

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月10日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590235

研究課題名（和文） 消化管に発現する化学物質受容細胞を介する粘膜上皮イオン輸送制御機構に関する研究

研究課題名（英文） Studies on the mechanism of epithelial ion transport mediated by Chemical receptors expressed in the colonic mucosa

研究代表者

桑原 厚和（KUWAHARA ATSUKAZU）

静岡県立大学・大学院/環境科学研究所・教授

研究者番号：60142890

研究成果の概要（和文）：本研究は、ヒト及びラットの消化管に発現する化学物質受容細胞の働きについて生理学および組織学的手法を用いて検討を加えたものである。その結果、化学受容細胞は粘膜上皮の特殊な内分泌細胞であり、その細胞から放出される各種の化学メディエーターにより消化管の働きの一部が制御されていることを明らかにした。さらに、ある種の食物繊維を摂取させると、腸内分泌細胞の中でも特にL型腸内分泌細胞の密度が増加することを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Gut lumen is continually exposed to many agents, including noxious compounds. Chemical receptors that detect the luminal environment are thought to play an important role as sensors and as modulators of epithelial cell functions. In the present research, function of chemical sensors in the rat and human large intestine were investigated.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・生理学一般

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

消化管の粘膜上皮には管腔内容物を受容し、その情報を腸管神経系や中枢神経系に伝達し、消化管の機能を適切に制御するために化学物質受容機構が存在する。しかしながら、この受容機構の空間的分布や生理機能については殆どわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、受容体発現細胞の消化管諸機

能に与える影響を、特に苦味受容体や匂い受容体刺激物質を使用し、分子生物学、組織学及び電気生理学的手法を用いて解析した。

3. 研究の方法

実験にはラット及びヒトの大腸を用い粘膜上皮でのイオン輸送を指標に解析を行った。さらに、分子生物学的手法並びに組織学的手法を用いて、受容体の発現部位の解析を行った。

4. 研究成果

結腸粘膜における苦味受容体の発現と、苦味物質 6-*n*-propyl-2-thiouracil (6-PTU, PROP) のイオン輸送に対する作用を、ヒトおよびラット大腸組織を用いて検討した。大腸における苦味受容体を介した陰イオン分泌は、腸管神経系を介さず、プロスタグランジン(PG)E₂との相互作用により水分分泌を惹起する可能性を明らかにした。さらに、香氣成分として古くから利用され、匂い受容体のリガンドとして同定された thymol を用い、結腸粘膜においても匂い受容体が機能している可能性を示した。Thymol が誘発する一過性のイオン・水分分泌には、温度感受性 TRP チャンネルの一つ、TRPA1 が関与していることも明らかにした。また、thymol は結腸粘膜における短鎖脂肪酸の受容を阻害することを見出した。ヒト大腸管腔内には数百種類もの揮発性有機成分が存在することが報告されており、thymol のような低分子のテルペン類も検出される。これらの結果から、雑多な化学物質が粘膜に発現している様々な化学物質受容体のアゴニスト/アンタゴニストとして受容レベルで相互作用し、生理機能に影響を及ぼしていることが示唆された。次に、TRPA1 チャンネルの結腸粘膜における発現と機能を検討した。管腔側からの TRPA1 作動薬 allyl isothiocyanate (AITC) の投与は、濃度依存的に一過性の陰イオン分泌を誘発するが、血管側に同濃度の作動薬を投与しても、ほとんど反応しなかった。さらに、管腔側 AITC は PGE₂ 産生を促進し、PGE₂ 受容体の一つ、EP₄ 受容体を介して水分分泌を惹起することを明らかにした。また、ラット結腸各部における AITC 誘発性の陰イオン分泌レベルには部位差が観察されたが、定量的 PCR により、この部位差が EP₄ 受容体および PG 合成酵素 COX の発現レベルと相関することも見出した。さらに、TRPA1 は結腸上皮細胞に発現していることを確認した。これらの結果は TRPA1 は大腸管腔内容物のセンサーとして生体防御機構に寄与する可能性を示唆している。続いて、管腔内環境の変化によって化学受容体の発現様式が変化する可能性を、腸内細菌の主な代謝産物である短鎖脂肪酸を例にとり検討した。まず、コントロール動物において大腸の解剖学的部位による腸内分泌細胞の出現頻度に差異があることを確認した。これはヒト組織でも同様であり、短鎖脂肪酸濃度が高いと考えられる遠位結腸において短鎖脂肪酸受容体 FFA2 (GPR43) 発現細胞が多いことが明らかになった。次に、

発酵性食物繊維を与え続けた動物、つまり、大腸管腔内の短鎖脂肪酸濃度が長期間、高濃度に保たれた動物では、FFA2 発現細胞の数が近位結腸においてのみ増加することを見出した。また、FFA2 発現の増加は GLP-1 と連動しており、管腔内の短鎖脂肪酸受容と、インクレチンである GLP-1 や細胞増殖因子である GLP-2 の放出・機能と関連があることが示唆された。

これまで、下部消化管では、管腔内の物質を受容する機構は上部消化管ほど発達していないと考えられていた。しかし、大腸は腸内細菌叢を有し、内容物の滞留時間も長いため、常に危険物質の暴露や細菌感染の危険にさらされている臓器である。本研究により、様々な感覚器に発現する化学物質受容体が下部消化管でも発現し、生理機能の調節に一翼を担っていることが示唆された。生体が外界を認識するための味や匂い受容機構と共通する化学受容体が大腸粘膜で機能していることは、管腔内環境の監視機構における化学物質受容の重要性を示すものであると考える。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

1. Kaji I, Yasuoka Y, Karaki SI and Kuwahara A Activation of TRPA1 by luminal stimuli induces EP4-mediated anion secretion in human and rat colon. *Am. J. Physiol.*, (in press) 査読有
2. Kaji I, Karaki SI and Kuwahara A Chemosense for luminal environment in the large intestine. *Yakugaku Zasshi* 査読有 131, 1691-1698, 2011.
3. Yajima T, Inoue R, Yajima M, Tsuruta T, Karaki SI, Hiroa T and Kuwahara A. The G-protein on cholesterol-rich membrane microdomains mediates mucosal sensing of short-chain fatty acid and secretory response in rat

- colon. *Acta Physiol. (Oxf.)* 査読有 203, 381-389, 2011.
4. Kaji I, Karaki SI, Tanaka R and Kuwahara A Density distribution of free fatty acid receptors (FFA2)-expressing and GLP-1-producing enteroendocrine L cells in human and rat lower intestine, and increased cell numbers after ingestion of fructo-oligosaccharide. *J. Mol. Histol.* 査読有 42, 27-38, 2011.
 5. Kaji I, Karaki SI and Kuwahara A Effects of luminal thymol on epithelial transport in human and rat colon. *Am. J. Physiol.* 査読有 300, G1132-G1143, 2011.
 6. Karaki SI and Kuwahara A Propionate-induced epithelial K^+ and Cl^-/HCO_3^- secretion and free fatty acid receptor 2 (FFA2, GPR43) expression in the guinea pig distal colon. *Pflugers Arch.* 査読有 461, 141-152, 2011.
 7. Karaki SI and Kuwahara A Role of short-chain fatty acids and their receptors in colonic motility. *Bioscience Microflora* 査読有 29, 31-40 2010 (Review)
 8. Karaki SI and Kuwahara A Free fatty acid receptors and their physiological roles in the colon. *Medycyna Wet.* 査読有 66, 147-155, 2010 (Review)
 9. Kaji I, Karaki SI, Fukami Y, Terasaki M and Kuwahara A Secretory effects of a luminal bitter tastant and expressions of bitter taste receptors, T2Rs, in the human and rat large intestine. *Am. J. Physiol.* 査読有 296, G971-G981, 2009.
 10. Tazoe H, Otomo Y, Karaki SI, Kato I, Fukami Y, Terasaki M and Kuwahara A Expression of short-chain fatty acid receptor GPR41 in the human colon. *Biomedical Res.* 査読有 30, 149-156, 2009.
 11. 唐木晋一郎、桑原厚和 大腸内の短鎖脂肪酸とその受容体による大腸運動の制御—腸内細菌と生体との橋渡しによる生体ホメオスタシスの制御 *化学と生物* 48, 230-232, 2010.
- [学会発表] (計 24 件)
1. 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和: ヒト及びラット大腸粘膜の陰イオン分泌における TRPA1 チャンネルの関与. 2011 年度生理学研究所研究会『上皮細胞の恒常性維持機構におけるイオン・物質輸送の新しい分子生理』(自然科学研究機構 自然科学研究機構 基礎生物学研究所), 2011 年 11 月 21 - 22 日.
 2. Iizuka Y, Karaki SI, Kaji I, Kuwahara A: Mode of action of PGE_2 on the motility of longitudinal muscle in rat colon. *7th Congress of the Federations of Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS)* (Taipei, Taiwan), Sep. 11-14, 2011.
 3. Kaji I, Karaki SI, Kuwahara A: Secretory response to TRPA1 activation in rat and human colon. *7th Congress of the Federations of Asian and Oceanian Physiological Societies (FAOPS)* (Taipei, Taiwan), Sep. 11-14, 2011.
 4. 飯塚祐美子, 唐木晋一郎, 加治いずみ, 桑原厚和: ラット結腸・縦走筋運動における EP 受容体分布の詳細について. 第 17 回 Hindgut Club Japan シンポジウム (専修大学・神田キャンパス), 2011 年 12 月 17 日.
 5. 桑原厚和, 唐木晋一郎, 加治いずみ: 大腸機能に対する化学センサー受容体 FFA2 および FFA3 の役割. 第 87 回日本生理学会大会 (盛岡市), プログラム p. 101,

- 2010年5月19-21日.
6. 唐木晋一郎: 下部消化管における化学受容について. 「第9回 Hindgut Club Japan サテライトミーティング (徳島市), 2010年5月22日.
 7. 桑原厚和, 加治いずみ, 唐木晋一郎: 消化管でのカリウムイオン輸送について. 第2回消化管セミナー (北海道大学, 札幌市), 2010年3月19日.
 8. 唐木晋一郎, 田中 亮, 加治いずみ, 桑原厚和: ラット結腸輪走筋の自発運動に対するプロスタグランジン E₂ の作用. 第87回日本生理学会大会 (盛岡市), プログラム p. 136, 2010年5月19-21日.
 9. 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和: ヒト及びラット大腸における匂い物質の受容と分泌作用. 生理研研究会『極性細胞の病態生理解明に向けた多角的アプローチ』(自然科学研究機構 生理学研究所, 岡崎市), 予稿集 p. 5, 2010年11月4-5日.
 10. 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和: ヒト及びラット大腸における匂い物質の感受と分泌作用. 第87回日本生理学会大会 (盛岡市), プログラム p. 171, 2010年5月19-21日.
 11. Kaji I, Karaki SI, Kuwahara A: Fructo-oligosaccharide (FOS) supplementation increases enteroendocrine L cells containing GLP-1 and SCFA receptor GPR43 (FFA2) in the large intestine. *2010 Digestive Disease Week* (New Orleans, USA), Program p. 653, May 1-5, 2010.
 12. 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和: ヒト及びラット大腸のイオン輸送作用における匂い物質受容の役割. 第16回 Hindgut Club Japan シンポジウム (専修大学, 東京都), 予稿集 P12, 2010年12月4日.
 13. 飯塚祐美子, 唐木晋一郎, 田中 亮, 加治いずみ, 桑原厚和: ラット中位結腸縦走筋における PGE₂ の運動促進作用に関するプロスタグランジン受容体の同定. 第16回 Hindgut Club Japan シンポジウム (専修大学, 東京都), 予稿集 P13, 2010年12月4日.
 14. 桑原厚和: 消化管短鎖脂肪酸受容体の発現様式とその生理作用. 第13回腸内細菌学会 (北里大学薬学部), 2009年6月11日-12日.
 15. 唐木晋一郎: 下部消化管における化学受容について. 第15回 Hindgut Club Japan シンポジウム (専修大学), 予稿集 p. 5-11, 2009年12月5日.
 16. 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和: ヒトおよびラット下部消化管における苦味受容体の生理機能に関する研究. 第1回消化管セミナー「栄養素の認識と消化管機能: 受容体とトランスポーターの役割」 (北海道大学創成科学共同研究棟), 2009年3月18日.
 17. 田副秀章, 唐木晋一郎, 桑原厚和: 大腸運動と短鎖脂肪酸. 第1回消化管セミナー「栄養素の認識と消化管機能: 受容体とトランスポーターの役割」 (北海道大学創成科学共同研究棟), 2009年3月18日.
 18. Tazoe H, Otomo Y, Kaji I, Tanaka R, Karaki SI, Kuwahara A: Distributions of short-chain fatty acid receptors GPR41 and GPR43 in the human colon. *The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences* (Kyoto, Japan), Final Program p. 35, July 27 - August 1, 2009.
 19. 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和: ヒト及びラット下部消化管における苦味物質の受容と分泌作用. 生理研研究会「上皮組織における細胞外環境感受機構」(自然科学研究機構 生理学研究所), 抄録集 p. 7, 2009年11月9日-10日.
 20. Kaji I, Karaki SI, Kuwahara A: Bitter tastant, 6-n-propyl-2-thiouracil (6-PTU) evokes anion secretion through bitter taste receptors in the human and rat large intestine. *The 36th Congress of the International Union of Physiological Sciences* (Kyoto, Japan), Final Program p. 214, July 27 - August 1, 2009.
 21. Kaji I, Karaki SI, Kuwahara A: Bitter taste receptor (T2R) ligand, 6-n-propyl-2-thiouracil (6-PTU)-evoked anion secretion in human and rat colon: interaction with COX-2 activity. *Neurogastroenterology and Motility 2009 Joint International Meeting* (Chicago, USA), Final Program p. 217, August 27 - 30, 2009.
 22. Tazoe H, Karaki SI, Kuwahara A: Mode of effects of propionate on the motility of circular smooth muscle in the terminal ileum. *Neurogastroenterology and Motility*

2009 Joint International Meeting
(Chicago, USA), Final Program p. 221,
August 27 - 30, 2009.

23. 田中 亮, 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和: プロスタグランジン E₂受容体と大腸の自発運動との関係について. 第15回 Hindgut Club Japan シンポジウム (専修大学), 予稿集 P19, 2009年12月5日.
24. 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和: ヒト及びラット下部消化管における苦味物質の受容と分泌作用. 第15回 Hindgut Club Japan シンポジウム (専修大学), 予稿集 P27, 2009年12月5日.

[図書] (計2件)

1. 加治いずみ, 唐木晋一郎, 桑原厚和 腸管上皮における管腔内化学物質受容体が腸管機能に与える影響 Bio Industry 10, 15-21 シーエムシー出版 2011.
2. 唐木晋一郎, 桑原厚和. 消化管の管腔内化学受容と消化管機能制御. 消化管の栄養・生理と腸内細菌 Hindgut Club Japan 編, アニマル・メディア社, pp. 39-55, 2011.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等
<http://physiology.u-shizuoka-ken.ac.jp/index-ja.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

桑原 厚和 (KUWAHARA ATSUKAZU)
静岡県立大学・大学院/環境科学研究所
教授

研究者番号: 60142890

(2) 研究分担者

唐木晋一郎 (KARAKI SHINICHIRO)

研究者番号: 00363903