

培養細胞を用いたキノホルムの神経障害機序の検討

三ッ井貴夫（国立病院機構徳島病院神経内科）
川村 和之（国立病院機構徳島病院神経内科）
乾 俊夫（国立病院機構徳島病院神経内科）
松家 豊（国立病院機構徳島病院整形外科）
岡本 和久（国立病院機構徳島病院理学療法部）
松瀬由里子（国立病院機構徳島病院看護部）
斎藤まろみ（国立病院機構徳島病院看護部）
林 弘美（国立病院機構徳島病院看護部）
高橋 美和（国立病院機構徳島病院地域連携室）
佐藤 裕美（東部保健福祉局徳島保健所）

研究要旨

キノホルム（一般名 clioquinol : CQ）の培養神経細胞に対する細胞毒性機序を、酸化ストレスの関与の観点から検討した。また、CQ が二価金属イオンと形成する錯体の神経毒性について、予備的実験をおこなった。CQ は濃度依存性に、培養神経細胞株 SH-SY5Y のアポトーシスを誘導した。この過程は活性酸素種の産生亢進を伴っていた。CQ はウシ赤血球精製 SOD1 と SH-SY5Y 細胞の細胞質分画の SOD 活性と直接阻害した。CQ で前処置された SH-SY5Y 細胞の細胞質分画においても、SOD 活性は低下していた。ウシ赤血球精製 SOD1 を同時に添加することで、CQ による SH-SY5Y 細胞の細胞死と活性酸素種の産生亢進はともに抑制された。以上の結果から、CQ の神経細胞毒性には酸化ストレスの増大が関与し、それは CQ による SOD1 活性阻害に起因することが示唆された。二価金属イオン (Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{3+}) を同時に添加することで、CQ の神経細胞毒性が増強した。3 種類のイオンの中では、 Cu^{2+} イオンの作用が最も強かった。CQ が神経毒性を発揮しない濃度では、 Cu^{2+} イオンの増強作用は認めなかった。CQ がイオノフォアとして作用して細胞質の金属イオン濃度を上昇させることが、CQ の神経細胞毒性の発現に関与している可能性が示唆された。

A. 研究目的

キノホルム（一般名 clioquinol : CQ）の培養神経細胞に対する細胞毒性機序を、酸化ストレスの関与の観点から検討した。また、CQ のイオノフォアとしての作用が神経細胞毒性に関与しているかどうかについて、予備的実験をおこなった。

B. 研究方法

① CQ 50 μM 存在下で 8 時間培養した培養神経細胞株 SH-SY5Y の caspase 3 活性を EnzChek[®] Caspase-3 assay kit #2 (Molecular Probes, OR, USA) を用いて測定した。

② CQ 50 μM 存在下で 16 時間培養した SH-SY5Y 細胞の活性酸素種 (ROS) 産生を 2', 7'-dichlorofluorescein-diacetate (DCFH-DA) 法 (Molecular Probes, OR, USA) を用いて測定した。DCFH-DA 20 $\mu\text{mol/L}$ の添加直後の画像を共焦点顕微鏡 C2si (Nikon, Tokyo, Japan) を用いて

取得し、NIS Elements (Nikon) で解析した。ランダムに選択した 200 個の細胞に対して、DCF シグナルの相対値を算出した (DCF シグナル強度 / Mitotracker[®] Red CMXRos シグナル強度)。

③ CQ 50 μ M 存在下で 20 時間培養した SH-SY5Y 細胞から調整した細胞質分画の SOD1 活性を cytochrome C 法を用いて測定した。Diethylthiocarbamate (DDC) 100 μ M 存在下で同時間培養した SH-SY5Y 細胞の細胞質分画 SOD1 活性を陽性コントロールとした。

④ SH-SY5Y 細胞に clioquinol とウシ赤血球精製 SOD1 を同時に添加・培養したのち、SH-SY5Y 細胞の cell viability と細胞質内活性酸素種を CellQuanti-Blue Cell Viability Assay Kit (BioAssay Systems, CA, USA), Cell Meter[™] Fluorimetric Intracellular Total ROS Activity Assay Kit (AAT Bioquest, CA, USA) を用いて測定した。

⑤ CQ とともに二価金属イオン (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+}) を添加して 20 時間培養した SH-SY5Y 細胞の cell viability を CellQuanti-Blue Cell Viability Assay Kit を用いて測定した。

C. 研究結果

CQ を添加 24 時間後、SH-SY5Y 細胞の cell viability は濃度依存性に低下した (データは割愛する)。CQ の神経毒性が発揮される最小濃度は 10 μ M であった。CQ 50 μ M を添加 8 時間後、caspase 3 活性は優位に上昇した (図 1)。この反応は、caspase 3 阻害剤 AcDEVD-CHO によって消失した。

CQ 50 μ M を添加され 16 時間培養された SH-SY5Y 細胞では、DMSO を添加されたコントロール群と比較して、DCF シグナル (緑色) が著明に増強していた (図 2 a)。ランダムに選択された 200 個の細胞において、Mitotracker シグナル (赤色) に対する DCF シグナルの相対値は CQ 添加群で優位に増加していた (図 2 b)。

CQ はウシ赤血球精製 SOD1 と SH-SY5Y 細胞質分画の SOD1 の活性を、濃度依存性に阻害した (データは割愛する)。CQ 50 μ M の存在下で 20 時間培養され

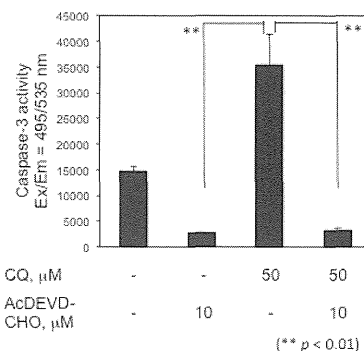


図 1 Clioquinol 50 μ M を添加 8 時間後の SH-SY5Y 細胞の caspase 3 活性

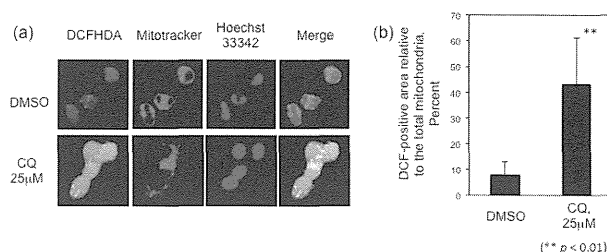


図 2 Clioquinol を添加 16 時間後の SH-SY5Y 細胞の活性酸素種産生

- (a) 共通点顕微鏡写真
- (b) ランダムに選択された 200 個の細胞における、Mitotracker シグナルに対する DCF シグナルの相対値

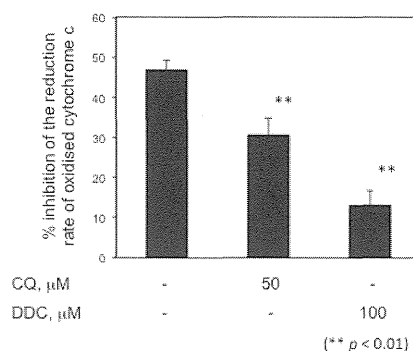


図 3 Clioquinol 50 μ M を添加 20 時間後の SH-SY5Y 細胞の細胞質 SOD 活性

た SH-SY5Y 細胞の細胞質 SOD 活性も有意に低下していた (図 3)。

ウシ赤血球精製 SOD1 を CQ と同時に添加することで、非添加群と比較して、cell viability は有意に増加し、細胞質内活性酸素種は低下した (図 4 ab)。

CQ 10 μ M に二価金属イオン (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+}) を添加することで、SH-SY5Y 細胞の cell viability は濃度依存性に減少した。特に Cu^{2+} の作用が強く、 Cu^{2+} 1 μ M を添加することで cell viability は約 50% 減少し

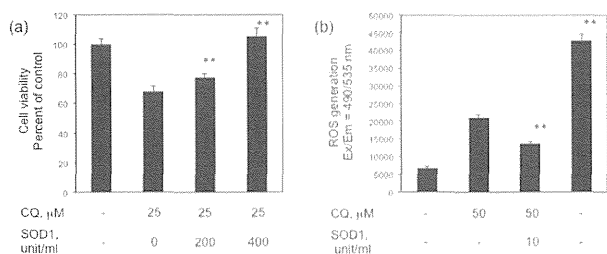


図4 Clioquinol とウシ赤血球精製 SOD1 を同時に添加・培養した SH-SY5Y 細胞の cell viability (a) と活性酸素種産生 (b)

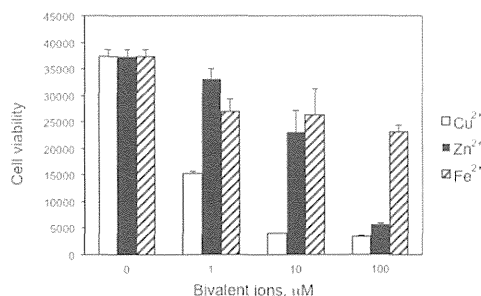


図5 Clioquinol 10 μM とともに二価金属イオン (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+}) を添加された SH-SY5Y 細胞の cell viability

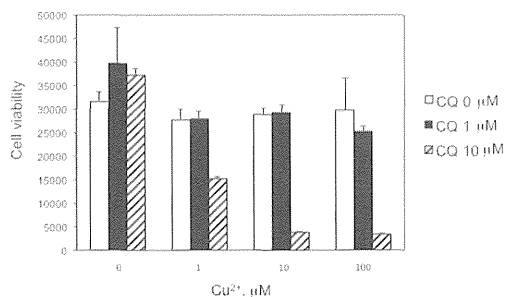


図6 Clioquinol とともに二価金属イオン (Cu^{2+}) を添加された SH-SY5Y 細胞の cell viability

た (図5)。神経細胞毒性を示さない濃度の CQ (1 μM) に Cu^{2+} の添加しても、CQ の細胞毒性は発現しなかった (図6)。

D. 考察

CQ は SMON の原因物質であり、脊髄、末梢神経、および視神経に亜急性障害を起こすことが知られているが、神経細胞障害の分子機序はなお明らかではない。CQ は脂溶性で銅、亜鉛、鉄など 2 価金属イオンのキレート作用を有するという化学的特性を持つ。我々は CQ のキレート作用に着目し、「CQ は銅/亜鉛を補酵素とする SOD1 活性を阻害することによって神経細胞毒性を発揮するのではないか？」との仮説をたて、CQ の神経細胞障害機序を活性酸素種の観点から解析

した。

本年度は、昨年までの研究で得られた知見をさらに堅固なものにするために実験を進めた。その結果、① CQ 存在下で培養された SH-SY5Y 細胞では caspase 3 活性が優位に上昇していること、② CQ 存在下で培養された SH-SY5Y 細胞で活性酸素種産生が亢進していること、③ CQ は精製 SOD1 活性と SH-SY5Y 細胞の細胞質 SOD 活性を直接阻害すること、④ CQ 存在下で培養された SH-SY5Y 細胞においても細胞質 SOD 活性が低下していること、⑤ 精製 SOD1 を CQ と同時に添加することで、CQ の SH-SY5Y 細胞に対する細胞毒性が减弱し、かつ活性酸素種産生も抑制されることを明らかにすることが出来た。以上の結果、CQ はまずそのキレート作用によって SOD1 活性を阻害し、その結果もたらされた酸化ストレスの増大によって神経細胞死 (アポトーシス) が誘導されることが判明した。

CQ の抗癌作用の研究では、CQ が銅や亜鉛などの二価金属イオンの細胞質濃度を上昇させ、その結果、細胞増殖や細胞死に関連した因子の活性が変化することで癌細胞死が誘導されることが報告されている。SH-SY5Y 細胞においても、二価金属イオンを同時に添加することで CQ の細胞毒性が増強した。このことより、CQ の神経毒性には、CQ のイオノフォアとしての作用も関与していることが示唆された。

E. 結論

培養神経細胞 SH-SY5Y 細胞に対して、キノホルムは活性酸素種の産生を増大させることで細胞障害をきたすことが示唆された。その機序として、キノホルムによる SOD 活性の抑制が関与していると考えられた。また、二価金属イオンが CQ の神経細胞毒性を増強することから、CQ のイオノフォアとしての作用も神経細胞毒性発現に関与していることが示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawamura K, Kuroda Y, Sogo M, Fujimoto M, Inui T, and Mitsui T. Superoxide dismutase as a target of clioquinol-induced neurotoxicity. *Bio-*

chem. Biophys. Res. Commun. 452 (1): 181-5, 2014.

2) 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

キノホルムによる脊髄前角の興奮性シナプス伝達増強作用

吉田 宗平（関西医療大学神経病研究センター）

谷口 亘（関西医療大学保健医療学部疼痛医学分野）

泉 尚史（関西医療大学保健医療学部疼痛医学分野）

西尾 尚子（関西医療大学保健医療学部疼痛医学分野）

研究要旨

キノホルムが脊髄前角における興奮性シナプス伝達に対して、どのような影響を与えるかを whole-cell patch-clamp 法を用いて電気生理学的な解析を行なった。キノホルムは脊髄前角細胞に人力する神経線維終末部に作用し、興奮性神経伝達物質グルタミン酸の放出を増強した。その作用は濃度依存性でキレート化により増強した。この作用機序は ROS や TRPA1 受容体とは関連しない機序である可能性が示唆された。

A. 研究目的

亜急性脊髄視神経症（Subacute-Myelo-Optico-Neuropathy：SMON）について、整腸剤キノホルム（Clioquinol：5-Chloro-7-iodo-8-quinolinol）による発症機序は過去にいくつか報告されている。ビタミン B₁₂ の不足、キレート作用による障害、ミトコンドリア障害に伴う酸化ストレス、神経成長因子受容体の自己リン酸化反応の抑制¹⁾などさまざまな報告があるが、未だ一定の見解を得られていない。本研究では SMON の下肢の痙縮・脱力といった症状に関して、Clioquinol が脊髄前角細胞に対しどのような影響を与えるかを whole-cell patch-clamp 法を用いて、解析を行なった。

B. 研究方法

1. 脊髄スライス標本の作製

幼若 Sprague-Dawley 系雄性ラット（9～11 日齢）にペントバルビタールを腹腔内投与し麻酔後、腰仙部の椎弓切除を行い、1.0～1.5 cm の長さで脊髄を摘出し、酸素付加した 2～4℃ の人工脳脊髄液に浸した。脊髄から実体顕微鏡視下に硬膜、前根、後根、くも膜、軟膜を除去した後、脊髄を寒天ブロックに作った溝に設置し、マイクロスライサーを用いて、約 500 μm の

厚さの脊髄横断スライス標本を作製した。切片化した脊髄スライスを記録用のチャンバーに移した。

2. 脊髄前角細胞からのパッチクランプ記録

赤外線システム含有の顕微鏡を用いて、脊髄前角の IX 層の細胞をモニターで観察しながら、微小ガラス電極を刺入、whole-cell patch-clamp 法を適用し、単一細胞からデータ記録を行った。記録用電極には電極内液を充填した先端抵抗 5～12 MΩ の微小ガラス電極を用いた。得られた記録電流はパッチクランプ用アンプ、A/D 変換器、データ記録・解析用ソフトを用いて、記録・解析した。膜電位は -70 mV に電圧固定した。実験結果は平均±標準誤差で表し、検定は paired student's t-test および unpaired student's t-test を用いた。危険率 5%（P<0.05）をもって有意と判定した。

C. 研究結果

脊髄前角細胞から膜電位固定下（-70 mV）に whole-cell patch-clamp 法を適用し、記録を行うと、神経終末内に存在するシナプス小胞から神経伝達物質が放出されることによって発生する自発性興奮性シナプス後電流（spontaneous excitatory postsynaptic current：sEPSC）が観察された。Clioquinol 100 μM の灌流投与を 5 分間行くと、sEPSC の増強を認めた。

この増強における頻度の増加は $129.9 \pm 8.9\%$ で有意な増強であった ($P=0.001$) が、振幅の増強は $106.0 \pm 2.7\%$ で有意差を認めなかった。 ($n=38$)。次に濃度の変化による Clioquinol の sEPSC に対する増強効果の違いを検討するために Clioquinol $10 \mu\text{M}$ を 5 分間単独投与したところ、sEPSC は頻度の増加傾向を認めた ($110 \pm 13.7\%$) が有意差は認めなかった。一方、振幅の増強は認めなかった ($95.8 \pm 2.5\%$) ($n=10$)。

次に Clioquinol のシナプス前作用を解析するために Na チャネル拮抗薬であるテトロドトキシン (tetrodotoxin : TTX) 存在下 ($1 \mu\text{M}$) で Clioquinol $100 \mu\text{M}$ を投与したところ、微小興奮性シナプス後電流 (miniature EPSC : mEPSC) の頻度の有意な増幅が観察された ($163.0 \pm 17.0\%$, $P=0.003$)。一方、振幅に関しては有意な増加は見られなかった ($103.3 \pm 2.7\%$) ($n=12$)。さらに sEPSC はグルタミン酸受容体拮抗薬である CNQX ($10 \mu\text{M}$) の投与により完全に消失し、Clioquinol を投与しても変化はみられなかった ($n=6$)。

Clioquinol は銅や亜鉛に選択的キレート作用を有し、これが SMON の作用機序に重要であるとの指摘があることから、 ZnCl_2 存在下で Clioquinol をキレート化しての投与実験を行った。 ZnCl_2 存在下 ($10 \mu\text{M}$) で Clioquinol 投与時の sEPSC は単独投与時と同様に増強を示したが、その頻度増加率は、 $163.3 \pm 16.1\%$ であった ($P=0.0008$; $n=21$)。これは Clioquinol $100 \mu\text{M}$ 単独投与群と比較した場合、より強く増加していた ($P=0.023$)。一方、振幅には有意な増加はみられなかった ($101.4 \pm 4.0\%$; $n=21$)。

次に Clioquinol 因性の酸化ストレスの関与を調べるため、活性酸素種 (reactive oxygen species : ROS) の非選択的消去剤である PBN によって Clioquinol の sEPSC 増強作用が抑制できるか検討した。また、ROS は TRPA1 受容体を活性化するといくつかの研究から報告されているため、TRPA1 の選択的拮抗薬である A-967079 存在下においても投与実験を行った。PBN (1mM) 存在下の Clioquinol $100 \mu\text{M}$ 投与時の sEPSC の頻度の増加率 ($115.4 \pm 3.8\%$) は単独投与群との間に有意差はなく、抑制されなかった。次に、A-967079 ($100 \mu\text{M}$) 存在下に Clioquinol $100 \mu\text{M}$ の投与

実験を行ったところ、EPSC の頻度の増加が確認された ($126.7 \pm 6.9\%$; $P=0.01$) ($n=5$) が、Clioquinol 単独投与時群の頻度の増加率に対して有意差は認められなかった。

D. 考察

本研究の結果から Clioquinol は単独投与により、脊髓前角細胞の sEPSC の頻度を増強させたが振幅には影響しなかった。さらにこの Clioquinol の増強作用は濃度依存性であることが示された。CNQX 存在下では sEPSC は完全に消失し、Clioquinol により増強されることはなかった。また、神経終末部における作用を解析するため、Na チャネルブロッカーである TTX 存在下で Clioquinol の作用を解析した。TTX 存在下では活動伝播が阻害されるため mEPSC が観察できるが、Clioquinol は TTX 存在下において mEPSC の頻度を増強させ、振幅を変化させることはなかった。以上のことより、Clioquinol は脊髓前角細胞に投射している神経終末部に作用し、グルタミン酸の放出を促進していることが考えられた。SMON における痙性麻痺は脊髓前角運動ニューロンに投射する神経終末部からのグルタミン酸放出が Clioquinol により促進された結果、脊髓前角細胞の興奮増強が持続している点に関与している可能性がある。またグルタミン酸毒性による細胞死が起こる可能性もあり、脱力に関与している可能性もある。

Clioquinol には銅、亜鉛などに対して選択的キレート作用があり、神経細胞の傷害を増強させるということが報告されている³⁾。今回の本研究では ZnCl_2 存在下で Clioquinol のキレート作用による反応は、Clioquinol 単独投与時よりも有意に頻度を増強させた。このことから、Clioquinol のキレート化は脊髓前角において興奮性シナプスの伝達作用をより増強させる要因の一つと考えられた。

過去に、Clioquinol はミトコンドリアの SOD1 活性を阻害し、その結果、ROS が増加しての細胞障害が指摘されている³⁾。ROS は細胞障害だけでなく、シグナル伝達にも関与しており、その受容体の一つに低温感受受容体の TRPA1 が関与していることが過去に報告されている^{4,5)}。我々は過去に脊髄後角において神

経終末部の TRPA1 を ROS が活性化させることで、興奮性神経伝達物質のグルタミン酸の放出を増強する事を報告している⁶⁾。また、Clioquinol が細胞内のカルシウム濃度を高め、TRPA1 受容体を活性化させるという報告もある⁷⁾。そこで本研究では ROS Scavenger (消去剤) の一つである PBN 存在下と、TRPA1 選択的受容体拮抗薬存在下で Clioquinol の作用が阻害されるか解析したが、いずれも sEPSC の増強作用が阻害されることはなかった。以上のことより、Clioquinol は ROS の産生による TRPA1 の活性化とは別の何らかの機序により神経終末部に作用し、グルタミン酸の放出を増強する可能性があると考えられた。この機序については今後さらなる検討を行っていく予定である。

E. 結論

脊髄前角細胞に whole-cell patch-clamp 法を適用し、脊髄前角細胞における Clioquinol の興奮性シナプス伝達増強作用を解析した。Clioquinol は脊髄前角細胞に入力する線維終末部に作用し、興奮性神経伝達物質グルタミン酸の放出を増強する事が判明した。この作用は濃度依存性でキレート化により増強した。この作用機序は ROS や TRPA1 とは関連しない機序である可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 泉尚史, 谷口亘, 山中学, 曾根勝真弓, 西尾尚子, 中塚映政, 吉田宗平, 吉田宗人: Clioquinol による脊髄前角細胞の興奮性シナプス伝達増強. 第3回ニューロカンファレンス和歌山 2015.1.10 和歌山
- 2) 泉尚史, 谷口亘, 西尾尚子, 清行康邦, 林正貴, 中塚映政, 吉田宗平, 吉田宗人: 脊髄前角細胞におけるキノホルムの興奮性シナプス伝達増強作用. 第36回脊髄機能診断研究会 2015.2.7 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 文献

- 1) Kunihiro A, Akihiro U, Naoki K, Madoka U, Takateru M, Tatsuro M: Clioquinol inhibits NGF-induced Trkautophosphorylation and neurite outgrowth in PC12 cells BRAIN RESEARCH 1301: 110-115 2009
- 2) Jack L.A, Stine-Kathrein K, Rovert VL, et al.: Clioquinol-Zinc Chelate: A Candidate Causative Agent of Subacute Myelo-Optico Neuropathy Molecular Medicine 4: 665-670
- 3) Kazuyuki K, Yukiko K, Masao S, Miki F, Toshio I, Takao M: Superoxide dismutase as a target of clioquinol-induced neurotoxicity Biochemical and Biophysical Research Communications 452: (2014) 181-185
- 4) Bessac BF, Sivula M, vonHehn CA, et al: TRPA1 is a major oxidant sensor in murine air-way sensory neurons. J Clin Invest 118: 1899-1910, 2008
- 5) Andersson DA, Gentry C, Moss S, Bevan S.: Transient receptor potential A1 is a sensory receptor for multiple products of oxidative stress. J Neurosci 28 (10): 2485-2494, 2008
- 6) Nishio N, Taniguchi W, Sugimura YK, Takiguchi N, Yamanaka M, Kiyoyuki Y, Yamada H, Miyazaki N, Yoshida M, Nakatsuka T.: Reactive oxygen species enhance excitatory synaptic transmission in rat spinal dorsal horn neurons by activating TRPA1 and TRPV1 channels Neuroscience 247: 201-212, 2013
- 7) Andersson DA, Gentry C, Moss S, Bevan S.: Clioquinol and pyrithione activate TRPA1 by increasing intracellular Zn^{2+} PNAS 106: 8374-8379, 2009

Clioquinol の神経細胞に対する影響—7

武藤多津郎（藤田保健衛生大学脳神経内科学）
朝倉 邦彦（藤田保健衛生大学脳神経内科学）
福井 隆男（藤田保健衛生大学脳神経内科学）
植田 晃広（藤田保健衛生大学脳神経内科学）
引地 智加（藤田保健衛生大学脳神経内科学）
石川 等真（藤田保健衛生大学脳神経内科学）
伊藤 信二（藤田保健衛生大学脳神経内科学）

研究要旨

clioquinol（キノホルム）は SMON の原因物質と考えられているが、明確な神経障害機序については現在も不明な点が多い。これまで我々は、神経成長因子（NGF）受容体（Trk）を高発現する培養神経系細胞を用いて、clioquinol は Trk の NGF による自己リン酸化反応を抑制し、この抑制により神経障害をもたらしている可能性を示してきた。今回、この clioquinol による神経障害の機序をさらに明らかにするため、遺伝子発現の制御に関わっているヒストンのアセチル化とヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤の神経細胞に対する影響を検討した。その結果、NGF により分化した培養神経細胞に clioquinol を加えると、アセチル化ヒストンは経時的に減少し、HDAC 阻害剤添加によりこの減少は消失した。また、HDAC 阻害剤添加により clioquinol による細胞死も抑制され、NGF による Trk の自己リン酸化反応の抑制も減弱した。このことから、HDAC 阻害剤は clioquinol の神経毒性を軽減させる可能性があると考えられた。

A. 研究目的

clioquinol（キノホルム）は SMON の原因物質と考えられているが、明確な神経障害機序については現在も明らかとなっていない。これまで我々は、神経細胞死防御機構の主要な役割を担う神経成長因子（NGF）受容体（Trk）を高発現する培養神経系細胞を用いて、clioquinol は Trk の NGF による自己リン酸化反応を抑制し、この抑制により神経障害をきたしている可能性を示してきた¹⁾。

一方、ヒストンにおいて N 末端のリジン残基がアセチル化、脱アセチル化され、これが遺伝子発現の制御に関わっている。ヒストンが多数アセチル化されている染色体領域は、遺伝子の転写が活発に行われており、ヒストンのアセチル化は遺伝子の発現を活性化さ

せ、脱アセチル化は遺伝子の発現を抑制していると考えられている。今回、clioquinol による神経障害の機序をさらに明らかにするため、clioquinol 投与によるヒストンのアセチル化とヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害剤の神経細胞に対する影響を検討した。

B. 研究方法

神経細胞株 PCT（Trk 高発現細胞）に、NGF を加えて 24 時間培養して突起を伸展させ、細胞を神経細胞に分化させた。この細胞に、clioquinol 1 μ M を加えて培養し、アセチル化ヒストンの変化を経時的にウエスタンブロッティング法により解析した。また、HDAC 阻害剤である trichostatin A（TSA）を 0.1 μ M 添加して、clioquinol による神経突起退縮作用、細

胞死、NGFによるTrkの自己リン酸化反応を調べた。

C. 研究結果

NGFにより分化したPCT細胞に clioquinol を加えると、アセチル化ヒストンは経時的に減少し、TSA添加によりこの減少は消失した。分化した神経細胞は、clioquinol投与により神経突起が退縮したが、TSA添加によりこの神経突起退縮は軽減された。また、TSA添加により clioquinol による細胞死も抑制され、TrkのNGFによる自己リン酸化反応の抑制も減弱した。

D. 考察

clioquinolはPCT細胞に対して細胞死を引き起こすが、この際NGFによるTrkの自己リン酸化が抑制され、ヒストンのアセチル化が経時的に減少した。HDAC阻害剤はclioquinolによるヒストンのアセチル化を回復させ、NGFによるTrkの自己リン酸化反応を正常化し、結果として細胞死が抑制される機序が考えられた。

以上の事実は、Trkを介する細胞死防御系とヒストンアセチル化の間にはクロストークが存在し、HDAC阻害剤はclioquinolの神経毒性を緩和する可能性があると考えられた。

E. 結論

clioquinolはPCT細胞に対してNGFによるTrkの自己リン酸化の抑制とともに、アセチル化ヒストンを経時的に減少させた。HDAC阻害剤を加えると、ヒストンのアセチル化抑制が消失し、TrkのNGFによる自己リン酸化の抑制も減弱し、細胞死が抑制された。これらのことから、HDAC阻害剤はclioquinolの神経毒性を軽減させる可能性があると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Shima S, Kawamura N, Ishikawa T, Masuda H, Iwahara C, Nimi Y, Ueda A, Iwabuchi K, Mutoh T. Anti-neutral glycolipid antibodies in encephalomyeloneuropathy. *Neurology*, 82: 114-8, 2014.

- Asakura K, Ueda A, Shima S, Ishikawa T, Hikichi C, Hirota S, Fukui T, Ito S, Mutoh T. Targeting of aquaporin 4 into lipid rafts and its biological significance. *Brain Res.*, 1583: 237-44, 2014.
- Ken Nakamura, Keizo Sugaya, Yasuhiro Nakata, Sayuri Shima, Tatsuro Mutoh, Imaharu Nakano. Hypertrophic pachymeningitis and encephalitis in a patient with relapsing polychondritis. *Neurol Clin Neurosci* 3: 42-43, 2015
- Asakura A, Ueda A, Mutoh T. Lipid rafts and their possible involvements in neuroimmunological disorders: new research arena. *Frontiers In Bioscience Landmark Ed.* 20: 303-13, 2015.
- Fukuda Y, Fukui T, Hikichi C, Ishikawa T, Murate K, Adachi T, Imai H, Fukuhara K, Ueda A, Kaplan AP, Mutoh T. Neurotrophin promotes NGF signaling through interaction of GM1 ganglioside with Trk neurotrophin receptor in PC12 cells. *Brain Res.*, 1596: 13-21, 2015.
- Fukui T, Asakura K, Hikichi C, Ishikawa T, Hirota S, Murate K, Murai R, Kizawa M, Ueda A, Ito S, Mutoh T. Histone deacetylase inhibitor attenuates neurotoxicity of clioquinol in PC12 cells. *Toxicology, in press*
- Hirota S, Ito S, Fukui T, Murate K, Shima S, Kizawa M, Ueda A, Asakura K, Mutoh T. Voriconazole-responsive Disseminated Nodular Lesions on Spinal MRI. *Intern. Med.*, *in press*

2. 学会発表

- 福井隆男, 植田晃広, 村手健一郎, 廣田政古, 引地智加, 石川等真, 島さゆり, 松本慎二郎, 木澤真努香, 伊藤信二, 朝倉邦彦, 武藤多津郎抑うつ症状が初発症状であった慢性経過の硬膜下膿瘍の1例 第138回日本神経学会 東海北陸地方会 2014.3.1
- Mutoh T, Shima S, Ishikawa T, Ueda A, Asakura K. New Autoantibodies Against Neutral Glycolipids In Encephalomyeloneuropathy. The 66th American Academy of Neurology Annual Meeting; Philadelphia. 2014.4.29

- 石川等真, 宮下忠行, 引地智加, 福井隆男, 伊藤信二, 朝倉邦彦, 武藤多津郎. CIDP 患者における神経叢の可視化および定量の試み 第 55 回日本神経学会学術大会 福岡. 2014.5.21
- Shima S, Ishikawa T, Ueda A, Iwabuchi K, Mutoh T. Anti-neutral Glycolipid Antibodies In Encephalomyeloradiculoneuropathy. 第 55 回日本神経学会学術大会 福岡. 2014.5.21
- 朝倉邦彦, 福井隆男, 廣田政古, 植田晃広, 島さゆり, 伊藤信二, 武藤多津郎. NMO-IgG による細胞内シグナル伝達への影響第 55 回日本神経学会学術大会 福岡. 2014.5.21
- 石川等真, 引地智加, 福井隆男, 島さゆり, 植田晃広, 木澤真努香, 朝倉邦彦, 武藤多津郎. CIDP 患者における神経叢の可視化および定量の試み 第 25 回日本末梢神経学会学術集会 京都. 2014.8.29
- 植田晃広, 島さゆり, 石川等真, 福井隆男, 村手健一郎, 廣田政古, 引地智加, 木澤真努香, 伊藤信二, 朝倉邦彦, 武藤多津郎. 抗中性糖脂質抗体陽性の脳脊髄根末梢神経炎 (EMRN) の 1 例 第 19 回日本神経感染症学会学術集会 金沢. 2014.9.4
- 朝倉邦彦, 福井隆男, 廣田政古, 石川等真, 植田晃広, 島さゆり, 伊藤信二, 武藤多津郎. アクアポリン 4 のチロシンリン酸化反応 第 26 回日本神経免疫学会学術集会 金沢. 2014.9.5.
- 島さゆり, 植田晃広, 引地智加, 廣田政古, 村手健一郎, 木澤真努香, 伊藤信二, 朝倉邦彦, 武藤多津郎. 脳脊髄根末梢神経炎 (EMRN) 患者血清に認めた新規抗中性糖脂質抗体 藤田医学会 愛知. 2014.10.2
- 島さゆり, 水谷泰彰, 村手健一郎, 福井隆男, 廣田政古, 引地智加, 石川等真, 植田晃広, 木澤真努香, 伊藤信二, 朝倉邦彦, 武藤多津郎. 抗中性糖脂質抗体が陽性であった EMRN の一例 第 140 回日本神経学会東海北陸地方会 福井. 2014.11.1
- 齋藤由扶子, 横川ゆき, 見城昌邦, 片山泰司, 橋本里奈, 榊原聡子, 久保あゆ香, 饗場郁子, 高橋昭, 植田晃広, 水谷泰彰, 犬飼晃. 左大腿部の不随意運動で顕在化した胸椎黄色靭帯骨化症の 1 例 第 140 回日本神経学会東海北陸地方会 福井. 2014.11.1
- 河合宏, 石川等真, 福井隆男, 廣田政古, 引地智加, 島さゆり, 木澤真努香, 朝倉邦彦, 武藤多津郎. 両側顔面神経麻痺で発症したギラン・バレー症候群と考えられる 1 例内科地方会 名古屋. 2014.11.2
- 植田晃広, 石川等真, 島さゆり, 長久伸也, 植田佐保子, 安倍雅人, 朝倉邦彦, 武藤多津郎. 再燃を認めたリンパ球性汎下垂体炎の 1 例 第 32 回日本神経治療学会総会 東京. 2014.11.21

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. 8; 1301: 110-5 2009.

スモン患者における認知症と MCI の合併について

—— 愛知県での調査結果 ——

齋藤山扶子（国立病院機構東名古屋病院神経内科）

橋本 里奈（国立病院機構東名古屋病院神経内科）

神近 香苗（国立病院機構東名古屋病院リハビリテーション科）

矢島 洋子（国立病院機構東名古屋病院リハビリテーション科）

祖父江 元（名古屋大学神経内科）

小池 春樹（名古屋大学神経内科）

川頭 祐一（名古屋大学神経内科）

大山 健（名古屋大学神経内科）

高橋 美江（名古屋大学神経内科）

小長谷正明（国立病院機構鈴鹿病院神経内科）

久留 聡（国立病院機構鈴鹿病院神経内科）

服部 直樹（豊田厚生病院神経内科）

鷺見 幸彦（国立長寿医療研究センター）

研究要旨

MCI (mild cognitive impairment 軽度認知障害) は認知症の前駆段階の可能性のある状態である。全国スモン検診において認知症・MCI の診断を行うために、MMSE と CDR (Clinical Dementia Rating 臨床的認知症尺度) を用いることが有用であるか、愛知県におけるスモン検診で検証した。検診の負担をできるだけ抑えるために、CDR を簡便化し、一部スモン現状調査個人票のデータを利用できるか試みた。愛知県のスモン検診患者 14 例のうち、認知症は 1 例、MCI は 0 例であった。結果は従来 MCI の有病率に比べ低値であり、CDR の実施法（聞き取りは本人・介護者から行うべきであるが、1 回の診察で本人から聞き取りを行ったこと）に問題がある可能性があった。スモン患者の状態把握のためには医師のみでなく、介護福祉・行政と連携して状態把握することが望まれる。保健師に対する CDR の研修が是非とも必要である。

A. 研究目的

平成 24 年度の全国スモン検診（1 次は MMSE、2 次調査は主治医班員による診断）では 65 歳以上における認知症有病率は約 11% であった¹⁾。今後、患者高齢化に伴い認知症の合併増加が予想される。認知症の合併は本人のみでなく介護者にも影響が大きく、その診断とケアは重要である。近年では認知症の前駆段階の可能性のある MCI (mild cognitive impairment 軽

度認知障害) が注目されている。スモン検診ではスモン患者の状況把握のために、スモン現状調査個人票を使用しているが、認知症の合併は自己申告のため、MMSE と比較し、診断感が低かった²⁾。認知症は、MMSE でスクリーニングされることが多いが、重い患者は検査が不可能となり、一方 23/24 をカットオフとすると MCI の患者は正常と判定されてしまう。MCI 診断は、Petersen 基準³⁾があり、これを CDR

表 1 検診用に質問を記載した CDR 判定表

検査日:

名前:

回答者: 本人・介護者・保健師

データ解析・発表に 同意する・同意しない

CDR	0 (なし)	0.5 (疑い)	1 (軽度)	2 (中等度)	3 (重度)
記憶 (M)	記憶障害なし 軽度の一貫しない物忘れ	一貫した軽い物忘れ 出来事を部分的に思い出す良性健忘	中等度記憶障害 特に最近の出来事に対するもの 日常生活に支障	重度記憶障害 高度に学習したもののみ保持、新しいものはすぐ忘れる	重度記憶障害 断片的記憶のみ残存する程度
見当識 (O)	見当識障害なし	時間的関連の軽度の困難さ以外は障害なし	時間的関連の障害中程度あり、検査では場所の見当識良好、他の場所です時に地誌的失見当	時間的関連の障害重度、通常時間の失見当、しばしば場所の失見当	人物への見当識のみ
判断力と問題解決 (JPS)	日常の問題を解決、仕事をこなす、金銭管理良好、過去の行動と関連した良好な判断	問題解決、類似性差異の指摘における軽度障害	問題解決、類似性差異の指摘における中程度障害、社会的判断は通常保持される	問題解決、類似性差異の指摘における重度障害、社会的判断は通常障害される	問題解決不能、判断不能
Q近所の火事など緊急事態が発生したらどうしますか？ Q電球が切れた時や水漏れがあったらどうしますか？	※2つ以上回答 ・消防・警察へ連絡 ・近所の人に知らせる ・家人に知らせる ・家人に頼む	※2つの不完全回答	※1つのみ回答 ・消防・警察へ連絡 ・近所の人に知らせる ・家人に知らせる ・家人に頼む	・わからない	・反応なし
地域社会活動 (CA)	通常の仕事、買い物、ボランティア、社会的グループで通常の自立した機能	左記の活動の軽度の障害	左記の活動のいくつかにかかわっていても自立できない、一見正常	家庭外では自立不可能	家庭外では自立不可能
Q近所の方、友達との付き合いはありますか？	・今まで通りある。 ・自分から集まりに参加する	・今までより少し減った ・億劫に感じることがある	・今までより減った ・億劫に感じることがある	・今までよりかなり減った ・他人に勧められれば集まりに参加	・全くなかった
家庭生活及び趣味・関心 (HH)	家での生活、趣味、知的関心が十分保持されている	家での生活、趣味、知的関心が軽度障害されている	軽度しかし確実な家庭生活の障害、複雑な家事の障害、複雑な趣味や関心の喪失	家族のいる家の外に連れ出しても他人の目には一見活動可能に見える	家族のいる家の外に連れ出した場合生活不可能
Q好きなことや趣味はありますか？ Q新聞やニュースは見ますか？ Q食事の準備ができますか？	・今まで通りある。 ・新聞やニュースを見る ・料理できる	・今までより少し減った ・限定されたもののみ見る ・簡単な料理できる	・今までより減った ・あまり新聞・ニュースは見ない ・料理の手伝いのみ	・今までよりかなり減った ・ほとんど新聞・ニュースは見ない ・下膳やテーブルふき	・全くない ・新聞・ニュースは全く見ない ・何もできない
介護状況 (PC)	セルフケア完全	セルフケア完全	奨励が必要	着衣、衛生管理など身の回りのことに介助が必要	日常生活に十分な介護を要する、頻回な失禁
Q顔を洗う事、歯磨きは自分でできますか？	・自分でできる		・促されて行う	手伝ってもらう	やってもらう

(日黒謙一 痴呆の臨床：CDR 判定用ワークシート解説、医学書院 2004 p 104 を改変)

(Clinical Dementia Rating 臨床的認知症尺度) 評価法にあてはめると記憶が 0.5 で他が 0 の状態に相当するとされる⁴⁾。スモン検診において認知機能の現状把握を行うために、認知症と MCI のスクリーニングとして MMSE と CDR を用いることが有用であるか、愛知県におけるスモン検診で検証した。検診の負担をできるだけ抑えるために、CDR を簡便化し、一部スモン現状調査個人票のデータを利用できるか試みた。

B. 研究方法

対象：愛知県は 2 地区にわけて 2 年ごとに検診を行っている。本年は三河地区で検診を施行した。集団検診 12 例、訪問検診は 2 例であった。14 例（男性 1 例、女性 13 例）全員からデータの解析・発表に同意を得た。年齢は 74±13 歳だった。

方法：MMSE、CDR は検診会場では言語聴覚士が、訪問検診では担当医師が行った。CDR は認知症の縦断研究のために開発された、認知症の重症度を判定する観察法の一つである⁵⁾。判定用ワークシートは、目黒により翻訳⁶⁾されており、「記憶」、「見当識」、「判断力と問題解決」、「地域社会活動」、「家庭生活および趣味・関心」、「介護状況」について、それぞれ正常 (0)、認知症疑い (0.5)、軽度認知症 (1)、中等度認知症 (2)、重度認知症 (3) に評価された。さらにルールに従って全体の CDR を判定した⁶⁾。本来は家族・介護者からの情報が重視されるが、今回は検診時に主として本人から情報を聴取した。また、CDR 判定表における聞き取り内容は、「判断力と問題解決」「地域社会活動」「家庭生活および趣味・関心」「介護状況」については、あらかじめ質問内容を決めて簡便化した (表 1)。「記憶」、「見当識」に関しては、MMSE の遅延再生と見当識の結果を参考とした。認知症と MCI の診断は朝田の認知症の疫学調査の方法の 1 次スクリーニング法⁷⁾に準拠して行った。認知症は MMSE 26 以下で CDR 0.5 以上、MCI は MMSE 24 以上で CDR 0.5 とした。ただし CDR の実施方法は朝田の疫学調査とは異なり、朝田の使用した WMS-R 論理的記憶 I・II の実施は困難であった。

(倫理面への配慮)

データは、解析に同意を得られたものを使用し、個

表 2 正常 MCI 認知症の比較

診断	例数 (%)	平均年齢 (歳)	MMSE (平均値)	CDR	個人票データ		
					記憶力低下あり (例数)	認知症あり (例数)	Barthel インデックス (平均点)
正常	13 (93%)	73	28.8	0が8例 0.5が5例	0	0	87
MCI	0						
認知症	1 (7%)	93	14	1	0	0	65

表 3 認知症 MCI の有病率の比較

	方法	認知症 (%)	MCI (%)
愛知県スモン検診 (65歳以上)	MMSEとCDR 班員診断	8	0
平成24年全国スモン検診 ¹⁾ (65歳以上)	MMSEと主治医・班員診断	11	未検
朝田の報告 ⁷⁾ (65歳以上) 平成22年と24年の結果を統合し、平成22年の人口で標準化した。	MMSEとCDRとWMS-Rを調査員が施行 第2段階は精神科医が診察 (MRIと血液検査は希望者に施行)	15	13

人の特定はできない。

C. 研究結果 (表 2)

14 例の MMSE は平均 27.9 であった。認知症は 1 例 (7%) だった。93 歳で、MMSE 14、CDR 1、BI 65、介護保険では要介護 2 であった。本人の申告では個人票の「精神症候」のうちの「認知症」と「記憶力低下」は「なし」であった。CDR 0.5 は 14 例中 5 例であったが、「記憶力低下」や「認知症」の自覚はなく、介護者からの記憶障害の情報がなかったため、MCI 基準を満たさず、該当はなかった。5 例の MMSE の平均は 28 であった。

D. 考察

65 歳以上に限定すると、対象は 12 例で認知症は 1 例 (8%)、MCI は 0% だった (表 3)。実施法が一部異なるが、MMSE と CDR を 1 次スクリーニングで使用した朝田の報告⁷⁾では 65 歳以上の高齢者における認知症は 15%、MCI は 13% であるのに対し、今回の検討結果は MCI が 0 で大きく異なった。CDR は本来、観察法による重症度判定法であり、患者のみでなく介護者からの情報聴取が必要である。今回は検診にて主

として本人からの聴取を行った。また記憶、見当識についての情報は、MMSEを使用した。従ってMCIが診断できなかった原因として、CDRの評価を、介護者からの情報を得ず1回のMMSEから行ったことが影響している可能性がある。CDRをより正確に判定するためには、介助者からの情報を欠くことができないため、検診前の訪問調査で施行されることが望ましい。愛知県で検診に参加している保健師にCDRについて尋ねたがほとんど周知されていなかった。MMSE、CDRともに研修によって、周知してゆく必要がある。

E. 結論

認知症とMCIの診断は、本人を1回診察するのみでは不十分であった。検診で認知症・MCIの診断を行うためには、検診の事前にMMSE・CDRを行い問題把握したうえで、班員による神経学的診察を行うことが必要である。医師のみでなく介護福祉・行政と連携して状態把握することが望まれる。保健師に対するCDRの研修が是非とも必要である。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 文献

- 1) 齋藤 由扶子ほか：スモン患者における認知症の合併について—検診データベースに基づく検討③—, 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）スモンに関する調査研究 平成25年度統括・分担研究報告書 2014 198
- 2) 齋藤 由扶子ほか：スモン患者における認知症の合併について—検診データベースに基づく検討①—, 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）スモンに関する調査研究 平成23年度統括・分担研究報告書 2012 216
- 3) Petersen RC. et al.: Mild cognitive impairment; clinical characterization and outcome. Arch Neurol 1999 56 303
- 4) 目黒 謙一：認知症早期発見のためのCDR判定ハンドブック 医学書院 p. 49

- 5) Morris JC.: The Clinical Dementia Rating (CDR): current version and scoring rules. Neurology 1993 43 2412
- 6) 目黒 謙一：痴呆の臨床：CDR判定用ワークシート解説 医学書院 2004 p. 104
- 7) 朝田隆：厚生労働科学研究費補助金 認知症対策総合研究事業「都市部における認知症有病率と認知症の生活機能障害への対応」平成23年度～平成24年度総合研究報告書 2013

スモン患者での認知機能障害に関する検討

松原 悦朗（大分大学医学部神経内科学講座）

花岡 拓哉（大分大学医学部神経内科学講座）

藤岡 秀康（大分大学医学部神経内科学講座）

佐々木雄基（大分大学医学部神経内科学講座）

片山 徹二（大分大学医学部神経内科学講座）

天野 優子（大分大学医学部神経内科学講座）

石橋 正人（大分大学医学部神経内科学講座）

竹丸 誠（大分大学医学部神経内科学講座）

麻生 泰弘（大分大学医学部神経内科学講座）

木村 成志（大分大学医学部神経内科学講座）

研究要旨

スモン患者での認知機能障害に関して、認知機能を Mini-mental State Examination (MMSE) と Montreal Cognitive Assessment 日本語版 (MoCA-J) で評価し、周辺症状の有無を阿部式簡易 BPSD スコア (ABS) で評価し、検討した。対象は、大分県スモン患者 8 名 (男性 4 名、女性 4 名、年齢 80.2 ± 7.3 歳)。8 例中 3 例で何らかの周辺症状を認め、周辺症状のある 3 例では周辺症状のない 5 例に比べ、Barthel Index 平均値 (55.0 vs 85.0)、MoCA-J 平均正答率 (50.0 vs 78.4)、MMSE 平均正答率 (72.2 vs 93.1) のいずれも低値であった (以上 BPSD+ vs BPSD- 表記)。周辺症状のある例では認知機能評価項目のうち遅延再生、計算での正答率低下が目立った。スモン患者でも周辺症状を伴う認知症合併例が存在し、周辺症状の発症要因にスモン患者特有の問題も考えられた。

A. 研究目的

スモン患者の高齢化に伴い、認知症の合併が問題となっている。認知症は、記憶障害、見当識障害、失語、失行、失認などの認知機能の障害を中核症状に、徘徊、食排泄行動異常、幻覚妄想、暴言、暴力、焦燥、興奮、昼夜逆転、抑うつ、アパシーなどの周辺症状と位置づけられている行動・心理症状 (BPSD) が出現する。BPSD は在宅認知症者の 80% に認められ¹⁾、その対応が難しく、介護破綻にもつながることから、適切に評価する必要がある。今回、日常診療で BPSD を簡易に測定する目的で開発された阿部式簡易 BPSD スコア (ABS)²⁾ を用いて BPSD を評価し、認知機能低下との関連を検討する。

B. 研究方法

平成 26 年度の検診に同意の得られた大分県スモン患者 8 症例 (男性 4 例、女性 4 例、年齢 80.2 ± 7.3 歳) を対象とした。平成 26 年 10 月～11 月の検診時に Barthel Index (BI) で ADL を評価し、認知機能を Mini-mental State Examination (MMSE) と Montreal Cognitive Assessment 日本語版 (MoCA-J) で評価し、BPSD の有無を ABS で評価した。

(倫理面への配慮)

本研究はスモン検診時に同意の得られた協力者を対象とし、解析は個人情報伏せて行った。

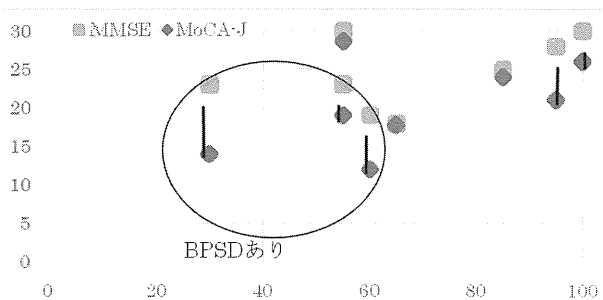


図1 MMSE/MoCA-JとBI

全症例の認知機能評価スコア（MMSE/MoCA-J：縦軸）とADL（BI：横軸）の分布。

円で示した3例でBPSDを認めた。

表1 各症例のMMSE

症例	総点 (30)	日時 (5)	場所 (5)	記憶 (3)	シリアル7 (5)	想起 (3)	呼称 (2)	数字 (1)	言語 理解 (3)	文章 理解 (1)	文章 構成 (1)	図形 把握 (1)
A	30	5	5	3	5	3	2	1	3	1	1	1
B	27 (/27)	5	5	3	5	3	2	1	3	blind	blind	blind
C	25 (/28)	5	4	3	5	1	2	1	3	blind	1	blind
D	25	5	5	3	1	2	2	1	3	1	1	1
E	28	5	5	3	5	1	2	1	3	1	1	1
F	19	4	4	3	1	0	2	1	3	0	1	0
G	23	5	5	3	2	0	2	1	3	1	1	0
H	23	4	5	3	0	2	2	1	3	1	1	1

表2 各症例のMoCA-J

症例	総点 (30)	視空間 実行系 (5)	命名 (3)	注意 (6)	言語 (3)	抽象 概念 (2)	遅延 再生 (5)	見当識 (6)
A	26	4	3	6	1	2	4	6
B	21 (/22)	blind	blind	6	2	2	5	6
C	13 (/22)	blind	blind	6	1	1	0	5
D	24	4	3	4	1	2	4	6
E	21	4	3	3	1	2	2	6
F	12	1	3	2	0	2	0	4
G	14	3	2	3	2	0	0	4
H	19	4	3	5	0	2	0	5

いずれも下段3症例（F～H）がBPSDあり。

BPSDありの症例ではシリアル7（計算）、想起／遅延再生での正答率低下を認めた。

C. 研究結果

全8症例のADLはBI平均値68.1（30～100）であった。認知機能は、MMSEの平均正答率85.1%、MoCA-Jの平均正答率67.0%であった。ABSでは3例でBPSDを認めた（図1）。BPSDのある3例ではBPSDのない5例に比べ、BI平均値（55.0 vs 85.0）、MMSE平均正答率（72.2 vs 93.1）、MoCA-J平均正答

率（50.0 vs 78.4）のいずれも低値であった（以上BPSD+ vs BPSD-表記）。BPSDのある例では認知機能評価項目のうち遅延再生、計算での正答率低下が目立った（表1, 2）。

D. 考察

スモン患者の高齢化に伴い、認知症の状況を正確に把握することが重要となっている。平成24年度の大分県スモン患者の長期追跡結果の解析では、スモン患者におけるADL低下に転倒・骨折、廃用症候群、認知症の関与が重要であることが分かった³⁾。認知症の有病率については平成24年度にMMSEを用いた全国調査が施行されており、スモン患者での23点以下は16.6%と、65歳以上住民における認知症有病率14.4%と比べて差はなかった⁴⁾。しかしスモン患者でも一定の割合で認知症を合併していることは確認された。平成25年度に大分県スモン患者7例を対象にMMSEとMoCA-Jを用いて認知機能評価を行ったところ、MMSEでは23点未満は1例（14.3%）であったがMoCA-Jでは25点未満は5例（71.4%）であり、MMSEでは問題を認めない症例でも認知機能低下が潜在している可能性が示唆された⁵⁾。今回の研究ではBPSDの有無についてABSを用いて評価し、8例中3例にBPSDを認めた。またBPSDを認めた3例はいずれもMMSE23点以下であり、BPSDを認めなかった5例と比較してADLの指標であるBI、認知機能評価の指標であるMMSE、MoCA-Jのいずれも低値を示していた。

BPSDは、認知症に伴う行動・心理症状のことであり、具体的には、徘徊、食排泄行動異常、幻覚妄想、暴言、暴力、焦燥、興奮、昼夜逆転、抑うつ、アパシーなどが含まれる。認知症の介護者が介護上の困難点として「同じことを何度も聞く」「目が離せない」「興奮して困る」といった症状をあげており、BPSDを把握し対応することが介護破綻を防ぐことにつながる。BPSDの評価について、NPI（neuropsychiatric inventory）が世界的にスタンダードとされているが、阿部式BPSDスコア（ABS）はNPIと良く関連しており、さらにNPIに比べてスコア記入が短時間でできることが分かっている³⁾。今回の研究ではBPSDを認めた

のは8例中3例であったが、3例はいずれもMMSE 23点以下であり、認知機能低下例でのBPSD発症頻度は低くないと考えた。BPSDの発症には、身体的要因、心理社会的要因、脳器質的要因が関与するとされているが⁶⁾、スモン患者では、スモンによる身体的障害、本人及び介護者の高齢化に伴う不安、介護施設への入所など生活環境の変化などの問題があり、BPSDを生じやすい背景を有しているともいえる。今後は認知症の有無だけでなくBPSDの有無も把握し、さらにはスモン患者でのBPSDの特徴が明らかになることで、より早期での診断・治療につながるものと期待される。

E. 結論

スモン患者でもBPSDを伴う認知症合併例が存在し、そのような症例ではADLや認知機能がより低下していた。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 文献

- 1) 今井幸充：BPSDの病態と治療．老年期認知症研究会誌 18：p. 66-69, 2011
- 2) 阿部康二：新しいBPSDスコアの有用性．老年期認知症研究会誌 19：p. 118-120, 2014
- 3) 熊本俊秀，平野照之ほか：スモン患者の長期間追跡中に生じたADL低下の要因分析．厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）スモンに関する調査研究班，平成24年度総括・分担研究報告書，p. 157-160, 2013
- 4) 齋藤由扶子ほか：スモン患者における認知症の合併について一検診データベースに基づく検討②，厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）スモンに関する調査研究班，平成24年度総括・分担研究報告書，p. 224, 2013
- 5) 松原悦朗，平野照之ほか：スモン患者に潜在する認知機能障害：MoCA-Jを用いた検討．厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）スモンに関する調査研究班，平成23～25年度総合研究報

告書，p. 159-161, 2014

- 6) 高橋智：認知症のBPSD．日本老年医学会雑誌 48：p. 195-204, 2011

スモン患者における非言語性認知機能の解析

吉良 潤一（九州大学医学研究院神経内科学）

大八木保政（九州大学医学研究院神経治療学）

山口 浩雄（九州大学医学研究院神経内科学）

研究要旨

スモン患者女性4名に対し、MMSEに加えて、レーブン色彩マトリクス検査を施行した。4名のMMSEでは、4名すべてで異常は認めなかったが、レーブン色彩マトリクス検査では、スコアは、加齢とともに低下していた。MMSEは、認知機能障害を短時間で幅広く評価するのに適しているが、高齢スモン患者では、今回レーブン色彩マトリクス検査でみられた非言語性認知機能の加齢による低下等、特異的な高次脳機能障害が認められる可能性があり、認知症のスクリーニング検査以外にも特異的な神経心理検査が必要と考えられた。

A. 研究目的

近年、スモン患者では高齢化が進行し、高齢化とともにアルツハイマー型認知症（Alzheimer's disease, AD）を主体とする高齢者認知症の発症リスクが年々高まっている。私たちはこれまでに、スモン患者において、Alzheimer's Disease Assessment Scale-cognitive component-Japanese version（ADAS-Jcog）検査を実施した¹⁾。しかし、ADAS-Jcogは軽度認知障害（mild cognitive impairment, MCI）やADの早期検出においては、ミニメンタルステート検査（MMSE）や改訂長谷川式簡易知能評価スケール（HDS-R）よりも感度が高いと考えられたが、検査にやや時間がかかり、手技の習熟も必要であることから一般的ではない。私たちは昨年、前頭葉機能検査としてFrontal Assessment Battery（FAB）を行った。スモン患者3名のうち、3名ともMMSEでは正常だったが、そのうちの1名でFABの軽度低下が示唆された²⁾。今回は、スモン患者に対して、MMSE検査に加え、非言語性認知機能を評価するため、レーブン色彩マトリクス検査を行い、その結果を比較・検討した。

B. 研究方法

対象は、今年度の検診を受けたスモン患者の女性4

名（71、74、80、84歳）について、全国共通のMMSE以外に臨床心理士によるレーブン色彩マトリクス検査を施行した³⁾。レーブン色彩マトリクス検査は、①失語症および認知症の検査として、世界中で広く使用されている。②言語を介さずに視覚を介して答えられる検査で、被検者に負担をかけることなく推理能力（知的能力）を測定できる。文化背景に影響されない。③実施がきわめて簡単かつ短時間ですみ、採点および結果の評価が簡単。被検者の負担は言語性記憶力の検査などに比べても軽度と考えられる。問題は36問あり、標準図案の欠如部に合致するものを6つの選択図案の中から1つだけ被検者に選ばせる検査で、セットAが12問、セットABが12問、セットBが12問、計36問よりなる³⁾（表1）。

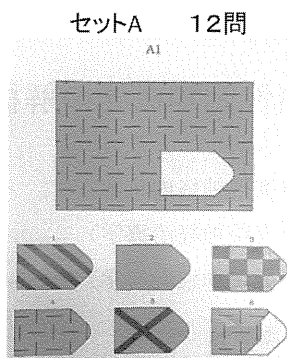
C. 研究結果

4名のMMSEスコアは、30点満点中（cut-off 24点）、それぞれ30、29、30、28点で異常は認めなかった。一方、レーブン色彩マトリクス検査スコアは、36点満点中、それぞれ34、26、24、23点であり、加齢とともに低下していた。セット別の内訳では、スコアは、加齢とともにセットA、セットAB、セットBすべてで同程度に低下していた（表2）。

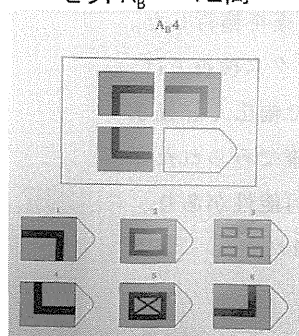
表1 レーブン色彩マトリクス検査

問題は36問あり、標準図案の欠如部に合致するものを6つの選択図案の中から1つだけ被検者に選ばせる検査。

セットA 12問
 セットA_B 12問
 セットB 12問



セットA_B 12問



セットB 12問

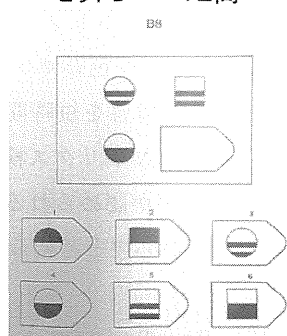


表2 スモン4症例のMMSEおよびレーブン色彩マトリクス検査の点数

スモン症例	MMSE (/30点)	レーブン色彩マトリクス検査			
		A	A _B	B	合計
1)71歳女性	30	11	12	11	34
2)74歳女性	29	10	9	7	26
3)80歳女性	30	9	9	6	24
4)84歳女性	28	8	7	8	23

D. 考察

スモンの症状のうち視力障害は20~30%の患者で見られると報告されている。また、感覚、歩行、視覚に様々な程度で後遺症を残すといわれている。今回、スモン患者に対して、MMSE検査に加え、視覚を介した非言語性認知機能を評価するため、レーブン色彩マトリクス検査を行なった。4名のMMSEでは、4名すべてで異常は認めなかったが、レーブン色彩マトリクス検査では、スコアは、加齢とともに低下していた。高齢スモン患者では、今回レーブン色彩マトリクス検査でみられた視覚性の非言語性認知機能の加齢による

低下等、過去のスモン罹患に関連したスモン特異的な高次脳機能障害が認められる可能性があり、認知症のスクリーニング検査以外にも特異的な神経心理検査が必要と考えられた。

一般に、診療現場では認知症のスクリーニング検査としてHDS-RやMMSEがよく利用されている。MMSE検査では、日時・場所の見当識(側頭葉)、即時記憶・遅延再生(側頭葉)、7シリーズ計算(前頭葉)、呼称(後頭葉~運動性言語野)、聴覚性言語理解(優位半球の側頭葉~感覚性言語野)、文章理解(後頭葉~読字性言語野)、文章記述(書字性言語野)、図形構成(後頭葉~劣位半球の頭頂葉)などが評価される。記憶・見当識などの側頭葉、言語性認知機能、失認・失行症などの検出に優れるが、遂行機能・注意力・集中力などの前頭葉機能の評価項目は少ない。

レーブン色彩マトリクス検査時における被験者の脳の活動について、PETやfMRIを用いた研究では、前頭葉と頭頂葉領域のネットワークの活性化が関与しており、とくにdorsolateral prefrontal cortex (DLPFC), superior parietallobule, intraparietal corticesの活性化の関与が報告されている³⁾。これらのことより、レーブン色彩マトリクス検査を遂行するには、提示される図案が視覚として認知されるまでの視覚路、後頭葉の他、前頭葉、頭頂葉のネットワークの活性化が必要であると考えられる。さらに、レーブン色彩マトリクス検査のセットA、セットAB、セットBと難易度が上がるに伴い前頭葉、頭頂葉のネットワークの活性化の関与が必要になることが予想される。一般的に、前頭葉機能は加齢により低下することが知られており、加齢とともに、レーブン色彩マトリクス検査では、セットAに比較し、セットBでスコアの低下がみられる³⁾。また、スモン患者では慢性的な歩行障害があるため、前頭葉機能低下が促進される可能性があり、私たちは昨年、前頭葉機能検査としてFrontal Assessment Battery (FAB)を行い、スモン患者3名のうち1名でFABの軽度低下を報告した²⁾。今回のスモン患者4名のレーブン色彩マトリクス検査では、スコアは、加齢とともにセットA、セットAB、セットBすべてで同程度に低下していた。これらの結果は、スモン患者の高齢化とともに、レーブン色彩マトリクス

ス検査の遂行に必要な、視覚路、後頭葉の他、前頭葉、頭頂葉のネットワーク全体の活性化が低下している可能性を示している。

E. 結論

高齢スモン患者では、今回レーヴン色彩マトリクス検査でみられた非言語性認知機能の加齢による低下等、特異的な高次脳機能障害が認められる可能性があり、認知症のスクリーニング検査以外にも特異的な神経心理検査が必要と考えられた。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

I. 文献

- 1) 吉良潤一，大八木保政：スモンにおける認知機能の解析．スモンに関する調査研究 平成 24 年度総括・分担研究報告書 2013：221-223.
- 2) 吉良潤一，大八木保政：スモン患者における認知機能の解析：前頭葉機能について．スモンに関する調査研究 平成 25 年度総括・分担研究報告書 2014：195-197.
- 3) 日本版レーヴン色彩マトリックス検査 手引 日本文化科学社
- 4) Jung RE, Haier RJ (2007) The Parieto-Frontal Integration Theory (P-FIT) of intelligence: converging neuroimaging evidence. Behavioral and Brain Sciences 30: 135-154.