

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2008

課題番号：19591066

研究課題名（和文） 1型糖尿病発症におけるケモカインレセプターの同定とその発症制御

研究課題名（英文） Identification of chemokine receptor in type 1 diabetes and the regulation of the onset

研究代表者

島田 朗 (SHIMADA AKIRA)

慶應義塾大学・医学部・講師

研究者番号：60206167

研究成果の概要：

CXCR3 ノックアウト NOD マウスでは、自然経過で早期において糖尿病発症が促進され、また、このマウスの脾細胞を NOD -scid マウスへ養子移入すると著しく激しい糖尿病をした。したがって、CXCR3 陽性細胞分画に強力な免疫制御作用を有する細胞群が存在する可能性が示唆された。ケモカインレセプターCXCR3 は、1型糖尿病の発症制御に極めて重要であることが明らかになった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	2,400,000	720,000	3,120,000
平成 20 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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、T細胞、ケモカイン

1. 研究開始当初の背景

1型糖尿病は、T細胞を主体とするリンパ球浸潤により膵β細胞が破壊される自己免疫疾患であるが、T helper1(Th1)タイプ優位となることが、糖尿病発症に繋がるとされている。さらに、Th1タイプのケモカインであるCXCL10(IP-10)の関与が明らかになっているが、そのCXCL10の中和抗体投与により糖尿病の発症は抑制される。この際、Th1反応のdown regulationではなく、膵β細胞の増殖（再生）を介して発症が抑制される。1型糖尿病完治のためには、このような膵β細胞の再生のみならず、Th1反応のdown regulationなど自己免疫応答の制御が不可欠である。Th1タイプの細胞表面に存在するケモカインレセプターにはCXCR3およびCCR5が知られており、どちらのケモカインレセプターが糖尿病発症に関与しているのかを同定にすることは、Th1反応のdown regulationを図る際の標的を絞る上で極めて重要である。

細胞の増殖（再生）を介して発症が抑制される。1型糖尿病完治のためには、このような膵β細胞の再生のみならず、Th1反応のdown regulationなど自己免疫応答の制御が不可欠である。Th1タイプの細胞表面に存在するケモカインレセプターにはCXCR3およびCCR5が知られており、どちらのケモカインレセプターが糖尿病発症に関与しているのかを同定にすることは、Th1反応のdown regulationを図る際の標的を絞る上で極めて重要である。

2. 研究の目的

今回われわれは、1型糖尿病モデルにおいてその発症に關与するケモカインレセプターを直接的に同定するためにCXCR3ノックアウトNODマウスならびにCCR5ノックアウトNODマウスの双方を作成する研究計画を立案した。

3. 研究の方法

(1) CCR5ノックアウトNODマウスの自然発症率を、ホモノックアウト、ヘテロノックアウト、ワイルドタイプの3群間で比較する。また、各群の脾細胞のNOD-scidマウスへの移入のシステムにおいても糖尿病移入率の比較検討も行う。同様の検討を、CXCR3ノックアウトNODマウスにおいても行う。

(2) CCR5ノックアウトNODマウス、CXCR3ノックアウトNODマウス、双方の膵組織の変化を検討する。具体的には、ヘマトキシリンエオジン染色による膵島炎の程度の検討、免疫組織学的検討(T細胞分画、ケモカインレセプター発現の検討など)を行う。

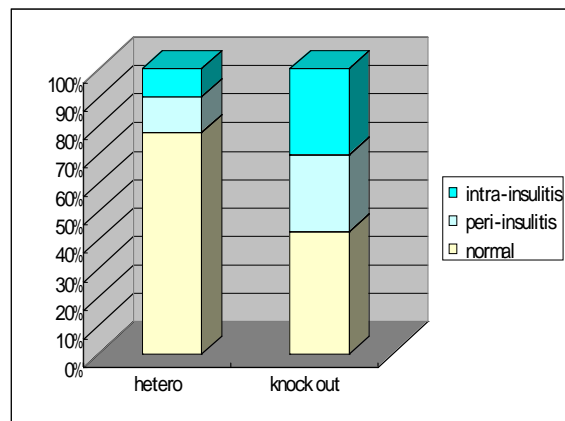
(3) 膵所属リンパ節、脾臓などにおけるTh1タイプのサイトカイン、ケモカイン、ケモカインレセプターの発現をmRNAレベル、蛋白レベル、双方にて検討する。対照として、Th2タイプについても同様に各種発現レベルを比較検討する。

4. 研究成果

(1) 生後6ヶ月齢の時点において、ホモCXCR3ノックアウトNODマウスの糖尿病発症率は野生型NODマウスと比較して有意に発症率が高いこと、また、ホモCXCR3ノックアウトNODマウスの脾細胞をNOD-scidマウスへ移入した場合、野生型NODマウスで同様の移入をした場合に比べて著しく早い糖尿病発症をすることを見いだした。このような現象はCCR5ノックアウトNODマウスにおいては認められなかった。

(2) 膵島組織の検討では、ホモCXCR3ノックアウトNODマウスにおいて、破壊の進んだ膵島炎像が観察された(図1)。さらに、免疫学的評価では、発症の直前と思われる時点で、膵所属リンパ節における免疫制御性因子(TGF- β , IL-10, Foxp3など)の集積がホモCXCR3ノックアウトNODマウスで著しく、膵島局所そのものでは、野生型NODマウスの方で上述の免疫制御性因子が優位であった(図2)。以上により、CXCR3を欠如することで、何らかの原因で免疫制御性細胞が膵所属リンパ節から膵島局所に移行できないために、発症が促進された可能性が推察された。このような現象はCCR5ノックアウトNODマウスにおいては認められなかった。

図1: 膵島炎像。ホモノックアウトマウス(knockout)は、膵島炎の程度が、ヘテロノックアウトマウス(hetero)に比して、強かった。



Intra-insulinitis: 膵島内浸潤

Peri-insulinitis: 膵島周囲炎

Normal: 膵島炎なし

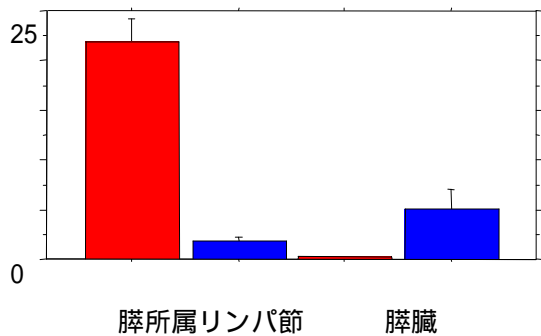


図2：脾所属リンパ節と脾臓における Foxp3 発現レベル。

赤は、ホモノックアウトマウス、青は、対照の野生型マウス。縦軸は、mRNA 発現レベル。脾所属リンパ節においては、ホモノックアウトマウスが、野生型に比して Foxp3 の発現が高いのに対して、脾臓では、その逆に野生型の方が、Foxp3 発現が強かった。

(3) CXCR3 陽性 CD4 細胞は、膵ラ氏島の周囲に集まることが、自然経過、細胞移入、双方にて確認され(図3) さらに、Foxp3 陽性細胞を多く含むことが確認された。したがって、ケモカインレセプターCXCR3 は、1型糖尿病の発症制御に重要であることが示唆された。

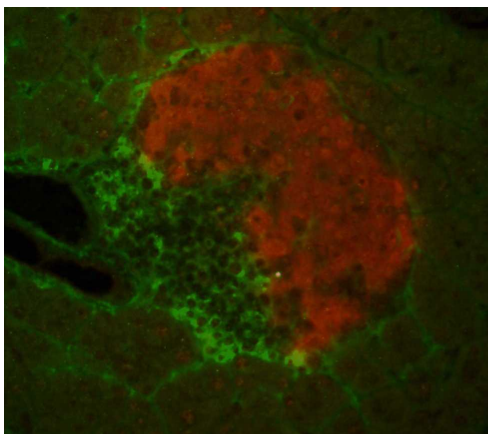


図3：膵島周囲に集まる CXCR3 陽性 CD4 細胞。緑が、CXCR3 陽性 CD4 細胞。赤は、インスリン陽性細胞(膵β細胞)。

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3件)

CXCR3 ノックアウト NOD マウスにおける糖尿病発症促進機構の検討 山田善史, 大久保佳昭, 島田朗, 及川洋一, 成見正作, 松島綱治, 伊藤裕 糖尿病 51 巻 Suppl.1 PageS 315(2008.04) 査読有

1型糖尿病の発症機構 1型糖尿病発症における Effector/Proliferation バランス攻撃因子と膵β細胞増殖に着目して 島田朗 糖尿病 51 巻 Suppl.1 PageS 37(2008.04) 査読有

1型糖尿病におけるケモカインレセプター CXCR3の役割 大久保佳昭, 島田朗, 及川洋一, 成見正作, 松島綱治, 伊藤裕 糖尿病 50巻 Suppl.1 PageS 243(2007.04) 査読有

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

島田 朗 (SHIMADA AKIRA)
慶應義塾大学・医学部・講師
研究者番号：60206167

(2)研究分担者

及川 洋一(OIKAWA YOICHI)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：30296561

大久保 佳昭(OKUBO YOSHIAKI)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：20338031

山田 善史(YAMADA YOSHIFUMI)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：20468490

(3)連携研究者

なし