

氏 名	こ いずみ まさ ゆき 小 泉 将 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2884 号
学位授与の日付	平 成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	肝臓および膵臓における Pancreatic duodenal homeobox gene-1 の役割に関する研究

(主 査)
論文調査委員 教 授 山 中 伸 弥 教 授 野 田 亮 教 授 中 尾 一 和

論 文 内 容 の 要 旨

肝臓と膵臓は隣接した内胚葉上皮から発生し、成体において特定の条件下で相互に可塑性を示すことが知られている。PDX-1 (Pancreatic duodenal homeobox gene-1) は、そのノックアウトマウスがホモでは膵の無形成、ヘテロでは耐糖能異常を示すことから、膵臓の発生に不可欠な転写調節因子である。PDX-1 は胎生期膵原基が発芽する領域の内胚葉上皮で発現を認めるが最終的には主に β 細胞で発現を続け、インスリンを含む β 細胞の機能維持に必要な遺伝子の転写調節因子として働く。また PDX-1 は肝臓ではその発現を認めない。この PDX-1 を肝臓において強制発現することにより、膵臓、特に β 細胞が分化誘導できれば、糖尿病の治療の観点から有用である。また膵再生モデルにおいて、PDX-1 は膵発生と同様に膵管上皮の一部に発現し最終的には β 細胞へ分化し、膵管上皮において脱分化した細胞のマーカーとして見なしうる事が報告されている。一方膵癌における PDX-1 の発現・機能は未だ不明である。本研究では非増殖型組換えアデノウイルス Ad-*pdx-1* を COS-TPC 法にて作製し、PDX-1 を高血糖マウスの肝臓において強制発現させ、インスリン産生細胞誘導の可能性、また肝再生を促進する条件下での検討を行った。さらにヒト膵癌症例および膵癌細胞株における PDX-1 の発現を検討し、膵癌細胞株で PDX-1 を強制発現させ、その効果を検討した。

ICR マウスに Ad-*pdx-1* を経静脈投与したところ、免疫組織学的に肝臓の一部でインスリン陽性となる細胞を認めた。同部位では PDX-1 の下流因子である GLUT2, GCK の発現も認めた。また対照群に比し血糖値は低下、肝抽出 IRI, 血清 IRI は上昇傾向にあった。次に Streptozotocin 投与による高血糖モデルを作製し Ad-*pdx-1* を投与したところ、血糖の上昇は回避され、肝抽出 IRI は有意に高値、血清 IRI は上昇傾向であった。さらに肝再生を促進する目的で40%肝切除術を加えた高血糖モデルに Ad-*pdx-1* を投与したところ、対照群に比べ血糖の上昇は回避されかつインスリン陽性細胞を肝臓のより広範囲に認めた。一方、抗 PDX-1 抗体にて膵管癌切除症例35例に免疫組織化学染色を施行したところ43%で PDX-1 の発現を認めたが、57%では陰性であった。また臨床病理学的因子のうちリンパ節転移と組織学的分化度が PDX-1 との発現に有意な相関を認めた。PDX-1 陽性群では陰性群より有意に生存期間の短縮を認めた。さらに多変量解析により PDX-1 は独立した予後規定因子であった。膵癌細胞株7株での PDX-1 の発現を Western blot 法で検討したが、すべての株で PDX-1 の発現を認めなかった。そこで Panc-1 に Ad-*pdx-1* を導入すると細胞増殖能、形態学的変化には変化を認めなかったが、遊走能は対照群に比べ有意に亢進した。

(結語) 組換えアデノバクターを用いた肝臓での PDX-1 の強制発現により、インスリン産生細胞が誘導され高血糖を回避することが示された。さらに肝切除によりインスリン陽性細胞の増加が認められ、肝臓の膵内分泌細胞への分化転換を検討する有効なモデルとなりうる可能性が示唆された。また膵癌症例の検討および膵癌細胞株への強制発現実験から PDX-1 は膵癌の進展に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

申請者は膵分化と膵癌進展における PDX-1 の機能に焦点を当てて研究を行った。PDX-1 は膵発生と β 細胞の機能維持に必要な転写因子であり、肝臓で強制発現させ膵臓特に β 細胞が分化誘導できれば有用である。一方膵癌における PDX-1 の発現・機能は未だ不明である。今回申請者は、PDX-1 をマウスの肝臓において強制発現させインスリン産生細胞誘導の検討を行った。またヒト膵癌症例と膵癌細胞株での PDX-1 の発現を検討し、膵癌細胞株で PDX-1 を強制発現させ、その効果を検討した。

PDX-1 によるインスリン産生細胞の分化誘導についての研究では、Ad-*pdx-1* 投与により肝臓の一部でインスリン陽性となる細胞を認めた。高血糖モデルに Ad-*pdx-1* を投与し、血糖の上昇は回避された。さらに部分肝切除術を加えた高血糖モデルに Ad-*pdx-1* を投与したところ、血糖の上昇は回避されインスリン陽性細胞を肝臓のより広範囲に認めた。以上の結果から、肝臓での PDX-1 の強制発現により、インスリン産生細胞が誘導され高血糖を回避することが示された。さらに肝切除によりインスリン陽性細胞の増加が認められた。

PDX-1 の膵癌進展における機能解析についての研究では、抗 PDX-1 抗体にて膵管癌切除症例35例に免疫組織化学染色を施行したところ43%で PDX-1 の発現を認めた。また臨床病理学的因子のうちリンパ節転移と組織学的分化度が PDX-1 との発現に有意な相関を認めた。PDX-1 陽性群では陰性群より有意に生存期間の短縮を認めた。多変量解析により PDX-1 は独立した予後規定因子であった。膵癌細胞株7株での PDX-1 の発現を Western blot 法で検討したが PDX-1 の発現を認めなかった。そこで Panc-1 に Ad-*pdx-1* を導入すると細胞増殖能、形態学的には変化を認めなかったが、遊走能は有意に亢進した。膵癌症例の検討および膵癌細胞株への強制発現実験から PDX-1 は膵癌の進展に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

申請者は以上の研究によって、肝臓および膵癌における PDX-1 の役割を解明する上で有用な情報を得た。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、平成17年3月1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。