

3

特集 iPS細胞と糖尿病治療への応用

膵島内分泌細胞への分化と転写因子

藤谷与士夫, 綿田裕孝

順天堂大学 内科学・代謝内分泌学 准教授

終末分化した体細胞に、Oct3/4, Sox2, Klf4, cMycというわずか4つの遺伝子をレトロウイルスベクターを用いて導入することで、ES細胞と比べても遜色のない多能性の幹細胞にまでreprogrammingしえたという山中伸弥博士らの研究成果は現在においても驚きに値する。最近では、ウイルスベクターを用いず、細胞膜を貫通可能なリコンビナントの転写因子蛋白質を利用してiPS細胞を誘導する方法も考案されており、iPS細胞の臨床への応用がさらに一步加速された感がある。膵β細胞分化誘導の分子メカニズムが明らかにされれば、患者由来のiPS細胞を源にして機能的β細胞を誘導することで、真に効果のある細胞治療が近い将来行われる可能性がある。本稿では、膵内分泌細胞の分化メカニズムについて転写因子機能の視点から、最新の知見も交えつつ概論したい。

膵前駆細胞形成とPdx1

マウスにおいて、膵原器形成は胎生8.75日 (E8.75) ころに、前腸の背側と腹側にそれぞれ内胚葉上皮細胞が外重積 (evagination) することではじまる。この時期には膵芽の形成に先立って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 (図1)。Pdx1ノックアウトマウスでは膵芽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の機能は最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。加えて、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。実際、Pdx1ノックアウトマウスでは胃と十二指腸の接合部の形態異常、胃のガストリン産生 (G) 細胞と十二指腸のGIP産生細胞の完全欠失を伴う²⁾。それではこのような内胚葉において比較的広範囲なPdx1陽性領域をさらに膵の上皮細胞へと規定する分子はなにか？

Ptf1aと膵前駆細胞の運命決定

Ptf1a/p48はもともと成熟膵の外分泌細胞に特異的に発現する遺伝子、elastase Iなどの外分泌酵素遺伝子のプロモーター領域に結合する複合体因子Ptf1を構成する3つのサブユニットのうちのひとつとして同定された、

略語解説

Pdx1: pancreas duodenal homeobox gene 1 / Ptf1: pancreas transcription factor 1 / PC1/3: prohormone convertase 1/3 / NK2-SD: NK2-specific domain / IA-1: Insulinoma-associated antigen 1 / MODY: maturity onset diabetes of the young

bHLH型の転写因子である。Ptf1a 遺伝子ノックアウトマウスの膵においては、外分泌組織は完全欠失し、肉眼的には膵欠損を呈する。組織学的には膵内分泌細胞は産生されるが、成熟した膵島構造を形成せず、導管様形態を呈する膵の遺残物内に内分泌細胞塊として認められる³⁾。これらより、Ptf1aは膵外分泌の前駆細胞に発現し、膵外分泌細胞を規定する因子としてしばらくは位置づけられていた。Kawaguchiらはlineage tracingを行い、Ptf1aは膵外分泌の前駆細胞に発現するのではなく、膵の外分泌、内分泌および導管のすべての前駆細胞において発現する遺伝子であることを示した⁴⁾。さらにPtf1aノックアウトマウスでは、本来Ptf1aを発現してその後、膵へと分化すべき細胞が、十二指腸の幹細胞(crypt)を含む複数の十二指腸の細胞へと分化転換していた。このことはPdx1陽性の膵・十二指腸・肝外総胆管に共通した前駆細胞に、さらにPtf1aが発現することで、膵前駆細胞としての運命を賦与しているものと推察された(図2)。これらの実験結果より、Pdx1, Ptf1a共陽性細胞が膵の運命を獲得した最も未熟な前駆細胞(膵前駆細胞)と考えられる(図3)。

E9.5以降、膵芽は間質細胞に取り囲まれ、枝分かれしながら増殖・分化する。最近のlineage tracingを用いた解析では、E12の膵芽の分葉構造の先端部(tip)に位置するPdx1, Ptf1a, cMyc, carboxypeptidase A (CPA)陽性の細胞が、内分泌、外分泌および導管を生み出す、膵の多能性の前駆細胞であるという報告がなされている⁵⁾。そのような細胞がどのようにして内分泌細胞への運命決定がなされるのかはよくわかっていないが、最近Ptf1a変異ゼブラフィッシュを用いた実験において、Ptf1aは内分泌系への分化を抑制しており、膵前駆細胞のなかでもPtf1aの発現量が相対的に少ない細胞が優先的に内分泌細胞へと分化していくことが推察されている⁶⁾(図2)。

未分化膵前駆細胞から内分泌細胞への分化を司るNgn3

膵前駆細胞が内分泌細胞へとあゆみはじめると内分

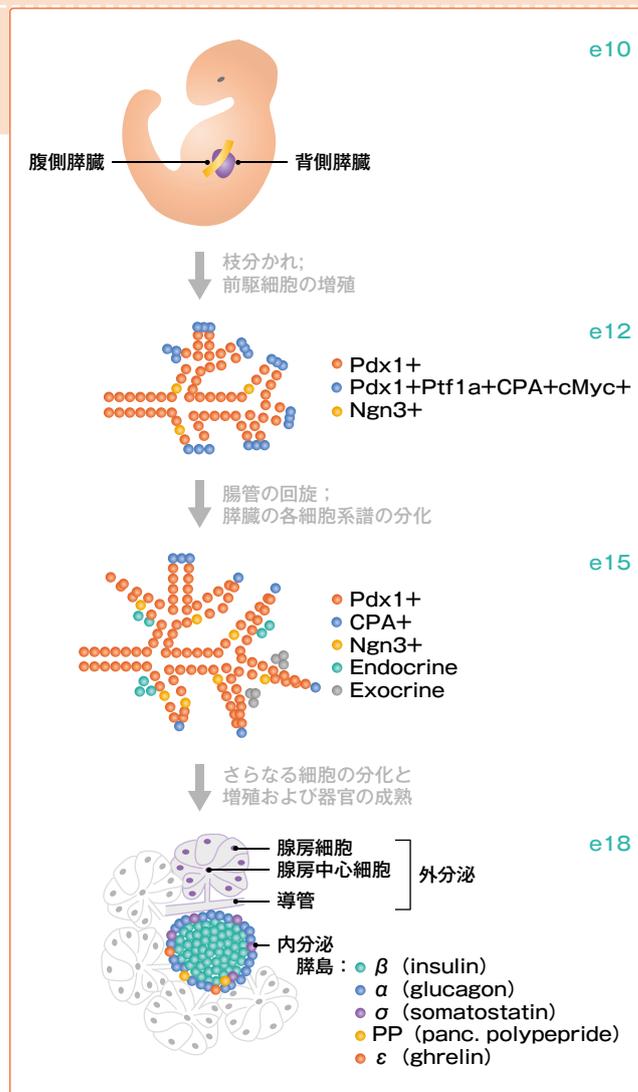


図1 マウスの膵器官形成の概略

膵発生初期に2つの膵芽を構成する前駆細胞集団はその後、増殖と分葉を繰り返しながら、各細胞に分化していく。E12.5の膵芽の分枝のtipに存在するPdx1+Ptf1a+CPA+cMyc+細胞はlineage tracingの結果、内分泌、外分泌、導管のすべてを生み出す多能幹細胞であることが示された。内分泌細胞前駆細胞においてNgn3を一過性に発現する。(文献37改変)

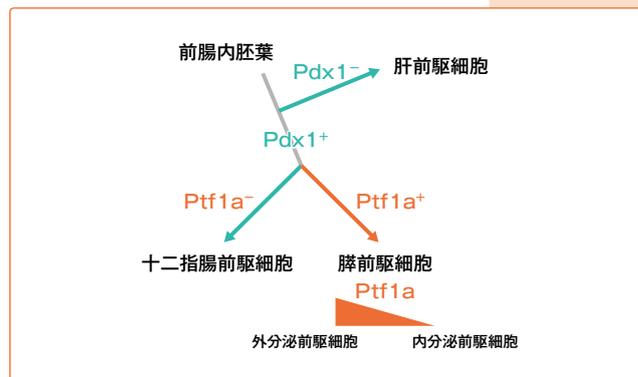


図2 前腸内胚葉の未分化前駆細胞の増殖分化におけるPdx1とPtf1a遺伝子の役割

未分化内胚葉組織において、Pdx1発現細胞が膵、十二指腸および総胆管の前駆細胞へと分化していく。このうち、Ptf1aを共発現した細胞が膵としての運命を獲得する。さらに膵前駆細胞のなかで、Ptf1aの発現量の少ない細胞から優先的に内分泌細胞としての運命決定をうける。