食由来シグナルが腸管神経回路を制御する仕組みの解明

尾 畑 佑 樹
University of Texas Southwestern Medical Center, Departments of Immunology and Neuroscience,
Assistant Professor（PI）

緒　言

腸管神経系（Enteric Nervous System; ENS）は、消化管に固有の神経ネットワークであり、「第二の脳」とも呼ばれる高度に自律的な神経系である[1]。蠕動運動、分泌、血流、免疫応答など、多様な腸管機能を統合的に制御し、消化管の恒常性維持に中心的な役割を果たしている。近年、腸内細菌がENSの発達や機能維持に不可欠であることが明らかとなり、腸内細菌とENSの相互作用を介した消化管恒常性維持機構に注目が集まっている[2]。しかし、腸管神経細胞がどのように環境シグナルを感知し、その情報を腸管機能の調節へと結び付けているのか、その仕組みについては依然として不明な点が多い。本研究では、この未解明な分子機構を明らかにする第一歩として、腸管神経細胞が発現する腸内環境シグナル受容体を網羅的に探索した。さらに、ENSによる環境センシングが神経機能に果たす役割について解析を行った。

方　法

腸管神経細胞の遺伝子発現を網羅的に解析するため、核RNAを用いたトランスクリプトーム解析技術（nuclear RNA sequencing: nRNA-seq）を確立した（図1）[3,4]。従来の酵素処理による細胞単離法では、腸壁から腸管神経細胞を効率よく回収することが困難であるうえ、酵素処理に伴う細胞損傷や遺伝子発現変化により、生理的状態を反映した解析が困難であった。そこで、腸管神経細胞の核をEGFPで標識可能なアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター（AAV9-CaMKII-EGFP-KASH）を作製した。本ベクターは、高力価で静脈内投与することにより、腸管神経細胞へ高効率に遺伝子導入できる。実際に、本ベクターをマウスへ静脈内投与した結果、大部分の腸管神経細胞の核がEGFP陽性となり、効率的な核標識が確認された。続いて、腸管組織から単離した核のうちEGFP陽性核のみをフローサイトメトリーにより分離・回収し、nRNA-seqを実施した。本手法では、凍結保存した組織からも核RNAを解析できるため、サンプル調製の自由度が高く、多様な実験条件への応用が可能である。さらに、レポーターマウスを必要としないことから、さまざまな遺伝子改変マウスにも適用可能な汎用性の高い解析基盤となった。

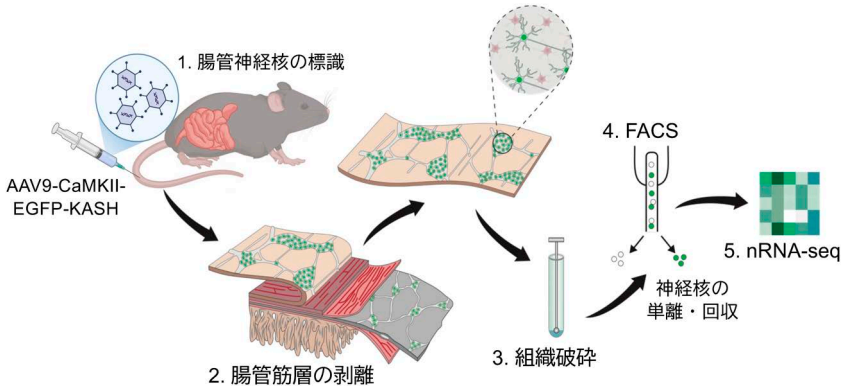


図1　腸管神経細胞の核RNAシーケンス（nRNA-seq）

AAV9-CaMKII-EGFP-KASHを静脈内投与して腸管神経細胞の核をEGFPで標識した。腸管筋層を単離・破砕後、EGFP陽性核をFACSにより回収し、nRNA-seqによる網羅的遺伝子発現解析を行った。本図はObata et al.（Nature, 2020）を改変した。

結　果

腸管神経細胞の遺伝子発現を、小腸上部から大腸下部までの各消化管部位および無菌・通常環境マウス間で比較した。その結果、大腸内に存在する腸管神経細胞において、腸内細菌依存的に発現が誘導される複数の遺伝子を同定し、その中に芳香族炭化水素受容体（Aryl Hydrocarbon Receptor; AHR）が含まれていることを見いだした[3]。

AHRはbHLH/PASファミリーに属するリガンド依存性転写因子であり、腸内細菌が食由来トリプトファンを代謝して産生するインドール誘導体や、野菜に含まれる成分などをリガンドとして認識する[5]。リガンド非存在下では、AHRは細胞質に局在しているが、リガンドとの結合により核内へ移行し、標的遺伝子の転写を誘導する。代表的な標的遺伝子であるCyp1a1はAHRリガンドの代謝に関与し、AHRシグナルの負のフィードバック制御を担う（図2）[6]。

AHRは腸管上皮細胞など外界と接する組織で高発現することから、環境シグナルを感知する受容体として広く研究されてきた。一方、神経系におけるAHRの生理機能についてはほとんど明らかになっていない。本研究では、大腸の腸管神経細胞においてAHRが高発現することに加え、その発現が腸内細菌叢の除去によって著しく低下することを見出した。これらの結果は、AHRが食事由来成分と腸内細菌由来シグナルを統合する分子基盤として腸管神経に機能している可能性を示唆している。

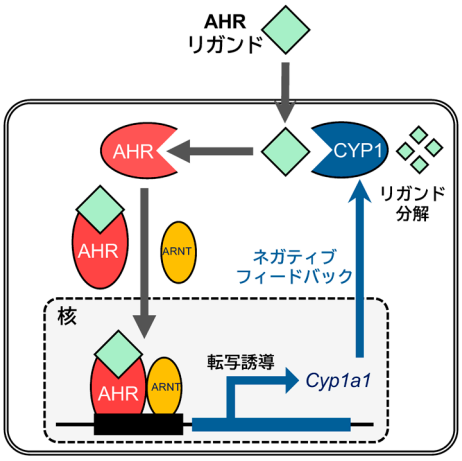


図2　AHRシグナル伝達機構

通常、AHRは細胞質に局在しているが、食事由来成分や腸内細菌由来代謝物などのAHRリガンドと結合すると核内へ移行し、AHR nuclear translocator（ARNT）とヘテロ二量体を形成して標的遺伝子の転写を誘導する。標的遺伝子の一つであるCyp1a1は、シトクロムP450酵素ファミリーに属する代謝酵素CYP1A1をコードしており、AHRリガンドの代謝・分解を促進することで、AHRシグナルを負に制御する。

ENSにおけるAHRの生理機能を明らかにするため、神経細胞特異的にCre組み換え酵素を発現するAAVを用いて神経特異的AHR欠損マウス（$AHR^{EN\text{-}KO}$）および神経特異的CYP1A1過剰発現マウス（EN^{Cyp1a1}）を作製した。EN^{Cyp1a1}マウスでは、AHRリガンドを代謝するCYP1A1の恒常的な発現により、神経細胞内で利用可能なAHRリガンドが減少し、AHR活性が抑制される。両マウスを解析した結果、いずれにおいても腸管内容物の通過時間が延長し、腸管運動が低下した。さらに、EN^{Cyp1a1}マウスにAHRリガンド前駆体であるインドール-3-カルビノール（I3C）を高濃度に含む餌を投与すると、腸管運動異常は改善した[3]。これらの結果から、腸管神経細胞におけるリガンド依存的なAHR活性は正常な腸管運動の維持に必須であると考えられる。

また、抗菌薬投与により腸内細菌を除去したマウスでは、腸管神経におけるAHR発現が低下するとともに、腸管運動機能も障害される。一方で、腸内細菌除去マウスの腸管神経細胞にAHRを過剰発現させ、高I3C食を投与したところ、低下していた腸管運動は部分的に回復した[3]。これらの結果は、腸内細菌による腸管運動の制御の一部に、腸管神経細胞におけるAHRが寄与していることを示唆している。

考　察

本研究により、腸管神経細胞はAHRを発現することで、食事などの腸内環境シグナルを直接感知し、その機能を調節している可能性が示唆された。一方で、AHRの発現誘導機構については、未だ十分に明らかになっていない。AHRは主に大腸の腸管神経細胞で高発現し、小腸上部ではほとんど発現していない。また、無菌マウスや抗生物質投与マウスでは、神経細胞におけるAHR発現が顕著に低下することから、その発現は腸内細菌によって制御されていると考えられる。しかし、AHRの発現誘導に関与する腸内細菌由来因子は未だ同定されていない。さらに、腸管神経細胞におけるAHRの下流標的遺伝子の同定や、その転写制御ネットワークの解明は今後の重要な研究課題である。これらを明らかにすることで、AHRを介した転写制御が神経活動や腸管運動をどのように制御しているのかの理解が深まるとともに、将来的にはAHRを標的とした腸管運動改善への応用につながる可能性がある。

本研究で開発した腸管神経細胞のnRNA-seqは、凍結

組織由来の核を用いて解析可能な技術である[4]。実際に、腸管組織を正確な時刻に採取・凍結することで、腸管神経細胞における時間依存的な遺伝子発現を解析できるようになった[4]。その結果、時計遺伝子群のみならず、様々な腸管神経機能関連遺伝子の日内変動を捉えることができた（論文投稿準備中）。これらの知見を基盤として、現在は腸管神経細胞における概日リズムの研究に取り組んでいる。具体的には、特定の細胞特異的に時計遺伝子PER2の発現リズムを可視化できる発光レポーターマウスを開発し、腸管神経細胞の概日時計をリアルタイムでモニタリングできる実験系を構築した[7]。この技術を用いることで、食事タイミングの変化に対する腸管神経細胞の概日時計応答と、それが腸全体の概日時計ネットワークに与える影響を解析している。

AHRは、概日時計の中核転写因子であるBMAL1と同じbHLH-PASファミリーに属し、両者の間にはクロストーク機構が存在する可能性が報告されている[8]。そこで現在は、食事由来因子によって活性化するAHRが、腸管神経機能の概日リズムにどのような影響を与えるのか、すなわち「食事のタイミング」「AHR活性」「腸内概日時計」を結ぶ分子機構の探索にも取り組んでいる。今後は、本研究を通じて得られる知見を基盤として、「いつ、何を食べるか」という食習慣に基づく新たな腸機能制御法の開発や、消化器疾患の予防・治療戦略の創出へと発展させたいと考えている。

要　約

本研究では、腸管神経細胞におけるトランスクリプトーム解析法を確立し、腸内環境因子の受容体を網羅的に探索した。その結果、環境センサーとして知られる芳香族炭化水素受容体（Aryl hydrocarbon receptor; AHR）が腸管神経細胞に発現していることを見いだした。AHRは食事由来成分などによって活性化されるリガンド依存性転写因子であり、腸管運動をリガンド依存的に制御することから、ENSが腸内環境の変化に応答して機能を調節する分子基盤の一つである可能性が示唆された。本研究は、腸内細菌・食事・腸管神経機能を結ぶ新たな分子機構を提示するとともに、その後のENS環境シグナル受容機構の研究[9,10]やENS概日時計研究[7]へと発展する研究基盤を構築した。

謝　辞

本研究をご評価いただき、本学術賞に選出してくださった審査員の先生方に、心より感謝申し上げます。本研究の遂行にあたり、多大なるご支援を賜りましたThe Francis Crick InstituteのVassilis Pachnis博士、Gitta Stockinger博士、ならびにUniversity of BernのAndrew J. Macpherson博士に深く感謝申し上げます。また、研究室のメンバーおよび共同研究者の皆様には、日頃より活発な議論を通じて多くのご助言をいただき、心より御礼申し上げます。さらに、研究者としての出発点において多大なるご指導を賜りました、理化学研究所の大野博司先生、東京大学医科学研究所の長谷耕二先生に、心より感謝申し上げます。

文　献

1) Sharkey, K. A. & Mawe, G. M. The enteric nervous system. *Physiol Rev* **103**, 1487–1564, doi:10.1152/physrev.00018.2022(2023).
2) Macpherson, A. J., Pachnis, V. & Prinz, M. Boundaries and integration between microbiota, the nervous system, and immunity. *Immunity* **56**, 1712–1726, doi:10.1016/j.immuni.2023.07.011(2023).
3) Obata, Y. *et al.* Neuronal programming by microbiota regulates intestinal physiology. *Nature* **578**, 284–289, doi:10.1038/s41586-020-1975-8(2020).
4) Obata, Y. *et al.* Molecular profiling of enteric nervous system cell lineages. *Nat Protoc* **17**, 1789–1817, doi:10.1038/s41596-022-00697-4(2022).
5) Stockinger, B., Shah, K. & Wincent, E. AHR in the intestinal microenvironment: safeguarding barrier function. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* **18**, 559–570, doi:10.1038/s41575-021-00430-8(2021).
6) Schiering, C. *et al.* Feedback control of AHR signalling regulates intestinal immunity. *Nature* **542**, 242–245, doi:10.1038/nature21080(2017).
7) Magana, I. *et al.* Not all gut cellular circadian oscillators are food entrainable. *Proc Natl Acad Sci USA* **123**, e2601012123, doi:10.1073/pnas.2601012123(2026).
8) Jaeger, C. & Tischkau, S. A. Role of Aryl Hydrocarbon Receptor in Circadian Clock Disruption and Metabolic Dysfunction. *Environ Health Insights* **10**, 133–141, doi:10.4137/EHI.S38343(2016).
9) Fung, C. *et al.* Nutrients activate distinct patterns of small-intestinal enteric neurons. *Nature*, doi:10.1038/s41586-025-09228-z（2025）.
10) Tan, S. *et al.* Interaction between the gut microbiota and colonic enteroendocrine cells regulates host metabolism. *Nat Metab* **6**, 1076–1091, doi:10.1038/s42255-024-01044-5(2024).

尾　畑　佑　樹

著者紹介



尾畑　佑樹（オバタ　ユウキ）

2010年3月　鳥取大学　医学部　生命科学科　卒業
2012年3月　千葉大学大学院　医学薬学府　医科学専攻　修士課程　修了
2015年3月　千葉大学大学院　医学薬学府　先端医学薬学専攻　博士課程　修了
2015年4月　日本学術振興会特別研究員SPD　東京大学医科学研究所
2016年2月　HFSP/EMBO Postdoctoral research fellow, The Francis Crick Institute, London, UK
2021年8月　Assistant Professor, UT Southwestern Medical Center, Dallas, USA
〈研究テーマと抱負〉
専門分野：腸管神経科学・神経免疫学・腸時間生物学
欧州および米国で培ってきた研究基盤と国際的な連携を活かすことで、腸管神経免疫回路や腸特有の概日リズムの理解を深化させ、消化管機能異常や腸脳連関の異常の克服に貢献する。