト結合を構成する蛋白であり、これらの細胞間接着部位への集積はタイト結合の形成を意味する。太い線状またはジグザグ状の集積は、タイト結合形成過程または分解過程で見られることがある。一方、細い線状の集積は成熟したタイト結合で見られる。p38の活性化はタイト結合の形成を誘導し、JNKの活性化はタイト結合の分解を誘導していると考えられる。p38の抑制は一時的(8時間)にはタイト結合の形成を誘導するが、長期的(24時間)には分解へと導く。

結論

以上のことから、ZO-1を指標としたタイト結合の形成・分解は、p38およびJNKによる制御を受け、さらに作用時間にも影響されることが示唆された。