

# 福祉サービスの利用を契機に精神症状の改善がみられた独居高齢スモン症例を経験して：一人暮らしをしているスモン患者の実態調査

高田 博仁（国立病院機構青森病院神経内科）

大平 香織（国立病院機構青森病院地域医療連携室）

橋本 修二（藤田保健衛生大学医学部衛生学教室）

## 研究要旨

配偶者との死別と脳梗塞発症から抑うつ状態に陥るも、サービスの利用を契機に精神症状の改善を認めた独居高齢スモン症例を経験した。高齢化・重症化の進むスモン療養生活上、“一人暮らし”は、重要な因子の一つではないかと考え、全国のデータベースから、一人暮らしスモン患者の実態調査を試みた。

## A. 研究目的

配偶者との死別と脳梗塞発症から抑うつ状態に陥るも、サービスの利用を契機に精神症状の改善を認めた独居高齢スモン症例を経験した。他方、この症例より運動機能障害が重くても、家族とともに暮らし、安定した療養生活を送っている高齢スモン症例もいる。こうした事例から、高齢化・重症化の進むスモン療養生活上、“一人暮らし”は、大きな影響を与える因子の一つになっているのではないかと推測する。今回の研究目的は、“一人暮らし”をしているスモン患者の療養生活状況を明らかにすることである。

症例1：症例は82歳、女性。平成15年検診時点で独歩、感覚障害・視力障害は軽度、BarthelIndex 95/100点、日常生活自立。同年、唯一の同居者である夫と死別。翌年、脳梗塞発症、軽い左不全片麻痺を残存、杖歩行。平成17・18年の検診不参加。平成19年には自宅に訪問、杖歩行＋手押し車歩行でBarthelIndex 95点、娘の週1回の訪問あり独り暮らしの状態、精神徴候として抑鬱状態が疑われた。平成20年度の自宅訪問検診では、著しい外見上の変化があり、仮面様顔貌、動作も遅く、声に抑揚なし。室内伝い歩き、廊下・屋外手押し車歩行、BarthelIndex 85点、娘の訪問は変わらないものの、ほとんど外出することなく、家に閉じこもり切り、強い抑鬱状態に加え、

部屋の中に水を詰めた大量の瓶やペットボトルを放置、赤ちゃんの人形をソファにおいてそのそばで寝起きする等の異常行動が疑われた。MMSE 19/30点。ところが、同年より、サービスを積極的に利用、平成21年度の自宅訪問時には、見違えるように、明るい表情がみられ、声に抑揚も有り、安定したメリハリのある動作をしていた。BarthelIndex 85点。大量にあった瓶やペットボトルや人形は片付けられ、会話の内容も辻褄の合うしっかりしたものとなっていた。

症例2：症例は77歳、男性。毎年、検診を欠かさず受診、運動機能には著変ないが、独歩不能、車イス生活、BarthelIndex 55点、日常生活の多くに介助を要する状態。主たる介護者である配偶者と息子夫婦、孫に囲まれて生活、いつも明るい表情をしており、生活に強い不安や不満は感じていない。

以上の自験例から、高齢化や合併症等による重症化が進むスモン患者にとって、生活背景は重要な因子と考える。

## B. 研究方法

「スモンに関する調査研究班」全国データベースより、データ利用に関する同意のあった2009年度受診者867人を対象として、スモン現状調査個人票（以下、調査票）を基に“一人暮らし”のスモン患者の数・性・

障害度・日常生活動作・精神徴候・満足度・福祉サービスの利用状況について調べた。

(倫理面への配慮)

今回の検討において、症例紹介に関しては、提示症例より報告の承諾が得られた上で、年齢と性別のみを提示する様式を取り、データベース調査においては、全体の数値のみのデータ提供に限られ、個人の特定ができない形でのデータ処理を行う方式を採用した。

### C. 研究結果

一人暮らしをしているスモン患者は 207/867 名、全体の 23.9%にのぼり、性別では女性が 83.6%を占めた(男性 16.4%)。年代別にみると、70代が 39.6%と最多であり、80歳以上の割合は女性で 39.9%・男性で 29.4%にのぼった。診察時の障害度(調査票 Bz)は「中等度」が 44.3%と最も多かったが、「極めて重度」3.5%、「重度」24.4%と重症例も存在した。Barthel-Index は、20.9%の例が 100/100であったが、80/100以下の例が 39.8%存在した。精神徴候については、調査票 Y-B 項目中「++」乃至は「+」が、「不安・焦燥」で 29.3%、「心氣的」18.6%、「抑うつ」23.0%、「記憶力の低下」30.9%、「痴呆」7.8%にみられた。満足度に関しては、調査票 D-d 項目中、「満足・どちらか」というと満足」が 37.4%あった一方、「どちらか」というと不満足・まったく不満足」が 27.7%あった。介護保険の利用状況については、調査票 L 項目中、「利用している」あるいは「利用したことがある」と回答した例は、最も多かった“訪問介護”で 44.9%であり、他は、“訪問看護”10.2%、“訪問リハビリ”8.5%、“通所介護”13.8%、“通所リハビリ”6.5%、“訪問入浴”4.3%、“短期入所”4.3%、“居宅介護支援”28.0%、“福祉用具貸与”24.5%、“在宅改修”22.5%、“介護老人福祉施設”4.4%、“介護老人保健施設”4.3%、“介護療養型医療施設”2.8%、“グループホーム”1.7%と低い数値を示した。

### D. 考察

今回の検討結果から、スモン患者の約 4 分の 1 が一人暮らしをしており、年代別の内訳をみると、70代が約 4 割を占め、80歳以上の割合は、女性で 4 割、

男性でも 3 割に至ることが明らかになった。性別については、一人暮らしをしているスモン患者の 8 割強が女性であった。これは、今回利用したデータベースでは、女性 627 名、男性 240 名と女性の割合が多かったという母集団の構成を反映した結果か、あるいは、直接的な全国データとの比較はできないものの、厚生労働省「2009 年国民生活基礎調査」によると、65 歳以上の高齢者世帯のうち独居高齢者の割合は 48.1% (女性が 34.8%、男性が 13.4%) であったことから、全国的な高齢者を取り巻く環境を反映している結果なのかは断定できない。が、何れ、少なからぬ高齢のスモン患者が一人暮らしをしており、性別では女性の一人暮らしが圧倒的に多いことが判明したわけである。

診察時の障害度をみても、調査票 Bz に記されている「中等度」が 4 割以上を占め、BarthelIndex も高得点の例が多数であることがわかったが、同時に、「極めて重度」乃至は「重度」と記された例が 3 割近く存在すること、BarthelIndex が 80/100 以下であった例が 4 割程存在することも明らかになった。自分一人で、日常生活動作を遂行することのできない患者が、少なからず一人暮らしをしていることを示唆するものである。

今回の検討では、精神徴候や満足度と障害度、福祉サービスとの関わりを調べることはできなかったが、不安や焦燥、心氣的症状や抑うつ症状を有する患者が 2~3 割程存在し、生活に不満足を感じる患者が 3 割弱いることが明らかになった。今後、一人暮らしの与える影響を調べるためには、精神症状や生活の満足度と障害の程度や合併症の内容、福祉サービスの利用状況との関連性まで立ち入った調査が必要であろう。

今回、福祉サービスの利用状況に関しては、調査内容が複雑で個々の事例調査まで踏み込む可能性があり得たことと研究の重複等を避けるため、介護保険の利用状況についての調査に留まった。障害度が中等度以下を示す比較的軽症の患者が多かったことに関連するのか、訪問介護の利用経験者は全体の半分近くにのぼったが、訪問看護、通所介護、訪問入浴等、他のサービスの利用率は高くなかった。とりわけ、訪問リハビリ、通所リハビリといったリハビリ関係の利用率は 1 割にも満たなかった。また、施設やグループホームの利用

率も極めて低く、これらの全てを合わせても重症一人暮らし患者の占める割合に満たない程度の少ない数しか利用されていないことが示唆された。総じて、福祉サービス全体の利用率は、一人暮らしという背景を考慮した場合、高いものとはいえない状況であることが判明した。

本検討結果から、一人暮らしをしているスモン患者の療養状況についての概略を知ることができたが、実際に、一人暮らしが、療養生活上、どのような影響を与えているかを明らかにするまでには至らなかった。今後、一人暮らしという因子とスモン療養生活との関連性を調査するために、家族と同居している患者との比較、障害度やQOL等の関連性を考慮した検討が必要と考えられる。また、スモン患者の療養生活への関わりに関し、高齢化および合併症を含めた重症化についての注意を払うとともに、一人暮らしという背景に着目しつつ、状況によっては、介入や支援を行うことが可能となるような体制の構築を考慮すべきであろう。

#### E. 結論

少なからぬ高齢者例や重症例を含むスモン患者が一人暮らしによる療養生活を送っていること、一方で福祉サービスの利用率は必ずしも高くないことが明らかになった。スモン患者の療養生活上、一人暮らしが与える影響に関する調査を進めるとともに、独居例に対する注意深い観察と支援が可能な体制を構築する必要があると考えられた。

#### G. 研究発表

1. 論文発表：未定
2. 学会発表：
  - ・平成23年度国立病院総合医学会発表予定

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

特記すべきことなし

#### I. 文献

- 1) 厚生労働省：平成21年国民生活基礎調査の概況  
(web公開資料)

# Clioquinol による細胞傷害の検討

豊島 至 (秋田大学医学部医学教育部)

和田 千鶴 (秋田大学医学部医学教育部)

## 研究要旨

Clioquinol は Cu/Zn 選択的キレート作用を持ち、この作用を利用して近年さまざまな治療に用いられようとしている。今回は、神経系細胞に対しての毒性作用について培養細胞を利用して検討した。

PC12、SHSY-5Y、Neuro2a 細胞を培養して Clioquinol を 1-100  $\mu$ M を添加し、1-4 日観察した。また、細胞核を Syto16、Sytox red で染色し生/死細胞数を検討した。

PC12、SHSY-5Y、Neuro2a は Clioquinol が 30  $\mu$ M 以上で強い細胞傷害を生じた。傷害細胞では核の分断化が見られ apoptosis の関与が示された。20  $\mu$ M では緩徐に細胞障害が生じた。10  $\mu$ M 以下では対照に比して有意の変化はなかった。

傷害機序を細胞内小器官のよく見える Cos7 を用いて位相差顕微鏡/ビデオで検討した。50  $\mu$ M Clioquinol 添加で急性期の変化を経時的に観察すると、細胞内の変化が生じる前に細胞が培養面から剥脱するのが観察された。Anoikis の関与が示された。20  $\mu$ M Clioquinol 添加で Cos7 を観察すると核は健全であるのに核周囲に小胞が集簇し周辺からは細胞小器官が失われ、細胞内運動が消失しているのが見られた。やや遅い傷害機序として微小管系細胞内運動障害の関与が示唆された。SHSY-5Y では 50  $\mu$ M Clioquinol 添加でフィロポディアの運動は障害されないことが示された。これはアクチン系運動系は早期に障害されないことを示している。

Clioquinol の培養細胞に対する傷害効果は、細胞の種類によらず 20  $\mu$ M 程度以上で生じることが確認された。傷害機序としては anoikis、微小管輸送系障害の関与が示唆された。

## A. 研究目的

Clioquinol は 2 員環で Cl と I の 2 個のハロゲンを持つ化合物で、Cu と Zn に対して選択的キレート作用を持つ。この作用を利用して近年さまざまな治療に用いられようとしている。アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病に対して神経変性過程の改善が期待されている<sup>1,2,3)</sup>。また一方、細胞傷害作用を利用して抗腫瘍薬として開発がすすめられ、イオノフォアとしての作用にも注目されている<sup>4,5)</sup>。

これらの検討において Clioquinol の使用量が、かつて SMON を発症した用量に近接していることから、中毒量についての注意深い検討も必要であることは自

明のことと思われる。細胞障害の作用機序が十分明らかでないこともあり、今回は、神経系細胞に対しての毒性作用の解析の端緒として、培養細胞を利用して中毒濃度とその作用について、形態的に検討した。

## B. 研究方法

PC12、SHSY-5Y、Neuro2a 細胞を 400-1500/mm<sup>2</sup> の密度で semiconfluent に培養して Clioquinol 1-100  $\mu$ M を添加し、1-4 日観察した。また、3 日後に細胞核を Syto16、Sytox red で染色し生/死細胞数をかぞえた。Clioquinol 濃度と単位面積当たりの細胞数をプロットし多項式近似を行い、対照の半数となる Clioquinol 濃度

を求めた。

鶏胚から Schwann 細胞を得て継代培養し同様の検討をした。また、Cos7 細胞で細胞内小器官の観察をした。

### C. 研究結果

PC12、SHSY5-Y、Neuro2a は Clioquinol が  $30 \mu\text{M}$  以上で強い細胞傷害が生じた (図 1)。傷害細胞では核の分断化が見られ apoptosis の関与が示された。  $20 \mu\text{M}$  では緩徐に細胞障害が生じた。SHSY5-Y、Neuro2a の  $10 \mu\text{M}$  以下では対照に比して有意の変化はなかった。PC12 では細胞数の減少を見た。対照の半数となる Clioquinol 濃度は、PC12、SHSY-5Y、Neuro2a でそれぞれ、12, 17,  $30 \mu\text{M}$  であった。

傷害機序を細胞内小器官のよく見える Cos7 を用いて位相差顕微鏡/ビデオで検討した。  $50 \mu\text{M}$  Clioquinol 添加で急性期の変化を経時的に観察すると、細胞内の変化が生じる前に細胞が培養面から剥脱するのが観察された (図 2)。Anoikis の関与が示された。一部の残存細胞を観察すると核は健全であるのに核周囲に小胞が集

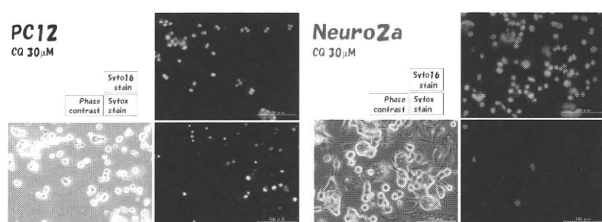


図 1 PC12 と Neuro2a の Clioquinol による細胞傷害 (位相差、蛍光顕微鏡像)

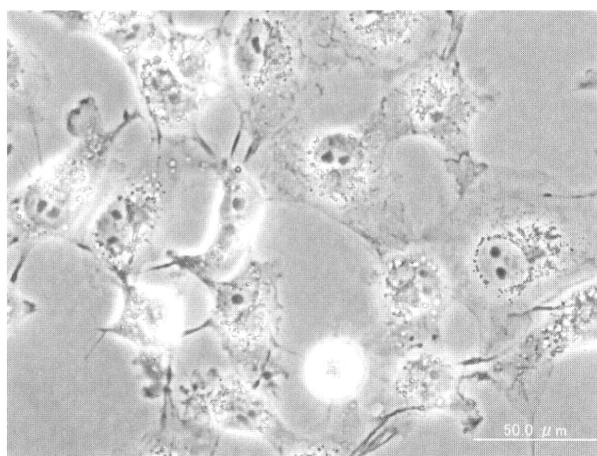


図 2 Clioquinol による Cos7 細胞傷害 (位相差顕微鏡像)

簇し周辺からは細胞小器官が失われ、細胞内運動が消失しているのが見られた。やや遅い傷害機序として微小管系細胞内運動障害の関与が示唆された。

SHSY5-Y を位相差顕微鏡/ビデオで検討した。  $50 \mu\text{M}$  Clioquinol 添加でフィロポディアの運動は障害されることが示された (図 3)。これはアクチン系運動系は早期に障害されないことを示している。

### D. 考察

Clioquinol は Cu/Zn 選択的キレート作用を持ち、このキレート作用に注目してアルツハイマー病の治療が試みられている。マウスモデルでは 1 日量が  $40\text{mg/kg}$  で行われたが、ヒトでは  $250\text{-}750\text{mg/日}$  で行われた。見るべき神経副作用はなかったとされる。SMON では 1 日量が  $750\text{-}1500\text{mg}$  で 2 週間連続投与で VB12 欠乏症と同様の病変をきたすが、これは VB12 投与により予防できるという考え方がある。投与量が重なっていることはすでに指摘された<sup>6)</sup>。

また、Clioquinol の細胞傷害が抗腫瘍薬として注目され、細胞種により発育阻止濃度が  $10 \mu\text{M}$  から  $40 \mu\text{M}$  と幅のあることが示された<sup>7)</sup>。これは今回の結果の  $12\text{-}30 \mu\text{M}$  が細胞傷害最少濃度であることと合致している。Zn イオン添加による著明な増強効果も示されているが、今回は軽度にとどまった。今後、再検討を要する。

### E. 結論

Clioquinol の培養細胞に対する傷害効果は、細胞の

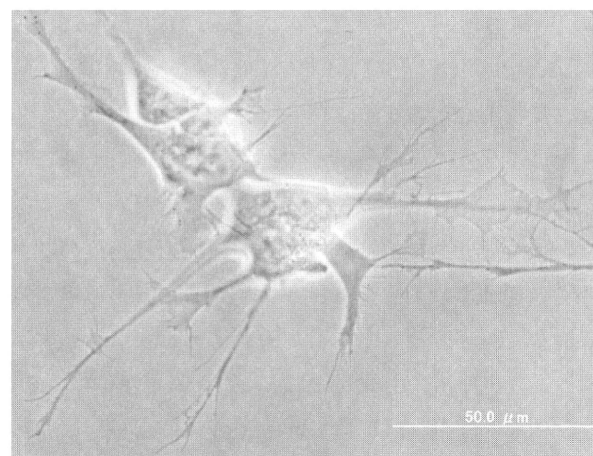


図 3 SHSY5-Y のフィロポディアに対する Clioquinol の影響 (位相差顕微鏡像)

種類によらず 20  $\mu$ M 程度以上で生じることが確認された。機序としては anoikis、微小管輸送系障害の関与が示唆された。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### I. 文献

- 1) Mancino AM, Hindo SS, Kochi A, Lim MH. Effects of clioquinol on metal-triggered amyloid-beta aggregation revisited. *Inorg Chem.* 2009; 48: 9596-8.
- 2) Nguyen T, Hamby A, Massa SM. Clioquinol down-regulates mutant huntingtin expression in vitro and mitigates pathology in a Huntington's disease mouse model. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102: 11840-5.
- 3) Kaur D, Yantiri F, Rajagopalan S, Kumar J, Mo JQ, Boonplueang R, Viswanath V, Jacobs R, Yang L, Beal MF, DiMonte D, Volitaskis I, Ellerby L, Cherny RA, Bush AI, Andersen JK. Genetic or pharmacological iron chelation prevents MPTP-induced neurotoxicity in vivo: a novel therapy for Parkinson's disease. *Neuron.* 2003; 37: 899-909.
- 4) Ding WQ, Liu B, Vaught JL, Yamauchi H, Lind SE. Anticancer activity of the antibiotic clioquinol. *Cancer Res.* 2005; 65: 3389-95.
- 5) Chen HL, Chang CY, Lee HT, Lin HH, Lu PJ, Yang CN, Shiau CW, Shaw AY. Synthesis and pharmacological exploitation of clioquinol-derived copper-binding apoptosis inducers triggering reactive oxygen species generation and MAPK pathway activation. *Bioorg Med Chem.* 2009; 17: 7239-47.
- 6) Cahoon L. The curious case of clioquinol. *Nat Med.* 2009; 15: 356-9.

## Clioquinol の神経細胞に対する影響－3

武藤多津郎（藤田保健衛生大学脳神経内科）  
朝倉 邦彦（藤田保健衛生大学脳神経内科）  
植田 晃広（藤田保健衛生大学脳神経内科）  
木澤真努香（藤田保健衛生大学脳神経内科）  
河村 直樹（藤田保健衛生大学脳神経内科）  
伊藤 信二（藤田保健衛生大学脳神経内科）  
福田 有（日本臓器株）

### 研究要旨

昨年度・一昨年度は clioquinol の分子レベルでの神経障害の機序を明らかにする目的で、培養神経系細胞を用いてその細胞に発現する NGF 受容体 Trk を介したシグナル伝達について検討した。その結果、50nM 濃度以上の clioquinol で濃度依存的に Trk の自己リン酸化の抑制が認められ、clioquinol による神経毒性は、NGF のシグナル伝達系を抑制することにより発現している可能性が示唆された。さらに clioquinol による神経死はアポトーシスによって起こることが示され、その神経毒性は生理的濃度の亜鉛により増強されることが示された。

今年度は SMON 後遺症症状である異常知覚に対して臨床の場で用いられているノイロトロピンに着目し、最近の我々の知見をもとに、clioquinol の神経毒性に対するノイロトロピンの神経保護作用の有無について培養神経細胞 SH-SY5Y を用いて検討した。clioquinol 濃度  $0.1 \mu\text{M}$ ～ $10 \mu\text{M}$  の濃度で培養すると、 $0.5 \mu\text{M}$ ～ $10 \mu\text{M}$  の間では濃度依存的に細胞死が認められた。clioquinol  $10 \mu\text{M}$  にノイロトロピン  $10 \text{ mNU/ml}$ ～ $1 \text{ NU/ml}$  を加えて SH-SY5Y を 24 時間培養すると、ノイロトロピンを加えない場合に比べて、約 20% と有意な細胞死の抑制が認められた。この細胞死抑制効果は、real time PCR による解析結果から、BDNF の発現を増加することによるものである可能性が示唆された。

### A. 研究目的

昨年度・一昨年度は、キノホルム（clioquinol）の分子レベルでの神経障害の機序を明らかにする目的で、培養神経系細胞を用いて神経系細胞の生存に必須な神経成長因子（NGF）とその受容体 Trk 機能に及ぼす影響を調べた結果、神経毒性は NGF による Trk の自己リン酸化反応を抑制することにより発現している可能性が示唆された（*Brain Res.* 2009）<sup>1)</sup>。さらに clioquinol による神経死はアポトーシスによって起こることが示され、その神経毒性は亜鉛により増強されることが示された。

一方、SMON 後遺症症状である異常知覚に対して、ノイロトロピン（ワクシニアウイルスを接種した家兎皮膚の炎症組織から抽出した非蛋白性成分）の有効性が示され、現在も臨床の場で用いられている<sup>2,3)</sup>。最近、我々はノイロトロピンが神経細胞からの brain-derived neurotrophic factor (BDNF) 発現を増加させ、アルツハイマー病モデルマウスの神経細胞死を抑制することを報告した（*Mol. Cell. Neurosci.*, 2010）<sup>4)</sup>。これをもとに、今年度は clioquinol の神経毒性に対するノイロトロピンの神経保護作用の有無について培養神経系細胞を用いて検討した。

## B. 研究方法

神経細胞株 SH-SY5Y に、clioquinol (0.1  $\mu$  M $\sim$ 10  $\mu$  M) を加えて、24 時間後の細胞死をトリパン・ブルー染色により定量した。SH-SY5Y に clioquinol (1 $\sim$ 10  $\mu$  M) と異なる濃度のノイロトロピン (1 mM ノイロトロピン単位 (NU)/ml $\sim$ 1 NU/ml) を加えて 24 時間から 48 時間培養した後、死細胞をトリパン・ブルー染色により定量した。また、各種培養条件下の細胞から total RNA を抽出し、oligo dT primer を用いて cDNA を作製し、real time PCR により BDNF mRNA の発現を GAPDH mRNA 発現量で補正して定量的に比較検討した。

昨年度・一昨年度用いた PC12 細胞についても、同様のノイロトロピンの神経保護作用に関する検討をトリパン・ブルー染色により行った。

## C. 研究結果

clioquinol 濃度 0.1  $\mu$  M $\sim$ 10  $\mu$  M の濃度で培養すると、0.5  $\mu$  M $\sim$ 10  $\mu$  M の間では濃度依存的に細胞死が認められ、10  $\mu$  M では培養 24 時間で約 50 $\sim$ 75% の細胞死が認められた。この結果をもとに、SH-SY5Y に 1  $\mu$  M, 5  $\mu$  M, 10  $\mu$  M の clioquinol と、異なる濃度のノイロトロピン (10 mNU/ml から 1 NU/ml) を加えて培養して 24 時間後の細胞死を調べた。その結果、clioquinol 10  $\mu$  M では、ノイロトロピン 50 mNU/ml $\sim$ 1 NU/ml で約 20% 細胞死が減少し、有意な細胞死抑制効果が認められた。

ノイロトロピンによるこの細胞死抑制効果の機序を検討するため、SH-SY5Y に 10  $\mu$  M の clioquinol と、異なる濃度のノイロトロピン (10 mNU/ml $\sim$ 1 NU/ml) を加えて培養し、24 時間後に各細胞における BDNF mRNA の発現を real time PCR で解析した。その結果ノイロトロピンを加えて培養すると、16 倍程度の BDNF mRNA の発現増加が認められた。一方、BDNF が発現しない PC12 細胞ではノイロトロピンのキノホルムによる神経障害に対する保護効果は観察されなかった。

## D. 考察

今年度は現在 SMON の治療に用いられるノイロトロピンの clioquinol による神経細胞障害の抑制作用について SH-SY5Y 神経細胞株を用いて検討した。

昨年度・一昨年度は clioquinol の分子レベルでの神経障害の機序を明らかにする目的で、培養神経系細胞を用いてその細胞に発現する NGF 受容体 Trk を介したシグナル伝達について検討した。その結果、50nM 濃度以上の clioquinol で濃度依存的に Trk の自己リン酸化の抑制が認められ、clioquinol による神経毒性は、神経細胞の生存・分化に必須の因子である NGF のシグナル伝達系を抑制することにより発現している可能性が示唆された。今年度の研究結果と考え合わせると、clioquinol の神経毒性および神経毒性緩和に関して NGF および BDNF などの神経栄養因子類が関与している可能性が示唆された。

SMON の原因物質である clioquinol は、亜鉛や銅などの重金属のキレート作用があり、この性質を利用して近年 Alzheimer 病に対する治療薬としての可能性が示されている<sup>5)</sup>。また、clioquinol には proteasome inhibitor としての作用もあり、癌に対する治療薬としての可能性も検討されている<sup>6)</sup>。今後幅広い疾患に応用される可能性のある clioquinol の神経毒性を抑えるためには、投与量の十分な検討が必要であることはもちろんであるが、ノイロトロピンなどとの薬剤と併用し、その神経毒性を軽減することが重要であると考えられた。

## E. 結論

clioquinol による神経細胞株 SH-SY5Y の細胞死は、ノイロトロピン投与により有意に減少することが示され、その機序として BDNF の発現増加によるものが示唆された。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Fukuda Y, Berry TL, Nelson M, Hunter CL, Fukuhara K, Imai H et al: Stimulated neuronal expression of brain-derived neurotrophic factor by Neurotrophin. *Mol. Cell. Neurosci.* 45: 226-233, 2010.

### 2. 学会発表

- 朝倉邦彦, 植田晃広, 上田真努香, 三原貴照, 伊藤信二, 武藤多津郎 Clioquinol の神経成長因子受容体を介した神経障害 第 51 回日本神経学会

総会，東京，2010年5月。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### I. 文献

- 1) Asakura K, Ueda A, Kawamura N, Ueda M, Mihara T, Mutoh T: Clioquinol inhibits NGF-induced Trk autophosphorylation and neurite outgrowth in PC12 cells. *Brain Res.* **1301**: 110-115, 2009
- 2) 祖父江逸郎，花籠良一，松本昭久，高橋昭，村上信之，西谷裕 他：SMON（subacute myelo-optico-neuropathy）後遺症症状に対するノイロトロピンの臨床評価 多施設二重盲検交差比較試験 医学のあゆみ **143**: 233-252, 1987.
- 3) 祖父江逸郎，田代邦雄，花籠良一，安藤一也，山田孝子，飯田光男 他：SMON（Subacute Myelo-optico-neuropathy）後遺症状の「冷感」および「しびれ感」を中心とする異常知覚に対するノイロトロピン®注射剤の臨床的有用性の検討 一多施設二重盲検比較試験— 臨床医薬 **8**: 833-851, 1992.
- 4) Fukuda Y, Berry TL, Nelson M, Hunter CL, Fukuhara K, Imai H et al: Stimulated neuronal expression of brain-derived neurotrophic factor by Neurotrophin. *Mol. Cell. Neurosci.* **45**: 226-233, 2010.
- 5) Hegde ML, Bharathi P, Venugopal C, Jagannathan R, Poddar P, Sambamurti K et al: Challenges associated with metal chelation therapy in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis.* **17**: 457-468, 2009.
- 6) Daniel KG, Chen D, Yan B, Dou QP: Copper-binding compounds as proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human cancer. *Front Biosci.* **12**: 135-144, 2007.

# キノホルムにより発現が低下する活性酸素産生酵素の下流シグナリングの解析

矢部 千尋（京都府立医科大学大学院医学研究科病態分子薬理学）

勝山 真人（京都府立医科大学大学院医学研究科中央研究室 RI センター RI 部門）

## 研究要旨

キノホルムによるスモン発症のメカニズムは未だ不明である。我々は DNA チップを用い、培養神経系細胞株においてキノホルムにより発現が変動する遺伝子を網羅的に解析した。さらにキノホルムにより発現が低下する活性酸素産生酵素 NOX4 を RNA 干渉により発現抑制すると、細胞増殖が抑制されることを見出した。NOX4 の下流シグナリングを解明する目的で、NOX4 の RNA 干渉により発現変動を示す遺伝子を網羅的に解析し、スモン発症への関与が考えられる遺伝子を探索した。

ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞を定法により培養した。NOX4 に対する siRNA を導入して 72 時間培養した細胞とコントロールの siRNA を導入した細胞から total RNA を調製し、東レ社のヒト全遺伝子型 DNA チップ 3D-Gene Human Oligo chip 25k を用いて解析を行った。

NOX4 に対する RNA 干渉により発現が 2 倍以上増加した遺伝子は 1293 個、0.5 倍以下に減少した遺伝子は 398 個であった。解析ソフト Cluster3.0 を用いたクラスター解析の結果、キノホルム処理と NOX4 に対する RNA 干渉のどちらにおいても発現が増加傾向を示した遺伝子は 271 個、減少傾向を示した遺伝子は 223 個であった。さらにどちらの処理においても発現が 2 倍以上増加した遺伝子は 169 個、0.5 倍以下に減少した遺伝子は 98 個であった。

網羅的解析により、キノホルムにより発現が低下する活性酸素産生酵素 NOX4 の下流で発現変動を示す遺伝子群が同定された。今後キノホルムによる細胞毒性に関与すると考えられる個々の遺伝子についてその発現変動の確認を行い、病態生理学的意義について解析を進める予定である。

## A. 研究目的

我が国で亜急性性脊髄視神経ニューロパチー（スモン）という重篤な薬害をもたらしたキノホルム（一般名：クリオキノール）は、主に銅と亜鉛に高い親和性を示す金属キレート剤であり、その腸内殺菌作用は菌体内の金属酵素の金属をキレートすることによると考えられていた。一方キノホルムによるスモン発症の原因についてはビタミン B<sub>12</sub> の低下によるとする説があるものの、確固たる証拠が得られないまま今日に至っている。

近年海外において、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン舞踏病といった神経変性疾患に対

する改善効果や制がん作用が注目され、キノホルム類縁化合物の医薬品としての価値が見直されている。特にアルツハイマー病に関してはオーストラリアで第 2 相試験が行われ、キノホルム類縁化合物によるアルツハイマー病のキレート療法は有望であるとの報告がなされている<sup>1)</sup>。アルツハイマー病の発症に関わるとされるアミロイドβ 蛋白の沈着には銅・亜鉛イオンが関与しており、キノホルム類縁化合物はそのキレート効果によってアミロイドβ 蛋白を可溶化することが示されている<sup>2)</sup>。一方キノホルム類縁化合物の制がん作用については、キレート剤としての作用よりもむしろ亜鉛イオンを細胞内に導入する「亜鉛イオノフォア」と

しての作用が寄与すると考えられている<sup>34)</sup>。キノホルムがキレート剤であるかイオノフォアであるかという議論については、「イオンを高濃度側から低濃度側へ運搬する作用」ということで共通点が見出されるが、神経毒性を示すか神経保護作用を示すかについては依然として相反する議論がなされている。

キノホルムの神経毒性に関与する分子についてはこれまであまり解明されていない。これまで我々は、DNAチップを用い、培養神経系細胞株においてキノホルムにより発現が変動する遺伝子を網羅的に解析した。さらにキノホルムにより発現が低下する活性酸素産生酵素 NOX4 を RNA 干渉により発現抑制すると、細胞増殖が抑制されることを見出した。NOX4 の下流シグナリングを解明する目的で、NOX4 の RNA 干渉により発現変動を示す遺伝子を網羅的に解析し、スモン発症への関与が考えられる遺伝子を探索した。

## B. 研究方法

### 【細胞培養】

ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞をハム F12:EMEM (EBSS) (1:1) 培地 (1% 非必須アミノ酸と 15% ウシ胎仔血清を添加) で培養した。

### 【NOX4 に対する RNA 干渉と RNA の単離】

ヒト NOX4 mRNA に対する siRNA をライフテクノロジー社から購入した。最終濃度 10 nM の siRNA をリポフェクション法により SH-SY5Y 細胞に導入し、72 時間培養した。対照群には市販の control siRNA を用いた。NOX4 mRNA に対する発現抑制効果を RT-PCR 法により確認した。QIAGEN 社の RNeasy Plus Mini Kit を用いて total RNA を抽出した。

### 【DNA チップ】

DNA チップは東レ社のヒト全遺伝子型 DNA チップ 3D-Gene Human Oligo chip 25k を用い、以下の操作は東レ社の受託解析により行った。単離した RNA の濃度と純度を確認した後、RNA 増幅を行った。増幅した RNA (10  $\mu$ g) を用い、CyDye 標識を行った。Control siRNA を導入した細胞の RNA は Cy5 で、anti NOX4 siRNA を導入した細胞の RNA は Cy3 で標識した。精製後、各 1  $\mu$ g を混和してチップへのハ

イブリダイゼーションを 37°C で 16 時間行った。チップを洗浄後、スキャナーで画像を取得し、数値化ソフトで数値化した。各チップの数値データからバックグラウンド値を減算した後、グローバルノーマライズ (Cy3/Cy5 ratio の中央値を 1 に調整) により正規化した。

### 【データ解析】

#### (1) 変動遺伝子の抽出

Anti NOX4 siRNA の導入により 2 倍以上発現が増加した遺伝子を UP Gene、1/2 以下に発現が減少した遺伝子を DOWN Gene として抽出した。

#### (2) キーワード指定による遺伝子の抽出

「神経毒性」や「金属」など、スモンやキノホルムに関係のありそうなキーワードを指定して遺伝子を抽出した。

#### (3) Pathway 解析

GeneMAPP (<http://www.genmapp.org/>) の MAPP-Finder を使用して、UP Gene あるいは DOWN Gene として抽出された遺伝子が多く含まれる Pathway をランキングした。Z-Score > 2 かつ抽出遺伝子が 2 以上、かつ Permute P < 0.01 である Pathway をピックアップした。

#### (4) Gene Ontology (GO) 頻度解析

UP Gene あるいは DOWN Gene で抽出した遺伝子の属する GO について、統計的な解析を行った。ピックアップした遺伝子で指定した GO を持つ遺伝子の数が 2 以上かつ全遺伝子で指定した GO を持つ遺伝子の数が 10 以上の GO についてスコアを算出した。Score ( $v$ ) > 0.2 かつ Z-Score ( $v$ ) > 2.0 となる GO をピックアップした。

#### (5) クラスタ解析

昨年度報告したキノホルム処理による遺伝子の発現変動と、NOX4 に対する RNA 干渉による発現変動を比較するため、解析ソフト Cluster3.0 を用いたクラスタ解析を行った。どちらかの比較でコントロールに対する変動が 2 以上あるいは 0.5 以下を示した遺伝子を抽出し、変動の傾向が似ている遺伝子群として 12 群に分割した。

C. 研究結果

【変動遺伝子の抽出】

UP Gene : Ratioの閾値を2倍に設定してSH-SY5Y (NOX4 siRNA) > SH-SY5Y (control siRNA) で変動した遺伝子を抽出したところ、1293 遺伝子が該当した。

DOWN Gene : Ratioの閾値を0.5倍に設定してSH-SY5Y (NOX4 siRNA) < SH-SY5Y (control siRNA) で変動した遺伝子を抽出したところ、398 遺伝子が該当した。

【キーワード指定による遺伝子の抽出】(表1)

【Pathway 解析】

UP Gene (表2) DOWN Gene (表3)

【GO 頻度解析】

UP Gene (表4) DOWN Gene (表5)

【クラスター解析】(表6)

①~③群に属する遺伝子を詳細に解析したところ、どちらの処理においても発現が2倍以上増加した遺伝子は169個であった。また⑩~⑫に属する遺伝子を解析したところ、どちらの処理においても発現が0.5倍以下に減少した遺伝子は98個であった。

D. 考察

ヒト神経芽細胞腫 SH-SY5Y 細胞を用い、NOX4 に対する RNA 干渉により発現変動を示す遺伝子を網羅的に解析した。約 25000 の遺伝子の中で、NOX4 に対する RNA 干渉により発現が2倍以上増加した遺伝子 (UP Gene) は1293個、0.5倍以下に減少した遺伝子 (DOWN Gene) は398個であった。これはキノホルム処理による発現変化 (UP Gene 2429個、DOWN

表 1

キーワード	抽出方法	ALL Gene	UP Gene	DOWN Gene	UP %	DOWN %
神経系	GO_biological_process=*Nerve* or *Neuro*	330	12	5	3.636%	1.515%
ストレス	GO_biological_process=*stress*	149	2	3	1.342%	2.013%
酸化ストレス	GO_biological_process=*oxidative stress*	65	0	1	0.000%	1.538%
Superoxide	GO_biological_process=*superoxide*	19	2	0	10.526%	0.000%
細胞周期	GO_biological_process=*cell cycle*	734	23	20	3.134%	2.725%
アポトーシス	GO_biological_process=*apoptosis*	634	20	13	3.155%	2.050%
炎症	GO_biological_process=*inflammatory*	223	11	2	4.933%	0.897%
Metal	GO_biological_process or GO_molecular_function=*metal*	2212	120	30	5.425%	1.356%
Iron	GO_biological_process or GO_molecular_function=*iron*	291	3	10	1.031%	3.436%
Copper	GO_biological_process or GO_molecular_function=*Copper*	66	6	2	9.091%	3.030%
Zinc	GO_biological_process or GO_molecular_function=*Zinc*	2235	132	32	5.906%	1.432%
Metallothionein	description=*Metallothionein*	14	0	0	0.000%	0.000%

表 2

MAPP Name	Number Changed	Number Measured	Number On MAPP	Percent Changed	Percent Present	Z Score	PermuteP	AdjustedP
Hs_Electron_Transport_Chain	19	105	105	18.09524	100	5.577	0	0.017
Hs_Ribosomal_Proteins	15	85	88	17.64706	96.59091	4.825	0	0.045
Hs_Monoamine_GPCRs	6	31	34	19.35484	91.17647	3.309	0.006	0.634

表 3

MAPP Name	Number Changed	Number Measured	Number On MAPP	Percent Changed	Percent Present	Z Score	PermuteP	AdjustedP
Hs_Glycolysis_and_Gluconeogenesis	6	42	44	14.28571	95.45454	3.524	0.006	0.555

表 4

GO_biological_process	ピックアップした遺伝子で指定したGOを持つ遺伝子の数	Score( C)	全遺伝子で指定したGOを持つ遺伝子の数	Score(v)	Z-Score(v)
GO:0006754-ATP biosynthetic process	3	0.002320186	10	0.3	4.523659112
GO:0007589-fluid secretion	3	0.002320186	12	0.25	3.53607613
GO:0030317-sperm motility	3	0.002320186	12	0.25	3.53607613
GO:0007162-negative regulation of cell adhesion	3	0.002320186	14	0.214285714	2.830659714
GO:0030101-natural killer cell activation	3	0.002320186	14	0.214285714	2.830659714

GO_molecular_function	ピックアップした遺伝子で指定したGOを持つ遺伝子の数	Score( C)	全遺伝子で指定したGOを持つ遺伝子の数	Score(v)	Z-Score(v)
GO:0003810-protein-glutamine gamma-glutamyltransferase activity	3	0.002320186	10	0.3	4.380159335
GO:0051087-chaperone binding	4	0.003093581	17	0.235294118	3.108754572
GO:0005234-glutamate-gated ion channel activity	4	0.003093581	18	0.222222222	2.851905125
GO:0005251-delayed rectifier potassium channel activity	3	0.002320186	14	0.214285714	2.695960818
GO:0004522-pancreatic ribonuclease activity	3	0.002320186	14	0.214285714	2.695960818
GO:0016209-antioxidant activity	2	0.00154679	10	0.2	2.415261065

表 5

GO_molecular_function	ピックアップした遺伝子で指定したGOを持つ遺伝子の数	Score( C)	全遺伝子で指定したGOを持つ遺伝子の数	Score(v)	Z-Score(v)
GO:0004579-dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycotransferase activity	2	0.005025126	10	0.2	3.733165028

表 6

群	clioquinol	NOX4 siRNA	遺伝子数
①	UP	UP	271
②		UP	261
③	UP		1250
④	UP	DOWN	577
⑤	UP	DOWN	108
⑥		UP	146
⑦	DOWN	UP	199
⑧	DOWN		960
⑨	DOWN	UP	435
⑩	DOWN		988
⑪	DOWN	DOWN	223
⑫		DOWN	88
全抽出遺伝子			5506

Gene 2727 個) に比して少なかった。

キーワードを指定して遺伝子の抽出を試みたが、キノホルム処理で UP Gene が多く見られた「アポトーシス」「炎症」「Copper」「Metallothionein」関連の遺

伝子群、およびキノホルム処理で DOWN Gene が多く見られた「細胞周期」関連の遺伝子群は、NOX4 に対する RNA 干渉では明確な発現変動を示さなかった。Pathway 解析の結果、UP Gene が多く含まれる Pathway は 3 経路、DOWN Gene が多く含まれる Pathway は 1 経路であり、キノホルム処理による Pathway の活性化と一致するものは存在しなかった。また GO 頻度解析においても、キノホルム処理による発現変化と一致するものは存在しなかった。

キノホルム処理によって顕著な発現増加を示したメタロチオネイン蛋白質群は、NOX4 由来の活性酸素種とは無関係に発現調節を受けているものと考えられる。

解析ソフト Cluster3.0 を用いたクラスター解析の結果、キノホルム処理と NOX4 に対する RNA 干渉のどちらにおいても発現が増加傾向を示した遺伝子は 271 個、減少傾向を示した遺伝子は 223 個であった。さらに詳細に解析したところ、どちらの処理においても発現が 2 倍以上増加した遺伝子は 169 個、1/2 以下に減

少しした遺伝子は 98 個であった。これらの遺伝子の発現変化は、キノホルム処理による NOX4 の発現低下を介して引き起こされると考えられる。

どちらの処理においても発現が増加した遺伝子を詳細に解析すると、ミトコンドリア呼吸鎖の複合体 I を構成する蛋白の遺伝子で、ミトコンドリア DNA にコードされる 7 遺伝子のうちの 5 遺伝子が含まれていた。このことから、キノホルム処理による NOX4 の発現低下を介して、ミトコンドリア機能の何らかの変化が起こっているものと考えられる。

またどちらの処理においても発現が増加した遺伝子には、細胞周期の制御に関わる遺伝子 X が含まれていた。この遺伝子 X の発現が増加すると、細胞周期がある段階で停止することが知られており、キノホルム処理による NOX4 の発現抑制を介する細胞増殖の抑制に関与する可能性がある。

## E. 結論

網羅的解析により、キノホルムにより発現が低下する活性酸素産生酵素 NOX4 の下流で発現変動を示す遺伝子群が同定された。今後キノホルムによる細胞毒性に関与すると考えられる遺伝子群について、個々の発現変動を定量 PCR で確認するとともに、他の神経系細胞でも同様の現象が観察されるかどうかを確認し、その病態生理学的意義について解析を進める予定である。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## I. 文献

- 1) Ritchie CW et al. Arch Neurol. 60: 1685-91, 2003.
- 2) Cherny RA et al. Neuron. 30: 665-76, 2001.
- 3) Ding WQ et al. Cancer Res. 65: 3389-95, 2005.
- 4) Yu H et al. Biochem J. 417: 133-9, 2009.

## スモン患者における血管危険因子と酸化ストレスマーカーの検討

熊本 俊秀（大分大学医学部総合内科学第三講座）

荒川 竜樹（大分大学医学部総合内科学第三講座）

近澤 亮（大分大学医学部総合内科学第三講座）

藪内 健一（大分大学医学部総合内科学第三講座）

竹丸 誠（大分大学医学部総合内科学第三講座）

岡崎 敏郎（大分大学医学部総合内科学第三講座）

花岡 拓哉（大分大学医学部総合内科学第三講座）

木村 成志（大分大学医学部総合内科学第三講座）

### 研究要旨

今回我々は、スモン患者の酸化ストレスマーカーとして血漿中のマロンジアルデヒド（MDA）濃度を測定し、血管危険因子との関連について検討した。

血漿中の MDA 濃度は、スモン患者群において、脳血管障害患者群および他の神経疾患患者群と比較して有意に低く、肥満と負の相関を認めた。血漿中 MDA 濃度と高血圧、糖尿病、脂質異常症、喫煙との関連は認められなかった。

高齢化がみられるスモン患者においては、肥満度の低下と酸化ストレスの増加との関連がみられ、心・脳血管障害発症を予防する上で、体重の変化に注意が必要であることが示唆された。

### A. 研究目的

近年、わが国は高齢化社会を迎え、平均寿命の延長とそれに伴い、高齢者の日常生活動作（activities of daily living; ADL）および生活の質（quality of life; QOL）の向上が社会的に大きな課題となっている。

また、高齢者は心筋梗塞や脳卒中など心・脳血管障害の高リスク群であり、それらによる身体機能の低下が問題となっている<sup>1)</sup>。

スモン患者もまた、高齢化に伴い生活習慣病の発症や様々な身体機能の低下、それらに伴う ADL、QOL の低下が危惧されている。

一方、生活習慣病、動脈硬化、パーキンソン病、アルツハイマー病など多くの疾患の形成に、酸化ストレスが関与しているといわれている<sup>2)</sup>。酸化ストレスによって、生体の脂質、蛋白質、DNA が酸化障害を受けると、それぞれの酸化変性物質が血漿中や尿中に現

れてくる。それらは、酸化ストレスの強度を示す病態解析に有用であり、酸化ストレスマーカーとして種々の疾病診断に用いられている<sup>2,3)</sup>。

特に、心筋梗塞や脳卒中をはじめとする心・脳血管障害においては、高血圧、糖尿病、脂質異常症、肥満、喫煙といった危険因子が生体の酸化ストレスを増大させる。なかでも、血中過酸化脂質の増加（酸化ストレスの増加）が、動脈硬化と密接に関連しているとされ、心・脳血管障害発症に重要な役割を果たしていると考えられている<sup>2)</sup>。マロンジアルデヒド（MDA）は、脂質過酸化によって生じる比較的安定な分解終産物であり、脂質の代表的酸化ストレスマーカーとして繁用されている<sup>4)</sup>。

従って、高齢化がみられるスモン患者において、脂質過酸化ストレスマーカーと血管危険因子および ADL、QOL との関連を調査し、その要因を明らかにする

ことは、生活習慣病の予防、ADL、QOLの向上に寄与する上でも重要であると思われる。

今回我々は、スモン患者の酸化ストレスマーカーを測定し、血管危険因子との関連について検討した。

## B. 対象と方法

スモン患者7名（男性2名、女性5名。平均年齢79.4±7.1歳）、大分大学医学部附属病院神経内科を受診した脳血管障害患者5名（多発性脳梗塞；男性3名、女性2名。平均年齢77.4±6.5歳）、他の神経疾患患者6名（変性疾患2名、筋疾患1名、末梢神経障害1名、その他2名；男性2名、女性4名。平均年齢（76.7±7.8歳）を対象に、血管危険因子について調査し、酸化ストレスマーカーとして血漿中のMDA濃度を測定し、各種因子について統計学的に検討した。

### 1. 血漿中MDA濃度測定

血漿は、対象者の血液サンプルから遠心沈殿法

表 疾患別臨床背景

	スモン患者 (n=7)	脳血管障害患者 (n=5)	他の神経疾患患者 (n=6)
年齢	79.4± 7.1	77.4± 6.5	76.7± 7.8
性別(男/女(人))	2/5	3/2	2/4
高血圧	71.4%	100.0%	66.7%
糖尿病	0.0%	20.0%	33.3%
脂質異常症	14.3%	20.0%	66.7%
喫煙	0.0%	20.0%	16.7%
BMI(Kg/m <sup>2</sup> )	21.1± 4.0	24.3± 2.9	22.8± 1.8
腹囲(cm)	82.0±14.4	85.4± 5.1	81.3± 8.2
Barthel index	64.3±25.7	81.0±17.5	87.5±28.2
TMIG-IC	4.3± 2.5 <sup>*†</sup>	9.2± 3.8	10.7± 3.9

\* P=0.021 (スモン患者-脳血管障害患者)

† P=0.004 (スモン患者-他の神経疾患患者)

(2500g, 10分, 4°C)にて抽出し、MDA測定キット(thiobarbituric acid reactive substances法, 日本老化制御研究所, 静岡)を用い、対象者の血漿中のMDA濃度を測定した。

### 2. 血管危険因子調査

高血圧、糖尿病、脂質異常症の治療状況および肥満指数(BMI)、腹囲、喫煙の有無などの血管危険因子について調査した。高血圧の定義は、現在、高血圧の治療を受けている者あるいは通常血圧測定で $\geq 140/90$  mmHgとし、糖尿病および脂質異常症は、現在、治療を受けている者、BMIが $\geq 25$ kg/m<sup>2</sup>あるいは腹囲が男性 $\geq 85$ cm、女性 $\geq 90$ cmを肥満とした。喫煙は、現在、喫煙している者とした。

### 3. ADL、生活内容の評価

#### (1) 基本的ADL評価

基本的ADLはBarthel index (BI)を用いて評価した。

#### (2) 日常生活活動の指標

日常生活活動の指標として、老研式活動能力指標(TMIG-IC)を調査した<sup>5)</sup>。

### 4. 統計処理

群間比較にはt検定および $\chi^2$ 検定を用い、有意水準を5%に設定した。

## C. 研究結果

### 1. 疾患別臨床背景

疾患別臨床背景に関して、スモン患者群で、脳血管障害患者群および他の神経疾患患者群と比較してTMIG-ICが有意に低値であった。その他に各疾患群間で有意差はみられなかったが、他の神経疾患群で脂

図1 対象者の血漿MDA濃度

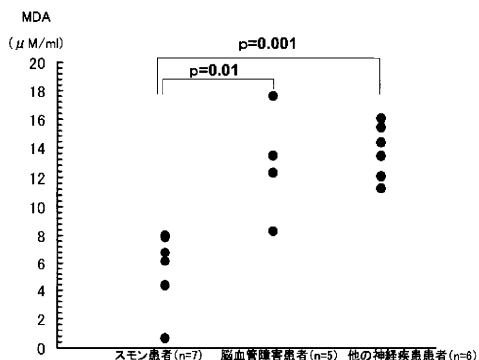
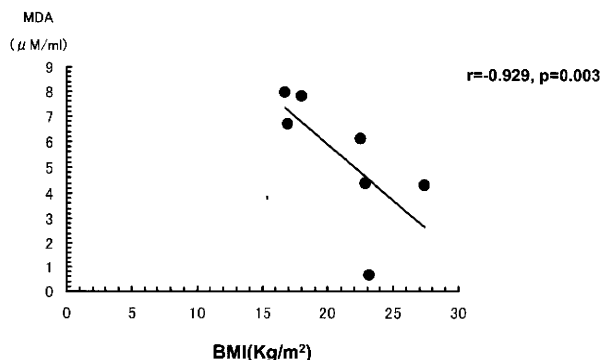


図2 血漿MDA濃度とBMI (スモン患者)



質異常症で治療中の割合が高い傾向がみられた(表)。

## 2. 血漿中 MDA 濃度

スモン患者群では、脳血管障害患者群および他の神経疾患患者群と比較して血漿中 MDA 濃度が有意に低値であった ( $p < 0.05$ ) (図 1)。

## 3. 血漿中 MDA 濃度と血管危険因子

スモン患者群において、血漿中 MDA 濃度と BMI との間に負の相関 ( $r = -0.929$ ,  $P = 0.003$ ) を認めた(図 2)。血漿中 MDA 濃度と高血圧、糖尿病および脂質異常症の治療歴、喫煙の有無との関連は認められなかった。

## D. 考察

### 1. 血漿中 MDA 濃度について

本研究において、スモン患者群では、脳血管障害患者群および他の神経疾患患者群と比較して血漿中 MDA 濃度が有意に低値であった。

多発性ラクナ梗塞などの虚血性脳血管障害患者や頸動脈のアテローム性動脈硬化を有する患者、脂質異常症患者では、脂質過酸化ストレスマーカーである MDA の著しい濃度増加を特徴とすることから<sup>6,5)</sup>、本研究においては、スモン患者群で、脳血管障害や脂質異常症で治療中の者が少なかったことが、血漿中 MDA 濃度の著明な増加が認められなかった要因と考えられた。

### 2. 血漿中 MDA 濃度と血管危険因子の関連について

本研究において、血漿中 MDA 濃度と高血圧、糖尿病、脂質異常症との関連が認められなかったことは Bir らの報告<sup>6)</sup>と同様であった。

肥満に関しては、70 歳以上の高齢者において BMI が脂質過酸化ストレスマーカーである 8-iso-prostaglandin F2 alpha と正の相関を示したことの報告があるが<sup>9)</sup>、本研究で検討したスモン患者では、同じ脂質過酸化物質である MDA 濃度と BMI が負の相関を認めたことが興味深い。今後、スモン患者において、8-iso-prostaglandin F2 alpha など他の酸化ストレスマーカーを測定するとともに、健常者を含めた酸化ストレスマーカーの検討が必要と思われる。

本研究の結果からは、スモン患者の酸化ストレスは脳血管障害患者や他の神経疾患患者よりも低値であ

たが、スモン患者に限り、肥満度の低下と酸化ストレスの増加との関連がみられ、心・脳血管障害発症を予防する上で、体重の変化に注意が必要であると考えられた。

## E. 結論

高齢化がみられるスモン患者においては、肥満度の低下と酸化ストレスの増加との関連がみられ、心・脳血管障害発症を予防する上で、体重の変化に注意が必要であることが示唆された。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## I. 文献

- 1) Harrington F, Saxby BK, McKeith IG, et al. Cognitive performance in hypertensive and normotensive older subjects. *Hypertension* 2000; 36: 1079-1082.
- 2) 國友勝. 酸化ストレスと動脈硬化. *薬学雑誌* 2007; 127: 1997-2014.
- 3) Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, et al. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006; 52: 601-623.
- 4) de Zwart LL, Meerman JH, Commandeur JN, et al. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Bio Med* 1999; 26: 202-226.
- 5) 古谷野亘, 柴田博, 中里克治ら. 地域老人における活動能力の測定—老研式活動能力指標の開発—. *日本公衛誌* 1987; 34: 109-114.
- 6) Bir LS, Demir S, Rota S, et al. Increased serum Malondialdehyde levels in chronic stage of ischemic stroke. *Tohoku J Exp Med* 2006; 208: 33-39.
- 7) Gustaw-Rothenberg K, Kowalczyk K, Stryjeck-Zimmer M, Lipid's peroxidation markers in Alzheimer's disease and vascular dementia. *Geriatr Gerontol Int* 2010; 108: 161-166.
- 8) Yang RL, Shi YH, Hao G, et al, Increasing oxidative stress with progressive hyperlipidemia in

human: Relation between malondialdehyde and atherogenic index. *J Clin Biochem Nutr* 2008; 43: 154-158.

9) Ohmori K, Ebihara S, Kuriyama S et al, The relationship between body mass index and a plasma lipid peroxidation biomarker in an older, healthy Asian community. *Ann Epidemiol* 2005; 15: 80-84.

## MRI で評価したスモン患者の視神経病変と障害との関連

蜂須賀 研 二 (産業医科大学リハビリテーション医学)

高橋 真紀 (産業医科大学リハビリテーション医学)

加藤 徳明 (産業医科大学リハビリテーション医学)

掛田 伸吾 (産業医科大学放射線科学)

興梠 征典 (産業医科大学放射線科学)

米田 哲也 (熊本大学医学部保健学科)

### 研究要旨

スモン患者と視力障害のない健常コントロールに対し、MRI で視神経を撮像し、画像所見とスモンの障害の関連について検討した。その結果、スモン患者の応用的 ADL および主観的 QOL は健常コントロールより低下しており、また、スモン患者は視力障害が強いほど MRI 画像上視神経の委縮、特に視索に著しい委縮を認め、基本的 ADL、応用的 ADL、主観的 QOL は低下傾向であった。

### A. 研究目的

スモンは発症から長期間が経過し、その障害像は加齢の影響が加わり複雑化してきている。そのため、障害を様々な側面から評価することはスモン患者の ADL や QOL 維持のためのリハビリテーション的介入を行う際に重要である。特に、ADL や QOL 低下の大きな要因である視神経障害はスモンの深刻な後遺障害の一つであるが、これまでにスモン患者の視覚路を MRI 等を用いて画像的に評価し障害との関連を検討した報告はない。昨年、われわれはスモン患者に対し通常の MRI を撮像したところ眼窩内の視神経に萎縮や異常信号などの所見を認め、視力障害が重度であるほど画像上、強い異常を認める傾向であった<sup>1)</sup>が、スモンの神経病理所見の報告で特に委縮が強いとされる視神経遠位側の視交叉や視索は判定が困難であった。

Fast imaging employing steady-state acquisition (FIESTA) 法は高い空間分解能を持ち、撮像時間が短いため髄液のフローアーチファクトを減少させることが可能であり、視神経を含めた脳神経の描出に優れている<sup>2)</sup>。

そこで今回はスモン患者に対して FIESTA 法によ

る MRI で視神経をターゲットとして撮像し、画像所見とスモンの障害（スモン重症度、基本的 ADL、応用的 ADL、主観的 QOL）との関連を調査した。

### B. 研究方法

対象は「福岡県スモンの会」の会員であるスモン患者と、ほぼ同年齢で視力障害がない健常コントロールである。

スモン患者および健常コントロールに対して、スモン重症度（スモン患者のみ）、基本的 ADL、応用的 ADL、主観的 QOL の評価を行った。

スモン重症度（視力障害）の判定には平成 10 年度厚生省特定疾患スモン調査研究班によって作成されたスモン重症度基準<sup>3)</sup>を用いた。

基本的 ADL の評価には Granger 版 Barthel Index (BI)<sup>4)</sup> をもとに自記式に改訂した BI 産医大版自己評価表 (SR-BI)<sup>5)</sup> を用いた。SR-BI は日常生活に関する基本的な活動 13 項目を評価し、合計 0~100 に点数化され、自記式評価としての妥当性と信頼性が確立している。

応用的 ADL の評価には Frenchay Activities Index

表1 スモン患者5名の視力障害、SR-BI、SR-FAI、SDLの各得点と健常コントロール5名の各得点の平均値

	視力障害	SR-BI	SR-FAI	SDL
スモン患者1	9(全盲)	23	0	15
スモン患者2	9(手動弁)	82	12	26
スモン患者3	2	100	13	25
スモン患者4	1	100	15	29
スモン患者5	0	100	29	36
コントロール	—	100	35.0	45.2

【厚生省特定疾患スモン調査研究班のスモン重症度基準(視力障害)】  
 0;障害なし、1;軽度の障害、2;新聞の大見出し判読、  
 6;眼前指数以上の高度障害、9;ほぼ~完全全盲

(FAI)<sup>6)</sup>をもとに自記式に改訂したFAI自己評価表(SR-FAI)<sup>7)</sup>を用いた。SR-FAIは評価項目15の実践度を0~3の4段階、合計0~45に点数化し、応用的ADLの実践度、すなわちライフスタイルの評価として用いられる。自記式評価としてその妥当性と信頼性が確立している<sup>8)</sup>。

主観的QOLの評価にはSatisfaction in Daily Life(SDL)<sup>9)</sup>を用いた。SDLは日常生活に関する主観的なQOLの評価であり、在宅中高齢者に共通して重要な11項目に対する満足度を「不満足」の1から「満足」の5の5段階で判定し、合計はもっとも不満足である11から最も満足である55の範囲で点数化される。

また、同時にMRI検査を行った。使用装置はGE社製SIGNA EXCITE 3.0Tであり、通常の眼窩・脳のMRI検査に加え、FIESTA法にて視神経を撮像した。

なお、本研究を実施するにあたり、研究開始前に産業医科大学倫理委員会において承認を得ており、すべての対象者から文書により同意を取得した。

### C. 研究結果

対象者はスモン患者5名と健常コントロール5名であった。

スモン患者5名のスモン重症度(視力障害)、SR-BI、SR-FAI、SDLの各得点と健常コントロール5名の各得点の平均値を表1に示す。スモン患者は健常コントロールと比較すると特にSR-FAIとSDLが低値であった。また、スモン患者は視力障害が重度であるほどSR-BI、SR-FAI、SDLの値が低下する傾向であった。



A

B



C

D

図1 健常コントロールのMRI画像

A T2強調横断像 B 脂肪抑制併用T2強調冠状断像  
 C, D FIESTA冠状断像  
 ↑: 視神経 ▲▲: 視交叉 ▲: 視索

健常コントロールのMRI画像を図1に示す。T2強調横断像(図1A)と脂肪抑制併用T2強調冠状断像(図1B)で眼窩内の視神経が、FIESTA冠状断像(図1C、1D)で視交叉、視索が描出された。

スモン患者のMRI画像を図2、3に示す。図2は全盲であるスモン患者1の画像であるが、眼窩内の視神経は内部に異常信号を認めやや委縮し、視交叉は菲薄化し、視索はそれと同定することが困難であるほどに著しく委縮していた。一方、図3は視力が良好なスモン患者5の画像であるが、眼窩内の視神経の内部異常信号や委縮、視交叉や視索の萎縮は認めなかった。

表2にMRI画像所見のまとめを示す。スモン患者は視力障害が重度であるほど視神経内部の異常信号、視神経委縮が目立ち、特に視索の委縮が著しい傾向であった。

### D. 考察

スモン患者は視力障害が重度であるほど、基本的ADL、応用的ADL、主観的QOLは低下する傾向であり、健常コントロールと比較すると特に応用的