論文の要旨

申請者　　濱田　耕司

研究論文題目

糖尿病の感染増悪メカニズムの解明

－糖尿病モデルマウス（*db/db* マウス）における大腸菌重症全身感染症の免疫過剰応答について－

１　背景と目的

糖尿病患者は易感染性で、感染の合併は糖尿病をさらに増悪させ、これにより感染自体も遷延・重症化してしまうといった悪循環に陥りやすい。感染増悪の原因の１つとして、免疫担当細胞の機能障害が挙げられているが、詳細は不明である。そこで、我々は、糖尿病重症全身感染モデルを用いて、糖尿病での全身性感染における生体防御能の反応について検討を行った。

２　対象と方法

1）*db/db* マウスを用い、尾静脈より大腸菌を注入することにより、糖尿病重症全身感染モデルを作製し、予後および炎症性サイトカインの変動をコントロールマウス（*m/db* マウス）と比較し検討した。

2）肝単核球からの炎症性サイトカイン産生について検討した。炎症性サイトカインの中でも IFN-γが顕著に高く、その主たる産生細胞である肝 NK 細胞についてフローサイトメーターを用いて解析を行った。

3）本モデルマウスの予後不良の原因に、過剰な IFN-γ産生によるサイトカインストームが関与していると考えられ、IFN-γの作用や産生を制御（抗 IFN-γ中和抗体、抗アシアロ GM1 抗体による NK 細胞除去、抗 IL-18 中和抗体、抗 IL-12 中和抗体の投与）し、予後およびサイトカイン応答への影響を検討した。

4）大腸菌感染後の免疫応答で重要と考えられる肝クッパ―細胞の解析を行った。蛍光標識されたマイクロビーズおよび熱処理後の大腸菌死菌を用い、クッパ―細胞の貪食能をフローサイトメーターで比較検討した。

5）インスリン投与により *db/db* マウスの大腸菌注入後の予後およびサイトカイン応答に与える影響を検討した。

6）SGLT2 阻害薬投与により *db/db* マウスの大腸菌注入後の予後およびサイトカイン応答に与える影響を検討した。

（濱田耕司）

３　結果　（２対象と方法の番号と一致）

1） *db/db* マウスの尾静脈に大腸菌 1×10^9 CFU を注入し、72 時間後生存率が 30%の糖尿病重症全身感染モデルを確立した。このモデルは非感染時より著明な脂肪肝を呈し、感染後の著明な肝障害と肝の菌クリアランス低下を認めた。菌注入後の血漿中炎症性サイトカイン値（IFN-γ、IL-18、IL-12、TNF）がいずれも高値を示し、特に IFN-γが顕著に高値であった。

2） 肝単核球からの炎症性サイトカイン産生能は、本モデルマウスでコントロールに比較して有意に高かった。また肝 NK 細胞の割合および IL-18 受容体や IL-12 受容体の発現が増加していた。

3） IFN-γ中和抗体投与は本モデルマウスの感染予後を改善した。更に IFN-γ産生の上流にあたる IL-18 あるいは IL-12 の中和抗体投与や NK 細胞除去は、血漿中 IFN-γ値の上昇を抑制し、本モデルマウスの感染予後を有意に改善した。

4） 非感染時の肝クッパー細胞の分画は、*db/db* マウスではコントロールマウスに比し、炎症性サイトカイン産生能が高い CD11b 陽性細胞の割合が高く、貪食・殺菌能が強い CD68 陽性細胞の割合が低かった。クッパ―細胞の *in vitro* でのマイクロビーズおよび大腸菌死菌の貪食活性は、*db/db* マウスではコントロールマウスに比し有意に低下していた。

5） インスリンは本モデルマウスの感染予後を有意に改善し、炎症性サイトカインの過剰産生を抑制した。また、非感染時の肝単核球に抗炎症性変化をもたらし、脂肪肝を著明に改善した。

6） 一方、SGLT2 阻害薬は血糖値を低下させたが、本モデルマウスの感染予後を改善せず、血漿中 TNF の上昇のみを抑制した。

４　結論と考察

今回の結果より、糖尿病モデルマウスである *db/db* マウスの肝臓において、非感染時よりサイトカイン産生能が高い CD11b 陽性クッパー細胞の増加、NK 細胞の増加および NK 細胞での IL-18R と IL-12R 発現亢進がみられ、ここに感染刺激が加わる事で過剰なサイトカイン応答が誘発された可能性が考えられた。

また、インスリン投与は、糖尿病重症全身感染モデルの予後およびサイトカイン過剰応答を改善させ、SGLT2 阻害薬ではその効果がみられなかったことより、インスリンは血糖値の低下作用に加え炎症応答を制御する作用を有している可能性が考えられた。