

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 関根 有美
学位 博士 (医学)
学位記番号 新大院博 (医) 第 578 号
学位授与の日付 平成 26 年 3 月 24 日
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名 I 型糖尿病モデルマウスの脳小血管における周皮細胞被覆率の低下

論文審査委員 主査 教授 高橋 均
副査 教授 柿田 明美
副査 教授 西澤 正豊

博士論文の要旨

【背景】糖尿病は、糖尿病性網膜症や糖尿病性腎症、糖尿病性神経障害を引き起こす。この病態機序の背景には、血液臓器関門機能の障害がある。一般に血液臓器関門は、内皮細胞、それを取り囲む周皮細胞、グリア細胞により構成される。周皮細胞は、血管内皮細胞との接着により刺激され、アンジオポエチン 1 を分泌する。内皮細胞は、アンジオポエチン 1 の刺激により血小板由来増殖因子 β を分泌する。これらの分泌が周皮細胞と血管内皮細胞の生存と機能の維持に働く。しかし、周皮細胞の障害により、この相互の機能維持機構が破綻し、血液臓器関門の障害が引き起こされる。糖尿病モデルマウスの網膜小血管では、周皮細胞の障害が早期の指標とされる。この周皮細胞の喪失により、内皮細胞の障害および血液脳関門の障害を来す。糖尿病性神経障害については、これまで主に末梢神経について研究が進められてきた。末梢神経においても、高血糖下での周皮細胞の障害による血液神経関門障害が病態に深く関与している。一方、糖尿病は、疫学的に、認知症やアルツハイマー病の発症リスクとなる。このことから、糖尿病では中枢の小血管関門機能も障害されることが推測される。しかし、糖尿病が中枢の小血管障害を引き起こすか、特に、周皮細胞の障害の有無についての研究は進んでいない。本研究では、1 型糖尿病モデルマウスを用い、脳小血管障害の有無について、周皮細胞や内皮細胞の形態学的変化、血液脳関門の障害、ミクログリアの活性化の側面から、定量的に検討した。【方法】ストレプトゾトシンの腹腔内投与により、1 型糖尿病モデルマウスを作成し、1 か月後に脳標本を作製し、免疫蛍光染色を行った。大脳皮質・海馬・線条体の 3 部位でレーザー共焦点顕微鏡により画像を取得し、3 次元画像を構築して定量解析を行った。周皮細胞については、小血管内皮細胞 (レクチン陽性領域) を取り囲む周皮細胞 (CD13 陽性領域) の体積比率 (周皮細胞被覆率) を算出し、対照群と比較した。血管内皮細胞については、内皮細胞の形態学的変化を観察し、内皮細胞の体積 (PECAM-1 陽性領域) を測定し、対照群と比較した。血液脳関門の機能障害については、小血管壁に沈着したフィブリン陽性領域の体積を測定し、対照群と比較した。ミクログリアの活性化については、Iba-1 陽性ミクログリアの一細胞当たりの体積を算出し対照群と比較した。【結果】周皮細胞の被覆率は、糖尿病モデルマウスの大脳皮質と海馬において、対照群に比べて有意に低下していた。内皮細胞の変化は、大脳皮質においてのみ、血管壁の不整や血管長の短縮を認め、脳小血管の密度は対照群に比して低下していた。血液脳関門の障害としては、糖尿病モデルマウスの大脳皮質と海馬において、フィブリ

ノゲンの血管壁への沈着を認めた。活性化ミクログリアの肥大化は、糖尿病モデルマウスの大脳皮質においてのみ認められたが、対照群と比べて単位体積当たり存在する活性化ミクログリアの数に差は認めなかった。線条体では、いずれの変化も認めなかった。【考察】本研究では、1型糖尿病モデルマウスにて、脳小血管で、周皮細胞の被覆率が低下し、血液脳関門機能が障害されることを示した。本研究では、形態的に内皮細胞の障害を認めず、周皮細胞の被覆率の低下のみを認めた海馬の脳小血管においても、フィブリノゲンの沈着を認めた。フィブリノゲン等の血漿タンパクの血管壁への沈着は、一般に血液脳関門の障害の初期病変と考えられている。このことから申請者は、周皮細胞の障害のみで血液脳関門機能が障害されると考えた。糖尿病モデルマウスの網膜小血管の障害でも早期に周皮細胞が喪失することから、周皮細胞の障害は、高血糖による小血管障害の普遍的な機序である可能性がある。検索した部位の中では、大脳皮質の小血管が最も障害されやすく、線条体が最も抵抗性が高かった。脳小血管は、部位により構成細胞の起源、分子生物学的性格に多様性がある。申請者は、これらの多様性が高血糖に対する脆弱性の違いをもたらしている可能性を考えた。【結論】本研究では、1型糖尿病モデルマウスの大脳小血管において、周皮細胞被覆率の低下が早期に生じること、血液脳関門の透過性が亢進することを示した。また、その反応が部位により異なり、脳の小血管が高血糖に対する脆弱性に多様性を示すことを示した。高血糖により周皮細胞の障害が起こるメカニズムの解明は、糖尿病の合併症に対する新たな治療標的に繋がると考えられる。

審査結果の要旨

糖尿病は網膜や末梢神経で血液組織関門を障害し、その原因に周皮細胞の障害が示唆される。糖尿病は認知症の危険因子であり、中枢神経の障害も推測される。これまで、周皮細胞の喪失のみによる血液脳関門の障害と、培養細胞で高血糖下における周皮細胞の障害が報告されている。申請者は、ストレプトゾトシンの投与によるI型糖尿病モデルマウスを用いて、脳小血管障害の有無を免疫組織化学的に検討した。方法として、実際の脳小血管における周皮細胞の障害、血漿蛋白の血管壁への沈着、内皮細胞の障害とミクログリアの活性化を定量的に評価した。その結果、大脳皮質では全ての病理学的変化を認め、海馬では周皮細胞被覆率の低下と血漿蛋白の沈着を認めたが、線条体ではいずれの変化も認めなかった。申請者は、I型糖尿病モデルマウスの大脳で、周皮細胞被覆率の低下が早期に生じ、内皮細胞が変性し、血液脳関門の障害を示した。部位による脆弱性の相違は、脳小血管の多様性を示唆した。

以上、高血糖により周皮細胞の喪失する機序の解明は、糖尿病の合併症の治療標的に繋がる研究成果であり、学位論文としての価値を認めた。