

Title	A New in Vitro Model of GDLN by Knocking Out TACSTD2 and Its Paralogous Gene EpCAM in Human Corneal Epithelial Cells
Author(s)	徐, 鵬
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72556
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		XU PENG (徐 鵬)	
論文審査担当者	(職)	氏名	
	主査	大阪大学教授	西田 幸二
	副査	大阪大学教授	不二門 尚
	副査	大阪大学教授	菊池 章
論文審査の結果の要旨			
<p>膠様滴状角膜変性症は10歳代に角膜上皮下にアミロイドが沈着し著明な視力低下を来す常染色体劣性遺伝疾患である。現状の最善の治療は角膜移植であるが、再発や緑内障の合併など問題点が少なくない。低分子治療薬のような内科的治療法の開発は重要なテーマである。</p> <p>本研究では膠様滴状角膜変性症のモデル細胞を作成することを目的として、遺伝子編集技術の一つであるTALENを用いてTACSTD2およびそのパラログ遺伝子であるEpCAMを不死化ヒト角膜上皮細胞においてノックアウトした。作製されたモデル細胞は、クローニン1および7の発現量の低下や細胞内局在の変化といった膠様滴状角膜変性症の病的特徴を正確に反映していた。モデル細胞は維持が容易で単層細胞であることから薬剤スクリーニング等に利用しやすく、また上皮バリア機能の測定が容易であるという利点を持つため、低分子治療薬の開発や疾患のメカニズムの解明などに大いに役立つと考えられる。学位の授与に値すると認める。</p>			

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	XU PENG (徐 鵬)
論文題名 Title	A New in Vitro Model of GDL D by Knocking Out <i>TACSTD2</i> and Its Paralogous Gene <i>EpCAM</i> in Human Corneal Epithelial Cells (ヒト角膜上皮細胞におけるTACSTD2およびそのパラロガス遺伝子EpCAMのノックアウトによる膠様滴状角膜変性症の新たなインビトロモデル)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 Gelatinous drop-like corneal dystrophy (GDL D) is a rare autosomal recessive corneal dystrophy that causes severe vision loss. Because of its poor prognosis, there is a demand for novel treatments for GDL D. Here, we establish a new in vitro disease model of GDL D based on immortalized human corneal epithelial (HCE-T) cells.	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 By using transcription activator-like effector nuclease plasmids, tumor associated calcium signal transducer 2 (<i>TACSTD2</i>) and its paralogous gene, epithelial cell adhesion molecule (<i>EpCAM</i>), were knocked out in HCE-T cells. Fluorescence activated cell sorting was performed to obtain cells in which both <i>TACSTD2</i> and <i>EpCAM</i> were knocked out (DKO cells). In DKO cells, the expression levels and subcellular localizations of claudin (CLDN) 1, 4, and 7, and ZO-1 were investigated, along with epithelial barrier function. By using DKO cells, the feasibility of gene therapy for GDL D was also investigated. DKO cells exhibited decreased expression and aberrant subcellular localization of CLDN1 and CLDN7 proteins, as well as decreased epithelial barrier function. Transduction of the <i>TACSTD2</i> gene into DKO cells nearly normalized expression levels and subcellular localization of CLDN1 and CLDN7 proteins, while significantly increasing epithelial barrier function.	
〔総括(Conclusion)〕 We established an in vitro disease model of GDL D by knocking out <i>TACSTD2</i> and its paralogous gene, <i>EpCAM</i> , in HCE-T cells. This cell line accurately reflected pathological aspects of GDL D.	