

令和 4 年 6 月 25 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06435

研究課題名(和文)細胞の運命変換による膵内分泌組織の新規発生機序の解明

研究課題名(英文)Elucidation of the new developmental mechanism of pancreatic endocrine tissue by cell lineage

研究代表者

佐藤 隆史 (Sato, Takashi)

群馬大学・生体調節研究所・准教授

研究者番号：70344934

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：膵臓のランゲルハンス島は主に体内の血糖調節を行うホルモンを分泌する役割を持つ非常に重要な組織である。この組織は複数の細胞から構成されていて、その一つである細胞は今まであまりよく研究されてこなかったため、その性質がよくわかっていない。本研究課題では、研究代表者が今まで継続的に用いてきたマウス遺伝子改変の手法を駆使して、この細胞の性質を明らかにする研究を行ってきた。それらの研究により、細胞の性質と細胞などの他の内分泌細胞の分化過程や機能と関連やホルモン分泌の調節の仕組みが少しずつ分かってきた。今後更に詳しい解析を行うことでこの細胞の性質や役割の全貌を明らかにできると期待している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年では高齢化が進むにつれ、様々な生活習慣病の罹患数が増加し健康寿命を延ばすための基礎医学的研究の重要性が指摘されている。研究代表者が所属する研究組織は代謝内分泌学の研究を増進しており、本研究では、膵臓の内分泌組織の成り立ちや役割についての研究を行っている。本課題はその研究に不可欠なマウス遺伝子改変技術を使うことで特にその働きがよくわかっていない細胞の性状を徐々に解明できつつある。今回の研究をさらに発展させることで膵臓の内分泌組織の形成の機序が明らかになることに加え、糖尿病などの膵臓機能と関連する様々な疾患の治療法の確立につながる知見をもたらすと期待している。

研究成果の概要(英文)：The islets of Langerhans in the pancreas are very important tissues that mainly secrete hormones that regulate blood sugar in the body. This tissue is composed of multiple cells, one of which, cells, has not been studied very well so far, so its properties are not well understood. In this research project, we have conducted research to clarify the properties of these cells by application of mouse gene modification method that the principal investigator has continuously used. These studies have gradually elucidated the character of -cells and their association with the differentiation process and function of other endocrine cells such as -cells and the mechanism of regulation of hormone secretion. We hope that further detailed analysis will reveal the whole picture of the properties and roles of these cells.

研究分野：分子生物学

キーワード：膵内分泌細胞

### 1. 研究開始当初の背景

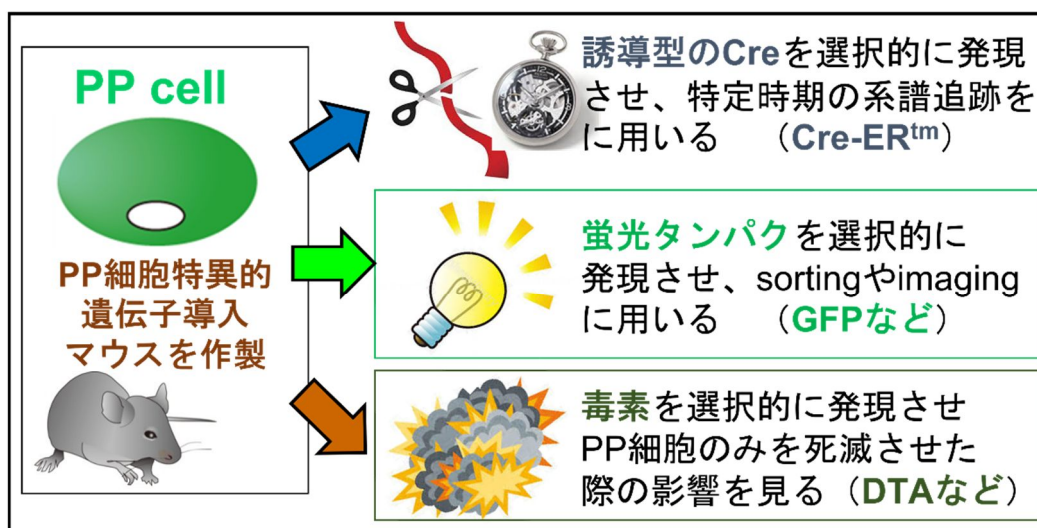
膵ランゲルハンス島(ラ氏島)はインスリンを産生するβ細胞をはじめとする数種の内分泌細胞で構成されている。ラ氏島では、膵ポリペプチド(Pancreatic polypeptide; PP)を産生する細胞がわずかの割合を占めており、このPPをコードするPpy遺伝子はこの細胞に特異的に発現する。一方、細胞の産生するPPの作用は大量投与時の摂食抑制などの薬理的効果は知られているものの真の生理的役割は未だ不明であり、また、膵内分泌組織における細胞の分化系譜上の位置づけやその機能の詳細は明らかではない。このように現在では、細胞の性状に関する知見は他の膵内分泌細胞に比べ極めて乏しい。一方、最近の研究ではマウスの遺伝子改変により特定の細胞種をラベルし、その分化系譜を追跡する研究アプローチが膵内分泌組織の研究分野で盛んに応用されており、これらの研究から今まで考えられていた以上に膵内分泌細胞は動的な性質を持つことが明らかにされている。

### 2. 研究の目的

上記のように細胞の性状解析が遅れている主な理由は、その解析に必要となる実験的工具が乏しいことに起因すると考えられた。そこで我々のグループは細胞に特異的に発現するPPに対する特異的のモノクローナル抗体、ならびにPpy遺伝子座にCreをノックインしたマウス(Ppy-Cre)を作製し、Ppy発現細胞の運命追跡を行う系を確立した。これによりβ細胞の一部がPpy遺伝子発現を経て分化することを見出した。本研究では、マウス遺伝学的手法により更なる研究ツールを複数作製し、より詳細な細胞性状解析を目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では、細胞の性状解析における下記の3系統のノックインマウスを新たに作製し、それぞれを用いて目的に従った解析を行った(図1)。



### 3. 研究の方法 (つづき)

1. Ppy 遺伝子を発現する細胞からの各種内分泌細胞の分化時期を特定するため、Ppy 遺伝子座に Cre tamoxifen 誘導型 Cre を P 挿入したマウス (Ppy-CreERT2) を作製し、各生育段階で活性誘導を行い、各内分泌細胞のマーカーを用いてそれぞれ運命追跡を行った。
2. Ppy 遺伝子座に蛍光蛋白の遺伝子を挿入した (Ppy-Clover) を作製し、このマウスのラ氏島より単離した Ppy 発現細胞をもちいて PP 分泌のメカニズムを解析した。
3. Ppy 遺伝子座にジフテリア毒素 A の遺伝子を挿入したマウス (Ppy-DTA) を作製し、細胞種特異的に死滅させた際の生理的影響について解析した。

### 4. 研究成果

PpyCreER マウスを用いた細胞運命追跡から、Ppy 発現細胞からβ細胞に分化する割合は出生後の早い時期でより高いことが明らかになり、細胞の一部は、器官形成や器官成熟の過程で Ppy の発現を経て分化すると考えられた (図 2)。これらの結果から、出生前の胎児期における細胞分化の過程での Ppy の発現に興味を持たれたが、胎児膵臓における Ppy の発現は弱いため、同様の系での解析は困難であった。そこで今後さらに効率的な Cre 誘導系を確立し、今後出生前などより早期での Ppy 発現細胞の役割解明を目指す。

PpyClover マウスは成熟マウスの細胞に選択的に蛍光蛋白質を発現することが確認され、ラ氏島からの本細胞種の分離が容易に可能になった。これら細胞を用いて様々なシグナル因子による分泌誘導実験により、その制御メカニズムの一端を明らかにした (Saito et al PLoSOne 2022)。

Ppy-DTA マウスの解析では PP 陽性の細胞が死滅するものの、マウスの生育状態に主だった影響はなく、体重変動や血糖調節などに於ける以上は見つからなかった。このため、定常状態における本細胞種の役割は未だはっきりしないが、現在まで不明であった細胞の機能や分化系譜の詳細な役割を解明すべく、マウス遺伝学的手法を基盤としたさらなる解析を進めていく。

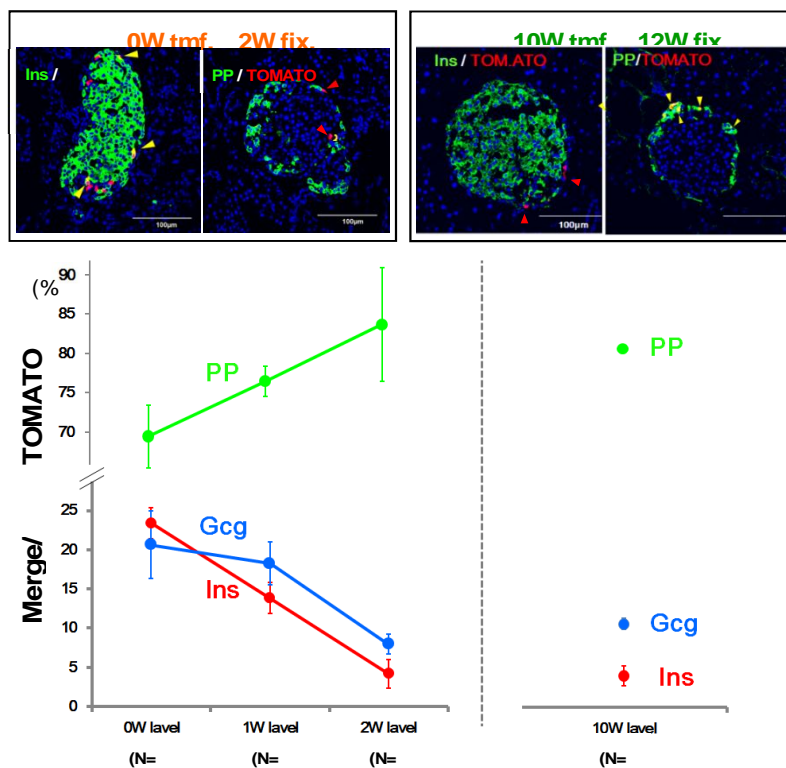


図 2 PpyCreER マウスを用いた時期特異的細胞運命追跡

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Harada Naoki, Minami Yukari, Hanada Kazuki, Hanaoka Ryo, Kobayashi Yasuyuki, Izawa Takeshi, Sato Takashi, Kato Shigeaki, Inui Hiroshi, Yamaji Ryoichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Relationship between gut environment, feces-to-food ratio, and androgen deficiency-induced metabolic disorders	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gut Microbes	6. 最初と最後の頁 1817719 ~ 1817719
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/19490976.2020.1817719	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Harada N, Hanada Ki, Minami Y, Kitakaze T, Ogata Y, Tokumoto H, Sato T, Kato S, Inui H, Yamaji R	4. 巻 318
2. 論文標題 Role of gut microbiota in sex- and diet-dependent metabolic disorders that lead to early mortality of androgen receptor-deficient male mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E525 ~ E537
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpendo.00461.2019	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kunii M, Noguchi Y, Yoshimura S, Kanda S, Iwano T, Avriyanti E, Atik N, Sato T, Sato K, Ogawa M, Harada A	4. 巻 220
2. 論文標題 SNAP23 deficiency causes severe brain dysplasia through the loss of radial glial cell polarity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Cell Biology	6. 最初と最後の頁 e201910080
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1083/jcb.201910080	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Harada Naoki, Hanada Kazuki, Minami Yukari, Kitakaze Tomoya, Ogata Yoshiyuki, Tokumoto Hayato, Sato Takashi, Kato Shigeaki, Inui Hiroshi, Yamaji Ryoichi	4. 巻 318
2. 論文標題 Role of gut microbiota in sex- and diet-dependent metabolic disorders that lead to early mortality of androgen receptor-deficient male mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism	6. 最初と最後の頁 E525 ~ E537
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1152/ajpendo.00461.2019	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Munezane Haruka, Oizumi Hiroaki, Wakabayashi Tomoko, Nishio Shu, Hirasawa Tomoko, Sato Takashi, Harada Akihiro, Yoshida Tomoyuki, Eguchi Takahiro, Yamanashi Yuji, Hashimoto Tadafumi, Iwatsubo Takeshi	4. 巻 29
2. 論文標題 Roles of Collagen XXV and Its Putative Receptors PTP / in Intramuscular Motor Innervation and Congenital Cranial Dysinnervation Disorder	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 4362 ~ 4376.e6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2019.11.112	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 佐藤 隆史 深石 貴大 中川 祐子 福中 彩子 松岡 孝昭 原 朱美 宮塚 健 綿田 裕孝 藤谷 与士夫
2. 発表標題 膵内分泌組織の形成過程におけるPpy発現細胞の役割
3. 学会等名 日本解剖学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 隆史 深石 貴大 中川 祐子 福中 彩子 松岡 孝昭 原 朱美 宮塚 健 綿田 裕孝 藤谷 与士夫
2. 発表標題 マウス遺伝学的手法による膵内分泌細胞の新規分化系譜の解析
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------