



自然発症糖尿病マウスの筋障害に関する組織化学および電顕的観察

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード: 作成者: 渡辺, 勝典 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1382

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 105号	学位授与年月日	平成 3年 9月 6日
氏名	渡辺勝典		
論文題目	自然発症糖尿病マウスの筋障害に関する組織化学および電顕的観察		

医学博士 渡辺 勝典
論文題目

自然発症糖尿病マウスの筋障害に関する組織化学および電顕的観察

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

糖尿病における筋障害や神経障害は、日常臨床上しばしば遭遇する。糖尿病患者における筋萎縮が、リハビリテーションに大きな障壁となることは稀でない。ヒトの糖尿病における骨格筋の障害は、これまでに多くの報告をみる。一方実験動物においては、同一条件のもとで組織化学や電顕的手法を用いてタイプ別に筋線維を観察した報告は少数あるものの、経時的变化を報告したものはみられない。従来のヒトや動物における筋の病理所見に加えて、タイプ別筋線維の経時的变化を検索することは、糖尿病下にある筋線維萎縮の経時的变化を把握できることであり、糖尿病において筋の回復を目標とする場合の基礎的知見になり、また筋萎縮の成因に関しても、少なからず示唆することが可能であると思われるため、本実験を行った。

〔材料と方法〕

自然発症糖尿病マウスである non-obese diabetic (NOD) mouse の雌で、糖尿病発症後 1、3、6、9 週群を各々 7 匹と、同系同性で糖尿病未発症のものを対照群として 21 匹計 49 匹を使用した。各々のマウスにつき体重測定後、エーテル麻酔下に両肢より腓腹筋とヒラメ筋を一塊として採取し、一側は組織化学に、他の一側は電顕に供した。組織化学用の材料は固定後、凍結切片を作成し Sudan black B で染色して検鏡と写真撮影に供した。筋線維の観察と筋横断面積、筋線維総数、筋線維構成、筋線維直径の測定、ヒストグラムの作成を行った。電顕用は腓腹筋とヒラメ筋に分離し、型の如く固定、脱水、包埋を行い、超薄切片を作成して二重染色後、カーボン蒸着を行った。ヒラメ筋を赤筋線維と中間型線維、そして腓腹筋外側頭の浅層を白筋線維の標本として、観察、写真撮影を行った。

〔結果と考察〕

光顕上では糖尿病の進行に伴い、筋の横断面積は減少するも、筋線維総数は不変で、筋線維構成には一定の傾向をみなかった。筋線維直径は罹病期間が長くなるにつれて減少していくが、白筋線維の直径は減少が急速であり、一方中間型線維は減少が緩徐であった。これらは、糖尿病マウスの筋の縮小が筋線維直径の減少に由来するものであり、白筋線維に強く出現したことを示している。一方白筋線維の電顕的観察では、3 週群の糖尿病マウスで single fiber atrophy に類した。6 週以降では著しい筋原線維の縮小、筋原線維間の開大、myofilament の粗鬆化および配列異常が出現した。さらに 9 週群では全例で glycogen 顆粒が増加している等、筋原線維を主体として障害がみられた。赤筋線維と中間型線維では、光顕上ミトコンドリアの機能低下を意味する sudan 色素の染色性低下がみられた。これは罹病期間が長くなるにつれて赤筋線維で特に著明であった。電顕的観察では 6 週以降で、これらの 2 線維に筋原線維の縮小はみられるが、白筋線維ほど著しくなかった。6 週以降、ミトコンドリアは数は増加し拡大しているものの、内膜クリステが粗となっていたり消失している等、ミトコンドリアの構造異常を認めた。NOD マウスでは筋病変の場合および病変の程度は筋線維の種類によって異なっており、白筋線維では主に筋原線維であり、他の 2 線維とりわけ赤筋線維では主にミトコンドリアであった。3 種類の筋線維に対して、量的および質的に異なった形態変化が出現したのは、糖代謝や脂質代謝等の代謝異常と神経障害が、3 種の筋線維に対して異なる作用を及ぼしたためと考察した。一方、従来より報告されていた毛細血管基底膜の肥厚は認めず、NOD マウスでは筋障害に関して血管性因子はないものと考えた。

論文審査の結果の要旨

筋障害は糖尿病臨床における重要課題の一つである。ヒト糖尿病の筋萎縮には様々な因子が関与している可能性があり、糖尿病患者の萎縮が筋原性か神経性かはなお確認を要する問題である。したがって、適当なモデル動物においてタイプ別筋線維の変化を経時的に観察することは有意義と考えられるが、このような報告はなされていない。このような見地から申請者は自然発症糖尿病モデル動物 NOD (non-obese diabetic)

マウスの腓腹筋（内側頭及び外側頭）およびヒラメ筋の変化を糖尿病発症後1週から9週にわたり、組織学的計測、ズダン黒を用いた組織化学および電顕的観察により検討した。

本研究においてえられた主なる結果およびその特徴は以下のごとくである。

1. 糖尿病発症後3週から白筋線維、中間型線維、赤筋のいずれにも漸次増強する萎縮が現れた。
2. 萎縮の進行は3型の筋線維のうち、白筋線維にもっとも急速であり、中間型線維にもっとも緩徐であった。
3. 白筋線維の変化は電顕的に筋原線維および筋フィラメントの萎縮性所見を基本とし、初期には単線維性萎縮 (single fiber atrophy) の形をとり、末期には萎縮が全線維に及びかつグリコーゲン蓄積を示した。
4. 中間型線維および赤筋線維では筋原線維・筋フィラメントの変化は軽微であり、白筋線維よりも高度なミトコンドリアの腫脹・クリステの疎化およびズダン黒染色性の低下を特徴とした。
5. このような所見にもとずき、白筋線維の変化には解糖系の抑制に加えるに神経性萎縮の関与が、赤筋線維および中間型線維の変化にはミトコンドリア内エネルギー生成障害の関与が、主な要因であると推定した。

審査委員会では本論文の内容に関連して、

1. ズダン黒染色を筋型決定に用いた理由およびその妥当性
2. 白筋線維の変化に神経性萎縮の関与があると考えた根拠は充分か
3. NOD マウスの末梢神経病変について
4. 末期にマウスが自発運動を止める原因として神経性、筋性いずれが優位か
5. 筋萎縮がマウスの自発運動停止に続発する可能性はないか
6. 筋病変の過程で、筋線維の型が変換する可能性はないか
7. インスリンによる回復実験を行う必要はないか
8. 対照動物の体重変化を実験動物にあわせるべきではないか

などについて質疑があった。

これらに対する申請者の回答はおおむね適切であり、本論文は糖尿病性筋障害の病理学および臨床に対する基礎的意義を持つものとして評価された。

以上により本審査委員会は、本論文は医学博士の学位授与に値する内容を備えているものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	白澤春之			
	副査	教授	井上哲郎	副査	教授	吉見輝也
	副査	助教授	西村正彦	副査	講師	杉江秀夫