

博士（獣医学） 大 杉 剛 生

学 位 論 文 題 名

I型糖尿病自然発症モデル（NOD）マウスの
糖尿病発症に関する研究
—糖尿病低発症 NOD マウスの SPF 化による発症の増加—

学位論文内容の要旨

NOD(non-obese diabetic)マウスは I 型糖尿病および自己免疫病のモデル動物として広く研究に使用されている。このマウスはまず膵島内へのリンパ球浸潤、いわゆる膵島炎が出現し、ついで、膵島 β 細胞が破壊され、インスリン絶対不足の糖尿病を発症する。その糖尿病発症率は雌雄差が認められ、最初の報告では 210 日齢のメスで 80%、オスで 20% である。

しかし、その糖尿病発症率は各研究機関で差が認められ、飼育環境の違いであろうことは示唆されてきたが、その原因については今まで、一定の結論が得られていない。著者らの飼育している NOD マウスは糖尿病発症率が低く、さらに、その発症日齢が通常の NOD マウスより大幅に遅延していた。当初、遺伝的背景の一致した糖尿病を発症しない対照系の NOD マウスが存在しないことから、著者らの飼育している NOD マウスが対照系として使用できるのではないかと考え、その導入時期により NOD/Ju および NOD/shi 両亜系として分離、飼育した。NOD/Ju および NOD/shi マウスともに分離後の糖尿病発症率は低く、各々メスで 7 および 16% であり、オスでは 0% であった。また、発症日齢も延長傾向が認められ、NOD/Ju マウスで 263 日、NOD/shi マウスで 227 日であった。しかし、膵島炎は両亜系マウスとも全てに認められた。また、300 日齢以上で糖尿病を発症しないマウスは、さらに膵島炎が進行し、激しい膵島炎が観察されるものの、糖負荷試験成績からインスリン分泌は正常であることが示された。

同じ飼育室で他系統マウスを維持しているため、これらマウスとの混交を考慮し、遺伝モニタリングを実施したところ両亜系マウスとともに従来報告されているNODマウスの遺伝子プロファイルと一致し、他系統との混交は否定された。ついで、微生物モニタリングを実施したところ、特定の病原微生物に汚染していることが明らかになった。しかし、糖尿病発症、非発症にかかわらず、盲腸内 *Enterobacteriaceae* 数は他系統マウスと同様であり、腸管固有細菌が体内各臓器へ移行する現象であるバクテリアトランスロケーションも差はみられず、糖尿病発症に腸内フローラが関与している可能性は低いものと考えられた。

次に、特定病原微生物の排除のため、受精卵移植によるSPF化を実施した。移植後は両亜系ともにメスの糖尿病発症率は100%となった。オスでは糖尿病の発症は認められなかった。糖尿病を発症したマウスの平均日数は両亜系ともに移植前に比べ大幅に短縮した。受精卵移植によって得られたNOD/Juマウスを2群に分け、SPFあるいはコンベンショナル環境で飼育した。SPF環境で維持したマウスは高い発症率を維持していたが、コンベンショナル環境で維持したマウスは急激にその糖尿病発症率は低下した。MHV、HVJおよび*Mycoplasma pulmonis*に対する血清抗体の検査で、SPF環境で維持した群はすべて陰性であったが、コンベンショナル環境に移動させた群ではMHVに対する抗体のみ全例保有しており、MHVに感染したことが示唆された。

免疫抑制剤サイクロフォスファミドは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、コンベンショナル環境で飼育していたNODマウスでは全く反応しなかった。しかし、脾島炎は100%観察され、糖尿病発症にはさらに脾島β細胞を破壊する細胞障害性リンパ球の誘導が必要であることが示唆された。NODマウスはMHVのような病原体に感染すると、脾島β細胞を破壊する細胞障害性リンパ球の誘導がないか、遅延し、その糖尿病発症が低下および遅延するであろうことが示唆された。

学位論文審査の要旨

主査 教授 前出 吉光
副査 教授 金川 弘司
副査 教授 喜田 宏
副査 教授 渡辺 智正

学位論文題名

I型糖尿病自然発症モデル (NOD) マウスの 糖尿病発症に関する研究

—糖尿病低発症 NOD マウスの SPF 化による発症の増加—

NOD(non-obese diabetic)マウスは自然発症のI型糖尿病（インスリン依存性糖尿病）のモデル動物として広く研究に使用されている。NODマウスの糖尿病発症率は飼育環境により異なることが知られているが、その原因は解明されていない。申請者は、糖尿病非発症NOD(non-NOD)マウスについて糖負荷試験を行ったところ、non-NODマウスのインスリン分泌は正常であったが、脾臓では脾島炎が観察された。遺伝子モニタリングの結果から、non-NODマウスと他系統マウスとの混交の可能性は否定された。しかし、微生物モニタリングの結果、non-NODマウスは特定の病原微生物に感染していることが判明した。そこで、病原微生物を排除するために、non-NODマウスについて受精卵移植により、特定病原体除去(Specific pathogen free, SPF化)を実施した。SPF化後、メスのマウスの糖尿病発症率は100%となった。オスでは発症は認められなかった。次に、SPF化したマウスを2群に分け、SPF環境および通常の環境でそれぞれ飼育したところ、SPF飼育群は高い糖尿病発症率を維持したが、通常飼育群ではその発症率は急激に低下した。Sendai virus (HVJ), mouse hepatitis virus (MHV) および *Mycoplasma pulmonis* に対する血清抗体は、SPF飼育群ではすべて陰性であったが、通常飼育群は MHVに対する抗体を保有していた。また、通常飼育のnon-NODマウスに免疫抑制剤のサイクロホスファミドを投与したが、糖尿病の発症はみられなかった。しかし、これらのマウスのすべてにおいて脾島炎が観察された。以上の成績から、NODマウスではMHVのような病原体に感染すると、脾島 β 細胞を破壊する細胞障害性Tリンパ球の脾島への浸潤が減少するために脾島細胞の破壊が

抑制され、その結果、糖尿病の発症が低下するものと考えられた。

以上のように申請者はNODマウスの糖尿病発症機構に関して重要な知見を提供した。よって審査員一同は、大杉剛生氏が博士（獣医学）の学位を受ける資格を有するものと認めた。