

表 12 設問 9 と回答結果

設問：最も疑われる疾患はどれか（複数回答可）	人数（%）
1. アルツハイマー型認知症	298 (23)
2. 血管性認知症	86 (7)
3. レビー小体型認知症	44 (3)
4. 進行性核上性麻痺	820 (63)
5. 糖尿病による認知機能低下	60 (5)
計	1,308

値と比べて大きく低下しており、リン酸化タウは基準値と比べて高値を示しているため AD が示唆された。

過去の PSP における病理学検討では AD, レビー小体病, 嗜銀顆粒性認知症などの他の変性疾患の合併を認めるものが多く, 純粋に PSP の病理のみを認めたものは 21.9~47.0% と報告されている<sup>4,9)</sup>。

以上から本症例は, PSP に AD を合併した症例と考えた。

● 考察；質疑より

(1) 画像所見に関して, MRI 冠状断における頭頂葉の萎縮, SPECT における 3D-SSP での前頭前野, 前部帯状回, 中心溝周囲の血流低下から大脳皮質基底核変性症 (corticobasal degeneration; CBD) の可能性を指摘する発言があった。本例では肢節運動失行や反射性ミオクローヌス, 他人の手徴候などの特徴的な症状は認めなかった。

(2) 本例の起立, 歩行, 易転倒性, 方向転換の様子に関する質問があったが, 本例は動作の緩慢のみでいずれの動作も可能であった。

(3) L-dopa の反応性についての質問があった。本例には L-dopa 製剤を 1 日 1 錠投与して 1 か月反応をみたが, Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) motor score で投与前 15/108, 投与後 16/108 と効果は認められなかった。

(4) ドネペジル塩酸塩の使用についての質問があった。本例では急性心不全の入院歴があったため使用しなかった。

(5) 座長より, CBD でも髄液中のリン酸化タウが上昇することはあるが, AD のなかでも上位に位置するほどまで上がる例はなく, 本例は PSP に AD の合併と考えてよいのではとのコメントがあった。

〈症例 4〉初診時 30 歳代後半, 女性, 右利き

● 主訴

もの忘れ, お釣りの計算ができない。

● 生活歴・病歴

大学卒業後, 10 年あまり販売員の仕事を行い, その後結婚し専業主婦となった。現在, 2 児の母親。X-2 年ころより, もの忘れ, 了解障害, 計算障害を認めた。また, 自発性の低下も認めた。X 年, 近医受診後, 当科紹介受診となったが, 初診時以降も診察・検査には協力的であり, 礼容は保たれていた。

● 初診時の検査所見

MMSE 12/30 (見当識: + 3, 単語記銘: + 3, 3 段階命令: + 2, 書字作文: + 1, 読字理解: + 1, 物品呼称: + 2)。

Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive (ADAS-cog) 15.6/70 (単語再生: + 6.3, 言語の聴覚的理解: + 1, 口頭命令に従う: + 3, 構成行為: + 1, 観念行為: + 1, 見当識: + 3, 単語再生: + 0.3)。

FAB 7/18 (word fluency: + 1, 運動系列: + 1, two-one tapping: + 1, go/no-go: + 1, 把握反射: + 3)。

神経学的所見: 特記すべき所見なし。

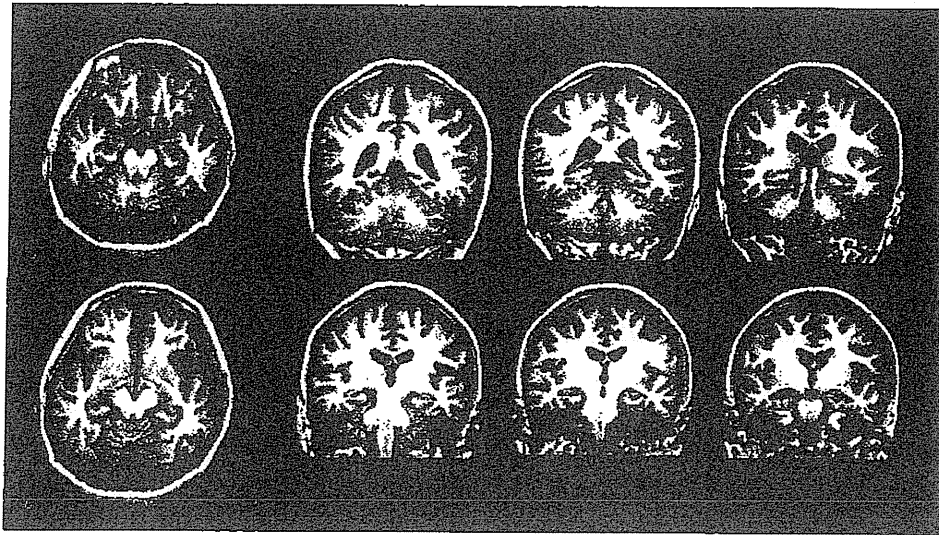


図4 症例4の初診時の頭部MRI

表13 設問10と回答結果

設問：この時点で最も疑われる疾患はどれか	人数 (%)
1. 甲状腺機能低下症	127 (14)
2. 神経梅毒	41 (5)
3. アルツハイマー病	266 (29)
4. うつ病	198 (22)
5. 前頭側頭葉変性症	270 (30)
計	902

判断力に関する以下の質問を行った。「近所の家が火事になっていたらどうしますか」という質問に対して、「消防車を呼びますよね。消防車を呼んで、それでとりあえず、消防車を呼んで、そのあとに近所の人とかの混乱を避けるために、ちょっと、手伝い言うたら変なんですけど」と答えた。上記のほか、「借りてきた傘をなくしたら、あなたはどうすべきですか」「宛名があり、切手の貼った封がされている郵便封筒を拾ったらどうすべきですか」との質問に対しても、それぞれ、「その方に謝って弁償する」「郵便局の方に持っていく」と、3つすべての質問に対して適切な答えをした。初診時の頭部MRIを図4に示す。

この時点で、臨床診断についての質問（設問10）を行ったところ、表13のような結果であっ

た。

さらに、続けて認知機能検査を行ったところ、ウェクスラー記憶検査改訂版（Wechsler Memory Scale-Revised；WMS-R）素点においては、数唱が7/24（順唱4桁、逆唱2桁）、視覚性記憶範囲が6/26（同順序3桁、逆順序2桁）、論理的記憶Ⅰ：1/50、論理的記憶Ⅱ：0/50という結果であった。ウェクスラー成人知能検査改訂版（Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised；WAIS-R）短縮版においては、4検査評価合計の素点が8（推定IQ：44）であり、下位項目の評価点は、それぞれ、知識：3、類似：3、絵画完成：1、符号：1であった。Japanese Adult Reading Test（JART）では、推定病前IQが98.1であった。レーブン色彩マトリシス検査では19/37と低得点であり、Rey-Osterrieth複雑図形（Rey-Osterrieth Complex Figure Test；ROCFT）では、模写課題において構成障害を認め（図5）、3分後再生課題において再生はまったく不可であった。

以上のように、本症例では構成障害と記憶障害が顕著であったにもかかわらず、相貌の認知と記憶は比較的保たれていた。X年の初診時以降、1、2か月に1回会う担当医の顔を覚えており、MMSEが0/30となった時点においても同様であっ

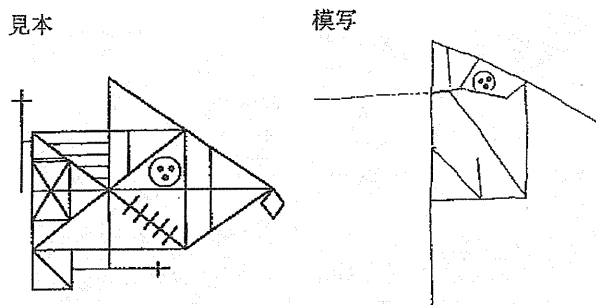


図5 症例4のRey-Osterrieth複雑図形 (ROCF)

表14 設問11と回答結果

設問：この時点で最も疑われる疾患はどれか	人数 (%)
1. 甲状腺機能低下症	39 (4)
2. 神経梅毒	40 (4)
3. アルツハイマー病	395 (43)
4. うつ病	50 (5)
5. 前頭側頭葉変性症	400 (43)
計	924

た。標準高次視知覚検査 (Visual Perception Test for Agnosia ; VPTA) の熟知相貌認知検査を行うと (X年), 16点中失点は1点のみであり, リバーミード行動記憶検査 (Revermead Behavioral Memory Test ; RBMT) の顔写真問題 (X + 1.3年) においては, 素点が5/5, スクリーニング点は1/1, 標準プロフィール点は2/2と満点であったにもかかわらず, RBMTの他の下位項目においては, スクリーニング点, 標準プロフィール点はすべて0点であり著しい記憶障害を認めた。検査時の会話において, 「携帯電話の話がでたあとで) 携帯電話は使いますか」の問いには, 場合わけ的な反応が認められた (発表時にビデオにて提示)。この時点で, 再び, 臨床診断についての質問 (設問11) を行ったところ, 表14のような結果であった。

他の検査所見は以下のものであった。血液検査にて, TSH, FT<sub>3</sub>, FT<sub>4</sub>: 基準値内, TPHA, STS: negative, 抗核抗体: 基準値内であり, 遺伝子検査では, プレセニリン-1 (presenilin 1 ; PS-1) の

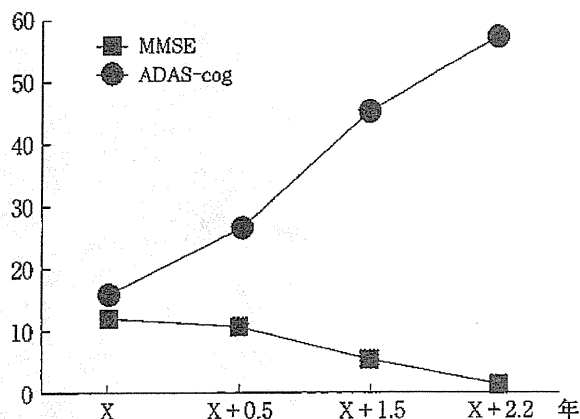


図6 症例4のMMSEとADAS-cog検査値経過

mutation (Met233Leu) を認め, アポリポタンパク E (apolipoprotein E ; ApoE) 遺伝子のタイプは  $\epsilon 3/\epsilon 3$  であった。脳波検査にては, 基礎波の徐波化 (6~7Hz : occipital dominant) および徐波 (3~4Hz) の少量混入を認めた。MMSEとADAS-cogの検査値は経時的に悪化していった (図6)。VSRAD plusによるMRIデータの解析を行った (図7)。初診時において, 左側優位に両側前頭葉外側, 両側前頭葉内側, 両側頭頂葉外側に萎縮を認めており, 経時的に萎縮の進行を認めた。両側眼窩面の萎縮はほとんど認めなかった。また, 海馬傍回を関心領域とした場合に, 萎縮の程度は軽度ながら徐々に進行していることが認められた。脳血流IMP-SPECTをiSSPにて解析すると, 前頭葉, 頭頂葉, 楔前部, および後部帯状回にて左側優位に顕著な血流低下を認めた。しかし, 眼窩面, 海馬傍回, 前部帯状回には血流低下を認めず, 右側後頭葉外側部, 右側側頭葉外側部, 右側紡錘状回の血流も比較的保たれていた。

本症例では複雑図形の構成および記憶が顕著に障害されているにもかかわらず, 人の顔の認知および記憶における障害は比較的保たれていた。この理由として, 視空間認知に関係している頭頂葉には障害はあるが, 相貌認知に関係している後頭葉, 側頭葉, 紡錘状回の関連部位が比較的保たれており, さらに海馬, 前部帯状回, 眼窩面といったYakovlevの回路に関係する領域が比較的

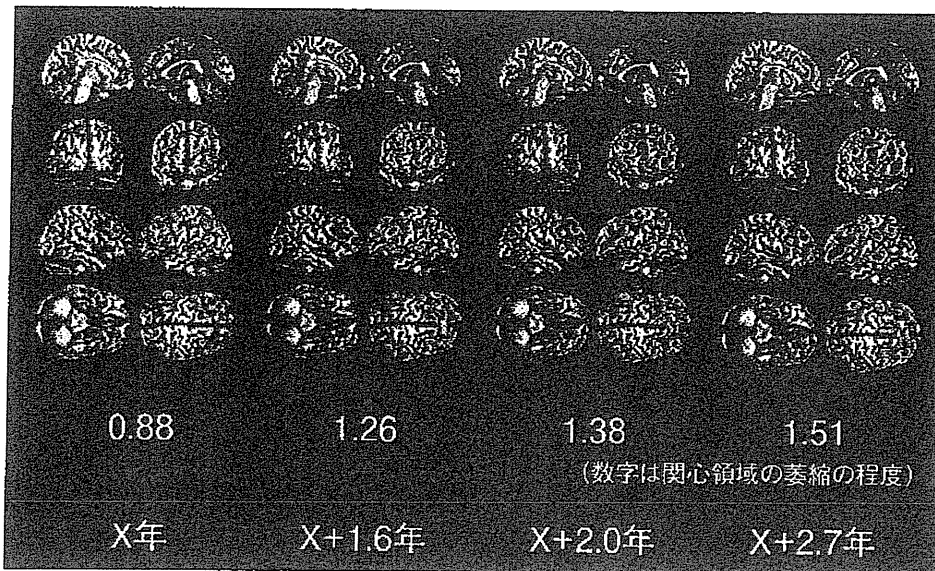


図7 症例4のMRIデータのVSRAD plusによる解析

保たれているためであろうということが推測された。

本症例と同じ mutation をもつ症例は、これまでに2例報告されているが、2例ともが前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia ; FTD) とADの症状がともに顕著であった。そのうちの1例が *de novo* mutation であり、剖検にて老人斑、神経原線維変化を認め、タウとβアミロイドを認めた<sup>10)</sup>。他の1例の剖検はされていなかった<sup>9)</sup>。

しかし、本症例と異なる部位 (Gly183Val) にPS-1 mutation のある1症例の報告<sup>9)</sup>では、臨床的にFTDと診断され、病理学的にはPick bodyを認めるが、βアミロイドを認めなかった。本症例においては、βアミロイドが沈着しているかどうかを調べるために、PIB-PETを施行したところ、後頭葉、頭頂葉、後部帯状回、楔前部、基底核を中心にPIBのretentionを認めた。

主な臨床所見をまとめると、以下のようなになる。  
 ①即時再生は可能であるが、遅延再生は不可 (初診時MMSE)、  
 ②場合合わせ反応、  
 ③自発性の低下、  
 ④判断力が比較的保たれている、  
 ⑤相貌の記憶が比較的保たれている、  
 ⑥構成障害が顕著、  
 ⑦海馬および海馬傍回の萎縮が軽度。以上の所見のなか

表15 設問12と回答結果

設問：本患者にとって必要であった支援は何であると想像するか (複数回答可)	人数
1. 介護保険制度	545
2. 成年後見制度	553
3. 障害者年金	527
4. 自立支援医療制度	392
5. NPO 法人の作業所	170
6. 若年性認知症家族会	764

で、①～③は晩発性AD患者において認められる。④と⑤はAD患者には非典型的な所見であり、⑥と⑦は若年性AD患者にしばしば認められる所見である。これらを総合して臨床的にはADと診断した。さらには、家族歴と本症例および同胞の遺伝子検査結果より、家族性若年性ADと診断した。

本症例のADLに関しては、以下のようなであった。排泄、食事の摂取は一人で可能であるが、着替えの際の服の選択や脱ぎ着は子どもに手伝ってもらい、入浴の際にも子どもに体を洗ってもらっている。電話の対応、買い物、食事の支度、洗濯は一人で行うことは不可能であった。一人で交通機関を利用することは不可能であり、慣れている道でも迷うことがあった。金銭の扱いは不可能で

表 16 若年性認知症患者の有病率, 患者数

18～64歳人口10万人あたり47.6人(男性57.8人, 女性36.7人)

全国における若年性認知症患者数は3.78万人

基礎疾患としては,

- ・脳血管性認知症(39.8%):1.50万人
- ・アルツハイマー病(25.4%):0.96万人
- ・頭部外傷後遺症(7.7%):0.29万人
- ・前頭側頭葉変性症(3.7%):0.14万人
- ・アルコール性認知症(3.5%):0.13万人
- ・レビー小体型認知症(3.0%):0.11万人

推定平均発症年齢:51.3±9.8歳(男性51.1±9.8, 女性51.6±9.6)

(厚生労働省ホームページを参考)

あった。設問12「本患者にとって必要であった支援は何であると想像しますか」との質問に対しての回答結果を表15に示す。

社会的支援の実際の利用状況に関しては、以下のようにであった。介護保険では、「要介護2」であったが、介護サービスは未使用であった。成年後見制度は、申請していない。自立支援医療は受給中である。家族会から紹介された、若年性認知症支援のNPO法人を利用中である。若年性認知症コールセンターは利用中であった。「通所作業所に関しては、認知症患者が多いところでは高齢者が多く、若年者が多いところでは身体障害者が多いため、いずれにしても若年性認知症患者はきわめて少数派であり、(本患者は)浮いた存在になってしまう」と母親は感じている。厚生労働省のホームページを参考にして、全国での若年性AD患者数を推計すると、1万人弱であるが(表16)、本症例のような家族性若年性AD患者はさらに少数派であることが推察されるであろう。そのため、社会的支援が十分に行き届いていないことが現状といえるであろう。そのなかで、「若年性認知症家族会」は本患者および家族の中心的なよりどころとなっていると感じられた。

## 結 語

本研究会におけるこの試みは、参加者の知識を試す問題ではなく、認知症の臨床実践において症例をどのように理解し、どのようにマネジメント

していくのか、その考えを共有するための試みとして行った。したがって回答数の多かった選択肢が一義的に正しいわけではなく、少数ながらも回答がなされた選択肢には、それなりの理由があることを無視してならないと考えられる。さまざまな症例やその質疑を通して、“正解”を選択することよりも、他の選択肢の背景にある考え方を理解することの大切さを強調しておきたい。

そして最後に、研究会に参加しトータライザーを使ってそのつど設問に答えてくださった参加医師の皆様から感謝申し上げたい。

## 文 献

- 1) Blennow K, Wallin A, Chong JK : Cerebrospinal fluid 'neuronal thread protein' comes from serum by passage over the blood-brain barrier. *Neurodegeneration*, 4 (2) : 187-193 (1995).
- 2) Cox DJ, Kovatchev BP, Gonder-Frederick LA, Summers KH, et al.: Relationships between hyperglycemia and cognitive performance among adults with type 1 and type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 28 : 71-77 (2005).
- 3) Dermaut B, Kumar-Singh S, Engelborghs S, Theuns J, et al.: A novel presenilin 1 mutation associated with Pick's disease but not  $\beta$ -amyloid plaques. *Ann Neurol*, 55 : 617-626 (2004).
- 4) Keith-Rokosh J, Ang LC : Progressive supranuclear palsy ; A Review of co-existing neurodegeneration. *Can J Neurol Sci*, 35 : 602-608 (2008).
- 5) Kivipelto M, Laakso MP, Tuomilehto J, Nissinen A, et al.: Hypertension and hypercholesterolaemia as

- risk factors for Alzheimer's disease ; Potential for pharmacological intervention. *CNS Drugs*, **16** (7) : 435-444 (2002).
- 6) Mendez MF, McMurtray A : Frontotemporal dementia-like phenotypes associated with presenilin-1 mutations. *Am J Alzheimers Dis Other Demen*, **21** : 281-286 (2006).
- 7) Noguchi M, Yoshita M, Matsumoto Y, Ono K, et al.: Decreased  $\beta$ -amyloid peptide<sub>42</sub> in cerebrospinal fluid of patients with progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J Neurol Sci*, **237** : 61-65 (2005).
- 8) Oshima K, Dickson DW : Cortical Alzheimer type pathology does not influence tau pathology in progressive supranuclear palsy. *Int J Clin Exp Pathol*, **2** : 399-406 (2009).
- 9) Ott A, Stolk RP, van Harskamp F, Pols HA, et al.: Diabetes mellitus and the risk of dementia ; The Rotterdam Study. *Neurology*, **53** (9) : 1937-1942 (1999).
- 10) Portet F, Dauvilliers Y, Campion D, Raux G, et al. : Very early onset AD with a de novo mutation in the presenilin 1 gene (Met 233 Leu). *Neurology*, **61** : 1136-1137 (2003).
- 11) Premkumar DR, Cohen DL, Hedera P, Friedland RP, et al.: Apolipoprotein E-epsilon4 alleles in cerebral amyloid angiopathy and cerebrovascular pathology associated with Alzheimer's disease. *Am J Pathol*, **148** (6) : 2083-2095 (1996).
- 12) Shao Y, Gearing M, Mirra SS : Astrocyte-apolipoprotein E associations in senile plaques in Alzheimer disease and vascular lesions ; A regional immunohistochemical study. *J Neuropathol Exp Neurol*, **56** (4) : 376-381 (1997).
- 13) Shi J, Perry G, Smith MA, Friedland RP : Vascular abnormalities ; The insidious pathogenesis of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, **21** (2) : 357-361 (2000).
- 14) Snowdon DA, Greiner LH, Mortimer JA, Riley KP, et al.: Brain infarction and the clinical expression of Alzheimer disease ; The Nun Study. *JAMA*, **277** (10) : 813-817 (1997).
- 15) Xu W, Qiu C, Winblad B, Fratiglioni L : The effect of borderline diabetes on the risk of dementia and Alzheimer's disease. *Diabetes*, **56** (1) : 211-216 (2007).



# 月刊糖尿病 3

Vol.3 No.3

DIABETES®

MAR.

企画編集●中村二郎

特集

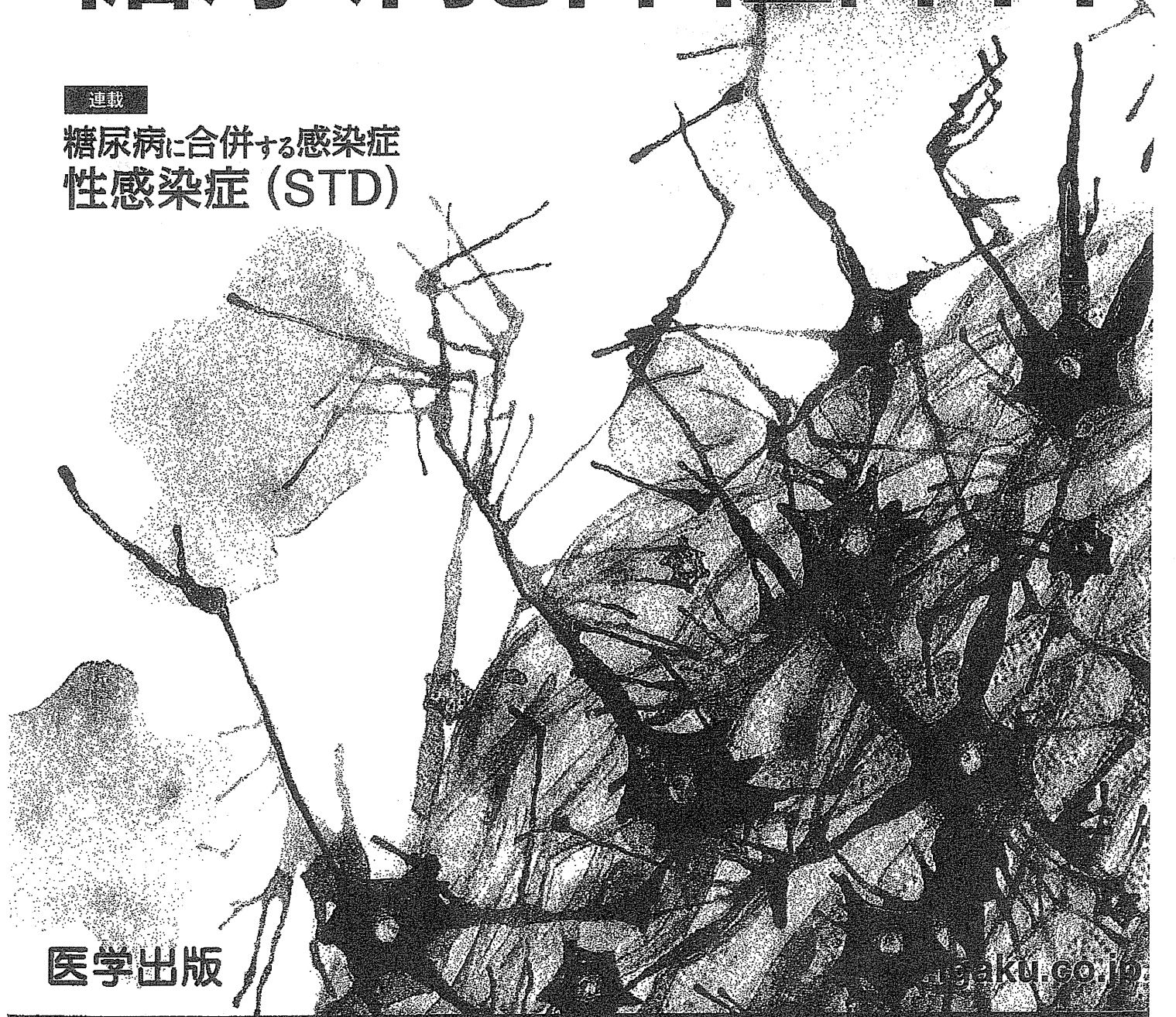
# 糖尿病と神経障害

連載

糖尿病に合併する感染症  
性感染症 (STD)

医学出版

igaku.co.jp



# 13

特集 糖尿病と神経障害

## 糖尿病と認知障害

櫻井 孝

国立長寿医療研究センター もの忘れセンター 外来部長

加齢に伴って、腎機能・心機能・循環動態などとともに代謝機能が衰えていく。これらの変化に加え、食事や運動における生活習慣の変化は栄養の過剰状態をきたし、肥満の原因となる。腹囲の増大はインスリン抵抗性を基盤として、メタボリックシンドローム、2型糖尿病の発症頻度を増加させる。1990年代後半から、糖尿病と認知症の関連について多くの疫学調査の結果が公表され、糖尿病は血管性認知症のみならず、アルツハイマー型認知症(AD)のリスクでもあることが明らかになってきた。

一方、加齢とともに認知症も増加する。日本の65歳以上人口における認知症の有病率は7～12%と報告される。2010年での総患者数は250万人、すでに300万人を超えているとの推計もある。日本では2035年まで、認知症患者は増えつづけるという。認知症をきたす疾患のなかでも、最も多いのはADであるが、2型糖尿病とADは臨床的な共通点も多い。膵β細胞と神経細胞はともにインスリン感受性を示し、ADの病態にインスリン抵抗性がかかわっている。ADの根本的治療薬がまだ臨床家の手にない現在、認知症の発症予防、進行抑制は最大の課題であろう。なかでも認知症の発症リスクとして糖尿病のインパクトは大きく、認知症のリスクを見据えた糖尿病管理のエビデンスが待たれている。

本稿では、糖尿病の認知障害から認知症が発症する機序、糖尿病を合併した認知症の特徴、認知症予防のための糖尿病治療について最新の知見を踏まえ、筆者らのデータを概説する。

### 高齢者糖尿病と認知症の疫学的関連

最近のメタ解析では、糖尿病は認知症の危険因子であることが示されている(図1)<sup>1)</sup>。糖尿病は高血糖、血圧異常、脂質異常、高インスリン血症などのため脳血管障害の危険因子であることは確立しており、血管性認知症(VD)との関連は理解しやすい。

さらに、糖尿病がADの発症により密接に関連していることが明らかになってきた。多くの前向き縦断研究で、ADの相対危険はおおむね1.5～2.0倍程度であり、有意

な関連を示す報告と、示さない報告と混在する。しかし、これらの研究のなかで最も信頼性が高いとされるロツテルダム研究では、ADとの有意な関連が示された<sup>2)</sup>。さらに治療別にADの相対危険を検討したところ、インスリン使用者では相対危険が4.2倍であったという。日本の久山町研究からの報告でも、耐糖能異常、高血圧はVDのリスクであったが、ADに対しては耐糖能異常のみが有意な危険因子であるという<sup>3)</sup>。これらの報告を総括すると、糖尿病がVD、ADの両者において重要なリスクであることに、ほぼコンセンサスを得られたと考えられる。



表1 2型糖尿病における認知症の相対危険

	血管性認知症	アルツハイマー型認知症
久山町研究 (1995)	2.8 (2.6 ~ 3.0) *	2.2 (1.0 ~ 4.9)
Rochester study (1997)	—	2.3 (1.6 ~ 3.3) *
British study (1998)	—	1.4 (1.1 ~ 1.7) *
Rotterdam study (1999)	2.0 (0.7 ~ 5.6) *	1.9 (1.2 ~ 3.1) *
New York study (2001)	3.4 (1.7 ~ 6.9) *	1.3 (0.8 ~ 1.9)
Honolulu-Asia study (2002)	2.3 (1.1 ~ 5.0) *	1.8 (1.1 ~ 2.9) *
Canadian study (2002)	2.0 (1.2 ~ 3.6) *	1.3 (0.8 ~ 2.0)
OCTO-Twin study (2002)	2.5 (1.4 ~ 4.8) *	0.8 (0.5 ~ 1.5)
Kungsholmen project (2004)	2.6 (1.2 ~ 6.1) *	1.3 (0.9 ~ 2.1)

Population-based cohort study のみ ; Relative risk (95 % CI)

\*p < 0.05

表3 急性高血糖と認知機能(文献6改変)

		4.5 mM	16.5 mM
情報処理速度	符号	70.2 ± 8.4	66.8 ± 7.8*
	トールメイキングB	40.9 ± 7.8	43.9 ± 8.0*
記憶	即時記憶	27.2 ± 4.3	26.1 ± 4.1
	作動記憶(逆唱)	8.6 ± 1.5	7.9 ± 1.3*
	短期記憶	13.2 ± 2.1	12.3 ± 2.2
注意	visual selective attention	35.0 ± 6.7	32.2 ± 5.1*
	attention switching	4.3 ± 1.0	4.7 ± 0.9*

\*p < 0.05

表2 認知症のない高齢者糖尿病の認知機能障害 ~ 2型糖尿病の神経心理報告(19編)のまとめ(53 ~ 80歳) ~ (文献5改変)

	低下あり	低下なし	ND
注意-集中力	6 (31.6%)	5 (26.3%)	8 (42.1%)
前頭葉-遂行機能	3 (15.8%)	5 (26.3%)	11 (57.9%)
視覚性記憶	5 (26.3%)	5 (26.3%)	9 (47.4%)
言語性記憶	9 (47.4%)	6 (31.6%)	4 (21.1%)
精神運動性知能	3 (15.8%)	7 (36.8%)	9 (47.4%)
MMSE	3 (15.8%)	—	16 (84.2%)

## 糖尿病による認知障害の特徴

高齢者糖尿病では認知症がなくても、脳機能は少し低下することが、1922年に Miles らによって初めて報告された<sup>4)</sup>。しかし、この認知障害は糖尿病の療養を阻害するほどではないため、長らく関心を集めることはなかった。1997年の Strachan らの総説によると、記憶、注意、前頭葉機能に低下が多いとされる(表2)<sup>5)</sup>。実際、糖尿病では思考速度が低下し、記憶障害を訴える患者をしばしば経験する。

健常人を対象として、高血糖による認知障害の閾値について調べた研究がある(表3)<sup>6)</sup>。グルコースクランプ法を用いて、同一の対象で16.5 mM (300 mg/dl) と 4.5 mM (80 mg/dl) で同じ神経心理検査を行っている<sup>6)</sup>。高血糖では正常血糖と比べて、情報処理速度、作動記憶、注意などの課題で低下がみられた。また、2型糖尿病での高血糖の認知機能への影響を検討した研究では、血糖値が15 mM (270 mg/dl) を超えると、語想起、引き算課題のスピード・正答率が低下していた(表4)<sup>7)</sup>。すなわち、人では、高血糖による代謝性脳症は可逆性であり、おおむね270 ~ 300 mg/dl 程度が、認知障害の閾値であると考えられる。

糖尿病の認知障害の発症機序については、高血糖などの代謝性要因、脳の形態変化、認知機能の3つのカテゴリーを層別化して考える必要がある(表2)<sup>8)</sup>。これまでの研究により、インスリン抵抗性と海馬萎縮、高血糖と認知障害、白質病変・中心性脳萎縮と記憶障害などに有意な関連が示されている<sup>8,9)</sup>。

著者らは、糖尿病と早期ADの認知障害の特徴を検討

## 糖尿病外来での認知症の頻度

著者らは、糖尿病外来に通院する高齢者での認知症の頻度を調査した。神戸大学附属病院と神戸市の基幹病院の糖尿病外来に通院中の高齢者481名(女性248名、平均年齢73.5歳、糖尿病の罹病期間16年、平均HbA1c [JDS値] 6.9%) を対象とした。認知症の1次スクリーニングでは、「タッチパネルコンピュータを用いた物忘れ相談プログラム(日本光電<sup>®</sup>)」を用いた。短期記憶の課題(3点満点)でひとつ以上間違えた高齢者(73名)に、2次検査を勧めた。2次検査では23名がもの忘れ外来を受診し、認知症が18名(AD 15名、VD 1名、アルコール関連1名、不明2名)で診断された。脱落群でも同様の頻度で認知症があると仮定すると、認知症の頻度は13.1%、ADは10.4%と推計された。日本人を対象とした疫学調査では、認知症は高齢者の約8 ~ 10%程度と報告され、ADは約4 ~ 5%とされる。筆者らの調査ではADは10.4%であり、糖尿病患者では2倍程度多いことが示唆された。

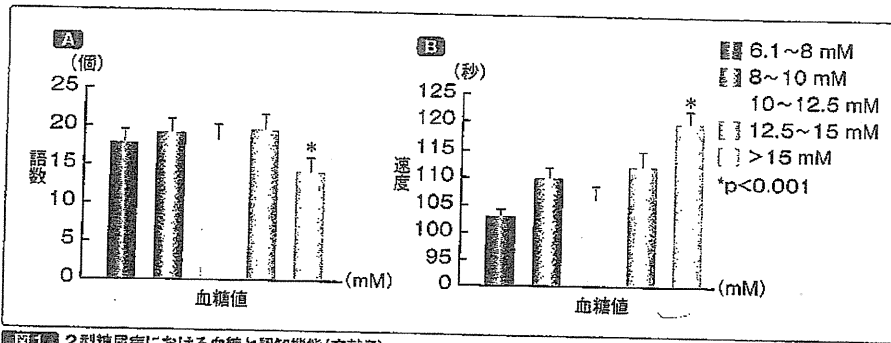


図1 2型糖尿病における血糖と認知機能(文献7)  
A: "A"で始まる単語の想起数/B: 引き算の速度(秒)

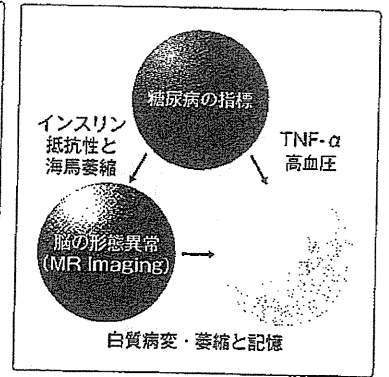


図2 糖尿病の認知障害の発症機序(文献8)

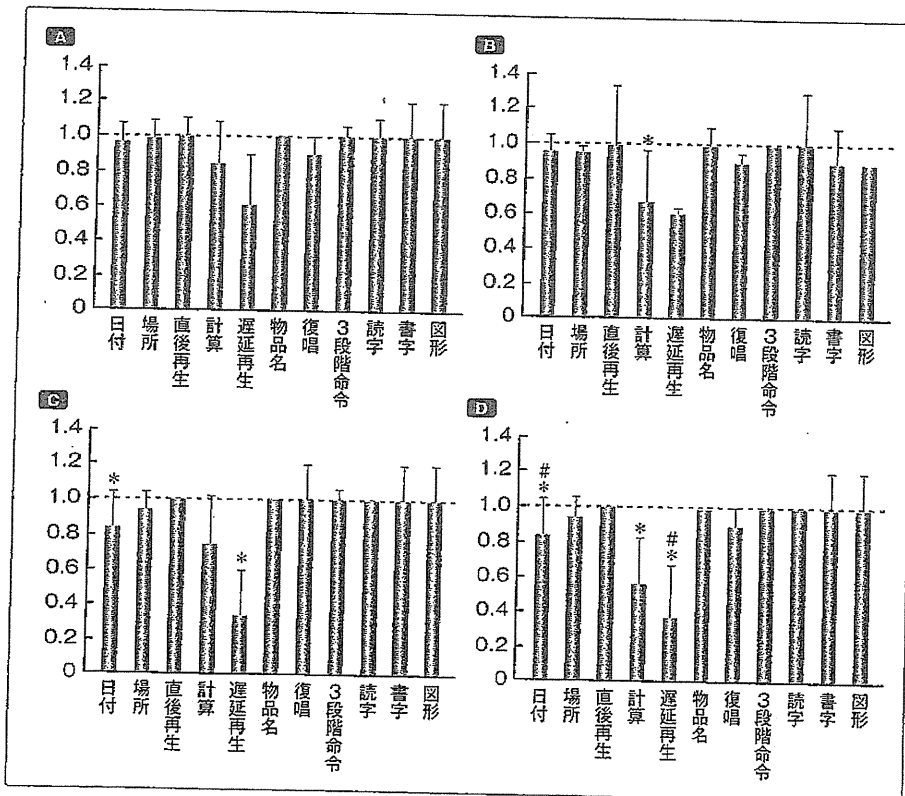
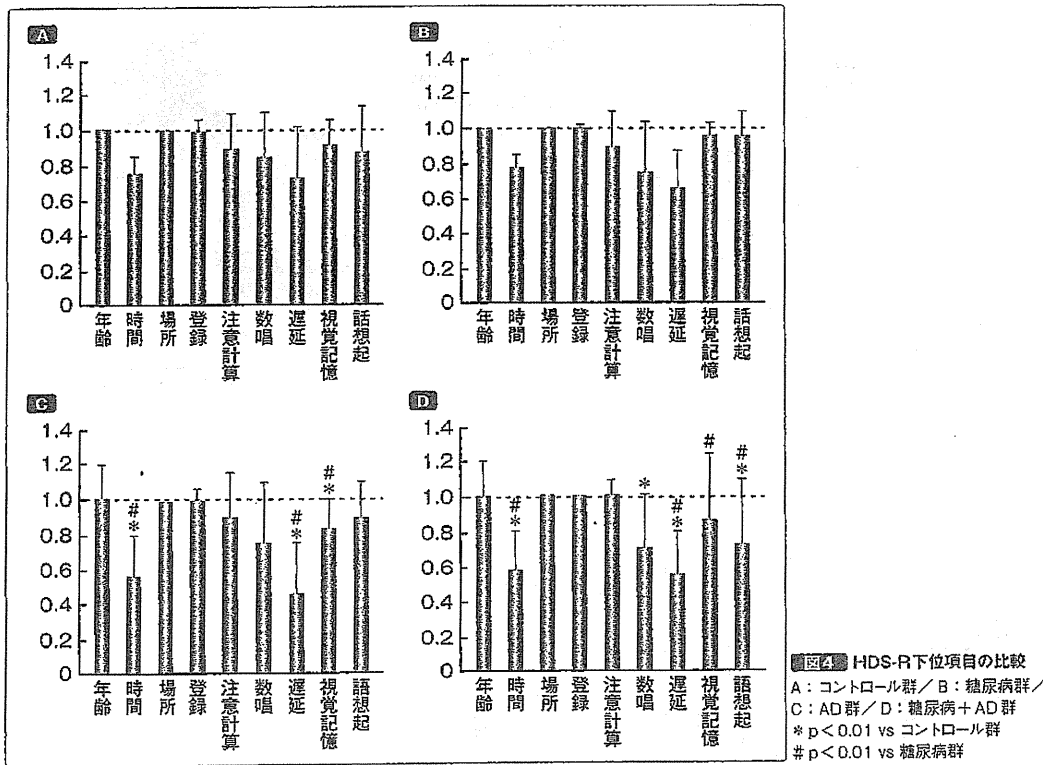


図3 MMSE下位項目の比較  
A: コントロール群/B: 糖尿病群/C: AD群/D: 糖尿病+AD群  
\* p < 0.01 vs コントロール群  
# p < 0.01 vs 糖尿病群

した。つまり健常者群、糖尿病群、早期AD群、糖尿病+早期AD群でミニメンタルテスト (MMSE) の成績を比較した(年齢、性別、教育年数は一致)<sup>10)</sup>。AD群はNINCDS-ADRDAのprobable ADでMMSE 24点以上を対象とした。その結果、糖尿病群のMMSEの総点の成績は健常群よりやや低下していた。またMMSEの下位項目を比較したところ(図3), 糖尿病群では計算・注意の課題の失点が目立ち、早期AD群では時間見当識、遅延再生の成績が有

意に低値であった。糖尿病+早期AD群では、両者の特徴を重ねあわせたプロフィールを示した。すなわち、糖尿病では主に前頭葉関連の認知能がより低下し、ADでみられる強い短期記憶障害とは異なる症候を示した。

同様の検討を長谷川式簡易知能スケール (HDS-R) で行ったところ(早期ADはHDS-R 20点以上)<sup>11)</sup>、健常者群、糖尿病群にはHDS-R総点ならびに下位項目には差がみられなかった(図4)。早期AD群では時間見当識、遅延再生、



視覚性記憶に低下があり，糖尿病+早期AD群ではさらに数唱，語想起にも低下が加わるプロフィールを示した。著者らは，これらのMMSE，HDS-Rの下位項目の特徴を利用し，早期ADのスクリーニング指標を提唱している<sup>10,11)</sup>。

## 糖尿病での認知症の発症機序

糖尿病に認知症の合併が多い機序として，遺伝的な素因に加えて，脳血管障害，高血糖に伴う代謝異常，脂質異常，高インスリン血症，低血糖の関与が考えられる。これらの血管，代謝ストレスによってVD，ADあるいはその他の病型の認知症のリスクが上昇する可能性が想定される(図5)。ADでは，脳における高血糖の持続，advanced glycation endproducts (AGE)や酸化ストレスの増加が，ADの神経病変を加速させることが報告されている<sup>1)</sup>。

とくに高インスリン血症は，ADの発症の根幹にかかわる可能性が注目されている(図6)<sup>12)</sup>。高インスリン血症では，

脳内でも炎症性サイトカインが増加して神経傷害を誘導する。脳で産生されたアミロイドβタンパク(Aβ)は体循環に流出し，肝臓でインスリン分解酵素(insulin degrading enzyme; IDE)によって消化されるが，高インスリン血症では，Aβの分解が拮抗阻害を受けてAβクリアランスが低下する<sup>13)</sup>。一方，インスリンは血液脳関門を通過し，海馬や大脳皮質に分布しているインスリン受容体に結合するが，慢性の高インスリン血症では脳内へのインスリンの移行が抑制され，脳内インスリンは低値となる。脳でのインスリンシグナルは記憶や学習にも重要な役割を果たしており，インスリン不足は記憶・学習効果を低下させる。また，インスリンの作用不足は，AβやタウなどのAD病理を促進させることでADの発症に深くかかわる。

細胞レベルの研究でも，Aβは神経細胞の細胞膜上のNMDA受容体，P/Qタイプカルシウムチャネル，Frizzled受容体，インスリン受容体などへ結合し，機能障害をきたす<sup>14)</sup>。Aβはインスリン受容体を細胞膜から細胞質にトランスロケーションさせ，インスリン受容体の自己リン酸化を抑制するという。ADにおける脳のインスリン感受性低下に着

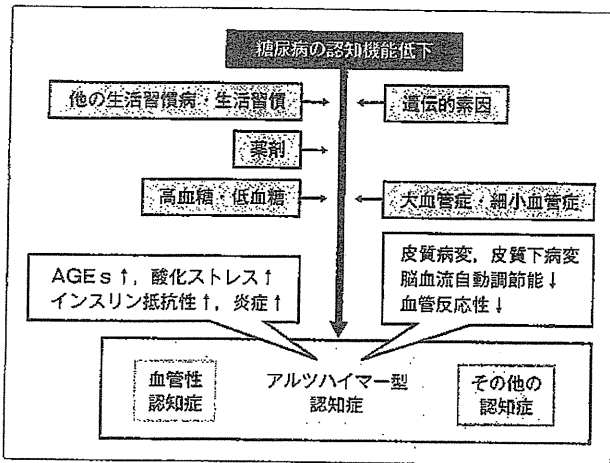


図5 糖尿病における認知症の発症機構

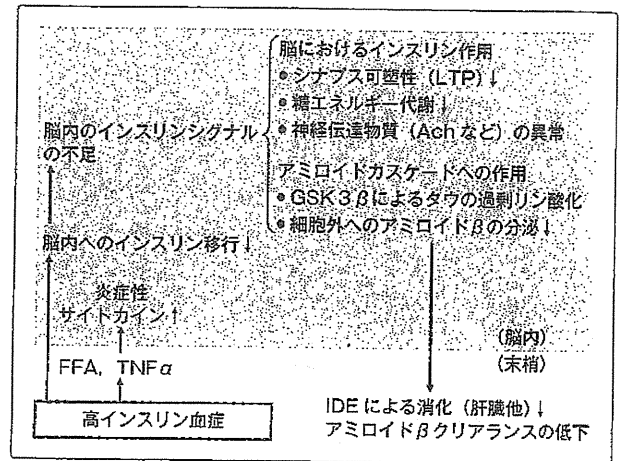


図6 高インスリン血症とアルツハイマー病

目して、「ADは第3の糖尿病である」という主張すらある<sup>15)</sup>。

以上の知見から、インスリン感受性を改善するチアゾリジン誘導体が、ADの治療に有効である可能性が期待されている。ここでインスリン抵抗性改善薬により認知機能の改善がみられた自験例を提示する<sup>16)</sup>。

例7-Aは、81歳女性で、肥満、高血圧、2型糖尿病を有する、いわゆるメタボリックシンドローム型の高齢者糖尿病である(HOMA-R 5.1)。数年前からもの忘れがあり、NINCDS-ADRDAのProbable ADと診断された。糖尿病に対してグリメピリド、メトホルミンを投与したところ、血糖値は一時改善したが、再び悪化した。ADに対して塩酸ドネペジルを投与したが、18ヵ月後には、MMSE 19点、HDS-R 17点まで低下した。そこで血糖値改善を目的に、インスリン抵抗性改善薬であるピオグリタゾンを投与したところ、糖尿病コントロールはHbA1c (JDS値) 6.3% (HOMA-R 2.9) にまで急速に改善した。同時に脳機能の改善を示唆するエピソードが介護者から得られ、心理検査でも認知機能(見当識、遅延再生)の改善が確認された。しかし本例では、脳機能の改善がチアゾリジンの効果か、代謝性脳症の改善によるものかについては不明である。

2例目は、79歳女性でADが合併した2型糖尿病である(図7-B)。厳格なインスリン療法が行われており、HbA1c (JDS値) はほぼ6~7%に管理されていた。脳機能の変化をADASの成績で示したが、ADの診断後、塩酸ドネペジルを約1年使用してもその間、ADASの成績にほとんど

変化はみられなかった。そこでピオグリタゾン 15 mgを追加したところ、半年後には6点以上の改善が認められた。ピオグリタゾンを30 mgに増量したところ、下肢に強い浮腫が生じたため中止した。その後ADASの成績は再び悪化した。本例では、脳機能改善にチアゾリジンが有用であったと考えられた。

これまで、AD治療に対するチアゾリジンの有効性を示した報告が散見される<sup>17,18)</sup>。最近、軽度認知障害(mild cognitive impairment; MCI)を合併した糖尿病でロシグリタゾンを投与された患者では、36ヵ月以上にわたり認知機能が維持されたと報告された<sup>19)</sup>。一方、インスリン抵抗性改善作用を有するピグアナイドについては、細胞レベルの実験で、逆にAβの産生を増加させるとの報告があり、ヒトでの解析が待たれる<sup>20)</sup>。また脳内にインスリンをより多く移行させることができる点鼻インスリン製剤(日本では未承認)による認知機能の改善も報告されている<sup>12)</sup>。中枢神経でのインスリン作用の改善は、AD治療のひとつのポイントとなるかもしれない。

## 低血糖の認知症への関与

低血糖が遷延すると非可逆的な脳機能障害をきたすが、このような重症低血糖は通常まれである。2型糖尿病で、低血糖と認知症発症との関連を明確に示した研究はこれ

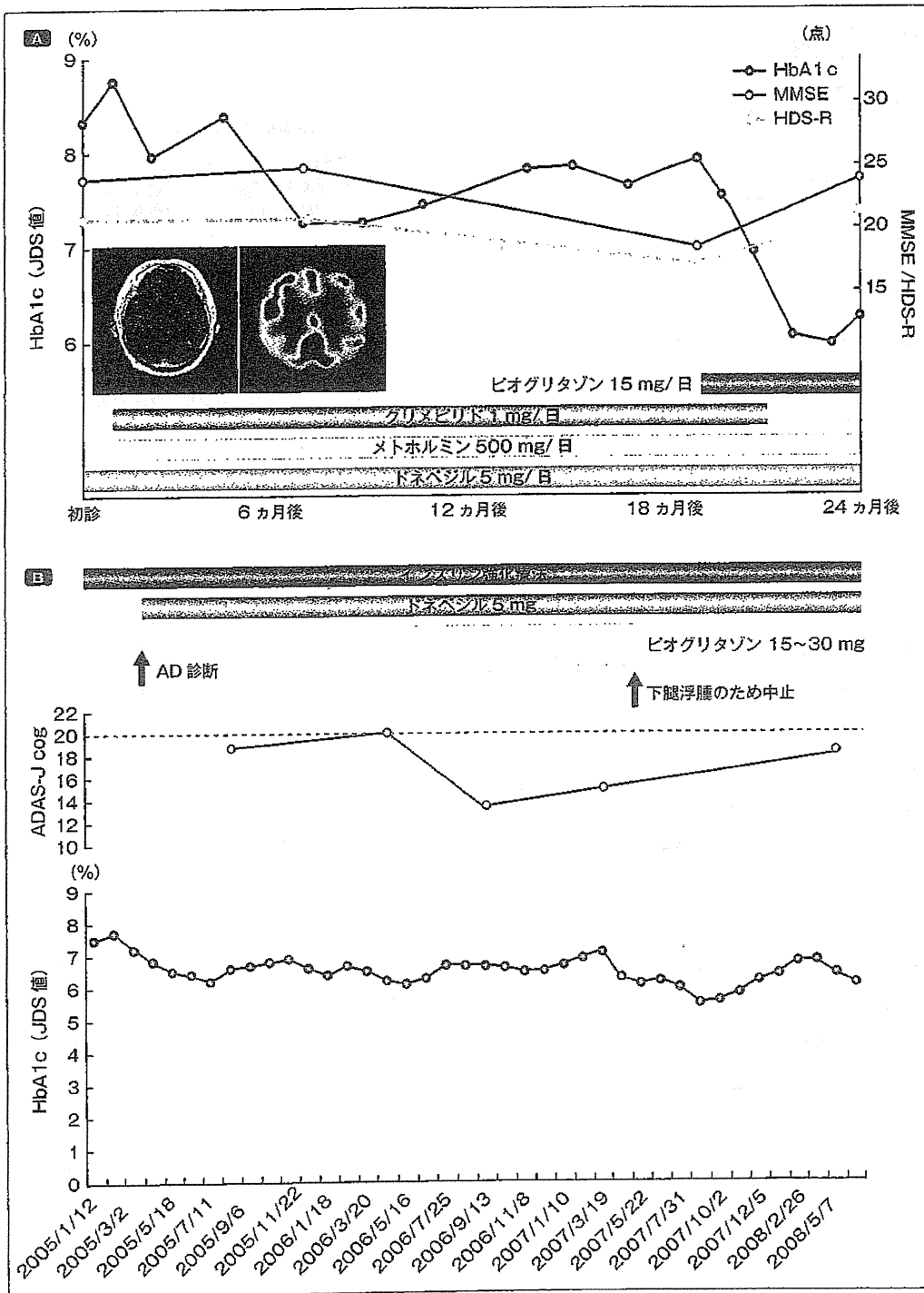


図7 インスリン抵抗性改善薬により認知機能の改善がみられた自験例(文献16)  
A: 症例1, 81歳女性 / 症例2, 79歳女性

までなかった。

Whitmerらは1万6667名の高齢者糖尿病において、1980～2002年に発生した退院記録および救急外来での診断データベースを用いて低血糖の症例を収集した(表2) 21)。2003年に記憶障害のない患者を2007年ま

で追跡観察し、認知症の発症リスクをCox比例ハザード回帰モデルで算出したところ、すべての交絡因子(年齢、性別、人種、教育、BMI、糖尿病の罹病期間、7年間の平均HbA1c、治療、インスリン療法、脂質異常、高血圧、心血管障害、脳卒中、一過性脳虚血発作、末期腎疾患)

表21 2型糖尿病における低血糖と認知症(文献21改変)

頻度	人数	OR (95% CI)
1回以上	250	1.44 (1.25 ~ 1.66)
1回	150	1.26 (1.10 ~ 1.49)
2回	57	1.80 (1.37 ~ 2.36)
3回以上	47	1.94 (1.42 ~ 2.64)

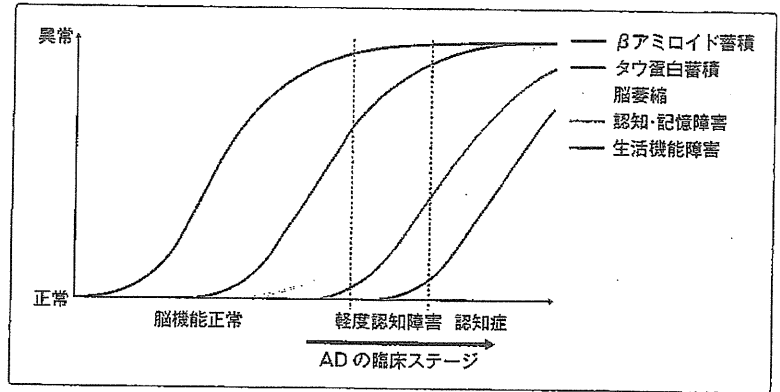


図8 アルツハイマー病の進展過程(仮説) (文献22)

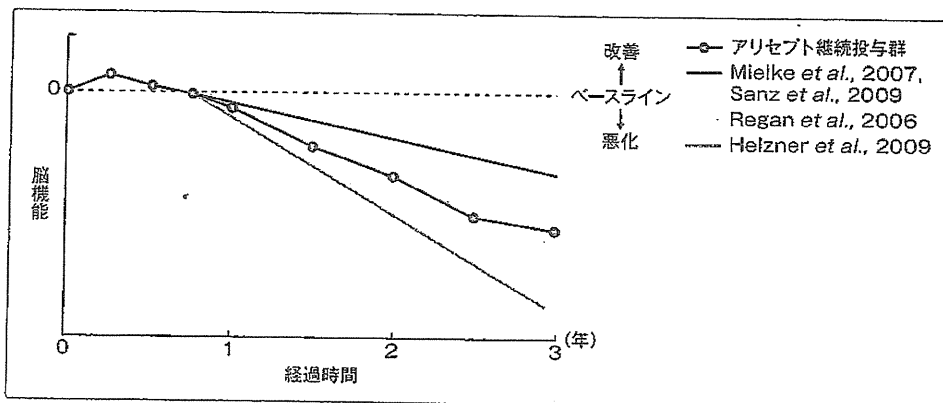


図9 糖尿病に合併したアルツハイマー型認知症の推移

を補正しても、ハザード比は、低血糖発作1回で1.26 (95 % CI:1.10~1.49), 発作2回で1.80(95 % CI:1.37~2.36), 3回以上で1.94(95 % CI:1.42~2.64)と有意に高値であったという。2型糖尿病において、重症低血糖が認知症の発症を増加させることを明確に示した重要な報告である。

## 認知症の予防を考えた糖尿病治療

ところで、ADはいつから始まるのであろうか。多くのADは70歳以降に発症するが、脳内の神経病理的变化はその以前から進行しているという(図8) <sup>22)</sup>。ADでは、Aβが重合して大脳皮質に沈着し、続いて神経原線維変化が形成され、神経細胞の脱落が生じる。ADは記憶障害・大脳皮質機能の低下のために生活機能障害が生じることで診断される。しかし、AD早期にはMCIといわれる記憶障害のみの病期があり、すでに老人班、神経原線維

変化の沈着、神経細胞死がみられる。Aβの蓄積はさらに数十年前から生じているという。つまりADは、20~30年の経過を有する疾患であり、認知症として発症するのはその最後のステージとなる。

AD発症のリスクとして、遺伝の関与は60~70%程度とされており、残りの30~40%は環境要因に依存しており、認知症予防が可能であることを示している。日本における高齢者の認知症ならびに糖尿病の増加を考えると、認知症の危険因子としての糖尿病の管理は見逃せない。ADの病理変化が潜行する50~70歳代は、まさに耐糖能異常が増加する年代層とも一致しており、壮年期から、認知症のリスクを考えた糖尿病治療を行うことが望まれる。糖尿病をどのように治療すれば認知症の発症を抑制できるのかを示したエビデンスが待たれる。

また、糖尿病にいったんADが発症した場合、その進展速度が通常のADと比べて速いか否かについても、一定の結論には至っていない(図9) <sup>23-26)</sup>。その原因として、糖尿病の年齢、罹病期間、合併症などに多様性が大きいこと、



また、チアゾリジンなどの糖尿病の治療方法も影響する。

日本の高齢者糖尿病ガイドラインでは、高齢者でも、高血糖は正常化を図ることが望ましいとされる。それが困難なときでも、空腹時血糖値が140 mg/dl未満、HbA1c (JDS値) 7%未満にすべきとの提言がなされている<sup>27)</sup>。しかしこのガイドラインでは、高齢者の脳機能を守る視点からの検討はなされていない。最近の海外の研究では、HbA1cが1%上昇するとMCI (軽度認知障害) のリスクが1.5倍、認知症を含めたりスクが1.4倍上昇するという<sup>28)</sup>。しかし、前述のように低血糖は避けるべきであり、認知症を抑制するための血糖管理の目標値についてのエビデンスが待たれる。その意味で、糖尿病による代謝性脳症の閾値が約300 mg/dlであることはひとつの目標値になると考えられる。

## 動物実験での血糖管理目標

著者らは、グルコース濃度が神経細胞死に及ぼす影響について、ラット海馬の切片培養法を用いて検討を行った (図10-B)<sup>29)</sup>。この方法は、長期間の生存を観察することに適した実験系である。海馬スライスに12日間標準メディアウムで培養し、2日間、10 mMあるいは20 mMのグルコースのもとで培養した。さらに、14日目から低血糖、高血糖にコンディショニングし、propidium iodide (PI) の取り込みによって48時間後の神経細胞死を観察した。

その結果、2 mM以下までグルコース濃度が低下すると細胞死が観察された (図10-C)。一方、30 mM以上の高血糖でも細胞死が認められた。スクロースで浸透圧を補正した実験でも、高グルコースによる細胞死が特異的に観察される。ここで細胞外液にAβを加えると、低グルコース側では3 mMから神経細胞死がみられた。高血糖側でも、20 mM以上になると細胞死が誘導された。つまり、神経の生存に適したグルコースの濃度は3~25 mMまで幅 (glucose window) があるのに対して、Aβがあると5~

15 mMまで狭まることが示された。低血糖、高血糖による細胞死の機序として酸化ストレスが重要であり、ADモデルではAβに起因する酸化ストレスと相加して、神経毒性が増強することが示された<sup>29)</sup>。

さらに、細胞外液のグルコース濃度が急激に変動したときの細胞生存について検討した。通常の条件では、細胞外液のグルコース濃度を高血糖 (20 mM) から2 mMまで変動させると、わずかに細胞死が増強された。しかし、アミロイドが存在するモデルでは、20 mMから5 mMまで低下させただけで神経細胞毒性が増強した。5 mM (90 mg/dl) は正常血糖範囲であり、Aβ存在下では正常血糖範囲でも細胞死が生じることが示された (図10-D)。これらの結果は、ADのような脳の器質的な疾患がある場合、高血糖・低血糖を回避し、また血糖値の変動幅も少なく穏やかに管理することが重要であることを示唆すると考えられた。しかし、ADを合併した糖尿病患者でこのような精緻な血糖管理を行うことは困難であることから、管理方法に工夫が必要となる。

## インクレチン関連薬の可能性

インクレチン関連薬は、これまでの血糖降下薬とはまったく異なる作用機序を有し、2型糖尿病治療の新しい扉を開いた<sup>30)</sup>。GLP-1は、インスリン分泌増強作用のみならず、膵β細胞の保護、グルカゴン分泌抑制、胃運動の抑制、食欲中枢に働きかけて食欲を抑制するなどの多面的な作用を示す。インクレチンは、血液脳関門を通過して虚血性脳卒中、AD、パーキンソン病の治療でも神経保護的に働く可能性が期待されている<sup>31)</sup>。

GLP-1受容体は、げっ歯類、ヒトの脳に広範に分布しており、GLP-1は神経成長因子として働いて神経突起の成長を促し、またグルタミン酸によるアポトーシスや、Aβ、Feなどの酸化ストレスによる神経傷害を抑制する。GLP-1

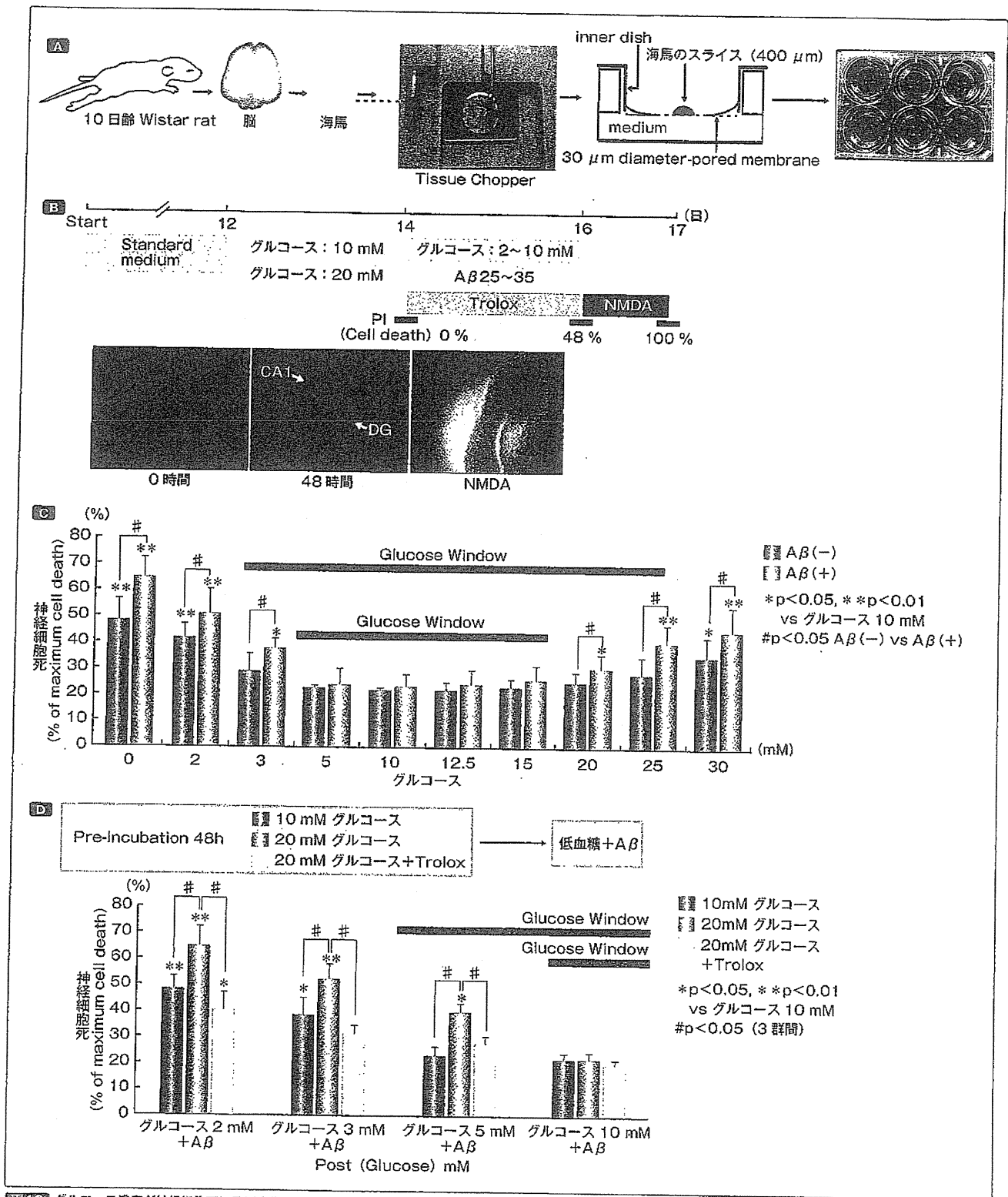


図10 グルコース濃度が神経細胞死に及ぼす作用(文献29)

A: ラット海馬の切片培養 / B: 神経細胞死の評価法 / C: 海馬スライス培養における血糖値と細胞死 / D: Aβと血糖値の急峻な降下における細胞障害

は、脳の神経前駆細胞を分化させ、神経修復、抗アポトーシス作用、シナプス可塑性や記憶・学習の向上などをきたす<sup>32)</sup>。GIP受容体も、GLP-1受容体と同様、大脳皮質の錐体細胞に発現しており、GIPアナログは神経幹細胞の増殖を促す。Aβは細胞レベルでの記憶モデルである長期増強現象(long-term potentiation; LTP)を障害するが、GIPアナログはAβによるLTP抑制を改善させる<sup>33)</sup>。またGLP-1をマウスに投与すると、神経細胞のAβ量およびアミロイド前駆体蛋白(amyloid precursor protein; APP)量が低下することが報告されている<sup>34, 35)</sup>。インクレチン関連薬が、AβおよびAPP量を低下させる機序については、いまだ不明な点が残る。

インクレチン関連薬は低血糖のリスクの低い薬剤であり、また血糖値の変動を安定化させる。つまりインクレチンは、脳機能を保護する立場からは有利な特性を併せ持つといえる。AD治療に対するGLP-1アナログであるExendin-4(Byetta<sup>®</sup>)の臨床治験が海外ではすでに始まっている。

## おわりに

認知症は、幾多の合併症を切り抜けてきた糖尿病患者が、高齢になったとき向きあう最大の合併症として捉えられる。高齢者糖尿病の脳機能を守るために、高血糖・低血糖の管理、高インスリン血症、脳血管病変を抑制することが重要である。糖尿病に合併する認知症では、少なくとも代謝性脳症の改善によって脳機能が改善する余地があり、積極的に治療すべきと思われる。代謝性脳症をコントロールする目的から、随時血糖値を270～300 mg/dl以下にすることはひとつの根拠ある目標値と考えられる。中壮年期からの認知症のリスクを見据えた、糖尿病の治療戦略が求められている。

## 文献

- 1) Biessels GJ *et al.*, *Lancet Neurol.* 2006; 5: 64-74.
- 2) Ott A *et al.*, *Neurology.* 1999; 53: 1937-42.
- 3) 清原 裕, *日本老年医学会雑誌.* 2007; 44: 537-45.
- 4) Miles WR *et al.*, *Arch Intern Med.* 1922; 30: 767-77.
- 5) Strachan MW *et al.*, *Diabetes Care.* 1997; 20: 438-45.
- 6) Sommerfield *et al.*, *Diabetes care.* 2004; 27: 2335-40.
- 7) Cox *et al.*, *Diabetes care.* 2005; 28: 71-7.
- 8) Sakurai T *et al.*, *Geriatr Gerontol Int.* 2006; 6: 159-64.
- 9) Akisaki T *et al.*, *Diabetes Metab Res Rev.* 2006; 22: 376-84.
- 10) Sakurai T *et al.*, *J Am Geriatr Soc.* 2007; 55: 955-6.
- 11) Tsukamoto R *et al.*, *Geriatr Gerontol Int.* 2009; 9: 213-5.
- 12) Craft S, *Neurobiol Aging.* 2005; 26(Suppl 1): 65-9.
- 13) Qiu WQ *et al.*, *Neurobiol Aging.* 2006; 27: 190-8.
- 14) Sakono M *et al.*, *FEBS J.* 2010; 277: 1348-58.
- 15) Steen E *et al.*, *J Alzheimers Dis.* 2005; 7: 63-80.
- 16) Matsuzawa T *et al.*, *J Japan Diab Soc.* 2007; 50: 819-23.
- 17) Watson GS *et al.*, *Am J Geriatr Psychiatry.* 2005; 13: 950-8.
- 18) Sato T *et al.*, *Neurobiol Aging.* [Epub ahead of print]
- 19) Abbatecola A *et al.*, *Diabetes Care.* 2010; 33: 1706-11.
- 20) Chen Y *et al.*, *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106: 3907-12.
- 21) Whitmer RA *et al.*, *JAMA.* 2009; 301: 1565-72.
- 22) Jack CR Jr *et al.*, *Lancet Neurol.* 2010; 9: 119-28.
- 23) Mielke MM *et al.*, *Neurology.* 2007; 69: 1850-8.
- 24) Sanz C *et al.*, *Neurology.* 2009; 73: 1359-66.
- 25) Regan C *et al.*, *Neurology.* 2006; 67: 1357-62.

- 26) Helzner EP *et al.*, *Arch Neurol.* 2009; 66: 343-8.
- 27) 日本糖尿病学会 編, 科学的根拠に基づく糖尿病診療ガイドライン 改訂第2版. 南江堂, 2007; p211-9.
- 28) Yaffe K *et al.*, *J Nutr Health Aging.* 2006; 10: 293-5.
- 29) Wang X *et al.*, *Exp Gerontol.* 2010; 45: 904-8.
- 30) Seino Y *et al.*, *Curr Med Res Opin.* 2009; 25: 3049-57.
- 31) Holscher C, *Recent Pat CNS Drug Discov.* 2010; 5: 109-17.
- 32) During M *et al.*, *Nat Med.* 2003; 9: 1173-9.
- 33) Gault VA *et al.*, *J Neurophysiol.* 2008; 99: 1590-5.
- 34) Perry T *et al.*, *J Neurosci Res.* 2003; 72: 603-12.
- 35) Li Y *et al.*, *J Alzheimers Dis.* 2010; 19: 1205-19. 先生へ

## Profile

櫻井 孝 (さくらい たかし)  
 1985年 神戸大学 医学部 卒業, 神戸大学大学院 修了 医学博士  
 1992年 岡崎国立共同研究機構生理学研究所 研究員  
 1993年 米国ワシントン大学 薬理学教室 研究員  
 2001年 神戸大学大学院 医学系研究科 老年内科・助手  
 2007年 神戸大学付属病院 老年内科 講師  
 2010年 国立長寿医療研究センター もの忘れセンター 外務部長, 現在に至る



## Short Communication

## Dilation of perforating arteries in rat brain in response to systemic hypotension is more sensitive and pronounced than that of pial arterioles Simultaneous visualization of perforating and cortical vessels by in-vivo microangiography

Hiroshi Yoshino<sup>a</sup>, Takashi Sakurai<sup>a,\*</sup>, Ximena-Sayuri Oizumi<sup>a</sup>, Taichi Akisaki<sup>a</sup>, XiaoNan Wang<sup>a</sup>, Koichi Yokono<sup>a</sup>, Takeshi Kondoh<sup>b</sup>, Eiji Kohmura<sup>b</sup>, Keiji Umentani<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Department of Internal and Geriatric Medicine, Kobe University Graduate School of Medicine, 7-5-1 Kusunoki-cho, Chuo-ku, Kobe 650-0017, Japan

<sup>b</sup> Department of Neurosurgery, Kobe University Graduate School of Medicine, Japan

<sup>c</sup> Japan Synchrotron Radiation Research Institute, SPring-8, Sayo-gun, Hyogo, Japan

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 25 March 2008

Revised 26 September 2008

Accepted 29 September 2008

Available online 18 October 2008

## Keywords:

Autoregulatory vascular dilatation

Perforating artery

Pial artery

Hypotension

Rat

## ABSTRACT

Autoregulatory responses of perforating arteries play a key role in the maintenance of microcirculation of the deep brain regions. The aim of this study was to test our hypothesis that autoregulatory vasodilatation of perforating arteries is more effective than that of cortical arteries. We performed cerebral microangiography in adult Wistar rats using monochromatic synchrotron radiation at SPring-8 and for the first time radio-graphically visualized perforating arteries and cortical arteries simultaneously in a single view. In response to hypotension induced by arterial bleeding, both arteries showed significant vasodilatation. Steady-state responses of increments in caliber to stepwise hypotension revealed that perforating arteries exhibited significant vasodilatation at blood pressure below 80–99 mm Hg. Cortical arteries, on the other hand, showed a gradual and smaller vasodilatation beginning at 60–79 mm Hg. For the lowest blood pressure range at 40–59 mm Hg, the smallest arteries with a diameter of 20–40  $\mu$ m showed maximal dilation in both groups, but perforating arteries showed significantly larger dilatation (185.0% of baseline diameter) than cortical arteries (152.7%;  $P=0.003$ ). Our results indicate that vasodilatation of perforating arteries is more sensitive and pronounced in response to systemic hypotension than that of pial arteries, which explains how cerebral microcirculation is maintained efficiently in the deep brain regions.

© 2008 Published by Elsevier Inc.

## Introduction

Perforating arteries are terminal vessels located deep in the ventral brain area. They directly emerge from the main cerebral trunks without collateral flow with adjacent arteries. Perforating arteries are particularly important because they supply blood to vulnerable parts of brain structures, e.g., basal ganglia, thalamus and hippocampus. Pial arterioles are located on the cortical surface and are richly anastomosed, not only among themselves, but also with the branches from the external carotid artery (ECA). Such rich anastomosis can compensate for reduction in local perfusion during hypotension.

Autoregulation of cerebral blood flow (CBF), the tendency for blood flow to remain constant despite changes in arterial perfusion pressure, is a crucial mechanism for the maintenance of cerebral circulation. This autoregulation of blood flow is accomplished via constriction of cerebral blood vessels as the pressure rises and vasodilatation as the

blood pressure declines (Kontos et al., 1978; Faraci and Heistad, 1998). Autoregulatory response of perforating arteries plays a key role in sustaining microcirculation of the deep brain regions and its disruption may be involved in the pathogenesis of small-vessel diseases such as lacunar infarction and leukoaraiosis (Jorgensen et al., 1994; Molina et al., 1999). However, so far it has not been possible to examine autoregulatory adjustments of perforating arteries radio-graphically because of their deep-seated anatomical location and small size. Nor has any comparative study been made of perforating arteries and pial vessels.

We recently developed a novel cerebral angiography procedure for rodents using monochromatic synchrotron radiation X-rays at SPring-8 and obtained images of cerebral perforating arteries (Morishita et al., 2006; Kidoguchi et al., 2006; Oizumi et al., 2006). In the study presented here, we improved this procedure to visualize rat perforating and cortical arteries simultaneously in a single view. We then used this method to test the hypothesis that, after induced hypotension, perforating arteries distend more efficiently than pial arteries to maintain constant blood supply to the deep brain regions.

\* Corresponding author. Fax: +81 783825919.

E-mail address: sakurai@med.kobe-u.ac.jp (T. Sakurai).

## Material and methods

This study used nine 6-month-old male Wistar rats weighing 400–450 g. All of our experimental procedures were in accordance with the guidelines for animal experiments of Kobe University. The cerebral microangiography for rat brain used ultra-bright and monochromatic X-rays at the third-generation synchrotron radiation center SPring-8. Details of the microangiographic method have been described elsewhere (Umetani et al., 2007). Briefly, after anesthesia with pentobarbital sodium (50 mg/kg i.p.), bilateral femoral arteries were cannulated for the recording of mean arterial blood pressure and for taking arterial blood samples and inducing hemorrhagic stepwise hypotension. After the ECA had been cannulated to inject the contrast medium, the rats were placed in the supine position in a stereotaxic frame. Rats were intubated and the temperature monitored and controlled at 36–37 °C with a thermo-controlled heating pad. Artificial ventilation of air was maintained by a ventilator at a rate of 60–70 respirations/min. To visualize the perforating and cortical vessels of the hemisphere in a single-view 9.5 mm×9.5 mm frame, rats were tilted at 70° angles to the X-ray beamline and 7° angles in the vertical direction.

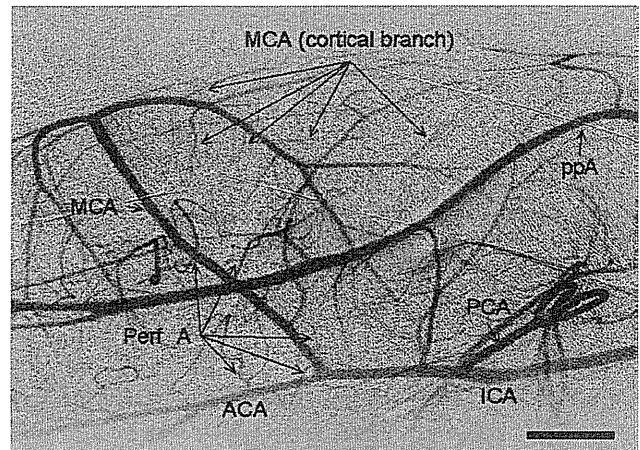
After preparation of the animals, the contrast tube inserted in the ECA was connected to an automated injector programmed to deliver 0.3 ml of non-ionic contrast media in 0.6 s. The first angiogram was then obtained to estimate the basal tone of the vessels and we allowed at least 3 min intervals between angiograms to reestablish physiological blood flow before the next angiographic study. The hypotension required to analyze the vascular reactivity of cerebral vessels was achieved by inducing arterial bleeding. The mean arterial blood pressure (MABP) of each animal was reduced in steps of 20 mm Hg at a rate of  $-0.22$  mm Hg/s, and 4–5 successive angiograms were obtained. Before each angiogram, steady-state level of blood pressure was confirmed, which was defined as variance in blood pressure within 10% of MABP. At an MABP below 40 mm Hg, fragmentation of flow in the vessels under observation occurred frequently and made diameter measurement unreliable. We therefore avoided reducing the blood pressure to less than 40 mm Hg. Blood samples were obtained immediately after the first baseline angiography for the measurement of arterial gas tension, pH, and glucose concentration.

The images were stored digitally, and to generate the subtraction images, 10 original images were added to and subtracted from the pre-infusion image. Sequential images were obtained with an input field of 9.5 mm×9.5 mm view and pixel size of 9.5 μm per side. Quantitative measurement of vessel diameter changes by less than the pixel size was achieved by calculating the vessel diameters semi-automatically on the digital image with Image Pro Plus Ver. 5.0 (Media Cybernetics, Inc., Silver Spring, MD) combined with a program especially developed for this study (Oizumi et al., 2006). With this semi-automatic measurement, vessel intensity profiles orthogonal to a smoothed trace in the vessel are picked up, and the vessel diameter is estimated as the width of the intensity profiles.

**Table 1**  
Baseline diameters of perforating and cortical arteries

Range of vascular diameter (μm)	Perforating arteries (μm)*	Cortical arteries (μm)*	P value
20–40	32.7±4.6	35.9±4.3	0.17
40–60	48.1±5.7	48.2±4.8	0.83
60–80	68.4±3.5	70.7±5.0	0.15
80–100	–	86.8±5.1	–
100–120	–	107.0±6.0	–
20–80	51.0±9.8	50.3±12.6	0.79

\* Data were presented as average±SD.



**Fig. 1.** A representative angiographic view of the cerebral vessels in hemisphere. ICA, internal carotid artery; ACA, anterior cerebral artery; MCA, middle cerebral artery; PCA, and posterior cerebral artery; Perf A, perforating arteries; ppA, pterygopalatine artery.

## Statistical analysis

Data are shown as average±SD. Non-paired t-test and two-way analysis of variance (ANOVA) were used for comparisons among the groups. Post-hoc comparisons between mean values were made with the Dunnett test. *P* values <0.05 were accepted as statistically significant.

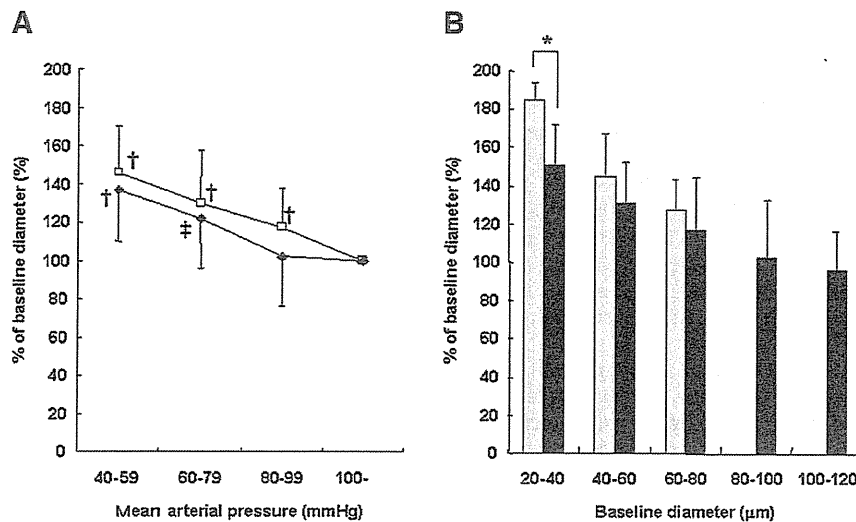
## Results

Mean arterial blood pressure at baseline was 110.5±2.9 mm Hg, while arterial pH, PaO<sub>2</sub> and PaCO<sub>2</sub> were 7.41±0.03, 92±5 mm Hg, and 36±9 mm Hg, respectively. During hypotension, pH was 7.37±0.08, PaO<sub>2</sub> 94±5 mm Hg, and PaCO<sub>2</sub> 34±5 mm Hg. Perforating arteries 20–80 μm in diameter and cortical vessels 20–120 μm in diameter were measured. We grouped cerebral vessels into five caliber sizes (20–40 μm, 40–60 μm, 60–80 μm, 80–100 μm, and 100–120 μm), because the changes in arterial caliber in response to changes in arterial blood pressure are size-dependent (Kontos et al., 1978). The mean vessel diameters of the groups are shown in Table 1, demonstrating that there were no significant differences in vascular caliber between perforating and cortical arteries.

A representative microangiographic view of the whole hemisphere is shown in Fig. 1. In this image we can clearly see the internal carotid artery, anterior cerebral artery, middle cerebral artery (MCA), posterior cerebral artery and perforating arteries. Some perforating arteries can be seen to emerge from the first portion of the MCA while the second and third ramification of the MCA could also be visualized in a single angiographic view.

Fig. 2A shows steady-state responses of caliber increment to stepwise hypotension of perforating and cortical arteries 20–80 μm in diameter. Baseline diameters of these arteries were not significantly different (Table 1), but perforating arteries exhibited significant vasodilatation at a blood pressure below 80–99 mm Hg and a progressive increase in vascular calibers in response to stepwise hypotension, while cortical arteries showed a gradual and smaller vasodilatation. Significant dilatation was observed in the cortical branches of MCA at a blood pressure below 60–79 mm Hg, so that the vascular response pattern of perforating and cortical arteries was also significantly different (ANOVA).

Because autoregulatory distensibility of cerebral vessels largely depends on the vascular size (Kontos et al., 1978), maximal vasodilatation at a blood pressure of 40–59 mmHg for each vessel size is shown in Fig. 2B. In response to induced hypotension, both perforating



**Fig. 2.** (A) Steady-state responses of perforating and cortical arteries 20–80  $\mu\text{m}$  in diameter to stepwise hypotension. Perforating arteries (white squares) exhibited significant vasodilatation at a blood pressure below 80–99 mm Hg and a progressive increase in vascular calibers in response to stepwise hypotension. Cortical vessels (black diamonds) showed a gradual and smaller vasodilatation. † and ‡ indicate  $P < 0.0001$  and  $P < 0.001$  vs. normal blood pressure, respectively (ANOVA). (B) Maximal vasodilatation of perforating and pial arteries in response to induced hypotension (40–59 mm Hg). Both perforating (white bar) and cortical (black bar) arteries showed significant dilatation. Perforating arteries 20–40  $\mu\text{m}$  in caliber showed a 185.0% increase in dilatation, while cortical arteries of the same diameter showed a 152.7% increase compared with baseline diameter. Asterisks denote  $P = 0.003$  vs. perforating arteries.

and cortical arteries clearly showed vasodilatation and perforating arteries 20–40  $\mu\text{m}$  in caliber showed 185.0% dilatation compared with the baseline diameter. Larger perforating vessels also dilated significantly, but the percentage increase in diameter in response to hypotension was greater in the smaller than in the larger vessels. On the other hand, cortical arteries showed less vascular dilatation than perforating arteries, with maximal dilatation of cortical vessels 20–40  $\mu\text{m}$  in diameter of 152.7% ( $P = 0.003$  vs. perforating vessels).

## Discussion

In this study, we modified the microangiographic technique by tilting the rat brain to the X-ray beamline so as to focus on autoregulatory response to hypotension of perforating vessels in comparison with that of cortical arteries. Our results clearly indicated that both perforating and cortical arteries dilated in response to induced hypotension and that regulation of distensibility of perforating vessels was more sensitive and pronounced than that of cortical arteries. To the best of our knowledge, this is the first *in vivo* evidence of a functional difference between perforating and pial arteries, which strongly supports the notion that effective autoregulatory responses of perforating arteries are crucial for maintaining microcirculation of deep brain structures.

Barzo et al. (1993) reported that the functioning of autoregulation in the deep gray matter is strongly influenced by the rate of change in systemic arterial blood pressure. They found that CBF remained at baseline values if hypotension was produced at a rate slower than  $-0.4$  mm Hg/s. Otherwise, the reduction in CBF was similar to that in MABP. In our experiments, stepwise hypotension was induced slowly ( $-0.22$  mm Hg/s) and the steady-state level of blood pressure was confirmed before each angiogram. Thus, it seems likely that autoregulatory responses of cerebral vessels were functioning at each step of hypotension induction.

Baumbach and Heistad (1985) pointed out the regional heterogeneity of cerebral vascular autoregulation, and Mueller, Heistad and Marcus (1977) showed that autoregulation of blood flow is more effective in the brain stem than in the cerebrum. In the pial arterioles, progressive vasodilatation has been demonstrated at a blood pressure below 80 mm Hg (Kontos et al., 1978), which agrees with our results.

Our study also found that perforating arteries showed more pronounced and sensitive autoregulatory responses to changes in blood pressure. Three possibilities have to be considered to explain the regional differences in autoregulatory vascular responses: difference in the anatomical structure of vessels, difference in changes in intravascular pressure, and difference in regulation of autoregulatory vasodilatation.

Anatomical studies of human brain have revealed that pial arteries on the cortical surface are generally equipped with two to three muscle layers, whereas penetrating arteries have only one to two smooth muscle cells per circumference (Lampert and Baez, 1962; Edvinsson and Krause, 2001). The same structural elements are noted in rat cerebral vessels, but with smaller dimensions (Edvinsson and Krause, 2001). These structural differences of vessels suggest the wall of pial arteries is less elastic, while another possible implication is that the change of intravascular pressure in pial arteries is smaller. Autoregulatory changes in the caliber of the upstream larger vessels are sufficient to compensate for changes in arterial blood pressure and therefore pressure changes in pial arteries are smaller than the associated changes in mean arterial blood pressure (Lampert and Baez, 1962; Stromberg and Fox, 1972). In contrast, perforating arteries are more proximal and may more strongly reflect the changes in systemic blood pressure. Finally, mechanisms that mediate autoregulation of cerebral blood vessels may include myogenic responses, metabolic factors, neural mechanism and activation of potassium channels (Faraci and Heistad, 1998). Myogenic regulation, neural mechanism and metabolic influences surrounding perforating and cortical vessels may be different, but the precise mechanism of autoregulatory responses in perforating vessels remains unknown.

Because perforating arteries do not have any compensatory mechanism other than autoregulatory vasodilatation, it seems likely that the sensitive and pronounced response of these vessels is mainly responsible for sustaining microcirculation of the deep brain regions during hypotension, so that deterioration of this response could cause serious brain damage. Cerebral small-vessel disease is pathologically characterized by multiple lacunae and widespread white matter lesions, with hypertension as a major risk factor (Yanagihara, 2002; Khan et al., 2007). Stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHR-SP) provide an excellent model for small-vessel disease, because