

氏 名	ふく だ あき ひさ 福 田 晃 久
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3058 号
学位授与の日付	平 成 19 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 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Ectopic pancreas formation in <i>Hes1</i> knockout mice reveals plasticity of endodermal progenitors of the gut, bile duct, and pancreas (<i>Hes1</i> ノックアウトマウスにおける異所性膵形成は内胚葉由来の消化管・胆管・膵前駆細胞の可塑性を示す)
論文調査委員	(主 査) 教 授 稲 垣 暢 也 教 授 瀬 原 淳 子 教 授 上 本 伸 二

論 文 内 容 の 要 旨

【背景・目的】 生体の形態形成は胎生期における正確な発生プログラムに従って通常行われるが、臓器／組織が本来の場所と異なる場所に形成されることがあり、異所性膵はヒトで時々みられる発生期の anomaly のひとつである。Notch-Hes1 シグナルは胎生期での細胞の運命決定・分化制御において重要な役割を果たしている。一方、Cre-loxP システムを用いた genetic lineage tracing の解析により、bHLH 型転写因子 Ptf1a は膵を構成する全種類の細胞の前駆細胞に発現し、原始腸管内胚葉における膵の運命獲得に必須な役割を担うことが明らかになった。本研究は胎生期内胚葉における Ptf1a の発現制御および膵の運命決定における Notch シグナルの役割を明らかにすることを目的とした。

【方法】 Notch シグナルの主要な下流因子である Hes1 のノックアウトマウスと Ptf1a に特異的な Cre-loxP システムを用いた genetic lineage tracing とを組み合わせ、Hes1^{-/-}; Ptf1a^{cre/+}; Rosa26r マウスを交配により作成し、Hes1 野生型での Ptf1a-lineage tracing の標識パターンと発生早期・後期で比較検討した。

【結果】 Hes1 ノックアウトマウスでは胎生後期（胎生17.5日）において、胃・十二指腸・総胆管に異所性の Ptf1a-lineage で標識される組織がみとめられ、免疫組織学的解析からそれらは全て成熟した異所性膵組織（外分泌・内分泌・膵管を含む）に分化していることが判明した。この異所性膵の発生メカニズムをさらに解明するため、原始腸管の回転が起こる以前の胎生早期（胎生11.5日）で検討したところ、原始の胃・十二指腸・総胆管になる領域において既に Ptf1a の異所性発現がみとめられた。さらに十二指腸で認められた異所性膵は、いったん十二指腸に運命づけられた Cdx2 陽性細胞が、異所性の Ptf1a 発現によって途中で膵への運命転換（transcommitment）により最終的に Cdx2 陰性の異所性膵組織に分化していることが明らかになった。また形態的にも胃の異所性膵の形成過程で、固有膵でと同様の異所性膵原基の発芽がみとめられた。さらに異所性膵形成における Ptf1a の必要性を検証するために Hes1/Ptf1a のダブルノックアウトマウス（Hes1^{-/-}; Ptf1a^{cre/+}; Rosa26r マウス）を解析した結果、異所性膵は形成されずに、固有膵での Ptf1a ノックアウト細胞の運命と同様に、大多数の細胞は本来の消化管（胃・十二指腸）に分化し、少数が膵内分泌細胞に運命変更した。また Hes1 ノックアウトマウス及びダブルノックアウトマウスの胆管において内分泌前駆細胞マーカー Ngn3 の異所性発現が認められたことから、Hes1 は Ptf1a と Ngn3 を parallel に抑制していることが示唆された。

【結論】 1. Notch-Hes1 シグナルは、Ptf1a の発現を制御することにより、胎生期内胚葉における膵の運命決定および膵形成の正しい位置決定に不可欠である。2. 胎生期の消化管（胃・十二指腸）・胆管・膵前駆細胞は相互に運命変更しうる可塑性を有し、Pdx1 が発現する Non-pancreatic endoderm（胃・十二指腸・胆管）での Ptf1a の異所性発現は、異所性膵発生に必要な十分であることが明らかになった。これらの異所性膵発生メカニズムの新しい知見は、豊富な消化管組織を用いた膵再生に向けて有益な情報になり得ると考えられる。

論文審査の結果の要旨

転写因子 **Ptf1a** は膵前駆細胞に発現し、未分化内胚葉での膵の運命獲得に必須な役割を担う。申請者らは、胎生期内胚葉における膵の位置決定 (**Ptf1a** の発現制御) における **Notch** シグナルの役割を明らかにするため、**Notch** シグナルのエフェクターである **Hes1** のノックアウトと **Cre/loxP** システムを用いた **Ptf1a** の lineage tracing とを組み合わせ、**Hes1** 野生型での **Ptf1a**-lineage tracing の標識パターンと比較検討した。

Hes1KO マウスでは、ヒト異所性膵の好発部位である胃前庭部・十二指腸・総胆管に異所性の **Ptf1a**-lineage で標識される組織がみとめられ、それらは全て成熟した異所性膵組織に分化していた。これらは胃・十二指腸・胆管の前駆細胞に異所性の **Ptf1a** 発現が生じた結果、膵への運命転換がおり、異所性膵に分化したものであった。さらに **Hes1/Ptf1a** ダブル **KO** マウスでは、異所性膵は形成されず、本来の消化管に分化した。

以上より、**Notch** シグナルが **Ptf1a** の発現を制御することにより、胎生期末分化内胚葉細胞が膵になるか、胃・十二指腸・胆管になるかの細胞の運命決定を制御していること、胎生期の胃・十二指腸・胆管・膵前駆細胞は相互に運命変更しうる可塑性が有り、**Pdx1** 陽性内胚葉での **Ptf1a** の発現は、異所性膵発生に必要十分であることが明らかになった。

以上の研究は、膵発生メカニズムの解明に貢献し、今後の消化管組織を用いた膵再生医療の発展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みとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成19年1月22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。