

補助事業番号 2024M-551

補助事業名 2024年度 腸内の陰窩構造を模したin vitro腸デバイスの構築 補助事業

補助事業者名 慶應義塾大学工学部 尾上弘晃

## 1 研究の概要

腸内細菌叢と疾患の関連は近年多くの報告され、腸内細菌叢と腸内組織との相互的な作用の調整が疾患治療への新たなアプローチとして注目を集めている。しかし、生体内の腸内組織叢がどのような状況にあるのか、さらにそれがどのように腸内組織に影響するかを直接的に調べる方法は存在せず、分析的なアプローチを取ることが困難である。そこで本研究では、近年隆盛しているOrgan-on-a-chip技術による腸上皮細胞の培養技術を発展させ、電気分解を用いて腸内壁の陰窩構造を模した凹凸構造を有する三次元的なチューブ状人工腸組織の構築法を開発する。その上で、腸内細菌叢をそのチューブ内で灌流培養することで、腸内細菌が共存する人工腸の構築を実現する。これにより、腸内細菌と腸組織との相互作用を生体外で定量的に観察・評価することが可能となり、病理の解明や疾患の治療につながる新たな薬や食品、腸内環境モニタリングデバイスの実現につなげる。

具体的には、申請者らが開発した還流可能なゲルチューブデバイス (Itai and Onoe, Biofabrication, 2019; Advanced Healthcare Materials, 2022) を拡張することで、In vitroの人工腸デバイスを実現する。このコラーゲンチューブ内で培養された管腔組織は、(i) 管腔内への薬剤をもちいた組織応答の再現とリアルタイム観察、(ii) 管腔組織のバリア機能 (生体組織の透過拡散係数と同程度の拡散係数) の再現、(iii) 管腔外周の周囲細胞 (ペリサイト) との分泌サイトカインによる相互作用の再現、が可能であり、管腔内外の物理的・化学的な相互作用の人工組織モデルとして優れている。このチューブデバイス内部に、腸上皮組織に特徴的な陰窩構造を模した凹凸を構築してヒトiPS由来腸上皮細胞を培養することにより、陰窩部分に幹細胞ニッチを形成し恒常的に安定したin vitro腸上皮組織モデルを実現する。さらに管腔内部に腸内細菌を共存させることで、腸内細菌に起因する大腸癌の発生メカニズムを、腸上皮細胞の形態変化、mRNA発現、タンパク発現などにより癌化を定量化して評価する。

## 2 研究の目的と背景

ヒトの腸内には1000種類100兆個の細菌が常在し、腸内細菌叢を形成している。抗菌薬や偏った食習慣、ストレスなどの因子によりこの腸内細菌叢のバランスが破綻すると、腸管感染症や炎症性腸疾患、過敏性腸症候群、大腸がんなどの様々な消化管疾患や、肥満・糖尿病、アレルギー性疾患、心疾患などの慢性疾患も惹起することが明らかになっている。しかし、この腸内細菌叢と疾患の関係は未解明であり、また腸は生体の深部組織であるために、この関係性を理解するための直接的な方法論が存在しないのが現状である。

本事業の目的は、腸内細菌と疾患の関係を明らかにするための人工の細菌-腸共培養モデル

(in vitro腸モデル)を構築する。このモデルを用い、腸内細菌に起因する大腸癌の発生メカニズムを、腸上皮細胞の形態変化、mRNA発現、タンパク発現などにより癌化を定量化して評価する。これらのメカニズムを理解することにより、将来的には、癌化を防ぐ機能性食品(効果があるような細菌や試薬をふくんだ健康食品)の開発や、創薬のためスクリーニングに用いるためのin vitro腸モデルとして活用することが期待できる。

### 3 研究内容

#### (1-1) 三次元in vitro腸デバイスの構築

本研究では、ヒト腸管に存在する陰窩構造を模倣するため、コラーゲンゲルチューブ内壁に凹凸構造を形成する手法を検討した。電圧印加時間を調整することで、陰窩様構造の大きさを制御できることを示し、腸上皮細胞を三次元的に培養するための基盤となるデバイスを構築した。

#### (1-2) 腸上皮組織の形成と機能評価

作製したデバイス内にCaco-2細胞やHT29細胞を播種し、腸上皮組織の形成を確認した。E-カドヘリンの発現による細胞間接着、ムチン層の形成、OCTによる三次元的な組織被覆の確認により、腸上皮として必要な構造的・機能的特徴を備えていることが示された。

#### (2-1) 腸内細菌との共培養系の構築

腸内細菌をデバイス内で安定して培養するため、培地を送液・還流できるシステムを構築した。この系を用いて乳酸菌と腸上皮組織を共培養した結果、特にCaco-2とHT29の混合培養系では、細胞の生存性を維持したまま乳酸菌との共存が可能であることが確認された。

#### (2-2) 腸内細菌と腸上皮組織の相互作用解析

腸内細菌が腸上皮細胞に与える影響を調べるため、乳酸菌との共培養による抗菌ペプチド発現の変化を解析した。細胞構成やムチン層の有無によって遺伝子発現が変化することが示され、腸内細菌が腸上皮の免疫応答や疾患発症に関与する仕組みを調べるモデルとして有用であることが示唆された。

### 4 本研究が実社会にどう活かされるか—展望

本研究により、ヒト腸内の環境を体外で再現できる腸デバイスが実現すれば、腸内細菌が健康や疾患に与える影響を詳しく調べることが可能となる。将来的には、炎症性腸疾患や大腸がんの発症メカニズム解明、治療薬・機能性食品・プロバイオティクスの評価などに活用され、より安全で効果的な医療や健康管理への貢献が期待される。

### 5 教歴・研究歴の流れにおける今回研究の位置づけ

研究代表者の専門である微細加工技術およびマイクロ流体技術を, in vitro腸上皮組織モデルの解析技術へと展開した研究プロジェクトである。

## 6 本研究にかかわる知財・発表論文等

1. Shota Uramoto<sup>#</sup>, Shuma Tanaka<sup>#</sup>, Shun Itai, Jumpei Muramatsu, Daichi Arai, Kosuke Tsukada, Takaaki Abe, Takafumi Toyohara, **Hiroaki Onoe**, “Three-dimensional intestinal tube with a crypt-like uneven inner wall fabricated using electrolysis-generated microbubbles,” *Lab on a Chip*, Vol. 26, pp. 541-550, 2026. (<sup>#</sup>: equal contribution) **(Inside front cover of the issue)**
2. Shota Uramoto, Shuma Tanaka, Shun Itai, **Hiroaki Onoe**, “Perfusion co-culture of bacteria and tubular in vitro intestinal epithelial tissue model with a 3D cryptic structure and mucin layer,” 47th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), Copenhagen, Denmark, Jul. 14–17, 2025.
3. Shuma Tanaka, Shun Itai, **Hiroaki Onoe**, “In vitro Tube-shaped Intestinal Model with a Crypt-like Inner Surface Created by Electrolytic Microbubbles,” Bio4Apps 2024, Toyama, Japan, Dec. 2-4, 2024.
4. Shota Uramoto, Shuma Tanaka, Shun Itai, **Hiroaki Onoe**, “3D perfusable in vitro intestinal tube-shaped device with cryptic structure covered by mucin layer for bacterial co-culture,” The 28th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (microTAS 2024), Montreal, Canada, Oct. 14-17, 2024.
5. 浦本翔太, 田中秀磨, 板井駿, 尾上弘晃, “3次元陰窩様凹凸構造とムチン層を有する in vitro 腸上皮組織モデルと細菌の共培養による遺伝子発現変化,” 第42回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム, 宇都宮, Nov. 10-13, 2025.
6. 浦本翔太, 田中秀磨, 板井駿, 尾上弘晃, “3次元陰窩様凹凸構造とムチン層を有する灌流可能なチューブ状 in vitro 腸上皮組織モデルと細菌の共培養,” 化学とマイクロ・ナノシステム学会 第50回研究会 (CHEMINAS50), 仙台, Nov. 25-28, 2024.

## 7 補助事業に係る成果物

(1)補助事業により作成したもの

<http://www.onoe.mech.keio.ac.jp/JKA2026.pdf>

(2)(1)以外で当事業において作成したもの

該当なし

## 8 事業内容についての問い合わせ先

所属機関名: 慶應義塾大学理工学部学部(ケイオウギジユクダイガウ リコウガクブ)

住 所: 〒223-8522

神奈川県横浜市港北区日吉3-14-1

担 当 者 教授 尾上弘晃(オノエヒロアキ)

E - m a i l: [onoe@mech.keio.ac.jp](mailto:onoe@mech.keio.ac.jp)

U R L: <http://www.onoe.mech.keio.ac.jp/index-j.html>