

Fig. 7. Effects of PD98059 or SP600125 on the FGF-2-induced phosphorylation of Akt in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 30  $\mu$ M of PD98059 (A), 30  $\mu$ M of SP600125 (B) or vehicle for 60 min, and then stimulated by 30 ng/ml FGF-2 or vehicle for 10 min. The extracts of cells were subjected to SDS-PAGE with subsequent Western blotting analysis with antibodies against phospho-specific Akt or Akt. The histogram shows quantitative representations of the levels of FGF-2-induced phosphorylation obtained from laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate determinations. Numbers on the right indicate molecular masses (kDa). Similar results were obtained with two additional and different cell preparations.

Akt plays an important role in regulating the balance between mitogenesis and apoptosis in cell function (Coffer et al., 1998). Thus, it is likely that the activation of Akt is usually required in these cells, and that the inhibition of Akt without the stimulation of FGF-2 is insufficient for VEGF release.

We next confirmed that the FGF-2-induced phosphorylation of GSK-3 $\beta$ , which is well known as a downstream target of

Table 1

Effect of actinomycin D on the enhancement by Akt inhibitor of FGF-2-stimulated VEGF release in MC3T3-E1 cells

Actinomycin D	Akt inhibitor	FGF-2	VEGF (pg/ml)
-	-	-	14 $\pm$ 2
-	-	+	819 $\pm$ 52
-	+	+	1560 $\pm$ 104
+	-	-	12 $\pm$ 2
+	-	+	411 $\pm$ 31*
+	+	+	1169 $\pm$ 68**

The cultured cells were pretreated with 10 ng/ml of actinomycin D, 10  $\mu$ M of Akt inhibitor, or vehicle for 60 min, and then stimulated by 30 ng/ml FGF-2 or vehicle for 48 h. Each value represents the mean  $\pm$  S.E.M. of triplicate determinations. Similar results were obtained with two additional and different cell preparations.

\*  $p < 0.05$ , compared to the value of FGF-2 alone.

\*\*  $p < 0.05$ , compared to the value of Akt inhibitor and FGF-2.

Akt (Cross et al., 1995; Srivastava and Pandey, 1998), was truly reduced by the Akt inhibitor in MC3T3-E1 cells. These results suggest that FGF-2-induced VEGF release is suppressed by activation of Akt in osteoblast. We also found that wortmannin (Arcaro and Wymann, 1993) and LY294002 (Vlahos et al., 1994) markedly enhanced the FGF-2-induced VEGF release. Additionally, the FGF-2-induced phosphorylation of GSK-3 $\beta$  was suppressed by wortmannin or LY294002. Although Akt inhibitor failed to suppress FGF-2-induced Akt phosphorylation, it seems that the Akt inhibitor affects at the point downstream of Akt phosphorylation. Therefore, it is probable that the Akt inhibitor has no effect on the Akt phosphorylation but suppresses the activity. In addition, the enhancement by Akt inhibitor of FGF-2-induced VEGF release was significantly reduced by actinomycin D, a transcriptional inhibitor (Reich, 1963). Therefore, these results suggest that the regulation by Akt of FGF-2-stimulated VEGF release is at least in part a transcriptional regulation in osteoblasts. Taking our results into account as a whole, it is most likely that FGF-2 activates PI3-kinase/Akt pathway, resulting in attenuating the release of VEGF. It is probable that PI3-kinase/Akt signaling pathway activated by FGF-2 limits the FGF-2-induced VEGF release. To the best of our knowledge, our present results probably represent the first report to show that the activation of PI3-kinase/Akt leads to the negative feedback of VEGF release in osteoblasts.

It is well recognized that the MAP kinase superfamily mediates intracellular signaling of extracellular agonists and plays an important role in cellular functions including proliferation, differentiation and apoptosis in a variety of cells (Widmann et al., 1999). Three major MAP kinase, p44/p42 MAP kinase, p38 MAP kinase and SAPK/JNK are known as central elements used by mammalian cells to transduce the diverse messages (Widmann et al., 1999). In our previous studies (Tokuda et al., 2000, 2003), we have shown that FGF-2 activates p44/p42 MAP kinase and SAPK/JNK in osteoblast-like MC3T3-E1 cells, and these MAP kinases act as positive regulators in FGF-2-induced VEGF release. Thus, it is necessary to clarify whether or not the relationship between PI3-kinase/Akt and these MAP kinases exists in the FGF-2-induced VEGF release in these cells. However, Akt inhibitor or PI3-kinase inhibitors failed to affect the

phosphorylation of p44/p42 MAP kinase and SAPK/JNK. Furthermore, we found that PD98059, a MEK inhibitor (Alessi et al., 1995), and SP600125, a JNK inhibitor (Bennett et al., 2001), had little effect on the FGF-2-induced phosphorylation of Akt. It seems unlikely that PI3-kinase/Akt signaling pathway affects the FGF-2-induced VEGF release in a dependent manner upon p44/p42 MAP kinase and SAPK/JNK in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. The relative importance of these three pathways during osteoblast differentiation remains clarified. It is also unclear why these parallel opposing pathways would be physiologically advantageous, however, the complicated regulatory mechanism of FGF-2-induced VEGF release might reflect the importance of the event in osteoblasts.

We showed here that the VEGF release stimulated by FGF-2 is under the strict control of the survival signal, PI3-kinase/Akt in osteoblasts. When bone is damaged, FGF-2 expressed in osteoblasts plays a crucial role in fracture repair, bone remodeling and osteogenesis (Bolander, 1992; Marie, 2003). Bone remodeling is accompanied by angiogenesis and capillary outgrowth (Erlebacher et al., 1995). Since VEGF is a specific mitogen of vascular endothelial cells (Ferrara and Davis-Smyth, 1997), it is probable that adequate levels of VEGF are necessary to regulate vascularization of developing bones. VEGF expressed by osteoblasts could couple angiogenesis to bone formation by adjusting the angiogenic response to osteoblastic activity (Zelzer and Olsen, 2005). Taking these findings into account as a whole, our present results lead us to speculate that FGF-2-activated PI3-kinase/Akt signaling limits over-release of VEGF, resulting in the accommodation of bone microvasculature development that is required for fracture repair and so on. The concentration of FGF-2 stimulating the VEGF release observed in the present study was much higher than the physiological concentrations reported by previous *in vivo* reports (Ii et al., 1993; D'Amore et al., 1994). FGF-2 produced by osteoblast is accumulated in extracellular matrix of bone (Baylink et al., 1993; Hurley et al., 1993), suggesting that the osteoblasts, which make contact with bone matrix are possibly exposed to relatively high doses of FGF-2. Even under the physiological conditions, therefore, it is possible that FGF-2 stimulates the release of VEGF via p44/p42 MAP kinase and SAPK/JNK but regulates the excess of VEGF release through PI3-kinase/Akt signaling cascade in osteoblasts. Further investigations would be required to clarify the details.

In conclusion, our present results strongly suggest that the FGF-2-induced release of VEGF is negatively regulated by PI3-kinase/Akt activated by FGF-2 itself in osteoblasts.

#### Acknowledgements

We are very grateful to Yoko Kawamura for her skillful technical assistance. This investigation was supported in part by Grant-in-Aid for Scientific Research (16590873 and 16591482) for the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan, the Research Grants for Longevity Sciences (15A-1 and 15C-2), Research on Proteomics and Research on Fracture and Dementia from Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

#### References

- Alessi, D.R., Cuenda, A., Cohen, P., Dudley, D.T., Saltiel, A.R., 1995. PD98059 is a specific inhibitor of the activation of mitogen-activated protein kinase *in vitro* and *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 270, 27489–27494.
- Arcaro, A., Wymann, M.P., 1993. Wortmannin is a potent phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor: the role of phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate in neutrophil responses. *Biochem. J.* 296, 297–301.
- Baylink, D.J., Finkleman, R.D., Mohan, S., 1993. Growth factor to stimulate bone formation. *J. Bone Miner. Res.* 8, S565–S572.
- Bennett, B.L., Sasaki, D.T., Murray, B.W., O'Leary, E.C., Sakata, S.T., Xu, W., Leisten, J.C., Motiwala, A., Pierce, S., Satoh, Y., Bhagwat, S.S., Manning, A.M., Anderson, D.W., 2001. SP600125, an anthrapyrazolone inhibitor of Jun N-terminal kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 13681–13686.
- Bolander, M.E., 1992. Regulation of fracture repair by growth factors stimulate tyrosine kinase activity *in vivo*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 200, 165–170.
- Brighton, C.T., 1978. Structure and function of the growth plate. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 136, 22–32.
- Brighton, C.T., Hunt, R.M., 1991. Early histological and ultrastructural changes in medullary fracture callus. *Am. J. Bone Joint Surg.* 73, 832–847.
- Cantley, L.C., 2002. The phosphoinositide 3-kinase pathway. *Science* 296, 1655–1657.
- Chan, T.O., Rittenhouse, S.E., Tsichlis, P.N., 1999. AKT/PKB and other D3 phosphoinositide-regulated kinases: kinase activation by phosphoinositide-dependent phosphorylation. *Annu. Rev. Biochem.* 68, 965–1014.
- Chaudhary, L.R., Hruska, K.A., 2001. The cell survival signal Akt is differentially activated by PDGF-BB, EGF, and FGF-2 in osteoblastic cells. *J. Cell Biochem.* 81, 304–311.
- Coffer, P.J., Jin, J., Woodgett, J.R., 1998. Protein kinase B (c-Akt): a multifunctional mediator of phosphatidylinositol 3-kinase activation. *Biochem. J.* 335, 1–13.
- Cross, D.A., Alessi, D.R., Cohen, P., Andjelkovich, M., Hemmings, B.A., 1995. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature* 378, 785–789.
- D'Amore, P.A., Brown Jr., R.H., Ku, P.T., Hoffman, E.P., Watanabe, H., Arahata, K., Ishihara, T., Folkman, J., 1994. Elevated basic fibroblast growth factor in the serum of patients with Duchenne muscular dystrophy. *Ann. Neurol.* 35, 362–365.
- Debiais, F., Lefevre, G., Lemonnier, J., Le Mee, S., Lasmoles, F., 2004. Fibroblast growth factor-2 induces osteoblast survival through a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent-beta-catenin-independent signaling pathway. *Exp. Cell Res.* 297, 235–246.
- Dudek, H., Datta, S.R., Franke, T.F., Birmbaum, M.J., Yao, R., Cooper, G.M., Segal, R.A., Kaplan, D.R., Greenberg, M.E., 1997. Regulation of neuronal survival by the serine-threonine protein kinase Akt. *Science* 275, 661–665.
- Erlebacher, A., Filvaroff, E.H., Gitelman, S.E., Derynck, R., 1995. Toward a molecular understanding of skeletal development. *Cell* 80, 371–378.
- Ferrara, N., Davis-Smyth, T., 1997. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr. Rev.* 18, 4–25.
- Gerber, H.P., Vu, T.H., Ryan, A.M., Kowalski, J., Werb, Z., Ferrara, N., 1999. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nat. Med.* 5, 623–628.
- Goad, D.L., Rubin, J., Wang, H., Tashjian Jr., A.H., Patterson, C., 1996. Enhanced expression of vascular endothelial growth factor in human SaOS-2 osteoblast-like cells and murine osteoblasts induced by insulin-like growth factor I. *Endocrinology* 137, 2262–2268.
- Hu, Y., Qiao, L., Wang, S., Rong, S.B., Meuillet, E.J., Berggren, M., Gallegos, A., Powis, G., Kozikowski, A.P., 2000. 3-(Hydroxymethyl)-bearing phosphatidylinositol ether lipid analogues and carbonate surrogates block PI3-K, Akt, and cancer cell growth. *J. Med. Chem.* 43, 3045–3051.
- Hurley, M.M., Abreu, C., Harrison, J.R., Lichtler, A.C., Raisz, L.G., Kream, B.E., 1993. Basic fibroblast growth factor inhibits type I collagen gene expression in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *J. Biol. Chem.* 268, 5588–5593.
- Ii, M., Yoshida, H., Aramaki, Y., Masuya, H., Hada, T., Hatanaka, M., Ichimori, Y., 1993. Improved enzyme immunoassay for human basic fibroblast growth factor using a new enhanced chemiluminescence system. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 193, 540–545.

- Kato, K., Ito, H., Hasegawa, K., Inaguma, Y., Kozawa, O., Asano, T., 1996. Modulation of the stress-induced synthesis of hsp27 and  $\alpha$ B-crystallin by cyclic AMP in C6 glioma cells. *J. Neurochem.* 66, 946–950.
- Katso, R., Okkenhaug, K., Ahmadi, K., White, S., Timms, J., Waterfield, M.D., 2001. Cellular function of phosphoinositide 3-kinases: implications for development, homeostasis, and cancer. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17, 615–675.
- Kozawa, O., Tokuda, H., Miwa, M., Kotoyori, J., Oiso, Y., 1992. Cross-talk regulation between cyclic AMP production and phosphoinositide hydrolysis induced by prostaglandin E<sub>2</sub> in osteoblast-like cells. *Exp. Cell Res.* 198, 130–134.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680–685.
- Marie, P.J., 2003. Fibroblast growth factor signaling controlling osteoblast differentiation. *Gene* 316, 23–32.
- Noda, T., Tokuda, H., Yoshida, M., Yasuda, E., Hanai, Y., Kozawa, O., 2005. Possible involvement of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway in insulin-like growth factor-I-induced alkaline phosphatase activity in osteoblasts. *Horm. Metab. Res.* 37, 270–274.
- Parfitt, A.M., 1994. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *J. Cell Biochem.* 55, 273–286.
- Reich, E., 1963. Biochemistry of actinomycins. *Cancer Res.* 23, 1428–1441.
- Schalaepi, J.M., Gutzwiller, S., Finlenzeller, G., Fournier, B., 1997. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces the expression of vascular endothelial growth factor in osteoblastic cells. *Endocr. Res.* 23, 213–229.
- Srivastava, A.K., Pandey, S.K., 1998. Potential mechanism(s) involved in the regulation of glycogen synthesis by insulin. *Mol. Cell Biochem.* 182, 135–141.
- Sudo, H., Kodama, H., Amagai, Y., Yamamoto, S., Kasai, S., 1983. *In vivo* differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria. *J. Cell Biol.* 96, 191–198.
- Tokuda, H., Kozawa, O., Uematsu, T., 2000. Basic fibroblast growth factor stimulates vascular endothelial growth factor release in osteoblasts: divergent regulation by p44/p42 mitogen-activated protein kinase and p38 mitogen-activated protein kinase. *J. Bone Miner. Res.* 15, 2371–2379.
- Tokuda, H., Hirade, K., Wang, X., Oiso, Y., Kozawa, O., 2003. Involvement of SAPK/JNK in basic fibroblast growth factor-induced VEGF release in osteoblasts. *J. Endocrinol.* 177, 101–107.
- Vlahos, C.J., Matter, W.F., Hui, K.Y., Brown, R.F., 1994. A specific inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase 2-(4-morpholinyl)-8-phenyl-4H-1-benzopyran-4-one (LY294002). *J. Biol. Chem.* 269, 5721–5728.
- Wang, D.S., Yamazaki, K., Nohtomi, K., Shizume, K., Ohsumi, K., Shibuya, M., Demura, H., Sato, K., 1996. Increase of vascular endothelial growth factor mRNA expression by 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in human osteoblast-like cells. *J. Bone Miner. Res.* 11, 472–479.
- Widmann, C., Gibson, S., Jarpe, M.B., Johnson, G.L., 1999. Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human. *Physiol. Rev.* 79, 143–180.
- Yoshida, M., Niwa, M., Ishisaki, A., Hirade, K., Ito, H., Shimizu, K., Kato, K., Kozawa, O., 2004. Methotrexate enhances prostaglandin D<sub>2</sub>-stimulated heat shock protein 27 induction in osteoblast. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 71, 351–362.
- Zelzer, E., Olsen, B.R., 2005. Multiple roles of vascular endothelial growth factor (VEGF) in skeletal development, growth, and repair. *Curr. Top. Dev. Biol.* 65, 169–187.



## (–)-Epigallocatechin gallate inhibits prostaglandin D<sub>2</sub>-stimulated HSP27 induction via suppression of the p44/p42 MAP kinase pathway in osteoblasts

Junichi Yamauchi<sup>a</sup>, Shinji Takai<sup>a</sup>, Rie Matsushima-Nishiwaki<sup>a</sup>,  
Yoshiteru Hanai<sup>a,b</sup>, Tomoaki Doi<sup>c</sup>, Hisaaki Kato<sup>c</sup>, Shinji Ogura<sup>c</sup>,  
Kanefusa Kato<sup>d</sup>, Haruhiko Tokuda<sup>a,b</sup>, Osamu Kozawa<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Department of Pharmacology, Gifu University Graduate School of Medicine, Gifu 501-1194, Japan

<sup>b</sup>Department of Clinical Laboratory, National Hospital for Geriatric Medicine, National Center for Geriatrics and Gerontology, Obu, Aichi 474-8511, Japan

<sup>c</sup>Department of Emergency and Disaster Medicine, Gifu University Graduate School of Medicine, Gifu 501-1194, Japan

<sup>d</sup>Department of Biochemistry, Institute for Developmental Research, Aichi Human Service Center, Kasugai 486-0392, Japan

Received 26 June 2007; received in revised form 17 August 2007; accepted 3 September 2007

### Abstract

We previously reported that prostaglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>) stimulates heat shock protein 27 (HSP27) induction through p38 mitogen-activated protein (MAP) kinase, stress-activated protein kinase (SAPK)/c-Jun N-terminal kinase (JNK) and p44/p42 MAP kinase in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In the present study, we investigated whether (–)-epigallocatechin gallate (EGCG), the major polyphenol found in green tea, affects the induction of HSP27 in these cells and the mechanism. EGCG significantly reduced the HSP27 induction stimulated by PGD<sub>2</sub> without affecting the levels of HSP70. The PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of p38 MAP kinase or SAPK/JNK was not affected by EGCG. On the contrary, EGCG markedly suppressed the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of p44/p42 MAP kinase and MEK1/2. However, the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of Raf-1 was not inhibited by EGCG. These results strongly suggest that EGCG suppresses the PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27 at the point between Raf-1 and MEK1/2 in osteoblasts.

© 2007 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Heat shock proteins (HSP) are induced in cells in response to the biological stress such as heat stress and chemical stress [1]. HSPs are classified into high-molecular-weight HSPs such as HSP90 and HSP70, and low-molecular-weight HSPs based on apparent molecular sizes. Low-molecular-weight HSPs with molecular masses from 10 to 30 kDa, such as HSP27,  $\alpha$ B-crystallin and HSP20 share high homology in amino acid sequences “ $\alpha$ -crystallin domain” [2]. Though the func-

tions of the low-molecular-weight HSPs are known less than those of the high-molecular-weight HSPs, it is generally believed that they may have chaperoning functions like the high-molecular-weight HSPs [2]. It is well recognized that HSP27 activity is regulated by post-translational modification such as phosphorylation [3,4]. Under unstimulated conditions, HSP27 exists as a high-molecular-weight aggregated form. It is rapidly dissociated as a result of phosphorylation [5,6]. The phosphorylation-induced dissociation from the aggregated form correlates with the loss of molecular chaperone activity [5,6]. Bone metabolism is regulated by two functional cells, osteoblasts and osteoclasts, responsible for bone formation and bone resorption, respectively [7]. The formation of bone structures and bone remodeling

\*Corresponding author. Tel.: +81 58 230 6214;

fax: +81 58 230 6215.

E-mail address: [okozawa@gifu-u.ac.jp](mailto:okozawa@gifu-u.ac.jp) (O. Kozawa).

results from the coupling process, bone resorption by activated osteoblasts with subsequent deposition of new matrix by osteoblasts. In osteoblasts, it has been shown that down-regulation of proliferation is accompanied by a transient increase of the HSP27 mRNA expression [8]. In addition, heat-stimulated induction of HSP27 is reportedly facilitated by estrogen [9]. However, the exact role of HSP27 in osteoblasts remains to be clarified.

Prostaglandins (PGs) act as autocrine/paracrine modulators in bone metabolism and play important roles in the regulation [7,10]. Among PGs, PGD<sub>2</sub> is generally known as a potent regulator of osteoblastic functions [11,12]. In our previous study [13], we have reported that PGD<sub>2</sub> stimulates the synthesis of interleukin-6 through calcium-dependent manner in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In addition, we showed that PGD<sub>2</sub> stimulates the induction of HSP27 via three mitogen-activated protein (MAP) kinases, p44/p42 MAP kinase, p38 MAP kinase and stress-activated protein kinase (SAPK)/c-Jun N-terminal kinase (JNK) in these cells [14,15]. However, the mechanism by which PGD<sub>2</sub> modulates osteoblast functions is not fully clarified.

It is well known that compounds in foods such as vegetables and fruits have beneficial properties to human beings. Among them, flavonoids reportedly show anti-oxidative, antiproliferative and proapoptotic effects [16,17]. Osteoporosis is one of major problems in health of elderly persons in the advanced countries. It is recognized that tea drinkers appear to have low risk in osteoporosis [18]. Catechins are one of the major flavonoids contained in various species of plants including tea [17]. In bone metabolism, it has been reported that catechin suppresses bone resorption [19]. As for osteoblasts, it has been shown that catechin stimulates alkaline phosphatase activity, a mature osteoblast phenotype, and reduces bone-resorptive cytokine production in osteoblast-like MC3T3-E1 cells [20]. These evidences lead us to speculate that catechin could affect osteoblast function through the modulation of HSP27 induction stimulated by the local factors such as PGD<sub>2</sub>.

In the present study, we investigated the effect of (–)-epigallocatechin gallate (EGCG), one of the major green tea flavonoids [17], on PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27 and the mechanism in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. We here show that EGCG suppresses the PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27 via inhibition of p44/p42 MAP kinase but not p38 MAP kinase or SAPK/JNK in these cells.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

PGD<sub>2</sub> and  $\beta$ -actin antibodies were purchased from Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). EGCG was

obtained from Calbiochem-Novabiochem (La Jolla, CA). HSP27 antibodies were obtained from R&D Systems Inc. (Minneapolis, MN). HSP70 antibodies were purchased from Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA). Phospho-specific p38 MAP kinase antibodies, p38 MAP kinase antibodies, phospho-specific SAPK/JNK antibodies, SAPK/JNK antibodies, phospho-specific p44/p42 MAP kinase antibodies, p44/p42 MAP kinase antibodies, phospho-specific MEK1/2 antibodies, MEK1/2 antibodies and phospho-specific Raf-1 antibodies were purchased from Cell Signaling Technology Inc. (Beverly, MA). An ECL Western blotting detection system was obtained from Amersham Japan (Tokyo, Japan). Other materials and chemicals were obtained from commercial sources. PGD<sub>2</sub> was dissolved in ethanol. The maximum concentration of ethanol was 0.1%, which did not affect Western blot analysis.

### 2.2. Cell culture

Cloned osteoblast-like MC3T3-E1 cells derived from newborn mouse calvaria [21] were maintained as previously described [22]. Briefly, the cells were cultured in  $\alpha$ -minimum essential medium ( $\alpha$ -MEM) containing 10% fetal calf serum (FCS) at 37°C in a humidified atmosphere of 5% CO<sub>2</sub>/95% air. The cells were seeded into 90-mm diameter dishes (25 × 10<sup>4</sup> per dish) in  $\alpha$ -MEM containing 10% FCS. After 5 days, the medium was exchanged for  $\alpha$ -MEM containing 0.3% FCS. The cells were used for experiments after 48 h. When indicated, the cells were pretreated with EGCG.

### 2.3. Western blot analysis

The cultured cells were stimulated by PGD<sub>2</sub> in serum-free  $\alpha$ -MEM for the indicated periods. The cells were washed twice with phosphate-buffered saline and then lysed, homogenized, sonicated and immediately boiled in a lysis buffer (pH 6.8) containing 62.5 mM Tris/Cl, 2% sodium dodecyl sulfate (SDS), 50 mM dithiothreitol, and 10% glycerol. The sample was used for the analysis by Western blotting. SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) was performed by the method of Laemmli [23] in 10% polyacrylamide gel. Western blot analysis was performed as described previously [24], using HSP27 antibodies, HSP70 antibodies,  $\beta$ -actin antibodies, phospho-specific p38 MAP kinase antibodies, p38 MAP kinase antibodies, phospho-specific SAPK/JNK antibodies, SAPK/JNK antibodies, phospho-specific p44/p42 MAP kinase antibodies, p44/p42 MAP kinase antibodies, phospho-specific MEK1/2 antibodies, MEK1/2 antibodies or phospho-specific Raf-1 antibodies, with peroxidase-labeled antibodies raised in goat against rabbit IgG being used as second antibodies. Peroxidase activity on polyvinylidene

difluoride (PVDF) membranes was visualized on X-ray film by means of the ECL Western blotting detection system and was quantitated using NIH image software. All of Western blot analyses were repeated at least three times in independent experiments.

2.4. Statistical analysis

The data were analyzed by ANOVA followed by Bonferroni method for multiple comparisons between pairs, and a  $p < 0.05$  was considered significant. All data are presented as the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations.

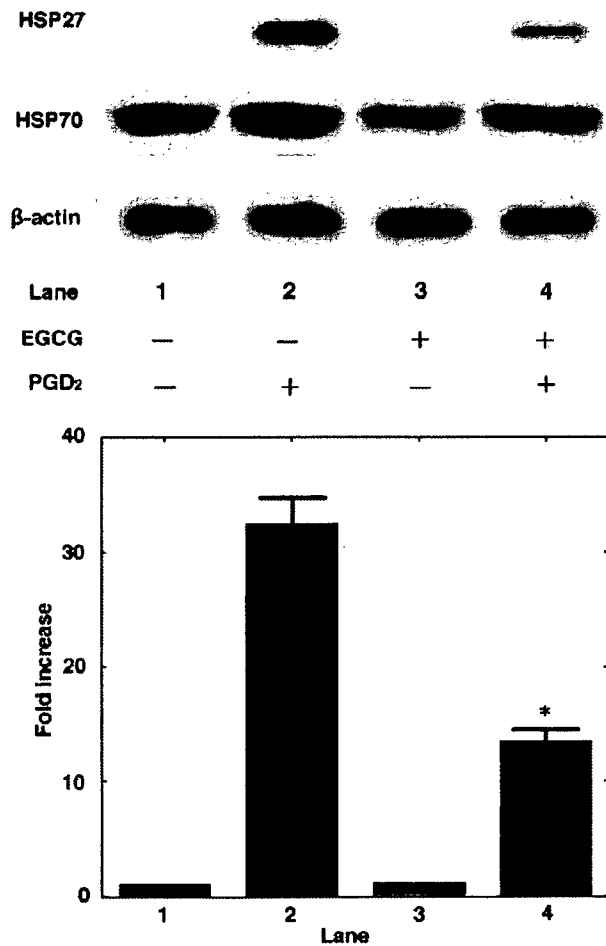


Fig. 1. Effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-stimulated HSP27 induction in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 30  $\mu$ M EGCG for 60 min, and then stimulated with 10  $\mu$ M PGD<sub>2</sub> for 9 h. The extracts of cells were subjected to SDS-PAGE with subsequent Western blotting analysis with antibodies against HSP27, HSP70 or  $\beta$ -actin. The histogram shows quantitative representations of the levels of PGD<sub>2</sub>-induced HSP27 obtained from laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations. Similar results were obtained with two additional and different cell preparations. \* $p < 0.05$ , compared to the value of PGD<sub>2</sub> alone.

3. Results

3.1. Effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-stimulated HSP27 induction in MC3T3-E1 cells

We examined the effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27. EGCG significantly reduced the PGD<sub>2</sub>-induced levels of HSP27 (Fig. 1). EGCG (30  $\mu$ M) caused about 60% reduction in the PGD<sub>2</sub>-effect. We have shown that PGD<sub>2</sub> does not affect the levels of HSP70, a high-molecular-weight HSP, in osteoblast-like MC3T3-E1 cells [14]. EGCG had little effect on the levels of HSP70 (Fig. 1).

3.2. Effects of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-stimulated phosphorylation of p38 MAP kinase, SAPK/JNK or p44/p42 MAP kinase in MC3T3-E1 cells

In our previous studies [14,15], we have shown that the activations of p38 MAP kinase, SAPK/JNK and

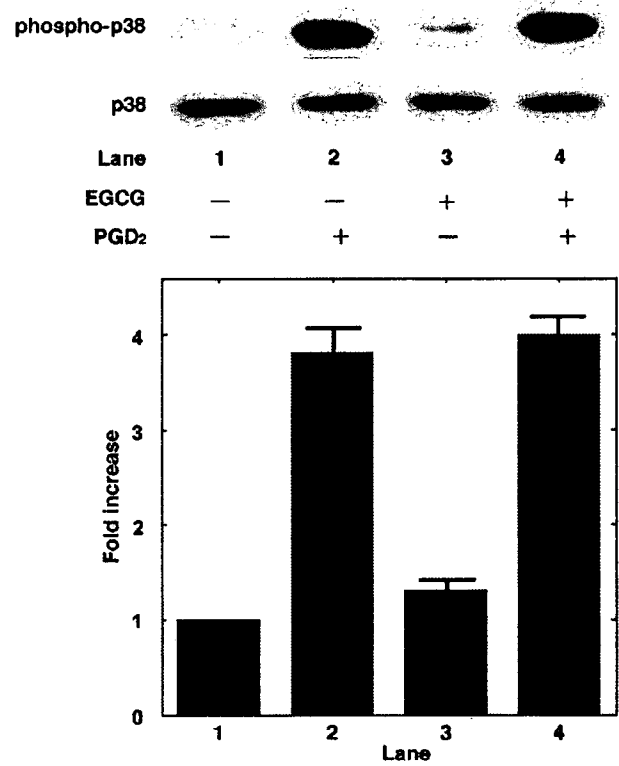


Fig. 2. Effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of p38 MAP kinase in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 100  $\mu$ M EGCG for 60 min, and then stimulated by 10  $\mu$ M PGD<sub>2</sub> or vehicle for 10 min. The extracts of cells were subjected to SDS-PAGE with subsequent Western blotting analysis with antibodies against phospho-specific p38 MAP kinase or p38 MAP kinase. The histogram shows quantitative representations of the levels of PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation obtained from laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations. Similar results were obtained with two additional and different cell preparations.

p44/p42 MAP kinase mediate the PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In order to clarify what kind of kinase among three MAP kinases is involved in the EGCG-induced suppression of HSP27 induction in MC3T3-E1 cells, we next examined the effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-stimulated phosphorylation of three MAP kinases. However, EGCG did not influence the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of p38 MAP kinase in MC3T3-E1 cells (Fig. 2). In addition, the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of SAPK/JNK was not affected by EGCG (Fig. 3).

On the contrary, EGCG markedly reduced the p44/p42 MAP kinase phosphorylation by PGD<sub>2</sub> (Fig. 4). EGCG (30 μM) caused about 50% reduction in the PGD<sub>2</sub>-effect.

### 3.3. Effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of MEK1/2 and Raf-1 in MC3T3-E1 cells

It is generally known that p44/p42 MAP kinase is activated by MEK1/2, which is regulated by the

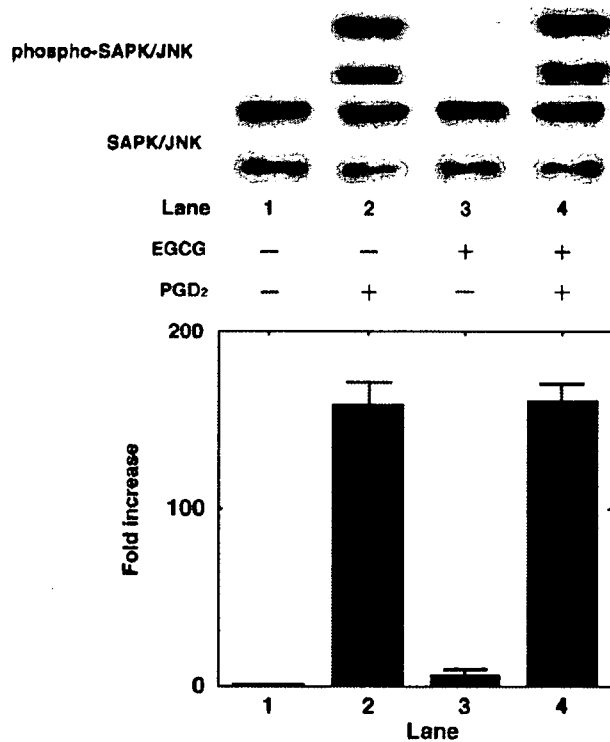


Fig. 3. Effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of SAPK/JNK in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 100 μM EGCG for 60 min, and then stimulated by 10 μM PGD<sub>2</sub> or vehicle for 10 min. The extracts of cells were subjected to SDS-PAGE with subsequent Western blotting analysis with antibodies against phospho-specific SAPK/JNK or SAPK/JNK. The histogram shows quantitative representations of the levels of PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation obtained from laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean ± SEM of triplicate determinations. Similar results were obtained with two additional and different cell preparations.

upstream kinase known as Raf-1 [25]. We found that both MEK1/2 and Raf-1 were time dependently phosphorylated by PGD<sub>2</sub> (data not shown). EGCG significantly suppressed the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of MEK1/2 (Fig. 5). EGCG (30 μM) caused about 50% reduction in the PGD<sub>2</sub>-effect. On the contrary, EGCG failed to attenuate the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of Raf-1 (Fig. 6).

## 4. Discussion

In the present study, we first showed that EGCG markedly inhibited the PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27, a low-molecular-weight HSP, while EGCG failed to affect the levels of HSP70, a high-molecular-weight HSP in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. We next investigated the mechanism of EGCG behind the suppressive effect on the HSP27 induction. The MAP kinase superfamily plays a pivotal role in cellular

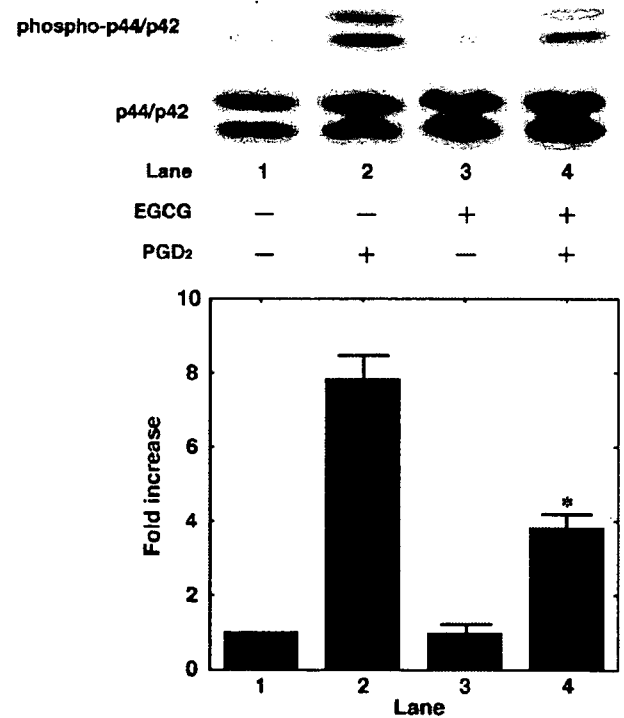


Fig. 4. Effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of p44/p42 MAP kinase in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 100 μM EGCG for 60 min, and then stimulated by 10 μM PGD<sub>2</sub> or vehicle for 15 min. The extracts of cells were subjected to SDS-PAGE with subsequent Western blotting analysis with antibodies against phospho-specific p44/p42 MAP kinase or p44/p42 MAP kinase. The histogram shows quantitative representations of the levels of PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation obtained from laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean ± SEM of triplicate determinations. Similar results were obtained with two additional and different cell preparations. \**p* < 0.05, compared to the value of PGD<sub>2</sub> alone.

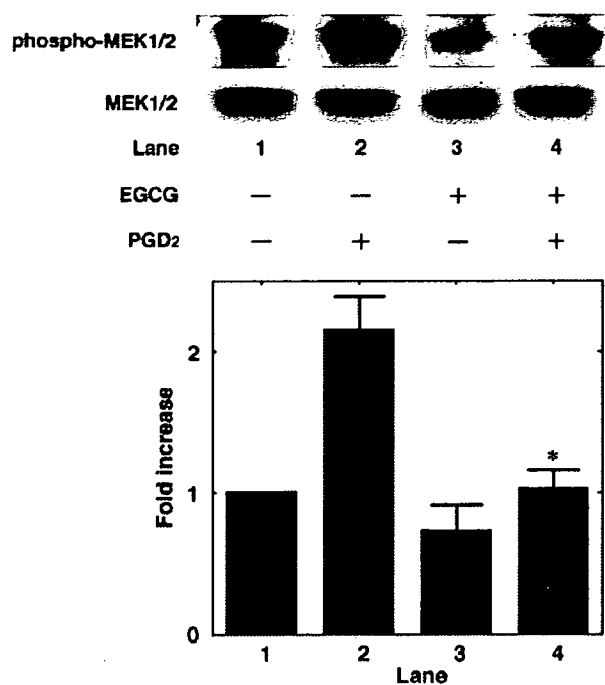


Fig. 5. Effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of MEK1/2 in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 100  $\mu$ M EGCG for 60 min, and then stimulated by 10  $\mu$ M PGD<sub>2</sub> or vehicle for 15 min. The extracts of cells were subjected to SDS-PAGE with subsequent Western blotting analysis with antibodies against phospho-specific MEK1/2 or MEK1/2. The histogram shows quantitative representations of the levels of PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation obtained from laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations. Similar results were obtained with two additional and different cell preparations. \* $p < 0.05$ , compared to the value of PGD<sub>2</sub> alone.

functions including proliferation, differentiation, and apoptosis in a variety of cells [25]. It is generally known that three major MAP kinases such as p44/p42 MAP kinase, p38 MAP kinase and SAPK/JNK are known as central elements used by mammalian cells to transduce the various messages. We have previously shown that the three MAP kinases function as positive regulators in the PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells [14,15]. In the present study, the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of p38 MAP kinase or SAPK/JNK was not affected by EGCG. It is well recognized that MAP kinases are activated by phosphorylation of threonine and tyrosine residues by dual specificity MAP kinase kinase [25]. Therefore, it seems unlikely that the EGCG-induced suppression of PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27 is due to the inhibition of p38 MAP kinase pathway or SAPK/JNK pathway in osteoblast-like MC3T3-E1 cells.

p44/p42 MAP kinase (extracellular signal-regulated kinase) is activated by MEK (mitogen extracellular kinase) as MAP kinase kinase and that Raf-1 regulates

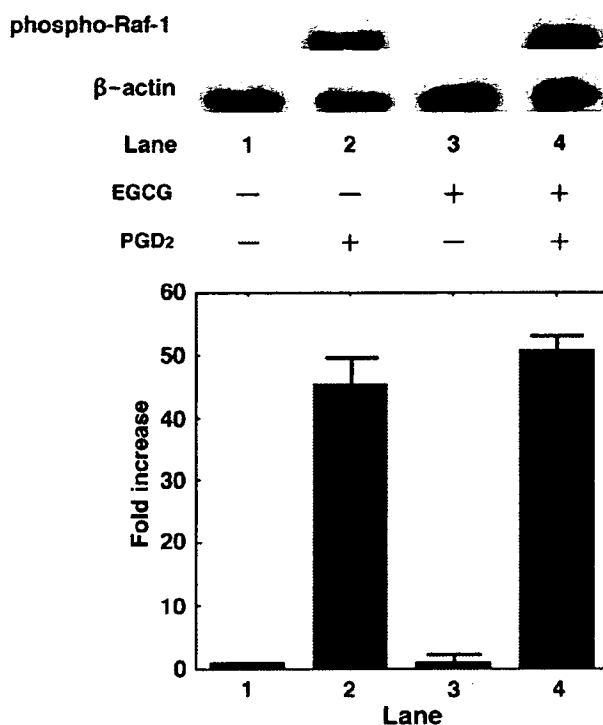


Fig. 6. Effect of EGCG on the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of Raf-1 in MC3T3-E1 cells. The cultured cells were pretreated with 100  $\mu$ M EGCG for 60 min, and then stimulated by 10  $\mu$ M PGD<sub>2</sub> or vehicle for 10 min. The extracts of cells were subjected to SDS-PAGE with subsequent Western blotting analysis with antibodies against phospho-specific Raf-1 or  $\beta$ -actin. The histogram shows quantitative representations of the levels of PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation obtained from laser densitometric analysis of three independent experiments. Each value represents the mean  $\pm$  SEM of triplicate determinations. Similar results were obtained with two additional and different cell preparations.

MEK as MAP kinase kinase kinase [25]. In the present study, the PGD<sub>2</sub>-stimulated phosphorylation of p44/p42 MAP kinase was significantly attenuated by EGCG. This result suggests that EGCG suppresses PGD<sub>2</sub>-stimulated HSP27 induction via inhibiting the p44/p42 MAP kinase cascade in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. In addition, we showed that EGCG attenuated the levels of the PGD<sub>2</sub>-induced phosphorylation of MEK1/2 without affecting the levels of Raf-1 phosphorylation. Taking our findings into account, it is most likely that EGCG inhibits the PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27 at the point between Raf-1 and MEK1/2 in osteoblast-like MC3T3-E1 cells. The potential mechanism of EGCG in PGD<sub>2</sub>-stimulated HSP27 induction in osteoblasts shown here is summarized in Fig. 7. Further investigations are necessary to elucidate the exact mechanism of catechin underlying the down-regulation of HSP27 induction in osteoblasts.

EGCG is one of the major polyphenolic flavonoids present in a green tea [17]. As for bone metabolism, it has been shown that catechin has an inhibitory effect on



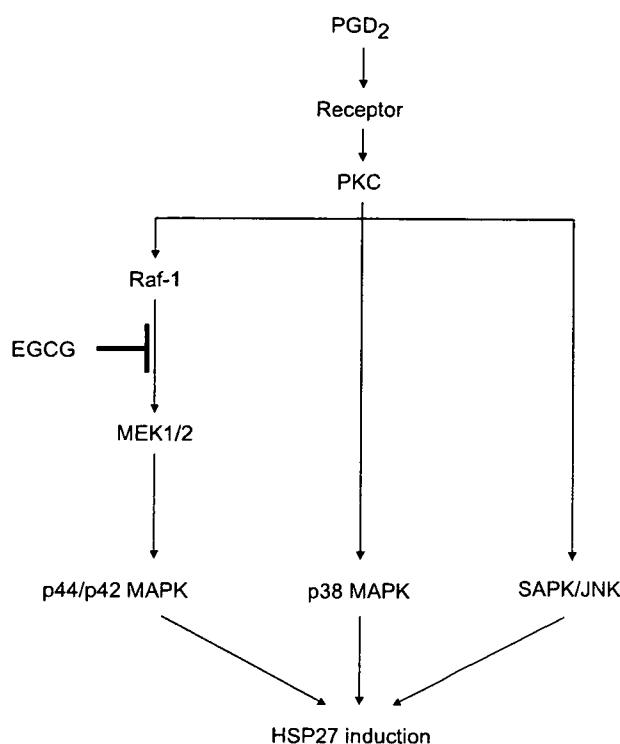


Fig. 7. Diagram of the mechanism of PGD<sub>2</sub>-stimulated HSP27 induction via three MAP kinases and the inhibition by EGCG in osteoblasts. PGD<sub>2</sub>, prostaglandin D<sub>2</sub>; PKC, protein kinase C; EGCG, (–)-epigallocatechin gallate; MAPK, mitogen-activated protein kinase; SAPK/JNK, stress-activated protein kinase/c-Jun N-terminal kinase; HSP27, heat shock protein 27.

bone resorption [19]. Consistent with this, catechin reportedly induces apoptotic cell death of osteoclasts [26]. It has recently been reported that catechin increases cell viability and alkaline phosphatase activity in osteoblast-like MC3T3-E1 cells and apoptosis of these cells is suppressed by catechin [20]. These evidences lead us to speculate that catechin promotes bone formation and reduces bone resorption, resulting in at least preventing bone loss. Therefore, it is possible that intake of catechin-containing beverage such as green tea could prevent the progression of postmenopausal osteoporosis. Although the physiological significance of HSP27 in osteoblasts has not yet been clarified, it is probable that EGCG-induced suppression of the p44/p42 MAP kinase cascade in osteoblasts contributes to the modulation of osteoblastic cell function toward bone formation at least in part via specifically down regulating HSP27 induction. Further investigation is required to clarify the exact role of catechin in bone metabolism.

In conclusion, these results strongly suggest that EGCG suppresses the PGD<sub>2</sub>-stimulated induction of HSP27 via suppression of the p44/p42 MAP kinase pathway in osteoblasts.

## Acknowledgments

We are very grateful to Yoko Kawamura for her skillful technical assistance. This work was supported in part by Grant-in-Aid for Scientific Research (16590873 and 16591482) for the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan, the Research Grants for Longevity Sciences (15A-1 and 15C-2), Research on Proteomics and Research on Fracture and Dementia from Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

## References

- [1] J.P. Hendrick, F.U. Hartl, Molecular chaperone functions of heat-shock proteins, *Annu. Rev. Biochem.* 62 (1993) 349–384.
- [2] I.J. Benjamin, D.R. McMillan, Stress (heat shock) proteins: molecular chaperones in cardiovascular biology and disease, *Circ. Res.* 83 (1998) 117–132.
- [3] M. Gaestel, W. Schroder, R. Benndorf, C. Lippmann, K. Buchner, F. Hucho, V.A. Erdmann, H. Bielka, Identification of the phosphorylation sites of the murine small heat shock protein hsp25, *J. Biol. Chem.* 266 (1991) 14721–14724.
- [4] J. Landry, H. Lambert, M. Zhou, J.N. Lavoie, E. Hickey, L.A. Weber, C.W. Anderson, Human HSP27 is phosphorylated at serines 78 and 82 by heat shock and mitogen-activated kinases that recognize the same amino acid motif as S6 kinase II, *J. Biol. Chem.* 267 (1992) 794–803.
- [5] K. Kato, K. Hasegawa, S. Goto, Y. Inaguma, Dissociation as a result of phosphorylation of an aggregated form of the small stress protein, hsp27, *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 11274–11278.
- [6] T. Rogalla, M. Ehrnsperger, X. Preville, A. Kotlyarov, G. Lutsch, C. Ducasse, C. Paul, M. Wieske, A.P. Arrigo, J. Buchner, M. Gaestel, Regulation of Hsp27 oligomerization, chaperone function, and protective activity against oxidative stress/tumor necrosis factor  $\alpha$  by phosphorylation, *J. Biol. Chem.* 274 (1999) 18947–18956.
- [7] P.J. Nijweide, E.H. Burger, J.H.M. Feyen, Cells of bone: proliferation, differentiation, and hormonal regulation, *Physiol. Rev.* 86 (1986) 855–886.
- [8] A.R. Shakoory, A.M. Oberdorf, T.A. Owen, L.A. Weber, E. Hickey, J.L. Stein, J.B. Lian, G.S. Stein, Expression of heat shock genes during differentiation of mammalian osteoblasts and promyelocytic leukemia cells, *J. Cell. Biochem.* 48 (1992) 277–287.
- [9] L.F. Cooper, K. Uoshima, Differential estrogenic regulation of small M(r) heat shock protein expression in osteoblasts, *J. Biol. Chem.* 269 (1994) 7869–7873.
- [10] C.C. Pilbeam, J.R. Harrison, L.G. Raisz, in: J.P. Bilezikian, L.G. Raisz, G.A. Rodan (Eds.), *Principles of Bone Biology*, Academic Press, San Diego, 1996, pp. 715–728.
- [11] D.T. Yamaguchi, J. Green, B.S. Merrit, C.R. Kleeman, S. Muallem, Modulation of osteoblast function by prostaglandins, *Am. J. Physiol.* 257 (1989) F755–F761.
- [12] Y. Koshihara, M. Kawamura, Prostaglandin D<sub>2</sub> stimulates calcification of human osteoblastic cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 159 (1989) 1206–1212.
- [13] H. Tokuda, O. Kozawa, A. Harada, T. Uematsu, Prostaglandin D<sub>2</sub> induces interleukin-6 synthesis via Ca<sup>2+</sup> mobilization in osteoblasts: regulation by protein kinase C, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 61 (1999) 189–194.
- [14] O. Kozawa, T. Otsuka, D. Hatakeyama, M. Niwa, H. Matsuno, H. Ito, K. Kato, N. Matsui, T. Uematsu, Mechanism of prostaglandin D<sub>2</sub>-stimulated heat shock protein 27 induction in osteoblasts, *Cell. Signal.* 13 (2001) 535–541.

- [15] M. Yoshida, M. Niwa, A. Ishisaki, K. Hirade, H. Ito, K. Shimizu, K. Kato, O. Kozawa, Methotrexate enhances prostaglandin D<sub>2</sub>-stimulated heat shock protein 27 induction in osteoblasts, *Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids* 71 (2004) 351–362.
- [16] J. Jankun, S.H. Selman, R. Swiercz, E. Skrzypczak-Jankun, Why drinking green tea could prevent cancer, *Nature* 387 (1997) 561.
- [17] J.B. Harbourne, C.A. Williams, Advances in flavonoid research since 1992, *Phytochemistry* 55 (2000) 481–504.
- [18] I.A. Siddiqui, F. Afaq, V.M. Adhami, N. Ahmad, H. Mukhtar, Antioxidants of the beverage tea in promotion of human health, *Antioxid. Redox. Signal.* 6 (2004) 571–582.
- [19] J.M. Delaisse, Y. Eeckhout, G. Vaes, Inhibition of bone resorption in culture by (+)-catechin, *Biochem. Pharmacol.* 35 (1986) 3091–3094.
- [20] E.-M. Choi, J.-K. Hwang, Effects of (+)-catechin on the function of osteoblastic cells, *Biol. Pharm. Bull.* 26 (2003) 523–526.
- [21] H. Sudo, H. Kodama, Y. Amagai, S. Yamamoto, S. Kasai, In vitro differentiation and calcification in a new clonal osteogenic cell line derived from newborn mouse calvaria, *J. Cell Biol.* 96 (1983) 191–198.
- [22] O. Kozawa, A. Suzuki, H. Tokuda, T. Uematsu, Prostaglandin F<sub>2</sub>α stimulates interleukin-6 synthesis via activation of PKC in osteoblast-like cells, *Am. J. Physiol.* 272 (1997) E208–E211.
- [23] U.K. Laemmli, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature* 227 (1970) 680–685.
- [24] K. Kato, H. Ito, K. Hasegawa, Y. Inaguma, O. Kozawa, T. Asano, Modulation of the stress-induced synthesis of hsp27 and alpha B-crystallin by cyclic AMP in C6 rat glioma cells, *J. Neurochem.* 66 (1996) 946–950.
- [25] C. Widmann, S. Gibson, M.B. Jarpe, G.L. Johnson, Mitogen-activated protein kinase: conservation of a three-kinase module from yeast to human, *Physiol. Rev.* 79 (1999) 143–180.
- [26] H. Nakagawa, M. Wachi, J.T. Woo, M. Kato, S. Kasai, F. Takahashi, I.S. Lee, K. Nagai, Fenton reaction is primarily involved in a mechanism of (–)-epigallocatechin-3-gallate to induce osteoclastic cell death, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 292 (2002) 94–101.

## パーキンソン病\*

中澤 信<sup>1)</sup> 長屋政博<sup>1)</sup>

Key Words : パーキンソン病, 評価, Hoehn & Yahr Score, Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)

### はじめに

パーキンソン病は振戦, 筋固縮, 無動, 姿勢反射障害の4大症候が主にみられる進行性の神経疾患である。4大症候の結果として, 生活のなかの多彩な場面で特徴的な運動障害がみられる(表1<sup>1)</sup>)。その他, 付随する症状として自律神経症状, 精神症状, 睡眠障害などの非運動症状も合併することも多く, ADL (activity of daily living) に多くの支障をきたすことが多い。

パーキンソン病に治療的介入を行う場合, 抗パーキンソン病薬を用いた薬物療法が中心となるが, 現状では根本的な治療は難しく, 症状の進行を止めることはできない。そのため, 継続的なりハビリテーションが重要な位置を占めている。リハビリテーションアプローチの果たす役割は大きく, リハビリテーションを行ううえで理解が必要となる症状の特徴および評価ポイントやパーキンソン病特有の評価尺度について述べる。

### パーキンソン病の主要症状<sup>2-6)</sup>

パーキンソン病の診療を行う際の基本として, 特徴的な臨床症状の有無を正しく捉える必要がある。反復して観察することで患者の状態の経時的な評価につながり, その変化に対応することができる。主症状の所見の特徴について述べる。

### 連載一覧

1. パーキンソン病
2. 多発性硬化症
3. 筋萎縮性側索硬化症
4. 関節リウマチ
5. 腰痛症
6. 慢性閉塞性肺疾患

表1 パーキンソン病の主要症状

- |          |   |
|----------|---|
| ① 振戦     | 安静時振戦 (4~6 Hz), 丸薬丸め運動  |
| ② 筋固縮    | 鉛管現象 Lead Pipe Phenomenon<br>歯車現象 Cog-Wheel Phenomenon  |
| ③ 無動     | 仮面顔貌, すくみ足, 小刻み歩行, 動作緩慢<br>歩行時の小さな腕の振り, 小字症<br>巧緻運動障害, 構音障害 (小声, 単調)<br>嚙下障害, 眼球運動障害 (saccadic) |
| ④ 姿勢反射障害 | 前傾, 前屈, 四肢屈曲位, MP 関節拘縮<br>立ち直り反射障害, 突進現象, 加速歩行  |
| ⑤ 自律神経症状 | 便秘, 流涎, 脂顔, 起立性低血圧, 多汗<br>消化管の蠕動障害, 排尿障害, 四肢循環障害  |
| ⑥ 精神症状   | 抑うつ, 心氣的, 知的機能障害, 思考遅延<br>*病前性格: 生真面目, 頑固, 無趣味, 禁煙, 禁酒  |

### 1. 振戦 tremor

パーキンソン病にみられる振戦は, 粗大で安静

\* Assessment of Parkinson's disease.

<sup>1)</sup> 国立長寿医療センター病院リハビリテーション科: ☎474-8522 愛知県大府市森岡町源吾 36-3

Shin Nakazawa, MD, Masahiro Nagaya, MD: Department of Rehabilitation, National Center for Geriatrics and Gerontology

表 2 生活機能障害度と Hoehn & Yahr 重症度分類の対応

生活機能障害度		Hoehn & Yahr 重症度分類	
I 度	日常生活・通院にほとんど介助を要しない。	Stage I Stage II	一側性障害のみ、通常機能障害は軽微またはなし。両側また体幹の障害、姿勢保持の障害はない。
II 度	日常生活・通院に部分介助を要する。	Stage III Stage IV	姿勢反射障害の初期兆候。バランスを崩しやすい。かろうじて介助なしで起立および歩行することができる。
III 度	日常生活に全面的な介助を要し、独力では歩行・起立不能	Stage V	立つことができず、介助がない限り寝たきり、または車椅子の生活。

時に起こることが多い。片側の上肢から症状が始まり、次第に同側の下肢に広がった後に両側性となる。振動数 4~6 回/秒程度の規則的なふるえで、上肢を水平に保持させたり随意的な運動を行うことにより、一時的に抑制される。感情的な興奮により増強することがあり、睡眠時には消失する。母指と示指や中指で丸薬を丸めるような動作 (pill rolling tremor) も特徴的とされている。

## 2. 固縮 rigidity

筋固縮は手関節によくみられ、頸部にもみられることがある。歯車様強剛と言われ、関節を他動させたとき、検者が感じる筋肉の抵抗がガクガクと断続的に起こるのが特徴的である。鉛管様固縮と言われる持続的で一様な抵抗となる場合もある。頸部の固縮は、仰臥位で患者の頭を挙上して手を添えながら放すと、正常人よりゆっくりと下垂する (head drop test) ことにより、その有無を判断する。また、筋固縮が軽微な場合は、反対側で動作をさせたり、計算などをさせたりした際に固縮が顕在化 (Froment 徴候) するかどうかを確認する。手関節での変化が検出しやすく、日常診療でも行いやすく手首固化徴候と言われる。

## 3. 無動 akinesia

無動はパーキンソン病の中核症状であり、麻痺がないにもかかわらず、随意運動実行が遅延あるいは欠如するものを言う。歩行開始、立ち上がり、寝返りなど基本的な日常動作が障害される。文字を書くと次第に文字の大きさが小さくなる小字症、仮面顔貌、小刻み歩行も無動によるものとされている。

## 4. 姿勢反射障害

パーキンソン病の進行期になるとみられるようになる。患者の背後に立ち、後方に肩を引くと立

ち直ることができず後方に突進したり、倒れたりする pull-test が知られている。丸太のように一歩も出ずに倒れてしまうこともある。

## 5. 歩行障害

歩行の開始にあたり、なかなか足が前に出ず歩行開始ができないすくみ足歩行 (frozen gait) がよくみられ、10 秒内外続く。障害物、狭い所、暗い所、方向転換時にみられることが多い。また、歩行を開始しても歩幅が狭く、小刻みな歩行 (小刻み歩行) で上肢の振りが減少し、体幹が前屈する。前傾・前屈したまま徐々に早足になり、速度制御が不能となる加速歩行がみられ、転倒の原因となる (突進歩行)。すくみが強い場合でも、きっかけとなる視覚・聴覚刺激によりスムーズに運動が開始できることがあり、障害物があつたほうが歩きやすいなど、通常とは矛盾する現象があり、矛盾性運動と呼ばれる。

## 6. 自律神経症状

皮脂の分泌が多くなり、油ぎった顔になる。発汗の亢進、起立性低血圧、便秘、頻尿がよくみられる。

## 7. 摂食・嚥下障害

摂食・嚥下機能障害はごく軽度のものを含めると後に述べる Hoehn & Yahr Score の Stage I で約半数、Stage II~IV では 90% 以上と報告されている<sup>7)</sup>。臨床的に問題となるのは Stage IV 以上の進行した場合である<sup>8)</sup>。嚥下障害の評価としては、スクリーニング検査として水飲みテスト、ゼリーの試食テストなどがあり、より詳しく評価するためには嚥下造影検査 (videofluorography; VF)、嚥下内視鏡検査 (videoendoscopic evaluation; VE) などを行う。

表 3 UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) の評価項目

Part I : 精神機能・行動 および気分	1 2 3 4	4 項目	知的機能障害 思考障害 (認知症または薬物の副作用による) 抑うつ状態 意欲・自発性	0~4 の 5 段階で評価	16 点 満点
Part II : 日常生活動作	5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17	13 項目	会話 流涎 嚥下 書き 食事と食器の扱い 着衣 入浴・トイレの使用 寝返り、およびふとん直し 転倒 (すくみによらない) 歩行中のすくみ 歩行 ふるえ パーキンソンニズムに関連した感覚症状	0~4 の 5 段階で評価	52 点 満点
Part III : 運動能力検査	18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31	左右等、 合計 27 項目	言語 顔の表情 安静時振戦 (顔面・左右の手および左右の足について) 手の運動時振戦または姿勢振戦 固縮 (頸部と左右の上肢・下肢について、安静時座位で検査) 指タップ (左右の手指) 手の運動 (左右の手について) 手の回内・回外運動 下肢の敏捷性 (左右の下肢について、踵での床タッパ) 椅子からの立ち上がり (背もたれのある椅子から) 姿勢 歩行 姿勢の安定性 (後方突進現象) 動作の緩慢と運動現象	0~4 の 5 段階で評価	108 点 満点
Part IV : 治療の合併症	A. シズキネ ジア  B. 症状の 日内変動  C. その他の 合併症	11 項目	シズキネジアの出現時間の割合 シズキネジアに起因する障害 痛みを伴うシズキネジア 早朝のシズトニア 服薬時間から予想できない Off 期間の有無 服薬時間から予想できない Off 期間の有無 突然起きる Off 期間の有無 起きてる時間の Off 期間の割合 食欲低下・吐き気・嘔吐の有無 不眠・眠気などの睡眠障害の有無 起立性低血圧の有無 パーキンソンニズムなし 一側性パーキンソンニズム 一側性パーキンソンニズム+体幹障害 両側性パーキンソンニズムだが平衡障害なし 軽度両側性パーキンソンニズム+後方突進あるが自分で立ち直れる 軽~中等度パーキンソンニズム+平衡障害、肉体的には介助不要 高度のパーキンソンニズム、歩行は介助なしでなんとか可能 介助なしでは、車椅子またはヘルメットに頼らざるに介助でも歩行困難	0~4 の 5 段階で評価  0=なし 1=あり 0=なし 1=あり 0=なし 1=あり 0=なし 1=あり 0~4 の 5 段階で評価  0=なし 1=あり 0=なし 1=あり 0=なし 1=あり	23 点 満点
Part V : Hoehn & Yahr の修正重症度分類				0 1 1.5 2 2.5 3 4 5	
Part VI : Schwab & England ADL Scale				100% : 完全自立 0% : 寝たきり状態	

表 4 UPDRS における項目の歩行・振戦についての詳細

歩 行
0=正常
1=歩行は緩慢，小刻みでひきずることもある。しかし，加速歩行や前方突進はない。
2=困難を伴うが，一人で歩ける。加速歩行，小刻み歩行，前方突進がみられることもある。
3=高度の歩行障害，介助を要する。
4=介助があっても歩けない。
固 縮
0=なし
1=軽微な固縮，または他の部位の随意運動で誘発される固縮
2=軽度～中等度の固縮
3=高度の固縮だが関節可動域は正常
4=著明な固縮があり，正常可動域を動かすには困難を伴う。

### 8. 精神・知的機能障害

抑うつ傾向および認知障害がパーキンソン病のリハビリテーションを進めていくうえで障害になることがあり，評価が必要となる場合がある。知的機能の評価には Mini Mental State Examination (MMSE)，改訂長谷川式簡易知能評価などで評価する。抑うつ傾向については Geriatric Depression Scale (GDS)，Self-rating Depression Scale (SDS) などが用いられる。

### パーキンソン病の評価尺度<sup>9,10)</sup>

パーキンソン病の評価尺度は過去に数多くのものが報告されている。多彩な症状が組み合わさる疾患であり，患者により状態も異なり，評価すべき視点が多岐にわたるため，validity (正当性・妥当性)，reliability (信頼性) に関する検討がなされている評価法が広く普及している。そのなかでも代表的なものに，Hoehn & Yahr の重症度分類と UPDRS (Unified Parkinson's Disease Rating Scale) がある。

#### 1. Hoehn & Yahr の重症度分類

1967年に発表されて以来，国際的に用いられている尺度である。I～V度の5段階で評価し，I度は軽微な一側性障害のみ，II度で両側性の障害，III度は姿勢反射障害の存在があることが要点となる。IV度で生活に介助を要し，V度で生活全介助と，大まかにとらえることができる。

軽度の症状変化では重症度が変化しないため，分類がおおまか過ぎるとの指摘があり，薬物効果や外科治療の微妙な変化を検討するには適さない尺度である。また，歩行能力という下肢機能に重きがおかれ過ぎているという欠点がある。しかしながら，一言で患者の状態を表現する尺度として，古くから広く用いられている。また，Hoehn & Yahr の分類に対応した生活機能障害度 (I～III度) があり，生活に関して介助の有無で分類を行う。表2にその対応を示す。Hoehn & Yahr 分類のIII度，生活機能障害II度以上が日本における特定疾患認定の判断尺度となる。

#### 2. Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS)

近年のパーキンソン病に対する薬物治療，外科治療の評価に最もよく使用されているのが UPDRS である。現在のところ最も広く用いられしており，その妥当性 (validity)，信頼性 (reliability) ともに評価が多くなされている。1987年に，Fahn, Elton ら<sup>11)</sup>を代表とするパーキンソン病の専門家が集まり，国際的な使用に耐える評価尺度を作成しようと発表されたもので，4つのパートからなる。Part I が精神機能・行動および気分 (4項目)，Part II は日常生活動作 (13項目)，Part III は運動能力 (14項目)，Part IV が治療の合併症である。Part I～IIIでは，それぞれの項目を0～4点の5段階で評価する。

表3に評価の各項目を示す。詳細な評価が行えるが項目数が多く，検査に時間を要する欠点が指摘されている。Part ごとに評価尺度として用いられることもあり，脳神経外科分野のパーキンソン病に対する機能的手術の分野では Part III の運動能力を尺度として重視して用いている報告もある。今回は全ての詳細まで示すことはできないが，運動能力検査のなかに含まれる振戦と歩行の詳細を表4に示す。点数が多いほど重症となる。原著<sup>11)</sup>には Part V・VI が含まれており，施設によっては Part V の Hoehn & Yahr の重症度分類の修正版 (0～5を8段階に評価)，Part VI の Schwab & England ADL Scale (自立度を100～0%の11段階に評価) を含めるところもある。表5に Part VI の詳細を示す。

表 5 Schwab & England ADL Scale

100 (%)	完全に自立している。遅延、困難または機能障害なしに、全ての日常生活（家事、日常の雑用）を行うことができる。ほぼ正常、困難さに気付かない。
90	完全に自立している。ある程度の遅延、困難および機能障害はあるが、全ての日常生活を行うことができる。2倍の時間がかかることがある。困難さに気付き始めている。
80	ほとんどの日常生活を一人でできる。2倍の時間がかかる。困難さおよび遅延を意識している。
70	完全には自立していない。一部の活動については、より困難である。3~4倍の時間がかかる。1日の大部分を日常生活に費やさなければならない。
60	ある程度自立している。大抵の日常生活はできるがきわめて緩徐で、かなりの労力を要す。ミスがあり、一部の活動はできない。
50	より他人に依存しなければならないが、半分の日常生活については介助が必要であり、また緩徐である。全てについて困難である。
40	きわめて依存的である。全ての日常生活において介助が必要だが、2、3の活動については一人でできる。
30	時々努力して2、3の日常生活を一人で行う、または始めることができる。かなりの介助が必要である。
20	何も一人ではできない。一部の活動については、少しの介助があればできる。
10	完全に依存的で、全面介助、無力かつ完全な病人
0	嚥下、膀胱および腸機能等の植物的機能は機能していない。寝たきり状態、排尿、排便のコントロール不能

### 3. その他の評価尺度

過去の報告でも多くの評価尺度が存在する。

Webster Scale (1968), Columbia University Rating Scale (CURS, 1969), New York University Rating Scale (NYURS, 1968), Short Parkinson's Evaluation Scale (SPES) 等が知られている<sup>10)</sup>。

### 4. リハビリテーションを施行するうえで必要な一般的評価

パーキンソン病のリハビリテーションを行ううえで、他の疾患の障害評価と同じように徒手筋力テスト (MMT)、関節可動域テスト (ROM-T)、ADLテストとして FIM (Functional Independence Measure)、Barthel Index などの評価も必要である。パーキンソン病では、体幹の回旋が困難となることがあり、起居動作に関して、起き上がりが障害されても介助して起き上がれば歩行可能な例もある。

表 6 PDQ-39

1.	やりたい余暇の活動を行うのに支障を感じましたか？
2.	家のことをするのに支障を感じましたか？（日曜大工・家事・料理など）
3.	買い物の荷物を持つのに支障を感じましたか？
4.	1,000 m を歩くのに困難を感じましたか？
5.	100 m を歩くのに困難を感じましたか？
6.	好きなように家の回りを歩くのに支障を感じましたか？
7.	人ごみの中で移動するのに支障を感じましたか？
8.	外出の際に付き添いが必要でしたか？
9.	人前で倒れるのではないかと恐ろしくなったり、心配になりましたか？
10.	望む以上に家に引きこもらなければなりませんでしたか？
11.	自分の身体を洗うのに不都合を感じましたか？
12.	着替えをするのに不都合を感じましたか？
13.	ボタン掛けや靴紐を結ぶのに苦労しましたか？
14.	字をきれいに書くのに苦労しましたか？
15.	食べ物を切るのに苦労しましたか？
16.	飲み物をこぼさないように持つのに苦労しましたか？
17.	気分が落ち込みましたか？
18.	疎外感、孤独を感じましたか？
19.	涙ぐんだり、泣きたくなったりしましたか？
20.	怒ったり、憤慨したりしましたか？
21.	心配（不安）になりましたか？
22.	自分の将来が心配になりましたか？
23.	自分がパーキンソン病であることを人に隠さなければならないと感じましたか？
24.	人前で食べたり飲んだりするような状況を選ばなかったか？
25.	パーキンソン病であるために人前で恥ずかしい思いをしましたか？
26.	他人の自分に対する反応を心配しましたか？
27.	人間関係に問題がありましたか？
28.	妻/夫や同棲者からあなたが必要とする支えが得られないということがありましたか？
29.	家族/親しい友人からあなたが必要とする支えが得られないということがありましたか？
30.	日中気づかない（予期せぬ）うちに眠ってしまったことがありましたか？
31.	注意力に問題がありましたか？（読書・テレビのとき）
32.	記憶力が悪くなったと感じましたか？
33.	いやな夢や幻覚を見ましたか？
34.	話をするのに支障がありましたか？
35.	適切に他人と会話ができなかったと感じましたか？
36.	他人から無視されたと感じましたか？
37.	苦痛を伴う筋肉のけいれんやひきつけがありましたか？
38.	関節や体に痛みを感じましたか？
39.	不快に寒さや暑さを感じましたか？

## 5. パーキンソン病患者の QOL (quality of life) に関する評価

リハビリテーションの最終目標が QOL への貢献であることを考慮すると、QOL に関する評価も重要である。一般的な QOL 尺度として良く知られているのは SF-36, NHP (Nottingham Health Profile), Euro QOL 等がある<sup>13)</sup>が、パーキンソン病に特有の HQOL (Health-related QOL) の尺度として PDQ-39 が知られている。PDQ-39 は、1995 年に Peto ら<sup>14)</sup>が発表したもので、39 項目の生活に関するアンケートを行い、過去 1 か月について 5 段階 (全くなかった～いつもあった) にランク付けを行うものである。質問は可動性、日常生活活動、情緒的健康、恥辱、社会的支え、認知、コミュニケーション、身体的不快感などの subscale からなる。その内容を表 6 に示す。内容的にはレベルの高い判断を求める内容であるため、認知障害の存在や思考緩慢な状況では適切な評価は不可能である。

### おわりに

本稿ではパーキンソン病に特有の評価尺度についての解説を行った。パーキンソン病は病気自体の特徴として症状が多彩であり、患者が実際の生活のなかで困っている問題点はさらに多岐にわたる。時間・場所・タイミング・環境なども患者によりさまざまで、その対処方法もさまざまである。薬物療法の分野でも、その患者個人に適したオーダーメイド治療が求められている。リハビリテーションの分野でも、日常の臨床の場面では一つの尺度にとらわれ過ぎず、患者個人に適した柔軟な対応が求められる。

### 文 献

- 1) 長屋政博：パーキンソン病のリハビリテーション。診断と治療 90：117-128, 2002
- 2) 生駒一憲：パーキンソン病のリハビリテーション。日医雑誌 135：65-68, 2006
- 3) 田中茂樹：臨床症候, 水野美邦 (編著)：パーキンソン病ハンドブック, pp37-45, 中外医学社, 2001
- 4) 生駒一憲・他：パーキンソン病, 千野直一・他 (編)：リハビリテーション MOOK 10, 神経疾患とリハビリテーション, pp202-207, 金原出版, 2005
- 5) 安藤一也：パーキンソン病, 安藤一也 (編)：リハビリテーションのための神経内科学, pp187-191, 医歯薬出版, 2004
- 6) 新島健司, 水野美邦：パーキンソン病, 水野美邦 (編)：神経内科ハンドブック—診断と治療, pp662-670, 医学書院, 2000
- 7) Nilsson H, Ekberg O, Olsson R, et al：Quantitative assessment of oral and pharyngeal function in Parkinson's disease. *Dysphagia* 11：144-150, 1996
- 8) 藤島一郎・他：摂食・嚥下障害とは, 金子芳洋・他 (監修)：摂食・嚥下リハビリテーション, pp67-86, 医歯薬出版, 1998
- 9) 米本恭三, 石神重信・他 (編)：パーキンソン病, リハビリテーションにおける評価 Ver. 2, pp215-219, 医歯薬出版, 2000
- 10) 金澤 章：診断基準と評価スケール, 水野美邦 (編著)：パーキンソン病ハンドブック, pp61-75, 中外医学社, 2001
- 11) Fahn S, Elton RL (Member of The UPDRS Development Committee)：Unified Parkinson's disease rating scale, Fahn S, et al (eds)：Recent Development in Parkinson's Disease, Vol II, pp153-163, Macmillan, New York, 1987
- 12) 折重秀樹・他：Parkinson 病の重症度を測る日本語版 UPDRS の信頼性評価。神経治療 17：577-591, 2000
- 13) 長岡正範：リハビリテーション, 水野美邦 (編著)：パーキンソン病ハンドブック, pp233-240, 中外医学社, 2001
- 14) Peto V, Jenkinson C, Fitzpatrick R, Greenhall R：The development and validation of a short measure of functioning and well being for individuals with Parkinson's disease. *Qual Life Res* 4：241-248, 1995

## MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

# 治療薬マニュアル2006

監修 高久史麿・矢崎義雄  
編集 関 顕・北原光夫・上野文昭・越前宏俊

●B6 頁2304 2006年  
定価5,250円(本体5,000円+税5%)  
[ISBN4-260-00139-6]

膨大な薬の添付文書情報を分かりやすく整理し、さらに各領域の専門医による実践的な臨床解説を加えた、全医療関係者必携の薬剤データブック。本書発行直前までの新薬を含むほとんど全ての市販薬を収載し、臨床上有用な付録も満載。識別コード索引も充実。毎年全面改訂。一部先発品の薬価を掲載するなど、利便性をさらに追求。「要処方せん薬」アイコンも新設。



# Calcitonin@Osteoporosis

監修：折茂 肇 (健康科学大学)

編集：細井孝之 (国立長寿医療センター病院先端医療部), 萩野 浩 (鳥取大学医学部附属病院リハビリテーション部)

発行：ライフサイエンス出版株式会社 提供：旭化成ファーマ株式会社

No. **7** 2007

contents

News & Views 転倒予防教室の意義と今後の展望 ●1 「ほね」領域のガイドライン ●3  
カルシトニンの歴史 ●4 学会紹介 ●5 CTミニ知識 ●6 骨粗鬆症診療 One Point ●7



## 転倒予防教室の意義と今後の展望

国立長寿医療センター 機能回復診療部 骨・関節機能訓練科医長

長屋政博 Masahiro Nagaya

March 29, 2007 / Obu

骨粗鬆症診療の最終目的は骨折予防であるが、最も深刻な高齢者の大腿骨頸部骨折を防ぐ最善策の1つは転倒予防である。ここでは、高齢者医療の一環として転倒予防教室を主導する長屋政博氏に、転倒予防の意義と実際、今後の展望を聞いた。

し、転倒予防教室を開始した1998年当初よりもプログラム内容を増やし、時間をかけるようになりました。

### 健康で自立した生活を送るために 転倒予防も重要

——骨粗鬆症診療の中で、転倒予防はどのような位置づけになりますか。  
長屋 骨粗鬆症患者に限らず、健康人でも身体機能は加齢とともに低下します。そこへ運動不足などで廃用性症候群が重なると下肢運動能力が低下し、歩行や階段の昇降などADL(日常生活動作)を妨げ、転倒のリスクも高くなります。転倒経験のある人は、65歳以上では年間20%以上、75歳以上では35%以上です。

また、高齢者の4大骨折のうち大腿骨頸部骨折の90%は転倒が原因とされています。骨折は痛だけでなく、骨折を契機に身体機能が低下し、寝たきりに至る可能性が高いのです。QOL(生活の質)を考えると、健康で自立した質の高い生活を少しでも長く続けるには、転倒予防は非常に重要です。

### 広い視点で転倒を予防する

——転倒予防教室に取り組み始めたきっかけは何ですか。

長屋 先輩の武藤芳照先生が東京厚生

年金病院で始められた転倒予防教室に興味を持ち、ノウハウを教わりました。高齢者医療を行う当リハビリテーション科でも骨折予防を重視し、骨粗鬆症外来では内分泌内科、整形外科、婦人科、リハビリテーション科の医師が連携して外来担当を決めています。

転倒予防教室への参加者は、バランス能力や筋力の低下した人、転倒したことのある人など、必ずしも骨折した人とは限りません。また、転倒する人には認知障害が絡んでいることが多いため、理学療法と、認知面への刺激やトレーニングなどの作業療法を併用

### 身体・認知機能に応じて個別に対応

——転倒予防教室のシステムをご紹介しますか。

長屋 個別訓練の予約制で、1日1人、1回1-1.5時間かけています。基本のマニュアルがあり、1週目に評価する運動機能や認知機能から、各人に合った8週間の教育プログラム(図1)を組みます。

2週目から6週目は、主に転倒予防を目的とした週1回の運動指導を行います。生活の中に運動を取り入れ、習慣にさせていただくために、器具を使わ

図1 転倒予防教室の教育プログラム (国立長寿医療センター)

- |     |   |
|-----|---|
| 1週目 | 運動機能評価 (重心動揺検査/筋力測定/10m歩行速度測定/握力測定/徒手筋力測定/関節可動域測定/片足立ち時間測定)、注意力検査 |
| 2週目 | 記憶の検査、座位で可能な運動の指導、転倒の現状・原因などの説明                                   |
| 3週目 | 棒体操、ストレッチ運動、骨折・骨粗鬆症・運動の説明   |
| 4週目 | 環境整備・姿勢・歩き方の説明、立位で可能なバランス運動、仰臥位・伏臥位で行う運動                          |
| 5週目 | いろいろな運動の指導、歩行補助具の説明、履物・視力・薬剤の説明                                   |
| 6週目 | 記憶の検査、運動の復習   |
| 7週目 | 運動機能評価 (1週目と同じ)   |
| 8週目 | 検査結果の説明、今後の自宅での生活や運動の説明   |

※転倒予防教室終了後6ヵ月毎に運動機能を評価し、自宅での運動継続状況を調べ、再度運動指導を行う。

図2 転倒予防教室で指導する運動例

●お尻浮かし



両手は床にしっかりつけましょう  
お尻を8回浮かします

●椅子でしゃがんで(スクワット)



椅子につかまり脚の曲げ伸ばしを8回

●タオルの指よせ(足指の運動)



足の指を使い足裏に敷いたタオルを手繰り寄せます(敷いたタオルの長さの半分くらいまで)  
リズムカルに速くできるように練習しましょう

ず、自宅で1人でもできる運動が中心になっています(図2)。7週目に評価を行い、8週目には転倒予防教室に参加した総合評価の結果を伝え、今後の自宅での運動・生活指導を行い、プログラム内容を1冊のファイルにして患者さんにお渡しします。その後、6ヵ月毎に経過を観察し、運動機能を再評価し、運動が自宅で継続できているかどうかを調べ、再指導します。

理学療法の基本となるバランス訓練、歩行訓練、筋力強化などは、一般の施設で行う運動器リハビリと似ていますが、当医療施設の対象者は施設で行うほど虚弱ではないが、地域の高齢者よりも身体機能が低下しているため、集団訓練は難しいのです。特に筋力、柔軟性、足指の関節の動き、歩き方などについて、個々のプログラムで対応し、転倒に関連する骨折、骨粗鬆症、生活環境、姿勢、歩き方、歩行補助具、履物、視力、薬剤なども説明するため、対象患者数が限られる点が悩みです。

### リハビリを促すために 除痛も大切な治療の1つ

——転倒の危険因子は何ですか。

長屋 大きく分けて、内的要因と外的要因があります。内的要因は身体機能や転倒しやすい合併症などで、外的要因は履物や住まいなど周囲の環境です(表1)。危険因子を減らすために、プログラムでも転倒する時の状況などを詳しく説明し、生活環境などの改善を促しています。

骨折後のリハビリについては、クリニックの導入が増えています。転倒

予防教室もそうですが、リハビリが円滑に進むか否かは意欲に大きく左右されます。高齢者では、まず認知症と抑うつが問題になります。抑うつには抗うつ薬が使えますが、認知症には刺激を与えながら接するしかない状況です。

当施設では、軽度認知障害への対応として、認知面への刺激、特に注意力を高め、反応時間を短縮するトレーニングを作業療法に組み込んでいます。例えば、絵カード合わせ、パズルによる構成課題、計算など、最初は簡単な問題から始め、次第に難しくしていくようなプログラムも導入しています。

骨折後のリハビリでは痛みがネックとなることも多く、見逃せません。しかし、痛みに対してはカルシウム製剤などが使えますので、比較的対応しやすいと思います。特に脊椎圧迫骨折後では痛みが取ればリハビリが円滑に進むことが多く、除痛は非常に大切な治療法の1つであると実感しています。

### 運動プログラムで身体機能が 有意に維持される

——転倒予防教室ではどのような効果が認められていますか。

長屋 1998年1月-2001年12月の過去1年以内に転倒かつまずきを経験した虚弱高齢者で、転倒予防教室への参加者45名中、8週間にわたるプログラムを終え(34名)、その中で1年後も経過観察できた21名を転倒予防教室群として検討しました。

対照群は、2002年1月から過去1年以内に転倒かつまずきを経験した虚弱高齢者で、初回、6ヵ月後、1年後に

表1 転倒の危険因子

□ 内的要因
年齢、女性、転倒の既往
虚弱(健康状態の悪化)
認知症、抑うつ・不安
Parkinson病、脳血管障害
変形性関節症
失禁、起立性低血圧
視力障害、二点識別覚・深部知覚の低下
鎮痛薬、睡眠薬、抗不安薬、抗うつ薬
平衡機能失調(ふらつき)
下肢筋力低下
反応時間遅延、低身体活動性
ADL・移動能力の障害、バランス能力の低下
アルコール飲用
□ 外的要因
1-2cmほどの室内段差(敷居)
滑りやすい床、履物(スリッパ)
つまずきやすい敷物(カーペットの端、絨び)
電気器具コード類、照明不良
戸口の踏み板
生活環境の変化

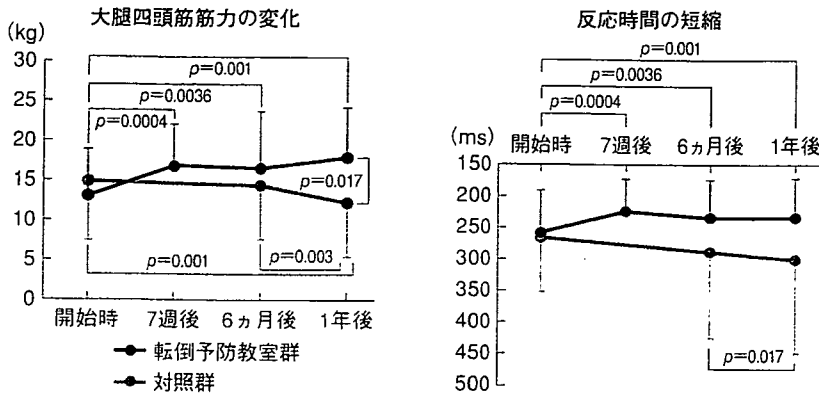
運動機能を評価した16名です。

転倒予防教室群では、大腿四頭筋の筋力は1年後、対照群に比べて有意に増大かつ維持され、反応時間も7週後、6ヵ月後、1年後では、開始時に比べて有意に短縮かつ維持されていました(図3)。筋力や反応時間は加齢に伴って衰えますが、8週間の運動プログラムの身体活動を続ければ、その後も1年以上、身体機能が維持され、転倒率も明らかに低下します。

### 転倒と骨折の予防には さらなる介入が必要か

——自宅での運動状況はいかがですか。  
長屋 プログラムを終了し、1年間経

図3 転倒予防教室の効果—大腿四頭筋筋力の改善と反応時間の短縮



転倒予防教室群では、運動プログラムにより獲得した筋力は1年後まで保持されるが、対照群では低下していた。

図4 転倒予防公園



転倒予防運動はQOL維持に役立つ

長屋 一般のクリニックなどでは、転倒予防教室を取り入れにくいかもしれませんが、ポイントは「転倒予防の特別なプログラムを使って、私は転倒予防の運動をしている」と本人に自覚していただくことです。そうすることで、筋力やバランス能力も上がり、転倒への恐怖や不安が軽減され、活動範囲が広がり、QOLの維持・向上に役立つからです。さらに、今後は地域の虚弱高齢者に個々に適したプログラムを組み合わせ、転倒予防に取り組むことも大切であると思います。 @

過観察した21名にアンケートを行うと、週3回以上の運動をしている人は13名(61.9%)、プログラム参加前に戻った人は5名(23.8%)、無回答は3名(14.3%)と、ほぼ半数で運動習慣がつかしました。実際、「自宅でも運動を続け、回数も増えた」「転倒を経験して閉じこもりがちだったが、外出できるようになった」など、満足の声も耳にします。

虚弱高齢者が無理なく自発的に行う運動としては、この程度の効果が妥当な線かもしれませんが、転倒と骨折の予防には不十分です。「生活習慣を変えるところまで踏み込まないと効果がないのか」と限界も感じています。

遊具で運動を身近に感じてもらおう

—地域への動きかけも必要ですか。長屋 運動を地域へ広げるには、道具立てを用意し、「皆で時々集まって、このような方法で運動しよう」と提案したらどうかと考えました。

そこで、隣の東浦町に公園をつくり、地元の家具会社と協同で制作した転倒予防運動用の木製遊具を設置し、開放しています(図4)。公園への往復だけでも運動になり、遊具で遊びながら、転倒予防運動が一通りできるというものです。ゲーム感覚ですから、軽度の認知障害があっても使えます。

公園の維持・管理などには、行政の

バックアップが不可欠ですが、この転倒予防公園は地域や厚労省にも認められ、高齢者のウォーキングサークルなどに大いに活用されています。

さらに、屋内用の転倒予防遊具にも力を入れ、地域の保健センターの介護予防プログラムや集会所、特別養護老人ホーム、デイサービスなどで利用され始め、データを集めています。

【地域】編のガイドライン【第6回】 解説：長野 浩

地域保健におけるエビデンスに基づく骨折・骨粗鬆症予防ガイドライン

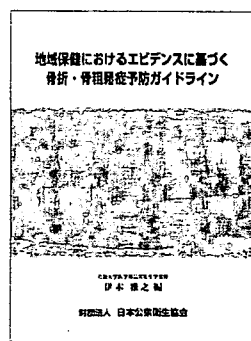
伊木雅之編、日本公衆衛生協会、東京

最近ガイドラインが多数作成されている。その多くは疾患の診断と治療に関するもので、予防に関する詳細なガイドラインは少ない。

骨粗鬆症は骨折を引き起こすため、その予防が骨折予防につながる。また、骨粗鬆症や骨折の予防には、適度な運動やカルシウム、

ビタミンDの摂取がよいことは多くの人が理解している。しかし、実際にどの程度運動し、どの程度カルシウムやビタミンDをとればよいのかは不確かである。

本ガイドラインは、骨折や骨粗鬆症の予防に関するエビデンス(文献)をシステ



マティックにレビューし、列挙された検討課題に対する答えを、各々のエビデンスに基づいて、レベルを付記した「勧告」の形で記載している。

膨大なエビデンスに基づく勧告は、現時点で最も信頼できるコンセンサスでもある。

各種の栄養素に加え、運動習慣、嗜好品まで網羅され、さらに具体的な予防対策の進め方も記された本書を手に入れば、骨折・骨粗鬆症の予防や患者指導に携わる医療関係者は、まさに羅針盤を得た思いであろう。 @

## シンポジウム 転倒により骨はなぜ折れる？

# 転倒による骨折のバイオメカニクス

国立長寿医療センター 先端医療部骨粗鬆症科 奥泉 宏康

はじめに—— 65歳以上の高齢者では、年間に10~20%が転倒を経験し、転倒の10%に骨折が、1%に歩行能力を大きく障害する大腿骨頸部骨折が発生すると報告されている<sup>1)</sup>。したがって、転倒により必ずしも骨折を生じるわけではないが、転倒の結果生じた骨折に対する治療や精神的苦痛、高騰する医療費などは切実な問題となっている。バイオメカニクスの観点より、転倒の際に骨折が生じる条件を検討し、転倒・骨折予防対策について考察していく。

転倒による骨折のバイオメカニクス—— 骨折は、骨に直接加わる外力が、形態を含めた各個体の骨強度を凌駕した結果、発生する。大腿骨頸部骨折の場合には、側方に転倒して大転子部を打撲した場合に骨折が発生することが多いと報告されている<sup>2), 3)</sup>。立った高さから側方に倒れた際の衝撃荷重は、実験的に約5600N(約571Kg重)と推定されており<sup>4)</sup>、直接、大腿骨に衝撃荷重が加われば、骨強度が高い若年者においても骨折が発生することになる<sup>5)</sup>。しかし、実際には、大腿骨を被う筋肉や脂肪、皮膚によって、衝撃が緩和され、さらには、転倒時の防御動作、例えば、手を伸ばしたり、体勢を変えたりすることによって、大腿骨に直接加わる衝撃を低下させている。

手関節や上腕骨頸部骨折は50歳代から生じて、その後急激な増加はないが、大腿骨頸部骨折に関しては転倒頻度が高くなる70歳を越えた頃から、急激に骨折発生率が上昇する。したがって、各骨折の受傷機転を検討して、それぞれに有効な手段を講じる必要がある。手関節や上腕骨頸部骨折は主に前方に転倒するときが発生しやすく、肘を曲げたり<sup>6)</sup>、膝を着いたりすることで衝撃を低下させることができる。また、大腿骨頸部骨折に関しては、側方転倒時に体を前方または後方に捻ることにより、大転子部への直接的な衝撃を低下させる可能性が示されている<sup>7)</sup>。転倒による発生が30%以下と推定される脊椎圧迫骨折は、後方転倒に多いと考えられるが、転倒時に膝を曲げて上体を前方に倒すことにより、衝撃を低下させることができる<sup>8)</sup>。以上のように、転倒を100%防止することは不可能であるが、転倒した際の“上手な転び方”を模索することは骨折の予防に直結し、“柔道の受け身”に答えがあるかもしれない。

骨強度と骨折予防のバイオメカニクス—— 骨強度は、骨密度に影響を受け、骨折発生荷重に関係していることが、死体大腿骨を用いた実験で確認されている<sup>9)</sup>(図1)。したがって、エビデンスの明確な骨粗鬆症薬を使用して、骨密度を維持、改善させることは骨強度の改善に有効である。しかし、ビスホスホネート剤により平均で年間約4%、すなわち大腿骨頸部骨密度では約0.032g/cm<sup>3</sup>が増加するもの<sup>9)</sup>、実験による骨密度と骨折強度の相関式からは104Nの衝撃荷重に換算されるのみで、骨密度の改善のみで骨折予防を期待するには限界がある。