OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Intestinal Deletion of Claudin-7 Enhances Paracellular Organic Solute Flux and Initiates Colonic Inflammation in Mice
Author(s)	田中, 啓雄
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51897
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	田中　啓雄
論文題名 Title	**Intestinal Deletion of *Claudin-7* Enhances Paracellular Organic Solute Flux and Initiates Colonic Inflammation in Mice** (腸管特異的クローディン-7欠失は、細胞間隙を介する有機溶質透過性を促進し、大腸炎を惹起する。)

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕
タイトジャンクション(Tight Junction;　以下TJと表記)は、上皮細胞シートの隣接する細胞間に存在する細胞間接着装置である。TJは上皮細胞間バリアとして機能し、経上皮透過性を制御する。タイトジャンクションの主要構成因子である4回膜貫通タンパク質クローディンは、現在、ヒト/マウスにて、27種類のアイソフォームからなるファミリーを形成している。クローディンファミリーの特徴として、臓器特異的な発現パターンにより、上皮透過性を制御し、臓器固有の至適環境を維持している点が挙げられる。従って、クローディンの機能変化による、TJ透過性変化は様々な疾患に直結することが示唆され、実際に、いくつかの疾患では、クローディンによるTJ透過性変化が報告されている。
　クローン病や炎症性腸疾患などの炎症性腸疾患において、上皮細胞間バリアの機能異常が、腸炎の悪化に関与することが明らかになっている。しかしながら、炎症に対する適切な予防治療のためには、炎症の惹起とその後の増悪といった状態を区別して捉えることが重要であると考えられる。この点において、上皮細胞間バリア機能変化と炎症惹起の関係性は依然として不明である。さらに、上皮細胞間バリア機能変化により、どのような生体由来因子が細胞間隙を透過するかとう点を含めた炎症惹起機構も明らかではない。そこで、本研究では、上皮細胞間バリア機能変化による炎症惹起メカニズムの解明を目的とした。

〔方法(Methods)〕
腸管において最も発現量の高いクローディン7に着目し、かつ、臓器間で広く発現している点を考慮し、腸管特異的クローディン7欠失マウス(Intestine-specific claudin-7 conditional knockout mice;以下cKOマウスと表記)を作製した。cKOマウス由来の腸管を用い、生理学的手法による上皮透過性変化、形態学的手法によるTJ構造変化、免疫学的手法による炎症の有無やその特性変化に関して、継時的な解析を行った。

〔成績(Results)〕
cKOマウスはControlマウスと比較し、成長遅延および離乳期前後の4週令において致死の表現型を示した。そこで小腸および大腸について、蛍光分子(分子量0.5kDa)に対する上皮透過性変化、炎症性サイトカイン発現量変化、継時的に比較した。その結果、上皮透過性は2, 3週令のcKOマウス大腸ともにControlマウスと比較し上昇していた。炎症性サイトカイン発現量は3週令のcKOマウス大腸においてのみ増加していた。これらの結果から、腸管特異的クローディン7欠失マウス由来大腸では上皮透過性変化が、炎症惹起に先行することが示された。次にcKOマウスTJを形態学的に評価するため、電子顕微鏡による解析を行った。その結果、cKOマウス上皮におけるTJはControlと同様が存在していた。さらに分子量の大きな3kDaの蛍光分子透過性はcKOおよびControlマウス大腸間で差はなかった。このことから、クローディン7欠失により、TJ構造を維持しながら、上皮透過性が選択的に変化することが示された。最後にcKOマウス大腸上皮において、腸内細菌由来ペプチドであるN-formylated-Met-Leu-Phe(fMLP)(分子量457Da)透過性の上昇により、大腸炎が惹起されることが分った。
　これらのことから、クローディン7欠失により、選択的な上皮透過性が上昇し、fMLPの経上皮透過性が促進され、大腸炎を惹起するとことが示唆された。さらに、上皮透過性変化それ自身に加えて、組織中への継時的なfMLPの蓄積、または離乳期での腸内細菌叢変化といった要因なども、大腸炎症惹起に関与している可能性が考えられた。

〔総　括(Conclusion)〕
本研究により、クローディンを基盤とするタイトジャンクションを介し、選択的な上皮透過性変化が、炎症を惹起することが明らかになった。これらの知見により、タイトジャンクションは炎症性腸疾患を制御するための新たな分子標的となる可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名） 田中　啓雄

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	月田早智子
副　査	大阪大学教授	竹原徹郎
副　査	大阪大学教授	金井好克

論文審査の結果の要旨

クローン病や潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患は、腸に出血・潰瘍を伴う慢性炎症疾患である。その原因の一つとして腸上皮細胞間バリアの機能異常との関係性が示唆されてきた。これまで、炎症の結果としてバリア機能異常が引き起こされるのか、バリア機能異常が炎症の原因であるのかといった重要な点は明らかではなかった。さらに、どのような生体由来因子に対する透過性変化が炎症惹起に関与するのかといった点も不明であった。当該論文において、腸上皮細胞間バリアを構築するタイトジャンクション(TJ)構成膜貫通蛋白質クローディンファミリーの内、クローディン-７に関して、腸管特異的欠失マウスを樹立し解析した。その結果、リポポリサッカロイドLPS(分子量10,000-20,000Da)のような良く知られる炎症惹起物質ではなく、腸内細菌由来の、より小さな炎症性物質であるfMLP(分子量438Da)に対してその細胞間バリア透過性が上昇することで、炎症が誘導されることがはじめて示された。

これらの知見により、タイトジャンクションのクローディンはこのような炎症性疾患を制御するための新たな分子標的となる可能性が示唆され、将来の医学医療に対する貢献としても評価される。

従って、これらの成果は博士（医学）の学位授与に値する。