

【目的】 生物においては、臓器傷害などの個体の状況の変化に応じて、それを修復するため、あるいはその状況に適応するために実質細胞の増殖を促進する機構が存在する。本研究では、この状況に応じた細胞増殖を、神経シグナルが制御するメカニズムを解明することが目的である。

【方法】 1. 膵臓に分布する迷走神経を選択的に活性化するマウスの解析：迷走神経を活性化することが膵β細胞や肝細胞の増殖において十分条件であるかは明らかでない。また、生体リズムとの関連を含め、どのタイミングでの迷走神経刺激が効果的に膵β細胞の増殖を惹起するかなど、全く不明である。そこで、光遺伝学的手法で迷走神経遠心路を選択的に刺激する手法を想起し、それを用いて膵β細胞や肝細胞増殖を引き起こすか否かを検討した。cholinergic neuron で選択的に Cre リコンビナーゼを発現する ChAT-Cre マウスと、Cre リコンビナーゼにより誘導され、CAG プロモーター下で高活性化タンパクである ChR2 を発現するマウスを交配することにより、acetylcholine 作動性神経特異的 ChR2 発現マウスの樹立に成功した (ChAT-ChR2 マウス)。このマウスを用いて膵へ投射する迷走神経を選択的、安定的かつ持続的に刺激した際の膵β細胞増殖を観察した。2. 生きた状態で細胞増殖をモニターするマウスを用いた迷走神経活性化による細胞増殖の経時的観察：血中のルシフェラーゼ活性を定量することにより同一個体において膵β細胞や肝細胞の増殖をモニターできるマウスを作製した。このマウスで、肝臓-膵β細胞間神経ネットワーク経路を刺激した際の膵β細胞の増殖を経時的に観察した。

【結果】 1. 膵臓に分布する迷走神経を選択的に活性化するマウスの解析：ChAT-ChR2 マウスを用いて、横隔膜下迷走神経を特異的に光刺激するために、光ファイバー留置手術を開発した。この方法によって膵臓に分布する線維を含む迷走神経を 2 週間にわたって刺激したところ、膵島内 BrdU 陽性細胞が対照マウスに比較して有意に増加した。このことから、持続的な迷走神経刺激によって膵β細胞増殖が誘導されることが明らかになった。さらにこのマウスにおいて 2 週間迷走神経刺激を行い、膵β細胞量を観察したところ、膵β細胞量は有意に増加した (下図)。2. 生きた状態で細胞増殖をモニターするマウスを用いた迷走神経活性化による細胞増殖の経時的観察：血中のルシフェラーゼ活性を測定することで、肝臓の増殖をモニターできるマウス (肝細胞増殖モニターマウス) において、肝臓部分切除を行った。このマウスで経時的に血中ルシフェラーゼ活性を測定したところ、組織学的な肝細胞増殖所見とほぼ一致して血中でのルシフェラーゼ活性の著明な増加が認められた。一方、膵β細胞増殖モニターマウスにおいて、肝臓への遺伝子導入によって肝臓-膵β細胞間神経ネットワーク経路を刺激した。このマウスで経時的に血中ルシフェラーゼ活性を測定したところ、組織学的な膵β細胞増殖所見とほぼ一致して血中でのルシフェラーゼ活性が著明に増加した。

遺伝学的手法による膵臓迷走神経特異的の刺激による膵β細胞量増加

