

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08182

研究課題名(和文) 消化管粘膜上皮における化学物質受容機構に関する研究

研究課題名(英文) Involvement of Chemosensory System on Intestinal Epithelial Function

研究代表者

桑原 厚和 (Kawahara, Atsukazu)

京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・特任教授

研究者番号：60142890

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：「腸は心の鏡」などと言われるように、古くからまた経験的にも脳と腸の間には緊密な機能的相関(脳-腸相関)があることが知られている。しかしながら、この機能的相関については科学的な知見が殆どないのが現状である。近年、消化管粘膜上皮に脳-腸相関を介した恒常性維持機構のための化学物質受容機構が存在し、この受容機構が局所の消化管機能やエネルギー制御、さらには高次脳機能に影響することが明らかとなり、注目を集めている。本研究ではこの化学物質受容機構を介した消化管粘膜上皮でのイオン輸送制御機に関する研究を行った。

研究成果の概要(英文)：The intestinal lumen is open to the external environment and GI tract is one-way tube in which food materials are progressively converted into molecular end products. Recently, the taste receptors, along with several taste signal transduction molecules, have been demonstrated to be expressed in many extraoral location. In the GI tract, nutrients and microbial metabolites are continuously sensed by chemosensory receptors which are analog of taste receptors in the tongue. Chemosensory receptor expressing cells in the GI tract is belonging to a part of diffuse chemosensory system (DCS). In the GI tract, DCS consists of enteroendocrine and related cells. These cells initiate various important local and remote reflexes. Despite obvious physiological and clinical importance, not enough information is available regarding the function of DCS in the GI tract. In this research project, we have examined the contribution of DCS on intestinal epithelial ion transport.

研究分野：Gastrointestinal Physiology

キーワード：chemosensory cell enteroendocrine cell epithelial ion transport enteric nervous system brain-gut axis

1. 研究開始当初の背景

腸は心の鏡」などと言われるように、経験的にも脳と腸の間には機能的相関があることが古くから知られている [Nat. Rev. Neurosci., 12: 453-466, 2011]。最近、消化管の粘膜上皮にも味覚を感受する感覚受容機構と類似の化学物質受容機構の存在が明らかとなり、腸内細菌の有する膨大な遺伝情報 [Science 308: 1635-1638, 2005; Science 312: 1355-1359, 2006] を基に作られる各種化学物質がこの化学物質受容機構を介して局所の消化管機能の制御に加え、生体全体のエネルギーバランスや高次脳機能制御に関与しているのではと考えられるようになってきた [Gut Microbes, 5(3): 404-410, 2014; Mamm. Genome, 25: 49-74, 2014; Trends Mol. Med., 20(9): 509-518, 2014]。しかしながら、脳腸相関を駆動するための最初のステップとなる消化管での化学物質受容機構についてはほとんど明らかではない。

2. 研究の目的

本研究では、上述した観点から消化管における化学物質受容機構について組織学および生理学的観点から明らかにしようと企画した。

3. 研究の方法

本研究は、平成27年度～29年度の3年間でいった。全研究期間を通して、(1)二光子励起レーザー顕微鏡より腸管化学物質受容細胞と知覚神経終末および免疫担当細胞との3次元構造解析を行う予定であった。さらに、二光子励起レーザー顕微鏡/Ussing chamberを用いた4Dイメージング/経上皮膜電位測定法を導入し、化学物質受容細胞による消化管ホルモン放出動態を *in vitro* で解析し、脳と腸とをつなぐ液性因子としての消化管ホルモンの機能を分子生理学的に解析する予定であった。平成28年度は、(2) *in vivo* 消化管灌流実験系を用いた管腔内化

学物質刺激による消化管ホルモン放出動態の解析と管腔内刺激による脳の活動状態を主に免疫組織化学や *in situ hybridization* などを組み合わせた組織化学的手法を用いて解析を行う。同様の実験を迷走神経切断や内臓神経切断動物を用いて、脳と腸との間の情報連絡経路の解析を行う。さらに、平成29年度は、(2)と同様の実験を大腸以外の部位の部位(胃、十二指腸、空腸、回腸)についても行い、消化管での細胞外環境ケミカルセンサーの活性化機構および中枢への情報伝達機構を明らかにする。

4. 研究成果

申請者が同定してきた短鎖脂肪酸受容体発現化学物質受容細胞に加え [J. Physiol., 593(3):585-599, 2015; Digestion 89(1): 31-36, 2014; Curr. Pharm. Des., 20(16): 2766-2774, 2014; Am. J. Physiol., 302(7): G690-G701, 2012; Am. J. Physiol., 300(6): G1132-G1143, 2011; J. Mol. Histol., 42(1): 27-38, 2011; Acta Physiol (Oxf), 203(3): 381-389, 2011; Pflugers Arch., 461(1): 141-152, 2011; Am. J. Physiol., 296(5): G971-G981, 2009; J. Physiol. Pharmacol., 59(Suppl. 2): 251-262, 2008; Cell Tissue Res., 324(3):353-360, 2006]、新たに腸管粘膜上皮に存在する化学物質受容細胞の同定と細胞内に含まれる情報伝達物質についての検索を行い、新しく Xenin25 というペプチドが消化管の上皮細胞に発現していることを明らかにした。このため、当初の計画を変更し、まずは新規に発見された Xenin25 の生理作用および発現分布について検討を行った。その結果、この新規ペプチド Xenin25 は消化管局所のイオン分泌や消化管運動にも影響することを明らかにし、2014年タイ・バンコクで開催された 8th FAOPS Congress (Nov.22-25, 2015) で報告した。しかしながら、Xenin25 の消化管での正確な分布やどのような種類の腸内分泌細胞に発現しているかについては、Xenin25 に対する特異抗体がないため、現在までのところ詳細は不明であった。そこで、申請者は Xenin25 に対する特異抗体を作成し、消化管各部での Xenin 陽性細胞の同定を試み、Xenin25 陽性細胞がセロトニン含有クロム親和性腸内分泌細胞及び GLP-1 含有細胞に発現していることを見出した。さらに、現在 Xenin25 の受容体は、Xenin25 の C 末端構造が Neurotensin と高い相動性を示すことから、Neurotensin 受容体である NTR1 に結合することが考えられている。しかしながら、Xenin25 の各種フラグメントを用いた実験から、必ずしも

Xenin25はNTR1を介して作用を発揮するばかりでなく、まだ未知の受容体を介する作用機構が存在する可能性が報告されている[J. Endocrinol., 221(2): 193-200, 2014]。したがって、今後はさらにXenin25の消化管粘膜上皮での受容機構を明らかにするため未知の受容体の探索についても研究を行う予定にしている。現在、Xenin25の消化管粘膜上皮イオン輸送及び平滑筋活動に対する影響、さらには組織内分布についての論文を作成中である。

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13件)すべて査読あり

1. Kuwahara A, Kuwahara Y, Inui T, Marunaka Y. Regulation of ion transport in the intestine by free fatty acid receptor 2 and 3: Possible involvement of the diffuse chemosensory system. *Int. J. Mol. Sci.*, 19(3). Pii:E735. Doi: 10.3390/ijms19030735. 2018.
2. Kaji I, Akiba Y, Furuyama T, Adelson DW, Iwamoto K, Watanabe M, kuwahara A, Kaunitz JD. Free fatty acid receptor 3 activation suppresses neurogenic motility in rat proximal colon. *Neurogastroenterol. Motil.*, 30: e13157, 2018.
3. Akiba Y, Maruta K, Narimatsu K, Said H, Kaji I, Kuri A, Iwamoto KI, Kuwahara A, Kaunitz JD. FFA2 activation combined with ulcerogenic COX inhibition induces duodenal mucosal injury via the 5-HT pathway in rats. *Am. J. Physiol.*, 313(2): G117-G128, 2017.
4. Said H, Akiba Y, Narimatsu K, Maruta K, Kuri A, Iwamoto KI, Kuwahara A, Kaunitz JD. FFA3 activation stimulates duodenal bicarbonate secretion and prevents NSAID-induced enteropathy via the GLP-2 pathway in rats. *Dig. Dis. Sci.*, 62(8): 1944-1952, 2017.
5. Uwada J, Yazawa T, Islam MT, Khan MRI, Krug SM, Fromm M, Karaki SI, Suzuki Y, Kuwahara A, Yoshiki H, Sada K, Muramatsu I, Taniguchi T. Activation of muscarinic receptors prevents TNF- α -mediated intestinal epithelial barrier disruption through p38 MAPK. *Cell Signal*, 35: 188-196, 2017.
6. Słupecka M, Grzesiak P, Kwiatkowski J, Gajewska M, Kuwahara A, Kato I, Woliński J. The influence of enteral obestatin administration to suckling rats on intestinal contractility. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 248: 69-78, 2017.
7. Kaji I, Akiba Y, Kato I, Maruta K, Kuwahara A, Kaunitz JD. Xenin augments duodenal anion secretion via activation of afferent neural pathways. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 361(1): 151-161, 2017.
8. Yajima M, Karaki SI, Tsuruta T, Kimura S, Nio-Kobayashi J, Kuwahara A, Yajima T. Diversity of the intestinal microbiota differently affects non-neuronal and atropine-sensitive ileal contractile responses to short-chain fatty acids in mice. *Biomed. Res.*, 37(5): 319-328, 2016.
9. Antushevich, H., Kapica, M., Krawczynska, A., Herman, A., Kato, I., Kuwahara, A. and Zabielski, R. The role of apelin in the modulation of gastric and pancreatic enzymes activity in adult rats. *J. Physiol. Pharmacol.*, 67(3): 403-409, 2016.
10. Karaki, S., Ishikawa J., Tomizawa, Y. and Kuwahara, A. Effects of ϵ -viniferin, a dehydrodimer of resveratrol, on transepithelial active ion transport and ion

permeability in the rat small and large intestinal mucosa. *Physiol. Rep.*, 4:e12790, 2016.

11. Yajima, M., Kimura, S., Karaki, S., Nio-Kobayashi, J., Tsuruta, T., Kuwahara, A., Yajima, T. and Iwanaga, T. Non-neuronal, but atropine-sensitive ileal contractile responses to short-chain fatty acids: age-dependent desensitization and restoration under inflammatory conditions in mice. *Physiol. Rep.*, 4: Iss 7 Page 1-11, 2016.
12. Fujita, T., Karaki, S., Tateoka, T. and Kuwahara, A. Desacetyl bisacodyl-induced epithelial Cl⁻ secretion in rat colon and rectum. *Biomed. Res.*, 37(1): 13-20, 2016.
13. Kaji, I., Akiba, Y., Watanabe, M., Kimura, S., Iwanaga, T., Kuri, A., Iwamoto, K.I., Kuwahara, A. and Kaunitz, J. Neuronal FFA3 activation inversely regulates cholinergic-mediated secretion in rat proximal colon. *J. Physiol.*, 594(12): 3339-3352, 2016.

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

桑原厚和 (KUWAHARA ATSUKAZU)

京都府立医科大学・医学研究科・特任教授

研究者番号：60142890

(2)研究分担者：なし

(3)連携研究者：なし

(4)研究協力者：なし