

氏 名	こ ばやし ひろ ゆき 小 林 裕 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2536 号
学位授与の日付	平 成 15 年 1 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	Retinoid Signaling Controls Mouse Pancreatic Exocrine Lineage Selection through Epithelial-Mesenchymal Interactions に関する研究 (レチノイドが上皮間質間相互作用を介して膵細胞分化に与える影響に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 山 岡 義 生 教 授 井 上 一 知 教 授 今 村 正 之

論 文 内 容 の 要 旨

近年、胎生期の膵内分泌細胞の発生・分化メカニズムについては、様々な知見が急速に得られている。しかし、膵外分泌細胞分化については不明な点が多い。膵原基から成熟膵細胞への分化には上皮-間質間相互作用 (epithelial-mesenchymal interaction) が重要であることが古くから言われている。マウス胎生膵培養での検討では、間質細胞のない培養条件下でも膵原基から膵管細胞、膵内分泌細胞への分化がみられるのに対し、同条件下で膵腺房細胞への分化は見られず、未発見の間質因子 (mesenchymal factor) が特に膵腺房細胞への分化に不可欠であることが示唆されている。一方、retinoid は脳、肺、肝などの臓器の分化・発生過程において重要な働きを担っていることが知られている。retinoid はまた、膵癌細胞株の増殖を、おそらく分化誘導を行なうことによって抑える作用を持っており、臨床応用段階に差し掛かっている。これらの観点から、著者らは膵発生・分化における retinoid の働きに注目し、マウスの胎生膵培養系を用いてその役割を検討した。その結果、9-cis retinoic acid (9cRA) は、胎生膵において膵腺房細胞への分化を容量依存性に抑制し、膵管細胞への分化を促進することがわかった。RAR selective agonist, 特に RAR α selective agonist は 9cRA と同様の腺房細胞分化抑制作用を示し、RAR-RXR heterodimer がこの系での主要な受容体であることが示唆された。実際に免疫染色法と RT-PCR 法を用いて retinoid 産生酵素である RALDH2 と retinoid 受容体である RAR, RXR の発現を検討したところ、RALDH2 は膵外分泌細胞分化の始まる胎生 11 日目で膵上皮にのみ発現がみられ、それ以後も上皮に局在していた。一方、受容体は、RAR α が間質に局在し、RXR が上皮・間質両方に発現していた。これらの結果から、上皮で産生された retinoid が間質の RAR α /RXR α heterodimer receptor に作用すると考えられた。

9cRA 投与により腺房細胞分化が阻害、膵管細胞分化が促進された組織を詳しく検討すると、膵管基底膜周囲の間質細胞および細胞外基質が著明に増生していた。細胞外基質の中では laminin の強発現が認められた。Laminin はその promoter 領域に RARE (retinoic acid responsive element) を持ち、実際、培養中の間質細胞は 9cRA により laminin 産生が亢進することが定量的 RT-PCR, Western blot analysis で確認された。更に、laminin antisense 投与により、9cRA の作用が抑制されたことから、本研究で示された 9cRA の作用の実際の effector が laminin である可能性が強く示唆された。

以上の結果から、著者らは次のようなモデルを提唱した。「胎生期膵上皮に局在する RALDH2 によって産生された retinoid は間質細胞の RAR/RXR receptor を介して laminin の発現を誘導する。間質で産生された laminin は基底膜を構成し、未分化膵上皮の外分泌細胞への分化をコントロールする。」このような双方向性の上皮間質間相互作用モデルは比較的新しく、発生分化において重要な役割を果たしている可能性があると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、膵内分泌細胞の発生・分化メカニズムについては様々な知見が急速に得られているが、外分泌細胞については不明な点が多い。一方、retinoid は脳・肺・肝などの臓器の分化・発生において重要である。今回、申請者は膵発生・分化にお

ける retinoid の働きに注目し、マウスの胎生臍培養系を用いてその役割を検討した。

retinoid は、胎生臍の腺房細胞への分化を容量依存性に抑制し、臍管細胞への分化を促進した。RAR selective agonist, 特に RA α selective agonist は retinoid と同様の作用を示し, RAR-RXR heterodimer がこの系での主要な受容体と考えられた。retinoid 産生酵素である RALDH2 は上皮にのみ発現がみられた。一方, RAR α が間質細胞に発現し, RXR α は上皮細胞・間質細胞の両方に発現していた。これらの結果から, 上皮細胞で産生された retinoid が間質細胞の RAR α /RXR α 受容体に作用すると考えられた。さらに下流の signaling pathway に関して, laminin を調べたところ, retinoid が間質細胞に laminin を産生させて上皮の外分泌細胞への分化をコントロールしていることを証明した。

以上の結果から, 胎生臍分化において retinoid は上皮細胞と間質細胞に双方向性に作用を及ぼしていることが示唆された。

以上の研究は, 臍発生・分化のメカニズムを解明する上で示唆に富むところが多い。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, 平成14年10月21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。