

# 回腸吸収上皮細胞の形態および機能の変化

## Ileal Absorptive Cells Alter Its Morphology and Function

馬場 良子, 國分 啓司, 森本 景之, 藤田 守  
Ryoko Baba, Keiji Kokubu, Hiroyuki Morimoto and Mamoru Fujita

産業医科大学医学部第2解剖学

**要旨** 吸収上皮細胞は小腸絨毛上皮の大部分を占め、腸管腔からの栄養や水分吸収において中心的役割を担う。小腸だけでなく、大腸にも同名の細胞が存在し、いずれも形態的に類似するが、管腔から吸収する栄養の種類や管腔側へのIgAの分泌の有無など、細胞が存在する部位によって異なる機能を営む。乳飲期の齧歯類では、機能面だけでなく、部位によって異なる形態的特徴を有する吸収上皮細胞が存在する。しかし、離乳を境に、吸収上皮細胞の形態的差異は消失する。本稿では特に、乳飲期齧歯類の回腸に存在する吸収上皮細胞に着目し、その時期による形態および機能の変化について、また、オルガノイド培養法で得られた吸収上皮細胞の超微形態について紹介したい。

キーワード：乳飲期、回腸、吸収上皮細胞、エンドサイトーシス、オルガノイド

### 1. はじめに

小腸は栄養の消化・吸収を行う長い管状器官であり、その内腔を覆う上皮細胞の交代は体内で最も速いことが知られている。その機能と深く関わる構造として、管腔に向かって突出した絨毛と、その基部から粘膜固有層に陥入した陰窩（腸腺）があり、前者が消化・吸収面積の拡大を担い、後者が急速な細胞更新を支える場を形成している。絨毛上皮の大半は栄養素の終末消化と吸収を行う吸収上皮細胞が占めており、細胞頂部の微絨毛によってさらに表面積を拡大することで効率的にその機能を果たしている。機能は異なるが、同じ名称の細胞は大腸にも存在し、成熟期の腸では、この細胞の形態に部位による顕著な差異は認められない。しかし、乳飲期の齧歯類では部位によって異なる形態と機能を有する。本稿では小腸吸収上皮細胞の形態が部位だけでなく、時期（時間）的差異を示すことについて、特に、乳飲期齧歯類の小腸遠位部（回腸）吸収上皮細胞を中心に紹介したい。

### 2. 小腸粘膜の構造

小腸粘膜表面には絨毛が密生し、表面積の増大に貢献している。絨毛の形態は動物種でも異なるが、小腸の部位によっても異なり、教科書的に、ヒトでは指状、舌状や葉状等と表現され、近位部ほど発達する。また、著者らはこれまでに同一種の同一部位であっても、発達・成長の時期や栄養状態によってその形態が変化することを示してきた<sup>1)</sup>。出生直後から乳飲期にかけて、齧歯類小腸、特に、回腸の粘膜表面には先端が丸みを帯びた指状を呈する長短の絨毛が混在する

(図1a)が、成長と共に徐々に長さ太さを増し(図1b)、離乳後は長さの揃った舌状の形態を呈する。離乳前まで伸長を続けた絨毛は、興味深いことに、離乳の時期に一致してその高さを減じる(図1c)。その後は成長と共に伸長する。

一方、絨毛の基部付近には陰窩の開口が見られ、表面から観察することは難しいが、その奥に小腸上皮幹細胞が存在する。この陰窩の形成は生後2週頃に起こり、成長と共に深さを増す。

小腸の断面を観察すると、絨毛および陰窩の表面は単層円柱上皮で覆われ、粘膜固有層と呼ばれる疎性結合組織がその芯をなす。絨毛上皮の大半は吸収上皮細胞によって占められ、その間に杯細胞、基底顆粒細胞（内分泌細胞）、タフト細胞（刷子細胞）等の分泌系細胞が散在し、陰窩上皮には幹細胞の他に、未分化増殖細胞やパネート細胞等が存在する。陰窩底部の幹細胞の分裂によって生じた細胞は、陰窩を上昇して各種細胞へと分化するが、分化開始からわずか3～4日で絨毛先端に到達し、小腸管腔へと脱落する。このように細胞系譜の追跡が比較的容易であること、また、その更新速度のために、小腸は古くから幹細胞研究に用いられてきた組織でもある<sup>2,3)</sup>。

乳飲期回腸においても、絨毛および陰窩に、成熟期に見られる上皮細胞の種類を確認することができる。しかし、吸収上皮細胞（以下、乳飲期型）は核上部に核と同程度、あるいは、それより大きなライソゾーム（巨大ライソゾーム）を持つ点が成熟期（以下、成熟期型）とは明らかに異なり、この構造は光顕的にも容易に区別される(図1d)。巨大ライソゾームは離乳直前まで拡大を続ける(図1e)が、離乳と共に、この乳飲期型吸収上皮細胞は上皮から完全に消失する<sup>4)</sup>(図1f)。乳飲期は成熟期と比較して急速な個体成長が起こ

〒807-8555 福岡県北九州市八幡西区医生ヶ丘1-1  
2017年1月9日受付、2017年2月23日受理

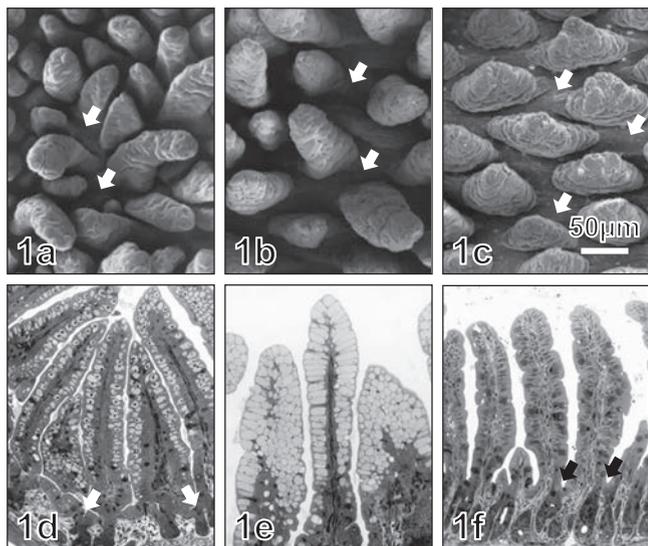


図1 回腸粘膜表面と横断像

(a), (d) 乳飲期 (生後 14 日齢). (b), (e) 乳飲期 (生後 19 日齢). (c), (f) 離乳期 (生後 21 日齢).

絨毛と陰窩の開口 (矢印) が観察される. 乳飲期の絨毛上皮には, 核上部に巨大ライソゾームを持った吸収上皮細胞が観察されるが, 離乳期には見られない. Bar = 50 μm

る時期であり, この成長を支持するように, 栄養吸収に重要な役割を果たす絨毛も急速に伸長する. BrdU (bromodeoxyuridine) を用いて分裂中の細胞を標識し, 経時的に追跡した結果, 乳飲期の小腸上皮細胞が絨毛先端から脱落するまでに要する時間は成熟期よりも長く, このことも絨毛の急速な伸長を支える因子の一つであると考えられる. しかし, 乳飲期型吸収上皮細胞の上皮からの消失はほぼ 1 日で完了する. これは, マウス<sup>5)</sup> やラット<sup>6)</sup> を用いた成熟期小腸における報告と近似している. この時期と一致して絨毛の高さは一時的に減少し, 上皮によって覆われる表面積を減少させるようにその形を変化させる.

### 3. 吸収上皮細胞の微細構造と機能解析

成熟期型吸収上皮細胞は円柱状を呈し, 細胞頂部に存在する発達した微絨毛が小腸表面積のさらなる拡大に寄与する. 細胞内にはやや基底部に偏って長楕円形の核が位置し, ミトコンドリア, 粗面小胞体は核上部および下部に存在し, ゴルジ装置, ライソゾームは核上部に観察される (図 2a, b). 小腸の部位によって栄養特異性はあるものの, 成熟期型吸収上皮細胞は消化管内に存在する各種消化酵素による管腔内消化 (一次消化) を受けた栄養を, 微絨毛膜表面に存在する消化酵素<sup>7)</sup> による終末消化 (二次消化または膜消化) で低分子化し, トランスポーター等を介して細胞内に取り込むことが知られている<sup>8,9)</sup>. 成熟期においては, 頂部細胞膜領域からの高分子物質の取り込み (エンドサイトーシス) や基底側部細胞膜領域への輸送 (トランスサイトーシス) は生じないものの, 逆方向のエンドサイトーシス機構は存在する. 特に,

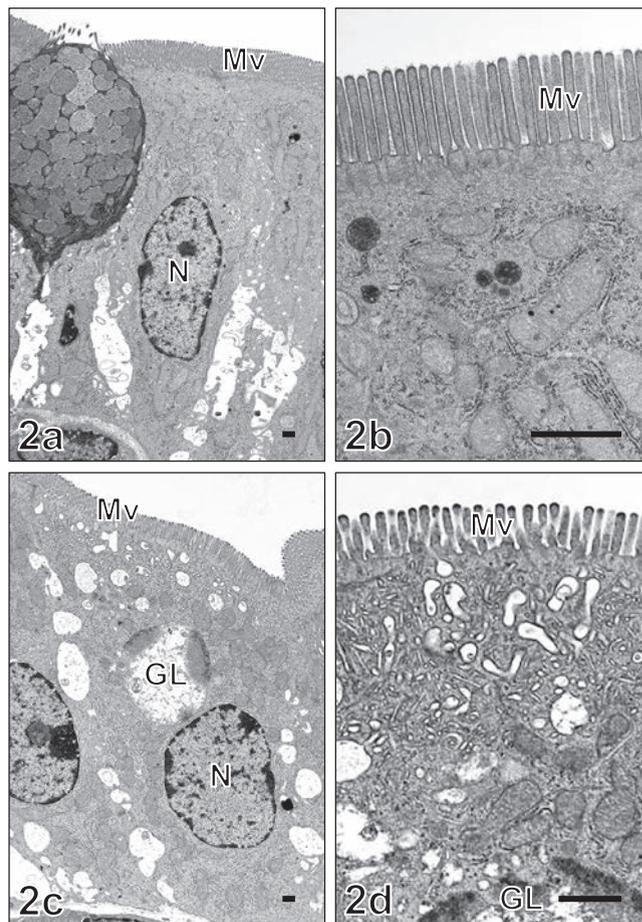


図2 回腸吸収上皮細胞

(a), (b) 成熟期. (c), (d) 乳飲期.

成熟期と異なり, 乳飲期では微絨毛 (Mv) 間の細胞膜の陥入, 細胞頂部の小胞, 空胞, 小管状構造のほか, 核 (N) 上部に巨大ライソゾーム (GL) が見られる. Bar = 1 μm

小腸近位部 (空腸) の吸収上皮細胞では, 基底側部細胞膜領域から pIgR (polymeric Ig receptor) を介したエンドサイトーシスによって IgA 二量体を取り込み, 頂部細胞膜領域へとトランスサイトーシスしている<sup>10)</sup>.

一方, 乳飲期型回腸吸収上皮細胞も成熟期型と同様に, 細胞頂部に発達した微絨毛を持ち, 細胞内に楕円形の核, ミトコンドリア, 粗面小胞体, ゴルジ装置, ライソゾームを持つ. それらに加えて, 微絨毛間の細胞膜の陥入, 細胞頂部の多数の小胞, 空胞, 小管状構造および, 核上部の巨大ライソゾームが存在する<sup>11)</sup> (図 2c, d). これらの乳飲期型に特徴的な膜系構造の機能は, HRP (horseradish peroxidase) を高分子物質のトレーサーとして用いることで明らかになる. 小腸管腔内に HRP を投与して一定時間後に観察すると, 膜系構造内に HRP の存在を確認することができる (図 3). このことは, 離乳後とは異なる栄養吸収様式 (頂部細胞膜領域からのエンドサイトーシス) が乳飲期に存在することを示す. 同時期の空腸では, 脂質の吸収のほか, FcRn (neonatal Fc receptor) を介して, 母乳中の IgG を頂部細胞膜領域からエンドサイ

トーススし、側部細胞膜領域へトランスサイトーシスすることが知られている<sup>12-14</sup>。この時期の胃は未発達で、管腔内消化はほとんど行われておらず、IgGは未消化のまま空腸に到達する。同様に、母乳中に含まれる栄養も消化を受けずに小腸に至るため、回腸吸収上皮細胞はそれらの栄養を前述の膜系を介して高分子の状態に取り込み、ライソゾーム内で低分子に分解、あるいは、巨大ライソゾーム内で一時貯蔵と低分子化を行う(図3a, d)。日数の経過と共に、それらの膜系は形態的に発達し、機能的にも活発化する。離乳が近づくと巨大ライソゾームはさらに拡大し、一見すると、機能が亢進しているかのように見える(図1e)。しかし、HRPを用いて解析を行うと、微絨毛直下の膜系内にはトレーサの存在を確認できるが、巨大ライソゾームへは輸送されず、もはや高分子物質の貯蔵や細胞内消化の機能を果たしていないことが判る(図3b, e)。その後ほぼ1日で、絨毛上皮は頂部細胞膜領域からのエンドサイトーシスに関与する膜系構造や

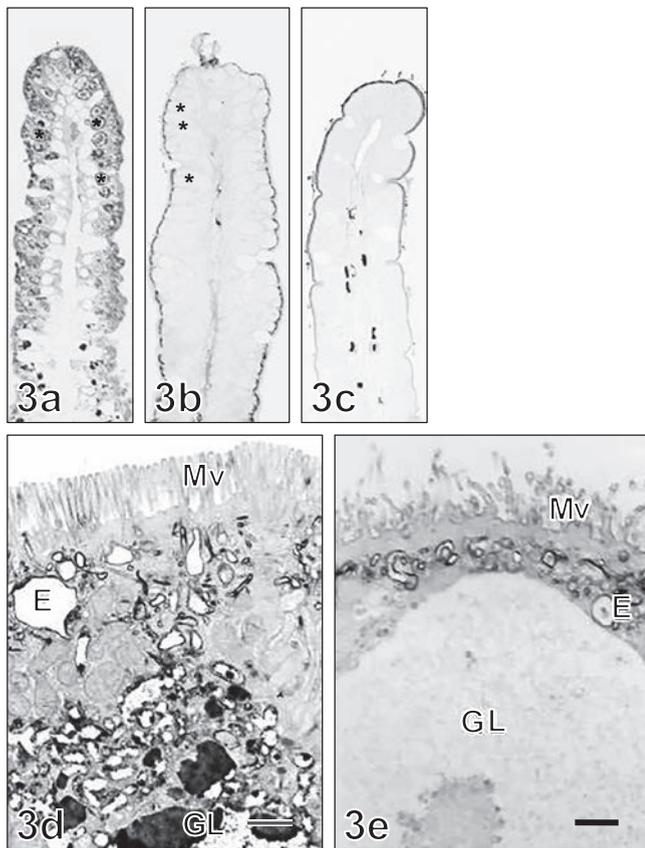


図3 HRPを投与した回腸絨毛と吸収上皮細胞

(a), (d) 乳飲期(生後14日齢)。(b), (e) 乳飲期(生後19日齢)。(c) 離乳期(生後21日齢)。

生後14日齢では絨毛全体の吸収上皮細胞において、微絨毛(Mv)間の細胞膜陥入部、細胞頂部の小胞、小管状構造、エンドゾーム(E)、ライソゾーム、巨大ライソゾーム(\*, GL)内にHRPの取り込みが見られる。生後19日齢では絨毛全体の吸収上皮細胞において、微絨毛直下の膜系構造、エンドゾーム内にHRPが存在するが、巨大ライソゾームには見られない。離乳期では細胞頂部からのエンドサイトーシスは生じない。Bar = 1 μm

巨大ライソゾームを有さない成熟期型吸収上皮細胞によって完全に置換され、離乳が完了する<sup>1)</sup>(図3c)。

離乳前に生じる乳飲期型吸収上皮細胞の形態・機能変化は、正常な離乳過程以外に、人工乳飼育を行った乳飲期の回腸において見ることができる。また、コルヒチンを投与し、微小管の重合を阻害することによっても類似した変化を生じる。しかし、乳飲期の間は、その機能の有無に関わらず、乳飲期型吸収上皮細胞が存在し続け、成熟期型への置換は生じない。このことから、管腔内の栄養の状態を感知して細胞内輸送を変化させる機構が存在し、乳飲期型から成熟期型吸収上皮細胞への置換にはある一定の時間(時期)が必要であると考えられる。

#### 4. オルガノイドによる解析

近年、Satoらによって、組織特異的な生体幹細胞を用いた3次元培養(細胞組織体培養)法が開発された<sup>15,16</sup>。小腸より陰窩、またはLgr5(leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5)陽性の幹細胞を単離して*in vitro*で培養することで、永続的に細胞組織体(オルガノイド)として増殖させることができる。オルガノイド(図4a)は上皮細胞のみから構成され、内腔に面した絨毛様構造と外方に突出した陰窩様構造を形成する。その上皮には生体において観察される全ての種類の細胞が含まれる。現在、小腸だけでなく、他臓器由来のオルガノイドが活発に作製され、様々な研究が展開されており、有用なツールとなっている。

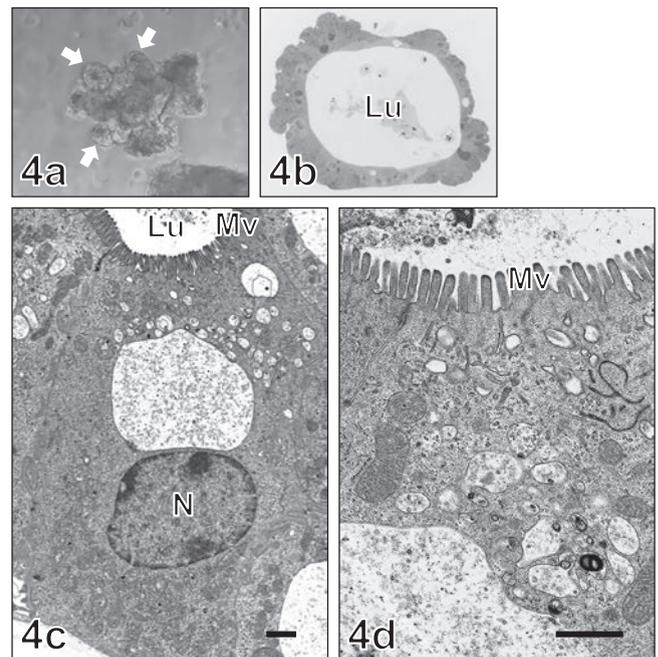


図4 乳飲期回腸陰窩由来オルガノイドと吸収上皮細胞

(a), (b) オルガノイド。(c), (d) 吸収上皮細胞。

内腔(Lu)と外方に突出した陰窩(矢印)が観察される。内腔側に微絨毛(Mv)を持ち、細胞膜の陥入、小胞、空胞、小管状構造のほか、核(N)上部に巨大ライソゾーム様構造を持った吸収上皮細胞が観察される。Bar = 1 μm

著者らも成熟期マウス小腸より部位別に陰窩を単離し、オルガノイドの作製を試みた。その結果、空腸と回腸由来の陰窩では産生される上皮細胞の割合および、吸収上皮細胞の機能が異なり、その割合と機能は、単離された陰窩が本来存在した小腸の部位（空腸または回腸）に類似し、小腸上皮幹細胞自身が位置の情報を有する可能性が示唆された<sup>17)</sup>。このことは他の研究者らの報告<sup>18,19)</sup>とも一致する。そこで次に、陰窩が単離された時期がオルガノイドに反映されるかを知る目的で、乳飲期型回腸吸収上皮細胞を指標として解析を行った。乳飲期回腸より単離した陰窩を培養した結果、得られたオルガノイドの吸収上皮細胞は同時期同部位のマウスほど発達していないものの、微絨毛間の陥入、細胞頂部の膜系構造と巨大ライソゾーム様構造を有し（図 4b-d）、乳飲期型回腸吸収上皮細胞と類似した。その構造は細胞頂部からのエンドサイトーシスを想起させる。現在、それらの膜系の機能について解析中である。

陰窩底部に位置する小腸上皮幹細胞は、パネート細胞によって取り囲まれるように存在する。パネート細胞自身も幹細胞に由来する分化した上皮細胞であり、リゾチーム、ディフェンシンやホスホリパーゼ A2 を分泌して自然免疫に関与することが知られている。最近、オルガノイドを用いた研究により、パネート細胞が幹細胞維持に必要な増殖因子（EGF, TGF $\alpha$ , Dll4, Wnt3）を発現しており、小腸上皮幹細胞維持のための微小環境（ニッチ）を形成するという新たな機能が報告されている<sup>20)</sup>。また、パネート細胞の前駆細胞は、腸管傷害時において幹細胞に脱分化可能な予備幹細胞であることも判っている<sup>21)</sup>。

マウスにおけるパネート細胞の成熟は生後 2 週に起こるが、これは陰窩形成の時期と一致し<sup>22,23)</sup>、絨毛形成開始（胎齢 15 日）や乳飲期型吸収上皮細胞の出現より遅い。この時期を境に、幹細胞培養によって形成される構造がスフェロイド（組織への分化能を保持した細胞のコロニー）になるか、オルガノイドになるかが切り替わることから、エピジェネティックな制御により幹細胞の運命が決定されることが示唆されている<sup>24)</sup>。著者らの着目する吸収上皮細胞も離乳という時期の前後で乳飲期型から成熟期型へのスイッチが起こること、また、その移行は陰窩形成およびパネート細胞の成熟に遅れて生じることから、このスイッチにもエピジェネティックな機構が関与する可能性を考え、現在、解析を進めている。

## 5. まとめ

電子顕微鏡を用いた研究によって、小腸の第 1 の機能である消化と吸収に関する多くの微細構造や機構が明らかにされてきた。それと同時に、上皮細胞の代謝の速さから、細胞増殖・分化や細胞動態に関する研究も数多く行われてきた。また、最近では、腸管特有の免疫機構（腸管免疫系）に着目した研究も盛んに行われている。種々の研究手法を用いて様々な角度から小腸という器官にアプローチする研究が行われているものの、吸収上皮細胞の多様性に対する認知度は低く、

同じ名前の細胞として一括りに扱われることも少なくない。難治性下痢症のヒト小腸吸収上皮細胞においては、本来、低分子に分解して吸収を行う時期であっても、高分子のまま栄養を取り込み、細胞内消化を行う機構が存在することが知られている。齧歯類において、時期によって生じる小腸の変化とそれに関わる機構を明らかにすることは、一般的な実験動物としての齧歯類の基礎的情報を得るだけでなく、構造的、機能的類似性を持った組織、細胞の理解にも有用であると考え、今回、回腸吸収上皮細胞の時期的変化（多様性）について、紹介させていただいた。

組織幹細胞を用いたオルガノイド作製法が発表されて以来、マウスやヒト由来の小腸をはじめ、胃、大腸、肝臓、肺等からオルガノイドが作製されており、新たな知見も多く得られ、臨床応用を見据えた研究も多数報告されている。今後、上皮とそれ以外の細胞や組織との共培養による、より生体を反映したモデルの確立や、新しい研究手法の導入などによって、既知と考えられている小腸の構造と機能にもさらなる研究の発展や新たな展開が期待される。

## 文 献

- 1) Fujita, M., Baba, R., Shimamoto, M., Sakuma, Y. and Fujimoto, S.: *Med. Mol. Morphol.*, **40**, 1-7 (2007)
- 2) Cheng, H. and Leblond, C.P.: *Am. J. Anat.*, **141**, 537-561 (1974)
- 3) Potten, C.S. and Loeffler, M.: *Development*, **110**, 1001-1020 (1990)
- 4) Baba, R., Yamami, M., Sakuma, Y., Fujita, M. and Fujimoto, S.: *Med. Mol. Morphol.*, **38**, 47-53 (2005)
- 5) Leblond, C.P. and Messier, B.: *Anat. Rec.*, **132**, 247-259 (1958)
- 6) 加来 博, 小島 晃, 林 孝次, 堀井正清, 中村清文, 藤田智也: 日本組織学記録, **23**, 7-19 (1962)
- 7) Semenza, G.: in Martonosi A. (Ed.), *The enzymes of biological membranes*, Plenum Press, New York, 349-382 (1976)
- 8) Kellett, G.L. and Helliwell, P.A.: *Biochem. J.*, **350**, 155-162 (2000)
- 9) Yoshioka, T., Inoue, R., Matsumoto, M., Yajima, T., Ushida, K. and Iwanaga, T.: *Histochem. Cell Biol.*, **135**, 183-194 (2011)
- 10) Walker, W.A. and Isselbacher, K.J.: *N. Engl. J. Med.*, **297**, 767-773 (1977)
- 11) Fujita, M., Reinhart, F. and Neutra, M.: *J. Cell. Sci.*, **97**, 385-394 (1990)
- 12) Rodewald, R.: *J. Cell Biol.*, **58**, 189-211 (1973)
- 13) Roopenian, D.C. and Akilesh, S.: *Nat. Rev. Immunol.*, **7**, 715-725 (2007)
- 14) Kumagai, N., Baba, R., Sakuma, Y., Arita, K., Shinohara, M., Kourogi, M., Fujimoto, S. and Fujita, M.: *Med. Mol. Morphol.*, **44**, 71-78 (2011)
- 15) Sato, T., Vries, R.G., Snippert, H.J., van de Wetering, M., Barker, N., Stange, D.E., van Es, J.H., Abo, A., Kujala, P., Peters, P.J. and Clevers, H.: *Nature*, **459**, 262-265 (2009)
- 16) Sato, T. and Clevers, H.: *Methods Mol. Biol.*, **945**, 319-328 (2013)
- 17) Takahashi, H., Baba, R., Ishimatsu, N., Morimoto, H. and Fujita, M.: *J. Physic. Sci.*, **65**, S164 (2015)
- 18) Middendorp, S., Schneeberger, K., Wiegeler, C.L., Mokry, M., Akkerman, R.D., van Wijngaarden, S., Clevers, H. and Nieuwenhuis, E.E.: *Stem Cells*, **32**, 1083-1091 (2014)
- 19) Fukuda, M., Mizutani, T., Mochizuki, Q., Matsumoto, T., Nozaki, K.,

- Sakamaki, Y., Ichinose, S., Okada, Y., Tanaka, T., Watanabe, M. and Nakamura, T.: *Genes Dev.*, **28**, 1752–1757 (2014)
- 20) Sato, T., van Es, J.H., Snippert, H.J., Stange, D.E., Vries, R.G., van den Born, M., Barker, N., Shroyer, N.F., van de Wetering, M. and Clevers, H.: *Nature*, **469**, 415–418 (2011)
- 21) Buczacki, S.J., Zecchini, H.I., Nicholson, A.M., Russell, R., Vermeulen, L., Kemp, R. and Winton, D.J.: *Nature*, **495**, 65–69 (2013)
- 22) Montgomery, R.K., Mulberg, A.E. and Grand, R.J.: *Gastroenterology*, **116**, 702–731 (1999)
- 23) Spence, J.R., Mayhew, C.N., Rankin, S.A., Kuhar, M.F., Vallance, J.E., Tolle, K., Hoskins, E.E., Kalinichenko, V.V., Wells, S.I., Zorn, A.M., Shroyer, N.F. and Wells, J.M.: *Nature*, **470**, 105–109 (2011)
- 24) Fordham, R.P., Yui, S., Hannan, N.R., Soendergaard, C., Madgwick, A., Schweiger, P.J., Nielsen, O.H., Vallier, L., Pedersen, R.A., Nakamura, T., Watanabe, M. and Jensen, K.B.: *Cell Stem Cell*, **13**, 734–744 (2013)