

医療・介護費用をアウトプットとしてみるのではなく、医療・介護費用をインプットとしてみると、非常に価値がある財ということがわかってきました。また、持続性に着目して研究を進めたのですが、いったん医療・介護が必要な状態になると、医療・介護の持続性は低下しないこともわかりました。こうした個票データを、驚くべきことに都老研の先生方は、ずっと追いかけておられるのです。個票データもない中、今回の医療構造改革で、2兆円のお金を浮かせるとか、介護についても、2025年に2兆円浮かすというのです。推計もいい加減だし、非常にラフな前提を置いていると思います。

鳥羽 整備計画ができていような設定ですね。

川淵 そのように錯覚を与えて、それで不安を煽っています。これがいま日本の中で一番危ない点だと思っています。

鳥羽 予防ということを考えると、松林先生の香北町研究の「Lancet」の論文は、ぜひ紹介してほしいデータだったですね。

10年間、教室員が介入することによって、ADLが向上し、1人当たりの医療費も高知県よりは安くなっています。ただし、医療費自体が下がったということはないです。一時的に下がったのは、介護保険の導入後、下がったということです。

川淵 一時的には下がっても、中長期的にはどうしても上がり続けるわけです。

鳥羽 そうです。日本の平均寿命が延び、高齢者が劇的に改善したのは、戦後の栄養改善や、社会の文明化が果たした役割が強く、それが証拠にアフリカなどは30~40歳くらいの平均寿命で、いわゆる不健康寿命は8~9年、先進国はだいたい6~7年で均一です。ですから、寿命が延びれば当然、健康寿命も延びるということで、QOLやGDPは高くなるのです。ですから医療費については、長生きする分だけ……、という状況です。長生きの期間に一定の病気をしますから、医療費が減るという理想的なことは、デザインできないのではないかと思います。

医療と福祉で将来日本が、すでに人口があまり増えない状況で、経済的にもそれほど成長が

望めないような成熟したヨーロッパ型の医療福祉政策をモデルとするのか、周辺から人口がどンドン入り、産業が活発になるような医療や福祉にも市場原理を導入するタイプの、アメリカ型のものをモデルにしていくのか、その辺りを川淵先生はどのようにお考えでしょうか。

川淵 アメリカ型、ヨーロッパ型ということに対して、日本型あるいはアジア型を提案しています。アジア人は、アメリカ人のようにすごい心臓病患者は多くいません。それから、逆にいうと、ヨーロッパ諸国とも違う。わが国はドイツの社会保険制度を参考にしたのですが、「社会保険統合の可能性に関する一考察~医療・介護保険を中心に~(財団法人 全労災協会)」の第一章にまとめましたが、「ドイツなんかみるもんじゃない」というところです。それでは北欧型はどうかと皆さんおっしゃいますが、スウェーデンは人口800万人、デンマークは500万人しかいません。日本は少子化といっても、100年後にまだ6,600万人もいます。人口規模からみても経済規模からみても、やはりヨーロッパ型は難しいと感じます。そこで私はアジア型、特に日本型を提案します。といいますのも、日本国民は保険料、税金を払わないからです。これはやはり国を信用していないのと、自分で自分のことを律するという国民性に表れています。私が提案しているのは、お金のある方は自分の貯金をシンガポールのようにメディカル・セービング・アカウントという形でプライマリーケアや予防に利用できないかということです。医療費マル優という形で、医療費に自分の貯金を使えば、税制メリットがある。ただ、高齢者の中で非常に格差が出てきましたから、お金のない高齢者に対しては、福祉国家たるゆえんとして、もっと公費を入れなければならないと思います。

井藤 制度的には、例えば結核予防や、乳幼児健診などにおいて、また減塩による高血圧・脳卒中予防など、予防という視点での制度設計において、日本は随分成功しているわけですね。しかし、高齢者の背景はさまざま、高齢者の介護予防や疾病予防には個別の対応が必要であ

り、いままでの成功した手法と同じような手法が成功するかどうかということが、多分問われているのだろうという感じがします。いずれにしろ、川渕先生がおっしゃった医療制度あるいは介護保険制度、こういったアジア型ということがあるのではないかというご提案は、非常に素晴らしいご意見だと思います。

## おわりに

井藤 最後になりますが、鳥羽先生、老年科医として、医療制度改革、あるいは介護保険制度改革ということに、こういう視点を持ち込めばもう少しよい制度の枠組みができるのではないかと、そういうことに関してご意見がございませうか。

鳥羽 老年科医は、昔の町医者のような感覚で、コミュニティの仲介役になるような立場でなくてはいけないと思っています。それは特定高齢者支援事業で木祖村(長野県)、私は三鷹市の健康長寿介護予防ネットの委員ですが、その特定高齢者のいわゆる25項目のチェックリストで選ばれてくるのは選ばれてくるのですが、支援センターでプランに載る率は非常に低いのです。

三鷹市で医師会や支援センターの人たちに2回講演して、1つひとつ項目の解釈、重要性を講演しましたが、それをもってしても低い。木祖村でも低い。木祖村ではより熱心な事業者が、1軒1軒個別訪問し、家庭の事情をみながら交通手段サービスを追加し勧めたら、嫌だといった人の3分の1がようやく参加してくれました。

成熟した高齢化社会で、日本が西洋から学ぶべきは、高齢者が集まって、自然に楽しんで運動や、趣味の中でできるような社会を構築してこなかったツケが、高齢者の老後の悲惨化を生んだのではないのでしょうか。アメリカ型のような中でも、産業優先の中でも、高齢者が文化的・趣味的なものを生かせる場があるのに、自分が年をとったときに、日本でそのような楽しみがあるのか、一部のお金持ちだけでよいのか、しかも、もし医療もないとすると、その中で最低

限でも地域のコミュニケーションを深めるような立場で、老年科医はやっていかなければいけないし、そのような情報を医師会や厚生省、皆さんに発信していく時期がきたなと思っています。

井藤 医療制度改革、あるいは介護保険制度改革ということに関しては、学会、勤務医、厚生省はこういうところにはあまり耳を貸してくれないという状況なのですが、幸いなことに医師会との緊張関係はまだあるといったことで、医師会の果たす役割は大きいと思います。天本先生はこういった高齢者の医療や介護ということに関して、医師会の立場からどういう視点が大事とお考えでしょうか。

天本 介護保険が導入されたということは、医療界においても意義深いと思います。やはり暮らしという中における医療の役割や、暮しの場における医療の必要性というものが理解できたということです。ただし、施設医療というのは不可欠で、そこが大きく揺れているので、機能をきちんと明示しなければなりません。

もう1つ、高齢者医療の原理は、地域ケアということでしょうから、われわれ臨床医は地域に出て、各ドクターをどう支援したらよいか。例えば、専門分化しきつと教育を受けてきた先生は、総合的に臨床としてかかわる際の、特に高齢者医療の場合には、認知機能や生活障害、いろいろなものをトータルでみなければいけないという部分を、どうスキルアップを支援していくか、養成していくかというのも、老年医学会、医師会としてこれから非常に重要でしょう。

もう1つは、看取りの部分です。これに対して医師会としてできることは、倫理委員会のような形で、ひとりで頑張っていらっしゃる先生などがきちんと相談できる環境や、チームケアとしてのいろいろな意味でのインフォームドコンセントを、本人、家族とだけではなく、チームケアの仲間同士でコンセンサスを得ていくことなど、マニュアル作製、あるいは地区医師会の支援体制のようなもの、という点から医療人としてかかわるということが、必要だろうと思います。

表2 都市の高齢者ケア比較(その1)

(単位: %)	全 国	東 京 都	東 京 都 23 区	東 京 都 都 下	長 野 県	ニ ュ ー ヨ ー ク	パ リ	ロ ン ド ン
高齢者の単独世帯割合	19.4	27.0	27.5	25.6	14.6	44.1	45.6	50.4
持ち家率	59.6	42.4	40.8	46.3	68.9	18.3	28.3	38.6
高齢者の持ち家率	75.6	62.6	61.8	64.6	87.9	22.9	41.6	31.3
高齢者の就業率(男)	33.4	36.7	39.0	31.4	45.3	27.2	6.2	26.9
(女)	14.1	15.2	17.1	10.7	21.8	13.6	2.8	15.7
在宅死亡率	13.4	12.4	13.2	10.4	18.7	18.4		

資料: V.G. Rodwin et al: WORLD CITIES PROJECT New York, Paris and Tokyo; Health and Social Perspectives with Special Attention to Older Persons, 2001 Jan. 総務省「平成12年国勢調査」、厚生労働省「平成13年国民生活基礎調査」、同「平成13年人口動態統計」

国際的にみると、東京都における高齢者の住環境は必ずしも悪い状況にあるとはいえない。しかし国内的には、東京都の住環境は地方と比較してよいとはいえない。

井藤 そうですね。確かに現在、年間100万人が亡くなるという時代ですが、これから10年後、20年後には、200万人近くの方が亡くなる時代を迎えるということで、看取りをどうするのかということが、医療経済的にも非常に大きな問題となりますね。

いまの医療制度改革は、基本的には高齢者にかかる医療費をどう制限していくかという視点が先に立っていると思うのですが、そうすることが本当に医療経済的に正当なアプローチであるのか。もう少し違ったやり方があるのではないかと思うのですが、川淵先生、その辺りはいかがでしょうか。

川淵 先ほど申し上げたように、医療費はインプットなのかアウトプットなのかということと、医療と介護は、補完財なのか代替財なのかということです。私は補完財だと思っているのですが、当局は代替財のように考えています。例えば先ほど天本先生がおっしゃったように、施設あつての在宅なので、その関係はやはり「補完」だと思います。それから、時間軸も重要です。いまの高齢者と将来の高齢者。日本人は、どのようにして生きて、どのようにして最期を迎えるか。その辺りを考えたときに、都市部の高齢

化はより深刻です。実はいま地方の高齢化の問題がよくいわれますが、都市部の高齢者のほうが大変だろうと思います。それは数の問題、スピードの問題、インフラの未整備の問題などです。たとえば高齢者の単独世帯割合は東京23区で27.5%、ところが、ニューヨークでは44%、パリは46%、ロンドンでは50%なのです。高齢者の持ち家比率をみますと、東京23区は62%もあるのですが、ニューヨークは23%、パリは42%、ロンドンでは31%。さらに65歳以上の就業率も男性が東京23区で39%なのに対してパリは6%(表2)。私が申し上げたいのは、高齢者になっても働かざるを得ないというのは、決して福祉国家ではないのではないと思うのですが、日本人は「仕事が趣味だ」という人が結構多いのです。

片や受け皿は、ナーシングホームの定義もいろいろありますが、老健、特養、療養型を全部入れても、東京23区は人口1,000人当たり18ベッドです。ニューヨークだと33、パリだと23(表3)。つまり、3都市の高齢者は皆さん一人で、借家に住んでいます。ナーシングホームはちゃんと完備されている。これに対して東京23区は単独で住んでいる人は少なく持ち

表3 都市の高齢者ケア比較(その2)

	全 国	東 京 都	23 区	都 下	長 野 県	ニ ュ ー ヨ ー ク	パ リ	ロ ン ド ン
平均在院日数(一般+療養)	30.1	24.7	22.4	30.1	21.5	8.5	6.5	5.5
(一般病床)	23.5	21.2	20.1	24.1	18.4			
(療養病床)	183.7	192.9	164.4	225.3	107.1			
一般病床数(人口1,000対)	9.7	8.3	8.7	7.4	8.6	8.9	8.6	3.7
ナーシングホームベッド数 (65歳以上人口1,000対)	29.7	26.5	17.7	46.6	26.7	33.0	22.8	15.8
(介護療養型医療施設)	5.2	6.4	5.0	9.7	3.1			
(介護老人保健施設)	10.7	5.1	3.4	8.8	9.9			
(介護老人福祉施設)	13.7	15.0	9.3	28.1	13.6			

資料：V.G. Rodwin et al: WORLD CITIES PROJECT New York, Paris and Tokyo ;  
Health and Social Perspectives with Special Attention to Older Peesons, 2001 Jan.  
厚生労働省「平成13年医療施設調査・病院報告」、同「介護サービス施設・事業所調  
査」

東京都の介護ベッド数は、23区では少ないが、都下では国内的のみならず国際的にみても遜色ない数がある。

家はあるが、ナーシングホームの受け皿はない。今後どのような社会にするか、あるいはどのようにして医療・介護の費用をファイナンスしていくか。それから、本当に東京23区内に特養、老健、療養型ができるのか。できるとしたら、どなたがどうやるのか。結局、最終的にはわが国が抱えてくる問題としては、やはり都市部の高齢化が深刻だと思うのです。繰り返しますが①いまという軸と将来という軸、②介護と医療、それから③在宅と施設は補完財なのか代替財な

のか。こうしたテーマをいまきちんと議論しないと間違ってしまう。ですから、やはりいまが非常に大事ではないかと思います。

井藤 本日はいろいろご示唆に富むお話を、ありがとうございました。

地域を愛する、故郷を愛するという日本人の気持ちを大事にした制度改革が、今後のキーワードになるだろうと思われます。

そういうことで、本日の座談会は本当に貴重なご意見をありがとうございました。

## Potent free radical scavenger, edaravone, suppresses oxidative stress-induced endothelial damage and early atherosclerosis

Hang Xi<sup>a</sup>, Masahiro Akishita<sup>b,\*</sup>, Kumiko Nagai<sup>a</sup>, Wei Yu<sup>a</sup>,  
Hiroshi Hasegawa<sup>a</sup>, Masato Eto<sup>b</sup>, Koichi Kozaki<sup>a</sup>, Kenji Toba<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Department of Geriatric Medicine, Kyorin University School of Medicine, Tokyo, Japan

<sup>b</sup> Department of Geriatric Medicine, Graduate School of Medicine, University of Tokyo, 7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

Received 28 November 2005; received in revised form 9 May 2006; accepted 19 May 2006

Available online 27 June 2006

### Abstract

**Objective:** Effects of potent free radical scavenger, edaravone, on oxidative stress-induced endothelial damage and early atherosclerosis were investigated using animal models and cultured cells.

**Methods and results:** Endothelial apoptosis was induced by 5-min intra-arterial exposure of a rat carotid artery with 0.01 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Edaravone treatment (10 mg/kg i.p.) for 3 days suppressed endothelial apoptosis, as evaluated by chromatin staining of *en face* specimens at 24 h, by approximately 40%. Similarly, edaravone dose-dependently inhibited H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induce apoptosis of cultured endothelial cells in parallel with the inhibition of 8-isoprostane formation, 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE) accumulation and VCAM-1 expression. Next, apolipoprotein-E knockout mice were fed a high-cholesterol diet for 4 weeks with edaravone (10 mg/kg i.p.) or vehicle treatment. Edaravone treatment decreased atherosclerotic lesions in the aortic sinus (0.18 ± 0.01 to 0.09 ± 0.01 mm<sup>2</sup>, *P* < 0.001) and descending aorta (5.09 ± 0.86 to 1.75 ± 0.41 mm<sup>2</sup>, *P* < 0.05), as evaluated by oil red O staining without influence on plasma lipid concentrations or blood pressure. Dihydroethidium labeling and cytochrome *c* reduction assay showed that superoxide anions in the aorta were suppressed by edaravone. Also, plasma 8-isoprostane concentrations and aortic nitrotyrosine, 4-HNE and VCAM-1 contents were decreased by edaravone treatment.

**Conclusions:** These results suggest that edaravone may be a useful therapeutic tool for early atherosclerosis, pending the clinical efficacy.

© 2006 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

**Keywords:** Atherosclerosis; Reactive oxygen species; Free radical scavenger; Edaravone; 4-HNE; Apolipoprotein E knockout mouse

### 1. Introduction

Accumulating evidence has shown that stress-induced injury of vascular endothelial cells (ECs) is an initial event in the development of atherosclerosis [1]. In particular, oxidative stress has been implicated in endothelial injury caused by oxidized LDL and smoking as well as hypertension, diabetes and ischemia-reperfusion [1–3]. This notion is supported by the findings that the production of reactive oxygen species (ROS) is upregulated in vascular lesions [4,5], and that lesion formations such as endothelial dysfunction [6]

and atherosclerosis [7] are accelerated by superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>).

Experimental studies have shown the protective effects of antioxidants on atherosclerosis and endothelial injury. Dietary antioxidants were reported to preserve endothelial function [8,9] and inhibit atherosclerosis [10] in cholesterol-fed rabbits. In a well employed animal model of atherosclerosis, apolipoprotein E knockout (ApoE-KO) mouse fed a high fat diet, it has been shown that there was a significant increase in basal superoxide products [11,12], and that both O<sub>2</sub><sup>•-</sup> levels and aortic lesion areas were attenuated by treatment with Vitamin E [11] or superoxide dismutase [13]. By contrast, it has been reported that elimination of NAD(P)H oxidase [14] or disruption of its subunit p47phox [15] had no effect on lesion size in ApoE-KO mice. Clinical experiments have

\* Corresponding author. Tel.: +81 3 5800 8832; fax: +81 3 5800 8831.

E-mail address: akishita-ky@umin.ac.jp (M. Akishita).

also shown that antioxidants such as Vitamins C and E can ameliorate endothelial dysfunction in patients with hypercholesterolemia or atherosclerosis [16,17], although recent clinical trials have failed to prove the protective effects of Vitamin E on cardiovascular events in patients with risk factors [18] and in healthy subjects [19].

Edaravone is a potent free radical scavenger that has been clinically used to reduce the neuronal damage following ischemic stroke [20]. Edaravone has promising property to quench hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ) and show inhibitory effects on peroxynitrite ( $\text{ONOO}^-$ ) and both water-soluble and lipid-soluble peroxy radical ( $\text{LOO}\cdot$ ) [21,22]. Accordingly, this compound exerts a wide range of antioxidant activity on ROS beyond the effects of water-soluble or lipid-soluble antioxidant vitamins. Based on this idea, we hypothesized that edaravone would inhibit the process of atherosclerosis.

To test this hypothesis, we investigated the effects of edaravone in two experimental models. First, we examined whether edaravone could inhibit hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )-induced EC apoptosis in a rat model [23] and cultured ECs. Second, we examined whether edaravone could suppress the atherosclerotic lesion formation in ApoE-KO mice.

## 2. Methods

### 2.1. Animals

Male Wistar rats aged 10–12 weeks (Japan Clea), and male C57BL/6 mice and ApoE-KO mice on C57BL/6 background aged 4–6 weeks (Jackson Laboratory) were used in this study. All of the experimental protocols were approved by the Animal Research Committee of the Kyorin University School of Medicine.

### 2.2. $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced EC apoptosis in rats and in culture

EC apoptosis was induced by 5-min intra-arterial treatment of a rat carotid artery with 0.01 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  as previously described [23]. Briefly, edaravone (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one; 3 or 10 mg/kg; donated by Mitsubishi Pharma Corporation, Japan) or its vehicle was intra-peritoneally injected daily for 3 days before  $\text{H}_2\text{O}_2$  treatment. A catheter was placed in the common carotid artery via the external carotid artery. The lumen was flushed with saline, replaced with 0.01 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$  diluted with saline for 5 min and recovered. At 24 h after  $\text{H}_2\text{O}_2$  treatment, EC apoptosis was evaluated by chromatin staining of *en face* specimens of the carotid artery using Hoechst 33342 dye. Apoptotic cells were identified by their typical morphological appearance; chromatin condensation, nuclear fragmentation, or apoptotic bodies. The numbers of apoptotic cells and intact cells were counted in 10 high-power fields for each specimen by an observer blinded to the treatment group.

Apoptosis of ECs isolated from a bovine carotid artery was induced as previously described [24]. Briefly, subconfluent ECs were pretreated for 24 h with culture medium containing edaravone or vehicle. After washing twice with Hank's balanced salt solution, the cells were exposed to  $\text{H}_2\text{O}_2$  (0.2 mmol/L) diluted in Hank's balanced salt solution for 1.5 h at 37 °C to induce apoptosis. Then ECs were cultured in culture medium containing edaravone or vehicle until assay. Apoptosis was evaluated at 24 h after  $\text{H}_2\text{O}_2$  treatment as histone-associated DNA fragments using a photometric enzyme immunoassay (Cell Death Detection ELISA, Roche), according to the manufacturer's instructions.

### 2.3. Atherosclerosis in ApoE-KO mice

ApoE-KO mice received a high-cholesterol diet (1% cholesterol, 10% fat in CE-2 standard diet; Japan Clea) for 4 weeks. Simultaneously, edaravone (10 mg/kg) or its vehicle was intra-peritoneally injected daily throughout the experiments. Body weight and systolic blood pressure were recorded every week in a conscious state by the tail cuff method (BP-98A; Softron, Tokyo).

At 4 weeks of treatment, mice were sacrificed with an overdose of diethyl ether and perfusion-fixed. Atherosclerotic lesions in the aortic sinus were quantified according to the method described previously [25]. We also measured the surface area of atherosclerotic lesions in the whole descending aorta including the abdominal aorta just proximal to the iliac bifurcation. *En face* specimens of the descending aorta were stained with oil red O, photographed and analyzed using the NIH image software. Total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol in mice plasma were determined by a commercial laboratory (SRL, Japan).

### 2.4. Measurement of ROS

Aortic samples for ROS measurements were prepared separately from those for atherosclerosis evaluation. At 4 weeks of treatment, ApoE-KO mice were sacrificed with  $\text{CO}_2$  inhalation. Descending aortas were rapidly removed and placed into chilled modified Krebs/HEPES buffer. C57BL/6 mice fed a standard diet were also used as the control. To determine superoxide production *in situ*, frozen cross-sections of the aorta were stained with 10  $\mu\text{mol/L}$  dihydroethidium (DHE; Molecular Probes), followed by fluorescent microscopy [26]. Also, superoxide production in aortic rings was quantified using the superoxide dismutase-inhibitable cytochrome *c* reduction assay as previously described [27]. Immunohistochemical detection of 3-nitrotyrosine in the aorta was visualized by diaminobenzidine as reported previously [28].

Intracellular production of superoxide anions was measured using DHE as described previously [29], and the intensity values were calculated using the Metamorph software [24]. Concentrations of 8-isoprostane (8-iso prostaglandin

F<sub>2α</sub>) in the culture supernatants and mouse plasma were measured using a commercially available EIA kit (Cayman Chemical). Culture supernatants were directly applied to EIA, while plasma was applied to EIA after solid phase extraction purification according to the manufacturer's instructions.

### 2.5. Western blotting

Western blotting was performed as previously described [30], to detect the expression of VCAM-1 and 4-HNE in cultured ECs and mouse aortas. Descending aortas were prepared as described in ROS measurements. The antibodies used in this study were anti-4-HNE monoclonal antibody (JaICA, Shizuoka, Japan), anti-VCAM-1 polyclonal antibody (Santa Cruz Biotechnology) and anti-3-nitrotyrosine monoclonal antibody (Upstate). Densitometric analysis was performed using an image scanner and the NIH software.

### 2.6. Data analysis

All values are expressed as mean ± S.E.M. Data were analyzed using one-factor ANOVA. If a statistically significant effect was found, Newman–Keuls' test was performed to isolate the difference between the groups. Differences with a value of  $P < 0.05$  were considered statistically significant.

## 3. Results

### 3.1. Effects of edaravone on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced EC apoptosis and ROS

As shown in Fig. 1A, edaravone dose-dependently inhibited EC apoptosis in culture, which was induced 24 h after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. Edaravone was then employed in a rat model of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced EC apoptosis. Consistent with the *in vitro* experiment, edaravone of 10 mg/kg/day decreased EC apoptosis of the rat carotid artery by approximately 40% (Fig. 1B).

We next examined whether edaravone decreased ROS production in the process of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced EC apoptosis. For this purpose, DHE fluorescent, a marker of intracellular production of superoxide anions, release of 8-isoprostane into the culture supernatants and accumulation of 4-HNE, a pivotal end-product of lipid peroxidation [31], were measured using cultured ECs. We also examined the expression of VCAM-1 as a marker of endothelial injury or activation [32]. Edaravone decreased DHE fluorescent, 8-isoprostane formation and VCAM-1 expression at 3 h after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment in a dose-dependent manner (Fig. 2A–C). As shown in Fig. 2D, multiple bands showing 4-HNE-Michael protein adducts [33,34] were accumulated after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment in a time-dependent manner. Consequently, the effect of edaravone on 4-HNE expression was examined at 3 h after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment (4.5 h after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was initially added). Edaravone decreased 4-HNE expression in a dose dependent manner.

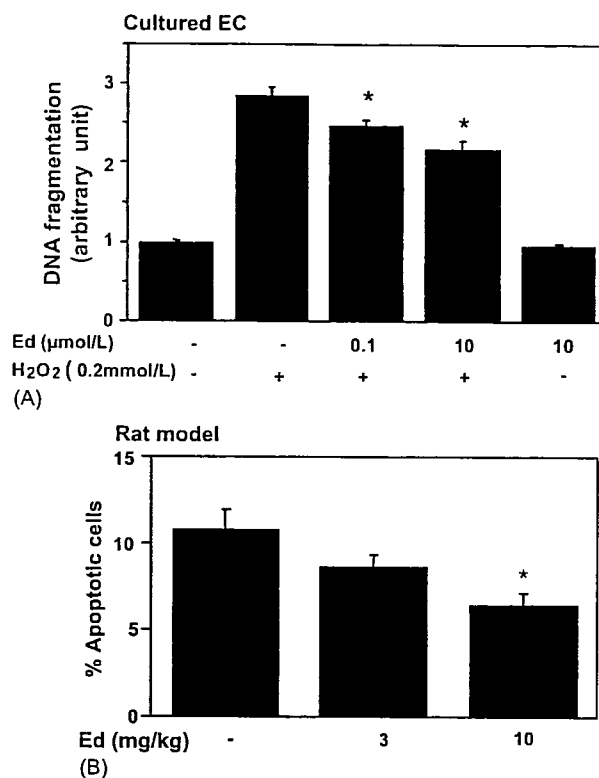


Fig. 1. Effects of edaravone (Ed) on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced EC apoptosis in culture (A) and in a rat model (B). (A) Ed or its vehicle was added to the culture medium 24 h before H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment until assay. EC apoptosis was evaluated 24 h after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment (0.2 mmol/L) by means of DNA fragmentation. Values are expressed as mean ± S.E.M. ( $n = 3$ ). \* $P < 0.05$  vs. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (+) + Ed (-). (B) Ed or its vehicle was intraperitoneally injected once a day for 3 days before H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment. At 24 h after H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment, apoptotic ECs were counted per high power field and the ratio of the apoptotic cell number to the intact cells was calculated using *en face* specimens of the carotid artery stained with Hoechst 33342. Values are expressed as mean ± S.E.M. ( $n = 7$ ). \* $P < 0.05$  vs. vehicle.

### 3.2. Effects of edaravone on atherosclerotic lesions and ROS in ApoE-KO mice

In the next set of experiments, we examined whether edaravone could suppress the atherosclerotic lesions in ApoE-KO mice fed a high cholesterol diet for 4 weeks. As shown in Fig. 3A and B, atheromatous lesions both in the aortic sinus and the descending aorta were smaller in mice treated with 10 mg/kg/day edaravone than in those with vehicle. This dose of edaravone did not influence body weight, blood pressure or plasma LDL and HDL cholesterol levels (Table 1).

Then, we examined whether the anti-atherogenic effects of edaravone were associated with the decrease in ROS production. Peroxynitrite formation was assessed as 3-nitrotyrosine accumulation in the aorta [28]. Both immunohistochemistry and Western blotting showed that edaravone inhibited nitrotyrosine accumulation in the aorta of ApoE-KO mice (Fig. 4A(a) and A(b)). Superoxide production *in situ* was examined using DHE staining of the descend-

Table 1  
Body weight, blood pressure and plasma lipid levels in ApoE-KO mice treated with edaravone or vehicle

	Vehicle	Edaravone
Body weight (g)	21.4 ± 0.5	21.0 ± 0.5
Systolic blood pressure (mmHg)	106 ± 2	103 ± 3
Total cholesterol (mg/dL)	1967 ± 38	1872 ± 66
HDL cholesterol (mg/dL)	66 ± 6	82 ± 9
LDL cholesterol (mg/dL)	602 ± 24	602 ± 12

The values are shown as mean ± S.E. ( $n = 14$ ). There were no significant differences in the values between the two groups.

ing aorta. As shown in Fig. 4B, ethidium fluorescence, which was amplified in ApoE-KO mice, was decreased by edaravone treatment. A quantitative analysis by the superoxide dismutase-inhibitable cytochrome *c* reduction assay revealed that  $O_2^{\bullet-}$  levels in aortic rings of ApoE-KO mice were decreased by 43% in edaravone-treated ApoE-KO mice compared to those in vehicle-treated mice (Fig. 4C). Consistent with these results, plasma 8-isoprostane levels and 4-HNE expression in the descending aorta, both of which were elevated in ApoE-KO mice compared to

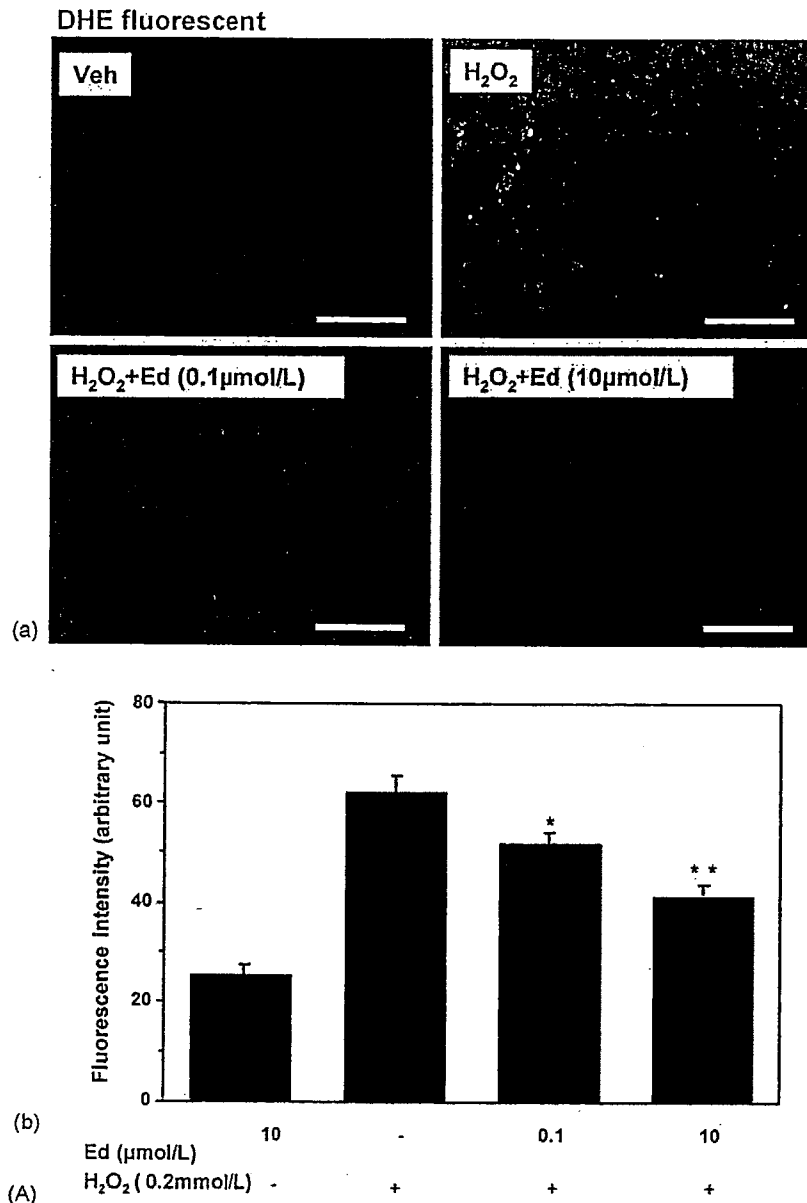


Fig. 2. Effects of edaravone (Ed) on DHE fluorescent (A) and 8-isoprostane formation (B), VCAM-1 expression (C) and 4-HNE expression (D) in cultured EC. Ed or its vehicle was added to the culture medium 24 h before  $H_2O_2$  treatment until assay. DHE fluorescent ( $n = 6$ ), 8-isoprostane concentration ( $n = 3$ ) and VCAM-1 expression ( $n = 3$ ) in the cell lysate were measured 3 h after  $H_2O_2$  treatment. Values are expressed as mean ± S.E.M. Time dependent changes of 4-HNE expression after  $H_2O_2$  treatment was detected by Western blotting. Representative image showed that 4-HNE-Michael protein adducts were accumulated after treatment (D(a)). The major 97 kDa band was measured 4.5 h after  $H_2O_2$  treatment in the presence or absence of edaravone (D(b)). Values are expressed as mean ± S.E.M. ( $n = 3$ ). \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs.  $H_2O_2$  (+) + Ed (-).



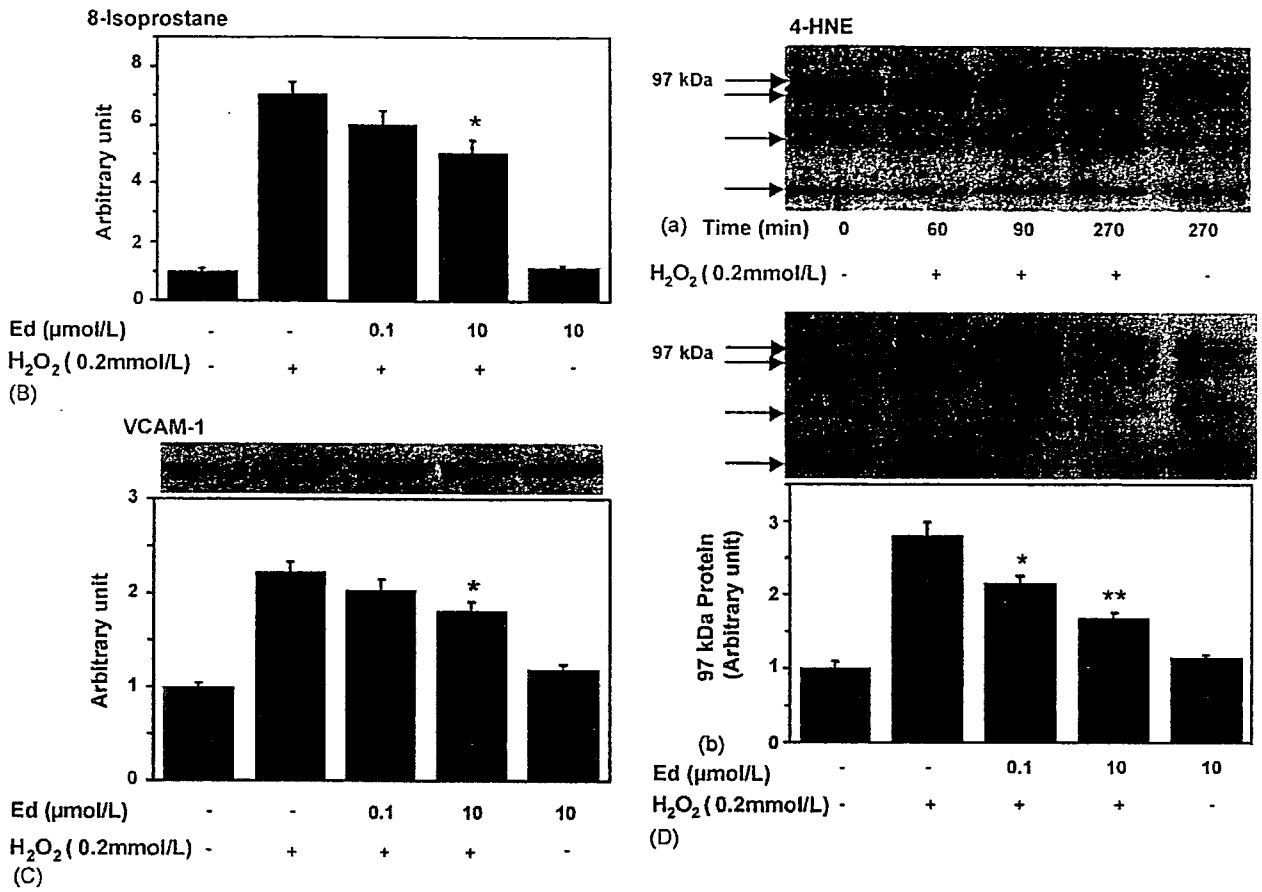


Fig. 2. (Continued).

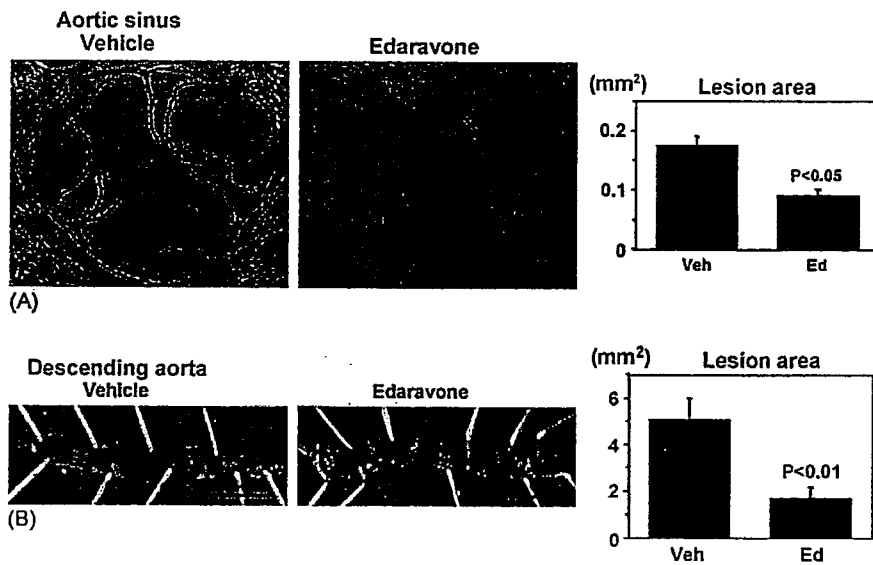


Fig. 3. Effects of edaravone on atherosclerotic lesion in ApoE-KO mice. ApoE-KO mice were fed a high-cholesterol diet for 4 weeks with the administration of edaravone (10 mg/kg daily) or its vehicle by i.p. injection. (A) Oil red O-stained cross-sections of the aortic sinus (bar = 100  $\mu\text{m}$ ) and morphometric analysis of the lesions are shown. (B) Oil red O-stained *en face* specimens of the descending aorta (bar = 5 mm) and morphometric analysis of the lesions are shown. Values are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. ( $n = 14$ ).

those in wild-type C57BL/6 mice fed a normal chow, were decreased by edaravone treatment (Fig. 4D and E). Finally, the increase in VCAM-1 expression in the aorta of ApoE-KO mice was attenuated by edaravone as well (Fig. 4F).

#### 4. Discussion

A number of studies have shown that ROS contribute to the pathogenesis of endothelial dysfunction and atherosclerosis formation. In addition to  $O_2^{\bullet-}$  that is predominantly pro-

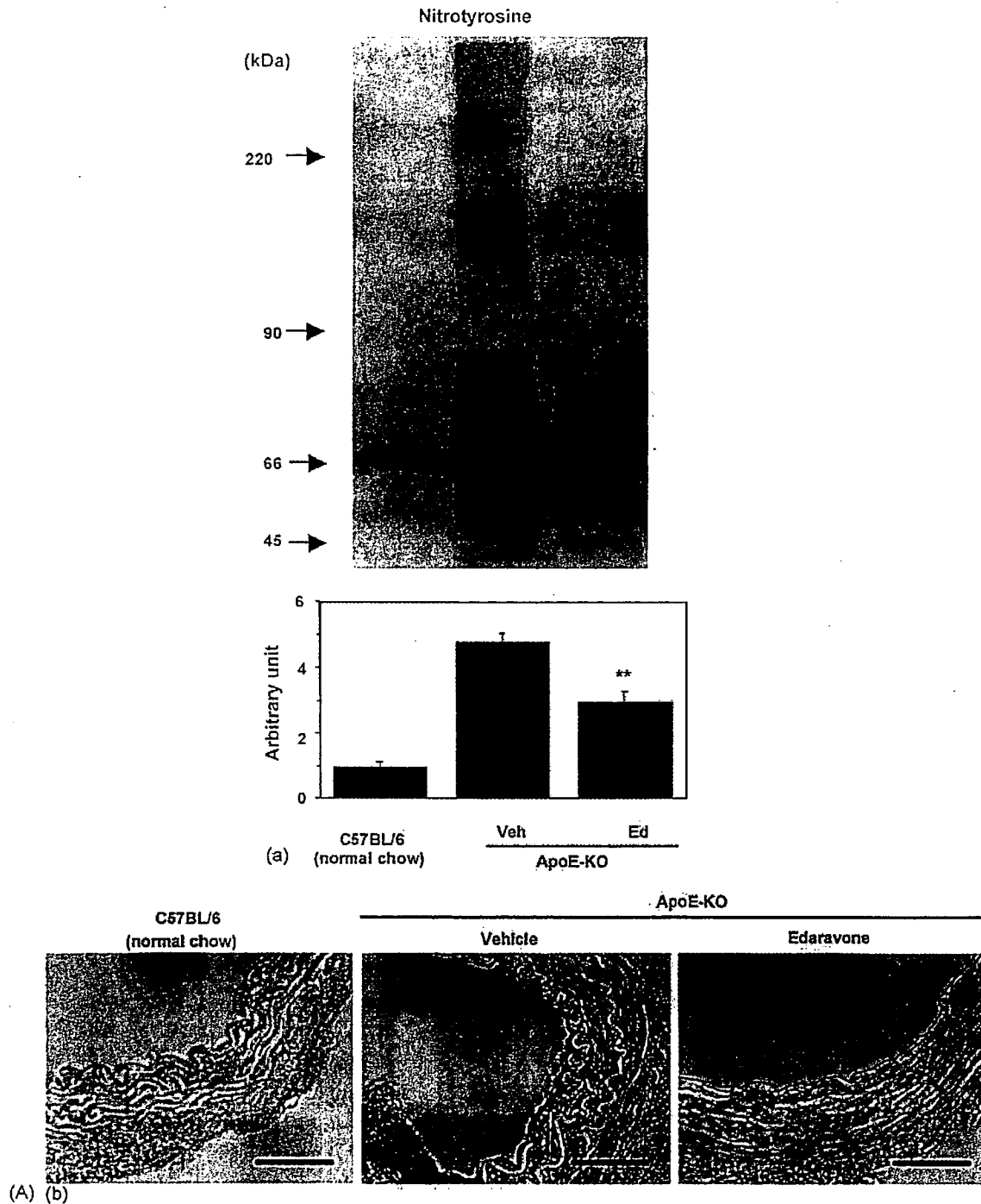


Fig. 4. Effects of edaravone (Ed) on ROS production (A–E) and VCAM-1 expression (F) in ApoE-KO mice. (A) Nitrotyrosine contents in the aorta was examined by Western blot analysis (A(a),  $n=6$ ) and immunohistochemistry (A(b)). Bar = 50  $\mu\text{m}$ . (B) Fresh-frozen cross-sections of the aorta were stained with DHE, and representative fluorescent micrographs are shown (bar = 100  $\mu\text{m}$ ). (C) Superoxide anion in aortic rings was determined using SOD inhibitable-cytochrome *c* reduction assay ( $n=6$ ). (D) 8-Isoprostane level in mouse plasma was measured with EIA ( $n=6$ ). (E and F) Representative Western blotting for 4-HNE (97 kDa band) and VCAM-1 expression in the aorta and densitometric analysis are shown ( $n=3$ ). Values are expressed as mean  $\pm$  S.E.M. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs. vehicle (Veh). C57/BL6 mice fed a normal chow serve as the control.

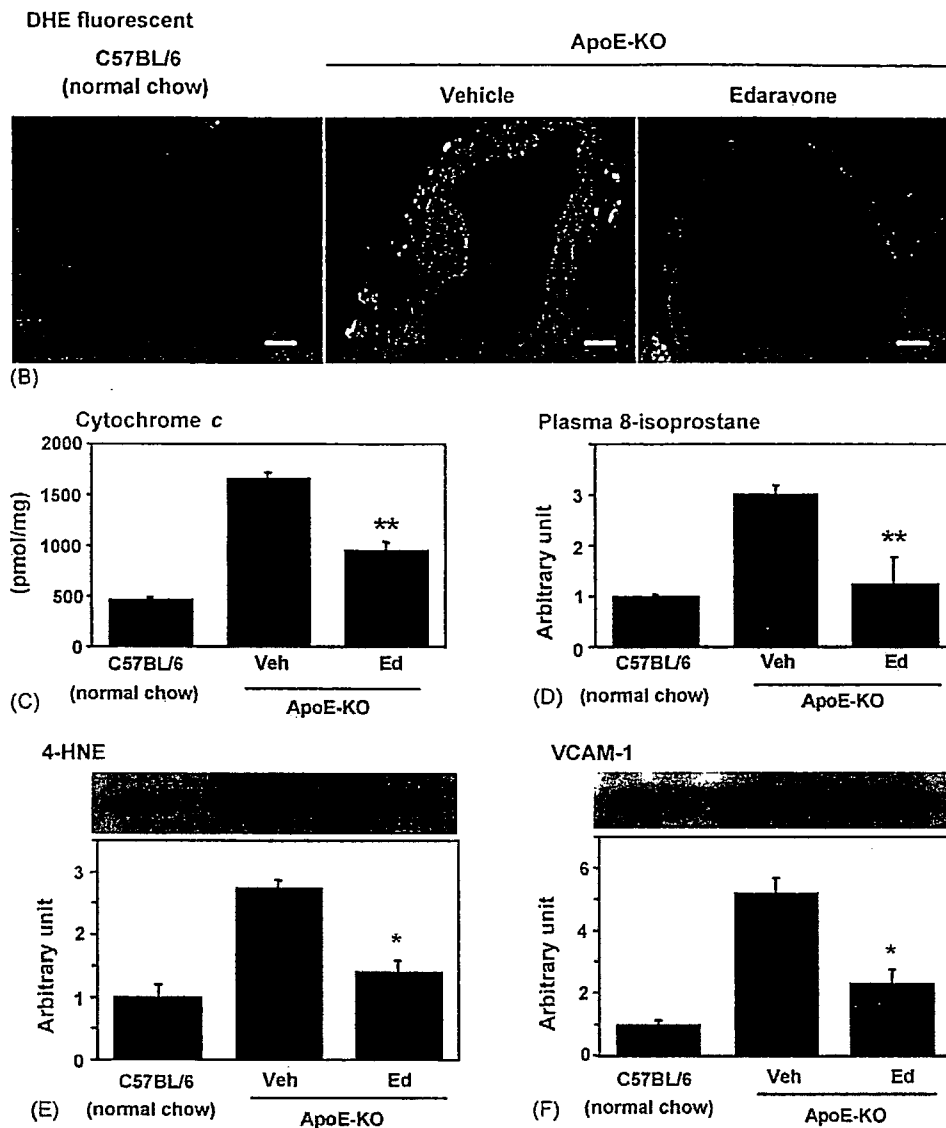


Fig. 4. (Continued).

duced via NAD(P)H oxidase [35],  $\bullet\text{OH}$  as well as  $\text{LOO}\bullet$  [36] and  $\text{ONOO}^-$  [37] play a role in atherogenesis. In particular,  $\bullet\text{OH}$  is extremely strong in terms of oxidative activity and cellular damage [38]. Therefore, it might be essential to scavenge the wide range of ROS for the prevention of atherosclerosis. As a matter of fact, recent clinical trials have denied the protective effects of Vitamin E, which predominantly reacts with  $\text{LOO}\bullet$  [39], on cardiovascular events [18,19].

Edaravone, a potent free radical scavenger with unique properties, works by donating an electron from edaravone anion to free radicals [22]. Edaravone quenches  $\bullet\text{OH}$  and inhibits both  $\bullet\text{OH}$ -dependent and  $\bullet\text{OH}$ -independent lipid peroxidation [22]. Edaravone shows inhibitory effects on both water-soluble and lipid-soluble  $\text{LOO}$ -induced peroxidation systems [22]. Edaravone also inhibits  $\text{ONOO}^-$ -induced tyrosine nitration [22]. These properties are different from those of water-soluble Vitamin C and lipid-soluble Vitamin E.

In the present study, we demonstrated that edaravone suppressed endothelial apoptosis and fatty streak formation. Reduced expression of VCAM-1, a marker of vascular injury and activation [32], were corroborated with these results. In cultured ECs, protein expression of VCAM-1 was induced as early as 3 h after  $\text{H}_2\text{O}_2$  treatment (actually 4.5 h after addition of  $\text{H}_2\text{O}_2$ , Fig. 2C). This is reasonable based on our time course experiments (data not shown), and is consistent with the previous reports that VCAM-1 protein has been induced 4–6 h after cytokine stimulation through an antioxidant-sensitive mechanism [40,41]. Although the experimental conditions were different between the cell culture and animal studies, edaravone inhibited both the rapid induction of VCAM-1 in cultured ECs and the chronic upregulation of VCAM-1 in the aorta of ApoE-KO mice, further supporting the vasoprotective effects of edaravone.

Edaravone has been clinically used as a neuroprotectant in the treatment of ischemic stroke in Japan from 2001. The dose of edaravone used in this study (intraperitoneal injection of 10 mg/kg) has been reported to be comparable to that of intravenous injection in clinical use in terms of plasma concentration [42]. This compound has been reported to preserve endothelial function in ischemic brain [43] and ameliorate ischemia-reperfusion injury in various organs such as kidney [44] and heart [45]. Also, edaravone has been shown to inhibit pressure overload-induced cardiac hypertrophy [42]. To our knowledge, however, the effect of edaravone on atherosclerosis has never been reported till now.

The effects of edaravone on endothelial injury and atherosclerosis were associated with the decrease in ROS production including peroxynitrite, superoxide anion and 8-isoprostane, suggesting the mechanistic role of antioxidant in vascular protection. Edaravone also inhibited the expression of 4-HNE in vascular tissues, further indicating the antioxidant activity and suggesting the signaling cascade leading to endothelial injury, because 4-HNE triggers cellular damages through the MAP kinase pathway as an end-product of ROS [34]. Antioxidant effects of edaravone on lipoproteins were not determined in the present study because of the methodological limitation in mice. It has been reported, however, that edaravone can inhibit oxidative modification of low-density lipoprotein *in vitro* and in rats [46]. Consequently, it is likely that reduced lipoprotein oxidation would have played a role in the anti-atherosclerotic effects of edaravone in ApoE-KO mice. Furthermore, edaravone has been reported to stimulate the expression of endothelial nitric oxide synthase in cultured ECs [46] and the artery [47], leading to the increased production of nitric oxide. Taken together with the effects on peroxynitrite formation, edaravone might synergistically increase the availability of nitric oxide, which exerts vasoprotective and anti-atherosclerotic action.

The effects of edaravone on advanced and complicated lesions of atherosclerosis were not investigated in this study. Neither, the effects on plaque ruptures nor consequent cardiovascular events are known. This study demonstrated that edaravone might be a potential new therapeutic agent for the prevention and treatment of early atherosclerosis. For the purpose of chronic use, however, the innovation of drug preparation for oral administration is necessary. Another application of edaravone might be the prevention of restenosis after percutaneous coronary interventions, since ROS plays an important role in neointimal formation after angioplasty [48]. Intravenous injection of edaravone for several days might inhibit neointimal formation in addition to ischemia reperfusion injury of cardiomyocytes [45]. Taken together, edaravone is expected to show protective effect on ROS-related vascular diseases beyond cerebral infarction.

In summary, edaravone, a free radical scavenger with unique properties, attenuated oxidative stress-induced endothelial damage in rats and early atherosclerosis in ApoE-KO mice in association with the inhibition of ROS formation.

These findings provide new information on the role of ROS in atherogenesis and the therapeutic strategy for atherosclerosis.

## Acknowledgements

We thank Ms. Mariko Sawano for her excellent technical assistance. This study was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Science, Culture and Sports of Japan (13670741), and by Health and Labour Sciences Research Grants (H15-Choju-013, H15-Choju-015 and H17-Choju-046) from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

## References

- [1] Ross R. Atherosclerosis—an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115–26.
- [2] Griendling KK, Sorescu D, Lassegue B, Ushio-Fukai M. Modulation of protein kinase activity and gene expression by reactive oxygen species and their role in vascular physiology and pathophysiology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2175–83.
- [3] Zalba G, San Jose G, Moreno MU, et al. Oxidative stress in arterial hypertension: role of NAD(P)H oxidase. *Hypertension* 2001;38:1395–9.
- [4] Sorescu D, Weiss D, Lassegue B, et al. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1429–35.
- [5] Spiekermann S, Landmesser U, Dikalov S, et al. Electron spin resonance characterization of vascular xanthine and NAD(P)H oxidase activity in patients with coronary artery disease: relation to endothelium-dependent vasodilation. *Circulation* 2003;107:1383–9.
- [6] Rey FE, Li XC, Carretero OA, Garvin JL, Pagano PJ. Perivascular superoxide anion contributes to impairment of endothelium-dependent relaxation: role of gp91(phox). *Circulation* 2002;106:2497–502.
- [7] Barry-Lane PA, Patterson C, van der Merwe M, et al. p47phox is required for atherosclerotic lesion progression in ApoE(–/–) mice. *J Clin Invest* 2001;108:1513–22.
- [8] Keaney Jr JF, Gaziano JM, Xu A, et al. Dietary antioxidants preserve endothelium-dependent vessel relaxation in cholesterol-fed rabbits. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1993;90:11880–4.
- [9] Keaney Jr JF, Xu A, Cunningham D, Jackson T, Frei B, Vita JA. Dietary probucol preserves endothelial function in cholesterol-fed rabbits by limiting vascular oxidative stress and superoxide generation. *J Clin Invest* 1995;95:2520–9.
- [10] Lamb DJ, Reeves GL, Taylor A, Ferns GA. Dietary copper supplementation reduces atherosclerosis in the cholesterol-fed rabbit. *Atherosclerosis* 1999;146:33–43.
- [11] Pratico D, Tangirala RK, Rader DJ, Rokach J, FitzGerald GA. Vitamin E suppresses isoprostane generation *in vivo* and reduces atherosclerosis in ApoE-deficient mice. *Nat Med* 1998;4:1189–92.
- [12] Li Z, Iwai M, Wu L, et al. Fluvastatin enhances the inhibitory effects of a selective AT1 receptor blocker, valsartan, on atherosclerosis. *Hypertension* 2004;44:758–63.
- [13] Fennell JP, Brosnan MJ, Frater AJ, et al. Adenovirus-mediated overexpression of extracellular superoxide dismutase improves endothelial dysfunction in a rat model of hypertension. *Gene Ther* 2002;9:110–7.
- [14] Kirk EA, Dinauer MC, Rosen H, Chait A, Heinecke JW, LeBoeuf RC. Impaired superoxide production due to a deficiency in phagocyte NADPH oxidase fails to inhibit atherosclerosis in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1529–35.

- [15] Hsich E, Segal BH, Pagano PJ, et al. Vascular effects following homozygous disruption of p47(phox): an essential component of NADPH oxidase. *Circulation* 2000;101:1234–6.
- [16] Fang JC, Kinlay S, Beltrame J, et al. Effect of Vitamins C and E on progression of transplant-associated arteriosclerosis: a randomised trial. *Lancet* 2002;359:1108–13.
- [17] Engler MM, Engler MB, Malloy MJ, et al. Antioxidant Vitamins C and E improve endothelial function in children with hyperlipidemia: endothelial assessment of risk from lipids in youth (EARLY) trial. *Circulation* 2003;108:1059–63.
- [18] Lonn E, Bosch J, Yusuf S, et al. Effects of long-term Vitamin E supplementation on cardiovascular events and cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2005;293:1338–47.
- [19] Lee IM, Cook NR, Gaziano JM, et al. Vitamin E in the primary prevention of cardiovascular disease and cancer: the Women's Health Study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2005;294:56–65.
- [20] Study-Group E. Effect of a novel free radical scavenger, edaravone (MCI-186), on acute brain infarction. Randomized, placebo-controlled, double-blind study at multicenters. *Cerebrovasc Dis* 2003;15:222–9.
- [21] Abe S, Kirima K, Tsuchiya K, et al. The reaction rate of edaravone (3-methyl-1-phenyl-2-pyrazolin-5-one (MCI-186)) with hydroxyl radical. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2004;52:186–91.
- [22] Watanabe T, Yuki S, Egawa M, Nishi H. Protective effects of MCI-186 on cerebral ischemia: possible involvement of free radical scavenging and antioxidant actions. *J Pharmacol Exp Ther* 1994;268:1597–604.
- [23] Sudoh N, Toba K, Akishita M, et al. Estrogen prevents oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis in rats. *Circulation* 2001;103:724–9.
- [24] Akishita M, Nagai K, Xi H, et al. Renin-angiotensin system modulates oxidative stress-induced endothelial cell apoptosis in rats. *Hypertension* 2005;45:1188–93.
- [25] Paigen B, Morrow A, Holmes PA, Mitchell D, Williams RA. Quantitative assessment of atherosclerotic lesions in mice. *Atherosclerosis* 1987;68:231–40.
- [26] Miller Jr FJ, Gutterman DD, Rios CD, Heistad DD, Davidson BL. Superoxide production in vascular smooth muscle contributes to oxidative stress and impaired relaxation in atherosclerosis. *Circ Res* 1998;82:1298–305.
- [27] Landmesser U, Dikalov S, Price SR, et al. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *J Clin Invest* 2003;111:1201–9.
- [28] Francia P, Delli Gatti C, Bachschmid M, et al. Deletion of p66shc gene protects against age-related endothelial dysfunction. *Circulation* 2004;110:2889–95.
- [29] Carter WO, Narayanan PK, Robinson JP. Intracellular hydrogen peroxide and superoxide anion detection in endothelial cells. *J Leuk Biol* 1994;55:253–8.
- [30] Xi H, Shin WS, Suzuki J, et al. Dystrophin disruption might be related to myocardial cell apoptosis caused by isoproterenol. *J Cardiovasc Pharmacol* 2000;36(Suppl 2):S25–9.
- [31] Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11:81–128.
- [32] Meigs JB, Hu FB, Rifai N, Manson JE. Biomarkers of endothelial dysfunction and risk of type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 2004;291:1978–86.
- [33] Uchida K, Toyokuni S, Nishikawa K, et al. Michael addition-type 4-hydroxy-2-nonenal adducts in modified low-density lipoproteins: markers for atherosclerosis. *Biochemistry* 1994;33:12487–94.
- [34] Usatyuk PV, Natarajan V. Role of mitogen-activated protein kinases in 4-hydroxy-2-nonenal-induced actin remodeling and barrier function in endothelial cells. *J Biol Chem* 2004;279:11789–97.
- [35] Jiang F, Guo Y, Salvemini D, Dusting GJ. Superoxide dismutase mimetic M40403 improves endothelial function in apolipoprotein (E)-deficient mice. *Br J Pharmacol* 2003;139:1127–34.
- [36] O'Donnell VB, Chumley PH, Hogg N, Bloodsworth A, Darley-Usmar VM, Freeman BA. Nitric oxide inhibition of lipid peroxidation: kinetics of reaction with lipid peroxy radicals and comparison with alpha-tocopherol. *Biochemistry* 1997;36:15216–23.
- [37] White CR, Brock TA, Chang LY, et al. Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1044–8.
- [38] Zheng H, Dimayuga C, Hudaihed A, Katz SD. Effect of dexrazoxane on homocysteine-induced endothelial dysfunction in normal subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:E15–8.
- [39] Terentis AC, Thomas SR, Burr JA, Liebler DC, Stocker R. Vitamin E oxidation in human atherosclerotic lesions. *Circ Res* 2002;90:333–9.
- [40] Marui N, Offermann MK, Swerlick R, et al. Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1993;92:1866–74.
- [41] Park SH, Park JH, Kang JS, Kang YH. Involvement of transcription factors in plasma HDL protection against TNF-alpha-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression. *Int J Biochem Cell Biol* 2003;35:168–82.
- [42] Tsujimoto I, Hikoso S, Yamaguchi O, et al. The antioxidant edaravone attenuates pressure overload-induced left ventricular hypertrophy. *Hypertension* 2005;45:921–6.
- [43] Amemiya S, Kamiya T, Nito C, et al. Anti-apoptotic and neuroprotective effects of edaravone following transient focal ischemia in rats. *Eur J Pharmacol* 2005;516:125–30.
- [44] Doi K, Suzuki Y, Nakao A, Fujita T, Noiri E. Radical scavenger edaravone developed for clinical use ameliorates ischemia/reperfusion injury in rat kidney. *Kidney Int* 2004;65:1714–23.
- [45] Tsujita K, Shimomura H, Kawano H, et al. Effects of edaravone on reperfusion injury in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;94:481–4.
- [46] Yoshida H, Sasaki K, Namiki Y, Sato N, Edaravone TN. A novel radical scavenger, inhibits oxidative modification of low-density lipoprotein (LDL) and reverses oxidized LDL-mediated reduction in the expression of endothelial nitric oxide synthase. *Atherosclerosis* 2005;179:97–102.
- [47] Zhang XH, Matsuda N, Jesmin S, et al. Normalization by edaravone, a free radical scavenger, of irradiation-reduced endothelial nitric oxide synthase expression. *Eur J Pharmacol* 2003;476:131–7.
- [48] Cipollone F, Fazia M, Iezzi A, et al. High preprocedural non-HDL cholesterol is associated with enhanced oxidative stress and monocyte activation after coronary angioplasty: possible implications in restenosis. *Heart* 2003;89:773–9.

《シンポジウム》

より質の高い摂食・嚥下リハビリテーションを目指して  
—他科医からの提言—

座長／藤谷 順子・稲田 晴生

嚥下障害と誤嚥性肺炎—近そうで遠い  
概念—

杏林大学高齢医学

鳥羽 研二, 井上慎一郎

馬場 幸, 長谷川 浩

東京大学老年病科

寺本 信嗣

Japanese Journal of Rehabilitation Medicine

VOL. 44 NO. 2 2007年2月

## 嚥下障害と誤嚥性肺炎—近そうで遠い概念—

杏林大学高齢医学

鳥羽 研二, 井上慎一郎

馬場 幸, 長谷川 浩

東京大学老年病科

寺本 信嗣

### はじめに

近年、高齢者肺炎における誤嚥の重要性が国内外で認知されてきた。杏林大学医学部附属病院高齢医学科の年間400例の入院患者で肺炎は約17%にみられ、さらにそのうち誤嚥が原因となっている者が約42%であった。誤嚥性肺炎は、症状が非定型的で、発熱、気道症状がないことがある一方、予後が不良である。したがって、誤嚥性肺炎を生じやすい嚥下障害を早期に検出し、嚥下リハビリテーションや誤嚥対策を行うことが、高齢者肺炎の予防・治療の点から重要と考えられる。誤嚥の正確な評価については、嚥下造影が現状のゴールドスタンダードであり、その後の治療方針の決定のために有用である。しかし、高齢者では、多数例が誤嚥リスクを有すると考えられ、これら全員に嚥下造影を行うことは、時間、労働力、医療費の諸点で無駄が大きい。現段階で、多数例の高齢者に実施可能な有用な嚥下スクリーニング方法は確立されていない。

リハビリテーション（以下、リハ）の立場から重視されるベッドサイドでの嚥下、声の観察評価は、嚥下造影で検出できる異常を見逃す確率が高いことが知られ、また、評価する検査技師の能力によって異常の評価が異なる点も問題となる。オキシメータによる嚥下障害の評価は、 $\text{SaO}_2$ の低下という客観的指標を用いるが、これ自体は嚥下障害そのものを反映するわけではなく、誤嚥や息止め、呼吸器疾患、心不全などの要素によって影響を受けるため、嚥下障害の評価法としては、極

めて間接的である。咽頭反射は最も簡便な評価法であるが、嚥下機能を直接反映するわけではないため、誤嚥評価には適さないことが報告されている。これらの方法に比べ、近年提唱された反復唾液嚥下検査（RSST）、水飲み試験（WST）、嚥下誘発検査（SSPT）、などの方法は、新たな嚥下機能障害評価法として注目されている。介護保険の改正に伴う特定高齢者の嚥下栄養機能低下のスクリーニングとしてRSSTが導入された。本検査は誤嚥性肺炎を見いだす感度は極めて高いが、疑陽性もまた高い。また、認知機能や口腔乾燥によって不可能な場合がある。水飲み試験は感度がやや落ちる。これらを補う嚥下誘発テストは、0.4 mlと2 mlの水を小児用チューブで、咽頭に注入して嚥下反射を観察する方法で、2段階で行えば感度特異度とも高いが、集団に対して健診で行えない弱点がある。現実的にはRSSTでスクリーニングを行い、陽性例にSSPTを行うことが妥当であろう。

嚥下障害の頻度は誤嚥性肺炎の数倍以上あり、誤嚥がすべて肺炎につながるわけではない。夜間の不顕性誤嚥が最も診断しにくい肺炎の原因で、口腔清拭、食後のベッド挙上、胃食道逆流現象の予防、雑菌の減少による肺炎の30～50%の減少が知られている。不顕性誤嚥に対する防御機構には、ドーパミン、サブスタンスPを介した咳反射があり、これらを賦活する、ACE阻害剤、アマンタジンに誤嚥性肺炎減少効果がある。気道異物に対してはその他気道線毛の働きも重要で、脱水にならないよう水分補給を図る必要がある。

嚥下障害の原因は主として中枢神経にあり、なかでも大脳基底核の虚血病変は頻度が高い。この虚血病変は嚥下障害だけでなく、つまり、頻尿、物忘れ、意欲の低下が起きやすいこともわかってきた。これらの症状がある場合に積極的に脳MRI検査を行うとともに、嚥下障害のスクリーニング検査を行って、誤嚥性肺炎の早期発見予防につなげることが望まれる。

### 高齢者の嚥下障害

一般に嚥下障害は脳血管障害の後遺症や口腔、

表1 加齢に伴う嚥下機能の低下原因と問題点 (文献2より引用・改変)

- ・認知症などによる注意力・集中力の低下, 全身体力・免疫力の低下
- ・失認, 嚥下失行による捕食, 咀嚼の障害
- ・歯牙欠損・義歯不適合による咀嚼の障害
- ・口腔での食塊保持力の低下
- ・喉頭の解剖学的下降による, 嚥下反射時の喉頭挙上距離の延長
- ・無症候性脳血管障害の存在
- ・唾液の性状, 量の変化
- ・粘膜の知覚, 味覚の低下
- ・安静時の喉頭の低位および嚥下反射時の喉頭挙上距離の増大
- ・嚥下反射の遅れ
- ・咳反射の低下

咽頭, 食道などの腫瘍, 形態の異常などが原因であることが多い。高齢者では加齢に伴って軽度ではあるが, 嚥下反射の低下がみられる<sup>1)</sup>。

運動機能や感覚を低下させる疾患, 認知機能低下, 歯牙欠損, また嚥下機能に直接影響しない疾患により全身状態が悪化したり, 日常生活機能が低下した場合に嚥下障害を発症することがある。高齢者は嚥下障害を自覚し, 医療機関を受診するのではなく, むせなどの誤嚥の状態が他覚的にはっきりしない状態(不顕性誤嚥)で, 誤嚥性肺炎を発症後に嚥下障害が発見されるケースが多い。嚥下障害の合併症は肺炎だけではなく, 意欲の低下, 脱水, 栄養状態の悪化を招き, ますます嚥下が悪化するという悪循環に陥る可能性が高齢者の場合特に高いため, 適切な対応が必要となる。

### 高齢者の肺炎

後期高齢者は, 中年(60歳未満)に比べ肺炎の発症は6倍以上であることが多くの文献によって示されている。特に入所高齢者は, 在宅高齢者に比べ30倍の発症率であるとされている。

嚥下性肺疾患研究班による入院症例で肺炎が認められた症例における分析では(Unpublished data), 市中肺炎(肺炎で入院となったもの)430例のうち59.5%が誤嚥性肺炎で, 院内肺炎145例に至っては, 86.8%が誤嚥性肺炎であった。

このように, 高齢者肺炎では, 誤嚥性肺炎診断と予防が最も重要となる。

### 嚥下障害の原因

嚥下障害は脳血管障害によって生じる嚥下運動

の機能的障害が大多数で, 非覚醒時には嚥下反射が低下するため, 高齢者に好んで処方される向精神薬, 睡眠薬などの薬剤性嚥下障害も少なくない。

少数例には, 腫瘍等によって生じる器質的嚥下障害, また心理的原因によるものなどさまざまな原因がある。加齢に伴う嚥下機能低下の原因と問題点を表1に示す。

高齢者の特徴として, ①上記の複数の原因が関与していること, ②先行期(認知期)で食物および食事の行為自体が認知できないことが挙げられる。

### 嚥下障害の評価

嚥下障害の評価は食べさせるための嚥下機能の評価と, 誤嚥性肺炎の可能性を診断する検査に大別され, 誤嚥性肺炎を起こす主要な原因である不顕性誤嚥を関知できる検査が最も重要である。

#### 1. 食べさせるための嚥下機能の評価

高齢者が, むせたり咳払いをしながら食事をしている場面に遭遇するが, それはすでに何らかの嚥下障害を有しているサインであると考えられる。この段階では本人がうまく代償しているため, 周りの人間は気付かないか, 仮に本人が嚥下障害を訴えたとしても代償できていれば問題にされず, 医療機関への相談をすることは少ない。むせのほとんどない不顕性誤嚥の場合は肺炎を発症して初めて嚥下障害を認識される。

嚥下障害の評価はまず問診から始まる。症状(どのような食物で, どれくらいむせるかなど), 病歴(脳血管障害, 誤嚥性肺炎, 認知症, 脱水症など), ADL(食事行為以外の生活運動能力など),



表2 高齢者の嚥下障害を疑う主な症状 (文献2より引用・改変)

むせ	どういう食品を食べた時むせるか
咳	食事中, 食後の咳, 夜間の咳の有無
痰の性状, 量	痰がらみはないか, 量は増えていないか
咽頭異常感, 食物残留感	部位はどこか
嚥下困難感	食物による差異はあるか
声	食後に声の変化はないか, がらがら声ではないか
食欲低下	ムセたり苦しいから食べないなど嚥下障害が原因のことがある
食事内容の変化	飲み込みやすい物だけを選んでいないか
食事時間の延長	口の中にいつまでも食べ物ためている, なかなか飲み込めない
食べ方の変化	上を向いて食べる, 汁物と交互に食べる, 口からこぼれる
食事時の疲労	食事に伴う低酸素血症はないか
口腔内の汚れ	ひどい歯垢, 食物残渣, 口臭

服薬状況 (服薬によるむせや, 服薬している薬自体で誤嚥を起こしている可能性など) の聴取のほかに, 嚥下障害を疑うべき主な症状 (表2) を理解しておくことが必要である。

嚥下評価の前段階の基本的な診察および検査として, 身体所見, 神経学的所見, 一般採血検査, 胸部 X 線検査などを行い肺炎の有無, 脱水の有無, 栄養状態のチェックを行う。

神経学的検査のポイントとしては認知症の有無, 四肢・体幹の安定性, 頸部の筋力・筋緊張, 関節可動域, 舌の動き, 軟口蓋挙上, 咽頭反射, 嚥下反射, 咳反射の確認である。

これらの診察・検査の後, 嚥下評価を行う。

近年では鼻咽腔喉頭ファイバースコープを用いた嚥下内視鏡検査が一般的になりつつある<sup>4)</sup>。VE

はファイバースコープを用いて嚥下器官, 食塊の動きなどを直接観察する方法である (ただし口腔期や嚥下反射中は観察できない)。被曝の危険性がなくベッドサイドで実施可能であり, 実際の食事場面での検査が可能であることなどが特長である。

## 2. 誤嚥性肺炎の検査

多くの検査が提唱されているが (表3), パルスオキシメーターは変動が誤嚥以外の要素で起きるため信頼性がなく, 頸部聴診法は水飲みテストの一部であり, 嚥下前後のバリウム検査は危険が多く, 可能対象が少数と現実的でない。食物テストは食形態による嚥下能力をみているだけで不顕性誤嚥の検査ではない。内視鏡は少数例にしか試行できていない。実際の医療現場で可能性の検査

表3 主な嚥下機能評価テスト, モニター (文献2より改変)

名称	方法
1) 反復唾液嚥下テスト	空嚥下を 30 秒間繰り返し何回できるか測定する
2) 水飲みテスト 改訂水飲みテスト	10ml の水を一気に嚥下。ムセずに飲めれば正常 冷水 3ml を嚥下させる
3) 2 段階嚥下誘発テスト (SSPT)	鼻腔から 8Fr 以下のチューブで中咽頭に 0.4 または 2ml の水 (5%ブドウ糖) を注入し嚥下反射までの時間を測定
4) 嚥下造影 (videofluorography; VF)	バリウムを混ぜた食物, 飲料の嚥下を X 線透視撮影し, ビデオに記録する
5) 頸部聴診法	通常の頸部の聴診, 嚥下前後の吸音変化を聴取
6) パルスオキシメーター	摂食場面での酸素飽和度のモニターとして使用
7) 嚥下前後 X 線撮影	50%のバリウム液を嚥下し前後で単純 X 線撮影を行い, 誤嚥, 残留をみる
8) 食物テスト	小さじスプーン 1 杯のプリンを摂食, 30 秒間観察する
9) 嚥下内視鏡検査 (videoendoscopy; VE)	喉頭内視鏡下で食物の嚥下を観察する

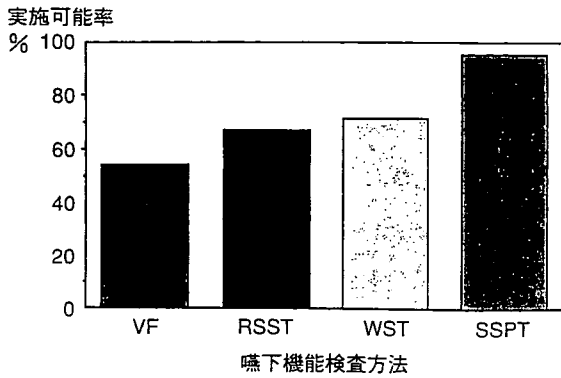


図1 120例の嚥下障害症例に対する各種嚥下機能検査の実施可能率  
(寺本信嗣：長寿科学研究報告，2001年)

は表3の1)～4)に絞られる。

これらの検査の意義を評価する前に、検査の実施可能率を勘案する必要がある。

皮肉なことに検査実施不可能症例は、嚥下機能低下がないのではなく、より重症な嚥下障害が併存する可能性の高い、進行した認知症、ADLの低下した重度の麻痺や廃用症候群の症例が多い(図1)。

日常、外来・ベッドサイドで行うスクリーニング方法としては、反復唾液嚥下テスト、水飲みテストは極めて簡便であり有用である。しかしながら認知機能、意識状態の低下により指示が入らないことや唾液分泌の低下もあり施行できない可能性がある。反復唾液嚥下テストまたは嚥下誘発試験と、認知能(HDS-R)・言語コミュニケーション能力(MCT)との関係を調べた研究では、反復唾液嚥下テストまたは嚥下誘発試験での異常群は認知能・言語コミュニケーション能力の低下を有意に示していた。反復唾液嚥下テストの施行不可能群では施行可能群に比べ有意に認知機能の低下が認められた。また嚥下誘発試験でのむせのある群では有意に認知機能の低下が認められた<sup>3)</sup>。以上のように高齢者においては認知機能による反復唾液嚥下検査の限界が示されている。水飲みテストは反復唾液嚥下テストより、誤嚥性肺炎の検出の感度が低く、今後不要になっていくだろう。嚥下造影(videofluorography; VF)は摂食・嚥下機能の詳細な情報を得られる検査法として重要視されている。X線透視下で造影剤を飲み込んでも

表4 誤嚥性肺炎のリスクの診断

	SSPT*	水飲み試験	VF**	RSST*
感度	76.4～100%	71.4～72.0%	100%	100%
特異度	83.3～100%	70.3～70.8%	69.3%	57.0%

\* Simple Swallowing Provocatoion Test ; SSPT  
Teramoto et al. Lancet 1999 (n=48, pneumonia=24)  
\*\* 長寿科学研究報告書 (n=52, pneumonia=26)  
\* 今回の検討 (n=22, pneumonia=8)

らうことで、口腔、咽頭、食道の動き、形態を観察でき、嚥下障害の原因や障害部位を視覚的に確認することができる。覚醒時の不顕性誤嚥の検出には有用で、摂食訓練の検査としては、様々な食形態(固形、半固形、液体)の食品に造影剤を混ぜることにより、どのような食物が嚥下でき、どのような食物が嚥下できないかも判定可能で、その患者に最適な食形態を決定することができる。しかしながら、非覚醒時の不顕性誤嚥は検出できず、誤嚥性肺炎の検出に関し、感度は高いが、特異度は低い(表4)。

このような欠点を克服した検査で、ベッドサイドスクリーニングで嚥下反射自体の機能を見るには嚥下誘発テストが有用である(寺本, Lancet)。嚥下誘発テストは、意識状態にかかわらず行うことができ、0.4 mlで嚥下反射が起きれば誤嚥性肺炎のリスクは低く、2 mlで反射が起きなければ、誤嚥性肺炎のリスクが高いため、当面経口摂取は延期せざるを得ない。嚥下誘発テストも集団のスクリーニングには不適であり、現実的には、感度の高い反復唾液嚥下テストを行い、陽性例に嚥下誘発テストを行うのが好ましい(表5)。

表5 RSST異常をスクリーニングに使用して、SSPTを行う方法

誤嚥性肺炎を起こす可能性が高い症例
SSPT 2ml 異常
1) IVH >> PEG > NG tube
2) 全身および嚥下リハビリテーション
3) 嚥下機能検査で改善がみられる
4) 摂食訓練
誤嚥性肺炎を起こす可能性が少ない症例
SSPT 0.4 ml 正常
1) 全身および嚥下リハビリテーション
2) 摂食訓練

## 誤嚥の予防

以前高齢者の肺炎は特に冬季に多い傾向が認められた。しかしながら最近では年間を通じ高齢者の肺炎による入院が増加しており、嚥下性肺疾患研究会の調査では、市中肺炎中の6割は誤嚥性肺炎であるとされている。

予防においてはまず、患者の全身状態（脱水の有無や栄養状態を含む）および認知機能、意識状態の評価を行い、その上で嚥下機能と誤嚥リスクを正確に評価することが重要である。

### 1. 口腔ケア

口腔内・咽頭の残留物を除去し、清潔を保つことは、誤嚥性肺炎の発症30%以上減らす<sup>5)</sup>。絶食中であっても、唾液の分泌が低下して口腔内が乾燥し、むしろ雑菌の繁殖につながるため、口腔ケアは必要である。また、口腔ケアによる刺激が、嚥下反射や咳反射の改善につながる。

### 2. 摂食方法の改善,良好な栄養状態の維持

各種スクリーニングテストや嚥下造影検査の結果、最も安全な形態の食事を、最も安全な体位で、介助が必要であれば介助しながら摂取する。食後も胃食道逆流予防のため、60分以上座位保持をとることにより誤嚥性肺炎を減少できる。低栄養は誤嚥のリスクとなるため、経口摂取困難であったり、誤嚥が必発な場合は、栄養状態改善・維持のため、代替栄養摂取法として、中心静脈栄養、経鼻胃管栄養、胃瘻栄養を行う。

### 3. 薬物治療

誤嚥の原因となる薬剤（向精神薬、睡眠薬など）を可能な限り中止または減量する。高齢者の不眠症や認知症に伴う問題行動に対して処方する際には、用量に対しての効果を確認しつつ調節し、過剰な投与は避けたい。一方で誤嚥性肺炎を予防する効果のある薬剤の報告が多くあり、嚥下反射や咳反射を促進させるサブスタンスPを上昇に関与する薬剤としてACE阻害薬<sup>7)</sup>、ドーパミン遊離作用のある塩酸アマンタジン<sup>8)</sup>等が挙げられており、これらの薬剤は相乗効果も報告されている。

誤嚥の根本的な原因として大脳基底核の虚血病

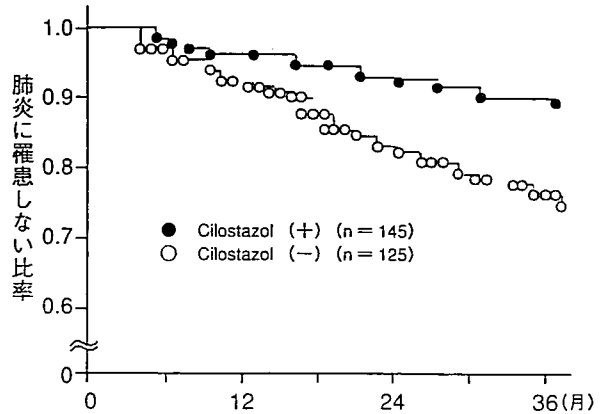


図2 抗血小板薬による肺炎予防  
(Yamaya, et al : JAGS, 2001)

変があり、ラクナ梗塞の予防薬剤のシロスタゾールは肺炎減少効果がある (Yamaya, 2001) (図2)。

### 4. 義歯

義歯の装着状態が良好であることは、嚥下しやすい良好な咀嚼・食塊形成につながり、また嚥み合わせが良好であることは下顎を安定させ、嚥下運動を安定化させる。したがって、装着良好な義歯であれば、絶食中であっても日中は義歯を装着しておくことが望ましい<sup>6)</sup>。もちろん、義歯の衛生管理も重要である。

### 5. 嚥下訓練

絶食中の場合は間接訓練より開始する。感覚向上訓練としては、口腔ケアそのものによる口腔内刺激、のどのアイスマッサージがあり、嚥下各器官の運動訓練として口腔運動、頸部持続屈曲運動などがある。嚥下反射の改善があれば、実際の食品を用いた嚥下訓練を開始する。残念ながら本邦ではRCTの誤嚥性肺炎予防効果は報告されていない。

## 摂食・嚥下と誤嚥性肺炎の距離

不顕性誤嚥が、誤嚥性肺炎の最も重要な原因である証拠に、IVH中でも、胃瘻造設者でも誤嚥性肺炎は起き、口腔清拭によって30%以上肺炎が減少する成績をあげられる。

即ち、非覚醒期にも行える検査が、誤嚥性肺炎の検査として最も優れており、単に食べさせるための摂食・嚥下検査と大きく異なる。その意味で

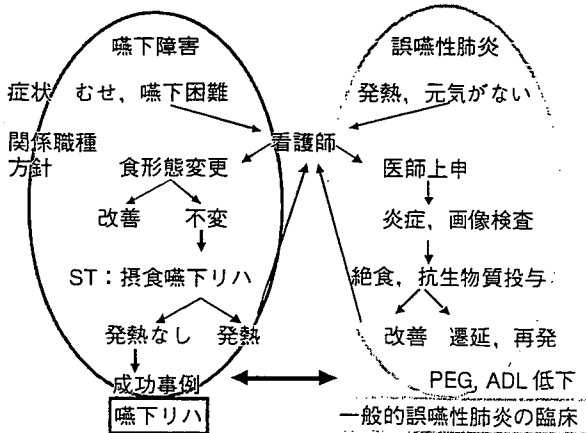


図3 一般的誤嚥性肺炎の臨床

- 323-327
- 4) 小口和代: 高齢者の嚥下障害. J Clin Rehabil 2004; 13: 538-544
  - 5) 植田耕一郎: 口腔ケアの理論的根拠と実践. J Clin Rehabil 2005; 14: 418-423
  - 6) 藤谷順子ら: 誤嚥性肺炎から経口摂取へのアプローチ. 看護学雑誌 2005; 69: 882-892
  - 7) Nakayama K, et al: ACE inhibitor and swallowing reflex. Chest 1998; 113: 1425
  - 8) Nakagawa T, et al: Amantadine and pneumonia. Lancet 1999; 353: 1157

ほんやりしていても施行可能な SSPT は優れている。

摂食・嚥下リハは、多くは回復期に行われているため、機能の自然回復をリハ効果と判断することも反省材料であろう。

摂食・嚥下リハの課題は、1) 不顕性誤嚥の減少、2) 誤嚥性肺炎の予防効果につきる。

日本リハ医学会で摂食・嚥下に関わる会員の多さを考えれば、RCTによる本邦からの情報発信も遠くないことを願っている。このためには、不顕性誤嚥が最も問題となる夜間対策として、口腔ケアも夕食後に必ず行うことが求められ、言語聴覚士 (ST) の勤務シフトも現実問題となろう。

本講演により、今まで誤嚥性肺炎は医師、摂食リハはりハ職種と、相互の興味や交流が少なかった状態 (図3) が少しでも改善され、看護職が中核となって、嚥下障害と誤嚥性肺炎の臨床の距離が近くなることを祈っている。

本稿は第43回日本リハビリテーション医学会学術集会シンポジウム「より質の高い摂食・嚥下リハビリテーションを目指して—他科医からの提言—」の講演をまとめたものである。

## 文 献

- 1) 寺本信嗣: 嚥下反射の加齢変化の検討. 日本胸部臨床 2002; 61: 58-63
- 2) 聖隷三方原病院嚥下チーム: 嚥下障害ポケットマニュアル. 医歯薬出版, 東京, 2001
- 3) 馬場 幸ら: 痴呆高齢者に対する嚥下障害のスクリーニング方法の検討. 日本老年医学会雑誌 2005; 42: