

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09298

研究課題名(和文) 高齢者糖尿病における高血糖の是正が骨格筋に及ぼす影響に関する多面的検討

研究課題名(英文) A comprehensive study related to the effects of improvement of hyperglycemia on skeletal muscle mass and function in older subjects with diabetes

研究代表者

杉本 研 (SUGIMOTO, KEN)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：20437403

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)：フレイルが高齢糖尿病患者で多いことから、高血糖の改善がフレイルを改善するという仮説をもと臨床研究と基礎研究を行った。身体的フレイルを呈する高齢糖尿病患者を対象に食後高血糖の改善による骨格筋への影響をランダム化比較試験により検討したところ、筋力とバランス機能が改善する可能性が示された。糖尿病モデルラットを用いてSGLT2阻害薬を用いた血糖改善が骨格筋に与える影響を検討したところ、高血糖により生じた骨格筋量の減少が血糖降下治療により抑制された。高血糖により骨格筋にAGE蓄積が生じることにより筋タンパク質分解が誘導され筋量低下が生じるが、血糖降下治療によりそれが抑制されることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

治療中の高齢糖尿病患者における高血糖の残存はフレイル・サルコペニアを進展させるため、高齢者においても高血糖への配慮が必要であることが、本研究結果によって明確化することができる。また臨床的検討において、食後高血糖の改善により骨格筋への好影響がみられたことから、高齢糖尿病患者が良好な健康寿命を維持するためには、低血糖の回避も含めてHbA1cのみに頼る血糖管理は意義が小さいことを支持するエビデンスとして期待される。

研究成果の概要(英文)：Since the prevalence of frailty is higher in older patients with diabetes than in those without, we conducted clinical and basic research to clarify the hypothesis that frail phenotypes can be improved by correcting hyperglycemia using antidiabetic agents. In a randomized clinical study to examine the effect of improvement of postprandial hyperglycemia on skeletal muscles in older diabetic patients with physical frailty, the correction of postprandial hyperglycemia might improve muscle strength and balancing ability. In a basic study to examine the effect of improvement of hyperglycemia using an SGLT2 inhibitor on skeletal muscle in diabetic model rats, the decline of muscle mass induced by hyperglycemia was suppressed by correction of hyperglycemia. This study suggests that antihyperglycemic treatment can suppress muscle deterioration induced by the accumulation of advanced glycation endproducts (AGE) in muscle promoting muscle protein degradation caused by hyperglycemia.

研究分野：老年医学

キーワード：サルコペニア 高血糖 糖尿病モデル動物 SGLT2阻害薬

1. 研究開始当初の背景

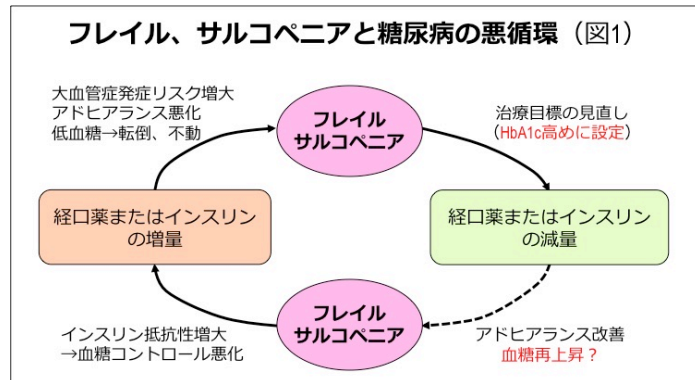
超高齢社会を迎えた現在、転倒・寝たきりといった生活機能の低下を招く身体的変化のひとつとして、フレイルやサルコペニアが注目されている。一方、高齢者では生活習慣病、なかでも糖尿病の増加が問題となっており、高齢糖尿病患者では非糖尿病患者に比し、転倒が多く、身体機能が低下していることが報告されている。我々も糖尿病とフレイル・サルコペニアとの関連を報告してきた(2015 日本糖尿病学会など)が、糖尿病患者におけるフレイル、サルコペニアのスクリーニングの必要性が十分に浸透していないことや、適切な介入法が確立されていないことなどが課題である。

2016年5月に日本糖尿病学会、日本老年医学会の合同委員会から高齢者糖尿病治療の血糖コントロール目標が発表され、高齢者を年齢ではなく認知機能や身体機能によりクラス分けし、低血糖を誘発する可能性が高い薬剤の使用の有無が加味され、目標のHbA1cは高めに設定された。しかし、それにより図1に示すような悪循環が形成されることが考えられるが、治療目標の緩和により生じる血糖上昇が認知機能や身体機能に与える影響については十分に検討されていない。

この悪循環を断ち切るための高齢者に適した糖尿病治療薬としては、低血糖の可能性が少なく、確実な血糖低下作用を有し、副作用が少ないものが求められる。なかでもSGLT2阻害薬は、脱水や尿路感染症といった副作用の点からフレイル高齢者においてその使用が懸念されているが、高齢者を含む大規模臨床試験において死亡リスクを減少させたはじめての糖尿病治療薬であり、心血管病のリスク減少のみならず、腎保護や脂肪肝改善などの効果が注目されている。高齢者において高血糖の是正によるフレイル、サルコペニアへ影響をみるためには、薬剤自体に骨格筋への直接作用がない薬剤を用いて、血糖降下そのものによる骨格筋への影響を検討することが必要である。

高血糖とサルコペニアの関連をみた基礎的検討では、加齢や高血糖状態により生じる終末糖化産物(AGE)が、高齢ラットで速筋に多く蓄積すること、アクチンがAGEの修飾を受け運動能が低下すること、ストレプトゾトシン糖尿病モデルにおいて骨格筋に蓄積したAGEが受容体(RAGE)とAMPKシグナルを介した骨格筋萎縮を誘導することが報告されており(J Pathol, 2016)、高血糖によるサルコペニア進展機序のひとつであることが示されている。一方、SGLT2阻害薬はストレプトゾトシン糖尿病モデルの血糖を正常化し、骨格筋量低下を抑制するという報告もあることから、薬剤を用いた高血糖改善による骨格筋への影響を基礎・臨床の両面から検討することの意義は、糖尿病患者の健康寿命延伸の観点からも大きいと考えられる。

我々は、65歳以上の2型糖尿病患者のうち、身体的フレイルを呈し、かつ加療中にも関わらず血糖コントロール目標を達成していない患者を対象に、間SGLT2阻害薬を用いて半年間血糖是正を行った際の骨格筋への影響と、高血糖モデル動物に対するSGLT2阻害薬投与が骨格筋に与える影響を検討することにより、高血糖の是正が骨格筋量または機能に与える影響を多面的に解明することを目的とした研究を計画した。



2. 研究の目的

高血糖がフレイル・サルコペニアの進展に関与しているという仮説のもと、臨床研究として

(1)身体的フレイルを呈する高齢糖尿病患者を対象に、高血糖の是正が筋量、筋力、身体機能、下腿筋エコーによる筋質評価などに与える影響を検討すること、基礎研究として

(2)ストレプトゾトシン(STZ)糖尿病モデルラットで生じる筋量減少、筋力低下が、SGLT2阻害薬による高血糖の是正により軽減するかを、終末糖化産物(AGE)や炎症の関与に着目し検討すること、

により、高血糖の是正が身体的フレイルやサルコペニアの悪化を抑制し得るかを、臨床・基礎の両面から明らかにする。

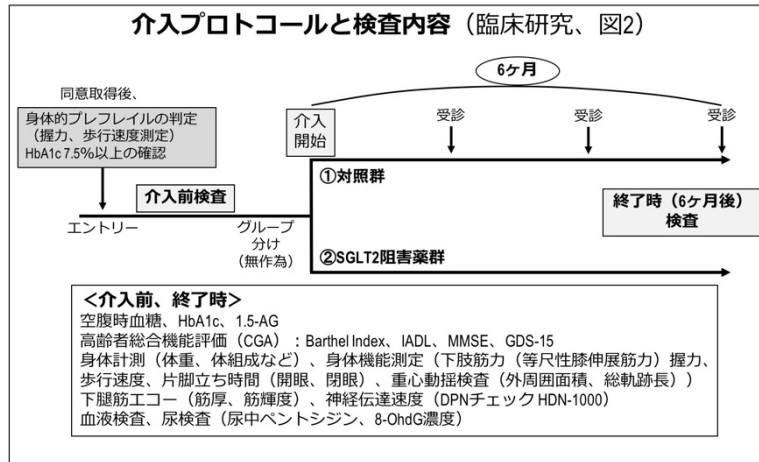
3. 研究の方法

(1)身体的フレイルを呈する高齢糖尿病患者を対象とした血糖降下薬を用いた高血糖の是正による身体的フレイルやサルコペニア指標への影響の検討

臨床研究に関しては、下記のプロトコル内容について、大阪大学臨床研究倫理審査委員会の承認を得た上で開始する。

<対象>大阪大学医学部附属病院老年・高血圧内科に通院または入院中の65歳以上の2型糖尿病患者のうち、以下の基準に従って身体的フレイル（握力低下、歩行速度低下のうちのいずれかを満たす場合）と診断され、かつ現行治療においてもHbA1c 7.5%以上が2ヶ月以上持続している患者を対象とする。

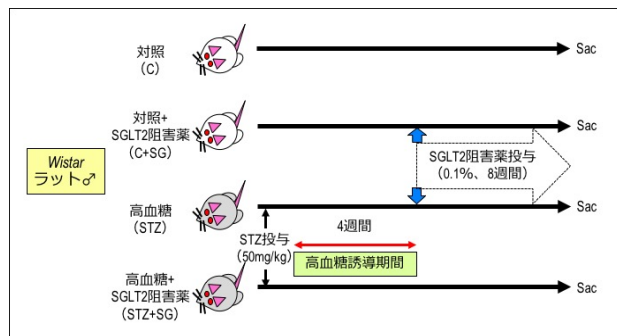
<方法>：介入プロトコルは以下の通りとする（図2）。介入前検査として、血糖プロファイル（空腹時血糖、HbA1c）を含む通常臨床で行う血液検査と尿検査（尿中ペントシジン、8-OHdG濃度）、高齢者総合機能評価（CGA；基本的ADL、手段的ADL、MMSE、GDS-15等）、身体計測（身長、体重、体組成、腹囲等）、身体機能測定（等尺性膝伸筋力、握力、歩行速度、開眼片脚立ち時間、重心動揺検査（外周囲面積、総軌跡長）、下腿筋エコー（前脛骨筋、腓腹筋、ヒラメ筋の筋厚、筋輝度））をそれぞれ施行する。その後、無作為に2群に分ける：①SGLT2阻害薬服用群；②対照群（現行治療を継続）。各群の目標症例は15症例とする。①群については、最大2ヶ月以内の受診毎に有害事象の確認を行う。食事・運動療法については、研究期間中は変更せず、エントリー前の状況を維持させる。同検査と評価を6ヶ月後に再度施行し、介入前後、群間で各指標の比較検討を行う。



性膝伸筋力、握力、歩行速度、開眼片脚立ち時間、重心動揺検査（外周囲面積、総軌跡長）、下腿筋エコー（前脛骨筋、腓腹筋、ヒラメ筋の筋厚、筋輝度）をそれぞれ施行する。その後、無作為に2群に分ける：①SGLT2阻害薬服用群；②対照群（現行治療を継続）。各群の目標症例は15症例とする。①群については、最大2ヶ月以内の受診毎に有害事象の確認を行う。食事・運動療法については、研究期間中は変更せず、エントリー前の状況を維持させる。同検査と評価を6ヶ月後に再度施行し、介入前後、群間で各指標の比較検討を行う。

(2)糖尿病モデル動物を用いたSGLT2阻害薬による高血糖の是正が筋量、筋質に与える影響の検討

<方法>雄性Wistarラットにストレプトゾトシン (STZ) 投与 (40mg/kg の単回腹腔内投与) し、高血糖モデルを作成する（随時血糖が300mg/dL以上）。16週齢時にSGLT2阻害薬（ルセオグリフロジン0.1%を混餌）群と対照群の2群に分け、24週齢まで飼育を継続する。1) STZ投与前（12週齢）、2) STZ投与4週後（16週齢）、3) SGLT2阻害薬投与終了時（24週齢）に血糖と体重を測定する。24週齢時に採血、両側下腿筋（前脛骨筋、ヒラメ筋、腓腹筋、大腿四頭筋を採取）、心臓、肝臓、精巣上体脂肪等を採取する。採血検体ではサイトカイン濃度



（IL-6、TNF α 等）の測定を、骨格筋検体では重量測定、組織学的検討（HE染色による筋組織性状とサイズ、AGEなどの免疫染色）、mRNAまたは抽出タンパクを用い、筋タンパク分解関連分子、AMPKシグナル関連分子やマイオカイン（IL-6、IL-15等）発現を評価し、SGLT2阻害薬投与群と対照群との間で比較検討を行う（右上図）。

4. 研究成果

(1)については、2018年12月に「高齢糖尿病患者に対する食後高血糖改善がフレイル・サルコペニアに及ぼす影響の検討」として承認された臨床研究を開始した。承認を受ける際、当初予定していたSGLT2阻害薬を用いたプロトコルは当時SGLT2阻害薬の高齢者における使用が慎重投与であったために承認されず、止むを得ず食後高血糖改善をターゲットとすることに変更し、食後血糖降下作用を有する薬剤と同等のHbA1c低下作用を示すと考えられる薬剤との2群比較のプロトコルに変更となった。具体的には対照群（少量SU薬使用群）と介入群（ α グルコシダーゼ阻害薬とグリニド薬の合剤使用群）との比較によりサルコペニア指標との関連について、前述の方法により検討を行っている。現在の実施症例数6例（対照群、介入群3例ずつ）による中間報告を示す。

HbA1cの変化は両群間で同等であり（対照群 8.2→7.5%、介入群 8.4%→7.4%）、HbA1c上は両群とも改善がみられた。一方血糖日間平均とそのSDについては、対照群と比較し、介入群で改善が大きかった（日間平均:対照群 192.0→147.5mg/dL、介入群 203.1→189.2mg/dL、SD:対照群 16.0→13.4mg/dL、介入群 22.6→22.1mg/dL）。四肢筋量の変化は両群間で差がなかったが、等尺性膝伸筋力、握力、開眼片脚立ち時間は対照群に比べ、介入群では上昇傾向あるいは生理的低下の抑制がみられた（膝伸筋力:対照群 19.1→20.3kg/kgf、介入群 13.9→15.3kg/kgf、握力:対照群 16.8→16.5kg、介入群 16.3→16.5kg、片足立ち時間:対照群 3.1→3.0秒、介入群 4.1→3.6秒）が、歩行速度、重心動揺検査では差がみられなかった。筋質の解析、血中、尿中サンプルの測定はまだサンプル数が少ないため未施行である。以上から血糖変動の改善が筋

力維持に寄与する可能性があるが、さらに症例数を蓄積した後、すべての解析を行う予定である（2021年3月末終了予定）。臨床研究法に基づいた1年目の定期報告とモニタリングも終了している。

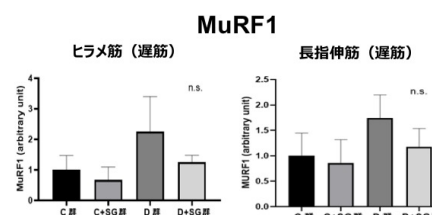
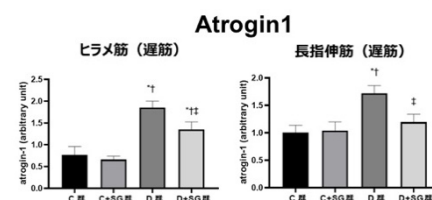
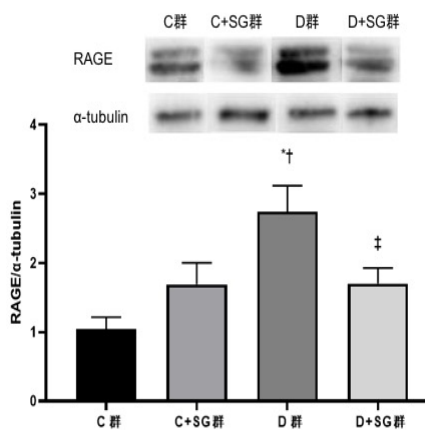
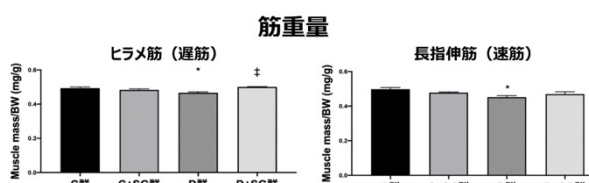
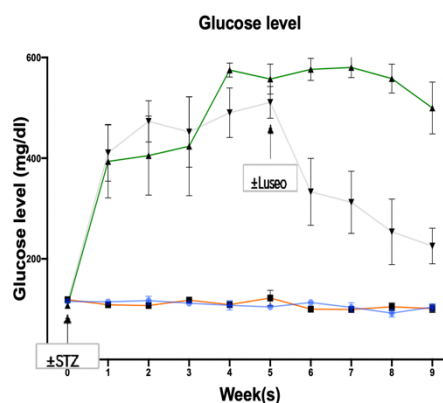
(2)については当初の予定通り、ストレプトゾトシン糖尿病(D)ラットとSGLT2阻害薬を用い、高血糖の有無と血糖降下効果の有無による下腿筋への影響を検討した。8週齢の雄性SDラットを対照(C)群、対照+SGLT2阻害薬(C+SG)群、糖尿病(D)群、糖尿病+SGLT2阻害薬(D+SG)群の4群に分けた。8週の経過において、体重はC、C+SG群と比較しD、D+SG群で有意に増加が抑制されたが、SGLT2阻害薬投与の有無では差がなかった。一方、血糖はD(緑)、D+SG群(灰)で有意に増加し高血糖状態を呈し、D+SG群(灰)ではSGLT2阻害薬開始後に血糖改善を示したが、C(青)、C+SG群(赤)と同等には改善しなかった(右図)。下腿筋重量については、ヒラメ筋重量は4群間で差はなかったが、長指伸筋、前脛骨筋、腓腹筋はD群でC群と比較し有意に重量が減少し、D群にみられた速筋群の重量減少はSGLT2阻害薬投与により部分的に改善を示した(右図)。以上からSGLT2阻害薬による高血糖是正により骨格筋重量の減少が抑制されたと考えられる。

そのメカニズムとして、速筋である長指伸筋における終末糖化産物(AGE)の受容体(RAGE)の発現を4群間で比較したところ、D群で発現亢進がみられたが、D+SG群でC群と同等の発現レベルであり、AGEの発現につ

いても同様であった(上図)。また、筋分解系のマーカーであるAtrogin1の発現は、ヒラメ筋、長指伸筋ともD群で増加したが、D+SG群でD群より発現量は低く、長指伸筋ではC群と同等であった。MuRF1の発現も同様であったが、統計学的な差はD群とD+SG群の間でみられなかった(右上図)。このように、高血糖で筋タンパク分解経路が促進され筋量低下が生じ、その機序としてAGEの関与が示唆され、速筋で特にその傾向が強かった。

IL-6、IL-15の発現については、IL-6については4群間で差はなかったが、IL-15についてはD、D+SG群でC群に比し有意に発現が増加していた。このことから、マイオカインIL-15は糖尿病状態では筋内に止まり分泌されないが、SGLT2薬による治療ではその分泌が促進されないと考えられた。今後、運動(筋収縮)により改善が得られるかについて検討予定である。以上の内容については、第62回日本老年医学会学術集会(2020年8月4~6日)で発表予定である。

現在、筋断面積による組織学的検討、RAGEの下流シグナルについて検討中であり、今年度中に全ての研究を終了予定である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 栗波仁美、杉本 研
2. 発表標題 SGLT2阻害剤によるサルコペニア予防効果：糖尿病モデルラットを用いた検討
3. 学会等名 第62回日本老年医学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

大阪大学医学系研究科老年・総合内科学 研究・診療グループ紹介 http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/geriat/www/jgrpa.html 大阪大学 老年・総合内科学 http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/geriat/www/index.html

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 分 担 者	樂木 宏実 (RAKUGI HIROMI) (20252679)	大阪大学・医学系研究科・教授 (14401)	