

機関番号：34306

研究種目：基盤研究 C

研究期間：2008～2010

課題番号：20590264

研究課題名（和文） 胃・十二指腸重炭酸イオン分泌における局所性調節に関する研究

研究課題名（英文） Local regulatory mechanisms of gastroduodenal bicarbonate secretion:

研究代表者

竹内 孝治 (TAKEUCHI KOJI)

京都薬科大学 薬学部 教授

研究者番号：00150798

研究成果の概要(和文):胃・十二指腸アルカリ分泌における PGE<sub>2</sub>、ガス状メディエーター(NOR3、H<sub>2</sub>S、CO) および炭酸水による促進機序、ならびにアルカリ分泌の局所性調節におけるホスホジエステラーゼ(PDE)サブタイプを明らかにし、さらにムスカリン受容体各種サブタイプ(M<sub>1</sub>~M<sub>5</sub>)のノックアウト動物を使用し、コリン作動性アルカリ分泌調節に関与するムスカリン受容体サブタイプを特定した。

研究成果の概要(英文): We demonstrated in the present study that 1) endogenous PGs and gas mediators such as NO, H<sub>2</sub>S and CO, are involved in the local regulatory mechanism of the acid-induced duodenal HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion, 2) NO and CO stimulate HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion at least partly by increasing PG production, 3) the stimulatory action of H<sub>2</sub>S is partly mediated by PG and NO as well as by capsaicin-sensitive afferent neurons, 4) PGE<sub>2</sub> stimulates HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion via activation of EP3/EP4 receptors, and 5) both PDE1 and PDE3 are involved in the regulation of duodenal HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion. In addition, we also found, using muscarinic (M) receptor knockout mice, that 6) the cholinergic stimulation of duodenal HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion is mainly mediated by the activation of M1 and M3 receptors and modified by M4 receptors and that 7) the activation of M4 receptors inhibits the release of somatostatin from D cells and results in enhancement of the HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> response by removing the negative effect of somatostatin.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2009年度	800,000	240,000	1,040,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・薬理学一般

キーワード：(1) 十二指腸アルカリ分泌 (2) ガス状メディエーター (3) 硫化水素(H<sub>2</sub>S)  
 (4) 一酸化炭素(CO) (5) コリン作動薬 (カルバコール) (6) ムスカリン受容体サブタイプ  
 (7) M受容体ノックアウトマウス (8) D細胞/ソマトスタチン

## 1. 研究開始当初の背景

重炭酸イオン(HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>:アルカリ)分泌は、胃から排出される酸を中和することにより、胃・十二指腸における粘膜防御において極めて

重要な役割を果たすものと考えられている。アルカリ分泌の調節機序に関しては多くの研究が既に為されており、生理学的促進因子としてプロスタグランジン E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)をはじめ

め、迷走神経刺激、pituitary adenylate cyclase activating peptide などのペプチド、および粘膜酸性化が知られている(1-15)。申請者らもラット *in vivo* 実験系を中心に、十二指腸潰瘍発生時におけるアルカリ分泌異常の病態生理学的意義について研究し、PG 合成阻害薬であるインドメタシンおよびストレス等によりアルカリ分泌が低下した状態下において、胃酸の過分泌により容易に十二指腸損傷が発生することを実証してきた(16-18)。また、粘膜酸性化によるアルカリ分泌促進における知覚神経の関与、あるいは  $\text{PGE}_2$  によるアルカリ分泌促進に関する EP 受容体サブタイプの特定化を含め(19-24)、生理学的調節因子の同定および相互作用等については大部分解明されてきた。

アルカリ分泌を担っている上皮細胞は、酸分泌を担っている壁細胞と比較して、分泌細管、あるいは分泌小胞などの特殊構造を有しておらず、また分泌機能を反映するようなアミノピリンなどの測定プローブも開発されておらず、細胞レベルでの分泌機構の解明が甚だしく遅れている。事実、アルカリ分泌の細胞レベルでの情報伝達系、あるいは種々の作動薬の細胞レベルでのアルカリ分泌促進機序については不明である。 $\text{PGE}_2$  のアルカリ分泌促進作用はアデニレートサイクラーゼの活性化を介して cAMP によって(19,22-24)、NO によるアルカリ分泌促進はグアニレートサイクラーゼ/cGMP によって(25)、またコリン作動性刺激によるアルカリ分泌は  $\text{Ca}^{2+}$  イオンによって仲介されてことは報告されているものの(4)、生化学反応を含めた詳細な機序については依然不明である。一方、ホスホジエステラーゼ(PDE)は cAMP や cGMP の分解酵素であり、本酵素活性の増減によりアルカリ分泌が大きく影響されることも知られている(13,19,25)。PDE には cAMP と cGMP のいずれかを基質とするもの、あるいは両者を同等に基質とするもの等、多種類のアイソザイムがあるが、胃・十二指腸組織における PDE のアイソザイムに関しては全く知られておらず、生理学的な胃・十二指腸アルカリ分泌に如何なる PDE が関与するかについては一切不明である。特に、NO によるアルカリ分泌促進が十二指腸のみならず胃でも生じることが明らかとなったことより(9,25-27)、cGMP のアルカリ分泌調節における役割を明らかにするためにも、胃・十二指腸における PDE アイソザイムを特定することは重要であると思われる。この点に関しては、十二指腸においては前回の科研費により論文発表にまで至ったが(27)、胃においては今後の検討課題となっている。

## 2. 研究の目的

近年、生理的事象における新たな調節因子として、一酸化窒素(NO)を始めとして、硫化水素( $\text{H}_2\text{S}$ )や一酸化炭素(CO)などが消化管においても注目されているが、アルカリ分泌の調節系における実態については、NO 以外には、全く研究が為されておらず、アルカリ分泌の細胞内情報伝達系の解明と共に今

後の研究が切望されている。特に  $\text{H}_2\text{S}$  に関しては、最近、 $\text{H}_2\text{S}$  を遊離基として非ステロイド系抗炎症薬(NSAID)に導入した  $\text{H}_2\text{S}$  遊離 NSAID も開発されており、NO 遊離 NSAID と同様に、NSAID の有害反応を激減する胃腸に優しい NSAID として注目されてくる。しかし、 $\text{H}_2\text{S}$  の粘膜保護作用の発現機序についてはほとんど解明されておらず、また他の防御因子である PGs および NO、さらには知覚神経などとの関連性についても今後の検討課題となっている。一方 CO については、ヘムオキシゲナーゼ(HO)による生成物であり消化管では肝臓および小腸などで発現が認められているが、一部の機能および粘膜保護における関与が指摘されているのみであり、その実態については  $\text{H}_2\text{S}$  以上に不明である。特に消化管の機能に対するこれらガス状メディエーターの影響については胃粘膜血流に対して若干の検討が為されているのみであり、アルカリ分泌に対する影響については全く検討されていない。本研究では  $\text{H}_2\text{S}$  および CO などのガス状メディエーターのアルカリ分泌促進作用について、発現機序も含めて明らかにする予定である。また、NO についても、申請者は以前にカエルの単離十二指腸粘膜を用いた *in-vitro* の実験系において、NO 供与体の一つである NOR3 が十二指腸アルカリ分泌を濃度依存的に亢進させることを見いだしている(25)。この NOR3 の作用はインドメタシンの前処置で抑制されることから、内因性 PG によって少なくとも一部仲介されているものと考えられる(9,25-27)。NO の一般的な作用の発現機構としてグアニレートサイクラーゼの活性化による cGMP の産生亢進が知られているが、胃においても NO が cGMP 依存性に PG 産生を高め、結果的にアルカリ分泌を刺激する可能性も考えられる。本研究では、胃アルカリ分泌において PDE アイソザイムの特定を行うが、その際、NO と PG の相互作用についても検証する。

その他、アルカリ分泌における神経性調節にコリン作動性機構が関与していることは良く知られている。しかし、この反応におけるムスカリン受容体サブタイプについては全く検討されておらず、今後の検討が待たれている。ムスカリン受容体サブタイプについては、酸分泌についても従来のパラダイムと異なり、単に M3 受容体のみならず、M5 および M4 の関与が認めており(29)、逆に M1 の関与が否定されつつある。アルカリ分泌に関してもコリン作動性調節の存在は報告されているものの(30)、ムスカリン受容体サブタイプについては特定されておらず、各種ノックアウトマウスを使用した検討が必要となってくる。マウスの胃・十二指腸を用いた *in-vivo* 実験によるアルカリ分泌測定は既に確立しており、受容体を遺伝的に欠損したノックアウトマウスにおけるアルカリ分泌反応を検討することは容易であり、コリン作動性調節におけるムスカリン受容体サブタイプを特定することは十分に可能と思われる。

以上、本実験の目的は *in-vivo* 実験系および

神経支配あるいは液性支配のない *in-vitro* 実験系において、PGE<sub>2</sub>、NOR3、および粘膜酸性化による胃アルカリ分泌反応に関連する PDE アイソザイムを含めた細胞内情報伝達系を明らかにし、またアルカリ分泌調節における他のガス状メディエーターである H<sub>2</sub>S や CO の関与についてアルカリ分泌の組織レベルでの調節因子としての可能性を調べ、さらにアルカリ分泌におけるコリン作動性調節に関与するムスカリン受容体サブタイプを特定することにより、胃・十二指腸上皮細胞によるアルカリ分泌機構の解明に寄与することである。

### 3. 研究の方法

#### 実験概要

ラットおよびマウスの胃・十二指腸を使用した *in-vivo* 実験系、あるいはマウス摘出胃・十二指腸粘膜を使用した *in-vitro* 実験系で以下の検討を行なう。*In-vivo* 実験系においては、胃アルカリ分泌は水平型チャンバーに装着し、また十二指腸アルカリ分泌は起始部にループを作製し、生理食塩水の灌流下に HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> を自動滴定装置を使用し 5mM 塩酸により連続的に測定する。また、*in-vitro* 実験系においては、摘出胃・十二指腸をそれぞれ円形あるいは長方形型のウッシングチャンバーに装着し、管腔側あるいは漿膜側にそれぞれ 37°C に暖めた溶液を添加し、管腔側を 100%酸素ガス、漿膜側を 95%酸素ガス 5%炭酸ガスで灌流する。管腔側に分泌する重炭酸イオンを pH-stat 法により塩酸で連続滴定する。また必要に応じて、ウッシングチャンバー内に装着した電圧計により十二指腸粘膜電位差を測定する。初年度は PGE<sub>2</sub> および NOR3 を使用し、胃アルカリ分泌における cGMP の関与を検証し、これら作用における PDE アイソザイムの関係および cGMP とサイクロオキシゲナーゼ(COX)/PGE<sub>2</sub> との関連性について摘出マウス胃粘膜を用いた *in-vitro* 実験系で明らかにする。また、アルカリ分泌に対する H<sub>2</sub>S および CO の影響についても、粘膜酸性化による生理学的アルカリ分泌反応における関与を含めてラットを用いた *in-vivo* 実験において検討する。次年度には、胃・十二指腸アルカリ分泌に対するガス状メディエーターの作用を中心に、*in-vivo* および *in-vitro* 両実験を使用して、細胞内シグナルトランスダクションについて検討する。また、コリン作動性調節におけるムスカリン受容体サブタイプの特定制についても予備検討的はじめ、この点については3年目に集中して検討する。

#### 平成 20 年度

1. PGE<sub>2</sub> および NO の胃アルカリ分泌に対する作用をラットおよびマウスで確認した後、NO 供与体である NOR3 を使用し、NOR3 の作用に対するメチレンブルー、インドメタシン、非選択的 PDE 阻害薬である IBMX あるいは Ca<sup>2+</sup>拮抗薬(ベラパミル)の影響を調べる。その後、摘出マウスの胃を用いて、NOR3 のアルカリ分泌刺激に対する種々の PDE 阻害薬の影響を検討する。また実際に細胞膜透過

性の cGMP の誘導体である 8-ブromo cGMP の作用も調べ、この作用に対する PDE 阻害薬の影響も検討する。その他、マウス PDE アイソザイムのセンサーおよびアンチセンサーを設計し、胃粘膜における主要な PDE アイソザイム(I-V)の遺伝子発現を RT-PCR で調べる。

(H 字管ウッシングチェンバー、自動滴定装置およびデータ解析用コンピューター、各種試薬)

2. NOR3 の胃アルカリ分泌に対する作用が COX を介するか否かをラット *in-vivo* 実験系において調べる。NOR3 の管腔内適用によるアルカリ分泌促進作用に対して非選択的 COX 阻害薬であるインドメタシン、COX-1 選択的阻害薬である SC-560 あるいは COX-2 選択的阻害薬ロフェコキシブの前処置の影響を検討すると共に、NOR3 適用前後における管腔内 PGE<sub>2</sub> 含量も EIA によって測定する。一部の試験は摘出マウスを用いた *in-vitro* 実験系でも検討し、特に cGMP のアルカリ分泌促進作用と COX/PGE<sub>2</sub> の関連性について検証する。(自動滴定装置およびデータ解析用コンピューター、PGE<sub>2</sub> EIA キット、各種試薬)

3. H<sub>2</sub>S の胃・十二指腸アルカリ分泌に対する影響をラット *in-vivo* 実験系において調べる。予備実験で H<sub>2</sub>S がアルカリ分泌を促進することは確認しているため、その分泌促進機序について、ATP 感受性 K<sup>+</sup>チャンネル、カプサイシン感受性知覚神経、内因性 PG および NO の関与について、インドメタシン、L-NAME、ATP 感受性 K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤であるグリベンクラミド、あるいはカプサイシン処置(知覚神経麻痺)などの影響を調べることにより検討する。また、H<sub>2</sub>S 投与後における胃粘膜内 NO および PGE<sub>2</sub> 含量も測定する。(自動滴定装置およびデータ解析用コンピューター、PGE<sub>2</sub> EIA キット、各種試薬)

#### 平成 21 年度

1. 粘膜酸性化によるアルカリ分泌は粘膜保護において最も重要であり、この反応における内因性 PGE<sub>2</sub>、NO および知覚神経の関与は既に胃・十二指腸粘膜で共に証明されている (Takeuchi et al. *Gastroenterology* 101: 954-961, 1991; *Dig Dis Sci* 37: 737-743, 1992)。この反応における内因性 H<sub>2</sub>S の関与を調べるために、ATP 感受性 K<sup>+</sup>チャンネル阻害剤であるグリベンクラミドや H<sub>2</sub>S の合成阻害であるプロパジルグリシンの効果を検討する。また、H<sub>2</sub>S 合成酵素である cystathionine-β-synthase (CBS) や cystathionine-g-lyase (CSE) のマウスにおけるセンサーおよびアンチセンサーを設計し、胃・十二指腸粘膜におけるこれら H<sub>2</sub>S 合成酵素の遺伝子発現を RT-PCR で調べる。(自動滴定装置およびデータ解析用コンピューター、各種試薬)

2. CO の胃・十二指腸アルカリ分泌に対する影響をラット *in-vivo* 実験系において調べる。CO が H<sub>2</sub>S と同様にアルカリ分泌を促進することも予備実験で確認しているため、その分泌促進機序について、種々の薬物を使用して調べる。CO 供与体である

tricarbonyldichlororuthenium、インドメタシンおよびL-NAMEなどのCOによるアルカリ反応に対する影響や、HOによるヘム蛋白からの他の生成物であるビリベルジンなどのアルカリ分泌反応も検討する。また、粘膜酸性化によるアルカリ分泌に対するHOの阻害剤である tin protoporphyrin-IX の影響についても調べる。L-NAMEで抑制されるようであれば、PGE<sub>2</sub>およびNO産生に対するCOの影響も検討する。また、COの産生酵素であるHOに関しては誘導型(HO-1)と構成型(HO-2)およびHO-3)があるので、これらHOのアイソザイムの胃・十二指腸粘膜における発現をRT-PCR法によって検討する。(自動滴定装置およびデータ解析用コンピューター、各種試薬)

#### 平成22年度

1. H<sub>2</sub>SおよびCOのアルカリ分泌促進作用に関し、それまでの2年間で十分に吟味出来なかった点について、引き続き検討する。(自動滴定装置およびデータ解析用コンピューター、各種試薬)

2. カルバコールが十二指腸アルカリ分泌を刺激することは以前にラットを用いた in-vivo 実験系において報告している (Takeuchi et al. J Pharmacol Exp Ther 254: 465-470, 1990)。本薬物がマウス摘出胃・十二指腸を使用した in-vitro 実験系でアルカリ分泌を刺激することを確認した後、M1~M5受容体を遺伝的に欠損したマウスの胃・十二指腸においてカルバコールの作用を検討する。(H字管ウッシングチェンバー、自動滴定装置およびデータ解析用コンピューター、各種試薬)

3. 2)において、複数の受容体サブタイプに関連性が明らかとなった場合(胃酸分泌ではM3以外にM5およびM4の関与が明らかとなっており、特にM4の関与についてはD細胞/ソマトスタチンとの関連性が証明されつつある)、酸分泌調節における成績を参考に、ソマトスタチンおよびソマトスタチン拮抗薬のアルカリ分泌に対する作用、あるいはM4ノックアウトマウスにおけるアルカリ分泌反応に対するソマトスタチン拮抗薬の影響等を調べることにし、ムスカリン受容体サブタイプ間の相互作用の実態についても検討する。(H字管ウッシングチェンバー、自動滴定装置およびデータ解析用コンピューター、各種試薬)

#### 4. 研究成果

1) PGE<sub>2</sub>のアルカリ分泌促進作用に関与するEP受容体サブタイプについて、最近開発されたサブタイプ選択的なEP1、EP3、EP4拮抗薬を用いて検討し、胃ではEP1受容体およびCa<sup>2+</sup>、十二指腸ではEP3/EP4受容体およびCa<sup>2+</sup>/cAMPを介することを確認することができた。(Aihara et al., Life Science, 80, 2446-2453, 2007)

2) 炭酸水の管腔内適用はラット胃・十二指腸のアルカリ分泌を増大させた。胃における反応は炭酸脱水酵素(CA)阻害薬であるアセタゾールアミド(AZ)によって完全に抑制さ

れるが、十二指腸での反応はAZにより部分的かつ有意に抑制され、インドメタシンおよび知覚神経麻痺によっても有意に抑制された。炭酸水は十二指腸粘膜においてPGE<sub>2</sub>産生を増大した。すなわち、炭酸水によるアルカリ分泌促進は胃と十二指腸で異なり、胃では主としてCA依存的に細胞内で変換されたHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>を起源とするのに対し、十二指腸ではCA依存性のHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>分泌に加え、CAにより変換され血中側に排出されたH<sup>+</sup>がPGE<sub>2</sub>産生や知覚神経を介してHCO<sub>3</sub><sup>-</sup>分泌を生じるものと推察された。この過程はNHE1阻害薬やNBC阻害薬によっても抑制されることから、H<sup>+</sup>の細胞外への排出はH<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>交換およびNa<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>交換体を介して生じるものと推察された。

(Sasaki et al., Inflammopharmacology, 15, 223-228, 2007)

3) 摘出マウスの胃・十二指腸を用い、PGE<sub>2</sub>およびNOR3によるアルカリ分泌反応に対するサブタイプ選択的PDE阻害薬の影響を検討した。十二指腸におけるPGE<sub>2</sub>の作用はPDE IおよびIII阻害薬によって増大したが、NOR3作用はPDE Iによってのみ有意に増大した。一方、胃におけるPGE<sub>2</sub>の作用は如何なるPDE阻害薬によっても影響を受けなかったが、NOR3の作用はPDE IおよびVの阻害薬によって有意に増大した。すなわち、十二指腸ではPDE IおよびIIIが、また胃ではPDE IおよびVがアルカリ分泌の局所性調節に関与していることが判明した。(Hayashi et al., Biochemical Pharmacology, 74, 1507-1513, 2007; Kita et al., J Pharmacol Exp Ther 326: 889-896, 2008)

4) NOR3(NOの供与体)もcGMPを介して胃・十二指腸アルカリ分泌を促進するが、この作用はメチレンブルー、インドメタシンおよびSC-560の前処置によって抑制される。一方、NOR3は胃・十二指腸においてPGE<sub>2</sub>産生を増大させた、胃アルカリ分泌はEP1拮抗薬により、また十二指腸アルカリ分泌はEP3/EP4拮抗薬により抑制された。即ち、NOのアルカリ分泌促進作用はcGMP依存性にCOX-1を活性化し、PGE<sub>2</sub>を介して発現するものと推察された。(Kita et al., J Pharmacol Exp Ther 326: 889-896, 2008)

5) H<sub>2</sub>S供与体であるNaHSは十二指腸アルカリ分泌を増大させ、またこの反応は内因性PG、NOおよび知覚神経によって仲介されていることが判明した。一方、粘膜酸性化によるアルカリ分泌反応もH<sub>2</sub>S生成酵素であるCSEの阻害薬によって有意に抑制されたことから、内因性H<sub>2</sub>Sは十二指腸アルカリ分泌の生理学的な調節系に関与するものと推察された。(Ise et al., Acta Physiologica, in press)

6) COドナーであるCORM-2は十二指腸アルカリ分泌を増大し、この作用はインドメタシンおよびアセタゾラミドにより有意に抑制されたが、NO合成酵素阻害薬は影響を与えなかった。CORM-2は粘膜PGE<sub>2</sub>産生を促進した。一方、粘膜酸性化による十二指腸アルカリ分泌反応はCO生成酵素阻害薬(SnPP)により抑制され、酸誘起粘膜損傷もSnPPの前処置により増悪した。これらの結果より、十二指腸ア

ルカリ分泌は内因性 H0(ヘムオキシゲナーゼ)によって、少なくとも一部、調節されており、H0 由来 CO はアルカリ分泌促進を介して十二指腸粘膜の恒常性維持に寄与することが推察された。

7) マウス摘出十二指腸を使用した in-vitro 実験系において、カルバコール (CCh) 誘起アルカリ分泌に関するムスカリン (M) 受容体サブタイプを検討した。CCh 誘起アルカリ分泌はアトロピン前処置でほぼ完全に抑制され、インドメタシンおよび L-NAME では殆ど影響を受けなかった。CCh による反応は M2 および M5 ノックアウト動物では WT 動物と同様に観察されたが、M1、M3 および M4 ノックアウト動物で著明な減少が認められた。特に M4 ノックアウト動物における反応は顕著であったが、この反応はソマトスタチン SST2 受容体拮抗薬の前処置により完全に拮抗された。また、外因性ソマトスタチン誘導体は CCh 誘起アルカリ分泌を有意に抑制した。更に、CCh は組織内ソマトスタチン遊離を抑制し、この反応は M4 ノックアウトにより消失した。これらの結果より、CCh のアルカリ分泌反応は M1、M3 および M4 受容体によって仲介されており、特に Gi 関連受容体である M4 の活性化は D 細胞からのソマトスタチン遊離を抑制することにより、間接的にアルカリ分泌を促進させるものと推察された。

#### 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 7 件)

- ① Takasuka H, Hayashi S, Koyama M, Yasuda M, Aihara E, Amagase K. and Takeuchi K. Carbon monoxide involved in modulating  $\text{HCO}_3^-$  secretion in rat duodenums. J Pharmacol Exp Ther, in press, 査読有、337、293-300、2011
  - ② Takeuchi K, Kita K, Hayashi S, and Aihara E. Regulatory mechanism of duodenal bicarbonate secretion: Roles of endogenous prostaglandins and nitric oxide. Pharmacology & Therapeutics, 査読有、130、59-70、2011
  - ③ Ise F, Takasuka H, Hayashi S, Takahashi K, Koyama M, Aihara E, and Takeuchi K. Stimulation of duodenal  $\text{HCO}_3^-$  secretion by hydrogen sulfide in rats: Relation to prostaglandins, nitric oxide and sensory neuron. Acta Physiologica, 査読有、201、117-126、2011
  - ④ Takeuchi K, Koyama M, Hayashi S. and Aihara E. Prostaglandin EP receptor subtypes involved in regulating  $\text{HCO}_3^-$  secretion from gastroduodenal mucosa. Current Pharm Design, 査読有、16、1241-1251、2010
  - ⑤ 高須賀洋徳, 小山真史, 林 周作, 栗飯原永太郎, 竹内孝治, 十二指腸アルカリ
- 分泌における CO の影響. Ulcer Research, 査読有、37、144-148、2010
- ⑥ 大橋由美, 高須賀洋徳, 高橋健人, 栗飯原永太郎, 竹内孝治, 十二指腸重炭酸イオン分泌におけるブラジキニンの影響. Ulcer Research, 査読有、36、207-210、2009
  - ⑦ Okuda S, Honda M, Ito Y, Aihara E, Kato S, Mitsufuji S, Yoshikawa T. and Takeuchi K. Phosphodiesterase isozymes involved in regulating acid secretion in the isolated mouse stomach. J Physiol Pharmacol, 査読有、60 (Suppl. 7)、183-190、2009
- [学会発表] (計 15 件)
- ① 小山真史, 加藤伸一, 竹内孝治, 胃酸分泌におけるカルシウム感知受容体の関与. 第 38 回日本潰瘍学会、2010. 11. 19、リーガロイヤルホテル大阪
  - ② 土岸広治, 小山真史, 林 周作, 栗飯原永太郎, 加藤伸一, 竹内孝治, マウス胃酸分泌におけるカルシウム感知受容体 (CaSR) の役割、次世代を担う創薬・医療薬理シンポジウム 2010、2010. 9. 11、京都大学
  - ③ Koji T, Masafumi K, Kento T, Eitaro A, Naoto K, and Shusaku H, Muscarinic acetylcholine receptor subtypes involved in carbachol-induced  $\text{HCO}_3^-$  secretion in mouse duodenum in Vitro. 16<sup>th</sup> World Congress on Basic and Clinical Pharmacology (Copenhagen, Denmark)、2010. 7. 15、Copenhagen, Denmark
  - ④ Koji T, Role of nitric oxide in the regulatory mechanisms of gastroduodenal  $\text{HCO}_3^-$  secretion. The 6<sup>th</sup> International Conference on the Biology, Chemistry, and Therapeutic Applications of Nitric Oxide、2010. 6. 15、国立京都国際会館
  - ⑤ Ryoji K, Masashi Y, Kikuko A, Shinichi K, and Koji T, Activation of muscarinic acetylcholine receptor subtype 4 is essential for carbachol-induced pepsinogen secretion in mice: relation to D cells/somatostatin. American Gastroenterological Association 2010. 5. 2, New Orleans, USA
  - ⑥ Masafumi K, Shusaku H, Eitaro A, Shinichi K, and Koji T, Role of calcium-sensing receptor (CaSR) on gastric acid secretion in isolated mouse stomachs. American Gastroenterological Association, 2010. 5. 2, New Orleans, USA
  - ⑦ Maya H, Sayaka O, Eitaro A, Shinichi K, and Koji T, Phosphodiesterase isozymes involved in regulatory mechanism of acid secretion in isolated mouse stomachs. American Gastroenterological Association 2010. 5. 2, New Orleans, USA
  - ⑧ Masafumi K, Yumi O, Hironori T, Shusaku H, Eitaro A, and Koji T, Higher rate

of acid-induced duodenal  $\text{HCO}_3^-$  secretion in female than male rats: importance of enhanced ASIC3 expression by estradiol. American Gastroenterological Association 2010. 5. 2, New Orleans, USA

⑨ Masafumi K, Shusaku H, Kento T, and Koji T: Lubiprostone stimulates  $\text{HCO}_3^-$  secretion in isolated mouse stomachs in vitro through activation of prostaglandin EP1 receptors. American Gastroenterological Association, 2010. 5. 2, New Orleans, USA

⑩ 小山真史、大橋由美、高須賀洋徳、栗飯原永太郎、竹内孝治: 粘膜酸性化による十二指腸アルカリ分泌の増大における性差. 第83回日本薬理学会年会、2010. 3. 16、大阪国際会議場

⑪ 本田真弥、奥田さやか、出原千歳、加藤伸一、竹内孝治: 胃酸分泌の調節におけるホスホジエステラーゼ (PDE) アイソザイムの関与. 第28回 Cytoprotection 研究会、2010. 3. 5、ホテルグランビア京都

⑫ 高須賀洋徳、林周作、倉田直人、栗飯原永太郎、竹内孝治: 胃酸分泌におけるカルシウム感知受容体の関与. 第6回日本消化管学会総会学術集会、2010. 2. 19、福岡国際会議場

⑬ 小山真史、高橋健人、喜多一智、林周作、松井稔、竹内孝治: 十二指腸アルカリ分泌におけるムスカリン受容体の関与. 第6回日本消化管学会総会学術集会、2010. 2. 19、福岡国際会議場

⑭ Hironori T、Masafumi K、Shusaku H, Eitaro A, and Koji T: Effect of carbon monoxide/heme oxygenase on duodenal  $\text{HCO}_3^-$  secretion in rats. The 5<sup>th</sup> Collaboration Meeting on GI Pharmacology co-sponsored by Kyoto Pharmaceutical University and Yonsei University, 2010. 2. 4、京都薬科大学

⑮ Masafumi K、Kazutomo K, Kento T, Shusaku H, Shinichi K, Minoru M, and Koji T: Muscarinic acetylcholine receptor subtypes involved in carbachol-induced  $\text{HCO}_3^-$  secretion in mouse duodenum *in vitro*. The 5<sup>th</sup> Collaboration Meeting on GI Pharmacology co-sponsored by Kyoto Pharmaceutical University and Yonsei University, 2010. 2. 4 京都薬科大学

[図書] (計3件)

- ① Takeuchi et al, Academic Press, Physiology of Gastrointestinal Tract, 2011, in press
- ② Takeuchi et al, Karger Publisher, Advanced Gas Biology for Medical and Clinical Practice, 2011, 10
- ④ Takeuchi K, Academic Press, Advances Clin Chem, 2010, 23

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

竹内 孝治 (TAKEUCHI KOJI)  
京都薬科大学・薬学部・教授  
研究者番号: 00150798

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者

栗飯原 永太郎 (KURIHARA EITARO)  
京都薬科大学・薬学部・大学院生

研究者番号: 99999999

佐々木 陽子 (SASAKI YOKO)

京都薬科大学・薬学部・大学院生

研究者番号: 99999999

喜多 一智 (KITA KAZUTOMO)

京都薬科大学・薬学部・大学院生

研究者番号: 99999999

伊勢 文孝 (ISE FUMITAKA)

京都薬科大学・薬学部・大学院生

研究者番号: 99999999

大橋 由美 (OHASHI YUMI)

京都薬科大学・薬学部・大学院生

研究者番号: 99999999

高須賀 洋徳 (TAKASUKA HIRONORI)

京都薬科大学・薬学部・大学院生

研究者番号: 99999999

高橋 健人 (TAKAHASHI KENTO)

京都薬科大学・薬学部・大学院生

研究者番号: 99999999

小山 真史 (KOYAMA MASAFUMI)

京都薬科大学・薬学部・大学院生

研究者番号: 99999999