

学位論文内容の要旨

論文提出者氏名	論文審査担当者
柴崎早枝子	主査 教授 樋口 和秀 副査 教授 吉田 龍太郎 副査 教授 芝山 雄老 副査 教授 佐野 浩一
主論文題名 Expression of Toll-like Receptors in the Pancreas of Recent-onset Fulminant Type 1 Diabetes (発症直後の劇症 1 型糖尿病膵組織における Toll-like Receptors の発現)	
学位論文内容の要旨	
<p>《背景と目的》</p> <p>劇症 1 型糖尿病は 2000 年に提唱された糖尿病の新しいサブタイプで、非常に急速でほぼ完全な膵β細胞の破壊の結果生じる糖尿病である。劇症 1 型糖尿病における膵β細胞の破壊機序は未だ明らかではないが、発症前に感冒症状が高頻度に認められるなど、ウイルス感染の関与が示唆されている。本研究では、同疾患における膵β細胞傷害機構の手掛かりを得る目的で、膵島浸潤細胞とウイルス感染の観点から検討した。</p> <p>《対象と方法》</p> <p>発症直後に死亡し、剖検が行われた 3 人の劇症 1 型糖尿病患者を対象とした。3 症例は 29～47 歳のいずれも男性で、糖尿病罹病期間は 3～6 日であった。発症時の血糖値は 660～1585 mg/dl、HbA_{1c} は 5.8～7.5 %、血清 C ペプチドは 0.39 ng/ml 以下、抗 GAD 抗体・抗 IA-2 抗体、ICA はすべて陰性であった。膵組織は 10 %ホルマリンで固定し、パラフィン包埋した。正常対照膵組織として使用された 6 症例は、いかなる種類の糖尿病も膵疾患も保有していなかった。膵組織は免疫組織化学法(酵素抗体間接法、蛍光</p>	

二重染色法)と *in situ* hybridization 法によって分析した。統計学的処理は Mann-Whitney の U 検定にて行い、 $P < 0.05$ を統計学的に有意差ありとした。

《結 果》

劇症 1 型糖尿病において、インスリン・グルカゴン陽性細胞面積は共に著減していた (インスリン陽性細胞; 劇症 1 型糖尿病: 0.00256 ± 0.00158 %, 対照: 1.745 ± 0.336 %, グルカゴン陽性細胞; 劇症 1 型糖尿病: 0.0278 ± 0.0140 %, 対照: 0.266 ± 0.049 %) ($P < 0.01$)。

劇症 1 型糖尿病において、CD3 陽性細胞の浸潤を観察膵島の 68.8 ± 18.0 %に、CD68 陽性細胞の浸潤を 92.6 ± 2.7 %に認めた。

劇症 1 型糖尿病 3 症例のすべてにおいて、TLR3, 7, 9 の発現を認めた。CD3 陽性細胞のうち、TLR3 陽性細胞は観察膵島の 62.7 ± 32.3 %に認められ、CD68 陽性細胞のうち、TLR3 陽性細胞は観察膵島の 84.7 ± 7.0 %に認められた。対照の膵組織ではいかなる TLR の発現も認められなかった。

劇症 1 型糖尿病 3 症例のうち症例 1 において、一部の膵島にエンテロウイルス RNA の発現を認め、うち1つの膵島にはインスリン陽性細胞が残存していた。

《考 察》

TLR は自然免疫の活性化に重要な因子であり、病原体によく保存された構造を認識する。中でも TLR3, 7, 9 はウイルスの構造の一部を認識し、I 型インターフェロンの分泌を促進する。特に TLR3 は、コクサッキーウイルス B5 に感染したヒト膵島細胞、および、インターフェロン α を添加したヒト膵島細胞において、その発現が増強することが知られている。従って、劇症 1 型糖尿病膵組織における TLR3 の発現は、何らかのウイルス感染の存在を示唆する。さらに今回、一部の症例において、*in situ* hybridization 法により β 細胞残存膵島にエンテロウイルス RNA を同定し得たことは、膵島にウイルス感染が起こっていたことを直接証明したものと考えられる。

次に、劇症 1 型糖尿病でβ細胞が著減していることが明らかとなった。発症直後であっても対照の 0.1 %までβ細胞面積は減少していた。また劇症 1 型糖尿病では、β細胞のみならず、α 細胞面積も対照の 9.6 %まで低下していることが明らかになった。

最後に、CD68 陽性マクロファージ優位の膵島炎が存在することを明らかにした。我々は、発症 1～5 ヶ月後の劇症 1 型糖尿病では膵島炎を認めないことを報告していたが、今回の結果とあわせて考えると、少なくとも発症直後には膵島炎が存在し、β細胞の破壊とともに膵島炎は速やかに消失すると推察される。

以上より、劇症 1 型糖尿病の膵β細胞傷害機構として、ウイルス感染を契機とし、マクロファージを中心とした免疫担当細胞による炎症反応が関与するものと推察される。

《結 語》

劇症 1 型糖尿病において、膵β・α細胞の著明な減少、マクロファージ優位の膵島炎、TLRs の発現、そして一部の症例ではβ細胞残存膵島でのエンテロウイルス RNA の存在を認めた。これらの結果より、ウイルス感染に伴うマクロファージを中心とした炎症反応が、劇症 1 型糖尿病における膵β細胞の破壊に重要な役割を果たしている可能性があることが示唆された。

審査結果の要旨および担当者

報告番号	甲 第 号	氏 名	柴 崎 早 枝 子
論文審査担当者		主 査 教 授 樋 口 和 秀	
		副 査 教 授 吉 田 龍 太 郎	
		副 査 教 授 芝 山 雄 老	
		副 査 教 授 佐 野 浩 一	
主論文題名			
Expression of Toll-like Receptors in the Pancreas of Recent-onset Fulminant Type 1 Diabetes (発症直後の劇症 1 型糖尿病膵組織における Toll-like Receptors の発現)			
論文審査結果の要旨			
<p>劇症 1 型糖尿病は 2000 年に提唱された糖尿病の新しいサブタイプで、非常に急速ではほぼ完全な膵β細胞の破壊の結果生じる糖尿病であるが、その発症機序は未だ明らかではない。申請者は、劇症 1 型糖尿病剖検膵組織を用いて、免疫組織化学法(酵素抗体間接法、蛍光二重染色法)と <i>in situ</i> hybridization 法により、同疾患における膵β細胞傷害機構を膵島浸潤細胞とウイルス感染の観点から検討している。</p> <p>その結果、次の成績を得ている。劇症 1 型糖尿病において、インスリン・グルカゴン陽性細胞面積は共に著減していた。劇症 1 型糖尿病において、膵島に CD68 陽性細胞の優位な浸潤を認めた。劇症 1 型糖尿病 3 症例のすべてにおいて、Toll-like Receptors (TLR) 3, 7, 9 の発現を認めた。CD3/TLR3 二重陽性細胞、CD68/TLR3 二重陽性細胞を共に観察膵島に高頻度に認めた。対照の膵組織ではいかなる TLR の発現も認められなかった。劇症 1 型糖尿病 3 症例のうち症例 1 において、一部の膵島にエンテロウイルス RNA の発現を認め、うち1つの膵島にはインスリン陽性細胞が残存していた。</p> <p>本研究により、劇症 1 型糖尿病において、膵β・α細胞の著明な減少、マクロファージ優</p>			

位の膵島炎、TLRs の発現、そして一部の症例ではβ細胞残存膵島でのエンテロウイルス RNA の存在が明らかとなった。

本論文は、ウイルス感染に伴うマクロファージを中心とした炎症反応が、劇症 1 型糖尿病における膵β細胞の破壊に重要な役割を果たしている可能性があることを示唆したものであり、その臨床的意義は大きい。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条に定めるところの博士(医学)の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Endocrine journal 57(3): -, 2010 in press