

糖尿病に伴う骨格筋機能・運動能障害における酸化ストレスの役割

絹川 真太郎 [北海道大学医学研究科循環病態内科学
／助教]

背景・目的

2型糖尿病患者では運動能力が低下しており、効果的な運動療法を行えないことが病態の更なる悪化・進展へ導く可能性がある。運動能力を規定する骨格筋ミトコンドリアでのエネルギー産生において中心的な役割を果たしている電子伝達系機能が、糖尿病では低下していることが示されているが、その詳細な機序はわかっていない。糖尿病では全身および局所臓器において NAD(P)H oxidase (Nox) 由来の酸化ストレスが増加し、病態の悪化に関わっていることが示唆されている。本研究の目的は、2型糖尿病モデルマウスの運動能力は低下しているか、もし低下しているなら酸化ストレスが関係しているかどうかを明らかにすることであった。

内容・方法

オス C57BL/6J マウスを無作為に分け、標準食または高脂肪食を8週間投与した。さらに高脂肪食投与マウスから無作為に、Nox 活性阻害剤・アポサイニン水溶液を飲水用ボトルより投与する群を作成した。8週間飼育したマウスから採血し、糖代謝・脂質代謝に関する血液学的検査を行った。運動能力は小動物用トレッドミルを用い、速度漸増負荷中の呼気ガス分析を行った。運動量の指標として、マウスの体重を考慮した垂直方向の仕事量を用いた。また最大酸素摂取量・最大二酸化炭素産生量を計測した。骨格筋ミトコンドリア呼吸能は、骨格筋よりミトコンドリアを単離した後、クラーク型酸素電極を用いて NADH を基質とした ADP 存在下 (State 3) および ADP 非存在下 (State 4) の酸素消費速度を計測した。同様に単離したミトコンドリアから電子伝達系複合体活性を測定した。下肢骨格筋 O_2^- 産生量および Nox 活性はルシジェニン化学発光法により測定した。

結果・成果

標準食群と比較して高脂肪食群で、体重 (31 ± 1 vs 39 ± 1 g, $p<0.05$)・内臓脂肪重量 (399 ± 48 vs 2035 ± 54 mg, $p<0.05$)・空腹時血糖 (108 ± 7 vs 207 ± 16 mg/dL, $p<0.05$)・インスリン (0.28 ± 0.05 vs 1.11 ± 0.33 ng/mL, $p<0.05$)・中性脂肪 (69 ± 5 vs 125 ± 16 mg/dL, $p<0.05$) が有意に増加した。また糖負荷試験でも高脂肪食群でいずれの時間経過においても有意に血糖値が増加した。したがって、高脂肪食投与によって肥満を伴う2型糖尿病モデルが作成できた。一方、高脂肪食負荷ではカテーテル法や心エコーで測定した血圧や心機能には影響がなかった。トレッドミルテストでの運動能力の評価では、標準

食群と比較して高脂肪食群で仕事量および走行距離が有意に低下した。この結果と一致して、体重および骨格筋重量で補正した最大酸素摂取量は有意に低下した。一方、呼吸交換比 (最大二酸化炭素産生量/最大酸素摂取量) は両群間で差がなかった。また骨格筋ミトコンドリア呼吸能では、State 3呼吸能が高脂肪食群で低下したが、State 4呼吸能は変化がなかった。ミトコンドリア電子伝達系複合体 I および III の活性が高脂肪食群で低下した。さらに骨格筋での O_2^- 産生量および Nox 活性は、標準食群と比べて高脂肪食群で有意に増加した。一方アポサイニンの慢性投与により、高脂肪食負荷による骨格筋 Nox 活性および O_2^- の過剰産生が軽減し、体重や糖代謝には影響せずに運動能力・骨格筋ミトコンドリア呼吸能が有意に改善した。

今回の研究において、糖尿病モデルマウスで運動能力が低下し、骨格筋ミトコンドリア機能障害が起こっていること、さらに骨格筋における NAD(P)H oxidase 由来の O_2^- 産生がこれらの現象に関わっていることを明らかにした。糖尿病における血管や心臓での酸化ストレスの病態への役割については比較的多くの研究がなされているが、骨格筋酸化ストレスの役割を報告した研究ははじめてである。さらに、糖尿病に最も重要な運動療法に関わる運動能力に注目した点が重要であると考えられる。糖尿病の治療および予防は現代医学において重要な課題であるが、骨格筋酸化ストレス制御およびそれによる運動能力改善というこれまでにない全く新しいパラダイムの治療法の開発に今回の研究結果は寄与すると考えられる。

今後の展望

今回の研究で明らかにできなかった NAD(P)H oxidase 由来の骨格筋酸化ストレスがどのような分子機序でミトコンドリア機能を障害するのかを明らかにすることで、より詳細な治療ターゲットとなりうると考える。さらに、糖代謝改善・インスリン抵抗性改善によって糖尿病での運動能力が改善するかどうかの検討も重要な課題と考える。

次に、糖尿病患者やより軽症のインスリン抵抗性患者を対象とした臨床研究によって、実際の運動療法や薬物療法によって運動能力が改善するかどうかの検討が重要であると考えられる。