

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 9 月 5 日現在

機関番号：82506

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09368

研究課題名(和文)電気生理学的多角的アプローチによる糖尿病の末梢神経変性・再生の病態解析

研究課題名(英文) Pathophysiology of diabetic peripheral neuropathy based on multiple electrophysiological evaluation

研究代表者

磯瀬 沙希里 (Ise, Sagiri)

独立行政法人国立病院機構(千葉東病院臨床研究部)・神経変性疾患研究室・室長

研究者番号：80466698

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：糖尿病性末梢神経障害の病態機序は病型によって異なるとされるが、未だ不明な点が多い。今回複数の電気生理学的手法を用いて大径・小径線維における器質的・機能的変化について多角的に検討した。対象は1型糖尿病患者22例、2型糖尿病患者32例、正常対照20例で、表皮内電気刺激法を用いた誘発電位検査、神経伝導検査および軸索機能検査を行った。2型群では1型群に比べ疼痛症状の頻度が高く、また潜時延長等の小径線維障害は2型群で特に強い変化を認めた。軸索機能検査では1型群で脱分極性変化を認め、これは罹病期間と相関した。病型により小径線維・軸索機能に違いが見られ、臨床症状・病態に関連している可能性がある。

研究成果の概要(英文)： Pathophysiology of diabetic peripheral neuropathy will depend on the type of diabetes mellitus, however, it has not yet been fully clarified. To investigate the mechanism, we evaluated structural and functional changes in peripheral nerve fibers using multiple electrophysiological methods. We enrolled 22 patients with type 1 diabetes (T1DM), 32 patients with type 2 diabetes (T2DM) and 20 normal controls (NC). Nerve conduction studies, nerve excitability testing and sensory evoked potentials using intraepidermal electrical stimulation (IES-SEP) were performed. Pain was more frequently recognized in patients with T2DM than T1DM. IES-SEP test showed prolonged latencies in the T2DM group compared with the NC group. In nerve excitability testing, patients with T1DM showed the membrane depolarization compared with the NC group, and the degree correlated with the duration of disease. The electrophysiological tactics is of help for the elucidation of the pathophysiology.

研究分野：電気生理学

キーワード：糖尿病性末梢神経障害 大径線維 小径線維 電気生理学の検査 軸索機能検査 疼痛関連誘発電位

1. 研究開始当初の背景

糖尿病性末梢性神経障害の病態機序に関しては、高血糖に起因する代謝異常・血管障害・神経再生障害などの多因子の関与が推測されており、インスリン・Cペプチドの神経に対する直接作用の作用不足なども言われている。1型・2型糖尿病においては、末梢神経障害の病態機序が異なることが言われており、2型糖尿病では、高血糖の他、脂質異常が中心的役割を果たすのに対し、2型糖尿病では高血糖およびインスリン分泌異常・Cペプチドに起因する神経変性・再生障害が中心とされ、神経障害性疼痛など臨床症状の頻度にも差あるとされる。

基本的にはこれら多因子が相互に関連し糖尿病性末梢神経障害の病態を形成するとされるが、中でもポリオール経路の亢進が中核病態と考えられている。上記代謝異常は、末梢神経軸索のNa-Kポンプ機能低下を起し、軸索Na電流低下を生じるという病態機序が推測されるが、神経の器質的変化をみる従来の検査法(神経伝導検査)では評価困難であった。軸索イオンチャンネル機能評価法¹⁾は、神経軸索機能を非侵襲的に評価できる検査法で、これまで糖尿病を含む様々な神経疾患に臨床応用されているが、1型糖尿病における検討は少ない。

一方、表皮内電気刺激法²⁾は、新たな小径線維の選択的刺激法であり、小径線維病変や神経障害性疼痛の評価法として注目される。これは、痛みに関連する神経線維(小径線維: A δ 線維・C線維)の自由神経終末を、表皮内に弱電流で刺激することで選択的に刺激する方法で、疼痛関連誘発電位で用いられている従来の刺激法(レーザー刺激等)と比較し、汎用性が高く、簡便かつ選択的に侵害受容器を刺激することが可能であり、刺激-神経終末興奮時間の安定性の面で非常に優れており、神経障害性疼痛の病態解明・臨床への応用も期待される。また糖尿病性末梢神経障害においても早期小径線維病変の検出の有用性が指摘されている。

2. 研究の目的

上記知見に基づき、1型・2型糖尿病患者での末梢神経障害に関して、軸索機能評価や小径線維評価を含む新たな視点からの神経・生理学的評価を行い、末梢神経障害の変化を器質的・機能的側面から評価・解析することにより、糖尿病性末梢神経の病態を解明する事を目的とする。

3. 研究の方法

1型糖尿病患者22例、2型糖尿病患者32例、正常対照20例を対象とした。

1) 大径線維評価として神経伝導検査および軸索イオンチャンネル機能検査を行い、前者では一側上下肢で施行し末梢神経障害の器質的变化を評価、後者では一側上肢(正中神経)

で施行し末梢神経軸索の機能的変化を評価した。

軸索イオンチャンネル機能検査とは、コンピュータプログラムに従い、軸索に特定のイオンチャンネルを活性化または不活性化する条件刺激を加えた上で、一定振幅の反応(最大振幅の40%)を誘発するのに必要な試験刺激の強度を測定する事により、Na・Kチャンネル等の機能、イオン電流を評価する方法である。評価項目としては、神経伝導検査における正中神経・腓腹神経の振幅、軸索イオンチャンネル機能検査における各パラメーターとした。

2) 小径線維評価として、表皮内電気刺激法による誘発電位検査(IES-SEP)を行った。

表皮内電気刺激法は、新規の疼痛誘発刺激法であり、疼痛に関連する小径神経線維(A・C線維)の自由神経終末が表皮内で終わるのに対し、触覚に関わる線維の機械的受容器はそれより深層に局限する事に基づき、表皮内に弱電流で刺激することにより、疼痛関連線維のみを選択的に刺激する方法である。電極の極性・刺激波形を変更する事により、選択的なA・C線維の刺激弁別が可能である。本研究では、上記刺激手法を用いて、一側上下肢にA・C線維の選択的刺激を行い、体性感覚誘発電位を記録した。誘発電位は国際10-20法に基づきCzに記録電極、両耳朶に基準電極を配置し、Cz・Electrooculographyの波形を記録した。評価項目はA・C線維における刺激閾値・潜時・振幅で行った。

3) 臨床症状・背景因子の検討としては、年齢・性別・病型(1型・2型糖尿病)罹病期間・合併症(腎症ステージ分類)・臨床症状(疼痛など)・検査データの他、神経障害評価(Total neuropathy scoreなど)などを用いて、臨床経過・神経障害との関連を検討した。

4. 研究成果

A) 全収集データから、透析患者を除いた(血清K値等により神経軸索興奮性が変化する為)、1型糖尿病患者(T1DM)18例、2型糖尿病患者(T2DM)26例、正常対照(NC)20例の計64例において、正常対照との群間比較を行った。以下、それぞれの検査値は(Mean \pm SD)で示し、有意水準は $p<0.05$ とした。

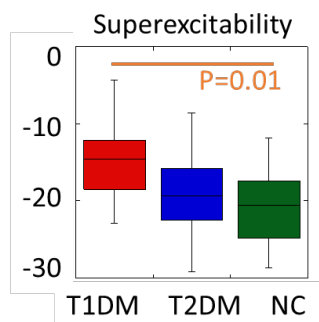
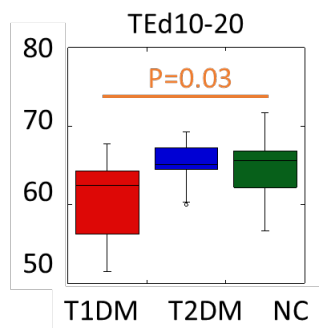
1) 背景因子について:

平均年齢はT1DM 54 ± 17 歳、T2DM 63 ± 12 歳、正常対照 75 ± 17 歳で両群間に有意差はなく、性別も有意差はなかった。罹病期間はT1DM 17.5 ± 13.6 年、T2DM 14.1 ± 10.5 年、血糖管理(HbA1c)はT1DM 8.3 ± 2.9 、T2DM 9.2 ± 2.3 、腎機能(eGFR)は 58 ± 35 、T2DM 65 ± 28 であり、いずれの項目においても両群間に有意差はなかった。Total neuropathy score

(TNS)に関しては、T1DM 8.8 ± 2.9 、T2DM 5.2 ± 5.7 と T1DM で重度の傾向にあったが統計学的有意差には至らなかった ($p=0.10$)。疼痛症状を有する症例は T2DM 群で有意に多かった ($17\% \text{ vs } 46\%$, $p<0.05$)。

2) 大径線維検査について:

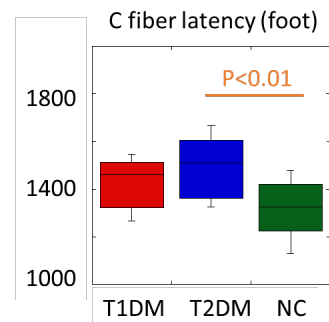
神経伝導検査では、正中神経および腓腹神経の感覚神経複合電位振幅で評価、T1DM・T2DM とともに正常対照と比べ有意に低下した(正中神経; T1DM $20.2 \pm 13.2 \mu\text{V}$, $p<0.01$, T2DM $17.1 \pm 11.1 \mu\text{V}$, $p<0.01$, NC $38.2 \pm 12.7 \mu\text{V}$)。軸索機能検査では、正中神経感覚神経で評価、閾値緊張法 (Threshold Electrotonus: TE) では T1DM で Fanning-in の変化および回復曲線 (Recovery cycle: RC) では同じく T1DM 群において Superexcitability 低下・Relative refractory period 増大・Refractoriness 上昇などを認め、脱分極性変化と考えられた。T2DM では統計学的有意差に至るパラメーター変化はみられなかった。



3) 小径線維評価について:

表皮内電気刺激法による誘発電位検査では、小径有髄線維 (A 線維) および無髄線維 (C 線維) の選択的刺激を行い、誘発電位を 10 回加算平均法で記録、それぞれの波形について振幅・潜時 (P) および刺激閾値について群間解析を行った。刺激閾値に関しては、A 線維・C 線維刺激ともに上下肢で両群有意に上昇しており、T2DM でより高度であった (上肢 A 刺激: T1DM $0.14 \pm 0.12 \text{mA}$, T2DM $0.21 \pm 0.20 \text{mA}$, NC $0.06 \pm 0.02 \text{mA}$; T1DM vs NC, $p<0.01$, T2DM vs NC, $p<0.001$)。潜時に関しては、T2DM で有意な延長を認めるも、T1DM では有意差に至らなかった (T1DM $369 \pm 56 \text{ms}$ 、

T2DM $380 \pm 66 \text{ms}$ 、NC $342 \pm 59 \text{ms}$; T1DM vs NC, $p>0.05$, T2DM vs NC, $p=0.03$)。以上の所見より、T2DM 群は T1DM 群に比べ小径線維障害がより高度と考えられた。



4) 臨床所見との相関について:

T1DM 群では、罹病期間と膜電位変化が有意に相関 ($r=-0.90$, $p<0.01$) しており、T1DM での神経障害の病態機序は Na/K ポンプ機能異常が主体と考えられた。一方、T2DM では腎機能障害と罹病期間 ($r=-0.52$, $p<0.01$)・年齢 ($r=-0.57$, $p<0.01$) が有意に相関しており、膜電位変化との相関は見られなかった。

T1DM では Na/K ポンプ機能障害を主体とした病態の均一性が示唆され、大径線維・小径線維病変の障害度の違いに関しては、両者に生理的な膜電位・ポンプ機能の差異が存在する報告があり、その違いを反映している可能性がある。一方、T2DM では膜電位単独との相関が乏しく、大径・小径線維障害は同等にみられており、膜電位変化に加え虚血・血管性変化の影響などに伴う病態の複雑化が示唆された。

B) 末期腎不全期 (CKD Stage5) における末梢神経障害の特徴について、腎症前期 (Stage 1) および健常者を対象として比較検討した。

1) 背景因子について:

末期腎不全 (S5) 9 例、腎症前期 (S1) 23 例、正常対照 (NC) 20 例を対象とした。平均年齢では S5 群で 48 ± 13 歳、S1 群 60 ± 14 歳、NC 群 57 ± 17 歳であり、S1 群は NC 群に比べ有意に高齢であった。性別・病型 (T1DM・T2DM) に関しては両群に有意差はなかった。S5 群では S1 群に比べ、疼痛症状を有する症例が多かった ($78\% \text{ vs } 30\%$, $p=0.02$)。

2) 大径線維検査について:

神経伝導検査では正中神経 (運動・感覚神経)、脛骨神経、腓腹神経で評価、S5 群は S1 群に比べて脛骨神経複合筋活動電位振幅 (S5 $7.3 \pm 4.9 \text{mV}$, S1 $12.5 \pm 5.0 \text{mV}$, $p=0.02$) および腓腹神経感覚神経複合電位振幅 (S5 $6.3 \pm 5.4 \mu\text{V}$, S1 $10.3 \pm 5.8 \mu\text{V}$, $p<0.05$) で有意に低下していた。

3) 小径線維評価について:

A 線維・C 線維刺激ともに、S5 群では S1 群

に比べ刺激閾値の上昇(上肢 C 刺激 : S5 0.19 ± 0.12mA, S1 0.17 ± 0.15mA, NC 0.08 ± 0.03 mA, S5 vs NC p<0.001, S1 vs NC p<0.01) を認め、振幅は S5 群で増大傾向にあった(S5 13.2 ± 4.4 μV, S1 10.2 ± 3.9 μV, NC 9.7 ± 4.4 μV; S5 vs NC p=0.057, S1 vs NC p>0.05)。刺激閾値は表皮内神経終末密度と逆相関するとされ、刺激閾値の上昇は小径線維障害の指標とされる。S5 群の誘発電位振幅は、刺激閾値を考慮すると相対的に増大(皮質興奮性増大) している可能性があり、疼痛症状などとの関連が推測される。

このように複数の電気生理学的手法を用いることにより、多因子の関与が想定される糖尿病性末梢神経障害の病態機序をより詳細にかつ非侵襲的に評価できる可能性があると考えられる。

参考文献 :

- 1) Bostock H, Cikurel K, Burke D. Threshold tracking techniques in the study of human peripheral nerve. Muscle Nerve. 1998;21:137-58.
- 2) Inui K, Kakigi R. Pain perception in humans: use of intraepidermal electrical stimulation. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2012;83:551-6.

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- 1) Isose Sagiri, Koide Mizuho, Ito Kimiko, Araki Nobuyuki, Honda Kazuhiro, Takeda Takahiro, Misawa Sonoko, Arai Kimihito, Kuwabara Satoshi. Evaluation of small fiber involvement using pain-related evoked potentials in patients with type 1 and type 2 diabetes. Clinical Neurophysiology. 査読あり 2018. 129,38.doi.org/10.1016/j.clinph.2018.02.098

[学会発表] (計 2 件)

- 1) 磯瀬沙希里 他。1 型および 2 型糖尿病患者における疼痛関連誘発電位の特徴。第 47 回日本臨床神経生理学学会学術大会。2017.

- 2) 磯瀬沙希里 他。表皮内電気刺激法を用いた糖尿病末期腎不全における末梢神経障害の検討。第 59 回日本神経学会学術大会。2018.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

なし

出願状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

[その他]
ホームページ等

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

磯瀬沙希里 (ISOSE, Sagiri)
千葉東病院臨床研究部・神経変性疾患研究室・室長
研究者番号 : 80466698

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :

(4) 研究協力者

()