

1 Einleitung

Das endokrine System koordiniert und kontrolliert die Homöostase des Organismus. Die Zellen des endokrinen Systems schütten dazu chemische Botenstoffe aus, die zelluläre Funktionen in entfernten Zielgeweben regulieren. Die Synthese und die Sekretion dieser Botenstoffe, der Hormone, unterliegen der Kontrolle hormoneller Regelkreise und neuronaler Stimuli. Die Zellen des endokrinen Systems entstammen allen drei Keimblättern und finden sich verstreut, in Zellgruppen oder in Drüsenorganen im gesamten Organismus. Sie finden sich zum Beispiel in Pankreas und Darm, in der Hypophyse, der Schilddrüse, dem Thymus und den Nebennieren.

1.1 Diabetes mellitus

Ende des 18. Jahrhunderts wurde Diabetes mellitus erstmals auf eine Fehlfunktion des Pankreas zurückgeführt. Die Entwicklung und Funktion des Pankreas werden deshalb seitdem intensiv erforscht. Die Pathogenese von Diabetes mellitus fußt auf Defekten in der Regulation des Blutzuckerspiegels und damit der Energiebalance des Körpers (Bell and Polonsky, 2001). Symptomatisch für Diabetes mellitus ist Hyperglykämie, hervorgerufen durch einen Mangel des Peptidhormons Insulin oder einer verminderten Sensitivität von Zielzellen für das Hormonsignal. Insulin wird von den β -Zellen des endokrinen Pankreas sezerniert. Es reguliert die Glukosehomöostase, indem es die Glukoseaufnahme und -speicherung von Zellen steuert.

Man unterscheidet Insulin-abhängigen Diabetes (Typ 1) und Insulin-unabhängigen Diabetes (Typ 2) (Bell and Polonsky, 2001; Fajans et al., 2001). Typ 1 ist gekennzeichnet durch einen Mangel an Insulin, hervorgerufen von der Zerstörung der β -Zellen durch eine Autoimmunreaktion. Beim Typ 2 ist die Glukoseaufnahme von Muskel-, Fett- und Leberzellen aufgrund einer Insulinresistenz vermindert und zusätzlich können ausgleichende Mechanismen, die die Insulinsekretion erhöhen, die Glukosehomöostase nicht aufrechterhalten. Eine Form von Diabetes Typ 2, der Diabetes bei Heranwachsenden (Maturity-onset diabetes of the young, MODY), entsteht durch Genmutationen. Die Mutationen werden dabei autosomal-dominant vererbt und verursachen einen primären Defekt der β -Zellentwicklung oder der Funktion der β -Zellen. Mutationen in den Genen *HNF-4 α* , *GCK*, *HNF-1 α* , *PDX1*, *HNF-1 β* und *NeuroD1* verursachen MODY Typ 1-6. Genetische Analysen im Menschen und Modellorganismen haben gezeigt, dass diese Gene

für die Entwicklung des endokrinen Pankreas notwendig sind. Sie sind Teil eines Netzwerks von Faktoren, das die Morphogenese und die Differenzierung steuert. Die Entwicklung der endokrinen Zellen ist jedoch immer noch nicht vollständig verstanden. Es ist also wahrscheinlich, dass sich mittels gezielter Mutationen in Mausgenen weitere Faktoren finden lassen, die die Differenzierung der endokrinen Zellen des Pankreas kontrollieren.

1.2 Das endokrine Pankreas

Das adulte Pankreas besteht aus drei verschiedenen Zelltypen, den exokrinen Azinuszellen, den Zellen der Ausführungsgänge und den endokrinen Inselzellen (Abb. 1A, Edlund, 2002; Prado et al., 2004; Slack, 1995). Die Azinuszellen sezernieren Verdauungsenzyme wie Proteasen, Amylasen, Lipasen und Nukleasen. Die Ausführungsgänge transportieren die Verdauungsenzyme und Bikarbonate ins Duodenum. Es gibt vier endokrine Zelltypen, die Peptidhormone ausschütten. Die α -, β -, δ - und PP-Zellen produzieren und sezernieren Glukagon, Insulin, Somatostatin bzw. Pankreatisches Polypeptid (PP). Vor kurzem wurden Ghrelin-produzierende ϵ -Zellen als fünfter endokriner Zelltyp identifiziert. Die endokrinen Zellen des Pankreas sind in den Langerhans'schen Inseln gruppiert, die verstreut ins exokrine Pankreas eingebettet sind. Die β -Zellen sind in der Maus im Zentrum der Insel, die anderen Zelltypen in der Peripherie zu finden. 60-80 % der Inselzellen sind β -Zellen, 15-20 % α -Zellen, 5-10 % δ -Zellen und weniger als 2 % PP-Zellen.

Die Sekretion der Hormone ist abhängig von extrazellulären Stimuli (Edlund, 2002; Slack, 1995). Die β -Zellen messen den Blutzuckerspiegel und setzen Insulin bei hoher Glukosekonzentration, z. B. nach der Nahrungsaufnahme, frei. Daraufhin nehmen Muskel-, Leber- und Fettzellen Glukose auf, und die Glukoneogenese wird inhibiert. Die Sekretion von Glukagon erfolgt bei geringem Blutzuckerspiegel und induziert die Glykogenolyse und die Glukoneogenese. Somatostatin und PP haben einen inhibitorischen Effekt auf die Sekretion der exokrinen und endokrinen Zellen des Pankreas. Ghrelin wird vor allem im Magen produziert und reguliert die Nahrungsaufnahme (Kojima et al., 1999; Tomasetto et al., 2000).

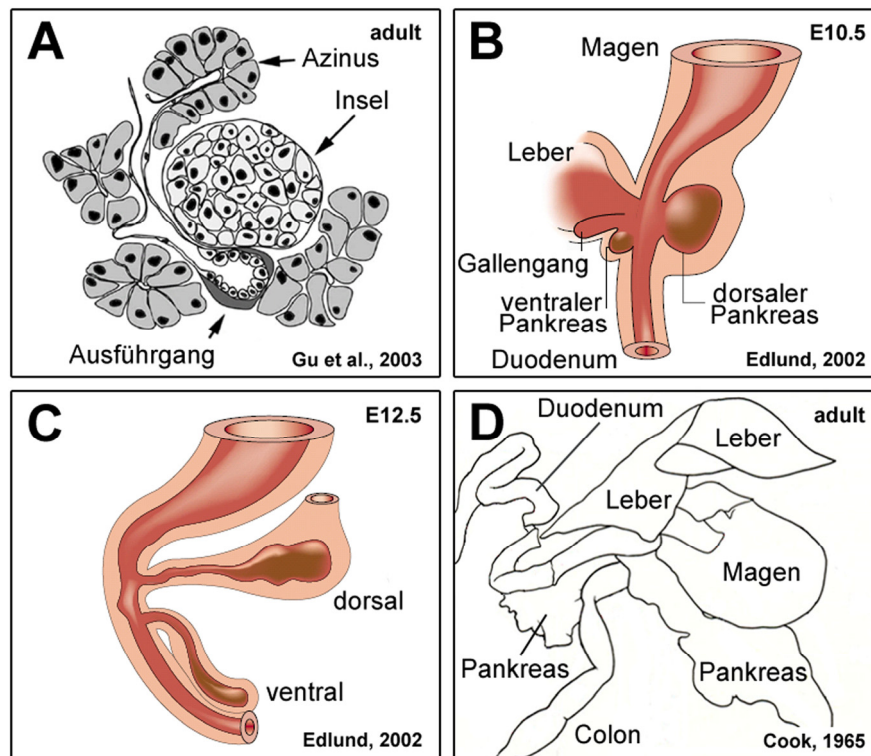


Abb. 1: Pankreatische Zelltypen und Entwicklung des Pankreas. Schematische Darstellung der Zelltypen im reifen Pankreas und der Pankreasentwicklung. (A) Im Pankreas befinden sich exokrine Azinuszellen, Ausführgänge, die von den epithelialen Zellen gebildet werden, und Langerhans'sche Inseln, die die endokrinen Zellen enthalten (aus Gu et al., 2003). (B) Das Pankreasprimordium ist in Mäusen ab Tag 10,5 der Embryonalentwicklung (E10.5) morphologisch erkennbar. Es besteht aus zwei Knospen, die aus dem Darmepithel auswachsen. Die dorsale Pankreasknospe grenzt an das Leberdiverticulum, die ventrale Pankreasknospe befindet sich am Übergang zwischen Magen und Duodenum (aus Edlund, 2002). (C) Die ventrale Pankreasknospe rotiert ab E12.5 und fusioniert mit der dorsalen Pankreasknospe, um ein Organ (D) zu bilden (aus Edlund, 2002). (D) Lage des adulten Pankreas in Relation zu Leber, Magen und Darm (entlehnt von Cook, 1965).

1.3 Die Morphogenese des Pankreas

Die endokrinen und exokrinen Zellen des Pankreas sowie die Zellen der Ausführgänge stammen von endodermalen Vorläuferzellen ab (Grapin-Botton, 2005; Kim and Hebrok, 2001; Slack, 1995; Wells and Melton, 1999). Das definitive Endoderm entsteht während der Gastrulation aus dem Epiblasten und bildet das primitive Darmrohr. Die zweigeteilte Pankreasanlage entsteht aus einer dorsalen (posterior der Magenanlage) und ventralen Region des Vorderdarms (posterior der Leberanlage). Morphogene Wechselwirkungen des Endoderms mit benachbarten mesodermalen und ektodermalen Geweben induzieren die Ausstülpung des Darmepithels und die weitere Organogenese. Die dorsale Anlage benötigt für ihre Bildung Signale vom Notochord, der dorsalen Aorta und dem umgebenden Mesenchym. Die Entwicklung der ventralen Anlage ist von Signalen des umgebenden lateralen Plattenmesoderms abhängig. Die dorsale Pankreasknospe ist morphologisch ab E9, die ventrale Knospe ab E10 erkennbar (Abb. 1B, Habener et al., 2005; Jensen, 2004;

Pictet and Rutter, 1972; Slack, 1995). Während der so genannten ersten Umwandlung des Pankreas (E9-E13) entstehen die ersten endokrinen Zellen. Magen und Duodenum rotieren und erlauben die Fusion der dorsalen und ventralen Knospen (Abb. 1C). In der zweiten Umwandlung (E13-E16) entstehen in einer Welle der Neogenese endokrine Zellen, die später beginnen sich zu gruppieren. Zusätzlich entwickeln sich die azinäre Struktur des exokrinen Pankreas und die epithelialen Ausführungsgänge. Langerhans'schen Inseln sind erst bei der Geburt ausgebildet und entwickeln sich noch in den ersten drei Wochen nach der Geburt weiter.

1.4 Die Entwicklung der Pankreasanlage

Die Anlagen von Thymus, Schilddrüse, Lunge, Leber und Pankreas entwickeln sich im primitiven Darmrohr in einer stereotypen Anordnung von anterior nach posterior (Grapin-Botton, 2005; Wells and Melton, 1999). Die Zellen des definitiven Endoderms aktivieren zuerst Homöobox-Transkriptionsfaktoren der Familie der Hepatocyte nuclear factors (HNF), die das endodermale Programm etablieren und die Musterbildung induzieren. Die Expression spezifischer Transkriptionsfaktoren in den Domänen der Organentwicklung schränkt dann das Entwicklungspotential der pluripotenten endodermalen Zellen ein und initiiert ihre Differenzierung (Tab. 1, Habener et al., 2005; Wilson et al., 2003). Die endodermalen Transkriptionsfaktoren spielen auch eine Rolle in der Differenzierung der endokrinen Pankreaszellen. Genetische Analysen in der Maus zeigten, dass Forkhead box A2 (*Foxa2*) für die Entwicklung des Pankreasprimordiums essentiell ist (Lee et al., 2002b). Zusätzlich wird *Foxa2* für die Differenzierung von α - und β -Zellen und die Glukosehomöostase benötigt (Lee et al., 2005; Lee et al., 2002b; Sund et al., 2001). *Foxa2*, HNF-1 α und HNF6 aktivieren den proendokrinen basic Helix-Loop-Helix- (bHLH-) Transkriptionsfaktor Neurogenin 3 (*Ngn3*) im Pankreasepithel (Jacquemin et al., 2000; Lee et al., 2001b). Der Verlust von HNF-4 α , HNF-1 α oder HNF-1 β in β -Zellen beeinträchtigt die Insulinsekretion, den Glukosesignalweg und die Expression von Transkriptionsfaktoren für die Differenzierung der β -Zellen (Dukes et al., 1998; Gupta et al., 2005; Hagenfeldt-Johansson et al., 2001; Miura et al., 2006; Pontoglio et al., 1998; Shih et al., 2001; Wang et al., 2004b). Im Menschen verursachen Mutationen in den Genen *HNF-4 α* , *HNF-1 α* und *HNF-1 β* MODY 1, 3 und 5 (Horikawa et al., 1997; Yamagata et al., 1996a; Yamagata et al., 1996b).

Tab. 1: Transkriptionsfaktoren, die für die Differenzierung der endokrinen Zellen des Pankreas benötigt werden.

Faktor	Expression im Pankreas	Phänotyp der Nullmutation
Pdx1	E9-13 im Pankreasepithel, E13-adult auf hohem Niveau in β -Zellen	Entwicklung der Pankreasknospen ist blockiert
Isl1	im dorsalen Mesenchym, E9-adult in postmitotischen endokrinen Zellen	Entwicklung der dorsalen Pankreasknospe ist blockiert, ventral keine reifen endokrinen Zellen
HB9	um E9 in der Pankreasanlage, ab E13 in β -Zellen	keine Entwicklung der dorsalen Pankreasknospe, ventral weniger β -Zellen
Ptf1a	ab E9 in der Pankreasanlage, ab E12.5 auf exokrinen Zellen beschränkt	keine Entwicklung der ventralen Pankreasknospe und des exokrinen Pankreas
Hes1	ab E9 in undifferenzierten Zellen des Pankreasepithels	ektopische endokrine Differenzierung, Schwund des Vorläuferpools, hypoplastischer Pankreas
Ngn3	E9-adult in endokrinen Vorläuferzellen	keine endokrinen Vorläufer und differenzierten endokrinen Zellen, perinatal Diabetes
NeuroD1	E9-adult in postmitotischen endokrinen Zellen	weniger endokrine Zellen (vor allem β -Zellen) durch Apoptose, perinatal Diabetes
Pax4	E9-neonatal in differenzierenden endokrinen Zellen	fast keine β - und δ -Zellen, mehr α -Zellen, perinatal Diabetes
Arx	E9-13 im Pankreasepithel, ab E13 in differenzierenden endokrinen Zellen	fast keine α -Zellen, mehr β - und δ -Zellen, perinatal Hypoglykämie und Dehydrierung
Nkx2.2	E9-12 im Pankreasepithel, ab E12-adult in α -, β - und PP-Zellen	keine Insulin ⁺ , weniger Glukagon ⁺ und PP ⁺ Zellen, Ghrelin wird in β -Zellvorläufern ausgeprägt, perinatal Diabetes
Nkx6.1	E9-12 im Pankreasepithel, ab E12-adult in β -Zellen	fast keine β -Zellen
Pax6	E9-adult in differenzierenden und reifen endokrinen Zellen	weniger α -, β - und δ -Zellen, perinatal Diabetes
MafA	E13-adult in β -Zellen	adulte Diabetes
MafB	ab E10.5 in Glukagon ⁺ und Insulin ⁺ Zellen, postnatal in α -Zellen	

Pancreas duodenum homeobox-1 (Pdx1) wird anfangs im Pankreasepithel und im angrenzenden Endoderm exprimiert (Gu et al., 2002; Guz et al., 1995; Herrera, 2000; Offield et al., 1996). Die Analyse der Zellschicksale zeigte, dass alle endokrinen und exokrinen Zellen sowie die Zellen der Ausführungsgänge von epithelialen Pdx1⁺ Vorläuferzellen abstammen. Zu Beginn der zweiten Umwandlung nimmt die Expression von Pdx1 im Pankreasepithel ab und in den differenzierenden β -Zellen deutlich zu. Die Analyse von *Pdx1*-mutanten Mäusen etablierte Pdx1 als Schlüsselfaktor für die Entwicklung des Pankreas (Ahlgren et al., 1996; Jonsson et al., 1994; Offield et al., 1996).

In *Pdx1*-mutanten Tieren entwickeln sich anfangs beide Pankreasknospen, in denen Insulin- und Glukagon-exprimierende Zellen zu beobachten sind. Die weitere Entwicklung des Pankreasepithels ist jedoch blockiert und neonatale *Pdx1*^{-/-}-Mäuse haben keinen Pankreas. In *Pdx1*^{+/-}-Mäusen ist die Glukose-stimulierte Insulinsekretion beeinträchtigt; analog verursachen Mutationen im humanen *PDX1* MODY 4 (Brissova et al., 2002; Stoffers et al., 1997).

Die beiden Homöobox-Transkriptionsfaktoren Islet1 (*Isl1*) und HB9 (kodiert von *Hlxb9*) werden für die Entwicklung der dorsalen Pankreasanlage benötigt (Ahlgren et al., 1997; Harrison et al., 1999; Li et al., 1999). *Isl1* wird früh im dorsalen Mesenchym und *Hlxb9* transient im dorsalen Pankreasepithel exprimiert. In *Isl1*-defizienten Mäusen wird das dorsale Mesenchym nicht gebildet und die Entwicklung der dorsalen Pankreasknospe ist blockiert. Der Verlust von HB9 führt zur Agnese der dorsalen Pankreasknospe.

Der Pancreas specific transcription factor 1a (*Ptf1a*) ist ein bHLH-Faktor, der für die Entwicklung der ventralen Pankreasanlage benötigt wird (Kawaguchi et al., 2002; Krapp et al., 1998). *Ptf1a* wird früh in der Pankreasanlage exprimiert und ist später beschränkt auf exokrine Zellen. In *Ptf1a*-mutanten Mäusen wird ein dorsales Pankreasrudiment gebildet, die ventrale Pankreasanlage differenziert jedoch zu Duodenumgewebe. Es entstehen keine exokrinen Zellen und einige wenige endokrine Zellen sind in der Milz lokalisiert.

1.5 Die Spezifizierung des endokrinen Kompartiments

Der Notch-Signalweg spezifiziert vereinzelte endokrine Zellen des Pankreas in einem homogenen Feld undifferenzierter Vorläufer (Artavanis-Tsakonas et al., 1999; Edlund, 2001; Pictet and Rutter, 1972). *Ngn3* induziert das endokrine Schicksal in Vorläuferzellen und verhindert die Differenzierung der umgebenden Zellen. Dieser Mechanismus ist analog zur lateralen Inhibition in der Neurogenese von *Drosophila*. Dort prägen differenzierende Neurone Notch-Liganden auf hohem Niveau aus und aktivieren damit in den umgebenden Zellen die Notch-Rezeptoren und einen Vermittler des Signals, den Transkriptionsfaktor Suppressor of hairless (Recombining binding protein suppressor of hairless (RBP-Jκ) in Säugern). Dadurch wird die Expression des bHLH-Transkriptionsfaktors Enhancer of split (Hairy and enhancer of split 1 (*Hes1*) in Säugern) aktiviert, der wiederum die Expression proneuraler Gene reprimiert. In der Maus werden die Rezeptoren *Notch1* und *Notch2* sowie der Ligand Delta-like 1 (*Dll1*) während der Entwicklung im Pankreasepithel exprimiert (Apelqvist et al., 1999; Jensen et al., 2000b;

Lammert et al., 2000). Der Verlust von Dll1, RBP-J κ oder Hes1 bewirkt eine beschleunigte Differenzierung von endokrinen Zellen und führt so zu einer Erschöpfung des Reservoirs von Vorläuferzellen. Hes1 reprimiert den *Ngn3*-Promotor direkt und verhindert damit die endokrine Differenzierung von Vorläuferzellen im Pankreasepithel (Lee et al., 2001b).

Ngn3 wird vorübergehend in proliferierenden epithelialen Vorläuferzellen exprimiert (Apelqvist et al., 1999; Jensen et al., 2000a; Schwitzgebel et al., 2000). Die Analyse der Zellschicksale zeigte, dass alle endokrinen Zellen des Pankreas von *Ngn3*⁺ Vorläufern abstammen (Gradwohl et al., 2000; Gu et al., 2002; Heller et al., 2005). Es wurde nachgewiesen, dass in *Ngn3*-mutanten Mäusen keine endokrinen Zellen differenzieren. Die Überexpression von *Ngn3* und des bHLH-Transkriptionsfaktors *Neurogenic differentiation 1* (*NeuroD1*) im Pankreasepithel induziert eine verfrühte und ektopische endokrine Differenzierung (Apelqvist et al., 1999; Schwitzgebel et al., 2000). *NeuroD1* wird in differenzierenden endokrinen Zellen ausgeprägt, wenn diese den Zellzyklus verlassen und sich vom Epithel lösen (Jensen et al., 2000a; Naya et al., 1995). In *NeuroD1*^{-/-}-Mäusen ist die Zahl aller endokrinen Zellen, besonders stark die der β -Zellen, durch erhöhte Apoptose reduziert (Naya et al., 1997). *NeuroD1* reguliert die Expression von Insulin direkt und Mutationen im humanen *NeuroD1* führen zu MODY 6 (Cissell et al., 2003; Malecki et al., 1999; Naya et al., 1995).

1.6 Die Differenzierung der endokrinen Zellen

Ein Netzwerk von Homöobox-Transkriptionsfaktoren weist den endokrinen Vorläuferzellen ihr weiteres Schicksal zu und induziert die terminale Differenzierung zu Hormon-produzierenden Zellen (Habener et al., 2005; Jensen, 2004; Murtaugh and Melton, 2003; Wilson et al., 2003). Im Pankreas entstehen diese Zellen in unterschiedlichen Phasen der Entwicklung. Ab E9.5 lassen sich Glukagon⁺ und Insulin⁺ Zellen immunhistologisch nachweisen, wobei alle Insulin⁺ Zellen während der ersten Umwandlung Glukagon ko-exprimieren (Teitelman et al., 1993). Die späteren α - und β -Zellen stammen nicht von diesen frühen Zellen ab, sondern werden während der zweiten Umwandlung in einer massiven Welle der Zellneogenese gebildet (Herrera, 2000). Dabei entstehen vor allem β -Zellen und diese ko-exprimieren nie Glukagon. Ghrelin⁺ Zellen lassen sich ab E10, Somatostatin⁺ Zellen ab E14 und PP⁺ Zellen ab E18 immunhistologisch nachweisen (Pictet and Rutter, 1972; Prado et al., 2004; Teitelman et al., 1993).

Paired box 4 (Pax4), Aristaless related homeobox (Arx), NK2 transcription factor related, locus 2 (Nkx2.2) und Nkx6.1 sind frühe Differenzierungsfaktoren (Collombat et al., 2003; Sosa-Pineda et al., 1997; Sussel et al., 1998). Pax4 und Arx weisen den endokrinen Zellen das Schicksal von α -, β - und δ -Zellen zu, indem sie sich wechselseitig reprimieren. Das Niveau der Faktoren reguliert somit die Proportion der verschiedenen endokrinen Subtypen. Pax4-defiziente Mäuse bilden keine β - und δ -Zellen, aber die Zahl der α -Zellen und Ghrelin⁺ Zellen ist stark erhöht (Prado et al., 2004; Sosa-Pineda et al., 1997). Im Gegensatz dazu fehlen in *Arx*-mutanten Mäusen die α -Zellen, und stattdessen ist die Zahl der β - und δ -Zellen erhöht (Collombat et al., 2003). In den *Pax4/Arx*-Doppelmutanten entstehen keine α - und β -Zellen, sondern fast nur δ -Zellen (Collombat et al., 2005).

Nkx2.2 wird anfangs im gesamten Pankreasepithel exprimiert und ist später auf α -, β - und PP-Zellen beschränkt (Sussel et al., 1998). *Nkx2.2*^{-/-}-Mäuse bilden keine Insulin⁺ Zellen, deutlich weniger Glukagon⁺ und weniger PP⁺ Zellen. Stattdessen finden sich vermehrt Ghrelin⁺ Zellen im Pankreas (Prado et al., 2004). Nkx6.1 wird ebenfalls im Pankreasepithel ausgeprägt und ist später auf β -Zellen beschränkt (Sander et al., 2000). In *Nkx6.1*-mutanten Mäusen entstehen weniger β -Zellen, da die β -Zellneogenese während der zweiten Umwandlung gestört ist.

Isl1 und Pdx1 spielen nicht nur in der Pankreasentwicklung, sondern auch bei der endokrinen Differenzierung eine wichtige Rolle (Wilson et al., 2003). Isl1 wird in allen postmitotischen endokrinen Zellen exprimiert und Isl1-defiziente Mäuse bilden keine endokrinen Zellen (Ahlgren et al., 1997). Pdx1 wird für die terminale Differenzierung der β -Zellen und Aufrechterhaltung der Expression β -Zell-spezifischer Gene benötigt (Ahlgren et al., 1998; Holland et al., 2002).

Zusätzlich haben die Transkriptionsfaktoren Pax6, MafA und MafB eine Funktion in der terminalen Differenzierung endokriner Zellen (Habener et al., 2005; Jensen, 2004; Wilson et al., 2003). Pax6 wird in allen differenzierenden und reifen endokrinen Zellen exprimiert (Sander et al., 1997; St-Onge et al., 1997; Turque et al., 1994). In *Pax6*-mutanten Mäusen ist die Zahl der α -, β -, δ - und PP-Zellen reduziert. Des Weiteren sind zwei Faktoren der Maf-Familie der basischen Leucin-Zipper-Transkriptionsfaktoren an der Differenzierung der endokrinen Zellen beteiligt. MafA wird in β -Zellen ausgeprägt, transaktiviert den *Insulin*-Promoter und *MafA*^{-/-}-Mäuse entwickeln Diabetes (Kataoka et al., 2002; Olbrot et al., 2002; Zhang et al., 2005). MafB wird früh in Glukagon⁺ und Insulin⁺ Zellen

exprimiert, ist aber postnatal auf α -Zellen beschränkt und reguliert die Expression von Glukagon (Artner et al., 2006).

1.7 Der Zinkfinger-Transkriptionsfaktor *Insm1* (IA-1)

Das Gen *Insulinoma-associated 1* (*Insm1*) kodiert für einen evolutionär konservierten Transkriptionsfaktor mit fünf Zinkfingerdomänen (Abb. 2A, Goto et al., 1992; Stivers et al., 2000; Xie et al., 2002). Das Gen ist auf dem Plusstrang von Chromosom 2 lokalisiert und enthält ein einziges Exon (Birney et al., 2006; Xie et al., 2002). Die erste cDNA des humanen *Insm1*-Gens wurde aus der Bibliothek einer Insulinomazelllinie isoliert (Goto et al., 1992). *Insm1* ließ sich nicht nur in Insulinomazellen, sondern auch in anderen Zellen neuroendokrinen Ursprungs nachweisen (Goto et al., 1992; Lan et al., 1993). *Insm1* wird während der Embryogenese im Nervensystem und in endokrinen Zellen exprimiert (Breslin et al., 2002; Mellitzer et al., 2006; Xie et al., 2002; Zhu et al., 2002). Während der Differenzierung der Zelllinie AR42J zu Insulin⁺ Zellen wird die Expression von *Insm1* induziert. Im Promotor des humanen *Insm1*-Gens wurden β -Zell-spezifische Promotorelemente und Bindungsstellen für bHLH-Transkriptionsfaktoren identifiziert (Lan et al., 1994; Li et al., 1997). Biochemische Analysen haben gezeigt, dass *NeuroD1* den Promotor von *Insm1* transaktivieren kann (Breslin et al., 2003; Breslin et al., 2002). *Insm1* dagegen kann seinen eigenen und den Promotor des *NeuroD1*-Gens reprimieren. Mellitzer et al. (2006) konnten kürzlich zeigen, dass *Ngn3* die Expression von *Insm1* direkt reguliert und *Insm1* in *Ngn3*-defizienten Mäusen nicht ausgeprägt wird.

Zwei Zinkfingerdomänen von *Insm1* sind hoch konserviert und ordnen den Faktor der EIN-Familie der Zinkfingerfaktoren zu (Abb. 2B, Stivers et al., 2000). Bisher werden *Egl-46* aus *C. elegans*, *Insm1* und *Insm2* aus Vertebraten und *Nerfin-1* und *-2* aus *Drosophila* der EIN-Familie zugerechnet. Die Funktion einiger dieser Faktoren wurde an transgenen Tieren untersucht. Der Verlust von *Egl-46* hat eine Störung der neuronalen Zellmigration, des axonalen Wachstums und der Produktion von Neurotransmittern zur Folge (Wu et al., 2001; Yu et al., 2003). Die Nullmutation von *nerfin-1* bewirkt Defekte in der axonalen Wegfindung im gesamten Zentralnervensystem (Kuzin et al., 2005).

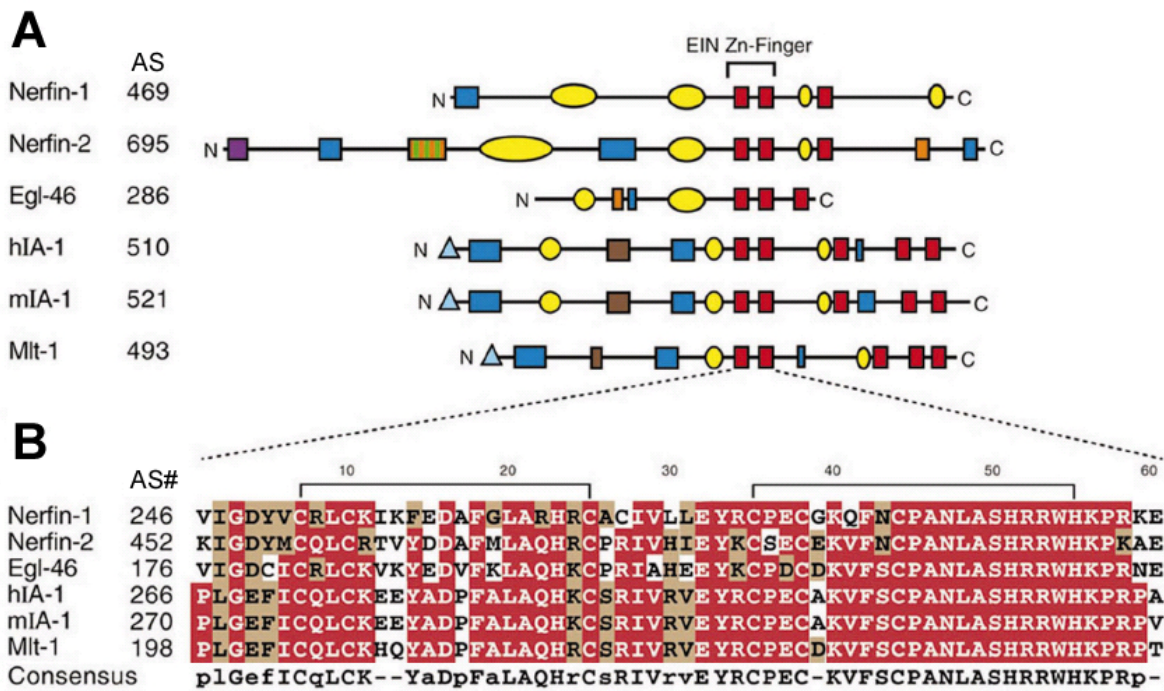


Abb. 2: Domänenstruktur des Zinkfinger-Faktors Insm1 und der homologen Faktoren aus anderen Organismen (aus Stivers et al., 2000). (A) Schematische Darstellung der Proteindomänen von *D. melanogaster* Nerfin-1 und -2, *C. elegans* Egl-46, Insm1/IA-1 des Menschen und der Maus und Insm2/Mlt-1 der Maus. Die Primärstruktur ist an den beiden Zinkfingern ausgerichtet, die die Egl-46/IA-1/Nerfin (EIN) Familie (Stivers et al., 2000) von Transkriptionsfaktoren definiert. Die Proteindomänen sind farbig markiert: hellblaue Dreiecke repräsentieren SNAG-Repressordomänen (Grimes et al., 1996), blaue Dreiecke Prolinreiche Sequenzen, gelbe Ovale Sequenzen, die reich an geladenen Aminosäuren sind, rote Rechtecke Zinkfinger-Motive, dunkelblaue Rechtecke Histidin-/Prolin-reiche Sequenzen, orange Rechtecke Glutaminreiche Sequenzen, orange-grün gestreifte Rechtecke Glutamin-/Histidin-reiche Sequenzen, braune Rechtecke Glyzin-reiche Sequenzen. Die Größe der Proteine ist angegeben, N-Termini (N) und C-Termini (C) sind angezeigt. (B) Darstellung der Peptidsequenzen der Familienmitglieder im Bereich der EIN-Zinkfinger. Identische Aminosäuren in mehr als 50 % der Homologe sind mit rotem Hintergrund, ähnliche mit hellbraunem Hintergrund markiert. Die Klammern zeigen die Zinkfinger-Motive an. Die Konsensussequenz enthält Aminosäuren, die in wenigstens fünf (großer Buchstabe) bzw. vier Paralogen (kleiner Buchstabe) gleich sind. Die Position der ersten Aminosäure der beiden Zinkfinger ist angegeben. Abkürzungen: AS Aminosäuren.

1.8 Zielsetzung dieser Arbeit

Vom molekularen Verständnis der endokrinen Differenzierung erhofft man sich neue Methoden zur Vorbeugung und Behandlung von Diabetes (Bell and Polonsky, 2001; Edlund, 2002; Murtaugh and Melton, 2003; Wilson et al., 2003). Die Faktoren, die die Differenzierung der β -Zellen und die Insulin-Produktion regulieren, sind von besonderem Interesse, da mit diesem Wissen β -Zellen aus Stammzellen hergestellt und für die Therapie von Diabetes Typ 1 eingesetzt werden könnten. *Ngn3* ist ein wichtiger Faktor, der die Entwicklung endokriner Zellen im Pankreas einleitet. Allerdings haben verschiedene Experimente gezeigt, dass eine Überexpression von *Ngn3* allein nicht für die Bildung von reifen β -Zellen ausreicht (Gradwohl et al., 2000; Schwitzgebel et al., 2000). So führt die

ektopische Expression von *Ngn3* im Pankreasepithel lediglich zur Bildung von Glukagon-exprimierenden Zellen. Auch die Überexpression von *Ngn3* in humanen Zellen aus pankreatischen Ausführungsgängen induziert nur eine schwache Expression von Insulin (Heremans et al., 2002). Zusätzlich zu *Ngn3* werden also weitere Faktoren für eine vollständige Differenzierung von reifen β -Zellen benötigt, wie z. B. die oben beschriebenen Homöobox-Transkriptionsfaktoren. *Insm1* ist ein weiterer möglicher Kandidat, dessen Rolle im Rahmen dieser Arbeit mittels genetischer Methoden in der Maus *in vivo* untersucht wurde. Dazu wurden *Insm1*-mutante Mäuse hergestellt und deren Pankreasentwicklung analysiert. Zudem wurde eine genomweite Expressionsanalyse von *Insm1*-defizientem und Wildtyp-Gewebe genutzt, um Gene zu identifizieren, deren Expression von *Insm1* abhängt.