

Title	Loss of Claudins 2 and 15 from Mice Causes Defects in Paracellular Na <sup>+</sup> Flow and Nutrient Transport in Lumen and Leads to Death from Malnutrition
Author(s)	和田, 真実
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59735">https://hdl.handle.net/11094/59735</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	和田 真実
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 25731 号
学位授与年月日	平成25年1月17日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科病態制御医学専攻
学位論文名	Loss of Claudins 2 and 15 from Mice Causes Defects in Paracellular Na <sup>+</sup> Flow and Nutrient Transport in Lumen and Leads to Death from Malnutrition (クローディン2及び15二重欠損マウスは、細胞間隙からのNa <sup>+</sup> 透過性が低下し、Na <sup>+</sup> /栄養素の共輸送担体の機能を低下させることによって、致死性の栄養失調を引き起こす。)
論文審査委員	(主査) 教授 月田 早智子  (副査) 教授 金井 好克 教授 岡村 康司

## 論文内容の要旨

## 〔目的(Purpose)〕

上皮細胞は、アドヘレンスジャンクション(AJ)やタイトジャンクション(TJ)といった細胞間接着装置により、横繋がりにつながり上皮細胞シートを形成する。上皮細胞シートの細胞間透過性は、TJを構築する必須構成膜蛋白質クローディンファミリーによって主に決定される。クローディンは、臓器や組織により特異的な発現パターンを示すことで、生体が機能するための最適な環境を作り上げる。クローディンの多くは細胞間バリア形成蛋白質として機能するが、クローディン2や15のように一部のクローディンはイオンの透過性に寄与することが報告されている。

小腸は、特にイオン透過性の高い臓器であることが知られてきたが、その意義や機能上の重要性については、十分な解析が存在しなかった。そこで私は、イオン透過型のクローディンであるクローディン2および15の2重欠損(DKO)マウスを作製解析することで、小腸におけるイオン透過性の意義および、透過型クローディン2および15の生体機能における重要性を検討した。

## 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

DKOマウスはメンデルの法則に従って生まれ、生後14日目までは体重は増加するが、その後生後21日目にかけて体重が減少し、離乳期の生後25日目にはすべて死に至った。

生後21日目のDKOマウスの成長障害は顕著であり、高度な栄養吸収障害が示唆された。はじめに、経口グルコース投与試験(1.5 g/kg body weight OGTT)を行うと、DKOマウスでは最高血中濃度の有意な低下と、最高値到達時間の有意な遅延が認められた。グルコースの吸収は、腸管内Na<sup>+</sup>依存的なトランスポーターであるSGLT1に大きく依存する。DKOマウスが、クローディン2/15というイオン透過型のクローディンノックアウトマウスであることを考えると、細胞間隙のイオン透過性の低下と、それともなう腸管内Na<sup>+</sup>環境ホメオスタシスの破綻が、Na<sup>+</sup>依存的な栄養吸収を障害している可能性が示唆された。

そこで、2チャンパーを用いて細胞間Na<sup>+</sup>透過性(P<sub>Na</sub>)及びイオン濃度測定装置を用いて腸管内Na<sup>+</sup>濃度について検討した。DKOマウスのP<sub>Na</sub>は、野生型マウスの97.7 x 10<sup>-6</sup> cm/sと比べて、

21.2 x 10<sup>-6</sup> cm/sと低下しており、DKOマウスの腸管内Na<sup>+</sup>濃度は、野生型マウスの85.7 mMに比べ、11.2 mMと著しく減少していた。よって、Na<sup>+</sup>依存的なグルコース吸収を阻害すると考えられた。実際、野生型マウスの腸管を用いてSGLT1依存的なグルコース輸送のNa<sup>+</sup>のKm値を求めると57.3 mMであり、DKOマウスの11.2 mMでは吸収が大きく阻害されることが確認された。DKOマウスが致死性の表現型を示すことから、グルコース以外にNa<sup>+</sup>依存的な吸収を示すことが知られている栄養素であるアミノ酸、さらに、回腸でNa<sup>+</sup>依存的に吸収される胆汁酸(脂質吸収の多くは胆汁酸に依存するので、脂肪吸収は間接的にNa<sup>+</sup>依存的である)について、その吸収を調べてみると、いずれの場合も、その吸収の低下が観察された。

## 〔総括(Conclusion)〕

小腸上皮細胞のTJに多く発現するイオン透過型クローディン2/15のDKOマウスを作製解析した。本マウスは、上皮細胞間のイオン透過性の低下とそれともなう腸管腔内の顕著なNa<sup>+</sup>濃度の低下を引き起こした。その結果、Na<sup>+</sup>依存的な栄養吸収が大きく障害され、離乳期前後に顕著な成長障害を来すことが示唆された。本マウスの解析により、TJを介した血管側から腸管腔内へのNa<sup>+</sup>の細胞間の透過が、腸管内イオン環境ホメオスタシスとそれに依存した栄養吸収と生命の維持にとって必須であることをはじめて明らかにした。

将来的には、社会的な問題である肥満や飢餓に対する、TJ透過性制御による、クローディンTJを介した新しい解決法への発展を目指したい。

## 論文審査の結果の要旨

上皮細胞におけるタイトジャンクション(TJ)は、細胞間バリア機能だけでなく、透過性、特に選択的なイオンの透過性を制御することによって、生体組織の微小環境を作り上げている。またTJ構成蛋白質であるクローディン(Cldn)は、TJの形態や機能維持に必要な蛋白質と考えられている。

小腸に多く発現しているCldn2/15を二重に欠損したマウス(DKO)を作製したところ、DKOマウスは致死性の表現型を示し、小腸の細胞間隙を介した管腔側へのNa<sup>+</sup>流入の低下と、それに伴う管腔内のNa<sup>+</sup>濃度の低下を示した。その影響として、Na<sup>+</sup>依存的に機能する腸管上皮栄養輸送担体の機能不全が引き起こされ、3大栄養素の吸収が著しく低下し、致死となることが分かった。

本論文は、栄養吸収に欠かせない腸管内Na<sup>+</sup>の多くが、TJを介した腸管内へのNa<sup>+</sup>供給に依存することを明確に示した初めての報告であり、Na<sup>+</sup>供給路に関する長年の疑問に応えた基礎医学的視点と、今後の栄養学や治療への応用の点で、価値の高いものである。

よって、本論文は、学位の授与に値するものと考えられる。