

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月13日現在

機関番号：14401  
 研究種目：基盤研究（C）  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21591184  
 研究課題名（和文） 発症直後患者膵組織を用いた劇症1型糖尿病発症鍵分子の同定とその検証  
 研究課題名（英文） Identification of key molecules by the analysis of pancreatic autopsy specimens in the development of fulminant type 1 diabetes  
 研究代表者  
 今川 彰久（Imagawa Akihisa）  
 大阪大学・医学系研究科・講師  
 研究者番号：80373108

研究成果の概要(和文)：

発症直後に死亡した劇症1型糖尿病患者の膵組織を分析した。膵組織において、エンテロウイルスとウイルス受容体、ケモカインとその受容体の発現を認めた。これらは劇症1型糖尿病発症の鍵となる分子であり、ウイルス感染と自然免疫機構の活性化、ケモカインによる免疫担当細胞の集積といったメカニズムが劇症1型糖尿病の発症機構の一部を構成することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：

We analyzed pancreas specimens soon after the onset of fulminant type 1 diabetes. We revealed the expression of viral receptor and enterovirus RNA. The expressions of chemokine and its receptor were also observed. They are candidates of key molecules and viral infection, activation of innate immunity and homing of immunocytes by chemokine interaction may contribute to the development of fulminant type 1 diabetes.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	1,200,000	360,000	1,560,000
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・内分泌学

キーワード:劇症1型糖尿病、自然免疫、toll-like receptor、ケモカイン

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、申請者ら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, Diabetes Care 2003)。劇症1型糖尿病は、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く(Diabetologia 2005)、糖尿病の最重症型と位置付けることができる。

申請者らが分析した発症直後の劇症1型糖尿病患者膵において、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り、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解析する必要があると考えるに至った。

現在までの検討から、劇症1型糖尿病の発症

原因として、まず考えられるのがウイルス感染である(Diabetes Care 2003, Diabetologia 2005, Diabetes Res Clin Pract 2008)。また、ウイルス感染に引き続き、innate immunity が活性化することが当時明らかになりつつあった。

## 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 に関係する分子のうち、劇症1型糖尿病のβ細胞傷害に鍵となる分子を明らかにすることを目的として開始された。

## 3. 研究の方法

### (1) 免疫組織化学における検討

発症直後に死亡した劇症1型糖尿病患者3名の剖検膵組織を用いて、免疫組織化学により、膵組織における Toll-like receptor (TLR) 発現、CXC chemokine ligand 10(CXCL10)および CXCR3 の発現、について検討した。

### (2) *in situ* hybridization 法による検討

上記の組織において、エンテロウイルスの共通塩基配列部分をプローブとし、*in situ* hybridization 法を用いて、直接ウイルスを同定する。

## 4. 研究成果

### (1) Toll-like receptor (TLR)の発現

検討した3名すべての膵組織において TLR3, TLR7, TLR9 の発現を認めた。これら3つの TLR サブタイプのうち、ウイルス感染との関連が最も深いと考えられる TLR3 は浸潤マクロファージの  $84.7 \pm 7.0\%$  および浸潤 Tリンパ球の  $62.7 \pm 32.3\%$  に発現を認めた。

### (2) エンテロウイルスの発現

検討した3例中1例において、膵β細胞が残存している膵島の膵島細胞にエンテロウイ

ルス RNA が発現していた。

以上の結果から、劇症1型糖尿病の膵β細胞傷害機構には、一部の症例では膵β細胞へのエンテロウイルス感染が引き金となり、TLR3を介した innate immunity の活性化が関与していることが示唆された。同時に、引き金となっているウイルスが他にも存在する可能性も考えられた。

### (3) CXC chemokine ligand 10(CXCL10)および CXCR3 の発現

劇症1型糖尿病において、膵島内 CXCL10 陽性細胞の 3.1-40.0%がβ細胞であり、膵島内残存β細胞の 4.3 -41.2%において CXCL10 の発現を認めた。また、α細胞、外分泌領域にも CXCL10の発現を認めた。膵島浸潤T細胞には CXCR3 の発現を認めなかったが、外分泌領域へ浸潤した T細胞に CXCR3 の発現を認めた。CXCL10 は、自己免疫性1型糖尿病患者膵においてβ細胞特異的に発現を認めたが、劇症1型糖尿病患者膵においてはβ細胞のみならずα細胞、外分泌細胞にも CXCL10 の発現を認めた。

以上のことから、劇症1型糖尿病における細胞傷害に CXCL10-CXCR3 が関与していることが考えられる。

これらの結果とは別に、劇症1型糖尿病膵組織を用いて、ウイルス感染関連分子の発現を免疫組織化学的に検討した。その結果、酵素抗体法では、劇症1型糖尿病患者において、連続切片のグルカゴン陽性細胞の位置(膵島)に一致して、この分子の陽性細胞の存在が明らかになった。健常対照者ではこの分子の膵島領域、膵外分泌領域での発現はともに認めなかった。

## 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 49 件)

1. Matsumoto H, Imagawa A, et al. Glycated albumin to glycated hemoglobin ratio is a sensitive indicator of blood glucose variability in patients with fulminant Type 1 diabetes. *Internal Med* 2012 (in press) /査読有
2. Iwahashi H, Imagawa A, et al. Insulin secretion capacity in normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, and diabetes in obese and non-obese Japanese subjects. *J Diabetes Invest*. 2012 (in press)/査読有
3. Yamaoka M, Imagawa A, et al. A case of long-standing autoimmune type 1 diabetes with common variable immunodeficiency. *Diabetol Int*. 2012 (in press)/査読有
4. Iwahashi H, Imagawa A, et al. Clinical features of Japanese type 2 diabetics with insulinogenic index in normal range after treatment of glucotoxicity. *Diabetol Int*. 2012 (in press) /査読有
5. Tsutsumi C, Imagawa A, et al. Class II HLA genotype in fulminant type 1 diabetes –a nationwide survey with reference to GAD antibodies. *J Diabetes Invest*. 2012;3:62–69. /査読有
6. Kozawa J, Imagawa A, et al. Liraglutide is effective in type 2 diabetic patients with sustained endogenous insulin secretion capacity. *J Diabetes Invest* 2012 (in press) 査読有
7. Yoshikawa A, Imagawa A, et al. Preoperative insulin secretion ability and pancreatic parenchymal thickness as useful parameters for predicting postoperative insulin secretion in patients undergoing pancreatico-duodenectomy. *Endocr J*. 2012 Feb 25./査読有
8. 芳川篤志、今川彰久 劇症1型糖尿病 検査と技術 40(4):279–285, 2012 /査読無
9. Inoue K, Imagawa A, et al. Short-term effects of liraglutide on visceral fat adiposity, appetite, and food preference: a pilot study of obese Japanese patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2011;10(1):109. /査読有
10. Inoue K, Imagawa A, et al. Right-sided acute suppurative thyroiditis caused by infectious endocarditis. *Intern Med*. 2011;50(23):2893–7. /査読有
11. Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes—an important subtype in East Asia. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011;27:959–64. /査読有
12. Imagawa A. Fulminant Type 1 Diabetes—Is it Virus-Induced Diabetes? *J Med Virol*. 2011;83:1675. /査読有
13. Okauchi Y, Imagawa A, et al. Cross-sectional and longitudinal study of association between circulating thiobarbituric acid-reacting substance levels and clinicobiochemical parameters in 1,178 middle-aged Japanese men – the Amagasaki Visceral Fat Study. *Nutr Metab (Lond)*. 2011 Nov 22;8(1):82. /査読有
14. Eguchi H, Imagawa A, et al. Arterial stimulation and venous sampling for glucagonomas of the pancreas. *Hepatogastroenterology*. 2011;59:113. /査読有
15. Ryo M, Imagawa A, et al. Health Education “Hokenshido” Program Reduced Metabolic Syndrome in the Amagasaki Visceral Fat Study. Three-Year Follow-up Study of

- 3,174 Japanese Employees. Intern Med. 2011;50(16):1643-8. /査読有
16. Nakamura K, Imagawa A, et al. Type 1 Diabetes and Interferon Therapy: A nationwide survey in Japan. Diabetes Care. 2011 Sep;34(9):2084-2089. /査読有
17. Haseda F, Imagawa A, et al. Low CTLA-4 expression in CD4(+) helper T-cells in patients with fulminant type 1 diabetes. Immunol Lett. 2011 Sep 30;139(1-2):80-6. /査読有
18. Akita-Fukuda E, Imagawa A, et al. Predictors of deterioration of glucose tolerance and effects of lifestyle intervention aimed at reducing visceral fat in normal glucose tolerance subjects with abdominal obesity. J Diabetes Invest. 2011;2:218-224. /査読有
19. Sato Y, Imagawa A, et al. Cellular hypoxia of pancreatic {beta}-cells due to high levels of oxygen consumption for insulin secretion in vitro. J Biol Chem. 2011;286:12524-32. /査読有
20. Sano H, Imagawa A, et al. Exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, suppresses pancreatic {beta}-cell destruction induced by encephalomyocarditis virus. Biochem Biophys Res Commun. 2011;404(3):756-61. /査読有
21. 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病一成因についての新しい知見を中心として Diabetes J 39(4):158-166,2011/査読無
22. 今川彰久 劇症1型糖尿病 月刊糖尿病 3(12):139-146, 2011/査読無
23. 田中昌一郎, 今川彰久, 他(25名中12番め), 日本糖尿病学会I型糖尿病調査研究委員会 緩徐進行1型糖尿病(slowly progressive insulin-dependent diabetes mellitus:SPIDDM)の臨床的特徴 日本糖尿病学会1型糖尿病調査研究委員会緩徐進行1型糖尿病分科会報告(第一報) 糖尿病 54(1):65-75, 2011/査読有
24. Kozawa J, Imagawa A, et al. Insulin tolerance test predicts the effectiveness of insulin sensitizers in Japanese type 2 diabetic patients. Diabetes Ther. 2010;1:121-30. /査読有
25. Uno S, Imagawa A, Saisho K, Okita K, Iwahashi H, Hanafusa T, Shimomura I. Expression of chemokines, CXC chemokine ligand 10 (CXCL10) and CXCR3 in the inflamed islets of patients with recent-onset autoimmune type 1 diabetes. Endocr J. 2010;57(11):991-6. /査読有
26. Okauchi Y, Imagawa A, et al. Absolute value of bioelectrical impedance analysis-measured visceral fat area with obesity-related cardiovascular risk factors in Japanese workers. J Atheroscler Thromb. 2010;17(12):1237-1245. /査読有
27. Shibasaki S, Imagawa A, et al. Endogenous insulin secretion even at a very low level contributes to the stability of blood glucose control in fulminant type 1 diabetes. J Diabetes Invest 2010;1(6):283-285. /査読有
28. Koga M, Imagawa A, et al. Correlation of glycosylated albumin but not hemoglobin A1C with endogenous insulin secretion in fulminant type 1 diabetes mellitus. J Diabetes Invest 2010;1(6):279-282. /査読有
29. Okauchi Y, Imagawa A, et al. 4-year follow-up of cardiovascular events and changes in visceral fat accumulation after

- health promotion program in the Amagasaki Visceral Fat Study. *Atherosclerosis*. 2010 Oct;212(2):698-700. /査読有
30. Koga M, Imagawa A, et al. Serum 1,5-anhydroglucitol levels in patients with fulminant type 1 diabetes are lower than those in patients with type 2 diabetes. *Clin Biochem*. 2010 Oct;43(15):1265-7. /査読有
31. Koga M, Imagawa A, et al. Serum glycated albumin to haemoglobin A1C ratio can distinguish fulminant type 1 diabetes mellitus from type 2 diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem*. 2010;47(Pt 4):313-7. /査読有
32. Tamba S, Imagawa A, et al. Relationship between visceral fat accumulation and urinary albumin-creatinine ratio in middle-aged Japanese men. *Atherosclerosis*. 2010;211(2):601-5. /査読有
33. Inomata-Kurashiki Y, Imagawa A, et al. Measurement of adiponectin production from differentiated metabolic stem cells. *Horm Metab Res*. 2010;42:318-23. /査読有
34. Kozawa J, Imagawa A, et al. Similar incretin secretion in obese and non-obese Japanese subjects with type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;393:410-3. /査読有
35. Shibasaki S, Imagawa A, et al. Expression of toll-like receptors in the pancreas of recent-onset fulminant type 1 diabetes. *Endocr J*. 2010 Apr 2;57(3):211-9. /査読有
36. 今川彰久 劇症1型糖尿病治療における問題点 糖尿病診療マスター 8(2):209-212,2010 /査読無
37. 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病 臨床病理 58(3):216-224,2010 /査読無
38. Kawabata Y, Imagawa A, et al. Differential association of HLA with three subtypes of type 1 diabetes: fulminant, slowly progressive and acute-onset. *Diabetologia*. 2009;52(12):2513-21. /査読有
39. Okauchi Y, Imagawa A, et al. Changes in serum adiponectin concentrations correlate with changes in BMI, waist circumference, and estimated visceral fat area in middle-aged general population. *Diabetes Care*. 2009 Oct;32(10):e122. /査読有
40. Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes as an important exception to the new diagnostic criteria using HbA(1c)-response to the International Expert Committee. *Diabetologia*. 2009 Nov;52(11):2464-5. /査読有
41. Saisho K, Imagawa A, et al. Glucose enhances collectrin protein expression in insulin-producing MIN6 beta cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;389:133-7. /査読有
42. 今川彰久, 花房俊昭 劇症1型糖尿病 糖尿病 52(8):669-671,2009 /査読有
43. 今川彰久 劇症1型糖尿病-最新動向 医学のあゆみ 229(11):1086-7,2009/ 査読無
44. 今川彰久 劇症1型糖尿病の病因と病態 (3)急性期・慢性期の病態と治療 プラクティス 26(3):239-241,2009/査読無
45. 今川彰久, 花房俊昭 見逃してはいけない糖尿病-劇症1型糖尿病 日本医師会雑誌 138(1):33,2009 /査読無
46. 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
47. 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

[学会発表](計 13 件)

1. Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes. 16th Japan-Korea Symposium on Diabetes Mellitus. Tokyo. Oct. 21, 2011
2. Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes -is it a unique Asian Phenomenon? The 3<sup>rd</sup> Scientific Meeting of the Asian Association for the Study of Diabetes, Beijing, China, July 23, 2011.
3. 今川彰久 1型糖尿病における膵β細胞傷害機構 第 54 回日本糖尿病学会年次学術集会、札幌、5/20, 2011
4. 今川彰久 劇症1型糖尿病はどこまで解明されたか 第 45 回糖尿病学の進歩、福岡、2/20, 2011
5. 今川彰久 劇症1型糖尿病の新展開 第 47 回日本糖尿病学会近畿地方会、大阪、11/13, 2010
6. Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant diabetes immunology. The 2<sup>nd</sup> international symposium of Korea national diabetes program, Seoul, Korea, Nov 3, 2010
7. Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes—an important subtype in East Asia. The 11<sup>th</sup> Meeting of the Immunology of Diabetes Society, Incheon, Korea, November 2, 2010.
8. Imagawa A. Fulminant type 1 Diabetes -is it virus-induced diabetes? VIDIS group meeting at EASD. Stockholm, Sweden, Sep 19, 2010
9. 今川彰久 劇症1型糖尿病の成因 第 53 回日本糖尿病学会年次学術集会、岡山、5/27, 2010
10. 今川彰久 レクチャー 劇症1型糖尿病の臨床 第 44 回糖尿病学の進歩、大阪、3/5,

2010

11. Imagawa A. Fulminant type 1 diabetes -an important entity in East Asia. 15th Japan-Korea Symposium on Diabetes Mellitus. Jeju, Korea. Nov. 22, 2009
12. 今川彰久 劇症1型糖尿病の発症機序 第 52 回日本糖尿病学会年次学術集会、大阪、5/22, 2009
13. Imagawa A. Discovery and establishment of fulminant type 1 diabetes -from a patient to clinical entity. 6th ACP Japan Chapter Meeting. Tokyo, Japan, April 18, 2009

[図書](計 5 件)

1. 細川吉弥、今川彰久 劇症1型糖尿病の病態と治療 別冊プラクティス ブリットル糖尿病の病態と治療・管理のコツ (医歯薬出版、東京)p13-20, 2012
2. Imagawa A, Hanafusa T. Fulminant type 1 diabetes. In Immunoendocrinology: Scientific and clinical aspects. Eisenbarth GS ed. 2011 Humana Press, New York, USA, pp331-342.
3. 今川彰久 劇症1型糖尿病はどこまで解明されたか 糖尿病の療育指導 2011(日本糖尿病学会編、診断と治療社、東京)p37-40,2011
4. 今川彰久 劇症1型糖尿病の臨床 糖尿病の療育指導 2010(日本糖尿病学会編、診断と治療社、東京)p5-8,2010
5. 今川彰久 1型糖尿病 今日の治療指針 2009 年度版 (山口徹他編、医学書院、東京)p526-527, 2009

6. 研究組織

- (1)研究代表者  
今川 彰久(Imagawa Akihisa)  
大阪大学・医学系研究科・講師  
研究者番号:80373108
- (2)研究分担者 なし
- (3)連携研究者 なし