

平成25年 2月

# 安永茉由 学位論文審査要旨

主 査 岡 田 太  
副主査 押 村 光 雄  
同 佐 藤 建 三

## 主論文

Establishment and characterization of a transgenic mouse model for in vivo imaging of Bmp4 expression in the pancreas

(膵臓Bmp4発現のin vivoイメージングの為のトランスジェニックマウスモデルの作製と解析)

(著者：安永茉由、近江奈央、尾崎充彦、香月康宏、中西友子、押村光雄、佐藤建三)

平成23年 PLoS ONE 6巻 e24956

# 学位論文要旨

Establishment and characterization of a transgenic mouse model for *in vivo* imaging of Bmp4 expression in the pancreas

(膵臓Bmp4発現の*in vivo*イメージングの為にトランスジェニックマウスモデルの作製と解析)

Ⅱ型糖尿病は、インスリン抵抗性に加え、インスリンの分泌不全により発症する。膵臓のβ細胞において、骨形成因子の1つであるBone morphogenetic protein 4 (Bmp4) シグナルは、インスリンの産生、分泌に必須であることが近年報告された。また、Bmp4シグナルは、膵臓の内分泌前駆細胞の分化を抑制し、増殖を促進することも報告されており、β細胞による生体の恒常性維持において重要な役割を果たしている。しかしその一方で、全身でのBmp4の遺伝子発現動態の詳細については不明である。本研究では、生体マウスでのBmp4遺伝子の発現および機能解析を目的に、Bmp4の発現をリアルタイムにモニターできるトランスジェニック (TG) マウスを作製し、*in vivo*発光イメージング技術を用い、全身でのBmp4の発現解析を行った。さらに膵臓での発現動態に着目し、膵臓での恒常性維持に関わる機能解析を行った。

## 方法

Bmp4の発現をモニターするためのTGマウスは、マウスBmp4遺伝子発現制御領域の制御下で、レポーター遺伝子であるルシフェラーゼ (Luc) を発現するBmp4-Luc発現ユニットを構築し、マウス受精卵雄性前核内注入により作製した。このTGマウスに、イソフルラン麻酔下でルシフェリン基質を投与後、Xenogen IVISイメージングシステムを用いて、Bmp4の発現による発光を検出、定量化した。

## 結果

Bmp4の発現をモニターするために、マウスのBmp4発現制御領域下でルシフェラーゼ遺伝子を発現するBmp4-Luc発現ユニットを構築した。このBmp4-Luc発現ユニットの基本性能を各種培養細胞で確認した後、Bmp4-Luc TGマウスを作製した。作製したTGマウスを用いて*in vivo*発光イメージング解析を行った結果、膵臓で強く発光することを見出した。ウェスタン解析により組織間でのBmp4タンパク質の発現量を比較したところ、膵臓でその発現が高

いことが確認できた。また、免疫組織化学の結果、膵 $\beta$ 細胞の局在の多い膵島において、その発現を確認できた。さらに、絶食による低栄養時に、膵臓での発光が増強されることを新たに見出した。同様に、膵臓由来の培養細胞でも、低栄養によるオートファジー誘導時において、Bmp4遺伝子・タンパク質の発現上昇を確認できた。

## 考 察

Bmp4の発現をモニターするために、非翻訳領域を含む転写開始点上流約7 kbのマウスBmp4発現制御領域を用いたところ、膵臓での発現に加え、低栄養時における応答反応に関わる発現誘導がモニターできた。これより本研究で用いた発現制御領域は、膵臓における発現誘導の制御に関わる領域を含む可能性が示唆された。

さらに本研究では、絶食による低栄養時に、膵臓においてBmp4の発現が誘導されることを新たに見出し、同時期にオートファジーも誘導されていることを確認した。オートファジーは、膵臓での恒常性維持機構に重要な役割を果たすことが知られており、両シグナル経路の関連の可能性を示唆した。

## 結 論

Bmp4の発現パターンを生体レベルでリアルタイムに解析できるシステムの構築に成功し、生体マウスでは、各臓器と比べて膵臓でのBmp4の発現量が高いことを明らかにした。また、膵臓におけるBmp4の発現が、オートファジーを含む恒常性維持に関わる応答と関連する可能性を見出した。今後、生体における膵臓でのBmp4の応答機構や膵疾患との関連性を明らかにすることで、Bmp4-Luc TGマウスは、膵疾患に対するBmp4の発現動態を標的とした薬剤スクリーニングのツールとしての有用性も期待される。