

## 論 文 要 旨

区分	㊦・乙	氏名	小川 修平	㊦
----	-----	----	-------	---

JNK inhibition enhances cell-cell adhesion impaired by desmoglein 3 gene disruption in keratinocytes.

デスモグレイン3遺伝子破壊ケラチノサイトの細胞間接着はJNK阻害で回復する

## 研究目的

デスモグレイン (DSG) は上皮において重要な細胞間接着構造であるデスモソームを形成する接着タンパクである。尋常性天疱瘡は、皮膚および口腔粘膜上皮内に水泡が見られる難治性の自己免疫疾患であり、その原因として DSG 3 の自己抗体産生によって DSG 3 による細胞間接着が障害され、ストレス応答性 MAPK キナーゼの 1 つである p38 MAPK の活性化が起こることが報告されている。現時点で、最も有効な治療薬としてステロイドが用いられているが、副作用が多いことが問題となっている。そこで、本研究の目的は DSG3 遺伝子を破壊し、DSG3 の欠損が細胞間接着の形成・維持、形態に与える影響を調べることでデスモソームにおける DSG3 の役割と MAPK キナーゼとの関係を明らかにすることである。

## 材料および方法

ゲノム編集ベクターを用いて、マウスの表皮由来のケラチノサイト K38 で、DSG3 遺伝子を破壊した DSG3 ノックアウト細胞 (KO 細胞) を作製した。KO 細胞を培養し、細胞間接着タンパクの局在を蛍光免疫染色で、細胞間接着タンパクの発現量を Western blot で、細胞間接着強度を Dissociation assay で調べた。それらの結果を正常な細胞である野生型細胞 (WT 細胞) と比較した。

## 結果

WT細胞は細胞間接着部位にDSG1の線状局在を認めたが、KO細胞ではDSG1タンパク量が増加しているにもかかわらず、細胞間接着部位におけるDSG1の局在が著しく減少していた。KO細胞の細胞間接着強度は時間の経過とともに障害されたが、JNKの活性化を阻害すると、DSG1の細胞間接着の局在が回復し、細胞間接着強度が増強した。逆に、WT細胞においては、p38 MAPKの活性化よりもJNKの活性化が、DSG1の細胞間接着の局在を減少させた。

## 考察

KO細胞では、Dissociation assayで断片数が増加したことから、DSG3欠損による細胞間接着をDSG1とDSG2は補うことができないと考えられる。KO細胞でJNKの活性化を阻害すると、DSG1の細胞間接着の局在が増加し、細胞間接着強度が回復したことから、DSG3の欠損はDSG1の細胞間接着部位への局在を阻害し細胞間接着を障害すると考えられる。

## 結論

DSG3欠損による疾患において、ストレス応答性MAPKキナーゼの1つであるJNKの活性化を阻害することで表皮や口腔粘膜上皮の細胞間接着を改善できる可能性が示唆された。



#### 考察

KO細胞では、Dissociation assayで断片数が増加したことから、DSG3欠損による細胞間接着をDSG1とDSG2は補うことができないと考えられる。KO細胞でJNKの活性化を阻害すると、DSG1の細胞間接着の局在が増加し、細胞間接着強度が回復したことから、DSG3の欠損はDSG1の細胞間接着部位への局在を阻害し細胞間接着を障害すると考えられる。

#### 結論

DSG3欠損による疾患において、ストレス応答性MAPKキナーゼの1つであるJNKの活性化を阻害することで表皮や口腔粘膜上皮の細胞間接着を改善できる可能性が示唆された。