

Title	Overexpression of Dominant-Negative Mutant Hepatocyte Nuclear Factor-1 α in Pancreatic β -Cells Causes Abnormal Islet Architecture With Decreased Expression of E-Cadherin, Reduced β -cell Proliferation, and Diabetes
Author(s)	南茂, 隆生
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/44678
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名	南 茂 隆 生
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 18150 号
学位授与年月日	平成 15 年 9 月 30 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Overexpression of Dominant-Negative Mutant Hepatocyte Nuclear Factor-1 α in Pancreatic β -Cells Causes Abnormal Islet Architecture With Decreased Expression of E-Cadherin, Reduced β -cell Proliferation, and Diabetes (ドミナントネガティブ変異 HNF-1 α の膵 β 細胞過剰発現トランスジェニックマウスは E-カドヘリン発現低下を伴う膵島の異常構造、膵 β 細胞増殖能の低下を呈し糖尿病を発症する)
論文審査委員	(主査) 教授 金倉 譲 (副査) 教授 宮崎 純一 教授 荻原 俊男

論文内容の要旨

〔目的〕

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) は若年発症とインスリン分泌不全を特徴とし、常染色体優性遺伝形式を示す糖尿病である。MODY3 は転写因子 hepatocyte nuclear factor (HNF)-1 α の遺伝子異常により発症するが、HNF-1 α の機能低下がインスリン分泌低下を伴う糖尿病を引き起こす機序に関しては不明な点が多い。MODY3 患者において最も高頻度に認められる転写活性領域のフレームシフト変異である P291fsinsC 変異はドミナントネガティブ効果を示し、*in vitro*において正常 HNF-1 α の機能を抑制する。そこで膵 β 細胞特異的に P291fsinsC 変異 HNF-1 α を過剰発現するトランスジェニック (Tg) マウスを作製し、MODY3 発症機序の解明を試みた。

〔方法〕

1. インスリンプロモーターの下流に P291fsinsC-HNF-1 α cDNA を連結した発現ユニットを用い、膵 β 細胞特異的に P291fsinsC 変異 HNF-1 α を過剰発現する Tg マウスを作製した。
2. Tg マウスの血糖、*in vitro*および*in vivo*におけるインスリン分泌反応、膵インスリン含量について検討した。
3. 膵ホルモン (グルカゴン、インスリン、ソマトスタチン、膵ポリペプチド (PP))、転写因子 (PDX-1、Pax6)、糖輸送担体 GLUT2、解糖系酵素 glucokinase、細胞接着因子 (E-cadherin、N-cadherin) および BrdU の免疫染色を行った。また、形態計測を行い、組織標本中単位面積あたりの β 細胞および非 β 細胞の数とそれぞれの BrdU 陽性細胞率を計測した。
4. E-cadherin 阻害抗体存在下で培養した C57BL/6 マウス単離膵島を用い、インスリン分泌反応について検討を行った。

〔成績〕

1. 2 系統の Tg マウスが得られ、変異 HNF-1 α の発現量は正常の 6 倍、24 倍であった。いずれの系統においても

2日齢における Tg マウスの随時血糖は正常であったが、4週齢から8週齢にかけて血糖値の上昇が認められ糖尿病を発症した。

2. Tg マウスの単離膵島はグルコース刺激によるインスリン分泌反応の低下を示した。Tg マウスの経静脈的グルコース負荷後のインスリン分泌も低下していた。2日齢の Tg マウス膵インスリン含量はコントロールの40%程度と低下しており、8日齢においてはさらに5%以下まで低下していた。
3. Tg マウスにおける膵島はコントロールと比較しサイズが小さく、 β 細胞と非 β 細胞が膵島内に散在するような異常構造が認められた。Tg マウス β 細胞における PDX-1、Pax6、glucokinase、N-cadherin の発現は正常に認められたが、GLUT2 と E-cadherin の発現低下が認められた。また、Tg マウスにおいては β 細胞数と BrdU 陽性率がそれぞれコントロールの約50%、15%と低下しており、増殖能の低下を伴う β 細胞数の減少が認められた。
4. マウスの単離膵島は E-cadherin 阻害抗体の添加により細胞間の接着が障害され、グルコース刺激に対しインスリン分泌反応の低下を示した。

〔総括〕

P291fsinsC 変異 HNF-1 α -Tg マウスはインスリン分泌不全を伴う糖尿病を発症し MODY3 のモデル動物の作製に成功した。Tg マウスにおいて膵 β 細胞糖輸送担体である GLUT2 の発現低下、増殖能低下に伴う β 細胞数の減少・インスリン含量の低下および E-cadherin の発現低下に伴う膵島の構造異常が認められた。E-cadherin の阻害実験でインスリン分泌反応が低下を示したことから、Tg マウスで認められた E-cadherin の発現低下はインスリン分泌不全にも関連しているものと考えられた。本研究により HNF-1 α が膵 β 細胞における GLUT2 や E-cadherin の発現および膵 β 細胞増殖を制御しており、その破綻がインスリン分泌不全を伴う糖尿病の発症に関与している可能性が示された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、転写因子である hepatocyte nuclear factor (HNF)-1 α の遺伝子変異が糖尿病 (MODY3) を発症する機序につき、トランスジェニック (Tg) マウスを用いて個体レベルにて検討したものである。申請者は、新たな MODY3 のモデル動物として MODY3 患者に最も高頻度に認められ、ドミナントネガティブ作用を有する P291fsinsC-HNF-1 α を膵 β 細胞に過剰発現する Tg マウスを作製した。膵組織の解析により、Tg マウスにおいて膵 β 細胞糖輸送担体である GLUT2 の発現低下、増殖能低下に伴う β 細胞数の減少・インスリン含量の低下および E-cadherin の発現低下に伴う膵島の構造異常が認められた。本研究は、HNF-1 α が膵 β 細胞における標的遺伝子の一部と考えられる GLUT2 や E-cadherin の発現および膵 β 細胞増殖を制御しており、その破綻がインスリン分泌不全を伴う糖尿病の発症に関与している可能性を初めて明らかにしたものであり、MODY3 の発症機序の解明に大きく貢献しており、その成果は意義深く、学位の授与に値すると思われる。