

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：32823

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2023

課題番号：19K19848

研究課題名（和文）糖尿病罹患による呼吸システムへの影響

研究課題名（英文）Effects of diabetes mellitus on the respiratory system

研究代表者

生友 聖子（Ikutomo, Masako）

東京医療学院大学・保健医療学部・講師

研究者番号：90515884

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、一型糖尿病の罹患による呼吸機能への影響を明らかにするために、横隔神経軸索の形態学的解析、横隔神経の神経筋接合部の形態学的解析を行った。糖尿病群では対照群に比べて、大径の横隔神経軸索が減少しており、軸索の萎縮が観察された。また、神経筋接合部についても、糖尿病群において形態異常が観察された。

以上の結果は、横隔神経もまた下肢の運動ニューロンと同じく糖尿病性神経障害により障害されている可能性を示唆するものである。横隔膜を支配する横隔神経は呼吸機能において重要な役割を果たしていることから、糖尿病罹患により呼吸機能になんらかの障害が生じている可能性が高い。

研究成果の学術的意義や社会的意義

糖尿病罹患者の呼吸機能が予備機能を中心に低下することは既知の事実であるが、呼吸機能低下を呈した糖尿病罹患患者において横隔神経の神経伝導速度や誘発筋電図に異常がみられなかったことから、呼吸機能障害の原因は筋の代謝異常によるものと考えられ、神経系についての研究はほとんど行われてこなかった。本研究結果は、横隔神経でもまた下肢の運動ニューロンで生じているような糖尿病性神経障害による影響が生じている可能性を示唆するものであり、糖尿病罹患者の呼吸機能低下について、新たな知見を提供し、その解明に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we investigated the phrenic nerve to elucidate whether it would be affected in type 1 diabetes on respiratory function. We used staining with toluidine blue to evaluate anatomical and morphological alterations of the phrenic axons. Additionally, we compared the findings changes in morphology of the neuromuscular junction. Compared to the control group, the diabetic group had fewer large-diameter transverse nerve axons and atrophy of the axons was observed. And morphological abnormalities neuromuscular junction was observed in the diabetic group. These results suggest that the phrenic nerve is target of diabetic neuropathy in type 1 diabetes rats.

研究分野：リハビリテーション医学

キーワード：1型糖尿病 横隔神経 神経筋接合部

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

糖尿病患者において運動耐容能が低下していることは既知の事実¹⁾であり、理学療法の実施を困難にすることから問題視されてきた。運動耐容能の低下は、一般に、呼吸や心血管系の機能低下、筋の代謝機能低下などの複合的要因によって生じることが知られている。しかし、糖尿病患者における運動耐容能低下は、これまで、その原因は骨格筋の代謝異常や微小血管障害などの循環障害にあると考えられ、呼吸機能障害について検討されてこなかった。

我々は最近、呼吸運動を制御する呼吸中枢と呼吸中枢への入出力系に対する糖尿病性神経障害の影響を調べ、1型糖尿病モデルラットの横隔神経運動ニューロンが損傷していること、それを補償するかのように横隔膜の運動単位の動員や活動頻度などに変化が生じていること、また、横隔神経の運動神経伝導速度が対照群に比べて遅延していることを明らかにした。これらの結果は、糖尿病性神経障害によって呼吸を調節するシステムに障害が生じている可能性を示唆するものであると考えた。

2. 研究の目的

先にも述べた通り、我々は、糖尿病罹患により、呼吸を調節するシステムに糖尿病性神経障害による障害が生じている可能性が高いと考えている。中でも、横隔神経の障害は横隔膜機能の障害を引き起こし、呼吸システムそのものに影響を及ぼす可能性が非常に高い。

そこで本研究では、糖尿病に関連して生じる呼吸運動を制御するシステムへの影響を統合的に解析し、糖尿病性神経障害による呼吸機能への影響を明らかにすることを目的として、まずは横隔神経軸索への影響についての形態学的解析について追加解析を行うこと、また、横隔神経の神経筋接合部について形態学的解析を行うこととした。

3. 研究の方法

(1) 対象

実験には13週齢の雄性Wistarラットを用いた。糖尿病群には、ストレプトゾトシンを腹腔内投与し、1型糖尿病を発症させたラットを用いた。対照群には、生理食塩水を腹腔内投与した同週齢のラットを用いた。各群のラットは、22週間の生存期間の後、実験に供した。

(2) 横隔神経の軸索の形態学的解析

対象の頸部を切開し、腕神経叢から分岐した横隔神経を摘出し、Epon包埋を行った。薄切後、トルイジンブルー染色を実施し、得られた染色像を顕微鏡下で観察した。また、染色像を撮影し、ImageJ softwareを用いて、髄鞘および軸索の短径を測定して、g-ratioを算出した。

(3) 横隔神経の神経筋接合部の形態学的解析

対象の胸部を切開し、横隔膜を摘出して、4%パラホルムアルデヒドにて後固定した。bungarotoxinを用いてアセチルコリン受容体を標識し、また、神経終末のマーカースとして抗PGP9.5抗体と抗synaptobrevin抗体を用いた免疫組織化学染色をwhole mount法にて行った。得られた染色像を顕微鏡下で観察し、また、染色像を撮影した。デジタル化した画像をImageJ softwareを用いて解析を行い、神経筋接合部の面積と神経筋接合部を構成するアセチルコリン受容体の総面積を測定した。

4. 研究成果

(1) 糖尿病モデルラットについて

ストレプトゾトシンを投与した糖尿病群の全個体で血糖値が上昇し、1型糖尿病を発症したことが確認できた。

(2) 横隔神経の軸索の形態学的解析

糖尿病群においても、有髄線維の脱落など、明らかな神経損傷を示す所見は認められなかったが、対照群に比べて大径線維が少ない傾向が観察された。しかし、糖尿病群と対照群の横隔神経軸索の平均値の比較では、有意差はみとめられなかった。横隔神経の髄鞘、g-ratioについても同様に平均値を比較したが、有意差はみとめられなかった。

一方、軸索の短径の分布を確認したところ、糖尿病群では大径の有髄線維、特に短径が5 μ m以上の線維割合が減少していた。髄鞘の短径の分布、g-ratioの分布では両群間に差はみられなかった。

(3) 横隔神経の神経筋接合部の形態学的解析

糖尿病群では、対照群と異なり、一部の神経筋接合部において、アセチルコリン受容体は筋に局在するものの、神経終末が重なっていないことが観察できた。また、神経終末とアセチルコリン受容体が全て重なっている神経筋接合部でも、対照群に比べて糖尿病群には構造が貧弱なものが存在した。

また、神経筋接合部の面積と、神経筋接合部を構成するアセチルコリン受容体の総面積は、いずれも糖尿病群の方が小さい傾向にあった。

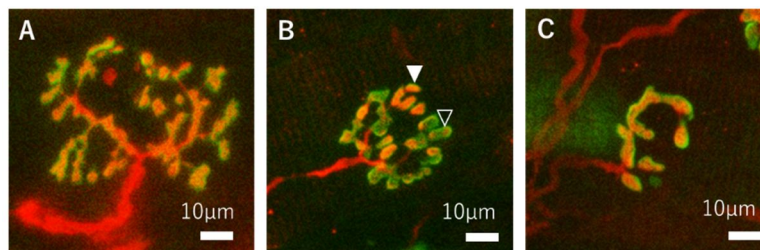


図1．神経筋接合部の染色像の比較
A) 対照群、B,C) 糖尿病群

(4) まとめ

糖尿病罹患者を対象とした疫学調査において、糖尿病罹患患者では呼吸の予備機能を中心に呼吸機能が低下することが報告されている²⁾。また、呼吸機能が低下した糖尿病患者の横隔神経の神経伝導速度や誘発筋電図の振幅を測定した報告では、神経伝導速度や誘発筋電図に健常者との差がみとめられないとして、その原因を横隔膜そのもの、すなわち筋実質の異常にあると結論づけている³⁾。他方、四肢に生じたDNの重症度と呼吸機能低下に関連性を報告する研究⁴⁾もあり、呼吸機能の異常に横隔神経障害に関わる可能性は否定できない。

本研究にて得られた、横隔神経軸索の萎縮や、神経筋接合部の縮小化・変性といった一連の結果は、糖尿病性神経障害を発症した下肢の運動ニューロンにおいても確認されている変化である。この事実は、下肢の運動ニューロンと同じく、横隔神経も糖尿病の影響を免れないことを示しており、1型糖尿病モデルラットにおいて横隔神経に糖尿病性神経障害による障害が生じている可能性を示唆するものである。

先にも述べた通り、横隔神経の障害は横隔膜機能の低下を直接的に引き起こす可能性が高いと考えられることから、糖尿病性神経障害による横隔神経の障害によって、糖尿病罹患患者の呼吸システムに影響が生じている可能性は高い。これを明らかにするため、今後も検討を続けていく必要がある。

引用文献

- 1) Zhi You Fang, James Sharman, Johannes B. Prins, Thomas H. Marwick, Determinants of Exercise Capacity in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 2007 ;28(7): 1643-1648
- 2) Bram van den Borst, Harry R Gosker, Maurice P Zeegers, Annemie M W J Schols, Pulmonary function in diabetes: a metaanalysis. *Chest*, 2010 ; 138: 393-406
- 3) Theodor Wanke; Tatjana Patemostro-Sluga; Wolfgang Grisold; Dieter Formanek; Martin Auinger; Hartmut Zwick; Karl Irsigler, Phrenic Nerve Function in Type 1 Diabetic Patients with Diaphragm Weakness and Peripheral Neuropathy. *Respiration*,1992 ; 59 : 233-237
- 4) H-J Kabitz, F Sonntag, D Walker, A Schwoerer, S Walterspacher, S Kaufmann, F Beuschlein, J Seufert, W Windisch, Diabetic polyneuropathy is associated with respiratory muscle impairment in type 2 diabetes. *Diabetologia* , 2008 ; 51 : 191-197

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 生友聖子、玉木徹、大城直美、福田実乃里、丹羽正利、村松憲
2. 発表標題 横隔神経の軸索は糖尿病性ニューロパチーにより障害される
3. 学会等名 第6回日本糖尿病理学療法学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masako Ikutomo, Toru Tamaki, Satoshi Shimo, Naomi Ooshiro, Masatoshi Niwa, Minoru Fukuda, Ken Muramatsu
2. 発表標題 Axonal degeneration of the phrenic nerve in diabetic rats
3. 学会等名 第42回日本神経科学大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 生友聖子
2. 発表標題 糖尿病性運動ニューロン障害が切り開く新しいパラダイム
3. 学会等名 第4回基礎理学療法学 夏の学校
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 生友聖子
2. 発表標題 糖尿病性神経障害は横隔神経も標的とするか？
3. 学会等名 日本呼吸・循環器合同理学療法学会学術大会2023
4. 発表年 2023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
研究協力者	村松 憲 (Muramatsu Ken)		

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
---------	---------