

受賞者

北村 忠弘

群馬大学 生体調節研究所 代謝シグナル研究展開センター

研究テーマ

膵β細胞の分化における転写因子FoxO1の役割の解明～糖尿病の再生医療を目指して～

1. はじめに

近年急増中の糖尿病に対し、β細胞の再生とその移植療法は新しい治療法として期待されており、世界的に研究が進められているが、未だ成功には至っていない。最大の理由は、そもそも膵臓の発生過程におけるβ細胞の分化メカニズムを、未だ私たちが十分に理解していないからである。Pdx1はβ細胞の分化に最も重要な転写因子であるが、申請者は、これまでの研究成果から、転写因子FoxO1がβ細胞において、Pdx1プロモーターとの結合をFoxA2と競合することで、Pdx1の発現を抑制することを明らかにしてきた。そこで、本研究課題においては、FoxO1がβ細胞の分化に重要な役割を果たしている可能性をvivoで検討する為に、膵特異FoxO1欠損マウスを作成し、このマウスの解析を行った。

2. 方法

FoxO1の全身の欠損マウスは胎生早期 (E9.5) に大血管の形成不全により死亡する。その為、膵機能の解析はもとより、胎生膵の形態学的解析すら困難であった。従って、胎生期のβ細胞の分化におけるFoxO1の役割は全く不明であった。本研究においては、FoxO1^{lox/lox}マウス (コロンビア大学のDomenico Accili博士から供与) とPdx1-Creトランスジェニックマウス (ハーバード大学のDouglas Melton博士から供与) を掛け合わせて、膵特異的FoxO1欠損マウスを作成した。Pdx1は基本的には全ての膵細胞のプロジェニターで発現している為、結果として、FoxO1は全膵細胞において欠損することが予想された。作成した膵特異的FoxO1欠損マウスの解析を以下の手順で行った。(1) まず、定量RT-PCRを用いて、膵臓において特異的にFoxO1遺伝子がノックアウトされていることを確認した。さらに、膵臓以外の臓器ではFoxO1の発現量に変化が無いことを確認した。(2) 次に、マウス

の表現型を、各種代謝パラメーターの測定（体重、血糖値、血清インスリン値）をすることで評価した。（3）また、膵臓の形態学的調査（膵臓やラ氏島のサイズ、ラ氏島の構築、β細胞量等）を、組織学的解析法を用いて施行した。（4）作成したマウスに、グルコース耐性テスト（GTT）を行って、より詳細な耐糖能の変化を調査した。また、マウスから単離したラ氏島を用いて、*in vitro*における糖刺激インスリン分泌反応テスト（GSIS）を施行した。（5）さらに、（2）から（4）の検討を、マウスに高脂肪食を8週間与えた後で、評価した。

3. 結果 研究成果

（1）FoxO1^{lox/lox}マウスとPdx1-Creトランスジェニックマウスを掛け合わせて作成したFoxO1^{lox/lox}:Pdx1-Creマウスの膵臓を採取し、定量RT-PCRを用いて、膵臓において特異的にFoxO1遺伝子がノックアウトされていることを確認し、膵特異的FoxO1欠損マウスの作成に成功した。さらに、膵臓以外の臓器ではFoxO1の発現量に変化が無いことも確認した。（2）次に、これらのマウスの体重、血糖値、血清インスリン値を測定したが、コントロールマウスとの間に有為な差は認められなかった。（3）また、これらのマウスの膵臓の組織学的解析を行った所、膵臓、及びラ氏島のサイズやラ氏島の構築に有為な差は認められなかった。しかしながら、興味深いことに、膵特異的FoxO1欠損マウスの膵臓においては、インスリン陽性の膵管細胞の数が増加しており、さらに小さなラ氏島やインスリン陽性細胞からなる細胞集塊の数も増加していた。（4）膵特異的FoxO1欠損マウスに、グルコース耐性テスト（GTT）を行った所、コントロールマウスに比べて、軽度の耐糖能改善が認められた。現在、マウスから単離したラ氏島を用いて、*in vitro*における糖刺激インスリン分泌反応テスト（GSIS）を施行しているところである。（5）さらに、膵特異的FoxO1欠損マウスに高脂肪食を8週間与えた後、グルコース耐性テスト（GTT）を行った所、コントロールマウスに比べて、明らかな耐糖能の改善が認められた。また、より明らかなインスリン陽性膵管細胞数の増加が確認された。

4. 考察 まとめ

本研究課題の研究成果から、FoxO1がβ細胞の分化、新生に重要な役割を果たす可能性が*vivo*の系で確認され、この成果はβ細胞の分化メカニズムの解明に大きく貢献すると考えられる。将来的には、

FoxO1を遺伝子学的に、あるいは薬理学的に操作する事により、 β 細胞の再生が可能となり、糖尿病の新しい治療法の開発に貢献する可能性が示された。現在、今回作成したマウスを糖尿病モデルマウスと交配を行い、糖尿病が改善されるかを検討中である。

5. 発表論文、参考文献

Regulation of pancreatic juxtaductal endocrine cell formation by FoxO1. Tadahiro Kitamura, Yukari Kitamura, Masaki Kobayashi, Osamu Kikuchi, Tsutomu Sasaki, Ronald A. DePinho and Domenico Accili.

投稿中