

## 論 文 要 旨

区 分	㊦・乙	氏名	石川 翔子 ㊦
-----	-----	----	---------

Inhibition of retinoid X receptor improved the morphology, localization of desmosomal proteins and paracellular permeability in three-dimensional cultures of mouse keratinocytes

## 研究目的

RXR(レチノイドX受容体)阻害剤によるレチノイン酸受容体(RAR)/RXRヘテロダイマーを介したシグナル伝達阻害が、K38細胞の三次元培養における形態と細胞間結合に与える影響を調べる。

## 材料および方法

- ・細胞：マウス表皮由来の角化細胞（K38細胞）を使用。
- ・方法：①セルカルチャーインサートの膜上にK38細胞を播種し、8日間気液界面培養して非角化重層扁平上皮を形成。②RXR阻害剤(HX 531)を気液界面培養中に添加し、2日毎に培地交換。③8日目に細胞間電気抵抗値(TER)を計測後、細胞溶解液を作製し、固定包埋後に凍結切片を作製。
- ・解析：形態解析をHE染色、分化マーカー(K4, loricrin)と細胞間接着蛋白の発現・局在を免疫染色、蛋白発現量解析をウエスタンブロット、細胞間透過性をTERで評価。細胞間接着蛋白として、desmoglein(DSG)1, DSG2, DSG3, claudin(CLDN)1, CLDN4, CLDN6, CLDN7, occludin, plakoglobin, E-cadherinを調べた。

## 結 果

K38は、レチノールを含む血清を用いた三次元培養で非角化重層扁平上皮を形成したが、上皮は厚く細胞間隙が広い形態で生体上皮とは異なった。0.5  $\mu$ M HX531刺激で形成された上皮は薄く、DSG1, DSG3, PGの層特異的分布が回復し、細胞間隙間は狭くなった。また、デスモソーム蛋白およびCLDN1, CLDN4は増加したが、アドヘレンス結合蛋白であるE-カドヘリンは変化しなかった。さらに、CLDN1のタイト結合への局在が増加し、TERが増大した。RAR阻害は正角化を誘導したが、RXRは錯角化を誘導した。

## 考 察

RXRを0.5  $\mu$ M HX531で部分的に阻害すると、非角化を維持した状態で、DSG1, DSG3の層特異的局在が回復し、CLDN1をタイト結合に局在させ、細胞間透過性を低下させ、生体に近い状態となった。したがって、口腔粘膜上皮のような非角化重層扁平上皮は、適正なレチノイン酸刺激が恒常性維持に必要なことが示唆された。

## 結 論

RXR 阻害したK38細胞の三次元培養系は、非角化重層扁平上皮の細胞間接着を研究するためのモデルとして有用である。