

【目的】 本研究では、「中枢関門における役割がわかっていない Claudin-11 分子が、中枢関門の密着結合形成に重要な役者であり、多発性硬化症における中枢関門のバリアー機能破綻の原因分子である」という仮説を証明することを目的とした。

【方法】 改良型 SWATH (sequential window acquisition of all theoretical fragment ion spectra) 法によって中枢関門に発現する密着結合分子 claudin サブタイプを探索し、QTAP (Quantitative Targeted Absolute Proteomics) 法によって claudin サブタイプの絶対発現量を計測した。市販されている目的分子の特異抗体を用いて、定法に従い、免疫組織学的染色解析およびウェスタンブロット解析を行った。中枢の内皮系バリアーのモデルとしてヒト脳毛細血管内皮細胞株 (hCMEC/D3 細胞) を、中枢の上皮系バリアーのモデルとして脈絡叢上皮細胞株 (TR-CSFB 細胞) を用いて、claudin サブタイプの密着結合形成への寄与を計測した。

【結果】 ラットから単離した脳毛細血管において、全 claudin family の中で claudin-5 と claudin-11 のみのタンパク質発現が検出された。Claudin-11 のタンパク質絶対発現量は、ラット及びヒト脳毛細血管において、claudin-5 (従来から知られている血液脳関門の主要密着結合分子) と比較してそれぞれ 1.0 倍及び 2.8 倍多く、定量的な観点から (特にヒトで) claudin-11 の重要性が示唆された。免疫組織学的解析によって、脳毛細血管内皮細胞だけでなく他の中枢関門を構成する脊髄毛細血管内皮細胞、脈絡叢上皮細胞およびクモ膜にも発現することが示された。Claudin-11 発現の特異的ノックダウンによって、細胞膜非透過性物質である FITC-dextran の細胞間透過性が上昇し、claudin-11 が中枢の内皮系バリアー及び上皮系バリアーの両方の密着結合形成に寄与していることが示された。*In vivo* のヒトの血液脳関門における claudin-11 の寄与率は claudin-5 とほぼ同程度であると推定された。多発性硬化症の患者では脳毛細血管および脊髄毛細血管、多発性硬化症モデルマウスではそれらに加えてクモ膜において、claudin-11 の発現低下が示された。結論として、claudin-11 は複数の中枢関門の密着結合形成に重要な分子であり、その発現低下が多発性硬化症におけるそれら中枢関門の破綻の原因の一つであることが本研究によってはじめて明らかとなった。

多発性硬化症の中枢関門崩壊における Claudin-11 の関与

