

上皮バリアの分子基盤を標的とした創薬イノベーションの螺旋的発展



技術解説

木村 寧希*, 近藤 昌夫**

Spiral progression of pharmaceutical innovations
based on the biology of epithelial barrier

Key Words : Spiral form of development, Claudin, binders

1. はじめに

フリードリヒ・エンゲルス（ドイツの思想家）は弁証法の中で、事物の螺旋的発展の法則を提唱している。これは、事物の進化の過程において、古く懐かしいものが新たな価値観を伴って再び現れているという法則である。

生物は、単細胞生物から多細胞生物へと進化する過程において、生体内外を隔てるバリアとして上皮を獲得してきた。上皮は恒常性維持に深く関与するとともに、創薬標的としても注目されている。薬物治療の第一ステップは皮膚重層上皮や粘膜上皮の透過であること、悪性腫瘍の9割が上皮由来であること、上皮がインフルエンザウイルス等の多くの病原性微生物の入門戸となっていること等から、長年にわたり多方面から上皮を標的とした創薬研究は進められており、既に60年以上前には粘膜上皮バリア制御による薬物吸収促進の概念が提唱されてい

る1)。しかしながら、バリアの生物学の発展遅延とも一部相俟って、上皮バリアを標的とした創薬研究は停滞を余儀なくされていた。

この停滞を打破し螺旋的発展を齎したのが、京都大学月田承一郎先生らによる occludin (1993年) や claudin (1998年) の発見に端を発した生体バリアの生物学の進展である2, 3)。この本邦発の生体バリアの生物学の土壌に生まれ、2024年3月に世界に先駆けて我が国において claudin-18.2 陽性の治療切除不能な進行・再発の胃癌に対する抗がん剤として抗 claudin-18.2 モノクローナル抗体が承認された4, 5)。

本稿では、本邦発の学問体系である生体バリアの生物学の土壌に生まれた創薬イノベーションの螺旋的発展について概説したい。

2. 上皮バリアの分子基盤

上皮を標的とした創薬の歴史を紐解くと、その螺旋的発展の端緒は、1961年にNature誌に掲載された Windsor と Cronheim による上皮バリア制御による薬物吸収促進というコンセプトの提唱にみとれる1)。

生体内外を隔てるバリアとして進化を遂げてきた上皮がバリア機能を発揮するためには、隣接する上皮細胞間の間隙をシールすることが不可欠であり、この仕組みとして上皮は密着結合 (TJ) を獲得している。1963年に電子顕微鏡解析により TJ が同定されると、1967年に「上皮バリア制御」から「TJ シール開口」へと薬物吸収促進戦略のパラダイムシフトが生じた6, 7)。しかしながら、TJ シールの分子基盤の同定は遅れ、がんや感染症領域は言うに及ばず薬物吸収促進技術の開発すら停滞を余儀なくされることになる。

1963年に電子顕微鏡解析によって TJ が数珠様



* Shizuki KIMURA

大阪大学薬学部 医薬品・医療機器規制科学分野 学部4年。
現在の趣味：バイオリン、御朱印集め。



** Masuo KONDOH

大阪大学 薬学研究科 教授。
徳島文理大学薬学部助手、昭和薬科大学講師、大阪大学薬学研究科准教授、厚生労働省臨床研究推進指導官・医療機器審査調整官等を経て、2018年4月より現職。
現在の趣味：ジョギング、料理、宝塚観劇。

の構造を有していることが報告されて以降、世界中でこの数珠を構成する分子の同定が進められ、1982年に脂質ミセル説が提唱された(8, 9)。このコンセプトを踏まえて、界面活性剤等を用いた吸収促進剤の開発が加速したものの、依然としてがんや感染症等にかかる創薬研究は進展しなかった(10)。

1993年に京大月田グループによって、TJに膜蛋白質である occludin が含まれていることが見出され、TJシールが蛋白質によって構成されていることがはじめて示された(2)。Occludin を欠損させても TJシール機能が維持されていたことから、真の TJシール構成分子の探索が進められ、1998年に TJシール機能を担う分子として claudin が同定された(3)。この claudin の発見が上皮バリアを標的とした創薬イノベーションの螺旋的発展の起爆剤となり、上述した claudin を標的とする抗がん剤の創製につながったのである。なお、この occludin から claudin の発見に至る物語については「小さな小さなクローデイン発見物語：月田承一郎著」を是非ご一読して頂きたい(11)。

Claudin は TJシール機能の本体として同定された 20~25 kDa の 4 回膜貫通蛋白質であり、ヒトやマウス等では 27 種類の分子からなるファミリーを構成しており、発現やバリア機能には組織特異性がある。例えば、claudin-1 は皮膚の重層上皮バリア、claudin-5 は血液脳関門バリアにおいて中心的な役割を担っている。興味深いことに、claudin シールは分子量選択的・荷電選択的透過経路としても機能することから、claudin 制御分子は組織特異性と透過物質特異性を併せ持つ吸収促進技術としての応用が期待されている。また、炎症性腸疾患 (IBD) で claudin のバリア機能異常が散見されること、胃癌をはじめとした上皮がんで claudin の発現異常が認められること、粘膜免疫組織を覆う上皮細胞層に claudin-4 が高発現していること、claudin-1 が C 型肝炎ウイルスの感染受容体となっていること等から、claudin が創薬イノベーションの起爆剤として凄まじいインパクトを有していることが矢継ぎ早に明らかになってきた。

3. Claudin を標的とした創薬のボトルネック

膜蛋白質を標的とした創薬モダリティの第一選択は抗体であるが、claudin の細胞外領域は 1st loop

で約 50 アミノ酸、2nd loop で約 15 アミノ酸しかなく、ヒトと齧歯類 (マウスとラット) の相同性は 80% 以上あり、リコンビナント蛋白質の調製も難しく、細胞外領域を認識する抗体の作製は困難を極め、ここに claudin 創薬の難しさがある。実際、モノクローナル抗体創製の報告は 2008 年まで待たねばならず、claudin-1 が C 型肝炎ウイルスの感染受容体であることを証明した 2007 年の Nature 誌の本文において「Unfortunately, all available claudin-1-specific antibodies recognize the intracellular C-terminal segment of the protein and are thus not useful for such studies. After an unsuccessful attempt to raise antibodies against claudin-1 extracellular loop 1 (data not shown)」と記載されていることから、抗体作製の難しさがうかがえる(12)。

4. Claudin binder の螺旋的発展～第一世代 claudin binder～

上述したように、claudin の創薬標的としての druggability の低さから創薬イノベーションは停滞していたが、月田グループによる発見によって螺旋的発展を遂げることになる。

1999年に月田グループにより、claudin-3 と -4 が ウェルシュ菌エンテロトキシン (CPE) の受容体と同一分子であること、ウェルシュ菌エンテロトキシンの受容体結合領域 (C-CPE) がバリア機能を阻害することが示され、claudin を標的としたドラッグ・デリバリー・システムのコンセプトが提唱された(13)。この論文にヒントを得て、CPE や C-CPE を用いて claudin を標的とした癌治療、癌診断、癌ターゲティング、粘膜ワクチン、非侵襲性投与 (粘膜吸収促進等) のコンセプトが検証され、claudin を標的とした創薬イノベーションは螺旋的発展の歩みを進めたのである(14)。

このように claudin 創薬の黎明期ではエンテロトキシンを用いて創薬の proof of concept の検証が進められたものの、当然のことながらエンテロトキシンを用いている限り抗原性等の観点から臨床応用は難しく、再び claudin 創薬は停滞することになる。

5. Claudin binder の螺旋的發展～第二世代 claudin binder～

この停滞を打破するため、世界中の研究者が抗体や低分子タイプの claudin binder 創製に挑んだ。

抗体作製は主に DNA 免疫や細胞免疫によって進められ、これまでに claudin-1, -2, -3, -4, -5, -6, -18.2 等に対するモノクローナル抗体が開発されている (表1) 15)。これらの抗体を用いて、claudin-1 を標的とした経皮吸収促進やC型肝炎ウイルス感染阻害、claudin-2 を標的としたIBD治療、claudin-5 を標的とした脳内薬物送達、claudin-6 と-9 を標的としたC型肝炎ウイルス感染阻害、claudin を標的とした癌治療等のコンセプトが検証・提示された。本稿では、紙面の都合上、脳内薬物送達とIBD治療戦略に絞って触れることにする。

5-1. Claudin-5 を標的とした脳内薬物送達技術の有効性・安全性

少子高齢化に伴う社会構造の変化等に伴い、認知

症等の神経変性疾患やうつ病等の精神疾患は増加の一途を辿っており、中枢神経疾患 (CNS) の克服が健康長寿社会実現に向けた喫緊の課題となっている。

脳の毛細血管は末梢組織の毛細血管と異なり、無窓内皮細胞で構成されている。さらに隣接する内皮細胞間隙を TJ によってシールすることで、脳内への物質移行は厳密に制御されている。この制御を担っているのが血液脳関門 (BBB) であり、単に血中に医薬品を投与しても高分子はほとんど脳内には移行せず、低分子でも 98% は移行しない 16)。即ち、BBB 透過が CNS 薬創製の鍵を握っているわけである。

月田グループによる claudin-5 欠損マウスを用いた解析で TJ の形態的および機能的異常を伴うことなく低分子が脳内に移行していたものの、claudin-5 欠損マウスは出生後 10 時間以内に死亡しており、claudin-5 制御による脳内薬物送達戦略の安全性が懸念された 17)。中枢神経系の種差は大きく齧歯類

表1. 抗Claudin (CLDN) 抗体開発の概要¹⁵⁾

標的	クローン名	応用領域
CLDN-1	7A5	経皮吸収
CLDN-1	OM-7D3-B3, 5.16, 3A2, D10X	C型肝炎
CLDN-1	3A2, 6F6	癌
CLDN-2	1A2	炎症性腸疾患
CLDN-2	1A2	癌
CLDN-3	KM3953, IgGH6	癌
CLDN-4	KM3934, 4D3, 5D12, Clone 382321	癌
CLDN-4	HKH-189	フローサイトメトリー
CLDN-3 and -4	KM3907, 5A5	癌
CLDN-5	R9, 2B12	脳内薬物送達
CLDN-6	IMAB027	癌
CLDN-6	342927	フローサイトメトリー
CLDN-6	WU-9E1-G2	C型肝炎
CLDN-9	YD-4E9-A2	C型肝炎
CLDN-18.2	IMAB362	癌

データのヒト外挿性は低いため、非ヒト霊長類を用いた検証が実施され、抗 claudin-5 抗体をカニクイザルに投与することで副作用を伴うことなく低分子が脳内に移行することが証明された18)。このことは、claudin-5 を標的とした脳内薬物送達の実践における有効性と安全性を示唆していた。しかしながら、高投与量で中枢性の副作用が観察されたため、脳内薬物送達の安全性確保の面から抗体に代わる druggable claudin binder の創製が求められ、最近、ペプチドタイプの claudin-5 binder が開発されている19)。

5-2. Claudin-2 を標的とした炎症性疾患治療戦略

IBD は粘膜免疫の活性化および粘膜上皮バリアの破綻を主徴とする寛解と再燃を繰り返す難病であり、我が国では 20 万人余りがこの疾患に苦しんでいる。主にステロイドや抗 TNF 抗体といった免疫抑制薬を用いた治療が行われているが、副作用により治療の中断を余儀なくされる場合が多い状況にあり、粘膜上皮バリアの破綻に着目した創薬研究は遅々として進展していない。

IBD 患者の腸管では claudin-2 の発現量が増加し、炎症の重症化に伴い claudin-2 の発現量は増加する20)。Claudin-2 はバリア機能を緩める機能を有していることから claudin-2 阻害による新たな IBD 治療戦略の構築が行われ、抗 claudin-2 抗体を添加することで粘膜上皮バリア機能が向上すること、抗炎症活性を有する抗 TNF 抗体と抗 claudin-2 抗体を併用することで相加的なバリア機能改善効果が認められたことから、claudin-2 を標的とした粘膜バリア強化戦略が提唱されている21)。

また最近、claudin-2 を標的とした敗血症治療の可能性を示唆する報告があった22)。敗血症は細菌やウイルス感染が引き金となり臓器障害が生じる病態であり、未だ治療選択肢は乏しく、世界では年間 1000 万人以上が敗血症で亡くなっている。敗血症患者の腸管上皮で claudin-2 の発現量が増加していることなどから claudin-2 欠損マウスを用いた解析が行われ、claudin-2 欠損により敗血症に伴う腸管の物質透過性亢進が抑制されることや敗血症において生存率が改善されることが見出されている22)。このことは、claudin-2 が敗血症の治療標的になる

ことを示唆している。

6. 螺旋的發展の行方

上述したように、claudin を標的とした創薬研究は、毒素断片を用いた検証研究から抗体を用いた創薬研究へと螺旋的發展を遂げてきた。一般的に抗体医薬は製造コストが高く、注射による侵襲的投与を余儀なくされており、低分子医薬が理想的な創薬モデルであるといえる。Claudin 創薬におけるモデルの変遷を振り返ると、「毒素」から「抗体」に移り、さらに「抗体」から「低分子」へと螺旋的發展の兆しが顕在化している。例えば、毒素や抗体と claudin との相互作用を指標に chemical claudin binder を探索するシステムの構築が模索されており、既に毒素断片と claudin の相互作用を指標に claudin binder ハイスループットスクリーニング系が開発され、chemical claudin-4 binder/modulator が創製されている23, 24)。さらに、愛媛大学竹田浩之先生と澤崎達也先生のグループによってコムギ胚芽無細胞合成系を用いた claudin binder 創薬技術も開発されている25)。

また、ヒトでの claudin 発現にかかる情報も蓄積されており、腸管における claudin 発現解析から、吸収部位である消化管上部では claudin-15、消化管下部では claudin-8 の発現が高く、経口投与と製剤の吸収促進剤として claudin-15 binder、坐剤の吸収促進剤として claudin-8 binder の有用性が提起されている26)。

昨今のクライオ電子顕微鏡解析技術や in silico 創薬技術を駆使した AI (artificial intelligence) 創薬技術の発展には目を見張るものがあり、2025 年 1 月にペプチドタイプの claudin-5 binder が創製されている19)。今後は、AI 創薬技術に立脚した claudin 創薬の螺旋的發展が期待される。

7. おわりに

約 70 年前に提唱された上皮を標的とした創薬研究は、月田承一郎先生のグループによる occludin や claudin の発見に端を発した生体バリアの生物学の進展により螺旋的發展を遂げ、2024 年にゾルベツキシマブ (抗 claudin-18.2 抗体) が上市されるに至った。生体バリアの生物学は我が国発の学問であるにもかかわらず、このゾルベツキシマブが海外で

開発されたことに忸怩たる思いがつのる。

当グループでも、20年以上にわたり、claudinを標的とした創薬研究を進め、非侵襲性投与技術、癌診断・治療技術、脳内薬物送達技術、炎症性腸疾患治療技術、粘膜ワクチン技術等を創出し、動物レベルで有効性や安全性を検証してきたものの、未だ実用化には至っていない(8, 12, 13, 23)。

ゾルベツキシマブの実用化では、胃粘膜の粘膜幹細胞には claudin-18.2 が発現していないこと、理論的に重篤な粘膜障害等が生じる可能性が低いこと、動物レベルで本仮説が検証されたことから、臨床開発につながったようにみえる(4, 5)。この開発コンセプトは、シンプルかつ明確であり、リスクベネフィットのバランスに関するレギュラトリーサイエンスに立脚した知見が集積されトランスレーショナルリサーチが進んだと考えると腑に落ちる。

本拙稿を端緒に、リスクベネフィットのバランスに関するレギュラトリーサイエンスにも立脚した claudin 創薬の螺旋的発展がより一層進展することを願ひ、本稿をとじたい。

引用論文

1. Windsor E. and Cronheim G.E. *Nature*, **190**, 263-264, 1961
2. Furuse M. et al., *J Cell Biol*, **123**, 1777-1788, 1993
3. Furuse M. et al., *J Cell Biol*, **141**, 1539-1550, 1998
4. Singh P. et al., *J Hematol Oncol*, **10**, 105, 2017
5. Nakayama I. et al., *Nat Rev Clin Oncol*, **21**, 354-369, 2024
6. Fraquhar M.G. and Palade G.E., *J Cell Biol*, **17**, 375-412, 1963
7. Cassidy M.M. and Tidball C.S., *J Cell Biol*, **32**, 685-698, 1967
8. Kachar B. and Reese T.S., *Nature*, **296**, 464-466, 1982
9. Silva P.P. and Kachar B. *Cell*, **28**, 441-450, 1982
10. Kondoh M. et al., *Adv Drug Deliv Rev*, **64**, 515-522, 2012
11. 月田承一郎, “小さな小さなクロロディン発見物語”, 羊土社, 東京, 2006年
12. Evans M.J. et al., *Nature*, **446**, 801-805, 2007
13. Sonoda N. et al., *J Cell Biol*, **147**, 195-204, 1999
14. Suzuki H. et al., *Ann NY Acad Sci*, **1258**, 65-70, 2012
15. Hashimoto Y. et al., *J Pharmacol Exp Ther*, **368**, 179-186 (2019).
16. Pardridge W.M. *NeuroRx*, **2**, 3-14, 2005
17. Nitta T. et al., *J Cell Biol*, **161**, 653-660 (2003)
18. Tachibana K. et al., *J Control Release*, **336**, 105-111, 2021
19. Trevisani M. et al., *Sci Adv*, **11**, eadq2616, 2025
20. Weber, Christopher R et al., *Lab Invest*, **88**, 1110-20, 2008
21. Takigawa M, et al., *J Pharmacol Exp Ther*, **363**, 444-451, 2017
22. Oami T, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*, **121**, 2024
23. Watari A. et al., *Biotechnol Lett*, **37**, 1177-1185, 2015
24. Watari A. et al., *Sci Rep*, **7**, 14514, 2017
25. Takeda H. et al., *Sci Rep*, **5**, 11333, 2015
26. Tachibana K. et al., *Biol Pharm Bull*, **47**, 1209-1217, 2024