

琉球大学学術リポジトリ

Increased expression of EGR1 and KLF4 by polysulfide via activation of the ERK1/2 and ERK5 pathways in cultured intestinal epithelial cells

メタデータ	言語: 出版者: University of the Ryukyus 公開日: 2020-12-09 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Arakaki, Kaoru, 新垣, かおる メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/47446

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Increased expression of EGR1 and KLF4 by polysulfide via activation of the ERK1/2 and ERK5 pathways in cultured intestinal epithelial cells

(培養腸管上皮細胞におけるポリスルフィドによる ERK1/2 系と ERK5 系の活性化とそれによる EGR1 と KLF4 の発現増加)

氏名 新垣かおる (新)

【背景】	毒物として知られていた硫化水素
(hydrogen sulfide: H ₂ S)	が、近年、哺乳動物の細胞内で
産生される	ことが明らかとなり、一酸化炭素
(carbon monoxide: CO)	や一酸化窒素 (nitric oxide: NO) に続く
第三のガス状の生理活性物質	として注目されて
ている。	H ₂ Sは、神経伝達の調節、血管新生、
抗炎症や抗アポトーシス	などに関与すること
が報告されている。	腸管では、H ₂ Sは腸管上皮
細胞に加えて、腸内細菌	によっても産生される
ため、大腸内のH ₂ S	の濃度は2mMに達するこ
とが報告されている。	すなわち、腸管上皮細
胞は他の細胞に比べて	高濃度のH ₂ Sに暴露され
ている可能性がある。	H ₂ Sは潰瘍性大腸炎やク
ローン病、大腸癌	に関与しているとの報告も
ある。	H ₂ Sは、生体内では複数のイオウ原子が
連なったポリスルフィド	として生理機能を発
揮している	ことが明らかになってきた。しか
し、腸管上皮細胞	におけるポリスルフィドの
生理機能は不明	である。
【目的】	我々の研究室では、ラットの培養腸

管	上	皮	細	胞	(IEC-6	細	胞)	を	用	い	て	、	種	々	の				
mitogen-activated	protein	kinase	(MAPK)	系	の	活	性	化	と	そ	の	生	理						
機	能	に	つ	い	て	検	討	し	て	き	た	。	今	回	、	ポ	リ	ス	ル
フ	イ	ド	に	よ	る	MAPK	系	の	活	性	化	と	遺	伝	子	発	現	へ	
の	影	響	に	つ	い	て	検	討	し	た	。								
【	方	法	】	ポ	リ	ス	ル	フ	イ	ド	産	生	物	質	と	し	て	sodium	
trisulfide	(Na ₂ S ₃)	を	使	用	し	た	。	遺	伝	子	発	現	変	化	は	DNA			
マ	イ	ク	ロ	ア	レ	イ	法	と	RT-PCR	に	よ	り	検	討	し	た	。		
MAPK	の	活	性	化	は	免	疫	プ	ロ	ット	法	で	検	討	し	た	。		
【	結	果	】	IEC-6	細	胞	を	0.1	mM	の	Na ₂ S ₃	で	60	分	間	処	理		
後	、	発	現	が	変	化	す	る	遺	伝	子	を	網	羅	的	に	検	討	し
た	。	IEC-6	細	胞	で	発	現	が	認	め	ら	れ	た	23,480	遺	伝	子		
の	中	で	、	424	遺	伝	子	の	発	現	が	Na ₂ S ₃	に	よ	り	増	加	し	
た	。	そ	の	中	で	、	こ	れ	ま	で	に	ERK1	と	ERK2	(ERK1/2)	と			
ERK5	に	よ	り	、	そ	れ	ぞ	れ	発	現	が	増	加	す	る	こ	と	が	
報	告	さ	れ	て	い	る	EGR1	(early	growth	response	1)	と	KLF4						
(Kruppel-like	transcription	factor	4)	の	mRNA	の	増	加	が	認	め	ら	れ	た	。				
EGR1	と	KLF4	の	mRNA	の	増	加	は	、	ERK1/2	と	ERK5	の	活					
性	化	阻	害	薬	(U0126)	に	よ	り	抑	制	さ	れ	た	。		ERK1/2			
は	Na ₂ S ₃	に	よ	り	、	約	13	倍	活	性	化	さ	れ	た	。	活	性	化	

ERK5	に	対	す	る	良	好	な	抗	体	は	入	手	で	き	な	か	っ	た	
た	め	、	活	性	化	ERK1/2	に	対	す	る	抗	体	の	交	差	性	を	利	
用	し	て	、	ERK5	の	活	性	化	を	検	討	し	た	。	そ	の	結	果	
ERK5	の	活	性	化	が	確	認	で	き	た	。	ERK1/2	と	ERK5	の	活			
性	化	は	、	ど	ち	ら	も	U0126	に	よ	り	抑	制	さ	れ	た	。	さ	
ら	に	ERK5	で	は	高	分	子	量	側	へ	の	ゲ	ル	シ	フ	ト	が	認	
め	ら	れ	た	。	ゲ	ル	シ	フ	ト	は	、	Phos-Tag	電	気	泳	動	で		
顕	著	に	見	ら	れ	、	細	胞	抽	出	液	の	脱	リ	ン	酸	化	酵	
処	理	に	よ	り	消	失	し	た	。	ERK1/2	の	活	性	化	と	ERK5	の		
ゲ	ル	シ	フ	ト	は	B-Raf	の	阻	害	薬	(BAY43-9006)	で	抑	制	さ				
れ	た	。	す	な	わ	ち	、	ERK5	の	ゲ	ル	シ	フ	ト	は	、	活	性	
化	さ	れ	た	ERK5	に	よ	る	活	性	化	部	位	以	外	の	自	己	リ	
ン	酸	化	に	よ	る	こ	と	が	明	ら	か	に	な	っ	た	。	ま	た	、
Ras	の	阻	害	薬	の	効	果	は	見	ら	れ	ず	、	B-Raf	が	直	接	に	
Na ₂ S ₃	に	よ	り	活	性	化	さ	れ	る	可	能	性	が	示	唆	さ	れ	た	。
【	ま	と	め	】	IEC-6	細	胞	の	Na ₂ S ₃	処	理	に	よ	り	、	ERK1/2			
系	と	ERK5	系	が	活	性	化	さ	れ	、	遺	伝	子	発	現	が	変	化	
す	る	こ	と	が	明	ら	か	に	な	っ	た	。	こ	れ	ら	の	結	果	は
腸	管	上	皮	細	胞	の	機	能	が	ポ	リ	ス	ル	フ	イ	ド	に	よ	り
制	御	さ	れ	て	い	る	こ	と	を	示	唆	し	て	い	る	。			