

平成 27 年 6 月 12 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591347

研究課題名(和文)自己免疫疾患における標的臓器決定因子の解明と治療への展開：1型糖尿病と膵細胞

研究課題名(英文)Organ specificity in autoimmune diseases: beta-cells and 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) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：「1型糖尿病でなぜ膵細胞だけが破壊されるのか？」を分子レベルで解明することを目的として研究を進めた。胸腺で自己抗原インスリンの発現調節に寄与する転写因子MafAをロックアウトした1型糖尿病モデルNODマウスでは1型糖尿病発症が有意に抑制されること、ヒト対応遺伝子MAFAの機能亢進型多型は1型糖尿病と負の関連を示すことが明らかとなった。毛包に対する臓器特異的自己免疫疾患である円形脱毛症では甲状腺自己免疫を高率に合併するが、1型糖尿病との合併は極めて稀であること、その理由として両疾患に対するHLAクラス IIハプロタイプの感受性、抵抗性が逆方向を向いていることが示された。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study was to clarify the molecular mechanisms why only beta-cells are destroyed in type 1 diabetes. Insulin-specific transcription factor, MafA, affects expression of insulin in the thymus and induction of immunological tolerance to insulin. Functional polymorphisms of MAFA were associated with type 1 diabetes. Alopecia areata, organ-specific autoimmune disease to hair follicle, was associated with autoimmune thyroid diseases, but not with type 1 diabetes, which correlated with class II HLA haplotypes susceptible or resistant to each autoimmune disease.

研究分野：糖尿病

キーワード：1型糖尿病 遺伝子 自己免疫

1. 研究開始当初の背景

1型糖尿病で内因性インスリンが完全枯渇すると、専門医をもってしても血糖コントロールが困難な不安定型糖尿病となり、患者予後は大きく損なわれる。このため、発症時に少ないながらも残存している膵細胞を如何に温存するかが極めて重要であるが、現在のところ有効な手立てがない。より多くの膵細胞が残存している緩徐進行1型糖尿病では膵細胞温存の可能性はさらに高まるが、自己免疫の制御・破壊阻止は現時点で不可能である。膵細胞破壊を予防・治療する際、免疫一般に対する介入では正常免疫をも抑制するため、感染症や癌といった有害事象に対する懸念があり、一生涯にわたる介入には否定的な意見が強い。このため、臓器特異的な免疫抑制が最も有効な予防法・治療法として期待されている。これを実現するには、1型糖尿病において「なぜ膵細胞だけが破壊されるのか」という臓器特異性決定因子の解明が不可欠である。臓器特異性の決定には、胸腺における臓器特異抗原(1型糖尿病ではインスリン)の発現とそれによる自己反応性T細胞の淘汰が極めて重要である。そこで胸腺における自己抗原の発現調節機構を解明することによって「なぜ膵細胞だけが破壊されるのか」の解明と臓器特異的治療法構築への展開を進めた。

2. 研究の目的

本研究では「1型糖尿病でなぜ膵細胞だけが破壊されるのか？」を分子レベルで解明することにより、1型糖尿病の安全かつ確実な予防法・治療法構築に資する基盤情報を得ることを目的としている。根治療法のない現在、1型糖尿病の予後は悪く、患者負担・社会的負担も重い。本研究の結果、免疫一般には影響を与えない臓器特異的な介入が可能となり、安全で有効な予防法・治療法の実現が期待される。

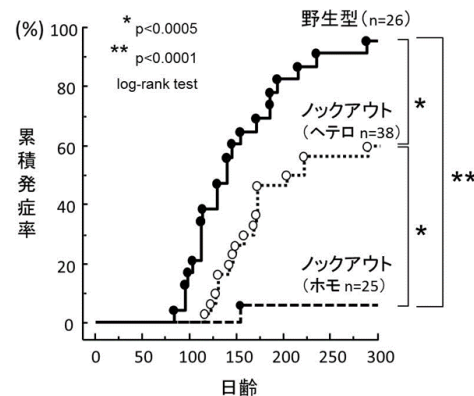
3. 研究の方法

1型糖尿病のモデル NOD マウスで我々が見いだした胸腺における臓器特異的自己抗原(インスリン)の発現調節異常の解明をインスリン特異的転写因子 MafA の遺伝子改変動物を用いて分子レベルで進めた。また、ヒト対応遺伝子と1型糖尿病の関連に関して多数例を用いて解析した。

橋本病・バセドウ病患者(甲状腺自己免疫)および円形脱毛症患者(毛根自己免疫)を対象に、各疾患で他臓器における自己免疫の有無を解析するとともに、3疾患の単独例ならびに膵島自己免疫合併例と非合併例で関連遺伝子を比較解析した。

4. 研究成果

胸腺における自己抗原インスリンの発現に關与する転写因子 MafA のノックアウトマウスの遺伝的背景を NOD マウスに置換した MafA ノックアウト NOD マウスを樹立し、表現型を解析した結果、当初予想した発症促進とは逆に、1型糖尿病が有意に抑制された(下図)(Noso S et al. Diabetologia 56:S63,2013)。



この結果から、インスリン転写因子が1型糖尿病発症に關与することが直接証明された。また、自己抗原インスリンの発現低下が予想とは逆に発症を抑制したことから、転写因子の量的変化と1型糖尿病との関係は単純な「有」「無」では説明できないことも明らかとなった。そのメカニズムを解明する目的で膵島を免疫組織科学的に解析した結果、ノックアウトマウスでは膵島炎が促進されていること、浸潤細胞に占める Foxp3 陽性の調節性T細胞が増加していることが明らかとなった (Noso S et al. Diabetologia 56:S63,2013)。

ヒト対応遺伝子である MAFA をリシークエンスして塩基配列を解析した結果、多くの多型を新たに見出した (Noso S, Ikegami H et al. Diabetes 59:2579, 2010)。その中の2つの機能多型(発現量を増加させる V N T R 多型と機能亢進させるミスセンス変異)で構築されるハプロタイプと1型糖尿病との関連を検討した結果、1型糖尿病と負の関連を示すことが明らかとなった (Noso S, Ikegami H et al. J Genet Syndr Gene Ther 4:204, 2013)。機能亢進型ハプロタイプは胸腺でのインスリン発現を増加させ、インスリン特異的T細胞の淘汰を促進することから1型糖尿病に対して抑制的に作用すると考えられる。

毛包に対する臓器特異的自己免疫疾患である円形脱毛症患者において他臓器に対する自己免疫の合併を解析した結果、甲状腺自己免疫を高率に合併すること、甲状腺自己抗

体 (TPO 抗体、TRAb) が高率に陽性を示すことが明らかとなった (Noso S, Ikegami H et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2015 (in press))。一方、1型糖尿病の合併は全く認めず、隣島関連自己抗体も陽性率、抗体価ともに健常者と同程度であることが明らかとなった。その原因を解明する目的で、HLA 遺伝子を解析した結果、円形脱毛症では1型糖尿病抵抗性のDR2 ハプロタイプが高頻度、1型糖尿病感受性のDR4 ハプロタイプが低頻度であることが示された (Noso S, Ikegami H et al. *J Clin Endocrinol Metab* 2015 (in press))。このことから疾患感受性・抵抗性のHLA クラス ハプロタイプが両疾患で逆方向を向いていることが両疾患の合併が稀であることの原因と考えられた。

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 17 件)

1. Noso S, Babaya N, Hiromine Y, Kawabata Y, Ikegami H (他 8 名, 最終著者): Organ-specificity in autoimmune diseases: thyroid and islet autoimmunity in alopecia areata. *J Clin Endocrinol Metab* 2015 (in press) (査読有) DOI:10.1212/jc.2014-3985
2. Fujisawa R, Hiromine Y, Noso S, Kawabata Y, Ikegami H (他 6 名, 9 番目): Low PD-1 Expression in Peripheral CD4+ T-cells in Japanese Patients with Autoimmune Type 1 Diabetes. *Clin Exp Immunol* 2015 (in press) DOI:10.1111/cei.12603
3. Tanaka S, Ikegami H, Kawabata Y, Committee on Type 1 Diabetes (他 25 名, 12 番目): 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
4. Babaya N, Noso S, Ikegami H (他 5 名, 最終著者): Genetic dissection of susceptibility genes for diabetes and related phenotypes on mouse chromosome 14 by means of congenic strains. *BMC Genetics* 15:93, 2014 (査読有) DOI: 10.1186/s12863-014-0093-8
5. Kawasaki E, Ikegami H (他 13 名, 5 番目): Diagnostic criteria for acute-onset type 1 diabetes mellitus (2012): Report of the Committee of Japan Diabetes Society on the Research of Fulminant and Acute-onset Type 1 Diabetes Mellitus. *J Diabetes Invest* 5:115-118, 2014 (査読有) DOI: 10.1111/jdi.12119
6. Wang X, Ikegami H (他 8 名, 9 番目): Novel effect of ezetimibe to inhibit the development of non-alcoholic fatty liver disease in Fatty Liver Shionogi mouse. *Hepato Res* 44:102-113, 2014 (査読有) DOI: 10.1111/hepr.12092
7. Noso S, Ikegami H (他 11 名, 最終著者): Association study of MAFA and MAFB, genes related to organ-specific autoimmunity, with susceptibility to type 1 diabetes in Japanese and Caucasian populations. *J Genet Syndr Gene Ther* 4:204, 2013(査読有) DOI: 10.4172/2157-7412.1000204
8. Babaya N, Ikegami H (他 7 名, 最終著者): Dose effect and mode of inheritance of diabetogenic gene on mouse chromosome 11. *J Diabetes Res* 2013:608923, 2013(査読有) DOI:10.1155/2013/608923
9. Awata T, Ikegami H (他 14 名, 9 番目): A low-frequency GLIS3 variant associated with resistance to Japanese type 1 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun* 437:521-525, 2013 (査読有) DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.06.102
10. Nojima K, Babaya N, Ikegami H (他 3 名, 5 番目): Analysis of hepatic gene expression profile in a spontaneous mouse model of type 2 diabetes under a high sucrose diet. *Endocrine J* 60:261-274, 2013 (査読有) DOI:10.1507/endocrj.EJ12-0258
11. Kawasaki E, Ikegami H, Kawabata Y (他 12 名, 5 番目): Diagnostic criteria for acute-onset type 1 diabetes mellitus (2012): Report of the Committee of Japan Diabetes Society on the Research of Fulminant and Acute-onset Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetol Int* 4:221-225, 2013(査読有) DOI: 10.1007/s13340-013-0122-2
12. Cho YS, Ikegami H (他 66 名, 41 番目): Meta-analysis of genome-wide association studies identifies 8 new loci for type 2 diabetes in East Asians. *Nature Genet* 44:67-72, 2012 (査読有) DOI:10.1038/ng.1019
13. Li H, Ikegami H (他 63 名, 45 番目): Association of genetic variation in FTO with risk of obesity and type 2 diabetes in up to 96,551 East and South Asians. *Diabetologia* 55:981-95, 2012 (査読有) DOI:10.1007/s00125-011-2370-7

14. Hiromine Y, Ikegami H (他 6 名, 最終著者): Prolonged hyperinsulinemia after subcutaneous injection of 2400 U regular insulin in a suicide attempt: Time course of serum insulin with frequent measurements. J Diabetes Invest 3:468-470, 2012 (査読有) DOI: 0.1111/j.2040-1124.2012.00211.x
15. Imagawa A, Ikegami H (他 13 名, 4 番目): Report on the committee of the Japan Diabetes Society on the Research of fulminant and acute-onset type 1 diabetes mellitus: new diagnostic criteria of fulminant type 1 diabetes mellitus (2012). J Diabetes Invest 3:536-539, 2012 (査読有) DOI: 10.1111/jdi.12024
16. Tsutsumi C, Ikegami H (他 5 名, 3 番目): Class II HLA genotype in fulminant type 1 diabetes: a nationwide survey with reference to glutamic acid decarboxylase antibodies. J Diabetes Invest 3:62-69, 2012 (査読有) DOI: 0.1111/j.2040-1124.2011.00139.x
17. Imagawa A, Ikegami H, Kawabata Y (他 12 名, 4 番目): Report on the committee of the Japan Diabetes Society on the Research of fulminant and acute-onset type 1 diabetes mellitus: new diagnostic criteria of fulminant type 1 diabetes mellitus (2012) Diabetol Int 3:179-183, 2012 (査読有) DOI: 10.1007/s13340-012-0098-3

〔学会発表〕(国際学会 計 4 件)

1. Noso S, Ikegami H (他 7 名, 最終著者): A search for susceptibility genes contributing to islet-specific autoimmunity in type 1 diabetes by association studies with multiple autoimmune diseases, 13th International Congress of the Immunology of Diabetes Society, 2013 年 12 月 8 日、Mantra Lorne, Australia
2. Noso S, Ikegami H (他 4 名, 最終著者): Mafa knockout NOD mice are protected from type 1 diabetes despite accelerated infiltration of lymphocytes into islets, **49th** European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting, 2013 年 9 月 25 日、Barcelona, Spain
3. Babaya N, Ikegami H (他 3 名, 最終著者): Susceptibility genes for type 2 diabetes and related phenotypes cluster on mouse chromosome 14, 48th European Association for the Study of Diabetes Annual Meeting, 2012 年 10 月 3 日、Berlin, Germany

4. Noso S, Ikegami H (他 9 名, 最終著者): Association of a functional polymorphism MAFA Gly346Cys with susceptibility to type 1 diabetes, 12th International Congress of the Immunology of Diabetes Society, 2012 年 6 月 18 日、Victoria, Canada

5 . 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

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

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

廣 峰義久 (HIROMINE Yoshihisa)
 近畿大学・医学部・講師
 研究者番号: 30460851