

平成 21 年 4 月 29 日現在

研究種目：	基盤研究(C)
研究期間：	2007 ~ 2008
課題番号：	19591069
研究課題名(和文)	発症直後患者膵組織の解析による劇症1型糖尿病の成因解明
研究課題名(英文)	Etiology of fulminant type 1 diabetes -analysis of the pancreas tissues
研究代表者	
	花房 俊昭 (Hanafusa Toshiaki)
	大阪医科大学・医学部・教授
	研究者番号： 60164886

研究成果の概要：私どもが発見・確立した劇症1型糖尿病患者の剖検膵組織（合計3症例）を分析し、RNA レベルでエンテロウイルスの発現を認めた症例が存在すること、膵島浸潤細胞の主体が CD68 陽性マクロファージであり、3 症例すべてにおいて 90%以上の膵島に浸潤していること、膵島に浸潤しているマクロファージに toll-like receptor (TLR) -3, 7, 8, 9 が発現していることを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
19年度	2,300,000	690,000	2,990,000
20年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：1型糖尿病・劇症・膵・ウイルス・マクロファージ・T細胞

1. 研究開始当初の背景

本研究の対象とする「劇症1型糖尿病」は、私どもが世界に先駆けて発見・確立した新しい疾患単位である(N Engl J Med 2000)。さらに全国的な疫学調査を行い、劇症1型糖尿病は日本人1型糖尿病の約20%をしめる重要なサブタイプであること、発症時に診断が遅れると死亡する症例も存在する予後不良の糖尿病であることを明らかにした(Diabetes Care 2003)。また、劇症1型糖尿病においては発症時から内因性インスリン分泌能が枯渇しているため、強化インスリン治療を

行っても細小血管合併症が進行しやすいことを明らかにした。以上のことから、劇症1型糖尿病は糖尿病の最重症型と位置付けることができる。

劇症1型糖尿病の疾患概念を確立する際に、発症1-5ヶ月後に腹腔鏡下膵生検により採取し得た膵組織を分析した。発症1-5ヶ月後の膵組織においては、従来膵局所において、自己免疫の指標と考えられてきた膵島炎や膵島での MHC class I 抗原の発現増強所見が存在しないことが、劇症1型糖尿病の大きな特徴であった。この他にも、生検膵組織の分析により、劇症1型糖

尿病においては膵β細胞のみならずα細胞も傷害されること、自己免疫性1型糖尿病では発現が増強しているFasの発現を認めないことなどを明らかにしてきた(Diabetologia 2005)。

しかし、最近私どもが分析した1例の発症直後の劇症1型糖尿病患者膵においては、マクロファージの浸潤を中心とした膵島炎の存在を認めた。すなわち、極めて急激に膵β細胞が傷害される劇症1型糖尿病においては、発症直後の組織像と発症数ヶ月後の組織像が異なることが考えられる。したがって、より直接的に劇症1型糖尿病の成因に迫るには、発症直後の膵組織を併せて解析する必要があるというのが本研究の背景であった。

2. 研究の目的

本研究は、劇症1型糖尿病患者膵において直接ウイルス感染の存在を明らかにすると共に、ウイルス感染と免疫応答を仲介する innate immunity に関係する分子がβ細胞傷害に果たす役割を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

本研究では、新規劇症1型糖尿病患者検体の収集に努めるとともに、得られた検体を以下の方法で分析した。

1) 免疫組織化学および In situ hybridization 法を用いた膵組織におけるエンテロウイルス抗原発現の検討

2) 免疫組織化学を用いた膵島に浸潤するマクロファージの characterization

3) 免疫組織化学を用いた浸潤マクロファージにおける toll-like receptor 発現の検討

4) マイクロダイセクション法を用いた劇症1型糖尿病患者膵に発現する分子の同定と免疫組織化学による候補遺伝子の転写産物の膵組織内局在の検討

4. 研究成果

劇症1型糖尿病における発症直後患者膵組織を新たに1検体収集し、合計3症例の剖検膵組織を検討し、以下のような成果を得た。

1) エンテロウイルス感染の有無について免疫組織化学および in situ hybridization 法を用いて検討した。D社の抗体を用いた免疫組織化学による検討では、すべての症例において、膵組織の一部にエンテロウイルス VP1 抗原の発現を認めた。しかし、in situ hybridization 法により、RNA レベルでその発現を確認しえたのは1例のみであり、その発現部位も異なっていた。

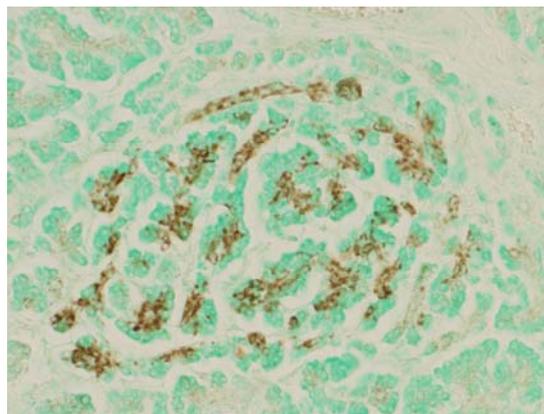


図1 膵組織におけるVP1抗体に対する免疫染色

2) 当初の検討で膵島浸潤細胞の主体はマクロファージであることが明らかであったが、この細胞が CD68 陽性細胞であることを明らかにした。また、CD68 陽性細胞が3症例すべてにおいて 90%以上の膵島に浸潤していることを明らかにした。

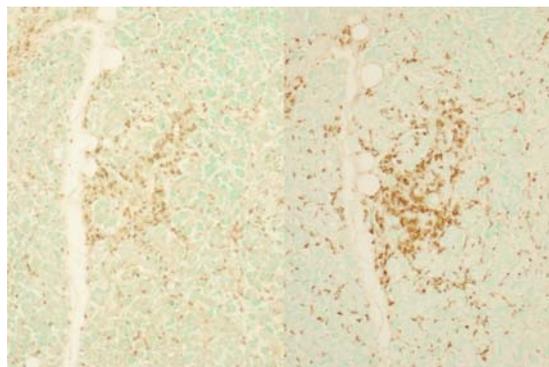


図2 膵組織におけるCD3陽性細胞(左)とCD68陽性細胞(右)

3) 膵島に浸潤しているマクロファージに toll-like receptor (TLR) -3, 7, 8, 9 が発現していることを明らかにした。

4) マイクロダイセクション法によるRNAの抽出を試みたが、マイクロアレイによる解析をおこないうるRNAは抽出できなかった。

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)

[雑誌論文] (計 28 件)

- 1) 今川彰久 劇症1型糖尿病の病因と病態 (2) ウイルス感染の関与 プラクティス 26(2):129-131, 2009 (査読: 無)
- 2) 今川彰久 劇症1型糖尿病の病因と病態 (1) 遺伝因子 プラクティス 26(1):11-13, 2009 (査読: 無)

- 3) Hanafusa T, Imagawa A. Insulinitis in human Type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci. Immunology of Diabetes V*: 2008;1150: 297-299. (査読:有)
- 4) Murao S, Imagawa A, Kawasaki E, Yokota K, Yamashita T, Sekikawa T, Osawa H, Hanafusa T, Makino H. Pancreas histology and a longitudinal study of insulin secretion in a Japanese LADA (latent autoimmune diabetes in adult) patient. *Diabetes Care.* 2008 Oct;31(10):e69. (査読:有)
- 5) Imagawa A, Hanafusa T, Iwahashi H, Uchigata Y, Kanatsuka A, Kawasaki E, Kobayashi T, Shimada A, Shimizu I, Maruyama T, Makino H. Uniformity in clinical and HLA-DR status regardless of age and gender within fulminant type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008 Nov;82(2):233-7. (査読:有)
- 6) Kawasaki E, Imagawa A, Makino H, Uga M, Abiru N, Hanafusa T, Uchigata Y, Eguchi K. Differences in the contribution of CTLA4 gene to susceptibility to fulminant and type 1A diabetes in Japanese patients. *Diabetes Care.* 2008 Aug;31(8):1608-10. (査読:有)
- 7) Takaike H, Uchigata Y, Iwamoto Y, Imagawa A, Iwahashi H, Kanatsuka A, Kawasaki E, Kobayashi T, Shimada A, Shimizu I, Hanafusa T, Maruyama T, Makino H. Nationwide survey to compare the prevalence of transient elevation of liver transaminase during treatment of diabetic ketosis or ketoacidosis in new-onset acute and fulminant type 1 diabetes mellitus. *Ann Med* 2008;40(5):395-400. (査読:有)
- 8) Murase-Mishiba Y, Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes as a model of nature to explore the role of C-peptide. *Exp Diab Res.* 2008;2008:819123. (査読:有)
- 9) Sano H, Terasaki J, Tsutsumi C, Imagawa A, Hanafusa T. A case of fulminant type 1 diabetes mellitus after influenza B infection. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008 Mar;79(3):e8-9. (査読:有)
- 10) Nakamura M, Nishida W, Yamada Y, Chujo D, Watanabe Y, Imagawa A, Hanafusa T, Kawasaki E, Onuma H, Osawa H, Makino H. Insulin administration may trigger pancreatic b cell destruction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008 Feb;79(2):220-9. (査読:有)
- 11) Sawaki H, Terasaki J, Fujita A, Nakagawa S, Kanatsuna N, Sadahiro K, Isotani H, Imagawa A, Hanafusa T. A renoprotective effect of low dose losartan in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008 Jan;79(1):86-90. (査読:有)
- 12) 今川彰久 劇症1型糖尿病 小児内科 40(6):1058-1063, 2008 (査読:無)
- 13) 今川彰久, 花房俊昭 見逃してはいけない糖尿病の特殊型—劇症1型糖尿病 日本医事新報(4408):57-61, 2008 (査読:無)
- 14) 今川彰久, 花房俊昭 糖尿病の新しい病型 劇症1型糖尿病 BIO Clinica 23(6):501-506, 2008. (査読:無)
- 15) 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病 *Medical Practice* 25(suppl):787-790, 2008 (査読:無)
- 16) 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病 *日本臨床* 66 (suppl3): 375-381, 2008 (査読:無)
- 17) 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病 *Diabetes Frontier* 19(2): 196-198, 2008. (査読:無)
- 18) 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病 *内科* 101(1):75-78, 2008 (査読:無)
- 19) 花房俊昭, 今川彰久, 岩橋博見, 内湯安子, 金塚東, 川崎英二, 小林哲郎, 島田朗, 清水一紀, 丸山太郎, 牧野英一 劇症1型糖尿病調査研究委員会報告(追補)—発症時のウイルス抗体価について *糖尿病* 51(6):531-536, 2008 (査読:有)
- 20) 三柴裕子, 今川彰久, 花房俊昭 GAD抗体、インスリン自己抗体 *総合臨床* 57(7): 1934-37, 2008 (査読:無)
- 21) 堤千春, 今川彰久, 花房俊昭 1型糖尿病 *総合臨床* 57(suppl)1176-1178, 2008 (査読:無)
- 22) 長谷田文孝, 今川彰久, 花房俊昭 ヒトインスリンアナログ製剤について *モダンフィジシャン* 28(2)187-193, 2008. (査読:無)
- 23) 小野万里子, 今川彰久, 花房俊昭 1型糖尿病治療の基本とインスリン療法 *日本臨床* 66 (suppl7): 118-121, 2008 (査読:無)
- 24) 堀江典代, 上田一仁, 柴崎早枝子, 寺前純吾, 今川彰久, 花房俊昭 全自動化学発光酵素免疫測定装置 LUMIPULSE f による C ペプチド測定法の性能評価と低濃度領域での臨床的有用性 *糖尿病* 51(7): 639-644, 2008. (査読:有)
- 25) 中村舞, 西田互, 能美幸信, 川村良一, 高田康徳, 今川彰久, 花房俊昭, 大沼裕, 大澤春彦, 渡部祐司, 牧野英一 インスリン注射を契機にインスリンアレルギーを伴い1型糖尿病を発症した2型糖尿病の1例 *Diabetes Journal* 36(4):157-161, 2008 (査読:無)
- 26) 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病の診断と治療 *医学のあゆみ* 220(13):1163-1167, 2007 (査読:無)
- 27) 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病診断と治療 95(suppl):407-414, 2007 (査読:無)
- 28) 花房俊昭, 今川彰久, 岩橋博見, 内湯安

子、金塚東、川崎英二、小林哲郎、島田朗、清水一紀、丸山太郎、牧野英一、村瀬裕子、池上博司 劇症1型糖尿病調査研究委員会報告-HLAおよび細小血管合併症について糖尿病 50(11):825-833, 2007 (査読:有)

[学会発表] (計 2件)

1) 今川彰久、花房俊昭 シンポジウム「1型糖尿病の発症機構」劇症1型糖尿病の発症機構-自己免疫性との対比 第51回日本糖尿病学会年次学術集会、東京、5/23, 2008

2) Hanafusa T, Imagawa A. Insulitis in human type 1 diabetes and pre-diabetes. 9th meeting of the Immunology of Diabetes Society 2007.11.14-18 Miami

[図書] (計 7件)

1) 今川彰久、花房俊昭 劇症1型糖尿病-最近の進歩 分子糖尿病学の進歩-基礎から臨床まで-p78-84, 2008. (矢崎義雄監修・金原出版、東京)

2) 今川彰久、花房俊昭 劇症1型糖尿病 糖尿病の療育指導 2008(日本糖尿病学会編、診断と治療社、東京) p141-145, 2008

3) 今川彰久、花房俊昭 劇症1型糖尿病と緩徐進行1型糖尿病 (野田光彦編、南江堂、東京) 糖尿病臨床スキルアップ p288-294, 2007

4) 今川彰久、花房俊昭 劇症1型糖尿病 糖尿病学 基礎と臨床 (門脇孝、石橋俊、佐倉宏、戸邊一之、野田光彦編、西村書店、東京) p256-259, 2007

5) 今川彰久、花房俊昭 劇症1型糖尿病 糖尿病診療Q&A (寺内康夫編、中外医学社、東京) p362-364, 2007

6) 今川彰久、花房俊昭 劇症1型糖尿病 糖尿病の療育指導 2007(日本糖尿病学会編)p108-111, 2007 (診断と治療社、東京)

7) 今川彰久、花房俊昭 1型糖尿病 糖尿病最新の治療 2007-2009 (河盛隆造、岩本安彦編、南江堂、東京) P34-37, 2007

6. 研究組織

(1) 研究代表者

花房 俊昭 (Hanafusa Toshiaki)
大阪医科大学・医学部・教授
研究者番号: 60164886

(2) 研究分担者

今川 彰久 (Imagawa Akihisa)
大阪医科大学・医学部・非常勤講師
研究者番号: 80373108

(3) 連携研究者

飯野 守男 (Iino Morio)
京都大学・医学系研究科・助教
研究者番号: 80362466