

29R-am05

上皮細胞を標的とした創薬基盤研究 第1報～ claudin binder のバリア制御機構の解析～

○土山 遼¹, Susanne M², Michael FROMM², 近藤 昌夫¹, 八木 清仁¹(¹阪大院薬,
²ベルリン大医)

【背景】近年の上皮細胞バリア研究の進捗には目覚ましいものがあり、これまでに occludin、claudin (CL) および tricellulin などが密着結合 (TJ) 構成タンパク質として同定され、TJ を標的とした創薬の萌芽がうまれつつある。とりわけ、CL は、27 種類の分子が存在すること、発現およびバリア機能には組織特異性があることから、創薬ターゲットとして注目されている。これまでに当研究グループでは、CL-3/-4 結合分子 (ポリペプチド (C-CPE)) を用い、CL を標的とした粘膜吸収促進法を開発し、CL-1, -2, -4 and -5 に結合する広域 CL binder (m19) を作製してきた。C-CPE および m19 いずれも顕著な粘膜バリア制御活性を有していたものの、その作用機構については未だ不明な点が多い。そこで本研究では、上皮バリア制御活性と TJ 構成タンパク質の局在性に焦点を絞り、CL binders のバリア制御機構の解析を試みた。【方法】MDCK 細胞および tricellulin 発現 MDCK 細胞などを実験に供した。膜電気抵抗値 (TER) により上皮バリア機能、Two-Path Impedance Spectroscopy 法により細胞間隙経路、細胞内経路特異的なバリア機能を評価した (Krug et al., Biophys J, 2009)。また、免疫抗体染色により各種 TJ 構成タンパク質の局在性を解析した。【結果・考察】C-CPE および m19 の添加 (20 μg/ml, 3 h) により TER 値の低下が観察された。Two-Path Impedance Spectroscopy 法による解析から、C-CPE および m19 は、細胞内経路のバリア機能には影響を与えず、細胞間隙バリアを特異的に低下させていた。この時、CL-1, -2, -3, -4, -7, occludin, tricellulin の局在性が変化していなかったことから、CL binders は TJ における CL-CL 相互作用を阻害することでバリア機能低下作用を発揮しているものと推察される。現在、本情報を基に druggable CL binder の創製を進めている。