

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	上皮バリアタンパク質欠損ラットにおける表現型解析				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	林 久由
	研究分担者	所属・職名	浜松医科大学・准教授	氏名	高林 秀次
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	林 久由

講演題目	上皮バリアタンパク質欠損ラットにおける表現型解析
------	--------------------------

研究の目的、成果及び今後の展望

【目的】

小腸は生体が生きていくための最も根源的な器官であり、外界から必要な栄養素を選択的かつ効率的に取り込んでいる。また、同時に外界である腸管腔側からの異物の侵入を防ぐバリア機能がある。これら、吸収・分泌機能とバリア機能を小腸に付与しているのは腸管上皮であり、上皮細胞は隣接する細胞とタイト結合で結合している。タイト結合は多くのタンパク質から構成されており、特にタイト結合の透過性に関与しているのはクローディンファミリーである。マウスにおいてはクローディン15を欠損させると、小腸経上皮細胞間のイオン透過性の指標である、経上皮コンダクタンスが低下すること、また同時に陽イオン選択性が低下することから、クローディン15は小腸のタイト結合のイオン透過性に関与する主要なクローディンであると考えられている。しかし、マウスの起源種は乾燥した草原に住んでいたため、水代謝等がヒトと異なる可能性があり、マウスで得られた知見のヒトへの外挿は精査と検討が必要である。このため、本研究では水代謝がヒトに近いモデル動物であるラットを使用し、ゲノム編集技術を用いて、クローディン-15欠損ラットを作成することを試み、さらにその表現型を解析することを目的とした。

【成果及び今後の展望】

改良型ゲノム編集法 (improved genome-editing via oviductal nucleic acids delivery, i-GONAD) を用いて、クローディン-15欠損ラットの作成を試みた。クローディン15 exon 1のヘテロ変異体が3匹得られた。さらに、これらF0ラットを交配させ、生殖系列に遺伝子変異が導入されているかを確かめた。その結果、遺伝子欠損の異なる2系統のクローディン-15欠損ラットが作出できた。これらホモ欠損ラットの表現型を解析した。ホモ変異体の体重増加は野生型と同様であった。しかし、ホモ変異体の腸管内容物のNa⁺濃度は著しく低下しており、この表現型はクローディン15欠損マウスと同様であった。また、Na⁺濃度とは対照的にK⁺濃度は小腸において野生型よりもクローディン15欠損型で増加していた。蛍光免疫染色像、リアルタイムPCRからは、クローディン15欠損ラットにおいてクローディン15の欠損が確認された。クローディン15欠損ラットでは経上皮コンダクタンスが低下していたが、タイト結合のイオン選択性の変化は観察されず、クローディン15の生理機能はマウスとは異なることが示唆された。今後、さらに詳細にクローディン-15欠損ラットの表現型を解析し、腸管Na⁺代謝におけるクローディン-15の機能を解明する予定である。