

機関番号：17102

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21790285

研究課題名（和文）膵β細胞の前駆細胞の同定と分化メカニズムの解明

研究課題名（英文）Mechanism of differentiation of ductal cells to β cells.

研究代表者

稲田 明理（INADA AKARI）

九州大学・大学院医学研究院・特別准教授

研究者番号：50448429

研究成果の概要（和文）：

本研究では、膵管上皮細胞からβ細胞へ分化する過程を解明しようとした。私は、分化に必要な遺伝子として転写因子 Pdx-1 に着目した。Pdx-1 は膵臓の発生や内分泌細胞の分化に必須の転写因子であり、生後は主にβ細胞に存在するが、肥満のヒトにおいて、また、マウスにおいては生後の成長期や組織再生時には膵管上皮細胞に Pdx-1 蛋白質が発現することが報告されている。そこで、「この Pdx-1 の発現がインスリン陽性細胞への分化に必要ではないか」と仮説を立て、膵管上皮細胞特異的に Pdx-1 を欠損させ、その役割を検討した。

結果、ノックアウトマウスでは膵管上皮細胞からインスリン陽性細胞へ分化せず、β細胞数が減少した。これにより、膵管上皮細胞に存在する幹細胞からの供給が生体のホメオスターシスに貢献していることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

We further studied the mechanism of differentiation of ductal cells to β cells. Although Pdx-1 is mainly restricted to β cells in the adult pancreas to regulate several β-cell specific genes, the increased Pdx-1 protein level in the duct has been reported in human obesity and the rodent regeneration mode. This coincident of increased Pdx-1 protein level imply that the regeneration mode the pancreas recapitulates embryonic development and that neogenesis contributes to the increased islet mass. To test our hypothesis that Pdx-1 expression in the duct could be critical factor for the differentiation of ductal cells to β cells, we generated duct-specific Pdx-1 knockout mice by crossing the CII-Cre mice to Pdx-1^{flE2/flE2} mice, in which Pdx-1 expression in the duct was knocked out around the birth. Inactivation of Pdx-1 in the duct resulted in reduced β cells in normal growth which caused hyperglycemia and glucose tolerance. Moreover, in the regeneration study new β-cell formation was rarely seen in the adult. Thus, the activation of Pdx-1 in the duct is required for differentiation, and these differentiated β cells contribute to intensive β-cell growth in neonatal period and injury in the adult. Our study provides clear evidence of a compensatory function of a ductal-origin β cell.

These findings should encourage further exploration of pancreatic duct cells as a source for islet regeneration. Further attention on expansion and differentiation of these cells may facilitate β-cell replacement therapy for diabetes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野 : 医歯薬学
 科研費の分科・細目 : 医科学一般・再生医学
 キーワード : 糖尿病、β細胞、前駆細胞、膵管、分化

1. 研究開始当初の背景

これまでの国内外の研究動向を見ると、主膵管細胞を採取し、成長因子等を使って長期間の培養によってβ細胞を増殖するものにとどまっている。これらの研究ではβ細胞はほとんど増殖しておらず、わずかにβ細胞が増えたとしても、長期間の培養によって、主膵管細胞の性質が変化してしまった可能性が高いため、再現性が無く、また性質が変化した原因も解明できていない。また、手作業による採取のため主膵管にしか焦点が当てられていなかった。

2. 研究の目的

周知の通り、糖尿病は生活習慣病とも呼ばれ「予備軍を含めて3人に1人」といわれるほど、日本では深刻な問題となっている。特に重症な糖尿病患者に対して膵島移植を行うこともあるが、膵島の生存能力は低く、移植後の長期成績が悪いことに加え、日本ではドナー不足の問題もある。

そこで、移植と平行して「再生医学」の研究が進められている。これは、インスリン不足を根本的に解消するために、刺激を与えてβ細胞を増殖させる、あるいは別の細胞からβ細胞に分化させるというものである。β細胞の前駆細胞を同定しようと世界各国では、β細胞の起源の研究が盛んに行われている。

β細胞の起源には色々な学説があるが、これまでの申請者の研究で、膵臓内の膵管上皮からもβ細胞が供給されることを証明している。これは、β細胞の前駆細胞は膵管上皮に存在する可能性が非常に高いことを示唆したものである。そこで本研究では、膵管上皮細胞からβ細胞を産生する能力を持つ細胞(β細胞の前駆細胞)を単離し分化機序を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) β細胞前駆細胞の単離

本研究では、膵管上皮細胞に特異的に黄色蛍光タンパク YFP を発現するノックインマウスとインスリンの発現を緑色蛍光タンパク (GFP) で示す Tg マウスを掛け合わせて、得られたダブルトランスジェニックマウスの開発から、β細胞産生能力を有した末端の膵管上皮細胞からβ細胞へ分化する機序を解明する。

(2) 分化機序の解明

申請者は、膵管上皮からβ細胞へ分化するために必要な遺伝子の候補のひとつとして、「転写因子 Pdx-1」に注目している。Pdx-1 は膵臓の発生に必須な転写因子であり、通常、生後、β細胞にのみ存在する。しかし、薬剤や Injury model (膵切、Duct Ligation) で組織再生を促進すると、通常では発現しない膵管上皮細胞に一過性に Pdx-1 が発現してくる。そこで、「この Pdx-1 の発現がインスリン陽性細胞への分化要因ではないか」と仮説を立て、膵管上皮細胞に発現する転写因子 Pdx-1 を欠損させ、Pdx-1 の役割を検討する。

4. 研究成果

申請者は、末端の膵管上皮はβ細胞を産生する能力を有するが、主膵管はその能力が低下もしくは退化していることに着目し、これらの細胞間の遺伝子発現の差異を検討することでβ細胞を産生させる能力を持つ細胞への分化機序を行うという独創的な視点に立ち研究を進めていった。

これまでの国内外の研究動向を見ると、主膵管細胞を採取し、成長因子等を使って長期間の培養によってβ細胞を増殖するものにとどまっている。これらの研究ではβ細胞はほとんど増

殖しておらず、わずかにβ細胞が増えたとしても、長期間の培養によって、主膵管細胞の性質が変化してしまった可能性が高いため、再現性が無く、また性質が変化した原因も解明できていない。また、手作業による採取のため主膵管にしか焦点が当てられていなかった。今後はさらに詳細な解析を進め、膵管上皮細胞からのβ細胞産生が期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)：全て査読有
原著(英文)

1. **Inada A**, Inada O, Fujii H, Akashi T, Sueishi K, Fukatsu A, Nagafuchi S:
Different effects of islet transplantation and Detemir treatment on the reversal of streptozotocin induced diabetes associated with β cell regeneration.
Diabetol Int 2010, 1 (1): 49-59
2. Hamamoto Y, Akashi T, **Inada A**, Bonner-Weir S, Weir GC:
Lack of evidence for recipient precursor cells replenishing beta cells in transplanted islets.
Cell Transplant 2010, 19 (12): 1563-1572

総説(和文)

1. **稲田明理**：
膵臓β細胞の新生と環境
日本女性科学者の会学術誌 2010, 11 (1): 29-35
2. **稲田明理**：
膵臓β細胞の起源と新生
日本女性科学者の会学術誌 2009, 10 (1): 10-16

〔図書〕(計1件)

1. **稲田明理**：
iPS細胞と糖尿病治療への応用。
月刊 糖尿病 2009, 1 (4): 130-135
医学出版, 東京

〔学会発表〕(計11件)

(海外)

1. Guo L, Levine J, **Inada A**, Fujitani Y, Wright CV, Bonner-Weir S:
Duct-specific deletion of Pdx1 after birth leads to transient hyperglycemia
American Diabetes Association 70th Scientific Sessions (Orlando, USA) 2010年6月
2. **Inada A**：
CAII positive pancreatic cells are progenitors for both endocrine and exocrine pancreas after birth
The 7th Catholic International Stem Cell Symposium (Seoul, Korea) 2009年6月(シンポジウム)

(国内)

1. **稲田明理**：
膵管上皮細胞からβ細胞への新生について
日本糖尿病学会(札幌)2011年5月(シンポジウム)
2. **稲田明理**：
膵管上皮細胞からβ細胞への分化メカニズム
生活習慣病の分子細胞病態学研究会(鎌倉)2011年3月
3. **稲田明理**：
細胞への分化メカニズム
経済産業省 産学連携促進協議会(東京)2010年12月
4. **稲田明理**：
β細胞の新生と環境
病態代謝研究会(東京)2010年10月
5. **稲田明理**：
膵管上皮細胞からβ細胞への分化メカニズム
日本糖尿病学会(岡山)2010年5月(シンポジウム)
6. **稲田明理**：
膵管上皮細胞からβ細胞への分化メカニズム
第13回 Eastern Diabetes Conference(福岡)2010年4月
7. **稲田明理**、藤谷与士夫、川口義弥：
膵管上皮細胞に発現する転写因子 Pdx-1 の役割
分子糖尿病学シンポジウム(和歌山)2009年12月
8. **稲田明理**：
膵β細胞の分化・再生機序の解明とその糖尿病治療への応用に関する研究
北海道大学・九州大学合同活動報告会シンポジウム(東京)2009年12月
9. **稲田明理**：
膵管上皮細胞を起源とするβ細胞産生機構
糖尿病・血管代謝再生研究会(金沢)2009年7月

〔産業財産権〕

○出願状況(計2件)

1. 名称：インスリン産生細胞誘導剤・糖尿病性腎症治療薬およびグルコースとりこみ促進剤
発明者：稲田明理
権利者：稲田明理、九州大学
種類：特許
番号：国際特許登録 PCT/JP/2010/062121
出願年月日：平成22年7月16日
国内外の別：国外

2. 名称：インスリン産生細胞誘導剤・糖尿病性腎症治療薬およびグルコースとりこみ促進剤
発明者：稲田明理
権利者：稲田明理、九州大学
種類：特許
番号：特許登録 2009-167695
出願年月日：平成 21 年 7 月 16 日
国内外の別：国内

○取得状況（計 2 件）

1. 名称：腎症関連遺伝子
発明者：稲田明理
権利者：関西 TLO
種類：特許
番号：特許第 4576514 号
取得年月日：平成 22 年 9 月 3 日
国内外の別：国内
2. 名称：Nephropathy-Associated Gene
発明者：稲田明理
権利者：同上
種類：特許
番号：米国特許 US7745689B2 号
取得年月日：平成 22 年 6 月 29 日
国内外の別：国外

〔その他〕 ホームページ等

(賞)

1. **稲田明理**：
日本再生医療学会 Young Investigator's Award (和名) 若手研究奨励賞 2011 年 3 月
2. **稲田明理**：
日本女性科学者奨励賞
「膵臓 β 細胞産生に関する基礎研究」
2009 年 6 月

(新聞掲載)

1. 「血糖下げる細胞の源を発見 九大、糖尿病根本治療に道」
2009 年 2 月 13-18 日、3 月 2 日掲載
神戸新聞 東京新聞 河北新報
京都新聞 長崎新聞 四国新聞
中日新聞 福島民報 徳島新聞
愛媛新聞 中国新聞 佐賀新聞
山陽新聞 南海日日新聞 北海道新聞
山形新聞 山陰中央新聞 西日本新聞
北日本新聞 熊にちコム 信濃毎日新聞
岩手日報 東奥日報 等
2. 「日本女性科学者奨励賞 授賞」
2009 年 7 月 10-14 日掲載
科学新聞 中日新聞

(ホームページ)

1. 第 10 回日本再生医療学会総会 YIA 受賞講演
2011 年 3 月授与式
<http://www.aeplan.co.jp/jsrm2011/program/index.html#pr5>
2. 平成 18 年度文部科学省・科学技術振興調整費「若手研究者の自立的な研究環境整備促進」事業
九州大学 次世代研究スーパースター養成プログラム
http://www.srp.kyushu-u.ac.jp/ssp_home/j_top.html
3. 日本女性科学者の会 奨励賞受賞
2009 年 6 月授与式、東京
<http://www.sjws.jp/winning/index.html>
4. 「血糖値を下げる β 細胞幹細胞出現を世界で初めて実証することに成功」
2009 年 3 月 31 日掲載、
九州大学医学部ホームページ、トピックス
http://www.med.kyushu-u.ac.jp/m_annai/topics/annai_back.php?id=119

6. 研究組織

(1)研究代表者

稲田 明理 (INADA AKARI)

研究者番号：50448429