

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理学 )	氏名	鹿谷 有由希
論文題目	Regulation of gut peristalsis during development ( 個体発生過程における腸管蠕動運動の制御機構 )		
<p>( 論文内容の要旨 )</p> <p>消化管は、食物の消化と栄養の吸収を行う生存に欠かせない器官である。食物は口から食道、胃、小腸、大腸へと一方向に運ばれつつ、消化吸収が行われる。消化管の各領域には、消化吸収を効率良く行うためにそれぞれ特異的な機能があり、その機能に適した領域特異的な運動が見られる。腸管で見られる蠕動運動は、局所的な環状の収縮が波のように伝播する運動として知られ、腸管内容物の運搬に欠かせない。蠕動運動の異常は、過敏性腸症候群や腸閉塞など、様々な腸管疾患につながる。そのため、蠕動運動の調節メカニズムを細胞レベルで理解することは、非常に重要である。</p> <p>近年、ニワトリを含めた複数の脊椎動物において、食物を摂取しない胚発生期から蠕動運動が見られることが報告されている。しかし、成体における蠕動運動の生理学的な研究は盛んであるものの、胚発生期にどのように蠕動運動が確立されるのかは、ほとんど研究が進んでいない。ニワトリ胚は腸管を構成する細胞の操作が容易なこと、また腸管の構造が哺乳類と類似していることから、蠕動運動研究に適したモデルである。</p> <p>Chevalierらによる先行研究では、腸管の一部を切り出して、胚発生に伴う蠕動運動の速さや頻度の変化を報告している。しかし腸管は本来非常に細長い器官であり、腸管全体における蠕動運動の調節は、腸管がその機能を発揮するために重要だと言える。しかし、腸管全体における蠕動運動の時空間的なパターンの詳細な解析は進んでいなかった。</p> <p>そこで本研究ではニワトリ胚を用いて、十二指腸から哺乳類の肛門に相当する総排泄口までを無傷の状態に取り出し、腸管全体の蠕動運動のマップを作成した。カイモグラフを用いることで蠕動運動を定量的に解析した結果、蠕動運動の開始点 ( 以下、起点と表記する ) の分布が、胚発生に伴ってランダムなパターンから特定の位置へと限局することを見出した。加えて、腸管神経の除去実験および活動阻害実験より、起点の分布が腸管神経によって制御されていることが示唆された。また、腸管に蛍光インクを注入することで腸管内容物の運搬を擬似的に可視化すると、起点が特定の位置に限局している場合に、内容物が効率良く運搬されることが示された。従来、胚発生中の蠕動運動は腸管神経を必要としないと考えられてきたが、本結果は蠕動運動の発達における腸管神経の新たな役割を示唆するものである。</p> <p>また、蠕動運動のマップから、後腸から伝播する蠕動運動と総排泄腔で見られる強い局所的かつ瞬発的な収縮が同調していることも見出した。そこで後腸と総排泄口と同調メカニズムを解明するために、チャンネルロドプシン2 ( ChR2 ) を用いた光遺伝学による腸管運動の操作を試みた。本研究にて確立した方法により、後腸にて人為的に蠕動運動を誘発させることに成功し、加えて人為的な蠕動運動は総排泄口の収縮を引き起こした。このことから、総排泄口の収縮は後腸の蠕動運動が制御していることが明らかとなった。</p> <p>本研究では、腸管全体を用いた胚発生に伴う蠕動運動の時空間的なパターンの定量的な解析、および光遺伝学による腸管運動の操作手法の確立を行った。従来の蠕動運動</p>			

研究では腸管の断片を用いることが一般的であるが、食物の消化吸収は腸管の各領域が協調することで初めて達成されることから、腸管全体に着目した解析は非常に重要であると言える。このように本研究の成果は、蠕動運動の確立メカニズムの解明を目指す上で、基盤となる情報と技術を提供するものである。

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

腸は体の中でもっとも長い器官であり、そこでは内容物の消化・吸収を進めるための活発な運動（蠕動運動）がみられる。ヒトにおける腸関連疾患の多くが蠕動運動の機能不全を伴うことなどからも、これらの運動制御機能を解き明かすことは生命科学において重要な課題と位置づけられる。しかしながら従来の蠕動運動研究は、内容物によって引き起こされる現象を対象とした生理学的研究が主流であり、腸を構成する細胞の内在的な制御機構の研究は少なかった。本論文では、胚発生を進める過程での腸、つまり摂餌経験のない腸の利点を活かすことで、蠕動運動を支える細胞機能やその成り立ちの解明にむけた研究が行われた。

Chapter 1 では、ニワトリ胚の発生段階にそって、蠕動運動が腸内のどの部位でどのような形で出現するのかについての解析が行われた。中腸・後腸・盲腸それぞれについて、カイモグラフィー定量解析により蠕動運動振動波の起点位置のマップが作製された。さらに起点位置決定における腸神経の役割を知るために、腸神経の前駆体である神経堤細胞を除去した腸での蠕動運動を解析したところ、それらの起点位置が大きく乱れるという新規の観察結果が得られた。加えて、後腸から後方に進む振動波が総排泄腔（哺乳類の肛門に相当する組織）に達すると、そこで大きな収縮がおこるとい興味深い現象も見出し、「振動波が媒介する細胞間相互作用」という新しい概念につながる可能性が提示された。

そこでChapter 2 ではChapter 1 での発見をもとにして、後腸に由来する振動波が総排泄腔収縮を引き起こすのかを実験的に証明するために、オプトジェネティクス（光遺伝学）を用いた解析法を導入した。オプトジェネティクスは主に神経科学の分野において用いられる最先端手法であるが、神経以外の組織での応用はほとんどなかった。そこで、ニワトリ胚の腸運動をコントロールするためのチャンネルロドプシン2を用いたオプトジェネティクス法を最適化した。Chapter 1 で作製された蠕動運動起点マップの情報にもとづき、本来は起点が出現しない部位にオプトジェネティクス法により光刺激を与えたところ、そこから新たに出現する蠕動運動が認められた。そしてこのようにして人工的に誘発させた蠕動振動波が総排泄腔の強い収縮を惹起したことから、振動波が媒介する細胞間相互作用の存在が証明された。

発生生物学的な視点を導入して作製された「振動波起点マップ」は、今後の蠕動運動研究にとって有用な情報を提供すると期待される。事実、この起点マップによって、腸運動を人工操作する新たなオプトジェネティクス法の開発が可能になったことの意義は大きい。またこれらの新手法の導入により、長い腸において異なる領域同士が密接に連携するしくみも見えてきた。本研究で確立された蠕動運動オプトジェネティクス法は、これまで治療法が皆無だった蠕動運動疾患の改善にむけた道筋を示唆するなど、医学・生命科学分野に広くインパクトを与える可能性がある。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、令和5年1月26日に論文内容とそれに関連した口頭試問をおこなった結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降