

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：14501

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2010～2014

課題番号：22122005

研究課題名（和文）腸内の神経前駆細胞の移動を支える血管組織

研究課題名（英文）Vascular tissues that supports migration of enteric neural progenitors

研究代表者

榎本 秀樹（ENOMOTO, HIDEKI）

神戸大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：00360511

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 84,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、腸管神経系発生過程における神経-血管相互作用を細胞・分子レベルで解析した。マウスの腸管神経前駆細胞および血管を可視化し、生体イメージングを行うことにより、腸管神経系発生過程における細胞の振る舞いを観察した。その結果、発生過程で腸管がループ状に並ぶ時期に、血管（腸間膜）を足場に小腸から大腸へ「近道移動」する神経前駆細胞を発見した。「近道移動」する細胞は大腸の神経系の主要な細胞源であり、近道移動の障害がヒルシュスプルング病（先天性の腸管神経欠損）を誘導する可能性を突き止めた。また、「近道移動」を誘導するシグナルの一つは大腸壁に発現する神経栄養因子GDNFであることを発見した。

研究成果の概要（英文）：In this study we conducted cellular and molecular analyses on neuro-vascular interactions in the development of the enteric nervous system (ENS). By performing live-cell imaging of enteric neural progenitors and vasculature in mice, we examined cell behavior in developing ENS. We have discovered that a subset of enteric neural progenitors crosses the mesentery when the small and large intestines are juxtaposed to each other during development. Trans-mesenteric enteric neural progenitors are the principal source of the ENS in the colon, and impaired trans-mesenteric migration delays colonization of the colon by enteric neural progenitors. Moreover, trans-mesenteric enteric progenitors are reduced in a mouse model of Hirschsprung disease (HSCR: congenital absence of the ENS in the distal gut), suggesting a potential involvement of impaired trans-mesenteric migration in HSCR pathogenesis. We have also discovered that GDNF is one of the molecules that regulate trans-mesenteric migration.

研究分野：神経発生、神経病理

キーワード：神経発生、細胞移動、血管発生、神経堤細胞、神経前駆細胞、腸管神経系、ヒルシュスプルング病、イメージング

1. 研究開始当初の背景

腸管神経系は神経前駆細胞が腸管壁内を移動しながら腸管全長を覆うことにより形成される。この移動は腸管の口側から肛門側に向かって進行して行くと考えられていたが、その全貌は解明されていなかった。

腸管神経前駆細胞の移動に障害が起こると、先天的に腸管神経系を欠損する病態(ヒルシュスプルング病)を誘導する。大部分のヒルシュスプルング病は、大腸末端における神経節の欠如を特徴とする。しかし、非常に奇異なことに、ヒルシュスプルング病には、skip segment という病態が存在する。これは、大腸末端部の神経欠損部に加えて、神経節のある腸管をはさむ形でもう一つ神経節を欠損する領域が口側腸管に存在する。このような病態は、これまで考えられていた単純な口側から肛門側に向かう神経前駆細胞の移動様式では説明出来ず、腸管神経前駆細胞には道の移動経路があることが示唆されていた。

2. 研究の目的

腸管神経系を形成する神経前駆細胞の移動様式的全貌を明らかにするために、マウスの腸管神経前駆細胞の振る舞いを生体ライブイメージングにより解析する。特に、神経前駆細胞と血管との相互作用に焦点をあて、多色ライブイメージング法を用いて両細胞群の発生連関を探索する。平行して神経前駆細胞移動を制御する分子を同定する。さらに、ヒルシュスプルング病の病態誘導と神経前駆細胞の移動、血管との関連を解明する。

3. 研究の方法

(1) 腸管神経前駆細胞と血管を同時に可視化出来る遺伝子改変マウスより摘出した腸管の器官培養を行い、タイムラプスイメージング解析を行う。

(2) 腸管神経前駆細胞、腸管および血管の遺伝子発現解析により神経前駆細胞の移動を制御する分子を探索する。

(3) ヒルシュスプルング病のモデルマウスを用いて、神経前駆細胞および血管の発生組織解析を行い、神経-血管相互作用の破綻が病態を誘導しているかを解析する。

4. 研究成果

(1) 新たな血管-神経前駆細胞相互作用の場を発見: 腸管は血管に沿って無数の外来性神経線維の投射を受けるが、この現象とともに腸管壁に侵入するシュワン細胞の一部が神経細胞に分化転換して腸管神経系に寄与していることを世界に先駆けて発見した。(*J Neurosci* 2015 in press)

(2) 腸管神経前駆細胞の未分化性維持の解明: 血管を足場に近道移動する腸管神経前駆細胞をはじめとする未分化腸管神経前駆細胞が GDNF に応答して移動しつつ未分化性を維持するためには、細胞

内シグナル経路の MAPK の活性化を抑えることが重要であることを明らかにした。(*J Neurosci* 2013)

(3) 症候群性ヒルシュスプルング病の病態誘導機構の解明: 孤発性ヒルシュスプルング病が血管を足場に「近道移動」する神経前駆細胞の障害と関連するのと対照的に、症候群性ヒルシュスプルング病は転写因子の機能異常から惹起される神経-グリア分化異常によって誘導されることを明らかにした。(*J Clin Invest* 2012)

(4) 腸管神経発生における血管-神経前駆細胞間の相互作用: 発生過程で腸管が一次ループ構造(小腸と大腸が平行に並び接する)の時期に、血管を足場に小腸から大腸に「近道移動」する神経前駆細胞群 tmENCC を発見し tmENCC が大腸神経系の主要な細胞起源であることを突き止めた。また、孤発性ヒルシュスプルング病(腸管遠位部での先天性腸管神経系欠損)で tmENCC の異常が病態誘導に関わっている知見を得た。近道移動には、大腸筋肉層に発現する神経栄養因子 GDNF と血管由来の細胞外因子が必要であることを明らかにした。(*Nat Neurosci* 2012)

(5) ヒルシュスプルング病と細胞死の関連を明らかにする: ヒルシュスプルング病モデルマウスで、血管非依存性に大腸に侵入する神経前駆細胞は、発生後期で細胞死を起こし、病態誘導形成に寄与していることを明らかにした。(*J Neurosci* 2010)

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 19 件)

1. Uesaka T, Nagashimada M and **Enomoto H** Neuronal differentiation in Schwann cell lineage underlies postnatal neurogenesis in the enteric nervous system. *J Neurosci* in press, 2015
2. Hara K, Nakagawa T, **Enomoto H**, Suzuki M, Yamamoto M, *Simons BD and *Yoshida S. Mouse spermatogenic stem cells continually interconvert between equipotent singly isolated and syncytial states. *Cell Stem Cell*. 14(5): 658-72, 2014. 査読有
3. Morikawa H, Ohkura N, Vandenbon A, Itoh M, Nagao-Sato S, Kawaji H, Lassmann T, Carninci P, Hayashizaki Y, Forrest AR and the FANTOM Consortium. Collaborators (259) **Enomoto H** etc. Differential roles of epigenetic changes and Foxp3 expression in regulatory Tcell-specific transcriptional regulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111(14): 5289-94, 2014. 査読有
4. Anderson R, Gebhard C, Miguel-Escalada I, Hoof I, Bornholdt J, Boyd M, Chen Y, Zhao

- X, Schmidl C, Suzuki T, FANTOM Consortium; *Forrest AR, *Carninci P, *Rehli M and *Sandelin A. Collaborators (261) **Enomoto H** etc. An atlas of active enhancers across human cell types and tissues. *Nature*. 507(7493): 455-61, 2014. 査読有
5. **FANTOM Consortium and the RIKEN PMI and CLST (DGT)**, FANTOM Consortium and the RIKEN PMI and CLST (DGT), Forrest AR, Kawaji H, Rehli M, Baillie JK, de Hoon MJ, Haberle V, Lassmann T, Kulakovskiy IV, *Alistair R. R. Forrest, *Piero Carninci, *Yoshihide Hayashizaki and **Enomoto H** etc. A promoter-level mammalian expression atlas. *Nature*. 507(7493): 462-70, 2014. 査読有
 6. *Young HM, Bergner AJ, Simpson MJ, McKeown SJ, Hao MM, Anderson CR and **Enomoto H**. Colonizing while migrating: how do individual enteric neural crest cells behave? *BMC Biol*. 12:23 doi: 10.1186/1741-7007-12-23, 2014. 査読有
 7. Fonseca-Pereira D, Arroz-Madeira S, Rodrigues-Campos M, Barbosa IA, Domingues RG, Bento T, Almeida AR, Ribeiro H, Potocnik AJ, **Enomoto H** and *Veiga-Fernandes H. The neurotrophic factor receptor RET drives haematopoietic stem cell survival and function. *Nature* 514(7520): 98-101, 2014. 査読有
 8. Obermayr F, Hotta R, **Enomoto H** and *Young HM. Development and developmental disorders of the enteric nervous system. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 10(1): 43-57, 2013. 査読有
 9. Hotta R, Stamp L, Foong J, McConnell S, Bergner A, Anderson R, **Enomoto H**, Newgreen D, Obermayr F, Furness J and *Young HM. Transplanted progenitors generate functional enteric neurons in the postnatal colon. *J Clin Invest* 123(3): 1182-1191, 2013. 査読有
 10. Goto A, Sumiyama K, Kamioka Y, Nakasho E, Ito K, Iwasaki M, **Enomoto H** and *Matsuda M. GDNF and endothelin 3 regulate migration of enteric neural crest-derived cells via PKA and Rac1. *J Neurosci* 33(11): 4901-4912, 2013. 査読有
 11. Gonsalvez DG, Cane KN, Landman KA, **Enomoto H**, Young HM and *Anderson CR. Proliferation and cell cycle dynamics in the developing stellate ganglion. *J Neurosci* 33(14): 5969-5979, 2013. 査読有
 12. *Takahashi Y, Sipp D and **Enomoto H**. Tissue interactions in neural crest cell development and disease. *Science* 341(6148): 860-863, 2013. 査読有
 13. **Uesaka T**, Nagashimada M and ***Enomoto H**. GDNF signaling levels control migration and neuronal differentiation of enteric ganglion precursors. *J Neurosci* in Press, 2013. 査読有
 14. Iwano T, Masuda A, Kiyonari H, **Enomoto H** and Matsuzaki F. Prox1 postmitotically defines dentate gyrus cells by specifying granule cell identity over CA3 pyramidal cell fate in the hippocampus. *Development*, 139(16), 3051-3062, 2012. 査読有
 15. Patel A, Harker N, Moreira-Santos L, Ferreira M, Alden K, Foster K, Garefalaki A, Pachnis P, Andrews P, **Enomoto H**, Milbrandt J, Pachnis V, Coles MC, Kioussis D and *Veiga-Fernandes H. Differential RET signaling pathways drive development of the enteric lymphoid and nervous systems. *Sci Signal* 5(235): ra55, 2012. 査読有
 16. Iwano T, Masuda A, Kiyonari H, **Enomoto H** and *Matsuzaki F. Prox1 postmitotically defines dentate gyrus cells by specifying granule cell identity over CA3 pyramidal cell fate in the hippocampus. *Development* 139(16): 3051-3062, 2012. 査読有
 17. Nishiyama C, **Uesaka T**, Manabe T, Yonekura Y, Nagasawa T, Newgreen DF, Young HM and ***Enomoto H**. Trans-mesenteric neural crest cells are the principal source for the colonic enteric nervous system. *Nat Neurosci* 15(9): 1211-1218, 2012. 査読有
 18. Nagashimada M, Ohta H, Li C, Nakao K, **Uesaka T**, Brunet J-F, Amiel J, Trochet D, Wakayama T and ***Enomoto H**. Autonomic neurocristopathy-associated mutations in PHOX2B dysregulate Sox10 expression. *J Clin Invest* 122(9): 3145-3158, 2012. 査読有
 19. **Uesaka T** and ***Enomoto H**. Neural precursor death is central to the pathogenesis of intestinal aganglionosis in Ret hypomorphic mice. *J Neurosci* 30(15): 5211-5218, 2010. 査読有
- [学会発表](計18件)
1. **榎本秀樹** Enteric neural crest cells utilize vascular tissue as a migratory scaffold and efficiently colonize the colon. **第18回国際血管生物学学会 みやこめっせ京都** (2014.4.14)
 2. **Enomoto H**. Schwann Cell Precursors Undergo Neuronal Differentiation and Contribute to the Enteric Nervous System. **Gordon Research Conferences**. (2014.6.29 Hong Kong)
 3. **Enomoto H**. The cellular origins of the

- enteric nervous system. The 1st Symposium of Neuroscience Network in Kobe, 神戸 (2015.2.6)
4. **Enomoto H.** Identification of Schwann cell precursors as a novel cellular origin of the enteric nervous system. **Neurovascular Wiring 2nd International Symposium 2015.** Kyoto (2015.3.21)
 5. **Enomoto, H.** Developmental study of neuroblastoma-associated gene mutations. **8th Congress of the International Society for Autonomic Neuroscience** (2013.7.31 Giessen, Germany)
 6. **Enomoto, H.** The cellular origin of the enteric nervous system. **Gordon Research Conferences on Neural Crest & Cranial Placodes** (2013.7.22 Easton, USA)
 7. **榎本秀樹** The cellular origin of the enteric nervous system. **京都大学再生医科学研究所セミナー** (2013.5.3)
 8. **Enomoto, H.** Identification of a novel cellular origin of the enteric nervous system. **CDB-IGDB-KAIST Joint Meeting** (2013.2.19)
 9. **榎本秀樹** 自律神経系の発生・病理から明らかになる細胞のダイナミックな振る舞い **京都大学再生医科学研究所平成24年度学術講演会** (2012.12.19 京都)
 10. **榎本秀樹** 腸管膜を横切る神経堤細胞は大腸神経系の大部分を構成する **第35回日本神経科学大会** (2012.9.21 名古屋)
 11. Ito K., and **Enomoto H.** Chasing the RET tyrosine kinase in living cells. **NGF 2012, Neurotrophic factors and plasticity of the nervous system** (2012.6.23 Wurzburg, Germany)
 12. **Enomoto H.** Non-polyalanine repeat expansion mutations of the PHOX2B gene dysregulate Sox 10 expression and cause the neurocristopathy in the autonomic nervous system. **Advances In Neuroblastoma Research Conference 2012** (2012.6.20 Toronto, Canada)
 13. **Enomoto H.** Non-polyalanine repeat expansion mutations of the PHOX2B gene dysregulate Sox10 expression and cause neurocristopathy in the autonomic nervous system in mice. **3rd International Symposium on Development of the Enteric Nervous System** (2012.3.26 Hong Kong, China)
 14. **Enomoto H.** Migration and cell death of neural crest derived-cells in the gut. **KSBNS-MCCS-Asia Conference** (2011.9.19 Seoul, Korea)
 15. **榎本 秀樹** Neurovascular congruency is required for the development of the enteric nervous system. **KEY Forum in Developmental Biology and Regenerative Medicine** (2011.9.8 熊本)
 16. **榎本 秀樹** 腸管神経系の発生と病理 **新潟大学脳研究所セミナー** (2010.11.29 新潟)
 17. **榎本 秀樹** Phox2b 遺伝子変異による症候群性神経堤症の発症メカニズム **第33回日本神経科学大会・第53回日本神経化学学会大会・第20回日本神経回路学会大会合同大会** (2010.9.2 神戸)
 18. **Enomoto H.** Nagashimada M, Ohta H, Wakayama T and Nakao K. Neurocristopathy-associated Phox2b mutations cause Sox10 dysregulation and affects self-renewal, proliferation and differentiation of autonomic neural progenitors. **Advances in Neuroblastoma Research Conference 2010** (2010. 6.23 Stockholm, Sweden)
- 〔図書〕(計 1 件)
Heather M. Young, Donald F. Newgreen, **Hideki Enomoto** Development of the nervous system Physiology of the gastrointestinal tract, Fifth Edition, Section II, **Neurogastroenterology** ACADEMIC PRESS, 2012, 475-488
- 〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)
取得状況(計 0 件)
〔その他〕
ホームページ等
6. 研究組織
(1)研究代表者
榎本 秀樹(ENOMOTO, Hideki)
神戸大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号: 00360551
- (2)研究分担者 なし
- (3)連携研究者
上坂 敏弘(UESAKA, Toshihiro)
神戸大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 90304451
- 伊藤 圭祐(ITO, Keisuke)
神戸大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号: 10575468