

平成 30 年 5 月 28 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09404

研究課題名(和文) 1型糖尿病の自己免疫と臓器特異性を一元的に説明する遺伝子の同定と機能解析

研究課題名(英文) Identification of susceptibility genes for autoimmunity and beta-cell specificity of type 1 diabetes

研究代表者

池上 博司 (IKEGAMI, Hiroshi)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：20221062

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)：1型糖尿病の自己免疫と臓器特異性を一元的に説明する遺伝子の同定を目的に、標的臓器の異なる自己免疫の相互関係を解析した結果、膵細胞と甲状腺、甲状腺と毛包自己免疫が相互に合併、膵細胞と毛包自己免疫の合併は極めて稀であった。遺伝的背景を解析するとHLAが臓器特異性に大きく関与し、DR4 (DRB1\*04:05-DQB1\*04:01)が膵細胞特異性に寄与することが示された。自己免疫と膵細胞特異性の両者に関与するMAFAをノックアウトしたNODマウスでは発症が予想に反して発症が抑制されること、その機序として、膵細胞特異的調節性T細胞がラ氏島炎部位に集積することが一因である可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to identify genes responsible for both autoimmunity and organ-specificity of type 1 diabetes. Type 1 diabetes and autoimmune thyroid diseases (AITD), alopecia areata and AITD, are often develop in the same individuals, whereas type 1 diabetes and AA are very rare to be observed in the same individuals. HLA-DR4 haplotype (DRB1\*04:05-DQB1\*04:01) was found to be responsible for beta-cell specificity in autoimmune diseases. targeted disruption of MafA in NOD mice resulted in protection, but not acceleration, of beta-cell autoimmunity and type 1 diabetes. Accumulation of regulatory T-cells in insulinitis lesion was suggested to be possible mechanism of protection from beta-cell autoimmunity and type 1 diabetes.

研究分野：内分泌・代謝・糖尿病学、分子遺伝学、免疫学

キーワード：1型糖尿病 自己免疫 遺伝子 疾患感受性 臓器特異性

## 1. 研究開始当初の背景

1型糖尿病は膵細胞が破壊される結果、インスリンの絶対的欠乏をきたし、生命維持のためにインスリン治療が欠かせない重篤な疾患であるが、現時点で根治療法はない。根治療法や予防のためには、なぜ自己の細胞が破壊されるのか？(自己免疫)、なぜ膵細胞だけが標的となるのか？(臓器特異性)という2つの根源的課題の解明が不可欠である。従来、とは全く別個のものとして研究が行われてきたが、申請者らを含む内外の研究によって両者に共通して関与する遺伝子・分子・メカニズムの存在が明らかとなってきた。

## 2. 研究の目的

本研究では、臓器特異的自己免疫疾患である1型糖尿病における根本的な2つの疑問、「なぜ自己の細胞が攻撃されるのか？」と「なぜ膵細胞だけが標的となるのか？」を分子レベルで解明し、1型糖尿病の予知・予防・治療法の構築に資する基盤情報を得ることを目的としている。前者は自己免疫の根本原因と免疫寛容のメカニズムの解明、後者は臓器特異的自己免疫疾患における臓器特異性の解明と臓器特異的治療法の構築につながる重要な研究課題である。特に、両者を一元的に説明する遺伝子・分子の同定・解析を進めて、安全で確実な予防法・治療法の構築に資する基盤情報を得ることが目的である。

## 3. 研究の方法

(1)異なる臓器に対する自己免疫(1型糖尿病、甲状腺自己免疫、円形脱毛症)において複数の標的臓器に対する自己免疫を有する症例と単独臓器のみの症例を集積し、遺伝背景を比較解析することにより、自己免疫に関与する遺伝子、臓器特異性に関与する遺伝子、両者に関与する遺伝子の同定を進めた。(2)1型糖尿病における膵細胞標的抗原であるインスリンの胸腺における発現をコントロールする転写因子MAFAの発現を変化させた遺伝子改変動物を用いて、自己免疫と臓器特異性の両者に関与する遺伝子の機能を *in vivo* で解析した。MAFA ノックアウトマウスの遺伝背景を1型糖尿病モデルNODマウスに置換した系統を確立し、表現型を解析するとともに、MafAをAIRE遺伝子に組み込んだBACコンストラクトを用いて胸腺特異的にMafAを過剰発現させたトランスジェニックマウスを2系統樹立し、表現型の解析を進めた。

## 4. 研究成果

(1)標的臓器の異なる自己免疫疾患それぞれにおいて他臓器に対する自己免疫の有無を詳細に解析した結果、膵細胞自己免疫(1型糖尿病)と甲状腺自己免疫、甲状腺自己免疫と毛包自己免疫(円形脱毛症)がそれぞれ相互に合併するのに対し、膵細胞自己免疫と毛包自己免疫の合併は極めて稀であることが明らかとなった。これらの合併、非合併に関与する遺伝的基盤を解析した結果、HLAハプロタイプが各疾患の臓器特異性に大きく関与することが明らかとなった。具体的にはDR4(DRB1\*04:05-DQB1\*04:01)が膵細胞、DR8(DRB1\*08:03-DQB1\*06:01)が甲状腺、DR2(DRB1\*15:01-DQB1\*06:02)が毛包の特異性に関与するHLAとして同定された。HLAは免疫応答のマスターレギュレーターであるとともに、抗原結合ポケットの構造を介して抗原特異性にも関与することから、自己免疫と臓器特異性の両者に関与する重要な遺伝子であり、特にDR4(DRB1\*04:05-DQB1\*04:01)は膵細胞特異的自己免疫に関与する標的分子として、予知・予防・治療における重要な鍵分子となることが示された。HLA以外の遺伝子に関しては、甲状腺特異的な遺伝子としてCTLA4とTSHRが同定された。円形脱毛症との関連が報告されている遺伝子群は毛包特異性には関与せず、自己免疫全般に関与する可能性が示された。

(2)自己免疫と膵細胞特異性の両者に関与する候補遺伝子であるMAFAを1型糖尿病モデルNODマウスでノックアウトした系統では発症が予想に反して抑制されること、そのメカニズムとして、膵細胞特異的な調節性T細胞が増加し、ラ氏島炎部位に集積することが一因である可能性が示された。一方、MAFAを過剰発現させたトランスジェニックマウスでは明らかな表現型変化を認めなかった。

## 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14件)

池上博司、能宗伸輔、川畑由美子

自己免疫疾患の標的臓器を決定する因子 - なぜ膵細胞だけが攻撃されるのか -  
日本体質医学会雑誌 80:6-12, 2018

Maegawa T, Miyasaka Y, Kobayashi M, Babaya N, Ikegami H, Horio F, Takahashi M, Ohno T. Congenic mapping and candidate gene analysis for streptozotocin-induced diabetes susceptibility locus on mouse chromosome 11. *Mamm Genome* 2018 Mar 9. doi: 10.1007/s00335-018-9742-y. [Epub ahead of print].

Niwano F, Hiramine Y, Noso S, Babaya N, Ito H, Yasutake S, Matsumoto I, Takeyama Y, Kawabata Y, Ikegami H. Insulin deficiency with and without glucagon: A comparative study between total pancreatectomy and type 1 diabetes. *J Diabetes Investig* 2017 Dec 30. DOI: 10.1111/jdi.12799. [Epub ahead of print]

Babaya N, Makutani Y, Noso S, Hiramine Y, Ito H, Taketomo Y, Ueda K, Ushijima H, Komoike Y, Yamazaki Y, Sasano H, Kawabata Y, Ikegami H. Case report: schwannoma arising from the unilateral adrenal area with bilateral hyperaldosteronism. *BMC Endocr Disord* 17(1):74, 2017 Dec 6. DOI: 10.1186/s12902-017-0225-z. [Epub ahead of print]

Kanto K, Ito H, Noso S, Babaya N, Hiramine Y, Taketomo Y, Toma J, Niwano F, Yasutake S, Kawabata Y, Ikegami H. Effects of dosage and dosing frequency on the efficacy and safety of high-dose metformin in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Investig* 2017 (in press) DOI: 10.1111/jdi.12755

Ina Y, Kawabata Y, Sakamoto R, Sekiguchi N, Ikegami H. A rare HLA genotype in two siblings with type 1 diabetes in a Japanese family clustered with type 1 diabetes. *J Diabetes Investig* 8:762-765, 2017. DOI: 10.1111/jdi.12628.

Taketomo Y, Noso S, Babaya N, Hiramine Y, Ito H, Kanto K, Niwano F, Oiso N, Kawada A, Kawabata Y, Ikegami H. Common phenotype and different non-HLA genes in Graves' disease and alopecia areata. *Hum Immunol* 78:185-189, 2017. DOI: 10.1016/j.humimm.2016.10.019.

Oikawa Y, Shimada A, Awata T, Fukui T, Ikegami H, Imagawa A, Kajio H, Kawabata Y, Kawasaki E, Miura J, Osawa H, Takahashi K, Tanaka S, Uchigata Y, Yasuda H, Yasuda K, Hanafusa T, Kobayashi T, Research Committee on Type 1 Diabetes of the Japan Diabetes Society. Clinical features of cases of seroconversion of anti-glutamic acid decarboxylase antibody during the clinical course of type 2 diabetes: a nationwide survey in Japan. *Diabetol Int* 8:306-315, 2017. DOI: 10.1007/s13340-017-0312-4

Ishikawa K, Shono-Saito T, Yamate T, Kai Y, Sakai T, Shimizu F, Yamada Y, Mori H, Noso S, Ikegami H, Kojima H, Fujiwara S, Hatano Y. A case of fulminant type 1 diabetes mellitus, with a precipitous decrease in pancreatic volume, induced by nivolumab in malignant melanoma: analysis of HLA and CTLA-4 polymorphisms. *Brit J Dermatol* 27(2):184-185, 2017. DOI: 10.1684/ejd.2016.2923

Yasui J, Kawasaki E, Tanaka S, Awata T, Ikegami H, Imagawa A, Uchigata Y, Osawa H, Kajio H, Kawabata Y, Shimada A, Takahashi K, Yasuda K, Yasuda H, Hanafusa T, Kobayashi T for the consultation of the Japan Diabetes Society Committee on Type 1 Diabetes : Clinical and genetic characteristics of non-insulin-requiring glutamic acid decarboxylase (GAD) autoantibody-positive diabetes: a nationwide survey in Japan. *PLoS One* 11(5):e0155643, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0155643

Yamaguchi Baden MY, Imagawa A, Iwahashi H, Shimomura I, Awata T, Ikegami H, Uchigata Y, Osawa H, Kajio H, Kawasaki E, Kawabata Y, Shimada A, Takahashi K, Tanaka S, Yasuda K, Yasuda H, Kobayashi T, Hanafusa T: Risk factors of sudden death and cardiac arrest at the onset of fulminant type 1 diabetes mellitus. *Diabetology Int* 7:281-288, 2016. DOI: 10.1007/s13340-015-0247-6

Noso S, Park C, Babaya N, Hiramine Y, Harada T, Ito H, Taketomo Y, Kanto K, Oiso N, Kawada A, Suzuki T, Kawabata Y, Ikegami H: Organ-specificity in autoimmune diseases: thyroid and islet autoimmunity in alopecia areata. *J Clin Endocrinol Metab* 100(5): 1976-83, 2015. doi: 10.1210/jc.2014-3985

Fujisawa R, Haseda F, Tsutsumi C, Hiramine Y, Noso S, Kawabata Y, Mitsui S, Terasaki J, Ikegami H, Imagawa A, Hanafusa T: Low PD-1 expression in peripheral CD4+ T-cells in Japanese patients with autoimmune type 1 diabetes.. *Clin Exp Immunol* 180:452-457, 2015. DOI:10.1111/cei.12603

Tanaka S, Ohmori M, Awata T, Shimada A, Muraio S, Maruyama T, Kamoi K, Kawasaki E,

Nakanishi K, Nagata M, Fujii S, Ikegami H,  
Imagawa A, Uchigata Y, Okubo M, Osawa H,  
Kajio H, Kawaguchi A, Kawabata Y, Satoh J,  
Shimizu I, Takahashi K, Makino H, Iwahashi H,  
Miura J, Yasuda K, Hanafusa T, Kobayashi T,  
Committee on Type 1 Diabetes: Diagnostic  
criteria for slowly progressive insulin-  
dependent (type 1) diabetes mellitus (SPIDDM)  
(2012): report by the Committee on Slowly  
Progressive Insulin-Dependent (Type 1)  
Diabetes Mellitus of the Japan Diabetes Society.  
Diabetol Int 6:1-7, 2015. DOI  
10.1007/s13340-014-0199-2

[学会発表](計 10 件)

池上博司  
「1型糖尿病の成因と病態 update 2018」  
第 52 回糖尿病学の進歩 2018 年 3/2-3 福岡

Noso S, Hosomichi K, Babaya N, Hiramine Y,  
Ito H, Taketomo Y, Kawabata Y, Ikegami H.  
Whole-exome sequencing in rare families  
identified novel genetic variants for familial  
type 1 diabetes. 53rd Annual Meeting of  
European Association for the Study of  
Diabetes. Lisbon, Portugal, 9/12, 2017

能宗伸輔、川畑由美子、池上博司  
「1型糖尿病の遺伝素因 update」  
第 60 回日本糖尿病学会年次学術集会 シ  
ンポジウム 7: 1型糖尿病 update 2017  
2017 年 5/18-20 名古屋

Noso S, Hosomichi K, Babaya N, Hiramine Y,  
Kawabata Y, Ikegami H  
Identification of genetic loci linked to type 1  
diabetes susceptibility by linkage analysis  
with whole exome sequencing in clustered  
family. Immunology of Diabetes Society, 15th  
International Congress. San Francisco,  
CA, 1/20, 2017

Ikegami H  
Devices for improvement of long-term  
prognosis after pancreatectomy  
Joint Conference of the International  
Association of Pancreatology, the Japan  
Pancreas Society and the Asian Oceanic  
Pancreatic Association 2016, Sendai, Japan,  
8/6, 2016

能宗伸輔、川畑由美子、池上博司  
「1型糖尿病の遺伝因子:濃厚集積家系の  
解析」第 59 回日本糖尿病学会年次学術集  
会 シンポジウム 3: 1型糖尿病の成因と  
治療. 2016 年 5/19-21 京都

武友保憲、能宗伸輔、馬場谷成、廣峰義久、

伊藤裕進、貫戸幸星、吉田左和、庭野史丸、  
川畑由美子、池上博司  
自己免疫性 1 型糖尿病の 細胞機能廃絶  
に関わる臨床指標と遺伝因子の解明  
第 113 回日本内科学会総会・講演会  
2016 4/15-17

武友保憲、能宗伸輔、馬場谷成、廣峰義久、  
原田剛史、伊藤裕進、貫戸幸星、末吉功治、  
吉田左和、庭野史丸、安武紗良、川畑由美子、  
池上博司  
自己免疫性 1 型糖尿病における内因性イ  
ンスリン分泌能を規定する臨床指標およ  
び遺伝因子の解明  
第 58 回日本糖尿病学会年次学術集会  
2015 5/21-24 5/22

武友保憲、能宗伸輔、馬場谷成、廣峰義久、  
伊藤裕進、原田剛史、貫戸幸星、川畑由美子、  
池上博司  
自己免疫性 1 型糖尿病の遺伝子解析:  
細胞機能廃絶に関わる遺伝素因の解明  
第 88 回日本内分泌学会学術総会  
2015 4/23-25

Noso S, Kawabata Y, Babaya N, Hiramine Y,  
Hosomichi K, Ikegami H  
Identification of genetic loci linked to type 1  
diabetes susceptibility by linkage analysis  
with whole exome sequencing in clustered  
family. Immunology of Diabetes Society, 14th  
International Congress  
Munich, Germany, 4/12-16, 2015

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

池上 博司 (IKEGAMI, Hiroshi)  
近畿大学・医学部・教授  
研究者番号: 20221062

### (2) 研究分担者

川畑 由美子 (KAWABATA, Yumiko)  
近畿大学・医学部・准教授  
研究者番号: 80423185

#### 研究分担者

能宗 伸輔 (NOSO, Shinsuke)  
近畿大学・医学部・講師  
研究者番号: 90460849

#### 研究分担者

馬場谷 成 (BABAYA, Naru)  
近畿大学・医学部・講師  
研究者番号: 10449837

#### 研究分担者

廣峰義久 (HIROMINE, Yoshihisa)  
近畿大学・医学部・講師  
研究者番号: 30260851