



2010年2月2日

福岡大学

独立行政法人理化学研究所

インスリン投与に代わる重症糖尿病の根本治療法をマウスで確立 — 膵島（すいとう）細胞移植で起こる早期拒絶反応の制御に世界で初めて成功 —

本研究成果のポイント

○早期拒絶反応は核内タンパク質「HMGB1」が原因と判明

○血中のHMGB1量を測定し、拒絶反応診断法と拒絶反応制御法を開発

○効率的な膵島移植により、重症糖尿病の根本治療が可能に

福岡大学（衛藤卓也学長）と独立行政法人理化学研究所（野依良治理事長）は、糖尿病の重篤な患者の根本的な治療法と期待されている膵島（すいとう）細胞^{*1}の肝臓内移植の際に起こる拒絶反応メカニズムに、核内タンパク質として知られている「HMGB1」^{*2}がかかわっていることを突き止めました。さらに、血中のHMGB1量を測定し移植拒絶反応の発症を判定する方法や、HMGB1抗体の投与による重症糖尿病の治療法をマウス実験で確立しました。福岡大学医学部再生・移植医学（安波洋一教授）研究グループと、理研免疫・アレルギー科学総合研究センター（谷口克センター長）免疫制御研究グループの谷口克グループディレクターとの共同研究成果です。

国内約890万人の糖尿病患者のうち、生涯インスリンを注射し続けなければならない重症患者は約10万人です。この煩わしいインスリン注射から解放される方法として注目されているのが、インスリンを産生する膵島細胞を糖尿病患者の肝臓内に移植する膵島細胞移植です。しかし、膵島細胞移植は他人の組織を移植するために、発生する拒絶反応が大きな障害となります。そのため免疫抑制剤を使用しますが、移植後数時間で起こる早期拒絶反応によって、移植した膵島細胞が破壊されてしまい、移植効果が小さく、数回の移植を行う必要がありました。このため、膵島細胞移植を成功させるためには、移植早期拒絶反応を制御することが最も重要な課題となっています。

今回、糖尿病モデルマウスを使い、これまで核内タンパク質として知られていたHMGB1が細胞外に放出されると、移植膵島細胞の早期拒絶反応を引き起こすとともに、膵島細胞がHMGB1を大量に放出する細胞であることを見いだしました。こうした知見を利用して、血中のHMGB1量を測定し、早期移植拒絶反応の発症を判定するシステムの開発やHMGB1抗体投与によって、移植膵島細胞の早期拒絶反応を回避する治療法の確立に成功し、これまでの移植効率の約4倍と飛躍的に改善しました。

この膵島細胞移植早期拒絶反応メカニズムは、ヒトでも存在することから、HMGB1抗体を用いると、膵島細胞移植が効率的に進み、重症糖尿病の根本治療となることが期待できます。肝臓の門脈内注射で治療を行うことができる膵島細胞移植は、体への負担が極めて少なく、頻繁に実施するインスリン注射に代わる根本的な治療法として注目されており、本研究の成果は、糖尿病治療に画期的な進歩をもたらすと期待できます。

本研究成果は、米国の科学雑誌『*The Journal of Clinical Investigation*』（3月号）に掲載されます。

1. 背景

国内の糖尿病患者数は、約 890 万人（2007 年度糖尿病実態調査報告）ともいわれています。このうち、重症糖尿病患者約 10 万人は、生涯にわたってインスリンを注射し続けなければなりません。このような重症糖尿病患者をインスリン注射から解放する究極の治療法は、インスリンを作る膵島細胞を糖尿病患者の肝臓内に移植し、永久に生着させ、糖尿病を完治させるという方法です。

世界では 2000 年から 500 症例以上が報告されており（国際膵島移植登録）、本邦でも 2004 年に初症例、現在までに 18 症例が報告されています（本邦膵島移植研究会）。しかし、治療法自体は有効であるものの、2 つの大きな問題点が未解決のままです。第一は、膵島細胞提供者の数が限られており、膵島細胞の不足が深刻な問題となっているため、効率的な膵島細胞移植が求められていることです。第二は、免疫抑制剤を使用しても、他人の臓器を移植した後、数時間のうちに起こる早期拒絶反応によって移植した膵島細胞が破壊されることです。すなわち、この破壊のため、1 人から採取した膵島細胞すべてを移植しても治療効果は得られず、2～3 回の移植、すなわち 2～3 人から採取した膵島細胞を 1 人に移植しないと治療効果が得られないことが問題でした。

研究グループは、ストレプトゾトシン^{*3}を注射することで選択的に膵島細胞を破壊し、糖尿病を発症する糖尿病モデルマウスを作製して実験を行ってきました。糖尿病モデルマウスは重症糖尿病患者同じように、インスリン注射で血糖値を制御する必要があります。この糖尿病モデルマウスに、膵島細胞を 400 個肝臓に移植すると血糖値は正常になり、生存可能となります。ところが、100 個から 200 個程度の膵島細胞を移植した場合には、糖尿病が改善されず死に至ります。

研究グループは、糖尿病モデルマウスを用いて、膵島細胞移植後の数時間で起こる早期拒絶反応と、臓器移植後の拒絶反応では拒絶のメカニズムが異なること、さらに、膵島細胞移植拒絶反応には、免疫系の中でも NKT 細胞^{*4}と多形核白血球^{*5}が関与することを明らかにしてきました。すなわち、膵島細胞を肝臓へ移植した後の 6 時間をピークに大量に出現する、多形核白血球の産生するインターフェロンガンマ^{*6}が膵島細胞を破壊し、生着を妨げていることを明らかにしました。その拒絶反応は、NKT 細胞が指令を出して多形核白血球からインターフェロンガンマの産生を促すことによって起こります。しかし、NKT 細胞を活性化するメカニズムが明らかでないために、なぜ膵島移植によって NKT 細胞が活性化し移植拒絶反応を起こすのか、なぜ免疫抑制剤では防御できないのか、また、移植拒絶反応を制御する治療法はないのかなど、その対処法はまったく分かっていませんでした。

2. 研究手法と成果

研究グループは、膵島細胞移植後数時間で起こる早期拒絶反応の引き金となる原因物質が、核内タンパク質として知られていた HMGB1 であることの同定と、膵島細胞から細胞外に放出される HMGB1 が NKT 細胞を活性化し、膵島細胞移植を拒絶する分子メカニズムの解明を試みました。

HMGB1 はどの細胞にも存在し、通常の状態では核内に存在するタンパク質で、クロマチン構造^{*7}や遺伝子転写の制御を行っています。今回、細胞内に存在する HMGB1 を定量することによって、膵島細胞にはほかの細胞の数十倍も多くの

HMGB1 が存在し、HMGB1 が細胞外に放出されることを明らかにしました。

次に HMGB1 が細胞外に放出されると、自然免疫系の樹状細胞やマクロファージといった免疫担当細胞を介して、NKT 細胞を活性化し、その結果、多形核白血球からのインターフェロンガンマ産生を誘導して、移植拒絶反応を起こすと考えました。

そこで HMGB1 の受容体として知られる Toll 様受容体 2^{*8} や RAGE^{*9} がどのような細胞集団に発現しているかを定量 PCR 法によって明らかにしました。その結果、これら受容体は樹状細胞と多形核白血球に高発現していることが分かりました。また、これら 2 つの細胞集団のうち、HMGB1 は樹状細胞に作用し、樹状細胞から NKT 細胞活性化に働くサイトカインであるインターロイキン 12^{*10} を産生し、NKT 細胞の活性化、ひいては多形核白血球からのインターフェロンガンマの産生を誘導し、膵島細胞拒絶反応を起こすことが判明しました。

Toll 様受容体 2 や RAGE が欠損しているマウスでは、100 個の膵島細胞を移植するだけで血糖値は完全に正常化し、移植に伴って出現する多形核白血球からのインターフェロンガンマの産生が起こらず、移植拒絶反応も起こりませんでした。

このように、膵島細胞は大量の HMGB1 を持ち、さらに肝臓の動脈へ移植する際に虚血現象^{*11} が起こり、それが引き金となって HMGB1 が放出され、早期拒絶反応が起こることが分かりました (図 1)。

研究グループは、HMGB1 の血中量を、抗体を用いた判定キットで測定できるシステムを開発しました。測定すると拒絶反応前、移植後 3 時間ですでに血中 HMGB1 濃度は高くなり、6 時間で最高値に達することが分かり、移植拒絶反応の原因物質の血中推移を測定できました。これまで、移植早期拒絶反応の開始を判定できる的確なバイオマーカーが無かったことから、血中 HMGB1 の測定が膵島移植拒絶反応の指標となります。

治療法を確立するため、HMGB1 によって引き起こされるカスケード反応^{*12} にかかわる分子に対する抗体を用いて、膵島細胞移植の早期拒絶反応を抑制できるか否かを検討しました。その結果、膵島移植前に抗 HMGB1 抗体や抗インターロイキン 12 抗体、樹状細胞活性化に必要な抗 CD40 リガンド抗体を投与することにより、膵島移植の効率は飛躍的に改善し、これまでの 4 分の 1 以下の細胞数の移植で糖尿病マウスを治療することができ、極めて治療効果の高い抗体療法になることが判明しました。これらの抗原のうち、HMGB1 は、膵島移植拒絶反応を引き起こす物質で、しかも正常では血中に存在しないことから、抗 HMGB1 抗体は副作用のない極めて有効な治療薬となると考えられます。

3. 今後の期待

HMGB1 は、ヒトにも存在し、免疫系を活性化する重要な分子です。今回膵島移植における HMGB1 の役割と反応を制御する細胞群 (樹状細胞、NKT 細胞、多形核白血球) を明らかにしたことから、ヒトの膵島細胞移植に伴う早期拒絶反応を制御できる可能性が高まっています。膵島細胞移植と同じ目的で、膵臓そのものを移植する臓器移植が行われていますが、侵襲が極めて少ない膵島細胞移植は臓器移植に代わる治療法として注目されており、本研究の成果は、糖尿病治療に画期的な進歩をもたらすことが期待できます。

<報道担当・問い合わせ先>

(問い合わせ先)

福岡大学

医学部再生・移植医学

教授

安波 洋一 (やすなみ よういち)

TEL : 092-801-1011 FAX : 092-801-1019

独立行政法人理化学研究所

免疫・アレルギー科学総合研究センター センター長

免疫制御研究グループ グループディレクター

谷口 克 (たにぐち まさる)

TEL : 045-503-7001 FAX : 045-503-7003

横浜研究推進部 企画課

TEL : 045-503-9117 FAX : 045-503-9113

(報道担当)

福岡大学 企画部広報課長 篠崎 博

TEL : 092-871-6631 FAX : 092-864-9415

独立行政法人理化学研究所 広報室 報道担当

TEL : 048-467-9272 FAX : 048-462-4715

<補足説明>

※1 膵島細胞

膵臓の中に存在し、インスリンを産生する細胞。血糖値の上昇に反応して血液中へインスリンを放出(分泌)する。

※2 HMGB1

high mobility group box1 の略称で、通常は細胞の核内に存在し、クロマチン構造や遺伝子転写の制御を行う。細胞が破壊され、HMGB1 が細胞外に放出されると、自然免疫系の樹状細胞やマクロファージといった免疫担当細胞が受容体を介して感知し、危険な状態であることを察知する。

※3 ストレプトゾトシン

膵島細胞を選択的に破壊する物質。マウスに1回投与すると膵島細胞の大部分が破壊され、1型糖尿病を引き起こす。

※4 NKT細胞

1986年に谷口克グループディレクターらが発見した、T細胞、B細胞、NK細胞に続く第4のリンパ球。免疫の制御や、がんの免疫学的監視などのさまざまな役割を担う。

※5 多形核白血球

白血球のうち、細胞核が球状ではなくさまざまな形のもの。細胞内に顆粒を持ち、色素による染まり方により、好中球、好酸球、好塩基球に分類される。

※6 インターフェロンガンマ

生体で分泌されるサイトカインの1つで、抗ウイルス作用のほか、抗腫瘍作用、免疫調節作用などの働きが知られている。インターフェロンには α （アルファ）、 β （ベータ）、 γ （ガンマ）、 ω （オメガ）の4型があり、インターフェロンガンマは、アレルギーに関連する抗体の産出を抑制する作用を持つ。

※7 クロマチン構造

真核生物のゲノムDNAは、ヒストンやそれ以外のタンパク質と結合し、高度に凝縮した状態で存在する。このような構造をクロマチン構造と呼ぶ。

※8 Toll様受容体2

Toll様受容体は種々の病原体を感知して自然免疫を作動させる機能がある受容体タンパク質の一群。このうちToll様受容体2は外来のグラム陽性細菌のペプチドグリカンやリポテイコ酸、真菌の多糖を認識するとともに、細胞外に放出された核内タンパク質HMGB1も認識し、免疫反応を発動する。

※9 RAGE

Receptor for Advanced Glycation End Productsの略称で、Toll様受容体2とともに細胞外に放出された核内タンパク質HMGB1の受容体として機能する。

※10 インターロイキン12

インターロイキンとは白血球から分泌されるタンパク質で、細胞間コミュニケーションの機能を果たす。このうち、インターロイキン12は、主に活性化した樹状細胞から産生され、NKT細胞やT細胞からのインターフェロンガンマの産生を促す。

※11 虚血現象

動脈血量の減少による局所の貧血。虚血が持続すると細胞の変性、組織の委縮や線維化が生じる。虚血では血流が完全に遮断されて解糖の基質の供給が妨げられるため、虚血に陥っている臓器では解糖の基質が枯渇し細胞内代謝物の蓄積が生じる。

※12 カスケード反応

1つの反応をきっかけ・引き金として生じる、派生して連続的な複数の連鎖反応のこと。カスケードの原義は連なった小さな滝のこと。

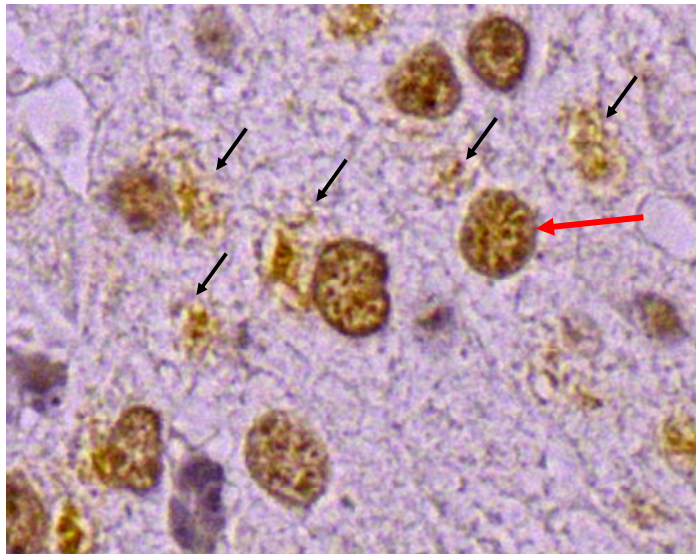


図 1 移植直後の膵島細胞の HMGB1 の局在

生着した膵島（赤矢印）では茶色に染色された HMGB1 が主として細胞核に存在し、早期移植拒絶を受けた膵島細胞（矢印）はすでに細胞外に放出されている。