

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07912

研究課題名(和文) 免疫細胞を標的とした細胞内代謝制御による1型糖尿病に対する新規予防的治療法の開発

研究課題名(英文) Development of new prophylactic treatment for type 1 diabetes by controlling intracellular metabolism targeting immune cells

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：マウスの解析により1型糖尿病(T1D)発症抑制状態では、免疫細胞はmTOR活性化状態(解糖系亢進、エネルギー消費亢進)が抑制され、むしろAMPK活性化状態(酸化的リン酸化亢進、エネルギー産生亢進)であることが明らかになった。このことを踏まえて、T1DモデルマウスへのAMPK活性化薬(解糖系抑制薬)の投与実験を行なった。その結果、T1D発症を抑制し、組織学的にも膵島炎を抑制、脾細胞のフローサイトメトリー解析では、活性化CD4陽性T細胞(Teff)の減少、および制御性T細胞(Treg)など制御性細胞の増加を認めた。以上より、T細胞バランスがTeffからTregへ偏位が示され有効性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、1型糖尿病(T1D)発症に関わる免疫細胞の代謝状態に焦点をあて、自然免疫と獲得免疫の橋渡しをする樹状細胞(DC)および発症に関わるT細胞の代謝状態とT1D発症との関連を検討した。また、免疫細胞の細胞内代謝を制御することで免疫細胞機能を制御し、ヒトT1Dに対する新規予防的治療法としての「免疫代謝療法」の開発を目指したものであった。本研究の結果は、T1D発症の制御の可能性を広げ、かつ将来のT1Dによる合併症を未然に防ぐこととなり、平均寿命と健康寿命の延伸に繋がるという点で、大変有意義な研究成果であると考えている。

研究成果の概要(英文)：Our preliminary experiments in type 1 diabetes (T1D) model mice showed that in the state of suppressing the onset of T1D, activation of mTOR signal (glycolysis enhancement, energy consumption enhancement) is suppressed and AMPK activation is rather induced in immune cells, finally leading to glycolysis inhibition, oxidative phosphorylation enhancement and energy production. Based on the results of our experiments, we conducted an administration of an AMPK activator (glycolytic inhibitor) to T1D model mice. As a result, it suppressed the onset of T1D and histologically suppressed insulinitis. Flow cytometric analysis of splenocytes revealed a reduction in activated CD4-positive T cells (Teff), CD8-positive T cells and an increase in regulatory T cells (Treg). Taken together, we found that the shift of T cell balance from Teff to Treg is much effective in T1D suppression, suggesting that an AMPK activator (glycolytic inhibitor) would be useful agent of T1D prophylaxis.

研究分野：1型糖尿病

キーワード：1型糖尿病 免疫細胞 細胞内代謝 免疫代謝 AMPK 解糖系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々は以前から1型糖尿病(T1D)の発症メカニズムの解明に取り組んでいる。一貫して自己免疫性T1D発症に関わる免疫細胞に焦点をあて、T1D発症機構において、まずT細胞に着目し、次に細胞内代謝に関わるmTORに着目し、さらにT細胞の上流に位置しT細胞を制御する樹状細胞(DC)やDC関連分子に着目し、DC上の分子であるスカベンジャー受容体SR-A欠損NODマウスのT1D発症抑制効果などを報告してきた(Shimizu-M, Yasuda-H, et al, PLOS One 2014)。これらの研究を進展させ、さらに我々は、SR-A欠損脾細胞や骨髄由来DCの細胞内代謝は、LPS刺激を行った際もSR-A存在下と比較してmTORの活性化状態が抑制され、AMPK活性化状態、すなわち、mTOR経路が抑制され解糖系が抑制されるとともに、酸化的リン酸化が活性化されエネルギー産生経路が亢進状態であることを示唆する結果を得ていた。このDC上分子の有無とDC細胞内代謝の関係と、マクロファージの病原体センサーを介した慢性炎症惹起の関係を考え、DCやT細胞の細胞内代謝の変化がDCやT細胞の機能に影響し、その結果T1D発症に影響を与えるのでは、という免疫細胞の代謝制御によるT1Dの新規予防的治療法「免疫代謝療法」の着想に至ったものである。

2. 研究の目的

1型糖尿病(T1D)は膵細胞が約90%破壊された時点で臨床的に糖尿病として初めて発症するため、発症時点ではすでに膵細胞はほとんど残存しておらずインスリン分泌は枯渇している。そこで、T1Dの治療法としてはインスリン治療が不可欠である。現在、インスリンポンプなどインスリン治療も進歩し様々な工夫が施されているものの、患者はなお糖尿病合併症を予防できず苦しんでいるのが現状である。

そこで本研究では、T1D発症予防を目的として、免疫細胞、特にDCあるいはDCを介したT細胞の細胞内代謝においてmTOR活性化状態なのか(すなわち、解糖系が活性化されエネルギー消費経路が亢進状態なのか)、あるいはAMPK活性化状態なのか(すなわち、mTOR経路が抑制され解糖系が抑制されるとともに、酸化的リン酸化が活性化されエネルギー産生経路が亢進状態なのか)という免疫細胞の代謝状態とT1D発症との関連に焦点をあててそれを明らかにし、その代謝状態を制御することで、ヒトT1Dに対する新規予防的治療法の開発を目指したものである。その結果、将来のT1D発症を未然に予防することが糖尿病合併症予防にも繋がり、大変有益で意義深いものになると考えている。DCは自然免疫と獲得免疫の橋渡しの役割を演じるキーとなる免疫制御細胞で、我々はDC関連分子であるスカベンジャー受容体SR-A欠損状態ではT1D発症を抑制する知見を報告(Shimizu-M, Yasuda-H, et al, PLOS One 2014)しているが、我々はpreliminaryな研究で、その際にはDCはAMPK活性化状態、すなわち、mTOR経路が抑制され解糖系が抑制されるとともに、酸化的リン酸化が活性化されエネルギー産生経路が亢進状態である結果を得ている。この結果も踏まえ今後さらにDCなど免疫細胞の代謝状態とT1D発症の関連に着目した研究を進展させ、T1Dの新規予防的治療法「免疫代謝療法」を開発し、ヒトT1Dの新規治療法や新規ワクチン療法などの発症予防法開発へと発展させることを目標に研究を考案した。

3. 研究の方法

1) 1型糖尿病(T1D)モデルマウスの免疫細胞の代謝状態の解析

T1Dモデルマウス(T1D自然発症マウスである雌性NODマウスや薬剤誘導T1DモデルであるCY投与雄性NODマウス)の糖尿病発症抑制状態および糖尿病発症促進状態などでマウス脾細胞を採取し、mTOR活性化状態(解糖系亢進、エネルギー消費亢進)か、AMPK活性化状態(mTOR抑制、解糖系抑制、酸化的リン酸化亢進、エネルギー産生亢進)かをフローサイトメトリーにて解析する。

2) マウスへのmTOR活性化薬、あるいはAMPK活性化薬の投与実験及びその解析

T1D発症促進マウス(雌性NODマウスおよびCY投与雄性NODマウス)へのmTOR活性化薬、あるいはAMPK活性化薬の投与によりT1D発症率抑制の有無を検討する。また、解析として、H-E染色や免疫染色による組織学的に膵島炎の抑制の有無と、脾細胞のフローサイトメトリーにて、細胞傷害性T細胞の減少や制御性T細胞の増加の有無など細胞分画の検討、また、T細胞やDCの代謝状態がmTOR活性化状態か、AMPK活性化状態かの免疫代謝状態の検討、ELISAやフローサイトメトリーにてサイトカイン産生能など機能の検討を行なった。

3) AMPK活性化薬(解糖系抑制薬)存在下で樹立した骨髄由来樹状細胞(DC)の投与実験 AMPK活性化薬(解糖系抑制薬)存在下と非存在下での骨髄由来DC樹立を行い、薬剤誘導T1Dモ

デルである CY 投与雄性 NOD マウスにおいて、樹立 DC 投与実験を行ない、AMPK 活性化薬（解糖系抑制薬）存在下で樹立した DC 投与により T 細胞の性状を修飾することで、T1D 発症抑制を抑制することが可能かどうかを検討も試みた。

4. 研究成果

1 型糖尿病(T1D)モデルマウスの解析により T1D 発症抑制状態では、樹状細胞(DC)や T 細胞の免疫細胞は mTOR 活性化状態(解糖系亢進、エネルギー消費亢進)が抑制され、むしろ AMPK 活性化状態(mTOR 抑制、解糖系抑制、酸化的リン酸化亢進、エネルギー産生亢進)であることが明らかになった。

このことを踏まえて、T1D モデルマウスへの AMPK 活性化薬（解糖系抑制薬）の投与実験を行った。その結果、T1D 発症を抑制し、組織学的にも膵島炎を抑制（図 1）脾細胞等のフローサイトメトリー解析では、CD4 および CD8 陽性 T 細胞の mTOR 活性化の抑制（図 2）、活性化 CD4 陽性 T 細胞(Teff)あるいは CD8 陽性 T 細胞の減少、および制御性 T 細胞(Treg)など制御性細胞の増加を認めた。

さらに、AMPK 活性化薬（解糖系抑制薬）存在下で樹立した骨髄由来樹状細胞(DC)を用いた薬剤誘導 T1D モデルである CY 投与雄性 NOD マウスにおいて、樹立 DC 投与実験を行ない、AMPK 活性化薬（解糖系抑制薬）存在下で樹立した DC 投与により T 細胞の性状を修飾することで、T1D 発症を抑制する可能性が示唆された。

以上より、T 細胞あるいは DC のような免疫細胞の細胞内代謝を制御することで T 細胞バランスが Teff から Treg へ偏位することが示唆され、T1D 発症抑制に有効である可能性が示された。

これらの成果より、今後、免疫細胞の細胞内代謝を制御することで免疫細胞機能を制御し、ヒト T1D に対する新規予防的治療法「免疫代謝療法」の開発へと繋がる可能性が広がったと考えている。さらには、将来のヒト T1D の新規予防的ワクチン療法などの発症予防法開発へと発展させる礎もできたと考えている。

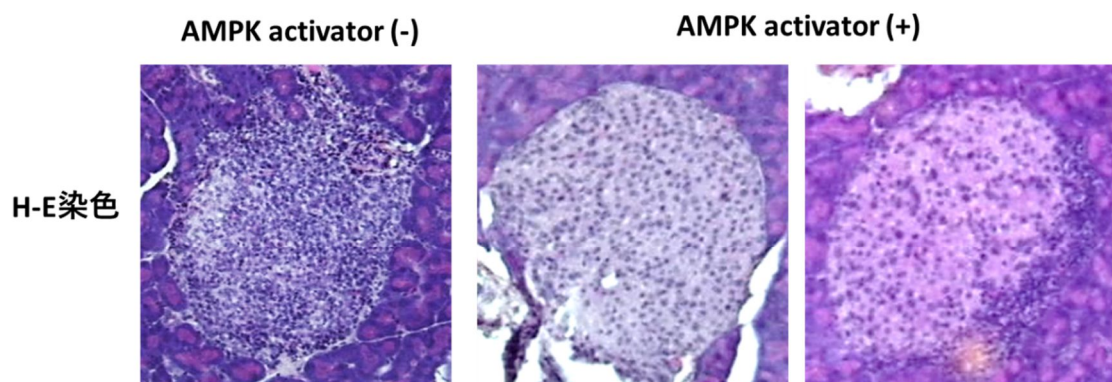


Fig. Histological analysis

図 1

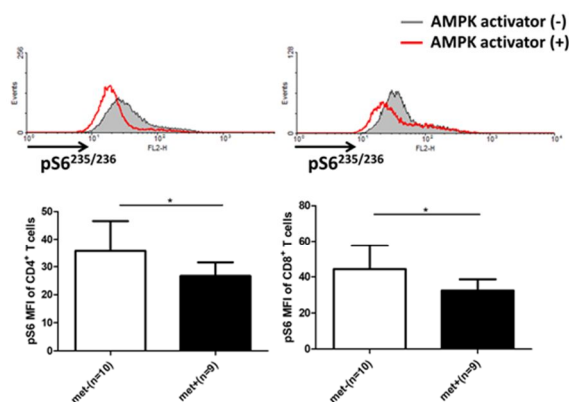


Fig. pS6 activity of splenocytes

図 2

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Chujo Daisuke, Imagawa Akihisa, Yasuda Kazuki, Yasuda Hisafumi, Hanafusa Toshiaki, Kajio Hiroshi, et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 Japanese Type 1 Diabetes Database Study (TIDE-J): rationale and study design	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Diabetology International	6. 最初と最後の頁 288 ~ 294
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s13340-021-00541-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kawabata Yumiko, Nishida Nao, Awata Takuya, Kawasaki Eiji, Imagawa Akihisa, Shimada Akira, Osawa Haruhiko, Tanaka Shoichiro, Takahashi Kazuma, Nagata Masao, Yasuda Hisafumi, Uchigata Yasuko, Kajio Hiroshi, Makino Hideichi, Yasuda Kazuki, Kobayashi Tetsuro, Hanafusa Toshiaki, Tokunaga Katsushi, Ikegami Hiroshi	4. 巻 68
2. 論文標題 Genome-Wide Association Study Confirming a Strong Effect of HLA and Identifying Variants in CSAD/Inc-ITGB7-1 on Chromosome 12q13.13 Associated With Susceptibility to Fulminant Type 1 Diabetes	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Diabetes	6. 最初と最後の頁 665 ~ 675
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2337/db18-0314	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中紗織、近藤佑一、林真里奈、丸山菜々子、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 SR-AとLPSの1型糖尿病発症に対する影響の検討
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 近藤佑一、田中紗織、林真里奈、丸山菜々子、勝田敦美、高橋和眞、安田尚史
2. 発表標題 1型糖尿病発症とSemaphorin7A発現の関連
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 林真里奈、近藤佑一、田中紗織、丸山菜々子、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 3-プロモビルビン酸投与による1型糖尿病発症抑制の検討
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丸山菜々子、田中紗織、近藤佑一、林真里菜、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 2-デオキシグルコース投与による1型糖尿病発症抑制
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 近藤佑一、梶原菜央、鈴木遥、田中紗織、林真里奈、丸山菜々子、勝田敦美、高橋和眞、安田尚史
2. 発表標題 Semaphorin7Aの1型糖尿病発症過程における発現の変化
3. 学会等名 第17回1型糖尿病研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中紗織、鈴木遥、近藤佑一、林真里奈、丸山菜々子、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 SR-A欠損NODマウスへのLPS投与による1型糖尿病発症抑制とそのメカニズムの検討
3. 学会等名 第17回1型糖尿病研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安田尚史
2. 発表標題 The role of dendritic cells in type 1 diabetes ~understanding the pathogenesis from animal experiments~
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会（シンポジウム）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤佑一、梶原菜央、鈴木遥、田中紗織、勝田敦美、高橋和眞、安田尚史
2. 発表標題 1型糖尿病発症過程におけるSemaphorin7Aの発現
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中紗織、鈴木遥、近藤佑一、梶原菜央、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 SR-A欠損NODマウスでのLPS投与による1型糖尿病発症抑制
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川崎英二、島田 朗、今川彰久、阿比留教生、粟田卓也、及川洋一、大澤春彦、梶尾 裕、川畑由美子、小澤純二、小林哲郎、高橋和眞、中條大輔、福井智康、三浦順之助、安田和基、安田尚史、花房俊昭、池上博司
2. 発表標題 1型糖尿病におけるIA-2抗体RIA法とELISA法の比較検討：1型糖尿病の成因・病態に関する調査研究委員会報告
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梶尾 裕、中條大輔、今川彰久、安田和基、霜田雅之、小谷紀子、阿比留教生、栗田卓也、池上博司、及川洋一、大澤春彦、香月健志、川崎英二、小澤 純二、島田 朗、高橋和真、土屋 恭一郎、長澤 幹、福井智康、安田尚史、春日雅人、小林哲郎、花房俊昭
2. 発表標題 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9報)
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林真里奈、近藤佑一、田中紗織、丸山菜々子、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 1型糖尿病に対する3-プロモピルビン酸による免疫細胞代謝調節の効果
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山菜々子、近藤佑一、田中紗織、林真里菜、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 2-デオキシグルコース投与により細胞内代謝が制御され、1型糖尿病発症を抑制する
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林真里奈、丸山菜々子、近藤佑一、田中紗織、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 3-プロモピルビン酸投与を介した免疫細胞代謝調節による1型糖尿病発症抑制の検討
3. 学会等名 第20回日本先進糖尿病治療研究会、第18回1型糖尿病研究会合同開催
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 丸山菜々子、林真里菜、近藤佑一、田中紗織、勝田敦美、安田尚史
2. 発表標題 解糖系抑制物質2-デオキシグルコースの経口投与により1型糖尿病発症は抑制される
3. 学会等名 第20回日本先進糖尿病治療研究会、第18回1型糖尿病研究会合同開催
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梶尾裕、中條大輔、安田和基、霜田雅之、春日雅人、今川彰久、池上博司、大澤春彦、阿比留教生、島田朗、長澤幹、及川洋一、安田尚史、栗田卓也、川崎英二、高橋和、小林哲郎、花房俊昭、岩橋博見、香月健志、福井智康、滝澤壮一
2. 発表標題 日本人1型糖尿病患者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7報)
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 橋患、今川彰久、日本糖尿病学会1型糖尿病の成因、病態に関する調査研究委員会(池上博司、川畑由美子、阿比留教生、栗田卓也、三浦順之助、及川洋一、島田朗、大澤春彦、梶尾裕、川崎英二、小澤純二、高橋和真、中條大輔、福井智康、安田和基、安田尚史、花房俊昭、小林哲郎)
2. 発表標題 抗PD-1抗体薬投与後に発症する1型糖尿病(第2報)
3. 学会等名 第17回1型糖尿病研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 安田尚史(分担執筆)、監修:高久史麿、編集:黒川清、春日雅人、北村聖	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1108
3. 書名 臨床検査データブック2021-2022 インスリン抗体	

1. 著者名 安田尚史（分担執筆）、監修：高久史麿、編集：黒川清、春日雅人、北村聖	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1108
3. 書名 臨床検査データブック2021-2022 グリコサミノグリカン（酸性ムコ多糖体(AMPS)）	

1. 著者名 安田尚史（分担執筆）、監修：高久史麿、編集：黒川清、春日雅人、北村聖	4. 発行年 2019年
2. 出版社 i医学書院	5. 総ページ数 368
3. 書名 臨床検査データブック LAB DATAコンパクト版10版 インスリン抗体	

1. 著者名 安田尚史（分担執筆）、監修：高久史麿、編集：黒川清、春日雅人、北村聖	4. 発行年 2021年
2. 出版社 i医学書院	5. 総ページ数 381
3. 書名 臨床検査データブック LAB DATAコンパクト版11版 インスリン抗体	

1. 著者名 安田尚史（分担執筆）、企画編集：島田 朗	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学出版	5. 総ページ数 95
3. 書名 月刊糖尿病 特集 1型糖尿病アップデート ～その成因から治療まで～ 「1型糖尿病の動物モデル（ヒトとの異同）」	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------