

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08917

研究課題名(和文)スカベンジャー受容体SR-A関連の病原体感知機構解明による1型糖尿病発症予防

研究課題名(英文)Prevention of type 1 diabetes via sensors associated with scavenger receptors such as SR-A

研究代表者

安田 尚史(Yasuda, Hisafumi)

神戸大学・保健学研究科・教授

研究者番号：50403233

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：NODマウスの自然発症モデル及びCYモデルへのLPS(TLR4 agonist)投与で有意な発症抑制を認めた。また、SR-A欠損NODマウスの自然発症モデル及びCYモデルへのLPS投与でも更なる発症抑制効果を認めた。次に、脾細胞に存在する自己抗原IGRP特異的に反応するCD8陽性T細胞クローンのT細胞受容体をNODマウスに遺伝子導入したマウスで、T1D発症を促進する8.3NODマウスへの投与実験を行なった。TLR9に対する抗体投与では発症を抑制しTLR7のagonistでは発症を促進するが、LPS投与でもNODマウスとは異なり発症を抑制せずむしろ促進するという興味深い結果を示した。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has been reported that the development of type 1 diabetes would be associated with commensal bacteria. So the aim of this study was to examine the association between scavenger receptor A (SR-A) and Toll-like receptor such as TLR4 on dendritic cells and to establish a new immunological preventative and therapeutic strategy for type 1 diabetes. First, lipopolysaccharide (LPS) as a ligand of TLR4 was administered to female NOD mice and cyclophosphamide (CY) -induced diabetes model in male NOD mice. Second, LPS was administered to SR-A KO NOD mice and CY-induced diabetes model in SR-A KO NOD mice. As a result, LPS administration prevented diabetes onset in all four mouse models. Finally, LPS was administered to 8.3 NOD mice transfected with T cell receptor gene of IGRP-specific CD8 T cell clone into NOD mice, resulting in acceleration of T1D onset. Flow cytometric analysis suggested that the Foxp3 regulatory T cells might play a pivotal role in the mechanism of LPS tolerance.

研究分野：1型糖尿病

キーワード：1型糖尿病 スカベンジャー受容体 TLR 病原体感知センサー 自己免疫

1. 研究開始当初の背景

我々は、SR-A 欠損 NOD マウスでは 1 型糖尿病発症を抑制する一方、dsRNA ウイルス感染を模倣した高用量の poly(I:C) の投与では、SR-A 欠損 NOD マウスも NOD マウスと同程度に 1 型糖尿病 (T1D) を発症することを見出した。以上より、TLR3 の上流に SR-A が存在し、かつ、TLR3 の上流に SR-A 以外の分子も存在する可能性を報告した。

2. 研究の目的

近年、1 型糖尿病 (T1D) 発症との関連が指摘されている腸内細菌に対して、樹状細胞 (DC) に発現するスカベンジャー受容体 SR-A とグラム陰性桿菌の感知センサーである TLR4 との関連を解明し T1D 発症予防法へと発展させることを目標としたものである。TLR4 は LPS (Lipopolysaccharide) を agonist とするグラム陰性桿菌感染の感知センサーであると同時に、脂肪酸の感知センサーでもある。一方、SR-A も両者のリガンドである。本研究の目的は、1 型糖尿病 (T1D) 発症との関連が指摘されているウイルス感染や腸内細菌における、樹状細胞 (DC) のスカベンジャー受容体 SR-A の役割を解明し、T1D 発症予防法へと発展させることである。近年、SR-A と二本鎖 RNA ウイルス感知センサーである TLR3 との関係を報告したが、本研究は病原体感知センサーである TLR4 (グラム陰性桿菌) や TLR9 (DNA ウイルス) と SR-A との関連を解明することを目標とした。最終的に慢性炎症性疾患に対する治療に応用することを目指している。

3. 研究の方法

SR-A-TLR シグナルにおいて、TLR3 と同様に、エンドソーム上に存在する TLR9、TLR7 へのシグナルや下流に MyD88 を有さない TLR4 (一部の経路) へのシグナルが存在すると考え、自然発症モデルとサイクロホスファミド (CY) 誘導モデルにおいて、TLR4 や TLR9、TLR7 の agonist や抗体を、SR-A 欠損 NOD マウスと NOD マウスに投与し T1D 発症の推移を検討した。

また、組織学検討にて自己免疫による膵島炎の評価を行ない、また、そのメカニズム解析のために Flow cytometry にて細胞分画の比較や ELISA にて炎症性サイトカイン産生を比較検討した。

4. 研究成果

TLR4 agonist の LPS 投与実験では、NOD マウスの自然発症モデルおよび CY モデルへの LPS 投与群と非投与群での T1D 発症率を比較し、ともに LPS 投与群で発症率の有意な抑制

を認めた。また、SR-A 欠損 NOD マウスの自然発症モデルおよび CY モデルへの LPS 投与実験では、SR-A 欠損 NOD マウスの CY モデルへの LPS 投与群ではさらに発症抑制効果を認めた。次に、膵細胞に存在する自己抗原 IGRP 特異的に反応する CD8 陽性 T 細胞クローンの T 細胞受容体を、NOD マウスに遺伝子導入したマウスで、T1D 発症を促進する 8.3NOD マウスを用いて実験を行なった。TLR9 に対する抗体投与では発症を抑制し TLR7 の agonist では発症を促進する。そこで、TLR4 agonist の LPS 投与実験にて LPS 投与群と非投与群で T1D 発症率を比較検討したが、発症抑制効果は認めずむしろ発症を促進するという興味深い結果を示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

1) Tokunaga A, Imagawa A, Nishio H, Hayata S, Shimomura I, Abiru N, Awata T, Ikegami H, Uchigata Y, Oikawa Y, Osawa H, Kajio H, Kawasaki E, Kawabata Y, Kozawa J, Shimada A, Takahashi K, Tanaka S, Chujo D, Fukui T, Miura J, Yasuda K, Yasuda H, Kobayashi T, Hanafusa T, Japan Diabetes Society Committee on Fulminant Type 1 Diabetes Mellitus Research
Diffusion-weighted magnetic resonance imaging in the pancreas of fulminant type 1 diabetes

Diabetol Int 2018;9:2190-1678

2) Yukari Fujimoto; Yutaro Oki; Masahiro Kaneko; Hideki Sakai; Shogo Misu; Takumi Yamaguchi; Yuji Mitani; Hisafumi Yasuda; Akira Ishikawa

Usefulness of the desaturation-distance ratio from the six-minute walk test for patients with COPD

Int J Chron Obstruct Pulmon Dis

2017;12:2669-2675

3) Yoichi Oikawa, Akira Shimada, Takuya Awata, Tomoyasu Fukui, Hiroshi Ikegami, Akihiisa Imagawa, Hiroshi Kajio, Yumiko Kawabata, Eiji

Kawasaki, Junnosuke Miura, Haruhiko Osawa, Kazuma Takahashi, Shoichiro Tanaka, Yasuko Uchigata, [Hisafumi Yasuda](#), Kazuki Yasuda, Toshiaki Hanafusa, Tetsuro Kobayashi, Research Committee on Type 1 Diabetes of the Japan Diabetes Society

Clinical features of cases of seroconversion of anti-glutamic acid decarboxylase antibody during the clinical course of type 2 diabetes: a nationwide survey in Japan

Diabetol Int 2017;8:306-315

4)Junichi Yasui, Eiji Kawasaki, Shoichiro Tanaka, Takuya Awata, Hiroshi Ikegami, Akihisa Imagawa, Yasuko Uchigata, Haruhiko Osawa, Hiroshi Kajio, Yumiko Kawabata, Akira Shimada, Kazuma Takahashi, Kazuki Yasuda, [Hisafumi Yasuda](#), Toshiaki Hanafusa, Tetsuro Kobayashi, Japan Diabetes Society Committee on Type 1 Diabetes Mellitus Research

Clinical and Genetic Characteristics of Non-Insulin-Requiring Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) Autoantibody-Positive Diabetes: A Nationwide Survey in Japan

PLOS One 2016;11:e0155643

5)Megu Yamaguchi Baden, Akihisa Imagawa, Hiromi Iwahashi, Iichiro Shimomura, Takuya Awata, Hiroshi Ikegami, Yasuko Uchigata, Haruhiko Osawa, Hiroshi Kajio, Eiji Kawasaki, Yumiko Kawabata, Akira Shimada, Kazuma Takahashi, Shoichiro Tanaka, Kazuki Yasuda, [Hisafumi Yasuda](#), Tetsuro Kobayashi, Toshiaki Hanafusa

Risk factors for sudden death and cardiac arrest at the onset of fulminant type 1 diabetes mellitus

Diabetol Int 2016;7:281-288

6)Hiroyuki Seto, Mitsushige Nishimura, Katsuhiko Minamiji, Sonoko Miyoshi, Hiroyuki

Mori, Kenji Kanazawa, [Hisafumi Yasuda](#)

Disseminated Cryptococcosis in a 63-year-old Patient with Multiple Sclerosis Treated with Fingolimod

Intern Med 2016;55:3383-3386

7)Yutaro Oki, Masahiro Kaneko, Yukari Fujimoto, Hideki Sakai, Shogo Misu, Yuji Mitani, Takumi Yamaguchi, [Hisafumi Yasuda](#), Akira Ishikawa
Usefulness of the 6-minute walk test as a screening test for pulmonary arterial enlargement in COPD

Int J Chron Obstruct Pulmon Dis 2016;11:2869-2975

〔雑誌論文〕(計 2 件)

ライフステージ別糖尿病
高齢者糖尿病の臨床的特徴
安田 尚史

新時代の臨床糖尿病学(下) 日本臨床 2016
74 増刊号 2 ; 542-546

基礎講座・1型糖尿病の基礎研究

樹状細胞と細胞療法

安田 尚史

Diabetes Frontier 2016 27(3); 363-370

〔学会発表〕(計 16 件)

井上雄斗、[安田 尚史](#)、その他
CY 投与モデルマウスにおける SR-A 欠損による 1 型糖尿病発症への影響

第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会
2016.5.21

国立京都国際会館(京都府・京都市左京区宝ヶ池)

若藤 諒、[安田 尚史](#)、その他
poly(I:C) の早期高用量投与による
NOD-Ipr/Ipr マウスの免疫寛容破綻の誘導

第 59 回日本糖尿病学会年次学術集会
2016.5.21
国立京都国際会館（京都府・京都市左京区宝ヶ池）

若藤 諒、安田 尚史、その他
NOD-Ipr/Iprマウスにおける免疫寛容破綻の誘導の試み
第 14 回 1 型糖尿病研究会
2016.11.6
ルネッサンスリゾートナルト（徳島県・鳴門市鳴門町）

田上加奈子、安田 尚史、その他
Lipopolysaccharide投与による1型糖尿病モデルにおけるCD8陽性T細胞への影響の検討
第 14 回 1 型糖尿病研究会
2016.11.6
ルネッサンスリゾートナルト（徳島県・鳴門市鳴門町）

井上雄斗、安田 尚史、その他
CY投与SR-A KO NODマウスにおけるCY投与後の脾細胞分画の推移の検討
第 14 回 1 型糖尿病研究会
2016.11.6
ルネッサンスリゾートナルト（徳島県・鳴門市鳴門町）

西川みな帆、安田 尚史、その他
CY投与NODマウスにおけるLPS投与による1型糖尿病発症抑制の検討
第 14 回 1 型糖尿病研究会
2016.11.6
ルネッサンスリゾートナルト（徳島県・鳴門市鳴門町）

鈴木 遙、安田 尚史、その他
poly(I:C)およびCY投与によるNOD-Ipr/Iprマウスの免疫寛容破綻の誘導

第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会
2017.5.18-20
名古屋国際会議場（愛知県・名古屋市熱田区熱田西町）

田上加奈子、安田 尚史、その他
1型糖尿病CD8モデルマウスに対するLipopolysaccharide投与による糖尿病発症への影響
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会
2017.5.18-20
名古屋国際会議場（愛知県・名古屋市熱田区熱田西町）

西川みな帆、安田 尚史、その他
LPS投与によるサイクロホスファミド投与NODマウスモデルでの1型糖尿病発症抑制
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会
2017.5.18-20
名古屋国際会議場（愛知県・名古屋市熱田区熱田西町）

及川洋一、安田 尚史、その他
シンポジウム(S7)：1 型糖尿病 update 2017
2 型糖尿病の経過中にGAD 抗体の陽転化をみた症例の臨床像 日本人1 型糖尿病の成因，診断，病態，治療に関する調査研究委員会報告
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会
2017.5.18-20
名古屋国際会議場（愛知県・名古屋市熱田区熱田西町）

梶尾裕、安田 尚史、その他
日本人1型糖尿病の包括的データベースの構築と臨床研究への展開（TIDE-J）（第5報）
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会
2017.5.18-20
名古屋国際会議場（愛知県・名古屋市熱田区熱田西町）

乙井一典、安田 尚史、その他
高齢発症急性冠症候群患者の臨床的検討
第 59 回日本老年医学会学術集会
2017.6.14-16
名古屋国際会議場（愛知県・名古屋市熱田区
熱田西町）

田上加奈子、安田 尚史、その他
TLR4刺激が1型糖尿病自然発症モデルに及ぼ
す影響
第 15 回 1 型糖尿病研究会
2017.11.4-5
いわて県民情報交流センター アイーナ（岩
手県盛岡市盛岡駅西通）

鈴木 遥、安田 尚史、その他
1型糖尿病モデルにおけるMetforminの免疫系
に及ぼす影響
第 15 回 1 型糖尿病研究会
2017.11.4-5
いわて県民情報交流センター アイーナ（岩
手県盛岡市盛岡駅西通）

西川みな帆、安田 尚史、その他
LPSはCY投与NODマウスモデルにおいて1型糖
尿病の発症を抑制する
第 15 回 1 型糖尿病研究会
2017.11.4-5
いわて県民情報交流センター アイーナ（岩
手県盛岡市盛岡駅西通）

安田尚史
教育講演：1 型糖尿病 update
第 54 回日本糖尿病学会近畿地方会
2017.11.11
大阪国際会議場（大阪府大阪市北区中之島）

〔図書〕（計 3 件）

安田尚史（分担執筆）
インスリン抗体
臨床検査データブック LAB DATA コンパ
クト版 第 9 版 2017; 123

安田尚史（分担執筆）
インスリン抗体
臨床検査データブック LAB DATA
2017-2018 2017; 320-321

安田尚史（分担執筆）
グリコサミノグリカン（酸性ムコ多糖体
（AMPS））
臨床検査データブック LAB DATA
2017-2018 2017; 327-328

〔産業財産権〕

出願状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1) 研究代表者
安田 尚史（YASUDA, Hisafumi）
神戸大学・大学院保健学研究科・教授
研究者番号： 50403233

(2) 研究分担者
()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者

清水 まみ (SHIMIZU, Mami)

神戸大学・大学院医学研究科・医学研究員

研究者番号：10757313

井上 雄斗 (INOUE, Yuto)

若藤 諒 (WAKAFUJI, Ryo)

田上 加奈子 (TAGAMI, Kanako)

西川 みな帆 (NISHIKAWA, Minaho)

鈴木 遥 (SUZUKI Haruka)

以上、神戸大学・大学院保健学研究科・博士

前期課程

勝田 敦美 (KATSUTA, Atsumi)

神戸大学・大学院医学研究科・研究助手