

氏名・(本籍)	平居昭紀(滋賀県)
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	博士第336号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成12年3月27日
学位論文題目	Evaluation of diabetic neuropathy through the quantitation of cutaneous nerves (皮膚神経の定量的解析による糖尿病性神経障害の評価)

審査委員	主査 教授	上原正己
	副査 教授	今本喜久子
	副査 教授	吉川隆一

論文内容の要旨

【目的】

糖尿病性神経障害では早期から無髄線維を含む小径感覚神経が障害を受けやすいことが知られており、皮膚生検標本で観察される神経の多くが無髄線維であることを考慮すると皮膚生検による皮膚神経の形態の評価は有意義であると考えられる。一方、近年赤血球アルドース還元酵素 (AR) 量の測定が可能になり、合併症との関係が注目されている。そこで糖尿病患者の皮膚神経を定量的に解析するために免疫組織標本を共焦点レーザー顕微鏡で形態計測し、その有用性を検討するとともに、赤血球 AR 量との関係について検討した。

【方法】

対象：健常対照者12名および、インスリン非依存型糖尿病患者32名。糖尿病患者群の罹病期間の平均は14年、HbA_{1c}の平均は8.2%であった。単純性網膜症以上が47%以上の患者で、一日尿アルブミン20mg以上の排泄が34%の患者で観察された。糖尿病患者は Dyck の基準に準拠して、症状、理学所見、神経機能検査から糖尿病性 distal polyneuropathy と臨床診断した。大量の飲酒歴、糖尿病性神経障害以外の神経疾患、尿毒症、血管病変、皮膚疾患を有する患者は除外した。健常対照者は診察により末梢神経障害がないことを確認した。年齢の一致した健常対照者は診察により末梢神経障害がないことを確認した。神経機能検査：神経機能検査は皮膚神経との臨床病理相関を調べる目的で、神経伝導検査、振動覚 (C128)、Semmes-Weinstein monofilament による触圧覚検査、および発汗検査を行い皮膚神経と比較検討した。皮膚生検：腓腹神経支配領域の腓腹部皮膚から5mm径のパンチ生検を行った。検体採取後、すぐに2%parahomaldehydeで固定を行った。免疫組織化学：2%paraformaldehydeで16時間浸潤固定後、40μmの厚さにcryocutし浮遊切片を作成した。皮膚神経を軸索のマーカである抗PGP9.5抗体により標識し diaminobentidine 発色標本と、FITC による蛍光発色標本とを作成した。定量的評価：diaminobentidine で発色した標本から、表皮の神経を Griffin らの方法に基づき、真皮から表皮へ進入する神経の本数を数えた。3切片以上の標本から得られた数を表皮の長さに対する相対値として算出した。一方、蛍光発色標本は、40μmの切片を共焦点レーザー顕微鏡を用いて2μm間隔の異なる深度から得られた20切片をコンピューターに取り込みそれぞれ2次元投射して合成した画像から観察および神経長の計測を行った。ランダムに得られた6視野から表皮、真皮神経長を画像解析装置にて計測した。汗腺周囲神経長は共焦点レーザー顕微鏡により得られた汗腺を含む一定面積の画像を取り込み計測を行った。赤血球 AR 量：糖尿病患者群の赤血球 AR 量は ELISA 法により測定を行った。

【結果】

表皮神経数は、健常者群に比べ糖尿病患者群では、有意に減少していた。神経長は、表皮、真皮、汗腺周囲ともに健常対照者に比べ糖尿病群で有意に減少していた。糖尿病群の表皮神経長と真皮神経長の間には有意な相関が認められた。一部の糖尿病患者では真皮神経長の減少に比べ表皮神経長が著しく短縮していた。神経機能検査との関係では、真皮神経長と腓腹神経伝導速度との間には有

意な相関を認めた。しかし、神経長とその他の神経機能検査との相関は明らかではなかった。糖尿病患者群の赤血球 AR 量と皮膚神経長との関係は、外来通院中の糖尿病患者、555人の平均値を基準とし赤血球 AR 量の高値群と低値群の2群に分けて検討したところ高値群では低値群に比べ真皮神経長は有意に短縮していた。表皮神経においては差は認められなかった。また、高値群と低値群の2群間で年齢、病歴、血糖コントロールの差異は認められなかった。

【考 察】

糖尿病性神経障害の形態学的評価としての皮膚生検の有用性は我々を含めこれまでに数多く報告されているが、定量性に問題があった。今回我々の用いた共焦点レーザー顕微鏡を用いた定量的評価法は定量性および再現性に優れており、糖尿病患者の皮膚神経が表皮、真皮、汗腺周囲で短縮していることを改めて明確にした。

赤血球 AR 量が神経組織の AR 量を反映しているのかどうかについては明らかではないが、赤血球 AR 量が糖尿病性神経障害および糖尿病性網膜症の発症に関与しうる可能性が示唆されている。AR 量高値によってもたらされる sorbitol の蓄積が、糖尿病の真皮において、神経の変性、または神経の再生と collateral sprouting を阻害している可能性があると考えられる。

【結 論】

糖尿病性神経障害では表皮、真皮および汗腺周囲神経長は短縮しており、皮膚神経の減少に AR 量が関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、糖尿病患者の皮膚神経を抗 PGP9.5 抗体を用いた免疫組織化学により形態計測し、また皮膚神経長と赤血球アルドース還元酵素量との関係について検討したものである。以下にその結果を示す。

- 1) 糖尿病患者は、健常者に比べて、表皮神経数が減少し、表皮・真皮・汗腺周囲神経長は、著しく短縮していた。
- 2) 真皮神経長と腓腹神経伝導速度には有意の相関を認めた。
- 3) 赤血球アルドース還元酵素量の高値群では、低値群に比べて、真皮神経長は有意に短縮していた。

以上の結果は、糖尿病皮膚神経障害を免疫組織化学による定量的評価法によって明らかにし、その障害にポリオール代謝異常が関与している可能性があることを示唆している。

本論文は糖尿病の皮膚神経障害を定量的に評価し、障害の機序の一端を明らかにしたことにより、博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。