

研究区分	教員特別研究推進 地域振興
------	---------------

研究テーマ	腸オルガノイドを用いた栄養素吸収機能の測定				
研究組織	代表者	所属・職名	短期大学部・准教授	氏名	竹下 典子
	研究分担者	所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
		所属・職名		氏名	
	発表者	所属・職名	短期大学部・准教授	氏名	竹下 典子

講演題目	腸オルガノイドを用いた栄養素吸収機能の測定
研究の目的、成果及び今後の展望	<p>これまで消化管の栄養素吸収機構に関する研究は、動物個体または摘出した腸を用いるか、Caco-2 などの細胞発現系で行われてきている。しかし、Caco-2 は大腸由来であること、摘出小腸では絨毛の立体的な構造のため、吸収機能のみの定量的な測定などは困難であった。近年その手法が確立された「腸オルガノイド」は、動物個体や細胞株を用いた研究における問題点を解決できる新たなツールである。オルガノイドは人為的に創出された「器官に類似した組織体」であり、「ミニ臓器」とも呼ばれ、生体から採取した組織幹細胞から作成される。本研究では、小腸オルガノイドの単層培養法を確立し、栄養素吸収機能評価系を確立することを目的とした。</p> <p>マウスから小腸を採取し、幹細胞を含むクリプトを単離した。幹細胞の継代に必要な微小環境因子を培地に添加し、マトリゲル中で幹細胞を培養した。単層上皮を形成するために、球状の幹細胞群をトリプシンで処理し、マトリゲルでコートしたトランズウェルインサートに播種した。3日後、培養液を分化培地に交換し、分化を誘導した。</p> <p>分化誘導の前後で輸送機能に関連する mRNA の発現を観察した。小腸の主要な Cl 分泌に関与することが報告されている嚢胞性線維症膜貫通コンダクタンス制御因子 (CFTR) は未分化オルガノイドに多く発現し、分化後に減少した。主要なグルコーストランスポーターであるナトリウム依存性グルコース共輸送体 1 (SGLT1) の発現は分化後に増加した。マウス小腸では、クローディン 2 が陰窩の基部に発現し、絨毛では発現が低下する一方、クローディン 15 が絨毛で高発現することが報告されている。クローディン 2 は分化前に多く発現し、分化誘導後に減少したが、クローディン 15 は分化前後で遺伝子発現に変化は見られなかった。バリア機能に関与するクローディン 7 も分化前後で変化はなかった。</p> <p>続いて、分化誘導前後の SGLT1 および CFTR の活性を Using chamber 法により電気生理学的に解析した。分化誘導前の未分化のオルガノイドでは SGLT1 活性は観察されなかったが、分化後には明らかな SGLT 1 活性 (グルコース誘発性の短絡電流上昇) が観察された。CFTR 活性 (フォルスコリンの誘発性短絡電流上昇) は分化前後いずれのオルガノイドでも測定することができた。</p> <p>マウス小腸由来のオルガノイドをトランズウェル上で分化誘導し、単層培養機能測定系を確立した。今後消化管の栄養素機能測定への活用が期待される。</p>