

氏名(国籍)	わん 王	じん 浄	(中 国)
学位の種類	博 士 (医 学)		
学位記番号	博 甲 第 2410 号		
学位授与年月日	平成12年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	糖尿病モデル動物の皮膚微小循環の血流動態のバイオメカニクス		
主査	筑波大学教授	医学博士	山 田 信 博
副査	筑波大学教授	医学博士	大 塚 藤 男
副査	筑波大学助教授	医学博士	鬼 塚 正 孝
副査	筑波大学講師	医学博士	竹 越 一 博
副査	筑波大学講師	医学博士	武 井 一 夫

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

糖尿病における特異的な合併症の一つである微小循環障害は、糖尿病の発症と死亡の主因となっている。しかし、その発症と病態の進展のメカニズムはまだ明らかにされていない。糖尿病モデル動物を用いた研究報告は数多くあるものの、皮膚の血流動態に関する先行研究はほとんどなされていない。そこで、本研究では、糖尿病モデル動物の皮膚微小循環を生体顕微鏡法により可視化し、その血行動態の特徴を明らかにすることを研究の究極の目的として、二つのシリーズの実験を行った。

まず第1のシリーズの実験では、ストレプトゾトシン (STZ) の腹腔内投与により誘起したI型糖尿病モデルラット (STZ-ラット) の微小循環動態を選択的蛍光標識法を利用して、生体顕微鏡下に可視化する新しい手法を開発するとともに、特にSTZ-ラットの血液のレオロジ-特性の変化を検討することを第一の目的とし、幼年期から成体に至るまでのSTZ-ラットについて、その罹病期間および糖尿病の程度が血液のレオロジーの特性に及ぼす影響についての検討を試みた。

次に第2シリーズの実験として、糖尿病性の皮膚微小循環の障害はどのような過程によって誘起されるかを知ることが目的として、また、同一動物の同一部位で微小循環動態を経時的に観察できる新しい手法を開発するために、6週齢頃のSTZ-ラットと遺伝性II型糖尿病モデル動物であるGK (Goto-Kakizaki) (GK-ラット) ラットを用いて24週齢に至るまでの毛細血管を中心とする微小血管内の血流速度、血管内径および血管新生と血管喪失の過程を含む微小血管網の構築の変化などについて検討した。

(対象と方法)

Wistar系ラット、STZ惹起I型糖尿病モデルラット (STZ-ラット) と遺伝性I型GK-ラットを用い、2つのシリーズの実験を行った。

趾部皮膚微小循環の可視化には、リアルタイム共焦点レーザ走査型顕微鏡を中心とする生体顕微鏡システムを用い、選択的蛍光標識法により、白血球と赤血球の挙動および微小血管のネットワークを可視化した。可視化された微小血管画像のオフラインの解析により、蛍光標識した血球の移動方向、血球の流速と血管の内径などから、

終末細動脈，動脈性毛細血管，真性毛細血管と細静脈を同定した。また血球の流速は，標識された血球の移動距離を frame-by-frame に計測して求めた。更に血液のレオロジー的特性を円錐-平板型回転粘度計を用いて測定した。

以上の方法により，幼年期から成長期にある実験動物において，生理的な成長状態下と糖尿病の進行に伴う，血管新生や血管喪失過程を含む微小循環系の動態に関する様々な定量的な情報が得られ，これらの経時的な変化を比較することによって，糖尿病性微小循環の動態を特徴づけることを試みた。

(結果と考察)

共焦点レーザ走査型顕微鏡と蛍光トレーサーの併用により，ラットの趾部皮膚血管を可視化して，かつ長期間にわたる同一個体の皮膚微小循環の変化を追うことができた。

STZ-ラットを用いた第1のシリーズの実験における，糖尿病性血液のレオロジー的特性の検討結果からは，STZ投与開始後，STZ-ラットの血液ヘモグロビン，ヘマトクリットおよび全血液粘度はいったん低下し，その後，罹病期間の増加と共に，いずれの値もわずかに増加する傾向が認められた。STZ-ラットの血漿粘度はやや増加の傾向を示し，そして糖尿病の重症度ならびに罹病期間の増加と共にさらに増加する傾向を示した。若年のSTZ-ラットでの平均血圧は低下し，罹病期間が長くなると増加する傾向があった。成体STZ-ラットの平均血圧は低下する傾向が認められた。心拍数はDMの重症度ならびに罹病期間の長さと共にさらに低下する傾向が認められた。

第2のシリーズの実験の結果からは，コントロールのラットの血管内径と血管長あるいは血管密度は12, 14週齢頃で最高値を示し，24週齢以後に，身体が成長するにも拘らずに，その血管長が逆に12～14週齢より減少した。細動・静脈の赤血球速度は，6週齢での最高値から減少した。真の毛細血管の赤血球速度は12, 14週齢頃で最高値を示した。すなわち，血管の内径および血管長の経時変化と一致したことが分かった。赤血球速度の経時変化は，血管の種類によって，異なることが示唆された。

糖尿病群の二つのグループ (STZ-ラット, GK-ラット) のラットの血管長では，コントロールに比べ，加齢に従って増加の程度が低く，さらに，より早期の12週齢以後に徐々に減少し，罹病18, 24週間でのすべての新生血管が徐々に血管喪失の状態になったことが認められた。遺伝性II型糖尿病モデル動物であるGK-ラットの血管の枝分かれが少なく，ほぼ同程度の罹病期間のSTZ-ラットより血管密度の低いことが分かった。STZ-ラットとGK-ラットとの微小血管，特に毛細血管と細静脈の内径の経時変化は一致したが，コントロールと全く異なった罹病8～12週間 (12～14週齢) で，最低値を示した。STZ-ラットの終末細動脈の赤血球速度は，いずれの時点で有意差がないやや増加する傾向が認められた。GK-ラットのいずれの微小血管の赤血球速度は，コントロールおよびSTZ-ラットより，いずれの時点で有意差がないやや増加する傾向が認められた。また麻酔状態下のラット皮膚の各種類の微小血管内に白血球と赤血球がローリングし，血流をブロックすることが見られた。

加齢あるいは罹病期間に伴って，微小血管の種類による血流速度の経時変化が存在していること，糖尿病動物の皮膚微小循環の変化は，正常なラットと異なることおよび，I型糖尿病モデルSTZ-ラットと遺伝性II型糖尿病モデルGK-ラットとの微小循環動態の異なる点が初めて示唆された。以上の研究の結果，糖尿病の発症と進展には，バイオメカニクスの要因が深く関わっていることが示唆された。

審 査 の 結 果 の 要 旨

糖尿病性微小循環障害において，バイオメカニクスな因子が，深く関与するということは広く認識されつつあるところである。本論文では，共焦点レーザ走査型顕微鏡と蛍光トレーサーの併用により，長期間にわたる同一個体の皮膚微小循環の変化を追跡できる手法を開発することと，いくつかの新知見を得ることに成功した。研究対象はストレプトゾトシン (STZ) 惹起したI型糖尿病モデルSTZ-ラットや，遺伝性のII型糖尿病GK-ラッ

トの毛細血管を中心とする多種類の微小血管と多岐にわたっているが、結果は加齢あるいは罹病期間に伴って、糖尿病動物の皮膚微小循環の変化は、正常なラットと異なることおよび、STZ-ラットとGK-ラットとの異なる点、一致する点が示されている。これらの成果は糖尿病性血管病変の成因に、壁張り応力などのバイオメカニクスな因子が、深く関与することを示唆するもので、きわめて重要な研究領域（糖尿病の診断と治療などのための各種の薬理学的、生理学的研究）に発展する可能性を秘めていると示唆するものであり、博士（医学）論文として十分であると思われる。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。