

京都大学	博士 ( 医学 )	氏名	栗山 勝利
論文題目	Essential role of Notch/Hes1 signaling in postnatal pancreatic exocrine development ( Notch/Hes1 シグナルは生後の膵外分泌組織形成に不可欠な役割を果たす)		
(論文内容の要旨)			
<p>Notch/Hes1 シグナルは胎生期の膵発生において、膵前駆細胞が外分泌組織あるいは内分泌組織へ分化する運命決定に重要な役割を果たすことが知られている。しかし生後の膵組織形成における役割は十分には解明されていない。そこで本研究では <i>Ptf1a</i> 陽性あるいは <i>Pdx1</i> 陽性膵前駆細胞で <i>Hes1</i> をノックアウト (K.O.) もしくは Notch intracellular domain (NICD) を強制発現するモデルマウスを用いて生後の膵組織形成を解析することを目的とした。</p> <p>まず <i>Ptf1a</i> 陽性膵前駆細胞で <i>Hes1</i> を K.O.した <i>Ptf1a<sup>cre/+</sup>; Hes1<sup>fl/fl</sup></i> マウスおよび NICD を強制発現させた <i>Ptf1a<sup>cre/+</sup>; Rosa26<sup>NICD</sup></i> マウスを解析したところ、いずれも出生直後には膵外分泌組織、膵内分泌組織ともに正常に発生しており、胎生期の膵発生には影響を及ぼさないと考えられた。</p> <p><i>Ptf1a<sup>cre/+</sup>; Hes1<sup>fl/fl</sup></i> マウスを経時的に観察すると、膵頭部には変化を認めないが膵尾部の外分泌組織は4週齢までに萎縮し脂肪組織に置換されていた。出生直後のマウスを解析すると、組織学的な評価や Ki67 による細胞増殖の評価では差異を認めなかったが、Claved caspase3 の免疫染色では、<i>Hes1</i> K.O.マウスでアポトーシス細胞が増えており、また形態的には centroacinar cell の数が減っており、膵頭部よりも膵尾部でその傾向が強いことが証明された。また生後7日の膵組織から RNA を抽出しマイクロアレイで解析したところ、膵外分泌に関与する RNA 発現が低下し、また centroacinar cell のマーカーとされる <i>Aldh1a1</i> の発現低下を認めた。qPCR の解析でも K.O.マウスの膵尾部で <i>Aldh1a1</i> の発現低下が確認された。<i>Hes1</i> が K.O.されることにより、centroacinar cell が減少し、膵尾部の萎縮につながった可能性が考えられた。</p> <p>続いて <i>Ptf1a</i> 陽性膵前駆細胞で <i>Hes1</i> を K.O.かつ NICD を強制発現させた <i>Ptf1a<sup>cre/+</sup>; Hes1<sup>fl/fl</sup>; Rosa26<sup>NICD</sup></i> マウスを解析すると、膵尾部の外分泌組織の萎縮は認めなかった。NICD の強制発現により <i>Hes1</i> 以外の Notch シグナルが代償的に働いた可能性が考えられた。免疫染色ではコントロールと比較し <i>Hes5</i> の発現が亢進しており、代償に関与している可能性が示唆された。</p> <p>最後に、<i>Ptf1a<sup>cre/+</sup>; Hes1<sup>fl/fl</sup></i> マウスよりも約0.5日早く <i>Hes1</i> が K.O.される、<i>Pdx1-cre; Hes1<sup>fl/fl</sup>; Rosa26<sup>LacZ</sup></i> マウスを解析した。出生直後は差を認めなかったが、生後8週の時点では膵尾部だけでなく膵臓全体で X-gal 染色で染まらない細胞、すなわち <i>Hes1</i> が K.O.されていない細胞で外分泌組織が形成されていた。一方で内分泌組織は X-gal 染色陽性であり <i>Hes1</i> が K.O.されている細胞から構成されていた。これらの結果からは胎生期における <i>Hes1</i> の発現の時期や分布が、出生後の膵外分泌組織の発生・維持に関与していると考えられた。</p> <p>以上の結果から、出生後の膵外分泌組織の成熟において、centroacinar cell の形成を通して、Notch シグナルが不可欠な役割を果たしている可能性があると考えられた。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究では、胎生期 *Ptf1a* 陽性あるいは *Pdx1* 陽性膵前駆細胞で *Hes1* をノックアウト (K.O.) または Notch intracellular domain (NICD) を強制発現するマウスを用いて、膵組織形成における Notch/Hes1 シグナルの役割を検討した。

*Ptf1a* 陽性膵前駆細胞で *Hes1* を K.O.したマウスは出生時より腺房中心細胞数が減少し、生後次第に膵尾部の腺房細胞アポトーシスの亢進を伴う外分泌組織の萎縮をきたした。*Hes1* K.O.と同時に NICD を強制発現すると膵尾部萎縮の表現型がレスキューされたが、興味深いことに NICD を強制発現させるだけのマウスは *Hes1* K.O.マウスと似通った外分泌組織形成異常を示した。一方、*Ptf1a* 陽性膵前駆細胞より早期に出現する *Pdx1* 陽性膵前駆細胞で *Hes1* を K.O.すると、膵尾部だけでなく膵全体の外分泌組織形成不全を示した。

これらの結果より、正常な膵組織形成には適切な Notch signaling 活性の強さと ON/OFF のタイミングが存在し、その範囲を逸脱した場合には膵外分泌細胞の分化異常とアポトーシスによる組織構築の乱れを生じると考えられた。

以上の研究は、膵前駆細胞における Notch/Hes1 シグナルが膵外分泌組織形成に不可欠な役割を果たすことを示し、胎生期膵形成および生後の組織維持機構の解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 ( 医学 ) 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、令和4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