

平成 21 年 6 月 10 日現在

|           |  |
|-----------|--|
| 研究種目：     | 基盤研究(C)  |
| 研究期間：     | 2007 ~ 2008  |
| 課題番号：     | 19591087   |
| 研究課題名(和文) | 劇症1型糖尿病の成因解明—モデルマウスを用いた膵島破壊分子の解析                               |
| 研究課題名(英文) | Etiology of fulminant type 1 diabetes -analysis of mouse model |
| 研究代表者     |  |
|           | 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  |

## 研究成果の概要：

Encephalomyocarditis virus を感受性のあるマウスに感染させ、経時的に糖尿病の発症様式、膵臓の組織学的検討を行った。特定の週齢に、特定のウイルス量を感染させることで、経時的变化においてもほぼ確実な再現性を確立した。そこで発症直前に採取したマウス膵組織から RNA を抽出し、マイクロアレイによって遺伝子発現状況を解析した結果、特定の分子の遺伝子発現上昇を確認した。さらに組織の免疫染色において、同分子タンパクが膵ランゲルハンス島細胞に発現していることも確認した。同分子の作用を中和抗体および薬剤にて阻害したところ、それぞれ糖尿病の発症を抑制させた。

## 交付額

(金額単位：円)

|         | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|---------|-----------|-----------|-----------|
| 2007 年度 | 2,500,000 | 750,000   | 3,250,000 |
| 2008 年度 | 1,100,000 | 330,000   | 1,430,000 |
| 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1型糖尿病 マイクロアレイ 免疫染色 ウイルス

## 1. 研究開始当初の背景

ヒトの劇症1型糖尿病は、急激かつ完全なβ細胞破壊を特徴とする1型糖尿病の一亜型である。約70%の症例で感冒様症状を認めることなどからウイルス感染との関連性が指摘されるようになったが、その原因・発症機序は明らかでない。本邦では急性発症1型糖尿病の20%をこの劇症型が占めており、病態解明は重要事項と考えられた。1970年頃、イン

スリン依存型糖尿病の研究に、ウイルス誘発性糖尿病動物モデルが多く用いられていた。これらはウイルス感染後数日中にβ細胞破壊に基づき糖尿病を発症する。この病態は劇症1型糖尿病と共通点があり、あらためてその類似性が議論されるようになった。

## 2. 研究の目的

ウイルス誘発性インスリン依存型糖尿病モデル動物を詳細に解析することで、劇症1型糖尿病との共通点を見出すとともに、その発症機構解析につながる知見を得て、劇症1型糖尿病の予防や治療法の開発につなげることを目的とする。

## 3. 研究の方法

1) Encephalomyocarditis virus を疾患感受性マウス (DBA/2 マウス) に感染させ、インスリン依存型糖尿病を発症させる。条件検討を重ねることで、100%に近い発症率と経時的にも均一な再現性を確立する。

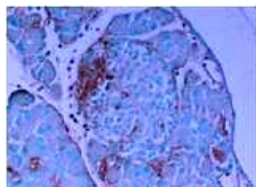
2) 同マウスの発症過程において、経時的に膵組織を採取し RNA を抽出する。それをサンプルとして DNA マイクロアレイを行い、遺伝発現を解析し、糖尿病発症にかかわる分子を特定する。さらにマイクロアレイで特定した分子の発現および局在を膵組織での免疫染色法にて明らかにする。

3) 上記で明らかになった分子に対する中和抗体や、同分子の効果を阻害する薬剤をあらかじめマウスに投与した後に、同様のウイルス感染実験を行い、糖尿病発症に及ぼす影響を検討する。

## 4. 研究成果

1) 9 週齢のマウスに 200PFU のウイルスを感染させると 90%のマウスが糖尿病を発症し、発症時期は感染後 72~96 時間と高い再現性を得ることができた。

2) ウイルス感染後採取した膵組織より RNA の抽出を行い、同サンプルを用いてマイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。発症直前に、特定の分子の過剰な遺伝子発現を認めた。さらに膵組織の免疫染色において同分子発現の局在を膵外分泌腺およびランゲルハンス島に確認した (図 1)。



(図 1)

3) 上記分子の阻害剤をウイルス感染前に投与した場合、糖尿病発症率は投薬群約 50%、非投薬群約 90%と有意に糖尿病発症率を低

下させた。中和抗体を感染前に投与した場合、糖尿病発症率は投与群約 60%、非投与群約 90%であった。阻害剤投与、中和抗体の投与は、それぞれ非投与の系と比較した場合、膵組織内のインスリン含有量を保持する傾向にあった。

## 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 (suppl13): 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、内潟安子、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、内潟安子、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. Insulinitis 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

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

### (2) 研究分担者

花房 俊昭 (Hanafusa Toshiaki)

大阪医科大学・医学部・教授

研究者番号：60164886

### (3) 連携研究者

宮川 潤一郎 (Miyagawa Junichiro)

兵庫医科大学・医学部・准教授

研究者番号：0012772