

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 6 年 4 月 30 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 東京大学大学院農学生命科学研究科
職 名 特任准教授
研究代表者 小林彰子

下記のとおり令和5年度の共同研究成果を報告します。
記

(課題番号:)

1. 共同研究課題名	二次胆汁酸産生腸内細菌と代謝疾患に関する研究				
2. 共同研究目的	近年の次世代シーケンサーを利用した大規模解析の結果、我々の体内に存在する腸内細菌の乱れは宿主であるヒトの生理機能や疾患発症に関連があることが明らかになってきている。実験マウスに抗生剤を投与し、強制的に腸内細菌叢を攪乱すると、二次胆汁酸を産生する細菌数が低下し、肝臓の二次胆汁酸濃度が低下することが知られている。しかし胆汁酸の代謝、ならびに再吸収に関する胆汁酸受容体の発現調節機構は未だ不明である。本共同研究では、ヒト小腸由来オルガノイドと腸内細菌共培養システムを利用して、腸内細菌(代謝産物)による胆汁酸受容体の発現調節の分子基盤の理解を図る。本研究により、腸内細菌依存的な胆汁酸代謝ならび再吸収機構が解明されれば、二次胆汁酸を産生する細菌を標的とした新規糖尿病や脂質代謝異常症などの代謝疾患の予防や治療法の開発につながる可能性がある。				
3. 共同研究期間	令和5年4月1日 ～ 令和6年3月31日				
4. 共同研究組織					
氏 名	所属等	職名等	役 割 分 担		
(研究代表者) 小林 彰子	東京大学大学院農学生命科学研究科	特任准教授	研究の総括		
(分担研究者) 高島 優季	東京大学大学院農学生命科学研究科	大学院生	胆汁酸取り込み実験・解析		
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	粘膜エコシステム分野	氏 名	佐々木 伸雄	

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

(課題番号:)

6. 共同研究計画

本共同研究では、申請者が胆汁酸の再吸収に関与する可能性のある分子を網羅的に探索し、それらを上皮細胞に強制発現させながら、胆汁酸の取り込み試験を行うことで候補因子を絞り込む。実際に、共同研究先の佐々木先生のグループの協力の下、我々の研究成果で絞り込まれたいくつかの候補分子はヒト小腸上皮細胞に発現していることを確認している。そこで具体的には、以下の項目に取り組む。

(1) 胆汁酸輸送体候補遺伝子の探索: 佐々木研究室で保有しているヒト十二指腸組織、およびヒト十二指腸オルガノイドのシングルセル RNA-seq データや bulk RNA-seq データを利用して、我々が見出している胆汁酸輸送体候補因子のヒト腸管上皮における発現パターンを調べる。また、腸管上皮に発現が確認できた胆汁酸受容体候補因子については、リアルタイム qPCR やウエスタンブロッティング法により実際にヒト十二指腸や回腸オルガノイドで発現しているかを検討する。

(2) 胆汁酸取り込み試験: 小腸の回腸末端から吸収され、門脈を経て肝臓へ輸送される腸管循環型の胆汁酸はコール酸やケノデオキシコール酸などが知られている。ヒト回腸オルガノイドを利用して、これらの胆汁酸の吸収が吸収されるかについて確認する。この評価系が確立すれば、RNAi 法によるノックダウンや CRISPR/Cas9 法を利用して候補遺伝子の機能欠損株を作製し、胆汁酸受容体の機能解析を予定する。

7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

(1) 胆汁酸輸送体候補遺伝子の探索: 佐々木研究室で保有しているヒト十二指腸組織、ならびにヒト十二指腸オルガノイドのシングルセル RNA-seq データや bulk RNA-seq データを利用して、我々が見出している胆汁酸輸送体候補のヒト腸管上皮における発現パターンを調べた。また、腸管上皮に発現が確認できた胆汁酸受容体候補因子について、リアルタイム qPCR やウエスタンブロッティング法により、佐々木研究室が所有するヒト十二指腸や回腸オルガノイドを用いてリアルタイム PCR により発現を調べ、候補輸送体を2種同定した。

(2) 胆汁酸取り込み試験: ヒト小腸吸収モデル細胞および輸送体発現細胞を利用して、胆汁酸の吸収機作を検討した。速度論的解析により、候補輸送体は既知の胆汁酸輸送体 (ASBT) と比較し K_m 値が高い一方、 V_{max} が高く、pH 依存性を示すことが明らかとなった。現在 CRISPR/Cas9 法にてヒト小腸吸収モデル細胞にて候補輸送体をノックアウトし、輸送が低下するか検討を進めている。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDF ファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係 e-mail: kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp

① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

1. 日本農芸化学会 2024 年度大会, 2024/03/25, 消化管における胆汁酸輸送機作の解析, 黒部(高島) 優季、齋藤 佑太、宮脇 里奈、三坂 巧、柳澤 宏太、宮内 栄治、佐々木 伸雄、荻原 琢男、小林 彰子。
2. 日本農芸化学会 2024 年度大会, 2024/03/25, ヒトと齧歯類における腸管胆汁酸トランスポーターの比較, 齋藤 佑太、黒部(高島) 優季、小林 彰子。
3. 日本農芸化学会 2024 年度大会, 2024/03/26, 消化管における胆汁酸吸収実態, 小林彰子。

④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

- ・佐々木研究室の所有するヒト十二指腸組織、ならびにヒト十二指腸オルガノイドのシングルセル RNA-seq データや bulk RNA-seq データの解析およびそのディスカッション
- ・共同研究者(黒部)が佐々木研究室にてヒト十二指腸オルガノイドを培養した。佐々木研究室にてヒト十二指腸組織、ならびにヒト十二指腸オルガノイドから totalRNA を抽出し、RT-qPCR にて mRNA 発現量を定量した。
- ・CRISPR/Cas9 法にてヒト小腸吸収モデル細胞で候補輸送体をノックアウトするために必要なディスカッション。
- ・成果を論文化するためのディスカッション。