

氏 名（本籍） 新 谷 茂 樹

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 2 1 1 4 号

学 位 授 与 年 月 日 平 成 元 年 2 月 22 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 55 年 3 月
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目 Inhibition of Type I Diabetes in NOD Mice
by a Streptococcal Preparation(OK-432) : the
Mechanism of Action of OK-432
(溶連菌製剤 (OK-432) によるNODマウス I 型
糖尿病発症抑制 : 作用機序の解明)

(主 査)
論 文 審 査 委 員 教授 豊 田 隆 謙 教授 京 極 方 久
教授 佐 藤 徳 太 郎

論文内容要旨

【目 的】

NODマウスはI型糖尿病のモデル動物であり、その成因には自己免疫が関与している。このためさまざまな免疫抑制療法が施行され有用性が報告されている。我々は、これらとは異なり免疫賦活剤として臨床で用いられている溶連菌製剤（OK-432、以下OK）がNODマウスの膵島炎を軽減し糖尿病発症を完全に抑えることを見出した。この作用機序解明によるI型糖尿病の病態の解析とその治療への応用を目的とする。

【方法および結果】

①OKによる糖尿病発症抑制：以下の実験には糖尿病発症率の高い雌NODマウスを用いた。30週齢までに未処置雌NODマウスは74.7%が糖尿病を発症したが、0.1mgのOKを4週齢（膵島炎の出現時期）から15週齢（糖尿病発症開始時期）まで週1回腹腔内投与すると45週齢まで糖尿病は全く発症しなかった。4-15週齢間を2分し、4-9週齢間と10-15週齢間に限ってOKを投与すると30週齢までにそれぞれ20.0%および63.6%が発症した。OKは膵島B細胞障害性細胞（以下障害性細胞）が充分誘導されていない若い時期に投与した方がより効果的であった。これよりOKは障害性細胞の誘導を抑制することが示唆される。以下の実験では4週齢より12-17週齢まで週1回0.1mgのOKを投与したマウスをOK投与でマウスと称する。

②シクロフォスファミド（CY）処置：CYは抑制性細胞を除去することにより障害性細胞が充令誘導されている成熟NODマウスの糖尿病発症を促進する。体重kgあたり150mgのCYを1あるいは2回成熟マウスに腹腔内投与すると、5週後までに63.5%が糖尿病を発症したが、OK投与マウスにCYを投与しても全く糖尿病を発症しなかった。このことからOKによる糖尿病発症抑制にCY感受性抑制細胞の関与は少ないと考えられた。OK投与により障害性細胞の作用を抑えるCY抵抗性細胞が誘導されているかどうかを検討するため、OK投与マウスにCY処置し、その2日後の脾細胞をCY投与2日後のマウスに静脈内移入した。5週後までの糖尿病発症率は、細胞移入をうけないCY処置マウスでは26.1%、CY処置をうけたあるいはうけないOK投与マウスの脾細胞移入群ではそれぞれ23.8%、27.8%であり、これらの発症率に有意差は認められなかった。このことはOK投与マウスの脾細胞中にはCY誘発糖尿病の発症を抑制するCY感受性および抵抗性細胞は誘導されていないことを示す。つまりOKは障害性細胞の作用を抑える細胞を誘導するのではなく、障害性細胞そのものの誘導を抑えると考えられた。

③OK投与マウス脾細胞のX線照射マウスへの移入：OKによる障害性細胞の誘導抑制を確認

するため、850RのX線照射をうけたマウスにOK投与マウスの脾細胞を静脈内移入した。移入10週後までの発症率は未処置マウスの脾細胞移入群では88.9%であったが、OK投与マウス脾細胞移入群では全く発症しなかった。よってOKは障害性細胞の誘導を抑えることにより糖尿病発症を抑制していると考えられた。

④OK投与マウス脾細胞の若年未処置マウスへの移入：30週齢までに未処置群では88.9%が発症したが、5・7および11週齢時にOK投与マウスの脾細胞移入をうけた群では50.0%に発症が一部抑制された。これはOKによる障害性細胞誘導抑制の少なくとも一部は脾細胞を介していること示している。

⑤OK投与マウスの免疫能：液性免疫として羊赤血球に対する脾細胞の抗体産生能を、細胞性免疫としてEL-4細胞免疫により誘導された脾細胞のEL-4細胞に対する細胞障害性を検討したが、OK投与マウスで未処置マウスに比し免疫能の低下は認められなかった。免疫蛍光法で染色した末梢血のフローサイトメーターによる分析では、未処置群とOK投与群でTリンパ球サブセットに有意の差は認められなかった。

【結論および考察】

OKは膵島B細胞障害性細胞の誘導を抑えることによりNODマウスの糖尿病発症を予防した。この障害性細胞誘導の抑制は少なくとも一部は脾細胞を介しているが、その他の因子が関与している可能性がある。事実、OKで誘導されるTNFはNODマウスの糖尿病を抑制する。OKは自己抗原（膵島B細胞）に対する免疫応答（自己免疫）を抑えるが、外来抗原に対する免疫能を抑制しなかったことは興味深い。自己免疫疾患治療の多くは非特異的免疫抑制療法であるため重篤な副作用を伴う。OKのような免疫調節剤がI型糖尿病を含む自己免疫疾患治療に有効であればこれまでの免疫抑制療法にとってかわるものと期待される。

審査結果の要旨

著者が実験に使用したNODマウスはBBラットと並ぶインスリン依存型糖尿病（IDDM）のモデル動物である。クラスII組織適合抗原に連鎖した遺伝的素因、細胞性自己免疫反応による脾B細胞の選択的破壊などヒトIDDMに類似する多くの特徴を有し、各種免疫抑制療法が糖尿病発症を抑制する。

著者らは、免疫抑制剤とは作用機序の異なるbiological response modifier（BRM）の一種の連鎖球菌製剤OK-432がNODマウスやBBラットの脾島炎や糖尿病発症を抑制するという発見をして報告してきた。本論文はOK-432の作用機序をNODマウスを用いて解析したものである。

最初に、実験に使用したOK-432の至適量や投与経過を決定してから、OK-432の有効な投与時期を検討した。脾B細胞傷害性の作用細胞が出現するが、未だ糖尿病を発症していない4～15週齢にOK-432の投与期間を限定しても、その後のNODマウスの糖尿病発症は完全に抑制され、この効果は45週齢までの観察期間中続いた（対照の発症率は74.7%）。また、より若い時期にOK-432を投与するほど発症抑制効果は強かった。

OK-432による糖尿病発症抑制効果が免疫相当細胞を介したものであることを示すため、次に、脾細胞の移入実験を行った。その結果、未処置NODマウスの脾細胞の移入によって他の個体に糖尿病を作ることができるが、OK-432投与マウス脾細胞にはこの能力が著しく弱いことがわかった。すなわち、OK-432投与マウスには、①脾B細胞傷害性作用細胞が誘導されていない、または、②作用細胞の働きを抑制する細胞が誘導されている、という2つの可能性が示された。

前者（①）が正しいことがシクロホスファミド（CY）を用いた実験で示された。CYは抑制性Tリンパ球を主に傷害してNODマウスの糖尿病発症を促進することが知られているが、OK-432投与マウスはCYを投与しても糖尿病を発症しなかった。また、OK-432投与マウス中にCY抵抗性の抑制細胞が存在している可能性は、OK-432投与後CYを投与したマウス脾細胞にはCY誘発性糖尿病を抑制する能力がないことから否定された。

これらから、OK-432投与は脾B細胞傷害性作用細胞の働きを抑制するのではなく、作用細胞の誘導を抑制することが明らかになった。さらに、この抑制の一部には抑制細胞が関与していることも示唆された。興味深いことに、OK-432投与は外来性抗原であるSRBCや同種腫瘍細胞に対する免疫応答を抑制しなかった。

以上の結果は、OK-432のようなBRMのヒトIDDMの予防や治療薬としての可能性に論拠を与え、また、自然界に存在するBRMが末梢性免疫寛容機構を介してIDDMの発症抑制因子として働いている可能性を示唆している。本論文は学位に値する重要な新知見を示した研究である。