

令和 2 年 11 月 8 日現在

機関番号：24303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15780

研究課題名(和文)慢性炎症を呈する非肥満2型糖尿病患者に特異的な自己抗体の探索および病的意義の解明

研究課題名(英文) Search for autoantibodies specific to nonobese patients with type 2 diabetes with chronic inflammation and elucidation of their pathological significances

研究代表者

福田 拓也 (Fukuda, Takuya)

京都府立医科大学・医学部附属病院・専攻医

研究者番号：70782077

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、遺伝子多型とは異なる機序により各種病態を惹起する可能性のある未知の自己抗体が2型糖尿病患者において産生されていると想定し、そのような新規自己抗体を探索した。プロテインアレイにより同定された15種類の新規自己抗体の中から、病態と関連する可能性が想起された抗X抗体および抗トロンボポエチン(THPO)抗体を選定し、ELISA法を行った。

抗X抗体は13.6%に認められ、抗体陽性群は陰性群と比較し、約1年間の観察期間において体重に占める四肢骨格筋の割合の減少が有意に乏しかった。抗THPO抗体は18.0%に認められ、抗体陽性群の平均血小板数は陰性群より有意に低値であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の保険診療の範囲では、骨格筋萎縮のバイオマーカーは存在せず、サルコペニアが進行するリスクを客観的に評価する手段が無い。今回見いだされた抗X抗体を用いることにより、サルコペニア発症リスクの高い人々を同定し、より積極的に介入することが可能となる。また抗THPO抗体は血小板減少と関連する可能性が示唆されたが、現在診療現場では測定することが出来ない抗体であり、原因不明の血小板数減少として見逃されている場合があると推測される。

通常の採血検査にて得られる血清を用い、特異的ELISAプレートを用いて比較的容易にこれらの抗体を検出することが可能であり、今後臨床現場への用途拡大が望まれる。

研究成果の概要(英文)： In this study, we assumed that unknown autoantibodies that may cause various pathological conditions by mechanisms different from gene polymorphisms are produced in patients with type 2 diabetes, and exhaustively searched with a protein array. Among the 15 novel autoantibodies identified by the protein array, anti-X antibodies and anti-thrombopoietin (THPO) antibodies, which were considered to be associated with the pathological condition, were selected and subjected to ELISA.

The anti-X antibody was found at 13.6%, and the antibody positive group showed significantly fewer changing in the ratio of appendicular skeletal muscle to body weight compared with the negative group in the observation period of one year. The anti-THPO antibody was found in 18.0%, and the average platelet count of the antibody positive group was significantly lower than that of the negative group.

研究分野：内分泌・代謝内科学

キーワード：自己抗体 糖尿病 サルコペニア 血小板減少症

1. 研究開始当初の背景

[1] 非肥満者のアジア人における代謝異常

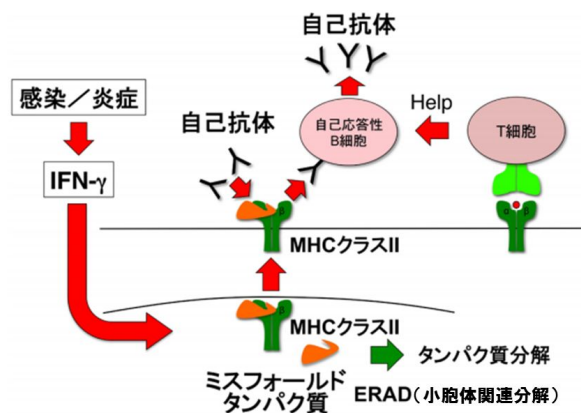
近年アジアにおいては、非肥満者における代謝異常に着目する必要性が喚起されている。日本人を含むアジア人においては、非肥満者においてもメタボリック症候群や脂肪肝を呈する症例の頻度が高く、糖尿病や動脈硬化性疾患の発症リスクの高いことが知られている。また非肥満者は早期に骨格筋量低下および筋力低下を呈する傾向にあり、人口の高齢化に伴いサルコペニアを呈するものが増加している我が国の現状においては、非肥満者における筋量の低下をいかに予防するかが喫緊の課題である。

[2] 非肥満者、非肥満 2 型糖尿病患者におけるサルコペニア・脂肪肝・代謝異常

私たちは、非肥満者でもメタボリック症候群、脂肪肝といった代謝異常を伴うことで、2 型糖尿病や慢性腎臓病の発症リスクとなることを報告してきた (Fukuda T, et al. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2016., Fukuda T, et al. Liver Int. 2016., Hashimoto Y, et al. Clin J Am Soc Nephrol. 2015.)。非肥満者はわずかな体重増加も病態への影響が大きく、また糖尿病発症予防における運動習慣の効果が認められなかったことより、代謝異常を呈する非肥満者における病態進展予防・治療について、現状では減量以外の有効な策を提示することが難しい。また私たちは非肥満 2 型糖尿病患者においてサルコペニア及び脂肪肝が認められることを報告しているが (Osaka T, et al. Diabetes Metab. 2016., Hashimoto Y, et al. Endocr J. 2016.)、サルコペニアと脂肪肝はいずれも慢性炎症が増悪因子であることが知られている。

[3] 非肥満 2 型糖尿病での慢性炎症の状態における自己抗体の産生

2 型糖尿病に代表される代謝異常を呈する疾患は、遺伝子多型を背景とした疾患感受性に生活習慣といった環境因子が加わり発症すると考えられており、非肥満者に合併する脂肪肝炎やサルコペニアといった個々の病態に関して様々な知見が得られている。その一方で、代謝異常の原因として慢性炎症の存在も重要であり、昨今、慢性炎症の状態にて自己由来ペプチドが非自己と認識され自己抗体が産生される“ネオセルフ”という病態が注目されている(図 1)。

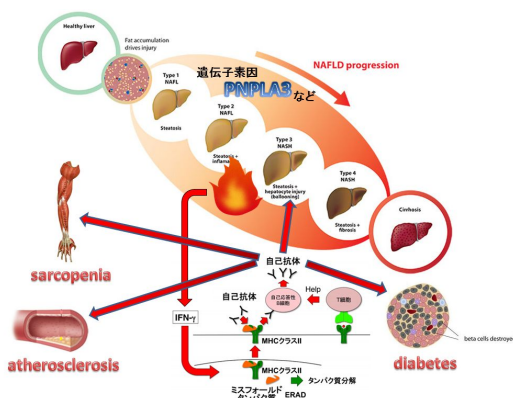


Arase H. Journal of Japanese Biochemical Society 87(6): 785-788 (2015)

(図 1) 慢性炎症の状態において自己抗体が産生される機序 (仮説)

2. 研究の目的

本研究は、遺伝子多型とは異なる機序により各種病態を惹起する可能性のある未知の自己抗体が 2 型糖尿病患者において産生されていると想定し(図 2)、そのような新規自己抗体を探索し、臨床像との関連を調査することを目的として行った。



(図 2) 2 型糖尿病患者において各種病態を惹起する自己抗体 (仮説)

3. 研究の方法

生活習慣病関連肝疾患のコホート調査 (ERB-C-297-2) の参加者のうち、腹部エコーにて脂肪肝が認められた BMI 25 kg/m² 未満の非肥満 2 型糖尿病女性患者 11 名を、特異な代謝異常を示す集団として解析対象とした。対象者の血清を、約 2 万種の抗原ヒトタンパク質を搭載したプロテインアレイにて解析し、自己抗体を同定した。2 名以上に共通して陽性となった自己抗体のうち、抗原の生物学的機能が明らかな自己抗体を選定した。選定した自己抗体について抗原結合プレートを用いて ELISA 法による自己抗体の定性的評価を可能にした。2 型糖尿病女性患者 55 名を加えた 66 名を対象として ELISA 法により自己抗体の陽性を判定し、後ろ向きコホート研究により臨床像との関連を統計学的に解析した。肝弾性率は超音波エラストグラフィにて評価した。

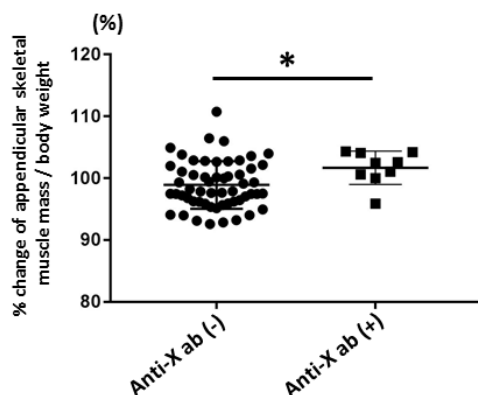
4. 研究成果

[1] プロテインアレイより見出された新規自己抗体

プロテインアレイにより新規の自己抗体が 25 種同定された。健常人においても認められる 11 種の自己抗体を除外した 15 種の中から、病態と関連する可能性が想起された抗 X 抗体および抗トロンボポエチン (THPO) 抗体を選定し、ELISA 法を行った。

[2] 2 型糖尿病患者における抗 X 抗体

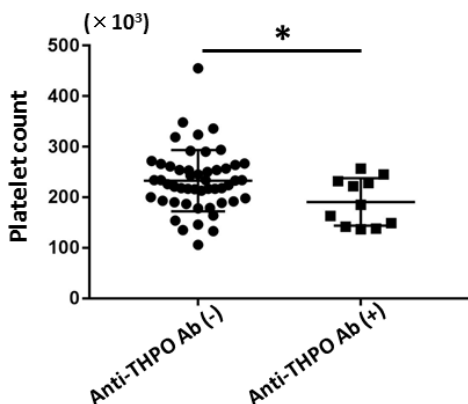
抗 X 抗体は 66 名中 9 名 (13.6%) に認められることが示された。次にその 66 名の 2 型糖尿病患者について、約 1 年間の経過観察を行い、体重に占める四肢骨格筋の割合を測定した。体重に占める四肢骨格筋の割合の測定に際しては、生体電気インピーダンス分析 (BIA) 身体成分分析装置 InBody 720、株式会社インボディ・ジャパン) により骨格筋量を測定することにより行った。陽性群は陰性群と比較し、約 1 年間の観察期間において四肢骨格筋/体重の変化率の減少が乏しかった ($p=0.044$) (図 3)。「四肢骨格筋/体重」の 1 年間の変化率を従属変数として、年齢、HbA1c、運動習慣の有無を共変量とした重回帰分析を行ったところ、抗 X 抗体は四肢骨格筋/体重の変化率と関連する因子であった (標準 $\beta = -0.273$ 、 $p = 0.034$)。



(図 3) 抗 X 抗体の有無による四肢骨格筋/体重の年間変化率

[2] 2 型糖尿病患者における抗 THPO 抗体

抗 THPO 抗体は、初回受診時に超音波エラストグラフィにて肝弾性率が 7kPa 未満であった 61 名中 11 名 (18.0%) に認められた。陽性群の平均血小板数は $19.1 \times 10^4/\mu\text{L}$ と、陰性群の $23.3 \times 10^4/\mu\text{L}$ より有意に低値であった ($p=0.02$) (図 4)。



(図 4) 抗 THPO 抗体の有無による血小板数

[3] 今後の展望

これらの自己抗体の出現機序と病態との分子生物学的機序解明にはさらなる検討を要する。また、プロテインアレイにより見出された 15 種の新規自己抗体中のうち、今回検討していない抗体についても、2 型糖尿病患者における病的意義を検討する必要性がある。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Fukuda T, Hamaguchi M, Osaka T, Hashimoto Y, Ushigome E, Asano M, Yamazaki M, Fukuda E, Yamaguchi K, Ogawa K, Goshima N, Fukui M. A Pilot Study on the Effect of Anti-Thrombopoietin Antibody on Platelet Count in Patients with Type 2 Diabetes. *Molecules*. 2020; 25: 1667. 査読有

〔学会発表〕(計 2 件)

福田拓也, 濱口真英, 大坂貴史, 橋本善隆, 千丸貴史, 牛込恵美, 浅野麻衣, 山崎真裕, 福田枝里子, 五島直樹, 福井道明. 代謝異常を呈する女性 2 型糖尿病患者における未知の自己抗体の探索. 第 62 回日本糖尿病学会年次学術集会. 2019 年 5 月 25 日(仙台).

福田拓也, 濱口真英, 大坂貴史, 橋本善隆, 千丸貴史, 牛込恵美, 浅野麻衣, 山崎真裕, 福田枝里子, 五島直樹, 福井道明. 2 型糖尿病患者における抗トロンボポエチン抗体と血小板数との関連の検討. 第 224 回日本内科学会近畿地方会. 2019 年 6 月 1 日(大阪).

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

名称：筋肉量低下リスクを評価するマーカー

発明者：濱口 真英、福田 拓也、福井 道明、五島 直樹、福田 枝里子、山口 圭

権利者：京都府公立大学法人、国立研究開発法人産業技術総合研究所

種類：特願

番号：2019-84956

出願年：2019 年

国内外の別：国内

取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

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