

26J-am01

中鎖脂肪酸適用に伴うタイトジャンクションタンパク質の分布変化

○杉林 康¹, 大貫 義則¹, 高山 幸三¹(¹星薬大)

【目的】カプリン酸 (C10) は上皮細胞間のタイトジャンクション (TJ) を開口させることが知られる中鎖脂肪酸である。その作用機構は以前から様々な検討が行われているものの、TJを構成する膜タンパク質への作用は未だ明らかではない。近年、TJタンパク質の機能にはコレステロール (Ch) に富む細胞膜領域である脂質ラフトが関与すると考えられている。これをもとに、我々はC10によるTJの開口作用に脂質ラフトが関与すると考えた。本検討では、C10を適用したときのTJタンパク質の分布を詳細に検討した。

【方法】TJの機能評価：イヌ腎臓由来のMDCK細胞にC10を適用し、膜抵抗値 (TER) およびFITCデキストラン4400 (FD-4) 透過量を評価した。TJタンパク質の分布評価：MDCK細胞にC10およびCh除去剤のメチル-β-シクロデキストリン (MCD) を適用した後、Triton X-100 (TX-100) 可溶性画分と脂質ラフトが含まれる不溶性画分に分離し、それぞれの画分に含まれるTJタンパク質 (claudin1-5 およびoccludin) をウェスタンブロット法により評価した。

【結果・考察】TER および FD-4 透過量から TJ の機能が著しく低下する C10 の適用条件を探索し、その条件を用いて TJ タンパク質の分布を評価した。C10 により claudin4、5、occludin の分布は、TX-100 不溶性画分から消失した。一方、Ch 除去により脂質ラフトを破壊する MCD では、検討を行った全ての TJ タンパク質の分布が TX-100 不溶性画分から消失した。TX-100 不溶性画分は脂質ラフトが濃縮された画分であるため、このことは、C10 により TJ タンパク質 claudin4、5、occludin が特異的に脂質ラフトから消失することを意味する。以上の結果より、C10 による TJ 開口作用は脂質ラフトと深く関与することが示唆された。