

Changes in Platelet Aggregation in Whole Blood,
Plasma and Washed Platelets in
Streptozotocin-induced Diabetic Rats:
Time-dependent Change in the Antiaggregatory
Activity of Diabetic Rat Plasma

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 和田, 孝一郎 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1011

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	医博第 158号	学位授与年月日	平成 6年 3月25日
氏名	和田 孝一郎		
論文題目	<p>Changes in Platelet Aggregation in Whole Blood, Plasma and Washed Platelets in Streptozotocin - induced Diabetic Rats : Time - dependent Change in the Antiaggregatory Activity of Diabetic Rat Plasma (ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける全血血小板、多血小板血漿および洗浄血小板凝集能の変化：糖尿病ラット血漿の抗凝集活性の経時的変化)</p>		

医学博士 和田 孝一郎

論文題目

Changes in platelet Aggregation in Whole Blood, Plasma and Washed Platelets in Streptozotocin-induced Diabetic Rats: Time-dependent Change in the Antiaggregatory Activity of Diabetic Rat Plasma.

(ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける全血血小板、多血小板血漿および洗浄血小板凝集能の変化：糖尿病ラット血漿の抗凝集活性の経時的変化)

論文の内容の要旨

目的：

糖尿病における心血管障害に血小板凝集能の亢進が関与していることが示唆されており、これまでにこれに関する多くの臨床的、実験的報告がなされている。しかしながら、我々は、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおいて、血小板自体の凝集能が亢進していたにもかかわらず、全血血小板および多血小板血漿（PRP）における血小板凝集能が低下していることを認めた。本研究では、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける、測定法の違いによる血小板凝集能の変化をもとに、糖尿病ラット血漿の抗凝集活性の経時的変化とその機序について検討を加えた。

方法：

糖尿病ラットの作製は、ウィスター系雄性ラット（10週、230-250g）にストレプトゾトシン（STZ）35mg/kgを静脈内投与して糖尿病を誘発した後、経時的に採血し実験を行った。血小板凝集能の測定においては、惹起物質としてコラーゲンを用い、洗浄血小板およびPRPを調製し比濁法にて凝集能を測定した。また、全血血小板凝集能はインピーダンス法にて測定を行った。さらに、糖尿病ラット血漿の抗凝集作用を検討するために、正常ラット洗浄血小板を調製した後、糖尿病ラット（2、8、12週）および対照ラットの血漿中に再懸濁して、PRP凝集を測定した。

結果：

STZ投与48時間以降で、血糖値は平均450mg/dlと対照群（平均185mg/dl）に比べて有意に増加した。全血血小板、PRPにおける凝集能は、STZ投与後1～2週から8週まで対照群に比べ有意に低下していたが、12週より凝集能の回復傾向が認められ、16週以降では対照群と同程度まで回復していた。一方、洗浄血小板凝集能はSTZ投与後4週より漸増増加し、8週以降では対照群に比べ有意に亢進していた。同一正常ラットの血小板を用いて、糖尿病ラットおよび対照ラット血漿中における凝集能を検討した結果、2および8週の糖尿病ラット血漿中では、対照ラット血漿中に比べ有意に凝集が抑制されていたが、12週の糖尿病および対照ラット血漿中における凝集には差は認められなかった。なお、インスリン処置糖尿病ラットでは、いずれの方法においても血小板凝集能は対照群と差はなかった。血中の血小板凝集抑制物質であるアデノシンの分解酵素処置、および活性酸素消去剤処置では、糖尿病ラット血漿の凝集抑制作用は消失しなかった。

結論：

糖尿病ラットにおいて、血小板自体の凝集能が亢進していたにもかかわらず、全血血小板、PRPの凝集能はSTZ投与後1～8週まで有意に低下していたことより、この凝集能低下の原因は血漿にあると考えられた。さらに、正常ラット血小板を糖尿病ラット血漿中に再懸濁して凝集能を測定した結果、2、8週の糖尿病ラット血漿中では凝集が有意に抑制されたが、12週では凝集能の抑制は認められなかつ

た。これらの結果から、糖尿病ラットにおいては、糖尿病発症の比較的早い時期に血漿中に何らかの凝集抑制物質が存在し、12週以降ではその活性が減弱する可能性が示唆された。また、これらの作用は、いずれもインスリン処置により回復することより、インスリン依存性の糖尿病状態により誘引される現象と考えられる。さらに、この糖尿病ラット血漿中の凝集抑制活性は、アデノシン、活性酸素種といった既知の凝集抑制物質によるのではなく、未知の新規物質が存在する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

糖尿病の血管合併症の発症に血小板凝集能の亢進による血栓形成が関与していることは広く知られている。申請者らは糖尿病ラットについて *in vivo* において血栓形成実験を行なっている際に、糖尿病発症初期には却って血栓形成が遅れることに気付いた。そこで、申請者はウイスター系雄性ラットにストレプトゾトシン (STZ) を投与し糖尿病を誘発させ、経時的 (2、4、8、12、16週) に採血してその洗浄血小板、多血小板血漿 (PRP) および全血血小板凝集能を測定した。さらに糖尿病誘発ラットの血漿中に正常ラット血小板を加えて PRP 凝集を測定した。

その結果次のことが明らかとなった。

- ① STZ 誘発糖尿病ラットでは糖尿病発症 1～8 週に於て血小板自身の凝集能は亢進しているにもかかわらず、血漿中に凝集活性抑制物質が存在するために全血および PRP では血小板凝集活性が低下する。
- ② インスリン治療によりこれらの異常は改善する。
- ③ 12週を過ぎると凝集活性の抑制は消失する。
- ④ adenosine deaminase, superoxide dismutase, catalase を添加しても影響がないので、この物質は adenosine や活性酸素種などの既知の凝集抑制物質ではない。
- ⑤ 糖尿病ラットの血漿中においては、collagen 刺激による血小板内 Ca^{2+} 動員が少ないので、この未知の物質は Ca^{2+} の動員に関与している可能性がある。

本研究で明らかになった糖尿病ラット血漿中の血小板凝集抑制活性は、未知の新しい物質が存在する可能性もあり、今後その性状の解明が期待される。

本論文は審査の過程で次のような質疑が行なわれた。

- 1) 誘発糖尿病ラットの発症と病状の経過
- 2) 採血に用いた抗凝固剤の種類と実験結果への影響
- 3) インスリン、糖の測定系への直接作用
- 4) 血漿中 Ca^{2+} 濃度、添加 Ca^{2+} と測定系の関係
- 5) PRP、全血、洗浄血小板を用いた理由
- 6) コラーゲン以外の凝集刺激物質の効果
- 7) 血漿中の凝固促進物質の影響
- 8) 糖尿病と血小板機能
- 9) urinary trypsin inhibitor との関係
- 10) 尿中血小板凝集抑制活性
- 11) 糖尿病にみられる LDL、血清粘度、血球変形能の変化の影響
- 12) 研究の目標と臨床応用の可能性

以上の質問に対する申請者の解答は明確であり、本論文が博士 (医学) の学位授与に値する内容を備

えていると全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	吉見輝也						
	副査	教授	大野龍三	副査	教授	寺尾俊彦			
	副査	助教授	浦野哲盟	副査	助教授	西村正彦			