

認知症モデルラットの自発運動量, 記憶, 不安に対する 糖尿病の影響

西山敦子¹⁾ 平山隼人²⁾ 仁後亮介^{2) 3)}
大和孝子^{1) 2)} 青峰正裕^{1) 2)}

Effects of Diabetes Mellitus on Locomotion, Memory and Anxiety in Dementia Model Rats

Atsuko Nishiyama¹⁾ Hayato Hirayama²⁾ Ryosuke Nigo^{2) 3)}
Takako Yamato^{1) 2)} Masahiro Aomine^{1) 2)}

(2012年11月30日受理)

【序 論】

我が国は、急速に高齢化が進行しており、諸外国と比べると、65歳以上の人口の割合は世界で最も高い水準となっている。平成22年には、65歳以上の人口は2924万6千人〔総人口（1億2805万7千人）の23.0%〕で、平成17年と比べると65歳以上の人口は13.9%増となっており¹⁾、2060（平成72）年には、それは約40%に達すると推定されている²⁾。このような社会の高齢化は、糖尿病や認知症の増加をもたらしており、治療・介護・予防など多くの課題を残している。

糖尿病や認知症は、どちらも加齢に伴い高頻度となる。糖尿病において認知症が多発するメカニズムや、両者の関係性については、多くの研究者が注目している³⁻⁵⁾。久山町研究においては、耐糖能レベルの悪化とともに血管性認知症（Vascular dementia：VD）とAlzheimer型認知症（Alzheimer's disease：AD）が上昇し、AD発症率は糖尿病で有意に高いとの報告がある⁶⁾。この研究により、糖尿病や高血糖が認知症発症の有意なリスクファクターであることが示された。また実際に、久山町では、2000年代に入ってからADとVDの有病率が増加しており、これは高齢者糖尿病の増加がその要因としてあることを示唆している。

今後、高齢者夫婦のみ、あるいは高齢者の独居世帯が多くなってくることが予測される中、認知症の患者数が増加することは、患者本人、また患者を取り巻く家族のQOL（Quality of Life）を損ねる可能

性がある。認知症の合併を防ぐ上でも、糖尿病の治療と管理は必要不可欠である。しかし糖尿病の治療や管理には、患者自身の十分な認識、継続的な自己管理が必須であるが、認知症を合併してしまうと認知機能障害により糖尿病の治療と管理を妨げる一因となる。

本研究では、認知症や糖尿病の症状、治療、管理に共通する、運動、記憶、不安状態に注目した。運動は、血糖コントロールを改善し、糖尿病の治療、管理に繋がる。また運動が、認知症の発症を予防するという報告もある⁷⁾。学習記憶の低下は、認知症の症状でみられ、特に出来事を思い出す再認が出来なくなる特徴があり、食事をしたこと自体を忘れて何度も食事を要求するといった行為等がみられる。また、病気の進行と共に、古い出来事も思い出せなくなってくる⁸⁾。このような学習記憶の低下は、食事・運動療法の重要性の認識や服薬コンプライアンスの程度、インスリン自己注射の正確度といった糖尿病の自己管理を妨げる要因となる。一方、不安状態は、認知症の症状の一つであり、認知機能障害のために周囲の状況が分からず不安になることが多い⁹⁾。また、糖尿病では、ストレス及び不安など感情を乱す反応を示すヒトにおいてはHbA1cとそのような反応は正相関するともいわれている¹⁰⁾。

本研究では、健常ラットと糖尿病ラットにそれぞれ健忘症を引き起こすスコポリaminを投与し、糖尿病で認知症を発症した場合、糖尿病が運動、記憶、不安状態にどのように影響するのか、その各疾病下での状態や合併時の影響や変化について調べた。

刷刷請求先：西山敦子，中村学園大学栄養科学部，〒814-0198 福岡市城南区別府 5-7-1

E-mail：nisiyama@nakamura-u.ac.jp

1) 中村学園大学栄養科学部

2) 中村学園大学大学院栄養科学研究科

3) 中村学園大学短期大学部食物栄養学科

【実験方法】

実験動物

実験動物として Wistar 系雄性ラットを用いた。健常ラットの試験開始時の週齢は 6 週、体重は $180 \pm 15\text{g}$ 、血糖値は $94 \pm 9\text{mg/dl}$ ($n=8$) であった。糖尿病ラットの試験開始時の週齢は 8~10 週、体重は $217 \pm 50\text{g}$ 、血糖値は $454 \pm 147\text{mg/dl}$ ($n=8$) であった。なお糖尿病ラットは、ストレプトゾトシン (streptozotocin ; STZ, 60mg/kg) を腹腔内に投与し作成した。健常ラットと糖尿病ラットの開始週齢の差は、STZ を投与し糖尿病状態にするための期間である。今回、実験に使用したラットは中村学園大学アニマルセンターにおいて固形飼料にて飼育されたものである。

本研究は、中村学園大学 (含む短期大学部) 実験動物委員会の倫理審査の承認を得、その指針に基づいて実施した。

試薬および実験手順

両群ラットとも試験開始から 10 日目まではコントロールとして、生理食塩水 (0.9% NaCl 溶液) を 1.3ml/kg/day 、1 日 1 回 18:30 に 10 日間連続して腹腔内に投与した。10 日目に 24 時間自発運動量測定実験、学習記憶実験、高架式十字迷路実験を行った。その後の 10 日間は、認知症 (Dementia, 以下 DT) 発症モデルラットの作成の為、一時的に健忘症を引き起こすことが知られている臭化水素酸スコポラミン (以下 Sco)¹¹⁾ を 1.5mg/kg/day となるように、両群ラットに上記と同じ条件で投与し、同様の実験を行った。つまり、使用したラットは①健常ラット (以下 control ラット)、②糖尿病モデルラット (以下 DM ラット)、③ Dementia モデルラット (以下 DT ラット)、④糖尿病モデル Dementia モデルラット (以下 DM + DT ラット) の 4 種類である。

実験装置および測定

自発運動量は、24 時間自発運動量測定装置 (ACTIMO-DATA, シンファクトリー) を用いた。ラットの自発運動量は、回転かご (SN-451, シナノ製作所) を用いて測定した。なお、回転かごは、直径 37cm × 幅 10cm (円周: 116cm) である。測定開始は、暗期 (19:00~7:00) から始め、明期 (7:00~19:00) にかけて、24 時間の自発運動量を測定した。

学習記憶実験は、shuttle avoidance system (MSB-001・SG-200, メルクエスト) を用いた。1 回の試行は 30 秒間であり、その内、ブザー音 (5 秒間)、ランプ点灯 (5 秒間)、電気刺激 (5 秒間) の順に刺激を与えた。ラットが学習すると、電気刺激が起

こる前にブザー、ランプで隣の部屋へ回避するようになる。各刺激に対する回避反応を示した回数について測定した。なお 1 回の学習記憶実験では、50 試行とした。

不安の測定は、高架式十字迷路 (Rk-10, シンファクトリー) を用いた。この装置は、壁のない走行路 (open arm) と壁に囲まれた走行路 (closed arm) を組み合わせた装置である。ラットは暗所や閉所を好み、不安を感じるほど closed arm の滞在時間が長くなる。つまり、closed arm の滞在時間が短く、open arm の滞在時間が長ければ、不安は減弱しているとみなした。本実験では 15 分間中の各走行路の滞在時間をビデオで撮影し、解析を行った。

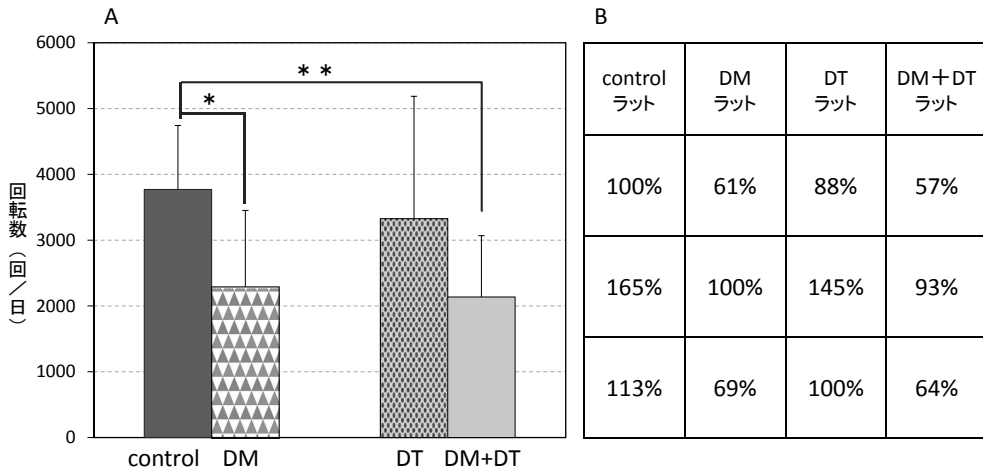
統計解析

結果はすべて平均値 ± 標準偏差値で表し、解析は、SPSS12.0J の一元配置分散分析を行い、危険率 5% 未満 ($p < 0.05$) で有意と判定した。

【結 果】

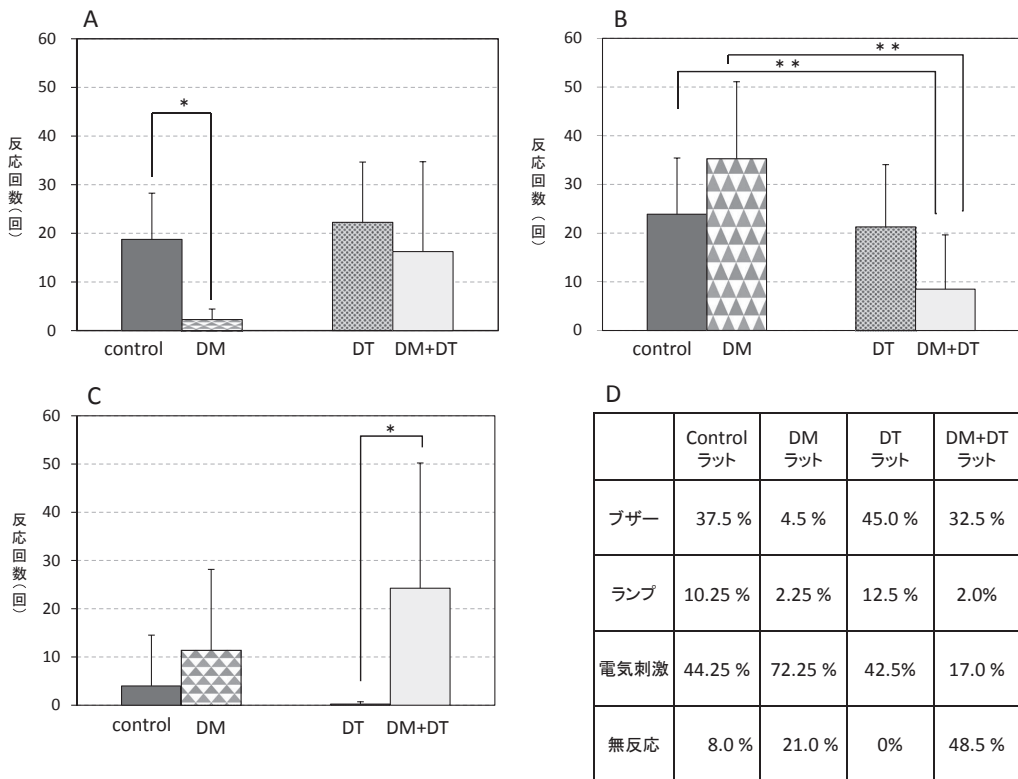
24 時間自発運動量測定実験では、control ラットと比較した場合、DM ラット及び DM + DT ラットで自発運動量が有意に減少した (図 1, A)。しかし、control ラットと DT ラット間や、DM ラットと DM + DT ラットの間で、大きな変化はみられなかった。次に各ラットの 24 時間の運動量をそれぞれ 100% とした場合で検討した (図 1, B)。control ラットの運動量を 100% とした場合、DM ラット及び DM + DT ラットの自発運動量は約 40% 程度減少し、DM ラットの運動量を 100% とした場合、DM + DT ラットでは、ほぼ変化はみられなかった。また、DT ラットの運動量を 100% としたときでは、DM ラットや DM + DT ラットで有意差はなかったものの約 30% の自発運動量の減少を示した。

次に、学習記憶実験について比較を行った (図 2)。まず、ブザーに対する回避反応を示した回数では、control ラットと DM ラットで比較した場合、DM ラットで有意に ($p < 0.05$) 減少し、また、DT を発症した場合のブザーの反応回数は、control ラットとほぼ同様であった (図 2, A)。電気刺激の場合では (図 2, B)、control ラットと DM ラットを比較した場合、電気刺激での回避反応を示した回数は DM ラットで増加する傾向がみられた。また、control ラットと DT ラットを比較した場合では、殆ど変化はなかった。一方、DM ラットが認知症を発症して DM + DT ラットとなった



《図1》 健常ラット (control ラット), 糖尿病モデルラット (DM ラット), Dementia モデルラット (DT ラット), および糖尿病モデル Dementia モデルラット (DM + DT ラット) における回転がご式24時間自発運動量の比較。

A : 24時間自発運動量の各ラットの実測値。 B : 上段 ; control ラットを100%とした場合, 中段 ; DM ラットを100%とした場合, 下段 ; DT ラットを100%とした場合についての各ラットの運動量の割合を示す。 *p < 0.05, **p < 0.01。



《図2》 control ラット, DM ラット, DT ラット, および DM + DT ラットにおける shuttle avoidance system を使用しての学習記憶実験の各刺激に対する回避反応の比較。

A : ブザーでの回避反応を示した回数, B : 電気刺激での回避反応を示した回数, C : 無反応を示す。 D : 50試行中の各刺激に対する回避反応を示した割合を表示している。つまり, ブザー, ランプ, 電気刺激, 無反応の和が100%となる。 *p < 0.05, **p < 0.01。

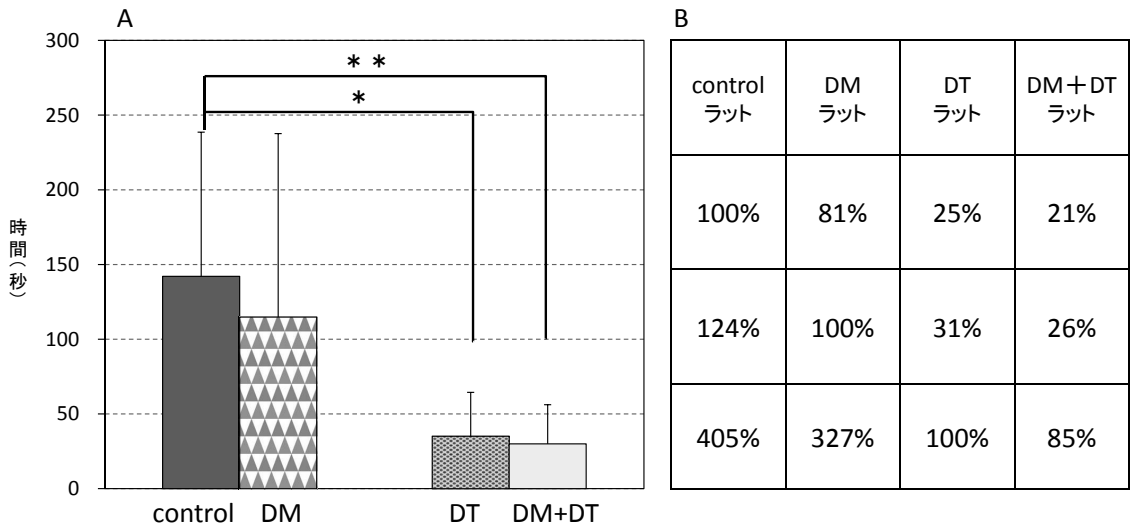
場合、control ラットと DM ラットと比較して電気刺激の反応回数は有意に ($p < 0.01$) 減少した。次に、無反応の回数を比較した (図 2, C)。まず、control ラットと DM ラットを比較した場合、若干、無反応の回数は増加した。一方、DM ラットが DM + DT ラットになると、約 2 倍その回数は増加し、DT ラットと DM + DT ラットを比較すると、DM + DT ラットにおいて無反応の回数が有意に ($p < 0.05$) 増加した。また、50 試行中の各刺激に対する回避反応の割合を比較すると (図 2, D)、DM ラットにおける電気刺激に対する反応の割合が約 72% と最も高く、次いで DM + DT ラットでの無反応を示した割合が約 49% と 2 番目に高かった。このようにデータを数値で比較してみると、control ラットと DT ラットの数値に大きな差異はないが、DM を発症した場合の DM ラットと DM + DT ラットの結果は control ラットと比較して異なることがわかる。

最後に、高架式十字迷路実験の結果を図 3 に示す。control ラットと DM ラットの間、また DT ラットと DM + DT ラットの間に変化はみられなかった (図 3, A)。しかし、DT ラット及び DM + DT ラットでは、control ラットと比較した場合、open arm の滞在時間が有意に減少した。次に、各ラットにおいて open arm 滞在時間を 100% として比較した (図 3, B)。まず、control ラットの

open arm 滞在時間を 100% とした場合、DM ラットでは、19% の減少であったが、DT ラットや DM + DT ラットで open arm 滞在時間が約 75% 以上と劇的に減少した。また、DM ラットの open arm 滞在時間を 100% とした場合でも、同様に DT ラットと DM + DT ラットで、open arm の滞在時間が約 70% 以上と減少した。DT ラットの open arm 滞在時間を 100% とした場合、DM + DT ラットの滞在時間は 15% 程度の減少であった。

【考 察】

24 時間自発運動量測定実験において、control ラットと DT ラットを比較したところ、DT が自発運動量に及ぼす大きな影響はみられなかった (図 1)。一方、DM を発症した場合では、control ラットと比較して、DM ラットおよび DM + DT ラットで有意に自発運動量が減少したことから、DM が運動量の減少に影響を及ぼした可能性が強いことが示唆された。DM による運動量の減少については、インスリンの作用不足により、ブドウ糖を取り込めないエネルギー利用不足によることが一因として考えられる。今回の結果のように、DT が自発運動量に及ぼす影響が少ないとはいえ、DM 発症による自発運動量の減少は、運動が DT の発症を予防するとの報告⁷⁾ を考えると、運動不足の DM 患者は、DT を



《図 3》 control ラット, DM ラット, DT ラット, および DM + DT ラットにおける高架式十字迷路の open arm 滞在時間の比較。

A : 15 分間中の open arm の滞在時間 (秒)。B : 上段 ; control ラットを 100% とした場合, 中段 ; DM ラットを 100% とした場合, 下段 ; DT ラットを 100% とした場合の各ラットについての open arm の滞在時間の割合を示す。* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

発症する可能性をより高くするのではないかと懸念される。この他に糖尿病による神経障害が運動量減少を導いた可能性も考えられる。

図2の学習記憶実験より、DMラットにおいてブザーでの回避反応を示した割合は低く、電気刺激による回避回数を示した割合は高かった。これは、単純に学習記憶の低下が影響したというよりは、24時間自発運動量測定実験の結果でみられたようなDMによる運動量の減少が影響した可能性もある。一方、controlラットとDTラットでは各刺激に対する回避回数に大きな変化がみられなかったのに対し、DM+DTラットは、DMラットと比較すると電気刺激の回避回数は減少し、ブザーや無反応での回数は増加している。また、DM+DTラットは、DTラットと比較して、電気刺激の反応回数は減少し、無反応の回数は有意に増加した。DMがDTを発症することで、何らかの影響を受けた可能性が示唆された。この結果については、ラットに個体差があるため、DMを発症したラットのDTの進行状態に差が生じ、DM+DTラットにおいてDMラットと比較した場合のブザーでの回避反応の増加は、DTの初期症状である多動を示し、無反応の回数が増加したことについては、DTの重症化によるものだとも考えられた。つまり状態（症状）が二極化した可能性がある。前述のように、ADとVDの関連性は指摘されており、ADと脳血管障害は密接な関係をもつという報告¹²⁾や、単純な脳血管障害・脳虚血を介してAD発症に関わる可能性は低いといった見解もある¹³⁾。また、糖尿病におけるADとVDの発症機序には明らかな違いがあるが¹³⁾、これまでの研究において、糖尿病や高血糖状態がADやVDの有力な危険因子であることは間違いないようである。糖尿病が引き起こす諸条件（高血糖、低血糖、動脈硬化、インスリン抵抗性、高インスリン血症）が、その発症につながっていると予想されているが詳しいメカニズムは明らかになっていない¹⁴⁾。本研究においても、重症化したラットとそうでない初期症状のみを示したラットと、その時点での血糖値の検討を行っていないため、高血糖がラットのDT進行にどのような影響を及ぼしたのか、血糖値とDTの関連性については確定的なことはほとんど言えない。しかしながら、電気刺激を与えた場合においてDM+DTラットはcontrolラットやDMラットと比較して有意な減少を示し、DTラットと比較しても減少傾向を示している。DMラットとDM+DTラットを比較した場合、無反応を示した回数が約2倍も増加し、DTラットとDM+DTラットを比較した場合には有意な増加を示

したことから、DMがよりDTを悪化させる一因となった可能性が示唆された。

インスリン抵抗性とADとの関連性も指摘されている¹⁵⁾。脳とインスリン作用の関係も大変注目されており、AD患者の末梢血中のインスリン濃度は高いが、脳脊髄液のインスリン濃度は逆に低値を示す。したがって、インスリンの脳脊髄液/血漿の比はADの重症度に応じて低くなっているという報告¹⁶⁾があり、清原の報告⁶⁾においても、耐糖能異常と認知症の発症率の高さとの関係性を示している。本研究の結果からも、DMの重症度に応じてDTの何らかの症状を増幅させる可能性があるといえる。DT症状の進行、または増悪の予防に、DMの発症防止、血糖コントロールが重要なポイントかもしれない。

高架式十字迷路の結果からも（図3）、ラットがDTを発症することで、不安を増幅させたと考えられる。DMのみの発症の場合でも、若干ではあるが通常の状態よりも不安を増幅する傾向がみられた。また、DTラットのopen arm滞在時間を100%にした場合、DM+DTラットでopen arm滞在時間は15%の減少と、有意な差ではなかったが、DMが不安状態に与える影響は全くないとは言いきれない。DMは不安などからくるストレスと血糖コントロールと正相関^{10, 17, 18)}があることから、DMがDTを合併した場合では、DTによりさらに不安が増幅され血糖コントロールの維持がより難しい状況となり得る可能性がある。

以上より、運動、記憶、不安状態によるDMの影響を観察した結果、DMを合併したDTの場合、DTの症状を増悪させる恐れがあり、さらにDMの血糖コントロールの維持がより難しい状況になる可能性が示唆された。血糖コントロールの不良はDTの症状を増悪させ、患者本人、またその家族のQOLを大いに損ねる可能性がある。よってDM発症を防ぐための生活習慣が重要であり、増加するDMに関して、早期からの適切な管理が必要であると考えられる。

謝 辞

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業若手研究（B）（研究課題番号23700942）の助成を受け実施した。

【参考文献】

1. 総務省統計局（2010）平成22年度国勢調査結果の概要. p.14, p.16
2. 国立社会保障・人口問題研究所（2012）日本の将来推計人口（平成24年1月推計）. p.3
3. 横野浩一（2010）糖尿病合併症としてのアルツハイマー病. 日本老年医学会雑誌, 47(5), 385-389
4. 井藤英喜（2011）認知症—超高齢社会の新しい糖尿病合併症. 老年期認知症研究会誌, 18, 93-95
5. 梅垣宏行（2011）糖尿病と認知症. 老年期認知症研究会誌, 18, 129-130
6. 清原裕（2011）脳血管障害と血管性認知症の疫学. 老年精神医学雑誌, 22(9), 1008-1014
7. E. B. Larson, L. Wang, J. D. Bowen, W. C. McCormick, L. Teri, P. Crane, W. Kukull（2006）Exercise is associated with reduced risk for incident dementia among persons 65 years of age and older. *Annals of Internal Medicine*, 144(2), 73-81
8. 笠原洋勇（1992）アルツハイマー病の経過と予後. からだの科学 増刊 アルツハイマー病, 日本評論社, pp.79-82
9. 数井裕光, 武田雅俊（2004）アルツハイマー病の症候. よくわかるアルツハイマー病—実際にかかわる人のために—, 永井書店, pp.17-32
10. 菊池悦子, 谷亀光則, 堺秀人（2001）2型糖尿病患者の糖尿病負担感に関する因子の重要度分析. 糖尿病, 44(5), 415-421
11. R. T. Bartus（1978）Evidence for a direct cholinergic involvement in the scopolamine-induced amnesia in monkeys : effects of concurrent administration of physostigmine and methylphenidate with scopolamine. *Pharmacology Biochemical and Behavior*, 9, 833-836
12. 中塚晶博, 目黒謙一（2011）脳血管障害とアルツハイマー病. 老年精神医学雑誌, 22(9), 1030-1038
13. 清原裕（2009）生活習慣病と認知症. 老年精神医学雑誌, 20(7), 731-737
14. 福島健泰, 佐々木英忠（2004）糖代謝障害（糖尿病, 低血糖, 高血糖, インスリン抵抗性）. 痴呆症学（2）—高齢社会と脳科学の進歩—, 日本臨牀社, 62(S1), 379-383
15. J. Kuusisto, K. Koivisto, L. Mykkänen, E. L. Helkala, M. Vanhanen, T. Hänninen, K. Kervinen, Y. A. Kesäniemi, P. J. Riekkinen, M. Laakso（1997）Association between features of the insulin resistance syndrome and Alzheimer's disease independently of apolipoprotein E4 phenotype: cross sectional population based study. *BMJ*, 315, 1045-1049
16. S. Craft, E. Peskind, M.W. Schwartz, G. D. Schellenberg, M. Raskind, D. Porte Jr.（1998）Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease: relationship to severity of dementia and apolipoprotein E genotype. *Neurology*, 50(1), 164-168
17. 中野智紀, 犬飼敏彦（2006）内分泌代謝内科と「うつ」. 臨床精神医学, 35(7), 963-968
18. P. J. Lustman, R. J. Anderson, K. E. Freedland, M. De Groot, R. M. Carney, R. E. Clouse（2000）Depression and poor glycemic control : a meta-analytic review of the literature. *Diabetes Care*, 23(7), 934-942