

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：12102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K19628

研究課題名(和文)微量血液による多種血糖制御ペプチド測定系を応用した、小児の新規糖尿病治療法開発

研究課題名(英文)An inquiry into development of novel childhood diabetes treatment strategy based on interactions of multi-blood glucose controlling factors

研究代表者

岩淵 敦 (IWABUCHI, ATSUSHI)

筑波大学・医学医療系・講師

研究者番号：30649835

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：成人2型糖尿病での新規治療薬であるGLP-1(血糖下降ホルモン)とその働きを強めるDPP4阻害剤を、小児1型糖尿病の治療へ応用するために、小児1型糖尿病でのGLP-1やDPP4の測定を行った。GLP-1は食後30分で急速に分泌が増加していたが成人よりは分泌は少なく、DPP4は1型糖尿病小児では成人よりも多かった。同年代の健康小児よりも筋肉減少、脂肪増加、バランス感覚の低下が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児においてGLP-1が食事刺激によって分泌されることを示した最初の研究であり、また欧米成人と比較してその分泌が少ないことが示唆された。今後の研究の方向性としてブドウ糖のみならず脂肪食を用いた研究が必要であることを示した。DPP4蛋白量は成人と小児では異なることを示した。小児に対するDPP4阻害剤使用は、成人とは異なる反応を引き起こす可能性があり、さらなる研究が必要である。体組成や運動能力については、これまで小児期での正確な測定・評価がなされておらず、小児期から変化が生じていることを初めて示した。今後、幅広い年齢や罹病期間における同様の研究が重要である。

研究成果の概要(英文)：We measured GLP-1 (blood glucose-lowering hormone), and DPP4 (an enzyme to inactivate GLP-1) among children with and without diabetes, with an intention to utilize them to develop a new childhood type 1 diabetes treatment strategy. GLP-1 secretion increased rapidly 30 minutes after eating, but the increment was smaller compared to that in healthy adults. DPP4 secretion was higher in children with type 1 diabetes than that in healthy adults. Children with type 1 diabetes showed decreased muscle volume, increased fat volume and impaired balancing functions compared to the age-matched healthy control subjects.

研究分野：小児糖尿病

キーワード：糖尿病 インスリン 血糖値 膵島抗体 肥満

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1)小児1型糖尿病では、従来のインスリン補充療法に加えて新たにGLP-1製剤やDPP4阻害剤といったインクレチン関連薬の応用の可能性が模索されてきたが実用に至っていない。その要因として小児におけるGLP-1、DPP4の動態と役割が十分に明らかになっていないことが挙げられる。
- (2)また、小児1型糖尿病ハイリスク者の発症予防としてインスリン舌下治療など様々な治療が試みられているが十分な効果が得られていない。近年膵島破壊に関するZNT8抗体の役割が徐々に解明されているが、小児1型糖尿病におけるZNT8の陽性率などは不明である。
- (3)糖尿病合併症によるQOL低下の加速因子として高齢期のフレイル・サルコペニアなどが重要視され、予防のために若年期の筋肉・骨の獲得が有用である。小児1型糖尿病の若年期の体組成や運動機能に関する検討はほとんどなされていない。

2. 研究の目的

- (1)糖尿病でない小児におけるGLP-1の分泌動態を明らかにし、糖尿病に関連する要因との相関の有無を明らかにする。
小児1型糖尿病におけるDPP4活性、DPP4蛋白量を明らかにする。
- (2)小児1型糖尿病におけるZNT8抗体の陽性率を明らかにし、罹病期間やインスリン分泌能残存との相関を求める。
- (3)小児1型糖尿病における体組成・平衡感覚などを測定し、同年代の健常小児との比較を行う。

3. 研究の方法

- (1)肥満があり糖尿病を疑われて大学病院小児科へ紹介された小児を対象に経口ブドウ糖負荷試験(OGTT)を行った。結果的に糖尿病が否定された群と糖尿病であった群に分けて、残血清を用いて活性型GLP-1をELISA法で測定した。小児1型糖尿病患者の採血検体の残血清を用いてDPP4活性と蛋白量を、それぞれ酵素基質法とELISA法とで測定した。
- (2)小児1型糖尿病患者の採血検体の残血清を用いて、ZNT8抗体をELISA法で測定し、GAD抗体、IA2抗体と比較した。
- (3)小児1型糖尿病の患児のサマーキャンプでの集団教育の場で運動療法について実技指導するとともに体組成計、重心動揺計、知覚閾値計でそれぞれを計測した。同年代の健常小児に対しても小学校での集団健康教育を行った際に同様の実技指導・計測をおこなっており、これと比較した。

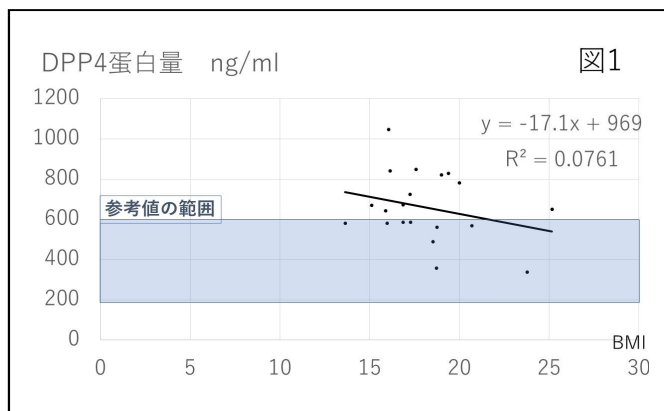
4. 研究成果

- (1) **GLP-1 (結果)**2018年までに筑波大学附属病院を受診した肥満小児のうち、既にHbA1cが高値の症例や、糖尿病の家族歴や黒色表脾腫を有するなど、特に2型糖尿病のハイリスクと考えられた症例を中心にOGTTを行った。HOMA-IRをインスリン抵抗性の指標とし、HOMA-およびinsulinogenic indexを分泌能の指標とした。9-15歳の21例が対象となり、15例が非糖尿病、6例が糖尿病であった。BMI中央値は非糖尿病が29.0、糖尿病30.8であり有意差はなかった。活性型GLP-1中央値(pg/ml)は全症例で空腹時6.85、負荷後30分で9.01、60分で8.13、120分で8.81であり、食後30分で有意な増加を示した。2群間でGLP-1に差はなかった。GLP-1とインスリン抵抗性・分泌能指標との間に有意な相関はなかった。

(考察)この測定環境を用いて食後の活性型GLP-1の分泌増加が検出可能であることが明らかとなった。欧州の白人成人での研究からは、ブドウ糖負荷試験よりも脂肪を含む食事負荷試験の方がよりGLP-1分泌を強く惹起しており、本研究も今後は脂肪食負荷を導入したいが、小児に対する脂肪食の標準化がなされておらず、これが新たな研究課題と考えられた。GLP-1分泌能の有意な群間差がなかったことから、DPP4による不活化やレセプター以遠における応答、さらには内分泌方式ではなく神経線維におけるGLP-1リガンド作用などが糖尿病の病因形成をなしている可能性が考えられた。

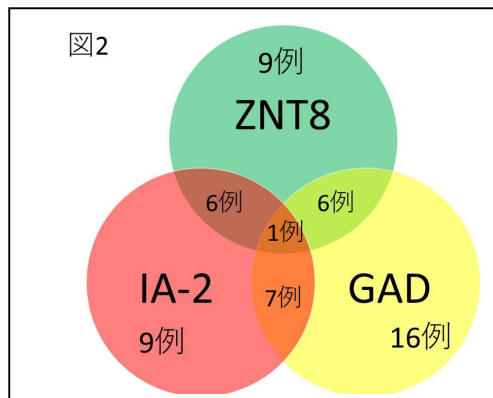
DPP4 (結果)2016-2019年までにのべ82例の小児1型糖尿病の残血清を得て、DPP4活性・抗原量の測定をそれぞれ行い、測定法などの最適化・再現性を得た。2019年に採取された20例の検体を用いてDPP4抗原量を測定した。男女比は8:12、年齢は6-15歳、BMI中央値は17.3、四分範囲は16.0-18.7だった。DPP4蛋白量(ng/ml)は中央値644、四分範囲は571-782であり、健常成人の参考値(200-600)と比して高値であった。DPP4蛋白量とBMIの間に負の相関が認められた(図1)

(考察)過去に我々が報告した1型糖尿病小児におけるDPP4活性の検討では(参考文献1 Iwabuchi. J Pediatr



Endo Metab 2013)、同様に DPP4 活性は一般成人よりも高値であり、これが高血糖による結果であるか、血糖制御を行う過程で生じた結果を見ているのかについては、学会でも定まった見解に至っていない。今後、1 型糖尿病に対する DPP4 阻害剤の有用性の検討を行っていくにあたり、DPP4 そのものの活性や蛋白量に加えて、代謝される GLP-1、さらには GLP-1 と共同して血糖制御を行うグルカゴンやアミリンなどの分泌動態を包括的に検討することが有用と考えられた。

(2)ZNT8 抗体 (結果) 前述の DPP4 蛋白量と同様に、2019 年に 20 例の小児糖尿病患者から得た血清を用いて計測した。研究対象の属性は前述と同じ。20 例のうち ZNT8 抗体陽性は 9 例であり、GAD 抗体陽性は 16 例、IA-2 抗体陽性は 9 例であった (図 2)。GAD 抗体は 3 つのうち最も陽性率が高かった。ZNT8 と IA-2 は GAD と比べて陽性率は低いながらも両者が陽性となる例は 9 例中 6 例と一致率が高かった。ここで、表 1 のように、両群の中で抗体価の高い順に郡内順位をつけると、2 抗体とも同一の症例第 1 位であるなど、一致率が高かった。ZNT 抗体価と糖尿病罹病期間、1 日インスリン量、HbA1c など血糖制御に影響する指標との間には有意な相関はなかった。



(考察) 表 1

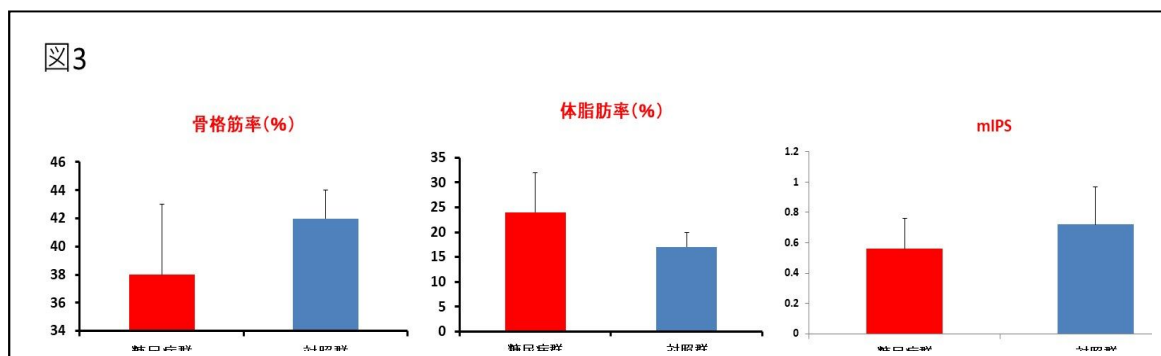
ZNT8 抗体は若年者では比較的陽性率が高いとされていたが、本検討では陽性率が 45%であり、既知の抗体よりも高い数値は得られなかった。

| | | | | | | | | | |
|------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| ZNT | 1位 | 2位 | 3位 | 4位 | 5位 | 6位 | 7位 | 8位 | 9位 |
| IA-2 | 1位 | 陰性 | 8位 | 1位 | 4位 | 9位 | 陰性 | 7位 | 陰性 |

ZNT8 の臨床応用価値は GAD, IA-2 とともに陰性であった症例における抗体検出といわれているが、そのような例は 1 例に限られた。本検討では GAD 抗体の陽性率が高かったことが最も影響している。

(3)運動機能

(結果) 茨城県小児糖尿病サマーキャンプに参加し、運動指導プログラムへの参加を選択し、研究に同意した小児 20 例を糖尿病群とした。男女比は 6 : 14、年齢は 8-14 歳、肥満度は中央値+8.9%であった。糖尿病罹病期間は 1 年未満が 1 例、1-2 年が 4 例、3-4 年が 8 例、5 年以上が 7 例であった。対象群は茨城県内の小学校で類似の運動指導プログラムを受け、研究に同意した健常小児 20 例であり、男女比は 17 : 3、年齢は 8-11 歳、肥満度は中央値+2.6%であった。体組成は In Body770 により、筋力は握力計、立ち上がり検査、足趾筋力により、平衡感覚は開眼片脚立位時間、閉眼片脚立位時間、重心動揺計により評価した。糖尿病群では対象群と比べて (図 3) 骨格筋率の低下 (38%対 42%)、体脂肪率の上昇 (24%対 17%)、重心動揺計による平衡感覚の低下 (mIPS スコア 0.56 対 0.72) が見られた。筋力低下は見られなかった。



(考察) 体脂肪率の上昇は、外因性インスリンによる脂肪蓄積として旧来の知見と合致した。筋肉の減少については、生化学的には筋肉同化に使われるべき栄養が脂肪同化に使われたか、運動習慣の不足か、摂取栄養が高炭水化物・低たんぱくであるなどが推定された。今後の検討課題はそれぞれ蛋白同化ホルモン動態、運動量計・食事の三大栄養素評価などを含める必要性が示唆された。平衡感覚低下については各年代の 1 型糖尿病患者の検討が望まれる。このような理学療法的な評価に基づいて、小児期発症 1 型糖尿病の全人生にわたる運動支援とフレイル・サルコペニア予防へと発展していく教育プログラムが望まれる。

参考文献

1 Iwabuchi, Serum Dipeptidyl Peptidase 4 Activity in Children With Type 1 Diabetes Mellitus, J Pediatr Endocrinol Metab ., 26, 2013, p1093-1097

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Nakao T, Fukushima H, Fukushima T, Suzuki R, Hosaka S, Yamaki Y, Kobayashi C, Iwabuchi A, Imagawa K, Sakai A, Shinkai T, Masumoto K, Sakashita S, Masumoto T, Mizumoto M, Sumazaki R, Sakurai H. | 4. 巻 23 |
| 2. 論文標題 Interinstitutional patient transfers between rapid chemotherapy cycles were feasible to utilize proton beam therapy for pediatric Ewing sarcoma family of tumors. | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Rep Pract Oncol Radiother. | 6. 最初と最後の頁 442-450 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 0.1016/j.rpor.2018.08.006 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 甲斐 友美、岩淵 敦、野崎 良寛、福島 紘子、福島 敬、増本 幸二、太田 正康、須磨崎 亮、高田 英俊 | 4. 巻 印刷中 |
| 2. 論文標題 多発性細菌性膿瘍の軽快期に初めて好中球減少が出現した自己免疫性好中球減少症の1例 | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 小児科臨床 | 6. 最初と最後の頁 印刷中 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Ouchi K, Onizawa Y, Kido T, Iwabuchi A, Sumazaki R. | 4. 巻 Epub2017 |
| 2. 論文標題 Congenital epiglottic cyst: Neck position-dependent respiratory distress in newborns. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Pediatrics International | 6. 最初と最後の頁 939-940 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.13316 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 beam therapy. Fukushima H, Fukushima T, Suzuki R, Iwabuchi A, Hidaka K, Shinkai T, Masumoto K, Muroi A, Yamamoto T, Nakao T, Oshiro Y, Mizumoto M, Sakurai H, Sumazaki R. | 4. 巻 59 |
| 2. 論文標題 Comorbidity and quality of life in childhood cancer survivors treated with proton beam therapy. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Pediatrics International | 6. 最初と最後の頁 1039-1045 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ped.13323. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 山田 晶子、岩淵 敦、大内 香里、城戸 崇裕、榎園 崇、大戸 達之、福島 敬、須磨崎 亮 | 4. 巻 122 |
| 2. 論文標題 軽微な転落を契機に硬膜下血腫、網膜出血を呈した グルタル酸血症I型の小児例 | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 日本小児科学会雑誌 | 6. 最初と最後の頁 903-908 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Sakai A, Noguchi E, Fukushima T, Tagawa M, Iwabuchi A, Kita M, Kakisaka K, Miyasaka A, Takikawa Y, Sumazaki R | 4. 巻 35 |
| 2. 論文標題 Identification of amino acids in antigen-binding site of class II HLA proteins independently associated with hepatitis B vaccine response. | 5. 発行年 2017年 |
| 3. 雑誌名 Vaccine | 6. 最初と最後の頁 703-710 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vaccine.2016.08.068. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Suzuki H, Fukushima H, Suzuki R, Hosaka S, Yamaki Y, Kobayashi C, Sakai A, Imagawa K, Iwabuchi A, Yoshimi A, Nakao T, Kato K, Tsuchida M, Kiyokawa N, Koike K, Noguchi E, Fukushima T, Sumazaki R. | 4. 巻 61 |
| 2. 論文標題 Genotyping NUDT15 can predict the dose reduction of 6-MP for children with acute lymphoblastic leukemia especially at a preschool age. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Journal of human genetis | 6. 最初と最後の頁 797-801 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/jhg.2016.55. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Kanai Y, Kamoda T, Saito M, Fujiyama S, Nishimura K, Iwabuchi A, Miyazono Y, Hamada H, Sumazaki R. | 4. 巻 93 |
| 2. 論文標題 Cord blood insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF-binding proteins and adiponectin, and birth size in offspring of women with mild gestational diabetes. | 5. 発行年 2016年 |
| 3. 雑誌名 Early Human Development | 6. 最初と最後の頁 39-42 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.earlhumdev.2015.12.003. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 岩淵 敦 鴨田 知博 篠原 宏行 山田 晶子、甲斐 友美、 酒井 愛子、高田 英俊 |
| 2. 発表標題 上肢の筋・関節痛が糖尿病合併症と考えられた2例 |
| 3. 学会等名 第52回日本小児内分泌学会学術集会 |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 鈴木康裕，岩淵敦，鈴木浩明，岩崎仁，田邊裕基，椿拓海，笠原啓介，高橋裕那，新生悠人，上村忠正，海野潔美，石川公久，羽田康司，島野仁 |
| 2. 発表標題 1型糖尿病小児を対象とした体組成，身体能力，痛覚閾値についての探索的調査 |
| 3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 岩淵 敦、篠原 宏行、畑野 舞子、影山 あさ子、城戸 崇裕、今川 和生、鴨田 知博 |
| 2. 発表標題 1型糖尿病初発時における、フラッシュグルコースモニタリング上の食後ピークとSMBGとの比較検討 |
| 3. 学会等名 第51回日本小児内分泌学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|--------------------------------------|
| 1. 発表者名 岩淵 敦 |
| 2. 発表標題 1型糖尿病におけるFGM導入の実際とSAPとの比較 |
| 3. 学会等名 第3回つくば小児内分泌研究会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|---------------------------------------|
| 1. 発表者名 岩淵 敦 |
| 2. 発表標題 茨城県におけるタンデムマススクリーニング導入後の実績 |
| 3. 学会等名 第186回茨城産科婦人科学会（招待講演） |
| 4. 発表年 2018年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 山田晶子、岩淵敦、清木香里、城戸崇裕、大戸達之、福島敬、鴨田 知博、須磨崎亮、玉井 香菜、城賀本 満登 |
| 2. 発表標題 グルタル酸血症1型症例に対する地域病院と大学病院との連携の試み及び硬膜下血腫時の対応 |
| 3. 学会等名 第59回日本先天代謝異常学会 |
| 4. 発表年 2017年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 Atsushi Iwabuchi, Tomohiro Kamoda, Hiroyuki Shinohara, Isho Izumi, Takeki Hirano, Ryo Sumazaki |
| 2. 発表標題 Serum dipeptidyl peptidase 4 activity in children with type 1 diabetes mellitus indicates insulin insensitivity. |
| 3. 学会等名 Asia Pacific Paediatric Endocrine Society, 9th biennial scientific meeting (国際学会) |
| 4. 発表年 2016年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Hiroyuki Shinohara, Atsushi Iwabuchi, Akiko Yamada, Tomomi Kai, Takahiro Kido, Yoshiaki Kato, Tomohiro Kamoda, Ryo Sumazaki |
| 2. 発表標題 A successful switch experience from high-dose PTU to MMI on day 4 of Graves' thyroid storm in a 14 years old girl. |
| 3. 学会等名 Asia Pacific Paediatric Endocrine Society, 9th biennial scientific meeting (国際学会) |
| 4. 発表年 2016年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|