

## ウニもヒトも腸の幽門開口は類似の仕組みで制御されている

### ～一酸化窒素による幽門開口メカニズムの進化～

#### 研究成果のポイント

1. 後口動物内で、脊椎動物以外でも腸の幽門開口に一酸化窒素が利用されていることを初めて明らかにしました。
2. ウニ幼生の幽門が一酸化窒素依存的に開口制御を受けること、また、神経型一酸化窒素合成酵素を発現する神経様細胞が幽門付近にあり、それが内胚葉由来であることを明らかにしました。
3. ヒトを含む動物の進化の過程で、幽門の開口制御がどのように獲得され多様化してきたのかを考える上で、重要なヒントをあたえる成果です。

国立大学法人筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター 谷口俊介准教授と谷口順子研究員(日本学術振興会特別研究員)は、バフンウニ(*Hemicentrotus pulcherrimus*)を用いて、その幼生期の胃腸において、幽門の開口は一酸化窒素<sup>※1</sup>によって制御されており、その近傍には神経型一酸化窒素合成酵素を発現している内胚葉<sup>※2</sup>由来の神経様細胞が存在していることを明らかにしました。

ヒトを含む脊椎動物では、神経堤細胞<sup>※3</sup>由来の腸管神経が胃や腸といった消化管の機能を制御しています。しかし、神経堤細胞は脊椎動物でしか見られないため、消化管制御の仕組みが動物進化の過程でどのように獲得され、多様化してきたのかを議論することが不可能でした。そこで、脊椎動物と同じ後口動物に属しながら、神経堤細胞を持たない無脊椎動物である棘皮動物のウニ幼生の消化管に着目し、特に幽門の開閉がどのように制御されているのかを明らかにすることを試みました。その結果、ウニ幼生の幽門付近に神経様細胞が存在しており、そこで生産されている一酸化窒素が幽門の開口を制御していることが明らかになりました。これは、脊椎動物の腸管神経が一酸化窒素を利用して幽門開口を制御していることと類似しています。しかし、ウニには神経堤細胞が存在しないことから、この神経様細胞の由来を調べてみると、内胚葉由来であることが明らかになりました。左右相称動物では神経は外胚葉由来とされているため、幽門を制御する神経様細胞が内胚葉由来であることを詳細な細胞系譜追跡実験で明らかにしたことは、その進化的意義も含めて大きな成果です。

今回の成果により、後口動物の共通祖先では一酸化窒素を利用した幽門開口の制御システムが既に獲得されており、それは、内胚葉由来の神経様細胞によって制御されていた可能性が強く示唆されました。このことは、ヒトを含む脊椎動物においても、消化管制御に関わる内胚葉由来の神経が新たに発見される可能性や、幽門開口の制御システムが進化の過程でどのように神経堤細胞由来のシステムへと移行していったのかを議論する上で重要なヒントを与える成果です。

本研究の成果は、「Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)」オンライン版にて、2019年3月4日(日本時間5日午前5時)以降に公開されます。

＊ 本研究は、武田科学振興財団が助成するライフサイエンス研究奨励(2015年度)、千里ライフサイエンス振興財団が助成する岸本基金(2015年度)、日本学術振興会が助成する科学研究費若手(B)(2016-2018年度)と特別研究員奨励費(2017-2019年度)によって実施されました。

## 研究の背景

ほぼすべての左右相称動物は、口から得た食物を消化管で消化して栄養分の吸収を行ったのち、不要分を肛門から排出します。この一連の流れを司る消化管は、文字通りの「管」ではあるものの、単純な管では口から入った食物が素通りして肛門まで達してしまいます。そのため、その流れをせき止め、消化吸収効率をあげるための門が存在しています。食道と胃、胃と腸の間にはそれぞれ噴門、幽門があり、腸からの排出は肛門によりコントロールされています。例えば、胃の中に新たに食物が入った時点では幽門は閉じていますが、十分に食物が消化されると開口し、胃内容物を腸へと流します。我々ヒトを含む脊椎動物では、このような消化管の運動は、外胚葉性の神経堤細胞が消化管表面へと移動し、腸管神経ネットワークを築くことで制御されています。しかし、神経堤細胞は脊椎動物以外ではその存在が認められていないため、現存の腸管制御の仕組みが動物進化の過程でどのように獲得され、多様化したのかは不明でした。

そこで本研究グループは、この不明な点を明らかにするために、ヒトと同じ後口動物に属しながら、神経堤細胞を持たない棘皮動物であるウニの幼生を用いて、消化管制御の仕組み、それも特に幽門の開閉機構に着目して研究を実施しました。ウニ幼生はほとんど透明であるため、消化管が体の外からでも容易に観察でき、その形成過程や機能を探る上でとても優れたモデル生物です。これまで、ウニやヒトデの幼生においても幽門付近に神経マーカであるタンパク質SynaptotagminB (SynB)を発現している細胞の存在は報告されていましたが、その由来や機能に関してはいっさい解析されていませんでした。観察によれば、胃に入った食物が腸まで簡単に素通りすることはないため、胃腸間の食物輸送は幽門の開閉によって制御を受けていることが想定されました。また、神経堤細胞がないにもかかわらず、消化管に神経様細胞が見られることから、ウニ幼生の幽門開閉制御機構の解明が、動物界における消化管制御機構の獲得と進化を論じる上で重要なターゲットになりうると判断しました。

## 研究内容と成果

まず、本研究グループは、幽門付近に存在する神経様細胞の位置と数を、幽門括約筋に発現するタンパク質、トロポニンと同時に染色することで正確に記載しました(図1)。特に、胃側に存在する神経様細胞が軸索のような構造を幽門括約筋に伸ばしている様子を明らかにしました。また、本研究ではウニの神経マーカとして報告されている3つの遺伝子(*zfhx1*, *delta*, *soxC*)についても発現を確認しました。さらに、この神経様細胞がどの胚葉から分化しているかを明らかにするために、細胞系譜追跡の実験を行いました。その結果、内中胚葉由来であることがまず明らかとなり、その後、中胚葉由来である可能性を実験的に否定することで、内胚葉由来の神経様細胞であることを結論づけました。

次に、ヒトやマウスで幽門開口に必要な神経伝達物質である一酸化窒素に着目しました。まず、一酸化窒素発生剤である S-nitroso-N-acetyl-D,L-penicillamine (SNAP)で幼生を処理すると、平常時に閉じている幽門がほぼ100%開くことが明らかになりました。これは、ウニ幼生でも一酸化窒素が幽門開口を誘導していることを示しています。そして実際に、ヒトやマウスの幽門開口を制御する神経に発現している神経型一酸化窒素合成酵素(nNOS)が、ウニ幼生の幽門神経様細胞に発現していることが確認されました。

最後に、その nNOS 機能を翻訳阻害により失わせると、胃の内容物が腸に移行しにくくなることが明らかになりました。その結果、エサを与えていない幼生と同程度の成長段階で発生が停止してしまうことがわかりました。nNOS 阻害幼生では、おそらく栄養吸収が十分に行われていないものと考えられ、この症状は nNOS ノックアウトマウスや、ヒト

の一酸化窒素合成酵素の不全で見られる肥厚性幽門狭窄症と類似の症状でした。

以上の結果から、神経堤細胞を持たないウニ幼生では、内胚葉由来の神経様細胞がnNOSを発現し、そこから生じる一酸化窒素により、幽門の開口を制御していることが強く示唆されました。これにより、後口動物内の脊椎動物（脊索動物）と棘皮動物の共通祖先では、一酸化窒素を幽門の開口に利用していたことが推測されました。また、その制御に利用する神経（様）細胞は、もともと内胚葉由来であり、脊椎動物が進化する過程で神経堤細胞にその役割が移行したことが示唆されました。

#### 今後の展開

本研究では、後口動物内の無脊椎動物で一酸化窒素を用いて幽門開口を制御している内胚葉由来の神経様細胞の存在を明らかにしました。しかし、脊椎動物では一酸化窒素を用いる神経細胞は、外胚葉性の神経堤細胞由来とされているため、ウニで見られた内胚葉由来のシステムが脊椎動物で完全に失われたのか、痕跡的に残っているのかを確認する必要があります。また、他の無脊椎動物についても消化管制御に寄与する神経系の詳細な細胞系譜追跡実験や機能解析をすることで、幽門開口のシステムが進化過程のどのタイミングでどのように獲得され、その後多様化していったのかをより正確に議論できるようになると考えられます。

#### 用語解説

注1) 一酸化窒素(NO)

多くの動物種において、平滑筋の制御に機能している。合成酵素は、その発現場所と機能に応じて、神経型、内皮型、誘導型に分類される。

注2) 内胚葉

多細胞生物の体の中で主に消化管を形成する胚葉。

注3) 神経堤細胞

外胚葉において神経外胚葉と表皮の境界領域から生じる遊走性の細胞で、将来末梢神経や内臓神経、色素細胞等に分化する。

参考図

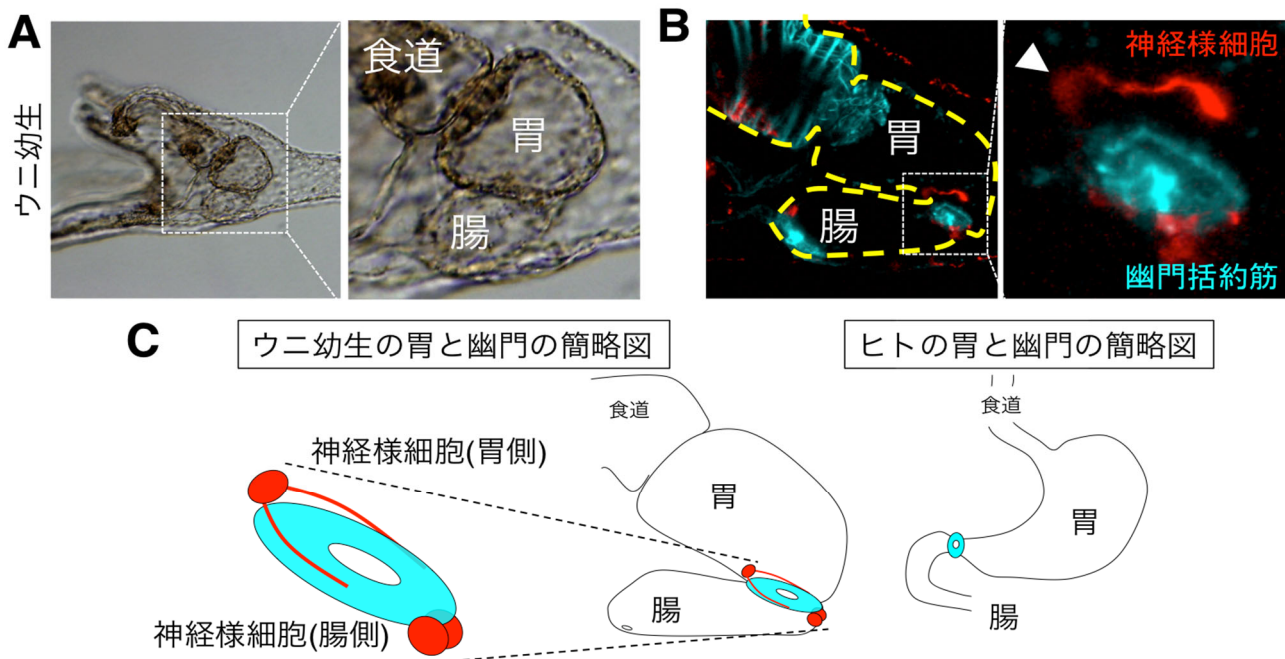


図1：ウニ幼生の幽門には神経様細胞が存在する。(A)ウニ幼生を左側から見た図。消化管が、食道・胃・腸の3区画に分かれている。(B)ウニ幼生の消化管付近の筋肉（水色）と神経（様）細胞（赤）。拡大図で幽門括約筋の胃側（矢尻）と腸側に神経様細胞が存在する。(C)ウニ幼生とヒトの消化管の簡略図。幽門括約筋を水色で強調してある。赤；神経様細胞

### 14日目 バフンウニ幼生



図2：一酸化窒素は幽門開口をコントロールしている。(A)正常なウニ幼生は消化管にエサである珪藻を大量に取り込み（白矢尻）、消化・栄養吸収をして14日目には後期6腕幼生になる。(B)神経型一酸化窒素合成酵素の機能を阻害された幼生では、胃まではエサが入るが（黒矢尻）幽門開口がスムーズにいかないため、多くを取り込むことができない。そのため、消化や栄養吸収に不具合を生じ、エサを一切与えていない幼生と同程度にしか成長できない。

### 掲載論文

【題名】 Evolution of nitric oxide regulation of gut function

(一酸化窒素による腸管制御の進化)

【著者名】 Junko Yaguchi and Shunsuke Yaguchi

【掲載誌】 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)

(米国科学アカデミー紀要)

DOI: 10.1073/pnas.1816973116

### 問合わせ先

谷口 俊介(やぐち しゅんすけ)

筑波大学 生命環境系 下田臨海実験センター 准教授

〒415-0025 静岡県下田市五丁目10-1