

を利用する者が少なかった ($p < .05$)。他の交通機関や他の免許所有条件 (免許保持者と免許未取得者) には有意な差が認められなかった。

考 察

1. 免許失効の有無と交通手段との関係

本研究では、運転中止が認知機能低下を有する高齢者のその後の生活に与えるインパクトを評価することを目的とした。都市部大学病院もの忘れ外来を受診する高齢者が日常移動と通院に利用する交通手段について調査し、運転中止の有無と利用する交通機関との関連を検討した。日常移動および通院の交通利用の状況について運転免許の保有条件群 (免許保持者、免許失効済者、免許未取得者) 間で比較したところ、1カ月間に3回以上利用する交通機関の数が免許保持者で免許未取得者に比べて有意に少なく、免許失効済者においても免許未取得者に比べて少ない傾向が確認された。具体的な交通手段別の検討の結果から、免許未取得者の多くがバスや地下鉄、タクシーといった公共交通機関の重複利用を可能としているのに対して、免許保持者や免許失効済者では限定的な利用に留まり、代わりに免許保持者は自分の運転で自家用車を、免許失効済者は家族の運転で自家用車を利用している傾向が確認された。この傾向は、認知症者においてより顕著であった。

これらの結果は、第一に、認知機能低下を有する高齢者群においては、運転免許を保持しない場合に、家族の運転に依存せざるを得ない実情を示唆する。免許失効済群と未取得群ともに、半数以上が月に3回以上「家族の運転する自家用車」を移動に用いているという実態が明らかにされた。第二に、免許取得経験のある高齢者と元来運転免許を取得しない生活を選択してきた高齢者とは、移動手段として「自分の運転で自家用車を利用しないこと」の生活に与えるインパクトが異なることを示唆する。即ち、過去に自分の運転で移動する生活を選択してきた高齢者の場合は、その中止が、単に「自分の運転で自家用車を利用しない」ことを意味するだけでなく、認知症発症時の「移動手段が減る、ないし無くなる」ことに直結していた。公共交通機関を利用する機会が少ないという元来の生活スタイルが免許失効後も遷延し、公共交通機関の新規利用に結びつかないためと解釈し得る。逆に、運転免許未取得群では、他の2群に比べて認知症者の割合が多いにも関わらず公共交通機関の利用割合が維持されていた。公共交通機関を利用することになじんだ生活歴が、彼らの移動を支えている可能性を示唆する。よって、運転を生活の一部としてきた高齢者に認

知機能低下を理由として中止を勧告する場合には、公共交通機関を利用する方向に生活を切替えることの難しさを前提にして介入を始める必要がある。そして、家族や介護者による送り迎えの導入を中心に、環境の整備を図ることが現実的と思われる。

本研究の限界として、免許保持者においては市内居住者が少なく市近郊居住者が多い一方、免許未取得者においては市内居住者が多く市近郊居住者が少ないという基本属性の群間差が指摘される。したがって、高齢ドライバーが運転を中断した場合に家族の運転に頼らざるを得なくなる理由が、単にインフラとしての公共交通機関網の不在にあるのか、公共交通機関への馴染みの程度といった個人の能力に起因するののかについては判断できない。この点を明らかにすることは、援助の在り方を検討することにつながる。今後の課題である。

2. 運転中止の選択に関わる要因

本研究の対象群において、47.5%を占める「免許保持者」のうち、いわゆるペーパードライバーや、家族に止められていて「ほとんど運転しない」者の割合は22.9%に過ぎなかった。池田ら (2005)²⁹⁾がすでに指摘しているように、高齢者における「免許を持っている人は、乗っている人である」という傾向が改めて確認された結果といえる。その背景には、都市近郊在住であっても、運転できないと困ったり、不便であったりする本人の認識が存在するようである。では、加齢に伴いある時点で自ら運転を辞める高齢ドライバーと、そうでないドライバーとの間にはどのような属性差があるのか。

運転免許の保有条件間でその属性を比較したところ、免許保持者は免許失効済者に比べて、年齢が低く、教育歴が高く、全般的な認知機能低下を反映するMMSEの成績に優れ、高得点であるほど抑うつが強いと判断されるGDS15得点が低いことが示された。また免許保持者は免許未取得者に比べて、前頭葉機能を反映するとされるFABの成績に優れ、GDS15得点が低く、市内居住者が少ないことが示された。これらの結果は、認知機能低下の程度や居住地区の交通状況といった従来指摘されてきた因子が運転中止の選択圧であることを支持する一方で、GDS15得点に反映されるような本人の精神状態も無視できない可能性を示唆する²⁹⁾。

しかし、本研究は小規模サンプルを対象とした群間比較に留まるために、関係変数を調整した上で、各要因が運転中止の選択に寄与する程度を比較検討できていない点で限界がある。また、「事故経験」や「家族による勧め」といったイベントが運転中止の選択にどのように影響するのかについても不明である。今後の展望として、認知

機能低下を有する高齢者本人のみを対象とするのではなく、介護者の意識や働きかけの内容に関する調査も並行実施することで、「なぜ運転を中止できたのか」という促進因を明らかにすることが望まれる。

本研究では、運転中止が高齢者のその後の生活に与えるインパクトとして、「利用交通の選択肢の減少」、「家族による運転への依存」が確認された。医療者が認知機能低下を有する高齢者に運転中止を求める場合には、公共交通機関を代替利用する難しさへの配慮が不可欠と考えられる。認知症臨床の現場において効果的な介入を実現していくために、今後、「いかなる条件が満たされたとき、認知機能低下を有する高齢ドライバーは運転中止を選び取りやすいのか」を明らかにする必要がある。

謝辞

1) 本研究の遂行にあたっては、名古屋市高齢者療養サービス事業団平成20年度公益事業助成から援助を受けた。

2) 本稿完成にあたり、匿名の2名の査読者から有益な意見を賜りました。記して感謝します。

文 献

- 松本光央, 豊田泰孝, 池田 学: 高齢者の運転の実態と今後の展望について. 老年精神医学雑誌 2005; 16 (7): 815-821.
- Wang CC, Kosinski CJ, Schwartzberg JG, Shanklin AV: Physician's guide to assessing and counseling older drivers. National Highway Traffic Safety Administration, Washington DC, 2003.
- 毎日新聞生活報道センター: 高齢ドライバー—加害者にならない・しないために, 岩波書店, 東京, 2008.
- Pasupathy S, Lavizzo-Mourey R: The older driver, In: Geriatric secrets, Forcica MA, Schwab EP, Raziano DB, Lavizzo-Mourey R (eds), 3rd ed, Hanley & Belfus, Philadelphia, 2004, p231-236.
- Rapoport MJ, Herrmann N, Molnar FJ, Man-Son-Hing M, Marshall SC, Shulman K, et al: Sharing the responsibility for assessing the risk of the driver with dementia. Canadian Medical Association Journal 2007; 177 (6): 599-601.
- 上村直人, 諸隈陽子, 掛田恭子, 下寺信次, 井上新平, 池田 学: 認知症高齢者と自動車運転—運転継続の判断が困難であった認知症患者10例の精神医学的考察—. 老年精神医学雑誌 2005; 16 (7): 822-830.
- Molnar FJ, Patel A, Marshall SC, Man-Son-Hing M, Wilson KG: Clinical utility of office-based cognitive predictors of fitness to drive in persons with dementia: A systematic review. Journal of the American Geriatrics Society 2006; 54: 1809-1824.
- Brown LB, Ott BR: Driving and dementia: a review of the literature. Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology 2004; 17: 232-240.
- Dubinsky RM, Stein AC, Lyons K: Practice parameter: risk of driving and Alzheimer's disease (an evidenced based review). Neurology 2000; 54: 2205-2211.
- Cox DJ, Quillian WC, Thorndike FP: Evaluating driving performance of outpatients with Alzheimer disease. Journal of the American Board of Family Practice 1998; 11: 264-271.
- Hunt LA, Morris JC, Edwards D, Wilson BS: Driving performance in persons with mild senile dementia of the Alzheimer type. Journal of the American Geriatrics Society 1993; 41: 747-753.
- Ott BR, Heindel WC, Papandonatos GD, Festa EK, Davis JD, Daiello LA, et al: A longitudinal study of drivers with Alzheimer disease. Neurology 2008; 70: 1171-1178.
- Rizzo M, McGehee DV, Dawson J, Anderson S: Simulated car crashes at intersections in drivers with Alzheimer's disease. Alzheimer Disease and Associated Disorders 2001; 15: 10-20.
- Wood JM, Anstey KJ, Kerr GK, Lacherez PF, Lord S: A multidomain approach for predicting older driver safety under in-traffic road conditions. Journal of the American Geriatrics Society 2008; 56 (6): 986-993.
- Devos H, Vandenberghe W, Nieuwboer A, Tant M, Baten G, De Weerd W: Predictors of fitness to drive in people with Parkinson disease. Neurology 2007; 69: 1434-1441.
- de Simone V, Kaplan L, Patronas N, Wassermann EM, Grafman J: Driving abilities in frontotemporal dementia patients. Dementia and Geriatric Cognitive Disorders 2007; 23: 1-7.
- 森千恵子, 児玉千穂: 高齢者の運転: 介護者の立場から—高齢者の運転をめぐる心理に関する検討—. 老年精神医学雑誌 2005; 16 (7): 809-814.
- Marshall SC, Gilbert N: Saskatchewan physicians' attitudes and knowledge regarding assessment of medical fitness to drive. Canadian Medical Association Journal 1999; 160: 1701-1704.
- 河野直子, 梅垣宏行, 茂木七香, 山本さやか, 鈴木裕介, 井口昭久: 老年科における外来認知症診療の現状と展望: 名古屋大学医学部附属病院老年科「外来もの忘れ検査」の利用統計から. 日本老年医学会雑誌 2007; 44 (5): 611-618.
- American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 3rd ed, revised, APA, Washington DC, 1987.
- McKhann G, Drachman D, Folstein MF, Katzman R, Price D, Stadlan EM: Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: Report of the NINCDS-DATRDA work group under the auspices of department of health and human services task force on Alzheimer's disease. Neurology 1984; 34: 939-944.
- American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th ed, American Psychiatric Association, Washington DC, 1994.
- The Lund and Manchester Groups: Clinical and neuropathological criteria for frontotemporal dementia. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1994; 57: 416-418.
- Portet P, Ousset PJ, Visser PJ, Frisoni GB, Nobili F, Scheltens Ph: Mild cognitive impairment (MCI) in medical practice: a clinical review of the concept and new di-

- agnostic procedure. Report of the MCI Working Group of the European Consortium on Alzheimer's Disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 714-718.
- 25) Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR: "Mini-Mental State": A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *Journal of Psychiatric Research* 1975; 12: 189-198.
- 26) Dubois B, Slachevsky A, Litvan I, Pillon B: The FAB; A frontal assessment battery at bedside. *Neurology* 2000; 55: 1621-1626.
- 27) Sheikh JI, Yesavage JA: Geriatric Depression Scale (GDS): Recent evidence and development of a shorter version, In: *Clinical Gerontology: A Guide to Assessment and Intervention*, Brink TL (ed), The Haworth Press, New York, 1986, p165-173.
- 28) 池田 学, 豊田泰孝, 繁信和恵: 痴呆症患者の自動車運転中止に関するコンセンサスと医師の役割について. *精神神経学雑誌* 2005; 107 (12): 1348-1352.
- 29) Herrmann N, Rapoport MJ, Sambrook R, et al: Predictors of driving cessation in mild-to-moderate dementia. *Canadian Medical Association Journal* 2006; 175 (6): 591-595.

Impact of driving cessation on daily transportation utility in elderly people with cognitive decline: a survey of patients in the memory clinic of an urban university hospital

Naoko Kawano¹⁾²⁾, Taeko Makino¹⁾, Yusuke Suzuki³⁾ and Hiroyuki Umegaki¹⁾

Abstract

Aim: In the present study our goal was to explore the impact of driving cessation on daily transportation utility in older people with cognitive decline.

Methods: A total of 101 older persons participated in our survey of responding of a questionnaire about driving and other methods for traveling, administered at the memory clinic of the geriatric outpatient unit of Nagoya University Hospital. Of this total, 48 (47.5%) still had driving licenses, 16 (15.8%) had licenses that had expired, and 37 (36.6%) had no driving experience.

Results: The majority of license holders (77.1%) were active drivers, and we found that license holders tend to utilize public transport less than older people without driving experience. Furthermore, among those who had ceased driving, there was a contrast in daily transportation utility between those with dementia and those without dementia, with the former accessing public transport less frequently.

Conclusion: When clinicians advise drivers with dementia to cease driving, these patients need special attention to assist them in providing alternative ways of transportation.

Key words: *Dementia, Driving, Driving cessation, Memory clinic, Transportation utility*
(*Nippon Ronen Igakkai Zasshi* 2009; 46: 420-427)

1) Department of Geriatrics, Nagoya University Graduate School of Medicine

2) Institute of Human Sciences, Ritsumeikan University

3) Department of Outpatient and Home Medicine, Nagoya University Hospital

特集：転倒危険者の早期発見から予防まで
—最新のエビデンスから—

各論

1. 病因，病態と転倒

4) 急性期病棟における転倒リスク
評価

鈴木 裕介
大西 丈二

1. 病因, 病態と転倒

4) 急性期病棟における転倒リスク評価

SUMMARY

■高齢者に多く発生する急性期病棟における転倒は、機能予後のみならずリスクマネジメントの観点からも重要な事象である。高齢者は治療や入院環境への不適応、合併する基礎疾患により予期せぬ離床による転倒が起こりやすい。当院での調査によると、部分介助を必要とする視力に問題のある高齢者が排泄動作を契機に転倒するという典型的なパターンが浮かび上がる。不眠に対して安易に処方されるベンゾジアゼピン系薬剤が転倒のリスクを高めることも周知の事実である。適切なリスク評価(簡便性, 再現性, 転倒予測の妥当性の検証された)によりハイリスク群を同定し、個々のリスクに応じた効果的な予防手段を講じることが推奨される。

鈴木 裕介
大西 丈二

急性期病棟における転倒の状況

高齢者において転倒は日常生活で比較的高い頻度で経験される事象であると同時に、転倒に伴う外傷、骨折はその後の機能予後に重大な影響を及ぼす点で容易に看過できない。65歳以上で一般的な健康状態に問題がないとされる在宅高齢者の約35~40%が、1年間で少なくとも1回は転倒するという報告もある¹⁾。施設入所の高齢者においてはこの頻度は2~3倍増加し、施設で高齢者が転倒した場合、その10~25%が骨折、裂傷、あるいは何らかの入院処置を必要とするとされる²⁾。急性期病棟での転倒の発生は施設によりばらつきはあるが、おおむね1,000床当たり1日3~14件と報告されている³⁾。類似した急性期施設間でもばらつきが大きいのは、報告数と実際の転倒件数の解離を示唆する。転倒は機能回復を遅らせ、入院期間の延長、医療費の負担増につながるばかりか、最近では転倒により患者が不利益を被った場合に法的措置に訴えるケースもみられ、病院のリスクマネジメントの観点からも重要項目になっている。高齢者が急性期の病態により入院を余儀

表1 急性期病棟において転倒のリスクを高めると考えられる要因

- *病態によるADLsの急激な変化
- *昼夜サイクルの乱れ
- *せん妄、混乱などの精神症状
- *認知機能の悪化(見当識, 理解, 判断力の障害)
- *動線の変化(障害物の存在)
- *薬剤要因

なくされた場合、病態の内容によらず、転倒リスクはさらに高まると考えた方がよい。急性期病棟の環境は、おおむね看護スタッフの目が届きやすい、基本的にバリアフリーである、急性期の病態により高齢患者もベッド上での臥床を余儀なくされ、移乗も必要に応じて介助が期待できるなど、一見転倒の危険性を減少させる要因がそろっているようにみえるが、実のところそれ以上に転倒が発生する要因が多いのである(表1)。高齢者の急性期病棟への入院は、機能評価や慢性疾患のコントロール目的での入院以外は急な病態の変化による緊急入院が占めており、近年は在宅のみでなく施設からの搬送による緊急入院というケースもまれではない。高齢

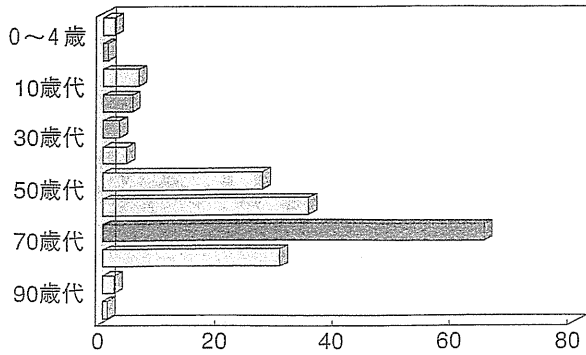


図1 急性期病棟における転倒/転落の報告数 年齢別(6カ月間)

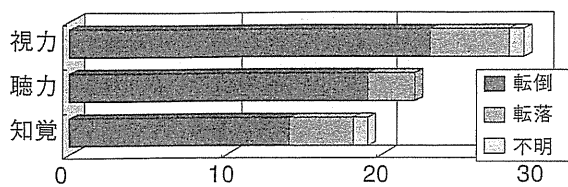


図3 転倒/転落患者の背景(感覚機能)

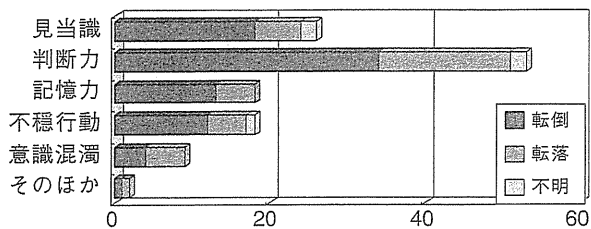


図5 転倒/転落患者の背景(認知機能)

者の緊急入院の原因として最も多いのは、感染症、脱水、脳卒中、心不全などであるが、これらの病態は表1に示したような要因の発生リスクを高めるものである。高齢者は、概して環境の変化に対する適応能力が若年者と比較して低下しており、加えて合併する認知機能障害や感染症、急性期の検査や治療などで容易に昼夜サイクルの乱れを来しやすく、入院に伴うせん妄や混乱などの精神症状により予期せぬ離床による転倒が起こりやすい。しかも急性期には点滴治療やカテーテルの留置など、起居・移乗動作における物理的障害も予想される。自己の病態の認識が欠如あるいは不十分なため安静の指示が守れないこと、薬剤による鎮静などがさらに

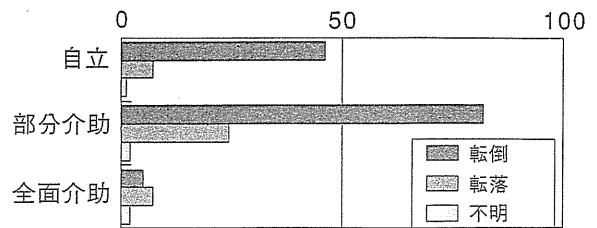


図2 転倒/転落患者の自立度

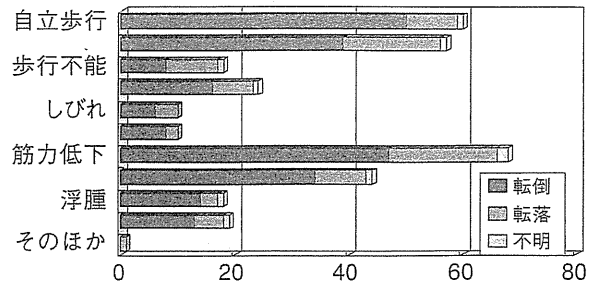


図4 転倒/転落患者の背景(運動機能・自覚症状)

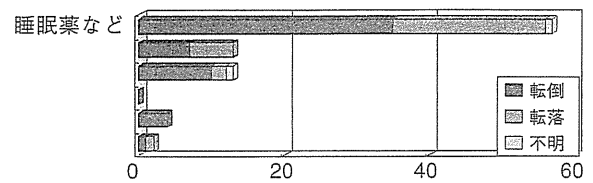


図6 転倒/転落患者の背景(使用薬剤)

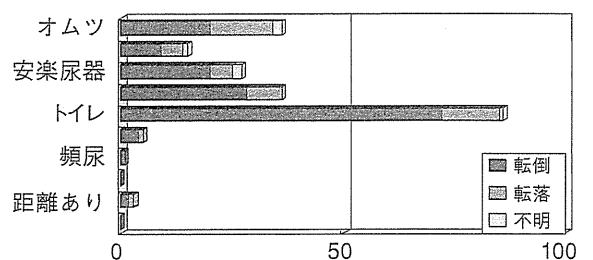


図7 転倒/転落患者の背景(排泄機能)

転倒、転落のリスクを高める。

急性期病棟における転倒患者の背景

図1~7は、急性期病院(総ベッド数:1,000床)における6カ月間に“報告された”転倒、転落に関する情報をまとめたものである。年齢別には圧倒的に70歳代の高齢者が多い(図1)。

90歳代以降の超高齢者になると、可動性の低下により転倒のリスクはむしろ下がる。自立度に関しては、部分的に介助の必要な患者に最も多く発生している(図2)。患者自身は実際には介助が必要であるにもかかわらず、急性期の病態に罹患する前の可動能力をイメージしており、この認識のズレが危険な移乗動作による転倒、転落を引き起こす元となる。能力、症候別に比較してみると、転倒を起こしやすい患者の病態像が浮かび上がってくる(図3~7)。何とか自力で歩行できるが筋力低下のため実際には介助が必要、排泄はトイレで行うが視界が不自由でとっさの判断力に欠けるといような高齢者が転倒、転落を最も多く経験しているという結果を得ている。夜間の不眠や不穏のコントロール目的で、比較的安易に処方されるベンゾジアゼピン系を中心とする抗不安薬、睡眠導入薬は、夜間の排泄動作時の筋弛緩作用や意識の混濁による転倒のリスクを有意に高めことは、図6の結果をみても明らかである。転倒の発生時刻については季節によりばらつきはあるが、共通して午前7時前後に多い傾向がうかがえる。発生場所に関してはベッド周囲が最も多く、次いで廊下、トイレの順である。好発時刻、場所から類推すると、朝起床時の排泄に伴う動作が転倒を引き起こす機転になっている可能性が指摘される。しかしながら先述の英国からの報告³⁾では、病院での転倒発生のピーク時間は午前10時と11時となっており、一致をみない。次項で述べるが、リスク評価には正確な転倒事故の把握と評価が不可欠である。しかしながら、いわゆる病棟看護師によるインシデントレポートは、実際の転倒を網羅しきれていない可能性が指摘されている。米国での急性期病棟における調査によれば、インシデントレポートのみではカバーしきれない受傷を伴う転倒が3割近くはあるという結果を得ている⁴⁾。

急性期病棟における転倒のリスク評価

急性期病棟においては疾患の治療や症状の緩和に対する医療や看護行為が中心に行われ、通

常業務の密度を考えると、転倒など入院中の偶発的な事象に対する予防的対策を全入院患者に等しく施行することは現実的に困難である。転倒やそれに伴う骨折予防に対して医療・看護資源を効果的に利用するためには、すべての入院高齢者に対する一般的な配慮以外に適切なリスク評価によりハイリスク群を同定し、個々のリスクに応じた効果的な予防手段を講じることが推奨される。以下に、過去の研究において転倒予測の有用性が確立されている2つの評価スケールを紹介する。

1. Morse Fall Scale

100名の転倒した患者と同数のランダムに抽出された非転倒患者のデータを基に、2群を有意に区別する6つの因子(過去の転倒、合併症、点滴治療、歩行補助具使用、歩行障害、精神状態)をスコア化したものである⁵⁾。スケールの詳しい内容はMorse Fall Scaleというキーワードをweb上で検索されたい。各リスクの合計スコアから転倒リスクを評価するものであり、一般的には51ポイント以上がハイリスク患者として特別な予防的介入の対象となるが、実際には各急性期施設に最も適した(転倒を予測するのに有効な)カットオフスコアを設定することが推奨される⁶⁾。

2. STRATIFY

STRATIFY(St Thomas's Risk Assessment Tools In Falling elderly inpatients)は、現在汎用されている転倒アセスメントスケールの中では最も簡便なものである(表2)。転倒歴、精神状態、視力、排尿頻度、移乗/移動能力の5つの質問からなり、5点満点で3点以上が転倒ハイリスク群と考えられる⁷⁾。最近のSTRATIFYに関する過去の報告のメタアナリシスによると、特異度と陰性的中率(カットオフ値以下の場合に転倒が起こらない確率)は高い傾向にあるが、感度と陽性的中率(カットオフ値以上の場合に転倒を予測できる確率)は総じて低いという実際の予防的介入に使用する上での問題点が指摘されている⁸⁾。

表2 入院高齢者の簡易評価スケール(STRAFIFY)(文献7より抜粋)

転倒リスク評価スコア

- 1) 転倒による入院あるいは入院後に転倒しましたか
(はい=1, いいえ=0)

患者さんの状態について

- 2) 落ち着きがありませんか(はい=1, いいえ=0)
- 3) 日常生活で不便な視力障害がありますか(はい=1, いいえ=0)
- 4) 普通以上に頻回のトイレ使用が必要ですか(はい=1, いいえ=0)
- 5) 移乗+移動スコア*が3点か4点ですか(はい=1, いいえ=0)

*: 移乗/移動スコア

移乗スコア: 不可能(0) 1人か2人の介助要(1)
声かけあるいは簡単な身体介助要(2) 自立(3)

移動スコア: 不可能(0) 介助あるいは車椅子移動(1)
1人の介助で補助歩行(2) 自力歩行可能(3)

本稿で紹介した2つの評価スケールは、これまでに様々な研究で急性期での転倒予測における有用性が報告されているが、有用性は研究のデザイン(後ろ向きか前向きか)などに左右されやすく、看護師による実際の臨床での判断の方が優れている場合もあり、どの急性期施設でも同様のカットオフスコアが適応できるとはいえない⁹⁾。可能であれば、前向きな観察研究によって各施設に最適な(転倒予測に有効な)カットオフスコアを算出して使用することが望ましいが、現実的には看護師による評価と組み合わせるハイリスク群を同定することが推奨される。

転倒ハイリスク高齢者の急性期病棟における予防

高齢者が急性期病棟に入院した場合、すべての患者に対してリスク評価が行われるべきである。評価法については、本稿で紹介したような共通のリスクを網羅したスケールのみでなく、施設独自で考案したものを使用することも可能であるが、大切なのは簡便性や再現性(評価者によるばらつきが少ないこと)、評価法の転倒予測における妥当性が十分に検証されていることである。特に入院前に転倒の既往が認められる場合は、それだけで転倒ハイリスク者と考え予防が強く勧められる。転倒予防に関しては個々の高齢者の危険要因により予防の力点が異なるが、一般的な転倒防止策として表3のような項

表3 急性期病棟における転倒防止策

観察	<ul style="list-style-type: none"> ・ 頻回の訪室 ・ 病室モニターによる監視
援助	<ul style="list-style-type: none"> ・ 移乗、移動時の介助 ・ 複数のスタッフで介助
患者指導	<ul style="list-style-type: none"> ・ 移乗、移動時、排泄時のナーコール徹底 ・ 個々の転倒リスク(病態、服薬など)の説明 ・ 転倒危険動作、場所の説明 ・ 歩行補助具の使用
環境調整	<ul style="list-style-type: none"> ・ ベッド柵の確認(隙間からのずり落ち防止) ・ 低床ベッドの使用 ・ ベッド脇のマットを敷く ・ 徘徊マットの使用 ・ ポータブルトイレの設置 ・ ベッド周囲の障害物除去 ・ 点滴ルートの整理 ・ つかまってよい場所のテープ表示
内服薬の調整	<ul style="list-style-type: none"> ・ 多剤服用の整理 ・ 転倒リスクを高める内服を最小限にとどめる

目が列挙できる。高齢者の転倒予防対策が単一の危険要因の除去だけでは不十分なことは、急性期病棟とて例外ではない。

文 献

- 1) Kenny RA and O'Shea D : Falls and syncope in elderly patients. *Clin Geriatr Med* 18 : xiii-xiv, 2002.
- 2) Rubenstein LZ and Powers C : Falls and mobility problems : Potential quality indicators and literature review (the ACOVE project). ppl-40, RAND Corporation, Santa Monica, CA, 1999.
- 3) Healey F et al : Falls in English and Welsh hospitals : a national observational study based on retrospective analysis of 12 months of patient safety incident reports. *Qual Saf Health Care* 17 (6) : 424-430, 2008.
- 4) Shorr RI et al : Improving the capture of fall events in hospitals : combining a service for evaluating inpatients falls with an incident report system. *J Am Geriatr Soc* 56(4) : 701-704, 2008.
- 5) Morse J : Nursing research on patient falls in healthcare institutions. *Annu Rev Nurs Res* 11 : 299-316, 1993.
- 6) Schwendimann R et al : Evaluation of the Morse Fall Scale in hospitalised patients. *Age Ageing* 35(3) : 311-313, 2006.
- 7) Oliver D et al : Development and evaluation of evidence based risk assessment tool (STRATIFY) to predict which elderly inpatients will fall : case-control and cohort studies. *BMJ* 315 : 1049-1053, 1997.
- 8) Oliver D et al : A systematic review and meta-analysis of studies using the STRATIFY tool for prediction of falls in hospital patients : how well does it work? *Age Ageing* 37(6) : 621-627, 2008.
- 9) Haines TP et al : Design-related bias in hospital fall risk screening tool predictive accuracy evaluations : systematic review and meta-analysis. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 62(6) : 664-672, 2007.

(執筆者連絡先) 鈴木裕介 〒466-8550 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町 65 名古屋大学医学部附属病院在宅管理医療部

高齢者の安全な薬物療法 第4回

監修：秋下 雅弘, 葛谷 雅文

脳血管障害後のパーキンソニズム、
意欲低下に対する精神活動改善薬の
処方によるとと思われる精神症状の
出現を観察した症例

鈴木 裕介

高齢者の安全な薬物療法 第4回

監修：秋下 雅弘, 葛谷 雅文

脳血管障害後のパーキンソニズム， 意欲低下に対する精神活動改善薬の 処方によるとと思われる精神症状の 出現を観察した症例

鈴木 裕介

名古屋大学医学部附属病院地域医療センター・在宅管理医療部講師

高齢者の薬物療法においては，薬物の有害事象としての老年症候群に対する注意が必要である．現在臨床で使用されている薬剤の調査によると，転倒，嚥下障害，尿失禁，せん妄，抑うつなどの代表的な老年症候群を有害事象として認める薬剤は圧倒的に精神神経系の薬剤が多い．

これらの薬剤の使用においては，観察される症候が疾患自体によるものか有害事象としての症候なのか判断に窮する場合も稀ではない．今回提示する症例において観察された幻視は，薬剤の減量後に著明に減少しており，原因が薬剤であると特定するに至った．

症例呈示

71歳/男性

軽度の高血圧にて近医で処方された降圧剤を飲んだり飲まなかったりしていた．当科入院の4カ月前に脳梗塞（左不全麻痺）にて他院で入院治療，リハビリテーション施行後に自宅へ退院，その後は近医にて投薬を受けていた．退院後，活動性が徐々に低下し歩行も不安定になり，自宅で転倒したのを契機に当科受診，転倒して以降，腰痛，食思不振による体重減少が顕著になり入院加療となった．

■入院前の薬剤

イフェンプロジル酒石酸塩	……60 mg/日
プロマゼパム	……15 mg/日
スルピリド	……150 mg/日
チクロピジン	……200 mg/日
ランソプラゾール	……15 mg/日

入院時の診察において四肢に軽度の固縮，手指に安静時振戦を認めた．歩行は若干小刻みで

不安定，介助にて自力歩行は可能であった．入院後に施行された頭部MRIにて陳旧性多発性

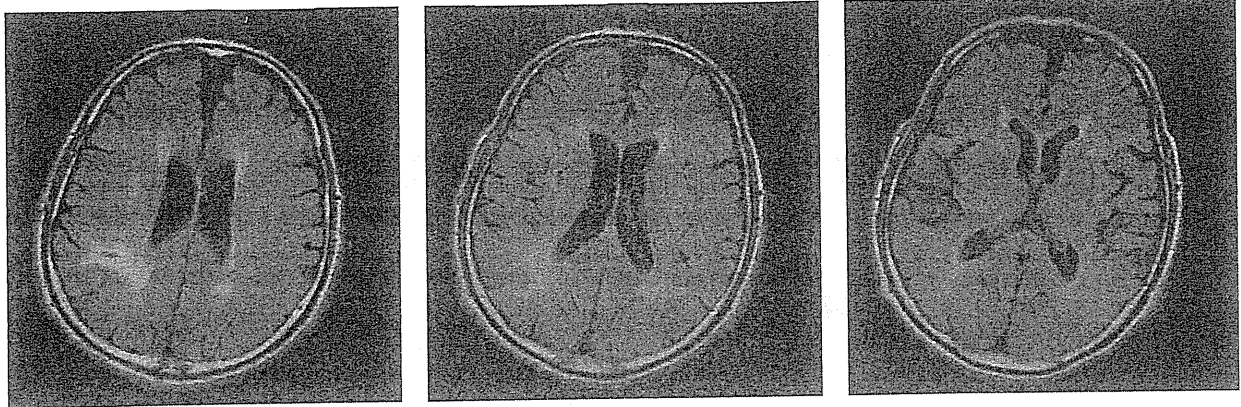


図1 頭部MRI (FLAIR画像)

脳梗塞（両側基底核，深部白質に散在），右頭頂葉後頭葉境界，右放線冠に今回の責任病巣と思われる脳梗塞の所見を認めた（図1）。脳萎縮は年齢相応であった。振戦の原因としての関与が疑われたスルピリドの中止により振戦は消失した。Geriatric Depression Scale(GDS)が13/15と高度の抑うつ傾向，意欲低下を認めたため，ミルナシプラン15mg/日を開始したが，採血において肝機能障害が出現し中止となった。脳梗塞後遺症による意欲改善を目的にアマンタジン150mg/日を処方したところ，歩行は若干の改善が観察されたが，「上に倉庫があり，そ

このヒトがブラインド越しに覗いている，船乗りたちが見える」などの幻視の訴えが出現したため，50mg/日に減量したところ幻視の頻度は著明に減少した。気分状態が改善し，リハビリテーションの意欲も出てきたため，脳梗塞の再発予防のため抗血小板薬をチクロピジン単剤からアスピリン，シロスタゾールの2剤併用に切り替え，転倒による骨折予防に活性型ビタミンD製剤を追加した後，在宅での継続リハビリテーションの環境が整備された時点で退院となった。

■診断名

脳梗塞後遺症
パーキンソン症候群

■退院時の薬剤

アスピリン ……………100mg/日
シロスタゾール ……………100mg/日
アマンタジン ……………50mg/日
ランソプラゾール ……………15mg/日
アルファカルシドール ……0.25μg/日

□ 解説 □

本症例においては，前医から処方されたスルピリドの関与が示唆される振戦，抑うつ，意欲低下に対して処方されたミルナシプランによる肝機能異常，アマンタジンによると思われる幻視の3つの薬物による有害事象が観察された。スルピリドはうつ病，胃・十二指腸潰瘍に適應

があり，高齢者でも抑うつに起因する食思不振などの場合によく使用される薬剤であるが，抗ドーパミン作用を有しており薬剤性パーキンソニズムには注意が必要である。今回観察されたようなアマンタジンによる精神症状や認知機能の変動はおそらくドーパミン系の刺激のみでなく薬剤のもつ弱い抗コリン作用もその一因と考えられる。同様に抗うつ薬（特に三環系）やベ

高齢者における安全な精神神経系薬剤使用のポイント

●精神神経系薬剤は有害事象としての老年症候群を最も引き起こしやすい薬剤であるが、原疾患による症状か薬物の有害事象か判断に迷うことも稀ではない。薬剤による有害事象が疑われる場合は1剤ずつ減量あるいは中止し、前後の症候の変化を慎重に観察して判断する必要がある。

●薬剤性パーキンソニズムによる神経症状、抗コリン作用による身体、精神症状、認知機能

低下などに十分な注意が必要である。高齢者への処方原則通り少量から開始し、有害事象が疑われたら速やかに減量あるいは中止を検討する。

●ベンゾジアゼピン系薬剤はその筋弛緩作用により高齢者の転倒リスクを有意に高める。原則として中～長時間型のベンゾジアゼピン系薬剤の定期使用は避け、短時間型の頓服での使用を基本とするべきである。

ンゾジアゼピン系薬剤も幻視などの精神症状や認知機能悪化の引き金になることは使用に際して十分な注意が必要である。本症例の場合、転倒による腰痛が入院の契機になっている。転倒との直接の因果関係は証明できないが、近医からプロマゼパムを定期処方されていたことは無視できない事実である。わが国のプライマリーケアにおける処方パターンで往々にして見受けられるのは、高齢者に対する安易なベンゾジアゼピン系薬剤の処方(屯用でなく定期でグラダラと使用されている場合が極めて多い)である。処方する側にベンゾジアゼピン系薬剤の筋弛緩作用がどれだけ高齢者の転倒リスクを高めているのかに関する意識があまりにも低いのが現状である。確かに不定愁訴の多い患者に対するベンゾジアゼピン系薬剤の効果は、おそらくプライマリーケア医も経験的に体得し、患者の方も“気が楽になる”薬を求めることにより医師・患者双方にベンゾジアゼピン系薬剤への依存関

係が成立してしまうことは決して珍しくない。歩行の不安定な高齢の患者がますます増加する臨床において、臨床医は自らの処方が高めているリスクについての認識を改める必要がある。どうしても使用しなければならない場合は、他の転倒・骨折予防の方策を十分検討し患者にリスクを説明した上で、短時間型をできるだけ屯用に限って処方する習慣をつけたいものである。

文 献

- 1) 日本老年医学会編：高齢者の安全な薬物療法ガイドライン 2005。メジカルビュー社，東京，2005。
- 2) Poewe W：When a Parkinson's disease patient starts to hallucinate. Pract Neurol 4：238-241，2008。
- 3) Beers MH：Explicit criteria for determining potentially inappropriate medication use by the elderly. An update Arch Intern Med 157(14)：1531-1536，1997。

**Vitamin K₁ (Phylloquinone) or Vitamin K₂ (Menaquinone-4)
Induces Intestinal Alkaline Phosphatase Gene Expression**

Mayu HARAICAWA, Natsuko SOGABE, Rieko TANABE,
Takayuki HOSOI and Masae GOSEKI-SONE

Vitamin K₁ (Phylloquinone) or Vitamin K₂ (Menaquinone-4) Induces Intestinal Alkaline Phosphatase Gene Expression

Mayu HARAOKAWA¹, Natsuko SOGABE², Rieko TANABE¹,
Takayuki HOSOI³ and Masae GOSEKI-SONE^{1,*}

¹Division of Nutrition, Department of Food and Nutrition, Faculty of Human Sciences and Design,
Japan Women's University, 2-8-1, Mejirodai, Bunkyo-ku, Tokyo 112-8681, Japan

²Department of Health and Nutrition Sciences, Faculty of Human Health,
Komazawa Women's University, 238, Sakahama, Inagi, Tokyo 206-8511, Japan

³Department of Clinical Research and Development, National Center for Geriatrics and
Gerontology, 35, Gengo, Morioka-machi, Obu, Aichi 474-8511, Japan

(Received December 20, 2010)

Summary Alkaline phosphatase (ALP) hydrolyzes a variety of monophosphate esters into inorganic acid and alcohol at a high optimum pH (pH 8–10). Previously, we identified a significant increase of intestinal ALP (IAP) activity in the rat intestine on long-term dietary vitamin K supplementation. However, it was unclear whether the induction of ALP gene expression was caused by vitamin K intake. In the present study, we examined the effects of vitamin K on IAP gene expression. A total of 21 male ICR strain mice (7 wk old) were divided into three groups: control, PK, and MK groups. Mice were orally administered a 0.1-mL solution of physiological saline in the control group, phylloquinone (3 mg/kg mouse) in the PK group, and menaquinone-4 (3 mg/kg mouse) in the MK group. Four hours after administration, we determined the ALP activity of the intestinal mucosa in three areas (duodenum, jejunum, and ileum). In the MK groups, the levels of ALP activity in the jejunum increased significantly compared with the control. Moreover, reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) analysis using specific primers revealed that IAP mRNA expression was significantly enhanced in the jejunum in both PK and MK groups. Interestingly, vitamin K administration also increased the expression of pregnane X receptor mRNA. This is the first report concerning IAP mRNA expression induced by oral administration of vitamin K. The results support the possible involvement of vitamin K in the regulation of IAP mRNA expression as a novel pharmacological effect of vitamin K.

Key Words alkaline phosphatase, phylloquinone, menaquinone, mice, intestine

Alkaline phosphatase (ALP, EC 3.1.3.1) is an enzyme containing zinc which hydrolyzes monophosphate esters into inorganic phosphoric acid and alcohol at a high optimal pH (pH 8–10). The enzyme is distributed widely throughout the living world from bacteria to animals, excluding plants, and it exists in various tissues such as the intestine, liver, kidney, bone, placenta, stomach, and leukocytes.

In humans, four kinds of ALP isozyme have been identified: tissue-nonspecific ALP (liver/bone/kidney: TNSALP), intestinal ALP (IAP), placental ALP, and germ cell ALP (1–4). The TNSALP gene is located on chromosome 1 and consists of 12 exons and 11 introns, with the coding sequence beginning in the second exon.

A single gene for human IAP has been isolated, and the multiple forms of mRNA encoding human IAP are due to differences in polyadenylation (2). Although most species express a single IAP, several kinds of IAP have been identified in three species: the mouse (5), rat (6, 7), and cow (8).

In rats, ALP is classified into two types: TNSALP and IAP. IAP is present in the membrane surrounding neutral fat droplets in the microvilli of the intestinal mucosa during fat absorption, and is thought to transport dietary lipids from the intestinal tract into the circulation as a component of unilamellar membranes called surfactant-like particles (SLPs) (9). Two different cDNA clones, IAP-I and IAP-II, for rat IAP were isolated by Lowe et al. (6) and Strom et al. (7), respectively. Strom et al. found that the expression of IAP-II mRNA was specifically enhanced by $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ administration. The two isozymes are products of two distinct genes and their cDNA sequences show 79% homology at the amino acid level. Functional differences between IAP-I and IAP-II were suggested by the differing regulation of the expression of the two mRNAs (10), as well as by structural and catalytic differences (11).

In mice, five different ALP loci have been identified: TNSALP, IAP, embryonic ALP (EAP), *Akp6*, and *Akp-ps1*. These ALP genes code for different proteins: *Akp2* encodes TNSALP, *Akp3* encodes IAP, *Akp5* encodes EAP, *Akp6* encodes a novel IAP-like isozyme expressed globally in the gut (thus called *gIAP*), and *Akp-ps1* encodes

*To whom correspondence should be addressed.

E-mail: goseki@fc.jwu.ac.jp

the inactive pseudo-type ALP (5, 7).

Previously, we reported the enhanced effects of vitamin K on IAP activity in rats (12). Sprague-Dawley rats (6 wk old) were divided into three groups: a control (AIN-93M diet), phylloquinone (PK: 600 mg/kg diet), and menaquinone-4 (MK-4: 600 mg/kg diet) diet group. After 3 mo of feeding of vitamin K, the animals were fasted overnight. The small intestine was removed and divided into five segments. In each segment, both PK and MK-4 increased IAP activity (12).

Vitamin K acts as a cofactor for γ -glutamyl carboxylase (GGCX), and is well-known to participate in the activation of blood coagulation factors and bone mineralization (13). All forms of vitamin K have 1,4-naphthoquinone as a common ring structure, and natural vitamin K exists in two molecular forms, vitamin K₁ (phylloquinone: PK) and vitamin K₂ (menaquinone: MK-*n*). PK is abundant in green vegetables in a compound with a phytyl side chain. Vitamin K₂ is classified into MK-1–14 due to the repeat structure of the side chain, with isopren comprising the side chain. MK-4 shows marked physiological activities as a vitamin K, and is included in many animal-based foods such as meat. Recent studies have demonstrated the possibility that vitamin K regulates the expression of bone-related genes such as ALP through steroid X receptor (SXR), also termed pregnane X receptor: PXR) (14).

In the present study, we examined whether the enhancing effect of PK or MK-4 administration on IAP activity occurs via the intestinal mucosa directly, and we revealed the effects of the oral administration of PK or MK-4 on the expression of IAPs (*Akp3* and *Akp6*) and PXR in the mouse intestine.

MATERIALS AND METHODS

Experimental animals. The care and use of mice in the present study followed the guidelines of governmental legislation in Japan on the proper use of laboratory animals, and the study protocol was approved by the Institutional Review Board of Japan Women's University. A total of 21 male ICR strain mice (7 wk old) were used (31.1 ± 0.2 g). They were fasted overnight with free access to water. On the following day, the animals were given 0.1 mL of solution via an intragastric tube: vehicle (physiological saline) for the control group (Cont.), PK (3 mg/kg mouse) for the PK group, and MK-4 (3 mg/kg mouse) for the MK group. The molecular weights of PK (C₃₁H₄₆O₂: MW=450.7) and MK-4 (C₃₁H₄₀O₂: MW=444.7) are very similar. PK and MK-4 were kindly supplied by Eisai Co., Ltd. (Tokyo, Japan).

Serum and tissue sampling. Four hours after administration, blood was collected from the abdominal aorta under ether anesthesia, and perfusion with saline was performed until the liver was blanched, in order to minimize the blood contamination of tissue samples. The small intestine was removed and divided into three regions. From the pylorus, we took the first 1 cm as the duodenum, and then separated the remaining part into the jejunum and ileum. The segments were slit longitudinally, rinsed with ice-cold saline, and scraped from the

mice just after dissection. Each sample was homogenized using a Polytron homogenizer (Kinematica, Switzerland) with 10 mM Tris-buffered saline containing 1% Triton X-100 (pH 7.3) and 1 mM phenylmethylsulfonylfluoride (PMSF). The supernatant obtained after centrifugation at 7,000 $\times g$ for 15 min was used as the enzyme extract.

Enzyme assay. ALP activity was determined with 10 mM *p*-nitro-phenylphosphate as a substrate in 100 mM 2-amino-2-methyl-1,3-propanediol HCl buffer containing 5 mM MgCl₂, pH 10.0, at 37°C, as previously reported (15). To analyze the biochemical properties of ALP, an inhibitory assay using levamisole (Lev) and L-phenylalanine (L-Phe) and a thermostability assay were performed, as previously described (15).

The enzyme activity was defined as the rate of hydrolysis of *p*-nitro-phenylphosphate and expressed in units (U = μ mol *p*-nitro-phenol formed/min).

Protein concentrations were determined using BCA protein assay reagent (Pierce, Rockford, IL, USA).

Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. Polyacrylamide gel (7.5%) electrophoresis in the presence of sodium dodecyl sulfate (SDS) was carried out according to the method of Weber et al. (16). After electrophoresis, ALP isozymes separated in the gel were stained by the coupling of β -naphthyl-phosphoric acid monosodium salt with Fast Violet B salt (17).

RNA isolation and reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Total RNA from the intestinal mucosa was extracted employing the acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform method (18). As a template for PCR, single-strand cDNA was prepared from 1 μ g of total RNA using Ready-to-go You-Prime First-Strand Beads (Amersham Pharmacia Biotech UK Ltd., Buckinghamshire, England). PCR primers were used for *Akp3* (19), *Akp2* (20), *Akp5* (21), and PXR (22). In order to detect *Akp6*, sense (*Akp6*-up) and anti-sense (*Akp6*-down) primers were designed on the basis of the *Akp6* nucleotide sequence (GenBank: NCBI sequence data: AK008000). *Akp6*-up spans nucleotide positions 882–902 and *Akp6*-down spans 1,333–1,354 (23). The PCR conditions were as follows: 5 cycles at 94°C (1 min), 50°C (1 min), and 72°C (1 min), and 25 cycles at 94°C (30 s), 55°C (30 s), and 72°C (30 s), followed by 10 min at 72°C. Negative controls were performed with each RT-PCR reaction, omitting the template. The efficiency of reverse transcription was verified by the detection of GAPDH (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, forward: 5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3', reverse: 5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3'), as previously described (23).

The amplified samples were analyzed using 5.25% polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). The gels were stained with ethidium bromide and observed under UV light. The band intensity on PCR photographs was quantified by densitometry (AE6920M, ATTO, Tokyo, Japan). The PCR product was normalized to the intensity of the band for the house-keeping gene GAPDH, and is expressed as a ratio of the relative band intensity.

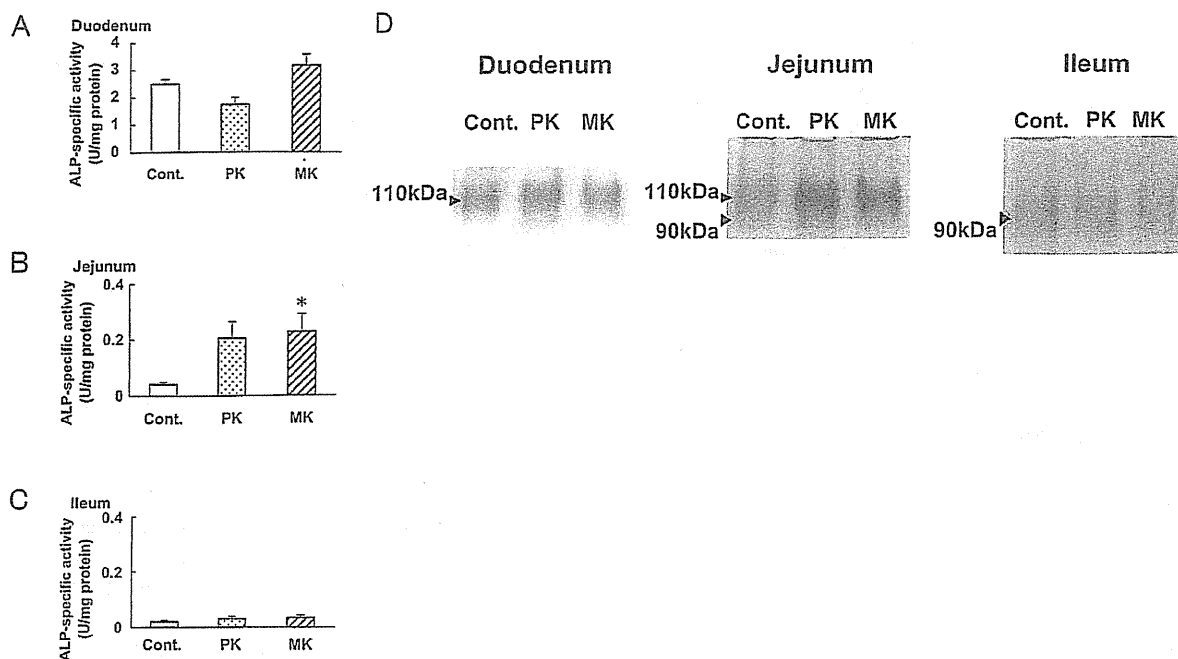


Fig. 1. ALP-specific activities of the duodenum (A), jejunum (B), and ileum (C). Results are the mean \pm SE of 7 animals. Significant difference between the MK and control groups (* $p < 0.05$). D: Mouse intestinal ALP isozymes separated by polyacrylamide gel electrophoresis. The gels were stained for ALP activity with a β -naphthyl-phosphoric acid monosodium salt, Fast violet B salt. Cont.: control, PK: phylloquinone, MK: menaquinone-4.

Statistical analyses. Values are shown as the mean \pm standard error (SE).

Dunnett's multiple comparison test was used after ANOVA to compare the significance of differences among the control and PK or MK. Differences were considered significant at $p < 0.05$. Analysis was conducted using SPSS 18.0J (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTS

ALP activity

To examine whether IAP was secreted from the intestinal mucosa on the oral administration of PK or MK, we measured the levels of serum ALP activity (mU/mL) in the control, PK, and MK groups, being 13.7 ± 1.2 , 10.3 ± 2.0 , and 14.1 ± 1.8 (mean \pm SE), respectively, showing no significant differences among these groups.

ALP-specific activities in the intestine are shown in Fig. 1. There were no significant differences in ALP activities among these groups in the duodenum (Fig. 1A) and ileum (Fig. 1C). As presented in Fig. 1B, ALP activity of the MK group in the jejunum was significantly higher compared with the control group ($p < 0.05$).

Molecular weight determination by SDS-PAGE

The molecular weights of ALPs of each intestinal segment were estimated employing SDS-PAGE analysis. As shown in Fig. 1D, the 110-kDa band of the major ALP isozyme was detected in the duodenum among these groups. In the jejunum, ALP enzymes were separated into two bands of 110 and 90 kDa, and the intensity of their enzymatic activity increased markedly in both PK and MK groups, similarly to the results regarding the specific ALP activity in the jejunum. In the distal part of

Table 1. Inhibitory effects of levamisole, L-phenylalanine and heat inactivation of ALP preparations of the jejunum.

Groups	Relative activity(%)		
	Levamisole (1 mM)	L-Phenylalanine (20 mM)	Heat inactivation (60°C 10 min)
Cont.	95.2 \pm 1.6	23.0 \pm 1.0	42.4 \pm 3.4
PK	94.2 \pm 2.1	23.5 \pm 1.4	46.1 \pm 2.3
MK	95.5 \pm 1.6	24.2 \pm 2.0	45.9 \pm 2.5

Each value represents mean \pm SE ($n = 7$).

The ALP activity was assayed based on the rate of *p*-NPP hydrolysis. The effect of the inhibitor was determined in the presence of 5 mM MgCl₂ in the assay mixture. Remaining ALP activity with inhibitors or after heat treatment is expressed as a percent of non-treated controls. Results are the mean \pm SE of 7 animals.

the intestine (ileum), the ALP isozyme showed a main band of 90 kDa among these groups. No additional band was observed in any intestinal samples among the groups.

Properties of ALP in the intestine

The enzymatic properties of ALP preparations of the jejunum which increased significantly on PK or MK administration were investigated employing an inhibition experiment with levamisole (Lev) and L-phenylalanine (L-Phe) and through a thermo-stability test. It is well known that IAP activity is not inhibited by Lev and is more stable to L-Phe and more heat-stable than TNSALP. As shown in Table 1, there was no significant

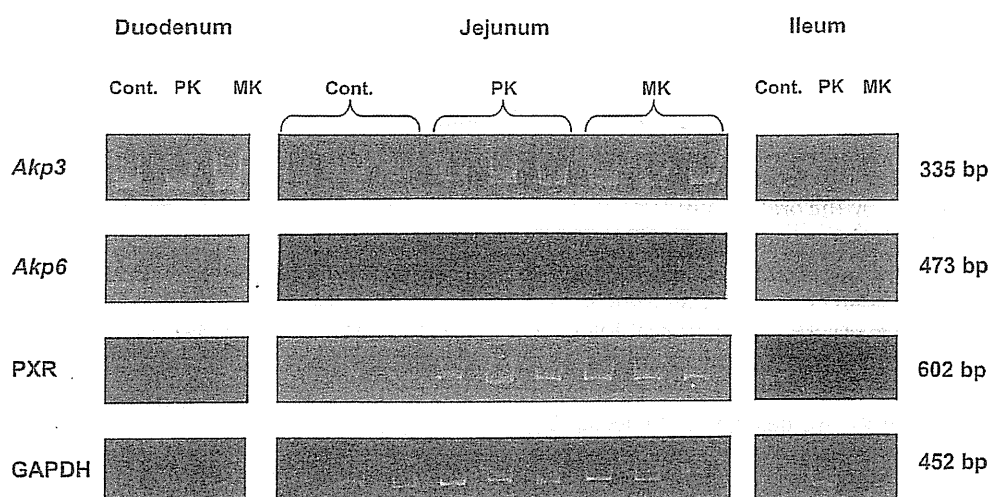


Fig. 2. Detection by RT-PCR of mRNAs for *Akp3*, *Akp6*, PXR, and GAPDH in the duodenum, jejunum, and ileum. PCR products were electrophoresed in a 5.25% polyacrylamide gel. Cont.: control, PK: phyloquinone, MK: menaquinone-4.

difference in the relative activities among these groups. We confirmed that these jejunum ALP preparations were effectively inhibited by L-Phe but not by Lev, and were heat-stable (60°C, 10 min), corresponding to the property of other mammalian intestinal type ALPs.

RT-PCR analysis of ALP mRNA expression

RT-PCR-based detections of mRNA for *Akp3*, *Akp6*, and PXR in the duodenum, jejunum, and ileum are shown in Fig. 2. The PCR products of *Akp3* (335 bp) were detected in the duodenum and jejunum. The PCR products of *Akp6* (473 bp) were detected in the duodenum, jejunum, and ileum. The PCR products of PXR (602 bp) were detected in the duodenum, jejunum, and ileum. The intensities of mRNA expression of *Akp3* and *Akp6* were very similar both in the duodenum and ileum among the three groups (Cont., PK, and MK groups). The intensities of mRNA expression of *Akp3*, *Akp6*, and PXR were enhanced in both the PK and MK groups compared with the control group in the jejunum.

PCR products of *Akp2* (198 bp) and *Akp5* (500 bp) were not detected in any of these intestinal samples.

In order to compare these intensities of mRNA expression in the jejunum, we determined the relative density of the PCR products of the mouse jejunum. As shown in Fig. 3A, the intensities of *Akp3* expression increased significantly in the PK group compared with the control group ($p < 0.01$). Furthermore, the intensities of *Akp6* expression were also increased in both the PK and MK groups compared with the control group ($p < 0.01$, $p < 0.05$, respectively) (Fig. 3B). Interestingly, the intensities of PXR expression in both the PK and MK groups were significantly higher than in the control group ($p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively) (Fig. 3C).

DISCUSSION

Previously, we reported that several dietary factors such as fat-feeding, vitamin K, and lactose increased IAP activities in rats (12, 15, 24). The high-level activity of IAP, which localizes at the brush border of intestinal epithelium cells, suggests the participation of this enzyme in the transport of nutrients.

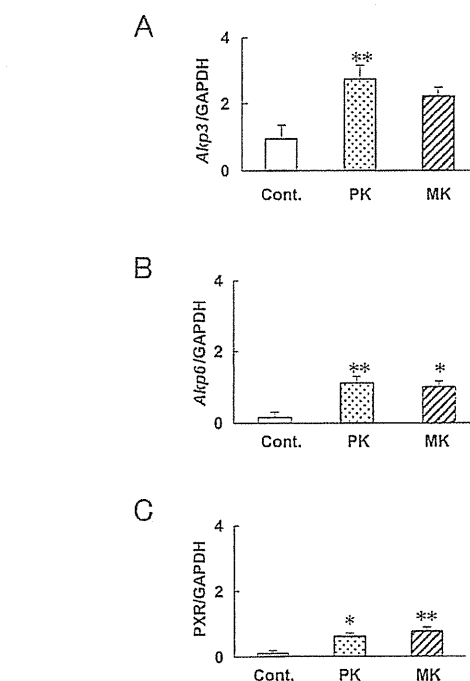


Fig. 3. The relative density of PCR products in the mouse jejunum. The diagrams show the relative density of the PCR products. A: The relative density of PCR products for *Akp3*. B: The relative density of PCR products for *Akp6*. C: The relative density of PCR products for PXR. Results are the mean \pm SE of 4 animals. Significant difference between the PK or MK and control groups (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$). Cont.: control, PK: phyloquinone, MK: menaquinone-4.

nal epithelium cells, suggests the participation of this enzyme in the transport of nutrients.

Recently, we reported that both long-term dietary PK and MK-4 supplementations enhance IAP activity in rats (12). After 3 mo of feeding, we measured IAP activity by dividing it into five segments. In each segment, both PK and MK-4 increased IAP, and the level of IAP activity in the proximal jejunum was significantly

higher than that in the control group ($p < 0.05$) (12). To examine whether the enhancing effect of PK or MK-4 on IAP activity occurs via the intestinal mucosa directly, we performed an oral administration of PK or MK-4 using mice. In the present study, we discovered that the levels of mouse jejunum ALP activity were also significantly increased by the oral administration of PK or MK compared with the control group (Fig. 1B). In addition, we confirmed that the increased ALP isozymes induced by the oral administration of PK or MK showed similar biochemical properties to the typical intestinal type ALP, with no significant differences among these groups (Table 1).

By SDS-PAGE analysis, we detected a 110-kDa ALP enzyme in the duodenum and 90-kDa ALP enzyme in the ileum (Fig. 1D). Both the 110- and 90-kDa ALP enzymes were detected in the jejunum, and the enzymatic activities of these bands were enhanced by the oral administration of PK or MK. The product of the *Akp3* gene was expressed specifically in the duodenum, and the product of *Akp6* was expressed through the small intestine (5). Therefore, we considered that the 110- and 90-kDa ALP enzymes may correspond to the IAPs encoding *Akp3* and *Akp6*, respectively.

We then performed RT-PCR analysis in order to examine the expression of IAPs (*Akp3* and *Akp6*) in the mouse jejunum. PCR products for *Akp3* and *Akp6* mRNAs in the jejunum were detected, and a significant increase in the PCR products of *Akp3* due to the oral administration of PK was observed (Fig. 3A). Moreover, a significant increase in the PCR products of *Akp6* due to the oral administration of PK or MK-4 was also observed (Fig. 3B). These results suggest that the induction of *Akp3* and *Akp6* may be regulated by PK or MK-4.

As the results of RT-PCR, the expression of mRNA for PXR was detected in the duodenum, jejunum and ileum, and it was enhanced significantly in both the PK and MK groups in the jejunum compared with the control group (Fig. 3C). Interestingly, the intestinal segment where the expression of mRNA for PXR by vitamin K had been enhanced corresponded to a similar segment where the expression of mRNA for IAP was enhanced.

Recent studies have revealed that vitamin K functions as a ligand for nuclear steroid and xenobiotic receptor (SXR), as well as a cofactor for γ -carboxylase (25). SXR is expressed predominantly in the liver and intestine, and it regulates transcription such as of cytochrome P450 (CYP) 3A4, which is an enzyme involved in drug metabolism, and MDR1 (multidrug resistance protein 1) which is activated by a diverse array of pharmaceutical agents including taxol, rifampicin, and clotrimazole (26, 27). Ichikawa et al. identified novel SXR target bone-related genes that were regulated by MK-4 in osteoblastic cells using microarray analysis (28). Among extracellular matrix-related genes, they demonstrated that a small leucine-rich repeat proteoglycan, tsukushi, contributes to collagen accumulation (28).

We demonstrated for the first time that the oral administration of vitamin K (both PK and MK-4)

enhanced the level of IAP mRNA expression in the mouse intestine, and PXR mRNA expression also increased. Further studies on the physiological functions of ALP and transcriptional regulation of ALP induction will provide useful data on the novel effect of vitamin K.

Acknowledgments

This work was partially supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan (No. 20500725).

REFERENCES

- 1) Weiss MJ, Ray K, Henthorn PS, Lamb B, Kadesch T, Harris H. 1988. Structure of the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene. *J Biol Chem* **263**: 12002–12010.
- 2) Henthorn PS, Raducha M, Kadesch T, Weiss MJ, Harris H. 1988. Sequence and characterization of the human intestinal alkaline phosphatase gene. *J Biol Chem* **263**: 12011–12019.
- 3) Knoll BJ, Rothblum KN, Longley M. 1988. Nucleotide sequence of the human placental alkaline phosphatase gene. Evolution of the 5' flanking region by deletion/substitution. *J Biol Chem* **263**: 12020–12027.
- 4) Shen LP, Liu H, Kan YW, Kam W. 1998. 5' Nucleotide sequence of a putative human placental alkaline phosphatase-like gene. *Nucleic Acids Res* **16**: 5694.
- 5) Narisawa S, Hoylaerts MF, Doctor KS, Fukuda MN, Alpers DH, Millán JL. 2007. A novel phosphatase upregulated in *Akp3* knockout mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **293**: 1068–1077.
- 6) Lowe M, Strauss AW, Alpers R, Seetharam S, Alpers DH. 1990. Molecular cloning and expression of a cDNA encoding the membrane-associated rat intestinal alkaline phosphatase. *Biochim Biophys Acta* **1037**: 170–177.
- 7) Strom M, Krisinger J, Deluca HE. 1991. Isolation of a mRNA that encodes a putative intestinal alkaline phosphatase regulated by 1,25-dihydroxyvitamin D-3. *Biochim Biophys Acta* **1090**: 299–304.
- 8) Besman M, Coleman JE. 1985. Isozymes of bovine intestinal alkaline phosphatase. *J Biol Chem* **260**: 11190–11193.
- 9) Zhang Y, Shao JS, Xie QM, Alpers DH. 1996. Immunolocalization of alkaline phosphatase and surfactant-like particle proteins in rat duodenum during fat absorption. *Gastroenterology* **110**: 478–488.
- 10) Xie Q, Alpers DH. 2000. The two isozymes of rat intestinal alkaline phosphatase are products of two distinct genes. *Physiol Genomics* **3**: 1–8.
- 11) Harada T, Koyama I, Matsunaga T, Kikuno A, Kasahara T, Hassimoto M, Alpers DH, Komoda T. 2005. Characterization of structural and catalytic differences in rat intestinal alkaline phosphatase isozymes. *FEBS J* **272**: 2477–2486.
- 12) Sogabe N, Maruyama R, Hosoi T, Goseki-Sone M. 2007. Enhancement effects of vitamin K₁ (phyloquinone) or vitamin K₂ (menaquinone-4) on intestinal alkaline phosphatase activity in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* **53**: 219–224.
- 13) Vermeer C. 1990. Gamma-carboxyglutamate-containing proteins and the vitamin K-dependent carboxylase.

- Biochem J* **266**: 625–636.
- 14) Tabb MM, Sun A, Zhou C, Grün F, Errandi J, Romero K, Pham H, Inoue S, Mallick S, Lin M, Forman BM, Blumberg B. 2003. Vitamin K₂ regulation of bone homeostasis is mediated by the steroid and xenobiotic receptor SXR. *J Biol Chem* **278**: 43919–43927.
 - 15) Goseki-Sone M, Oida S, Iimura T, Yamamoto A, Matsumoto HN, Omi N, Takeda K, Maruoka Y, Ezawa I, Sasaki S. 1996. Expression of mRNA encoding intestinal type alkaline phosphatase in rat liver and its increase by fat-feeding. *Liver* **16**: 358–364.
 - 16) Weber K, Pringle JR, Osborn M. 1972. Measurement of molecular weights by electrophoresis on SDS-acrylamide gel. *Methods Enzymol* **26**: 3–27.
 - 17) Kurahashi Y, Yoshiki S. 1972. Electron microscopic localization of alkaline phosphatase in the enamel organ of the young rat. *Arch Oral Biol* **17**: 155–163.
 - 18) Chomczynski P, Sacchi N. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* **162**: 156–159.
 - 19) Narisawa S, Huang L, Iwasaki A, Hasegawa H, Alpers DH, Millán JL. 2003. Accelerated fat absorption in intestinal alkaline phosphatase knockout mice. *Mol Cell Biol* **23**: 7525–7530.
 - 20) Fowlkes JL, Bunn RC, Liu L, Wahl EC, Coleman HN, Cockrell GE, Perrien DS, Lumpkin CK Jr, Thrailkill KM. 2008. Runt-related transcription factor 2 (RUNX2) and RUNX2-related osteogenic genes are down-regulated throughout osteogenesis in type 1 diabetes mellitus. *Endocrinology* **149**: 1697–1704.
 - 21) Dehghani H, Narisawa S, Millán JL, Hahnel AC. 2000. Effects of disruption of the embryonic alkaline phosphatase gene on preimplantation development of the mouse. *Dev Dyn* **217**: 440–448.
 - 22) Wagner M, Halilbasic E, Marschall HU, Zollner G, Fickert P, Langner C, Zatloukal K, Denk H, Trauner M. 2005. CAR and PXR agonists stimulate hepatic bile acid and bilirubin detoxification and elimination pathways in mice. *Hepatology* **42**: 420–430.
 - 23) Goseki-Sone M, Sogabe N, Nakano T, Tanabe R, Haraikawa M, Alpers DH, Komoda T. 2010. Expression of intestinal-type alkaline phosphatase mRNA in liver of Akp3 knockout mice. *J Electrophoresis* **54**: 27–32.
 - 24) Sogabe N, Mizoi L, Asahi K, Ezawa I, Goseki-Sone M. 2004. Enhancement by lactose of intestinal alkaline phosphatase expression in rats. *Bone* **35**: 249–255.
 - 25) Zhou C, Verma S, Blumberg B. 2009. The steroid and xenobiotic receptor (SXR), beyond xenobiotic metabolism. *Nucl Recept Signal* **7**: e001.
 - 26) Dussault I, Forman BM. 2002. The nuclear receptor PXR: a master regulator of “homeland” defense. *Crit Rev Eukaryot Gene Exp* **12**: 53–64.
 - 27) Staudinger JL, Goodwin B, Jones SA, Hawkins-Brown D, MacKenzie KI, LaTour A, Liu Y, Klaassen CD, Brown KK, Reinhard J, Willson TM, Koller BH, Kliewer SA. 2001. The nuclear receptor PXR is a lithocholic acid sensor that protects against liver toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* **98**: 3369–3374.
 - 28) Ichikawa T, Horie-Inoue K, Ikeda K, Blumberg B, Inoue S. 2006. Steroid and xenobiotic receptor SXR mediates vitamin K₂-activated transcription of extracellular matrix-related genes and collagen accumulation in osteoblastic cells. *J Biol Chem* **281**: 16927–16934.