

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：12602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K17696

研究課題名（和文）血糖変動と糖尿病末梢神経障害および酸化ストレスとの関連

研究課題名（英文）Association of Blood Glucose Variability with Diabetic Peripheral Neuropathy and Oxidative Stress

研究代表者

赤座 実穂（Akaza, Miho）

東京医科歯科大学・大学院医歯学総合研究科・講師

研究者番号：00769672

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：糖尿病外来患者40名を対象に持続血糖値モニターにより血糖変動を神経伝導試験により末梢神経機能の評価を行った。血糖変動の増大は内側足底神経複合活動電位振幅減少に対して独立した影響因子であり、血糖変動は糖尿病性神経障害の独立したリスクファクターであると考えられた。65名の糖尿病入院患者において尿中8-iso-Prostaglandin F₂により酸化ストレスを評価した。血糖変動は入院2日目の酸化ストレスと関係があった。2日目から8日目にかけて血糖変動は減少したが、酸化ストレスは変化しなかった。血糖変動は酸化ストレスに影響を与える可能性があるが短期間では酸化ストレスに影響は見られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病末梢神経障害の進展と血糖変動の関係を明らかにしたことは今後の治療法の選択に直接的に関与し、極めて重要である。また、その原因として関連すると考えられている酸化ストレス発生と血糖変動の関連を明らかにすることは、合併症進展機序の解明やその後の治療戦略の決定に重要となりうる。

研究成果の概要（英文）：In 40 diabetes patients, glycemic variability were assessed by continuous glucose monitoring and peripheral nerve function by nerve conduction study. The glycemic variability increase had independently influence for decrement of medial nerve plantar compound nerve action potential amplitude, leading to that glycemic variability was independent risk factor for diabetic neuropathy.

In 65 diabetes patients, oxidative stress was assessed by urine 8-iso-Prostaglandin F₂. The glycemic variability had relation to oxidative stress on admitted day 2. From day 2 to 8, the glycemic variability were decreased from day2 to day8 but oxidative stress unchanged. Glycemic variability has potential to influence to oxidative stress, however lack of improvement of oxidative stress in the short term.

研究分野：臨床神経生理学

キーワード：糖尿病性末梢神経障害 血糖変動 末梢神経伝導検査 酸化ストレス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

血糖厳格コントロールでの心血管イベントの影響を検討した ACCORD 研究()を背景として血糖変動を小さくする(良質な血糖コントロールを実現する)治療法の選択が重視されるようになった。実験医学的には高グルコース培養によりヒト臍帯静脈内皮細胞の PKC 活性化とそれに続く NAD(P)H オキシダーゼ構成蛋白の発現増加、酸化ストレス亢進およびアポトーシス増加がみられ、さらに高血糖と正常グルコース条件を交互に繰り返すと、変化はさらに顕著化することが示された()。このため変動する血糖状態が持続高血糖よりも内皮細胞障害性が強い可能性が示されており、糖尿病合併症である微小血管障害においても血糖変動が影響する可能性が高いと考えられる。研究当初までの臨床研究においては血糖変動と微小血管障害との関連はまだ不明の点がおおく、とくに糖尿病末梢神経障害(diabetic polyneuropathy:DPN)に関する研究は、自覚障害・振動覚・アキレス腱反射による簡易診断が中心で、末梢神経伝導検査(Nerve conduction study:NCS)も用いて詳細に評価したものはなかった。

また、大血管障害および微小血管障害いずれにおいても酸化ストレスの増大が深く関わり、血糖変動が酸化ストレスを増加させる可能性が報告されていた()が、まだ検討は不十分であると思われた。

2. 研究の目的

血糖変動を正確にモニターできる持続血糖測定を施行された患者を対象として、(1)血糖変動と微小血管障害による DPN の関連、(2)血糖変動と酸化ストレスとの関連について明らかにするのを目的とする。

3. 研究の方法

(1)血糖変動と末梢神経障害との関連の検討

秀和総合病院外来通院中の糖尿病患者 40 名(男/女:23/17, 年齢 34-79 歳)を対象に iPro2®(メドトロニック社)を用いて持続血糖測定を平均血糖変動幅(mean amplitude of glycemic excursion : MAGE)で評価した。NCS にて正中神経、脛骨神経、腓腹神経、内側足底神経神経障害の評価を行い、年齢・罹病期間・HbA1c・BMI・血圧・脂質プロファイルとともに解析した。

統計解析は SPSS version 24.0 (IBM, Armonk, NY, USA) を用いて行い、結果はデータ分布に従って、平均値 ± 標準偏差 (SD) または中央値 (95%タイル) で示した。群間比較には、Student's t-test、Mann Whitney U test、または 2 test を使用した。変数間の相関を評価するために、適宜、ピアソン相関係数またはスピアマンの順位相関係数を用いた。NCS パラメータに関連する独立因子を決定するために、以下の共変数を用いて多重線形回帰分析を行った: MAGE、性別、年齢、糖尿病タイプ、糖尿病期間、HbA1c、低比重リポ蛋白コレステロール (LDL) 収縮期血圧 (SBP) および BMI。すべての p 値 < 0.05 は統計的に有意であるとみなした。

(2)血糖変動と酸化ストレスとの関連の検討

秀和総合病院入院患者を 65 名を対象に教育入院初日より FGM (フリースタイルリブレ pro) を装着し、食事療法、合併症による制限のない症例では運動療法に加え入院主治医の判断で症例に応じた薬物療法にて血糖コントロールを行い、酸化ストレスが変化するか検討した。血糖コントロール前後の血糖変動は入院治療後 2 日目 (Day2)、8 日目 (Day8) の 24 時間平均血糖 (MBG)、平均血糖変動幅 (MAGE) にて求めた。酸化ストレスは Day2 と Day8 でそれぞれ 24 時間蓄尿検体にて尿中 8-iso-Prostaglandin F₂ (8-iso-PGF₂) を ELISA 法にて測定し、尿量から 1 日排泄量を求めた。血糖変動と酸化ストレスマーカー (尿中 8-iso-PGF₂) の変化を検討した。

4. 研究成果

(1)血糖変動と末梢神経障害との関連の検討

Table1 に糖尿病患者 40 例の臨床症状、検査結果、NCS 結果を示す。

単変量解析において MAGE は罹病期間および LDL と有意な正の相関を示した ($r = 0.462$, $p = 0.003$ および $r = 0.40$, $p = 0.011$)。MAGE は HbA1c と正の相関を示す傾向があったが、この効果は有意ではなかった ($r = 0.292$, $p = 0.067$)。MAGE は BMI および内側足底複合神経活動電位 (compound nerve action potential:CNAP) 振幅と有意な負の相関を示した ($r = -0.39$, $p = 0.012$; および $r = -0.32$, $p = 0.042$) (Table2)。

Figure 1 に示すように、内側足底 CNAP 振幅は、年齢 ($r = -0.33$, $p = 0.038$)、SBP ($r = -0.39$, $p = 0.013$)、MAGE ($r = -0.32$, $p = 0.042$) と負の相関があり、HbA1c、罹病期間、LDL、BMI は関連しなかった。

Table 1. The clinical characteristics, laboratory data and NCS results in 40 diabetes patients.

All subjects	
N	40
Age (year)	64.1±10.4
Disease duration (year)	16.4±10.4
Number of patients with hypoglycemia	17
HbA1c (%)	7.8±1.4
BMI (kg/m ²)	23.5±5.0
SBP (mmHg)	134±18
TG (mg/dL)	146±105
LDL (mg/dL)	103±25
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	67.9±19.9
UAE (mg/gCre)	10.5[6.5–28.6]
MAGE (mg/dL)	105±41.9
Median CMAP amp (mV)	14.4±3.4
Median DL (m/s)	3.93±0.82
Median MCV (m/s)	53.5±3.72
Median F z score	2.19±1.49
Median wrist SNAP amp (µV)	29.7±13.9
Median SCV (m/s)	47.0±10.7
Tibial CMAP amp (mV)	18.8±7.1
Tibial MCV (m/s)	42.5±3.71
Tibial F z score	2.53±1.72
Sural SNAP amp (µV)	14.0±8.6
Sural SCV (m/s)	46.6±4.7
Medial plantar CNAP amp (µV)	6.14±6.28
Medial plantar NCV (m/s)	48.4±6.2

Table 2. Relationship between glyceamic variability and clinical variables by univariate regression analysis.

	MAGE	
	r (ρ)	P value
Age (years)	0.028	0.86
Disease duration (years)	0.462	0.003
HbA1c (%)	0.292	0.067
BMI (kg/m²)	-0.39	0.012
SBP (mmHg)	0.045	0.78
TG (mg/dL)	-0.18	0.27
LDL (mg/dL)	0.40	0.011
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	0.014	0.70
UAE (mg/gCre)	(0.13)	0.41
Median CMAP amp (mV)	-0.098	0.55
Median DL (m/s)	0.032	0.84
Median MCV (m/s)	-0.27	0.088
Median F latency z score	0.057	0.72
Median wrist SNAP (µV)	-0.228	0.158
Median SCV (m/s)	-0.00	0.99
Tibial CMAP amp (mV)	0.12	0.46
Tibial MCV (m/s)	-0.043	0.79
Tibial F z score	-0.25	0.12
Sural SNAP (µV)	-0.15	0.37
Sural SCV (m/s)	0.055	0.74
Medial plantar CNAP amp (µV)	-0.32	0.042
Medial plantar NCV (m/s)	-0.033	0.849

Data: mean ± SD or median [interquartile range], unpaired *t* test (or Mann Whitney U test). Or the χ^2 test for group comparisons. The Pearson correlation coefficient (or Spearman's rank correlation coefficient) fore evaluate correlations between variables.

HbA1c: glycated hemoglobin A1c, BMI: body mass index, SBP: systolic blood pressure, TG: triglyceride, LDL: low density lipoprotein cholesterol, eGFR: estimated glomerular filtration rate, MAGE: mean amplitude of glyceamic excursions, CMAP: compound muscle action potential, SNAP: sensory nerve action potential, CNAP: compound nerve action potential, amp: amplitude, DL: distal latency, MCV: motor nerve conduction velocity, SCV: sensory nerve conduction velocity, NCV: nerve conduction velocity

Figure 1

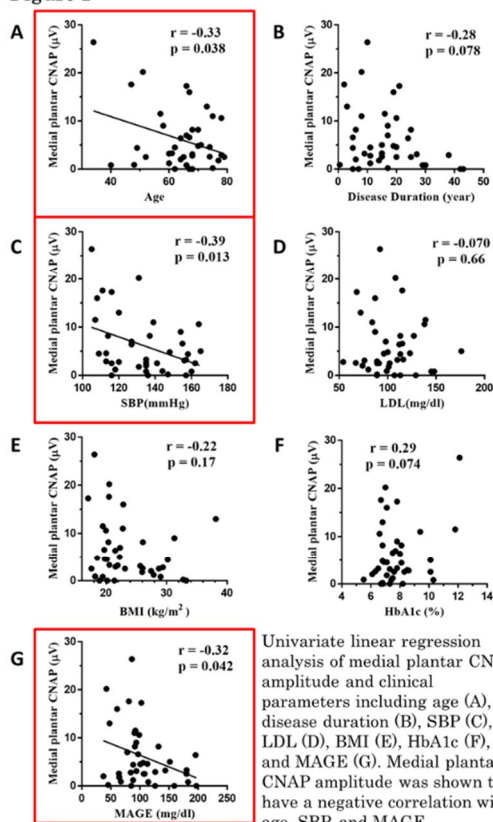


Table 3. Multivariate linear regression analysis for independent factors associated with medial plantar CNAP amplitude.

Covariates	Standardized β	P values
Gender	-0.060	0.72
Type of diabetes	-0.011	0.95
Age	-0.23	0.14
Duration of diabetes	-0.061	0.70
BMI	-0.34	0.037
SBP	-0.23	0.18
LDL	0.020	0.92
HbA1c	0.28	0.074
MAGE	-0.49	0.007

R² = 0.49, p = 0.008

また、重回帰分析を用いて年齢、性別、糖尿病型、罹病期間、収縮期血圧、LDL コレステロール、HbA1c にて調整を行ったところ、内側足底神経 CNAP 振幅は BMI ($=-0.34$, $p=0.037$)、MAGE ($=-0.49$, $p=0.007$)、各々が独立した関連因子であった (Table3)

結論として外来糖尿病患者の血糖値変動を持続血糖測定にて、DPN を NCS で定量的に評価し、血糖変動は DPN の独立したリスクファクターであることを確認した。

(2) 血糖変動と酸化ストレスとの関連の検討

単相関解析で Day2 での 8-iso-PGF2 は MAGE ($r=0.25$, $p=0.048$) と有意な正の相関を認め (Figure2) 重回帰分析 (SPSS v24 を用いて stepwise 法で変数選択) では 8-iso-PGF2 を従属変数としたとき、BMI ($=0.37$, $p=0.008$) と MAGE ($=0.35$, $p=0.008$) が有意かつ影響度の大きい因子と考えられた (Table4)。Day2 8 で MAGE (92.1 ± 37.7 67.5 ± 27.3 mg/dl, $p<0.0001$) は有意に低下したが 8-iso-PGF2 は (793 ± 426 823 ± 574 ng/day, $p=0.65$) と有意差はなかった。

入院時の MAGE と 8-iso-PGF2 に有意な正の相関があることは、血糖変動が酸化ストレス増大に影響している可能性が示唆される。しかしながら今回の検討では短期間での血糖変動の改善は、酸化ストレスに影響しなかった。

Figure2

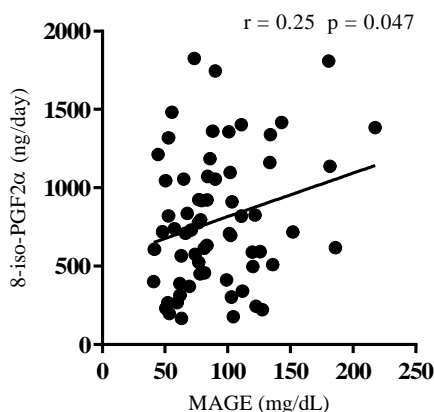


Table4 Multivariate analysis (multiple regression analysis)

	Unstandardized coefficient		Standardized coefficient	t value	p value
	B	Standard error			
age	7.94	5.31	0.242	1.495	0.14
eGFR	5.81	3.29	0.270	1.763	0.083
BMI	28.3	10.23	0.373	2.767	0.008
MAGE	3.89	1.43	0.345	2.723	0.008

dependent variable 8-iso-PGF2 $r=0.427$ $p=0.015$

< 引用文献 >

Faramarz Ismail-Beigi, Timothy Craven, Mary Ann Banerji, et al. Effect of intensive treatment of hyperglycaemia on microvascular outcomes in type 2 diabetes: an analysis of the ACCORD randomised trial. Lancet. 2010; 376: 419-30

Lisa Quagliaro, Ludovica Piconi, Roberta Assaloni, et al. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells: the role of protein kinase C and NAD(P)H-oxidase activation. Diabetes. 2003;52:2795-2804

Quagliaro L, Piconi L, Assaloni R, et al. Intermittent high glucose enhances apoptosis related to oxidative stress in human umbilical vein endothelial cells: the role of protein kinase C and NAD(P)H-oxidase activation. Diabetes 2003;52:2795-2804

Monnier L, Mas E, Ginnet C, Michel F, et al. Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes. JAMA 2006;295:1681-1687

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Akaza Miho, Akaza Itaru, Kanouchi Tadashi, Sasano Tetsuo, Sumi Yuki, Yokota Takanori	4. 巻 10
2. 論文標題 Nerve conduction study of the association between glycemic variability and diabetes neuropathy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Diabetology & Metabolic Syndrome	6. 最初と最後の頁 69-69
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s13098-018-0371-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 赤座至、赤座実穂、叶内匡、笹野哲郎、角勇樹、横田隆徳
2. 発表標題 血糖変動と糖尿病神経障害との関連についての検討
3. 学会等名 第92回日本内分泌学会学術総会 2019年5月11日 仙台国際センター
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akaza Miho, Akaza Itaru, Kanouchi Tadashi, Sasano Tetsuo, Sumi Yuki, Yokota Takanori
2. 発表標題 Study for association between glycemic variability and diabetic neuropathy assessed by NCS
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤座実穂
2. 発表標題 持続血糖測定モニター（Continuous glucose monitoring: CGM）による血糖変動評価と糖尿病神経障害との関連
3. 学会等名 第47回日本臨床神経生理学会学術大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 赤座実穂
2. 発表標題 Study for association between glycemic variability and diabetic neuropathy assessed by NCS
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 赤座至、赤座実穂、木村彰吾、水口靖文、大原徳彦、角勇樹
2. 発表標題 糖尿病教育入院における血糖コントロールと酸化ストレスの変化の解析
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 赤座至、赤座実穂、木村彰吾、秋元福太郎、重松嵩朗、角勇樹、泉山肇
2. 発表標題 糖尿病教育入院における血糖変動と酸化ストレスの変化の解析
3. 学会等名 第65回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 赤座至、赤座実穂、木村彰吾、秋元福太郎、重松嵩朗、角勇樹、泉山肇
2. 発表標題 2型糖尿病患者における血糖変動と酸化ストレスとの関連
3. 学会等名 第95回日本内分泌学会学術総会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------