

論 文 要 旨

Impaired peripheral nerve regeneration in type-2 diabetic mouse model

(2型糖尿病マウスにおける末梢神経再生の遅延)

関西医科大学医化学講座

(指導：伊藤誠二 教授)

PHAM MINH VUONG

【はじめに】

糖尿病の 90%以上が 2 型糖尿病で先進国だけでなく開発途上国でも増加している。日本、中国や韓国などの東アジアでしばしばみられる非肥満型の 2 型糖尿病は、インスリン抵抗性よりインスリン分泌能の低下に起因する。糖尿病性ニューロパシーは 2 型糖尿病でよくみられる合併症の 1 つであり、末梢神経が侵される多発性ニューロパシーで手袋靴下型ニューロパシーとして知られている。糖尿病患者の 30 – 50%の患者が罹患するが、現在のところ、厳格な血糖値のコントロールと生活習慣の改善以外に有効な治療法がない。その病態生理の解明と治療法を検討するために、本研究では、糖尿病性ニューロパシーモデルマウスを作製し、医化学講座で確立した坐骨神経切断再生モデルを用いて、糖尿病の末梢神経再生に及ぼす影響を検討した。

【研究方法】

1. 糖尿病性ニューロパシーのモデルマウスの作製と性格付け

ストレプトゾトシン (STZ) 100mg/kg とニコチンアミド (NA) 240mg/kg を 2 日間の間隔で 2 回、8 週齢の C57BL/6J マウスあるいは神経組織特異的に黄色蛍光タンパクを発現する thy1-YFP マウスの腹腔内に注射し、血糖値と体重を毎週測定を行った。STZ と NA を投与した 17 週後にグルコース負荷試験、血漿インスリンの測定、膵臓、皮膚、筋肉の免疫組織染色、坐骨神経の電子顕微鏡観察、感覚神経の電気生理学的解析、行動解析を行った。

2. 2 型糖尿病モデルを用いた坐骨神経切断再生モデルの作製

グルコース負荷試験と行動解析で糖尿病性ニューロパシーの症状を確認した後、坐骨神経切断再生モデルを 2 型糖尿病マウスに適用した。末梢神経再生における糖尿病の影響と神経再生を阻害することが知られている PTEN (phosphatase and tensin homolog) の阻害剤をミニポンプで 4 週間持続的にモデルマウスに投与して、神経再生に及ぼす効果を調べた。

【結果】

1. 糖尿病ニューロパシーマウスモデル作製法の確立

高用量の STZ 単回投与では、膵ラ氏島が完全に破壊され、1 型糖尿病を発症し、血糖値の顕著な上昇、体重減少で投与後 13 週までにすべて死亡した。低用量の STZ と NA を 2 回に分けて投与することにより、投与後 8 週間目から血糖値の上昇がみられ、体重減少も起こらなかった。投与後 17 週目でグルコース負荷試験で 2 時間後の血糖値上昇、インスリン分泌能の低下、ラ氏島のインスリン含量の減少がみられた。欧米の糖尿病学会の糖尿病性ニューロパシーの 3 つの基準となる疼痛閾値の低下、感覚神経の自由神経終末の減少、電気生理学的手法による感覚神経の障害が認められたことから、糖尿病性ニューロパシーモデル (Type 2-DB 25W) の作製方法が確立できた。本研究では、Vehicle を投与した (Non-Db 25W) マウスと若い無処置 (Non-Db 10W) マウスを Type 2-DB 25W マウスの対照群として用いて性格付けを行った。

2. 糖尿病の末梢神経再生に及ぼす影響と神経再生の阻害因子の解析

Type 2-DB 25W マウスは坐骨神経切断再生モデルで、Non-Db 10W マウスと比べて 2 週間、Non-Db 25W マウスと比べて 1 週間、神経再生の遅れがみられた。また Type 2-DB 25W マウスの後根神経節で PTEN タンパクでの有意な上昇がみられたので、PTEN 阻害薬を投与すると、糖尿病モデルマウスと非糖尿病モデルマウスいずれにおいても同様の神経再生と軸索輸送の促進効果が見られた。

【考察】

本研究において低用量の STZ と NA を投与することにより 2 型糖尿病モデルと糖尿病性ニューロパシーモデルの確立に成功した。このモデルを末梢神経切断再生モデルに適用し、糖尿病により神経再生が遅延することを明らかにし、薬物の治療効果を評価した。本研究で確立した 2 型糖尿病モデルは末梢神経再生モデルと組み合わせることにより、手袋靴下型として知られている糖尿病性ニューロパシーのメカニズムの解明と治療法の開発に役立つものと考えられる。