

## 1 型糖尿病ラットにおける高濃度酸素暴露が骨格筋の毛細血管及びミトコンドリア活性に及ぼす影響

杉本一生<sup>1、2)</sup>、斎藤拓弥<sup>1、3)</sup>、板垣篤典<sup>4)</sup>、館花春佳<sup>5)</sup>、李相潤<sup>1、5)</sup>

1) 青森県立保健大学大学院、2) 青森県立中央病院、

3) 医療法人松田会松田病院、4) 東京都立大学、5) 青森県立保健大学

**Key Words** ①1 型糖尿病 ②高濃度酸素暴露 ③骨格筋 ④毛細血管 ⑤ミトコンドリア

### I. はじめに

糖尿病 (DM) は高血糖誘発性の毛細血管数や密度、毛細血管・筋線維比 (Capillary to fiber ratio: C/F ratio) の低下を招き、糖代謝低下や酸化的リン酸化反応低下などによる代謝異常との関連が高い。Aiken J ら<sup>1)</sup> は 1 型糖尿病 (T1DM) ラットについて、ヒラメ筋及び足底筋のいずれも骨格筋の毛細血管数及び C/F ratio が有意に低下することを示した。そして Tanaka M ら<sup>2)</sup> は T1DM ラットにおけるヒラメ筋について、高圧高濃度酸素暴露は骨格筋の毛細血管長や容量を高め、骨格筋の毛細血管の希薄化を改善することを報告している。さらに Afina AB ら<sup>3)</sup> は、高濃度酸素暴露はミトコンドリア活性を向上させ、糖代謝や脂質代謝の改善に寄与することを示唆している。しかし、DM における常圧環境下の高濃度酸素暴露が骨格筋の毛細血管及びミトコンドリア活性に及ぼす影響については未だ明らかにされていない。

### II. 目的

本研究では 1 型糖尿病 (T1DM) ラットにおける常圧環境下の高濃度酸素暴露が骨格筋の毛細血管及びミトコンドリア活性に及ぼす影響について検討した。

### III. 研究方法 (または「研究の経過」等)

実験動物は生後 7 週齢の Wister 系雄性ラット (n = 21) を使用し、無作為に C 群 (n = 7)、DM 群 (n = 7)、DM+40%酸素濃度暴露群 (DM40 群、n=7) に分類した。DM 群は Streptozotocin 溶液を腹腔内投与 (1ml/kg) し、T1DM ラット (血糖 250mg/dl 以上) を作成した。DM40 群における酸素暴露は、酸素濃度を 40%に調整した専用のケージ内で同時刻に 1 時間/日を 4 週間実施した。

組織学的分析として、アルカリホスファターゼ (AP) 染色及びコハク酸脱水素酵素 (SDH) 染色を施した筋組織をそれぞれ顕微鏡用デジタルカメラ装置で撮影した。そして汎用画像処理ソフトを用いて AP 染色画像からは C/F ratio、SDH 染色画像からは平均 optical density を計測して SDH 活性をそれぞれ算出した。統計解析は R version 4.3.0 を使い、群間の比較には一元配置分散分析と多重比較として Scheffe's の検定を行った。統計学的有意水準は 5%未満とした。

### IV. 結果 (または「成果」等)

C/F ratio について、Type I 線維で構成されるヒラメ筋では C 群 (2.4 ± 0.3) と比較して DM 群 (1.6 ± 0.1) が 33.3%有意に低かった (p < 0.001)。また、DM 群と比較して DM40 群 (2.2 ± 0.1) は 37.5% (p < 0.01) 有意に高かった。Type IIa 及び IIb 線維で構成される長趾伸筋では C

群 ( $1.7 \pm 0.1$ ) と比較して DM 群 ( $1.2 \pm 0.1$ ) が 29.4%有意に低かった ( $p < 0.001$ )。また、DM 群と比較して DM40 群 ( $1.5 \pm 0.1$ ) は 25.0% ( $p < 0.05$ ) 有意に高かった。Type IIb 線維で構成される足底筋では C 群 ( $2.3 \pm 0.2$ ) と比較して DM 群 ( $1.7 \pm 0.3$ ) は 26.1%有意に低かった ( $p < 0.01$ )。

SDH 活性について、ヒラメ筋では C 群 ( $118.2 \pm 12.6$ ) と比較して DM 群 ( $103.2 \pm 8.5$ ) が 10.2% ( $p < 0.05$ ) 有意に低く、DM40 群 ( $120.1 \pm 14.0$ ) は DM 群と比較して 13.1% ( $p < 0.01$ ) 有意に高かった。長趾伸筋では C 群 ( $128.9 \pm 22.6$ ) と比較して DM 群 ( $103.3 \pm 18.2$ ) は 19.9% ( $p < 0.01$ ) 有意に低かった。足底筋では C 群 ( $140.3 \pm 18.2$ ) と比較して DM 群 ( $108.7 \pm 11.2$ ) が 22.5%有意に低く、DM40 群 ( $140.0 \pm 14.0$ ) は DM 群と比較して 28.8%有意に高かった (それぞれ  $p < 0.001$ )。

## V. 考察

本研究における DM では C/F ratio 及びミトコンドリア活性が顕著に減少したが、常圧環境下の高濃度酸素暴露は DM における C/F ratio 及びミトコンドリア活性の減少を抑制した。即ち、常圧環境下の高濃度酸素暴露は筋線維 Type の特性を反映し、T1DM における骨格筋の毛細血管及びミトコンドリア活性の変化に寄与することが示唆された。

## VI. 文献

1. Aiken J, Mandel ER, Riddell MC, et al. Hyperglycaemia correlates with skeletal muscle capillary regression and is associated with alterations in the murine double minute-2/forkhead box O1/thrombospondin-1 pathway in type 1 diabetic BioBreeding rats. *Diab Vasc Dis Res*, 2019; 16: 28-37. doi: 10.1177/1479164118805928.
2. Tanaka M, Kanazashi M, Matsumoto T, et al. Mild hyperbaric oxygen exposure attenuates rarefaction of capillary vessels in streptozotocin-induced diabetic soleus muscle in rats. *Biomed Res*, 2021; 42: 1-11. doi: 10.2220/biomedres.42.1.
3. Afina AB, Oleg SG, Alexander AB, et al. The Effects of Intermittent Hypoxic-Hyperoxic Exposures on Lipid Profile and Inflammation in Patients With Metabolic Syndrome. *Front Cardiovasc Med*, 2021; 8:700826. doi: 10.3389/fcvm.2021.700826.

## VII. 発表 (誌上発表、学会発表)

1. 杉本一生、逢坂有咲、嶋中虹奈、中村彩乃、斎藤拓弥、板垣篤典、渋谷佳彦、李相潤. 1 型糖尿病ラットにおける高濃度酸素暴露が骨格筋内毛細血管に及ぼす影響. 第 67 回日本糖尿病学会年 (2024/5/17-19).
2. 杉本一生、逢坂有咲、嶋中虹奈、中村彩乃、斎藤拓弥、板垣篤典、渋谷佳彦、李相潤. 高血糖ラットにおける骨格筋内毛細血管の肉眼的検索. 2023 年度青森県保健医療福祉研究発表会 (2023/12/16).
3. Issei Sugimoto, Atsunori Itagaki, Takumi Saito, Sangun Lee. Responses to oxidative stress and antioxidant capacity in rats at different growth stages. *J Phys Ther Sci*, 2023; 35: 793-795. doi: 10.1589/jpts.35.793.