

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	佐藤 公俊
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 1035 号
学位授与の日付	令和 4 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	Diet-related changes of basal lamina fenestrations in the villous epithelium of the rat small intestine: statistical analysis on scanning electron microscopy. (ラット小腸絨毛上皮における基底膜の窓の食事による変化: 走査型電子顕微鏡による統計解析)
論文審査委員	主査 教授 味岡 洋一 副査 教授 佐藤 昇 副査 准教授 土屋 淳紀

### 博士論文の要旨

#### 背景と目的

腸管吸収上皮は、腸管内容物と免疫細胞を含む下層組織との間の機械的バリアとして機能すると同時に、水、イオン、栄養素などの物質輸送を担っている。

基底膜は数種類のタンパク質によるシート状構造をしているが、栄養素吸収において、脂質（カイロミクロン）は直径約 100nm~1 $\mu$ m と粒子が大きすぎるため、基底膜に切れ込みがないと通過できないと指摘する研究がある。

小腸の上皮基底膜には、白血球など遊離細胞の上皮内移動のための小さい孔（窓）がある。申請者らは、食事条件によって窓がダイナミックに変化することを報告した。特に高脂肪食条件下では、基底膜の窓がカイロミクロンの吸収に関与していることが示唆され、基底膜の窓の動的変化が脂質の吸収効率に重要な役割を果たす可能性が考えられた。

これらの研究は、腸管上皮に対する短期的な影響（摂食後 2 時間）に焦点を当てたものであり、基底膜の窓の時間経過とダイナミクスはまだ十分に解明されていない。本研究では食餌条件に対する基底膜の窓の動態変化を明らかにすることを目的とした。

#### 方法

ラットの小腸を用いて、オスミウム浸漬により絨毛上皮を除去し、基底膜の窓を走査型電子顕微鏡（SEM）にて観察し、24 時間（すなわち、絶食時から摂食後 2、4、6、12、24 時間）における、空腸と回腸の基底膜の窓の構造変化を観察した。基底膜における単位面積当たりの窓数、単位面積当たりの窓面積、窓数に対する遊離細胞数を算出し、統計学的に分析した。

#### 結果

空腸では、摂食 2 時間後から窓数に対する遊離細胞数が増加し、単位面積当たりの窓面積も有意に増加し

た。しかし、単位面積当たりの窓数は統計学的に有意な差は認めなかった。摂食 6 時間後には窓数に対する遊離細胞数が減少し、単位面積当たりの窓面積も減少した。

このことから、摂食により基底膜の窓から移動する遊離細胞数が増加し、窓の大きさが増大し、時間経過により遊離細胞数が減少し、基底膜の窓の大きさも次第に絶食時の大きさに戻っていくという傾向がみられた。一方、回腸では、摂食による基底膜の窓の変化に統計学的有意差は認めなかった。

#### 考察

申請者らは以前、摂食条件下では基底膜の窓が通過する白血球の動態を通じて変化しうることを示唆した。今回、その結果を確認し、さらに、基底膜の窓の大きさは増加するが、その窓数は安定しているという新たな知見を得た。このことは、摂食に伴って基底膜の窓を通過する遊離細胞が増加し、遊離細胞が既存の窓を押し広げて基底膜を通過している可能性が考えられる。既存の基底膜の窓を利用することは、移動する遊離細胞の迅速な移動にスムーズであり、また、基底膜のバリア機能を維持する上でも合理的であると考えられた。

さらに、本研究では、摂食後増加した遊離細胞の数が時間経過とともに減少することを初めて明らかにした。これは摂食後に増加した基底膜の大きさが徐々に減少するという所見と一致した。基底膜の窓が閉鎖するメカニズムの一つとして、基底膜下にある上皮下繊維芽細胞の役割があげられる。上皮下繊維芽細胞は細胞ネットワークを形成しており、機械的ストレスに敏感で、細胞内  $Ca^{2+}$  の上昇と細胞からの ATP の放出によりネットワークの一過性の収縮を引き起こすことが知られている。したがって、上皮下線維芽細胞への刺激は、基底膜の窓の形態変化にも関与している可能性がある。

基底膜は上皮の細胞間空間と固有層との間のバリアを形成しており、申請者らの以前の研究で腸絨毛の基底膜の窓はカイロミクロンなどの大きな分子の栄養分の吸収経路となっていることが示唆されている。さらに、高脂肪食を与えた後の空腸では、基底膜の窓を通過する遊離細胞の数が増加し、基底膜の窓の大きさも増大することも以前の研究で示された。基底膜の窓は脂肪の吸収効率に関係している可能性が推測された。

近年では、欧米食に代表される高脂肪食に関連する疾患が注目されている。非アルコール性脂肪肝疾患は、高脂肪食による肥満や糖尿病が原因とされている。炎症性腸疾患、特にクローン病は腸管での異常な免疫反応や高脂肪食が病態に寄与している可能性があり、その治療には低脂肪食が推奨されている。基底膜の窓の動態が栄養吸収、特に脂質吸収の調節因子であることが示唆されていることから、基底膜の窓が高脂肪食関連疾患のメカニズムに関与している可能性も考えられた。

#### 審査結果の要旨

小腸上皮基底膜には、白血球などの遊離細胞の移動のための小さい孔（以下窓）がある。本研究の先行研究では、食事条件により窓がダイナミックに変化することを明らかにした。また、それがカイロミクロンの吸収に関与していることが推定された。しかし先行研究は腸管上皮に対する短期的（摂食後 2 時間）影響に焦点を当てたものであり、より長期の時間経過に伴う窓のダイナミクスは十分に解明されていない。

本研究ではラット小腸を用いて、長期経過（絶食時、摂食後 2, 4, 6, 12, 24 時間）における窓の変化につき、SEM を用いて観察した。その結果、空腸では摂食 2 時間後から窓数に対する遊離細胞数が増加し、単位面積当たりの窓面積も有意に増加したが、単位面積当たりの窓数には有意差はなかった。摂食 6 時間後には、窓数に対する遊離細胞数が減少し、単位面積当たりの窓面積も減少した。摂食により窓の大きさは増大するが数には変化がないことは新たな知見であった。一方、回腸ではこうした変化は認めなかった。これらのことから、摂食に伴い基底膜の窓を通過する遊離細胞が増加し、それらが既存の窓を押し広げて基底膜を通過していることが明らかになったと共に、そのことがカイロミクロンなどの高分子栄養分の吸収経路になっていることが示唆された。

以上から本研究は、摂食による小腸上皮基底膜の窓のダイナミクスをより明らかにしたことと、それが脂肪の吸収効率に関与している可能性を明示した点で学位論文としての価値を認める。