

氏名(本籍) さい 齋 とう 藤 かず 和 こ 子

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 第 2 2 2 3 号

学位授与年月日 平成 2 年 2 月 28 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

最終学歴 昭和 50 年 3 月
東北大学医学部医学科卒業

学位論文題目 糖尿病性細小血管症の発症と予後に関する好中球
コラゲナーゼ活性の意義

(主 査)

論文審査委員 教授 吉 永 馨 教授 豊 田 隆 謙

教授 林 則 夫

論 文 内 容 要 旨

(目 的)

糖尿病性細小血管症では基底膜の肥厚が特異的であり、その主要成分であるコラーゲンの生合成が亢進していると報告されているが、分解に関しては良く知られていない。糖尿病でコラーゲンの分解が低下しているとすれば、生合成とのバランスが崩れ、基底膜の肥厚に関連すると考えられる。そこで我々は、好中球コラーゲナーゼ活性を測定し、糖尿病性網膜症および腎症との関係について調べ、それが合併症の長期予後の指標となり得るかどうかについて検討した。

(対象および方法)

対象は糖尿病患者35名(51.2±13.7歳)と対照25名(39.8±10.0歳)であった。糖尿病患者を3群に分けた。Group Iは糖尿病性網膜症および腎症の無い症例、Group IIはどちらかを有する症例、Group IIIは両者を有する症例である。糖尿病性網膜症は眼科医の診断により、また、尿沈渣で尿路感染症の所見のない間歇性蛋白尿や持続性蛋白尿を示す時を糖尿病性腎症とした。ヘパリン採血した末梢血より顆粒球分画を得、その塗抹標本では95-97%が好中球であった。顆粒球数を算出後Chodirkerらの方法に従い細胞膜を破壊し、遠心後その沈殿物の凍結、融解を反復し、さらに遠心しその上清を酵素画分とした。コラーゲナーゼ活性の測定はDNP-ペプチド(DNP-Pro-Gln-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln-D-Arg-OH) 50 nmolに100 μlの酵素画分を加え、14時間インキュベーションした後、加水分解されたDNP-ペプチドを酢酸エタノール-n-ブタノールで抽出し、365 nmにおける吸光度を測定した。加水分解されたペプチド量(HP)を常用対数変換した後に統計学的分析をした。

(結 果)

HPは基質量を2.5から50 nmolに変化させた際の 5×10^4 、 2.5×10^5 および 1×10^6 個の酵素画分ではほぼ直線的に増加した。また、顆粒球 5×10^4 から 1×10^6 個の酵素画分を用いた経時的反応では、HPは全てにおいて14時間で頂値に達した。酵素活性は10分間の煮沸で失活し、また反応系に血清を加えると抑制され、対照例の血清で 34.5 ± 8.4 、糖尿病患者血清では 31.5 ± 3.8 %抑制された。HPは糖尿病例で対照よりやや低値を示したが、有意差はなかった。糖尿病の3群でのHPは、Group IIIで他の2群に比し低値を示したが、有意差はなかった。対照例でのHPと年齢との間には 2.5×10^5 個以上で $P < 0.05$ の有意な負の相関を認めた。糖尿病例ではHPと糖尿病の罹病期間、年齢、HbA_{1c}、空腹時血糖、血圧およびbody mass indexとの間には有意な相関は認

めなかった。6～7年後の追跡調査での死亡例はGroup IIで1名、Group IIIで5名でGroup IIの2名は追跡調査不能であった。Group Iで糖尿病性網膜症または腎症を発症した例は6名で、未発症例は8名であり、死亡例と調査不能例を除いたGroup IIとIIIでの合併症の増悪例は7名、非増悪例は6名であった。これらの症例での酵素活性測定時と追跡調査期間中のHbA₁は有意差はなかった。糖尿病例における合併症の非進展例と進展例の顆粒球 5×10^4 個当たりのHPは、進展例で有意の低値を示した($P < 0.05$)。顆粒球 5×10^4 個当たりのHPが正常範囲内(対照の平均 ± 2 SD)の群とそれ未満の群に分けて、合併症の進展の頻度を検討したところ、HP低値群で進展率が有意に高かった($\chi^2 = 4.45$, $P < 0.05$)。HP低値群の7名のうち3名はGroup Iの症例で全例糖尿病性網膜症あるいは腎症の発症を見ている。他の3名はGroup IIとIIIの症例で、全例で増殖性網膜症に進展し、また腎症が発症あるいは増悪し血液透析を受けるに至った。これらの症例では酵素活性測定時と追跡調査期間中のHbA₁や血圧には有意差はなかった。残りの1名はGroup Iの症例で合併症は進展していないが、他の6例に比し罹病期間が非常に短く、今後の経過観察が必要である。

(考察および結論)

Uittoらはヒト白血球の中性プロテアーゼが基底膜コラーゲンを分解することを示し、また、近年ヒト好中球ゼラチナーゼが腎糸球体基底膜の分解に関与することやヒト好中球エラスターゼが、未変性のIV型プロコラーゲンを変性することが報告され、好中球が生体内でのコラーゲンの分解に重要な役割を果たしていると考えられている。我々の結果では、顆粒球のコラゲナーゼ活性は糖尿病例で対照よりやや低値を示したが有意差はなかった。糖尿病性網膜症や腎症と酵素活性には有意差はなく、また酵素活性と罹病期間、年齢、HbA₁、body mass index、血圧との有意な相関はなかった。しかし、酵素活性の低値群で合併症の進展率が有意に高かった。以上より、好中球コラゲナーゼ活性の低下は糖尿病性細小血管症の発症および増悪に関与していると考えられ、また、好中球コラゲナーゼ活性は、糖尿病性細小血管症の予後の指標となり得ると考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

糖尿病は、社会の富裕化に伴い、本邦において急増している疾患である。本症は血管障害を伴い、これが脳、心、腎、その他の臓器障害をひき起し、患者の生命を縮めている。血管障害は、太い動脈では粥状硬化の形をとるが細動脈領域では、基底膜肥厚を主病変とした特有の変化を示す。

細小動脈の基底膜はコラーゲンを主成分とする。糖尿病ではコラーゲンの生合成と分解との間にアンバランスが生じ、合成が分解を上廻って膜の肥厚が生じると考えられる。流血中の好中球はコラゲナーゼ活性を有し、基底膜コラーゲンの分解に関与するとされている。そこで齊藤和子は、好中球コラゲナーゼ活性と糖尿病性網膜症と糖尿病性腎症との相関を分析し、糖尿病におけるコラーゲン代謝の異常を解明しようとした。

糖尿病患者35名を研究対象に選んだ。症例を3群に分けた。I群は細小血管障害を有さぬ者、II群は網膜症または腎症のいずれかを有する者、III群はその両方を有する者である。

コラゲナーゼ活性はDNPペプチド (DNP-Pro-Gln-Ile-Ala-Gly-Gln-D-Arg-OH) 分解能で測定した。

好中球コラゲナーゼ活性は、糖尿病例で対照よりやや低値を示したが、有意差ではなかった。糖尿病の3群では、第III群で他の2群より低い値が得られたが、統計学的には有意ではなかった。正常者における好中球コラゲナーゼ活性は、年齢と負の相関を示した。糖尿病例では、好中球コラゲナーゼ活性は糖尿病の罹病期間、年齢、HbA_{1c}、空腹時血糖、血圧および肥満度との間に有意な相関は見られなかった。

6～7年経過を追求し得た例で検討すると、糖尿病合併症の進展した例では、非進展例に比して、好中球コラゲナーゼ活性は有意に低かった。合併症の進展の頻度を検討すると、好中球コラゲナーゼ活性の低い群で進展率が高かった。好中球コラゲナーゼ低値群7名のうち第I群に3名いたが、これら3例はすべて網膜症または腎症を発症している。

以上より、好中球コラゲナーゼ活性の低下は、糖尿病性細小血管症の発症および増悪に関与していると考えられ、またこの活性は、糖尿病性細小血管症の予後を示す指標となると思われる。

齊藤和子のこの研究は、糖尿病性血管症の成因および予後判定に関して新しい知見を加えたものであり、糖尿病の臨床に一つの進歩をもたらしたものである。よってこの研究は学位にあたいするものと認める。