

## 2 型糖尿病の不安障害や認知機能障害に対する運動による予防効果の基礎的検証

越智亮介 (PT)<sup>1)</sup>, 藤田直人 (PT)<sup>1)</sup>, 高石果歩 (PT)<sup>1)</sup>, 浦川 将 (PT)<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 広島大学大学院医系科学研究科運動器機能医科学

キーワード: 2 型糖尿病, 情動, 予防運動

### はじめに

運動は 2 型糖尿病における不安症状を軽減させ<sup>1)</sup>, 認知機能低下を改善する<sup>2)</sup>。しかし, 2 型糖尿病患者は不安障害併発により身体不活動になりやすく<sup>3)</sup>, 運動介入が困難になる。そこで, 糖尿病発症前に行う運動の予防効果が期待されているが, その効果は明らかにされていない。

2 型糖尿病モデルである Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (以下, OLETF) ラットは加齢に伴い症状が進行し, 8 週齢で食後高血糖, 20 週齢で高血糖症と高インスリン血症を呈する<sup>4)</sup>。また, 20 週齢の OLETF ラットは不安様行動が亢進している<sup>5)</sup>。本研究は 2 型糖尿病発症前の運動による情動行動変化の予防効果を明らかにすることを目的として, 若齢期または成熟期の OLETF ラットにおける自走運動が情動行動に及ぼす影響を検証した。

### 対象および方法

すべての実験は広島大学動物実験委員会の承認を得て実施した。

#### 実験 1. 認知機能評価テストの検討

##### 1) 実験動物

19 週齢の雄 OLETF ラットと対照の非糖尿病モデルである雄 Long-Evans Tokushima Otsuka (以下, LETO) ラットを用いた。

##### 2) 物体認知試験

馴化, 位置認知試験, 新奇物体認知試験の順に評価を実施した。試験には 80 cm 四方のフィールドを用いた。馴化では 2 つの隅に同じ物体を設置し, ラットに 3 分間自由に探索させた。馴化の 5 分後, 位置認知試験では 1 つの物体を移動し, ラットに 5 分間自由に探索させた。さらに 3 時間後, 新奇物体認知試験では 1 つの物体を新奇物体に取り替えて, ラットに 5 分間自由に探索させた。物体探索に要した時間を計測した。

#### 実験 2. 異なる時期の運動が OLETF ラットの情動行動に及ぼす影響の検証

##### 1) 実験動物

実験群を, LETO ラットを通常飼育した群 (LE 群;

n = 6), OLETF ラットを通常飼育した群 (OL 群; n = 6), OLETF ラットを週 7 日, 暗期の 12 時間, 1 匹ずつそれぞれ回し車を設置したケージに 4, 5 週齢時点で暴露した群 (OL 若齢期運動群; n = 6), 10, 11 週齢時点で暴露した群 (OL 成熟期運動群; n = 6) に分け, 4 週齢から 12 週齢まで飼育した。

##### 2) 行動評価テスト

6 週齢と 12 週齢時点で, 高架式十字迷路試験を行い, 12 週齢時点の高架式十字迷路試験の 1 日後から 3 日間, 社会的相互作用試験を行った。

##### (1) 高架式十字迷路試験

壁がないオープンアーム (50 cm × 10 cm) と側方に壁があるクローズドアーム (50 cm × 10 cm × 50 cm) がそれぞれ向かい合うように設置された十字迷路を床から 60 cm の高さに設置し, ラットは 10 分間自由に迷路を探索した。全アームへの総進入回数に対するオープンアームへの進入回数の比率を解析した。

##### (2) 社会的相互作用試験

80 cm 四方のフィールドの 1 辺の中央に動物曝露用の透明で通気孔がある箱 (20 cm × 25 cm × 30 cm) を設置し, 箱周辺を箱探索ゾーン, 箱の対側辺の中央を対側ゾーンとした。箱に, 1 日目はなにも入れず, 2, 3 日目は同ケージまたは別ケージのラットを入れた条件下で, 被験ラットはフィールドを 10 分間自由に探索した。AnimalTracker (<http://animaltracker.elte.hu>) を用いて<sup>6)</sup>, 各ゾーンにおける滞在時間の比率を計測した。

##### 3) 脳重量計測

社会的相互作用試験の翌日, ラットをペントバルビタールナトリウム腹腔内多量投与により安楽死させ, 4% パラホルムアルデヒドを灌流して固定した。その後, 脳を摘出し, 脳重量を計測した。

## 結 果

### 1. 物体認知試験

馴化時の総探索行動時間は, OLETF ラットが LETO ラットと比べて有意に短く, ほとんど探索行動を示さなかった (LETO: 20.0 ± 2.0 秒, OLETF: 2.4 ± 1.0 秒)。位置認知試験と新奇物体認知試験での各物体の探索行動時間は, 2 系統の間に有意差はなかった (データ非揭示)。

### 2. 高架式十字迷路試験

オープンアーム進入率は 6 週齢, 12 週齢時点のどちらにおいても各群間に有意差がなかった (データ非揭示)。

### 3. 社会的相互作用試験

実験条件にかかわらず, 箱探索ゾーンでの滞在時間率は OL 群と比べて OL 若齢期運動群と OL 成熟期運動群が有意に高く, 対側ゾーンでの滞在時間率は, LE 群と比べて OL 群が高く, OL 群と比べて OL 若齢期運動群と OL 成熟期運動群が低かった (表 1)。

表 1 社会的相互作用試験の各ゾーンでの滞在時間率 (%)

	LE 群	OL 群	OL 若齢期運動群	OL 成熟期運動群
箱探索ゾーン				
馴化	38.9 ± 3.6	27.4 ± 4.0	40.1 ± 5.1 †	46.2 ± 3.1 †
同ケージ	54.1 ± 2.3	45.4 ± 6.8	64.8 ± 1.5 †	63.8 ± 2.2 †
別ケージ	51.1 ± 3.2	48.5 ± 3.6	63.5 ± 3.1 †	55.8 ± 4.3 †
対側ゾーン				
馴化	20.6 ± 1.8	33.0 ± 2.7 *	23.1 ± 3.1 †	20.5 ± 1.9 †
同ケージ	9.0 ± 1.1	15.7 ± 2.8 *	6.1 ± 0.8 †	7.8 ± 1.5 †
別ケージ	8.4 ± 1.2	15.0 ± 1.7 *	10.5 ± 1.8 †	11.6 ± 1.9 †

\* : LE 群との有意差 ( $p < 0.05$ ), † : OL 群との有意差 ( $p < 0.05$ )

#### 4. 脳重量

脳重量は、LE 群と比べて、OL 群、OL 若齢期運動群、OL 成熟期運動群が有意に大きかった (LE 群 :  $2.06 \pm 0.02$  g, OL 群 :  $1.93 \pm 0.02$  g, OL 若齢期運動群 :  $1.93 \pm 0.03$  g, 成熟期運動群 :  $1.93 \pm 0.03$  g)。

#### 考 察

社会的相互作用試験において、OLETF ラットの若齢期と成熟期の運動は同様に新奇物体への探索を増加させた。一方、高架式十字迷路試験では、若齢期と成熟期の運動の影響が検出されなかった。これらの結果から、糖尿病発症前の予防的運動は特定の情動行動を変化させる可能性が示唆された。

認知機能変化を検証する目的で、予備的に物体認知試験を行った。先行研究では、物体認知試験前の馴化で、物体を探索する行動が 15 秒以下のラットは解析から除外しており<sup>7)</sup>、本研究のすべての OLETF ラットがこの基準以下の探索行動の時間を示した。また、位置認識試験と新奇物体認知試験での探索行動は系統間の有意差が検出されなかった。OLETF ラットは活動性低下や不安様行動亢進のような情動行動変化を呈するため<sup>5)</sup>、認知機能そのものを評価するには、情動的側面の影響を受けない方法を考案する必要があることが明らかになった。

OLETF ラットの情動行動変化には脳重量減少に伴う皮質辺縁系領域の縮小が関与する<sup>5)</sup>。本研究では、若齢期と成熟期の運動はどちらも、OLETF ラットの脳重量減少を改善しなかった。今後、OLETF ラットの若齢期と成熟期の運動による情動行動変化の神経機構解明のため、情動行動変化に関与する皮質辺縁系の組織化学的変化を含めた解析を進める必要がある。

#### 文 献

- 1) Ligtenberg PC, Godaert GL, *et al.*: Influence of a physical training program on psychological well-being in elderly

type 2 diabetes patients. *Diabetes Care.* 1998; 21: 2196–2197.

- 2) Shima T, Matsui T, *et al.*: Moderate exercise ameliorates dysregulated hippocampal glycometabolism and memory function in a rat model of type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2017; 60: 597–606.
- 3) Lipscombe C, Smith K, *et al.*: Gender Differences in the Relationship between Anxiety Symptoms and Physical Inactivity in a Community-Based Sample of Adults with Type 2 Diabetes. *Can J Diabetes.* 2014; 38: 444–450.
- 4) Goto N, Fujita N, *et al.*: Hemodynamic response during hyperbaric treatment on skeletal muscle in a type 2 diabetes rat model. *Biomed Res.* 2020; 41: 23–32.
- 5) Ochi R, Fujita N, *et al.*: Region specific brain area reductions and increased cholecystokinin positive neurons in diabetic OLETF rats: implication for anxiety like behavior. *J Physiol Sci.* 2020; 70: 42.
- 6) Gulyás M, Bencsik N, *et al.*: AnimalTracker: An ImageJ-Based Tracking API to Create a Customized Behaviour Analyser Program. *Neuroinformatics.* 2016; 14: 479–481.
- 7) Bocarsly M, Fasolino M, *et al.*: Obesity diminishes synaptic markers, alters Microglial morphology, and impairs cognitive function. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015; 112: 15731–15736.

#### 発表実績

- 1) Ochi R, Fujita N, *et al.*: Region specific brain area reductions and increased cholecystokinin positive neurons in diabetic OLETF rats: implication for anxiety like behavior. *J Physiol Sci.* 2020; 70: 42.
- 2) 越智亮介, 藤田直人, 他 : OLETF ラットの 2 型糖尿病の重症度にかかわらない情動行動と扁桃基底外側核のコレシストキニン陽性細胞発現の変化. 第 25 回日本基礎理学療法学会学術大会. 2020 年 12 月 12 日.
- 3) Ochi R, Fujita N, *et al.*: Alterations of cholecystokinin and parvalbumin expressions in the limbic system and increased anxiety-like behavior in OLETF rats of different ages. 第 126 回日本解剖学会・全国学術集会 / 第 98 回日本生理学会合同大会. 2021 年 3 月 28 日.