

修士論文
論文要旨

研究テーマ： 糖尿病に起因する筋収縮特性と筋組成の変化

学籍番号 m1370055

氏名 玉木 徹

研究指導教員 久保 金弥 教授

研究指導補助教員 林 久恵 准教授

概要

背景と目的：

我が国の糖尿病罹患数は 2012 年には 950 万人に達し、今後も増加が続くと考えられている。糖尿病の最大の特徴は高血糖によって、様々な合併症を引き起こす点であり、網膜症、腎症、神経症などの三大合併症に加えて脳血管障害や心血管障害などのリスクを高めることが知られている。また、糖尿病患者は転倒リスクが高いことが報告されており、糖尿病患者を対象とした疫学調査では、糖尿病患者は健常人に比べ転倒率が 2 倍程度に上昇することが示されている。さらに、近年、既知の合併症に加えて糖尿病による下肢筋力の低下が報告され、注目を集めている。下肢筋力はバランス能力と強い相関があるため、糖尿病患者で観察される下肢筋力の低下は転倒リスクの上昇、歩行速度の低下に大きく関与している可能性がある。しかし、糖尿病に起因する筋力低下に関する研究は最大筋力の変化について調査するものが多く、筋の収縮特性の変化などに関する研究はほとんど行われていない。そこで今回は糖尿病に起因する筋障害について、既知の筋力低下に加え、収縮特性の変化、筋のタイプに依存した障害の有無について調べることにした。

方法：

実験には 13 週齢の Wistar 系ラット、雄 40 匹を用いた。20 匹には生理食塩水に溶解させた streptozotocin (100mg/kg ; 以下 STZ) を腹腔内投与し、1 型糖尿病を発症させた (糖尿病群)。残りの 20 匹には生理食塩水のみを投与した (対照群)。その後、各群のラットの半数は 12 週間、残りの半数は 22 週間の通常飼育を行い、糖尿病 12 週群 (25 週齢)、糖尿病 22 週群 (35 週齢)、糖尿病群と同週齢の対照群の計 4 群に分類した。しかし、糖尿病群の動物の自然死や、術中死などによって、各群の動物は 5 匹に減少した。

大多数が速筋から構成される内側腓腹筋を速筋モデルとして、遅筋から構成されるヒラメ筋を遅筋モデルとして、各群の筋張力曲線の測定、筋組成の解析を行った。実験はまず、ハロタン吸入麻酔下でラットの内側腓腹筋とヒラメ筋を張力トランスデューサーに接続した後、最大張力が得られる筋長に固定した。その後、持続時間 500 μ sec の矩形波にて脛骨神経を電気刺激し、各筋の単収縮時 (刺激頻度：1Hz)、の筋張力曲線を記録した。計測終了後、各筋を摘出し、一次抗体に Anti-skeletal myosin (Skeletal, Slow) と Monoclonal Anti-skeletal myosin (FAST) を用い、ABC 法にて遅筋線維/速筋線維の免疫組織染色を行った。得られた筋張力曲線から、最大筋張力と最大筋張力からその張力が半分になるまでの時間を示す Half Relaxation Time (以下 HRT) を測定した。

HRT は先行研究により、筋の収縮特性を反映する指標として用いられている。また、免疫組織染色によって遅筋線維／速筋線維を特異的に染色した標本から、各筋における速筋線維と遅筋線維の占める割合と各筋線維の横断面積を算出し、筋組成の指標とした。

結果：

[筋張力曲線]

内側腓腹筋は病期 12 週の糖尿病群で筋張力の減少 ($p < 0.05$) が観察されたが、収縮特性を反映する指標として用いた HRT には有意な変化は認められなかった。病期 22 週でも対照群に比べ糖尿病群で筋張力が減少する傾向が認められたが有意差はみられなかった。ヒラメ筋の筋張力については、病期 12 週では対象群と糖尿病群の間に有意な変化は認められなかったが、病期 22 週では糖尿病群において、HRT の延長傾向 ($p = 0.054$)、筋張力の減少傾向 ($p = 0.13$) が観察された。

[免疫組織染色]

内側腓腹筋では病期 12 週、22 週ともに糖尿病群の速筋線維の横断面積減少 ($p < 0.01$) が観察されたのに対し、遅筋線維の横断面積、単位面積当たりの筋線維タイプの割合に有意な変化は認められなかった。ヒラメ筋でも病期 12 週、22 週ともに糖尿病群で速筋線維の横断面積減少 ($p < 0.01$) が観察されたが、遅筋線維の横断面積に有意な変化は認められなかった。また、単位面積当たりの筋線維タイプの割合にも有意な差はみられなかったが、速筋線維の占める割合が増加する傾向 ($p = 0.13$) が観察された。

考察：

本研究結果は、糖尿病の病期進行に伴い、筋力低下に加え収縮特性に変化が生じること、内側腓腹筋とヒラメ筋では障害が生じる病期や障害様式が異なることを示唆するものである。特に病期 12 週では内側腓腹筋（速筋）のみに筋張力の減少が観察されたが、病期 22 週に達するとヒラメ筋（遅筋）にも筋張力の減少や HRT の延長といった収縮特性の変化が生じる傾向が観察された。この結果は、遅筋線維は糖尿病による筋障害を免れるとする先行研究と大きく異なる結果である。このような結果の相違は本研究が先行研究よりも長い病期を設定したためであると考えられる。病期 12 週で観察された内側腓腹筋優位の筋張力の減少はミトコンドリアの機能障害、カルシウムイオンの取り込み障害などの代謝障害と関連すると考えられているが、病期 22 週のヒラメ筋では筋張力の減少傾向に加え、収縮特性が変化する傾向が認められることから、ヒラメ筋の筋障害は内側腓腹筋の障害とは異なるメカニズムで生じている可能性が高いと考えられる。本研究結果から、このメカニズムを明らかにすることはできないが、病期 12 週から病期 22 週の間には小型の運動ニューロンに障害が生じることが報告されていることから、内側腓腹筋を支配する α 運動ニューロンに比べ、小型の α 運動ニューロンに支配されるヒラメ筋において運動ニューロン障害の影響が観察された可能性があると考えている。しかし、本研究ではヒラメ筋を支配する運動ニューロンの解析を行っていないため、今後この点についての解析を追加する必要がある。現在の糖尿病の運動療法は主に血糖値の改善を目的とした有酸素運動のみが行われているが、糖尿病の病期により筋の障害様式が異なるのであれば、それぞれの病期に適した運動強度や頻度が異なる可能性があり、今回の研究はより効果的な糖尿病運動療法開発の基礎的な知見になり得るものである。今後は n 数を増やし、筋障害の病態をより正確に把握する必要があると考えている。