

—基礎科学から医学・医療を見る—

消化器系の進化と発生のメカニズム

岡 敦子

日本医科大学基礎科学生物学

Molecular Mechanisms Underlying the Evolution and Development of the Digestive System

Atsuko Ishizuya-Oka

Department of Biology, Nippon Medical School

Abstract

The digestive system is essential for heterotrophic animals to acquire the energy needed for life. Although the digestive system has been diversified to adapt to the food environment during evolution, molecular mechanisms regulating the system's organogenesis appear to be highly conserved among vertebrate species. The embryonic gut, which originates from the endoderm, lateral plate mesoderm, and neural crest cells, is first subdivided into the foregut, midgut, and hindgut and is then differentiated into various digestive organs, including the pharynx, esophagus, stomach, and small and large intestines, along the anterior-posterior axis of the embryo. In addition, the liver, pancreas, pharyngeal pouches, and respiratory organs are formed by projections from the foregut. Previous studies have shown that the embryonic gut is regionalized by transcription factors, such as Sox2, Pdx1, Cdx and Hox, which provide positional information along the anterior-posterior axis. Then, organ-specific morphogenesis and cytodifferentiation proceed in each organ. Recently, signaling pathways, including sonic hedgehog (Shh), Wnt, and Notch, have been shown to play important roles in the organogenesis of the gut. Noteworthy, during metamorphosis in the amphibian intestine, thyroid hormones reactivate such pathways and cause pre-existing epithelial cells to dedifferentiate into adult stem cells that generate the absorptive epithelium undergoing cell renewal similar to that in the mammalian intestine. Considering that this amphibian intestinal remodeling during metamorphosis mimics the mammalian intestinal maturation around the time of birth, thyroid hormone-regulated signaling pathways essential for stem cell development are suggested to be evolutionarily conserved among terrestrial vertebrates. Furthermore, in the adult intestine, such pathways are also involved in the regulation of stem cells to maintain epithelial cell renewal. We here review recent progress in this field, focusing on intestinal stem cells, and propose that clarification of molecular mechanisms underlying the development of the digestive system is interesting from the standpoint of evolutionary biology and also provides important information for the regenerative and cancer therapies of human digestive organs.

(日本医科大学医学会雑誌 2015; 11: 155-160)

Key words: digestive organ, development, evolution, adult stem cell, signaling pathway

Correspondence to Atsuko Ishizuya-Oka, Department of Biology, Nippon Medical School, 1-7-1 Kyonan-cho, Musashino, Tokyo 180-0023, Japan

E-mail: a-oka@nms.ac.jp

Journal Website (<http://www.nms.ac.jp/jmanms/>)

はじめに

従属栄養生物である動物はすべて、生きていくために必要なエネルギーを外界から食物を通じて獲得しなければならない。この宿命のため、動物は消化吸収を行うための構造を環境に合わせて進化させ、ヒトでは複雑で大きな消化器系が発達している。それは内分泌器官でもあり、食物という異物から身を守るために重要な免疫器官でもある。消化器系の研究は分子から個体レベルまで多岐にわたり活発に行われているが、その発生学的研究は立ち遅れ、近年ようやく、器官形成のしくみの概要が明らかになりつつある。本稿では、1990年代以降、急激な変化を遂げている発生生物学の新しい概念も紹介しながら、消化器系の発生メカニズムについて概説する。さらに小腸に焦点をあて、発生で使われるシグナル分子が成体幹細胞の制御にも使われることを説明し、進化や疾患との関連についても考察したい。

1. 消化器系の発生¹⁾

消化器系の発生は、原腸形成後につくられる単純な1本の管から始まる。ヒトでは内胚葉は始め盤状であるが、折り畳みという現象に伴い、胚子の頭方および尾方が袋状となり前腸および後腸が形成される (Fig. 1)。中腸は始め卵黄囊と広く接しているが、やがてこ

こも管状化し原始腸管が完成する。この管は主に内胚葉とそれを囲む中胚葉から成り、ここに神経叢をつくる神経堤が入り込む。このたった1本の管から、咽頭から肛門管上部に至る消化器官と肝臓、膵臓が形成される。このほか、咽頭の一部が下方に落ち込んで甲状腺腺が、側方に落ち込んで咽頭嚢が形成される。咽頭嚢は元来、鰓弓間の鰓溝とつながって鰓をつくる構造であるが、鰓が不要となった陸上脊椎動物ではこれを口蓋扁桃、副甲状腺、胸腺等へと再利用 (リサイクル) する。同様に、食道近くの前腸が落ち込んでつくる呼吸器系は、浮き袋の再利用である。このように、多くの器官が原始腸管の決まった領域に形成される。連続した管でありながら、各器官の位置や境界はなぜ厳密に決まっているのであろうか。そのしくみが次第に明らかになってきている。

1.1 体軸に沿った位置情報を担う遺伝子

脊椎動物では器官形成が始まる時期の胚 (咽頭胚) の構造は酷似し、共通した形成メカニズムが存在すると考えられている。詳細は省くが、まず発生初期に3つの体軸が確立し、軸に沿った位置情報を担う遺伝子が発現して各器官の領域が決定され、その後、器官特異的な分化が進行するという流れである。消化器系では、体軸の中でも前後軸 (ヒトでは頭尾軸) が特に重要である。この軸に沿って前腸内胚葉では *Sry* 遺伝子群に属する *Sox2* が、中腸と後腸の内胚葉ではショウジョウバエの *caudal* に相同なホメオボックス遺伝子

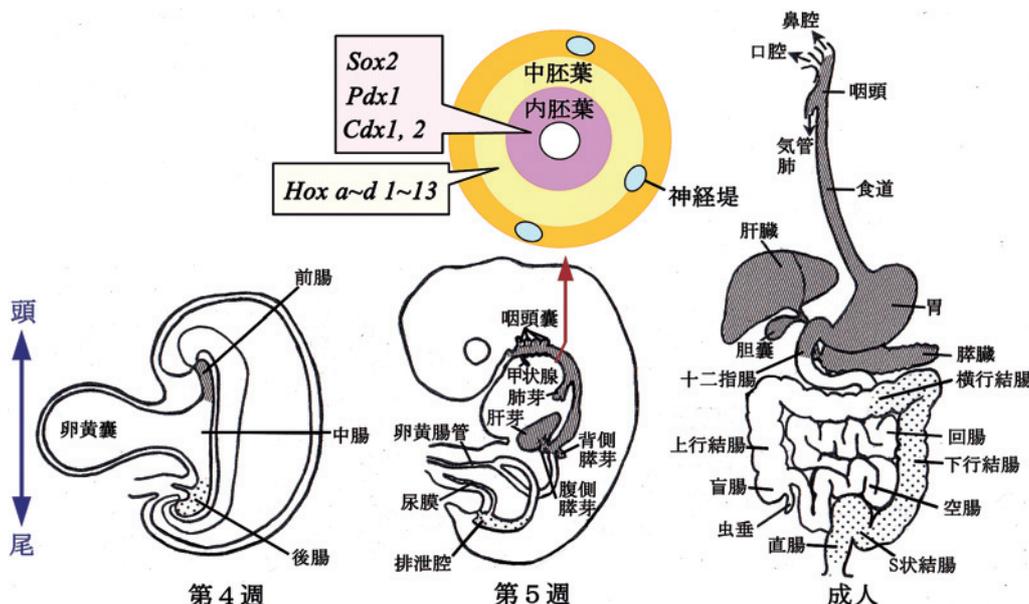


Fig. 1 ヒトの消化器系の発生と頭尾軸に沿った位置情報を担う遺伝子
 原腸形成後の胚子の折り畳みにより、前腸・中腸・後腸から成る原始腸管が形成される。腸管を構成する内胚葉と中胚葉では位置情報を担う遺伝子が発現し、各消化器官の領域が決定する。

Cdx1, 2 が発現する。後者は腸の運命決定に重要であるが、成体でも胃と腸の境界を維持するために働いており、胃上皮で *Cdx2* を異所的に発現させると腸上皮化生が誘発されることが報告されている。このほか、十二指腸部位では膵臓形成の鍵となるホメオボックス遺伝子 *Pdx1* が発現する。一方、中胚葉で主に発現する遺伝子が *Hox* である。*Hox* はゲノムの重複により4つの染色体上にクラスターとして存在し、各染色体上の3'側より順に1から13までの番号がつけられている。3'側に位置する遺伝子ほどより早期に、より頭方で発現することから、頭尾軸に沿った位置情報を担う遺伝子として有名である。各 *Hox* 遺伝子の発現境界は消化器官の領域境界と密接に関連し、例えば、大腸では主に9~13番の *Hox* が発現する。これら2つの胚葉で発現する遺伝子が協調的に働いて、器官の領域は決定される。

1.2 組織間相互作用に関わるシグナル分子

最終分化に至るまでの器官形成の過程では、内胚葉由来の上皮と中胚葉由来の間葉との相互作用が、重要な役割を果たしている²。これに関わるシグナル分子がようやく明らかになりつつあるが、現時点で上皮側のモルフォゲンとして注目されるのがソニックヘッジホッグ (Shh) である。Shh は腸管の形成直後から上皮のほぼ全域で発現し、その受容体の発現は間葉特異的である。Shh は細胞増殖を促進したり、骨形成蛋白質 *Bmp4* や *Hox* 等の発現を間葉で誘導したりする。分泌された *Bmp4* は上皮にも間葉にも作用し、幽門括約筋の分化を促進したり、Wnt 経路を介して細胞増殖を抑制したりする。Wnt には多くのリガンドがあり伝達経路も複数あるが、 β -カテニンの核移行を介する標準経路が最もよく解析されている。この経路は、消化器系では細胞増殖を促進するほか、*Cdx* の発現を高める働きもあり、前腸で *Cdx* が異所的に発現すると前腸は尾方化(腸へ分化)してしまう。また、この経路は前腸での呼吸器系と消化器系との分離にも関与し、経路が抑制されると食道上皮へ、活性化されると気管上皮へ分化することが報告されている。このほかに、間葉の細胞外マトリックス (ECM) が上皮に様々な影響を与えることも知られている。

肝臓と膵臓は十二指腸から形成される。この部位の内胚葉は始めどちらにも分化しようが、近くの脊索などからのシグナルにより肝臓への分化は抑えられている。しかし、心臓が FGF を分泌するようになると、FGF は近くの横中隔が分泌する *Bmp* と協調的に働いてこの抑制を解除し、内胚葉は心臓に向かって突出し

肝芽を形成する。さらに肝芽は周囲の間葉から様々なシグナル (HGF など) を受けて成長し、かくして肝臓は必ず心臓の近くに形成される。これに対し、膵臓の形成には *Pdx1* の発現が必須である。脊索からのシグナルによりこの部位で Shh の発現が低下すると、*Pdx1* の発現が上昇し膵臓への分化が促進される。さらに、腸管に接近する大きな血管 (背側の大動脈、腹側の卵黄静脈) からのシグナルを受けて内胚葉は背腹で突出し、2つの膵芽が形成されると考えられている。*Pdx1* 発現細胞は外分泌細胞にも内分泌細胞にも分化しようが、その運命決定には複数の転写因子が関与し、それを側方抑制の担い手である Notch 経路が制御している。詳細は省くが、糖尿病との関連で研究は急速に進んでおり、転写因子の組み合わせの違いにより内分泌細胞はさらに複数のタイプへと分化していく。

2. 小腸上皮の幹細胞制御

ここからは成体内で最も速い細胞再生を行う小腸上皮に焦点をあて、発生で使われるシグナル分子が幹細胞の制御にも働くことを解説する。

2.1 幹細胞を制御するシグナル分子

成体の小腸では、吸収面積を増やすために絨毛が発達し、その周囲には数倍の数の陰窩 (クリプト) が存在する。上皮の大部分は吸収上皮細胞から成り、細胞間には杯細胞、内分泌細胞、パネート細胞といった分泌系の細胞が散在している。これらすべての細胞は幹細胞に由来するが、これまでに2種類の幹細胞が報告され、どちらも *Musashi1* (*Msi1*) 等の幹細胞マーカーを発現し多分化能であることが証明されている。1つは、陰窩底部に局在するパネート細胞群のすぐ上、マウスでは陰窩の底から数えて約4個目に位置する細胞である³。この細胞は長い細胞周期をもち、ポリコム複合体の成分である *Bmi1* を高発現する。もう1つは、パネート細胞に隣接し陰窩底部に散在する細胞であり、Wnt 標的遺伝子の1つ、G 蛋白質共役型受容体 *Lgr5* を発現する⁴。前者は幹細胞への脱分化能を保持した分泌系の前駆細胞 (幹細胞予備群) であることが最近提唱されているが、いずれにせよ両者は系譜的にかなり近く、陰窩の定位置に局在している。それでは、細胞再生を維持するために、幹細胞はどのように制御されているのだろうか。これには近くの微小環境 (ニッチ) が重要な役割を担っているが、その分子の実体がようやく明らかになりつつある。ニッチに関わ

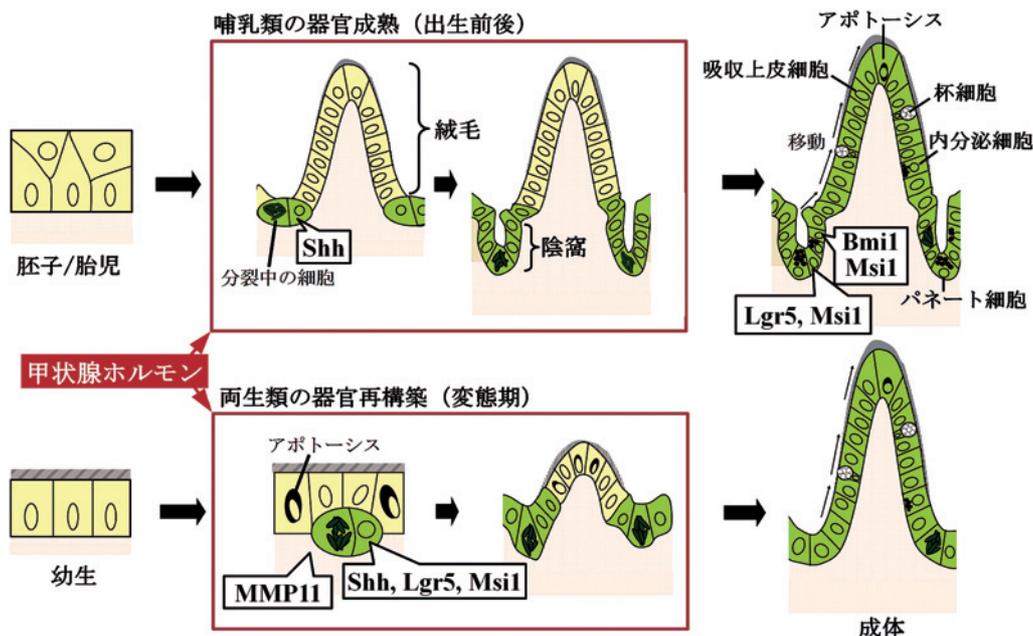


Fig. 2 小腸上皮幹細胞の出現と細胞再生系の確立

哺乳類では出生前後に、両生類では変態期に、血中の甲状腺ホルモンが上昇し、既存の上皮が幹細胞へと脱分化して成体上皮が形成される。成体上皮では幹細胞を元に生涯にわたって細胞再生が行われる（文献8より改変）。

るシグナル分子の1つはWntである。Wntは陰窩のパネート細胞や上皮直下の筋線維芽細胞から分泌され、近くの上皮や間葉に作用して細胞増殖を促進する。また、パネート細胞はNotchのリガンド(Delta)も発現し、隣接する幹細胞のNotch経路を活性化する。これにより幹細胞の未分化状態が維持され、細胞増殖が促進される。さらに分泌細胞へと運命決定した細胞もNotchのリガンドを発現し、隣接細胞のNotch経路を活性化する。この結果、転写因子Hes1の発現が高まり、分泌細胞への分化に必要なMath1の発現が抑制され、隣接細胞は吸収上皮細胞へと分化する。このほか、Shh, FGFなどの細胞増殖因子、ECMやそれを分解するマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)などが陰窩—絨毛軸に沿った発現パターンを示すことが報告され、その機能の解明が待たれている。

2.2 甲状腺ホルモンによる幹細胞制御：両生類変態をモデルとしたアプローチ

細胞再生の要となる幹細胞であるが、その発生学的起源やニッチがどのように形成されるのかは、依然として未知である。この幹細胞研究にユニークな実験モデルを提供しているのが、分子発生学で頻用されるアフリカツメガエルである。両生類では変態期に甲状腺ホルモン(TH)を引き金として全身的な変化が起こ

るが、なかでも消化管の再構築は劇的である。筆者らのこれまでの研究によれば、小腸では変態期にニッチが形成され、その作用を受け既存の幼生上皮の一部がLgr5やMsi1などを発現する幹細胞へと脱分化し⁵、哺乳類類似の成体上皮が形成される(Fig. 2)。したがってこの実験モデルでは、TH応答遺伝子としてニッチ形成因子を解明していくことが可能である。現在までのところ、ニッチ形成に関わる上皮側のシグナルとして最も注目されるのがShhである。ShhはTHに直接応答して幹細胞特異的に発現し、受容体の発現は間葉特異的であり、その細胞増殖を促進する。また、近くの線維芽細胞で誘導されるBmp4は、濃度に依存して幹細胞を維持したり、上皮の細胞分化を促進したりする⁶。一方、間葉側ではTHに直接応答してMMP11が発現する。この酵素は基底膜ECMを構成するラミニンの受容体を分解し、幼生上皮のアポトーシスや成体上皮の間葉への落ち込みを促進することが明らかになっており⁷、哺乳類でも同様の機能が予想されている。

WntやNotch経路に関わるTH応答遺伝子は解析途中であるが、現時点でわかってきたことは、消化管系の初期発生で使われるシグナル経路が、後胚発生でTHを引き金として再び活性化され幹細胞が出現する、ということである。興味深いことに、マウスでも血中のTHレベルが最大になる小腸成熟期に、絨毛間

に位置する既存の胎児上皮が幹細胞へと脱分化することが最近報告され、ヒトでも出生前後の小腸成熟期に TH レベルは最大となる。なぜ TH がこのような働きをもつのかは謎であるが、TH 依存性の幹細胞制御のメカニズムは、水(哺乳類は羊水)から陸への適応のために脊椎動物共通に保存されている可能性が高い⁸。実際、マウスの小腸成熟期にも TH により MMP11 や Shh などの発現が高まり、特に Shh は幹細胞が出現する絨毛間上皮で発現する。また、成体の陰窩上皮には TH 受容体が存在し、Wnt 経路に関わる β -カテニンは TH に直接応答して発現が高まることも報告され⁹、TH 依存性のメカニズムの少なくとも一部は、成体幹細胞の制御にも働いている。

3. 消化器系の疾患との関連

発生に関わる遺伝子の発現異常は、先天異常に直結している。詳細は省くが、ノックアウトマウスの解析などにより、先天異常の原因遺伝子は数多く報告されている。例えば、後腸で Cdx2 の発現を低下させれば大腸は頭方化(胃などへ分化)し、Shh の発現をノックアウトすれば消化器官の多くに異常が生じる。また、遺伝子発現を変化させる催奇形因子も多く報告され、レチノイン酸の過剰摂取による Hox の発現異常など、枚挙にいとまがない。

先天異常のほかに、哺乳類の子宮内での環境が出生後の器官に与える影響も、最近注目されている。例えば、栄養不足の環境で発生すると、膵臓の β 細胞の数が一生涯少なくなってしまう。この原因として環境によるエピジェネティックな変化が考えられ、動物実験では環境により DNA のメチル化が変化し、その変化が生後も続くことが報告されている。

さらに、発生で使われるシグナル経路は幹細胞制御にも使われ、その異常は成体での癌の発生にも関わっている。例えば、Wnt 経路を抑制する APC は、大腸腺腫症の原因遺伝子として有名な癌抑制遺伝子である。その機能が阻害されると β -カテニンが蓄積し、恒常的に経路が活性化されてしまう。また、Shh 経路を抑制する Shh の膜受容体パッチドも、癌抑制遺伝子として知られている。

4. 今後の展望と課題

今世紀の発生生物学は大きな変革の時期にあり、新しい概念が次々と提唱され、医学との関連もさらに強まりつつある。器官形成に関しては現在、「そこで使

われる遺伝子は限られ、特に脊椎動物ではその分子メカニズムは高度に保存されている」と考えられている。繰り返し使われる遺伝子はツールキット(工具箱)とよばれ、その多くはシグナル経路に関わる分子や転写因子などをコードする遺伝子である。限られた遺伝子がなぜ多様性を生み出すのかということ、同じ遺伝子でも使われる時期、場所、コンテキスト(それまでの細胞の歴史を反映したもの)などの違いにより、異なる結果が生じると考えられるからである。まさに大工さんの工具箱のイメージであるが、この大事な道具の使い方について、消化器系も含め、まだ断片的な情報しか得られていないのが現状である。38 億年余りに及ぶ生命の歴史や個体発生の中で、ヒトの細胞にはどのような遺伝的あるいはエピジェネティックな変化が刻まれているのであろうか。その解明は今後の大きな課題である。

おりしも進化生物学は今、第三幕を迎えていると言われている。第一幕はダーウィンの自然選択説、第二幕はそれに遺伝学が結びついた現代の総合説である。しかし、自然淘汰の対象となるのは表現型であり、遺伝子型との間には大きなギャップがある。発生生物学の進歩によりこの隙間を埋めようとするのが第三幕であり、遺伝子のどのような発現変化が表現型をいかに変えるのか、ようやく説明できる段階になったといえる。遺伝子発現に影響を与えるエピジェネティックな変化は、かつては世代ごとにリセットされるといわれていたが、最近では世代を越えて伝わる例も報告されている。地球上の生物が、環境からのエピジェネティックな変化を受けながら共通の祖先から進化したと考えると、ヒトの疾患にも新たな見方、アプローチが今後可能になるであろう。特に、動物誕生以来の長い歴史をもつ消化器系は、進化発生学的に大変興味深い器官系である。また、その上皮では発生で使われるシグナル経路が、生命維持のために一生涯幹細胞を制御し続けている。種々の消化器疾患の発生機序を真に理解するためにも、再生医療の基盤となる情報を提供するためにも、この経路の全貌解明は急務である。

謝辞：消化管発生の面白さを教えていただいた水野丈夫東大名誉教授、共同研究を進めていただいている Yun-Bo Shi 博士 (NIH)、長谷部孝准教授 (生物学) に深謝いたします。

文 献

1. 岡 敦子: 消化器系. 人体発生学. 遠山正彌ほか編. 2003; pp 183-207, 南山堂, 東京.
2. Yasugi S, Mizuno T: Molecular analysis of endoderm

- regionalization. *Dev Growth Differ* 2008; 50 (supple 1): S79-96.
3. Potten CS, Loeffler M: Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development* 1990; 110: 1001-1020.
 4. Clevers H: The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. *Cell* 2013; 154: 274-284.
 5. Hasebe T, Buchholz DR, Shi YB, Ishizuya-Oka A: Epithelial-connective tissue interactions induced by thyroid hormone receptor are essential for adult stem cell development in the *Xenopus laevis* intestine. *Stem Cells* 2011; 29: 154-161.
 6. Ishizuya-Oka A, Hasebe T: Establishment of intestinal stem cell niche during amphibian metamorphosis. *Curr Top Dev Biol* 2013; 103: 305-327.
 7. Ishizuya-Oka A, Li Q, Amano T, et al: Requirement for matrix metalloproteinase stromelysin-3 in cell migration and apoptosis during tissue remodeling in *Xenopus laevis*. *J Cell Biol* 2000; 150: 1177-1188.
 8. Ishizuya-Oka A, Shi YB: Evolutionary insights into postembryonic development of adult intestinal stem cells. *Cell Biosci* 2011; 1: e37.
 9. Kress E, Samarut J, Plateroti M: Thyroid hormones and the control of cell proliferation or cell differentiation: paradox or duality? *Mol Cell Endocrinol* 2009; 313: 36-49.

(受付 : 2015 年 3 月 31 日)

(受理 : 2015 年 5 月 7 日)
