

Development of an *in vitro* Model for Host-Microbe Interaction in Small Intestine

*¹東京大学大学院工学系研究科化学システム工学専攻, *²株式会社明治乳酸菌研究所

曹 雯昕*¹, 渡邊 祐美子*², 指原 紀宏*², チェ ヒョンジン*¹, 西川 昌輝*¹, 酒井 康行*¹

Wenxin CAO, Yumiko WATANABE, Toshihiro SASHIHARA, Hyunjin CHOI, Masaki NISHIKAWA, Yasuyuki SAKAI

1. 目的

過去数十年にわたり、腸内細菌叢はヒトの健康と疾病を制御する因子でありながらも、過小評価されてきた。近年、腸内細菌叢が腸管バリア機能のみならず、他の臓器の機能にも影響を及ぼすことが、多くの研究で報告されている¹⁾。しかし、既存の *in vitro* モデルでは、細菌種や共培養期間などの培養条件が限られていること、共培養のために複雑な設計や設備が必要であることなどの課題が残されている。そこで本研究では、小腸における上皮細胞と微生物の相互作用の再現性・拡張性に優れた簡便な *in vitro* 共培養モデルを確立し、多様な種類の細胞や細菌の長期的な共培養を可能にすることで、消化管疾患の根本的な発症メカニズムの研究に応用することを目的とする。

2. 方法

本研究は、①上皮細胞と腸内細菌との直接的な接触を防ぐことが可能な人工粘液バリアの開発、②上皮細胞への好気条件と腸内細菌への嫌気条件の両立が可能な共培養デバイスの作製の2つの部分からなる。人工粘液バリアは、市販のムチン製品にポリアクリル酸を添加する既存の報告²⁾に対して生体適合性を持つよう改良を行い、生体内粘膜バリアと同様のネットワーク構造を再構築することにより作製した。共培養デバイスは、上皮細胞に酸素を供給しながら、腸内細菌に対しては密閉環境を構築した。

3. 結果

厚さ1 mmの人工粘液層では、48時間培養後もCaco-2細胞の単層上の界面において細菌はほとんど確認されず、Caco-2細胞は活性を維持し、バリア機能の低下は見られなかった。また、*Lactiplantibacillus plantarum* (ME-848)の増殖は、人工粘液層がある条件下でのみ観察された。RT-qPCRにより、抗菌ペプチドをコードする遺伝子である*DEFB4*の発現量は、Caco-2細胞と*Lactiplantibacillus plantarum* (ME-848)を人工粘

液層と共培養した場合にのみ、有意な増加が確認された。したがって、この条件下でも細菌の過剰増殖の制御が観察された。共培養デバイスについては、予備実験として3Dプリンタでプロトタイプを作製し、48時間装置内で嫌気的環境(<0.1% O₂)を維持することに成功した。今後、この装置でさらに共培養実験を行う予定である。

4. まとめ

人工粘液層を含む *in vitro* 共培養モデルを構築し、それによって48時間にわたりCaco-2細胞に対するプロバイオティクスの評価をすることに成功した。また、共培養デバイスは、上皮細胞と腸内細菌に対して、生体内条件と同様の酸素環境を再現することができた。したがって、本研究の *in vitro* 共培養モデルにより、胃腸疾患の根本的な発症メカニズムの研究への応用の可能性が示唆された。

5. 独創性

本 *in vitro* モデルは、腸管上皮細胞と腸内細菌叢の相互作用の評価ために粘液バリアの役割を考慮し、人工粘液を用いることで、上皮細胞と腸内細菌の長期的な共培養を可能にした初めてのモデルである。また、共培養デバイスは、共培養の再現性・拡張性に優れているため、多様な種類の細胞や細菌を長期にわたって共培養し、広範なデータを収集することが可能であり、消化管に関連する研究において動物モデルの有力な代替となり得る。また、胃腸疾患の根本的な発症メカニズムの再現を通じた潜在的な治療薬の同定や薬物送達特性の分析など、さまざまな研究分野にも応用できる。さらに、この斬新な装置デザインは、大量生産にも適しており、将来的には標準化された実験室用品として商品化される予定である。

本稿のすべての著者には規定されたCOIはない。

文献

- 1) Ma Y, Liu X, Wang J: Small molecules in the big picture of gut microbiome-host cross-talk. *EBioMedicine* **81**: 104085, 2022
- 2) Boegh M, Baldursdóttir SG, Müllertz A, et al: Property profiling of biosimilar mucus in a novel mucus-containing *in vitro* model for assessment of intestinal drug absorption. *Eur J Pharm Biopharm* **87**: 227-35, 2014

■ 著者連絡先

東京大学大学院工学系研究科化学システム工学専攻
(〒113-8656 東京都文京区本郷7-3-1 工学部3号館5C20
酒井・西川研究室)
Email. wenxin97@g.ecc.u-tokyo.ac.jp