

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 8 年 4 月 28 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 北海道大学大学院水産科学研究院
職 名 准教授
研究代表者 小林彰子

下記のとおり令和7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	ヒトオルガノイドを用いた新規胆汁酸受容体解析研究			
2. 共同研究目的	我々はこれまでに、大腸癌株細胞 Caco-2 を用いて新規の胆汁酸受容体候補遺伝子群の同定に成功した。しかし、これらの新規胆汁酸受容体の発現は大腸癌由来細胞でのみ確認されており、生理的な条件下では不明な点が多い。そこで、本共同研究では、佐々木先生が作成している群馬大学オルガノイドバイオバンクを利用して、我々が同定した新規胆汁酸受容体候補因子の発現や細胞内局在を確認・検証を行う。本研究により、詳細な胆汁酸代謝ならびに再吸収機構が解明されれば、腸内細菌依存的に産生される二次胆汁酸の新規制御方法の開発が期待され、新規糖尿病や脂質代謝異常など代謝疾患の予防法の開発につながる可能性がある。			
3. 共同研究期間	令和7年4月1日 ~ 令和8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	北海道大学大学院水産 科学研究院	准教授	研究の総括	
(分担研究者) 高島 優季	お茶の水女子大学	博士研究員	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（北海道大学）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、同定した新規胆汁酸受容体候補遺伝子の機能解析を実施する。そこで具体的には、以下の項目に取り組む。

(1) 胆汁酸受容体候補遺伝子の発現パターン解析: これまでの共同研究成果により、胆汁酸受容体の中には吸収上皮細胞(分化細胞)、または幹細胞～TA 細胞領域(未分化細胞)のそれぞれに発現していることがわかった。そこで、分化細胞リッチ、または未分化細胞リッチになるようなオルガノイド培地で培養したオルガノイドを用いて、それぞれの遺伝子発現についてパターン比較解析を行う。

(2) 細胞内局在解析: 佐々木先生らは生理的な細胞極性を保持したまま二次元(単層)で腸管上皮を培養できる技術の開発に成功している。そこで本課題において、ヒト小腸上皮細胞を単層培養し、同定した新規胆汁酸候補因子の抗体染色を行うことで、それらの細胞内局在を詳細に観察する。

(3) 小腸と大腸の組織間比較解析: 業者から購入したヒト組織 RNA を用いた我々の予備検討の結果、同定した胆汁酸候補遺伝子の発現は小腸組織と大腸組織で異なっていることがわかった。そこで、この知見を検証するために、佐々木先生が作成した群馬大学オルガノイドバイオバンクにストックされている、ヒト正常小腸由来オルガノイドやヒト正常大腸由来オルガノイド株を用いて、リアルタイム qPCR 法で遺伝子発現を検証する。

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。

2024年度にヒト大腸オルガノイドにおいて mRNA およびタンパク質レベルで発現が確認された ASBT 以外の胆汁酸輸送体候補 OATP1B3 について、Caco-2 細胞単層膜における局在性を免疫染色により検討した。その結果、OATP1B3 は Caco-2 細胞単層膜において頂端膜マーカーである ezrin と共局在しており、頂端膜側に発現することが明らかとなった。さらに、群馬大学生体調節研究所にて、佐々木教授の下、ヒト大腸オルガノイド単層膜を作製し、Caco-2 細胞単層膜と同様に免疫染色により OATP1B3 の局在性を解析した。その結果、大腸オルガノイド単層膜においても OATP1B3 は頂端膜側に局在していることが確認された。加えて、大腸オルガノイド単層膜を用いてタウロコール酸の透過試験を行ったところ、タウロコール酸の時間依存的な透過および細胞内蓄積が認められた。以上の結果から、ヒト大腸オルガノイド単層膜には OATP1B3 が発現しており、本輸送体が胆汁酸輸送に関与する可能性が示された。これらの結果をまとめ、*Journal of Biological Chemistry* 誌に投稿し掲載された。

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: 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

Kurobe-Takashima Y, Yanagisawa K, Saito Y, Miyawaki R, Misaka T, Mizoi J, Miyauchi E, Sasaki N, Ogihara K, Kobayashi S, Contribution of organic anion transporting polypeptides to bile acid uptake in the Caco-2 cell monolayer and gastrointestinal tract, *Journal of Biological Chemistry*, 302(3):111205 (2026).

② この共同研究に基づくとの記載のある論文

Kurobe-Takashima Y, Yanagisawa K, Saito Y, Miyawaki R, Misaka T, Mizoi J, Miyauchi E, Sasaki N, Ogihara K, Kobayashi S, Contribution of organic anion transporting polypeptides to bile acid uptake in the Caco-2 cell monolayer and gastrointestinal tract, *Journal of Biological Chemistry*, 302(3):111205 (2026).

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)

日本分子生物学会, ミニシンポジウム, 2026.12.04, 腸管における胆汁酸輸送体の解析: ASBT 以外の経路の可能性を探る

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)

Journal of Biological Chemistry 誌に論文を投稿したところ、レビューから大腸オルガノイドにおけるタンパク質レベルでの発現、局在、および胆汁酸輸送能を明らかにするよう指摘があった。群馬大学生体調節研究所の佐々木教授にご相談し、お茶の水女子大学博士研究員高島優季氏が先生の下でオルガノイドの作成および評価を実施した。