

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit sollten Gene identifiziert werden, die bei der Entwicklung der Insulin produzierenden β -Zellen des Pankreas eine Rolle spielen. In vorhergehenden Studien konnte durch gezielte Mutation in Mäusen der Homöodomänen-Transkriptionsfaktor Nkx6.1 als essentiell für die Entwicklung der β -Zellen identifiziert werden. Nkx6.1 wirkt als transkriptioneller Repressor, die Zielgene von Nkx6.1 während der β -Zelldifferenzierung sind jedoch unbekannt. Um die Funktion von Nkx6.1 für die Entwicklung der β -Zellen besser verstehen zu können, sollten im Rahmen dieser Arbeit Faktoren identifiziert werden, welche an der Regulation der β -Zellentwicklung stromabwärts von Nkx6.1 beteiligt sind.

Zunächst wurde eine Gen-Chip-Analyse durchgeführt, mittels derer die RNS-Expressionsprofile im Pankreas von Wildtyp und Nkx6.1-mutanten Mäusen am Embryonaltag (E) 13.5 erstellt und miteinander verglichen wurden. Hierdurch sollten Gene identifiziert werden, die zu Beginn der β -Zellentwicklung in Wildtyp und Nkx6.1-Mutanten differenziell exprimiert werden. Dabei zeigte sich, dass der zu Nkx6.1 homologe Transkriptionsfaktor Nkx6.2 im Pankreas Nkx6.1-mutanter Mäuse induziert vorlag. Dieses Ergebnis deutete an, dass Nkx6.2 während der Pankreasentwicklung durch Nkx6.1 reprimiert wird. Da das Expressionsmuster von Nkx6.2 im Pankreas der Maus vor Beginn dieser Studie noch nicht untersucht worden war, wurden im Folgenden mit Hilfe spezifischer Antikörper immunhistochemische Untersuchungen auf embryonalem Pankreasgewebe von Wildtyp-Mäusen durchgeführt. Während Nkx6.1 in endokrinen Vorläufern und β -Zellen nachweisbar ist, zeigten die Untersuchungen, dass Nkx6.2 im Wildtyp in einigen Glukagon produzierenden α -Zellen und exokrinen Zellen exprimiert wird. Im Einklang mit diesen Befunden zeigte der direkte Vergleich der Expression von Nkx6.1 und Nkx6.2 im embryonalen Pankreas, dass die beiden Transkriptionsfaktoren in der frühen Pankreasknospe koexprimiert werden, zu späteren Entwicklungsstadien aber überwiegend komplementäre Expressionsdomänen aufweisen. Um die Ergebnisse der Gen-Chip-Analyse auf Ebene der Proteinexpression zu verifizieren, wurde im Folgenden die Expression von Nkx6.2 auf Schnitten durch die Pankreasanlage von Wildtyp und

Nkx6.1-mutanten Mäusen mit einem Anti-Nkx6.2 Antikörper untersucht. Hierbei zeigte sich, dass mit Beginn der endokrinen Differenzierung die Anzahl Nkx6.2 exprimierender Zellen in der Pankreasanlage der Nkx6.1-Mutanten gegenüber dem Wildtyp erhöht war. Dies deutete darauf hin, dass ektopisch exprimiertes Nkx6.2 in diesen Mutanten den Verlust von Nkx6.1 teilweise kompensieren könnte. Um dies direkt zu testen, wurden im Rahmen dieser Arbeit Nkx6.1/Nkx6.2-doppelt mutante Mäuse hergestellt. Anschließend wurde die pankreatische Differenzierung der Nkx6.1/Nkx6.2-Doppelmutanten im Vergleich zu Nkx6.1- und Nkx6.2-Einfachmutanten untersucht. Im Gegensatz zu Nkx6.1-Einfachmutanten, die eine Reduktion der β -Zellen aufweisen, entwickelt sich der Pankreas bei Nkx6.2-Mutanten komplett normal. Im Gegensatz dazu wiesen die Nkx6.1/Nkx6.2-Doppelmutanten Defekte auf, die bei keiner der beiden Einfachmutanten nachweisbar waren. Es konnte eine Reduktion der α -Zellen, sowie im Vergleich zu Nkx6.1-Einfachmutanten eine weitere Reduktion der β -Zellen festgestellt werden. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der frühen Vorläuferzellen, aus denen sich alle vier endokrinen Zelltypen entwickeln, in den Nkx6.1/Nkx6.2-doppelt mutanten Mäusen unverändert ist. Diese Ergebnisse zeigen, dass Nkx6.1 und Nkx6.2 teilweise redundante Funktionen für die Differenzierung der α - und β -Zellen des Pankreas besitzen. Die Redundanz beruht dabei auf einer Derepression von Nkx6.2 in Abwesenheit von Nkx6.1. Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit, dass für die Differenzierung von sowohl α - als auch β -Zellen aus endokrinen Vorläuferzellen Nkx6-Aktivität benötigt wird.