

令和 2 年 4 月 19 日現在

機関番号：11501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K13011

研究課題名(和文)人工的なエネルギー代謝制御を可能にする末梢交感神経電気刺激法の開発研究

研究課題名(英文) Development of methods to control of energy metabolism with microstimulation of peripheral sympathetic nerve

研究代表者

佐藤 大介 (Sato, Daisuke)

山形大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：60536960

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)：本研究を含む一連の研究は、運動や投薬によらない人工的な糖・脂質代謝制御法の確立を最終目標としている。この方法論確立のための基礎的な検討として、本研究では、交感神経系を介したインスリンに依存しない糖取り込みの系が存在することに着想を得て、インスリン抵抗性を有する高脂肪食ラットの末梢交感神経へ微小電極を用いた電気刺激を行った。その結果、末梢交感神経電気刺激は血漿インスリン濃度の変化を伴わずに糖取り込みを亢進する傾向にあった。本研究の結果は、ラット末梢交感神経への電気刺激による人工的な交感神経系の賦活が、インスリンとは独立に糖取り込みを亢進する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、インスリン抵抗性を有するラットであっても、末梢交感神経への電気刺激によって、インスリンとは独立に糖取り込みが亢進する可能性が示唆された。今後本研究は、作用メカニズムの解析を重ねた上で、交感神経系の人工的な賦活による糖代謝系の制御が可能な医療機器の開発へと繋がる可能性があり、将来的には運動や投薬によらない新たな糖尿病治療法の提案を目指している。

研究成果の概要(英文)：It has been reported that enhancement of peripheral glucose uptake via sympathetic nervous system. In the present study, I conducted electrical microstimulation of peripheral sympathetic nerve fascicle in the insulin-resistant high-fat-fed rats. As a result, the microstimulation tended to enhance glucose uptake without change in plasma insulin level. These results suggest that the artificial activation of sympathetic nervous system by the microstimulation elevates glucose uptake independently of insulin secretion.

研究分野：代謝学

キーワード：末梢交感神経 糖取り込み 機能的電気刺激

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

メタボリックシンドロームは深刻な社会問題であり、この病態の進展は、糖尿病や脂質異常症に起因する動脈硬化性疾患等多数の合併症の重積リスクを意味するため、有効な予防・治療法に対する社会的ニーズが非常に高い。これら諸疾患に対して、例えば投薬や運動によって糖取り込みを亢進することで良好な血糖コントロールを維持することは、糖尿病での合併症予防の軸とされている。しかしながら、高齢者や高血圧を併発している患者にとって長時間の運動は困難を伴う。また、製薬各社も次々と新薬を市場に送り込んでいるものの、注射剤使用時の苦痛や低血糖等の副作用は依然として存在する。

生体の糖取り込み経路は、インスリン依存と非依存の二つに大別されるが、中枢由来の交感神経活動が末梢組織の糖取り込みをインスリン非依存的に亢進する系が存在すること (Sudo et al. *Am J Physiol* 1991;261:E268-E303) ならびに脂肪組織の脂肪分解や熱産生等の機能調節には交感神経活動が深くかかわっていること (Fliers et al. *J Neuroendocrinol* 2003;15:1005-1010; Lockie et al. *Diabetes* 2012;61:2753-2762) が報告されており、このことは、インスリン分泌不全あるいは機能不全 (インスリン抵抗性) に陥った糖尿病患者や、運動が困難な脂質異常症患者に対して、末梢交感神経系を人工的に賦活することで糖・脂質代謝をコントロールできる可能性があることを示唆している。

これまでの基礎的な検討結果として、微小電極を介して健常ラットの片側後肢坐骨神経中を走行する筋交感神経束を電気刺激 (以下、microstimulation) することで、インスリン非依存的に糖取り込みが亢進することを明らかにした (Sato et al. *J Artif Organs* 2013;16:352-358; Sato et al. *Diabetes* 2016;65(suppl. 1):A456)。

また、脂肪組織のインスリン感受性調節における機能発現には脂肪組織中の脂肪酸組成が深くかかわっている可能性についても報告してきた (Sato et al. *Metabolism* 2012;61:92-98; Sato et al. *Eur J Pharmacol* 2016;773:71-77)。したがって、電気刺激による末梢交感神経活動亢進は脂肪組織の脂肪酸組成にも影響を及ぼす可能性が極めて高く、このことは脂肪組織の脂質代謝も人為的に制御しうることを意味している。予備的検討では、microstimulation によってラット脂肪組織中の多様な種類の脂肪酸含有量が減少傾向を示した (第 37 回日本肥満学会, 2016 年, 東京)。

以上のように、健常状態での末梢交感神経束への microstimulation が糖取り込みを亢進する可能性が示唆されたものの、インスリン抵抗性が亢進した状態下での microstimulation の効果ならびにそのメカニズムは明らかになっていない。

### 2. 研究の目的

本研究課題は、これまでに健常動物を用いて得られた知見からの発展研究であり、インスリン抵抗性亢進状態下での末梢交感神経 microstimulation が糖取り込みに及ぼす効果について定量的に検討するとともに、microstimulation が糖代謝系調節に関与するホルモンに及ぼす影響についても検討することを目的とし、糖尿病や耐糖能障害に対する末梢交感神経系の人工的な賦活の有用性に関する検証を行った。

### 3. 研究の方法

これまで申請者らはラット末梢筋交感神経への microstimulation が糖取り込みに及ぼす効果について、健常ラットを用いて検討してきた。本研究計画ではインスリン抵抗性に対する microstimulation の効果を実証するため、高脂肪食によるインスリン抵抗性亢進モデルラット (Sato et al. *Metabolism* 2012;61:92-98; Sato et al. *Eur J Pharmacol* 2016;773:71-77) を用いた。

実験には Wistar 系雄ラットを用いた。6 週齢から標準飼料に加えて牛脂を任意に摂取させ、11-12 週齢に到達後、麻酔下にて片側後肢坐骨神経へ微小電極を用いた microneurogram 法を適用し (Nakamura et al. *J Neurosci Methods* 2003;131:35-39) 末梢交感神経信号を導出した。その後、神経信号導出に用いた微小電極を介して、幅 0.25 ms のパルス を 25 ms 間隔で 10 個並べたバースト信号を、1 s に 2 回の割合で印加した。電極周囲に存在する多種の神経線維への刺激拡散の可能性を排除するために、刺激強度は、電気刺激による微小な筋収縮が目視で確認できる強度から、-0.1 V とした (Sato et al. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2013:6329-6332)。

Microstimulation による糖取り込み亢進効果を検証するために、インスリン感受性の定量法として一般的な euglycemic clamp 法を適用しながら末梢筋交感神経束へ microstimulation を行い、インスリン抵抗性が亢進した状態での糖取り込み亢進効果について定量的に検討した。Euglycemic clamp 法では、麻酔下にて頸動脈より対照血糖値を測定後、頸静脈へインスリン 6.3 mU/kg/min を定速持続注入する一方で、22% グルコースを変速持続注入することで、対照血糖値近傍に血糖値を維持し、そのときのグルコース注入速度 (GIR) を糖取り込み量ならびにインスリン感受性の指標とした。

### 4. 研究成果

高脂肪食ラットへ euglycemic clamp 法を適用した結果、インスリン感受性の指標となる GIR は、先行研究で得られた健常ラットのそれに対して低値を示し、高脂肪食によってインスリン抵抗性が亢進していたことが示された。

Microstimulation 開始後は、刺激開始前に対して GIR が上昇傾向となり、刺激停止後もその傾向を維持した (図 1)。Euglycemic clamp 中の血漿インスリン濃度には、microstimulation の有無にかかわらず大きな変化がみられなかった (図 2)。

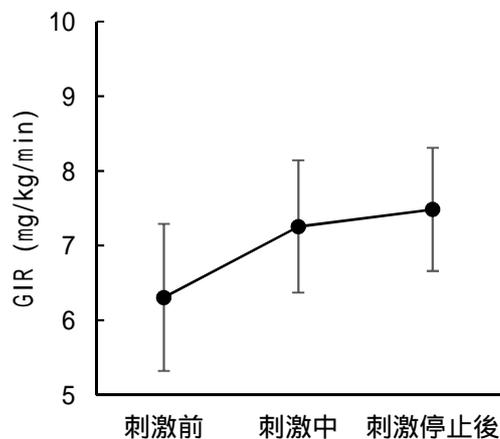


図 1 Euglycemic clamp 中の GIR の時間経過 (mean ± SD)

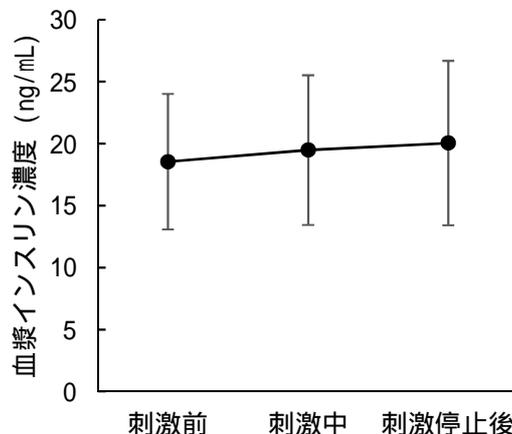


図 2 Euglycemic clamp 中の血漿インスリン濃度の時間経過 (mean ± SD)

これらの結果は、microstimulation が末梢交感神経系の賦活を介し、インスリン抵抗性亢進状態下であっても糖取り込みを亢進するとともに、電気刺激停止後もこの効果はある程度残存する可能性が示唆された。また、この糖取り込みはインスリンの系とは独立の系を介している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Sato D, Arisaka T, Sasaki H, Kusunoki M, Feng Z, Nakamura T
2. 発表標題 Glucose load decreases peripheral sympathetic nerve activity in rats treated with SGLT2 inhibitor
3. 学会等名 12th IDF-WPR Congress & 10th AASD Scientific Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Sato D, Yamaguchi R, Suzuki R, Sasaki H, Kusunoki M, Feng Z, Nakamura T
2. 発表標題 Electrical microstimulation of peripheral sympathetic nerve fascicle enhances glucose uptake independently of insulin action in rats
3. 学会等名 International Society of Autonomic Neuroscience 2017 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木遼, 山口陸, 佐藤大介, 楠正隆, 中村孝夫
2. 発表標題 ラット末梢交感神経束へのmicrostimulationによる糖取り込み亢進効果
3. 学会等名 第56回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2017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	中村 孝夫  (Nakamura Takao)  (00142654)	山形大学・医学系研究科・教授    (11501)	

## 6. 研究組織（つづき）

	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	楠 正隆 (Kusunoki Masataka)  (80214956)	名古屋大学・総合保健体育科学センター・寄附研究部門教授  (13901)	
研究協力者	仁科 淳良 (Nishina Atsuyoshi)  (00469884)	日本大学・理工学部・教授  (32665)	
研究協力者	堤 一彦 (Tsutsumi Kazuhiko)	冲中記念成人病研究所・嘱託研究員	