



| | |
|--------------|---|
| Title | Ectopically expressed PDX-1 in liver initiates endocrine and exocrine pancreas differentiation but causes dysmorphogenesis |
| Author(s) | 宮塚, 健 |
| Citation | 大阪大学, 2004, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/45216 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。 |

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

| | |
|------------|--|
| 氏名 | みや つか 健 |
| 博士の専攻分野の名称 | 博士(医学) |
| 学位記番号 | 第 18446 号 |
| 学位授与年月日 | 平成 16 年 3 月 25 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻 |
| 学位論文名 | Ectopically expressed PDX-1 in liver initiates endocrine and exocrine pancreas differentiation but causes dysmorphogenesis (肝臓において異所性に発現した PDX-1 は膵臓への分化を誘導する一方で形態形成異常を引き起こす) |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 堀 正二 (副査) 教授 林 紀夫 教授 仲野 徹 |

論文内容の要旨

〔目的〕

理想の糖尿病治療とは単なるインスリンの補充ではなく、血糖値に応じたインスリン分泌作用を有するインスリン産生細胞の補充である。現在行われている膵臓移植・膵島移植はそのような条件を満たしてはいるものの、糖尿病の罹患率を考えるとドナーの数が極端に少なく、広汎に行なうことは難しい。こうした中で組織幹細胞、前駆細胞等の体細胞を類β細胞化させインスリン産生細胞を補充することにより、糖尿病の根治を目指す試みが期待されている。

膵発生・分化に不可欠な役割を演じる転写因子 *pancreatic and duodenal homeobox 1* (PDX-1) は、膵臓α細胞や腸管細胞由来細胞株などにおいてインスリン遺伝子をはじめとするいくつかの膵β細胞特異的遺伝子の発現を誘導することが示され、将来の糖尿病遺伝子治療・細胞治療に向けた有用性が示唆されてきた。本研究では、将来の糖尿病再生医療に向けて、PDX-1 に応答して類β細胞化しうる体細胞を同定することを試みた。

〔方法ならびに成績〕

PDX-1 を異所性に発現誘導できる遺伝子改変マウス (CAG-CAT-PDX1 マウス) を作成した。同マウスは chicken β-actin gene (CAG) promoter の下流に、loxP 配列に挟まれた stuffer 構造 (CAT) を介して PDX-1 遺伝子をつなぎだ transgene を有するため、Cre 酵素の存在下においてのみ、PDX-1 遺伝子が発現する。CAG-CAT-PDX1 マウスを rat albumin gene promoter の支配下に Cre 酵素を発現する遺伝子改変マウス (Alb-Cre) と交配したところ、生後 0 日のマウス (CAG-CAT-PDX1/Alb-Cre) において肝細胞および胆管上皮細胞の 50% 以上に PDX-1 が発現していることが確認された。これら CAG-CAT-PDX1/Alb-Cre マウスの肝臓より RNA を抽出し、RT-PCR を施行したところ、Insulin、Glucagon、Somatostatin、Pancreatic polypeptide といった膵臓内分泌ホルモンの発現に加え、Elastase-1、Chymotrypsin 1B などの外分泌特異的遺伝子の発現を認めた。また転写因子 Islet-1、膵型 Glucokinase、prohormone convertase 2 (PC2) 等、膵β細胞特異的遺伝子の発現が確認された。一方 CAG-CAT-PDX1/Alb-Cre マウスは野生型に比し約 20% 体重が少なく、抱合型ビリルビンが有意に上昇し、約 50% のマウスは生後 3 日以内に死亡した。組織学上、肝は小葉構造の破壊と多数の囊胞様構造を特徴とする形態形成異常を認めた。また TUNEL

assay では CAG-CAT-PDX1/Alb-Cre マウスの肝臓において TUNEL 陽性細胞数が有意に上昇しており、アポトーシスの亢進が示唆された。

[総 括]

肝臓において異所性に発現した PDX-1 は胰内分泌および外分泌細胞への分化を誘導する一方で、アポトーシスの亢進、形態形成異常を伴う肝障害を引き起こすことが示された。これは、体細胞への転写因子遺伝子導入による β 細胞分化誘導の試みが、本来の組織・臓器機能に障害をもたらし得ることを示すもので、糖尿病の根治を可能とする遺伝子・細胞治療の開発に向けて警鐘をならすものとなった。

論文審査の結果の要旨

脾発生に不可欠な転写因子である *pancreatic and duodenal homeobox 1* (PDX-1) は、脾臓 α 細胞や腸管細胞等においてインスリンをはじめとする脾 β 細胞特異的遺伝子の発現を誘導することが示され、糖尿病再生医療に向けた有用性が示唆されてきた。本研究では PDX-1 に応答して β 細胞化しうる体細胞を同定するため、PDX-1 を異所性に発現誘導できるトランスジェニックマウス (CAG-CAT-PDX1 マウス) を作成した。このマウスは loxP 配列の下流に PDX-1 を繋いだ transgene を有し、Cre 酵素の存在下においてのみ PDX-1 が発現するようになる。同マウスを albumin promoter-Cre (Alb-Cre) マウスと交配したところ、肝細胞の 50%以上に PDX-1 が発現していることが確認され、RT-PCR の結果、肝臓において脾臓内分泌ホルモン（インスリン他）および脾外分泌酵素の発現を認めた。また転写因子 Islet-1、脾型グルコキナーゼ等、脾 β 細胞特異的遺伝子の発現が確認された。一方同マウスは黄疸を呈し、肝臓は小葉構造の破壊と多数の囊胞様構造を特徴とする形態形成異常を認めた。

以上の結果より、PDX-1 は肝臓において脾臓への分化を誘導する一方で、形態形成異常を伴う肝障害を引き起こすことが示された。

本論文は糖尿病根治に向けた遺伝子導入療法の功罪を示した先駆的研究であり、学位の授与に値すると考えられる。