

---

**トピックス**

---

**短腸モデル動物における腸管順応とビタミン A****Intestinal adaptation and vitamin A in short bowel animal model**

短腸症候群とは、先天的ないし後天的な新生児期の疾患により、腸の吸収面積が著しく減少する疾患である<sup>1)</sup>。このとき、小腸吸収上皮細胞による栄養の吸収を促進するため、構造的および機能的にさまざまな変化が起こることが知られており、これを腸管順応と呼ぶ<sup>2)</sup>。我々は以前、短腸モデルラットの小腸で、細胞内レチノール結合タンパク質 (CRBP) II とアポリポタンパク質 A-IV (APOA4) の発現上昇を介して、ビタミン A の吸収促進という機能的腸管順応が起きている可能性を報告した<sup>3)</sup>。最近、短腸モデルマウスの単一細胞 RNA sequencing により、腸管順応の際に起こるイベントの網羅的解析が報告された<sup>4)</sup>。本稿では、その内容について紹介する。

Seiler ら<sup>4)</sup>は、小腸の近位側 50% 切除マウスを作成し、7 日後、吻合部の遠位側 (回腸) から採取した上皮を用いて単一細胞 RNA sequencing を行い、シャム手術群の同部位の結果と比較した。その結果、短腸群もシャム手術群も共に、転写プロファイルの異なる 16 のクラスターに分類された。小腸上皮の単一細胞解析のデータは、以前報告されている<sup>5)</sup>。このデータを用いて、16 のクラスターに属する細胞を同定したところ、さまざまな分化段階の吸収上皮細胞に加えて、杯細胞やパネート細胞、上皮細胞間リンパ球などが見いだされた。これらの細胞種の同定は、固有の遺伝子発現 (未分化細胞系列では Ki-67, 成熟吸収上皮細胞ではアルカリフォスファターゼ, 絨毛先端部の細胞ではアデノシンデアミナーゼ, 上皮細胞間リンパ球では CD45) によっても確認された。そのほか、ごく少数のタフト細胞 (0.3%) や腸内分泌細胞 (0.03%) も同定された。

シャム手術群と短腸群とで、これらの細胞の構成比率の変化を調べたところ、短腸群で吸収上皮細胞の割合が有意に増加していた。吸収上皮細胞の分化段階を調べたところ、短腸群で未分化な吸収上皮細胞の割合が低下し、分化した細胞の割合が増加する傾向があったが、統計的に有意な差ではなかった。さらに、吸収上皮細胞が近位側 (空腸) の特徴を持つか遠位側 (回

腸) の特徴を持つか調べたところ、短腸群で近位側 (空腸) の特徴を持つ細胞の割合が大幅に増加していた (短腸群: 11.7% ± 4.1%, シャム手術群: 1.4% ± 0.6%)。すなわち、短腸群において、遠位側 (回腸) の吸収上皮細胞の“近位側 (空腸) 化”が起こっていることが示された。

短腸群における遠位側 (回腸) 吸収上皮細胞の近位側 (空腸) 化に伴って発現変動する遺伝子を調べたところ、174 個の遺伝子が同定された。そのうち、短腸群で発現上昇する遺伝子上位 10 個の中には、APOA4 と CRBP II をはじめとして、脂肪酸結合タンパク質 (FABP) 1, FABP2, APOB, APOC3, ラクターゼ (LCT), エポキシド加水分解酵素 2 (EPHX2) などが含まれていた。これらの遺伝子のうち、APOA4, FABP1, APOC3, LCT, EPHX2 は、近位小腸における栄養処理機能の遺伝子シグネチャーを構成する。FABP6 は回腸の吸収上皮細胞で強く発現し、胆汁酸の腸肝循環に関与する<sup>6)</sup>。この FABP6 の遺伝子発現は、シャム手術群に比べ、短腸群で低下していた。これらの遺伝子発現変動は、RNA 蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (FISH), 免疫組織化学, ウェスタンブロットティングなどによっても確認された。

遠位側吸収上皮細胞と近位側吸収上皮細胞とで、異なる遺伝子発現を示す 44 個の転写因子が、先行研究で報告されている<sup>5)</sup>。短腸群において、遠位側吸収上皮細胞の近位側化を引き起こす制御因子を同定するため、この 44 個の転写因子のうち、短腸群とシャム手術群とで発現の異なるものを検索したところ、cAMP responsive element binding protein 3 like 3 (CREB3L3) 遺伝子が、短腸群で発現上昇していた。CREB3L3 は、脂肪酸の酸化とケトン生成を調節する<sup>7)</sup>。短腸群における CREB3L3 の発現上昇は、短腸手術 70 日後においても観察されたことから、長期間にわたって脂質の吸収を促進しているのではないかと、Seiler ら<sup>4)</sup>は考察している。そのほか、小腸未分化細胞の成熟に必要な Krüppel-like factor 4 (KLF4) もまた、短腸群で発現が上

昇していた。

短腸手術後7日目に観察された CREB3L3 遺伝子の発現上昇は、術後3日目では観察されなかった。そこで Seiler ら<sup>4)</sup>は、さらなる上流因子を探索するために、短腸群とシャム手術群の単一細胞遺伝子発現プロファイルを用い、発現が変動した遺伝子のうち、どの遺伝子が同一の細胞内で発現しているのかという情報を用いて、*in silico interactome* を作成した。その結果、短腸群で誘導される遺伝子相互作用ネットワークが同定された。そこに含まれる遺伝子リストからその機能を予測したところ、「脂質の分解、動員、輸送」、「食餌に含まれる炭化水素の分解」、「ペルオキシソーム増殖剤活性化受容体 (PPAR) シグナル経路」、そして「レチノイドの代謝と輸送」が抽出された。このうち、レチノイドシグナルに着目し、レチノイン酸応答配列 (RARE) の有無を加味して、短腸群で上昇している遺伝子を検索したところ、45 個の遺伝子を見いだした。その中には、ホスホリパーゼ B1 (PLB1)、CRBP II、APOA1、APOA4、APOB、APOC3 など、レチノイドの代謝と輸送に関わる因子が含まれていた。CREB3L3 と KLF4 もまた、レチノイン酸でその発現が制御され、短腸群で発現上昇している 45 個の遺伝子の中に含まれていた。

一方、レチノイン酸の合成に関わる遺伝子に関しては、シャム手術群と短腸群で、発現変動が観察されなかった。Seiler ら<sup>4)</sup>は、短腸群において、本来遠位側に位置している回腸が近位側に位置することにより、より高濃度のビタミン A にさらされ、活性型代謝産物のレチノイン酸が高濃度となり、レチノイドシグナル下流遺伝子の発現がより強く誘導されることで、腸管順応が引き起こされるのではと考察している。

今回紹介した単一細胞 RNA sequencing のような、新しい遺伝子発現解析手法による発見をきっかけとして、短腸症候群の病態の理解がさらに進むことが期待される。

**Key words** :short bowel syndrome, intestinal adaptation, enterocyte, vitamin A, single-cell RNA sequencing

Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine 3-25-8, Nishi-Shimbashi, Minato-ku, Tokyo, 105-8461, Japan

Yoshihiro Mezaki

東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座  
目崎 喜弘

利益相反自己申告：申告すべきものなし

(2023.12.1 受付)

## 文 献

- 1) Duro D, Kamin D, Duggan C (2008) Overview of pediatric short bowel syndrome. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* **47**, S33–S36
- 2) Wall EA (2013) An overview of short bowel syndrome management: adherence, adaptation, and practical recommendations. *J Acad Nutr Diet* **113**, 1200–1208
- 3) Hebiguchi T, Mezaki Y, Morii M, Watanabe R, Yoshikawa K, Miura M, Imai K, Senoo H, Yoshino H (2015) Massive bowel resection upregulates the intestinal mRNA expression levels of cellular retinol-binding protein II and apolipoprotein A-IV and alters the intestinal vitamin A status in rats. *Int J Mol Med* **35**, 724–730
- 4) Seiler KM, Waye SE, Kong W, Kamimoto K, Bajinting A, Goo WH, Onufer EJ, Courtney C, Guo J, Warner BW, Morris SA (2019) Single-Cell Analysis Reveals Regional Reprogramming During Adaptation to Massive Small Bowel Resection in Mice. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* **8**, 407–426
- 5) Haber AL, Biton M, Rogel N, Herbst RH, Shekhar K, Smillie C, Burgin G, Delorey TM, Howitt MR, Katz Y, Tirosh I, Beyaz S, Dionne D, Zhang M, Raychowdhury R, Garrett WS, Rozenblatt-Rosen O, Shi HN, Yilmaz O, Xavier RJ, Regev A (2017) A single-cell survey of the small intestinal epithelium. *Nature* **551**, 333–339
- 6) Praslickova D, Torchia EC, Sugiyama MG, Magrane EJ, Zwicker BL, Kolodzieyski L, Agellon LB (2012) The ileal lipid binding protein is required for efficient absorption and transport of bile acids in the distal portion of the murine small intestine. *PLoS One* **7**, e50810
- 7) Nakagawa Y, Satoh A, Tezuka H, Han SI, Takei K, Iwasaki H, Yatoh S, Yahagi N, Suzuki H, Iwasaki Y, Sone H, Matsuzaka T, Yamada N, Shimano H (2016) CREB3L3 controls fatty acid oxidation and ketogenesis in synergy with PPAR $\alpha$ . *Sci Rep* **6**, 39182