

脊椎動物におけるモチリンの比較生物学： 構造，分布，受容体および消化管運動亢進作用

北澤 多喜雄¹⁾・Shuangyi Zhang^{1,2)}・海谷 啓之^{3,4)}

Comparative study for motilin in vertebrates; its structure, distribution, receptor
and gastrointestinal motility stimulating action

Takio KITAZAWA¹⁾, Shuangyi ZHANG^{1,2)} and Hiroyuki KAIYA^{3,4)}
(Accepted 9 December 2022)

1. はじめに

20世紀の前半，Shay and Gershon-Cohen (1935)は，ヒト十二指腸内腔を炭酸水素ナトリウム（アルカリ液）で灌流すると胃排出が亢進することを明らかにした。Brown et al. (1966)は，十二指腸のアルカリ化による胃運動亢進作用が除神経した胃でも認められることから，神経ではなく十二指腸から液性物質（ホルモン）が放出され胃運動を増加させると推察した。その後，彼らはイヌ胃運動を亢進させるか否かを指標にしブタ十二指腸粘膜抽出物で活性物質の探索をおこない，最終的に22個のアミノ酸からなるペプチドホルモン，モチリンを分離同定した（FVPIF TYGEL QRMQE KERNK GQ, Brown et al., 1971; 1972; 1973）。それゆえ，モチリンは，現在，発見されてからおよそ50年が経過した消化管ペプチドホルモンということになる。

モチリンはその後，種々の哺乳類（イヌ，ヒト，ウサギ，ネコ，ウシ）でもその存在が上部小腸粘膜で証明されアミノ酸構造が決定された（表1）。しかし，興味深いことにげっ歯類（マウス，ラット）ではモチリンは同定されず，その作用点となる受容体も存在しないとされている（He et al., 2011; Sanger et al., 2011; Kitazawa and Kaiya, 2021）。すなわち，モチリンおよびその受容体遺伝子は偽遺伝子化し機能的な分子が発現していないと考えられている（He et al., 2011）。げっ歯類をモチリン研究に

使用できなかったことは，モチリンの生理的役割の解明を遅らせた要因のひとつになっている。しかし，モチリンがげっ歯類の胃腸管や中枢神経で作用するという報告も少なからず存在し，今なおげっ歯類のモチリンについての議論が続いている。比較生物学的な研究によりモチリンは，アミノ酸構造（特にN末端構造）に違いがあるものの哺乳類以外の鳥類，爬虫類，有尾両生類，魚類にも存在していることが明らかにされており，魚類から哺乳類まで保存されてきた消化管ペプチドと考えられている（Kitazawa and Kaiya, 2019; 2021）。

モチリンは胃運動を亢進する物質として発見されたことから，その消化管運動亢進作用が注目され，種々の哺乳類で *in vivo*（意識下，麻酔下動物）または *in vitro*（摘出胃腸管条片，分離細胞）実験系でその作用が検討されてきた。これまでの機能的研究によりモチリンは一部の哺乳類（イヌ，ヒト，サル，スンクス，オポッサム）では特異的な作用点（モチリン受容体）に作用し空腹期に胃で周期的に出現する空腹期伝播性収縮（interdigestive migrating motor complex, MMC）の phase III（強収縮）の mediator であることが明らかになっている（Itoh, 1997; Kitazawa and Kaiya, 2021）。しかしながら哺乳類の中には胃腸管がモチリンに高収縮活性を示すもののその生理的役割が明らかになっていない動物（ウサギ）やモチリンにより著明な胃腸管収縮活性が認められない動物（ブタ，ヒツジ）も存在する。非哺乳

1) 酪農学園大学 獣医学群

School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

2) 内蒙古農業大学 獣医学部

College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China

3) 国立循環器病研究センター研究所 生化学部

Department of Biochemistry, National Cerebral and Cardiovascular Center Research Institute, Suita, Osaka 564-8565, Japan

4) 株式会社グランソール免疫研究所 医薬探索研究開発部

Grandsoul Research Institute for Immunology, Inc., Uda, Nara 633-2221, Japan

表1 各種脊椎動物で明らかにされているモチリン構造の比較

| 学名 | 一般名 (英語) | アミノ酸構造 | N-末端 (1-10) | C-末端 (11-22) | 全体 (1-22) |
|------------------------------|--------------------------------|---|----------------|-----------------|--------------|
| 哺乳類 | | | | | |
| Homo sapiens | Human | FVPIFTY GELQRMQ--EKERNK-GQ | 100 | 100 | 100 |
| Canis lupus familiaris | Dog | FVPIFT H SELQKIR--EKERNK-GQ | 80 | 75 | 77 |
| Equus caballus | Horse | FVPIFTYSELQRMQ--EKERN R -GQ | 90 | 92 | 91 |
| Sus scrofa | Pig | FVPS F TYGELQRMQ--EKERNK-GQ | 90 | 100 | 95 |
| Oryctolagus cuniculus | Rabbit | FVPIFTYSELQRMQ--ERERN R -GH | 90 | 75 | 82 |
| Suncus murinus | House musks shrew | FMPIFTY G ELQ K MQ--EKE Q NK-GQ | 90 | 83 | 86 |
| Felis catus | Domestic cat | FVPIFT H SELQ R IR--EKERNK-GQ | 80 | 75 | 77 |
| Macaca mulatta | Rhesus monkey | FVPIFTY G ELQRMQ--EKERS K -GQ | 100 | 92 | 95 |
| Ovis aries | Sheep | FVPIFTY G EVQRMQ--EKERY K -GQ | 90 | 92 | 91 |
| ヒトモチリンとの相同性 | | | 89 | 86 | 87 |
| 鳥類 | | | | | |
| Gallus gallus | Chicken | FVP F FTQSDIQ K MQ--EKERNK-GQ | 50 | 92 | 73 |
| Aquila chrysaetos chrysaetos | Golden eagle | FVP F FT K SDFQ K MQ--EKERN K GGQ | 50 | 92 | 73 |
| Coturnix japonica | Japanese quail | FVP F FTQSD F Q K MQ--EKERNK-GQ | 50 | 92 | 73 |
| Apteryx rowi | Okarito brown kiwi | FLP F FTQSD F R K MQ--EKERNK-GQ | 40 | 83 | 64 |
| Phasianus colchicus | Ring-necked pheasant | FVP F FTQSDIQ K MQ--EKER I K-GQ | 50 | 83 | 68 |
| Meleagris gallopavo | Turkey | FVP F FTQSDIQ K MQ--EKER I K-GQ | 50 | 83 | 68 |
| ヒトモチリンとの相同性 | | | 48 | 88 | 70 |
| 爬虫類 | | | | | |
| Alligator mississippiensis | American alligator | FLPIFT H S D MQRMQ--ERERNK-GQ | 50 | 92 | 73 |
| Crocodylus porosus | Australian saltwater crocodile | FLPIFT H S D IQRMQ--ERERNK-GQ | 50 | 92 | 73 |
| Anolis carolinensis | Green anole | Y T A F FT R E D F R KMQ--ENE K NK-AQ | 20 | 58 | 41 |
| Python bivittatus | Burmese python | Y L A F YS R E D F R RMQ--E K E K NP-TQ | 0 | 67 | 36 |
| Pogona vitticeps | Central bearded dragon | Y T A L YS W E D F R RMQ--ERERN Q -AQ | 0 | 67 | 36 |
| Podarcis muralis | Common wall lizard | Y L A F Y T PD D F R KMQ--EKERN R -AQ | 10 | 67 | 41 |
| Pelodiscus sinensis | Chinese soft-shelled turtle | Y L A F FT R S D I E RMQ--ERERNK-AQ | 20 | 75 | 50 |
| Chelonia mydas | Green sea turtle | Y L A F FT R S D I E RM Q L Q EKERNK-AQ | 20 | 83 | 55 |
| ヒトモチリンとの相同性 | | | 22 | 75 | 51 |
| 両生類 | | | | | |
| Cynops pyrrhogaster | Gaboon caecilian | Y I S F V S H N D A T K M K --DRERN R -LQ | 0 | 42 | 23 |
| Ambystoma mexicanum | Axolotl | FLPIFT I S E S M RMQ--EK M R N N-AM | 60 | 58 | 59 |
| Cynops pyrrhogaster | Japanese fire belly Newt | FLPI F SP S D A R R MQ--ERERNK-G M | 40 | 75 | 59 |
| Pleurodeles waltl | Iberian ribbed newt | FLPI F SP S D A R R MQ--A K E K NR-AM | 40 | 50 | 45 |
| ヒトモチリンとの相同性 | | | 35 | 56 | 47 |
| 魚類 | | | | | |
| Gadus morhua | Atlantic cod | H I T F F S P R E M M L M----KER D a# | 20 | | |
| Latimeria chalumnae | Coelacanth | F I S F F S P S D M R R M--ME K E K S K A L a | 20 | | |
| Cyprinus carpio | Common carp | H I A F F S P K E M R E L--RE K Ea | 20 | | |
| Oncorhynchus mykiss | Rainbow trout | H F S F F S P K E M R E M--K A L Q N K L a | 20 | | |
| Takifugu rubripes | Torafugu | H I T F F S P K E M M V L----K Q E Q Ea | 20 | | |
| Danio rerio | Zebrafish | H I A F F S P K E M R E L----RE K Ea | 20 | | |
| ヒトモチリンとの相同性 | | | 20 | | |

赤字はヒトモチリンとの差異を示している。

#, "a"はC末端のアミノ酸がアミド化されていることを示している。

表は Kitazawa and Kaiya (2021) を改変している。

類では研究報告が少なく、モチリンの生理的機能の解明は主として摘出胃腸管標本を収縮させるか否かという *in vitro* の研究が中心に行われており、モチリンが非哺乳類でもその胃腸管を収縮させるという報告が蓄積しつつある (Kitazawa and Kaiya, 2021)。

本総説では各種脊椎動物におけるモチリン構造とその分布、モチリン受容体について比較し、その消化管運動亢進作用の機序、生理的意義についての報告を紹介する。加えて、モチリンとその受容体が胃腸管以外の組織にも存在することが明らかになっているので、消化管運動亢進以外の作用についても述べる。

2. モチリンの構造

モチリンは最初にブタで構造が決定されたが、その後、ヒト、イヌ、ネコ、ウサギなどの哺乳類においてもその構造が決定された (Kitazawa and Kaiya, 2019, 2021)。表 1 にヒトを含む 9 種の哺乳類でのモチリン構造を示したが、どの動物種においてもモチリンは 22 個のアミノ酸から構成されている。げっ歯類のマウスやラットではモチリンをコードする遺伝子は偽遺伝子化してモチリンを産生することができないためモチリンは同定されていないが (Het al., 2011; Sanger et al., 2011)、モルモットではモチリン遺伝子が存在するという報告があり、推定されたモチリン構造は FVPIFTYSELRRRTQEREQNKRL であった (Xu et al., 2001)。しかし、報告されたモチリン遺伝子を PCR では増幅できなかったこと、合成モルモットモチリンがモルモット胃腸管に著明な収縮を誘起しなかったことは、モルモットでのモチリンの存在とその生理的意義を否定するものであった (Kitazawa et al., 2019)。

哺乳類でモチリン構造が明らかにされるのと並行して、モチリンの構造活性相関が胃腸管運動亢進作用や放射性リガンド結合解離実験で解析された。その結果、モチリンの生物活性に重要なのは N 末端の 1-7 位の構造であり、8-9 位が N 末端と C 末端を結合させ、C 末端の 10-22 位はアルファヘリックス (α -helix) 構造を作り、N 末端とモチリン受容体の結合を安定化させていることが明らかになった (Poitras et al., 1992; Raymond et al., 1994; Miller et al., 1995)。これらの報告に基づいて N 末端 (1-10 位) に注目して哺乳類のモチリンとヒトモチリンとの相同性を解析するとその値は平均で 89% となった。一方、C 末端 (11-22) の相同性は 86% であり、全体の構造でも 87% の相同性が認められた (表 1)。これらのことから哺乳類ではモチリンのアミノ酸構

造は種によって若干異なるもののその差異は極めて小さいことがわかる。

ヒトモチリンと比較して他の脊椎動物のモチリン構造を見てみると、鳥類、爬虫類、両生類のモチリンは基本的には 22 個のアミノ酸からなる構造であるが (例外も認められる。Golden eagle, Green sea turtle)、魚類モチリンは 17-22 個のアミノ酸残基数であり種差が認められた (表 1)。鳥類モチリンは哺乳類と同様にフェニルアラニン (F) から始まるものの 1-10 位までの相同性は総じて 50% 程度であったが、11-22 位までの相同性は 88% と哺乳類のそれと類似した値を示した (モチリン全体では 70%)。このことから生物活性に必要な N 末端構造では哺乳類と鳥類のモチリンの差は著明であるが、C 末端構造にはあまり差異がないことがわかる。この活性に関わる N 末端構造の差が要因となりニワトリモチリンはウサギ十二指腸ではヒトモチリンより低い収縮活性を示すと考えられる (Kitazawa et al., 1997)。同様なモチリン構造の比較を爬虫類で行うと、N 末端 1 位のアミノ酸がフェニルアラニンの種 (ワニ類) とチロシン (Y) の種 (トカゲ、ヘビ、カメ類) に分類することができた。ワニモチリンの N 末端 (1-10) は、ヒトモチリンと 50% 相同性であったが、トカゲ、ヘビ、カメ類モチリンでは相同性が 0-20% であり N 末端の構造がヒトモチリンと大きく異なることがわかる。一方、C 末端の相同性はワニ類では 92%、トカゲ、ヘビ、カメ類モチリンは 58-83% であった。22 個のモチリン全体では、相同性はワニ類では 73%、トカゲ、ヘビ、カメ類モチリンでは 36-50% となった。このことは、ワニモチリンは鳥類や哺乳類モチリンと相同性の高い構造を有するが、トカゲ、ヘビ、カメ類のモチリンは鳥類・哺乳類とはあまり類似していないことを示している (表 1)。ワニ類は爬虫類の中でも最も鳥類に近い動物と言われているので (Green et al., 2014)、モチリン構造が鳥類と類似しているのかもしれない。ヒト、ニワトリ、ワニおよびカメモチリンのウサギ十二指腸収縮活性を比較するとヒト > ニワトリ = ワニ > カメの力価順となった (Zhang et al., 2021a)。このことは、ヒト (哺乳類) モチリンとニワトリ、カメ、ワニモチリンとの N 末端構造の差が、モチリンの十二指腸収縮活性に反映されていることを示している。

最近まで両生類にモチリンが存在するかどうかは不明であったが、近年の分子生物学的な解析によりモチリン様物質の存在が知られるようになった (Kitazawa and Kaiya, 2021)。両生類は尾があるか

どうかにより有尾類（イモリ，サンショウウオ類）と無尾類（カエル類）に分けられるが，モチリンは有尾類には存在するが無尾類では確認されていない。しかしながら，外因性モチリンによりカエル類では収縮が認められることから（Zhang et al., 2021b），カエル類にはモチリンを認識する受容体が存在していると考えられている（図1）。有尾類4種のモチリン構造は表1に示した通りである。両生類のモチリンも22個のアミノ酸残基から成りN末端は爬虫類と同様にFまたはYとなっていた。相同性は全体では23-59%（平均=47%），N末端では0-60%（平均=35%），C末端では42-75%（平均=56%）となり，鳥類や爬虫類と同様にN末端構造よりC末端構造の相同性が高いことがわかる。ウサギ十二指腸でアカハライモリモチリン（N末端相同性40%）を含む数種のモチリンの作用を検討したところ，収縮力価順はヒト>ニワトリ>カメ>アカハライモリであった。爬虫類モチリンの場合と同様にN末端構造の相同性が低いために，アカハライモリモチリンのウサギ十二指腸収縮活性が低下したと考えられる（Kitazawa and Kaiya, 2021; Zhang et al., 2023）。

魚類では原始的なシーラカンスモチリンのみが両生類以上の脊椎動物と同じ22アミノ酸残基から成り立ち，N末端がFとなっていた。他の魚類のモチリンは17-20アミノ酸残基の間であり，N末端はヒスチジン（H）で共通していた。また，魚類の特徴としてC末端のアミノ酸がアミド化されていることがあげられる。N末端1-10位についてヒトモチリンと比較すると相同性は20%と低値を示した（表1）。

以上のことから，哺乳類，鳥類，爬虫類，両生類，魚類それぞれに特徴的な構造を有するモチリンが存在していることが明らかになった。この中で哺乳類と鳥類では構造に類似が認められ（70%），生物活性に必要と考えられているN末端構造は哺乳類・鳥類型モチリンでは比較的保存されていた（50%）。一方，爬虫類の中ではワニモチリンの構造が哺乳類・鳥類型モチリンと類似しており，ワニ類が比較的鳥類と近いという報告を裏づけるものとなった。ワニ類以外の爬虫類，両生類および魚類は哺乳類・鳥類とは異なるモチリン構造を示すものの，同じ綱内での相同性は高かった。また，ヒトモチリンのN末端（1-10）とC末端（11-22）構造の相同性を各動物綱間で比較すると，その平均値は哺乳類では，89%と86%，鳥類では48%と88%，爬虫類では，22%と75%，両生類では35%と56%となった。魚類では

アミノ酸残基数が短いのでC末端は比較していないが，N末端の相同性は20%であった。これらのことから両生類から哺乳類までの進化の過程において，モチリンC末端は，N末端よりも高く保存されていることが推察された。哺乳類での検討ではN末端は生物活性に重要な構造，C末端はN末端と受容体との結合を安定化させると報告されているが（Poitras et al., 1992; Raymond et al., 1994; Miller et al., 1995），C末端の機能を研究した報告は少なくこの部位がどのような役割を持っているかについては不明な点が多い。Mitselos et al. (2008) は，C末端構造は受容体の脱感作やリン酸化に関与していることを報告している。ひとつの仮説として，生物活性に関係するN末端は動物種により異なる構造のモチリン受容体を認識するために，その構造が動物種により変化して特徴的な差異が生じるが，N末端と受容体の結合を安定化させる役割のC末端は受容体構造の種差の影響を受けにくいので，構造が類似し各動物種間でも相同性が高くなるのではないかと推察される。C末端構造は，モチリンと受容体との結合安定性に影響を与えるので，この安定性が受容体の脱感作を制御しているのかもしれない。今後，哺乳類モチリンだけではなく他の動物種のモチリンのC末端フラグメントを用いて研究を行うことでC末端機能の解明が進むと考えられる。

3. モチリン分布

モチリンは十二指腸腔内のアルカリ化により放出されることから，上部の小腸粘膜に存在すると推定され，実際に上部小腸粘膜の抽出物から精製・同定された（Brown et al., 1971; 1972; 1973）。モチリン存在部位の解明は多くの場合，ヒトモチリン抗体（N末端構造を認識）を用いた免疫組織化学的検討で行われてきた。この方法ではモチリン抗体の特異性が問題点であり，モチリン構造には動物種差があるので含有細胞を検出できないこともある。それゆえ，結果の解釈には注意が必要となる。哺乳類間ではモチリン構造の相同性が高いので，ヒト，イヌ，ウサギ，ウシ等でモチリン様免疫活性陽性細胞が広く胃幽門から結腸までの粘膜に存在し，その中でも十二指腸で陽性細胞が最も多いことが報告されている（Sjölund et al., 1983; Kitamura et al., 1985; Poitras et al., 1987; Satoh et al., 1995）。また，ヒトモチリン抗体は鳥類（ニワトリ，ウズラ）の胃腸管でもモチリン様免疫活性物質を検出することができ，いずれの種においても十二指腸にモチリンが局在することが明らかになっている（De Clercq et al., 1996; Apu et

al., 2016)。一方、爬虫類ではヒトモチリン抗体でモチリンが検出できたという報告と検出できなかったという報告がある (Buchan et al., 1983; Alonson et al., 1989; Perez-Tomas et al., 1989; Arena et al., 1990; Yamada et al., 1991)。これはすでに述べたように爬虫類では哺乳類・鳥類型モチリンと爬虫類型モチリンが混在していることが原因と推察される。両生類や魚類ではモチリンの免疫組織化学的な検討は殆ど行われていなかったが、最近、Matsumoto et al. (2022) はスルクスモチリンのC末端を認識する抗体を用い、アカハライモリの上部小腸と膵臓にモチリン産生細胞が存在することを明らかにした。また、ゼブラフィッシュにおいてヒトモチリン抗体でモチリン様免疫活性陽性細胞が見つかったとの報告がある (Olsson et al., 2008)。

免疫組織化学的方法では抗体の特異性が問題となるため、モチリン前駆体遺伝子を検出しその発現量からモチリン分布を明らかにしようという研究がヒト、サル、ネコ、スルクスで行われた。その検討結果は、免疫組織化学的検討の成績と一致し、モチリン前駆体遺伝子は十二指腸で最も発現が高いことが明らかになっている (Huang et al., 1998; Yano et al., 1989; Xu et al., 2003; Tsutsui et al., 2009)。魚類、両生類、爬虫類および鳥類ではモチリン遺伝子の発現部位の解析はまだ始まったばかりであるが、上部小腸での発現が高いことが明らかにされている (Zhang et al., 2021a; Matsumoto et al., 2022)。これらの解析結果をまとめるとモチリン含有細胞は、哺乳類・鳥類を含む多くの脊椎動物では上部小腸 (特に十二指腸) に高密度に存在しているものと推定される (Kitazawa and Kaiya, 2021)。

しかしながら、哺乳類でモチリンが消化管以外、特に中枢神経 (小脳、海馬、視床下部) にも存在するとの報告もある (Beinfeld and Bailey, 1985; Depoortere et al., 1997a; Huang et al., 1998; Xu et al., 2003)。作用点であるモチリン受容体は中枢神経にも存在するので (Depoortere and Peeters, 1997; Depoortere et al., 1997b; Thielemans et al., 2001)、モチリンが中枢神経で神経伝達物質として働き何らかの機能を担っている可能性は完全には否定できない。

4. モチリン受容体

4.1. 放射性リガンド結合実験

¹²⁵I 標識モチリンを用いた結合実験や結合解離実験は、ヒト、ウサギ、イヌなどの胃腸管より作成した細胞膜分画に高親和性のモチリン結合部位がある

ことを示し、この結合部位が受容体と認識された。モチリンの特異的結合は、平滑筋細胞、腸管神経細胞いずれの膜分画にも存在することからモチリン受容体は平滑筋細胞、腸神経のいずれにも存在すると考えられている (Kondo et al., 1988; Peeters et al., 1988; Sakai et al., 1994; Poitras et al., 1996; Miller et al., 2000a, b)。しかし、平滑筋性および神経性モチリン受容体の分布密度には胃腸管部位差と動物種差が認められる。例えばウサギ胃と上部小腸の比較では、平滑筋性受容体は小腸で多く、神経性受容体は胃で多く発現していた (Poitras et al., 1996)。神経性受容体と平滑筋性受容体が分子的に異なるか否かについては、リガンドの解離定数の差からモチリン受容体にサブタイプがあるという報告があるが (Miller et al., 2000b)、蛋白質レベルでは一種類の受容体しか存在が証明されていない。イヌ胃腸管での初期検討では、標識モチリンの特異的結合部位は存在しないと報告されていたが (Peeters et al., 1988)、Ohshiro et al. (2008) と He et al. (2015) はモチリン受容体抗体を用いた免疫組織化学的検討によりモチリン受容体がイヌ胃では平滑筋細胞には存在せずに腸神経叢の神経細胞体や神経線維に存在することを報告している。胃腸管でホモジネートを作製した場合、腸神経分画は平滑筋分画に比べ量的に少ないために、ホモジネートを用いた解析 (Peeters et al., 1988) では神経性受容体を検出するのが難しかったと考えられる。Milenov and Shahbazian (1995) は、イヌ小腸でモチリンは非刺激腸管の収縮活性に影響を与えることなく、電気刺激誘発性のコリン作動性収縮を増大することを報告しており、機能的な研究からもイヌ胃腸管では神経性受容体が主に存在・機能することが明らかになっている。Miller et al. (2000b) は、ヒトの胃と十二指腸においてモチリン結合量を解析し、神経分画の結合量には胃腸管部位差があり、幽門部>胃体部>胃底部=十二指腸の順であること、幽門部での結合はすべて神経分画で認められることを明らかにしている。ヒトでも神経分画と平滑筋分画では、モチリンの結合親和性には差はないが、モチリンフラグメント (1-12) の親和性には差異が認められた (Miller et al., 2000b)。この成績はウサギでの報告と同様にヒトでもモチリン受容体にサブタイプがある可能性を示唆するが詳細は不明である。これまでの報告をまとめるとモチリンの結合部位 (受容体) は、腸神経と平滑筋のいずれにも存在するが、胃では神経性受容体、小腸では平滑筋性受容体の分布が優勢であると推定される。Parkman et al. (1996) は、ウサギ胃腸管を用いた収

縮実験で神経性受容体は収縮頻度の増加を、平滑筋受容体は収縮高の増加を起こすことを明らかにし、神経性受容体を介する反応の方が低濃度のモチリンで誘起されることを報告している。同様に、Van Assche et al. (1997) もウサギ胃でモチリンの神経性反応（電気刺激収縮増大作用）は平滑筋性反応（平滑筋収縮）よりも低濃度から起きることを明らかにしている。これら機能的実験での反応親和性の差異も平滑筋性および神経性モチリン受容体が異なる可能性を示唆するが、蛋白質や遺伝子レベルではモチリン受容体サブタイプの存在は証明されていないのが現状である。

Depoortere et al. (1997b) および Thielemans et al. (2001) は、放射性リガンドを用いた結合実験からウサギ小脳やヒト小脳から作成した株化細胞 (TE671) に特異的な標識モチリン結合部位が存在することを明らかにしている。これらの成績は胃腸管の平滑筋細胞や腸神経以外に中枢の神経細胞にも受容体が存在していることを示している。ただし、中枢神経でモチリン機能を解析した報告はモチリン/モチリン受容体が発現している動物種（ウサギ、イヌ、スンスなど）では殆どない（7. 消化管以外でのモチリンの作用参照）。

4.2. 受容体作動薬、遮断薬

古くからマクロライド系抗生物質であるエリスロマイシンの副作用として嘔吐や下痢などの消化管症状が知られていた (Putzi et al., 1983)。Itoh et al. (1984) や Inatomi et al. (1989) は意識下イヌにおいてエリスロマイシンがモチリンと同様の消化管運動亢進作用を引き起こすこと、Peeters et al. (1989) や Satoh et al. (1990) は、摘出ウサギ十二指腸においてエリスロマイシンがモチリン受容体の作動薬として働きモチリン同様の腸管収縮を起こすことを報告している。加えて、エリスロマイシンがモチリン受容体に結合することが受容体結合実験からも明らかにされた (Kondo et al., 1988)。種々のエリスロマイシン誘導体の抗菌活性とモチリン様活性の同時比較から、モチリン受容体結合活性と抗菌活性とは関連性がないことが明らかにされ、抗菌活性を持たずモチリン様活性のみを有する物質も報告されている。これらのモチリン様活性を有するマクロライドはモチライド (motilide) と呼ばれている (Omura et al., 1987)。

モチリン研究の初期には選択的受容体遮断薬がなかったことから、モチリン誘発性反応にモチリン受容体が関与しているかどうかの解析は、*in vivo* では

モチリン抗血清 (Lee et al., 1983a), *in vitro* では高濃度モチリン処理による受容体脱感作 (Kitazawa et al., 1994) などの手法が試されていたが、非特異的な影響が起きる可能性は否定できなかった。そこで特異的な受容体遮断薬の探索研究が行われ、1995年に二つのグループからモチリン受容体遮断薬として Phe3, Leu13 モチリン (Depoortere et al., 1995) と GM-109 (Takanashi et al., 1995) が報告され、モチリンの機能的研究の発展に寄与した。現在では親和性および特異性が高いモチリン受容体の遮断薬として MA-2029 が開発され機能的な研究に用いられている (Sudo et al., 2008; Ozaki et al., 2009)。

4.3. モチリン受容体の分子生物学と系統樹解析

モチリン受容体 (ヒト) は分子レベルでは、Gq/11 とカップルする GPR38 であることが Feighner et al. (1999) によって報告された。GPR38 は、モチリンにより刺激されると Gq/11-phospholipase C 系が活性化して inositol-trisphosphate (IP3) とジアシルグリセロールが産生され細胞内外からの Ca^{2+} 動員が増加し、細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加が起きイオンチャネルや収縮蛋白質が活性化される。収縮蛋白質の興奮は平滑筋収縮を、イオンチャネル (Ca^{2+} 依存性 K^{+} チャネル) の活性化は平滑筋弛緩を誘起する (Depoortere and Peeters, 1995; Lu et al., 1998; Huang et al., 2005)。また、神経性のモチリン作用に注目してみるとモチリンはコリン作動性神経やセロトニン (5-hydroxytryptamine, 5-HT) 作動性神経のような興奮 (収縮) 性神経とアドレナリン作動性神経や NO 神経などの抑制 (弛緩) 性神経のいずれも興奮させる可能性がある (Kitazawa et al., 1993; 1994; 1995; 1997; 2002; Mondal et al., 2011)。それゆえモチリン受容体の興奮は平滑筋収縮だけではなく平滑筋弛緩をも誘起し、結果として胃腸管内容物が輸送していく律動的な運動が起きると推察される (Kitazawa and Kaiya, 2021)。

モチリンの胃腸管運動亢進に関する研究がヒト以外ではイヌ、ウサギで多く行われていたことから、両動物でモチリン受容体のクローニングが行われ、ヒトモチリン受容体に対する相同性はイヌモチリン受容体では 84%、ウサギモチリン受容体では 71% であることが報告されている (Dass et al., 2003; Ohshiro et al., 2008)。モチリン受容体の分子構造が明らかになるにつれてこの受容体の構造がすでにクローニングされていた growth hormone secretagogue 受容体 (GHS-R) (Howard et al., 1996) と類似していることが明らかになり (ヒトでモチリン受容

表2 モチリンとグレリンの発見、構造、分布、受容体および生理機能の比較

| | モチリン (motilin) | グレリン (ghrelin) |
|-----|--|---|
| 発見 | 1973年, ブタ十二指腸粘膜 | 1999年, ラット胃粘膜 |
| 構造 | 22アミノ酸ペプチド (魚類では異なる) | 28アミノ酸ペプチド, 種々のアイソペプチド存在 活性型は3位セリンの脂肪酸修飾 モチリンと36%のアミノ酸相同性 3位が脂肪酸修飾されていないデスアシルグレリンも存在 |
| 分布 | 十二指腸(上部小腸)粘膜, 中枢神経 | 胃粘膜, 膵臓, 中枢神経 |
| 受容体 | モチリン受容体(MLN-R, GPCR), Gq/11とカップル 主に消化管(平滑筋, 腸神経, 粘膜)に分布 | Growth hormone secretagogue receptor 1a (GHS-R1a, グレリン受容体, GPCR), Gq/11とカップル モチリン受容体と52%の相同性, 膜貫通部位では86% |
| 機能 | 消化管運動調節(空腹期収縮の調節) 空腹感の中枢への伝達 | 内分泌, 外分泌機能の調節 消化管運動調節 循環器機能の調節 摂餌の調節 エネルギー代謝の調節(飢餓時にエネルギーを蓄積) |
| 備考 | げっ歯類と無尾両生類では存在が確認されていない。 エリスロマイシンは哺乳類のモチリン受容体の作動薬 | 殆どの脊椎動物に存在する。 グレリン受容体作動薬のアナモレリンはヒトでガン悪液質の改善薬として認可されている。 |

体とGHS-Rの相同性は全体で52%、膜貫通部位では86%)、同じ祖先をもつ受容体ファミリーと考えられるようになった(Asakawa et al., 2001)。GHS-Rは胃粘膜内分泌細胞に存在するグレリンの作用点で、グレリン受容体とも言われている(Kitazawa and Kaiya, 2019)。しかし、胃腸管収縮を指標とした機能的な実験や受容体発現細胞でのリガンド結合実験においてグレリンはモチリン受容体に結合できないことが明らかになっている。また、逆にモチリンがグレリン受容体を興奮させることもできない(Depoortere et al., 2003; Ohshiro et al., 2008; Ogawa et al., 2012)。これらのことから、受容体構造に相同性が認められるもののモチリンとグレリン間に交差作用は起きないと考えられる。

哺乳類以外の動物で最初にクローニングされたのはニワトリモチリン受容体であるが、ヒト受容体との相同性は59%と哺乳類間でのそれに比較して低くなっていた(Yamamoto et al., 2008)。この成績は哺乳類と鳥類のモチリン受容体の構造が大きく異なることを示唆しており、この構造の差によりニワトリ胃腸管ではニワトリモチリンがヒトモチリンより高親和性で作用し、エリスロマイシンにはモチリン様活性が認められないという機能的な差異が生じたと考えられた(Kitazawa et al., 1997; Kitazawa and Kaiya, 2019)。分子生物学的解析によりモチリン受容体は鳥類のみならず爬虫類、両生類および魚類と全ての脊椎動物に存在することがわかっている(Kitazawa and Kaiya, 2021)。これら受容体のアミ

ノ酸構造を基にモチリン受容体の系統樹を作成すると図1に示したようになった。すなわちモチリン受容体は先ず二つの大きなクレードに分かれる。それは、哺乳類・鳥類・爬虫類・両生類クレードと魚類クレードである。次いで哺乳類・鳥類・爬虫類・両生類クレードは、両生類クレードと哺乳類・鳥類・爬虫類クレードに分岐する。哺乳類・鳥類・爬虫類クレードは更に哺乳類、鳥類・爬虫類および爬虫類クレード(爬虫類-1, カメ類)の3つに分岐し、鳥類・爬虫類クレードは最終的に鳥類と爬虫類-2(ワニ類やトカゲ類)に分岐する。一方、両生類クレードは有尾類(イモリ類)と無尾類(カエル類)とに分岐する。魚類のモチリン受容体クレードは原始的なシーラカンス、軟骨魚類(サメ類)と硬骨魚類に分かれている(図1)。この系統樹解析から、各脊椎動物類にはそれぞれ特徴的な構造を有するモチリン受容体が存在すること、魚類と他の脊椎動物の分岐については水棲か陸棲かが、両生類と哺乳類・鳥類・爬虫類の分岐については半水棲か陸棲かが関与していると推察される。爬虫類が爬虫類と鳥類・爬虫類のクレードに分類されたことは一部の爬虫類(ワニ類, トカゲ類)と鳥類が進化上近い関係にあること示唆しているのかもしれない。

5. モチリンの放出調節機構

イヌ、ヒトでは血中モチリン濃度がMMC発現に同期して120分から150分周期で増減することから、その放出調節機構が注目され研究が進んでいる。

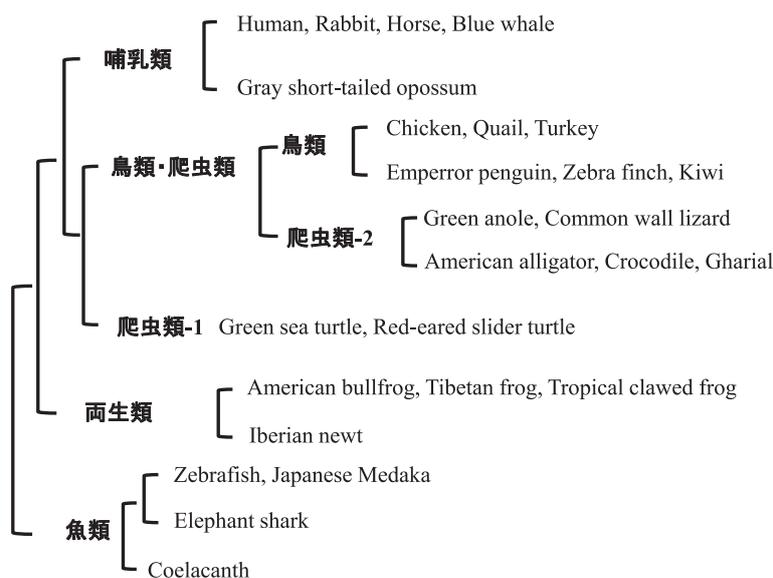


図1 モチリン受容体の系統樹

種々の脊椎動物で明らかにされているモチリン受容体のアミノ酸構造をベースに系統樹解析をおこなった結果を示している。モチリン受容体の系統樹は最初、魚類と哺乳類・鳥類・爬虫類・両生類の2つのクレードに分岐する。その後、哺乳類・鳥類・爬虫類・両生類クレードはさらに両生類と哺乳類・鳥類・爬虫類の2つに分岐する。哺乳類・鳥類・爬虫類クレードは哺乳類、鳥類・爬虫類と爬虫類-1の3つに分岐する。鳥類・爬虫類クレードからは最終的に鳥類と爬虫類-2クレードが分岐してくる。すなわち、哺乳類、鳥類、爬虫類、両生類および魚類にはそれぞれに特徴的なモチリン受容体が存在する。この中で爬虫類の一部（トカゲ、ワニ類）は鳥類と同じクレードに含まれているが（爬虫類-2）、カメモチリン受容体は爬虫類として別のクレードに分類される（爬虫類-1）。なお、両生類では有尾のイモリと無尾のカエルの受容体は別のクレードに分類される。また、魚類でも軟骨魚類と硬骨魚類に分岐する。シーラカンスのモチリン受容体は軟骨・硬骨魚類の分岐よりも早期に分岐している。図は Kitazawa and Kaiya (2021) を改変したものである。

現在のところ放出調節因子の解明はイヌを用いて行われたものが殆どで、モチリンの分泌調節因子として栄養学的因子、化学的因子、機械的因子および生物学的因子（神経伝達物質、生理活性物質）が知られている（表3）。これは、*in vivo* 実験で各種刺激のモチリン放出（血中濃度）への影響を解析するためには複数回の採血が必要なのが要因になっている。また、放出調節機構の解明は分離モチリン分泌細胞を用いても行われている。

栄養学的因子：摂餌後に血中モチリン濃度は低値となることから食事由来の各種栄養素がモチリン分泌に影響を与えるのではないかと考えられている。栄養素の中でグルコースとアミノ酸はモチリン放出を抑制するが（Mori et al., 1981）、脂肪については増加するという報告（Yoshiya et al., 1985）と変わらないという報告（Mori et al., 1981; Collins et al., 1981）があり一致していない。血中グルコース濃度の上昇はインスリン分泌の増加を誘起するが、イヌでインスリンがモチリン放出を低下させることが報告されている（Lemoyne et al., 1984）。それゆえグルコースが直接的にモチリン放出を抑制するのではなく、

インスリンを介し間接的に作用している可能性がある。いずれにせよグルコースとアミノ酸がモチリン放出を抑制する事実は、食後期に血中モチリン濃度が低下することを一部説明できると考えられる。

機械的因子：胃腸管が内容物で伸展した時、すなわち機械的な刺激によりモチリン放出が起きる可能性が指摘されている。Boivin et al. (1992) は、ヒトで摂食直後に起きるモチリンの一過性の増加に胃の伸展が関与することを報告している。一方、Takahashi (2013) はイヌをモデル動物として胃液や膵液により十二指腸内腔圧が増加することによりモチリンが放出されるモデルを示している。十二指腸のモチリン産生細胞には圧受容器が存在し伸展刺激を受容すると考えられている。

化学的因子：十二指腸内のアルカリ化または酸性化でモチリン放出が誘起されるかどうかについてはイヌ、ヒト、スンクス、ブタでの検討がある。酸性化はいずれの動物でもモチリン放出を増大させるが（ヒト：Collins et al., 1981；イヌ：Fox et al., 1981；スンクス：Mondal et al., 2017；ブタ：Rayner et al., 1987；Goll et al., 1996）、イヌでは放出を抑制すると

表3 モチリン分泌に影響を与える因子

| 増加 | 減少 | 影響なし |
|---|---|---|
| ○生理活性物質 アセチルコリン (イス, Poitras et al., 1993; 1997) ボンベシン (イス, Poitras et al., 1997) セロトニン* (イス, Mochiki et al., 1996; Nakajima et al., 2010) モチリン* (イス, Mochiki et al., 1996) プロスタグランジン E2* (イス, Mochiki et al., 2000) | 一酸化窒素 (イス, Mizumoto et al., 1997) グレリン (イス, Ogawa et al., 2012) ソマトスタチン (イス, Mori et al., 1981; Poitras et al., 1997) インスリン (イス, Lemoyne et al., 1984) α -アドレナリン受容体興奮 (イス, Poitras et al., 1997) Pancreatic polypeptide (イス, Janssens et al., 1983) | コレシストキニン (イス, ; Lee et al., 1980; Poitras et al., 1993) ガストリン (イス, Lee et al., 1980) セクレチン (イス, Lee et al., 1980; Poitras et al., 1993) セロトニン (イス, Poitras et al., 1993) モルヒネ (イス, Poitras et al., 1993) 迷走神経切断 (イス, Lemoyne et al., 1984; Yoshiya et al., 1985) |
| ○栄養素 脂肪 (イス, Yoshiya et al., 1985) 長鎖脂肪酸 (ヒト, Miedzybrodzka et al., 2021) | 摂餌 (イス, Itoh et al., 1978) グルコース (イス, Mori et al., 1981) アミノ酸 (イス, Mori et al., 1981) | 脂肪 (ヒト, イス, Collins et al., 1981; Mori et al., 1981) |
| ○化学的刺激 十二指腸内アルカリ化 (イス, スンクス, Dryburgh and Brown, 1975; Fox et al., 1981; Mondal et al., 2017) 十二指腸内酸性化 (ヒト, イス, ブタ, スンクス, Collins et al., 1981; Fox et al., 1981; Goll et al., 1996; Mondal et al., 2017; Miedzybrodzka et al., 2021) | 十二指腸内酸性化 (イス, Matsunaga et al., 1994) | 十二指腸内アルカリ化 (ヒト, Collins et al., 1981) |
| ○機械的刺激 十二指腸内圧増加 (イス, Takahashi, 2013) 胃壁伸展 (ヒト, Boivin et al., 1992) | | |

*、アセチルコリンの放出を介する間接的作用
表は Kitazawa and Kaiba (2021) を改変したものである。

の報告もある (Matsunaga et al., 1994)。一方、アルカリ化はイヌ (Fox et al., 1981) とスunks (Mondal et al., 2017) では放出増加を誘起するが、ヒトでは影響が認められなかった (Collins et al., 1981)。酸性化およびアルカリ化刺激いずれにおいてもモチリン放出が増加することについて Mondal et al. (2017) は、酸性刺激によりこれを中和すべく重炭酸イオン放出が増加し最終的に管腔内がアルカリ側に傾くことによりモチリン放出が増加する可能性を報告している。

生物学的因子：モチリン放出に影響を与える生理活性物質の研究は *in vivo* (意識下イヌ) と *in vitro* (灌流摘出イヌ胃腸管標本, 分離モチリン分泌細胞) の2つの方法で行われている。自律神経に関してはアセチルコリンで分泌が促進し α -アドレナリン受容体刺激で分泌が抑制されるので (Lee et al., 1983b; Poitras et al., 1993; 1997), モチリン分泌は副交感神経と交感神経により2重拮抗支配を受けていることが示唆される。モチリンがモチリン分泌を誘起することが知られているが、この positive feedback の系はモチリンがアセチルコリン放出を誘起しアセチルコリンが最終的にはモチリンを放出させると考えられている (Mochiki et al., 1996)。一方、モチリン類似ペプチドのグレリンはイヌではモチリン分泌を抑制するがその機序は解明されていない (Ogawa et al., 2012)。生理活性ペプチドに関してはボンベシン受容体とソマトスタチン受容体がそれぞれモチリン分泌細胞に存在し、分泌の促進と抑制に関与していることがわかっている (Poitras et al., 1993; 1997)。ほかにガストリン、セクレチン、コレシストキニン (CCK) は、モチリン分泌に影響を与えないと報告されている (Lee et al., 1980; Poitras et al., 1993; 1997)。また、すでに述べたようにインスリンにはモチリン分泌抑制作用がある (Lemoyne et al., 1984)。

近年、生体や分離細胞ではなく、モチリン分泌細胞を含む十二指腸粘膜のオルガノイドを作製しそれを用いてモチリン分泌機構を解析しようという試みがスunksやヒトで行われており (Takakura et al., 2019; Miedzybrodzka et al., 2021), モチリン分泌が脂肪酸や胆汁により調節されている可能性が報告されている。また、モチリン産生細胞には、pH のセンサーがあることが明らかになり、モチリン分泌は強アルカリ性刺激 (pH=8.0) でなくても pH が5.0位の刺激でも十分に活性化されることが明らかになっている。すなわち、pH センサーは水素イオン濃度の低下 (pH の増加) を感知して活性化され、必

ずしも pH が7.0以上のアルカリ状態にならなくてもモチリン分泌は増大すると考えられる (Miedzybrodzka et al., 2021)。

モチリンは血中では120-150分の間隔で周期的に増減を繰り返しそのピークに一致して胃 MMC の phase III が誘起されるが (Itoh, 1997), 何故この周期で濃度の増減を繰り返すのかについては現在2つの考え方がある。Takahashi (2013) は、以下のような仮説を立てている。空腹時に胃から流れてくる胃液や胆汁により十二指腸内圧が増加し、これにより機械的受容体が興奮し EC 細胞から 5-HT の放出が起きる。放出された 5-HT が腸神経に作用して運動亢進を起こすことにより更に内圧が上昇し、更なる 5-HT の放出を誘起し十二指腸運動を亢進する。この十二指腸の収縮亢進 (圧上昇) によりモチリン放出が誘起され、モチリンにより大量の 5-HT が放出される。5-HT とモチリンは胃壁内神経を興奮させ胃の収縮を誘起すると共に 5-HT により迷走神経終末の 5-HT₃ 受容体が興奮し迷走-迷走神経反射経路を介した強力な胃収縮 (phase III) が起きるといふものである。胃液や胆汁により内圧が上昇し始め、ある値を超えるとモチリン放出が誘起されて急激な圧上昇が起こり閾値に達すると胃の phase III 収縮が起きる。すなわち、圧上昇が閾値に達するまでの時間がモチリンピークの周期、すなわち胃 MMC の周期となるという考え方である。一方、Mondal et al. (2017) はスunksの胃運動を指標にして十二指腸内の pH 変化がモチリンピークの周期 (MMC の周期) と関連すると報告している。十二指腸に胃酸が流れ込むと粘膜でプロスタグランジン E₂ (PGE₂) が合成される。合成された PGE₂ は胃酸分泌を抑制すると共に腸神経や EC 細胞から 5-HT を放出する。5-HT は粘膜の 5-HT₄ 受容体に作用し、酸を中和すべく重炭酸イオン分泌を促進する。そして十二指腸内の pH があるレベルまで上昇するとモチリンが分泌されるというものである。分泌されたモチリンは腸神経に作用しアセチルコリンや 5-HT を放出する。5-HT は腸神経や迷走神経終末を興奮させアセチルコリンと共に胃の phase III 収縮を誘起する (図2)。この仮説では十二指腸内の pH が上昇してある閾値 pH になるまでの時間がモチリン濃度変化の周期を決定していると考えられる。pH 上昇がどのような機序でモチリン放出を増加させるかについては不明であったが、最近ヒトの十二指腸オルガノイドを用いた研究からモチリン産生細胞には pH のセンサー分子があり、水素イオンの低下により活性化されモチリン放出を誘起するこ

とが明らかになっている (Miedzybrodzka et al., 2021)。

モチリンの周期的な分泌について内圧または pH が重要であるという仮説を紹介してきたが、モチリン分泌調節機構には動物種差があることも推定されるのでさらに多くの動物種でモチリン分泌調節機構を検討し普遍性があるか否かも含めて検討を行う必要がある。また、pH 変化、内圧変化、いずれにおいても 5-HT が重要な仲介因子になっているので、5-HT、モチリン、内圧、内腔 pH を同時にモニターしモチリン放出調節機構を解明していくことが重要となる。

6. 胃腸管運動に与えるモチリンの影響

6.1. 消化管運動解析法

モチリンの消化管運動亢進作用およびその機序は動物種や消化管部位、加えて実験方法により異なることが知られている (Kitazawa and Kaiya, 2019; 2021)。一般にモチリンのような生理活性物質の胃腸管収縮におよぼす影響の評価方法には、*in vivo* と *in vitro* の実験法がある。*In vivo* では、意識下または麻酔下の動物を使用し、外科手術により胃腸管壁に装着した張力トランスジューサーや胃腸管内腔に挿入した圧トランスジューサーを用い、張力または内圧変化として消化管運動を測定・評価する。この系では活性物質の胃腸管平滑筋、腸神経、自律神経反射経路および中枢神経への作用を検討することが可能であり、消化管運動への作用だけでなく活性物質の生体機能におよぼす様々な影響を調べることができる (中枢作用は活性物質が血液-脳関門を通過できるか否かによる)。しかしながら、自律神経反射などにより活性物質の本来の作用が修飾される可能性、活性物質が分解され作用点まで到達できない可能性、麻酔下の実験では麻酔薬が胃腸管平滑筋や神経系に影響を与える可能性も否定できない。一方、*in vitro* の解析では摘出胃腸管条片を用いる。この系では活性物質の胃腸管 (平滑筋、腸神経) に対する作用を直接評価することができるという利点がある。腸神経に対する作用に注目するのであれば、電気刺激を行って腸神経を刺激し収縮または弛緩反応を誘起しその反応に対する活性物質の作用を評価する。また、神経伝達物質の放出量を測定・解析することも可能である。分離平滑筋細胞を使用すると平滑筋細胞への直接作用を評価することができる。*In vitro* の解析は活性物質の詳しい作用機序の解析に向いているが、自律神経反射や中枢神経への作用は観察・解析できないので、活性物質の生体機

能に与える影響をすべて見ることは難しい。

生理活性物質を *in vivo* と *in vitro* 同一動物種を用い評価した場合、その結果が一致することが望ましい。しかしながら、作用機序の差により一致が見られない場合が数多く報告されている。例えば、中枢神経または自律神経反射経路を活性化させ運動亢進を起こすような活性物質の作用は、摘出胃腸管標本では認められない場合が多い。また、同じ摘出胃腸管標本においても神経を介する活性物質の反応は電気刺激胃腸管標本では認められるが、非刺激胃腸管標本では認められないことがある。

6.2. モチリンの消化管運動亢進機序

モチリンは胃運動を活性する物質として発見されたことから、多くの動物種 (主に哺乳類) でその胃腸管運動亢進作用とその機序が検討されている。現在、明らかになっているモチリンの作用機序は以下の 3 経路である (図 2)。

ひとつ目は胃腸管平滑筋への直接作用である。モチリンは分離平滑筋細胞やテトロドトキシン処置平滑筋条片に収縮を誘起することが知られており (Adachi et al., 1981; Louie and Owyang, 1988; Moumami et al., 1989; Kitazawa et al., 1994)、これらの成績はモチリンが平滑筋細胞上のモチリン受容体に作用し収縮を起こすことを示唆する。胃腸管ホモジネートの平滑筋細胞分画にモチリン結合部位 (受容体) が存在するという結合実験の成績 (前述) からこのことは支持される。ふたつ目は内在性腸神経に対する作用である。腸神経の関与については *in vitro* の実験ではモチリンによりアセチルコリン放出が増加すること (Kitazawa et al., 1993)、モチリンが電気刺激誘発性収縮を増強すること (Van Assche et al., 1997)、モチリンによる摘出スunks 胃の収縮がアトロピンやテトロドトキシンで消失すること (Mondal et al., 2011)、モチリンが血管還流イヌ胃腸管標本を収縮させその作用がアトロピンやテトロドトキシンで抑制されること (Hirning and Burks, 1986; Mizumoto et al., 1993) などから示唆されている。また、*in vivo* では、ヒト、イヌやスunks でモチリンによる胃運動の亢進がアトロピン、神経節遮断薬により消失することが知られている (Itoh et al., 1976; Boivin et al., 1997; Miyano et al., 2013)。収縮反応の薬理的な解析からモチリンがアドレナリン作動性神経、5-HT 作動性神経、NO 神経などを興奮させ、最後にコリン作動性神経が興奮しアセチルコリンが放出され平滑筋上のムスカリン受容体が興奮し運動亢進が起きることが明らかに

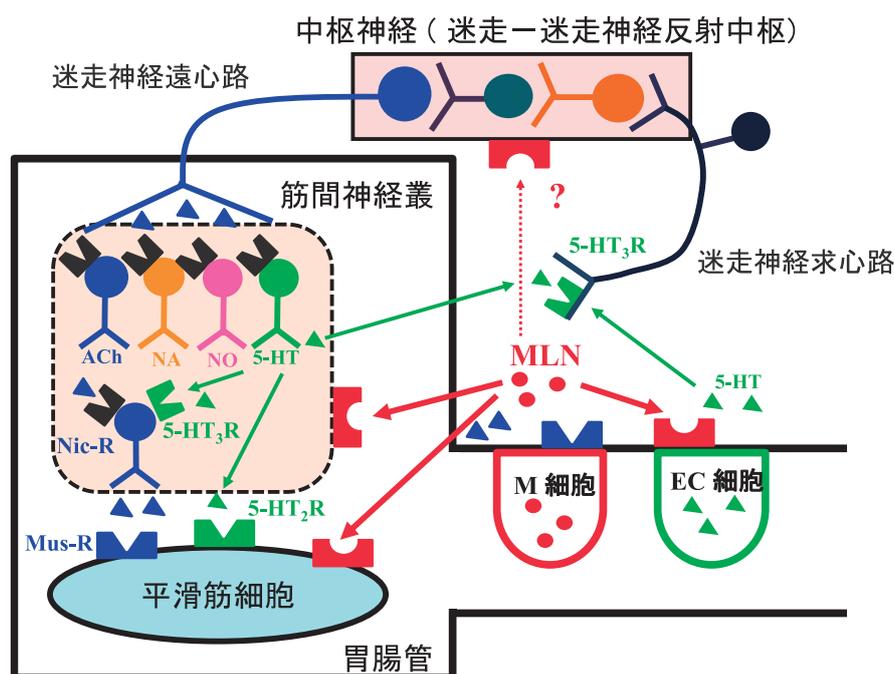


図2 モチリンの胃腸管運動亢進作用の機序

モチリン (MLN, 赤丸) は上部小腸粘膜の M 細胞で産生され、種々 (物理的, 化学的, 生物学的) の刺激によって放出される。また、モチリン産生細胞にはムスカリン受容体 (青色) が存在しモチリンはアセチルコリン (青三角) 放出を介してモチリン放出を positive に調節する。放出されたモチリンは、平滑筋細胞や腸神経に存在するモチリン受容体 (赤色) を活性化させて胃腸管運動を亢進する。モチリンにより活性化される腸神経経路は複雑であり、ニコチン様アセチルコリン受容体 (黒色, Nic-R), アセチルコリン神経 (ACh, 青色), セロトニン神経 (5-hydroxytryptamine, 5-HT, 緑) と 5-HT₃ 受容体 (5-HT₃R), アドレナリン作動神経 (オレンジ) や NO 神経 (ピンク) などが含まれていると考えられている。最終的にはアセチルコリン神経 (青色) から放出されたアセチルコリン (青三角) が平滑筋上のムスカリン受容体 (Mus-R, 青色) に作用して収縮を誘起する。小腸では、放出された 5-HT が平滑筋上の 5-HT₂ 受容体 (5-HT₂R) を興奮させて収縮を誘起する。この作用機序の差によりモチリン誘発性収縮は胃ではアトロピン (コリン作動性) で抑制されるが、腸ではアトロピン耐性 (非コリン作動性) の性質を示す。意識下動物を用いた検討から、モチリンにより 5-HT 神経またはエンテロクロマフィン細胞 (EC 細胞) から放出された 5-HT (緑三角) が迷走神経終末の 5-HT₃ 受容体に作用し反射的に迷走神経遠心路 (副交感神経) を興奮させる (迷走-迷走神経反射)。節前神経から放出されたアセチルコリンはニコチン受容体 (黒色) を介して種々の内在性腸神経を興奮させ胃運動を亢進させる。以上述べたようにモチリンにより収縮作用には平滑筋直接作用、腸神経を介する経路、迷走-迷走神経反射を介する経路が関与するが、どの経路がどの程度胃腸管収縮に寄与するかは動物種によって異なっている。モチリン受容体は中枢神経にも存在しているが、脳室内へのモチリンの適用は運動亢進作用を誘起しない。なお、図は Kitazawa and Kaiya (2021) を改変したものである。

なっているが、反応に関与する神経が神経叢内でのように配置されているのかは不明である (Itoh, 1997; Mondal et al., 2011; Kitazawa and Kaiya, 2021) (図 2)。最後は迷走-迷走神経反射を介した経路である。Inatomi et al. (1996) は、意識下イヌを用いた実験で低用量 (生理学的濃度) のモチリンによる胃運動の亢進は迷走神経遮断や 5-HT₃ 受容体遮断薬およびアトロピンにより消失することを明らかにした。一方、高濃度モチリン (薬理的濃度) による反応は迷走神経遮断や 5-HT₃ 受容体遮断薬では影響を受けずアトロピンのみで抑制された。これらの成績は低濃度のモチリンによる収縮には 5-HT₃ 受容体と迷走神経が関与していること、高濃度モチリンは迷走神経や 5-HT₃ 受容体を介さず腸神経のコ

リン作動性神経からアセチルコリンを放出し収縮を誘起することを示唆する。胃腸管において 5-HT₃ 受容体は、腸神経 (コリン作動性神経を含む) と一次知覚神経 (迷走神経に含有) の終末に存在することが明らかになっている (Browning, 2015)。それゆえ、低濃度のモチリンは腸神経叢の 5-HT 神経や腸クロム親和性細胞から 5-HT を放出させ、放出された 5-HT が迷走神経終末の 5-HT₃ 受容体を活性化して迷走神経-迷走神経反射経路を興奮させ胃運動が亢進すると考えられている (Itoh, 1997; Kitazawa and Kaiya, 2021)。すなわち、モチリンは 5-HT₃ 受容体を介し反射的に迷走神経遠心路 (副交感神経) を興奮させ主に胃運動の亢進を誘起するというものである。

中枢神経にもモチリンやその受容体は存在していることはすでに述べたが (Fratta et al., 1985; Depoortere and Peeters, 1997; Depoortere et al., 1997a, b; Huang et al., 1998), イヌにおいて中枢適用したモチリンでは胃腸管運動は亢進しないことがわかっている (Hashmonai et al., 1987), 中枢神経のモチリン系が消化管運動亢進に関与する可能性は極めて低いと推察される。

6.3. 空腹期伝播性収縮 (MMC) とモチリン

イヌでは意識下で消化管運動が測定され、空腹期と食後期では消化管運動のパターンが異なることが知られていた (Itoh et al., 1976; 1978; Itoh, 1997)。すなわち、胃腸管腔内に食物が存在しない空腹期においても胃腸管は 90-150 分の周期で間歇的な収縮を繰り返していた。この収縮は胃幽門部が発生源となり順次下部小腸に伝播していくものであった。この伝播性の性質から、この収縮は空腹期伝播性収縮 (MMC) と言われている。MMC はその運動パターンにより 3 相 (phase I, phase II, phase III) に分類される。Phase I は運動が全く起きない静止相、phase II では不規則な大きさの収縮が誘起され、phase III では最大張力の収縮が連続し起き、その後収縮は消失して phase I に移行する。一方、摂餌後は、周期的な MMC は消失し不規則な高さの収縮が連続的に起きる食後期運動が出現する。この食後期運動がどの程度続くかは動物種によって異なるが、イヌではおよそ 12 時間程度である。食後期運動の最後には MMC 様の収縮が誘起され胃腸管運動は空腹期のパターンに移行する (Mikami et al., 2018)。このような空腹期の運動と食後期の運動の著明な差はほかにヒト (Vantrappen et al., 1979; Itoh et al., 1982; Deloose et al., 2015), スンクス (Sakahara et al., 2010), サル (Yogo et al., 2007) およびオポッサム (Takahashi et al., 1983) でも報告されている。空腹期に周期的に出現する MMC の機能については、胃腸管腔のハウスキーパーの役割をしており、離脱した腸粘膜や分泌された腸液を一定時間ごとに下部の胃腸管に移送・排泄し細菌の増殖を抑え胃腸管腔を清潔に保っていると考えられている (Itoh, 1997; Takahashi, 2013)。MMC 様収縮はウサギ (Ruckebusch et al., 1985), モルモット (Galligan et al., 1985), ブタ (Rayner et al., 1981; 1986; 1987), ヒツジ (Plaza et al., 1996a, b) などでも報告があるが、これらの動物では MMC は胃からは出現せず十二指腸または上部空腸から発生し、摂餌によっても出現パターンが殆ど変化しなかった。これらの性質

は、ヒト、イヌ、サル、スンクスおよびオポッサムで報告されている MMC の性質とは明らかに異なるものであった。ヒトでは胃の phase III 収縮の発現時に特に空腹を強く感じることから、この胃収縮は中枢神経に空腹感を伝えると考えられている (Tack et al., 2016)。空腹感を動物の摂餌パターンの面から考えてみるとヒト、イヌ、サル、スンクスはある程度の量の食事を一度に摂取するが、その頻度は低いために (1 日に 2-3 回)、空腹を感じると考えられるが、ウサギ、モルモット、ブタ、ヒツジなどは常に少量の食餌を摂取しているため胃腸管、特に胃が空になることはなく空腹を感じることはないのではないかと考えられる。このような摂餌行動および空腹感の差が、MMC の出現部位、摂餌による胃腸管運動パターンの変化が明瞭か否かの差になっているのではないかと推察される。

現在、空腹期と食後期の運動に明らかな差異があるヒト、イヌ、スンクス、サル、オポッサムでは、モチリンが胃に発現する MMC の phase III 収縮の mediator であると考えられている (Itoh, 1997; Kitazawa and Kaiya, 2019; 2021)。モチリンが同定されてから直ぐに Itoh et al. (1976) は、意識下イヌの胃腸管運動を張力トランスジューサーで測定し、上記の空腹期、食後期運動を確認するとともに、モチリンを空腹期の phase I に静脈内注射すると MMC 様の収縮が誘起され下部消化管に伝播することを明らかにした。しかし、食後期ではモチリンの胃腸管運動亢進作用は認められなかった。モチリンにより MMC 様収縮が誘起されたことから、彼らは血液中モチリン濃度と運動との同時測定を行い、空腹期にモチリン濃度も MMC 同様に周期的に変化すること、モチリン濃度のピークと胃 MMC の phase III の発現が同期していることを明らかにした (Itoh et al., 1978)。一方、食後期ではモチリン濃度は低下して周期的な増加は認められなくなった。イヌではモチリン抗血清の処理 (Lee et al., 1983a) やモチリン受容体遮断薬 (MA-2029) (Ozaki et al., 2009) により胃 MMC の phase III 収縮が消失することが明らかになり、モチリンの関与が薬理的にも証明されている。イヌ以外の動物 (ヒト、スンクス、サル、オポッサム) においても、モチリンの血中濃度ピークと胃 MMC phase III 収縮発現が同期すること、モチリン適用により phase III 様収縮が誘起されることから、空腹期の胃 phase III 収縮にはモチリンが関与していると考えられている (Vantrappen et al., 1979; Itoh et al., 1982; Janssens et al., 1983; Takahashi et al., 1983; Bormans et al., 1987;

Yogo et al., 2007; Sakahara et al., 2010; Deloosse et al., 2015)。

一方, MMC の性質が異なるウサギ, モルモット, ブタおよびヒツジにおいてもモチリンと MMC の関連性が検討されているが, ブタおよびヒツジではモチリンは胃収縮を誘起しなかった。また, 血中モチリン濃度と MMC との間にも相関性は認められなかった (ブタ: Bueno et al., 1982; Rayner et al., 1987; ヒツジ: Plaza et al., 1996a, b)。このことはモチリンが胃腸管運動の調節因子ではない可能性を示唆しているが, どのような役割を持っているのかはまだ解明されていない。ウサギはその十二指腸がモチリンに対して強い収縮性を示すことからモチリンが胃腸管の収縮調節因子ではないかと考えられていたが, モチリンは胃腸管直接作用により小腸の収縮を誘起するもののその収縮は自発性 MMC (十二指腸から発生) とは異なり伝播しないことが報告されている (Guerrero-Lindner et al., 1996)。ウサギでは MMC の頻度が空腹期でも食後期でも変わらないこともわかっており, 上部小腸の運動調節にモチリンが関与する可能性は極めて低いと考えられる。一方, ウサギでは結腸にモチリン受容体が多く存在し (Depoortere et al., 1991), 受容体作動薬を投与すると排便量が増えることが明らかになっている (Sudo et al., 2007)。ウサギは後腸発酵動物であり, 盲腸便を栄養源として摂取することから, 結腸運動はウサギの消化栄養生理に重要な役割をもっている。モチリン受容体が多く発現しモチリンにより収縮が誘起されることから, 結腸運動調節にモチリンが何らかの役割を持っている可能性は否定できない。それゆえ, ウサギの消化管運動とモチリンの関係については今後さらなる検討が必要である。

6.4. げっ歯類とモチリン

すでに述べたようにげっ歯類 (マウス, ラットおよびモルモット) ではモチリンおよびモチリン受容体遺伝子は偽遺伝子化して (stop codon が入り翻訳できない), 機能的なモチリンやモチリン受容体が発現しないためにモチリンは胃腸管運動調節には関与しないと考えられている (He et al., 2011; Sanger et al., 2011; Kitazawa and Kaiya, 2021)。実際, モチリン発見当初からラットやモルモットの摘出胃腸管標本はモチリンにより収縮しないことが知られていた (Strunz et al., 1975)。Sanger et al. (2011) は, モチリンにより 5-HT が放出されそれが迷走神経終末の 5-HT₃ 受容体を興奮させて反射的に胃腸管運動を活性化する経路が嘔吐を起こす経路 (Fukui et al.,

1992) と類似することからモチリンが機能しない動物は嘔吐ができないと推察している。げっ歯類は嘔吐できない動物なのでこの仮説と一致しているが, ウサギは例外で嘔吐をすることはできないが, モチリンは胃腸管収縮を誘起する。

しかしながら, これまでげっ歯類の消化管においてモチリンが何らかの反応を誘起したという報告は 1980 年代から現在まで少なからず存在する (ラット: Valdovinos et al., 1993; Fang et al., 2004, マウス: Kim and Kim, 2019, モルモット: Louie and Owyang, 1988; Harada et al., 1992; Katayama et al., 2005)。また, げっ歯類で脳室内に適用したモチリンが中枢機能 (神経活性, 摂餌行動, 成長ホルモン分泌等) に影響を与えたとの報告もある (Porreca and Dray, 1984; Samson et al., 1984; Momose et al., 1998; Asakawa et al., 1998)。このようにモチリンと受容体が偽遺伝子化して機能しないと考えられているげっ歯類でモチリンが作用を示す要因は完全には解明されていないが, 最近, Sanger (2022) によりいくつかの可能性が提唱されている。ひとつはラット, マウスの品種やその繁殖・飼育環境の差である。げっ歯類は品種によりその遺伝子背景が異なっている。また同じ品種内でも自家繁殖 (inbred) なのか animal supplier 経由 (outbred) なのかによっても遺伝子背景は異なってくる。例えば, Neal et al. (2009) は, L-tryptophan hydroxylase 2 という 5-HT 関連酵素の発現が品種により異なっており, 胃腸管の 5-HT 反応性に差が出ることを報告している。また, Gama et al. (2020) は, 同種動物でも品種により消化管の構造や運動性が異なることを報告している。すなわち, 同種でもモチリン関連遺伝子 (リガンドと受容体) の偽遺伝子化の程度が品種により異なり, ある品種では機能的モチリン受容体が発現しモチリンが収縮反応を誘起する可能性は否定できない。もうひとつは, げっ歯類にはモチリン受容体類似の受容体が存在しこの受容体が外因性モチリンを認識し反応が誘起される可能性である。しかしながら, この受容体やその内因性リガンドは現在のところ同定されていない。グレリン受容体はモチリン受容体類似受容体の候補であるが, モチリンは脂肪酸修飾された残基を持たないためにグレリン受容体を活性化することはできない (Ogawa et al., 2012; Kitazawa and Kaiya, 2021)。グレリンの 3 位が脂肪酸修飾されていないデスアシルグレリンが作用する受容体が想定されているが, この受容体の遺伝子, 蛋白質ともいまだ同定されていない (Callaghan and Furness, 2014)。なお, ラットやマウスの空腹期にはイヌ, ヒ

トで見られるような MMC が存在し、摂餌により食後期運動に変化することが明らかになっている。このげっ歯類の MMC は周期が 20 分程度であり、イヌやヒトの MMC とは明らかに異なった性質を有している。グレリンやグレリン受容体の遮断薬を用いた検討から、この MMC の発現にグレリンが関与していることが明らかになっている (Ariga et al., 2007; Zheng et al., 2009)。すなわち、モチリンが機能しないラットやマウスでは類似ペプチドのグレリンが消化管運動を調節していると考えられている。なお、グレリンとモチリンの諸性質については表 2 に比較した。

上述のようにこれまでげっ歯類ではモチリンは機能しない、それはモチリンも受容体も偽遺伝子化して機能的蛋白質として発現しないからと考えられていたが、モチリンが機能するげっ歯類も少なからず存在することが、近年明らかになってきている (Sanger, 2022)。このことはモチリン研究のみならず、げっ歯類を用いた生理・薬理学的研究において種だけでなくその品種の飼養条件、繁殖状態とそれらにより変化する遺伝子背景も考慮することが肝要であることを示唆している。

6.5. 非哺乳類胃腸管でのモチリンの作用

モチリンとその受容体の発現が魚類、両生類、爬虫類および鳥類で認められることから、モチリンの生理的機能を解明しようという研究が非哺乳類でも行われている。

魚類：ゼブラフィッシュで消化管収縮へのモチリンの作用が検討されている。Olsson et al. (2008) は、ゼブラフィッシュの腸管でヒトモチリンとエリスロマイシンにより収縮が誘起されることを報告している。しかし、この反応は著明ではなかったため、ゼブラフィッシュでの検討はヒトモチリンではなくゼブラフィッシュモチリンを用いて行うことが必要と考えられた。その後、Liu et al. (2013) によりゼブラフィッシュモチリンが同定されると Kitazawa et al. (2017) は、合成したゼブラフィッシュモチリンとヒトモチリンの作用を摘出腸管標本で検討し、10 μ M という高濃度で極めて小さな収縮が誘起されることを示した。しかし、ゼブラフィッシュモチリン受容体発現細胞ではモチリンが作用を示す生理的濃度と推定される 1-100 nM のゼブラフィッシュモチリンにより細胞内 Ca^{2+} 濃度の増加が認められた。このことから、10 μ M が如何に高濃度であるかが認識できる。摘出消化管がモチリンに対して著明な感受性を示さないことは金魚でも確認されている。モチリ

ンが消化管収縮を起こさなかった原因としては消化管のモチリン受容体の発現が低いことが考えられている (Kitazawa et al., 2017)。魚類でモチリンとその受容体が胃腸管に存在することは ballan wrasse (ベラ的一种) (Lie et al., 2018) や sea bass (Zhou et al., 2019) でも報告されているが、胃腸管収縮への作用は検討されていない。それゆえ、魚類で消化管運動調節にモチリンが関与しているか否かについては更に多くの種での検討が必要である。Sea bass では絶食でモチリンの発現量が増加すること、モチリンが他の消化管ホルモンの発現を調節することが報告されており (Zhou et al., 2019)、魚類ではモチリンが消化管運動調節以外の作用を有している可能性がある。Liu et al. (2013) は、ゼブラフィッシュで中枢神経に胃腸管より多くのモチリン受容体遺伝子が存在すると報告しており、中枢神経で摂食調節などに関与していると考えている。

両生類：カエル (無尾類) とイモリ (有尾類) の摘出消化管でモチリンの作用が検討されている。カエルでは、ウシガエル、ネッタイツメガエルおよびトノサマガエルを用いた実験で、胃条片、上部小腸、中間部小腸および下部小腸の中でヒトモチリンは胃条片 (トノサマガエル) や上部小腸 (ウシガエル、ネッタイツメガエル) のみに部位選択的な収縮を誘起することが明らかになっている (Kitazawa et al., 2016; Zhang et al., 2021b)。カエルでは内因性モチリンは存在しないが、モチリン受容体は存在すると推定されるので (Kitazawa and Kaiya, 2021)、ヒトモチリンは発現しているモチリン受容体に作用したと考えられる。一方、イモリではモチリンとその受容体が同定されているので、イモリモチリンを合成してその作用を検討したところ、胃条片のみに著明な収縮が誘起され小腸では収縮は起きなかった (Matsumoto et al., 2022; Zhang et al., 2023)。イモリにモチリンとモチリン受容体が存在し、モチリンが胃運動のみを興奮させたことは、モチリンが有尾類両生類で胃腸管運動の調節因子である可能性を示唆している (Kitazawa and Kaiya, 2021; Zhang et al., 2023)。

爬虫類：爬虫類ではモチリンの構造が推定されており受容体も同定されている。しかしながら機能的な検討ではカメモチリンがカメ胃腸管収縮を誘起することが報告されているのみである (斎藤ら, 埼玉大学, スッポン (*Pelodiscus sinensis*)モチリンの遺伝子クローニングと生理作用の研究, 第 44 回日本比較内分泌学会, 2019 年 11 月)。カメモチリンやワニモチリンはウサギ十二指腸を収縮させるがその活

性はN末端構造が異なるためにヒトモチリンと比較すると弱い (Zhang et al., 2021a; 2023)。今後、爬虫類 (カメ, ヘビ, トカゲ) の消化管標本を用いてモチリンの作用を検討していくことが望まれる。

鳥類: 魚類, 両生類および爬虫類と比較して鳥類ではモチリンの作用を検討した報告は比較的多い。哺乳類以外ではモチリンは最初, ニワトリで同定され, 特に小腸を収縮させることが報告された (De Clercq et al., 1996)。同定されたニワトリモチリンを用いニワトリ小腸でニワトリモチリンがヒトモチリンより高活性であること, エリスロマイシンに収縮活性がないことが明らかにされニワトリモチリン受容体はヒトのそれと異なる構造であることが推察された (Kitazawa et al., 1997)。その後, ウズラ (Apu et al., 2016) やキジ (Zhang et al., 2020) でもモチリンが同定されてその収縮作用が同種鳥類で検討された。その結果, 3種類の鳥類に共通してモチリンの収縮活性は小腸で高く, その次が腺胃であり, 食道, 筋胃, 結腸では殆ど収縮が起きないことが明らかになった。ニワトリを含む鳥類では *in vivo* で筋電図を測定して胃腸管運動が評価されているが, 鳥類でも哺乳類と同様に3相 (phase I, phase II, phase III) からなるMMCが観察されている。鳥類のMMCの発生頻度や持続時間は哺乳類と類似しているが, 伝播スピードが遅いことがわかっている。また, 鳥類のMMCは胃からではなく十二指腸から発生し摂餌後でも消失することはなかった (Clench et al., 1989; 1992; Jimenez et al., 1994; Martinez et al., 1995; Rodriguez-Sinovas et al., 1997)。このように哺乳類と異なる性質の鳥類胃腸管のMMCがどのように調節されているかについては, ガストリンやCCKが調節しているという報告がある (Jimenez et al., 1994; Martinez et al., 1995)。Rodriguez-Sinovas et al. (1997) は, モチリンが鳥類でMMCを誘起しなかったことからモチリンは十二指腸で誘起されるMMCのmediatorではないと結論している。

鳥類ではMMCのほかに rhythmic oscillating complexes (ROCs) と呼ばれる消化管運動が空腹期に報告されている。ROCsはMMCとは別の運動パターンで十二指腸で発生し回盲部まで伝播した後, 今度は回盲部から胃幽門部まで逆行する運動である。腸管内容物は肛門方向と口腔方向に移動するこの運動により混和されるので, 食餌からの栄養分の吸収率が増加すると言われている (Jimenez et al., 1994)。ニワトリではこのROCsの発現時に血液中モチリン濃度が増加する。また, モチリンの適用によりROCs発現頻度が増加することが報告されて

いる。それゆえニワトリでモチリンはMMCではなくROCsを仲介すると考えられている (Rodriguez-Sinovas et al., 1997)。*In vitro* の実験でモチリン反応性は鳥類では小腸 (特に回腸) で高いことが明らかになっているが (Kitazawa et al., 1997, Apu et al., 2017; Zhang et al., 2020), この事実とROCsが小腸で認められるということを考え合わせると, モチリンの作用部位は鳥類では小腸であり, この部位を起点とする消化管運動 (ROCs) の発生に関与すると推察される。

6.6. 消化管収縮作用のまとめ

表4に各種脊椎動物におけるモチリン, モチリン受容体の存在と *in vivo*, *in vitro* 実験系での消化管収縮におよぼす影響をまとめた。モチリンが消化管運動調節因子であれば, モチリンとその受容体が存在しモチリンにより胃腸管収縮が誘起されると仮定すると, 両生類 (無尾類を除く), 爬虫類, 鳥類および哺乳類 (げっ歯類を除く) ではモチリンが消化管運動の調節因子である可能性が示唆される。魚類では摘出消化管のモチリン感受性が低く収縮も弱いことから消化管運動調節に関与している可能性は低いと考えられる。無尾両生類の胃腸管はモチリン感受性であったが, この反応はモチリン受容体が残存しこれに外因性モチリンが作用し収縮が誘起されたと考えられた。無尾両生類は内因性モチリンが欠損しているのでモチリンは収縮調節物質には成り得ない。しかし, 他の内因性物質がモチリン受容体を興奮させる可能性も完全には否定できない。一方, 有尾両生類 (イモリ類) では, 内因性モチリンとモチリン受容体が存在し, イモリモチリンにより部位 (胃) に依存した収縮が認められたことから, 有尾両生類ではモチリンが胃運動調節因子である可能性が示唆された。爬虫類, 鳥類でもモチリンは胃腸管収縮を誘起し, 特に鳥類ではROCsという鳥類特有の空腹期運動を調節していると考えられる。モチリンは哺乳類では胃に誘起されるMMCのphase IIIに関与していると考えられているが (イヌ, ヒト, スンクス, サル, オポッサム), モチリンにより胃腸管収縮が誘起されるもののその機能が良くわかっていない種 (ウサギ) やモチリンが胃腸管運動に著明な影響を与えないという種 (ブタ, ヒツジ) も存在する。モチリンにより誘起されるMMCには空腹感を脳に伝える機能があるとされているので, 摂餌パターンなどの違いにより動物が空腹を感じるかいかでもモチリンの生理機能が変わってくる可能性がある。また, げっ歯類はモチリンとモチリン受容体が

表 4 脊椎動物におけるモチリン、モチリン受容体の発現とその胃腸管運動亢進作用の比較

| | モチリン | 受容体 | In vitro | In vivo | 消化管運動に対する影響の 解明に用いられた代表的な 動物種 | | 消化管収縮作用の特徴 | 備考 |
|-----|--------------|-----|----------|-------------|---|--|--|----|
| | | | | | 消化管運動 | 動物種 | | |
| 魚類 | 存在 | 存在 | 無反応 | 未検討 | ゼブラフィッシュ, キンギョ | 高濃度 (10 μM) でのみ小さな収縮誘起 | 消化管運動調節には関与しない。 | |
| 両生類 | 有尾類 存在 | 存在 | 収縮 | 未検討 | アカハライモリ | 胃条片のみが収縮, 小腸では無反応 | 胃運動の調節に関与する可能性がある。 | |
| | 無尾類 欠損 | 存在 | 収縮 | 未検討 | ウシガエル, ネッタイツメガエル, トノサマガエル | ウシガエル, ネッタイツメガエルでは上部小腸のみが収縮, トノサマガエルでは胃条片のみが収縮 | 内因性モチリンは存在しない。発現するモチリン受容体に外因性モチリンが作用して収縮を誘起している可能性がある。 | |
| 爬虫類 | 存在 | 存在 | 収縮 | 未検討 | スッポン | 胃腸管の収縮作用 | 斎藤ら, スッポン (<i>Pelodiscus sinensis</i>)モチリンの遺伝子クローニングと生理作用の研究 (第44回日本比較内分泌学会, 2019年11月) | |
| 鳥類 | 存在 | 存在 | 収縮 | 小腸運動亢進 | ニワトリ, ウズラ, キジ | 小腸の反応性が高い。腺胃でも収縮発現するが作用機序は小腸と異なる | 十二指腸のMMCにモチリンは関与しない。小腸の rhythmic oscillating complexes にモチリンが関与している可能性がある。 | |
| | げっ歯類 欠損 | 欠損 | 無反応 | 無反応 | マウス, ラット, モルモット | マウスとラットの胃に誘起されるMMCにはグレリンが関与 | モチリンに反応性を示すげっ歯類も存在。品種によりモチリン関連遺伝子の偽遺伝子化の程度に差がある可能性。モチリン受容体以外の受容体がモチリンで活性化される可能性がある。 | |
| 哺乳類 | げっ歯類以外 存在 | 存在 | 収縮 | 胃, 上部小腸運動亢進 | ヒト, イス, スンクス, サル, オボッサム, ウサギ, ブタ, ヒツジ | ヒト, イス, スンクス, サル, オボッサムでは胃に発現するMMCのphase IIIを誘起。ウサギ, ブタおよびヒツジではMMCは観察されるが, モチリンは関与していない。 | 摂餌行動の差がモチリンの生理機能に影響を与えMMCの性質(発生部位, 摂餌による変化, モチリンの関与)が動物種により異なる可能性がある。 | |

存在しないとされるが、マウスやラットでは品種により遺伝子背景が異なる可能性やモチリン以外の受容体にモチリンが作用して収縮を示す可能性もある。

7. 消化管以外でのモチリンの作用

この章では、これまでに報告があるモチリンの中樞作用と胃腸管運動調節作用以外の末梢作用について紹介する。

7.1. 中枢作用

中枢神経にモチリンとその受容体が発現している動物種では、ウサギで前庭神経外側核の活性がモチリンで抑制されることが報告されている (Chan-Palay et al., 1982)。一方、げっ歯類ではモチリン適用により摂餌量が増加する (マウス, ラット, Rosenfeld and Garthwaite, 1987; Asakawa et al., 1998), 成長ホルモン分泌が増加する (ラット, Samson et al., 1984), 小脳のプルキンエ細胞が脱分極する (ラット, Chen et al., 2007), 扁桃体の神経細胞活性が増加する (ラット, Feng et al., 2007), 視床下部神経細胞の c-fos 発現が増加する (ラット, Wu et al., 2005) などの報告がある。また, Momose et al. (1998) はマウスでモチリンの脳室内適用により抗不安作用が誘起され, この作用はモチリン受容体遮断薬で消失することを報告している。モチリンとモチリン受容体が発現しないと考えられているげっ歯類でモチリンの中樞作用が数多く報告されているのが現状である。誘起される反応にモチリン受容体が関与しているのか, 他の受容体にモチリンが作用する可能性はないかも含めげっ歯類におけるモチリンの中樞作用に関しては更なる検討が必要であろう。

7.2. 消化管機能 (運動以外)

消化器官では, 胃においては胃酸分泌やペプシノーゲンの分泌がモチリンにより活性化されることがイヌやスズメで明らかになっている (Konturek et al., 1977; Goswami et al., 2015a, b)。膵臓では外分泌 (重炭酸イオン, 消化酵素) および内分泌 (インスリン) を刺激することがイヌで明らかにされている (Magee and Naruse, 1984; Suzuki et al., 1998; 2003)。ほかにイヌにおいてソマトスタチン放出を増加させること (Schick and Schusdziarra, 1985), グレリン放出を抑制することなどが明らかになっている (Ogawa et al., 2012)。モチリンがウサギ空腸でのアミノ酸 (L-プロリン) 吸収を促進するという

報告もあり (Marco et al., 1995), モチリンは消化管運動を調節するのみならず内分泌腺, 外分泌腺の機能および腸管吸収など広い範囲の消化管機能を調節している可能性がある。

7.3. 循環器

循環器ではモチリンにより血管が弛緩して血流が増加することが知られている。この血流増加作用には部位依存性があり, 胃動脈ではモチリンによる弛緩作用は認められたが, 上腸間膜動脈や下腸間膜動脈では弛緩作用は誘起されなかった。弛緩作用はモチリンが血管内皮細胞上のモチリン受容体に作用し弛緩物質を遊離して誘起されると考えられている (Jin et al., 2002; Yang et al., 2021)。イヌではモチリンにより胃運動が亢進するが, 運動亢進時には大量のエネルギーが消費されるため, モチリンは胃動脈を選択的に拡張させ血流を増加し胃に酸素と栄養素を供給すると考えられる。なお, モチリンは極めて局所の血流調節に関与するのみで血压には影響を与えないので心拍数に著明な変化は認められなかった (Jin et al., 2002)。同様な内皮依存性のモチリンによる血管弛緩作用はブタでも報告されている (Higuchi et al., 1994)。

8. まとめ

本総説ではモチリンの分布, 構造, 受容体, 放出調節機序およびその機能 (特に消化管運動刺激作用) における知見を比較生物学的な見地からまとめた。

モチリンとその受容体は, 殆ど全ての脊椎動物に存在しその構造は進化により影響をうける。哺乳類・鳥類型モチリンではフェニルアラニンから始まる N 末端 1-10 位の構造が胃腸管収縮活性に重要である。一方, C 末端 (11-22 位) は N 末端とモチリン受容体との結合を安定化するのに関与している。爬虫類では種によりフェニルアラニンで始まるワニモチリンとチロシンから始まるカメ, ヘビ, トカゲモチリン類に分別される。すなわち, 爬虫類から哺乳類・鳥類型モチリンは派生してくると思われる。両生類や魚類モチリンは哺乳類と比較するとその N 末端構造に大きな差が認められる。モチリンが作用する受容体は哺乳類, 鳥類, 爬虫類, 両生類および魚類で異なっているが, この受容体構造の差に合わせて生物活性に重要な N 末端の構造が種により大きく変化したと考えられる。一方, N 末端と受容体の結合を安定化させる役割の C 末端は動物種で異なる受容体構造の差の影響を受けにくいので両生類, 爬虫類, 鳥類および哺乳類間でも大きな差が

ない（相同性が高い）と推察された。

モチリンは多くの動物種で十二指腸などの上部小腸の粘膜に局在するが、一部中枢神経にも存在する。受容体は胃腸管の平滑筋細胞と腸神経に存在することが明らかにされており、これら受容体の興奮がそれぞれ胃腸管収縮を誘起する。この2経路のほかにモチリンにより腸神経またはEC細胞から5-HTが放出され、この5-HTが迷走神経一次知覚神経終末の5-HT₃受容体に作用して迷走-迷走神経経路が興奮し反射性に胃運動が亢進する経路もある。3つ経路のどれが運動亢進作用の主経路なのかは動物種および実験条件などで異なってくる。モチリンは現在、イヌ、ヒト、スunks、サル、オポッサムで胃に発現するMMCのphase III収縮を誘起することが明らかになっているが、哺乳類でもウサギ、ブタ、ヒツジではその生理機能はまだ解明されていない。モチリンは空腹感を中枢神経に伝える物質と考えられているので摂餌行動の差、空腹感の有無がモチリンの生理的役割に影響を与えている可能性は否定できない。摘出胃腸管標本を用いた検討では、鳥類、爬虫類、両生類（特に有尾類）でモチリンにより収縮が誘起されることがわかっているが、魚類ではモチリンは受容体の発現量が少ないために著明な収縮を誘起しなかった。すなわち、魚類ではモチリンは胃腸管運動調節に関与しないが、両生類以上の動物では主に上部の消化管（胃、十二指腸）を収縮させ消化管内容物の移送に関与していると考えられた。しかしながら魚類でのモチリンの機能、また、なぜ両生類でモチリンが消化管運動の調節に関与するようになったのかは不明であり今後の課題である。

モチリンが発見されて50年目の節目に当たるが、まだこのペプチドの全容が解明されたとは言いがたい。研究が遅々として進まなかった原因のひとつに実験小動物のげっ歯類でモチリン研究ができなかったことがあげられる。実験小動物では最近スunksで多くの研究が行われモチリンに関する知識が蓄積しつつある。また、摂餌行動の差によりモチリンの機能が変わってくる可能性も考えられるので、今後、摂餌行動、空腹感、モチリン機能の3つの関連性を調べていくことが必要である。このようにまだまだ不明な点が多いペプチドであるが、種々の動物種を用いた比較生物学的研究はモチリン関連の基礎知識を積み上げていくうえで大きな貢献をして来たと考えられる。

References

1. Adachi, H., Toda, N., Hayashi, S., Noguchi, M., Suzuki, T., Torizuka, K., Yajima, H., Koyama, K., 1981. Mechanism of the excitatory action of motilin on isolated rabbit intestine. *Gastroenterology*. 80, 783-788.
2. Alonso, J.R., Coveñas, R., Lara, J., de León, M., Arévalo, R., Aijón, J., 1989. Substance P-like immunoreactivity in the ganglion cells of the tench terminal nerve. *Neurosci. Lett.* 106, 253-257.
3. Apu, A.S., Mondal, A., Kitazawa, T., Takemi, S., Sakai, T., Sakata, I., 2016. Molecular cloning of motilin and mechanism of motilin-induced gastrointestinal motility in Japanese quail. *Gen. Comp. Endocrinol.* 233, 53-62.
4. Arena, P.C., Richardson, K.C., Yamada, J., 1990. An immunohistochemical study of endocrine cells of the alimentary tract of the King's skink (*Egernia kingii*). *J. Anat.* 170, 73-85.
5. Ariga, H., Tsukamoto, K., Chen, C., Mantyh, C., Pappas, T.N., Takahashi, T., 2007. Endogenous acyl ghrelin is involved in mediating spontaneous phase III-like contractions of the rat stomach. *Neurogastroenterol. Motil.* 19, 675-680.
6. Asakawa, A., Inui, A., Kaga, T., Yuzuriha, H., Nagata, T., Ueno, N., Makino, S., Fujimiya, M., Niiijima, A., Fujino, M. A., Kasuga, M., 2001. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology*. 120, 337-345.
7. Asakawa, A., Inui, A., Momose, K., Ueno, N., Fujino, M. A., Kasuga, M., 1998. Motilin increases food intake in mice. *Peptides*. 19, 987-990.
8. Beinfeld, M.C., Bailey, G.C., 1985. The distribution of motilin-like peptides in rhesus monkey brain as determined by radioimmunoassay. *Neurosci. Lett.* 54, 345-350.
9. Boivin, M., Bradette, M., Raymond, M. C., Riberdy, M., Poitras, P., 1992. Mechanisms for postprandial release of motilin in humans. *Dig. Dis. Sci.* 37, 1562-1568.
10. Boivin, M., Pinelo, L.R., St-Pierre, S., Poitras, P., 1997. Neural mediation of the motilin motor

- effect on the human antrum. *Am. J. Physiol.* 272, G71-76.
11. Bormans, V., Peeters, T.L., Janssens, J., Pearce, D., Vandeweerdt, M., Vantrappen, G., 1987. In man, only activity fronts that originate in the stomach correlate with motilin peaks. *Scand. J. Gastroenterol.* 22, 781-784.
 12. Brown, J.C., Johanson L.P., Magee, D.F., 1966. Effect of duodenal alkalization on gastric motility. *Gastroenterology.* 50, 333-339.
 13. Brown, J.C., Cook, M.A., Dryburgh, J.R., 1972. Motilin, a gastric motor activity-stimulating polypeptide: final purification, amino acid composition, and C-terminal residues. *Gastroenterology.* 62, 401-404.
 14. Brown, J.C., Cook, M.A., Dryburgh, J.R., 1973. Motilin, a gastric motor activity stimulating polypeptide: the complete amino acid sequence. *Can. J. Biochem.* 51, 533-537.
 15. Brown, J.C., Mutt, V., Dryburgh, J.R., 1971. The further purification of motilin, a gastric motor activity stimulating polypeptide from the mucosa of the small intestine of hogs. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 49, 399-405.
 16. Browning, K.N., 2015. Role of central vagal 5-HT₃ receptors in gastrointestinal physiology and pathophysiology. *Front. Neurosci.* 9, 413.
 17. Buchan, A. M., Lance, V., Polak, J. M., 1983. Regulatory peptides in the gastrointestinal tract of Alligator mississippiensis. An immunocytochemical study. *Cell Tissue Res.* 231, 439-449.
 18. Bueno, L., Fioramonti, J., Rayner, V., Ruckebusch, Y., 1982. Effects of motilin, somatostatin, and pancreatic polypeptide on the migrating myoelectric complex in pig and dog. *Gastroenterology.* 82, 1395-1400.
 19. Callaghan, B., Furness, J. B., 2014. Novel and conventional receptors for ghrelin, desacyl-ghrelin, and pharmacologically related compounds. *Pharmacol. Rev.* 66: 984-1001.
 20. Chan-Palay, V., Ito, M., Tongroach, P., Sakurai, M., Palay, S., 1982. Inhibitory effects of motilin, somatostatin, [Leu]enkephalin, [Met]enkephalin, and taurine on neurons of the lateral vestibular nucleus: interactions with gamma-aminobutyric acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 79, 3355-3359.
 21. Chen, H., Chen, L., Wang, J.J., Wei, H.J., Yung, W. H., 2007. Distribution and electrophysiological effects of motilin in Purkinje cells. *Neuroreport.* 18, 1345-1349.
 22. Clench, M.H., Mathias, J.R., 1992. A complex avian intestinal motility response to fasting. *Am. J. Physiol.* 262, G498-502.
 23. Clench, M.H., Pineiro-Carrero, V.M., Mathias, J. R., 1989. Migrating myoelectric complex demonstrated in four avian species. *Am. J. Physiol.* 256, G598-603.
 24. Collins, S.M., Lewis, T.D., Fox, J.E., Track, N.S., Meghji, M., Daniel, E. E., 1981. Changes in plasma motilin concentration in response to manipulation of intragastric and intraduodenal contents in man. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 59, 188-194.
 25. Dass, N.B., Hill, J., Muir, A., Testa, T., Wise, A., Sanger, G.J., 2003. The rabbit motilin receptor: molecular characterization and pharmacology. *Br. J. Pharmacol.* 140, 948-954.
 26. De Clercq, P., Depoortere, I., Macielag, M., Vandermeers, A., Vandermeers-Piret, M. C., Peeters, T. L., 1996. Isolation, sequence, and bioactivity of chicken motilin. *Peptides.* 17, 203-208.
 27. Deloose, E., Vos, R., Corsetti, M., Depoortere, I., Tack, J., 2015. Endogenous motilin, but not ghrelin plasma levels fluctuate in accordance with gastric phase III activity of the migrating motor complex in man. *Neurogastroenterol. Motil.* 7, 63-71.
 28. Depoortere, I., Peeters, T.L., 1995. Transduction mechanism of motilin and motilides in rabbit duodenal smooth muscle. *Regul. Pept.* 55, 227-235.
 29. Depoortere, I., Peeters, T.L., 1997. Demonstration and characterization of motilin-binding sites in the rabbit cerebellum. *Am. J. Physiol.* 272, G994-G999.
 30. Depoortere, I., De Clercq, P., Svoboda, M., Bare, L., Peeters, T.L., 1997a. Identification of motilin mRNA in the brain of man and rabbit. Conservation of polymorphism of the motilin gene across species. *Peptides.* 18, 1497-1503.
 31. Depoortere, I., Macielag, M. J., Galdes, A., Peeters, T.L., 1995. Antagonistic properties of

- [Phe³, Leu¹³] porcine motilin. *Eur. J. Pharmacol.* 286, 241–247.
32. Depoortere, I., Peeters, T.L., Vantrappen, G., 1991. Motilin receptors of the rabbit colon. *Peptides*. 12, 89–94.
33. Depoortere, I., Thijs, T., Thielemans, L., Robberecht, P., Peeters, T.L., 2003. Interaction of the growth hormone-releasing peptides ghrelin and growth hormone-releasing peptide-6 with the motilin receptor in the rabbit gastric antrum. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 305, 660–667.
34. Depoortere, I., Van Assche, G., Peeters, T.L., 1997b. Distribution and subcellular localization of motilin binding sites in the rabbit brain. *Brain Res.* 777, 103–109.
35. Dryburgh, J. R., Brown, J. C., 1975. Radioimmunoassay for motilin. *Gastroenterology*. 68, 1169–1176.
36. Fang, P., Dong, L., Luo, J.Y., Wan, X.L., Du, K.X., Chai, N.L., 2004. Effects of motilin and ursodeoxycholic acid on gastrointestinal myoelectric activity of different origins in fasted rats. *World J. Gastroenterol.* 10, 2509–2513.
37. Feighner, S.D., Tan, C.P., McKee, K.K., Palyha, O.C., Hreniuk, D.L., Pong, S.S., Austin, C.P., Figueroa, D., MacNeil, D., Cascieri, M. A., Nargund, R., Bakshi, R., Abramovitz, M., Stocco, R., Kargman, S., O'Neill, G., Van Der Ploeg, L.H., Evans, J., Patchett, A.A., Smith, R.G., Howard, A. D., 1999. Receptor for motilin identified in the human GI system. *Science*. 284, 2184–2188.
38. Feng, X., Peeters, T.L., Tang, M., 2007. Motilin activates neurons in the rat amygdala and increases gastric motility. *Peptides*. 28, 625–631.
39. Fox, J. E., Track, N. S., Daniel, E. E., 1981. Relationships of plasma motilin concentration to fat ingestion, duodenal acidification and alkalinization, and migrating motor complexes in dogs. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 59, 180–187.
40. Fratta, W., Panula, P., Yang, H. Y., Costa, E., 1985. Biochemical and immunohistochemical evidence for the presence of motilin in pig cerebellum. *Brain Res.* 341, 171–175.
41. Fukui, H., Yamamoto, M., Sato, S., 1992. Vagal afferent fibers and peripheral 5-HT₃ receptors mediate cisplatin-induced emesis in dogs. *Jpn. J. Pharmacol.* 59, 221–226.
42. Galligan, J. J., Costa, M., Furness, J. B., 1985. Gastrointestinal myoelectric activity in conscious guinea pigs. *Am. J. Physiol.* 249, G92–G99.
43. Gama, L.A., Machado, M.P.R., Beckmann, A.P.S., de Arruda Miranda, J.R., Corá, L.A., Américo, M.F., 2020. Gastrointestinal motility and morphology in mice: strain-dependent differences. *Neurogastroenterol. Motil.* 32, e13824.
44. Goll, R., Nielsen, S.H., Holst, J.J., 1996. Regulation of motilin release from isolated perfused pig duodenum. *Digestion*. 57, 341–348.
45. Goswami, C., Shimada, Y., Yoshimura, M., Mondal, A., Oda, S., Tanaka, T., Sakai, T., Sakata, I., 2015a. Motilin stimulates gastric acid secretion in coordination with ghrelin in *Suncus murinus*. *PLoS One*. 10, e 0131554
46. Goswami, C., Tanaka, T., Jogahara, T., Sakai, T., Sakata, I., 2015b. Motilin stimulates pepsinogen secretion in *Suncus murinus*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 462, 263–268.
47. Green R.E., Braun E.L., Armstrong J., Earl D., Nguyen N., Hickey G., Vandewege M.W., St John J. A., Capella-Gutiérrez S., Castoe T. A., Kern C., Fujita M.K., Opazo J.C., Jurka, J., Kojima, K.K., Caballero, J., Hubley, R.M., Smit, A. F., Platt, R. N., Lavoie, C. A., Ramakodi, M. P., Finger, J.W. Jr Suh, A., Isberg, S.R., Miles, L., Chong, A. Y., Jaratlerdsiri, W., Gongora, J., Moran, C., Iriarte, A., McCormack, J., Burgess, S. C., Edwards, S. V., Lyons, E., Williams, C., Breen, M., Howard, J. T., Gresham, C. R., Peterson, D. G., Schmitz, J., Pollock, D. D., Haussler, D., Triplett, E.W., Zhang, G., Irie, N., Jarvis, E. D., Brochu, C. A., Schmidt, C. J., McCarthy, F.M., Faircloth, B.C., Hoffmann, F.G., Glenn, T.C., Gabaldón, T., Paten, B., Ray, D.A., 2014. Three crocodylian genomes reveal ancestral patterns of evolution among archosaurs. *Science*. 346, 1254449.
48. Guerrero-Lindner, E., Arruebo, M.P., Murillo, M. D., Plaza, M. A., 1996. Effect of motilin on gastrointestinal myoelectric activity in conscious rabbits. *Peptides*. 17, 901–907.
49. Harada, N., Chijiwa, Y., Misawa, T., Yoshinaga, M., Nawata, H., 1992. Direct contractile effect of motilin on isolated smooth muscle cells of

- guinea pig small intestine. *Life Sci.* 51, 1381-1387.
50. Hashmonai, M., Go, V. L. M., Yaksh, T., Szurszewski, J. H., 1987. Effect of central administration of motilin on migrating complexes in the dog. *Am. J. Physiol.* 252, G195-G199.
 51. He, J., Irwin, D.M., Chen, R., Zhang, Y-P., 2011. Stepwise loss of motilin and its specific receptor genes in rodents. *J. Mol. Endocrinol.* 44, 37-44.
 52. He, Y., Wang, H., Yang, D., Wang, C., Yang, L., Jin, C., 2015. Differential expression of motilin receptor in various parts of gastrointestinal tract in dogs. *Gastroenterol. Res. Pract.* 970940.
 53. Higuchi, Y., Nishimura, J., Kanaide, H., 1994. Motilin induces the endothelium-dependent relaxation of smooth muscle and the elevation of cytosolic calcium in endothelial cells in situ. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 202, 346-353.
 54. Hirning, L. D., Burks, T. F., 1986. Neurogenic mechanism of action of motilin in the canine isolated small intestine *ex vivo*. *Eur. J. Pharmacol.* 128, 241-248.
 55. Howard, A.D., Feighner, S.D. and Cully, D.F., 1996. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science.* 273, 974-977.
 56. Huang, Z., De Clercq, P., Depoortere, I., Peeters, T.L., 1998. Isolation and sequence of cDNA encoding the motilin precursor from monkey intestine. Demonstration of the motilin precursor in the monkey brain. *FEBS Lett.* 435, 149-152.
 57. Huang, J., Zhou, H., Mahavadi, S., Sriwai, W., Lyall, V., Murthy, K.S., 2005. Signaling pathways mediating gastrointestinal smooth muscle contraction and MLC20 phosphorylation by motilin receptors. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 288, G23-G31.
 58. Inatomi, N., Sato, F., Marui, S., Itoh, Z., Omura, S., 1996. Vagus-dependent and vagus-independent mechanisms of action of the erythromycin derivative EM574 and motilin in dogs. *Jpn. J. Pharmacol.* 71, 29-38.
 59. Inatomi, N., Satoh, H., Maki, Y., Hashimoto, N., Itoh, Z., Omura, S., 1989. An erythromycin derivative, EM-523, induces motilin-like gastrointestinal motility in dogs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 251, 707-712.
 60. Itoh, Z., 1997. Motilin and clinical application. *Peptides.* 18, 593-608.
 61. Itoh, Z., Aizawa, I., Sekiguchi, T., 1982. The interdigestive migrating complex and its significance in man. *Clin. Gastroenterol.* 11, 497-521.
 62. Itoh, Z., Honda, R., Hiwatashi, K., Takeuchi, S., Aizawa, I., Takayanagi, R., Couch, E.F., 1976. Motilin-induced mechanical activity in the canine alimentary tract. *Scand. J. Gastroenterol. Suppl.* 39, 93-110.
 63. Itoh, Z., Nakaya, M., Suzuki, T., Arai, H., Wakabayashi, K., 1984. Erythromycin mimics exogenous motilin in GI contractile activity in the dog. *Am. J. Physiol.* 247, G688-G694.
 64. Itoh, Z., Takeuchi, S., Aizawa, I., Mori, K., Taminato, T., Seino, Y., Imura, H., Yanaihara, N., 1978. Changes in plasma motilin concentration and gastrointestinal contractile activity in conscious dogs. *Am. J. Dig. Dis.* 23, 929-935.
 65. Janssens, J., Vantrappen, G., Peeters, T.L., 1983. The activity front of the migrating motor complex of the human stomach but not of the small intestine is motilin dependent. *Regul. Pept.* 6, 363-369.
 66. Jimenez, M., Martinez, V., Rodriguez-Membrilla, A., Rodriguez-Sinovas, A., Gofialons, E., Vergara, P., 1994. Rhythmic oscillating complex: characterization, induction, and relationship to MMC in chickens. *Am. J. Physiol.* 266, G585-G595.
 67. Jin, C., Naruse, S., Kitagawa, M., Ishiguro, H., Muxin, W., Nakajima, M., Yokohata, K., Ito, O., Hayakawa, T., 2002. Motilin regulates interdigestive gastric blood flow in dogs. *Gastroenterology.* 123, 1578-1587.
 68. Katayama, Y., Ooishi, K., Hirai, K., Homma, T., Noda, Y., 2005. Excitatory actions of motilin on myenteric neurons of the guinea-pig small intestine. *Auton. Neurosci.* 118, 88-92.
 69. Kim, J.N., Kim, B.J., 2019. The mechanism of action of ghrelin and motilin in the pacemaker potentials of interstitial cells of Cajal from the murine small intestine. *Mol. Cells.* 42, 470-479.
 70. Kitamura, N., Yamada, J., Calingasan, N. Y., Yamashita, T., 1985. Histologic and immunocy-

- tochemical study of endocrine cells in the gastrointestinal tract of the cow and calf. *Am. J. Vet. Res.* 46,1381-1386.
71. Kitazawa, T., Kaiya, H., 2019. Regulation of gastrointestinal motility by motilin and ghrelin in vertebrates. *Front. Endocrinol (Lausanne)*. 10, 00278. doi: 10.3389/fendo.2019.00278.
 72. Kitazawa, T., Kaiya, H., 2021. Motilin Comparative Study: structure, distribution, receptors, and gastrointestinal motility. *Front. Endocrinol (Lausanne)*. 12, 700884. doi: 10.3389/fendo.2021.700884
 73. Kitazawa, T., Harada, R., Sakata, I., Sakai, T., Kaiya, H., 2019. A verification study of gastrointestinal motility-stimulating action of guinea-pig motilin using isolated gastrointestinal strips from rabbits and guinea-pigs. *Gen. Comp. Endocrinol.* 274, 106-112.
 74. Kitazawa, T., Ichikawa, S., Yokoyama, T., Ishii, A., Shuto, K., 1994. Stimulating action of KW-5139 (Leu¹³-motilin) on gastrointestinal motility in the rabbit. *Br. J. Pharmacol.* 111, 288-294.
 75. Kitazawa, T., Ishii, A., Taniyama, K., 1993. The Leu¹³-motilin (KW-5139)-evoked release of acetylcholine from enteric neurones in the rabbit duodenum. *Br. J. Pharmacol.* 109, 94-99.
 76. Kitazawa, T., Onodera, C., Taneike, T., 2002. Potentiation of motilin-induced contraction by nitric oxide synthase inhibition in the isolated chicken gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol. Motil.* 14, 3-13.
 77. Kitazawa, T., Shimazaki, M., Kikuta, A., Yaosaka, N., Teraoka, H., Kaiya, H., 2016. Effects of ghrelin and motilin on smooth muscle contractility of the isolated gastrointestinal tract from the bullfrog and Japanese fire belly newt. *Gen. Comp. Endocrinol.* 232, 51-59.
 78. Kitazawa, T., Taneike, T., Ohga, A., 1995. Excitatory action of [Leu¹³] motilin on the GI smooth muscle isolated from the chicken. *Peptides.* 16, 1243-1252.
 79. Kitazawa, T., Taneike, T., Ohga, A., 1997. Functional characterization of neural and smooth muscle motilin receptors in the chicken proventriculus and ileum. *Regul. Pept.* 71, 87-95.
 80. Kitazawa, T., Yoshida, M., Teraoka, H., Kaiya, H., 2017. Does motilin peptide regulate gastrointestinal motility of zebrafish? An in vitro study using isolated intestinal strips. *Gen. Comp. Endocrinol.* 249, 15-23.
 81. Kondo, Y., Torii, K., Itoh, Z., Omura, S., 1988. Erythromycin and its derivatives with motilin-like biological activities inhibit the specific binding of ¹²⁵I-motilin to duodenal muscle. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150, 877-882.
 82. Konturek, S.J., Dembinski, A., Krol, R., Wunsch, E., 1977. Effect of 13-Nle-motilin on gastric secretion, serum gastrin level and mucosal blood flow in dogs. *J. Physiol.* 264, 665-672.
 83. Lee, K.Y., Chang, T.M., Chey, W.Y., 1983a. Effect of rabbit antimotilin serum on myoelectric activity and plasma motilin concentration in fasting dog. *Am. J. Physiol.* 245, G547-G553.
 84. Lee, K.Y., Kim, M.S., Chey, W.Y., 1980. Effects of a meal and gut hormones on plasma motilin and duodenal motility in dog. *Am. J. Physiol.* 238, G280-G283.
 85. Lee, K.Y., Park, H.J., Chang, T.M., Chey, W.Y., 1983b. Cholinergic role on release and action of motilin. *Peptide.* 4, 375-380.
 86. Lemoyne, M., Wassef, R., Tassé, D., Trudel, L., Poitras, P., 1984. Motilin and the vagus in dogs. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 62, 1092-1096.
 87. Lie, K. K., Tørresen, O. K., Solbakken, M. H., Rønnestad, I., Tooming-Klunderud, A., Nederbragt, A.J., Jentoft, S., Sæle, Ø., 2018. Loss of stomach, loss of appetite? Sequencing of the ballan wrasse (*Labrus bergylta*) genome and intestinal transcriptomic profiling illuminate the evolution of loss of stomach function in fish. *BMC Genomics.* 19, 186.
 88. Liu, Y., Li, S., Huang, X., Lu, D., Liu, X., Ko, W.H., Zhang, Y., Cheng, C. H., Lin, H., 2013. Identification and characterization of a motilin-like peptide and its receptor in teleost. *Gen. Comp. Endocrinol.* 186, 85-93.
 89. Louie, D.S., Owyang, C., 1988. Motilin receptors on isolated gastric smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 254, G210-G216.
 90. Lu, G., Sarr, M.G., Szurszewski, J.H., 1998. Effect of motilin and erythromycin on calcium-activated potassium channels in rabbit colonic myocytes. *Gastroenterology.* 114, 748-754.

91. Magee, D.F., Naruse, S., 1984. The role of motilin in periodic interdigestive pancreatic secretion in dogs. *J. Physiol.* 355, 441-447.
92. Marco, R., Navarro, H., Rodriguez-Yoldi, M.J., Sorribas, V., Alcalde, A.I., 1995. Effect of motilin on the L-leucine transport in rabbit jejunum. *Peptides.* 16, 1505-1510.
93. Martinez, V., Jimenez, M., Gonalons, E., Vergara, P., 1995. Modulation of the migrating myoelectric complexes by cholecystokinin and gastrin in the gastrointestinal tract of chickens. *Poult. Sci.* 74, 563-576.
94. Matsumoto, M., Takemi, S., Sakai, T., Sakata, I., 2022. Identification of motilin in Japanese fire bellied newt. *Gen. Comp. Endocrinol.* 323-324, 114031.
95. Matsunaga, Y., Yamamoto, O., Ueki, S., Haga, N., Mizusawa, F., Mizumoto, A., Sano, I., Itoh, Z., 1994. Inhibition of phase III activity by acid in canine stomach. *Regul. Pept.* 52, 61-72.
96. Miedzybrodzka, E.L., Foreman, R.E., Lu, V.B., George, A.L., Smith, C.A., Larraufie, P., Kay, R. G., Goldspink, D.A., Reimann, F., Gribble, F.M., 2021. Stimulation of motilin secretion by bile, free fatty acids, and acidification in human duodenal organoids. *Mol. Metab.* 54, 101356.
97. Mikami, T., Ito, K., Diaz-Tartera, H. O., Hellström, P.M., Mochiki, E., Takemi, S., Tanaka, T., Tsuda, S., Jogahara, T., Sakata, I., Sakai, T., 2018. Study of termination of postprandial gastric contractions in humans, dogs and *Suncus murinus*: role of motilin- and ghrelin-induced strong contraction. *Acta. Physiol (Oxf)*. 222, doi:10.1111/apha.12933.
98. Milenov, K., Shahbazian, A., 1995. Cholinergic pathway in the effects of motilin on the canine ileum and gallbladder motility; in vivo and in vitro experiments. *Comp. Biochem. Physiol.* 112A, 403-410.
99. Miller, P., Gagnon, D., Dickner, M., Aubin, P., St-Pierre, S., Poitras, P., 1995. Structure-function studies of motilin analogues. *Peptides.* 16, 11-18.
100. Miller, P., Trudel, L., St-Pierre, S., Takanashi, H., Poitras, P., 2000a. Neural and muscular receptors for motilin in the rabbit colon. *Peptides.* 21, 283-287.
101. Miller, P., Roy, A., St-Pierre, S., Dagenais, M., Lapointe, R., Poitras, P., 2000b. Motilin receptors in the human antrum. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 278, G18-G23.
102. Mitselos, A., Peeters, T, L., Depoortere, I., 2008. Desensitization and internalization of the human motilin receptor is independent on the C-terminal tail. *Peptides.* 29, 1167-1175.
103. Mizumoto, A., Muramatsu, S., Yamada, T., Itoh, Z., 1997. Effect of nitric oxide synthase inhibition on plasma motilin release in fasted dogs. *Regul. Pept.* 71, 9-14.
104. Mizumoto, A., Sano, I., Matsunaga, Y., Yamamoto, O., Itoh, Z., Ohshima, K., 1993. Mechanism of motilin-induced contractions in isolated perfused canine stomach. *Gastroenterology.* 105, 425-432.
105. Miyano, Y., Sakata, I., Kuroda, K., Aizawa, S., Tanaka, T., Jogahara, T., Kurotani, R., Sakai, T., 2013. The role of the vagus nerve in the migrating motor complex and ghrelin- and motilin-induced gastric contraction in *suncus*. *PLoS ONE.* 8, e64777.
106. Mochiki, E., Satoh, M., Tamura, T., Haga, N., Suzuki, H., Mizumoto, A., Sakai, T., Itoh, Z., 1996. Exogenous motilin stimulates endogenous release of motilin through cholinergic muscarinic pathways in the dog. *Gastroenterology.* 111, 1456-1464.
107. Mochiki, E., Nakabayashi, T., Suzuki, H., Haga, N., Asao, T., Kuwano, H., Itoh, Z., 2000. Prostaglandin E₂ stimulates motilin release via a cholinergic muscarinic pathway in the dog. *Neurogastroenterol. Motil.* 12, 523-530.
108. Momose, K., Inui, A., Asakawa, A., Ueno, N., Nakajima, M., Kasuga, M., 1998. Anxiolytic effect of motilin and reversal with GM-109, a motilin antagonist, in mice. *Peptides.* 19, 1739-1742.
109. Mondal, A., Kawamoto, Y., Yanaka, T., Tsutsui, C., Sakata, I., Oda, S.I., Tanaka, T., Sakai, T., 2011. Myenteric neural network activated by motilin in the stomach of *Suncus murinus* (house musk shrew). *Neurogastroenterol. Motil.* 23, 1123-1131.
110. Mondal, A., Koyama, K., Mikami, T., Horita, T., Takemi, S., Tsuda, S., Sakata, I., Sakai, T., 2017. Underlying mechanism of the cyclic migrating

- motor complex in *Suncus murinus*: a change in gastrointestinal pH is the key regulator. *Physiol. Rep.* 5, e13105.
111. Mori, K., Seino, Y., Itoh, Z., Yanaihara, N., Imura, H., 1981. Motilin release by intravenous infusion of nutrients and somatostatin in conscious dogs. *Regul. Pept.* 1, 265-270.
 112. Moumami, C., Magous, R., Bali, J. P., 1989. Gastrointestinal hormone receptors on isolated smooth muscle cells from gastric antrum of the rabbit. *Biochem. Pharmacol.* 38, 2895-2901.
 113. Nakajima, H., Mochiki, E., Zietlow, A., Ludwig, K., Takahashi, T., 2010. Mechanism of interdigestive migrating motor complex in conscious dogs. *J. Gastroenterol.* 45, 506-514.
 114. Neal, K.B., Parry, L.J., Bornstein, J.C., 2009. Strain-specific genetics, anatomy and function of enteric neural serotonergic pathways in inbred mice. *J. Physiol.* 587, 567-586.
 115. Ogawa, A., Mochiki, E., Yanai, M., Morita, H., Toyomasu, Y., Ogata, K., Ohno, T., Asao, T., Kuwano, H., 2012. Interdigestive migrating contractions are coregulated by ghrelin and motilin in conscious dogs. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 302, R233-R241.
 116. Ohshiro, H., Nonaka, M., Ichikawa, K., 2008. Molecular identification and characterization of the dog motilin receptor. *Regul. Pept.* 146, 80-87.
 117. Olsson, C., Holbrook, J. D., Bompadre, G., Jönsson, E., Hoyle, C.H., Sanger, G.J., Holmgren, S., Andrews, P.L., 2008. Identification of genes for the ghrelin and motilin receptors and a novel related gene in fish, and stimulation of intestinal motility in zebrafish (*Danio rerio*) by ghrelin and motilin. *Gen. Comp. Endocrinol.* 155, 217-226.
 118. Omura, S., Tsuzuki, K., Sunazuka, T., Marui, S., Toyoda, H., Inatomi, N., Itoh, Z., 1987. Macrolides with gastrointestinal motor stimulating activity. *J. Med. Chem.*, 30, 1941-1943.
 119. Ozaki, K., Onoma, M., Muramatsu, H., Sudo, H., Yoshida, S., Shiokawa, R., Yogo, K., Kamei, K., Cynshi, O., Kuromaru, O., Peeters, T. L., Takanashi, H., 2009. An orally active motilin receptor antagonist, MA-2029, inhibits motilin-induced GI motility, increase in fundic tone, and diarrhea in conscious dogs without affecting gastric emptying. *Eur. J. Pharmacol.* 615, 185-192.
 120. Parkman, H.P., Pagano, A.P., Ryan, J.P., 1996. Erythromycin inhibits rabbit pyloric smooth muscle through neuronal motilin receptors. *Gastroenterology.* 111, 682-690.
 121. Peeters, T.L., Bormans, V., Vantrappen, G., 1988. Comparison of motilin binding to crude homogenates of human and canine GI smooth muscle tissue. *Regul. Pept.* 23, 171-182.
 122. Peeters, T. L., Matthijs, G., Depoortere, I., Cachet, T., Hoogmartens, J., Vantrappen, G., 1989. Erythromycin is a motilin receptor agonist. *Am. J. Physiol.* 257, G470-G474.
 123. Perez-Tomas, R., Ballesta, J., Pastor, L. M., Madrid, J.F., Polak, J.M., 1989. Comparative immunohistochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine system of three reptiles. *Gen. Comp. Endocrinol.* 76, 171-191.
 124. Plaza, M. A., Arruebo, M. P., Murillo, M. D., 1996a. Effect of motilin, somatostatin and bombesin on gastroduodenal myoelectric activity in sheep. *Life Sci.* 58, 1413-1423.
 125. Plaza, M. A., Arruebo, M. P., Murillo, M. D., 1996b. Involvement of somatostatin, bombesin and serotonin in the origin of the migrating myoelectric complex in sheep. *Life Sci.* 58, 2155-2165.
 126. Poitras, P., Dumont, A., Cuber, J.C., Trudel, L., 1993. Cholinergic regulation of motilin release from isolated canine intestinal cells. *Peptides.* 14, 207-213.
 127. Poitras, P., Gagnon, D., St-Pierre, S., 1992. N-terminal portion of motilin determines its biological activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 183, 36-40.
 128. Poitras, P., Miller, P., Dickner, M., Mao, Y.K., Daniel, E. E., St-Pierre, S., Trudel, L., 1996. Heterogeneity of motilin receptors in the gastrointestinal tract of the rabbit. *Peptides.* 17, 701-707.
 129. Poitras P, Trudel L, Lahaie RG, Pomier-Layrargue G. 1987. Motilin-like-immunoreactivity in intestine and brain of dog. *Life Sci.* 40, 1391-1395.

130. Poitras, P., Trudel, L., Miller, P., Gu, C.M., 1997. Regulation of motilin release: studies with ex vivo perfused canine jejunum. *Am. J. Physiol.* 272, G4-G9
131. Porreca, F., Dray, A., 1984. Motilin acts within the CNS to inhibit urinary bladder contractions. *Life Sci.* 34, 2577-2581.
132. Putzi, R., Blaser, J., Lüthy, R., Wehrli, R., Siegenthaler, W., 1983. Side-effects due to the intravenous infusion of erythromycin lactobionate. *Infection.* 11, 161-163.
133. Raymond, M. C., Boivin, M., St-Pierre, S., Gagnon, D., Poitras, P., 1994. Studies on the structure-activity of motilin in vivo. Effect on motilin synthetic analogues in conscious dog. *Regul. Pept.* 50, 121-126.
134. Rayner, V., Christofides, N. D., Gregory, P., Goodall, E.D., Bloom, S.R., 1987. Motilin secretion and the migrating myoelectric complex in the pig. *Q. J. Exp. Physiol.* 72, 51-60.
135. Rayner, V., Weekes, T.E., Bruce, J.B., 1981. Insulin and myoelectric activity of the small intestine of the pig. *Dig. Dis. Sci.* 26, 33-41.
136. Rayner, V., Wenham, G., 1986. Small intestinal motility and transit by electromyography and radiology in the fasted and fed pig. *J. Physiol.* 379, 245-256.
137. Rodriguez-Sinovas, A., Jiménez, M., De Clercq, P., Peeters, T.L., Vergara, P., 1997. Rhythmic oscillating complexes in gastrointestinal tract of chickens: a role for motilin. *Am. J. Physiol.* 272, G916-G922.
138. Rosenfeld, D.J., Garthwaite, T.L., 1987. Central administration of motilin stimulates feeding in rats. *Physiol. Behav.* 39, 753-756.
139. Ruckebusch, Y., Pairet, M., Becht, J.L., 1985. Origin and characterization of migrating myoelectric complex in rabbits. *Dig. Dis. Sci.* 30, 742-748.
140. Sakahara, S., Xie, Z., Koike, K., Hoshino, S., Sakata, I., Oda, S., Takahashi, T., Sakai, T., 2010. Physiological characteristics of gastric contractions and circadian gastric motility in the free-moving conscious house musk shrew (*Suncus murinus*). *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 299, R1106-R1113.
141. Sakai, T., Satoh, M., Sonobe, K., Nakajima, M., Shiba, Y., Itoh, Z., 1994. Autoradiographic study of motilin binding sites in the rabbit gastrointestinal tract. *Regul. Pept.* 53, 249-257.
142. Samson, W. K., Lumpkin, M. D., Nilaver, G., McCann, S.M., 1984. Motilin: a novel growth hormone releasing agent. *Brain Res Bull.* 12, 57-62
143. Sanger, G.J., 2022. Why is motilin active in some studies with mice, rats, and guinea pigs, but not in others? Implications for functional variability among rodents. *Pharmacol. Res. Perspect.* 10, e00900.
144. Sanger, G.J., Holbrook, J.D., Anrews, P.L., 2011. The translational value of rodent gastrointestinal functions: a cautionary tale. *Trends Pharmacol. Sci.* 32, 402-409.
145. Satoh, T., Inatomi, N., Satoh, H., Marui, S., Itoh, Z., Omura, S., 1990. EM-523, an erythromycin derivative, and motilin show similar contractile activity in isolated rabbit intestine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 254, 940-944.
146. Satoh, M., Sakai, T., Koyama, H., Shiba, Y., Itoh, Z., 1995. Immunocytochemical localization of motilin-containing cells in the rabbit gastrointestinal tract. *Peptides.* 16, 883-887.
147. Schick, R., Schusdziarra, V., 1985. Modulation of motilin-induced somatostatin release in dogs by naloxone. *Peptides.* 6, 861-864.
148. Shay, H., Gershon-Cohen J., 1935. Experimental studies in gastric physiology in man: the mechanism of gastric evacuation after partial gastrectomy as demonstrated roentgenologically. *Am. J. Digestive Disease,* 2, 608-613.
149. Sjölund, K., Sandén, G., Håkanson, R., Sundler, F., 1983. Endocrine cells in human intestine: an immunocytochemical study. *Gastroenterology.* 85, 1120-1130.
150. Strunz, U., Domschke, W., Mitznegg, P., Domschke, S., Schubert, E., Wunsch, E., Jaeger, E., Demling, L., 1975. Analysis of the motor effects of 13-norleucine motilin on the rabbit, guinea pig, rat, and human alimentary tract in vitro. *Gastroenterology.* 68, 1485-1491.
151. Sudo, H., Ozaki, K., Muramatsu, H., Kamei, K., Yogo, K., Cynshi, O., Koga, H., Itoh, Z., Omura, S., Takanashi, H., 2007. Mitemcinal (GM-611), an orally active motilin agonist, facilitates

- defecation in rabbits and dogs without causing loose stools. *Neurogastroenterol. Motil.* 19, 318-326.
152. Sudo, H., Yoshida, S., Ozaki, K., Muramatsu, H., Onoma, M., Yogo, K., Kamei, K., Cynshi, O., Kuromaru, O., Peeters, T.L., Takanashi, H., 2008. Oral administration of MA-2029, a novel selective and competitive motilin receptor antagonist, inhibits motilin-induced intestinal contraction and visceral pain in rabbits. *Eur. J. Pharmacol.* 581, 296-305.
153. Suzuki, H., Kuwano, H., Mochiki, E., Haga, N., Shimura, T., Nomoto, K., Tanaka, T., Mizumoto, A., Itoh, Z., 2003. Effect of motilin on endogenous release of insulin in conscious dogs in the fed state. *Dig. Dis. Sci.* 48, 2263-2270.
154. Suzuki, H., Mochiki, E., Haga, N., Satoh, M., Mizumoto, A., Itoh, Z., 1998. Motilin controls cyclic release of insulin through vagal cholinergic muscarinic pathways in fasted dogs. *Am. J. Physiol.* 274, G87-G95.
155. Tack, J., DeLoose, E., Ang, D., Scarpellini, E., Vanuytsel, T., Van Oudenhove, L., Depoortere, I., 2016. Motilin-induced gastric contractions signal hunger in man. *Gut.* 65, 214-224.
156. Takahashi, I., Honda, R., Dodds, W.J., Sarna, S., Toouli, J., Itoh, Z., Chey, W.Y., Hogan, W.J., Greiff, D., Baker, K., 1983. Effect of motilin on the opossum upper gastrointestinal tract and sphincter of Oddi. *Am. J. Physiol.* 245, G476-G481.
157. Takahashi, T., 2013. Interdigestive migrating motor complex. Its mechanism and clinical importance. *J. Smooth Muscle Res.* 49, 99-111.
158. Takakura, N., Takemi, S., Kumaki, S., Matsumoto, M., Sakai, T., Iwatsuki, K., Sakata, I., 2019. Generation and characterization of *Suncus murinus* intestinal organoid: a useful tool for studying motilin secretion. *Cell Biol. Int.* 2019 Jul 10. doi: 10.1002/cbin.11201.
159. Takanashi, H., Yogo, K., Ozaki, K., Ikuta, M., Akima, M., Koga, H., Nabata, H., 1995. GM-109: a novel, selective motilin receptor antagonist in the smooth muscle of the rabbit small intestine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 273, 624-628.
160. Thielemans, L., Depoortere, I., Van Assche, G., Bender, E., Peeters, T.L., 2001. Demonstration of a functional motilin receptor in TE671 cells from human cerebellum. *Brain Res.* 895, 119-128.
161. Tsutsui, C., Kajihara, K., Yanaka, T., Sakata, I., Itoh, Z., Oda, S., Sakai, T., 2009. House musk shrew (*Suncus murinus*, order: Insectivora) as a new model animal for motilin study. *Peptides.* 30, 318-329.
162. Van Assche, G., Depoortere, I., Thijs, T., Janssens, J. J., Peeters, T. L., 1997. Concentration-dependent stimulation of cholinergic motor nerves or smooth muscle by [¹³Nle] motilin in the isolated rabbit gastric antrum. *Eur. J. Pharmacol.* 337, 267-274.
163. Vantrappen, G., Janssens, J., Peeters, T. L., Bloom, S.R., Christofides, N.D., Hellemans, J., 1979. Motilin and the interdigestive migrating motor complex in man. *Dig. Dis. Sci.* 24, 497-500.
164. Valdovinos, M.A., Thomforde, G.M., Camilleri, M., 1993. Effect of putative carcinoid mediators on gastric and small bowel transit in rats and the role of 5-HT receptors. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 7: 61-66.
165. Wu, M., Tang, M., Adriaensen, D., Depoortere, I., Peeters, T. L., Timmermans, J. P., 2005. Central, but not peripheral application of motilin increases c-Fos expression in hypothalamic nuclei in the rat brain. *Histochem Cell Biol.* 123,139-145.
166. Xu, L., Depoortere, I., Tang, M., Peeters, T.L., 2001. Identification and expression of the motilin precursor in the guinea pig. *FEBS Lett.* 490: 7-10.
167. Xu, L., Depoortere, I., Thielemans, L., Huang, Z., Tang, M., Peeters, T.L., 2003. Sequence, distribution and quantification of the motilin precursor in the cat. *Peptides.* 24, 1387-1395
168. Yamada, J., Rodrigues, M.A., Kitamura, N., Pai, V.D., Yamashita, T., Motizuki, T., Yanaihara, N., 1991. Motilin-immunoreactive cells in the duodenum, pyloric stomach and pancreas of caimans (*Caiman latirostris* and *Caiman crocodilus, alligatorinae*): a further comparison using region-specific motilin antisera. *Arch.*

- Histol. Cytol. 54, 359–364.
169. Yamamoto, I., Kaiya, H., Tsutsui, C., Sakai, T., Tsukada, A., Miyazato, M., Tanaka, M., 2008. Primary structure, tissue distribution, and biological activity of chicken motilin receptor. *Gen. Comp. Endocrinol.* 156, 509–514.
 170. Yang, L., Li, H., Jin, Y., He, Y., Mei, L., Jin, C., 2021. Differential expression of motilin receptors on the endothelium of dog gastrointestinal arteries and motilin-induced motilin receptor dependent relaxation of corresponding arteries. *Peptides.* 143, 170574.
 171. Yano, H., Seino, Y., Fujita, J., Yamada, Y., Inagaki, N., Takeda, J., Bell, G.I., Eddy, R.L., Fan, Y. S., Byers, M.G., 1989. Exon-intron organization, expression, and chromosomal localization of the human motilin gene. *FEBS Lett.* 249, 248–252.
 172. Yogo, K., Ozaki, K., Takanashi, H., Koto, M., Itoh, Z., Omura, S., 2007. Effects of motilin and mitemcinal (GM-611) on gastrointestinal contractile activity in rhesus monkeys in vivo and in vitro. *Dig. Dis. Sci.* 52, 3112–3122.
 173. Yoshiya, K., Yamamura, T., Ishikawa, Y., Utsunomiya, J., Mori, K.I., Seino, Y., Imura, H., Yanaihara, N., 1985. The failure of truncal vagotomy to affect motilin release in dogs. *J. Surg. Res.* 38, 263–266.
 174. Zhang, S., Kaiya, H., Kitazawa, T., 2023. Motilin is a regulator of gastric contraction in Japanese fire belly newts (*Cynops pyrrhogaster*), in vitro studies using isolated gastrointestinal strips of newts, rabbits, and chickens. *Gen. Comp. Endocrinol.* 330, 114140.
 175. Zhang, S., Kaiya, H., Teraoka, H., Kitazawa, T., 2021a. Pheasant motilin, its distribution and gastrointestinal contractility-stimulating action in the pheasant. *Gen. Comp. Endocrinol.* 314, 113897
 176. Zhang, S., Okuhara, Y., Iijima, M., Takemi, S., Sakata, I., Kaiya, H., Teraoka, H., Kitazawa, T., 2020. Identification of pheasant ghrelin and motilin and their actions on contractility of the isolated gastrointestinal tract. *Gen. Comp. Endocrinol.* 285, 113294.
 177. Zhang, S., Teraoka, H., Kaiya, H., Kitazawa, T., 2021b. Motilin- and ghrelin-induced contractions in isolated gastrointestinal strips from three species of frogs. *Gen. Comp. Endocrinol.* 300, 113649.
 178. Zheng, J., Ariga, H., Taniguchi, H., Ludwig, K., Takahashi, T., 2009. Ghrelin regulates gastric phase III-like contractions in freely moving conscious mice. *Neurogastroenterol. Motil.* 21, 78–84.
 179. Zhou, Y., Qi, X., Wen, H., Zhang, K., Zhang, X., Li, J., Li, Y., Fan, H., 2019. Identification, expression analysis, and functional characterization of motilin and its receptor in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 277, 38–48.

Summary

Almost 50 years have passed since the discovery of motilin. However, actions of motilin on gastrointestinal (GI) motility are different from species and motilin does not cause GI contraction in rodents (rats, mice and guinea-pigs). Additionally, actions of motilin also differ from GI regions and experiment conditions (*in vitro* or *in vivo*) even in the same species. Due to these characteristics of motilin responses, number of papers for motilin research is small compared to that of a motilin-related peptide, ghrelin (discovered at 1999) and knowledge of motilin and its receptor have been limited and unsorted. Recently motilin and its receptor (MLN-R) have been also identified in non-mammalian vertebrates (birds, reptiles, amphibians and fish). This review summarized the distribution, structure, receptor expression and GI motility-stimulating action of motilin in a range of species including fish to mammals.

A highly conserved N-terminal structure (1–10) commencing the amino acid indicated by phenylalanine was thought to be essential for GI motility stimulating action of motilin in mammalian/avian motilin lineage. Reptile motilin is considered to be in the transition stage to mammalian/avian type, i.e. alligator motilin has phenylalanine but other motilins (snake, turtle and lizard) have tyrosine at first position of N-terminal. On the other hand, the sequences of fish and amphibian motilins are quite different from those of mammalian/avian motilin. Therefore, in

the molecular evolution of motilin, there may have been a major event at the time the reptiles emerged. The differences in motilin sequences are due to mutations in protein coding domains during species evolution which were probably motivated by adaptation. In contrast, the C-terminal sequence (11-22) is more conserved than that of the N-terminal, suggesting that the C-terminal may exert an as yet unknown function in addition to stimulation of GI motility as mediated via the N-terminal.

Molecular biologically, MLN-R can be divided into two main groups: mammal/bird/reptile/amphibian clade (group A) and fish clade (group B). Group A can be divided into two clades: terrestrial type (mammals, birds and reptiles) and semi-aquatic type (amphibians). The clade of the terrestrial MLN-Rs can be further divided into three clades (mammals, birds/reptiles and reptiles (reptile-1)), and birds/reptiles clade is divided into birds and reptile-2 (alligator/crocodile MLN-Rs). Reptile-2 clade is included in the same umbrella with the bird clade, as in the case of motilin structure. Group B may have characteristics that match the aquatic inhabiting nature of fish.

In mammals, motilin is an important regulator of the phase III of interdigestive migrating motor complex (MMC) in the stomach of humans, dogs, house musk shrews, monkeys and opossum through activation of smooth muscle cells, enteric neurons or vago-vagal reflex pathway. Gastric MMCs induced by motilin contribute to maintenance of normal GI functions and transmits a hunger signal from peripheral (stomach) to brain. Motilin has been identified in other mammals (rabbits, ruminants and pigs), but roles of motilin in these animals have not been understood well due to different physiological characteristics of MMC and different feeding behavior. In birds, motilin and MLN-Rs have been also identified and motilin caused contraction of small intestine and contributed to initiation of rhythmic oscillating complexes in the intestine. Motilin did not cause the contraction of GI strips in the fish but caused the contraction of urodelian amphibians (newts) and reptiles in a GI region-dependent manner as in the bird/mammals. Through these comparative studies in different vertebrates, it can be seen for the first time that the GI motility-stimulating action of motilin is not common in vertebrates because motilin stimulates GI contraction in mammals, birds, reptiles and amphibians but not in fish.

This review, covering a wide range of motilin research including not only mammals but also non-mammals (comparative biology of motilin), will help to understand the contribution of the motilin system to animals, including evolution.