

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月3日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09303

研究課題名(和文)小腸絨毛基底膜の「窓」の解析と小腸吸収評価システムの開発

研究課題名(英文) Analysis of the basal lamina fenestrations in intestinal villous epithelium and the relation to the regulation of nutrient absorption

研究代表者

横山 純二 (YOKOYAMA, Junji)

新潟大学・医歯学総合病院・准教授

研究者番号：70422615

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：走査型電子顕微鏡を用いてラットの小腸絨毛基底膜の窓の観察を行った。高脂肪食摂取により窓を介する自由細胞の交通が活発になり、その後に窓の面積が増大することが解明され、食餌と免疫応答とが関与し、特に脂肪吸収において窓が調節的役割を果たしていることが示唆された。同様の変化はヒト小腸絨毛の検討でも認められた。また、小腸絨毛の拡大内視鏡観察により、原発性リンパ管拡張症における白色絨毛が、リンパ管形成障害に伴う絨毛内リンパ管の拡張と、細胞内にたまったカイロミクロンを反映していることが明らかになり、肥満者でみられる十二指腸絨毛の白色変化との関連、窓の調整機能との関連につきさらに検討をすすめている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電子顕微鏡を用いた小腸絨毛基底膜の観察を行った論文は数少ない。窓の存在は知られていたが、その役割や食事による評価に関する報告はなく、ヒトにおける窓の評価に関しても皆無であった。小腸からの脂肪吸収メカニズムについては、乳糜管への回収、吸収の面からも研究がすすめられており、Zhangらはカイロミクロンの吸収は中心乳糜管の内皮細胞間接着の強さにより変化し、この接着の強さをVEGF-Aが制御していることを報告している。しかし、基底膜の窓に注目した研究報告はなく、今回の成果は、脂肪吸収メカニズムの解明に大きく貢献できるものと考えられる。また、本研究は、肥満の病態解明という重要テーマに通じる研究である。

研究成果の概要(英文)：We investigated the ultrastructure of the intestinal villi in the rat by scanning electron microscopy. Our study showed that free cells adhering to the fenestrations increased in the upper jejunum two hours after feeding high-fat diet and the size of the fenestrations in this region also increased after feeding high-fat diet for 2 days. This enlargement of fenestrations may play an important role in increasing the efficiency of lipid absorption by facilitating the movement of chylomicrons from the intercellular space to the lamina propria. Similar changes were also observed in the study of human small intestine villi. In addition, we observed jejunal white spots of lymphangiectasia by magnified balloon enteroscopy. We are planning to further examine the relationship between white villi, which is seen by obese people, and the adjustment function of fenestrations in relation to the white spots of lymphangiectasia.

研究分野：消化器内科

キーワード：小腸絨毛 脂肪吸収

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、肥満症が増加しており、消化器領域では脂肪肝、非アルコール性脂肪肝が増えている。代謝、代謝炎症の研究は進んでいるが、小腸の吸収評価についての研究はなく、吸収効率と肥満との関係も明らかになっていない。小腸の絨毛を被う上皮は単層円柱の上皮細胞とそれを支えるシート状の基底膜からなり、栄養の吸収や有害物質のバリアとして役立っている。特に小腸上皮の主体をなす吸収上皮細胞は、細胞頂上部から栄養素を細胞内に取りこみ、細胞側面ないし基底側から放出しており、こののちに単糖やアミノ酸は毛細血管へ、カイロミクロン(脂肪)はリンパ管(乳糜管)へ回収されることになる(図1)。

小腸上皮にはしばしば白血球(リンパ球など)が迷入しており、これらの細胞が基底膜を貫く際に、基底膜に孔(窓)ができることが知られていた<sup>1)</sup>(図2)。共同研究者の牛木らは、小腸絨毛の粘膜上皮を剥離し、走査型電子顕微鏡(SEM)にて基底膜を観察する方法を開発した。ラット小腸基底膜を走査型電子顕微鏡で観察すると、直径0.5~6 $\mu$ mの多くの窓(孔)を認め(図3)この窓をリンパ球や好酸球が通過している像が観察された。また、空腸の基底膜では絶食時と比較して食後で窓の数が増加、増大することから、基底膜の窓や大きさが食事によって変化し、それが脂肪吸収の効率と関連するのではないかとこのところの研究の着想を得た。また、我々はバルーン小腸内視鏡を用いた小腸検査を日常的に行っており、小腸絨毛の観察や各部位からの生検材料を得ることが可能であることから、ラットと同様の方法をヒト消化管からの生検検体に対して用いることにより、ヒト生体内における窓と消化・吸収との関連性を明らかにすることが可能であると考えた。

図1 小腸絨毛における各種栄養素の吸収機序

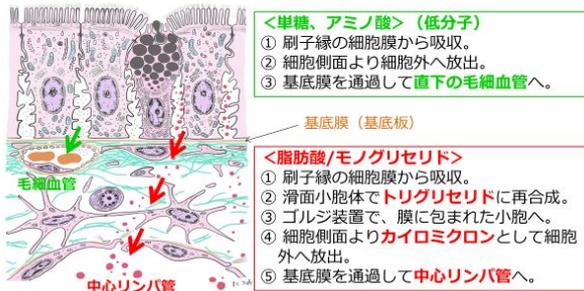
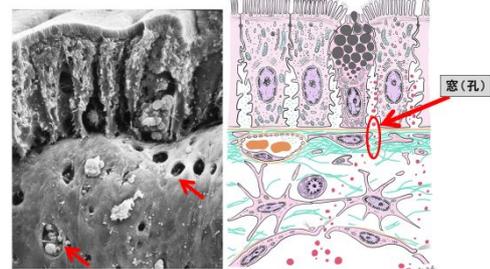


図2 基底膜の走査型電子顕微鏡観察



ラット小腸絨毛の基底膜には0.5~5 $\mu$ mの窓(孔)があり、この窓をリンパ球や好酸球、マクロファージ、カイロミクロンが通る。  
ラット小腸の絨毛上皮と基底膜(走査電顕像) (Takahashi-Iwanaga H, Fujita T.1985)

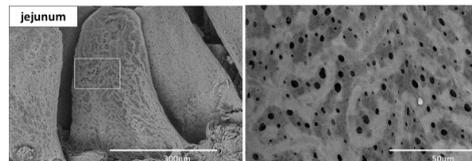
### 2. 研究の目的

小腸絨毛基底膜の窓に着目し、生体内における小腸の脂肪吸収における窓の働きを明らかにすることで、肥満の病態解明を行うことを目的とした。

### 3. 研究の方法

研究開始時にすでに研究分担者の安住、盛田は、研究協力者である牛木教授のもとで、ラットにおける小腸絨毛の粘膜上皮をオスミウム浸軟処理と超音波処理で剥離し、SEMにて基底膜を観察する方法を開発していた。本研究では、より安定的に窓を観察する手法を確立し、まず、基礎研究として、ラット、マウスにおける小腸絨毛基底膜の窓の評価と、食事負荷に伴う変化を検証することとした。また、併せて臨床研究として、小腸内視鏡を用いてヒトの小腸、十二指腸絨毛の観察と、生検組織を用いて窓の評価を行うことで、生体における吸収評価法の確立を行うこととした。

図3 基底膜の窓



### 4. 研究成果

ラットの食事負荷に伴う小腸絨毛基底膜窓の窓の変化と脂肪吸収における役割について基底膜の窓と食餌との関係について、光学顕微鏡およびSEMを用いて検討した。8-10週齢のWistar系雄ラットを22時間絶食させた絶食群と22時間絶食後に飼料を2時間摂食させた摂食群とに分け、各群で基底膜の窓とそこを通過する自由細胞とを観察した。自由細胞の数は、摂食群が絶食群に比べ増加傾向があった。上皮内自由細胞は主にリンパ球や好酸球であり、それらが基底膜を通過している像も観察された。基底膜の窓の平均面積は、絶食群、摂食群ともに上部空腸が下部空腸に比べ大きかった。また、上部空腸の絨毛単位面積当たりの窓面積と基底膜を通過する自由細胞数は、摂食群が絶食群に比べ有意に増加していた。食餌により自由細胞の動きが活発化したことから、食餌と免疫応答との関与が示唆され、更に、食餌により窓面積が増大したことから、食事(栄養)の吸収においてこの窓が重要な役割を果たしている可能性が示唆された<sup>2)</sup>。

次に、摂食により引き起こされるこの小腸基底膜の窓の変化が、脂肪吸収における調節的役割を果たしているのかについて確認するため、普通食を摂取したラットと高脂肪食を摂取したラットの基底膜の窓を経時的に観察し、統計解析を行って比較検討を行った。解析の結果、高脂肪食を摂取すると、短期間の経過としてまず窓を介する自由細胞の交通が活発になり、その状態が持続すると窓の面積が増加すると考えられた。このことから、脂質吸収の効率を上げる

うえで、自由細胞によるこの窓の形態的变化が調節的な役割を果たしていることが示唆された(図4)<sup>3)</sup>。

マウスにおける小腸絨毛基底膜の窓の変化についてマウスの絨毛基底膜の窓の観察方法を確立し、ヒト肥満をマウスで再現できるメラノコルチン4受容体(MC4R)ノックアウトマウスに高脂肪食を負荷し肥満を誘発した後、基底膜の窓の評価を行った。同マウスにおいても窓は同定可能であったが、今回使用したマウスでは、高脂肪食摂取負荷の有無で、窓の数、面積に変化はみられなかった。

ヒトにおける小腸絨毛基底膜の窓とその役割について

ヒトでの小腸絨毛基底膜の窓の検討を行った。バルーン小腸内視鏡を用いて11名、25検体の絨毛組織を生検採取し、SEMによる観察を行った。基底膜の窓の観察はラット同様に可能で、ヒト小腸においても小腸絨毛基底膜に窓が存在することが明らかとなった。また、窓を通過する自由細胞も観察された(図5)(論文準備中)。絨毛の形態はラットとは異なり、同じ部位でも絨毛の形態にバリエーションがあることが分かり、その意義と、個人差の有無について現在解析を継続している。

### 小腸絨毛拡大内視鏡観察

拡大小腸内視鏡を用いてヒト生体内における小腸絨毛の観察を行った。原発性リンパ管拡張症における空腸絨毛の変化を内視鏡的に観察し、生検組織像を健常者と対比したところ、同患者にみられる白色絨毛は、リンパ管の形成障害に伴う絨毛内リンパ管(乳糜管)の拡張と、細胞内にたまったカイロミクロンを反映していると考えられた<sup>4)</sup>(図6)。このことから、特に肥満者でみられる十二指腸絨毛の白色変化は、カイロミクロンが基底膜の窓を通過し、中心乳糜管に移動するまでの経路の何らかの障害を反映していると考えられた。つまりこの経路に、肥満者と健常者との間で違いがある可能性が想定され、さらに検討を行っていく予定である。

図5 ヒト生検試料による窓観察

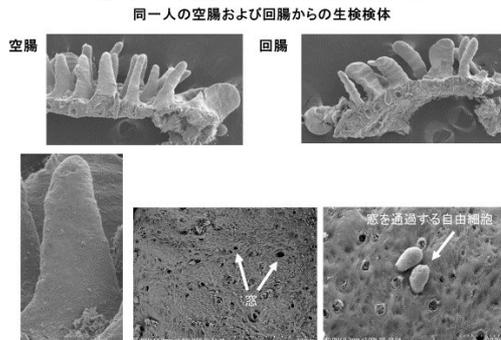


図6 リンパ管拡張症における空腸の白色絨毛

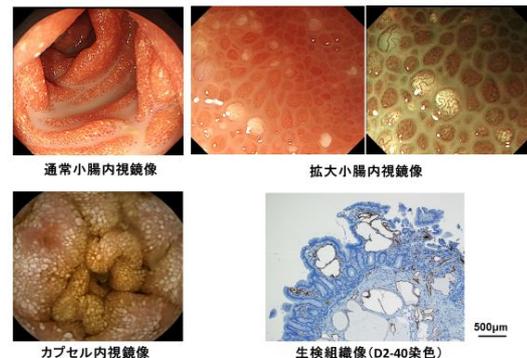
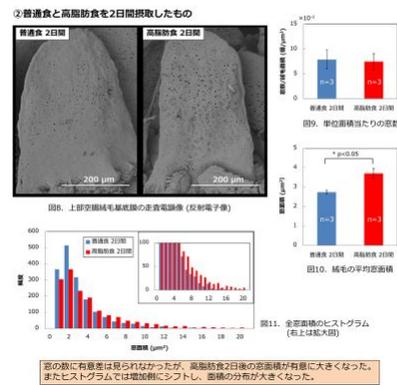


図4 脂質吸収の効率を上げるうえで、自由細胞による窓の形態变化が重要な役割を果たしている



### 参考文献

- 1) Takahashi-Iwanaga H, Fujita T: Lamina propria of intestinal mucosa as a typical reticular tissue. A scanning electron-microscopic study of the rat jejunum. Cell Tissue Res. 1985;242(1):57-66.
- 2) Azumi R, Morita K, Mizutani Y, Hayatsu M, Terai S, Ushiki T. Dynamics of basal lamina fenestrations in the rat intestinal villous epithelium in response to dietary conditions. Biomed Res 39:65-74, 2018. doi: 10.2220/biomedres.39.65.
- 3) Morita K, Azumi R, Sato M, Mizutani Y, Hayatsu M, Terai S, Ushiki T. Dynamic changes in basal lamina fenestrations in rat intestinal villous epithelium under high-fat diet condition. Biomed Res 40:57-66, 2019. doi: 10.2220/biomedres.40.57.
- 4) Tominaga K, Tsuchiya A, Kawata Y, Yokoyama J, Terai S. Novel Magnified Single-Balloon Enteroscopy Enables Observation of Jejunal White Spots Associated with Lymphangiectasia. Dig Dis 37:170-174, 2019. doi: 10.1159/000493578.

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計4件)

Morita K, Azumi R, Sato M, Mizutani Y, Hayatsu M, Terai S, Ushiki T. Dynamic changes in basal lamina fenestrations in rat intestinal villous epithelium under high-fat

diet condition. Biomed Res 40:57-66, 2019. doi: 10.2220/biomedres.40.57. 査読有  
Tominaga K, Kamimura K, Yokoyama J, Terai S. Usefulness of Capsule Endoscopy and Double-balloon Enteroscopy for the Diagnosis of Multiple Carcinoid Tumors in the Small Intestine: Case Reports and a Literature Review. Intern Med 58:655-659, 2019. doi: 10.2169/internalmedicine.1700-18. 査読有  
Tominaga K, Tsuchiya A, Kawata Y, Yokoyama J, Terai S. Novel Magnified Single-Balloon Enteroscopy Enables Observation of Jejunal White Spots Associated with Lymphangiectasia. Dig Dis 37:170-174, 2019. doi: 10.1159/000493578. 査読有  
Azumi R, Morita K, Mizutani Y, Hayatsu M, Terai S, Ushiki T. Dynamics of basal lamina fenestrations in the rat intestinal villous epithelium in response to dietary conditions. Biomed Res 39:65-74, 2018. doi: 10.2220/biomedres.39.65. 査読有

〔学会発表〕(計4件)

富永 顕太郎、横山 純二、寺井 崇二

消化管運動機能検査としての小腸カプセル内視鏡の有用性の検討

日本消化器病学会総会(2018年)

富永 顕太郎、川田 雄三、本田 穰、上村 顕也、横山 純二、寺井 崇二ほか

当院における小腸カルチノイド7例の臨床的検討

大腸癌研究会(2018年)

横山 純二、富永 顕太郎、寺井 崇二

重篤な基礎疾患を持たないサイトメガロウイルス小腸炎の特徴と小腸内視鏡の有用性

日本消化器病学会大会(JDDW 2018)(2018年)

佐藤公俊、森田景介、安住里映、榎本初音、立木秀尚、寺井崇二、牛木辰男

ラット小腸絨毛の上皮下基底膜にみられる窓：その食事による経時的変化の検討

第123回日本解剖学会総会全国学術集会(2018年)

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：寺井 崇二

ローマ字氏名：(TERAI, Shuji)

所属研究機関名：新潟大学

部局名：医歯学系消化器内科

職名：教授

研究者番号(8桁)：00332809

研究分担者氏名：牛木 辰男

ローマ字氏名：(USHIKI, Tatsuo)

所属研究機関名：新潟大学

部局名：医歯学系顕微解剖学

職名：教授

研究者番号(8桁)：40184999

研究分担者氏名：川合 弘一

ローマ字氏名：(KAWAI, Hirokazu)

所属研究機関名：新潟大学

部局名：医歯学系消化器内科

職名：客員研究員

研究者番号(8桁)：80419291

研究分担者氏名：佐藤 祐一  
ローマ字氏名：(SATOU, Yuichi)  
所属研究機関名：新潟大学  
部局名：医歯学系消化器内科  
職名：客員研究員  
研究者番号(8桁)：00401761

(2)研究協力者

研究協力者氏名：八木 一芳  
ローマ字氏名：(YAGI, Kazuhiro)  
研究協力者氏名：安住 里映  
ローマ字氏名：(AZUMI Rie)  
研究協力者氏名：盛田 景介  
ローマ字氏名：(MORITA Keisuke)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。