

令和 4 年 5 月 10 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08462

研究課題名(和文)小腸絨毛基底膜における「窓」の脂肪吸収に対する調節機能の解明

研究課題名(英文)Elucidation of regulatory function of the basal lamina fenestrations in intestinal villous epithelium for fat 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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：肥満者にみられる十二指腸絨毛の白色変化を光学顕微鏡で観察すると、リンパ管拡張所見はみられず、細胞内や細胞間隙に蓄積したカイロミクロンを反映しているものと思われた。電子顕微鏡での観察結果と合わせ、小腸絨毛基底膜にみられる窓は、カイロミクロンの中心乳糜管への運搬を調整しており、肥満者においては、カイロミクロンの通過を厳しく制限している可能性が示唆された。すなわち、基底膜の窓は、高脂血症、肥満の抑制に寄与する方向に働いていると推察された。また、脂肪吸収の効率と基底膜の窓との関係については、腸管壁バリア機能の破綻や、小腸内細菌増殖症との関連も含め総合的に検討する必要があると考えられた。

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研究は数少ない。窓の存在は知られてはいたが、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いるが、基底膜の窓に注目した研究報告はなく、今回の成果は、小腸の脂肪吸収メカニズムの解明に大きく貢献できるものとする。肥満者と健常人における脂肪吸収効率の違いと窓との関係についてさらに解明されれば、肥満の病態解明につながり、社会的にも重要な意義を持つ。

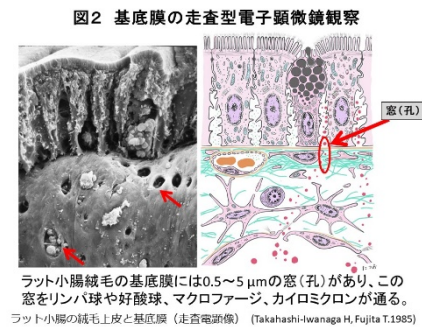
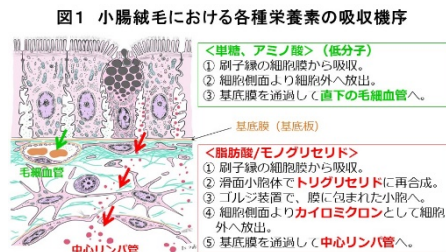
研究成果の概要(英文)：We observed the white change of duodenal villi seen in the obese person with an optical microscope. Lymphatic dilatation was not seen, and the white change seemed to reflect the chylomicron accumulated in the cell and the intercellular gap. From this, it was suggested that the fenestrations seen in the basement membrane of the small intestinal villi adjusted the transportation of the chylomicron to the central lacteal, and that the passage of the chylomicron might be severely restricted in the obese person. That is, it was presumed that the fenestration of the basement membrane was working in the direction which contributed to the suppression of hyperlipidemia and obesity. In addition, it was considered that the correlation between the efficiency of fat absorption and the basement membrane fenestration should be comprehensively examined, including the leaky gut syndrome and the relationship with small intestinal bacterial overgrowth.

研究分野：消化器内科

キーワード：小腸絨毛基底膜 脂肪吸収 肥満 腸内細菌

### 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炎が増えている。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）。申請者らはこれまでに、走査型電子顕微鏡にてラットの小腸絨毛の基底膜を観察する手法を開発し、基底膜にはカイロミクロンや自由細胞が通過する窓（孔）が存在し（図2）、食事負荷によりこの窓に量的変化がみられることを明らかにしてきた。また、高脂肪食の摂取により、この変化がより活発になることから、窓がカイロミクロンの吸収、通過を調節していると考えられた。さらにヒト組織における窓の観察法も確立されたことから、今後はさらに生体内における小腸の脂肪吸収評価システムを確立し、窓と吸収を通じた肥満の病態解明を目指すことが可能であると考えた。



### 2. 研究の目的

本研究ではヒトの小腸生検組織を用いて、電子顕微鏡下に窓の評価を行うとともに、十二指腸絨毛と空腸絨毛の拡大内視鏡およびカプセル内視鏡観察を行い、ヒト小腸絨毛の特色をつかむ。さらに、肥満者と健常者との相違、食事による変化を観察することにより、生体における新たな脂肪吸収評価法の確立を行う。また、小腸内細菌増殖症（small intestinal bacterial overgrowth: SIBO）の状態の測定と脂肪吸収の効率、窓との相関を検討することにより、腸管因子や腸内細菌叢からみた肥満のメカニズムや肥満についての新しい診断法、治療法の確立を目指す。以上から、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。

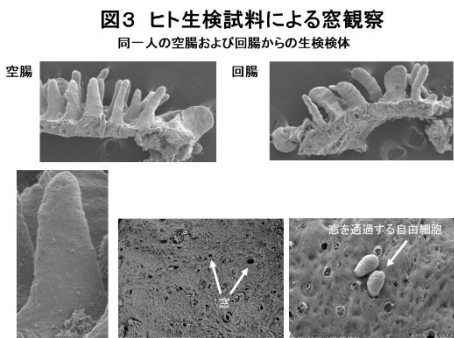
### 3. 研究の方法

走査電子顕微鏡を用いて、ヒト十二指腸、空腸、回腸での部位による窓の違いについての検討をすすめ、肥満の有無や基礎疾患による窓の違いにつき比較検討を行う。これにより、窓の脂肪吸収における役割とその制御機能、肥満との関連の有無を明らかにする。また、小腸内視鏡、カプセル内視鏡を使用し、健常者と肥満者における高脂肪食摂取下の空腸絨毛の白色変化につき比較検討を行う。ヒト空腸における生検検体を用いて、BMI や基礎疾患による窓の違いを走査型電子顕微鏡で解析する。さらに、呼気水素・メタン分析装置を用いて脂肪吸収における窓の働きと腸内細菌との相関を明らかにする。以上により、生体における新たな脂肪吸収評価法の確立と肥満のメカニズムや肥満についての新しい診断法確立を目指す。

### 4. 研究成果

#### ① ヒトにおける小腸絨毛基底膜の窓の観察とその役割について

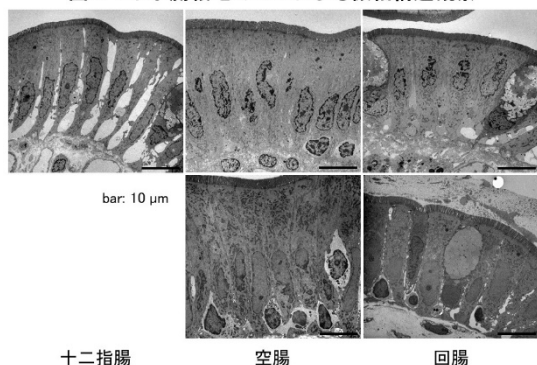
ラットにおける研究成果をもとに、ヒトでの小腸絨毛基底膜の窓の検討を行った。小腸内視鏡下にヒト十二指腸、空腸、回腸各部位から生検材料を採取し、電子顕微鏡による小腸絨毛の観察を行った。走査電子顕微鏡（SEM）にて観察を行ったところ、基底膜の窓の観察はラット同様に可能で、ヒト小腸においても小腸絨毛基底膜に窓が存在することが明らかとなった。また、窓を通過する自由細胞も観察された（図3）（論文準備中）。



その後、小腸上皮の透過電子顕微鏡（TEM）観察を行い、空腸と回腸の絨毛上皮についての検討を行った（図4）。細胞の高さ、微絨毛の長さは、いずれも空腸が回腸に比べ有意に高かった（図5）。ゴルジ等の細胞内器官には、空腸、回腸で明確な違いはみ

られなかったが、lysosomeについては、空腸より回腸で有意に多く認められ（図6）、吸収能における違いを反映していると考えられた。

図4 ヒト小腸絨毛のTEMによる微細構造観察



十二指腸 空腸 回腸

② ヒト小腸絨毛の内視鏡観察と光学顕微鏡観察

拡大小腸内視鏡およびカプセル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。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。そこで、肥満者にみられる十二指腸絨毛の白色変化を光学顕微鏡で観察を行った。すると、リンパ管拡張所見はみられず、白色変化は細胞内や細胞間隙に蓄積したカイロミクロンを反映しているものと思われた。このことから、小腸絨毛基底膜にみられる窓は、カイロミクロンの中心乳糜管への運搬を調整しており、肥満者においては、カイロミクロンの通過を厳しく制限している可能性が示唆された。すなわち、基底膜の窓は、高脂血症、肥満の抑制に寄与する方向に働いていると推察された。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。

一方、空腸絨毛の白色変化と脂肪吸収との相関について、カプセル内視鏡を使用してレトロスペクティブに検討を行った。健常者と肥満者において、空腸の白色絨毛の頻度、程度に明らかな違いはなく、白色絨毛と脂肪吸収効率に明らかな相関を示唆するような所見はみられなかった。空腸における白色絨毛の意義については、今後の検討課題である。

③ 小腸内細菌増殖症（SIBO）についての検討

高脂肪食の過量摂取が、小腸における腸管透過性の異常による腸管壁バリア機能の破綻（leaky gut syndrome: LGS）や、小腸内細菌増殖症（small intestinal bacterial overgrowth: SIBO）といった病態を引き起こし、肥満、過敏性腸症候群、インスリン抵抗性や脂肪肝炎などの原因の一つとして推察されている。そこで、SIBO 診断のための呼気水素・メタン分析装置を導入し、SIBOの有無と脂肪吸収の効率、窓との相関を検討することにした。偽性腸閉塞症や過敏性腸症候群のほか、肝硬変患者においてSIBO陽性例が多く認められた。検討の結果、肝硬変における水素型SIBOは、肝硬変の進行に伴って頻度が上昇し、肝性脳症と相関があることがわかり、別途論文化を行った。腸内細菌と脂肪吸収の効率、窓との相関については、今後腸内細菌叢の違いやSIBOの有無も含め、総合的に検討していく必要があると考えられた。

図5 ヒト小腸絨毛のTEMによる微細構造観察

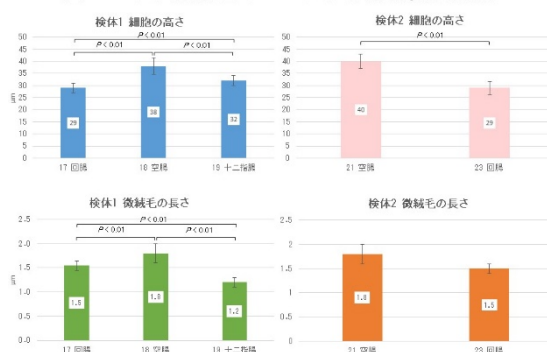
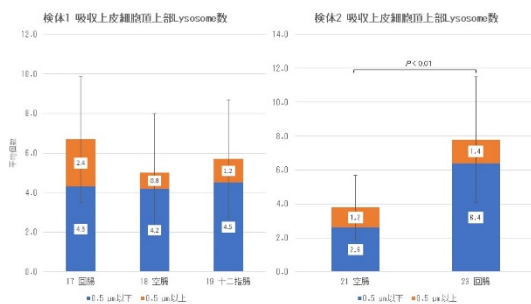


図6 ヒト小腸絨毛のTEMによる微細構造観察



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>Yokoyama Kunihiko, Sakamaki Akira, Takahashi Kazuya, Naruse Takumi, Sato Chihiro, Kawata Yuzo, Tominaga Kentaro, Abe Hiroyuki, Sato Hiroki, Tsuchiya Atsunori, Kamimura Kenya, Takamura Masaaki, Yokoyama Junji, Terai Shuji | 4. 巻<br>17      |
| 2. 論文標題<br>Hydrogen-producing small intestinal bacterial overgrowth is associated with hepatic encephalopathy and liver function   | 5. 発行年<br>2022年 |
| 3. 雑誌名<br>PLOS ONE   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1371/journal.pone.0264459  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）  | 国際共著<br>-       |

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>Sato Hiroki, Ogihara Hiroyuki, Takahashi Kazuya, Kawata Yuzo, Kojima Yuichi, Tominaga Kentaro, Yokoyama Junji, Hamamoto Yoshihiko, Terai Shuji | 4. 巻<br>11      |
| 2. 論文標題<br>New cine magnetic resonance imaging parameters for the differential diagnosis of chronic intestinal pseudo-obstruction                        | 5. 発行年<br>2021年 |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>- |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s41598-021-02268-1  | 査読の有無<br>有      |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている（また、その予定である）  | 国際共著<br>-       |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Tominaga Kentaro, Sato Hiroki, Yokomichi Hiroshi, Tsuchiya Atsunori, Yoshida Tomoaki, Kawata Yuzo, Mizusawa Takeshi, Yokoyama Junji, Terai Shuji | 4. 巻<br>8               |
| 2. 論文標題<br>Variation in small bowel transit time on capsule endoscopy  | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Annals of Translational Medicine   | 6. 最初と最後の頁<br>348 ~ 348 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.21037/atm.2020.02.40   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-               |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Sakamaki Akira, Yokoyama Kunihiko, Yamazaki Fusako, Kamimura Hiroteru, Kamimura Kenya, Takamura Masaaki, Yokoyama Junji, Terai Shuji                               | 4. 巻<br>59                |
| 2. 論文標題<br>Small Intestinal Bacterial Overgrowth Diagnosed by a Breath Test and Improved by Rifaximin in a Patient with Hepatic Encephalopathy and Alcoholic Liver Cirrhosis | 5. 発行年<br>2020年           |
| 3. 雑誌名<br>Internal Medicine  | 6. 最初と最後の頁<br>1849 ~ 1853 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.2169/internalmedicine.4593-20  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                 |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>横山 純二、川田 雄三、寺井 崇二                   |
| 2. 発表標題<br>非ステロイド性炎症鎮痛薬および低用量アスピリン起因性小腸傷害症例の検討 |
| 3. 学会等名<br>第107回 日本消化器病学会総会                    |
| 4. 発表年<br>2021年～2022年                          |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>横山 邦彦、横山 純二、寺井 崇二           |
| 2. 発表標題<br>当院における小腸内細菌異常増殖(SIBO)の診断の現状 |
| 3. 学会等名<br>第106回 日本消化器病学会総会            |
| 4. 発表年<br>2020年～2021年                  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>横山 純二、川田 雄三、寺井 崇二                          |
| 2. 発表標題<br>消化管開通性確認用カプセルの使用状況からみた、小腸カプセル内視鏡の適応についての検討 |
| 3. 学会等名<br>JDDW2020                                   |
| 4. 発表年<br>2020年～2021年                                 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|           | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|-----------|---------------------------|-----------------------|----|
| 研究<br>分担者 | 寺井 崇二                     | 新潟大学・医歯学系・教授          |    |
|           | (Terai Shuji)             |                       |    |
|           | (00332809)                | (13101)               |    |

## 6. 研究組織（つづき）

|       | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                          | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                     | 備考 |
|-------|--|---|----|
| 研究分担者 | 牛木 辰男<br><br>(Ushiki Tatsuo)<br><br>(40184999)     | 新潟大学・医歯学系・教授<br><br><br><br>(13101)       |    |
| 研究分担者 | 高村 昌昭<br><br>(Takamura Masaaki)<br><br>(20422602)  | 新潟大学・医歯学系・准教授<br><br><br><br>(13101)      |    |
| 研究分担者 | 八木 一芳<br><br>(Yagi Kazuyoshi)<br><br>(20220121)    | 新潟大学・医歯学総合病院・特任教授<br><br><br><br>(13101)  |    |
| 研究分担者 | 富永 顕太郎<br><br>(Tominaga Kentaro)<br><br>(60812154) | 新潟大学・医歯学総合研究科・特任助教<br><br><br><br>(13101) |    |
| 研究分担者 | 佐藤 裕樹<br><br>(Sato Hiroki)<br><br>(50644556)       | 新潟大学・医歯学系・助教<br><br><br><br>(13101)       |    |
| 研究分担者 | 早津 学<br><br>(Hayatsu Manabu)<br><br>(40468898)     | 新潟大学・医歯学系・助教<br><br><br><br>(13101)       |    |
| 研究分担者 | 川田 雄三<br><br>(Kawata Yuzo)<br><br>(00868747)       | 新潟大学・医歯学総合研究科・特任助教<br><br><br><br>(13101) |    |
| 研究分担者 | 小島 雄一<br><br>(Kojima Yuichi)<br><br>(30887625)     | 新潟大学・医歯学総合研究科・特任助教<br><br><br><br>(13101) |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|