

氏名	呉美枝
(ふりがな)	(ごよしえ)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	乙第 号
学位審査年月日	平成26年1月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題名	Effects of diabetes and diabetes control on susceptibility to learned helplessness in streptozotocin-induced diabetic rats (ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットにおける糖尿病ならびに血糖コントロール状態が学習性無力状態に及ぼす効果)
論文審査委員	(主) 教授 米田 博 教授 朝日 通雄 教授 千原 精志郎

学位論文内容の要旨

《緒言および目的》

糖尿病におけるうつ病の罹患率は高率で、特に1型糖尿病では深刻な糖尿病合併症が出現する以前からうつ病を発症するリスクが高いとされている。しかし、糖尿病とうつ病発症が関連するメカニズムは未だ明らかではない。一方、うつ病の病態の解明や治療の評価は、動物において実験心理学的手法を用いて検証されてきた。ラットを水槽内に投じて数分後に出現する無動状態は、ラットが嫌悪状況から逃れることをあきらめた、一種の学習性無力状態であるとされ、うつ状態の代表的なモデルとして用いられている。今回、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを作製し、本モデルを用いて、糖尿病ならびに血糖コントロール状況が心理状態へ及ぼす影響を、特に高血糖と低血糖の変動を繰り返す血糖不安

定状態が学習性無力状態を惹起させるという仮説を立て、検証した。

《方 法》

1. 糖尿病モデル動物の作製

5～6 週齢の Sprague-Dawley 雄性ラット (n = 30) にストレプトゾトシン (STZ) (65mg/kg/bw) を投与し、STZ 誘発糖尿病ラットを作製した。

2. インスリン投与方法

STZ 誘発糖尿病ラット作製 3 週間後に血糖値ならびに HbA1c により慢性高血糖状態を確認し、インスリン治療群としては、中間型インスリン製剤のヒューマカート N 注[®] 0.03U/g/bw を 8 時と 18 時に 2 分割投与する血糖安定群 (n = 10)、18 時に単回投与 (8 時には生理食塩水投与) するブリットル (血糖不安定) 群 (n = 10) の 2 群を作製した。また、無治療の高血糖持続群 (n = 10)、ならびに非糖尿病の対照群 (n = 7) では、生理食塩水を同時刻に投与した。

3. 血糖コントロール

血糖値は、3 時間毎に血糖値測定器メディセーフ[®] (グルコースオキシダーゼ法) により測定した。HbA1c は、DCA2000[®] (ラテックス免疫凝集阻害法) によって糖尿病確認後と 24 日間後の強制水泳テスト施行直前に測定した。体重は毎週測定した。

4. 強制水泳テスト Forced swimming test (FST)

高さ 50cm、直径 20cm の円筒で深さ 30cm まで 21～22°C の水を満たした浴槽装置で、15 分間の強制水泳を施行した。その 48 時間後に 5 分間の FST を施行し、ラットの行動を録画した。行動は、1) 無動状態、2) 水泳 (水上に頭部を出し円筒内を回る)、3) 登攀 (胴体を激しく上下動させる) に分類し、それぞれの行動時間を測定した。

5. 統計処理

血液データの結果は one-way ANOVA にて分析した。FST の行動積算時間は Tukey-Kramer 法で比較検討した。

《結果・考察》

インスリン投与後の血糖値は、血糖安定群では血糖変動幅は小さかったが、ブリットル群では著明な高血糖や遷延する低血糖を示した。血糖値変動幅を評価する指標である mean amplitude of glycemic excursions (MAGE) は、ブリットル群では、血糖安定群に比し有意に高値を示し(175.2 ± 102.4 vs. 477.0 ± 85.7 ; $p < 0.01$)、血糖不安定群のモデルとして妥当であると考えられた。糖尿病確定後から FST 施行直前までの HbA1c の変化は、対照群で $3.0 \pm 0.1\%$ から $3.4 \pm 0.8\%$ 、高血糖維持群で $6.3 \pm 1.3\%$ から $10.4 \pm 2.1\%$ に上昇した。インスリン治療群のうち、ブリットル群では $6.0 \pm 1.0\%$ から $4.2 \pm 0.6\%$ 、血糖安定群では $6.8 \pm 1.7\%$ から $4.1 \pm 0.5\%$ に改善を認めたが、両者間では有意な差は認めなかった。体重についても両者間では有意差は認めなかったが、高血糖維持群で有意に減少していた。FST における無動時間は、対照群に比較して糖尿病群（血糖安定群、ブリットル群、高血糖維持群）ではいずれも有意に長かった。さらに、ブリットル群では、血糖安定群ならびに高血糖維持群に比し、無動時間が有意に長かった。なお、血糖安定群と高血糖維持群の間には差を認めなかった。水泳時間は、高血糖維持群では対照群、血糖安定群より有意に短かった。登攀時間は、対照群に比し糖尿病の 3 群で有意に短かった。

血糖安定群とブリットル群の間で、HbA1c レベルや体重に有意差がなかったことより、FST における行動に影響を及ぼす可能性のある体重や身体能力には差はなかったと考えられる。FST における無動時間は学習性無力状態（うつ状態）の代表的な指標であるが、今回、ブリットル群で無動時間が最長であった理由として、高血糖と低血糖の変動を繰り返すブリットル状態そのものが誘因となった可能性が示唆された。

《結 論》

糖尿病モデル動物において、血糖不安定（ブリットル）状態は、血糖安定状態ならびに持続高血糖状態に比し、学習性無力状態を引き起こしやすいことが示された。高血糖と低血糖の繰り返しが、気分障害やうつ状態への脆弱性に何らかの影響を与えている可能性が考えられる。

(様式 乙9)

論文審査結果の要旨

糖尿病におけるうつ病の罹患率は高率で、特に1型糖尿病では深刻な糖尿病合併症が出現する以前からうつ病を発症するリスクが高いとされている。しかし、糖尿病とうつ病発症が関連するメカニズムは未だ明らかではない。申請者は今回、ストレプトゾトシン誘発糖尿病ラットを作製し、実験心理学的手法における学習性無力状態（うつ状態）モデルを用いて、糖尿病ならびに血糖コントロール状況が心理状態へ及ぼす影響を検証した。

インスリンの投与方法を変えることにより、血糖安定群、ブリットル（低血糖と高血糖を繰り返す血糖不安定）群、高血糖維持（無治療）群、対照群の4群を作製した。ブリットル群は、血糖値変動幅を評価する指標である *mean amplitude of glyceimic excursions (MAGE)* が血糖安定群に比し有意に高値を示し、不安定群のモデルとして妥当であると考えられた。

学習性無力状態の指標として用いた強制水泳テスト (*Forced swimming test*) における無動時間は、対照群に比較して糖尿病群（血糖安定群、ブリットル群、高血糖維持群）においていずれも有意に長かった。中でもブリットル群では、血糖安定群ならびに高血糖維持群に比し、無動時間が有意に長かった。血糖安定群と高血糖維持群の間には有意差が認められなかった。すなわち、高血糖と低血糖の変動を繰り返すブリットル（血糖不安定）状態が学習性無力状態を惹起する可能性が考えられた。本研究は、糖尿病においてうつ状態を合併するメカニズムの一端を、動物モデルを用いて明らかにしたもので、ヒトの糖尿病治療にも有意義な示唆を与える研究である。

以上により、本論文は本学学位規程第3条第2項に定めるところの博士（医学）の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Diabetology international 5(1): 53-61, 2014