

cellZscope™による in vitro 血液脳関門モデル BBB Kit™ の タイトジャンクション機能解析

血液脳関門（Blood-Brain Barrier ; BBB）は脳毛細血管が構成する生体バリア機能*であり、中枢と末梢の物質移行を制御することで脳の恒常性維持に重要な役割を果たしています。近年BBBの機能障害が認知症をはじめとする様々な中枢神経系疾患と関係することが報告されており、新たな治療標的としてBBBが注目されています。また、COVID-19後遺症における中枢症状の一因として SARS-CoV-2 のペリサイト（BBB 関連細胞）への感染が報告されており、BBBは COVID-19 後遺症の治療標的としても認識されつつあります。このような背景から、BBBをはじめとして生体のバリア機能解析は疾患の新規治療法開発や創薬に重要となります。本稿では、cellZscope™を使用して血液脳関門モデル BBB kit™ のタイトジャンクション機能解析を行いました。

*密着結合（Tight Junctions）形成、各種輸送体の発現など。

目的

BBB 保護作用が期待される化合物 X について、タイトジャンクション形成への影響をin vitro BBB モデル BBB Kit™ と cellZscope™を用いて評価する。

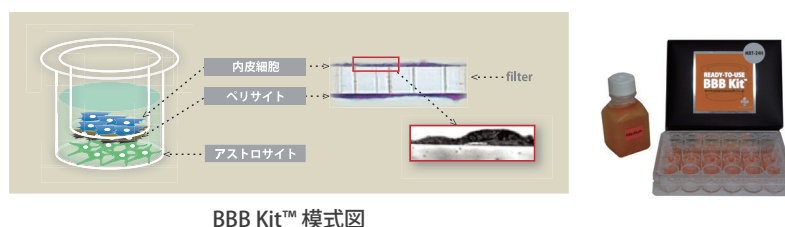
材料

サル型 BBB Kit™

（ファーマコセル株式会社 Cat.No. PCC-MBT-24H）

培地：BBB Kit™ 専用培地

薬剤：開示不可



BBB Kit™ 模式図

方法

1. BBB Kit™ の解凍・培養

サル型 BBB Kit™ を専用培地を用い、Kit のマニュアルに従って解凍・培養した。

2. 薬剤 X 投与と TEER 測定

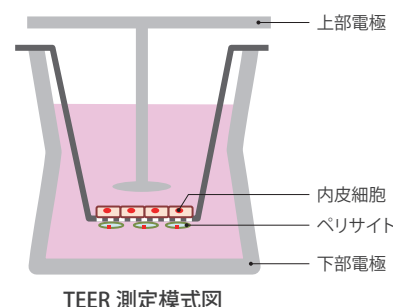
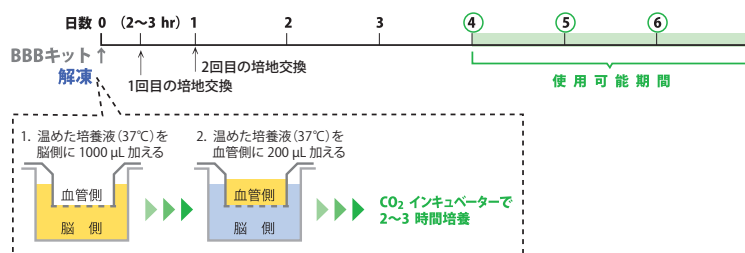
解凍後培養 7 日目のサル型 BBB Kit™ を cellZscope™ にセットし、専用培地で希釈した薬剤 X (50 μM) をインサートおよび下部電極内に添加した。

薬剤添加から 4 日間、15 分間隔で TEER 測定を実施した。

測定の準備

- 1) cellZscope™ のセルモジュール本体に下部電極をセットし、リッドに上部電極がついたバーをセットする
- 2) 下部電極に培地を 1,140 μL * 加える
- 3) カルチャーインサートの培地を交換し（新しい培地は 300 μL * 加える）下部電極にセットする（右図）
- 4) リッドをセルモジュールに被せる
- 5) セルモジュールをインキュベーターに静置し測定を開始する
- 6) 波形が安定しているのを確認し、15 分ごとに測定を行う

* cellQART® 細胞培養インサート（24-well）を用いる場合の適切な液量の組み合わせ



TEER 測定模式図

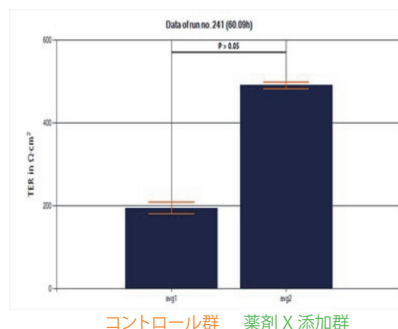
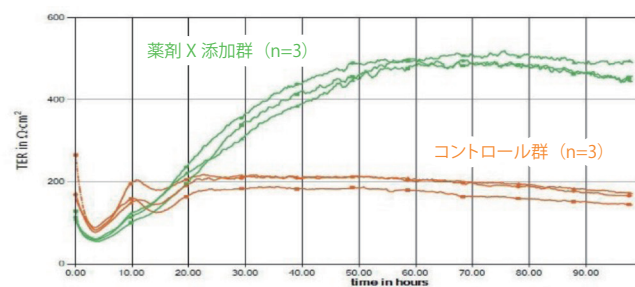
結果

両群ともに4時間後まで培養液交換の影響で一過性にTEERが低下した。コントロール群のTEERは20時間後に実験開始前のレベルまで回復した。

薬剤X添加群は50時間後までTEER上昇が継続した。

薬剤X添加によって、60時間後のTEERはコントロール群と比較して2.5倍まで上昇した。

(194.82 vs 490.66 $\Omega \cdot \text{cm}^2$)



考察

BBB Kit™ と cellZscope™ を組み合わせて使用することにより、経時的にタイトジャンクション形成の変化を捉えることができた。

本評価系は BBB を標的とした新薬開発や DDS 技術開発に有用と考えられる。

[想定される用途]

BBB 機能改善成分のスクリーニングとメカニズム解析

→ COVID-19 後遺症、認知症、精神疾患、がん脳転移

一過性に BBB を弛緩する成分のスクリーニング

→ DDS 技術開発

ここがポイント！

内皮細胞間隙にタイトジャンクションが形成されることで細胞間隙のイオン移動が制限される

→ タイトジャンクションが高度に形成されると

内皮細胞層の電気抵抗 (TEER) が高値を示す。

BBB 機能障害 → TEER 低下 / BBB 機能改善 → TEER 上昇



cellZscope+

【謝辞】

今回ファーマコセル株式会社 渡邊大祐様よりご寄稿いただきました。

販売代理店

販売代理店