

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：34604

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2023

課題番号：18K11035

研究課題名（和文）糖尿病による末梢神経の酸化ストレスおよび栄養血管退行に対する運動療法の効果検証

研究課題名（英文）Effect of exercise on oxidative stress and capillary degeneration of peripheral nerves caused by diabetes mellitus

研究代表者

野中 紘士（Nonaka, Koji）

奈良学園大学・保健医療学部・専任講師

研究者番号：00565327

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：運動が糖尿病による末梢神経の酸化ストレスを軽減させるとともに毛細血管退行を予防するかを検証することを目的とした。糖尿病モデルラットに6週間の運動を実施させた結果、運動神経伝導速度の低下を予防した。しかしながら、坐骨神経の抗酸化酵素活性は運動により変化せず、酸化ストレスに関しては増加する可能性が示唆された。また、毛細血管の退行の予防も限定的であった。しかしながら、運動は坐骨神経への酸素供給量を増加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

糖尿病患者への治療法の1つとして運動がある。ただし、糖尿病の末梢神経障害に対する運動の効果についての検証は限定的である。本研究では糖尿病性末梢神経障害に対する運動の効果を検証した。検証の結果、糖尿病の末梢神経に対して運動は動神経伝導速度の低下を予防すること、酸化ストレスを増加する可能性があること、毛細血管の退行の予防は限定的であったが酸素供給量が増加している可能性があることが分かった。本研究成果は糖尿病性末梢神経障害に対する運動効果を理解するための一助になると考えられる。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to investigate whether exercise reduces oxidative stress in a peripheral nerve caused by diabetes and prevents capillaries degeneration of the nerve. Six weeks of exercise for diabetic rat prevented a decrease in motor nerve conduction velocity. However, it was suggested that the exercise did not change antioxidant enzyme activities in the sciatic nerve, and it may increase oxidative stress. Prevention effect of the exercise on capillary regression was also limited. However, it was suggested that the exercise may increase the oxygen supply to the sciatic nerve.

研究分野：健康科学

キーワード：糖尿病 末梢神経障害 運動療法

1. 研究開始当初の背景

糖尿病は世界的に増加している疾患であり、我が国も例外ではない。糖尿病はインスリンの不足やインスリン感受性の低下により高血糖を呈する病態であり、多くの合併症をおこす。糖尿病の合併症の一つに末梢神経障害がある。糖尿病の末梢神経障害は合併症の中でも転倒と関連する重要な因子である。転倒・骨折は寝たきりになる因子であり、その予防は重要な課題である。したがって糖尿病患者において、末梢神経障害は自立した生活を送るための阻害因子であり、寝たきりなどにより健康寿命を短縮させ、生活の質を低下させる。即ち、糖尿病患者が自立した生活を送るうえで、糖尿病の末梢神経障害予防が、健康寿命の延長と生活の質を向上させ、社会参加の促進に寄与できると考えた。

糖尿病の末梢神経障害には酸化ストレスの増加や神経を栄養する血管の退行による血流障害が原因として考えられている。適度な運動は抗酸化酵素を誘導する効果が確認されており、運動は糖尿病において末梢神経の抗酸化力を高めるのではないかと考えた。また、運動は高齢期に關される末梢神経の毛細血管の退行を予防すると考えられている。このことより、糖尿病においても運動が末梢神経の毛細血管の退行を予防するのではないかと考えた。運動療法の糖尿病性末梢神経障害に対する効果として、酸化ストレスの影響や毛細血管への影響を検証することは糖尿病に対する運動療法の有効性が明らかになるとともに、糖尿病患者に対して運動療法の重要性を示すことができ、糖尿病患者の健康維持・増進に貢献できると考えた。

2. 研究の目的

本研究は糖尿病による末梢神経障害に対する運動療法の効果を検証することが目的である。糖尿病患者は運動療法を行うことが推奨されるが、糖尿病の末梢神経障害予防効果についての検証は乏しく、その効果やメカニズムはほとんど明らかになっていない。したがって、運動が糖尿病による末梢神経の酸化ストレスを軽減させるとともに栄養血管退行を予防するかを検証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 動物

12週齢のWistar系雄性ラットを用いた。ラットを対照群(Cont群)、糖尿病群(DM群)、糖尿病+運動群(DM+Ex群)の3群に分けた。DM群とDM+Ex群のラットにストレプトゾトシンを腹腔内投与し、糖尿病を惹起させた。

(2) 運動

DM+Ex群のラットに小動物用トレッドミルにて運動を実施させた。1週目は10 m/minの速度で10分、2週目は10 m/minの速度で20分、3週目は14-15 m/minで20分、4週目は14-15 m/minで30分、5と6週目は17-18 m/minで30分の運動を実施した。運動の実施頻度は1日1回、1週間に5日とした。

(3) 運動神経伝導速度

イソフルラン麻酔科で、ニードル型電極を用い坐骨神経および脛骨神経に電気刺激を実施した。電気刺激により誘発された筋電位を骨間筋に挿入したニードル型電極で計測した。計測された結果から電気刺激時点から筋電位発生までの潜時を算出し、運動神経伝導速度を算出した。

(4) 抗酸化酵素活性

摘出した坐骨神経を用いて、抗酸化酵素であるカタラーゼ、グルタチオンペルオキシダーゼ(GPx)、スーパーオキシドジスムターゼ(SOD)の活性を分光光度法にて測定した。

(5) 酸化ストレスマーカー

摘出した坐骨神経を用いて、酸化ストレスマーカーであるマロンジアルデヒド(MDA)、4-ヒドロキシ-2-ノネナール(4HNE)をウエスタンブロット法にて測定した。

(6) 神経栄養因子

摘出した坐骨神経を用いて、神経栄養因子である神経成長因子(NGF)と脳由来神経栄養因子(BDNF)をウエスタンブロット法にて測定した。

(7) 血管構造

ラットの腹大動脈より蛍光試薬を灌流させたのち坐骨神経を摘出して共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。

(8) 血管の形成・維持に関わる因子

摘出した坐骨神経を用いて、血管の形成・維持に関わる低酸素誘導因子 (HIF-1) と血管内皮増殖因子 (VEGF) を ELISA 法にて測定した。

4 . 研究成果

(1) 運動神経伝導速度

DM 群の運動神経伝導速度は Cont 群に比べ有意に低値を示した。DM + Ex 群の伝導速度は DM 群に比べ有意に高値を示した。この結果は糖尿病による運動神経伝導速度の低下を運動により予防できる可能性を示唆している。

(2) 抗酸化酵素活性

坐骨神経のカタラーゼ活性と GPx 活性は Cont 群と DM 群の間、DM 群と DM + Ex 群の間に有意差は認められなかった。坐骨神経の SOD 活性は Cont 群に比べ DM 群で有意に高値を示した。DM 群と DM + Ex 群の間で SOD 活性の有意差は認められなかった。これらの結果から、糖尿病に対する運動療法は抗酸化酵素活性を高めない可能性が示唆された。

(3) 酸化ストレスマーカー

坐骨神経の MDA は Cont 群と DM 群の間、DM 群と DM + Ex 群の間それぞれで有意差を認めなかった。4HNE は DM 群で Cont 群に比べ有意に高値を示した。また、坐骨神経の 4HNE は DM + Ex 群で DM 群に比べ有意に高値を示した。この結果は、糖尿病時に運動すると末梢神経の酸化ストレスを増加させる可能性があることを示唆している。

(4) 神経栄養因子

坐骨神経の NGF と BDNF は Cont 群に比べ DM 群で有意に高値を示した。DM 群と DM + Ex 群の間で NGF と BDNF は有意差を認めなかった。これらの結果は、糖尿病時の運動は NGF と BDNF を増加させない可能性を示唆している。

(5) 血管構造

坐骨神経の毛細血管像を観察したところ、Cont 群に比べ DM 群は毛細血管の減少が観察された。DM + Ex 群においても Cont 群に比べ毛細血管が減少しており、運動による効果は限定的であった。

(6) 血管の形成・維持に関わる因子

坐骨神経の HIF-1 は Cont 群と DM 群の間で有意差を認めなかった。DM + Ex 群の HIF-1 は DM 群に比べ有意に低下した。VEGF は Cont 群と DM 群の間で有意差を認めなかった。DM 群と DM + Ex 群の間で VEGF は有意差を認めなかったが、DM + Ex 群で低下傾向であった。この結果は運動により血流が改善することで坐骨神経への酸素供給が上昇している可能性を示唆している。

(7) まとめ

本研究結果は、運動が糖尿病性末梢神経障害の進行を予防する効果がある可能性を示唆するものであった。一方で、運動は糖尿病ラットの坐骨神経において抗酸化酵素活性を上昇させず、酸化ストレスを増大させている可能性がある。糖尿病のように酸化ストレスが増大しやすい疾患においては、運動が過負荷になりやすい可能性があり、運動負荷設定に注意を要する必要があると考えられる。糖尿病ラットの坐骨神経において、運動の毛細血管退行への効果は限定的であった。一方で運動により糖尿病ラットの坐骨神経の HIF-1 が減少したこと、VEGF が減少傾向にあったことから、運動が末梢神経の血流改善を改善させ、酸素供給を改善した可能性が示唆された。以上をまとめると、糖尿病ラットの坐骨神経において運動が血流を改善し末梢神経障害の進行を予防した可能性があると考えられる。

本研究では複数の運動負荷条件で行ったものではないため、運動負荷条件によっては結果が異なる可能性がある。特に本研究結果において、運動が糖尿病ラットの坐骨神経の酸化ストレスを増大させている可能性があることについては、本研究で用いた運動負荷条件が糖尿病の病態に対して過負荷となっていた可能性がある。今後は複数の運動負荷条件にて実験を実施し、糖尿病の病態に対して適切な運動強度とその際の末梢神経に対する効果の検証を実施していく必要がある。

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 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nonaka Koji, Akiyama Junichi, Une Satsuki	4. 巻 60
2. 論文標題 Exercise May Increase Oxidative Stress in the Sciatic Nerve in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Medicina	6. 最初と最後の頁 480 ~ 480
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/medicina60030480	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔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
研究分担者	秋山 純一 (Akiyama Junichi) (00309600)	吉備国際大学・保健医療福祉学部・准教授 (35308)	
研究分担者	崎田 正博 (Sakita Masahiro) (10582190)	京都橘大学・健康科学部・教授 (34309)	

	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
連携研究者	畦 五月 (Satsuki Une) (60169620)	香川大学・教育学部・教授 (16201)	

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