

糖尿病モデルラットの末梢交感神経活動電位計測による 神経障害の評価法に関する基礎的研究

Evaluation of neuropathy using peripheral sympathetic-nerve action potentials in streptozotocin-induced diabetic model rats

伴内卓也¹、新澤剛²、狩俣徹²、大川貴裕²、佐藤政文¹、
楠正隆³、中村孝夫²

Takuya Bannai¹, Go Shinzawa², Toru Karimata², Takahiro Okawa², Masafumi Sato¹, Masataka Kusunoki³, Takao Nakamura²

¹山形大学工学部応用生命システム工学科

²山形大学大学院医学系研究科生命環境医科学専攻

³愛知医科大学メディカルクリニック内科

¹Department of Bio-system Engineering, Faculty of Engineering, Yamagata University

²Department of Environmental Life Science, Graduate School of Medical Science,
Yamagata University

³Department of Internal Medicine, Medical Clinic, Aichi Medical University

キーワード : 末梢交感神経系 (peripheral sympathetic nervous system)、神経障害 (neuropathy)、
糖尿病 (diabetes mellitus)、ストレプトゾトシン (streptozotocin)、
糖代謝 (glucose metabolism)

連絡先 : 〒992-8510 山形県米沢市城南4丁目3-16 9号館808

山形大学 工学部 応用生命システム工学科 中村研究室

伴内卓也, Tel:0235-26-3357, E-mail:tautakuya@yahoo.co.jp

1. 背景・目的

Fagiusらは健常者の交感神経活動(バースト頻度)がグルコースの経口摂取によって亢進するが、1型糖尿病患者では減少すると報告している[1]。また同患者におけるバースト頻度は健常者に比べて低下していることも報

告されており[2]、これらの差の要因として初期の糖尿病性神経障害の可能性が指摘されている。我々の先行研究では活動電位(AP)を用いた活動評価が、従来のバースト頻度による評価とは異なる事象を評価出来る可能性が示唆されており[3]、APでの神経障害評

価がバーストによる評価よりも優れている可能性が考えられる。

一方ストレプトゾトシン投与によって作成された1型糖尿病モデルラットの末梢神経では、ヒト糖尿病と類似の神経障害が見られることが報告されている[4]。

そこで本研究では、健常群及びストレプトゾトシン投与による1型糖尿病モデルラット群の末梢交感神経複合信号を導出し、静脈内グルコース投与 (IVGA) に対する反応を、従来から用いられているバーストのみならず、AP 発現頻度を用いて評価、検討した。

2. 方法

2.1 動物実験

8週齢の Wistar 系オスラットにストレプトゾトシンを腹腔内投与し (80 mg/kg)、11週齢まで飼育した (STZ 群, 6頭)。また対照群として 11~13週齢の健常ラットを用いた (Normal 群, 5頭)。

麻酔下仰臥位にて片側坐骨神経を露出し、マイクロニューログラム用微小電極を目視下に手で刺入して交感神経信号を導出した [5]。動物の手術侵襲からの回復を血圧及び血糖値の安定で確認してから、グルコース (50%糖液、0.25 ml) を右頸静脈内へ投与した (IVGA)。交感神経および動脈圧信号は DAT データレコーダ (12 bits A-D, 12 kHz) で記録して、実験終了後にパーソナルコンピュータに取り込んで以下の方法にて解析した。

2.2 解析

まず MATLAB (サイバネットシステムズ) 上で、交感神経信号のデータを帯域通過フィルタに通した後に全波整流、積分を行って積分ニューログラムを作製し、バーストを検出して1分間当たりの発現数を求めた。次に30秒間に出現する AP を検出して、1分間あた

りの発現数に換算し、発現頻度とした。結果のデータは Mean \pm SD で表示した。

3. 結果

血圧は Normal 及び STZ 群ともに IVGA 後 60分までに有意な変化は見られなかった (それぞれ 120 ± 6 から 119 ± 7 及び 101 ± 14 から 96 ± 16 mmHg)。血糖値 (BG) は Normal 及び STZ 群で IVGA 後にそれぞれ 60 ± 5 及び 409 ± 22 mg/dl から $100\sim 150$ mg/dl 一過性に上昇した。一方、Normal 群の血漿インスリン濃度 (PI) は一過性に増加したのに対し、STZ 群ではほとんど測定限界以下で変化もなかった。

次に Normal 及び STZ 群の IVGA 前後のバースト頻度を比較したところ、両群とも大きな変化は見られなかった (Fig. 1)。なお時間軸 0分 (baseline) のデータは IVGA 直前に採取した。

一方 AP 発現頻度は全ての時間で STZ 群よりも Normal 群の方が有意に高値であった (Fig. 2)。また IVGA 後 60分までに、Normal 群では有意に増加した (424 ± 169 から 669 ± 323 spikes/min, $p < 0.01$) のに対し、STZ 群では変化が見られなかった (212 ± 117 から 204 ± 89 spikes/min)。

4. 考察

まず IVGA 前後での血行動態や血糖パラメータを確認したところ、血圧の変化はほとんどなく、BG, PI はよく知られている値及び変化を示していた。すなわちまず、baseline では STZ 群の血糖値が Normal 群に対して著しく高値であり、血漿インスリンが殆んど観測出来なかった事から、ストレプトゾトシン投与によって膵臓の細胞が破壊され、インスリン分泌が阻害されたと考えられた。

バースト頻度を用いた交感神経活動評価では2群間に有意差が見られなかった (Fig. 1) が、IVGA 前の STZ 群の AP 頻度は Normal 群に対して有意に低値を示した。これは糖尿病性神経障害が定常状態の交感神経活動に反映された可能性を示唆している。また Normal 群では IVGA 後に AP 頻度が有意に増加したのに対し、STZ 群では殆ど変化しなかったことも神経障害が反映された結果と考えられた。これらの結果から、末梢筋交感神経活動の糖尿病性神経障害は、定常状態とグルコース投与後の動的な変化を用いて評価が出来る可能性が示唆された。

参考文献

- [1] Fagius, J., Berne, C.: Increase in muscle nerve sympathetic activity in humans after food intake. *Clin Sci* 86, 159-167, 1994
- [2] Hoffman, R.P., Sinkey, C.A., Kienzle, M.G., Anderson, E.A.: Muscle sympathetic nerve activity is reduced in IDDM before overt autonomic neuropathy. *Diabetes* 42, 375-380, 1993
- [3] 高橋智之、楠正隆、中村孝夫: 活動電位振幅分布を用いた末梢交感神経活動の評価法。 *自律神経* 43, 445-452, 2006
- [4] Yoshida, T., Nishioka, H., Yoshioka, K., Nakano, K., Kondo, M., Terashima, M.: Effect of aldose reductase inhibitor ONO 2235 on reduced sympathetic nervous system activity and peripheral nerve disorders in STZ-induced diabetic rats. *Diabetes* 36, 6-13, 1987
- [5] Nakamura, T., Kawahara, K., Kusunoki, M., Feng, Z.: Microneurography in anesthetized rats for the measurement of sympathetic nerve activity in the sciatic nerve. *J Neurosci Methods* 131, 35-39, 2003

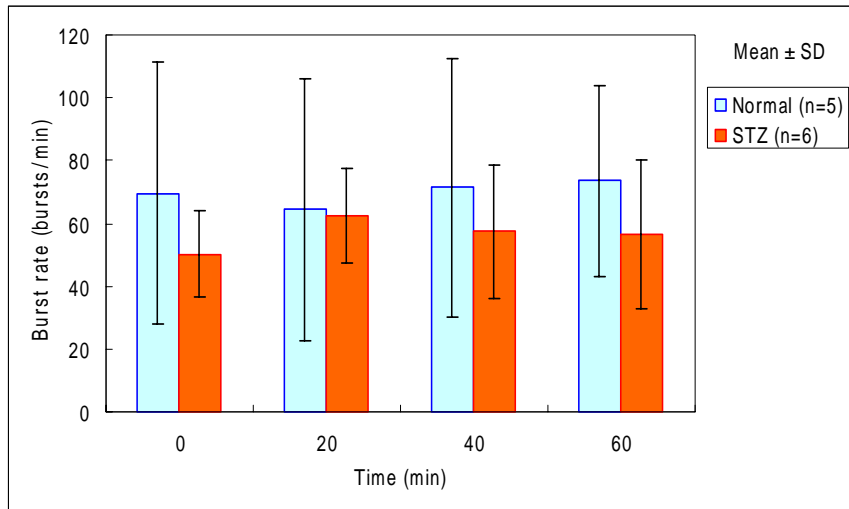


Fig. 1 バースト頻度の時間経過 (時間軸0分にはIVGA直前のデータを示す)

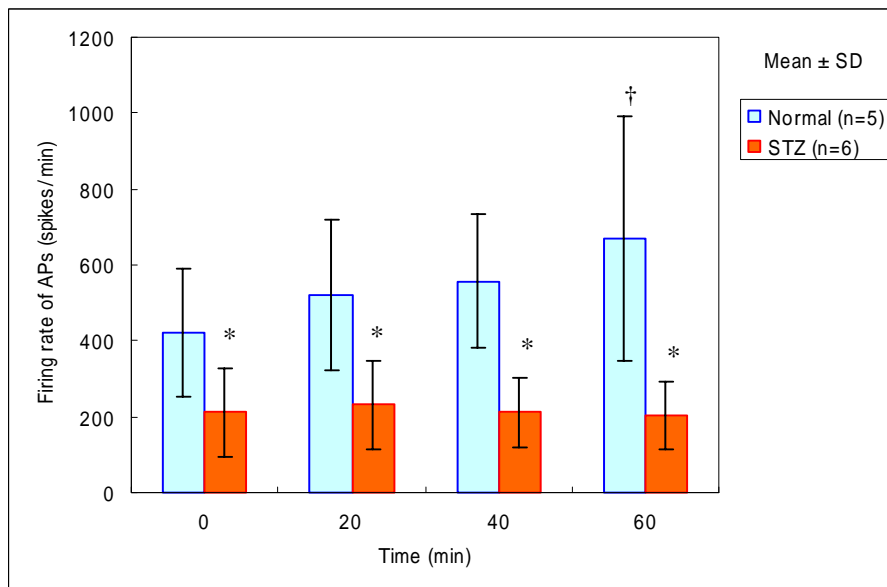


Fig. 2 AP頻度の時間経過 (時間軸0分にはIVGA直前のデータを示す)

*: $p < 0.05$ vs. Normal, †: $p < 0.01$ vs. baseline