



Title	Distinct expression patterns of splicing isoforms of mNumb in the endocrine lineage of developing pancreas
Author(s)	吉田, 哲
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45309">https://hdl.handle.net/11094/45309</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> 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	吉 田 哲
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 8 1 0 8 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 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学 位 論 文 名	Distinct expression patterns of splicing isoforms of mNumb in the endocrine lineage of developing pancreas (発生過程における膵臓の内分泌系譜細胞では、mNumb のスプライシング変異体は個別な発現パターンを示す)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 内 山 安 男 (副査) 教 授 濱 田 博 司 教 授 近 藤 寿 人

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 〔 目 的 〕

哺乳類 Notch 1 は Notch 受容体ファミリーに属し、近隣の細胞に発現した膜結合型リガンドである Delta や Jagged が結合すると発現抑制性 bHLH 型転写因子である Hes 1 の発現を誘導する。Hes-1 は、Neurogenin (Ngn) や Mash 1 などの神経分化誘導性 bHLH 型転写因子の発現を抑制することにより、2つの近隣の細胞を異なる細胞運命に分岐させたり、分化を抑制することによって未分化状態を維持させたりする。さらに、Notch 1 による Hes 1 の発現は mNumb などの細胞内因子によって調節される (reviewed in Artavanis-Tsakonas *et al.*, 1999)。

mNumb にはプロリンに富んだ領域 (PRR) にスプライシング変異体 (PRRS および PRRL) が存在する。PRRS は Notch シグナルを抑制して分化を誘導することが知られている (Wakamatsu *et al.*, 1999) が、PRRL は逆に細胞分裂を促進することが示唆されている (Verdi *et al.*, 1999) ものの生体内における機能は不明である。そこで mNumb の、特に PRRL アイソフォームの生体内における機能を解析するために、膵臓発生におけるその発現パターンを検討した。

#### 〔 方法ならびに成績 〕

膵臓は膵管細胞、外分泌細胞、内分泌細胞からなり、内分泌細胞は  $\alpha$  細胞、 $\beta$  細胞、 $\delta$  細胞、PP 細胞に分類され膵島と呼ばれる細胞塊を形成している。膵臓発生は、十二指腸の一部が膨張し膵前駆細胞を形成されることから始まり、まず膵管細胞が分化する。その後 Ngn3 が発現した細胞は内分泌細胞に、発現しなかった細胞が外分泌細胞に分化する (Gu *et al.*, 2002) が、それらの発現は Notch シグナルによって発現調節が行われている。

まず、我々は全ての mNumb スプライシング変異体を認識する抗 panNumb 抗体および mNumb PRRL のみを特異的に認識する抗 PRRL 抗体の 2 種類の抗体を作製した。これらの抗体を用いて免疫染色を行うことにより、膵臓における mNumb の発現パターンを解析した。受精後 10 日目マウス胚における膵臓発生初期の膵前駆細胞には、mNumb PRRL は発現していたが徐々に局在化し、膵管細胞の分化に伴いそこでの発現は低下していった。さらに内分泌細胞と外分泌細胞が分岐する時期において、外分泌細胞では mNumb PRRL の発現は持続したが、内分泌細胞前駆細胞では mNumb PRRS の発現はみられたものの PRRL の発現は消失した。成熟した膵島においては、mNumb

PRRS は  $\beta$  細胞のみに発現していた。また出生後、内分泌細胞は膵管細胞から新生してくることが知られているが、膵管細胞に存在する未成熟な膵島にも mNumb の発現は確認された。

[ 総 括 ]

mNumb は、Notch シグナルが関与していることが知られている内分泌-外分泌細胞分岐のみならず、内分泌前駆細胞からの細胞運命の決定、膵管細胞からの膵島の新生にも関与していることが示唆された。また、スプライシング変異体である mNumb PRRS と PRRL は、内分泌-外分泌細胞分岐時における発現パターンの相違により生体内において別々の機能を持つことも示唆された。今後、mNumb PRRL と Notch シグナルとの関係について解析を進める予定である。

#### 論文審査の結果の要旨

申請者は、膵臓における Notch シグナルの調節因子である mNumb の機能解析を行った。膵臓は膵管細胞、外分泌細胞、内分泌細胞からなる器官であるが、発生時、外分泌細胞と内分泌細胞が分岐するときに Notch シグナルが働いていることが報告されている。mNumb には、スプライシングアイソフォーム（ロングフォームおよびショートフォーム）が存在するが、内分泌細胞にはショートフォーム、外分泌細胞にはロングフォームが発現していたことから、mNumb はスプライシングによって機能が異なることが示唆された。また mNumb は、内分泌細胞の  $\alpha$  細胞と  $\beta$  細胞の分岐および膵管細胞からの内分泌細胞の新生にも関与していることが示唆された。これら知見は、生体における mNumb の機能を示唆するのみならず、 $\beta$  細胞の分化新生機構の解明に寄与するものであり、学位の授与に値すると考えられる。