

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22790867

研究課題名（和文） 無自覚性低血糖の発症機序の解明

- アデノシンを介した脳内グリコーゲン増加の関与 -

研究課題名（英文） Analysis of mechanism(s) on hypoglycemia unawareness

- relevant to increment of brain glycogen via adenosine -

研究代表者

河島 淳司（KAWASHIMA JUNJI）

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：70467984

研究成果の概要（和文）：インスリン皮下注2時間後の脳内グリコーゲンは著明に減少していたが、インスリン皮下注6時間後の脳内グリコーゲンは低血糖誘導前のレベルまで回復し、インスリン皮下注24時間後の脳内グリコーゲンは元のレベルより増加していた。アデノシンシグナルをブロックするアデノシン受容体アンタゴニストの皮下投与や脳室内投与後に低血糖を誘導したが、いずれの投与でも脳内のグリコーゲン量はアンタゴニスト非投与群と有意差がなかった。以上の結果からインスリン誘導性の低血糖によって減少した脳内グリコーゲンは、低血糖回復後にアデノシンのシグナルを介さずに増加する可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Brain glycogen level was apparently reduced 2 hr after subcutaneous injection of insulin and was recovered to basal level 6 hr after insulin injection. Brain glycogen level in insulin injected rat was significantly increased 24 hr after subcutaneous injection of insulin, compared to saline injected rat. Subcutaneous or intracerebroventricular injection of adenosine receptor antagonist did not inhibit the increment of brain glycogen after recovery of insulin-induced hypoglycemia. Therefore, it was suggested that the recovery of brain glycogen after hypoglycemia was not involved in adenosine signaling.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	3,100,000	930,000	4,030,000
2011年度	300,000	90,000	390,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・代謝学

キーワード：エネルギー・糖質代謝異常

## 1. 研究開始当初の背景

糖尿病合併症の予防・進展防止には長期に亘って良好な血糖コントロールを保つことが重要である。スルホニル尿素薬やインスリン注射を用いて血糖コントロールを行っている患者にとって、低血糖は重大な副作用の

一つであり、重症低血糖発作を恐れるあまり、必要以上に補食したり、インスリン量を減量してしまうことが血糖コントロール悪化の一要因となる。従って、重症低血糖を予防することは糖尿病治療にとって非常に重要な要素の一つである。

低血糖が生じると、カテコールアミンの分泌が増加し、動悸や冷汗、振戦といった交感神経症状が出現するが、低血糖を繰り返し起こしている糖尿病患者においては、交感神経刺激症状を伴うことなく中枢神経症状が出現する“無自覚性低血糖”と呼ばれる現象を呈することがある。自律神経機能の低下、すなわち“Hypoglycemia-associated autonomic failure; HAAF”と呼ばれる現象により無自覚性低血糖が発症すると考えられているが、HAAFの発症メカニズムとして、視床下部腹内側核に存在するグルコース感受性ニューロンにおけるグルコース感受性の低下などが示唆されている。また、申請者らはグルコースの競合的阻害物質である2-deoxy-glucose (2DG) をラット脳室内に連日投与することでHAAFのモデル動物を作成し、HAAFの発症に視床下部 AMPK が関与していることを証明した (Alquier T, Kawashima J et al., *Endocrinology*. 2007)。

グリコーゲンとは主として肝臓、骨格筋内に貯蔵されているが、脳内にもグリコーゲンが存在することが知られている。申請者は、脳限局性の低血糖から回復した後の脳内グリコーゲン量が代償的に増加することを明らかにした (Alquier T, Kawashima J et al., *Endocrinology*. 2007) が、低血糖後に生じる代償性のグリコーゲン増加は脳内エネルギー源の増加を意味し、このエネルギー源の増加が、低血糖時の交感神経刺激に必須である脳内エネルギーの枯渇を遅延させている可能性、すなわち、脳内グリコーゲンの増加がHAAFの発症に関与している可能性が考えられた。

アデノシンは中枢神経における重要な神経修飾物質 (neuromodulator) の一つであるが、培養グリア細胞においてアデノシンによりグリコーゲン合成が増加することや海馬において低血糖によりアデノシンの放出が増加することが報告されていることから、低血糖時には脳内でアデノシンの放出が増加し、その結果として脳内のグリコーゲン合成が増加する可能性が考えられる。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、糖尿病患者に見られる無自覚性低血糖の原因として考えられているHAAFの発症と、低血糖刺激によるアデノシンを介した脳内グリコーゲンの増加の関連性を検討することを目的とする。

## 3. 研究の方法

①ヒトインスリンの皮下注射により低血糖

を誘導した Sprague-Dawley ラットの脳を取り出し、脳内グリコーゲン量の経時的な変化を検討する。

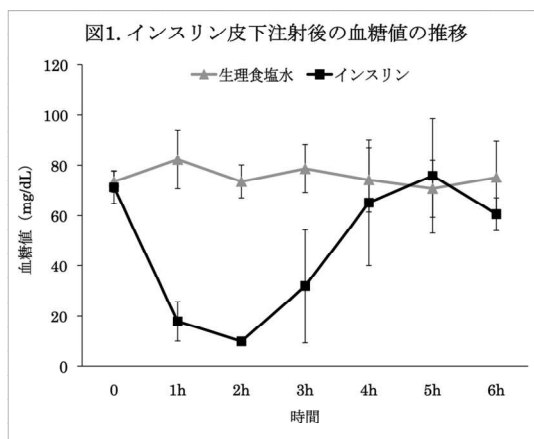
②アデノシン受容体アンタゴニストの皮下投与や脳室内投与により、インスリンもしくは2DG投与による低血糖後の脳内グリコーゲン増加が阻害されるか検討する。

③アデノシン受容体アゴニストのラット脳室内投与 24 時間後にインスリン皮下投与もしくは2DGの脳室内投与を行い、血糖、インスリン拮抗ホルモンの経時的変化を測定する。

④2DG 脳室内投与前にアデノシン受容体アンタゴニストを脳室内投与し、翌日の2DG脳室内投与によるインスリン拮抗ホルモンの分泌に変化があるか検討する。

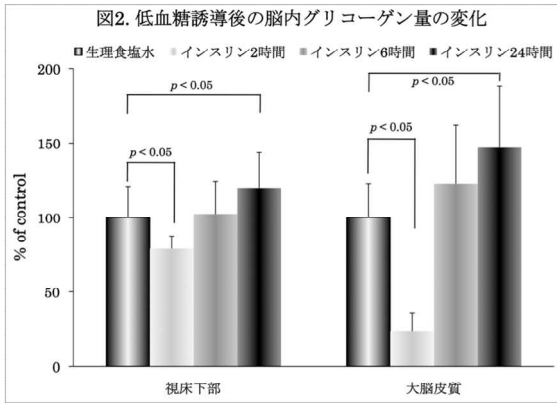
## 4. 研究成果

①ラット皮下に6単位/kg体重のヒトインスリンを注射したところ、インスリン投与2時間後に血糖値は最低となり、投与4時間でベースの状態まで回復した (図1)。



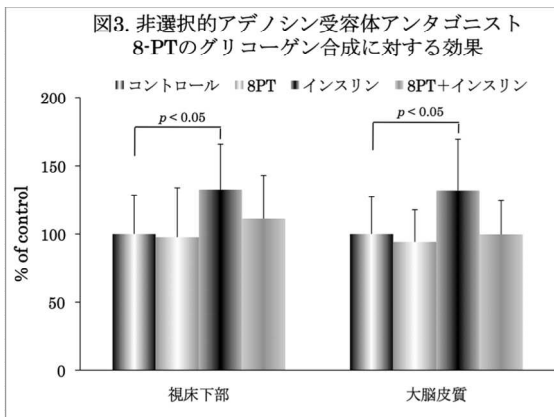
インスリン皮下投与2時間、6時間、24時間後の大脳皮質及び視床下部のグリコーゲン量を測定した。生理食塩水を投与されたラットの脳内グリコーゲン量をコントロールとし100%とすると、インスリン投与2時間後、6時間後及び24時間後の視床下部のグリコーゲン量は、それぞれコントロールの79%、102%及び120%となり、インスリン投与2時間後、6時間後及び24時間後の大脳皮質のグリコーゲンは、それぞれ24%、122%及び147%となった (図2)。

視床下部、大脳皮質のグリコーゲン量はいずれも、インスリン投与2時間後ではコントロール群と比べ有意に低下し、投与6時間後にはコントロール群と同等まで回復、投与24時間後には有意にコントロール群よりも増加していた。



②インスリン誘導性の低血糖からの回復後の脳内グリコーゲン量の増加がアデノシンを介しているかどうか検討するために、インスリン投与60分前に12 mg/kg体重の非選択的アデノシン受容体アンタゴニスト

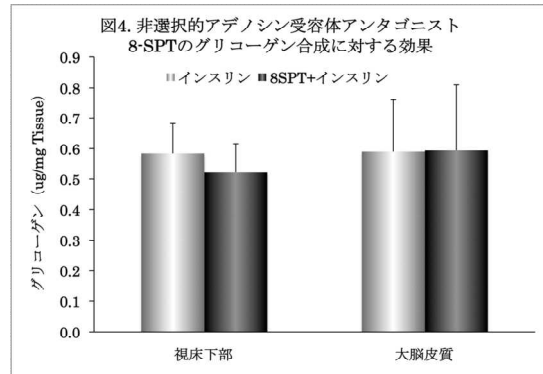
8-phenyltheophylline (8-PT) を皮下注射した後にインスリン注射による低血糖を誘導し、低血糖回復後の脳内グリコーゲン量を測定した。インスリンによって低血糖を起こしたラットのインスリン投与24時間後の視床下部と大脳皮質のグリコーゲン量はいずれも、8-PT未投与群でコントロールラットの1.32倍に増加していたが、8-PT前投与群では低血糖による視床下部と大脳皮質のグリコーゲン量の増加がそれぞれコントロールラットの1.11倍、1.00倍に留まっていたものの、いずれも8-PT未投与群とは有意な変化を認めなかった (図3)。



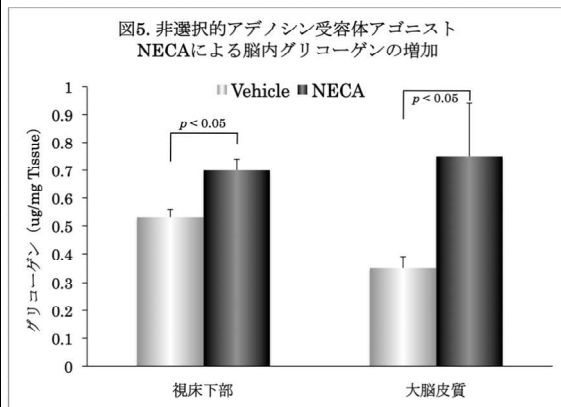
また、8-PTとは異なる非選択的アデノシン受容体アンタゴニストである

8-sulfophenyltheophylline (8-SPT) 250  $\mu$ gを脳室内に投与した後にインスリン皮下注射による低血糖を誘導し、低血糖後の脳内グリコーゲン量を測定したが、インスリン投与6時間後の視床下部及び大脳皮質のグリコーゲン量は8-SPT前投与群においても低血糖回復後の視床下部及び大脳皮質のグリコーゲン量は回復

しており、8-SPT非投与群と比べても差がなかった (図4)。



③アデノシン受容体アゴニストの脳室内投与により脳内グリコーゲンが増加するか検討するために、 $A_1/A_2$ アデノシン受容体アゴニスト5'-(N-ethylcarboxamido) adenosine (NECA) 0.2  $\mu$ gを3日間連続で脳室内投与した後に脳内グリコーゲン量を測定したところ、NECA投与群の視床下部及び大脳皮質のグリコーゲン量は、コントロールラットのそれぞれ1.3倍、2.1倍に増加していた (図5)。



以上の結果から、アデノシンは脳内のグリコーゲンを増加させるものの、インスリンによる低血糖から回復した後の脳内グリコーゲンの増加は、アデノシンシグナルを介して引き起こされている可能性は低いと考えられた。

## 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)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河島 淳司 (KAWASHIMA JUNJI)  
熊本大学・大学院生命科学研究部・助教  
研究者番号：70467984

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：