

ウイルス感染・1型糖尿病発症制御機構の解明と、これからの展開

永淵, 正法
佐賀大学医学部 : 客員研究員 | 九州大学 : 名誉教授

<https://doi.org/10.15017/1686469>

出版情報 : 福岡医学雑誌. 107 (6), pp.105-114, 2016-06-25. 福岡医学会
バージョン :
権利関係 :

総 説

ウイルス感染・1型糖尿病発症制御機構の解明と、これからの展開

佐賀大学医学部客員研究員
九州大学名誉教授

永 淵 正 法

はじめに

ヒトは、骨格、筋肉、循環器、神経、血液、内分泌代謝、消化吸收、呼吸、泌尿生殖、など、内的恒常性をきちんと維持するのみでなく、病原体などの外的攻撃に巧みに対抗し、身を守っている。第一線の防御では、眼で見て、耳で聞き、皮膚粘膜で内的環境を守っているわけであるが、同時に、幅広く、かつ特異的に病原体の侵入に対応するため、精緻な免疫システムを備えている。一方、そのことは、自分自身を外的と誤認し、攻撃してしまう、すなわち自己免疫が生じるリスクジレンマを抱えている。健常であることは、このようなシステム全体がダイナミックでありながら、安定していることを意味し、素晴らしい状態であると驚嘆せざるを得ない。ここでは、ウイルス感染防御免疫、1型糖尿病の発症機構の解明に取り組んできた、これまでの研究成果を紹介し、これからの展望にも触れてみたい。

1. 単純ヘルペスウイルス (HSV) 感染と免疫防御

HSV の感染防御に胸腺由来 T 細胞が重要であることは、森らの新生児胸腺摘出マウスを用いた先駆的研究によって明らかにされていた¹⁾。その後、先天的に胸腺を欠損しているヌードマウスを用いて、抗体は、感染の拡大阻止に有効であること、また、その効果は完全型の抗体でなければその効果を発揮できないことを示した²⁾。この報告は、現在、臨床応用されているガンマグロブリン製剤がほとんど完全型であることに繋がっている。また、HSV 感染に対する防御・回復には、細胞傷害性 T 細胞ではなく、ヘルパー T 細胞が有効であることを証明した³⁾⁴⁾。一方、同時期に、垣生らは HSV 感染には、ナチュラルキラー (NK) 細胞が重要である知見を報告していた⁵⁾。その後、HSV は感染細胞におけるクラス I MHC の発現をダウンレギュレートすることが明らかとなり⁶⁾、HSV 感染細胞は、細胞傷害性 T 細胞からの攻撃を免れる反面、NK 細胞の攻撃を受け易くなると説明できる。なお、HSV の感染様式は多彩であり、免疫不全患者における汎発性感染⁷⁾、抗体保有率の低下による子供から親への逆行性感染⁸⁾、自己免疫調節 (AIRE) 遺伝子変異を有する患者における重症初感染に引き続く再発性感染などについて報告した⁹⁾。

2. HBs 抗原に対する遅延型過敏症皮膚反応の臨床的意義と HB ワクチン皮内接種の有用性

HSV 感染防御にはヘルパー T 細胞が重要である知見を基盤として、類似した持続感染系である B 型肝炎におけるヘルパー T 細胞反応 (現在では Th1 反応) を評価・検討する目的で HBs 抗原に対する遅延型過敏症皮膚反応 (HBs-DTH) の意義を検討した。まず、凍結乾燥 HB ワクチンを用いて、HB 抗体陽性者に皮内接種し、遅延型過敏症陽性レベルは、径 3 mm 以上とすることが妥当であることを明らかにした¹⁰⁾¹¹⁾。また、アラムアジュバントの影響は軽微であった¹¹⁾。HB 抗体陰性者、慢性 B 型肝炎患者やキャ

Seiho NAGAFUCHI

Laboratory of Clinical Immunology, Department of Health Sciences, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, 3-1-1, Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka, 812-8582, Japan

Tel : +81-90-9585-5887 Fax : +81-92-771-3245 E-mail : nagafu-s@med.kyushu-u.ac.jp

Regulation of Viral Infection and Type 1 Diabetes ; Future Perspective

リアでは、この反応は欠如していた¹¹⁾。急性 B 型肝炎患者では比較的速やかに HBs-DTH が誘導されるのに、anti-HBs の出現は、健常人における HB ワクチン皮内接種時の出現時期より、はるかに遅延することを示した¹²⁾。このことは、その機序は不明ながら、急性 B 型肝炎患者では、anti-HBs 産生に対する抑制がかかっていることを示唆している。HB ワクチン皮内接種はこのように能動免疫獲得の指標として有用であるのみでなく^{10)~12)}、通常の HB ワクチン接種プロトコールで陰性の HB ワクチン不応答者の抗体獲得¹³⁾¹⁴⁾ やハイリスク HBe 抗原陽性血に暴露した、いわゆる針刺しなどの事故を受けた医療従事者に対し、HB グロブリン製剤投与と併用することにより、完全に防御できること、また、HBs-DTH の出現が能動免疫獲得の指標となり、当該医療従事者の精神的安堵をもたらすことも示した¹⁴⁾。なお、HB ワクチン不応答者に対する追加接種時に好酸球増多症をきたし、IgG4 サブクラスの anti-HBs を産生した症例を経験したので、留意すべき点であると考えられる¹⁵⁾。HB ワクチン皮内接種は HBs-DTH の誘導により TH1 応答獲得の有効な指標であり、臨床的意義があること、さらに少量のワクチンで有効に抗体を獲得できることからワクチン費用の削減にも貢献しうると考えられる¹⁶⁾。最近、簡便かつ安定してワクチン皮内接種が可能となる機材が開発されたことは朗報であろう。

3. 慢性 EB ウイルス感染症

Epstein-Barr ウイルスは、ヘルペスウイルス群の一般的な特徴を有し、不顕性初感染、あるいは伝染性単核症をきたし、その後、潜伏持続感染、宿主の免疫不全に伴って再活性化する。EB ウイルスは感染細胞に発現する latent membrane protein が、リガンドなしでも自然に重合することにより腫瘍壊死因子受容体活性化を模倣し、細胞増殖シグナルを伝達する機能があるため¹⁷⁾、日和見リンパ腫や、発ガン物質の影響が加わって生じる染色体転座によるバーキットリンパ腫の原因ともなりえる¹⁸⁾。このように、EB ウイルス感染は、通常、不顕性状態を維持しているものの、多彩な臨床像を呈しうる感染症である。

慢性 EB ウイルス感染症は稀であるが、宿主の免疫不全、多臓器不全、発ガンなど予後不良の疾患である。本症例においては、NK 活性が低下しているが EB ウイルス感染細胞に対する特異的細胞傷害活性は、少なくとも健常対照より上昇しており、宿主は懸命に EB ウイルス感染細胞排除に働いていることが推測される¹⁹⁾。また、肺臓炎を合併した症例にガンマイインターフェロンが有効であったことは²⁰⁾ 免疫活性化治療の有効性を示唆するものであると考えられた。一方、EB ウイルス陽性の悪性組織球症²¹⁾ や形質細胞腫の合併例²²⁾ を経験し、その悪性化メカニズムの多様性についても考慮すべきであると考えられた。

4. 自己免疫性 1 型糖尿病：B リンパ球による免疫応答調節

1 型糖尿病は主として、自己免疫機序により膵島細胞が破壊されインスリン分泌の枯渇がもたらされる疾患である。実験的には膵島障害物質であるストレプトゾシン (STZ) 少量頻回投与マウスや非肥満自然発症糖尿病 (non-obese diabetic: NOD) マウスが用いられている。このモデルでは、自己免疫性膵島炎が進行することにより膵島細胞が破壊される T 細胞依存性の病態である²³⁾。従って、免疫応答調節剤を投与することにより自己免疫糖尿病を抑制することができる²⁴⁾²⁵⁾。病理組織検討により、膵島炎は、CD4 陽性 T 細胞のみでなく、著明な B リンパ球の浸潤があることが明らかとなった²⁶⁾。また、この B リンパ球は主として IgG2a を表出し、自己抗体を産生していることも明らかとなった²⁷⁾²⁸⁾。驚くべきことに B リンパ球欠損 NOD マウスでは、軽度の膵島炎は認められるものの、糖尿病の発症は完全に阻止された²⁹⁾。すなわち、B リンパ球が T リンパ球依存性の膵島炎を促進させている。つまり、B リンパ球依存性の免疫応答調節機構が存在することが明らかとなった。このことは、臨床的に B リンパ球を除けば、多くの自己免疫疾患において、自己抗体の産生抑制のみならず、T 細胞による自己免疫応答も低下させ得ることが示唆された。この B リンパ球依存性の T 細胞性免疫応答調節は、サイトカイン応答よりは、T 細胞受容体のレパートリーの広がりを促進させるとする知見も得られた³⁰⁾。現在では、B 細胞リンパ腫の治療として開発された Rituximab が多くの自己免疫疾患の治療に適用されている³¹⁾。なお、この B リンパ球依存性の T 細胞応答調節は、全身に広がるような感染症、すなわち、敗血症をきたすような病態において、流血中

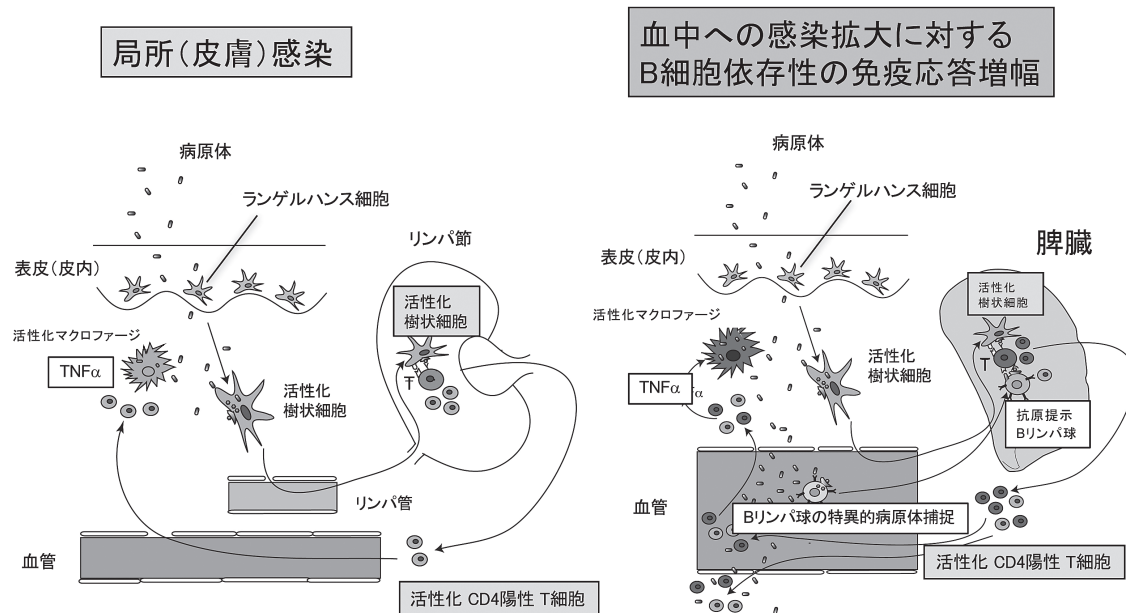


図1 Bリンパ球による感染防御のための免疫調節機構とその意義

に存在するBリンパ球が病原体を捕捉し、病原体抗原をT細胞に提示することにより、その応答を増幅することで広範かつ重篤な感染防御に働いていることが示唆される(図1)³²⁾。なお、NODマウスは、自己免疫糖尿病のみでなく広く自己免疫病の代表的モデル動物であり、多くの遺伝子が複合的にその発症に関与していることが明らかである。そこで、緻密な遺伝要因解析に寄与するため、NODマウス由来ES細胞株樹立に取り組み、幸い成功することができた³³⁾。現在もこの株のみが唯一研究応用可能であることもあり³⁴⁾、広く研究者の要望に応えるため、理化学研究所細胞銀行(RIKEN Cell Bank)に寄託している。

5. 自己免疫調節遺伝子

自己免疫調節(Autoimmune Regulator: AIRE)遺伝子は、自己免疫性多腺性内分泌不全症カンジダ症外胚葉性ジストロフィー(APECED)の責任遺伝子である。AIREは胸腺および末梢リンパ組織に発現し、胸腺における自己反応性T細胞の除去に働くとともに、末梢の感染防御にも寄与していると考えられる。日本人には稀であるが、姉弟の症例で、同じ、AIREの遺伝子変異を有するものの、弟は典型的にアジソン病、副甲状腺機能低下症、カンジダ症を、一方、姉は、1型糖尿病、自己免疫性肝炎、特発性ミオパシー、関節リウマチ、再発性ヘルペスなど、弟とは異なった臨床像を呈し、その原因の一つとして姉のHLAタイプが1型糖尿病感受性であるのに対し、弟は、抵抗性ハプロタイプであったため、臨床像はHLAタイプに影響されていることが示唆された³⁵⁾。AIREの発現制御には、腫瘍壊死因子(TNF)経路³⁶⁾、p38 mitogen activated protein kinase (MAPK)経路³⁷⁾、microRNA³⁸⁾、胸腺の存在³⁹⁾など、多くの要因があり、その臨床像に影響していることが推測され、かつ、発現制御異常による類似病態出現の可能性も考えられる。

6. ウイルス糖尿病

2015年12月国際糖尿病連合(IDF)は、世界の糖尿病患者数が4億1,500万人にまで達し、適切な対策がなければ、2040年に6億4200万人と推計されること、さらに1型糖尿病患者は年間8万5,000人発症、毎年3%ずつ発症率が上昇していると報告した。この糖尿病患者の世界的なレベルの爆発的な増加は、一般には、社会経済状況の改善に伴う摂取カロリーの増加、運動不足、肥満、加齢が原因と理解されているが、そのような要因のみでは、この膨大な糖尿病患者の増加を説明できない。特に、1型糖尿病患者の着実

な増加は、社会生活の変遷、あるいは患者の感受性遺伝子などを原因とみなすことはできない。このような疫学的事実や、これまでの蓄積された知見から、ウイルス感染が糖尿病発症増加の一因であることが強く示唆されている。ここでは、現在、取り組んでいるウイルス糖尿病の研究成果とこれからの展開について、少し、詳しく紹介したい⁴⁰⁾。

ウイルス糖尿病の病態を解明するために糖尿病誘発性の高い脳心筋炎ウイルス D 株 (EMC-D) が用いられ、多くの基礎的知見が蓄積されてきた。EMC-D ウイルスは、ヒトのポリオウイルスやエンテロウイルスと同じピコルナウイルス科に属し特定の近交系マウスにのみ糖尿病を誘発する。その感受性遺伝子部位は単一であることは報告されていたが⁴¹⁾、その責任遺伝子は長きにわたって不明のままであった。一方、その感染防御には自然免疫が重要であることは明らかであった⁴²⁾⁴³⁾。自然免疫を担うメカニズムは、主として、マクロファージなどによる病原体の貪食処理、NK 細胞による感染細胞の除去、インターフェロン (IFN) などによるウイルス増殖抑制が挙げられる。近年の免疫学の進歩により、非特異的な補体や貪食に関するレセプターなど特異性の乏しい初期免疫応答から、特異性の高い獲得免疫への橋渡しに関わる生体防御メカニズムとして、病原体をパターンで認識 (pattern recognition receptor: PRR) し、I 型 IFN を誘導する自然免疫システムが存在することが明らかとなってきた。遊離した IFN は、IFN レセプターに結合し、その刺激により Jak-Stat 経路を介して抗ウイルス因子が産生されることによって抗ウイルス活性が発揮される⁴⁴⁾。

EMC-D ウイルス誘発糖尿病では、自然免疫が重要であることが明らかになったので、自然免疫のなかでも、ウイルス認識から IFN 産生に関する分子、あるいは IFN 受容体からのシグナル経路、抗ウイルス作用の発揮に関する分子など、多くの分子群がウイルス糖尿病に関する感受性遺伝子の候補である。IFN 受容体関連シグナル伝達分子の一つである Tyrosine kinase 2 (Tyk2) 遺伝子ノックアウト (KO) マウスが IFN 依存性のウイルス感染防御能が低下していることから⁴⁵⁾、ウイルス糖尿病抵抗性 C57BL/6 背景の Tyk2KO マウスで検討することとした。その結果、Tyk2KO マウスは EMC-D ウイルス誘発糖尿病を発症した。糖尿病非誘発性の EMC-B ウイルスは、やはり糖尿病を発症させなかった。EMC-D ウイルスの感染を受けた Tyk2KO マウスでは、経過とともに膵インスリン含量のレベルが低下し、膵臓におけるウイルス増殖は盛んであった。また、病理組織検索により膵島組織への炎症細胞浸潤レベルも上昇していたことから、ウイルスの増殖が膵島細胞破壊に直接関与しているとともに、炎症による細胞傷害促進も加味されていると考えられた。さらに、膵島 β 細胞特異的に Tyk2 を発現する mouse insulin promoter I (MIP)-Tyk2 トランスジェニック (tg) マウスを作製し、検討したところ、Tyk2KO マウスにおいてでも、膵島特異的に Tyk2 遺伝子が発現していれば (MIP-Tyk2 Tg Tyk2KO マウス)、糖尿病の発症は阻止され、膵島 β 細胞における Tyk2 遺伝子発現が、このウイルス誘発糖尿病の感受性を担っていることが明らかとなった。なお、病理学的所見もこの知見を支持する結果であり、Tyk2KO マウスでは、膵島細胞の破壊とインスリンの低下が顕著であった。興味深いことに Tyk2KO マウスでは、IFN の産生は血清、膵臓いずれにおいても、むしろ亢進しており、IFN の単独投与では血糖は上昇せず、EMC-D ウイルス感染マウスに IFN を追加投与しても、糖尿病発症は阻止できなかった。このことは、先行研究で示された Tyk2KO マウス由来の線維芽細胞では、ウイルス感染に対する感受性が亢進するものの、大量の IFN 投与により回復するとの結果⁴⁵⁾に反していたが、当初、その機序は不明であった。なお、そのメカニズムの詳細は後述する。

次に、EMC-D 誘発糖尿病の系統差に Tyk2 遺伝子の自然変異が関与している可能性を考え、まず、Tyk2 遺伝子の変異をスクリーニングした。その結果、感受性系統 SJL および SWR マウスには、Tyk2 遺伝子の変異が認められた。一方、やはり高感受性の DBA/2 マウスには、この変異は認められず、中等度感受性 BALB/cJ, A/J, 抵抗性 C57BL/6J, C3H/HeJ にも、遺伝子変異は認められなかった。この変異の意義を検証するために、この変異をマーカーに抵抗性系統の C57BL/6J に 8 代以上のバッククロスを行った (コンジェニックレベル 97.6%)。この変異を有する抵抗性系統背景 C57BL/6J コンジェニックマウスは、ウイルス糖尿病を発症した。逆に、野生型 Tyk2 遺伝子を有する SJL コンジェニックマウスは糖尿病を発症しなかった。病理組織検索においても、糖尿病発症と膵島細胞破壊、インスリン染色低下との相関は明

らかであった。以上の結果から、SJL マウスで認められた Tyk2 遺伝子の自然変異がウイルス糖尿病感受性亢進の原因であることを証明できた。

次に、Tyk2 遺伝子自然変異の意義を検討する目的で、まず、その発現レベルを検討したところ、驚くべきことに Tyk2 変異マウスでは、その遺伝子発現および Tyk2 蛋白の産生は、いずれも、ほとんど Tyk2KO マウスと同じレベルにまで、著しく低下していることが判明した。変異 Tyk2 遺伝子のプロモーター活性も明らかに低下していた。以上のことから、Tyk2 遺伝子自然変異は、そのプロモーター領域の変異が原因でプロモーター活性が低下することにより、Tyk2 遺伝子発現がほとんど消失することに繋がったと考えられた。最後に細胞レベルにおける IFN 受容体以下のシグナル伝達抗ウイルス関連遺伝子の発現、ウイルスによる細胞傷害からの IFN による防御について、線維芽細胞、脾細胞、膵島β細胞で検討を行った。その結果、遺伝子型に対応して、Tyk2KO および Tyk2 変異マウスでは、Tyk2 遺伝子の発現がほとんど消失していた。ただし、Tyk2 とともに IFN 受容体に会合している Jak1 遺伝子の発現はよく保たれていた。抗ウイルス関連遺伝子：interferon stimulated genes (ISGs) (PKR, 2-5AS, Mx1) の遺伝子発現は、Tyk2 遺伝子欠損あるいは変異に伴って低下していたが、低いながらも残存していた。このことは IFN 刺激による ISG 遺伝子の発現は Tyk2 遺伝子発現の消失によっても、Jak1 を介する刺激の伝達により、低いながらも、ある程度は保たれていると解釈された。一方、線維芽細胞と、膵島β細胞において IFN 依存性ウイルス抵抗性について検討したところ、線維芽細胞においては、高濃度の IFN 刺激によりウイルス感染による細胞傷害が改善するのに対し、膵島β細胞では、高濃度の IFN 刺激によってもウイルス感染による細胞傷害が回復せず、膵島β細胞特異的に IFN 依存性の抗ウイルス活性が低下していることが明らかとなった。Tyk2 変異マウスは、Tyk2 KO マウスと同様に、膵島細胞特異的 Tyk2 遺伝子発現により EMC-D ウイルス誘発糖尿病に対する抵抗性を回復した。

以上のことから、SJL マウスの EMC-D ウイルス誘発糖尿病の感受性亢進は、Tyk2 遺伝子の発現低下による膵島β細胞特異的な IFN 依存性抗ウイルス活性の低下によることが明らかとなった⁴⁶⁾。

なお、本研究によって、ウイルス糖尿病の自然感受性が SJL マウスにおける Tyk2 の発現レベルをほとんど欠損レベルにまで低下させる自然変異によることが証明されたが、そのことは、自己免疫、アレルギー、感染症領域で、優れた動物モデル系統として汎用されている SJL マウスは、実は、Tyk2 欠損マウスを用いた知見に相似することが示唆された。最近、妊婦に感染すると胎児の小頭症が問題となっている Zika ウイルス感染モデルとして SJL マウスが有用であることが報告されたので、この論文にコメントを寄せている (Nagafuchi S. Zika virus infection and microcephaly in SJL mice : Tyk2 gene deficiency. Web comments on Nature 534 : 267-271, 2016)。

この知見をヒトに展開するために、特にインフルエンザ様症状とともに発症した1型糖尿病患者を念頭に、ヒト糖尿病患者の TYK2 遺伝子多型の検索を行った。まず、インフルエンザ様症状先行1型糖尿病患者22例で、プロモーター領域、および、exon の遺伝子多型をスクリーニングした。その結果、7つの多型；プロモーター領域の-930G > A, -929T > A および exon 1 の非翻訳領域に 104A > C; 1A > G, 62G > A と 63G > A, さらに exon 8 にバリンからフェニールアラニンへのアミノ酸置換を伴う 5597G/T (V326F) を同定した。ヒトの TYK2 遺伝子のプロモーター領域および exon 1 の多型は、完全連鎖不平衡状態のため TYK2 promoter variant と称することとした。アミノ酸置換を伴う Exon 8 の多型の頻度については、健常人、1型糖尿病患者、2型糖尿病患者間に統計的有意差は認められなかった。次に、ヒト糖尿病患者の TYK2 promoter variant の保有率を、健常人331名、1型糖尿病患者302名、2型糖尿病患者314名を対象に比較検討した。TYK2 promoter variant は、年齢、性別をマッチした健常対照の保有率は4.2%であった。ウイルス感染後の1型糖尿病患者で、オッズ比3.6; P = 0.005と、もっともリスクが高く(オッズ比を相対リスク相当と考える)、自己抗体(抗GAD抗体)陰性者でも高いリスク(オッズ比3.3)を示した。驚くべきことに、2型糖尿病でも統計的に有意のリスク(オッズ比2.1)を示し、しかも、非肥満(BMI ≤ 26)2型糖尿病患者で、より高いリスク(オッズ比2.4)であった。以上のことから、TYK2 promoter variant は、ウイルス感染先行1型糖尿病患者との強い関連が認められるのみでなく、広く、1型、

2型糖尿病も含めた糖尿病全体の発症リスクであると考えられた。なお、この TYK2 promoter variant は、プロモーター活性が低下していること、また、検討対象とした2型糖尿病患者の症例が少ないこともあり統計的に有意ではないが、IFN 刺激による TYK2 遺伝子の発現が野生型より低く、抗ウイルス遺伝子の発現レベルも低下している傾向を認めた⁴⁷⁾。

今回、実験的ウイルス糖尿病の自然感受性遺伝子を初めて発見し、そのメカニズムを明らかにした。一般には、ウイルス糖尿病は1型糖尿病の原因の一つであると理解されているが、今回のヒトの遺伝子多型研究では、広く2型糖尿病とも関連するリスクがあり、ウイルス感染が2型糖尿病発症リスクの一つである可能性が示唆された。そもそも、ウイルス感染は、不顕性、急性、亜急性、慢性、激症と、さまざまな病型を取りうるので、比較的軽いウイルス感染が膵島を限定的ではあるが障害することにより糖尿病発症因子の一つとなる可能性は十分にあり得ると推測される⁴⁴⁾。今回、マウスのウイルス糖尿病自然感受性遺伝子の最初の発見を契機として、ヒトのウイルス糖尿病感受性遺伝子多型研究へと展開することができた。今後、多くの未知の感受性遺伝子、ヒトのウイルス糖尿病感受性遺伝子多型が明らかになることが期待される。

7. これからの展開：糖尿病ウイルスワクチン開発プロジェクト

多くの知見の積み重ねから、多くのウイルスが糖尿病を発症しうる傍証が蓄積している。しかしながら、糖尿病を爆発的に発症させうるような高い糖尿病誘発性を有する、いわゆる糖尿病ウイルスなるものは存在せず、今回発見したような宿主の感受性要因も含め、複合的にリスク要因が重なった状況で、ウイルス感染が膵島細胞傷害につながり、糖尿病発症に至っている可能性が高いと考えられる。その意味で、糖尿病原因候補ウイルスが糖尿病を発症しうることを検証するには、古典的なコッホの三原則が適応されることが望ましいと考える。事実、1980年頃には、糖尿病患者から分離されたウイルスがマウスに糖尿病を誘発したとする2編の論文があるが⁴⁸⁾⁴⁹⁾、その後、再現性をもって、コッホの三原則を満たせるような糖尿病誘発性ウイルスは報告されていない。この理由は、前述のように、糖尿病を確実に発症させるようなウイルスは存在せず、ウイルスの糖尿病誘発性と宿主の感受性亢進の要因が重なった状況でウイルス糖尿病が発症するため、潜在的に糖尿病誘発性を有するウイルスを同定することが、現在のシステムでは困難であると推測される。したがって、今後、ウイルスの糖尿病誘発性を鋭敏に検定する方法の開発が必要である。この場合、コッホの三原則を簡便に「Modified Koch's Postulate」として、病原体の臓器特異的病原性を正しくヒトの病態を模倣する疾患特異的感受性マウスで検定し、潜在的糖尿病誘発性エンテロウイルスを同定することを提案したい(図2)⁵⁰⁾。ワクチンによる予防を視野に入れた場合、すべての糖尿病誘発性ウイルスに対するワクチン開発は不可能であり、ワクチン開発が可能なウイルス属に限らざるをえない。幸い、糖尿病を誘発する主要な原因ウイルスはエンテロウイルスであると考えられているので、糖尿病誘発性エンテロウイルスに対するワクチン開発を行うことが現実味を帯びてきている。糖尿病誘発性エンテロウイルスに対するワクチン開発を行うことにより、ウイルス誘発糖尿病の少なくとも一部を予防できる。すなわち、ウイルスによる1型糖尿病の発症予防や、2型糖尿病の発症のリスク低下につながることで、生活の質の確保、経済効果も含め、大いに期待される⁴⁰⁾。

謝辞

本研究遂行は、多くの共同研究者：恩師、先輩、同僚、後輩、学生、第一線糖尿病専門医の皆様のご協力のお蔭であり、心から感謝する。それぞれのお名前は文献リストの共同研究者名で替えさせていただくことをお許しいただきたい。本研究は、文部科学省科学研究費、厚生労働省科学研究費、九州大学P&Pプログラム、ウイルス肝炎研究財団、臨床医学研究財団、医療・介護・教育研究財団、1型糖尿病研究基金などの助成をいただいたことに深謝する。現在進行中のウイルス糖尿病研究の成果は、主として、九州大学医学研究院保健学部門検査技術科学分野大学院生の営々たる努力の賜物であることも付記しておかねばならない。大学院生時代に大学院単位互換制度を利用して米国 NIH に留学し、Gajdusek, Gibbs 両先生の薫

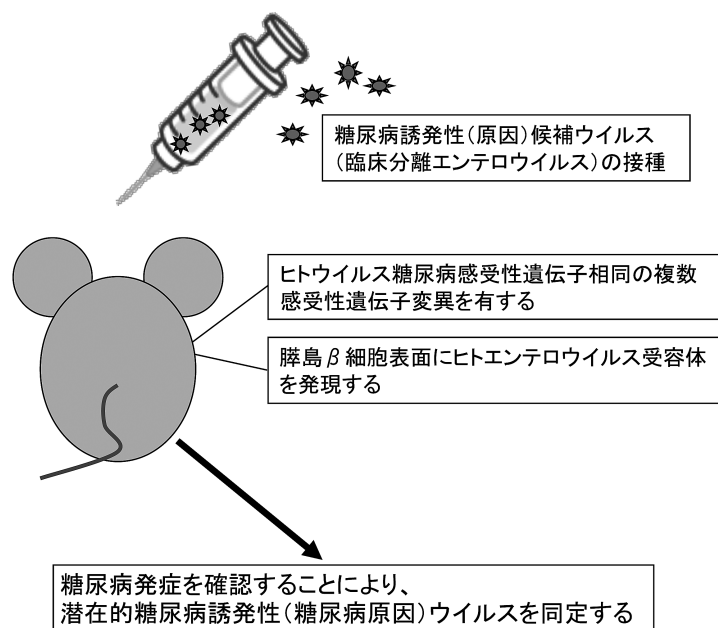


図2 ウイルス糖尿病高感受性ヒト化マウスを用いた潜在的糖尿病誘発性エンテロウイルスの同定

陶を受け、当時、ウイルス糖尿病研究の中心的存在であった Notkins 先生と出会うことができた。Notkins 先生とは、現在に至るまで、交流を続けている。誠に光栄で、ありがたいことである。

参 考 文 献

- 1) Mori R, Tasaki T, Kimura G and Takeya K : Depression of acquired resistance against herpes simplex virus infection in neonatally thymectomized mice. Arch. Gesamte Virusforsch. 21 : 459-462, 1967.
- 2) Hayashida I, Nagafuchi S, Hayashi Y, Kino Y, Mori R, Oda H, Ohtomo N and Tashiro A : Mechanism of antibody mediated protection against herpes simplex virus infection in mice : Requirement of Fc portion of antibody. Microbiol. Immunol. 26 : 497-509, 1982.
- 3) Nagafuchi S, Oda H, Mori R and Taniguchi T : Mechanism of acquired resistance to herpes simplex virus infection as studied in nude mice. J. gen. Virol. 44 : 715-723, 1979.
- 4) Nagafuchi S, Hayashida I, Higa K, Wada T and Mori R : Role of Lyt-1 positive immune T cells in recovery from herpes simplex virus infection in mice. Microbiol. Immunol. 26 : 359-362, 1982.
- 5) Habu S, Akamatsu K, Tamaoki N and Okumura K : In vivo significance of NK cell on resistance against virus (HSV-1) infections in mice. J. Immunol. 133 : 2743-2747, 1984.
- 6) Glosson NL and Hudson AW : Human herpesvirus-6A and -6B encode viral immunoevasins that downregulate class I MHC molecules. Virology 365 : 125-135, 2007.
- 7) Nagafuchi S, Moriyama K, Takamatsu Y, Hayashi S, Niho Y, Takenaka A, Minagawa H and Mori R : Treatment of disseminated herpes zoster in six severely immunocompromised patients. Jpn. J. Med. 28 : 100-104, 1989.
- 8) Akashi T, Minagawa H, Katsuta H, Harada M and Nagafuchi S : Retrograde intrafamilial transmission of primary herpes simplex virus type 1 infection. Am. J. Med. 113 : 79-80, 2002.
- 9) Nagafuchi S, Umene K, Yamanaka F, Oohashi S, Shindo M, Kurisaki H, Kudoh J, Shimizu N, Hara T and Harada M : Recurrent herpes simplex virus (HSV) infection in a patient with autoimmune Polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy associated with L29P and IVS9-1G > C compound heterozygous autoimmune regulator (AIRE) gene mutations. J. Intern. Med. 261 : 605-610, 2007.
- 10) Nagafuchi S, Kashiwagi S, Inoue T and Imayama S : Development of skin reaction to hepatitis B vaccines in man. Microbiol. Immunol. 28 : 257-259, 1984.
- 11) Nagafuchi S, Kashiwagi S, Hayashi S, Inoue T, Imayama S, Takeshita M and Kikuchi M : Delayed type

- hypersensitivity (DTH) skin reaction to hepatitis B surface antigen (HBsAg) in patients with type B acute and chronic hepatitis. *Clin. exp. Immunol.* 61 : 569-576, 1985.
- 12) Nagafuchi S, Kashiwagi S, Tsuji Y, Miyata Y, Iwakiri R, Takeshita M, Niho Y and Kikuchi M : Delayed type hypersensitivity skin reaction to HBsAg and immunohistopathologic study of liver in patients with acute type B viral hepatitis. *Microbiol. Immunol.* 33 : 539-548, 1989.
 - 13] Nagafuchi S and Kashiwagi S : Reversal by intradermal hepatitis B vaccination of unresponsiveness to HBsAg. *Lancet II* : 1522-1523, 1987.
 - 14] Nagafuchi S, Kashiwagi S, Okada K, Anzai K, Nakamura M, Nishimura Y, Sasazuki T and Niho Y : Reversal of Nonresponders and Postexposure Prophylaxis by Intradermal Hepatitis B Vaccination in Japanese Medical Personnel. *JAMA* 265 : 2679-2683, 1991.
 - 15] Nagafuchi S, Tokiyama K, Kashiwagi S, Hayashi S, Imayama S and Niho Y : Eosinophilia after intradermal hepatitis B vaccination. *Lancet* 342 : 998, 1993.
 - 16) Nagafuchi S, Kashiwagi S, Imayama S, Hayashi J and Niho Y : Intradermal administration of viral vaccines. *Rev. Med. Virol.* 8 : 97-111, 1998.
 - 17) Mosialos G, Birkenbeck M, Yaiamanchili R, VanArsdale T, Ware C and Kieff E : The Epstein-Barr virus transforming protein LMP1 engages signaling proteins for the tumor necrosis factor receptor family. *Cell* 80 : 389-399, 1995.
 - 18) Aya T, Kinoshita T, Imai S, Koizumi S, Mizuno F, Osato T, Satoh C, Oikawa T, Kuzumaki N, Ohigashi H and Koshizumi K : Chromosome translocation and c-MYC activation by Epstein-Barr virus and Euphorbia tirucalli in B lymphocytes. *Lancet* 337 : 1190, 1991.
 - 19) Nagafuchi S, Anzai K, Fujisaki T, Otsuka T, Nakamura M, Okamura S and Niho Y : Depressed Interleukin 2 induced cytotoxic activity in patients with chronic EB virus infection. *Med. Sci. Res.* 21 : 573-575, 1993.
 - 20) Fujisaki T, Nagafuchi S and Okamura T : Gamma-Interferon for severe chronic active Epstein-Barr Virus. *Ann. Intern. Med.* 118 : 474-475, 1993.
 - 21] Fujisaki T, Nagafuchi S, Niho Y, Tsuneyoshi M, Oshima K and Kikuchi M : Malignant histiocytosis in a patient with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Lancet* 340 : 1168-1169, 1992.
 - 22) Nagafuchi S, Ishibashi H, Anzai K, Ohshima Y, Ohno Y, Fukushima N, Hashizume M, Sugimachi K, Chuman H, Kikuchi M and Niho Y : Budd-Chiari syndrome and Epstein-Barr virus (EBV) associated plasmacytoma in a patient with chronic active EBV infection. *Clin. Investig.* 72 : 883-886, 1994.
 - 23) Nakamura M, Nagafuchi S, Yamaguchi K and Takaki R : The role of thymic immunity and insulinitis in the development of streptozocin induced diabetes in mice. *Diabetes* 33 : 894-900, 1984.
 - 24) Iwakiri R, Nagafuchi S, Kounoue E, Nakano S, Koga T, Nakayama M, Nakamura M and Niho Y : Cyclosporin A enhances streptozocin induced diabetes in CD-1 mice. *Experientia* 43 : 324-327, 1987.
 - 25) Iwakiri R and Nagafuchi S : Inhibition of streptozocin-induced insulinitis and Diabetes with lobenzarit in CD-1 mice. *Diabetes* 38 : 558-561, 1989.
 - 26) Iwakiri R, Nagafuchi S, Kounoue E, Nakamura M, Kikuchi M, Nakano S and Niho Y : Immunohistochemical study of insulinitis induced by multiple low doses of streptozocin in CD-1 mice. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 9 : 75-82, 1990.
 - 27) Anzai K, Nakamura M, Nagafuchi S, Isakiri R, Ichinose I, Mitsugi K, Kuroki M, Nakano S and Niho Y : Production of anti-cardiolipin antibody in AKR/J mice with streptozocin-induced insulinitis and diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 20 : 29-37, 1993.
 - 28) Anzai K, Nagafuchi S, Kikuchi M, Niho Y and Ono J : β 2-Glycoprotein 1 -dependent and -independent anticardiolipin antibody in NOD mice. *Clin. Exp. Immunol.* 111 : 173-180, 1998.
 - 29] Akashi T, Nagafuchi S, Anzai K, Kondo S, Kitamura D, Wakana S, Ono J, Kikuchi M, Niho Y and Watanabe T : Direct evidence for the contribution of B cells to the progression of insulinitis and the development of diabetes in non-obese diabetic mice. *Int. Immunol.* 9 : 1159-1164, 1997.
 - 30) Kondo S, Iwata I, Anzai K, Akashi T, Wakana S, Ohkubo K, Ono J, Watanabe T, Niho Y and Nagafuchi S : Suppression of insulinitis and diabetes in B cell deficient mice treated with streptozocin : B cells are essential for T cell receptor clonotype spreading in islet-infiltrating T cells. *Int. Immunol.* 12 : 1075-1083, 2000.
 - 31] Nagafuchi S, Katsuta H and Anzai K : Rituximab, B-lymphocyte depletion and beta-cell function. *N. Engl. J. Med.* 362 : 761, 2010.
 - 32) Nagafuchi S : The role of B cells in regulating the magnitude of immune response. *Microbiol. Immunol.* 54 : 487-490, 2010.

- 33) Nagafuchi S, Katsuta H, Kogawa K, Akashi T, Kondo S, Sakai Y, Tsukiyama T, Kitamura D, Niho Y and Watanabe T : Establishment of an embryonic stem (ES) cell line derived from a non-obese diabetic (NOD) mouse : In vivo differentiation into lymphocytes and potential for germ line transmission. *FEBS Lett.* 455 : 101-104, 1999.
- 34) Arai S, Minjarres C, Nagafuchi S and Miyazaki T : Improved experimental procedures for achieving efficient germ line transmission of nonobese diabetic (NOD)-derived embryonic stem cells. *Exp. Diab. Res.* 5 : 219-226, 2004.
- 35]** Kogawa K, Kudoh J, Nagafuchi S, Ohga S, Katsuta H, Ishibashi H, Harada M, Hara T and Shimizu N : Distinct clinical phenotype and immunoreactivity in Japanese siblings with autoimmune polyglandular syndrome type 1 (APS-1) associated with compound heterozygous novel AIRE gene mutations. *Clin. Immunol.* 103 : 277-283, 2002.
- 36) Kogawa K, Nagafuchi S, Katsuta H, Kudoh J, Tamiya S, Sakai Y, Shimizu N and Harada M : Expression of AIRE gene in peripheral monocyte/dendritic cell lineage. *Immunol. Lett.* 80 : 195-198, 2002.
- 37) Nagafuchi S, Katsuta H, Ohno Y, Inoue Y, Shimoda K, Kogawa k, Ikeda Y, Koyanagi-Katsuta R, Yamasaki S, Tominaga H, Tamiya S, Umemura T, Otsuka Ta, Miyamoto T, Otsuka Te, Harada M, Kudoh J and Shimizu N : Mitogen-activated protein kinase pathway controls autoimmune regulator (AIRE) gene expression in granulo-monocyte colony stimulating factor (GM-CSF)- stimulated myelomonocytic leukemia OTC-4 cells. *Immunol. Lett.* 99 : 130-135, 2005.
- 38) Matsuo T, Noguchi Y, Shindo M, Morita Y, Oda Y, Yoshida E, Hamada H, Harada M, Shiokawa Y, Nishida T, Tominaga R, Kikushige Y, Akashi K, Kudoh J, Shimizu N, Tanaka Y, Umemura T, Taniguchi T, Yoshimura A, Kobayashi T, Mitsuyama M, Kurisaki H, Katsuta H and Nagafuchi S : Regulation of human autoimmune regulator (AIRE) gene translation by miR-220b. *Gene* 530 : 19-25, 2013.
- 39) Cavadini P, Vermi W, Facchetti F, Fontana S, Nagafuchi S, Mazzolari E, Sediva A, Marrella V, Villa A, Fischer A, Luigi D, Notarangelo LD and Badolato R : AIRE deficiency in thymus of 2 patients with Omenn syndrome. *J. Clin. Invest.* 115 : 728-732, 2005.
- 40) 永淵正法, 三根敬一郎, 栗崎宏憲, 勝田仁 : ウイルス糖尿病感受性遺伝子の発見と, これからの展開, 門脇孝編 : 糖尿病学 2016. pp. 1-11. 診断と治療社. 東京都. 2016.
- 41) Onodera T, Yoon JW, Brown KS and Notkins AL : Evidence for a single locus controlling susceptibility to virus-induced diabetes mellitus. *Nature* 274 : 693-696, 1978.
- 42) Kounoue E, Nagafuchi S, Nakamura M, Nakano S, Koga T, Nakayama M, Mitsuyama M, Niho Y, and Takaki R : Encephalomyocarditis (EMC) virus-induced diabetes mellitus prevented by *Corynebacterium parvum* in mice. *Experientia* 43 : 430-431, 1987.
- 43) Kounoue E, Izumi K, Ogawa S, Kondo S, Katsuta H, Akashi T, Niho Y, Harada M, Tamiya S, Kurisaki H and Nagafuchi S : The significance of T cells, B cells, antibodies and macrophages against encephalomyocarditis (EMC)-D virus-induced diabetes in mice. *Arch. Virol.* 153 : 1223-1231, 2008.
- 44) Nagafuchi S and Toniolo A : Viral Diabetes : Virus diabetogenicity and host susceptibility. *Immunoendocrinol.* 2 : e1026, 2015.
- 45) Shimoda K, Kato K, Aoki K, Matsuda T, Miyamaoto A, Shibamori M, Yamashita M, Numata A, Takase K, Kobayashi S, Shibata S, Asano Y, Gondo H, Sekiguchi K, Nakayama K, Nakayama T, Okamura T, Okamura S, Niho Y and Nakayama K : Tyk2 Plays a Restricted Role in IFN α Signaling, Although It Is Required for IL-12-Mediated T Cell Function. *Immunity* 13 : 561-571, 2000.
- 46]** Izumi K, Mine K, Inoue Y, Teshima M, Ogawa S, Kai Y, Kurafuji T, Hirakawa K, Miyakawa D, Ikeda H, Inada A, Hara M, Yamada H, Akashi K, Niho Y, Ina K, Kobayashi T, Yoshikai Y, Anzai K, Yamashita T, Minagawa H, Fujimoto S, Kurisaki H, Shimoda K, Katsuta H and Nagafuchi S : Reduced Tyk2 gene expression in β -cells due to natural mutation determines susceptibility to virus-induced diabetes. *Nat. Commun.* 6 : e6748, 2015.
- 47]** Nagafuchi S, Kamada-Hibio Y, Hirakawa K, Tsutsu N, Minami M, Okada A, Kai K, Teshima M, Moroishi A, Murakami Y, Umeno Y, Yokogawa Y, Kogawa K, Izumi K, Anzai K, Iwakiri R, Hamaguchi K, Sasaki N, Nohara S, Yoshida E, Harada M, Akashi K, Yanase T, Ono J, Okeda T, Fujimoto R, Ihara K, Hara T, Kikuchi Y, Iwase M, Kitazono T, Kojima F, Kono S, Kurisaki H, Kondo S, Katsuta H : TYK2 promoter variant and diabetes mellitus in the Japanese. *EBioMedicine* i2 : 744-749, 2015.
- 48) Yoon JW, Austin M, Onodera T and Notkins AL : Isolation of a virus from the pancreas of a child with diabetic ketoacidosis. *N. Engl. J. Med.* 300 : 1173-1179, 1979.
- 49) Champsaur H, Dussaix E, Smolyk D, Fabre M, Bach C and Assan R : Diabetes and Cocksackie virus B5

infection. Lancet 1 : 251, 1980.

- 50) Nagafuchi S. Virus-induced diabetes : Koch's Postulate fulfillable? Int. J. Diabetes Clin. Diagn. 3 : 115, 2016.

(特に重要な文献については、数字をゴシック体で表記している.)

著者プロフィール

永淵 正法 (ながふち せいほう)

佐賀大学医学部客員研究員. 九州大学名誉教授.

◆**略歴** : 昭和 26 年佐賀県佐賀市生まれ. 昭和 44 年佐賀県立佐賀西高等学校卒業. 昭和 50 年九州大学医学部卒業. 同年九州大学医学部附属病院研修医 (第一内科, 第二内科). 昭和 51~55 年九州大学大学院医学研究科 (ウイルス学専攻, 森良一教授). 昭和 53~54 年米国 NIH 留学 (NINCDS, Dr. Gibbs & Dr. Gajdusek). 昭和 55 年唐津赤十字病院内科副部長. 昭和 56 年九州大学医学部第一内科助手. 昭和 59 年福岡通信病院内科医長. 昭和 61 年九州大学医学部附属病院第一内科助手. 平成 10 年九州大学医療技術短期大学部助教授. 平成 12 年九州大学医療技術短期大学部教授. 平成 19 年九州大学大学院医学研究院・保健学部門・検査技術科学分野・病態情報学講座教授. 平成 28 年同上定年退職. 同年佐賀大学医学部客員研究員. 九州大学名誉教授. 現在に至る.

◆**研究テーマと抱負** : ウイルス糖尿病の発症メカニズムを解明すること, そして, 糖尿病誘発性エンテロウイルスを同定し, ワクチンによるウイルス糖尿病の予防を目指しています.

◆**趣味** : 囲碁, 魚釣り, 野球観戦, 卓球