

令和元年6月13日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09756

研究課題名(和文) “パイオニア転写因子” IRF4を標的にした1型糖尿病の治療探索

研究課題名(英文) An explorative study for the therapeutic target in type 1 diabetes associated with pioneer transcription factor-IRF4

研究代表者

阿比留 教生 (ABIRU, Norio)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・准教授

研究者番号：00380981

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：パイオニア転写因子IRF4の1型糖尿病病態への関与を検証する目的で膵島抗原T細胞受容体発現NODマウス(BDC2.5-TCR-NOD)と獲得免疫欠損マウス(RAG1欠損NOD)両者からIRF4を欠損、養子移入の系による膵島炎、糖尿病誘導能を評価した。結果、RAG1欠損NODマウスから、IRF4欠損RAG1欠損レシピエントNODマウスへのBDC2.5-TCRCD4+ナイーブT細胞の養子移入では野生型マウスに比し、糖尿病発症は抑制され、IRF4が自然免疫系細胞のナイーブCD4+T細胞の増殖や分化を介して1型糖尿病病態へ関与している可能性が示唆された。現在、CD4+T細胞への関与を検討中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

IRF4を欠損したNODマウスは、膵島炎、糖尿病が完全に抑制される。しかし、IRF4は獲得免疫やT細胞代謝系、自然免疫系など広く免疫を制御している多面的転写因子であり、治療標的とした場合、免疫系全体への影響が避けられない。今回の研究では、IRF4欠損による糖尿病進展抑制機序には、自然免疫系の関与は乏しく、獲得免疫、特にT細胞代謝系への関与が推測された。1型糖尿病の発症阻止の臨床研究では様々なreagentを用いられたが、その有効性は十分ではない。今回の我々の研究を進展させ、獲得免疫細胞でのIRF4発現の重要性、ならびにT細胞代謝系への関与が明らかになれば、新たな治療開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We aimed to investigate whether pioneer transcription factor-IRF4 is involved with acquired immunity or innate immunity in the pathogenesis of type 1 diabetes. We deleted IRF4 gene from BDC2.5-TCR-NOD mouse or RAG1 knockout NOD mouse and evaluate by the adoptive transfer system from IRF4KO-BDC2.5-TCR-NOD mouse to RAG1KO NOD mouse or BDC2.5-TCR-NOD mouse to IRF4KO- RAG1KO NOD mouse. We found that disease suppression in the recipient IRF4KO- RAG1KO NOD mouse transferred with small number of naïve BDC2.5-TCR CD4+ T cells compared to wild-type RAG1KO NOD mouse. However no alteration of disease development was observed in the recipient mice transferred with large number of naïve or effector BDC2.5-TCR CD4+ T cells and wild type-RAG1KO NOD mouse indicating that IRF4 on innate immune cells plays a role to expand anti-islet autoreactive naïve CD4+ T cells in the pathogenesis of type 1 diabetes. We are now going to analyzing the phenotype in IRF4KO-BDC2.5-TCR-NOD mouse.

研究分野：代謝学

キーワード：1型糖尿病 NODマウス 転写因子 T細胞代謝 IRF4 糖尿病 免疫学 応用動物

様式 C - 19 , F - 19 - 1 , Z - 19 , CK - 19 (共通)

1 . 研究開始当初の背景

1 型糖尿病の自己免疫機序

1 型糖尿病は中枢ならびに末梢での免疫制御の破綻の結果として、自己反応性の CD4+T 細胞、CD8+T 細胞、および自己抗体産生 B 細胞が増殖し、さらに自然免疫系の活性化とともに、細胞破壊が進行する疾患と考えられている。

IRF4 と 1 型糖尿病

Interferon regulatory factor (IRF)4 は effector T 細胞、B 細胞、自然免疫系 (樹状細胞など) のマスター転写因子の DNA 標的領域への接近性を制御する、パイオニア転写因子であることが報告され、分化成熟や活性化に不可欠な多面的な作用を有している。我々は IRF4 遺伝子欠損 NOD マウスを作製し、ホモ欠損 NOD マウスだけでなく、ヘテロ欠損マウスでの糖尿病の完全抑制および自己抗体産生、膵島炎の高度抑制を示し、IRF4 が 1 型糖尿病の病態形成に必須の転写因子であることを証明した (Diabetologia 2015)。

IRF4 と T 細胞代謝制御

T 細胞は、ナイーブ T 細胞やメモリー T 細胞の段階では、酸化的リン酸化を主とした静的な代謝系主体であり、抗原刺激を受けた T 細胞が、増殖・分化してエフェクター T 細胞として機能する場合は、動的な好氣的解糖系主体のエネルギー代謝に変化する。近年、CD8 T 細胞の系で、TCR からの抗原刺激に応じて IRF4 発現量が変化し、細胞の代謝系とその増殖・分化を制御している可能性が報告されている。

解決していない問題点

IRF4 の部分的欠損が NOD マウスの糖尿病発症を抑制する機序が、獲得免疫系、あるいは自然免疫系が主体なのか、あるいは特定の免疫担当細胞が関与するのかについては明らかにされていない。また、もし、自己反応性 T 細胞が主体の場合は、T 細胞代謝系の関与については不明である。

2 . 研究の目的

我々は、IRF4 を標的にした 1 型糖尿病の治療開発を目的として、IRF4 が 1 型糖尿病病態の中で、獲得免疫系細胞、特に自己反応性 CD4 + T 細胞、あるいは自然免疫系細胞を介してどのような役割を果たしているのかを明らかにする。また自己反応性 T 細胞における T 細胞代謝系の関与についても検討していくことを目的とした。

3 . 研究の方法

(1) IRF4 の NOD マウスの膵島自己抗原反応性 CD4 + T 細胞への影響の検討

NOD 由来膵島抗原反応性 CD4 + T 細胞クローンである BDC2.5 T 細胞受容体 (TCR) を発現するトランスジェニックマウスと IRF4 欠損 NOD マウスを交配し、IRF4 発現の異なる BDC2.5 TCR NOD マウスを作製し、それぞれのマウス由来の CD4 + T 細胞を免疫不全 RAG1 欠損マウスへ養子移入しそのフェノタイプを解析する。また、IRF4 欠損 BDC2.5 T 細胞の抗原特異的増殖反応や細胞外フラックスアナライザーによるエネルギー代謝制御 (ミトコンドリア呼吸系/解糖系のバランス) を解析する。

(2) IRF4 の NOD マウスの自然免疫系細胞への影響の検討

IRF-4 欠損 NOD マウスと獲得免疫細胞が欠損した (自然免疫系細胞のみ発現する) Rag1 欠損 NOD マウスを交配し、IRF4 発現の異なる RAG1 欠損 NOD マウスを作製し、BDC2.5 TCR NOD マウス由来の T 細胞の養子移入後のレシピエントマウスのフェノタイプを解析する。

4 . 研究成果

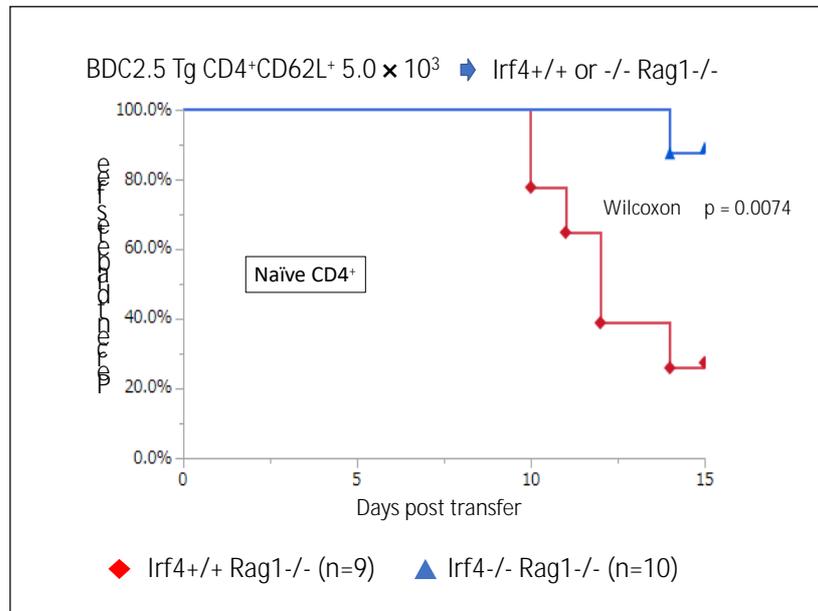
(1) IRF4 欠損 BDC2.5 TCR NOD マウスの作製

野生型、IRF4 ヘテロ、ホモ欠損 BDC2.5 TCR NOD マウスを作出するために、野生型 BDC2.5 TCR NOD マウスと、IRF4 ホモ欠損 NOD マウスを交配させ、F1 マウス同志の交配で、IRF4 ホモ欠損マウスを作製した。そのマウス同志の交配で系統維持を試みたが、3 世代後にマウスが不妊状態となり系統維持困難となった。原因精査の結果、IRF4 ホモ欠損マウス同志の交配を中止、ホモ欠損とヘテロ欠損マウスの交配でのマウス系統維持が可能となり、現在、野生型、IRF4 ヘテロ、ホモ欠損 BDC2.5 TCR NOD マウスを実験系に使用可能な数作出し、RAG1 欠損マウスへ養子移入実験の準備を行っている。今後、同 T 細胞の抗原特異的増殖反応や T 細胞代謝系変化の解析を予定している。

(2) IRF4 x RAG1 ダブル欠損 NOD マウスの作製と養子移入実験

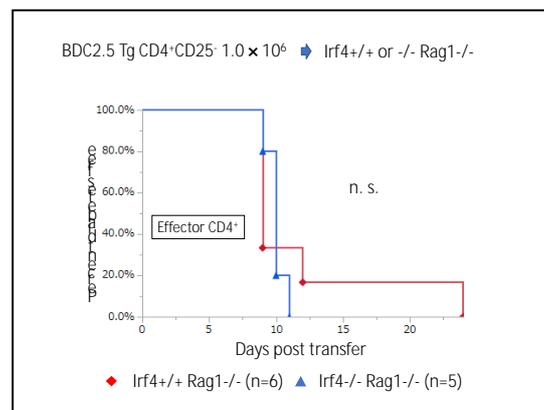
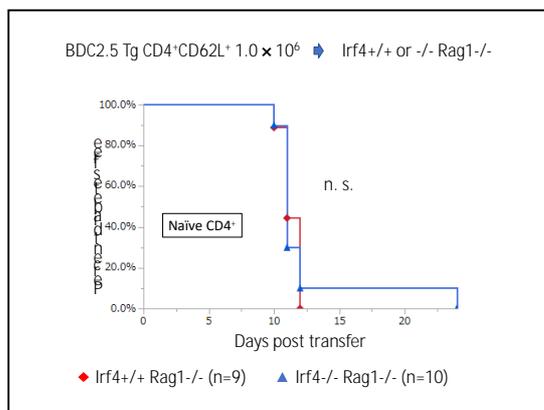
野生型 Rag1KO NOD マウスと IRF4 ホモ欠損 NOD マウスを交配させ、F1 以下の世代マウス同志の交配を繰り返し、野生型、IRF4 ホモ欠損マウスを作出した。

上記マウスをレシピエントとして野生型 BDC2.5 TCR NOD マウス由来のナイーブ CD4+T 細胞、および CD4 + CD25- エフェクター T 細胞を単離し、養子移入実験を行った。



結果, 5.0X10³ 個のナイーブ CD4 + T 細胞の養子移入では, レシピエントの野生型 RAG1KO マウスに比し, IRF4 欠損 RAG1KO マウスのレシピエントマウスの糖尿病発症は有意に抑制されていた.

一方, 1.0X10⁶ 個のナイーブ CD4 + T 細胞の養子移入では, 野生型と IRF4 欠損 RAG1KO マウスのレシピエントマウスの糖尿病発症に有意差を認めなかった. また, 1.0X10⁶ 個のエフェクターCD4 + T 細胞の養子移入では, 野生型と IRF4 欠損 RAG1KO マウスのレシピエントマウスの糖尿病発症にも有意差を認めなかった.



以上より, IRF4 が自然免疫系細胞の, 自己抗原特異的ナイーブ CD4 + T 細胞の量的増殖やエフェクター細胞への分化の調整機構を介して 1 型糖尿病病態へ関与している可能性が示唆された.

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 17 件)

B M Yamaguchi, A Imagawa, N Abiru, T Awata, H Ikegami, Y Uchigata, Y Oikawa, H Osawa, H Kajio, E Kawasaki, Y Kawabata, J Kozawa, A Shimada, K Takahashi, S Tanaka, D Chujo, T Fukui, J Miura, K Yasuda, H Yasuda, T Kobayashi, T Hanafusa, for the consultation of the Japan Diabetes Society Committee on Type 1 Diabetes Mellitus Research. Characteristics and clinical course of type 1 diabetes mellitus related to anti-programmed cell death-1 therapy. Diabetology International. 査読有, 10, 2019, 58-66

DOI: 10.1007/s13340-018-0362-2

徳永あゆみ, 今川彰久, 西尾 博, 早田 敏, 下村伊一郎, 阿比留教生, 粟田卓也, 池上博司, 内瀧安子, 及川洋一, 大澤春彦, 梶尾 裕, 川崎英二, 川畑由美子, 小澤純二, 島田 朗, 高橋和真, 田中昌一郎, 中條大輔, 福井智康, 三浦順之助, 安田和基, 安田尚史, 小林哲郎, 花房俊昭. 劇症 1 型糖尿病の発症早期における膵臓 MRI 所見に関する調査報告. 糖尿病. 査読有, 61(12) 2018,

鎌田昭江, 二里哲朗, 堀江一郎, 阿比留教生. 【免疫チェックポイント療法】免疫チェックポイント阻害と1型糖尿病. 臨床免疫・アレルギー科. 査読無, 69(6), 2018, 563-568

伊藤文子, 堀江一郎, 阿比留教生. 【自己免疫の関与する内分泌代謝疾患の最前線】インスリン受容体異常症 B 型. 最新医学. 査読無, 73(5), 2018, 676-680

I Horie, A Haraguchi, A Sako, J Akeshima, T Niri, R Shigeno, A Ito, A Nozaki, S Natsuda, S Akazawa, Y Mori, T Ando, A Kawakami, N Abiru. Predictive factors of efficacy of combination therapy with basal insulin and liraglutide in type 2 diabetes when switched from longstanding basal-bolus insulin: Association between the responses of beta- and alpha-cells to GLP-1 stimulation and the glycaemic control at 6months after switching therapy. Diabetes Res Clin Pract. 査読有, 144, 2018, 161-170

DOI: 10.1016/j.diabres.2018.08.015

I Horie, N Abiru, M Eto, A Sako, J Akeshima, T Nakao, Y Nakashima, T Niri, A Ito, A Nozaki, A Haraguchi, S Akazawa, Y Mori, T Ando, A Kawakami A. Sex differences in insulin and glucagon responses for glucose homeostasis in young healthy Japanese adults. J Diabetes Investig. 査読有, 9(6), 2018, 1283-1287

DOI: 10.1111/jdi.12829

M Y Baden, A Imagawa, N Abiru, T Awata, H Ikegami, Y Uchigata, Y Oikawa, H Osawa, H Kajio, E Kawasaki, Y Kawabata, J Kozawa, A Shimada, K Takahashi, S Tanaka, D Chujo, T Fukui, J Miura, K Yasuda, H Yasuda, T Kobayashi, T Hanafusa. Characteristics and clinical course of type 1 diabetes mellitus related to anti-programmed cell death-1 therapy. Diabetol Int. 査読有, 10(1), 2018, 58-66

DOI: 10.1007/s13340-018-0362-2

I Horie, N Abiru, R Hongo, T Nakamura, A Ito, A Haraguchi, S Natsuda, I Sagara, T Ando, A Kawakami. Increased sugar intake as a form of compensatory hyperphagia in patients with type 2 diabetes under dapagliflozin treatment. Diabetes Res Clin Pract. 査読有, 135, 2017, 178-184

DOI: 10.1016/j.diabres.2017.11.016

阿比留教生. 【1型糖尿病の最前線】1型糖尿病の発症機序解明はどこまで進んだか?. 内分泌・糖尿病・代謝内科. 査読無, 45(6), 2017, 436-440

阿比留教生. 特集 二次性糖尿病といかに向き合うか がん免疫療法: ヒト型抗 PD-1 モノクローナル抗体に伴う1型糖尿病. 月刊糖尿病. 査読無, 9(8), 2017, 96-101

阿比留教生. FORUM 1型糖尿病の病因 HLA-class 遺伝子と primary autoantibody. プラクティス. 査読無, 34(4), 2017, 381-384

阿比留教生. 病因と診断(第2回) 1型糖尿病の病因 真犯人とそのトリックは?. プラクティス. 査読無, 34(5), 2017, 500-503

阿比留教生. 病因と診断(第3回) 1型糖尿病の病因 環境因子, 新たな展開. プラクティス. 査読無, 34(6), 2017, 629-633

赤澤 論 阿比留教生. 1型糖尿病の基礎研究 NOD マウスとエフェクターT細胞. Diabetes Frontier. 査読無, 27(4), 2016, 515-522

古林正和, 山崎浩則, 田山 淳, 前田真由美, 清家陽子, 黒木優子, 大坪敬子, 阿比留教生, 林田雅希, 調 漸. 青年期成人の内臓脂肪と生活習慣の関連性(第二報). CAMPUS HEALTH. 査読無, 53(1), 2016, 101-103

阿比留教生. 【カーボカウントの実際とその功罪】1型糖尿病患者へのカーボカウント導入時の注意点. 月刊糖尿病. 査読無, 8(3), 2016, 23-31

A Takeoka, J Tayama, H Yamasaki, M Kobayashi, S Ogawa, T Saigo, H Kawano, N Abiru, M Hayashida, T Maeda, S Shirabe. Intra-abdominal fat accumulation is a hypertension risk factor in young adulthood: A cross-sectional study. Medicine. 査読有, 95(45), 2016, e5361

DOI: 10.1097/MD.0000000000005361

〔学会発表〕(計 16 件)

馬殿 恵, 今川彰久, 阿比留教生, 粟田卓也, 池上博司, 内潟安子, 及川洋一, 大澤春彦, 梶尾 裕, 川崎英二, 川畑由美子, 小澤純二, 島田 朗, 高橋和真, 田中昌一郎, 中條大輔, 永淵正法, 福井智康, 三浦順之助, 安田和基, 安田尚史, 小林哲郎, 花房俊昭. 抗ヒト PD-1 抗体投与後に発症する 1 型糖尿病に関する疫学調査. 61 回日本糖尿病学会年次学術集会, 一般口演, 平成 30 年 5 月 26 日, 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)

中條大輔, 今川彰久, 安田和基, 阿比留教生, 粟田卓也, 池上博司, 岩橋博見, 及川洋一, 大澤春彦, 香川健志, 金重勝博, 川崎英二, 島田 朗, 高橋和真, 長澤 幹, 福井智康, 安田尚史, 春日雅人, 小林哲郎, 花房俊昭, 梶尾 裕. 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 6 報). 61 回日本糖尿病学会年次学術集会, 一般口演, 平成 30 年 5 月 26 日, 東京国際フォーラム(東京都・千代田区)

川崎英二, 及川洋一, 福井智康, 今川彰久, 中條大輔, 梶尾 裕, 阿比留教生, 粟田卓也, 池上博司, 内潟安子, 大澤春彦, 川畑由美子, 小澤純二, 島田 朗, 高橋和真, 田中昌一郎, 永淵正法, 三浦順之助, 安田和基, 安田尚史, 花房俊昭, 小林哲郎. GAD 抗体測定結果乖離と親和性 日本人 1 型糖尿病の成因, 診断, 病態, 治療に関する調査研究委員会中間報告. 第 61

回日本糖尿病学会年次学術集会, シンポジスト, 平成 30 年 5 月 24 日, 東京国際フォーラム (東京都・千代田区)

中村祐太, 法村文子, 酒匂あやか, 二里哲朗, 安井順一, 堀江一郎, 森 良孝, 安藤隆雄, 阿比留教生. 急性発生時に膵外分泌酵素上昇を認めた 1A 型糖尿病の 1 例. 第 15 回 1 型糖尿病研究会, 一般口演, 平成 29 年 11 月 4 日, いわて県民情報交流センター「アイーナ」(岩手県・盛岡市)

阿比留教生. 専門医更新のための指定講演 1 型糖尿病の成因・診断・治療. 第 55 回日本糖尿病学会九州地方会, 教育講演, 平成 29 年 10 月 13 日, フェニックスシーガイアリゾート(宮崎県・宮崎市)

阿比留教生. なぜ, 抗 PD-1 抗体は 1 型糖尿病を誘発するのか? ~ 細胞殺人事件, その真犯人とトリック!? ~. 第 45 回日本臨床免疫学会総会, ワークショップ, 平成 29 年 9 月 28 日, 京王プラザホテル(東京都・新宿区)

Horie I, Abiru N, Haraguchi A, Sako A, Niri T, Norimura A, Natsuda S, Mori Y, Ando T, Kawakami A. Insulin and Glucagon Secretion during 75g OGTT before and after Liraglutide Treatment May Predict Therapeutic Response in Type2 Diabetes when Switching from Basal-Bolus Insulin Therapy to Combination of Liraglutide and Basal Insulin. 77th American Diabetes Association Scientific Meeting. Poster, 平成 29 年 6 月 11 日, San Diedo, USA.

Mori Y, Abiru N, Horie I, Haraguchi A, Sako A, Niri T, Natsuda S, Ando T, Kawakami A. Renal Protection of Switching to Combination Use of Liraglutide and Basal Insulin in the Type2 Diabetes Patients Treated with Multiple Insulin Injections. 77th American Diabetes Association Scientific Meeting. Poster, 平成 29 年 6 月 11 日, San Diedo, USA.

阿比留教生. 免疫チェックポイント阻害療法による免疫関連有害事象 ~ 日本臨床免疫学会の取り組み~. 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会, シンポジスト, 平成 29 年 5 月 20 日, 日本特殊陶業市民会館(愛知県・名古屋市)

阿比留教生. 1 型糖尿病の発症機序 Update. 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会, シンポジスト, 平成 29 年 5 月 19 日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

梶尾 裕, 中條大輔, 安田和基, 霜田雅之, 春日雅人, 今川彰久, 岩橋博見, 池上博司, 大澤春彦, 阿比留教生, 島田 朗, 長澤 幹, 金重勝博, 及川洋一, 安田尚史, 粟田卓也, 川崎英二, 高橋和眞, 福井智康, 小林哲郎, 花房俊昭. 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 5 報). 第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会, 一般口演, 平成 29 年 5 月 18 日, 名古屋国際会議場(愛知県・名古屋市)

阿比留教生. Lessons from the NOD mouse. 第 14 回 1 型糖尿病研究会, シンポジスト, 平成 28 年 11 月 6 日, ルネッサンスリゾートナルト(徳島県・鳴門市)

阿比留教生. カーボカウントを応用した 1 型糖尿病のインスリン療法. 第 54 回日本糖尿病学会九州地方会, 教育講演, 平成 28 年 10 月 14 日, 鹿児島県民交流センター(鹿児島県・鹿児島市)

梶尾 裕, 中条大輔, 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, 金重勝博, 及川洋一, 安田尚史, 粟田卓也, 川崎英二, 高橋和眞, 小林哲郎, 花房俊昭. 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 4 報). 第 59 回日本糖尿病学会年次学術総会, 一般口演, 平成 28 年 5 月 19 日, 京都国際会館(京都府・京都市)

法村文子, 堀江一郎, 川崎英二, 明島淳也, 野崎 彩, 原口 愛, 森 良孝, 安藤隆雄, 阿比留教生, 川上 純. 1 型糖尿病(T1D)における低力価 GAD 抗体の RIA 法と ELISA 法の検討. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術総会, 一般口演, 平成 28 年 5 月 19 日, 京都国際会館(京都府・京都市)

中条大輔, 安田和基, 今川彰久, 池上博司, 大澤春彦, 阿比留教生, 島田 朗, 長澤 幹, 金重勝博, 及川洋一, 安田尚史, 粟田卓也, 川崎英二, 高橋和眞, 小林哲郎, 霜田雅之, 春日雅人, 花房俊昭, 梶尾 裕. 1 型糖尿病の成因と治療: GAD 抗体測定法の変更における問題点と対策. 第 59 回日本糖尿病学会年次学術総会, シンポジスト:平成 28 年 5 月 19 日, 京都国際会館(京都府・京都市)

〔図書〕(計 1 件)

阿比留教生. 医学書院 1 型糖尿病. 今日の治療指針 2019 わたしはこう治療している. 査読無, 2018, 722-724

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

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)研究分担者

研究分担者氏名：古林 正和
ローマ字氏名：KOBAYASHI, Masakazu
所属研究機関名：長崎大学
部局名：保健・医療推進センター
職名：准教授
研究者番号（8桁）：00380874

(2)研究協力者

研究協力者氏名：なし
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。