

Title	CXCL10 DNA Vaccination Prevents Spontaneous Diabetes through Enhanced β Cell Proliferation in NOD Mice
Sub Title	CXCL10 DNAワクチンは、NODマウスにおいて、 β 細胞の増殖を促進させ、自然発症する糖尿病を抑制する
Author	嶋原, 寿一
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.3 (2007. 9) ,p.15-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070901-0015

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

CXCL10 DNA Vaccination Prevents Spontaneous Diabetes through Enhanced β Cell Proliferation in NOD Mice

(CXCL10 DNAワクチンは、NODマウスにおいて、 β 細胞の増殖を促進させ、自然発症する糖尿病を抑制する)

嶋 原 寿 一

内容の要旨

1型糖尿病はT細胞により引き起こされる自己免疫疾患と考えられており、 β 細胞が選択的に破壊され、インスリン欠乏に陥り、高血糖をきたす疾患である。これまで、nonobese diabetic (NOD) マウスを用いた検討より、特にT helper 1 (Th1) 細胞がその発症に重要な役割を果たしていることが示されてきた。CXCL10はケモカインの一つであり、その受容体であるCXCR3がTh1細胞に特異的に発現していることから、多くのTh1タイプの自己免疫疾患の病因との関わりが報告されている。そこで、今回、若齢のNODマウスにCXCL10 DNAワクチンを投与し、自然発症糖尿病への影響を検討した。

(対象と方法)

CXCL10 DNAワクチン (pCAGGS-CXCL10) を作成し、4週齢および6週齢にNODマウスの前脛骨筋に注射・電気穿孔をおこなった。このCXCL10 DNAワクチン治療群において、抗CXCL10抗体の産生、糖尿病発症率、膵島炎の進展度、膵島浸潤細胞、脾・脾所属リンパ節でのサイトカイン・ケモカインmRNA発現を検討した。また、全身性サイトカインバランス、膵島関連自己抗原のひとつであるglutamic acid decarboxylase (GAD) に反応するinterferon (IFN)- γ 産生CD4細胞数および制御性T細胞数の検討も行った。さらにBromodeoxyuridine (BrdU) 投与後の膵組織を免疫組織染色にて観察し、pCAGGS-CXCL10治療の β 細胞増殖、 β 細胞容積に与える影響を検討した。

(結果と考察)

pCAGGS-CXCL10治療により、有意な抗CXCL10抗体の産生が観察された。このpCAGGS-CXCL10治療群において、30週齢時点での糖尿病累積発症率は有意に抑制された。しかし16週齢での膵組織の観察では、pCAGGS-CXCL10治療群とpCAGGSのみ注射したコントロール群において膵島炎の進展度に有意差は認めず、膵島浸潤細胞も同様であった。さらに、膵臓および脾所属リンパ節におけるサイトカイン・ケモカインmRNA発現レベル、全身性サイトカインバランス、GAD反応性IFN- γ 産生CD4細胞数、制御性T細胞数といった免疫学的指標に有意差を認めなかった。しかし、16週齢においてpCAGGS-CXCL10治療群の膵島内のBrdU陽性細胞が有意に増加して、インスリン陽性領域が増加していた。BrdU陽性細胞のほとんどは、Pancreatic duodenal homeobox-1 (PDX-1) 陽性であり、増殖している β 細胞と考えられた。以上より、pCAGGS-CXCL10によるCXCL10 DNAワクチン治療はNODマウスにおいて、膵島炎内の β 細胞の増殖を促進し、糖尿病の発症を抑制することが示唆された。

論文審査の要旨

1型糖尿病は、T細胞により引き起こされる自己免疫疾患であり、T helper 1 (Th1) 細胞が自己免疫による β 細胞の破壊に重要な役割を果たしている。本研究では、Th1タイプのケモカインのひとつであるCXCL10に着目し、4週齢のnonobese diabetic (NOD) マウスに、CXCL10 DNAワクチンを投与し、糖尿病発症率、膵島炎の進展、免疫学的指標および β 細胞への影響を検討した。その結果、CXCL10 DNAワクチン治療により、生体内で抗CXCL10抗体が産生され、NODマウスの糖尿病発症率が抑制された。予想に反してCXCL10 DNAワクチンは、膵島炎の進展、膵島浸潤細胞、脾および脾所属リンパ節でのサイトカイン・ケモカインmRNA発現、制御性T細胞数といった免疫学的指標には影響を与えず、一方、膵島内において β 細胞の増殖を促進し、インスリン陽性領域を増加させ、糖尿病発症を抑制することが示された。

審査では、まず、CXCL10 DNAワクチンで産生される抗体が、実際にCXCL10を中和しているかの確証がなされているかについて質問があり、本来であれば、血清より抗体を抽出し、*in vitro*で生物学的活性を確認するべきであったと回答された。また、CXCL10中和抗体の投与を行う方法をとらなかった理由について質問があり、NODマウスは糖尿病発症まで約30週齢までかかるため長期間の投与が困難であるとの回答がなされた。NODマウスにおいて、血清CXCL10は上昇するのかという質問に対して、NODマウスでは糖尿病発症に向かって徐々に上昇すること、CXCL10産生部位については、膵島だけでなく、肝臓、腎臓等が報告されていると回答された。次に過去に報告されているウイルス感染による糖尿病発症モデルでのCXCL10の中和実験と比較して、膵島炎の進展を抑制しなかったという結果の相違について質問され、ウイルス感染のような外因性抗原による疾患のモデルと、NODマウスの内因性抗原による疾患のモデルの違いが発症機序の違いに関与している可能性を回答された。さらに β 細胞がCXCL10およびCXCR3を発現する機序について質問され、IFN- γ 、TNF- α への暴露が発現の誘因となると回答された。また、CXCL10中和が β 細胞の細胞増殖を促進するメカニズムについて、*in vitro*でさらに検討されるべきであったと助言された。最後に本研究の臨床応用について質問され、1型糖尿病発症直後のCXCL10中和による β 細胞の保持の可能性を回答された。

以上、本研究はさらに検討されるべき課題を残しているものの、NODマウスにおいてCXCL10 DNAワクチンが糖尿病発症を抑制し、さらに β 細胞で発現するCXCL10の中和が β 細胞の増殖を促進させる可能性を示した点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者 主査 内科学 伊藤 裕
微生物学・免疫学 小安 重夫 先端医科学 河上 裕
内科学 日比 紀文
学力確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 小安 重夫

試問日: 平成19年5月10日