

平成 21 年 5 月 15 日現在

研究種目：若手研究（B）  
研究期間：2006～2008  
課題番号：18700618  
研究課題名（和文） 乳飲期小腸吸収上皮細胞における消化吸収メカニズムの  
多様性に関する分子形態学的研究  
研究課題名（英文） Diversity of digestive and absorptive mechanism in small intestinal  
absorptive cells during suckling period  
研究代表者  
馬場 良子（BABA RYOKO）  
産業医科大学・医学部・講師  
研究者番号： 90271436

## 研究成果の概要：

小腸は絨毛等により表面積を増大し、その広大な表面積において栄養分の消化・吸収を行う器官であり、栄養の吸収は吸収上皮細胞、小腸内腔をおおって保護する粘液の分泌は杯細胞が担っている。離乳を境に、小腸の絨毛と吸収上皮細胞の構造（形態）が急速に変化し、それと同時に、吸収上皮細胞の機能（働き）も変化した。また、時期及び小腸の部位によって、杯細胞の分布にも差異が見られた。小腸の構造及び機能の急速な変化によって、離乳期における母乳から固形食への栄養形態の変化に対応していることが考えられる。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	800,000	0	800,000
2007年度	900,000	0	900,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	2,200,000	150,000	2,350,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：生活科学・食生活学

キーワード：乳飲期小腸

## 1. 研究開始当初の背景

小腸は生体において外界と接触する最も広い領域を有する器官である。その領域を形成する上皮は単層で、終末消化と吸収に携わる吸収上皮細胞が大半を占め、その表面に存在する微絨毛によってさらに表面積を増大

させ、栄養素の吸収を効率的に進めている。その一方で、小腸は食物以外の異物にも接触する可能性が高いため、粘膜表面を粘液で覆って保護すると同時に、独自の局所免疫系である消化管付属リンパ組織（GALT）を発達させ、異物の侵入を防ぐ機構を持つ。

これまで、新生児（新生仔）期、乳飲期、離乳期及び成熟期哺乳動物を用いて、消化管上皮細胞を観察し、細胞頂部及び基底側部からの高分子物質のエンドサイトーシスについて、超微形態学的に研究を行ってきた。また、食物アレルギー発症機序の初期的段階を解明する目的で、食物性アレルゲンの侵入経路に関する研究を行ってきた。乳飲期は離乳期以降とは異なる消化吸收形態を持ち、また栄養面に関しても、主として母乳に依存している点がそれ以降とは明らかに異なる。そのため、母乳が乳児の成長発育過程に与える影響は大きい。そこで、妊娠期、授乳期及び離乳期の乳腺を超微形態学的に観察し、母体内の高分子物質または食物性抗原が血管内から乳腺上皮細胞内を通過して、腺腔内及び乳汁中に分泌されるかどうかについて研究を行い、報告してきた。

## 2. 研究の目的

小腸の消化吸收機構と防御機構の破綻によって引き起こされる疾患を予防する上で、発達段階における小腸の形態、消化吸收機構並びに防御機構等に関する、より詳細な基礎的情報を知る必要があると考え、本研究では、免疫組織化学的、超微形態学的手法を用いて、①小腸吸収上皮細胞の形態の経時的变化、並びに②部位的变化について明らかにすることを目的としている。さらに、栄養素の消化吸收メカニズムを理解するために、③トレーサー投与実験、④種々の消化酵素、⑤トランスポーターの局在について経時的、部位的に検索すると同時に、防御機構の発達について理解するために、⑥杯細胞の分化、増殖についても経時的、部位的検索を行い、統合的に解明する。

## 3. 研究の方法

### (1) 経時的検索；

新生児期から乳飲期、離乳期として、生後0日齢から生後21日齢 Wistar 系ラットを使用し、小腸を経時的に採取して、形態学的検索を行う。さらに、走査型電子顕微鏡並びに透過型電子顕微鏡により、立体構築学的、超微形態学的検索を行って、総合的に評価を行う。

### (2) 部位的検索；

新生児期から乳飲期、離乳期 Wistar 系ラットの小腸を十二指腸から回腸末端部まで採取し、①と同様に検索を行い、総合的に評価を行う。

### (3) トレーサー投与実験；

新生児期から乳飲期、離乳期 Wistar 系ラットの小腸管腔内に高分子物質のトレーサーを投与し、高分子物質の消化・吸収機構について、生後0日齢から生後21日齢まで経時的、かつ小腸上部から下部に亘って部位的に検索する。細胞化学的手法により検索を行って、総合的に評価を行う。

### (4) 消化酵素の局在；

新生児から乳飲期、離乳期 Wistar 系ラットの小腸において、種々の終末消化酵素に対する特異抗体を用いた免疫組織化学を行う。

### (5) トランスポーターの局在；

新生児から乳飲期、離乳期 Wistar 系ラットの小腸において、種々のトランスポーターに対する特異抗体を用いた免疫組織化学を行う。

### (6) 杯細胞の分布

新生児から乳飲期、離乳期 Wistar 系ラットの小腸において、粘液を組織化学的に検出し、杯細胞の分布について検索する。

### (7) Brown Norway ラットを用いた検索；

Brown Norway ラットは高い免疫応答を示し、

アレルギーモデル動物として広く用いられている。そこで、これまでに検索を行ってきた Wistar 系ラットと比較し、粘膜防御システムに差異がみられるかどうかについて、形態学的、免疫組織化学的、立体構築学的検索を行って、比較検討する。

#### 4. 研究成果

##### (1) (2) 経時のおよび部位的検索；

新生児期から乳飲期、離乳期 Wistar 系ラット（生後0日齢から生後21日齢）の小腸（十二指腸から回腸末端部）を採取し、立体構築学的、超微形態学的検索を行った。その結果、離乳期を境に小腸の絨毛及び吸収上皮細胞の形態が変化が見られた。また、小腸の部位によって、絨毛及び吸収上皮細胞の形態に差異が見られた。いずれの時期においても、小腸の部位による絨毛の形態の差異は見られたものの、吸収上皮細胞の形態の差異は離乳期を境にあまり明確でなくなった。

##### (3) トレーサー投与実験；

新生児期から乳飲期、離乳期 Wistar 系ラット（生後0日齢から生後21日齢）の小腸管腔内に高分子物質のトレーサーを投与し、高分子物質の消化・吸収機構について、生後0日齢から生後21日齢まで経時的、かつ小腸上部から下部に亘って部位的に細胞化学的検索を行った。離乳前の上部小腸吸収上皮細胞においては、高分子物質のエンドサイトーシス、トランスサイトーシスが見られた。下部小腸吸収上皮細胞においては活発なエンドサイトーシスが見られたが、離乳後では上部小腸においても、下部小腸においても、高分子物質のエンドサイトーシスは見られなくなった。

##### (4) (5) 消化酵素、トランスポーターの局在；

離乳を境に生じる、絨毛及び吸収上皮細胞の形態の変化、吸収上皮細胞にお

ける高分子物質の消化吸收機構の変化に伴い、吸収上皮細胞の頂部細胞膜（微絨毛膜）表面に存在する二糖類やペプチドを消化する終末消化酵素（ $\beta$ -ガラクトシダーゼ、カルボキシペプチダーゼ、アミノペプチダーゼ）の局在部位が変化し、グルコースの輸送に関与するトランスポーター（GLUT2、SGLT1）、フルクトースの輸送に関与するトランスポーター（GLUT5）についても、局在部位の変化が見られた。特に、回腸においては、それらの変化が空腸より顕著であった。

##### (6) 杯細胞の分布；

杯細胞は小腸上皮を構成する細胞の1つで、粘液を分泌し、上皮の保護などに関与する。その杯細胞の分布について検索を行った結果、新生児期、乳飲期では、空腸、回腸共に、吸収上皮細胞に混じって点在したが、離乳が進むにつれ、上皮に占める杯細胞の割合が増加し、それは特に回腸で顕著であった。

##### (7) Brown Norway ラットを用いた検索；

アレルギーモデル動物として広く用いられている Brown Norway (BN) ラットを用いて、形態学的、免疫組織化学的、立体構築学的手法により、Wistar 系ラットとの比較を行った。BN ラットを用いて検索した結果、Wistar 系ラットと比較して正常時の小腸絨毛に顕著な差異は見られなかったが、組織学的には杯細胞の粘液および分泌状態に差が認められた。オブアルブミンを連続して経口摂取させると、Wistar 系ラットでは正常時と比較して顕著な差は見られなかったものの、BN ラットにおいては、絨毛先端部の上皮に障害が認められ、オブアルブミンを経口投与後、試料を採取して抗体により免疫組織化学的に検出した結果、上皮細胞内、固

有層内にオブアルブミンの反応産物が認められた。

これらのことから、新生児期及び乳飲期には母乳中の抗体や栄養分を高分子のまま細胞内に取り込んで細胞内を通過（上部小腸）、または細胞内消化（下部小腸）する機構が存在するが、離乳期にそれらの機構が急速に消失し、同時に、吸収上皮細胞には低分子に分解して吸収するための終末消化酵素やトランスポーターの発現が見られ、粘膜上皮に占める杯細胞（粘液）の増加が起こる。その急速な上皮の変化に伴って、絨毛の形態も変化すると思われる。これらの変化によって、母乳栄養から固形食栄養という食形態の変化に対応していることが考えられる。

また、小腸の防御機構の1つである粘液分泌低下が上皮の障害に関連し、高分子物質の通過を容易にする可能性が示唆された。

## 5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計3件）

- ① 馬場良子、佐藤永洋、土肥良秋、藤田 守  
乳飲期回腸吸収上皮細胞におけるエンドサイトシスの膜系と細胞骨格の関連  
医学生物学電子顕微鏡技術学会誌、22、62、  
2008、査読無
- ② Fujita M, Baba R, Shimamoto M, Sakuma Y, Fujimoto S.  
Molecular morphology of the digestive tract; macromolecules and food allergens are transferred intact across the intestinal absorptive cells during the

neonatal-suckling period.

Medical Molecular Morphology, 40, 1-7,  
2007, 査読有

- ③ Fan YY, Baba R, Nagai Y, Miyatake A, Hosomi N, Kimura S, Sun GP, Kohno M, Fujita M, Abe Y, Nishiyama A.  
Augmentation of intrarenal angiotensin II levels in uninephrectomized aldosterone/salt-treated hypertensive rats.  
Hypertens Res, 29, 169-178, 2006, 査読有

〔学会発表〕（計28件）

- ① 馬場良子 他4名  
胃粘膜における二本鎖RNA依存プロテインキナーゼ（PKR）の局在  
第114回日本解剖学会総会・全国学術集会、2009年3月2日、岡山
- ② 馬場良子 他9名  
胎盤栄養から母乳栄養への移行期における小腸吸収上皮細胞の形態と機能の変化  
第40回日本臨床分子形態学会2008年10月4日、福岡
- ③ 藤田 守 他7名  
消化管粘膜上皮細胞のトランスサイトシス機構に関する分子形態学  
第40回日本臨床分子形態学会、2008年10月3日、福岡
- ④ 藤田 守 他6名  
腸管の消化吸収機構  
第113回日本解剖学会総会・全国学術集会、2008年3月28日、大分
- ⑤ 馬場良子 他10名  
離乳過程における小腸絨毛の形成に伴う毛細血管網の発達  
第48回日本組織細胞化学学会総会（第8回日中合同組織細胞化学セミナー）第39回

日本臨床分子形態学会総会 合同学術集会、  
2007年9月28日、山梨

⑥ 馬場良子 他3名

乳飲期回腸吸収上皮細胞におけるエンド  
サイトーシスの膜系と細胞骨格の関連  
医学生物学電子顕微鏡技術学会 第23回  
学術講演会および総会、2007年5月20日、  
福岡

⑦ 馬場良子 他7名

乳飲期小腸吸収上皮細胞におけるエンド  
サイトーシスと微小管との関連  
第111回 日本解剖学会総会・全国学術集  
会、2007年3月29日、大阪

⑧ 馬場良子 他7名

乳飲期小腸吸収上皮細胞のエンドサイ  
トーシスに関与する膜系と細胞骨格  
第45回 日本顕微鏡学会九州支部総会・学  
術講演会、2006年12月2日、長崎

⑨ Baba R 他6名

Small intestinal villi change  
dynamically during weaning period  
The 16<sup>th</sup> International Microscopy  
Congress、2006年9月5日、北海道

[図書] (計1件)

- ① 藤本 淳監修、藤田 守、土肥良秋編集  
栗生修司、飯田 弘、井上真澄、江島邦彰、  
太田啓介、岡本圭史、小路武彦、柴田洋三  
郎、長島聖司、中村桂一郎、馬場良子、菱  
川善隆、山木宏一  
NOUVELLE HIROKAWA  
ビジュアル解剖生理学、2007、404頁

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

馬場 良子 (BABA RYOKO)  
産業医科大学・医学部・講師  
研究者番号：90271436

(2) 研究分担者

なし

(3) 研究協力者

藤田 守 (FUJITA MAMORU)  
中村学園大学・栄養科学部・教授  
研究者番号：60037471