

論文内容要旨

しめい 氏名	亀田拓哉
学位論文題名	Diabetes' negative impact on radiculopathy induced by application of nucleus pulposus onto DRG in spontaneous diabetic rats
<p>背景</p> <p>脊椎疾患に伴う神経根障害をきたす患者に、糖尿病(DM)の合併率が高く、また、DMを合併する椎間板ヘルニア患者の痛みは改善しにくいと報告されている。これらの神経根障害に対するDMの負の影響について、その詳細な病態は不明である。本研究の目的は、自然発症糖尿病ラットを用いて、腰椎椎間板ヘルニアの疾患モデルである髄核(NP)留置モデルを作成し、疼痛関連行動と疼痛関連物質の発現を評価し、DMの影響を検討することである。</p> <p>方法</p> <p>Wistar 系雄ラット(非 DM: n = 129)と、Goto-Kakizaki 雄ラット(DM: n = 126)を用いた。左第 5 腰神経(L5)の後根神経節(DRG)に NP を留置した NP モデルを作成した。実験系は、非 DM ラットで NP 群と sham 群、DM ラットで DM-NP 群と DM-sham 群の 4 群を設定した。術前と、術後 42 日目まで、機械的疼痛閾値を測定した。免疫組織染色法で、左 L5DRG における Ionized calcium-binding adapter molecule-1 (Iba-1: マクロファージのマーカー)と receptor of advanced glycation end products (RAGE)、tumor necrosis factor alpha (TNF-α) の局在を評価した。Western blot 法で、左 L5DRG における TNF-α タンパクの発現変化を評価した。real-time qPCR 法と Western blot 法を用いて、左 L5DRG における growth associated protein 43 (GAP43: 神経修復マーカー)の mRNA とタンパク発現量を測定した。統計学的検討は、Tukey-Kramer 検定、Wilcoxon 検定を行った。p<0.05 を有意差ありとした。</p> <p>結果</p> <p>NP 群の疼痛閾値は、sham 群と比較して術後 28 日まで低下した(p<0.05)。一方、DM-NP 群の疼痛閾値は、DM-sham 群と比較して術後 35 日まで低下した(p<0.05)。DRG において Iba-1 と TNF-α の共発現、Iba-1 と RAGE の共発現が観察された。NP 群の DRG における TNF-α タンパク発現量は、sham 群と比較して術後 7 日まで高値であり(p<0.05)、DM-NP 群は、DM-sham 群と比較して術後 14 日まで高値であった(p<0.05)。NP 群の GAP43 mRNA 発現量は、sham 群と比較して術後 28 日まで高値であり(p<0.05)、DM-NP 群は、DM-sham 群と比較して術後 35 日まで高値であった(p<0.05)。NP 群と DM-NP 群の GAP43 タンパク発現量は、sham 群と DM-sham 群とそれぞれ比較し、術後 35 日まで高値であった(p<0.05)。</p> <p>考察</p> <p>本研究の結果から、DM あり群では髄核留置による疼痛関連行動を遷延させ、炎症期や神経修復期を遷延させた。また、DRG 内の TNF-α を発現しているマクロファージに、DM により沈着する最終糖化物質 AGEs の受容体である RAGE が発現した。以上の事実から、DM の合併により、RAGE を介する炎症経路が関与し、炎症期と、神経修復期が延長することが、髄核留置により惹起される疼痛関連行動の遷延する病態であることが示唆される。本研究により、DM の合併は、神経根障害患者の予後予測の手がかりとなり、RAGE は DM を合併する神経障害性疼痛患者への新しい治療ターゲットとなる可能性がある。</p>	

論文審査結果報告書

平成 29 年 1 月 13 日

氏 名 亀田 拓哉

学位論文題名 Diabetes' negative impact on radiculopathy induced by application of nucleus pulposus onto DRG in spontaneous diabetic rats.
自然発症糖尿病ラットを用いた髄核留置モデルにおける神経根障害への糖尿病への影響

糖尿病患者では、椎間板ヘルニアなどに伴う神経障害性疼痛が長期化しやすいことが知られている。糖尿病神経障害の原因として、ポリオール代謝亢進やタンパク質糖化の関与が示唆されており、炎症因子も重要であることが明らかにされている。本論文では、髄核留置モデルラットを使用して、以下のことを明らかにした。1) 髄核留置により疼痛閾値が一過性に低下するが、術後 28 日では回復した。糖尿病ラットではその回復が有意に遅れ、35 日まで低下が持続した。2) 後根神経節において Iba-1 と TNF- α の共発現、および Iba-1 と終末糖化産物受容体 (RAGE) の共発現が観察された。3) TNF- α タンパク質レベルは髄核留置により術後 7 日まで有意に高く、糖尿病ラットではその高値が 14 日まで持続した。4) 神経修復マーカーである GAP43 が髄核留置により術後 28 日まで高値であり、糖尿病ラットでは高値が 35 日まで持続した。これらの結果から、糖尿病ラットにおいて、髄核留置による疼痛関連行動および炎症期・神経修復期を遷延させ、RAGE が糖尿病の神経障害性疼痛長期化に関与している可能性を提示した。また、糖尿病合併の有無が神経根障害患者の予後予測の手がかりとなり、RAGE が糖尿病の神経障害性疼痛の治療ターゲットになる可能性を示した。

本研究は理論的に組み立てられており、使用した実験系もよく確立されており再現性の高い結果が得られている。また、英語表現も問題が無く優れた論文であるとの評価を得た。以上より、本論文は学位を授与するに値すると判定した。

平成 28 年 12 月 28 日に行われた学位論文審査会において、4 名の審査委員と学外評価者からいくつかのコメントが提出された。これらについて、適正に修正されたことを確認した。

論文審査委員

主査 本間 好

副査 五十洲 剛

副査 榎本 博之