

平成30年6月4日現在

機関番号：33504

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K16373

研究課題名(和文) 糖尿病は錐体路(皮質脊髄路)を標的とするか？

研究課題名(英文) Does diabetes target corticospinal tract neurons?

研究代表者

村松 憲 (Muramatsu, Ken)

健康科学大学・健康科学部・准教授

研究者番号：00531485

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は糖尿病が運動を制御する中枢神経系に与える影響を明らかにするために、皮質内微小電気刺激法を用いて運動野の体部位再現を調べた。さらに、皮質脊髄路(CST)の機能および形態の変化を調べる目的で、脊髄の電気刺激によって運動野に誘発される逆行性活動電位の記録と脊髄に注入したトレーサーによって逆行性標識されたCST細胞の形態計測をした。その結果、運動野の後肢、体幹領域に強い萎縮を認め、腰髄を刺激した際に誘発される逆行性電位と腰髄にトレーサーを注入した際に逆行性標識されるCST細胞数が減少した。以上の結果は糖尿病によって特に後肢や体幹の運動を制御する皮質脊髄路が損傷を受けやすいことを示唆している。

研究成果の概要(英文)： We investigated effect on central motor system in a rat model of type 1 diabetes. We used intracortical microstimulation to evaluate motor representations in the motor cortex, recorded antidromic motor cortex responses to spinal cord stimulation to evaluate the function of corticospinal tract (CST) axons, and used retrograde labeling to evaluate morphological alterations of CST neurons. The diabetic rats exhibited severe size reductions in the trunk and hindlimb area. Additionally, we observed reduced antidromic responses in CST neurons with axons projecting to lumbar spinal segments (CST-L). This was consistent with the observation that retrograde-labeled CST-L neurons were decreased in number following tracer injection into the spinal cord in diabetic animals. These results show that diabetes disrupts the corticospinal tract controlling hindlimb and trunk movement.

研究分野：神経科学

キーワード：糖尿病 皮質脊髄路 運動野

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性神経障害は糖尿病患者の 30-40% に観察される軸索の長さ依存的な障害を特徴とする神経障害であり、末梢神経系がその標的となると考えられている。一方、脳血管閉塞が存在する中枢神経系は末梢神経系に比べて高血糖の影響が少なく、神経障害の標的とはなり難いとする考え方が支配的であった。この仮説の基盤となっていたのは糖尿病モデル動物において運動ニューロンと感覚ニューロンに生じる変性を比較した場合、運動ニューロン（細胞体は脊髄に存在）にはほとんど変化が観察されない一方、感覚ニューロン（細胞体は脊髄外に存在）には軸索変性を中心とした変性が生じるという複数の報告であった。しかしながら、近年、我々は逆行性トレーサーを用いて糖尿病モデル動物の内側腓腹筋を支配する運動ニューロンを対象にその形態変化について詳細な解析を行ったところ、糖尿病発症に関連して逆行性標識される運動ニューロン数が大きく減少することを明らかにし、脳血管閉塞によって保護された中枢神経系が必ずしも糖尿病性神経障害に対して高い耐性を持つわけではないことを示した。糖尿病性神経障害が中枢神経系にまで影響を及ぼすのか否かという問題は、糖尿病性神経障害の病態理解のために極めて重要であるため、さらなる研究の必要性が高まっていた。

2. 研究の目的

錐体路（皮質脊髄路）は大脳皮質で生じた随意運動の指令を脊髄に伝達する伝導路であり、特に腰仙髄に投射する錐体路細胞の軸索は中枢神経内における最長の軸索である。先述べたように末梢神経系では糖尿病性神経障害は軸索の長い神経細胞を標的とするため、中枢神経系も糖尿病性神経障害の標的となるのであれば、錐体路細胞の軸索はその第一候補と言える。そこで、本研究は糖尿病性神経障害が随意運動を制御する錐体路にまで及ぶのかを明らかにすることを目的に行った。

3. 研究の方法

3-1. 動物

実験は 108 匹の Wistar 系ラット (13 週齢、オス) を対象に行い、半数にはストレプトゾトシンを腹腔内投与して 1 型糖尿病を発症させ (糖尿病群)、残りの半数には生理食塩水を腹腔内投与して対照群とした。各群のラットは 4、13、23 週間の飼育期間の後に下に述べる実験に用いた (以下、対照群: 4WC, 13WC, 23WC 糖尿病群: 4WD, 13WD, 23WD)。

3-2. 運動野体部位再現の変化

実験はケタミン・キシラジン混合麻酔下にて維持したラットを対象に行った (4WC, 13WC, 23WC, 4WD, 13WD, 23WD 各群 n = 6)。まず、

大脳皮質を露出させ、運動野に刺激用のタングステン微小電極を刺入して皮質内微小刺激を行い、それによって誘発される身体運動を指標に運動野のマップを作成した。

3-3. 錐体路軸索の脊髄内分布

実験はケタミン・キシラジン混合麻酔下にて維持したラットを対象に行った (13WC, 23WC, 13WD, 23WD 各群 n = 6)。まず、2 で明らかになった運動野の体部位再現図から正常な前肢・後肢の分布域を確定し、両領域に記録用のタングステン電極を刺入した。次に第 3 頸髄、第 1 腰髄に刺激用の電極を刺入し、錐体路軸索を電気刺激した。脊髄の電気刺激によって大脳皮質運動野から記録される錐体路細胞の逆行性フィールド電位を記録し、その分布を調べた。

3-4. 錐体路細胞の逆行性標識

実験はハロタン吸入麻酔下で維持したラットを対象に行った (13WC, 23WC, 13WD, 23WD 各群 n = 12)。次に第 5 頸髄 (C5) もしくは第 5 腰髄 (L5, 各群 n = 6) を露出させ、逆行性トレーサーを注入した (C5, 各群 n = 6)。その後、動物を回復させ 3 週間の生存期間をおいた後に、深麻酔下でパラホルムアルデヒドを用いて灌流固定し、大脳を取り出した。次いで、大脳から 50 μm の連続横断切片を作成し、逆行性標識された皮質脊髄路細胞を観察し、細胞体断面積と細胞体数を計測した。

4. 研究成果

4-1. 動物

ストレプトゾトシンを投与した動物は全固体において 400 mg/dl の高血糖となり、1 型糖尿病の発症を確認できた。また、末梢神経伝導速度は感覚、運動神経ともに 13WD, 23WD において有意に低下していた。尿ケトン体は観察されなかった。

4-2. 運動野の体部位再現の変化

運動野に再現された身体部位の縮小が観察された。特に後肢領域はストレプトゾトシン投与後、わずか 4 週間 (4WD) から縮小し始め、23WD では対照群の 1/2 以下になった。同様の縮小は体幹領域や前肢領域でも観察されたが、13WD 以降に観察された。また、領域の萎縮は前肢領域に比較して体幹領域で強かった。一方、頸部、顔面領域については運動野の萎縮が観察されなかった (図 1 参照)。



図 1. 運動野の各身体領域の面積を反映させ再構成したラットの身体図

以上の結果は 1 型糖尿病発症のかなり早期 (4WD) から運動野から発したモータコマンドの脊髄への伝達に何らかの障害が生じていることを示唆するものである。

4-3. 錐体路軸索の脊髄内分布

脊髄の電気刺激によって大脳皮質運動野から記録される錐体路細胞の逆行性フィールド電位は 13WC, 23WC, 13WD 共にほとんど変化が観察されなかった (図 2 A, B)。これは少なくとも 13WD では錐体路細胞の軸索が電氣的興奮性を維持した状態で第 3 頸髄、第 1 腰髄に分布していたことを示している。一方、23WD では第 3 頸髄の刺激による逆行性フィールド電位は運動野全域から観察されたが、第 1 腰髄の刺激によって生じる逆行性フィールドはほとんどが残存する後肢の運動野から観察され、萎縮してしまった後肢の運動野からは記録することができなかった (図 2 C)。以上のデータは 23WD では萎縮してしまった後肢の運動野に由来する錐体路軸索の電氣的興奮性は第 3 頸髄までは保たれているが、第 1 腰髄レベルではそれが失われていることを示唆している。

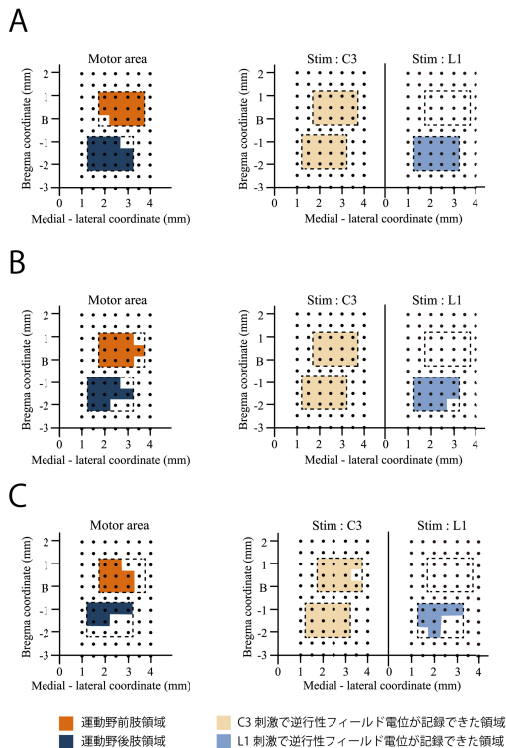


図 2. 逆行性フィールド電位の皮質内分布
A: 23WC, B: 13WD, C: 23WD

4-4. 錐体路細胞の逆行性標識

第 5 頸髄にトレーサーを注入することによって逆行性に標識された錐体路細胞は運動野の前肢領域を中心に分布し、その数や細胞

数に特筆すべき変化は観察されなかった。一方、第 5 腰髄にトレーサーを注入することによって逆行性に標識された錐体路細胞は主に運動野後肢領域に分布していた。その数は 13WD と 23WD の間では差が認められなかったが、23WD では 23WC に比べて 30%程度減少することが明らかになった。細胞数の減少は特定の領域に限局したのではなく、全体的な細胞密度の減少であり、脳血管障害などによって生じるものとは異なるものであった (図 3)。また、本実験で用いたトレーサーは軸索内の細胞質を拡散しながら進展し、細胞体を標識するものであるため、軸索がトレーサー注入部位周辺に存在していれば錐体路細胞の細胞体は逆行性標識されるはずである。しかし、それが染色されないということは、23WD では第 5 腰髄周辺に存在する錐体路軸索の数が減少していた可能性があることを示している。

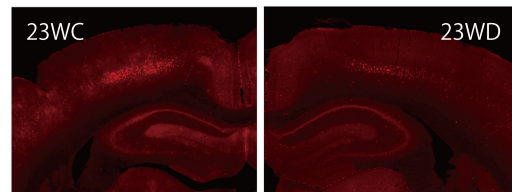


図 3 第 5 腰髄に注入したトレーサーによって逆行性標識された 23WC と 23WD の錐体路細胞 (後肢領域)

4-5. まとめ

本研究結果は 1 型糖尿病モデル動物において錐体路、特に腰髄にまで長い軸索を伸ばす錐体路線維が糖尿病性神経障害の標的となることを示唆するものである。また、初期の運動野の萎縮とそれに続く脊髄内での錐体路軸索の退縮は、軸索障害が長い軸索の神経終末部から始まり、徐々に細胞体方向に進行することを示唆している (図 4 A)。

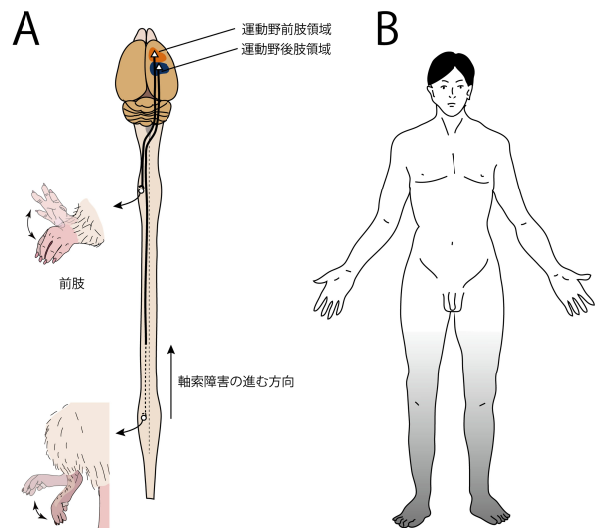


図 4. 実験結果のまとめと臨床所見との関連

A: 実験結果のまとめ B: 糖尿病性神経障害患者の筋力低下

錐体路障害の背景にあるメカニズムについては不明であるが、末梢神経系においても神経障害によって長さ依存的軸索障害が生じることが知られているため、末梢神経障害に類似したメカニズムによって変性が進行することが予想された。

本研究で観察された錐体路障害がどのような症状を引き起こすのかという点も非常に重要な問題であるが、腰仙髄に投射する錐体路軸索の比較的軽微な障害は下半身に筋力低下を生じさせることが予想される。実際、糖尿病患者の筋力低下は感覚障害のような手袋靴下型ではなく、下半身の全体的な筋力低下であることが知られているため、両者の関連性を調べていくことには大きな意義があると考えられる(図4B)。しかし、未治療の1型糖尿病モデル動物で得られたデータとヒトの臨床症状を単純に結びつけること不適切であるため、他のモデル動物などを対象とした実験を加えるなどして慎重に議論を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

1. Ken Muramatsu, Masako Ikutomo, Toru Tamaki, Satoshi Shimo and Masatoshi Niwa
Effect of streptozotocin-induced diabetes on motor representations in the motor cortex and corticospinal tract in rats
Brain Res. 2018; 1680: 115-126
doi: 10.1016/j.brainres.2017.12.016.
(査読あり)

[学会発表](計 7 件)

1. Ken Muramatsu, Toru Tamaki, Masako Ikutomo, Satoshi Shimo, Masatoshi Niwa
Effect of streptozotocin-induced diabetes on the movement representations in the motor cortex
第40回日本神経科学大会 2017.7.21 千葉

2. 村松憲、玉木徹、生友聖子、志茂聡、丹羽正利
糖尿病は運動野の体部位局在を変化させる
第60回日本糖尿病学会年次学術集会
2017.5.19 名古屋

3. 村松憲、玉木徹、生友聖子、高村浩司、丹羽正利
第52回日本理学療法学術大会 2017.5.12 千葉
糖尿病は運動野の体部位支配領域を縮小させる

4. Ken Muramatsu, Masatoshi Niwa, Sei-Ichi Sasaki
Alterations of movement representations

in motor cortex of type 1 diabetic rats.
第94回日本生理学会大会 2017.3.28 浜松

5. Ken Muramatsu, Toru Tamaki, Masako Ikutomo, Hiroshi Takamura, Satoshi Shimo, Masatoshi Niwa, Sei-Ichi Sasaki
Does diabetes target corticospinal tract neurons?
第39回日本神経科学大会 2016.7.21 横浜

6. 村松憲、玉木徹、生友聖子、石黒友康、丹羽正利、佐々木誠一
糖尿病性ニューロパチーは錐体路を標的にする
第51回日本理学療法学術大会 2016.5.27 札幌

7. 村松憲、玉木徹、生友聖子、志茂聡、石黒友康、丹羽正利、佐々木誠一
糖尿病性ニューロパチーによって錐体路細胞が減少する
第59回日本糖尿病学会年次学術集会
2016.5.21 京都

6. 研究組織

(1)研究代表者

村松憲 (MURAMATSU, Ken)

健康科学大学・健康科学部・准教授

研究者番号: 00531485