

京都大学	博士 (医科学)	氏 名	中野 泰博
論文題目	Disappearance of centroacinar cells in the Notch ligand-deficient pancreas (Notch ligand 欠失による膵腺房中心細胞の消失)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>【背景】消化器官としての膵外分泌組織は、樹状に分岐した膵管の先端に膵液を産生する腺房が存在する構造をしている。腺房構造は、膵液を分泌する腺房細胞が房状に配置され、その“カナメ”に相当する部位に腺房中心細胞が存在して、腺房と膵管を連結している。このような立体構造は、それぞれの細胞分化と平行して形成され、胎齢 18.5 日 (e18.5) には完成する。構造内の位置から腺房中心細胞を同定可能であるが、これまでに特異的マーカーの報告が無かったために、腺房中心細胞がいつ形成されるのか、ひいては腺房構造がどのように形成されるかが分かっていなかった。Notch signaling はショウジョウバエからヒトに至るまで広く保存された細胞-細胞間制御機構であり、発生や細胞の分化、幹細胞の維持に機能することが知られている。本研究は、腺房構造内の位置的特徴、更には成体マウス由来腺房中心細胞が腺房細胞や膵島細胞への分化能力をもつことを示した <i>in vitro</i> 分化実験の報告を鑑み、腺房中心細胞の形成と腺房構造の構築に Notch signaling が関与すると仮説した。【方法および結果】正常マウス e18.5 膵組織の免疫組織学的検討から、① 2 つの Notch ligand (Delta-like 1 (Dll1) および Jagged1 (Jag1)) が腺房中心細胞と膵管細胞に限局して発現すること、② 腺房中心細胞は Amylase⁺Sox9⁺Hnf1β⁺CD133⁺ALDH1⁺DBA⁺ と定義できることを示した。フローサイトメトリーを用いて CD133⁺DBA⁺ 細胞をソートすると、この細胞集団は Hnf1β⁺Amylase⁺ であることが確認され、腺房中心細胞であると考えた。次いで、Dll1 と Jag1 の両方を膵特異的に欠失するマウス (Dll1/Jag1 cKO) を作製した。e18.5 の Dll1/Jag1 cKO 膵組織は、腺房中心細胞が認められず、フローサイトメトリーによる解析でも CD133⁺DBA⁺ 細胞集団が消失していた。e15.5 までは正常膵と Dll1/Jag1 cKO の間に形態的な違いは認めず、空洞を有する未熟な腺房構造中に Hnf1β⁺Amylase⁺ 細胞が存在した。上記フローサイトメトリーの結果を鑑み、e15.5 時点の Hnf1β⁺Amylase⁺ 細胞こそが腺房中心細胞の前駆細胞に相当すると考えた。正常膵発生では e15.5 から e18.5 の時期に Hnf1β⁺Amylase⁺ 細胞の活発な細胞増殖の結果、空洞が埋められる様に腺房構造が完成する。しかしながら、Dll1/Jag1 cKO の Hnf1β⁺Amylase⁺ 細胞は (Notch signaling の制御を受ける) Hes1 および Sox9 の発現を欠き、著明な細胞増殖能の低下とアポトーシスの亢進を認めた。その結果、腺房中心細胞が消失し、e18.5 になっても空洞が埋まらない異常な腺房構造となった。また、膵管腔の著明な拡張も伴った。【考察】Dll1/Jag1 を介した Notch signaling が腺房中心細胞の形成・維持並びに正常な腺房構造の構築に必須であることが示された。過去の研究で① Notch signaling が Hes1 と Sox9 の両方を独立した機序で制御すること、② Sox9 の膵特異的ノックアウトマウスでは細胞増殖の低下やアポトーシスの亢進、膵管腔の異常な拡大が起こるとの報告があり、今回の表現型は Dll1/Jag1 の欠失による Sox9 発現低下が一因であると考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

膵腺房構造は、膵液を分泌する腺房細胞が房状に配置され、その“カナメ”に相当する部位に腺房中心細胞が存在して、腺房と膵管を連結している。この構造は、それぞれの細胞分化と平行して形成され、マウス胎齢 18.5 日 (e18.5) には完成するが、腺房中心細胞の分化/腺房構造形成機構の詳細は不明であった。本研究では、腺房中心細胞が Amylase⁺Sox9⁺Hnf1β⁺CD133⁺ALDH1⁺DBA⁺ として同定できることを初めて示し、それを手がかりとして、腺房構造形成における Notch シグナリングの意義解明を目指した。Dll1 および Jag1 の 2 種の Notch リガンドの両方を胎生期膵細胞特異的にノックアウトする変異マウスを作製し、正常マウスと比較した。正常の腺房構造形成においては、e15.5 時点の未熟な腺房構造内に存在する Hnf1β⁺Amylase⁺ 細胞が活発に増殖し、空洞が埋められる様に腺房構造が完成する。しかし、変異マウスでは細胞増殖能の著明な低下とアポトーシスの亢進を認め、その結果腺房中心細胞が消失し、e18.5 になっても空洞が埋まらない異常な腺房構造となった。

以上の研究は Dll1/Jag1 を介した Notch シグナリングが腺房中心細胞の形成・維持並びに正常な腺房構造形成に必須であることを示した有用な知見を提供しており、膵発生学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 6 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降