

Claudin 発現モニタリングシステムを用いた tight junction 調節物質の検索  
○渡利 彰浩<sup>1</sup>, 近藤 昌夫<sup>1</sup>, 八木 清仁<sup>1</sup>(<sup>1</sup>阪大院薬)

【目的】腸管粘膜免疫組織パイエル板 (PP) は、管腔側を覆う一層の上皮細胞層の下に存在する集合リンパ組織である。PP を覆う上皮細胞層の透過性は、食物未消化物など外来抗原の侵入と密接に関係することから、腸管での炎症発生制御には腸管上皮細胞層の透過性を制御することが有効であると考えられる。そこで、我々が独自に開発した claudin 発現モニタリングシステムを用いて、既に安全性評価が行われている食品添加物から、腸管粘膜上皮組織の透過性調節物質の同定を試みた。

【方法】CLDN4 reporter 遺伝子を安定的に発現させた細胞株を用い、既存の食品添加物約 100 種類の中から reporter 活性に影響を与える物質をスクリーニングした。Reporter 活性に影響を及ぼした物質に関して、RT-PCR、ウエスタンブロット法により実際の CLDN4 発現への影響について検討を行った。更に、物質透過性への影響を検討するため、腸管上皮細胞株の Caco-2 細胞を用いた TER アッセイを行った。

【結果・考察】食品添加物から CLDN4 reporter 活性に影響を与える物質をスクリーニングした結果、reporter 活性を抑制もしくは促進する物質を同定した。同定した物質は、RT-PCR およびウエスタンブロット法による検討から、実際の CLDN4 発現を調節していた。更に、腸管上皮細胞である Caco-2 細胞のバリア機能も制御していた。以上の結果から、我々が開発した claudin 発現モニタリングシステムを利用する事により、上皮細胞層における物質透過性制御物質の同定に成功した。これらの物質は、腸管での粘膜吸収促進剤や炎症性腸疾患の治療薬などに応用される可能性がある。