

## 7-3.

## サイクリン G 関連キナーゼ GAK によるオートファジー調節におけるアクトミオシン系の関与

(生化学分野)

○平本 正樹、高野 直治、風間 宏美、  
宮澤 啓介

(電子顕微鏡室)

國場 寛子

オートファジーは、細胞構成成分の分解・リサイクルによる環境変化への適応および、凝集タンパク質や不要になった細胞小器官の除去による恒常性の維持に必要なシステムである。我々は、クラスリン依存性エンドサイトーシスや細胞周期制御に関わるサイクリン G 関連キナーゼ GAK に注目し、オートファジーとの関わりについて解析を行った。宮崎らは、肺がん細胞株 A549 において GAK 遺伝子をノックアウトすることで、オートファゴソームとリソソームとの融合およびリソソームの再形成に障害を生じ、飢餓条件下においてオートファゴソームとオートリソソームの蓄積をもたらすことを明らかにし、昨年度の本総会にて報告した。

我々は今回、細胞の運動や細胞内の物流において重要なアクトミオシン系に注目し、解析を進めた。まず、アクトミオシン制御に関わる Rho キナーゼ (ROCK) の阻害剤 Y-27632 を添加することによって、GAK ノックアウト細胞におけるオートファゴソームとオートリソソームの蓄積が解消された。また、ROCK1 のノックダウンでも同様に、GAK ノックアウト細胞における上記の表現型が軽減した。さらに、Y-27632 存在下あるいは ROCK1 ノックダウン条件下においても、リソソーム阻害剤 Bafilomycin A1 の添加によって、GAK ノックアウト細胞では再度、オートファゴソームの蓄積が観察された。したがって、Y-27632 あるいは ROCK1 ノックダウンはオートファゴソーム形成自体を阻害するのではなく、GAK ノックアウト細胞におけるオートファゴソームとリソソームとの融合の障害を解消することが明らかとなった。

以上のことから、GAK ノックアウト細胞ではアクトミオシンの制御が異常となり、その結果、オートファジーフラックスが遅滞すること、つまり、GAK によるオートファジーの調節には、アクトミ

オシン系が関与することが強く示唆された。

## 7-5.

## Tyrosine kinase inhibitor imatinib suppresses vitamin D3 analog-induced dermatitis in Balb/c mice.

(大学院博士課程3年皮膚科学分野)

○瀬下 治孝

(皮膚科学分野)

伊藤 友章、江草 智津、前田 龍朗、  
沼田 貴史、大久保ゆかり、原田 和俊

**【Background】** Atopic dermatitis (AD) is an allergic disease involving T-helper type 2 cells. Externally stimulated keratinocytes release inflammatory cytokines such as IL-33 and thymic stromal lymphopoietin (TSLP), which exacerbate skin symptoms. Inflammatory cells infiltrate skin tissue and increase vascular permeability. Therefore, we hypothesized that imatinib, which suppresses vascular permeability, may be effective against AD. We investigated the effect of topical applications of the drug on skin irritation and pruritis in murine AD models.

**【Methods】** Both ears in Balb/c mouse were challenged daily with vitamin D3-analog (MC903). Six days later, right ears were topically treated with imatinib and left ears with ethanol as vehicle control in addition to MC903. The skin was evaluated by immunostaining. And cytokines were assessed using real time PCR. The effect of imatinib on TSLP expression in primary mouse keratinocytes (MKCs) was investigated by IL-4 and TNF- $\alpha$  simulation. TSLP expression was measured by real time PCR and ELISA, and TSLP signal was analyzed by western blotting.

**【Results】** Topical application of imatinib significantly reduced ear thickness, Evans blue leakage, scratch attack, the number of infiltrated cells (CD4 positive cells, eosinophils, basophils) in skin and IL-33, TSLP expression in AD-like mice. In vitro, imatinib inhibited phosphorylation of ERK in TSLP expression signals.

**【Conclusions】** Imatinib suppressed the production of TSLP. As a result, the symptoms of AD-like mice were improved.