

審査の結果の要旨

氏名 李 勇学

本研究は、各種リパーゼに共通するモチーフを持つ遺伝子群の網羅的探索の過程で同定された遺伝子の一つで、小腸と肝臓に比較的限局して発現するカルボキシエステラーゼ 5 (Ces5) に着目し、その生理的な意義を検討する目的で Ces5 遺伝子欠損マウスの作成を試みたもので、下記の結果を得ている。

1. Ces5 (NC-000074) の lipid-binding domain の HG 活性中心 (エクソン 4 の第 17 塩基から) を欠損させるデザインでターゲティングベクターを作成した。それを ES 細胞に導入し、サザンブロット法により相同組換え体を選択。さらに、マウス受精卵へのマイクロインジェクションによりキメラマウスの作製に成功した。
2. キメラマウスを C57B6/J マウスと交配して F1 ヘテロマウスを得た。F1 ヘテロマウス同士の交配により得られた F2 マウスのゲノム DNA を回収し、サザンブロット法により解析して、ヘテロマウスとホモ(ノックアウト)マウスが得られたことを確認した。さらに、ノーザンブロット解析により mRNA レベルで、またウエスタンブロット解析により蛋白レベルでも、F2 ホモマウスでは小腸、肝臓および腎臓において Ces5 の発現が消失していることが確認された。ホモマウスは外見上正常で、妊娠能も保たれていた。
3. 雄野生型とホモマウスについて、小腸および肝臓における PNPB 酵素活性、CEH 活性、TG リパーゼ活性を測定した。Ces5 ホモマウスの小腸における PNPB 酵素活性は野生型の約 40%まで低下しており、一方肝臓における PNPB 酵素活性には差が認められなかった。小腸、肝臓での CEH 活性および TG リパーゼ活性はいずれも両群で差が認められなかった。
4. 戻し交配が終了していない段階での preliminary な検討ではあるが、普通食下で F2 雄ホモマウスは野生型マウスに比べ、体重が有意に 15%減少していた一方、血糖値が有意に 25%増加していた。また、血清総コレステロール値と HDL-コレステロール値の低下傾向も認められた。

以上、本論文では、ジーンターゲティングの手法により Ces5 の生理的意義を検証するための欠損モデルの樹立に成功している。また、Ces5 欠損が雄マウスの体重、血糖値、血清コレステロールおよび HDL-コレステロールに影響を与える可能性が示唆された。戻し交配後の詳細な検討が必要ではあるが、糖および脂質代謝経路の解明に重要な貢献をなすうるマウスモデルであり、学位の授与に値するものと考えられる。