

30pmL-003

Sec61 β によるタイトジャンクション開口・形成速度亢進のメカニズム
○鷺山 真紀子¹, 小泉 直也¹, 藤井 まき子¹, 渡辺 善照¹(¹昭和薬大)

【目的】 Claudin (CL)を主体とするタイトジャンクション (TJ) は、上皮細胞の細胞間に存在し、物質の侵入・漏洩を制御するバリア機能の本体である。細胞間隙経路による薬物送達 (吸収) では、長時間の TJ 開口は問題となるため、迅速な TJ の開口・再形成が要求される。そこで、TJ バリア機能の制御を目的に、我々はタンパク質の細胞内輸送促進作用を有する Sec61 β を MDCK 細胞に過剰発現させることで TJ 開口・再形成速度が亢進することを報告してきた。本研究では、Sec61 β 過剰発現による TJ 開口・再形成速度亢進のメカニズムを解明するため、CL4 タンパク質との相互作用について検討を行った。

【実験方法】 Sec61 β 過剰発現 MDCK 細胞を用い、ウエルシュ菌毒素の C 末断片を 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加・除去し、TJ を開口・再形成させた。上皮膜電気抵抗 (TER) が飽和値の 1/2 になる時間 ($T_{1/2}$) を TJ 開閉速度の指標として用い、定量的な比較を行った。また、Sec61 β と CL4 の抗体を用いて免疫染色、及び免疫沈降を行い、両分子の共存状態と結合性について検討した。

【結果・考察】 Sec61 β 過剰発現により $T_{1/2}$ は減少し、TJ 開閉速度が亢進した。TJ 再形成過程では、細胞膜近傍で Sec61 β と CL4 の共存を確認した。さらに Sec61 β による免疫共沈降物中に、CL4 が検出され、Sec61 β と CL4 が複合体を形成することを確認した。但し、沈降物中の CL4 は細胞内総 CL4 量の 5%と低いため、細胞膜近傍での Sec61 β と CL4 の共存は、輸送小胞複合体による間接的な結合によることを示唆する。以上から、Sec61 β 過剰発現によるタンパク質輸送促進作用により、CL4 の細胞膜への輸送と TJ 形成速度が亢進したと考えられる。本成果は、Sec61 β をターゲットとした TJ 制御と、新規吸収促進法の構築への応用が期待できる。