

平成 23 年 6 月 16 日現在

機関番号： 14301
 研究種目： 若手研究 (B)
 研究期間： 2009～2010
 課題番号： 21791283
 研究課題名 (和文) インクレチンホルモンの膵発生および膵癌進展における基盤的研究
 研究課題名 (英文) Basic research of incretins for pancreas development and pancreas cancer progression
 研究代表者
 小泉 将之 (KOIZUMI MASAYUKI)
 京都大学・医学研究科・助教
 研究者番号： 90512351

研究成果の概要 (和文) : 消化管粘膜上皮内分泌細胞から分泌され、膵 β 細胞でのインスリン分泌を刺激し血糖降下作用をもたらすインクレチンホルモンをマウス胎児膵三次元培養系を用いてその胎生期における膵内での分布を検討した。今後膵癌におけるインクレチンホルモンの役割を検討する予定である。

研究成果の概要 (英文) : Incretins are synthesized and released at enteroendocrine cells, and stimulate beta cells in pancreas to maintain blood glucose. Their distributions and functions were investigated by using three dimensional exvivo culturing systems of mouse pancreas. The role of incretins in pancreatic cancer development are remains to be elucidated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：消化器外科

科研費の分科・細目：若手研究 B

キーワード：膵発生 膵癌 インクレチン GIP GLP-1

1. 研究開始当初の背景

膵発生はおもに転写因子の on off により制御され、その複雑なカスケードは研究されているが、それを initiate もしくは inhibit する細胞外シグナルは解明が相対的に進んでいない。消化管粘膜上皮内分泌細胞から分泌さ

れ、膵 β 細胞でのインスリン分泌を刺激し血糖降下作用をもたらすインクレチンホルモンが、糖尿病治療として注目されている。このインクレチンホルモンには GIP (glucose-dependent insulinotropic polypeptide) と GLP-

1(Glucagon-like peptide-1)が挙げられる。GIP と GLP-1 は成体では小腸粘膜上皮に存在するが、胎生期には、発生膵上皮に存在することが示されている。このインクレチンホルモンのインスリン分泌刺激は、 β 細胞内での Pdx-1 遺伝子の核内移行・発現増強を介していることが示されている。

2. 研究の目的

以上の背景から、インクレチンホルモンたる GLP-1 および GIP の膵発生における関与、とりわけ β 細胞発生における関与を明らかにし、傷害された β 細胞再生能の回復を目的とした治療的介入の可能性について検討すること、並びに膵癌進展におけるインクレチンホルモンの関与を検討することを目的とし、本研究を立案した。

3. 研究の方法

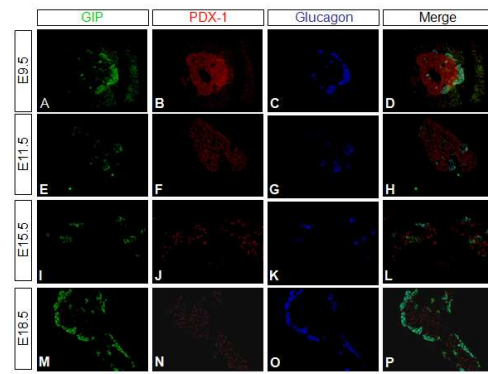
本研究は、細胞外シグナルとして従来報告されていないインクレチンホルモンを想定しており、またマイクロダイセクションテクニックを用いた胎児膵の三次元培養系を活用することにより、これらシグナルの膵発生における関与が解明されるものと期待される。またインクレチンホルモンの膵癌における発現や機能を検討することにより、膵癌治療に対し発生学的知見を還元し、新機軸の治療戦略の開発が期待される可能性があると考えられる。

4. 研究成果

21年度及び22年度の実験結果から、胎生期膵形成期および成体における幹細胞システムの理解が進み、これまで、成体膵外分泌組織は Sox9 陽性膵管構造からの持続的細胞供給を受けて維持されているが、膵島組織は Sox9 陽性幹細胞領域からの細胞供給を受けず、既存細胞の自己複製で維持されていること、 \square 胎生期 Sox9 陽性細胞は、内分泌細胞を含む全ての種類の膵細胞へと分化可能であるが、出生直後から数日間の膵島形成期を境に内分泌細胞能を喪失することが判明した(Furuyama et al.)。現在、その中の GLP-1,GIP の意義に的を絞って検討を続行中である。

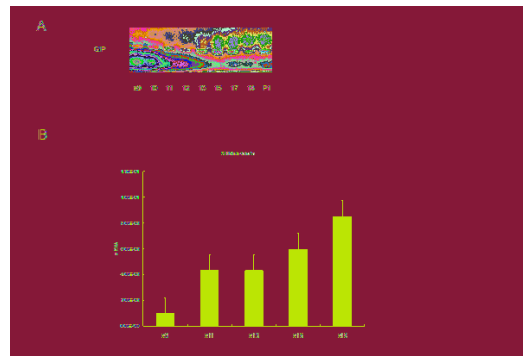
1. インクチンの経時的局在

従来インクレチンの胎生期膵における局在を検討して報告をなかったが、今回これを行った。



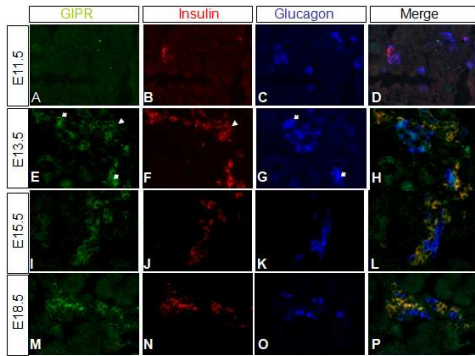
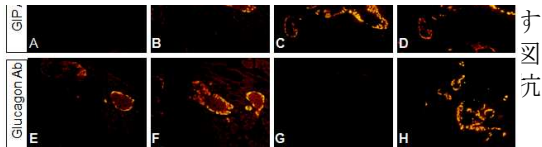
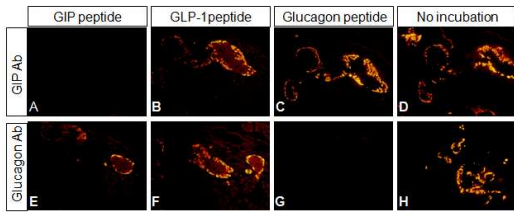
GIP に関して述べれば、上の Figure のごとくグルカゴン陽性細胞と一致する結果が得られた。一方 GIP レセプターは同様の検討を行ったところインスリン陽性細胞と一致した。これは胎生期膵においてインスリン陽性細胞とグルカゴン陽性細胞との間に何らかのシグナル伝達が行われている可能性を示唆している。

免疫組織染色による蛋白レベルだけではなく、



mRNA レベルでも上の figure の如く経時的变化をとともなう産生を確認できている。

しかしながら、mRNA レベルでの局在を調べるための In situ RNA hybridization 実験では条件設定に苦慮し、十分な実験結果を得られていない。

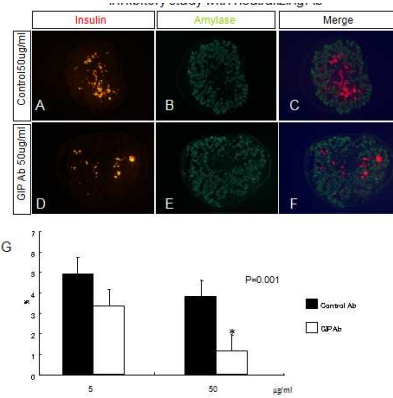
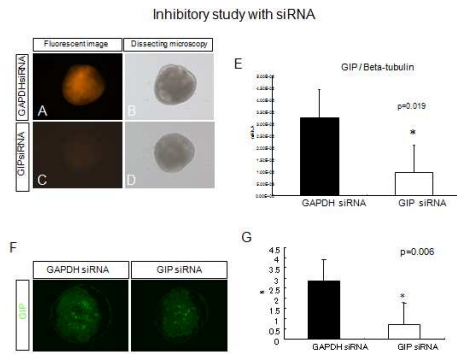


GIP レセプターについてはリガンドとは対照的にインスリン産生細胞に存在していることが免疫組織学的染色にて判明した。これは胎生期膵においてインスリン陽性細胞へグルカゴン陽性細胞から GIP によるシグナル伝達が行われている可能性を示唆している。

2 インクレチンの機能抑制実験

GIP に関して行なった、胎生膵における機能抑制実験では未完成ではあるが、ある程度の実験結果が得られた。

はじめに siRNA の三次元培養系胎生膵における導入効率を確認した。十分に導入が可能であることが示された。



上図はインクレチンのうち GIP 中和抗体を用いた場合の胎生膵の実験結果である。インスリン産生が著名にブロックされたことがわかる。この他、GLP-1 やそれぞれのレセプターに対し、中和抗体、並びにアンチセンスオリゴヌクレオチド、siRNA を用いて実験を行ってきた。

インクレチンの三次元培養系胎生膵における gain of function の実験や in vivo の実験類 また膵癌に対する GLP-1、GIP の機能解析は 時間と予算の都合で完遂出来ていない。 以上残念ながら研究期間中に結論を出すことは出来なかったものの、基礎データが集積しつつあり、今後も研究は地道に続行する方針である。

今後特に着目しているポイントは、出生直後の膵内分泌細胞塊の増大と膵管構築から機能的膵島として遊走してゆくメカニズムにおける GLP-1,GIP の意義である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

Nat Genet. 2011 Jan;43(1):34-41. Continuous cell supply from a Sox9-expressing progenitor zone in adult liver, exocrine pancreas and intestine. Furuyama K, Kawaguchi Y, Akiyama H, Horiguchi M, Kodama S, Kuhara T, Hosokawa S, Elbahrawy A, Soeda T, Koizumi M, Masui T, Kawaguchi M, Takaori K, Doi R, Nishi E, Kakinoki R, Deng JM, Behringer RR, Nakamura T, Uemoto S.

[学会発表] (計 1 件)

HP-148-6 膵発生における GIP (Glucose-dependent insulinotropic peptide)の発現とその機能(膵(基礎研究),ハイブリッドポスター,第109回日本外科学会定期学術集会)

6. 研究組織

(1)研究代表者

小泉 将之 (KOIZUMI MASAYUKI)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：90512351