

微生物由来可逆的 tight junction 開口物質作用機構解析

山崎 洋平 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 臼井 健郎 (筑波大学 生命環境系)

背景および目的

上皮細胞間接着構造の一つである tight junction (TJ) は、上皮細胞同士を強く接着させることで細胞間を介した異物や病原菌の侵入を防ぐバリア機能を担っていると同時に、バイオ医薬品など高分子物質の通過障壁となっている (Fig. 1)。このため、バイオ医薬品をはじめとする高分子薬剤の投与は、注射や点滴といった侵襲的な投薬方法に頼らざるを得ない。仮に TJ を短時間可逆的に開口することができれば、経口や経皮など患者の負担が少ない投薬が可能になり、患者の生活の質 (QOL; Quality of life) 向上が期待できると考えられる。

トウガラシ辛味成分である capsaicin が腸管上皮細胞層モデル Caco-2 細胞の TJ を可逆的に開口させることが、筑波大学の磯田教授らより報告されている¹⁾。当研究室では同じく腸管上皮細胞層モデルである MDCKII 細胞を用いて、capsaicin の可逆的 TJ 開口作用機構を解析し、TJ 開口には細胞内への Ca^{2+} 流入を引き金とした cofilin の一時的な脱リン酸化と actin の局在変化、及び TJ 構成タンパク質 occludin の減少が重要であること、一方、TJ 開口には actin の再局在化のみが必要であり、occludin 量の回復は必要ないことを報告してきた²⁾。これらの結果から、 Ca^{2+} 流入からの一連の反応による可逆的 TJ 開口機構を明らかにすることができたと考えられる。しかしながら、capsaicin は痛みや辛味のシグナルを伝える TRPV1 受容体のリガンドであるため、臨床へ応用するには課題が多い。以上のような背景の下、当研究室では新規可逆的 TJ 開口物質のスクリーニングを行い、これまで複数の候補化合物を見出している。今回それらの作用機構を capsaicin の作用機構と比較し解析を行った。

材料および方法

単層形成させた MDCKII 細胞層にスクリーニングで得られた新規の TJ 開口候補化合物を 0、10、30、60、120、および 180 分処理した後、SDS sample buffer によって回収した。各サンプルを SDS-PAGE を行い、Western blot により各処理時間における TJ タンパク質 (Claudin-1, occludin)、および TJ 関連タンパク質 (actin, cofilin) の量や修飾変化を検討した。

結果および今後の展望

詳細は発表会にて紹介する。

参考文献

- 1) Junkyu Han, Hiroko Isoda, and Takaaki Maekawa. "Analysis of the mechanism of the tight-junctional permeability increase by capsaicin treatment on the intestinal Caco-2 cells" *Cytotechnology*, **36**, 155-161 (2001)
- 2) Tomoko Shiobara, Takeo Usui, Junkyu Han, Hiroko Isoda, and Yoko Nagumo "The reversible increase in tight junction permeability induced by capsaicin is mediated via cofilin-actin cytoskeletal dynamics and decreased level of occludin" *PLoS ONE*, **8**, e79954 (2013)

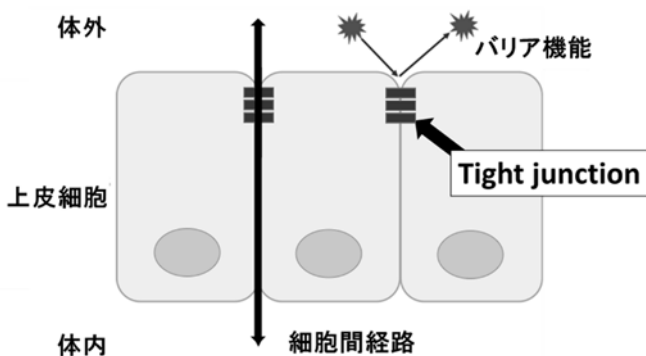


Figure.1 上皮細胞模式図