

原著

糖尿病と血清Allograft inflammatory factor-1 (AIF-1)濃度の関係

澁谷雪子

The Relation of Serum AIF-1 to Diabetes Mellitus

Yukiko SHIBUYA

SUMMARY

Allograft inflammatory factor (AIF-1) appears at the chronic rejection state after heart implantation. It is also concerned in inflammatory reactions and autoimmune diseases. We measured serum AIF-1 levels in healthy subjects for the first time, and found that the levels are not related to sex and ages. The serum levels are related to serum glucose levels, suggesting their close relation to diabetes mellitus (DM). The serum levels of AIF-1 in insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) and those with insulin independent diabetes mellitus (NIDDM) are significantly high, compared to those in the healthy subjects. Significant difference was not found between IDDM and NIDDM. Among the IDDM patients, the group with longer duration of DM and the group with clinical onset at younger ages showed the significantly higher levels of AIF-1.

I. はじめに

Allograft inflammatory factor-1 (AIF-1、以下AIF) は心臓移植後の慢性的な拒絶反応時に発現する。マウスの自己免疫性脳脊髄炎、神経炎モデルや、ヒト脳梗塞時のマクロファージやミクログリアにおいても発現しており、炎症反応や自己免疫反応においても何らかの役割を果たしている可能性が考えられている。¹⁾

インスリン依存性糖尿病 (IDDM、1型糖尿病) はマクロファージ、リンパ球およびその他の単核細胞が組織へ浸潤し、これらが膵ランゲルハンス島β細胞を破壊する臓器特異的な自己免疫疾患である。また、糖尿病前症のラットおよび新たに糖尿

病になったラットの膵臓にはAIFを発現する多量のマクロファージが存在し、免疫反応をする。²⁾

ヒトではAIFの血中濃度や糖尿病との関連は明らかではない。そこで健常者の血清AIF濃度を測定するとともに、IDDM患者、インスリン非依存性糖尿病 (NIDDM、2型糖尿病) 患者の血清AIF濃度の糖尿病への関わりについて検討を行った。

II. 材料と方法

AIF測定に用いた検体は健常者血清として健康診断受診者血清 (大野記念病院) 229検体、IDDM (1型糖尿病) 患者血清として糖尿病サマーキャンプ参加者血清201検体、NIDDM (2型糖尿病) 患者血清としてNIDDM患者血清 (大野記念病院)

75検体を用いた。

AIF測定には高感度な測定が望めるELISA法(図1)を用いた。まず第一抗体anti-AIF IgG(宇多野病院から供与を受けた)をプレートに結合させ、その固相化抗体に試料中のAIFを結合させる。次にビオチン標識anti-AIF IgG(宇多野病院から供与を受けた)を作用させ、さらにビオチンと強い結合能を持つアビジンに酵素を結合させたアビジニル化酵素streptavidin-horseradish peroxidase: HRP(Amersham Pharmacia Biotech)を結合させる。HRP活性の測定は基質であるTMBと過酸化水素を反応させた。最後に1Mリン酸溶液で反応を停止し450nmにおける吸光度を測定することよりAIFの血中濃度を求めた。標準液はヒ

トリコンビナントAIF(岐阜薬科大学から供与を受けた)を用いた。

緩衝液はCoating Buffer: 10mM炭酸緩衝液(pH9.3)、Blocking Buffer: 0.5%牛血清アルブミンbovine serum albumin(BSA)(SIGMA社)を含むCoating Buffer、Washing Buffer: 50mM Tris(和光純薬)、200mM塩化ナトリウム(和光純薬)、0.1% TritonX-100(和光純薬)、10mM塩化カルシウム(和光純薬)、また標準液、ビオチン化標識抗体およびstreptavidin-HRP希釈用にはsample buffer: 1.0%BSAを含むWashing Bufferを用いた。

吸光度測定にはタイターテック マルチスキャンMC(大日本製薬)を用いた。

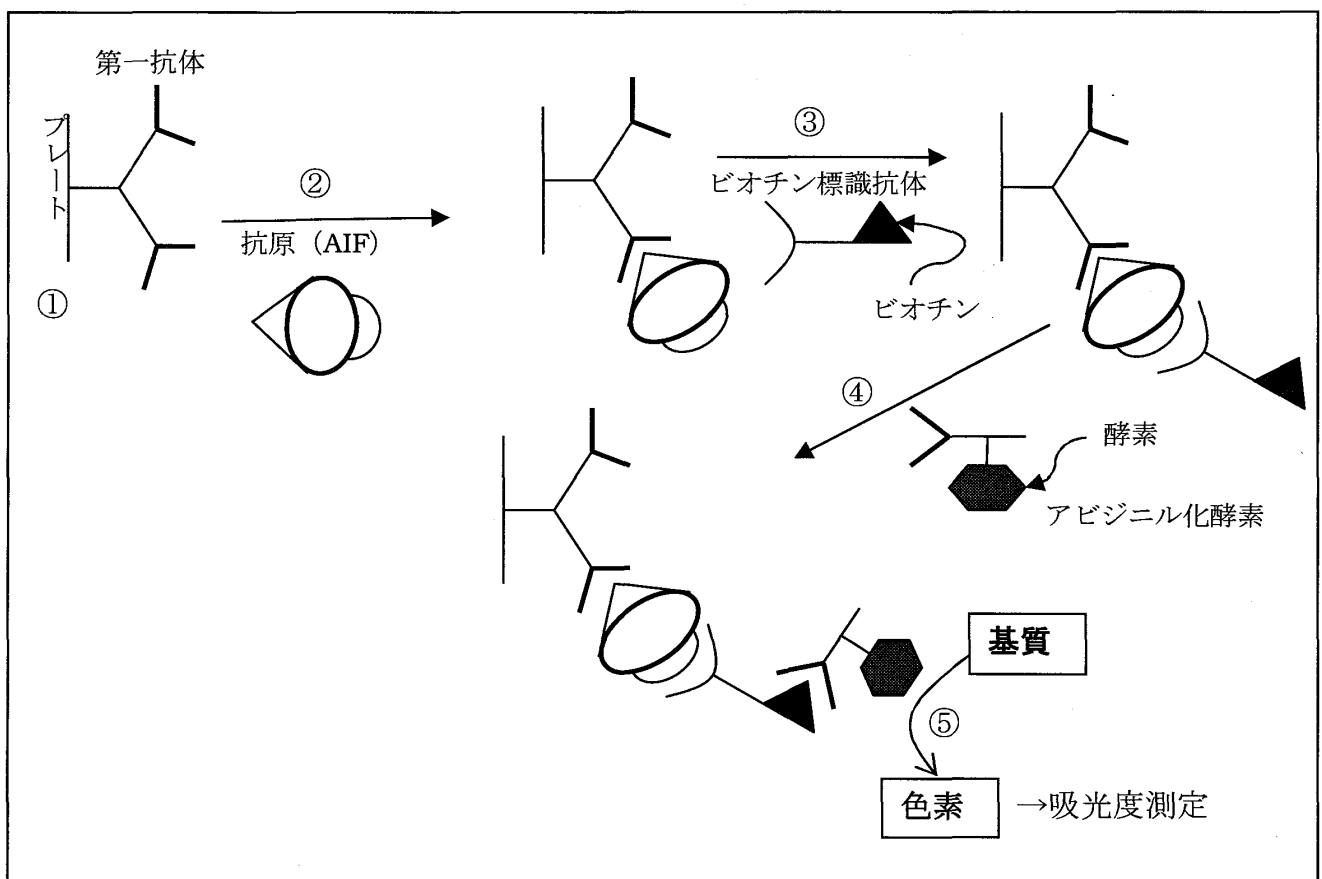


図1 AIF測定に用いたELISA法の原理

①プレートに第一抗体を結合させる。②抗原 (AIF) を結合させる。③ビオチン標識抗体を結合させる。④アビジニル化酵素を結合させる。⑤TMBとH₂O₂を反応させ色素を生成させ吸光度を測定する。

Ⅲ. 結 果

(1) 健常者の血清AIF濃度

i. 健常者の血清AIF濃度と性差との関係

健常者の血清AIF濃度を表1、健常者の血清AIF濃度と性差の関係を図2に示す。健常者の血清AIF濃度の平均値を求め、性差の有無を検討した結果、健常者の血清AIF濃度の平均値は48pg/mL (229検体)であり、女性平均値は41pg/mL (40検体)、男性平均値は51pg/mL (26検体)、P値は0.345>0.05で有意差は認められなかった。

検体数	229 (pg/mL)
平均値 (pg/mL)	48 (pg/mL)
SD	25
最低値 (pg/mL)	10 (pg/mL)
最大値 (pg/mL)	119 (pg/mL)

表1 健常者の血清AIF濃度

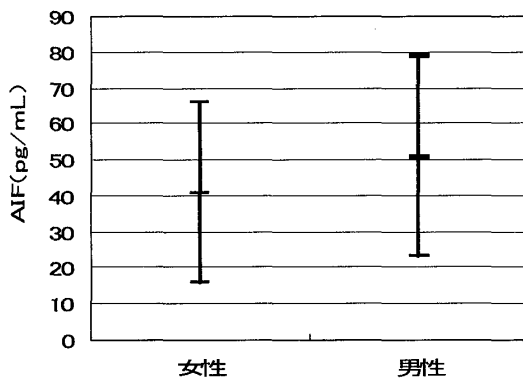


図2 健常者の血清AIF濃度と性差

ii. 健常者の血清AIF濃度と年齢との関係

健常者59名で血清AIF濃度と年齢との関係を求めた。図3に示すように相関係数 $r=0.009$ で相関は認められなかった。

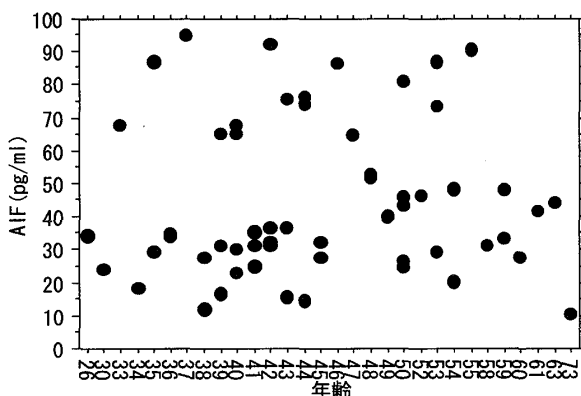


図3 健常者の血清AIF濃度と年齢

(2) 血清AIF濃度と糖尿病との関係

血清AIF濃度と糖尿病の関係を検討するため、健常者および糖尿病患者血清137検体を用い血清AIF濃度とグルコース濃度(血糖値)との関係を求めた。図4に示すように相関係数 $r=0.275$ で弱い相関が認められた。

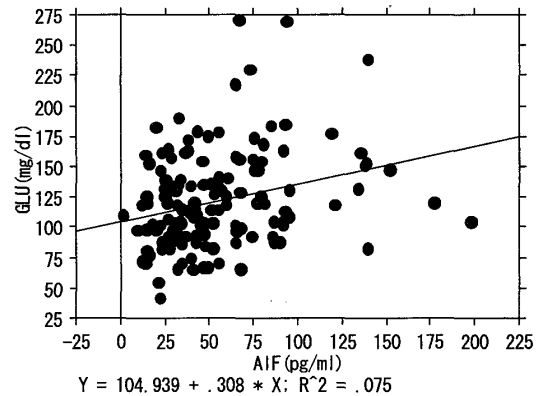


図4 血清AIF濃度とグルコース濃度の相関

(3) IDDM患者、NIDDM患者と健常者の血清AIF濃度

IDDM患者、NIDDM患者の血清AIF濃度を図5に示す。健常者の血清AIF濃度の平均値は48pg/mL (229検体)であり、IDDM患者の血清AIF濃度の平均値は71pg/mL (201検体)、P値は0.0001で両者間には有意差が認められた。またNIDDM患者の血清AIF濃度の平均値は66pg/mL (75検体)、P値は0.0005で健常者と有意差が認められた。IDDM患者とNIDDM患者間ではP値は0.974>0.05で血清AIF濃度に有意差は認められなかった。

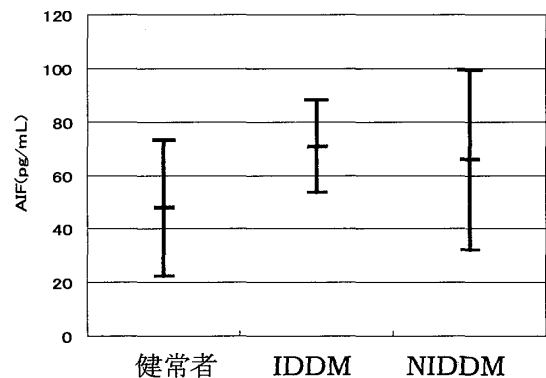


図5 IDDM患者、NIDDM患者の血清AIF

(4) 血清AIF濃度と自己抗体との関係

IDDMは主に若年層に発症し免疫の異常が関与するとされている。IDDM患者では糖尿病に関

連した抗体である抗GAD（グルタミン酸脱炭酸酵素）抗体が血中で検出され、抗GAD抗体はNIDDMとの鑑別に有用である。血清AIF濃度と自己抗体との関連を検討するため、血清AIF濃度と抗GAD抗体濃度の関係を検討した。IDDM患者の血清AIF濃度と抗GAD抗体濃度の関係を図6に示す。IDDM患者61検体の血清AIF濃度と抗GAD抗体濃度の相関は認められなかった（相関係数 $r=-0.046$ ）。

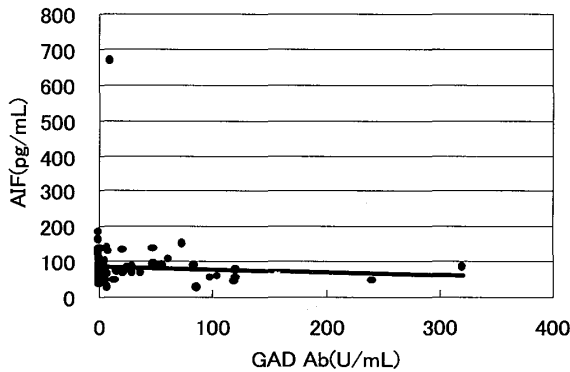


図6 IDDM患者の血清AIF濃度と抗GAD抗体の相関

IDDM患者の抗GAD抗体陽性検体、陰性検体の血清AIF濃度を比較するため、両者の血清AIF濃度を測定した。図7に示すように抗GAD抗体陽性検体では平均値72pg/mL（36検体）、抗GAD抗体陰性検体では平均値96pg/mL（39検体）であり、有意差は認められなかった（ P 値 $0.228 > 0.05$ ）。

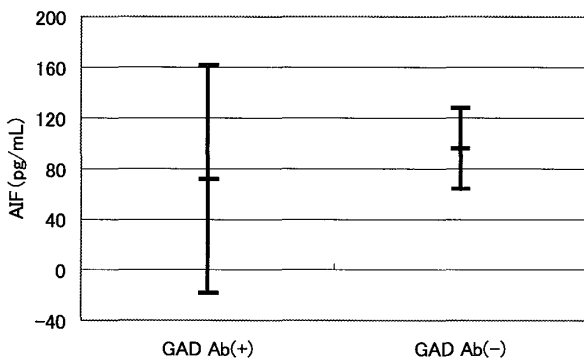


図7 IDDM患者の抗GAD抗体陽性、陰性検体の血清AIF濃度

(5) IDDM患者の血清AIF濃度

i. 年齢との関係

IDDM患者59名で血清AIF濃度と年齢の相関を求めた。図8に示すように相関係数 $r=0.123$ で相関は認められなかった。

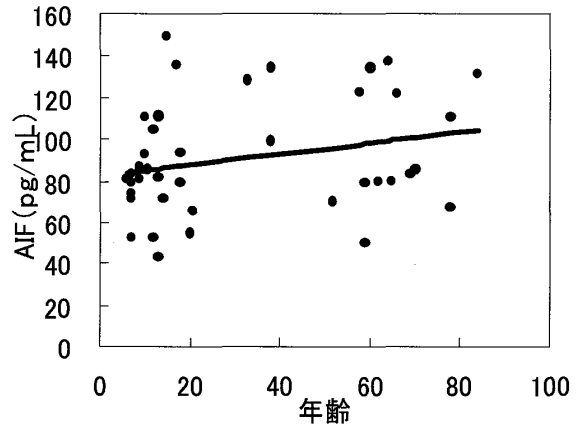


図8 IDDM患者の血清AIF濃度と年齢

ii. 発症年齢との関係

IDDM患者34名で血清AIF濃度と発症年齢の相関を求めた。図9に示すように相関係数 $r=-0.509$ で負の相関が認められた。

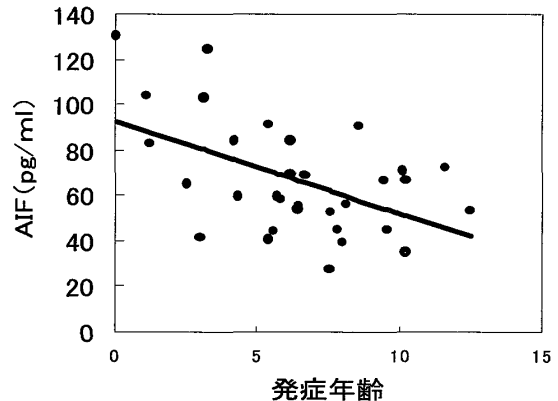


図9 IDDM患者の血清AIFと発症年齢の相関

iii. 罹患期間との関係

IDDM患者55名で血清AIF濃度と罹患期間との相関を求めた。図10に示すように相関係数 $r=-0.257$ で弱い負の相関が認められた。

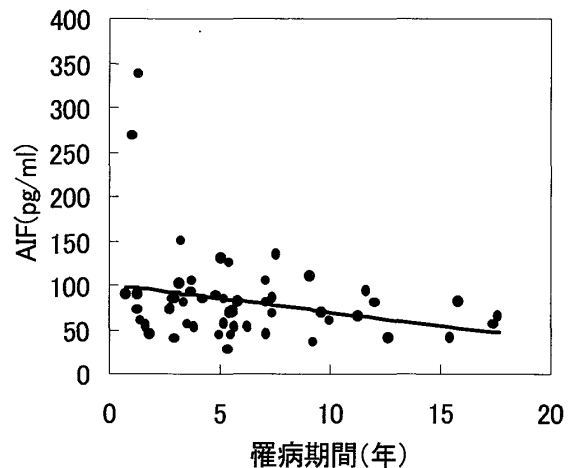


図10 IDDM患者の血清AIF濃度と罹患期間の相関

Ⅳ. 考 察

今回、ヒトの血清でのAIF濃度を測定したところ、健常者の血清AIF濃度では平均値48pg/mLであった。性差、年齢差は認められなかった。

ラットにAIFを投与した実験では、75pmol/kgを静注するとグルコースが増加し、インスリン分泌が抑制されるが、AIFの大量投与（7.5および75nmol/kg）では、グルコースに刺激されたインスリン分泌が促進され、グルコースが低下することが報告されている。このようにAIFは生体内のインスリン分泌を調節していることが示唆されている。ラットでは糖尿病の発症とともにAIFが発現することが報告されている。そこでヒトでAIFと糖尿病との関連を検討するために血清AIF濃度とグルコース濃度を測定した。両者には弱い正の相関が認められた。さらに健常者と糖尿病患者の血清AIF濃度について検討したところ、健常者と糖尿病患者の間で有意差が認められた。

IDDMではその発症に自己免疫反応が関係すると考えられている。またAIFはマウスの自己免疫性脳脊髄炎においても発現しており、自己免疫反応において何らかの役割を果たしている可能性が考えられている。そこで、IDDM患者とNIDDM患者の血清AIF濃度を比較したが、有意差は認められなかった。また、IDDM、NIDDMの鑑別に有用な抗GAD抗体と血清AIF濃度には相関は認められず、さらに抗GAD抗体陽性検体、陰性検体の血清AIF濃度の比較を行った結果、血清AIF濃度と自己抗体との関連は否定的であった。血清AIF濃度によりIDDMとNIDDMを区別することはできないと考えられた。

一方IDDM患者では血清AIF濃度は罹患期間および発症年齢と負の相関を示した。すなわち、罹患期間が短い場合、あるいは発症年齢が低い場合は、血清AIF濃度が高値を示した。

今回の検討により血清AIF濃度は糖尿病と関係することが明らかになったが、IDDM発症に関係

する自己免疫とは直接関係していないことから、病因ではなく、むしろ病態と関係していると考えられる。興味深いことに血清AIF濃度は罹患期間が短い場合や、発症年齢が低い場合に高値を示した。この意味は現在明らかではないが、今後、個人の発症年齢、罹患期間、治療方法など詳細な経過の分析を行い、明らかにしたいと考えている。

謝 辞

今回の研究にあたってご指導、また協力いただいた神戸薬科大学臨床化学研究室教授太田光熙先生、臨床化学研究室内の皆様にご心よりお礼申し上げます。

参 考 文 献

- 1) Utans, U., Arecei, R. J., Yamashita, Y., Russell, M. E.: Cloning and characterization of allograft inflammatory factor-1: a novel macrophage factor identified in rat cardiac allografts with chronic rejection. *J. Clin. Invest.*, 95, 2954-2962 (1995).
- 2) Chen, Z. W., Ahren, B., Ostenson, C.-G., Cintra, A., Bergman, T., Moller, C., Fuxe, K., Mutt, V., Jornvall, H., Efendic, S.: Identification, isolation, and characterization of daintain (allograft inflammatory factor 1), a macrophage polypeptide with effects on insulin secretion and abundantly present in the pancreas of prediabetic BB rats, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94, 13879-13884 (1997).