

研究区分	教員特別研究推進（独創・先進的研究）
------	--------------------

研 究 テーマ	クローディン2の欠損が腸管機能に与える影響—ゲノム編集ラットモデルを用いた解析				
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
	研究協力者	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	浜松医科大学・准教授	氏名	高林 秀次
		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
クローディン2の欠損が腸管機能に与える影響—ゲノム編集ラットモデルを用いた解析
研究の目的、成果及び今後の展望 本研究は、タイト結合タンパク質クローディン2（cldn2）の腸管機能における役割を明らかにすることを目的として、ゲノム編集技術を用いた cldn2 欠損ラットの作出および基礎表現型の解析を行ったものである。腸管上皮は、栄養素の選択的吸収と外来異物の侵入防御を両立する重要なバリア機構であり、その機能は細胞間に形成されるタイト結合によって制御されている。クローディンファミリーは、その主要構成因子であり、特に cldn2 は陽イオン選択性チャネルとして水および Na⁺輸送に関与し、炎症性腸疾患などにおいて発現が亢進することが知られている。しかし、その生理的役割および機能的意義は十分に解明されていない。 本研究では、ゲノム編集技術の一つである improved-(Genome-editing via Oviductal Nucleic Acids Delivery) GONAD 法を用いて cldn2 遺伝子に変異を導入し、交配により欠損ラット系統を確立した。ジェノタイピングおよびシーケンス解析により標的変異の導入を確認し、遺伝子型分布はメンデル則に概ね一致したことから、出生から離乳までの生存に顕著な影響は認められなかった。形態学的解析では、小腸絨毛構造に明確な異常は認められず、cldn2 単独欠損が腸管形態に与える影響は限定的であった。一方、免疫染色により陰窩部を中心とした cldn2 の局在が消失していることが確認され、遺伝子欠損が分子レベルで反映されていることが示された。さらに、腸管内容物の解析では遠位大腸において Na⁺濃度の低下が認められ、イオン輸送機構の変化が示唆された。小腸の反転腸管法による電気生理学的解析では有意差は認められず、cldn2 単独欠損では他のクローディンによる機能的代償が存在する可能性が示唆された。 以上の結果から、cldn2 欠損ラットは明確な形態異常を示さない一方で、イオン環境の変化を伴う機能的影響を有することが明らかとなり、クローディンファミリーにおける機能的相補性および階層的制御の存在が示唆された。本研究は、ラットモデルを用いた腸管機能解析の基盤を確立するとともに、腸管バリア機能異常の病態解明に向けた新たな研究基盤を提供するものである。