

피부에서의 치밀이음의 구조와 기능

송 미[†] · 백 지 훈

(주)더마프로

(2022년 6월 28일 접수, 2022년 6월 30일 수정, 2022년 6월 30일 채택)

Structure and Function of Tight Junctions in the Skin

Mee Song[†] and Ji Hwoon Baek

DERMAPRO Bio Research Center, DERMAPRO Ltd., 213-3 Chumdan-ro, Jeju-si, Jeju-do 63309, Korea

(Received June 28, 2022; Revised June 30, 2022; Accepted June 30, 2022)

요약: 피부는 과도한 수분 손실과 화학물질, 미생물과 같은 해로운 물질의 침입으로부터 신체를 보호한다. 특히 표피의 각질층은 매우 중요한 물리적 장벽으로 인식되고 있다. 그러나 최근 몇 년 동안 치밀이음(tight junctions, TJ)이 피부의 장벽 기능에 중요한 역할을 할 수 있다는 증거가 보고되고 있다. 본 논문에서는 치밀이음을 구성하는 단백질의 종류, 치밀이음의 피부투과장벽으로서의 기능과 피부질환, permeation enhancer로서의 역할에 대해 살펴보고자 한다.

Abstract: The skin protects the body from excessive water loss and the invasion of harmful substances, such as chemicals and microbes. The stratum corneum, is recognized as a very important physical barrier. However, in recent years evidence emerged that tight junctions (TJ) might also play a crucial role in barrier function of the skin. In the present study, TJ proteins including transmembrane proteins and plaque proteins, skin permeability barrier function and skin diseases of TJ were reviewed.

Keywords: epidermis, barrier, tight junction

1. 서 론

피부장벽은 피부를 통한 수분과 전해질이 외부로 손실 되는 것을 막아주고, 유해한 화학물질이나 미생물의 침입에 대해 방어하는 기능을 한다[1]. 피부장벽 기능은 주로 각질층(stratum corneum, SC)에서 각질세포와 지질에 의해 수행되지만, 과립층(stratum granulosum, SG)에서의 치밀이음(tight junction, TJ)도 피부장벽 기능이 있는 것으로 보고 되어 이와 관련한 연구들이 지속적으로 이루어지고 있다 [1,2].

2. 치밀이음 구성단백질의 종류와 구조적 특징 (Tight Junction Protein and Structure)

치밀이음은 인접하는 세포를 서로 엮어주는 세포간이음 (intercellular junction, ICJ) 중 하나로써 ICJ는 TJ이외에도 부착이음(adherens junction, AJ), 결합체(desmosome), 틈새이음(gap junction, GJ) 등의 접합구조들로 이루어진다[1]. 단층 상피에서는 서로 평행한 TJ strands 내에 aqueous pores 또는 paracellular channels이 존재하여 분자들의 이온 및 크기에 따라 선택적으로 투과시키는 것으로 알려져 있다[3]. TJ단백질은 transmembrane proteins과 plaque protein으로 구성되며 매우 복잡한 구조로 되어 있고 세포의 종류 및 분화 정도에 따라 다양하게 존재한다[4].

Transmembrane protein으로는 claudin (Cldn), occludin,

[†] 주 저자 (e-mail: mee0908@hanmail.net)
call: 064-751-5436

junctional adhesion molecules (JAM) 등이 있고, plaque protein으로는 MAGUK protein, ZO-1, ZO-2, ZO-3, cingulin, symplekin과 세포 극성 복합 단백질(cell polarity complex protein)인, Par3/ Par6/aPKC가 있다(Figure 1)[4,5]. Transmembrane protein은 plaque protein을 매개체로 하여 액틴 세포뼈대(actin cytoskeleton)와 세포질 조절단백성분들(cytosolic regulatory proteins)에 결합되어 있다[6].

TJ의 구성 단백질과 구조적 특성은 이웃한 두 세포를 결합하고, 염증 세포 등과 같은 분자들이 세포 주변 공간으로 이동(paracellular migration)하는 것을 조절하는 장벽 역할을 한다[7]. 특히 TJ은 원형질막의 기저측부(basolateral) 부위와 정점(apical) 부위를 나누어 주는 울타리(fence) 기능을 함으로써 세포의 극성을 결정한다[8]. 이외에 세포신호전달 물질과 TGF-β 리셉터와 같은 세포 표면 리셉터들의 접합부 위이고, 세포증식 및 분화에도 관여하며 소포수송(vesicle transport) 등의 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다[9].

비록 상기에서 설명한 것처럼 TJ은 다양한 기능을 하는 것으로 알려져 있으나 세포의 종류와 분화 정도에 따라 TJ 단백질의 구성과 생리 및 병리학적인 자극에 따라 다양하게 존재한다[9]. 예를 들어 claudin은 포유류에 약 24종 이상이 존재하는 것으로 알려져 있으며 각 단백질은 투과성과 이온 선택성이 달라서 구성비에 따라 세포의 TJ 기능이 다르게 나타난다[10]. 그 외 이음부착분자(TJ associated protein)로써 세포핵에서 발견되는 ZONAB, c-jun, c-fos 등은 전사인자(transcription factor)로 알려져 있고, symplekin은

polyadenylation machinery와 연관되어 있으며, ZO-1, ZO-2, ZO-3는 scaffolding 기능을 하는 것으로 알려져 있다[11]. 특히 ZO-1은 AJ나 GJ에서도 발견되는 단백질이다[12].

3. 단층 상피에서 치밀이음 관련 질환과 기능적 역할(Clinical Disease and TJ Function in Simple Epithelium)

TJ 유전자의 변이는 neonatal sclerosing cholangitis associated with ichthyosis (NISCH) 신드롬, non-syndromic deafness, hypercalciuria와 nephrocalcinosis를 동반한 hypomagnesaemia와 같은 유전성 질환에서 발견된다[13]. NISCH는 Cldn-1 유전자의 변이, non-syndromic deafness는 Cldn-14 유전자의 변이, hypomagnesaemia는 Cldn-16/paracellin1 유전자의 변이로 나타난 결과이다[13]. 또한 Morbus Crohn과 acute lung inflammation 및 다양한 암조직에서는 TJ를 구성하는 단백질에 차이가 있고 구조가 변하기도 한다[13].

TJ는 박테리아, 바이러스, 알러지 유발 물질들의 직접적인 표적(target)이 되기도 한다. 예를 들어 *Clostridium perfringens*의 장독소(enterotoxin)는 심각한 설사를 유발하는 물질로써 *clostridium perfringens enterotoxin receptors*로 밝혀진 Cldn-3 및 -4와 직접적으로 결합하여 Cldn-4를 TJ과 분리시킨다[14]. 현재까지는 임상적으로 장독소의 Cldn-3 및 -4의 결합에 대해 갖는 의미가 정확하게 밝혀지지 않았지만, 장독소의 NH2-terminal region이 작은 구멍을 형성하여 막투과성을 증가시키는 것으로 알려져 있다[14]. 이와 같이 직접적인 방법 외에도 TJ는 간접적인 방법으로도 기능에 문제를 일으킬 수 있다. 박테리아는 세포 내로 침입하여 신호전달경로에 개입하거나 actin cytoskeleton의 작동을 변화시키기도 하고, 바이러스는 TJ 단백질을 coreceptor로 이용한다[15]. 예를 들어 hepatitis C virus는 Cldn-1을, reovirus는 JAM-1을 coreceptor로 이용한다[16,17]. 또한 집먼지 진드기의 cystein-protease인 Der p-1과 같이 proteolytic activity를 가지는 알레르기 항원(allergen)들은 TJ를 붕괴하여 상피조직을 통한 항원들의 투과를 용이하게 함으로써 천식을 더욱 악화시키는데 중요한 역할을 한다[18].

4. 피부 각질세포 분화와 치밀이음 단백질의 발현 (Skin Differentiation and TJ Protein Expression)

피부에서 TJ는 표피 과립층의 세포간극(intercellular space)에 존재한다[2]. 포유류 피부에서 TJ의 존재는 오랫동안

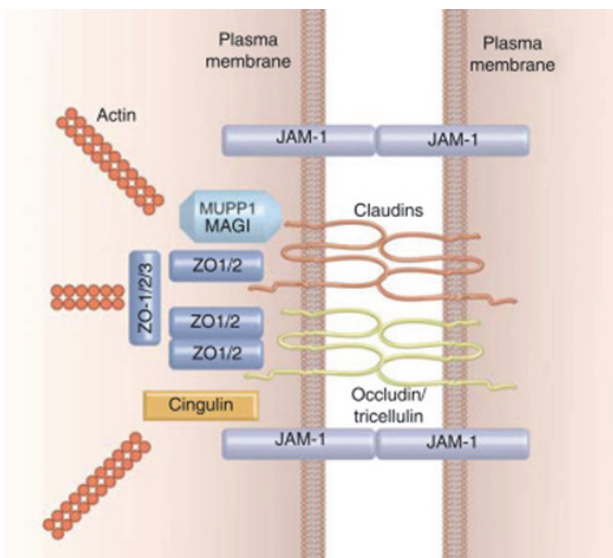


Figure 1. The basic structure of tight junctions. Taken from ref [45].

동안 논의가 되어왔으나 사실상 2001 년도에 TJ를 확인할 수 있는 항체가 개발됨으로써 밝혀졌다[19]. 다양한 TJ 단백질들이 확인되어 인체피부에서는 claudins 1, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 16, 17, occludin, JAM-A, JAM-B, ZO-1, cingulin, MUPP-1, and symplekin등이 밝혀졌고, 마우스 피부에서는 추가로 Cldn-6, 11, 12, 18, 23, ZO-2, aPKC, Par3, Par6 등이 밝혀졌다(Table 1)[20,21]. Cldn-8과 Cldn-17은 인체각질세포에서 mRNA 수준에서 확인되었다[21]. 표피에서 TJ 단백질들의 분포양상은 매우 다양하다[20]. Occludin, cingulin은 과립층(stratum granulosum, SG)에, ZO-1, Cldn-4는 상층부에, Cldn-1, MUPP-1은 표피층 전 영역에서 발견된다[20]. 전자현미경을 통해 보여지는 전형적인 TJ의 구조는 단층 상피세포의 경우 인접하는 두 세포의 원형질막을 틈이 없도록 단단히 체결한 모양이고, 인체 또는 마우스의 과립층에서는 원형질막측면에서 세포막간 물질(intermembranous material)로 발견되는데 이 부분을 ‘kissing points’라고 한다 (Figure 2)[21].

칼슘은 인체 및 마우스의 각질세포 분화를 유도하고 세포간 경계부위에서 TJ 단백질을 생성한다. 각질세포 배양 실험에서 배양액의 칼슘 농도를 높이면 TJ이 생성되고, 그

결과 TJ이 견고(tightness) 해 짐으로써 transepithelial resistance (TER)이 증가하고 분자량이 적은 tracer의 이동을 멈추게 한다[22-24]. 이와는 반대로, 만일 분화된 각질세포 배양액에서 칼슘을 제거하면 TJ 단백질은 소멸되고 TER도 감소한다. 칼슘 이외의 TJ 조절성분으로 aPKC는 Cell polarity complex인 Par3/Par6/aPKC의 일부로써 aPKC의 활성을 억제하면 칼슘에 의해 유도된 마우스 각질세포의 TER은 감소하는 반면 aPKC의 과발현은 TER을 증진시키는 것으로 알려져 있다[22]. 또한 Tiam-1 (T-lymphoma invasion and metastasis)은 small GTPase Rac에 대한 exchange factor로써 par polarity complex의 활성을 통해 TJ assembly를 직접적으로 조절하는 매우 중요한 역할을 한다[23]. Tiam-1 유전자 결핍된 각질세포에서는 AJ와 TJ가 정상적으로 존재하지만 TJ maturation이 되지 않는다[23]. Tiam-1 은 Cdc42와는 독립적으로 Rac와 aPKC의 활성을 통해 TJ의 발생을 유도한다[23].

Table 1. TJ Proteins in Human or Mouse Taken From ref [47]

Protein with localization on the stratum granulosum	Human	Mouse
Claudin-1	+	+
Claudin-2	Only cytoplasmic	Not investigated
Claudin-3	+	- (found in the SC)
Claudin-4	+	+
Claudin-5	Only cytoplasmic	Not investigated
Claudin-6	-	+
Claudin-7	+	Not investigated
Claudin-11	Not investigated	+
Claudin-12	Not investigated	+
Claudin-18	Not investigated	+
Claudin-23	Not investigated	Cytoplasmic
Occludin	+	+
Tricellulin	Not investigated	+
ZO-1	+	+
ZO-2	Not investigated	+
MUPP-1	+	Not investigated
Cingulin	+	Not investigated

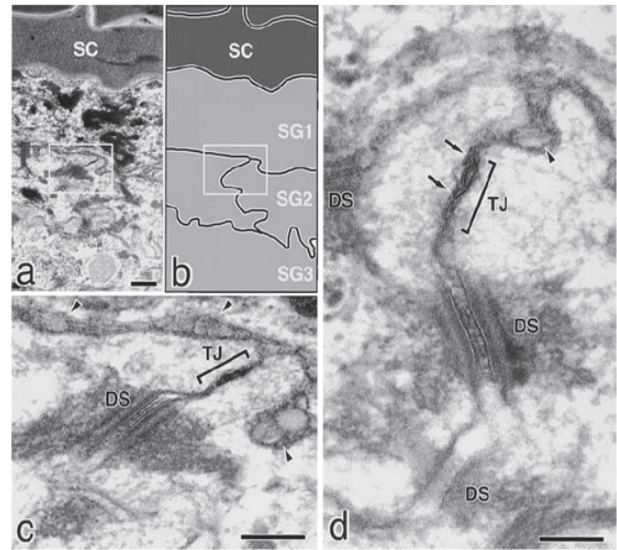


Figure 2. Ultrathin section electron microscopic images of wild-type epidermis. (a and b) Low power electron micrograph (a) of the stratum corneum (SC) and the first through third layers of stratum granulosum (SG1, SG2, and SG3) and a corresponding schematic drawing (b). (c) A boxed area in a and b where occludin was expected to be concentrated was enlarged. Typical TJ (TJ) was detected just above desmosome (DS). (d) Another example of the TJ-desmosome complex observed at the most apical region of the lateral membranes of granular cells in the second layer. Lipid lamellar bodies (arrowheads). Kissing points of TJs (arrows). Bars: (a) 400 nm; (c) 200 nm; (d) 100 nm. Taken from ref [19].

5. 치밀이음의 피부장벽기능(Skin Barrier Function of TJ)

M. Furuse는 2002 년도에 Cldn-1 유전자 결핍 마우스를 이용하여 표피 TJ의 피부장벽 기능으로써의 중요성을 증명하였다[25]. 그의 보고에 의하면 Cldn-1 유전자 결핍 마우스는 피부를 통한 과도한 수분 손실로 인해 생후 1 일 이내에 탈수로 죽었다[25]. 이 마우스는 광학현미경 및 전자현미경을 이용한 관찰결과 살아있는 표피층의 구조적 변화는 없었으나 600 Da의 트레이서(tracer)를 이용한 투과성 시험에서 SG의 TJ 기능이 떨어져 트레이서가 이동하는 것을 확인하였다[25]. TEWL의 증가와 TJ의 기능약화는 E-cadherin 또는 CAP1/Prss8 유전자 결핍 마우스에서도 관찰된다[26]. 흥미로운 사실은, E-cadherin 유전자 결핍 마우스에서는 SG에서 Cldn-1이 관찰되지 않고 TJ protein의 분포(distribution)가 변한다[26]. CAP1/Prss8 유전자 결핍 마우스에서는 SG의 occludin이 관찰되지 않으나 피부장벽의 기능에는 변화가 없다[26]. 이는 occludin이 TJ장벽 기능에 있어서 중요한 요인으로 작용하지 않음을 보여주는 예이다. Cldn-6의 과발현을 유도한 마우스도 TEWL의 증가로 생후 죽사하는 양상을 보인다[27]. 이상의 결과에서 알 수 있듯이, TJ 단백질은 손실되었을 때 뿐 아니라 과발현 될 경우에도 마우스 피부의 inside-out 장벽 기능에 이상을 일으킨다. 따라서 TJ단백질의 정확한 구성이 기능을 나타내는데 필수적이라 할 수 있다.

6. 피부에서 치밀이음 관련 질환(Epidermal Diseases Regarding TJ)

다양한 피부 질환에서 TJ 단백질 발현이 변한다는 연구 결과가 보고되고 있다. Cldn-4, occludin, ZO-1 과 같은 단백질들은 정상시에는 표피의 상층부에서만 발현되나 Psoriasis vulgaris, ichthyosis vulgaris, lichen ruber planus 와 같은 질환을 가진 환자의 피부에서는 표피의 전 부위로 광범위하게 발견된다[4,28]. TJ 단백질이 표피 전체로 광범위하게 발현되는 양상은 상처가 난 피부의 가장자리 또는 재생되는 부분에서도 관찰된다[4]. 또한 Vitamin A 를 도포한 닭의 피부, 습한 환경에서 사육한 마우스의 피부 등에서 TJ의 발현이 증가하는 것을 freeze fracture electron microscopy로 관찰 할 수 있다[4]. 표피층 전 영역에서 관

찰되는 Cldn-1은 psoriasis 환자의 피부에서는 하층부에서 감소하는데 이것은 IL-1 β 가 Cldn-1의 발현을 감소시킨다는 보고가 있다[29]. Mouse skin squamous cell carcinoma tumorigenesis model에서도 표피의 하층부에서 Cldn-1, -6, -11, -12, -18의 발현이 감소됨을 보였다[30]. Psoriasis와 tumorigenesis model은 염증세포의 증가를 동반하는 것으로 이와 같이 염증세포는 Cldn 발현에 영향을 준다고 할 수 있다.

인체 또는 돼지 피부는 *Staphylococcus aureus* 감염 시 표피 상층부에서 발현되는 TJ 단백질이 감소하여 표피 하층부에서만 관찰되고, 이를 배양조건에서 감염 시 TJ 기능이 손상되는 것으로 보아 TJ는 병원성 균의 침입을 막는 장벽기능으로써 중요한 역할을 한다고 할 수 있다[31].

7. 약물전달자로서 치밀이음(TJ as Permeation Enhancer)

표피에 도포한 약물의 투과성은 피부로의 약물전달 또는 인체 전체로의 약물전달(systemic drug delivery) 측면에서 매우 중요하다[32]. 일반적으로 약물전달이라 함은 transcellular 또는 paracellular route를 따라 이동하는 것을 의미한다[32]. 표피는 외인성 물질의 침투를 적극적으로 방어하는 장벽기능을 가지고 있으므로 주로 permeation enhancer의 도움을 받아 투과성을 높이는 방법을 사용하고 있다[33]. Permeation enhancer로서 이상적인 조건은 약물이나 제형 성분들과의 양립이 가능하고 약물 투과를 즉각적으로 도와주고, enhancer의 작용이 가역적이어야 하고 피부에서는 outside-in 장벽 즉, 한쪽 방향으로의 장벽기능만을 감소시켜야 하며, 약리작용을 나타내지 않고 독성이 없으며 가격이 저렴해야 한다[33-35].

TJ modulator는 1960 년 이후로 permeation enhancer로 연구되어 왔다[33]. 특히 Intestine의 mucosal epithelia를 이용하여 TJ을 통한 약물전달을 촉진시키는 물질들이 개발되어 왔다[33]. TJ modulator (TJM) 은 크게 1세대와 2세대로 나눌 수 있다 [33,36]. 1세대 TJM은 TJ 단백질에 특이적으로 작용하지는 않으나 부차적인 효과를 통해 TJ를 열게 된다[36]. 예를 들어 EDTA는 세포 외 칼슘이온의 소실을 유도하고 이것은 protein kinase C를 통해 TJ의 기능에 영향을 준다[33]. Sodium caprate는 phospholipase C에 영향을 주어 세포 내 칼슘이온 농도를 높이고 이것은 myosin light chain kinase의 활성을 통해 actin filament들이 수축함으로써 TJ을 개방시킨다[37,38]. 그 외에도

키토산(chitosan)이나 carboxymethylcellulose와 같은 여러 종류의 중합체들이 1세대 TJM에 해당한다[33]. 이들은 tyrosine kinases를 활성화시키고 occludin의 modification으로 TJ 투과성을 증가시킨다[33]. NO, acyl carnitine, salicylates, 18-beta glycyrrhetic acid도 TJ에 영향을 주는 것으로 알려져 있다[39-41]. 그러나 1세대 TJM은 기질특이성이 낮아서 전달하고자 하는 약물뿐 아니라 독성물질의 유입을 막지 못하는 경우가 있고, 종종 세포막 손상을 일으키기도 하므로 부작용을 일으키기 쉬운 물질들이다[33].

2세대 TJM은 TJ 단백질에 대한 기질특이성이 매우 높다 [33]. 예를 들어 clostridium perfringens enterotoxin의 C-terminal 부위는 독성이 없을뿐더러 Cldn-4의 second extracellular loop domain에 특이적으로 결합하여 Cldn-4의 감소에 의한 TJ integrity가 떨어지도록 한다[42]. 그 외 occludin의 extracellular domain에 특이적으로 결합하는 펩타이드들은 TJ 투과성을 증가시키기도 한다[41]. TJ의 highly specific modulator로는 Vibrio cholerae로부터 얻은 zonula occludens toxin (ZOT)이다[41]. ZOT은 intestinal TJ의 endogenous modulator인 zonulin과 유사하여 TJ disassembly를 유도한다 [41]. 현재까지는 small intestine, nasal epithelium, heart and brain endothelium에서 발견된 ZOT 리셉터에 결합한다[43]. ZOT는 transcellular pathway나 독성 없이 재빠르고 가역적

으로 TJ 투과성을 증가시킬 수 있는 것으로 보인다[41]. 일반적으로 기질특이성이 강한 ZOT는 1세대 TJM에 비해 부작용이 적은 것으로 보인다[33].

8. 결론

진화과정에 의해 인간의 피부는 매우 복잡한 장벽 시스템으로 발달되었고, 장벽 구성 요소의 상호작용은 피부 항상성 유지에 중요하다. 이 피부 장벽 시스템은 다양한 화학물질 및 미생물 등의 외적 요인에 방어할 수 있는 기능, TJ, SC, 면역 장벽과 같은 여러 구성 요소에 의해 실행되며 이 외에 효과적인 약물 전달 시스템으로도 이용가능하므로 피부에서 매우 중요한 역할을 맡고 있다고 할 수 있다(Figure 3).

Claudin이 발견된 지 20년이 넘는 지금도 TJ의 구조와 기능에 대한 우리의 이해는 빠르게 발전하고 있다. TJ가 claudin과 다른 TJ 관련 막 단백질이 ZO 단백질, 막 지질 및 기계적 힘에 의해 결합하는 고분자 복합체라는 그림이 등장하고 있다. 가까운 미래에, 초해상도 현미경과 구조 생물학 연구를 통해 TJ의 분자 이해를 고전적인 것과 통합할 수 있을 것으로 기대한다. 생물물리학적 접근법과 결합된 추가적인 분자 해부 및 재구성 연구는 TJ 분자가 상피

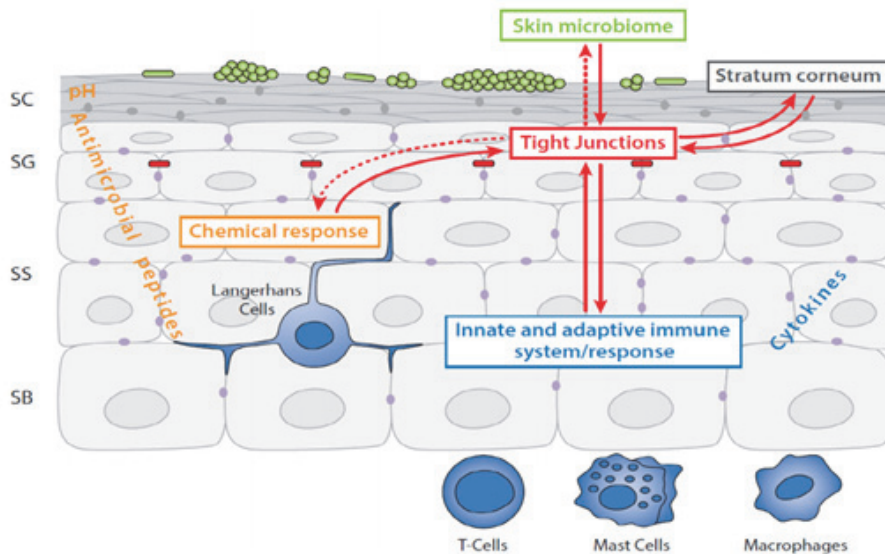


Figure 3. Schematic drawing denoting the different barriers in the epidermis and their interaction with the TJ barrier. Lilac spheres: desmosomes, grey spheres: corneodesmosomes. SB: Stratum basale, SC: stratum corneum, SG: stratum granulosum, SS: stratum spinosum. Continuous arrows denote interactions already experimentally shown. Dotted arrows denote hypothetical interactions. Taken from ref [46].

장벽 기능, 극성 및 신호를 조절하기 위해 액틴 세포골격, 기계적 힘, 극성 신호 및 막 지질과 협력하는 방법에 대한 이해를 증진시킬 것이다[44].

References

1. E. Proksch, J. M. Brandner, and J. M. Jensen, The skin: an indispensable barrier, *Exp. Dermatol.*, **17**(12), 1063 (2008).
2. J. M. Brandner, Importance of tight junctions in relation to skin barrier function, *Curr. Probl. Dermatol.*, **49**, 27 (2016).
3. C. M. Van Itallie and J. M. Anderson, The molecular physiology of tight junction pores, *Physiology (Bethesda)*, **19**, 331 (2004).
4. J. M. Brandner, S. Kief, E. Wladykowski, P. Houdek, and I. Moll, Tight junction proteins in the skin, *Skin Pharmacol. Physiol.*, **19**(2):71 (2006).
5. J. Chen and M. Zhang, The Par3/Par6/aPKC complex and epithelial cell polarity, *Exp. Cell Res.*, **319**(10), 1357 (2013).
6. J. S. Kim and H. S. Jang, The expression pattern of the tight junction protein occludin in the epidermal context when comparing various physical samples, *Korean Journal of Clinical Laboratory Science*, **47**(4), 267 (2015).
7. H. A. Edens, B. P. Levi, D. L. Jaye, S. Walsh, T. A. Reaves, J. R. Turner, A. Nusrat, and C. A. Parkos, Neutrophil transepithelial migration: evidence for sequential, contact-dependent signaling events and enhanced paracellular permeability independent of transjunctional migration, *J. Immun.*, **169**(1), 476 (2002).
8. D. Günzel and A. S. Yu, Claudins and the modulation of tight junction permeability, *Physiol. Rev.*, **93**(2), 525 (2013).
9. J. M. Anderson, and C. M. Van Itallie, Physiology and function of the tight junction, *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **1**(2), a002584 (2009).
10. M. Lal-Nag and P. J. Morin, The claudins, *Genome Biol.*, **10**(8), 1 (2009).
11. M. S. Balda, and K. Matter, Tight junctions and the regulation of gene expression, *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.*, **1788**(4), 761 (2009).
12. J. A. Palatinus, M. P. O'Quinn, R. J. Barker, B. S. Harris, J. Jourdan, and R. G. Gourdie, ZO-1 determines adherens and gap junction localization at intercalated disks, *Am. J. Physiol. - Heart Circ. Physiol.*, **300**(2), H583 (2011).
13. J. M. Brandner, Tight junctions and tight junction proteins in mammalian epidermis, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **72**(2), 289 (2009).
14. A. Veshnyakova, J. Protze, J. Rossa, I. E. Blasig, G. Krause, and J. Piontek, On the interaction of *Clostridium perfringens* enterotoxin with claudins, *Toxins (Basel)*, **2**(6), 1336 (2010).
15. J. A. Guttman, and B. B. Finlay, Tight junctions as targets of infectious agent, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1788**(4), 832 (2009).
16. I. Benedicto, F. Molina-Jiménez, B. Bartosch, F. L. Cosset, D. Lavillette, J. Prieto, R. Moreno-Otero, A. Valenzuela-Fernández, R. Aldabe, M. López-Cabrera, and P. L. Majano, The tight junction-associated protein occludin is required for a postbinding step in hepatitis C virus entry and infection, *J. Virol.*, **83**(16), 8012 (2009).
17. E. S. Barton, J. C. Forrest, J. L. Connolly, J. D. Chappell, Y. Liu, F. J. Schnell, A. Nusrat, C. A. Parkos, and T. S. Dermody, Junction adhesion molecule is a receptor for reovirus, *Cell*, **104**(3), 441 (2001).
18. M. Reithofer and B. Jahn-Schmid, Allergens with protease activity from house dust mites, *Int. J. Mol. Sci.*, **18**(7), 1368 (2017).
19. M. Furuse, M. Hata, K. Furuse, Y. Yoshida, A. Haratake, Y. Sugitani, T. Noda, A. Kubo, and S. Tsukita, Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice, *J. Cell Biol.*, **156**(6), 1099 (2002).
20. J. Shi, M. Barakat, D. Chen, and L. Chen, Bicellular tight junctions and wound healing, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**(12), 3862 (2018).
21. J. M. Brandner, S. Kief, C. Grund, M. Rendl, P. Houdek, C. Kuhn, E. Tschachler, W. W. Franke, and I. Moll, Organization and formation of the tight junction system in human epidermis and cultured keratinocytes, *Eur. J. Cell*

- Biol.*, **81**(5), 253 (2002).
22. I. Helfrich, A. Schmitz, P. Zigrino, C. Michels, I. Haase, A. le Bivic, M. Leitges, and C. M. Niessen, Role of aPKC isoforms and their binding partners Par3 and Par6 in epidermal barrier formation, *J. Invest. Dermatol.*, **127**(4), 782 (2007).
 23. A. E. Mertens, T. P. Rygiel, C. Olivo, R. van der Kammen, and J. G. Collard, The Rac activator Tiam1 controls tight junction biogenesis in keratinocytes through binding to and activation of the Par polarity complex, *J. Cell Biol.*, **170**(7), 1029 (2005).
 24. T. Yuki, A. Haratake, H. Koishikawa, K. Morita, Y. Miyachi, and S. Inoue, Tight junction proteins in keratinocytes: localization and contribution to barrier function, *Exp. Dermatol.*, **16**(4), 324 (2007).
 25. M. Furuse, M. Hata, K. Furuse, Y. Yoshida, A. Haratake, Y. Sugitani, T. Noda, A. Kubo, and S. Tsukita, Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice, *J. Cell Biol.*, **156**(6), 1099 (2002).
 26. C. Leyvraz, R. P. Charles, I. Rubera, M. Guitard, S. Rotman, B. Breiden, K. Sandhoff, and E. Hummler, The epidermal barrier function is dependent on the serine protease CAPI/Prss8, *J. Cell Biol.*, **170**(3), 487 (2005).
 27. T. C. Troy, A. Arabzadeh, N. M. Larivière, A. Enikanolaiye, and K. Turksen, Dermatitis and aging-related barrier dysfunction in transgenic mice overexpressing an epidermal-targeted claudin 6 tail deletion mutant, *PLoS One*, **4**(11), e7814 (2009).
 28. J. M. Brandner, Pores in the epidermis: aquaporins and tight junctions, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **29**(6), 413 (2007).
 29. R. Gruber, C. Bömchen, K. Rose, A. Daubmann, T. Volksdorf, E. Wladykowski, S. Vidal-Y-Sy, E. M. Peters, M. Danso, J. A. Bouwstra, H. C. Hennies, I. Moll, M. Schmuth, and J. M. Brandner, Diverse regulation of claudin-1 and claudin-4 in atopic dermatitis, *Am. J. Clin. Pathol.*, **185**(10), 2777 (2015).
 30. A. Arabzadeh, T. C. Troy, and K. Turksen, Changes in the distribution pattern of Claudin tight junction proteins during the progression of mouse skin tumorigenesis, *BMC cancer*, **7**, 196 (2007).
 31. U. Ohnemus, K. Kohrmeyer, P. Houdek, H. Rohde, E. Wladykowski, S. Vidal, M. A. Horstkotte, M. Aepfelbacher, N. Kirschner, M. J. Behne, I. Moll, and J. M. Brandner, Regulation of epidermal tight-junctions (TJ) during infection with exfoliative toxin-negative *Staphylococcus* strains, *J. Invest. Dermatol.*, **128**(4), 906 (2008).
 32. Y. Hashimoto, K. Tachibana, S. M. Krug, J. Kunisawa, M. Fromm, and M. Kondoh, Potential for tight junction protein-directed drug development using claudin binders and anguibindin-1, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**(16), 4016 (2019).
 33. J. Brunner, S. Ragupathy, and G. Borchard, Target specific tight junction modulators, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **171**, 266 (2021).
 34. C. Gorzelanny, C. Mess, S. W. Schneider, V. Huck, and J. M. Brandner, Skin barriers in dermal drug delivery: which barriers have to be overcome and how can we measure them?, *Pharmaceutics*, **12**(7), 684 (2020).
 35. M. Kopečná, M. Macháček, A. Nováčková, G. Paraskevopoulos, J. Roh, and K. Vávrová, Esters of terpene alcohols as highly potent, reversible, and low toxic skin penetration enhancers, *Sci. Rep.*, **9**(1), 14617 (2019).
 36. M. Kondoh, T. Yoshida, H. Kakutani, and K. Yagi, Targeting tight junction proteins-significance for drug development, *Drug Discov.*, **13**(3-4), 180 (2008).
 37. S. Maher, T. W. Leonard, J. Jacobsen, and D. J. Brayden, Safety and efficacy of sodium caprate in promoting oral drug absorption: from *in vitro* to the clinic, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **61**(15), 1427 (2009).
 38. E. K. Anderberg, T. Lindmark, and P. Artursson, Sodium caprate elicits dilatations in human intestinal tight junctions and enhances drug absorption by the paracellular route, *Pharm. Res.*, **10**(6), 857 (1993).
 39. K. Nagasawa, H. Chiba, H. Fujita, T. Kojima, T. Saito, T. Endo, and N. Sawada, Possible involvement of gap junctions in the barrier function of tight junctions of brain and lung endothelial cells, *J. Cell. Physiol.*, **208**(1), 123 (2006).
 40. A. Fukui, Y. Naito, O. Handa, M. Kugai, T. Tsuji, H. Yoriki, Y. Qin, S. Adachi, Y. Higashimura, K. Mizushima, K. Kamada, K. Katada, K. Uchiyama, T.

- Ishikawa, T. Takagi, N. Yagi, S. Kokura, and T. Yoshikawa, Acetyl salicylic acid induces damage to intestinal epithelial cells by oxidation-related modifications of ZO-1, *Am. J. Physiol. - Gastrointest. Liver Physiol.*, **303**(8), G927 (2012).
41. M. A. Deli, Potential use of tight junction modulators to reversibly open membranous barriers and improve drug delivery, *Biochim. Biophys. Acta*, **1788**(4), 892 (2009).
42. H. Lan, K. Hosomi, and J. Kunisawa, Clostridium perfringens enterotoxin-based protein engineering for the vaccine design and delivery system, *Vaccine*, **37**(42), 6232 (2019).
43. N. N. Salama, N. D. Eddington, and A. Fasano, Tight junction modulation and its relationship to drug delivery, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **58**(1), 15 (2006).
44. T. Otani and M. Furuse, Tight junction structure and function revisited, *Trends Cell Biol.*, **30**(10), 805 (2020).
45. C. M. Niessen, Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function, *J. Invest. Dermatol.*, **127**(11), 2525 (2007).
46. K. Bäsler, S. Bergmann, M. Heisig, A. Naegel, M. Zorn-Kruppa, and J. M. Brandner, The role of tight junctions in skin barrier function and dermal absorption, *J. Control Release*, **242**, 105 (2016).
47. J. M. Brandner, M. Zorn-Kruppa, T. Yoshida, I. Moll, L. A. Beck, and A. De Benedetto, Epidermal tight junctions in health and disease. *Tissue barriers*, **3**(1-2), e974451 (2015).