

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K11544

研究課題名（和文）消化管粘膜上皮化学物質受容機構を介した肥満等代謝性疾患予防に関する研究

研究課題名（英文）Study on Prevention of Obesity and Other Metabolic Diseases by mucosal chemosensory Mechanisms in the gastrointestinal tract

研究代表者

桑原 厚和（kuwahara, Atsukazu）

山形大学・地域教育文化学部・客員教授

研究者番号：60142890

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：消化管には化学物質を認識する機構が存在する。本研究では、その認識機構を明らかにすることでメタボリックシンドロームや高次脳機能障害などの予防のための基礎的知見を提供した。本研究では、腸内細菌が産生する二次胆汁酸を化学物質として用い、免疫組織化学と電気生理学的手法により、化学物質認識機構の情報伝達経路について解析を行った。二次胆汁酸は、L型腸内分泌細胞に発現している二次胆汁酸受容体を刺激し、PYYを放出させた。放出されたPYYはVIP含有神経上に発現しているY2受容体を刺激し情報を中枢へ伝達していることを明らかにした。さらに、二次胆汁酸は局所的にイオン輸送を抑制することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、消化管に存在する生体にとり有用なものと有害なものとを区別するための化学物質受容の情報伝達機構の一端を示しており、外部環境に存在する化学物質をどのような機構で認識し、その情報をどのようにして中枢に伝えるのかといった基本的な知見を提出しており、学術的意義も高い。さらに、最近の研究ではこの受容機構の破綻が高次脳機能障害を含む各種疾患の成因の1つであるとの報告が多くなされているため、本研究の成果は肥満等を含むメタボリックシンドロームや高次脳機能障害などの予防のための基礎的な知見を提出するものであり、社会的にも意義ある研究であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The gastrointestinal (GI) tract has a chemosensory system that accepts chemicals present in the GI lumen and conveys the information to the central nervous system in cooperation with the enteric nervous system, contributing to the control of many physiological functions. Recently, it has become clear that disruption of this chemosensory mechanism affects the onset of various diseases including metabolic syndrome. In this study, we conducted experiments to analyze the receptor and signaling mechanisms of secondary bile acids, which are modified by intestinal bacteria, in order to obtain basic knowledge for establishing preventive methods for obesity-related glucose metabolic diseases and higher brain dysfunction. We found that secondary bile acids stimulate the bile acid receptor TGR5 expressed on enteroendocrine cells, which activates and transmits information to Y2 receptors expressed on VIP-containing nerves.

研究分野：消化管生理学

キーワード：化学物質受容機構 腸内分泌細胞 腸管神経系 上皮イオン輸送 脳-腸軸

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

消化管内腔には、食物や腸内細菌叢に由来する様々な種類の化学物質が存在する。私たちは嗅覚、味覚、視覚に基づいて、有益な化学物質か有害な化学物質かを意識的に選択することができる。しかしながら、いったん消化管に入った食物中の化学物質や常在細菌叢由来の代謝産物は、意識的に認識することができない。最近の研究では、味覚や嗅覚と同様の化学物質認識機構が消化管にも存在し管内の化学物質を無意識のうちに認識することで、有益な物質か有害な物質かを取捨選択し、その情報を中枢へ伝える機構が存在すること明らかになっている。消化管におけるこの化学物質認識機構は、消化プロセスや、エネルギー恒常性の維持や高次脳機能を含む様々な生理機能の調節に重要な役割を果たしている。実際、腸管内腔における化学物質の認識は、身体の恒常性を維持するための最初のシグナルとして重要であり、脳 - 腸軸に関連する食欲、満腹感、高次脳機能などの広範な機能制御に関与しており、この認識機構の不調が肥満や高次脳機能障害の原因であることが次第に明らかになりつつある。

### 2. 研究の目的

化学物質受容細胞である腸内分泌細胞には 20 種類以上の脳腸ペプチドが含まれており、これらが化学言語として腸内分泌細胞と近傍の神経や免疫細胞との橋渡しをしている[Int J Exp Pathol, 92(4), 219-231, 2011]。一般的には腸内分泌細胞と神経間には直接的な連絡はないとされてきたが、最近の研究から腸の内分泌細胞と神経が直接シナプスをつくり、相互作用していることが明らかとなり[J Clin Invest, 125, 782-786, 2015]、一層、化学物質受容細胞とその下流にある神経系との相互作用を明らかにすることが重要となってきた。また、腸内分泌細胞はその形態や含まれるホルモンの種類などにより従来は分類されてきたが、最近の研究により、遺伝子発現のパターンにより腸内分泌細胞を再分類しようとする試みがなされるようになってきている[J Clin Endocrinol Metab, 101(3), 778-786, 2016]。しかも、1 個の腸内分泌細胞には複数の脳腸ペプチドが含まれており、これらの放出動態がどのように情報伝達を修飾するかについてはほとんど明らかではない。消化管内に存在する化学物質による肥満や代謝性疾患に及ぼす影響に関する研究の多くは、血流を介した作用機構の解析や、粘膜上皮での化学物質受容機構をバイパスさせ腸内分泌細胞が分泌する各種脳腸ペプチドの腹腔内投与による解析がほとんどであり[Neurogastroenterol Motil, 28, 620-630, 2016; Diabetes, 65, 34-43, 2016; Am J Physiol, 315(4), R708-R720, 2018; Nat Commun, 9(1), 113, 2018]、消化管管腔に存在する実際のシグナル分子刺激による伝達経路についての解析はほとんどないのが現状である。本研究では、この点を明らかにするため化学物質受容機構を構成する各コンポーネントおよびコンポーネント間の相互連絡を消化吸収が活発な小腸および腸内細菌が一番多く常在している大腸を用いて解析した。

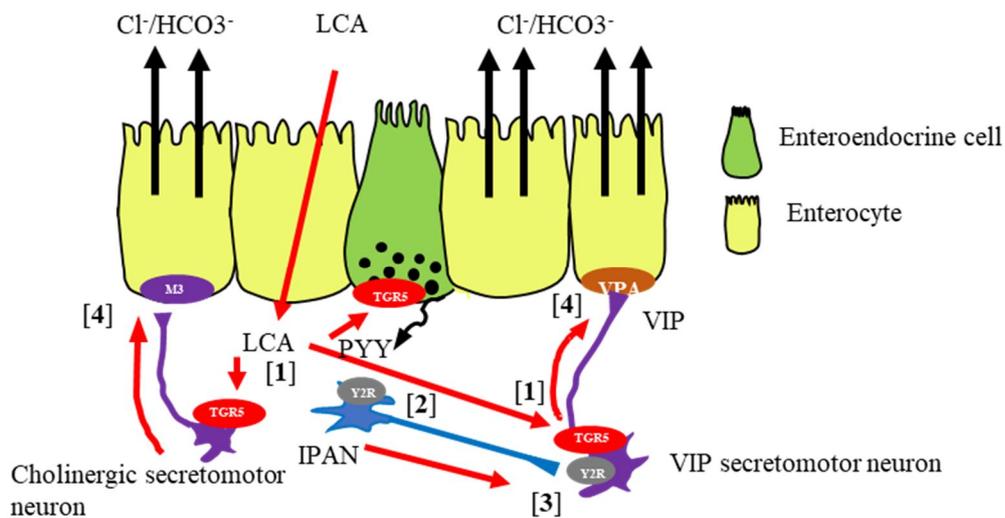
### 3. 研究の方法

申請者らは予備実験により食物由来成分及び腸内細菌由来代謝産物が粘膜上皮に発現している香り成分受容体や苦味受容体を介して、局所でのイオン輸送に影響することを見出している。そこで、本研究では、申請者らが最もよく研究してきた短鎖脂肪酸受容体刺激に加え、新規に見つけた各種香り成分や苦味受容体刺激物質の腸内分泌細胞での受容からその情報の腸内神経系への伝達機構を Ussing chamber 法を用いて、管腔刺激により放出される脳腸ペプチドの放出動態により解析する。さらに、研究協力者の桑原裕子氏(立命館大学客員研究員)の参画により腸内分泌細胞に発現している各種化学物質受容体の発現および腸内分泌細胞と腸管神経系との

空間的位置や神経活動などについての形態学的解析を行った。

#### 4. 研究成果

実験は、ラット遠位結腸の粘膜 - 粘膜下標本を Using-chamber に装着し、イオン輸送を指標として検討した。粘膜下神経叢の電気刺激によりラット遠位結腸ではコリン作動性および非コリン作動性の分泌反応が誘発された。この反応は TTX ( $10^{-6}M$ ) によってほぼ完全に消失したが、atropine ( $10^{-5}M$ ) や hexamethonium ( $10^{-4}M$ ) によっては阻害されなかった。VPAC1 受容体に対する選択的拮抗薬は神経刺激によるイオン輸送を大幅に減少させた。この結果から、ラット遠位結腸は非コリン作動性 VIP 分泌運動ニューロンによって主に支配されていることが示唆された。 $6 \times 10^{-5}M$  の二次胆汁酸 LCA (Lithocholic acid) を基底側に添加すると、神経刺激による誘発反応が抑制された。LCA の抑制作用は、Y2R 阻害薬 BIIE0246 によって部分的に回復した。胆汁酸受容体 TGR5 アゴニスト INT-777 は、LCA と同様に神経により誘発されたイオン電流を抑制した。免疫組織化学により、L 細胞上に TGR5 と PYY が共発現していることを確認した。TGR5 免疫活性は、PYY 受容体 Y2R を発現する VIP 陽性粘膜下神経細胞にも認められた。これらの結果から、LCA は L 細胞上の TGR5、粘膜下神経叢のコリン作動性神経および VIP 分泌運動神経の活性化を通じて、神経誘発性の  $Cl^-/HCO_3^-$  分泌を抑制することが示唆された。この抑制機構には、L 細胞からの TGR5 刺激による PYY 放出と VIP 分泌運動神経における Y2R 活性化が関与している可能性がある。さらに、粘膜下神経叢を含む腸管神経は味嚙井神経や骨盤神経などを介して中枢と密に情報伝達を行っている。従って、本研究の成果から、管腔内に存在する化学物質である二次胆汁酸は、L 細胞に発現している TGR5 により認識され、その情報は PYY 放出を介して、Y2R を発現している腸管神経の VIP 神経を活性化させることにより、管腔内情報を中枢へ伝達していることが考えられた。



二次胆汁酸の化学受容情報伝達の模式図

本研究から得られた情報伝達経路も模式図を上を示す。

- [1] LCA は管腔側から基底側へ輸送される。その後、L 細胞の基底側、コリン作動性神経及び非コリン作動性神経に発現している胆汁酸受容体である TGR5 を刺激する。
- [2] LCA は腸内分泌細胞の一つである L 細胞に発現している TGR5 を刺激して PYY を基底側に放出する。そして放出された PYY は NPY を含有している内因性一時求心性神経 (Intrinsic primary afferent neurons (IPANs)) に発現している Y2R に結合し、IPANs を活性化する。
- [3] IPANs から放出された NPY は VIP 含有神経上に発現している Y2R を活性化させ VIP 神

経を興奮させる。さらに、IPANs からの情報は中枢へと伝達される。

[4] コリン作動性神経及び非コリン作動性神経に発現している TGR5 の直接作用により神経により誘発された水分分泌は局所的に抑制される。これらの抑制機構には M3 受容体と VPAC1 受容体が関与している。

このような機構により、管腔内に存在する化学物質の認識は局所及び生体全体への制御機構に関与していることが考えられるが、すべての化学物質受容が同じ伝達経路を利用するとは考得にくき更なる研究が必要と思われる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 TAKAHASHI Kohei, KUWAHARA Yuko, KATO Ikuo, ASANO Shinji, KOZAKAI Takaharu, MARUNAKA Yoshinori, KUWAHARA Atsukazu	4. 巻 43
2. 論文標題 Secondary bile acid lithocholic acid attenuates neurally evoked ion transport in the rat distal colon	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 223 ~ 239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.43.223	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 2. Hosogi S, Kuwahara A, Kuwahara Y, Tanaka S, Shimamoto C, Tagawa N, Kato I, Yoshimoto K, Aoi W, Takata K, Miyazaki H, Niisato N, Tsubo Y, Yagi K, Nakahari T, Marunaka Y.	4. 巻 44
2. 論文標題 Mumefural prevents insulin resistance and amyloid-beta accumulation in the brain by improving lowered interstitial fluid pH in type 2 diabetes mellitus.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 17-29
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.44.17.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kuwahara Yuko, Takahashi Kohei, Akai Miho, Kato Ikuo, Kozakai Takaharu, Asano Shinji, Inui Toshio, Marunaka Yoshinori, Kuwahara Atsukazu	4. 巻 147
2. 論文標題 Minimum biological domain of xenin-25 required to induce anion secretion in the rat ileum	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Peptides	6. 最初と最後の頁 170680 ~ 170680
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.peptides.2021.170680	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 KUWAHARA Atsukazu, MATSUDA Kyoko, KUWAHARA Yuko, ASANO Shinji, INUI Toshio, MARUNAKA Yoshinori	4. 巻 41
2. 論文標題 Microbiota-gut-brain axis: enteroendocrine cells and the enteric nervous system form an interface between the microbiota and the central nervous system	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedical Research	6. 最初と最後の頁 199 ~ 216
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2220/biomedres.41.199	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kuwahara Yuko, Kato Ikuo, Inui Toshio, Marunaka Yoshinori, Kuwahara Atsukazu	4. 巻 9
2. 論文標題 The effect of Xenin25 on spontaneous circular muscle contractions of rat distal colon in vitro	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Physiological Reports	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14814/phy2.14752	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Slupecka-Ziemilska Monika, Szczurek Paulina, Boryczka Maria, Gajewska Malgorzata, Wychowanski Piotr, Kuwahara Atsukazu, Kato Ikuo, Dziegielewska Zaneta, Wolinski Jaroslaw	4. 巻 15
2. 論文標題 The effects of intra-stomach obestatin administration on intestinal contractility in neonatal piglets fed milk formula	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 1-13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0230190	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Akiba Yasutada, Maruta Koji, Takajo Takeshi, Narimatsu Kazuyuki, Said Hyder, Kato Ikuo, Kuwahara Atsukazu, Kaunitz Jonathan D.	4. 巻 318
2. 論文標題 Lipopolysaccharides transport during fat absorption in rodent small intestine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology	6. 最初と最後の頁 G1070 ~ G1087
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1152/ajpgi.00079.2020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Maruta Koji, Takajo Takeshi, Akiba Yasutada, Said Hyder, Irie Emi, Kato Ikuo, Kuwahara Atsukazu, Kaunitz Jonathan D.	4. 巻 65
2. 論文標題 GLP-2 Acutely Prevents Endotoxin-Related Increased Intestinal Paracellular Permeability in Rats	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Diseases and Sciences	6. 最初と最後の頁 2605 ~ 2618
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10620-020-06097-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Wolinski J., Szczurek P., Pierzynowska K., Wychowanski P., Seklecka B., Boryczka M., Kuwahara A., Kato I., Drahanchuk O., Zaworski K., Pierzynowski S.G., Słupecka-Ziemilska M.	4. 巻 14
2. 論文標題 Influence of obestatin on the histological development of the small intestine in piglets during the first week of postnatal life	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Animal	6. 最初と最後の頁 2129 ~ 2137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S1751731120000919	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

#### 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	加藤 郁夫  (Kato Ikuo)  (70509843)	神戸薬科大学・薬学部・教授     (34512)	

#### 7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

#### 8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------