

Title	Activation of GLP-1 and gastrin signalling induces in vivo reprogramming of pancreatic exocrine cells into beta cells in mice
Author(s)	佐々木, 周伍
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55821
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	佐々木 周伍
論文題名 Title	Activation of GLP-1 and gastrin signalling induces in vivo reprogramming of pancreatic exocrine cells into beta cells in mice (GLP-1およびガストリンシグナルの活性化はマウス膵外分泌細胞からβ細胞へのリプログラミングを誘導する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 糖尿病根治のためのβ細胞再生医療の戦略として生体内非β細胞からインスリン産生細胞へのリプログラミングが注目されている。GLP-1シグナルの活性化は、<i>in vitro</i>で非β細胞からインスリン産生細胞への分化誘導を促すという報告や、<i>in vivo</i>でβ細胞容積を増加させるといった報告があるが、GLP-1シグナルが膵β細胞の分化・新生を制御していることを<i>in vivo</i>で直接証明した報告はない。そこで、非β細胞からβ細胞への生体内リプログラミングにおけるGLP-1シグナルの重要性を検討することを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 胎生期膵前駆細胞でのGLP-1受容体(Glp1r)の発現を検討するため、インスリンプロモーターおよびNeurog3プロモーター下に経時的に蛍光蛋白の発現が緑色から赤色へ変化するタイマー蛋白を連結した遺伝子改変マウスを用いた解析を行った。その結果、Glp1rは新生β細胞や膵内分泌前駆細胞においてすでに発現しており、膵内分泌細胞の発生・分化に何らかの役割をもつことが示唆された。組織特異的かつ誘導性にGlp1rとeGFPを発現する遺伝子改変マウスを新たに作製し、膵管/膵腺房細胞の前駆細胞であるSox9陽性細胞においてGlp1rを発現するマウス(<i>exo-Glp1r</i>)を得た。コントロールにはSox9陽性細胞由来の細胞を標識できるレポーターマウス(<i>exo-lacZ</i>)を用いた。これらマウスのCre誘導性recombination効率はそれぞれ膵外分泌領域の約50%と同等であり、<i>exo-Glp1r</i>マウスでは<i>exo-lacZ</i>マウスに比べ、膵全体の<i>Glp1r</i> mRNA発現量が10倍、GLP-1シグナルの活性化を示すcAMP活性は4倍であった。 <i>exo-Glp1r</i>マウスにGlp1rアゴニストであるexendin-4を投与した結果、eGFP陽性細胞はすべてインスリン陰性であり、GLP-1シグナルの活性化のみでは膵外分泌細胞からβ細胞新生を認めないことが明らかとなった。一方、<i>exo-lacZ</i>マウスへのガストリン単独投与により膵外分泌領域にインスリン・β-gal共陽性細胞を認め、膵外分泌細胞からβ細胞への分化が確認された。また、exendin-4およびガストリンの同時投与により新生β細胞数は増加した。さらに、<i>exo-Glp1r</i>マウスにexendin-4とガストリンを同時投与すると、新生β細胞数は<i>exo-lacZ</i>マウスに比べ8倍まで上昇し、数個の新生β細胞が一塊となった膵島様構造も認められた。一方で、ガストリン投与により新生されたβ細胞数はGlp1rアンタゴニストであるexendin-9-39投与によって減少した。以上より、GLP-1とガストリンシグナルの活性化は膵外分泌細胞からβ細胞へのリプログラミングに相乗的に作用することが明らかとなった。誘導されたβ細胞の80%以上は、Pdx1、Nkx6.1、MafAといったβ細胞特異的転写因子が陽性であり、インスリン以外の膵ホルモンやアミラーゼは陰性であることから、比較的成熟したβ細胞の特徴をもつと考えられた。 一方で、インクレチンシグナルの活性化が膵炎や膵異形成に関連しているという報告があるため、本モデルでも検討を行った。exendin-4とガストリンを同時投与した<i>exo-Glp1r</i>マウスにおいて、組織学的に膵炎や膵異形成を認めず、Ki67染色で評価した膵管および膵腺房細胞の増殖能にも変化を認めなかった。また、血漿アミラーゼ活性の上昇も認めなかった。膵腺房細胞特異的因子である<i>Cela1</i>、<i>Ptf1a</i> mRNA発現にも変化を認めなかった。以上より、膵外分泌細胞への異所性Glp1r発現下においてもGLP-1およびガストリンシグナルの活性化は膵炎、膵異形成を引き起こさないことが明らかとなった。 〔総括(Conclusion)〕 GLP-1およびガストリンシグナルの活性化は、膵外分泌細胞からβ細胞へのリプログラミングを誘導し、同時に膵炎や膵異形成を伴わなかった。この知見は糖尿病に対するβ細胞再生医療の一助となると考えられた。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 佐々木 周伍		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査 大阪大学教授	下村 博一郎
	副 査 大阪大学教授	高島 成二
	副 査 大阪大学教授	宮崎 純一

論文審査の結果の要旨

糖尿病根治のためには失われた膵β細胞機能を補うことが不可欠である。液性因子を用いて非β細胞からβ細胞への分化を誘導するβ細胞再生医療が注目されている中、GLP-1およびガストリンシグナルがβ細胞分化・新生を制御することを生体内で直接証明した報告はなかった。我々は、組織特異的かつ誘導性にGLP-1受容体（Glp1r）を発現する遺伝子改変マウスを新規に作製し、膵外分泌細胞におけるGlp1r発現が細胞分化にもたらす影響を検討した。その結果、GLP-1およびガストリンシグナルの活性化が相乗的に膵外分泌細胞からβ細胞への分化を誘導し、数個の新生β細胞が一塊となった膵島様構造を形成することが明らかとなった。一方、これら内因性シグナルを活性化した条件において、膵炎、膵異形成や膵癌を引き起こさないことが確認された。本知見は糖尿病に対するβ細胞再生医療進展の一助となり、博士（医学）の学位授与に値すると考える。