

1

特集 糖尿病領域における再生医療の現状と展望

膵発生の分子機構

藤谷与士夫

順天堂大学大学院 医学研究科 代謝内分泌内科学

膵形成はPdx1陽性原始腸管からPdx1/Ptfla共陽性内胚葉上皮細胞が発芽し、腹側・背側膵原基が形成されることに始まる。その後、さまざまな転写因子群が織りなすネットワークや誘導シグナルの働きにより各フェーズにおいて、前駆細胞の増殖と細胞分化の調節が繰り返され、最終的に膵臓という一つの複雑な臓器を作り上げる。現在は、その大まかな設計図が明らかにされた段階といえよう。また、胎生期膵発生機構の解明に用いられた実験手法やコンセプトを成体マウスに応用することにより、成体組織における特定の分子の機能や組織の恒常性維持機構の解明が進められており、その先には、成体膵の機能や病態、組織障害後の再生に関するメカニズムの解明とその臨床応用に結びつくことが期待される。

はじめに

膵発生に関する基礎研究は、器官形成を研究するひとつのモデルシステムとして多くの研究者を魅了してきたとともに、糖尿病や癌などの病気の成因や治療に関する新知見をもたらす点で、臨床医学の面からもきわめて重要な研究課題といえる。一方、糖尿病は膵β細胞からのインスリン分泌が絶対的あるいは相対的に低下することにより、血糖値の恒常性が維持できなくなる疾患である。糖尿病において認められるインスリン分泌の低下は、膵β細胞機能の質の低下とともに、膵β細胞容積量の低下にも規定されると考えられる。よって、糖尿病の根治を可能にするためには、失われた膵β細胞機能、β細胞量を補正することが必要となる。現在、iPS細胞や組織幹細胞などの非β細胞を標的として、分化誘導により代替β細胞を生み出す再生医療が注目されているが、その背景には発生生物学の進歩を基盤とした膵β細胞の発生・分化の仕組みの理解が近年著しく進んだことがある。本稿では膵発生のメカニズムについてその概要を紹介する。

膵芽の発生

マウスにおいて、膵原器形成は胎生9.5日(E9.5)頃に、前腸の背側に内胚葉上皮細胞が外重積(evagination)することにより始まる。やや遅れて、胎生10.0日頃には前腸の腹側にも背側膵と総胆管の原器となる腹側膵芽の出現を認める。この時期にはevaginationが明確になるに先立ってPdx1の発現が認められることより、Pdx1の活性化が膵への分化への第一歩として重要と考えられる。実際Pdx1欠損マウスではevaginationは認められるものの、その後の膵芽の発育が途絶し結果として肉眼的に膵は欠損する¹⁾。このことはPdx1の機能はもっとも未熟な膵前駆細胞の増殖・分化に必須であることを意味する。しかしながら、Pdx1は将来膵の上皮細胞になる予定領域のみならず、十二指腸の近位部、胃の幽門前庭部、肝外総胆管の予定領域にも発現を認める。Pdx1発現領域をさらに限定的に膵臓に分化させているのが転写因子Ptflaである。Amylaseの転写活性化に関わることから当初、膵外分泌に特異的に発現すると考えられたPtflaであるが、そ

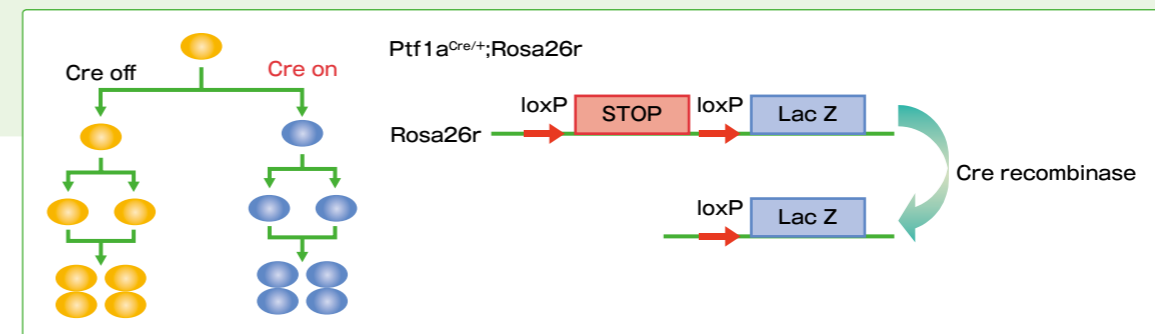


図1 Ptfla^{Cre/+}; Rosa26rを用いたgenetic lineage tracingの仕組み(文献26改変)

Ptflaを発現した細胞では、Rosa26r locusにおいてCre recombinaseによる組み替えによりLacZが発現し、それが子孫細胞に受け継がれるため、Ptflaを発現した細胞とその子孫細胞の全てをLacZで標識して、その運命を解析することが可能である。



図2 Ptfla^{Cre}を用いたgenetic lineage tracingの成績(文献2改変)

A, B: Ptfla-cre R26R wildtype control. C, D: Ptfla^{Cre/Cre} R26R, Ptfla homozygous null mutant. Ptfla機能が正常であるとPtflaを活性化した細胞は膵臓のすべての組織に分化する(A, B)。一方、Ptfla機能が欠失した状態では、本来膵臓に分化する予定の細胞は、十二指腸の細胞として分化する。A, C: ventral view, C, D: dorsal view. 図の矢印は腹側膵芽由来の膵遺残物を示す。

の後、膵のすべての細胞分化に関与することが明らかとなった。すなわち、KawaguchiらのPtfla-Creノックインマウスを用いたgenetic lineage tracing(細胞系譜追跡実験)(図1)によると、前腸内胚葉領域ではPtflaは胎生10.5日においてふたつの膵芽においてのみ発現を認め、Ptfla遺伝子を活性化した細胞はその後、外分泌、内分泌そして導管細胞を含む膵上皮由来のすべての細胞系譜へと分化することが明らかにされた(図2)。また、Ptfla遺伝子を活性化して膵細胞に分化する予定であった細胞集団は、Ptflaを不活性化すると十二指腸のcryptを含むすべての種類の細胞に分化した(図2)。以上の結果から、Pdx1発現領域にPtflaが発現することが、十二指腸の未分化幹細胞が膵の前駆細胞としての運命を獲得する上で重要であると考えられる(図3-A)²⁾。

膵芽の発生を調節する因子

マウス胎生9.5日頃には膵原基が位置する前腸は三つの血管(背側で1つの動脈、腹側で2つの静脈)と接するようになるが、その位置にPdx1の発現、膵芽の形成およびインスリン遺伝子の発現を認めることをLammertらは報告している³⁾。アフリカツメガエルの系で血管を除去しておく、それに接する膵原基におけるインスリン発現が消失することなどから、血管内皮由来のなんらかのシグナルが膵臓の誘導に関与することを強く示唆する³⁾。Zaretらは血管内皮細胞を欠失するflk1(VEGF受容体)欠損マウスを用いた解析により、前腸の背側に位置する動脈が背側膵芽の維持と発育に重要であることを報告した。興味深いことに、背側膵芽のPdx1陽性細胞の最初の誘導には血管内