

# 사람의 부분 췌장으로부터 분리한 췌관세포를 이용한 베타세포의 분화에 관한 연구

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실 내분비내과, 외과학교실<sup>1</sup>

송기호, 김명미, 이민경, 류경렬, 고승현, 문성대, 안유배, 윤건호, 차봉연, 이광우, 손호영, 강성구, 진형민<sup>1</sup>

Differentiation of Pancreatic  $\beta$  Cells from Human Pancreatic Duct Cells Derived from a Partial Pancreas Tissue

Ki-Ho Song, Myung-Mee Kim, Min-Kyung Lee, Gyeong Ryul Ryu, Seung-Hyun Ko, Sung-Dae Moon, Yu-Bae Ahn, Kun-Ho Yoon, Bong-Yun Cha, Kwang-Woo Lee, Ho-Young Son, Sung-Koo Kang, Hyung-Min Chin<sup>1</sup>

Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine, Department of Surgery<sup>1</sup>,  
The Catholic University of Korea

## Abstract

**Background:** Despite a recent breakthrough in human islet transplantation for treating diabetes mellitus, the limited availability of insulin-producing tissue is still a major obstacle. This has led to a search for alternative sources of transplantable insulin-producing cells including pancreatic duct cells. We aimed to establish *in vitro* culture of pancreatic duct cells from a partial pancreas tissue in human, which could be harnessed to differentiate into pancreatic  $\beta$  cells.

**Methods:** We isolated pancreatic duct cells from small pieces of pancreas tissue (1~3 g) derived from non-diabetic humans (n = 8) undergoing pancreatic surgery due to cancer. Pancreas tissue was finely minced after injection of collagenase P into the parenchyma. The mince was incubated in a shaking water bath at 37°C for 25 min and passed through a 150  $\mu$ m mesh. The released cells were recovered, washed, and plated in a dish containing CMRL culture medium with serum.

**Results:** Isolated pancreatic cells grew in monolayer and became confluent in 1~2 wks showing typical epithelial cobblestone morphology. Immunocytochemistry demonstrated that ~90% of the cultured cells were cytokeratin7-positive duct cells. To induce  $\beta$  cell differentiation, the cells were incubated in DMEM/F12 culture medium without serum. In addition, treatment with Matrigel overlay, exendin-4, cholera toxin or forskolin was done. Though  $\beta$  cell differentiation was found by immunostaining and RT-PCR, the differentiation efficiency was very low. Over-expression of neurogenin-3 by recombinant adenovirus did not increase  $\beta$  cell differentiation of the cultured duct cells significantly.

**Conclusion:** We established *in vitro* culture of pancreatic duct cells from a partial pancreas tissue in human, which differentiate into pancreatic cells. However, a strategy to optimize  $\beta$  cell differentiation in this model is needed. (J Kor Diabetes Assoc 31:236~242, 2007)

**Key Words:** Beta cell, Differentiation, Islet, Islet transplantation, Pancreatic duct cells

## 서 론

제1형 당뇨병은 현재의 치료방법으로는 완치할 수 없는 만성 질환이므로 일단 질환에 이환되면 평생 동안 철저한 자가관리가 필요한 질환이다. 정상에 가까운 철저한 혈당조절이 당뇨병성 만성 합병증을 현저히 예방할 수 있음은 잘 알려진 사실이다. 그러나 현 의료수준에서 당뇨병환자가 정상에 가까운 혈당 수준을 유지하는 것은 거의 불가능하며, 가능하다 하여도 일상생활에 심한 제약을 유발하여 삶의 질을 현저히 저하시키고 있다. 이를 극복하기 위한 방안의 하나로 췌도이식이 시행되고 있다.

췌도이식은 시술 방법이 간단하고 반복 이식이 가능하다는 장점이 있어 오래 전부터 당뇨병의 유망한 치료법으로 간주되었으나 그동안 시도된 결과들의 성적이 저조하여 침체상태에 있었다. 그러나 2000년 7월에 캐나다 알버타 대학에서 소위 'Edmonton 프로토콜'을 적용하여 7명의 환자에서 췌도이식을 실시하여 평균 1년간 추적한 결과 100% 치유된 획기적인 결과를 발표한 이후 췌도이식은 제1형 당뇨병의 완치를 위한 새로운 치료법으로서 각광을 받고 있다<sup>1,2)</sup>. 그러나 현재 췌도이식에 필요한 췌도 공급이 절대적으로 부족한 상태이므로 췌도이식이 당뇨병환자의 보편적인 치료방법으로 자리잡기 위해서는 췌도이식원의 충분한 확보가 선행되어야 한다. 대체 췌도이식원(alternative islet source)에 대한 연구는 다양한 방법을 통하여 활발히 진행되고 있는데, 췌관세포(pancreatic duct cells)를 이용한 세포대치요법(cell replacement therapy)이 그 중 한가지이다.

췌관세포는 췌도의 발생뿐 아니라, 태생 후에 일어나는 췌도 신생(islet neogenesis) 과정에서 췌도세포의 전구세포(progenitor cells)로서 역할을 한다는 것이 잘 알려져 왔다<sup>3-5)</sup>. 사람에서도 췌도 분리 시 얻은 췌관세포가 시험관 내뿐 아니라 생체 내에서 췌도 베타세포로 분화가 가능함이 여러

연구자에 의하여 보고되었다<sup>6-11)</sup>.

본 연구에서는 사람의 부분 췌장으로부터 췌관세포를 분리, 배양하고 이 세포로부터 베타세포의 분화를 유도하는 실험실 조건을 탐색함으로써 사람 베타세포의 분화모델을 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 췌관세포의 분리 및 배양

췌장암이 있는 비당뇨인 환자(n = 8)로부터 동의를 얻어 췌장수술시 제거된 정상 췌장의 일부(1~3 g)를 확보한 후 Kolar 등의 방법<sup>12)</sup>을 약간 변형하여 췌관세포를 분리하였다. 방법을 간략히 소개하면, 췌장 조직 내에 collagenase P (2 mg/mL, Roche)이 포함된 효소용액을 10~15 mL 주입한 후 매우 잘게 잘랐다. 25분간 37℃ 상태로 진탕 수조(shaking water bath)에서 담근 후 fetal bovine serum (FBS)이 포함된 4℃ HBSS 배양액으로 세척하고 150 µm mesh를 통과시켰다. 세척 후 10% FBS이 포함된 CMRL이 들어있는 배양용기에 분주하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건하에서 배양했다.

### 2. 베타세포의 분화 유도

배양된 췌장세포는 단층으로 빨리 자랐으며 1~2주 내 거의 가득 차게 자라게 되면 베타세포의 분화 유도를 위하여 Bonner-Weir 등이 보고한 방법대로<sup>6)</sup>, 혈청이 포함되지 않은 배양액[*differentiation medium*: DMEM/F12 + 1 g/L ITS (Sigma) + 10 mM nicotinamide + 2 g/L bovine serum albumin + 20 ng/mL epidermal growth factor (EGF, R&D system)] 배양액으로 교체한 후, 베타세포의 분화를 촉진시키기 위하여 세포외 기질의 일종인 Matrigel (Collaborative Research-Becton Dickinson)을 세포 위에 덮었다(Matrigel overlay). 또한, 일부 실험에서는 혈청이 포함되지 않은 배

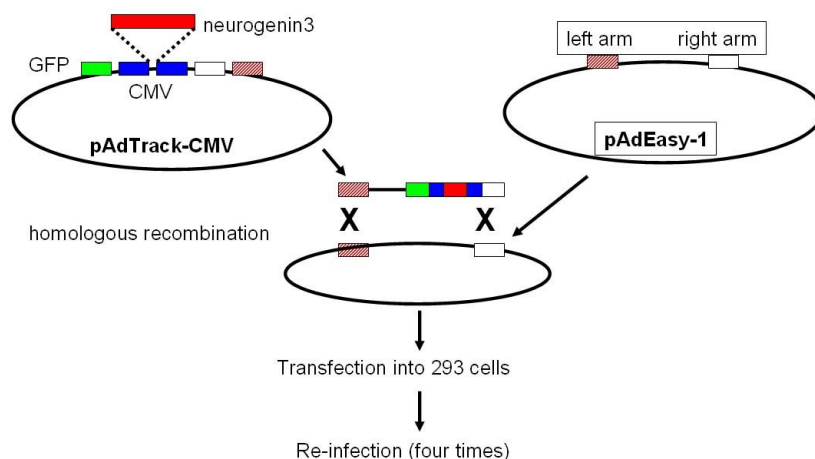


Fig. 1. Design of recombinant adenovirus.

양액에 exendin-4 (10 nM), cholera toxin (100 ng/mL) 또는 forskolin (2  $\mu$ M) 등을 첨가하였다.

일부 실험에서는 췌도의 발생과 분화에 중요한 역할을 한다고 알려진 전사인자인 neurogenin3<sup>13,14</sup>을 발현하는 재조합 아데노바이러스(Adv-ngn3)를 제작하여(Fig. 1) 배양된 췌관세포에 감염시켰다(multiplicity of infection: 20, 1시간 처리). 대조군으로는 green fluorescent protein을 발현하는 아데노바이러스(Adv-gfp)를 사용하였다. 이때 감염효율은 ~50%이었다.

### 3. 면역염색법

다음의 1차 항체를 사용하여 streptavidin-biotin-peroxidase and alkaline phosphatase 방법을 이용하였다: guinea pig

anti-insulin (1:200, Linco), mouse anti-cytokeratin 7 (CK7). 1차 항체로 밤새 배양한 후, PBS로 세척하고 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) (ScyTek Laboratories Inc.) 또는 3,3'-diaminobenzidine (DAB) (Sigma)을 첨가하였다.

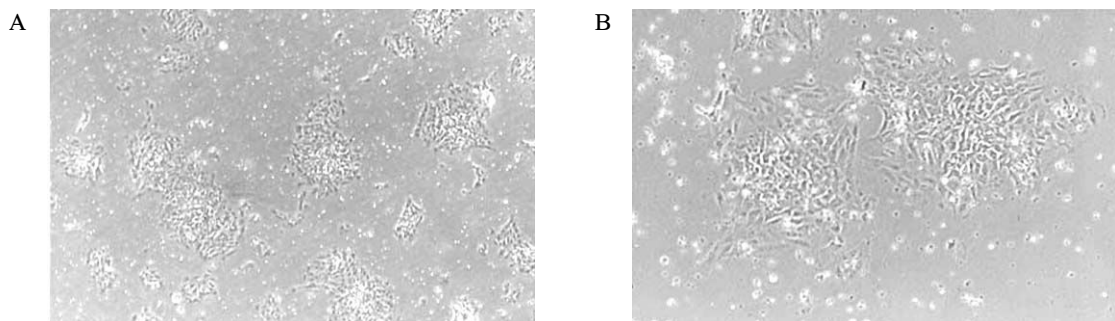
Double immunostaining을 위해 형광면역염색법을 실시하였는데, streptavidin-conjugated donkey anti-guinea pig Texas red와 donkey anti-mouse fluorescein isothiocyanate (1:100 dilution, Jackson ImmunoResearch)을 2차항체로 사용하였다.

### 4. RT-PCR

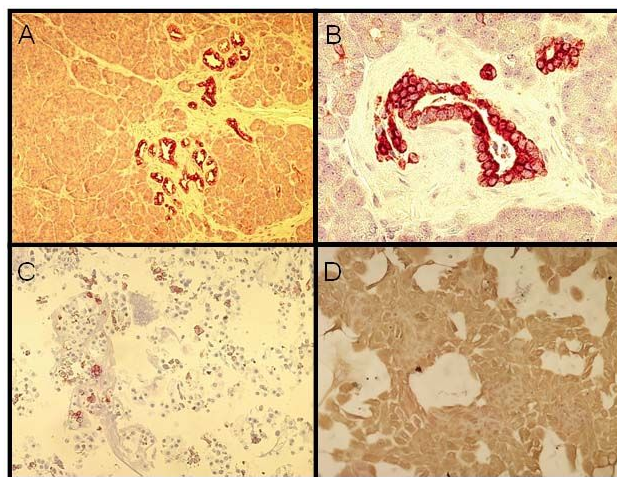
총 RNA의 추출은 Trizol reagent kit (Life Technologies)을 사용하였다. 0.5  $\mu$ g의 총 RNA로부터 Superscript II

**Table 1.** Sequences of oligonucleotide primers and PCR conditions

Gene	Size	5' Oligonucleotide	3' Oligonucleotide	Annealing (°C)	Cycle
Insulin	179	TCACACCTGGTGGAAGCTC	ACAATGCCACGCTTCTGC	55	19
Glucagon	236	ATGAACGAGGACAAGCGC	TTCACCAGCCAAGCAATG	59	23
Cyclophilin	458	CCCACCGTGTCTTCGAC	ATCTTCTTGCTGGTCTTGCC	59	23
18s rRNA	488	-	-	55	19



**Fig. 2.** Morphology of pancreatic duct cells cultured for 3 days. A,  $\times 100$ ; B,  $\times 200$ .



**Fig. 3.** Cytokeratin 7 (CK7) immunostaining. A, human pancreas ( $\times 100$ ); B, human pancreas ( $\times 200$ ); C, Isolated pancreatic cells; D, Cultured pancreatic cells 4 days after isolation.

RNase H reverse transcriptase (Life Technologies)를 이용하여 역전사시킨 후 Table 1에 제시된 primer 및 조건에 따라 PCR을 시행하였다. PCR 생성물은 2% agarose gel에 전기영동하였다.

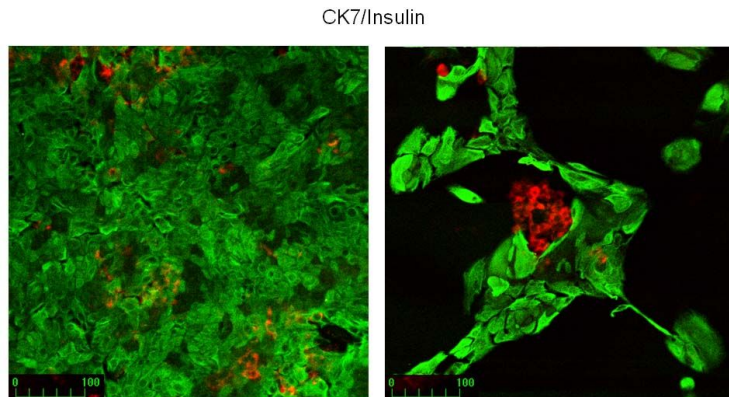
## 결 과

정상 췌장의 일부로부터 분리된 사람의 췌장세포는 분리 직후에 췌관세포의 표지자인 CK7<sup>3)</sup> 양성인 세포가 전체 세포 중에서  $36.21 \pm 1.26\%$ , 인슐린 양성인 세포는  $0.12 \pm 0.03\%$ 를 차지했다( $n = 4$ ). 그러나 10% FBS가 포함된 CMRL 배양액에서 배양하였을 때 세포는 "cobblestone" 모양을 띤 상피세포의 형태로서 단층 상태로 자랐으며(Fig. 2) 4일 이후에는 90% 이상의 세포가 CK7 양성인 췌관세포임을 확인하였다(Fig. 3). 이때에도 인슐린 양성인 세포는 1% 미만에 불과하였다( $0.34 \pm 0.04\%$ ,  $n = 3$ ).

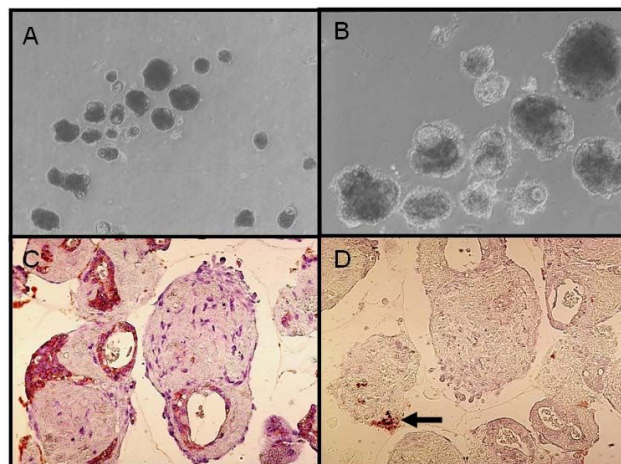
췌관세포는 1~2주 후 융합 상태(confluent)로 자랐으며 이후에는 혈청이 포함되지 않은 DMEM/F12 배양액으로 교

체하고 nicotinamide, EGF를 첨가함으로써 베타세포의 분화를 유도하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이, 인슐린 양성인 세포가 군데군데 다수 관찰되었고 일부에서는 군집을 이루고 있음을 확인하였고 전체세포에서 인슐린 양성인 세포는  $4.31 \pm 1.26\%$ 로, differentiation medium으로 교체하기 전에 비하여 유의하게 증가하였다(vs.  $0.34 \pm 0.04\%$ ,  $n = 3$ ,  $P < 0.01$ )었다.

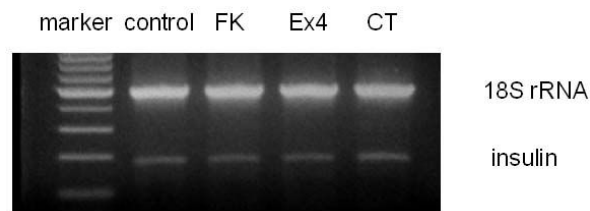
베타세포의 분화를 촉진하고자 배양된 세포에 Matrigel overlay 처리 후 4주간 3차원 배양을 시도하였다. 그 결과 낭종을 포함하는 3차원 구조물(3-dimensional cystic structures)이 형성되었으나 대부분 CK7 양성인 췌관세포로 구성되고 인슐린 양성인 세포는 여전히 소수에 불과했다(Fig. 5). Exendin-4, cholera toxin, 또는 forskolin 등을 처리했을 때에도 인슐린 mRNA의 발현은 대조군에 비해 차이가 없었다(Fig. 6). 또한 일부 췌관세포에서는 neurogenin-3을 아데노바이러스를 통하여 과발현시켰으나 인슐린 및 글루카곤 mRNA가 뚜렷이 발현되지 않았다. 결국 neurogenin-3의 발현만으로는 췌관세포에서 베타세포 또는 알파세포로의



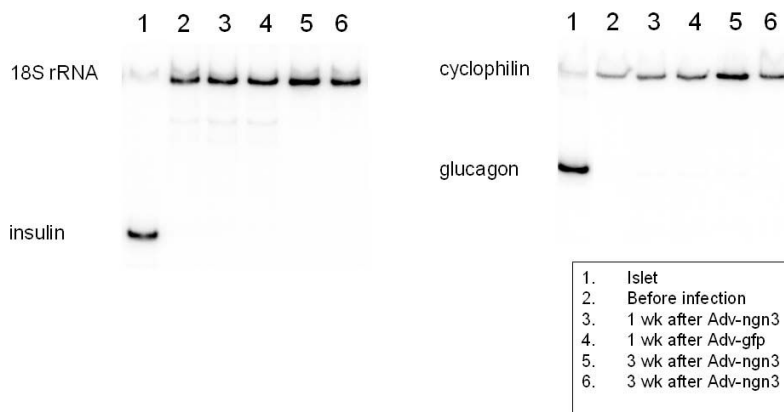
**Fig. 4.** Double immunostaining of CK7 and insulin in pancreatic duct cells cultured in differentiation medium for 1 week.



**Fig. 5.** Matrigel overlay on pancreatic duct cells cultured in differentiation medium for 4 week. A, B, morphology under inverted microscope; C, CK7 staining; D, insulin staining.



**Fig. 6.** RT-PCR of insulin mRNA from pancreatic duct cells 3 days after treatment of forskolin (FK), exendin-4 (Ex4) or cholera toxin (CT).



**Fig. 7.** RT-PCR of insulin and glucagon mRNA from pancreatic duct cells after adenoviral overexpression of neurogenin3 (Adv-*ngn*) or green fluorescent protein (Adv-gfp).

분화가 유도되지 않았다(Fig. 7).

## 고 찰

대체 췌도이식원(alternative islet source)에 대한 연구는 다양한 방법을 통하여 활발히 진행되고 있는데, 췌관세포(pancreatic duct cells)를 이용한 세포대치요법(cell replacement therapy)이 그 중 한가지이다.

췌관세포는 췌도의 발생뿐 아니라, 태생 후에 일어나는 췌도신생(islet neogenesis) 과정에서 췌도세포의 전구세포로서 역할을 한다는 것이 잘 알려져 왔다<sup>3-5</sup>. 췌장절제(pancreatectomy), 췌관결찰(pancreatic duct ligation), 저혈당증의 원인질환인 nesidioblastosis 등이 이를 뒷받침하는 좋은 예이다<sup>15</sup>. 특히, 미국의 Bonner-Weir 그룹은 췌장절제에 의한 췌장 재생에 관한 많은 연구를 했는데 이들은 쥐에서 췌장 절제 후 췌관세포는 증식과 함께 췌도세포를 포함한 췌장세포로 분화가 일어남을 관찰하였다. 또한 정상적으로 췌관세포에서는 발현되지 않는 Pdx1이 췌관세포의 증식과 더불어 발현됨도 관찰하였다<sup>16</sup>. 이상의 결과를 근거로 하여 Bonner-Weir는 성체의 췌관세포는 증식상태가 되면 췌관세포 고유의 특성을 잃고 미분화 상태로 변한 후(dedifferentiation) 적절한 외부의 환경하에서 췌도세포를 포함한 췌장세포로 분화할 수 있는 multipotency가 있다는

소위 "facultative stem cell"의 가설을 제시하였다. 이 가설은 배양된 사람의 췌관세포가 증식 후 특정한 조건하에서 베타세포로 분화가 가능하였다는 연구 결과에 의해 입증되었다<sup>6-11</sup>. 최근에는 미국의 Melton 그룹에서 genetic lineage tracing 방법을 이용하여 마우스에서 태생 후 만들어지는 새로운 베타세포는 기존 베타세포의 증식으로부터 유래한다고 보고하여<sup>17</sup> 췌관세포가 베타세포의 주된 source라는 이전의 주장이 퇴색하였으나 명확한 결론을 내리기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

본 연구에서는 사람의 부분 췌장으로 부터 췌관세포를 분리, 배양하는 기술을 확립하고 췌관세포로부터 베타세포의 분화를 유도하는 실험실 조건을 찾음으로써 췌관세포를 췌도이식원으로 임상 적용할 수 있는 기반을 마련하고자 하였다. 사람의 부분 췌장으로 부터 분리한 췌관세포는 빠르게 성장하여 배양 후 1~2주 내에 confluent해졌으며 이때에 면역염색검사상 90% 이상이 CK7가 양성인 췌관세포임을 확인하였다. 또한, 예전에 보고된 바와 같이 혈청이 첨가되지 않은 배양액에서 nicotinamide, EGF와 함께 배양했을 때 베타세포의 분화가 일어남을 확인하였다.

기존의 연구에서 베타세포의 분화를 촉진한다고 알려진 Matrigel<sup>6</sup>, exendin-4<sup>18</sup> 그리고 췌관세포의 분화 및 성장에 중요하다고 알려진 cAMP를 증가시키는 cholera toxin, forskolin 등을<sup>19</sup> 처리함으로써 베타세포로의 분화를 유도하

였으나, 처리하지 않은 경우와 비교하여 차이가 없었다.

재조합 아데노바이러스를 이용하여 전사인자인 neurogenin3을 과발현시켰으나 베타세포의 분화를 유도하는데 실패하였다. Heremans 등은<sup>7)</sup> neurogenin3의 과발현이 사람의 췌관세포에서 베타세포로의 분화를 촉진함을 보고하였다. 한편, Harb 등은<sup>20)</sup> 신생돼지 췌장세포(neonatal pig pancreatic precursor cells)에서 neurogenin3을 과발현 시켰을 때 베타세포의 분화에는 변화가 없었으나 글루카곤을 분비하는 알파세포로의 분화를 촉진하였다고 보고하였다. 본 연구의 결과는 이상 열거한 이전의 보고와는 차이를 보이는데 그 이유는 불확실하며 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 본 연구에서 순수한 췌관세포를 분리하기 위해 최대한 노력하였으나, 분리되어 배양 및 분화된 세포에 베타세포가 소량이라도 남아 있다가 증식이 되었을 가능성을 완전히 배제되었다고 할 수 없는 점도 고려되어야 할 것이다.

이상의 결과를 요약하면, 본 연구에서 분리, 배양한 사람의 췌관세포의 생물학적 특성은 전 췌장(whole pancreas)에서 췌관을 통한 소화효소의 주입과 Ficoll gradient 방법으로 분리한 췌관세포와 크게 다르지 않았다. 결국, 사람의 부분 췌장에서부터 췌관세포를 성공적으로 분리, 배양하여 베타세포로의 분화를 유도할 수 있는 실험 모델을 확립하였다. 그러나 베타세포의 분화 효율이 낮아 이에 대한 프로토콜의 개선이 요구된다. 이를 위해서는, 베타세포의 분화에 대한 정확한 분자생물학적 기전의 규명이 선행되어야 할 것이다.

## 감사의 글

본 연구에서 사용한 재조합아데노바이러스의 제작에 큰 도움을 주신 Dr. Kaneto (일본 오사카대학)와 Dr. Bonner-weir (미국 조슬린 당뇨병 센터)께 감사드립니다.

## 요 약

**연구배경:** 췌도이식은 시술 방법이 간단하고 반복 이식이 가능하다는 장점이 있어 제1형 당뇨병의 유망한 근치적 치료법으로 간주되고 있다. 그러나 현재 췌도이식에 필요한 췌도 공급이 절대적으로 부족한 상태이므로 췌도이식이 당뇨병환자의 보편적인 치료방법으로 자리잡기 위해서는 췌도 이식원의 충분한 확보가 선행되어야 한다. 대체 췌도이식원(alternative islet source)에 대한 연구는 다양한 방법을 통하여 활발히 진행되고 있는데, 췌관세포(pancreatic duct cell)를 이용한 세포대치요법이 그 중 한가지이다.

본 연구에서는 사람의 부분 췌장에서부터 췌관세포를 분

리, 배양하는 기술을 확립하고 췌관세포로부터 베타세포의 분화를 유도하는 실험실 조건을 찾고자 하였다.

**방법:** 비당뇨인 환자로부터 췌장수술 시 제거된 정상췌장의 일부(1~3 g)를 확보하고 장기 보존액으로 세척한 후 췌장의 크기에 따라 collagenase P를 췌장의 실질 내로 여러 번 주입하였다. 췌관세포가 풍부한 세포를 분리한 후 10% FBS가 포함된 CMRL 배양액에서 분주하고 배양하였다.

**결과:** 췌관세포는 단층 상태로 1~2주 후 배양용기에 가득 자랐으며 이때에 면역염색검사상 90% 이상이 cytokeratin7 양성인 췌관세포임을 확인하였다. 이후에는 혈청이 포함되지 않은 DMEM/F12 배양액으로 교체하고 베타세포의 분화를 유도하기 위하여 Matrigel, exendin-4, cholera toxin, forskolin 등을 처리하였다. 그 결과, 면역염색검사 및 RT-PCR 검사에서 베타세포로의 분화가 이루어졌음을 확인하였으나 효율이 매우 낮았다. 또한 일부췌관세포에서는 전사인자인 neurogenin3을 아데노바이러스를 통하여 과발현시켰으나 베타세포의 분화를 현저히 촉진시키지는 못했다.

**결론:** 사람의 부분 췌장에서부터 췌관세포를 성공적으로 분리, 배양하여 베타세포로의 분화를 유도할 수 있는 실험 모델을 확립할 수 있었다. 그러나 베타세포의 분화 효율이 낮아 이에 대한 프로토콜의 개선이 요구된다.

## 참 고 문 헌

1. Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbitt GS, Toth E, Warnock GL, Kneteman NM, Rajotte RV: *Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. N Engl J Med* 343:230-8, 2000
2. Robertson RP: *Islet transplantation as a treatment for diabetes - a work in progress. N Engl J Med* 350:694-705, 2004
3. Bouwens L: *Cytokeratins and cell differentiation in the pancreas. Journal of Pathology* 184:234-9, 1998
4. Kim SK, MacDonald RJ: *Signaling and transcriptional control of pancreatic organogenesis. Curr Opin Genet Dev* 12:540-7, 2002
5. Bonner-Weir S, Baxter LA, Schupp GT, Smith FE: *A second pathway for regeneration of the adult exocrine and endocrine pancreas: A possible recapitulation of embryonic development. Diabetes* 42:1715-20, 1993
6. Bonner-Weir S, Taneja M, Weir GC, Tatarkiewicz K, Song K-H, Sharma A, O'Neil JJ: *In vitro cultivation of human islets from expanded ductal tissue. Proc Natl Acad Sci USA* 97:7999-8004, 2000

7. Heremans Y, Van De Casteele M, in't Veld P, Gradwohl G, Serup P, Madsen O, Pipeleers D, Heimberg H: *Recapitulation of embryonic neuroendocrine differentiation in adult human pancreatic duct cells expressing neurogenin 3. J Cell Biol* 159:303-12, 2002
8. Gao R, Ustinov J, Pulkkinen MA, Lundin K, Korsgren O, Otonkoski T: *Characterization of endocrine progenitor cells and critical factors for their differentiation in human adult pancreatic cell culture. Diabetes* 52:2007-15, 2003
9. Zhao M, Amiel SA, Christie MR, Rela M, Heaton N, Huang GC: *Insulin-producing cells derived from human pancreatic non-endocrine cell cultures reverse streptozotocin-induced hyperglycaemia in mice. Diabetologia* 48:2051-61, 2005
10. Gao R, Ustinov J, Korsgren O, Otonkoski T: *In vitro neogenesis of human islets reflects the plasticity of differentiated human pancreatic cells. Diabetologia* 48:2296-304, 2005
11. Hao E, Tyrberg B, Itkin-Ansari P, Lakey JR, Geron I, Monosov EZ, Barcova M, Mercola M, Levine F: *Beta-cell differentiation from nonendocrine epithelial cells of the adult human pancreas. Nat Med* 12:310-6, 2006
12. Kolar C, Caffrey T, Hollingsworth M, Scheetz M, Sutherland M, Weide L, Lawson T: *Duct epithelial cells cultured from human pancreas processed for transplantation retain differentiated ductal characteristics. Pancreas* 15:265-71, 1997
13. Apelqvist A, Li H, Sommer L, Beatus P, Anderson DJ, Honjo T, Hrabe de Angelis M, Lendahl U, Edlund H: *Notch signalling controls pancreatic cell differentiation. Nature* 400:877-81, 1999
14. Schwitzgebel VM, Scheel DW, Connors JR, Kalamaras J, Lee JE, Anderson DJ, Sussel L, Johnson JD, German MS: *Expression of neurogenin3 reveals an islet cell precursor population in the pancreas. Development* 127:3533-42, 2000
15. 송기호: 췌도세포의 분화. *당뇨병* 325:399-405, 2001
16. Sharma A, Zangen DH, Reitz P, Taneja M, Lissauer ME, Miller CP, Weir GC, Habener JF, Bonner-Weir S: *The homeodomain protein IDX-1 increases after an early burst of proliferation during pancreatic regeneration. Diabetes* 48:507-13, 1999
17. Dor Y, Brown J, Martinez OI, Melton DA: *Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. Nature* 429:41-6, 2004
18. Zhou J, Pineyro MA, Wang X, Doyle ME, Egan JM: *Exendin-4 differentiation of a human pancreatic duct cell line into endocrine cells: involvement of PDX-1 and HNF3beta transcription factors. J Cell Physiol* 192:304-14, 2002
19. Wang R, Li J, Rosenberg L: *Factors mediating the transdifferentiation of islets of Langerhans to duct epithelial-like structures. J Endocrinol* 171:309-18, 2001
20. Harb G, Heremans Y, Heimberg H, Korbitt GS: *Ectopic expression of neurogenin 3 in neonatal pig pancreatic precursor cells induces (trans) differentiation to functional alpha cells. Diabetologia* 49:1855-63, 2006