



# ラット空腸腸絨毛における小型乳ビ球の毛細血管からの取り込みに関する超微形態学および免疫組織化学的研究

高原, 英一郎

---

(Degree)

博士 (農学)

(Date of Degree)

2015-03-06

(Date of Publication)

2016-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙第3272号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2003272>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



## 論文内容の要旨

氏 名 高原 英一郎

## 論文題目

ラット空腸腸絨毛における小型乳ビ球の毛細血管からの取り込みに関する超微形態学および免疫組織化学的研究

一般に動物の小腸では、食餌中のタンパク質や多糖類などの栄養素は消化の過程でアミノ酸や単糖等の小型の分子まで分解されてから腸絨毛の絨毛円柱上皮細胞によって取り込まれ、毛細血管から輸送されるとされている。また、脂肪は脂肪酸とグリセロールに分解された後、短鎖脂肪酸や中鎖脂肪酸の一部が受動拡散によって絨毛円柱上皮細胞に取り込まれ、直接上皮直下の毛細血管から輸送されるとされるが、中鎖脂肪酸の一部や長鎖脂肪酸は絨毛円柱上皮細胞に取り込まれて脂肪滴に再合成されてから乳ビ球として上皮細胞間隙や粘膜固有層に放出され、毛細血管には取り込まれずに中心リンパ管からのみ取り込まれて輸送されると考えられてきた。しかしながら、古くから腸管内腔の未消化の大型の分子や粒子状物が全身循環血中出现するパーソープションと呼ばれる現象がヒトや様々な動物種において報告されてきており、絨毛円柱上皮細胞に取り込まれた粒子状物が上皮直下の毛細血管に直接取り込まれることが明らかにされてきた。これらのことから、腸絨毛の上皮直下の毛細血管には大型の分子や粒子状物を取り込む能力を有することが推察され、乳ビ球もまた中心リンパ管のみならず上皮下毛細血管からも取り込まれて肝門脈へ直接輸送されることが想定された。そこで本学位論文では、ラットを実験モデルとして腸絨毛の上皮下毛細血管における乳ビ球の取り込みの可能性およびその取り込みのメカニズムの一端を明らかにすることを目的とした。

第I章では透過型電子顕微鏡を用いて超微形態学的にラット空腸の腸絨毛を精査した。その結果、腸絨毛の粘膜固有層には直径600 nm以上の乳ビ球がみられなかったにも関わらず、腸絨毛の先端には直径600 nm以上の大型の脂肪滴を有する絨毛円柱上皮細胞がみとめられ、大型の脂肪滴を保有したまま腸管内腔へ脱落していく上皮細胞がみとめられた。また、腸絨毛基部の細静脈と粘膜下組織の細動脈の内腔の乳ビ球の数を定量組織学的に比較すると、細静脈内腔の方が有意に多かった。加えて、上皮直下の毛細血管間の結合組織とその直上の上皮細胞間隙内の乳ビ球の直径毎の粒度分布が類似しており、直径が45から60 nmの乳ビ球が最も多かった。これに対して、上皮直下の毛細血管直上の上皮細胞間隙では直径45から60 nmの乳ビ球が最も多かったのに対して、同間隙直下の毛細血管近傍の結合組織に直径75から90 nmの乳ビ球が最も多く、直径75 nm未満の乳ビ球の割合が減少していた。加えて、中心リンパ管内腔では直径60から75 nmの乳ビ球が最も多く、上皮直下の毛細血管間の結合組織中の乳ビ球の最高頻度の直径と上皮直下の毛細血管近傍の結合組織中の乳ビ球の最高頻度の中間の値であった。加えて、上皮直下の毛細血管内皮の細胞質中の小型の乳ビ球が膜に包まれて輸送されている超微形態学的所見も得られた。以上の所見から、直径600 nm以上の脂肪滴は乳ビ球としては粘膜固有層には放出されずに上皮細胞とともに脱落することが示唆された。また、直径75 nm未満の小型の乳ビ球の一部は中心リンパ管のみならず、上皮直下の毛細血管からも取り込まれて直接肝門脈血中へ輸送されることが示唆されるとともに、小型の乳ビ球が毛細血管内皮を輸送されるメカニズムは受容体を介したトランスサイトーシスであることが想定された。

第II章では、小腸腸絨毛の上皮下毛細血管における小型乳ビ球の取り込みのメカニズムの一端を明らかにするために、リポタンパク質の取り込みに関わるとされるVLDL受容体とLDL受容体に着目し、これらの受容体がラット空腸腸絨毛の上皮下毛細血管に発現しているか否かを免疫組織化学的および定量組織学的に精査するとともに、乳ビ球の分布と受容体の発現との関係を調べた。その結果、ラット空腸の一部の腸絨毛の上皮下毛細血管の内皮細胞にVLDL受容体の陽性のみとめられたが、LDL受容体の陽性は上皮直下の毛細血管にはみられなかった。上皮直下の毛細血管の内皮細胞におけるVLDL受容体の陽性は遊離縁側の細胞膜と基底側の細胞膜の両方にみとめられた。さらに、上皮直下の

毛細血管における VLDL 受容体の発現と粘膜固有層における乳ビ球の量との関係を調べた結果、粘膜固有層中に多数の乳ビ球が存在する腸絨毛の約 68% で上皮直下の毛細血管の内皮細胞に VLDL 受容体の陽性がみとめられたのに対して、粘膜固有層中に乳ビ球がほとんど存在しない腸絨毛の約 8% にのみ上皮直下の毛細血管内皮に VLDL 受容体陽性がみとめられ、両者間には有意な差がみとめられた。これらの所見から、上皮直下の毛細血管内皮細胞における VLDL 受容体の発現は粘膜固有層に多数の乳ビ球が充満した時に起こり、毛細血管内への小型の乳ビ球の取り込みを仲介することが示唆された。

以上の所見を総合すると、本学位論文では、従来リンパ行性に体循環に運ばれるとされてきた乳ビ球が、直径 75 nm 未満の小型の乳ビ球の一部のみ上皮直下の毛細血管から VLDL 受容体を介して取り込まれて直接門脈血へトランスサイトーシスされることが明らかになるとともに、VLDL 受容体は粘膜固有層に多数の乳ビ球が充満した時に発現することが明らかにされた。

氏名	高原 英一郎		
論文 題目	ラット空腸腸絨毛における小型乳ビ球の毛細血管からの取り込みに関する超微形態学および免疫組織化学的研究		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	教授	北川 浩
	副査	教授	河野 潤一
	副査	教授	星 信彦
	副査		
要 旨			
<p>本学位論文は総著、第I章及び第II章で構成されており、総著には本学論文の研究に至った経緯が記載されている。その概要は以下の通りである。</p> <p>一般にヒトや動物の消化管では、食餌中のタンパク質や多糖類などの栄養素がアミノ酸や単糖等の小型分子に分解され、腸絨毛表面の絨毛円柱上皮細胞によって取り込まれた後、上皮下の毛細血管から輸送されるとされている。同様に、脂肪は脂肪酸とグリセロールに分解された後、短鎖脂肪酸や中鎖脂肪酸の一部については受動拡散によって絨毛円柱上皮細胞に取り込まれ、直接上皮直下の毛細血管から輸送されるが、中鎖脂肪酸の一部や長鎖脂肪酸については絨毛円柱上皮細胞に取り込まれた後、脂肪滴に再合成されてから乳ビ球として上皮細胞間隙や粘膜固有層に放出され、毛細血管からは輸送されずに中心リンパ管から輸送されると考えられてきた。しかしながら、古くから腸管内腔に存在する未消化の大型の分子や粒子状物が体循環血中出现するパーソープション <i>persorption</i> と呼ばれる現象がヒトや様々な動物種で報告されてきており、近年絨毛円柱上皮細胞に取り込まれた粒子状物が上皮直下の毛細血管に直接取り込まれることが証明されてきた。これらのことから、腸絨毛の上皮直下に存在する毛細血管は大型の分子や粒子状物を取り込む特殊な血管であることを推察しており、乳ビ球もまた中心リンパ管のみならず上皮直下の毛細血管から取り込まれて肝門脈へ直接輸送されることを想定している。そこで、本学位論文は、ラットの空腸を実験モデルとして腸絨毛の上皮直下の毛細血管における乳ビ球の取り込みの可能性や、さらに乳ビ球を取り込む際のメカニズムの一端を解明することを目的としている。</p> <p>第I章では透過型電子顕微鏡を用いてラット空腸の腸絨毛を超微形態学的に精査している。その結果、腸絨毛先端の絨毛円柱上皮細胞には直径600 nm以上の大型の脂肪滴が多数みとめられるにも関わらず、粘膜固有層には直径600 nm以上の乳ビ球がみられず、さらに600 nm以上の大型の脂肪滴を保有した絨毛円柱上皮細胞が腸管内腔へ脱落する像を頻繁にみとめている。また、腸絨毛基部の粘膜固有層に存在する細静脈内腔と粘膜下組織に存在する細動脈内腔における乳ビ球の直径と数を定量組織学的に比較すると、細静脈内腔の直径30 から75 nmの小型の乳ビ球が有意に多いことを明らかにしている。加えて、腸絨毛先端の上皮直下に存在する毛細血管間の結合組織中に存在する乳ビ球の直径毎の粒度分布と、その直上の上皮細胞間隙内に存在する乳ビ球の粒度分布とを比較した結果、両者の粒度分布は近似しており、最多出現頻度の直径が45 から60 nmの範囲内にあるとしている。これに対して、上皮直下の毛細血管近傍の結合組織内に含まれる乳ビ球と直上の上皮細胞間隙に存在する乳ビ球の粒度分布とを比較した結果、上皮細胞間隙には直径45 から60 nmの乳ビ球が最も多いのに対して、毛細血管近傍の結合組織には直径75 から</p>			

氏名	高原 英一郎
<p>90 nmの乳ビ球が最も多く、直径75 nm未満の小型の乳ビ球の割合が減少することをみとめている。加えて、中心リンパ管の内腔に最も多く出現する乳ビ球の直径は60 から75 nmで、上皮直下の毛細血管間の結合組織中に最も多く出現する乳ビ球の直径と上皮直下の毛細血管近傍に最も多く出現する乳ビ球の直径の中間の値であるとともに、上皮直下の毛細血管を内張りする内皮細胞の細胞質内には、細胞膜に包まれて輸送される小型の乳ビ球をみとめている。以上の所見から、第I章では、絨毛円柱上皮細胞で形成された直径600 nm以上の脂肪滴は乳ビ球として粘膜固有層には放出されずに上皮細胞とともに脱落することを明らかにしている。さらに、直径75 nm未満の小型の乳ビ球は中心リンパ管に加えて、上皮直下の毛細血管にも取り込まれて直接肝門脈血中へ輸送されることを明らかにするとともに、小型の乳ビ球が毛細血管内皮を通過するメカニズムが受容体を介したトランスサイトosisであることを想定している。 (<i>The Journal of Veterinary Medical Science</i> 75 (12): 1563-1569, 2013 に公表済)</p> <p>第II章では、腸絨毛の上皮直下の毛細血管における小型乳ビ球の取り込みのメカニズムの一端を明らかにするために、生体内の様々な細胞でリポタンパク質の取り込みに関わるとされるVLDL受容体とLDL受容体に着目し、これらの受容体がラット空腸の腸絨毛の上皮直下に存在する毛細血管に発現するか否かについて免疫組織化学的および定量組織学的に検討するとともに、乳ビ球の分布と上記受容体の発現との関係を調べている。その結果、一部の腸絨毛先端の上皮直下に存在する毛細血管の内皮細胞にVLDL受容体が発現するが、LDL受容体は発現しないことを明らかにしている。また、上皮直下の毛細血管の内皮細胞では、VLDL受容体が遊離縁側の細胞膜と基底側の細胞膜の両方に発現することをみとめている。さらに上皮直下の毛細血管におけるVLDL受容体の発現と粘膜固有層における乳ビ球の量との関係を定量組織学的に調べた結果、粘膜固有層中に多数の乳ビ球が存在する腸絨毛のうち、約68%の腸絨毛で上皮直下の毛細血管の内皮細胞にVLDL受容体が発現するのに対して、粘膜固有層中に乳ビ球がほとんどみられない腸絨毛では、約8%の腸絨毛にしか上皮直下の毛細血管内皮にVLDL受容体が発現せず、両者の差が有意であることをみとめている。以上の所見から、第II章では、ラットの空腸では粘膜固有層に多数の乳ビ球が充満した時に上皮直下の毛細血管の内皮細胞にVLDL受容体が発現することを明らかにしている。 (<i>The Journal of Veterinary Medical Science</i> 77 (4): in press, 2014年12月11日にJ-STAGEにて公表済)</p> <p>以上、本学位論文では、従来ヒトや動物の消化管で小腸の粘膜からリンパ行性に体循環血に運ばれるとされてきた乳ビ球のうち、直径75 nm未満の小型の乳ビ球の一部が上皮直下の毛細血管の内皮細胞に発現するVLDL受容体を介して直接肝門脈血へトランスサイトosisされることを明らかにするとともに、このVLDL受容体の毛細血管内皮での発現が腸絨毛の粘膜固有層に乳ビ球が充満した時に起こることを明らかにしている。</p> <p>したがって、本学位論文は、ヒトや動物における消化管の組織学や生理学等の分野に新たな基礎的知見を提供するとともに、畜産学、獣医学および医学の発展に大きく貢献するものと考えられ、価値ある研究成果の集積であると認める。よって学位申請者の高原英一郎氏は、博士(農学)の学位を得る資格があると認める。</p>	