

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

研究テーマ	小腸上皮細胞間隙のNa透過性とその制御機構の解析				
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	食品栄養科学部・助教	氏名	ヘムストック ウェンディ
		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	小腸上皮細胞間隙のNa透過性とその制御機構の解析
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>【研究の目的】 静岡県の健康寿命は全国トップクラスであるが、平均寿命とは約10年の開きがあり、健康上の問題なく日常生活を送れる期間の延伸が求められている。そのため、生活習慣病の病態形成機構の基盤となる消化管におけるNaCl吸収機構の解明は重要である。小腸上皮細胞間はタイト結合によって密着し、外界からの異物侵入を防ぐと同時に、電解質や水の吸収および病態時の分泌に関与する。タイト結合には多くのタンパク質が同定されているが、その多様な組み合わせがどのように、調節されているかは未解明である。特にクロードインファミリーはタイト結合のバリア機能に重要な役割を果たし、小腸ではクロードイン-2、-3、-4、-7、-12、-15が発現している。小腸において発現量の多いクロードイン-7はタイト結合ではなく、側底膜や細胞内に局在し、その生理機能は不明である。そこで本研究では、細胞発現系、オルガノイド、およびマウス小腸を用いて、クロードイン-7の生理機能を明らかにすることを目的とした。</p> <p>【方法】 内因性クロードインを全て欠損させたquin KO-MDCK細胞に外来性クロードイン-7を発現させた細胞株を使用した。また、マウス小腸から幹細胞を単離し、オルガノイドを作成した。細胞およびオルガノイドは、細胞外基質の硬さが異なる環境（カバースリップ上での2次元培養、およびマトリゲル中での3次元培養）で培養し、蛍光免疫染色法によりタイト結合タンパク質オクルーディンとクロードイン-7の局在を観察した。さらに、コレラ毒素を投与したマウスから小腸を摘出し電気生理学的にバリア機能を評価するとともにクロードイン-7の局在を観察した。</p> <p>【成果および今後の展望】 2次元培養では、MDCK細胞およびオルガノイドのいずれにおいても、クロードイン-7はタイト結合タンパク質オクルーディンと共局在していた。一方、3次元培養では、クロードイン-7は側底膜で強く発現しており、細胞外基質の硬さがタイト結合タンパク質の発現に影響を及ぼす可能性が示唆された。また、コレラ毒素を投与したマウス小腸では、クロードイン-7がタイト結合へ集積することと同時に、経上皮電気コンダクタンスの低下が観察された。これらの結果から、細胞外マトリックスの硬さや分泌刺激がクロードイン-7をタイト結合部へ誘導し、バリア機能を調節するメカニズムが示唆された。近年、タイト結合は動的な構造であることが報告されており、側底膜に局在するクロードイン-7が刺激に応じてタイト結合へ移行し、バリア機能を再形成する可能性が考えられる。今後の更なる研究により、タイト結合の陽イオン透過性の分子機構が解明され、タイト結合におけるイオンの透過制御機構の解明への貢献が期待される。</p>