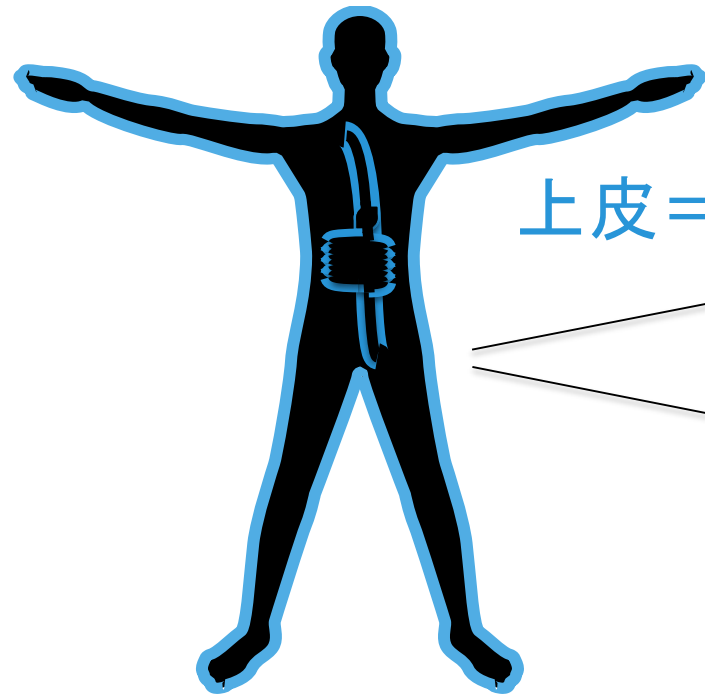


タイトジャンクション形成を誘導する 新規生体由来ペプチドの発見

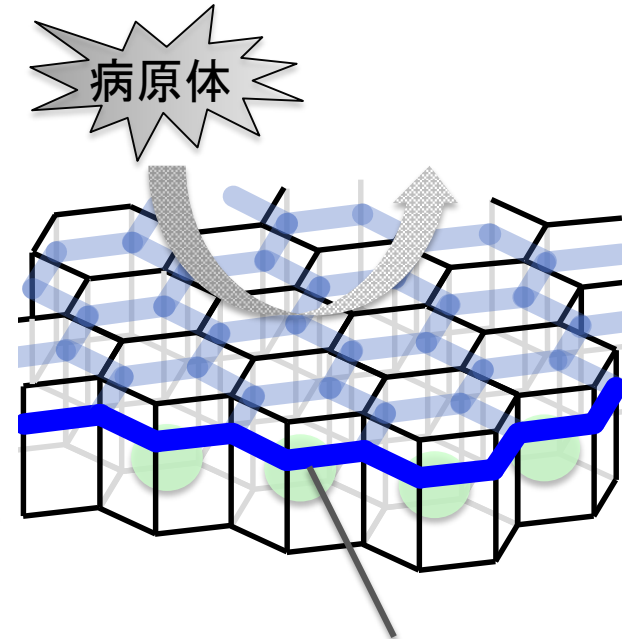
京都大学 ウイルス・再生医科学研究所
生命システム研究部門
助教 小田 裕香子

発明の背景

上皮バリアであるタイトジャンクション(Tight junction: TJ)

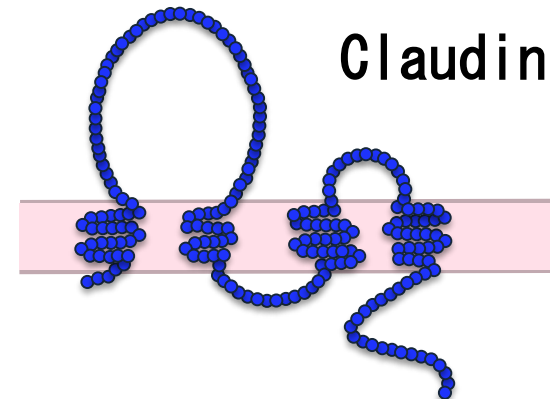
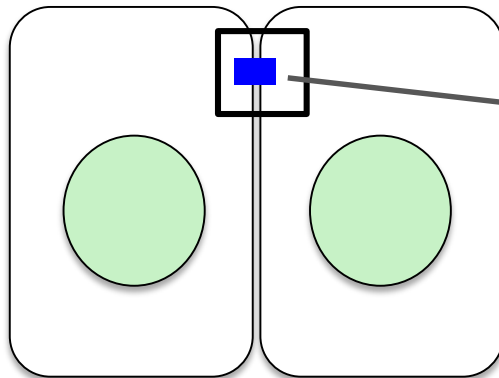


上皮=バリア



病原体

タイトジャンクション (TJ)



Claudin

claudin欠損マウスと炎症

claudin-1 KO	脱水（皮膚）、致死
claudin-1 KD	アトピー性皮膚炎
claudin-3 KO	肝炎、脳炎
claudin-5 KO	BBB（脳血液関門バリア）破綻、致死
claudin-7 KO	炎症性腸炎
claudin-18 KO	化生性胃炎、肺炎

TJ破綻は炎症の原因・憎悪因子である

炎症時には速やかにTJを形成することが重要

TJの形成促進剤

文献	概要	問題点
Host Defense (Antimicrobial) Peptide, Human β -defensin-3, Improves the Function of the Epithelial Tight-Junction Barrier in Human Keratinocytes. J. Invest. Dermatol. 2014, 134 (8), 2163-2173	既知の抗菌ペプチドを高濃度・長期間細胞に処理し、TJ形成がやや促進されることを報告しているが、生理的ではない。	活性が低い。 動物試験の結果が無い。 作用点が不明。
CaMKII Regulates the Strength of the Epithelial Barrier. Sci. Rep. 2015, 18:5:13262	TJ形成を促進する低分子化合物を同定。CaMKIIという広範な阻害剤である。	細胞毒性・副作用が見込まれるが検討されていない。
特開2020-007255 (日本メナード化粧品株式会社)	エビスグサ種子を含有することを特徴とする、腸管バリア機能向上剤。	作用機序不明。 食品としての腸管バリア機能の向上剤と、内服用の肌荒れ改善剤であり、用途は限定的。

実用的な化合物はまだ報告されていない

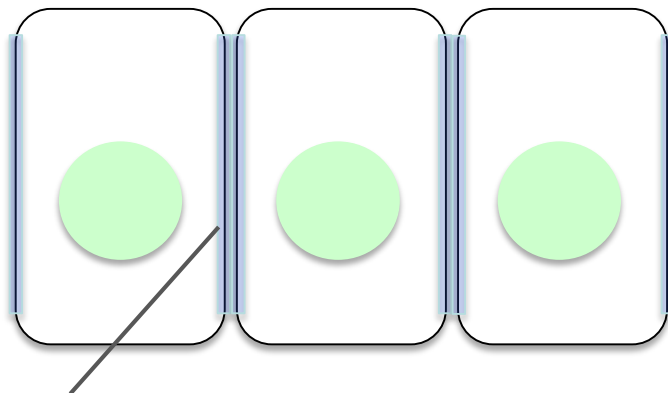
TJはどのようにして形成されるのか？

-形成を直接誘導する生体因子は存在するのか？

ヒト表皮癌細胞 A431

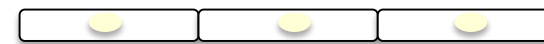
- ・ TJ構成因子（皮膚； claudin-1, -4, ZO-1, occludin）を発現
- ・ TJは形成していない

A431

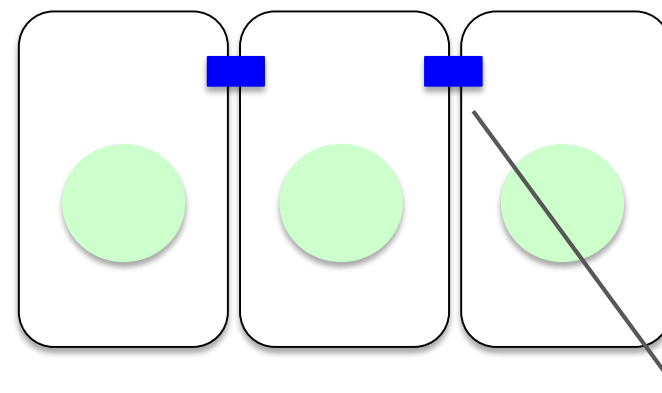


TJ因子；細胞側面に拡散して存在

マウス組織を共培養



↓ 生体由来のTJ誘導因子は存在するか？

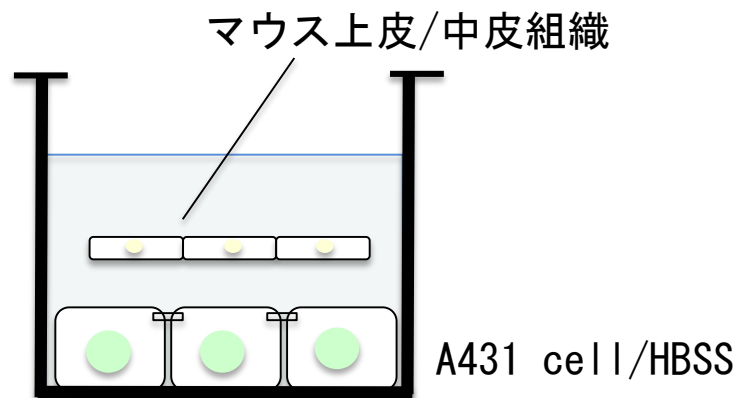


TJの形成

発明の内容

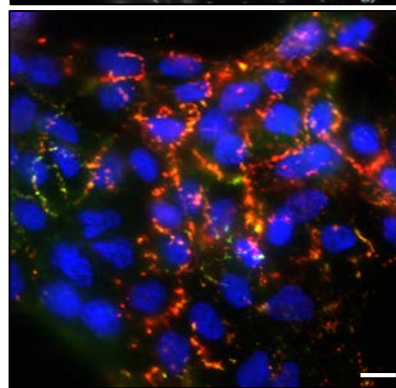
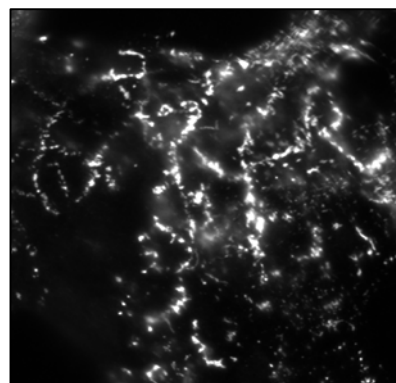
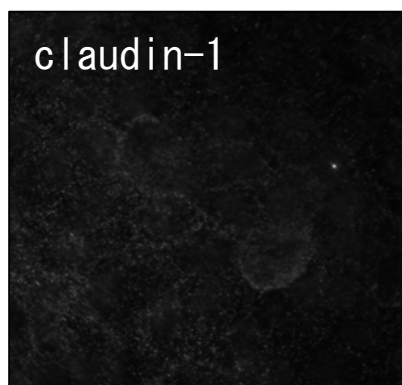
TJ形成を誘導する生体由来因子の存在 ①

共培養

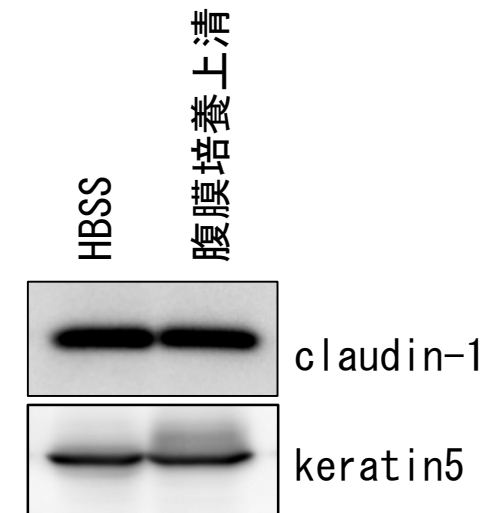
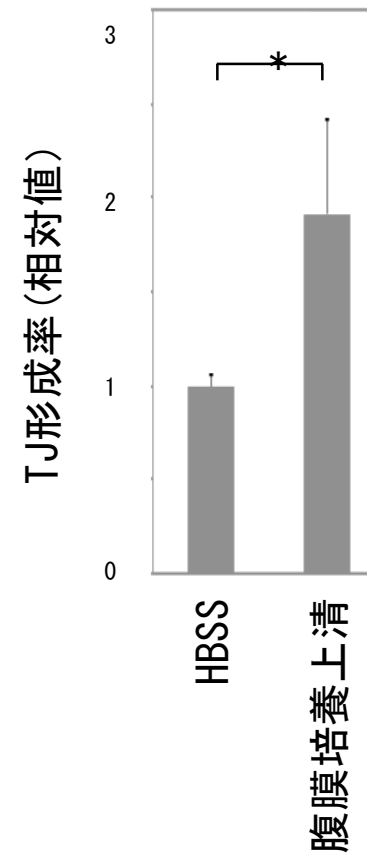
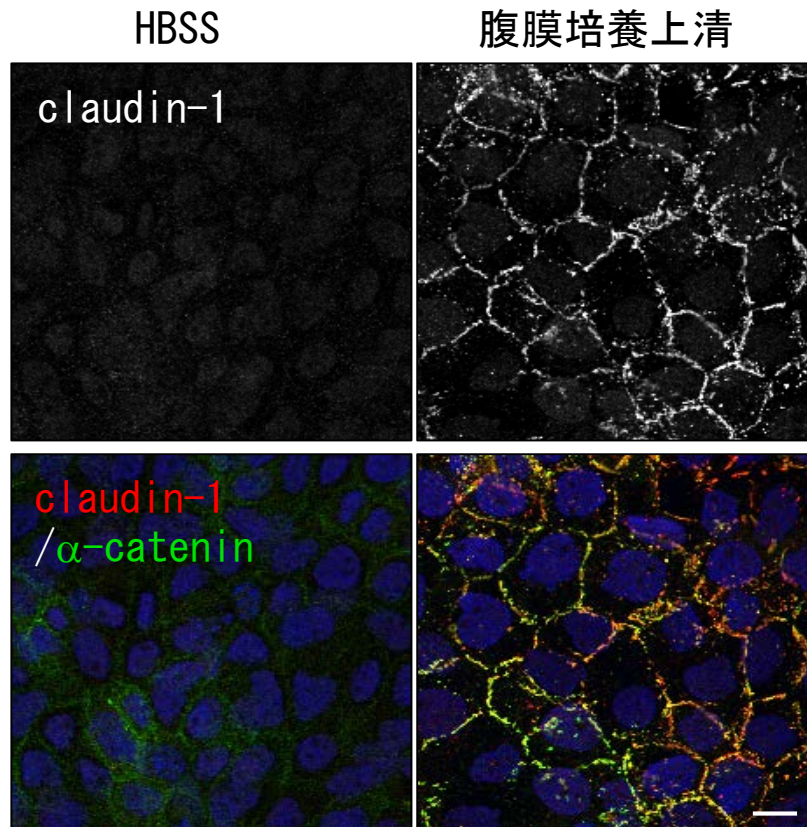
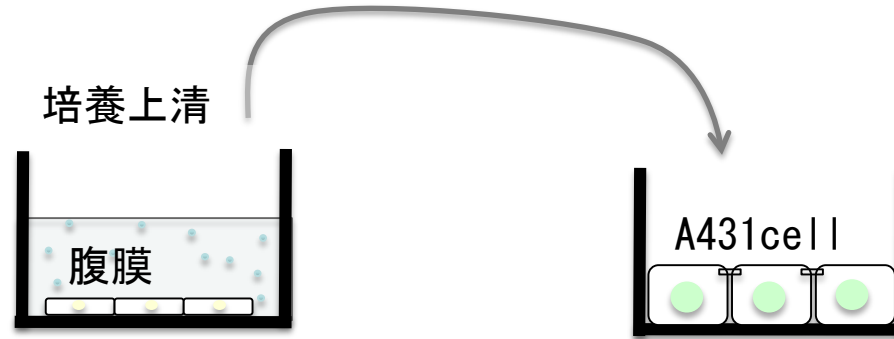


HBSS

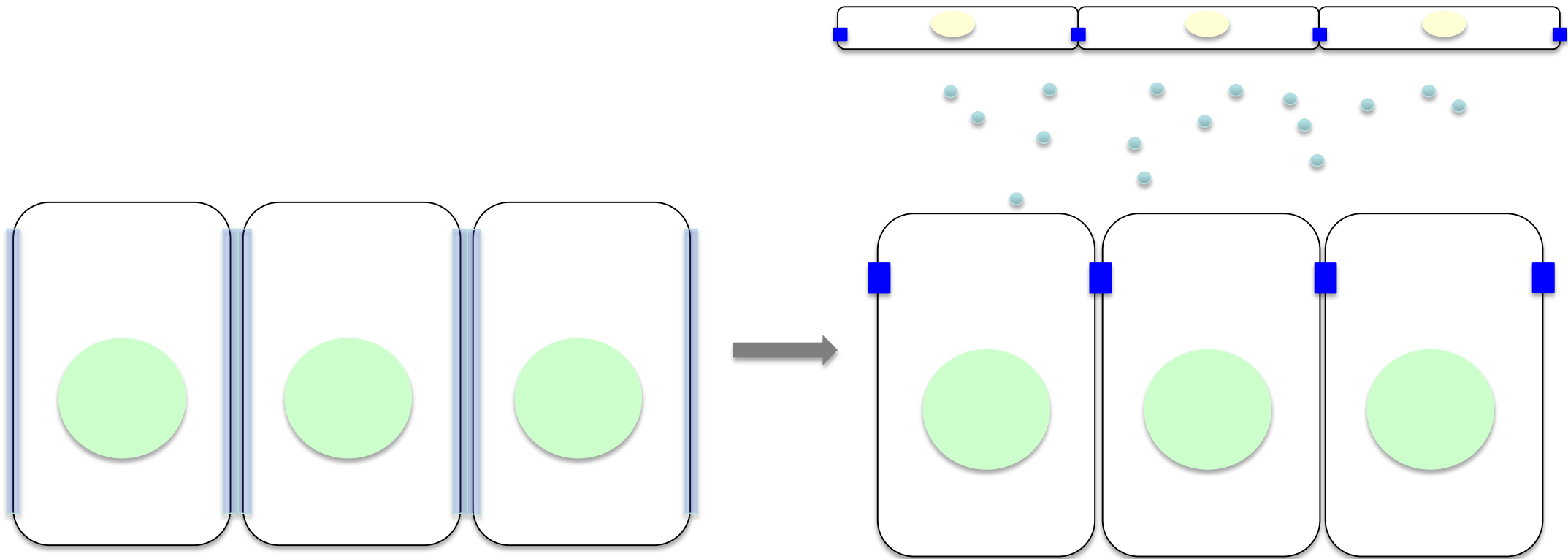
成体マウス
腹膜



TJ形成を誘導する生体由来因子の存在 ②

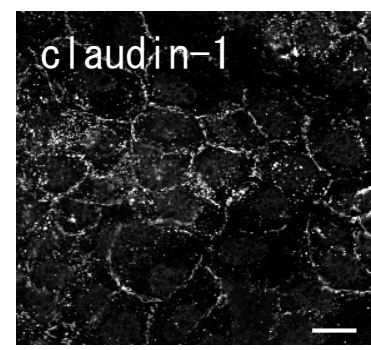
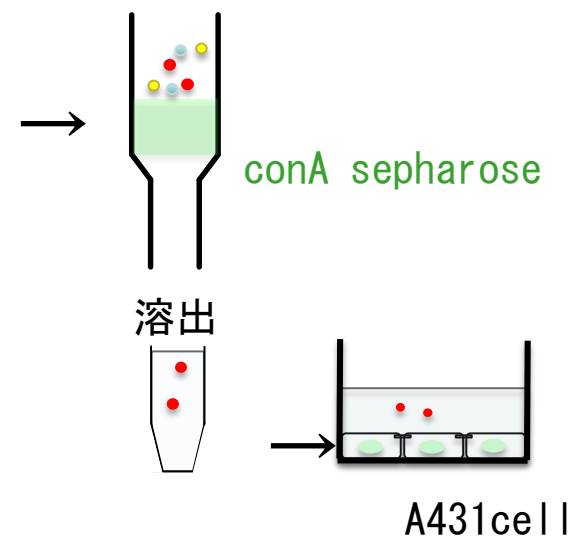
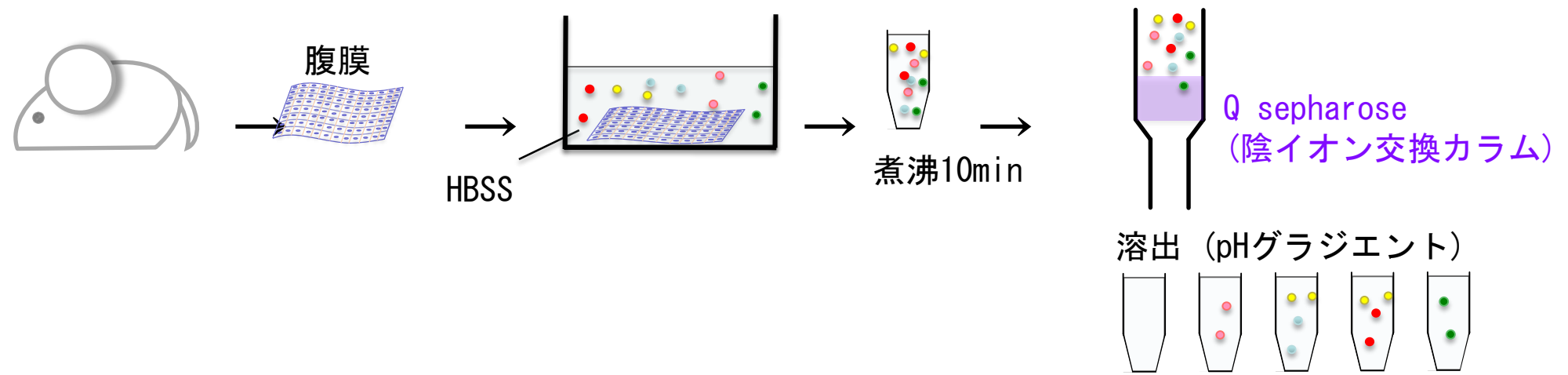


マウス組織（腹膜等）



マウス組織がTJ形成誘導する液
性因子を分泌している

TJ形成誘導因子の同定 ①

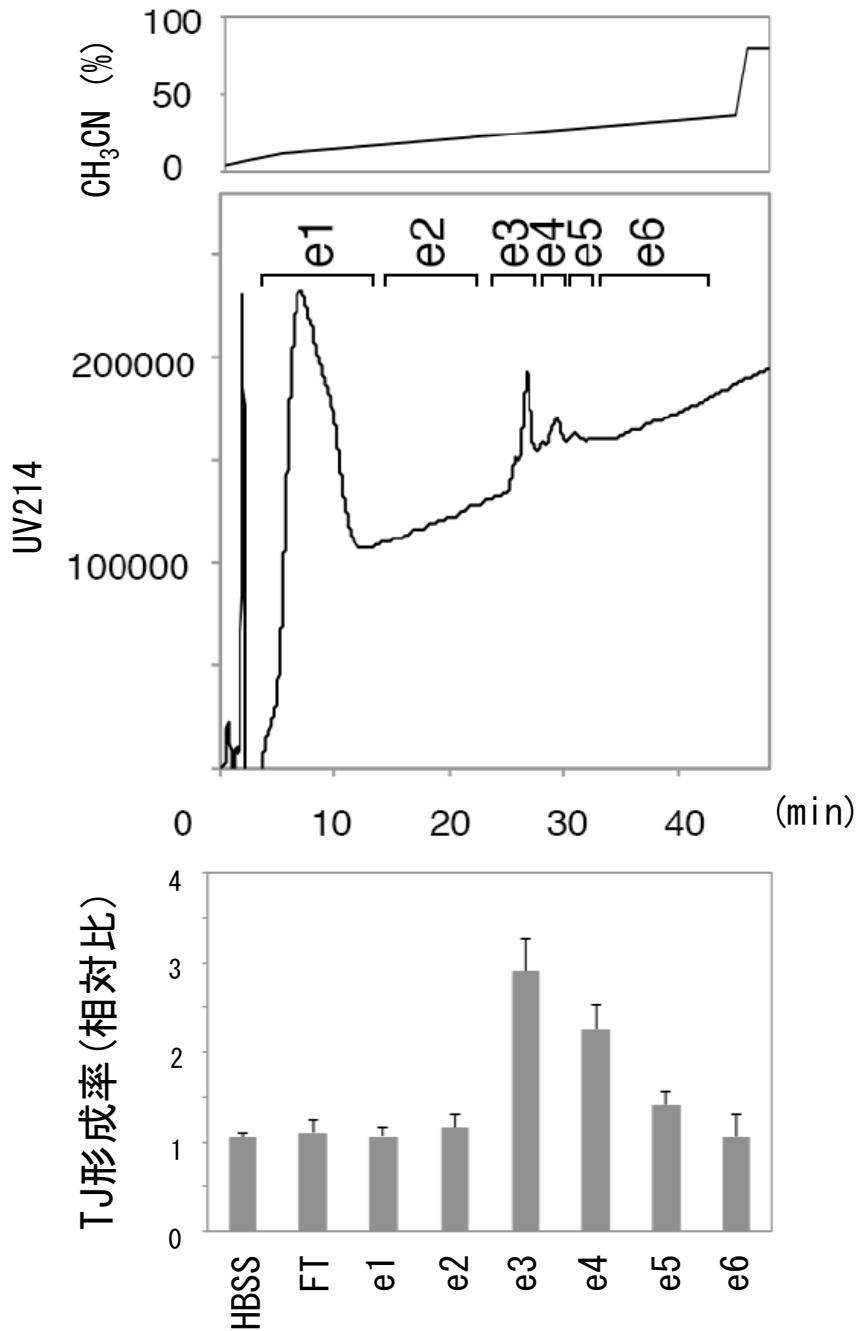


→ nanoLC/MS/MS
Protein X fragments

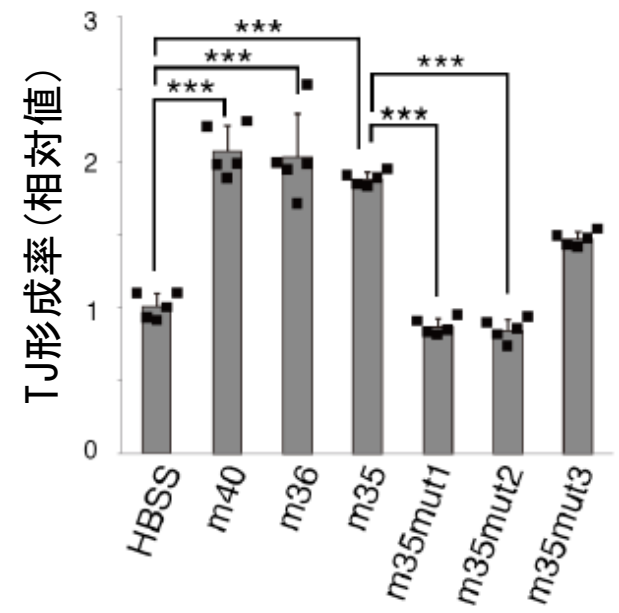
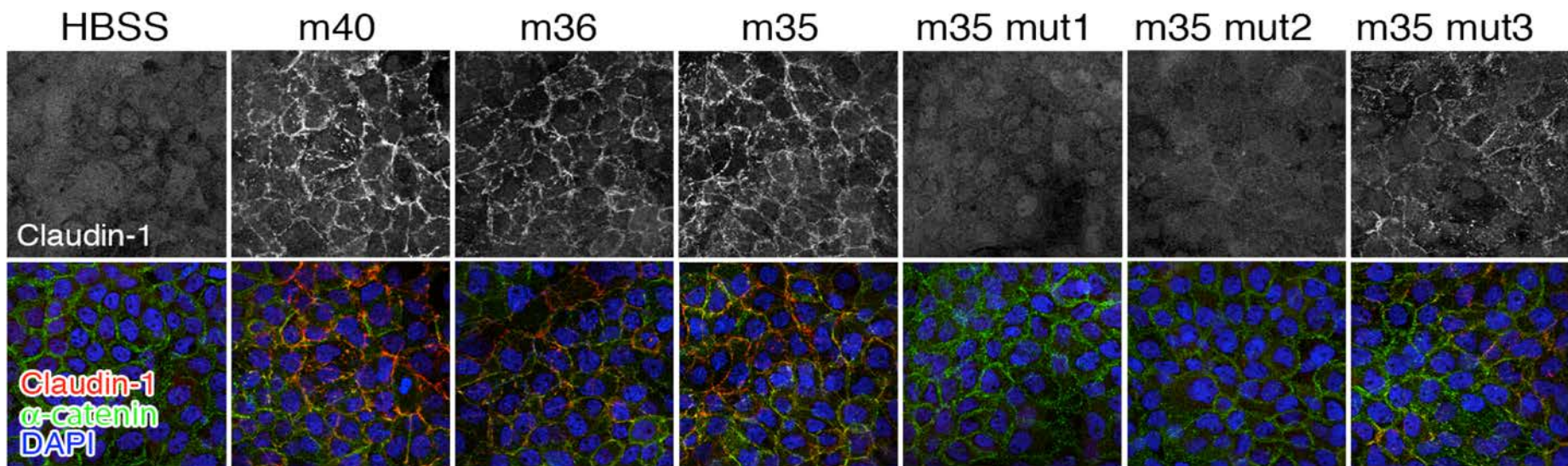
TJ形成誘導因子の同定 ②

Protein X 由来 peptide m35の同定 (質量分析)

特許; タイトジャンクション形成誘導剤 小田裕香子、豊島文子、石濱泰



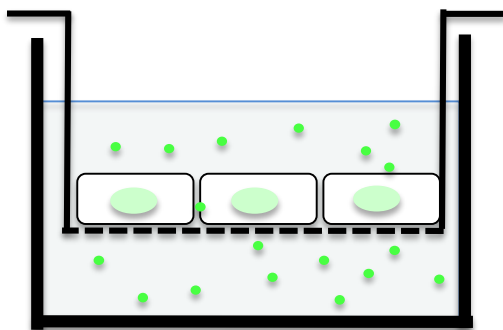
① マウスProtein X 由来ペプチド (m35) はTJ形成を誘導する



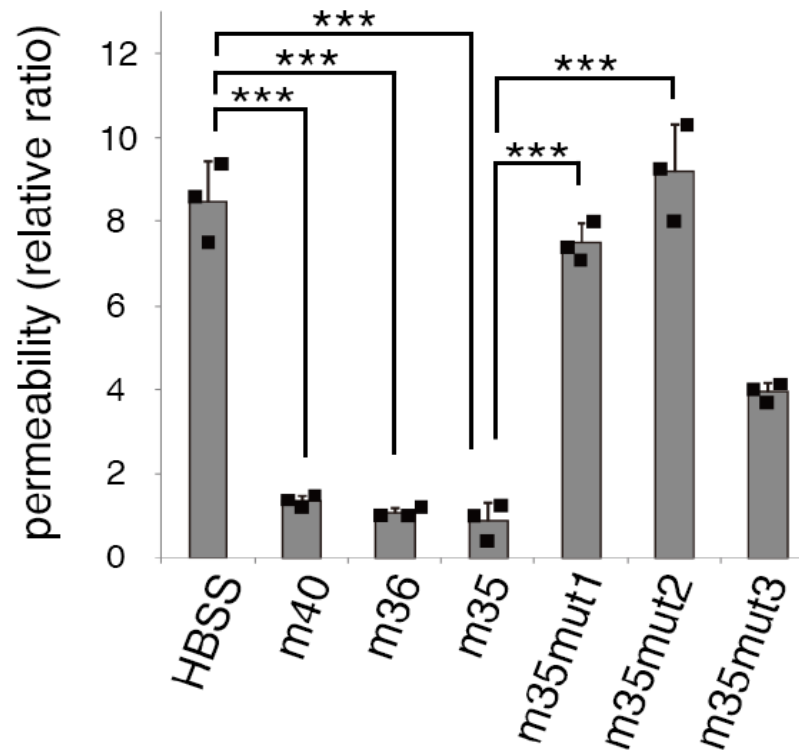
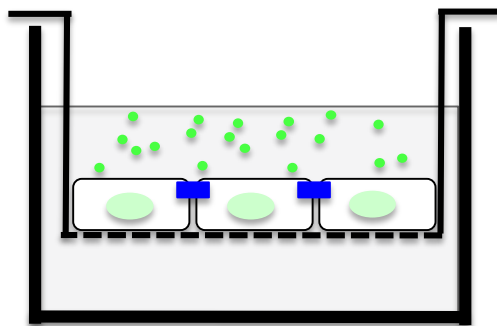
② マウスProtein X 由来ペプチド (m35) はTJ形成を誘導する

Paracellular Flux Assay (FITC-dextran 4kDa)

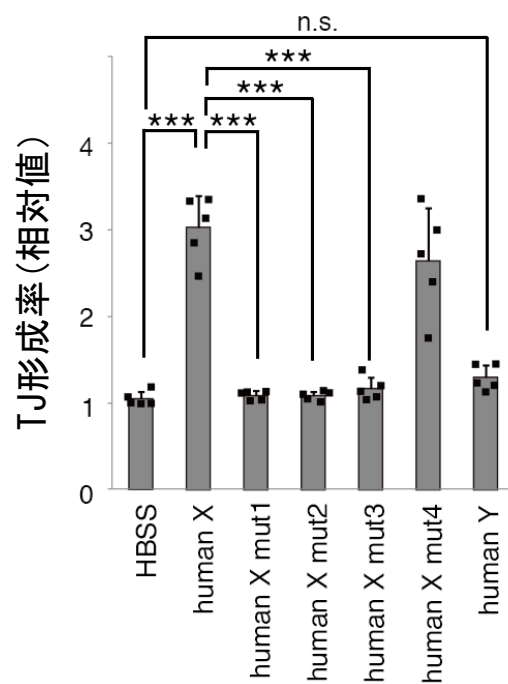
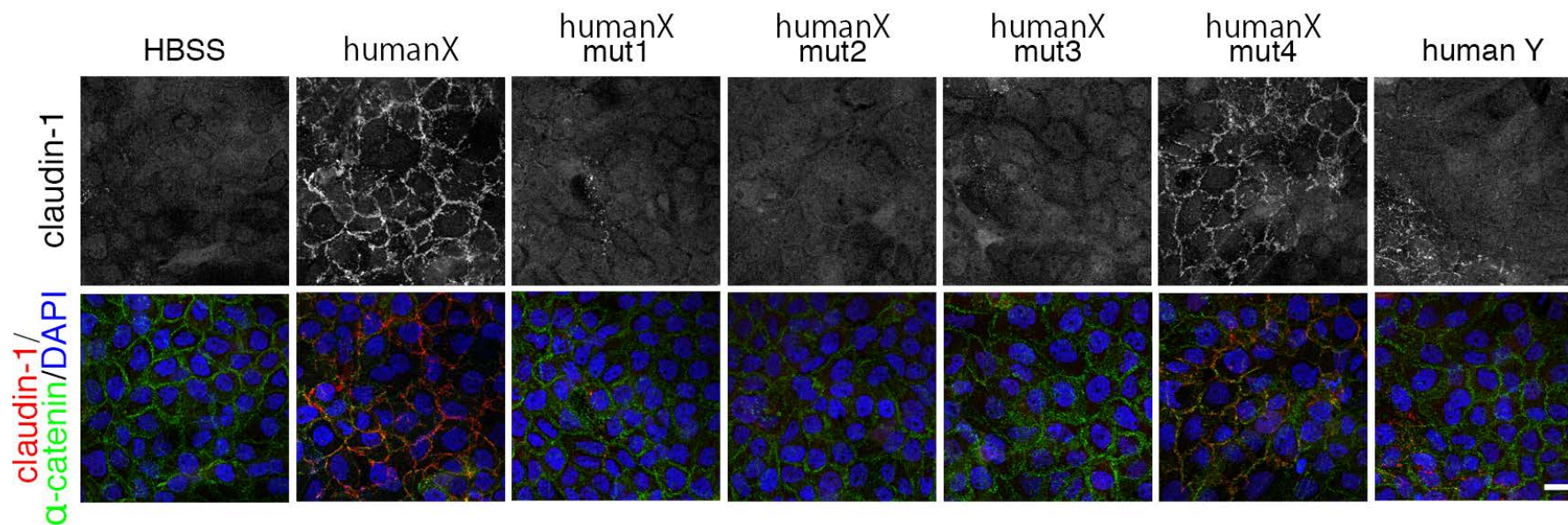
バリア×/透過性↑



バリア○/透過性↓

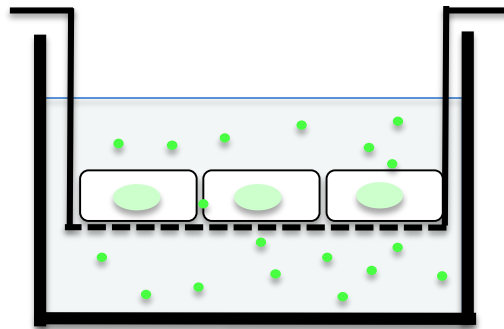


ヒトProtein X 由来ペプチドによってもTJが誘導される ①

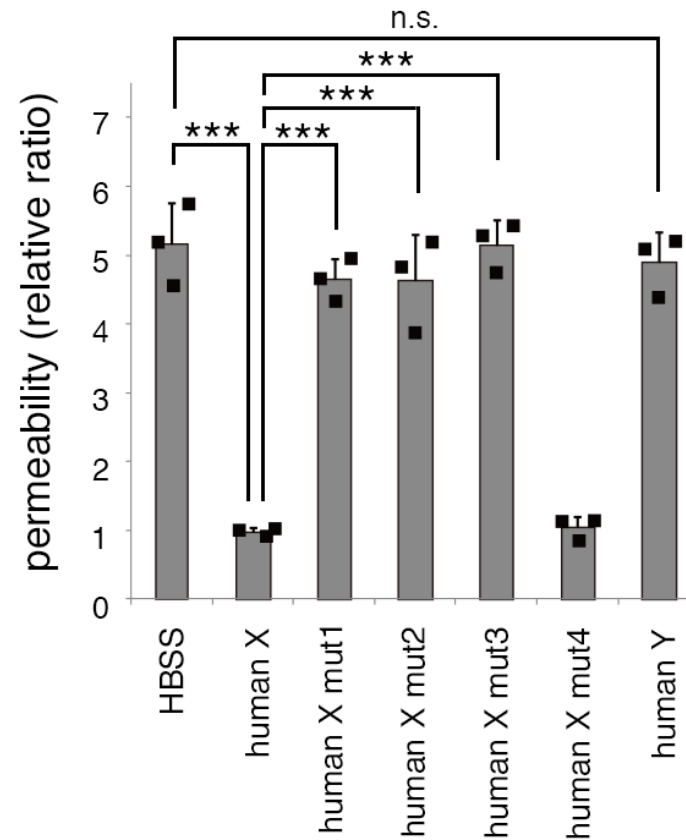
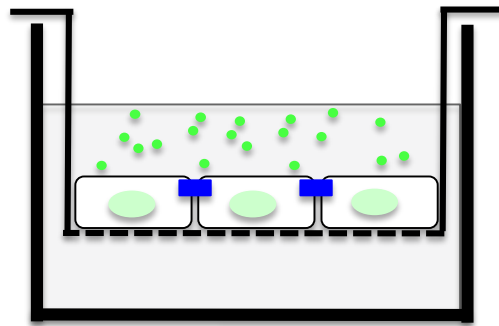


Paracellular Flux Assay (FITC-dextran 4kDa)

バリア×/透過性↑

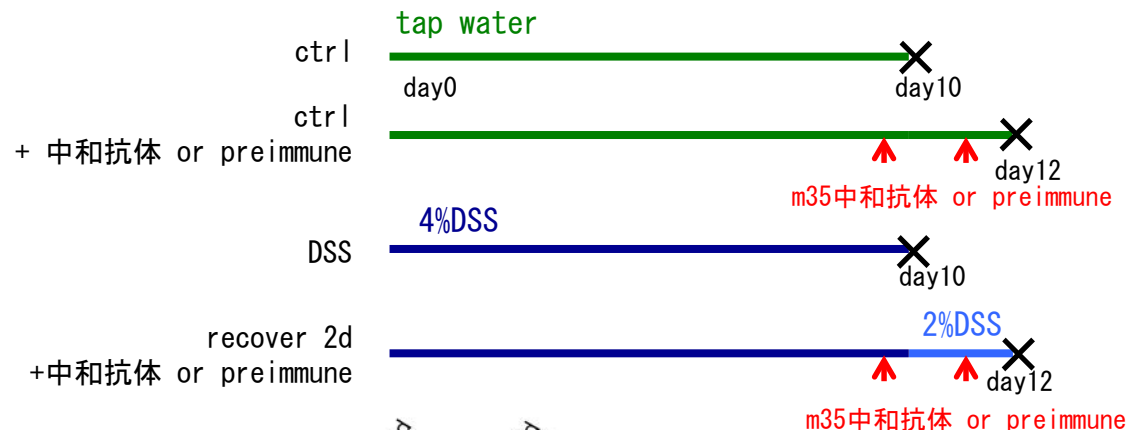
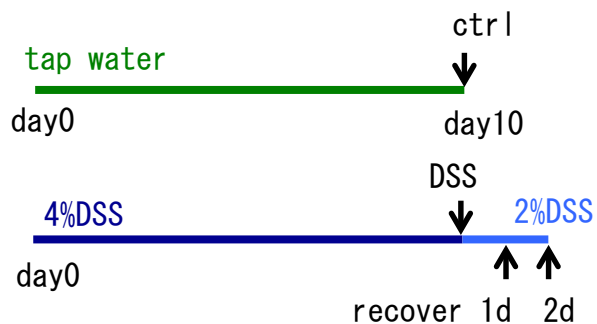


バリア○/透過性↓

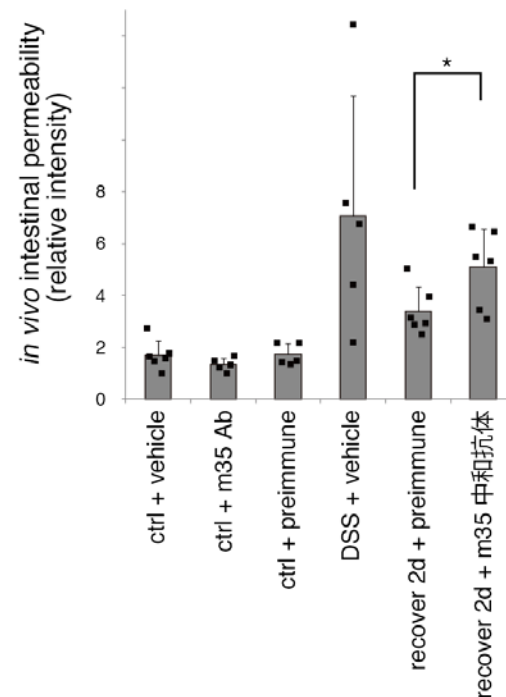
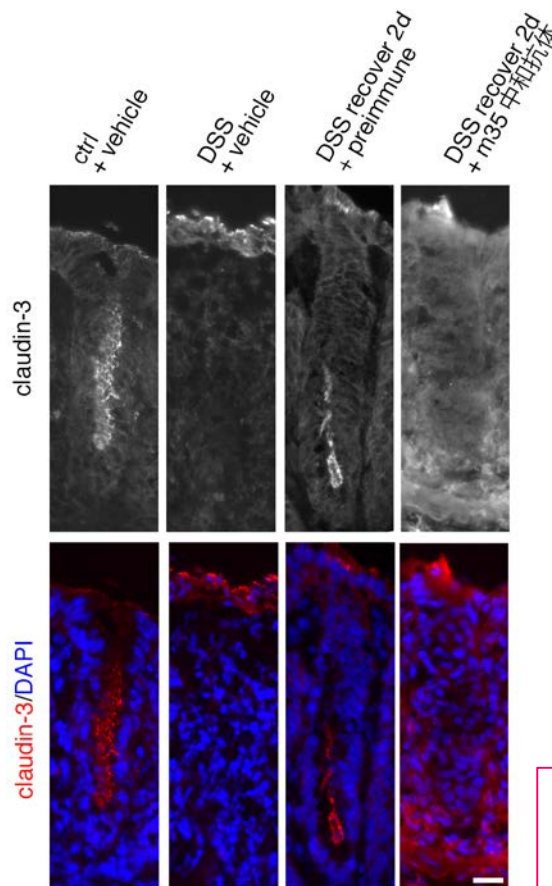
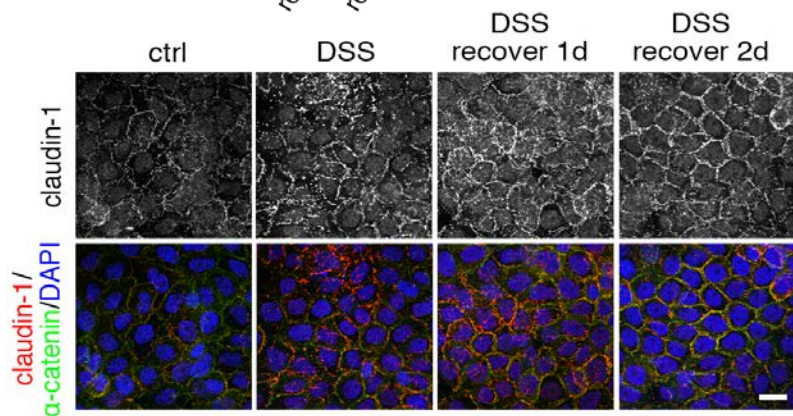
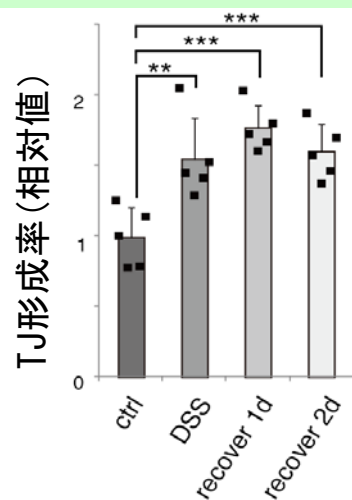


炎症回復期においてm35はバリア形成に必要である

DSS誘発性潰瘍性腸疾患モデルマウス

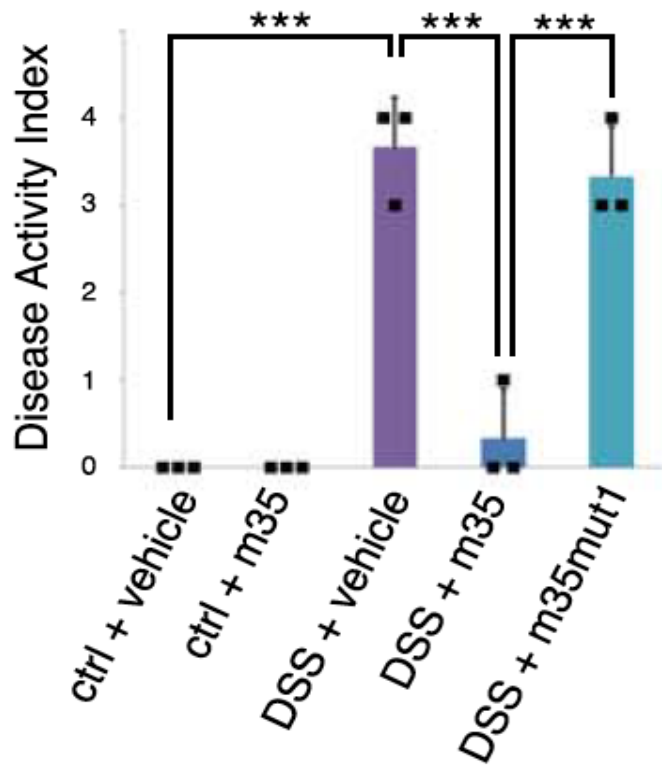
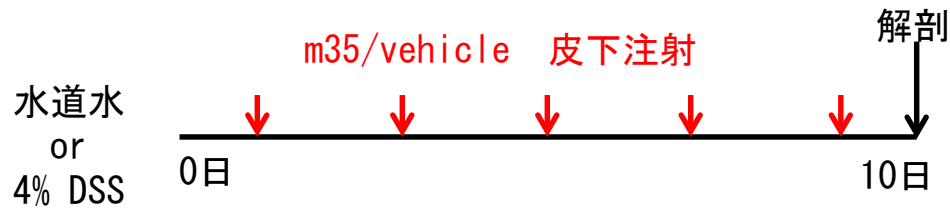


大腸の上清中のTJ形成活性



m35中和抗体により炎症回復期における腸バリア機能の回復が遅れる

DSS誘発性潰瘍性腸疾患マウス



水道水 + vehicle

水道水 + m35

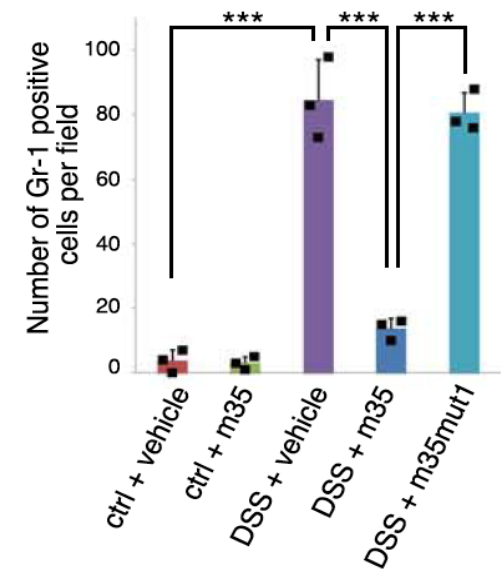
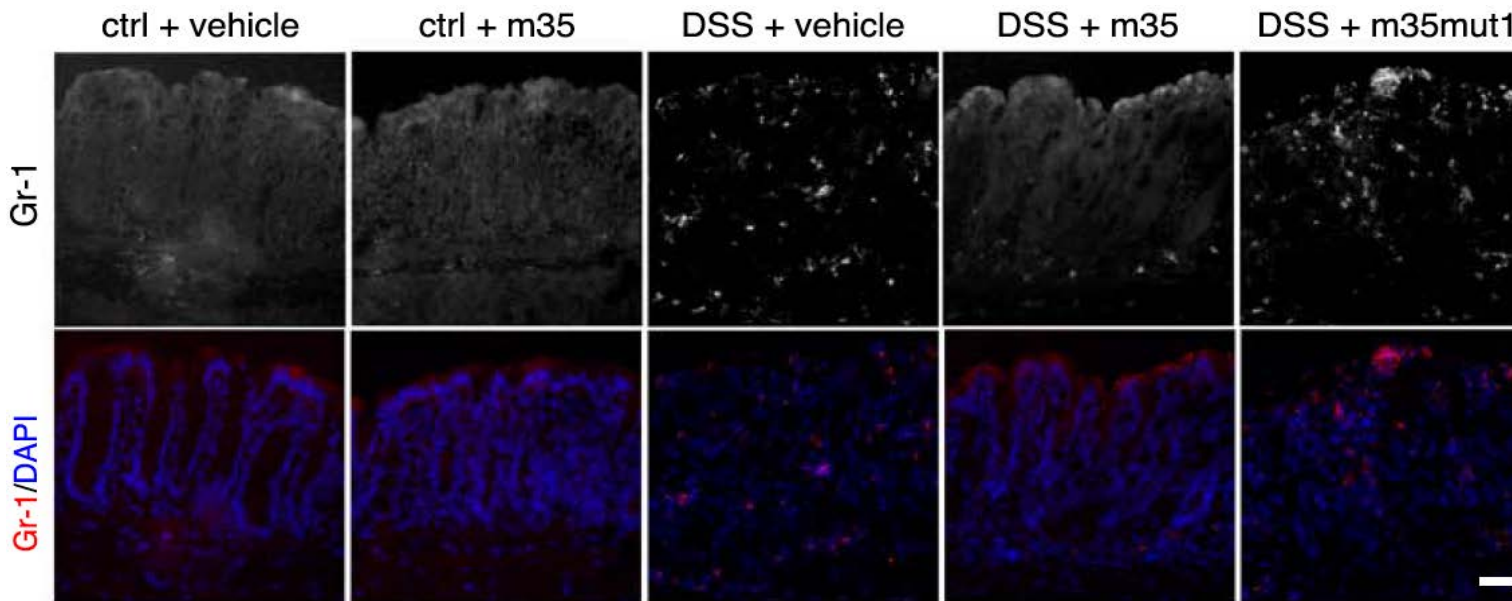
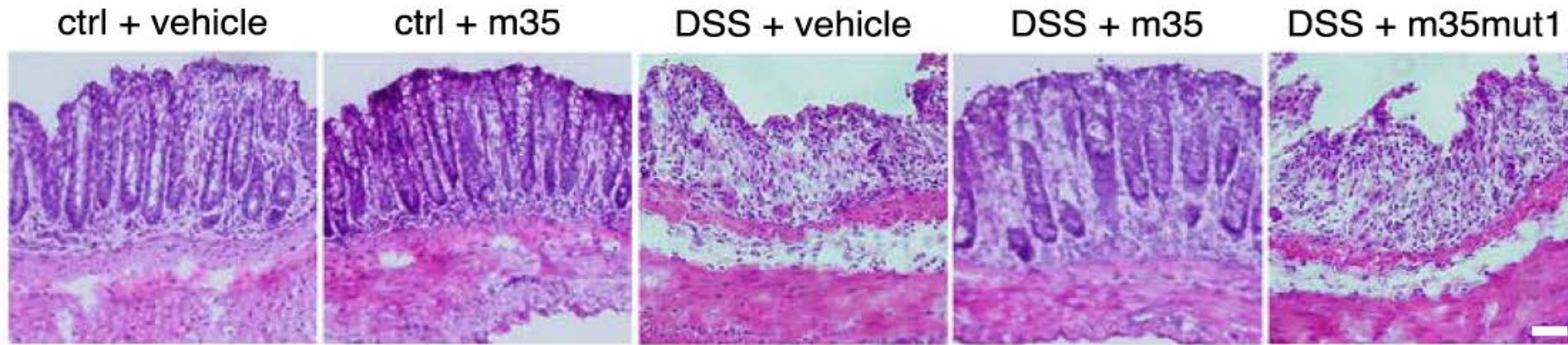
DSS + vehicle

DSS + m35

DSS + m35mut1

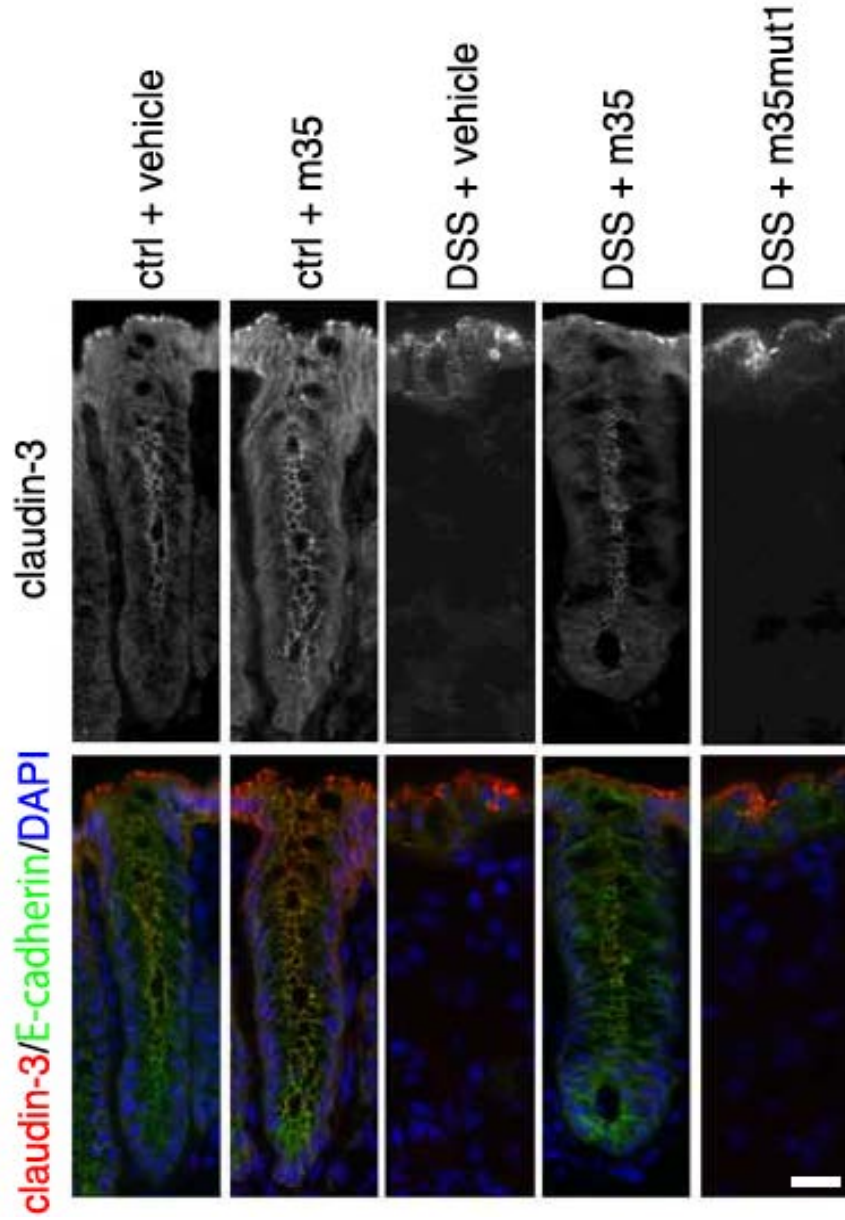


m35はDSS誘導性腸炎モデルマウスの症状を緩和させる②

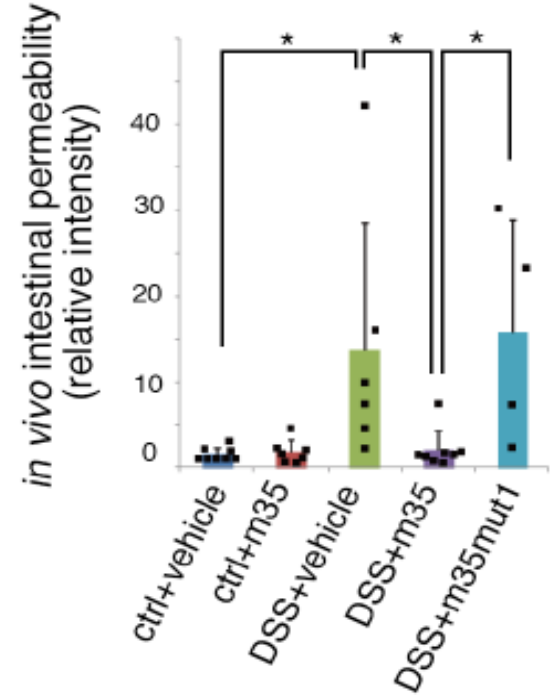
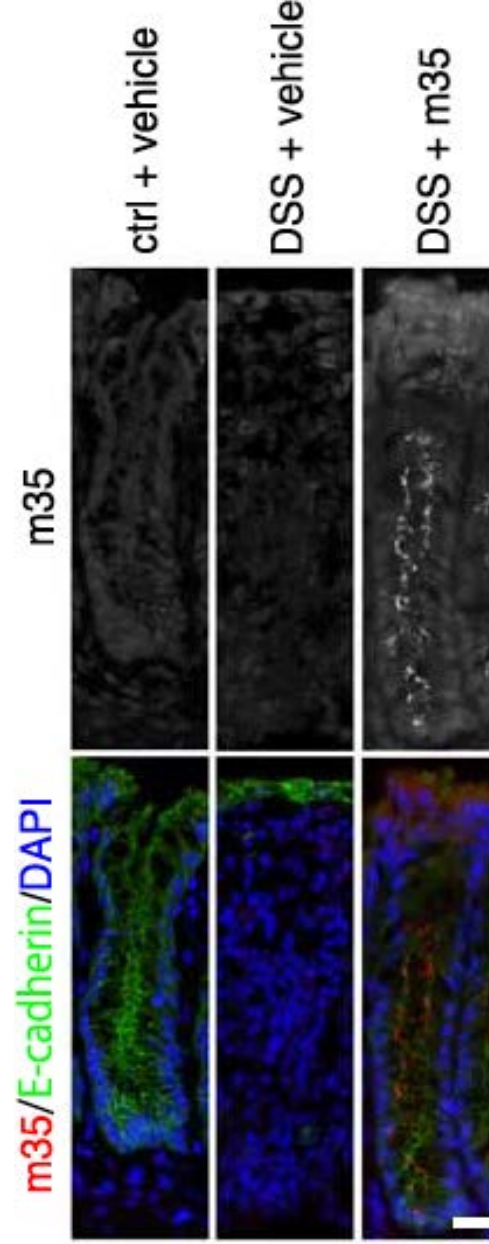


m35はDSS誘導性腸炎モデルマウスの症状を緩和させる③

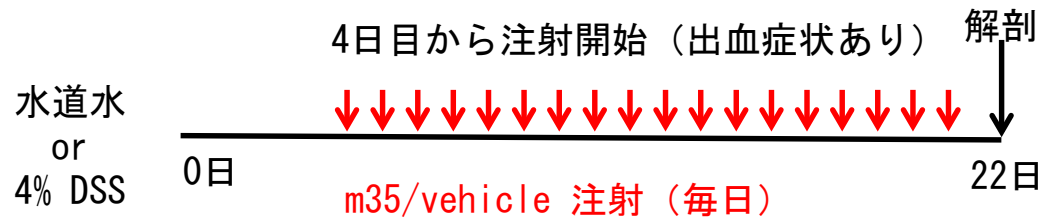
claudin-3の局在



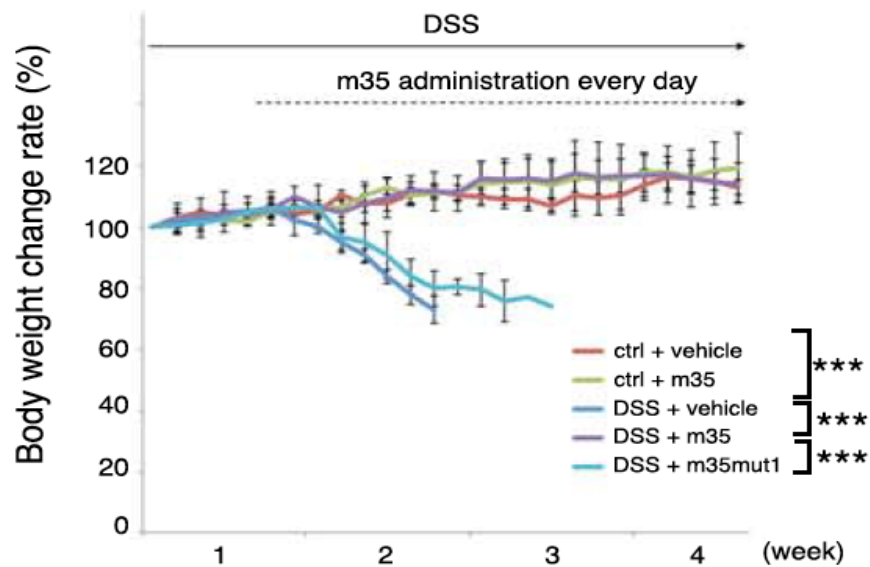
m35の局在



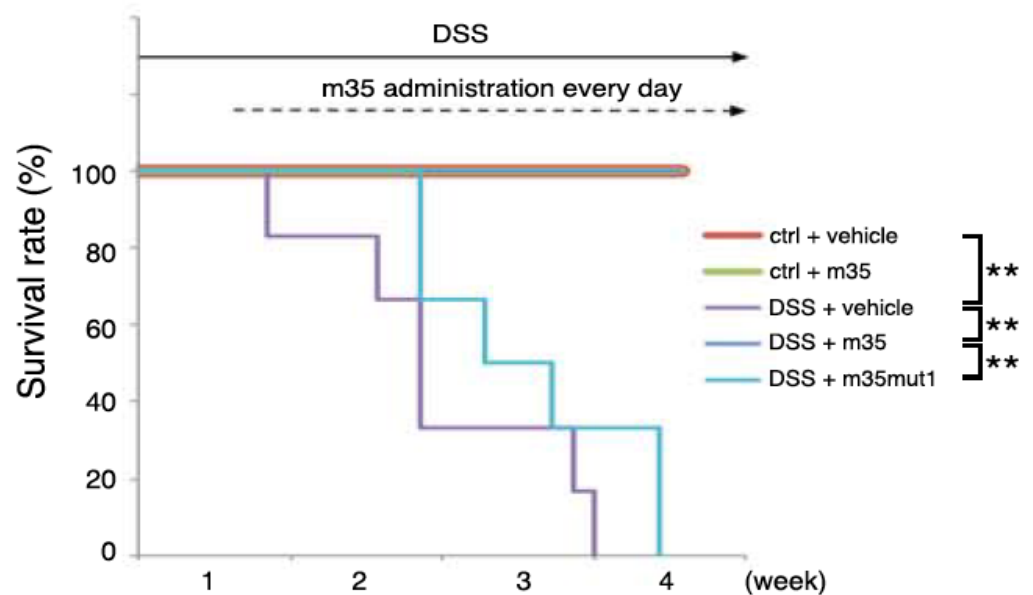
m35はDSS誘導性腸炎モデルマウスの症状を緩和させる④



体重変化率

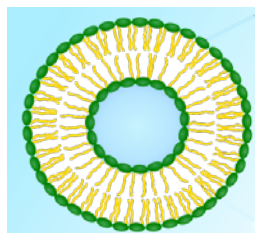


生存率

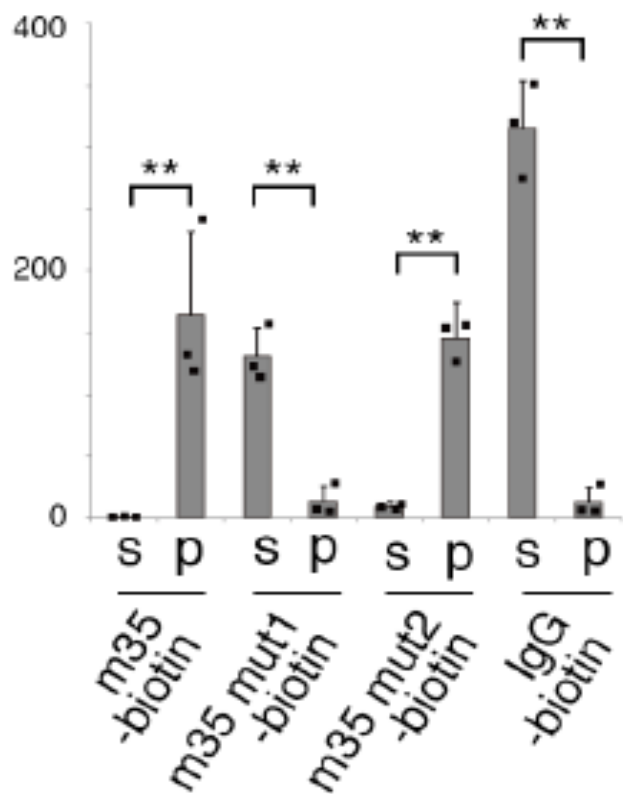


m35は細胞膜に挿さり、細胞境界部に局在している

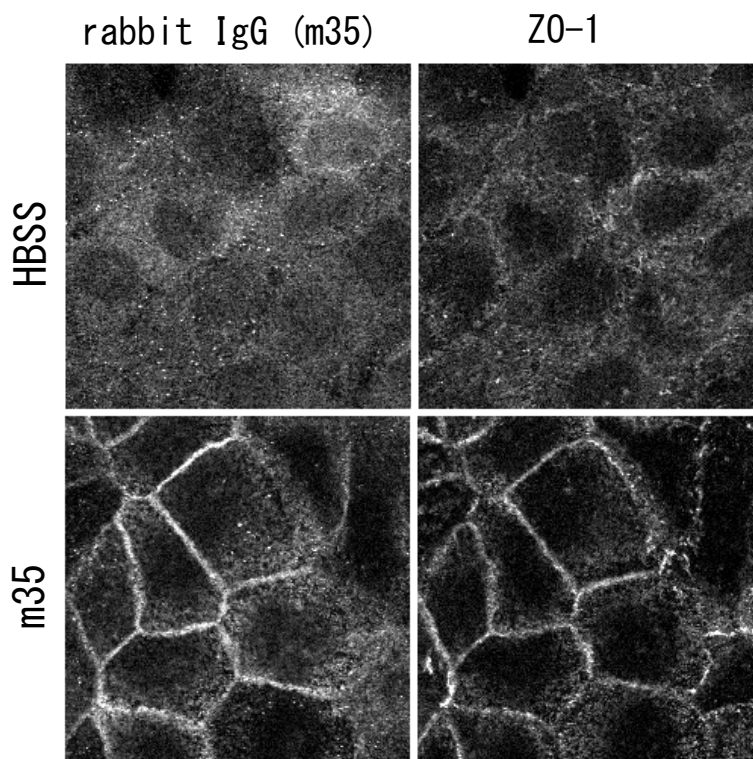
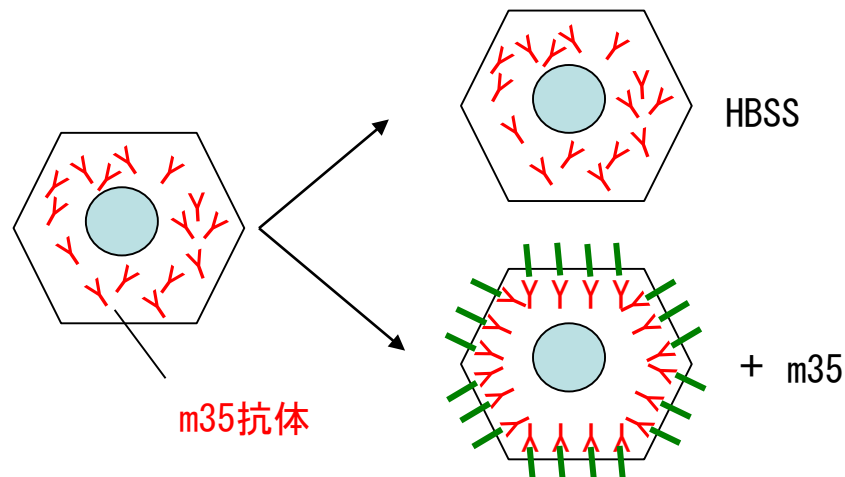
liposome

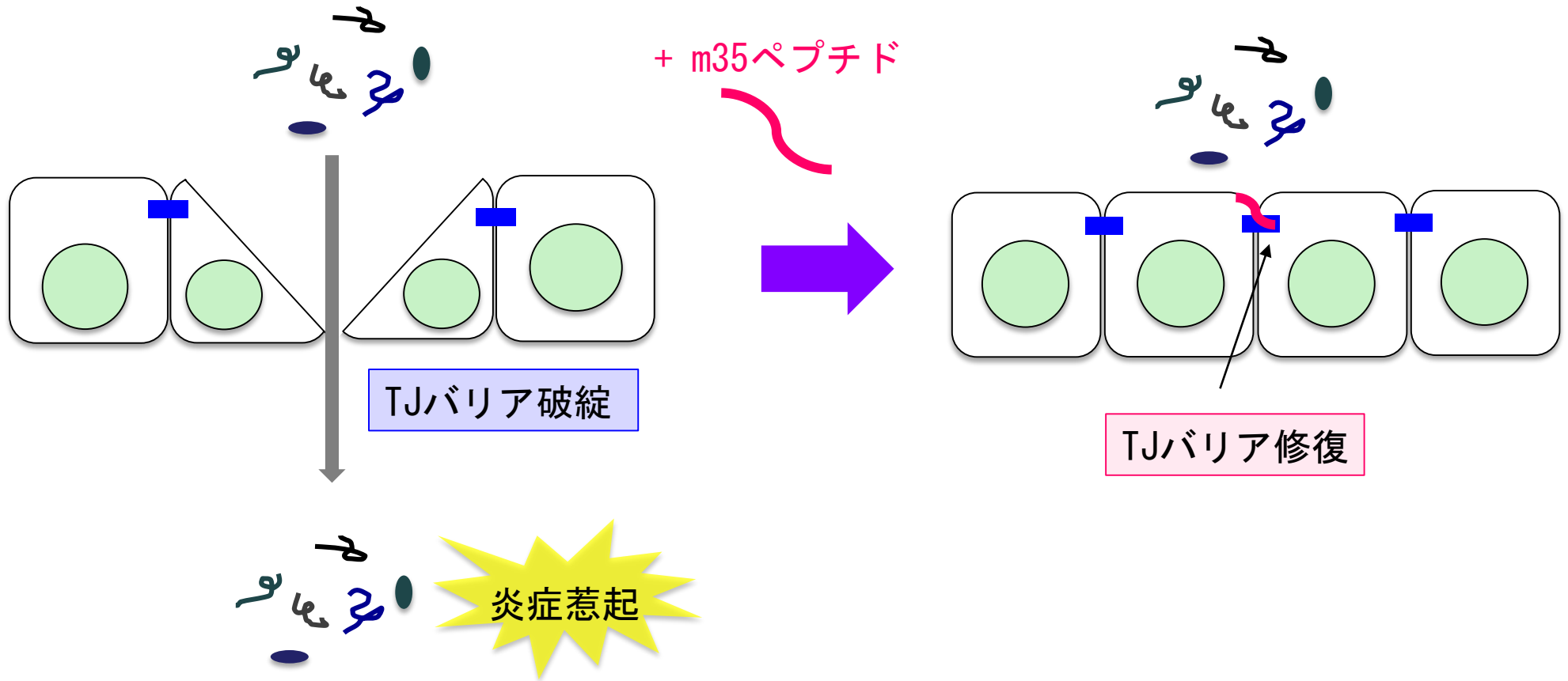


+ m35
+ m35 mutants
+ IgG



m35抗体の細胞質への導入





生体組織の適応・修復機構の時空間的解析による生命現象の理解と医療技術シーズの開発 (PRIME)

「新規生理活性ペプチドによる上皮組織修復機構の解明」



基盤研究B

「上皮バリア形成メカニズムの解明」

- ・ 生体内において、タイトジャンクションを形成誘導・機能制御することは重要な課題であるにもかかわらず、実用的な物質は開発されていなかった。
- ・ 本ペプチドは実用化可能な初めてのタイトジャンクション形成誘導物質である
- ・ 本ペプチドは生体由来因子であるため、副作用が少ないことが見込まれる

想定される用途

- ・タイトジャンクションのバリア破綻と炎症は密接に関連していることから、炎症に対して効果があることが期待される
- ・皮膚バリアの水分保持の観点から、化粧品にも展開可能であると思われる
- ・老化等による消化管バリア機能低下に対する機能性食品への展開も可能であると思われる

- ・ 現在、培養細胞レベルでの実験、潰瘍性大腸炎モデルマウスを用いた動物実験まで検証済み。しかし、作用点の直接的ターゲットが未解明である。
- ・ 実用化に向けて、個体レベルでの安全性を評価する必要がある。
- ・ 物質を腸などへの標的部位への送達技術（ドラッグデリバリー技術）を有する企業を歓迎

企業に求めること

- 炎症性疾患（潰瘍性大腸炎など）に対する創薬の開発プラットフォームを持つ企業との共同研究を希望。
- 抗炎症薬を開発中の企業、炎症性疾患分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。
- 大学側での開発協力の優先順位は医薬品＞医薬部外品＞化粧品の順で。
- 共同研究（共同開発）は研究室のキャパシティなどの観点から1社ずつしか対応できない。
- 独立に開発できる企業であれば、「医薬部外品」「化粧品」分野の企業とも契約が可能。

- ・ 発明の名称 : タイトジャンクション形成誘導剤
- ・ 出願番号 : 特願2019-115248
PCT/JP2020/024154
- ・ 出願人 : 国立大学法人京都大学
- ・ 発明者 : 小田裕香子、豊島文子、石濱泰

国立大学法人京都大学内
株式会社 T L O 京都
京大事業部門 技術移転チーム

TEL 075-753-9150

FAX 075-753-9169

e-mail event@tlo-kyoto.co.jp